

各社逆転写酵素の正確性の比較

No. RT_003

カテゴリ: cDNA合成

キーワード: cDNA合成、逆転写反応、正確、感度、伸長性

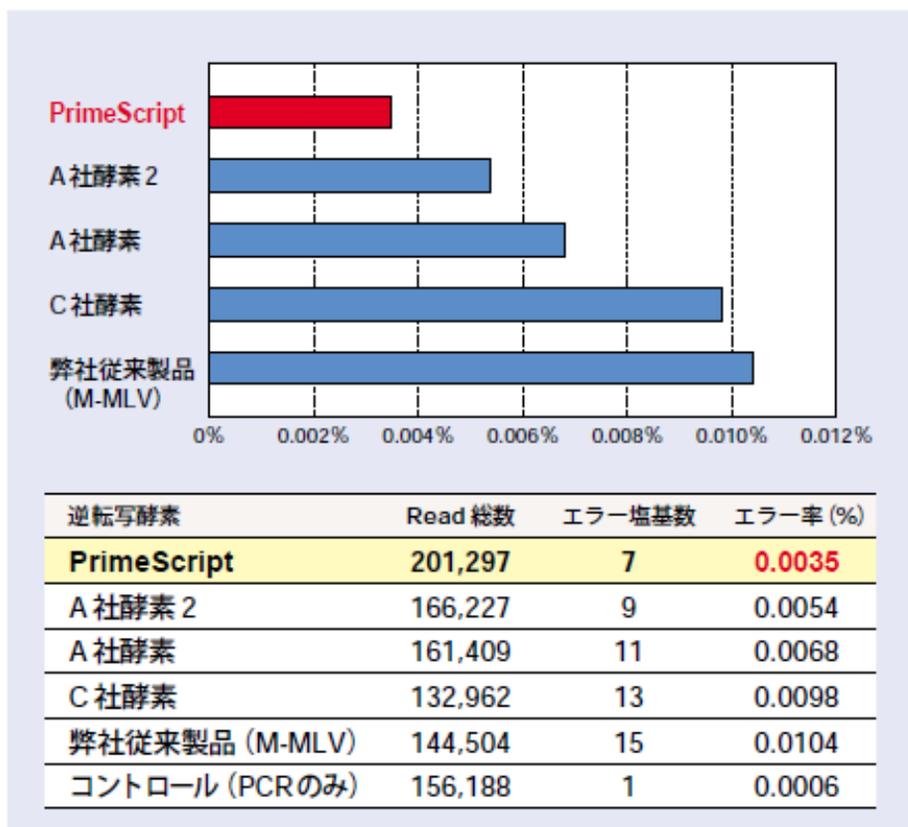
データソース: タカラバイオ株式会社

方法:

ヒト胎盤由来total RNA(製品コード 636527)を鋳型とし、各種逆転写酵素を用いて1st strand cDNA合成を行った。逆転写プライマーにはOligo dTプライマーを使用し、各社推奨プロトコールに従った。cDNA合成後、非常に正確性の高いPrimeSTAR® HS DNA Polymerase (製品コード R010A)を用いてPCR増幅を行い(ターゲット遺伝子: TFR、増幅鎖長: 500 bp)、増幅断片をクローニングして複数クローンをピックアップし、それぞれシーケンスにより塩基配列を確認した。確認した総塩基数(約20万塩基)中のエラー塩基数の割合をエラー率とした。また、直接ゲノムからPCRを行ったものをコントロールとした。

結果:

PrimeScript™ RTase(製品コード 2680A)ではシーケンスを行った20万塩基のうちエラーがわずか7個であり、評価を行った逆転写酵素のうち、正確性が最も高いことを確認した。



備考: