

=====

■■■ 塩基配列解析 その2 ■■■

=====

■ 困ったことになりました。市販の T7 プライマーでシーケンス反応をかけてみたけど、全く反応が進んでない様子。プライマーのチューブには確かに T7 primer と書かれている。ベクターのマップには確かに T7 promoter と書いてあるしプライマーサイトもアンダーラインで明示されている。しばらく前に別のクローンを解析した時は、問題なく配列が読めたのに、どうして？

■ そこで、てもとのカタログを開き、市販のプライマーとベクターの配列を調べてみました。ここに掲載したプライマーとベクターは、たまたまもとにあったカタログから抜粋したもので、これが良いとか悪いとかということをお願いいたいたいわけではありません。悪しからず。また、ここに掲載していない別の配列例があるかもしれません。

■ プライマー配列

5'	GTA ATA CGA CTC ACT ATA GGG CGA 3'	T7HT Toyobo
5'	GTA ATA CGA CTC ACT ATA GGG C 3'	T7 22-mer Stratagene
5'	TA ATA CGA CTC ACT ATA GGG 3'	T7 Promega
5'	TA ATA CGA CTC ACT ATA GGG 3'	T7 Takara
5'	TA ATA CGA CTC ACT ATA GGG 3'	T7 Novagen
5'	A ATA CGA CTC ACT ATA G 3'	T7 17-mer Stratagene

■ ベクター配列 (T7 近傍)

5'	CAG TGA ATT GTA ATA CGA CTC ACT ATA GGG CGA 3'	pGEM-3Zf+
5'	CAG TGA ATT GTA ATA CGA CTC ACT ATA GGG CGA 3'	pBluescript SK
5'	TGA GCG CGC GTA ATA CGA CTC ACT ATA GGG CGA 3'	pBluescriptII SK
5'	CAG TGA ATT GTA ATA CGA CTC ACT ATA GGG CGA 3'	pBK-CMV
5'	TGA GCG CGC GTA ATA CGA CTC ACT ATA GGG CGA 3'	pBC KS
5'	CGC GGC CGC GTA ATA CGA CTC ACT ATA GGG CGA 3'	lambda DASHII
5'	CCG CGA GCT CTA ATA CGA CTC ACT ATA GGG CGT 3'	lambda FIXII
5'	TTG GCT GCA GTA ATA CGA CTC ACT ATA GGG CTC 3'	pBD-GAL4
5'	CGC CAA GCT CTA ATA CGA CTC ACT ATA GGG AAA 3'	pTZ19R
5'	TTA TCG AAA TTA ATA CGA CTC ACT ATA GGG AGA 3'	pCDNA3
5'	CGC CAA GCT CTA ATA CGA CTC ACT ATA GGG AAA 3'	pSport1
5'	CGC CAA GCT CTA ATA CGA CTC ACT ATA GGG AAA 3'	pT7Blue
5'	CAG TGA ATT GTA ATA CGA CTC ACT ATA GGG CGA 3'	pCITE
5'	CCC GCG AAA TTA ATA CGA CTC ACT ATA GGG AGA 3'	pET3

5' CCC GCG AAA TTA ATA CGA CTC ACT ATA GGG GAA 3'

pET15b

5' CCC GCG AAA TTA ATA CGA CTC ACT ATA GGG GAA 3'

pETBlue-1

5' GGA CCG AAA TTA ATA CGA CTC ACT ATA GGG GAA 3'

pTriEx-1.1

■ こうやって眺めてみると、T7 プライマーと呼ばれているプライマーの間で配列が異なっていることが分かりますし、ベクターの T7 プライマー領域の配列にも違いがあることが分かります。さらに、プライマーの 5' や 3' の配列がベクターとマッチしない組み合わせがいくつかあります。特に、3' ミスマッチの組み合わせでは、シーケンス反応がうまく行かないだろうことは容易に想像できます。

■ 有名なプライマーと有名なプライマー領域ですが、ただ「名前」という情報だけで判断するのではなく、そのプライマーとベクターの組み合わせが自分の実験に適しているかどうか、いま一度、「配列」も見直して実験をくんで下さい。(T.M.)

(Mail News 2006.03.25 掲載記事)

=====

発行

理化学研究所・バイオリソースセンター

遺伝子材料開発室

dnabank@brc.riken.jp

<http://www.brc.riken.jp/lab/dna/ja/>

=====