

定量RT-PCR中人干细胞因子的RNA-CRS的构建

Construction of Human Stem Cell Factor's RNA-CRS in Quantitative RT-PCR

投稿时间: 1999-6-7 最后修改时间: 1999-10-15

稿件编号: 20000324

中文关键词: [基因表达定量](#) [定量RT-PCR](#) [人干细胞因子基因](#)

英文关键词: [quantitation of gene expression](#) [quantitative RT-PCR](#) [human stem cell factor gene](#)

基金项目: 国家自然科学基金 (39700050) 和China Medical Board (CMB No. 99-698) 资助项目.

作者	单位
谭文斌	湖南医科大学分子生物学研究中心, 长沙 410078
聂怡玲	湖南医科大学分子生物学研究中心, 长沙 410078
罗赛群	湖南医科大学分子生物学研究中心, 长沙 410078
郭小珊	湖南医科大学分子生物学研究中心, 长沙 410078
成光杰	湖南医科大学分子生物学研究中心, 长沙 410078
陈汉春	湖南医科大学分子生物学研究中心, 长沙 410078
朱定尔	湖南医科大学分子生物学研究中心, 长沙 410078

摘要点击次数: 98

全文下载次数: 9

中文摘要:

一种适用于定量RT-PCR、用Exonuclease III部分酶切剔除技术, 构建人干细胞因子(hSCF)基因的RNA竞争性参考标准(RNA-CRS)的新方法: 用RT-PCR技术, 从HepG2细胞中扩增出全长人hSCF cDNA, 并克隆入质粒pGEM-T获重组的pGEMSCF载体, 经Exonuclease III和S1核酸酶适当处理, 以导致hSCF cDNA中一小片段缺失, 由此获得重组pGEMSCF模拟体(mi mi c), 经体外转录得到hSCF RNA-CRS. 测序表明: 该RNA-CRS与hSCF mRNA比较, 缺失了从第499位至608位共110个核苷酸, 但二者RT-PCR反应可用同一对扩增引物, 反应动力学极为相似. 这种hSCF RNA-CRS可作为一种较理想的竞争性参考标准, 适用于定量RT-PCR中, 以对重组hSCF在真核细胞中的表达水平进行准确的定量分析. 此方法亦可推广应用于其他真核基因的表达水平及/或调控的检测和研究.

英文摘要:

A novel method was developed to prepare an Exonuclease III-partially-digesting RNA as a competitive reference standard (RNA-CRS) of human stem cell factor (hSCF) gene in quantitative RT-PCR: complete hSCF cDNA was already amplified from HepG2 cells using RT-PCR and cloned into pGEM-T vector. After the recombinant pGEMSCF was treated with Exonuclease III and S1 nuclease at a favorable condition to make a limited deletion in hSCF cDNA, the recombinant pGEMSCF mimic was constructed successfully and transcribed *in vitro* to obtain the RNA-CRS. The hSCF RNA-CRS with a 110 bp deletion from base 499 to 608 in hSCF cDNA was identified by DNA sequencing and it is suitable to be used as a reliable RNA-CRS for the quantitation of the transcriptional expression level of recombinant hSCF in eukaryotic cells by quantitative RT-PCR.

[查看全文](#)

[关闭](#)

[下载PDF阅读器](#)

您是第419269位访问者.

主办单位: 中国科学院生物物理研究所和中国生物物理学会 单位地址: 北京市朝阳区大屯路15号

服务热线: 010-64888459 传真: 010-64889892 邮编: 100101 Email: prog@sun5.ibp.ac.cn

本系统由勤云公司设计, 联系电话: 010-62862645, 网址: <http://www.e-tiller.com>

京ICP备05002794号