

pBIDAVL-GWR1 (IN3-VEC7)と pBIDAVL-GWR2 (IN3-VEC8)の RT-PCR

<逆転写>

1. pBIDAVL を用いて形質転換した植物の RNA を準備します。
2. 5'-TTGTGGTAGTACTGCATCTGCTGA -3' (DAVL の相補鎖配列) の配列のプライマー、もしくはオリゴ dT プライマー (poly A の相補鎖配列) を用意し、どちらかのプライマーを用いて逆転写反応を行います。
3. RNase H を用いて cDNA と結合している mRNA を分解し、cDNA を精製します。

<PCR>

1. pBIDAVL へのクローニングの際に、Gateway 反応で組込んだ遺伝子内の特異配列のプライマー (向きにご注意ください) を準備します。(組込む遺伝子がゲノム由来の場合はイントロンを間に挟むように設計されることをおすすめ致します。)
2. 準備したプライマーを 5'-TTGTGGTAGTACTGCATCTGCTGA -3' (DAVL の相補鎖配列) の配列のプライマーと共に PCR を行います。条件はプライマーや産物の長さ等により変わりますので、ご検討ください。

※ あくまで、こちらに記載の方法は参考でございますので、目的のサンプルに合わせたプライマー設計・反応条件等をご検討ください。