

Universelle Adapter-Oligonukleotide zur Amplifikation unbekannter Nukleinsäuresequenzen

HINTERGRUND

In der Polymerasekettenreaktion (PCR) werden zur Vervielfältigung unbekannter DNA-Sequenzen zuvor Adapter-Oligonukleotide ligiert. Diese müssen einfach zu handhaben sein und zu zwei unterschiedlichen Sequenzen an den jeweiligen DNA-Sequenz-Enden führen. Derzeit verfügbare Methoden benötigen sehr aufwendige Synthesen, die zu sehr großen, für die Ligation ungünstigen Adapter-Molekülen führen (Y-förmig, hairpin loops, auch mit Modifikationen zur Spaltung).

TECHNOLOGIE

Das vorgeschlagene Prozedere verwendet ein kürzeres, doppelsträngiges Adapter-Oligonukleotid, welches nach einer Ligation an die unbekannt DNA-Sequenz zu asymmetrischen Enden mit spezifischer Erkennung für zwei unterschiedliche Primer führt. Das universell einsetzbare Adapter-Oligonukleotid wird hierbei durch Einbau von universellen Basen (z.B. Inosin) mit der Paarungsmöglichkeit zu verschiedenen Basen, von Wobble-Paaren und von Nukleotiden ohne Basen (abasic site) erreicht.

VORTEILE

- ✓ Kostengünstige und effiziente Adapter-Synthese
- ✓ Verbesserte Ligationseffizienz
- ✓ Keine zusätzlichen Schritte nach der Ligation nötig

ANWENDUNG

Amplifikation von unbekannt DNA-Sequenzen mittels PCR für Analysen in Grundlagenforschung, Diagnostik, Therapie und Forensik

STATUS

Machbarkeit im Labor gezeigt: DNA-Amplifikation mit Effizienzsteigerung um eine Größenordnung

Patentanmeldung:
WO2018/046752A1 (12.09.17, anhängig)

