

5'/3'-RACE-PCR



J. Arnemann
Abteilung Molekulargenetik, Labor Dr. Wisplinghoff, Köln,
Deutschland

Synonym(e) [Rapid Amplification of cDNA Ends](#)

Englischer Begriff 5'/3'-RACE-PCR; rapid amplification of cDNA ends

Definition RACE-PCR ist eine Sonderform der PCR zur „Rapid Amplification of cDNA Ends“, die eingesetzt wird, um bei unbekanntem, oftmals unvollständigen mRNA-Transkripten bzw. cDNAs das fehlende 5'- aber auch 3'-Ende zu identifizieren.

Beschreibung Bei der 5'-RACE-PCR geht man von der bekannten Teilsequenz der cDNA aus und synthetisiert einen Antisense-Primer, den man in eine unidirektionale ► [PCR \(Polymerase-Kettenreaktion\)](#) mit der cDNA einsetzt, um das 5'-Ende als DNA-Strang zu synthetisieren. Durch Einsatz des

Enzyms TdT („terminale deoxynucleotidyl transferase“) und entsprechenden Nukleotiden wird dem 5'-Ende ein Homopolymer-Ende, z. B. Poly(G), angefügt. Im nächsten Schritt wird eine PCR-Reaktion mit einem Antisense-Primer, der in der bekannten cDNA-Sequenz etwas weiter in 5'-Richtung liegt, und einem Sense-Primer (sog. Adaptor-Primer) durchgeführt, der dem Poly(G)-Tail des neu synthetisierten 5'-Endes reziprok ist, d. h. poly(C) enthält. Das nun in großer Zahl vermehrte 5'-Ende kann nun entweder kloniert oder direkt sequenziert werden.

Die 3'-RACE-PCR läuft ähnlich, lediglich, dass man Sense-Primer für die bekannte cDNA-Sequenz einsetzt und als Homopolymer am 3'-Ende direkt auf den Poly(A)-Schwanz des Transkripts zurückgreifen kann und einen Poly(T)-Antisense-Primer (Adaptor-Primer) für die PCR-Reaktion einsetzt.

Literatur

Frohman MA et al (1988) Rapid production of full-length cDNAs from rare transcripts: amplification using a single gene-specific oligonucleotide primer. *Proc Natl Acad Sci USA* 85:8998–9002