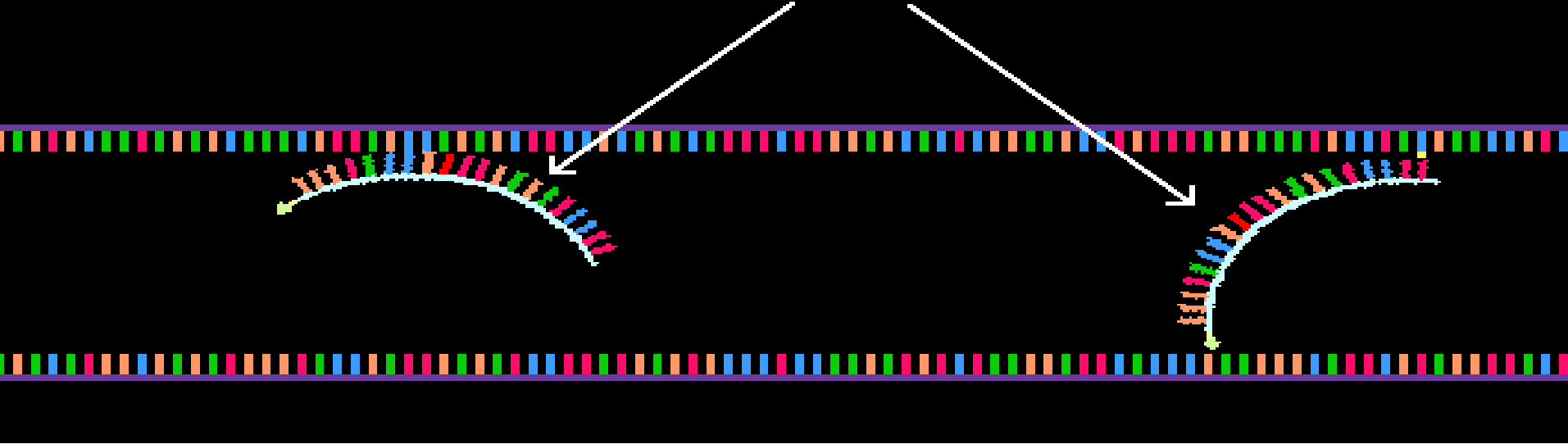


Oligonucleotide Primers



S.SHOBEIRI, PH.D

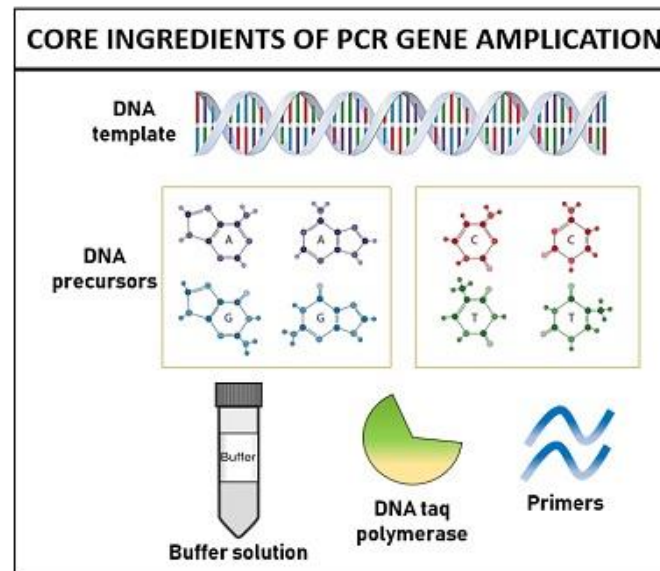
PRIMER DESIGN

تاریخچه PCR

- اوایل دهه ۱۹۷۰ ایده ساخت قطعات کوتاه DNA در محیط آزمایشگاه، توسط H.G. Khorana و همکاران
- ۱۵ سال بعد Kary Mullis و همکاران با استفاده از قطعه Klenow آنزیم DNA پلی مرز باکتری E.coli و دو پرایمر که در دو طرف قطعه مورد نظر قرار می گرفت این ایده را عملی کرد
- سال ۱۹۸۸ Saiki و همکاران، استفاده از DNA پلی مرز مقاوم به حرارت را پیشنهاد نمودند، به سبب تحول ایجاد شده توسط Taq DNA Polymerase در سال ۱۹۸۸ بعنوان ملکول سال معرفی شد.

Polymerase chain reaction; PCR

برای اینکه بتوان قطعه ای از یک توالی بلند DNA را در محیط آزمایشگاه تکثیر داد و از آن قطعه میلیون ها کپی ساخت، باید فرآیندی نظیر همانند سازی DNA در باکتری را تقلید نمود و بارها در یک تیوپ کوچک این فرایند تکرار شود



اجزای PCR

آنزیم Taq پلیمراز

پرایمرها

DNA الگو
نوکلئوتیدها (واحدهای ساختاری DNA)



مولکول الگو



پرایمرها



Taq پلیمراز



نوکلئوتیدها

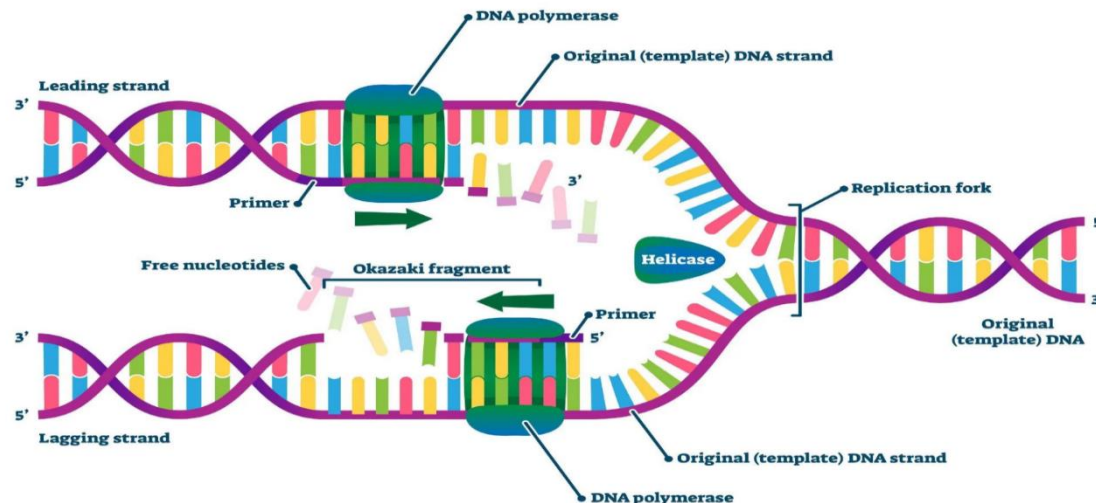


بافر و کوفاکتورها

DNA پلیمراز

واکنش PCR نیز مانند فرایند همانندسازی DNA به آنزیم DNA پلیمراز وابسته است. این آنزیم، فرایند ساخته شدن رشته جدید را از روی رشته قدیمی (الگو) کاتالیز می کند. آنزیم DNA پلیمرازی که معمولاً در واکنش PCR به کار گرفته می شود، Taq پلیمراز نام دارد.

DNA POLYMERASE



Taq پلیمراز

این آنزیم از یک باکتری مقاوم به گرما به نام «ترموس آکوأتیکوس» *Thermus aquaticus* گرفته شده است.

باکتری ترموس آکوأتیکوس در چشمه‌های آب داغ و دریاچه‌های گرمابی زندگی می‌کند.

این دریاچه‌ها در بستر دریا و اقیانوس، در نزدیکی مکان‌های فعال آتشفشانی قرار دارند و محل خروج هوای گرم هستند.

آنزیم‌های مختلف این باکتری، از جمله DNA پلیمراز، نسبت به گرما بسیار مقاوم هستند.

این آنزیم، در دمای ۷۰ درجه سانتیگراد، در فعال‌ترین حالت خود قرار دارد، دمایی که در آن، بیشتر آنزیم‌های انسانی، غیرفعال خواهند شد.



Taq پلیمراز (ویژگی ها)

پایداری گرمایی (Heat-Stability)

توانایی آنزیم در حفظ ساختار سه بعدی و عملکرد خود در دماهای بالاتر از محیط مناسب خود.

قدرت پردازش (Processivity)

توانایی آنزیم در حفظ اتصال به سوبسترا تا پایان واکنش.

✓ بالاتر بودن قدرت پردازش، به معنای آن است که آنزیم می تواند تعداد بیشتری واکنش را تا مرحله نهایی به پیش ببرد و پیش از آن که واکنش به پایان برسد، سوبسترا را رها نخواهد کرد.

صحت عملکرد (Fidelity)

توانایی اتصال مولکول صحیح، در جای صحیح.

✓ در مورد پلیمرازها، این ویژگی، به معنای آن است که در مقابل هر نوکلئوتید، مولکول مکمل آن قرار خواهد گرفت. همانطور که مشخص است، این ویژگی در PCR دارای اهمیت فراوانی است چراکه هرگونه اشتباه در جایگذاری نوکلئوتیدها، به تغییرات قابل توجهی در نتیجه نهایی آزمایش می انجامد.

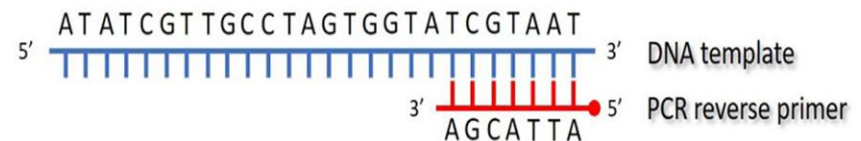
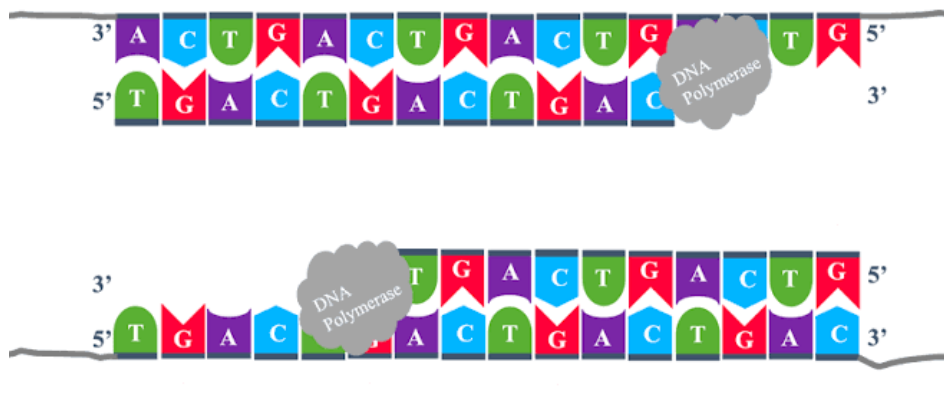
اضافه کردن باز به انتهای محصول

پرایمرهای PCR

آنزیم Taq پلیمراز نیز، مانند پلیمرازهای دیگر، تنها در صورتی می‌تواند سنتز رشته جدید را کاتالیز کند که مولکول «پرایمر» را در اختیار داشته باشد.

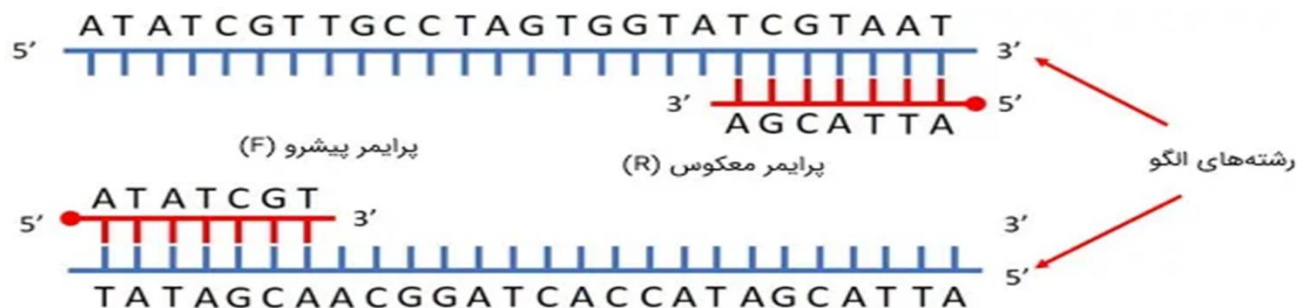
پرایمر، در واقع، مولکول نوکلئوتیدی کوچکی است که یک نقطه آغاز را در اختیار آنزیم قرار می‌دهد.

این نقطه آغاز، همان گروه هیدروکسیل آزاد موجود در انتهای ۳' آخرین نوکلئوتید مولکول پرایمر است.



پرایمرهای PCR

- ✓ پرایمرها قطعه‌های کوتاهی از یک DNA تک-رشته‌ای هستند که معمولاً حدود ۲۰ نوکلئوتید طول دارند.
- ✓ این قطعه‌ها طوری طراحی می‌شوند که ناحیه هدف (Target Region) را در بر بگیرند.
- ✓ این اتصال، از طریق پیوندهای هیدروژنی بین پرایمر و الگو صورت می‌گیرد.
- ✓ در هر قطعه از ژنوم انسان، تنها یکی از دو رشته DNA، حاوی ژن رمزکننده و فعال هستند.
- ✓ پرایمری که برای اتصال به این رشته طراحی می‌شود، پیشرو Forward و پرایمری که برای اتصال به رشته مکمل طراحی می‌شود، معکوس Reverse نام دارد.



پرایمرهای PCR

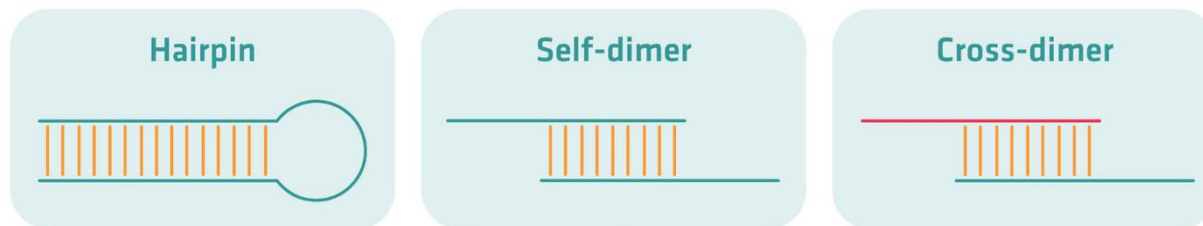
✓ طول مناسب پرایمر ۱۸ تا ۲۲ باز می‌باشد.

✓ دمای ذوب پرایمر T_m – Primer melting temperature موید ثبات ساختار دو رشته ای DNA است. دمای ذوب ۵۲ تا ۵۸ بهینه است و بهتر است اختلاف دمای دو پرایمر از ۵ درجه بیشتر نشود.

✓ در دمای اتصال پرایمر T_a – Primer annealing temperature، پرایمر به طور خیلی اختصاصی به تارگت اصلی خود می‌چسبد. ۵۵-۶۵ درجه

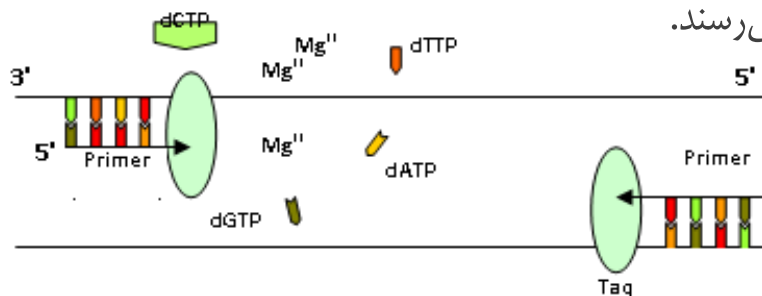
✓ محتوای GC پرایمرها بهتر است بین ۴۰ تا ۶۰ درصد باشد.

✓ قابلیت اتصال بازها درون یک پرایمر primer self-complementarity موجب تولید ساختارهای ثانویه Secondary structures نامناسبی می‌شود که روی موفقیت واکنش PCR اثر سوء دارند.

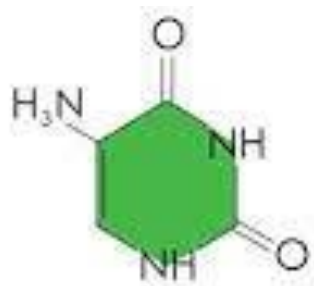


بافر PCR

- هر آنزیم در یک شرایط PH و قدرت یونی خاص، بیشترین فعالیت را نشان می‌دهد.
- بافرها این شرایط را ایجاد و تا پایان واکنش، حفظ می‌کنند.
- در مورد Taq پلیمراز، بیشتر این بافرها حاوی تریس-HCl، نمک کلرید پتاسیم KCl و نمک $MgCl_2$ هستند.
- تریس-HCl به حفظ PH بین ۸ تا ۹/۵ کمک می‌کند.
- یون پتاسیم موجود در این بافرها، موجب تقویت فرایند اتصال پرایمرها به الگو، طی مرحله آنیلینگ می‌شود.
- یون منیزیم، به عنوان کوفاکتور آنزیم پلیمراز، به آن متصل خواهد شد تا آن را به فعال‌ترین حالت ساختاری خود در آورد.
- بافرهای PCR، معمولاً در غلظت 10X به فروش می‌رسند.



دزو اکسی نوکلئوتید تری فسفات (*dNTP*)



Thymine



Adenine



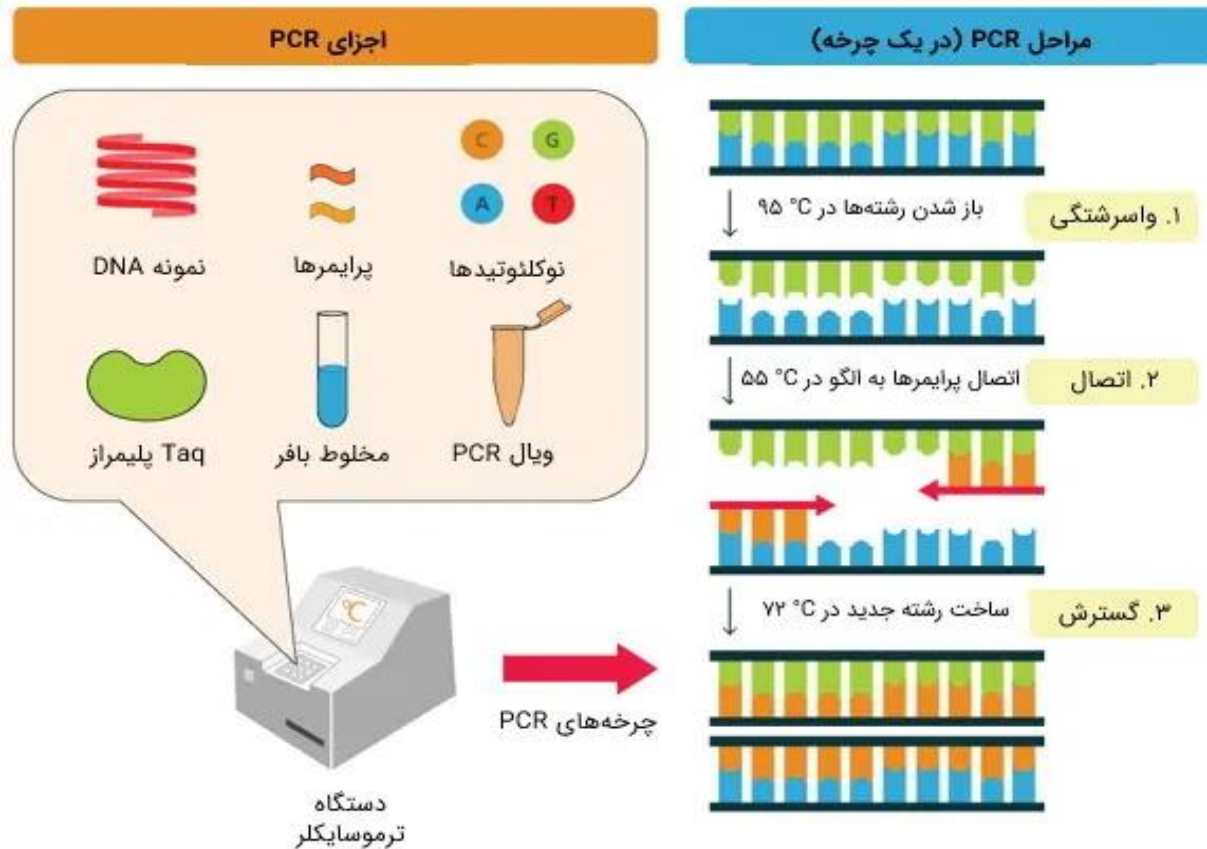
Guanine



Cytosine

- در یک واکنش PCR استاندارد، از مخلوطی از *dNTP* ها که حاوی میزان مساوی از هر چهار نوع (*dATP* , *dCTP* , *dGTP* , *dTTP*) *dNTP* است، استفاده می شود.
- آنزیم DNA Taq پلی-مراز با توجه DNA هدف در جهت $5' \rightarrow 3'$ واحدهای *dNTP* را به پرایمر می افزاید و رشته DNA کپی را می سازد.

مراحل PCR



✓ واسرشتگی Denaturation

✓ اتصال Annealing

✓ گسترش Extension

مراحل PCR

✓ دناتوراسیون اولیه

✓ پیش از آغاز اولین چرخه دمایی، ویال حاوی اجزای واکنش، تا رسیدن به دمای ۹۵ درجه سانتیگراد، گرم می‌شود و حدود ۵ دقیقه در این دما باقی می‌ماند.

✓ هرگونه ساختارهای ثانویه یا پیچ و تاب خوردگی‌های مولکول الگو، کاملاً حذف می‌شوند و مولکول، به صورت یک تک‌ رشته‌ای خالص در معرض آنزیم قرار می‌گیرد.

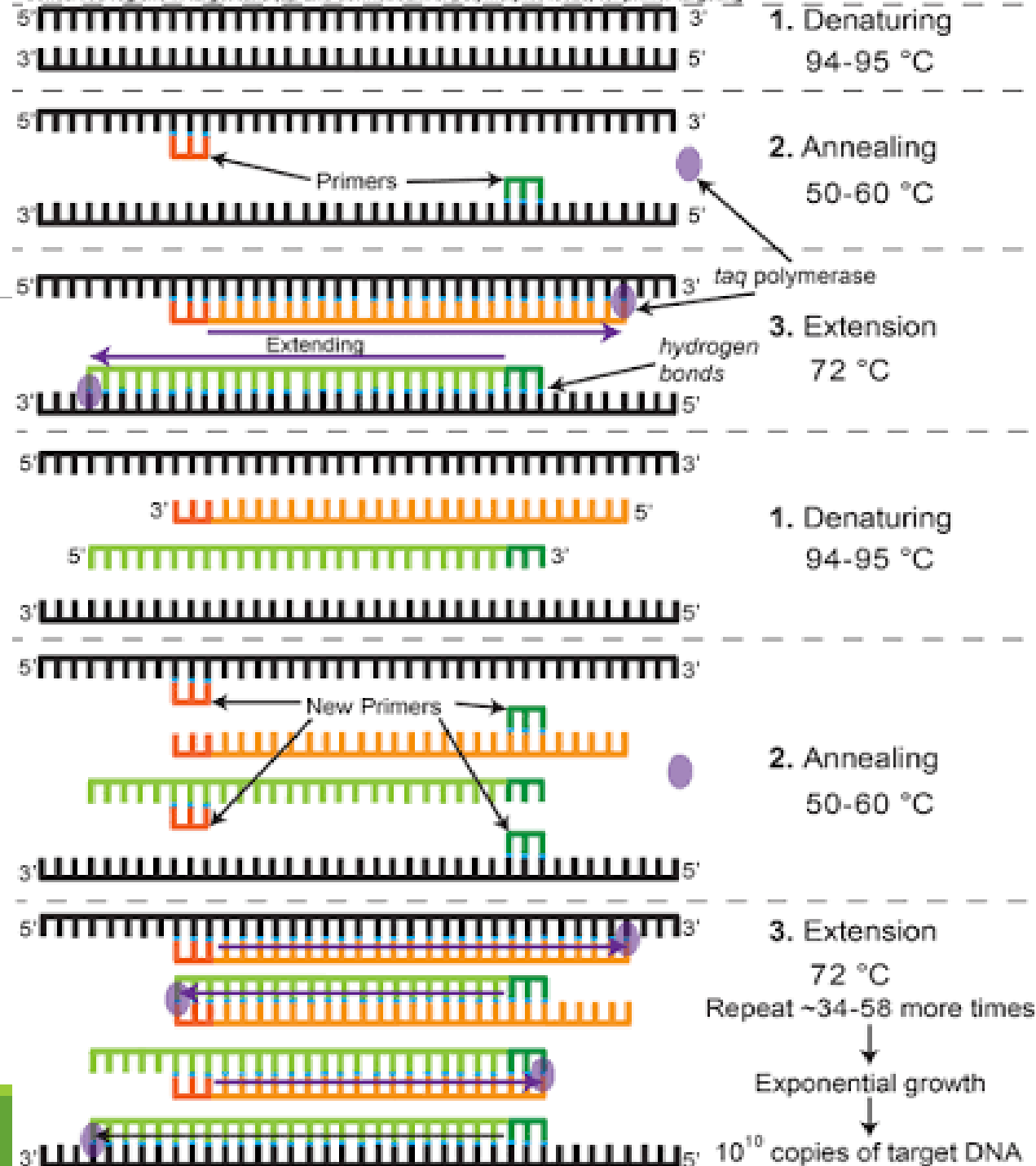
✓ طویل سازی نهایی

✓ پس از انجام آخرین چرخه دمایی، ویال نمونه برای مدت حدود ۵ تا ۱۰ دقیقه دیگر در دمای ۷۲ درجه سانتیگراد، باقی می‌ماند و زمان لازم را فراهم می‌کند تا آنزیم Taq پلیمراز، کار ساخت رشته‌های ناقص را تکمیل کند.

مراحل یک واکنش PCR

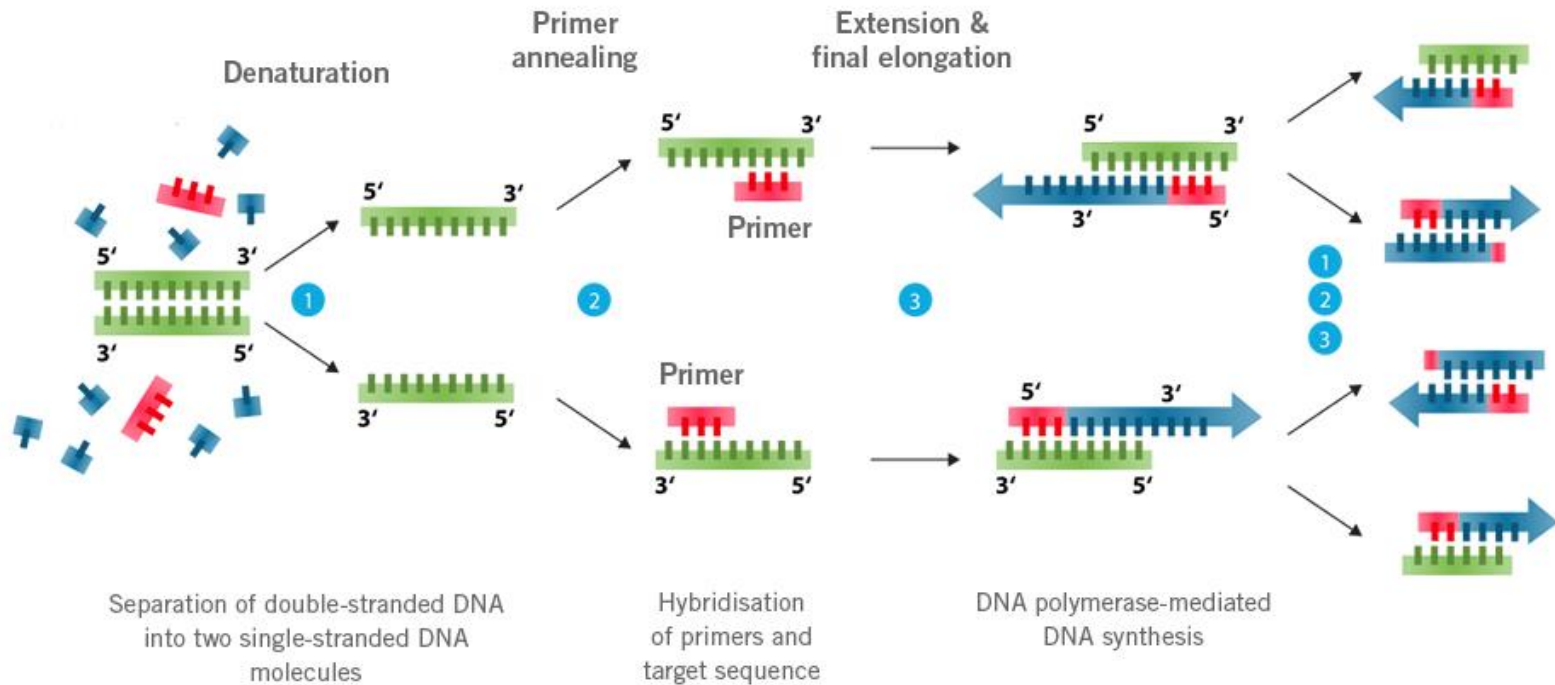
واکنش زنجیره ای پلیمرز در دستگاهی به نام ترموسایکلر انجام می شود. هر واکنش ساده، بین ۲ تا ۴ ساعت طول می کشد و طی آن، مراحل سه گانه فوق، بین ۲۵ تا ۳۵ بار تکرار خواهند شد.

تکرار	مرحله	دما	زمان
1	واسرشتگی اولیه	95°C	۵ دقیقه
25-30	واسرشتگی	95°C	۳۰ ثانیه
	اتصال	55°C	۳۰ ثانیه
	گسترش	72°C	۳۰ ثانیه
1	گسترش نهایی	72°C	۱۰ دقیقه
1	نگهداری نهایی	10°C	تا خاموش کردن دستگاه



پرایمر

PCR primer



کاربردهای پرایمر

طراحی پرایمر برای تعیین توالی ژنوم یا ژنوتایپینگ

برای تکنیک‌های توالی‌یابی ژنوم مانند NGS یا Sanger به کار می‌روند. همچنین برای تعیین پلی‌مورفیسم‌های تک نوکلوتیدی

طراحی پرایمر در تکنیک CRISPR-Cas9

می‌توانند جهش‌ها یا تغییرات هدفمند را در ژنوم با استفاده از سیستم CRISPR-Cas9 ایجاد کنند.

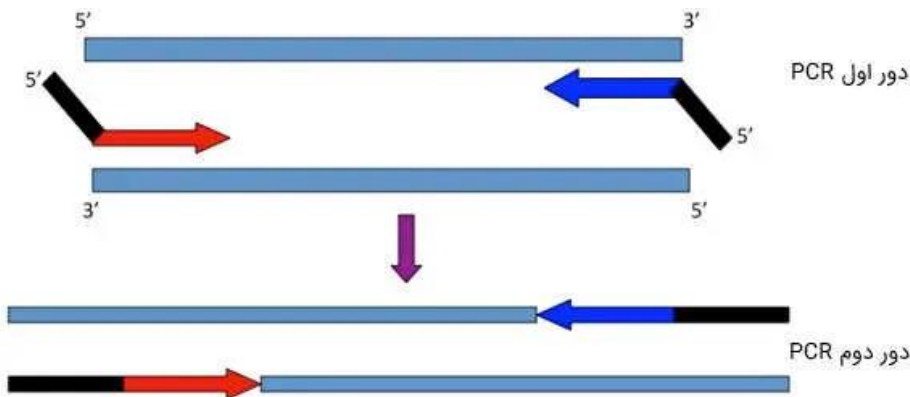
طراحی پرایمر در انگشت نگاری DNA fingerprinting

پزشکی قانونی، تعیین ابوت (پدری) یا تبارشناسی ژنتیکی استفاده می‌کنیم.

طراحی پرایمر برای کلونینگ ژن

برای تکثیر یک ناحیه هدف در وکتور دو طرف آن

با ایجاد ناحیه برش در پرایمر تکثیر می‌شود



طول پرایمر

- پرایمرهای ۱۸ تا ۲۵ نوکلئوتیدی تعادل مناسبی بین کارایی و اختصاصیت ایجاد می کنند.
- پرایمرهای کوتاه تر ممکن است منجر به اتصال های غیراختصاصی شوند.
- پرایمرهای بلندتر کارایی کمتری دارند زیرا فرآیند اتصال کندتر انجام می شود.



دمای ذوب پرایمر Tm

- دمای ذوب پرایمر Primer melting temperature – Tm موید ثبات ساختار دو رشته ای DNA است.
- در اینجا منظور از ساختار DNA دو رشته ای، باند شدن و اتصال پرایمر به مولکول الگو می باشد.
- دمای ذوب پرایمر، دمایی است که در آن نیمی از مولکول های پرایمر، تک رشته ای هستند و نیمی دیگر به مولکول DNA متصل شده و دو رشته ای شده اند. لذا این دما به یک شرایط تعادل اشاره می کند که در این تعادل مولکول های پرایمر تک رشته ای، مولکول های تارگت تک رشته ای، مولکول های تارگت دارای پرایمر متصل شده، و مولکول های تارگت دارای پرایمرهای در حال جدا شدن همگی در حال تعادل می باشند.
- دمای ذوب ایده آل بین ۵۵ تا ۶۵ درجه سانتی گراد است.

دمای ذوب پرایمر Tm

- اختلاف دمای ذوب پرایمرهای Forward و Reverse نباید بیشتر از ۵ درجه باشد.
- Tm خیلی بالا باعث کاهش کارایی و Tm خیلی پایین باعث کاهش اختصاصیت می شود.
- دمای ذوب در طراحی پرایمر با فرمول های مختلفی محاسبه می شود، اما یکی از رایج ترین فرمول های دمای ذوب برای پرایمرهای کوتاه تر از ۲۰ نوکلئوتید، فرمول والاس است:

$$Tm=2(A+T)+4(G+C)$$

دمای اتصال پرایمر Ta

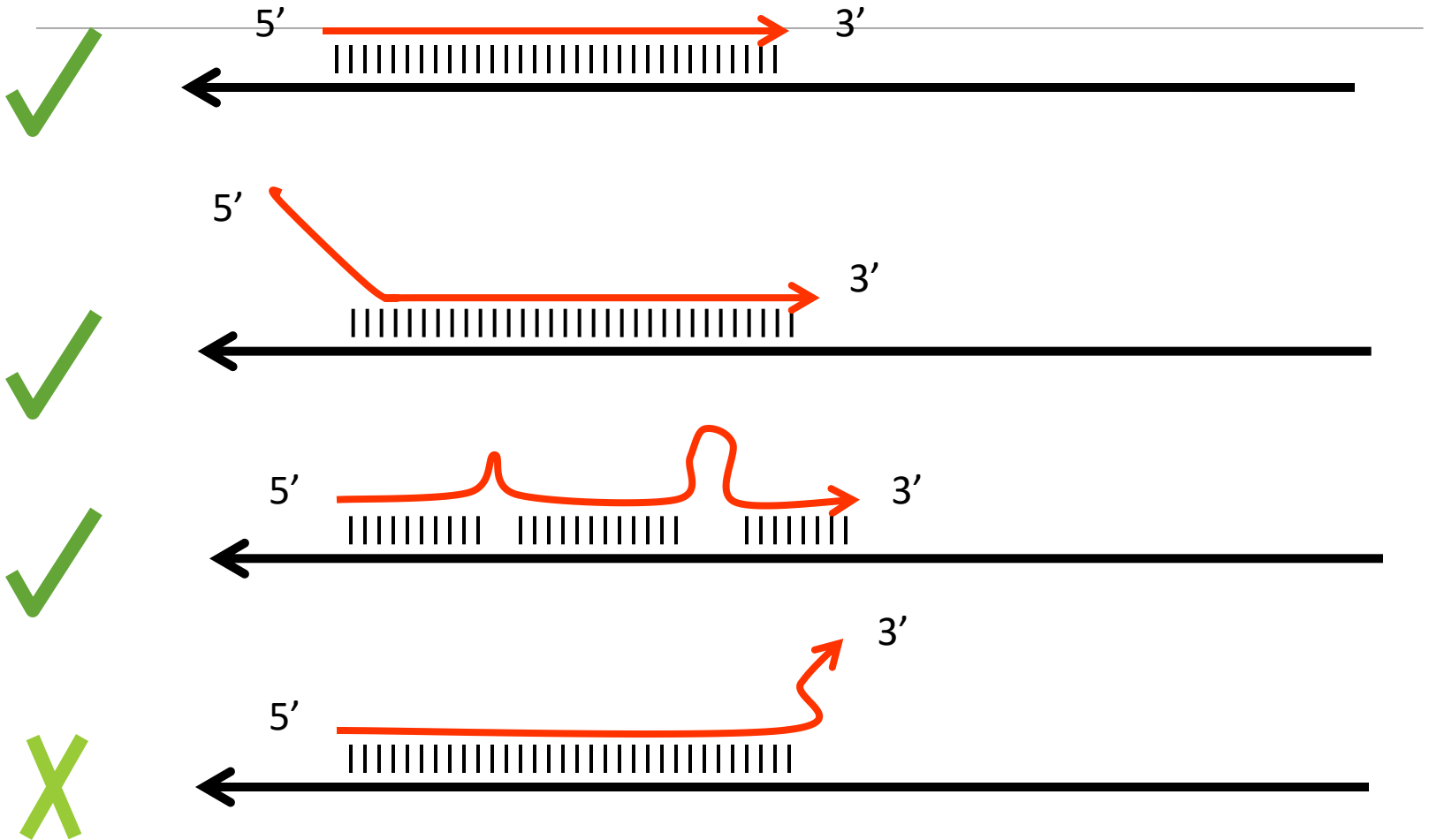
- ❖ معمولاً ۳ تا ۵ درجه کمتر از T_m انتخاب می شود.
- ❖ در دمای اتصال پرایمر **Primer annealing temperature – Ta**، پرایمر به طور خیلی اختصاصی به تارگت اصلی خود می چسبد.
- ❖ هر چقدر دمای Ta بیشتر باشد، اتصال ویژه و اختصاصی از احتمال بیشتری برخوردار است. این در حالی است که امکان باقی ماندن این اتصال از لحاظ زمانی کوتاهتر است.
- ❖ هر چقدر این اتصال از ثبات کمتری برخوردار باشد، آنزیم فرصت کمتری برای ساخت محصول پیدا می کند و لذا کل تکثیر در واکنش PCR کم می شود.
- ❖ لذا دمای Ta بسیار بالا منجر به هیبریدیزاسیون ناکافی پرایمر با الگو شده و در نتیجه محصول PCR کاهش می یابد. در مقابل، Ta بسیار پایین ممکن است منجر به ایجاد محصولات غیراختصاصی شود.

درصد GC در توالی پرایمر GC- Content

- مقدار مطلوب ۴۰ تا ۶۰ درصد است.
- مقدار بالای ۶۰ درصد پایداری اتصال را افزایش می دهد اما می تواند موجب تشکیل ساختارهای ثانویه شود.
- مقدار پایین ۴۰ درصد باعث کاهش اختصاصیت پرایمر می شود.

گیره GC (GC Clamp)

- وجود ۱ (تا ۳) باز G یا C در انتهای ۳' موجب افزایش پایداری اتصال پرایمر به الگو می‌شود.
- این ویژگی به آنزیم DNA پلیمراز کمک می‌کند که فرآیند سنتز را با دقت بیشتری آغاز کند.
- با این حال، پرایمرهایی با توالی ... NNCG یا NNGC در انتهای ۳' خود توصیه نمی‌شوند.
- تعداد بالای غیرمعمول بازهای GC انتهایی، تشکیل ساختارهای سنجاق سری را افزایش می‌دهد و ممکن است دایمرهای پرایمر ایجاد کند.



ساختارهای ثانویه Secondary Structures

تشکیل دایمرهای پرایمر و سنجاق سر Hairpin می تواند کارایی PCR را کاهش دهد.
بررسی و حذف ساختارهای نامطلوب در نرم افزارهای طراحی پرایمر ضروری است.

دایمرهای پرایمر Primer Dimer:

پرایمرها نباید مکمل یکدیگر باشند تا از تشکیل دایمرهای پرایمر جلوگیری شود.

حلقه های سنجاق سری Hairpin Loops:

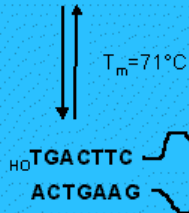
نباید درون پرایمر، توالی های مکملی وجود داشته باشد که موجب تا خوردن و تشکیل Hairpin شود.

توالی‌های تکراری و خودمکمل

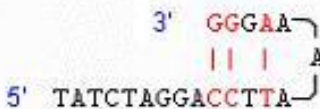
Self Complementarity

♦ hairpin formation

ACTGAAGCACTGAAGATACTTCAGT_{OH}



Hairpin

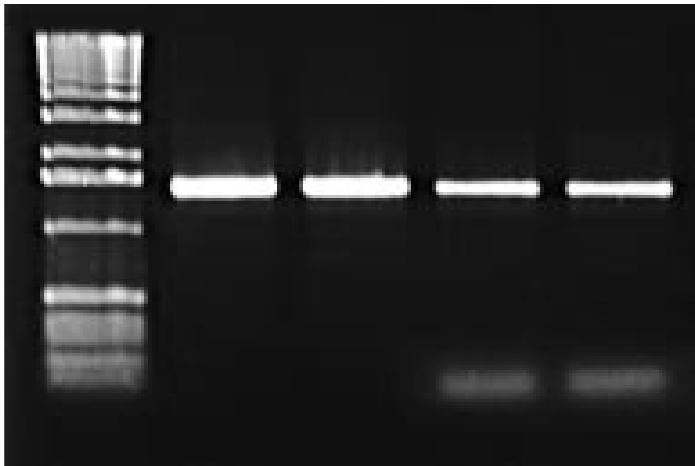


✓ هیچ توالی تکراری معکوس یا توالی‌های خودمکمل با طول بیش از ۳ جفت باز نباید وجود داشته باشد. (از قرار گرفتن توالی‌های تکراری مانند **AAAA** یا **GGGG** در پرایمر اجتناب کنید.)

✓ این موارد می‌توانند باعث لغزش آنزیم پلیمراز و تولید محصولات نامشخص شوند.

✓ توالی‌هایی از این نوع تمایل به تشکیل ساختارهای سنجاق سری دارند که در شرایط PCR پایدار هستند.

توالی‌های تکراری و خودمکمل



Primer Complementarity

♦ primer dimer formation

U. GAACTACCATAGACACACTGAAGGC_{OH}

L. CTTCAAGGTCAAGAACTCCTTCAGT_{OH}

```

      TGACTTCCTCAAGAACTGGACTTC
      |||||
HO-TGACTTCCTCAAGAACTGGACTTC
      |||||
GAACTACCATAGACACACTGAAGGCOH
```

به عنوان یک قاعده کلی، بیش از سه نوکلئوتید متوالی روی یک پرایمر نباید مکمل پرایمر دیگر باشند.

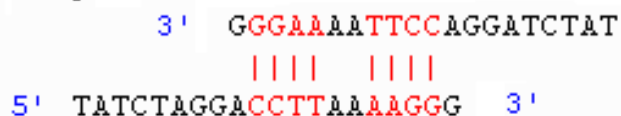
سه مورد عدم تطابق در طراحی پرایمر

Hairpin

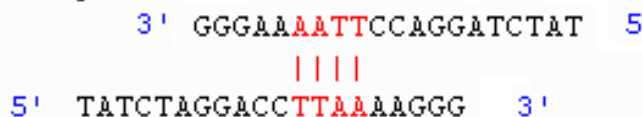


Self-Dimer

8 bp

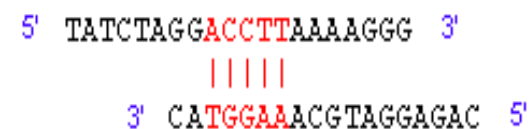


4 bp

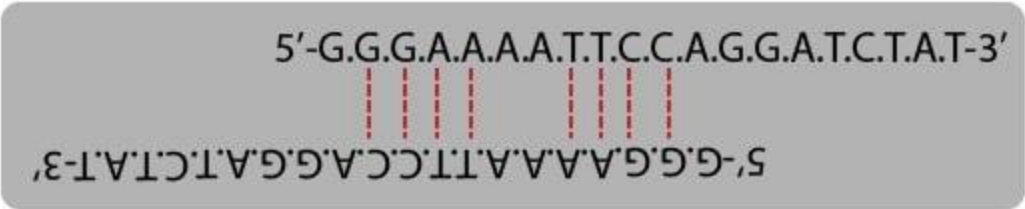


Dimer

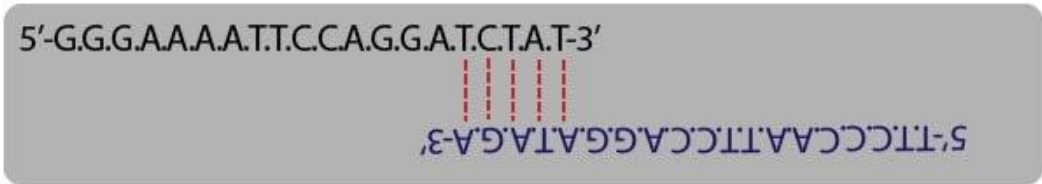
forward primer



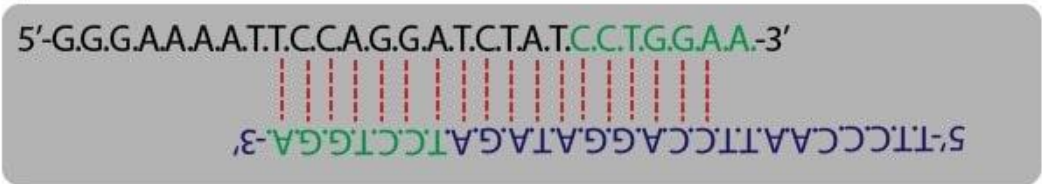
reverse primer



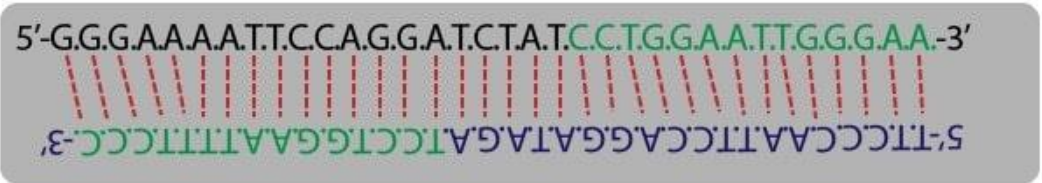
Primer self-dimer



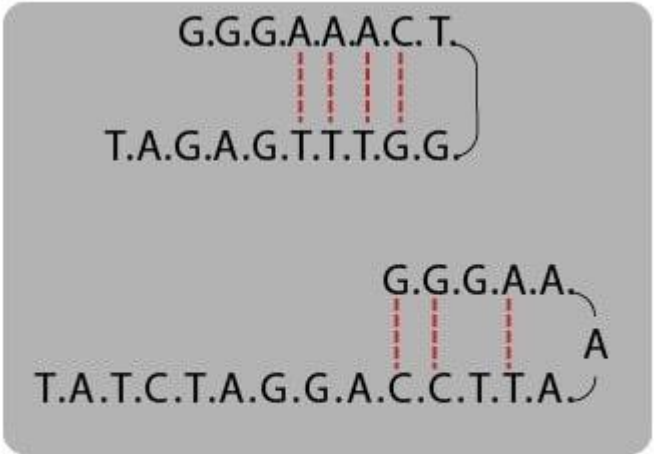
Primer heterodimer



Partial extension by DNA polymerase



Full extension by DNA polymerase



Primer self-complementarity
(hairpin structures)

نکات طلایی برای طراحی بهینه

❖ اجتناب از توالی‌های تکراری: از قرار دادن توالی‌های تکراری یا پلی‌نوکلئوتیدی مانند AAAA یا GGGG در پرایمر خودداری کنید، زیرا می‌توانند منجر به اتصال غیراختصاصی شوند.

❖ بررسی همولوژی: پرایمرها را با استفاده از ابزارهایی مانند BLAST بررسی کنید تا از عدم اتصال آن‌ها به نواحی غیراختصاصی در ژنوم اطمینان حاصل شود.

❖ طراحی پرایمرهای اختصاصی: برای افزایش اختصاصیت، پرایمرها را به گونه‌ای طراحی کنید که ناحیه هدف را به طور کامل پوشش دهند و از اتصال به نواحی مشابه جلوگیری شود

نکات طلایی برای طراحی بهینه

❖ استفاده از نرم افزارهای طراحی پرایمر: ابزارهایی مانند Primer3 و OligoAnalyzer می توانند در طراحی پرایمرهای بهینه به شما کمک کنند.

❖ دمای اتصال : دمای اتصال باید حدود ۵ درجه سانتی گراد کمتر از T_m پرایمرها باشد تا اتصال اختصاصی به الگو تضمین شود.

❖ طول محصول PCR: طول محصول نهایی PCR را در نظر بگیرید و پرایمرها را به گونه ای طراحی کنید که محصول با طول مطلوب تولید شود.

Web-based primer design service

Gene Fisher (<http://bibiserv.techfak.uni-bielefeld.de/genefisher/>)

GeneWalker (<http://www.cybergene.se/primerdesign/>)

Web Primer (<http://genome-www2.stanford.edu/cgi-bin/SGD/web-primer>)

Primer 3 (http://www-genome.wi.mit.edu/cgi-bin/primer/primer3_www.cgi)

CODEHOP (<http://www.blocks.fhcrc.org/codehop.html>)

Net Primer

(<http://www.premierbiosoft.com/netprimer/netplaunch/netplaunch.html>)

.....and many others

Primer3Plus

pick primers from a DNA sequence

[More...](#)[Source Code](#)[Help](#)[About](#)

Load server settings:

Task:

Select primer pairs to detect the given template sequence. Optionally targets and included/excluded regions can be specified.

[Main](#)[General Settings](#)[Advanced Settings](#)[Internal Oligo](#)[Penalties](#)[Advanced Seq.](#)

Sequence Id:

Paste template sequence below or upload sequence file: No file chosen

Primer3 plus

Mark selected region:

Excluded Regions:

Targets:

Included Region:

Primer overlap positions:

Pair OK Region List:



ncbi



All Images Videos News Short videos Forums Web More Tools

See detailed insights & Compare multiple related Papers for : "ncbi"

Compare insights



National Institutes of Health (.gov)

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov>

National Center for Biotechnology Information

Welcome to **NCBI**. The **National Center for Biotechnology Information** advances science and health by providing access to biomedical and genomic information. About ...

Primer-BLAST

Account · Enable search for primer pairs specific to the intended ...

Gene

Gene. Gene integrates information from a wide range of species. A ...

BLAST

Access keys NCBI Homepage MyNCBI Homepage Main ...

Nucleotide

Nucleotide. The Nucleotide database is a collection of



Sider



Sider Fusion



GPT-5



information, is a key resource for biomedical and genomic information. It is part of the NIH and provides access to databases and bioinformatics tools. NCBI's mission is to advance science and health. It is a valuable source for researchers and healthcare professionals alike, offering a wide range of data and services to support their work.

Related questions:

What specific databases does NCBI host?

How does NCBI support bioinformatics research?



Gene sources

[Genomic](#)
[Plasmids](#)

Categories

[Alternatively spliced](#)
[Annotated genes](#)
[Non-coding](#)
[Protein-coding](#)
[Pseudogene](#)

Sequence content

[CCDS](#)
[Ensembl](#)
[RefSeq](#)
[RefSeqGene](#)

Status

☒ [Current](#)[Clear all](#)[Show additional filters](#)Tabular 20 per page Sort by Relevance Send to: See detailed insights & Compare multiple related Papers for :
"gapdh "[Compare insights](#)

GENE

Was this helpful?

[GAPDH – glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase](#)[Homo sapiens \(human\)](#)

Also known as: G3PD, GAPD, HEL-S-162eP

Gene ID: 2597

[RefSeq products](#)[Orthologs](#)[Genome Data Viewer](#)**New** - [Visualize gene across multiple species](#)RefSeq Sequences

Search results

Items: 1 to 20 of 2524

<< First < Prev Page of 127 Next > Last >> [See also 1545 discontinued or replaced items.](#)

Name/Gene ID	Description	Location	Aliases	MIM
--------------	-------------	----------	---------	-----

Filters: [Manage Filters](#)Results by taxon Top Organisms [\[Tree\]](#)[Homo sapiens \(783\)](#)
[Rattus norvegicus \(131\)](#)
[Mus musculus \(121\)](#)
[Saccharolobus solfataricus \(12\)](#)
[Arabidopsis thaliana \(11\)](#)
[All other taxa \(1466\)](#)[More...](#)Find related data Database: Search details

gapdh[All Fields] AND alive[prop]

[See more...](#)Recent activity [Turn Off](#) [Clear](#) gapdh AND (alive[prop]) (2524)Gene

GAPDH - glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase BETA

Homo sapiens

Summary Transcripts and proteins Orthologs Gene ontology

Transcripts and proteins

Download ▾ Select columns									6 Transcripts	
☐	Gene ID	Symbol	Transcript	Length (nt)	Protein	Length (aa)	Protein na	Action		
☐	2597	GAPDH	NM_001256799.3	1,386	NP_001243728.1	293	glyceralde	⋮		
☐	2597	GAPDH	NM_001289745.3	1,377	NP_001276674.1	335	glyceralde	⋮		
☐	2597	GAPDH	NM_001289746.2	1,525	NP_001276675.1	335	glyceralde	⋮		
☐	2597	GAPDH	NM_001357943.2	1,231	NP_001344872.1	317	glyceralde	⋮		
☐	2597	GAPDH	NM_002046.7 MANE Select	1,285	NP_002037.2	335	glyceralde	⋮		
☐	2597	GAPDH	NR_152150.2	763				⋮		

FOLLOW NCBI

Nucleotide

Nucleotide

Advanced

Search

Help

GenBank

Send to:

Change region shown

Customize view

Homo sapiens glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH), transcript variant 2, mRNA

NCBI Reference Sequence: NM_001256799.3

[FASTA](#) [Graphics](#)

Save

Chat with paper

[Go to:](#) ☒

LOCUS NM_001256799 1386 bp mRNA linear PRI 29-APR-2025
DEFINITION Homo sapiens glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH), transcript variant 2, mRNA.
ACCESSION NM_001256799
VERSION NM_001256799.3
KEYWORDS RefSeq.
SOURCE Homo sapiens (human)
ORGANISM [Homo sapiens](#)
Eukaryota; Metazoa; Chordata; Craniata; Vertebrata; Euteleostomi; Mammalia; Eutheria; Euarchontoglires; Primates; Haplorrhini; Catarrhini; Hominidae; Homo.
REFERENCE 1 (bases 1 to 1386)
AUTHORS Jeon,H.Y., Lee,A.J., Moon,C.H. and Ha,K.S.
TITLE Regulation of AMPK and GAPDH by Transglutaminase 2 Plays a Pivotal Role in Microvascular Leakage in Diabetic Retinas
JOURNAL Diabetes 73 (10), 1756-1766 (2024)
PUBMED [39024127](#)
REMARK GeneRIF: Regulation of AMPK and GAPDH by Transglutaminase 2 Plays a Pivotal Role in Microvascular Leakage in Diabetic Retinas.
REFERENCE 2 (bases 1 to 1386)
AUTHORS Sun,X., Ye,G., Li,J., Yuan,L., Bai,G., Xu,Y.J. and Zhang,J.
TITLE The tumor suppressor Parkin exerts anticancer effects through regulating mitochondrial GAPDH activity
JOURNAL Oncogene 43 (44), 3215-3226 (2024)
PUBMED [38885888](#)

Analyze this sequence[Run BLAST](#)[Pick Primers](#)[Highlight Sequence Features](#)[Find in this Sequence](#)[Show in Genome Data Viewer](#)**Articles about the GAPDH gene**[Human protein interaction networks of ancestral and variant SARS-CoV-2 in \[Nat Commun. 2025\]](#)[EndoMAP.v1 charts the structural landscape of human early endosome complexes \[Nature. 2025\]](#)[The solute carrier superfamily interactome. \[Mol Syst Biol. 2025\]](#)[See all...](#)**Reference sequence information**[RefSeq alternative splicing](#)[See 5 reference mRNA sequence splice variants for the GAPDH gene.](#)**More about the GAPDH gene**https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/NM_001256799.3?report=fasta

Search results

Items: 1 to 20 of 10416

<< First < Prev Page 1 of 521 Next > Last >>

See also 3230 discontinued or replaced items.

Name/Gene ID	Description	Location	Aliases	MIM
☐ BAX ID: 581	BCL2 associated X, apoptosis regulator [<i>Homo sapiens</i> (human)]	Chromosome 19, NC_000019.10 (48954875..48961798)	BCL2L4	600040
Related Papers				
Chat with paper				
☐ Bax ID: 12028	BCL2-associated X protein [<i>Mus musculus</i> (house mouse)]	Chromosome 7, NC_000073.7 (45111124..45116332, complement)		
Related Papers				
Chat with paper				
☐ Bax ID: 24887	BCL2 associated X, apoptosis regulator [<i>Rattus norvegicus</i> (Norway rat)]	Chromosome 1, NC_086019.1 (105076472..105081906, complement)		
Related Papers				
Chat with paper				
☐ BAX ID: 280730	BCL2 associated X, apoptosis regulator [<i>Bos taurus</i> (domestic cattle)]	Chromosome 18, NC_037345.1 (55530787..55534997)		
Related Papers				
Chat with paper				
☐ BAX ID: 100355675	BCL2 associated X, apoptosis regulator [<i>Oryctolagus cuniculus</i> (rabbit)]	Chromosome 18, NC_091449.1 (8289697..8295993, complement)		
Related Papers				
Chat with paper				
☐ bax ID: 948089	putative glycoside hydrolase Bax [<i>Escherichia coli</i> str. K-12	NC_000913.3 (3736353..3737177, complement)	b3570, ECK3559	

Search

See more...

Recent activity

[Turn Off](#) [Clear](#)

bax AND (alive[prop]) (10416)

Gene

Homo sapiens glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH), transcript variat Nucleotide

Homo sapiens glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH), transcript variat Nucleotide

gapdh AND (alive[prop]) (2524)

Gene

The Role of Lipids and Lipoproteins in Atherosclerosis - Endotext

See more...

BAX BCL2 associated X, apoptosis regulator [*Homo sapiens* (human)]

Ask Copilot: Save time, read 10X faster with AI

- Save
- Biases or Limitations
- Points Discussed
- Evidence/Examples Used
- Summarize
- Purpose
- Key Takeaways

Gene ID: 581, updated on 23-Aug-2025

Download Datasets

Summary

Official Symbol	BAX provided by HGNC
Official Full Name	BCL2 associated X, apoptosis regulator provided by HGNC
Primary source	HGNC:HGNC:959
See related	Ensembl:ENSG00000087088 MIM:600040 ; AllianceGenome:HGNC:959
Gene type	protein coding
RefSeq status	REVIEWED
Organism	Homo sapiens
Lineage	Eukaryota; Metazoa; Chordata; Craniata; Vertebrata; Euteleostomi; Mammalia; Eutheria; Euarchontoglires; Primates; Haplorrhini; Catarrhini; Hominidae; Homo
Also known as	BCL2L4
Summary	The protein encoded by this gene belongs to the BCL2 protein family. BCL2 family members form hetero- or homodimers and act as anti- or pro-apoptotic regulators that are involved in a wide variety of cellular activities. This protein forms a heterodimer with BCL2, and functions as an apoptotic activator. The association and the ratio of BAX to BCL2 also determines survival or death of a cell following an apoptotic stimulus. This protein is reported to interact with, and increase the opening of, the mitochondrial voltage-dependent anion channel (VDAC), which leads to the loss in membrane potential and the release of cytochrome c. The expression of this gene is regulated by the tumor suppressor P53 and has been shown to be involved in P53-mediated apoptosis. Multiple alternatively spliced transcript variants, which encode different isoforms, have been reported for this gene. [provided by RefSeq, Dec 2019]
Expression	Ubiquitous expression in colon (RPKM 24.0), spleen (RPKM 21.8) and 25 other tissues See more
Orthologs	mouse all
NEW	Try the new Gene table
	Try the new Transcript table

Table of contents

- Summary
- Genomic context
- Genomic regions, transcripts, and products
- Expression
- Bibliography
- Phenotypes
- Variation
- HIV-1 interactions
- Pathways from PubChem
- Interactions
- General gene information
- Markers, Homology, Gene Ontology
- General protein information
- NCBI Reference Sequences (RefSeq)
- Related sequences
- Additional links

Genome Browsers

- Genome Data Viewer
- Variation Viewer (GRCh37.p13)
- Variation Viewer (GRCh38)
- Ensembl
- UCSC

Related information

⬆ ⬆

[Go to reference sequence details](#)

GEO Profiles

GTR

MedGen

Nucleotide

OMIM

Protein

PubChem Compound

PubChem Substance

PubMed

PubMed (GeneRIF)

PubMed (OMIM)

PubMed(nucleotide/PMC)

RefSeq Proteins

RefSeq RNAs

RefSeqGene

SNP

Taxonomy

Variation Viewer

Links to other resources

HGNC

Ensembl

AllianceGenome

AceView

PharmGKB

MGC

HuGE Navigator



https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/NC_000019.10?report=fasta&from=48954875&to=48961798

Nucleotide

Nucleotide

Advanced

Search

Help

FASTA

Send to:

Homo sapiens chromosome 19, GRCh38.p14 Primary Assembly

NCBI Reference Sequence: NC_000019.10

[GenBank](#)[Graphics](#) Ask Copilot: Save time, read 10X faster with AI Save

Key Takeaways

Purpose

Conclusions

Biases or Limitations

Summarize

Evidence/Examples Used

>NC_000019.10:48954875-48961798 Homo sapiens chromosome 19, GRCh38.p14 Primary Assembly

```
GCCTGCGGGCGCCGCGCGGACCCGGCGAGAGCGGCGGGAGCGGGTGTGACGGGTCCGGG
AGCAGCCAGAGGGGGGGTGGGCGGGAGGAGAGCGGGCGGGAGGCGAGCCCCCTCGCCGGCCG
TCCGGGATCCTTCTACCAGGCTGGGGCTGTGCGATCTCAAGCACTGAGGGGAGAACTCCGGATCG
GGCGCTGCCAGCTCCAGTCCCCCTCCGCTCTCGGAGGTTCTGGCTCTGTATCCCCGTGCTCCGATCCC
TGCTCTCTGGCGCTCTCGGACCCTCGAAGCCAGGGGATCTCGAAGCCAGCCCCCGGGCAGGCCGG
GCTTGTGCCCCGACCACTTCTGCTCTGGCACTGGTGGGAGGGGCGGGTCTGCTCTGCCCCCTCAG
GCCAGGGGTCTGGATGCATAGCGTTCCCTAGCTCTTTCCCCGGGAGAATGTAGGATACAGGCCCA
GCCTCTTGCCCTTTCTCCATCAGGGAAGTGTGTCTGGGCCCCCGCTCACTTTATCTGCTAGGGTCCC
AGAAGTCCAGGGTCCCCAGCTCTGTCTCCCTCAGGGGCCGTGAGTCTCCACAGTCTCTGATCCCCTAG
AACCAAGAGTCCAGGTACCTCTTCCCTTCTTCTCTCTAGGGCCACCAAGCTCTGAGCAGATCATGA
AGACAGGGGCCCCTTTTGCTTCAGGGGTGAGTTTGAAGTCTGATTATTGTGGCACAGATTGAGGAGTGAC
ACCCCGTTCTGATTCTGCACCTCACTCCATCCCACTCTAGTTTCACTCAGGATCGAGCAGGGCGAATG
GGGGGGGAGGCACCCGAGCTGGCCCTGGACCCGGTGCCTCAGGATGCGTCCACCAAGAGCTGAGCGAGT
GTCTCAAGCGCATCGGGGACGAAGTGGACAGTAACATGGAGCTGACAGAGGTGTGGGCCCTCGAGGACCA
GAAGTCCAGGCACTGGGCTCCTTCAGGACACAGGACTCTCAGCCCCGATTTCTCTCTCCCTTAAGAAC
TAGGAGTCTGGGCCCCACAAGTCACTCAGCGCAACATTCGGGACTCCAGCCCTCCTCTCTGCGCAGGATCTTA
AAACCTCTCTCAGGGGAGTCATTTTCCACCTTCTCTAAATGTCTGTCTTGTCCCTTCCCTTGTCCCC
GTTGGCTGTGTCTTTTCAATTCAGCTGGCTGGGGCTCAGTCTCTTATCTTATGTGTGCGGTGGATG
CGGGAATTTTCCACCATCAGCCTGATGCTCTGCTCCCGGCACTGGTTCTCTCTCTGCAAGGATGATT
GCCGCGTGGACACAGACTCCCCCGAGAGGTCTTTTCCGAGTGGCAGTGCATGTTTCTGACGGCA
ACTTCAACTGGGGCCGGGTGTGCGCTTTTCTACTTTGCCAGCAAACTGGTGTCAAGGTGGGAGCTG
CAGGGCAGTGAGCCAGGAGTGCTCCCCCTCAGATCTGTGAGGACTGGGGATCGTGGTATCAACCCCT
GCAGTGGCCAGTGACACAGAGGGCATGGAGAGAGATGGCTGTGCACTGGGTGTCTGCTCTCTTTTA
TTCATTCAACAGCATTTACTGAGCTGCTATGTGCCAGGCTATACCTGGCACCTGGGACACAGCACTG
```

Change region shown

☐ Whole sequence☒ Selected region

from: 48954875 to: 48961798

Update View

Customize view

Analyze this sequence

[Run BLAST](#)[Pick Primers](#)

Related information

[Assembly](#)[BioProject](#)[Protein](#)[PubMed](#)[Taxonomy](#)[Components \(Core\)](#)[Full text in PMC](#)[Gene](#)[Identical GenBank Sequence](#)[PubMed \(Weighted\)](#)[RNA](#)

Primer3Plus

pick primers from a DNA sequence

[More...](#)[Source Code](#)[Help](#)[About](#)

[Load server settings:](#)

Task:

Select primer pairs to detect the given template sequence. Optionally targets and included/excluded regions can be specified.

[Main](#)[General Settings](#)[Advanced Settings](#)[Internal Oligo](#)[Penalties](#)[Advanced Seq.](#)

[Sequence Id:](#)

[Paste template sequence below](#) or upload sequence file: No file chosen

Mark selected region:

[Excluded Regions:](#) < >

[Targets:](#) []

[Included Region:](#) { }

[Primer overlap positions:](#) -

[Pair OK Region List:](#)

☒ [Pick left primer](#)☐ [Pick hybridization probe](#)☒ [Pick right primer](#)

or use [left primer](#) below.

(internal oligo) or use [oligo](#) below.

or use [right primer](#)

Primer3Plus

pick primers from a DNA sequence

[More...](#)[Source Code](#)[Help](#)[About](#)

[Load server settings:](#) Default

Task: generic

Select primer pairs to detect the given template sequence. Optionally targets and included/excluded regions can be specified.

[Main](#)[General Settings](#)[Advanced Settings](#)[Internal Oligo](#)[Penalties](#)[Advanced Seq.](#)

[Sequence Id:](#)

[Paste template sequence below](#) or upload sequence file: No file chosen

```
CCCCATGTTTCGTCATGGGTGTGAACCATGAGAAGTATGACAACAGCCTCAAGATCATCAGCAATGCCTCC
TGCACCACCAACTGCTTAGCACCCCTGGCCAAGGTCATCCATGACAACCTTTGGTATCGTGAAGGACTCA
TGACCACAGTCCATGCCATCACTGCCACCCAGAAGACTGTGGATGGCCCCCTCCGGGAAACTGTGGCGTGA
TGGCCGCGGGGCTCTCCAGAACATCATCCCTGCCTCTACTGGCGCTGCAAGGCTGTGGGCAAGGTCATC
CCTGAGCTGAACGGGAAGCTCACTGGCATGGCCTTCCGTGTCCCACTGCCAACGTGTCACTGGTGGACC
TGACCTGCCGTCTAGAAAAACCTGCCAAATATGATGACATCAAGAAGGTGGTGAAGCAGGCGTCGGAGGG
CCCCCTCAAGGGCATCCTGGGCTACACTGAGCACCAGGTGGTCTCCTCTGACTTCAACAGCGACACCCAC
TCCTCCACCTTTGACGCTGGGGCTGGCATTGCCCTCAACGACCACTTTGTCAAGCTCATTTCCTGGTATG
ACAACGAATTTGGCTACAGCAACAGGGTGGTGGACCTCATGGCCACATGGCCTCCAAGGAGTAAGACCC
CTGGACCACCAAGCCCCAGCAAGAGCACAAGAGGAAGAGAGACCTCACTGCTGGGGAGTCCCTGCCAC
ACTCAGTCCCCCACCACACTGAATCTCCCTCCTCACAAGTGGCATGTAGACCCCTTGAAGAGGGGAGGG
GCCTAGGGAGCCGCACCTTGTATGTACCATCAATAAAGTACCCTGTGCTCAACCA
```

Mark selected region: < Excluded > [Target] { Included } Regions from Seq.

[Excluded Regions:](#) < >

[Targets:](#) []

[Included Region:](#) { }

[Primer overlap positions:](#) -

[Pair OK Region List:](#)

☒ [Pick left primer](#)☐ [Pick hybridization probe](#)☒ [Pick right primer](#)

or use [left primer](#) below.

(internal oligo) or use [oligo](#) below.

or use [right primer](#)

Primer3Plus

pick primers from a DNA sequence

[More...](#)[Source Code](#)[Help](#)[About](#)

[Load server settings:](#)

[Task:](#)

Select primer pairs to detect the given template sequence. Optionally targets and included/excluded regions can be specified.

[Main](#)[General Settings](#)[Advanced Settings](#)[Internal Oligo](#)[Penalties](#)[Advanced Seq.](#)

[Product Size Ranges](#)

Primer Size [Min:](#) [Opt:](#) [Max:](#)

Primer Tm [Min:](#) [Opt:](#) [Max:](#) [Max Tm Difference:](#)

Primer Bound% [Min:](#) [Opt:](#) [Max:](#) [Annealing Temp:](#)

Primer GC% [Min:](#) [Opt:](#) [Max:](#)

[Concentration of monovalent cations:](#) [ANNEALING Oligo Concentration:](#)

Not the concentration of oligos in the reaction mix!

[Concentration of divalent cations:](#) [Concentration of dNTPs:](#)

[DMSO Concentration:](#) [Formamide Concentration:](#)

[DMSO Factor:](#)

[Mispriming/Repeat Library:](#)

Load and Save

To upload or save a settings file from your local computer, choose here:

Load only Settings from file: No file chosen

Primer3Plus ~ [Primer3-GitHub](#) · [GEAR-Genomics](#) · [Contact](#) · [Datenschutzerklärung](#) · [Impressum](#)

Supported by [EMBL](#)

Primer3Plus

pick primers from a DNA sequence

[More...](#)[Source Code](#)[Help](#)[About](#)

[Load server settings:](#)

Task:

Select primer pairs to detect the given template sequence. Optionally targets and included/excluded regions can be specified.

[Main](#)[General Settings](#)[Advanced Settings](#)[Internal Oligo](#)[Penalties](#)[Advanced Seq.](#)[Max Poly-X:](#)[Max #N's:](#)[CG Clamp:](#)[Max End GC:](#)[Number To Return:](#)[5 Prime Junction Overlap:](#)[Min Left Primer End Distance:](#)[Max Self Complementarity:](#)[TH: Max Self Complementarity:](#)[Max End Self Complementarity:](#)[TH: Max End Self Compl.:](#)[TH: Max Hairpin:](#)[Max Template Mispriming:](#)[TH: Max Template Mispriming:](#)[Max Library Mispriming:](#)[Primer Must Match 5 Prime:](#)[Left Primer Acronym:](#)[Right Primer Acronym:](#)[Table of thermodynamic parameters:](#)[Salt correction formula:](#)[Use Thermodynamic Primer Alignment:](#)☒ Activates Settings Starting with TH:[Use Thermodynamic Template Alignment:](#)☐ Activates TH: Settings-VERY SLOW[Max End Stability:](#)[3 Prime Junction Overlap:](#)[Min Right Primer End Distance:](#)[Max Pair Complementarity:](#)[TH: Max Pair Complementarity:](#)[Max Pair End Complementarity:](#)[TH: Max Pair End Complementarity:](#)[Pair Max Template Mispriming:](#)[TH: Pair Max Template Mispriming:](#)[Pair Max Library Mispriming:](#)[Primer Must Match 3 Prime:](#)[Internal Oligo Acronym:](#)[Primer Name Spacer:](#)

Product Tm

[Min:](#)

[Opt:](#)

[Max:](#)

☒ [Show Secondary Structures](#)

Primer3Plus

pick primers from a DNA sequence

[More...](#)[Source Code](#)[Help](#)[About](#)

[Load server settings:](#) Default

Activate Settings

Task: generic

Select primer pairs to detect the given template sequence. Optionally targets and included/excluded regions can be specified.

Pick Primers

Reset Default

[Main](#)[General Settings](#)[Advanced Settings](#)[Internal Oligo](#)[Penalties](#)[Advanced Seq.](#)[Results](#)

☐ Select all Primers

Send Selected Primers to Primer3Manager

Go to Primer3Manager

First Primer Pair

Previous Primer Pair

Next Primer Pair

Last Primer Pair

☒ Pair 1: gapdh

Left Primer 1: TCCTCCGGGTGATGCTTTTC

[Start:](#) 172 [Length:](#) 20 bp [Tm:](#) 60.0 C [B:](#) 94.722 % [GC:](#) 55.0 % [Any:](#) 0.0 [End:](#) 0.0 [TB:](#) 7.0 [HP:](#) 0.0 [3' Stab:](#) 2.3 [Penalty:](#) 0.035

Right Primer 1: AGTGATGGCATGGACTGTGG

[Start:](#) 723 [Length:](#) 20 bp [Tm:](#) 60.0 C [B:](#) 94.655 % [GC:](#) 55.0 % [Any:](#) 3.8 [End:](#) 0.0 [TB:](#) 8.0 [HP:](#) 0.0 [3' Stab:](#) 4.2 [Penalty:](#) 0.035

[Self Any Secondary Structure:](#)

Tm: 3.8°C dG: -5919 cal/mol dH: -44200 cal/mol dS: -123 cal/mol*K
5' AGTGATGGCATGGACTGTGG 3'
 ||| |||
3' GGTGTCAGGTACGGTAGTGA 5'

Pair: [Product Size:](#) 552 bp [Tm:](#) 88.5 C [Any:](#) 0.0 [End:](#) 0.0 [TB:](#) 15.0 [Penalty:](#) 0.070

First Primer Pair

Previous Primer Pair

Next Primer Pair

Last Primer Pair

1	GTCCGGATGC	TGCGCCTGCG	GTAGAGCGGC	CGCCATGTTG	CAACCGGGAA
51	GGAAATGAAT	GGGCAGCCGT	TAGGAAAGCC	TGCCGGTGAC	TAACCCTGCG
101	CTCCTGCCTC	GATGGGTGGA	GTCGCGTGTG	GCGGGGAAGT	CAGGTGGAGC
151	GAGGCTAGCT	GGCCCGATTT	CTCCTCCGGG	TGATGCTTTT	CCTAGATTAT

Left Primer 6: ATCACTGCCACCCAGAAGAC

Start: 718 Length: 20 bp Tm: 59.7 C B: 93.949 % GC: 55.0 % Any: 0.0 End: 0.0 TB: 7.0 HP: 44.6 3' Stab: 3.0 Penalty: 0.326

Hairpin Secondary Structure:

Tm: 44.6°C dG: -536 cal/mol dH: -22300 cal/mol dS: -70 cal/mol*K
5' ATCACTGCC
||| A
3' CAGAAGACCC

Right Primer 6: ACATGGCAACTGTGAGGAGC

Start: 1308 Length: 20 bp Tm: 60.0 C B: 94.526 % GC: 55.0 % Any: 0.0 End: 0.0 TB: 7.0 HP: 37.6 3' Stab: 4.3 Penalty: 0.037

Hairpin Secondary Structure:

Tm: 37.6°C dG: -24 cal/mol dH: -12300 cal/mol dS: -40 cal/mol*K
5' ACATGGC
|
3' GGAGGAGTGTCAA

Pair: Product Size: 591 bp Tm: 91.6 C Any: 10.8 End: 0.0 TB: 14.0 Penalty: 0.364

Compl Any Secondary Structure:

Tm: 10.8°C dG: -5510 cal/mol dH: -61900 cal/mol dS: -182 cal/mol*K
5' ATCAC---TGCCACCCAGAAGAC 3'
||||| |||||
3' GGAGGAGTGTCAACGGTACA 5'

First Primer Pair Previous Primer Pair Next Primer Pair Last Primer Pair

1	GTCCGGATGC	TGCGCCTGCG	GTAGAGCGGC	CGCCATGTTG	CAACCGGGAA
51	GGAAATGAAT	GGGCAGCCGT	TAGGAAAGCC	TGCCGGTGAC	TAACCCTGCG
101	CTCCTGCCTC	GATGGGTGGA	GTCGCGTGTG	GCGGGGAAGT	CAGGTGGAGC
151	GAGGCTAGCT	GGCCCGATTT	CTCCTCCGGG	TGATGCTTTT	CCTAGATTAT
201	TCTCTGATTT	GGTCGTATTG	GGCGCCTGGT	CACCAGGGCT	GCTTTTAACT
251	CTGGTAAAGT	GGATATTGTT	GCCATCAATG	ACCCCTTCAT	TGACCTCAAC

Primer3Plus

pick primers from a DNA sequence

[More...](#)[Source Code](#)[Help](#)[About](#)

[Load server settings:](#) Default

Task: generic

Select primer pairs to detect the given template sequence. Optionally targets and included/excluded regions can be specified.

[Main](#)[General Settings](#)[Advanced Settings](#)[Internal Oligo](#)[Penalties](#)[Advanced Seq.](#)[Results](#)

[Sequence Id:](#) gapdh

[Paste template sequence below](#) or upload sequence file: No file chosen

```
GTCCGGATGCTGCGCCTGCGGTAGAGCGGCCGCCATGTTGCAACCGGGAAGGAATGAATGGGCAGCCGTTAGGAAAGCCTGCCGGTGAC
TAACCTGCGCTCCTGCTCGATGGGTGAGTCGCGTGTGGCGGGGAAAGTCAGGTGGAGCGAGGCAGCTGGCCCGATTCTCTCCGGG
TGATGCTTTCTAGATTATTCTCTGATTTGGTCGATTGGGCGCCTGGTCACAGGGCTGCTTTAACTCTGGTAAAGTGGATATTGTT
GCCATCAATGACCCCTTCATTGACCTCAACTACATGTTTACATGTTCCAATATGATTCCACCCATGGCAAATTCATGGCACCCTCAAG
GCTGAGAACGGGAAGCTTGTCAATGAAATCCCATCACCATCTTCCAGGAGCGAGATCCCTCCAAATCAAGTGGGGCGATGCTGGC
GCTGAGTACGTCGTGGAGTCCACTGGCGTCTTACCACCATGGAGAAGGCTGGGGCTCATTGCAAGGGGGAGCCAAAAGGGTCATCATC
TCTGCCCCCTGCTGATGCCCCCATGTTCTGTCATGGGTGTGAACCATGAGAAATGATGACAACAGCCTCAAGATCATCAGCAATGCCTCC
TGACCAACCAACTGCTTAGCACCCCTGGCCAAGGTATCCATGACAACCTTGGTATCGTGGAAAGGACTCATGACCACAGTCCATGCCATC
ACTGCCACCCAGAAAGACTGTGGATGGCCCCCTCCGGGAAACTGTGGCGTGATGGCCGCGGGGCTCTCCAGAACATCATCCCTGCCTCTACT
GGCGCTGCCAAGGCTGTGGGCAAGGTATCCCTGAGCTGAACGGGAAGCTCACTGGCATGGCCTTCCGTGTCCCACTGCCAACGTGTCA
GTGGTGGACCTGACCTGCCGTCTAGA[AAAACCTGCCAAATATGATGACATCAAGAAGGTGGTGAAGCAGGCGTCGGAGGGCCCCCTCAA
GGGCATCCTGGGCTACACTGAGCACCAGGTGGTCTCTGACTTCAACAGCGACCCACTCTCCACCTTTGACGCTGGGGCTGGCAT
```

Mark selected region: < Excluded > [Target] { Included } Regions from Seq.

[Excluded Regions:](#) < >

[Targets:](#) [927,318]

[Included Region:](#) { }

[Primer overlap positions:](#) -

[Pair OK Region List:](#)

☒ [Pick left primer](#)☐ [Pick hybridization probe](#)☒ [Pick right primer](#)

or use [left primer](#) below.

(internal oligo) or use [oligo](#) below.

or use [right primer](#)

```

351 CACCGTCAAG GCTGAGAACG GGAAGCTTGT CATCAATGGA AATCCCATCA
401 CCATCTTCCA GGAGCGAGAT CCCTCCAAAA TCAAGTGGGG CGATGCTGGC
451 GCTGAGTACG TCGTGGAGTC CACTGGCGTC TTCACCACCA TGGAGAAGGC
501 TGGGGCTCAT TTGCAGGGGG GAGCCAAAAG GGTTCATCATC TCTGCCCCCT
551 CTGCTGATGC CCCCATGTTC GTCATGGGTG TGAACCATGA GAAGTATGAC
601 AACAGCCTCA AGATCATCAG CAATGCCTCC TGCACCACCA ACTGCTTAGC
651 ACCCCTGGCC AAGGTCATCC ATGACAACCT TGGTATCGTG GAAGGACTCA
701 TGACCACAGT CCATGCCATC ACTGCCACCC AGAAGACTGT GGATGGCCCC
751 TCCGGGAAAC TGTGGCGTGA TGGCCGCGGG GCTCTCCAGA ACATCATCCC
801 TGCCTCTACT GGCGCTGCCA AGGCTGTGGG CAAGGTCATC CCTGAGCTGA
851 ACGGGAAGCT CACTGGCATG GCCTTCCGTG TCCCCACTGC CAACGTGTCA
901 GTGGTGGACC TGACCTGCCG TCTAGAAAA CCTGCCAAAT ATGATGACAT
951 CAAGAAGGTG GTGAAGCAGG CGTCGGAGGG CCCCCTCAAG GGCATCCTGG
1001 GCTACACTGA GCACCAGGTG GTCTCCTCTG ACTTCAACAG CGACACCCAC
1051 TCCTCCACCT TTGACGCTGG GGCTGGCATT GCCCTCAACG ACCACTTTGT
1101 CAAGCTCATT TCCTGGTATG ACAACGAATT TGGCTACAGC AACAGGGTGG
1151 TGGACCTCAT GGCCCACATG GCCTCCAAGG AGTAAGACCC CTGGACCACC
1201 AGCCCCAGCA AGAGCACAAG AGGAAGAGAG AGACCCTCAC TGCTGGGGAG
1251 TCCCTGCCAC ACTCAGTCCC CCACCACACT GAATCTCCCC TCCTCAGT
1301 TGCCATGTAG ACCCCTTGAA GAGGGGAGGG GCCTAGGGAG CCGCACCTTG
1351 TCATGTACCA TCAATAAAGT ACCCTGTGCT CAACCA

```

Link to the results (valid 3 days): <https://www.primer3plus.com/index.html?UUID=52c5c2e6-1480-4eba-a42e-6a157ca52598>

Statistics:	
Left Primer:	considered 4160, GC content failed 2577, GC clamp failed 285, low tm 513, high tm 291, high hairpin stability 1, long poly-x seq 2, ok 481
Right Primer:	considered 569, GC content failed 342, GC clamp failed 38, low tm 78, high tm 36, high hairpin stability 2, ok 71
Primer Pair:	considered 815, unacceptable product size 796, primer in pair overlaps a primer in a better pair 346, ok 19

Primer-BLAST

A tool for finding specific primers

Finding primers specific to your PCR template (using Primer3 and BLAST).

Primers for target on one template

Primers common for a group of sequences

PCR Template

Enter accession, gi, or FASTA sequence (A refseq record is preferred) ?

Clear

Or, upload FASTA file

Choose File

No file chosen

Range ?

Clear

From

To

Forward primer

Reverse primer

Primer Parameters

Use my own forward primer
(5'→3' on plus strand)

CTGCCACCCAGAAGACTGTG

?

Clear

Use my own reverse primer (5'->3' on minus strand)

AGGGGTCTACATGGCAACTG

?

Clear

PCR product size

Min

70

Max

1000

of primers to return

10

Primer melting temperatures
(T_m)

Min

57.0

Opt

60.0

Max

63.0

Max T_m difference

3

?

Primer Location Preference

☐ Prefer primers at 3' side of the template ?

Exon/intron selection

Exon junction span

No preference

?

Exon junction match

Min 5' match

7

Min 3' match

4

Max 3' match

8

Minimal and maximal number of bases that must anneal to exons at the 5' or 3' side of the junction ?

Intron inclusion

☐ Primer pair must be separated by at least one intron on the corresponding genomic DNA ?

Intron length range

Min

Max

Intron inclusion
Intron length range

Minimal and maximal number of bases that must anneal to exons at the 5' or 3' side of the junction ?

☐ Primer pair must be separated by at least one intron on the corresponding genomic DNA ?

Min

Max

1000

10000 ?

Primer Pair Specificity Checking Parameters

Specificity check

☒ Enable search for primer pairs specific to the intended PCR template ?

Search mode

Automatic ?

Database

Refseq mRNA ?

Refseq mRNA

Refseq representative genomes

Genomes for selected eukaryotic organisms (primary assembly only)

core_nt

Refseq RNA (refseq_rna)

Custom (use your own sequence accession, assembly accession, etc.)

nt

Ignore targets that have 6 or more mismatches to the primer. ?

Max target amplicon size

4000 ?

Allow splice variants

☐ Allow primer to amplify mRNA splice variants (requires refseq mRNA sequence as PCR template input) ?

Get Primers

☐ Show results in a new window ☒ Use new graphic view ?

+ Advanced parameters

FOLLOW NCBI

Primer-BLAST» JOB ID:j4VQCyB3Ld8K4Tfk0oQT1kCfAuRtjBn5bA

Primer-BLAST Results ?

Input PCR template none

[Edit search](#) **NEW**

Specificity of primers Target templates were found in selected database: NCBI Messenger RNA Reference Sequences (Organism limited to Homo sapiens)

Other reports [► Search Summary](#)

— Detailed primer reports

Download primer pairs ▾

Primer pair 1

	Sequence (5'→3')	Length	Tm	GC%	Self complementarity	Self 3' complementarity
Forward primer	CTGCCACCCAGAAGACTGTG	20	60.60	60.00	3.00	2.00
Reverse primer	AGGGGTCTACATGGCAACTG	20	59.38	55.00	4.00	2.00

Products on target templates

>NM_002046.7 Homo sapiens glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH), transcript variant 1, mRNA

product length = 595

Forward primer 1 CTGCCACCCAGAAGACTGTG 20
Template 621 640

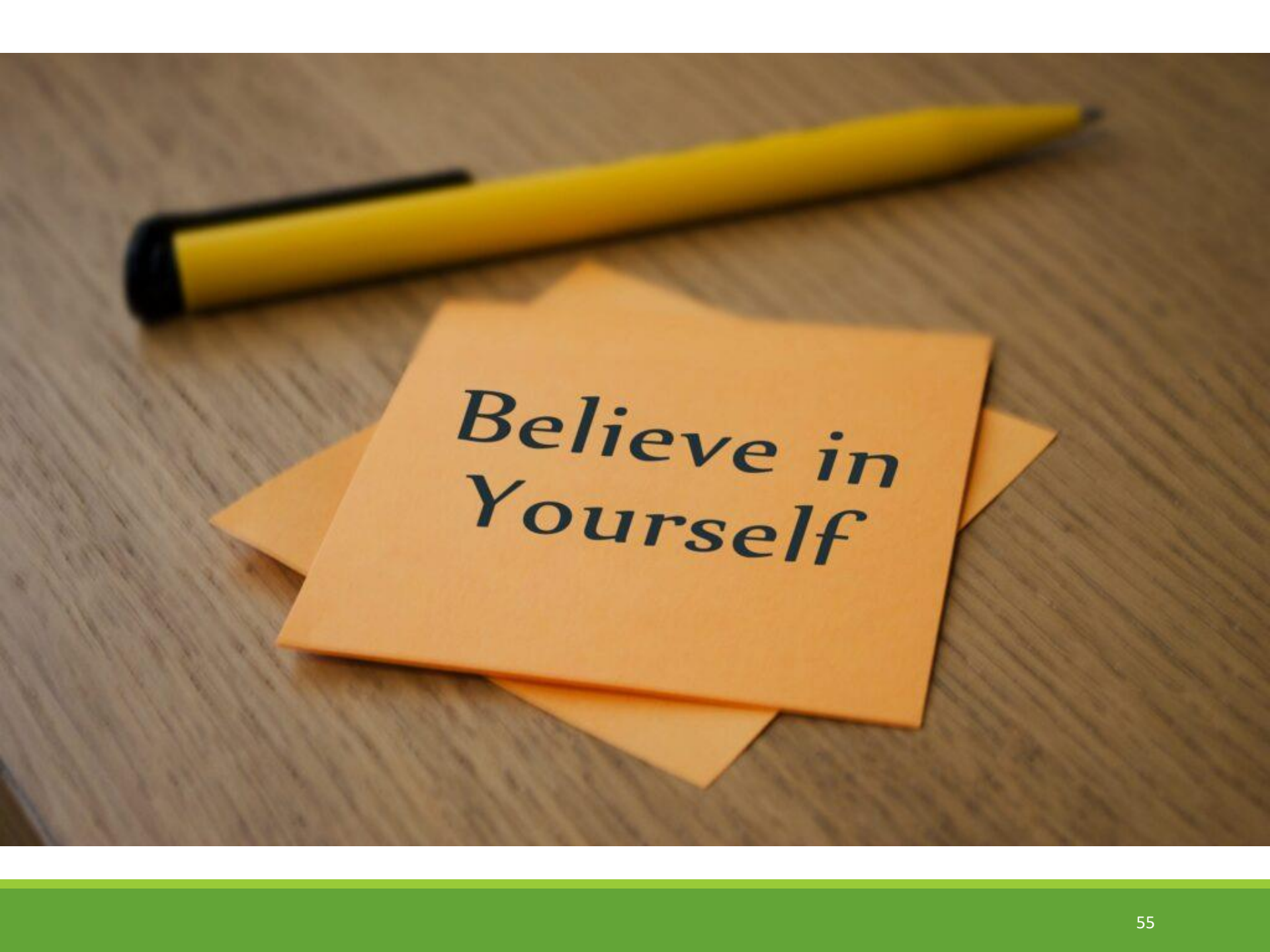
Reverse primer 1 AGGGGTCTACATGGCAACTG 20
Template 1215 1196

>NM_001256799.3 Homo sapiens glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH), transcript variant 2, mRNA

product length = 595

Forward primer 1 CTGCCACCCAGAAGACTGTG 20
Template 722 741

Reverse primer 1 AGGGGTCTACATGGCAACTG 20

A yellow pen with a black grip lies diagonally across the top of the frame. Below it, several orange sticky notes are stacked on a light-colored wooden surface. The top sticky note features the text "Believe in Yourself" in a black, serif font.

*Believe in
Yourself*