

►►► JENA BIOSCIENCE **SERVIZIO SINTESI OLIGONUCLEOTIDI**

SOLO PER USO IN VITRO

Qualità garantita per 12 mesi

Conservare a -20°C . Evitare ripetuti cicli di congelamento e scongelamento.

Introduzione

Gli oligonucleotidi Jena Bioscience sono oligonucleotidi sintetici che possono essere utilizzati in una vasta gamma di applicazioni (PCR, sequenziamento, esperimenti di ibridazione).

Gli oligonucleotidi sono disponibili come: **(vedi APPENDICE A per dettagli su opzioni di sintesi e marcatura disponibili)**

- oligonucleotidi a DNA standard non modificati
- oligonucleotidi a DNA con modificazione al 5' fluorescente
- oligonucleotidi a DNA con modificazione al 5' non fluorescente
- oligonucleotidi a DNA con modificazione al 3' fluorescente
- oligonucleotidi a DNA con modificazione al 3' non fluorescente
- oligonucleotidi a DNA con modificazione interna fluorescente
- oligonucleotidi a DNA con modificazione interna non fluorescente
- oligonucleotidi a DNA antisense (fosforotioati – PTOs)
- oligonucleotidi a RNA non modificati
- oligonucleotidi a RNA marcati in 5'
- oligonucleotidi a RNA marcati in 3'
-

Sono disponibili tre **opzioni di purificazione**:

- standard o "salt free"
- OPC ("Oligonucleotide Purification Cartridge™")
- HPLC.

Le **scale di sintesi** possibili sono *

- 0.02 μmoli
- 0.04 μmoli
- 0.2 μmoli
- 1 μmoli
- 10 μmoli (solo per oligonucleotidi a DNA non modificati e PTOs)

La **forma di spedizione** può essere scelta tra le seguenti*

- liofilizzata
- in soluzione 200 μl
- in soluzione 100 μM .

* Le sonde *Dual Labeled Fluorescent Probes* sono spedite in forma liofilizzata e possono essere conservate a -80°C per almeno 1 anno. Prima dell'uso, preparare una soluzione stock risospesdendo il sonda liofilizzata in acqua grado biologia molecolare o in TE buffer e aliquotare la soluzione in più provette. Conservare le aliquote a -20°C ed evitare ripetuti cicli di congelamento e scongelamento.

Purificazione standards o "salt free"

Gli oligonucleotidi Jena Bioscience purificati mediante procedura standard o "salt free" sono oligonucleotidi deprotetti e desalificati. Gli oligonucleotidi purificati mediante tale procedura possono essere utilizzati senza nessuna limitazione in protocolli di PCR e metodi "high through-put", sequenziamento ed esperimenti di ibridazione.

Le rese indicate sono in genere rese minime e sono garantite solo per 20mer +/- 20 %. Per oligonucleotidi >33 basi la resa indicata non è garantita.

Purificazione OPC (Oligonucleotide Purification Cartridge™)

La purificazione OPC è un tipo di purificazione HPLC rapida per oligonucleotidi non modificati fino a 40 basi.

Questo metodo di purificazione si basa sul fatto che la colonna lega i gruppi dimetiltritele (DMT) degli oligonucleotidi "trityl-on". Le sequenze non contenenti i gruppi DMT e altri prodotti indesiderati vengono eluiti mentre gli oligonucleotidi contenenti i gruppi DMT vengono adsorbiti per affinità. Dopo rimozione dei gruppi DMT mediante un trattamento blandamente acido i primers altamente purificati detritilati possono essere eluiti.

Purificazione HPLC

La purificazione HPLC computerizzata è il metodo consigliato per purificare con elevata efficienza oligonucleotidi a DNA non modificati superiori alle 45 basi, oligonucleotidi a RNA e oligonucleotidi modificati. La capacità di separazione di questo sistema è molto sensibile e consente purezze fino al 95%. I programmi di purificazione HPLC sviluppati da Jena Bioscience differiscono da quelli comunemente utilizzati dalle aziende concorrenti. Jena Bioscience ha sviluppato differenti programmi di purificazione per i diversi tipi di oligonucleotidi i quali hanno un tempo di esecuzione fino a 30 minuti. Ad attestare la qualità degli oligonucleotidi ciascun oligo viene fornito con il suo cromatogramma ottenuto in HPLC.

NOTE IMPORTANTI

- La purificazione standard e OPC può essere ordinata solo per oligo <45 basi
- la scala di sintesi 0.02 µmol può essere ordinata solo per oligo <34 basi
- le rese sono garantite per oligo di 20mer +/- 20%. Per oligo >33 basi la resa non è garantita.
- basi degenerate in 5' o interne non richiedono prezzo aggiuntivo. Mentre basi degenerate al 3' richiedono un addebito aggiuntivo
- per ragioni tecniche per oligo >80 basi il prezzo a base è raddoppiato
- gli oligo sono accompagnati da certificato standard. Per la richiesta del documento MALDI-ToF addebito extra
- per gli oligo a DNA modificati i prezzi delle modificazioni vanno aggiunti al prezzo dell'oligo sintetizzato con la purificazione standard
- i prezzi per le modificazioni in 3' non fluorescenti di oligo a DNA sono validi per oligo fino a 40 basi. Per oligo modificati a DNA più lunghi di 40 basi si prega di contattare Elettrofor all'indirizzo biosupport@elettrofor.it
- tutti gli oligo a RNA sono purificati in HPLC. Pertanto i prezzi includono tale purificazione.
- I prezzi per *Dual Labeled Fluorescent Probes* includono la purificazione HPLC e il controllo di qualità MALDI ToF. I prezzi inoltre si riferiscono a sonde fino a 33 basi. Per sonde più lunghe di 33 basi o per altre combinazioni reporter/quencher si prega di contattare Elettrofor all'indirizzo biosupport@elettrofor.it
- Per preventivo e informazioni sui costi contattare Elettrofor all'indirizzo biosupport@elettrofor.it

Controlli di qualità

Tutti gli oligonucleotidi prodotti dalla Jena Bioscience sono sottoposti accuratamente a controllo di qualità. Il sistema qualità riguarda l'intero processo di produzione e avviene a diversi livelli:

- controllo pre-sintesi: la validazione delle materie prime e dei reagenti chimici ricevuti effettuata utilizzando e testando oligonucleotidi di controllo, assicura che i nostri reagenti, che sono acquistati solo da fornitori qualificati e riconosciuti, rispondono ai requisiti richiesti per fornire le migliori efficienze di resa e conseguentemente oligonucleotidi di elevata qualità
- controllo durante la sintesi: durante la sintesi i tassi di accoppiamento sono continuamente testati mediante monitoraggio DMT. Solo i cicli ad elevata efficienza di accoppiamento (>98.5%) consentono la continuazione del processo di sintesi.
- controllo post-sintesi: la quantificazione (misurazione della OD) dei prodotti finali è un importante e fondamentale indicatore dell'efficienza di sintesi.
- Controllo finale: controlli analitici mediante HPLC e Maldi-ToF sono effettuati per il rilascio finale del prodotto

I rigidi programmi di verifica continua delle prestazioni tecniche dei sintetizzatori rappresentano un ulteriore fattore per garantire costantemente l'elevato livello di qualità degli olinucleotidi.

Documentazione

Ciascun oligonucleotide sintetizzato dalla Jena Bioscience sarà accompagnato da un completo certificato di analisi contenente le seguenti informazioni:

- il nome del primer
- la sequenza, il numero di sequenza e la composizione in basi
- la resa espressa in OD, µg e nmoli
- la forma di consegna (soluzione o liofilizzato)
- la concentrazione
- il peso molecolare, la Tm e il contenuto GC
- la scala di sintesi
- la modalità di purificazione
- il controllo di qualità

Bibliografia

- Veligura *et al.* (2005) UV-induced ds(ss)-DNA damage: optical and electrical recognition. *BMC Plant Biology* **5**:S32.
- Festag *et al.* (2005) Optimization of Gold Nanoparticle-Based DNA Detection for Microarrays. *Journal of Fluorescence* **15(2)**:161.
- Csáki *et al.* (2003) The optical detection of individual DNA-conjugated gold nanoparticle labels after metal enhancement. *Nanotechnology* **14**:1262.
- Fritzsche *et al.* (2002) Nanoparticle-Based Optical Detection of Molecular Interactions for DNA-Chip Technology. *Proc. SPIE* **4626**:17.

Modalità d'ordine

Gli oligonucleotidi possono essere ordinati online al sito www.elettrofor.it

APPENDICE A
OPZIONI DI SINTESI E MARCATURA

Oligonucleotidi a DNA non modificati

Scala di sintesi (μmol)	Purificazione Standard	Purificazione OPC*	Purificazione HPLC
	Resa [OD_{260}]	Resa [OD_{260}]	Resa [OD_{260}]
0.02	3	1	1
0.04	5	2.5	2.5
0.2	16	8	8
1.0	80	ND	25
10	ND	ND	ND

Marcatura in 5' fluorescente per oligo a DNA

Modificazione	Purificazione Standard				Purificazione HPLC			
	0.02 μmol 3 OD_{260}	0.04 μmol 5 OD_{260}	0.2 μmol 12 OD_{260}	1.0 μmol 50 OD_{260}	0.02 μmol 1 OD_{260}	0.04 μmol 2 OD_{260}	0.2 μmol 5 OD_{260}	1.0 μmol 12 OD_{260}
6-FAM, TET	ok	ok	ok	ok	ok	ok	ok	ok
HEX, TAMRA	Nd	Nd	Nd	Nd	ok	ok	ok	ok
JOE, ROX	Nd	Nd	Nd	Nd	ok	ok	ok	ok
Fluorescein	ok	ok	ok	ok	ok	ok	ok	ok
Cy3, Cy5	Nd	Nd	Nd	Nd	ok	ok	ok	ok
IRD 700/800	Nd	Nd	Nd	Nd	ok	ok	ok	ok
CAL Fluor Gold 540	Nd	Nd	Nd	Nd	ok	ok	ok	ok
CAL Fluor Orange 560	Nd	Nd	Nd	Nd	ok	ok	ok	ok
CAL Fluor Red 610	Nd	Nd	Nd	Nd	ok	ok	ok	ok
Rhodamine ITC	Nd	Nd	Nd	Nd	ok	ok	ok	ok
Rhodamine Green	Nd	Nd	Nd	Nd	ok	ok	ok	ok
Texas Red	ok	ok	ok	ok	ok	ok	ok	ok

Marcatura in 5' non fluorescente per oligo a DNA

Modificazione	Purificazione Standard				Purificazione HPLC			
	0.02 μ mol 3OD ₂₆₀	0.04 μ mol 5OD ₂₆₀	0.2 μ mol 12OD ₂₆₀	1.0 μ mol 50OD ₂₆₀	0.02 μ mol 1 OD ₂₆₀	0.04 μ mol 2 OD ₂₆₀	0.2 μ mol 5OD ₂₆₀	1.0 μ mol 12OD ₂₆₀
Biotin	ok	ok	ok	ok	ok	ok	ok	ok
C8-Alkyne-dC	ok	ok	ok	ok	ok	ok	ok	ok
C8-Alkyne-dU	ok	ok	ok	ok	ok	ok	ok	ok
C6 Amino	ok	ok	ok	ok	ok	ok	ok	ok
C12 Amino	ok	ok	ok	ok	ok	ok	ok	ok
2' Deoxyuridine	ok	ok	ok	ok	ok	ok	ok	ok
Digoxigenin	ok	ok	ok	ok	ok	ok	ok	ok
Hexynyl	ok	ok	ok	ok	ok	ok	ok	ok
Inosine	ok	ok	ok	ok	ok	ok	ok	ok
Methylcytosin	ok	ok	ok	ok	ok	ok	ok	ok
Phosphate	ok	ok	ok	ok	ok	ok	ok	ok
Thiol*	ok	ok	ok	ok	ok	ok	ok	ok

*questa modificazione richiede un costo aggiuntivo

Marcatura in 3' fluorescente per oligo a DNA

Modificazione	Purificazione Standard				Purificazione HPLC			
	0.02 μ mol 3 OD ₂₆₀	0.04 μ mol 5 OD ₂₆₀	0.2 μ mol 12OD ₂₆₀	1.0 μ mol 50OD ₂₆₀	0.02 μ mol 1 OD ₂₆₀	0.04 μ mol 2 OD ₂₆₀	0.2 μ mol 5OD ₂₆₀	1.0 μ mol 12OD ₂₆₀
6-FAM	Nd	Nd	Nd	Nd	ok	ok	ok	ok
HEX	Nd	Nd	Nd	Nd	ok	ok	ok	ok
TAMRA	Nd	Nd	Nd	Nd	ok	ok	ok	ok
Fluorescein	Nd	Nd	Nd	Nd	ok	ok	ok	ok
Cy3, Cy5	Nd	Nd	Nd	Nd	ok	ok	ok	ok

Marcatura in 3' non fluorescente per oligo a DNA

Modificazione	Purificazione Standard				Purificazione HPLC			
	0.02 μ mol 1 OD ₂₆₀	0.04 μ mol 5 OD ₂₆₀	0.2 μ mol 12 OD ₂₆₀	1.0 μ mol 50 OD ₂₆₀	0.02 μ mol 1 OD ₂₆₀	0.04 μ mol 2 OD ₂₆₀	0.2 μ mol 5 OD ₂₆₀	1.0 μ mol 12 OD ₂₆₀
Alkyne	ok	ok	ok	ok	ok	ok	ok	ok
C8-Alkyne-dC	ok	ok	ok	ok	ok	ok	ok	ok
C8-Alkyne-dU	ok	ok	ok	ok	ok	ok	ok	ok
C7-amino	ok	ok	ok	ok	ok	ok	ok	ok
BHQ-1	Nd	Nd	Nd	Nd	ok	ok	ok	ok
BHQ-2	Nd	Nd	Nd	Nd	ok	ok	ok	ok
BHQ-3	Nd	Nd	Nd	Nd	ok	ok	ok	ok
Biotin	ok	ok	ok	ok	ok	ok	ok	ok
Dabcyl	Nd	Nd	Nd	Nd	ok	ok	ok	ok
ddC	ok	ok	ok	ok	ok	ok	ok	ok
2' Deoxyuridine	ok	ok	ok	ok	ok	ok	ok	ok
Inosine	ok	ok	ok	ok	ok	ok	ok	ok
Methylcytosin	ok	ok	ok	ok	ok	ok	ok	ok
Phosphate	ok	ok	ok	ok	ok	ok	ok	ok
Thiol	ok	ok	ok	ok	ok	ok	ok	ok

Marcatura interna fluorescente per oligo a DNA

Modificazione	Purificazione Standard				Purificazione HPLC			
	0.02 μ mol 3 OD ₂₆₀	0.04 μ mol 5 OD ₂₆₀	0.2 μ mol 12 OD ₂₆₀	1.0 μ mol 50 OD ₂₆₀	0.02 μ mol 1 OD ₂₆₀	0.04 μ mol 2 OD ₂₆₀	0.2 μ mol 5 OD ₂₆₀	1.0 μ mol 12 OD ₂₆₀
FITC-dT	Nd	Nd	Nd	Nd	ok	ok	ok	ok
Fluorecein-dT	Nd	Nd	Nd	Nd	ok	ok	ok	ok
TAMRA-dT	Nd	Nd	Nd	Nd	ok	ok	ok	ok
Cy5-dT	Nd	Nd	Nd	Nd	ok	ok	ok	ok

Marcatura interna non fluorescente per oligo a DNA

Modificazione	Purificazione Standard				Purificazione HPLC			
	0.02 μ mol 3OD ₂₆₀	0.04 μ mol 5OD ₂₆₀	0.2 μ mol 12 OD ₂₆₀	1.0 μ mol 50 OD ₂₆₀	0.02 μ mol 1 OD ₂₆₀	0.04 μ mol 2 OD ₂₆₀	0.2 μ mol 5OD ₂₆₀	1.0 μ mol 12OD ₂₆₀
C8-Alkyne-dC	ok	ok	ok	ok	ok	ok	ok	ok
C8-Alkyne-dU	ok	ok	ok	ok	ok	ok	ok	ok
C2-amino-dT	Nd	Nd	Nd	Nd	ok	ok	ok	ok
Biotin-dT *	Nd	Nd	Nd	Nd	ok	ok	ok	ok
Bromo-dC	Nd	Nd	Nd	Nd	ok	ok	ok	ok
Bromo-dG	Nd	Nd	Nd	Nd	ok	ok	ok	ok
Bromo-dU	Nd	Nd	Nd	Nd	ok	ok	ok	ok
7-Deaza-dA	Nd	Nd	Nd	Nd	ok	ok	ok	ok
2-Deoxyuridine-dT	ok	ok	ok	ok	ok	ok	ok	ok
Inosine	ok	ok	ok	ok	ok	ok	ok	ok
Iodo-dC	Nd	Nd	Nd	Nd	ok	ok	ok	ok
Iodo-dU	Nd	Nd	Nd	Nd	ok	ok	ok	ok
Methylcytosin	ok	ok	ok	ok	ok	ok	ok	ok

*questa modificazione richiede un costo aggiuntivo

**SINTESI OLIGONUCLEOTIDI ANTISENSO
FOSFOROTIOATI (PTOs)**

Scala [μ mol]	Resa [OD ₂₆₀]
0.2	5
1.0	15
10	100

SINTESI OLIGONUCLEOTIDI A RNA
Oligonucleotidi a RNA non modificati

Scala [μmol]	Resa[OD ₂₆₀]
0.2	8
1.0	18

Marcatura in 5' per oligo a RNA

Modificazione 5'	0.2 μmol 3-5 OD ₂₆₀	1.0 μmol 15 OD ₂₆₀
Fluorescein	OK	OK
FAM	OK	OK
TET	OK	OK
HEX	OK	OK
Cy3	OK	OK
Tamra	OK	OK
Cy5	OK	OK
Amino	OK	OK
Biotin	OK	OK
Phosphate	OK	OK

Marcatura in 3' per oligo a RNA

Modificazione 3'	0.2 μmol 3-5 OD ₂₆₀	1.0 μmol 15 OD ₂₆₀
Tamra	OK	OK
Amino	OK	OK
Biotin	OK	OK
Thiol	OK	OK
Deoxynucleotide	OK	OK

DUAL LABELED FLUORESCENT PROBES

5'-reporter, excitation max, emission max			3'-quencher, quenching range (quenching max)					
			BHQ-1®	BHQ-2®	BHQ-3®	ECLIPSE	DABCYL	TAMRA
			480-580 nm (535 nm)	550-650 nm (579 nm)	620-730 nm (672 nm)	390-625 nm (522 nm)	380-550 nm (453 nm)	470-560 nm (544 nm)
LC®Cyan500	450 nm	500 nm	x	-	-	x	x	x
FAM	495 nm	520 nm	x	-	-	x	x	x
TET	521 nm	536 nm	x	-	-	x	x	x
JOE	522 nm	548 nm	x	-	-	x	x	x
Yakima Yellow	530 nm	549 nm	x	-	-	x	x	x
HEX	535 nm	556 nm	x	x	-	x	x	x
Cy3	546 nm	563 nm	-	x	-	-	-	-
TAMRA	564 nm	579 nm	-	x	-	x	-	-
ROX	576 nm	601 nm	-	x	-	x	-	-
Texas Red	586 nm	610 nm	-	x	-	x	-	-
LC®Red610	590 nm	610 nm	-	x	-	x	-	-
LC®Red640	625 nm	640 nm	-	-	x	-	-	-
Cy5	646 nm	662 nm	-	-	x	-	-	-
Cy5.5	683 nm	705 nm	-	-	x	-	-	-
IRD700	685 nm	705 nm	-	-	x	-	-	-

Scale di sintesi disponibili

- 5-10 nmoli
- 10-20 nmoli
- 20-30 nmoli
- 30-50 nmoli
- 50-70 nmoli

1OD corrisponde a circa 33ug di DNA a singolo filamento con una uguale distribuzione delle basi. Questo corrisponde a circa 5nmoli (50ul/100uM) di una sonda di 20 basi

QUENCHER		
	Max Quenching (nm)	Quenching range (nm)
TAMRA*	546	520-570
DABCYL	453	380-530
ECLIPSE	522	390-625
BHQ-1®	534	480-580
BHQ-2®	579	550-650
BHQ-3®	672	620-730

Black Hole Quencher® and "BHQ® are trademarks registered with the US Patent and Trade Office (USPTO) Registration Number 2,883,942 and the World Intellectual Property Organization (WIPO) registration number 832 809. These compounds are protected under international patent protection filed with the USPTO under patent application 09/567,863 currently under allowance. Black Hole Quencher dyes are licensed for sale by Biosearch Technologies, Inc., Novato, California, USA, and these products are sold exclusively for research and development purposes only. These products may not be used for any human or veterinary clinical or diagnostic purposes or any commercial purpose without express permission from Biosearch. Further, these products may not be re-sold, distributed, re-labeled or re-packaged. Cy3, Cy5 and Cy5.5 are trademarks of Amersham Pharmacia Biotech Limited or its subsidiaries.

* TAMRA è un quencher ampiamente utilizzato, specialmente in combinazione con il reporter FAM. Notare che il TAMRA non è un *dark quencher* per cui contribuisce ad un aumento del segnale di background a causa della fluorescenza da esso emessa. Black Hole dark quencher (BHQ-1) è invece un quencher alternativo a TAMRA che garantisce un rapporto segnale/rumore più alto.

Sede Operativa e Amministrativa: V.le della Cooperazione, 38/40 – 45100 Borsea (RO) – Italia

Tel. 0425474522 – Fax 0425474918

e-mail: info@elettrofor.it - web: www.elettrofor.it

sede Legale: Via Arzerini, 6 - Rovigo

MARCATURA FLUORESCENTE

INFORMAZIONI TECNICHE

Lunghezze d'onda di assorbimento ed emissione di oligonucleotidi modificati con fluorofori

Fluoroforo	Modificaz	Peso molec. [g/mol]	Coeff. estinzione	Assorbimento [nm]	Emissione [nm]	Fluorescenza
FITC (5-Fluorescein)	5', 3', interna	389.4	73,000	495	520	Verde
FAM (6-carboxyfluorescein)	5', 3'	537.5	83,000	495	520	Verde
Rhodamine green	5'	394.0	74,000	503	528	Verde
TET (6-tetrachlorofluorescein)	5'	675.2	73,000	521	536	Verde
CAL Fluor Gold 540	5'	811.5	74,700	522	541	Giallo-verde
JOE	5'	487.0	73,000	520	548	Giallo-verde
HEX (6-exachlorofluorescein)	5', 3'	744.1	73,000	535	556	Giallo-verde
CAL Fluor Orange 560	5'	843.8	81,000	537	558	Giallo-verde
Cy3	5', 3'	508.6	150,000	552	570	Giallo
TAMRA	5', 3', interna	413.0	90,000	544	576	Giallo
Rhodamin ITC, mixed isomers	5'	548.0	92,000	572	596	Arancione
ROX (5(6)-carboxy-X-Rhodamine)	5'	516.7	82,000	576	601	Arancione
Texas Red	5'	702.0	116,000	583	603	Arancione
CAL Fluor Red 610	5'	919.9	108,000	590	610	Arancione
Cy5	5', 3', interna	534.6	250,000	643	667	Rosso
Cy5.5	5'	634.8	250,000	675	694	Rosso-lontano
IRD 700	5'	891.2	170,000	685	705	Rosso-lontano
IRD 800	5'	990.3	270,000	795	819	Infrarosso

Spettro della luce visibile

