

روش آماده سازی الیگونوکلئوتیدهای ساخت شرکت سیناکلون

الیگونوکلئوتیدهای تولیدی شرکت سیناکلون به صورت لیوفلیزه عرضه می شوند. در حالت طبیعی ممکن است بعضی از آنها رسوب قابل تشخیصی نداشته باشند و همچنین ممکن است بعضی به راحتی در بافر حل نشوند. در طی فرآیند حمل و نقل ممکن است رسوب الیگونوکلئوتید از ته ویال جدا شود، پس تاکید می شود قبل از گشودن درب ویال، به مدت ۵ ثانیه اسپین شود تا تمام محتویات داخل آن ته نشین گردد.

برای رقیق سازی الیگونوکلئوتیدها از بافر TE (Tris ۱۰ میلی مولار، EDTA ۱ میلی مولار PH:8، Cat.No:EP5071) یا آب استریل pH=۷ استفاده شود. توجه شود برای نگهداری به مدت طولانی استفاده از آب پیشنهاد نمی شود. آب DEPC و همچنین آب با PH اسیدی کمتر از ۵ نیز برای اغلب الیگونوکلئوتیدها نامناسب هستند و در این شرایط الیگونوکلئوتیدها به تدریج تخریب می شوند. در حالت لیوفلیزه، می توان ویال الیگونوکلئوتید را در دمای اتاق برای مدت یک ماه نگهداری کرد.

الیگونوکلئوتید محلول شده را اما می توان درون یخچال (۲ تا ۸ درجه سانتی گراد) برای مدت شش ماه نگهداری کرد. نیز به منظور اطمینان از پایداری، شرایط نگهداری طولانی مدت در هر غلظتی، دمای فریزری (منفی ۱۵ تا منفی ۲۵ درجه سانتی گراد) می باشد. پیشنهاد می شود به منظور جلوگیری از کاهش نیمه عمر، استوک اصلی الیگونوکلئوتید در ویال های جداگانه تقسیم بندی و نگهداری شود و تا زمان الزام به استفاده از حالت انجماد خارج نشود.

نحوه ساخت غلظت ۱۰۰ میکرومولار الیگونوکلئوتید با استفاده از اطلاعات موجود در برگه اطلاعات فنی الیگونوکلئوتید به شرح زیر می باشد:

عددی که در ستون شماره ۷ آورده شده است نشانگر میزان آب یا بافر TE است که باید به ویال اضافه شود تا غلظت ۱۰۰ میکرومولار حاصل گردد و به طور کلی معادل ۱۰ برابر مقدار غلظت نانو مول الیگونوکلئوتید می باشد. سپس ویال را به مدت ۵ ثانیه ورتکس کرده تا پرایمر خوب مخلوط شود.

در اکثر کاربردها، پس از آماده سازی غلظت ۱۰۰ میکرومولار، از آن غلظت ۱۰ میکرومولار تهیه می شود. به این صورت که برای مثال به ۱۰ میکرولیتر الیگونوکلئوتید، ۹۰ میکرولیتر آب یا بافر TE اضافه می شود. در اغلب واکنش های PCR ۲۰ میکرولیتری غلظت نهایی ۰,۵ میکرومولار را ایجاد می کند.

در صورت نیاز به غلظت های دیگر می توان از فرمول های زیر استفاده کرد:

جدول مثال مشخصات مربوط به هر الیگونوکلئوتید									
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
NO.	NAME	SEQ (5-3)	MW	OD (1000 میکرو لیتر)	nmol	Water/tube (میکرو لیتر)	TM	GC%	Mer
1	OLIGO	GATGAGTTCGTGTCCGTACAACTGG	7713	5	21.92	213.92	64	52	25

سرویس نرمالیزاسیون: در این سرویس، اطلاعات الیگونوکلئوتید به همراه منحنی جذب نوری، اطلاعات خلوص خلوص جذب نوری در طول موج ۲۳۰، نسبت ۲۳۰/۲۶۰ و غلظت در واحدهای مختلف (نانو گرم بر میکرولیتر - میکروگرم بر میکرولیتر - میکروگرم بر میلی لیتر) آماده می شود.

هشدارهای توصیه‌ای

- شماره بچ نوشته شده بر روی تیوب هر الیگونوکلئوتید همان تاریخ تولید آن می‌باشد که تاریخ انقضای آن در شرایط نگهداری مناسب در فریزر، دو سال بعد از تاریخ تولید است.
- بعد از اتمام دوره مصرف الیگونوکلئوتید، ویال حاوی آن را در سطل زباله حاوی آب ژاول دور بیندازید.
- در صورت عودت الیگونوکلئوتید به شرکت سیناکلون حتماً آن را به همراه ژل یخی در دمای فریزری ارسال نمایید.
- الیگونوکلئوتیدهای تغییر یافته فلورسنت در معرض نور قرار داده نشود (در ویال‌های تیره‌رنگ نگهداری شوند).

سینا کلون