

<b>Vous avez besoin de/d'</b>
Oligonucléotides lyophilisés (amorces)
1X tampon TE pH 8
Un bouchon à vis stérile tubes de 2 ml

### 1. Resuspension des amorces lyophilisées

1. Les oligonucléotides fournis par KT sont lyophilisés. Le culot d'oligo peut se déloger en transit et se retrouver dans le couvercle des tubes / puits de plaque. Avant d'ouvrir le tube, il est important de faire tourner chaque tube d'oligonucléotide dans la centrifugeuse ou d'agiter la plaque pour déloger les pastilles coincées.
2. L'ADN séché est généralement très facile à remettre en suspension dans une solution aqueuse, mais certains oligos ont besoin de plus de temps pour se mettre en solution que d'autres. Remettre en suspension dans du tampon TE pH 8,0 (1X).
3. Pour reconstituer, utilisez la quantité de nanomoles pour chaque oligo spécifique indiqué sur la fiche technique. Par exemple, pour faire une solution de base de concentration à 100  $\mu\text{M}$ : Prenez le nombre de nmoles dans le tube et multipliez-le par 10. Ce sera le nombre de microlitres de tampon à ajouter pour obtenir une solution à 100  $\mu\text{M}$ .
4. Une fois reconstituée<sup>1</sup>, divisez la solution mère restante en plusieurs petits aliquotes d'oligos et conservez la solution mère à 4 ° C au réfrigérateur si vous comptez l'utiliser rapidement, mais congelez-la à -20 ° C. Évitez trop de cycles de gel-dégel.

#### Remarques:

<sup>1</sup> Les amorces peuvent être stockées à différentes concentrations, mais des concentrations < 1  $\mu\text{M}$  peuvent changer au fil du temps car une partie de l'oligo peut adhérer au plastique du tube.

### 2. Utilisez cette zone pour calculer la concentration de votre amorce

### 3. Assiettes de niébé, ensembles 1 et 2

Les jeux d'amorces de niébé sont fournis avec les amorces avant et arrière mélangées ensemble. Les oligos ont une concentration finale de 100  $\mu\text{M}$ . Les plaques sont fournies séchées (lyophilisées) et ont été standardisées pour être composées jusqu'à 200  $\mu\text{l}$ . Ajouter 200  $\mu\text{l}$  de tampon TE 1X pH 8,0 dans chaque puits ou tube pour reconstituer les amorces. Vous devrez les agiter un peu pour les faire se reconstituer dans le liquide tampon.

### 4. Propriétés des oligonucléotides:

Vous devrez calculer le poids moléculaire, la température de fusion ou une autre propriété d'un oligonucléotide qui dépend de sa séquence de base. Des programmes sont disponibles pour vous y aider. Par exemple:

<http://www.basic.northwestern.edu/biotools/oligocalc.html>