

OLIGOS DE SECUENCIACIÓN

Disponemos de los siguientes oligos de secuenciación:

Oligo	Secuencia	Bp
M13 directo	5'- TGT AAA ACG ACG GCC AGT - 3'	18
M13 reverso	5'- CAG GAA ACA GCT ATG ACC - 3'	18
T7	5'- TAA TAC GAC TCA CTA TAG GG -3'	20
SP6	5'- GAT TTA GGT GAC ACT ATA GAA TAC - 3'	24
Sk	5'- CGC TCT AGA ACT AGT GGA TC -3'	20
Ks	5'- CTC GAG GTC GAC GGT ATC G - 3'	19
T3	5' - ATT AAC CCT CAC TAA AGG GA - 3'	20
T7 terminador	5,- GCT AGT TAT TGC TCA GCG G - 3'	19

1. CONCENTRACIÓN : **siempre** a 5 uM ; 5 ul por reacción
2. Tamaño del oligo : 20 – 22 nucleótidos
3. $T_m \geq 55^\circ C$
calculada según la fórmula de Wallace [$4 \times (C+G) + 2 \times (A+T)$]
4. % GC = 40-50%
5. Es conveniente que la última base del extremo 3' sea G o C
6. Evitar oligos con zonas ricas en repeticiones de una sola base (con más de tres bases iguales, especialmente G o C) ej. AGGGTG, ACCCCTA, etc.
7. Evitar oligos que puedan formar estructuras secundarias o dímeros