A DNA/RNA Oligonucleotide Synthesis

01. Oligonucleotide Synthesis Service
02. CRISPR

DNA/RNA Oligonucleotide Synthesis
Phone: 합성 관련 - 042-930-8574
학술 관련 - 042-930-8577
E-mail: Oligo-support@bioneer.co.kr

01. Oligonucleotide Synthesis Service

Oligonucleotide - *AccuOligo*® ····· 10

AccuEBQ® Probes ····· 11
Standard Oligonucleotide ····· 12
HT- Oligo™ (High Throughput Oligonucleotide) ····· 14
Modification Oligonucleotide ····· 15
Dual-Labeled Probes ····· 16
EBQ – Next Generation Dark Quencher Modifications ····· 19
Extendamers™ ····· 21
Large Scale Oligonucleotide ····· 21
Custom RNA Oligonucleotide ····· 22

Premade Primers

General Research Primer ····· 23
Sequencing Primer ····· 25
Random Primer ····· 26

QC and Order System ····· 27

Oligonucleotide FAQs ····· 28

User Protocol ····· 32

Extra Service

MALDI-TOF MS Analysis Service ····· 33

Oligonucleotide - *AccuOligo*®

개요

1992년 국내 벤처 1호 기업으로 설립된 바이오니아는 국내 최대의 DNA 및 RNA 합성 회사로서 최고 품질의 올리고를 제공합니다. 바이오니아 DNA 합성 센터는 세계적인 합성 기술을 보유하였으며 명실 상부한 세계 최대의 유전자 합성 회사로 거듭나기 위해 지속적으로 생산라인 확장 및 연구개발에 매진하고 있습니다. 독자 개발한 *HT-Oligo*™ 384 합성기와 384 병렬 자동 정제기 및 자동 정량 분주기 구축으로 하루에 30,500개의 올리고를 합성할 수 있습니다.
바이오니아의 올리고 합성 서비스는 주문부터 합성, 검수, 포장까지 전 공정을 'Computer Aided Manufacturing (CAM) 시스템'에 의해 자동화함으로써 고품질의 올리고를 공급하고 있습니다. 특히, 독자 개발한 **'Bio-RP 초고순도 정제 시스템'**은 고순도 올리고 생산을 가능하게 함으로써, PCR, sequencing 등의 일반적인 실험을 수행하는 연구기관 및 회사뿐 아니라 SNP typing, gene synthesis, DNA chip 등의 다양한 응용분야를 수행하는 세계적인 연구기관 및 회사에도 당사 올리고 공급을 가능하게 하였습니다.

AccuOligo® Technology

일반적으로 올리고는 합성, 정제, 분주 과정을 거쳐 건조된 후 고객에게 배송됩니다. 건조된 올리고는 운송 과정 중에 흔들림과 충격에 의해 튜브의 바닥에서 떨어져 나와 벽이나 뚜껑에 묻어 있게 되는데 이러한 상태로 개봉을 하게 되면 용기 내에서 이탈되어 손실이 발생할 수 있습니다. Plate로 공급할 경우 더 심각한 상호 교차오염이 발생할 수도 있습니다. 이런 경우에는 올리고의 농도가 맞지 않아 실험에 부정적 영향을 끼칩니다.
바이오니아 연구진은 이러한 올리고 이탈 손실 문제를 해결하기 위해 심한 진동에서도 튜브 바닥에서 떨어지지 않는 *AccuOligo*® 기술을 개발하였습니다(신규 건조 올리고뉴클레오티드 조성물 '특허 출원 2006 등록번호 제10-0777249호').

AccuOligo®의 특장점

- 이탈 방지제는 PCR, sequencing, enzyme cutting 등에 전혀 영향이 없습니다.
- 제조 또는 운송 중 올리고가 이탈 손실되는 현상을 방지합니다.
- 미량의 올리고도 이탈 손실되는 현상을 방지합니다.
- plate 내 각 well 간의 교차 오염을 방지합니다.

바이오니아에서 제공하는 모든 올리고는 상기 *Accuoligo*® 기술이 적용되며 clean room에서 생산함으로써 DNase, RNase, DNA free 한 상태로 고객 여러분께 공급되고 있습니다.

정제 방법

- Bio-RP, HPLC, PAGE 등의 다양한 정제방법을 선택할 수 있습니다.
- 바이오니아는 Bio-RP 정제를 무료로 서비스를 제공합니다.
- 언제든지 고객의 실험에 맞는 올리고의 정제 방법을 상담해 드립니다.

Bio-RP 정제

합성기에서 올리고를 합성해 나가는 과정 중 coupling monomer로 사용되는 phosphoramidite는 5'-OH 그룹이 DMT기로 보호되어 있는데 이는 합성 과정 중 연속 coupling 반응이 일어나는 것을 방지하기 위해서입니다. 합성기 상에서 올리고 합성의 마지막 cycle이 끝난 뒤 DMT기를 떼어내지 않고 합성 과정을 완료하면 ('trityl-on' mode) 원하는 길이의 N-mer 올리고에만 5'-DMT기가 붙어있고 나머지 부산물들인 N-1, N-2, N-3…mer에는 DMT기가 붙어있지 않은 상태로 합성이 완료됩니다. 바이오니아의 연구진은 hydrophobic한 DMT기에 강하게 부착되는 RP resin을 개발하고 컬럼 공정을 자동화한 'Bio-RP 정제 방법'을 개발하였습니다.
Bio-RP 정제 방법을 통해 원하는 N-mer 올리고만 효율적으로 분리하고 N-1, N-2, N-3…mer 들을 제거함으로써 고순도의 N-mer 올리고를 제공합니다.

HPLC 정제

Cloning, site directed mutagenesis 또는 quantitative gene detection 등의 실험을 수행할 때에는 고순도의 합성 올리고가 필요합니다. 이 경우, desalting이나 Bio-RP 정제만으로는 충분하지 않은 경우가 많습니다. 고순도의 올리고로 정제하기 위해서는 HPLC 방법을 자주 사용하며, 정제 resin으로는 anion-exchange resin 또는 reversed-phase resin이 사용됩니다. Anion-exchange chromatography는 30 mer 가량의 올리고 정제에 적합하며 90% 이상의 순도를 나타냅니다. RP-HPLC를 사용한 정제도 anion-exchange HPLC를 사용했을 때와 유사한 정제 효율을 나타냅니다. 두 방법 모두 합성 올리고의 길이에 따라 정제 효율이 영향을 받기 때문에 보통 35 mer 이상의 합성 올리고는 고순도로 정제하기가 어렵습니다.

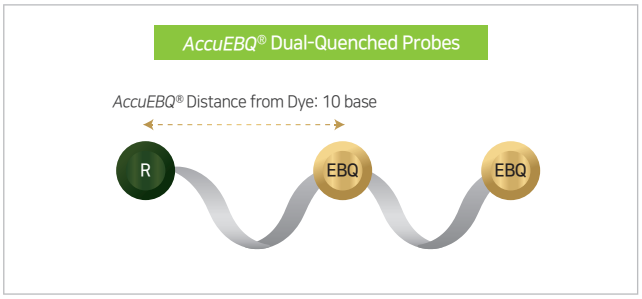
PAGE 정제

긴 올리고를 고순도로 정제할 때 사용하는 방법입니다. Polyacrylamide gel에 전기영동하여 보통 130 mer 정도까지 분리할 수 있으며 정제 후 순도는 95% 이상입니다. 전기영동을 이용한 정제방법은 매우 높은 분리능을 가지지만, 정제된 올리고를 얻기 위해서 gel상에서 원하는 밴드를 잘라 추출해야 하고, 또한 desalting 과정을 거쳐야 하므로 최종 수율이 낮아집니다.

AccuEBQ® Probes

제품 개요

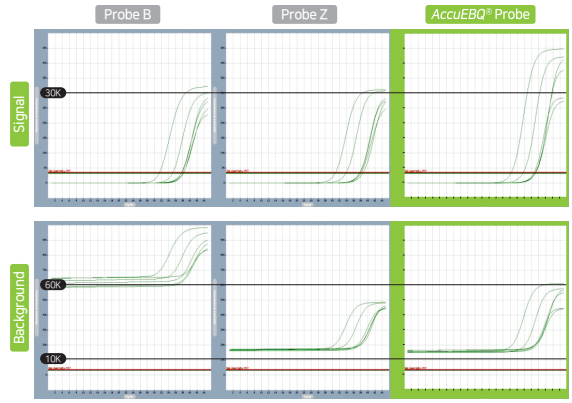
AccuEBQ® Probes는 5'Reporter Dye와 3'EBQ Quencher의 염기서열 중간(10번~11번 사이)에 EBQ Quencher를 추가하여 25 base 이상의 긴 Probe에서 형광 제어(dye quenching)의 효율성을 높인 제품입니다.



Dual-Labeled Probes의 경우, 25 base 이상의 긴 Probe sequence로 디자인할 경우 형광 제어(dye quenching)의 효율성이 다소 떨어질 수 있습니다. 이러한 문제를 해결하기 위해 *AccuEBQ*® Probes는 Internal 위치에 EBQ Probes를 추가하여 5'Reporter Dye와 3'Quencher의 거리를 단축시키고, 3'EBQ quencher와 함께 전체적으로 높은 형광제어를 제공하여 qPCR 실험 시 background를 낮춰주고 signal detection을 증가시킵니다.

실험 자료

실험으로 입증된 *AccuEBQ*® Probe의 높은 성능
(SCV-2122_E gene_probe 비교)



	Probe B			Probe Z			*AccuEBQ*® Probe		
Conc. (cp/test)	E gene		Ave.	E gene		Ave.	E gene		Ave.
RNA 10^4	29.92	-	29.92	29.19	-	29.19	28.63	-	28.63
RNA 10^3	33.58	-	33.58	32.09	-	32.09	31.77	-	31.77
RNA 10^2	36.58	36.06	36.32	35.26	35.89	35.58	35.13	34.92	35.03
RNA 50	37.76	36.41	37.09	36.01	36.85	36.43	35.28	36.79	36.04

(SCV-2122_E gene_probe, 사용 template: NCCP CoV RNA)

주문 정보

Modification		
5' Reporter Dye(s)	Internal Quencher	Quencher
Cyanine3	i-EBQ (10~11 base 사이 권장)	EBQ
Cyanine5		
FAM		
HEX		
JOE		
ROX		
TAMRA		
TET		
Texas Red		

Standard Oligonucleotide

제품 개요

Standard oligonucleotide 합성 서비스는 130 mer 이하의 올리고 합성 서비스입니다. 다양한 합성 스케일을 선택할 수 있으며 정제 방법 또한 용도에 따라 Bio-RP, HPLC 또는 PAGE 등 다양하게 선택 가능합니다.

특장점

▪ 철저한 품질관리

MALDI-TOF Mass Spectrometer를 사용하여 QC 전수 검사 시행합니다.

▪ 고품질의 올리고

Bio-RP 초고순도 정제 시스템으로 N-1 mer를 포함한 truncated failures 제거, clean room에서 생산함으로써 DNase, RNase, DNA free 상태로 제공합니다.

▪ 정확한 농도

자동 정량 분주기와 *AccuOligo*® 기술을 적용한 정확한 농도의 올리고를 제공합니다.

▪ 자동화 생산

세계 최초로 자동화 생산 라인 공정을 구축하여 주문부터 합성, 검수, 포장까지 전 공정을 자동화하였습니다.

▪ 대량생산능력

1일 30,500개의 합성 유전자 생산 가능합니다.

▪ 경제적인 가격

원재료 자체 생산으로 안정적인 납기와 품질의 균일성을 보장합니다.

정제 방법

용도에 따른 정제 방법

용도	정제 방법		
	Bio-RP	PAGE	HPLC
Standard PCR / RT -PCR	√		
Multiplex PCR	√	√	
Real-Time PCR		√	
Sequencing	√		
Genotyping / SNP		√	
Cloning (e.g. chemical linkers)		√	√
Mutagenesis		√	√
Gene Synthesis			√
DNA Microarray Probes	√	√	
Antisense		√	
Primer Extension	√	√	
cDNA Library Generation	√		
End Labelling & FISH		√	
Northern & Southern Blotting	√	√	
Gel Shift Assay		√	√

제품 규격/사양

합성 스케일 (nmole)	25, 50, 200, 1,000, 10,000, 15,000
최대 합성 길이	5-130 mer
선택 가능한 정제 방법	Bio-RP, HPLC, PAGE
QC & QA	MALDI-TOF Mass Spectrometer & 50 mer 이상 PAGE GEL QC

보장량

- 올리고의 합성 수율은 염기의 구성, 정제 방법, 올리고 길이, 합성 스케일 또는 modification 여부에 따라 달라질 수 있습니다.
- 최저 올리고 공급 수율을 '기준 수율'로 정하여 기준 수율 이상을 공급하고 있습니다.

합성 스케일 (nmole)	최소 보장량 O.D. 20 base 기준		
	Bio-RP	PAGE	HPLC
25	2	1	1.5
50	4	2	2.5
200	8	6	7
1,000	30	18	25
10,000	300	150	200
15,000	문의		

품질 보증

- DMT-monitoring QC, PAGE QC, HPLC QC 방법이 일반적이지만 모두 간접적인 방법이기 때문에, fail 올리고 및 modification 성공률 등을 정확히 확인할 수 없습니다.
- MALDI-TOF (Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time of Flight) Mass Spectrometer를 이용하면 올리고의 정확한 분자량을 측정할 수 있으므로 기존 방법들과 달리 합성 올리고의 정확한 품질을 평가할 수 있습니다.
- 7대의 MALDI-TOF Mass Spectrometer를 도입하여 모든 올리고를 MALDI-TOF QC하여 고품질의 올리고를 공급합니다.
- MALDI-TOF QC를 수행한 QC Data (합성 올리고 sheet)를 제공함으로써 올리고의 분자량을 직접 확인할 수 있습니다.

배송 안내

PAGE, HPLC 정제 올리고 및 modification 올리고를 제외하고는 주문 후 이틀 이내 발송을 원칙으로 합니다.
(재합성 또는 택배회사의 운송 스케줄에 따라 배송이 지연될 수도 있습니다.)

당일 배송 서비스

주문한 올리고를 익일 수령할 수 있는, 빠르고 편리한 '당일 배송 서비스'를 운영하고 있습니다.

서비스 대상	Bio-RP 정제 올리고	
	35 mer 이하	45 mer 이하
주문 접수 시간	월-목, 8시~17시 주문 건	월-목, 8시~15시 주문 건
배송 시간	주문 익일 오후 3시-6시 사이 수령 (운송업체의 사정으로 납품이 지연될 수 있습니다.)	
Set-up Charge 또는 운송료	33,000~55,000(VAT 별도) 청구(일부 지역에서는 운송료 추가 비용이 발생할 수 있습니다.)	

주문 정보

합성 스케일 (nmole)	합성 가능 Base 수 (mer)	보장량 (O.D.) 20 base 기준			소요 기간 (일)		
		Bio-RP	PAGE	HPLC	Bio-RP	PAGE	HPLC
25	15-34	2	1	1.5	2	3	3
50	10-75	4	2	2.5			
200	5-110	8	6	7			
1,000	5-130	30	18	25			
10,000	5-50	300	150	200			
15,000	5-50	문의			3	4	4

* Sequencing , Cloning 실험용 primer는 PAGE 정제를 권장해 드립니다.

부가 서비스

Post-Handling		
농도 맞춤 서비스 - 기본	농도 맞춤 서비스 - 고객 맞춤	Bar-code Label
플레이트 분주 서비스	올리고 혼합 서비스	96 Well 개별 튜브 라벨링
고객 맞춤 플레이트 서비스	Double strand (Annealing service)	Circular ssDNA service
MALDI-TOF (QC)	MALDI-TOF (SNP or genotyping)	고객 맞춤형 base(A,C,G,T) 혼합 서비스

HT-Oligo™ (High Throughput Oligonucleotide)

제품 개요

HT-Oligo™ 합성 서비스는 여러 개의 올리고를 한 번에 합성하실 때 유용한 서비스입니다. 바이오니아는 대량 올리고를 합성할 수 있는 시스템을 자체 개발하였습니다. 한 번에 합성하는 수가 96개 이상일 경우 해당 서비스를 이용하시면 합리적인 가격으로 빠르게 올리고를 구매하실 수 있습니다.

제품 규격/사양

합성 스케일 (nmole)	25, 50, 200, 1,000, 10,000, 15,000
최대 합성 길이	5-130 mer
선택 가능한 정제 방법	Bio-RP, HPLC and PAGE
QC & QA	MALDI-TOF Mass Spectrometer & 50 mer 이상 PAGE GEL QC

주문 정보

합성스케일 (nmole)	합성 가능 Base 수 (mer)	보장량 (O.D.) 20 base 기준			소요 기간 (일)		
		Bio-RP	PAGE	HPLC	Bio-RP	PAGE	HPLC
25	15-34	2	1	1.5	2	3	3
50	10-75	4	2	2.5			
200	5-110	8	6	7			
1,000	5-130	30	18	25			
10,000	5-50	300	150	200	문의		
15,000	5-50	문의					

Modification Oligonucleotide

제품 개요

Modification Oligo 서비스는 Biotin-labeled primer부터 Real-time PCR에 사용되는 다양한 fluorescence-labeled primer까지 수십 종의 3′,5′ 또는 internal modification oligonucleotide 합성 서비스를 제공하고 있습니다. 바이오니아의 연구진은 다양한 종류의 modification oligonucleotide를 만들기 위해 최선을 다하고 있습니다.

보장량

Modification oligonucleotide 합성용 phosphoramidites는 modification 종류에 따라 합성 coupling yield 차이가 있어, 공급량이 상이할 수 있습니다.

배송 안내

모든 Modification oligonucleotide는 주문일로부터 4 영업일 내에 발송합니다.

주문 정보

합성 스케일 (nmole)	합성 가능 Base 수 (mer)	보장량 (O.D.)	소요 기간 (일)
50	10-75	Modification 종류에 따라서 공급량 상이	4
200	5-110		
1,000	5-50		
10,000	5-50		
15,000	5-50		

Dual-Labeled Probes

제품 개요

Dual-Labeled Probe는 일반적으로 5' 말단에 fluorescent dye가 위치하고 3' 말단에 quencher가 위치하여 Real-Time PCR에 사용됩니다. MALDI-TOF Mass Spectrometer QC 방법 및 Fluoroskan을 이용한 형광 테스트를 수행하여 고품질을 보장합니다. 또한, 해외 주문보다 빠른 배송 및 저렴한 가격으로 디자인 서비스를 제공합니다.

배송 안내

모든 Dual-Labeled Probe는 주문일로부터 4~5 영업일 내에 발송됩니다.

주문 정보

합성 스케일 (nmole)	합성 가능 Base 수 (mer)	보장량 (O.D.)	소요 기간 (일)
50	10-75	Modification 종류에 따라서 공급량 상이	4~5
200	5-110		
1,000	5-50		
10,000	5-50		
15,000	5-50		

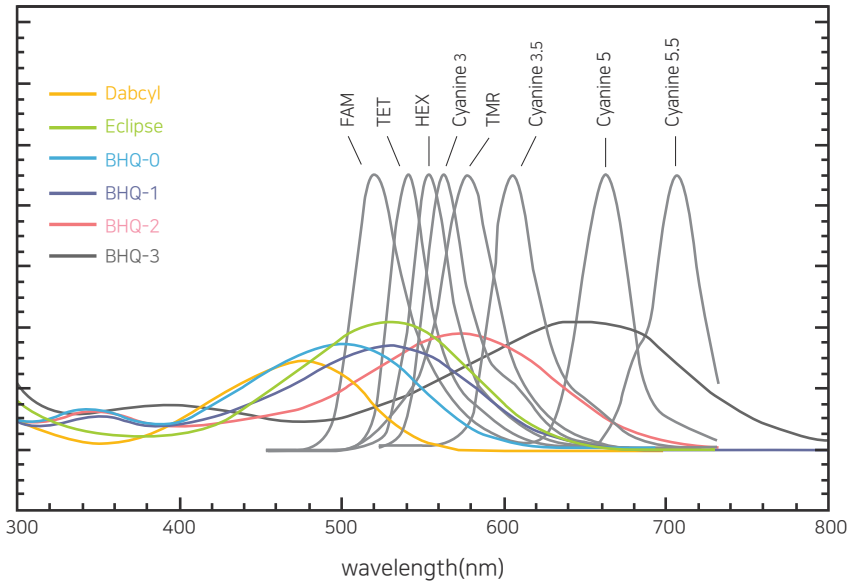
Spectra of Fluorescent Dyes

Dye	Excitation Max (nm)	Extinction Coefficient (L/mole · cm)	Emission Max (nm)
6-FAM	494	83,000	520
Fluorescein-dT	494	83,000	522
TET	521	73,000	541
HEX	535	73,000	553
TAMRA	556	91,000	580
Cyanine3	546	150,000	563
Cyanine3.5	581	150,000	596
Cyanine5	646	250,000	662
Cyanine5.5	675	250,000	694
Cyanine7	743	250,000	767
JOE	529	71,000	555
ROX	588	82,000	608
Texas Red	598	116,000	617
NED	546	-	575
VIC	538	-	554
IR700	685	170,000	705
IR800	787	200,000	807
Rhodamine 6G	524	116,000	550
DABCYL	478	32,000	-
BHQ-1	534	34,000	-
BHQ-2	579	38,000	-

Reference: UV/ Visible spectra of the variety of dyes (emission) and quenchers currently available.

Dual-Labeled Probes

Combination of Dual-Labeled Probe



Dye	Excitation Max (nm)	Emission Max (nm)	Compatible Quencher				
			DABCYL	TAMRA	BHQ1	BHQ2	EBQ
6-FAM	494	520					
JOE	529	555					
TET	521	541					
HEX	535	553					
VIC	538	554					
Cyanine3	546	563					
NED	546	575					
TAMRA	556	580					
Cyanine3.5	581	596					
ROX	588	608					
Texas Red	598	617					
Cyanine5	646	662					
Cyanine5.5	675	694					

Dual-Labeled Probes

Dual-Labeled Probe

Modification		
5'-HEX-3'-TAMRA	5'-TAMRA-3'-BHQ1	5'-Cyanine3-3'-BHQ2
5'-TET-3'-TAMRA	5'-ROX-3'-BHQ1	5'-FAM-BHQ1-dT-Amine-3'
5'-JOE-3'-TAMRA	5'-Texas Red-3'-BHQ1	5'-FAM-Tamra-dT-PO4-3'
5'-FAM-3'-DABCYL	5'-Cyanine3-3'-BHQ1	5'-FAM-3'-EBQ
5'-HEX-3'-DABCYL	5'-FAM-3'-BHQ2	5'-HEX-3'-EBQ
5'-TET-3'-DABCYL	5'-HEX-3'-BHQ2	5'-TET-3'-EBQ
5'-TAMRA-3'-DABCYL	5'-TET-3'-BHQ2	5'-JOE-3'-EBQ
5'-JOE-3'-DABCYL	5'-JOE-3'-BHQ2	5'-TAMRA-3'-EBQ
5'-FAM-3'-BHQ1	5'-TAMRA-3'-BHQ2	5'-ROX-3'-EBQ
5'-HEX-3'-BHQ1	5'-ROX-3'-BHQ2	5'-Texas Red-3'-EBQ
5'-TET-3'-BHQ1	5'-Texas Red-3'-BHQ2	5'-Cyanine5-3'-EBQ
5'-JOE-3'-BHQ1	5'-Cyanine5-3'-BHQ2	5'-Cyanine3-3'-EBQ

EBQ – Next Generation Dark Quencher Modifications

○ 제품 개요

EBQ (Excellent Bioneer Quencher)는 바이오니아에서 직접 개발한 새로운 개념의 Dark Quencher입니다. EBQ는 기존의 quencher보다 강하고 넓은 흡수 영역을 가지고 있습니다. 이를 바탕으로 Dual-Labeled Probe 영역에서 더 다양한 reporter-dye (fluorophore)를 효율적으로 제어(quenching) 할 수 있습니다. 또한, 온도 및 pH 변화에도 안정한 구조를 가지고 있습니다. 분자진단, 의학, 약학 및 생물학 관련 연구에서 관련 대상 물질을 탐지하는데 매우 효율적으로 사용할 수 있습니다.

○ 특장점

▪ 광범위한 파장 범위

FAM부터 Cyanine5.5까지 커버 가능한 400~700 nm의 넓은 흡수 파장 영역(최대 흡수 파장 570 nm)을 가집니다.

▪ 높은 안정성

온도와 pH 변화에 대해서 구조적으로 안정합니다.

▪ 다양한 dye 적용

Marina Blue, Pacific Blue, Oregon Greens, Cyanine dyes, AMCA, Bodipy계열 Dye, Fluorescein 계열, FAM, JOE, TET, HEX, VIC, Cyanine3, NED, TAMRA, Cyanine3.5, ROX, Texas Red, Cyanine5, Cyanine5.5등 400-700 nm 파장 dye.

○ 응용 분야

Real-Time PCR, RT-qPCR, Molecular diagnostics, *in situ* hybridization, etc.

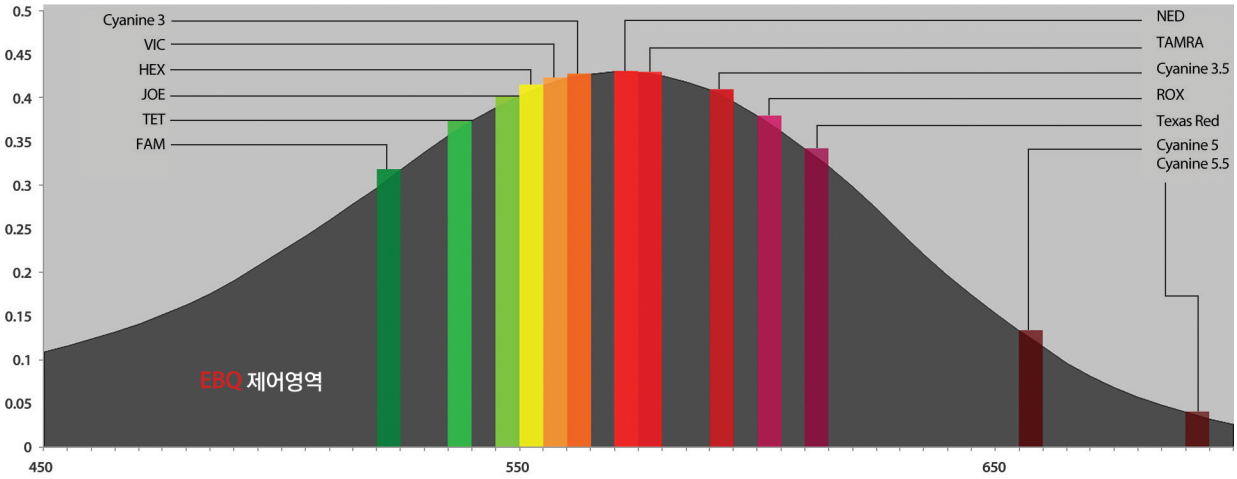


Figure 1. EBQ로 형광제어 (quenching) 가능한 reporter-dye 종류.

EBQ – Next Generation Dark Quencher Modifications

○ 제품 규격/사양

EBQ는 기존의 quencher보다 강하고 넓은 흡수 영역을 가지고 있습니다. 아래 비교 자료는 기존 두 quencher의 형광 제어(quenching) 영역을 EBQ 하나로 형광 제어가 가능함을 보여줍니다(Figure 2).

Table 1. S1 nuclease 처리를 통한 형광제어(quenching efficiency)효과 비교.

Dual-Labeled Probe	Fluorescence Signal Intensity			Efficiency (%)
	Before	After	Difference	
EBQ-FAM	4.41	93.17	88.76	113.0
BHQ1-FAM	4.20	82.74	78.54	100.0

FAM-Excitation: 494 nm, Emission: 520 nm, ROX-Excitation: 588 nm, Emission: 608 nm

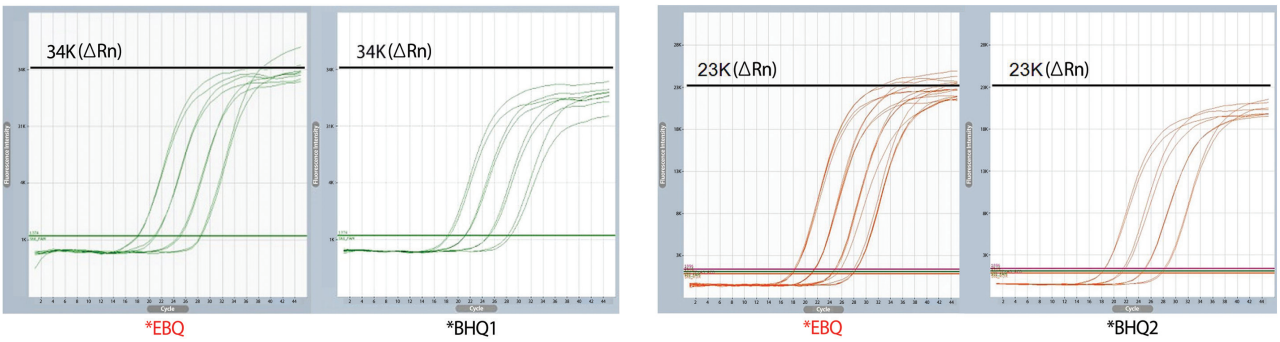


Figure 2. Real-Time PCR에서 ΔRn값 측정을 통한 형광 제어(quenching efficiency) 효과 비교.
ΔRn value= a fluorescence quenching capacity of quencher at Real-Time PCR

○ 주문 정보

Modification	소요 기간 (일)
5'-FAM-3'-EBQ	4-5
5'-HEX-3'-EBQ	
5'-TET-3'-EBQ	
5'-JOE-3'-EBQ	
5'-TAMRA-3'-EBQ	
5'-ROX-3'-EBQ	
5'-Texas Red-3'-EBQ	
5'-Cyanine5-3'-EBQ	
5'-Cyanine3-3'-EBQ	

Extendamers™

제품 개요

Extendamers™ (Long oligonucleotides) 합성 서비스는 130-200 mer에 이르는 긴 길이의 올리고를 합성해 드리는 서비스입니다. 합성된 *Extendamers*™는 바이오니아가 자체 개발한 Bio-RP resin을 이용하여 정제하여 공급하며, 고순도 정제를 원할 경우에는 PAGE 정제도 가능합니다. *Extendamers*™는 cloning, shRNA, gene construction 등의 용도로 적합하며, 전체 target fragment를 합성함으로써 application 중 발생하는 에러를 줄일 수 있고 많은 비용과 시간을 절약할 수 있습니다.

특장점

- 130-200 mer에 이르는 긴 길이의 올리고를 합성해 드립니다.
- 다양한 Modification *Extendamers*™ (Long oligonucleotides) 서비스가 가능합니다.
- Cloning, shRNA 또는 gene construction에 사용하기 적합합니다.
- Bio-RP *Extendamers*™는 5~6일, PAGE *Extendamers*™는 7~8일 이내 배송됩니다.

제품 규격/사양

Coupling Efficiency	99.0% 이상
최대 합성 길이	130-200 mer
정제 방법	Bio-RP, PAGE
QC & QA	PAGE Gel QC

Extendamers™ Modification

Modification
5'-Phosphate
5'-Biotin
5'-Amine
5'-Fluorescein
5'-Tamra
Inosine

*130 mers 이상의 올리고는 *Extendamers*™ (Long oligonucleotides)의 합성 가격이 적용됩니다.

주문 정보

합성 가능 Base 수 (mer)	보장량 (O.D.)		소요 기간 (일)	
	Bio-RP	PAGE	Bio-RP	PAGE
130-200	3-4	0.25-0.3	5~6	7~8

Large Scale Oligonucleotide

제품 개요

Large Scale Oligonucleotide (Bulk Oligo)는 15,000 nmol scale 이상의 올리고 합성 서비스입니다. 자체 개발한 bulk 올리고용 합성기로 g 단위에서 kg 단위까지 합성이 가능하며, 올리고 합성 기술 및 특수 정제 기술을 확보하고 있습니다.

제품 규격/사양

합성 스케일	50 mg ~ 1 g
최대 합성 길이	5-35 mer
정제 방법	Bio-RP, PAGE
QC & QA	MALDI-TOF Mass Spectrometer

주문 정보

보장량 (mg)	합성 가능 Base 수 (mer)	소요 기간 (일)	
		Bio-RP	HPLC
50	5~50	10	10
100			
250			
1,000			

Custom RNA Oligonucleotide

제품 개요

Custom RNA Oligonucleotide는 고객이 제공하는 RNA sequence를 double strand RNA 또는 single strand RNA로 합성해 드리는 서비스입니다. 정제 방법으로는 Bio-RP, HPLC 정제를 선택하실 수 있으며, 최대 32 종류의 서로 다른 3' overhang 선택을 포함하여 원하는 sequence에 다양한 modification이 가능합니다. 그 외에 annealing 유/무, dry 또는 ready-to-use 등의 선택해 주신 옵션에 따라 최종적으로 RNA를 제공합니다.

주문 정보

Custom RNA Synthesis

카탈로그 번호	보장량 (nmole)	Base Limitation (mer)
SR-1001	10	5~30
SR-1002	20	
SR-1003	50	
SR-1004	100	
SR-1005	10	31~85
SR-1006	20	
SR-1007	50	
SR-1008	100	

Modification available for Custom RNA

5' Modification			
Fluorescein	Cyanine3	Texas Red	Cholesterol
Phosphorylation	Cyanine5	Hexynyl	triphosphate
Biotin	PEG 2000	ROX	Folic Acid
Amine	Azide	Alexa488	Methylene blue
TAMRA	BHQ1,BHQ2	Dabyl	Cyanine5.5
Thiol	DBCO	DIG	
3' Modification			
Fluorescein	DABCYL	Cyanine5	Methylene blue
Phosphorylation	Cholesterol	BHQ1,2	Maleimide
Biotin	PEG 2000	Puromycin	Cyanine5.5
Amine	2',ddC	Inverted dT	
TAMRA	Cyanine3	EBQ	
Thiol	Biotn-TEG	dA	
Internal Modifications			
Phosphorothioate	Deoxy-abase	U : deoxy-Uridine	Zebularine
2'-OMe	C18 atom spacer	4-thio-rU	N6-methyl-2'-dA
2'-F(N)	Cyanine5-dA	C3 spacer	Chimeric DNA
Inosine	rSpecer		

Premade Primers

○ 제품 개요

바이오니아만의 합성 유전자 생산 기술을 바탕으로 고객이 원하는 진단 및 연구용 premade primer를 130 여종 이상 합성하여 상용화하였습니다. 일반 실험자 및 모든 연구 영역에서 바이오니아의 premade primer로 연구할 수 있습니다.

○ 주문 정보

1. General Research Primer

- 정제 방법(Purification): PAGE Purification
- 제공 형태(Formats): 2 nmole of oligo in 1.5 ml tubes

Human HLA Polymorphism Study

카탈로그 번호	제품명
N-1043	HUMAN LEUCOCYTE ANTIGEN (HLA), DP-ALPHA / 290 (bp)
N-1045	HUMAN LEUCOCYTE ANTIGEN (HLA), DQ-ALPHA / 139 (bp)
N-1046	HUMAN LEUCOCYTE ANTIGEN (HLA), DQ-BETA / 212 (bp)

Human Cytokines & Growth Factors

카탈로그 번호	제품명
N-1047	HUMAN T-CELL SURFACE MARKERS, CD4 (T4) / 169 (bp)
N-1048	HUMAN T-CELL SURFACE MARKERS, CD8 (LEU-2/T8) / 287 (bp)
N-1049	HUMAN ENDOTHELIAL CELL GROWTH FACTOR (ECGF) / 153 (bp)
N-1050	HUMAN EPIDERMAL GROWTH FACTOR (EGF) / 107 (bp)
N-1051	HUMAN EPIDERMAL GROWTH FACTOR RECEPTOR / 216 (bp)
N-1052	HUMAN GRANULOCYTE COLONY STIMULATING FACTOR (GM-CSF) / 424 (bp)
N-1053	HUMAN INTERFERON-ALPHA / 283 (bp)
N-1054	HUMAN INTERFERON-BETA / 282 (bp)
N-1055	HUMAN INTERFERON-GAMMA / 397 (bp)
N-1056	HUMAN INSULIN-LIKE GROWTH FACTOR (IGF) / 471 (bp)
N-1057	HUMAN INTERLEUKIN 1-ALPHA (IL-1-alpha) / 442 (bp)
N-1058	HUMAN INTERLEUKIN 1-BETA (IL-1-beta) / 426 (bp)
N-1059	HUMAN INTERLEUKIN 2 (IL-2) / 398 (bp)
N-1060	HUMAN INTERLEUKIN 3 (IL-3) / 358 (bp)
N-1061	HUMAN INTERLEUKIN 4 (IL-4) / 375 (bp)
N-1062	HUMAN INTERLEUKIN 5 (IL-5) / 202 (bp)
N-1063	HUMAN INTERLEUKIN 6 (IL-6) / 486 (bp)
N-1064	HUMAN INTERLEUKIN 7 (IL-7) / 454 (bp)
N-1065	HUMAN INTERLEUKIN 8 (IL-8) / 300 (bp)
N-1066	HUMAN INTERLEUKIN 2 RECEPTOR / 282 (bp)
N-1067	HUMAN INTERLEUKIN 6 RECEPTOR / 203 (bp)
N-1068	TRANSFORMING GROWTH FACTOR (TGF)-ALPHA / 263 (bp)
N-1069	TRANSFORMING GROWTH FACTOR (TGF)-ALPHA / 256 (bp)
N-1070	TRANSFORMING GROWTH FACTOR (TGF)-BETA / 161 (bp)
N-1071	TRANSFORMING GROWTH FACTOR (TGF)-BETA / 228 (bp)
N-1072	HUMAN TUMOR NECROSIS FACTOR (TNF) - ALPHA / 518 (bp)
N-1073	HUMAN TUMOR NECROSIS FACTOR (TNF) - BETA / 179 (bp)

Premade Primers

Oncogene & Drug Resistant Gene

카탈로그 번호	제품명
N-1074	HUMAN P53 GENE, RNA / 430 (bp)
N-1075	HUMAN K-RAS ONCOGENE / 112 (bp)
N-1076	HUMAN DRUG RESISTANT, H-RAS 1 GENE / 542 (bp)
N-1077	HUMAN DRUG RESISTANT, DNA POLYMERASE BETA GENE / 128 (bp)
N-1078	HUMAN DRUG RESISTANT, FOS GENE / 122 (bp)
N-1079	HUMAN DRUG RESISTANT, THYMIDYLATE SYNTHASE GENE / 171 (bp)

Miscellaneous Oligo

카탈로그 번호	제품명
N-1080	HUMAN BETA-ACTIN, RNA / 300 (bp)
N-1082	HUMAN Y CHROMOSOMAL TESTIS-EXPRESSED PROTEIN / 799 (bp)
N-1083	HUMAN Y CHROMOSOME, SPECIFIC (SRY) REGION / 419 (bp)

Mouse Cytokines & Growth Factors

카탈로그 번호	제품명
N-4003	MOUSE T CELL SURFACE MARKER, CD4 (L3T4) / 239 (bp)
N-4004	MOUSE T CELL SURFACE MARKER, CD8 (LYT-2) / 251 (bp)
N-4005	MOUSE GRANULOCYTE COLONY STIMULATING FACTOR (GM-CSF) / 258 (bp)
N-4006	MOUSE INTERFERON-GAMMA / 244 (bp)
N-4007	MOUSE INTERFERON-GAMMA / 397 (bp)
N-4008	MOUSE INTERLEUKIN 1-ALPHA (IL-1-ALPHA) / 309 (bp)
N-4009	MOUSE INTERLEUKIN 1-BETA (IL-1-BETA) / 291 (bp)
N-4010	MOUSE INTERLEUKIN 2 (IL-2) / 222 (bp)
N-4011	MOUSE INTERLEUKIN 3 (IL-3) / 293 (bp)
N-4012	MOUSE INTERLEUKIN 5 (IL-5) / 243 (bp)
N-4013	MOUSE INTERLEUKIN 6 (IL-6) / 155 (bp)
N-4014	MOUSE INTERLEUKIN 10 (IL-10) / 417 (bp)
N-4015	MOUSE TUMOR NECROSIS FACTOR (TNF) - ALPHA / 300 (bp)
N-4016	MOUSE TUMOR NECROSIS FACTOR (TNF) - ALPHA / 366 (bp)
N-4017	MOUSE TUMOR NECROSIS FACTOR (TNF) - ALPHA / 368 (bp)
N-4018	MOUSE TUMOR NECROSIS FACTOR (TNF) - BETA / 355 (bp)
N-4019	MOUSE TUMOR NECROSIS FACTOR (TNF) - BETA / 316 (bp)
N-4020	MOUSE TUMOR NECROSIS FACTOR (TNF) - BETA / 387 (bp)

Miscellaneous Mouse Oligo

카탈로그 번호	제품명
N-4021	MOUSE BETA-ACTIN, RNA / 395 (bp)

2. Sequencing Primer

- 정제 방법(Purification): PAGE Purification
- 제공 형태(Formats): 2 nmole of oligo in 1.5 ml tubes

pBR322 Sequencing Primers

카탈로그 번호	제품명
N-8101	pBR322, *Eco*R I Primer (cw) / 16 mer
N-8102	pBR322, *Hin*d III Primer (cw) / 16 mer
N-8103	pBR322, *Pst* I Primer (cw) / 16 mer
N-8104	pBR322, *Pst* I Primer (ccw) / 15 mer
N-8105	pBR322, *Sal* I Primer (cw) / 15 mer
N-8106	pBR322, *Sal* I Primer (ccw) / 15 mer
N-8107	pBR322, *Bam*H I Primer (cw) / 20 mer
N-8108	pBR322, *Bam*H I Primer (ccw) / 16 mer

RNA Polymerase Promoter Sequencing Primers

카탈로그 번호	제품명
N-8109	SP6 Promoter Primer / 19 mer
N-8110	T7 Promoter Primer / 20 mer

PUC/M13 Sequencing Primers

카탈로그 번호	제품명
N-8112	PUC/M13 (-40) Forward Primer / 17 mer
N-8113	PUC/M13 Reverse Primer / 17 mer
N-8114	PUC/M13 (-47) Forward Primer / 24 mer
N-8115	PUC/M13 Reverse Primer / 22 mer

Lambda gt10 Sequencing Primers

카탈로그 번호	제품명
N-8116	Lambda gt10 Forward Primer / 27 mer
N-8117	Lambda gt10 Reverse Primer / 31 mer

Lambda gt11 Sequencing Primers

카탈로그 번호	제품명
N-8118	Lambda gt11 Forward Primer / 24 mer
N-8119	Lambda gt11 Reverse Primer / 24 mer

Universal Sequencing Primers

카탈로그 번호	제품명
N-8200	T7 Terminator
N-8201	T3
N-8202	SP6
N-8203	EBV-R
N-8204	BGH-rev
N-8205	pGEX5
N-8206	pGEX3

Premade Primers

카탈로그 번호	제품명
N-8207	pQE-forward
N-8208	pQE-reverse
N-8209	EGFP-C
N-8210	EGFP-N
N-8211	RVprimer3
N-8212	RVprimer4
N-8213	GLprimer1
N-8214	GLprimer2
N-8215	CMV-F
N-8216	CMV30
N-8217	CMV24
N-8218	Gal4AD
N-8219	Gal4BD-F
N-8220	Gal4BD-R
N-8221	MATCHMAKER3
N-8222	pBAD-For
N-8223	pBAD-Rev
N-8224	SV40-pArev
N-8225	SV40-pAF
N-8226	malEF
N-8227	27F
N-8228	1492R

3. Random Primer

- 정제 방법(Purification): PAGE Purification
- 제공 형태(Formats): 2 nmole of oligo in 1.5 ml tubes

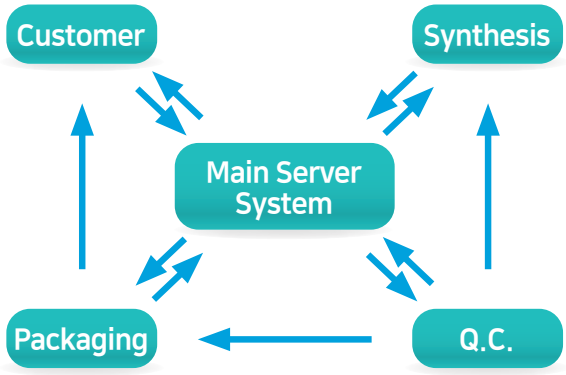
카탈로그 번호	제품명
N-7051	Random Hexamer, pd(N)6
N-7052	Random Nonamer, pd(N)9
N-7053	Oligo dT 20 mer
N-8001-8083	RAPD(Random Amplification Polymorphic DNAs)용 Primer, 10 mer, 83종 (각 1 OD)

QC and Order System

QC System

올리고 자동 정량 분주 시스템 (UV spectrophotometer): 자체 개발한 정량/분주 시스템을 사용합니다.

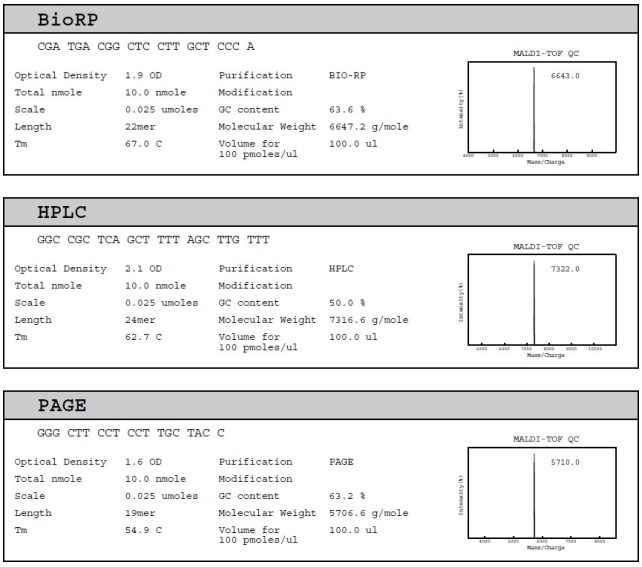
- PAGE (Polyacrylamide Gel Electrophoresis): 합성 유, 무 및 간접적인 순도 측정방법입니다.
- HPLC: 정제와 동시에 N-1 mer (failed oligo)를 확인하는 방법입니다.



MALDI-TOF MS Analysis

- 올리고 mass를 확인함으로써 예상 분자량과 측정 분자량을 분석하여 depurination, N-1 failed oligo, modification success를 확인할 수 있는 장비입니다.
- 일반적인 genomics 연구뿐만 아니라 large scale genomics 연구 (DNA chip, gene-therapy, SNP detection 등)에는 반드시 MALDI-TOF QC 검사를 통과한 올리고를 사용하셔야 합니다.
- 50 mer 미만의 올리고는 모두 MALDI-TOF QC 검사가 진행됩니다.

MALDI-TOF QC Data



BioRP

CGA TGA CGG CTC CTT GCT CCC A

Optical Density	1.9 OD	Purification	BIO-RP
Total nmole	10.0 nmole	Modification	
Scale	0.025 umoles	GC content	63.6 %
Length	22mer	Molecular Weight	6647.2 g/mole
Tm	67.0 C	Volume for 100 pmoles/ul	100.0 ul

MALDI-TOF QC
6643.0

HPLC

GGC CGC TCA GCT TTT AGC TTG TTT

Optical Density	2.1 OD	Purification	HPLC
Total nmole	10.0 nmole	Modification	
Scale	0.025 umoles	GC content	50.0 %
Length	24mer	Molecular Weight	7316.6 g/mole
Tm	62.7 C	Volume for 100 pmoles/ul	100.0 ul

MALDI-TOF QC
7322.0

PAGE

GGG CTT CCT CCT TGC TAC C

Optical Density	1.6 OD	Purification	PAGE
Total nmole	10.0 nmole	Modification	
Scale	0.025 umoles	GC content	63.2 %
Length	19mer	Molecular Weight	5706.6 g/mole
Tm	54.9 C	Volume for 100 pmoles/ul	100.0 ul

MALDI-TOF QC
5710.0

Figure 1. Typical Oligo datasheet with MALDI-TOF Information.

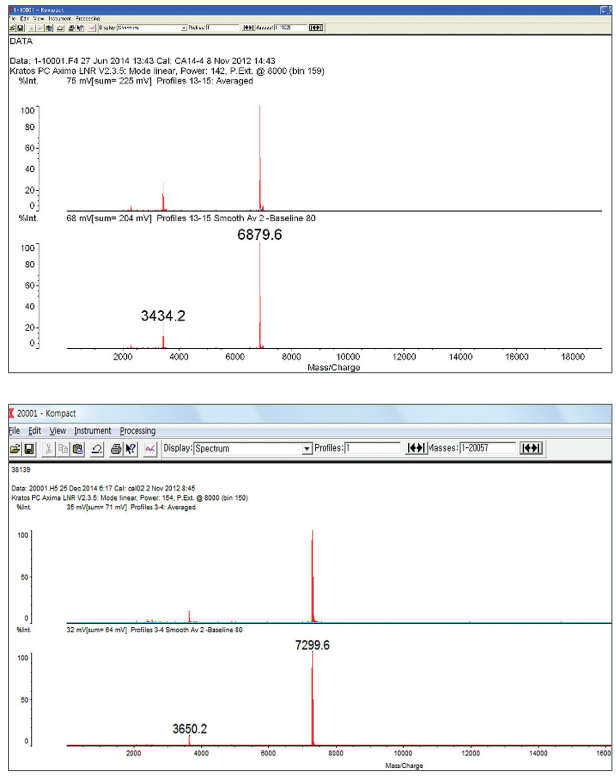


Figure 2. Examples of a typical 30 mer and 23 mer oligo spectrum, in this case employing a Kratos MALDI-TOF system.

Oligo Order System

- 바이오니아 홈페이지에서 주문 접수, 합성, QC 및 발송 여부 등 일련의 진행 과정을 확인할 수 있습니다.
- 고객의 주문 올리고 정보는 비밀 관리됩니다.
- 배송 업체의 화물 추적 시스템을 연결하여, 수령 일정을 미리 확인할 수 있습니다.

Oligonucleotide FAQs

취급 및 보관

1. 올리고는 어떻게 보관하며 얼마나 오래 가나요?

일반적으로 올리고는 -20℃에서 1년 이상 안정합니다.
올리고를 받으신 후에 장기간 사용하시려면 clean bench에서 공기 중의 bio-particle이 들어가지 않도록 주의하여 여러 개의 DNase-free tube에 분주하여 보관하시며 하나씩 꺼내어 사용하시어야 합니다. 특히 RNA Oligo는 공기 중의 bio-particle에 의해 더 쉽게 분해되므로 사용 시에 clean bench에서 뚜껑을 열고 사용하시기 바랍니다. 참고로, 바이오니아의 모든 올리고는 clean room에서 제조되기 때문에 실험실의 bio-particle에 의한 오염이 되지 않으면 장기간 보존이 가능합니다. 일반적으로 DNA는 Fe 이온 같은 미량의 중금속 이온에 의해서도 서서히 분해와 침전이 일어나기 때문에 멸균 증류수에 녹이는 것보다 TE(10 mM Tri-HCl(pH 8.0), 0.1 mM EDTA) Buffer에 녹여두시면 더 오래 보관할 수 있습니다.

올리고 형상 및 보관 방법에 따른 저장 수명

Storage Condition	Shelf Life (Month)
at RT in water	2
at 4℃ in water	9
at -20℃ in water	18
at -20℃ (Dry)	24

2. 올리고는 어떻게 용해시키나요?

Oligo는 일반적으로 건조된 형태로 공급됩니다.
건조된 올리고는 물에 잘 녹지만 올리고의 특이한 sequence에 의해 형성된 구조로 인해 간혹 잘 녹지 않는 경우가 있습니다. 그럴 때는 60~70℃ water bath에 10~15분간 incubation 시킨 후 vortex하여 centrifuge후 사용합니다.

3. 올리고 용액을 상온에서 일주일 이상 방치했는데 괜찮을까요?

앞서 언급하였듯이 공기 중의 bio-particle에 오염되지 않았다면 큰 문제는 없습니다. 오염으로 인한 가수분해가 의심이 되는 경우에는 당사에 MALDI-TOF 분석을 의뢰할 수 있습니다.

4. Fluorescent dye modified 올리고는 어떻게 보관해야 하나요?

유기 형광염료는 빛에 노출되면 서서히 분해가 됩니다. 올리고에 붙인 형광염료도 일반적인 실험실의 빛에 의해서도 서서히 분해가 되므로, 차광이 되는 용기에 넣어서 빛이 들어오지 않는 장소에 보관하시길 권장합니다.

Preferred TE Buffer for Reconstitution & Storage pH for Fluorescent Probes	
6-FAM, HEX, TET, ROX, and TAMRA	TE Buffer pH 7.5 or 8.0
Cyanine3, Cyanine3.5, Cyanine5, and Cyanine5.5	TE Buffer pH 7.0 or 7.5
Cyanine dyes rapidly degrade in acidic pH	

정량, 농도 및 Tm

1. 올리고의 O.D. 값은 무엇을 의미하나요?

합성된 올리고는 sequence에 따라 올리고가 가지고 있는 고유의 흡광계수를 이용하여 빛의 흡광도를 측정하여 정량을 하게 되는데 이때 빛의 흡수량을 O.D. (Optical density) 값으로 표시합니다.

2. 합성 올리고의 양을 O.D. 값으로부터 어떻게 얻어내나요?

합성 올리고를 파장 260 nm의 UV Light에서 O.D. 값을 측정한 뒤 다음과 같은 수식을 이용하여 합성된 올리고의 양을 얻어냅니다.

$O.D. = \varepsilon C$

수식에서 ε (Extinction Coefficient)은 물질이 빛을 흡수하는 정도를 나타내는 상수로 물질에 따라 고유한 값을 가지며 C는 올리고의 농도를 의미합니다. 올리고는 sequence에 따른 고유의 εε값을 계산할 수 있는 수식이 알려져 있어서 각각의 올리고에 해당하는 εε값을 구할 수 있습니다. 그러므로 O.D. 값을 측정하면 상기의 수식에 적용하여 용액의 Concentration, 즉 올리고의 몰농도를 알 수 있게 됩니다.
올리고의 ε 값은 260 nm UV Light에서 각 base의 Extinction Coefficient 값의 (Table 1) 합으로 계산하는 방법과 base 간의 sequence 간섭에 의한 차이를 고려한 Extinction Coefficient 값의 (Table 2) 합으로 계산하는 방법이 있습니다.

Table 1. (Unit: L/mole cm)

dA	15,400
dC	7,400
dG	11,500
dT	8,700

Table 2. (Unit: L/mole cm)

5' → 3'	dA	dC	dG	dT
dA	27,400	21,200	25,000	22,800
dC	21,200	14,600	18,000	15,200
dG	25,200	17,600	21,600	20,000
dT	23,400	16,200	19,000	16,800

3. 다음과 같이 올리고 (3G, 4C, 5A, 6T / GGGCCCCAAAAATTTTTT) 18 mer의 전체 O.D. 값이 0.7이었다면 올리고의 양은 얼마나 되나요?

올리고의 양은 흡광 계수(Extinction Coefficient)를 구하는 방법에 따라 다음과 같이 계산됩니다.

- 위 문항의 (Table 1)에 의한 흡광 계수 (Extinction Coefficient)

= G의 염기개수 * 11500 + C의 염기개수 * 7,400 + A의 염기개수 * 15,400 + T의 염기개수 * 8,700
= 11,500 x 3 + 7,400 x 4 + 15,400 x 5 + 8,700 x 6 = 193.3 (mL/mole)
따라서 O.D. = εC에 대입하여 계산하면

C = 0.7 /193.3 = 0.003621 (mmole/mL) = 3.6 (nmole/mL)이 된다.

- 위 문항의 (Table 2)에 의한 흡광 계수 (Extinction Coefficient)

= (GG + GG + GC + CC + CC + CC + CA + AA + AA + AA + AA + AT + TT + TT + TT + TT + TT) - (G + G + C + C + C + C + A + A + A + A + A + T + T + T + T + T)
= (21600 + 21600 + 17600 + 14600 + 14600 + 14600 + 21200 + 27400 + 27400 + 27400 + 27400 + 22800 + 16800 + 16800 + 16800 + 16800 + 16800) - (11500 + 11500 + 7400 + 7400 + 7400 + 7400 + 15400 + 15400 + 15400 + 15400 + 15400 + 8700 + 8700 + 8700 + 8700 + 8700)
= (342,200) - (173,100)
= 169,100 (mL/mole)
따라서 O.D. = εC에 대입하여 계산하면
C = 0.7 /169.1 = 0.004139562 (mmole/mL) = 4.14 (nmole/mL)가 된다.

자사에서는 (Table 2)에 의한 방법을 도입하여 적용하고 있으며, 이 결과는 Oligo Q.C Report 상의 'Total nmole' 수치로 나타납니다.

4. 합성 올리고의 분자량 (Molecular Weight) 측정은 어떻게 하나요?

다음의 수식에 각 base의 수를 대입하여 계산합니다.
M.W. = (NA x 249.2) + (NC x 225.2) + (NG x 265.2) + (NT x 240.2) + (oligolength-1) x 63.98) + 2.02

NA = Total number of A
NC = Total number of C
NG = Total number of G
NT = Total number of T

5. 합성 Scale의 μg 단위로 변환하는 방법은 어떻게 되나요?

일반적으로 올리고의 합성 scale은 μmole 단위로 신청되며 합성된 결과도 보통 nmole 단위로 report됩니다. 하지만, 사용하고자 하실 때 ng 또는 μg 단위로 하신다면 mole을 g으로 환산하시면 됩니다.
Report에 올리고의 분자량이 표시되기 때문에 쉽게 바꿀 수 있습니다.

분자량 M.W (g/mol) X mole 수 (nmole) = 올리고의 양 (ng)

6. 합성 올리고의 농도 맞추는 방법에 대한 설명

올리고 QC 리포트의 'volume for 100 pmole/μl' 의 의미는, 건조된 올리고를 녹일 때 농도를 100 pmole/μl의 농도로 맞추기 위해 첨가해야 할 TE buffer나 D.W의 양을 의미합니다.

예를 들어,
첨부된 올리고 QC 리포트에 189 라고 적혀 있다면, oligo tube에 D.W or TE-Buffer를 189 μl 첨가했을 때 농도가 100 pmole/μl가 된다는 것입니다. 이때 tube에 들어있는 oligo의 mole 수는 189.0 μl x 100 pmole/μl = 18,900 pmole = 18.9 nmole 입니다.
사용하시는 목적에 따라 primer의 농도를 알맞게 설정하여야 하지만, 일반적으로 PCR이나 sequencing의 경우 많은 실험 protocol 들이 100 pmole/μl 농도를 사용하기 때문에, 당사에서는 100 pmole/μl 농도로 만들기 위한 volume을 제공하고 있습니다.

7. 50 nmole scale로 주문했는데 합성량이 그 보다 적은 이유는 무엇인가요?

50 nmole scale 합성의 의미는 합성 출발 물질의 양을 50 nmole로 하여 합성을 시작한다는 것을 의미합니다. 따라서 합성 및 정제된 최종 올리고의 양은 항상 50 nmole 보다 적은 양이 얻어집니다. 올리고의 길이가 30 mer이고 한 염기를 붙이는 합성 효율(coupling efficiency)이 평균 98%일 때 0.9829 = 0.56 이고 탈보호기 반응과 정제 과정에서 약 50% 이하의 수율로 얻어지므로 최종 수율은 28%인 14 nmole 정도로 얻어집니다.
염기서열이 길어질수록 base coupling 및 deprotection, purification 수율이 급격히 떨어지므로 길이가 긴 올리고의 경우 최종 올리고는 5 nmole 이하로 얻어집니다.

8. 긴 올리고는 정량 하기가 어려운데 어떻게 정확하게 측정할 수 있을까요?

긴 올리고는 self-hybridization으로 인한 hypochromicity로 base의 extinction coefficient를 기반으로 계산한 값보다 낮은 흡광도를 가지게 됩니다. 온도를 올려서 O.D.를 측정하면 이러한 현상을 줄일 수 있지만 강한 self-hybridization을 하고 있는 경우에는 측정값이 실제 농도보다 적을 수 있습니다. 이 경우 temperature scanning spectrophotometer를 사용하면 정확한 농도와 더불어 Melting temperature 도 측정할 수 있습니다. 당사에서는 유료로 분석 서비스를 제공하고 있으니 문의하시기 바랍니다.

9. Morlarity와 mole의 단위변환

농도의 단위는 M(mole/L)을 사용합니다. 유전자 실험에서 아주 적은양의 올리고를 합성해서 사용하므로, μ (micro), n (nano), p (pico) 등의 저농도의 단위들을 주로 사용합니다. 이 단위들에 대해서는 다음을 참조하시기 바랍니다.

10^{-1} = deci [d]
10^{-2} = centi [c]
10^{-3} = milli [m]
10^{-6} = micro [μ]
10^{-9} = nano [n]
10^{-12} = pico [p]
10^{-15} = femto [f]

1 pmole/μl = $1x10^{-12}$ mole / $1x10^{-6}$ L = $1x10^{-6}$ mole / L
= 1 μmole/ L = 1 μM
이므로, μM과 pmole/μl는 같은 단위가 됩니다. 그러므로 저희가 제공하는 올리고 QC 시트에 적힌 양으로 올리고를 녹였을 때, 올리고 농도는 100 μM입니다.

10. 본인이 계산한 올리고의 Tm 값과 바이오니아에서 제공한 Tm 값이 차이가 나는 이유는 무엇인가요?

바이오니아에서 사용하는 Tm calculator는 일반적으로 A, G, C, T의 개수에 일정 값을 곱하기하는 단순한 계산 방식과는 다른 것으로서 A, G, C, T의 배열 순서에 따라서 Tm 값은 차이가 나게 됩니다. 왜냐하면 한 염기의 앞뒤로 인접한 염기들에 따라 hybridization 강도가 영향을 받기 때문입니다. 그러므로 전체 염기서열의 A, G, T, C 각각의 염기 수가 같은 2개의 올리고도, sequence가 다르면 Tm은 다르게 됩니다. 올리고 이중나선의 안정성은 pH와 salt 농도에 의해서도 크게 영향을 받습니다. 특정 pH와 salt 농도에서의 정확한 Tm 값은 temperature scanning spectrophotometer를 사용하여 측정할 수 있습니다. 당사에서는 유료로 분석 서비스를 제공하고 있으니 문의하시기 바랍니다.

11. Degenerated primer와 universal primer의 정의에 대해 알고 싶습니다.

Degenerated primer는 primer의 특정 base 위치에 한 개 이상의 염기서열을 가지고 있는 primer를 의미합니다. 예를 들어, A라는 종(species)에서 a라는 gene의 sequence가 5'-gga ttc ggg ccc gag tct-3'이고, B라는 종에서는 5'-ggc ttc ggg ccc gaa tct-3'이라고 가정한다면, 2개의 gene을 모두 포함하는 sequence는 5'-gg(a/c) ttc ggg ccc ga(g/a) tct-3'이라고 예측할 수 있습니다. (즉, 3번째 염기는 adenine이나 cytosine, 15번째 염기는 guanine이나 adenine) 이와 같은 경우, 이 유전자에 해당하는 degenerate primer는 5'-ggM ttc ggg ccc gaR tct-3' 가 됩니다. 즉, degenerated primer는 sequence의 변이를 고려하여 모든 sequence에 binding할 수 있도록 하나의 위치에 두 가지 이상의 base가 섞여 있는 primer를 말합니다. 이때 합성된 올리고가 포함하고 있는 올리고의 종류 수는 mixed base가 여러 군데 들어가는 경우 각각의 mixed base의 곱하기가 됩니다. 상기 예의 경우는, 두 위치에 각각 두 가지의 base가 있으므로 모두 4종류의 sequence가 섞여 있는 primer 혼합물이 됩니다.

Universal primer는 plasmid등에 공통적으로 들어 있는 sequence를 의미합니다. Cloning작업에서 많이 사용되는 plasmid들은 대부분 pBR322 계열을 기반으로 하여 M13 bacteriophage의 sequence를 이용하여 조금씩 변형된 것들입니다. 예를 들면, T7 promoter나 SP6 promoter, T7 terminator, 혹은 M13 forward/reverse 등입니다. 이런 공통된 sequence에 binding할 수 있도록 design된 것들이 universal primer입니다. 보통 universal primer를 이용하여 vector에 삽입된 DNA fragment를 sequencing합니다.

Modified Oligo

1. Modified Oligo의 종류와 구조를 알고 싶습니다.

올리고의 다양한 응용을 위해서는, 자연계의 DNA, RNA 구조와 다른 modified된 올리고가 필요합니다. 올리고를 modification하기 위해서는 (deoxy)ribose ring을 변형하는 것, base를 변형하는 것, phosphodiester 결합을 바꾸는 것, 5'이나 3' 말단에 conjugate 를 붙이는 여러 가지 방법이 가능합니다. 이러한 모든 변형 방법은 phosphoramidite 방법을 이용하여 올리고 합성기를 통해 변형 올리고를 합성할 수 있습니다. 올리고의 5' 위치에 modification이 필요한 경우는 정해진 염기배열의 올리고 합성이 완료된 후 label phosphoramidite를 사용하여 5' 위치에 결합시킴으로써 올리고의 5' 위치에 label이 부착됩니다.

3'-Modification의 경우는 label이 미리 부착된 고형 지지체로부터 올리고의 합성을 수행하여 3' 위치에 label이 부착된 올리고를 합성할 수 있게 됩니다.

Deoxyuridine base의 5번 탄소 위치에 label을 도입한 phosphoramidite를 이용하면 올리고 합성 시 원하는 sequence 중간에 label을 도입할 수 있어 결과적으로 internal modified 올리고의 합성이 가능하게 됩니다. Modification oligo 종류와 구조는 당사 홈페이지를 참고하시기 바랍니다.

합성 방법

1. 합성된 올리고에는 5' 또는 3' 위치에 phosphate가 붙어있습니까?

주문하실 때 별도로 지시하지 않으면 5' 과 3' 위치에는 -OH 기가 붙어있습니다. 따라서 5' phosphate가 부착된 올리고를 원하시면 5' phosphorylation modification된 올리고를 주문하셔야 합니다.

2. G가 여러 개 반복되는 올리고를 합성할 수 있을까요?

G가 여러 개 반복되는 올리고는 합성에 상당히 어려움이 있습니다.

G가 4개 이상 반복되면 guanine tetraplex (Poon and MacGregor (198) Biopolymers 45:427-434)형태로 aggregation되기 쉽기 때문입니다.

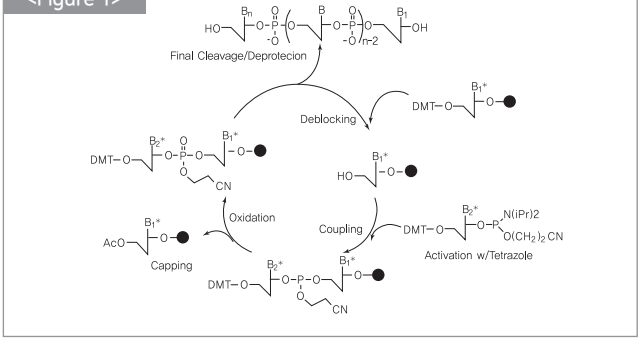
이때는 Inosine을 몇 개의 G 대신 첨가하여 aggregation을 방지할 수 있습니다. 저희 바이오니아는 오랜 합성 경험을 통해 얻은 기술로 10 연속 G가 포함된 올리고도 큰 어려움 없이 합성해 오고 있습니다.

3. 올리고는 어떻게 합성되는지 알고 싶습니다.

Oligonucleotide 합성기에서 가장 보편적으로 사용되는 합성 방법은 Koster에 의해 개발된-cyanoethyl phosphoramidite를 이용하여 DNA 구조의 골격을 이루는 phosphodiester 결합을 연결해가는 'phosphite triester' 방법입니다(Nucl. Acids Res. 1984, 12, 4539; Tetrahedron Lett. 1983, 24,5843). 이를 통해 짧은 시간에 Oligonucleotide를 높은 효율로 합성할 수 있으며(합성 효율: >98%) 합성 시 사용되는 phosphoramidite monomer는 coupling을 위해 활성화되기 전에는 상당히 안정되어 있어 장기 보관도 가능합니다.

합성 과정은 nucleoside가 부착된 고형지지체로부터 시작하여 deblocking, coupling, oxidation, capping 과정으로 이루어지는 cycle을 반복함으로써 원하는 염기서열의 Oligonucleotide를 얻게 됩니다 (Figure 1).

<Figure 1>



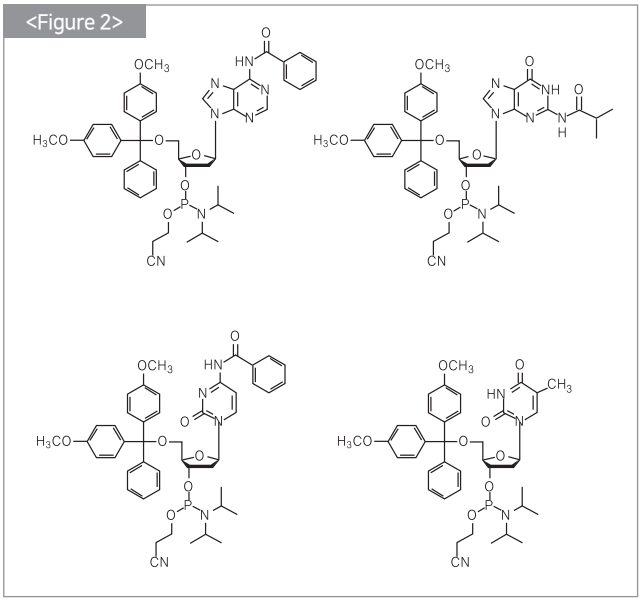
A. Deblocking

합성 cycle의 첫 단계인 deblocking 과정은 고형지지체에 붙어 있는 염기의 5'OH의 보호기인 DMT기를 떼어내는 반응으로, 산성 조건이 요구되어 보통 3% trichloroacetic acid 를 사용합니다. 한편 산성 조건 하에서는 purine 계열 염기와 sugar ring 사이의 결합이 끊어지는 depurination 반응이 일어날 수 있으며 특히 염기가 adenosine 인 경우에는 그 경향이 더 심할 수 있다고 보고되었습니다. Trichloroacetic acid는 매우 강한 산으로 (pKa: ~1.5) deblocking에 사용할 때 depurination 시킬 가능성이 있어 너무 오랫동안 deblocking 반응을 하지 않도록 주의가 요구됩니다. 상기의 문제점을 최소화하기 위해 trichloroacetic acid 대신 약한 산인 dichloroacetic acid 가 쓰이기도 합니다. Deblocking 시 고형지지체로부터 떨어져 나가는 DMT 양이온은 진한 주황색을 띄는데 이의 흡광도를 통해 올리고 합성 시의 결합효율을 측정하는 데에 이용할 수 있습니다.

B. Coupling

Deblocking 과정을 통해 생성된 고형지지체내의 5'-hydroxyl 기는 가해 주는 nucleoside phosphoramidite monomer 와 coupling 반응을 통해 원하는 염기서열의 Oligonucleotide를 합성하게 됩니다. 이때 사용되는 nucleoside phosphoramidite monomer는 Figure 2에서 보듯이 염기 부분의 amine 기는 보통 benzoyl 기(adenosine, cytidine 경우) 또는 isobutyryl 기로(guanosine 경우) 보호되어 있으며 모든 monomer는 5'-hydroxyl 기가 DMT로 보호되어 있어 계속되는 결합 반응의 연결부분 역할을 하게 됩니다(Figure 2).

<Figure 2>



<Figure 2>

사용되는 phosphoramidite 구조 그 자체로는 상당히 안정되어 있으므로 고형지지체의 5'-hydroxyl 기와 결합하기 위해서는 활성화 과정이 필요합니다.

보편적으로 사용되는 activator로는 tetrazole 로서 phosphoramidite와 반응하여 nitrogen 부분을 protonation 시킨 뒤 diisopropyl amino 기를 치환시켜 매우 반응성이 강한 tetrazolide 구조로 변환시킵니다.

결과적으로 반응성이 강한 tetrazolide와 고형지지체의 5'-hydroxyl기 간의 결합 반응을 통해 Oligonucleotide의 phosphite triester 결합이 되는데 이때 약간의 수분이라도 존재하면 반응성이 강한 tetrazolide와 반응하여 원하지 않는 부산물을 생성하여 합성수율을 저하시키기 때문에 coupling 과정에서는 무수 조건이 필수적입니다.

C. Oxidation

Phosphoramidite 와 5'-hydroxyl 기의 coupling 과정을 거쳐 생성된 phosphite triester 구조는 더 안정된 phosphate triester로 변환시키는 과정이 필요하게 됩니다. 이를 위해서는 iodine을 사용한 oxidation 반응이 사용되며 결과적으로 phosphite는 phosphate로 바뀌게 됩니다.

D. Capping

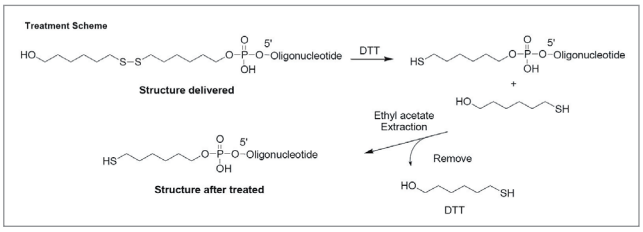
Coupling 반응은 정량적으로는 일어나지는 않기 때문에 (보통 >98%) coupling 후 고형지지체에는 반응하지 않은 5'-hydroxyl기가 남아있게 되는데 이런 올리고가 다음 cycle의 coupling 과정에 반응하게 되면, 한 개의 염기가 deletion 된 배열을 갖는 (N-1) mer 를 생성하는 원인이 됩니다.

이렇게 deletion된 올리고들은 합성 완료 후 원하는 Oligonucleotide의 정제를 어렵게 만들기 때문에 이를 제거하는 것이 중요합니다. 그래서 coupling 과정 후 반응하지 않은 올리고의 5'-hydroxyl기를 더 이상 반응하지 않게 'capping' 할 필요가 있습니다. 이를 위해 acetic anhydride와 N-methylimidazole을 사용하여 acetylation시킴으로써 반응하지 않고 남아있는 고형지지체 내의 5'-hydroxyl기를 capping 시키게 됩니다.

원하는 길이의 Oligonucleotide의 합성은 상기의 과정들을 반복하여 실시함으로써 이루어지며 합성이 완료되면 최종적으로 ammonia 처리를 하여 합성된 Oligonucleotide를 고형지지체로부터 떼어낸 뒤 정제과정을 거쳐 순수한 Oligonucleotide로 얻게 됩니다.

Treatment for Thiol Modified Oligonucleotides

1. Dissolve the dried thiol-modified oligonucleotide (5 O.D. based) in distilled water or an appropriate buffer, e.g. 0.1 M TEAA pH 7.5 (50 µl)



2. Add 10 µl of 1.0 N dithiothreitol (DTT), vortex, then incubate at room temperature for 15 min.
   (1.0 N DTT: 0.01 M Sodium acetate (pH 5.2) 20 ml + 1.545 g DTT dissolve (filtration))
3. Remove excess DTT and unwanted thiol fragments from the thiol-modified oligonucleotide mixture by extracting with ethyl acetate 3 times, using 50 µl per extraction. Discard the upper layer after vortexing the mixture. You must immediately proceed to the next step since the free sulfhydryl group becomes unstable after the removal of DTT.

Anneal complementary pairs of oligonucleotides

General Procedure

1. Mix the concentrated complementary oligonucleotides together at 1:1 molar ratio in a micro centrifuge tube.
2. Dilute the oligonucleotide mixture to a final concentration of 1 pmol/µl with Tris or phosphate buffer containing salts, e.g.10 mM Tris, 0.1 mM EDTA, 50 mM NaCl (pH 8.0) or 100 mM sodium phosphate, 150 mM NaCl, 0.1 mM EDTA (pH 7.5 or 8.0).
3. Anneal the oligonucleotides using one of the annealing methods described below.
4. Aliquot and store at -20℃. The double-stranded DNA probes may be stored at 4℃ for several weeks, given that care is taken to protect the probes from nuclease degradation.

Annealing Methods

- **Option 1**: Anneal with a heating block
1. Incubate the oligonucleotides at 95℃ for 5 min.
2. Gradually reduce the heat until the oligonucleotides have reached room temperature.

- **Option 2**: Anneal with a water bath
1. Boil 400 ml of water in a large glass beaker on a hotplate.
2. Incubate the tube of oligonucleotides in the boiling water for 5 min.
3. Turn off the hotplate, leaving the oligonucleotides in the beaker on the hotplate to slowly cool to room temperature.

- **Option 3**: Anneal with a thermal cycler
1. A thermal cycler allows for convenient and reproducible annealing of oligonucleotides.
2. Use Table 1 as a guide to program your thermal cycler for either a simple or advanced protocol.
3. The notation "-1℃/cycle" indicates a 1℃ decrease in temperature per cycle.
4. Refer to your thermal cycler's Operation Manual or consult the manufacturer for information about programming your particular instrument.

Table 1. Thermo cycler programs for annealing complementary oligonucleotides.

		Cycles	Temperature	Time
Simple protocol	Step 1	1	95℃	5 min
	Step 2	70	95℃ (-1℃/cycle)	1 min
	Step 3		4℃	HOLD
Advanced Protocol (example in which the oligonucleotide pair has a Tm of 55℃)		Cycles	Temperature	Time
	Step 1	1	95℃	5 min
	Step 2	40*	95℃ (-1℃/cycle)	1 min
	Step 3	1	55℃	30 min
	Step 4	20*	55℃ (-1℃/cycle)	1 min
	Step 5		4℃	HOLD

* The number of cycles in step and 4 depends on the Tm of the oligonucleotides to be annealed.

MALDI-TOF MS Analysis Service

개요

MALDI-TOF MS 분석은 분자량이 큰 생체 및 유기분자를 매트릭스라는 물질을 이용하여 레이저로 이온화시켜 분자량을 측정하는 분석 기술입니다. 이는 고분자 물질을 시료 분해 없이 빠르게 분석할 수 있는 장점이 있습니다. 바이오니아의 MALDI-TOF MS Analysis Service는 분석하고자 하는 single strand oligo nucleotide를 의뢰받아 MALDI-TOF Mass 장비를 이용하여 샘플 수령 후 2일 이내에 신뢰도 높은 분자량 분석 결과를 제공해 드리는 서비스입니다. 또한 분석 노하우와 숙련된 인력으로 빠르고 정확하게 물질의 분자량을 분석해 드립니다.

특장점

- 주기적으로 qualification 된 MALDI-TOF Mass 장비를 이용하여 신뢰성 높은 데이터 제공합니다.
- 샘플에 혼입될 수 있는 Salt 및 impurity 등에 대해 desalting 전처리 후 MS 분석 수행합니다.
- 20년간의 oligo nucleotide 합성 및 품질 관리에 대한 경험을 바탕으로 정확하고 빠르게 분석 결과 제공합니다.

제품 규격/사양

카탈로그 번호	S-2400
샘플 대상	Single strand oligo nucleotide (DNA, RNA)
측정 필요량	500 pmol~1 nmol
최대 측정 range	1000-15,000 Da (약 50 mer 이내)
사용 matrix	3-hydroxy-2-pyridinecarboxylic acid
장비명 / 브랜드명	Axima LNR MALDI-TOF Mass / SHIMADZU CORPORATION
분석결과 안내	이메일로 보고서(첨부 파일) 발송
분석 기간	샘플 수령 후 2일 이내

FAQs

1. MALDI-TOF MS Anlaysis Service란 무엇인가요?

MALDI-TOF MS는 Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization Time of Flight Mass Spectrometry로 분석하고자 하는 시료에 UV를 흡수하는 매트릭스를 첨가하여 결정화 시킨 후 레이저를 조사하여 이온화를 시키게 됩니다. 이때 생성된 이온들의 m/z에 따른 비행시간의 차이로 질량을 분석하는 분석법으로 고분자의 분자량을 측정할 수 있어 합성 유전자 등의 분석에 유용하게 사용될 수 있습니다. 이러한 원리를 바탕으로 시료를 분석하여 고객님들께 서비스가 제공됩니다.

2. 서비스는 어떻게 신청하나요?

바이오니아 홈페이지에서 분석 의뢰서를 다운받아 작성하신 후 시료와 함께 ㈜바이오니아 품질 관리팀으로 보내주시면 시료 도착 후 서비스가 진행됩니다.

3. 분석 의뢰할 수 있는 시료들은 어떤 종류이며, 시료 양은 얼마나 필요하나요?

1) Single Strand의 DNA 혹은 RNA의 경우: 시료를 보내실 때는 상온에서 nuclease에 분해가 되는 것을 방지하기 위해 tube에 건조된 형태가 바람직합니다. 수용액 상태로 보내실 때는 dry ice 냉동 상태로 보내주셔야 정확한 측정이 가능합니다. 길이는 50 mer (15,000 Da) 이내에서 분석이 가능합니다

2) 화합물의 경우: 건조된 상태로 배송하는 것이 바람직합니다. 유기용매 또는 D.W.에 오래 보관되어 있을 경우 시료가 분해되는 현상이 발생될 수도 있습니다. 시료는 최소 500 pmol 이상의 양이 필요합니다.

4. 검사 소요시간은 얼마나 걸릴까요?

보내주신 시료의 도착한 일로부터 주말을 제외한 2일 이내에 분석하여 결과를 발송해 드립니다. 그리고 시료 도착 시, 샘플 도착 및 결과 안내 예정일에 대해 이메일로 보내드립니다.

5. 시료에 사용되는 Matrix는 어떤 것을 쓰나요?

Oligonucleotide 분석에 최적화된 Matrix인 3-HPA(3-Hydroxypyridine-2-carboxylic acid)를 D.W.에 용해된 Matrix가 사용됩니다.

6. 시료 전처리는 어떻게 진행되나요?

보내주신 시료에 포함된 Na^+, K^+, 그리고 Mg^{2+} 같은 salt 이온을 제거하는 Desalting 전처리를 진행한 후 분석이 진행됩니다. 이온들이 포함된 상태에서는 MS 스펙트럼에서 높은 백그라운드 노이즈가 발생되어 분석하고자 하는 물질의 분자량 확인이 어려울 수 있습니다.

7. 예상 분자량 대비 측정된 분자량이 적정한 범위는 얼마나 되나요?

분자량의 ±0.1% 오차를 가지고 있습니다. 예를 들면, 이론 분자량 5,000의 경우 측정 분자량은 ±5.0 Da 정도 됩니다.

8. 최종 레포트는 어떻게 제공되나요?

MS 분석을 진행한 후 분석 스펙트럼을 캡처하여 Power Point file 형식으로 고객님께 제공됩니다.

9. 의뢰된 시료는 회수가 가능한가요?

해당 분석은 분석 시료에 Matrix를 첨가하여 결과를 얻기 때문에 회수가 어렵습니다. 하지만 사용 후 남은 시료는 원하실 경우, 다시 반송해 드리도록 하겠습니다.

- 기타 궁금하신 사항은 maldims@bioneer.co.kr 혹은 042-930-8554로 문의하여 주시기 바랍니다.

02. CRISPR

CRISPR Cas9/Cpf1 gRNA Service ····· 35

CRISPR Cas9 tracrRNA ····· 36

CRISPR Cas9/Cpf1 gRNA Service

○ 개요

CRISPR Cas9/Cpf1 system은 genome editing을 통해 유전자를 modify할 수 있는 기술로 nuclease (Cas9 or Cpf1)와 gRNA (guide RNA) complex로 작동하는 system입니다. 바이오니아의 CRISPR Cas9/Cpf1 gRNA Service는 고객이 제공하는 sequence를 합성해 드리는 서비스입니다. 주문하신 gRNA는 nuclease (Cas9 or Cpf1)와 Ribonucleoprotein (RNP) 형태로 사용하시면 됩니다. RNP 형태는 세포 내의 단백분해효소 (endogenous protease)나 RNA 분해효소(RNase)에 의해 신속히 분해가 가능하기 때문에 off-target 확률을 낮출 수 있는 장점이 있습니다. 바이오니아는 오랜 시간의 올리고 합성 기술을 바탕으로 CRISPR gRNA Service를 제공해드립니다. 모든 gRNA는 본사의 최첨단 clean room 시설에서 합성 후 정제를 거쳐 MALDI-TOF Analysis를 이용하여 QC 합격된 RNA를 제공합니다.

<table>
<tr><th colspan="2"></th><th colspan="2">CRISPR-Cas9 system</th><th>CRISPR-Cpf1 system</th></tr>
<tr><td rowspan="3">구성</td><td>Nuclease</td><td colspan="2">Cas9</td><td>Cpf1</td></tr>
<tr><td rowspan="2">Guide RNA</td><td>crRNA</td><td rowspan="2">or Chemeric RNA (sgRNA)</td><td rowspan="2">crRNA</td></tr>
<tr><td>tracrRNA</td></tr>
<tr><td colspan="2">PAM sequence</td><td colspan="2">NGG</td><td>TTTN</td></tr>
<tr><td colspan="2">절단 방식</td><td colspan="2">Blunt ends</td><td>5'overhang</td></tr>
</table>

○ 특장점

- Ready-to-use guide RNAs로 수령한 즉시 nuclease와 함께 실험에 사용 가능 (Cloning 과정 불필요)
- 최첨단 Clean Room에서 합성하여 검증된 제품 제공
- 높은 수준의 RNA oligo 합성 기술
- 다양한 CRISPR nuclease에 적합한 gRNA 디자인

○ Experimental Data

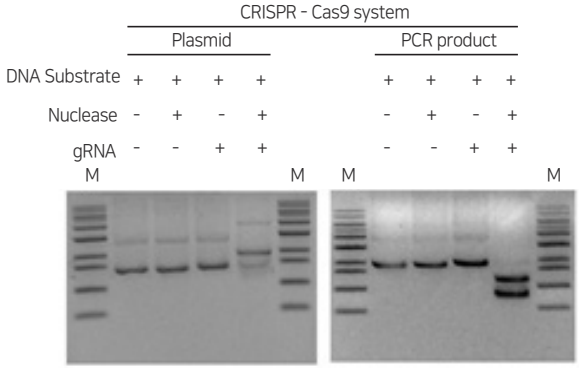


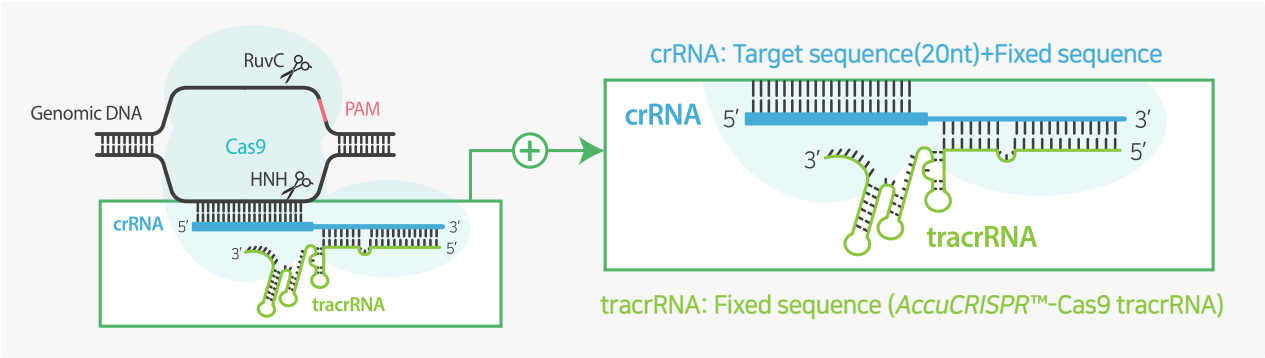
Figure 1. *In-vitro* digestion of pBHA vector (plasmid & PCR product) using Cas9 nuclease and Bioneer's gRNA (tracrRNA : crRNA duplex form). Products were resolved on a 1% agarose TAE gel.

- Plasmid & PCR product size: 2,000 bp
- cleaved PCR fragment size: 1,200 bp+800 bp

CRISPR Cas9-gRNA

○ 개요

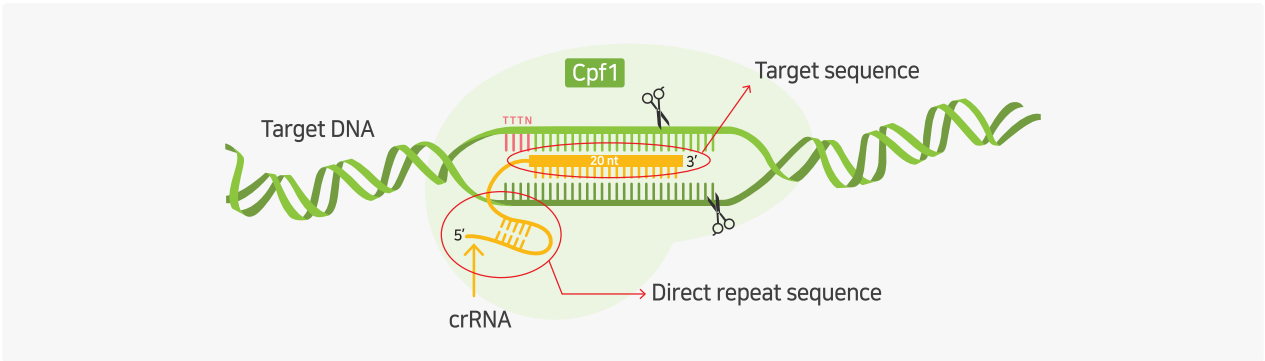
CRISPR-Cas9의 gRNA는 target-specific sequence를 가지는 crRNA와 Cas9 nuclease binding sequence를 가지는 tracrRNA로 구성되어 있습니다. crRNA와 tracrRNA를 함께 판매하고 있으며, 간편하게 crRNA-tracRNA complex form을 제작하여 RNP(Ribonucleoprotein)형태로 CRISPR system에 사용하실 수 있습니다.



CRISPR Cpf1-gRNA

○ 개요

바이오니아는 2가지 Cpf1(AsCpf1, LbCpf1)과 사용가능한 gRNA를 제공하고 있습니다. 20 nt의 target-specific sequence를 홈페이지 주문 페이지에 입력하시면 고정적인 direct repeat sequence가 자동으로 추가되어 주문됩니다. 제공받으신Cpf1 gRNA(crRNA)는 RNP(Ribonucleoprotein) 형태로 이용하실 수 있습니다.



AccuCRISPR™-Cas9 tracrRNA

○ 개요

AccuCRISPR™-Cas9 tracrRNA는 crRNA와 duplex form으로 작동합니다. 고정적인 sequence이므로 가지고 계신 crRNA와 함께 CRISPR system에 사용하실 수 있습니다.

○ 주문 정보

카탈로그 번호	제품명	규격
S-5120-5	*AccuCRISPR*™ Cas9 tracrRNA	5 nmole
S-5120-10		10 nmole