

ICON プローブ配列設計のポイント

1. 他のメチル化部位の配列に対応しないかご確認下さい。
2. プローブ同士が反応温度でハイブリダイゼーションを起こさないように配列をずらして設計してください。
3. ICONプローブは目的のメチル化候補に対してセンス鎖用、アンチセンス鎖用の各1配列を用意します。
4. 定量的PCR等、アプリケーション中でPCRを行う場合は、ICONプローブを起点としたDNA合成が生じないように、あらかじめ3'末端にリン酸基修飾を付加しておくことが望ましいです。
5. プライマーは、ICONプローブ結合領域を挟み込む形で設定してください。(下図参照)
6. 目的のメチル化領域内に複数のメチルシトシンが存在する場合でも、対応する修飾ヌクレオチドは1ヶ所を設定していただければ検出可能です。複数挿入は2本鎖の安定性が落ちるため推奨いたしません。
(ICONプローブセットは修飾ヌクレオチド1ヶ所挿入となります。複数の修飾ヌクレオチド挿入希望の場合はカスタムICONプローブ扱いとなります)
7. プローブの長さは反応・定量のいずれの工程にも原理的には影響しません。モデル配列長は20merです。
8. 修飾ヌクレオチドを挿入する位置は自由に選んでいただけますが、モデル配列としては
5' - 4base-**X**-15base-3' がございます。