



L'oligonucléotide Sigma Life Science : de sa conception à sa synthèse

par Delphine AYACHE, spécialiste Design et Technique Sigma Life Science - **Email** : delphine.ayache@sial.com ; **Web** : www.sigmaaldrich.com

Chaque jour, le site de production SIGMA-ALDRICH d'Evry (91) synthétise des centaines d'oligonucléotides.

L'oligo, c'est le point de départ de la connaissance des gènes. Les chercheurs en génétique humaine, animale, végétale ou microbienne les utilisent régulièrement pour identifier des gènes connus, inconnus, en bon état ou mutés, lesquels sont, dans certains cas, à l'origine de maladies génétiques.

En tant que fabriquant d'oligonucléotides, SIGMA participe à l'élargissement de la connaissance du patrimoine héréditaire de tous les êtres vivants.

Comment un oligonucléotide est-il conçu ? Pourquoi a-t-il été choisi, lui, parmi les centaines, voire les milliers de bases qui composent un gène ?

Il s'agit là d'une vraie sélection. Chez les êtres vivants, c'est la nature qui se charge de sélectionner le meilleur ; chez les oligonucléotides, c'est le travail du « designer » !

Chez Sigma Life Science, toute une équipe de « designers » spécialisés vous proposent leur service. En fonction de ce que vous, chercheurs, souhaitez étudier, de votre application, les « designers » SIGMA vont sélectionner la meilleure suite de bases représentant l'oligonucléotide nécessaire à la réalisation de cette étude. Cette sélection va se faire suivant plusieurs paramètres.

→ Premier paramètre : minimiser la formation de dimères d'amorces ou de structures secondaires.

L'une des principales fonctions de l'oligonucléotide est de permettre l'amplification du gène étudié. Celui-ci est présent en nombre restreint dans la cellule ;

il est donc nécessaire d'augmenter son nombre de copies.

La Taq DNA Polymérase va effectuer cette amplification, avec pour points d'amorçage deux oligonucléotides fixés aux deux extrémités de la séquence d'intérêt. L'appariement des nucléotides entre eux a certes l'avantage de permettre la fixation de l'oligo sur sa séquence cible, mais il présente également un inconvénient majeur : il peut entraîner la formation de structures secondaires à l'intérieur même du gène ou de l'oligonucléotide (structures en forme de boucles ou « épingles à cheveux »). Il s'agit là d'un paramètre essentiel du « designer » : choisir la suite de base qui formera le moins de structures secondaires possibles et située dans une région du gène la plus accessible.

Le « designer » va également s'assurer que les deux oligonucléotides choisis ne forment pas de « dimères », essentiellement à leur extrémité 3', afin de les garder disponibles pour la réaction d'amplification.

→ Deuxième paramètre : la température de fusion, ou Tm (melting temperature) de l'oligonucléotide.

Quelle que soit la formule utilisée pour calculer la Tm, celle-ci dépend toujours de la composition en bases de l'oligonucléotide. Le « designer » va s'assurer de choisir un oligo présentant une Tm suffisante pour permettre la fixation de ce dernier sur sa cible. Dans la plupart des applications, la température de fusion de l'oligo devra se situer entre 55 et 60°C.

→ Troisième et dernier paramètre, mais de loin le plus important : la spécificité de l'oligonucléotide.

Ce dernier ne doit fixer que le gène étudié. Pour éviter le risque d'amplifications

aspécifiques, les « designers » utilisent des logiciels directement connectés aux banques de données NCBI (National Center for Biotechnology Information), permettant ainsi d'éviter les régions qui présentent des homologies croisées avec les autres séquences identifiées du génome de l'organisme étudié.

C'est ainsi que les « designers » SIGMA conçoivent l'oligo : une suite de nucléotides formant peu, voire pas de structures secondaires, capables de se fixer fortement et spécifiquement au gène étudié.

Certains designs sont plus complexes que d'autres à réaliser et peuvent nécessiter plusieurs heures de travail. C'est pourquoi, dans sa volonté de satisfaire au mieux ses clients et dans son esprit « partenaire de la recherche », SIGMA offre gratuitement ce service qui permet un gain de temps considérable à la recherche.

Après la conception, suit la synthèse de l'oligonucléotide. Comment se déroule-t-elle sur le site SIGMA ALDRICH d'Evry ?

Le service client SIGMA-ALDRICH injecte dans le système de production toutes les informations nécessaires à cette synthèse, issues de la commande du client : nom de l'oligonucléotide, quantité et qualité requises, conditionnement (tube ou plaque) et forme (sèche ou liquide).

Une fois ces informations transmises au système de production, les appareils de synthèse se chargent de les transformer en produit réel : la séquence étant ordonnée, le synthétiseur amorce la réaction chimique à partir de la première base en 3', puis

ajoute les bases, les unes après les autres, dans l'ordre de la séquence, de l'extrémité 3' vers l'extrémité 5'. Chaque base ajoutée est protégée par un groupement Diméthoxytrityl (DMT). Lorsque le cycle de synthèse est terminé, l'oligonucléotide est entièrement dessalé et déprotégé ; puis, en fonction de la demande, purifié sur gel de polyacrylamide ou sur cartouche RPC ou RP-HPLC.

L'équipe de production effectue ensuite un contrôle systématique de tous les oligonucléotides produits : une mesure de la quantité produite par dosage de la densité optique à 260 nm, puis un passage en spectrométrie de masse ou une électrophorèse PAGE permettent de vérifier la taille et la bonne composition de l'oligonucléotide.

Lorsque tous les contrôles sont conformes, l'oligonucléotide, habillé d'une étiquette portant son identité ainsi que toutes ses caractéristiques techniques, est transmis au service Expédition qui se charge du packaging et du transport vers son utilisateur. Dans quelques heures, le chercheur pourra en disposer...

Le service Design de SIGMA-ALDRICH a été mis en place depuis près de 10 ans ; il est allié au site de production d'oligonucléotides d'Evry, qui possède, lui, 20 ans d'expertise. Tous deux mettent ainsi à votre disposition des experts scientifiques qui vous permettent de gagner du temps et vous accompagnent dans vos recherches avec des produits de qualité certifiés ISO 9001.

INTERSCIENCE : Leader des malaxeurs de laboratoire

Samuel ALLAIN - Interscience - **tél**: 01 34 62 62 61 - **fax** : 01 34 62 43 03 - **Email** : info@interscience.fr - **Web** : www.interscience.fr

Le best-seller BagMixer® 400 a été reconnu pour ses qualités de performance, d'innovation et de service. Le dynamisme du bureau de R&D a permis d'en faire un malaxeur qui améliore vraiment le travail de laboratoire !

Pour réaliser une analyse de qualité l'échantillon doit être homogénéisé avec un diluant. Un filtrat est ensuite prélevé et ensemencé pour étudier les bactéries.

L'homogénéisation de l'échantillon dans un sachet-filtre stérile évite le contact entre l'échantillon et la malaxeur lors du malaxage ce qui permet d'annuler les risques de contamination croisée. Un malaxeur adapté assure une extraction optimale des bactéries dans un temps réduit.

Fabriqués en France selon la norme ISO 9001-2000, exportés dans 80 pays, le BagMixer® s'est distingué et a su séduire les utilisateurs grâce à toutes ces qualités :

«Une gamme complète de malaxeurs pour toutes les tailles d'échantillons»

Les malaxeurs Interscience sont disponibles en trois tailles :

- MiniMix® pour les échantillons de 5 à 80 ml
- BagMixer® pour les échantillons de 50 à 400 ml
- JumboMix® pour les échantillons de 200 à 2000 ml

«Je peux adapter mon malaxeur à l'échantillon !»
Innovation INTERSCIENCE exclusive : la distance entre la porte et les pales du malaxeur est réglable pour un meilleur malaxage et un meilleur rendement d'extraction bactérien.

Best-seller mondial, le BagMixer® est silencieux, compact, robuste, permet une extraction optimale des échantillons à analyser et un nettoyage considérablement facilité. La structure en acier inox et la garantie à vie de la porte vitrée et des amortisseurs en font des modèles qui se vendent dans le monde entier sans aucun souci de maintenance.

«Le nettoyage de la chambre de malaxage et

des pales est enfin facile, pratique, rapide !»

Autre exclusivité des BagMixer® INTERSCIENCE, les pales du malaxeur sont à la fois réglables et amovibles ! Retirez les pales en une seconde pour nettoyer à 100% la chambre de malaxage : c'est le système Click and Clean®. **C'est le seul système breveté** qui ait fait ses preuves sur le marché et c'est une invention INTERSCIENCE! **«Plus de risque de fuites grâce au système Q-Tight®»**

Toute la gamme de BagMixer® est équipée du système Q-Tight. Il permet de ne plus avoir de fuites par le haut du sac grâce à une jointure spécialement conçue pour fermer hermétiquement le haut du sac lors de la fermeture de la porte. Les utilisateurs apprécieront cette spécification des BagMixer®, qui assure un travail de laboratoire agréable et fiable.

«Arrêt des pales du malaxeur côte-à-côte : plus facile pour insérer son sachet d'échantillon !»

Afin de faciliter l'insertion de l'échantillon, les

pales se repositionnent automatiquement côte-à-côte à la fin de chaque malaxage.

«Mes sacs ne percent plus, je peux malaxer en toute tranquillité»

INTERSCIENCE est la seule société au monde à concevoir et fabriquer à la fois les sachets-filtre pour les analyses et les malaxeurs de laboratoire BagMixer®. INTERSCIENCE possède la gamme la plus large de sacs de pour malaxeur du marché (18 références). Chaque année, des millions de sacs INTERSCIENCE sont utilisés pour les analyses microbiologiques dans le monde entier sans réclamation qualité !

«Tout pour la qualité et l'innovation»

L'innovation et la qualité irréprochable des produits INTERSCIENCE en font des références de qualité dans le monde entier. "Champion caché" selon le magazine L'Usine Nouvelle, le bureau R & D d'INTERSCIENCE représente 1/3 de l'effectif total. Tous les bénéfices de l'entreprise sont réinvestis en R&D. INTERSCIENCE gère tout le processus de production, du développement à la production finale.

"L'entreprise est attachée à produire son matériel dans un souci de qualité et de fiabilité et à un coût le plus raisonnable pour les différents laboratoires du monde entier. Nous essayons de répondre aux laboratoires en leur simplifiant la tâche," explique Emmanuel Jalenques, directeur général de l'entreprise et chef du bureau d'étude. Avec de nombreux brevets à son actif, le bureau R&D travaille en permanence à améliorer la fiabilité et la qualité des analyses.

«Il y a toujours quelqu'un pour vous répondre.»

Une attention particulière à vos applications

L'équipe commerciale et le bureau R&D d'INTERSCIENCE est à votre disposition pour guider vos choix et vous aider 24h/24. Une attention toute particulière est apportée à l'adaptabilité des produits et aux applications spécifiques des utilisateurs.

Contact:
Samuel ALLAIN, Interscience
30, chemin du bois des Arpents
78860 Saint Nom la Bretèche France
tél 01 34 62 62 61 - **fax** 01 34 62 43 03
Email: info@interscience.fr
Web : www.interscience.fr

1 - Ecran digital, contrôles simples

- Vitesse de malaxage
- Force de malaxage
- Durée de malaxage



2 - Force de malaxage réglable

La chambre de malaxage s'adapte à la nature de l'échantillon.



BREVETÉ

3 - Système d'arrêt des pales côte-à-côte

Pour une insertion facile de vos sachets dans le malaxeur.

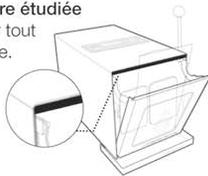


BREVETÉ

4 - Système Q-Tight®

Une fermeture étudiée pour prévenir tout risque de fuite.

100% étanche



5 - Système Click & Clean®

En un clic, retirez les pales pour un nettoyage intégral de la chambre de malaxage.

BREVETÉ



video
www.interscience.fr