

## **CARATTERISTICHE GENERALI DEL SERVIZIO**

Il servizio di sintesi oligonucleotidi DNA e RNA , sequenziamento di DNA e genotipizzazione, deve prevedere un sistema semplice, rapido ed efficiente per il controllo on-line delle fasi di invio ordini, gestione ordini, controllo espletamento ordini, invio prodotti e acquisizione e analisi dei risultati. Il servizio deve prevedere l'utilizzo di un account dedicato per l'esecuzione veloce delle varie fasi (ordine, controllo stato di produzione o dell'analisi, controllo della spedizione e sistema gestione risultati) con la possibilità di avere un ammontare di credito prepagato da cui detrarre gli importi dei singoli ordini. Deve fornire inoltre un adeguato servizio di consulenza su problematiche specifiche in modo da fornire soluzioni personalizzate.

## **SERVIZIO DI SINTESI DI OLIGONUCLEOTIDI SINTETICI di DNA**

Il servizio deve consentire la fornitura su richiesta di Oligo a DNA in tubi o in piastre per ogni tipo di applicazione con lunghezza anche superiore a 120 basi e di oligo a DNA con modificazioni in tubi o in piastre per le applicazioni specifiche;

In particolare il servizio deve essere in grado di fornire le seguenti tipologie di oligonucleotidi DNA:

### **A. OLIGONUCLEOTIDI DNA PER qPCR O PER SPECIFICHE APPLICAZIONI**

1. Oligo da impiegare come sonde per amplificazioni quantitative o qPCR Probes di vario tipo (MGB Probes, Dual Labeled Probes, Molecular Beacons, LightCycler Probes) con la più ampia gamma di fluorofori al 5' (Serie ATTO (550, 647N, 680, etc); Cyanine, LC610, LC640, FAM, HEX, JOE, ROX, TxRed, YakimaY, etc) e quencher al 3' (TAM, DAB, Eclip, BHQ (1, 2, 650)) purificati in HPLC e controllati con MS-MALDI/TOF
2. Oligo da utilizzare come Primer per reazioni di sequenza
3. Oligo da utilizzare per il Clonaggio di geni o sequenze di DNA
4. Oligo da utilizzare per il sequenziamento ad alta processività (NGS) con purezza di almeno 80% e con possibilità di modificazioni al 5' al 3' e interne.

### **B. OLIGONUCLEOTIDI DNA CON MODIFICAZIONI**

Oligo DNA di sequenza variabile con specifiche modificazioni strutturali e/o con aggiunta di specifiche molecole e/o gruppi funzionali :

Marcatori fluorescenti ABI( Fam, Hex, Tet, Joe, Rox), Cianine, Atto, Dyomics, Molecular Probes (Alexa ) etc.);

Modificazioni non fluorescenti (Biotina, gruppi amminici, fosfato, etc);

Spaziatori, residui glucidici, linker

Modificazioni con zolfo PTO, etc.

### **C. OLIGONUCLEOTIDI DNA PER PCR**

Oligo DNA di sequenza variabile da 5 ad almeno 60 basi da impiegare per reazioni di PCR.

### **D. SINTESI DI GENI**

Sintesi di geni di lunghezza variabile fino a 2000 coppie di basi con possibilità di ottimizzazione del CODON USAGE e del clonaggio in specifici plasmidi e ceppi di E. coli.

Il servizio sintesi di oligo di DNA deve consentire la scelta della modalità del Controllo di qualità sulla sintesi effettuata (misura di OD, MALDI-TOF MS o CGE) e la tipologia di purificazione (desalinizzato, HPLC, Sistemi proprietari, HPLC e PAGE) del prodotto sintetizzato. Deve essere, inoltre, possibile ricevere il prodotto come campione liofilizzato oppure in soluzione alla concentrazione scelta. Deve essere prevista la possibilità di ricevere la soluzione dell'oligo ripartita in più tubi (aliquote).

A richiesta il servizio deve fornire in forma cartacea o scaricabile dal sito il Report di sintesi, il documento dei prodotti e la documentazione di spedizione.

### **OLIGONUCLEOTIDI RNA PER VARIE APPLICAZIONI (ssRNA, dsRNA, mRNA, etc)**

Il servizio deve consentire la fornitura su richiesta di Oligonucleotidi di RNA di lunghezza variabile con o senza modificazione in tubi o in piastre per le applicazioni specifiche;

In particolare il servizio deve essere in grado di fornire le seguenti tipologie di oligonucleotidi di RNA:

1. Single Strand RNA (ssRNA) di lunghezza superiore a 60 basi con specifiche modificazioni strutturali e/o con aggiunta di specifiche molecole e/o gruppi funzionali al 5' al 3' o interni:
  - a. marcatori fluorescenti (Fam, Hex, Tet, Joe, Cyanine);
  - b. modificazioni non fluorescenti (Biotina, gruppi amminici C3/C6/C7, fosfato, etc);
  - c. Spaziatori, residui glucidici, linker, etc.
2. Double-stranded RNA (dsRNA) di lunghezza di 17-27 paia di basi per esperimenti di RNAi (RNA interference);

Il servizio di sintesi oligo RNA deve prevedere la possibilità di scegliere la tipologia del Controllo di qualità sulla sintesi effettuata (misura di OD, MALDI-TOF) e la tipologia di purificazione (desalinizzato, HPLC).

A richiesta il servizio deve fornire in forma cartacea o scaricabile dal sito il Report di sintesi, il documento dei prodotti e la documentazione di spedizione.

### **SERVIZIO DI SEQUENZIAMENTO**

Il servizio deve consentire sia il sequenziamento di DNA con metodo SANGER sia l'impiego di tecnologie di NGS (Next Generation Sequencing) per analisi su DNA e su cDNA (RNASeq) con piattaforme efficaci (es. Illumina, IonTorrent, etc) in modo che sia possibile sfruttarlo in progetti che prevedano attività sperimentali di sequenziamento (de novo) di genomi vegetali o di risequenziamento, di analisi trascrittomica oltre al sequenziamento di singoli ampliconi.

Le caratteristiche del sistema devono essere tali che sia possibile sottoporre i campioni da analizzare in vari formati e con varie tipologie di pre-trattamento o di processamento. In particolare deve essere possibile inviare campioni anche in numero limitato in singoli tubi oppure disposti su piastre da 96 pozzetti.

Indipendentemente dal format dei campioni inviati, ed in particolare per il sequenziamento di ampliconi il servizio deve consentire sia l'invio del solo DNA eventualmente miscelato al primer di sequenza, sia l'invio del prodotto della reazione di sequenziamento su cui eseguire l'analisi elettroforetica.

Il servizio di sequenziamento deve prevedere, pertanto, la possibilità di inviare frammenti di DNA di piccole o di notevoli dimensioni (esempio cloni BAC) da sottoporre a sequenziamento completo mediante metodi di walking ovvero l'invio di DNA genomico di specie vegetali per progetti di sequenziamento o di risequenziamento.

### **SERVIZIO DI GENOTIPIZZAZIONE**

Il servizio deve consentire la caratterizzazione genetica o genotipizzazione di piante relativamente a marcatori genetici microsatelliti (STS, SSR), SNPs (Single Nucleotide Polymorphisms) oppure presenza di mutazioni dovute a Inserzioni o Delezioni (InsDel) di basi nella sequenza di dna.

Il servizio deve prevedere la possibilità di supporto scientifico per l'individuazione di nuovi loci microsatelliti in specie di interesse e la definizione della opportuna strategia di genotipizzazione e di disegno delle coppie di primers, la scelta delle combinazioni di fluorofori con cui marcare i primers e la messa a punto delle condizioni di reazione per PCR simplex o multiplex. Nel caso di loci microsatelliti già conosciuti nello stato dell'arte e per i quali sono disponibili le sequenze dei primers e le condizioni ottimali delle reazioni di

amplificazione, il servizio deve consentire la scelta delle combinazioni di fluorofori dei primers e l'invio dei campioni da analizzare in vari formati e con varie tipologie di pre-trattamento o di processamento.

Il servizio per la caratterizzazione molecolare di microsatelliti deve in particolare consentire l'invio delle seguenti tipologie di campioni:

1. Campioni costituiti da prodotti di PCR da sottoporre ad elettroforesi capillare (CE) per la stima della lunghezza degli alleli dei loci micro satelliti studiati previo controllo e normalizzazione;
2. Campioni costituiti da prodotti di PCR da sottoporre direttamente ad elettroforesi capillare (CE) per la separazione dei frammenti senza verifica preliminare.

Relativamente al format, deve essere possibile inviare campioni anche in numero limitato in singoli tubi oppure su piastre da 96 pozzetti.