

Características ideales para el diseño de oligonucleótidos (primers)

Que inicie con tres G's, C's o combinación de ellos

Que termine con dos G's, C's o combinación de ellos

Que no tenga nucleótidos con más de 4 repetidos en medio

Evitar repetidos de T's o A's

Largo ideal de 18 a 24 nucleótidos (máximo 30)

% de GC's de 50 a 65% (mínimo 40 y máximo 70%).

Tm de 60-62 °C (Perlprimer) o de 57 a 59 °C (Snapgene).
Este valor varía dependiendo el algoritmo del programa.

Recordar

- Los valores de %GC's y el largo de los oligonucleótidos definen la T_m .
- Debemos evitar que los oligonucleótidos tengan complementariedad en los últimos nucleótidos del 3', porque eso permitiría que haya productos inespecíficos en la PCR.
- En clonación al estar tan limitados en la región donde diseñaremos los oligonucleótidos, no siempre podemos encontrar las condiciones ideales propuestas.
- Otras formas de hacer oligonucleótidos pueden funcionar, pero estas características facilitan su estandarización.