

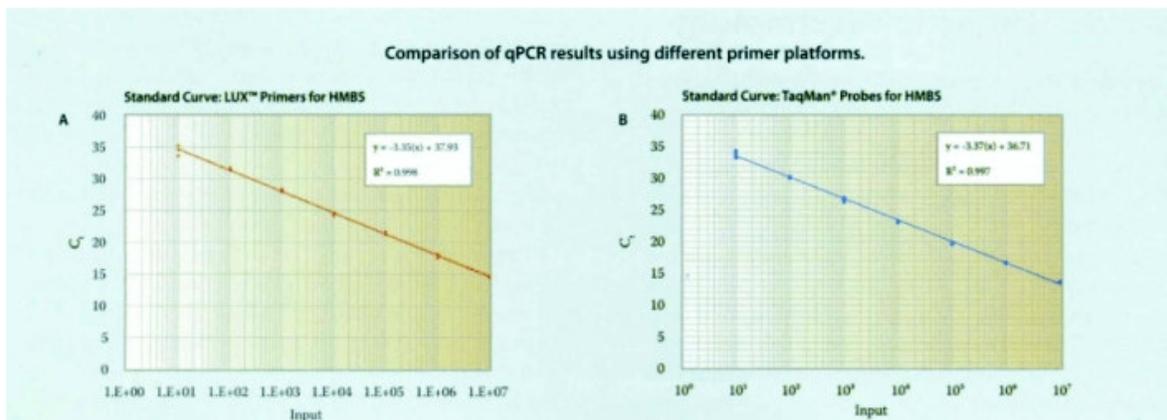
## D-LUX™- TECNOLOGÍA DE DETECCIÓN Nuevos y mejores niveles de precisión, confiabilidad y versatilidad para PCR cuantitativa

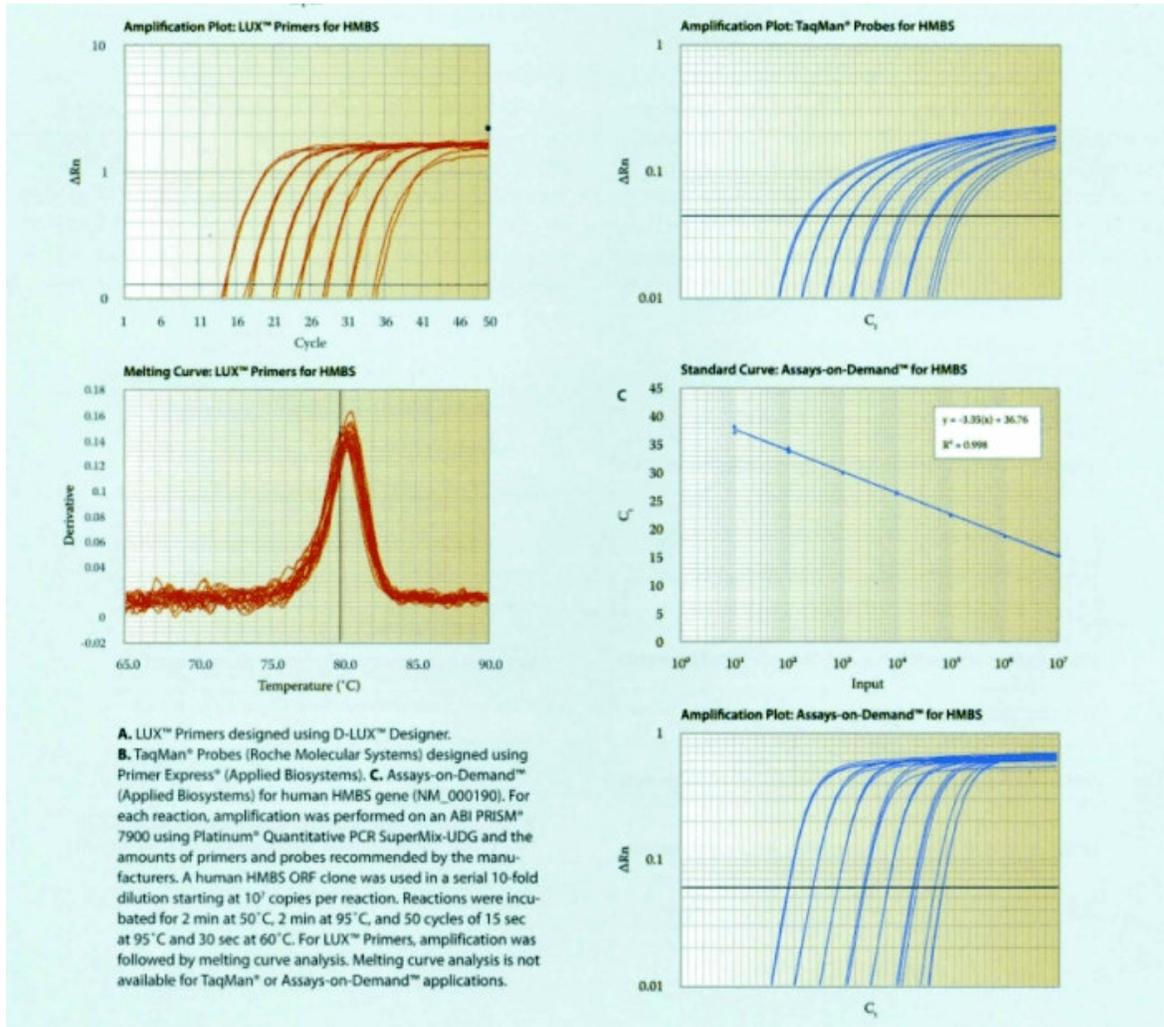
La PCR cuantitativa en tiempo real es una herramienta fundamental en el estudio genómico moderno y funcional. Habitualmente, es utilizada tanto para la detección génica y cuantificación, así como para la validación de resultados experimentales obtenidos mediante otras tecnologías, como DNA microarrays y RNAi. Para aprovechar al máximo las ventajas que esta poderosa herramienta tecnológica, **Invitrogen** ha desarrollado la tecnología de detección **D-LUX**. Su fundamento se basa en los **D-Lux Primers** fluorogénicos, que proveen confiabilidad, especificidad y sensibilidad equivalente a la de los Dual Labeled Probes, con algunas ventajas adicionales.

Los Sets de Primer LUX consisten en dos secuencias de primers complementarias, en general de 20 a 30 bases de largo, una de las cuales es marcada con un fluoróforo en el extremo 3'. Este primer fluorogénico es configurado en una estructura tal que cuando el primer es incorporado en un producto de PCR de doble cadena y es extendido, el fluoróforo, cuya fluorescencia estaba "apagada" (efecto de "quenching"), da como resultado un incremento significativo de la señal fluorescente. Este incremento de señal luminosa es la base de la Plataforma D-LUX.

**Invitrogen** ha mejorado y ampliado la tecnología de detección D-LUX en tres áreas significativas:

- 1) Mejoramiento del software de diseño de los primers D-LUX, con algoritmos más sofisticados para análisis de secuencias y marcado.
- 2) Un nuevo fluoróforo ahora disponible para mejorar la capacidad de análisis por multiplex.
- 3) Cientos de nuevos SETS de Primers D-LUX Certificados para genes humanos se han prediseñado y han sido funcionalmente validados para garantizar su performance.





## Mejoramiento del software de diseño de los primers D-LUX, con algoritmos más sofisticados para análisis de secuencias y marcado

El nuevo D-LUX Designer es el software desarrollado por **Invitrogen**, disponible en el link [www.invitrogen.com/dlux](http://www.invitrogen.com/dlux). Ingresando allí la secuencia target, automáticamente una o más alternativas de Primer Lux serán generadas y categorizadas de acuerdo a las probabilidades de éxito en la PCR cuantitativa.

Además de la versión disponible en la web, el profesional puede instalar este software en su computadora personal solicitando a **Invitrogen** el material correspondiente.

El nuevo D-Lux Designer mejora versiones previas en varias áreas:

- a) El tiempo de proceso de información y diseño de secuencias es menor, permitiendo diseñar primers para regiones específicas dentro de una secuencia.
- b) Posibilita la búsqueda online de un gen de su interés; el software le mostrará las secuencias disponibles en bases de datos públicas.
- 3) Los resultados obtenidos se aprecian de manera fácil, ordenada e incluyen información sobre el gen de su interés, Region ORF y variantes de splicing.
- 4) El Designer también le ofrece una gráfica con la representación del transcripto, incluyendo exones codificantes e intrones.

El D-LUX Designer automáticamente compara la secuencia ingresada con secuencias representativas de genes disponibles en múltiples bases de datos, incluyendo Base de NCBI, para identificar áreas de conocida homología con pseudogenes, variantes de splicing y otros genes, de esta forma el D-LUX Designer enmascara las áreas homólogas y reduce las probabilidades de errores en la PCR cuantitativa. Una vez que el diseño está completo, el software muestra en forma detallada, intuitiva y gráfica, los resultados del análisis. Además, incluye un análisis que permite identificar zonas de homología dentro de la propia secuencia, ya que un primer diseñado sin tener en cuenta este importante dato, puede aumentar el riesgo de formación de dímeros en la PCR cuantitativa.

Otras mejoras hechas en el algoritmo del software, incluyen reglas sofisticadas respecto de la posición del fluoróforo en el primer fluorogénico, a fin de maximizar la señal luminosa y la eficiencia en la qPCR. Un ranking que se evidencia a través de estrellas que van de una (1) a (5) permite al profesional pronosticar la performance del set de primers LUX diseñados, en la PCR cuantitativa.

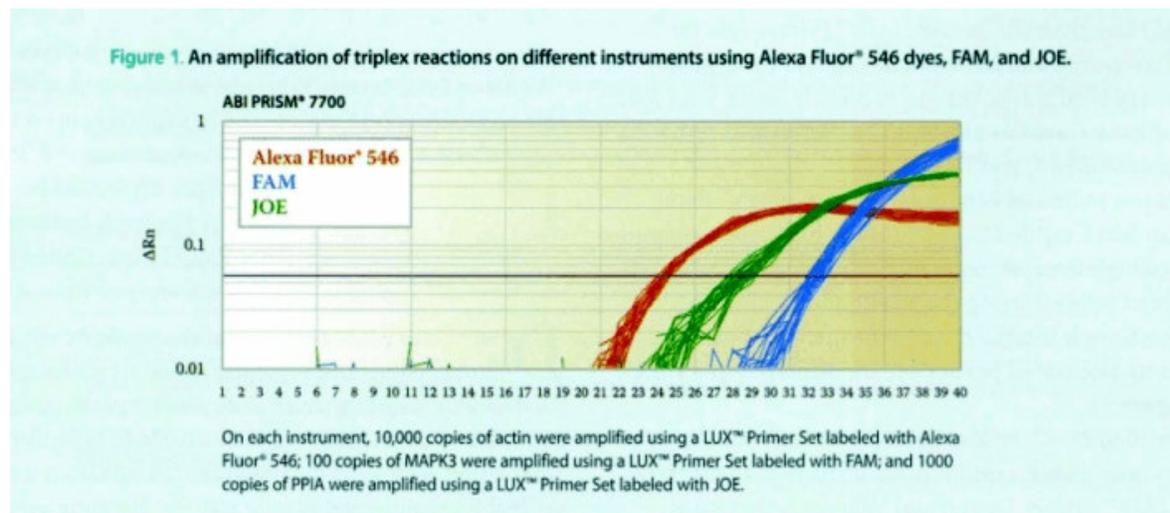
### Un nuevo fluoróforo está ahora disponible para mejorar la capacidad de análisis por multiplex.

Además del FAM (5 ó 6-carboxifluoresceína) y del JOE (6-carboxi-4',5'-dicloro-2',7'-dimetoxifluoresceína) **Invitrogen** ahora ofrece Alexa Fluor 546. Estas tres marcaciones proveen mayores opciones para trabajar con Multiplex en una gamma más amplia de instrumentos (ver Tabla1) para longitudes de onda de excitación y emisión de estos fluoróforos y (ver Figura 1) para reacción TRIPLEX utilizando los mismos.

Tabla 1 | Excitación/Emisión de LUX™ dye

Dye Label	Excitation (nm)	Emission (nm)
FAM	492	517
JOE	520	548
Alexa Fluor® 546	554	570

Figura 1|



Cientos de nuevos SETS de primers D-LUX Certificados para genes humanos han sido prediseñados y funcionalmente validados para garantizar su performance

Los Sets de Primers se prediseñaron y validaron funcionalmente a fin de que su solicitud se realice en forma rápida y fácil a través de la Colección de Primers Lux Certificados en la dirección [www.invitrogen.com/certifiedlux\\_info](http://www.invitrogen.com/certifiedlux_info).

Estos sets de primers fueron testeados en PCR cuantitativa y demostraron una **eficiencia mayor al 90%, con un coeficiente de linealidad superior a 0.99 (r<sup>2</sup>)**.

Hasta el momento **Invitrogen** ofrecía un panel de 30 Primers LUX Certificados para “**Housekeeping**” genes, (controles positivos de expresión) humanos, de ratón, rata y *Drosophila*. Esta colección se ha ampliado y actualmente incluye genes para cuatro nuevos organismos: *Candida Albicans*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Arabidopsis thaliana* y *Dario rerio*.

Además, **Invitrogen** ofrece más de 300 Primers LUX Certificados para genes humanos que son de alto interés en estudios de expresión génica.

Si el Set de primers LUX para el gen de su interés no está disponible, el servicio personalizado puede solicitarse en [www.invitrogen.com/customservices](http://www.invitrogen.com/customservices).

Es importante destacar que **Invitrogen** ofrece una cantidad importante de Sets de Primers LUX Certificados para varios agentes infecciosos. Cada set es diseñado para detectar una secuencia específica dentro del genoma del patógeno en estudio. La validación funcional de estos sets de primers certificados garantiza alta sensibilidad y reproducibilidad de los ensayos de PCR cuantitativa y su formato, listo para usar, permite procesamiento de un importante número de muestras. Los mismos se encuentran disponibles para SARS Coronavirus, *Bacillus anthracis*, *Yersinia Pestis*, *Francisella tularensis*, *Clostridium botulinum*, Avian influenza A, West Nile Virus, etc.

El presente artículo es traducción al castellano de “D-Lux™ Detection Technology” en **Quest – an Invitrogen Publication for Discovery**, volumen 3, número 1, 2006, página 13.

Invitrogen Argentina S.A.  
[www.invitrogen.com.ar](http://www.invitrogen.com.ar)  
[arorders@invitrogen.com](mailto:arorders@invitrogen.com)