

Chemisches Phosphorylierungsreagenz

<http://de.lumiprobe.com/p/chemical-phosphorylation-reagent-ii>

Chemisches Phosphorylierungsreagenz für die Synthese 5'-terminal phosphorylierter Oligonukleotide. Dieses Phosphoramidit enthält eine Dimethoxytrityl-Schutzgruppe für die Aufreinigung des synthetisierten Oligonukleotids über C18-Kartuschen bzw. *reversed-phase* HPLC. Um ein 5'-terminal phosphoryliertes Oligo zu erzeugen, muss zunächst die DMT-Schutzgruppe abgespalten werden. Danach wird die Phosphatgruppe mit 0,1 M Ammoniaklösung entschützt. Das Entschützen der Phosphatgruppe verläuft selbst unter sanften basischen Bedingungen schnell und effizient, weshalb sich das Reagenz gut für die «DMT-off»-Synthese eignet, z. B. für die RNA-Synthese oder in Verbindung mit Farbstoffamiditen, die sanfte Entschützungsbedingungen erfordern.

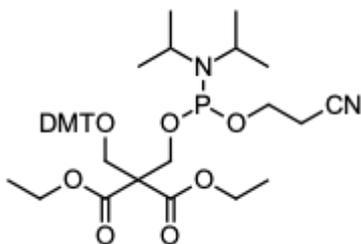
Anwendungsempfehlungen:

Verdünnungsmittel: wasserfreies Acetonitril. Geben Sie das Verdünnungsmittel bis zur empfohlenen Konzentration (0,1 M) hinzu und warten Sie, bis sich das Reagenz vollständig aufgelöst hat. Rühren Sie dabei gelegentlich um. Das Reagenz ist zähflüssig, weshalb das vollständige Auflösen bis zu 10 Minuten in Anspruch nehmen kann. Das aufgelöste Phosphoramidit ist unter wasserfreien Bedingungen höchstens 24 Stunden haltbar.

Kopplungszeit: 6 Minuten

Entschützen:

1. Abspalten der DMT-Schutzgruppe während der Synthese: Das fertige Oligonukleotid mit 5'-terminalem Phosphat erhält man durch das Entschützen unter Standardbedingungen mit Ammoniumhydroxid.
2. DMT-on, Aufreinigung über Kartuschen: Standardbedingungen für die Aufreinigung über Kartuschen. Nach Elution von der Kartusche erfolgt das Entschützen der Phosphatgruppe. Mischen Sie dafür die Oligonukleotidlösung mit demselben Volumen einer 25%igen wässrigen Ammoniaklösung, inkubieren Sie 15 Minuten bei Raumtemperatur und trocknen Sie das fertige Oligonukleotid ein.
3. DMT-on, Reinigung mittels HPLC: Reinigen Sie das Oligonukleotid mittels *reversed-phase* HPLC. Zur Abspaltung der DMT-Schutzgruppe lösen Sie das Oligonukleotid erneut in 80%iger Essigsäure und inkubieren für 30 Minuten bei Raumtemperatur. Trocknen Sie das Oligonukleotid ein und fügen Sie zum Abspalten des verbliebenen Schutzgruppenfragments 10%ige wässrige Ammoniaklösung hinzu. Inkubieren Sie 15 Minuten.
4. DMT-off: Nutzen Sie nach der Synthese Standardbedingungen zum Entschützen, um das fertige 5'-terminal phosphorylierte Oligonukleotid zu erhalten.



**Struktur von dem chemischen
Phosphorylierungsreagenz für die
Oligonukleotidsynthese**

Allgemeine Eigenschaften

Erscheinungsform: farblos, halbfest

Molekülmasse: 722.8
CAS-Nummer: 171285-25-9
Molekülformel: $C_{39}H_{51}N_2O_9P$
IUPAC-Name: Propanedioic acid, 2-[[bis(4-methoxyphenyl)phenylmethoxy]methyl]-2-[[[[bis(1-methylethyl)amino](2-cyanoethoxy)phosphino]oxy]methyl]-, 1,3-diethyl ester
Qualitätskontrolle: NMR 1H , ^{31}P , HPLC-MS (95%)
Lagerungsbedingungen: Lagerung: 12 Monate nach Wareneingang bei -20 °C im Dunkeln. Transport: bei Raumtemperatur bis zu drei Wochen. Längere Lichteinwirkung vermeiden. Trocken lagern.
Rechtliche Hinweise: Dieses Produkt wird nur für Forschungszwecke angeboten und verkauft. Es wurde nicht auf Sicherheit und Wirksamkeit in Nahrungsmitteln, pharmazeutischen Produkten, medizinischen Vorrichtungen, Kosmetika sowie für gewerbliche oder andere Einsatzzwecke getestet. Der Verkauf gewährt oder impliziert nicht die Erlaubnis zur Verwendung in der In-vitro-Diagnostik, bei der Herstellung von Nahrungsmitteln oder pharmazeutischen Produkten, in medizinischen Vorrichtungen sowie in kosmetischen Erzeugnissen.
Verdünnungsmittel: Acetonitril
Kopplungsbedingungen: 6 min Kopplungsdauer
Schutzgruppen entfernen: identisch zu geschützten Nukleinbasen