

Fluorescein-dT-Phosphoramidit

<http://de.lumiprobe.com/p/fam-dt-phosphoramidite>

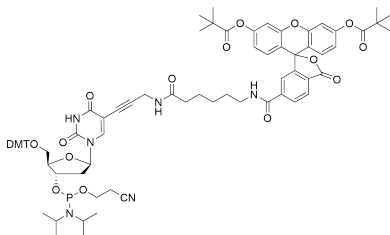
Dieses Phosphoramidit dient dem Einbau der FAM-Modifikation an einer beliebigen Stelle eines Oligonukleotids während Phosphoramidit-Synthese (intern, am 5'-Ende, dem 3'-Ende). Dieses Reagenz ist ein Konjugat aus Desoxythymidinphosphoramidit und dem 6-Isomer des Fluorophors FAM. Die Modifikation erfolgt während der Oligonukleotidsynthese, indem Standard-dT-Phosphoramidit durch FAM-dT-Phosphoramidit ersetzt wird. Die Exonuklease- sowie Polymeraseaktivität werden dabei nicht unterdrückt.

Für die 5'-Markierung von Oligonukleotiden nutzen Sie das [6-Isomer des Fluorescein-phosphoramidits](#).

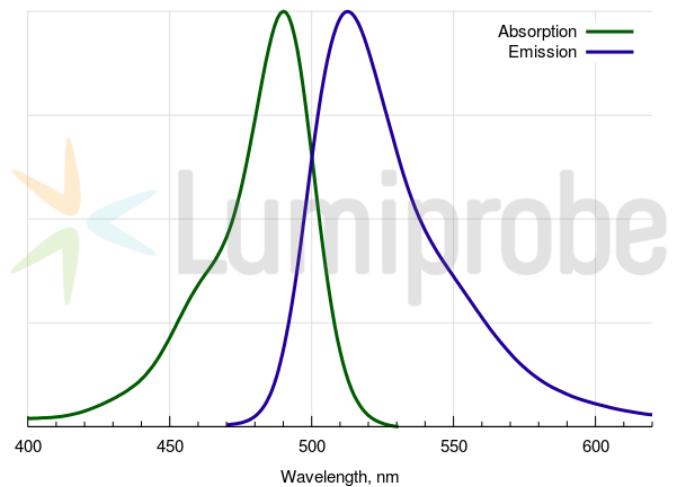
Anwendungsempfehlungen:

Kopplungszeit: 10 Minuten.

Das Entschützen erfolgt unter Standardbedingungen mit Ammoniak; die Dauer hängt dabei von den vorliegenden Nucleinbasen und ihren Schutzgruppen ab (das Entschützen für 17 Stunden bei 55 °C entfernt alle Schutzgruppen von den Standardnucleinbasen). Alternativ kann man dafür auch AMA verwenden, eine 1:1-Mischung aus 30%igem Ammoniak und 40%igem wässrigem Methylamin. Dabei entsteht allerdings zu 5 % ein nicht fluoreszierendes Nebenprodukt. Um die Entstehung dieses Nebenprodukts zu vermeiden, beginnen Sie das Entschützen zunächst nur mit 30%igem Ammoniak (30 Minuten bei Raumtemperatur), fügen Sie dann dasselbe Volumen an 40%igem wässrigem Methylamin hinzu und setzen Sie das Entschützen wie mit AMA gewohnt fort (beispielsweise 10 Minuten bei 65 °C).



Struktur von Fluorescein-dT-Phosphoramidit



Absorptions- und Emissionsspektren von FAM

Allgemeine Eigenschaften

Erscheinungsform:	gebroschen weißer Feststoff
Molekülmasse:	1423.54
Molekülformel:	$C_{79}H_{87}N_6O_{17}P$

Spektrale Eigenschaften

Anregungs-/Absorptionsmaximum / nm:	490
ϵ / $L \cdot mol^{-1} \cdot cm^{-1}$:	80000
Emissionsmaximum / nm:	513
Fluoreszenz-Quantenausbeute:	0.93
CF_{260} :	0.20
CF_{280} :	0.17

Verdünnungsmittel:

Acetonitril