

HEX-Phosphoramidit, 6-Isomer

<http://de.lumiprobe.com/p/hex-phosphoramidite-6>

HEX-Phosphoramidit für die Oligonukleotidsynthese, reines 6-Isomer.

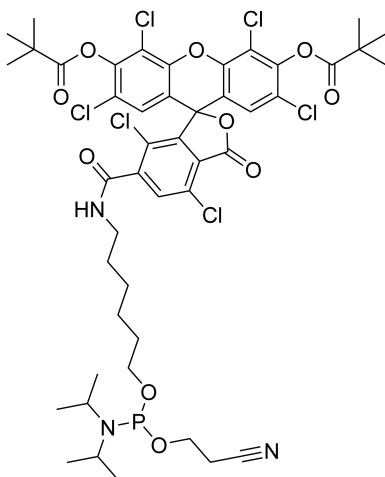
HEX (Hexachlorfluorescein) ist ein Fluoresceinderivat mit Emission im gelben Bereich des Spektrums (mit einem Absorptionsmaximum bei 533 nm und einem Emissionsmaximum bei 549 nm).

HEX-Phosphoramidit wird für die Synthese von fluoreszenzmarkierten Primern sowie von Hybridisierungs sonden wie TaqMan, Molecular Beacon und Scorpion für die quantitative PCR eingesetzt. Dabei benutzt man HEX am effizientesten zusammen mit dem nicht fluoreszierenden Quencher DusQ 1 aufgrund der signifikanten Überlappung ihrer Spektren (passend dazu kann man einen [DusQ 1 CPG 500](#)-Träger mit einer Porengröße von 500 Å verwenden). Viele Kapillarelektrophorese-Sequenz er verfügen über einen Detektionskanal für HEX. Aus diesem Grund wird dieses Phosphoramidit häufig für die Synthese von 5'-markierten Oligonukleotiden zur Fragmentanalyse, insbesondere zur Mikrosatellitenanalyse verwendet, bei der Mikrosatellitenloci mit einem fluoreszenzmarkierten Vorwärtsprimer und einem unmarkierten Rückwärtsprimer amplifiziert werden.

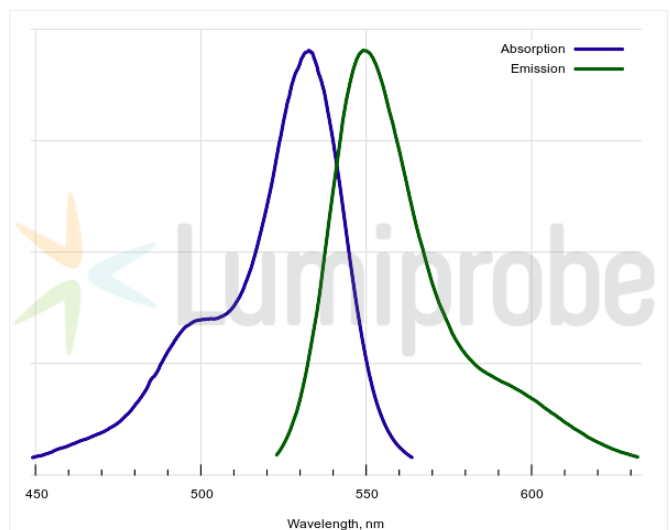
Anwendungsempfehlungen:

Kopplungszeit: 3 Minuten.

Das Entschützen erfolgt unter Standardbedingungen mit 25%igem Ammoniak; die Dauer hängt dabei von den vorliegenden Nukleinbasen und ihren Schutzgruppen ab (das Entschützen für 17 Stunden bei 55 °C entfernt alle Schutzgruppen von den Standardnukleinbasen). 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 HEX-Phosphoramidit, 6-Isomer



Absorptions- und Emissionsspektren von HEX

Allgemeine Eigenschaften

| | |
|---------------------|--|
| Erscheinungsform: | farbloser Feststoff |
| Molekülmasse: | 1050.61 |
| CAS-Nummer: | 1360547-55-2 |
| Molekülformel: | C ₄₆ H ₅₂ N ₃ Cl ₆ O ₁₀ P |
| Löslichkeit: | gut löslich in Acetonitril und DCM |
| Qualitätskontrolle: | NMR ¹ H und 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.

Spektrale Eigenschaften

Anregungs-/Absorptionsmaximum / nm: 533

$\epsilon / \text{L}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$: 87770

Emissionsmaximum / nm: 549

Fluoreszenz-Quantenausbeute: 0.57

CF_{260} : 0.30

CF_{280} : 0.13

Verdünnungsmittel:

wasserfreies Acetonitril (Stellen Sie eine 0.1 M Lösung her, Lagerung 1 Woche).

Kopplungsbedingungen:

Standardkopplung, identisch zu normalen Nukleinbasen

Schutzgruppen entfernen:

identisch zu geschützten Nukleinbasen