

TET-Phosphoramidit, 6-Isomer

<http://de.lumiprobe.com/p/tet-amidite>

TET-Phosphoramidit für die Synthese fluoreszenzmarkierter Oligonukleotide, reines 6-Isomer.

TET, Tetrachlorfluorescein ist ein Fluoresceinderivat mit Emission im grünen Bereich des Spektrums, dessen Absorptions- und Emissionsmaxima bei 519 nm bzw. 535 nm liegen.

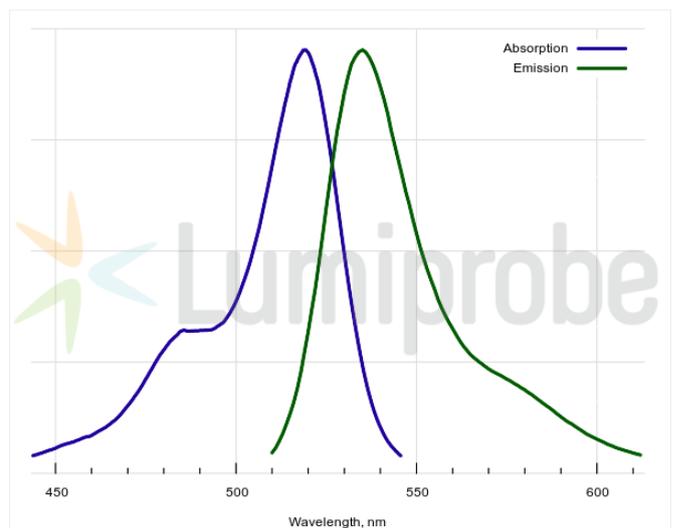
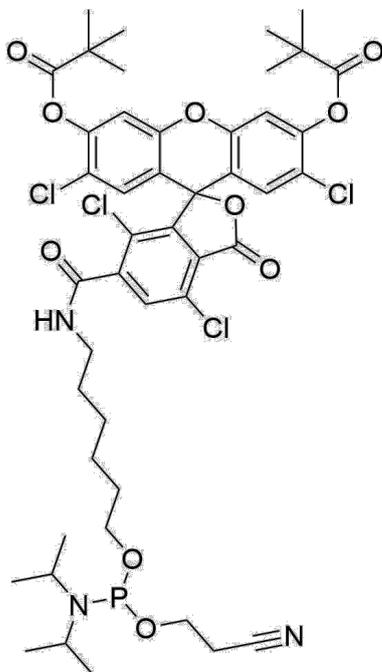
TET-Phosphoramidit findet Anwendung in der Synthese von fluoreszenzmarkierten Primer und Hybridisierungs sonden für die qPCR. Dabei benutzt man TET am effizientesten zusammen mit dem nicht fluoreszierenden Quencher DusQ1 (passend dazu kann man einen [DusQ1 CPG 500](#)-Träger mit einer Porengröße von 500 Å verwenden).

Die 5'-markierten Primer werden zusammen mit einem unmarkierten reversen Primer für die PCR-Amplifikation von Mikrosatelliten und die anschließende Fragmentanalyse eingesetzt. TET-markierte Amplifikationsprodukte können auf einer Vielzahl von Kapillarelektrophoresesequenzen analysiert werden, einschließlich dem ABI PRISM® 310 Genetic Analyzer.

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 konzentriertem 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).



Absorptions- und Emissionsspektren von TET

Allgemeine Eigenschaften

Erscheinungsform:	weißer Schaum
Molekülmasse:	981.72
CAS-Nummer:	877049-90-6
Molekülformel:	C ₄₆ H ₅₄ N ₃ Cl ₄ O ₁₀ P
IUPAC-Name:	2',4,7,7'-tetrachloro-6-((6-(((2-cyanoethoxy)(diisopropylamino)phosphaneyl)oxy)hexyl)carbamoyl)-3-oxo-3H-spiro[isobenzofuran-1,9'-xanthen]-3',6'-diyl bis(2,2-dimethylpropanoate)
Löslichkeit:	gut löslich in Acetonitril und Dichlormethan
Qualitätskontrolle:	NMR ¹ H and ³¹ P, HPLC-MS (95%)

Lagerungsbedingungen: Lagerung: 12 Monate nach Wareneingang bei $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ im Dunkeln. Transport: bei Raumtemperatur bis zu drei Wochen. Längere Lichteinwirkung vermeiden. Trocken lagern.

Spektrale Eigenschaften

Anregungs-/Absorptionsmaximum 519
/ nm:

$\epsilon / \text{L}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$: 100000

Emissionsmaximum / nm: 535

Fluoreszenz-Quantenausbeute: 0.47

CF_{280} : 0.17

CF_{280} : 0.09

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