

Фосфорилирующий реагент

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

Химический фосфорилирующий реагент предназначен для синтеза олигонуклеотидов, модифицированных фосфатной группой по 5'-положению. Реагент имеет в своей структуре DMT-группу, что позволяет проводить очистку олигонуклеотида на C18-картриджах или с помощью обращенно-фазовой хроматографии. Для получения 5'-фосфорилированного олигонуклеотида необходимо удалить DMT-защиту и затем деблокировать фосфатную группу разбавленным раствором аммиака (0.1 М). Деблокирование фосфатной группы проходит быстро и эффективно даже в мягких основных условиях, поэтому данный реагент подходит для синтеза в режиме DMT-Off, например для синтеза РНК или при использовании фосфорамидитов красителей, требующих мягких условий деблокирования.

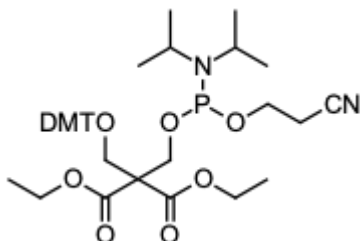
Рекомендации по использованию реагента:

Растворитель: безводный ацетонитрил. Добавьте растворитель до рекомендованной концентрации (0.1 М) и, при периодическом перемешивании, дождитесь полного растворения реагента. Данный реагент имеет вязкую аморфную консистенцию, для его растворения может потребоваться до 10 минут. Храните разведенный реагент в безводных условиях не более 24 часов.

Конденсация: 6 минут

Деблокирование:

1. DMT-защита удаляется в процессе синтеза: готовый 5'-концевой фосфат получают деблокированием в стандартных условиях с использованием гидроксида аммония;
2. DMT-ON, очистка на картридже: стандартные условия очистки на картридже. После элюции с картриджа провести деблокирование фосфатной группы добавлением к раствору олигонуклеотида эквивалентного объема 25% водного раствора аммиака, инкубировать 15 минут при комнатной температуре, упарить готовый олигонуклеотид.
3. DMT-ON, очистка ВЭЖХ: очистить с помощью обращенно-фазовой ВЭЖХ 5'-DMT-олигонуклеотид. Для удаления DMT-защиты перерастворите олигонуклеотид в 80% уксусной кислоте и инкубируйте в течение 30 минут при комнатной температуре. Упарьте олигонуклеотид, для отщепления оставшегося фрагмента защитной группы добавьте 10% водный аммиак и инкубируйте 15 минут.
4. DMT-OFF: готовый 5'-фосфат получают с использованием стандартных условий деблокирования после синтеза.



Структура фосфорилирующего реагента для олигонуклеотидного синтеза

Общие свойства

Вид продукта:	бесцветное вязкое вещество
Молекулярная масса:	722.8
CAS-номер:	171285-25-9

Брутто-формула: $C_{39}H_{51}N_2O_9P$
Название IUPAC: Propanedioic acid, 2-[[bis(4-methoxyphenyl)phenylmethoxy]methyl]-2-[[[[bis(1-methylethyl)amino](2-cyanoethoxy)phosphino]oxy]methyl]-, 1,3-diethyl ester
Контроль качества: ЯМР 1H , ^{31}P , ВЭЖХ-МС (95%)
Условия хранения: Хранение: 12 месяцев (с момента доставки) при $-20^{\circ}C$ в темноте. Транспортировка: до трех недель при комнатной температуре. Избегайте хранения на свету. Берегите от влаги.
Юридическое заявление: Продукт предлагается и продаётся только в исследовательских целях. Продукт не проверяется на безопасность и эффективность в пищевых продуктах, лекарствах, медицинских приборах, косметических средствах, нет явного или подразумеваемого разрешения на использование для любых других целей, включая, помимо прочего, диагностические цели *in vitro*, для людей или животных или в коммерческих целях.

Олигонуклеотидный синтез

Растворитель: сухой ацетонитрил (растворить до концентрации 0.1 М, хранение - 24 часа).
Условия конденсации: рекомендуемое время конденсации 6 минут
Условия деблокирования: идентичные защищенным природным нуклеотидам