

チオール (SH) 化オリゴヌクレオチド脱保護方法説明書

この度は弊社のカスタムDNAをご注文頂き誠に有難うございます。
ご注文のチオール化オリゴヌクレオチドには、チオール化オリゴヌクレオチド分子間のチオール基によるジスルフィド結合を防ぐ為に保護基が付いております。
弊社での脱保護方法を記載致します。お手数ですが下記内容をご参照頂き、保護基を外した後に製品をご使用頂きますようお願い申し上げます。

<必要な試薬、備品>

- 0.1M DTT (ジチオトレイトール) DTT 15.425mg/1ml 精製水
- 2 M TEAA (トリエチルアミンアセテート pH 7.0) 和光純薬
- ACN (アセトニトリル) 和光純薬
- 5% ACN/0.1M TEAA 2 M TEAA 2.5ml+100%ACN 2.5ml+精製水 45ml
- 30%ACN 和光純薬、精製水で希釈
- 逆相カラム (製品名: Waters社 Sep-Pak Cartridge 品番: WAT094291)
- その他、チューブ、シリンジ

<手順>

1. 乾燥状態のサンプルに0.1M DTT を500 μ l加えて溶解し、室温で30分間放置する。
2. シリンジを用いて100%ACN 5mlをカラムに通して洗浄する。カラム内に残ったACNはシリンジで充分押し出すこと。(以下、他の試薬類を通した後も同様)
3. シリンジを使ってカラムに2M TEAA 5mlをゆっくりと通し、平衡化させる。
4. 1. のサンプルに精製水500 μ lを加え、シリンジを用いてカラムに通し、吸着させる。より確実に吸着させるため、サンプルをゆっくりとシリンジで押し出してチューブに回収し、それをもう一度カラムに通す。
5. 5% ACN/0.1M TEAA 10mlを、シリンジを使用してゆっくりとカラムに通し、サンプルをリンスする。
6. 5. と同様に、精製水10 mlを用いてカラム内を再度リンスする。
7. 30% ACNを、シリンジを用いてゆっくりとカラムに通し、抽出液を回収する。
8. 凍結乾燥機でACNを除去し、実験に用いる。

<保存>

10mM DTT水溶液中に溶解し、短期間なら冷蔵、長期にわたる場合は冷凍する。

チオール化オリゴヌクレオチドの脱保護は、ご希望があれば弊社でも承りますが、出荷時から実際にお客様がご使用になるまでの間に、ジスルフィド結合を起こし構造が変化してしまう可能性があるため、お奨め致しておりません。このためご面倒でも、可能な限り使用する直前に脱保護処理をされることをお奨め致します。