

LZCap[®]AG(FM)

产品描述: LZCap[®]AG(FM)是一种 Cap1 类似物, 可以作为 mRNA 共转录加帽试剂, 在 T7 聚合酶作用下, 利用 LZCap[®]AG(FM)、NTPs 以及模板 DNA 共转录产生带 5' 端 Cap 1 结构的 mRNA, 加帽后的 mRNA 能直接在细胞和体内翻译表达。广泛应用于体外转录、基因编辑、疫苗研发、肿瘤 CAR-T 治疗、蛋白代替疗法以及再生医学等领域。

LZCap[®]AG(FM)需要 T7 启动子以 AG 作为起始序列, LZCap[®]AG(FM)的加帽率可达 95%以上, 1 μ g 起始模板量转录产生 100-200 μ g mRNA。

分子式: C₃₅H₄₈FN₁₅O₂₄P₄ (游离酸)

分子量: 1205.74 (游离酸)

CAS 号: /

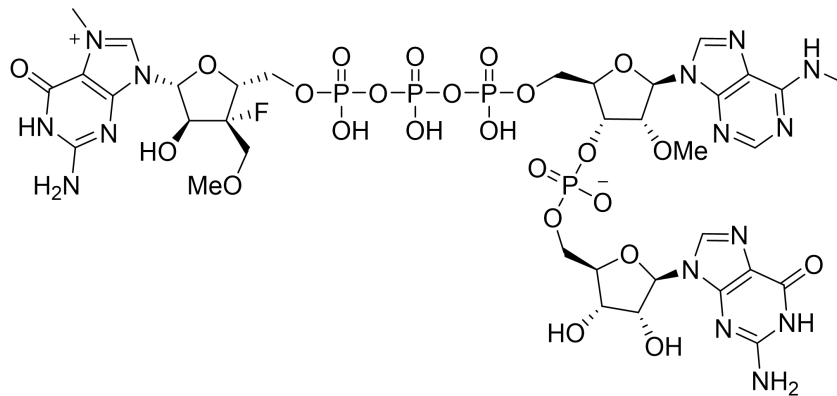
浓度: 100 mM

规格: 100 μ L、1 mL

纯度: HPLC \geq 95%

盐型: NH₄⁺

结构:



保存: -15 $^{\circ}$ C 及以下保存。

LZCap[®]的 DNA 模板设计

LZCap[®]AG(FM)适用于 AG 起始的序列, T7 启动子 (下划线) 后接 AG 序列能够有效起始转录。

5' <u>TAATACGACTCACTATA</u> AG GNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN 3' 3' ATTATGCTGAGTGATAT TC CNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN 5'

↓ T7 聚合酶转录+LZCap[®]AG

5' **GAG**GNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN 3'

10x m6A Transcription Buffer 配置 (以 1mL 体积配置为例)

组分	体积 (μL)	终浓度
RNase Free Water	185.8 μL	NA
Tris pH 7.5 (1M)	400 μL	400 mM
HCL (1M)	150 μL	150 mM
MgCl ₂ (1M)	160 μL	160 mM
DTT (1M)	100 μL	100 mM
Spermidine (5M)	4.24 μL	21.2 mM

10x m6A Transcription Buffer 是专门优化的 Buffer，能使 LZCap®AG(FM)的转录发挥到最高效率，产生的 mRNA 具有更好的表达效果。

实验流程

1. 在冰上解冻实验所需的组分。
2. 参考以下反应体系室温配置转录体系。

组分	体积 (μL)	终浓度
RNase Free Water	补足至 20μL	/
ATP(100mM)	1	5mM
UTP(100mM)	1	5mM
CTP(100mM)	1	5mM
GTP(100mM)	1	5mM
LZCap®AG(FM) (100mM)	2	10mM
10× m6A Transcription Buffer	2	1×
Linear DNA	1μg	50ng/μL
Recombinant RNase Inhibitor(40U/μL)	0.5	1U/μL
Pyrophosphatase(0.1U/μL)	0.4	0.002U/μL
T7 RNA polymers(250U/μL)	1.2	15U/μL
终体积	20μL	

为了进一步降低 mRNA 的免疫原性，恒诺康还可以为您提供修饰核苷酸 N1-Me-pUTP (N1-甲基假尿苷三磷酸) (货号：HN1002) 用来代替 UTP 参与转录反应。

备注:

- 1) LZCap®AG(FM)适用于以 5' AG 3' 起始序列的 T7 启动子转录载体, 在载体构建时需要加以考虑。
 - 2) 实验所用的试剂耗材和容器等无 RNase 污染。
 - 3) 建议使用线性化的 DNA 模板进行转录。
 - 4) 使用修饰核苷酸代替野生型核苷酸时, 反应终浓度不变。
 - 5) 若使用 PCR 产物作为转录起始模板, DNA 模板量可以减少一半。
 - 6) 由于 10×Transcription Buffer 浓度偏高, 高盐环境会导致聚合酶失活, 同时 buffer 中含有成分, 会与模板 DNA 形成沉淀, 配制反应液时需调整组分加样顺序, 计算好体系, 先加水, 然后加 buffer, NTP, 最后加模板和酶, 以防止 10×的高浓度盐离子对酶造成影响。
3. 将配置好的反应液混匀, 短暂离心后, 置于 37°C 孵育 2-3 小时。若转录本长度小于 100nt, 增加反应时间至 4-8 h。