

LZCap[®]AG(3'Ma-Biotin)

产品描述: LZCap[®]AG(3'Ma-Biotin)是一种 Cap1 类似物, 带有一个 Biotin 标记, 可以作为 mRNA 共转录加帽试剂。在 T7 聚合酶作用下, 利用 LZCap[®]AG(3'Ma-Biotin)、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。LZCap[®]AG(3'Ma-Biotin)加帽的 mRNA, 可以与链霉亲和素磁珠结合进行生物学功能探索; 此外, Biotin 作为体内常见分子, 参与了细胞内的多种生物功能, 与许多蛋白有着很强的结合力, Biotin 标记的 mRNA 在生物学上具有探索潜力。

分子式: C₄₃H₆₀N₁₈O₂₅P₄S (游离酸)

分子量: 1385.01 (游离酸)

CAS 号: /

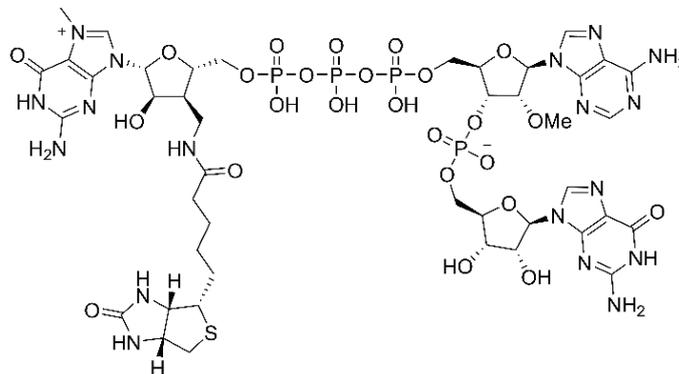
浓度: 25 mM

规格: 50 μL、100 μL

纯度: HPLC ≥90%

盐型: NH₄⁺

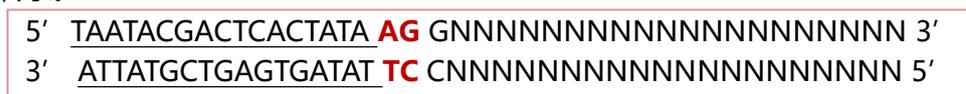
结构:



保存: -15°C 及以下保存。

LZCap[®]的 DNA 模板设计

LZCap[®]AG(3'Ma-Biotin)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。



↓ T7 聚合酶转录+LZCap[®]AG



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(3'Ma-Biotin) (25mM)	3.2	4mM
10×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)	0.64	8U/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(3'Ma-Biotin)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。