

## LZCap®AG(AM)

**产品描述:** LZCap®AG(AM)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(AM)、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(AM)需要 T7 启动子以 AG 作为起始序列, LZCap®AG(AM)的加帽率可达 95%以上, 1μg 起始模板量转录产生 100-200μg mRNA。

**分子式:** C<sub>36</sub>H<sub>50</sub>N<sub>16</sub>O<sub>24</sub>P<sub>4</sub> (游离酸)

**分子量:** 1214.78 (游离酸)

**CAS 号:** /

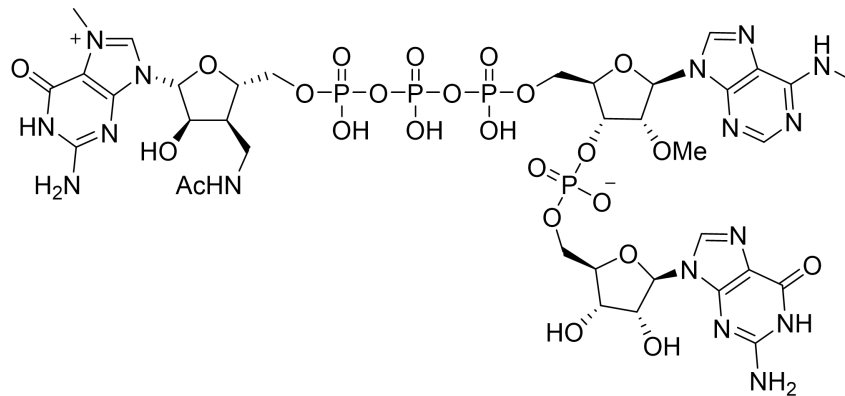
**浓度:** 100 mM

**规格:** 100 μL、1 mL

**纯度:** HPLC ≥95%

**盐型:** NH<sub>4</sub><sup>+</sup>

**结构:**



**保存:** -15°C 及以下保存。

### LZCap®的 DNA 模板设计

LZCap®AG(AM)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' TAATACGACTCACTATA 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 <sub>2</sub> (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(AM)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
<b>LZCap®AG(AM) (100mM)</b>	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<sup>®</sup>AG(AM)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× m6A 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。