

## LZCap® AG(3'Ma-Cy5)

**产品描述:** LZCap® AG(3'Ma-Cy5)是一种 Cap1 类似物, 带有一个 Cy5 荧光标记, 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-Cy5)、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, 具有优秀的表达效率。LZCap® AG(3'Ma-Cy5)加帽的 mRNA, 可通过流式细胞仪和荧光显微镜进行检测 Cy5 荧光, 对 mRNA 和 LNP 的分布等进行示踪和定位检测。LZCap® AG(3'Ma-Cy5) mRNA 的 Cy5 荧光推荐波长: (640/675)。

**分子式:** C<sub>66</sub>H<sub>84</sub>N<sub>18</sub>O<sub>30</sub>P<sub>4</sub>S<sub>2</sub> (游离酸)

**分子量:** 1797.51 (游离酸)

**CAS 号:** /

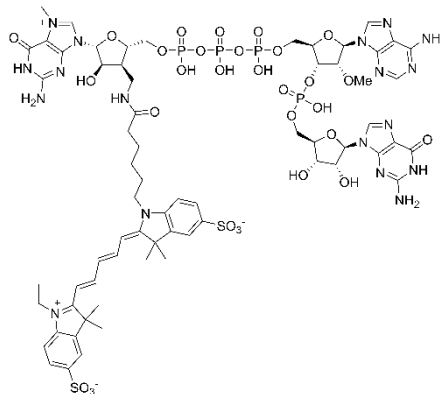
**浓度:** 25 mM

**规格:** 50 μL、100 μL

**纯度:** HPLC ≥90%

**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(3'Ma-Cy5)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 GNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN 3'
3' ATTATGCTGAGTGATAT TC CNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN 5'
    
```

↓ T7 聚合酶转录+LZCap® AG

5' **GAG**GNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN 3'

## 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(3'Ma-Cy5) (25mM)</b>	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-Cy5)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) LZCap® AG(3'Ma-Cy5)和其 mRNA 产物的储存使用应当注意避光。
  - 3) 实验所用的试剂耗材和容器等无 RNase 污染。
  - 4) 建议使用线性化的 DNA 模板进行转录。
  - 5) 使用修饰核苷酸代替野生型核苷酸时，反应终浓度不变。
  - 6) 若使用 PCR 产物作为转录起始模板，DNA 模板量可以减少一半。
  - 7) 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。
  - 8) 在转录后的 mRNA 纯化中，用预冷的 75%乙醇洗一次 mRNA 沉淀即可，反复多次洗涤会影响荧光基团。
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。