

INCOGNITO™ T7 mScript™ Complete N1me psi

mRNA Production System
Cellscript



CELLSCRIPT™
RNA for Translation in Cells

25 Reaktionen
Artikel-Nr.: 150390 | CellScript

1.360,00 €*

*zzgl. MwSt. zzgl. Versandkosten

Beschreibung

Produkttyp: IVT Kit plus Capping, dsRNA Entfernung, modifizierte Nukleotide

Verpackung: 25 Reaktionen

INCOGNITO™ T7 mScript™ Complete N1me psi-mRNA Production System

Das INCOGNITO™ T7 mScript™ Complete N1me psi-mRNA-Produktionssystem enthält alle Enzyme und Reagenzien zur Herstellung von mRNA mit extrem geringer Immunogenität, die N1-Methyl-Pseudouridin (N1me psi) enthält, eine 5'-Cap Struktur und eine 3'-Polyadenylierung hat und einen extrem geringen Gehalt an doppelsträngiger RNA (dsRNA) aufweist. Das Kit enthält Reagenzien für fünf Arbeitsschritte:

1. *In-vitro*-Transkription linearer doppelsträngiger DNA-Templates mit einem T7 Promotor unter Verwendung der T7 mScript™ Enzym-Lösung, der kanonischen Nukleotide ATP, CTP, GTP und des modifizierten Nukleotids N1-Methyl-Pseudouridin-5'-triphosphat (N1me psiTP)
2. enzymatisches Capping der RNA unter Verwendung des ScriptCap™ Cap 1 Capping Systems (enthält sowohl ScriptCap™ Capping Enzym als auch 2'-O-Methyltransferase) zur Herstellung von mRNA mit einer Cap 1-Cap-Struktur
3. A-Plus™ Poly(A) Polymerase zum Hinzufügen eines 3'-Poly(A)-Tails
4. Posttranskriptionelle enzymatische Entfernung von dsRNA unter Verwendung des Min-Immune™ Gold dsRNA Removal Systems
5. 5 M NH4OAc als bequeme RNA/mRNA-Reinigungsmethode

Nach der Transfektion weisen 5'-gcappte mRNA mit Poly(A) Tail in den meisten eukaryotischen Zelllinien eine erhöhte Stabilität und Translationseffizienz auf. Das INCOGNITO™ mScript™ System erzeugt modifizierte mRNA mit einer Capping-Effizienz von nahezu 100 % und einer vom Anwender definierten Poly(A)-Tail-Länge. Das A-Plus™ Poly(A)-

Polymerase-Protokoll bietet eine große Auswahl an Poly(A)-Tail-Längen von 150 bis über 300 Basen. Das enthaltene Min-Immune™ Gold dsRNA-Removal System kann dsRNA auf <0,005 % (LLOQ) in der Probe reduzieren, was weniger ist, als mit gentechnisch veränderten mutierten T7-RNA-Polymerasen erreicht werden kann. Durch seine ultra-niedrige Immunogenität eignet sich das INCOGNITO™ Complete N1me psi-mRNA für den Einsatz in nachgelagerten Anwendungen wie der Zell- und Gentherapieforschung und der Entwicklung von mRNA-Impfstoffen.

Was ist der Unterschied zwischen Cap 0-RNA und Cap 1-RNA?

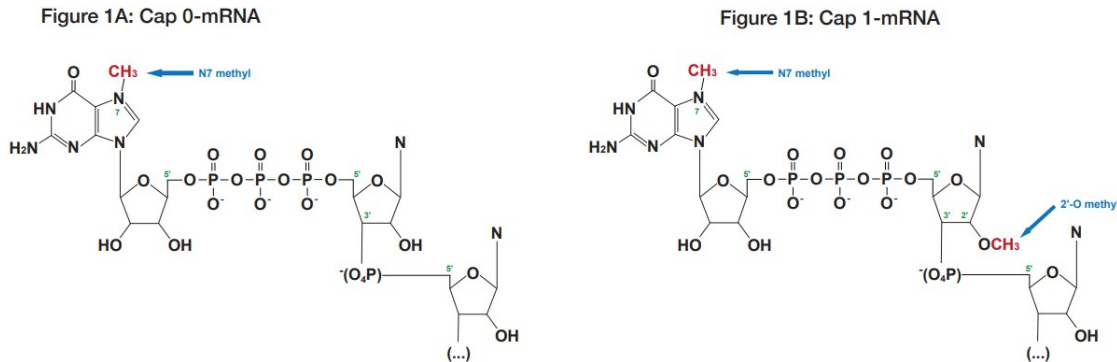


Abbildung 1: Cap 0-RNA und Cap 1-RNA. Cap 0 wird mit ScriptCap™ Capping Enzyme hinzugefügt und mit 2'-O-Methyltransferase in Cap 1 umgewandelt.

5'-Capping erhöht die mRNA-Stabilität und Translationseffizienz in Zellen im Vergleich zu uncapped RNA, wobei die Cap-1-Methylierung die Translationseffizienz in vivo weiter steigert.

Die Vorteile zusammengefasst:

- Geringere Immunogenität: Synthetisieren Sie Transkripte mit N1me psiTP und niedrigem dsRNA-Gehalt für eine reduzierte Immunantwort.
- Komplettlösung: Kombinieren Sie Transkription, 5'-Capping, 3'-Tailing und dsRNA-Entfernung in einem System.
- Hocheffizientes Capping: Erreichen Sie ~100 % 5'-Cap-1-Capping.
- Anpassbares Poly(A)-Tailing: Erstellen Sie variable 3'-Poly(A)-Tail-Längen von 50 bis >300 Basen.
- Effektive dsRNA-Entfernung: Eliminiert dsRNA auf <0,005 % (LLOQ) der Probe.

Das Produkt ist nur für Forschungszwecke bestimmt (RUO).

Nutzungs- und Labellizenzen für bestimmte Produkte: Der Käufer erhält ein beschränktes, nicht exklusives, nicht übertragbares Recht, die von CELLSRIPT™ gekauften Produkte ausschließlich für eigene interne Forschungszwecke im Labor zu nutzen. Weitere Informationen finden Sie unter Label License: <https://www.cellscript.com/terms-conditions/>

Mitgelieferte Materialien:

Wichtig Bei -20 °C in einem Gefrierschrank ohne Abtaufunktion lagern. Nicht bei -70 °C lagern.

INCOGNITO™ T7 mScript™ Complete N1me psi-mRNA Production System Kit Contents 25 Reactions. (Module 1 of 5)

Kit Module	Kit Component	Reagent Volume
In Vitro Transcription	T7 mScript™ Enzyme Solution	50 µl
	10X T7 mScript™ Transcription Buffer II	50 µl
	100 mM Dithiothreitol (DTT)	50 µl
	N1me psiTP PreMix	180 µl
	25 mM each GTP, ATP, N1me psiTP, CTP	
	RNase-Free DNase I, 1 U/µl	25 µl

INCOGNITO™ T7 mScript™ Complete N1me psi-mRNA Production System Kit Contents 25 Reactions. (Module 2 of 5)

Kit Module	Kit Component	Reagent Volume
Post-Transcriptional Capping	ScriptCap™ Capping Enzyme, 10 U/µl	100 µl
	ScriptCap™ 2'-O-Methyltransferase, 100 U/µl	100 µl
	10X ScriptCap™ Capping Buffer	250 µl
	0.5 M Tris-HCl (pH 8.0), 60 mM KCl and 12.5 mM MgCl ₂	
	20 mM S-adenosyl-methionine (SAM)	125 µl
	20 mM GTP	125 µl

INCOGNITO™ T7 mScript™ Complete N1me psi-mRNA Production System Kit Contents 25 Reactions. (Module 3 of 5)

Kit Module	Kit Component	Reagent Volume
------------	---------------	----------------

Poly(A) Tailing	A-Plus™ Poly(A) Polymerase, 4 U/μl	130 μl
	10X A-Plus™ Poly(A) Tailing Buffer	300 μl
	0.5 M Tris-HCl (pH 8.0), 2.5 M NaCl and 100 mM MgCl ₂	
	20 mM ATP	150 μl

INCOGNITO™ T7 mScript™ Complete N1me psi-mRNA Production System Kit Contents 25 Reactions. (Module 4 of 5)

Kit Module	Kit Component	Reagent Volume
dsRNA Removal	Min-Immune™ Gold RNase III (20X)	150 μl
	Min-Immune™ Gold 10X RNase III Treatment Buffer	300 μl

INCOGNITO™ T7 mScript™ Complete N1me psi-mRNA Production System Kit Contents 25 Reactions. (Module 5 of 5)

Kit Module	Kit Component	Reagent Volume
Common Usage	ScriptGuard™ RNase Inhibitor, 40 U/μl	90 μl
	RNase-Free Water	12 ml
	5 M Ammonium Acetate	12 ml

T7-Kontroll-Template-DNA: Ist ein linearisiertes 4,1-kb-Plasmid, das einen T7-Promotor gefolgt von einem Phagen-Lambda-dsDNA-Insert enthält, das ein 1.375 Basen langes Runoff-Transkript kodiert. Die Kontroll-Template-DNA wird in einer Konzentration von 0,5 μg/μl in T10E1-Puffer (10 mM Tris-HCl, pH 7,5, 1 mM EDTA) bereitgestellt.

Erforderliche, aber nicht mitgelieferte Materialien

- Eine DNA-Matrize für die Transkription Ihrer RNA von Interesse
- Materialien oder Kits zur Reinigung der *in Vitro* transkribierten RNA-Produkts, wenn Sie nicht das mitgelieferte Kit verwenden NH₄OAc

- RNase-freier TE-Puffer (10 mM Tris-HCl, pH 7,5, 1 mM EDTA) nur für die endgültige mRNA-Resuspension, wenn Sie nicht das mitgelieferte Kit verwenden RNase-freies Wasser
- 70 % Ethanol

Optionale Materialien

- dsRNA-spezifisches Nachweissystem, einschließlich:
- dsRNA-spezifischer Antikörper (z. B. J2-Antikörper [Absolute Biotech-Exalpha])
- Dot/Slot-Blotting-System zur Verwendung mit dem Antikörper
- Ein Bildanalysegerät zur Visualisierung und/oder Quantifizierung des Blots
- dsRNA-Standards
- TE-gesättigtes Phenol/Chloroform, 0,5–1 M EDTA