INCOGNITO™ T7 mScript™ Complete N1me psi

mRNA Production System
Cellscript



25 Reaktionen
Artikel-Nr.: 150390 | CellScript | Hersteller-Nr.: IMCMY250225

1.224,00 €*

*zzgl. MwSt. zzgl. Versandkosten

Beschreibung

Aktionsangebote: Jubiläumsaktion
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 NH_4OAc als bequeme RNA/mRNA-Reinigungsmethode

Nach der Transfektion weisen 5'-gecappte 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-Effiziez 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?

Figure 1A: Cap 0-mRNA

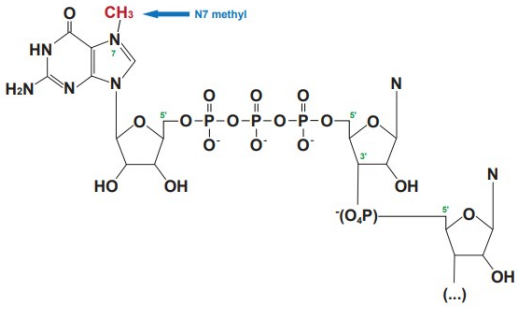


Figure 1B: Cap 1-mRNA

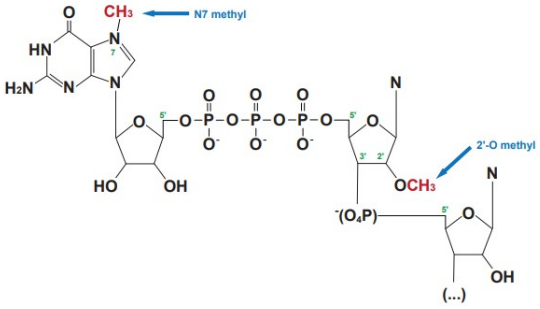


Abbildung 1: Cap 0-RNA und Cap 1-RNA. Cap 0 wird mit ScriptCap™ Capping Enzyme hinzugefügt und mit 2'-O-Methyltransferase in Cap 1 umgewandelt.

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 CELLSCRIPT™ 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)

In Vitro Transcription

Kit Component Reagent Volume

- T7 mScript™ Enzyme Solution 50 µl
- 10X T7 mScript™ Transcription Buffer II 50 µl
- 100 mM Dithiothreitol (DTT) 50 µl
- N1me psiTP PreMix 25 mM each GTP, ATP, N1me psiTP, CTP 180 µl
- 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)

Post-Transcriptional Capping

Kit Component Reagent Volume

- ScriptCap™ Capping Enzyme, 10 U/µl 100 µl
- ScriptCap™ 2'-O-Methyltransferase, 100 U/µl 100 µl
- 10X ScriptCap™ Capping Buffer 0.5 M Tris-HCl (pH 8.0), 60 mM KCl and 12.5 mM $MgCl_2$ 250 µl
- 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)

Poly(A) Tailing

Kit Component Reagent Volume

- Poly(A) Tailing A-Plus™ Poly(A) Polymerase, 4 U/µl 130 µl
- 10X A-Plus™ Poly(A) Tailing Buffer 0.5 M Tris-HCl (pH 8.0), 2.5 M NaCl and 100 mM $MgCl_2$ 300 µl
- 20 mM ATP 150 µl

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

dsRNA Removal

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)

Common Usage

Kit Component Reagent Volume

- 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

Telefon: +49 (0) 51 52 / 90 20
Telefax: +49 (0) 51 52 / 20 70
E-Mail: support@biozym.com
Internet: www.biozym.com

Rechtliches
Registergericht: Amtsgericht Hannover
Registernummer: HRB 101682
UST-ID: DE 813739502

Biozym Scientific GmbH
Geschäftsführer
Dr. Sebastian Petri