EZ-QC™ mRNA Cap 1 Efficiency Assay Kit

Cellscript



CELLSCRIPT™
RNA for Translation in Cells

10 Reaktionen
Artikel-Nr.: 150532 | CellScript | Hersteller-Nr.: ONE240910

414,00 €*

*zzgl. MwSt. zzgl. Versandkosten

Beschreibung

Aktionsangebote: Jubiläumsaktion
Produkttyp: QC Kit
Verpackung: 10 Reaktionen

Das EZ-QC™ mRNA Cap 1 Efficiency Assay Kit quantifiziert den prozentualen Anteil von Cap 1- gegenüber Cap 0-5'-Cap-Strukturen in einer mRNA-Probe. Die meisten Cap 1-mRNAs werden in Zellen im Vergleich zu ihren Cap 0-Gegenstücken in höheren Konzentrationen exprimiert, da Cap 1 dazu beiträgt, die mRNA als „eigenes“ Molekül zu identifizieren und die angeborene Immunantwort gegen die mRNA in Zellen zu verringern. Das EZ-QC™ mRNA Cap 1 Efficiency Assay Kit quantifiziert die Umwandlungseffizienz von Cap 0-Caps in Cap 1-Caps durch eine mRNA 2'-O-Methyltransferase (z. B. ScriptCap™ 2'-O-Methyltransferase).

Vorteile auf einen Blick

- **Geringer Input**: mRNA-Inputs von nur 12 pmol.
- **Schnelle Analyse:** Vollständige mRNA Cap 1 QC-Analyse an einem einzigen Tag.
- **Budgetfreundlich**: Verwendet gängige PAGE-Laborgeräte zur Durchführung der QC-Analyse, keine spezialisierten Instrumente wie LC-MS erforderlich.

Produktbeschreibung

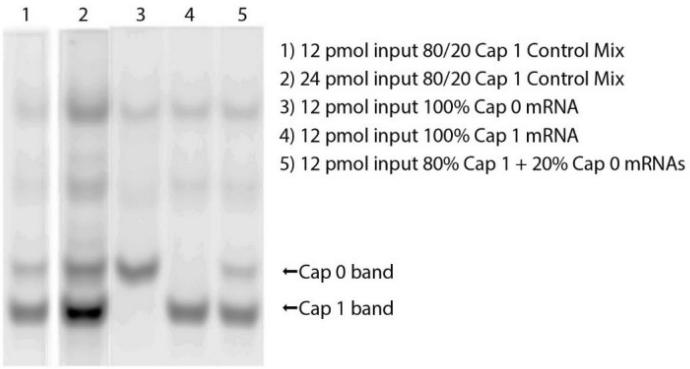
Die Reaktion des EZ-QC™ mRNA Cap 1 Efficiency Assay Kits markiert mRNA-5'-Caps mit Cyanine5 (Cy5) Hydrazid, wodurch alle mRNA-5'-Enden ohne Cap unmarkiert bleiben. Die markierte, gekappte mRNA wird dann mit einer RNase-Mischung hydrolysiert, wodurch Cy5-markierte Cap 1- und Cap 0-„Kern“ freigesetzt werden. Diese werden mittels

Polyacrylamid-Gelelektrophorese (PAGE) aufgetrennt. Ein Standard-Fluoreszenz-Gel-Imager misst die relativen Mengen von Cap 1 zu Cap 0 in der Probe, um die Cap 1-Umwandlungseffizienz genau zu berechnen. Der Assay vereinfacht die Analyse und ersetzt mühsame und teure Methoden zur Bestimmung der Capping-Effizienz wie HPLC und Massenspektrometrie. Zur Bestimmung des Gesamtanteils an gecappter RNA bietet CELLSCRIPT™ außerdem das EZ-QC™ XBG mRNA Capping Efficiency Assay Kit (für mRNA mit einer XBG 5'-UTR) und das EZ-QC™ mRNA Capping Efficiency Assay Kit (für mRNA mit einer beliebigen bekannten 5'-UTR-Sequenz) sowie das EZ-QC™ mRNA Poly (A) Tail Length Assay Kit für die vollständige mRNA-Charakterisierung. Weitere Informationen zu den EZ-QC™ mRNA-Qualitätskontrolltechnologien finden Sie im Cellscripts mRNA-QC-Analyse-Hub: Benchtop PAGE mRNA ? CELLSCRIPT™

Hinweis: Die Markierungschemie des EZ-QC™ mRNA Cap 1 Efficiency Assay ist nicht kompatibel mit Cap-Strukturen, die eine 3'-O-Methylgruppe am Capping-G-Nukleotid enthalten, wie z. B. Anti Reverse Cap Analog (ARCA) oder einige Versionen von GpppAG-Cap-Analoga.

Product Performance

Lane	Percent Cap 1	Percent Cap 0
1	78.1	21.9
2	79.2	20.8
3	0	100
4	100	0
5	78.8	21.2



100 % Cap 0, 100 % Cap 1 und eine Mischung aus 80 % Cap 1/20 % Cap 0 mRNA wurden mit dem EZ-QC™ mRNA Cap 1 Efficiency Assay Kit bewertet. Gel-Bildgebungssoftware und der 80/20 Cap 1 Control Mix wurden verwendet, um den Prozentsatz an Cap 0- und Cap 1-mRNA in jeder Spur genau zu quantifizieren.

Inhalt des Kits:

Wichtig: Nach Erhalt des Kits die Reagenzien entnehmen und bei den angegebenen Temperaturen lagern

EZ-QC™ mRNA Cap 1 Efficiency Assay Kit (10 reactions) Sufficient for 10 experimental and 10 control reactions.

Kit Component Reagent Volume Storage Temperature

1 M Sodium Acetate 20 µl Ambient

4 mM Sodium Sulfite 20 µl Ambient

10 mM Sodium Periodate 40 µl 4°C

80/20 Cap 1 Control Mix
Contains a mix of 80% Cap 1 and 20% Cap 0 mRNAs 60 µl –20°C

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

5 mM Cy5 Hydrazide (in DMF) 20 µl –20°C

EZ-QC™ RNase T1
in 50% glycerol and 50 mM Tris-HCl, pH 7.4 20 µl –20°C

EZ-QC™ RNase I
in 50% glycerol, 50 mM Tris-HCl, pH 7.5, 100 mM NaCl and 0.1?mM EDTA 24 µl –20°C

Cap 1 Stop/Loading Dye
95% formamide, 0.4 mM EDTA and 40 µg/ml Basic Fuchsin 350 µl –20°C

RNase-Free Water 875 µl –20°C

FAQ:

Die experimentellen Banden sind nicht sichtbar, aber die 80/20 Cap 1 Control Mix-Banden sind es.

Es wurde eine unzureichende Menge an mRNA verwendet.

Bei der Durchführung einer Bead-basierten Reinigung ist sicherzustellen, dass =12 pmol mRNA für den Assay verwendet werden. Die mRNA-Lösung erneut quantifizieren, um sicherzustellen, dass 12–24 pmol mRNA für den Assay verwendet werden.

Verlust des gereinigten mRNA-Pellets.

Bei einer präzipitationsbasierten Reinigung sind Pellets aus 12–24 pmol mRNA mit bloßem Auge möglicherweise schwer zu erkennen und können bei der Reinigung verloren gehen, wenn sie nicht vorsichtig behandelt werden. Wiederholen Sie die Reaktion und gehen Sie bei diesem Schritt besonders sorgfältig vor.

Die Gesamt-Capping-Effizienz der mRNA-Präparation war gering.

Das Kit misst die Cap-1-Konzentration im Verhältnis zu Cap 0, nicht im Verhältnis zum gesamten mRNA-Gehalt. Wenn der Gesamtanteil an gecappten mRNA-Gehalt gering ist, werden weniger Cap-„Kernmoleküle“ markiert, was zu einem schwachen Signal führt. Um den Gesamtanteil an Capping zu bestimmen, verwenden Sie das EZ-QC™ mRNA Capping Efficiency Assay Kit oder das EZ-QC™ XBG mRNA Capping Efficiency Assay Kit (für mRNA, die ein Xenopus ß-Globin [XBG] 5'-UTR enthält).

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