**GAG Cap，100mM Sodium Salt产品说明书**

**产品信息**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| 产品名称 | Cat# | 规格 |
| **GAG Cap，100mM Sodium Salt** | N301A01 | 40 μL |
| N301A02 | 100 μL |
| N301A03 | 200 μL |
| N301A04 | 200 μL |

**产品描述**

GAG Cap是一种具有m7G(5′)ppp(5′)(2′omea) pG结构的帽类似物。该产物用于5'AG3'初始序列的转录，通过Cap转录帽产生天然的Cap1结构,产生的Cap1结构使mRNA具有更高的体内活性和翻译效率。

本品为透明无色水溶液，经测试不含核酸酶切酶、核酸外切酶、RNase污染，并通过体外转录功能测试。

**产品属性**

|  |  |
| --- | --- |
| 分子式 | C32H43N15O24P4(free acid) |
| 分子量 | 1145.66 g/mol |
| 纯度 | ≥ 99% |
| 浓度 | 100 ± 5mM |
| 结构式 | GAG na |

**运输和储存**

本产品随干冰运输，可在-15℃~ -25℃保存两年。

**注意事项**

* 可以室温溶解，溶解后宜存放于冰盒内或冰浴上，使用过程小心防止RNase污染降解，使用完毕后宜立即置于-20ºC保存。 
* 本产品仅限于科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品。
* 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

**常见问题与解决方案**

Q1：帽类似物加帽和酶法加帽如何选择？

A1：工业上酶法加帽最常使用的是牛痘病毒加帽酶处理IVT产物可以将其修饰成Cap 0 mRNA，Cap 0结构可以在二氧甲基转移酶（2'O-methyltransferase）的作用下进一步修饰成Cap 1（m7GpppmN）。利用酶法加帽，加帽效率可以达到95%以上。共转录加帽法操作简便，但由于GTP会竞争帽状二聚体，因此该方法加帽率低一些；两种方式各有优缺点。

Q2： 对于一些没有加上帽子的mRNA在体系内，会不会影响后续合成的mRNA？

A2：目前行业对这一块的没有做针对性的去除，主要是看加帽效率的多少，对于合成之后的mRNA，可以用纯化的方式处理，例如：纯化工艺，传统用Oligo dT的柱子做纯化，效果好可以回收率70-80%；也可以多加一步疏水柱在oligo dT后。

Q3：对于共转录体系中Clean-Cap涉及到的专利，是怎么解决呢？

A3：目前我们可以提供帽子类似物，据我们了解，现在Trilink在国内专利还没有授权，在国内可以放心使用。目前我们也在积极寻找合作机会。

Q4：检测时出现帽子类似物挑酶的情况，珲信的帽类似物搭配其他厂家酶没有产量是什么原因呢？

A4： 各家的酶比活差不多但酶活差异较大，例如某公司50U的相当于200-250U的酶，所以在体系不匹配的情况，酶量加少了，帽子就加不上去。建议根据不同的应用场景选择不同的帽子类型和酶量的调整。

针对于Trilink的体系介绍： CleanCap：NTP=4：5，产量较低，原因就是NTP加少了，在酶法加帽的IVT体系中，NTP的量10mM，所以在共转录加帽体系中建议按照等比例（1：1或5：4）10mM or 8mM。 在要保证加帽率的前提下，酶用量会提升且工艺操作更加复杂。我们是ClaenCap的帽子，它的加帽率主要会受到T7 RNA酶的碱基偏好性的影响。