

TSA系列
 RNA合成原料
 细胞示踪检测试剂盒
 成品mRNA
 qPCR及逆转录系列
 双荧光素酶报告系统
 Cas9 mRNA
 Phosphoridyl系列
 修饰核苷酸
 抑制剂Cocktails
 细胞增殖检测试剂盒
 细胞因子
 PCR相关产品
 拮抗剂
 核酸电泳染料
 裂解液
 二抗
 EGFP mRNA
 Cyanine Dyes
 小分子化合物
 抑制剂
 化合物库
 激动剂
 LNP包被
 DNA聚合酶
 mRNA定制及包被
 RT-qPCR相关产品
 基因型鉴定试剂盒
 抗体标记服务
 生物素化产品
 细胞凋亡检测试剂盒
 CK-8
 T7 RNA聚合酶
 克隆相关产品



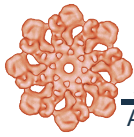
公司：上海伟寰生物科技有限公司
 电话：021-55669583
 网址：www.apexbio.cn
 地址：上海市杨浦区国权北路1688号湾谷科技园C7栋801室



客服企业微信



微信公众号



APExBIO

Achieve Perfection, Explore the Unknown



mRNA研究完整解决方案

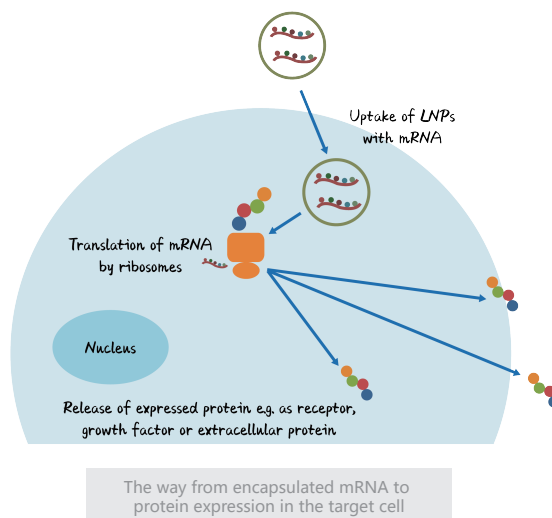
- » 多样化mRNA定制合成
- » 修饰核苷酸
- » 高质量体外转录原材料
- » 报告基因/工具基因mRNA

www.apexbio.cn

为什么在研究中使用mRNA?

mRNA成为了近年来热门的新型研究工具，因为：

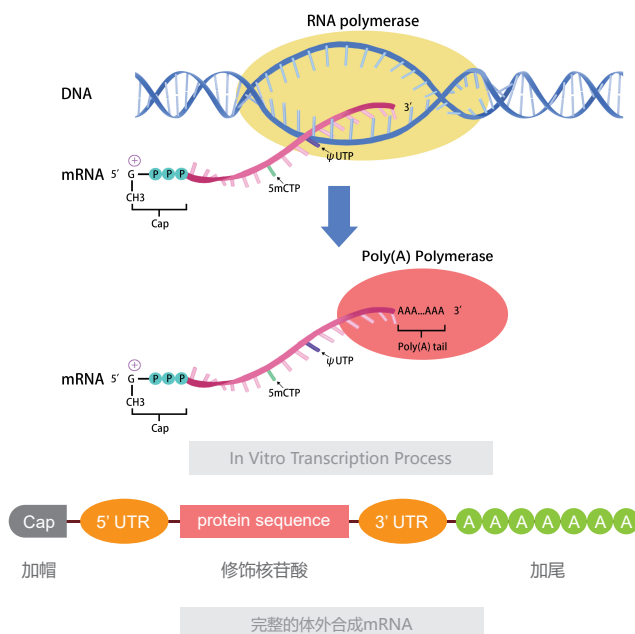
- » 插入性突变的风险最小
- » 可以转染非分裂细胞等较难转染的细胞
- » 短期表达且可控
可以精准瞬时地对表达进行调控，并且可以通过生理代谢途径完全降解。
- » 高效的递送
mRNA针对的是细胞质，只需要穿过质膜即可。相比之下，质粒DNA和大多数类型的病毒载体必须到达细胞核，并穿过额外的膜屏障。
- » 快速的表达水平
转染后6-8小时即可检测到对应蛋白的表达，比DNA或者病毒基质的方法更快。



什么是IVT（体外转录）mRNA？它是如何作用的？

In Vitro Transcription (IVT) 体外转录，是以包含编码序列的线性化DNA为模板，通过RNA聚合酶体外转录成mRNA。转录好的mRNA可以被脂质体或脂质体纳米颗粒包被，递送进入细胞。一旦进入细胞质，IVT mRNA就会通过细胞内的蛋白质合成机制进行翻译，产生编码的蛋白质。

一个完整的体外合成mRNA必须具备以下修饰：在5'端有7-甲基鸟苷酸的加帽，在3'端有Poly(A)尾，才能在真核细胞中进行有效翻译。同时修饰核苷酸的掺入和mRNA序列优化，对于降低mRNA免疫原性，提高蛋白翻译效率也发挥着关键作用。



mRNA主要有哪些应用?

- » 基因重组
- » 传染病
- » 细胞疗法 (CAR-T细胞, TCR)
- » 转染
- » 抗体表达
- » 基因替代
- » 癌症免疫疗法
- » 基因编辑 (转座子, Cre, ZFN, TALEN和CRISPR/Cas9)
- » 微注射
- » 个性化疫苗
- » 再生疗法
- » 蛋白质替代疗法

mRNA结构

5'端加帽 (Cap)

Cap在多种细胞过程中十分重要，可以与不同的结合蛋白、起始因子和核糖体元件相互作用，完成蛋白合成的起始，避免核酸外切酶切割RNA，招募前体mRNA剪接等功能。

用未经过加帽修饰的mRNA转染细胞，会造成先天免疫途径的激活而导致细胞死亡。mRNA加帽 (Capping) 减少了与模式识别受体的结合，从而阻止了先天免疫刺激。

m7G加帽结构 (Cap) 是由5'→5'三磷酸键来连接的mRNA的5'端的7-甲基鸟嘌呤三磷酸组成。m7G Cap, 也称为Cap 0结构。大部分真核生物体内，在mRNA起始核苷酸的2'O位置，存在一个甲基修饰，将Cap 0结构进一步修饰为Cap 1结构。

加帽类似物 (Cap Analog)

在转录过程中引入加帽类似物，进行共转录加帽 (co-transcriptional capping)，从而无需额外的酶促加帽步骤，可以稳定加帽效率，减少操作损失。

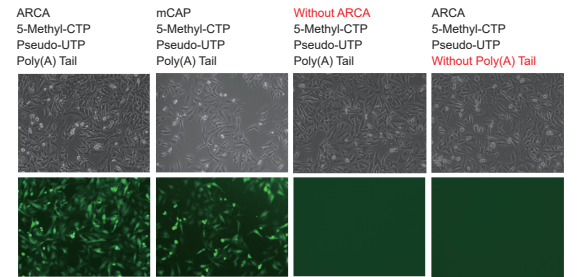
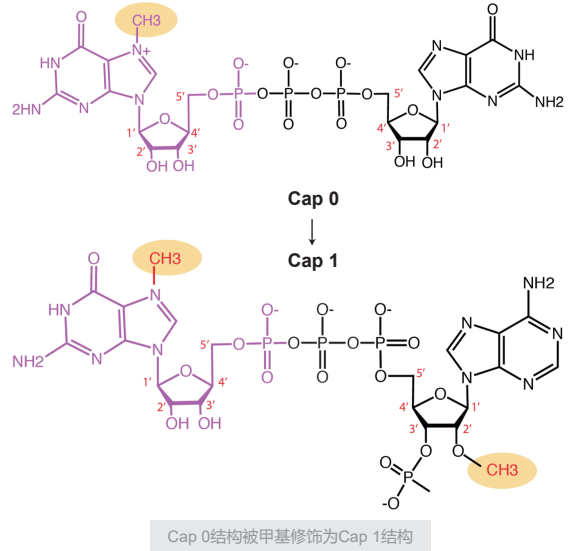
mCAP 和 ARCA (Cap 0 结构)

mCAP是分子生物学工具中的第一个Cap加帽类似物。mCAP有50%的机会以正确的方向插入，来增强翻译。另外50%的分子不能成为有效翻译的底物，降低了转录本的特异活性。

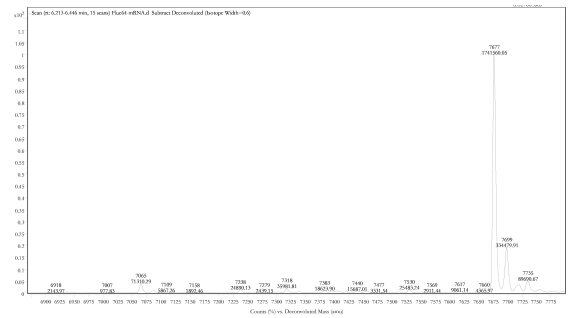
接着，抗反向加帽类似物 (ARCA) 被引入。ARCA只能以正确的方向插入，所形成的mRNA被翻译时的效率相当于mCAP起始的mRNA的两倍 (80%左右加帽，20%左右未加帽)

EZ Cap™ (Cap 1 结构, 等同于CleanCap)

mCAP和ARCA都只能产生Cap 0修饰。但真核生物的mRNA基本都具有Cap 1结构，Cap 0结构可能引起免疫激活，降低mRNA翻译效率和稳定性。所以目前主流研究中，Cap 1修饰类似物EZ Cap™已逐渐取代mCAP和ARCA修饰。



EGFP mRNA in HeLa cells; 24 hours post transfection



LC-MS detection of Cap1 capping efficiency

EZ Cap™ 特点

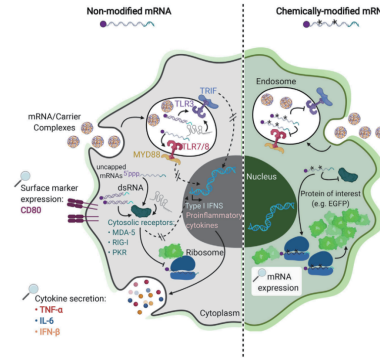
- » 具有优势的新一代加帽类似物，产生自然的Cap 1结构
- » 避免传统加帽方法 (mCAP/ARCA) 的低加帽效率或高成本用酶
- » 持续、高效的的加帽效率，通常为90-99%
- » 包括各种特定起始序列的结构，例如EZ Cap™试剂AG, EZ Cap™试剂GG等
- » “共转法”反应可产生稳健的得率 (1-4 mg/ml)
- » 生成适用于体内实验的，活性最高和毒性最低的mRNA

Compound	Mass	%
Cap 1 (EZ Cap)	7677.12	94.88
5'-triphosphate	7393.98	0.00
5'-diphosphate	7317.93	1.96
5'-monophosphate	7238.03	1.36
No-cap/uncapped triphosphate	7381.86	1.01
No-cap/uncapped diphosphate	7302.78	0.43
No-cap/uncapped monophosphate	7223.69	0.36

■ Poly(A) 加尾 (Poly(A) Tail)

成熟mRNA的3'端具有约120个腺苷核苷酸，即Poly(A)尾。Poly(A)加尾过程（即聚腺苷酸化）与转录终止，核输出mRNA以及翻译起始复合体的形成都密切相关。

Poly(A)尾赋予了mRNA稳定性，并提高了翻译效率。为了添加Poly(A)尾，可以使用相应的Tailed PCR引物将Poly(A)尾编码在DNA模板中，或者可以通过用E. coli Poly(A)聚合酶对mRNA进行酶处理，将其添加到mRNA转录本上。



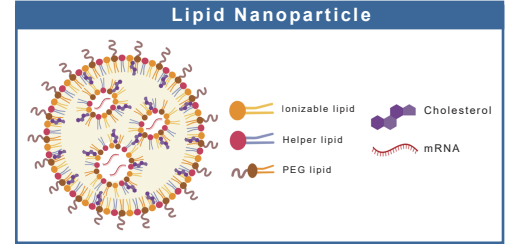
Chemical modification of uridine modulates mRNA-mediated proinflammatory and antiviral response in primary human macrophages. *Mol Ther Nucleic Acids*. 2022, 27: 854-869.

■ 修饰核苷酸 (Modified Nucleotides)

成熟的mRNA在体内存在多种修饰，可用来区分内源与病毒RNA，或参与翻译调控。在体外转录过程中，可以用天然修饰的核苷酸或合成的核苷酸类似物（如Pseudo-UTP, 5-mCTP）替代普通核苷酸，所得的mRNA即为被修饰的。例如，5-甲基尿苷（5-moUTP）是一种有效的修饰核苷酸，可避免先天免疫刺激，同时支持高效的翻译，产生高细胞活性，低毒性和减少干扰素诱导。

■ LNP包被

mRNA因其单链结构极不稳定易被降解，需要特殊包被或修饰进行胞内递送。脂质纳米粒（LNP）是目前最热门的mRNA递送技术之一，其构成通常包括可电离阳离子脂质、中性辅助磷脂、PEG修饰磷脂以及胆固醇。APEXBIO可提供多种常用于构建LNP递送系统所需的组分产品。



类型	货号	名称
可电离阳离子脂质	A8791	D-Lin-MC3-DMA
	B8595	ALC-0315
	C1042	SM-102
中性辅助磷脂	C4002	1,2-Dipalmitoyl-sn-glycero-3-PC (DPPC)
	C4855	1,2-Distearoyl-sn-glycero-3-PE (DSPE)
	C4911	1,2-Distearoyl-sn-glycero-3-PC (DSPC)
	C4956	1,2-Dioleoyl-sn-glycero-3-PE (DOPE)
胆固醇	B1702	Cholesterol
PEG修饰脂质	B8596	ALC-0159
	M2001	DMG-PEG 2000
	M2002	DSG-PEG 2000

■ 我们能提供什么？

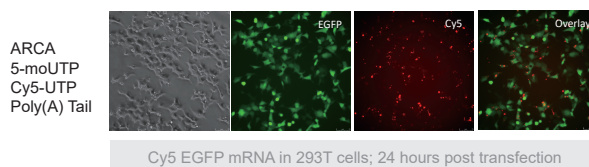
作为中国能生产克级高纯度mRNA的公司，APEXBIO拥有国内独家mRNA体外转录合成平台，自产用于合成的全套修饰核苷酸、转录酶、加尾酶等原材料。APEXBIO可提供一系列RNA相关产品，包括用于合成、提取、纯化、分析和检测的试剂。同时利用独特的mRNA纯化技术，可实现快速筛选多种mRNA修饰，以适应不同靶细胞和免疫原性筛选。

■ IVT mRNA所需的原材料和试剂盒

DNA模板生成	体外转录	mRNA加帽	Poly(A)加尾	mRNA纯化	mRNA包被
<p>K1032 HyperFusion™ High-Fi DNA polymerase</p> <p>K1034 2X Taq PCR Master Mix (with dye)</p> <p>K1040 dNTP Mixture</p> <p>K1116 2X Fast Taq PCR Master Mix (with dye)</p> <p>K1117 2X HyperFusion™ plus master mix (With dye)</p> <p>K1118 HyperFusion™ plus DNA polymerase</p> <p>K1119 2X HyperFusion™ plus master mix</p>	<p>K1401 HyperScribe™ T7 High Yield RNA Synthesis Kit Plus</p>	<p>加帽类似物</p> <p>B8174 mCAP</p> <p>B8175 ARCA</p> <p>B8176 EZ Cap™ Reagent AG</p> <p>B8178 EZ Cap™ Reagent AG (3' OMe)</p> <p>B8177 EZ Cap™ Reagent GG</p> <p>B8179 EZ Cap™ Reagent GG (3' OMe)</p>	<p>K1053 HyperScribe™ Poly(A) Tailing Kit</p>	<p>K1069 RNA Clean and Concentrator Kit</p>	<p>四组分LNP包被原料 LNP纳米制备仪</p>
	<p>工具酶</p> <p>K1083 T7 RNA Polymerase</p> <p>K1088 DNase I (RNase-free)</p> <p>K1095 Bsa I (RNase-free)</p> <p>K1099 T3 RNA Polymerase</p> <p>K1096 SP6 RNA Polymerase</p> <p>K1046 RNase Inhibitor</p>	<p>修饰核苷酸</p> <p>B7972 Pseudo-UTP (ψ-UTP)</p> <p>B7967 5-Methyl-CTP (5-mCTP)</p> <p>B8061 5-Methoxy-UTP (5-moUTP)</p> <p>B8049 N1-Methylpseudo-UTP</p> <p>B8332 Fluorescein-12-UTP</p>	<p>体外转录试剂盒</p> <p>K1404 HyperScribe™ T7 High Yield Cy5 RNA Labeling Kit Plus</p> <p>K1405 HyperScribe™ T7 Biotin 16 RNA Labeling Kit Plus</p> <p>K1406 HyperScribe™ Co-transcription mRNA Synthesis Kit Plus (ARCA, T7)</p> <p>K1407 HyperScribe™ Co-transcription mRNA Synthesis Kit Plus (ARCA, 5mCTP, ψUTP, T7)</p> <p>K1408 HyperScribe™ Co-transcription mRNA Synthesis Kit Plus (ARCA, 5-moUTP, T7)</p> <p>K1402 HyperScribe™ T7 High Yield Fluorescein RNA Labeling Kit Plus</p> <p>K1409 HyperScribe™ Co-transcription mRNA Synthesis Kit Plus (EZ Cap Reagent AG (3' OMe), T7)</p> <p>K1410 HyperScribe™ Co-transcription mRNA Synthesis Kit Plus (EZ Cap Reagent AG (3' OMe), 5mCTP, ψUTP, T7)</p> <p>K1411 HyperScribe™ Co-transcription mRNA Synthesis Kit Plus (EZ Cap Reagent AG (3' OMe), 5-moUTP, T7)</p> <p>K1403 HyperScribe™ T7 High Yield Cy3 RNA Labeling Kit Plus</p> <p>K1416 HyperScribe™ T3 High Yield RNA Synthesis Kit</p> <p>K1415 HyperScribe™ SP6 High Yield RNA Synthesis Kit</p>		

■ 现成的mRNA产品：报告基因/工具基因mRNA

为了方便您的使用，APEX BIO开发并优化了一系列报告基因/工具基因mRNA，进行了ARCA和EZ Cap™加帽，并添加了Poly(A)尾和修饰核苷酸。报告基因mRNA可以转染到哺乳动物细胞中，作为理想的对照，在各种实验中（例如荧光显微镜、定量荧光法、生物发光成像和FACS）研究转染和翻译的效率。工具基因mRNA可应用于基因编辑技术，和guideRNA协同对DNA进行定点切割。



货号	报告基因 / 工具基因 mRNA	货号	报告基因 / 工具基因 mRNA
R1005	Firefly Luciferase mRNA (ARCA, 5-mCTP, ψ UTP)	R1017	EZ Cap™ mCherry mRNA (5-mCTP, ψ UTP)
R1006	SpCas9 mRNA (ARCA, 5-mCTP, ψ UTP)	R1020	EZ Cap™ EPO mRNA (ψ UTP)
R1007	ARCA EGFP mRNA (5-moUTP)	R1022	EZ Cap™ Renilla Luc mRNA (5-moUTP)
R1009	ARCA Cy5 EGFP mRNA (5-moUTP)	R1024	EZ Cap™ Human p53 mRNA (ψ UTP)
R1010	EZ Cap™ Cy5 Firefly Luciferase mRNA (5-moUTP)	R1026	EZ Cap™ Human PTEN mRNA (ψ UTP)
R1011	EZ Cap™ Cy5 EGFP mRNA (5-moUTP)	R1028	EZ Cap™ OVA mRNA (5-moUTP)
R1013	EZ Cap™ Firefly Luciferase mRNA (5-moUTP)	R1029	EZ Cap™ Cre mRNA (ψ UTP)
R1015	EZ Cap™ Cas9 mRNA (5-moUTP)	R1033	EZ Cap™ Mouse p53 mRNA (ψ UTP)
R1016	EZ Cap™ EGFP mRNA (5-moUTP)	R1036	EZ Cap™ Fdx1 mRNA (ψ UTP)

使用APEX BIO mRNA产品发表的文献

Lysosomal cystine governs ferroptosis sensitivity in cancer via cysteine stress response. *Mol Cell.* 2023; 83(18): 3347-3359. (2023 IF 16; B8049)

mRNA lipid nanoparticle-mediated pyroptosis sensitizes immunologically cold tumors to checkpoint immunotherapy. *Nat Commun.* 2023; 14(1): 4223. (2023 IF 16.6; B7972)

Prediction of lipid nanoparticles for mRNA vaccines by the machine learning algorithm. *Acta Pharm Sin B.* 2022; 12(6):2950-2962. (2023 IF 14.5; B8176)

Genome-wide CRISPR/Cas9 library screen identifies PCMT1 as a critical driver of ovarian cancer metastasis. *J Exp Clin Cancer Res.* 2022; 41(1): 24. (2023 IF 11.3; K1047)

A COVID-19 mRNA vaccine encoding SARS-CoV-2 virus-like particles induces a strong antiviral-like immune response in mice. *Cell Res.* 2020; 30(10): 936-939. (2023 IF 44.1; K1069)

T-Cell-Derived Exosomes and Liposomes for Enhanced Cancer Immunotherapy. *ACS Nano.* 2023; 17(17): 16770-16786. (2023 IF 17.1; A8791)

Modulating plaque inflammation via targeted mRNA nanoparticles for the treatment of atherosclerosis. *ACS Nano.* 2023; 17(18): 17721-17739. (2023 IF 17.1; R1016/R1018/R1010)

A Multidimensional Approach to Modulating Ionizable Lipids for High-Performing and Organ-Selective mRNA Delivery. *Angew Chem Int Ed Engl.* 2023; e202310401. (2023 IF 16.6; R1013)

Induction of Bleb Structures in Lipid Nanoparticle Formulations of mRNA Leads to Improved Transfection Potency. *Adv Mater.* 2023; 35(31): e2303370. (2023 IF 29.4; R1005)

Biomimetic Mineralized CRISPR/Cas RNA Nanoparticles for Efficient Tumor-Specific Multiplex Gene Editing. *ACS Nano.* 2023; 17(15): 15025-15043. (2023 IF 17.1; R1007)

GMP级原料

APExBIO生产各种GMP级产品作为mRNA合成过程的原料。这些产品符合行业规范，并在优质基础设施中制造。我们合格的设备、公用设施、QC测试方法和规范的制造流程可以确保批次之间的高度一致性。

B8176R	EZ Cap™ Reagent AG	B7972R	Pseudo-UTP	K1087R	Pyrophosphatase, Inorganic (E. coli)
K1083R	T7 RNA Polymerase	K1095R	Bsa I (RNase-free)	K1088R	DNase I (RNase-free)

特点

基础设施与制造业

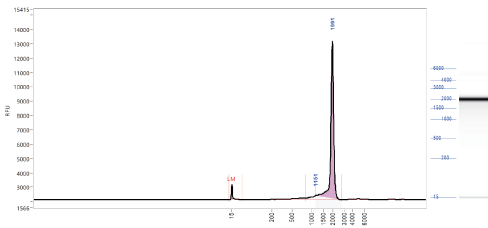
- 25800平方英尺的设施
- 定期监测温度、压力、湿度和颗粒计数
- 单通道、HEPA过滤空气系统
- 一次性耗材和工艺流程
- 无菌散装分装套件

QC & QA

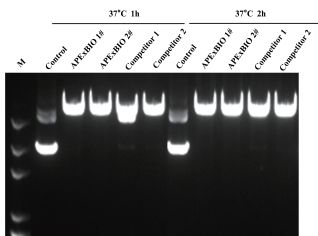
- 稳定性测试程序
- 经验证的释放方法
- 合格的质量/污染控制
- 批次历史记录文件/批次记录
- 定义的CQA和CPP
- 增强的变更管理和批处理处置流程
- 完全可追溯的文档和审计跟踪
- 带有维护日志的校准仪器用于关键质量参数



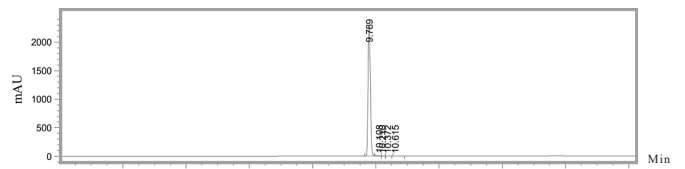
验证



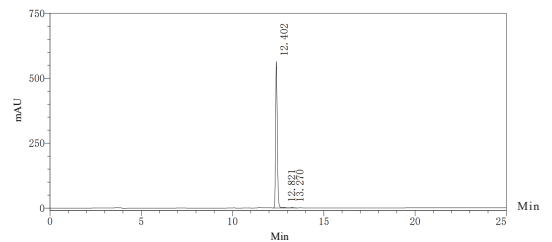
Capillary electrophoresis shows mRNA transcribed by T7 RNA Polymerase has good integrity and high purity.



Sample: 1 µg DNA and 1 U enzyme
Incubation: 1 hour at 37°C
Results: Bsa I from APExBIO and Competitor 2 show complete enzyme digest, Competitor 1 did not. # means same samples.



HPLC for EZ Cap™ Reagent AG Concentration: 100 mM Purity: ≥ 99 %



HPLC for Pseudo-UTP Concentration: 100 mM Purity: ≥ 98 %

mRNA定制合成服务

APExBIO 提供高得率和高性价比的 mRNA 以及长链RNA的定制合成。我们在微克到毫克的级别上，开展广泛的mRNA合成服务，规格灵活，满足您的各种研究需求。我们为所有的标准 mRNA 片段进行ARCA 和 EZ Cap™ (等同于CleanCap) 加帽，Poly(A)加尾或修饰核苷酸等处理，从而增强mRNA稳定性，提高翻译效率以及降低免疫原性等。并在合成mRNA过程中，加入DNase酶，降解DNA模板。用磷酸酶去除RNA末端的5'三磷酸盐，进一步减少哺乳动物细胞的先天免疫反应。为确保高品质的mRNA，合成的mRNA均进行严格的QC检测，并提供全面的质检报告。



mRNA定制合成完整解决方案

mRNA 可从您提供的 DNA 模板生成，或者我们可以从零开始，提供完整的mRNA体外合成。我们的专家团队具有多年丰富的经验，将给您全方位的建议，从模板设计到最终产品优化的整个过程，包括有关碱基组成、确定合适的项目规模、加帽策略、转录后加工、LNP包被和纯化选项等。

交付结果： mRNA溶液 (1 mg/ml) , COA文件, 检测报告

纯化系统

体外转录合成的mRNA，可能含有各种污染物：比如盐、NTP、加帽类似物、未反应完全的小分子底物、反应所需的蛋白酶，以及反应中产生的非特异性产物，如过短或过长或未完全加帽的mRNA等。某些RNA序列甚至会诱导高水平的免疫原性。

APExBIO提供高效的纯化技术，包括常规的硅胶膜纯化法和HPLC纯化法，可去除相关污染物，提高下游应用的处理效率。

mRNA定制合成常见问题解答

Q 可以定制的IVT mRNA长度是多少？

A 200 bp-6 kb。

Q 可以做指定位点的修饰吗？

A 暂不可以。

Q 定制合成mRNA货期多久？

A 如果您只提供质粒模板（可酶切后直接用）或线性化模板，货期2-3周。如果您只提供序列，且长度<1500 bp，货期3-4周。序列长度>1500 bp，货期4-6周。

Q mRNA最低合成量是多少？

A 200 µg。

Q 如何定价？

A mRNA价格与合成量、修饰情况、长度、是否有模板、是否加急有关。

Q 是否提供mRNA包被服务？

A 我们提供mRNA定制合成服务及脂质纳米颗粒（LNP）包被服务，详情请咨询官方客服或技术支持。

Q mRNA纯度和纯化方式是什么？

A 根据mRNA长度和序列特征，选择不同的纯化方法。最终产品浓度1 mg/ml左右，纯度>90%。

Q mRNA成品保质期多长？

A 一般来说，-80°C保存，可保存一年，但有些长片段的活性会受影响。建议分装，避免反复冻融；LNP包被mRNA可以在4°C冷藏一个月。

Q mRNA运输方式是什么？

A 裸mRNA为干冰运输，LNP包被的mRNA为生物冷链运输。

Q mRNA成品能否保证下游应用效果？

A 我们可以保证纯度，但对mRNA翻译来说，由多种因素决定，需要转染细胞检测后才知道。

Q 能否进行mRNA序列测定？

A 可以，逆转录后再测序。需增加费用，且货期延长2周。

Q 进行mRNA合成，需要提供什么？

A 您需提供mRNA序列（成熟mRNA序列或ORF区序列）或体外转录所需的DNA模板。如果您只提供mRNA序列的话，可告知我们如何检测表达。是否需要在蛋白C端加tag（flag或HA tag），便于后续检测。详情请咨询官方客服或技术支持。

Q 是否提供合成好的DNA模板质粒？

A 目前不提供，可为您保存，用于下次合成。

Q mRNA可以放在RNase free H₂O里面吗？

A 我们目前提供的mRNA是放在1 mM Citrate 缓冲液里面。如果对最终的缓冲液有特殊要求，请与我们联系。

Q mRNA转染方法是什么？

A 普通细胞转染用lipo2K。难转染的细胞，如T细胞，需要用特殊LNP包被，或电转。动物实验用LNP包被。