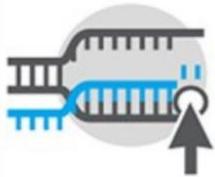


# Tecnologias para RNA

Ácidos Ribonucleicos (RNAs) são essenciais para a transferência da informação genética e regulação celular. As nossas ferramentas foram desenvolvidas para facilitar várias tecnologias envolvendo RNA como síntese, marcação, modificação, análise e detecção de RNA mensageiro codificantes e proteínas (mRNAs) e não-codificantes reguladores (ncRNAs).

## Síntese



Kits para  
Síntese de RNA

Kits para  
Síntese de mRNA

Matéria-Prima para  
Síntese  
de mRNA

Kits para Síntese  
de dsRNA/RNAi

## Modificação & Marcação



Marcação  
Randômica de  
RNA in vitro

Marcação 3' de  
RNA Enzimas

Modificadoras  
de RNA

## Análise & Detecção



Imagem com  
base em Aptâmero

Sondas para  
Northern-Blot

Estrutura por NMR

Crosslinking

Purificação Poli (A)

Detecção de dsRNA

Modificação  
SELEX/Aptâmero

## Guia RNAg Edição Genômica

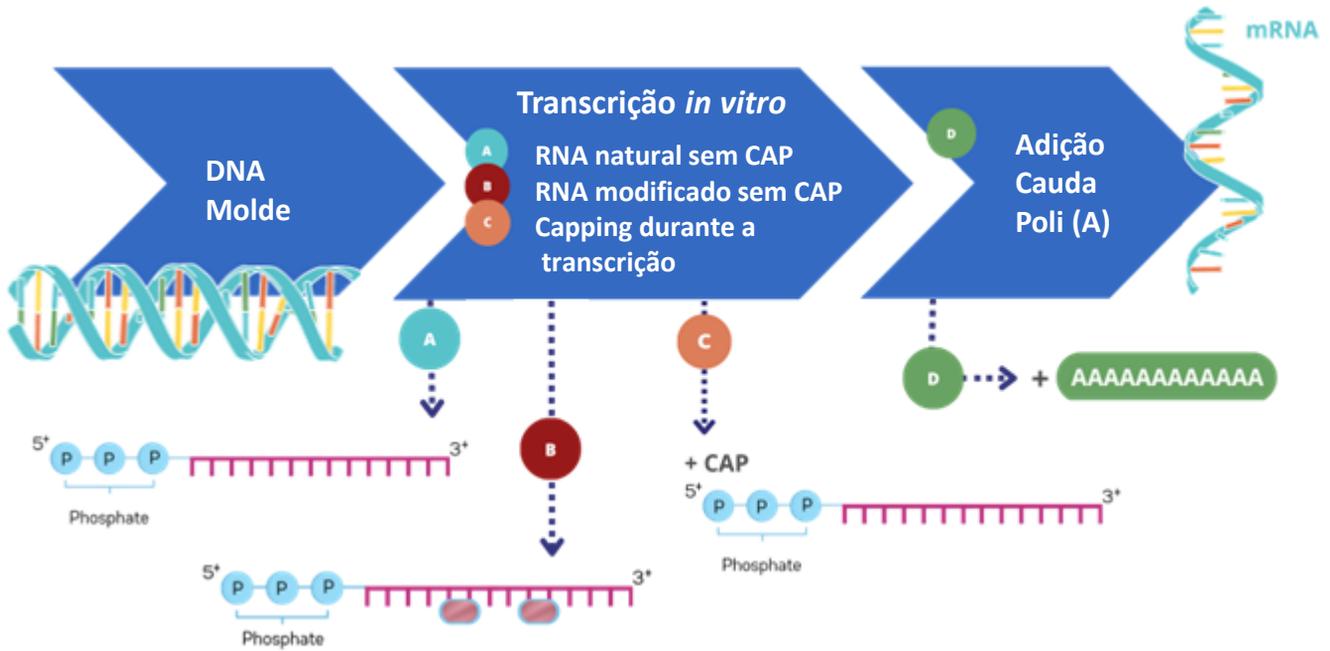


Kits para Síntese  
Enzimática de  
sgRNA

# Transcrição in vitro

## Do DNA Molde para o transcrito

Oferecemos tanto reagentes individuais como kits prontos para uso



### Reagentes individuais

#### NTPs Naturais

NTP bundle  
ATP  
CTP  
GTP  
UTP

#### NTPs Modificadas

5-Methyl-CTP  
N<sup>4</sup>-Acetyl-CTP  
Pseudo-UTP  
me<sup>1</sup>ψ-UTP  
5moUTP  
2-Thio-UTP  
N6-Methyl-ATP  
N6-Methyl-ATP

#### Análogos ARCA & Cap

GP<sub>3</sub>G  
m<sup>7</sup>GP<sub>3</sub>G  
M<sub>2</sub><sup>7,3'-0</sup>GP<sub>3</sub>G  
GP<sub>3</sub>A  
m<sup>7</sup>GP<sub>3</sub>A

Poliadenilação  
com polimerase  
Poli(A) de *E.coli*  
e Levedura



# Kits para síntese mRNA

## Qual combinação eu preciso?

Todos os kits de síntese in vitro de RNA (>20 nt até alguns milhares de bases) vêm com a enzima RNA polimerase do bacteriófago T7, que é a mais eficiente e amplamente usada. Também oferecemos kits com sua versão que apresenta uma mutação na prolina 266 substituída por leucina (P266L) e está associada a menor geração de transcritos incompletos<sup>[1]</sup>, a uma síntese mais homogênea de transcritos contendo promotor 5' phi2.5<sup>[2]</sup> e à maior eficiência na incorporação de análogos GTP<sup>[3]</sup>.

Com a formulação HighYield RNT-101 é possível sintetizar 140 - 160 µg de RNA em 30 min de incubação (1 µg T7 DNA controle, transcrito RNA de 1,4 kb).

Nucleotídeo Modificado	Sem Análogo de CAP	ARCA (m <sub>2</sub> <sup>7,3'-O</sup> GP <sub>3</sub> G) Cap 0, G-initiating
none	HighYield T7 RNA Synthesis Kit RNT-101	HighYield T7 ARCA mRNA Synthesis Kit RNT-102
Pseudo-UTP (Ψ-UTP)	HighYield T7 mRNA Synthesis Kit RNT-106	HighYield T7 ARCA mRNA Synthesis Kit RNT-114
N <sup>1</sup> -Methylpseudo-UTP (me1Ψ-UTP)	HighYield T7 mRNA Synthesis Kit RNT-107	HighYield T7 ARCA mRNA Synthesis Kit RNT-115
5-Methoxy-UTP (5moUTP)	HighYield T7 mRNA Synthesis Kit RNT-108	HighYield T7 ARCA mRNA Synthesis Kit RNT-116
2-Thio-UTP (s <sup>2</sup> UTP)	HighYield T7 mRNA Synthesis Kit RNT-109	HighYield T7 ARCA mRNA Synthesis Kit RNT-117
5-Methyl-CTP (m5CTP)	HighYield T7 mRNA Synthesis Kit RNT-110	HighYield T7 ARCA mRNA Synthesis Kit RNT-118
N <sup>4</sup> -Acetyl-CTP (ac <sup>4</sup> CTP)	HighYield T7 mRNA Synthesis Kit RNT-111	HighYield T7 ARCA mRNA Synthesis Kit RNT-119
N <sup>6</sup> -Methyl-ATP (m <sup>6</sup> ATP)	HighYield T7 mRNA Synthesis Kit RNT-112	HighYield T7 ARCA mRNA Synthesis Kit RNT-120
N <sup>1</sup> -Methyl-ATP (m1ATP)	HighYield T7 mRNA Synthesis Kit RNT-113	HighYield T7 ARCA mRNA Synthesis Kit RNT-121
5-Methyl-CTP & Pseudo-UTP (m5CTP/Ψ-UTP)	HighYield T7 mRNA Synthesis Kit RNT-104	HighYield T7 ARCA mRNA Synthesis Kit RNT-103

[1] Guillerez et al. (2005) A mutation in T7 RNA polymerase that facilitates promoter clearance. Natl. Acad. Sci. U.S.A.102:5958.

[2] Salvail-Lacoste et al. (2018) Affinity purification of T7 RNA transcripts with homogeneous ends using ARIBo and CRISPR tags. RNA19:1003.

[3] Lyon et al. (2018) A T7 RNA Polymerase Mutant Enhances the Yield of 5'-Thienoguanosine-Initiated RNAs. ChemBioChem19:142.



# Kits para & Modificação e Marcação de RNA

## Qual combinação eu preciso?

Fluoróforos e haptenos como biotina, destiobiotina, digoxigenina e dinitrofenol são os marcadores mais utilizados para a geração de RNA/cRNA não-radioativos. Eles podem ser introduzidos **randomicamente** durante a síntese *in vitro* de RNA através da incorporação de nucleotídeos modificados que mimetizam os nucleotídeos naturais ou enzimaticamente na extremidade 3' do RNA através da T4 RNA Ligase 1.

A relação ideal entre NTPs modificadas e naturais para eficiência máxima depende do tipo de marcação e da sua finalidade. O **formato HighYield T7 RNA Labeling** kit permite a otimização individual para cada caso em específico.

Marcador		Kits para Marcação Randômica de RNA	NTP Modificado/Emissão
Fluorescente		HighYield T7 AF405 RNA Labeling Kit	UTP-PEG5-AF405
		HighYield T7 Fluorescein RNA Labeling Kit	Fluorescein-12-UTP
		HighYield T7 Atto488 RNA Labeling Kit	UTP-ATTO-488
		HighYield T7 AF488 RNA Labeling Kit	UTP-PEG5-AF488
		HighYield T7 Cy3 RNA Labeling Kit	UTP-X-CY3
		HighYield T7 AF555 RNA Labeling Kit	UTP-PEG5-AF555
		HighYield T7 STAR580 RNA Labeling Kit	UTP-PEG5-STAR580
		HighYield T7 AF594 RNA Labeling Kit	UTP-PEG5-AF594
		HighYield T7 Cy5 RNA Labeling Kit	UTP-X-CY5
		HighYield T7 AF647 RNA Labeling Kit	UTP-PEG5-AF647
		HighYield T7 STAR RED RNA Labeling Kit	UTP-PEG5-STAR RED
		HighYield T7 IR680LTD RNA Labeling Kit	UTP-PEG5-IR680LT
Hapteno	Biotina	HighYield T7 Biotin16 RNA Labeling Kit	Biotin-16-UTP
		HighYield T7 Biotin11 RNA Labeling Kit	Biotin-11-UTP
	Digoxigenina	HighYield T7 Digoxigenin RNA Labeling Kit	Dioxigenin-11-UTP
Amina		N/A	5-Aminoallyl-UTP
Azido		HighYield T7 Azide RNA Labeling Kit	5-Propargylamino-CTP 5-Azido-C3-UTP
Marcador	Nucleotídeos para Marcação Enzimática 3'		NTP Modificado/Emissão
Fluorescente		NU-1706-488	pCp-ATTO488
		NU-1706-AF488	pCp-AF488
		NU-1706-Cy3	pCp-Cy3
		NU-1706-AF555	pCp-AF555
		NU-1706-AF594	pCp-AF594
		NU-1706-643	pCp-ATTO643
		NU-1706-AF647	pCp-AF647
		NU-1706-Cy5	pCp-Cy5
Hapteno		pCp-IR680LT	IR680LT
		NU-1706-BIO	pCp-Biotin
Amina		NU-1706-Desthiobio	pCp-Desthiobio
Azido		NU-1706	pCp-Amine
		NU-1708	pCp-Azide



# Kits para Análise & Detecção de RA

## Qual combinação eu preciso?

Kits para preparação de sondas fluorescentes ou acopladas com marcadores para subseqüente reações colorimétricas como fosfatase alcalina (AP) e peroxidase de rabanete (HRP) e também sondas que permitem crosslinking e determinação estrutural por NMR. Também oferecemos marcadores fluorescentes para ligação a aptâmeros específicos ou anticorpos para detecção de dsRNA.

**Anticorpos monoclonais de camundongo IgG2a de cadeia leve kappa K1 e anti-dsRNA J2 assim como o controle positivo dsRNA 142 bp estão disponíveis como liofilizados**

Metodologia	Princípio	Marcador/Emissão	Detecção
Com base em Aptâmero	Marcadores fluorescentes HBI permeáveis a membrana celular que emitem fluorescência quando ligados a sequências aptâmeras específicas de RNA	DFHBI	Por fluorescência com a ligação à RNA aptâmero específicos de espinafre ou brócolis <sup>1,2</sup>
		DFHBI -1T	Fluorescein-12-UTP
		DFHO	Por fluorescência com a ligação à RNA aptâmero específicos de milho <sup>3</sup>
Sondas de RNA	Produção de sondas ssRNA por transcrição <i>in vitro</i>	Dioxigenin-11-UTP	Anticorpo anti-digoxigenina conjugada HRP- ou AP
		Biotin-16-UTP	Anticorpo estreptavidina conjugada HRP- ou AP
		5-Azido-C3-UTP	Acoplamento com marcadores fluorescentes DBCO por CLICK Chemistry
Com base em NMR	Produção de RNA por transcrição <i>in vitro</i> isotopicamente marcados com NTPs fluorados	5F-UTP 2F-ATP	Determinação da estrutura tridimensional por NMR
RNA crosslinking	Produção de sondas ssRNA 4-tio modificadas por transcrição <i>in vitro</i>	4-Thio-UTP	Fotocrosslinking covalente de proteína-RNA sob luz UV
Anticorpos monoclonais anti-dsRNA	Reação antígeno RNA-anticorpo	Mouse, IgG2a, kappa light chain J2	ELISA, IF, FACS, IHC, IP, Dot Blot, CHIP, purificação por afinidade, microscopia
		Mouse, IgG2a, kappa light chain K1	
		Mouse, IgM, kappa light chain K2	ELISA, IHC, Dot Blot
		Anti-dsRNA 142 bp	Controle positivo para anticorpos anti-J2, K1 e K2
Cauda Poli(A)	Precipitação/purificação de RNA/DNA por agregação	Ácido poliadelínico	Quantificação espectrofotométrica
Modificação SELEX/Aptamer	Produção de 2'-Fluor- RNA por transcrição <i>in vitro</i> com T73M RNA polimerase	2'F-dUTP	Aptâmeros com estabilidade aumentada
		2'F-dGTP	
		2'F-dCTP	
		2'F-dATP	

[1] Song et al. (2014) Plug-and-Play fluorophores extend the Spectral Properties of Spinach. J. Am. Chem. Soc. 136:1198.

[2] Filonov et al. (2015) In-gel imaging of RNA processing using broccoli reveals optimal aptamer expression strategies. Chem. Biol. 22(5):649.

[3] Song et al. (2017) Imaging RNA polymerase III transcription using a photostable RNA-fluorophore complex. Nat. Chem. Biol. 13(11):1187.



# Guia gRNA para Edição Genômica

“Conjunto de Repetições Palindrômicas Curtas Regularmente Espaçadas” ou CRISPR é uma ferramenta do sistema de defesa bacteriano surpreendentemente eficaz para editar o genoma através da tecnologia CRISPR/Cas gene-específica<sup>[1-5]</sup>. Existem várias maneiras de introduzir as endonucleases do sistema Cas e sequências guia de RNA específicas (gRNA), sendo os complexos com ribonucleoproteínas (RNP) e moléculas de RNA as mais eficientes<sup>[6-7]</sup>. Nós oferecemos kits para a síntese de gRNA baseados em transcrição *in vitro* com a T7 RNA polimerase.

## Guia para o desenho do oligonucleotídeo alvo-específico



Síntese do sgRNA **(B)** com [HighYield T7 sgRNASynthesis Kit \(SpCas9\) \(#RNT-105\)](#). O kit contém Cas9 (SpCas9) de *Streptococcus pyogenes*, os primers T7fwd sgRNA & T7rev sgRNA para a reação de PCR, que resulta em um fragmento de 127pb sgRNA codificando o DNA molde T7 **(A)** que é transcrito *in vitro* para o sgRNA **(B)**

[1] Jinek et al. (2012) A programmable dual-RNA-guided, DNA endonuclease in adaptive bacterial immunity. *Science* 337(6096):816.

[2] Wang et al. (2016) CRISPR/Cas9 in Genome Editing and Beyond. *Annu. Rev. Biochem.* 85:227.

[3] Gaj et al. (2013) ZFN, TALEN, and CRISPR/Cas-based methods for genome engineering. *Trends Biotechnol* 31(7):397.

[4] Aldi et al. (2018) The CRISPR tool kit for genome editing and beyond. *Nature Communications* 9:1911.

[5] Pickar-Oliver et al. (2018) The next generation of CRISPR–Cas technologies and applications. *Nature Reviews Molecular Cell Biology* 20:507.

[6] DeWitt et al. (2017) Genome editing via delivery of Cas9 ribonucleoprotein. *Methods* 121:9.

[7] Kim et al. (2014) Highly efficient RNA-guided genome editing in human cells via delivery of purified Cas9 ribonucleoproteins. *Genome Research* 24:1012.



Visite o nosso site ou entre em contato para pedir uma amostra!

Simplemente selecione um dos diversos nucleotídeos do nosso portfólio e teste a performance excepcional dos nossos kits de síntese, modificação ou detecção de RNA.



Cellco Biotec

Rua Miguel João, 930,  
Jardim Bandeirantes  
São Carlos, Brasil  
CEP 13562-180

Fones: +55 16 3416 2257  
+55 16 996028786

E-Mail: [vendas@cellco.com.br](mailto:vendas@cellco.com.br)

[www.cellco.com.br](http://www.cellco.com.br)