mRNA Cap 2’-O-Methyltransferase

Code No. 2470A　　包装量: 2,500 U
　　浓度: 50 U/μl

附带试剂:

10X Capping Buffer	100 μl
S-adenosylmethionine (SAM) (32 mM)	100 μl

制品说明:
mRNA Cap 2’-O-Methyltransferase 是一种来源于牛痘病毒的甲基化酶，该酶特异性地甲基化 5’端具有 7-甲基鸟苷酸结构的 Cap-0 RNA 第一个核苷酸的 2’-O，从而产生 Cap-1 RNA。
已知 Cap-1 RNA 有助于抑制体内先天免疫应答并促进翻译。该产品还包括反应缓冲液和作为甲基供体的 S-adenosylmethionine (SAM)，可以把 Cap-0 高效的转化成 Cap-1 RNA。此外，和 Vaccinia Capping Enzyme（Code No. 2460A/B）一起使用，可以经一步反应把未加帽的 RNA（5’-三磷酸 RNA）加帽生成 Cap-1 RNA。

保　存: -20℃

来　源:
Escherichia coli carrying a plasmid containing the gene for vaccinia virus mRNA cap 2’-O-methyltransferase

性　质:
分子量：约40 kDa

活性定义:
37℃条件下，1小时内甲基化10 pmol Cap-0 RNA所需要的酶量定义为1个活性单位(U)。

活性测定反应液组成：:

1X	Capping Buffer
1 mM	DTT
13.75 μCi/ml	[3H] SAM
2 μg/50 μl	100 nt Cap-0 RNA

质量控制:
请查阅各批次Certificates of Analysis(CoA)，产品CoA请在Takara Bio Inc.网站中下载：
https://catalog.takara-bio.co.jp/search/doc_index.php。

用　途:
Cap-1 mRNA的制备

使用注意:
1. 混匀时，不要剧烈振荡；
2. 如果试剂、试管或微量移液器吸头被RNase污染，就会导致RNA产量减少或降解。在实验过程中应采取预防措施以避免RNase污染，如戴一次性手套以及使用专用于RNA实验的试管及微量移液器吸头。

操作流程:
1. 从Cap-0 RNA制备Cap-1 RNA。

Denatured Cap-0 RNA (10 μg)*1, 4	16 μl
10X Capping Buffer	2 μl
SAM (4 mM, dilute 32 mM stock to 4 mM)*2	1 μl
mRNA Cap 2’-O-Methyltransferase (50 U/μl)	1 μl
Total	20 μl*3

在37℃孵育1个小时*4。

2. 将未加帽的 RNA（5’-三磷酸 RNA）制备成 Cap-1 的 RNA。

Denatured RNA transcript (10 μg)*1, 4	14 μl
10X Capping Buffer	2 μl
GTP (10 mM)	1 μl
SAM (4 mM, dilute 32 mM stock to 4 mM)*2	1 μl
Vaccinia Capping Enzyme (10 U/μl)	1 μl
mRNA Cap 2’-O-Methyltransferase (50 U/μl)	1 μl
Total	20 μl*3

在 37℃下孵育 1 小时*4。

*1 为了去除转录物 5’端的二级结构，在反应前对 RNA 进行热变性。
　(1) 取 10 μg RNA，用 RNase-free water 将体积调至 16 μl(从 Cap-0 RNA 制备 Cap-1 RNA）或 14 μl（制备 Cap-1 RNA）。
　(2) 在 65℃下热变性 5-10 分钟，然后立即放在冰上放置 5 分钟。
*2 SAM 不稳定。在反应前，使用 RNase-free water 将 32 mM 原液进行必要量的稀释，稀释液使用前冰上放置。
*3 可根据实验需要放大反应体系。
*4 如果 RNA 长度小于 200 nt，延长孵育时间以提高甲基化效率(和加帽效率）（1 小时→ 2 小时）
注：RNase 抑制剂可用于增强反应过程中 RNA 的稳定性。如有必要，请以 1 U/μl 的终浓度添加。

参考文献:

1) Barbosa E and Moss B. J Biol Chem. (1978) **253**: 7698-7702.
2) Kuge H, Brownlee G G, Gershon P D, and Richter J D. Nucleic Acids Res. (1998) **26**: 3208-3214.
3) Hyde J L and Diamond M S. Virology. (2015) **479-480**: 66-74.

关联产品:
Takara IVTpro™ mRNA Synthesis System (Code No. 6141)
Cloning Kit for mRNA Template (Code No. 6143)
Takara IVTpro™ T7 mRNA Synthesis Kit (Code No. 6144)
T7 RNA Polymerase ver.2.0 (Code No. 2541A)
mRNA Cap 2’-O-Methyltransferase (Code No. 2470A/B)
Recombinant RNase Inhibitor (Code No. 2313A/B)
RNase-free Water (Code No. 9012)
NucleoSpin RNA Clean-up (Code No. 740948.10/.50/.250)

IVTpro is a trademark of Takara Bio Inc.

注意
本产品仅供科学研究使用，不能用于人、动物的医疗或诊断程序，不能使用本产品作为食品、化妆品或家庭用品等。
未经Takara Bio Inc.书面许可授权或批准，不得制造、许诺销售、销售、进口Takara产品，或者使用Takara产品所有的相关专利及相关商标。
如果您需要其他用途的许可授权，请联络我们，或访问我们网站www.takarabio.com。
您使用本产品必须遵守产品网页上适用的全部许可要求。阅读、了解并遵守此类声明的所有限制性条款是您的责任。
所有商标均属于各自商标所有者的财产。某些商标并未在全部行政区注册。

本文件由宝日医生物技术（北京）有限公司翻译制作，最新版本文件请参考Takara Bio Inc.网站。为正确使用 Takara 产品，您应当掌握本产品的相关知识和使用说明。

v202209Da