

mRNA Cap 2' -O-Methyltransferase, HQ

Code No. 2471A 包装量: 50,000 U
 浓度: 50 U/μl

附带试剂:

10X Capping Buffer 2, HQ 10 ml

制品说明:

mRNA Cap 2' -O-Methyltransferase, HQ (high quality) 可用于基础研究, 例如制备非临床试验的医药品原药、开发符合 GMP 指南的医药品制造工艺以及开发 RNA 药物等。本产品组分中, 不含人或动物源性成分以及 β 内酰胺类化合物。

该酶具有与 mRNA Cap 2' -O-Methyltransferase (Code No. 2470A/B) 同样的性能, 特异性地甲基化 5' 端具有 7-甲基鸟苷酸结构的 Cap-0 RNA 中第一个核苷酸的 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 高效地转化成 Cap-1 RNA。此外, 该酶与 Faustovirus Capping Enzyme (S17), HQ (Code No. 2481A) 一起使用, 可以通过一步反应把未加帽的 RNA (5' -三磷酸 RNA) 加帽生成 Cap-1 RNA。

HQ 级别品质

本产品的最终组成液中, 不含人或动物源性成分以及 β 内酰胺类化合物。

保 存: -20°C

来 源:

Escherichia coli carrying a plasmid containing the gene for vaccinia virus mRNA cap 2' -O-methyltransferase

性 质:

分子量: 约35.7 kDa

活性定义:

37°C条件下, 将30分钟甲基化7 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 2, HQ
20 μM	SAM
1 μg/20 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. 酶不要剧烈搅拌;
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。	
Cap-0 RNA (50 μg) ^{*1}	40 μl
10X Capping Buffer 2, HQ	5 μl
SAM (4 mM, 稀释32 mM原液至4 mM) ^{*2}	2.5 μl
mRNA Cap 2' -O-Methyltransferase, HQ(50 U/μl) ^{*3}	2.5 μl
Total	50 μl ^{*4}

在37°C孵育1个小时^{*3}。

2. 将未加帽的 RNA (5' -三磷酸 RNA) 制备成 Cap-1 的 RNA。	
RNA transcript (50 μg) ^{*1}	34 μl
10X Capping Buffer 2, HQ	5 μl
GTP (10 mM)	2.5 μl
SAM (4 mM, 稀释 32 mM 原液至 4 mM) ^{*2}	2.5 μl
Faustovirus Capping Enzyme (S17), HQ (25 U/μl) ^{*3}	2 μl
mRNA Cap 2' -O-Methyltransferase, HQ (50 U/μl) ^{*3}	4 μl
Total	50 μl ^{*4}

在 37°C 下孵育 1 小时^{*3}。

- *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 50 μg RNA, 用 RNase-free water 将体积调至 40 μl (从 Cap-0 RNA 制备 Cap-1 RNA) 或 34 μl (制备 Cap-1 RNA)。
 - (2) 在 65°C 下热变性 5-10 分钟, 然后立即冰上放置 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 如果 RNA 的加帽效率或甲基化效率低, 则增加酶的用量或延长孵育时间。
- *4 可根据实验需要放大反应体系。

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:

【HQ级别】

Faustovirus Capping Enzyme (S17), HQ (Code No. 2481A)
T7 RNA Polymerase, HQ (Code No. 2542A) etc.

【RUO级别】

Takara IVTpro™ mRNA Synthesis System (Code No. 6141)
Faustovirus Capping Enzyme (S17) (Code No. 2480A/B)
Vaccinia Capping Enzyme (Code No. 2460A/B)
mRNA Cap 2' -O-Methyltransferase (Code No. 2470A/B)
T7 RNA Polymerase ver.2.0 (Code No. 2541A)
PrimeCap™ T7 RNA Polymerase (low dsRNA) (Code No. 2560A)
Recombinant RNase Inhibitor ver.2.0 (Code No. 2315A/B)
ATP/GTP/CTP/UTP (Code No. 4041/4042/4043/4044)
NucleoSpin RNA Clean-up (Code No. 740948.10/50/250) etc.

IVTpro and PrimeCap are trademarks 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, 请联系我们, 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。

v202412Da