# 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



宝日医生物技术（北京）有限公司
网址：https://www.takarabiomed.com.cn
技术咨询电话
4006518761　4006518769