

# mRNA Cap 2'-O-Methyltransferase

## 产品信息 (Product Info)

产品名称	产品货号	规格
mRNA Cap 2'-O-Methyltransferase	MEH-VE101-B	2500 U
	MEH-VE101-C	25 kU

## 产品描述 (Product Description)

mRNA Cap 2'-O-Methyltransferase 利用 S-腺苷甲硫氨酸(SAM)作为甲基供体, 对 mRNA 5'末端紧挨 Cap0 帽结构的第一个核苷酸的 2'-O 位置进行甲基化, 从而形成 (m7Gppp5'mN) Cap1 帽子结构。Cap1 的免疫原性比 Cap0 低, 不易被 RNA sensors 识别。

## 产品规格 (Specifications)

产品组分	MEH-VE101-B(2500 U)	MEH-VE101-C(25 kU)
mRNA Cap 2'-O-Methyltransferase (50 U/μl)	MEH-VE101-B1 (50 μl)	MEH-VE101-C1 (500 μl)
10×Capping Buffer	VCS-VE101-B2 (200 μl)	VCS-VE101-C2 (1.5 ml)
SAM(32 mM)	MEH-VE101-B3(50 μl)	MEH-VE101-C3 (500 μl)

## 来源 (Source)

*E.coli*

## 储存缓冲液 (Storage Buffer)

20 mM Tris-HCl, 100 mM NaCl, 0.1 mM EDTA, 1 mM DTT, 50% Glycerol, 0.1% Triton-X-100, pH 8.0

## 酶活定义 (Enzyme Activity Definition)

在 37°C条件下, 1 h 内将 10 pmol 的 80 nt 带 m7GpppN 帽结构的 RNA 甲基化所需的酶量定义为 1 个活力单位 (U)。

## 运输 / 保存方法 (Transportation/Storage Method)

干冰运输, -20 ± 5°C保存, 避免反复冻融。

## 产品应用 (Applications)

RNA 修饰

## 产品使用步骤 (Protocol)

### I. 加帽的 RNA 2'-O 甲基化

- 使用 RNase-free Water 将适量的 Capped RNA 稀释至 16 μl;
- 将稀释好的 RNA 于 65°C条件下加热处理 5 min, 结束反应后再冰上放置 5 min;
- 配置反应体系:

组分	体积
Denatured Capped RNA	16 $\mu$ l
10xCapping Buffer	2 $\mu$ l
SAM(4 mM)	1 $\mu$ l
mRNA Cap 2'-O-Methyltransferase(50 U/ $\mu$ l)	1 $\mu$ l

(4) 37°C下孵育 1 h（针对片段长度 < 200nt 的 RNA，可将孵育时间延长至 2 h）。

EDTA 和盐。

(2) 反应之前推荐 65°C加热 5 min 可去除 RNA 的二级结构。如果转录产物的 5' 端结构复杂，可将时间延长至 10 min。

(3) 本产品仅作科学研究使用，不得用于其它用途。

## II. 一步加帽并 2'-O 甲基化

(1) 使用 RNase-free Water 将适量 RNA 稀释至 14  $\mu$ l;

(2) 将稀释好的 RNA 于 65°C条件下加热处理 5 min，结束反应后再于冰上放置 5 min;

(3) 配置反应体系：

组分	体积
Denatured uncapped RNA	14 $\mu$ l
10xCapping Buffer	2 $\mu$ l
GTP(10 mM)	1 $\mu$ l
SAM(4 mM)	1 $\mu$ l
Vaccinia Capping Enzyme(10 U/ $\mu$ l)	1 $\mu$ l
mRNA Cap 2'-O-Methyltransferase(50 U/ $\mu$ l)	1 $\mu$ l

(4) 将上述混合溶液，于 37°C 孵育 1 h（针对片段长度 < 200nt 的 RNA，可将孵育时间延长至 2 h）。

## 注意事项 (Cautions)

(1) 用于实验参与反应的 RNA 在使用之前，必须进行纯化并溶解于 RNase-free Water，且溶液中不能含有