

Vaccinia Capping Enzyme

产品信息 (Product Info)

产品名称	产品货号	规格
Vaccinia Capping Enzyme	VCS-VE101-B	500 U
	VCS-VE101-C	5000 U

产品描述 (Product Description)

在工业生产中需对 mRNA 进行加帽修饰以逃避固有免疫系统。使用酶法进行加帽，首先会使用到 Vaccinia Capping Enzyme，该酶由 D1 和 D12 两个亚基组成，行使三种酶的功能（RNA 三磷酸酯酶、鸟苷酰基转移酶和鸟嘌呤甲基转移酶），在 S-腺苷甲硫氨酸（SAM）和鸟苷三磷酸（GTP）的存在下，将 mRNA 修饰成（m7Gppp5'N）Cap0 帽子结构，它对翻译起始因子 eIF4 的招募过程中起着非常重要的作用，而且可有效防止 mRNA 被降解。

产品规格 (Specifications)

产品组分	VCS-VE101-B (500 U)	VCS-VE101-C (5000 U)
Vaccinia Capping Enzyme (10 U/μl)	VCS-VE101-B1 (50 μl)	VCS-VE101-C1 (500 μl)
10×Capping Buffer	VCS-VE101-B2 (200 μl)	VCS-VE101-C2 (1.5 ml)
GTP(10 mM)	VCS-VE101-B3 (50 μl)	VCS-VE101-C3 (500 μl)
SAM(32 mM)	VCS-VE101-B4 (50 μl)	VCS-VE101-C4 (500 μl)

来源 (Source)

E.coli

储存缓冲液 (Storage Buffer)

20 mM Tris-HCl, 100 mM NaCl, 1 mM DTT, 0.1 mM

EDTA, 50% Glycerol, 0.1% Triton X-100, pH 8.0

酶活定义 (Enzyme Activity Definition)

在 37°C 反应条件下，1 h 内把 10 pmol (α -³²P) GTP 掺入 80nt 转录产物所需要的酶量定义为 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)

- (1) 体内/体外翻译前 mRNA 的加帽反应；
- (2) mRNA 的 5' 末端标记反应。

产品使用步骤 (Protocol)

I. 加帽反应

- (1) 取 10 μg RNA 至 1.5 ml 离心管中，使用 RNase-free Water 稀释至 15 μl；
- (2) 65°C 加热 5 min；
- (3) 将加热后的离心管放置冰上 5 min；
- (4) 按顺序加入以下组分：

组分	体积
经上述处理后的变性 RNA	15 μ l
10 \times Capping Buffer	2 μ l
GTP(10 mM)	1 μ l
SAM(2 mM)	1 μ l
Vaccinia Capping Enzyme (10 U/ μ l)	1 μ l

(5) 37°C 孵育 30 min, RNA 加帽完成。

II. 5' 末端标记反应

(1) 取适量的 RNA 至 1.5 ml 离心管中, 使用 RNase-

free Water 稀释至 14 μ l;

(2) 65°C 加热 5 min;

(3) 将加热后的离心管放置冰上 5 min;

(4) 按顺序加入以下组分:

组分	体积
经上述处理后的变性 RNA	14 μ l
10 \times Capping Buffer	2 μ l
GTP mix	2 μ l
SAM(2 mM)	1 μ l
Vaccinia Capping Enzyme (10 U/ μ l)	1 μ l

注: GTP mix 为 GTP 和少量标记物, 其中 GTP 储液应

稀释为反应体系中 mRNA 摩尔浓度的 1-3 倍。

(5) 37°C 孵育 30 min, RNA 5' 末端标记完成。

注意事项 (Cautions)

(1) 用于加帽反应的 RNA 必须经过纯化并用 RNase-

free Water 进行重悬。

(2) 反应前热处理 RNA, 用以去除 5' 末端的二级结构。

(3) 若已知 RNA 5' 末端结构, 可延长反应时间至 60 min, 以提高加帽效率。

(4) 5' 末端标记反应中, GTP 储液应稀释为反应体系中 mRNA 摩尔浓度的 1-3 倍。

(5) 本产品仅作科学研究使用, 不得用于其它用途。