

### 产品说明

mRNA Cap 2'-O-Methyltransferase 能在 RNA 紧邻 5' 末端帽结构的第一个核苷酸的 2'-OH 上添加甲基基团。利用 S-腺苷甲硫氨酸 (SAM) 作为甲基供体, 使带帽 RNA 的 cap-O 甲基化为 Cap-1。研究表明 Cap-1 结构的 2'-O-甲基化可以使 mRNA 逃逸某些真核细胞的免疫反应。

mRNA Cap 2'-O-Methyltransferase 只能将 5'末端带有 m7GpppN 帽结构的 RNA 进行甲基化修饰, 不能够将 5'端为 pN, ppN, pppN or GpppN 的 RNA 甲基化. m7GpppN 帽结构的 RNA 可以通过在体外转录反应中添加帽类似物, 或体外加帽系统添加帽结构。2kU 的 mRNA Cap 2'-O-Methyltransferase 可以甲基化 400 µg 的带帽 RNA。

本公司 mRNA Cap 2'-O-Methyltransferase 是重组表达, 并经多步纯化制备的重组蛋白。

### 活性定义

1 活性单位指在 37°C下, 1×mRNA Cap 2'-O-Methyltransferase 反应缓冲体系下, 60 min 内将 10 pmol 80 nt 的带帽 RNA 转录子甲基化所需的酶量。

### 活性测定条件

50 mM Tris-HCl (pH 8.0), 5 mM KCl, 1 mM DTT, 1 mM MgCl<sub>2</sub>, 37°C 温育。

浓度: 50U/µl

保存条件: -20°C可保存 2 年, 避免反复冻融

### 特点与用途

- 改善 mRNA 在显微注射和转染后的表达
- 提高 RNA 的翻译效率

### 产品包装规格及组成

| Component                   | AE0908A | AE0908B |
|-----------------------------|---------|---------|
| mRNA Cap 2'-O- MTase        | 2kU     | 10kU    |
| mRNA Cap 2'-O- MTase Buffer | 0.2ml   | 1.0ml   |
| DEPC 处理 H <sub>2</sub> O    | 1.0ml   | 5.0ml   |

### 质量控制

经过严格的质控检测, 确保该产品具有最高的活性和纯度。

### 酶贮存缓冲液

20 mM Tris-HCl, 100 mM NaCl, 1 mM DTT, 0.1 mM EDTA, 0.1% (w/v) Triton® X-100, 50% Glycerol, pH 8 @ 25°C

### 注意事项

- 只能甲基化带 5' m7GpppN 帽结构的 RNA
- 可以在反应体系中加入核酸酶抑制剂来防止 RNA 的降解
- 为了提高 2'-O-甲基化 RNA 的后续应用效果, 可以对甲基化修饰的 RNA 进行纯化。

## 使用实例：

1) 按下表配制反应体系(可以甲基化 10  $\mu\text{g}$  的 5'带帽 RNA)

| 反应组分                                          | 体积或浓度             |
|-----------------------------------------------|-------------------|
| 10 $\times$ Buffer                            | 2 $\mu\text{l}$   |
| 2'-O- Methyltransferase (50U/ $\mu\text{l}$ ) | 1 $\mu\text{l}$   |
| 核酸酶抑制剂 (40U/ $\mu\text{l}$ )                  | 0.5 $\mu\text{l}$ |
| 变性的 Cap 2'-OH mRNA <sup>#</sup>               | X $\mu\text{l}$   |
| SAM (4 mM)                                    | 1 $\mu\text{l}$   |
| DEPC 处理 H <sub>2</sub> O                      | Y $\mu\text{l}$   |
| 总体积                                           | 20 $\mu\text{l}$  |

2) 37 $^{\circ}\text{C}$   $\times$  60min 反应，

3) 75 $^{\circ}\text{C}$   $\times$  15min 失活酶，

4) 按实验目的进行后续操作。

## 注意事项：

1、变性 Cap 2'-OH mRNA 的制备方法如下：

- 1) 将 5'帽状结构 RNA 溶于无核酸酶的去离子水，总体积 16  $\mu\text{l}$ ;
- 2) 65 度加热 5min;
- 3) 冰上放置 5min。

2、长度短于 200nt 的 RNA，建议反应时间延长到 2 小时。

3、如后续试验需要，可以对甲基化的 RNA 进行纯化。

**警告：**本产品仅限科研实验使用，临床应用安全性和有效性未鉴定，不可用于医疗临床诊断。