

## 产品概述

在真核生物中转录后修饰形成的成熟 mRNA 的 5'端都有一个特殊结构，即 m7GPPPN 结构，又称为甲基鸟苷帽子。帽子结构作为 mRNA 翻译起始的必要结构不仅可以保护 mRNA 不被 RNase 切割，延长半衰期，还能提高 mRNA 在翻译、剪接以及从细胞核导出等环节中的稳定性。宝锐生物自主研发的牛痘病毒加帽酶（Vaccinia Capping Enzyme,VCE）整合了 mRNA 三磷酸酯酶、鸟苷酰基转移酶和鸟嘌呤甲基转移酶等加帽酶必要活性，在 S-腺苷甲硫氨酸（SAM）作为甲基供体和鸟苷三磷酸（GTP）存在的情况下，它可以直接高效地将 m7G 帽结构按照正确的方向加到 mRNA 的 5'端，生产带有 Cap0 帽结构的 RNA，单次反应最高可实现 100%的加帽率。搭配宝锐生物的二氧甲基转移酶（2'-O-Methyltransferase, 2OM）（BP-E06）可获得带有 Cap1 帽结构的 RNA。

## 产品组分

组分	BP-E05-1K	BP-E05-10K	BP-E05-100K
	1KU	10KU	100KU
牛痘病毒加帽酶 (10U/ $\mu$ L)	0.1mL	1mL	10mL
10× Capping Buffer	0.2mL	2mL	20mL
GTP Solution(10mM)	0.1mL	1mL	10mL
SAM (32mM)	20 $\mu$ L	0.2mL	2mL

## 保存条件

-20 $\pm$ 5 $^{\circ}$ C存储。

## 产品信息

产品名称	牛痘病毒加帽酶
来源	重组 <i>E.coli</i>
活性	10U/ $\mu$ L
活性单位定义	1U VCE 指 37 $^{\circ}$ C条件下，1 小时将 10pmol GTP 掺入 RNA 上所需的酶量
加帽缓冲液	500 mM Tris-HCl pH8.0, 50 mM KCl, 10 mM MgCl <sub>2</sub> , 10 mM DTT
储存缓冲液	20 mM Tris-HCl pH 8.0, 100 mM NaCl, 1 mM DTT, 0.1 mM EDTA, 0.1% (v/v) Triton X-100, 50% (v/v) 甘油

## 质量控制

1. 溶液澄清透明，无可见异物。
2. 蛋白纯度 $\geq$ 95%。
3. 无 DNase、RNase 活性。
4. 无核酸外切酶、核酸内切酶活性。

## 推荐加帽反应体系

组分	加样量
10× Capping Buffer	2 $\mu$ L
GTP Solution(10mM)	1 $\mu$ L
SAM (2mM)	1 $\mu$ L
牛痘病毒加帽酶 (10U/ $\mu$ L)	1 $\mu$ L
RNase Inhibitor	0.5 $\mu$ L
Denatured RNA	50pmol
RNase-free ddH <sub>2</sub> O	Up to 20 $\mu$ L

\*37°C孵育 1h 即可完成加帽。

## 适用范围

mRNA 的 5' 端标记和体内或体外翻译前的 mRNA 加帽。

## 注意事项

1. 本加帽反应效率受 RNA 5'端结构影响，因此建议通过热变性（65°C加热 5 min，冰上放置 5 min）打开 RNA 5'端的高级结构。
2. 本加帽反应一般可以在 1h 内完成，若 RNA 5'端结构复杂或 RNA 长度较短( $\leq 200$  nt)，可延长反应时间至 2h。
3. SAM 属于高能甲基供体，其本身性质不稳定，建议全程在冰上解冻及加样。
4. 若需要使用同等酶量使更多 RNA 被加帽，可适当延长 37°C孵育时间至 2h。
5. 使用前应混匀，避免反复冻融。