

## 产品概述

宝锐生物自主研发的 mRNA 加帽试剂盒, 内部含有牛痘病毒加帽酶 Vaccinia Capping Enzyme (VCE) 和二氧甲基转移酶 2'-O-Methyltransferase (2OM)。Vaccinia Capping Enzyme 能高效地对 mRNA 的 5'端添加 m7G 帽子, 即生产 Cap0 帽结构的 RNA。2'-O-Methyltransferase 对 Cap0 帽结构的 RNA, 在帽结构后第一个核苷酸的 2'-O 位置处增加一个甲基, 形成 Cap1 帽结构的 RNA。

本试剂盒可在一管反应中同时进行 VCE 和 2OM 加帽, 直接获得 Cap1 帽结构 RNA, 能极大提高 mRNA 在细胞内的稳定性, 促进翻译效率。

## 试剂组成

组分	货号	体积
Vaccinia Capping Enzyme	BP-E05	20μL
2'-O-Methyltransferase	BP-E06	20μL
10× Capping Buffer	BP-AS-12	40μL
GTP Solution (10mM)	BP-AS-02	20μL
SAM (32mM)	BP-AS-06	10μL
RNase Inhibitor (40U/μL)	BP-E02	20μL
RNase-free ddH <sub>2</sub> O	BP-AS-11	1mL

## 保存条件

-20±5℃存储。

## 操作说明

### 1. mRNA 制备

1.1 制备足量的 mRNA, 回收后用 RNase-free-ddH<sub>2</sub>O重悬, 测定浓度。

1.2 推荐用量: 每 50pmol RNA 使用 20μl 体系进行加帽。

1.3 50pmol RNA 含量粗算: RNA 用量(ng)= 0.05nmol×330g/mol×X nt (X=RNA 碱基数)。

### 2. 加帽反应

2.1 取出 SAM (32mM) 放置在冰上解冻, 使用时将其稀释至 4mM 添加至反应液; GTP (10mM) 和 10×Capping Buffer 室温下解冻即可。由于甲基供体 SAM 属于高能甲基供体, 其本身性质不稳定, 建议全程在低温下加样。

2.2 加帽反应前建议对 RNA 进行热变性处理, 65℃加热 5min, 取出后立即冰上放置 5min。

2.3 按下表依次加入各组分:

组分	体积
10× Capping Buffer	2μL
GTP Solution(10mM)	1μL
SAM (4mM)	1μL

Vaccinia Capping Enzyme	1μL
2'-O-Methyltransferase	1μL
RNase Inhibitor	0.5μL
Denatured RNA	50pmol
RNase-free ddH <sub>2</sub> O	Up to 20μL

\*37°C 孵育 1h 即可完成加帽。若需要使用同等酶量使更多 RNA 加帽，可适当延长 37°C 孵育时间至 2h。

#### 2.4 反应终止

70°C 加热 10min。

#### 3. 浓度及活性定义：10U/μL

3.1 1UVCE 指 37°C 条件下，1 小时将 10pmol GTP 掺入 RNA 上所需的酶量。

3.2 1U 2OM 指 37°C 条件下，1 小时将 10pmol 甲基掺入 Gap0 RNA 上所需的酶量。

4. 使用前应混匀，避免反复冻融。