Faustovirus Capping Enzyme (S17)

Code No. 2480A　　包装量: 500 U
　　浓度: 25 U/μl

附带试剂:

10X Capping Buffer 2	100 μl
S-adenosylmethionine (SAM) (32 mM)	100 μl
GTP (10 mM)	50 μl

制品说明:

Faustovirus Capping Enzyme (S17)是一种来自 Faustovirus S17 菌株的单亚基酶，它在 RNA 的 5’端（5’-三磷酸 RNA）添加 7-甲基鸟苷酸结构（Cap 0），其作用方式与 Vaccinia Capping Enzyme 的作用类似。在真核生物中，帽结构对于 mRNA 的稳定、出核转运以及翻译起到重要作用。该酶与本制品中附带试剂（10X Capping Buffer 2, S-adenosylmethionine (SAM), GTP）一起使用，可以在体外高效合成具有完整 Cap 0 结构的 RNA。本酶也可以与 mRNA Cap 2’-O-Methyltransferase（Code No. 2470A/B）同时使用，一步反应高效地在 RNA 5’末端紧邻帽结构（Cap 0）的第一个核苷酸的 2’-O 上添加甲基基团，制备具有 Cap-1 结构的 RNA。

此外，与 Vaccinia Capping Enzyme 相比，该酶在更广泛的温度范围（30-50℃）内具有活性，并且在处理各种靶标 RNA 时更通用，因此可用于疫苗等 RNA 医药领域的研究开发。

保　　存: -20℃

来　　源:

Escherichia coli carrying a plasmid containing the gene for Faustovirus capping enzyme (S17)

性　　质:

分子量：约100 kDa

活性定义:

在37℃下30分钟内将5 pmol的100 nt转录产物转化为Cap-0 RNA所需的酶量定义为1个活性单位（U）。

活性测定反应液组成:

1X	Capping Buffer 2
25 μM	GTP
20 μCi/ml	[3H] SAM
2.5 μg/50 μl	100 nt RNA

质量控制:

请查阅各批次的Certificates of Analysis(CoA)。产品CoA请在Takara Bio Inc.网站中下载:
https://catalog.takara-bio.co.jp/search/doc_index.php。

用　　途:

1. Cap-0 mRNA的制备
2. 与mRNA Cap 2′-O- Methyltransferase联合制备Cap-1 mRNA

使用注意:

1. 混匀时，不要剧烈振荡;
2. 如果试剂、试管或微量移液器吸头被RNase污染，就会导致RNA产量减少或降解。在实验过程中应采取预防措施以避免RNase污染，如戴一次性手套以及使用专用于RNA实验的试管及微量移液器吸头。

操作流程:

1. 将未加帽的RNA（5’-三磷酸RNA）制备成带有Cap-0的RNA。

RNA transcript (50 μg)*1,	38 μl
10X Capping Buffer 2	5 μl
GTP (10 mM)	2.5 μl
SAM (2 mM, 稀释32 mM原液至2 mM)*2	2.5 μl
Faustovirus Capping Enzyme (S17) (25 U/μl)*3	2 μl
Total	50 μl*4

在37℃孵育30分钟*3。

2. 将未加帽的RNA（5’-三磷酸RNA）制备成带有Cap-1的RNA。

RNA transcript (50 μg)*1	34 μl
10X Capping Buffer 2*5	5 μl
GTP (10 mM)	2.5 μl
SAM (4 mM, 稀释32 mM原液至4 mM)*2	2.5 μl
Faustovirus Capping Enzyme (S17) (25 U/μl)*3	2 μl
mRNA Cap 2’-O-Methyltransferase (50 U/μl)*3	4 μl
Total	50 μl*4

在37℃下孵育1小时*3。

*1 为了去除转录产物5’端的二级结构，在反应前对RNA（5’-三磷酸RNA）进行热变性，可以提高加帽效率。
　(1) 取50 μg RNA，用RNase-free water将体积调至38 μl(制备Cap-0 RNA）或34 μl（制备Cap-1 RNA）。
　(2) 在65℃下热变性5-10分钟，然后立即在冰上放置5分钟。
*2 SAM不稳定。在反应前，使用RNase-free water将32 mM原液进行必要量的稀释，稀释液使用前冰上放置。
*3 如果RNA的加帽效率低，则增加酶的用量和/或延长孵育时间。
*4 可根据实验需要放大反应体系。
*5 使用针对Faustovirus Capping Enzyme (S17)优化的缓冲液，而不是mRNA Cap 2’-O-Methyltransferase (Code No. 2470A/B)提供的缓冲液。

关联产品:

mRNA Cap 2’-O-Methyltransferase (Code No. 2470A/B)
RNase-free Water (Code No. 9012)
Takara IVTpro™ mRNA Synthesis System (Code No. 6141)
Cloning Kit for mRNA Template (Code No. 6143)
Takara IVTpro™ T7 mRNA Synthesis Kit (Code No. 6144)
Template Vector (*Bsp*Q I) for T7 mRNA Synthesis (Code No. 6146)
*Bsp*Q I (Code No. 1227A/B)
T7 RNA Polymerase ver.2.0 (Code No. 2541A)
PrimeCap™ T7 RNA Polymerase (low dsRNA) (Code No. 2560A)
Recombinant RNase Inhibitor ver.2.0 (Code No. 2315A/B)
Pyrophosphatase (inorganic) (Code No. 2450A/B)

IVTpro and PrimeCap are trademarks of Takara Bio Inc.

注意
本产品仅供科学研究使用，不能用于人、动物的医疗或诊断程序，不能使用本产品作为食品、化妆品或家庭用品等。
未经Takara Bio Inc.书面许可授权或批准，不得制造、许诺销售、销售、进口Takara产品，或者使用Takara产品所有的相关专利及相关商标。
如果您需要其他用途的许可授权，请联络我们，或访问我们网站www.takarabio.com。
您使用本产品必须遵守产品网页上适用的全部许可要求。阅读、了解并遵守此类声明的所有限制性条款是您的责任。
所有商标均属于各自商标所有者的财产。某些商标并未在全部行政区注册。

本文件由宝日医生物技术（北京）有限公司翻译制作，最新版本文件请参考Takara Bio Inc.网站。为正确使用 Takara 产品，您应当掌握本产品的相关知识和使用说明。

v202402Da

宝日医生物技术（北京）有限公司
网址：https://www.takarabiomed.com.cn

技术咨询电话
4006518761　4006518769