

## 产品概述

二氧甲基转移酶 (2'-O-Methyltransferase, 2OM) 为重组 *E.coli* 表达的牛痘病毒 DNA 编码的一种甲基转移酶, 是一款将 Cap0 帽结构进一步转变成 Cap1 帽结构的甲基转移酶。该酶利用 S-腺苷甲硫氨酸(S-Adenosylmethionine, SAM)为甲基供体, 在 RNA 5'端紧邻帽结构(Cap0)的第一个核苷酸的 2'-O 位点添加甲基基团, 形成带有 Cap1 结构的 mRNA。能进一步降低 mRNA 自身的免疫原性, 提高其转染后编码蛋白的表达水平。

## 产品组分

组分	货号	规格	体积
二氧甲基转移酶 (50U/ $\mu$ L)	BP-E06-5K	1KU	100 $\mu$ L
	BP-E06-50K	10KU	1mL
	BP-E06-500K	100KU	10mL

## 运输与保存

-20 $^{\circ}$ C 存储, 0 $^{\circ}$ C 以下运输。

## 产品信息

产品名称	二氧甲基转移酶
来源	重组 <i>E.coli</i>
活性	50U/ $\mu$ L
活性单位定义	在 37 $^{\circ}$ C 条件下, 1 小时将 10pmol 甲基掺入 Cap0 RNA 上所需的酶量定义为 1 个活性单位
加帽缓冲液	500mM Tris-HCl pH8.0, 50mM KCl, 10mM MgCl <sub>2</sub> , 10mM DTT
储存缓冲液	20 mM Tris-HCl pH8.0, 0.1 mM EDTA, 1mM DTT, 100 mM NaCl, 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。

## 建议加帽体系

分步加帽体系

组分	加样量
10 $\times$ Capping Buffer	2 $\mu$ L

SAM (4mM)	1μL
2'-O-Methyltransferase	1μL
RNase Inhibitor	0.5μL
Denatured Cap0 RNA	50pmol
RNase-free ddH <sub>2</sub> O	Up to 20μL

一步加帽体系

组分	加样量
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。

**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 1 h 内完成, 若 RNA 5'端结构复杂或 RNA 长度较短(≤ 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。