

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 | 50 μ L |
| 2'-O-Methyltransferase | BP-E06 | 50 μ L |
| 10 \times Capping Buffer | BP-AS12-100 | 100 μ L |
| GTP Solution (10mM) | BP-AS02-10 | 50 μ L |
| SAM (32mM) | BP-AS06-32 | 20 μ L |
| RNase Inhibitor (40U/ μ L) | BP-E02 | 25 μ L |
| RNase-free ddH ₂ O | BP-AS11-1 | 1mL |

保存条件

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

操作说明

1. mRNA 制备

1.1 制备足量的 mRNA，回收后用 RNase-free-ddH₂O 重悬，测定浓度。

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

1.3 50pmol RNA 含量粗算：RNA 用量(ng)=0.05nmol \times 330g/mol \times 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 \times 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 $^{\circ}$ C 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 \times Capping Buffer | 2 μ L |
| GTP Solution(10mM) | 1 μ L |
| SAM (4mM) | 1 μ L |

货号：BP-04-50

mRNA 加帽试剂盒 (50T)

2023V01



| | |
|-------------------------------|------------|
| Vaccinia Capping Enzyme | 1μL |
| 2'-O-Methyltransferase | 1μL |
| RNase Inhibitor | 0.5μL |
| Denatured RNA | 50pmol |
| RNase-free ddH ₂ 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 1U VCE 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。