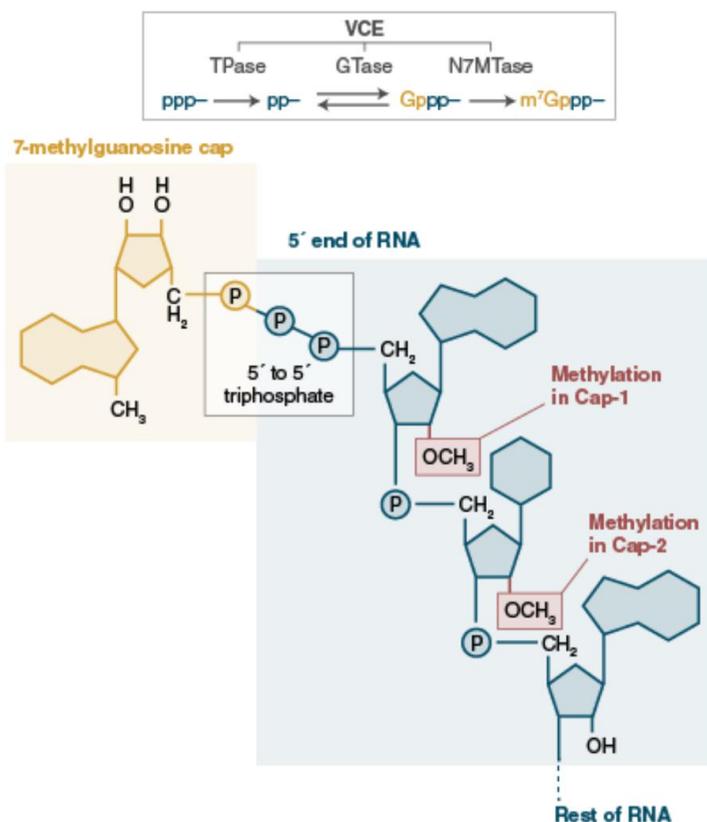


产品说明

牛痘病毒加帽体系利用牛痘病毒加帽酶及其它组份，将 7-甲基鸟苷帽结构 (Cap 0) 加到 RNA 的 5' 末端。在真核生物中，末端 7-甲基鸟苷帽结构影响到 mRNA 的稳定、转运和翻译。使用酶促反应为 RNA 加帽是一种简单有效的方法，对用于体外转录、转染和显微注射的 RNA，能改善其稳定性和翻译能力。另外，反应中所用到的标记 GTP 还能提供一种便捷的标记方法，将 5' 末端带有三磷酸的任何 RNA 进行标记。

牛痘病毒加帽酶由两个亚基 (D1 和 D12) 组成，D1 亚基为 mRNA-capping enzyme catalytic subunit，具有 RNA 三磷酸水解酶/RNA triphosphatase、鸟苷转移酶/guanylyltransferase、鸟嘌呤甲基转移酶/guanine methyltransferase 共三种酶活性；D12 亚基为 mRNA-capping enzyme regulatory subunit，调控 D1 亚基的加帽活性。这些活性都是添加一个完整的 Cap 0 结构，即 m⁷Gppp (5') N 所必需的。加帽反应不仅高效，可以达到 100%；而且方向正确，不像共转录会添加上一些帽类似物。

本公司 mRNA-capping enzyme 是重组表达，并经多步纯化制备的重组蛋白。



活性定义

1 活性单位指在 37°C 下，1×mRNA-capping 反应缓冲体系下，60 min 内将 10 pmol GTP 掺入到 1 条 80 个核苷酸的转录产物上所需的酶量。

活性测定条件

1×加帽反应缓冲液：50 mM Tris-HCl (pH 8.0)，5 mM KCl，1 mM DTT，1 mM MgCl₂，0.5 mM GTP，0.1 mM SAM，37°C 温育。

浓度: 10U/ μ l

保存条件: -20°C可保存 2 年，避免反复冻融

特点与应用

- 体内或体外翻译前 mRNA 的加帽
- 标记 mRNA 5' 末端

产品包装规格及组成

Component	AE0909A	AE0909B
mRNA-capping enzyme	400U	2kU
mRNA-capping Buffer	0.2ml	1.0ml
32mM S-adenosylmethionine (SAM)	0.1ml	0.3ml
10mM GTP	0.1ml	0.5ml

质量控制

经过严格的质控检测，确保该产品具有最高的活性和纯度。无单链或双链 DNA 核酸外切酶、核酸内切酶和 RNase 污染。

酶贮存缓冲液

20 mM Tris-HCl, pH8.0, 100 mM NaCl, 1 mM DTT, 0.1 mM EDTA, 0.1% Triton X-100, 50% Glycerol。

注意事项

- 可以在反应体系中加入核酸酶抑制剂来防止 RNA 的降解
- GTP 和 SAM 都是加帽反应的必需底物，缺一不可。

使用实例:

1) 按下表配制反应体系

反应组分	体积或浓度
10× Buffer	2ul
底物 RNA	Xul
32mM SAM	0.5ul
10mM GTP	1ul
酶(10U/ μ l)	1-2ul
H ₂ O	Yul
总体积	20ul

2) 37°C × 60min 反应，

3) 75°C × 15min 失活酶，

4) 尿素变性 PAGE 电泳检测酶切产物，或按实验目的进行后续操作。

警告: 本产品仅限科研实验使用，临床应用安全性和有效性未鉴定，不可用于医疗临床诊断。