

# 牛痘病毒加帽酶

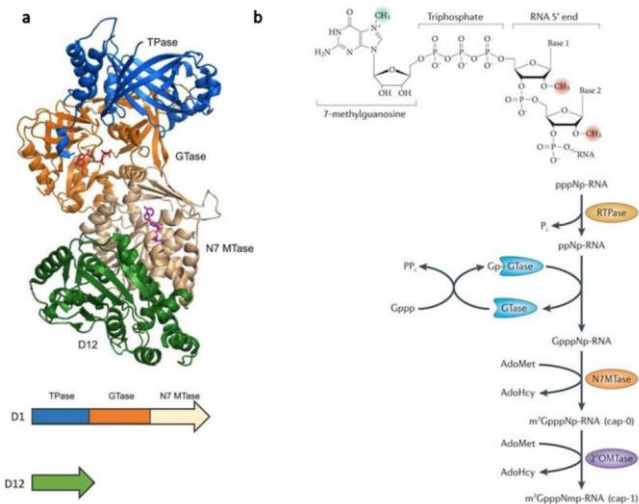
## Vaccinia Capping Enzyme

**REF** cmE060-S

|                                   |       |
|-----------------------------------|-------|
| Capping Enzyme (10U/μl)           | 100μl |
| 10×Capping Enzyme Reaction Buffer | 100μl |

### 产品描述:

牛痘病毒加帽体系利用牛痘病毒加帽酶及相关组分，将 7-甲基鸟苷帽结构 (m7Gppp, Cap0) 加到 RNA 的 5'末端。在真核生物中，该结构与 mRNA 的稳定、转运和翻译密切相关。使用酶促反应为 RNA 加帽是一种简单有效的方法，能显著改善用于体外转录、转染和显微注射的 RNA 的稳定性和翻译能力。这种酶由两个亚基 (D1 和 D12) 组成 (图 1a)，D1 亚基执行 RNA 三磷酸酶和鸟苷转移酶的功能，D12 亚基执行鸟嘌呤甲基转移酶的功能，它们对于添加一个完整的 Cap0 结构 m7Gppp5'N 都是必须的 (图 1b)。



**图 1.** 牛痘病毒加帽的结构和作用机理。**a.**牛痘病毒加帽酶和 GTP (红色)、SAH (玫红) 的共结晶结构(PDB 4CKB)。该酶由 D1 和 D12 两个亚基组成，兼具 RNA 三磷酸酶 (蓝色)、鸟苷转移酶 (橙色) 和鸟嘌呤甲基转移酶 (米黄色) 的功能。本图引自 Ramanathan, A., Robb, G. B., & Chan, S. H. (2016). mRNA capping: biological functions and applications. *Nucleic Acids Res* 44(16), 7511–7526. **b.** mRNA 的帽结构是由一个 7-甲基鸟苷通过一个 5'–5'三磷酸酯桥连接到 mRNA 链的 5'核苷上组成。Cap-0 结构由相邻的 RNA 链通过三种酶的依次反应形成。进一步形成 cap-1 结构需要 2-O 甲基转移酶的参与，该修饰可以降低 RNA 在体内引起的细胞先天免疫反应。本图引自 Decroly, E., Ferron, F., Lescar, J. et al. (2012). Conventional and unconventional mechanisms for capping viral mRNA. *Nat Rev Microbiol* 10, 51–65。

本体系可用于 T7 RNA Polymerase 反应产生的 RNA 的加帽反应，使加帽反应在一小时之内完成，效率接近 100%，并且保证正确的方向。

### 产品性能:

|        |                                                                                                       |
|--------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 来源     | 携带牛痘病毒加帽酶基因的 <i>E. coli</i>                                                                           |
| 反应条件   | 1×Capping Enzyme Buffer (50mM Tris-HCl, pH 8.0; 5mM KCl, 1mM MgCl <sub>2</sub> , 1mM DTT), 在 37°C 孵育。 |
| 储存缓冲液  | 20mM Tris-HCl pH8.0, 100mM NaCl, 1mM DTT, 0.1mM EDTA, 0.1% TritonX-100, 50%甘油                         |
| 储存方法   | -20°C 保存，收到后请立即分装以避免反复冻融                                                                              |
| 活性单位定义 | 在 37°C 下一个小时内把 10 pmol ( $\alpha$ - <sup>32</sup> P) GTP 掺入一个 80 个核苷酸 (80nt) 转录产物所需要的酶量               |

### 产品用途:

体内或体外翻译前 mRNA 的加帽和 mRNA 的 5'末端标记。

### 质控标准:

无大肠杆菌 DNA 残留、无核酸内、外切酶残留及 RNA 酶残留。