

mRNA Cap 2'-O-Methyltransferase, HQ

Code No. 2471A **Size:** **50,000 U**
Conc.: **50 U/μl**

Supplied Reagent:
10X Capping Buffer 2, HQ **10 ml**

Description:

mRNA Cap 2'-O-Methyltransferase, HQ (high quality) is intended to be used for the preparation of active pharmaceutical ingredients in non-clinical trials and for the process development of drug manufacturing under GMP regulation. It can also be used for basic research of RNA therapeutics. The product is free from not only any human- or animal-derived materials but also β-lactam compounds in the final formulation.

This enzyme has an equivalent performance to mRNA Cap 2'-O-Methyltransferase (Cat. #2470A/B). mRNA Cap 2'-O-Methyltransferase is an enzyme originating from vaccinia virus and specifically methylates 2'-O position of the first nucleotide of Cap-0 RNA, which has a 7-methylguanylate structure at the 5' end of RNA. This methylation process results in the production of Cap-1 RNA. Cap-1 RNA has been known to help evade the innate immune response *in vivo* and promote translation. The use of this enzyme together with S-adenosylmethionine (SAM) under the provided buffer conditions allows for the efficient production of Cap-1 RNA from Cap-0 RNA *in vitro*. Moreover, the use of Faustovirus Capping Enzyme (S17), HQ (Cat. #2481A) together with this enzyme enables the direct production of Cap-1 RNA from uncapped RNA (5'-triphosphate RNA) in a single-step reaction.

Product Quality:

1. This product does not contain any human- or animal-derived materials in the final formulation.
2. This product does not contain any β-lactam compounds in the final formulation.

Storage: -20°C

Source:

Escherichia coli carrying a plasmid containing the gene for vaccinia virus mRNA cap 2'-O-methyltransferase

Property:

Molecular mass : approx. 35.7 kDa

Unit Definition:

One unit is defined as the amount of enzyme that methylates 7 pmol of Cap-0 RNA in 30 minutes at 37°C.

Reaction Mixture for Unit Definition:

1X	Capping Buffer 2, HQ
20 μM	SAM
1 μg/20 μl	100 nt Cap-0 RNA

Quality Control Data:

Please see the Certificate of Analysis (CoA) for each lot. You can download the CoA on Takara Bio website.

Applications:

Preparation of Cap-1 mRNA

Precautions for Use:

1. Do not mix the enzyme vigorously.
2. RNA is less produced or fragmented when reagents, tubes, or pipette tips are contaminated with RNase. Precautions should be taken during experiments to avoid RNase contamination, such as wearing disposable gloves and using tubes and tips exclusively for RNA experiments.

Protocols:

1. Preparation of Cap-1 RNA from Cap-0 RNA

Cap-0 RNA (50 μg)*1	40 μl
10X Capping Buffer 2, HQ	5 μl
SAM (4 mM, dilute 32 mM stock to 4 mM)*2	2.5 μl
mRNA Cap 2'-O-Methyltransferase, HQ (50 U/μl)*3	2.5 μl
Total	50 μl*4

Incubate at 37°C for 1 hour.*3

2. Preparation of Cap-1 RNA from uncapped RNA (5'-triphosphate RNA)

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

Incubate at 37°C for 1 hour.*3

- *1 The heat denaturation of the RNA prior to the reaction may increase the capping efficiency and the methylation efficiency by reducing the secondary structure at the 5' end of the transcript.
 - (1) Take 50 μg of the RNA and adjust the volume to 40 μl (Cap-1 RNA prep from Cap-0 RNA) or 34 μl (Cap-1 RNA prep from uncapped RNA) with RNase-free Water.
 - (2) Heat-denature the RNA at 65°C for 5 - 10 minutes, then immediately place it on ice for 5 minutes.
- *2 SAM is unstable. Dilute necessary amount of 32 mM stock solution with RNase-free Water prior to the reaction, and keep it on ice until use.
- *3 If the capping efficiency or the methylation efficiency of RNA is low, increase the amount of enzymes used and/or extend the incubation time.
- *4 The reaction can be scaled up as needed.

References:

- 1) Barbosa E and Moss B. *J Biol Chem.* (1978) **253**: 7698-7702.
- 2) Kuge H, Brownlee G G, Gershon P D, and Richter J D. *Nucleic Acids Res.* (1998) **26**: 3208-3214.
- 3) Hyde J L and Diamond M S. *Virology.* (2015) **479-480**: 66-74.

Related Products:

Note: For more information on the "mRNA synthesis learning center", please see our website (<https://www.takarabio.com/>).

[HQ grade]

Faustovirus Capping Enzyme (S17), HQ (Cat. #2481A)
T7 RNA Polymerase, HQ (Cat. #2542A) etc.

[RUO grade]

Takara IVTpro™ mRNA Synthesis System (Cat. #6141)
Faustovirus Capping Enzyme (S17) (Cat. #2480A/B)
Vaccinia Capping Enzyme (Cat. #2460A/B)
mRNA Cap 2'-O-Methyltransferase (Cat. #2470A/B)
T7 RNA Polymerase ver.2.0 (Cat. #2541A)
PrimeCap™ T7 RNA Polymerase (low dsRNA) (Cat. #2560A)
Recombinant RNase Inhibitor ver.2.0 (Cat. #2315A/B)
ATP/GTP/CTP/UTP (Cat. #4041/4042/4043/4044)
NucleoSpin RNA Clean-up (Cat. #740948.10/50/.250)* etc.

* Not available in all geographic locations. Check for availability in your area.

IVTpro and PrimeCap are trademarks of Takara Bio Inc.

Note

This product is for research use only. It is not intended for use in therapeutic or diagnostic procedures for humans or animals. Also, do not use this product as food, cosmetic, or household item, etc. Takara products may not be resold or transferred, modified for resale or transfer, or used to manufacture commercial products without written approval from Takara Bio Inc. If you require licenses for other use, please contact us from our website at www.takarabio.com.

Your use of this product is also subject to compliance with any applicable licensing requirements described on the product web page. It is your responsibility to review, understand and adhere to any restrictions imposed by such statements.

All trademarks are the property of their respective owners. Certain trademarks may not be registered in all jurisdictions.

mRNA Cap 2'-O-Methyltransferase, HQ

Code No. 2471A 容量： 50,000 U
濃度： 50 U/ μ l

添付試薬：
10 \times Capping Buffer 2, HQ 10 ml

●製品説明

mRNA Cap 2'-O-Methyltransferase, HQ (high quality) は、非臨床試験用の医薬品原薬の調製や GMP ガイドラインに準拠する医薬品の製造プロセスの開発、また、RNA 医薬開発等の基礎研究に利用可能な製品である。本製品は、ヒトまたは動物由来原料、および β ラクタム系化合物を最終組成液に含まない。

本酵素は、mRNA Cap 2'-O-Methyltransferase (製品コード 2470A/B) と同等の性能を有しており、5' 末端に 7-methylguanylate cap 構造 (Cap-0) を持つ RNA の 1 番目のヌクレオチドの 2'-O 部位を特異的にメチル化する (Cap-1)。Cap-1 構造を持つ RNA は、生体内において自然免疫応答を回避するのに役立ち、翻訳を促進することが知られている。本酵素は本製品に含まれるキャップ付加バッファ下において、S-adenosylmethionine (SAM) と共に使用することで、高効率に Cap-0 RNA から Cap-1 RNA を調製できる。また、本酵素を Faustovirus Capping Enzyme (S17), HQ (製品コード 2481A) と同時に用いることで、キャップ化されていない RNA (5'-triphosphate RNA) から Cap-1 構造を持つ RNA を直接シングルステップ反応で調製することもできる。

●HQ グレードの品質

本製品の最終組成液には、ヒトまたは動物由来成分、および β ラクタム系化合物は含まれません。

●保存

− 20℃

●起源

Escherichia coli carrying a plasmid containing the gene for vaccinia virus mRNA cap 2'-O-methyltransferase

●一般的性質

質量： 約 35.7 kDa

●活性の定義

37℃において 30 分間に 7 pmol の Cap-0 RNA をメチル化する酵素量を 1 U とする。

●活性測定反応液組成

1 \times	Capping Buffer 2, HQ
20 μ M	SAM
1 μ g/20 μ l	100 nt Cap-0 RNA

●品質管理データ

性能試験結果については、各ロットの Certificate of Analysis (CoA) をご覧ください。CoA はタカラバイオウェブサイトからダウンロードできます。

●用途

Cap-1 構造を持つ mRNA の調製

●使用上の注意

1. 本酵素の激しい攪拌は行わないでください。
2. 基質となる RNA や試薬、反応に使用するチューブ、マイクロピペット用チップなどに RNase が混入した場合、反応後に得られる RNA の収量が低下したり、RNA が断片化します。反応に使用するチューブ、マイクロピペット用チップは専用のものとし、反応を行うときはディスポーザブル手袋を着用して、RNase が混入しないように注意してください。

●操作

1. Cap-0 RNA から Cap-1 RNA の調製

Cap-0 RNA (50 μ g) *1	40 μ l
10 \times Capping Buffer 2, HQ	5 μ l
SAM (4 mM, dilute 32 mM stock to 4 mM) *2	2.5 μ l
mRNA Cap 2'-O-Methyltransferase, HQ (50 U/ μ l) *3	2.5 μ l
Total	50 μ l *4

37℃で 1 時間インキュベーションする。*3

2. Uncapped RNA (5'-triphosphate RNA) から Cap-1 RNA の調製

RNA transcript (50 μ g) *1	34 μ l
10 \times Capping Buffer 2, HQ	5 μ l
GTP (10 mM)	2.5 μ l
SAM (4 mM, dilute 32 mM stock to 4 mM) *2	2.5 μ l
Faustovirus Capping Enzyme (S17), HQ (25 U/ μ l) *3	2 μ l
mRNA Cap 2'-O-Methyltransferase, HQ (50 U/ μ l) *3	4 μ l
Total	50 μ l *4

37℃で 1 時間インキュベーションする。*3

*1: RNA の 5' 末端が複雑な 2 次構造を取る場合は、反応前に熱変性することによりキャップ付加効率およびメチル化効率が改善される可能性がある。

(1) 精製 RNA 50 μ g を RNase-free Water で 40 μ l (Cap-0 RNA からの Cap-1 調製) あるいは 34 μ l (Uncapped RNA からの Cap-1 調製) に調製する。

(2) 65℃ 5~10 分で熱変性した後、5 分氷冷する。

*2: SAM は不安定であるため、反応前に必要分を 32 mM のストック溶液から RNase-free Water で希釈調製する。希釈液は反応まで氷上で保存する。

*3: RNA のキャップ付加効率、あるいはメチル化効率が低い場合は、酵素の使用量を増やす、または反応時間を延長する。

*4: 反応ボリュウムは必要に応じてスケールアップ可能。

●参考文献

- 1) Barbosa E and Moss B. *J Biol Chem.* (1978) **253**: 7698-7702.
- 2) Kuge H, Brownlee G G, Gershon P D, and Richter J D. *Nucleic Acids Res.* (1998) **26**: 3208-3214.
- 3) Hyde J L and Diamond M S. *Virology.* (2015) **479-480**: 66-74.

●関連製品

※ 弊社ウェブサイトの「mRNA 合成 (*in vitro* Transcription) 製品ガイド」をご参照ください (<https://catalog.takara-bio.co.jp>)。

[HQ グレード]

Faustovirus Capping Enzyme (S17), HQ (製品コード 2481A)
T7 RNA Polymerase, HQ (製品コード 2542A) ほか

[研究用グレード]

Takara IVTpro™ mRNA Synthesis System (製品コード 6141)
Faustovirus Capping Enzyme (S17) (製品コード 2480A/B)
Vaccinia Capping Enzyme (製品コード 2460A/B)
mRNA Cap 2'-O-Methyltransferase (製品コード 2470A/B)
T7 RNA Polymerase ver.2.0 (製品コード 2541A)
PrimeCap™ T7 RNA Polymerase (low dsRNA) (製品コード 2560A)
Recombinant RNase Inhibitor ver.2.0 (製品コード 2315A/B)
ATP/GTP/CTP/UTP (製品コード 4041/4042/4043/4044)
NucleoSpin RNA Clean-up (製品コード 740948.10/50/250) ほか

●注意

本製品は研究用として販売しております。ヒト、動物への医療、臨床診断用には使用しないようご注意ください。また、食品、化粧品、家庭用品等として使用しないでください。
タカラバイオの承認を得ずに製品の再販・譲渡、再販・譲渡のための改変、商用製品の製造に使用することは禁止されています。
ライセンスに関する情報は弊社ウェブカタログをご覧ください。
本データシートに記載されている会社名および商品名などは、各社の商号、または登録済みもしくは未登録の商標であり、これらは各所有者に帰属します。

v202408