

# mRNA Cap 2'-O-Methyltransferase

**Code No. 2470A**                      **Size:**                      **2,500 U**  
**Conc.:**                              **50 U/μl**

## Supplied Reagents:

**10X Capping Buffer**                                              **100 μl**  
**S-adenosylmethionine (SAM) (32 mM)**                      **100 μl**

## Description:

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 that have a 7-methylguanylate structure in the 5' end of RNA, resulting in the production of Cap-1 RNA. Cap-1 RNA has been known to help to evade innate immune response *in vivo* and promote translation. This product also includes the reaction buffer and S-adenosylmethionine (SAM) as a methyl donor, and allows the efficient production of Cap-1 RNA from Cap-0 RNA. Moreover, the use of Vaccinia Capping Enzyme (Cat. #2460A/B) together with this enzyme allows the production of Cap-1 RNA from uncapped RNA (5'-triphosphate RNA) directly by a single-step reaction.

**Storage:** -20°C

## Source:

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

## Properties:

Molecular mass: approx. 40 kDa

## Unit Definition:

One unit is defined as the amount of enzyme that methylates 10 pmol of Cap-0 RNA in 1 hour at 37°C.

## Reaction Mixture for Unit Definition:

1X	Capping Buffer
1 mM	DTT
13.75 μCi/ml	[3H] SAM
2 μg/50 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. Don't 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

Denatured Cap-0 RNA (10 μg)*1,4	16 μl
10X Capping Buffer	2 μl
SAM (4 mM, dilute 32 mM stock to 4 mM)*2	1 μl
mRNA Cap 2'-O-Methyltransferase (50 U/μl)	1 μl
Total	20 μl*3

Incubate at 37°C for 1 hour. \*4

### 2. Preparation of Cap1-RNA from uncapped RNA (5'-triphosphate RNA)

Denatured RNA transcript (10 μg)*1,4	14 μl
10X Capping Buffer	2 μl
GTP (10 mM)	1 μl
SAM (4 mM, dilute 32 mM stock to 4 mM)*2	1 μl
Vaccinia Capping Enzyme (10 U/μl)	1 μl
mRNA Cap 2'-O-Methyltransferase (50 U/μl)	1 μl
Total	20 μl*3

Incubate at 37°C for 1 hour. \*4

\*1 In order to remove secondary structure on the 5' end of the transcript, heat-denature the RNA prior to the reaction.

(1) Take 10 μg of the RNA and adjust the volume to 16 μl (Cap-1 RNA prep from Cap-0 RNA) or 14 μl (Cap-1 RNA prep from uncapped RNA) by RNase-free water.

(2) Heat-denature at 65°C for 5 - 10 min, immediately followed by an incubation on ice for 5 min.

\*2 SAM is unstable. Dilute necessary amount of 32 mM stock solution by RNase-free water prior to the reaction, and keep it on ice until use.

\*3 It can be scaled up depending on the amount required.

\*4 If the RNA length is less than 200 nt, extend the incubation time to enhance the methylation efficiency (and capping efficiency) (1 hr → 2 hrs).

Note: RNase inhibitor can be used to enhance the stability of RNA during the reaction. Add at a final concentration of 1 U/μl if necessary.

## 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:

Takara IVTpro™ mRNA Synthesis System (Cat. #6141)

Cloning Kit for mRNA Template (Cat. #6143)

Takara IVTpro™ T7 mRNA Synthesis Kit (Cat. #6144)

T7 RNA Polymerase ver.2.0 (Cat. #2541A)

Vaccinia Capping Enzyme (Cat. #2460A/B)

Recombinant RNase Inhibitor (Cat. #2313A/B)

RNase-free Water (Cat. #9012)

NucleoSpin RNA Clean-up (Cat. #740948.10/50/250)\*

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

IVTpro is a trademark 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 by phone at +81 77 565 6972 or from our website at [www.takarabio.com](http://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

Code No. 2470A      容量： 2,500 U  
濃度： 50 U/μl

## 添付試薬：

10×Capping Buffer      100 μl  
S-adenosylmethionine (SAM) (32 mM) 100 μl

## ● 製品説明

mRNA Cap 2'-O-Methyltransferase は、vaccinia ウイルス由来のメチル化酵素であり、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。本製品には反応バッファーとメチル基供与体としての S-adenosylmethionine (SAM) が含まれ、高効率に Cap-0 RNA から Cap-1 RNA を調製できる。また、本酵素を Vaccinia Capping Enzyme (製品コード 2460A/B) 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。

● 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 40 kDa

## ● 活性の定義

37℃において 1 時間に 10 pmol の Cap-0 RNA をメチル化する酵素量を 1 U とする。

## ● 活性測定用反応液組成

1×	Capping Buffer
1 mM	DTT
13.75 μCi/ml	[3H] SAM
2 μg/50 μl	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プレイ手袋を着用して、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

Denatured Cap-0 RNA (10 μg)*1,4	16 μl
10×Capping Buffer	2 μl
SAM (4 mM, dilute 32 mM stock to 4 mM)*2	1 μl
mRNA Cap 2'-O-Methyltransferase (50 U/μl)	1 μl
<hr/>	
Total	20 μl*3

37℃で 1 時間インキュベーションする。\*4

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

Denatured RNA transcript (10 μg)*1,4	14 μl
10×Capping Buffer	2 μl
GTP (10 mM)	1 μl
SAM (4 mM, dilute 32 mM stock to 4 mM)*2	1 μl
Vaccinia Capping Enzyme (10 U/μl)	1 μl
mRNA Cap 2'-O-Methyltransferase (50 U/μl)	1 μl
<hr/>	
Total	20 μl*3

37℃で 1 時間インキュベーションする。\*4

\*1: 使用する RNA は 5' 末端が複雑な 2 次構造を取る場合に備え、反応前に熱変性する。

(1) 精製 RNA 10 μg を RNase-free water で 16 μl (Cap-0 RNA から Cap-1 RNA の調製) あるいは 14 μl (uncapped RNA から Cap-1 RNA の調製) 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: 必要に応じてスケールアップ可能。

\*4: RNA の長さが 200 nt 以下である場合は、メチル化効率 (および cap 付加効率) を上げるため反応時間を延長する (1 時間 → 2 時間)。

注: 反応液中の RNA を安定的に保つため、RNase inhibitor が使用できます。使用する場合は、最終濃度が 1 U/μl となるように添加してください。

## ● 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

Takara iVTpro™ mRNA Synthesis System (製品コード 6141)  
Cloning Kit for mRNA Template (製品コード 6143)  
Takara iVTpro™ T7 mRNA Synthesis Kit (製品コード 6144)  
T7 RNA Polymerase ver.2.0 (製品コード 2541A)  
Vaccinia Capping Enzyme (製品コード 2460A/B)  
Recombinant RNase Inhibitor (製品コード 2313A/B)  
RNase-free Water (製品コード 9012)  
NucleoSpin RNA Clean-up (製品コード 740948.10/50/250)  
TransIT-mRNA Transfection Kit  
(製品コード MIR2225/MIR2250/MIR2255/MIR2256)

## ● 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。