

Faustovirus Capping Enzyme (S17)

Code No. 2480A **Size:** **500 U**
Conc.: **25 U/ μ l**

Supplied Reagents:

10X Capping Buffer 2 **100 μ l**
S-adenosylmethionine (SAM) (32 mM) **100 μ l**
GTP (10 mM) **50 μ l**

Description:

Faustovirus Capping Enzyme (S17) is a single-subunit enzyme derived from the Faustovirus S17 strain, which adds a 7-methylguanylate structure (Cap 0) to the 5' end of RNA (5'-triphosphate RNA) in a similar manner to the action of Vaccinia virus capping enzyme. In eukaryotes, cap structures play crucial roles in stabilizing, nuclear exporting, and translating mRNAs. By using this enzyme in conjunction with the provided reagents (10X Capping Buffer 2, S-adenosylmethionine (SAM), and GTP), the efficient production of intact Cap-0 RNA can be achieved *in vitro*. Furthermore, when combined with mRNA Cap 2'-O-Methyltransferase (Cat. #2470A/B), this enzyme facilitates the production of intact Cap-1 RNA, which features a methyl group at the 2'-O position of the first nucleotide of Cap-0 RNA, in a single-step reaction. Moreover, compared to a Vaccinia virus capping enzyme, this enzyme exhibits a wider temperature range for its enzymatic activity (30 - 50°C) and is more versatile in working with various targets. These characteristics enable the robust preparation of mRNA for use in research and development in the field of RNA therapeutics, such as vaccines.

Storage: -20°C

Source:

Escherichia coli carrying a plasmid containing the gene for Faustovirus capping enzyme (S17)

Property:

Molecular mass: approx. 100 kDa

Unit Definition:

One unit is defined as the amount of enzyme that converts 5 pmol of a 100 nt transcript to Cap-0 RNA in 30 minutes at 37°C.

Reaction Mixture for Unit Definition:

1X	Capping Buffer 2
25 μ M	GTP
20 μ Ci/ml	[3H] SAM
2.5 μ g/50 μ l	100 nt RNA

Quality Control Data:

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

Applications:

1. Preparation of Cap-0 mRNA
2. Preparation of Cap-1 mRNA in conjunction with mRNA Cap 2'-O-Methyltransferase

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-0 RNA from uncapped RNA (5'-triphosphate RNA)

RNA transcript (50 μ g)*1	38 μ l
10X Capping Buffer 2	5 μ l
GTP (10 mM)	2.5 μ l
SAM (2 mM, dilute 32 mM stock to 2 mM)*2	2.5 μ l
Faustovirus Capping Enzyme (S17) (25 U/ μ l)*3	2 μ l
Total	50 μl*4

Incubate at 37°C for 30 minutes.*3

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

RNA transcript (50 μ g)*1	34 μ l
10X Capping Buffer 2*5	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) (25 U/ μ l)*3	2 μ l
mRNA Cap 2'-O-Methyltransferase (50 U/ μ l)*3	4 μ l
Total	50 μl*4

Incubate at 37°C for 1 hour.*3

- *1 The heat denaturation of the RNA (5'-triphosphate RNA) prior to the reaction may increase the capping efficiency by reducing the secondary structure at the 5' end of the transcript.
 - (1) Take 50 μ g of the RNA and adjust the volume to 38 μ l (Cap-0 RNA prep) or 34 μ l (Cap-1 RNA prep) 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 the necessary amount of the 32 mM stock solution with RNase-free Water prior to the reaction, and keep it on ice until use.
- *3 If the capping 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.
- *5 Use this buffer provided for Faustovirus Capping Enzyme (S17) instead of the buffer provided with mRNA Cap 2'-O-Methyltransferase (Cat. #2470A/B).

Related Products:

mRNA Cap 2'-O-Methyltransferase (Cat. #2470A/B)

RNase-free Water (Cat. #9012)

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

Cloning Kit for mRNA Template (Cat. #6143)

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

Template Vector (*BspQ I*) for T7 mRNA Synthesis (Cat. #6146)

BspQ I (Cat. #1227A/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)

Pyrophosphatase (inorganic) (Cat. #2450A/B)

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 by 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.

Faustovirus Capping Enzyme (S17)

Code No. 2480A 容量： 500 U
濃度： 25 U/ μ l

添付試薬：

10×Capping Buffer 2 100 μ l
S-adenosylmethionine (SAM) (32 mM) 100 μ l
GTP (10 mM) 50 μ l

●製品説明

Faustovirus Capping Enzyme (S17) は、Faustovirus S17 株由来のシングルサブユニットからなる酵素であり、Vaccinia ウイルス由来のキャップ化酵素と同様の作用機序で RNA (5'-triphosphate RNA) の 5' 末端に 7-methylguanylate cap 構造 (Cap 0) を付加する。真核生物においてキャップ構造は、mRNA の安定化、核外輸送、および翻訳において重要である。本酵素を本製品に含まれる試薬 (10×Capping Buffer 2、S-adenosylmethionine (SAM)、および GTP) と共に使用することで、完全な Cap 0 構造を持つ RNA を *in vitro* において効率的に調製できる。また、本酵素を mRNA Cap 2'-O-Methyltransferase (製品コード 2470A/B) と同時に使用する場合には、Cap-0 RNA の 1 番目のヌクレオチドの 2'-O 部位がメチル化された Cap 1 構造を持つ RNA をシングルステップ反応で調製できる。本酵素は、Vaccinia ウイルス由来のキャップ化酵素と比べ、より広範囲な温度での活性を示し (30~50°C)、様々な RNA に対して頑強性を示すため、ワクチンなどの RNA 医薬分野での研究開発に有用である。

●保存 - 20°C

●起源

Escherichia coli carrying a plasmid containing the gene for Faustovirus capping enzyme (S17)

●一般的性質

質量： 約 100 kDa

●活性の定義

37°C において 30 分間に 5 pmol の 100 nt 転写物を Cap-0 RNA に変換する酵素量を 1 U とする。

●活性測定用反応液組成

1×	Capping Buffer 2
25 μ M	GTP
20 μ Ci/ml	[3H] SAM
2.5 μ g/50 μ l	100 nt 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

1. Cap 0 構造を持つ mRNA の調製
2. Cap 1 構造を持つ mRNA の調製 (mRNA Cap 2'-O-Methyltransferase との併用)

●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. Uncapped RNA (5'-triphosphate RNA) から Cap-0 RNA の調製

RNA transcript (50 μ g) *1	38 μ l
10×Capping Buffer 2	5 μ l
GTP (10 mM)	2.5 μ l
SAM (2 mM, dilute 32 mM stock to 2 mM) *2	2.5 μ l
Faustovirus Capping Enzyme (S17) (25 U/ μ l) *3	2 μ l
Total	50 μ l *4

37°C で 30 分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×Capping Buffer 2 *5	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) (25 U/ μ l) *3	2 μ l
mRNA Cap 2'-O-Methyltransferase (50 U/ μ l) *3	4 μ l
Total	50 μ l *4

37°C で 1 時間インキュベーションする。*3

*1: RNA (5'-triphosphate 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が改善される可能性がある。

(1) 精製 RNA 50 μ g を RNase-free Water で 38 μ l (Cap-0 RNA 調製) あるいは 34 μ l (Cap-1 RNA 調製) に調製する。

(2) 65°C 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: 反応ボリュームは必要に応じてスケールアップ可能。

*5: mRNA Cap 2'-O-Methyltransferase (製品コード 2470A/B) に付属のバッファーではなく、Faustovirus Capping Enzyme (S17) 用に最適化された本バッファーを使用する。

●関連製品

mRNA Cap 2'-O-Methyltransferase (製品コード 2470A/B)

RNase-free Water (製品コード 9012)

Takara lVTpro™ mRNA Synthesis System (製品コード 6141)

Cloning Kit for mRNA Template (製品コード 6143)

Takara lVTpro™ T7 mRNA Synthesis Kit (製品コード 6144)

Template Vector (*BspQ I*) for T7 mRNA Synthesis (製品コード 6146)

BspQ I (製品コード 1227A/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)

Pyrophosphatase (inorganic) (製品コード 2450A/B)

●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。