天净沙系列

CAT#:221225

低温运输，-20℃保存

天净沙

天净沙 RNA 加 Cap0 试剂盒

Skygen RNA Cap0 Capping Kit

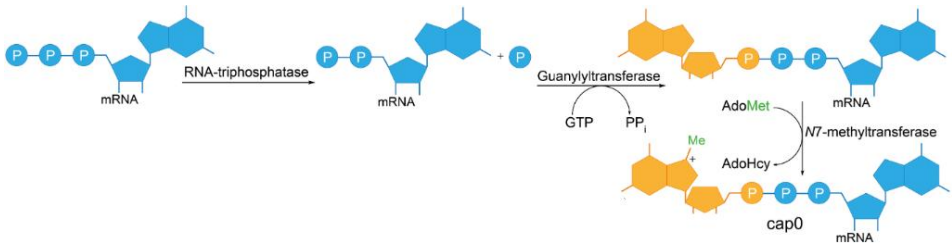
使用手册 V1.0

北京天净沙基因科技有限公司

网址：www.tjs.bio；电话：400-1078566；电邮：order@tjs.bio

产品及特点

真核生物 mRNA 5’端的帽结构为 mRNA 的稳定、转运和翻译所需，但体外转录制备得到的 RNA 并没有帽结构。为了提高这些 RNA 在体外翻译、转染和微注射应用的稳定性，很有必要为其加上 Cap0 帽结构。本产品是专门用于为无帽 RNA 分子加上 Cap0 帽结构的试剂盒。Cap0 帽结构又叫 m7GpppN 帽结构或 m7G 帽结构。此加帽过程由 RNA triphosphatase, guanylyltransferase 和 guanine methyltransferase 三个酶催化的连贯反应组成，其示意图如下：



本产品具有下列特点：

1. 即开即用，用户只需提供 RNA 即可。
2. 加帽效率高，接近 90%。比使用核苷酸衍生物进行体外转录效率更高。
3. 得到的带 Cap0 帽结构的 RNA 可以用于各自后续细胞内实验。但如果需要进行体内实验，需要改用本公司的加 Cap1 试剂盒。因为 Cap0 RNA 不能逃逸免疫反应而 Cap1 RNA 可以。
4. 本试剂盒足够 40 次 20 μL 体系的 RNA 加 Cap0 帽实验，每次可以处理多达 10 μg 的无帽 RNA。
5. 本产品只能用于科研。

规格及成分

本产品使用五孔盒包装

成份	编号	规格	包装
RNA 加 Cap0 反应液 A	221225a	80 μL	0.5 mL 绿盖管
RNA 加 Cap0 反应液 B	221225b	40 μL	0.5 mL 黄盖管
RNA 加 Cap0 反应液 C	221225c	40 μL	0.5 mL 蓝盖管
RNA 加 Cap0 酶，10 U/μL	221225c	40 μL	0.5 mL 红盖管
使用手册	221225sc	1 份	无

运输及保存

低温运输，-20℃保存、有效期一年。

自备试剂

超纯水、体外转录试剂盒，RNA 纯化试剂盒

操作流程

一、体外转录制备 RNA 模板（本试剂盒不含所需试剂）

1. 用自备的体外转录剂盒制备 RNA 模板。
2. 纯化 RNA 并测定其浓度。纯化的 RNA 需要溶解在 RNase-free 水中。

二、Cap0 加帽反应

3. 在一个 RNase-free 离心管中，加入 10μg 的纯化的无帽 RNA，补 RNase-free 水到 15 μL。
4. 65℃变性 10 分钟后，放冰上待用。变性能打开可能空间阻碍酶接触 RNA 末端的二级结构，非常重要。如果加帽效果不好，还可以提高温度到 75℃和 85℃变性 10 分钟。
5. 再在另外一个 RNase-free 离心管中加入下列成分：

成分	加入量
RNA 加 Cap0 反应液 A	2 μL
RNA 加 Cap0 反应液 B	1 μL
RNA 加 Cap0 反应液 C	1 μL
RNA 加 Cap0 酶，10U/μL	1 μL

6. 最后将冰上放置的 15 μL 无帽 RNA 加入并轻柔吹打混匀。
7. 37℃保温 2 小时。
8. 得到的 Cap0 RNA 可以纯化后用于制备 Cap1 RNA，也可以用于 polyA 加尾。如果需要直接用无帽 RNA 一步制备 Cap1 RNA，建议改用本公司的天净沙 RNA 加 Cap1 试剂盒。

关联产品

天净沙 RNA 加 Cap1 试剂盒，天净沙 T7 体外转录试剂盒