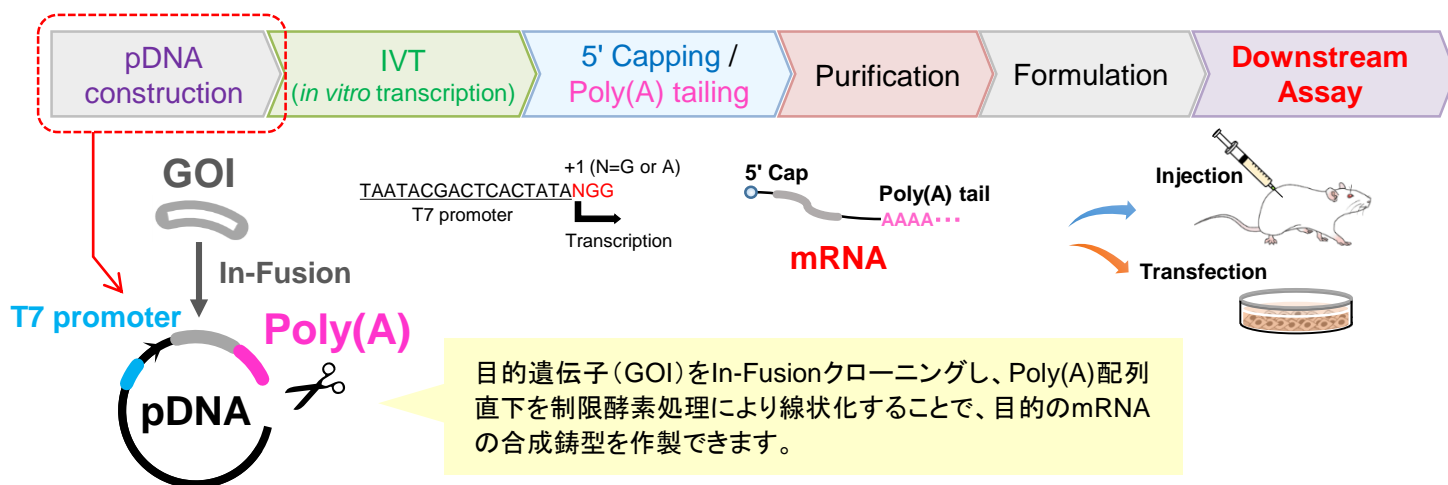


# Poly(A) 配列後に余分な配列を持たない “scarless”なmRNA調製に

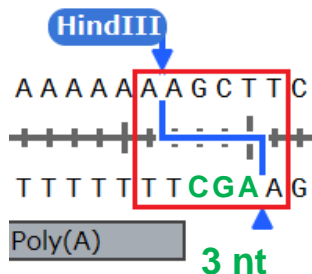


## Template Vector (*BspQ I*) for T7 mRNA Synthesis

- *in vitro* transcription (IVT)にてmRNAを合成する際の鋳型プラスミドを構築するためのベクター
- 制限酵素*BspQ I*で線状化することにより、Poly(A) 配列後に余分な配列を持たない“scarless”なテンプレート調製が可能
- In-Fusion Snap Assembly Master Mix (別売り)と組み合わせることで、簡単・迅速なクローニングが可能



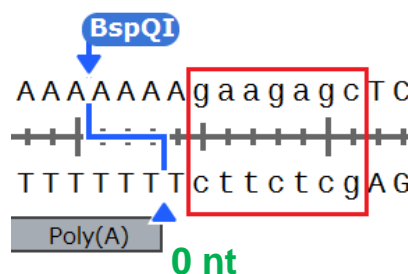
### *Hind III* で線状化する場合



Template sequence 3'-Poly(T)- CGA -5'

IVT RNA → 5'-Poly(A)- GCU -3' 3塩基残余

### *BspQ I* で線状化する場合



3'-Poly(T) -5'

→ 5'-Poly(A)-3' 残余塩基なし “scarless”



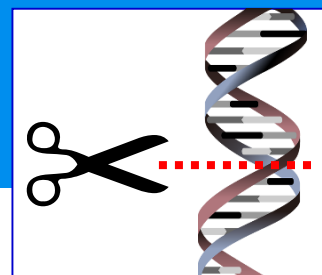
### 鋳型プラスミドのPoly(A)配列直下の制限酵素切断サイト周辺配列、線状化後の末端構造およびIVT RNA配列イメージ

制限酵素(それぞれ*Hind III*、*BspQ I*)の認識配列(赤枠)と切断サイト(青矢頭)。*Hind III*の場合はPoly(A)配列後に3塩基が残余するが、*BspQ I*の切断サイトは認識配列の外側に位置するため、Poly(A)配列後に余分な配列を持たないmRNAの合成鋳型を作製できる。

製品名	容量	製品コード	価格(税別)	構成品
Template Vector ( <i>BspQ I</i> ) for T7 mRNA Synthesis	10 µl	6146	¥10,000	<ul style="list-style-type: none"> <li>Linearized Template Vector (<i>BspQ I</i>)</li> <li>FLuc Control Fragment (<i>BspQ I</i>)</li> </ul>

※ 本ベクターはIVTでのmRNA合成を意図したプレデザイン済みのIn-Fusionクローニング用プラスミドです。  
In-Fusion Snap Assembly Master Mix (製品コード 638943/638944/638947~638949)は製品に含まれないので、必要に応じて別途ご購入ください。

# “scarless”なmRNA調製に有用な Type IIS 制限酵素



## BspQ I

- 非対称の特定の二本鎖DNA配列を認識し、その外側の一定距離で両鎖を切断するType IIS制限酵素(Isoschizomer)
- IVT合成mRNAのPoly(A)直下に余分な配列が残存しないデザインが可能
- 酵素および反应用バッファー(添付試薬)にBSAを含まない

認識配列 切断サイト



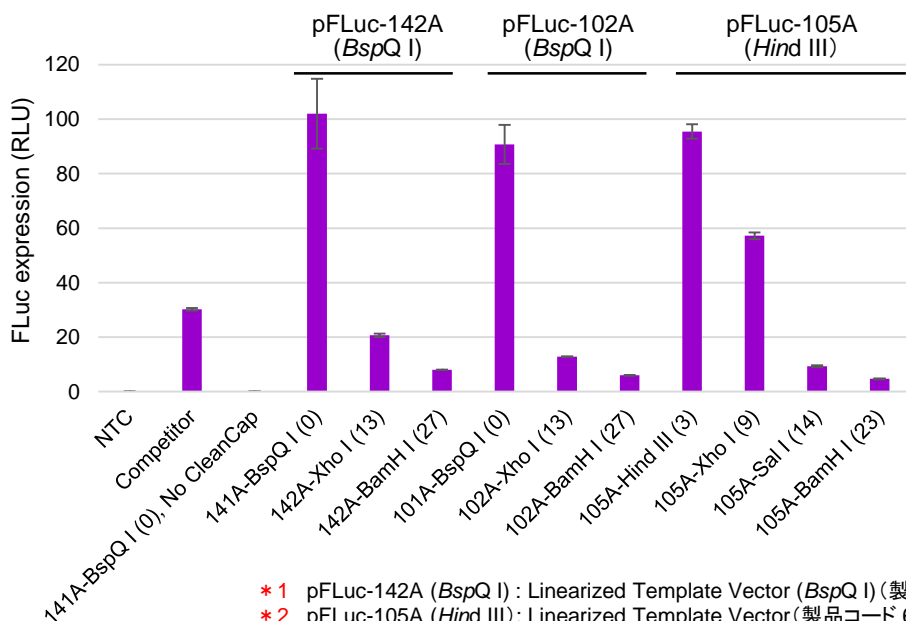
製品名	容量	製品コード	価格(税別)
BspQ I	500 U	1227A	¥10,000
	2,500 U	1227B	¥39,000

### Application

### Poly(A)配列後の残余塩基がIVT合成mRNAの細胞内タンパク発現に与える影響

<方法>

Firefly Luciferase (FLuc) mRNAをコードする3種の鑄型プラスミド[pFLuc-142A (BspQ I)\*<sup>1</sup>, pFLuc-102A (BspQ I), pFLuc-105A (Hind III)\*<sup>2</sup>]\*<sup>3</sup>を、それらPoly(A)配列後にある様々な制限酵素サイトで切断し、CleanCapを用いた*in vitro* transcription (IVT)の合成鑄型とした\*<sup>4</sup>。得られたmRNAの各0.5 µgをTransIT-mRNA Transfection Kit(製品コード MIR2225ほか)を用いてHEK293T細胞にトランスフェクションし、24時間後のFLuc活性を測定した。



<結果>

いずれの鑄型DNAにおいても、Poly(A)配列後の余剰塩基数が増加するにつれ、FLucタンパクの発現が大きく低下した。このことは、鑄型プラスミドの線状化のデザインが目的タンパク質の細胞内発現に大きな影響をもつことを示している。

- \*<sup>1</sup> pFLuc-142A (BspQ I): Linearized Template Vector (BspQ I) (製品コード 6146の構成品)を使用
- \*<sup>2</sup> pFLuc-105A (Hind III): Linearized Template Vector (製品コード 6143の構成品)を使用
- \*<sup>3</sup> 3種のプラスミド配列は、Poly(A)配列長およびPoly(A)配列後の制限酵素サイト以外は同じである。
- \*<sup>4</sup> 各サンプル名は、「mRNAのPoly(A)配列長 - 線状化に使用した制限酵素 (Poly(A)配列後の余剰塩基数)」で表している。

- ・本チラシで紹介した製品はすべて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。
- ・ライセンスなどに関する最新情報は弊社ウェブサイトをご覧ください。
- ・本チラシ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。
- ・本チラシ記載の価格は2023年8月1日現在の希望小売価格です。価格に消費税は含まれておりません。

2023年8月作成G

## タカラバイオ株式会社

東日本支店・西日本支店 TEL 03-3271-8553 FAX 03-3271-7282  
関西支店・営業第2部 TEL 077-565-6969 FAX 077-565-6995  
テクニカルサポートライン TEL 077-565-6999 FAX 077-565-6995  
Website <https://www.takara-bio.co.jp>  
Facebook <https://www.facebook.com/takarabio.jp>

取扱店