T7 RNA Polymerase, HQ

Code No. 2542A Size: 200,000 U

Conc.: $200 U/\mu I$

Supplied Reagent:

10X IVT Reaction Buffer, HO 10 ml

Description:

T7 RNA Polymerase, 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 enzymatic ability to T7 RNA Polymerase ver.2.0 (Cat. #2541A). It requires double-stranded DNA that contains the T7 promoter sequence as a template and NTPs as substrates to synthesize single-stranded RNA complementary to the template downstream of the promoter. When combining this enzyme with the provided reaction buffer (10X IVT Reaction Buffer, HQ) a large quantity of high-quality RNA can be generated. The *in vitro* transcribed RNA is well-suited for research and development purposes in the field of RNA therapeutics.

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 phage T7 RNA polymerase

Properties:

Molecular mass: approx. 99.8 kDa

Cofactor : Mg²⁺

Unit Definition:

One unit is defined as the amount of enzyme that generates 0.5 μ g of 1.9 kb FLuc RNA in 1 hour at 37℃.

Reaction Mixture for Unit Definition:

IVT Reaction Buffer, HO 1X 10 mM ATP, CTP, GTP, and UTP

 $1 \mu g/20 \mu l$ Linearized FLuc plasmid DNA

Quality Control Data:

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

Applications:

- 1. Synthesis of RNA for enzymatic capping
- 2. Synthesis of capped mRNA using a cap analog
- 3. Synthesis of long non-coding RNA
- 4. Synthesis of guide RNA
- 5. Synthesis of siRNA precursors
- 6. Synthesis of RNA standard templates for RT-qPCR
- 7. Synthesis of highly labeled RNA probes

Precautions for Use:

- 1. Do not mix the enzyme vigorously.
- 2. Less RNA may be produced or the RNA may be fragmented if the dsDNA template, 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.
- 3. In order to synthesize a uniform length of RNA, linear dsDNA such as cleaved plasmid and PCR product is used in the *in vitro* transcription reaction as the template. We recommend that the 3' end of the template DNA should be 5'-protruding end or blunt end to avoid unwanted products.
- 4. Spermidine contained in the buffer forms a complex with nucleic acids and may be precipitated as indissoluble materials. The template DNA should be added to the reaction at the end, just before the enzymes.

Application Example (Synthesis of approx. 1.9 kb RNA):

	 •
Sterile purified water	$x \mu I$
10X IVT Reaction Buffer, HQ	2 μΙ
ATP, CTP, GTP, UTP	each 10 mM
Template DNA	0.5 - 2 μg
RNase inhibitor	20 U
T7 RNA Polymerase, HQ	200 U
Total	20 µl

Incubate at 37°C for 1 - 2 hrs.

References:

- 1) Davanloo P, Rosenberg A H, Dunn J J, and Studier F W. Proc Natl Acad Sci USA. (1984) 81: 2035-2039.
- 2) Beckert B and Masquida B. Methods Mol Biol. (2011) 703: 29-41.
- 3) Schenborn ET and Mierendorf RC. Nucleic Acids Res. (1985) 13: 6223-6236.

Related Products:

ATP (Cat. #4041)

GTP (Cat. #4042)

CTP (Cat. #4043) UTP (Cat. #4044)

Recombinant RNase Inhibitor ver.2.0 (Cat. #2315A/B)

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

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

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

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

BspQ I (Cat. #1227A/B)

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

Cloning Kit for mRNA Template (Cat. #6143)

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

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

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. 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.

v202308

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

T7 RNA Polymerase, HQ

Code No. 2542A 200,000 U 容量:

> 濃度: $200 U/\mu I$

添付試薬:

10×IVT Reaction Buffer, HQ 10 ml

● 製品説明

T7 RNA Polymerase, 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、T7 RNA Polymerase ver.2.0 (製品コード 2541A) と同等の性能 を有しており、T7 promoter 配列を含む二本鎖 DNA を鋳型、NTP を基質 として、プロモーター下流の領域を転写し、in vitro で一本鎖 RNA を合 成する。添付の反応バッファー (10×IVT Reaction Buffer, HQ) と組み合 わせることで、大量の RNA を高品質に調製できるため、RNA 医薬分野の 研究開発での利用に適している。

● HO 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°C

Escherichia coli carrying a plasmid containing the gene for phage T7 RNA polymerase

● 一般的性質

質量 : 約99.8 kDa 補因子: Mg²⁺

● 活性の定義

37℃において 1 時間に 0.5 µq の 1.9 kb FLuc RNA を生成する酵素量を 10とする。

● 活性測定用反応液組成

IVT Reaction Buffer, HO $1\times$ ATP • CTP • GTP • UTP 10 mM リニア化 FLuc プラスミド DNA $1 \mu g/20 \mu I$

● 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. 酵素的 Cap 化のための RNA の合成
- 2. Cap analog を用いた capped mRNA の合成
- 3. Long non-coding RNA の合成
- 4. guide RNA の合成
- 5. siRNA 前駆体の合成
- 6. RT-qPCR 用 RNA 標準鋳型の合成
- 7. 高標識 RNA プローブの合成

● 使用 トの注章

- 1. 本酵素の激しい攪拌は行わないでください。
- 2. 鋳型となる二本鎖 DNA 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。
- 3. 均一な長さの RNA を合成するために、T7 promoter を含む線状化し たプラスミドあるいは PCR 産物などが鋳型 DNA として使用できます。 線状化鋳型の 3′ 末端は 5′ 突出あるいは平滑末端が望ましいとされて
- 4. 10×IVT Reaction Buffer, HQ にはスペルミジンが含まれています。 スペルミジンは核酸と複合体を形成して、場合によっては不溶物質と して沈殿する可能性がありますので、鋳型 DNA は必ず酵素以外のコ ンポーネントの最後に加えるようにしてください。

● 使用例(約 1.9 kb の RNA 合成)

滅菌精製水	xμl
10×IVT Reaction Buffer, HQ	2 μΙ
ATP、CTP、GTP、UTP	各 10 mM
Template DNA	$0.5 \sim 2 \mu g$
RNase inhibitor	20 U
T7 RNA Polymerase, HQ	200 U
Total	20 μΙ

37℃で1~2時間インキュベーションする。

● 参考文献

- 1) Davanloo P, Rosenberg A H, Dunn J J, and Studier F W. Proc Natl Acad Sci USA. (1984) 81: 2035-2039.
- 2) Beckert B and Masquida B. Methods Mol Biol. (2011) 703: 29-41.
- 3) Schenborn E T and Mierendorf R C. Nucleic Acids Res. (1985) 13: 6223-6236.

● 関連製品

ATP (製品コード 4041)

GTP (製品コード 4042)

CTP (製品コード 4043) UTP (製品コード 4044)

Recombinant RNase Inhibitor ver.2.0 (製品コード 2315A/B)

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

T7 RNA Polymerase ver.2.0 (製品コード 2541A/B)

Vaccinia Capping Enzyme (製品コード 2460A/B)

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

BspQI (製品コード 1227A/B)

- 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)

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。

v202308