

T7 RNA Polymerase GMP grade

Code No. T2411S010 **Size:** 2,000,000 U
Conc.: 200 U/ μ l

Description:

This enzyme uses double-stranded DNA (dsDNA) 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 a reaction buffer (10X IVT Reaction Buffer GMP grade (Cat. #T2401S010/S100/S500)), a large quantity of high-quality RNA can be generated.

Quality Statement:

1. This product is manufactured in accordance with relevant GMP guidelines. For more information, please refer to our website.
2. No animal- or human-derived components are used in the manufacture of this product.
3. This product uses primary materials that do not contain β -lactam compounds.

Quality Control Data:

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

Storage: Store at or below -70°C

Source:

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

Properties:

Molecular mass : approx. 99.8 kDa
Cofactor : Mg^{2+}

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°C.

Reaction Mixture for Unit Definition:

| | |
|------------------------|-------------------------------|
| 1X | IVT Reaction Buffer GMP grade |
| 10 mM | ATP, CTP, GTP, and UTP |
| 0.9 μ g/20 μ l | Linearized FLuc plasmid DNA |

Applications:

1. Synthesis of capped mRNA using a cap analog (Co-transcriptional capping)
2. Synthesis of uncapped mRNA for enzymatic capping

Precautions for Use:

1. Do not mix the enzyme vigorously.
2. Avoid introducing RNase into the reaction. The presence of RNase can cause RNA fragmentation and lead to significantly reduced RNA yield from the reaction.
3. In order to synthesize a uniform length of RNA, linear dsDNA such as cleaved plasmid and PCR product is used 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. The 10X IVT Reaction Buffer GMP grade contains spermidine, which forms a complex with nucleic acids that may cause insoluble precipitate. To minimize this effect, template DNA should be added just prior to adding the enzymes.

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

| | |
|-----------------------------------|-----------------|
| Sterile purified water | x μ l |
| 10X IVT Reaction Buffer GMP grade | 2 μ l |
| ATP, CTP, GTP, UTP | each 10 mM |
| Template DNA | 0.5 - 2 μ g |
| RNase inhibitor | 20 U |
| Pyrophosphatase (inorganic) | 0.1 U |
| T7 RNA Polymerase GMP grade | 200 U |
| Total | 20 μ l |

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 E T and Mierendorf R C. *Nucleic Acids Res*. (1985) **13**: 6223-6236.

Related Products:

10X IVT Reaction Buffer GMP grade (Cat. #T2401S010/S100/S500)
PrimeCap™ T7 RNA Polymerase (low dsRNA) GMP grade
(Cat. #T2422S001/S010/S100)

PrimeCap is a trademark of Takara Bio Inc.

Note

This product is not intended for humans or animals *in vivo* applications. Our products may not be transferred to third parties, resold, modified for resale, or used to manufacture commercial products or to provide a service to third parties without our prior written approval. 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.

T7 RNA Polymerase GMP grade

Code No. T2411S010 容量： 2,000,000 U
濃度： 200 U/ μ l

● 製品説明

本酵素は、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。別売の反応バッファー (10X IVT Reaction Buffer GMP grade (製品コード T2401S010/S100/S500)) と組み合わせることで、大量の RNA を高品質に調製できる。

● 品質について

1. 本製品は GMP に関するガイドラインに準拠し、製造および品質管理されています。
2. 本製品はヒトおよび動物由来物質を含んでおりません。
3. 本製品は β -ラクタム不使用の一次原料を採用しています。

● 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。

● 保存 - 70℃以下

● 起源

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： Mg^{2+}

● 活性の定義

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

● 活性測定用反応液組成

| | |
|------------------------|-------------------------------|
| 1 × | IVT Reaction Buffer GMP grade |
| 10 mM | ATP • CTP • GTP • UTP |
| 0.9 μ g/20 μ l | リニア化 FLuc プラスミド DNA |

● 用途

1. Cap アナログを使用した capped mRNA の合成 (共転写キャッピング)
2. 酵素的キャッピングに使用する mRNA の合成

● 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. RNase が混入しないように注意してください。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 が断片化したりする場合があります。
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います。
4. 10X IVT Reaction Buffer GMP grade にはスぺルミジンが含まれています。スぺ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 | x μ l |
| 10X IVT Reaction Buffer GMP grade | 2 μ l |
| ATP、CTP、GTP、UTP | 各 10 mM |
| Template DNA | 0.5 ~ 2 μ g |
| RNase inhibitor | 20 U |
| Pyrophosphatase (inorganic) | 0.1 U |
| T7 RNA Polymerase GMP grade | 200 U |
| Total | 20 μ l |

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

10X IVT Reaction Buffer GMP grade (製品コード T2401S010/S100/S500)
PrimeCap™ T7 RNA Polymerase (low dsRNA) GMP grade
(製品コード T2422S001/S010/S100)

● 注意

ヒト、動物への医療、臨床診断用には使用しないでください。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。