

PrimeCap™ T7 RNA Polymerase (low dsRNA) GMP grade

Code No. T2422S001 **Size:** 200 KU
 Conc.: 200 U/μl

Code No. T2422S010 **Size:** 2,000 KU
 Conc.: 200 U/μl

Code No. T2422S100 **Size:** 20,000 KU
 Conc.: 200 U/μl

Description:

This enzyme is a modified form of T7 RNA polymerase that combines the features of cap analog-dependent RNA synthesis, low dsRNA generation, and heat resistance (~52°C). *In vitro* transcription (IVT) using this enzyme, a cap analog, and 10X IVT Reaction Buffer GMP grade (Cat. #T2401S010/S100/S500) can produce a large quantity of high-quality mRNA with high-capping efficiency while significantly reducing the generation of immunogenic dsRNA.

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: -20 ± 5°C

Source:

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

Properties:

Molecular mass : approx. 99.8 kDa
Cofactor : Mg²⁺

Unit Definition:

One unit is defined as the amount of enzyme that generates 0.25 μg 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 μg/20 μl | 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
- Note: The RNA yield may be reduced by 5 - 30% compared to when using cap analogs.

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 1.9 kb capped mRNA with CleanCap Reagent AG):

| | |
|--|------------|
| Sterile purified water | x μl |
| 10X IVT Reaction Buffer GMP grade | 2 μl |
| ATP, CTP, GTP, UTP*1 | each 10 mM |
| CleanCap Reagent AG*2 | 4 mM |
| Template DNA | 0.5 - 2 μg |
| RNase inhibitor | 20 U |
| Pyrophosphatase (inorganic) | 0.1 U |
| PrimeCap T7 RNA Polymerase (low dsRNA) GMP grade | 200 U |
| Total | 20 μl |

Incubate at 37°C for 1 - 2 hrs.

*1 When using a modified NTP, replace the corresponding NTP with an equivalent amount of the modified version.

*2 CleanCap Reagent AG (TriLink BioTechnologies: Code. N-7113-1/5/10 etc.)

Related Products:

10X IVT Reaction Buffer GMP grade (Cat. #T2401S010/S100/S500)
T7 RNA Polymerase GMP grade (Cat. #T2411S001/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.

PrimeCap™ T7 RNA Polymerase (low dsRNA) GMP grade

Code No. T2422S001 容量： 200 KU
濃度： 200 U/μl

Code No. T2422S010 容量： 2,000 KU
濃度： 200 U/μl

Code No. T2422S100 容量： 20,000 KU
濃度： 200 U/μl

● 製品説明

本酵素は、Cap アナログ依存的 RNA 合成、低 dsRNA 生成、および耐熱性（～52℃）の特長を併せ持つ、T7 RNA polymerase の改変体である。本酵素と Cap アナログ、別売の 10X IVT Reaction Buffer GMP grade（製品コード T2401S010/S100/S500）を使用した *in vitro* transcription (IVT) では、免疫原性のある dsRNA の生成を大幅に低減しつつ、高い Cap 付加効率で高品質な mRNA を大量に調製できる。

● 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 — 20 ± 5℃

● 起源

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

● 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 0.25 μg 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 μg/20 μl 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
※ RNA 収量は Cap アナログ使用時と比べ、5～30%減少する場合があります。

● 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 にはスベルミジンが含まれています。スベ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（CleanCap Reagent AG を使用した 1.9 kb mRNA の合成）

| | |
|--|----------|
| 滅菌精製水 | x μl |
| 10X IVT Reaction Buffer GMP grade | 2 μl |
| ATP、CTP、GTP、UTP * 1 | 各 10 mM |
| CleanCap Reagent AG * 2 | 4 mM |
| Template DNA | 0.5～2 μg |
| RNase inhibitor | 20 U |
| Pyrophosphatase (inorganic) | 0.1 U |
| PrimeCap T7 RNA Polymerase (low dsRNA) GMP grade | 200 U |
| Total | 20 μl |

37℃で 1～2 時間インキュベーションする。

- * 1：修飾 NTP を使用する場合は、対応する NTP を等量で置き換える。
* 2：CleanCap Reagent AG (TriLink 社：Code. N-7113-1/5/10 等)

● 関連製品

10X IVT Reaction Buffer GMP grade（製品コード T2401S010/S100/S500）
T7 RNA Polymerase GMP grade（製品コード T2411S001/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。

v202502