

T7 RNA Polymerase

Code No. 2540A **Size:** **5,000 U**
Conc.: **50 U/ μ l**

Supplied Reagents:

10X T7 RNA Polymerase Buffer **1 ml**
50 mM DTT **1 ml**

Description :

T7 RNA Polymerase is an enzyme coded by the DNA of phage T7. This enzyme requires double-stranded DNA that contains the T7 promoter sequence as a template and NTPs as substrates, and synthesizes the single strand RNA complementary to the template downstream of the promoter. It has very high specificity for T7 promoter, with almost no recognition of promoters from other phages.

Storage Buffer :

20 mM	Potassium Phosphate, pH 7.9
100 mM	NaCl
0.1 mM	EDTA
1 mM	DTT
50%	Glycerol

Storage: -20°C

Source :

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

Properties :

- Molecular Weight : approx. 98,000
- Subunit : Single polypeptide
- Optimum pH : pH 8.0
- Cofactor : Mg²⁺ (Optimum Conc. : 8 mM)
reductant (5 mM DTT)
- Activator : 2 mM Spermidine
(4 mM Spermidine causes coprecipitation with DNA)
- Inhibitor : NEM (10⁻⁴ M)
PCMB (5 x 10⁻⁸ M)

Unit definition :

One unit is the amount of the enzyme that incorporates 1 nmol of [³H] GMP into the acid-insoluble fraction in 1 hour at 37°C and pH 8.0.

Reaction mixture for unit definition :

40 mM	Tris-HCl, pH 8.0
8 mM	MgCl ₂
2 mM	spermidine
5 mM	DTT
0.4 mM	ATP, UTP, and CTP
0.4 mM	[³ H] GTP
1 μ g/50 μ l	pT7-2 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 the single strand RNA.
2. Synthesis of highly labeled RNA probes.
3. Synthesis of precursors of siRNA.
4. Synthesis of precursors for RNA splicing reactions.
5. Synthesis of capped mRNA when a cap analog is used as a primer.

Note : For efficient transcription of a specific region, the end of the template DNA should be blunt or should protrude in the 5'-direction downstream of the region. Spermidine contained in the buffer forms the complex with nucleic acids and may be precipitated as indissoluble materials. It is desirable to add the template DNA lastly by all means.

Composition of Supplied Reagents (Store at -20°C) :

1. 10X T7 RNA Polymerase Buffer	
400 mM	Tris-HCl, pH 8.0
80 mM	MgCl ₂
20 mM	spermidine

2. 50 mM DTT

Applications example :

10X T7 RNA Polymerase Buffer	2 μ l
50 mM DTT	2 μ l
ATP, CTP, GTP, UTP	each 2 mM
RNase Inhibitor	20 U
Template DNA	20 ng - 1 μ g
T7 RNA Polymerase	50 U
Sterile purified water	up to 20 μ l

↓
Incubate at 42°C for 1 - 2 hr

Related Products :

- Recombinant Ribonuclease Inhibitor (Cat. #2313A/B)
- ATP (Cat. #4041)
- GTP (Cat. #4042)
- CTP (Cat. #4043)
- UTP (Cat. #4044)
- *in vitro* Transcription T7 Kit (for siRNA Synthesis) (Cat. #6140)

References :

- 1) Davanloo P, Rosenberg A H, Dunn J J, and Studier F W. *Proc Natl Acad Sci USA*. (1984) **81**: 2035-2039.
- 2) Chamberlin M, McGrath J, and Waskell L. *Nature*. (1970) **228**: 227-231.
- 3) Chamberlin M and Ring J. *J Biol Chem*. (1973) **248**: 2235-2244.
- 4) ET Schenborn and RC Mierendorf Jr. *Nucleic Acids Research*. (1985) **13**: 6223-6236.

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.

T7 RNA Polymerase

Code No. 2540A 容量： 5,000 U
濃度： 50 U/ μ l

添付試薬：

10 × T7 RNA Polymerase Buffer 1 ml
50 mM DTT 1 ml

● 製品説明

本酵素はファージT7のDNAにコードされる酵素である。T7プロモーター配列を含む二本鎖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、一本鎖RNAを合成する。T7プロモーター配列に高い特異性を示し、他の生物由来のプロモーターは認識しない。

● 形状 20 mM リン酸カリウム緩衝液 (pH7.9)
 100 mM NaCl
 0.1 mM EDTA
 1 mM DTT
 50% グリセロール

● 保存 - 20°C

● 起源

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

● 一般的性質

・分子量 約 98,000
・サブユニット 一本鎖単純ポリペプチド
・至適pH pH8.0
・補因子 Mg^{2+} (至適濃度：8 mM)
 還元剤 (5 mM DTT)
・活性化剤 2 mM スペルミジン (4 mM ではDNAと共沈)
・阻害剤 NEM (10^{-4} M)、PCMB (5×10^{-8} M) で失活

● 活性の定義

37°C、pH8.0において1時間に1 nmolの $[^3H]$ GMPを酸不溶性沈殿物に取り込む活性を1 Uとする。

● 活性測定用反応液組成

40 mM Tris-HCl (pH 8.0)
8 mM $MgCl_2$
2 mM スペルミジン
5 mM DTT
0.4 mM ATP・UTP・CTP
0.4 mM $[^3H]$ GTP
1 μ g/50 μ l pT7-2 DNA

● 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. 一本鎖RNAの合成
2. 高標識RNAプローブの作製
3. siRNA前駆体の作製
4. RNA splicing反応の前駆体の作製
5. Cap analogをprimerに用いたcapped mRNAの作製

● 使用上の注意

1. 特定領域だけの効率よい転写のためには、その領域下流で鋳型DNAを平滑または5'突出型にカットしておく方が望ましい。
2. バッファー中に含まれる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るため、鋳型DNAは必ず最後に加える。

● 添付試薬組成 (保存：-20°C)

1. 10 × T7 RNA Polymerase Buffer
 400 mM Tris-HCl (pH8.0)
 80 mM $MgCl_2$
 20 mM スペルミジン
2. 50 mM DTT

● 使用例

10 × T7 RNA Polymerase Buffer	2 μ l
50 mM DTT	2 μ l
ATP, CTP, GTP, UTP	each 2 mM
RNase Inhibitor	20 U
Template DNA	20 ng ~ 1 μ g
T7 RNA Polymerase	50 U
滅菌精製水	up to 20 μ l

↓
42°C、1 ~ 2 hr インキュベーション

● 関連製品

- ・Recombinant Ribonuclease Inhibitor (製品コード 2313A/B)
- ・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)
- ・*in vitro* Transcription T7 Kit (for siRNA Synthesis) (製品コード 6140)

● 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) Chamberlin M, McGrath J, and Waskell L. *Nature*. (1970) **228**: 227-231.
- 3) Chamberlin M and Ring J. *J Biol Chem*. (1973) **248**: 2235-2244.
- 4) ET Schenborn and RC Mierendorf Jr. *Nucleic Acids Research*. (1985) **13**: 6223-6236.

● 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。