

PrimeCap® T7 RNA Polymerase (low dsRNA)

Code No. 2560A **Size:** **20,000 U**
Conc.: **200 U/μl**

Supplied Reagent:
10X T7 RNA Polymerase Buffer **1 ml**

Description:
PrimeCap T7 RNA Polymerase (low dsRNA) 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 and a cap analog can produce a large amount of high-quality mRNA with high-capping efficiency while significantly reducing the generation of immunogenic dsRNA. Therefore, this product is suitable for research and development in the field of RNA therapeutics such as vaccines.

Storage: -20°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 incorporates 1 nmol of [³H]GMP into the acid-insoluble fraction in 1 hour at 37°C.

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 μg/50 μl | 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 capped mRNA using a cap analog (Co-transcriptional capping)
2. Synthesis of uncapped RNA for enzymatic capping
- * The RNA yield will decrease by 10 - 40% compared to when using cap analogs.

Precautions for Use:

1. Do not mix the enzyme vigorously.
2. Less RNA may be produced or the RNA may be fragmented if the IVT 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 IVT 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. The restriction enzyme *Bsp*Q I is recommended for linearizing the template DNA.
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 1.9 kb capped mRNA with CleanCap Reagent AG):

| | |
|-------------------------------------|------------|
| RNase-free Water | x μl |
| 10X T7 RNA Polymerase Buffer | 2 μl |
| ATP, CTP, GTP, UTP ¹ | each 10 mM |
| CleanCap Reagent AG ² | 4 mM |
| Template DNA | 0.5 - 2 μg |
| Recombinant RNase Inhibitor ver.2.0 | 20 U |
| Pyrophosphatase (inorganic) | 0.1 U |
| PrimeCap T7 RNA Polymerase | 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.

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

Related Products:

ATP (Cat. #4041)
GTP (Cat. #4042)
CTP (Cat. #4043)
UTP (Cat. #4044)
RNase-free Water (Cat. #9012)
Recombinant RNase Inhibitor ver.2.0 (Cat. #2315A/B)
Pyrophosphatase (inorganic) (Cat. #2450A/B)
Vaccinia Capping Enzyme (Cat. #2460A/B)
mRNA Cap 2'-O-Methyltransferase (Cat. #2470A/B)
*Bsp*Q I (Cat. #1227A/B)
Cloning Kit for mRNA Template (Cat. #6143)

PrimeCap is a registered 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 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.

PrimeCap® T7 RNA Polymerase (low dsRNA)

Code No. 2560A

容量 : 20,000 U

濃度 : 200 U/ μ l

添付試薬 :

10 × T7 RNA Polymerase Buffer 1 ml

● 製品説明

PrimeCap T7 RNA Polymerase (low dsRNA) は、Cap アナログ依存の RNA 合成、低 dsRNA 生成、および耐熱性（～52°C）の特長を併せ持つ T7 RNA polymerase の変形体である。本酵素と Cap アナログを使用した *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。したがって、本製品はワクチンなどの RNA 医薬分野での研究開発に適している。

● 保存 - 20°C

● 起源

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

● 一般的な性質

質量 : 約 99.8 kDa

補因子 : Mg²⁺

● 活性の定義

37°C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酵素量を 1 U とする。

● 活性測定用反応液組成

| | |
|----------------------|----------------------|
| 40 mM | Tris-HCl (pH8.0) |
| 8 mM | MgCl ₂ |
| 2 mM | スペルミジン |
| 5 mM | DTT |
| 0.4 mM | ATP・UTP・CTP |
| 0.4 mM | [³ H]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. 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. 酶素的キャッピングに使用する uncapped RNA の合成

※ RNA 収量は Cap アナログ使用時と比べ、10 ~ 40% 減少する。

● 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. 鑄型となる二本鎖 DNA や試薬、反応に使用するチューブ、マイクロビ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、マイクロビ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 産物などが鑄型 DNA として使用できます。線状化鑄型の 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。必要に応じて *BspQI* などの制限酵素をご利用ください。
4. 10 × T7 RNA Polymerase Buffer 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、鑄型 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)

| | |
|-------------------------------------|-----------------|
| RNase-free Water | x μ l |
| 10 × T7 RNA Polymerase Buffer | 2 μ l |
| ATP, CTP, GTP, UTP * 1 | 各 10 mM |
| CleanCap Reagent AG * 2 | 4 mM |
| Template DNA | 0.5 ~ 2 μ g |
| Recombinant RNase Inhibitor ver.2.0 | 20 U |
| Pyrophosphatase (inorganic) | 0.1 U |
| PrimeCap T7 RNA Polymerase | 200 U |
| Total | 20 μ l |

37°C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)

● 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)

RNase-free Water (製品コード 9012)

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

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

Cloning Kit for mRNA Template (製品コード 6143)

● 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、家庭用品など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。