

PrimeCap® T7 RNA Polymerase (low dsRNA), HQ

Code No. 2561A **Size:** **200,000 U**
Conc.: **200 U/μl**

Supplied Reagents:
10X IVT Reaction Buffer, HQ **10 ml**

Description:

PrimeCap T7 RNA Polymerase (low dsRNA), 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 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), having an equivalent performance to PrimeCap T7 RNA Polymerase (low dsRNA) (Cat. #2560A). *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.

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 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 μ g of 1.9 kb FLuc RNA in 1 hour at 37°C.

Reaction Mixture for Unit Definition:

1X	IVT Reaction Buffer, HQ
10 mM	ATP, CTP, GTP, and UTP
0.9 μ g/20 μ 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 capped mRNA using a cap analog (Co-transcriptional capping)
2. Synthesis of uncapped RNA for enzymatic capping

* 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. 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 μ l
10X IVT Reaction Buffer, HQ	2 μ l
ATP, CTP, GTP, UTP*1	each 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), HQ	0.1 U
PrimeCap T7 RNA Polymerase, HQ	200 U
Total	20 μ l

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 Bio Technologies: Code. N-7113-1/5/10)

Related Products:

Note: For more information on the "mRNA synthesis learning center", please see our website (<https://www.takarabio.com/>).

[HQ grade]
Pyrophosphatase (inorganic), HQ (Cat. #2451A)
Faustovirus Capping Enzyme (S17), HQ (Cat. #2481A)
mRNA Cap 2'-O-Methyltransferase, HQ (Cat. #2471A)
*Bsp*Q I, HQ (Cat. #1228A) etc.

[RUO grade]
PrimeCap® T7 RNA Polymerase (low dsRNA) (Cat. #2560A)
Pyrophosphatase (inorganic) (Cat. #2450A/B)
Recombinant RNase Inhibitor ver.2.0 (Cat. #2315A/B)
*Bsp*Q I (Cat. #1227A/B)
ATP/GTP/CTP/UTP (Cat. #4041/4042/4043/4044)
RNase-free Water (Cat. #9012)
Cloning Kit for mRNA Template (Cat. #6143)
NucleoSpin RNA Clean-up (Cat. #740948.10./50./250)* etc.

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

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), HQ

Code No. 2561A

容量： 200,000 U

濃度： 200 U/μl

添付試薬：

10 × IVT Reaction Buffer, HQ 10 ml

● 製品説明

PrimeCap T7 RNA Polymerase (low dsRNA), 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、PrimeCap T7 RNA Polymerase (low dsRNA) (製品コード 2560A)と同等の性能を有しており、Capアナログ依存的RNA合成、低dsRNA生成、および耐熱性 ($\sim 52^{\circ}\text{C}$) 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。

● HQ 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

● 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： Mg^{2+}

● 活性の定義

37°C において1時間に $0.25 \mu\text{g}$ 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, HQ
10 mM	ATP・CTP・GTP・UTP
0.9 μg/20 μl	リニア化 FLuc プラスミド 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. 酵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、5~30% 減少する場合がある。

● 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. 鎌型となる二本鎖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産物などが鎌型DNAとして使用できます。線状化鎌型の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 × 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、鎌型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	$\times \mu\text{l}$
10 × IVT Reaction Buffer, HQ	2 μl
ATP, CTP, GTP, UTP * 1	各 10 mM
CleanCap Reagent AG * 2	4 mM
Template DNA	0.5~2 μg
Recombinant RNase inhibitor ver.2.0	20 U
Pyrophosphatase (inorganic), HQ	0.1 U
PrimeCap T7 RNA Polymerase, HQ	200 U
Total	20 μl

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

※弊社ウェブサイトの「mRNA合成 (in vitro Transcription) 製品ガイド」をご参照ください (<https://catalog.takara-bio.co.jp>)。

[HQ グレード]

Pyrophosphatase (inorganic), HQ (製品コード 2451A)
Faustovirus Capping Enzyme (S17), HQ (製品コード 2481A)
mRNA Cap 2'-O-Methyltransferase, HQ (製品コード 2471A)
BspQI, HQ (製品コード 1228A) ほか

[研究用グレード]

PrimeCap® T7 RNA Polymerase (low dsRNA) (製品コード 2560A)
Pyrophosphatase (inorganic) (製品コード 2450A/B)
Recombinant RNase Inhibitor ver.2.0 (製品コード 2315A/B)
BspQI (製品コード 1227A/B)
ATP/GTP/CTP/UTP (製品コード 4041/4042/4043/4044)
RNase-free Water (製品コード 9012)

Cloning Kit for mRNA Template (製品コード 6143)
NucleoSpin RNA Clean-up (製品コード 740948.10./50./250) ほか

● 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。