

T7 RNA Polymerase ver.2.0

Code No. 2541A **Size:** **20,000 U**
Conc.: **200 U/ μ l**

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

Description:

T7 RNA Polymerase ver.2.0 is an updated product that enhanced the reactivity of T7 RNA Polymerase (Cat. #2540A/B). This enzyme requires double-stranded DNA that contains the T7 promoter sequence as a template and NTPs as substrates, and synthesizes single-stranded RNA complementary to the template downstream of the promoter. The use of this enzyme together with the reaction buffer included in this product can produce a large quantity of RNA with high quality.

Storage: -20°C

Source:

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

Properties:

- Molecular mass approx. 99 kDa
- Cofactor Mg^{2+}

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	[3H]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 capped mRNA using a cap analog
2. Synthesis of long non-coding RNA
3. Synthesis of guide RNA
4. Synthesis of siRNA precursors
5. Synthesis of RNA standard templates for RT-qPCR
6. Synthesis of highly labeled RNA probes

Precautions for Use:

1. Don't mix the enzyme vigorously.
2. RNA is less produced or fragmented when dsDNA 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 for *in vitro* transcription reaction as the template. It has been reported that the 3' end of the template DNA should be 5'-protruding end or blunt end to avoid unwanted products.
4. Spermidine contained in the buffer forms the complex with nucleic acids and may be precipitated as indissoluble materials. The template DNA should be added 2nd lastly in the reaction before enzymes.

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

Sterile purified water	X μ l
10X T7 RNA Polymerase Buffer	2 μ l
ATP, CTP, GTP, UTP	each 10 mM
Template DNA	0.5 - 2 μ g
RNase inhibitor	20 U
T7 RNA Polymerase ver.2.0	200 U
<hr/>	
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:

- ATP (Cat. #4041)
- GTP (Cat. #4042)
- CTP (Cat. #4043)
- UTP (Cat. #4044)
- Recombinant RNase Inhibitor (Cat. #2313A/B)
- Pyrophosphatase (inorganic) (Cat. #2450A/B)
- NucleoSpin RNA Clean-up (Cat. #740948.10/.50/.250)
- TransIT-mRNA Transfection Kit (Cat. #MIR2225/MIR2250/MIR2255/MIR2256)

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 ver.2.0

Code No. 2541A 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

T7 RNA Polymerase ver.2.0 は、T7 RNA Polymerase (製品コード 2540A/B) の反応性を高めたバージョンアップ製品である。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、一本鎖 RNA を合成する。添付の反応バッファーと組み合わせて *in vitro* transcription 反応に用いることで、高品質かつ大量の RNA が調製できる。

● 保存 - 20°C

● 起源

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

● 一般的性質

- ・ 質量 約 99 kDa
- ・ 補因子 Mg^{2+}

● 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	$[^3H]GTP$
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. Cap analog を用いた capped mRNA の合成
2. Long non-coding RNA の合成
3. guide RNA の合成
4. siRNA 前駆体の合成
5. RT-qPCR 用 RNA 標準鋳型の合成
6. 高標識 RNA プローブの合成

● 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. 鋳型となる二本鎖 DNA や試薬、反応に使用するチューブ、マイクロピ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、マイクロピ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. 10 × T7 RNA Polymerase Buffer 中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、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
10 × T7 RNA Polymerase Buffer	2 μ l
ATP、CTP、GTP、UTP	各 10 mM
Template DNA	0.5 ~ 2 μ g
RNase inhibitor	20 U
T7 RNA Polymerase ver.2.0	200 U
<hr/>	
Total	20 μ l

37°C 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

- ・ 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)
- ・ Recombinant RNase Inhibitor (製品コード 2313A/B)
- ・ Pyrophosphatase (inorganic) (製品コード 2450A/B)
- ・ NucleoSpin RNA Clean-up (製品コード 740948.10/.50/.250)
- ・ TransIT-mRNA Transfection Kit (製品コード MIR2225/MIR2250/MIR2255/MIR2256)

● 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。