PCRは東洋紡

T7 RNA Polymerase Variant (low dsRNA)

[Code No. TRL-301]

取扱説明書

TOYOBO CO., LTD.
Bioproducts Sales and Marketing Department
OSAKA JAPAN

TOYOBO

THS26086

ー 目 次 ー

[1] はじめに・・1
[2] 製品内容・・・1
[3] 使用方法・・・2
[4] トラブルシューティング・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 3
[5] 関連商品・・ 3

ご注意

本酵素は、研究用途でのみご使用になれます。診断・臨床用途として決して使用しないでください。本酵素の使用にあたっては、実験室での一般の注意事項を厳守し、安全に留意してください。

※本資料に掲載している会社名および商品名・ロゴマークなどは、各社の商号、商標または登録商標です。

[1] はじめに

T7 RNA Polymerase Variant (low dsRNA)は、Bacteriophage T7 由来の、T7 RNA Polymerase の変異体です。T7 RNA Polymerase Variant (low dsRNA)は、野生型の T7 RNA Polymerase と比較して、大幅に dsRNA の生成を抑えることができます。

本酵素を *in vitro* transcription 反応に用いることで、dsRNA の生成を抑えた高品質な RNA を調製することができます。

[2] 製品内容

本製品には、以下の試薬が含まれています。

T7 RNA Polymerase Variant (low dsRNA)　[Code No. TRL-301]

品名	保存	濃度	TRL-301
T7 RNA Polymerase Variant (low dsRNA)	-20°C	1 mg/mL	50 µg[*1]

[*1] 本製品はタンパク質重量を保証いたします。

[3] 使用方法

(1)反応液の調製例

・氷上にて以下のように反応液を調製します。

・反応液を調製する前に、酵素液を優しくピペッティングしてからご使用ください。

試薬	50μL 反応 [*3]	最終濃度
10 × Buffer [Code No. TRL-2B][*1]	5 μL	1 ×
100mM rNTPs[*1] [*4]	2.5 μL	5 mM
200mM $Mg(OAc)_2$	5.5 μL	22mM
RNase Inhibitor [Code No. SIN-201][*1]	0.5 μL	20 U
鋳型 DNA[*2]	X μL	1～50 ng/μL
T7 RNA Polymerase Variant (low dsRNA) [Code No. TRL-301]	Y μL	1～50 ng/μL
滅菌蒸留水	36.5-X-Y μL	-
合計液量	50 μL	

[*1] 本製品には添付されていません。上記 Code No.の製品や、他社同等品をご使用になれます。

[*2] T7 Promoter 配列を含む PCR 産物または、制限酵素消化したプラスミド等をご使用になれます。

[*3] 必要に応じて適宜スケールアップすることも可能です。

[*4] 天然塩基だけではなく、各種修飾塩基もご使用になれます(5-Me CTP/5-Me GTP をご使用になる場合、収量が減少する可能性がございます)。

(2) *in vitro* transcription 反応 (IVT 反応)

反応液を軽く撹拌して均一にした後、以下の温度でインキュベートします。

37℃, 30～120 min.
4℃, hold

反応終了後は、4℃または−20℃で保存します。

[4] トラブルシューティング

T7 RNA Polymerase Variant (low dsRNA)

現象	原因	対策
RNA 収量が低い	T7 Promoter 領域への変異	PCR で鋳型 DNA を増幅した場合、希に T7 Promoter 領域に変異が入る場合があります。配列確認後、再調製していただくか、プラスミド DNA をご使用になることをお勧めします。
	IVT 反応時間が短い	RNA 収量が低い場合、IVT 反応時間を延ばすことで、RNA 収量が向上いたしますが、120 分を超える IVT 反応の場合、RNA 純度が低下する可能性がございます。
	鋳型 DNA 量、酵素量が少ない	RNA 収量が低い場合、鋳型 DNA 量および酵素量を上げていただくことで、RNA 収量が向上する可能性がございます。
RNA 純度が低い	5-Me CTP/5-Me GTP を使用している。	本製品では、5-Me CTP/5-Me GTP をご使用の場合、RNA 純度が低下することを確認しております。他の修飾塩基をご使用になるか、天然塩基をご使用になることをお勧めします。
	IVT 反応時間が長い	IVT 反応を長時間行う場合、RNA 純度が低下します。IVT 反応を 120 分以下にすることをお勧めいたします。

[5] 関連商品

IVT 反応関連試薬

品名	包装	Code No.
ScriptMAX® Thermo T7 Transcription Kit	60 回用	TSK-101
Thermo T7 RNA Polymerase <<TT7>>	7,500U×1 本	TRL-201
RNase Inhibitor, recombinant	2,500U×1 本	SIN-201
10×Reaction Buffer for Thermo T7 RNA Polymerase	1mL×1 本	TRL-2B

より詳細な情報は、弊社ウェブサイトをご覧ください
https://lifescience.toyobo.co.jp/

TOYOBO

【製造・販売元】

ー価格・在庫に関するお問い合わせー

東洋紡株式会社　遺伝子試薬・診断薬事業部　(大阪)
〒530-0001　大阪府大阪市北区梅田一丁目 13 番 1 号
大阪梅田ツインタワーズ・サウス
TEL 06-6348-3786　FAX 06-6348-3833
E-mail : order_lifescience@toyobo.jp

東洋紡株式会社　遺伝子試薬・診断薬事業部　(東京)
〒104-8345　東京都中央区京橋一丁目 17 番 10 号
京橋　One Terrace
TEL 03-6887-8819　FAX 03-6887-8951
E-mail : order_lifescience@toyobo.jp

ー製品の内容・技術に関するお問い合わせー

テクニカルライン
TEL 06-6348-3888　FAX 06-6348-3833
開設時間　9:00～12:00 , 13:00～17:00　(土日祝日、休日を除く)
E-mail : tech_osaka@toyobo.jp
［URL］https://lifescience.toyobo.co.jp/