



優れた正確性とRNA大量合成はクーガにお任せ！

CUGA[®] *in vitro* Transcription Kit

Code No.	製品名	容量	希望納入価格(税別)
304-14641	CUGA [®] 7 <i>in vitro</i> Transcription Kit	5 反応	9,000 円
307-13531		20 反応	30,000 円
303-88221	CUGA [®] 6 <i>in vitro</i> Transcription Kit	5 反応	9,000 円
309-88223		20 反応	30,000 円
301-15491	CUGA [®] 3 <i>in vitro</i> Transcription Kit	5 反応	9,000 円
307-15493		20 反応	30,000 円

本キットは *in vitro* 転写反応によるRNA合成キットです。本キットに採用しているCUGA[®] 7 / CUGA[®] 6 / CUGA[®] 3 RNAポリメラーゼ^(※1)は、野生型のRNAポリメラーゼよりも転写効率が高いため、RNAの大量合成や、正確な鎖長のRNA合成が必要な実験での使用に最適です。

① RNAの大量合成

野生型RNAポリメラーゼを用いた従来品のRNA合成キットと比較して、2倍以上のRNAを短時間で合成できます。

② 鑄型の末端形状に依存しない

鑄型DNAの末端形状が平滑または3'突出でも転写反応が可能です。野生型RNAポリメラーゼは、それらの末端を有する鑄型DNAから異常なRNAが生じることが知られています。

③ 不完全な合成を抑制

一部のターミネーター配列を認識しないため、不完全なRNAが合成されることを防ぎ、目的のRNAのみを正確に得られます。

④ 修飾ヌクレオチドの取り込み

4種類の高濃度の基質リボヌクレオチドを個別に添付しているため、Cy3[™]、Biotin等の修飾ヌクレオチドを反応系に導入することが可能です。

- 構成成分**
- CUGA[®]7/6/3 Enzyme Solution
 - 5×Transcription Buffer
 - 0.1 M DTT
 - 100 mM CTP
 - 100 mM UTP
 - 100 mM GTP
 - 100 mM ATP
 - Control DNA
 - DNase Enzyme Solution
 - 10 M Ammonium Acetate
 - Enzyme Dilution Buffer

(※1) CUGA[®] RNAポリメラーゼは、野生型の大腸菌ファージ由来 T3/T7 RNAポリメラーゼおよびサルモネラ属菌ファージ由来 SP6 RNAポリメラーゼの変異体です。

(※2) *in vitro*転写反応に必要な鑄型DNAおよび鑄型DNA調製用試薬は別途ご用意いただく必要があります。

(※3) ISOSPIN PCR Product (Code No.315-08001)でも精製可能です。

実験の流れ

CUGA[®] *in vitro* Transcription Kit



製造元 株式会社ニッポンジーン

〒930-0834 富山市問屋町二丁目7番18号
TEL: 076-451-6548 FAX: 076-451-6547
URL: <https://www.nippongene.com>

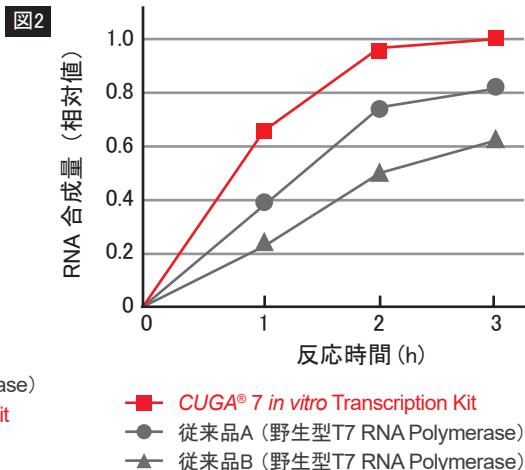
販売元 富士フイルム 和光純薬株式会社

本社 〒540-8605 大阪市中央区道修町三丁目1番2号 TEL: 06-6203-3741 (代表)
東京本店 〒103-0023 東京都中央区日本橋本町二丁目4番1号 TEL: 03-3270-8571 (代表)
フリーダイヤル 0120-052-099 フリーファックス 0120-052-806

実験例 1 RNA合成量の比較

CUGA[®] 7 *in vitro* Transcription Kitと、野生型T7 RNA Polymeraseを用いた従来品にてRNA合成量を比較した。結果、本キットは約2倍以上のRNAを合成できた(図1)。また、37°C、2時間で直鎖DNA鋳型から200 µg以上のRNAを合成できた(図2)。

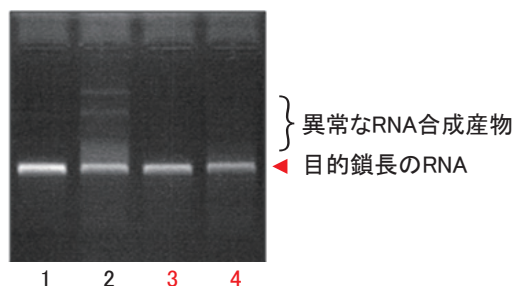
* RNAの収量は鋳型DNAの配列、純度等により変動します。



実験例 2 鋳型の末端形状の影響を確認

野生型RNAポリメラーゼを用いた従来の *in vitro* RNA合成反応では3'突出末端の鋳型から異常なRNAが生じることが知られている。

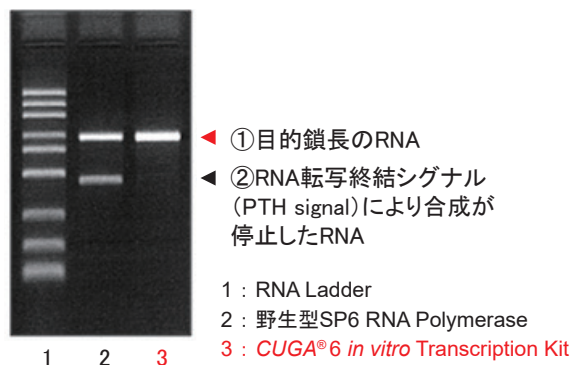
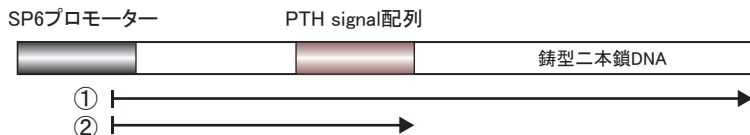
CUGA[®] 6 *in vitro* Transcription Kitと、野生型SP6 RNAポリメラーゼを用いて、5'および3'突出末端の鋳型DNAからRNA合成を行った。結果、本キットは鋳型の末端形状に依存しない正確なRNAが合成された。



1 : 野生型SP6 RNA Polymerase (5'突出末端鋳型)
2 : 野生型SP6 RNA Polymerase (3'突出末端鋳型)
3 : CUGA[®] 6 *in vitro* Transcription Kit (5'突出末端鋳型)
4 : CUGA[®] 6 *in vitro* Transcription Kit (3'突出末端鋳型)

実験例 3 鋳型配列中のターミネーター配列の影響を確認

CUGA[®] 6 *in vitro* Transcription Kitと、野生型SP6 RNAポリメラーゼを用いて、PTHシグナル配列を含む鋳型 PCR 産物 (50 ng) からRNA合成を行った。結果、本キットは一部のターミネーター配列を認識しないことから、不完全なRNAを作らず、目的のRNAのみが得られた。



実験例 4 Cap-Analogの取り込み確認

CUGA[®] 7 *in vitro* Transcription Kitを用いて Cap-Analog (m⁷G(5')pppG(5'))を反応に加え取り込みの確認を行った。結果、本キットで Cap-Analogを取り込めることを確認した。

〈反応組成〉

鋳型DNA	1.0 µL
5 × Transcription Buffer	4.0 µL
0.1 M DTT	2.0 µL
100 mM CTP	0.4 µL
100 mM UTP	0.4 µL
100 mM ATP	0.4 µL
10 mM GTP	0.4 µL
10 mM Cap	0~4.0 µL
CUGA [®] 7 Enzyme Solution	1.0 µL
滅菌蒸留水	up to 20 µL

Cap-Analog添加量

