

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 in vitro Transcription Kit	5 反応	10,000 円
307-13531		20 反応	33,400 円
303-88221	CUGA® 6 in vitro Transcription Kit	5 反応	10,000 円
309-88223		20 反応	33,400 円
301-15491	CUGA® 3 in vitro Transcription Kit	5 反応	10,000 円
307-15493		20 反応	33,400 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 鋳型の末端形状に依存しない

鋳型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鋳型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。

- -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転写反応に必要な鋳型DNAおよび鋳型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

鋳型DNA調製(※2)

in vitro転写反応

鋳型DNAの除去 (DNase 処理)

RNAの精製(※3)

(フェノール抽出および エタノール沈澱)

RNAの検出

●掲載の価格は2025年4月現在の希望納入価格(税別)です。最新情報は弊社HPをご確認ください。 ●本品は試験研究用試薬です。医薬品の用途には使用しないでください。

株式会社ニッポンジーン 製造元

〒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

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

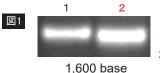
CUGA in vitro Transcription Kit



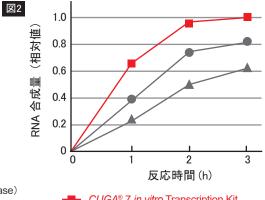
実験例1 RNA合成量の比較

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℃、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。



- 1. 従来品(野生型T7 RNA Polymerase)
- 2. CUGA® 7 in vitro Transcription Kit

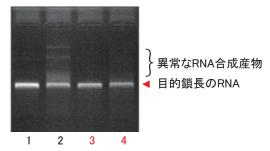


- CUGA® 7 in vitro Transcription Kit
- ◆ 従来品A (野生型T7 RNA Polymerase)
- → 従来品B (野生型T7 RNA Polymerase)

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。

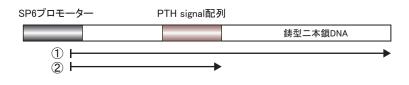
CUGA® 6 in vitro Transcription Kitと、野生型SP6 RNAポリ メラーゼを用いて、5'および3'突出末端の鋳型DNAからRNA 合成を行った。結果、本キットは鋳型の末端形状に依存しない 正確なRNAが合成された。

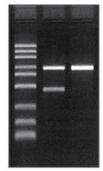


- 1:野生型SP6 RNA Polymerase (5'突出末端鋳型)
- 2:野生型SP6 RNA Polymerase (3'突出末端鋳型)
- 3: CUGA® 6 in vitro Transcription Kit(5'突出末端鋳型)
- 4: CUGA® 6 in vitro Transcription Kit(3'突出末端鋳型)

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。





2

3

- ◀ ①目的鎖長のRNA
- ◆ ②RNA転写終結シグナル (PTH signal)により合成が 停止したRNA
- 1: RNA Ladder
- 2:野生型SP6 RNA Polymerase
- 3 : CUGA® 6 in vitro Transcription Kit

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 $5 \times Transcription Buffer \cdots 4.0 \mu L$ 0.1 M DTT 2.0 uL 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

