

Template Vector (*BspQ* I) for T7 mRNA Synthesis

Code No. 6146

包装量: 10 μ l

制品说明:

Template Vector (*BspQ* I) for T7 mRNA Synthesis 是用于使用 TriLink 公司的帽类似物 [CleanCap Reagent AG 或 CleanCap Reactive AG (3' Ome)] 构建体外转录 (IVT) mRNA 的模板质粒。线性化的载体中包含 T7 启动子、转录起始序列 (AGG)、5' -UTR (untranslated region) 和 3' -UTR、Poly(A) 序列 (141 碱基), 因此只需要对目标基因编码序列 (coding sequence: CDS) 进行 In-Fusion 无缝克隆, 便可构建体外转录的模板质粒 (图 1、2)。随后用 IIS 型限制酶 *BspQ* I 消化, 得到的线性化质粒模板用于合成 Poly(A) 尾无冗余序列的 mRNA, 获得的 mRNA 可用于人类、小鼠或其他哺乳动物细胞。使用线性化的模板质粒, 通过 Takara IVTpro T7 mRNA Synthesis Kit (Code No. 6144) 进行体外转录 (IVT), 便可便捷地制备高产量的 mRNA。

<In-Fusion 无缝克隆>



图 1. 基于 In-Fusion 无缝克隆构建 IVT 模板质粒

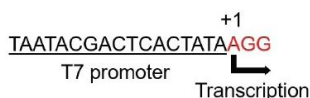


图 2. 采用 CleanCap Reagent AG 方法时, DNA 模板的转录起始序列 (AGG)

制品内容:

Linearized Template Vector (*BspQ* I) (50 ng/ μ l) 10 μ l
FLuc Control Fragment (*BspQ* I) (100 ng/ μ l) 10 μ l

保存: -20°C

DNA 链长:

2,962 bp [Linearized Template Vector (*BspQ* I)]

1,683 bp [FLuc Control Fragment (*BspQ* I)]

※ 关于序列, 请参阅本公司官方网站。

质量控制:

请查阅各批次 Certificates of Analysis (CoA)。产品 CoA 请在 Takara Bio Inc. 网站中下载:

https://catalog.takara-bio.co.jp/search/doc_index.php。

用途:

制备 Poly(A) 尾无冗余序列的 mRNA 合成模板

使用注意:

1. 构建质粒模板时, 需要 In-Fusion 无缝克隆试剂。请购买 In-Fusion Snap Assembly Master Mix (Code No. 638943/638944/638947~638949)。
2. 关于模板质粒的设计和方案细节, 请参阅 Cloning Kit for mRNA Template (Code No. 6143) 的使用说明书。此时, 请确认想要克隆的目标基因的 CDS 序列中不存在 *BspQ* I 位点。若出现 *BspQ* I 位点存在于 CDS 中的情况, 为确保氨基酸序列不会发生

变化, 可以通过使用不同的密码子 (例: 从丙氨酸密码子的 "GCU" 变为 "GCC" 等) 来改变 DNA 序列。

3. 当 dsDNA 模板、试剂、试管或微量移液器枪头被 RNase 污染时, 合成的 RNA 产量会降低或者出现片段化。在实验过程中应采取预防措施以避免 RNase 污染, 例如戴一次性手套和使用专门用于 RNA 实验的试管和微量移液器枪头。

参考文献:

- 1) Karikó, K. *et al.* Incorporation of pseudouridine into mRNA yields superior nonimmunogenic vector with increased translational capacity and biological stability. *Mol Ther.* (2008) **16**: 1833-1840.
- 2) Vaidyanathan, S. *et al.* Uridine Depletion and Chemical Modification Increase Cas9 mRNA Activity and Reduce Immunogenicity without HPLC Purification. *Mol Ther Nucleic Acids.* (2018) **12**: 530-542.
- 3) Xia, X. Detailed Dissection and Critical Evaluation of the Pfizer/BioNTech and Moderna mRNA Vaccines. *Vaccines (Basel).* (2021) **9**: 734.
- 4) Schenborn, E. T. and Mierendorf, R. C. A novel transcription property of SP6 and T7 RNA polymerases: dependence on template structure. *Nucleic Acids Res.* (1985) **13**: 6223 - 6236.

相关产品:

In-Fusion[®] Snap Assembly Master Mix (Code No. 638943/638944/638947~638949)
BspQ I (Code No. 1227A/B)
PrimeSTAR[®] Max DNA Polymerase (Code No. R045A/B)
TaKaRa Ex Premier[™] DNA Polymerase (Code No. RR370S/A/B)
TaKaRa Ex Premier[™] DNA Polymerase Dye plus (Code No. RR371S/A/B)
NucleoSpin Gel and PCR Clean-up (Code No. 740609.10 / .50 / .250)
NucleoSpin Plasmid (Code No. 740588.10 / .50 / .250)
Takara IVTpro[™] mRNA Synthesis System (Code No. 6141)
Cloning Kit for mRNA Template (Code No. 6143)
Takara IVTpro[™] T7 mRNA Synthesis Kit (Code No. 6144)
RNase-free Water (Code No. 9012)
T7 RNA Polymerase ver.2.0 (Code No. 2541A)
T7 RNA Polymerase, HQ (Code No. 2542A)
Pyrophosphatase (inorganic) (Code No. 2450A/B)

PrimeSTAR is a registered trademark of Takara Bio Inc.
In-Fusion is a registered trademark of Takara Bio USA, Inc.
IVTpro and Ex Premier are trademarks of Takara Bio Inc.

注意

本产品仅供科学研究使用, 不能用于人、动物的医疗或诊断程序, 不能使用本产品作为食品、化妆品或家庭用品等。

未经 Takara Bio Inc. 书面许可授权或批准, 不得制造、许诺销售、销售、进口 Takara 产品, 或者使用 Takara 产品所有的相关专利及相关商标。

如果您需要其他用途的许可授权, 请联络我们, 或访问我们网站 www.takarabio.com。

您使用本产品必须遵守产品网页上适用的全部许可要求。阅读、了解并遵守此类声明的所有限制性条款是您的责任。

所有商标均属于各自商标所有者的财产。某些商标并未在全部行政区注册。

本文件由宝日医生物技术 (北京) 有限公司翻译制作, 最新版本文件请参看 Takara Bio Inc. 网站。为正确使用 Takara 产品, 您应当掌握本产品的相关知识和使用说明。

v202311Da