

# RNA を簡便に合成！ 今、注目される *in vitro* 転写システム

ファージ RNA ポリメラーゼベース (T7 /SP6) の *in vitro* 転写システムで合成された RNA は *in vitro* 翻訳やトランスフェクション、マイクロインジェクションによるタンパク質発現実験やウイルス RNA 実験などに利用されてきました。近年では iPS/ES 細胞のリプログラミングや分化誘導の実験やゲノム編集におけるガイドとしてさらに様々な用途に用いられています。

*In vitro* 転写は T7 や SP6 RNA プロモーターを有するベクターがあれば比較的簡単に RNA を大量調製することができます。また *in vitro* 転写反応にキャップアナログを付加することで翻訳の効率が飛躍的に向上します。プロメガの RiboMAX™ システムはこれまでに 1,000 件以上の利用実績のある信頼された RNA 合成システムです。



## アプリケーション紹介

### mg オーダーの RNA 合成とクリーンナップ

#### RiboMAX™ Large Scale RNA Production System

*In vitro* 転写反応により合成された RNA にはフリーのヌクレオチド、タンパク質、DNA などが含まれており、下流の実験を妨げる可能性があります。近年は iPS や ES 細胞へのトランスフェクションを行うために 1 度に多くの RNA を必要とするケースが多くなりました。RiboMAX™ Large Scale RNA Production System による大量の RNA 合成と PureYield™ RNA Midiprep System による RNA 精製により mg レベルの高純度な RNA を取得することができます。PureYield™ RNA Midiprep System は 200base から 20kb のインタクトな RNA を精製することができるシリカメンブレン技術を採用したキットでフェノール：クロロフォルム抽出やアルコール沈殿も不要です。*in vitro* 転写反応を標準的な 20μl 反応から 100–1,000μl にスケールアップし、PureYield™ と組み合わせることで大量の RNA 合成と精製を行います。

また、Vac®-Man Manifold (吸引装置) を用いればより簡便・迅速に RNA をクリーンナップすることができます。

詳細については以下をご覧ください。

[www.promega.jp/resources/pubhub/purify-rna-transcribed-in-vitro-using-the-pureyield-rna-midiprep-system/](http://www.promega.jp/resources/pubhub/purify-rna-transcribed-in-vitro-using-the-pureyield-rna-midiprep-system/)



#### CRISPR/Cas9 で利用する sgRNA の合成にも利用いただけます！

Wei W, Xin H, Roy B, Dai J, Miao Y, Gao G (2014) Heritable Genome Editing with CRISPR/Cas9 in the Silkworm, *Bombyx mori*. PLoS ONE 9 (7) : e101210.

### 長鎖 RNA のハイスピード 合成

#### T7 RiboMAX™ Express Large Scale RNA Production System

*in vitro* 転写は RNA ウイルスゲノムを合成するための最も一般的な方法の 1 つであり、現在ワクチン開発などに応用されているリバースジェネティクス法は *in vitro* で完全長 RNA の合成をベースとして確立されました。しかし、非常に長いゲノムを有する RNA ウイルスのゲノム RNA の合成は非常に困難です。T7 RiboMAX™ Express Large Scale RNA Production System は従来の RiboMAX™ よりも短時間で効率的に RNA を合成することができます (ただし、キャップの付加には推奨しません)。T7 RNA ポリメラーゼプロモーターおよび完全長 HCoV cDNA 27.3kb を含むワクシニアウイルスベクターより T7 RiboMAX™ Express Large Scale RNA Production System を用いて *in vitro* 転写反応を 10 分から 2 時間行い 27.3kb の長鎖 RNA を合成しており、10 分でも一定量の RNA が得られています。

詳細については以下をご覧ください。

[www.promega.jp/en/resources/pubhub/enotes/t7-ribomax-express-generation-of-27kb-in-vitro-transcripts-in-minutes/](http://www.promega.jp/en/resources/pubhub/enotes/t7-ribomax-express-generation-of-27kb-in-vitro-transcripts-in-minutes/)

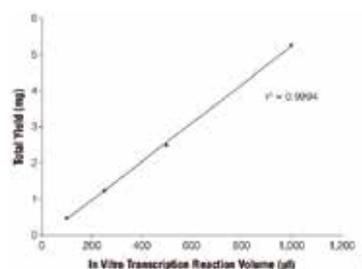


## 関連製品

製品名	サイズ	カタログ番号	定価 (¥)	特別価格 (¥)
RiboMAX™ Large Scale RNA Production System-SP6	50 回分	P1280	40,000	32,000
RiboMAX™ Large Scale RNA Production System-T7	50 回分	P1300	40,000	32,000
T7 RiboMAX™ Express Large Scale RNA Production System	50 回分	P1320	50,000	40,000
PureYield™ RNA Midiprep System	10 回分	Z3740	17,000	13,600
	50 回分	Z3741	80,000	64,000

Ⓜ 期間限定プロメガクラブキャンペーン対象製品 ※期間限定：2016 年 10 月 11 日～12 月 22 日

プロメガクラブについては [www.promega.co.jp/promegaclub.html](http://www.promega.co.jp/promegaclub.html) をご覧ください。



RNA 合成反応液量と RNA 収量の関係

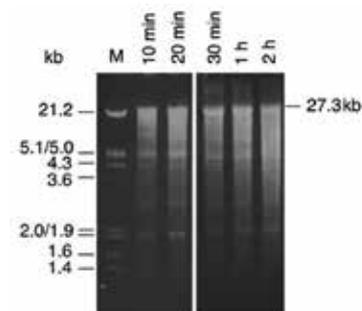
RNA 合成反応溶液 1ml から最大 5mg RNA のクリーンアップが可能



◀ PureYield™ RNA Midiprep System で精製した合成 RNA 各サンプルより 1μl を電気泳動 (1.2% アガロースゲル) した。添加した RNA のほとんどを回収した。A: 精製前の転写反応液 (+DNase 処理後)。B: 精製後の溶出液サンプル。



▲ Vac-Man® による PureYield™ RNA Midiprep System の吸引処理



RNA 合成反応のタイムコース▲  
27.3kb HCoV cDNA を含むベクターをテンプレートとして、T7 RiboMAX™ Express Large Scale RNA Production を用いて RNA 合成した。10min, 20min, 30min, 1h, 2h 後のサンプルを 1% アガロースゲルで電気泳動した。