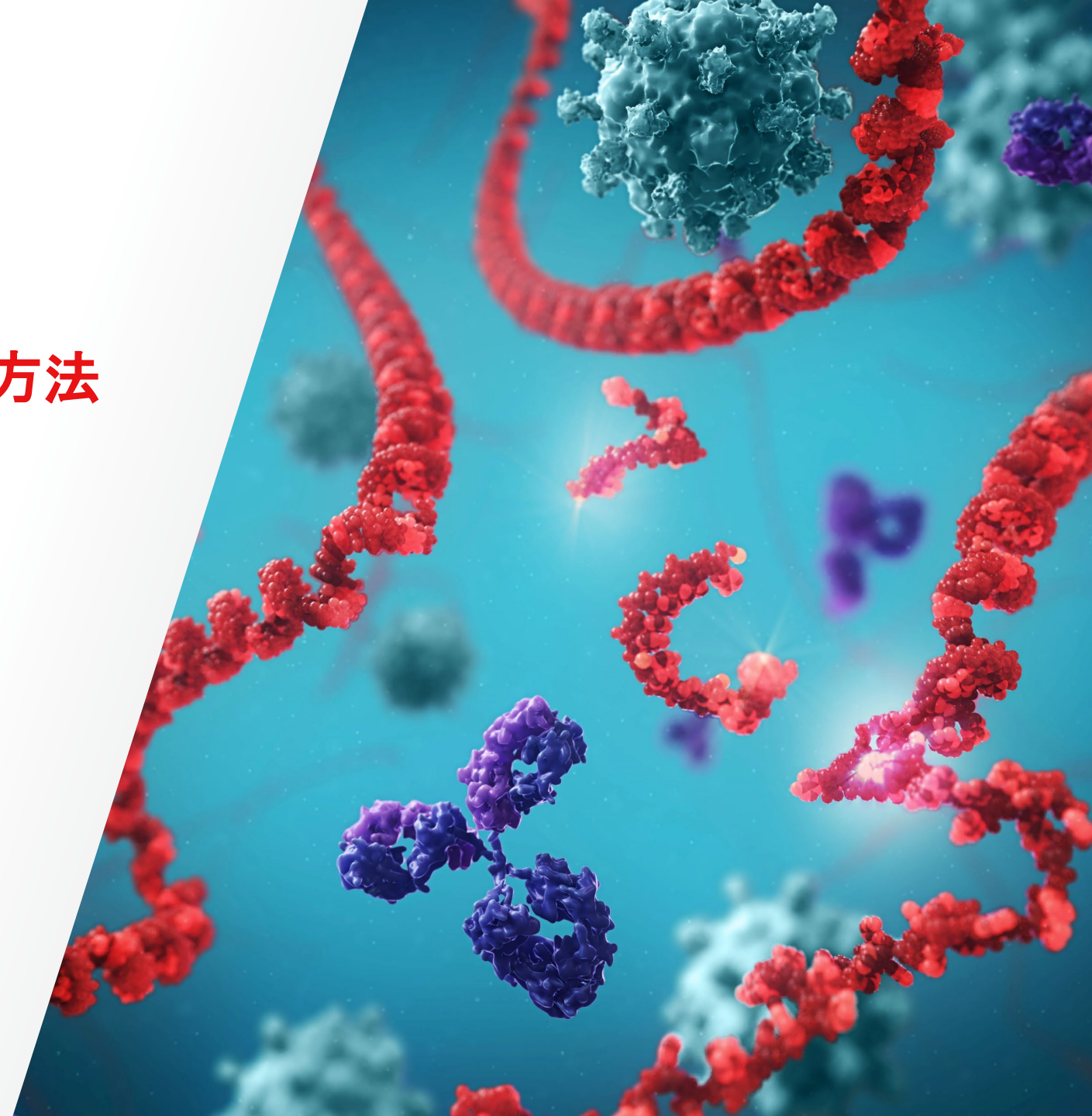


# IVT (*in vitro*転写)用 プラスミドDNAテンプレートの注文方法

## GeneArt遺伝子合成 without poly(A) 編

 The world leader in serving science

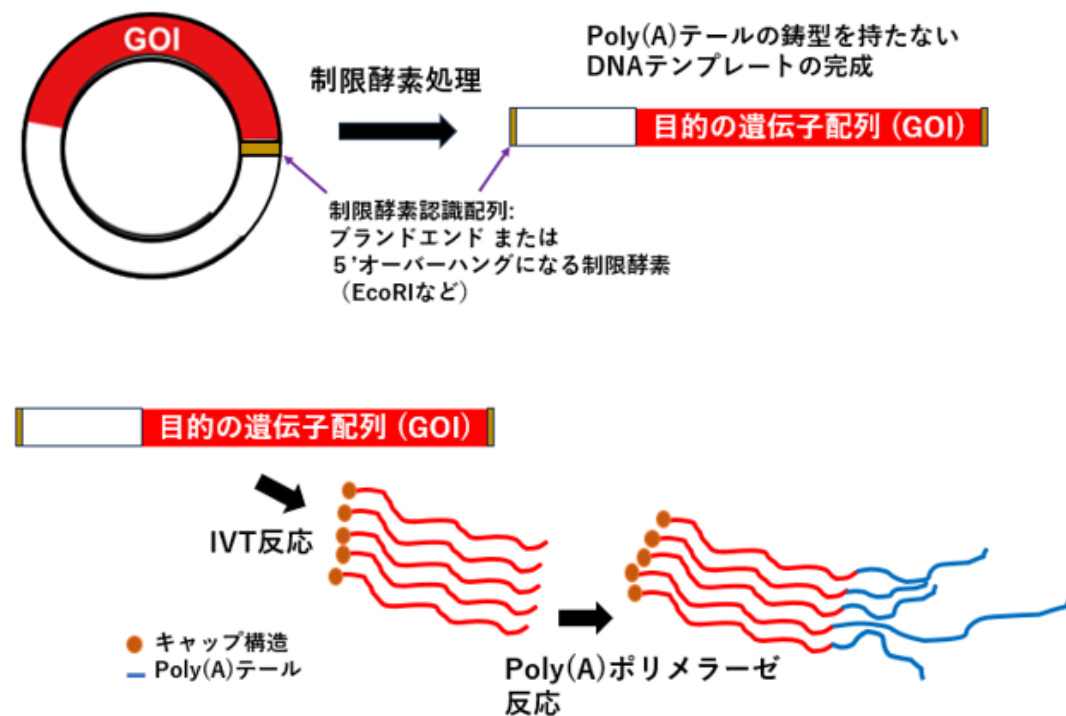


# GeneArt 遺伝子合成サービスによる IVT (*in vitro*転写)用プラスミドDNA without Poly(A)の注文方法

IVT (*in vitro* 転写) では 直鎖状のプラスミドDNAがテンプレートとして 多く利用されています。Invitrogen™ GeneArt™ 遺伝子合成サービスでは 面倒で煩雑なプラスミドDNAのクローニングと精製を受託しています。

## 『プラスミドDNA without Poly(A)を合成する場合の注意点』

- ・ 合成サイズ: 100 bp ~ 12 kbまで合成可能
- ・ 合成量／純度: 5 μgから最大15 mgスケールまで選択可能。5 μgスケールのみResearchグレード、その他のスケールは高純度なTransfectionグレード。プラスミドDNAテンプレートの場合、Transfectionグレードが推奨です。
- ・ プラスミドDNAテンプレートの場合、IVT配列の末端に制限酵素配列を配置します。
- ・ 合成が難しい配列(高／低GCなど)にも対応です。最適化も可能。
- ・ Poly(A)テール鋳型配列は付加は特別注文となるため、インターネットオーダーはできません※。
- ・ Poly(A)テール鋳型配列のないテンプレートDNAを用いる場合、IVT後のmRNAにpoly(A)を付加する必要があります(右図)。

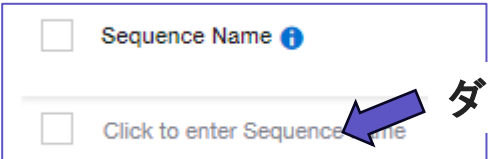
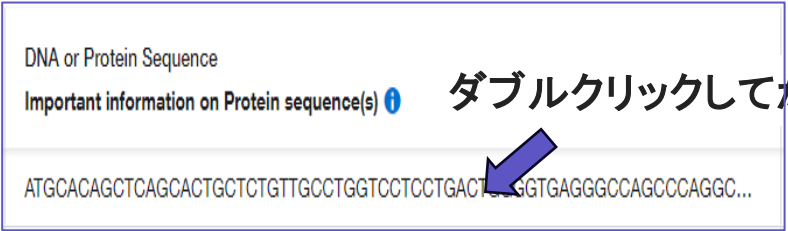
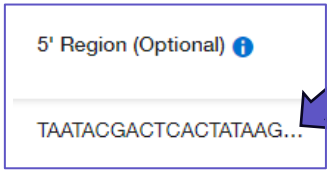
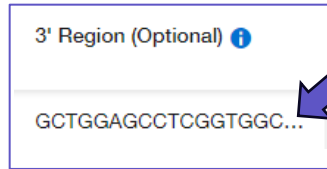



※ メールにてご注文を承っています。


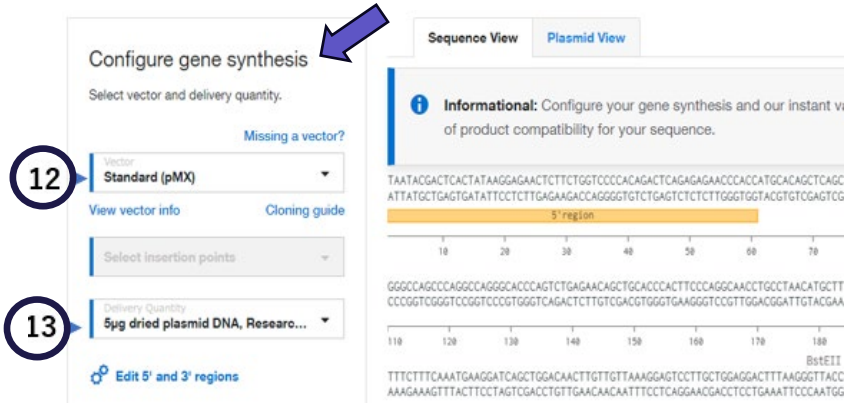
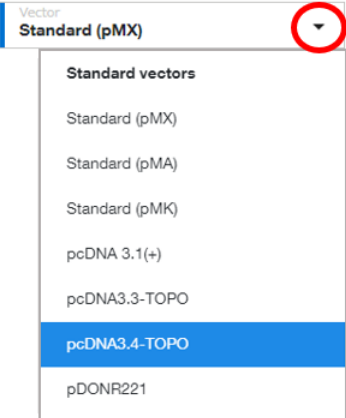
## 注文手順

1	GeneArt 遺伝子合成サービスの注文サイトへアクセスし、『 <b>GeneArt Dashboard</b> 』の『 <b>注文する</b> 』のリンクをクリックします。	<a href="https://www.thermofisher.com/jp/ja/home/life-science/cloning/gene-synthesis/geneart-gene-synthesis.html">https://www.thermofisher.com/jp/ja/home/life-science/cloning/gene-synthesis/geneart-gene-synthesis.html</a>  
2	サインインの画面が表示されます。『thermofisher.comアカウント』にログインします。	アカウントをお持ちでない方は以下でご登録をお願いします： <a href="https://www.thermofisher.com/identity/account/registration/">https://www.thermofisher.com/identity/account/registration/</a>
3	『 <b>Cloned Genes</b> 』のメニューの『 <b>Start New Project</b> 』をクリックします。	 Cloned Genes 
4	『 <b>Manual Creation</b> 』のメニューをクリックします。画面が切り替わり、配列を入力するリストが表示されます。	 Manual Creation  以下の画面が表示されます： 

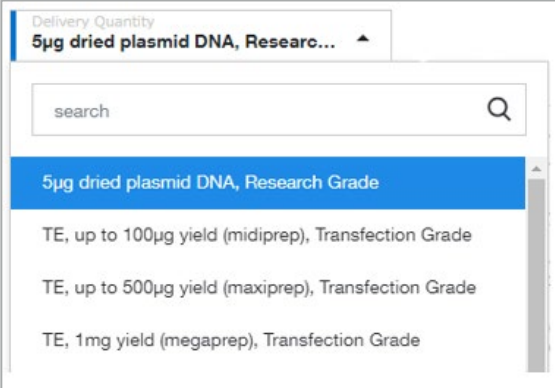

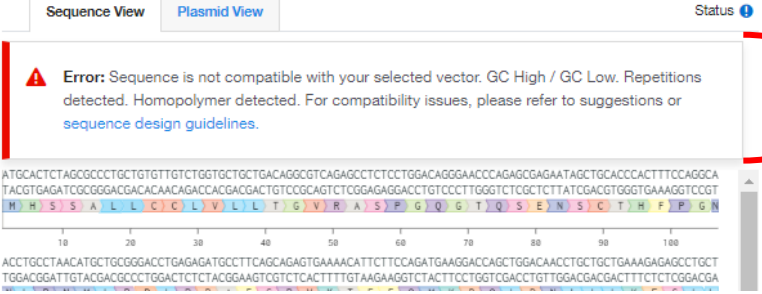
## 注文手順

5	『 <b>Sequence Name</b> 』の空白の列をダブルクリックしてから、配列名を入力します。	 <p>Sequence Name ⓘ</p> <p>Click to enter Sequence Name</p> <p><b>ダブルクリックしてから 配列名を入力</b></p> <p>空白のままにすると適当な名前が振られてしまうので注意してください。配列名は アルファベット、ハイフン(-)、アンダーバー(_) が利用できます。スペースはNGです。</p>
6	『 <b>DNA or Protein Sequence</b> 』の空白の列をダブルクリックしてから、合成する遺伝子の CDS 配列を入力(コピー/ペースト)します。 <u>開始コドン(ATG)から 終止コドンまでの配列を入力</u> します。	 <p>DNA or Protein Sequence</p> <p>Important information on Protein sequence(s) ⓘ</p> <p>ATGCACAGCTCAGCACTGCTCTGTTGCCTGGTCCTCCTGACT...GGTGAGGGCCAGCCCAGGC...</p> <p><b>ダブルクリックしてから 配列を入力</b></p>
7	『 <b>5' Region ( Optional )</b> 』の空白の列をダブルクリックしてから、合成する遺伝子の <b>T7プロモーター + 5'UTR + Kozak 配列</b> を入力(コピー/ペースト)します	 <p>5' Region (Optional) ⓘ</p> <p>TAATACGACTCACTATAAG...</p> <p><b>ダブルクリックしてから 配列を入力</b></p>
8	『 <b>3' Region ( Optional )</b> 』の空白の列をダブルクリックしてから、合成する遺伝子の <b>3'UTR 配列 + (オプション:制限酵素認識配列)</b> を入力(コピー/ペースト)します 注: Poly(A)配列は合成できません。	 <p>3' Region (Optional) ⓘ</p> <p>GCTGGAGCCTCGGTGGC...</p> <p><b>ダブルクリックしてから 配列を入力</b></p>
9	リスト右上にある『 <b>Continue</b> 』ボタンをクリックします。	 <p>Continue</p> <p><b>クリック</b></p>

注文手順

<p>10</p>	<p>ポップアップ画面で『 <b>Everything looks good!</b> 』が表示された場合、『 <b>Continue to configure</b> 』をクリックします。</p>	<p>Everything looks good!</p> 
<p>11</p>	<p>切り替わった画面中の『 <b>Configure gene synthesis</b> 』のメニューからプラスミドDNAの指定と、合成スケール／純度の指定を行います：</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>・ プラスミドDNAの指定 ➡ ステップ12へ</li> <li>・ 合成スケール/純度の指定 ➡ ステップ13へ</li> </ul>	
<p>12</p>	<p><b>プラスミドDNAの指定(重要)</b> : T7 RNA polymeraseによるIVTを行う場合、<u>バックボーンにT7プロモーター配列が存在しないベクター</u>を選択します。</p> <p>注: デフォルトで指定されている pMXのベクターはバックボーンにT7プロモーター配列が存在しているため 適しません。</p> <p>参考: 以下ベクターなどが利用できます。</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>・ Invitrogen™ pcDNA™ 3.4 TOPO™ ベクター (pcDNA™ 3.4 TOPO™ TA Cloning Kit : 製品番号 A14697)</li> <li>・ Invitrogen™ pBAD/His Kit (製品番号 V43001)</li> </ul>	 <p>▼をクリックすると ベクターのリストが表示されます。 希望するベクターを選択してクリックします。</p>

## 注文手順

<p>13</p>	<p><b>合成スケール／純度の指定：</b></p> <p>プラスミドベクターDNAテンプレートの場合、<u>Transfection Grade</u> を選択し、購入量を選択します（参考：IVT 20 μL の反応系で、約1 μg 程度使用します）。</p>	 <p>▼をクリックするとベクターの合成スケールと純度のリストが表示されます。希望する合成スケール／純度を選択し、クリックします。</p>
<p>14</p>	<p>『 <b>Apply &amp; Analyze</b> 』をクリックします。</p> <p>『 <b>Error</b> 』が表示されなかった場合： 最適化を行う場合 ➡ ステップ 15 へ そのまま合成する場合 ➡ ステップ 16 へ</p> <p>『 <b>Error</b> 』が表示された場合： Errorメッセージを確認し問題に対処します。 最適化で対処する場合 ➡ ステップ 15 へ</p>	 <p>← クリック</p> <p><b>Error表示の例：</b></p>  <p>Errorの理由が表示されます。改善できるか否かを確認し、対処します。最適化を行うことで改善する場合があります。</p>
<p>15</p>	<p><b>配列の最適化：</b></p> <p>画面を『 <b>Optimize</b> 』に切り替えます。</p>	 <p>クリックで切り替えます</p>

## 注文手順

15  
つづき

『Optimize sequences』のメニューが表示されます。

### ① 生物種を選択

“Host Organism”のボックスがデフォルトでは『**No optimization**』になっています。右横の▼をクリックすると生物種のリストが表示されます。合成する遺伝子の生物種、またはIVTで合成したmRNAを導入する細胞／生体の生物種を選択します。

### ② ORFの選択:

生物種を選択すると『**Select ORF**』のボックスがアクティブになります。右横の▼をクリックしORF (CDSの領域)を選択します。

③ 『**Optimize Sequence**』をクリックします。『**Success**』が表示されたら、ステップ16へ進みます。

Success: Sequence is optimized.

The screenshot shows the 'Optimize sequence' interface. It includes a dropdown for 'Host Organism' (currently 'No optimization'), a 'Select ORF' dropdown, and an 'Optimize Sequence' button. Annotations include:

- ①: Points to the 'Host Organism' dropdown menu.
- ②: Points to the 'Select ORF' dropdown menu.
- ③: Points to the 'Optimize Sequence' button.
- A red circle highlights the dropdown arrow in the 'Host Organism' box, with a note: '最適化可能な生物種が表示されます' (Optimizable organisms are displayed).
- A red circle highlights the dropdown arrow in the 'Select ORF' box, with a note: '入力した配列のORFを指定します' (Specify the ORF of the input sequence).
- A list of organisms is shown below the 'Host Organism' dropdown: Escherichia coli, Glycine max, Homo sapiens, Hordeum vulgare, Lycopersicon esculentum, Mus musculus.
- A list of ORF ranges is shown below the 'Select ORF' dropdown: Define manually, 61 - 597, 178 - 597, 229 - 597, 316 - 597, 343 - 597.
- A blue arrow points to the 'Optimize Sequence' button with the label 'クリック' (Click).

## 注文手順

16

注文：

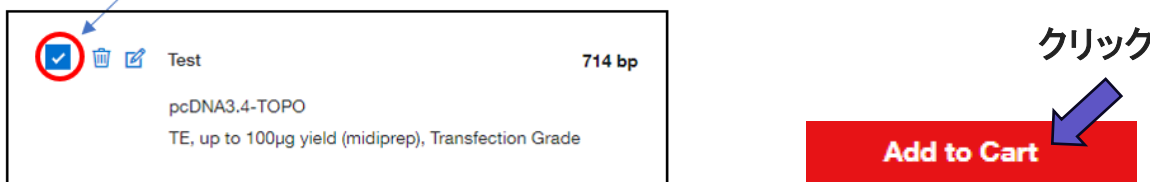
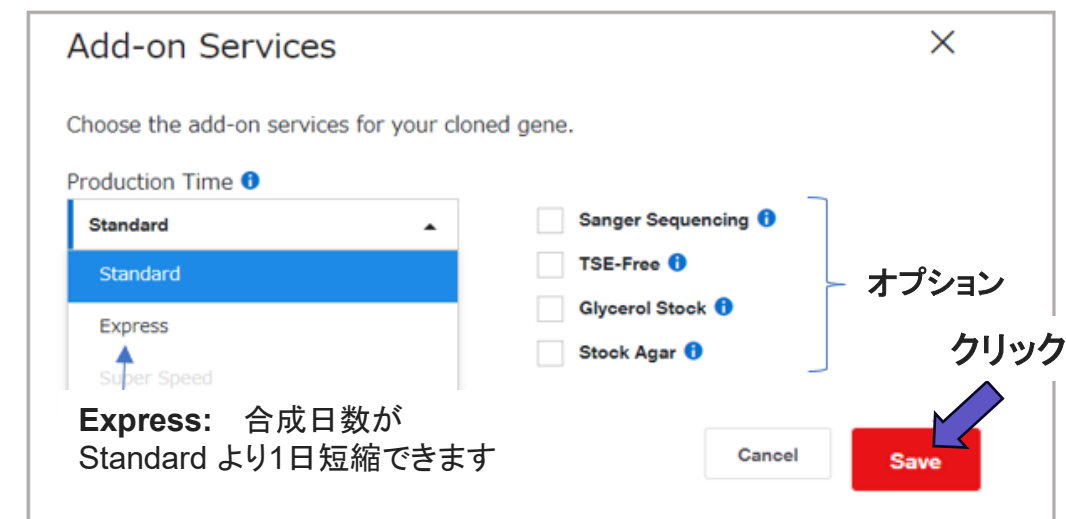
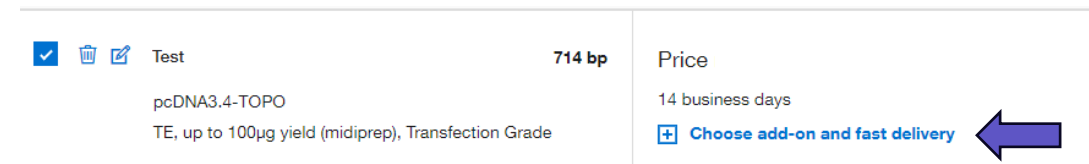
画面左上のタグを『 **Order** 』に切り替えます。

注文リスト中の『 **Choose add-on and fast delivery** 』をクリックします。納期やその他のオプションを選択できます。

『 **Add-on Service** 』の画面が表示されます。合成日数 (Standard / Express) を選択し、その他のオプションも必要に応じて✓を入れ、『 **Save** 』をクリックします (“ Glycerol Stock” または “ Stock Agar “ を選択すると 大腸菌ホストに組み込まれた状態のものが添付されます)。

注：オプションには追加料金が発生します。

購入する 人工遺伝子合成 にチェックを入れ、『 **Add to Cart** 』ボタンをクリックし、注文を進めます。





研究用에만使用 가능합니다. 진단용에는 사용하지 않습니다.

© 2024 Thermo Fisher Scientific Inc. All rights reserved.

All trademarks are the property of Thermo Fisher Scientific and its subsidiaries unless otherwise specified.

실제 가격은,弊社販売代理店までお問い合わせください.

가격, 제품의 사양, 외관, 기재 내용은 예고 없이 변경될 수 있으므로 사전에 꼭 확인하십시오.

표준 판매 조건은 [여기](https://www.thermofisher.com/jp-tc)를 참조하십시오. [thermofisher.com/jp-tc](https://www.thermofisher.com/jp-tc)

