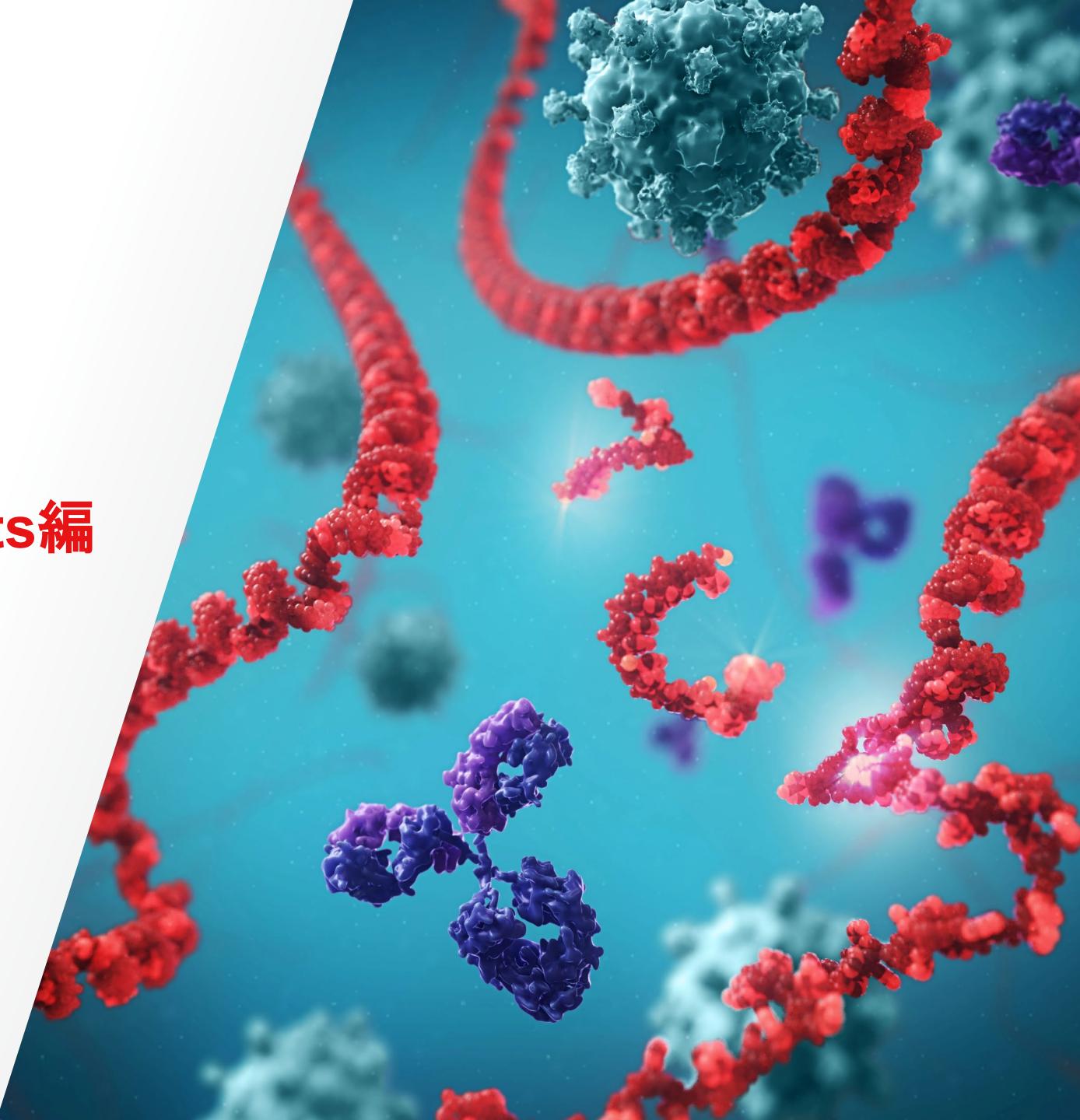


IVT (*in vitro*転写)用 PCR テンプレートの注文方法

GeneArt Strings DNA Fragments編

■ The world leader in serving science



GeneArt Strings DNA Fragmentsサービスによる IVT (*in vitro*転写)用 PCR テンプレートの注文方法

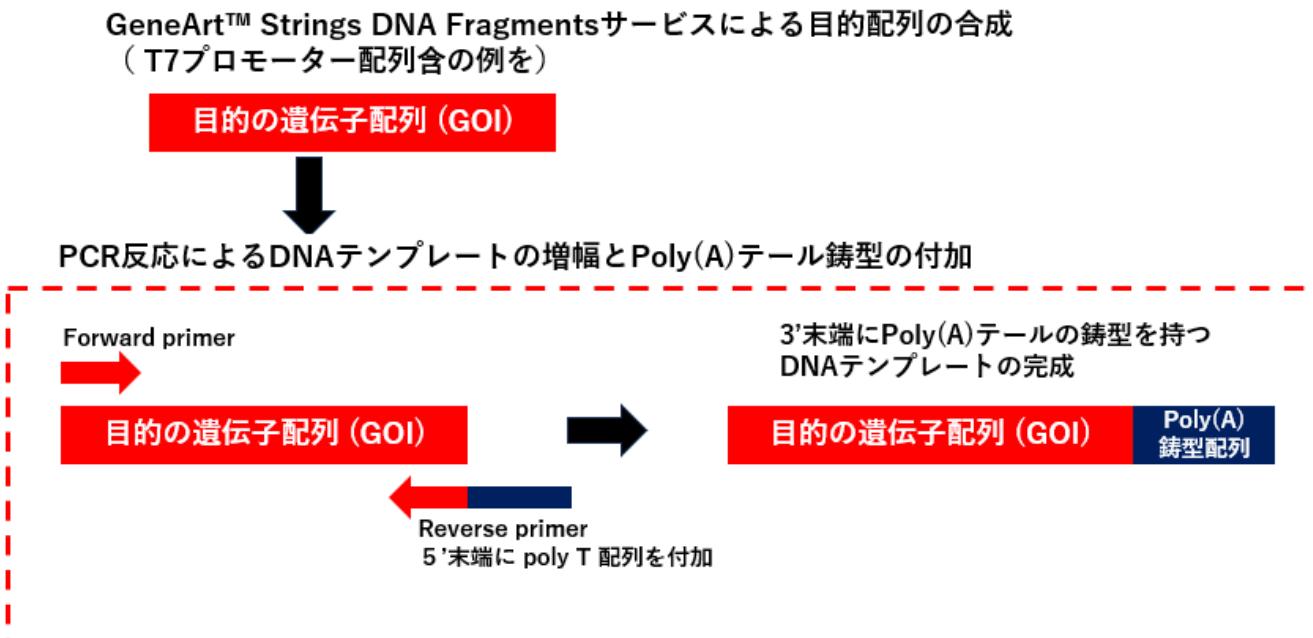
IVT (*in vitro* 転写) のDNAテンプレートとして DNA断片が利用できます。DNA断片は短い納期で安価に入手できるため、検証実験などでさまざまな配列を試す場合に便利です。少ない合成量でもPCRで増幅が可能で、合成が難しい Poly(A)テール鑄型配列も PCRを介することで簡単に付加できます。

ただしDNA断片合成では合成に制限があるので、以下の要件に適合するかを確認してから注文を進めます：

『Invitrogen™ GeneArt™ Strings DNA Fragmentsの特徴と注意』

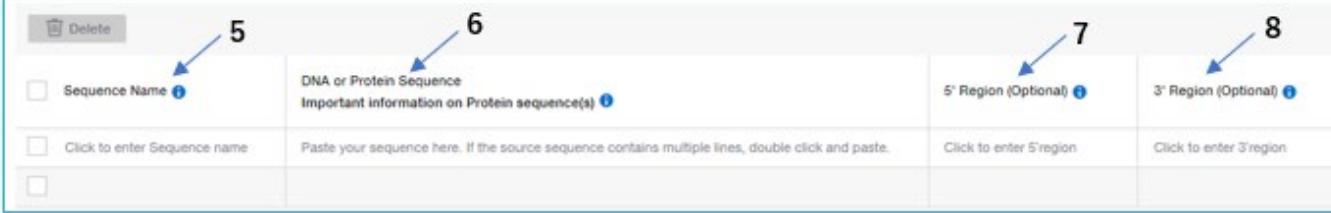
- ・ 最長 3 kbまで
- ・ 合成スケール (200 ng) *
- ・ Poly(A)テール鑄型配列は付加できません
- ・ 合成が難しい配列(高／低GC配列など)が含まれる場合、合成できない可能性があります

3 kb以上の合成、または合成が難しい配列を含む場合は **Invitrogen™ GeneArt™人工遺伝子合成** を検討ください。DNAテンプレート量の増幅、Poly(A)テール鑄型配列の付加はPCRによって行えます（右図参照）。



* IVT反応に直接使用するには不十分ですが、PCR増幅により十分量を確保できます。

注文手順

1	<p>GeneArt Strings DNA Fragments合成サービスの注文サイトへアクセスし、『Strings DNA Fragmentsを注文』ボタンをクリックします。</p>	<p>https://www.thermofisher.com/jp/ja/home/life-science/cloning/gene-synthesis/gene-strings-dna-fragments.html</p>
2	<p>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。</p>	<p>アカウントをお持ちでない方は以下でご登録お願いします： https://www.thermofisher.com/identity/account/registration/</p>
3	<p>『DNA Fragments』のメニューの『Start New Project』をクリックします。</p>	
4	<p>『Copy and paste』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。</p>	 <p>以下の画面が表示されます：</p>

注文手順

5 『Sequence Name』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。



ダブルクリックしてから 配列名を入力

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。

6 『DNA or Protein Sequence』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。開始コドン(ATG)から 終止コドンまでの配列を入力します。

DNA or Protein Sequence
Important information on Protein sequence(s) ⓘ

```
ATGCACAGCTCAGCACTGCTCTGTTGCCTGGTCCCTCTGACTGGGGTGAGGGGCCAGGCCAGGC...
```

ダブルクリックしてから 配列を入力

7 『5' Region (Optional)』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 **T7プロモーター + 5'UTR + Kozak 配列**を入力(コピー／ペースト)します。

5' Region (Optional) ⓘ

```
TAATACGACTCACTATAAG...
```



ダブルクリックしてから 配列を入力

8 『3' Region (Optional)』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 **3'UTR 配列**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。

3' Region (Optional) ⓘ

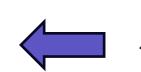
```
GCTGGAGCCTCGGTGGC...
```



ダブルクリックしてから 配列を入力

9 リスト右上にある『Continue』ボタンをクリックします。

Continue



クリック

注文手順

10

ポップアップ画面で『 Everything looks good ! 』が表示された場合、『 Continue to Order 』をクリックします。

Everything looks good!

Continue to Order

クリック

11

ポップアップ画面で『 Would you like to optimize your sequence(s)? 』と表示されます。

● 最適化を行う場合は

『 Yes, Go to Optimize 』をクリック → ステップ12へ

● 最適化により配列が変わることを避けたい場合は

『 Cancel 』をクリック → ステップ13へ

Would you like to optimize your sequence(s)?

Cancel

Yes, Go to Optimize

12

最適化『 Yes, Go to Optimize 』を選択した場合:

① “ Host Organism ”のボックスがディホルトでは『 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 『 Select ORF 』のボックスの右横の▼をクリックし ORF (CDSの領域)を選択し、

③ 『 Optimize 』をクリックします。

Fix or Optimize sequence ⓘ

Optimize your sequence for better expression or to fix potential problems.

① Please select a Host Organism and ORF to Optimize your sequence.

Host Organism: No optimization

Select ORF

Protect my cloning sites ⓘ

Protected Regions ⓘ

Motifs to Avoid ⓘ

① Host Organism: No optimization

② Select ORF

③ Optimize

Host Organisms
Homo sapiens
Hordeum vulgare
Lycopersicon esculentum
Mus musculus
Nicotiana benthamiana

Define ORF Manually

61 - 597

178 - 597

229 - 597

316 - 597

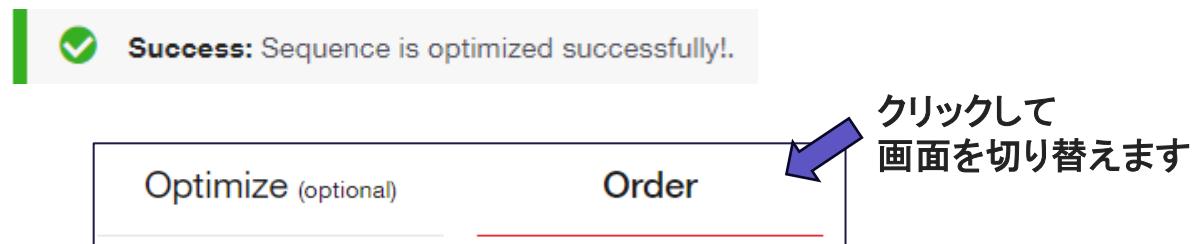
343 - 597

注文手順

12
つづき

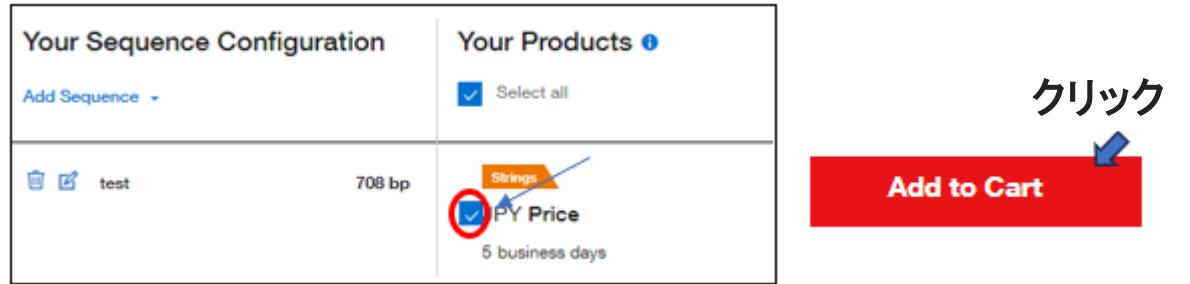
- ③ 配列の画面に以下の『Success』が表示されたら、画面左上のタグを『Order』に切り替えます。

注: 『Error』が表示された場合、注文へ進めません。
エラーの原因の確認と配列の再確認を行ってください。

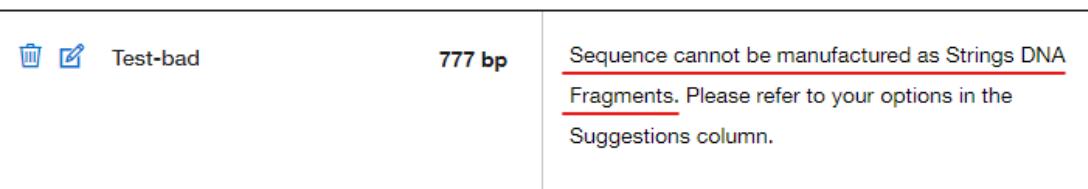


13

- 注文可能な場合**、右図が表示されます。
購入する Strings にチェックが入っていることを確認し、
『Add to Cart』ボタンをクリックし、注文を進めます。



- 注文が不可である場合**、右図のように製造できないとコメントが表示されます。
配列にもよりますが、最適化を行うことで注文可能になる場合があります。配列の再確認を行ってください。改善が難しい場合はGeneArt遺伝子合成の検討を行ってください。





研究用にのみ使用できます。診断用には使用いただけません。

© 2024 Thermo Fisher Scientific Inc. All rights reserved.

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

実際の価格は、弊社販売代理店までお問い合わせください。

価格、製品の仕様、外観、記載内容は予告なしに変更する場合がありますのであらかじめご了承ください。

標準販売条件はこちらをご覧ください。thermofisher.com/jp-tc