

产品简介

T7 RNA Polymerase 来自重组 *E.coli* BL21 菌株发酵表达纯化，无内源核酸残留、无内外切酶残留污染。该酶对 T7 噬菌体启动子 (TAATACGACTCACTATAG) 具有高度的特异性，并以其作为启动子，DNA 作为模板体外合成正义链或反义链 RNA。双链线性平末端或 5'突出末端 DNA 均可作为 T7 RNA Polymerase 的底物模板，因此线性质粒、PCR 产物均可用作体外合成 RNA 的模板。

产品优点：转录效率高、合成 RNA 类型多样、RNase 污染控制严格。

产品组成

组分	RM101 (5,000 U)
T7 RNA Polymerase (50 U/ μ l)	100 μ l
10 \times T7 Transcription Buffer	100 μ l
Activator	50 μ l

储存条件

-20°C保存，于-20 ~ 0°C运输。▲避免反复冻融。

单位定义

在标准反应体系下，37°C 1 h 内将 1 nmol 的 ATP 掺入酸不溶物所需要的酶量定义为一个活性单位。

质量控制

核酸外切酶残留检测：200 U 本品和 50 pmol 单链 DNA 底物在 37°C 下孵育 16 h，经变性 PAGE 电泳，DNA 的电泳谱带不发生变化。

核酸内切酶残留检测：200 U 本品和 0.5 μ g 质粒 DNA 在 37°C 下孵育 4 h，经琼脂糖凝胶电泳，质粒的电泳谱带不发生变化。

RNase 残留检测：200 U 的本品和 1 μ g RNA 在 37°C下孵育 30 min，经琼脂糖凝胶电泳，RNA 的电泳谱带不发生变化。

产品应用

mRNA 疫苗制备

单链 RNA 转录合成

制备放射标记的 RNA 探针

合成用于体外转录和微量注射的 mRNA

合成用于结构及功能研究的 RNA

非同位素标记的 RNA

合成基因表达实验的反义 RNA

合成基因靶向功能的 gRNA

实验应用

RNA 体外转录合成

本司相关产品 T7 High Yield RNA Synthesis Kit (ATG#RM201)

1. 非修饰 RNA 合成体系为例

组分	用量
T7 RNA Polymerase (50 U/ μ l)	2 μ l
10 \times T7 Transcription Buffer	2 μ l
Activator	1 μ l
ATP/CTP/GTP/UTP (100 mM)	each 2 μ l
Template DNA	0.3 -1 μ g
RNase-free ddH ₂ O	To 20 μ l

2. 移液枪轻轻混匀后，短暂离心，37°C 孵育 1-2 h^a 即可完成转录得到较高产量。

3. 向反应产物加入 80 μ l RNase-free ddH₂O 稀释，并加入 10 μ l DNase I Buffer 和 1 μ l DNase I 的预混液，轻轻混匀短暂离心后 37°C 孵育 20 min。

4. 反应产物通过变性凝胶电泳分析及纯化^b，用于后续实验。

a. 合成 RNA 片段较短 (<300 nt) 时建议 37°C 孵育 4 - 16 h 或更长时间，过夜不会影响产物质量。

b. 非修饰 RNA 可采用酚/氯仿抽提、过柱、磁珠法纯化法；修饰 RNA 推荐使用过柱纯化法；对产物片段长度有较高要求则推荐使用切胶回收纯化。

注意事项

1. 使用本试剂时，请穿戴实验服、一次性乳胶手套、一次性口罩、使用 RNase-free 耗材，避免 RNase 污染。
2. 建议纯化 Template DNA，避免 RNase、RNA 及蛋白残留。
3. 进行体外转录合成 RNA 时，本产品不仅适用于含有 T7 Promoter 的线型 Plasmid，也适用于带有 T7 Promoter 序列的 PCR 产物及 Oligo DNA 等。
4. 反应体系中可添加 RNasin (ATG#RR101) 防止 RNase 污染，建议使用浓度 1 U/ μ l。
5. 若要除去模板 DNA，可配合本司产品 DNase I (ATG#E103) (RNase-free) 除去，详见产品说明书 (ATG#RM201) (ATG#E103)。

产品性能

参照非修饰 RNA 合成反应体系及实验流程，向反应体系中加入 Template DNA (1.4 kb) 500 ng，37°C 孵育 2 h，转录合成 RNA，得到 RNA 产物经 DNase I 处理后，通过变性琼脂糖凝胶电泳检测，并在 NanoDrop™ 分光光度计上定量得出 RNA 产物达到 300 μ g 左右，检测结果如图 1 所示。

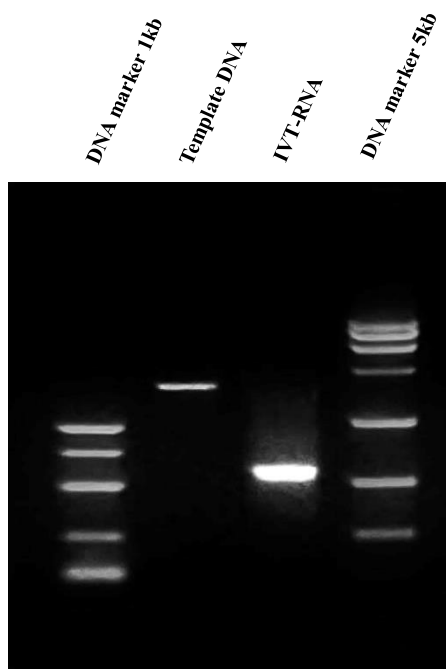


图 1 转录 2 h 产物电泳检测图