

## T7 RNA polymerase(50 U/μL)

### 产品信息

产品名称	产品编号	规格
T7 RNA polymerase (50 U/μL)	10618ES90	5000 U
	10618ES96	25000 U
	10618ES97	50000 U

### 产品描述

本产品是大肠杆菌重组表达来源的噬菌体 T7 RNA 聚合酶，以含有 T7 启动子序列（5'-TAATACGACT CACTATAG\*-3'）的双链 DNA 为模板，以 NTP 为底物，合成与启动子下游的反向单链 DNA 互补的 RNA。双链线性平末端或 5'突出末端 DNA 均可作为 T7 RNA 聚合酶的底物模板，因此线性质粒、PCR 产物均可用作体外合成 RNA 的模板。

注：G\*为 RNA 转录的第一个碱基。

### 产品组分

编号	组分	产品编号/规格		
		10618ES90 (5000 U)	10618ES96 (25000 U)	10618ES97 (50000 U)
10618-A	T7 RNA polymerase (50 U/μL)	100 μL	500 μL	1 mL
10618-B	10×Transcription Buffer	400 μL	1 mL ×2	1 mL ×4

注：10×Transcription Buffer 中含 460 mM MgCl<sub>2</sub> 和 100 mM DTT，但不含有 NTP，如需请购买本公司 NTP set solution 10133。

### 产品应用

1. 单链 RNA 合成（包括 mRNA，siRNA，gRNA 等各类 RNA 前体，以及同位素标记或非同位素标记的 RNA 探针）
2. 以（Cap analog）为引物合成 Capped mRNA

### 酶活定义

在 37°C、pH8.0 的条件下，1 h 内使 1 nmol 的 [<sup>3</sup>H] GMP 掺入酸不溶性沉淀物所需要的酶量定义为 1 个活性单位。

### 运输和保存方法

干冰运输。-20°C 保存，有效期一年。

### 质量控制

**核酸外切酶残留检测：**100 U 的本酶和 0.5 μg λ DNA-Hind III 酶切产物 37°C 下孵育 4 h，DNA 的电泳谱带不发生变化。

**切口酶残留检测：**100 U 的本酶和 0.5 μg IL23R 质粒，37°C 下孵育 4 h，DNA 的电泳谱带无变化。

**RNase 残留检测：**100 U 的本酶和 0.5 μg 293T 细胞总 RNA，37°C 下孵育 4 h，RNA 的电泳谱带无变化。

### 注意事项

1. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。
2. 本产品仅做科研用途！

## 应用实例

### 1. 按下列体系配制反应体系

组分	体积 (μL)	终浓度
10×Transcription Buffer (Mg <sup>2+</sup> Plus)	2	1×
CTP / GTP/ ATP/ UTP (100 mM each)	0.4 each	2 mM each
T7 RNA Polymerase (50 U/μL)	0.5-1	-
RNase inhibitor (40 U/μL)	1	-
RNase free H <sub>2</sub> O	Up to 18	-
模板 DNA	2 (100 ng-1μg)	-

注： 1. DNA 模板需要最后加入。由于 10×Buffer 中含有亚精胺，亚精胺浓度过高会引起 DNA 模板沉淀。

2. Buffer 和水建议放置到室温，然后开始使用，反应于室温下配制，防止温度低引起亚精胺沉淀高浓度 DNA 模板。

3.若转录长度 < 100 nt，模板投入量可增加至 2μg。

4. RNase inhibitor (40 U/μL)请购买本公司产品 10603。

5.为了特定区域的有效转录，建议在其区域下游把模板 DNA 预先切成平端或 5'突出末端。

2. 37°C反应 1-2 h (若转录长度 ≤ 100 nt，增加时间至 4-8 h)。

3. 反应结束后，使用 2U DNaseI (无 RNase) 37°C 15min 去除 DNA 模板。

4. 转录产物纯化：体外转录产物可选用 RNA Cleaner 磁珠进行纯化 (12602)，以去除蛋白、盐离子和其他杂质。也可以采用酚/氯仿纯化法 (具体操作步骤可联系 Yeasen 索取)。

## 操作建议

1.DNA 模板的种类：推荐使用含 T7 启动子的线性化质粒和 PCR 产物作为模板。

2.转录模板的纯度会显著影响体外转录反应。在质粒 DNA 抽提过程中残留的 RNase A 会显著影响转录 RNA 的质量。通过酚-氯仿抽提的质粒 DNA 为最佳模板；PCR 产物建议采用胶回收纯化后使用。

3.在 20 μL 反应体系中加入 0.02 U 热稳定无机焦磷酸酶可显著提高转录产量。