

T7 RNA Polymerase (250 U/ μ L)

产品信息

产品名称	产品编号	规格
T7 RNA Polymerase (250 U/ μ L)	10626ES10	10 KU
	10626ES60	100 KU

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。

产品性质

来源 (Source)	重组 <i>E. coli</i>
最适温度 (Optimum Temperature)	37°C
宿主核酸残留 (Host Nucleic acid Residue)	<10 fg/U
宿主蛋白残留 (Host Protein Residue)	<50 ppm
RNA 酶残留 (RNase Residue)	阴性
储存缓冲液 (Storage Buffer)	50 mM Tris-HCl, 1 mM EDTA, 10 mM DTT, 100 mM NaCl, 0.1% Triton X-100, 50% (v/v) 甘油, pH7.9@25°C
活性单位定义 (Unit Definition)	在 37°C、pH8.0 的条件下, 1 h 内使 1 nmol 的 [³ 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。

【注】：具体产品质检数据及更多指标请查看批次质检报告。

产品组分

组分编号	组分名称	产品编号/规格	
		10626ES10 (10 KU)	10626ES60 (100 KU)
10626-A	T7 RNA polymerase (250 U/ μ L)	40 μ L	400 μ L
10626-B	10 \times Transcription Buffer	500 μ L	1 mL \times 5

【注】：10 \times Transcription Buffer 中含 460 mM MgCl₂ 和 100 mM DTT, 但不含有 NTP, 如需请购买本翌圣产品 Cat#10133。

产品应用

- 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)。
- 以 (Cap analog) 为引物合成 Capped mRNA。

运输和保存方法

干冰运输。-20°C 保存, 有效期一年。

注意事项

- 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 μ L 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。
4. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

应用实例

1. 按下列体系配制反应体系

组分	体积 (μ L)	终浓度
10 \times Transcription Buffer (Mg ²⁺ Plus)	2	1 \times
CTP/GTP/ATP/UTP (100 mM each)	0.4 each	2 mM each
T7 RNA Polymerase (250 U/ μ L)	0.8	-
RNase inhibitor (40 U/ μ L)	1	-
RNase free H ₂ O	Up to 18	-
模板 DNA	2 (100 ng-1 μ g)	-

- 注： 1) DNA 模板需要最后加入。由于 10 \times 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 2 μ g。
- 4) RNase inhibitor (40 U/ μ L) 请购买翌圣产品 Cat#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. 在 37 $^{\circ}$ C 下反应 1-2 h (若转录长度 \leq 100 nt，增加时间至 4-8 h)。
 3. 反应结束后，使用 2 U DNase I (无 RNase) 37 $^{\circ}$ C、15 min 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 (翌圣产品 Cat#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翌圣索取)。