

T7 RNA 聚合酶

T7 RNA Polymerase

Code No.AG12009

包装量: 10000 U (100 U/ μ l)

保存温度: -20°C

产品概述

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' -TAATACGACTCACTATAG*-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；本酶对 T7 启动子序列具有高度特异性，不能识别其它生物来源的启动子。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，包含该碱基在内，靶位序列前连续带有 3 个 G，体外转录效率可显著提高，具体可根据实验需求设计。

保存及运输

保存温度：-20°C 保存

运输温度：干冰运输或者 -20°C 冰袋运输

活性定义

在 37°C、pH 7.9 的条件下，1 小时内使 1 nmol 的 [³H] 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 (U)。

产品组成

T7 RNA Polymerase (100 U/ μ l)	100 μ l
10X T7 Transcription Buffer	1 ml
RNase free water	1 ml

注意事项

1. 使用前将 T7 RNA Polymerase 短暂离心，将所有的溶液收集至离心管底部，减少损失，并用移液器轻柔吸打混匀（避免起泡）；使用时建议存放于冰盒内；使用完毕后立即置于 -20°C 保存。
2. 10X T7 Transcription Buffer 中含有 100 mM DTT，冻存后可能会产生沉淀，需室温放置使其溶解，充分融化后，短暂离心，将所有的溶液收集至离心管底部，减少损失，并用移液器轻柔吸打混匀（避免起泡），然后正常使用。
3. 推荐使用含 T7 启动子的线性化质粒或 PCR 产物作为模板。
4. 70°C 加热 10 min 可使 T7 RNA Polymerase 失活。
5. 转录模板 DNA 的纯度会显著影响体外转录反应。
6. 在 20 μ l 反应体系中加入 0.2 U~2 U 无机磷酸酶可显著提高转录产量。

➤ 应用

1. 单链 RNA 合成 (包括 mRNA、siRNA、gRNA、sgRNA 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. 制作 RNA 剪接反应 (RNA Splicing) 的前体。

➤ 实验操作

DNA 转录反应

1. 按照下表内容配制反应液

组分名称	加入量
10 X T7 Transcription Buffer	2 μ l
Template DNA	200-1000 ng
ATP solution (100 mM)	0.8-2 μ l
GTP solution (100 mM)	0.8-2 μ l
CTP solution (100 mM)	0.8-2 μ l
UTP solution (100 mM)	0.8-2 μ l
RNase Inhibitor (40 U/ μ l)	0.5 μ l
T7 RNA Polymerase (100 U/ μ l)	1-2 μ l
RNase free water	Up to 20 μ l

2. 在 37°C 下反应 2~4 h (根据具体实验需求调整) 进行转录反应。
3. 反应完成后的产物应立即进行后续处理, 如无法立即使用, 该产物可在 -80°C 条件下短暂保存。

注:

1. DNA 模板需要最后加入。由于 10X T7 Transcription Buffer 中含有亚精胺, 使用 DNA 模板的浓度过高, 可能会引起沉淀。
2. 为避免产物 RNA 降解, 反应体系中需加入 RNase Inhibitor (40 U/ μ l)。
【例如可使用本公司产品: 重组型 RNase 抑制剂 (猪源), Code No. AG11608】。
3. 反应结束后, 为了得到较纯的 RNA 产物, 可以先去除 DNA 模板, 需要使用 DNase I, 37°C、15 min。【例如可使用本公司产品: DNase I (RNase Free), Code No. AG12001】。
4. 反应体系中加入 0.2 U~2 U 的无机焦磷酸酶可显著提高 RNA 转录产量。
【例如可使用本公司产品: 热稳定无机焦磷酸酶, Code No. AG12010 或酵母无机焦磷酸酶, Code No. AG12011】。
5. 本产品中不搭配反应所需的 ATP solution、GTP solution、CTP solution 及 UTP solution, 若有需要, 请单独购买。【例如可使用本公司产品 Code No. AG11024、AG11026、AG11025、AG11027】。

详细信息请查阅 www.agbio.com.cn

本产品仅供科学研究使用, 不能用于人、动物的医疗或诊断程序, 不能使用本产品作为食品、化妆品或家庭用品等。

For Research Use Only. Not for use in diagnostic procedures for humans or animals. Also, do not use this product as food, cosmetic, or household item, etc.