

T7 RNA Polymerase (low dsRNA) 产品说明书

产品信息

产品名称	Cat#	规格
T7 RNA Polymerase (low dsRNA) , 200U/μL	M122A01	50μL
	M122A02	100 μL
	M122A03	200 μL
	M122A04	500 μL

产品描述

本产品是为重组 E. Coli 表达突变的噬菌体 T7 DNA 编码 的蛋白，克隆编号为 D05，是一种高度特异性识别 T7 启动子序列的 DNA 依赖的 5'→3' RNA 聚合 酶。以含有 T7 启动子序列的单链或双链 DNA 为模板， NTP 为底物，合成与启动子下游的单链 DNA 或双链 DNA 模板链互补的 RNA 。相较于野生型的 T7 RNA Polymerase ， T7 Turbo RNA Polymerase 能有效减少转录副产物 dsRNA 含量，同时其共转录加帽反应产物还具有更高的加帽率。。

活性定义

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

质量控制

- 1、核酸内切酶残留检测：20 μL 反应体系中加入 50U 本酶和 1 μg λDNA 在 37 °C下孵育 16h，琼脂糖凝胶电泳 DNA 谱带不发生变化。
- 2、核酸外切酶残留检测：20 μL 反应体系中加入 50U 本酶 1 μg λ-HindIII DNA 在 37 °C下孵育 16h，琼脂糖凝胶 电泳 DNA 谱带不发生变化。
- 3、RNase 残留检测：20 μL 反应体系中加入 40 U 本酶和 1 μg MS2RNA 在 37 °C 下孵育 3h，琼脂糖凝胶电泳 RNA 谱带不发生变化。
- 4、酶失活条件：75°C，20min。

应用实例 (20μL)

体系 1

组分	浓度	用量
RNase Free water	/	Up to 20 μL
10 ×Transcription Buffer	10 ×	2 μL
T7 RNA Polymerase (low dsRNA)	200 U/μL	2 μL
ATP/CTP/GTP/UTP	100 mM	1.5 μL each
Cap Analog	100 mM	0.6 μL

RNase inhibitor	40 U/μL	1 μL
Inorganic Pyrophosphatase	0.1U/μL	1 μL
DNA 模板	/	1 μg

注：T7 RNA Polymerase (low dsRNA)、NTPs 与 Cap Analog 添加量可适当调整。

体系 2

组分	浓度	用量
RNase Free water	/	Up to 20 μL
10 × Transcription Buffer	10 ×	2 μL
T7 RNA Polymerase (low dsRNA)	200 U/μL	2 μL
ATP/CTP/GTP/UTP	100 mM	2 μL each
RNase inhibitor	40 U/μL	1 μL
Inorganic Pyrophosphatase	0.1U/μL	1 μL
DNA 模板	/	1 μg

操作步骤：

1、在 RNase free 离心管中配制混合液

注： a. 反应于室温配置。

b. 根据实际情况选择适合的体系

c. 长转录本 (>1000nt)，建议使用质粒线性化模板进行转录。

d. 建议在 PCR 仪中进行反应，热盖打开，防止长时间导致反应液蒸发。

e. 反应产物可能有白色沉淀。这是反应过程中游离的焦磷酸与反应液中的镁离子形成焦磷酸镁，不影响后续实验。如想去除，添加 EDTA 即可消失。添加 EDTA 如果影响后续实验，也可以离心回收上清。

f. 使用试剂、容器等无 RNase 污染。

2、轻轻混匀。

3. 37°C 反应 2 h。

4、4. DNase I 处理（可选）

反应完成后，每管加入 2μL DNase I (RNase free)，37°C 孵育 15min 以去除模板 DNA。

5、产物纯化

转录后的 RNA 可以选用 RNA Cleaner 磁珠进行纯化，也可以采用酚/氯仿纯化法，氯化锂沉淀法或柱纯化等，以去除蛋白、游离的核苷酸。纯化后的 RNA 经电泳检测后可进行下游实验或存储于-80°C。

运输和储存

-20 ± 5°C 保存，运输条件：≤ 0°C，有效期为 24 个月。

注意事项

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。

3. 在 20 μL 反应体系中加入 0.02-0.04 U 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。