使用说明书

T7 RNA Polymerase

Cat. No. PC028（5,000U）
PC029（25,000U）

产品内容	产品编号	规格
T7 RNA Polymerase (50 U/μL)	PC028-01	100 μL
10× Transcription Buffer	PC028-02	250 μL

保存条件：-20℃，至少12个月

■产品说明

T7 RNA Polymerase是DNA依赖的5'→3'RNA聚合酶，以含有T7启动子序列的双链DNA（线性化质粒或PCR产物）为模板，合成与启动子下游的反向单链DNA互补的RNA，对T7噬菌体启动子具有高度特异性。还可以在反应中使用修饰的核苷酸作为底物，例如生物素标记、地高辛标记、荧光素标记的核苷酸，合成带有标记的RNA。

■来源

由大肠杆菌重组表达。

■酶活性单位定义

在37°C下，总反应体积为50 μL时，1小时内将1 nmol ATP结合到酸不溶性物质中的酶量定义为1个活性单位。

■T7启动子序列

5' – TAATACGACTCACTATAG – 3'

■应用

大量合成各种RNA，包括但不限于：

1.疫苗或基因表达用的mRNA

2.环状RNA前体

3.带有标记的RNA探针

■储存缓冲液

50 mM Tris-HCl，100 mM NaCl，20 mM β-ME，1 mM EDTA，50% Glycerol，0.1% (w/v) Triton® X-100，pH 7.9@ 25°C。

■反应条件

1. 按照下表，在冰上配置反应体系。

组分	体积（μL）	终浓度
10× Transcription Buffer	2	1x
RNase inhibitor (40 U/μL)	0.5	1 U/μL
NTP mix (25mM each)	8	10 mM
DNA template	1 μg	500 ng/μL
T7 RNA Polymerase (50 U/μL)	1	2.5 U/μL
DEPC-treated Water	Total 20	

* RNase inhibitor (40 U/μL) 货号PC005

2. 37°C 反应2 h。
3. 可选：使用DNase I（货号PC024）去除DNA模版。若需要完全去除模板，建议在RNA纯化后进行。
4. 使用LiCl沉淀等方法纯化RNA。

■注意事项

1. 反应配置时，请先加水，最后加 DNA 模板和酶。
2. DNA 模板需要用产生 5’突出粘性末端或产生平末端的酶线性化，也可以通过 PCR 线性化，通过 PCR 线性化时所需模板量降低。
3. 模板越短，反应所需时间越长，可根据模板长度调节反应时间（1 到 16 小时）。例如，使用 1 μg 2600 bp 的 DNA 模板反应 1 h 即可达到饱和。产物长度＜0.3 kb 时，可将反应延长至 4 h~16 h。
4. 模板浓度越大，反应速度越快，短片段模板可增加模板浓度。
5. 模板浓度足够大后，继续提高模版浓度只影响反应速度，不影响产量，要提高产量可配置多个反应。

■ FAQs

1. 可用T7 RNA 聚合酶进行体外转录的模版？

双链DNA，如线性质粒或PCR产物。DNA模板需要用产生5’突出粘性末端或产生平末端的酶线性化，也可以通过PCR线性化，通过PCR线性化时体外转录反应所需的模板量降低。

2. 转录产物有杂带的原因？

首先需要确认DNA按要求完全线性化、体系没有RNase污染。如果取IVT产物直接进行非变性凝胶电泳，杂带大多数是由于RNA的二级结构形成的，可改做变性凝胶电泳，但请勿通过加热对纯化前的IVT产物进行变性处理，否则RNA会被降解。还有少部分难以避免的dsRNA副产物可以通过在反应中添加1M尿素抑制，或者通过后续的纯化步骤去除。

该产品仅限于实验科学研究用，若有任何单位或个人将该产品用于临床诊断、治疗等其他国家专门规定的特殊用途，本公司概不承担任何责任。

易锦生物 iGeneBio
地址：广州高新技术产业开发区广州科学城揽月路 3 号 F 区 F801
电话：020-28069288 / 020-28069233
邮编：510663
网址：www.igenebio.com