

## T7 RNA polymerase

目录号: AE0701

使用前请仔细阅读说明书

### 产品说明

T7 RNA polymerase 是 T7 噬菌体编码的一种 DNA 依赖的 RNA 聚合酶，用于体外 RNA 合成，对 T7 噬菌体启动子具有高度特异性。在 T7 启动子的指导下，利用 DNA 作为模板，合成与模板连互补的正义或反义 RNA。正义或反义 RNA 链取决于模板 DNA 序列与 T7 启动子的位置，DNA 位于 T7 启动子的下游，T7 RNA 聚合酶会转录出正义 RNA，反之则为反义 RNA 链。使用 T7 RNA polymerase 体外合成的 RNA 适合于许多研究和生物技术应用，例如基因编辑的 sgRNA，体外翻译中 mRNA 的合成等。双链线性平末端或 5'突出末端 DNA 均可作为 T7 RNA Polymerase 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。

本公司 T7 RNA polymerase 是在大肠杆菌中重组表达，并多步纯化的重组酶。

### 活性定义

1 单位指在温度为 37°C，1× T7 RNA polymerase 反应缓冲体系的条件下，60min 将 1 nmol ATP 掺入酸不溶性物质所需的酶量。

### 活性测定条件

40 mM Tris-HCl，6 mM MgCl<sub>2</sub>，1 mM DTT，2 mM spermidine (pH 7.9 @ 25°C)，37°C 温育。

浓度: 50U/μl

保存条件: -20°C 保存

### 特点

- 转录活性高，NTP 浓度范围为 0.2-10mM
- T7 启动子短小简单，容易设计合成

### 适用范围

- 体外转录制备各种 RNA 分子，包括 mRNA、sgRNA、RNA 标准品、RNA 疫苗合成等
- 制备放射性标记 RNA 探针、荧光标记 RNA 探针
- 通过反义 RNA 调控表达
- 基因编辑的引导 RNA (sgRNA)
- 合成用于体外翻译和微量注射的 mRNA

### 产品包装规格及组成

Component	AE0701A	AE0701B	AE0701C	AE0701D
T7 RNA polymerase	5kU	25kU	100kU	250kU
10 × T7 RNA polymerase Buffer	1.0ml	1.0 ml×3	5.0 ml×3	5.0 ml×5
DEPC H <sub>2</sub> O	1.0ml×4	5ml×4	100ml	200ml

### 质量控制

相关测试表明无外源内切、外切脱氧核糖核酸酶、RNase 污染。PCR 方法检测无宿主残余 DNA。

### 酶贮存缓冲液

10mM Tris-HCl, 100 mM NaCl, 1 mM EDTA, 0.1% (v/v) Triton X-100, 50% Glycerol, 25°C pH 7.5

### 注意事项

- 对于放射性标记的高比活度核糖核酸探针，其放射性核苷酸浓度应控制在 6μM 以内
- 为了保护合成的 RNA 免于降解，建议 RNase 抑制剂添加到 1U/μl 的最终浓度
- T7 RNA polymerase 对盐浓度较敏感，总盐浓度不应超过 50mM。

### 相关产品:

AE2081: DNase I (RNase-free), AE2503、AE2504 RNase 抑制剂

## 应用实例

### 1. RNA 转录

1) 按下表配制反应体系

反应组分	ul
10× Buffer	5
NTP (10mM ATP,GTP,TTP,CTP)	5
模板 DNA	1μg
RNase Inhibitor (40U/μl)	1
T7 RNA polymerase (50U/μl)	1
DEPC -treated H <sub>2</sub> O	Variable
总体积	50

2) 37°C 孵育 1-2h。

3) 如需去除模板 DNA，可用 DNase I (2U) 37°C 处理 15min。

4) 终止反应：70°C 加热 10min，或加入 2μl 0.5M 的 EDTA (pH8.0)。

5) 电泳检测 RNA 转录产物和产量。

**警告：**本产品仅限科研实验使用，临床应用安全性和有效性未鉴定，不可用于医疗临床诊断。