

试剂盒成份

Component	AK0701A (50T)	AK0701B (250T)
5× Reaction Buffer*	200μL	1000μL
100mM ATP Solution	100μL	500μL
100mM GTP Solution	100μL	500μL
100mM UTP Solution	100μL	500μL
100mM CTP Solution	100μL	500μL
Enzyme Mix	75μL	375μL
DNase I	50μL	250μL
Control Template(0.5μg/μL)	10μL	50μL
Nuclease-free H ₂ O	1mL	5mL

注：5× Reaction Buffer储存在-70°C，可能会产生白色沉淀，如果有白色沉淀产生，将试剂管加热至37°C 5min 并且充分混合使其溶解后使用。

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，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，利用四种核糖核苷三磷酸作为底物，合成与模板链互补的单链RNA。也能够以修饰核苷为底物产生染料、生物素或者放射性标记的RNA；以帽子结构或者帽子类似结构为底物产生加帽的RNA。体外合成的RNA适合于基因编辑的sgRNA, 体外翻译中mRNA的合成等。线性质粒、PCR产物均可用作体外合成RNA的模板。

本体外转录试剂盒的反应体系经过优化，有着很高的合成量。在加入1ug 1kb DNA模板的情况下，20ul反应可以合成最高达50-100μg的RNA，可放大用于产生毫克级别RNA。转录合成的RNA可用于如RNA结构与功能研究、RNA酶保护、探针杂交、RNAi、基因编辑等应用，也可通过牛痘病毒加帽系统和2'-O-甲基转移酶加帽，E.coli Poly(A)Polymerase加尾产生mRNA，用于体外翻译、转染、显微注射或其它下游应用。

特点：

- 合成RNA的长度和产量大大提高；
- 内含核酸酶抑制剂，防止RNA降解；

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
- 制备反义RNA，调控表达
- 制备基因编辑的引导RNA (sgRNA)、Cas核酸酶检测的sgRNA
- 合成用于体外翻译和微量注射的mRNA
- RNA疫苗的制备
- NASBA等温扩增。

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。

保存:

-20℃保存2年。

相关产品

牛痘病毒加帽系统 (AE0909), 2'-O-甲基转移酶 (0908), E.coli Poly(A)Polymerase (0901)。

注意事项:

- 为了保证RNA产物的均一性, DNase I消化去除DNA尽量彻底。
- 为了降低RNaseA 污染可能造成的 RNA 降解, 导致体外转录失败, 强烈建议每个反应加 1μl RNase Inhibitor。
- RNA 相关实验严格防止RNase A 污染, 操作时需佩戴一次性口罩与手套, 并及时更换。
- RNA 在碱性条件下不稳定, 避免用高 pH 值溶液溶解 RNA。
- 若环状质粒上需要转录的目的DNA序列的上下游有T7 Promotor序列和T7 Terminaroe序列, 则可以利用环状质粒作为DNA模板直接转录, 不需要线性化载体

应用举例:

线性化双链DNA或目的DNA序列上下游有T7 Promotor序列和T7 Terminaroe序列的环状质粒。

1. 将以下组分加入一个无核酸酶污染的 PCR 管中:

组份	体积/μl
100mM ATP Solution	2μL
100mM GTP Solution	2μL
100mM CTP solution	2μL
100mM UTP solution	2μL
Template DNA	1μg*
5× Reaction Buffer	4μL
Enzyme Mix	2μL
Nuclease-free H2O	to 20μL

* 转录产量取决于模板的添加量, DNA 的使用量一般为 100ng~1 μg。

2. 充分混合, 37℃反应 1-2h。
3. 加入1μL DNase I (RNase-free), 充分混合, 37℃反应30min。
4. RNA电泳检测转录产物长度和浓度。

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。