

Component	AK0708A (50T)	AK0708B (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
Spy sgRNA DNA Template(0.5μg/μL)	50μL	250μL
Nuclease-free H ₂ O	1mL	5mL

注：5× Reaction Buffer储存在-70℃，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℃ 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。本体外转录试剂盒专门用于S.pyogenes Cas9核酸酶的sgRNA体外转录反应，试剂盒组份包括体外转录的所有试剂盒S.pyogenes sgRNA转录反应的DNA模板。

本体外转录试剂盒的反应体系经过优化，sgRNA合成量，使用方便。在加入0.5ug DNA模板的情况下，50ul反应可以合成最高达50-100μg的sgRNA，可放大至毫克级别sgRNA的制备。

特点：

- 合成 S. pyogenes的Cas9核酸酶的sgRNA，产量大大提高；
- 内含核酸酶抑制剂，防止sgRNA降解。

适用范围

- 制备 S.pyogenes Cas9 核酸酶基因编辑的引导 RNA (sgRNA)
- 进行基因编辑

保存：

-20℃保存2年。

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。

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。

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/ μ l
100mM ATP Solution	2 μ L
100mM GTP Solution	2 μ L
100mM CTP solution	2 μ L
100mM UTP solution	2 μ L
Template DNA	1 μ g*
5 \times Reaction Buffer	4 μ L
Enzyme Mix	2 μ L
Nuclease-free H2O	to 20 μ L

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

2. 充分混合，37 $^{\circ}$ C反应 1-2h。
3. 加入1 μ L DNase I (RNase-free)，充分混合，37 $^{\circ}$ C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。