High T7 RNA Polymerase

REF: EG20125-S/M

储运条件

-20℃

产品组成

组分	规格 S	规格 M
High T7 RNA Polymerase(50 U/μl)	100 μl	500 μl
10× T7 RNA Pol Buffer	1.25 ml	1.25 ml

产品简介

本产品是经基因工程改造的热稳定 T7 RNA 聚合酶，对噬菌体 T7 启动子序列具有高度特异性，跟野生型噬菌体 T7 RNA 聚合酶相比，它可在更高的温度下进行反应。High T7 RNA Polymerase 可在 37~52℃条件下进行高效的体外转录。

活性定义

1 活性单位 (U) 是指在 50℃ 1 h 内使 1 nmol ATP 掺入酸不溶性沉淀物所需要的酶量。

适用范围

1. 合成单链RNA，包括mRNA，siRNA，gRNA等各类RNA的前体。
2. 合成标记或未标记的高特异性 RNA 探针。
3. 利用帽子类似物合成加帽的 mRNA。

质量控制

蛋白纯度检测

本品经 SDS-PAGE 检测纯度 ≥95%。

核酸内切酶活性检测

将酶液与超螺旋质粒 DNA 在 37℃ 温育 4 h，通过 DNA 电泳检测质粒无变化。

DNase 活性检测

将酶液与双链 DNA 底物在 37℃温育 16 h，通过 DNA 电泳检测双链 DNA 底物无变化。

RNase 活性检测

将酶液与 RNA 在 37℃温育 1 h，通过电泳检测 RNA 无降解。

功能检测

体外转录合成实验，通过 RNA 电泳可以检测到目的条带。

使用方法

推荐反应体系（20 μl）

试剂	体积	终浓度
10× T7 RNA Pol Buffer	2 μl	1×
CTP / GTP/ ATP/ UTP (100 mM each)	2 μl each	10 mM each
RNase Inhibitor (40 U/μl)	0.5~1 μl	1~2 U/μl
Template DNA	0.1~1 μg	-
High T7 RNA Polymerase(50 U/μl)	1~2 μl	-
Nuclease-Free Water	up to 20 μl	-

注 1：建议加完 Nuclease-Free Water，再加 CTP / GTP/ ATP/ UTP。
注 2：NTP 用量影响转录产量，推荐的 NTP 用量下 1 μg 模板可获得约 150~200 μg RNA，减少 NTP 用量会降低转录产量。

推荐反应条件

50℃反应 1 h。

反应结束后，可向上述 20 μl 反应液中加入 1 μl dsDNase，37℃孵育 15 min 用于去除 DNA 模板。

注意事项

1. 模板 DNA 的纯度对体外转录反应至关重要。质粒 DNA 抽提过程中引入的 RNase A 残留会显著影响转录 RNA 的质量，建议使用 OD260/280 为 1.8~2.0 的高纯度 RNase-free 质粒。
2. 模板 DNA 可通过线性化环状质粒或 PCR 获得。模板 DNA 上游需含有 T7 启动子序列，下游为平末端或编码链 5' 末端突出。
3. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套及口罩进行实验操作。

江苏愚公生物科技有限公司 / 江苏百时美生物科技有限公司
Yugong Biotech Co., Ltd. / BestEnzymes Biotech Co., Ltd
Tel: 0518-8558 6628 • E-mail:support@best-enzymes.com • www.best-enzymes.com
最终解释权所有 © 江苏愚公生物科技有限公司，保留一切权利
ISO 13485 高新技术企业
愚公生物微信公众号 愚公生物科研小助手 愚公生物微信视频号