

Premium T7 RNA Polymerase

产品信息 (Product Info)

产品名称	产品货号	规格
Premium T7 RNA Polymerase	T7P-EE1MP-A	20 kU
	T7P-EE1MP-B	100 kU
	T7P-EE1MP-C	200 kU

产品描述 (Product Description)

Premium T7 RNA Polymerase 是对 T7 RNA 聚合酶的关键位点进行改造，开发出的一款突变体，可有效减少 dsRNA 副产物的生成。本品以含有 T7 启动子序列的单链或双链 DNA 为模板，NTP 为底物，合成与启动子下游的单链 DNA 或双链 DNA 模板链互补的 RNA。

产品规格 (Specifications)

产品组分	T7P-EE1MP-A (20 kU)	T7P-EE1MP-B (100 kU)	T7P-EE1MP-C (200 kU)
Premium T7 RNA Polymerase (200 U/ μ l)	T7P-EE1MP-A1 (100 μ l)	T7P-EE1MP-B1 (500 μ l)	T7P-EE1MP-C1 (1 ml)
5 \times Transcription Buffer 1(for <3000 nt)	T7P-EE1MP-A2 (1.5 ml)	T7P-EE1MP-B2 (7.5 ml)	T7P-EE1MP-C2 (15 ml)
5 \times Transcription Buffer 2(for >3000 nt)	T7P-EE1MP-A3 (1.5 ml)	T7P-EE1MP-B3 (7.5 ml)	T7P-EE1MP-C3 (15 ml)

来源 (Source)

E.coli

储存缓冲液 (Storage Buffer)

50 mM Tris-HCl, 100 mM NaCl, 20 mM 2-Mercaptoethanol, 1 mM EDTA, 50% Glycerol, 0.1% Triton X-100, pH 7.9

酶活定义 (Enzyme Activity Definition)

在 50 μ l 的总反应体系中，37°C 下，1 h 内使 1 nmol 的 ATP 掺入酸性不溶物所需要的酶量定义为 1 个活力单位

(U)。

运输/保存方法 (Transportation/Storage Method)

干冰运输， $-20 \pm 5^{\circ}\text{C}$ 保存，避免反复冻融。

产品应用 (Applications)

体外转录合成 RNA、利用 Cap-Analog 合成加帽的 mRNA。

产品使用步骤 (Protocol)

I. IVT

(1) 在室温下配制反应体系：

组分	体积
RNase-free Water	To 20 μl
5 \times Transcription Buffer 1 or 2	4 μl
CTP/GTP/ATP/UTP or N1-Me-Pseudo UTP (100 mM each)	1.5 μl each
Murine RNase Inhibitor(120 U/ μl)	0.5 μl
Pyrophosphatase, Inorganic(0.1 U/ μl)	1 μl
DNA	To 1 μg
Premium T7 RNA Polymerase(200 U/ μl)	0.5 μl

注：5 \times Transcription Buffer 1 适合 3000 nt 以下的序列，产率更高；Buffer 2 适合 3000 nt 以上的序列，完整性更高。建议根据实际情况选择合适的 Buffer。

(2) 37 $^{\circ}\text{C}$ 反应 1-2 h（若转录长度 ≤ 100 nt，增加时间至 4-8 h）。

(3) 反应结束后，使用 2 U DNase I 去除 DNA 模板，37 $^{\circ}\text{C}$ 反应 15 min。

注：反应体系可能会比较黏稠，建议使用 DNase I 前对体系进行稀释。

II. 共转录加帽 IVT

(1) 在室温下配制反应体系：

组分	体积
RNase-free Water	To 20 μ l
5 \times Transcription Buffer 1 or 2	4 μ l
CTP/GTP/ATP/ UTP or N1-Me-Pseudo UTP(100 mM each)	1.5 μ l each
CAP1-Analog(100 mM)	1.2 μ l
Murine RNase Inhibitor(120 U/ μ l)	0.5 μ l
Pyrophosphatase, Inorganic(0.1 U/ μ l)	1 μ l
DNA	To 1 μ g
Premium T7 RNA Polymerase(200 U/ μ l)	0.8 μ l

注：5 \times Transcription Buffer 1 适合 3000 nt 以下的序列，产率更高；Buffer 2 适合 3000 nt 以上的序列，完整性更高。建议根据实际情况选择合适的 Buffer。

(2) 37 $^{\circ}$ C反应 1-2 h（若转录长度 \leq 100 nt，增加时间至 4-8 h）。

(3) 反应结束后，使用 2 U DNase I 去除 DNA 模板，37 $^{\circ}$ C反应 15 min。

注：反应体系可能会比较黏稠，建议使用 DNase I 前对体系进行稀释。

产品数据 (Assay Data)

Premium T7 RNA Polymerase 可降低 dsRNA 至 0.10%以下

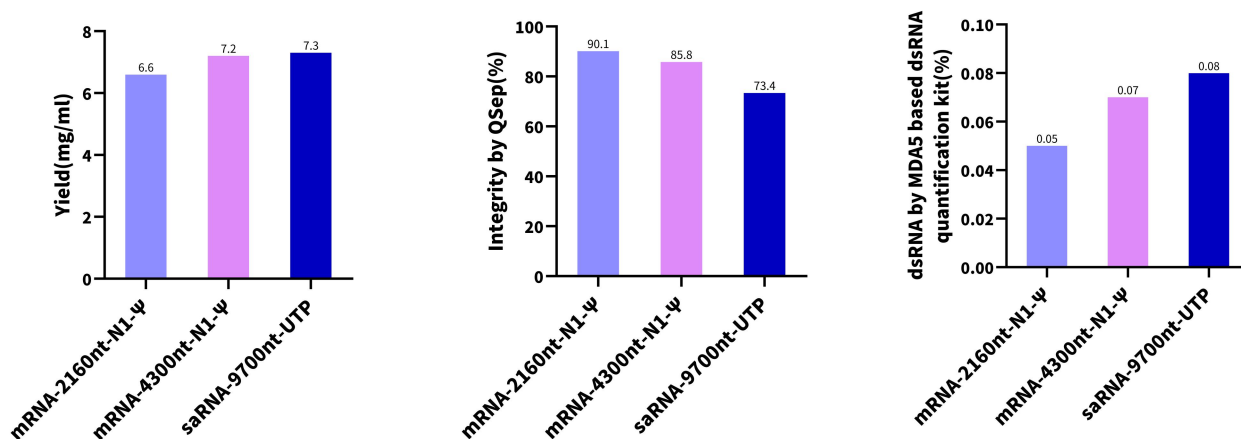


Fig. 1 使用 Premium T7 RNA Polymerase 进行共转录加帽 IVT，经过氯化锂沉淀纯化后分别测定 RNA 产量、完整性及 dsRNA 含量。结果显示，Premium T7 RNA Polymerase 在不影响 RNA 质量的前提下，可降低 dsRNA 至 0.10%以下。

注意事项 (Cautions)

- (1) 为了避免蛋白及盐离子等对体系的影响，质粒线性化后建议纯化后再作为模板进行体外转录。
- (2) DNA 模板预先切成平端或 5' 突出末端有利于特定区域的有效转录。
- (3) 本产品仅作科学研究使用，不得用于其它用途。