

Premium T7 RNA 聚合酶说明书

(Premium T7 RNA Polymerase)

【产品中文名称】 Premium T7 RNA 聚合酶

【产品英文名称】 Premium T7 RNA Polymerase

【货号信息】

编号	产品组分	货号	包装规格
GMP-T7P-EE1MP-200 kU	Premium T7 RNA Polymerase	GMP-T7P-EE1MP-11	200 U/ μ l, 200 kU, 1 ml/vial
GMP-T7P-EE1MP-2 MU		GMP-T7P-EE1MP-12	200 U/ μ l, 2 MU, 10 ml/vial

【表达体系】 大肠杆菌

【生产要求】 洁净环境（C 级或 D 级）

【产品级别】 GMP

【产品简介】 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。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。相较于第一代 T7 RNA Polymerase，Premium T7 RNA Polymerase 可有效减少 dsRNA 副产物的含量，此外，当共转录加帽体系中的帽子类似物的浓度较低时，也能保证较高的加帽率同时不影响产率和完整性。

本产品是基于公司独特的创新型功能重组蛋白生产平台 SAMS™ 设计，经过大肠杆菌表达体系与纯化工艺的优化，并按照 GMP 要求生产。

【预期用途】 参与 mRNA 疫苗生产过程中的体外转录或者共转录加帽

【储存缓冲液】 50 mM Tris-HCl, 100 mM NaCl, 10 mM DTT, 1 mM EDTA, 0.1% Triton X-100, 50% Glycerol, pH 7.9

【贮存条件】 -20°C±5°C

【Premium T7 RNA Polymerase 质量标准】

项目	可接受标准
外观	溶液澄清
可见异物	装量 50 ml 及以下，每支/瓶中可见异物不得超过 3 个
装量	包装规格为 1 ml/vial，每支/瓶装量不低于 1 ml； 包装规格为 10 ml/vial，每支/瓶装量不低于 10 ml
鉴别	目标条带清晰，样品条带与对照品一致
活性	200.0-320.0 kU/ml
pH 值	7.9±0.5
纯度	≥ 95.0%
细菌内毒素	≤ 10.0 EU/ml
DNA 酶残留	阴性
RNA 酶残留	阴性
蛋白酶残留	阴性
镍盐残留	≤ 10.0 ppm
重金属残留	≤ 10.0 ppm
微生物限度	≤ 1 CFU/10 ml
浓度	3.2 mg/ml±20%

【产品使用步骤】

I. IVT

(1) 在室温下配制反应体系：

组分	用量
RNase-free Water	To 20 µl
5×Transcription Buffer	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

(2) 37°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°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

(1) 在室温下配制反应体系：

组分	用量
RNase-free Water	To 20 μ l
5 \times Transcription Buffer	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

(2) 37°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°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。

【注意事项】

(1) 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。

(2) 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。

(3) 低温会导致 5 \times Transcription Buffer 中的亚精胺沉淀 DNA 模板，建议室温下配制反应体系。

(4) 产品应避免反复冻融。

版本号：2025.01.23