

Cleascrip™ T7 RNA Polymerase (250 U/μL)

产品简介

本产品是大肠杆菌重组表达来源的噬菌体 T7 RNA 聚合酶，是对野生型 T7 进行了改造优化，突变得到的可以大幅度降低 dsRNA 含量的 T7 RNA 聚合酶。以含有 T7 启动子序列的双链 DNA 为模板，以 NTP 为底物，合成与启动子下游的反向单链 DNA 互补的 RNA。双链线性平末端或 5' 突出末端 DNA 均可作为 T7 RNA 聚合酶的底物模板，因此线性质粒、PCR 产物均可用作体外合成 RNA 的模板。

产品性质

| | |
|---------|---|
| 来源 | 重组 <i>E. coli</i> |
| 最适温度 | 37°C |
| 活性 | 250 U/μL |
| 宿主核酸残留 | <10 fg/U |
| 宿主蛋白残留 | <50 ppm |
| RNA 酶残留 | 阴性 |
| 储存缓冲液 | 50mM Tris-HCl, 1 mM EDTA, 10 mM DTT, 100 mM NaCl, 0.1% Triton X-100, 50% (v/v) 甘油, pH7.9@25°C |
| 活性单位定义 | 在 37°C、pH8.0 的条件下, 1 h 内使 1 nmol 的 [³ H]GMP 掺入酸不溶性沉淀物所需要的酶量定义为一个活性单位。 |

产品信息

| | |
|----|-----------------------------------|
| 货号 | 10628ES10 / 10628ES60 / 10628ES72 |
| 规格 | 10 KU / 100 KU / 250 KU |

组分信息

| 组分编号 | 组分名称 | 10628ES10 (10 KU) | 10628ES60 (100 KU) | 10628ES72 (250 KU) |
|---------|--|----------------------|-----------------------|-----------------------|
| 10628-A | Cleascrip™ T7 RNA Polymerase (250 U/μL) | 40 μL | 400 μL | 1 mL |
| 10628-B | 10× Transcription Buffer | 500 μL | 1 mL×5 | 10 mL |

储存条件

-25~-15°C保存, 有效期1年。

使用说明

- 将所用实验材料从 -20°C 拿出, 置于冰盒上解冻, 充分混匀, 短暂离心收集液体于管底, 置于冰上备用,
- 反应体系配制:

2.1 普通转录体系

| 组分 | 体积 (μL) | 终浓度 |
|---|----------|------------|
| 10× Transcription Buffer | 2 | 1× |
| CTP/GTP/ATP/UTP (100 mM each) | 2 each | 10 mM each |
| Cleascrip™ T7 RNA Polymerase (250 U/μL) | 1-1.6 | - |
| Murine RNase inhibitor (40 U/μL) | 0.5 | - |
| Pyrophosphatase, Inorganic (0.1U/μL) | 0.4 | - |
| 模板 DNA | X (1μg) | - |
| RNase free H ₂ O | Up to 20 | - |

2.2 共转录加帽体系

如果选择共转录法加帽，则按照下表配制共转录加帽体系：

| 组分 | 体积 (μL) | 终浓度 |
|---|----------|------------|
| 10× Transcription Buffer | 2 | 1× |
| CTP/GTP/ATP/UTP (100 mM each) | 2 each | 10 mM each |
| Cap1 帽子 (100 mM) | 2 | 10 mM |
| Cleascrip™ T7 RNA Polymerase (250 U/μL) | 1-1.6 | - |
| Murine RNase inhibitor (40 U/μL) | 0.5 | - |
| Pyrophosphatase, Inorganic (0.1U/μL) | 0.4 | - |
| 模板 DNA | X (1μg) | - |
| RNase free H ₂ O | Up to 20 | - |

注：1) 若转录长度 < 100 nt，模板投入量可增加至 2 μg，转录时间可增至 4-8 h。

2) 为了提高 RNA 质量，建议使用质粒线性化模板进行转录。

3) 以上反应体系为推荐反应，NTP，帽子添加量，T7 RNA 聚合酶等均可根据实际情况进行适度调整。

4) 20 μL 转录体系，参考如上体系可获得 180-240 μg 的 RNA，若想获得更多的 RNA，可等比例放大反应体系，不影响反应。

5) 使用试剂、容器等无 RNase 污染。

3. 在 37°C 下反应 2-3 h。

4. 反应结束后，加入 1 μL DNase I (Cat #10611ES)，在 37°C 反应 15-30 min 去除 DNA 模板。

5. 合成的 RNA 后续需进行纯化、质检，样品合格可用于后续实验。

注意事项

1. 本产品仅作科研用途。

2. 为了您的安全和健康，请穿实验服并佩戴一次性手套操作。