



T7体外转录试剂盒

T7 in Vitro Transcription Kit

Catalog # ZT602

	ZT602-1 (50T)	ZT602-2 (200T)
T7 Trans Enzyme Mix	150 μ l	600 μ l
2 \times T7 Buffer Mix	500 μ l	2ml
DNase I	50 μ l	200 μ l
RNase-free Water	1ml	2ml

注: 2 \times T7 Buffer Mix 含NTPs。

储存条件: -20 $^{\circ}$ C保存一年

产品简介

本产品利用T7 RNA聚合酶识别T7启动子,以NTPs为底物,从T7启动子下游开始合成与模版DNA中一条链互补的RNA,简单快速获得大量单链RNA。使用少量的DNA模板可在20 μ l体系中生成微克级的RNA(如果想要获得毫克级的RNA产物,可平行放大反应体系)。

转录合成的RNA可用于如RNA结构与功能研究、RNA酶保护、探针杂交、RNAi等应用,也可通过加帽加尾产生mRNA,用于体外翻译、转染、显微注射或其他下游应用。

适用范围: 体外合成单链RNA。

产品特点:

- 1、二管式预配液,减少加样次数,避免了操作误差,增加了可重复性。
- 2、即开即用,用户只需提供含T7启动子的DNA模板即可以进行体外转录实验,不需要单独准备每一个成份。

注意事项:

- 1、本反应体系须严格注意不要混入RNase,实验器材如枪头、EP管,严格使用RNase-free用品。
- 2、如在反应过程中溶液出现浑浊,其为反应副产物焦磷酸镁,此时表明反应剧烈。在下一步RNA纯化前,可通过短暂离心去除沉淀物,此过程并不丢失RNA。
- 3、保证模板DNA的质量,避免RNase的污染。
- 4、为了您的健康和安,请佩戴一次性口罩和手套进行实验操作。



模板制备:

1、质粒模板

带有T7启动子的质粒线性化后可作为转录模板, 线性化质粒推荐使用形成5'突出端或者平末端的限制性内切酶, 酶切产物需要进行纯化, 以去除蛋白质、盐离子等。

2、PCR产物模板

PCR扩增模板时将T7启动子(TAATACGACTCACTATAGGG)加在非编码链的上游引物的5'端。PCR产物需经过胶回收纯化后使用, 以得到质量较高的RNA。

操作流程:

1、转录体系如下: 20 μl体系

推荐添加顺序为: RNase-free Water、2×T7 Buffer Mix、DNA模板、T7 Enzyme Mix。

反应组分	20μl体系
RNase-free Water	Add to 20μl
2× T7 Buffer Mix (含NTPs)	10μl
DNA模板	20ng-1μg
T7 Trans Enzyme Mix	3μl

1) 提前计算好体系, 按照推荐顺序添加各个试剂;

2) 大多数的转录反应可通过提高模板添加量提高转录产量;

2、移液枪轻轻吸打混匀各组分并短暂离心收集液体至管底 (保证T7 Trans Enzyme Mix在体系中充分混匀), 37°C反应2 h, 如合成小于100 nt RNA, 可将反应延长至4 h或更长。

3、消化DNA模板: 反应结束后, 每管加入1 μl的DNase I, 37°C反应30 min。

(根据下游实验选择性操作)

4、纯化RNA: 转录后的RNA需要进行纯化, 可选用过柱法进行纯化。

5、RNA大小和质量检测: 为了确定RNA的大小、完整性和质量, 需要变性琼脂糖凝胶电泳 (RNA大小500 nt以上) 或变性聚丙烯酰胺凝胶电泳 (RNA大小500 nt以下) 进行检测。纯化后的RNA经过电泳检测后可用于下游实验或放置在-80°C下保存。