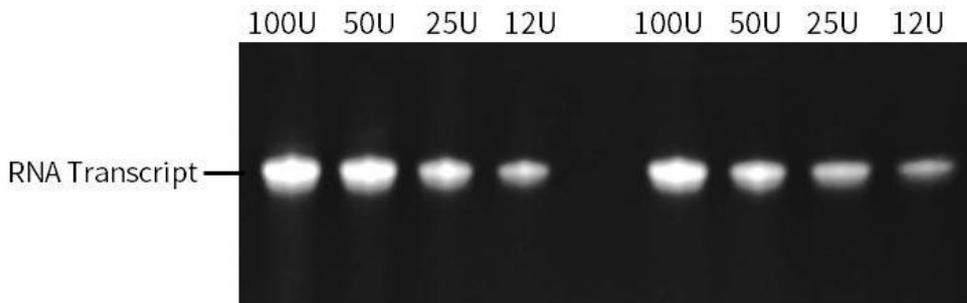


T7 RNA 聚合酶 说明书

T7 RNA Polymerase, 即 T7 RNA 聚合酶, 是一种高度特异识别 T7 启动子序列的 DNA 依赖的 5' → 3' RNA 聚合酶。T7 RNA Polymerase 可以催化单链或双链 DNA T7 启动子下游 NTP 的掺入, 合成与 T7 启动子下游的模板 DNA 互补的 RNA。

特点: T7 RNA Polymerase 不仅可以进行常规的 RNA 合成, 还可以识别修饰的 NTP, 例如生物素标记、地高辛标记、荧光素标记的 NTP, 可以用于各种标记 RNA 的合成。同时对于 T7 启动子有高度的特异性。

源叶生产的 T7 RNA Polymerase 以含有 T7 Promoter 的 PCR 产物为模板进行体外转录时的效果请参见图 1。



在 20 μ l 反应体系 (40mM Tris-HCl pH7.9, 2mM Spermidine, 6mM MgCl₂, 1mM DTT) 中, 加入以含有 T7 Promoter 的 PCR 产物作为模板 DNA 以及图中指定量的本产品, 37 $^{\circ}$ C 孵育 1h, 70 $^{\circ}$ C 孵育 10min 终止反应, 加入 2U DNase I 消化模板 DNA, 得到的 RNA 转录产物为 101nt。取出 5 μ l 反应产物, 加入 1 μ l 6X DNA Loading Buffer, 95 $^{\circ}$ C 变性 5min, 然后室温条件下用含 7M Urea 的 15% 聚丙烯酰胺凝胶进行电泳, 以 1X TBE 作为电泳液, 180V 电泳 120min。电泳结束后, NA-Red 2000 倍稀释后室温染色 10min, 拍照观察结果。

用途: 用于 RNA 合成, 合成的 RNA 可以用于或用作: 杂交探针, 基因组 DNA 序列分析, 核糖核酸酶保护测定 (RNase protection assay), 反义 RNA 合成, 作为体外翻译的 RNA 模板, RNA 剪接研究的底物, RNA 二级结构和 RNA-蛋白质相互作用, 核酸扩增分析, siRNA、miRNA 等小 RNA。

来源: 由大肠杆菌表达, 表达基因为嗜菌体 T7 RNA Polymerase 基因。

活性定义: 37 $^{\circ}$ C 60 分钟内, 催化 1 nmol AMP 掺入到多聚核苷酸中所需的酶量定义为 1 个活性单位。

活性检测条件: 40mM Tris-HCl (pH8.0), 6mM MgCl₂, 10mM DTT, 2mM spermidine, 0.5mM NTP, 0.6MBq/ml [³H]-ATP, 20 μ g/ml plasmid DNA containing the specific T7 RNA Polymerase promoter sequence。

纯度: 不含 DNA 内切酶和外切酶, 不含 RNA 酶。

酶储存溶液: 50mM Tris-HCl (pH7.5, 25 $^{\circ}$ C), 100mM NaCl, 1mM DTT, 1mM EDTA, 50% (v/v) Glycerol, 0.1% (w/v) Triton X-100。

Transcription Buffer (10X): 400mM Tris-HCl (pH7.9, 25 $^{\circ}$ C), 20mM spermidine, 60mM MgCl₂, 10mM DTT。



上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd
电话: 021-61312973 传真: 021-55068248
网址: www.shyuanye.com
邮箱: shyysw@sina.com

失活或抑制: 70℃加热 10 分钟可使 T7 RNA Polymerase 失活。加入适量 EDTA 也可以使 T7 RNA Polymerase 失活。螯合剂、浓度大于 150mM 的钠、钾或铵盐可以显著抑制 T7 RNA Polymerase 的活性。

T7 consensus promoter sequence 如下, 其中的 G 为转录的第一个碱基。

TAATACGACTCACTATAGGGGAGA

保存条件:

-20℃ 保存。

注意事项:

酶使用时宜存放在冰盒内或冰浴上, 使用完毕后宜立即放置于-20℃ 保存。

本产品仅限于专业人员的科学研究用, 不得用于临床诊断或治疗, 不得用于食品或药品, 不得存放于普通住宅内。

为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。