

# ABC® T7 High Yield Transcription Kit

目录号：ABC3039

## 产品信息

产品名称	产品编号	规格
T7 High Yield Transcription Kit	ABC3039-50T	50T

## 产品简介

本试剂盒是利用 T7 RNA Polymerase，以含有 T7 启动子的线性化质粒 DNA、PCR 产物或合成的 DNA 为模板，以 NTP 为底物，在体外转录合成 RNA。本试剂盒优化了 RNA 体外转录反应体系，可以简单快速获得大量的 RNA 分子，如果转录时在底物中加入修饰的核苷酸，可以制备生物素或染料标记的 RNA。本试剂盒制备的 RNA 可以用于体外翻译、RNase 保护实验、杂交探针标记、RNA 剪切等生物实验。在反应体系中 1 μg 的模板投入量可以产生大于 100 μg 的 RNA，适用于制备各种长度的 RNA。

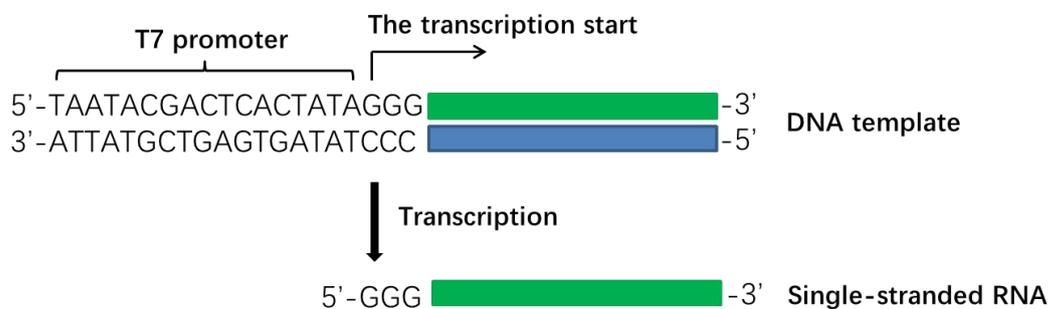


图 1 T7 RNA polymerase 转录原理图

## 储存与运输

冰袋 (wet ice) 运输；-20°C 保存，12 个月有效。

## 组成

Component Number	Component	ABC3039-50T
ABC3039-1	T7 RNA Transcription Enzyme Mix	200 μL
ABC3039-2	5×T7 Transcription Reaction Buffer	250 μL
ABC3039-3	25 mM NTP Mix	100 μL
ABC3039-4	DNase I	50 μL
ABC3039-5	Nuclease Free Water	1 mL
ABC3039-6	Control Template (0.5 μg/μL)	10 μL
说明书		1 份

## 操作步骤

- 模板准备：
  - 以 T7 启动子的质粒为模板：为了得到特定长度的 RNA，质粒模板必须完全线性化（需要纯化后作为模板），且线性化的质粒确保双链为平末端或 5' 突出端（避免出现 3' 突出端），每个反应建议模板量为 1 μg；
  - 以 T7 启动子的 PCR 产物或合成的 DNA 片段为模板：PCR 扩增模板时将 T7 启动子（5'-TAATACGACTCACTATAGGG-3'）加到非编码链引物的 5' 端。PCR 产物可以不经纯化直接作为转录模板，但纯化后会产出更多的 RNA，每个反应建议模板量为 0.5 μg 左右。

2. 转录反应：按照表格推荐反应体系在洁净的 EP 管中加入各种试剂，充分混匀后于 37°C 反应 2 h。（如合成小于 300 nt 的 RNA，建议将反应时间延长至 4 h 或更长时间）。

Component	Volume
Template	0.5-1 µg
5×T7 Transcription Reaction Buffer	4 µL
25 mM NTP Mix	2 µL
T7 RNA Transcription Enzyme Mix	4 µL
Nuclease Free Water	To 20 µL

3. 反应完毕后向体系中加入 1 µL DNase I，37°C 反应 15 min，消化转录的 DNA 模板。
4. 转录合成的 RNA 经电泳分析、纯化后，可用于下游实验。
5. 转录产物定量、检测：通过紫外吸收法可以测定 RNA 浓度（游离核苷酸会影响定量的准确性，RNA 产物需要纯化）；电泳检测推荐采用 1% 甲醛琼脂糖变性胶检测，电泳液为 1×MOPS Buffer（10×MOPS Buffer：0.4 M MOPS，pH 7.0，0.1 M Sodium Acetate，10 mM EDTA）。凝胶制备方法：称取 0.5 g 琼脂糖加入 36 mL RNase-Free Water 中，加热溶化后，加入 5 mL 10×MOPS Buffer。待溶液冷却至不烫手时，加入 9 mL 甲醛溶液（37%），混匀后倒胶。电泳检测时取适量 RNA 与 RNA Loading Buffer 混合，70°C 孵育 10 min 后冰浴 2 min，全部点样。电泳结束后用 EB 或 SerRed (**ABC3624**) 染色观察。

### 注意事项

1. 人体皮肤表面含有丰富的 RNase，实验时请带好实验手套、口罩，实验耗材无菌无酶，防止 RNase 污染。
2. 如需制备标记 RNA，请替换试剂盒中的 NTP Mix。
3. 试剂盒中对照模板转录长度为 500 nt。
4. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

产品仅供科研用途，不用于临床诊断！