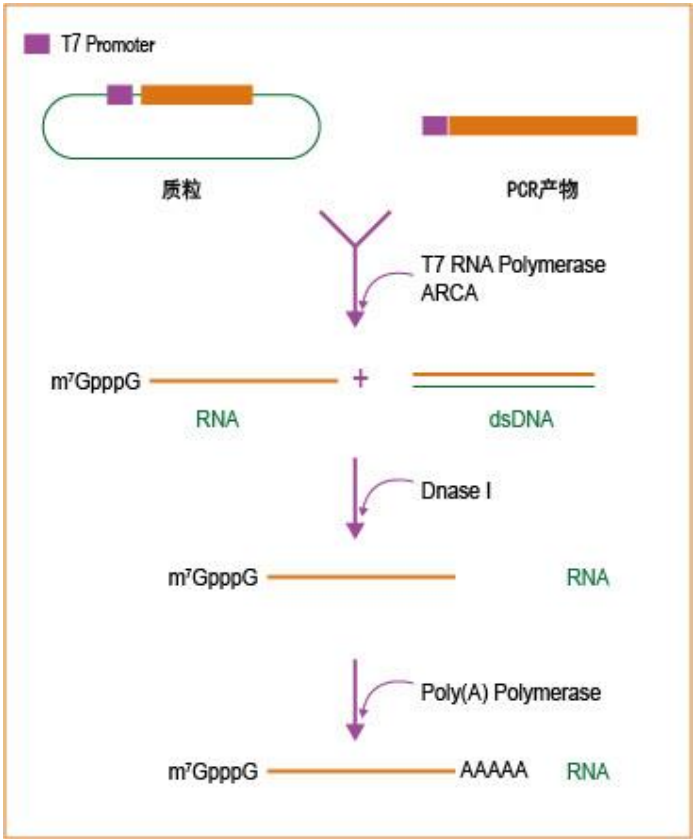


描述：大多数真核 mRNA 的高效翻译需要在 5'末端有一个 7-甲基鸟苷帽结构、3'末端有一个 Poly(A)尾。T7 ARCA 加帽加尾 RNA 合成试剂盒可以快速的体外合成带帽带尾的 mRNA。T7 RNA 聚合酶通过转录，将抗-反向帽类似物（ARCA）加到 mRNA 上。经 DNase I 短暂温育可以去除模板 DNA，并在 Poly(A)聚合酶的作用下，为加帽的 mRNA 加 Poly(A)尾。利用该试剂盒得到的 RNA 适用于多种下游应用，如 RNA 结构和功能研究、核酸酶生物化学研究、RNase 保护分析探针、印迹杂交、反义 RNA 及 RNAi 实验、微阵列分析、显微注射、体外翻译和 RNA 疫苗等。

T7 RNA 聚合酶识别 T7 promoter（TTCTAATACGA CTCACTATA**G**G）以方框中 G 碱基为起点开始转录，该试剂盒可以从少量样本得到高效转录，单次反应可获得>30 μg 的 mRNA 产物，转录长度可达 4000nt 以上。转录产物 80%以上含有 7-甲基鸟苷帽结构、Poly(A)尾长度>80nt。

原理：



组分：

名称	10T	50T
5×ARCA/NTP mix	40μL	200μL
5×T7 RNA Pol Buffer	40μL	200μL
T7 ARCA Enzyme Mix	40μL	200μL
10×EPAP Reaction Buffer	1mL	1mL
Poly(A) Polymerase	50μL	250μL
RNase Free DNase I	20μL	100μL
RNase Free H2O	1mL	1mL

保存： -20℃可保存 2 年，避免反复冻融。

操作步骤：

（1）按以下组分配制转录反应液

2×ARCA/NTP Mix	4 μl
5×T7 RNA Pol Buffer	4 μl
DNA（RNase Free）	0.1~1 μg
T7 ARCA Enzyme Mix	4 μl
RNase Free H2O To	20 μl

（2）37℃反应 1~2h，转录带帽 RNA 产量在 20~30μg。

（3）转录完毕后，向上述反应液中加入 2μL RNase Free DNase I，37℃孵育 15min 去除 DNA 模板。

（4）进行加尾反应

上述转录产物	20 μl
10×EPAP Reaction Buffer	3 μl
Poly(A) Polymerase	5 μl
RNase Free H ₂ O	22 μl

放置 37℃反应 30~60min 完成加 Poly(A)尾。

（5）反应完毕后，可电泳检测或放置-80℃保存。或选用 5min RNA Purification Kit（HaiGene，B1333）进行转录 RNA 的纯化，以去除盐、NTP、蛋白等。