

## Hi T7 高产 RNA 合成试剂盒

High-Yield T7 In vitro RNA Synthesis Kit

Cat. No.: D0602

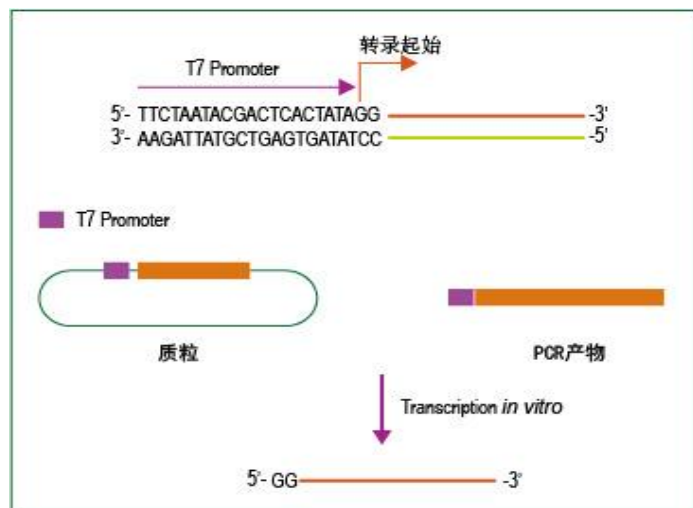
Store at: -20°C



**描述:** Hi T7 高产 RNA 合成试剂盒可在体外高效合成多种类型的 RNA 如 mRNA、lncRNA、shRNA 等。利用 Hi T7 RNA 聚合酶识别 T7 promoter(TTCTAATACGACTCACTATA[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, 单次反应可获得高达 100-120 µg 的产物, 转录长度可达 6000nt 以上。

Hi T7 高产 RNA 合成试剂盒使用方便, 使用优化好的预混液, 有利于用户快速建立反应。本试剂盒还配备了 DNase I, 在 RNA 合成完毕后, 可快速去除 DNA 模板, 便于获得高纯度转录 RNA。

### 原理:



### 组分:

名称	25T
2xHY T7 BufferMixA	250 µl
20xHY T7 EnzymeMixB	25 µl
RNase Free DNase I(2U/µL)	25 µl
RNase Free H <sub>2</sub> O	1 ml

- (1) 2xHY T7 BufferMixA 包含反应 Buffer、rNTP、Mg<sup>2+</sup>。
- (2) 20xHY T7 EnzymeMixB 包含 Hi T7 RNA 聚合酶、Rnase Inhibitor、无机焦磷酸酶等。
- (3) -20°C 保存 2 年, 反复冻融 20 次不影响性能。

### 操作步骤:

- (1) 按以下组分配制反应液

2xHY T7 BufferMixA	10 µl
DNA (RNase Free)	1~2 µg (0.35~0.7 pmol)
20xHY T7 EnzymeMixB	1 µl
RNase Free H <sub>2</sub> O upto	20 µl

注意: 关于模板摩尔量计算: 以 4kb 的酶切质粒来计算,  $1\mu\text{g} \div 340 \div 2 \div 4000 = 0.37 \times 10^{-6} \mu\text{mol}$ , 即 0.37 pmol。

- (2) 37°C 反应 1~3h, 转录 RNA 产量在 100~120 µg。

(3) 转录完毕后, 向反应液中加入 1 µl 的 RNase Free DNase I, 37°C 孵育 10min, 以去除 DNA 模板。

### 其它注意事项:

- (1) Hi-T7 RNAP, 反应温度 37~45°C, 最佳反应温度 37°C。在 45°C 反应时, 通常产量会降低 30%, 但 RNA 的二级结构会显著减少。
- (2) 推荐的转录时间, 37°C 条件下, 反应 2~3h(RNA 长度 <2knt); 1.5~2h (2knt < RNA 长度 <4knt); 1~1.5h (RNA 长度 >4knt)。过长的反应时间, 随仍能少量增加产物, 但可能会产生过多的短产物和 RNA 降解风险。
- (3) 转录产物的电泳: 取 0.1 µl 的转录产物 (约 200 ng) 加入到 6 µl 的 2xRNA Loading Buffer (货号:S2003)中, 75°C 5min 后, 加入到 1~2.5%EB 琼脂糖(0.5xTBE)即可。
- (4) 转录产物的纯化: 建议采用经典的 7.5M LiCl 溶液(货号:S2003)沉淀法, 以获得最高的回收效率。