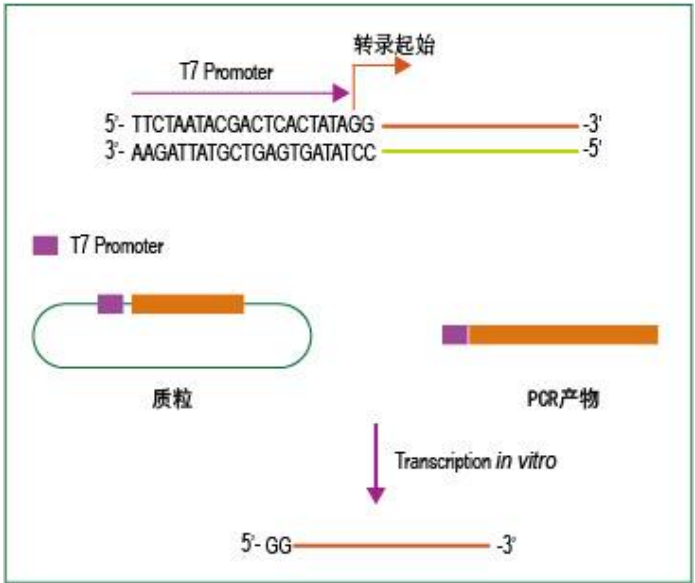


描述: Hi T7 高产 RNA 合成试剂盒可在体外高效合成多种类型的 RNA 如 mRNA、lncRNA、shRNA 等。利用 Hi T7 RNA 聚合酶识别 T7 promoter TTCTAATACGACTCACTATA^G (G) 以方框中 G 碱基为起点开始转录, 该试剂盒可以从少量样本得到高效转录, 单次反应可获得高达 150-200 µg 的产物, 转录长度可达 4000nt 以上。

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。

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
2×Hi T7 Trans Solution	250 µl
Hi T7 Trans Enzyme Mix	37.5 µl
RNase Free DNase I(2U/µL)	50 µl
10xRD Buffer	100 µl
RNase Free H ₂ O	1 ml

- (1) 2×Hi T7 Trans Solution 中包含反应 Buffer、rNTP。
(2) T7 Trans Enzyme Mix 中包含 Hi T7 RNA 聚合酶、Rnase Inhibitor 等。

保存:

-20℃可保存 2 年, 避免反复冻融。

操作步骤:

- (1) 按以下组分配制反应液

2×Hi T7 Trans Solution	10 µl
DNA (RNase Free)	0.5~1 µg
Hi T7 Trans Enzyme Mix	1.5 µl
RNase Free H ₂ O upto	20 µl

- (2) 37℃反应 4h, 转录 RNA 产量在 120~200 µg。

(3) 转录完毕后, 向反应液中加入 2.5 µl 的 10xRD Buffer 和 2 µl 的 RNase Free DNase I, 37℃孵育 15min, 以去除 DNA 模板。

(4) 整个反应完毕后可取 0.05~0.1 µl 转录产物进行电泳检测, 并冻存于-80℃保存。选用 LiCl 沉淀纯化或 5min RNA Purification Kit (HaiGene, B1333) 进行转录 RNA 的纯化, 以去除盐、rNTP、蛋白等。