

Instrukcja

T7 polimeraza RNA

Rekombinowana polimeraza RNA faga T7. Stężenie 20 U/ μ l.

numer katalogowy	wielkość
1014-5	5000 U

Produkt przeznaczony wyłącznie do badań naukowych.

Gwarancja

Firma A&A Biotechnology udziela gwarancji na niniejszy produkt.

Firma nie gwarantuje poprawnego działania produktu w przypadku:

- odstępstwa od dostarczonego wraz z produktem protokołu
- braku zalecanego w niniejszym protokole wyposażenia i materiałów
- użycia innych odczynników niż zalecane lub które nie wchodzą w skład produktu
- użycia przeterminowanych odczynników oraz elementów produktu

Opis

T7 polimeraza RNA jest rekombinowanym enzymem produkowanym przez szczep *E.coli* zawierający plazmidowe DNA z wklonowanym genem polimerazy RNA bakteriofaga T7.

Jest DNA-zależną polimerazą RNA. Enzym katalizuje syntezę RNA w kierunku 5'-3' na matrycy ssDNA lub dsDNA.

Enzym jest bardzo specyficzny w stosunku do promotora - transkrypcja zachodzi tylko z promotora T7.

Zastosowanie

T7 polimeraza RNA jest wykorzystywana do syntezy nieznakowanego i znakowanego RNA, które może mieć zastosowanie m.in.

- jako sondy hybrydazyjne
- do translacji RNA *in vitro*
- do mapowania genomowego DNA
- do transkrypcji *in vitro* i tzw. wysoce wydajnej transkrypcji *in vitro*

Skład

	1014-5	przechowywanie
T7 polimeraza RNA	5000 U (20 U/ μ l)	-20 °C
bufor doT7	1 x 1,25 ml	-20 °C

5x bufor do transkrypcji:
1M HEPES-KOH, pH 7,6, 150 mM Mg(CH₃COO)₂, 200 mM DTT

Dodatkowy sprzęt i odczynniki

Niezbędne

- NTPs

Opcjonalne

- inhibitor RNAz (nr kat. 037-25, 037-100, 037-1000)
- woda ultraczysta

Proponowany protokół transkrypcji RNA *in vitro*

1. Całkowicie rozmrozić i wymieszać wszystkie komponenty niezbędne do nastawienia reakcji. Krótko zwirować.
2. Dodać kolejno:

składnik	objętość reakcji
	20 μ l
DNA zlinearyzowane i oczyszczone	50-200 ng
mieszanina NTPs	2 mM każdego
bufor do T7i	4 μ l
T7 polimeraza RNA	10-20 U
inhibitor RNAz (opcjonalnie)	10-20 U
woda ultraczysta	uzupełnić do 20 μ l

3. Reakcję należy prowadzić przez 1-2 godz. w temp. 37 °C.

Uwagi

- Opcjonalnie, w celu usunięcia śladów DNA po zakończeniu reakcji, można dodać po 1-2 U DNAzy (nr kat. 1009-10). Inkubować przez 15 min w temp. 25 - 37 °C. Następnie, w celu inaktywacji DNAzy, rekomendujemy doczyszczanie RNA zestawem Clean-Up RNA Concentrator (nr kat. 039-25C, 039-100C).
- Enzym może być również używany do tzw. wysoce wydajnej transkrypcji *in vitro*. Do mieszaniny reakcyjnej należy dodać większą ilość NTP mix (5 mM każdego NTPs) i pirofosfatazę (0,1-0,3 U).
- Wydajność transkryptów odpowiedniej długości ulega obniżeniu przy użyciu niecałkowicie zlinearyzowanego DNA.
- W celu ograniczenia kontaminacji RNAzami, należy używać jednorazowych wolnych od RNAz materiałów zużywalnych, używać jednorazowych rękawiczek, oczyścić powierzchnię laboratoryjną odpowiednim środkiem, np. LabZAP (nr kat. 040-500).



A&A BIOTECHNOLOGY
innovating life science

A&A Biotechnology, ul. Strzelca 40, 80-299 Gdańsk
tel. 883 323 761, 600 776 268
info@aabiotech.com, www.aabiotech.com

wersja 2023-2

