

**Product Name: T7 RNA体外转录试剂盒 (Cy5)**
*Item No.: MED15422*

Size: 25 T

Storage: -20°C

**产品说明**

本试剂盒用于体外转录产生带有FITC或Cy3或Cy5等修饰RNA探针，获得的RNA探针适合原位杂交，Northern blot杂交，RNA蛋白相互作用。可以适当渗入FITC/Cy3/Cy5/DIG/Bio等，标记效率已优化。修饰后的RNA探针可通过光谱仪检测。

**主要组成**

Cat. No	Product Name	Size	Number	Store
	<b>T7 RNA 聚合酶 Buffer (10X)</b>	50ul	1	-20°C
	<b>T7 RNA 聚合酶</b>	50ul	1	-20°C
	<b>NTP Mix (Cy5)</b>	200ul	1	-20°C
	<b>DNA 质控模板</b>	5ul	1	-20°C
	<b>RNase Inhibitor</b>	25ul	1	-20°C
	无核酸酶水	1ml	1	-20°C

**DNA 模板获得**

DNA 模板可以是质粒 DNA、寡核苷酸退火双链、PCR 产物或 cDNA 等等。

DNA 模板必须是线性的，包含转录起始位点的 T7 RNA 聚合酶启动子序列。

## 实验操作

---

(1) 模板准备:

- 1)添加T7 启动子序列，引物扩增目的基因片段（我公司可以提供）。
- 2)寡核苷酸退火提供PCR片段（我公司可以提供）。
- 3)cDNA合成的制备的模板。
- 4)务必将需要带有T7启动子序列引入的基因组序列。

(2) 戴好手套，口罩，冰上操作，按以下顺序配制反应混合液；

10× Buffer	2ul
NTP Mix (Cy5)	8ul
DNA模板	0.2-1ug
RNase Inhibitor	1ul
T7 RNA聚合酶	2ul
无核酸酶水	Xul,Add to 20ul
Total	20ul

(3) 用枪头轻轻混匀，在37° C条件下孵育1-2小时；对小短片段，需要孵育4小时；

(4) 胶回收纯化合成的RNA、或乙醇沉淀纯化的RNA，可凝胶电泳检测转录产物；

(5) 荧光效率标记和浓度可以通过光谱仪或核酸检测仪。

---