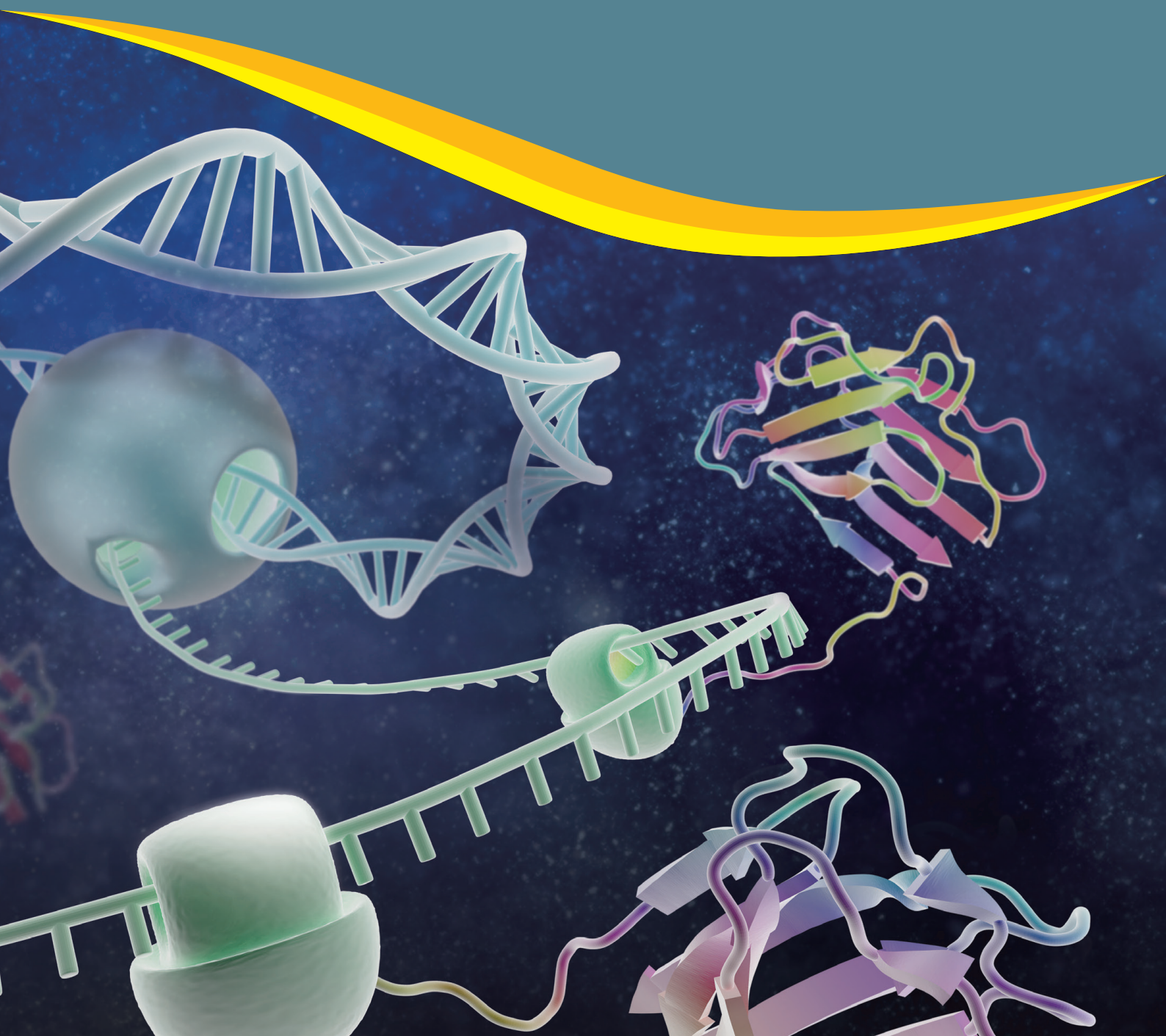


体外转录解决方案

Solutions for In Vitro Transcription



Content

目 录

1. 体外转录技术介绍 3

- 体外转录基本概念.....3
- 体外转录流程简图.....3
- 体外转录应用3

2. RNA 合成完整系统 4

- 产品选择指导表5
- 小规模转录系统6
- 中规模转录系统7
- 大规模转录系统8
- siRNA, dsRNA 合成系统 10

3. 组分类产品 11

- 对照载体 12
- 核糖核苷酸 12
- 克隆载体 12
- 加帽系统 13

4. RiboMAX™ 体外转录系统最新应用进展 14

- RNA 与人类疾病相关蛋白质相互作用研究 14
- RNA 与植物发育中蛋白的相互作用研究 14
- Leigh 综合征的 mRNA 治疗研究 14
- 指导 RNA 进行 CRISPR 基因编辑 14
- cDNA 文库的制备 14
- 病毒 RNA 结构和功能研究 15
- RNAi 疗法的发展研究 15
- 病毒 RNA 的接种研究 15
- 用于实时 qPCR 检测的 RNA 标准品 15

体外转录

In Vitro Transcription (IVT)

体外 RNA 合成是指使用噬菌体 DNA 依赖性 RNA 聚合酶 (如 T7、T3 或 SP6 RNA 聚合酶) 从 DNA 模板合成 RNA。用于体外转录反应的模板 DNA 包括目的序列上游的 RNA 聚合酶启动子。体外转录系统模板选项包括质粒、PCR 产物、寡核苷酸及 cDNA 等含有对应启动子的线性化 DNA 模板。相应的 RNA 聚合酶用于产生合成 RNA 转录物, 用作杂交探针、体外翻译应用的模板或结构研究 (X 射线晶体学和 NMR)。

体外转录操作流程

IVT Procedure

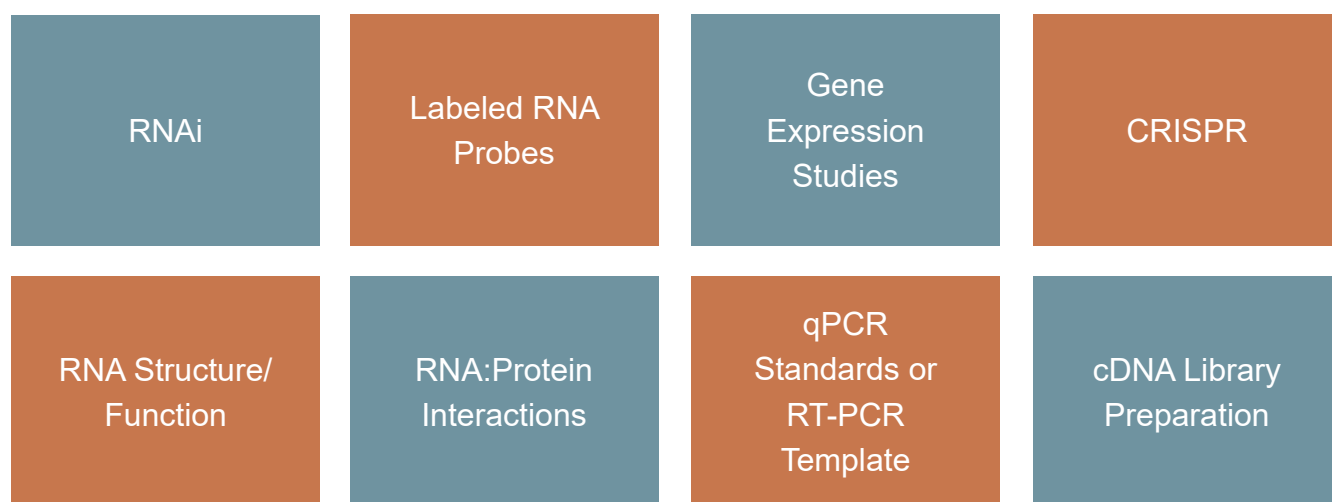


合成 RNA 转录产物也用于研究细胞 RNA 在剪接、RNA 加工、细胞内运输、病毒感染性和翻译等过程中的功能。

Promega 的体外转录产品包括 RNA 合成系统、核糖核苷酸、克隆载体和用于转录、引物延伸和基因表达研究的支持产品。

体外转录下游应用

Downstream Applications



RNA 合成系统

Promega 提供多种性能经过长时间验证的 RNA 合成试剂盒系统：

Riboprobe® 系统用于从克隆的 DNA 插入物中合成高比活性单链 RNA 探针或微克数量的确定 RNA 转录产物。

RiboMAX™ RNA 生产系统产生大量适合于体外或体内翻译反应的加帽或未加帽 RNA 转录物。

T7 RiboMAX™ 快速大规模 RNA 生产系统是一种体外转录系统，旨在在短时间内连续生产大量 RNA。使用该试剂盒已经产生了高达 14kb 的高质量 RNA 转录物。

体外转录可分为小规模转录反应和大规模转录反应：

小规模转录反应可制备用于印迹杂交和核酸酶保护实验的放射性同位素标记及非同位素标记的 RNA 探针，还可合成含修饰核苷酸的 RNA 转录本，以用于各种生物化学和分子生物学研究。

大规模转录反应可用于 aRNA 扩增、表达研究（显微注射、病毒转录本感染、体外翻译等）、结构分析（蛋白-RNA 结合）以及机制研究（核糖酶分析）等领域。

• RNA 合成系统选择指导表.....	5
• Riboprobe® System 和 Riboprobe® Combination Systems	6
• RiboMAX™ Large Scale RNA Production Systems	7
• T7 RiboMAX™ Express Large Scale RNA Production System	8
• RiboMAX™ AOF RNA Production System	9
• T7 RiboMAX™ Express RNAi System	10

Promega 体外转录系统产品选择指导

Promega 提供丰富的体外转录系统，可合成 mRNA、rRNA、tRNA、miRNA、哺乳动物和非哺乳动物 siRNA、RNA 探针等；满足您对体外合成 RNA 的多种需求。

	Riboprobe® in vitro Transcription Systems	RiboMAX™ Large Scale RNA Production Systems SP6/ T7	T7 RiboMAX™ Express Large Scale RNA Production System	T7 RiboMAX™ Express RNAi System	RiboMAX™ AOF RNA Production System 
目录号	P1420, P1430, P1440,P1450, P1460	P1280, P1300	P1320	P1700	P2000
组分提供形式	单独组分	单独组分	预混液	预混液	单独组分
模板类型	线性化 DNA	线性化 DNA	线性化 DNA	线性化 DNA	线性化 DNA
RNA 产量 (每 1ml 反应)	低 (100-250ug)	中等 (2-5mg)	高 (5-8.5mg)	≥500ug siRNA ≥2mg dsRNA	高 (>5mg)
合成产物长度		21bp~27.3kb	21bp~27.3kb	21 bp siRNA 200-2000 bp dsRNA	未测试
反应时间	1 小时	2-4 小时	30 分钟	30 分钟	1 小时
主要应用	- 放射性标记的高特异活性 RNA 探针 - 制备反义 RNA	- 加帽或不加帽 RNA 合成 - 在体外合成 tRNA、rRNA、RNA 病毒基因组或核糖体 - RNA 剪切、RNA 二级结构、反义 RNA 和 RNA: 蛋白相互作用的研究 - 合成长 RNA，作为非哺乳动物的 RNA 干扰	不加帽 RNA 合成	- 用于 RNA 干扰 - 合成双链 RNA	- RNA 疗法开发 - 翻译与表达研究 - 标准品与对照 RNA 生产 - RNA 病毒与传染病模型 - RNA- 蛋白质相互作用研究
加帽反应	✓	✓	✗	✗	✓
放射性标记	✓	✗	✗	✗	✗
T3 启动子	✓	✗	✗	✗	✗
SP6 启动子	✓	✓	✗	✗	✗
T7 启动子	✓	✓	✓	✓	✓
预混 rNTP	✗	✗	✓	✓	✗
与修饰的核苷酸兼容	未测试	✓	兼容，但需要定制不含核苷酸的转录缓冲液		未测试
AOF/cGMP 试剂	✗	✗	✗	✗	✓
包含 IVT 优化指南	✗	✗	✗	✗	✓

Note: 需要合成加帽 RNA 均需单独购买加帽系统

Riboprobe[®] System 和 Riboprobe[®] Combination Systems

小规模转录

微克级 RNA

Riboprobe[®] Systems 和 Riboprobe[®] Combination Systems 均用于以克隆的 DNA 插入片段为模板，在体外制备高特异活性的单链 RNA 探针或微克级的特定 RNA 转录子。

Riboprobe[®] Systems 包含所有以 DNA 为模板进行体外转录反应所需要的必需组分（放射性同位素除外），还含有 RQ1 RNase-Free DNase(Cat.# M6101, RQ1 无 RNA 酶的 DNA 酶)，用于在转录后去除模板。

Riboprobe[®] Combination Systems 含有 RNA 聚合酶以及体外转录反应需要的所有试剂（放射性同位素除外），一个试剂盒中同时包含 T3/T7 或 T7/SP6 RNA 聚合酶，还含有 RQ1 RNase-Free DNase(Cat.# M6101, RQ1 无 RNA 酶的 DNA 酶)，用于在转录后去除模板。

特点

- **特异性高：** SP6、T7 和 T3 RNA 聚合酶具有高启动子特异性，可以以质粒 DNA 为模板。
- **酶的选择：** 系统提供 SP6 RNA 聚合酶、T7 RNA 聚合酶或 T3 RNA 聚合酶。
- **方便：** 包含与 T7、T3 或 SP6 RNA 聚合酶一起使用的阳性对照模板，DNase I 用于去除 DNA 模板和重组 RNasin[®] RNA 酶抑制剂。

注：如需构建加帽转录产物需单独购买 Ribo m7G Cap Analog (Cat. P1711 或 P1712)。

应用文献

- A highly specific Escherichia coli qPCR and its comparison with existing methods for environmental waters. *Water research*. 2017
- Altered regulation of Nur77 nuclear receptor gene expression in the mesocorticolimbic regions of rat brain by amphetamine sensitization. *Brain research*. 2018
- Tissue stiffening coordinates morphogenesis by triggering collective cell migration in vivo. *Nature*. 2018

订购信息

试剂盒	规格	目录号
Riboprobe [®] System-SP6	1 each	P1420
Riboprobe [®] System-T3	1 each	P1430
Riboprobe [®] System-T7	1 each	P1440
Riboprobe [®] Combination System-T3/T7 RNA Polymerase	1 each	P1450
Riboprobe [®] Combination System -SP6/T7 RNA Polymerase	1 each	P1460
组分		
Riboprobe [®] System Components and Buffers	1 system	P1121

RiboMAX™ Large Scale RNA Production Systems

不加帽或不加帽 RNA*

2-5mg/ml 产量

RiboMAX™ Large Scale RNA Production Systems 在 1ml 的反应中能够制备 2-5mg/ml 的 RNA，产量稳定，大约是常规 Riboprobe® 系统转录反应制备 RNA 的 10-20 倍。

RiboMAX™ 系统反应与 Riboprobe® 系统的基本区别有三方面：

- 使用 HEPES (pH 7.5) 缓冲液而不是 Tris-HCl (pH 7.9) 缓冲液；
- rNTP 和镁离子的浓度提高到既适合 SP6 也适合 T7 RNA 聚合酶的水平；
- 反应中还加入了无机焦磷酸酶。

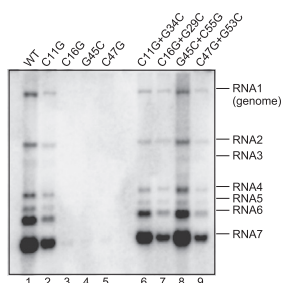
在兔网织红细胞体外翻译系统中，使用 RiboMAX™ 系统合成的 RNA 比常规方法合成的 RNA 获得的体外翻译结果要好。它减少了对翻译有抑制作用的组分，从而更适合要求具有生物活性的 RNA 的实验应用。由于 RiboMAX™ 系统能够制备大量 RNA，因此不建议用此系统来制备具有高特异活性的 RNA 探针。

* 注：如使用 RiboMAX™ Large Scale RNA Production Systems 构建加帽转录产物需单独购买 Ribo m7G Cap Analog (Cat. P1711 或 P1712)。

特点

- 灵活：系统可用于 SP6 和 T7 RNA 聚合酶。
- 反应体系可调：反应规模可放大或缩小，以适应不同产量 RNA 的制备需要。
- 高质量：合成高质量的翻译级 RNA。

应用举例：体外转录获得有活性的 RNA 病毒，可感染细胞



体外转录获得重组 HCoV-229E (WT) 和 HCoV-229E SL1 and SL2 突变体病毒 RNA，并感染 Hu-7 细胞。并使用 Northern blot 检测不同情况感染细胞培养物上清中的病毒 RNA。

应用文献

- A mitochondrial protein affecting lifespan and oxidative stress response in *Drosophila*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* .2006
- Recapitulation of short RNA-directed translational gene silencing in vitro. *Mol. Cell* .2006
- Protein protects functionally sterile honey bee workers from oxidative stress. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* . 2006

订购信息

试剂盒	规格	目录号
RiboMAX™ Large Scale RNA Production System–SP6	1 system	P1280
RiboMAX™ Large Scale RNA Production System–T7	1 system	P1300

T7 RiboMAX™ Express Large Scale RNA Production System

不加帽 RNA

5-8.5mg/ml 产量

T7 RiboMAX™ Express Large Scale RNA Production System 是为在短时间内稳定表达毫克级 RNA 而设计。由于优化了酶混合液和转录缓冲液，30 分钟内 RNA 产量可达 5-8.5mg/ml。为了尽量减少移液的次数和误差，在 2× 转录缓冲液中就包括了所有四种 rNTP。另外，系统还包含 RQ1 RNaseFree DNase (RQ1 无 RNA 酶的 DNA 酶)，用于转录后除去质粒模板。

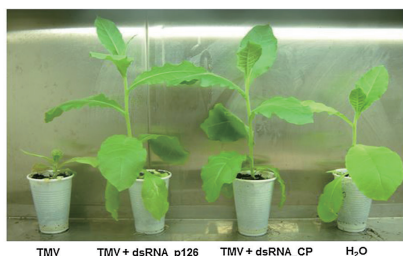
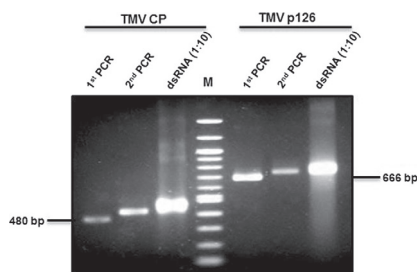
由于 2× 缓冲液和四种 rNTP 已经混合在一起，我们不建议用 T7 RiboMAX™ Express System 合成需要加帽的 RNA。

注：如要合成加帽 RNA，请选择 RiboMAX™ Large Scale RNA Production System-T7 (Cat.# P1300 或 P1280)，同时购买 Ribo m7G Cap Analog (Cat. P1711 或 P1712)。

特点

- **快速：** T7 RiboMAX™ Express System 仅需 30 分钟就能制备出毫克级 RNA，而其它同类产品需要 2-4 小时。
- **方便：** 四种 rNTP 和 2× 转录缓冲液已经混合好，可减少移液误差和实验时间。
- **灵活：** 有效转录各种大小的 DNA 模板。转录子可短至 21bp。

应用举例：合成植物病毒基因对应的 dsRNA



左图：

应用 T7 RiboMAX™ Express Large Scale RNA Production System 合成烟草花叶病毒 (TMV) p126 和 CP 基因为模板的 dsRNA，并注入实验用烟草植物，接种 TMV+dsRNA 的植物比感染 TMV 或加水的植物产生的生物总量更多。

应用文献

- AMD1 mRNA employs ribosome stalling as a mechanism for molecular memory formation. *Nature*. 2018
- Exogenous application of double-stranded RNA molecules from TMV p126 and CP genes confers resistance against TMV in tobacco. *Planta*. 2016
- Structural and functional conservation of cis-acting RNA elements in coronavirus 5'-terminal genome regions. *Virology*. 2017
- Chromosome biorientation produces hundreds of piconewtons at a metazoan kinetochore. *Nature communications*. 2016
- Gene silencing of VP9 gene impairs WSSV infectivity on *Macrobrachium rosenbergii*. *Virus research*. 2016
- SEC14L2 enables pan-genotype HCV replication in cell culture. *Nature*. 2015

订购信息

产品	规格	目录号
T7 RiboMAX™ Express Large Scale RNA Production System	1 system	P1320

RiboMAX™ AOF RNA Production System NEW

无动物源成分 (AOF)

符合 cGMP 标准

用于 RNA 治疗药物

无动物源成分的体外转录，专用于从研究到生产规模的 RNA 合成（如 RNA 治疗药物）

适用于 RNA 治疗药物开发与生产的体外 RNA 合成，不仅需要高效且可扩展的反应体系，还需能够针对每个 RNA 靶标优化产量和纯度。从研究、早期开发到商业化生产，最大化反应性能同时最小化变异性，这对成功至关重要。

RiboMAX™ AOF RNA Production System 专为满足这些需求而设计。其特点包括采用无动物源成分 (AOF)、符合 cGMP 标准的组分，可实现稳健且可扩展的 RNA 体外转录 (IVT)。该系统提供标准 IVT 方案及反应优化指南，使您能够灵活调整反应条件以适应 RNA 靶标，既最大化产量又减少杂质（如双链 RNA）。

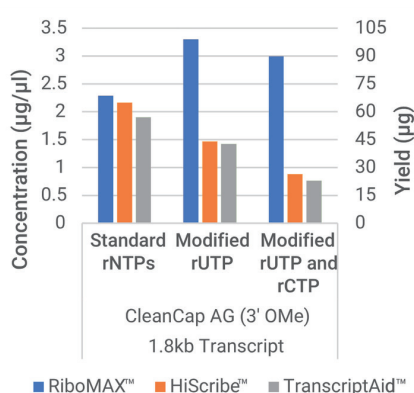
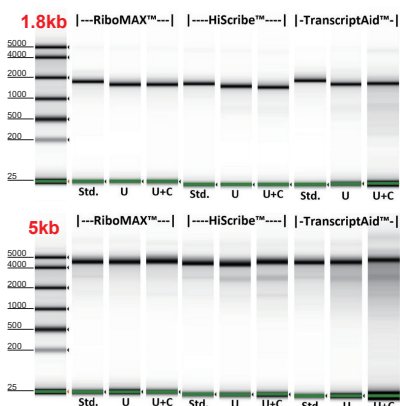
特点

- 可扩展的反应条件，可靠地生产高质量 RNA
- 以共转录模式掺入标准或修饰的核苷酸及帽类似物
- 无动物源成分生产 - 采用无动物源成分的制造工艺和原材料。
- 污染检测 - 降低可能影响体外转录产物产量和质量的污染物相关风险。
- 质量文件 - 根据要求提供分析证书、原产地证书及 TSE/BSE 声明。

Research Use	cGMP for mRNA Therapeutics
✓	Function/Activity
✓	Animal Origin Free
✓	Contamination Testing For:
✓	Nucleases
✓	Bioburden
✓	Host Cell DNA
✓	Endotoxin
✓	Documentation Available Upon Request:
✓	Certificate of Analysis
✓	Certificate of Origin
✓	TSE/BSE Statement

应用举例：大规模体外转录试剂盒比较

分别使用 RiboMAX™ Large Scale RNA Production System-T7、HiScribe™ T7 High Yield RNA Synthesis Kit 和 TranscriptAid™ T7 High Yield Transcription Kit 合成 1.8kb 萤光素酶转录本和 5kb runoff 转录本——转录本包含标准核苷酸 (Std.)、N1- 甲基假尿苷三磷酸 (U) 以及 N1- 甲基假尿苷三磷酸 +5- 甲基 -CTP (U+C)。按照说明书使用 CleanCap® Reagent AG (3' OMe) 进行共转录加帽。



左图：将转录产物用无核酸酶水 1:100 稀释后，使用 RNA ScreenTape 检测进行分析。显示各试剂盒合成转录本的凝胶电泳图。条带强度按每泳道最高峰进行归一化（按每个样品自身比例缩放）。

右图：使用柱式 RNA 纯化试剂盒纯化 1.8kb 转录本，并通过 QuantiFluor® RNA System (目录号 E3310) 进行定量。显示纯化后 1.8kb 转录本的浓度和产量数据。

订购信息

产品	规格	目录号
RiboMAX™ AOF RNA Production System	1 system	P2000

T7 RiboMAX™ Express RNAi System

siRNA、dsRNA 合成

毫克级 RNA

T7 RiboMAX™ Express RNAi System 为短时间内产生毫克级的双链 RNA(dsRNA) 而设计，其制备的 dsRNA 中不含蛋白和其它成分的污染，适合于哺乳动物和非哺乳动物系统的 RNA 干扰 (RNAi) 研究。可用于合成哺乳动物系统实验中的 21bp 的短干扰 RNAs(siRNAs)。体外合成的 siRNAs 已被证明能够与化学合成的 siRNAs 一样有效，均可在哺乳动物细胞中诱导 RNA 干扰。此外，此系统还可合成将近 200bp 或更长的 dsRNA 分子，产物可被应用于非哺乳动物系统。两条互补的 RNA 链是以 DNA 为模板来合成的（模板可以是质粒或 PCR 产物）。产生的 RNA 链在转录反应后退火形成 dsRNA。反应中残存的单链 RNA 和 DNA 模板会以核酸酶消化去除。然后以异丙醇沉淀来纯化 dsRNA，得到的 dsRNA 可用于选择进行 RNAi 实验的生物体。

特点

- **节省时间：**可在 30 分钟内产生毫克级 RNA。
- **将移液的误差减至最低：**4 种 rNTPs 和 2X 转录缓冲液已经混合，可将移液误差和组装反应组分的时间减到最小。
- **经验证的性能：**数千篇文献应用。

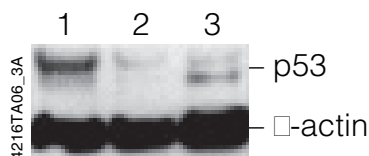
应用举例：siRNA 合成及 siRNA 功能验证



左图：天然聚丙烯酰胺凝胶电泳显示化学合成或体外转录法获得的 siRNA。

1. 10bp DNA ladder (G4471)
2. 21bp 化学合成 Renilla siRNA (Dharmacon)
3. 21bp Renilla siRNA, T7 RiboMAX™ Express RNAi System 合成
4. 21bp 的 p53 siRNA, T7 RiboMAX™ Express RNAi System 合成
5. 49nt Renilla shRNA (19bp 双链, 9nt 核苷酸环, 2-U 3' 突出端), T7 RiboMAX™ Express RNAi System 合成

注意：siRNA 迁移比双链 DNA 慢。



左图：293T 细胞中，siRNA 可抑制细胞内源 p53 的表达。

1. 对照 scrambled siRNA
2. p53 siRNA, T7 RiboMAX™ Express RNAi System 合成
3. p53 siRNA, 化学合成。

应用文献

- Juvenile Hormone Activates the Transcription of Cell-division-cycle 6 (Cdc6) for Polyploidy-dependent Insect Vitellogenesis and Oogenesis. *J Biol Chem.* 2016
- The C. elegans SoxC protein SEM-2 opposes differentiation factors to promote a proliferative blast cell fate in the postembryonic mesoderm. *Development.* 2011
- Control of coleopteran insect pests through RNA interference. *Nature Biotechnology.* 2007

订购信息

产品	规格	目录号
T7 RiboMAX™ Express RNAi System	50 × 20μl	P1700

系统组分产品

Promega 除了提供多种性能卓越的 RNA 合成试剂盒系统，同时还提供系统的组分类产品，包括核糖核苷酸、克隆载体和用于转录、引物延伸和基因表达研究的支持产品。

- 系统组分列表 11
- 加帽系统介绍 12

系统组分产品列表

组分功能	产品	规格	目录号
加帽系统	Ribo m7G Cap Analog	10 A254 units	P1711
		25 A254 units	P1712
阳性对照模板	pGEM [®] Express Positive Control Template	10ug	P256
核糖核苷酸	rATP, 10mM	0.5ml	P113
	rCTP, 10mM	0.5ml	P1142
	rGTP, 10mM	0.5ml	P1152
	rUTP, 10mM	0.5ml	P1162
	rATP, 100mM	400μl	E6011
	rUTP, 100mM	400μl	E6021
	rGTP, 100mM	400μl	E6031
	rCTP, 100mM	400μl	E6041
	rATP, rCTP, rGTP, rUTP, each at 10mM in separate tubes	4X0.5ml	P1221
	rATP, rCTP, rGTP, rUTP, each at 100mM in separate tubes	4X400ul	E6000
	pGEM [®] -3Z Vector	20μg	P2151
	pGEM [®] -4Z Vector	20μg	P2161
	pGEM [®] -5Zf(+) Vector	20μg	P2241
	pGEM [®] -7Zf(+) Vector	20μg	P2251
	pGEM [®] -3Zf(-) Vector	20μg	P2261
	pGEM [®] -3Zf(+) Vector	20μg	P2271
	pGEM [®] -T Easy Vector System I	20 reactions	A1360
	pGEM [®] -T Vector System I	20 reactions	A3600
	pGEM [®] -T Vector System II	20 reactions	A3610

Ribo m7G Cap Analog

加帽系统

配套 Riboprobe® 和 RiboMAX™ 系统

Ribo m7G Cap Analog 是经过修饰的、具有 (m7G(5')ppp(5')G) 结构的核糖核酸。这种甲基化的核糖核酸可以掺入到体外合成转录子的 5' 末端，并模仿大多数真核 mRNA 分子中的 7- 甲基鸟嘌呤 5' 帽子结构。

特点

- **促进翻译：** 提高许多基于网织红细胞反应的翻译效率。
- **高效：** 阻止 RNA 在细胞内降解。
- **灵活：** 可用于 Riboprobe® Systems 或 RiboMAX™ Large Scale RNA Production Systems。

应用文献

- Identification of G-quadruplexes in long functional RNAs using 7-deazaguanine RNA. *Nature Chemical Biology*. 2017
- Evidence for different, host-dependent functioning of Rx against both wild-type and recombinant Pepino mosaic virus. *Molecular plant*. 2016
- A pathogenicity determinant maps to the N-terminal coat protein region of the Pepino mosaic virus genome. *Molecular plant*. 2015
- Sperm-derived WW domain-binding protein, PAWP, elicits calcium oscillations and oocyte activation in humans and mice. *The FASEB Journal*. 2014

订购信息

产品	规格	目录号
Ribo m7G Cap Analog (40 mM)	10 A ₂₅₄ units	P1711
	25 A ₂₅₄ units	P1712

RiboMAX™ 体外转录系统最新应用进展

1. RNA 与人类疾病相关蛋白质相互作用

文献：Cis- and trans-regulations of pre-mRNA splicing by RNA editing enzymes influence cancer development. *Nature Communications*, 2020

研究目的：生物体内的 mRNA 通过 RNA 编辑和剪接进行调控。如果这些过程中发生错误，则会引起蛋白表达改变或 RNA 突变，从而导致神经系统疾病、癌症或其他疾病。为了了解这些过程，往往需要通过使用经过标记的 RNA 探针，如 RNA 电泳迁移率变动分析（REMSA），来研究蛋白质和 RNA 之间的相互作用。Tang 等人利用大规模体外转录系统生产经过标记的 RNA 探针，研究 RNA 编辑和剪接机制之间的串扰及在癌症中的作用。

应用产品：RiboMAX™ Large Scale RNA Production System

实验结论：作者利用经过标记的 RNA 探针，通过 REMSA 和体外 UV 交联检测证实了蛋白质和 RNA 之间的相互作用。

2. RNA 与植物发育中蛋白的相互作用

文献：PbTTG1 forms a ribonucleoprotein complex with polypyrimidine tract-binding protein PbPTB3 to facilitate the long-distance trafficking of PbWoxT1 mRNA. *Plant Science* 2019

研究目的：嫁接是一种园艺技术，将一种植物的芽或枝条与另一种植物的砧木连接，引起表型变化，产生味觉或抗病性的变化。产生这种效应的部分原因是在嫁接物间长距离转移 mRNAs 从而调节植物生长。RNA 结合蛋白及其所形成的核糖核蛋白（RNP）复合物可促进 mRNAs 的转移。为了更详细地研究 RNP 复合体，Wang 等人使用体外转录方法制备经过生物素标记的 mRNA，用目标 RNA 结合蛋白（RBP）进行 REMSA。

应用产品：T7 RiboMAX™ Express Large Scale RNA Production System

实验结论：当 mRNA 结合一个以上的 RNP 时，RNP 复合体的稳定性增加，RNP 的不同组合也会影响稳定性。

3. Leigh 综合征的 mRNA 治疗研究

文献：Validation of a mitochondrial RNA therapeutic strategy using fibroblasts from a Leigh syndrome patient with a mutation in the mitochondrial ND3 gene. *Nature Scientific Reports*, 2020

研究目的：Leigh 综合征是一种可导致精神和运动技能丧失的遗传性神经退行性疾病，患者通常在几岁时即死亡。导致这种疾病的遗传因素很多，其中之一就是线粒体 DNA 的突变。Yamada 等人使用体外转录系统研究 mRNA 作为线粒体 DNA 相关 Leigh 综合征治疗药物的潜在可能性。

应用产品：RiboMAX™ Large Scale RNA Production System

实验结论：作者发现，包裹在脂质体载体中的体外转录 mRNA 减少了病变细胞线粒体中的突变 RNA 数量。

4. 指导 RNA 进行 CRISPR 基因编辑

文献：CRISPR/Cas9-mediated precise genome modification by a long ssDNA template in zebrafish. *BMC Genomics*, 2020

研究目的：为了进行 CRISPR/Cas9 基因编辑，需要一种引导 RNA（gRNA）将 Cas 蛋白“引导”到所需的 DNA 修饰位点。体外转录正在成为创建这些引导 RNA 的常见选择。如有需要，客户可以轻松地将 DNA 模板克隆到 PCR 克隆载体，如 pGEM® -T Easy，或任何其他选定的载体。Bai 等人利用体外转录系统生产长 gRNAs 以测试一种新的 CRISPR/Cas9 介导的基因组编辑方法，该方法可用于在斑马鱼中引入精确突变。使用长单链 DNA 模板的新方法，能够更高效地引入准确的点突变，并可在斑马鱼中建立人类疾病模型。

应用产品：T7 RiboMAX™ Express Large Scale RNA Production System

5. cDNA 文库的制备

文献：Next-generation sequencing coupled with a cell-free display technology for high-throughput production of reliable interactome data. *Nature Scientific Reports*, 2012.

研究目的：互补 DNA（cDNA）文库可用于研究基因表达和蛋白质的相互作用，使客户能够寻找新的基因。cDNA 文库常用于在原核宿主中研究真核基因和蛋白质。如需制备 cDNA 文库，客户要从 mRNA 开始。获得这种 mRNA 的一种方法是通过生物体或特定目标基因的体外转录，然后再进行逆转录以创建 cDNA 文库。体外转录允许客户选择目标基因组的特定片段或序列，故优于其他方法。Fujimori 等人开发了一种结合二代测序（NGS）的高通量无细胞 mRNA 显示方法，用于探索蛋白质相互作用组网络。使用体外转录系统生成的 mRNA 可用于制备无细胞方法的 cDNA 文库。

应用产品：RiboMAX™ Large Scale RNA Production System (SP6)

6. 病毒 RNA 结构和功能研究

文献：Structural and functional conservation of cis-acting RNA elements in coronavirus 5'-terminal genome regions. *Virology*, 2018.

研究目的：已知 6 种冠状病毒中的 4 种可引起世界各地的普通感冒。其中，严重急性呼吸综合征（SARS）和中东呼吸综合征（MERS）病毒可引起严重的、致死性疾病。

利用体外转录系统，Madhugiri 等人转录出大量的、高质量的人冠状病毒 RNA，用于引物延伸的 RNA 结构探测。这使得他们能够分析和可视化 RNA 二级结构。采用突变的病毒 DNA 进行的生物信息学和体内实验，他们确定了病毒复制所需的三个茎环结构，并且这些结构在种属间高度保守。

应用产品：T7 RiboMAX™ Express Large Scale RNA Production System

7. 研究 RNAi 疗法的发展

文献：Gene silencing of VP9 gene impairs WSSV infectivity on Macrobrachium rosenbergii. *Virus Research*, 2016

研究目的：白斑综合征病毒（WSSV）被认为是对虾类养殖业最具威胁的严重传染性病原体。这种病毒的毒力高，致病性强，对虎虾、大西洋白虾等对虾造成的潜在死亡率高达 100%。目前，还没有治疗这种病毒的方法。WSSV 的非结构蛋白 VP9 疑似与病毒基因组的复制、病毒颗粒的产生和宿主细胞功能的抑制有关。然而，VP9 在体内的功能尚不十分清楚。

Alenton 等人利用 RNAi 研究感染 WSSV 的对虾宿主与病原体的相互作用。RNAi 涉及利用双链 RNA（dsRNA）沉默相应基因的表达。使用体外转录系统生产 VP9 的 dsRNA 和对靶基因。

应用产品：T7 RiboMAX™ Express Large Scale RNA Production System

研究结论：作者发现，沉默 VP9 提高了对虾的病毒清除率和总存活率。

8. 病毒 RNA 的接种研究

文献：Hepatitis C Virus Indirectly Disrupts DNA Damage-Induced p53 Responses by Activating Protein Kinase R, *American Society for Microbiology*, 2017

研究目的：根据 CDC 的数据，美国 50% 的肝癌病例是由丙型肝炎病毒（HCV）感染引起的（9）。HCV 是一种可致癌的 RNA 病毒，该病毒可被筛查，并且大部分可用抗病毒药物治疗。已证明多种致癌 DNA 病毒能使 p53 肿瘤抑制蛋白失活，但 HCV 影响 p53 的机制尚不清楚。

Mitchell 等人使用体外转录系统从复制缺陷型对照质粒中转录 HCV 基因组长度的 RNA。将转录的病毒 RNA 电转到 HepG2 细胞中，引起病毒感染。从而研究 p53 蛋白和其他相关蛋白在 HCV 感染细胞中的作用。

应用产品：T7 RiboMAX™ Express Large Scale RNA Production System

研究结论：结果表明，p53 的抑制实际上是由宿主对病毒 RNA 复制的反应——蛋白激酶 R（PKR）的激活引起的。PKR 的这种激活一般会减少所有蛋白质的合成，包括 p53，进而抑制 DNA 损伤反应。

9. 用于实时 qPCR 检测的 RNA 标准品

文献：A new highly sensitive real-time quantitative-PCR method for detection of BCR-ABL1 to monitor minimal residual disease in chronic myeloid leukemia after discontinuation of imatinib. *PLOS ONE* 2019

研究目的：慢性髓性白血病（CML）是一种影响造血干细胞的疾病，可引起异常血细胞不受控制的增殖。一种治疗选择是使用酪氨酸激酶抑制剂进行靶向治疗。治疗期间，必须监测患者的微小残留病变（MRD），确认进展并避免复发。监测 MRD 最灵敏的方法是使用实时 qPCR 进行分子检测。Kitamura 等人开发了高灵敏度的 MRD 实时 qPCR 检测方法，使用体外转录系统生产检测用 RNA 标准品。

应用产品：T7 RiboMAX™ Express Large Scale RNA Production System

实验结论：新的检测方法快速且易于操作，使其可应用于医院实验室和其他低通量场景。

In Vitro Transcription



关注 Promega 生命科学公众号，您可获得



产品信息



价格查询



中文说明书



讲座视频



技术资料



实验工具



市场活动



经销商信息

普洛麦格 (北京) 生物技术有限公司
Promega (Beijing) Biotech Co., Ltd

地址：北京市东城区北三环东路 36 号环球贸易中心 B 座 907-909

电话：010-58256268

网址：www.promega.com

技术支持电话：400 810 8133

技术支持邮箱：chinatechserv@promega.com

更新时间：2025.06