

SP6 RNA 聚合酶

SP6 RNA Polymerase

Code No.AG12012

包装量: 5000 U (50 U/μl)

保存温度: -20°C

产品概述

本产品是大肠杆菌重组表达来源的噬菌体 SP6 RNA 聚合酶，该酶是一种 DNA 依赖型 RNA 聚合酶，分子量为 98.5 kDa。使用 SP6 RNA 聚合酶合成的 RNA 适用于各种科学研究和生物技术应用。本酶以含有 SP6 启动子序列的双链 DNA 为模板，以 NTP 为底物，合成与启动子下游的单链 DNA 互补的 RNA，对 SP6 启动子序列具有高度特异性，不能识别其它生物来源的启动子。SP6 启动子序列如下，ATTTAGGTGACACTATA**G**AAGNG，其中的**G**为转录的第一个碱基。

保存及运输

保存温度：-20°C保存

运输温度：干冰运输或者-20°C冰袋运输

活性定义

在 37°C、pH 7.5 的条件下，1 小时内使 1 nmol 的 [³H] GMP 掺入酸不溶性沉淀物所需要的酶量定义为 1 个活性单位 (U)。

产品组成

SP6 RNA Polymerase (50U/ul)	100 μl
10X SP6 Transcription Buffer	1 ml
RNase free water	1 ml

注意事项

1. 使用前将 SP6 RNA Polymerase 短暂离心，将所有的溶液收集至离心管底部，减少损失，并用移液器轻柔吸打混匀（避免起泡）；使用时建议短暂存放于冰盒内；使用完毕后立即置于 -20°C 保存。
2. 10X SP6 Transcription Buffer 使用前请于冰上充分融化，短暂离心，将所有的溶液收集至离心管底部，减少损失，并用移液器轻柔吸打混匀（避免起泡），然后进行使用。
3. 推荐使用含 SP6 启动子的线性化质粒或 PCR 产物作为模板。
4. 70°C 加热 10 min 可使 SP6 RNA Polymerase 失活。

应用

1. 单链 RNA 合成（包括 mRNA、siRNA、gRNA、sgRNA 等各类 RNA 前体，以及同位素标记或非同位素标记的 RNA 探针）。
2. 制作 RNA 剪接反应（RNA Splicing）的前体。

实验操作

体外转录反应

1. 按照下表内容配制反应液

组分名称	加入量
10X SP6 Transcription Buffer	2 μ l
Template DNA	200 ng
ATP (10 mM)	1 μ l
CTP (10 mM)	1 μ l
GTP (10 mM)	1 μ l
UTP (10 mM)	1 μ l
100 mM DTT	2 μ l
0.1% BSA	2 μ l
RNase Inhibitor (40 U/ μ l)	0.5 μ l
SP6 RNA Polymerase (50 U/ μ l)	2 μ l
RNase free water	Up to 20 μ l

2. 在 37°C 下反应 2-4 h (根据具体实验需求调整) 进行转录反应。
3. 反应完成后的产物应立即进行后续处理, 如无法立即使用, 该产物可在 -80°C 条件下短暂保存一天, 保存时间过长可能会导致转录产物降解。

注:

1. DNA 模板需要最后加入。由于 10X SP6 Transcription Buffer 中含有亚精胺, 使用 DNA 模板的浓度过高, 可能会引起沉淀。
2. 为避免产物 RNA 降解, 反应体系中需加入 RNase Inhibitor (40 U/ μ l)。【例如可使用公司产品: 重组型 RNase 抑制剂 (猪源), Code No.AG11608 】。
3. 反应结束后, 为了得到较纯的 RNA 产物, 可以先去除 DNA 模板, 需要使用 DNase I, 37°C、30 min。【例如可使用公司产品: DNase I (RNase Free), Code No. AG12001 】。
4. 本产品中不搭配反应所需的 ATP solution、GTP solution、CTP solution、UTP solution, 若有需要, 请单独购买。【例如可使用公司产品 Code No. AG11024、AG11026、AG11025、AG11027】。
5. 本产品中不搭配反应所需 0.1% BSA 和 100 mM DTT, 请自行准备。

详细信息请查阅 www.agbio.com.cn

本产品仅供科学研究使用, 不能用于人、动物的医疗或诊断程序, 不能使用本产品作为食品、化妆品或家庭用品等。

For Research Use Only. Not for use in diagnostic procedures for humans or animals. Also, do not use this product as food, cosmetic, or household item, etc.