

SP6 RNA聚合酶

货号: GMP-TLR001



◆ 产品信息:

产品名称	产品货号	规格
SP6 RNA 聚合酶 SP6 RNA Polymerase	GMP-TLR001-2000	2000U
	GMP-TLR001-5000	5000U
	GMP-TLR001-10000	10000U

◆ 产品描述:

SP6 RNA 聚合酶是一种特异识别 SP6 启动子序列 (5' -ATTTAGGTGACACTATAG⁺AA-3') 的 DNA 依赖的 RNA 聚合酶。SP6 RNA 聚合酶可以催化 SP6 启动子下游单链或双链 DNA 模板的 NTP 掺入, 合成与 SP6 启动子下游 DNA 模板互补的 RNA。含有 SP6 启动子的线性质粒、或含有 SP6 启动子的 PCR 产物均可用作体外合成 RNA 的模板。

◆ 附带试剂:

组分	货号	规格
		GMP-TLR001-2000 规格 2000U
5× SP6 RNA 酶反应缓冲液	GMP-TL6010	1mL
100 mM DTT	GMP-TL6011	1mL

组分	货号	货号/规格
		GMP-TLR001-5000 规格 5000U
5× SP6 RNA 酶反应缓冲液	GMP-TL6010	1mL×3
100 mM DTT	GMP-TL6011	1mL×3

组分	货号	货号/规格
		GMP-TLR001-10000 规格 10000U
5× SP6 RNA 酶反应缓冲液	GMP-TL6010	1mL×5
100 mM DTT	GMP-TL6011	1mL×5

◆ 产品来源:

本产品由大肠杆菌表达, 表达基因为噬菌体 SP6 RNA 聚合酶基因。

◆ 产品用途:

1. 制备 RNA 疫苗和药物;
2. 合成用于体外翻译的 RNA;
3. 制备放射性标记的 RNA 探针;
4. 合成用于表达调控实验研究的反义 RNA;
5. 合成包括 mRNA、siRNA、gRNA 等各类 RNA 前体;
6. 以 (Cap analog) 为引物合成 Capped mRNA。

◆ 储存温度&效期:

-20°C 保存, 有效期 24 个月。

◆ 酶储存缓冲液:

50mM Tris-HCl (pH7.9), 100mM NaCl, 1mM EDTA, 20mM β-巯基乙醇, 0.1% Triton® X-100, 50%甘油。

◆ 1× SP6 RNA 聚合酶反应缓冲液组成:

40mM Tris-HCl (pH7.9), 10mM DTT, 6mM MgCl₂, 2mM 亚精胺。

◆ 酶活性单位定义:

100μL 体系中, 1 个单位酶定义为在 37°C 条件下, 1 小时内将 5 nmol 的 ATP 掺入到多聚核苷酸中所需要的酶量。

◆ 酶活性测试条件:

50μL 反应体系中, 含有 1× SP6 RNA 酶反应缓冲液, 2mM 的 NTP (ATP、UTP、CTP、GTP 各 0.5mM), 10mM 的 DTT, 1μg 的带有 SP6 启动子的 DNA 模板。

◆ 质量保证:

SP6 RNA 聚合酶不含有其它核酸酶, 如 T7 或 T3 RNA 聚合酶, DNA 酶和 RNA 酶等。

◆ RNA 体外合成推荐方案:

1. 模板准备: 含有 SP6 启动子和目的基因的 DNA 模板 (PCR

扩增产物、或线性化质粒)。如果使用酶切线性化质粒,最好使用平末端限制性内切酶(如 EcoR V),或 5' 端突出的粘性末端酶(如 Sap I 或 BspQ I)。

2. 实验前注意事项: 确保整个实验环境无 RNA 酶污染, 要使用无 RNA 酶的枪头、离心管、和超纯水等, 整个反应体系的配制确保无 RNA 酶污染, 确保实验台面、移液枪、电泳设备等无 RNA 酶污染, 尽量戴口罩、帽子和手套。

3. 反应体系配置(推荐, 建议进行体系优化)

5× RNA 酶反应缓冲液	10μL
100 mM DTT (可选)	5μL
NTP mix(ATP/CTP/GTP/UTP,每种 2.5Mm)	10μL
线性化的 DNA 模板	0.5~1μg
SP6 RNA 聚合酶	1μL
RNA 酶抑制剂	50units
DEPC 处理水	至终体积 50μL

4. 37°C 孵育 2h。

5. 使用 DNaseI 去除模板 DNA 污染(可选): 每 10μL 体系加入 1U DNaseI, 37°C 孵育 30min。可通过 65°C 加热 10min 使 DNaseI 失活。

◆ 参考文献:

[1] Simon Stammen, Franziska Schuller, Sylvia Dietrich, Martin Gamer, Rebekka Biedendieck, Dieter Jahl (2010). Application of Escherichia coli phage K1E DNA-dependent RNA polymerase for in vitro RNA synthesis and in vivo protein production in Bacillus megaterium. Appl Microbiol Biotechnol (2010) 88:529–539.

[2] W. Tom Stump, Kathleen B. Hall (1993), SP6 RNA polymerase efficiently synthesizes RNA from short double-stranded DNA templates, Nucleic Acids Research, 5480-5484 Nucleic Acids Research, 1993, Vol. 21, No. 23.

[3] Jiyun Yoo 1, Changwon Kang (2000), Bacteriophage SP6 RNA polymerase mutants with altered termination efficiency and elongation processivity, Genetic Analysis: Biomolecular Engineering 16 (2000) 191–197.

[4] E D Jorgensen R, K Durbin, S SRisman, W T McAllister (1991), Specific contacts between the bacteriophage T3, T7, and SP6 RNA polymerases and their promoters, Volume 12, Issue 7, November 1991, Pages 908-931.

[5] Hirokazu Kotaoi, Yukuo Ishizalci, Nobutsugu Hiraoka and AJrira Obayashi (1987), Nucleotide sequence and expression of the cloned gene of bacteriophage SP6 RNA polymerase, Volume 15 Number 6 1987.

北京同立海源生物科技有限公司

客服电话: 010-88681766

网址: www.seafrom.com



企业官方网站



微信公众号