

# SP6 RNA Polymerase

**Code No. 2520A**      **Size:**      **3,000 U**  
**Conc.:**      **50 U/ $\mu$ l**

## Supplied Reagents:

**10X SP6 RNA Polymerase Buffer**      **1 ml**  
**100 mM DTT**      **1 ml**  
**0.1% BSA**      **1 ml**

## Description :

SP6 RNA Polymerase is an enzyme coded by the DNA of phage SP6 that infects *Salmonella typhimurium* LT2.<sup>2)</sup> Its molecular weight is 96,000. Using double stranded DNA containing the SP6 promoter sequence as a template and ribonucleoside 5'-triphosphates as substrates, this enzyme transcribes the downstream of the promoter and synthesizes the single stranded RNA. It has very high specificity for SP6 promoter, with almost no recognition of promoters from other phages.

## Storage Buffer :

10 mM	Potassium Phosphate, pH 7.9
150 mM	NaCl
0.1 mM	EDTA
1 mM	DTT
50%	Glycerol

**Storage:**      -20°C

## Source :

*Escherichia coli* carrying plasmids that containing the gene for phage SP6 RNA polymerase.<sup>1)</sup>

## Unit definition :

One unit is the amount of the enzyme that incorporates 1 nmol of [<sup>3</sup>H]GMP into the acid-insoluble fraction in 1 hour at 37°C and pH 7.5.

## Reaction mixture for unit definition :

40 mM	Tris-HCl, pH 7.5
6 mM	MgCl <sub>2</sub>
2 mM	spermidine
10 mM	DTT
0.5 mM each	ATP, UTP, and CTP
0.5 mM	[ <sup>3</sup> H]GTP
0.01%	bovine serum albumin
1 $\mu$ g/100 $\mu$ l	pSP65 DNA

## Quality Control Data :

Please see the Certificate of Analysis (CoA) for each lot. You can download the CoA on Takara Bio website.

## Applications :

- 1 Preparing extensively labeled RNA probes for Northern or Southern hybridization.<sup>3)</sup>
- 2 Preparing precursors for RNA splicing reactions.<sup>5)</sup>
- 3 Producing capped mRNA when a cap analog is used as a primer.<sup>6)</sup>

## Note :

The optimum pH is 7.5. The enzyme requires Mg<sup>2+</sup> and reducing agents, and is activated by the addition of bovine serum albumin or spermidine<sup>3)</sup>. The optimum temperature is 40°C, at which activity is about 130% compared to at 37°C. The amount of the enzyme is correlated with the amount of product synthesized up to 300 U/ml enzyme, and the template is correlated in the same way up to 100  $\mu$ g/ml template<sup>3)</sup>. For efficient transcription of a specific region, the end of the template DNA should be blunt or should protrude in the 5'- direction downstream of the region.<sup>4)</sup> Spermidine contained in the buffer forms the complex with nucleic acids and may be precipitated as indissoluble materials. It is desirable to add the template DNA lastly by all means.

## Composition of Supplied Reagents (Store at - 20°C) :

1. 10X SP6 RNA Polymerase Buffer  
400 mM Tris-HCl, pH 7.5  
60 mM MgCl<sub>2</sub>  
20 mM spermidine
2. 100 mM DTT
3. 0.1% BSA

\* When performing the reaction using this enzyme, use the Supplied Reagents referring to the composition of the reaction mixture for unit definition.

## Application Example :

10X SP6 RNA Polymerase Buffer	2 $\mu$ l
100 mM DTT	2 $\mu$ l
0.1% BSA	2 $\mu$ l
ATP, CTP, GTP, UTP	each 0.5 mM
RNase Inhibitor	20 U
Template DNA	50 - 500 ng
SP6 RNA Polymerase	10 - 50 U
Sterile purified water	up to 20 $\mu$ l

↓  
Incubate at 37°C for 1 hr

## Related Products :

- Recombinant RNase Inhibitor (Cat.#2313A/B)
- ATP (Cat.#4041)      • CTP (Cat.#4043)
- GTP (Cat.#4042)      • UTP (Cat.#4044)

## References :

- 1) Kotani H, Ishizaki Y, Hiraoka N, and Obayashi A. *Nucleic Acids Res.* (1987) **15**: 2653-2664.
- 2) Butler E T and Chamberlin M J. *J Biol Chem.* (1982) **257**: 5772-5778.
- 3) Melton D A, Krieg P A, Rebagliati M R, Maniatis T, Zinn K, and Green M R. *Nucleic Acids Res.* (1984) **12**: 7035-7056.
- 4) Schenborn E T and Mierendor Jr R C. *Nucleic Acids Res.* (1985) **13**: 6223-6236.
- 5) Green M R, Maniatis T, and Melton D A. *Cell.* (1983) **32**: 681-694.
- 6) Polletier J and Sonenberg N. *Cell.* (1985) **40**: 515-526.
- 7) Sagawa H, Oshima A, and Kato I. *Gene.* (1996) **168**: 37-41.

## Note

This product is for research use only. It is not intended for use in therapeutic or diagnostic procedures for humans or animals. Also, do not use this product as food, cosmetic, or household item, etc. Takara products may not be resold or transferred, modified for resale or transfer, or used to manufacture commercial products without written approval from Takara Bio Inc. If you require licenses for other use, please contact us by phone at +81 77 565 6973 or from our website at [www.takara-bio.com](http://www.takara-bio.com). Your use of this product is also subject to compliance with any applicable licensing requirements described on the product web page. It is your responsibility to review, understand and adhere to any restrictions imposed by such statements. All trademarks are the property of their respective owners. Certain trademarks may not be registered in all jurisdictions.

# SP6 RNA Polymerase

Code No. 2520A      容量： 3,000 U  
濃度： 50 U/μl

## 添付試薬：

10 × SP6 RNA Polymerase Buffer 1 ml  
100 mM DTT 1 ml  
0.1% BSA 1 ml

## ● 製品説明

本酵素は *Salmonella typhimurium* LT2 に感染するファージ SP6 の DNA にコードされる酵素<sup>2)</sup> である。分子量は約 96,000。SP6 プロモーター配列を含む二本鎖 DNA を鋳型、NTP を基質として、プロモーター下流の領域を転写し、一本鎖 RNA を合成する。SP6 プロモーター配列に高い特異性を示し、他の生物由来のプロモーターは認識しない。

## ● 形状

10 mM リン酸カリウム緩衝液 (pH7.9)  
150 mM NaCl  
0.1 mM EDTA  
1 mM DTT  
50% グリセロール

## ● 保存

- 20℃

## ● 起源

*Escherichia coli* carrying plasmids that containing the gene for phage SP6 RNA polymerase<sup>1)</sup>

## ● 活性の定義

37℃、pH7.5 において 1 時間に 1 nmol の [<sup>3</sup>H]GMP を酸不溶性沈殿物に取り込む活性を 1 U とする。

## ● 活性測定用反応液組成

40 mM Tris-HCl (pH7.5)  
6 mM MgCl<sub>2</sub>  
2 mM スペルミジン  
10 mM DTT  
各 0.5 mM ATP・UTP・CTP  
0.5 mM [<sup>3</sup>H]GTP  
0.01% BSA  
1 μg/100 μl pSP65 DNA

## ● 品質管理データ

性能試験結果については、各ロットの Certificate of Analysis (CoA) をご覧ください。CoA はタカラバイオウェブサイトのドキュメントセンターからダウンロードできます。

## ● 用途

- ノーザンハイブリダイゼーションやサザンハイブリダイゼーションのための高標識 RNA プロープの作成<sup>3)</sup>
- RNA splicing 反応の前駆体の作成<sup>5)</sup>
- Cap analog を primer に用いた capped mRNA の作成<sup>6)</sup>

## ● 使用上の注意

- 至適 pH は 7.5、Mg<sup>2+</sup> と還元剤を要求し、BSA およびスペルミジンの添加により活性化される。<sup>3)</sup>
- 最適温度は 40℃ (37℃ の約 130%) で、酵素量は 300 U/ml まで、template 量は 100 μg/ml まで合成量に正の相関を示す。<sup>3)</sup> 反応時間が 1 時間を超える場合には、37℃ の方がよい。
- 特定領域だけの効率よい転写のためには、その領域下流で鋳型 DNA を平滑型、または 5' 突出型にカットしておく方が望ましい。<sup>4)</sup>
- バッファー中に含まれるスペルミジンは核酸と複合体を形成して場合によっては不溶物質として沈殿する可能性があるため、鋳型 DNA は必ず最後に加える。

## ● 添付試薬組成 (保存: -20℃)

- 10 × SP6 RNA Polymerase Buffer  
400 mM Tris-HCl (pH7.5)  
60 mM MgCl<sub>2</sub>  
20 mM スペルミジン

## 2. 100 mM DTT

## 3. 0.1% BSA

\* 酵素反応時には、活性測定用反応液組成を参考に、本添付試薬を使用してください。

## ● 使用例

10X SP6 RNA Polymerase Buffer	2 μl
100 mM DTT	2 μl
0.1% BSA	2 μl
ATP, CTP, GTP, UTP	each 0.5 mM
RNase Inhibitor	20 U
Template DNA	50 - 500 ng
SP6 RNA Polymerase	10 - 50 U
滅菌精製水	up to 20 μl

↓  
37℃、1 時間インキュベーション

## ● 関連製品

- Recombinant RNase Inhibitor (製品コード 2313A/B)
- ATP (製品コード 4041)
- GTP (製品コード 4042)
- CTP (製品コード 4043)
- UTP (製品コード 4044)

## ● 参考文献

- Kotani H, Ishizaki Y, Hiraoka N, and Obayashi A. *Nucleic Acids Res.* (1987) **15**: 2653-2664.
- Butler E T and Chamberlin M J. *J Biol Chem.* (1982) **257**: 5772-5778.
- Green M R, Maniatis T, and Melton D A. *Cell.* (1983) **32**: 681-694.
- Schenborn E T and Mierendor Jr R C. *Nucleic Acids Res.* (1985) **13**: 6223-6236.
- Polletier J and Sonenberg N. *Cell.* (1985) **40**: 515-526.
- Sagawa H, Oshima A, and Kato I. (1996) *Gene.* **168**: 37-41.

## ● 注意

本製品は研究用として販売しております。ヒト、動物への医療、臨床診断用には使用しないようご注意ください。また、食品、化粧品、家庭用品等として使用しないでください。  
タカラバイオの承認を得ずに製品の再販・譲渡、再販・譲渡のための改変、商用製品の製造に使用することは禁止されています。  
ライセンスに関する情報は弊社ウェブカタログをご覧ください。  
本データシートに記載されている会社名および商品名などは、各社の商号、または登録済みもしくは未登録の商標であり、これらは各所有者に帰属します。