

Cas9 酶 (Cas9)

货号		规格		价格	
#E025S		20U		800 元	
#E025L		100U		3200 元	
浓度	1U/ ul	储存	-20℃	反应条件	37℃温育

应用

- Cas9 /gRNA 特异位点体外剪切 DNA，如 plasmids、genomic DNA, PCR product
- 体外检测 gRNA 的剪切靶点 DNA 的效率
- Cas9 蛋白结构与功能研究
- 用于体内注射

概述

CRISPR/Cas 是细菌和古细菌在长期演化过程中形成的一种适应性免疫防御，可特异剪切外源的病毒及 DNA 以对抗入侵。人工改造过的 Cas9/gRNA 系统通过 gRNA (short guide RNA) 引导 Cas9 蛋白识别并剪切带有 gRNA 靶点的双链 DNA，用于基因敲除和精确编辑 DNA 等操作。重组表达的 Cas9 蛋白分别在 N 端和 C 端带有 NLS (入核) 序列。

来源

重组带有 NLS (入核) 序列的 Cas9 蛋白

反应条件

1×Buffer [20 mM HEPES, pH 7.5, 150mM KCl, 10 mM MgCl₂, 0.1 mM EDTA, 0.5 mM DTT], 37℃温育。

质保声明

Cas9 经过严格的质控检测，确保该产品具有最高的活性和纯度。请使用前务必仔细阅读本手册。

单位定义

在 50 μl 反应体系中，37℃，gRNA 足量时，1U 等于 1h 能将 1 ug 质粒或线性 DNA 完全酶切所需的 Cas9 蛋白量。

注意事项

1. Cas9 切割 dsDNA 效率与 gRNA 靶点序列有关，每个 gRNA 的效率都会不同。
2. 所用枪头管子等都必须 RNase free 的，gRNA 可以适当多加，防止因为部分降解而降低酶切效率。

Cas9 体外酶切法检测 gRNA 靶点效率实验步骤

- 1、带有 gRNA 靶点的质粒或 PCR 扩增出的 DNA 片段，gRNA 靶点最好不位于 PCR 片段中央，这样将切割出两条大小不同带便于判断。
- 2、gRNA 靶点设计与体外转录准备见唯尚立德 Cas9/gRNA 质粒构建试剂盒。
- 3、反应体系：

dsDNA	200 nM
gRNA (体外转录)	100 nM
Cas9	0.5-1U
10XBuffer	2 ul
ddH ₂ O	x ul
Total	20ul

充分混合后，37℃反应 1h，65℃煮 5min，跑琼脂糖凝胶电泳检测分析酶切结果

琼脂糖凝胶电泳检测分析酶切结果。

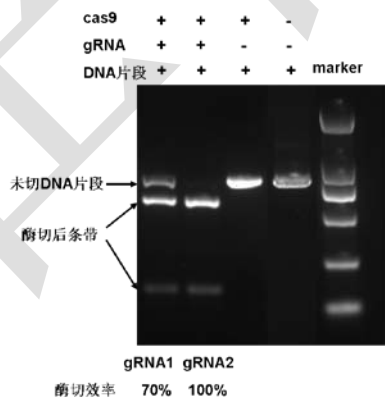


图. Cas9 酶切靶点序列效率。

带有靶位点的 DNA 片段：680bp

酶切后条带：500bp+180bp

酶切率=切开条带/检测条带 (按带的灰度计算)



北京唯尚立德生物科技有限公司

使用限制

本试剂仅限于科学研究。

储存与安全

本品 4℃ 运输，储存于 -20℃，有效期 12 个月。长期储存请置于 -80℃。

本品采用蓝冰运输，蓝冰在使用前在 -80℃ 冷冻至少 72 小时。实验证明，使用上述方法运输，即使到货时蓝冰已经融化，泡沫塑料盒中的温度仍然能保持在 4℃ 或 4℃ 以下 24 小时。比较干冰运输的产品，其活性和稳定性无任何差异。产品纯化整个过程都在 4℃ 进行，且其贮存液经过优化，对保持酶活的稳定性起到重要作用。产品中含有 50% 甘油，可以使酶在 -35℃ 下保持液态，若使用干冰运输，酶将被冷冻，发生反复冻融可能会导致酶活性下降。