

Version 1

Cas9 核酸酶

Cas9 Nuclease Code No.AG51104

包装量: 100 μ g (0.5 mg/ml)

保存温度: -20℃

▶ 产品概述

Cas9 Nuclease 是一种来源于 Streptococcus pyogenes 的核酸 内切酶。本产品是将 Cas9 Nuclease 基因序列构建至质粒,并 于大肠杆菌中表达纯化获得的重组蛋白。

本产品具有 DNA 剪切功能,可在向导 RNA(sgRNA) 引导下,催化双链 DNA 的位点对其进行特异性切割,在距离目标 DNA中 PAM 序列的 NGG 上游约 3 个碱基处产生双链断裂,可应用于筛选高效的 sqRNA。

本产品含有较高浓度的甘油,不推荐使用其进行细胞转染和基 因编辑实验。

> 保存及运输

保存温度: -20℃保存

运输温度:干冰运输或者-20℃冰袋运输

▶ 产品组成

Cas9 Nuclease	200 μΙ
10X Cas9 Reaction Buffer	1 ml

▶ 注意事项

- Cas9 Nuclease 使用前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),切勿剧烈振荡,避免其失活;使用时建议存放于冰盒内;使用完毕后建议立即置于 -20℃保存。
- 10X Cas9 Reaction 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),然后再进行使用。
- 本产品使用时需添加 sgRNA,操作时需注意防止实验环境和操作 过程中的 RNase 污染。



▶ 应用

- 1. 体外筛选高效的 sgRNA 序列。
- 2. 在 sgRNA 引导下剪切特定的 DNA 序列。
- 3. 线性化含特定序列的环状双链 DNA。

> 实验操作

1. 按照下表内容配制反应液

组分名称	加入量
Cas9 Nuclease (0.5 mg/ml) *1	1 μΙ
10X Cas9 Reaction Buffer	3 μΙ
gRNA (120 ng/ μ I) *1	1 μΙ
RNase free water	Up to 26 µI

- 2. 37°C 预孵育 5 min。
- 3. 加入 4 μ I 底物靶 DNA(50 ng/ μ I)*1, 37℃ 反应 60 min*2。
- 反应完成后,加入 1 μ I 蛋白酶 K (20 mg/ml),室温孵育 10 min。

- *1: 推荐实验中 Cas9 Nuclease(ng)、sgRNA(nmol)、靶 DNA(nmol) 的比例 至少为 160:10:1;
- *2: 反应时间通常设定为 60 min, 可根据实际情况在 60-120 min 范围内调整。

> 结果检测

反应结束后,取适量反应产物进行琼脂糖凝胶电泳检测。若不立即进行电泳,可置于 -20℃ 保存备用。