

GenePharma SpCas9 蛋白

产品描述

GenePharma SpCas9 蛋白是纯化自大肠杆菌表达的来源于 *Streptococcus pyogenes* 的重组 Cas9 蛋白。该蛋白融合有核定位信号 (NLS, N 端 C 端各一个) 和 3×Flag 标签 (N 端), 可以与 gRNA 形成稳定的核酸蛋白复合体 (RNP), 特异性的识别并切割含靶点双链 DNA, 可用于体外切割含靶点 DNA 或细胞基因编辑等相关实验。

应用

体外切割含靶点 DNA 或细胞基因编辑等相关实验。

清单

SpCas9 (1 µg/µl) 100 µl 10 × Cleavage buffer 1 ml DEPC 水 1 ml

Cas9 体外切割实验

体外转录/化学合成 gRNA 及 SpCas9 蛋白 (RNP) 体外切割含靶点 PCR 产物实验。实验前需提前 PCR 得到含靶点 PCR 产物 (建议使用 DEPC 水进行 PCR)。按以下表格混合各组分

试剂	量
10×Cleavage buffer	3 µl
SpCas9 (1µg/µl)	1 µg
gRNA	0.25µg
DEPC-H ₂ O	To 25 µl
混合后室温 5 - 10 分钟	
底物 (PCR 产物)	5 µl
总计	30 µl

注: 使用无 RNase 枪尖及 EP 管。

- 1) 加入 5 µl PCR 产物, 混合后 37°C 反应 1 个小时;
- 2) 加入 1.0 µl (20 mg/ml) 蛋白酶 K, 0.5 µl (10 mg/ml) RNase A 室温反应 20 分钟; (过量的 RNP 复合体会使 DNA 条带电泳速度降低, 使用蛋白酶 K 及 RNase 消化后 DNA 条带更准确)

如有疑问欢迎垂询

上海电话: 021-51320195-8009

E-mail: rnaisupport@genepharma.com

苏州电话: 0512-86668828-8042

E-mail: szsupport@genepharma.com

<http://www.genepharma.com>



B035-V001b-20190912

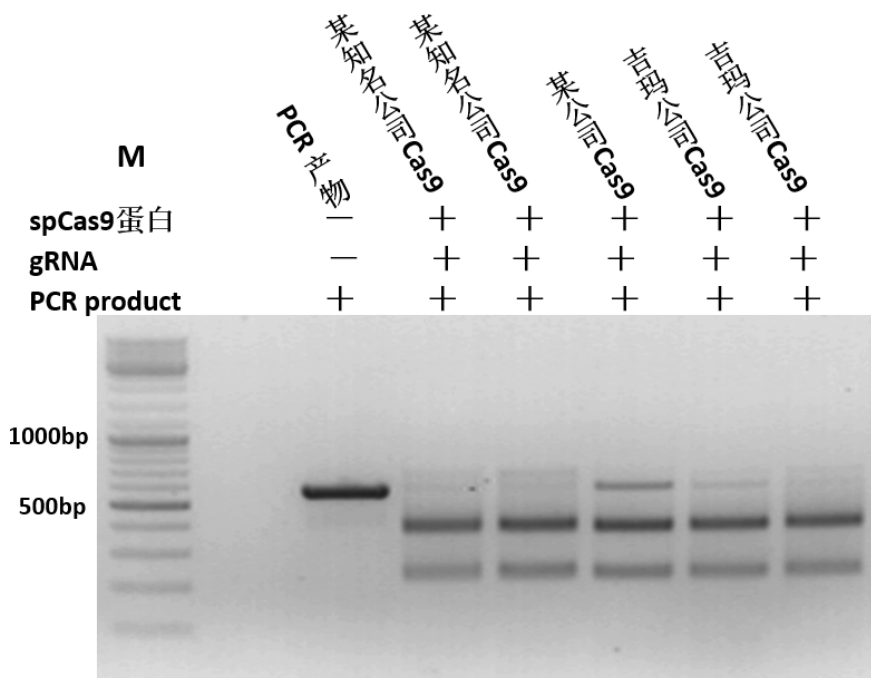
3) 加入DNA loading buffer混合，跑胶分析检测结果，加入5 μ l PCR产物作为对照。

转染细胞实验

请参考相关文献及转染试剂进行。

体外切割实验案例

Cas9蛋白和gRNA (RNP) 体外切割含靶点DNA



检测表达纯化的Cas9蛋白活性。M: fermentas SM0331 DNA marker; 其它各种均加入PCR产物 5 μ l, gRNA 0.25 μ g 及不同来源的Cas9蛋白 1 μ g。从结果判断，吉玛基因表达的Cas9蛋白活性很高。

如有疑问欢迎垂询

上海电话: 021-51320195-8009

E-mail: rnaisupport@genepharma.com

苏州电话: 0512-86668828-8042

E-mail: szsupport@genepharma.com

<http://www.genepharma.com>



B035-V001b-20190912