

Cas9 Nuclease with NLS**货号:** C102**保存条件:** -20°C**产品介绍:**

Cas9 Nuclease with NLS是N端和C端都带有核定位信号的RNA导向的序列特异性双链DNA内切酶。本品是大肠杆菌表达纯化的超高纯度的Cas9活性蛋白。

产品组成:

组分	C102-01	C102-02
Cas9 Nucleas with NLS(20 μM)	20 μL	100 μL
Reaction Buffer	500 μL	500 μL

产品特点:

体外基因编辑

体内基因编辑

产品使用:**A. 体外基因编辑**

为了保证切割效率，Cas9 Nuclease和sgRNA、target DNA的摩尔比例至少为10:10:1或者更高。实验前用无核酸酶的水稀释sgRNA到0.9 μM,同时用无核酸酶的水稀释DNA到0.09 nM，同时用无核酸酶的水稀释DNA到0.09 μM。过程中使用的耗材和试剂都请使用无核酸酶级别，防止引入RNA酶。

1. 请在冰上配置以下体系:

RNase free H ₂ O	12.7 μL
Reaction Buffer	3 μL
sgRNA(0.9 μM)	7 μL
Cas9 Nucleas with NLS(20 μM)	0.3 μL

2. 37°C孵育10分钟。

3. 加入 7 μL 0.09 nM的DNA。移液枪轻轻吹打混匀。

4. 37°C孵育60分钟。

5. 产物直接用于琼脂糖检测。用于下游实验。

B. 体内基因编辑

1. 请在冰上配置以下体系：

sgRNA可用 nuclease-free 水稀释， Cas9 Nucleas with NLS可用Reaction Buffer 稀释。

Opti-MEM Media	9.5 μ L
sgRNA(1 μ M)	1.5 μ L
Cas9 Nucleas with NLS(1 μ M)	1.5 μ L

2. 轻轻混匀，室温25 $^{\circ}$ C孵育10分钟。

3. 室温下配置以下体系：

上一步混合物	12.5 μ L
Lipofectamine RNAiMAX Transfection Reagent	1.2 μ L
Opti-MEM Media	11.3 μ L

4. 轻轻混匀，室温25 $^{\circ}$ C孵育20分钟。

5. 取25 μ L步骤3的混合物到96孔板的单孔里面，再取125 μ L细胞（32万/mL）。上下左右轻轻晃动96孔板混匀。

6. 细胞培养48 - 72小时。

7. T7内切酶检测编辑效率（参照T7内切酶说明书）。

C. 体内基因编辑

电转实验请参照相应电转仪说明，电转实验比Lipofectamine RNAiMAX Transfection Reagent效果更好。