

NLS-Cas9-NLS Nuclease

NLS-Cas9-NLS 核酸酶

产品简介

Cas9 核酸酶是一种 guide RNA 引导的内切酶，可以催化双链 DNA 的裂解。这种靶向核酸酶是一种高精度的基因组编辑的有力工具。Cas9 蛋白与 CRISPR/Cas9 系统的引导 RNA (gRNA) 成分形成一个非常稳定的核糖核蛋白 (RNP) 复合物。Cas9 RNP 复合物可以在进入细胞后，通过添加一个核定位信号 (NLS)，立即定位到细胞核。YEASEN 开发了 NLS-Cas9-NLS 核酸酶，该酶在蛋白的两端包含一个核定位序列 (NLS)，以增加入核切割效率。另外，与其他系统相比，Cas9 RNP 复合物可以迅速从细胞中清除，最大限度地减少了脱靶切割的机会。这种无 DNA 的系统避免了将外源 DNA 插入基因组的风险，这对于基于基因编辑的疾病治疗非常有用。

产品特点如下：

无 DNA：没有外部 DNA 添加。

高切割效率：双端 NLS 定位确保 Cas9 蛋白高效进入细胞核。

低脱靶效应：Cas9 核酸酶的瞬时表达提高了切割的特异性。

节省时间：无需转录和翻译。

可应用于：

通过体外 DNA 切割筛选高效和特异性靶向 gRNA。

通过电穿孔或注射与特定 gRNA 结合时的体内基因编辑。

产品信息

货号	11362ES60/ 11362ES76
规格	100 µg / 500 µg
来源	重组 Cas9 来源于大肠杆菌
物种	化脓性链球菌
标签	His
浓度	4 mg/mL (100 µg) ; 4 mg/mL (500 µg)
反应温度	37°C
溶剂	10 mM Tris, 300 mM NaCl, 0.1 mM EDTA, 1 mM DTT, 50%甘油, pH7.4 at 25°C

组分信息

组分编号	组分名称	11362S60	11362S76
11362-A	NLS-Cas9-NLS Nuclease	100 µg (4 mg/mL)	500 µg (4 mg/mL)
11362-B	10X Reaction Buffer	1.5 mL	1.5 mL

注：10X Reaction Buffer 配方：200 mM HEPES, 1 M NaCl, 50 mM MgCl₂, 1 mM EDTA, pH 6.5 at 25°C

储存条件

-25~-15°C保存，有效期 1 年。

使用说明

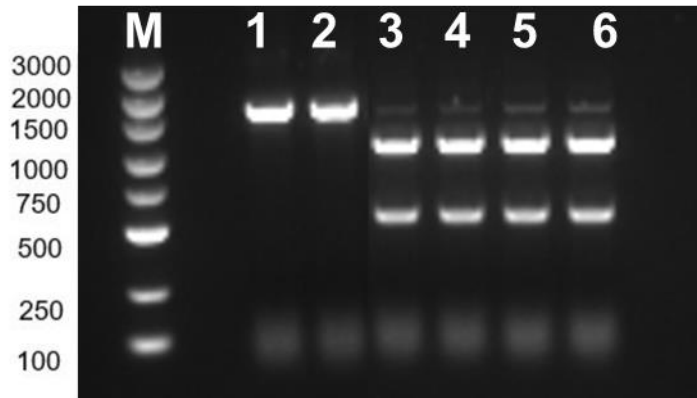
体外 DNA 裂解实验推荐反应体系

组分	20 μ L 反应体系
10 \times Reaction Buffer	2 μ L
Substrate DNA	2 μ L (80 ng/ μ L)
NLS-Cas9-NLS Nuclease	2 μ L-4 μ L (25 ng/ μ L)
sgRNA	2 μ L (50 ng/ μ L)
Nuclease-free water	To 20 μ L

注意：

- 1) 溶液应充分混合，在 37 $^{\circ}$ C 孵育 1 h-2 h，然后加入 1 μ L 的蛋白酶 K (20 μ g/ μ L)，在 55 $^{\circ}$ C 孵 30 min 孵育结束后，用琼脂糖凝胶电泳检测消化效率。
- 2) 此反应条件仅为推荐量，Cas9 : sgRNA 的比例，一般建议 1:2-1:5 之间进行摸索。
- 3) 设计 3-6 条 sgRNA，筛选效率最高的 sgRNA。

切割效率参考示意图：



Lane	样品信息	切割效率	平均切割效率 (%)	CV (%)
1	Negative control	0.00%	0.00%	N/A
2	Negative control	0.00%		
3	11362	97.53%	97.37%	0.23%
4	11362	97.21%		
5	Positive control	96.45%	96.13%	0.47%
6	Positive control	95.81%		

按上表所述，20 μ L 的反应体系，在含有线性化质粒、gRNA 和 Cas9 的 1 \times Cas9 核酸酶反应缓冲液中在 37 $^{\circ}$ C 下反应 1 小时，在琼脂糖凝胶电泳测定结果显示，线性化质粒的消化效率为 97.37%，远高于 90%。

注意事项

1. 本产品仅作科研用途。
2. 为了您的安全和健康，请穿实验服并佩戴一次性手套操作。