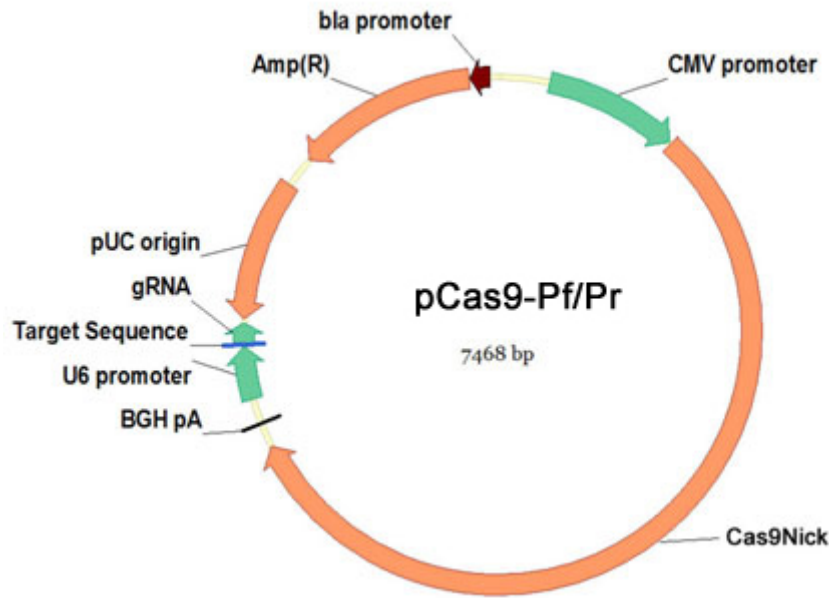


pCas9-Pf pCas9-Pr

Cat. No.CR1012

CRISPR-CasNick 基因敲除质粒阳性对照载体



pCas9-Pf 和 pCas9-Pr 是基于基因敲除载体 pCas9/gRNA3 构建的阳性对照载体。载体中插入了针对验证载体 pTYNE 设计的靶序列, pCas9-Pf、pCas9-Pr 与 pTYNE 共转染可以切割 pTYNE 空载体, 修复 pTYNE 空载体上突变的 EGFP 基因。一般共转染细胞后 48 小时可观察到绿色荧光。

载体特性:

类型: 哺乳动物细胞基因载体

基因启动子: U6 promoter

原核抗性: Ampicillin

插入靶序列:

Pf: CGAAGCTTGAGCTCGAGCCA

Pr: TACCGCGGGCCCGGATCCT

靶点在 pTYNE 载体上的位置

...CMV promoter→

...GCAAATGGGCGGTAGGCGTGTACGGTGGGAGGTCTATATAAGCAGAGCTGGTTTAGTGAACCGTCAGATC
...CGTTTACCCGCCATCCGCACATGCCACCCTCCAGATATATTTCGTCTCGACCAAATCACTTGGCAGTCTAG

CGCTAGCCGAAGATGCCACC**ATGGGCCACCATG**GCCTCGAGCTCAAGCTTCGAATTCTGCAGTCGACGGTACCG
GCGATCGGCTTCTACGGTGG**TAC**CCGGTGG**TAC**CGAGCTCGAGTTCGAAGCTTAAGACGTCACTGCCATGGC

Pr 靶点

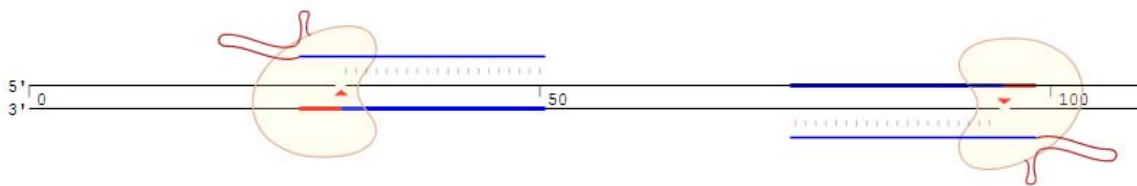
CGGGCCCGGGATCCTAGGGATAACAGGGT**AATAGAAGCGGTGGGTCTGGCGG**CGGAGGATCTGCGGCCGCAT
GCCCG**GGGCCCTAGGATCCCTATTGTCC**CATTATCTTCGCCACCCAGACCGCCGCCTCTAGACGCCGGCGTA

Pf 靶点

EGFP coding sequence→

GTG AGC AAG GGC GAG GAG CTG TTC ACC GGG GTG GTG CCC ATC CTG GTC GAG CTG GAC
GGC GAC GTA AAC GGC CAC AAG TTC AGC GTG TCC GGC GAG GGC GAG GGC GAT GCC ACC
TAC GGC AAG CTG ACC CTG AAG TTC ATC TGC ACC ACC GGC AAG CTG CCC GTG CCC TGG
CCC...

Cas9Nickase 酶切示意图



主要载体元件位置

- CMV promoter: 234–862
- Cas9 CDS: 875–5038
- BGH polyA: 5045-5269
- U6 promoter: 5276-5533
- pUC origin: 5585-6258(complementary)
- Amp (R): 6403 – 7263 (complementary)

原核培养特性

pCas9-P 载体为高拷贝质粒，带有氨苄抗性基因，可以在含有 100 µg/ml 氨苄抗生素的 LB 培养基中增殖。宿主菌可以采用 DH5α, JM109, TOP10 等常见大肠杆菌菌种。