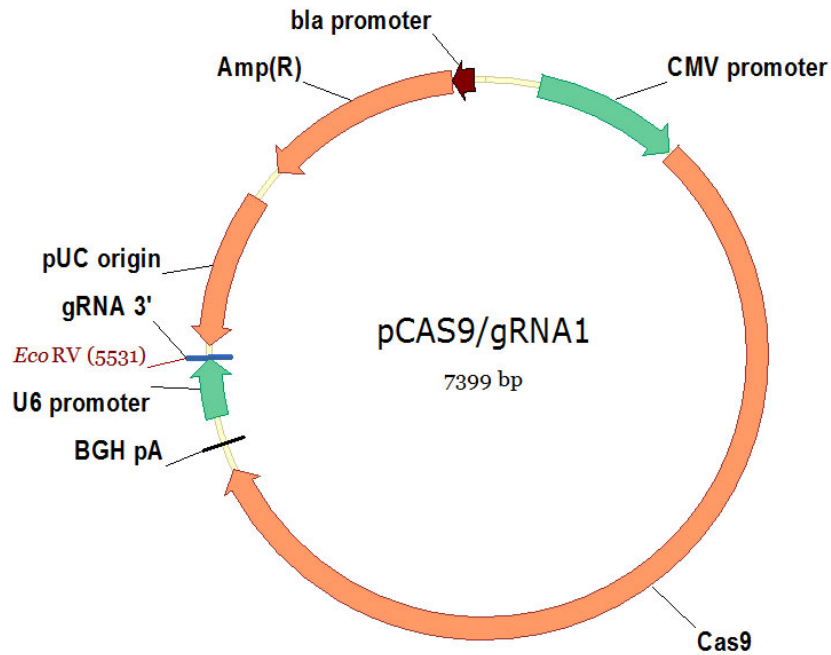


pCas9/gRNA1

Cat. No.CR1001

CRISPR-Cas 基因敲除质粒



pCas9/gRNA1 载体用于动物细胞基因敲除。该载体用 CRISPR 系统进行基因敲除，通过在同一个质粒中表达 Cas9 蛋白和 gRNA，实现单独转染一个质粒即可产生基因敲除效果。敲除效率可以与 TALEN 系统相当，而基因敲除质粒的构建则相对简便很多。使用 pCAS9/gRNA1，有基础分子生物学实验经验的研究人员可在一天内完成质粒构建，无需添加特殊设备和试剂。

载体特性:

类型：哺乳动物细胞基因敲除载体

表达基因：gRNA; Cas9 蛋白

原核抗性：Ampicillin

用法简介

pCas9/gRNA1 载体中含有 gRNA 序列 3' 端 49bp 序列及 polyT 终止信号。gRNA 包括基因特异靶序列的 5' 端序列通过载体中 EcoRV 酶切位点连接到载体上。连接后的完整序列见下：

U6 promoter→

```
tcttggaaaggacGATACACCGNNNNNNNNNNNNNNNNNNNGTTTTAGAGCTAGAAATAGCAAGTTAAAATAAGG  
CTAGTCCGTTATCAACTTGAAAAAGTGGCACCAGTCGGTCTTTTTT
```

GATATC: EcoRV 克隆位点

AGCTA: 人工插入 gRNA 5' 端序列

NNNNN: 19nt 靶点识别序列

AACTT: gRNA 3' 端序列

TTTTT: PolyT 终止信号

测序引物：

gRNA-F	GACTATCATATGCTTACCGTAACT
gRNA-R	CAAGTTGATAACGGACTAGCCTTA

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/gRNA1 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。