

Cas9 蛋白说明书

说明书修改日期: 2021.07.29

Cat. Number: KGCas01-02

Store at -80°C for 6 months

For Research Use Only

KeyGEN Cas9 蛋白是从大肠杆菌 *Streptococcus pyogenes* 中纯化的重组蛋白, 该蛋白与 sgRNA 形成非常稳定的核糖核蛋白 (RNP) 复合物, 用于 CRISPR 技术的基因组编辑应用。

一. 产品组成:

组分	KGCas01	KGCas02
Cas9 Protein	50ug	100ug

二. 产品操作说明:

1. 细胞培养: 转染前细胞达到 30-70%的 confluent, 细胞数量为 4000-9000 个 cells 之间。

	96-well	24-well	6-well
细胞密度	8000-18000 cells	40000-90000 cells	250000-450000 cells
体积	100ul	0.5ml	2ml

2. sgRNA/Cas9 蛋白预混液准备, 将 25ul MEM 培养基置于无菌 1.5ml 离心管中 (Tube 1), 先后加入 500ng Cas9 蛋白及 125ng sgRNA (sgRNA/ Cas9 摩尔浓度比为 1 到 1.2: 1, 24 孔板), 轻柔混匀; 25°C 静置 5 分钟, 完成预混液制备。

	96-well	24-well	6-well
MEM	5ul	25ul	125ul
Cas9	250ng	1250ng	6250ng
sgRNA	50ng	240ng	1200ng

3. 转染: 将 1.5ul 转染试剂置于 25ul MEM 培养基中 (无菌 1.5ml 离心管 Tube2), 轻柔混匀, 25°C 静置 1 分钟 (注: 最大放置 5min); 将 Tube1 加入到 Tube2 中 (注: 一定是 Tube1 加入到 Tube2), 轻柔混匀, 25°C 静置 10-15 分钟; 将上述混合液加入到细胞中, 37°C 培养 48h。

注: 对于显微注射的斑马鱼模型: 取 Cas9 蛋白 800pg, sgRNA: 320pg, 配制成 2ul 的混合体系; 每颗卵注射 1nL 体积的混合液。

4. 编辑后检测: 孵育后, 取出培养基, 用 50-500μL PBS 冲洗细胞, 提取基因组 DNA, 利用特异引物进行扩增, 检测编辑后的基因型。

三、注意事项：

- 1) 针对不同的细胞或者动物模型，在使用该产品时建议进行预实验，确定针对特定细胞或动物模型的最佳使用范围。
- 2) 本产品仅用于科学研究，可于-80℃条件下贮存 6 个月，避免反复冻融，建议首次融化后分装保存。