



Общество с ограниченной ответственностью  
**«Биолабмикс»**  
ИНН 5408278957 КПП 540801001  
630090, Новосибирская обл., г. Новосибирск,  
ул. Инженерная, дом № 28  
Tel/Fax: +7(383)363-51-91, Tel: +7(383)363-22-40  
E-mail: sales@biolabmix.ru

## Белок-нуклеаза Cas9-NLS

Кат. номер GE-5030, GE-5050

### Описание:

Белок Cas9-NLS – это рекомбинантная эндонуклеаза Cas9 из *Streptococcus pyogenes* слитая с С-конца с повторяющимся сигналом ядерной локализации (NLS) вируса SV40 (PKKKRKV), размер белка составляет 163 кДа. Эндонуклеаза Cas9-NLS в комплексе с направляющими РНК (дуплексом crRNA:tracrRNA) или единой sgRNA осуществляет сайт-специфический гидролиз фосфодиэфирной связи в двухцепочечной ДНК. Разрыв происходит на цепи ДНК между третьим и четвертым нуклеотидами от последовательности PAM с образованием «тупых концов».

### Стерильность препарата

Растворы фермента и буфера стерилизованы фильтрованием (диаметр пор 0,2 мкм). Анализ стерильности путем инкубации 50 мкл растворов на чашках Петри со средой №1 ГРМ в течение 3х суток не выявляет бактериальных колоний. При необходимости, растворы могут быть дополнительно стерилизованы, например, с помощью центрифужных концентраторов с диаметром пор 0,1-0,2 мкм, материал фильтра PES.

**Область применение:** геномное редактирование, технология CRISPR/Cas9.

### Источник

Эндонуклеаза Cas9-NLS очищена из штамма *E.coli*, содержащего плазмиду с клонированной ДНК, состоящей из гена Cas9 и фрагментов ДНК дополнительно кодирующих с N-конца 17 аминокислот и 22 аминокислоты с С-конца. Такая конструкция позволяет синтезировать полностью функциональный белок Cas9 *Streptococcus pyogenes*, слитый с дважды повторяющимся NLS вируса SV40.

### Концентрация эндонуклеазы Cas9-NLS и фасовки:

20 пмоль/мкл (20 мкМ).

Каталожный номер	Название	Количество	Объем
GE-5030	Белок-нуклеаза Cas9-NLS	300 пмоль	15 мкл
GE-5050		500 пмоль	25 мкл

**Буфер хранения**

Фермент находится в растворе следующего состава: 50 мМ Tris-HCl (pH 7,5 при 25°C), 300 мМ NaCl, 0,1 мМ ЭДТА, 1 мМ дитиотреитол, 50% глицерин.

**Контроль качества**

Каждая партия фермента тестируется на электрофоретическую чистоту в SDS-ПААГ, специфическую активность фермента в присутствии sgRNA в условиях *in vitro*, отсутствие неспецифической нуклеазной активности и стерильность растворов.

**Буфер для проведения реакции гидролиза плазмидных ДНК *in vitro* (x5)**

100 мМ HEPES (pH 7,5 при 25°C), 625 мМ KCl, 5 мМ ЭДТА, 5 мМ дитиотреитол, 30 мМ MgCl<sub>2</sub>, 35% глицерин.

**Оптимальная температура реакции:** 37°C.

**Условия инактивации фермента:** инкубация 5 минут при 65°C.

**Условия хранения и транспортировки**

Хранить при температуре -20°C.

Допускается транспортирование при температуре не выше +8°C в течение суток.