



zHeiCas9 (NLS-SpCas9-NLS) (CZRC Catalog ID: CZPro 1)

产品说明:

zHeiCas9 在 Cas9 蛋白 (源于 *Streptococcus pyogenes*) 基础上, 在 N 端和 C 端各添加 1 个核定位信号肽序列形成。该蛋白经 *E.coli* 重组、表达、纯化而获得。

用途:

用于鱼类胚胎的高效基因敲除和敲入。

包装浓度和体积: 5 $\mu\text{g}/\text{uL}$, 20 uL 。

酶储存溶液:

10mM Tris, 300mM NaCl, 0.1mM EDTA, 1mM DTT, 50% (v/v) Glycerol, pH7.4。

保存条件:

-20 $^{\circ}\text{C}$ 保存, 至少一年有效。可以分装后在 -80 $^{\circ}\text{C}$ 长期保存, 尽量避免反复冻融。

注意事项: 注意 RNase-free 和 DNase-free 的相关操作。

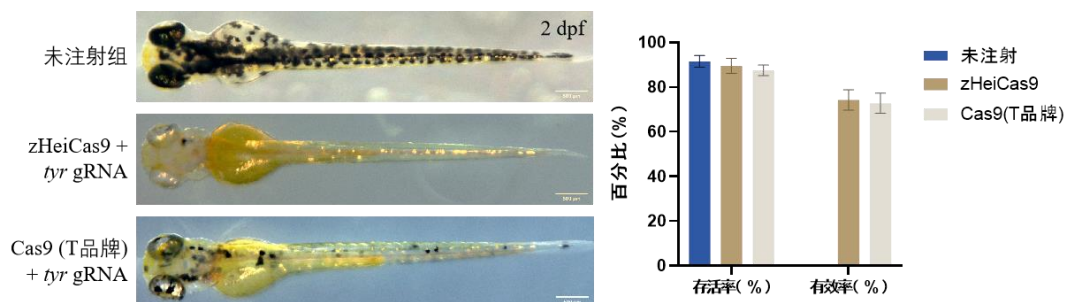
使用说明:

以敲除斑马鱼黑色素合成必需基因 *tyr* 为例:

在室温混合以下溶液:

- Cas9 蛋白 (5 $\mu\text{g}/\text{uL}$): 1 μL , 终浓度为 500ng/uL
- *tyr* gRNA (500 ng/uL): 1 μL , 终浓度为 50ng/uL
- Nuclease-free Water: 7 μL
- 0.5% 酚红溶液: 1 μL

将上述混合溶液混合后于室温孵育 10 分钟, 注射到 1 细胞期的斑马鱼受精卵, 每颗受精卵注射 1~2 nL, 2 天后观察黑色素合成缺陷表型 (如图)。实验结果表明, 和市售某品牌 Cas9 蛋白相比, HeiCas9 蛋白能够达到相当甚至更高的敲除效率。





常见问题:

问: 在基因编辑中, 选择 Cas9 蛋白替代 cas9 mRNA 的优势在哪里?

答: 在基因编辑中, 相对于使用 Cas9 mRNA, 选择 Cas9 蛋白有一些特定的优势, 主要包括以下几点:

1. ****即时效应****: Cas9 蛋白可以直接参与基因编辑过程, 无需像 mRNA 那样先在细胞内翻译为蛋白质, 因此可以更快地发挥编辑作用。
2. ****减少细胞内负荷****: 使用蛋白不需要占用细胞资源进行翻译过程, 这对于那些转录或翻译能力有限的细胞尤其有利。
3. ****提高编辑效率****: Cas9 蛋白与 sgRNA 预组装形成的 RNP 复合体能迅速定位并切割目标 DNA, 通常比依赖 mRNA 表达的系统效率更高。
4. ****降低脱靶效应****: Cas9 蛋白的生物半衰期较短, 执行完任务后会较快降解, 减少了 Cas9 在细胞内长时间滞留造成的潜在脱靶编辑风险。
5. ****操作简便****: 直接转染蛋白避免了复杂的转录过程, 操作更为简便快捷, 同时也减少了因 mRNA 稳定性问题可能带来的变异性。

技术咨询和售后请联系: zebrafish@ihb.ac.cn

