

Cre Recombinase

| 产品编号 | 产品名称 | 包装 |
|--------|-----------------|-------|
| D0509S | Cre Recombinase | 50U |
| D0509M | Cre Recombinase | 250U |
| D0509L | Cre Recombinase | 1000U |

产品简介:

- Cre Recombinase (Cre重组酶)是借助碧云天自主研发的PerfectProtein™技术平台表达、纯化获得的高品质Cre重组酶。Cre重组酶常用于两个同方向的 $loxP$ 位点之间的基因序列删除。
- Cre重组酶是来源于大肠杆菌噬菌体P1的一种I型拓扑异构酶(Type I topoisomerase), 也是一种酪氨酸重组酶(tyrosine recombinase), 能识别34bp的 $loxP$ 位点(两端为两个13bp的反向重复序列(inverted repeats), 中间是8bp的间隔区)(图1), 并能催化 $loxP$ 位点之间的DNA发生重组; 重组产物根据 $loxP$ 位点的位置和相对方向的不同而不同, 两个含单 $loxP$ 位点的DNA将发生融合: 两个同方向的 $loxP$ 位点间的DNA将以环状形式被切割, 而两个反向 $loxP$ 位点间的DNA序列将被翻转(图2) [1, 2]。



图1. $loxP$ 位点序列图。Cre重组酶与两端13bp反向重复序列(小写字母)结合, 中间是8bp不对称中心间隔区(大写字母), 箭头所示为Cre重组酶的酶切位点。

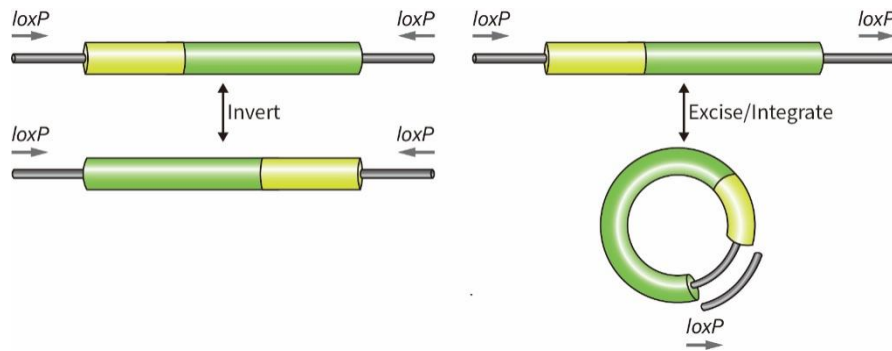


图2. Cre- $loxP$ 位点特异性重组示意图。

- $loxP$ 位点经常被插入到细胞或生物体的基因组中, 然后通过Cre重组酶来控制两个同方向的 $loxP$ 位点之间的基因删除, 从而广谱性地或时空特异性地调控特定基因的表达或关闭。
- 碧云天生产的Cre Recombinase催化位点特异性重组的效果请参见图3。

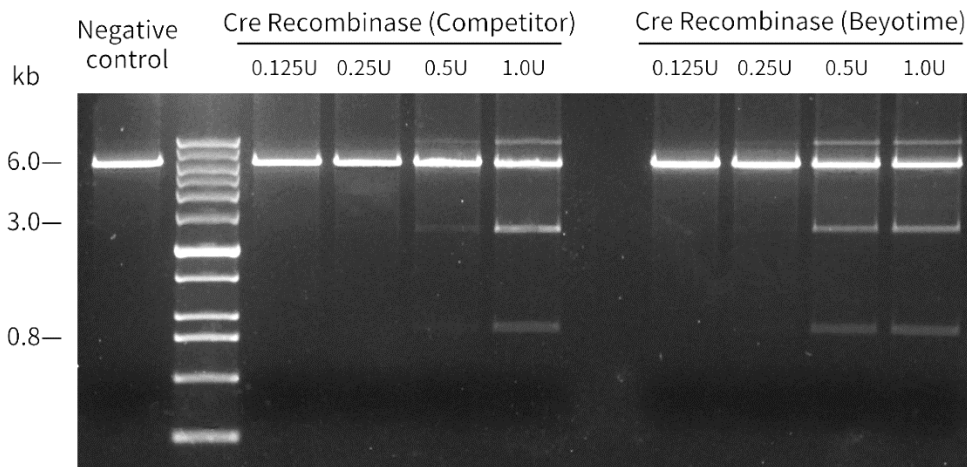


图3. 碧云天生产的Cre Recombinase催化的两个同向 $loxP$ 位点之间序列切除的效果图。反应体系50 μ l: 5 μ l 10X Cre

Recombinase Buffer或Competitor的相应Buffer, 250ng线性化的底物DNA, Nuclease-free Water补齐至49 μ l, 冰上混合后加入1 μ l不同活性单位量的Cre Recombinase, 37 $^{\circ}$ C水浴反应30分钟后, 70 $^{\circ}$ C灭活10分钟, 取20 μ l反应产物, 使用1%琼脂糖凝胶电泳检测Cre Recombinase的切除效果。含有两个同向*loxP*位点的质粒(5874bp)经Cre Recombinase重组后出现了: 切除了*loxP*位点之间序列的环化质粒(5003bp, 在1%琼脂糖凝胶中因环化而迁移至3.0kb左右的位置)以及被切除的*loxP*位点之间的片段(871bp)。从上图的检测效果来看, 碧云天Cre Recombinase能很好地催化了两个同向重复*loxP*位点之间的DNA序列的切除, 并且效果略优于国外N公司的同类产品。实际结果会因实验条件、检测仪器等的不同而存在差异, 图中数据仅供参考。

- **来源:** Cre Recombinase通过大肠杆菌(*E.coli*)重组、表达、纯化而获得。
- **用途:** 催化*loxP*位点间的序列进行位点特异性重组。
- **活性定义:** 1单位指在50 μ l反应体系, 37 $^{\circ}$ C条件下, 30分钟使250ng的对照DNA产生最大位点特异性重组所要的酶量。最大重组可以通过琼脂糖凝胶电泳分析或通过反应物转化后进行相应抗性平板筛选。
- **酶储存溶液:** 15mM Tris-HCl (pH8.0), 250mM NaCl, 0.3mg/ml BSA, 50% (v/v) Glycerol。
- **失活或抑制:** 70 $^{\circ}$ C加热10分钟失活。

包装清单:

| 产品编号 | 产品名称 | 包装 |
|----------|-------------------------------|-------------|
| D0509S-1 | Cre Recombinase (1U/ μ l) | 50 μ l |
| D0509S-2 | 10X Cre Recombinase Buffer | 300 μ l |
| — | 说明书 | 1份 |

| 产品编号 | 产品名称 | 包装 |
|----------|-------------------------------|-------------|
| D0509M-1 | Cre Recombinase (1U/ μ l) | 250 μ l |
| D0509M-2 | 10X Cre Recombinase Buffer | 1.5ml |
| — | 说明书 | 1份 |

| 产品编号 | 产品名称 | 包装 |
|----------|-------------------------------|-----|
| D0509L-1 | Cre Recombinase (1U/ μ l) | 1ml |
| D0509L-2 | 10X Cre Recombinase Buffer | 6ml |
| — | 说明书 | 1份 |

保存条件:

-20 $^{\circ}$ C保存。

注意事项:

- 本产品消化处理DNA样品并进行琼脂糖凝胶电泳前, 建议将反应混合物70 $^{\circ}$ C灭活10分钟以灭活Cre Recombinase。
- 由于Cre Recombinase催化的反应是一个动态平衡过程, 所使用的底物DNA仅有20-30%发生重组。
- 延长孵育时间不会提高重组效率, 反而还可能导导致高分子量重组产物的生成。
- 反应中过度增加Cre Recombinase酶量可形成*loxP*位点依赖性 Cre-DNA复合物, 从而可能抑制重组反应(图2中出现的大于6kb的DNA条带)。

使用说明:

1. 溶解并混匀重组反应所需的各种溶液。将Cre Recombinase置于冰浴上或冰盒内。
2. 参考下表在冰浴上设置反应(如果有多个类似的反应, 可以根据反应数量先配制包含水、Buffer和Cre Recombinase的混合物, 然后分装到各反应管内, 最后再加入不同的底物DNA):

| Reagent | Volume | Final |
|----------------------------|----------------|---------------|
| Nuclease-free Water | (44-x) μ l | - |
| 10X Cre Recombinase Buffer | 5 μ l | 1X |
| Substrate DNA | x μ l | 5ng/ μ l* |
| Cre Recombinase | 1 μ l | 1U/50 μ l |
| Final volume | 50 μ l | - |

*仅为参考, 可以根据具体实验情况进行调整。

3. 用移液器轻轻吹打混匀或轻微Vortex混匀, 室温离心数秒, 使液体积聚于管底。
4. 37 $^{\circ}$ C孵育30分钟。
5. 热失活: 70 $^{\circ}$ C加热10分钟。
6. 琼脂糖凝胶电泳分析重组效果。如果是对质粒进行的重组, 根据具体情况, 有的可以把反应产物转化感受态菌后筛选和鉴定重组后的质粒。

参考文献:

1. Pinkney JN, Zawadzki P, Mazuryk J, Arciszewska L K, Sherratt D J, Kapanidis A N. Proc Natl Acad Sci USA. 2012. 109(51):20871-6.
2. Kühn R, Torres R M. Methods Mol Biol. 2002. 180:175-204.

相关产品:

| 产品编号 | 产品名称 | 包装 |
|-------------|------------------------------------|-------|
| D2608-1μg | pCMV-Cre-EGFP | 1μg |
| D2608-100μg | pCMV-Cre-EGFP | 100μg |
| D2607-1μg | pCMV-Cre-mCherry | 1μg |
| D2607-100μg | pCMV-Cre-mCherry | 100μg |
| D0508S | 基因组编辑突变检测试剂盒 | 25次 |
| D0508M | 基因组编辑突变检测试剂盒 | 100次 |
| D7080S | T7 Endonuclease I (CRISPR等基因突变鉴定用) | 250U |
| D7080M | T7 Endonuclease I (CRISPR等基因突变鉴定用) | 1250U |
| D7080L | T7 Endonuclease I (CRISPR等基因突变鉴定用) | 5000U |

Version 2023.12.04