

Vector Summary

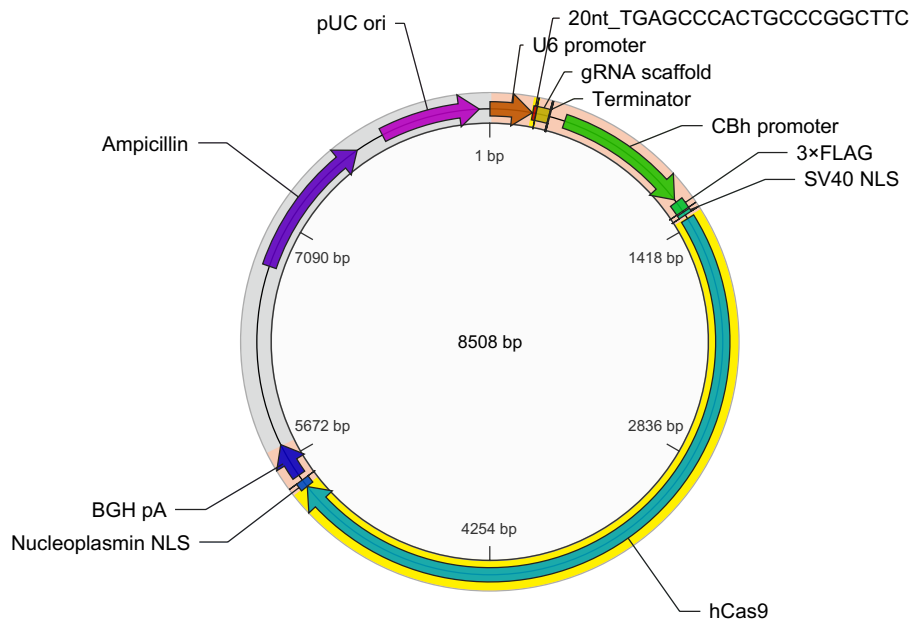
Vector ID	VB161011-1047mab
Vector Name (official)	pRP[CRISPR]-hCas9-U6>20nt_TGAGCCCACTGCCCCGGCTTC
Date Created (Pacific Time)	2016-10-10
Size	8508 bp
Vector Type	Regular plasmid CRISPR vector (single gRNA)
Inserted gRNA	20nt_TGAGCCCACTGCCCCGGCTTC
Inserted Nuclease	hCas9
Target Sequence	TGAGCCCACTGCCCCGGCTTC
Copy Number	High
Bacterial Resistance	Ampicillin
Cloning Host	Stb13

User Annotation of Vector

Vector alias (from user)	<i>None</i>
Comment (from user)	<i>None</i>

Vector Map

■ User-inserted region ■ Eukaryotic region ■ Bacterial region



Vector Components

Component Name	Nucleotide Position	Full Name	Description
U6 promoter	1-249	Human U6 promoter	Allows high-level expression of gRNA.
20nt_TGAGCCCACTG CCCGGCTTC	251-270	20nt_TGAGCCCACTGCCCGGCTTC	Component entered by user
gRNA scaffold	271-346	Chimeric gRNA scaffold	Helps hCas9 bind to target DNA.
Terminator	347-352	U6 terminator	Allows transcription termination of gRNA.
CBh promoter	443-1240	Chicken betaActin hybrid promoter	Drives expression of hCas9.
3×FLAG	1256-1321	3 tandem flag epitopes	Allows to detect recombinant fusion proteins.
SV40 NLS	1328-1348	SV40 nuclear localization signal	Allows transportation of protein into the nucleus.
hCas9	1373-5473	Human codon-optimized Cas9	An RNA-guided DNA endonuclease enzyme associated with the CRISPR adaptive immunity system from <i>Streptococcus pyogenes</i> .
Nucleoplasmin NLS	5474-5521	Nucleoplasmin nuclear localization signal	Allows transportation of protein into the nucleus.
BGH pA	5555-5762	Bovine growth hormone polyadenylation	Allows transcription termination and polyadenylation of mRNA.
Ampicillin	6828-7688	Ampicillin resistance gene	Allows selection of the plasmid in <i>E.coli</i> .
pUC ori	7859-8447	pUC origin of replication	Permits high-copy replication and maintenance in <i>E.coli</i> .

Note: (c) denotes complementary strand.

User Annotation of Vector Components

Component Name	Comment by User
20nt_TGAGCCCACTGCCCGGCT TC	<i>None</i>
hCas9	<i>None</i>

Vector Sequence

1 **GAGGGCCTAT TTCCCATGAT TCCTTCATAT TTGCATATAC GATACAAGGC TGTTAGAGAG**
 61 **ATAATTGGAA TTAATTTGAC TGTAACACA AAGATATTAG TACAAATAC GTGACGTAGA**
 121 **AAGTAATAAT TTCTTGGGTA G'TTTGCAGTT TTAAAATTAT GTTTTAAAAT GGACTATCAT**
 181 **ATGCTTACCG TAACTTGAAA GTATTTTCGAT TTCTTGGCTT TATATATCTT GTGGAAAGGA**
 241 **CGAAACACCG** TGAGCCCACT GCCCGGCTTC **GTTTTAGAGC TAGAAATAGC AAGTTAAAAT**
 301 **AAGGCTAGTC CGTTATCAAC TTGAAAAAGT GGCACCGAGT CGGTGCTTTT** TTGTTTTAGA
 361 GCTAGAAATA GCAAGTTAAA ATAAGGCTAG TCCGTTTTTA GCGCGTGCGC CAATTCTGCA
 421 GACAAATGGC TCTAGAGGTA **CCCGTTACAT AACTTACGGT AAATGGCCCG CCTGGCTGAC**
 481 **CGCCAACGA CCCC GCCCA TTGACGTCAA TAGTAACGCC AATAGGGACT TTCCATTGAC**
 541 **GTCAATGGGT GGAGTATTTA CGGTAAACTG CCCACTTGGC AGTACATCAA GTGTATCATA**
 601 **TGCCAAGTAC GCCCCCTATT GACGTCAATG ACGGTAAATG GCCCGCCTGG CATTGTGCCC**
 661 **AGTACATGAC CTTATGGGAC TTTCTACTT GGCAGTACAT CTACGTATTA GTCATCGCTA**
 721 **TTACCATGGT CGAGGTGAGC CCCACGTTCT GCTTCACTCT CCCCATCTCC CCCCCTCC**
 781 **CACCCCAAT TTTGTATTTA TTTATTTTTT AATTATTTTG TGCAGCGATG GGGGCGGGG**
 841 **GGGGGGGGGG GCGCGCGCCA GCGGGGCGG GCGGGGCGA GGGGCGGGC GGGGCGAGC**
 901 **GGAGAGGTGC GCGGCGAGCC AATCAGAGCG GCGCGCTCCG AAAGTTTCTT TTTATGGCGA**
 961 **GGCGGCGGCG GCGGCGGCC TATAAAAAGC GAAGCGCGCG GCGGGCGGA GTCGCTGCGC**
 1021 **GCTGCC'TTCG CCCCCTGCC CGCTCCGCC CCGCTCGCG CCGCCGCC CGGCTCTGAC**
 1081 **TGACCGCGTT ACTCCACAG GTGAGCGGGC GGGACGGCC TTCTCCTCCG GGCTGTAATT**
 1141 **AGCTGAGCAA GAGGTAAGGG TTTAAGGGAT GGTTGGTTGG TGGGGTATTA ATGTTTAATT**
 1201 **ACCTGGAGCA CCTGCCTGAA ATCACTTTTT TTCAGGTTGG** ACCGGTGCCA CCATGGACTA
 1261 TAAGGACCAC GACGGAGACT ACAAGGATCA TGATATTGAT TACAAAGACG ATGACGATAA
 1321 GATGGCCCA **AAGAAGAAGC** **GGAAGGTC** GG TATCCACGGA GTCCCAGCAG CCGACAAGAA
 1381 GTACAGCATC GGCCTGGACA TCGGCACCAA CTCTGTGGGC TGGGCCGTGA TCACCGACGA
 1441 GTACAAGGTG CCCAGCAAGA AATTCAAGGT GCTGGGCAAC ACCGACCGGC ACAGCATCAA
 1501 GAAGAACCTG ATCGGAGCCC TGCTGTTCGA CAGCGGCGAA ACAGCCGAGG CCACCCGGCT
 1561 GAAGAGAACC GCCAGAAGAA GATACACCAG ACGGAAGAAC CGGATCTGCT ATCTGCAAGA
 1621 GATCTTCAGC AACGAGATGG CCAAGGTGGA CGACAGCTTC TTCCACAGAC TGGAAGAGTC
 1681 CTTCTGGTG GAAGAGGATA AGAAGCACGA GCGGCACCCC ATCTTCGGCA ACATCGTGGA
 1741 CGAGGTGGCC TACCACGAGA AGTACCCAC CATCTACCAC CTGAGAAAGA AACTGGTGGA
 1801 CAGCACCGAC AAGGCCGACC TGCGGCTGAT CTATCTGGCC CTGGCCACA TGATCAAGTT
 1861 CCGGGGCCAC TTCTGATCG AGGGCGACCT GAACCCCGAC AACAGCGACG TGGACAAGCT
 1921 GTTTATCCAG CTGGTGCAGA CCTACAACCA GCTGTTCGAG GAAAACCCCA TCAACGCCAG
 1981 CGGCGTGGAC GCCAAGGCCA TCCTGTCTGC CAGACTGAGC AAGAGCAGAC GGCTGGAAAA
 2041 TCTGATCGCC CAGCTGCCCG GCGAGAAGAA GAATGGCCTG TTCGGAAACC TGATTGCCCT
 2101 GAGCCTGGGC CTGACCCCA ACTTCAAGAG CAACTTCGAC CTGGCCGAGG ATGCCAAACT
 2161 GCAGCTGAGC AAGGACACCT ACGACGACGA CCTGGACAAC CTGCTGGCCC AGATCGGCGA
 2221 CCAGTACGCC GACCTGTTTC TGGCCGCCAA GAACCTGTCC GACGCCATCC TGCTGAGCGA
 2281 CATCCTGAGA GTGAACACCG AGATCACCAA GGCCCCCTG AGCGCCTCTA TGATCAAGAG
 2341 ATACGACGAG CACCACCAGG ACCTGACCTT GCTGAAAGCT CTCGTGCGGC AGCAGCTGCC
 2401 TGAGAAGTAC AAAGAGATTT TCTTCGACCA GAGCAAGAAC GGCTACGCCG GCTACATTGA
 2461 CGGCGGAGCC AGCCAGGAAG AGTTCTACAA GTTTATCAAG CCCATCCTGG AAAAGATGGA
 2521 CGGCACCGAG GAAC'TGCTCG TGAAGCTGAA CAGAGAGGAC CTGCTGCGGA AGCAGCGGAC
 2581 CTTCGACAAC GGCAGCATCC CCCACCAGAT CCACCTGGGA GAGCTGCACG CCATTCTGCG
 2641 GCGGCAGGAA GATTTTTTACC CATTCTGAA GGACAACCGG GAAAAGATCG AGAAGATCCT
 2701 GACCTCCGC ATCCCCTACT ACGTGGGCC TCTGGCCAGG GGAAACAGCA GATTTCGCTG
 2761 GATGACCAGA AAGAGCGAGG AAACCATCAC CCCCTGGAAC TTCGAGGAAG TGGTGGACAA
 2821 GGGCGCTTCC GCCCAGAGCT TCATCGAGCG GATGACCAAC TTGATAAGA ACCTGCCCAA
 2881 CGAGAAGGTG CTGCCAAGC ACAGCCTGCT GTACGAGTAC TTACCCGTGT ATAACGAGCT
 2941 GACCAAAGTG AAATACGTGA CCGAGGGAAT GAGAAAGCCC GCCTTCCTGA GCGGCGAGCA

3001 [GAAAAAGGCC](#) [ATCGTGGACC](#) [TGCTGTTCAA](#) [GACCAACCGG](#) [AAAGTGACCG](#) [TGAAGCAGCT](#)
 3061 [GAAAGAGGAC](#) [TACTTCAAGA](#) [AAATCGAGTG](#) [CTTCGACTCC](#) [GTGAAATCT](#) [CCGGCGTGGA](#)
 3121 [AGATCGGTTT](#) [AACGCCTCCC](#) [TGGGCACATA](#) [CCACGATCTG](#) [CTGAAAATTA](#) [TCAAGGACAA](#)
 3181 [GGACTTCCTG](#) [GACAATGAGG](#) [AAAACGAGGA](#) [CATTCTGGAA](#) [GATATCGTGC](#) [TGACCCTGAC](#)
 3241 [ACTGTTTGAG](#) [GACAGAGAGA](#) [TGATCGAGGA](#) [ACGGCTGAAA](#) [ACCTATGCC](#) [ACCTGTTTCA](#)
 3301 [CGACAAAGTG](#) [ATGAAGCAGC](#) [TGAAGCGGCG](#) [GAGATACACC](#) [GGCTGGGGCA](#) [GGCTGAGCCG](#)
 3361 [GAAGCTGATC](#) [AACGGCATCC](#) [GGGACAAGCA](#) [GTCCGGCAAG](#) [ACAATCCTGG](#) [ATTTCTGAA](#)
 3421 [GTCCGACGGC](#) [TTCGCCAACA](#) [GAAACTTCAT](#) [GCAGCTGATC](#) [CACGACGACA](#) [GCCTGACCTT](#)
 3481 [TAAAGAGGAC](#) [ATCCAGAAA](#) [CCCAGGTGTC](#) [CGGCCAGGGC](#) [GATAGCCTGC](#) [ACGAGCACAT](#)
 3541 [TGCCAATCTG](#) [GCCGGCAGCC](#) [CCGCCATTAA](#) [GAAGGGCATC](#) [CTGCAGACAG](#) [TGAAGGTGGT](#)
 3601 [GGACGAGCTC](#) [GTGAAAGTGA](#) [TGGGCCGGCA](#) [CAAGCCCGAG](#) [AACATCGTGA](#) [TCGAAATGGC](#)
 3661 [CAGAGAGAAC](#) [CAGACCACCC](#) [AGAAGGGACA](#) [GAAGAACAGC](#) [CGCGAGAGAA](#) [TGAAGCGGAT](#)
 3721 [CGAAGAGGGC](#) [ATCAAAGAGC](#) [TGGGCAGCCA](#) [GATCCTGAAA](#) [GAACACCCCG](#) [TGGAAAACAC](#)
 3781 [CCAGCTGCAG](#) [AACGAGAAGC](#) [TGTACCTGTA](#) [CTACCTGCAG](#) [AATGGGCGGG](#) [ATATGTACGT](#)
 3841 [GGACCAGGAA](#) [CTGGACATCA](#) [ACCGGCTGTC](#) [CGACTACGAT](#) [GTGGACCATA](#) [TCGTGCCTCA](#)
 3901 [GAGCTTCTG](#) [AAGGACGACT](#) [CCATCGACAA](#) [CAAGGTGCTG](#) [ACCAGAAGCG](#) [ACAAGAACCG](#)
 3961 [GGGCAAGAGC](#) [GACAACGTGC](#) [CCTCCGAAGA](#) [GGTCGTGAAG](#) [AAGATGAAGA](#) [ACTACTGGCG](#)
 4021 [GCAGCTGCTG](#) [AACGCCAAGC](#) [TGATTACCCA](#) [GAGAAAGTTC](#) [GACAATCTGA](#) [CCAAGGCCGA](#)
 4081 [GAGAGGCGGC](#) [CTGAGCGAAC](#) [TGGATAAGGC](#) [CGGCTTCATC](#) [AAGAGACAGC](#) [TGGTGGAAAC](#)
 4141 [CCGGCAGATC](#) [ACAAAGCACG](#) [TGGCACAGAT](#) [CCTGGACTCC](#) [CGGATGAACA](#) [CTAAGTACGA](#)
 4201 [CGAGAAATGAC](#) [AAGCTGATCC](#) [GGGAAGTGAA](#) [AGTGATCACC](#) [CTGAAGTCCA](#) [AGCTGGTGTC](#)
 4261 [CGATTTCCGG](#) [AAGGATTTCC](#) [AGTTTTTACAA](#) [AGTGCGCGAG](#) [ATCAACAAC](#) [ACCACCACGC](#)
 4321 [CCACGACGCC](#) [TACCTGAACG](#) [CCGTCTGTTG](#) [AACCGCCCTG](#) [ATCAAAAAGT](#) [ACCCTAAGCT](#)
 4381 [GGAAAGCGAG](#) [TTCGTGTACG](#) [GCGACTACAA](#) [GGTGTACGAC](#) [GTGCGGAAGA](#) [TGATCGCCAA](#)
 4441 [GAGCGAGCAG](#) [GAAATCGGCA](#) [AGGCTACCGC](#) [CAAGTACTTC](#) [TTCTACAGCA](#) [ACATCATGAA](#)
 4501 [CTTTTTTCAAG](#) [ACCGAGATTA](#) [CCCTGGCCAA](#) [CGGCGAGATC](#) [CGGAAGCGGC](#) [CTCTGATCGA](#)
 4561 [GACAAACGGC](#) [GAAACCGGGG](#) [AGATCGTGTG](#) [GGATAAGGGC](#) [CGGGATTTTG](#) [CCACCGTGCG](#)
 4621 [GAAAGTGCTG](#) [AGCATGCCCC](#) [AAGTGAATAT](#) [CGTGAAAAAG](#) [ACCGAGGTGC](#) [AGACAGGCGG](#)
 4681 [CTTCAGCAAA](#) [GAGTCTATCC](#) [TGCCCAAGAG](#) [GAACAGCGAT](#) [AAGCTGATCG](#) [CCAGAAAGAA](#)
 4741 [GGACTGGGAC](#) [CCTAAGAAGT](#) [ACGGCGGCTT](#) [CGACAGCCCC](#) [ACCGTGGCCT](#) [ATTCTGTGCT](#)
 4801 [GGTGGTGGCC](#) [AAAGTGGAAA](#) [AGGGCAAGTC](#) [CAAGAAACTG](#) [AAGAGTGTGA](#) [AAGAGCTGCT](#)
 4861 [GGGGATCACC](#) [ATCATGGAAA](#) [GAAGCAGCTT](#) [CGAGAAGAAT](#) [CCCATCGACT](#) [TTCTGGAAGC](#)
 4921 [CAAGGGCTAC](#) [AAAGAAGTGA](#) [AAAAGGACCT](#) [GATCATCAAG](#) [CTGCCTAAGT](#) [ACTCCCTGTT](#)
 4981 [CGAGCTGGAA](#) [AACGGCCGGA](#) [AGAGAATGCT](#) [GGCCTCTGCC](#) [GGCGAAGTGC](#) [AGAAGGGAAA](#)
 5041 [CGAACTGGCC](#) [CTGCCCTCCA](#) [AATATGTGAA](#) [CTTCTGTAC](#) [CTGGCCAGCC](#) [ACTATGAGAA](#)
 5101 [GCTGAAGGGC](#) [TCCCCGAGG](#) [ATAATGAGCA](#) [GAAACAGCTG](#) [TTTGTGGAAC](#) [AGCACAAGCA](#)
 5161 [CTACCTGGAC](#) [GAGATCATCG](#) [AGCAGATCAG](#) [CGAGTTCTCC](#) [AAGAGAGTGA](#) [TCCTGGCCGA](#)
 5221 [CGCTAATCTG](#) [GACAAAGTGC](#) [TGTCCGCCTA](#) [CAACAAGCAC](#) [CGGGATAAGC](#) [CCATCAGAGA](#)
 5281 [GCAGGCCGAG](#) [AATATCATCC](#) [ACCTGTTTAC](#) [CCTGACCAAT](#) [CTGGGAGCCC](#) [CTGCCGCCTT](#)
 5341 [CAAGTACTTT](#) [GACACCACCA](#) [TCGACCGGAA](#) [GAGGTACACC](#) [AGCACCAAAG](#) [AGGTGCTGGA](#)
 5401 [CGCCACCCTG](#) [ATCCACCAGA](#) [GCATCACCGG](#) [CCTGTACGAG](#) [ACACGGATCG](#) [ACCTGTCTCA](#)
 5461 [GCTGGGAGGC](#) [GAC**AAAAGGC**](#) [CGGCGGCCAC](#) [G**AAAAAGGCC**](#) [G**CCAGGCAA**](#) [A**AAAGAAAA**](#)
 5521 [GTAAGAATTC](#) [CTAGAGCTCG](#) [CTGATCAGCC](#) [TCGACTGTGC](#) [CTTCTAGTTG](#) [CCAGCCATCT](#)
 5581 [GTTGTTTGCC](#) [CCTCCCCCGT](#) [GCCTTCCTTG](#) [ACCCTGGAAG](#) [GTGCCACTCC](#) [CACTGTCCTT](#)
 5641 [TCCTAATAAA](#) [ATGAGGAAAT](#) [TGCATCGCAT](#) [TGTCTGAGTA](#) [GGTGTCTATC](#) [TATTCTGGGG](#)
 5701 [GGTGGGGTGG](#) [GGCAGGACAG](#) [CAAGGGGGAG](#) [GATTGGGAAG](#) [AGAATAGCAG](#) [GCATGCTGGG](#)
 5761 [GAGCGGCCGC](#) [AGGAACCCCT](#) [AGTGATGGAG](#) [TTGGCCACTC](#) [CCTCTCTGCG](#) [CGCTCGCTCG](#)
 5821 [CTCACTGAGG](#) [CCGGGCGACC](#) [AAAGGTCGCC](#) [CGACGCCCGG](#) [GCTTTGCCCG](#) [GGCGGCCTCA](#)
 5881 [GTGAGCGAGC](#) [GAGCGCGCAG](#) [CTGCCTGCAG](#) [GGGCGCCTGA](#) [TGCGGTATTT](#) [TCTCCTTACG](#)
 5941 [CATCTGTGCG](#) [GTATTTTACA](#) [CCGCATACGT](#) [CAAAGCAACC](#) [ATAGTACGCG](#) [CCCTGTAGCG](#)
 6001 [GCGCATTAAG](#) [CGCGGCGGGT](#) [GTGGTGGTTA](#) [CGCGCAGCGT](#) [GACCGCTACA](#) [CTTGCCAGCG](#)
 6061 [CCTTAGCGCC](#) [CGCTCCTTTC](#) [GCTTTCTTTC](#) [CTTCTTTTCT](#) [CGCCACGTTT](#) [GCCGGCTTTC](#)

```

6121 CCCGTCAAGC TCTAAATCGG GGGCTCCCTT TAGGGTTC CG ATTTAGTGCT TTACGGCACC
6181 TCGACCCCAA AAAACTTGAT TTGGGTGATG GTTCACGTAG TGGGCCATCG CCCTGATAGA
6241 CGGTTTTTCG CCCTTTGACG TTGGAGTCCA CGTTCTTTAA TAGTGGACTC TTGTTCCAAA
6301 CTGGAACAAC ACTCAACTCT ATCTCGGGCT ATTCTTTTGA TTTATAAGGG ATTTTGCCGA
6361 TTTCGGTCTA TTGGTTAAAA AATGAGCTGA TTTAACAAAA ATTTAACGCG AATTTTAAAC
6421 AAATATTAAC GTTTACAATT TTATGGTGCA CTCTCAGTAC AATCTGCTCT GATGCCGCAT
6481 AGTTAAGCCA GCCCCGACAC CCGCCAACAC CCGCTGACGC GCCCTGACGG GCTTGTCTGC
6541 TCCCGGCATC CGCTTACAGA CAAGCTGTGA CCGTCTCCGG GAGCTGCATG TGTCAGAGGT
6601 TTTCACCGTC ATCACCGAAA CGCGCGAGAC GAAAGGGCCT CGTGATACGC CTATTTTTAT
6661 AGGTTAATGT CATGATAATA ATGGTTTCTT AGACGTCAGG TGGCACTTTT CGGGGAAATG
6721 TGCGCGGAAC CCCTATTTGT TTATTTTTCT AAATACATTC AAATATGTAT CCGCTCATGA
6781 GACAATAACC CTGATAAATG CTTCAATAAT ATTGAAAAAG GAAGAGTATG AGTATTCAAC
6841 ATTTCCGTGT CGCCCTTATT CCCTTTTTTG CGGCATTTTG CCTTCCTGTT TTTGCTCACC
6901 CAGAAACGCT GGTGAAAGTA AAAGATGCTG AAGATCAGTT GGGTGCACGA GTGGGTTACA
6961 TCGAACTGGA TCTCAACAGC GGTAAGATCC TTGAGAGTTT TCGCCCCGAA GAACGTTTTC
7021 CAATGATGAG CACTTTTAAA GTTCTGCTAT GTGGCGCGGT ATTATCCCGT ATTGACGCCG
7081 GGCAAGAGCA ACTCGGTCGC CGCATACTT ATTCTCAGAA TGACTTGGTT GAGTACTCAC
7141 CAGTCACAGA AAAGCATCTT ACGGATGGCA TGACAGTAAG AGAATTATGC AGTGCTGCCA
7201 TAACCATGAG TGATAACACT GCGGCCAACT TACTTCTGAC AACGATCGGA GGACCGAAGG
7261 AGCTAACCGC TTTTTTGCAC AACATGGGGG ATCATGTAAC TCGCCTTGAT CGTTGGGAAC
7321 CGGAGCTGAA TGAAGCCATA CCAAACGACG AGCGTGACAC CACGATGCCT GTAGCAATGG
7381 CAACAACGTT GCGCAAATA TTAAGTGGCG AACTACTTAC TCTAGCTTCC CGGCAACAAT
7441 TAATAGACTG GATGGAGGCG GATAAAGTTG CAGGACCACT TCTGCGCTCG GCCCTTCCGG
7501 CTGGCTGGTT TATTGCTGAT AAATCTGGAG CCGGTGAGCG TGAAGCCGC GGTATCATTG
7561 CAGCACTGGG GCCAGATGGT AAGCCCTCCC GTATCGTAGT TATCTACACG ACGGGGAGTC
7621 AGGCAACTAT GGATGAACGA AATAGACAGA TCGCTGAGAT AGGTGCCTCA CTGATTAAGC
7681 ATTGGTAACT GTCAGACCAA GTTTACTCAT ATATACTTTA GATTGATTTA AAACCTTCATT
7741 TTTAATTTAA AAGGATCTAG GTGAAGATCC TTTTTGATAA TCTCATGACC AAAATCCCTT
7801 AACGTGAGTT TTCGTTCCAC TGAGCGTCAG ACCCCGTAGA AAAGATCAA GGATCTTCTT
7861 GAGATCCTTT TTTTCTGCGC GTAATCTGCT GCTTGCAAAC AAAAAAACCA CCGCTACCAG
7921 CGGTGGTTTG TTTGCCGGAT CAAGAGCTAC CAACTCTTTT TCCGAAGGTA ACTGGCTTCA
7981 GCAGAGCGCA GATACCAAT ACTGTTCTTC TAGTGTAGCC GTAGTTAGGC CACCACTTCA
8041 AGAACTCTGT AGCACC GCCT ACATACCTCG CTCTGCTAAT CCTGTTACCA GTGGCTGCTG
8101 CCAGTGGCGA TAAGTCGTGT CTTACCGGT TGGACTCAAG ACGATAGTTA CCGGATAAGG
8161 CGCAGCGGTC GGGCTGAACG GGGGGTTCTG GCACACAGCC CAGCTTGGAG CGAACGACCT
8221 ACACCGAACT GAGATACCTA CAGCGTGAGC TATGAGAAAG CGCCACGCTT CCCGAAGGGA
8281 GAAAGGCGGA CAGGTATCCG GTAAGCGGCA GGGTCCGGAAC AGGAGAGCGC ACGAGGGGAGC
8341 TTCCAGGGGG AAACGCCTGG TATCTTTATA GTCTGTCCG GTTTCGCCAC CTCTGACTTG
8401 AGCGTCGATT TTTGTGATGC TCGTACGGGG GGCGGAGCCT ATGGAAAAC GCCAGCAACG
8461 CGGCCTTTTT ACGGTTCCCTG GCCTTTTGCT GGCTTTTGC TCACATGT
  
```

Qualification by Sequencing

Primer Name	Primer Sequence	Strand
gRNA-F1	CGGAGCCTATGGAAAAACGC	Forward
hCas9-R1	CAGATCCGGTTCTTCCGTCT	Reverse

Qualification by Restriction Enzyme Digestion

Cutters	Locations	Fragments(bp)
ScaI	2919, 4476, 4971, 5346, 7135	1557, 495, 375, 1789, 4292

Vector Summary

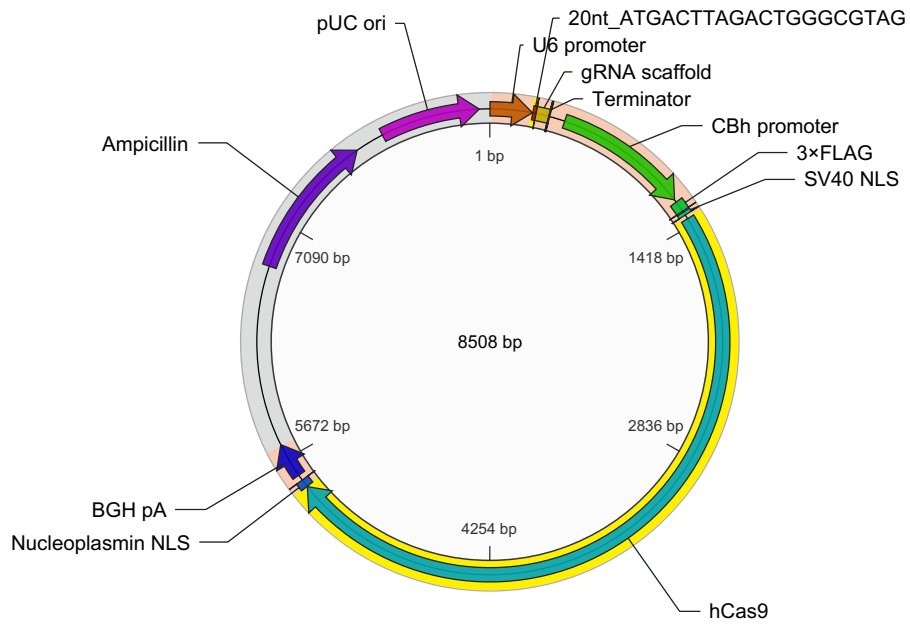
Vector ID	VB161011-1048psn
Vector Name (official)	pRP[CRISPR]-hCas9-U6>20nt_ATGACTTAGACTGGGCGTAG
Date Created (Pacific Time)	2016-10-10
Size	8508 bp
Vector Type	Regular plasmid CRISPR vector (single gRNA)
Inserted gRNA	20nt_ATGACTTAGACTGGGCGTAG
Inserted Nuclease	hCas9
Target Sequence	ATGACTTAGACTGGGCGTAG
Copy Number	High
Bacterial Resistance	Ampicillin
Cloning Host	Stb13

User Annotation of Vector

Vector alias (from user)	<i>None</i>
Comment (from user)	<i>None</i>

Vector Map

■ User-inserted region ■ Eukaryotic region ■ Bacterial region



Vector Components

Component Name	Nucleotide Position	Full Name	Description
U6 promoter	1-249	Human U6 promoter	Allows high-level expression of gRNA.
20nt_ATGACTTAGACTGGGCGTAG	<u>251-270</u>	20nt_ATGACTTAGACTGGGCGTAG	Component entered by user
gRNA scaffold	271-346	Chimeric gRNA scaffold	Helps hCas9 bind to target DNA.
Terminator	<u>347-352</u>	U6 terminator	Allows transcription termination of gRNA.
CBh promoter	443-1240	Chicken betaActin hybrid promoter	Drives expression of hCas9.
3×FLAG	<u>1256-1321</u>	3 tandem flag epitopes	Allows to detect recombinant fusion proteins.
SV40 NLS	1328-1348	SV40 nuclear localization signal	Allows transportation of protein into the nucleus.
hCas9	<u>1373-5473</u>	Human codon-optimized Cas9	An RNA-guided DNA endonuclease enzyme associated with the CRISPR adaptive immunity system from <i>Streptococcus pyogenes</i> .
Nucleoplasmin NLS	5474-5521	Nucleoplasmin nuclear localization signal	Allows transportation of protein into the nucleus.
BGH pA	<u>5555-5762</u>	Bovine growth hormone polyadenylation	Allows transcription termination and polyadenylation of mRNA.
Ampicillin	6828-7688	Ampicillin resistance gene	Allows selection of the plasmid in <i>E.coli</i> .
pUC ori	<u>7859-8447</u>	pUC origin of replication	Permits high-copy replication and maintenance in <i>E.coli</i> .

Note: (c) denotes complementary strand.

User Annotation of Vector Components

Component Name	Comment by User
20nt_ATGACTTAGACTGGGCGTAG	<i>None</i>
hCas9	<i>None</i>

Vector Sequence

1 **GAGGGCCTAT TTCCCATGAT TCCTTCATAT TTGCATATAC GATACAAGGC TGTTAGAGAG**
 61 **ATAATTGGAA TTAATTTGAC TGTAACACA AAGATATTAG TACAAATAC GTGACGTAGA**
 121 **AAGTAATAAT TTCTTGGGTA G'TTTGCAGTT TTAAAATTAT GTTTTAAAAT GGACTATCAT**
 181 **ATGCTTACCG TAACTTGAAA GTATTTTCGAT TTCTTGGCTT TATATATCTT GTGGAAAGGA**
 241 **CGAAACACCG** ATGACTTAGA CTGGGCGTAG **GTTTTAGAGC TAGAAATAGC AAGTTAAAAT**
 301 **AAGGCTAGTC CGTTATCAAC TTGAAAAAGT GGCACCGAGT CGGTGC**TTTT TTGTTTTAGA
 361 GCTAGAAATA GCAAGTTAAA ATAAGGCTAG TCCGTTTTTA GCGCGTGCGC CAATTCTGCA
 421 GACAAATGGC TCTAGAGGTA **CCCGTTACAT AACTTACGGT AAATGGCCCG CCTGGCTGAC**
 481 **CGCCAACGA CCCC GCCCA TTGACGTCAA TAGTAACGCC AATAGGGACT TTCCATTGAC**
 541 **GTCAATGGGT GGAGTATTTA CGGTAAACTG CCCACTTGGC AGTACATCAA GTGTATCATA**
 601 **TGCCAAGTAC GCCCCCTATT GACGTCAATG ACGGTAAATG GCCCGCCTGG CATTGTGCCC**
 661 **AGTACATGAC CTTATGGGAC TTTCTACTT GGCAGTACAT CTACGTATTA GTCATCGCTA**
 721 **TTACCATGGT CGAGGTGAGC CCCACGTTCT GCTTCACTCT CCCCATCTCC CCCCCTCC**
 781 **CACCCCAAT TTTGTATTTA TTTATTTTTT AATTATTTTG TGCAGCGATG GGGGCGGGG**
 841 **GGGGGGGGGG GCGCGCGCCA GCGGGGCGG GCGGGGCGA GGGGCGGGC GGGGCGAGC**
 901 **GGAGAGGTGC GCGGCAGCC AATCAGAGCG GCGCGTCCG AAAGTTTCTT TTTATGGCGA**
 961 **GGCGGCGGCG GCGGCGGCC TATAAAAAGC GAAGCGCGC GCGGGCGGA GTCGCTGCGC**
 1021 **GCTGCC**TTCG **CCCCGTGCC CGCTCCGCC CCGCTCGCG CCGCCGCC CGGCTCTGAC**
 1081 **TGACCGCGTT ACTCCACAG GTGAGCGGGC GGGACGGCC TTCTCCTCCG GGCTGTAATT**
 1141 **AGCTGAGCAA GAGGTAAGGG TTTAAGGGAT GGTTGGTTGG TGGGGTATTA ATGTTTAATT**
 1201 **ACCTGGAGCA CCTGCCTGAA ATCACTTTTT TTCAGGTTGG** ACCGGTGCCA CCATGGACTA
 1261 TAAGGACCAC GACGGAGACT ACAAGGATCA TGATATTGAT TACAAAGACG ATGACGATAA
 1321 GATGGCCCA **AAGAAGAAGC** **GGAAGGTC**GG TATCCACGGA GTCCCAGCAG CCGACAAGAA
 1381 GTACAGCATC GGCCTGGACA TCGGCACCAA CTCTGTGGGC TGGGCCGTGA TCACCGACGA
 1441 GTACAAGGTG CCCAGCAAGA AATTCAAGGT GCTGGGCAAC ACCGACCGGC ACAGCATCAA
 1501 GAAGAACCTG ATCGGAGCCC TGCTGTTCGA CAGCGGCGAA ACAGCCGAGG CCACCCGGCT
 1561 GAAGAGAACC GCCAGAAGAA GATACACCAG ACGGAAGAAC CGGATCTGCT ATCTGCAAGA
 1621 GATCTTCAGC AACGAGATGG CCAAGGTGGA CGACAGCTTC TTCCACAGAC TGGAAGAGTC
 1681 CTTCTGGTG GAAGAGGATA AGAAGCACGA GCGGCACCCC ATCTTCGGCA ACATCGTGGA
 1741 CGAGGTGGCC TACCACGAGA AGTACCCAC CATCTACCAC CTGAGAAAGA AACTGGTGGA
 1801 CAGCACCGAC AAGGCCGACC TGCGGCTGAT CTATCTGGCC CTGGCCACA TGATCAAGTT
 1861 CCGGGGCCAC TTCTGATCG AGGGCGACCT GAACCCCGAC AACAGCGACG TGGACAAGCT
 1921 GTTTATCCAG CTGGTGCAGA CCTACAACCA GCTGTTCGAG GAAAACCCCA TCAACGCCAG
 1981 CGGCGTGGAC GCCAAGGCCA TCCTGTCTGC CAGACTGAGC AAGAGCAGAC GGCTGGAAAA
 2041 TCTGATCGCC CAGCTGCCCC GCGAGAAGAA GAATGGCCTG TTCGGAAACC TGATTGCCCT
 2101 GAGCCTGGGC CTGACCCCA ACTTCAAGAG CAACTTCGAC CTGGCCGAGG ATGCCAAACT
 2161 GCAGCTGAGC AAGGACACCT ACGACGACGA CCTGGACAAC CTGCTGGCCC AGATCGGCGA
 2221 CCAGTACGCC GACCTGTTTC TGGCCGCCAA GAACCTGTCC GACGCCATCC TGCTGAGCGA
 2281 CATCCTGAGA GTGAACACCG AGATCACCAA GGCCCCCTG AGCGCCTCTA TGATCAAGAG
 2341 ATACGACGAG CACCACCAGG ACCTGACCTT GCTGAAAGCT CTCGTGCGGC AGCAGCTGCC
 2401 TGAGAAGTAC AAAGAGATTT TCTTCGACCA GAGCAAGAAC GGCTACGCCG GCTACATTGA
 2461 CGGCGGAGCC AGCCAGGAAG AGTTCTACAA GTTTATCAAG CCCATCCTGG AAAAGATGGA
 2521 CGGCACCGAG GAAGTGTCTG TGAAGCTGAA CAGAGAGGAC CTGCTGCGGA AGCAGCGGAC
 2581 CTTCGACAAC GGCAGCATCC CCCACCAGAT CCACCTGGGA GAGCTGCACG CCATTCTGCG
 2641 GCGGCAGGAA GATTTTTTACC CATTCTGAA GGACAACCGG GAAAAGATCG AGAAGATCCT
 2701 GACCTCCGC ATCCCCTACT ACGTGGGCC TCTGGCCAGG GGAAACAGCA GATTTCGCTG
 2761 GATGACCAGA AAGAGCGAGG AAACCATCAC CCCCTGGAAC TTCGAGGAAG TGGTGGACAA
 2821 GGGCGCTTCC GCCCAGAGCT TCATCGAGCG GATGACCAAC TTGATAAGA ACCTGCCCAA
 2881 CGAGAAGGTG CTGCCAAGC ACAGCCTGCT GTACGAGTAC TTACCCGTGT ATAACGAGCT
 2941 GACCAAAGTG AAATACGTGA CCGAGGGAAT GAGAAAGCCC GCCTTCCTGA GCGGCGAGCA

3001 [GAAAAAGGCC](#) [ATCGTGGACC](#) [TGCTGTTCAA](#) [GACCAACCGG](#) [AAAGTGACCG](#) [TGAAGCAGCT](#)
 3061 [GAAAGAGGAC](#) [TACTTCAAGA](#) [AAATCGAGTG](#) [CTTCGACTCC](#) [GTGAAATCT](#) [CCGGCGTGGA](#)
 3121 [AGATCGGTTT](#) [AACGCCTCCC](#) [TGGGCACATA](#) [CCACGATCTG](#) [CTGAAAATTA](#) [TCAAGGACAA](#)
 3181 [GGACTTCCTG](#) [GACAATGAGG](#) [AAAACGAGGA](#) [CATTCTGGAA](#) [GATATCGTGC](#) [TGACCCTGAC](#)
 3241 [ACTGTTTGAG](#) [GACAGAGAGA](#) [TGATCGAGGA](#) [ACGGCTGAAA](#) [ACCTATGCC](#) [ACCTGTTTGA](#)
 3301 [CGACAAAGTG](#) [ATGAAGCAGC](#) [TGAAGCGGCG](#) [GAGATACACC](#) [GGCTGGGGCA](#) [GGCTGAGCCG](#)
 3361 [GAAGCTGATC](#) [AACGGCATCC](#) [GGGACAAGCA](#) [GTCCGGCAAG](#) [ACAATCCTGG](#) [ATTTCTGAA](#)
 3421 [GTCCGACGGC](#) [TTCGCCAACA](#) [GAAACTTCAT](#) [GCAGCTGATC](#) [CACGACGACA](#) [GCCTGACCTT](#)
 3481 [TAAAGAGGAC](#) [ATCCAGAAA](#) [CCCAGGTGTC](#) [CGGCCAGGGC](#) [GATAGCCTGC](#) [ACGAGCACAT](#)
 3541 [TGCCAATCTG](#) [GCCGGCAGCC](#) [CCGCCATTAA](#) [GAAGGGCATC](#) [CTGCAGACAG](#) [TGAAGGTGGT](#)
 3601 [GGACGAGCTC](#) [GTGAAAGTGA](#) [TGGGCCGGCA](#) [CAAGCCCGAG](#) [AACATCGTGA](#) [TCGAAATGGC](#)
 3661 [CAGAGAGAAC](#) [CAGACCACCC](#) [AGAAGGGACA](#) [GAAGAACAGC](#) [CGCGAGAGAA](#) [TGAAGCGGAT](#)
 3721 [CGAAGAGGGC](#) [ATCAAAGAGC](#) [TGGGCAGCCA](#) [GATCCTGAAA](#) [GAACACCCCG](#) [TGGAAAACAC](#)
 3781 [CCAGCTGCAG](#) [AACGAGAAGC](#) [TGTACCTGTA](#) [CTACCTGCAG](#) [AATGGGCGGG](#) [ATATGTACGT](#)
 3841 [GGACCAGGAA](#) [CTGGACATCA](#) [ACCGGCTGTC](#) [CGACTACGAT](#) [GTGGACCATA](#) [TCGTGCCTCA](#)
 3901 [GAGCTTCTG](#) [AAGGACGACT](#) [CCATCGACAA](#) [CAAGGTGCTG](#) [ACCAGAAGCG](#) [ACAAGAACCG](#)
 3961 [GGGCAAGAGC](#) [GACAACGTGC](#) [CCTCCGAAGA](#) [GGTCGTGAAG](#) [AAGATGAAGA](#) [ACTACTGGCG](#)
 4021 [GCAGCTGCTG](#) [AACGCCAAGC](#) [TGATTACCCA](#) [GAGAAAGTTC](#) [GACAATCTGA](#) [CCAAGGCCGA](#)
 4081 [GAGAGGCGGC](#) [CTGAGCGAAC](#) [TGGATAAGGC](#) [CGGCTTCATC](#) [AAGAGACAGC](#) [TGGTGGAAAC](#)
 4141 [CCGGCAGATC](#) [ACAAAGCACG](#) [TGGCACAGAT](#) [CCTGGACTCC](#) [CGGATGAACA](#) [CTAAGTACGA](#)
 4201 [CGAGAATGAC](#) [AAGCTGATCC](#) [GGGAAGTGAA](#) [AGTGATCACC](#) [CTGAAGTCCA](#) [AGCTGGTGTC](#)
 4261 [CGATTTCCGG](#) [AAGGATTTCC](#) [AGTTTTACAA](#) [AGTGCGCGAG](#) [ATCAACAAC](#) [ACCACCACGC](#)
 4321 [CCACGACGCC](#) [TACCTGAACG](#) [CCGTCTGGG](#) [AACCGCCCTG](#) [ATCAAAAAGT](#) [ACCCTAAGCT](#)
 4381 [GGAAAGCGAG](#) [TTCGTGTACG](#) [GCGACTACAA](#) [GGTGTACGAC](#) [GTGCGGAAGA](#) [TGATCGCCAA](#)
 4441 [GAGCGAGCAG](#) [GAAATCGGCA](#) [AGGCTACCGC](#) [CAAGTACTTC](#) [TTCTACAGCA](#) [ACATCATGAA](#)
 4501 [CTTTTTCAAG](#) [ACCGAGATTA](#) [CCCTGGCCAA](#) [CGGCGAGATC](#) [CGGAAGCGGC](#) [CTCTGATCGA](#)
 4561 [GACAAACGGC](#) [GAAACCGGGG](#) [AGATCGTGTG](#) [GGATAAGGGC](#) [CGGGATTTTG](#) [CCACCGTGCG](#)
 4621 [GAAAGTGCTG](#) [AGCATGCCCC](#) [AAGTGAATAT](#) [CGTGAAAAAG](#) [ACCGAGGTGC](#) [AGACAGGCGG](#)
 4681 [CTTCAGCAAA](#) [GAGTCTATCC](#) [TGCCCAAGAG](#) [GAACAGCGAT](#) [AAGCTGATCG](#) [CCAGAAAGAA](#)
 4741 [GGACTGGGAC](#) [CCTAAGAAGT](#) [ACGGCGGCTT](#) [CGACAGCCCC](#) [ACCGTGGCCT](#) [ATTCTGTGCT](#)
 4801 [GGTGGTGGCC](#) [AAAGTGGAAA](#) [AGGGCAAGTC](#) [CAAGAAACTG](#) [AAGAGTGTGA](#) [AAGAGCTGCT](#)
 4861 [GGGGATCACC](#) [ATCATGGAAA](#) [GAAGCAGCTT](#) [CGAGAAGAAT](#) [CCCATCGACT](#) [TTCTGGAAGC](#)
 4921 [CAAGGGCTAC](#) [AAAGAAGTGA](#) [AAAAGGACCT](#) [GATCATCAAG](#) [CTGCCTAAGT](#) [ACTCCCTGTT](#)
 4981 [CGAGCTGGAA](#) [AACGGCCGGA](#) [AGAGAATGCT](#) [GGCCTCTGCC](#) [GGCGAAGTGC](#) [AGAAGGGAAA](#)
 5041 [CGAACTGGCC](#) [CTGCCCTCCA](#) [AATATGTGAA](#) [CTTCTGTAC](#) [CTGGCCAGCC](#) [ACTATGAGAA](#)
 5101 [GCTGAAGGGC](#) [TCCCCGAGG](#) [ATAATGAGCA](#) [GAAACAGCTG](#) [TTTGTGGAAC](#) [AGCACAAGCA](#)
 5161 [CTACCTGGAC](#) [GAGATCATCG](#) [AGCAGATCAG](#) [CGAGTTCTCC](#) [AAGAGAGTGA](#) [TCCTGGCCGA](#)
 5221 [CGCTAATCTG](#) [GACAAAGTGC](#) [TGTCCGCCTA](#) [CAACAAGCAC](#) [CGGGATAAGC](#) [CCATCAGAGA](#)
 5281 [GCAGGCCGAG](#) [AATATCATCC](#) [ACCTGTTTAC](#) [CCTGACCAAT](#) [CTGGGAGCCC](#) [CTGCCGCCTT](#)
 5341 [CAAGTACTTT](#) [GACACCACCA](#) [TCGACCGGAA](#) [GAGGTACACC](#) [AGCACCAAAG](#) [AGGTGCTGGA](#)
 5401 [CGCCACCCTG](#) [ATCCACCAGA](#) [GCATCACCGG](#) [CCTGTACGAG](#) [ACACGGATCG](#) [ACCTGTCTCA](#)
 5461 [GCTGGGAGGC](#) [GAC**AAAAGGC**](#) [CGGCGGCCAC](#) [G**AAAAAGGCC**](#) [G**CCAGGCAA**](#) [A**AAAGAAAA**](#)
 5521 [GTAAGAATTC](#) [CTAGAGCTCG](#) [CTGATCAGCC](#) [TCGACTGTGC](#) [CTTCTAGTTG](#) [CCAGCCATCT](#)
 5581 [GTTGTTTGCC](#) [CCTCCCCCGT](#) [GCCTTCCTTG](#) [ACCCTGGAAG](#) [GTGCCACTCC](#) [CACTGTCCTT](#)
 5641 [TCCTAATAAA](#) [ATGAGGAAAT](#) [TGCATCGCAT](#) [TGTCTGAGTA](#) [GGTGTCTATC](#) [TATTCTGGGG](#)
 5701 [GGTGGGGTGG](#) [GGCAGGACAG](#) [CAAGGGGGAG](#) [GATTGGGAAG](#) [AGAATAGCAG](#) [GCATGCTGGG](#)
 5761 [GAGCGGCCGC](#) [AGGAACCCCT](#) [AGTGATGGAG](#) [TTGGCCACTC](#) [CCTCTCTGCG](#) [CGCTCGCTCG](#)
 5821 [CTCACTGAGG](#) [CCGGGCGACC](#) [AAAGGTCGCC](#) [CGACGCCCGG](#) [GCTTTGCCCG](#) [GGCGGCCTCA](#)
 5881 [GTGAGCGAGC](#) [GAGCGCGCAG](#) [CTGCCTGCAG](#) [GGGCGCCTGA](#) [TGCGGTATTT](#) [TCTCCTTACG](#)
 5941 [CATCTGTGCG](#) [GTATTTTACA](#) [CCGCATACGT](#) [CAAAGCAACC](#) [ATAGTACGCG](#) [CCCTGTAGCG](#)
 6001 [GCGCATTAAG](#) [CGCGGCGGGT](#) [GTGGTGGTTA](#) [CGCGCAGCGT](#) [GACCGCTACA](#) [CTTGCCAGCG](#)
 6061 [CCTTAGCGCC](#) [CGCTCCTTTC](#) [GCTTTCTTTC](#) [CTTCTTTTCT](#) [CGCCACGTTT](#) [GCCGGCTTTC](#)

```

6121 CCCGTCAAGC TCTAAATCGG GGGCTCCCTT TAGGGTTCCG ATTTAGTGCT TTACGGCACC
6181 TCGACCCCAA AAAACTTGAT TTGGGTGATG GTTCACGTAG TGGGCCATCG CCCTGATAGA
6241 CGGTTTTTCG CCCTTTGACG TTGGAGTCCA CGTTCTTTAA TAGTGGACTC TTGTTCCAAA
6301 CTGGAACAAC ACTCAACTCT ATCTCGGGCT ATTCTTTTGA TTTATAAGGG ATTTTGCCGA
6361 TTTCGGTCTA TTGGTTAAAA AATGAGCTGA TTTAACAAAA ATTTAACGCG AATTTTAAAC
6421 AAATATTAAC GTTTACAATT TTATGGTGCA CTCTCAGTAC AATCTGCTCT GATGCCGCAT
6481 AGTTAAGCCA GCCCCGACAC CCGCCAACAC CCGCTGACGC GCCCTGACGG GCTTGTCTGC
6541 TCCCGGCATC CGCTTACAGA CAAGCTGTGA CCGTCTCCGG GAGCTGCATG TGTCAGAGGT
6601 TTTCACCGTC ATCACCGAAA CGCGCGAGAC GAAAGGGCCT CGTGATACGC CTATTTTTAT
6661 AGGTTAATGT CATGATAATA ATGGTTTCTT AGACGTCAGG TGGCACTTTT CGGGGAAATG
6721 TGCGCGGAAC CCCTATTTGT TTATTTTTCT AAATACATTC AAATATGTAT CCGCTCATGA
6781 GACAATAACC CTGATAAATG CTTCAATAAT ATTGAAAAAG GAAGAGTATG AGTATTCAAC
6841 ATTTCCGTGT CGCCCTTATT CCCTTTTTTG CGGCATTTTG CCTTCCTGTT TTTGCTCACC
6901 CAGAAACGCT GGTGAAAGTA AAAGATGCTG AAGATCAGTT GGGTGCACGA GTGGGTTACA
6961 TCGAACTGGA TCTCAACAGC GGTAAGATCC TTGAGAGTTT TCGCCCCGAA GAACGTTTTC
7021 CAATGATGAG CACTTTTAAA GTTCTGCTAT GTGGCGCGGT ATTATCCCGT ATTGACGCCG
7081 GGCAAGAGCA ACTCGGTCCG CGCATACTT ATTCTCAGAA TGACTTGGTT GAGTACTCAC
7141 CAGTCACAGA AAAGCATCTT ACGGATGGCA TGACAGTAAG AGAATTATGC AGTGCTGCCA
7201 TAACCATGAG TGATAACACT GCGGCCAACT TACTTCTGAC AACGATCGGA GGACCGAAGG
7261 AGCTAACCGC TTTTTTGCAC AACATGGGGG ATCATGTAAC TCGCCTTGAT CGTTGGGAAC
7321 CGGAGCTGAA TGAAGCCATA CCAAACGACG AGCGTGACAC CACGATGCCT GTAGCAATGG
7381 CAACAACGTT GCGCAAATA TTAAGTGGCG AACTACTTAC TCTAGCTTCC CGGCAACAAT
7441 TAATAGACTG GATGGAGGCG GATAAAGTTG CAGGACCACT TCTGCGCTCG GCCCTTCCGG
7501 CTGGCTGGTT TATTGCTGAT AAATCTGGAG CCGGTGAGCG TGAAGCCGC GGTATCATTG
7561 CAGCACTGGG GCCAGATGGT AAGCCCTCCC GTATCGTAGT TATCTACACG ACGGGGAGTC
7621 AGGCAACTAT GGATGAACGA AATAGACAGA TCGCTGAGAT AGGTGCCTCA CTGATTAAGC
7681 ATTGGTAACT GTCAGACCAA GTTTACTCAT ATATACTTTA GATTGATTTA AAACCTTCATT
7741 TTTAATTTAA AAGGATCTAG GTGAAGATCC TTTTTGATAA TCTCATGACC AAAATCCCTT
7801 AACGTGAGTT TTCGTTCCAC TGAGCGTCAG ACCCCGTAGA AAAGATCAA GGATCTTCTT
7861 GAGATCCTTT TTTTCTGCGC GTAATCTGCT GCTTGCAAAC AAAAAAACCA CCGCTACCAG
7921 CGGTGGTTTG TTTGCCGGAT CAAGAGCTAC CAACTCTTTT TCCGAAGGTA ACTGGCTTCA
7981 GCAGAGCGCA GATACCAAT ACTGTTCTTC TAGTGTAGCC GTAGTTAGGC CACCACTTCA
8041 AGAACTCTGT AGCACC GCCT ACATACCTCG CTCTGCTAAT CCTGTTACCA GTGGCTGCTG
8101 CCAGTGGCGA TAAGTCGTGT CTTACCGGGT TGGACTCAAG ACGATAGTTA CCGGATAAGG
8161 CGCAGCGGTC GGGCTGAACG GGGGGTTCTG GCACACAGCC CAGCTTGGAG CGAACGACCT
8221 ACACCGAACT GAGATACCTA CAGCGTGAGC TATGAGAAAG CGCCACGCTT CCCGAAGGGA
8281 GAAAGGCGGA CAGGTATCCG GTAAGCGGCA GGGTCCGGAAC AGGAGAGCGC ACGAGGGGAGC
8341 TTCCAGGGGG AAACGCCTGG TATCTTTATA GTCTGTCCG GTTTCGCCAC CTCTGACTTG
8401 AGCGTCGATT TTTGTGATGC TCGTACGGGG GGCGGAGCCT ATGGAAAAC GCCAGCAACG
8461 CGGCCTTTTT ACGGTTCCCTG GCCTTTTGCT GGCTTTTGC TCACATGT
  
```

Qualification by Sequencing

Primer Name	Primer Sequence	Strand
gRNA-F1	CGGAGCCTATGGAAAAACGC	Forward
hCas9-R1	CAGATCCGGTTCTTCCGTCT	Reverse

Qualification by Restriction Enzyme Digestion

Cutters	Locations	Fragments(bp)
ScaI	2919, 4476, 4971, 5346, 7135	1557, 495, 375, 1789, 4292