**pCas-Guide-Nickase**, version 03/11/2016

GAATTCCCCAGTGGAAAGACGCGCAGGCAAAACGCACCACGTGACGGAGCGTGACCGCGCGCCGAGCGCGCGCCAAGGTCGGGCAGGAAGAGGGCCTATTTCCCATGATTCCTTCATATTTGCATATACGATACAAGGCTGTTAGAGAGATAATTAGAATTAATTTGACTGTAAACACAAAGATATTAGTACAAAATACGTGACGTAGAAAGTAATAATTTCTTGGGTAGTTTGCAGTTTTAAAATTATGTTTTAAAATGGACTATCATATGCTTACCGTAACTTGAAAGTATTTCGATTTCTTGGGTTTATATATCTTGTGGAAAGGACGCGGGATCCACTGGACCAGGCAGCAGCGTCAGAAGACTTTTTTGGAACGTCTCGTTTTAGAGCTAGAAATAGCAAGTTAAAATAAGGCTAGTCCGTTATCAACTTGAAAAAGTGGCACCGAGTCGGTGCTTTTTTTGGTGTACATTTATATTGGCTCATGTCCAATATGACCGCCATGTTGACATTGATTATTGACTAGTTATTAATAGTAATCAATTACGGGGTCATTAGTTCATAGCCCATATATGGAGTTCCGCGTTACATAACTTACGGTAAATGGCCCGCCTGGCTGACCGCCCAACGACCCCCGCCCATTGACGTCAATAATGACGTATGTTCCCATAGTAACGCCAATAGGGACTTTCCATTGACGTCAATGGGTGGAGTATTTACGGTAAACTGCCCACTTGGCAGTACATCAAGTGTATCATATGCCAAGTCCGCCCCCTATTGACGTCAATGACGGTAAATGGCCCGCCTGGCATTATGCCCAGTACATGACCTTACGGGACTTTCCTACTTGGCAGTACATCTACGTATTAGTCATCGCTATTACCATGGTGATGCGGTTTTGGCAGTACACCAATGGGCGTGGATAGCGGTTTGACTCACGGGGATTTCCAAGTCTCCACCCCATTGACGTCAATGGGAGTTTGTTTTGGCACCAAAATCAACGGGACTTTCCAAAATGTCGTAATAACCCCGCCCCGTTGACGCAAATGGGCGGTAGGCGTGTACGGTGGGAGGTCTATATAAGCAGAGCTCGTTTAGTGAACCGTCAGAATTTTGTAATACGACTCACTATAGGGCGGCCGGGAATTCGTCGACTGGAACCGGTACCGAGGAGATCTGCCGCCGCGATCGCCATGGATAAGAAATACTCAATAGGACTGGcTATTGGCACAAATAGCGTCGGATGGGCTGTGATCACTGATGAATATAAGGTTCCTTCTAAAAAGTTCAAGGTTCTGGGAAATACAGACCGCCACAGTATCAAAAAAAATCTTATAGGGGCTCTTCTGTTTGACAGTGGAGAGACAGCCGAAGCTACTAGACTCAAACGGACAGCTAGGAGAAGGTATACAAGACGGAAGAATAGGATTTGTTATCTCCAGGAGATTTTTTCAAATGAGATGGCCAAAGTGGATGATAGTTTCTTTCATAGACTTGAAGAGTCTTTTTTGGTGGAAGAAGACAAGAAGCATGAAAGACATCCTATTTTTGGAAATATAGTGGATGAAGTTGCTTATCACGAGAAATATCCAACTATCTATCATCTGAGAAAAAAATTGGTGGATTCTACTGATAAAGCCGATTTGCGCCTGATCTATTTGGCCCTGGCCCACATGATTAAGTTTAGAGGTCATTTTTTGATTGAGGGCGATCTGAATCCTGATAATAGTGATGTGGACAAACTGTTTATCCAGTTGGTGCAAACCTACAATCAACTGTTTGAAGAAAACCCTATTAACGCAAGTGGAGTGGATGCTAAAGCCATTCTTTCTGCAAGATTGAGTAAATCAAGAAGACTGGAAAATCTCATTGCTCAGCTCCCCGGTGAGAAGAAAAATGGCCTGTTTGGGAATCTCATTGCTTTGTCATTGGGTTTGACCCCTAATTTTAAATCAAATTTTGATTTGGCAGAAGATGCTAAACTCCAGCTTTCAAAAGATACTTACGATGATGATCTGGATAATCTGTTGGCTCAAATTGGAGATCAATATGCTGATTTGTTTTTGGCAGCTAAGAATCTGTCAGATGCTATTCTGCTTTCAGACATCCTGAGAGTGAATACTGAAATAACTAAGGCTCCCCTGTCAGCTTCAATGATTAAACGCTACGATGAACATCATCAAGACTTGACTCTTCTGAAAGCCCTGGTTAGACAACAACTTCCAGAAAAGTATAAAGAAATCTTTTTTGATCAATCAAAAAACGGATATGCAGGTTATATTGATGGCGGCGCAAGCCAAGAAGAATTTTATAAATTTATCAAACCAATTCTGGAAAAAATGGATGGTACTGAGGAACTGTTGGTGAAACTGAATAGAGAAGATTTGCTGCGCAAGCAACGGACCTTTGACAACGGCTCTATTCCCCATCAAATTCACTTGGGTGAGCTGCATGCTATTTTGAGAAGACAAGAAGACTTTTATCCATTTCTGAAAGACAATAGAGAGAAGATTGAAAAAATCTTGACTTTTAGGATTCCTTATTATGTTGGTCCATTGGCCAGAGGCAATAGTAGGTTTGCATGGATGACTCGGAAGTCTGAAGAAACAATTACCCCATGGAATTTTGAAGAAGTTGTCGATAAAGGTGCTTCAGCTCAATCATTTATTGAACGCATGACAAACTTTGATAAAAATCTTCCAAATGAAAAAGTGCTGCCAAAACATAGTTTGCTTTATGAGTATTTTACCGTTTATAACGAATTGACAAAGGTCAAATATGTTACTGAAGGAATGAGAAAACCAGCATTTCTTTCAGGTGAACAGAAGAAAGCCATTGTTGATCTGCTCTTCAAAACAAATAGGAAAGTGACCGTTAAGCAACTGAAAGAAGATTATTTCAAAAAAATAGAATGTTTTGATAGTGTTGAAATTTCAGGAGTTGAAGATAGATTTAATGCTTCACTGGGTACATACCATGATTTGCTGAAAATTATTAAAGATAAAGATTTTTTGGATAATGAAGAAAATGAAGACATCCTGGAGGATATTGTTCTGACATTGACCCTGTTTGAAGATAGGGAGATGATTGAGGAAAGACTTAAAACATACGCTCACCTCTTTGATGATAAGGTGATGAAACAGCTTAAAAGACGCAGATATACTGGTTGGGGAAGGTTGTCCAGAAAATTGATTAATGGTATTAGGGATAAGCAATCTGGCAAAACAATACTGGATTTTTTGAAATCAGATGGTTTTGCCAATCGCAATTTTATGCAGCTCATCCATGATGATAGTTTGACATTTAAAGAAGACATCCAAAAAGCACAAGTGTCTGGACAAGGCGATAGTCTGCATGAACATATTGCAAATCTGGCTGGTAGCCCTGCTATTAAAAAAGGTATTCTCCAGACTGTGAAAGTTGTTGATGAATTGGTCAAAGTGATGGGGCGGCATAAGCCAGAAAATATCGTTATTGAAATGGCAAGAGAAAATCAGACAACTCAAAAGGGCCAGAAAAATTCCAGAGAGAGGATGAAAAGAATCGAAGAAGGTATCAAAGAACTGGGAAGTCAGATTCTTAAAGAGCATCCTGTTGAAAATACTCAATTGCAAAATGAAAAGCTCTATCTCTATTATCTCCAAAATGGAAGAGATATGTATGTGGACCAAGAACTGGATATTAATAGGCTGAGTGATTATGATGTCGATCACATTGTTCCACAAAGTTTCCTTAAAGACGATTCAATAGACAATAAGGTCCTGACCAGGTCTGATAAAAATAGAGGTAAATCCGATAACGTTCCAAGTGAAGAAGTGGTCAAAAAGATGAAAAACTATTGGAGACAACTTCTGAACGCCAAGCTGATCACTCAAAGGAAGTTTGATAATCTGACCAAAGCTGAAAGAGGAGGTTTGAGTGAACTTGATAAAGCTGGTTTTATCAAACGCCAATTGGTTGAAACTCGCCAAATCACTAAGCATGTGGCACAAATTTTGGATAGTCGCATGAATACTAAATACGATGAAAATGATAAACTTATTAGAGAGGTTAAAGTGATTACCCTGAAATCTAAACTGGTTTCTGACTTCAGAAAAGATTTCCAATTCTATAAAGTGAGAGAGATTAACAATTACCATCATGCCCATGATGCCTATCTGAATGCCGTCGTTGGAACTGCTTTGATTAAGAAATATCCAAAACTTGAAAGCGAGTTTGTCTATGGTGATTATAAAGTTTATGATGTTAGGAAAATGATTGCTAAGTCTGAGCAAGAAATAGGCAAAGCAACCGCAAAGTATTTCTTTTACTCTAATATCATGAACTTCTTCAAAACAGAAATTACACTTGCAAATGGAGAGATTCGCAAACGCCCTCTGATCGAAACTAATGGGGAAACTGGAGAAATTGTCTGGGATAAAGGGAGAGATTTTGCCACAGTGCGCAAAGTGTTGTCCATGCCCCAAGTCAATATCGTCAAGAAAACAGAAGTGCAGACAGGCGGATTCTCTAAGGAGTCAATTCTGCCAAAAAGAAATTCCGACAAGCTGATTGCTAGGAAAAAAGACTGGGACCCAAAAAAATATGGTGGTTTTGATAGTCCAACCGTGGCTTATTCAGTCCTGGTGGTTGCTAAGGTGGAAAAAGGGAAATCCAAGAAGCTGAAATCCGTTAAAGAGCTGCTGGGGATCACAATTATGGAAAGAAGTTCCTTTGAAAAAAATCCCATTGACTTTCTGGAAGCTAAAGGATATAAGGAAGTTAAAAAAGACCTGATCATTAAACTGCCTAAATATAGTCTTTTTGAGCTGGAAAACGGTAGGAAACGGATGCTGGCTAGTGCCGGAGAACTGCAAAAAGGAAATGAGCTGGCTCTGCCAAGCAAATATGTGAATTTTCTGTATCTGGCTAGTCATTATGAAAAGTTGAAGGGTAGTCCAGAAGATAACGAACAAAAACAATTGTTTGTGGAGCAGCATAAGCATTATCTGGATGAGATTATTGAGCAAATCAGTGAATTTTCTAAGAGAGTTATTCTGGCAGATGCCAATCTGGATAAAGTTCTTAGTGCATATAACAAACATAGAGACAAACCAATAAGAGAACAAGCAGAAAATATCATTCATCTGTTTACCTTGACCAATCTTGGAGCACCCGCTGCTTTTAAATACTTTGATACAACAATTGATAGGAAAAGATATACCTCTACAAAAGAAGTTCTGGATGCCACTCTTATCCATCAATCCATCACTGGTCTTTATGAAACACGCATTGATTTGAGTCAGCTGGGAGGTGACCCCAAGAAAAAACGCAAGGTGGAAGATCCTAAGAAAAAGCGGAAAGTGGACACGCGTACGCGGCCGCTCGAGCAGAAACTCATCTCAGAAGAGGATCTGGCAGCAAATGATATCCTGGATTACAAGGATGACGACGATAAGGTTTAAACGGCCGGCCGCGGTCATAGCTGTTTCCTGAACAGATCCCGGGTGGCATCCCTGTGACCCCTCCCCAGTGCCTCTCCTGGCCCTGGAAGTTGCCACTCCAGTGCCCACCAGCCTTGTCCTAATAAAATTAAGTTGCATCATTTTGTCTGACTAGGTGTCCTTCTATAATATTATGGGGTGGAGGGGGGTGGTATGGAGCAAGGGGCAAGTTGGGAAGACAACCTGTAGGGCCTGCGGGGTCTATTGGGAACCAAGCTGGAGTGCAGTGGCACAATCTTGGCTCACTGCAATCTCCGCCTCCTGGGTTCAAGCGATTCTCCTGCCTCAGCCTCCCGAGTTGTTGGGATTCCAGGCATGCATGACCAGGCTCAGCTAATTTTTGTTTTTTTGGTAGAGGCGGGGTTTCACCATATTGGCCAGGCTGGTCTCCAACTCCTAATCTCAGGTGATCTACCCACCTTGGCCTCCCAAATTGCTGGGATTACAGGCGTGAACCACTGCTCCCTTCCCTGTCCTTCTGATTTTAAAATAACTATACCAGCAGGAGGACGTCCAGACACAGCATAGGCTACCTGGCCATGCCCAACCGGTGGGACATTTGAGTTGCTTGCTTGGCACTGTCCTCTCATGCGTTGGGTCCACTCAGTAGATGCCTGTTGAATTGGGTACGCGGCCAGCGGCGAGCGGTATCAGCTCACTCAAAGGCGGTAATACGGTTATCCACAGAATCAGGGGATAACGCAGGAAAGAACATGTCCGTAAAAAGGCCGCGTTGCTGGCGTTTTTCCATAGGCTCCGCCCCCCTGACGAGCATCACAAAAATCGACGCTCAAGTCAGAGGTGGCGAAACCCGACAGGACTATAAAGATACCAGGCGTTTCCCCCTGGAAGCTCCCTCGTGCGCTCTCCTGTTCCGACCCTGCCGCTTACCGGATACCTGTCCGCCTTTCTCCCTTCGGGAAGCGTGGCGCTTTCTCATAGCTCACGCTGTAGGTATCTCAGTTCGGTGTAGGTCGTTCGCTCCAAGCTGGGCTGTGTGCACGAACCCCCCGTTCAGCCCGACCGCTGCGCCTTATCCGGTAACTATCGTCTTGAGTCCAACCCGGTAAGACACGACTTATCGCCACTGGCAGCAGCCACTGGTAACAGGATTAGCAGAGCGAGGTATGTAGGCGGTGCTACAGAGTTCTTGAAGTGGTGGCCTAACTACGGCTACACTAGAAGAACAGTATTTGGTATCTGCGCTCTGCTGAAGCCAGTTACCTTCGGAAAAAGAGTTGGTAGCTCTTGATCCGGCAAACAAACCACCGCTGGTAGCGGTGGTTTTTTTGTTTGCAAGCAGCAGATTACGCGCAGAAAAAAAGGATCTCAAGAAGATCCTTTGATCTTTTCTACGGGGTCTGACGCTCAGTGGAACGACGCGTAACTCACGTTAAGGGATTTTGGTCATGAGATTATCAAAAAGGATCTTCACCTAGATCCTTTTGCGGCCGCAAATCAATCTAAAGTATATATGAGTAAACTTGGTCTGACAGTTACCAATGCTTAATCAGTGAGGCACCTATCTCAGCGATCTGTCTATTTCGTTCATCCATAGTTGCCTGACTCCCCGTCGTGTAGATAACTACGATACGGGAGGGCTTACCATCTGGCCCCAGTGCTGCAATGATACCGCGAGACCCACGCTCACCGGCTCCAGATTTATCAGCAATAAACCAGCCAGCCGGAAGGGCCGAGCGCAGAAGTGGTCCTGCAACTTTATCCGCCTCCATCCAGTCTATTAATTGTTGCCGGGAAGCTAGAGTAAGTAGTTCGCCAGTTAATAGTTTGCGCAACGTTGTTGCCATTGCTACAGGCATCGTGGTGTCACGCTCGTCGTTTGGTATGGCTTCATTCAGCTCCGGTTCCCAACGATCAAGGCGAGTTACATGATCCCCCATGTTGTGCAAAAAAGCGGTTAGCTCCTTCGGTCCTCCGATCGTTGTCAGAAGTAAGTTGGCCGCAGTGTTATCACTCATGGTTATGGCAGCACTGCATAATTCTCTTACTGTCATGCCATCCGTAAGATGCTTTTCTGTGACTGGTGAGTACTCAACCAAGTCATTCTGAGAATAGTGTATGCGGCGACCGAGTTGCTCTTGCCCGGCGTCAATACGGGATAATACCGCGCCACATAGCAGAACTTTAAAAGTGCTCATCATTGGAAAACGTTCTTCGGGGCGAAAACTCTCAAGGATCTTACCGCTGTTGAGATCCAGTTCGATGTAACCCACTCGTGCACCCAACTGATCTTCAGCATCTTTTACTTTCACCAGCGTTTCTGGGTGAGCAAAAACAGGAAGGCAAAATGCCGCAAAAAAGGGAATAAGGGCGACACGGAAATGTTGAATACTCATACTCTTCCTTTTTCAATATTATTGAAGCATTTATCAGGGTTATTGTCTCATGATGATATATTTTTATCTTGTGCAATGTAACATCAGAGATTTTGAGACACGGGCCAGAGCTGCCAGGAAACAGCTATGACCATGTAATACGACTCACTATAGGGGATATCAGCTGGATGGCAGTTAAC

Features

75-331 hU6 promoter

334-339 BamH1 (cloning)

378-383 BsmB1 (cloning)

384-459 gRNA scaffold

420-1040 CMV promoter

1197-5447 Nick Cas9

5487-5964 hGH ployA Termination

6216-6835 pBR322 Origin

6983-7843 Amp R