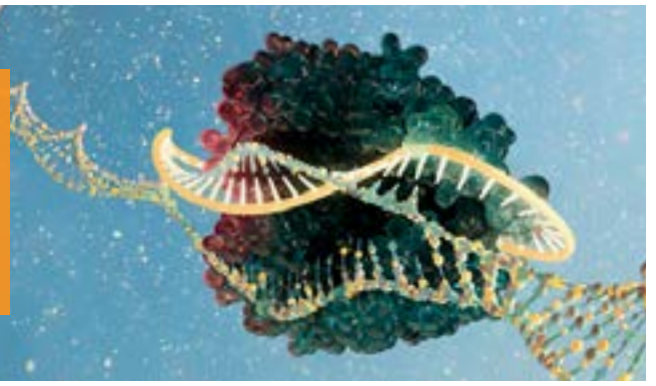


# 消除基因组编辑的不确定性

## 使用ArciTect CRISPR-Cas9系统



CRISPR-Cas9, 一种RNA介导的基因组编辑技术, 由于它能够轻松高效地对哺乳动物细胞进行基因操作, 因此正在彻底改变细胞生物学的研究方式。

ArciTect™产品系列是基于核糖核蛋白 (RNP) 的CRISPR-Cas9基因组编辑系统。借助经过验证的试剂和方案, ArciTect™系统能够执行高效的基因组编辑并生成功能性的基因编辑细胞。RNP复合物由纯化的Cas9蛋白和定制合成的向导RNA (gRNA) 组成, 可以使用化学转染或电转染有效地将其递送到细胞中。一旦进入细胞, RNP复合物不会诱导细胞免疫反应, 并能及时降解以限制脱靶编辑 (表1)。

欲了解更多信息, 请访问[www.stemcell.com/ArciTect](http://www.stemcell.com/ArciTect)。

### ArciTect™的优势:

- 高效。**通过使用RNP复合物, 在难以操作的细胞类型中最大限度地提高递送和表达效率。
- 易于使用。**使用高效的gRNA设计工具和特定细胞类型的方案简化基因组编辑流程。
- 快速。**利用即用型纯化Cas9蛋白和合成gRNA更快地获得实验结果。
- 降低脱靶率。**通过及时降解RNP复合物, 最大限度地减少潜在脱靶效应。

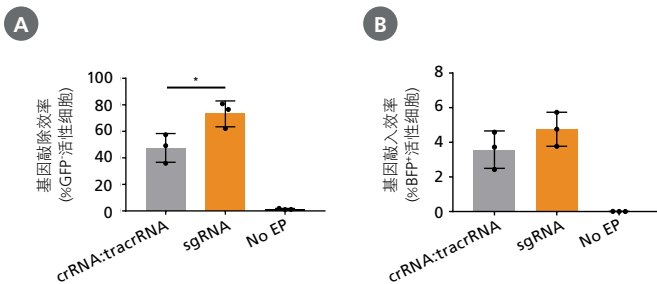


图1.使用ArciTect™ CRISPR-Cas9系统对hPSC进行高效基因敲除和敲入

使用包含ArciTect™ Cas9核酸酶和ArciTect™ crRNA: tracrRNA双链或sgRNA的CRISPR-Cas9 RNP复合物电转后, 将1C-eGFP hPSC系在添加有CloneR™ (产品号 #05888) 的mTeSR™1 (产品号 #85850) 中培养24小时后靶向GFP, 与ssODN编码核苷酸共同递送, 将GFP转化为BFP。(A) 电转三天后, 通过流式检测敲除 (%GFP细胞) 和 (B) 敲入 (%BFP+细胞) 效率; n = 3。对照样品未进行电转 (无EP)。误差线代表标准偏差。

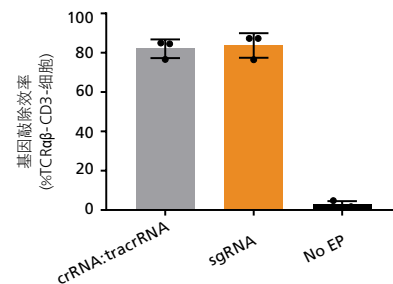


图2.使用ArciTect™ CRISPR-Cas9系统对人原代T细胞进行高效TRAC基因敲除

使用ImmunoCult™人CD3/CD28 T细胞激活剂 (产品号 #10971) 激活人T细胞3天, 然后通过ArciTect™ RNP复合物电转细胞, 该复合物含有ArciTect™ crRNA: tracrRNA双链或靶向T细胞受体的sgRNA (TCR) α常数 (TRAC) 基因座。电转3天后, 通过流式细胞术分析TCRαβ和CD3表达来评估敲除效率; n = 3名捐赠者。对照样品未进行电转 (无EP)。误差线代表标准偏差。

表1.不同CRISPR-Cas9方法的比较<sup>1</sup>

Cas9	DNA	mRNA	蛋白质
效率	+	++	+++
特异性	+	++	+++
降解	> 72小时	~ 72小时	< 72小时
脱靶剪切	高	中等	低

## 建立ArciTect™ CRISPR-Cas9系统

### 纯化的Cas9蛋白

从多种纯化的Cas9蛋白中进行选择。所有版本的Cas9都包含一个核定位序列,可快速转入到细胞核中。Cas9可以与gRNA复合形成RNP复合物。

产品	产品介绍	规格	产品号 #
ArciTect™ Cas9核酸酶	用于产生双链断裂的 Cas9核酸酶	100 µg	76002
		300 µg	76004

### T7核酸内切酶I检测试剂

估算实验中的CRISPR-Cas9编辑效率。

产品	产品介绍	规格	产品号 #
ArciTect™ T7核酸内切酶I试剂盒	快速确定CRISPR- Cas9基因组编辑效率	25次反应	76021
		500次反应	76022
ArciTect™高保真DNA聚合酶试剂盒	高保真聚合酶可实现PCR扩增中的超低错误率	1盒	76026

### 向导RNA(gRNA)

定制设计gRNA以靶向您感兴趣的基因组序列。gRNA由CRISPR RNA (crRNA) 和tracrRNA组成,退火后成为crRNA: tracrRNA双链或单链guide RNA (sgRNA)。ArciTect™ gRNA的前三个5' 和3' 末端残基都含有2'-O-甲基和硫代磷酸酯修饰,以提高稳定性和编辑效率。

产品	产品介绍	规格	产品号 #
ArciTect™ sgRNA	定制设计的sgRNA单个分子内包含crRNA和tracrRNA区域	4 nmol	200-0013
ArciTect™ crRNA*	定制设计的crRNA,通过与tracrRNA复合生成gRNA	2 nmol	76010
		10 nmol	76011
		20 nmol	76012
ArciTect™ tracrRNA 试剂盒*	反式激活crRNA用于gRNA生成	5 nmol	76017
		10 nmol	76018
		20 nmol	76019

\*ArciTect™ crRNA和ArciTect™ tracrRNA试剂盒需要同时使用。

### 阳性对照试剂盒

使用我们的阳性对照试剂盒优化转染方案,并配有HPRT靶向gRNA和用于在T7核酸内切酶I测定之前进行PCR扩增的引物。

产品	产品介绍	规格	产品号 #
ArciTect™人HPRT阳性对照试剂盒	CRISPR-Cas9基因组编辑的阳性对照	1盒	76013

## 参考文献

- Liang X et al. (2015) Rapid and highly efficient mammalian cell engineering via Cas9 protein transfection. J Biotechnol. 208: 44–53.

版权所有© STEMCELL Technologies Inc. 2024。保留一切权利,包括图形和图像。STEMCELL Technologies及其设计及徽标,以及Scientists Helping Scientists、ArciTect和ImmunoCult均是STEMCELL Technologies Canada Inc.的注册商标。mTeSR是WARF的注册商标。所有商标和注册商标均为各自所有者所有。STEMCELL尽力确保STEMCELL及其供应商提供的信息正确无误,对此类信息的准确性或完整性不作任何保证或声明。

STEMCELL Technologies Inc.的质量管理体系已经过ISO 13485认证。产品仅供研究使用。除非另行说明,不可用于人或动物的诊断或治疗。



微信ID: STEMCELLTech



STEMCELL Technologies China Co. Ltd.

电话: 400 885 9050 E-MAIL: INFO.CN@STEMCELL.COM 网站: WWW.STEMCELL.COM

文档号 #27181CN 版本 1.0.2 2024年07月