

TurboCRISPR KO Kit

CRISPR KO 快速基因敲除试剂盒

目录号

DZH301

产品简介

本产品通过递送预组装的递送载体、Cas9 蛋白与 sgRNA 复合物 (RNP)，实现高效、精准的基因敲除，是一款专为科研用户定制研发的即用型基因敲除试剂盒。该产品包含达领生物创新研发的 CRISPR RNP 递送载体以及验证过的 Cas 酶，经过特殊处理的递送载体-RNP 复合物能够在哺乳动物细胞中产生高效的基因组编辑。

产品组成

组分	规格
递送载体-RNP 复合物	50 μ L

- 一般组分的添加量为：在 24 孔板中，10 μ L/孔；在 12 孔板中，20 μ L/孔
- 本产品只提供一体化的递送载体-RNP 复合物，客户只需要提供 sgRNA 序列。

产品应用

- ◆ 基因功能研究：敲除目的基因后观察细胞表型变化（如增殖、凋亡、分化），解析基因生物学功能；
- ◆ 药物靶点验证：敲除潜在药物靶点基因，验证药物作用机制或筛选耐药基因。

产品特点

- ◆ 高编辑效率：高效的递送载体和 RNP 直接递送方式，基因敲除效率最高可达 97%（不同细胞敲除效率可能存在差异）；
- ◆ 周期短：本产品提供一体化的载体-RNP 复合物，转染后 6 小时即可检测到 DNA 切割，48 小时内完成基因敲除；
- ◆ 低风险：低脱靶效应，RNP 在细胞内的半衰期短（数小时），Cas 蛋白快速降解，显著减少非特异性切割，无外源 DNA 随机整合风险；
- ◆ 细胞毒性低：创新研发的生物分子递送载体，结合 RNP 的递送方式。

使用方法

1. 细胞培养和铺板（以 24 孔板为例）：细胞培养至生长旺盛状态，转染前 24 h，接种细胞至 24 孔板（对于贴壁细胞，使转染时细胞汇合度为 50%~60%；对于悬浮细胞，使转染时细胞数量为 $1.2 \times 10^5 \sim 1.6 \times 10^5$ ）。
2. 细胞转染：提前将载体-RNP 复合物从 -80 $^{\circ}$ C 转移至 4 $^{\circ}$ C 缓慢解冻，每孔加入 10 μ L，加入时分多次缓慢加入，加入后轻轻晃动混匀。
3. 分析转染细胞：转染 48 h 后，提取所转染细胞的基因组，使用特异性引物通过 PCR 扩增靶标区域（扩增子包含 sgRNA 靶向切割的位置）；
4. PCR 产物进行琼脂糖凝胶电泳，若 Pool 裂解产物 PCR 条带为单一条带且与设计理论值条带大小相符，则可直接送 PCR 产物进行 Sanger 测序。使用 TIDE（分析网址：<https://tide.nki.nl>）或者 ICE（分析网址：<https://ice.synthego.com/#/>）使用说明：<https://www.synthego.com/guide/how-to-use-crispr/ice-analysis-guide> 等工具进行基因编辑效率分析。

注意事项

- ◆ 请使用生长状态较好的细胞，并确保细胞无细菌、真菌或支原体污染。如果细胞是近期复苏的液氮冻存细胞，请在转染前至少传代两次；
- ◆ 对于贴壁细胞的要求：细胞状态好，分布均匀，汇合度为 50%~60%，则可直接加入本产品；

- ◆ 对于悬浮细胞的要求：细胞状态好，加入载体-RNP 复合物前需将细胞团轻柔吹散，分散均匀后直接加入本产品。

保存条件

-83~-78℃保存，保质期 12 个月。≤-78℃运输。

常见问题及解决方案

- ◆ 如何证明无需筛选仍能获得高编辑效率？
答：本产品已在多个细胞上验证，RNP 系统在转染后 4 小时内即进入细胞发挥作用，Cas9 蛋白在 24-48 小时降解，通过瞬时高效表达实现编辑，无需持续筛选。
- ◆ 为何对细胞的损伤比较小？
答：本产品采用先进的生物分子转染技术，相比传统化学转染法的毒性及电转法的物理冲击，具有显著优势。

技术支持

本公司产品使用过程中如有任何疑问与建议，欢迎随时与我们联系：

product@tsingke.com.cn

关联产品推荐

产品名称	货号	应用
高效动物基因组 DNA 提取试剂盒	TSP202-200	基因组 DNA 提取
GoldenStar® T6 Super PCR Mix (1.1×) 金牌 Mix (Green)	TSE101	PCR 扩增
Agarose 高纯度低电渗琼脂糖	TSJ001	琼脂糖电泳

TS-GelRed 核酸凝胶染料 (10,000×水溶液)	TSJ002	琼脂糖电泳
DL5000 DNA Marker	TSJ012-500	琼脂糖电泳

说明书版本号

1.1.2.ZH301.2604

