

CRISPR KO 极速敲除试剂盒

产品货号	产品名称	规格
EDKO-K04	二代 CRISPR KO 极速敲除试剂盒	50μL
	(CRISPR RNP KO kit 2.0)	100μL

【产品简介】

CRISPR KO 极速敲除试剂盒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。该产品包含艾迪基因创新研发的 CRISPR RNP 递送载体以及经数千例实战验证过的 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。

【储存条件及有效期】

有效期 6 个月，储存条件-80℃，干冰运输。

建议根据使用次数进行分装，避免反复冻融。

【产品优势】

- **高编辑效率**: 高效的递送载体和 RNP 直接递送方式, 基因敲除效率高达 95%。
- **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。
- **普适性强**: 适用于多数哺乳动物细胞, 对于难转染细胞、生长代数受限细胞同样具有优势。
- **操作要求低**: 无需复杂操作, 无需电转仪, 即加即用, 实现高效编辑。无需筛选, 瞬时作用机制, 无需抗生素或荧光标记筛选, 节省实验周期。
- **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。



【产品组分】

产品编号	组分	规格	备注
EDKO-K04-50	递送载体-RNP 复合物	50 μ L (足够 5 个 24 孔)	24 孔板, 10 μ L/孔
EDKO-K04-100	递送载体-RNP 复合物	100 μ L (足够 5 个 12 孔)	12 孔板, 20 μ L/孔

注意: 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。

【可选组分】

编号	可选项	备注
1	sgRNA 设计	艾迪基因提供 sgRNA 序列设计服务
2	阳性对照	人 B2M 基因 递送载体-RNP 复合物

【实验步骤】

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 $1.2 \times 10^5 \sim 1.6 \times 10^5$)。

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。

2. 细胞转染

提前将载体-RNP 复合物从 -80°C 转移至 4°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。

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。

3. 分析转染细胞

转染 48h 后, 提取所转染细胞的基因组, 使用特异性引物扩增靶标区域 (扩增子包含 sgRNA 靶向切割的位置);

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。



【高效编辑结果展示】

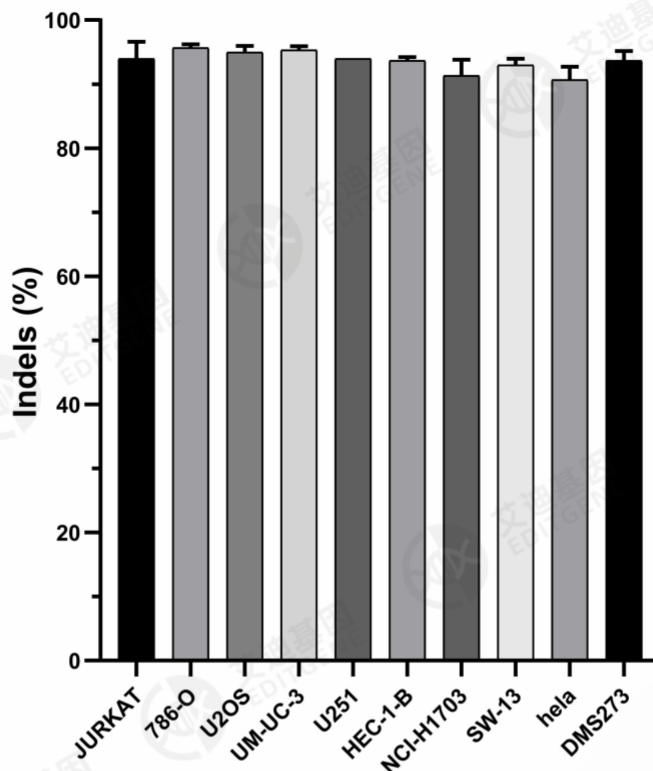


图 1 高效编辑细胞展示图

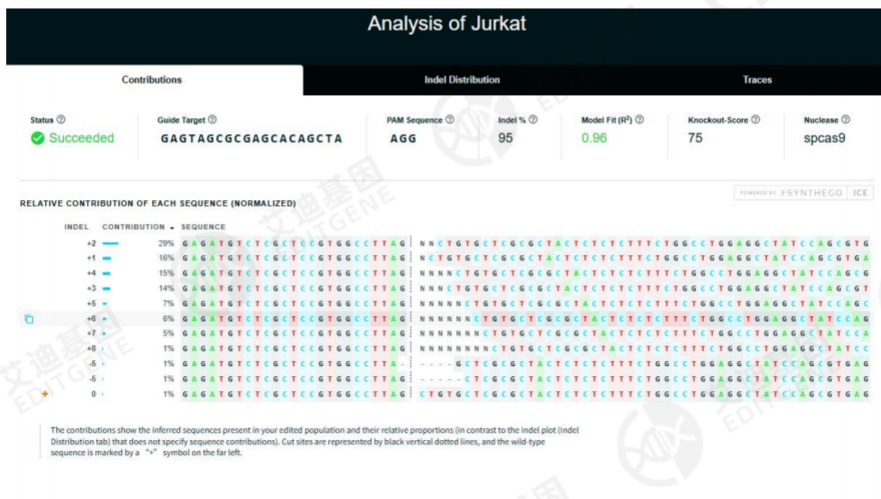


图 2 Jurkat (B2M) 多克隆 ICE 分析结果



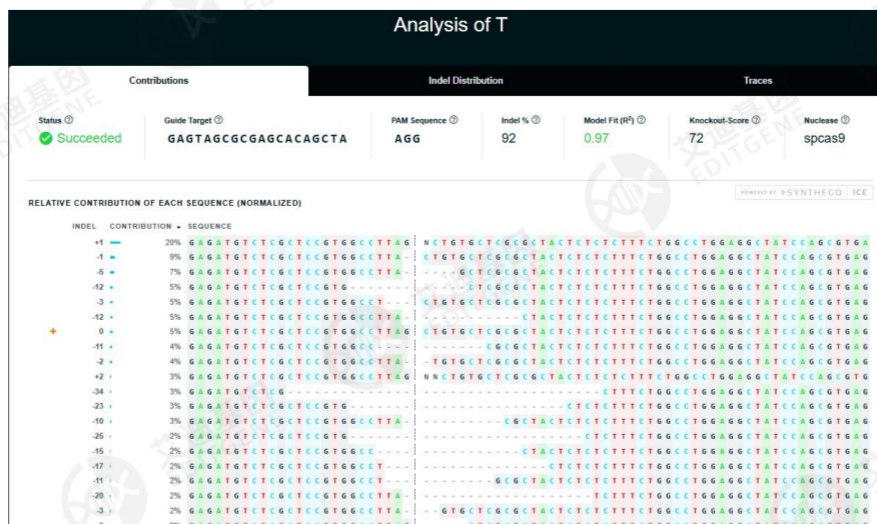


图 3 HEK293T (B2M) 多克隆 ICE 分析结果

【部分成功编辑细胞清单】

细胞类型	编辑效率	细胞类型	编辑效率	细胞类型	编辑效率
Jurkat	97%	SK-OV-3	90%	MKN-45	71%
786-O	96%	HEK293	90%	SH-SY5Y	66%
U2OS	96%	NCI-H1299	90%	AsPC-1	64%
U251 MG	95%	HGC-27	89%	OCI-AML-2	64%
UM-UC-3	95%	KYSE-30	88%	HEPG2	61%
NCI-H1703	94%	NCI-H716	86%	NCI-H460	61%
HEC-1-B	94%	A549	85%	HT-29	61%
Hela	93%	U937	85%	PC-3	55%
HEK293T	92%	Caco-2	82%	SW579	52%
DMS273	92%	JAR	81%	THP-1	51%
U-87MG	92%	RD	79%	HEL	50%
A673	92%	NCI-H520	75%	CAL-33	48%
SNU-398	91%	OCI-AML3	74%	FaDu	44%
RKO	91%	A375	72%	NCI-H3122	42%
HUCC-T1	90%	K562	73%	KLE	42%
SNU-1	90%	MM.1S	73%	OE33	42%

【常见问题及解答】

1. 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。



2. 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。

3. 能否在悬浮细胞中达到相同效率？

答：通常而言，悬浮细胞转染难度相对较大。然而，本产品凭借卓越性能，不仅适用于贴壁细胞，在悬浮细胞中同样表现出色。以 Jurkat 细胞为例，转染 48h 后即可实现高达 97% 的编辑效率，充分彰显了本产品对悬浮细胞转染方面的高效率优势，可充分满足您对悬浮细胞转染的高标准需求。

4. 若使用试剂盒敲除失败，该如何处理？

答：使用本试剂盒进行基因敲除时，若出现敲除失败的情况，艾迪基因将不收取试剂盒费用，同时，您所支付的试剂盒费用可直接转为艾迪基因提供的基因敲除服务费用，确保您在基因编辑实验中无后顾之忧。

注：使用该产品发表文章时，请标注我司名称 Guangzhou Editgene Co., Ltd, China, CRISPR RNP KO kit (CAS: EDKO-K04)

