

AccuBase™

产品信息 (Product Information)

产品名称	产品货号	规格
		200 µg/
BS-EP1	KD-0001	500 µg/
		1mg

产品描述 (Product Description)

AccuBase™(BS-EP1, 商品名为 AccuBase™)是工程化改造的 DNA 胞嘧啶碱基编辑蛋白, 可以在 3-12 窗口范围内进行有效编辑(远离 PAM 的为第 1 位)。

AccuBase™ 通过将脱氨酶嵌在 Cas 酶内部, 极大减少与非靶 DNA 的随机结合, 进而将脱靶降到背景水平。

AccuBase™ 与 sgRNA(spCas9 的 sgRNA 与此蛋白同样兼容)结合形成 RNP, 导入细胞与靶位点结合后, 无需通过引入 DNA 双链断裂, 即可将相应位置的 C 脱氨形成 U, 进而利用细胞内修复机制, 突变成 T。C->T 突变还可以通过诱导产生终止密码子或突变可变剪切位点而敲除目的基因。

来源 (Source)

E.Coli

分子量 (Molecular weight)

210.14KDa

浓度 (Concentration)

10.0 mg/ml

纯度 (Purity)

SEC-HPLC 纯度 ≥ 80.0%

鉴别 (Identity)

目标条带与对照品一致

内毒素 (Endotoxin)

≤ 10.0 EU/mg

储存缓冲液 (Storage Buffer)

30 mM Tris, 300 mM NaCl, 0.1 mM EDTA, 1 mM DTT,

50% Glycerol, pH8.0

运输/保存 (Transportation/Storage)

干冰运输, -80 ± 10°C 保存, 避免反复冻融。

应用 (Application)

- 1) 基因敲除
- 2) 基因修复

产品数据 (Assay Data)

(1) 鉴别 (Identity)

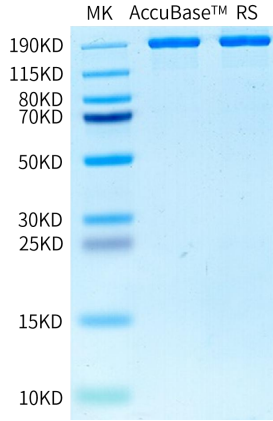


Fig. 1 Bis-Tris PAGE 检测 AccuBase™ 的条带与对照品一致

(2) 纯度 (SEC-HPLC)

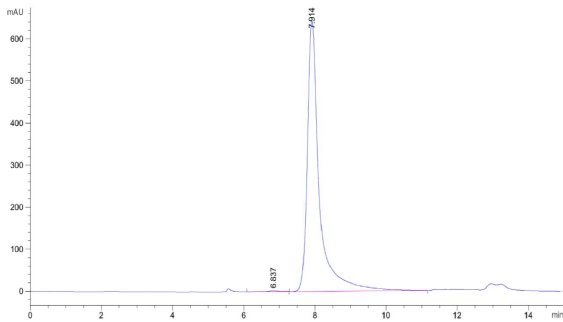


Fig. 2 SEC-HPLC 检测 AccuBase™ 的纯度高于 80.0%

(3) 细胞水平碱基编辑活性

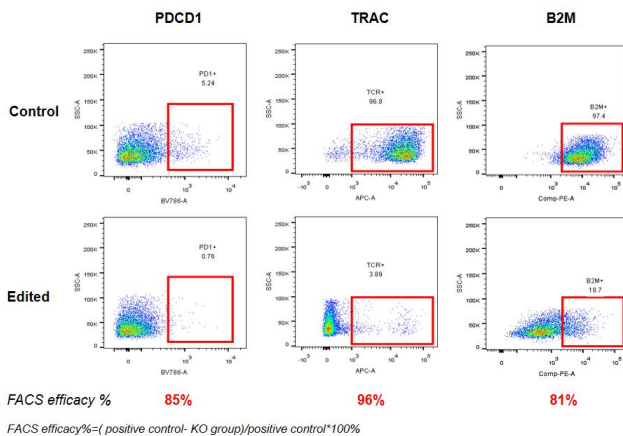


Fig. 4 流式检测, 在蛋白水平上, AccuBase™ 碱基编辑系统可以高效地敲除 T 细胞膜上的 PD1, B2M 和 TRAC 蛋白。其中 PD1 和 B2M 的敲除效率在 80%以上, TRAC 的敲除效率达到了 96%。

注意事项 (Cautions)

- 1、避免反复冻融。
- 2、AccuBase™ 与 sgRNA 需同时与细胞混合后再电转, 不建议提前混合。
- 3、本产品仅作科学研究使用, 不得用于其它用途。

使用步骤 (Protocol)

1、细胞的准备(以 T 细胞为例)

准备相应数量的 T 细胞, 如果 20μL 电转体系, 推荐细胞数量为 1x10⁶ 个细胞量。

2、AccuBase™ 电转 T 细胞

- 1) 配制电转液, 预热培养基。
- 2) 细胞离心去上清后, 用 PBS 洗 1 遍, 尽量吸尽 PBS。

3) 电转液重悬 T 细胞, 轻轻吹打混匀, 与

AccuBase™、sgRNA 混合。不建议提前将 AccuBase™ 与 sgRNA 混合。电转 1x10⁶ 个细胞, 推荐 AccuBase™ 与 sgRNA 的摩尔量分别是 80pmol 与 80pmol。混合后及时转移到电转杯, 注意不要引入气泡。

4) 按照相应的电转程序(Lonza 电转仪, 推荐电转程序

CM156), 电转操作。

5) 预热的培养基及时添加进电转杯, 培养箱静置 10 分

钟。

6) 转移到相应的培养容器。

7) 步骤 3) 到步骤 5) 时间尽量短, 控制在 15 分钟内

完成。

8) 相应细胞与电转试剂按照总样本的 1.1-1.2 倍准备。

3、基因敲除效率评价

培养 3 天以上分析编辑效率。取 1×10^6 个细胞量用于

流式分析, 从蛋白层面确认编辑; 取 1×10^5 个细胞量直

接裂解, PCR 测序鉴定基因型层面编辑效率。