

DNMT3A基因敲除HCT116细胞(EGFP)

产品编号	产品名称	包装
C90213	DNMT3A基因敲除HCT116细胞(EGFP)	1支/瓶

产品简介:

- DNMT3A 基因敲除 HCT116 细胞 (EGFP), 即 DNMT3A Knockout HCT116 Cells (EGFP), 是碧云天自行研发的基于 CRISPR/Cas9 技术、用于人类 DNA 甲基转移酶 (DNA methyltransferases, DNMTs) 功能研究的基因敲除细胞之一。本细胞是同时表达 Cas9、靶向 DNMT3A 基因的 sgRNA、EGFP 标签和 hygromycin 抗性基因, 并实现了 DNMT3A 基因敲除的稳定细胞株。本细胞中 DNMT3A 基因的敲除已经通过 T7E1 的验证。本细胞株是单克隆细胞, 可用于 DNMT3A 基因的生物功能研究, 也可以用于该基因相应抗体的验证。
- DNA 甲基化是一种可遗传和可逆的酶介导的 DNA 修饰, 涉及多种生物过程[1]。在哺乳动物中, 有三种具有催化活性的 DNA 甲基转移酶 (DNMT): DNMT1, 主要负责维持 DNA 在复制过程中的甲基化; DNMT3A 和 DNMT3B, 通常对未甲基化的 DNA 或半甲基化的 DNA 进行从头甲基化, 以协助维持甲基化[2]。DNA 甲基转移酶的缺失与突变和多种疾病的发生密切相关, 包括急性髓性白血病 (AML) 和免疫缺陷、着丝粒不稳定和面部异常 (ICF) 综合征等。
- 本细胞株为可同时表达 Cas9、EGFP 标签、hygromycin 抗性基因和目的基因 sgRNA 的慢病毒感染 HCT116 细胞并经过 EGFP 或 hygromycin 筛选后获得的单克隆 HCT116 细胞。制备本细胞的相应慢病毒的基因序列的关键图谱信息请参考图 1。

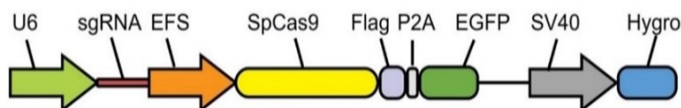


图1. 表达sgRNA、Cas9、EGFP标签和hygromycin抗性的pLenti-sgRNA质粒关键图谱信息。

- 本细胞中目的基因的敲除已经通过 T7E1 以及一代测序的验证。
- 碧云天同时提供基于 CRISPR/Cas9 技术的人 DNMT3A 基因敲除质粒 (EGFP) (C90211)、人 DNMT3A 基因敲除慢病毒 (EGFP) (C90212)、DNMT3A 基因敲除 HCT116 细胞 (EGFP) (C90213)、DNMT3A 基因敲除 HCT116 细胞 RIPA 裂解液 (EGFP) (C90214)、DNMT3A 基因敲除 HCT116 细胞 Trizol 裂解液 (EGFP) (C90215) 等产品, 具体请在碧云天网站查询或在本产品说明书网页点击相应产品。
- 碧云天同时提供带有 mCherry 荧光标签及 puromycin 抗性基因的人 DNMT 系列敲除质粒及慢病毒: 人 DNMT1 基因敲除质粒 (mCherry) (C90206)、人 DNMT1 基因敲除慢病毒 (mCherry) (C90207)、人 DNMT3A 基因敲除质粒 (mCherry) (C90216)、人 DNMT3A 基因敲除慢病毒 (mCherry) (C90217)、人 DNMT3B 基因敲除质粒 (mCherry) (C90226) 以及人 DNMT3B 基因敲除慢病毒 (mCherry) (C90227), 便于用户进行 DNMT 系列基因的双敲除实验, 具体请在碧云天网站查询或在本产品说明书网页点击相应产品。
- 碧云天同时提供基于 CRISPR/Cas9 技术的无任何靶向基因敲除对照质粒如 EGFP 标签 (C90231) 或 mCherry 标签 (C90236)、无任何靶向基因敲除慢病毒如 EGFP 标签 (C90232) 或 mCherry 标签 (C90237)、无任何靶向基因敲除 HCT116 细胞如 EGFP 标签 (C90233) 或 mCherry 标签 (C90238)、无任何靶向基因敲除 HCT116 细胞 RIPA 裂解液如 EGFP 标签 (C90234) 或 mCherry 标签 (C90239)、无任何靶向基因敲除 HCT116 细胞 Trizol 裂解液如 EGFP 标签 (C90235) 或 mCherry 标签 (C90240) 等产品, 用户可根据需要自行选购用作对照, 具体请在碧云天网站查询或在本产品说明书网页点击相应产品。
- DNMT3A 基因的基本信息如下:

Species	Gene Symbol	Gene ID	GenBank Accession	Transcript
Human	DNMT3A	1788	BC043617	NM_022552

About the gene	
Official Symbol	DNMT3A
Previous Symbol	-
Official Full Name	DNA methyltransferase 3 alpha
Synonyms	-
Location	2p23.3
Gene Type	protein-coding gene
Uniprot ID	Q9Y6K1

Pathway/Library	Cysteine and methionine metabolism; Metabolic pathways; MicroRNAs in cancer
Gene Summary	This gene encodes a DNA methyltransferase that is thought to function in de novo methylation, rather than maintenance methylation. The protein localizes to the cytoplasm and nucleus and its expression is developmentally regulated. CpG methylation is an epigenetic modification that is important for embryonic development, imprinting, and X-chromosome inactivation. Studies in mice have demonstrated that DNA methylation is required for mammalian development.

包装清单:

产品编号	产品名称	包装
C90213	DNMT3A基因敲除HCT116细胞(EGFP)	1支/瓶
—	说明书	1份

保存条件:

对于细胞培养瓶或离心管运输的活细胞，室温3-5天有效；对于干冰运输的冻存细胞，液氮保存，长期有效。

注意事项:

- 碧云天拥有sgRNA序列的知识产权，如果需要sgRNA序列，请在订购后发送邮件向info@beyotime.com索取。sgRNA与质粒及其序列信息，未经碧云天书面许可不得用于任何商业用途，也不得移交给订货人所在实验室外的任何个人或单位。使用者在发表学术论文或结果时，应注明来源。
- 对于非HCT116细胞的CRISPR基因敲除细胞的定制，可联系碧云天技术服务service@beyotime.com。
- 本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品，不得存放于普通住宅内。
- 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

使用说明:

1. HCT116细胞的运输、复苏及培养:

- 本HCT116 Cells为同时表目的基因sgRNA、Cas9、EGFP标签和hygromycin抗性的慢病毒感染并经过hygromycin筛选和T7EI鉴定的单克隆HCT116细胞。
- 本细胞会根据细胞是否正在培养、目的地距离等因素确定运输方式：冷冻的细胞冻存管(干冰)、一小瓶贴壁培养的细胞或一小瓶/管悬浮培养的细胞(常温)。为了更好地耐受长途运输和环境温度等变化，对于正常贴壁培养的细胞，也可能会以悬浮的形式培养在细胞培养瓶或离心管中进行运输。
- 对于干冰运输的冻存细胞，若干冰已经完全融化，请立即将细胞复苏培养，切勿再次低温冻存；若尚留有干冰，请直接复苏培养或立即将含有细胞的冻存管放入液氮中保存待用，切不可将细胞置于高温环境。
- 收到冻存的细胞后请尽快复苏细胞进行培养，以确认细胞活力、状态并保种。如暂时不进行复苏操作，冻存细胞可在-80℃条件下保存2个月。
- 每支冻存管约含 1×10^6 个细胞，体积为0.5-1ml，预期存活率60-90%，建议复苏至1个6cm培养皿中。如果复苏后存活率较低，可以消化后转移至3.5cm培养皿中，这样细胞生长会更好。
- 如果本细胞是常温运输，并且是培养瓶中充满完全培养液的贴壁细胞，收到细胞后请在显微镜下观察细胞生长状态，如果细胞密度超过85%请尽快进行传代操作；如果悬浮的细胞较多，请将培养瓶置于培养箱中静置过夜以使悬浮的细胞再次贴壁。如果收到的是常温运输的离心管装的悬浮细胞，可以直接取出转移至培养皿或培养瓶中培养。若培养液颜色正常则保留培养液继续培养，并且在首次更换培养液时，保留一半原培养液，并加入一半新鲜培养液，这样可以尽量避免由于培养液或血清差异导致细胞生长的不适应，确保细胞良好的生长状态。
- 本细胞的培养液为McCoy's 5A+10% FBS。请在培养液中加入适量青霉素-链霉素溶液以防止可能的细菌污染，如碧云天的青霉素-链霉素溶液(100X) (C0222)。未感染慢病毒的HCT116细胞的具体信息请参考HCT116 (人结肠癌细胞) (C6309): <https://www.beyotime.com/product/C6309.htm>。

2. 基因编辑的鉴定:

- 对于多克隆细胞，可以通过T7 Endonuclease I (T7EI)进行鉴定，即提取细胞的基因组DNA，在sgRNA序列两侧设计引物进行PCR扩增，然后进行T7EI酶切和电泳分析，具体请参考碧云天的基因组编辑突变检测试剂盒(D0508): <https://www.beyotime.com/product/D0508S.htm>，或T7 Endonuclease I (CRISPR等基因突变鉴定用) (D7080)；也可以通过目的基因的抗体进行检测。注意：由于CRISPR基因敲除通常是仅若干个碱基的缺失突变，不适合通过qRT-PCR对目的基因的mRNA进行定量检测来判断是否实现了目的基因的敲除。
- 对于单克隆细胞，可通过PCR扩增出sgRNA靶向的基因片段后进行常规测序的方式进行验证，同时也可以使用相应的抗体进行检测。本产品也可以通过进一步筛选单克隆细胞株后进行基因编辑的鉴定以及后续的生物功能研究。

参考文献:

- Bird A. Genes Dev. 2002;16(1):6-21.
- Jackson M, Krassowska A, Gilbert N, et al. Mol Cell Biol. 2004;24(20):8862-8871.

相关产品：

产品编号	产品名称	包装
C0222	青霉素-链霉素溶液(100X)	100ml
D0508	基因组编辑突变检测试剂盒	25/100次
D7080	T7 Endonuclease I (CRISPR等基因突变鉴定用)	250/1250/5000U
C90203	DNMT1基因敲除HCT116细胞(EGFP)	1支/瓶
C90213	DNMT3A基因敲除HCT116细胞(EGFP)	1支/瓶
C90223	DNMT3B基因敲除HCT116细胞(EGFP)	1支/瓶
C90233	无任何靶向基因敲除HCT116细胞(EGFP)	1支/瓶
C90238	无任何靶向基因敲除HCT116细胞(mCherry)	1支/瓶
ST1389	Hygromycin B (潮霉素B)	50mg/250mg/1g/5g
ST551-10mg	Puromycin Dihydrochloride (嘌呤霉素)	10mg/ml×1ml
ST551-50mg	Puromycin Dihydrochloride (嘌呤霉素)	10mg/ml×5ml
ST551-250mg	Puromycin Dihydrochloride (嘌呤霉素)	250mg

Version 2024.11.13