



碧云天生物技术/Beyotime Biotechnology
订货热线: 400-1683301 或 800-8283301
订货 e-mail: order@beyotime.com
技术咨询: info@beyotime.com
网址: http://www.beyotime.com

无任何靶向基因敲除HCT116细胞(mCherry)

产品编号	产品名称	包装
C90238	无任何靶向基因敲除HCT116细胞(mCherry)	1支/瓶

产品简介:

- 无任何靶向基因敲除HCT116细胞(mCherry), 即Control Knockout HCT116 Cells (mCherry), 是碧云天自行研发的基于CRISPR/Cas9技术、同时表达Cas9、mCherry标签和puromycin抗性基因的对照HCT116细胞。本对照细胞中不含sgRNA。本细胞或无任何靶向基因敲除HCT116细胞(EGFP) (C90233)是CRISPR/Cas9技术敲除目的基因的常用对照细胞。
- 本HCT116 Cells为可同时表达Cas9、mCherry标签、puromycin抗性基因和目的基因sgRNA的慢病毒感染HCT116细胞并经过mCherry或puromycin筛选后获得的多克隆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。

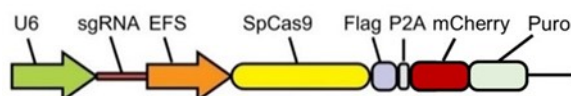


图1. 可同时表达sgRNA、Cas9、mCherry标签和puromycin抗性的慢病毒其基因序列的关键图谱信息。注: 本对照细胞中无sgRNA。

- 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。

包装清单:

产品编号	产品名称	包装
C90238	无任何靶向基因敲除HCT116细胞(mCherry)	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序列信息与本细胞, 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。使用者在发表研究论文或结果时, 应注明来源。
- 对于本细胞的单克隆细胞株筛选或非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、mCherry标签和puromycin抗性的慢病毒感染并经过puromycin筛选和T7EI鉴定的多克隆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。

- f. 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。
- g. 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)。同时，加入终浓度为0.5µg/ml的Puromycin Dihydrochloride (嘌呤霉素) (ST551)。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>。
- h. 如果有必要，后续可以通过将细胞稀释至2.5个/ml，然后按照每孔200µl接种到96孔板中(每孔平均0.5个细胞)，筛选单克隆细胞株。

2. 基因编辑的鉴定：

- a. 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。
- b. 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學功能研究。

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