

pLenti-U6-gRNA-Cas9-P2A-EGFP-Hygro

产品编号	产品名称	包装
D8309-1μg	pLenti-U6-gRNA-Cas9-P2A-EGFP-Hygro	1μg
D8309-100μg	pLenti-U6-gRNA-Cas9-P2A-EGFP-Hygro	100μg

产品简介:

- pLenti-U6-gRNA-Cas9-P2A-EGFP-Hygro是碧云天自行研发的用于方便地插入靶向目的基因的sgRNA (Single guide RNA)并使用CRISPR/Cas9基因编辑(Gene editing)系统进行基因编辑的质粒。本质粒表达绿色荧光蛋白EGFP (Enhanced green fluorescent protein)便于观察转染效率或感染效果,同时携带了Hygro抗性,方便后续进行多克隆或单克隆稳定细胞株的筛选。本质粒在插入靶向目的基因的sgRNA后,可以直接转染细胞进行基因编辑,也可以用于包装慢病毒后感染细胞或组织进行基因编辑。
- 慢病毒(Lentivirus)是以HIV-1 (人类免疫缺陷1型病毒)为基础发展起来的病毒载体系统。它能高效地将目的基因(蛋白质编码序列或小RNA)导入动物或人的原代细胞或细胞系。慢病毒的宿主范围广,对分裂细胞和非分裂细胞均具有感染能力,可以将外源基因有效地整合到宿主染色体上,从而达到持久性表达,被广泛应用到各种细胞系的基因过表达、RNA干扰、microRNA研究以及活体动物实验中[1-3]。本慢病毒载体进行了多方面的改造,删除了慢病毒绝大部分的致病基因,并使包装后的病毒失去了自我复制能力,安全性大大提升,并能有效提高外源基因的表达效果。本质粒可以和pCMV-VSV-G (D8215)以及pCAG-dR8.9 (D8216)配合使用进行慢病毒的包装。
- 本质粒经过BsmBI (CGTCTC(1/5)[^])限制性核酸内切酶消化后,切除图谱中标示的filler,把设计好的靶向特定基因的sgRNA序列经退火后形成的双链寡核苷酸片段连接到载体中,就能构建成相应的用于基因编辑的质粒了。
- 本质粒中使用了人源化脓性链球菌Cas9 (Humanized *S. pyogenes* Cas9, hSpCas9)。hSpCas9是一种能在sgRNA的引导下切割双链DNA的核酸内切酶。在sgRNA的引导下,Cas9剪切基因靶位点产生双链DNA断裂,随后在细胞DNA修复过程中会导致基因靶位点处的插入、删除或替换,从而可能产生移码突变,导致目的基因的缺失突变。当设计的sgRNA的基因靶位点相对比较靠近5'端的时候,就能导致通常所说的基因敲除。本质粒中在hSpCas9的C端添加了核定位信号(Nuclear localization signal, NLS),能够有效确保hSpCas9定位在细胞核,从而有效提高基因编辑效率。
- 本质粒表达的Cas9带有Flag标签,可通过Flag抗体(AF0036/AF5051/AF519)检测Cas9的表达。同时本质粒中Cas9-Flag和EGFP之间通过P2A连接。EGFP与Cas9-Flag同时翻译,可以呈现很强的绿色荧光,可以在荧光显微镜下非常便捷地观察到本质粒的表达情况(图1),并且也方便使用流式细胞仪分选阳性细胞。P2A是一个可以被理解为含有19个氨基酸残基(ATNFSLLKQAGDVEENPG)的“自剪切”小肽。但实际的过程并不是发生自剪切,而是使核糖体跳过P2A等2A元件C端的甘氨酸和脯氨酸肽键的合成而发挥作用,最终导致2A序列末端和下游产物分离。上游Cas-Flag的C端将会添加一些额外的P2A残基(GSGATNFSLLKQAGDVEENPG),而下游蛋白的N端将会有额外的脯氨酸。在P2A肽的N端加入GSG序列,可提高剪切效率。

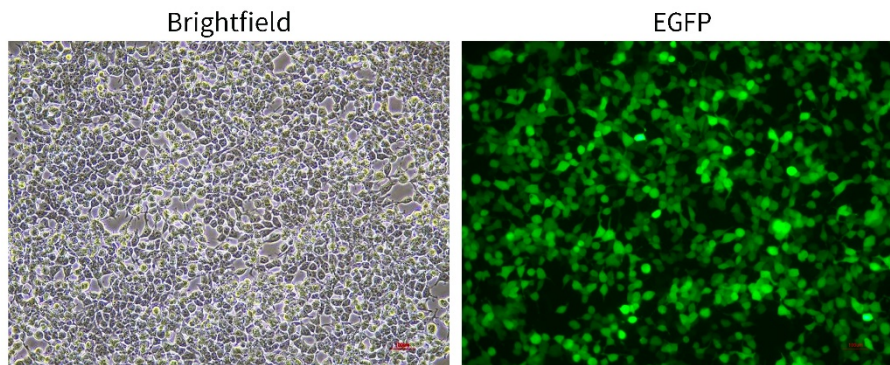


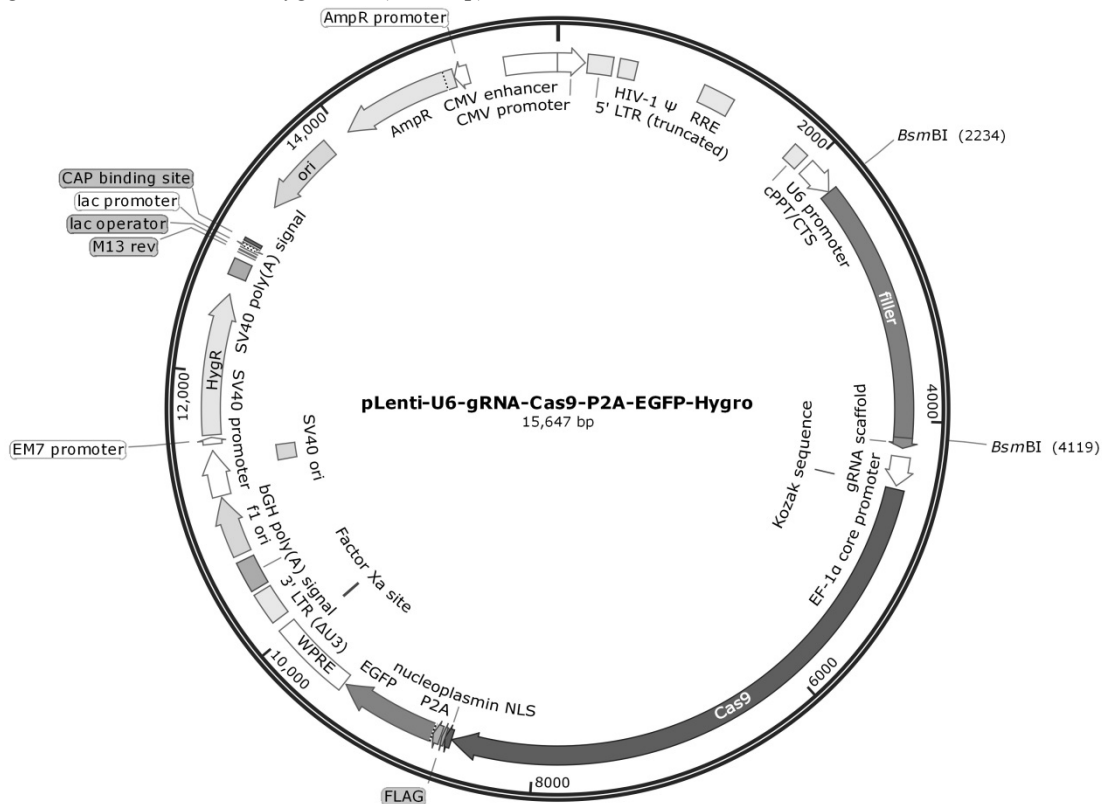
图1. 碧云天pLenti-U6-gRNA-Cas9-P2A-EGFP-Hygro质粒使用Lipo8000™转染试剂(C0533)转染293T细胞后的表达效果图。左侧为明场照片,右侧为荧光照片。

- 本质粒为氨苄青霉素(Ampicillin)和潮霉素B (Hygromycin B)抗性。在大肠杆菌中呈现氨苄青霉素抗性。本质粒转染哺乳动物细胞后,可使用Hygromycin B (潮霉素B) (ST1389)筛选多克隆或单克隆细胞株。
- pLenti-U6-gRNA-Cas9-P2A-EGFP-Hygro质粒的主要信息如下:

Feature Nucleotide	Position
--------------------	----------

CMV promoter	1-199
5' LTR (truncated)	217-397
HIV-1 Ψ	444-569
RRE	1062-1295
cPPT/CTS	1822-1939
U6 promoter	1990-2230
filler	2235-4119
gRNA scaffold	4120-4195
EF-1α core promoter	4257-4468
Kozak sequence	4487-4496
Cas9	4493-8596
nucleoplasmin NLS	8597-8644
FLAG	8645-8668
P2A	8678-8734
EGFP	8735-9454
WPRE	9470-10058
Factor Xa site	9941-9952
3' LTR (ΔU3)	10130-10363
bGH poly(A) signal	10395-10619
f1 ori	10665-11093
SV40 promoter	11107-11436
SV40 ori	11287-11422
EM7 promoter	11484-11531
HygR	11550-12575
SV40 poly(A) signal	12705-12826
M13 rev	12875-12891
lac operator	12899-12915
lac promoter	12923-12953
CAP binding site	12968-12989
ori	13277-13865
AmpR	14036-14896
AmpR promoter	14897-15001
CMV enhancer	15267-15646

➤ pLenti-U6-gRNA-Cas9-P2A-EGFP-Hygro质粒(15647bp)的图谱如下:



➤ pLenti-U6-gRNA-Cas9-P2A-EGFP-Hygro的详细图谱如下:

		hU6-F primer			
		U6 promoter			
1981	TAAGGTACCG	AGGGCCTATT	TCCCATGATT	CCTTCATATT	TGCATATACG
	ATTCCATGGC	TCCCGGATAA	AGGGTACTAA	GGAAGTATAA	ACGTATATGC
2031	ATACAAGGCT	GTTAGAGAGA	TAATTAGAAT	TAATTTGACT	GTA AACACAA
	TATGTTCCGA	CAATCTCTCT	ATTAATCTTA	ATTAAACTGA	CATTTGTGTT
2081	AGATATTAGT	ACAAAATACG	TGACGTAGAA	AGTAATAATT	TCTTGGGTAG
	TCTATAATCA	TGTTTTATGC	ACTGCATCTT	TCATTATTAA	AGAACCCATC
2131	TTTGCAGTTT	TAAAATTATG	TTTTAAAATG	GACTATCATA	TGCTTACCGT
	AAACGTCAAA	ATTTTAATAC	AAAATTTTAC	CTGATAGTAT	ACGAATGGCA
2181	AACTTGAAAG	TATTTTCGATT	TCTTGGCTTT	ATATATCTTG	TGGAAAGGAC
	TTGAACTTTC	ATAAAGCTAA	AGAACCGAAA	TATATAGAAC	ACCTTTCCTG
BsmBI					
2231	GAAACACCGG	AGACGGTGTG	AAATGAGCAC	ACAAAATACA	CATGCTAAAA
	CTTTTGTGGCC	TCTGCCAACA	TTTACTCGTG	TGTTTTATGT	GTACGATTTT
2281	TATTATATTC	TATGACCTTT	ATAAAATCAA	CCAAAATCTT	CTTTTAATA
	ATAATATAAG	ATACTGGAAA	TATTTTAGTT	GGTTTTAGAA	GAAAAATTAT
2331	ACTTTAGTAT	CAATAATTAG	AATTTTTATG	TTCCTTTTGT	CAA ACTTTTA
	TGAAATCATA	GTTATTAATC	TTAAAAATAC	AAGGAAAAAC	GTTTGAAAAAT
2381	ATAAAAATGA	GCAAAAATAA	AAAACGCTAG	TTTTAGTAAC	TCGCGTTGTT
	TATTTTTACT	CGTTTTATTT	TTTTGCGATC	AAAATCATTG	AGCGCAACAA
2431	TTCTTCACCT	TTAATAATAG	CTACTCCACC	ACTTGTTCCT	AAGCGGTCAG
	AAGAAGTGG	AATTATTATC	GATGAGGTGG	TGAACAAGGA	TTCGCCAGTC
2481	CTCCTGCTTC	AATCATTTTT	TGAGCATCTT	CAAATGTTCT	AACTCCACCA
	GAGGACGAAG	TTAGTAAAAA	ACTCGTAGAA	GTTTACAAGA	TTGAGGTGGT
2531	GCTGCTTTAA	CTAAAGCATT	GTCTTTAACA	ACTGACTTCA	TTAGTTTAAC
	CGACGAAATT	GATTTCTGTA	CAGAAATTGT	TGACTGAAGT	AATCAAATTG
2581	ATCTTCAAAT	GTTGCACCTG	ATTTTGAAAA	TCCTGTTGAT	GTTTTAACAA
	TAGAAGTTTA	CAACGTGGAC	TAAAACTTTT	AGGACAAC TA	CAAAATTGTT
2631	ATTCTAATCC	AGCTTCAACA	GCTATTTTAC	AAGCTTTCAT	GATTTCTTCT
	TAAGATTAGG	TCGAAGTTGT	CGATAAAGTG	TTCGAAAGTA	CTAAAGAAGA
2681	TTTGTTAATA	ACAATTTTTC	CATAATACAT	TTAACAACAT	GTGATCCAGC
	AAACAATTAT	TTGTTAAAAG	GTATTATGTA	AATTGTTGTA	CACTAGGTCG
2731	TGCTTTTTTT	ACAGCTTTC A	TGTCTTCTAA	AACTAATTCA	TAATTTTTGT
	ACGAAAAAAA	TGTCGAAAAGT	ACAGAAGATT	TTGATTAAGT	ATTAAAAACA
2781	CTTTTAATGC	ACCAATATTT	AATACCATAT	CAATTTCTGT	TGCACCATCT
	GAAAATTACG	TGGTTATAAA	TTATGGTATA	GTTAAAGACA	ACGTGGTAGA
2831	TTAATTGCTT	CAGAACTTTC	GAATGCTTTT	GTAGCTGTTG	TGCATGCACC
	AATTAACGAA	GTCTTTGAAG	CTTACGAAAA	CATCGACAAC	ACGTACGTGG
2881	TAGAGGAAAA	CCTACAACAT	TTGTTATTCC	TACATTTGTG	CCTTTTAATA
	ATCTCCTTTT	GGATGTTGTA	AACAATAAGG	ATGTAAACAC	GGAAAATTAT
2931	ATTCTTTACA	ATAGCTTGTT	CAATATGAAT	TAACACAAAC	TGTTGCAAAA
	TAAGAAATGT	TATCGAACAA	GTTATACTTA	ATTGTGTTTG	ACAACGTTTT
2981	TCAAATTCAA	TTGCTTCATC	ACATAATTGT	TTAATTTT CAG	CTTTCGTAGC
	AGTTTAAGTT	AACGAAGTAG	TGTATTAACA	AATTAAGT C	GAAAGCATCG
3031	ATCTTGTTTT	AATAATGTGT	GATCTATATA	TTTGTTTAGT	TTCATTTTTT
	TAGAACAAA	TTATTACACA	CTAGATATAT	AAACAAATCA	AAGTAAAAAA

3081 CTCCTATATA TTCATTTTTA ATTTTAATTC TTAAATAAAT TCGTCTACTT
GAGGATATAT AAGTAAAAAT TAAAATTAAG AAATTATTAA AGCAGATGAA

3131 TAACTTTAGC GTTTTGAACA GATTCACCAA CACCTATAAA ATAAATTTTT
ATTGAAATCG CAAAACCTGT CTAAGTGGTT GTGGATATTT TATTTAAAAA

3181 AGTTTAGGTT CAGTTCCTACT TGGGCGAACA GCAAATCATG ACTTATCTTC
TCAAATCCAA GTCAAGGTGA ACCCGCTTGT CGTTTAGTAC TGAATAGAAG

3231 TAAATAAAAT TTTAGTAAGT CTTGTCCTGG CATATTATAC ATTCCATCGA
ATTTATTTTA AAATCATTCA GAACAGGACC GTATAATATG TAAGGTAGCT

3281 TGTAGTCTTC AACATTAACA ACTTTAAGTC CAGCAATTTG AGTTAAGGGT
ACATCAGAAG TTGTAATTGT TGAAATTCAG GTCGTTAAAC TCAATTCCCA

3331 GTTGCTCTCA ATGATTTTCA TAATGGTTCA ATTTTAAAT TCTTTTCTTC
CAACGAGAGT TACTAAAGTA ATTACCAAGT TAAAAATTAA AGAAAAGAAG

3381 TGGTTTAAAA TTCAAGTTTA AAGTGAAAGT GTAATATGCA CCCATTTCTT
ACCAAATTTT AAGTTCAAAT TTCACTTTCA CATTATACGT GGGTAAAGAA

3431 TAAATAAATC TTCTAAATAG TCTACTAATG TTTTATTTTG TTTTTTATAA
ATTTATTTAG AAGATTTATC AGATGATTAC AAAATAAAAC AAAAAATATT

3481 AATCAAGCAG CCTCTGCTAT TAATATAGAA GCTTGTATTC CATCTTTATC
TTAGTTCGTC GGAGACGATA ATTATATCTT CGAACATAAG GTAGAAATAG

3531 TCTAGCTGAG TCATCAATTA CATATCCATA ACTTTCTTCA TAAGCAAAAA
AGATCGACTC AGTAGTTAAT GTATAGGTAT TGAAAGAAGT ATTCGTTTTT

3581 CAAAATTTAA TCCGTTATCT TCTTCTTTAG CAATTTCTCT ACCCATTCTT
GTTTTAAATT AGGCAATAGA AGAAGAAATC GTTAAAGAGA TGGGTAAGTA

3631 TTAAATCCAG TTAAAGTTTT TACAATATTA ACTCCATATT TTTCATGAGC
AATTTAGGTC AATTTCAAAA ATGTTATAAT TGAGGTATAA AAAGTACTCG

3681 GATTCTATCA CCCAAATCAC TTGTTACAAA ACTTGAATAT AGAGCCGGAT
CTAAGATAGT GGGTTTAGTG AACAATGTTT TGAACCTATA TCTCGGCCTA

3731 TTTTTGGAAT GCTATTTAAG CGTTTTAGAT TTGATAATTT TCAATCAATT
AAAAACCTTA CGATAAATTC GCAAAATCTA AACTATTAAA AGTTAGTTAA

3781 AAAATTGGTC CTGTTTGATT TCCATCTAAT CTTACAAAAT GACCATCATG
TTTTAACCG GACAAACTAA AGGTAGATTA GAATGTTTTA CTGGTAGTAC

3831 TTTTATTGCC ATTCCAATC TGTCAGCATC TGGGTCATTC ATAATAATAA
AAAATAACGG TAAGGTTTAG ACAGTCGTAG ACCCAGTAAG TATTATTATT

3881 TATCTGCATC ATGTTTAATA CCATATTCAA GCGGTATTTT TCATGCAGGA
ATAGACGTAG TACAAATTAT GGTATAAGTT CGCCATAAAA AGTACGTCCT

3931 TCAAATTCTG GATTTGGATT TACAACATTT TTAAATGTTT CATCTTCAAA
AGTTTAAGAC CTAAACCTAA ATGTTGTAAA AATTTACAAA GTAGAAGTTT

3981 TGCATGCTCT TCAACCTCAA TAACGTTATA TCCTGATTCA CGTAATATTT
ACGTACGAGA AGTTGGAGTT ATTGCAATAT AGGACTAAGT GCATTATAAA

4031 TTGGGGTAAA TTTAGTTCCT GTTCCATTAA CTGCGCTAAA AATAATTTTT
AACCCCATTT AAATCAAGGA CAAGGTAATT GACGCGATTT TTATTAAAAA

4081 AAATCTTTTT TAGCTTCTTG CTCTTTTTTG TACGTCTCTG TTTTAGAGCT
TTTAGAAAAA ATCGAAGAAC GAGAAAAAAC ATGCAGAGAC AAAATCTCGA

4131 AGAAATAGCA AGTTAAAATA AGGCTAGTCC GTTATCAACT TGAAAAAGTG
TCTTTATCGT TCAATTTTAT TCCGATCAGG CAATAGTTGA ACTTTTTTAC

4181 GCACCGAGTC GGTGCTTTTT TGAATTCGCT AGCTAGGCTT TGAAAGGAGT
CGTGGCTCAG CCACGAAAAA ACTTAAGCGA TCGATCCAGA ACTTTCCTCA

BsmBI gRNA scaffold

➤ pLenti-U6-gRNA-Cas9-P2A-EGFP-Hygro中没有的酶切位点包括:

AarI	AbsI	AscI	AxyI	Bse21I	BsiWI	BstEII
BstHPI	BstPI	Bsu36I	Eco81I	Eco91I	EcoO65I	FseI
FspAI	HpaI	I-CeuI	I-PpoI	I-SceI	KspAI	MauBI
MreI	Paer7I	PalAI	Pfl23II	PI-PspI	PI-SceI	PspEI
PspLI	PspXI	RigI	SbfI	SdaI	SfiI	Sfr274I
SgrAI	SgsI	SlaI	SrfI	Sse8387I	XhoI	

➤ pLenti-U6-gRNA-Cas9-P2A-EGFP-Hygro中的单酶切位点包括:

Acc65I	G`GTAC,C	1984	NotI	GC`GGCC,GC	907
AfeI	AGC GCT	4483	PacI	TTA,AT`TAA	1980
AgeI	A`CCGG,T	4470	PasI	CC`CWG,GG	6262
AsiSI	GCG,AT`CGC	11914	PflFI	GACN`N,NGTC	12054
AvrII	C`CTAG,G	11421	FluTI	G,GCGC`C	404
BamHI	G`GATC,C	8669	PmeI	GTTT AAAC	10373
BbvCI	CC`TCA,GC	1183	PshAI	GACNN NNGTC	11577
BmtI	G,CTAG`C	4212	RsrII	CG`GWC,CG	11958
BspDI	AT`CG,AT	3277	SacII	CC,GC`GG	9973
BsrGI	T`GTAC,A	9444	SexAI	A`CCWGG,T	11188
BssHII	G`CGCG,C	474	SfoI	GGC GCC	402
BstBI	TT`CG,AA	2849	SgrDI	CG`TCGA,CG	15030
BstZ17I	GTA TAC	12837	SmaI	CCC GGG	11444
ClaI	AT`CG,AT	3277	SnaBI	TAC GTA	15622
EcoRI	G`AATT,C	4202	SpeI	A`CTAG,T	15281
EcoRV	GAT ATC	6346	StuI	AGG CCT	11420
FspI	TGC GCA	14331	SwaI	ATTT AAAT	3632
KasI	G`GCGC,C	400	TspMI	C`CCGG,G	11442
KpnI	G,GTAC`C	1988	Tth111I	GACN`N,NGTC	12054
NarI	GG`CG,CC	401	XbaI	T`CTAG,A	4476
NheI	G`CTAG,C	4208	XmaI	C`CCGG,G	11442

➤ pLenti-U6-gRNA-Cas9-P2A-EGFP-Hygro质粒可使用的测序引物序列如下:

sgRNA的测序引物hU6-F primer: 5'-GAGGGCCTATTTCCCATGATT-3'

➤ pLenti-U6-gRNA-Cas9-P2A-EGFP-Hygro的全序列信息请参考碧云天的网站上该质粒的信息。

包装清单:

产品编号	产品名称	包装
D8309-1μg	pLenti-U6-gRNA-Cas9-P2A-EGFP-Hygro	1μg
D8309-100μg	pLenti-U6-gRNA-Cas9-P2A-EGFP-Hygro	100μg
—	说明书	1份

保存条件:

-20°C保存。

注意事项:

- 本质粒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。
- 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. 首次使用1μg包装的本产品时，请先取少量本质粒转化大肠杆菌，进行质粒小量、中量或大量抽提后再用于后续用途。抽提获得的质粒可以通过酶切电泳进行鉴定，或通过测序进行鉴定。
2. 100μg包装的本产品质粒浓度为0.1μg/μl，共1ml。可以直接用于酶切或者转染细胞。
3. 本质粒构建方案如下，仅供参考。

a. 质粒酶切和去磷酸化。

Reagent	Volume
pLenti-U6-gRNA-Cas9-P2A-EGFP-Hygro	xμl (1-2μg)
FastDigest BsmBI	1μl
BeyoAP Alkaline Phosphatase (D7027)	1μl
10X FastDigest Buffer	2μl
100mM DTT	0.2μl
ddH ₂ O	(15.8-x)μl

Total volume	20µl
Incubate at 37°C for 30min	

b. 使用DNA凝胶回收试剂盒纯化酶切后的质粒。

如果质粒成功被BsmBI酶切，则会产生两个片段，一个大的为目的片段，小片段为filler。酶切电泳鉴定后，切胶回收12kb的目的条带，弃去约2kb的filler条带。

c. 磷酸化和退火Oligos。

Reagent	Volume
sgRNA oligo 1 (100µM)	1µl
sgRNA oligo 2 (100µM)	1µl
10X T4 Ligation Buffer	1µl
ddH ₂ O	6.5µl
T4 Polynucleotide Kinase (D7096)	0.5µl
Total volume	10µl

设计Oligo的原则如下：

Forward: 5'-CACCG-20bp-3'

Reverse: 5'-AAAC-20bp (Copy bottom strand 5'→3')-C-3'

注1：反应中请使用T4 Ligation Buffer，因为随T4 Polynucleotide Kinase (D7096)提供的缓冲液不包含ATP。如果使用随T4 Polynucleotide Kinase (D7096)提供的缓冲液，请补充1mM ATP。

注2：使用以下参数将磷酸化/退火反应放入热循环仪中：37°C 30min，95°C 5min，然后以5°C/min的速度下降到25°C。

d. 将步骤3c中退火的双链寡核苷酸以1:200的比例稀释到超纯水中。

e. 按照常规连接方式进行连接反应。

取50ng步骤3b中经BsmBI酶切且纯化后的质粒，与1µl步骤3d中稀释后的双链寡核苷酸进行连接，具体连接用量与步骤参照所使用的连接试剂盒说明书进行。推荐使用碧云天生产的快速DNA连接试剂盒(D7002/D7003)进行连接反应。建议同时设置阴性对照(仅含有载体，用水代替退火的双链寡核苷酸)。

f. 转化至Stbl3菌。

本质粒包含长末端重复序列(LTR)，适合转化至重组缺陷菌，使用Stbl3甘油菌(D0378)能够获得良好的质粒产量。尽管其它RecA菌株可能有效，但我们测试发现使用Stbl3的转化效率和质粒产量都总体更加理想。

g. 直接转染细胞或进行慢病毒的包装。

推荐使用碧云天生产的Lipo8000™转染试剂(C0533)转染细胞。构建好的质粒后续也可以和pCMV-VSV-G (D8215)以及pCAG-dR8.9 (D8216)配合使用进行慢病毒的包装。

参考文献：

1. Mautino MR. Curr Gene Ther. 2002. 2(1):23-43.
2. Sumimoto H, Kawakami Y. Future Oncol. 2007. 3(6):655-664.
3. Stripecke R, Koya RC, Ta HQ, Kasahara N, Levine AM. Blood Cells Mol Dis. 2003. 31(1):28-37.

相关产品：

产品编号	产品名称	包装
D8301-1µg	pLenti-U6-gRNA-Cas9-P2A-EGFP-Neo	1µg
D8301-100µg	pLenti-U6-gRNA-Cas9-P2A-EGFP-Neo	100µg
D8302-1µg	pLenti-U6-gRNA-Cas9-P2A-mCherry-Neo	1µg
D8302-100µg	pLenti-U6-gRNA-Cas9-P2A-mCherry-Neo	100µg
D8303-1µg	pLenti-U6-gRNA-Cas9-P2A-EGFP-Puro&Zeocin	1µg
D8303-100µg	pLenti-U6-gRNA-Cas9-P2A-EGFP-Puro&Zeocin	100µg
D8304-1µg	pLenti-U6-gRNA-Cas9-P2A-mCherry-Puro&Zeocin	1µg
D8304-100µg	pLenti-U6-gRNA-Cas9-P2A-mCherry-Puro&Zeocin	100µg
D8305-1µg	pLenti-U6-gRNA-Cas9-P2A-EGFP-Zeocin	1µg
D8305-100µg	pLenti-U6-gRNA-Cas9-P2A-EGFP-Zeocin	100µg
D8306-1µg	pLenti-U6-gRNA-Cas9-P2A-mCherry-Zeocin	1µg
D8306-100µg	pLenti-U6-gRNA-Cas9-P2A-mCherry-Zeocin	100µg
D8307-1µg	pLenti-U6-gRNA-Cas9-P2A-EGFP-Bla	1µg
D8307-100µg	pLenti-U6-gRNA-Cas9-P2A-EGFP-Bla	100µg
D8308-1µg	pLenti-U6-gRNA-Cas9-P2A-mCherry-Bla	1µg
D8308-100µg	pLenti-U6-gRNA-Cas9-P2A-mCherry-Bla	100µg
D8310-1µg	pLenti-U6-gRNA-Cas9-P2A-mCherry-Hygro	1µg

D8310-100μg	pLenti-U6-gRNA-Cas9-P2A-mCherry-Hygro	100μg
ST1389-50mg	Hygromycin B (潮霉素B)	50mg
ST1389-250mg	Hygromycin B (潮霉素B)	250mg
ST1389-1g	Hygromycin B (潮霉素B)	1g
ST1389-5g	Hygromycin B (潮霉素B)	5g
ST007	Ampicillin	5g
ST008	Ampicillin (100mg/ml, 1000X)	5ml
D8215-1μg	pCMV-VSV-G (慢病毒包装用质粒)	1μg
D8215-100μg	pCMV-VSV-G (慢病毒包装用质粒)	100μg
D8216-1μg	pCAG-dR8.9 (慢病毒包装用质粒)	1μg
D8216-100μg	pCAG-dR8.9 (慢病毒包装用质粒)	100μg
D8202-1μg	pLenti-H1 (慢病毒小RNA表达载体, 绿色荧光)	1μg
D8202-100μg	pLenti-H1 (慢病毒小RNA表达载体, 绿色荧光)	100μg
AF5051	Flag Tag Mouse Monoclonal Antibody	50μl
AF0036	FLAG Tag Rabbit Polyclonal Antibody	100μl
AF519	Flag抗体(小鼠单抗)	>40次
AF0123	CRISPR-Cas9 Mouse Monoclonal Antibody	50μl
D7096	T4 Polynucleotide Kinase	100U
D7097	T4 Polynucleotide Kinase	500U
D7002	快速DNA连接试剂盒	100次
D7003	快速DNA连接试剂盒	500次
D7006	T4 DNA Ligase	40,000U
D7008	T4 DNA Ligase	200,000U
D7027	BeyoAP Alkaline Phosphatase	200U
D0378	Stb13甘油菌	200μl
C0533-0.5ml	Lipo8000™转染试剂	0.5ml
C0533-1.5ml	Lipo8000™转染试剂	1.5ml
C0533-7.5ml	Lipo8000™转染试剂	5×1.5ml

Version 2021.12.28