

## RNF139 Knockout Lentivirus

| 产品编号   | 产品名称                       | 包装                 |
|--------|----------------------------|--------------------|
| L10286 | RNF139 Knockout Lentivirus | 10 <sup>8</sup> TU |

### 产品简介:

- RNF139 Knockout Lentivirus (RNF139基因敲除慢病毒)是一种感染动物细胞后可以同时表达Cas9、目的基因sgRNA和puromycin抗性基因的慢病毒。本产品用于在动物细胞中基于CRISPR/Cas9技术敲除目的基因，并且本慢病毒中sgRNA的有效性已经通过T7EI法的验证。
- 本慢病毒基因序列的关键图谱信息请参考图1。本慢病毒可用于感染细胞或组织并进行目的基因的CRISPR/Cas9敲除。



图1. 可同时表达sgRNA、Cas9和puromycin抗性的本慢病毒其基因序列的关键图谱信息。

- 用于包装本慢病毒的质粒中的sgRNA基于碧云天研发的CRISPR/Cas9 sgRNA快速筛选和验证体系获得，sgRNA的有效性已经通过T7EI法验证。
- 本慢病毒用于实验时，建议同时选购无任何靶向的对照慢病毒Control Knockout Lentivirus (L00015)或靶向GFP的对照慢病毒GFP Knockout Lentivirus (L00017)。
- 碧云天同时提供基于CRISPR/Cas9技术的RNF139基因敲除的质粒(L10285 pLenti-RNF139-sgRNA)、慢病毒(L10286 RNF139 Knockout Lentivirus)、HEK293T细胞(L10287 RNF139 Knockout HEK293T Cells)、HEK293T敲除细胞的RIPA裂解液(L10288 RNF139 Knockout HEK293T RIPA Lysate)、HEK293T敲除细胞的Trizol裂解液(L10289 RNF139 Knockout HEK293T Trizol Lysate)等产品，具体请在碧云天网站查询或在本产品网页点击相应产品。
- RNF139基因的基本信息如下：

| Species | Gene Symbol | Gene ID | GenBank Accession | Transcript |
|---------|-------------|---------|-------------------|------------|
| Human   | RNF139      | 11236   | BC021571          | NM_007218  |

| About the gene     |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |
|--------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Official Symbol    | RNF139                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
| Previous Symbol    | -                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |
| Official Full Name | ring finger protein 139                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
| Synonyms           | TRC8; RCA1; HRCA1                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |
| Location           | 8q24.13                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
| Gene Type          | protein-coding gene                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |
| Uniprot ID         | Q8WU17                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
| Pathway/Library    | Ubiquitin Ligases Genes Library                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |
| Gene Summary       | The protein encoded by this gene is a multi-membrane spanning protein containing a RING-H2 finger. This protein is located in the endoplasmic reticulum, and has been shown to possess ubiquitin ligase activity. This gene was found to be interrupted by a t(3:8) translocation in a family with hereditary renal and non-medullary thyroid cancer. Studies of the Drosophila counterpart suggested that this protein may interact with tumor suppressor protein VHL, as well as with COPS5/JAB1, a protein responsible for the degradation of tumor suppressor CDKN1B/P27KIP. |

### 包装清单:

| 产品编号   | 产品名称                       | 包装                 |
|--------|----------------------------|--------------------|
| L10286 | RNF139 Knockout Lentivirus | 10 <sup>8</sup> TU |
| —      | 说明书                        | 1份                 |

### 保存条件:

-80°C保存，至少一年有效。

## 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序列信息与本慢病毒, 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。
- 对于非目录产品的CRISPR基因敲除用的慢病毒的定制, 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. 慢病毒的感染:

- 确定puromycin的筛选浓度: 待感染的细胞按一定密度铺在12孔或24孔中, 按照0、0.2、0.5、1、1.5、2、3、4、5 $\mu$ g/ml这样的浓度测试细胞对puromycin的敏感性, 推荐使用碧云天的Puromycin Dihydrochloride (嘌呤霉素) (ST551)。两天后细胞全部死亡的最低浓度即为该细胞的puromycin筛选浓度, 具体步骤参考碧云天该产品的使用说明: <https://www.beyotime.com/product/ST551-10mg.htm>。
- 慢病毒感染细胞: 按实验需要将细胞铺板(如12孔板), 细胞数以第2天密度约50%为宜。设置非感染细胞组、对照组和基因敲除组。37 $^{\circ}$ C培养过夜后, 培养液中加入5~10 $\mu$ g/ml的Polybrene (C0351/ST551)。病毒感染前, 从-80 $^{\circ}$ C冰箱取出病毒后冰浴融化, 参考相关文献或者根据预实验得到的MOI值加入适量病毒, 对于未浓缩的病毒, 可以直接按0.5ml/孔加入细胞, 对于浓缩或测定滴度的病毒, 一般100 $\mu$ l/孔或10<sup>7</sup> TU已经足够, 轻轻摇匀, 37 $^{\circ}$ C继续培养。两天后, 吸除含病毒的培养液, 换为新鲜的含一定浓度的puromycin的培养液进行筛选, 一般筛选2天后, 非感染细胞组细胞逐渐死去, 加入病毒组存活率比较高, 就可以收集部分细胞检测目的蛋白的表达或进行其它实验。培养过程中, 可以将细胞转至6孔板或10cm培养皿进行扩大培养。一周之后, puromycin浓度可减半。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200 $\mu$ l接种到96孔板中(每孔平均0.5个细胞), 筛选单克隆细胞株。病毒感染的方法可参考Polybrene (C0351)的使用说明 <https://www.beyotime.com/product/C0351-1ml.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序列两边设计引物进行PCR扩增, 然后进行T7EI酶切, 具体请参考碧云天的T7 Endonuclease I (CRISPR等基因突变鉴定用) (D7080)或基因组编辑突变检测试剂盒(D0508); 也可以通过相应的抗体进行检测。
- 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。

## 相关产品:

| 产品编号         | 产品名称                                   | 包装                   |
|--------------|----------------------------------------|----------------------|
| L00015       | Control Knockout Lentivirus            | 10 <sup>8</sup> TU   |
| L00017       | GFP Knockout Lentivirus                | 10 <sup>8</sup> TU   |
| C0222        | 青霉素-链霉素溶液(100X)                        | 100ml                |
| C0351-1ml    | Polybrene (Hexadimethrine Bromide)     | 1ml                  |
| C0351-50mg   | Polybrene (Hexadimethrine Bromide)     | 50mg                 |
| D0508S/M     | 基因组编辑突变检测试剂盒                           | 25/100次              |
| D7080S/M/L   | T7 Endonuclease I (CRISPR等基因突变鉴定用)     | 250/1250/5000U       |
| ST551-10mg   | Puromycin Dihydrochloride (嘌呤霉素)       | 10mg/ml $\times$ 1ml |
| ST551-50mg   | Puromycin Dihydrochloride (嘌呤霉素)       | 10mg/ml $\times$ 5ml |
| ST551-250mg  | Puromycin Dihydrochloride (嘌呤霉素)       | 250mg                |
| ST1380-500mg | Polybrene ( $\geq$ 94%, Reagent grade) | 500mg                |
| ST1380-2g    | Polybrene ( $\geq$ 94%, Reagent grade) | 2g                   |
| ST1380-10g   | Polybrene ( $\geq$ 94%, Reagent grade) | 10g                  |

Version 2020.12.08