

## MAP3K3 Knockout Lentivirus

产品编号	产品名称	包装
L15906	MAP3K3 Knockout Lentivirus	10 <sup>8</sup> TU

### 产品简介:

- MAP3K3 Knockout Lentivirus (MAP3K3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T7E1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T7E1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MAP3K3基因敲除的质粒(L15905 pLenti-MAP3K3-sgRNA)、慢病毒(L15906 MAP3K3 Knockout Lentivirus)、HEK293T细胞(L15907 MAP3K3 Knockout HEK293T Cells)、HEK293T敲除细胞的RIPA裂解液(L15908 MAP3K3 Knockout HEK293T RIPA Lysate)、HEK293T敲除细胞的Trizol裂解液(L15909 MAP3K3 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。
- MAP3K3基因的基本信息如下：

Species	Gene Symbol	Gene ID	GenBank Accession	Transcript
Human	MAP3K3	4215	BC010464	NM_002401

About the gene	
Official Symbol	MAP3K3
Previous Symbol	MEKK3
Official Full Name	mitogen-activated protein kinase kinase kinase 3
Synonyms	MAPKKK3
Location	17q23.3
Gene Type	protein-coding gene
Uniprot ID	Q99759
Pathway/Library	Kinases Library
Gene Summary	This gene product is a 626-amino acid polypeptide that is 96.5% identical to mouse Mekk3. Its catalytic domain is closely related to those of several other kinases, including mouse Mekk2, tobacco NPK, and yeast Ste11. Northern blot analysis revealed a 4.6-kb transcript that appears to be ubiquitously expressed. This protein directly regulates the stress-activated protein kinase (SAPK) and extracellular signal-regulated protein kinase (ERK) pathways by activating SEK and MEK1/2 respectively; it does not regulate the p38 pathway. In cotransfection assays, it enhanced transcription from a nuclear factor kappa-B (NFkB)-dependent reporter gene, consistent with a role in the SAPK pathway. Alternatively spliced transcript variants encoding distinct isoforms have been observed.

### 包装清单:

产品编号	产品名称	包装
L15906	MAP3K3 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、5μg/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°C培养过夜后, 培养液中加入5~10μg/ml的Polybrene (C0351/ST551)。病毒感染前, 从-80°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100μl/孔或10<sup>7</sup> TU已经足够, 轻轻摇匀, 37°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。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×1ml
ST551-50mg	Puromycin Dihydrochloride (嘌呤霉素)	10mg/ml×5ml
ST551-250mg	Puromycin Dihydrochloride (嘌呤霉素)	250mg
ST1380-500mg	Polybrene (≥94%, Reagent grade)	500mg
ST1380-2g	Polybrene (≥94%, Reagent grade)	2g
ST1380-10g	Polybrene (≥94%, Reagent grade)	10g

Version 2020.12.08