

RPA2 Knockout Lentivirus

| 产品编号 | 产品名称 | 包装 |
|--------|--------------------------|--------------------|
| L30541 | RPA2 Knockout Lentivirus | 10 ⁸ TU |

产品简介:

- RPA2 Knockout Lentivirus (RPA2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RPA2基因敲除的质粒(L30540 pLenti-RPA2-sgRNA)、慢病毒(L30541 RPA2 Knockout Lentivirus)、HEK293T细胞(L30542 RPA2 Knockout HEK293T Cells)、HEK293T敲除细胞的RIPA裂解液(L30543 RPA2 Knockout HEK293T RIPA Lysate)、HEK293T敲除细胞的Trizol裂解液(L30544 RPA2 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。
- RPA2基因的基本信息如下：

| Species | Gene Symbol | Gene ID | GenBank Accession | Transcript |
|---------|-------------|---------|-------------------|------------|
| Human | RPA2 | 6118 | BC001630 | NM_002946 |

| About the gene | |
|--------------------|---|
| Official Symbol | RPA2 |
| Previous Symbol | - |
| Official Full Name | replication protein A2 |
| Synonyms | - |
| Location | 1p35.3 |
| Gene Type | protein-coding gene |
| Uniprot ID | P15927 |
| Pathway/Library | others |
| Gene Summary | This gene encodes a subunit of the heterotrimeric Replication Protein A (RPA) complex, which binds to single-stranded DNA (ssDNA), forming a nucleoprotein complex that plays an important role in DNA metabolism, being involved in DNA replication, repair, recombination, telomere maintenance, and co-ordinating the cellular response to DNA damage through activation of the ataxia telangiectasia and Rad3-related protein (ATR) kinase. The RPA complex protects single-stranded DNA from nucleases, prevents formation of secondary structures that would interfere with repair, and co-ordinates the recruitment and departure of different genome maintenance factors. The heterotrimeric complex has two different modes of ssDNA binding, a low-affinity and high-affinity mode, determined by which oligonucleotide/oligosaccharide-binding (OB) domains of the complex are utilized, and differing in the length of DNA bound. This subunit contains a single OB domain that participates in high-affinity DNA binding and also contains a winged helix domain at its carboxy terminus, which interacts with many genome maintenance protein. Post-translational modifications of the RPA complex also plays a role in co-ordinating different damage response pathways. |

包装清单:

| 产品编号 | 产品名称 | 包装 |
|--------|--------------------------|--------------------|
| L30541 | RPA2 Knockout Lentivirus | 10 ⁸ 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, 也不得移交给订货到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10⁷ 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 ⁸ TU |
| L00017 | GFP Knockout Lentivirus | 10 ⁸ 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