

# CRISPR Cas9基因敲除服务

产品名称	CRISPR Cas9基因敲除服务
公司名称	北京英茂盛业生物科技有限公司
价格	面议
规格参数	品牌:英茂盛业
公司地址	北京市昌平区沙河镇青年创业大厦B-916
联系电话	010-62495135 13681365274

## 产品详情

CRISPR/Cas9/gRNA ( CRISPR-Cas RNA-guided nuclease ) 基因敲除技术是继TALEN基因敲除技术之后又一大突破。与TALEN和ZNF技术相比，CRISPR/Cas9系统的载体构建和使用更加方便。基因敲除的特异性由gRNA而不是蛋白来确定，因此避免了复杂的质粒组装构建过程，甚至使同时敲除多个基因成为可能。不仅如此，实验表明CRISPR/Cas9系统的基因敲除效率与TALEN、ZNF的效率相当或者更好。目前Cas9的特异性及其它一些特性尚有待进一步研究，但由于其操作极其简便，该技术的应用将大大简化育种，遗传变异修复，及各种基因研究的工作难度。

### 我们现提供Cas9/gRNA基因敲除产品：

Cas9/gRNA基因敲除-质粒转染表达系统 Cas9/gRNA基因敲除-慢病毒表达系统 Cas9稳定表达细胞系

Cas9/gRNA基因敲除相关服务：

Cas9/gRNA基因敲除载体构建服务 基因敲除细胞系构建服务

### CRISPR/Cas9系统基因敲除原理

CRISPR (clustered, regularly interspaced, short palindromic repeats)是一种来自细菌降解入侵的病毒DNA或其他外源DNA的免疫机制。在该机制中，Cas蛋白 ( CRISPR-associated

protein) 含有两个核酸酶结构域, 可以分别切割两条DNA链。一旦与crRNA (CRISPR RNA) 和tracrRNA 结合形成复合物, Cas蛋白中的核酸酶即可对与复合物结合的DNA进行切割。切割后DNA双链断裂从而使入侵的外源DNA降解。1、Cas9蛋白来自Streptococcus pyogenes的Cas9由于PAM识别序列仅为2个碱基 (GG), 几乎可以在所有的基因中找到大量靶点, 因此得到广泛的应用。Cas9蛋白在目前测试过的几乎所有生物和细胞中均有活性, 包括细菌、酵母、植物、鱼、以及哺乳动物细胞。识别RNA (gRNA) 可以通过载体表达或者化学合成后与Cas9蛋白共同进入细胞, 对特异DNA序列剪切, 从而促使DNA发生NHEJ (nonhomologous end-joining) 导致的基因缺失或同源重组, 实现基因敲除。

Cas9对DNA切割示意图: 2、Cas9Nicknase蛋白 Cas9Nicknase是Cas9蛋白的D10A突变体, 切割DNA单链。由于DNA上的Nick缺口会很快被细胞修复, 一般不会造成基因突变。Cas9Nicknase需要成对的gRNA辅助才能实现DNA双链断裂。采用Nicknase蛋白可以提高基因敲除的特异性, 但是对gRNA的设计要求较高。敲除效率也比Cas9蛋白低一些。简单地说, Cas9基因敲除效率更高, 操作更容易; Cas9Nicknase特异性更高。您可以根据实验设计需要进行选择。 Cas9Nicknase对DNA切割示意图:

## 我公司CRISPR/Cas9系统产品简介

### Cas9/gRNA基因敲除-质粒转染表达系统

包括表达Cas9蛋白pCas9/gRNA1和表达Cas9Nicknase的pCas9/gRNA3载体。两个载体都可以同时表达gRNA。您可以根据靶基因的序列设计靶点, 构建针对靶基因的pCas9/gRNA载体, 转染细胞后pCas9/gRNA载体会对基因靶点进行定点切割, 实现基因敲除或重组。

pCas9/gRNA1和pCas9/gRNA3载体通过直接转染细胞发挥作用。建议先进行细胞转染实验, 转染效率高的细胞株可以采用该系统进行基因敲除。

### Cas9/gRNA基因敲除-慢病毒表达系统

该系统采用慢病毒表达Cas9蛋白, 可以构建稳定表达Cas9或者Cas9Nicknase蛋白的细胞系。再在该细胞系的基础上进行基因敲除。适合用于在需要一种细胞系中构建多个基因敲除的实验。由于Cas9蛋白稳定表达, 该系统的基因敲除效率明显高于质粒转染系统。此外, Cas9蛋白稳定表达后, 只需导入小分子的gRNA就能实现基因敲除功能, gRNA的导入可以根据细胞特性采用质粒转染、人工合成gRNA转染、AAV病毒或者腺病毒导入等多种方式。实验设计更加灵活。

## CRISPR/Cas9基因敲除实例

pCas9/gRNA1基因敲除载体对照实验 pCas9/gRNA3基因敲除载体对照实验 Cas9蛋白稳定表达细胞系293T-Cas9对照实验 用pCas9/gRNA1载体敲除293T细胞中的TP53基因