

EdiArray™ Human CRISPR GPCR Library 产品说明书

(Cat. NO. ARR60309)

EdiGene 的 EdiArray™ 的 CRISPR 文库产品是根据基因家族进行 Array 形式的文库筛选产品。每一种特定文库中的基因都对应设计了 4 条位点特异的 sgRNA，以慢病毒的方式混合在一起放置在 96 孔板的小孔中。SgRNA 的设计是基于可靠的软件进行，大大提升的 sgRNA 的效率，同时降低脱靶率，并且在 4 条 sgRNA 中有一条 sgRNA 是经过基因敲除验证，保证了每个 96 孔中对应基因的敲除。

G 蛋白偶联受体（鸟嘌呤核苷酸结合蛋白偶联受体），是一大类膜蛋白受体的统称。这类受体的共同点是其立体结构中都有七个跨膜 α 螺旋，且其肽链的 C 端和连接第 5 和第 6 个跨膜螺旋的胞内环上都有 G 蛋白（鸟苷酸结合蛋白）的结合位点。它们的主要功能是通过与 G 蛋白相互作用将细胞外的信息传递到细胞内。G 蛋白偶联受体识别各种配体和刺激物，包括激素和神经递质、趋化因子、前列腺素、蛋白酶、生物胺、核苷、脂类、生长因子、气味分子和光线。这些受体充当胞内介体并能调节复杂的网络途径。EdiArray™ Human CRISPR GPCR Library 包含了 692 个目标基因，每个基因对应 4 条 sgRNA（混合在一个孔内），总共 2768 条 sgRNA。文库以 96 孔板的形式提供。

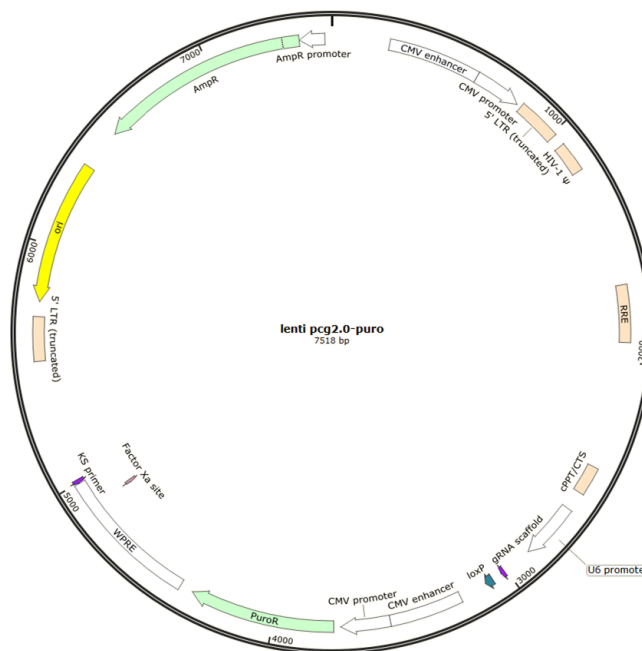
一、产品内容

名称：EdiArray™ Human CRISPR GPCR Library/ EdiArray™ 慢病毒人类 G 蛋白偶联受体文库

数量：每个基因对应提供 150 μ L 的慢病毒，分成 50 μ L/孔

病毒滴度： $\geq 1 \times 10^6$ TU/mL

慢病毒质粒图谱：



筛选方式：puromycin

存储方式：- 80 $^{\circ}$ C 存储，避免反复冻融

对应 96 孔基因信息：联系客服人员索取；每块 96 孔板中包含 GFP 阳性对照、非靶向 sgRNA 阴性对照以及 puro 筛选对照孔。

二、实验前准备

使用 EdiArray™ 之前，需要确定目标细胞的生长速率，puromycin 的敏感性，Polybrene 的耐受性以及细胞的慢病毒转染效率。

使用 EdiGene 的 EdiArray™ CRISPR GFP 和 Negative Control 慢病毒颗粒进行细胞的慢病毒转染效率和筛选条件的检测。

1、使用方法

将 EdiArray™ 的慢病毒颗粒加入到 Cas9 稳定表达的细胞系中或者将 EdiArray™ 的慢病毒颗粒和包装有 Cas9 的慢病毒颗粒共同加入到靶细胞中去进行感染。

共转染的方法可以减少产生 Cas9 稳定表达细胞系的时间，但是使用 Cas9 稳定表达细胞系可以提高基因编辑的效率。EdiArray™ 的 Cas9 慢病毒颗粒也能够提供简单高效的制备 Cas9 稳定表达细胞系的方法。

2、筛选使用的 MOI

细胞的特性是影响慢病毒感染效率的（例如分裂细胞和不分裂细胞感染效率是不一样的），所以在筛选前首先要确定一下细胞所使用的 MOI，一般较高的 MOI 能确保较高的敲除效率。

我们建议使用 EdiGene 的 EdiArray™ CRISPR GFP 和 Negative Control 慢病毒颗粒来确定靶细胞感染的 MOI。

3、感染条件

对于每一株细胞需要先确定最适合的感染条件，如果需要进行共感染，我们建议是包装有 Cas9 的慢病毒的 MOI 应达到 5-10 左右以获得较好的敲除效果。

Polybrene 能够提升慢病毒的感染效率 2-10 倍，所以在筛选前确定靶细胞所使用的 Polybrene 浓度。建议测试 Polybrene 的浓度区间为（2-8 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ）

使用 puromycin 进行抗生素筛选，首先要确定靶细胞所使用的最适浓度。一个典型的 puromycin 筛选测试需要 7-10 天左右。

三、实验步骤

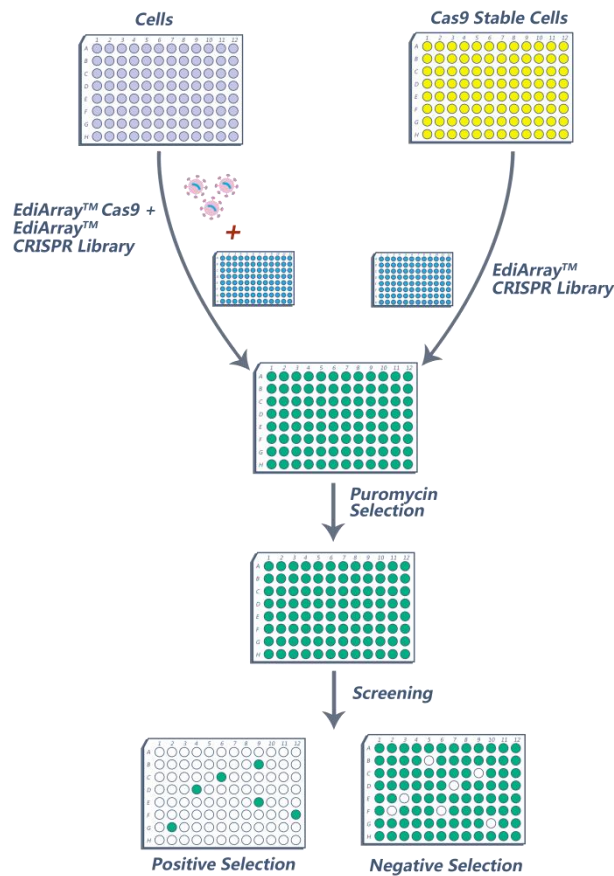


图1 使用 EdiArray™ 的 CRISPR 文库进行筛选的两种方式

两种方式 第一种是使用 EdiArray™ 的 CRISPR 文库和 EdiArray™ 的 Cas9 慢病毒颗粒进行共转染；第二种是使用 Cas9 稳定表达的细胞株加入 EdiArray™ 的 CRISPR 文库进行筛选。

下面是使用 EdiArray™ 的 96 孔形式筛选的操作方法：

第 1 天

1. 在 96 孔板中加入 100 μ L/well 的靶细胞，置于 37°C、5% CO₂ 细胞培养箱中培养 24 h 后使得细胞密度达到 50%左右；

第 2 天

2. 从 - 80°C取出 EdiArray™ 的 CRISPR 文库板子，放置在 37°C的环境中解冻，然后放置在冰上；
3. 在使用前对 EdiArray™ 的 CRISPR 文库板子离心，速度 \leq 200g \times 2min；
4. 加入合适的 MOI 的慢病毒到 96 孔的靶细胞上清中，轻轻晃动 96 孔板使得病毒均匀分散；
5. 置于 37°C、5% CO₂ 细胞培养箱中培养 48h；

第 5 天

6. 取出 96 孔细胞培养板，去除上清，加入含有合适浓度的 puromycin 的新鲜培养基，筛选侵染成功的靶细胞；
7. 每 2 天换一次含有合适浓度的 puromycin 的新鲜培养基；

第 9 天 (或者更长)

8. 筛选侵染成功的细胞结束后，进行预先设计的实验方案（例如细胞存活实验、表面蛋白表达实验、高内涵筛选、报告实验等等）

注意：GFP 对照孔内不可以加入 puromycin 进行筛选，因为该质粒不含 puromycin 抗性。

相关产品

产品名称	货号
EdiArray™ Cas9 Lentivirus, 100 μ L	ARR60301
EdiArray™ Cas9 Lentivirus, 1 mL	ARR60302
EdiArray™ CRISPR Positive Control Lentivirus with GFP, 100 μ L	ARR60303
EdiArray™ CRISPR Positive Control Lentivirus with GFP, 1mL	ARR60304
EdiArray™ CRISPR Negative Control Lentivirus, (Human) 100 μ L	ARR60305
EdiArray™ CRISPR Negative Control Lentivirus, (Human) 1mL	ARR60306

EdiGene Inc.

Web: edigene.com

E-mail: support@edigene.com

Tel: 010-8073 3899 ext.802

Address: Life Science Park, No.22 Kexueyuan Road, Changping District, Beijing, 102206, China