

# EdiArray™ Human CRISPR Protease Library 产品说明书

## ( Cat. NO. ARR60315 )

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，大大提升了 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。

蛋白酶是水解蛋白质肽链的一类酶的总称。按其降解多肽的方式分成内肽酶和端肽酶两类。前者可把大分子量的多肽链从中间切断，形成分子量较小的肽和肽；后者又可分为羧肽酶和氨肽酶，它们分别从多肽的游离羧基末端或游离氨基末端逐一将肽链水解生成氨基酸。EdiArray™ Human CRISPR Protease Library 包含了 530 个目标基因，每个基因对应 4 条 sgRNA（混合在一个孔内），总共 2120 条 sgRNA。文库以 96 孔板的形式提供。

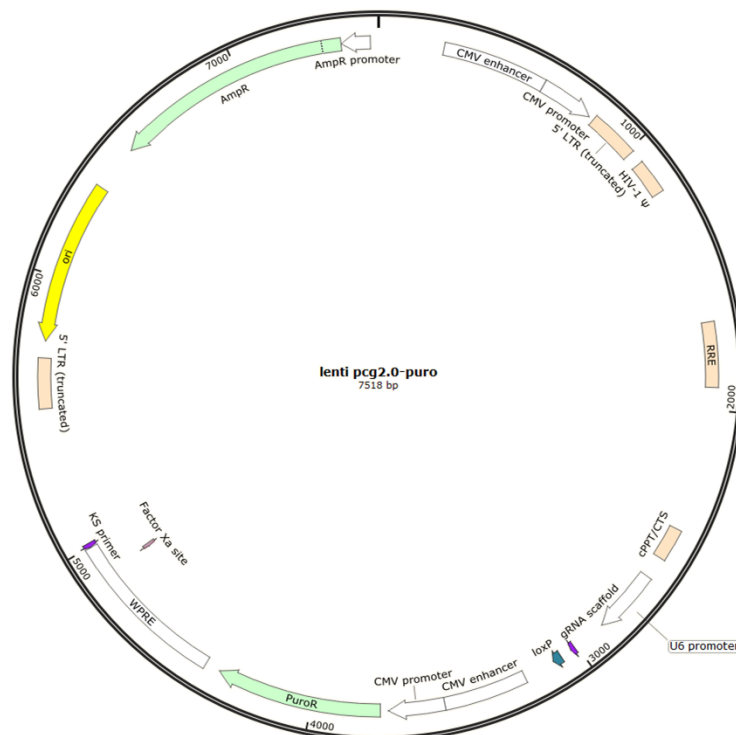
### 一、产品内容

**名称：** EdiArray™ Human CRISPR Protease Library/ EdiArray™ 慢病毒人类蛋白酶文库

**数量：** 每个基因对应提供 150μL 的慢病毒，分成 50μL/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°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侵染。

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侵染效率的（例如分裂细胞和不分裂细胞侵染效率是不一样的），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侵染的 MOI。

### 3、侵染条件

对于每一株细胞需要先确定最适合的侵染条件，如果需要进行共侵染，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 能够提升慢病毒的侵染效率 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 μg/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

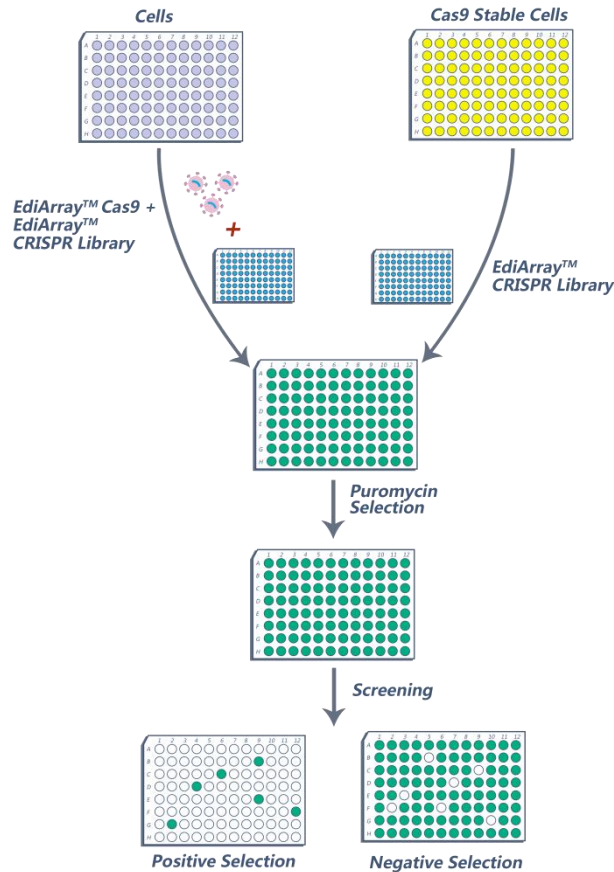


图1 使用 EdiArray™ 的 CRISPR 文库进行筛选的两种方式

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 $\mu$ L/well 的靶细胞，置于 37°C、5% CO<sub>2</sub> 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% CO<sub>2</sub> 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 $\mu$ L	ARR60301
EdiArray™ Cas9 Lentivirus, 1 mL	ARR60302
EdiArray™ CRISPR Positive Control Lentivirus with GFP, 100 $\mu$ L	ARR60303
EdiArray™ CRISPR Positive Control Lentivirus with GFP, 1mL	ARR60304
EdiArray™ CRISPR Negative Control Lentivirus, (Human) 100 $\mu$ 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, Changqing District, Beijing, 102206, China