



EasyTransf™ 高效胞嘧啶碱基编辑试剂盒说明书

(含 AccuBase® CBE mRNA, 针对贴壁细胞)

产品介绍

本试剂盒由自研的高效、低毒性 RNA 转染试剂 (TransBoost™ RNA Ultra System) 与经特殊改造的 AccuBase® CBE mRNA (胞嘧啶碱基编辑器) 组成, 可与单链向导 RNA (sgRNA) 混合孵育后转染细胞, 实现靶点处 C>T 碱基替换, 诱导基因的点突变或基因敲除。实验操作简单, 编辑效果安全、高效。

产品原理

本试剂盒是基于 CRISPR 及脱氨酶技术的碱基编辑试剂盒。其原理是 CBE mRNA 和 sgRNA 被共同递送至细胞后, mRNA 被翻译为 ABE 蛋白, 在 sgRNA 的引导下靶向目的基因, 在脱氨酶的作用下脱除胞嘧啶的氨基, 从而实现碱基 C>T 突变。编辑窗口为第 4-11 位。

关于 sgRNA

本试剂盒仅提供 CBE mRNA 和转染试剂, 用户需自备 sgRNA。建议直接订购化学合成的 sgRNA 序列 (全长约 100 nt), 即由 20nt 靶序列与 80nt 的 scaffold 序列连接而成的单链 RNA。本品 sgRNA 靶序列对应的 PAM 为 NGG, scaffold 序列与 SpCas9 所用序列兼容 (参考序列: gttttagagctagaaatagcaagttaaaataaggctagtccgttatcaacttgaaaaagtggcaccgagtcggtgctttt)

适用范围

利用本试剂盒获得的胞嘧啶碱基编辑系统, 可以高效编辑不同类型的贴壁哺乳动物细胞, 包括细胞系以及原代细胞。

产品组分

Cat. No.	产品组成 (以试剂 A1 为标准)				存储条件	运输条件	有效期
	AccuBase® CBE mRNA 溶液	试剂 A1	试剂 B	EGFP mRNA			
E13A025	25 μL (1 μg/μL)	250 μL	250 μL	5 μL (1 μg/μL)	-80°C	干冰	12 个月
E13A050	50 μL (1 μg/μL)	500 μL	500 μL	10 μL (1 μg/μL)	-80°C	干冰	12 个月

需自备材料

sgRNA (建议化学合成, 可在两端增加硫代修饰, 提升稳定性。干粉离心后用 DEPC 或 RNAase-free 水稀释成 1 μg/μL 溶液, 放冰上备用, 如有剩余请储存于 -80°C 冰箱)



1.5 mL 或 2 mL 离心管（无核酶无菌）

移液枪吸头（无核酶无菌、不带滤芯）。

转染操作步骤（以 24 孔板铺板的单个孔细胞的用量为例）

Day1:

细胞准备工作：新鲜复苏的细胞，状态稳定良好，细胞活率 95%以上。提前将细胞传代于 24 孔板，当转染时细胞密度在 60%-70%为最佳。转染前 2 个小时建议更换一次新鲜培养基，有助于提高转染效率。

Day2:

1. 配制转染液

a) 试剂解冻：所有试剂常温快速化冻后，轻柔振荡混匀，瞬离后放冰上备用。

b) 配制 RNA 混合缓冲液

→ 取无核酶的 1.5 mL 离心管，依次加入：

- 试剂 B, 2 μL
- CBE mRNA, 1 μL (1 μg)
- sgRNA, 1 μL (1 μg)

→ 枪头吹打 10 次混匀；

c) 加入转染试剂

→ 加入试剂 A1 10 μL ，立即快速吹打 20 次以上（**避免气泡**）。

→ 配置成转染复合物（共 14 μL ），室温静置 5 分钟。

2. 细胞转染

d) 转染液与培养基预混

→ 向上述转染复合物中（共 14 μL ）加入 500 μL 培养基；

→ 轻轻吹打 10 次混匀（**避免气泡**）。

e) 细胞转染与换液

→ 弃去旧培养基（避免碰到细胞），及时将步骤 d) 中所有液体全部轻轻加入细胞中，完成转染；

→ 转染后 6-12 小时内，进行细胞换液。

建议的试剂用量和体积

培养规格	表面积	培养基体积	RNA 转染体系			
			试剂 B	CBE mRNA	gRNA (synthetic)	试剂 A1
96-well	0.3 cm ³	100 μL	0.4 μL	0.2 μg	0.2 μg	2 μL
24-well	2 cm ³	500 μL	2 μL	1 μg	1 μg	10 μL
12-well	4 cm ³	1 mL	4 μL	2 μg	2 μg	20 μL



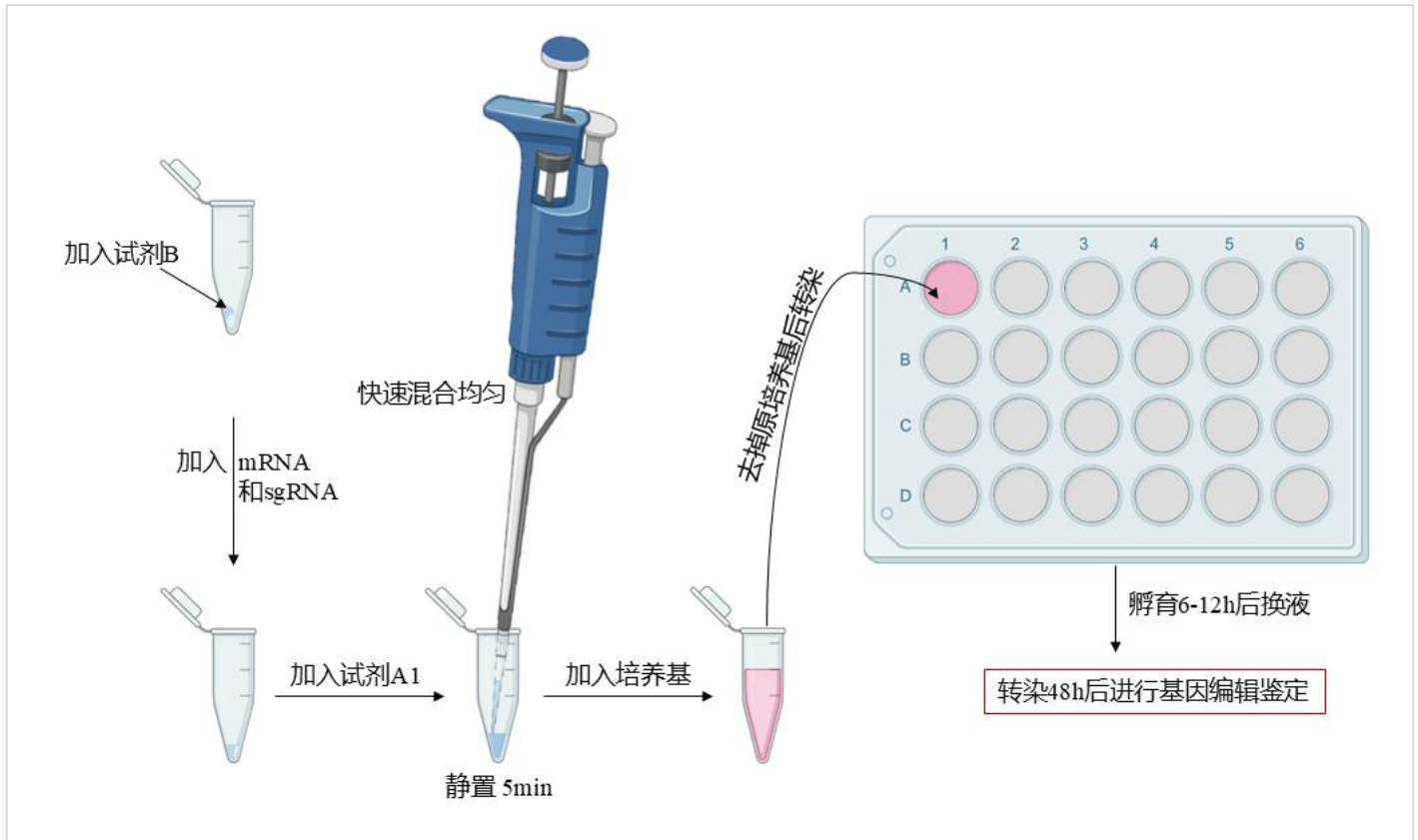
6-well	10 cm ³	2 mL	10 μL	5 μg	5 μg	50 μL
--------	--------------------	------	-------	------	------	-------

【1】CBE mRNA: gRNA = 1: 1 (μg: μg) ; 试剂 B: 总 RNA: 试剂 A1 = 1: 1: 5 (μL: μg: μL) 。

【2】建议单个孔做 EGFP 转染作为对照组, 其 EGFP mRNA 用量等于 CBE mRNA 与 sgRNA 的总和, 即 24 孔板用 2 μg 。

转染操作简易流程图

混合试剂 B+mRNA+sgRNA; 混合试剂 A1; 静置 5min; 加入培养基; 转染细胞。



常见问题

问 为什么建议预混转染液和培养基?

→ 避免细胞漂浮, 确保转染液均匀分散。

问 如何判断转染成功?

→ EGFP 对照组转染 24 小时后, 荧光显微镜下观察绿色荧光比例。

问 如何鉴定细胞编辑效率

→ 转染 48 小时后, 移除培养基, PBS 洗涤, 胰酶消化, 吸取微量细胞离心去上清, 细胞沉淀中加入 30-50 μL 裂解缓冲液 (细胞裂解液货号: CL101000) 直接裂解细胞, 随后经过 PCR, Sanger 测序确认编辑效果。

问 培养基中的血清对编辑效率有无影响?

→ 一般没有影响, 如果细胞比较特殊, 可以尝试先用无血清培养基转染, 6 小时后换成含血清培养基。



此次合作是谱新生物和贝斯生物双方合作协议的深化，旨在通过全球渠道加速 AccuBase® 技术的应用，基础研究与生物医药领域提供更安全、高效的基因编辑解决方案！



谱新生物公众号

江苏谱新生物医药有限公司

网址：www.hillgene.com
固话：400 900 1882
邮箱：info@hillgene.com
地址：江苏省苏州市吴中区吴中大道
1463 号越旺智慧谷 4 号楼



贝斯生物公众号

珠海微界创生科技有限公司

上海贝斯昂科生物科技有限公司

网址：www.basetherapeutics.com
固话：021-50591715
邮箱：sales01@basetherapeutics.com
地址：珠海市高新区唐家湾镇新沙五路
625 号 3 栋 8 层