



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: gtttagagctagaaatagcaagttaaaataaggctagtcggtatcaactgaaaaagtggcaccgagtcggtgctttt)

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

- 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。
- 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 μ L
 - CBE mRNA , 1 μ L (1 μ g)
 - sgRNA , 1 μ L (1 μ g)
- ➔ 枪头吹打 10 次混匀；
- c) 加入转染试剂
 - ➔ 加入试剂 A1 10 μ L, 立即快速吹打 20 次以上 (避免气泡) 。
 - ➔ 配置成转染复合物 (共 14 μ L) , 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 μ L) 加入 500 μ L 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

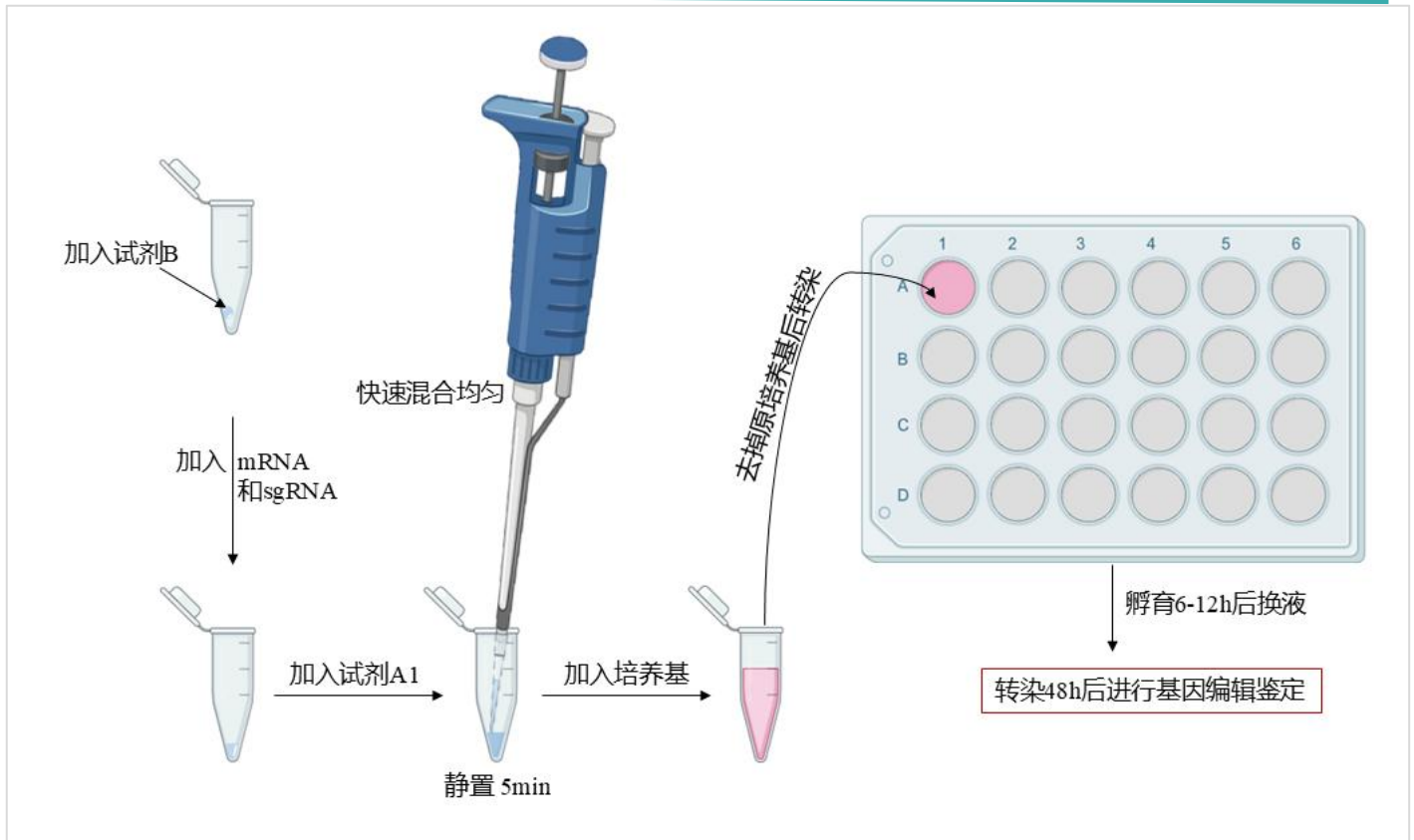
培养规格	表面积	培养基体积	RNA 转染体系			
			试剂 B	CBE mRNA	gRNA (synthetic)	试剂 A1
96-well	0.3 cm ³	100 μ L	0.4 μ L	0.2 μ g	0.2 μ g	2 μ L
24-well	2 cm ³	500 μ L	2 μ L	1 μ g	1 μ g	10 μ L
12-well	4 cm ³	1 mL	4 μ L	2 μ g	2 μ g	20 μ L
6-well	10 cm ³	2 mL	10 μ L	5 μ g	5 μ g	50 μ L

【1】CBE mRNA: gRNA = 1: 1 (μ g: μ g) ; 试剂 B: 总 RNA: 试剂 A1 = 1: 1: 5 (μ L: μ g: μ L) 。

【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 μ g 。

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

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。

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。

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 μ L 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。

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
斯生物公众号

贝

江苏谱新生物医药有限公司
有限公司

珠海微界创生科技有

上海贝斯昂科生物科技有限公司

网址: www.hillgene.com
www.basetherapeutics.com

网址:



固话: 400 900 1882
021-50591715
邮箱: info@hillgene.com
sales01@basetherapeutics.com
地址: 江苏省苏州市吴中区吴中大道
镇新沙五路
1463 号越旺智慧谷 4 号楼
号 3 栋 8 层

固话:

邮箱:

地址: 珠海市高新区唐家湾

625