



A JSR Life Sciences Company

MBL

北京博尔迈生物技术有限公司
MBL BEIJING BIOTECH CO., LTD.



基因编辑

IDT
INTEGRATED DNA TECHNOLOGIES



A JSR Life Sciences Company

MBL

北京博尔迈生物技术有限公司
MBL BEIJING BIOTECH CO., LTD.
<http://www.mbl-chinawide.cn>

地址：北京市海淀区知春路1号学院国际大厦1606室(100191)
电话：010-82899503, 82899217 邮箱：info@mbl-china.cn

上海分公司：上海市徐汇区漕溪北路18号上实大厦13E1(200030)
电话：021-64681752

广州分公司：广州市天河区林和西路167号威尼国际大厦1907-1908室(510610)
电话：020-22122010



官方微信：MBL CHINA



<http://www.mbl-chinawide.cn>

产品热线：400-000-9858

公司简介



美国Integrated DNA Technologies公司（以下简称IDT）创办于1987年，是寡核苷酸合成领域的领导者，在过去的30多年里IDT致力于为学术研究、农业发展、医疗诊断、药物研发等领域开发和制造核酸产品，IDT可以为客户提供高品质的产品、专业的技术支持和个性化的定制服务。在分子生物学领域，IDT为二代测序、基因编辑、qPCR和RNA干扰等领域开发了一系列专有技术。IDT生产的GMP级别产品被广泛应用于多种癌症以及遗传和感染性疾病的诊断试剂研发，并通过不断优化自动化合成平台的处理技术来加快原研试剂的开发和生产。

IDT为100多个国家和地区的超过120,000名生命科学研究人员提供服务，每天生产70,000多条核酸产品。IDT针对基因组学应用开发的创新工具和解决方案正在打破研究壁垒，激发您的梦想，实现下一个突破。



目录



Alt-R™ CRISPR-Cas9系统	03
用于提高基因组编辑效率	

Alt-R S.p. HiFi Cas9 Nuclease V3	07
高度特异性的基因组编辑， 即使在极具挑战性的条件下也可实现	

Alt-R S.p. Cas9核酸酶与其变体的比较	09
---------------------------	----

CRISPR基因组编辑的比较： Cas9系统vs. Cas12a系统（Cpf 1）	10
--	----

Alt-R™ CRISPR-Cas9系统

用于提高基因组编辑效率

Alt-R CRISPR-Cas9系统包括成功进行基因组编辑所需的所有试剂。基于天然*S. pyogenes* CRISPR-Cas9系统，Alt-R CRISPR-Cas9系统与其他方法相比拥有更多的优势：

- 比其他CRISPR系统的靶向编辑效率更高
- 通过运送Cas9核糖核蛋白（RNP）提高精度控制
- 通过脂质体转染或电穿孔有效运送RNP
- 与使用体外转录的Cas9 mRNA和sgRNA的方法相比，使用Alt-R™ CRISPR-Cas9系统没有观察到毒性或先天性免疫反应活性

优势

使用更高效的CRISPR试剂，**可专注于结果**

使用高效的工作流程和即用型试剂，**可节省时间并减少费用**

使用CRISPR-Cas9核糖核蛋白，**可提高精度并减少脱靶编辑**

适用脂质体转染或电穿孔，**可适应您的实验需要**

使用Alt-R *S. p.* Cas9 Nuclease 3NLS进行高效编辑

Alt-R CRISPR-Cas9系统包括高效的Alt-R *S. p.* Cas9 Nuclease 3NLS。通过将Alt-R *S. p.* Cas9 Nuclease 3NLS与优化的化学修饰Alt-R CRISPR-Cas9 crRNA和tracrRNA结合形成一个RNP，该系统优于其他编辑方法（图1）。RNP转染允许对编辑复合体进行最佳剂量控制，并且不可再生的Cas9 RNP可以在短时间内通过内源性机制被清除，有效地限制了脱靶编辑。

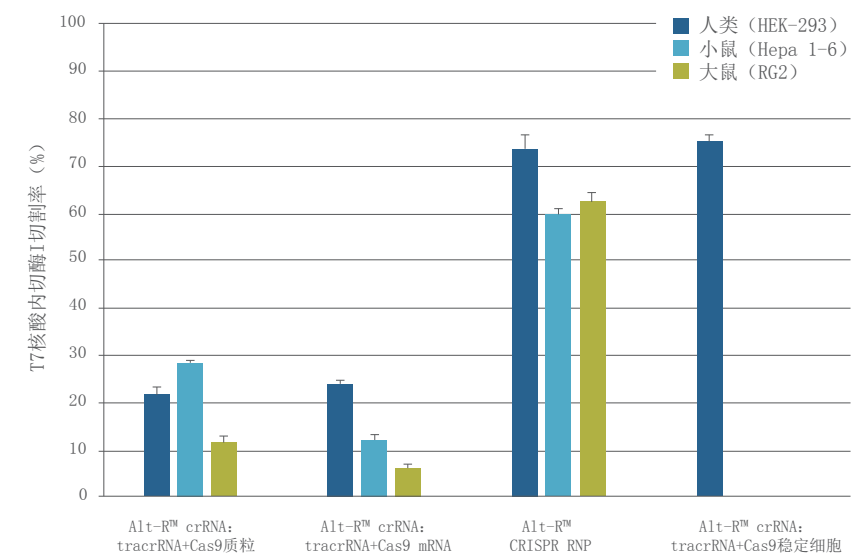


图1: Alt-R™ CRISPR-Cas 9系统核糖核蛋白优于其他CRISPR-Cas9瞬时编辑方法。

将人类、小鼠或大鼠的Alt-R CRISPR HPRT Control crRNA与Alt-R CRISPR-Cas9 tracrRNA复合。将得到的复合体分别与Cas9表达质粒、Cas9 mRNA、或作为Cas9 RNP（含有与crRNA和tracrRNA预复合的Alt-R *S. p.* Cas9 Nuclease 3NLS）转染到人类（HEK-293）、小鼠（Hepa 1-6）或大鼠（RG2）细胞系中。使用T7EI测定法的突变检测显示Alt-R CRISPR-Cas9 RNP优于其他Cas9瞬时表达方法，并且编辑效率与稳定表达*S. pyogenes* Cas9的对照HEK-293-Cas9细胞相当。

高效的性能可简化设计

Alt-R CRISPR-Cas9系统中优化的crRNA和tracrRNA优于其他CRISPR guide RNA形式（图2）。实际上，该系统非常高效，因此crRNA需要最少的设计工作。唯一需要提供的是一个与您靶基因中的PAM（前间区序列邻近基序；NGG）序列紧邻的、具有位点特异性的19或20个碱基的序列。使用Alt-R CRISPR-Cas9 crRNA，在标准条件下，平均>80%的靶序列将显示有效的编辑（图3）。

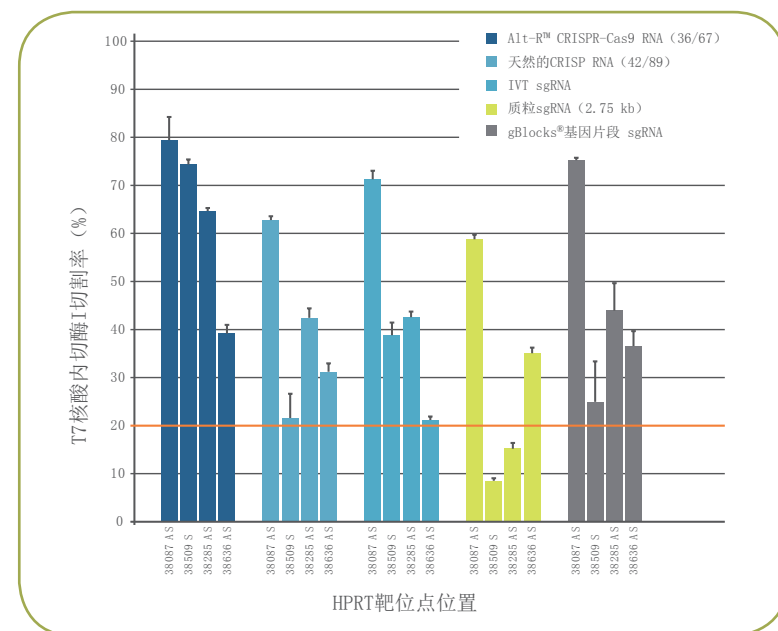


图2：优化的crRNA：tracrRNA优于其他guide RNA类型。

Alt-R™ CRISPR-Cas9 RNA、天然的S. pyogenes CRISPR RNA、体外转录（IVT）single-guide RNA（sgRNA）和通过表达质粒或gBlocks®基因片段表达的sgRNA均靶向4个人类HPRT基因位点（38087 AS、38509 S、38285 AS和38636 AS）。将guide RNA转染到稳定表达Cas9的HEK-293-Cas9细胞中。使用T7EI测定法的突变检测显示，Alt-R CRISPR-Cas9 RNA在大多数位点的表现优于其他guide RNA类型。

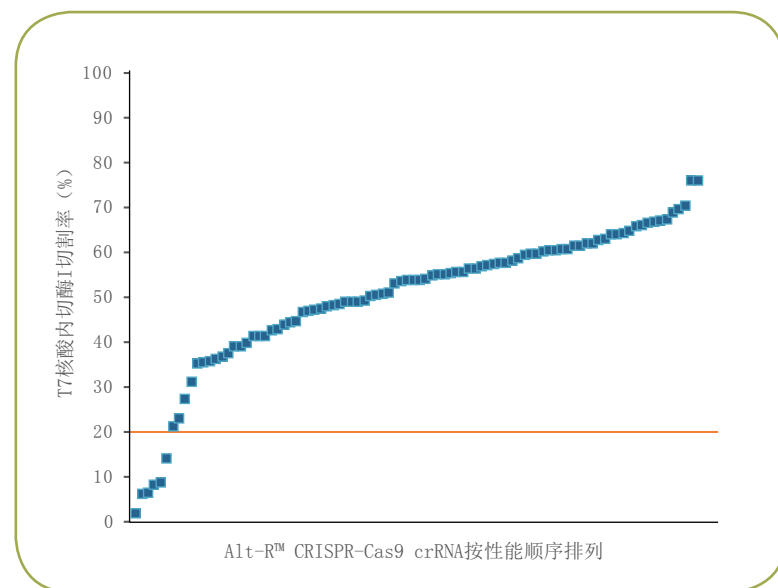


图3：针对STAT3基因中92个PAM位点设计的Alt-R™ CRISPR-Cas9 crRNA提供了高效的编辑效率。

Alt-R CRISPR-Cas9 crRNA（n=92），靶向STAT3基因座中的每个PAM位点。使用T7EI测定法的突变检测显示，93%的crRNA在HEK-293-Cas9细胞中表现出了良好至优异的性能，编辑效率>20%。注：T7EI不能检测单碱基缺失或插入，会使编辑效率被低估。

订购信息

CRISPR guide RNA

产品	规格	目录号
Alt-R™ CRISPR-Cas9 crRNA	2、10 nmol管装或平板装	订购请访问 www.idtdna.com/CRISPR-Cas9
	5 nmol	1072532
Alt-R™ CRISPR-Cas9 tracrRNA	20 nmol	1072533
	100 nmol	1072534

Cas9 endonuclease

产品	规格	目录号
Alt-R™ S.p. Cas9 Nuclease 3NLS	100 µg	1074181
	500 µg	1074182

对照试剂盒*

产品	目录号	对照试剂盒内容物
Alt-R™ CRISPR-Cas9人类对照试剂盒（2 nmol）	1072554	Alt-R™ CRISPR HPRT阳性对照 crRNA
Alt-R™ CRISPR-Cas9小鼠对照试剂盒（2 nmol）	1072555	- Alt-R™ CRISPR HPRT阴性对照 crRNA #1 - Alt-R™ CRISPR-Cas9 tracrRNA
Alt-R™ CRISPR-Cas9大鼠对照试剂盒（2 nmol）	1072556	- Alt-R™ HPRT PCRPrimer Mix - Nuclease-Free Duplexing Buffer

* 对照试剂盒组件也可单独提供。



Alt-R S.p. HiFi Cas9 Nuclease V3

高度特异性的基因组编辑，
即使在极具挑战性的条件下也可实现

Alt-R S.p. HiFi Cas9 Nuclease V3是一种高保真型 S.pyogenes Cas9蛋白，可显著降低脱靶效应而不影响性能，是常规实验的首选，也是具有挑战性的基因组编辑应用的理想之选。

Alt-R S.p. HiFi Cas9酶在现有应用中可轻松替代野生型Cas9，而无需更改方案。该酶与Alt-R CRISPR-Cas9系统的其他组件兼容，通过同样优越的基于核糖核蛋白（RNP）的工作流程实现精确的基因组编辑。

优势

- 通过极大降低脱靶活性来实现特异性增加
- 与市场领先的Alt-R S.p.Cas9 Nuclease V3具有相似的高编辑效率
- 通过脂质体转染、电穿孔或显微注射，**高效运送核糖核蛋白**
- 可以避免**通常在体外转录的Cas9 mRNA和sgRNA中观察到毒性或先天性免疫反应活性

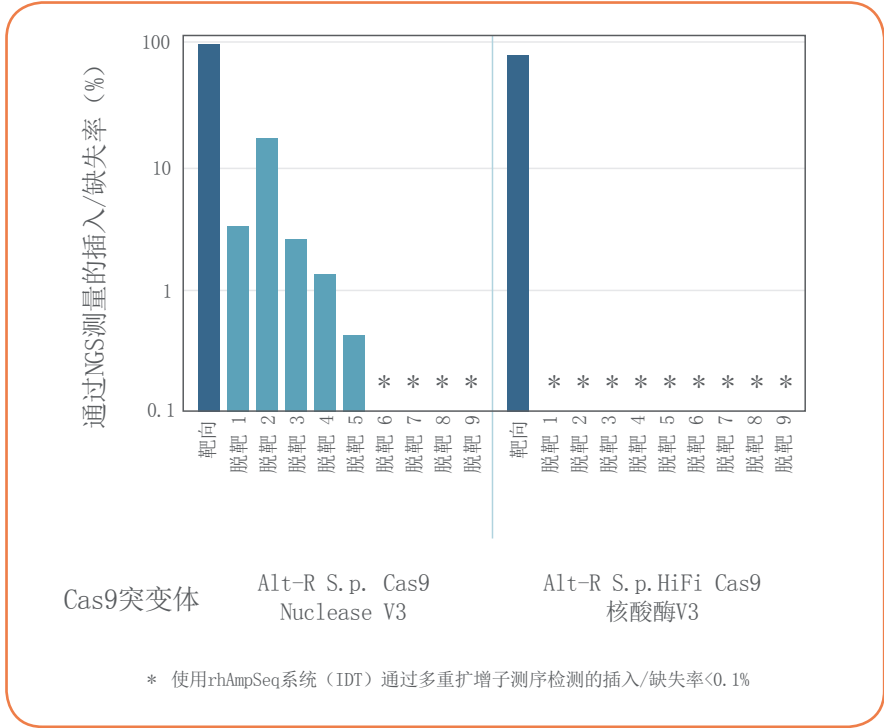


图1: Alt-R S.p. HiFi Cas9 Nuclease V3的靶向编辑效率与野生型相近，并可显著减少脱靶位点编辑。

分别将Alt-R S.p. Cas9 Nuclease V3或Alt-R S.p. HiFi Cas9 Nuclease V3与靶向EMX1基因的Alt-R crRNA: tracrRNA结合形成RNP复合体。通过Nucleofection™核转染方法（Lonza）将RNP复合体（4 μM）转染至HEK-293细胞。采用二代测序（rhAmpSeq扩增子测序，IDT）检测在靶向基因座和9个已知脱靶位点上的插入/缺失率（在y轴上以对数尺度表示）。

订购信息

CRISPR guide RNA

产品	规格	目录号
Alt-R CRISPR-Cas9 crRNA	2、10 nmol管装或平板装	订购请访问 www.idtdna.com/CRISPR-Cas9
	5 nmol	1072532
Alt-R CRISPR-Cas9 tracrRNA	20 nmol	1072533
	100 nmol	1072534

HiFi Cas9 Nuclease

产品	规格	目录号
Alt-R S.p. HiFi Cas9 Nuclease V3	100 μg	1081060
	500 μg	1081061

对照试剂盒*

产品	目录号
Alt-R CRISPR-Cas9人类对照试剂盒（2 nmol）	1072554
Alt-R CRISPR-Cas9小鼠对照试剂盒（2 nmol）	1072555
Alt-R CRISPR-Cas9大鼠对照试剂盒（2 nmol）	1072556

* 对照试剂盒组件也可单独提供。

对照试剂盒组件

- Alt-R CRISPR HPRT阳性对照 crRNA
- Alt-R HPRT PCR Primer Mix
- Alt-R CRISPR阴性对照 crRNA #1
- Nuclease-Free Duplexing Buffer
- Alt-R CRISPR-Cas9 tracrRNA

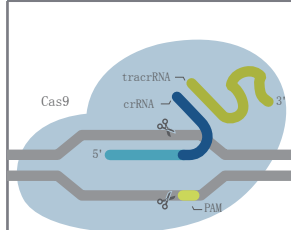
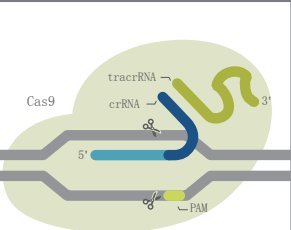
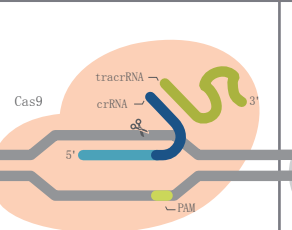
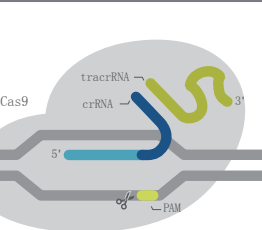
使用文献：

1. Vakulskas CA, Dever DP, et al. (2018) **A high-fidelity Cas9 mutant delivered as a ribonucleoprotein complex enables efficient gene editing in human hematopoietic stem and progenitor cells** Nat Med. 24:1216 - 1224. doi: 10.1038/s41591-018-0137-0.

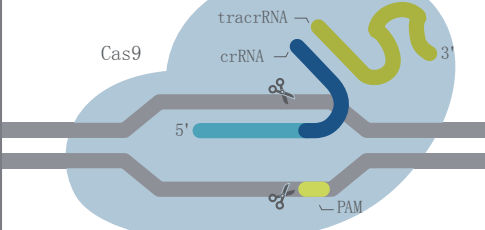
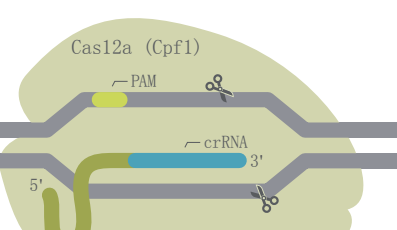
2. Park SH, Lee CM, et al. (2018) **Highly efficient editing of the beta-globin gene in patient derived hematopoietic stem and progenitor cells to treat sickle cell disease.** Blood, 132(Suppl 1), 2192. doi: 10.1182/blood-2018-99-117371.

欲了解更多信息和订购，请访问www.idtdna.com/CRISPR-Cas9.

Alt-R S.p. Cas9核酸酶与其变体的比较

	Alt-R S. p. Cas9 核酸酶	Alt-R S. p. HiFi Cas9 核酸酶	Alt-R S. p. Cas9 D10A 切口酶	Alt-R S. p. Cas 9 H840A切口酶
				
描述	野生型Cas9酶，具有较 高的基因组编辑能力， 易于使用且经济实惠	突变的Cas9酶，在减少 脱靶效应的基础上增加 特异性，同时保持较高 的靶向活性	突变的Cas9酶，在RuvC结 构域中发生突变，使其 缺失在非靶向链的切割 能力	突变的Cas9酶，在HNH结 构域中发生突变，使其 缺失在靶向链的切割能 力
DNA切割	双链	双链	靶向链	非靶向链
建议用途	大多数CRISPR基因组编 辑项目的首选	对于对脱靶事件敏感且 需要高水平编辑效率的 实验是理想之选	适用于同源定向修复（HDR）实验，但需要两个合适的切 割位点位于彼此最佳距离内	
分子量	162, 200 g/mol			
规格	100 μg或500 μg			
浓度	10 mg/mL (62 μM) 于50%甘油中			
运输条件	干冰			
储存条件	在储备液中-20° C储存			
稀释	使用前用Opti-MEM®培养基（Thermo Fisher）或PBS稀释			

CRISPR基因组编辑的比较：Cas9系统vs. Cas12a系统（Cpf1）

	Cas9 system	Cas12a system
		
应用	一般的基因组编辑	• 对于具有富含AT的基因组的物种 • 对于使用CRISPR-Cas9系统设计空间 有限制的区域
核糖核蛋白组件	• gRNA选择： 1. crRNA和tracrRNA 2. sgRNA • Cas9内切酶	• crRNA • Cas12a内切酶
Alt-R CRISPR酶	• 野生型 • HiFi • 切口酶（D10A和H840A）	• 野生型 • Ultra（性能更佳）
Cas9 crRNA： tracrRNA（选择1）	• crRNA • 天然：42 nt • Alt-R：35 - 36 nt（推荐使用36 nt） • tracrRNA • 天然：89 nt • Alt-R：67 nt	-
Cas9 sgRNA（选择2）	• Alt-R：99-100 nt（推荐使用100 nt）	-
Cas12a crRNA	-	• 天然：42 - 44 nt • Alt-R：40-44 nt（推荐使用41 nt）
CRISPR酶	• Class 2, Cas type II • M.W.*: 162,200 g/mol • 内切酶结构域：RuvC-like和HNH	• Class 2, Cas type V • M.W.*: 156,400 g/mol • 内切酶结构域：仅RuvC-like
双链DNA切割	• 野生型和HiFi：切割位点在前间区序列 上游3个碱基的位置，形成平末端 • D10A切口酶和配对crRNA：5’ 突出端 • H840A切口酶和配对crRNA：3’ 突出端 • PAM位点在基因组编辑过程中经常被破坏	• 切割位点在前间区序列的5’ 端，形成5’ 突出端 • PAM位点在基因组编辑后可能会继续存在
PAM序列†	NGG	• 对于Cas12a V3, TTTV • 对于Cas12a Ultra, TTTN
建议运送Alt-R RNP的方法	• 使用/不使用Alt-R enhancer，通过电穿孔运送 • 显微注射 • 脂质体转染	• 使用Alt-R enhancer，通过电穿孔运送 • 显微注射

* Alt-R核酸酶的分子量
† N = 任意碱基； V = A、C、或G