

## pLenti-NT5E-sgRNA

产品编号	产品名称	包装
L29235	pLenti-NT5E-sgRNA	5μg

### 产品简介:

- pLenti-NT5E-sgRNA (NT5E基因敲除质粒)是一种在动物细胞中可以同时表达Cas9、目的基因的sgRNA和puromycin抗性基因的质粒。用于在动物细胞中直接基于CRISPR/Cas9技术敲除目的基因，或者通过包装慢病毒后基于CRISPR/Cas9技术敲除目的基因。本质粒中sgRNA的有效性已经通过T7E1法的验证。
- 本质粒在细菌中为Amp抗性，全长约13,000bp。本质粒的关键图谱信息请参考图1。本质粒可直接转染细胞用于目的基因的CRISPR/Cas9敲除，以及通过puromycin筛选稳定细胞株；也可以与pMDLg、Rev及VSV-g共转HEK293T细胞进行重组慢病毒(lentivirus)的包装，然后再用于感染细胞或组织并进行目的基因的CRISPR/Cas9敲除。



图1. 表达sgRNA、Cas9和puromycin抗性的pLenti-sgRNA质粒关键图谱信息。

- 本质粒中的sgRNA基于碧云天研发的CRISPR/Cas9 sgRNA快速筛选和验证体系获得，sgRNA的有效性已经通过T7E1法验证。
- 本质粒用于实验时，建议同时选购无任何靶向的对照质粒pLenti-Control-sgRNA (L00011)或靶向GFP的对照质粒pLenti-GFP-sgRNA (L00013)。
- 碧云天同时提供基于CRISPR/Cas9技术的NT5E基因敲除的质粒(L29235 pLenti-NT5E-sgRNA)、慢病毒(L29236 NT5E Knockout Lentivirus)、HEK293T细胞(L29237 NT5E Knockout HEK293T Cells)、HEK293T敲除细胞的RIPA裂解液(L29238 NT5E Knockout HEK293T RIPA Lysate)、HEK293T敲除细胞的Trizol裂解液(L29239 NT5E Knockout HEK293T Trizol Lysate)等产品，具体请在碧云天网站查询或在本产品网点击相应产品。
- NT5E基因的基本信息如下：

Species	Gene Symbol	Gene ID	GenBank Accession	Transcript
Human	NT5E	4907	BC015940	NM_001204813

About the gene	
Official Symbol	NT5E
Previous Symbol	NT5
Official Full Name	5'-nucleotidase ecto
Synonyms	CD73; eN; eNT; CALJA
Location	6q14.3
Gene Type	protein-coding gene
Uniprot ID	P21589
Pathway/Library	others
Gene Summary	Ecto-5-prime-nucleotidase (5-prime-ribonucleotide phosphohydrolase; EC 3.1.3.5) catalyzes the conversion at neutral pH of purine 5-prime mononucleotides to nucleosides, the preferred substrate being AMP. The enzyme consists of a dimer of 2 identical 70-kD subunits bound by a glycosyl phosphatidyl inositol linkage to the external face of the plasma membrane. The enzyme is used as a marker of lymphocyte differentiation. Consequently, a deficiency of NT5 occurs in a variety of immunodeficiency diseases (e.g., see MIM 102700, MIM 300300). Other forms of 5-prime nucleotidase exist in the cytoplasm and lysosomes and can be distinguished from ecto-NT5 by their substrate affinities, requirement for divalent magnesium ion, activation by ATP, and inhibition by inorganic phosphate.[supplied by OMIM

### 包装清单:

产品编号	产品名称	包装
L29235	pLenti-NT5E-sgRNA	5μg



要后续可以通过将细胞稀释至2.5个/ml，然后按照每孔200 $\mu$ l接种到96孔板中(每孔平均0.5个细胞)，筛选单克隆细胞株。

## 5. 基因编辑的鉴定:

- 对于多克隆细胞，可以通过T7 Endonuclease I (T7EI)进行鉴定，即提取细胞的基因组DNA，在sgRNA序列两边设计引物进行PCR扩增，然后进行T7EI酶切，具体请参考碧云天的T7 Endonuclease I (CRISPR等基因突变鉴定用) (D7080)或基因组编辑突变检测试剂盒(D0508)；也可以通过相应的抗体进行检测。
- 对于单克隆细胞，可通过PCR扩增出sgRNA靶向的基因片段后进行常规测序的方式进行验证，同时也可以使用相应的抗体进行检测。

## 相关产品:

产品编号	产品名称	包装
L00002-5 $\mu$ g	CRISPR/Cas9 Packaging Vectors Set A	5 $\mu$ g/each
L00002-100 $\mu$ g	CRISPR/Cas9 Packaging Vectors Set A	100 $\mu$ g/each
L00011-5 $\mu$ g	pLenti-Control-sgRNA	5 $\mu$ g
L00011-100 $\mu$ g	pLenti-Control-sgRNA	100 $\mu$ g
L00013-5 $\mu$ g	pLenti-GFP-sgRNA	5 $\mu$ g
L00013-100 $\mu$ g	pLenti-GFP-sgRNA	100 $\mu$ g
C0222	青霉素-链霉素溶液(100X)	100ml
C0351-1ml	Polybrene (Hexadimethrine Bromide)	1ml
C0351-50mg	Polybrene (Hexadimethrine Bromide)	50mg
C0521	Lipo293 <sup>TM</sup> 转染试剂	0.5/1.5/7.5ml
C0526	Lipo6000 <sup>TM</sup> 转染试剂	0.5/1.5/7.5ml
C0533	Lipo8000 <sup>TM</sup> 转染试剂	0.5/1.5/7.5ml
D0378	Stbl3甘油菌	200 $\mu$ l
ST551-10mg	Puromycin Dihydrochloride (嘌呤霉素)	10mg/ml $\times$ 1ml
ST551-50mg	Puromycin Dihydrochloride (嘌呤霉素)	10mg/ml $\times$ 5ml
ST551-250mg	Puromycin Dihydrochloride (嘌呤霉素)	250mg
ST1380-500mg	Polybrene ( $\geq$ 94%, Reagent grade)	500mg
ST1380-2g	Polybrene ( $\geq$ 94%, Reagent grade)	2g
ST1380-10g	Polybrene ( $\geq$ 94%, Reagent grade)	10g
FF345-10pcs	针头滤器(0.45 $\mu$ m/28mm, PES, Sterile, Sartorius分装)	10个/袋
FF345T-10pcs	针头滤器(0.45 $\mu$ m/28mm, PES, Sterile, 进口分装)	10个/袋
FF345-50pcs	针头滤器(0.45 $\mu$ m/28mm, PES, Sterile, Sartorius原装)	50个/盒
FF365-10pcs	BeyoGold <sup>TM</sup> 针头滤器(0.45 $\mu$ m/33mm, PES, Sterile)	10个/袋
FF365-100pcs	BeyoGold <sup>TM</sup> 针头滤器(0.45 $\mu$ m/33mm, PES, Sterile)	100个/盒
FF375-10pcs	BeyoGold <sup>TM</sup> 针头滤器(0.45 $\mu$ m/13mm, PES, Sterile)	10个/袋
FF375-100pcs	BeyoGold <sup>TM</sup> 针头滤器(0.45 $\mu$ m/13mm, PES, Sterile)	100个/盒
FUF158-2pcs	超滤管(15ml, 100kDa MWCO, PES, Sartorius分装)	2个/袋
FUF158-12pcs	超滤管(15ml, 100kDa MWCO, PES, Sartorius分装)	12个/袋

Version 2020.12.09