

CRISPR Gene Editing

Guide-it™ for successful
CRISPR/Cas9

that's
GOOD
science!™

Best-in-class tools for your gene editing project
End to end solution for CRISPR gene editing



Clontech **TakaRa** cellartis

성공적인 CRISPR gene editing은 고수율 sgRNA 합성과 스크리닝부터!

Guide-it™ sgRNA *In Vitro* Transcription and Screening System

- *In vitro* transcription을 이용하여 single guide RNA (sgRNA) 합성
- 여러 개의 후보 sgRNA를 스크리닝하여 editing 효율이 가장 높은 sgRNA 선택 가능
- 합성한 sgRNA는 Cas9 단백질 또는 Cas9 mRNA와 함께 transfection 또는 electroporation 가능

① sgRNA 디자인

CRISPR/Cas9 효율을 좌우하는 sgRNA의 디자인,
다카라바이오 홈페이지를 방문하여 디자인 방법을 확인하세요.

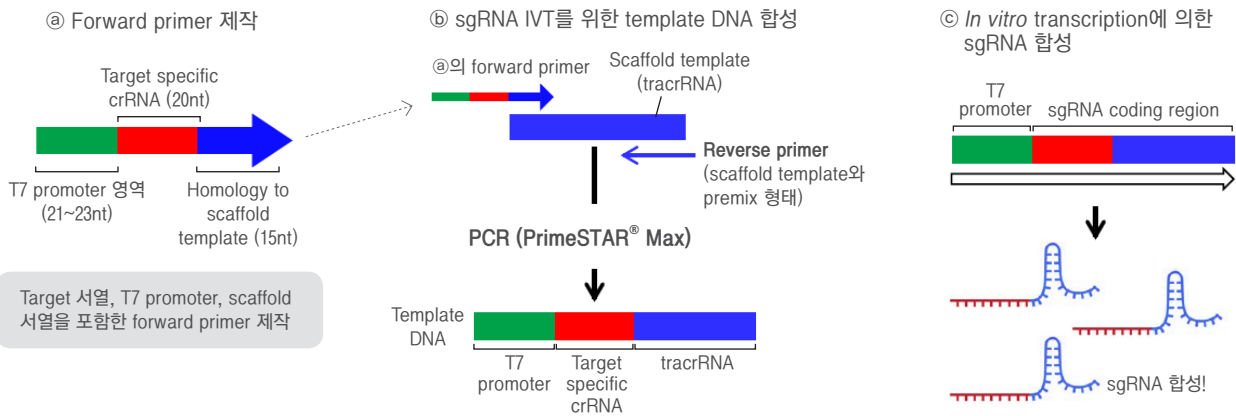


takarabio.com/sgRNA-design

② sgRNA 합성

Guide-it™ sgRNA *In Vitro* Transcription Kit (Code 632635)

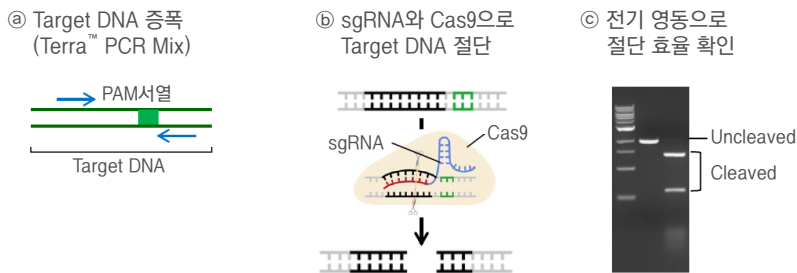
- *In vitro* transcription (IVT) 방법을 이용하여 3시간 내에 12 µg이상의 sgRNA 합성
- sgRNA 합성에 필요한 모든 구성품 포함 (target 서열을 포함하는 forward primer만 별도 제작)



③ 스크리닝을 통한 가장 효율적인 sgRNA 선택

Guide-it™ sgRNA Screening Kit (Code 632639)

- 후보 sgRNA 중, 튜브 내에서 절단 효율이 가장 높은 sgRNA 선택
- 잘못된 sgRNA 선택으로 인한 비용과 시간 낭비를 예방



④ Gene delivery에 적용

- 합성한 sgRNA는 delivery에 바로 사용 가능
- Transfection
 - Electroporation



• sgRNA 합성과 스크리닝 제품을 한번에, Guide-it™ Complete sgRNA Screening System (Code 632636)

Delivery of sgRNA and Cas9 to cell - DNA/RNA delivery

For RNA delivery

- IVT kit으로 합성한 sgRNA 또는 sgRNA oligo를 세포 내로 직접 transfection
- Xfect™ 시리즈를 사용하면 완벽

Xfect™ RNA Transfection Reagent (Code 631450)

- Genome editing을 위한 sgRNA, Cas9 mRNA transfection에 최적
- sgRNA 뿐만 아니라 mRNA, miRNA, siRNA 적용

Xfect™ Transfection Reagent (Code 631317)

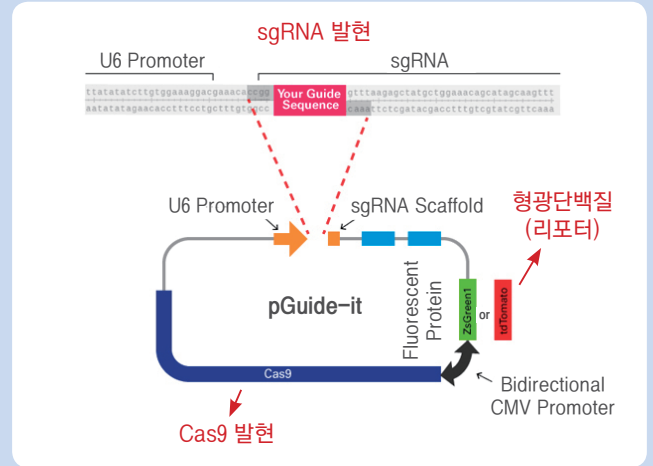
- 높은 DNA 도입 효율과 낮은 세포 독성
- 다양한 세포에 높은 효율로 transfection 가능 (Jurkat, neural, stem cell도 적용 가능)

For DNA delivery

All-in-one vector transfection

Guide-it CRISPR/Cas9 System (Green/Red) (Code 632601, 632602)

- sgRNA, Cas9 단백질, 형광 단백질을 한번에 발현
- 선형화 벡터 (linearized vector)로 간단하게 ligation
- Complete kit: vector, ligation kit, comp.cell 모두 포함



Viral gene delivery



Adeno-associated virus (AAV)를 이용한 AAVpro® CRISPR/Cas9 Helper Free System (AAV2)

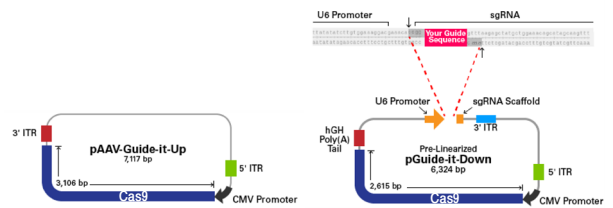
- 면역원성이 낮은 AAV를 이용하여 *in vivo* genome editing에 적용
- Transfection이 어려운 세포주 (분열, 비분열세포)의 CRISPR/Cas9 genome editing 최적
- Cas9 단백질의 종류에 따라 2종의 시스템 보유

AAVpro® CRISPR/SaCas9 Helper Free System (AAV2) (Code 632619)



- Single vector system
- *Staphylococcus aureus* 유래의 SaCas9 (3.1kb)

AAVpro® CRISPR/Cas9 Helper Free System (AAV2) (Code 632608)



- Two vector system
- *Streptococcus pyogenes* 유래의 SpCas9 (4.1kb)

Code	제품명	용량
632608	AAVpro® CRISPR/Cas9 Helper Free System (AAV2)	1 Kit
632609	AAVpro® CRISPR/Cas9 Vector System	1 Kit
632619	AAVpro® CRISPR/SaCas9 Helper Free System (AAV2)	1 Kit
632618	AAVpro® CRISPR/SaCas9 Vector System	1 Kit
6666	AAVpro® purification Kit (All Serotypes)	1 Kit

For RNP complex delivery

sgRNA와 Cas9 단백질을 Ribonucleoprotein (RNP) complex 형태로 세포에 도입

- Active Cas9 protein 상태로 도입함으로써 보다 빠르고 off-target effect를 최소화한 gene editing이 가능

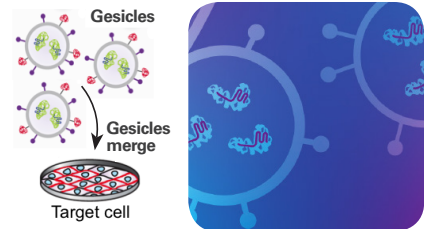
보다 효율적인 RNP delivery를 위한 Guide-it™ products

Viral delivery보다 더 안전한 RNP complex의 도입

Guide-it™ CRISPR/Cas9 Gesicle Production System (Code 632613)

- *Gesicles을 이용한 Cas9-sgRNA RNP complex 도입
- Broad range of cell types: VSV-G lentivirus와 유사한 특성으로 다양한 세포에 적용 가능
- 특히 stem cell (human iPS cell) genome editing을 위한 최고의 선택!

* Gesicles: Glycoprotein nanovesicles



Electroporation ready Cas9 protein

Guide-it™ Recombinant Cas9 (Electroporation-Ready) (Code 632640)



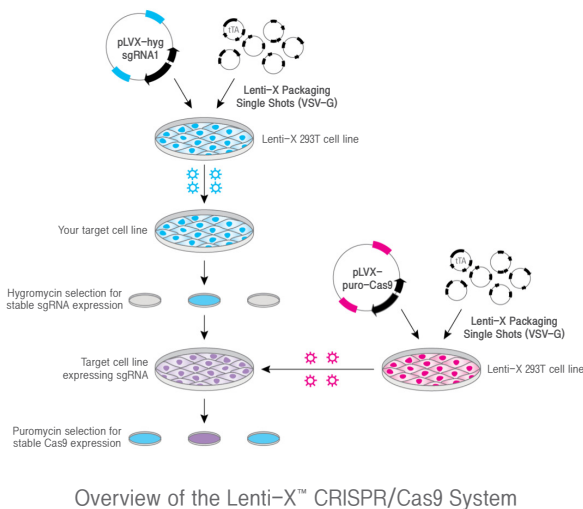
- Electroporation delivery에 최적화 되어 있는 Cas9 단백질
- Guide-it™ Complete sgRNA Screening System (Code 632636)과 함께 사용하면 최고의 효율



Lenti-X™ CRISPR/Cas9 System

Lenti-X™ Tet-On® 3G CRISPR/Cas9 System

- 도입효율이 높은 Lentivirus를 이용한 세포 내 도입
- Lenti-X™ Packaging single Shots*을 이용하여 고역가의 Lentivirus 제작
- Constitutive expression과 inducible expression 타입 선택 가능



Lenti-X™ CRISPR/Cas9 System (Code 632629)

- Constitutive Cas9 expression
- Linearized sgRNA 발현 벡터를 이용하여 간단한 sgRNA cloning

Lenti-X™ Tet-On® 3G CRISPR/Cas9 System (Code 632633)

- Cas9 발현을 조절하여 세포 독성을 줄이고, Cas9 지속 발현으로 인한 off-target effect 최소화
- Doxycycline inducible Cas9 expression

* Lenti-X™ Packaging Single Shots (Code 631275 외)

- Lentiviral vector만 넣고 293T cell에 transfection하면 Lentivirus 제작 끝!

마지막으로 gene editing이 잘 되었는지 확인하셔야죠? - Mutation detection

Guide-it™ Mutation Detection Kit (Code 631448)

Mammalian, plant, bacteria
적용 가능

- Cell sorting 전, 간단하게 gene editing 효율을 확인
- CRISPR, ZFN, TALEN genome editing 후 mutation 확인에 최적
- 생성된 Indel (Insertion and deletion)을 간단하고 신속하게 검출

간단한 실험 과정

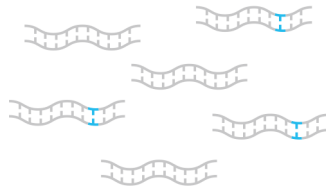
1 Terra™ PCR Direct Polymerase로 DNA 추출 없이 target DNA 증폭

2 Denature & reanneal
→ Guide-it™ Resolvase로 unmatched DNA 절단

Key factor 1

Terra™ PCR Direct Polymerase

- DNA 추출 없이 cell-direct PCR
- 제품 내 포함

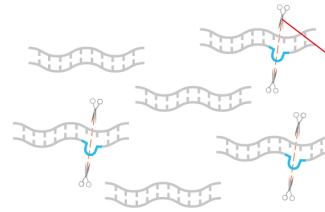


Target DNA 부위를 증폭
(mutation 부위 = 파란색)

Key factor 2

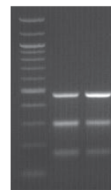
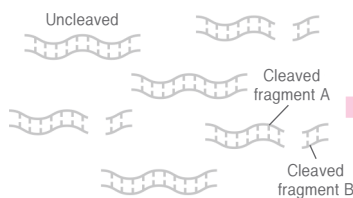
Guide-it™ Resolvase

- Unmatched DNA를 인식하여 절단하는 고효율의 효소



3 다른 크기를 가진 DNA 단편 조각 생성

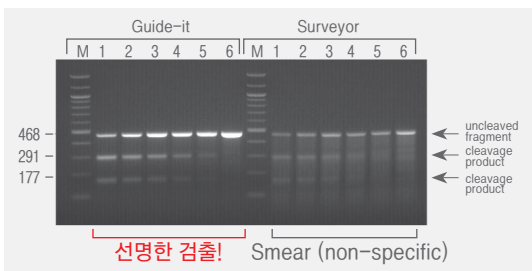
4 Agarose gel 전기영동으로 DNA 단편을 분리하여 mutation 분석



Uncleaved fragment
Cleaved fragment A
Cleaved fragment B

Mutation (Indel)
생성을 확인

타사 대비 탁월한 mutation 검출 효율



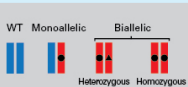
선명한 검출!

Smear (non-specific)

Comparison of the Guide-it™ and Surveyor assays for detecting mutations.

293T cells were transfected with plasmids encoding Cas9 and a sgRNA specific for the AAVS1 locus. Transfected cells were harvested 48 hr post-transfection and mixed with untransfected cells at varying ratios. Mutations were easily discernable when using the Guide-it™ kit. In contrast, the Surveyor Assay (Cel1 enzyme) showed considerable smearing, making it difficult to determine cleavage efficiency and reducing the ability to detect low levels of mutation.

보다 확실한 stable edited cell line을 얻고 싶다면?



Monoallelic 또는 biallelic mutation 판별

Guide-it™ Genotype Confirmation Kit (Code 632611)

- CRISPR editing 후 세포의 allele type 판별
- 안정적인 edited cell line 선별을 위한 genotyping

Indel sequencing library 제작

Guide-it™ Indel Identification Kit (Code 631444)

- Genome editing (CRISPR, ZFN, TALEN) 이후 생성된 Indel 서열 분석
- Sequencing library 제작을 위한 모든 제품 구성

성공적인 실험의 길로 당신을 Guide 합니다.

Guide-it™ Products for Successful CRISPR/Cas9 Gene Editing

Guide-it™ CRISPR/Cas9 시리즈가 당신의 실험을 성공의 길로 가이드 합니다. That's Good Science!

CRISPR workflow		제품명	Code	용량
Step 1	sgRNA 디자인	sgRNA 디자인 자세히 보기 (takarabio.com/sgRNA-design)		
	sgRNA <i>in vitro</i> 합성 & 최적의 sgRNA 스크리닝	sgRNA <i>in vitro</i> 합성과 최적의 sgRNA 스크리닝		
		Guide-it™ Complete sgRNA Screening System	632636	50회
		Guide-it™ sgRNA <i>In Vitro</i> Transcription Kit	632635	50회
Step 2	Delivery of sgRNA and Cas9	Guide-it™ sgRNA Screening Kit	632639	50회
		Guide-it™ IVT RNA Clean-Up Kit	632638	50회
		Delivery of sgRNA and Cas9		
		Guide-it™ Recombinant Cas9 (Electroporation-Ready)	632641	100 µg
		Guide-it™ CRISPR/Cas9 System (Green)	632601	1 Kit
		Guide-it™ CRISPR/Cas9 System (Red)	632602	1 Kit
		Guide-it™ CRISPR/Cas9 Gesicle Production System	632613	1 Kit
		Gesicle Producer 293T Cell Line	632617	1 mL
		AAVpro® CRISPR/Cas9 Helper Free System (AAV2)	632608	1 Kit
		AAVpro® CRISPR/SaCas9 Helper Free System (AAV2)	632619	1 Kit
		AAVpro® 293T Cell Line	632273	1 mL
		Lenti-X™ CRISPR/Cas9 System	632629	1 Kit
		Lenti-X™ Tet-On® 3G CRISPR/Cas9 System	632633	1 Kit
		Lenti-X™ 293T Cell Line	632180	1 mL
Xfect™ RNA Transfection Reagent	631450	1.2 mL		
Step 3	Cas9 발현 검출과 editing 효율 확인	Cas9 발현 및 editing 효율 확인		
		Guide-it™ Cas9 Polyclonal Antibody	632607	100 µL
		Guide-it™ Cas9 Monoclonal Antibody (Clone TG8C1)	632628	100 µg
		Guide-it™ Mutation Detection Kit	631443	100 회
Indel identification	Indel identification			
	Guide-it™ Genotype Confirmation Kit	632611	100 회	
	Guide-it™ Indel Identification Kit	631444	10 회	

Stem Cell Gene Editing을 위한 Human iPSC/ESC 배양 배지

Cellartis® DEF-CS™ 500 Culture System (Code Y30010)

- 높은 single cell 생존율
- Feeder-free 조건에서 높은 pluripotency 유지
- Single cell에서 균일한 gene editing 효율과 selection에 유리
- Superior single cell cloning: expandable clone 확보에 최적

