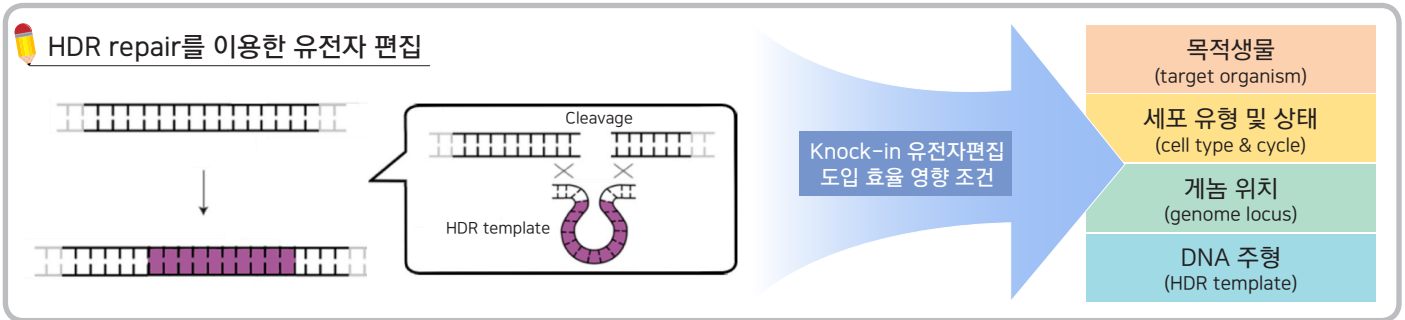


HDR donor template 합성

정확한 유전자 편집을 위해서는 HDR (Homology directed repair) pathway가 필수적이며, 이를 이용해 gene edition, gene correction, gene tagging 등의 결과를 얻을 수 있다. 이를 위해서는 목적 유전자를 삽입 (Insertion), 대체 (Substitution), 결실 (Deletion)할 수 있는 DNA 형태의 HDR donor template을 이용해야 한다.



DNA 주형 (HDR template)은 연구자가 조절 가능한 유일한 조건으로, Knock-in 효율에 매우 중요하다.

HOW TO?

어떻게 효율을 증가시킬까요?

dsDNA → ssDNA
(double strand DNA) (single strand DNA)

- dsDNA에 비해 낮은 세포독성
- 낮은 random integration
- Background expression 감소

dsDNA 형태의 HDR template를 ssDNA 형태로 바꿔, 효율 UP!

HDR template를 ssDNA 형태로 만드는 방법

Guide-it™ Long ssDNA Production System (Code 632644)

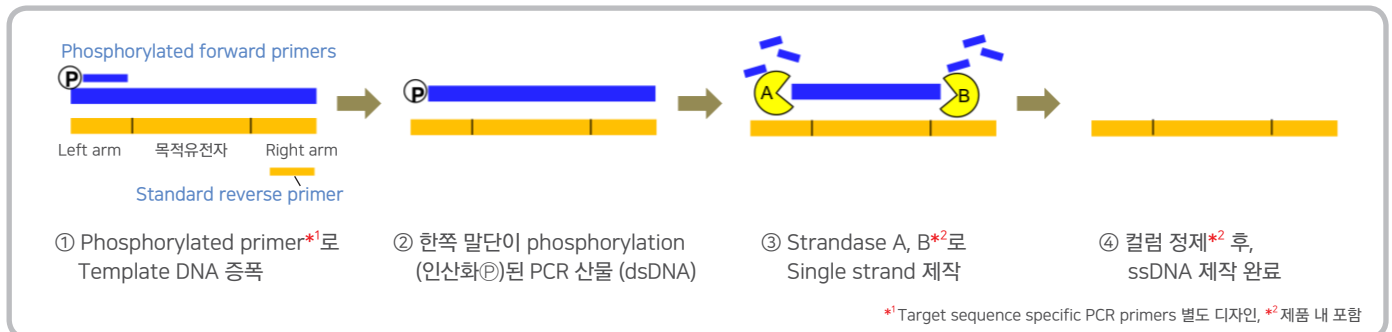
- Random integration이 낮은 정확한 실험을 위한 HDR template 제작
- 500 bp ~ 5 kb 까지의 Long single strand DNA (ssDNA) 제작
- 10 µg dsDNA로부터 2 ~ 4 µg의 ssDNA 제작

In-Fusion® HD Cloning Kit (Code 639648)을 이용해, Homology arm을 So easy하게 cloning!

So easy!

실험과정

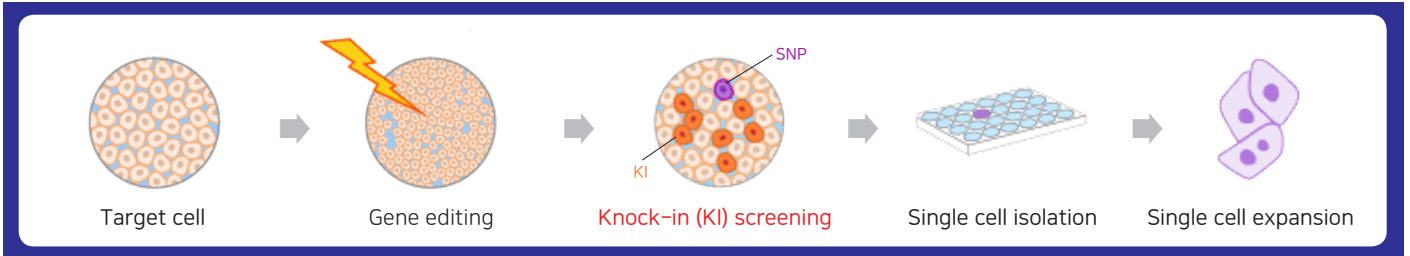
간단한 실험방법으로 최대 5 kb 까지 긴 길이의 single strand DNA (ssDNA) 형태로 HDR template를 제작 가능하다.



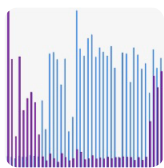
Code	제품명	용량	특징
632644	Guide-it™ Long ssDNA Production System	25회	Long ssDNA HDR template 합성 & 정제
632645	Guide-it™ Long ssDNA Strandase Kit	25회	Long ssDNA HDR template 합성

Knock-in 유전자 도입 효율 확인

Knock-in (KI) 실험 과정



Knock-in (KI)을 확인하는 방법

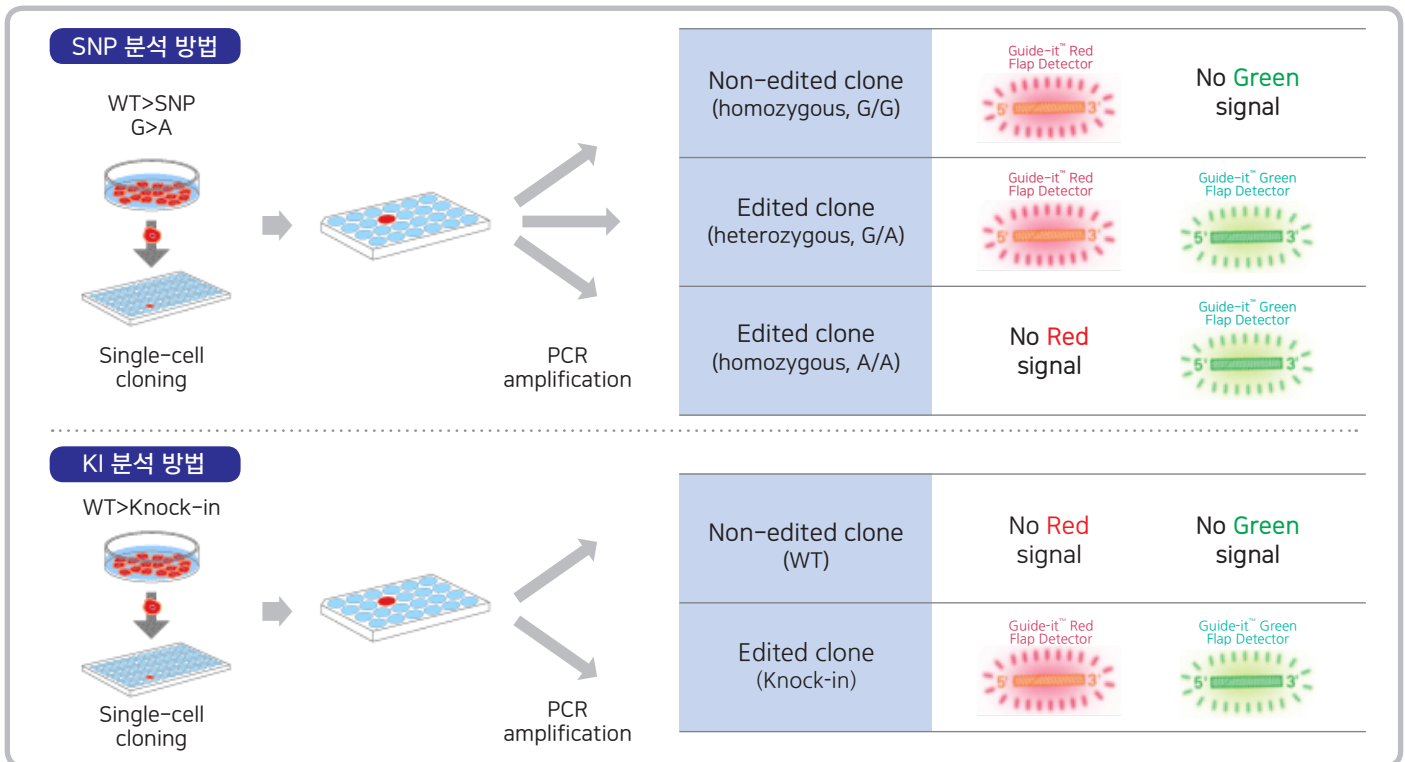


Guide-it™ Knockin Screening Kit (Code 632659)

- 단 4시간만에 Knock-in으로 생성된 단일염기치환 (SNP) 또는 삽입 변이를 정확하고 민감하게 검출
- 게놈의 위치 (Genomic locus)나 사용된 유전자 편집 기술과 관계 없이 모두 적용 가능
- Zycosity (Homo/Heterozygous)에 관계없이 WT (Wild Type), edited clone 두 종류의 allele을 동시에 검출 가능

실험 과정

- Flapase를 이용한 형광 기반의 검출 방법 (fluorescence-based method)
 - 1) 타겟 유전자 부위 (유전자 편집 부위)를 PCR 증폭
 - 2) 구조 특이적인 핵산분해효소 (Structure-specific endonuclease; Flapase) 처리
 - 3) 단일염기치환 (SNP) 또는 목적 유전자 삽입 (insertion) 시, 형광 발현



ANY substitution
ANY insertion
ANY locus

Code	제품명	용량
632659	Guide-it™ Knockin Screening Kit	100회
632660	Guide-it™ Knockin Screening Kit	400회