

Guide-it™ CRISPR/Cas9 Gene Editing

that's
GOOD
science!™



Best-in-class tools for your gene editing project

Guide-it™ 으로 CRISPR/Cas9 유전자편집을 처음부터 끝까지

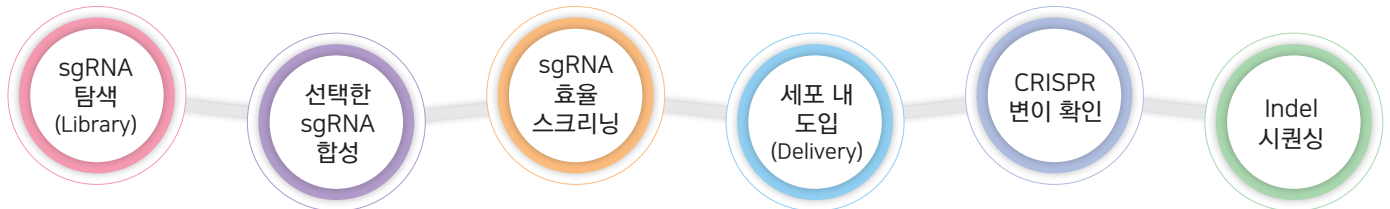
- 성공적인 유전자 편집을 위한 sgRNA 합성 및 스크리닝
- 다양한 유전자 도입 방법
- 유전자 편집 효율 확인



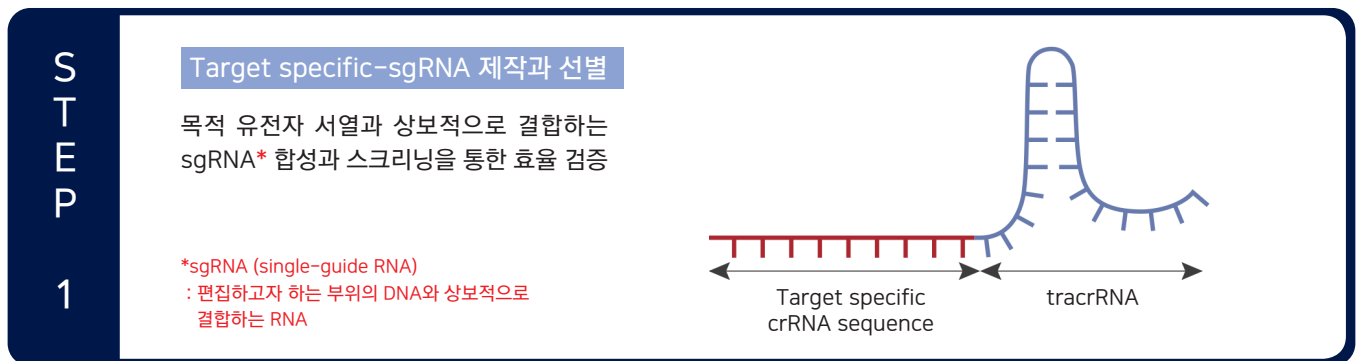
A powerful method for engineering your gene of interest

유전자 편집 기술은 사람 또는 동식물 유전자의 기능을 제거하는 등의 조절이 가능하기에, 생명과학 연구 뿐만 아니라 인간 질병 치료를 위한 유전자 치료제나 신약 개발 등 다양한 분야에서 각광받고 있다. 그 중, CRISPR (Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats)/Cas9 기술은 기존의 유전자 편집 기술에 비해 보다 간편하게 목적 유전자를 인식하고 DNA를 절단하는 기능을 통해 유전자 편집을 보편화 하였다.

Takara Bio는 성공적인 CRISPR/Cas9 Gene Editing을 위한 “Guide-it™ 시리즈”를 제공하며, 유전자 편집의 전 과정을 지원한다.



CRISPR/Cas9을 이용한 유전자 편집 과정



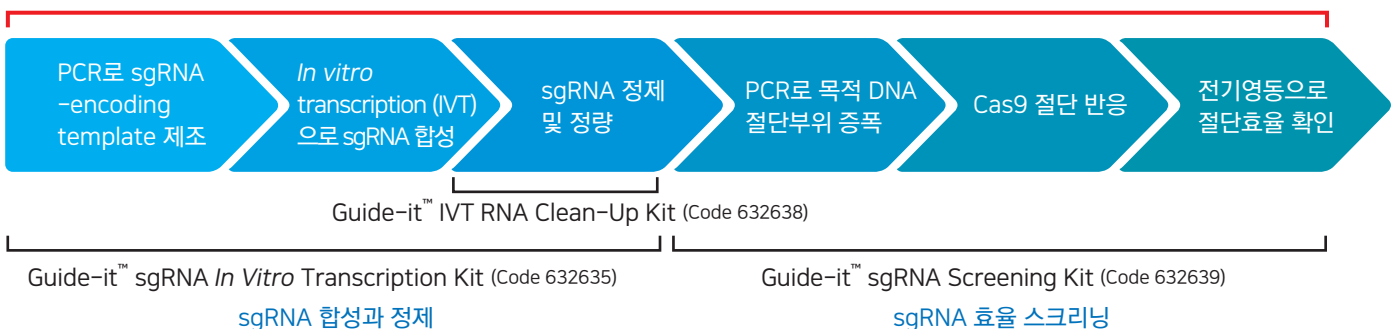
Guide-it™ Complete sgRNA Screening System (Code 632636)

- All-in-One kit
 - 1) *In vitro* transcription (IVT)으로 target specific sgRNA 합성 가능
 - 2) 합성한 sgRNA 스크리닝을 통해 높은 편집 효율의 sgRNA 선별
- 12 µg 이상의 고순도 sgRNA를 합성하여 실험에 바로 적용 (Transfection, Electroporation) 가능
- 세포 도입 전, *In vitro* 상에서 절단 효율이 가장 높은 sgRNA를 선택할 수 있는 시스템 제공

실험 시간 Down ↓
실험 비용 Down ↓
CRISPR 성공률 Up ↑

- 실험 과정 및 제품 구성

Guide-it™ Complete sgRNA Screening System (Code 632636)

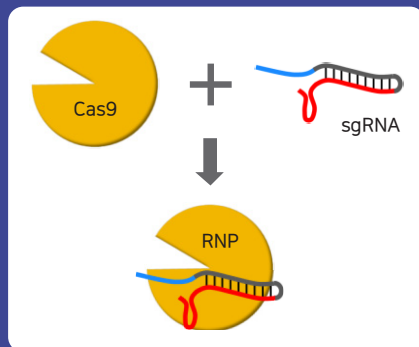
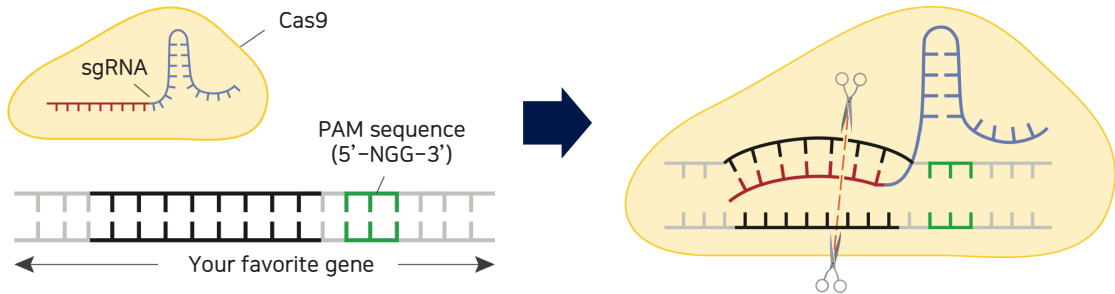


STEP 2

목적세포에 다양한 방법으로 sgRNA, Cas9 도입하여 유전자 편집

sgRNA와 Cas9*을 다양한 형태 (DNA, RNA, Protein)와 방법으로 세포 내로 도입하여, 타겟 double strand DNA 절단

*Cas9 nuclease : 목적 DNA를 절단하는 효소



RNP delivery란?

- Active protein 상태의 Cas9 단백질과 sgRNA를 외부에서 complex 상태로 결합시킨 후, 세포 내로 도입하는 방법
- 보다 빠른 유전자 도입 및 off-target effect 최소화

BEST

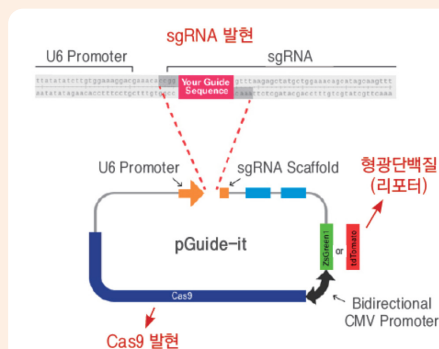
Guide-it™ Recombinant Cas9 (Electroporation-Ready) (Code 632640)

- Electroporation delivery에 최적인 Cas9 단백질
- 높은 gene editing 효율과 낮은 off-target effect
- 낮은 Glycerol 함량 (10%)으로, 세포 독성 최소화
- Nuclear-localization signal (NLS)이 부가되어 효율적으로 유전자 도입 가능

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

- Gesicle (Glycoprotein nanovesicles)을 이용해 RNP complex를 세포 내로 도입
- 낮은 세포 독성으로, stem cell 등 다양한 세포주에 CRISPR/Cas9 적용 가능
- All-in-one kit: 제품 내 sgRNA, Cas9 발현 벡터 및 gesicle packaging mix 등 포함

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



- All-in-one vector system
 - sgRNA, Cas9, 형광단백질을 한번에 발현
 - 선형화 벡터 (linearized vector)로 간단하게 ligation
- Complete kit: 제품 내 All-in-one vector, Ligation kit, competent cell 포함
- 리포터 형광 선택 (Green / Red) 가능

Transfection 시,
TransIT-X2® Dynamic
Delivery System
추천!

RNP

DNA

Ge
deli

Lenti-X™ Packaging single Shots을 이용해, 간편하고 쉬운 Lentivirus 생산

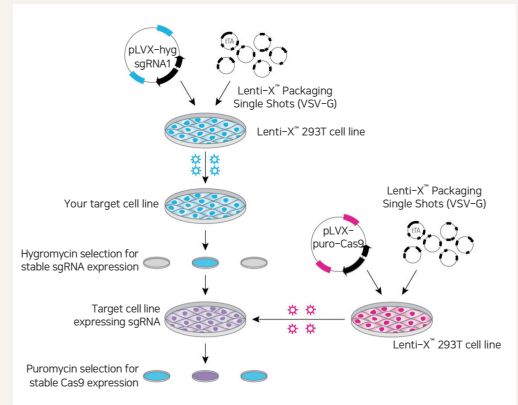
유전자 편집이 어려운 세포주에서도 높은 도입효율을 자랑하는 Lentivirus

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 발현 조절을 통해 세포 독성 감소
- Cas9 지속 발현으로 인한 off-target effect 최소화
- Doxycycline inducible Cas9 expression



Lentivirus를 이용해 Brunello sgRNA library의 19,000개 유전자의 Knock-out screening

Guide-it™ CRISPR Genome-wide sgRNA Library System (Code 632646)

- Ready-to-use pre-packed Lentivirus system
- 최신 sgRNA library (Brunello library) 기반 76,000개의 sgRNA (총 19,000개의 Human 유전자 타겟)
- Modified sgRNA 디자인 적용으로 보다 높은 CRISPR/Cas9 스크리닝 효율

Virus

낮은 면역원성으로, *in vivo*에 최적인 Adeno-associated Virus (AAV)

- Transfection이 어려운 세포주 (분열, 비분열세포)에 최적
- Cas9 단백질 종류에 따라 2종의 시스템 보유

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

- 2 vector system
 - Cas9을 두 종류의 AAV 벡터로 도입하여 안정적인 AAV 제작
- *Streptococcus pyogenes* 유래의 SpCas9 (4.1kb) 사용

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

- 1 vector system
 - 하나의 AAV vector에서 sgRNA와 SaCas9 한번에 발현시켜, 편리성 증대
- *Staphylococcus aureus* 유래의 SaCas9 (3.1kb) 사용

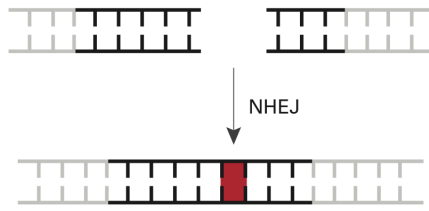
RNA

Xfect™ RNA Transfection Reagent (Code 631450)

- Cas9 mRNA, sgRNA를 세포 내로 직접 transfection 시, 최적의 시약

STEP 3

Gene repair에 의한 타겟 유전자 편집 효율 확인

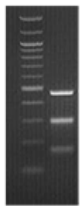


NHEJ* Pathway로 인해 발생된 Indel** 변이 확인

*NHEJ : Non-homologous end joining

**Indel : Insertion and Deletion

CRISPR/Cas9 실험을 위한 필수품, Editing 효율 확인 제품



Uncleaved fragment
Cleaved fragment A
Cleaved fragment B

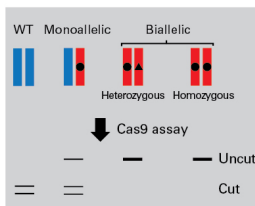
Guide-it™ Mutation Detection Kit (Code 631448)

BEST

Mutation (Indel)
생성을 확인

- Cell sorting 전/후, 간단하게 gene editing 효율 확인
- CRISPR 뿐만 아니라 ZFN, TALEN gene editing에도 적용 가능
- T7E1, Surveyor assay 보다 정확하게 편집 효율 확인 가능

Edited clone의 mono/biallelic mutation 판별



Guide-it™ Genotype Confirmation Kit (Code 632611)

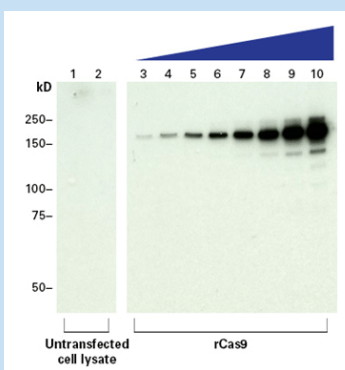
- CRISPR editing 후, 편집세포의 allele type 판별
- 안정적인 edited cell line 선별을 위한 genotyping
- DNA direct PCR부터, *in vitro* cleavage를 위한 모든 구성품 포함

Indel sequencing library 제작



Guide-it™ Indel Identification Kit (Code 631444)

- Indel mutation 서열 분석을 위한 sequencing library를 간편하게 제작
- CRISPR 뿐만 아니라 ZFN, TALEN으로 생성된 Indel에도 적용 가능
- In-Fusion® Cloning을 이용한 쉽고 빠른 library 제작 프로토콜



재조합 Cas9 단백질의 정밀한 검출

Guide-it™ Cas9 Poly/Monoclonal Antibody (Code 632607/632628)

- *Streptococcus pyogenes* 유래의 Cas9 (spCas9) 단백질 검출
- Western blot을 이용하여 소량 (0.5 ~ 1 ng)의 Cas9 발현 검출 가능

◀ Cas9 polyclonal antibody의 검출 민감도 (Western blot)

(Lane 3: 0.15 ng, 4: 0.30 ng, 5: 0.625 ng, 6: 1.25 ng, 7: 2.5 ng, 8: 5.0 ng, 9: 10.0 ng, 10: 20.0 ng)

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

CRISPR workflow	제품명	Code	용량
STEP 1. Target specific-sgRNA 제작과 선별			
sgRNA 디자인	 CRISPR/Cas9 효율을 좌우하는 sgRNA의 디자인, 다카라바이오 홈페이지를 방문하여 디자인 방법을 확인하세요.		
sgRNA 합성 & 스크리닝			
	Guide-it™ Complete sgRNA Screening System	632636	50 회
	Guide-it™ sgRNA In Vitro Transcription Kit	632635	50 회
	Guide-it™ sgRNA Screening Kit	632639	50 회
	Guide-it™ IVT RNA Clean-Up Kit	632638	50 회
STEP 2. 목적세포에 다양한 방법으로 sgRNA, Cas9 유전자 도입			
RNP delivery	Guide-it™ Recombinant Cas9 (Electroporation-Ready)	632641	100 µg
	Guide-it™ CRISPR/Cas9 Gesicle Production System	632613	1 kit
	Gesicle Producer 293T Cell Line	632617	1 ml
	TransIT-X2® Dynamic Delivery System	MIR 6000	1.5 ml
Lentivirus delivery	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
	Guide-it™ CRISPR Genome-Wide sgRNA Library System	632646	5 회
AAV delivery	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
DNA delivery	Guide-it™ CRISPR/Cas9 System (Green)	632601	1 Kit
	Guide-it™ CRISPR/Cas9 System (Red)	632602	1 Kit
RNA delivery	Xfect™ RNA Transfection Reagent	631450	1.2 ml
STEP 3. Gene repair에 의한 타겟 유전자 편집 효율 확인			
Gene Editing 효율 확인	Guide-it™ Mutation Detection Kit	631448	25 회
Cas9 단백질 발현 확인용 항체	Guide-it™ Cas9 Polyclonal Antibody	632607	100 µl
	Guide-it™ Cas9 Monoclonal Antibody (Clone TG8C1)	632628	100 µg
Indel identification	Guide-it™ Genotype Confirmation Kit	632611	100 회
	Guide-it™ Indel Identification Kit	631444	10 회

Human stem cell 유전자 편집을 위한

Cellartis® iPSC CRISPR/Cas9 and Single-Cell Cloning System (Code 632642/632643)

- hiPS/hES cell의 single cell cloning 및 CRISPR/Cas9 application
- 단일세포 고효율 배양에 최적화된 hES/iPSC 전용 Cellartis® DEF-CS™ 배양 배지 기반
- 간편한 All-in-one system으로, 6주 내 CRISPR 실험 완료

