

Cell에서 editing 전 단계

성공적인 CRISPR/Cas9의 시작은 최적의 sgRNA 선택부터!

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

- 디자인한 single guide RNA (이하 sgRNA)가 제대로 작용할지 궁금하십니까?
- 여러 개의 후보 sgRNA 중 가장 효과적인 sgRNA가 어떤 것인지 궁금하신가요?

Guide-it™ Complete sgRNA Screening System

- Cell 실험 전 가장 효율적인 sgRNA 선택을 위한 스크리닝
- 시간 및 비용 절감 효과

▶ Workflow

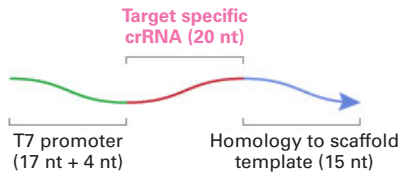
Guide-it™ Complete sgRNA Screening System (Code 632636)

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

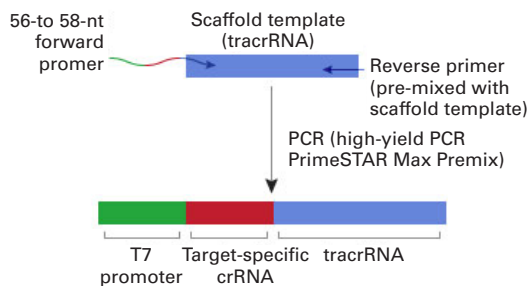
Step 1. CRISPR/Cas9 genome editing을 위한 고순도의 sgRNA 합성

- 3시간 이내 sgRNA *in vitro* transcription 완료
- 1회 반응으로 12 µg 이상의 sgRNA 생성
- IVT clean-up kit로 cell-delivery용 sgRNA 정제

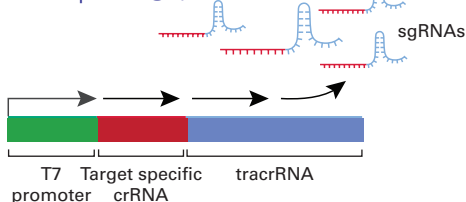
1 Forward primer (56-58 nt) 디자인 및 합성



2 sgRNA *in vitro* transcription을 위한 template 합성



3 *In vitro* transcription으로 sgRNA 제작하고 Guide-it™ IVT RNA Clean-Up Kit로 정제

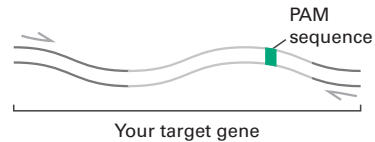


Guide-it™ sgRNA Screening Kit (Code 632639)

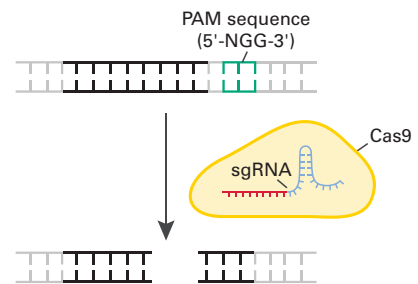
Step 2. Cell에 넣기 전 *in vitro* 상에서 간단하게 sgRNA의 genome editing 효율 확인

- 고순도의 Cas9 단백질 (제품 내 포함)을 이용한 *in vitro* cleavage assay

4 PCR로 target DNA 서열 증폭



5 3에서 합성한 sgRNA와 Cas9으로 target DNA를 절단



6 Agarose gel 전기영동으로 절단 패턴 확인



sgRNA design

Test sgRNA *in vitro*

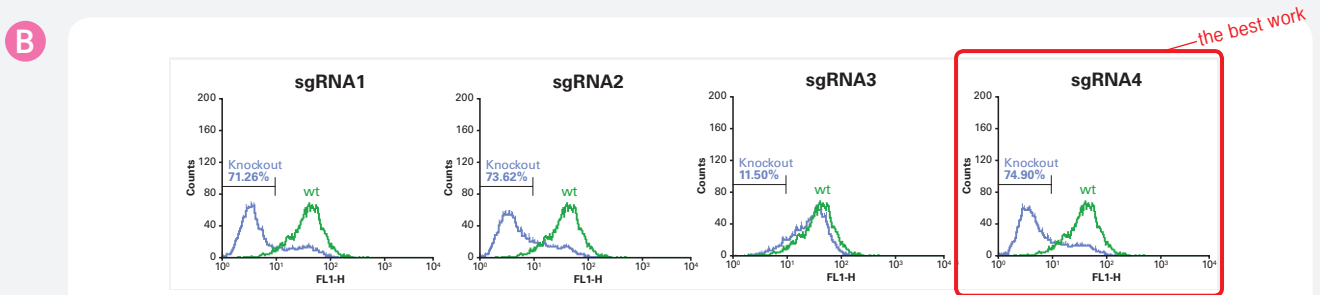
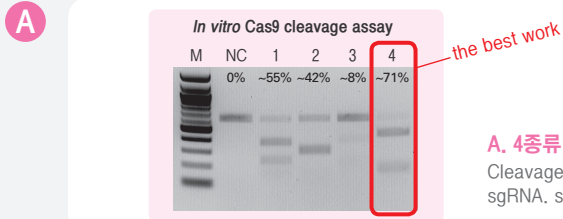
Deliver sgRNA & Cas9 to cells

Confirm mutation (Indel)

Identify Indel

▶ [실험 예] Genome editing 효율이 가장 높은 sgRNA 선택

Guide-it™ Complete sgRNA Screening System을 이용하여 CXCR4 유전자를 타겟팅하는 4종류의 sgRNA candidates의 절단 효율 확인



▶ 제품 리스트

Code	제품명	용량
632636	Guide-it™ Complete sgRNA Screening System	50 회
632635	Guide-it™ sgRNA In Vitro Transcription Kit ※	50 회
632639	Guide-it™ sgRNA Screening Kit ※	50 회
632638	Guide-it™ IVT Clean-Up Kit ※	50 회

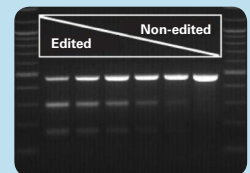
※ Guide-it™ Complete sgRNA Screening System (Code 632636)의 구성품으로 별도 구매 가능

자매품

CRISPR/Cas9 genome editing 후, mutation 생성 확인은?

Guide-it™ Mutation Detection Kit (Code 631448 외)

• ZFN, TALEN, CRISPR/Cas9에 의한 mutation (Indel)을 전기영동으로 간편하게 확인!



▶ Guide-it™ CRISPR/Cas9 제품 flow chart

Clontech은 성공적인 CRISPR/Cas9을 위한 제품을 구비하고 있습니다. 각 실험 절차에 필요한 모든 제품을 다카라코리아 홈페이지에서 확인하세요.

Guide-it™ Complete sgRNA Screening System

