

CRISPR/Cas9での長鎖ノックイン実験の効率Upにつながります！ NEW

Guide-it™ Long ssDNA Production System

CRISPR/Cas9で効率よく長鎖ノックイン実験を行うためのポイントの一つは、ドナーDNAを一本鎖DNA(ssDNA)で用意すること(★)です。本キットを使用すると、簡単な操作で500 bases～5 kbの長鎖ssDNAが調製できます。

蛍光・薬剤マーカー、LoxPサイト、発現カセット、プロモーターなど、長鎖DNAのノックイン効率を少しでもUpしたい方はぜひお使いください！



■ 特長

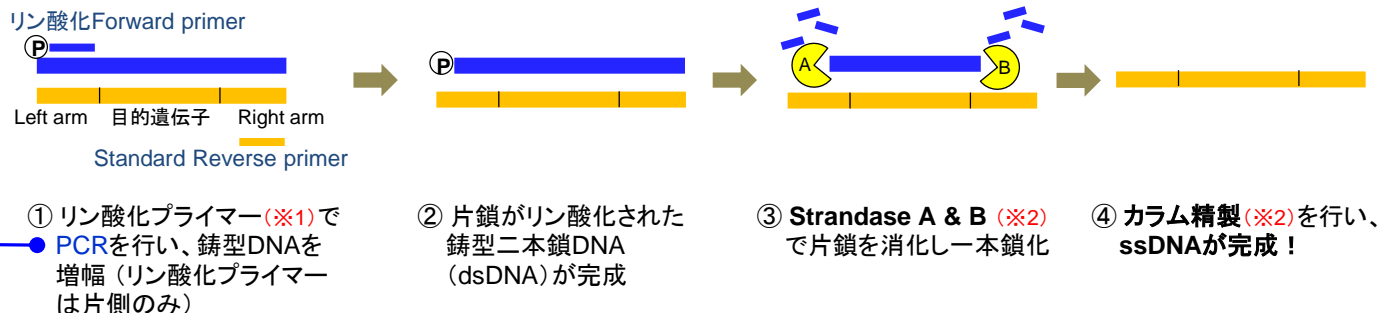
- CRISPR/Cas9のノックインドナー用長鎖ssDNA調製キット
- 500 bases～5 kbまでのssDNAが調製可能
- 独自技術の「Strandase処理」で二本鎖を一本鎖化
- クローニング操作、ゲル抜き精製不要の簡単プロトコール
- 10 μgのdsDNAから2～4 μgのssDNAを調製

★ ssDNAを使うメリットとは？

二本鎖DNA(dsDNA)に比べて…

- ランダムインテグレーションが起きにくい
- 細胞毒性が低く、ノックイン効率が高い
(特にプラスミドと比べて)
- バックグラウンドが低い

■ プロトコール概要



※1 別途リン酸化プライマーをご準備いただく必要があります。 ※2 本キットに含まれます。

PCRはエラーが気になる？

いいえ、大丈夫です。キット添付のPCR酵素「PrimeSTAR® Max」は、50万塩基あたりエラーはわずか10数塩基の高正確性酵素です。ほとんどエラーを心配する必要はありません！



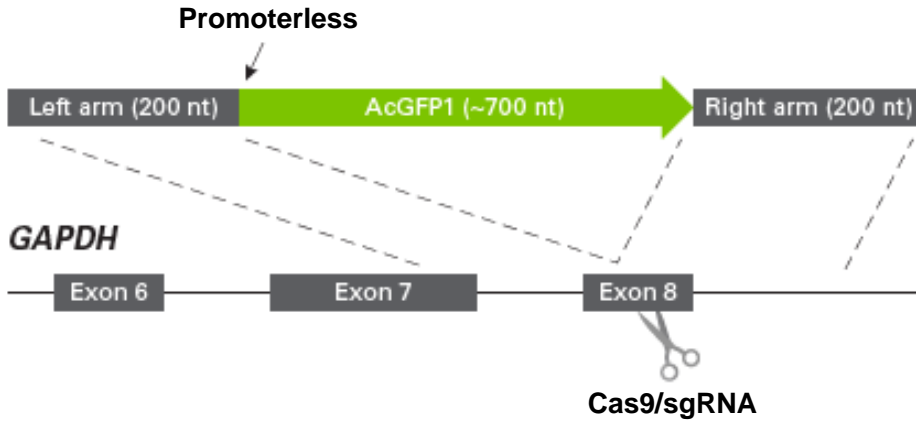
■ 容量／製品コード／価格

製品名	容量	製品コード	価格(税別)
Guide-it™ Long ssDNA Production System	25回(※3)	632644	¥75,000
Guide-it™ Long ssDNA Strandase Kit(※4)	25回	632645	¥60,000

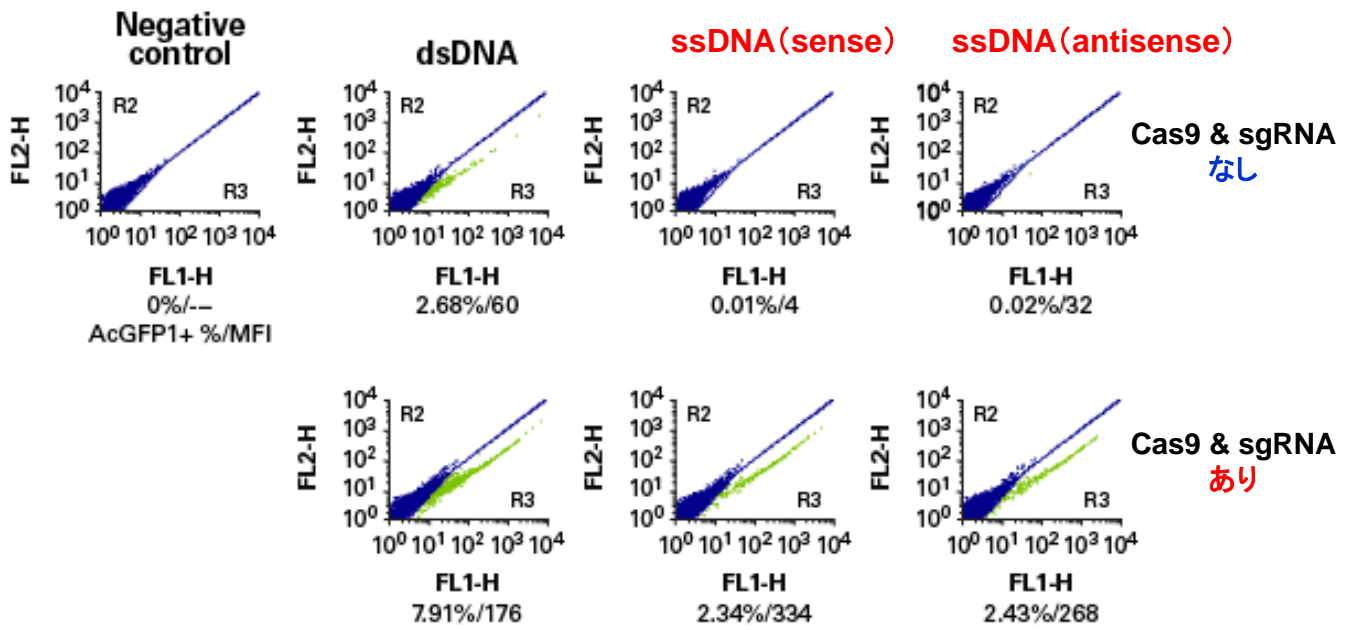
※3 1回分の反応試薬で、センス鎖ssDNAとアンチセンス鎖ssDNAが調製できます。
 ※4 Guide-it Long ssDNA Production Systemから精製用カラムを除いたものです。

■ 実施例：AcGFP1遺伝子のノックインによる目的タンパク質の蛍光タグ付け

A



B



GAPDH exon 8領域へのAcGFP1遺伝子ノックインを目的とし、Guide-it™ Long ssDNA Production Systemを使用してドナー-ssDNAを調製した(パネルA)。
 変異導入後のHEK293細胞をフローサイトメーターで解析した結果、センス、アンチセンスともssDNAドナーを使用した場合は蛍光が観察された。一方、dsDNAを使用した場合は、Cas9とsgRNAの非存在下でも蛍光が観察され、バックグラウンドが高い問題点が示された(パネルB)。

Guide-it™ Long ssDNA Production Systemで調製したssDNAを用いて、蛍光タンパク質によるタグ付けができました。バックグラウンドもほとんどないので、効率のよい目的クローンの取得が可能です！

・本チラシで紹介した製品はすべて研究用として販売しております。ヒト、動物への医療、臨床診断用には使用しないようご注意ください。また、食品、化粧品、家庭用品等として使用しないでください。・タカラバイオの承認を得ずに製品の再販・譲渡、再販・譲渡のための改変、商用製品の製造に使用することは禁止されています。
 ・本チラシに記載された社名および製品名は、特に記載がなくても各社の商標または登録商標です。・ライセンス情報については弊社ウェブサイトにてご確認ください。
 ・本チラシ記載の価格は2017年6月28日現在の希望小売価格です。価格に消費税は含まれておりません。

2017年6月作成G

タカラバイオ株式会社

東京支店 TEL 03-3271-8553 FAX 03-3271-7282
 関西支店 TEL 077-565-6969 FAX 077-565-6995
 テクニカルサポートライン
 TEL 077-565-6999 FAX 077-565-6995
 Website <http://www.takara-bio.co.jp>
 Facebook <http://www.facebook.com/takarabio.jp>

取扱店