

sgRNAクローニング・発現システム

NEW

Guide-it™ CRISPR/Cas9 System

CRISPR/Cas9ゲノム編集に！

sgRNA配列をプラスミドベクターにクローニングし、哺乳類細胞で発現させるためのキットです。

◆ 便利なワンベクタータイプ

pGuide-itプラスミドベクターには、Cas9ヌクレアーゼ、蛍光タンパク質（ZsGreen1またはtdTomato）も搭載。クローニングしたsgRNA、Cas9ヌクレアーゼ、蛍光タンパク質を同時に発現させることができます。



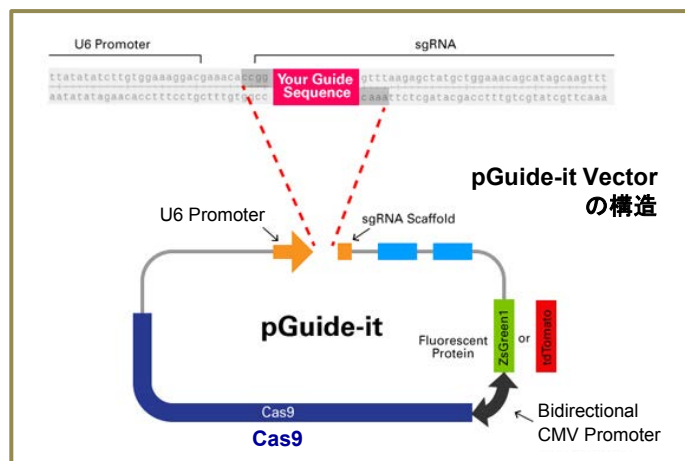
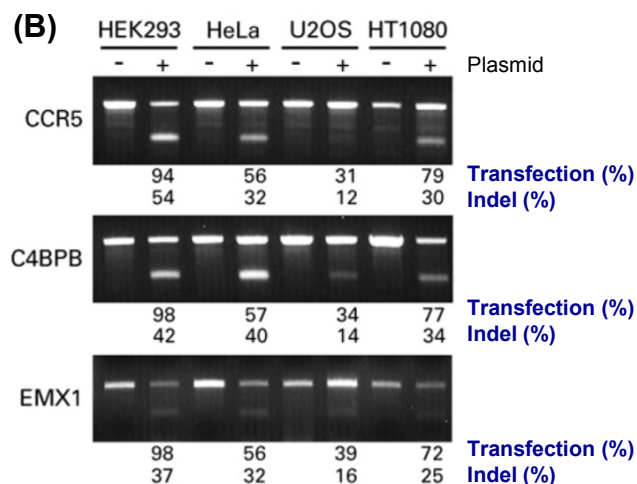
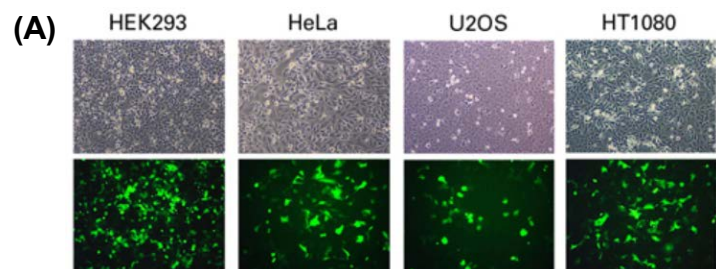
◆ 簡便、迅速なAll in One システム

sgRNA発現プラスミドの構築は非常にシンプル。準備するのはターゲット配列に対応したsgRNA発現用オリゴDNAだけ。線状化ベクター、高効率なLigation Mixとコンピテントセルなど必要な試薬は全てキットに含まれています。準備したオリゴDNAをアニーリング後、ベクターにライゲーションして形質転換するだけです。

◆ 明るい蛍光でモニタリング

プラスミドベクターに明るい蛍光マーカー（ZsGreen1またはtdTomato）を搭載。ゲノム編集後の導入効率のモニタリングやFACSによる細胞の濃縮、単離が可能です。

■ 実験例



HEK293、HeLa、U2OS、HT1080、各 1×10^5 cellsを12ウェルプレートに播種し16時間培養後、Xfect Transfection Reagentを用いてpGuide-it-ZsGreen1 plasmidを導入した。pGuide-it-ZsGreen1 plasmidは、CCR5、C4BPB、EMX1を標的遺伝子とするsgRNA配列をpGuide-it-ZsGreen1 Vectorにクローニングして作製し、それぞれ2.5 μ gを使用した。トランスフェクションから48時間後、ZsGreen1の蛍光を蛍光顕微鏡で確認し(A)、FACSでトランスフェクション効率を測定した(B. Transfection %)。ゲノムDNAへの変異導入効率は、Guide-it Mutation Detection Kit (製品コード 631443)を用いて調べた。ターゲット配列を含む領域を細胞から直接PCR増幅し、増幅産物を変性、再アニーリングさせてミスマッチを含む二本鎖DNAを作製し、Guide-it Resolvaseでミスマッチ部分を切断した。その後、アガロースゲル電気泳動を行い、デンストメーターで変異導入の割合を求めた(B. Indel %)。

■ 容量／製品コード／価格

製品名	容量	製品コード	価格(税別)	備考
Guide-it™ CRISPR/Cas9 System (Green)	1 Kit	632601	¥73,000	ラ 営
Guide-it™ CRISPR/Cas9 System (Red)	1 Kit	632602	¥73,000	

ラ ご購入に際してライセンス確認書が必要となります。 営 営利施設の場合、ご購入前にライセンス(有償)を取得する必要があります。

■ Guide-it™ CRISPR/Cas9 System (製品コード 632601、632602)の内容

- pGuide-it-ZsGreen1 Vector (Linear)
またはpGuide-it-tdTomato Vector (Linear)
- DNA Ligation Mighty Mix
- Guide-it Oligo Annealing Buffer
- Guide-it Control Annealed Oligos (100 fmol/μl)
- Guide-it Sequencing Primer 1 (100 pmol/μl)
- PCR Grade Water
- Stellar Competent Cells (製品コード 636763)

10回のsgRNA発現プラスミド構築に必要な試薬が含まれています。

ウェスタンブロッティングでCas9を検出

NEW

Guide-it™ Cas9 Polyclonal Antibody

CRISPR/Cas9ゲノム編集に用いるStreptococcus pyogenes由来の組換えCas9タンパク質に対するウサギポリクローナル抗体です。

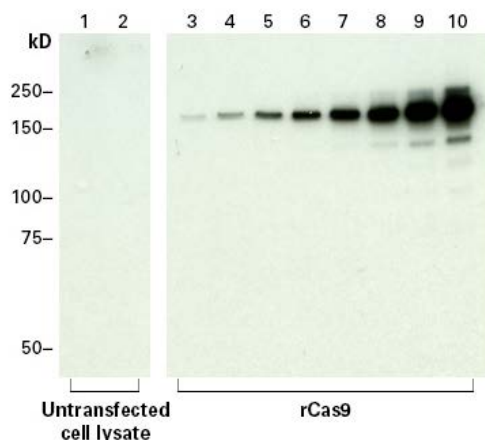
- ◆ Wild-typeのCas9だけでなく、バリエーション(Cas9 nickase、Cas9 nuclease-deficient mutant)も認識
- ◆ 高い特異性・・・哺乳類細胞ライセートに対してバックグラウンドが出ません。
- ◆ 高感度・・・ウェスタンブロッティングにより、わずか0.5 ngの組換えCas9タンパク質を検出可能。Cas9発現細胞 3,500個からのシグナル検出も可能です。

【ウェスタンブロッティングにおけるGuide-it™ Cas9 Polyclonal Antibodyの検出感度】

0.15~20.0 ngの組換えCas9 (rCas9)タンパク質を電気泳動後、ブロッティングし、Guide-it Cas9 Polyclonal Antibody(1:1,000 希釈)を用いて検出した。二次抗体はHRP-conjugated goat anti-rabbit secondary antibody(1:5,000 希釈)を使用し、ECL試薬で検出した。ネガティブコントロールにはHT1080、HEK293細胞の細胞ライセートを用いた。

レーン

- 1: HT1080細胞ライセート(3.5 × 10⁴ cells)
- 2: HEK293細胞ライセート(3.5 × 10⁴ cells)
- 3: rCas9 protein 0.15 ng
- 4: rCas9 protein 0.30 ng
- 5: rCas9 protein 0.625 ng
- 6: rCas9 protein 1.25 ng
- 7: rCas9 protein 2.5 ng
- 8: rCas9 protein 5.0 ng
- 9: rCas9 protein 10.0 ng
- 10: rCas9 protein 20.0 ng



■ 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™ Cas9 Polyclonal Antibody	100 μl × 3	632606	¥98,000
	100 μl	632607	¥40,000

- ・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2015年3月2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。

2015年3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