

按步驟任意搭配，任意選擇

	STEP 1 選擇合適的Cas9 Nuclease	STEP 2 選擇合適的Guiding RNA	STEP 3 選擇轉染工具
選項一 Plasmids			<ul style="list-style-type: none"> ▶ Co-Transfection ▶ Electroporation (nucleofection)
選項二 DNA-Free System	 	 	
選項三 Lentivirus			

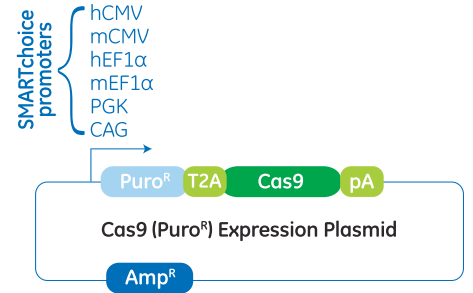
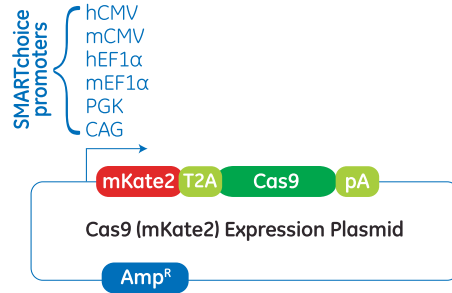
Step 1

選擇合適的Cas9 Nuclease

選項 1

SMARTchoice Cas9 Plasmids

- 多種 Promoter 供選擇，適用各種不同細胞
- 利用 mKate 或 Puro 篩選，有效挑選 KO clone
- 可用 FACS / Puromycin 篩選成功轉染的細胞



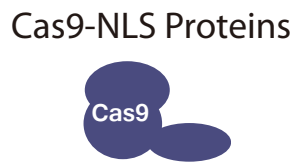
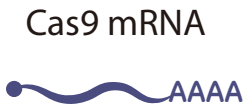
選項 2

DNA-Free System (不留外源DNA在細胞內)

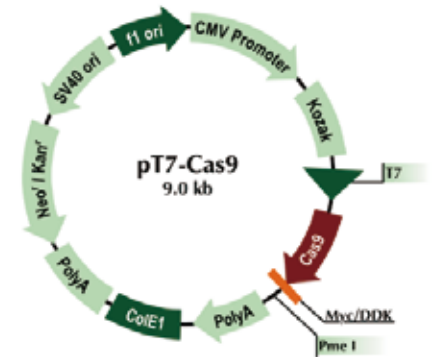
不必擔心promoter轉錄效率

在細胞中確保表現與活性

經濟實惠



利用 *In vitro* transcription 自行生產 Cas9 mRNA

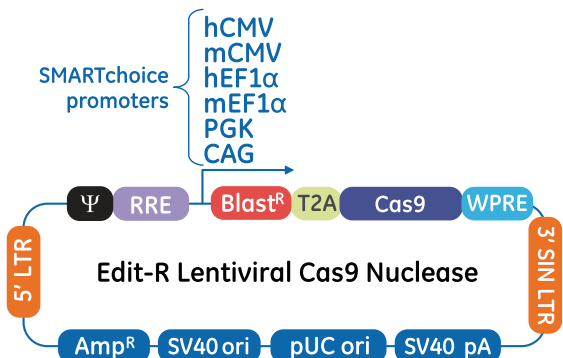


用量參考

產品	包裝	96 well Plate (Rxns)	24 well Plate (Rxns)
Cas9 mRNA	20 µg	100	20
Cas9 Protein	500 pmol	200	40

選項 3

Cas9 Lentiviral Plasmids 或 Lentiviral Particle (自行包病毒) (病毒產品)



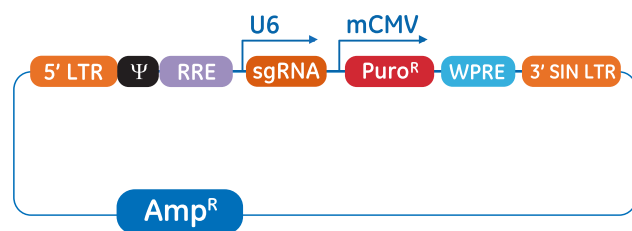
選項	料號	產品	規格
選項一	U-00XX00-120	Edit-R Cas9 Expression Plasmid	120 µg
	CAS11195	Edit-R Cas9 Nuclease mRNA	20 µg
選項二	CAS11XXX	Edit-R Cas9 Nuclease protein NLS	250/500/1000 pmol
	GE100014	pT7-Cas9	10 µg
	CAS101XX	Edit-R Lentiviral Cas9 Nuclease Plasmid	10 µg
選項三	VCAS101XX	Edit-R Lentiviral Blast-Cas9 Nuclease Particles	Lentiviral Particle
	TLP591X	Trans-Lentiviral Packaging System	10 rxns

※ 利用病毒系統，確保 Cas9 表現於難轉染細胞 ※

Step 2 選擇合適的Guiding RNA

選項 1 Guide RNA Plasmids

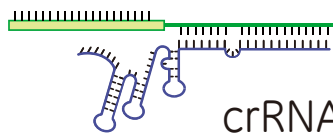
選項 3 Lentiviral Particle



每個基因，針對不同Exon，平均設計 10 個 sgRNAs 可供選擇

選項 2 DNA-Free System (不留外源DNA在細胞內)

Synthetic Guide RNA



crRNA:tracrRNA

優點 業界唯一論文證實，有效降低 Off-Target Effects

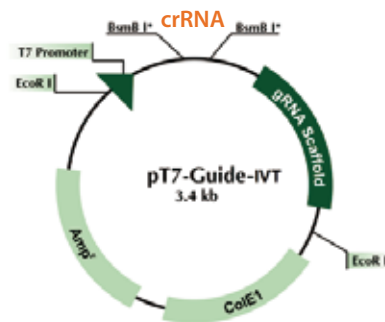
Anderson et al. (2015) *J Biotechnology*, 211: 56-65

適用 適用改造細胞與基因治療，避免不可預期的突變

用量參考 crRNA: tracrRNA (建議：50 nM)

產品	包裝	96 well Plate (Rxns)	24 well Plate (Rxns)
crRNA	5 nmol	1000	200
tracrRNA	5 nmol	1000	200

利用 *In vitro* transcription 自行生產 Guide RNA



選項	料號	產品	規格
選項一	GSGX118XX	Edit-R H/M/R Lentiviral sgRNA	Bacterial Glycerol Stock
	CR-H/M/R-XX-00XX	Edit-R Synthetic crRNA	5/10/20 nmol
選項二	U-002000-XX	Edit-R Synthetic tracrRNA	5/20/50 nmol
	GE100025	pT7-Guide-IVT	10 µg
選項三	VSGX101XX	Edit-R H/M/R Lentiviral sgRNA	Lentiviral Particle

Step 3 選擇轉染工具

Co-Transfection

料號	產品	用途	規格
T-2006-01	Dharmafect kb	Cas9 Plasmid with sgRNA plamid	1 mL
T-2010-0X	Dharmafect Duo	Cas9 Plasmid/mRNA/Protein with Synthetic crRNA:tracrRNA	0.2mL / 0.75mL / 1.5mL

易轉染 ←

→ 難轉染

Electroporation Lonza

Nucleofector 4D System

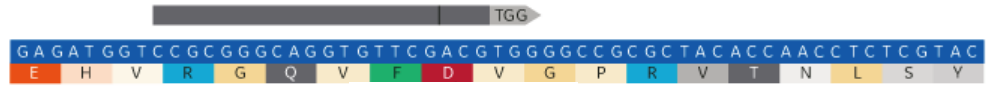


客製化 Donor 新選擇

Dharmacon™
part of GE Healthcare

- Donor Oligo 可置換約1 ~ 90nt的長度
- Plasmid DNA donor Kit 可嵌入 mKate Reporter 於任意指定位置
- 應用：SNP/ insertion / deletion / protein fusion 研究

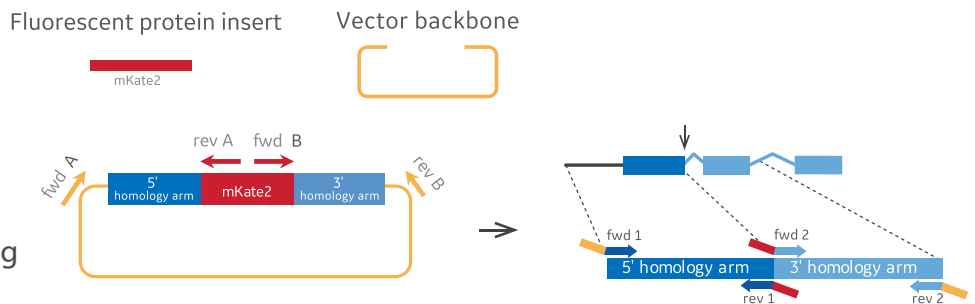
A Donor Oligo 合成 (ssDNA)



B Plasmid DNA donor Kit (UK-008200-01-10)

※ Kit 內含：

- 一條 mKate 基因及一組 Vector Backbone
- 四條 PCR Primers for PCR & Cloning



ORIGENE

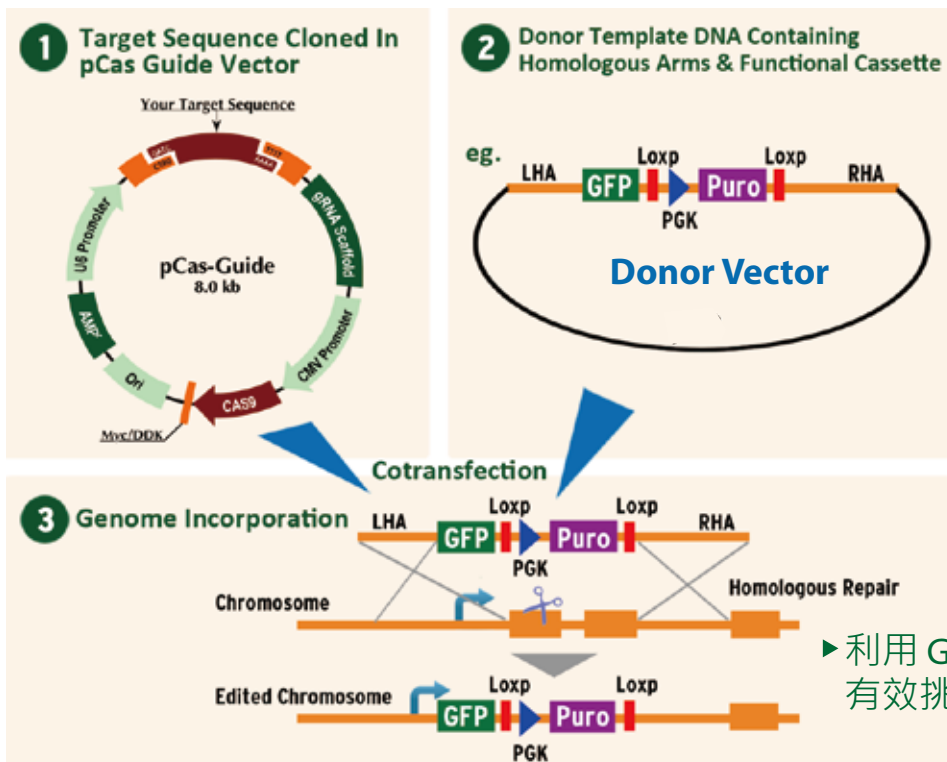
市面上最易挑選 KO clone 的產品!!

利用 HDR 有效挑選 Gene Editing 細胞 · Kit (Cat No. KNXXXXXX) 包含：

- 兩組 Predesigned sgRNA-Cas9 Plasmids 及一組 Scramble sgRNA Control Plasmids
- 一組 Predesigned Donor vector

我們也提供以下產品，詳情請洽該區業務：

- 各式 All-in-one gRNA/CAS9 vectors
- 客製化 gRNA design and cloning 服務
- 客製化 donor design and cloning 服務
- 其它客製化服務



▶ 利用 GFP 及 Puro 雙層篩選有效挑選 KO clone