

想成為 基因編輯大師嗎？

快來購買 CRISPR 產品, 訓練你專屬的神奇細胞吧!



單筆訂購達 **10,000 元** 者,

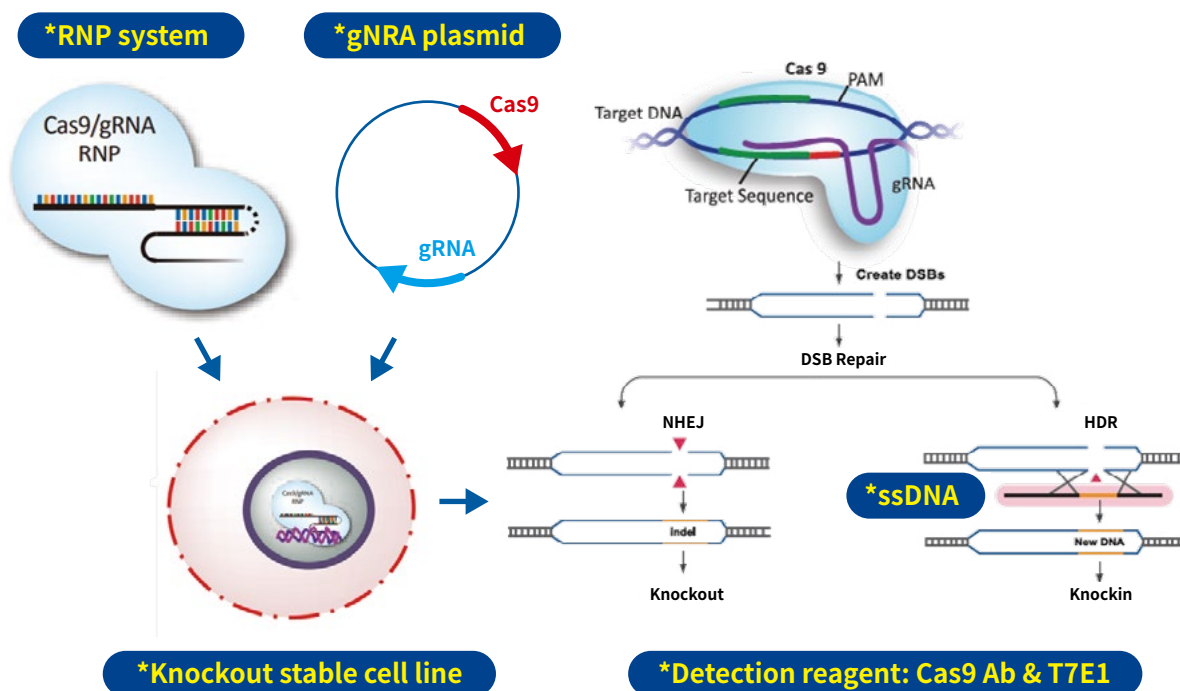
享 T7 Endonuclease I **半價優惠!** (貨號: Z03396-250)

GenScript 和張鋒實驗室共同合作, 免費提供 gRNA 資料庫和設計軟體

起源 Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats (CRISPR) and CRISPR-associated protein (Cas) 為細菌特殊的免疫系統, 保護細菌免受病毒感染, 被科學家們應用於基因編輯。

優點 以 RNA 探針鹼基配對的方式辨認到目標基因, 專一性更高, 操作和設計更簡單。

機制 Cas9 蛋白質透過 gRNA 和目標基因的互補性, 專一性結合目標基因染色體 DNA, 並進行雙股裁切 (double strand break, DSB)。而發生 DSB 的染色體會以兩種方式修復(下圖), NHEJ (non-homologous end joining) 容易造成基因功能缺失 (knockout), 而 HDR (homology-directed repair) 引入 ssDNA template 則可以插入或置換特定序列 (knockin)。



活動時間: 2020 / 7 / 1 ▶ 2020 / 8 / 30 為止! (本活動需隨貨開立發票)

CRISPR Stable Cell Line 動物細胞株建構服務

— 直接完成最省事！

✓ 應用：直接建構完 knockout/knockin 細胞株，省去大量時間和人力。

✓ 優點：

- (1) 提供整套服務，從 gRNA 設計、建構質體、引入細胞到單一細胞株建構和鑑定。
- (2) 可加購 Promoter 和轉染條件優化 (Promoter activity survey, Transfection optimization)。
- (3) 除了序列比對分析，還可以加購後續功能性分析 (qPCR, Western blotting, FACS analysis, Off-target analysis)。

※ 四種方案介紹：

服務名稱	方式	gRNA 送入細胞方式	細胞選擇	出貨規格	交期 **
Knockout Cell Pool Service	單一基因 knockout	Lentivirus-based	任何細胞株	(1) Stable cell pool (2) 染色體 DNA 定序報告	5-11 週
EZ Knockout Cell Line Service*	單一基因 knockout	Transfection-based	120 種以上適合轉染的細胞	(1) 兩株成功 knockout 細胞 (2) 一株陰性控制組細胞 (3) 染色體 DNA 定序報告	10-19 週
Customized Knockout Cell Line Service	複數基因 knockout	Transfection-based, Lentivirus-based, RNP-based	任何癌細胞株	(1) 1-2 株成功 knockout 細胞 (2) 一株陰性控制組細胞 (3) 染色體 DNA 定序報告	16-24 週
Customized Knockin Cell Line Service	任何指定位置插入片段 或置換序列	Transfection-based, RNP-based	120 種以上適合轉染的細胞	(1) 一株成功 knockin 細胞 (2) 一株陰性控制組細胞 (3) 染色體 DNA 定序報告	14-24 週

* 須由原廠評估是否符合 EZ Knockout Cell Line Service 方案。

** 根據案件複雜程度 (目標基因和細胞) 會有不同的交期。

CRISPR Microbial Gene Editing 細菌株建構服務

✓ 應用：對 bacteria (*E. coli*) 做基因編輯，包含 Knockin 和 Knockout。

✓ 優點：

- (1) 採用獨家 λ Red-CRISPR/Cas9 系統，讓基因取代更有效率。
- (2) 可同時 knockout 至多三個基因
- (3) 除了序列比對分析，還可以加購後續功能性分析 (qPCR, Western blotting, FACS analysis, Off-target analysis)。

※ 服務方案介紹：

服務名稱	<i>E. coli</i> Knock-out	<i>E. coli</i> Knock-in
客戶提供	(1) 針對的細菌株 Strain	(2) 針對基因名稱 (如果不方便給染色體全序列，請提供針對的基因序列)
基因編輯	至多同時三個基因	單一基因 knockin/replacement
出貨規格	(1) 完成基因編輯的甘油菌	(2) 染色體 DNA 定序報告
交期	四週起	

CRISPR RNP system

— DNA-free 更安全

進行 CRISPR 實驗時，可以由轉染或病毒方式 (Plasmid/Lentivirus) 送入 DNA，讓細胞自己表現 Cas9 蛋白和 gRNA。另外一種方式是 Ribonucleoprotein (RNP) system，直接送入 Cas9 蛋白和 gRNA 進入細胞，因此為 DNA-free 系統，可避免外源 DNA 嵌入細胞染色體，降低突變機率。GenScript 提供高純度 Cas9 蛋白 & gRNA, crRNA/tracrRNA，可降低 *in vitro* transcription (IVT) RNA 造成的細胞毒性。

crRNA/tracrRNA & sgRNA

✓ 種類： **A** CRISPR RNA (crRNA) / trans-activating crRNA (tracrRNA) duplex & **B** guide RNA (sgRNA) (表一)

✓ 優點：

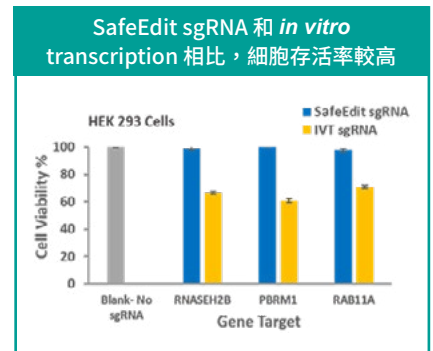
- (1) RNase-HPLC 純化，高純度、無 RNase 汙染。
- (2) 和 *in vitro* transcription (IVT) RNA 相比，使用較方便，細胞毒性較低。

✓ 客戶提供：

- (1) crRNA/tracrRNA 或 gRNA 序列 (自行設計 or **Database 查詢**)
- (2) 如選擇 sgRNA，請選擇方案
EasyEdit or SafeEdit (表二)

✓ 出貨規格：

- (1) 凍乾 RNA
- (2) 分析報告 MS (SafeEdit 還有 HPLC)



※ 表一：crRNA/tracrRNA V.S. sgRNA

CRISPR RNA 種類	A crRNA/tracrRNA	B sgRNA
構造 & 原理	20 nt crRNA 和目標基因互補；67 nt tracrRNA 連結 crRNA 和 Cas9 	單一 RNA，為 crRNA 和 tracrRNA 的合體 (97-103 nt)
介紹	細菌原生系統，為傳統方法	創新技術
方便性	低	高
穩定性	低	高
基因編輯效率	低	高

2nmol 優惠價：
單條 **5500 元**
三條以上，**4500 元 / 條**

2nmol 優惠價：
單條 **9900 元**
三條以上，**8500 元 / 條**

※ 表二：gRNA 兩種方案說明

gRNA 種類	EasyEdit sgRNA	SafeEdit sgRNA
應用	一般使用	高純度款，更適合細胞
純化方式	Desalt	HPLC (保證純度 >90%)
QC	MS	MS, HPLC
和 IVT 相比	直接使用省時間，且毒性較低	
修飾		5' 前三個 & 3' 後三個鹼基加上 2'-O-methyl and phosphorothioate 修飾，可大幅提高 RNA 的穩定性

CRISPR Cas9 Enzyme

✓ 優點：

- (1) 高生物活性：皆經過 *in-vitro* 或 *in-vivo assays* 測試，確保酵素有活性。
- (2) Cas9 上 fusion nuclear localization signal (NLS)，幫助 Cas9 蛋白進入細胞核。
- (3) > 95% 高純度 (by SDS-PAGE)
- (4) 低內毒素 (<0.1 EU/ug)
- (5) 無 RNase & DNase 汙染

類別	產品名稱	貨號	包裝	售價	
<i>In vitro</i> target DNA cleavage	GenCrispr Cas9 Nuclease	Z03386-10	10 ug (0.2 mg/mL)	2,000	
		Z03386-50	50 ug (0.2 mg/mL)	6,200	
Nuclear localization and <i>in vivo</i> gene-editing	GenCrispr Cas9-C-NLS Nuclease	Z03385-50	50 ug (1 mg/mL)	8,200	
		Z03385-100	100 ug (4 mg/mL)	10,500	
	GenCrispr Cas9-N-NLS Nuclease	Z03468-100	100 ug (10 mg/mL)	10,500	
		Z03468-500	500 ug (10 mg/mL)	35,700	
		Z03468-1	1 mg (10 mg/mL)	60,400	
	GenCrispr NLS-Cas9-NLS Nuclease	Z03469-100	100 ug (10 mg/mL)	10,500	
		Z03469-500	500 ug (10 mg/mL)	35,700	
		Z03469-1	1 mg (10 mg/mL)	60,400	
	GenCrispr NLS-Cas9-EGFP Nuclease	Z03467-100	100 ug (10 mg/mL)	13,500	
		Z03467-500	500 ug (10 mg/mL)	45,700	
		Z03467-1	1 mg (10 mg/mL)	76,800	
	GenCrispr eSpCas9-N-NLS Nuclease	Z03470-100	100 ug (4 mg/mL)	18,700	
		Z03470-300	300 ug (4 mg/mL)	41,600	
	Single strand break (SSB)	GenCrispr NLS-Cas9-D10A Nickase	Z03390-10	10 ug (1 mg/mL)	5,900
			Z03390-50	50 ug (1 mg/mL)	12,900
Z03390-100			100 ug (4 mg/mL)	18,700	

* 凡同時訂購 EasyEdit or SafeEdit sgRNA 者，Cas9 Enzyme 可享「加購價 6 折」優惠。

CRISPR 基因編輯檢測試劑

— CRISPR 檢測好輕鬆

使用 CRISPR 方法進行基因編輯時，需要有相對應的檢測試劑，需要以 anti-Cas9 Antibody 確認 Cas9 蛋白質成功表現，再以 T7 Endonuclease I (T7E1) 確認細胞的染色體 DNA 是否成功發生 NHEJ。

應用	產品名稱	貨號	包裝	售價
Anti-Cas9 Antibody： 檢測 Cas9 蛋白質是否於細胞中成功表現	GenCrispr Cas9 Antibody, pAb, Rabbit	A01885-40	40 uL	4,700
		A01885-100	100 uL	9,300
	GenCRISPR SpCas9 Antibody (4A1), mAb, Mouse	A01935-40	40 ug	5,900
	GenCRISPR SpCas9 Antibody (14B6), mAb, Mouse	A01936-40	40 ug	5,900
	GenCRISPR SaCas9 Antibody (11C12), mAb, Mouse	A01951-40	40 ug	5,900
	GenCRISPR SaCas9 Antibody (26H10), mAb, Mouse	A01952-40	40 ug	5,900
	GenCRISPR FnCpf1 Antibody (9H6), mAb, Mouse	A01957-40	40 ug	5,900
檢測 CRISPR 成功與否	GenCrispr T7 Endonuclease I (10 KU/mL)	Z03396-250	250 U	3,300
		Z03396-1250	1250 U	12,900

CRISPR gRNA Plasmid

— 質體使用最簡單

庫存現貨質體

最方便的庫存質體 & 最厲害的設計軟體

✓ 應用：以質體於細胞中表現 Cas9 蛋白 & gRNA RNA，針對特定基因作用。

✓ 優點：

- (1) 和張鋒實驗室共同合作 (Feng Zhang's laboratory at the Broad Institute of MIT and Harvard)，免費提供 gRNA 資料庫和設計軟體。
- (2) 超過 20,000 條 gRNA 庫存質體 (預設載體為 pLentiCRISPR v2)，下訂後可於一週到貨。
- (3) 五種 Cas9 系統選擇，SpCas9, eSpCas9, SpCas9 nickase, SaCas9, SAM，對應三種作用方式。
- (4) 多種載體型式可選擇 (A) 轉染用、(B) 慢病毒系統：all-in-one 或 dual vector (gRNA 和 Cas9 分開)、(C) AAV 系統。

✓ 客戶提供：

- (1) 基因名稱 (Gene symbol/ID) (2) 指定載體

✓ 出貨規格：

- (1) 4 ug 凍乾質體 (2) 定序結果



gRNA database

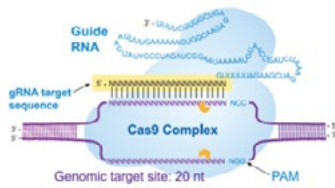
所有庫存質體一律 **\$5,500**

三個以上特價每個 **\$3,900**

(預設載體為 pLentiCRISPR v2)

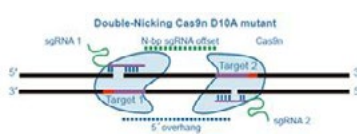
※ 三種 Cas9 作用方式

造成 DNA 雙股斷裂 (DSB)



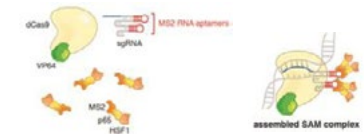
最初的 CRISPR 作用方式，造成染色體 DNA double strand break (DSB)，引發 NHEJ。

造成 DNA 單股斷裂 (SSB)



特殊突變 Cas9n，只能造成染色體 DNA single strand break (SSB)，需要同時有兩個位點作用才能引發 NHEJ，造成 DNA 缺失。

促進基因表現 (SAM)



特殊去活性 Cas9 (dCas9)，不會造成 DNA 斷裂，而是攜帶活化因子促進特定基因表現 (synergistic Activation Mediator, SAM)。

※ 五種 CRISPR 系統說明

系統名稱	作用方式	應用	說明
SpCas9	DSB	一般使用	最早應用於基因編輯的 CRISPR 系統，來自於 <i>S. pyogenes</i> 的 type II CRISPR 系統。
eSpCas9	DSB	Off-Target 較低	為 SpCas9 經過三個點突變 (K848A, K1003A, R1060A)，可以減少 non-target DNA 的結合，大幅提高專一性。
SpCas9 Nickase (Cas9nD10A)	SSB	使用上必須同時引入兩段 gRNA，Off-Target 較低	為 SpCas9 經過一個點突變 (D10A)，此突變會導致 Cas9 只能進行單股核酸裁切 (SSB)。使用上必須同時引入兩段 gRNA，辨認鄰近的區域 (需要是 DNA 雙股各一股)，造成兩個鄰近的單股 DNA 斷裂，才能夠引發 NHEJ，造成基因缺失，因此可以大幅度降低 off-target，增加專一性。
SaCas9	DSB	Cas9 蛋白質較小，AAV 包裝專用	來自於 <i>Staphylococcus aureus</i> ，作用效率和 SpCas9 差不多，但是 SaCas9 蛋白質較小 (少 1 kb DNA)，較適合 Adeno-Associated Virus (AAV) 包裝。
Transcription Activation (SAM) Plasmids	SAM	去除活性的 Cas9 (dCas9)，接上 Transactivation protein，用來專一性地促進特定基因表現	為特殊的 CRISPR 系統，其中 Cas9 透過突變而失去核酸裁切的功能 (dCas9)，同時又接上 transactivation protein (VP64)，sgRNA 也經過特別設計 (加上 two MS2 RNA aptamers)，用來專一性地促進特定基因表現。

✓ 應用：

為已經建構好的 CRISPR plasmid library，針對 Human 或 Mouse 全部基因一次做大量的篩選，快速找到導致 Phenotype 改變的基因。分三種設計好的 Library，省下設計時間和人力。也可客製化設計專屬的 Library 喔！

✓ QC：經過 NGS 測序，確保 Library diversity！

※ 三種 Library：皆為 25 ug Mixed pool plasmid (所有 gRNA 質體混合成一管)

Library 類別	針對 DNA	應用	說明
GeCKO library for genome-scale knock-out	Knockout	針對 Human or Mouse 的所有基因做 Knockout，一次篩選出影響細胞特性的基因。	針對 protein-coding genes & miRNA，同時附上 non-targeting gRNA (作為 control)。
Pathway-focused CRISPR gRNA library	Knockout	針對特定訊息路徑或疾病，檢測所有相關基因。	32 種 Human 訊息路徑和疾病，附上詳細基因資訊。
CRISPR transcriptional activation SAM library	SAM	針對 Human or Mouse 的所有基因做 SAM，一次篩選出影響細胞特性的基因。	針對 protein-coding genes，同時附上 non-targeting gRNA (作為 control)。

* GenScript 亦提供全客製化 CRISPR Library 建構，歡迎來電詢問！

CRISPR Knockin 專用 ssDNA

✓ 應用：

使用於基因置入 (knockin)，比 Plasmid DNA 和 dsDNA 效率更高且毒性較低。

✓ 優點：

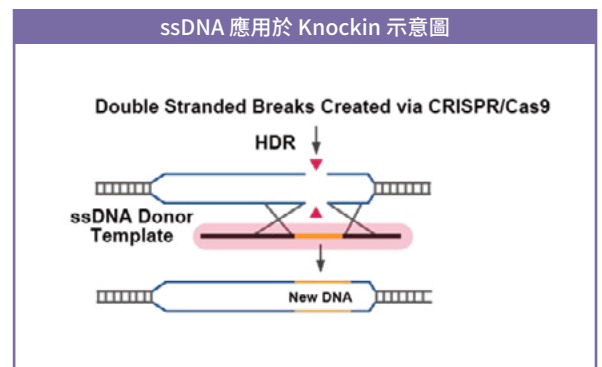
- (1) 兩輪定序確保序列 100% 正確
- (2) 低化學物質殘留，直接實驗不害怕
- (3) 無 dsDNA 汙染 & DNA base damage
- (4) 專業合成技術可到 5000 nt (需評估序列)

✓ 客戶提供：

- (1) ssDNA 序列
- (2) 產量

✓ 出貨規格：

- (1) 凍乾 ssDNA
- (2) 定序報告
- (3) 純度測試報告 (by gel electrophoresis)



※ Plasmid DNA, dsDNA, ssDNA 當作 Knockin HDR donor 特性比較：

Knockin donor	Plasmid DNA	dsDNA	ssDNA
方便性	+++	++	+
HDR 效率	++	+++	+++++
Off-target 機率	++	+++	+
毒性	+++	+++	+

勝！