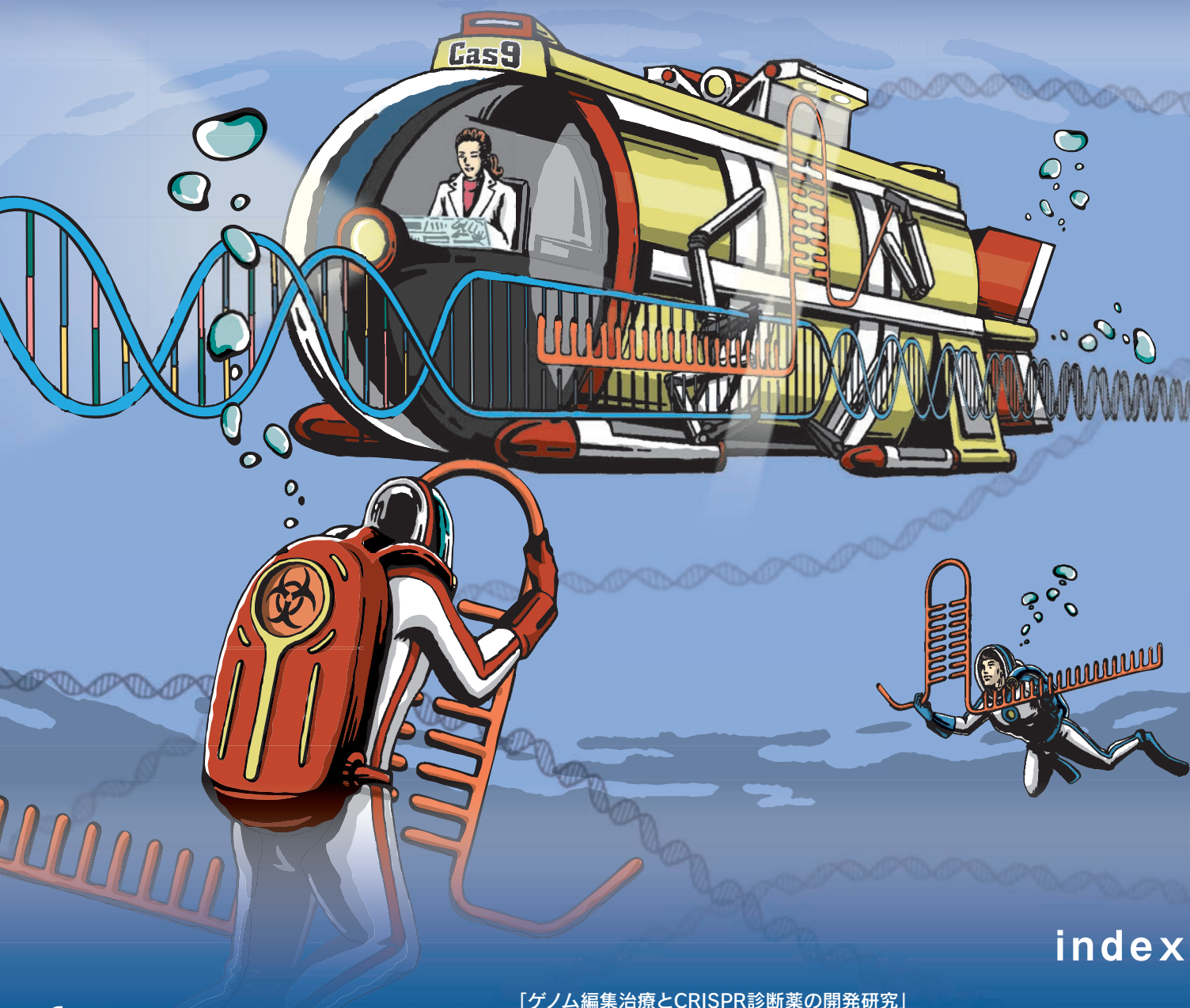


ゲノム編集

2020

Genome editing



index

「ゲノム編集治療とCRISPR診断薬の開発研究」

真下知士 教授 (東京大学) … p.2~3

遺伝子ノックインのドナーDNAとして使用できるssDNA調製キット …… p.26

各種細胞株のゲノム編集受託サービス …………… p.39

ゲノム編集治療と CRISPR 診断薬の開発研究

真下 知士 教授

Tomoji Mashimo

東京大学医科学研究所

実験動物研究施設 先進動物ゲノム研究分野/システム疾患モデル研究センター ゲノム編集研究分野
Division of Animal Genetics, Laboratory Animal Research Center / Division of Genome Engineering, Center for Experimental Medicine and Systems Biology, Institute of Medical Science, the University of Tokyo

ゲノム編集基盤技術の新展開

ゲノム編集治療に利用するための新しいゲノム編集ツール開発が世界中で進められている。2012年 CRISPR-Cas9 の登場から、CRISPR-Cas12a (Cpf1), RNA 編集ツール CRISPR-Cas13¹, 半分ほどのタンパク質サイズの小型 CRISPR-Cas14² などが次々と開発された。我々はタイプ I に属する CRISPR-Cas3³ を開発し、オフターゲット変異が少ない国産のゲノム編集ツールとして研究開発を進めている。

「CRISPR」「iPS 細胞」「ES 細胞」のキーワードで過去 20 年程の論文数を調べるとその特徴が見えてくる。ES 細胞は 1981 年に初めて開発されて以来、細胞分化、多能性などの基礎研究から遺伝子改変マウス作製、再生医療研究まで様々な分野で利用されてきた。2006 年に山中教授らによって開発された iPS 細胞は、今まさに創薬や再生医療への応用が始まっている。その iPS 細胞の論文数を上回る勢いで利用されているのが、CRISPR ゲノム編集である (図 1)。様々なヒト疾患の遺伝子治療に利用され、安全性の高いゲノム編集基盤ツールが求められている。

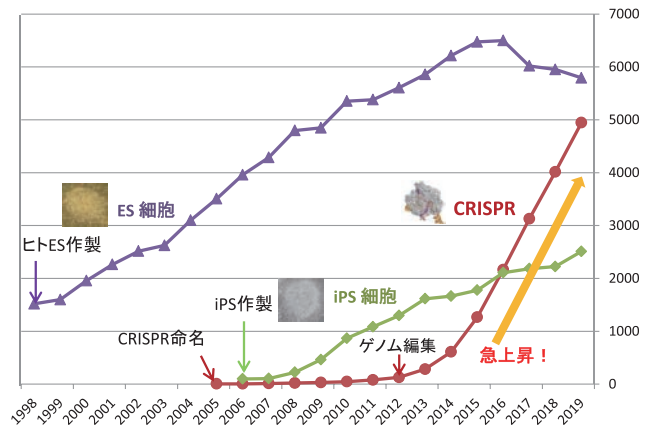


図 1 CRISPR, iPS 細胞, ES 細胞の PubMed 論文数の比較。ゲノム編集 CRISPR の論文が急激に増えている。

ますます進むゲノム編集治療

現在の遺伝子治療は、染色体 DNA を改変するのではなく、AAV ベクターなどで正常遺伝子を補充する方法が一般的である。ゲノム編集は染色体の遺伝子自体を改変する。生殖細胞でのゲノム編集は倫理的にハードルが高く、現時点でのゲノム編集治療は、ゲノム編集した細胞を体内に戻す 'ex vivo 治療' と、体内でゲノム編集を行う 'in vivo 治療' に分けられる (図 2)。

ex vivo 治療としては、HIV 感染症の治療、キメラ抗原レセプター T 細胞 (CAR-T) 療法、鎌状赤血球症や β サラセミア疾患などその利用がどんどん広がっている。

in vivo 治療としては、血友病やムコ多糖症などの先天性遺伝性疾患に対する臨床試験が始まっている。モデル動物研究では Duchenne 型筋ジストロフィー (DMD), レーバー先天性黒内障 (LCA) など、多数の疾患でその治療効果が認められている。一方で、in vivo 治療の最も懸念される点として、オフターゲットの課題が挙げられる。ゲノムに欠失変異を入れず、より安全性の高い Target-AID や Base Editor などの一塩基置換ツールも、一塩基置換配列の改良、安全性の向上が進んでいる。さらに、逆転写酵素と長い guide RNA を利用することで、一塩基置換だけでなく数十塩基編集も可能にした 'Prime Editor' ゲノム編集ツールの利用が期待されている⁴。

ゲノム編集治療

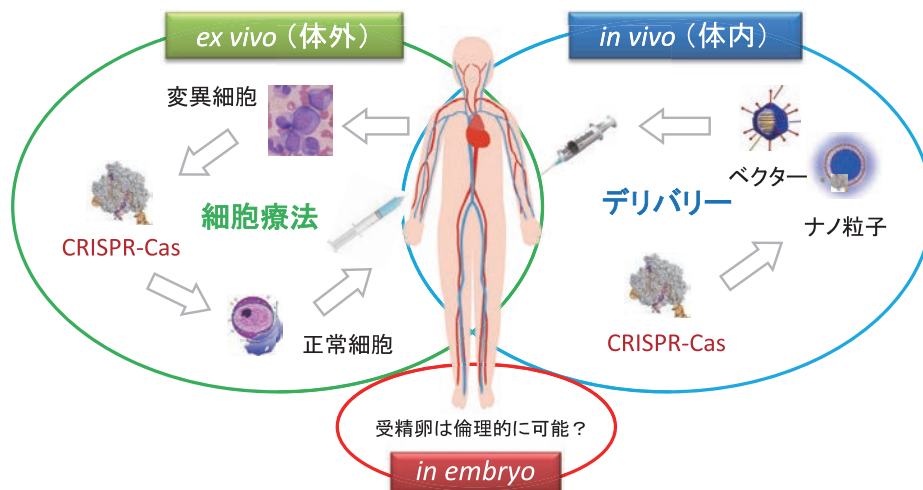


図 2 CRISPR-Cas システムを使ったゲノム編集治療。編集細胞を体内に戻す ex vivo 治療, CRISPR を体内に入れる in vivo 治療, 受精卵 (in embryo) でのゲノム編集研究も進められている。

CRISPR 診断薬の登場

ゲノム編集基盤ツールは、遺伝子治療だけでなく、遺伝子診断薬にも使われようとしている。CRISPR-Cas12a (Cpf1) は、標的とする二本鎖 DNA を切断する際に、近くにある一本鎖 DNA を非特異的に切断する。この特徴を利用して、ウイルス感染者の唾液由来 DNA に、CRISPR と一緒に蛍光レポーター DNA を入れると、PCR 装置を使わずに短期間で簡単にウイルス感染を検出することができる⁵ (図3)。この CRISPR 診断薬は、Cas13 や Cas14 などでも可能であり⁶、米国ではスタートアップ企業 Mammoth Biosciences 社や Sherlock Biosciences 社が立ち上がっている。今、新型コロナウイルスの新しい迅速診断方法として、CRISPR 診断薬が注目を集めている。

CRISPR-Cas9, Cas12, Cas13, Cas14, そして Cas3 などに加えて、さらなる新しいゲノム編集ツールや、それらのツールを使った新しいゲノム編集治療および CRISPR 診断薬の開発が期待されている。

CRISPR 診断薬

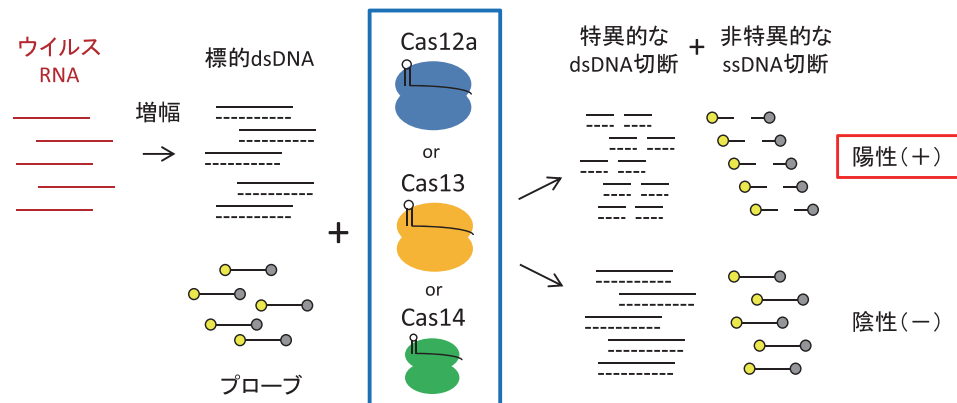


図3 CRISPR は標的二本鎖 DNA を切断する際、非特異的に近くの本鎖 DNA を切断する。この原理を利用した CRISPR 診断薬が開発されている。

参考文献

1. Abudayyeh, O. O., et al. *Nature*, **550** (7675), 280~284 (2017). [PMID: 28976959]
2. Harrington, L. B., et al. *Science*, **362** (6416), 839~842 (2018). [PMID: 30337455]
3. Morisaka, H., et al. *Nat. Commun.*, **10** (1), 5302 (2019). [PMID: 31811138]
4. Anzalone, A. V., et al. *Nature*, **576** (7785), 149~157 (2019). [PMID: 31634902]
5. Chen, J. S., et al. *Science*, **360** (6387), 436~439 (2018). [PMID: 29449511]
6. Gootenberg, J. S., et al. *Science*, **356** (6336), 438~442 (2017). [PMID: 28408723]



東京大学医科学研究所 ラボの皆様 (後列 中央が真下先生)



大阪大学発バイオベンチャー企業 C4U 株式会社の皆様

NOTE

- ※本紙に記載されている価格は、2020年5月15日現在です。表示価格に、消費税等は含まれていません。一部価格が予告なく変更される場合がありますので、あらかじめご了承ください。
- ※本紙に掲載されている製品は研究用です。医薬品、診断用医薬品、食品、食品検査等の用途には使用できません。
- ※**カルタヘナ**印の製品は、「遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物の多様性の確保に関する法律(通称:カルタヘナ法)」使用規制対象となりますので、ご使用に際しては規制に則し、適切にお取り扱い下さい。
- ※**要種**印の製品は、取り扱いに厳重な注意を要する製品であり、ご購入時に「使用目的確約書」が必要になります。ご注文の際は、「使用目的確約書」に直筆でご記入の上、販売店経由で当社までお送り下さい。確約書受領後に製品を発送させていただきます。また、これらの製品をご購入後は、鍵の掛かる場所での保管をお願いいたします。
- ※**毒劇**印の製品は、「毒物及び劇物取締法」に基づく医薬用外毒劇物です。法規制に従って、保管、廃棄等して下さい。
- ※**X**印の製品は、毒性があるため、取り扱いに注意または厳重な注意が必要です。製品は、鍵の掛かる場所に保管して下さい。添付されているデータシートや商品ラベルをよくお読み下さい。
- ※**△**印の製品には安全にご利用いただくための警告ラベルが貼られています。表示に従って安全対策を実施して下さい。

- ※**液室**印は、液体窒素中での保存を要する製品です。ドライアイス包装で配送していますが、製品到着後、直ちに液体窒素中で保存して下さい。
- ※**-80C**印は、-80℃での保存を要する製品です。ドライアイス包装で配送していますが、製品到着後、直ちに-80℃のフリーザー等に保存して下さい。
- ※#以下の英数字は、商品コードを示します。
- ※**外観**・仕様は改善のため、予告なく変更することがあります。
- ※R&D Systems はテクネ コーポレイションの登録商標です。
- ※使用に当たっては同社の許可が必要な場合があります。
- ※© 2020 American Type Culture Collection. The ATCC trademark and trade name, and any other trademarks listed in this publication are trademarks owned by the American Type Culture Collection unless indicated otherwise.
- ※記載されている会社および商品名は、各社の商標または登録商標です。
- ※本紙には各メーカーから提供された画像・図表が掲載されています。なお、画像・図表の著作権は各メーカーが保有しています。
- ※ご注文の際は、【品名、メーカー、商品コード、包装、数量】をお知らせ下さい。

ゲノム編集 2020

ページ

Cas9

Cas9 発現プラスミドベクター/Cas9 mRNA/Cas9 タンパク質	6
Cas9 を発現するレンチウイルスベクター	7
Cas9 と guide RNA 発現レンチウイルスベクター	8
Cas9 と guide RNA を同時発現できるプラスミドベクター	9
Cas9 と sgRNA を同時発現できるレンチウイルスベクター	10~11
SaCas9 を発現するアデノ随伴ウイルスベクター (AAV)	12
Cas9 発現 mRNA	12



Cas9 をコードする mRNA です。Cas9 を RNA の状態で細胞にトランスフェクションするため免疫原性が低く、またタンパク質発現までの時間が短いため、速やかにゲノム編集できます。

guide RNA

デザイン済みの guide RNA 発現用レンチウイルスベクター	13
デザイン済み化学合成 crRNA / tracrRNA	14
デザイン済み化学合成 sgRNA NEW	15
guide RNA の設計オンラインツール	16
guide RNA 作製キット	16
guide RNA のクローニングキット	17
マルチガイドの合成 sgRNA ライブラリー NEW	17
CRISPR-Cas9 Screening Library	18~19
sgRNA 合成受託サービス	20~21

horizon
INSPIRED CELL SOLUTIONS

ハイスループットなゲノム編集が可能な、プール化 sgRNA またはアレイ化 crRNA です。遺伝子ノックアウト効率と特異性の高いデザイン済み guide RNA でライブラリー化されています。

ドナー DNA

一本鎖 DNA 合成受託サービス NEW	25
長鎖一本鎖 DNA の調製キット	26
長鎖一本鎖 DNA 専用ゲル抽出キット	27
ノックアウト/ノックイン/編集用ドナーベクター	28~29
相同組換え用ドナーベクター	30
ドナー DNA の設計オンラインツール	31
ノックイン用ドナープラスミド構築キット	31

**BioDynamics
Laboratory Inc.**

高い純度で正確な配列を有する長鎖の一本鎖 DNA (ssDNA) を簡単に調製できます！

細胞への導入

細胞毒性が低く抑えられたトランスフェクション試薬	32
Cas9 タンパク質/guide RNA の導入専用トランスフェクション試薬	33
プラスミド DNA のトランスフェクション試薬	33
CRISPR-Cas9 を導入するトランスフェクション試薬	34
容量可変型オートインジェクター Nanoject	34

ゲノム編集の確認

Cas9 用プライマーのセット	35
Cas9 タンパク質定量用 ELISA キット	35
抗 Cas9 抗体	35
一塩基違いを PCR で検出できるポリメラーゼ	36
キャピラリー式電気泳動装置 Qsep100 / Qsep1	36
外来 DNA の挿入位置解析受託サービス	37

受託サービス

遺伝子改変マウス作製受託サービス	38
遺伝子改変細胞株の作製受託サービス	38
各種細胞のゲノム編集受託サービス NEW	39
iPS 細胞のゲノム編集受託サービス NEW	39
FRONTIERS	40

FRONTIERS

SYNTHEGO

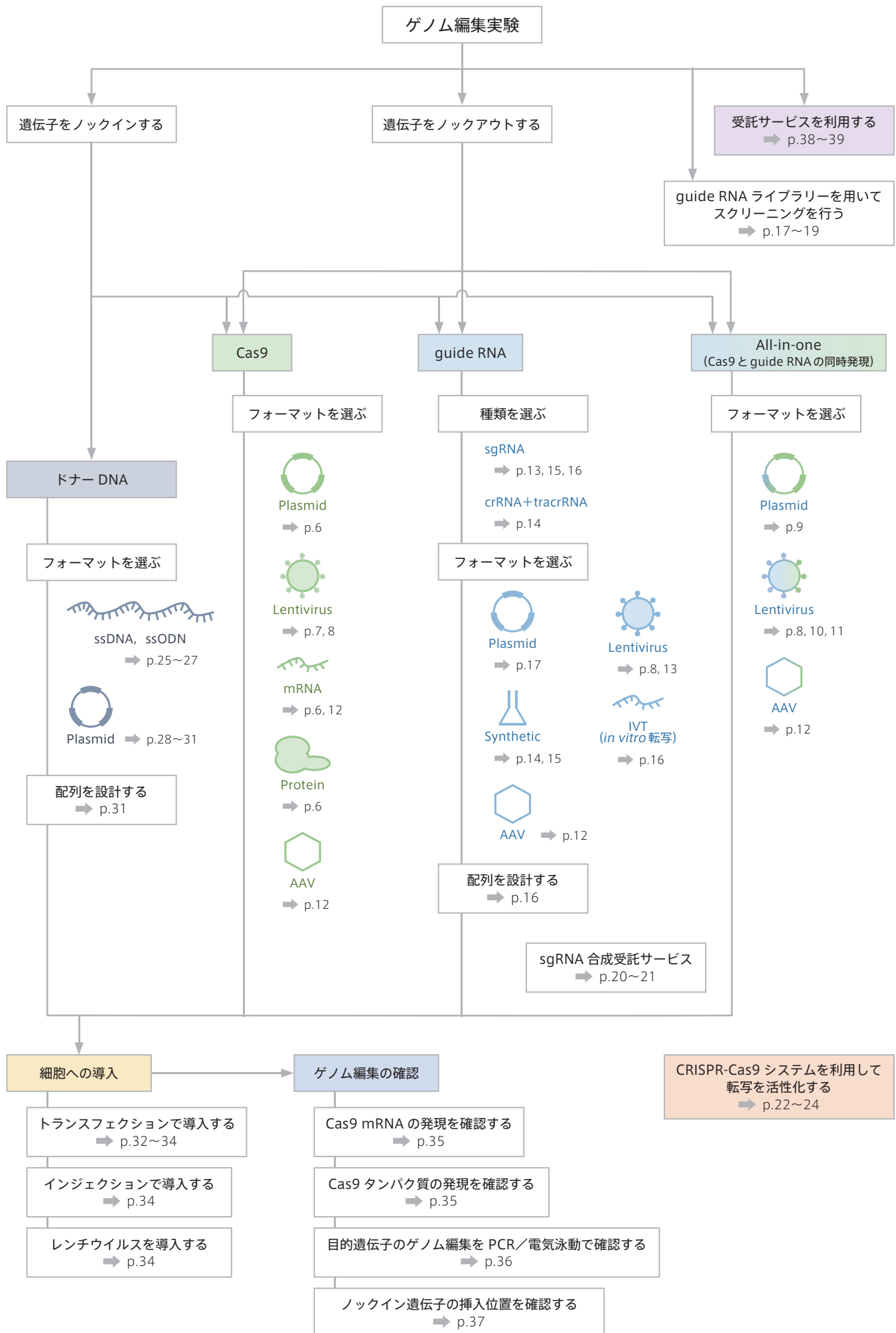
バイオインフォマティクスに強みを持つゲノム編集のエキスパートである Synthego 社に、ゲノム編集技術サービスについてお話を伺いました。

CRISPR-Cas9 を利用した転写活性化システム

Edit-R CRISPR activation (CRISPRa) System	22~23
SAM 転写活性化システム用化学合成 tracrRNA	24

Horizon Discovery 社 Dharmacon 製品のご注文方法	24
研究室のフナコさん	37

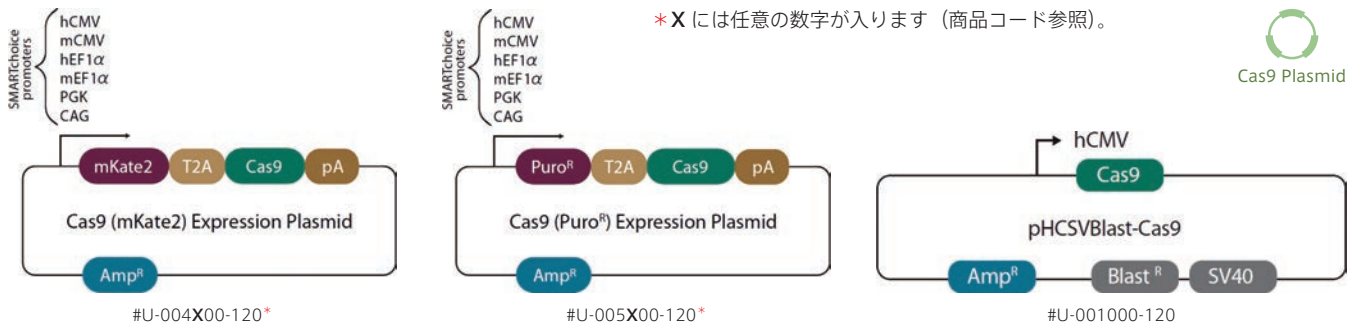
ゲノム編集製品 選択ガイド



Cas9 発現プラスミドベクター/Cas9 mRNA/Cas9 タンパク質

Edit-R Cas9 Expression Plasmid
Cas9 Nuclease mRNA
Cas9 Nuclease Protein NLS

Cas9 ヌクレアーゼ発現用プラスミド



[メーカー : DHA]

品名	Cas9		マーカー/レポーター		商品コード	包装	価格 (¥)
	プロモーター	発現	プロモーター	発現			
Edit-R hCMV-mKate2-Cas9 Expression Plasmid DNA	T2A	hspCas9*	hCMV	mKate2	U-004100-120	120 µg	35,900
Edit-R mCMV-mKate2-Cas9 Expression Plasmid DNA			mCMV	mKate2	U-004200-120	120 µg	35,900
Edit-R hEF1α-mKate2-Cas9 Expression Plasmid DNA			hEF1α	mKate2	U-004300-120	120 µg	35,900
Edit-R mEF1α-mKate2-Cas9 Expression Plasmid DNA			mEF1α	mKate2	U-004400-120	120 µg	35,900
Edit-R PGK-mKate2-Cas9 Expression Plasmid DNA			PGK	mKate2	U-004500-120	120 µg	35,900
Edit-R CAG-mKate2-Cas9 Expression Plasmid DNA			CAG	mKate2	U-004600-120	120 µg	35,900
Edit-R hCMV-PuroR-Cas9 Expression Plasmid DNA	T2A	hspCas9*	hCMV	Puro ^R	U-005100-120	120 µg	35,900
Edit-R mCMV-PuroR-Cas9 Expression Plasmid DNA			mCMV	Puro ^R	U-005200-120	120 µg	35,900
Edit-R hEF1α-PuroR-Cas9 Expression Plasmid DNA			hEF1α	Puro ^R	U-005300-120	120 µg	35,900
Edit-R mEF1α-PuroR-Cas9 Expression Plasmid DNA			mEF1α	Puro ^R	U-005400-120	120 µg	35,900
Edit-R PGK-PuroR-Cas9 Expression Plasmid DNA			PGK	Puro ^R	U-005500-120	120 µg	35,900
Edit-R CAG-PuroR-Cas9 Expression Plasmid DNA			CAG	Puro ^R	U-005600-120	120 µg	35,900
Edit-R CRISPR-Cas9 Nuclease Expression Plasmid	hCMV	hspCas9*	SV40	Blast ^R	U-001000-120	120 µg	35,900

Cas9 ヌクレアーゼ mRNA

- 5' および 3' の両方において核局在化シグナルをコードします。5' キャップおよび 3' ポリ A 鎖を持つ安定な RNA 分子です。
- 蛍光レポーター (mKate2 あるいは EGFP) と Cas9 ヌクレアーゼの同時発現が可能な製品もあります。ゲノム編集された細胞の濃縮が可能です。
- 製品形態 : 溶液 (1 µg/µl)



[メーカー : DHA]

品名	Cas9	レポーター	商品コード	包装	価格 (¥)
Edit-R Cas9 Nuclease mRNA	hspCas9*	なし	CAS11195 -80°C	20 µg	73,700
Edit-R mKate2 Cas9 Nuclease mRNA		mKate2	CAS11859 -80°C	20 µg	73,700
Edit-R EGFP Cas9 Nuclease mRNA		EGFP	CAS11860 -80°C	20 µg	73,700

Cas9 ヌクレアーゼタンパク質

- N 末端に 6×His タグ, C 末端に Simian virus 40 (SV40) の核局在化シグナルを持ちます。細胞に導入されると速やかにゲノム編集を行い, また一過的な発現にとどまるためオフターゲット切断のリスクが低減できます。
- 製品形態 : 溶液 (グリセロール含有)



[メーカー : DHA]

品名	Cas9	濃度	商品コード	包装	価格 (¥)
Edit-R Cas9 Nuclease Protein NLS	組換え体 spCas9 産生 : 大腸菌	20 µM	CAS11728	250 pmol	17,900
			CAS11200	500 pmol	32,300
			CAS11201	1,000 pmol	57,500
			CAS11729	500 pmol	39,500
			CAS11730	1,000 pmol	70,100

* ヒト用にコドンが最適化されています。

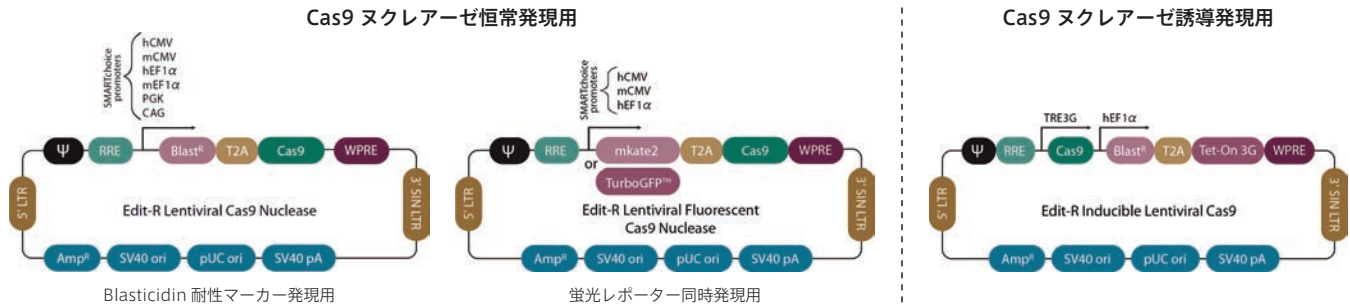
Cas9 発現レンチウイルスベクター

Edit-R Cas9 Lentiviral Particles / Plasmid DNA



Cas9 Lentivirus

Cas9 ヌクレアーゼ発現用レンチウイルス粒子と、その元になるベクター^{*1}です。恒常的または誘導的に発現させるタイプがあります。トランスフェクションが困難な細胞に有用です。



Cas9 ヌクレアーゼ恒常発現用

[メーカー：DHA]

品名	製品形態	Cas9		マーカー/レポーター		商品コード	包装	価格(¥)
		プロモーター	発現	プロモーター	発現			
Edit-R Lentiviral Blast-Cas9 Nuclease Plasmid DNA	Plasmid DNA ^{*1}	T2A	hspCas9 ^{*2}	hCMV	Blast ^R	CAS10136	10 µg	55,700
				mCMV	Blast ^R	CAS10137	10 µg	55,700
				hEF1α	Blast ^R	CAS10138	10 µg	55,700
				mEF1α	Blast ^R	CAS10139	10 µg	55,700
				PGK	Blast ^R	CAS10140	10 µg	55,700
				CAG	Blast ^R	CAS10141	10 µg	55,700
Edit-R Lentiviral mKate2-Cas9 Nuclease Plasmid DNA	Plasmid DNA ^{*1}	T2A	hspCas9 ^{*2}	hCMV	mKate2	CAS11877	10 µg	55,700
				mCMV	mKate2	CAS11871	10 µg	55,700
				hEF1α	mKate2	CAS11873	10 µg	55,700
Edit-R Lentiviral TurboGFP-Cas9 Nuclease Plasmid DNA	Plasmid DNA ^{*1}	T2A	hspCas9 ^{*2}	hCMV	TurboGFP	CAS11876	10 µg	55,700
				mCMV	TurboGFP	CAS11870	10 µg	55,700
				hEF1α	TurboGFP	CAS11872	10 µg	55,700
Edit-R Lentiviral Blast-Cas9 Nuclease Particles	Particles (10 ⁷ TU/ml)	T2A	hspCas9 ^{*2}	hCMV	Blast ^R	VCAS10124	50 µl	111,500
				mCMV	Blast ^R	VCAS10125	50 µl	111,500
				hEF1α	Blast ^R	VCAS10126	50 µl	111,500
				mEF1α	Blast ^R	VCAS10127	50 µl	111,500
				PGK	Blast ^R	VCAS10128	50 µl	111,500
				CAG	Blast ^R	VCAS10129	50 µl	111,500
Edit-R Lentiviral mKate2-Cas9 Nuclease Particles	Particles (10 ⁷ TU/ml)	T2A	hspCas9 ^{*2}	hCMV	mKate2	VCAS11869	50 µl	111,500
				mCMV	mKate2	VCAS11863	50 µl	111,500
				hEF1α	mKate2	VCAS11865	50 µl	111,500
Edit-R Lentiviral TurboGFP-Cas9 Nuclease Particles	Particles (10 ⁷ TU/ml)	T2A	hspCas9 ^{*2}	hCMV	TurboGFP	VCAS11868	50 µl	111,500
				mCMV	TurboGFP	VCAS11862	50 µl	111,500
				hEF1α	TurboGFP	VCAS11864	50 µl	111,500

Cas9 ヌクレアーゼ誘導発現用

[メーカー：DHA]

- 「任意の時期までゲノム編集を起こさせたくない」「必要な時だけ Cas9 を発現させたい」「ゲノム編集後は Cas9 産生を抑制したい」場合に有用です。
- テトラサイクリン誘導系である Tet-On 3G システムを採用しており、より厳密に制御された誘導的ゲノム編集が可能です。

品名	製品形態	Cas9		マーカー/レポーター		商品コード	包装	価格(¥)
		プロモーター	発現	プロモーター	発現			
Edit-R Inducible Lentiviral hEF1a-Blast-Cas9 Nuclease	Plasmid DNA ^{*1}	TRE3G	hspCas9 ^{*2}	hEF1α	Blast ^R	CAS11229	10 µg	64,700
	Particles (10 ⁷ TU/ml)	TRE3G	hspCas9 ^{*2}	hEF1α	Blast ^R	VCAS11227	50 µl	129,500

*1 レンチウイルス粒子へのパッケージングが必要です。

*2 ヒト用にコドンが最適化されています。

※TRE3G : Doxycycline 誘導性プロモーター

※TurboGFP は Evrogen Inc. の商標です。



組換え体レンチウイルスの
作製受託サービス

65637



Web ページ番号

53108



Cas9 と guide RNA 発現レンチウイルスベクター Lentiviral CRISPR / Cas9 System

任意の guide RNA を導入し、Cas9 (野生型または変異型) と guide RNA を発現するレンチウイルスベクターです。

All-in-one システム (Cas9, guide RNA 同時発現用)



[メーカー: SBI]

品名	Cas9		マーカー/レポーター		商品コード	包装	価格(¥)
	プロモーター	発現*1	プロモーター	発現			
All-in-one SmartNuclease Lentivector Plasmid*2 • Linearized format (ライゲーション 10 反応分)	CMV	野生型 hspCas9	T2A	Puro ^R	CASLV300PA-1	1 kit	131,000
	MSCV		T2A	Puro ^R	CASLV320PA-1	1 kit	131,000
	CMV	変異型 (D10A) hspCas9, Nickase	T2A	Puro ^R	CASLV400PA-1	1 kit	131,000
	MSCV		T2A	Puro ^R	CASLV420PA-1	1 kit	131,000

■セーフハーバーノックイン用

遺伝子が挿入されても表現型への影響がない AAVS1 Safe Harbor Site に対する guide RNA と、Cas9 が組み込み済みです。

[メーカー: SBI]

品名	製品形態	Cas9		guide RNA の標的	マーカー/レポーター		商品コード	包装	価格(¥)
		プロモーター	発現*1		プロモーター	発現			
All-in-one Cas9 SmartNuclease AAVS1 Targeting Lentivector	Plasmid*2	CMV	野生型 hspCas9	AAVS1	T2A	Puro ^R	CASLV601PA-1	10 µg	168,000
	Particles*3						CASLV601VA-1 -80°C カルタヘナ	2×25 µl	112,000

Cas9 発現用



[メーカー: SBI]

品名	Cas9		マーカー/レポーター		商品コード	包装	価格(¥)
	プロモーター	発現*1	プロモーター	発現			
SmartNuclease / SmartNickase Lentivector Plasmid*2 • ケミカルコンピテントセルで増殖可能	CMV	野生型 hspCas9	T2A	Puro ^R	CASLV100PA-1	10 µg	112,000
	MSCV		T2A	Puro ^R	CASLV120PA-1	10 µg	112,000
	CMV		EF1α	copGFP	CASLV105PA-1	10 µg	112,000
	MSCV		EF1α	copGFP	CASLV125PA-1	10 µg	112,000
	CMV	変異型 (D10A) hspCas9, Nickase	T2A	Puro ^R	CASLV200PA-1	10 µg	112,000
	MSCV		T2A	Puro ^R	CASLV220PA-1	10 µg	112,000
	CMV		EF1α	copGFP	CASLV205PA-1	10 µg	112,000
	MSCV		EF1α	copGFP	CASLV225PA-1	10 µg	112,000
SmartNuclease / SmartNickase Pre-packaged Lentiviral Particles*3 -80°C カルタヘナ • パッケージング済みのレンチウイルス >10 ⁷ IFUs/ml, >10 ⁶ infectious units total	CMV	野生型 hspCas9	T2A	Puro ^R	CASLV100VA-1	2×25 µl	112,000
	MSCV		T2A	Puro ^R	CASLV120VA-1	2×25 µl	112,000
	CMV		EF1α	copGFP	CASLV105VA-1	2×25 µl	112,000
	MSCV		EF1α	copGFP	CASLV125VA-1	2×25 µl	112,000
	CMV	変異型 (D10A) hspCas9, Nickase	T2A	Puro ^R	CASLV200VA-1	2×25 µl	112,000
	MSCV		T2A	Puro ^R	CASLV220VA-1	2×25 µl	112,000
	CMV		EF1α	copGFP	CASLV205VA-1	2×25 µl	112,000
	MSCV		EF1α	copGFP	CASLV225VA-1	2×25 µl	112,000

guide RNA 発現用



[メーカー: SBI]

品名	guide RNA プロモーター	プロモーター	マーカー/ レポーター	商品コード	包装	価格(¥)
gRNA linearized SmartNuclease Lentivector Plasmid*2 • Linearized format (ライゲーション 10 反応分)	H1	EF1α	Blast ^R	CASLV500PA-B	1 kit	112,000
	H1	EF1α	copGFP	CASLV501PA-G	1 kit	112,000
	H1	EF1α	RFP	CASLV502PA-R	1 kit	112,000
	U6	EF1α	Blast ^R	CASLV510PA-B	1 kit	112,000
	U6	EF1α	copGFP	CASLV511PA-G	1 kit	112,000
	U6	EF1α	RFP	CASLV512PA-R	1 kit	112,000

*1 ヒト用にコドンが最適化されています。

*2 レンチウイルス粒子へのパッケージングが必要です。

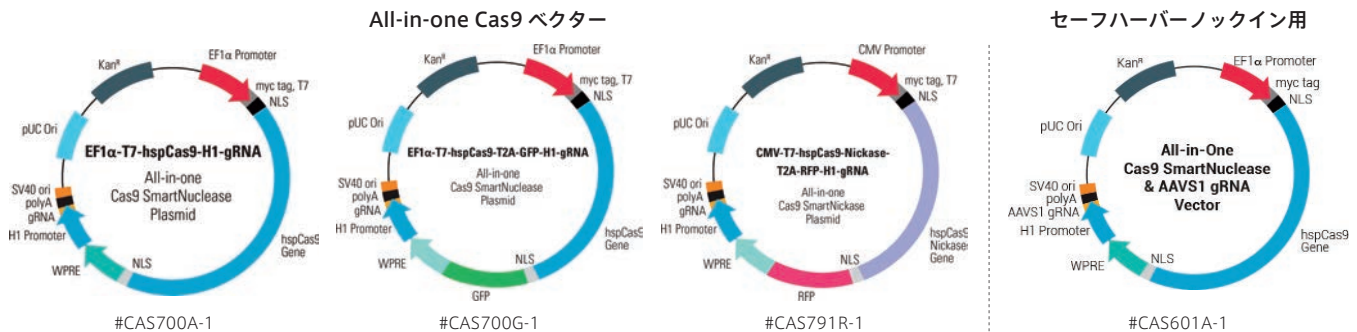
*3 Cas9 発現用レンチウイルス粒子 (#CASLV***VA) はウイルスベクター関連製品のため、購入時にご使用者確認書が必要です。

Cas9 と guide RNA を同時発現できるプラスミドベクター PrecisionX Cas9 SmartNuclease All-in-one Vectors



Cas9+guide RNA Plasmid

任意の guide RNA を導入し、Cas9（野生型または変異型）と guide RNA を 1 つのベクターで発現できます。線状化されているため、ライゲーションが容易です。



特長

- 発現する Cas9 はヒト用にコドン最適化しており、N 末端・C 末端に核局在化シグナル（NLS）が付加されています。
 - Cas9 タンパク質検出用の Myc タグと、遺伝子発現を増加させ mRNA の安定性を高める WPRE 配列を含みます。
 - GFP または RFP タグ付きベクターは、トランスフェクション効率の確認に便利です。
 - 本ベクターへの guide RNA のクローニングには、PrecisionX Multiplex gRNA Cloning Kit がおすすめです（➡ p.17）。
- ※ 相同組換えによるノックアウト/ノックインには、別途 HR ドナーベクター（➡ p.28~29）が必要です。

[メーカー：SBI]

品名	Cas9		レポーター	商品コード	包装	価格(¥)
	プロモーター	発現				
All-in-one Cas9 SmartNuclease Plasmid ● Linearized format (ライゲーション 10 反応分)	EF1α	野生型 hspCas9	なし	CAS700A-1	1 kit	131,000
			GFP	CAS700G-1	1 kit	136,000
			RFP	CAS701R-1	1 kit	136,000
	CAG		なし	CAS720A-1	1 kit	131,000
			GFP	CAS720G-1	1 kit	136,000
			RFP	CAS721R-1	1 kit	136,000
	CMV		なし	CAS740A-1	1 kit	131,000
			GFP	CAS740G-1	1 kit	136,000
			RFP	CAS741R-1	1 kit	136,000
All-in-one Cas9 SmartNickase Plasmid ● Linearized format (ライゲーション 10 反応分)	EF1α	変異型 (D10A) hspCas9, Nickase	なし	CAS750A-1	1 kit	131,000
			GFP	CAS750G-1	1 kit	136,000
			RFP	CAS751R-1	1 kit	136,000
	CAG		なし	CAS770A-1	1 kit	131,000
			GFP	CAS770G-1	1 kit	136,000
			RFP	CAS771R-1	1 kit	136,000
	CMV		なし	CAS790A-1	1 kit	131,000
			GFP	CAS790G-1	1 kit	136,000
			RFP	CAS791R-1	1 kit	136,000

セーフハーバーノックイン用

- 遺伝子が挿入されても表現型への影響がない AAVS1 Safe Harbor Site に対する guide RNA と、Cas9 が組み込み済みです。ドナー DNA と同時にトランスフェクションすることで、Safe Harbor Site に目的遺伝子をノックインできます。

[メーカー：SBI]

品名	Cas9		guide RNA の標的	レポーター	商品コード	包装	価格(¥)
	プロモーター	発現					
All-in-one Cas9 SmartNuclease & AAVS1 gRNA Plasmid	EF1α	野生型 hspCas9	AAVS1	なし	CAS601A-1	10 μg	172,000

変異型 Cas9 (D10A) について

Cas9 タンパク質に D10A アミノ酸変異が生じると、ヌクレアーゼ活性が不活性化し、ニッカーゼ活性を持つようになります。一本鎖のみを切断しニックを入れるため、二本鎖切断による DNA 修復機構 NHEJ（非同末端結合）が起こらず、標的領域以外での遺伝子欠失・挿入やオフターゲット効果を抑制できます。ペアのニックにより、オフターゲット効果が 50~1,500 倍まで減少した例もあります。

MEMO

Cas9 と sgRNA を同時発現できるレンチウイルスベクター Edit-R All-in-one Lentiviral sgRNA

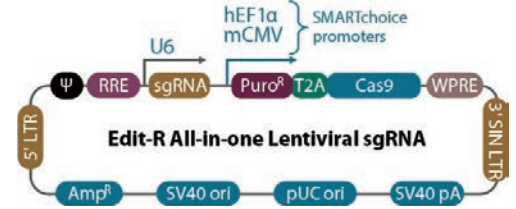


Cas9+guide RNA
Lentivirus

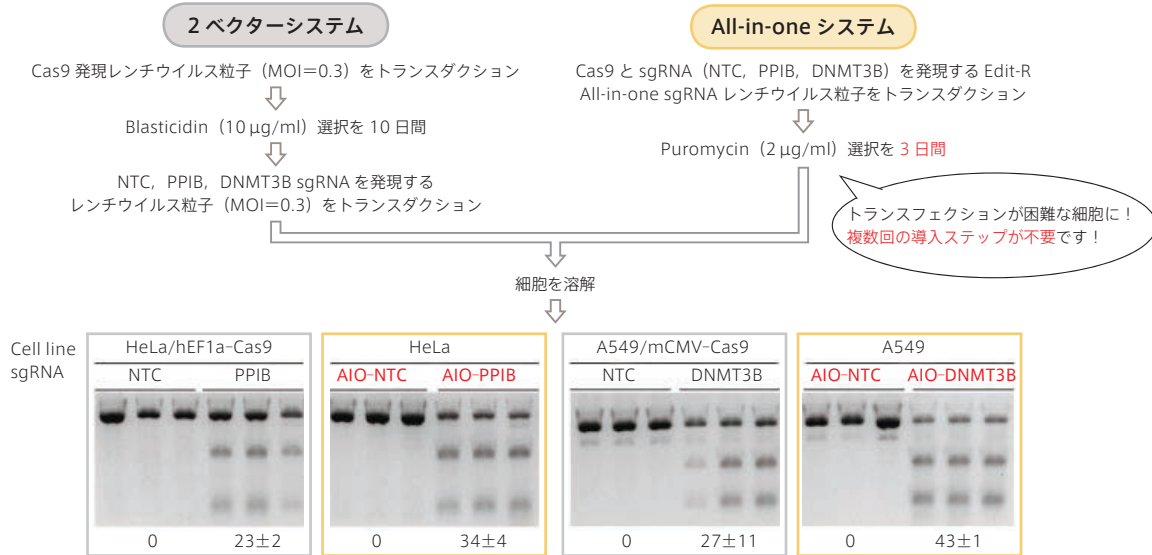
hspCas9 と標的遺伝子に対するデザイン済み guide RNA (sgRNA) を同時発現できるレンチウイルス粒子、およびその元になるレンチウイルスベクターです。

特長

- 独自の配列デザインアルゴリズム (→ p.15) により、遺伝子ノックアウト効率と特異性の高い sgRNA 配列が遺伝子ごとに最大 10 個デザインされています。
- ヒトコドンに最適化済みの spCas9 および Puromycin 耐性遺伝子が組み込まれています。
- Cas9 スクレアーズを発現するプロモーターは mCMV または hEF1α からお選びいただけます。
- Particles : 10⁷ TU/ml



2 ベクターシステムと All-in-one システムの比較



T7EI アッセイ

T7 エンドヌクレアーゼにより DNA ミスマッチを検出することで挿入・欠失を確認した。

※NTC=Non-targeting control, PPIB=Cyclophilin B, DNMT3B=DNA (cytosine-5)-methyltransferase 3B

Edit-R All-in-one Lentiviral sgRNA

- hspCas9 と、ターゲット遺伝子に対する sgRNA を発現するレンチウイルスです。
- 標的遺伝子に対するデザイン済み sgRNA 配列から、お好みの 3 種類を発現するレンチウイルス (3 本) のセット製品 **Set of 3** もあります。

-80°C カルタヘナ [メーカー: DHA]

-80°C カルタヘナ [メーカー: DHA]

Individual				
動物種	製品形態	商品コード	包装	価格 (¥)
Human	Glycerol stock	GSGH11935	1 vial	93,500
	Particles	VSGH11936	100 µl	149,300
	Particles	VSGH11937	200 µl	185,300
Mouse	Glycerol stock	GSGM11941	1 vial	93,500
	Particles	VSGM11942	100 µl	149,300
	Particles	VSGM11943	200 µl	185,300

Set of 3				
動物種	製品形態	商品コード	包装	価格 (¥)
Human	Glycerol stock	GSGH11938	1 vial	241,100
	Particles	VSGH11939	100 µl	370,700
	Particles	VSGH11940	200 µl	406,700
Mouse	Glycerol stock	GSGM11944	1 vial	241,100
	Particles	VSGM11945	100 µl	370,700
	Particles	VSGM11946	200 µl	406,700

※Glycerol stock : Cas9 と sgRNA を発現するレンチウイルスベクターを導入した大腸菌の培養液にグリセロールを加えたもの。レンチウイルス粒子へのパッケージングが必要。

Edit-R All-in-one Lentiviral sgRNA Positive Control

- hspCas9 と、PPIB または DNMT3B をターゲットとする sgRNA を発現する、**ポジティブコントロール用**のレンチウイルスです。

-80℃ カルタヘナ [メーカー：DHA]

動物種	Cas9 発現プロモーター	製品形態	商品コード		包装	価格 (¥)
			PPIB Control	DNMT3B Control		
Human	mCMV	Glycerol stock	GSGH11977	GSGH11973	1 vial	64,700
		Particles	VSGH11978	VSGH11974	50 µl	75,500
Mouse		Glycerol stock	GSGM11985	GSGM11981	1 vial	64,700
		Particles	VSGM11986	VSGM11982	50 µl	75,500
Human	hEF1α	Glycerol stock	GSGH11979	GSGH11975	1 vial	64,700
		Particles	VSGH11980	VSGH11976	50 µl	75,500
Mouse		Glycerol stock	GSGM11987	GSGM11983	1 vial	64,700
		Particles	VSGM11988	VSGM11984	50 µl	75,500

Edit-R All-in-one Lentiviral sgRNA Positive Control Kit

- hspCas9 と、PPIB または DNMT3B をターゲットとする sgRNA を発現する、**ポジティブコントロール用**のレンチウイルスです。DNA 切断を確認するための PCR プライマーが付属しています。

-80℃ カルタヘナ [メーカー：DHA]

動物種	Cas9 発現プロモーター	製品形態	商品コード		包装	価格 (¥)
			PPIB Control	DNMT3B Control		
Human	mCMV	Glycerol stock	GSGH12001	GSGH11997	1 kit	66,500
		Particles	VSGH12002	VSGH11998	1 kit	77,300
Mouse		Glycerol stock	GSGM12009	GSGM12005	1 kit	66,500
		Particles	VSGM12010	VSGM12006	1 kit	77,300
Human	hEF1α	Glycerol stock	GSGH12003	GSGH11999	1 kit	66,500
		Particles	VSGH12004	VSGH12000	1 kit	77,300
Mouse		Glycerol stock	GSGM12011	GSGM12007	1 kit	66,500
		Particles	VSGM12012	VSGM12008	1 kit	77,300

Edit-R All-in-one Lentiviral sgRNA Non-targeting Control

- hspCas9 と、**ネガティブコントロール用**の sgRNA を発現するレンチウイルスです。

-80℃ カルタヘナ [メーカー：DHA]

製品形態	Glycerol stock				Particles		
	プロモーター	商品コード	包装	価格 (¥)	商品コード	包装	価格 (¥)
#1	mCMV	GSGC11953	1 vial	64,700	VSGC11954	50 µl	75,500
	hEF1α	GSGC11963	1 vial	64,700	VSGC11964	50 µl	75,500
#2	mCMV	GSGC11955	1 vial	64,700	VSGC11956	50 µl	75,500
	hEF1α	GSGC11965	1 vial	64,700	VSGC11966	50 µl	75,500
#3	mCMV	GSGC11957	1 vial	64,700	VSGC11958	50 µl	75,500
	hEF1α	GSGC11967	1 vial	64,700	VSGC11968	50 µl	75,500
#4	mCMV	GSGC11959	1 vial	64,700	VSGC11960	50 µl	75,500
	hEF1α	GSGC11969	1 vial	64,700	VSGC11970	50 µl	75,500
#5	mCMV	GSGC11961	1 vial	64,700	VSGC11962	50 µl	75,500
	hEF1α	GSGC11971	1 vial	64,700	VSGC11972	50 µl	75,500

※Glycerol stock : sgRNA を発現するレンチウイルスベクターを導入した大腸菌の培養液にグリセロールを加えたもの。レンチウイルス粒子へのパッケージングが必要。

※PPIB=Cyclophilin B, DNMT3B=DNA (cytosine-5)-methyltransferase 3B



製品は Horizon Discovery 社 Dharmacon 製品の Web サイトにてターゲット遺伝子を検索・指定してオンラインでご注文いただけます。ご注文にはユーザー登録が必要です。初めてご注文されるお客様は、事前に登録をお願いいたします。

ご注文方法の詳細は
Web ページ番号

81062

SaCas9 を発現するアデノ随伴ウイルスベクター AAV Cas9 SmartNuclease Plasmid

SpCas9 よりサイズが小さい, *Staphylococcus aureus* 由来の SaCas9 を発現する AAV ベクターです。 **in vivo 導入に有用** です。

- ※本製品に, ウイルス粒子を産生するためのパッケージングベクターは含まれていません。
- ※SpCas9 と SaCas9 では PAM 配列が異なります。
- ※作製した組換え体 AAV 粒子の濃縮には, AAVanced Concentration Reagent (Web ページ番号 : 63833) がおすすめです。

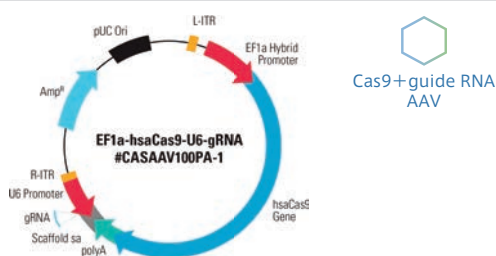
MEMO

saCas9 について

AAV を利用した遺伝子導入において, 効率的にパッケージングを行うためには, AAV ゲノムの 2 つの ITR (Inverted Terminal Repeat) 配列間に挿入する配列が 5 kb 以下である必要があります。そのため, spCas9 ではサイズが大きすぎるという問題点がありますが, spCas9 と同様の効率を持ち, サイズが 1 kb 程度短い *Staphylococcus aureus* 由来の Cas9 (saCas9)¹ は, rAAV ベクターへの挿入が可能です。

1. Ran F. A., et al., *Nature*, **520**: 186~191 (2015). [PMID: 25830891]

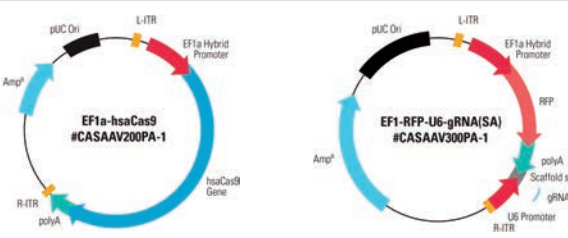
All-in one システム



- SaCas9 と guide RNA を一つのベクターで発現できます。

品名	メーカー	商品コード	包装 / 価格 (¥)
Linearized All-in-one SmartNuclease AAV Plasmid (EF1α-hsaCas9-U6-gRNA (SA)), 10 reactions	SBI	CASAAV100PA-1	1 kit / 131,000

2 ベクターシステム



- SaCas9 と guide RNA を別々に細胞へ導入します。

品名	メーカー	商品コード	包装 / 価格 (¥)
Cas9 Expression Vector for the Two Vector AAV SmartNuclease System (EF1α-hsaCas9 AAV Plasmid)	SBI	CASAAV200PA-1	10 μg / 112,000
gRNA Expression Vector for the Two Vector AAV SmartNuclease System, Linearized AAV Plasmid (EF1α-RFP-U6-gRNA (SA))	SBI	CASAAV300PA-1	1 kit / 112,000

Cas9 発現 mRNA

Transfection-ready Cas9 SmartNuclease mRNA



Cas9 (野生型または変異型) をコードする mRNA です。

Cas9 を RNA の状態で細胞にトランスフェクションするため免疫原性が低く, またタンパク質発現までの時間が短いので, 速やかにゲノム編集が行われます。ES 細胞にも適しています。

- GFP/RFP タグ付き Cas9 mRNA は, トランスフェクション効率の確認に便利です。
- ※変異型 Cas9 (D10A) については, p.9 をご覧ください。
- ※相同組換えによるノックアウト/ノックインには, 別途 HR ドナーベクター (→ p.28~29) が必要です。

[メーカー : SBI]

用途	Cas9	タグ	商品コード	包装	価格 (¥)
真核生物用	野生型 hspCas9	なし	CAS500A-1 -80°C	20 μg	67,000
		GFP	CAS530G-1 -80°C	10 μg	59,000
		RFP	CAS531R-1 -80°C	10 μg	59,000
	変異型 (D10A) hspCas9, Nickase	なし	CAS504A-1 -80°C	20 μg	67,000
		GFP	CAS534G-1 -80°C	10 μg	59,000
		RFP	CAS535R-1 -80°C	10 μg	59,000
コントロール	mRNAExpress GFP transcript	GFP	MR700A-2* -80°C	2×10 μg	57,000
コントロール	mRNAExpress RFP transcript	RFP	MR800A-2* -80°C	2×10 μg	57,000

* 受注発注品

デザイン済みの guide RNA 発現用レンチウイルスベクター Edit-R CRISPR (knockout) Lentiviral sgRNA



ヒト・マウス遺伝子をほぼ完全に網羅したデザイン済み sgRNA 発現用レンチウイルス粒子と、その元になるベクターです。

- 独自の配列デザインアルゴリズム (→ p.15) により、遺伝子ノックアウト効率と特異性の高い sgRNA 配列が遺伝子ごとに最大 10 個デザインされています。
- Particles : 10⁸ TU/ml

Edit-R Predesigned Lentiviral sgRNA

- ターゲット遺伝子に対する sgRNA を発現するレンチウイルスベクターです。
- 標的遺伝子に対するデザイン済み sgRNA 配列から、お好みの 3 種類を発現するレンチウイルス (3 本) のセット製品 **Set of 3** もあります。

-80°C カルタヘナ [メーカー: DNA]

動物種	製品形態	商品コード	包装	価格 (¥)
Individual				
Human	Glycerol stock	GSGH11838	1 vial	82,700
	Particles	VSGH10142	100 µl	140,300
	Particles	VSGH10143	200 µl	176,300
Mouse	Glycerol stock	GSGM11839	1 vial	82,700
	Particles	VSGM10144	100 µl	140,300
	Particles	VSGM10145	200 µl	176,300
Set of 3				
Human	Glycerol stock	GSGH11841	1 set	223,100
	Particles	VSGH10148	100 µl	350,900
	Particles	VSGH10149	200 µl	386,900
Mouse	Glycerol stock	GSGM11842	1 set	223,100
	Particles	VSGM10150	100 µl	350,900
	Particles	VSGM10151	200 µl	386,900

※指定したターゲット遺伝子により、商品コードの末尾に -XXXXXXXX (9 ケタ程度の数字) または -EGXXXXXX (EG の後に 5 ケタ程度の数字) が付きます。

Edit-R Lentiviral sgRNA Non-targeting Control

- ネガティブコントロール sgRNA を発現するレンチウイルスベクターです。

-80°C カルタヘナ [メーカー: DNA]

	製品形態	商品コード	包装	価格 (¥)
#1~#10	Glycerol stock	GSG11811 ~GSG11820	1 vial	55,700
	Particles	VSGC10215 ~VSGC10224	2×25 µl	64,700

※Glycerol stock : sgRNA を発現するレンチウイルスベクターを導入した大腸菌の培養液にグリセロールを加えたもの。レンチウイルス粒子へのパッケージングが必要。



- Puromycin 選別マーカーを搭載しています。

Edit-R Lentiviral sgRNA Positive Control

- PPIB または DNMT3B をターゲットとする **ポジティブコントロール sgRNA** を発現するレンチウイルスベクターです。

-80°C カルタヘナ [メーカー: DNA]

動物種	製品形態	商品コード	包装	価格 (¥)
PPIB Control				
Human	Glycerol stock	GSGH11829	1 vial	55,700
	Particles	VSGH10231	2×25 µl	64,700
Mouse	Glycerol stock	GSGM11833	1 vial	55,700
	Particles	VSGM10233	2×25 µl	64,700
DNMT3B Control				
Human	Glycerol stock	GSGH11826	1 vial	55,700
	Particles	VSGH10230	2×25 µl	64,700
Mouse	Glycerol stock	GSGM11830	1 vial	55,700
	Particles	VSGM10232	2×25 µl	64,700

Edit-R Lentiviral sgRNA Positive Control Kit

- PPIB または DNMT3B をターゲットとする **ポジティブコントロール sgRNA** を発現するレンチウイルスベクターと、DNA 切断を確認するための **PCR プライマーのセット** です。

-80°C カルタヘナ [メーカー: DNA]

動物種	製品形態	商品コード	包装	価格 (¥)
PPIB Control				
Human	Glycerol stock	GSGH11828	1 kit	57,500
	Particles	VSGH11204	1 kit	66,500
Mouse	Glycerol stock	GSGM11832	1 kit	57,500
	Particles	VSGM11206	1 kit	66,500
DNMT3B Control				
Human	Glycerol stock	GSGH11827	1 kit	57,500
	Particles	VSGH11203	1 kit	66,500
Mouse	Glycerol stock	GSGM11831	1 kit	57,500
	Particles	VSGM11205	1 kit	66,500

- ※PPIB=Cyclophilin B
DNMT3B=DNA (cytosine-5)-methyltransferase 3B

Horizon Discovery 社
Dharmacon 製品は
オンラインでご注文いただけます

Web ページ番号

81062



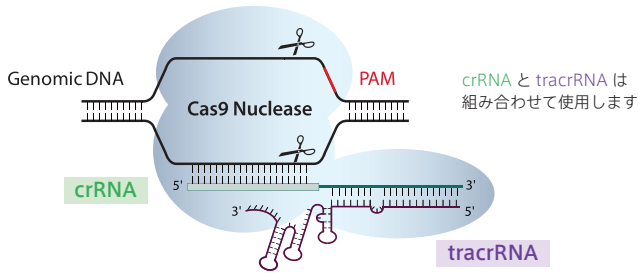
※ユーザー登録が必要です。

デザイン済み化学合成 guide RNA

Edit-R CRISPR(knockout) Synthetic crRNA / Edit-R tracrRNA

Edit-R CRISPR (knockout) Synthetic crRNA

- ヒト・マウスの遺伝子をほぼ完全に網羅したデザイン済み crRNA (化学合成品) です。
- 独自の配列デザインアルゴリズム (→ p.15) により、遺伝子ノックアウト効率と特異性の高い crRNA が遺伝子ごとに最大 5 個デザインされています。
- ヌクレアーゼ耐性修飾が導入されています。


Edit-R crRNA

- ターゲット遺伝子に対する crRNA です。

[メーカー : DHA]

動物種	商品コード	包装	価格 (¥)
Human	CM-HUMAN-XX-0002	2 nmol	17,900
	CM-HUMAN-XX-0010	10 nmol	32,300
	CM-HUMAN-XX-0020	20 nmol	41,300
Mouse	CM-MOUSE-XX-0002	2 nmol	17,900
	CM-MOUSE-XX-0010	10 nmol	32,300
	CM-MOUSE-XX-0020	20 nmol	41,300

※商品コードの XX には、製品ごとに特定の数字が入ります。

Edit-R Synthetic crRNA Control

- PPIB または DNMT3B をターゲットとする、ポジティブコントロール crRNA です。
- DNA 切断を確認するための PCR プライマーが付属したセットもあります。

[メーカー : DHA]

動物種	商品コード		包装	価格 (¥)
	PPIB Control	DNMT3B Control		
Edit-R crRNA Control				
Human	U-007000-01-05	U-007010-01-05	5 nmol	23,300
	U-007000-01-20	U-007010-01-20	20 nmol	34,100
Mouse	U-007100-01-05	U-007110-01-05	5 nmol	23,300
	U-007100-01-20	U-007110-01-20	20 nmol	34,100
Edit-R crRNA Control Kit (PCR プライマー付き)				
Human	UK-007050-01-05	UK-007060-01-05	5 nmol	25,100
	UK-007050-01-20	UK-007060-01-20	20 nmol	35,900
Mouse	UK-007150-01-05	UK-007160-01-05	5 nmol	25,100
	UK-007150-01-20	UK-007160-01-20	20 nmol	35,900

Edit-R Lethal Synthetic crRNA Control

- Cas9 の機能性と crRNA 導入効率のモニター用ポジティブコントロール crRNA です。
- 細胞死を強く誘導する Control #1 と比較的弱く誘導する Control #2 があります。
- 動物種 : Human

[メーカー : DHA]

商品コード		包装	価格 (¥)
Control #1	Control #2		
U-006000-01-05	U-006000-02-05	5 nmol	25,100
U-006000-01-20	U-006000-02-20	20 nmol	35,900
U-006000-01-50	U-006000-02-50	50 nmol	73,700

 Horizon Discovery 社
 Dharmacon 製品は

オンラインでご注文いただけます

※ユーザー登録が必要です。

Web ページ番号

81062



※PPIB=Cyclophilin B

DNMT3B=DNA (cytosine-5)-methyltransferase 3B

Edit-R Synthetic crRNA Non-targeting Control

- ネガティブコントロール crRNA です。

[メーカー : DHA]

商品コード					包装	価格 (¥)
Control #1	Control #2	Control #3	Control #4	Control #5		
U-007501-01-05	U-007502-01-05	U-007503-01-05	U-007504-01-05	U-007505-01-05	5 nmol	23,300
U-007501-01-20	U-007502-01-20	U-007503-01-20	U-007504-01-20	U-007505-01-20	20 nmol	34,100

Edit-R Synthetic tracrRNA

- 公開されている *Streptococcus pyogenes* の tracrRNA 配列¹ を元にした配列を合成後に HPLC で精製した化学合成品です。
- ヌクレアーゼ耐性修飾が導入されています。
- 複数の哺乳動物細胞において効率的なゲノム編集を実現することを確認しています。

[メーカー : DHA]

商品コード	包装	価格 (¥)
U-002005-05	5 nmol	17,900
U-002005-20	20 nmol	39,500
U-002005-50	50 nmol	77,300
U-002005-200	200 nmol	232,100

 1. Jinek, M., et al. *Science*, **337** (6096), 816~821 (2012). [PMID: 22745249]

NEW

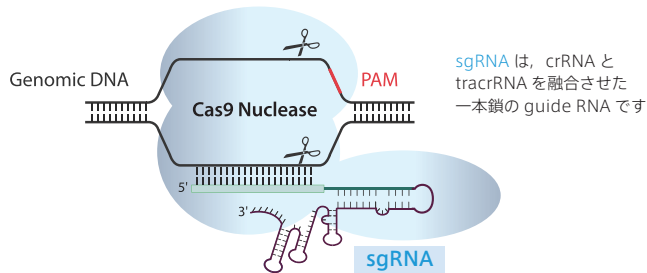
デザイン済み化学合成 guide RNA

Edit-R CRISPR (knockout) Synthetic sgRNA

 Synthetic
guide RNA

Edit-R Synthetic sgRNA

- ヒト遺伝子用のデザイン済み sgRNA で、crRNA と tracrRNA を組み合わせた化学合成による単一の guide RNA です。
- 独自の配列デザインアルゴリズム (下記参照) により、オフターゲットを最小化するようにデザインされています。
- シングルガイドフォーマットのためノックアウト効率が向上し、初代培養細胞や編集の難しい細胞にも使用できます。
- ヌクレアーゼ耐性修飾が導入されています。



Edit-R Synthetic sgRNA

- ターゲット遺伝子に対する sgRNA です。

[メーカー：DHA]

動物種	商品コード	包装	価格 (¥)
Human	SG-HUMAN-XX-0001	1 nmol	35,900
	SG-HUMAN-XX-0003	3 nmol	71,900
	SG-HUMAN-XX-0005	5 nmol	89,900
	SG-HUMAN-XX-0010	10 nmol	107,900

※商品コードの XX には、製品ごとに特定の数字が入ります。

Edit-R Synthetic sgRNA Control

- PPIB または DNMT3B をターゲットとする、ポジティブコントロール sgRNA です。
- DNA 切断を確認するための PCR プライマーが付属したセットもあります。詳細は Web をご覧下さい。

[メーカー：DHA]

動物種	商品コード		包装	価格 (¥)
	PPIB Control	DNMT3B Control		
Human	U-009000-01-01	U-009010-01-01	1 nmol	28,700
	U-009000-01-05	U-009010-01-05	5 nmol	71,900

Edit-R Lethal Synthetic sgRNA Control

- Cas9 の機能性と sgRNA 導入効率のモニター用ポジティブコントロール sgRNA です。

- 動物種：Human

[メーカー：DHA]

商品コード		包装	価格 (¥)
Control #1	Control #2		
U-008000-01-01	U-008000-02-01	1 nmol	28,700
U-008000-01-05	U-008000-02-05	5 nmol	71,900

※PPIB=Cyclophilin B

DNMT3B=DNA (cytosine-5)-methyltransferase 3B

Edit-R Synthetic sgRNA Non-targeting Control

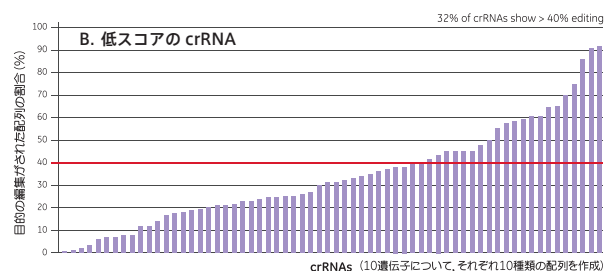
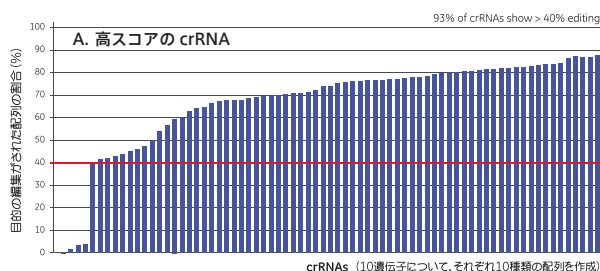
- ネガティブコントロール sgRNA です。

[メーカー：DHA]

商品コード					包装	価格 (¥)
Control #1	Control #2	Control #3	Control #4	Control #5		
U-009501-01-01	U-009502-01-01	U-009503-01-01	U-009504-01-01	U-009505-01-01	1 nmol	28,700
U-009501-01-05	U-009502-01-05	U-009503-01-05	U-009504-01-05	U-009505-01-05	5 nmol	71,900

機能的・特異的な guide RNA をデザインする Edit-R CRISPR アルゴリズム

crRNA 配列選択のためのアルゴリズムは、単なる DNA 二本鎖切断 (DSBs) ではなく、機能ノックアウトを引き起こしやすいと考えられるターゲット領域を認識することが目標です。Horizon Discovery 社 Dharmacon 製品では、1,100 を超える crRNA 配列デザインについて機能的なフェノタイプを評価し、また様々なアッセイで配列デザインを検証することで、効率のよい切断と特異性の高い機能ノックアウトを実現するアルゴリズムを構築しました。



高いアルゴリズムスコアをもつ crRNA は高いゲノム編集効率を実現

- (A) 高スコアの crRNA を 10 遺伝子について 10 種類作成してゲノム編集実験後、編集 (塩基欠失・挿入) されたターゲット配列の割合を次世代シーケンサーを用いて計測した。その結果、93% の crRNA において 40% を超える編集が確認された。
- (B) 低スコアの crRNA では、32% の crRNA しか 40% を超える編集が確認できなかった。
- 以上より、本アルゴリズムによるデザイン済み crRNA および sgRNA を安心してお使いいただけることがわかります (Cas9-HEK293T 細胞を使用)。



guide RNA の設計オンラインツール CRISPR Design Tool

お客様自身で sgRNA または crRNA を設計・注文いただく Horizon Discovery 社のオンラインツールです。生物種・遺伝子情報を入力・指定すると配列が自動的に設計され、Web 上で引き続き注文いただけます。

特長

- 独自の配列デザインアルゴリズム (→ p.15) により、ノックアウト効率が高い guide RNA が簡単に設計できます。
 - 標的遺伝子に対するデザイン済み guide RNA 製品がない場合に有用なインタフェースです。
 - 遺伝子 ID を入力するだけで、40 種類の生物種を対象とした guide RNA のカスタムデザインが可能です。
- ※本ツールを使用せずにお客様自身で配列設計した sgRNA あるいは crRNA 製品をご注文いただくこともできます。

オンラインオーダーの流れ

1. ターゲットとなる遺伝子座を選択する
 - ・ Protein-coding gene locus
 - ・ microRNA locus
 - ・ Long non-coding RNA locus
2. 動物種を選択する (全 40 種類)
3. 標的遺伝子を選択する
4. ナクレアーゼの種類を選択する
 - ・ SpCas9
 - ・ MAD7 (Cas12a)
 - ・ その他
5. CRISPR Design Tool で自動設計された guide RNA から選択する
6. guide RNA のフォーマットを選択する
 - ・ Edit-R Custom Lentiviral sgRNA
 - ・ Edit-R Custom All-in-one Lentiviral sgRNA
 - ・ Edit-R Modified Synthetic sgRNA
 - ・ Edit-R Modified Synthetic crRNA

アクセス方法

Horizon Discovery 社 Dharmacon 製品のウェブサイトへアクセスし、タブから Gene editing > CRISPR guide design tool をクリックして下さい。

また、Web ページ番号 : 65184 からオンラインツールへアクセスできます。

CRISPR guide
design tool ▶



Horizon Discovery 社
Dharmacon 製品は
オンラインでご注文いただけます
※ユーザー登録が必要です。

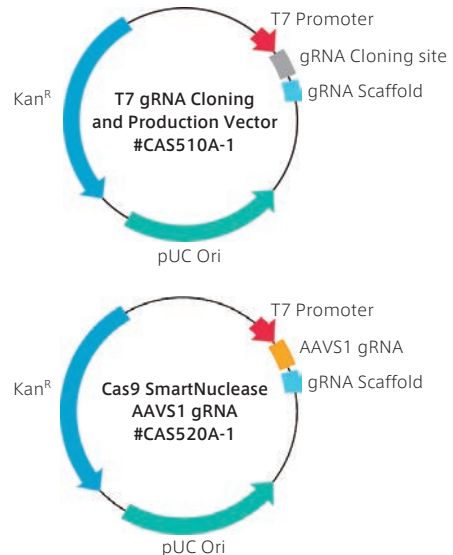
Web ページ番号

81062



guide RNA 作製キット gRNA Vector Kit

任意の guide RNA (crRNA-tracrRNA キメラ転写産物) を組み込んだ T7 gRNA Cloning Vector により、PCR 用または *in vitro* 転写用のテンプレートとして、高効率に guide RNA を作製できます。



- T7 gRNA SmartNuclease Synthesis Kit (#CAS510A-KIT) は、guide RNA 合成に必要なベクターと *in vitro* 転写を行うための試薬をセットにした製品です。

■ *in vitro* 転写 (IVT) による guide RNA の作製ワークフロー (#CAS510A-KIT)

1. 標的配列に対する 2 つの DNA オリゴヌクレオチド (センス鎖とアンチセンス鎖) をデザインする
2. アニールリングし、Duplex を作製する
3. Duplex を付属のベクターにライゲーションする
4. コンピテントセルに形質転換する
5. ダイレクトシーケンスによりポジティブクローンを選ぶ
6. 付属の試薬で IVT を行う

品名	メーカー	商品コード	包装 / 価格 (¥)
Linearized T7 gRNA SmartNuclease Vector Kit	SBI	CAS510A-1	1 kit / 112,000
キット内容 : SmartNuclease linearized T7 gRNA vector, Ligation buffer, Fast ligase, Sequencing primer (5 μM)			
T7 gRNA SmartNuclease Synthesis Kit	SBI	CAS510A-KIT	1 kit / 131,000
キット内容 : Linearized T7 gRNA SmartNuclease Vector Kit (#CAS510A-1), NTP buffer Mix, T7 RNA polymerase mix, T7 gRNA PCR primer mix, DNase I			
Cas9 Protein and T7 gRNA SmartNuclease Synthesis Kit	SBI	CAS400A-KIT -80°C	1 kit / 183,000
キット内容 : Purified Cas9 protein (#CAS400A-1), T7 gRNA SmartNuclease Synthesis Kit (#CAS510A-KIT)			
Transfection-ready Cas9 SmartNuclease AAVS1 gRNA	SBI	CAS520A-1 -80°C	10 μg / 49,000
キット内容 : AAVS1 セーフハーバーサイトを認識するコントロール用 guide RNA			

guide RNA のクローニングキット

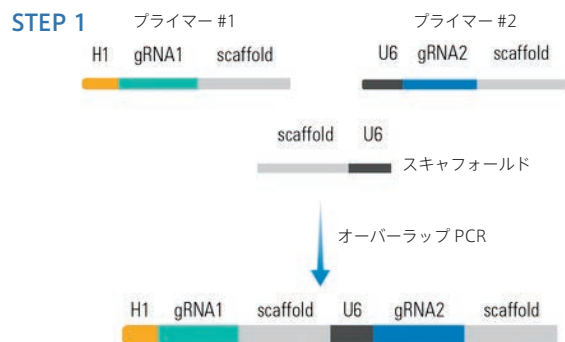
PrecisionX Multiplex gRNA Cloning Kit

guide RNA 発現コンストラクトまたは PrecisionX Cas9 SmartNuclease All-in-one Vectors (→ p.9) に、最大 4 つの guide RNA 配列をクローニングできるキットです。

特長

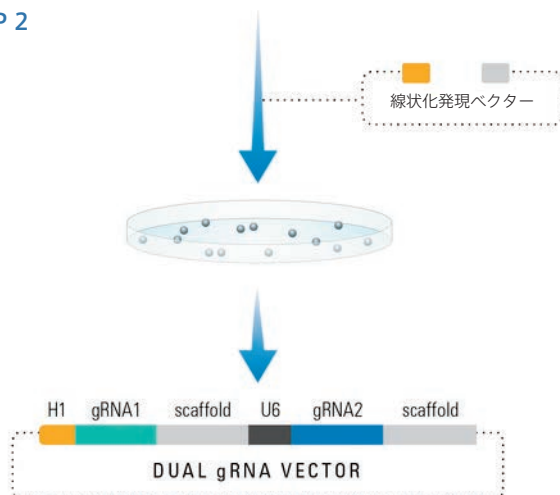
- 1 回のトランスフェクションで複数遺伝子をノックアウトするコンストラクトを作製できます。
- 多くの guide RNA ベクターに対応します。

操作方法概略



作製しようとする guide RNA を含む領域を増幅できるプライマーと、キット由来の scaffold-promoter block を PCR で結合し、両方の guide RNA を含む PCR 産物を作製する。

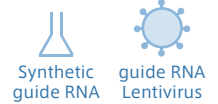
STEP 2



PCR 産物を線状化した発現ベクターと結合させ、細胞にトランスフェクションする。

品名	メーカー 商品コード	包装 / 価格 (¥)
PrecisionX Multiplex gRNA Cloning Kit (10 reactions)	SBI CAS9-GRNA-KIT	1 kit / 67,000
キット内容: Master mix, Linearized vector (positive control), PCR product (positive control), H1 block, U6 block		

多数の遺伝子を標的とする網羅的なノックアウトスクリーニングに CRISPR-Cas9 Screening Library



ハイスループットゲノム編集実験が可能な、プール化 (pooled) sgRNA またはアレイ化 (arrayed) crRNA です。独自の配列デザインアルゴリズム (⇒ p.15) により、遺伝子ノックアウト効率と特異性の高いデザイン済み guide RNA でライブラリー化されています。

ライブラリー選択ガイド

ライブラリー	Edit-R synthetic sgRNA Library Cherry-Pick synthetic sgRNA Library Edit-R CRISPR (knockout) crRNA Library Cherry-Pick CRISPR (knockout) crRNA Library	Edit-R Arrayed Lentiviral sgRNA Library Cherry-Pick CRISPR (Knockout) Lentiviral sgRNA Library	Edit-R Pooled Lentiviral sgRNA Library
製品形態	化学合成 sgRNA あるいは crRNA をマルチウェルプレートに分注して凍結乾燥	sgRNA 発現用レンチウイルスベクターを導入した大腸菌の培養液にグリセロールを加えたものをマルチウェルプレートに分注	sgRNA 発現用レンチウイルス粒子プールをマイクロチューブに分注
細胞への導入方法	・トランスフェクション試薬 ・エレクトロポレーション法	・トランスフェクション試薬 ・エレクトロポレーション法 ・レンチウイルスで導入 (レンチウイルスにパッケージングした場合)	・レンチウイルスで導入
アッセイ方法	1 遺伝子 1 ウェルのレイアウトのため、様々な表現型を測定可能 (表現型の観察に十分なゲノム編集効率を得る必要あり) ・ High Content Analysis, レポーター, 酵素活性解析など		sgRNA を保有する細胞のポピュレーション変化を次世代シーケンサーで測定 ・細胞死または生存率 ・セルソーターによって選択可能 (蛍光または細胞表面マーカーの発現が必要)
スクリーニング実施時間	・遺伝子数が増えるにつれ時間と手間がかかる	・遺伝子数が増えるにつれ時間と手間がかかる ・大腸菌からの sgRNA 発現用レンチウイルスベクターの精製が必要	・相対的に短時間 ・少数の培養器で実験可能
データ解析	表現型は 1 遺伝子 1 ウェルベースで直接解析可能		次世代シーケンサーデータの解析が必要

化学合成 sgRNA ライブラリー

■ Edit-R **synthetic sgRNA** Library

- **デザイン済み**化学合成 sgRNA をアレイ化したライブラリーです。1 遺伝子につき 3 つの sgRNA がプールされています。
- 初代培養細胞を含むすべての細胞種に使用できます。
- ヌクレアーゼ耐性修飾が導入されています。
- ライブラリーラインナップ
Whole Genome, Druggable Genome^{*1}, GPCRs, Ion Channels, Phosphatases, Proteases, Protein Kinases, Ubiquitin Enzymes, Transcription Factors, Drug Targets

適応動物種	Human
包装形態	96 または 384 ウェルプレート, 凍結乾燥品
容量	1, 0.25, 0.5 nmol

crRNA ライブラリー

■ Edit-R CRISPR (knockout) **crRNA** Library

- **デザイン済み**化学合成 crRNA のアレイ化ライブラリーです。
- ライブラリーラインナップ
Human, Mouse 共通
Cell Cycle Regulation, Cytokine Receptors, Deubiquitinating Enzymes, Epigenetics, GPCRs, Ion channels, Membrane Trafficking, Nuclear Receptors, Phosphatases, Proteases, Protein Kinases, Transcription Factors, Tyrosine Kinases, Ubiquitin Enzymes
Human のみ
DNA Damage Response, Drug Targets, Druggable Genome^{*1}, Genome

適応動物種	Human, Mouse
包装形態	96 または 384 ウェルプレート ^{*2} , 凍結乾燥品
容量	0.1, 0.25, 0.5 nmol
製品の種類	Pool (遺伝子あたり 4 種類の crRNA を混合) Set of 4 (4 種類のセット)

■ Cherry-Pick **synthetic sgRNA** Library

- お客様が選択した目的遺伝子に対する化学合成 sgRNA をアレイ化した**カスタムライブラリー**です。実験に合わせたライブラリー構築, プレートレイアウトのカスタマイズが可能です。
- ご希望のウェルにコントロールを追加できます。

適応動物種	Human
包装形態	96 または 384 ウェルプレート ^{*2} , 凍結乾燥品
容量	0.1, 0.25, 0.5, 1.0 nmol
製品の種類	Pool (遺伝子あたり 3 種類の sgRNA を混合) Individual (1 配列毎に分注, 1 遺伝子につき 1~3 配列から選択可能)

■ Cherry-Pick CRISPR (knockout) **crRNA** Library

- お客様が選択した目的遺伝子に対する化学合成 crRNA をアレイ化した**カスタムライブラリー**です。実験に合わせたライブラリー構築, プレートレイアウトのカスタマイズが可能です。
- ご希望のウェルにコントロールを追加できます。

適応動物種	Human
包装形態	96 または 384 ウェルプレート ^{*2} , 凍結乾燥品
容量	0.1, 0.25, 0.5, 1.0, 2.0 nmol
製品の種類	Pool (遺伝子あたり 4 種類の crRNA を混合) Individual (1 配列毎に分注, 1 遺伝子につき 1~5 配列から選択可能)

*1 Proteases, Protein Kinases, Phosphatases, Transcription Factors, Ubiquitin Enzymes, GPCRs, Ion Channels, Drug Target 各ライブラリーのセット。

*2 最低注文数: 20 ウェル分 (96 ウェルプレート), 40 ウェル分 (384 ウェルプレート)

Lentiviral sgRNA ライブラリー

■Edit-R Arrayed **Lentiviral sgRNA Library**

- **デザイン済み** Lentiviral sgRNA ベクターを導入した大腸菌の培養液にグリセロールを加えた溶液を、96 ウェルプレートに分注した製品です。
- 1 遺伝子につき 4 種類の Lentiviral sgRNA をご用意しています。
- ライブラリーラインナップ
Druggable Genome*1, Drug Targets, GPCRs, Ion channels, Phosphatases, Proteases, Protein Kinases, Transcription Factors, Ubiquitin Conjugation

適応動物種	Human
包装形態	96 ウェルプレート, Glycerol stock

■Edit-R Pooled **Lentiviral sgRNA Library**

- 多数のターゲット遺伝子に対する多種類の sgRNA 発現用レンチウイルス粒子を混合した、**プール化** sgRNA ライブラリーです。
- Illumina 社の次世代シーケンサーのみに対応しています。
- ライブラリーラインナップ
Whole Genome, Druggable Genome*1, GPCR, Ion Channels, Protein Kinases, Phosphatases, Proteases, Ubiquitin Conjugation, Apoptosis*4, Cell Cycle Regulation*4, De-ubiquitinating Enzymes*4, Membrane Trafficking*4, DNA Damage Response (Human のみ)*4, Epigenetics*4, Nuclear Receptor*4, Cytokine Receptors*4, Serine Proteases*4, Tyrosine Kinases*4

適応動物種	Human, Mouse
包装形態	分注済み $\geq 5 \times 10^8$ TU/ml レンチウイルス粒子 (200 μ l または 400 μ l*3)

- *1 Proteases, Protein Kinases, Phosphatases, Transcription Factors, Ubiquitin Enzymes, GPCRs, Ion Channels, Drug Target 各ライブラリーのセット。
- *2 最低注文数: 20 ウェル分 (96 ウェルプレート), 40 ウェル分 (384 ウェルプレート)
- *3 ライブラリーにより異なります。
- *4 詳細はお問い合わせ下さい。

■関連製品

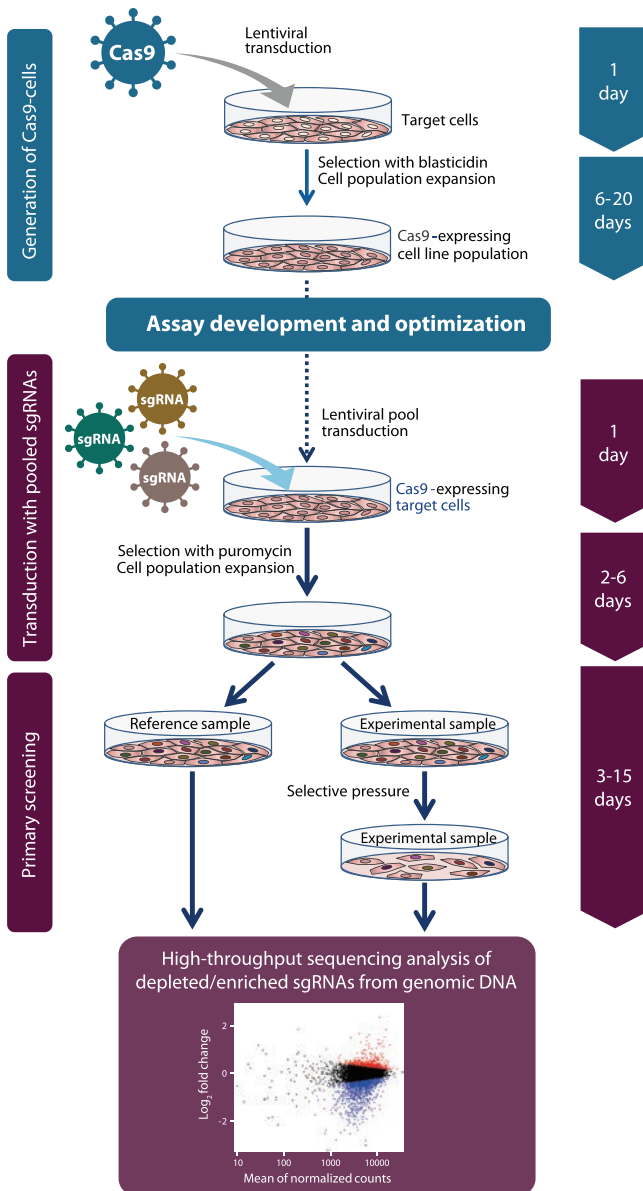
次世代シーケンス用の 12 種類のインデックスプライマーです。

品名	メーカー	商品コード	包装 / 価格 (¥)
Edit-R Pooled sgRNA Indexing PCR and Sequencing Primer Kit A			
DHA	PRM10184		1 order / 72,900
Edit-R Pooled sgRNA Indexing PCR and Sequencing Primer Kit B			
DHA	PRM10185		1 order / 72,900

■Cherry-Pick CRISPR (Knockout) **Lentiviral sgRNA Library**

- お客様が選択した目的遺伝子に対する、Lentiviral sgRNA の **カスタムライブラリー** です。Lentiviral sgRNA ベクターを導入した大腸菌の培養液にグリセロールを加えた溶液を、96 ウェルプレートに分注しています。

適応動物種	Human
包装形態	96 ウェルプレート*2, Glycerol stock



Edit-R Pooled Lentiviral sgRNA Library を用いた実験の流れ

Cherry-Pick Library のご注文方法

1. Horizon Discovery 社のウェブサイトへアクセスし、「Gene editing」タブから「Cherry-pick library tool」をクリック <https://horizondiscovery.com/products/tools/Cherry-pick-library-loader>
2. 製品の種類を選択 (crRNA / synthetic sgRNA / lentiviral sgRNA)
3. ご希望の sgRNA, sgRNA の遺伝子検索キーワードの入力
・ NCBI Gene ID, Gene Symbol または Accession number ・ Dharmacon 製品カタログ番号
4. 容量, コントロール, プレート枚数, レイアウトを設定
5. ショッピングカートに入れてチェックアウト

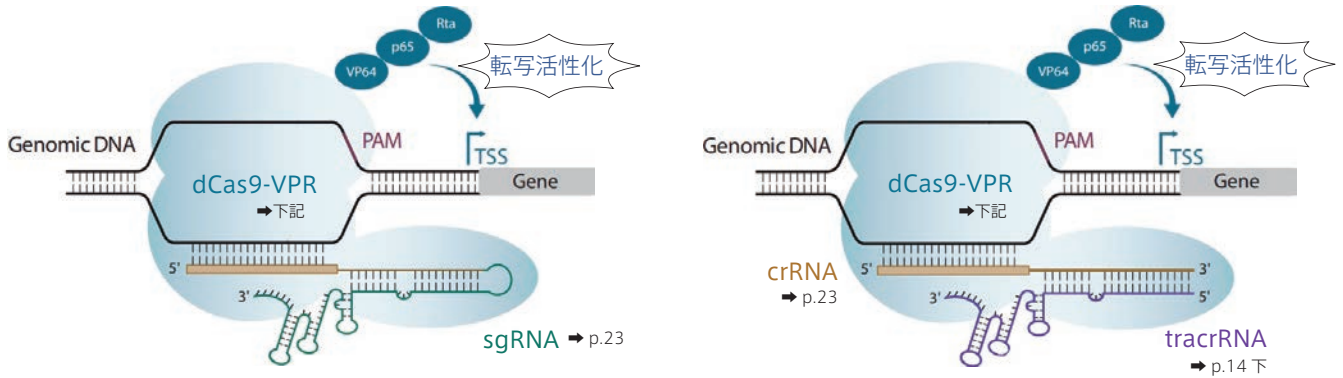
Cherry-pick library tool



標的遺伝子の転写を活性化させるシステム

Edit-R CRISPR activation (CRISPRa) System

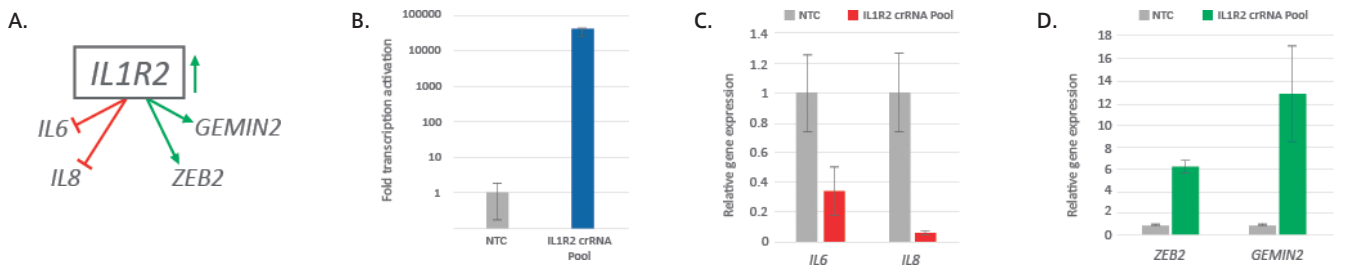
guide RNAと改変 Cas9ヌクレアーゼ (dCas9-VPR) を細胞内に導入し、ターゲット遺伝子の転写を活性化させます。



Edit-R CRISPR activation (CRISPRa) システムの原理

dCas9-VPR は、標的配列に相補的な guide RNA (crRNA:tracrRNA または sgRNA) と複合体を形成してゲノム DNA の標的配列に結合し、標的遺伝子の転写開始点 (TSS, Transcriptional Start Site) に転写活性化因子が作用することで転写を活性化する。dCas9-VPR と guide RNA の 2 つのコンポーネントだけで十分であるため、実験が簡便化される。dCas9-VPR : DNA 切断活性を欠失させた dead Cas9 (dCas9) と 3 種類の転写活性化因子 (VP64, p65, Rta) を融合させた改変 Cas9ヌクレアーゼ guide RNA (crRNA:tracrRNA または sgRNA) : ターゲット遺伝子のプロモーターあるいは転写開始点に近接した領域に配列設計

使用例



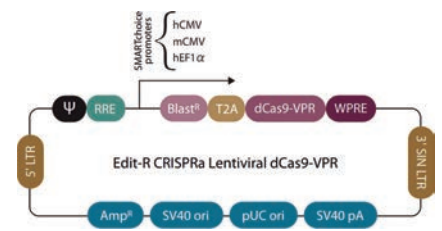
Edit-R CRISPRa crRNA を用いた IL1R2 の活性化とシグナル伝達経路の下流への効果の観察

- A: 過去の文献から予測される、IL1R2 遺伝子活性化による下流の遺伝子発現変化
- B: dCas9-VPR を安定的に発現する U2OS 細胞に、IL1R2 を標的とする合成 crRNA プール+tracrRNA (25 nM) を、DharmaFECT4 (p.32) を用いてトランスフェクションした。トランスフェクション 72 時間後に IL1R2 の活性化が確認された (qRT-PCR)。
- C: IL6 および IL8 との発現量比較 (qRT-PCR)
- D: ZEB2 および GEMIN2 との発現量比較 (qRT-PCR)

dCas9-VPR

dCas9-VPR ヌクレアーゼを発現するベクター* / レンチウイルス粒子 / mRNA です。dCas9-VPR ヌクレアーゼ発現用 mRNA は、ヒトコドン最適化されたヌクレアーゼ欠損 SpCas9 遺伝子、3 つの転写活性化因子 (VP64/p65/Rta) および核局在化シグナル (NLS) を発現します。

* レンチウイルス粒子の作製 (パッケージング) の元となるプラスミド DNA です。パッケージングには Trans-Lentiviral ORF Packaging Kit (Web ページ番号 : 63940) がおすすめです。



[マーカー : DHA]

品名	製品形態	Cas9		マーカー/レポーター		商品コード	包装	価格 (¥)
		プロモーター	発現	プロモーター	発現			
Edit-R CRISPRa Lentiviral Blast-dCas9-VPR Plasmid DNA*	Plasmid	T2A	dCas9-VPR	hCMV	Blast ^R	CAS11914	10 µg	54,000
				mCMV	Blast ^R	CAS11915	10 µg	54,000
				hEF1α	Blast ^R	CAS11916	10 µg	54,000
Edit-R CRISPRa Lentiviral Blast-dCas9-VPR Particles -80°C カルタヘナ	Particles (10 ⁷ TU/ml)	T2A	dCas9-VPR	hCMV	Blast ^R	VCAS11918	50 µl	108,000
				mCMV	Blast ^R	VCAS11920	50 µl	108,000
				hEF1α	Blast ^R	VCAS11922	50 µl	107,500
Edit-R dCas9-VPR mRNA -80°C	mRNA	-	dCas9-VPR	-	なし	CAS12024	20 µg	72,000
				-	EGFP	CAS12025	20 µg	72,000
				-	Puro ^R	CAS12026	20 µg	72,000

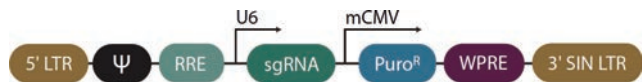
■guide RNA (遺伝子の転写活性化用)

- Horlbeck らの配列デザインアルゴリズム¹により、転写活性化能の高い RNA 配列が遺伝子ごとに 4 個デザインされています。

1. Horlbeck, M. A., et al., *Elife*, **5** (2016): e19760. [PMID : 27661255]

Edit-R CRISPRa (activation) Lentiviral sgRNA

- ヒト・マウス遺伝子をほぼ完全に網羅したデザイン済み sgRNA 発現用レンチウイルスベクターです。
- Particles : 10⁸ TU/ml



■Edit-R CRISPRa Lentiviral sgRNA

ターゲット遺伝子に対する sgRNA を発現するレンチウイルスベクターです。

お好みの 4 種類のデザイン済み sgRNA を発現するレンチウイルス (4 本) のセット製品 **Set of 4** もあります。

-80°C カルタヘナ [メーカー：DHA]

製品形態	商品コード		包装	価格 (¥)
	Human	Mouse		
Individual				
Glycerol stock	GSGH11887	GSGM11893	1 vial	81,000
Particles	VSGH11888	VSGM11894	100 µl	135,000
Particles	VSGH11889	VSGM11895	200 µl	171,000
Set of 4				
Glycerol stock	GSGH11890	GSGM11896	1 set	270,000
Particles	VSGH11891	VSGM11897	100 µl	441,000
Particles	VSGH11892	VSGM11898	200 µl	459,000

※Glycerol stock : sgRNA を発現するレンチウイルスベクターを導入した大腸菌の培養液にグリセロールを加えたもの。レンチウイルス粒子へのパッケージングが必要。

Edit-R CRISPRa (activation) crRNA

- ヒト・マウス遺伝子をほぼ完全に網羅したデザイン済み crRNA (化学合成品) です。
- Edit-R tracrRNA (⇒ p.14 下) と組み合わせて使用します。
- 製品の種類
 - Individual** : 1 遺伝子に対する 1~4 配列から選択 (1 本)
 - Set of 4** : 1 遺伝子に対する 4 配列 (4 本) のセット
 - Pool** : 1 遺伝子に対する 4 配列の混合 (1 本)

■Edit-R CRISPRa crRNA

ターゲット遺伝子に対する crRNA です。

[メーカー：DHA]

製品の種類	商品コード		包装	価格 (¥)
	Human	Mouse		
Individual	CA-HUMAN-XX-0002	CA-MOUSE-XX-0002	2 nmol	17,700
	CA-HUMAN-XX-0005	CA-MOUSE-XX-0005	5 nmol	32,600
	CA-HUMAN-XX-0010	CA-MOUSE-XX-0010	10 nmol	41,800
	CA-HUMAN-XX-0020	CA-MOUSE-XX-0020	20 nmol	54,800
Set of 4	PQ-HUMAN-XX-0002	PQ-MOUSE-XX-0002	2 nmol	64,800
	PQ-HUMAN-XX-0005	PQ-MOUSE-XX-0005	5 nmol	119,600
	PQ-HUMAN-XX-0010	PQ-MOUSE-XX-0010	10 nmol	153,600
	PQ-HUMAN-XX-0020	PQ-MOUSE-XX-0020	20 nmol	201,300
Pool	P-HUMAN-XX-0005	P-MOUSE-XX-0005	5 nmol	52,100
	P-HUMAN-XX-0010	P-MOUSE-XX-0010	10 nmol	66,600
	P-HUMAN-XX-0020	P-MOUSE-XX-0020	20 nmol	87,700

※商品コードの XX には、製品ごとに特定の数字が入ります。

※ヒト・マウス用のデザイン済み Edit-R CRISPRa (activation) crRNA を遺伝子ファミリーやパスウェイごとに分類し、プレートに分注したライブラリー製品やポジティブ/ネガティブコントロール crRNA もあります。詳細はフナコシ Web をご覧ください。

■Edit-R CRISPRa Lentiviral sgRNA Positive Control

POU5F1 または TTN をターゲットとする **ポジティブコントロール sgRNA** を発現するレンチウイルスベクターです。

-80°C カルタヘナ [メーカー：DHA]

標的配列	製品形態	商品コード		包装	価格 (¥)
		Human	Mouse		
POU5F1	Glycerol stock	GSGH11904	GSGM11910	1 vial	54,000
	Particles	VSGH11902	VSGM11908	50 µl	63,000
TTN	Glycerol stock	GSGH11901	GSGM11907	1 vial	54,000
		VSGH11899	—	50 µl	62,500
	—	VSGM11905		63,000	

※POU5F1=POU class 5 homeobox 1, TTN=Titin

■Edit-R CRISPRa Lentiviral sgRNA Non-targeting Control

ネガティブコントロール sgRNA を発現するレンチウイルスベクターです。

-80°C カルタヘナ [メーカー：DHA]

製品形態	商品コード	包装	価格 (¥)
Glycerol stock	GSGC11913	1 vial	54,000
Particles	VSGC11911	50 µl	63,000

NEW

SAM システムを利用して標的遺伝子の転写を活性化するための化学合成 tracrRNA

Edit-R SAM tracrRNA

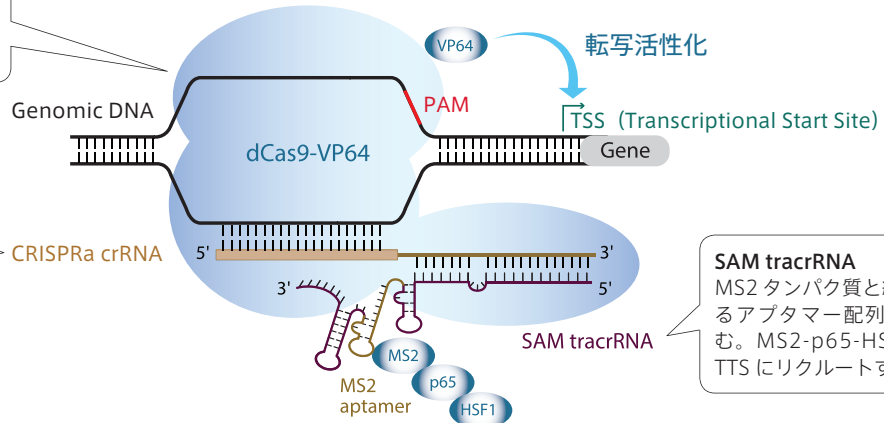
CRISPRa SAM システム¹ 用に作製された tracrRNA です。化学合成後に HPLC 精製されています。SAM (Synergistic Activation Mediator) 転写活性化システムの因子を安定発現する細胞において、本製品と化学合成 crRNA を共に導入することで、迅速かつ容易に標的遺伝子の転写を活性化します。

dCas9-VP64

DNA 切断活性を欠失させた dead Cas9 (dCas9) と転写活性化因子 (VP64) を融合させた改変 Cas9 スクレーアーゼ。

CRISPRa crRNA

標的遺伝子の TSS (転写開始点) 近傍に結合するようデザインされた crRNA (→ p.23)。



SAM tracrRNA

MS2 タンパク質と結合するアプタマー配列²を含む。MS2-p65-HSF1 を TTS にリクルートする。

CRISPRa SAM システムの原理

SAM tracrRNA と標的遺伝子特異的な CRISPRa crRNA (→ p.23) を、dCas9-VP64 と MS2-p65-HSF1 を恒常的に発現する細胞に導入する。dCas9-VP64 と、SAM tracrRNA : CRISPRa crRNA が結合することで転写が活性化される。SAM システムの利用により、確実な転写活性化を得ることが可能。

MS2-p65-HSF1

MS2 タンパク質に、転写活性化因子 p65-HSF1 を融合させたタンパク質。

[メーカー : DHA]

商品コード	包装	価格 (¥)
U-102005-05	5 nmol	18,400
U-102005-20	20 nmol	39,100
U-102005-50	50 nmol	77,100

- Konermann, S., et al., *Nature*, **517** (7536), 583~588 (2015). [PMID : 25494202]
- S. *pyogenes* tracrRNA シークエンスに基づき最適化。Jinek, M., et al., *Science*. **337** (6096), 816~821 (2012). [PMID : 22745249]

Horizon Discovery 社 Dharmacon 製品をご注文いただくには、 事前にユーザー登録が必要です

新規ユーザー登録手順

- Web ページ番号 : 81062 のユーザー登録用紙 (記入欄付きの PDF ファイル) をダウンロードし、必要事項をご記入の上、ご利用の販売店へお渡しいただくか、Dharmacon 製品担当 (下記参照) まで FAX またはメールでお送り下さい。
- 弊社およびホライゾン・ディスカバリー (株) にてユーザー登録を行います。
- 手続きが完了後、ご登録いただきました e-mail アドレスに
 - ・「ユーザー登録完了のお知らせ」
 - ・仮パスワードが記載された「ログインパスワードのお知らせ」を送りいたします。
- 「ログインパスワードのお知らせ」メールに従い、直ちにお客様ご自身でパスワードを設定して下さい。
 - ※数日経過すると仮パスワードが無効になりますので、ご注意下さい。
- パスワード設定後、すぐに Horizon Discovery 社 Web サイトからの注文が可能になります。

Dharmacon 製品担当

FAX : 03-5684-6539 ✉ : dharmacon@funakoshi.co.jp

NEW

CRISPR ノックインに有用です！

Single-Stranded DNA Synthesis Service

高純度、高精度の一本鎖 DNA (ssDNA または ssODN) を合成する受託サービスです。



特長

- 合成した一本鎖 DNA についてサンガー法シークエンシングにより塩基配列を確認しています。
- 独自の手法により、二本鎖 DNA (dsDNA) を検出できないレベルに抑え、塩基損傷を最小限度に抑制します。
- 最大 20 µg の合成量で、様々な実験デザインに対応できます。
- テンプレート配列の保管により、同じ配列の再注文に素早く対応します。
- 16 年以上にわたる人工遺伝子合成サービスで培った経験とノウハウがあります。

サービスの種類／価格／納期の目安

[メーカー：GS]

長さ	合成量	価格	作業日数の目安*
151~500 nt	3 µg	¥56,000	15~18 営業日
	5 µg	¥77,000	
	10 µg	¥112,000	
	20 µg	¥182,000	
	>20 µg	ご照会下さい	
501~3,000 nt	3 µg	¥112/nt	18~23 営業日
	5 µg	¥140/nt	
	10 µg	¥182/nt	
	20 µg	¥266/nt	
	>20 µg	ご照会下さい	
3,000~5,000 nt	ご照会下さい	ご照会下さい	ご照会下さい

* ご依頼内容により変動しますので、詳しくはお問合せ下さい。
 また製品のお届けには、上記の作業日数に加えて 4~5 日の輸送日数がかかります。

納品物

- 一本鎖 DNA の凍結乾燥品
- サンガー法シークエンシングによる塩基配列確認
- ゲル電気泳動による純度試験

ご注文方法

詳細は当社受託・特注品担当までお問い合わせ下さい。

[メーカー：GS]

発刊カタログのご案内



毎月 2 回、

フナコシニュースは最新の情報をお届けします。
 研究室だけでなくご自宅へお届けすることも可能です！



Web 会員登録フォームからの定期送付お申し込み限定！オリジナルノートプレゼント！
 ※すでにご登録済みの方は、対象外です。
 ご了承下さい。



ノート A
 (フナコシデザイン)



ノート B
 (フナコシニュース表紙デザイン)

免疫染色実験ガイド 2019-2020



A4 サイズ、
 約 290 ページ

A4 サイズ、
 約 100 ページ

受託サービスカタログ 2019-2020



フナコシニュース定期送付の新規お申し込み・カタログ送付のお申し込みはフナコシウェブサイトから、または下記までご連絡下さい。

営業担当  sales@funakoshi.co.jp FAX 03-5684-1634



長鎖一本鎖 DNA の調製キット



ssDNA

Long ssDNA Preparation Kit for 1.5kb & 3.0kb

高い純度で正確な配列を有する長鎖の一本鎖 DNA (ssDNA) を、簡単に調製できるキットです。

ゲノム編集に有用

本キットで調製した長鎖の一本鎖 DNA をドナー DNA とし、CRISPR/Cas9 と一緒にラット受精卵へ導入することで、GFP 配列を正確かつ効率よくノックインすることに成功した報告があります。

※文献 : Yoshimi K., et al., *Nat. Commun.*, 7: 10431 (2016). [PMID: 26786405]

ここがすごい

簡単に高純度の目的配列を有する長鎖一本鎖 DNA の取得が可能

本製品は、BioDynamics Laboratory 社が東京大学 医科学研究所 先進動物ゲノム研究分野 真下知士 教授と共同で開発しました。長鎖の一本鎖 DNA の調製には PCR や合成 DNA オリゴマーの使用、エキソヌクレアーゼ反応、逆転写酵素反応などの工程があることから、内部の変異や末端の欠失を生じることが避けられませんでした。また、精製には変性アクリルアミドゲル電気泳動やストレプトアビジン被覆常磁性ビーズなどが用いられてきましたが、大量の二本鎖 DNA の混入が指摘される場合もありました。

Long ssDNA Preparation Kit (本製品) は、簡単な操作によって、高い純度で目的の配列を有する長鎖の一本鎖 DNA を取得することができます。

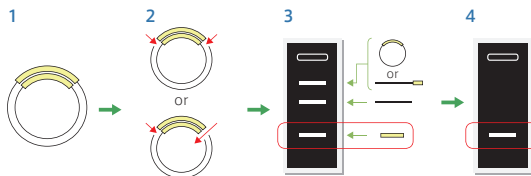
特長

- 特許申請中の新技術である Nicking 酵素法によって、変異や末端の欠失を含まない長鎖一本鎖 DNA が調製できます。
- 全操作は、一般的な二本鎖 DNA 断片の調製法とほぼ同じで、特別な機器や試薬は必要ありません。
- PCR で増幅しないため、エラーは生じません。
- 一本鎖 DNA 専用ゲル切り出し精製カラムキット (Long ssDNA Gel Extraction Kit → p.27) がキットに含まれます。

キット内容

- Plasmid* 10 µg (0.5 µg/µl) × 2
- ssDNA 泳動用スタンダード DNA (10 µg)
- Denaturing Gel-Loading Buffer (1 ml) :
目的の長鎖一本鎖 DNA を通常のアガロースゲル電気泳動で分離精製することができます。
- Long ssDNA Gel Extraction Kit (25 回分) : 一本鎖 DNA 専用のゲル切り出し精製カラムキットです (→ p.27)。
*製品により、キットに含まれるプラスミドの種類が異なります。

操作方法概略



1. 目的の DNA 断片をキット付属のプラスミドの MCS の 2 つの Nicking 酵素サイトの間、あるいは Nicking 酵素サイトと制限酵素サイトの間にクローニングする。
2. Nicking 酵素や制限酵素を用いて切断する。
3. 消化したプラスミドを、添付の Denaturing Gel-Loading Buffer で変性させた後、通常の電気泳動を行う。
4. 先頭のコイルを切り出し抽出、精製するだけで目的の一本鎖 DNA が得られる。

[メーカー : BDL]

一本鎖 DNA	所属	品名	商品コード	包装	価格 (¥)
~1.5 kb	大学・国公立機関	Long ssDNA Preparation Kit for 1.5kb, Academic	DS615	1 kit	70,000
	企業・営利団体	Long ssDNA Preparation Kit for 1.5kb, Commercial Entities	DS615	1 kit	140,000
1.5~3 kb	大学・国公立機関	Long ssDNA Preparation Kit for 3.0kb, Academic	DS625	1 kit	70,000
	企業・営利団体	Long ssDNA Preparation Kit for 3.0kb, Commercial Entities	DS625	1 kit	140,000

関連製品 10 kb までの一本鎖 DNA が調製できます。

[Web ページ番号 : 65187]

※2020年4月現在、本製品を用いたゲノム編集の実績はありません。

[メーカー : BDL]

一本鎖 DNA	所属	品名	商品コード	包装	価格 (¥)
3~10 kb	大学・国公立機関	Long ssDNA Preparation Kit for 10kb, Academic	DS635 -80°C	1 kit	100,000
	企業・営利団体	Long ssDNA Preparation Kit for 10kb, Commercial Entities	DS635 -80°C	1 kit	200,000

ご購入時のご注意

- ① ご注文の際に使用目的確約書が必要です。Web に掲載の使用目的確約書に必要事項をご記入の上、販売店担当者にお渡し下さい。
- ② 本製品または技術を商用目的で使用される場合は、あらかじめ当社受託・特注品担当までお問い合わせ下さい。
- ③ 本製品を用いて製造した産物 (遺伝子改変マウスなど) の販売や、第三者へのサービス提供などの目的での本製品の使用には、別途ライセンスが必要となります。
- ④ 本製品の価格は、大学・国公立機関 (官公庁の研究所) のお客様と企業・営利団体のお客様とで異なります。

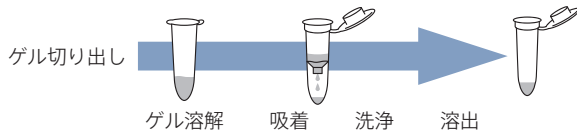
世界初！長鎖一本鎖 DNA 専用ゲル抽出キット Long ssDNA Gel Extraction Kit



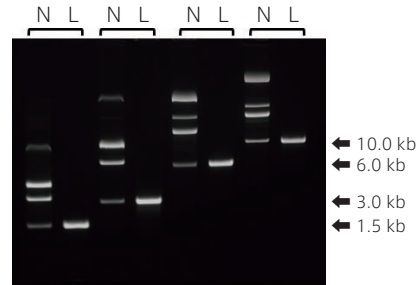
目的の一本鎖 DNA を電気泳動後のアガロースゲルから切り出し、抽出・精製するためのスピナラムキットです。

特長

- 二本鎖 DNA に比べて収率が低いとされる長鎖一本鎖 DNA を高収率・高純度で抽出できます。
- 3 kb までの一本鎖 DNA 精製用のキットと 3~10 kb の一本鎖 DNA 精製用のキットがあります。



使用例



1.2% Agarose Gel Electrophoresis
本キットを用いて各分子量の一本鎖 DNA をゲルから抽出した。
N : Nicked Plasmid, L : Long ssDNA

[メーカー：BDL]

一本鎖 DNA	品名	商品コード	包装	価格(¥)
~3 kb	Long ssDNA Gel Extraction Kit for 3kb	DS640	25 tests	30,000
3~10 kb	Long ssDNA Gel Extraction Kit for 10kb	DS650	25 tests	30,000

本キットで調製した Long ssDNA を用いたマウス受精卵へのノックイン実験

Long ssDNA 長さ	プラスミド 使用量	Long ssDNA 回収量	Long ssDNA 回収率*	EP / MI embryos	2 cell 数	移植匹数	産仔数	KI
1,027 bases	100 µg	4.9 µg	44%	194	97	5	19	8
824 bases	100 µg	6.9 µg	68%	96	70	3	2 (2匹死亡)	2
824 bases	100 µg	5.9 µg	59%	194	147	5	6	3
1,016 bases	100 µg	6.6 µg	55%	126	94	5	8	1
1,069 bases	100 µg	6.1 µg	49%	169	158	5	41	0
1,048 bases	100µg	6.0 µg	49%	180	161	5	39	2
744 bases	100 µg	5.2 µg	56%	148	107	5	10 (2匹死亡)	0

「Long ssDNA 回収量も多く、受精卵への毒性も見受けられませんので、引き続き、Long ssDNA の精製を行う際にはこの Kit を使用したいと思います。」

データご提供：東京大学 医科学研究所 真下知士 教授

* Long ssDNA preparation kit での 100% 回収量は、1,000 bases の ssDNA の場合、プラスミド 100 µg から ssDNA 約 12 µg となります。

完全版
**ゲム編集
実験スタンダード**
CRISPR-Cas9の設計・作製と
各生物種でのプロトコルを徹底解説
山本卓
佐久間哲史

『実験医学別冊 完全版 ゲノム編集実験スタンダード』(羊土社) に
BioDynamics Laboratory 社の製品が掲載されました。

掲載ページ	タイトル	紹介製品
p.269		Long ssDNA Preparation Kit
p.274	ラット受精卵でのゲノム編集	Long ssDNA Gel Extraction Kit
p.278		

山本卓, 佐久間哲史/編, 2019年12月5日発行
B5判, 386ページ, ISBN 978-4-7581-2244-3

ノックアウト/ノックイン/編集用ドナーベクター PrecisionX HR Targeting Vectors



選択マーカーおよび蛍光レポーターのカセット, 目的遺伝子, GFP タグをノックインするためのドナーベクターです。ノックインした配列は Cre リコンビナーゼを一過性発現させることで除去できます。

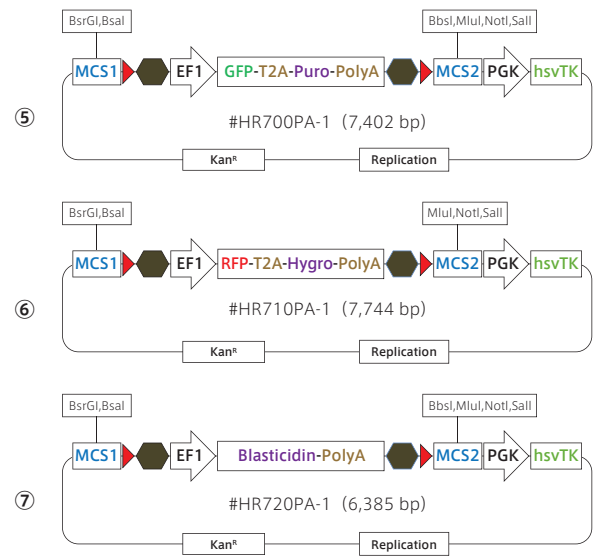
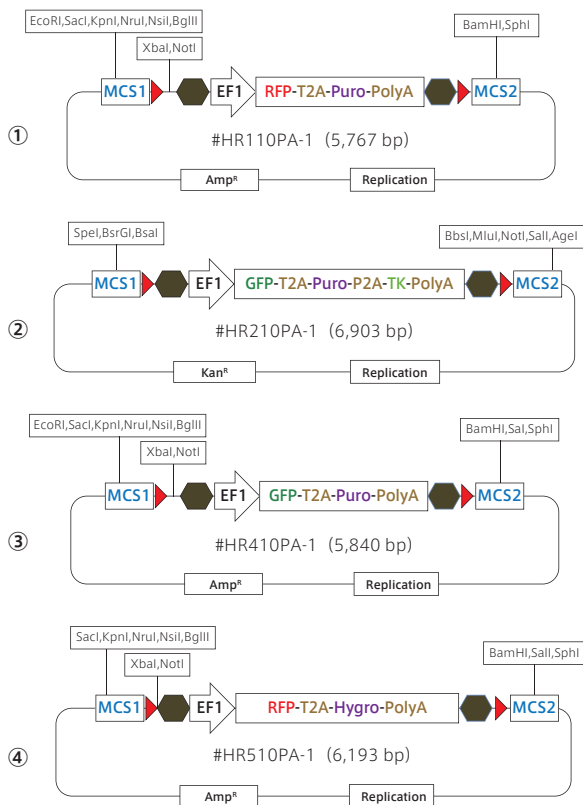
ノックアウト用 HR Targeting Vector

- Cas9 と guide RNA のみの導入でも遺伝子ノックアウトは可能ですが, 本製品を併用すると, 相同組換えに成功した細胞を選択マーカーや蛍光レポーターにより効率よく選択できます。
- MCS1/MCS2 に, 目的遺伝子特異的なホモロジーアームを組み込み, 迅速に相同組換えを起こします。

MCS Multiple Cloning Sites **LoxP Sites** **Insulator Sequences**

hsvTK チミジンキナーゼ

相同組換え以外の形でゲノムへの挿入が起こった場合, TK が発現する。ガンシクロビルまたはフィアルリジンを用いたネガティブセレクションにより, 目的の相同組換え以外でドナープラスミドがゲノムに導入された細胞を排除可能。



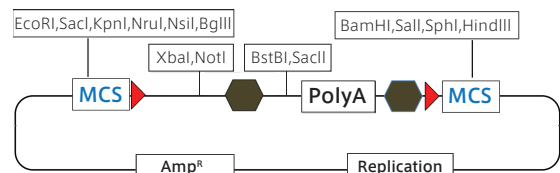
[メーカー: SBI]

ベクターの配列	プロモーター	レポーター/マーカー	セレクション	商品コード	包装	価格 (¥)
① MCS1-EF1α-RFP-T2A-Puro-pA-MCS2	EF1α	RFP Puro ^R	—	HR110PA-1	10 µg	164,000
② MCS1-EF1α-GFP-T2A-Puro-P2A-hsvTK-pA-MCS2	EF1α	GFP Puro ^R	hsvTK	HR210PA-1	10 µg	185,000
③ MCS1-EF1α-GFP-T2A-Puro-pA-MCS2	EF1α	GFP Puro ^R	—	HR410PA-1	10 µg	164,000
④ MCS1-EF1α-RFP-T2A-Hygro-pA-MCS2	EF1α	RFP Hygro ^R	—	HR510PA-1	10 µg	164,000
⑤ MCS1-EF1α-GFP-T2A-Puro-pA-MCS2-PGK-hsvTK	EF1α	GFP Puro ^R	PGK : hsvTK	HR700PA-1	10 µg	185,000
⑥ MCS1-EF1α-RFP-T2A-Hygro-pA-MCS2-PGK-hsvTK	EF1α	RFP Hygro ^R	PGK : hsvTK	HR710PA-1	10 µg	185,000
⑦ MCS1-EF1α-Blasticidin-pA-MCS2-PGK-hsvTK	EF1α	Blasticidin ^R	PGK : hsvTK	HR720PA-1	10 µg	185,000

ノックイン用 HR Targeting Vector

■ベーシックドナーベクター

- 相同組換えにより, 目的遺伝子を含む発現カセットを宿主ゲノムに組み込むためのターゲティングベクターです。
- 発現カセットを任意にカスタマイズできます。



[メーカー: SBI]

ベクターの配列	レポーター/マーカー	商品コード	包装	価格 (¥)
MCS1-MCS2-MCS3-pA-MCS4	—	HR100PA-1	10 µg	150,000

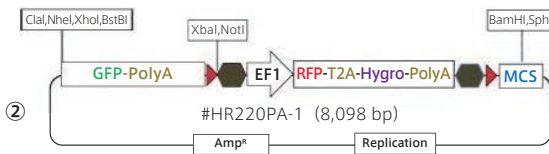
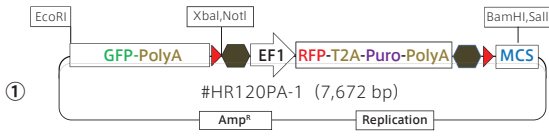
GFP タグ融合用ターゲティングベクター

- 相同組換えにより、目的遺伝子に GFP を組み込むためのターゲティングベクターです。
- 細胞内での目的遺伝子産物の局在や動態の解析に最適です。
- 選択マーカー（Puromycin または Hygromycin 耐性および RFP）により、相同組換えを起こした細胞株を選択できます。



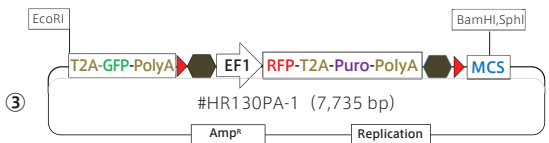
■GFP-PolyA ベクター

- フレームシフトを起こさずに、GFP-PolyA を目的遺伝子の 3' 末端に連結させるベクターです。



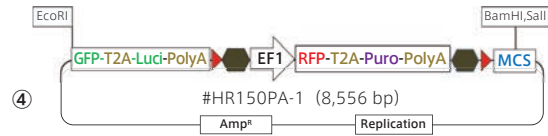
■T2A-GFP-PolyA ベクター

- T2A-GFP-PolyA を目的遺伝子の 3' 末端に連結させるベクターです。
- GFP を目的遺伝子に組み込むことで、目的遺伝子の機能に影響を及ぼす可能性がある際に有用です。



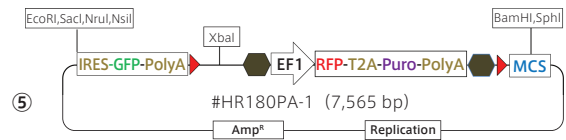
■GFP-T2A-ルシフェラーゼ-PolyA ベクター

- フレームシフトを起こさずに、GFP-T2A-Luciferase PolyA を目的遺伝子の 3' 末端に連結させるベクターです。



■IRES-GFP-PolyA ベクター

- IRES-GFP-PolyA を目的遺伝子の 3' 末端に連結させるベクターです。
- 目的遺伝子中にストップコドンが存在していたり、目的遺伝子がインフレームに存在していても、GFP の発現は IRES により制御されるため、その発現に影響を及ぼしません。
- miRNA, lincRNA といったタンパク質非コード遺伝子の発現のモニタリングに最適です。



[メーカー：SBI]

ベクターの配列	発現	プロモーター	レポーター	マーカー	商品コード	包装	価格(¥)
① GFP-pA-EF1α-RFP-T2A-Puro-pA-MCS	GFP	EF1α	RFP	Puro ^R	HR120PA-1	10 μg	164,000
② GFP-pA-EF1α-RFP-T2A-Hygro-pA-MCS	GFP	EF1α	RFP	Hygro ^R	HR220PA-1	10 μg	164,000
③ T2A-GFP-pA-EF1α-RFP-T2A-Puro-pA-MCS	T2A-GFP	EF1α	RFP	Puro ^R	HR130PA-1	10 μg	164,000
④ GFP-T2A-Luc-pA-EF1α-RFP-T2A-Puro-pA-MCS	GFP, Luci	EF1α	RFP	Puro ^R	HR150PA-1	10 μg	164,000
⑤ IRES-GFP-pA-MCS1-EF1α-RFP-T2A-Puro-pA-MCS2	IRES-GFP	EF1α	RFP	Puro ^R	HR180PA-1	10 μg	164,000

こちらもおススメ

**ゲノム編集の強力なエンハンサー
SCR7 pyrazine**

- CRISPR/Cas9 による相同組換え修復 (HDR) 効率を *in vitro* において 19 倍に向上させ、非相同末端結合 (NHEJ) を抑制します。

品名	メーカー	商品コード	包装 / 価格(¥)
SCR7 pyrazine NEW	RSD	5342/10	10 mg / 62,000
純度: >98% (HPLC), CAS No: 14892-97-8			



Web ページ番号

177757



こちらもおススメ

**ゲノム編集の強力なエンハンサー
RS-1**

- *in vitro* および *in vivo* における CRISPR 介在性のノックイン効率向上に用いられる化合物です。
- 相同組換え修復 (HDR) を 3~6 倍向上させます。
Pinder J. et al., *Nucleic Acids Res.*, **43** (19): 9379~9392 (2015). [PMID: 26429972]

品名	メーカー	商品コード	包装 / 価格(¥)
RS-1	CAY	21037	5 mg / 4,900
	CAY	21037	10 mg / 8,800
	CAY	21037	25 mg / 20,700
純度: ≥95%, CAS No: 312756-74-4			



Web ページ番号

68754



相同組換え用ドナーベクター

PiggyBac Gene Editing HR Targeting Vector

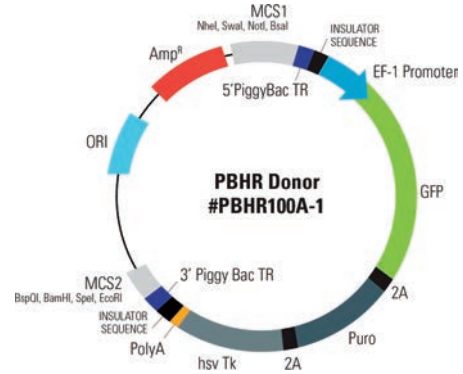


Donor Plasmid

CRISPR/Cas9 と併用し、ゲノムの特定箇所の修正や、変異の導入を行うための相同組換え用ドナーベクターです。

特長

- 任意の変異を導入した相同領域を MCS1/MCS2 にクローニングし相同組換えを起こすことで、特定の箇所への点変異の導入や修正などが可能となります。
- 選択マーカー (Puromycin 耐性および GFP 蛍光) により、相同組換えを起こした細胞株を選択できます。
- 宿主ゲノムに導入した選択マーカーは、Transposase (下記 #PB220PA-1) を発現させることにより、ほとんど痕跡を残さずに除去できます。
- マーカーの除去の際にはチミジンキナーゼ (TK) を利用したネガティブセレクションが可能です。

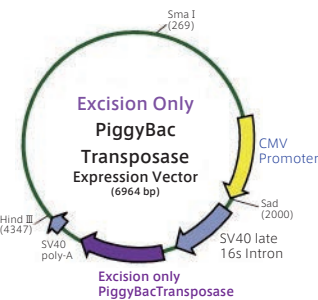


[メーカー：SBI]

品名	プロモーター	レポーター	選択マーカー	商品コード	包装	価格(¥)
piggyBac HR Vector [5'MCS-EF1-GFP-Puro-TK-3'MCS]	EF1α	GFP	Puro ^R	PBHR100A-1	10 μg	216,000

Transposase 発現ベクター

[メーカー：SBI]



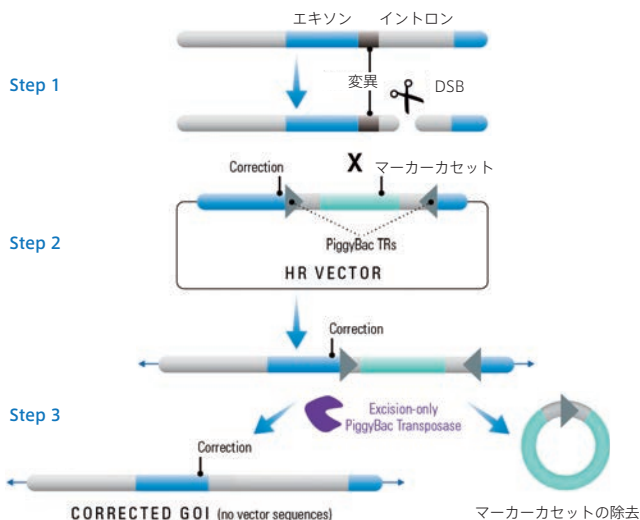
品名	商品コード	包装	価格(¥)
Excision only PiggyBac Transposase Expression Vector	PB220PA-1	10 μg	78,000

- ※Transposase 発現ベクターは、使い切りの製品となります。
- ※トランスポゾンを用いて非ウイルス的に、目的 cDNA・miRNA・shRNA 配列を宿主細胞のゲノムに組み込み、安定発現細胞株を樹立することができる発現システム (PiggyBac Transposon Vector System) については、Web ページ番号：5301 をご覧ください。

ご購入時のご注意

! 営利団体・企業にご所属のお客様は、本製品ご注文の前にライセンス契約を締結していただく必要があります。ご使用者のご所属によって注文方法が異なりますので、Web ページ番号：7922 に掲載の書類「PiggyBac Transposon Vector 使用者確約書」をご確認下さい。詳細は当社受託・特注品担当までお問い合わせ下さい。

原理



■Excision only PiggyBac Transposase (#PB220PA-1) を用いたシームレスな遺伝子編集例

- Step 1 : CRISPR-Cas9 により DSB (二本鎖切断) が起こる。
 ※DSB はイントロン内で生じるようにする。
- Step 2 : DNA 修復機構が DSB にリクルートされる。この時、DSB の付近と相同な配列を持つ HR ドナーベクターが存在すると、NHEJ (非相同末端結合) ではなく HR (相同組換え) が起こりやすい。HR ドナーベクターのホモロジーアームが相同組換えによりゲノムに組み込まれる。
- Step 3 : Excision only PiggyBac Transposase により 5' / 3' PiggyBac TR (Terminal Repeat) の間にあるマーカーカセットは完全に除去される。



ドナー DNA の設計オンラインツール

Edit-R HDR Donor Designer

ドナー DNA の設計ができる Horizon Discovery 社のオンラインツールです。

guide RNA 配列および切断位置, 挿入配列を指定すると, ドナー DNA 配列が自動的に設計され, Web 上で引き続き注文いただけます。

特長

■Edit-R HDR Donor Designer - oligo

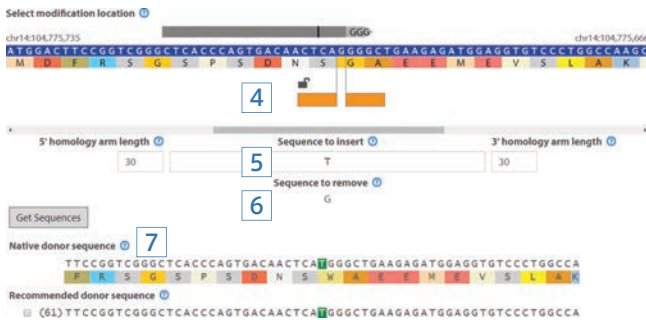
- 目的の塩基配列 (長さ 150 nt 以下) を挿入・欠失・置換するための一本鎖 DNA ドナーオリゴを設計できるオンラインツールです。
- 編集領域が再切断される可能性がある場合, guide RNA の認識領域または PAM 配列にサイレント変異を導入した配列を表示します。

■Edit-R HDR Donor Designer - plasmid

- ドナープラスミド作製時に必要なホモロジーアーム PCR プライマーの配列を設計できるオンラインツールです。
- ドナープラスミドを使用して, 蛍光レポーター遺伝子あるいは塩基配列を挿入する場合にご使用いただけます。

オンラインオーダーの流れ

1. 生物種, 遺伝子情報を入力
2. CRISPR Design tool (➡ p.16) でデザインした guide RNA のターゲット配列を入力
3. Display target region をクリック



4. オレンジ色のスライダで編集する位置を選択する
5. 新たに挿入・置換する配列を入力
6. 削除された配列が表示される (スライダの動きに連動)
7. 推奨されるドナー DNA 配列を表示

アクセス方法

Horizon Discovery 社 Dharmacon 製品のウェブサイトからアクセスし, タブから Gene editing > HDR Donor Designer をクリックして下さい。

HDR Donor Designer ▶



ノックイン用ドナープラスミド構築キット

Edit-R HDR Plasmid Donor Kit

蛍光レポーター (EGFP, mKate2) 遺伝子, あるいは, お客様の希望するカスタム配列*をゲノムのターゲット部位に導入するために用いるドナープラスミドを, 迅速かつ高効率で構築するキットです。

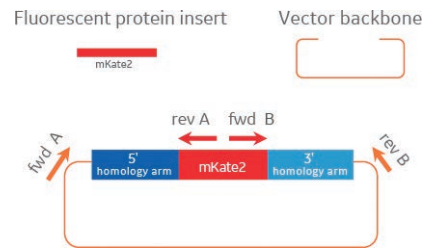
* カスタム配列はお客様自身で別途ご用意下さい。



Donor Plasmid

特長

- 蛍光レポーター遺伝子あるいは塩基配列を挿入する場合のドナープラスミドを構築できます。
- キットにはドナープラスミドのバックボーン, 蛍光レポーター配列 (EGFP と mKate2 キットの両方), およびドナープラスミド構築を確認するためのコロニー PCR 用プライマーが含まれています。
- ※ ドナープラスミドの構築には, 本製品の他に, カスタムホモロジーアーム PCR プライマーや, DNA Assembly cloning Kit など (例えば NEB 社の Gibson Assembly® Cloning Kit カタログ番号: E5510S) が別途必要です。詳しくは本製品のテクニカルマニュアルをご覧ください。



キット内容

■Universal Kit (#UK-008300-01-10)

- Edit-R HDR plasmid donor backbone (1,200 ng)
- Edit-R colony PCR primer backbone forward / reverse (各 5 nmol)

■EGFP Kit / mKate2 Kit

- Edit-R HDR plasmid donor backbone (1,200 ng)
- Edit-R colony PCR primer backbone forward / reverse (各 5 nmol)
- 蛍光レポーター insert (EGFP または mKate2, 250 ng)
- Edit-R colony PCR primer forward / reverse (EGFP または mKate2, 各 5 nmol)

品名	メーカー	商品コード	包装 / 価格 (¥)
Edit-R HDR Plasmid Donor Kit			
DHA	UK-008300-01-10	-80°C Universal	1 kit / 134,900
DHA	UK-008100-01-10	EGFP	1 kit / 134,900
DHA	UK-008200-03-10	mKate2	1 kit / 134,900

キット内容単品

品名	メーカー	商品コード	包装 / 価格 (¥)
Edit-R HDR Plasmid Backbone and Insert			
DHA	UK-008100-02-10	EGFP	1 kit / 131,300
DHA	UK-008200-04-10	mKate2	1 kit / 131,300
キット内容: Edit-R HDR plasmid donor backbone (1,200 ng), Edit-R HDR insert (250 ng)			
Edit-R HDR DNA Donor Plasmid Colony PCR Primer Pair			
DHA	UK-008100-PP-05	EGFP	5 nmol / 3,800
DHA	UK-008200-PP-05	mKate2	5 nmol / 3,800
キット内容: Edit-R colony PCR primer forward / reverse (各 5 nmol)			

細胞毒性が低く抑えられたトランスフェクション試薬 DharmaFECT Transfection Reagent

Edit-R CRISPR-Cas9 ゲノム編集試薬（デザイン済み guide RNA および Cas9 ヌクレアーゼ発現プラスミド）の導入や RNAi（siRNA 導入）などに使用できるトランスフェクション試薬です。

製品ラインナップ

品名	DharmaFECT 1	DharmaFECT 2	DharmaFECT 3	DharmaFECT 4	DharmaFECT Duo	DharmaFECT kb DNA
用途	small RNA (siRNA, microRNA, crRNA, tracrRNA) 導入用				small RNA とプラスミド DNA の同時導入用	プラスミド DNA 導入用
対象細胞*	A549, HEK293, HeLa など	HCT116 など	SKOV3 など	HUVEC, MDA-MB-231 など	ES-D3, HeLa, Hep G2, Jurkat など	HeLa, HEK293T, U2OS, MCF-7 など
商品コード	T-2001	T-2002	T-2003	T-2004	T-2010	T-2006-01

*導入確認済みの細胞リスト、細胞株に最適な DharmaFECT の種類と導入条件の詳細については Web をご覧下さい。

■DharmaFECT 1~4

- 細胞にあわせて最適条件で使い分ける 4 種類の small RNA 用トランスフェクション試薬シリーズです。
- DharmaFECT 1 が最も汎用性が高い製品ですが、細胞株によっては、DharmaFECT 2 / 3 / 4 の使用により最も高い導入効率を得ることができます。
- DharmaFECT 1~4 をセットにした DharmaFECT Set of 4 もあります。

Web ページ番号 67997



■DharmaFECT Duo

- small RNA とプラスミド DNA を同時にトランスフェクションするための試薬です。

Web ページ番号 67998



■DharmaFECT kb DNA

- プラスミド DNA を効率良く細胞へ導入するためのトランスフェクション試薬です。
- Cas9 ヌクレアーゼと sgRNA 発現の各プラスミドを同時にトランスフェクションできます。

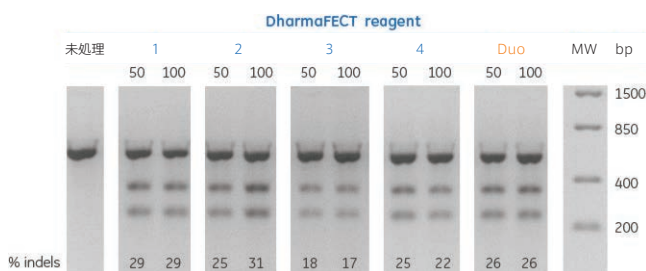
Web ページ番号 67999



品名

メーカー	商品コード	包装 / 価格 (¥)
DharmaFECT 1 Transfection Reagent		
DHA	T-2001-01	0.2 ml / 18,400
DHA	T-2001-02	0.75 ml / 53,000
DHA	T-2001-03	1.5 ml / 88,200
DHA	T-2001-04	5×1.5 ml / 415,100
DharmaFECT 2 Transfection Reagent		
DHA	T-2002-01	0.2 ml / 18,400
DHA	T-2002-02	0.75 ml / 53,000
DHA	T-2002-03	1.5 ml / 88,200
DHA	T-2002-04	5×1.5 ml / 415,100
DharmaFECT 3 Transfection Reagent		
DHA	T-2003-01	0.2 ml / 18,400
DHA	T-2003-02	0.75 ml / 53,000
DHA	T-2003-03	1.5 ml / 88,200
DHA	T-2003-04	5×1.5 ml / 415,100
DharmaFECT 4 Transfection Reagent		
DHA	T-2004-01	0.2 ml / 18,400
DHA	T-2004-02	0.75 ml / 53,000
DHA	T-2004-03	1.5 ml / 88,200
DHA	T-2004-04	5×1.5 ml / 415,100
DharmaFECT Set of 4 Transfection Reagents		
DHA	T-2005-01	0.2 ml / 69,700
DHA	T-2005-02	0.75 ml / 201,800
DHA	T-2005-03	1.5 ml / 341,300
DharmaFECT Duo Transfection Reagent		
DHA	T-2010-01	0.2 ml / 18,400
DHA	T-2010-02	0.75 ml / 53,000
DHA	T-2010-03	1.5 ml / 88,200
DHA	T-2010-04	5×1.5 ml / 415,100
DharmaFECT kb DNA Transfection Reagent		
DHA	T-2006-01	1 ml / 49,200

使用例



本製品を用いた USOS-(Ubi)EGFP 細胞 PSMD7 遺伝子の編集

U2OS-(Ubi)EGFP 細胞 (10,000 cells/well) を 96 ウェルプレートに播種し、本製品の各シリーズを用いて Edit-R Cas9 Nuclease protein NLS (▶ p.6, 25 nM) と PSMD7 遺伝子をターゲットにした合成 crRNA:tracrRNA (50 または 100 nM) を同時にトランスフェクションした。72 時間後、細胞を回収し、T7 エンドヌクレアーゼ I を用いた DNA ミスマッチの検出によりゲノム編集効率を算出した。



製品は Horizon Discovery 社 Dharmacon 製品の Web サイトにてターゲット遺伝子を検索・指定してオンラインでご注文いただけます。ご注文にはユーザー登録が必要です。初めてご注文されるお客様は、事前に登録をお願いいたします。

ご注文方法の詳細は
Web ページ番号

81062



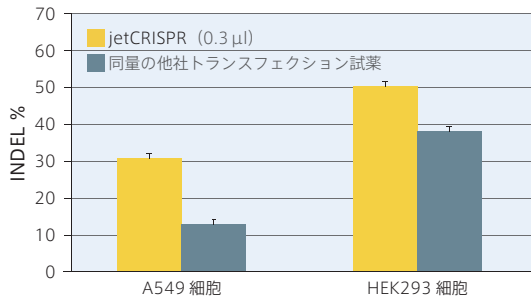


Cas9 タンパク質と guide RNA の導入専用 トランスフェクション試薬

jetCRISPR

ゲノム編集における RNP* トランスフェクション (Cas9 タンパク質と guide RNA の同時導入) に最適化されたトランスフェクション試薬です。

*RNP：リボ核タンパク質



他社トランスフェクション試薬との比較

縦軸 (INDEL%) : ゲノム編集を行った細胞由来のゲノム DNA から編集部位について PCR を行い、T7 endonuclease 処理後のバンドパターンから、ゲノム編集効率 (ゲノム編集に成功した細胞の割合) を算出した。

特長

- 接着細胞、浮遊細胞問わず、様々な細胞で使用できます。
- 血清や抗生物質の存在下でも使用できます。
- 通常のトランスフェクション法に加え、Reverse Transfection 法で迅速な導入を行うことも可能です。

品名	メーカー	商品コード	包装 / 価格 (¥)
jetCRISPR, RNP Transfection Reagent			
PPU 502-01			0.1 ml / 11,000
PPU 502-07			0.75 ml / 65,000
使用回数：1.5 ml 当たり最大 1,250 回 (24 ウェルプレートの場合) / 300 回 (6 ウェルプレートの場合)			

MEMO

メリットが多い、Cas9 を RNP で導入するゲノム編集

近年、ゲノム編集研究のトレンドは、Cas9 タンパク質を guide RNA と同時に導入する手法にシフトしてきました。

タンパク質での導入は、オフターゲットの低減など多くのメリットがあるアプローチです。

- 短時間で効率よく編集できる
転写・翻訳が不要、活性 Cas9-guide RNA 複合体が細胞に直接送達される
- オフターゲットが最小限に抑えられる
トランスフェクション後、迅速に分解される (Cas9 クリアランスが速い)
- 困難な細胞にも簡単に導入可能
- guide RNA スクリーニングが簡単
- 細胞生存率が高い

こちらもオススメ

mRNA 専用のトランスフェクション試薬 jetMESSENGER サンプル

神経細胞、幹細胞、免疫細胞、線維芽細胞など、特にトランスフェクションが困難な細胞にも高い効率で mRNA を導入可能です。



プラスミド DNA のトランスフェクション試薬

jetOPTIMUS

無料サンプル品あります

幅広い細胞種へのプラスミド DNA 導入に最適なトランスフェクション試薬です。トランスフェクションが難しいとされる初代細胞や幹細胞などにも使用できます。

特長

- 細胞への取り込みとエンドソーム脱出能が向上し、高い導入効率を示します。
- 低毒性で、トランスフェクション後も高い細胞生存率と正常な形態を維持します。
- 血清、抗生物質存在下でも使用できます。

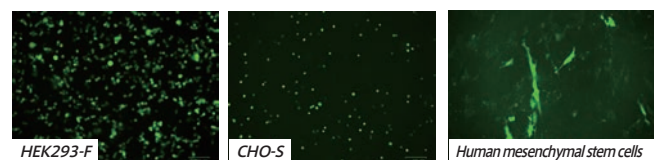
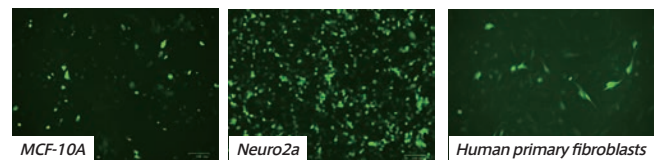
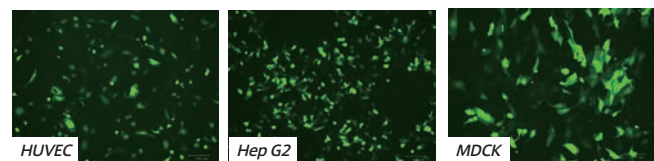
	必要な試薬量 (ウェルあたり)	使用回数 (試薬 1.5 ml あたり)
本製品 (jetOPTIMUS)	0.25~0.75 μl	2,000~6,000 回
A 社製品	0.75~1.5 μl	1,000~2,000 回

高いコストパフォーマンス

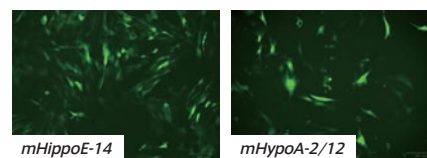
同じ試薬量で A 社製品と比較して
2 倍の回数使用できます！

使用例

様々な細胞種への導入



本製品を用いてさまざまな細胞に GFP 発現プラスミドをトランスフェクションし、24 時間後に GFP の発現を蛍光顕微鏡で観察した。



本製品を用いて mHippoE-14 (胚性マウス海馬細胞) および mHypoA-2/12 (成体マウス視床下部細胞) に GFP 発現プラスミドをトランスフェクションし、24 時間後に GFP の発現を蛍光顕微鏡で観察した。
画像提供：Oya ARI UYAR (Gebze Technical University, Kocaeli, Turkey)。

品名	メーカー	商品コード	包装 / 価格 (¥)
jetOPTIMUS Transfection Reagent Kit サンプル			
PPU 117-01		0.1 ml	1 kit / 14,000
PPU 117-07		0.75 ml	1 kit / 93,000
PPU 117-15		1.5 ml	1 kit / 157,000
1.5 ml あたりの使用回数：3,000 回 (24 ウェルプレート), 750 回 (6 ウェルプレート)			

サンプルあり

無料サンプル品のご用意があります。
ご希望の方は当社テクニカルサポート (試薬担当) までお問い合わせ下さい。



サンプル
デモ機
あり

無料サンプル品のご用意があります。また、Magnetic Plateの貸出しを承ります。ご希望の方は当社テクニカルサポート(試薬担当)までお問い合わせ下さい。



フォームでのお申し込みはこちら ▶

Web ページ番号

63587



CRISPR/Cas9 研究に有用なトランスフェクション試薬 CRISPR/Cas9 Transfection Reagent

CRISPR-Cas9 の細胞導入用に開発されたトランスフェクション試薬です。

品名	PolyMag CRISPR	RmesFect CRISPR	ViroMag CRISPR	Pro-DeliverIN CRISPR
導入分子	プラスミド DNA, mRNA, guide RNA	mRNA	ウイルス粒子	Cas9 タンパク質, Cas9/guide RNA RNP 複合体
導入手法	Magnetofection	Lipofection	Magnetofection	Lipofection
対象細胞	初代細胞, トランスフェクションが困難な細胞	すべての細胞	初代細胞, トランスフェクションが困難な細胞	すべての細胞

品名	メーカー	商品コード	包装 / 価格 (¥)
PolyMag CRISPR サンプル			
OZB	PNC40200	200 µl /	58,000
OZB	PNC41000	1 ml /	257,000
OZB	KPC40100	Starting Kit	1 kit / 145,000
Starting Kit : PolyMag CRISPR 100 µl と Super Magnetic Plate を含む。			
RmesFect CRISPR サンプル			
OZB	RMC70500	500 µl /	47,000
ViroMag CRISPR サンプル			
OZB	VMC50200	200 µl /	48,000
OZB	VMC51000	1 ml /	198,000
OZB	KVC50100	Starting Kit	1 kit / 143,000
Starting Kit : ViroMag CRISPR 100 µl と Super Magnetic Plate を含む。			
Pro-DeliverIN CRISPR サンプル			
OZB	PIC60100	100 µl /	48,000
OZB	PIC60500	500 µl /	168,000

■ Magnetofection シリーズ用 Magnetic Plate



Web ページ番号

797



サイズ : 8×12 cm

品名	メーカー	商品コード	包装 / 価格 (¥)
Super Magnetic Plate デモ機			
OZB	MF-10000	1 piece /	102,000
6, 12, 24, 96 ウェルプレートや 35 mm ディッシュ, T フラスコなどに使用可能。			



Nanoject II

Nanoject III

Web ページ番号

3465



63081

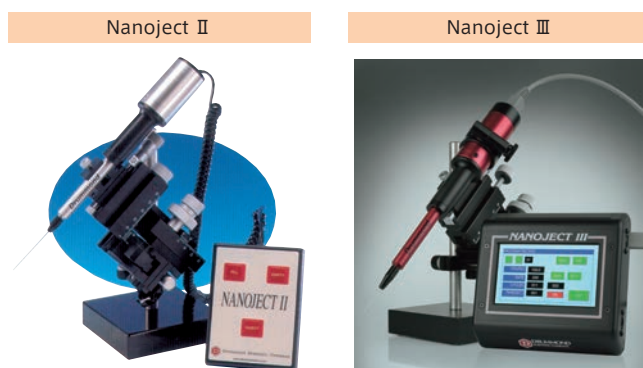


容量可変型オートインジェクター

Nanoject マイクロインジェクター

卵母細胞胚, 組織などへの微量注入用のマイクロインジェクション装置です。マイクロプロセッサ制御, ナノリットル量のインジェクションが行えます。

- Nanoject II はボタン式のコントローラーで操作します。
- Nanoject III は手動で 1 回ずつ注入を行うマニュアルモードと、インジェクション量や速度, サイクル数を設定できるプログラムモードが選択できます。タッチパネルで簡単に設定可能です。



[メーカー : DRM]

	Nanoject II		Nanoject III	
	充填速度	23 nl/秒, 46 nl/秒		10~200 nl/秒
排出速度	92 nl/秒, 230 nl/秒		10~200 nl/秒	
インジェクション量	2.3~69.0 nl		0.6~999.9 nl	
インジェクション速度	23 nl/秒, 46 nl/秒		1~200 nl/秒	
キャピラリー外径/内径	1.14 mm/0.53 mm		1.14 mm/0.53 mm	
モデル	本体のみ	オプションパーツ付き*	本体のみ	オプションパーツ付き*
商品コード	3-000-204	3-000-204-KIT	3-000-207	3-000-207-KIT
包装	1 set		1 kit	
価格 (¥)	291,000		429,000	

* オプションパーツ内容 : マニピュレータ (右手用), サポートベース, フットスイッチ





Web ページ番号
63186

Cas9 用プライマーのセット

細胞内における Cas9 mRNA の発現を確認するための RT-PCR 用プライマーのセットです。

特長

- 2 種類のプライマーセット (増幅サイズ: 122 bp および 219 bp) が付属します。
- 野生型 Cas9, 変異型 (Nickase) Cas9, ヌクレアーゼ欠損型 (dead) Cas9 のいずれも検出可能です。

品名	メーカー 商品コード	包装 / 価格 (¥)
Cas9 RT-PCR Primer Set	SBI CAS9-PR-1	1 kit / 18,000
各プライマー 50 µl (5 µM), 50 回分		



〈特集〉ゲノム編集ツール CRISPR-Cas9 システム

System Biosciences 社のゲノム編集ツールをまとめてご紹介しています。



Web ページ番号
8508



Web ページ番号
65625

Cas9 タンパク質定量用 ELISA キット

EpiQuik CRISPR/Cas9/SaCas9 Assay ELISA Kit

Cas9 を導入した発現クローンのスクリーニングに有用です。

特長

- ヌクレアーゼ欠損型を含む Cas9 または SaCas9 タンパク質を、直接法により比色定量する ELISA キットです。
- Cas9 または SaCas9 のコントロールが付属します。
- 測定試料: 全細胞抽出物, 精製 Cas9
- 測定範囲: 0.5~20 ng/well
- 測定波長: 450 nm

品名	メーカー 商品コード	包装 / 価格 (¥)
EpiQuik CRISPR/Cas9 Assay ELISA Kit (Colorimetric)	EPG P-4060-48	48 Assays 1 kit / 81,000
	EPG P-4060-96	96 Assays 1 kit / 137,000
キット内容: Wash buffer, Binding buffer, Developer solution, Stop solution, 8-well assay strips, Adhesive covering film, Detection antibody, Signal indicator, Enhancer solution, Standard control		
EpiQuik CRISPR/SaCas9 (S.aureus) Assay ELISA Kit (Colorimetric)	EPG P-4062-48	48 Assays 1 kit / 81,000
	EPG P-4062-96	96 Assays 1 kit / 137,000
キット内容: Wash buffer, Binding buffer, Developer solution, Stop solution, 8-well assay strips, Adhesive covering film, SaCas9 antibody, Detection antibody, Standard control		



Web ページ番号
56131



Web ページ番号
53091

抗 Cas9 抗体

品名	免疫動物 (クローン)	標識	適用	メーカー	商品コード	包装	価格 (¥)
Anti-Cas9, N-terminal クラス: IgG, 性状: PAPu, 交差性: Bacteria	Mouse-Mono (7A9-3A3)	-	IC, IF, IHC, IP, WB	NOV	NBP2-36440SS	0.025 ml	29,000
				NOV	NBP2-36440	0.1 ml	68,000
Anti-Cas9, C-terminal クラス: IgG, 性状: PAPu, 交差性: Bacteria	Mouse-Mono (6G12)	-	ChIP, IC, IF, IP, WB	NOV	NBP2-52398SS	0.025 ml	29,000
				NOV	NBP2-52398	0.1 ml	68,000
Anti-Cas9, Antibody Pack* クラス: IgG, 性状: PAPu, 交差性: Bacteria	Mouse-Mono	-	-	NOV	NBP2-52986	1 set	49,000
Anti-Cas9 クラス: IgG, 性状: PAPu	Mouse-Mono (7A9)	-	ELISA, IF, IP, WB	EPG	A-9000-010	10 µg	14,000
				EPG	A-9000-050	50 µg	38,000
				EPG	A-9000-100	100 µg	67,000

* #NBP2-36440SS (0.025 ml) と #NBP2-52398SS (0.025 ml) が 1 vial ずつ含まれるセットです。

※略号: Mono: Monoclonal, PAPu: Protein A/G Affinity Purified, ChIP: Chromatin immunoprecipitation, IC: Immunocytochemistry, IF: Immunofluorescence, IHC: Immunohistochemistry, IP: Immunoprecipitation, WB: Western Blotting

Web ページ番号の活用法

フナコシ Web で検索!

各記事タイトル右上の番号を...

Web ページ番号

63186



Web ページ番号を入れて検索するだけで各製品の情報を確認できます! 気になった製品があればぜひ活用してみてください!



一塩基違いを PCR で検出

HiDi DNA Polymerase

無料サンプル品あります

プライマー 3' 末端とテンプレート間の 1 塩基のミスマッチを認識できる変型 Taq DNA ポリメラーゼです。ミスマッチがあると増幅効率が著しく低下するため、PCR で SNP 検出ができます。

※HiDi=High Discrimination

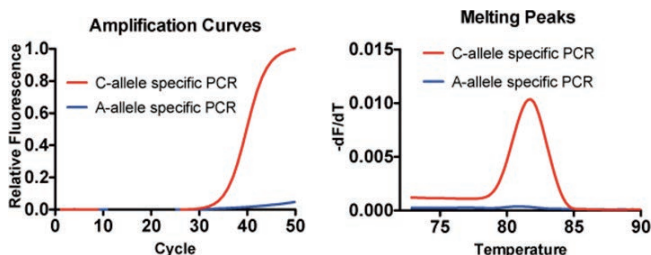
特長

- 約 60~200 bp の増幅に最適化されています。
- ヌクレアーゼ活性を有さない HiDi と、5'→3' エキソヌクレアーゼ活性をもつ HiDi Taq があります。
- リアルタイム PCR でもご使用いただけます。SYBR Green などの蛍光色素で検出する際には HiDi を、Hydrolysis Probes での検出には HiDi Taq の使用を推奨します。
- マスターミックス仕様で簡単に調製できる HiDi 2× PCR Master Mix*1 もあります。

*1 蛍光色素は含みません。下記 GreenDye をおすすめします。また、Hydrolysis Probes での検出には使用できません。

使用例

■SNP の解析



SNP (rs72921001) は、ヒト 11 番染色体のポジション 6868417 番の C (WT: 野生型) が A (SNP: 変異型) に置換された変異型である。HeLa 細胞ゲノム DNA (1 ng/μl) をテンプレートに、各アレル特異的プライマーと本製品を用いてアレル特異的 PCR を実施した。その結果 C-アレル特異的プライマーのみ増幅が見られた。

品名	メーカー	商品コード	包装 / 価格 (¥)
HiDi DNA Polymerase サンプル			
MYP 9001S		50 μl	250 units / 18,000
MYP 9001M		200 μl	1,000 units / 64,000
HiDi Taq DNA Polymerase サンプル			
MYP 9201S		50 μl	250 units / 18,000
MYP 9201M		200 μl	1,000 units / 64,000
HiDi 2× PCR Master Mix			
MYP 9101S			100 tests / 20,000
MYP 9101M			500 tests / 90,000

小包装 (50 units) の無料サンプル品のご用意があります。ご希望の方は当社テクニカルサポート (試薬担当) までお問い合わせ下さい。

関連製品 蛍光色素 GreenDye

品名	メーカー	商品コード	包装 / 価格 (¥)
GreenDye 20×			
MYP 2000S		200 reactions	250 μl / 13,000
MYP 2000M		800 reactions	1,000 μl / 38,000

HiDi DNA polymerase を使用したリアルタイム PCR 実験におすすめの PCR 用蛍光色素。



キャピラリー式電気泳動装置

Qsep100 / Qsep1

デモを承ります

検出感度*2

5 pg/μl

Qsep100

63076



分離能*2

1~4 bp

分析時間*2

2~7 分/sample

Qsep1

65176



測定試料数 1~96

38^t×30^w×40^h cm

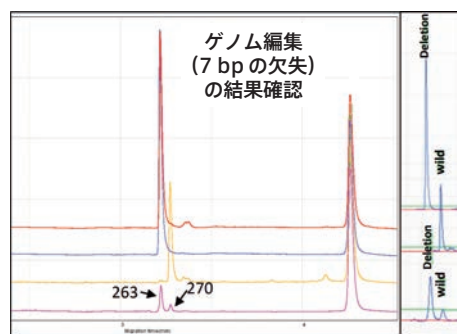


測定試料数 1~8

24^t×21^w×30^h cm

- ゲノム編集後の評価やスクリーニングに最適です。
 - ペン型ゲルカートリッジをセットするだけで、簡単に測定できます。
 - ゲルは自動で洗浄・充填されます。
 - 解析用ソフトウェア付属
- *2 100~500 bp 範囲の場合です。カートリッジによって異なります。
 ※試料の種類 (DNA/RNA) および分解能に応じて別売カートリッジキットをご購入下さい。詳細はWeb ページ番号: 63076 をご覧下さい。
 ※別途、PC (Windows 7 以上) が必要です。

使用例



[メーカー: BOP]

品名	商品コード	包装	価格 (¥)
Qsep100	C100100 △	1 unit	2,600,000
Qsep1	C100001 △	1 set	1,800,000

デモ機あり

実機でのデモンストレーションが可能です。ご希望の方は当社機器担当までお問い合わせ下さい。



測定試料数 1~96

こちらもオススメ

Qsep400

4 チャンネル型! 4 試料あたり 2~7 分で泳動できるキャピラリー式電気泳動装置です。

[Web ページ番号: 68076]



ノックイン遺伝子の挿入位置を安価に解析します 外来 DNA の挿入位置 解析受託サービス

既知の遺伝子配列が、ゲノム内のどこに入っているかを解析します。

特長

- 合同会社 PGL 独自の技術である PGL 法（特許申請中）を用いて検出／解析します。

利用例

- CRISPR/Cas9 を用いた遺伝子ノックインのオフターゲットによって生じた遺伝子挿入の位置決定
- HTLV, HBV, HIV などのウイルスによって宿主ゲノムに挿入されたウイルスゲノムの挿入位置の決定
- iPS 細胞などの再生医療向け細胞株の安全性評価
- 形質転換マウスのトランスジーン挿入位置の決定

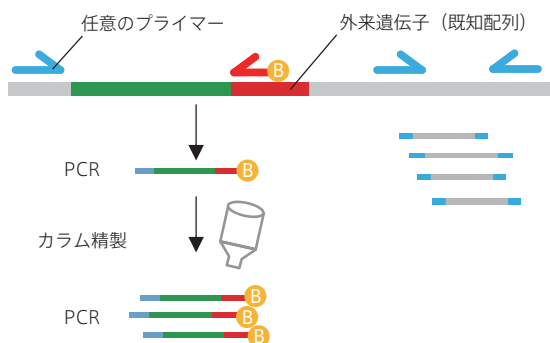
ご用意いただくもの

- トランスジーン配列情報
- 使用したウイルス、ウイルスベクターなどの情報
- トランスジェニック生物のゲノム DNA
(100 ng/μl, A₂₆₀/A₂₈₀>1.6, A₂₆₀/A₂₃₀>1.6)

MEMO

PGL 法の原理

生物のゲノム中に含まれる外来遺伝子を検出する方法です。探索したい遺伝子配列がわかっているならば、ゲノム内のどこに入っているかが安価に解析できます。複数箇所にも対応でき、前後のゲノム配列との融合遺伝子として外来遺伝子を検出できます。



1. トランスジーンやウイルス DNA などの外来 DNA に特異的なプライマー（5' 末端ビオチン化）と任意プライマーを用いて、外来 DNA の近傍配列を増幅する。
2. アフィニティ精製により、近傍配列を含む PCR 産物を濃縮する。
3. 濃縮された PCR 産物を鋳型に再度 PCR を行い、外来 DNA の近傍配列を特異的に増幅する。
4. アガロース電気泳動により DNA フラグメントを分取後、キャピラリーシーケンサーにより近傍配列を解読し、外来 DNA の挿入位置を決定する。

ご注文方法／価格

詳細は当社受託・特注品担当までお問い合わせ下さい。
[メーカー：PGL]



© 樹庵じゅあん

twitter

@Funakoshi_CoLtd

フォローお願いします！

フナコシニュース専用バインダー

ご希望の方は当社営業担当までお問い合わせ下さい。

営業担当 FAX 03-5684-1634 sales@funakoshi.co.jp

↓ココを選択！

Web ページ番号検索

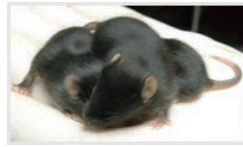
SEARCH 各記事右上の Web ページ番号を入力 検索

各製品の詳細は、フナコシ Web のタブから簡単に検索できます！



遺伝子改変マウス作製 受託サービス

guide RNA の設計から生体マウス作製まで、トータルサービスのご提供が可能です。また、一部工程のみの実施も可能です。



特長

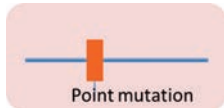
- Broad 研究所よりライセンス許諾を受けて実施しています。作製したマウス（成果物）の権利は依頼者に帰属します。
- Cas9 ベクターあるいは Cas9 タンパク質を用いたインジェクションを実施しています。また、ES 細胞を用いた相同組換え法との組み合わせも実施しています。
- 標的遺伝子に対する guide RNA 設計から *in vitro* 活性評価も実施いたします。
- guide RNA 設計から生体マウス作製までトータルサービスのご提供が可能です。また、一部工程のみの実施もご相談下さい。
- 各種目的に応じた戦略相談から実施いたします。標的遺伝子によっては、本手法が実施できない場合もあります。その場合は別の作製方法をご提案します。

実施例

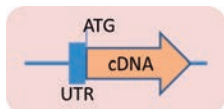
- 終止コドン挿入によるノックアウト



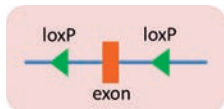
- 点変異導入によるノックイン



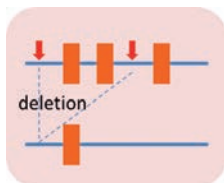
- レポーター遺伝子（cDNA）挿入のノックイン



- loxP 配列挿入によるコンディショナルノックアウト



- 2 か所切断による欠失



ご注文方法／価格

詳細は当社受託・特注品担当までお問い合わせ下さい。

[メーカー：TRG]

※作製費用には Broad 研究所および東京医科歯科大学へのライセンス料を含みます。マウスの輸送費・微生物検査費は、別途申し受けます。

遺伝子改変細胞株の 作製受託サービス

CRISPR/Cas9 を用いて遺伝子のノックアウト、ノックイン、タグ付け、単一ヌクレオチド修飾を行った細胞株を作製する受託サービスです。

サービスの作業工程（例）

1. 細胞培養条件の検討
 2. guide RNA 設計と Cas9 ベクター構築
 3. 細胞株への遺伝子導入
 4. 1 次スクリーニング
 5. 陽性クローンの解析
 6. リクローニングと解析
 7. 遺伝子改変細胞株の樹立
- ※ご依頼内容を伺った上で、作業工程の詳細をご相談させていただきます。

ご注文方法／価格

ゲノム編集をご希望の細胞種、ゲノム編集の内容、対象遺伝子などをご準備の上、当社受託・特注品担当までお問い合わせ下さい。

まずはお気軽にご相談下さい！



受託・特注品担当

[メーカー：FUN]

TEL 03-5684-1645 FAX 03-5684-6539

✉ : jutaku@funakoshi.co.jp

略語

hCMV	Human Cytomegalovirus immediate early promoter
mCMV	Mouse Cytomegalovirus immediate early promoter
CAG	Human Cytomegalovirus, chicken β -Actin hybrid promoter
hEF1 α	Human Elongation Factor 1 α promoter
mEF1 α	Mouse Elongation Factor 1 α promoter
PGK	Mouse Phosphoglycerate Kinase promoter
MSCV	Murine Stem Cell Virus promoter
SV40	Simian Virus 40 promoter
H1	H1 promoter
U6	U6 promoter
WPRE	Woodchuck hepatitis Posttranscriptional Regulatory Element (導入遺伝子の発現を促進)
IRES	バイシストロニック発現システム用配列 Internal Ribosome Entry Site
T2A	バイシストロニック発現システム用配列 <i>Thosea asigna</i> 由来の 2A ペプチド
mKate2	赤色蛍光タンパク質（単量体） 励起波長 588 nm, 蛍光波長 633 nm
TurboGFP	緑色蛍光タンパク質（二量体） 励起波長 482 nm, 蛍光波長 502 nm
copGFP	緑色蛍光タンパク質（二量体） 励起波長 482 nm, 蛍光波長 502 nm
Amp ^R	Ampicillin 耐性遺伝子
Blast ^R	Blasticidin 耐性遺伝子
Hygro ^R	Hygromycin 耐性遺伝子
Kan ^R	Kanamycin 耐性遺伝子
Puro ^R	Puromycin 耐性遺伝子