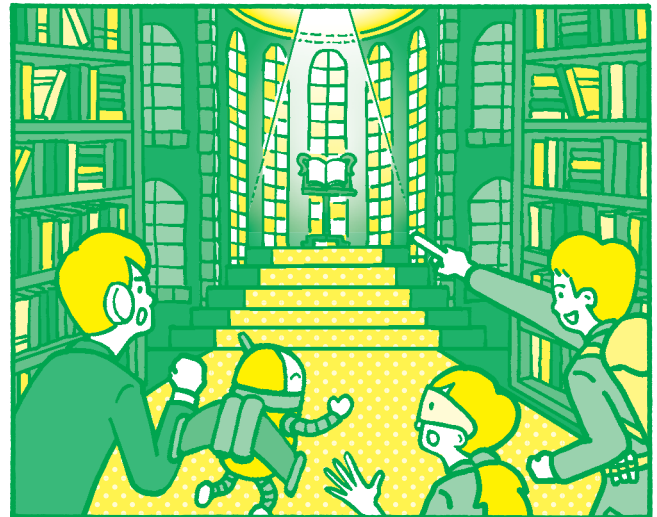
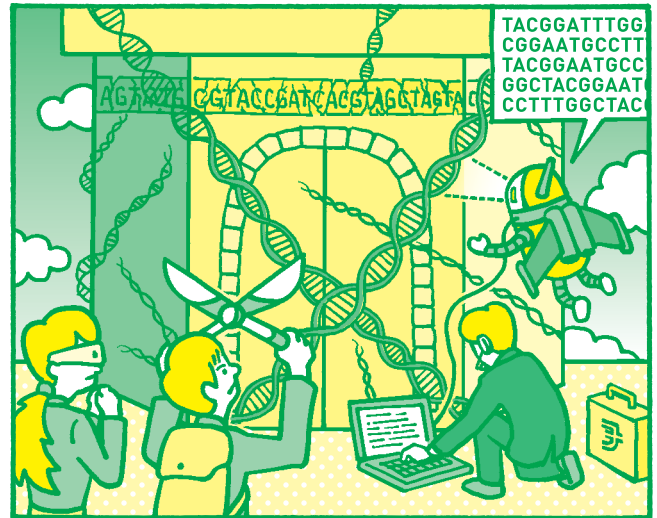


ゲノム編集

Genome editing



funakoshi
フナコシニュース *News*

2022 No.755

9/15

index

知りたい! 加速するゲノム編集遺伝子治療
真下知士 教授 (東京大学) p.2~3

- | | | | |
|----------|--------|----------|--------|
| ガイドRNA | Cas9 | ドナーDNA | 細胞への導入 |
| ゲノム編集の確認 | ノックダウン | 転写抑制・活性化 | |

知りたい!



加速するゲノム編集遺伝子治療

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

真下 知士 教授



知りたい!
加速するゲノム編集遺伝子治療

● 新型コロナウイルス

新型コロナウイルス感染拡大が止まらない。2022年8月時点で日本の感染者数は延べ1,400万人を超え、計算上は10人に1人が感染したことになる。一方で感染対策は、2年前の頃よりこれだけ感染者数が多いにもかかわらず、非常事態宣言や外出禁止措置は取られておらず、対面学会なども行われている。要因は、有効性の高い新型コロナワクチンの接種、効果的な新型コロナ感染症治療薬の整備、PCR検査、抗原検査など迅速な診断体制があげられる。感染症対策の“3本柱”が整ったことで、特に欧米では日常生活を取り戻しつつある。

ファイザー社、モデルナ社の新型コロナワクチンは、新型コロナウイルスのスパイクタンパク質をコードする mRNA を、LNP (Lipid nanoparticles) と呼ばれる脂質膜のナノ粒子に包んで、筋肉に注射する¹。mRNA がヒトの細胞に取り込まれ、細胞内でスパイクタンパク質が作られ、体内で中和抗体が産生されることで、新型コロナウイルスに対する予防が可能となる。実は、この画期的なワクチン開発に貢献したカタリン・カリコ博士は、20年以上前にワクチンではなくがん治療に mRNA を利用しようと考えた。重要なポイントは、mRNA が体内で炎症反応を起こすのを抑えるため、化学修飾した mRNA を利用した点にある。短期間で迅速に大量製造できるこの新しいワクチンによって、カリコ博士のノーベル賞受賞の日は近いだろう。



東京大学医科学研究所 先進動物ゲノム研究分野の皆様
(後列中央が真下先生)

● ゲノム編集を用いた遺伝子治療

2021年、この修飾 mRNA と脂質ナノ粒子 LNP を CRISPR-Cas9 に利用することで、トランスサイレチンアミロイドーシス (ATTR) に対する *in vivo* 遺伝子治療の結果が報告された²。米国の治験として、多発性神経障害を伴う ATTR アミロイドーシス患者に対して、Cas9 mRNA と gRNA (ガイド RNA) を LNP に内包して静脈注射することで、TTR 血中濃度を長期間低減することに成功した。1年後の追跡調査でも安全性とその治療効果が確認されている。

ゲノム編集に関わる因子を細胞内に導入するには、Cas9 と gRNA を発現するプラスミド DNA を利用する方法、上記 mRNA を利用する方法、Cas9 RNP (Ribonucleoprotein) としてタンパク質を導入する方法がある (図1)。プラスミド DNA の場合、選択マーカーを用いてゲノム編集細胞を集めることが可能だが、作用期間が長いためにオフターゲット変異が懸念される。RNP タンパク質は、高効率かつ作用期間が短いため広く利用されている。ATTR 遺伝子治療は、その両方の特徴を活かした mRNA を LNP でデリバリーすることで、効果の高い安全な遺伝子治療に成功した。また、LNP とは異なるデリバリー技術の開発も競争が激化している。CRISPR-Cas9 RNP を非ウイルス性のポリマーベクターによって送達する方法³、ヒト内在性タンパク質由来のウイルス様タンパク質 PEG10 を介したデリバリー SEND 法⁴ などが報告されている。これらの技術は、ウイルスベクターや脂質ナノ粒子によるデリバリー法を補完し、遺伝子治療やゲノム編集治療をさらに加速させるだろう (図1)。

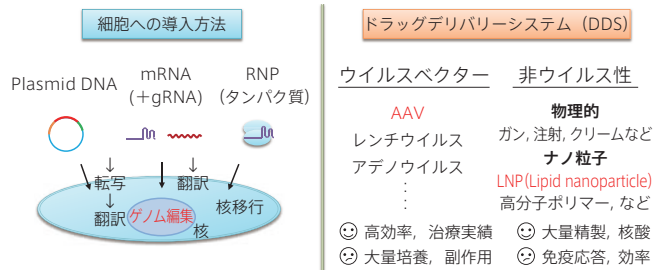


図1 ゲノム編集ツールの導入方法とデリバリーシステム

● CRISPR-Cas3 によるゲノム編集メカニズム

感染症に対する治療薬や予防薬，診断薬の開発研究においては，ゲノム編集やRNA編集の技術が利用されている。タイプⅢ CRISPR-Casによる新型コロナウイルスRNAウイルスとmRNAを分解する抗ウイルス薬の開発研究⁵，DETECTR，SHERLOCK，CONANなどの高感度，迅速核酸検出法を利用したCRISPR診断薬（CRISPR-Dx）などが報告されている。CRISPR-Dxなどは既に実用化が始まっているが，感染症を完全に克服するための“ゲームチェンジャー”までには至っていない。

国産ゲノム編集技術として我々が開発してきたCRISPR-Cas3について，最後に紹介したい。

Cas3はCas9とは異なり標的とする遺伝子に大きな欠失変異を導入するが，そのゲノム編集メカニズムは分かっていなかった。金沢大学古寺教授らの高速原子間力顕微鏡（HS-AFM）を用いることで，CRISPR-Cas3のDNA配列の認識から切断までの一連の様子を動画撮影することに成功した（図2）。Cas9のハサミとは異なり，Cas3は二本鎖DNAをほどいて手繰り寄せながら，一本鎖DNAをそれぞれずつ々に切ることで，大きなゲノムDNA領域を切断していた⁶。今回の成果により，CRISPR-Cas3の効率化や安全性の強化といった技術改良が可能となり，新たな創薬や遺伝子治療などへの利用，農水産物の品種改良などへの応用が期待される。

● 日本ゲノム編集学会

この度，山本卓前理事長の後任として，日本ゲノム編集学会の会長を拝命することになった。本学会は「ゲノム編集関連の研究に関する情報交換を行うとともに，ゲノム編集関連の基盤技術の研究・開発を行い，この技術の発展及び社会還元，人材養成などに貢献することを目的とする。」と定款に書かれている。今回，遺伝子治療応用が進むゲノム編集についての社会的還元を目的として，医学応用委員会が新しく発足した。年内には，日本遺伝子細胞治療学会と連携シンポジウムも企画している。その他，教育実習委員会・産学連携委員会においても，最新のゲノム編集技術開発動向や産学連携研究，知的財産情報の提供，交換の場等を検討しており，第8回大会（大会長：畑田出穂教授（群馬大学），2023年6月6日～8日，タワーホール船堀）に加えて，様々な企画を考えている。興味のある若い研究者は，ぜひHPをご確認いただきたい。



文献

1. Polack P.F., et al., *N. Engl. J. Med.*, **383** : 2603~2615 (2020).
2. Gillmore J.D., et al., *N. Engl. J. Med.*, **385** : 493~502 (2021).
3. Ahern J.O., et al., *Gene Ther.*, **29** : 157~170 (2022).
4. Segel M., et al., *Science*, **373** : 882~889 (2021).
5. Lin P., et al., *NAR.*, **50** : e47 (2022).
6. Yoshimi K., et al., *Nat. Commun.*, **13** : 4917 (2022).

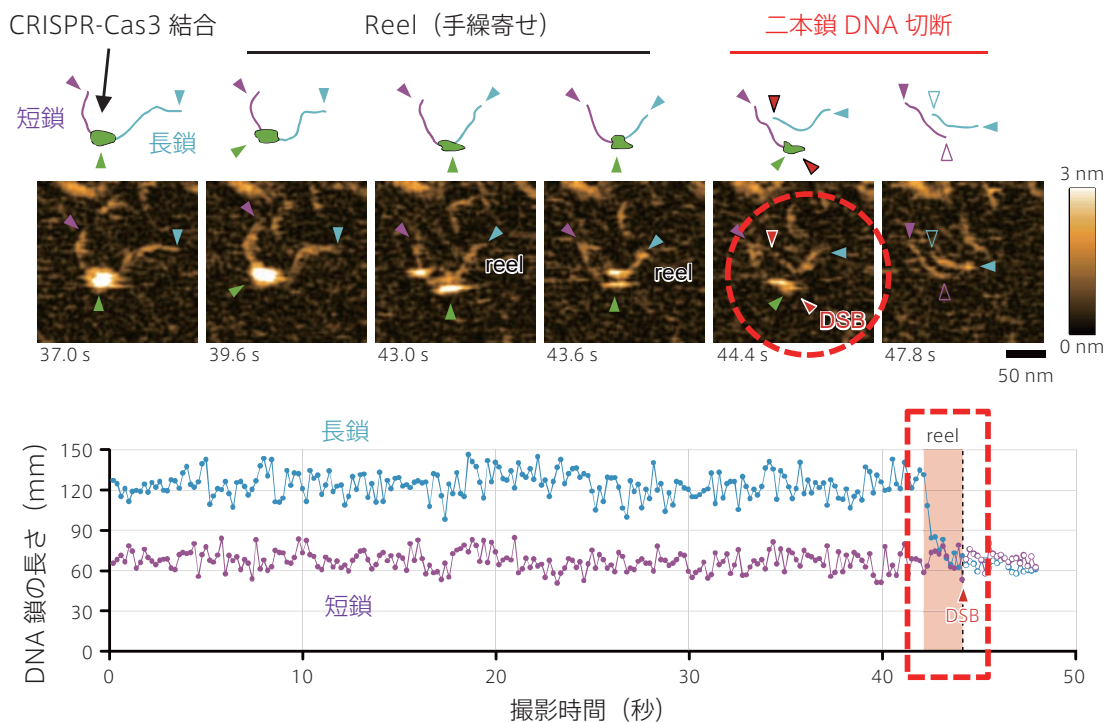


図2 高速原子間力顕微鏡（HS-AFM）で捉えたCRISPR-Cas3によるゲノム編集（二本鎖DNA切断）の瞬間

表紙ストーリー → p.43

NOTE

※本紙に記載されている価格は，2022年9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。
 ※**緑△**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。
 ※**黒△**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。
 ※**黒△**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。
 ※**赤△**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。

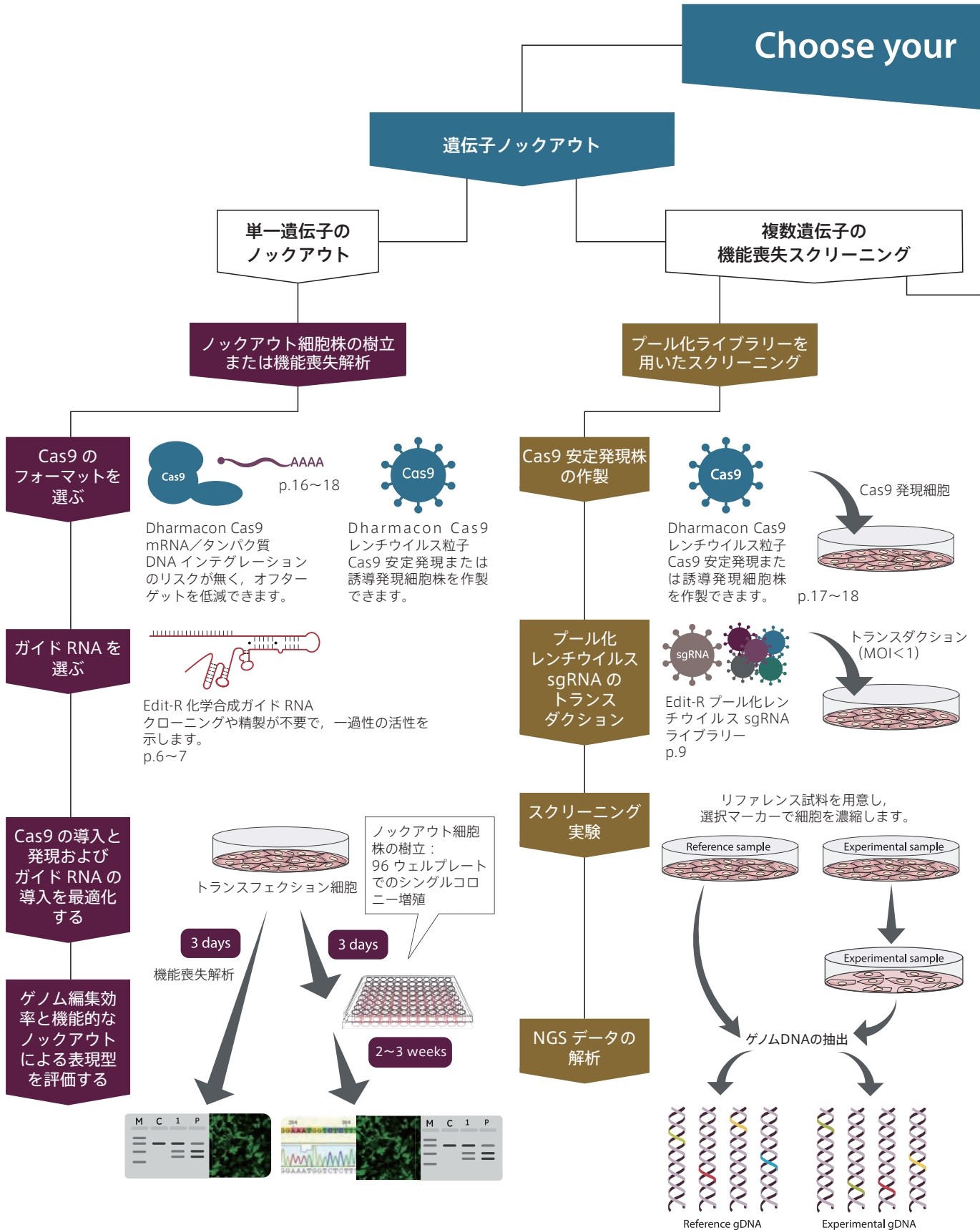
※**△**印の製品には安全にご利用いただくための警告ラベルが貼られています。表示に従って安全対策を実施して下さい。
 ※**液窒**印は，液体窒素中での保存を要する製品です。ドライアイス包装で配送していますが，製品到着後，直ちに液体窒素中で保存して下さい。
 ※**-80C**印は，-80℃での保存を要する製品です。ドライアイス包装で配送していますが，製品到着後，直ちに-80℃のフリーザー等に保存して下さい。
 ※#以下の英数字は，商品コードを示します。
 ※外観・仕様は改善のため，予告なく変更することがあります。
 ※© 2022 American Type Culture Collection. 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。

知りたい！
加速するゲノム編集遺伝子治療

Dharmacon™ Edit-R™ Gene Editing Workflows

Choose the right tools for your application

NHEJ (非相同末端結合) を介した遺伝子ノックアウト, または HDR (相同組換え修復) を介した挿入やノックインについて, Horizon Discovery 社 Dharmacon™ Edit-R™ ゲノム編集試薬シリーズのツールを選択するためのワークフローガイドです。



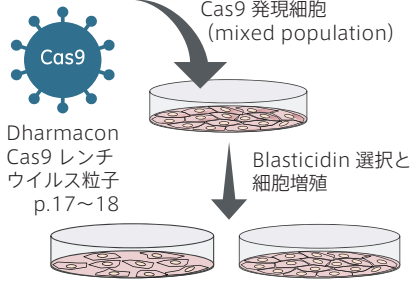
スクリーニング結果の読み出し (細胞死など) を行った後, sgRNA 配列を PCR 増幅し, 細胞プール内で増減した sgRNA 配列を次世代シーケンサーによって同定します。

application

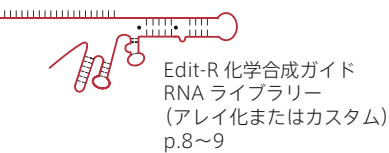
遺伝子ノックイン

アレイ化ライブラリーを用いたスクリーニング
(1ウェルにつき1遺伝子で解析する)

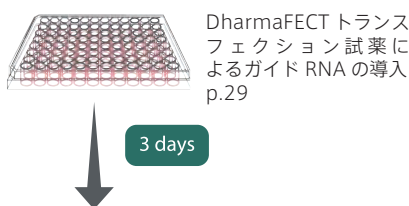
Cas9 安定発現株の作製



ガイド RNA を選ぶ



アレイ化スクリーニング実験



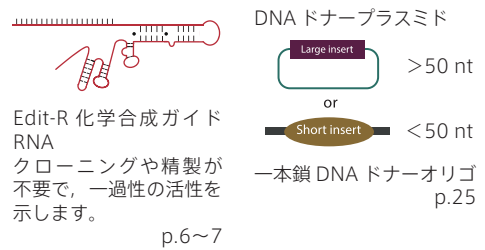
表現型の評価



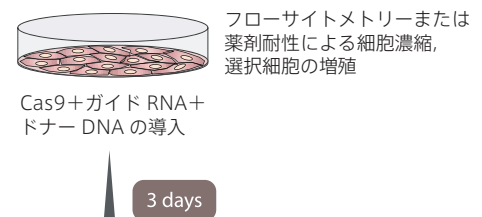
Cas9 のフォーマットを選ぶ



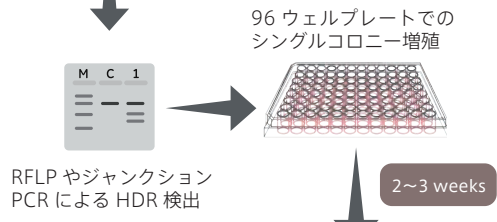
ガイド RNA とドナーオリゴを選ぶ



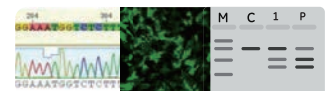
Cas9 やガイド RNA の導入と発現およびドナーオリゴの導入を最適化する



HDR 効率の評価



クローン化した細胞株の解析

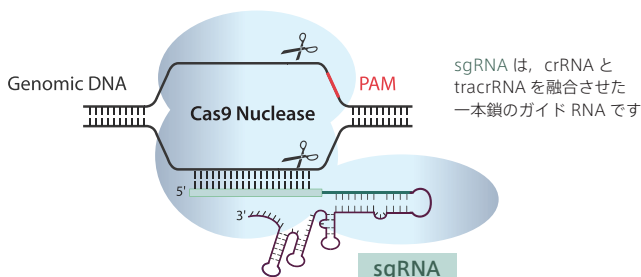


horizondiscovery.com

Horizon Discovery 社 デザイン済み化学合成ガイド RNA
Edit-R™ CRISPR (knockout) Synthetic sgRNA

Edit-R Synthetic sgRNA

- ヒト・マウス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ガイド RNA です。
- 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、初代培養細胞やゲノム編集の難しい細胞にも使用できます。
- 独自の配列デザインアルゴリズム (→ p.7) 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。
- ヌクレアーゼ耐性修飾が導入されています。



Individual : 1 配列

Set of 3 : 1 遺伝子に対する 3 配列 (3 本) のセット

[メーカー : DHA]

動物種	商品コード	包装	価格 (¥)
Individual			
Human	SG-HUMAN-XX-0002	2 nmol	37,300
	SG-HUMAN-XX-0005	5 nmol	74,700
	SG-HUMAN-XX-0010	10 nmol	112,200
Mouse	SG-MOUSE-XX-0002	2 nmol	37,300
	SG-MOUSE-XX-0005	5 nmol	74,700
	SG-MOUSE-XX-0010	10 nmol	112,200
Set of 3			
Human	SQ-HUMAN-XX-0002	2 nmol	93,500
	SQ-HUMAN-XX-0005	5 nmol	187,100
	SQ-HUMAN-XX-0010	10 nmol	261,900
Mouse	SQ-MOUSE-XX-0002	2 nmol	93,500
	SQ-MOUSE-XX-0005	5 nmol	187,100
	SQ-MOUSE-XX-0010	10 nmol	261,900

※商品コードの XX には、製品ごとに特定の数字が入ります。



コントロール製品

各種コントロール製品についてはフナコシ Web [Web ページ番号 : 68800] をご覧ください。

- ポジティブコントロール用 (PPIB/DNMT3B) sgRNA
- Cas9 の機能性と sgRNA 導入効率のモニター用 : 細胞死を誘導する Lethal sgRNA
- ネガティブコントロール用 (Non-targeting) sgRNA

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

Dharmacon 製品 (メーカー略称 : DHA) は、Horizon Discovery 社の Web サイトでオンラインでご注文下さい。製品はご指定の販売店よりお届けいたします。

新規ユーザー登録手順

- ユーザー情報をお知らせ下さい。
 - 【方法①】フナコシ Web にログインし、Web ページ番号 : 67329 にある「Horizon Discovery Dharmacon 製品 新規ユーザー登録/登録内容変更オンラインフォーム」に必要事項をご入力の上、送信して下さい。
 - 【方法②】Web ページ番号 : 67329 の「Horizon Discovery Dharmacon 製品 新規ユーザー登録/登録内容変更専用申込書」(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) までメールでお送り下さい。
- フナコシおよび Horizon Discovery 社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 (一時パスワード) が記載された「ログインパスワードのお知らせ」
 の 2 通のメールをお送りいたします。
- 「ログインパスワードのお知らせ」メールに従い、すみやかにお客様ご自身でパスワードを設定して下さい。
 - ※1~2 日経過すると仮パスワードが無効になりますので、ご注意ください。
- 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。

Horizon Discovery 社 Web サイト

<https://horizondiscovery.com/>

フナコシ Dharmacon 製品担当

✉ dharmacon@funakoshi.co.jp

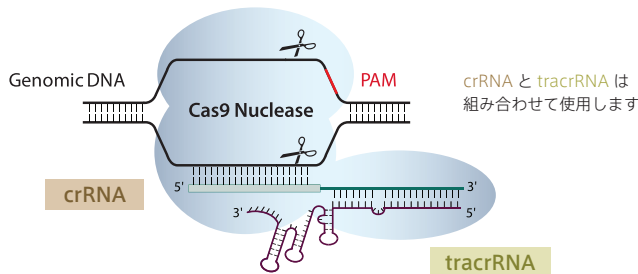
Horizon Discovery 社 デザイン済み化学合成ガイド RNA

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



Edit-R 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 (➡下記) 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。



[メーカー：DHA]

動物種	商品コード	包装	価格 (¥)
Human	CM-HUMAN-XX-0002	2 nmol	18,600
	CM-HUMAN-XX-0010	10 nmol	33,500
	CM-HUMAN-XX-0020	20 nmol	42,900
Mouse	CM-MOUSE-XX-0002	2 nmol	18,600
	CM-MOUSE-XX-0010	10 nmol	33,500
	CM-MOUSE-XX-0020	20 nmol	42,900

※商品コードの XX には、製品ごとに特定の数字が入ります。

コントロール製品



各種コントロール製品についてはフナコシ Web [Web ページ番号：67904] をご覧ください。

- ポジティブコントロール用 (PPIB/DNMT3B) crRNA
- Cas9 の機能性と crRNA 導入効率のモニター用：
細胞死を誘導する Lethal crRNA
- ネガティブコントロール用 (Non-targeting) crRNA

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。

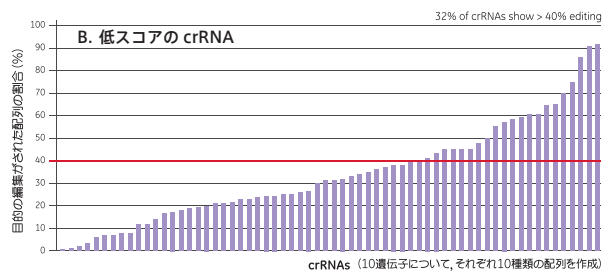
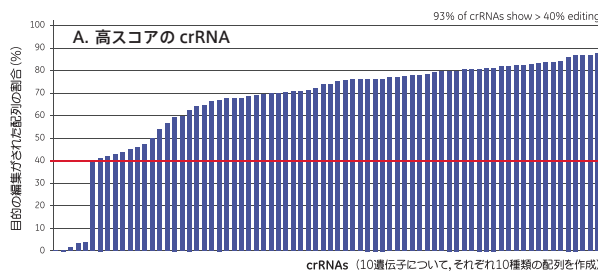
[メーカー：DHA]

商品コード	包装	価格 (¥)
U-002005-05	5 nmol	18,600
U-002005-20	20 nmol	41,100
U-002005-50	50 nmol	80,300
U-002005-200	200 nmol	241,400

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

機能的・特異的なガイド 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表現型を評価し、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 種類作製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% を超える編集効率を確認された。
- (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 は、高いゲノム編集効率を実現することが分かる (Cas9-HEK293T 細胞を使用)。



製品は Horizon Discovery 社の Web サイトに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。 ➡ p.6

ユーザー登録の方法

67329



ご注文方法の詳細

81062



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 Dharmacon™ CRISPR スクリーニングライブラリー



ハイスループットゲノム編集実験が可能、アレイ化 (Arrayed) またはプール化 (Pooled) sgRNA/crRNA です。

- 遺伝子ファミリー全体、または生物学的パスウェイ研究用の組み合わせ済みライブラリーをご用意しています。
- カスタムライブラリーは Cherry-Pick Library Tool で遺伝子名やリストをアップロードすることにより簡単にライブラリーを複製し、オーダーすることができます。

ライブラリー	化学合成 sgRNA (デザイン済み)	化学合成 crRNA (デザイン済み)	レンチウイルス sgRNA (デザイン済み)
製品の種類	・アレイ化 (Arrayed) → 下記 ・カスタム (Cherry-Pick) → p.9	・アレイ化 (Arrayed) → p.9 ・カスタム (Cherry-Pick) → p.9	・プール化 (Pooled) → p.9
製品形態	化学合成ガイド RNA を 96 または 384 ウェルプレートに分注した凍結乾燥品	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溶液を 96 ウェルプレートに分注した製品	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の混合物をマイクロチューブに分注した製品
細胞への導入方法	・トランスフェクション試薬 ・電圧ポレーション法	・トランスフェクション試薬 ・電圧ポレーション法 ・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 (トランスダクション)
アッセイ方法	1 遺伝子 1 ウェルのレイアウトのため、様々な表現型を解析可能 (表現型の解析に十分なゲノム編集効率を得る必要あり) ・ High Content Analysis, レポーターアッセイ, 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測定 ・細胞死または生存率の測定 ・フローサイトメトリーによる表現型解析 ・セルソーターや薬剤耐性マーカーによる細胞の分取や濃縮 ・次世代シーケンシング
スクリーニング実施時間	・遺伝子の数に応じてスケールアップされる	・遺伝子の数に応じてスケールアップされる ・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	表現型を 1 遺伝子 1 ウェルで直接解析可能		次世代シーケンシングデータの解析が必要

■ 組み合わせ済み化学合成 sgRNA / crRNA ライブラリー



Edit-R CRISPR (knockout) sgRNA Library

アレイ化

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	0.1, 0.25, 0.5, 1.0 nmol
製品フォーマット	Pool : 1 遺伝子あたり配列デザインが異なる 3 種類の sgRNA の混合物を 1 ウェルに分注: #GA-xxxxxx-xx

カテゴリー	ヒト
	遺伝子数*2
Whole Genome	19,037
Druggable Genome*1	8,340
GPCRs	390
Ion Channels	417
Phosphatases	256
Proteases	527
Protein Kinases	746
Ubiquitin Enzymes	738
Transcription Factors	1,580
Drug Targets	3,686

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

*2 遺伝子数は予告なく変更になる可能性があります。

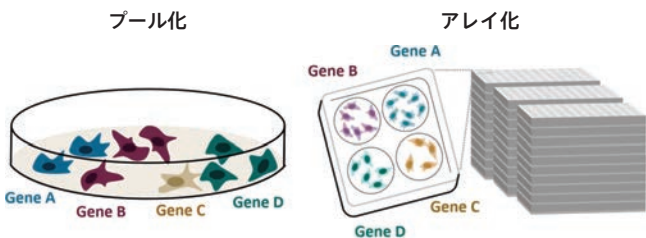
Edit-R CRISPR (knockout) crRNA Library

アレイ化

動物種	Human, Mouse
包装形態	96 または 384 ウェルプレート, 凍結乾燥品
容量	0.1, 0.25, 0.5 nmol
製品フォーマット	Pool : 1 遺伝子あたり配列デザインが異なる 4 種類の crRNA の混合物を 1 ウェルに分注: #GP-xxxxxx-xx Set of 4 : 1 遺伝子あたり配列デザインが異なる 4 種類の各 crRNA をそれぞれ個別のウェルに分注: #GC-xxxxxx-xx

カテゴリー	ヒト	マウス
	遺伝子数*2	遺伝子数*2
Genome	19,127	—
Druggable Genome*1	8,422	—
GPCR	390	515
Ion channels	417	340
Phosphatases	248	273
Proteases	527	599
Protein Kinases	746	774
Ubiquitin Enzymes	738	752
Transcription Factors	1,580	1,419
Drug Targets	3,686	—
Cell Cycle Regulation	169	105
Cytokine Receptors	110	139
De-ubiquitinating Enzymes	94	100
DNA Damage Response	240	—
Epigenetics	835	724
Membrane Trafficking	140	113
Nuclear Receptors	52	46
Tyrosine Kinases	90	92

※別途 Edit-R tracrRNA (→ p.7) の購入が必要です。



■ Cherry-Pick 化学合成 sgRNA / crRNA ライブラリー

カスタム

- デザイン済みヒト/マウスガイド RNA をご選択いただき、96/384 ウェルに分注してお届けするカスタムライブラリーです。
 - ご予算や実験ニーズに合わせてフレキシブルにライブラリーを構築し、プレートレイアウトをカスタマイズできます。
- ※最低注文数：20 ウェル分の製品 (96 ウェルプレートの場合)、40 ウェル分の製品 (384 ウェルプレートの場合)
※ご注文は、Cherry-Pick Library Tool をご使用下さい。

[メーカー：DHA]

製品ラインナップ	製品 フォーマット	1 ウェルあたりの容量と価格				
		0.1 nmol	0.25 nmol	0.5 nmol	1.0 nmol	2.0 nmol
Cherry-Pick CRISPR (knockout) sgRNA Library						
製品フォーマット	Pool	¥12,100	¥17,900	¥21,800	¥24,700	¥30,100
Pool: 1 遺伝子に対する 3 配列の混合物を分注 Individual: 1 遺伝子につき 1~3 配列から選択, 1 配列ごとに分注	Individual	¥5,400	¥9,000	¥10,800	¥13,700	¥16,800
Cherry-Pick CRISPR (knockout) crRNA Library						
製品フォーマット	Pool	¥8,700	¥12,800	¥15,500	¥17,900	¥19,500
Pool: 1 遺伝子に対する 4 配列の混合物を分注 Individual: 1 遺伝子につき 1~5 配列から選択, 1 配列ごとに分注	Individual	¥4,000	¥6,300	¥8,000	¥9,800	¥11,900

ライブラリー作製手順

Cherry-Pick Custom Library Tool

Horizon 社の Web サイトの Product タブから Cherry-Pick Custom Library Tool をクリックして下さい。Wizard 形式で必要事項を入力できます。

1. ご希望のガイド RNA/siRNA の遺伝子識別子 (Horizon 社 製品番号, NCBI 遺伝子 ID, 遺伝子記号など) を入力
2. 製品タイプとフォーマットを選択
3. 容量, コントロール, プレート枚数, レイアウトを設定
4. ショッピングカートに入れてチェックアウト

■ レンチウイルス sgRNA ライブラリー

Edit-R Arrayed Lentiviral sgRNA Library

アレイ化

- 1 遺伝子あたり最大 4 種類のデザイン済み 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。
- 組み合わせ済み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

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

Cherry-Pick CRISPR(knockout)Lentiviral sgRNA Library

カスタム

- 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。

動物種	Human, Mouse
包装形態	96 ウェルプレート ^{*2} , Glycerol stock

- *1 Proteases, Protein Kinases, Phosphatases, Transcription Factors, Ubiquitin Conjugation, GPCRs, Ion Channels, Drug Targets 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)

Edit-R Pooled Lentiviral sgRNA Library

プール化

- 数百~数千のターゲット遺伝子に対する遺伝子あたり 5~10 種類の sgRNA 発現用レンチウイルス粒子を混合してマイクロチューブに分注した、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。

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 (8×25 μ l または 16×25 μ l ^{*3})

- *3 包装はライブラリーにより異なります。

関連製品 sgRNA 配列のシーケンス

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 / 78,900
キット内容: Edit-R Pooled sgRNA Forward PCR Primer, Edit-R Pooled sgRNA Reverse Index PCR Primer (2/4~7/12~16/18~19), Edit-R Pooled Read 1 Illumina Sequencing Primer, Edit-R Pooled Index Read Illumina Sequencing Primer			
Edit-R Pooled sgRNA Indexing PCR and Sequencing Primer Kit B	DHA	PRM10185	1 order / 78,900
キット内容: Edit-R Pooled sgRNA Forward PCR Primer, Edit-R Pooled sgRNA Reverse Index PCR Primer (1/3/8~11/20~23/25/27), Edit-R Pooled Read 1 Illumina Sequencing Primer, Edit-R Pooled Index Read Illumina Sequencing Primer			

カテゴリー	ヒト	マウス
	遺伝子数	遺伝子数
Whole Genome	18,525	19,683
Druggable Genome	7,359	9,827
GPCR	378	498
Ion Channels	345	340
Protein Kinases	700	708
Phosphatases	247	269
Proteases	473	533
Ubiquitin Conjugation	564	517
Apoptosis	お問い合わせ下さい	
Cell Cycle Regulation		
De-ubiquitinating Enzymes		
Membrane Trafficking		
DNA Damage Response		
Epigenetics		
Nuclear Receptors		
Cytokine Receptors		
Serine Proteases		
Tyrosine Kinases		

フナコシ Dharmacon 製品担当

✉ dharmacon@funakoshi.co.jp

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



ガイド RNA
Lentivirus

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。

- 独自の配列デザインアルゴリズム (→ p.7) 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。
- 製品形態としてグリセロールストックとレンチウイルス粒子があります。



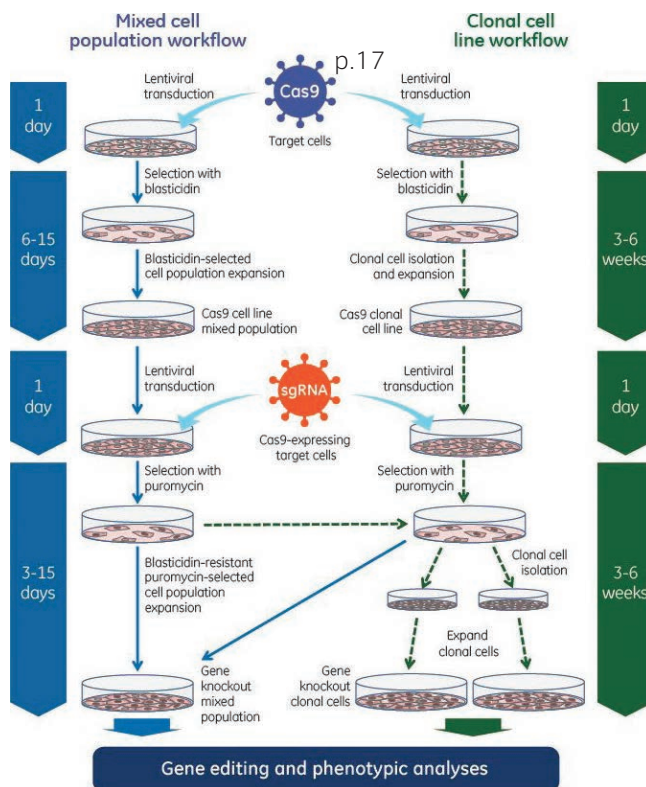
- Puromycin 選択マーカーを含みます。
- 標的遺伝子に対するデザイン済み sgRNA 配列から、お好みの 3 種類を発現するレンチウイルス (3 本) をセットにした製品 Set of 3 もあります。

-80°C カルタヘナ [メーカー: DHA]

動物種	製品形態	商品コード	包装	価格 (¥)
Individual				
Human	Glycerol stock	GSGH11838	1 vial	89,300
	Particles	VSGH10142	100 µl	151,600
Mouse	Glycerol stock	GSGM11839	1 vial	89,300
	Particles	VSGM10144	100 µl	151,600
Mouse	Particles	VSGM10145	200 µl	190,700
	Set of 3			
Human	Glycerol stock	GSGH11841	1 set	241,400
	Particles	VSGH10148	100 µl	379,500
Mouse	Glycerol stock	GSGM11842	1 set	241,400
	Particles	VSGM10150	100 µl	379,500
Mouse	Particles	VSGM10151	200 µl	418,400

- ※ 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 -EGXXXXX (EG の後に 5 ケタ程度の数字) が付きます。
- ※ 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。
- ※ Particles : レンチウイルス粒子 (10⁸ TU/ml)

ワークフロー



コントロール製品

各種コントロール製品についてはフナコシ Web [Web ページ番号 : 67904] をご覧ください。

- ポジティブコントロール用 (PIIB/DNMT3B) sgRNA 発現レンチウイルスベクター
- ネガティブコントロール用 (Non-targeting) sgRNA 発現レンチウイルスベクター

製品は Horizon Discovery 社の Web サイトに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。 → p.6

ユーザー登録の方法 67329 検索 ご注文方法の詳細 81062 検索

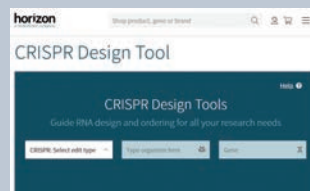
オンラインツールのご紹介 CRISPR Design Tool

配列設計から行うカスタムガイド RNA

Horizon Discovery 社では、デザイン済みガイド RNA (→ p.6~10) のほか、お客様ご自身で配列を設計・ご注文いただくためのオンラインツールもご用意しています。

- 標的遺伝子に対するデザイン済みガイド RNA 製品がない場合に有用なインターフェースです。
- 遺伝子 ID を入力するだけで、30 種類以上の生物種を対象としたガイド RNA のカスタムデザインが可能です。
- 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 上でそのままご注文いただけます。
- ※ 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をご利用いただくには、事前にユーザー登録が必要です。 → p.6

Horizon Discovery 社のウェブサイトへアクセスし、Products のタブからゲノム編集 > Custom guide RNA をクリックして下さい。
<https://horizondiscovery.com/>





マルチガイドの 合成 sgRNA ライブラリー

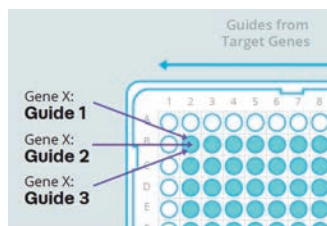


マルチウェルプレートの各ウェルに個々の遺伝子を標的とした化学合成 sgRNA を添加したライブラリーです。

特長

- 各標的遺伝子に対して最大3種類のsgRNAのセット (Multi-guide) を用い、共同でノックアウトすることにより、標的遺伝子の機能をノックアウトする効率を高めています。
- 動物種：ヒト
- サイズ：30 pmol/ウェル, 150 pmol/ウェル
- フォーマット：384 ウェルプレート

※ カスタムライブラリーでは、マウスや96ウェルプレート、他サイズの作製も可能です。



ランダムに選択したヒト遺伝子 100 種類をターゲットとする 300 種類の sgRNA を使用した Synthego 社のテストでは、Multi-guide sgRNA でのゲノム編集は相乗効果により、87.3% の割合で、シングルガイドよりも Indel (挿入欠失) の頻度が高くなることが示されました。

ラインナップ

新型コロナウイルス (SARS-CoV-2)	
SARS-CoV-2 Interactome	Druggable, SARS-CoV-2 Interactome
Protein Family	
Kinases, Complete	Nuclear Hormone Receptors
Cytokine and Chemokine	Phosphatases
Deubiquitinating Enzymes (DUBS)	Serine Proteases
G-Protein Coupled Receptors (GPCRs)	Tyrosine Kinases
Helicase	Ubiquitin Protein Ligase
Ion Channel	
Protein Function	
Apoptosis Pathway	Immunology/Immuno-Oncology
B-Cell Activation	JAK-STAT Pathway
Cell Adhesion Genes	Metabolic Activity
Cell Cycle Regulators	p53 Pathway
Cytoskeleton Genes	T-Cell Activation
DNA Repair Pathway	Transcription Factors
Epigenetic Regulators	Tumor Suppressors
Extracellular Matrix Genes	Ubiquitin Ligases (E1, E2, E3)
その他	
Cell Surface Proteins	Secreted Proteins
Druggable, Complete	Whole Genome
Essential Genes	

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：SGO]

EasyEdit sgRNA / SafeEdit sgRNA 合成受託サービス

GenScript 社の sgRNA 合成受託サービスです。

EasyEdit sgRNA

簡便な操作で、効果的なゲノム編集をサポートします。

- 両末端に化学修飾 (2'-O-メチル, およびホスホロチオエート修飾)
- ハイスループットスクリーニングに対応した 96 ウェルプレートでの提供が可能です。
- ノックアウト (KO) 効率が高いため、トランスフェクションが難しい細胞に対してもお試しください。

[メーカー：GS]

包装	2 nmol	4 nmol	10 nmol	50 nmol	100 nmol
価格	¥12,800	¥19,800	¥33,800	¥100,800	¥159,800

SafeEdit sgRNA

HPLC 精製された高純度 sgRNA がオフターゲットと細胞毒性を最小限に抑えます。

- 両末端に化学修飾 (2'-O-メチル, およびホスホロチオエート修飾)
- 90% 以上の純度を保証
- 初代細胞や幹細胞に最適

追加 QC オプションを提供しています。

- ✓ マイコプラズマ試験 (qPCR)
- ✓ エンドトキシン試験 (Kinetic LAL)
- ✓ 安定性試験
- ✓ 細胞毒性試験 (指定細胞株との共培養)

[メーカー：GS]

包装	2 nmol	4 nmol	10 nmol	50 nmol	100 nmol
価格	¥19,800	¥31,900	¥55,900	¥179,800	¥259,800



FAQ

Q-1. ノックアウトには sgRNA や crRNA のシーケンスが何種類必要ですか？

A-1. 実験の精度を高め、ターゲットを確実にノックアウトするには 3 種類のシーケンスを用意することをお奨めします。オフターゲット効果に対する予防策としても、個別のノックアウト変異体を作製することは有効です。

Q-2. 非修飾 sgRNA ではなく修飾 sgRNA を使用した方が良いのはなぜですか？

A-2. GenScript 社では、sgRNA の 5' - と 3' - 両末端から各 3 残基を 2'-O-メチルおよびホスホロチオエート修飾しています。2'-O-メチルオリゴ修飾は、加水分解やヌクレアーゼに対する安定性を向上させた RNA アナログです。ホスホロチオエート (PS) 修飾は、ヌクレオチド間の結合を変化させ、ヌクレアーゼ分解に対する耐性を増強します。

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]



Web ページ番号

53108



ガイド RNA 発現用 レンチウイルスベクター

ガイド RNA
Lentivirus

ガイド RNA を発現させるレンチウイルスベクターです。

- 線状化されているためライゲーションが容易です。
- ライゲーション：10 回分
- ※レンチウイルス粒子へのパッケージングが必要です。

gRNA Linearized SmartNuclease Lentivector Plasmid

[メーカー：SBI]

ガイド RNA プロモーター	プロモーター/ マーカー	商品コード	包装	価格 (¥)
H1	Blast ^R	CASLV500PA-B	1 kit	126,000
	copGFP	CASLV501PA-G	1 kit	126,000
	RFP	CASLV502PA-R	1 kit	126,000
U6	Blast ^R	CASLV510PA-B	1 kit	126,000
	copGFP	CASLV511PA-G	1 kit	126,000
	RFP	CASLV512PA-R	1 kit	126,000



Web ページ番号

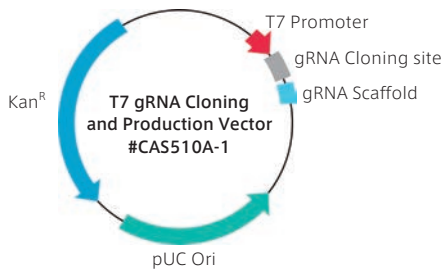
8121



ガイド RNA 作製キット

IVT guide RNA

任意のガイド RNA (crRNA-tracrRNA キメラ転写産物) を組み込んだクローニングベクターの作製キットです。



- PCR 用または *in vitro* 転写用のテンプレートとして、高効率にガイド RNA を作製できます。
- #CAS510A-1 に *in vitro* 転写を行うための試薬をセットにした製品 (#CAS510A-KIT) もあります。

■*in vitro* 転写 (IVT) によるガイド 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ERING 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. ダイレクトシークエ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 (10 reactions)	SBI	CAS510A-1	1 kit / 126,000
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 / 148,000
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			



Web ページ番号

63394



ガイド RNA のクローニングキット

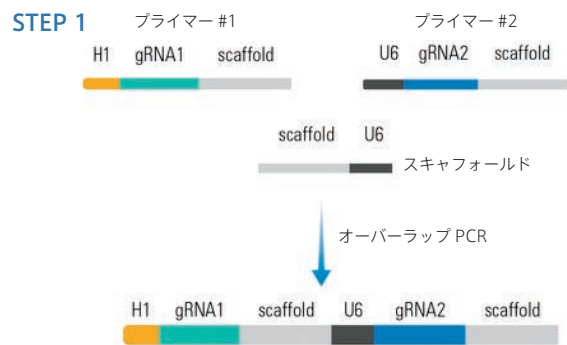
PrecisionX Multiplex gRNA Cloning Kit

ガイド RNA 発現コンストラクトまたは PrecisionX Cas9 SmartNuclease All-in-one Vectors (→ p.20) に, 最大 4 つのガイド RNA 配列をクローニングできるキットです。

特長

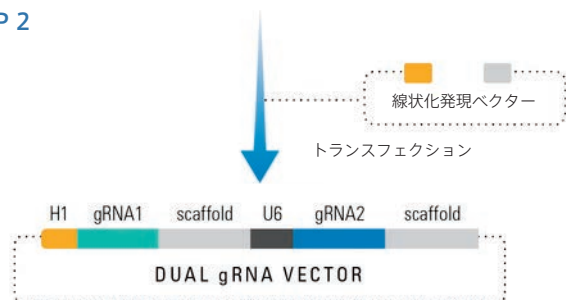
- 1 回のトランスフェクションで複数遺伝子をノックアウトするコンストラクトを作製できます。
- 多くのガイド RNA ベクターに対応します。

操作方法概略



作製しようとするガイド 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, 両方のガイド 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。

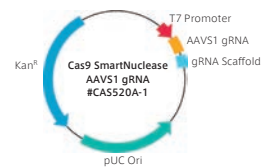
品名	メーカー	商品コード	包装 / 価格 (¥)
PrecisionX Multiplex gRNA Cloning Kit (10 reactions)	SBI	CAS9-GRNA-KIT	1 kit / 80,000
キット内容: Master mix, Linearized vector (positive control), PCR product (positive control), H1 block, U6 block			

こちらもオススメ

セーフハーバーサイト (AAVS1) を標的にするガイド RNA

Web ページ番号

8121



品名	メーカー	商品コード	包装 / 価格 (¥)
Transfection-ready Cas9 SmartNuclease AAVS1 gRNA	SBI	CAS520A-1	10 μg / 58,000
AAVS1 (Safe Harbor) を認識するコントロール用ガイド RNA			

Dharmacon™ Cas9 製品

■ Cas9ヌクレアーゼタンパク質

horizon
a PerkinElmer company

Streptococcus pyogenes 由来の組換え体 (リコンビナント) Cas9ヌクレアーゼです。



Cas9 Protein

- N末端に6×His タグ, C末端に Simian virus 40 (SV40) 由来の核局在化シグナル (NLS: Nuclear Localization Signal) 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)
- 産生: 大腸菌 (*E. coli*)

Cas9 Nuclease Protein NLS

[メーカー: DHA]

濃度	商品コード	包装	価格(¥)
61.8 μM (10 μg/μl)	CAS12205	100 μg	42,700
	CAS12206	500 μg	155,600
	CAS12207	5×500 μg	700,800

■ Cas9ヌクレアーゼ発現用 mRNA

horizon
a PerkinElmer company

ヒト用にコドン最適化した *Streptococcus pyogenes* 由来 Cas9ヌクレアーゼ遺伝子をコードする mRNA です。



Cas9 mRNA

- 5' および 3' の両方において核局在化シグナル (NLS) 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容易で, トランスフェクションの視覚化が可能になります。
- 製品形態: 溶液 (1 μg/μl)

Cas9 Nuclease mRNA

[メーカー: DHA]

レポーター	商品コード	包装	価格(¥)
なし	CAS11195 -80°C	20 μg	37,300
	CAS11196 -80°C	100 μg	149,600
	CAS12219 -80°C	500 μg	411,700
mKate2	CAS11859 -80°C	20 μg	37,300
	CAS12218 -80°C	100 μg	149,600
EGFP	CAS12221 -80°C	500 μg	411,700
	CAS11860 -80°C	20 μg	37,300
	CAS12217 -80°C	100 μg	149,600
	CAS12220 -80°C	500 μg	411,700

略語

hCMV	Human Cytomegalovirus immediate early promoter
mCMV	Mouse Cytomegalovirus immediate early promoter
CAG	Human Cytomegalovirus, chicken β-Actin hybrid promoter
hEF1α	Human Elongation Factor 1α promoter
mEF1α	Mouse Elongation Factor 1α promoter
PGK	Mouse Phosphoglycerate Kinase promoter
MSCV	Murine Stem Cell Virus promoter
SV40	Simian Virus 40 promoter
H1	H1 promoter
U6	U6 promoter
WPRES	Woodchuck hepatitis Posttranscriptional Regulatory Element (導入遺伝子の発現を促進)
IRES	バイストロニック発現システム用配列 Internal Ribosome Entry Site
T2A	バイ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

■ Cas9 の導入方法

タンパク質で導入 (DNA フリー)

- ✓ 転写・翻訳不要で迅速に編集が行われる
- ✓ 導入方法が簡単 (トランスフェクション or エレクトロポレーション)
- ✓ DNA のランダムインテグレーションが生じない
- ✓ 導入したタンパク質は一過性のためオフターゲットのリスクも低減できる

mRNA で導入 (DNA フリー)

- ✓ 一過性発現のため, オフターゲット効果を抑制できる
- ✓ フローサイトメトリーや薬剤耐性による細胞濃縮も可能

プラスミドで導入

- ✓ 方法が確立しており, 低コスト
- ✓ フローサイトメトリーや薬剤耐性による細胞濃縮も可能
- △ DNA のランダムインテグレーションやプロモーターの最適化なども考慮する必要がある

レンチウイルスで導入

- ✓ 安定した恒常発現が可能
- ✓ フローサイトメトリーや薬剤耐性による細胞濃縮も可能
- ✓ トランスフェクションが難しい浮遊細胞や免疫細胞に適している
- △ レンチベクター製品の場合はパッケージングが必要

■ Cas9 クレアーゼ発現プラスミド

エンドキシンフリー精製 DNA です。細胞によって最適なプロモーターを選択できます。



Cas9 Plasmid

- Cas9 はヒト用にコドンが最適化されています。
- 蛍光レポーター (mKate2) 発現タイプ, Puromycin 耐性遺伝子発現タイプ : Cas9 クレアーゼを発現駆動するプロモーターを、使用する細胞に合わせて 6 種類から選択できます。
- Blasticidin 耐性遺伝子発現タイプ : 目的の細胞で蛍光タンパク質を恒常的に発現させたくない場合や、Blasticidin 処理によって Cas9 発現細胞を濃縮する場合に便利です。
- 製品形態 : 凍結乾燥品

Cas9 Expression Plasmid DNA [メーカー : DHA]

選択マーカー		Cas9		商品コード	包装	価格 (¥)
プロモーター	発現	連結	発現			
hCMV	mKate2	T2A	hspCas9	U-004100-120	120 µg	37,300
mCMV	mKate2			U-004200-120	120 µg	37,300
hEF1α	mKate2			U-004300-120	120 µg	37,300
mEF1α	mKate2			U-004400-120	120 µg	37,300
PGK	mKate2			U-004500-120	120 µg	37,300
CAG	mKate2			U-004600-120	120 µg	37,300
hCMV	Puro ^R	T2A	hspCas9	U-005100-120	120 µg	37,300
mCMV	Puro ^R			U-005200-120	120 µg	37,300
hEF1α	Puro ^R			U-005300-120	120 µg	37,300
mEF1α	Puro ^R			U-005400-120	120 µg	37,300
PGK	Puro ^R			U-005500-120	120 µg	37,300
CAG	Puro ^R			U-005600-120	120 µg	37,300
SV40	Blast ^R	hCMV	hspCas9	U-001000-120	120 µg	37,300

■ Cas9 クレアーゼ発現レンチウイルスベクター／レンチウイルス粒子

Cas9 発現用レンチウイルスベクターです。



Cas9 Lentivirus

- 製品形態として Lentiviral Plasmid DNA (エンドキシンフリー) とレンチウイルス粒子があります。Lentiviral Plasmid は、レンチウイルス粒子へのパッケージングが必要です。
- Cas9 はヒト用にコドンが最適化されています。
- Cas9 クレアーゼを恒常的に発現する細胞株の作製や、トランスフェクションが困難な細胞に有用です。



Cas9 クレアーゼ恒常発現用

Lentiviral Cas9 Nuclease Plasmid DNA / Particles

[メーカー : DHA]

選択マーカー		Cas9		レンチウイルスベクター* (Lentiviral Plasmid)			レンチウイルス粒子 (10 ⁷ TU/ml) -80°C カルタヘナ		
プロモーター	発現	連結	発現	商品コード	包装	価格 (¥)	商品コード	包装	価格 (¥)
hCMV	Blast ^R	T2A	hspCas9	CAS10136	10 µg	60,200	VCAS10124	50 µl	120,600
mCMV	Blast ^R			CAS10137	10 µg	60,200	VCAS10125	50 µl	120,600
hEF1α	Blast ^R			CAS10138	10 µg	60,200	VCAS10126	50 µl	120,600
mEF1α	Blast ^R			CAS10139	10 µg	60,200	VCAS10127	50 µl	120,600
PGK	Blast ^R			CAS10140	10 µg	60,200	VCAS10128	50 µl	120,600
CAG	Blast ^R			CAS10141	10 µg	60,200	VCAS10129	50 µl	120,600
hCMV	mKate2			CAS11877	10 µg	60,200	VCAS11869	50 µl	120,600
mCMV	mKate2			CAS11871	10 µg	60,200	VCAS11863	50 µl	120,600
hEF1α	mKate2			CAS11873	10 µg	60,200	VCAS11865	50 µl	120,600
hCMV	TurboGFP			CAS11876	10 µg	60,200	VCAS11868	50 µl	120,600
mCMV	TurboGFP			CAS11870	10 µg	60,200	VCAS11862	50 µl	120,600
hEF1α	TurboGFP			CAS11872	10 µg	60,200	VCAS11864	50 µl	120,600

* レンチウイルス粒子へのパッケージングが必要です。 ※TurboGFP は Evrogen 社の商標です。

■ Cas9 ノックアウト発現レンチウイルスベクター／レンチウイルス粒子 (続き)



Cas9 ノックアウト誘導発現用

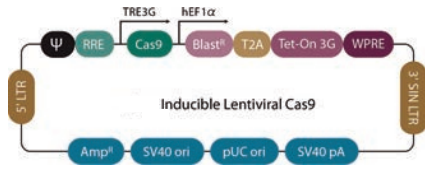


Cas9 Lentivirus

- 「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。

Inducible Lentiviral hEF1a-Blast-Cas9 Nuclease

[メーカー：DHA]



製品形態	Cas9		選択マーカー		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			
レンチウイルスベクター*	TRE3G	hspCas9	hEF1α	Blast ^R	CAS11229	10 µg	69,900
レンチウイルス粒子					VCAS11227 -80°C カルタヘナ	50 µl	140,100

* レンチウイルス粒子へのパッケージングが必要です。

※ TRE3G : Doxycycline 誘導性プロモーター ※ レンチウイルス粒子 (Particles) : 10⁷ TU/ml

※ Tet-On® システムを企業でご使用の場合、ご購入の際は事前に Tet system 社とのライセンス契約が必要です。

■ Cas9 とガイド RNA を同時発現できる All-in-one ベクター



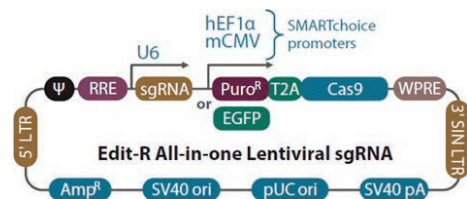
Cas9 と、標的遺伝子に対するデザイン済み sgRNA を同時発現できるレンチウイルスベクターです。

Web ページ番号 65183



- 独自の配列デザインアルゴリズム (→ p.7) 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。
- ヒト用にコドン最適化済みの spCas9 および Puromycin 耐性遺伝子が組み込まれています。
- Cas9 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。
- 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) をセットにした製品 Set of 3 もあります。

複数回の導入ステップが不要で、トランスフェクションが困難な細胞に最適です。



ピューロマイシン耐性遺伝子発現用

Edit-R All-in-one Lentiviral sgRNA (Puromycin)

-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	101,200
	Particles	VSGH11936	100 µl	161,300
	Particles	VSGH11937	200 µl	200,400
Mouse	Glycerol stock	GSGM11941	1 vial	101,200
	Particles	VSGM11942	100 µl	161,300
	Particles	VSGM11943	200 µl	200,400

Edit-R All-in-one Set of 3 Lentiviral sgRNA (Puromycin)

-80°C カルタヘナ [メーカー：DHA]

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	260,900
	Particles	VSGH11939	100 µl	400,900
	Particles	VSGH11940	200 µl	439,800
Mouse	Glycerol stock	GSGM11944	1 vial	260,900
	Particles	VSGM11945	100 µl	400,900
	Particles	VSGM11946	200 µl	439,800

EGFP 発現用

Edit-R All-in-one hEF1a-EGFP Lentiviral sgRNA

-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	GSGH12178	1 vial	101,200
	Particles	VSGH12179	100 µl	161,300
	Particles	VSGH12180	200 µl	200,400
Mouse	Glycerol stock	GSGM12184	1 vial	101,200
	Particles	VSGM12185	100 µl	161,300
	Particles	VSGM12186	200 µl	200,400

Edit-R All-in-one hEF1a-EGFP Set of 3 Lentiviral sgRNA

-80°C カルタヘナ [メーカー：DHA]

Set of 3				
動物種	製品形態	商品コード	包装	価格(¥)
Human	Glycerol stock	GSGH12190	1 vial	260,900
	Particles	VSGH12191	1 set	400,900
	Particles	VSGH12192	200 µl	439,800
Mouse	Glycerol stock	GSGM12196	1 vial	260,900
	Particles	VSGM12197	1 set	400,900
	Particles	VSGM12198	200 µl	439,800

※掲載の EGFP 発現用 All-in-one sgRNA はプロモーターが hEF1α の製品です。mCMV 製品の商品コードはフナコシ Web をご覧下さい。

※ 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。

※ Particles : レンチウイルス粒子 (10⁷ TU/ml)



- ポジティブコントロール用 (PPIB / DNMT3B) All-in-one レンチウイルス sgRNA
- ネガティブコントロール用 (Non-targeting) All-in-one レンチウイルス sgRNA

Web ページ番号 65183





System Biosciences 社 Cas9 製品

Cas9 ヌクレアーゼタンパク質



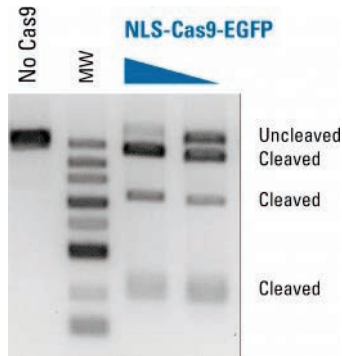
SV40 由来の核移行シグナル (NLS : Nuclear Localization Signal) を持つ、組換え体 (リコンビナント) spCas9 タンパク質です。



- Ready-to-use で、トランスフェクション、エレクトロポレーション、インジェクションで導入できます。
- 産生 : 大腸菌 (*E. coli*)



使用例



pUC57 プラスミド DNA を制限酵素 EcoRV で切断 (線状化) し、産物を 1% アガロースゲルで泳動した。
導入する NLS-Cas9-EGFP が多い場合 (100 ng) の方が、少ない場合 (50 ng) よりも未切断産物が少ないことが分かる。

[メーカー : SBI]

品名	濃度	レポーター	商品コード	包装	価格 (¥)
NLS-Cas9-NLS	4 µg/µl	なし	CAS410A-1	50 µg	32,000
NLS-Cas9-EGFP	3 µg/µl	EGFP	CAS420A-1	50 µg	41,000

Cas9 ヌクレアーゼ発現用 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ため、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。



Transfection-ready Cas9 SmartNuclease mRNA

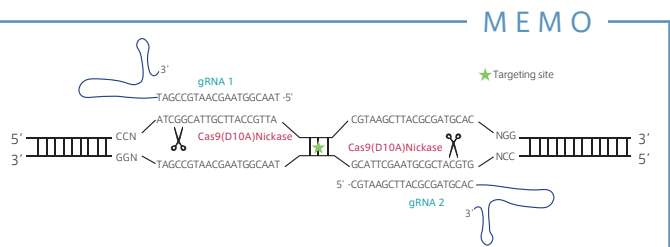
[メーカー : SBI]

用途	Cas9	レポーター	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	80,000
		GFP	CAS530G-1 -80°C	10 µg	70,000
		RFP	CAS531R-1 -80°C	10 µg	70,000
	変異型 (D10A) hspCas9, Nickase	なし	CAS504A-1 -80°C	20 µg	80,000
		GFP	CAS534G-1 -80°C	10 µg	70,000
		RFP	CAS535R-1 -80°C	10 µg	70,000
コントロール	mRNAExpress GFP transcript	GFP	MR700A-2* -80°C	2×10 µg	66,000
コントロール	mRNAExpress RFP transcript	RFP	MR800A-2* -80°C	2×10 µg	66,000

* 受注発注品

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。



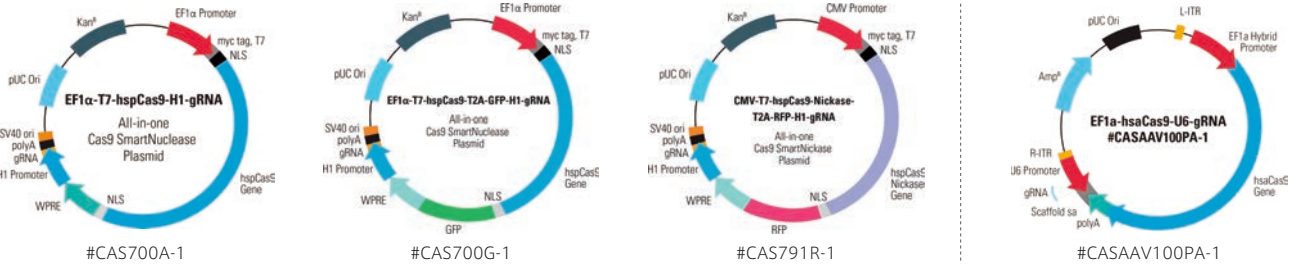
標的部位のアンチセンス鎖に対する gRNA 1 とセンス鎖に対する gRNA 2 を作製し、Cas9 (D10A) を用いてペアでニックを入れ、ゲノム編集の効率を向上させる。

MEMO

■ Cas9 と任意のガイド RNA を同時発現できる All-in-one ベクター



任意のガイド RNA を導入し、Cas9 (野生型または変異型) とガイド RNA を 1 つのベクターで発現できます。



特長

■プラスミド (#CAS)

- 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。
- 線状化されているため、ライゲーションが容易です (ライゲーション 10 回分)。
- 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。
- 本ベクターへのガイド RNA のクローニングには、PrecisionX Multiplex gRNA Cloning Kit がおすすめです (➡ p.15)。

■レンチウイルスベクター (#CASLV)

- Cas9 とガイド RNA を同時に発現させるレンチウイルスベクターです。レンチウイルス粒子へのパッケージングが必要です。
- トランスフェクションの難しい細胞でノックアウトしたい場合や、Cas9 安定発現細胞株を樹立し、複数のノックアウト細胞を効率良く作製したい場合に有用です。

■アデノ随伴ウイルスベクター (#CASA AV100PA-1)

- spCas9 よりサイズが小さい saCas9 とガイド RNA を、一つのベクターで発現できます。
- in vivo 導入に有用です。
- ガイド RNA 配列を組み込み、ウイルスパッケージング後に、AAVanced AAV concentration reagent (Web ページ番号 : 63833) を用いて組換え体 AAV 粒子を濃縮して使用します。
- ※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。

[メーカー : SBi]

種類	Cas9		ガイド RNA	選択マーカー	商品コード	包装	価格 (¥)
	プロモーター	発現					
プラスミド (SmartNuclease) Cas9+ガイド RNA Plasmid	EF1α	野生型 hspCas9	H1	なし	CAS700A-1	1 kit	148,000
				GFP	CAS700G-1	1 kit	153,000
				RFP	CAS701R-1	1 kit	153,000
	CAG			なし	CAS720A-1	1 kit	148,000
				GFP	CAS720G-1	1 kit	153,000
				RFP	CAS721R-1	1 kit	153,000
	CMV			なし	CAS740A-1	1 kit	148,000
				GFP	CAS740G-1	1 kit	153,000
				RFP	CAS741R-1	1 kit	153,000
プラスミド (SmartNickase) Cas9+ガイド RNA Plasmid	EF1α	変異型 (D10A) hspCas9, Nickase	H1	なし	CAS750A-1	1 kit	148,000
				GFP	CAS750G-1	1 kit	153,000
				RFP	CAS751R-1	1 kit	153,000
	CAG			なし	CAS770A-1	1 kit	148,000
				GFP	CAS770G-1	1 kit	153,000
				RFP	CAS771R-1	1 kit	153,000
	CMV			なし	CAS790A-1	1 kit	148,000
				GFP	CAS790G-1	1 kit	153,000
				RFP	CAS791R-1	1 kit	153,000
レンチウイルスベクター Cas9+ガイド RNA Lentivirus	CMV	野生型 hspCas9	H1	T2A Puro ^R	CASLV300PA-1	1 kit	148,000
	MSCV	野生型 hspCas9	H1	T2A Puro ^R	CASLV320PA-1	1 kit	148,000
	CMV	変異型 (D10A) hspCas9	H1	T2A Puro ^R	CASLV400PA-1	1 kit	148,000
	MSCV	変異型 (D10A) hspCas9, Nickase	H1	T2A Puro ^R	CASLV420PA-1	1 kit	148,000
AAV (アデノ随伴ウイルス) ベクター Cas9+ガイド RNA AAV	EF1α	hsaCas9	U6	Amp ^R	CASA AV100PA-1	1 kit	148,000

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]

MEMO

Cas9

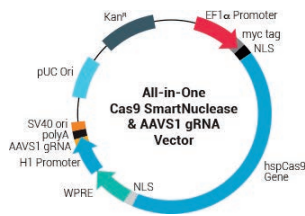
20

TEL 03-5684-1620 FAX 03-5684-1775 reagent@funakoshi.co.jp

価格・内容は発行日現在です
掲載内容は研究用です



■ Cas9 と標的 : AAVS1 のガイド RNA を同時発現できる All-in-one ベクター



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 (→ p.27) に対するガイド RNA と、Cas9 を組み込み済みです。
- ドナー DNA (→ p.27) 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。

* レンチウイルス粒子へのパッケージングが必要です。

All-in-one Cas9 SmartNuclease AAVS1-gRNA Plasmid/Targeting vector

[メーカー : SBI]

種類	Cas9		ガイド RNA の標的	選択マーカー		商品コード	包装	価格 (¥)
	プロモーター	発現						
プラスミド	EF1α	野生型 hspCas9	AAVS1	なし		CAS601A-1	10 µg	202,000
レンチウイルスベクター*	CMV	野生型 hspCas9	AAVS1	T2A	Puro ^R	CASLV601PA-1	10 µg	190,000
レンチウイルス粒子						CASLV601VA-1 -80°C カルタヘナ	2×25 µl	126,000

➡ Safe Harbor 標的ガイド RNA p.15

➡ Safe Harbor ノックイン用 HR ドナーベクター p.27

■ Cas9 ヌクレアーゼ発現レンチウイルスベクター/レンチウイルス粒子



- Cas9 (野生型または変異型) を発現するレンチウイルスベクターです。製品形態として Lentivector Plasmid とレンチウイルス粒子があります。
- Lentivector Plasmid は、レンチウイルス粒子へのパッケージングが必要です。線状化されていないため、ケミカルコンピテントセルで増殖可能です。

Web ページ番号 53108 🔍 検索



SmartNuclease / SmartNickase Lentivector Plasmid & Pre-packaged Lentiviral Particles

[メーカー : SBI]

Cas9				レンチウイルスベクター (Lentivector Plasmid)			レンチウイルス粒子 (>10 ⁷ IFUs/ml) -80°C カルタヘナ		
プロモーター	発現	選択マーカー		商品コード	包装	価格 (¥)	商品コード	包装	価格 (¥)
CMV	野生型 hspCas9	T2A	Puro ^R	CASLV100PA-1	10 µg	126,000	CASLV100VA-1	2×25 µl	126,000
MSCV		T2A	Puro ^R	CASLV120PA-1	10 µg	126,000	CASLV120VA-1	2×25 µl	126,000
CMV		EF1α	copGFP	CASLV105PA-1	10 µg	126,000	CASLV105VA-1	2×25 µl	126,000
MSCV		EF1α	copGFP	CASLV125PA-1	10 µg	126,000	CASLV125VA-1	2×25 µl	126,000
CMV	変異型 (D10A) hspCas9, Nickase	T2A	Puro ^R	CASLV200PA-1	10 µg	126,000	CASLV200VA-1	2×25 µl	126,000
MSCV		T2A	Puro ^R	CASLV220PA-1	10 µg	126,000	CASLV220VA-1	2×25 µl	126,000
CMV		EF1α	copGFP	CASLV205PA-1	10 µg	126,000	CASLV205VA-1	2×25 µl	126,000
MSCV		EF1α	copGFP	CASLV225PA-1	10 µg	126,000	CASLV225VA-1	2×25 µl	126,000

➡ Cas9 とガイド RNA を同時発現させるレンチウイルスベクター p.20

ご購入時のご注意

! 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。ご注文の際は、フナコシ Web にある「ウイルスベクター関連製品ご使用者確認書」に必要事項をご記入の上、販売店担当者にお渡し下さい。なお、製品をご使用の際には「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 (カルタヘナ法)」および所属組織における安全管理規定に従い、しかるべき施設で実験を行って下さい。

こちらもオススメ

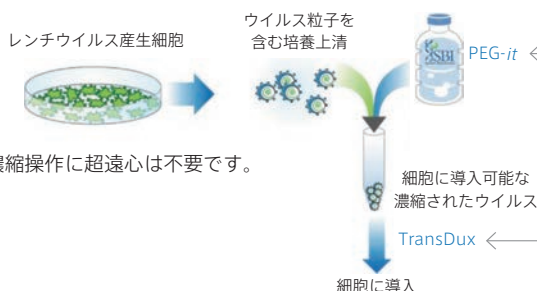
組換え体レンチウイルス作製受託サービス

第 2, 第 3 世代 HIV ベースおよび、FIV ベースのレンチウイルス発現ベクターに対応しています。
 ※ プラスミド DNA の米国への送料が別途必要です。
 ※ 参考納期 : System Biosciences 社がプラスミド受領後、約 5 週間



Web ページ番号 65637 🔍 検索

レンチウイルス濃縮・形質導入用試薬



● 濃縮操作に超遠心は不要です。

品名	メーカー	商品コード	包装 / 価格 (¥)
Virus Precipitation Solution (5×), PEG-it	SBI	LV810A-1	100 ml 66,000
	SBI	LV825A-1	250 ml 145,000
Lentivirus Transduction Enhancer, TransDux MAX (100 transductions)	SBI	LV860A-1	1 kit 80,000
レンチウイルス形質導入試薬 TransDux (250 µl) と、感染効率をさらに上昇させる MAX Enhancer (10 ml) のセット品。			

長鎖一本鎖 DNA の調製キット

Long ssDNA Preparation Kit for 1.5kb & 3.0kb



正確な配列を有する高純度の長鎖一本鎖 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、ゲノム編集を行うことで、効率よいノックインに成功した報告があります。

Yoshimi, K., et al., *Nat. Commun.*, **7**, 10431 (2016). [PMID: 26786405]
 Liu, B., et al., *Nat. Immunol.*, **18** (5) 499~508 (2017). [PMID: 28319097]
 Xia, P., et al., *Nat. Immunol.*, **19** (2) 141~150 (2018). [PMID: 29292386]
 Zhu, P., et al., *Nat. Cell Biol.*, **20** (10) 1134~1144 (2018). [PMID: 30224759]
 Zhu, P., et al., *Nat. Immunol.*, **20** (2) 183~194 (2019). [PMID: 30643264] など
 Sasaki, K., et al., *J. Reprod. Dev.*, **67** (3), 229~234 (2021). [PMID: 33716236]
 Wang, Y., et al., *J. Hepatol.*, **69** (4), 861~872 (2018). [PMID: 29653123]
 Ranawakage, D.C., et al., *Front. Cell Dev. Biol.*, **8**, 598634 (2021). [PMID: 33681181]

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、BDL 社と東京大学 医科学研究所 先進動物ゲノム研究分野 真下知士 教授 (p.2) が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は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。

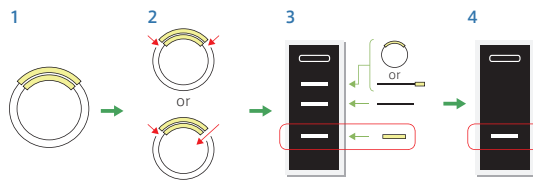
特長

- 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.23) 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.23)。
*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にクローニングする (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)。
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. 先頭のパンドを切り出し抽出、精製する。

[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]

※2022年7月現在、本製品を用いたゲノム編集の実績を当社では確認できていません。

[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

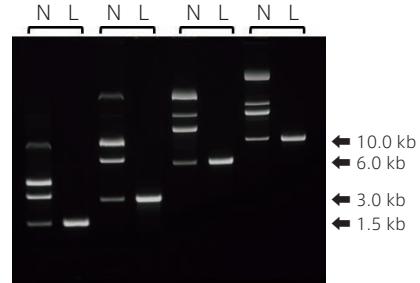


目的の一本鎖 DNA を電気泳動後のアガロースゲルから切り出し、抽出・精製するためのスピナラムキットです。

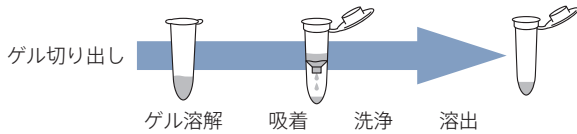
特長

- 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。
- キットには DNA 染色液が含まれており、可視光下で泳動中のバンドを観察できます。
- 3 kb までの一本鎖 DNA 精製用キットと 3~10 kb の一本鎖 DNA 精製用キットがあります。

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	100 µg	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。

使用文献あり!

Sasaki K., S. Takaoka, and Y. Obata.
"Oocyte-specific gene knockdown by intronic artificial microRNAs driven by Zp3 transcription in mice."
Journal of Reproduction and Development, **67** (3) 229~234. (2021). [PMID: 33716236]

お知らせ



『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
BDL 社の製品が掲載されています。

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

タイトル：ラット受精卵でのゲノム編集

掲載ページ	紹介製品
p.269	Long ssDNA Preparation Kit
p.274	Long ssDNA Gel Extraction Kit
p.278	

こちらもオススメ



プラスミド抽出したけど、
欲しい塩基配列になってないなあ…
やり直そうかなあ…

安心してクローニングしたい方に！

DynaCompetent® Cells
IS-mutation Safe



IS による変異がプラスミドに入りにくい
ゲノム編集済み大腸菌コンピテントセル



CRISPR ノックインに有用です！

一本鎖 DNA 合成受託サービス

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。



ssDNA, ssODN

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	
501~4,000 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	
4,000~5,000 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、詳しくはお問い合わせ下さい。

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 (1~3 kb の場合、最大 20 µg を納品します。)
- サンガー法シーケ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

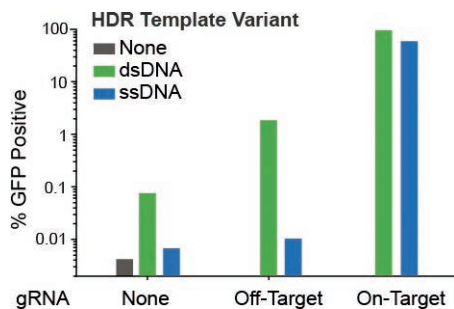
ご注文方法

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]



ケーススタディ：ssDNA の利点



CRISPR-Cas9 と HDR テンプレートを用いて、初代ヒト T 細胞のハウスキーピング遺伝子 RAB11A に GFP 融合タグをノックインした。ssDNA テンプレートを使用した場合 (青)、Cas9 とガイド RNA をノックインしないネガティブコントロール (None) と同レベルにオフターゲットを抑制できていることが分かる。

Theodore, L. Roth, et al., *Nature*, **559** (7714), 405~409 (2018). [PMID: 29995861]

↓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！

大好評！クローニング不要！

人工遺伝子合成受託サービス

任意の配列の DNA を合成し、ベクターに挿入する受託サービスです。

最低価格	¥19,400/1 断片
1.5~3 kb	¥45~/base
3~5 kb	¥55~/base
5~8 kb	¥65~/base

ご注意

価格は鎖長、配列の複雑さ (GC の含有量、リピート配列など) により変動いたします。

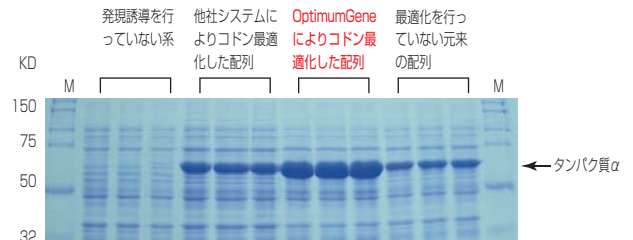
また、納期は鎖長、配列の複雑さ等により変動いたします。オンラインオーダーにてお見積をご依頼いただいた際に個々の案件についての予想納期をご連絡いたします。

特長

- PCR クローニングでは塩基の取り込みエラーによる変異が起こる可能性がありますが、本サービスでは指定された配列を確実に合成します。
- GenScript 社独自の OptimumGene テクノロジーにより、発現宿主 (*E. coli*, 酵母, 昆虫, 哺乳動物, 植物など) のコドン最適化による発現タンパク質の最大化を追加料金なしで行います。
- 8 kb を超える場合は GenBrick™ 遺伝子合成サービスにて承ります。詳細はお問い合わせ下さい。

※繰り返し配列が含まれる DNA 断片は、合成できない場合もあります。

※ご注文内容についての秘密は厳守いたします。

哺乳動物由来のタンパク質 α を *E. coli* で発現させた。

OptimumGene テクノロジーでコドン最適化させた場合、最適化を行っていない場合の 10 倍に、また他社システムの 3 倍に発現量が增大した。

サービス内容

1. 指定された配列情報と両末端の制限酵素情報を元に DNA を合成し、pUC57 ベクターに挿入します。
2. 双方向からシーケンシングを行い、正しい配列で DNA が合成されていることを確認します。

納品物

- 凍結乾燥プラスミド 4 µg (高コピーの場合 4 µg, 低コピーの場合 1 µg)
- 遺伝子シーケンシングデータ (電子データ)
- プラスミドマップ (電子データ)

※その他ベクターでの納品も可能です (追加料金が発生します)。

※大量合成を含め、他の容量での納品にも対応いたします。詳細は当社受託・特注品担当までお問い合わせ下さい。

ご注文方法

フナコシ Web のオンラインオーダーフォームからご注文下さい。

[メーカー：GS]



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。



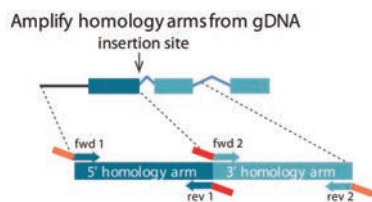
Donor Plasmid

特長

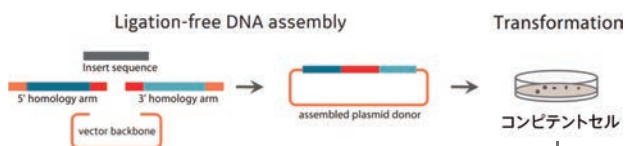
- 蛍光レポーター遺伝子あるいは塩基配列を挿入する場合のドナープラスミドを構築できます。
- キットにはドナープラスミドのバックボーン, 蛍光レポーター配列 (EGFP と mKate2 キットの場 合), およびドナープラスミド構築を確認するためのコロニー PCR 用プライマーが含まれています。
- ※ ドナープラスミドの構築には, 本製品の他に, カスタムホモロジーアーム PCR プライマーや, DNA Assembly cloning Kit (例えば NEB 社の Gibson Assembly® Cloning Kit カタログ番号: E5510S) などが別途必要です。詳しくは本製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

使用方法概略

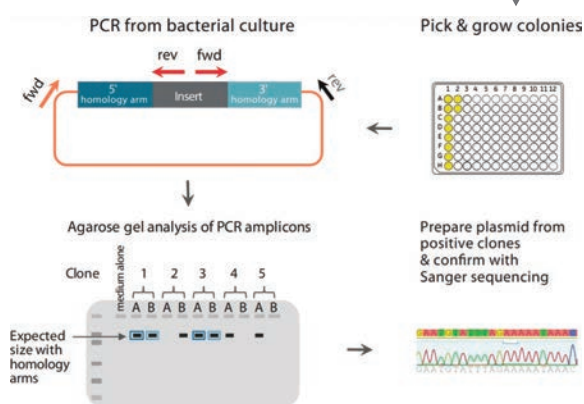
1. ホモロジーアーム配列の PCR



2. プラスミドのクローニング



3. コロニー PCR



[メーカー: DHA]

ノックインするもの	商品コード	包装	価格 (¥)
目的遺伝子 (Universal)	UK-008300-01-10 -80°C	1 kit	140,300
EGFP	UK-008100-01-10	1 kit	140,300
mKate2	UK-008200-03-10	1 kit	140,300

▶ ドナー DNA 設計オンラインツール (右記)

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。

ガイド 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 上でそのままご注文いただけます。

特長

■ Edit-R HDR Donor Designer - oligo

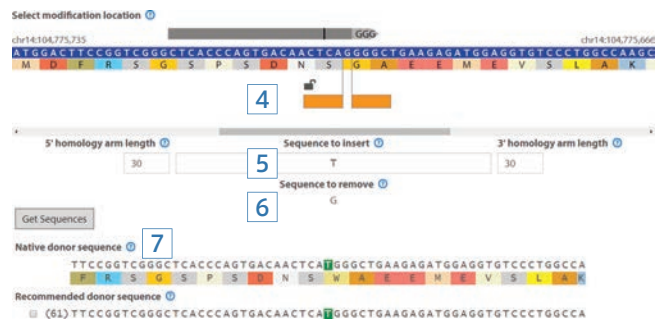
- 目的の塩基配列 (長さ 150 nt 以下) を挿入・欠失・置換するための一本鎖 DNA ドナーオリゴを設計できるオンラインツールです。
- 編集領域が再切断される可能性がある場合, ガイド RNA の認識領域または PAM 配列にサイレント変異を導入した配列を表示します。

■ 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, mKate2, EGFP あるいはカスタムインサート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 (Oligo の場合)

1. 生物種, 遺伝子情報を入力
2. CRISPR Design tool (▶ p.10) でデザインしたガイド 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ーで編集する位置を選択
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 (スライダーの動きに連動)
7. 推奨されるドナー DNA 配列を表示

アクセス方法

Horizon Discovery 社ウェブサイトアクセスし, Products のタブからゲノム編集 > Knock-in テンプレート > HDR Donor Designer をクリックして下さい。

※ オンラインオーダーをご利用いただくには, 事前にユーザー登録が必要です。 ▶ p.6

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

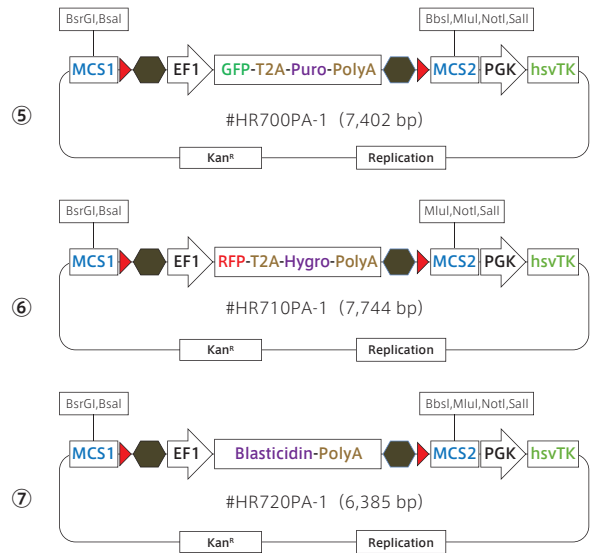
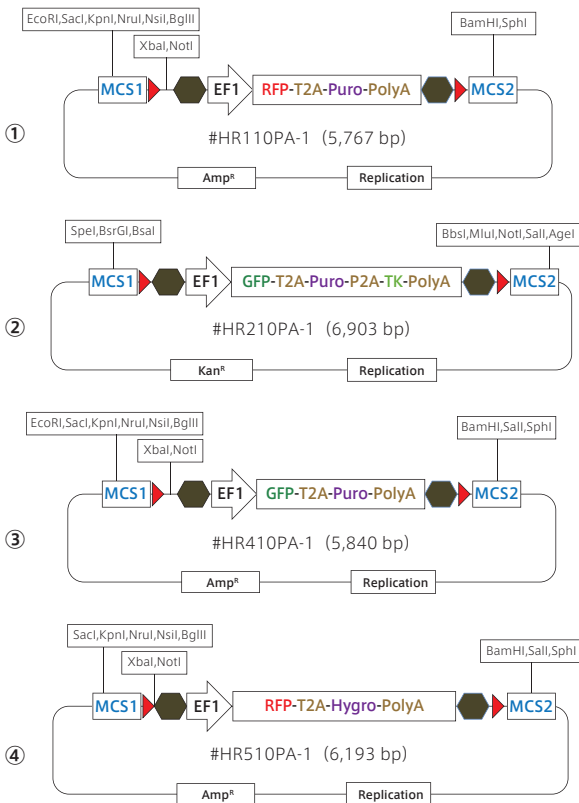


- Cas9 とガイド RNA のみの導入でも遺伝子ノックアウトは可能ですが, 本製品を併用すると, 相同組換え (HR) に成功した細胞を選択マーカーや蛍光レポーターにより効率よく選択できます。
- MCS1/MCS2 に, 目的遺伝子特異的なホモロジーアームを組み込み, 迅速に相同組換えを起こします。

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]

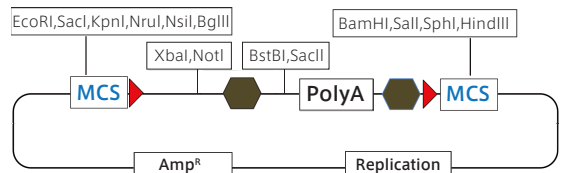
ベクターの配列	プロモーター	レポーター/マーカー	セレクション	商品コード	包装	価格 (¥)
① MCS1-EF1α-RFP-T2A-Puro-pA-MCS2	EF1α	RFP Puro ^R	—	HR110PA-1	10 µg	190,000
② MCS1-EF1α-GFP-T2A-Puro-P2A-hsvTK-pA-MCS2	EF1α	GFP Puro ^R	hsvTK	HR210PA-1	10 µg	217,000
③ MCS1-EF1α-GFP-T2A-Puro-pA-MCS2	EF1α	GFP Puro ^R	—	HR410PA-1	10 µg	190,000
④ MCS1-EF1α-RFP-T2A-Hygro-pA-MCS2	EF1α	RFP Hygro ^R	—	HR510PA-1	10 µg	190,000
⑤ MCS1-EF1α-GFP-T2A-Puro-pA-MCS2-PGK-hsvTK	EF1α	GFP Puro ^R	PGK : hsvTK	HR700PA-1	10 µg	217,000
⑥ MCS1-EF1α-RFP-T2A-Hygro-pA-MCS2-PGK-hsvTK	EF1α	RFP Hygro ^R	PGK : hsvTK	HR710PA-1	10 µg	217,000
⑦ MCS1-EF1α-Blasticidin-pA-MCS2-PGK-hsvTK	EF1α	Blasticidin ^R	PGK : hsvTK	HR720PA-1	10 µg	217,000

■ ノックイン用 HR ターゲティングベクター



■ 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	選択マーカー	商品コード	包装	価格 (¥)
MCS1-MCS2-MCS3-pA-MCS4	—	HR100PA-1	10 µg	176,000



■ セーフハーバーノックイン用 HR ターゲティングベクター

MEMO

- AAVS1 Safe Harbor Site である AAVS1 に、任意の目的遺伝子や Cas9 などをノックインするドナーベクターです。
 - 導入遺伝子は恒常的に発現します。
 - 同質遺伝子細胞株を簡単に構築できます。
- ※別途、Cas9 と、AAVS1 を標的とするガイド RNA の導入が必要です。

Safe Harbor は様々な細胞で転写活性を有し、かつその領域に遺伝子導入を行っても表現型に影響を及ぼさない遺伝子領域です。2011年、Sadelainらは、ヒト19番染色体上の AAVS1 遺伝子(別名 PPP1R12C 遺伝子)を標的としたガイド RNA を設計し、ヒト ES 細胞や iPS 細胞においてこれらの遺伝子を欠損させても細胞が多能性を保持することを報告しました。AAVS1 遺伝子は、HEK293, K562, HeLa, DU-145, Hep3B などの細胞株において転写活性を有することから、Safe Harbor として利用可能な標的領域とされています。

Web ページ番号

64619



➤ Safe Harbor 標的ガイド RNA p.15

➤ Cas9 と AAVS1 標的ガイド RNA を同時発現できる All-in-one ベクター p.21

[メーカー：SBI]

ベクターの配列	ノックインするもの		マーカー	商品コード	包装	価格(¥)
AAVS1-SA-puro-MCS	任意 (MCS)	目的遺伝子 (MCS-pA)	Puro ^R	GE620A-1	10 µg	229,000
AAVS1-SA-puro-EF1-MCS	EF1	目的遺伝子 (MCS-pA)	Puro ^R	GE622A-1	10 µg	229,000
AAVS1-SA-puro-MCS-GFP	任意 (MCS)	GFP	Puro ^R	GE624A-1	10 µg	229,000
AAVS1-SA-puro-EF1-hspCas9	EF1	hspCas9	Puro ^R	CAS620A-1	10 µg	225,000

※それぞれの HR ドナーベクター、Cas9/AAVS1 用ガイド RNA 発現 All-in-one ベクター (#CAS601A-1)、ジャンクション PCR プライマー (#GE640PR-1) がセットになった製品もあります(商品コード末尾が-KIT。例：GE620-KIT)。

■ GFP タグ融合用ターゲティングベクター

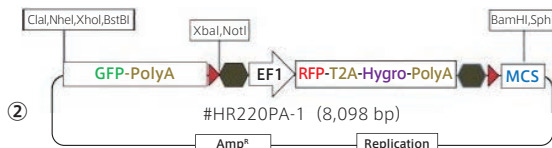
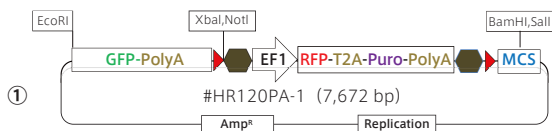


- 相同組換えにより、目的遺伝子に GFP を組み込むためのターゲティングベクターです。
- 細胞内での目的遺伝子産物の局在や動態の解析に最適です。
- 選択マーカー (Puromycin または Hygromycin 耐性および RFP 蛍光) により、相同組換えを起こした細胞株を選択できます。

MCS Multiple Cloning Sites ▶ LoxP Sites ◼ Insulator Sequences

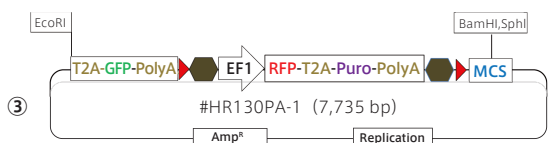
■ GFP-PolyA ベクター

- 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。



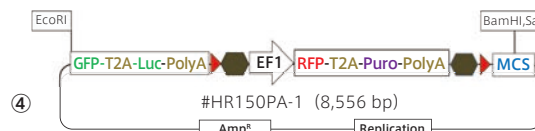
■ T2A-GFP-PolyA ベクター

- 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。



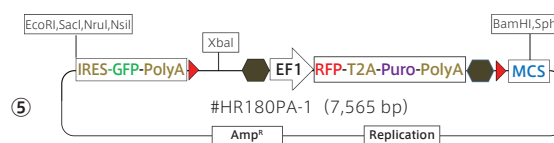
■ GFP-T2A-ルシフェラーゼ-PolyA ベクター

- 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	190,000
② GFP-pA-EF1α-RFP-T2A-Hygro-pA-MCS	GFP	EF1α	RFP Hygro ^R	HR220PA-1	10 µg	190,000
③ T2A-GFP-pA-EF1α-RFP-T2A-Puro-pA-MCS	T2A-GFP	EF1α	RFP Puro ^R	HR130PA-1	10 µg	190,000
④ GFP-T2A-Luc-pA-EF1α-RFP-T2A-Puro-pA-MCS	GFP Luc	EF1α	RFP Puro ^R	HR150PA-1	10 µg	190,000
⑤ IRES-GFP-pA-MCS1-EF1α-RFP-T2A-Puro-pA-MCS2	IRES-GFP	EF1α	RFP Puro ^R	HR180PA-1	10 µg	190,000



相同組換え用ドナーベクター

PiggyBac Gene Editing HR Targeting Vector

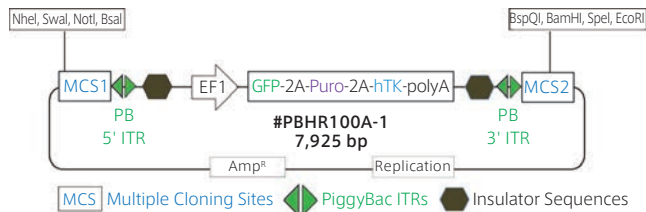
CRISPR/Cas9 と併用し、ゲノムの特定箇所の修正や、変異の導入を行うための相同組換え用ドナーベクターです。



Donor Plasmid

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。
- ホスト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。



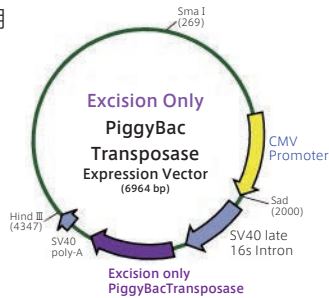
5'MCS-EF1-GFP-Puro-TK-3'MCS

[メーカー: SBI]

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 (¥)
EF1α	GFP	Puro ^R	PBHR100A-1	10 μg	255,000

Transposase 発現ベクター

マーカー除去用



[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	96,000

※Transposase 発現ベクターは、使い切りの製品となります。

ご購入時のご注意

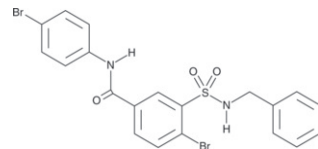
営利団体・企業にご所属のお客様は、本製品ご注文の前にライセンス契約を締結していただく必要があります。ご使用者のご所属によって注文方法が異なりますので、Web ページ番号: 7922 に掲載の書類「PiggyBac Transposon Vector 使用者確約書」をご確認下さい。詳細は当社受託・特注品担当までお問い合わせ下さい。



© 樹庵じゅあん

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 / 6,000
	CAY	21037	10 mg / 10,600
	CAY	21037	25 mg / 24,700



Web ページ番号

68754



↓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!



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（デザイン済みガイド 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 をご覧ください。

■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

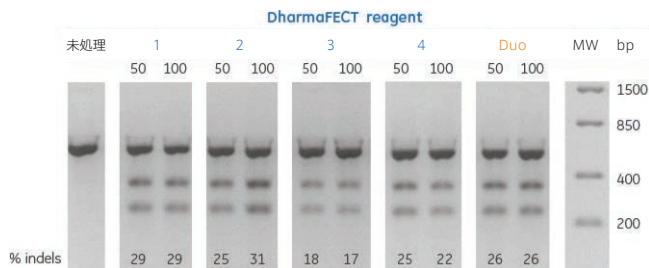
- プラスミド DNA** を効率良く細胞へ導入するためのトランスフェクション試薬です。
- Cas9 ヌクレアーゼと sgRNA 発現の各プラスミドを同時にトランスフェクションできます。

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 / 19,800
DHA	T-2001-02		0.75 ml / 57,300
DHA	T-2001-03		1.5 ml / 95,400
DHA	T-2001-04		5×1.5 ml / 448,800
DharmaFECT 2 Transfection Reagent			
DHA	T-2002-01		0.2 ml / 19,800
DHA	T-2002-02		0.75 ml / 57,300
DHA	T-2002-03		1.5 ml / 95,400
DHA	T-2002-04		5×1.5 ml / 448,800
DharmaFECT 3 Transfection Reagent			
DHA	T-2003-01		0.2 ml / 19,800
DHA	T-2003-02		0.75 ml / 57,300
DHA	T-2003-03		1.5 ml / 95,400
DHA	T-2003-04		5×1.5 ml / 448,800
DharmaFECT 4 Transfection Reagent			
DHA	T-2004-01		0.2 ml / 19,800
DHA	T-2004-02		0.75 ml / 57,300
DHA	T-2004-03		1.5 ml / 95,400
DHA	T-2004-04		5×1.5 ml / 448,800
DharmaFECT Set of 4 Transfection Reagents			
DHA	T-2005-01		0.2 ml / 75,300
DHA	T-2005-02		0.75 ml / 218,400
DHA	T-2005-03		1.5 ml / 369,000
DharmaFECT Duo Transfection Reagent			
DHA	T-2010-01		0.2 ml / 19,800
DHA	T-2010-02		0.75 ml / 57,300
DHA	T-2010-03		1.5 ml / 95,400
DHA	T-2010-04		5×1.5 ml / 448,800
DharmaFECT kb DNA Transfection Reagent			
DHA	T-2006-01		1 ml / 53,100

使用例



本製品を用いた U2OS-(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 Cas9 Nuclease protein NLS (→ p.16, 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 社の Web サイトに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。 → p.6

ユーザー登録の方法

67329



ご注文方法の詳細

81062





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。

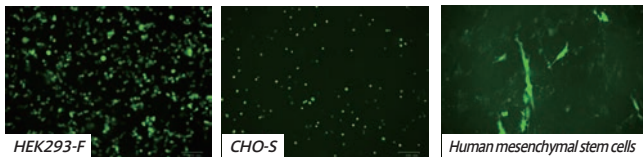
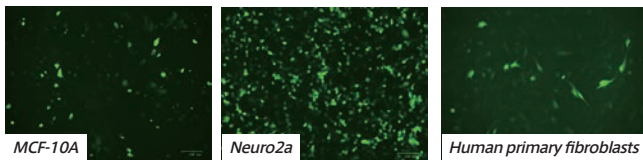
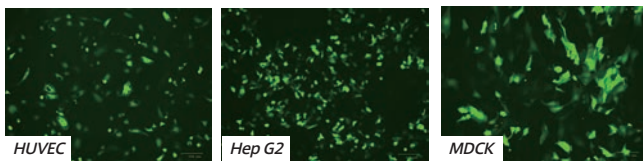
	必要な試薬量 (ウェルあたり)	使用回数 (試薬 1.5 ml あたり)
本製品 (jetOPTIMUS)	0.25~0.75 µl	2,000~6,000 回
A 社製品	0.75~1.5 µl	1,000~2,000 回

高いコストパフォーマンス

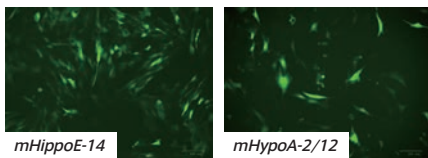
同じ試薬量で A 社製品と比較して
2 倍の回数使用できます！

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 101000051		0.1 ml	1 kit / 18,000
PPU 101000025		0.75 ml	1 kit / 118,000
PPU 101000006		1.5 ml	1 kit / 199,000
1.5 ml あたりでの使用回数: 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。[Web ページ番号: 65895]

CRISPR-Cas9 導入用 トランスフェクション試薬

無料サンプル品あります

Cas9 とガイド RNA を細胞内のターゲットへ確実に届けることは、ゲノム編集成功の鍵です。実験内容に適したトランスフェクション試薬を選ぶことが重要です。



組換え体 Cas9 タンパク質や Cas9/ガイド RNA RNP 複合体用

- 脂質ベースのタンパク質導入試薬 (Lipofection)
- 血清存在下で使用可能

品名	メーカー	商品コード	包装 / 価格 (¥)
Pro-DeliverIN CRISPR		サンプル	
OZB PIC60100			100 µl / 54,000
OZB PIC60500			500 µl / 186,000
R-Phycoerythrin Positive Control (100 µl) が付属			
Pro-DeliverIN CRISPR + Cas9 nuclease			
OZB CAS9PIC			1 kit / 75,000
キット内容: spCas9 nuclease (50 µg), Pro-DeliverIN CRISPR (100 µl), R-Phycoerythrin Positive Control (100 µl)			

Cas9 発現 mRNA やガイド RNA 用

- 試薬の調製は不要 (Ready-to-use)
- 血清存在下で使用可能

品名	メーカー	商品コード	包装 / 価格 (¥)
RmesFect CRISPR		サンプル	
OZB RMC70500			500 µl / 52,000

Cas9 やガイド RNA を発現するプラスミド DNA/mRNA 用

- pDNA/pDNA, pDNA/ガイド RNA, pDNA/mRNA のコトランスフェクションに
- サイズの大きなプラスミド DNA 導入に
- **Magnetofection**: 陽イオン分子でコートした磁気ナノ粒子試薬と磁気プレートを用いて核酸を細胞内へデリバリーする手法です。導入には **Magnetic Plate** が必要です。



品名	メーカー	商品コード	包装 / 価格 (¥)
PolyMag CRISPR Starting Kit		サンプル	
OZB KPC40100			1 kit / 179,000
キット内容: PolyMag CRISPR (100 µl), Super Magnetic Plate (#MF-10000)			

Cas9 やガイド RNA 発現ウイルス用

- アデノウイルス, レンチウイルス, レトロウイルスのトランスダクション (形質導入) に
- **Magnetofection**: 磁気粒子により細胞膜上にウイルス粒子が濃縮されるため、低力価でも効率良く導入できます。導入には **Magnetic Plate** が必要です。



品名	メーカー	商品コード	包装 / 価格 (¥)
ViroMag CRISPR Starting Kit		サンプル	
OZB KVC50100			1 kit / 178,000
キット内容: ViroMag CRISPR (100 µl), Super Magnetic Plate (#MF-10000)			



技術情報 **磁性粒子を用いたトランスフェクション
Magnetofection**

Web ページ番号

604





Web ページ番号

69803



DNA トランスフェクション試薬

FuGENE® 4K

哺乳動物細胞へのプラスミドをはじめとした各種 DNA 導入のためにデザインされた、脂質/ポリマーベースで 100% 化学合成のトランスフェクション試薬です。

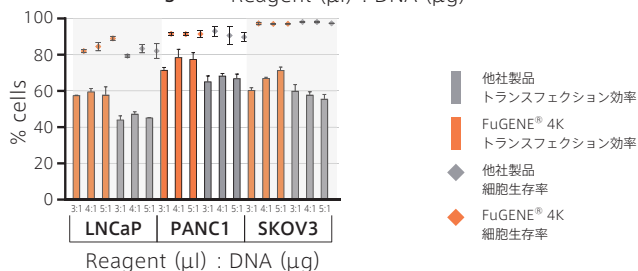
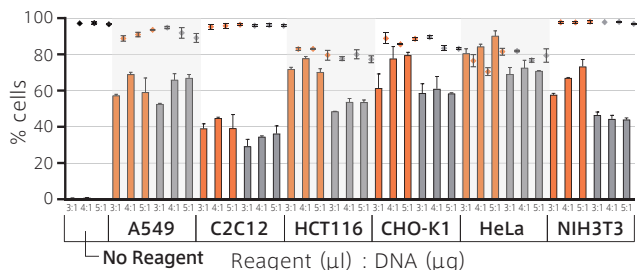


多くの実績がある FuGENE® HD を超える性能

特長

- 初代培養細胞、幹細胞、浮遊性 HEK293 細胞および CHO 細胞などのトランスフェクションが困難な細胞においても安定したパフォーマンスを示します。
- 細胞毒性が低く抑えられています。
- 血清含有培地、無血清培地の両方で使用でき、培地交換は不要です。
- プロトコルがシンプルで、また条件最適化が容易なため、時間と手間を節約できます。
- 本製品 1 ml で、96 ウェルプレートの場合 3,300 回以上、24 ウェルプレートの場合 600 回以上の導入が可能です（推奨プロトコルの場合）。

使用例



各細胞株におけるトランスフェクション効率と細胞生存率の比較

96 ウェルプレートに播種した各細胞株に対して、FuGENE® 4K または他社トランスフェクション試薬を GFP 発現プラスミドと混合して（混合比 3 : 1, 4 : 1, 5 : 1）導入した。48 時間後に、トランスフェクション効率と細胞生存率をフローサイトメトリーによって測定した。

FuGENE® 4K は、他社製品とほぼ同様に細胞毒性が低いにもかかわらず、より高いトランスフェクション効率を示した。

品名	メーカー	商品コード	包装 /	価格 (¥)
FuGENE 4K Transfection Reagent				
	FGN	4K-1000	1 ml /	82,000
	FGN	4K-5000	5 ml /	320,000



Web ページ番号

69806



siRNA トランスフェクション試薬

FuGENE® SI

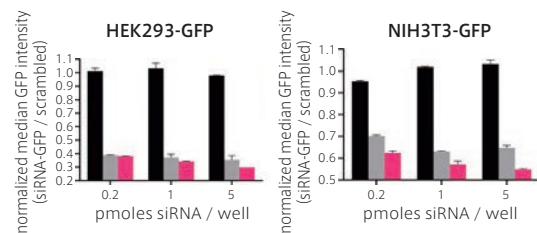
真核細胞に RNA 分子を導入するためにデザインされた、100% 化学合成のトランスフェクション試薬です。siRNA などの短鎖 RNA を非常に高効率に細胞内へ導入できます。



特長

- 少量の siRNA で高効率にノックダウンできます。
- 細胞毒性が低く抑えられています。
- 血清含有培地、無血清培地の両方で使用でき、培地交換は不要です。
- プロトコルがシンプルで、また条件最適化が容易なため、時間と手間を節約できます。
- 試薬の使用量が少なく低コストです。
- リバーストランスフェクション法に用いることもできます。

使用例



トランスフェクション試薬 (0.3 μl/well)

■ 導入試薬なし (コントロール) ■ 他社製品 ■ FuGENE® SI

トランスフェクション効率の比較

96 ウェルプレートに播種した HEK293-GFP (左図) と NIH3T3-GFP 細胞株 (Cell Biolabs 社製品, 右図) に対して、グラフ中に記載の量の GFP を標的とする siRNA を FuGENE® SI または他社トランスフェクション試薬を用いて導入し、48 時間後の GFP ノックダウン率をフローサイトメトリーによって測定した。

FuGENE® SI は他社製品と比較してより高いノックダウン効率を示すことが分かる。



6 ウェルマイクロプレートに播種したヒト MCF-7 細胞に対して、ARID4B 標的の siRNA を 1 ウェル当たり 7.5 μl の FuGENE® SI を用いてトランスフェクションした。48 時間後、細胞を回収し、20 μg の細胞ライセートにおける標的遺伝子 ARID4B とコントロール遺伝子 HSP70 の発現についてウェスタンブロッティングで解析した。

FuGENE® SI による siRNA トランスフェクションはオフターゲット効果を引き起こすことなく、内源性 ARID4B の発現を強く抑制した。

品名	メーカー	商品コード	包装 /	価格 (¥)
FuGENE SI Transfection Reagent				
	FGN	SI-1000	1 ml /	75,000
	FGN	SI-5000	5 ml /	338,000



Fugent 社 FuGENE® 製品をご注文の際は、フナコシ Web に掲載の FuGENE® 製品ユーザー登録フォームからお客様情報の入力とライセンスへの同意が必要となります。フォームの送信後送付される「ユーザー登録完了」メールに記載の Customer ID を併記のうえ、販売店様にご注文下さい。詳細はフナコシ Web をご覧下さい。

ご購入時のご注意

Fugent | FuGENE® 製品 ご注文方法

Web ページ番号

69812





Webに
動画あり



Web ページ番号

下記参照



容量可変型オートインジェクター

Nanoject

デモ機
あり

アフリカツメガエル卵母細胞などへの微量注入装置です。マイクロプロセッサ制御により、ナノリットル量のインジェクションが行えます。

■ Nanoject III

タッチパネル式
コントローラー

Web ページ番号

63081



- 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あります。タッチパネルで簡単に設定できます。
- ピペットへのガラスキャピラリーの固定にはOリングを使用しないため、簡単に装着できます。

充填量	4.2 μl
充填/排出速度	10~200 nl/秒
インジェクション量	0.6~999.9 nl
インジェクション速度	1~200 nl/秒
キャピラリー-外径/内径	1.14 mm/0.53 mm

[メーカー：DRM]

モデル	商品コード	包装	価格(¥)
本体のみ	3-000-207	1 set	550,000
オプションパーツ付き*	3-000-207-KIT	1 kit	910,000

■ Nanoject II

ボタン式
コントローラー

Web ページ番号

3465



充填速度	23 nl/秒, 46 nl/秒
排出速度	92 nl/秒, 230 nl/秒
インジェクション量	2.3~69.0 nl (16段階)
インジェクション速度	23 nl/秒, 46 nl/秒
キャピラリー-外径/内径	1.14 mm/0.53 mm

[メーカー：DRM]

モデル	商品コード	包装	価格(¥)
本体のみ	3-000-204	1 set	360,000
オプションパーツ付き*	3-000-204-KIT	1 kit	720,000

*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

※先端がニードル状に加工された Nanoject 専用ガラス毛细管 (#1TIP10XV119) もあります。詳細はフナコシ Web をご覧ください。



Webに
動画あり



Web ページ番号

67201



シングルセル単離・培養用デバイス

CellGem® シリーズ

微細なウェルを用いて、単一細胞の単離、培養（シングルセルクローニング）を簡単に行うことができるデバイスです。

∟このような実験に∟

外来遺伝子を恒常的に
発現する安定発現株の樹立

単一細胞レベルでの
表現型/遺伝子発現解析



ここがすごい

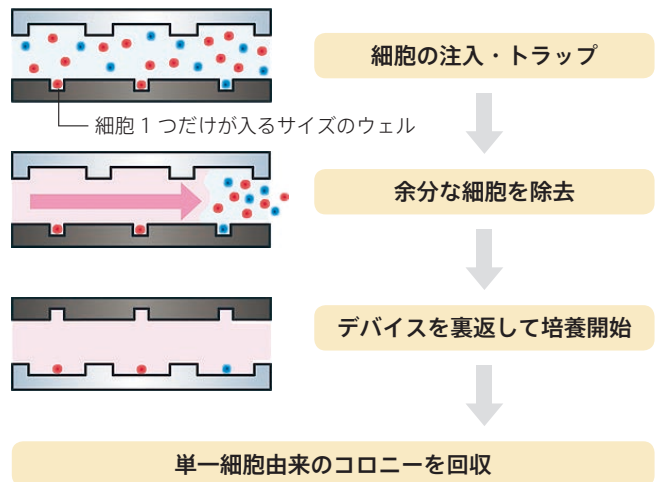
従来のシングルセルクローニング法

- 限界希釈法は長時間、顕微鏡下で作業するのが大変で、手間を減らしたい。
- でも FACS などの専用機器は高すぎて手が出せない…

CellGem (本製品)

- 特殊な器材は不要。ピンセット、顕微鏡、ピペットがあれば単離できます！
- 10種類の細胞で、ウェル数の70~80%の単離効率を確認しています。(専用機器並み)

使用方法概略



製品ラインナップ

細胞のサイズに対応する3種類のキットをご用意しています。

[メーカー：ORG]

細胞のサイズ・細胞例	商品コード	包装	価格(¥)
S 直径 8~12 μm 細胞例：CHO-K1, AA8, Jurkat	CellGemTS_610010	1 piece	45,000
	CellGemTS_610030	3 pieces	108,000
	CellGemTS_610060	6 pieces	195,000
M 直径 11~17 μm 細胞例：NIH/3T3, HEK293, A549, U2OS	CellGemTM_620010	1 piece	45,000
	CellGemTM_620030	3 pieces	108,000
	CellGemTM_620060	6 pieces	195,000
L 直径 14~25 μm 細胞例：ASC	CellGemTL_630010	1 piece	45,000
	CellGemTL_630030	3 pieces	108,000
	CellGemTL_630060	6 pieces	195,000
各サイズ1個ずつのセット	CellGemTX_690030	1 set	120,000

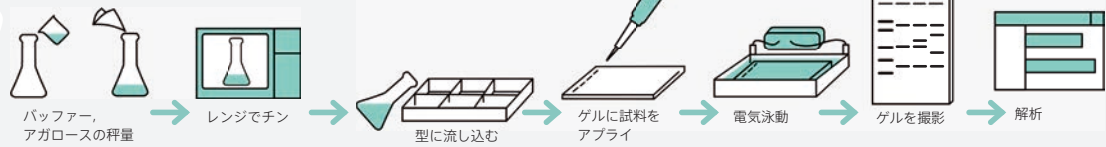
キャピラリー電気泳動装置 Qsep シリーズ

DNAやRNA, タンパク質の測定を全自動で行うキャピラリー式電気泳動装置です。ゲルの調製, サンプルローディング, 電気泳動およびゲル撮影を含む, 煩雑で時間のかかるステップを簡単かつスピーディに行うことができます。

Webに
動画あり



いつものアガロースゲル電気泳動の場合



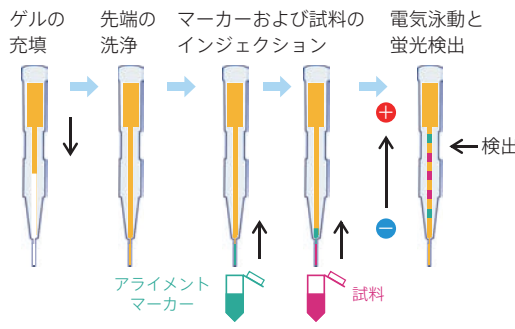
Qsep を使えば試料をセットして電気泳動してデータ出力までがたったの数分!

カートリッジと試料をセット

蛍光色素を含むゲルとキャピラリーが一体化したカートリッジ

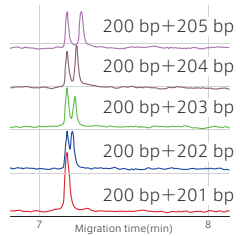


電気泳動・蛍光検出 (全自動)



データ出力

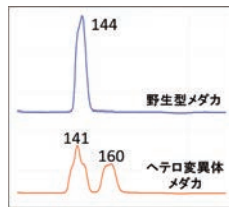
わずかに数塩基対の違いも判別できる



ユーザーレビュー

早稲田大学 教育・総合科学学術院
教育学部 理学科 生物学専修 加藤 尚志 教授
先進理工学研究科 生命理工学専攻 小川 斐女 様

CRISPR / Cas9 システムを用いて
遺伝子機能を欠損させたメダカの
ジェノタイピング



Web ページ番号 65176 🔍 検索



ペン型ゲルカートリッジ (別売)

カートリッジの種類・
価格については、
フナコシ Web を
ご覧ください。

Qsep400 用：
4チャンネル

カートリッジごとに、泳動可能な核酸サイズ、何 base pair / 何 base の違いを見分けられるかの性能 (分解能) が異なります。

Qsep1-Lite
デモ機あり



Qsep1
デモ機あり



Qsep1-Plus
デモ機あり



Qsep100
デモ機あり



Qsep400



試料数：1~8

24^L×21^W×30^H cm, 5.5 kg (1-Lite / 1 / 1-Plus 共通)

試料数：1~15

試料数：1~96

38^L×30^W×40^H cm, 15 kg

試料数：4~96

54^L×40^W×36^H cm, 26 kg

[メーカー：BOP]

特長	エントリーモデル	小 型		多試料解析	ハイスループット
モデル	Qsep1-Lite	Qsep1	Qsep1-Plus	Qsep100	Qsep400
商品コード	C100001-L △	C100001 △	C100001-P △	C100100 △	C400100 △
包装	1 set	1 set	1 set	1 unit	1 set
価格 (¥)	1,600,000	1,900,000	2,200,000	2,900,000	5,000,000
カートリッジ形状	1チャンネル		1チャンネル	1チャンネル	4チャンネル

※解析には、別途 PC (OS : Windows 10) が必要です。

※Qsep1-Lite では試料とマーカーの事前混合が必要です。



1 塩基のミスマッチを検出する DNA ポリメラーゼ HiDi

プライマーの 3' 末端とテンプレート DNA のミスマッチを感知する改変型 DNA ポリメラーゼです。特異性の高い PCR が可能となり、SNP（一塩基多型）やゲノム編集による一塩基置換の検出に有用です。

ここがすごい

プライマーとテンプレート DNA の複合体を厳密に識別し、プライマーとテンプレート DNA が完全一致している場合にのみ、増幅を行う DNA ポリメラーゼです。製品名 HiDi は、High Discrimination を意味します。プライマーの 3' 末端における 1 塩基の違いをも認識し、配列が完全一致しない場合は増幅効率が著しく低下します。変異導入が成功した細胞の、PCR による簡便な検出に有用で、近年使用文献が増加しています。

使用文献あり!

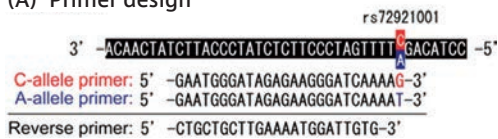


特長

- Taq の Klenow fragment をもとに遺伝子改変した改変型 DNA ポリメラーゼです。
- 約 60~200 bp の増幅に最適化されています。
- 5' → 3' ヌクレアーゼ活性を持たない HiDi と 5' → 3' ヌクレアーゼ活性を持つ HiDi Taq があります。
- ポリメラーゼ単品（専用 Buffer 付属）と PCR に必要な試薬があらかじめ調製済みのマスターミックスタイプがあります。

使用例

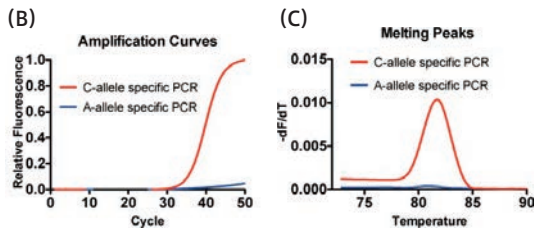
(A) Primer design



使用例：エンドポイント PCR

(A) アレル特異的なプライマーデザイン例

C-アレル特異的プライマーは WT（野生型）を検出し、A-アレル特異的プライマーは SNP（変異型）を検出する。Reverse primer は共通のものを用いる。



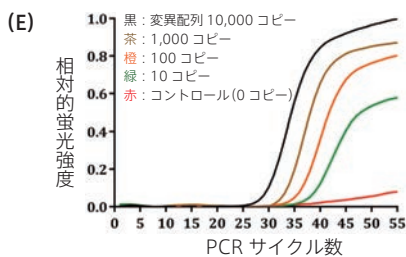
(B) (C) リアルタイム PCR 結果

1 ng/μl HeLa gDNA をテンプレートに、A の各アレル特異的プライマーと HiDi DNA ポリメラーゼ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、A-アレル特異的プライマーと区別された。



(D) リファレンスヒトゲノム試料を用いた解析結果

ヘテロ接合体由来の試料では、両方のプライマーにより増幅された PCR 産物が観察された。



使用例：リアルタイム PCR

- (E) 野生型ゲノム DNA に添加 (Spike-in) した BRAF 遺伝子 (変異配列) の検出。
野生型配列 > 10,000 コピーの中にも含まれる < 10 コピーの変異断片も検出可能。

[メーカー：MYP]

仕様・用途	品名	商品コード	包装	価格(¥)
エンドポイント PCR SYBR® Green などの蛍光色素で検出する定量 PCR ※加水分解プローブでの検出には使用できません。 ※蛍光色素を含みません（下記 GreenDye がお勧めです）。	HiDi DNA Polymerase サンプル	9001S	250 units	22,000
		9001M	1,000 units	76,000
	HiDi 2x PCR Master Mix	9101S	100 tests	22,000
		9101M	500 tests	98,000
TaqMan® probe などの加水分解プローブで検出する定量 PCR 5' → 3' ヌクレアーゼ活性あり	HiDi Taq DNA Polymerase サンプル	9201S	250 units	22,000
		9201M	1,000 units	76,000
	HiDi Taq 2×PCR Master Mix	4200S	100 tests	22,000
		4200M	500 tests	98,000

関連製品 リアルタイム PCR 用蛍光色素の単品もあります

[メーカー：MYP]

品名	商品コード	包装	価格(¥)
GreenDye 20×	2000S	250 μl	16,000
	2000M	1,000 μl	43,000

サンプルあり

小包装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。
[Web ページ番号：64527]



編集結果をリアルタイム PCR で評価

CRISPY Master Mix

CRISPR/Cas9 でゲノム編集された細胞数の割合を迅速、高感度かつ簡単に測定できる qPCR 用マスターミックスです。

原理

ゲノム編集済み DNA のみを増幅する「スナップバックプライマー（別途用意）」と、「5' → 3' エキソヌクレアーゼ活性・鎖置換活性を欠いた DNA ポリメラーゼ」を用いた qPCR アッセイです。



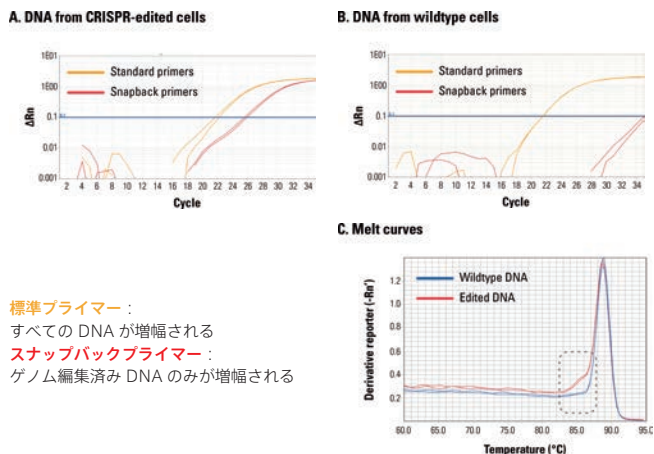
PAM（プロトスペーサー隣接モチーフ）配列の先頭塩基（GGN）から 3~4 塩基上流の塩基を中心とする 14~16 nt を選択し、未編集配列と相同なスナップバックタグを設計する。

標的領域を含む編集済み配列の伸長産物にはスナップバックタグがアニーリングしないため、DNA ポリメラーゼによって配列が増幅される。

特長

- ゲルイメージングに代わり Ct 値に基づいて定量を行うため、より信頼性のある結果が得られます。
- 標的領域における編集効率を測定できます。
- DNA の精製は不要です。
- 最低 0.5 ng の DNA 量で測定が可能です。
- 高感度で、ゲノム編集成功率がわずか 1% でも検出できることが報告されています。
- 使用回数：200 reactions
- ※ 本製品にプライマーは含まれておりません。別途、本アッセイ専用スナップバックプライマーを設計いただく必要があります。

使用例



標準プライマー：すべての DNA が増幅される
スナップバックプライマー：ゲノム編集済み DNA のみが増幅される

図 A, B：DNA (cytosine-5)-methyltransferase 3 beta (DNMT3B) 遺伝子を編集した HEK293 細胞および未編集の HEK293 細胞から DNA を抽出し、本製品を用いて編集効率の測定を行った。

図 C：編集効率は標準プライマーとスナップバックプライマーの Ct 値差から算出する。融解曲線の違いも、編集済み DNA（赤線）に欠損があることを示している。

品名	メーカー 商品コード	包装 / 価格 (¥)
CRISPY Master Mix for qPCR-based Gene Editing Quantitation	SBI CRISPY100A-1	1 ml / 84,000

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、生物の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。
- 宿主ゲノム DNA に挿入されたトランスジーンと宿主ゲノムが融合した近傍部位のみを PCR で増幅し、配列を解析します。

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

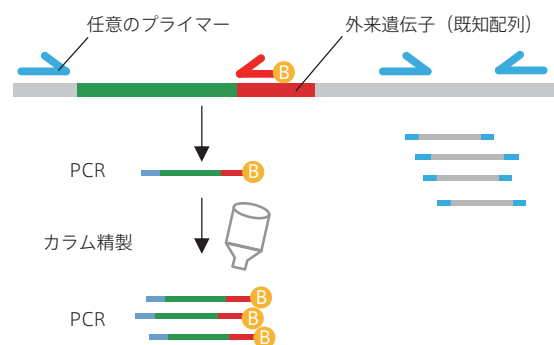
ご用意いただくもの

- 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

PGL 法は、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場合、ゲノム内のどこに入っているかが低コストで解析できます。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析し、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]



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. ガイド 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



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 / 94,000
EPG P-4060-96	96 assays	1 kit / 159,000
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 (<i>S.aureus</i>) Assay ELISA Kit (Colorimetric)		
EPG P-4062-48	48 assays	1 kit / 92,000
EPG P-4062-96	96 assays	1 kit / 156,000
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		

CRISPR によるノックアウト変異植物作製 植物分野でのゲノム編集 受託サービス

植物分野での編集用ベクター構築からゲノム編集植物の作製、栽培、解析評価まで幅広い受託サービスを提供します。

サービス内容

①対象植物培養

イネ・ダイズ・トマト・バレイショ・レタスなど
※その他の植物種についてはご相談下さい。

②ガイド RNA 設計

③ベクター構築

ご提供いただいた遺伝子情報/ターゲットサイト情報から適した配列を設計し、ノックアウト用プラスミドベクターを作製します。

※ノックインについてはご相談下さい。

④ベクター導入

CRISPR プラスミドベクターをアグロバクテリウム法などで導入します。

⑤ゲノム編集植物

カナマイシン、ハイグロマイシンなどの抗生物質で選抜した耐性細胞から再生植物体を作製 (~20 株程度) し、植物体を納品します。

納期：4 ヶ月～

⑥栽培・解析・評価

(株)インプラントイノベーションズ保有の栽培室で栽培、形質評価も可能です。

関連サービス (お問い合わせ下さい)

- メタボローム解析による代謝産物情報の取得
- 次世代シーケンサーによるアンプリコンシーケンシング

ご注文方法・価格

ご依頼内容に応じてお見積もりします。詳細は、受託・特注品担当までお問い合わせ下さい。

[メーカー：INP]

※本受託サービス及び納品物は、すべて研究目的に限定されます。納品物を試験研究目的以外へご使用された場合、(株)インプラントイノベーションズでは納品物に起因する損失・損害等については一切責任を負いかねます。また、第三者への提供はできません。

↓ココを選択！

Web ページ番号検索

SEARCH 🔍 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！

エキソンスキッピングにも！

Morpholino アンチセンスオリゴ合成受託サービス

細胞毒性のない、第三世代のアンチセンスオリゴです。RNA とのアフィニティが強く、標的 mRNA の二次構造にかかわらず目的配列に特異的に結合します。RNase 依存または RISC 依存のオリゴと異なり、翻訳阻害と核におけるプロセッシング (mRNA のスプライシング) の双方を標的とすることができます。

核酸医薬関連の研究で注目されています

モルフォリノアンチセンスオリゴ

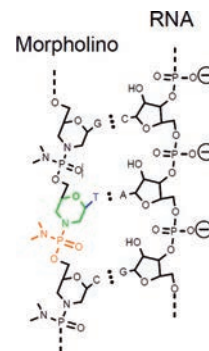
モルフォリノアンチセンスオリゴは、S-Oligo などのアンチセンスの問題点 (特異性、安定性、配列決定の難しさなど) を克服した、第三世代のアンチセンスです。細胞毒性がなく、培養細胞への簡単な導入方法が確立されているため、遺伝学や薬物の標的分子の研究に広く使用されています。

従来から、モルフォリノアンチセンスは発生に関わる遺伝子の機能解析の最適なツールとして多くの研究者に用いられています。特に、アフリカツメガエル、ゼブラフィッシュ、ウニなどの受精卵にモル

フォリノオリゴをマイクロインジェクションで導入することにより、標的遺伝子の発現を特異的に阻害でき、その使用例も数多く発表されています。

また、mRNA のスプライシング阻害を起こすことができるため、エキソンスキッピングによる疾病治療の研究にも用いられています。特にデュシェンヌ型筋ジストロフィーの研究で多く用いられるほか、がん研究での利用や、最近では新型コロナウイルスの増殖阻害に関する文献も出ています。

2022年8月現在、10,000報以上の学術論文が検索可能



モルフォリノオリゴの特長

- RNA とのアフィニティが強く、標的特異性が非常に高い
- 水溶性が高く、調製が容易
- 電荷を持たないため、タンパク質との非特異的な結合がない (塩橋を形成しない)
- ヌクレアーゼ耐性があり、細胞内で分解されない
- 基本構造は免疫反応を誘発しない (非毒性)
- 末端を修飾することによりプローブとして使用したり、官能基を付加することでペプチドやタンパク質などの化合物と結合したりすることができる

モルフォリノオリゴと siRNA の比較

	モルフォリノオリゴ	siRNA
ノックダウンのメカニズム	タンパク質を介さずに立体阻害を引き起こす	細胞のウイルス防御機構や発現制御システム (RISC) を使う
非特異的応答	ほとんど起こらない	頻繁に発生
認識配列	14 塩基以上	約 10 塩基
自然免疫応答の誘導	モルフォリノ-RNA のヘテロ二本鎖は TLR を活性化しない	siRNA-RNA ヘテロ二本鎖は TLR3 を活性化する
安定性	細胞内の酵素によって分解されない	不安定で RNase によって分解される
ノックダウンレベル	一部のモルフォリノは、ウェスタンブロット解析において標的タンパク質の発現量を検出レベル以下に抑える	ノックダウン効率が 85% を超えることは少ない
阻害対象	翻訳, スプライシング, miRNA, タンパク質結合	翻訳のみ
成功率	未検証の配列でもノックダウン成功率は約 75% とされ、一般的に 1 種類のモルフォリノを用意すれば十分とされる	効果的な配列を確認するために、少なくとも 3~4 種類の siRNA 配列を用意することが一般的

価格

品名	Morpholino Antisense Oligo, Classic (18~25 mers)	
包装	300 nmol	1,000 nmol
価格	¥95,000	¥213,000

※配列設計の有無による価格差はありません。

■標識追加料金

包装	300 nmol	1,000 nmol
価格	¥31,000	¥48,000

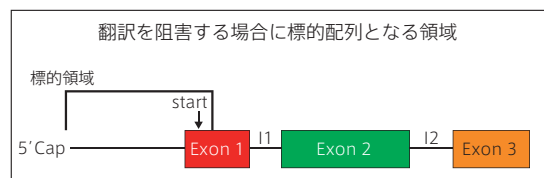
※標識の種類については、フナコシ Web をご覧下さい。

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: GTL]

タンパク質の翻訳を阻害する場合の配列設計



mRNA の 5' キャップ部位から開始コドンの約 25 塩基下流までの領域を標的配列として、翻訳開始複合体を立体的に阻害します。ほとんどの場合、標的遺伝子に対して 1 つのモルフォリノオリゴをデザインするだけで、非常に高い確率でタンパク質の翻訳阻害効果を示します。

標的に対するアンチセンスオリゴの配列設計は GeneTools 社にて無料で承ります。



メーカーインタビュー **FRONTIERS**
「核酸医薬として注目されるモルフォリノオリゴ」
Dr. Jon D. Moulton

Web ページ番号 65945 検索

ユーザーレビュー
「核酸医薬のがん治療への応用の可能性」
国立がん研究センター研究所 がん RNA 研究ユニット
独立ユニット長 吉見昭秀様

Web ページ番号 699 検索

RNA 合成技術を基盤とした信頼のブランド

Dharmacon™ デザイン済み siRNA


Horizon Discovery 社では、Dharmacon RNAi 研究試薬として、特徴的な化学合成 siRNA のラインナップを取りそろえています。ご購入後に siRNA ターゲット配列情報を提供します（製品に添付のデータシートに記載）。

■Dharmacon デザイン済み siRNA の製品ラインナップ

siGENOME siRNA	ノックダウン効果と特異性に優れたスタンダードタイプのデザイン済み siRNA です。コストを抑えた RNAi 実験に最適です。市場で最も長い歴史を持ち実績のある siRNA です。
ON-TARGETplus siRNA	ON-TARGETplus 修飾を導入することにより、オフターゲット効果を抑え、ターゲット遺伝子に対する特異性を向上させたデザイン済み siRNA です。
Accell siRNA	独自の化学修飾により、トランスフェクション試薬またはエレクトロポレーションを使わずに細胞へ導入できるデザイン済み siRNA です。リポフェクション法では導入の困難な細胞、神経細胞、免疫細胞、初代細胞などに有効です。


■Dharmacon siRNA の製品フォーマット

SMARTpool




1 つの遺伝子に対して配列デザインの異なる 4 種類の siRNA を、Pool（混合物）として 1 本のチューブに入れた製品。高いノックダウン効率を維持しながら、オフターゲット効果を最小限に抑えます。実験のはじめの段階ではこちらを用いて表現型を確認します。

Set of 4



1 つの遺伝子に対して配列デザインの異なる 4 種類の siRNA をそれぞれ個別のチューブに入れ、チューブ 4 本で 1 セットとした製品。

Individual



Set of 4 フォーマットの 4 種類の siRNA を、1 種類（チューブ 1 本）ごとに個別でお届けする製品。

Cherry-Pick カスタムライブラリー

ご予算やニーズに合わせてお好みのライブラリーを作れます！

ご予算やニーズに合わせて siRNA をご選択いただき、96 または 384 ウェルプレートに分注してお届けするカスタムライブラリーです。

- 容量：0.1, 0.25, 0.5, 1.0, 2.0 nmol/well から選択（1 回のご注文では、同一容量のみご選択いただけます。）
- 最低注文数：

20 well 分の製品 / 96 well プレート

Web ページ番号

40 well 分の製品 / 384 well プレート

67905



※最後のプレートの端数はこの限りではありません。

ライブラリー作製手順

Cherry-Pick Custom Library Tool

Horizon 社の Web サイトの Product タブから Cherry-Pick Custom Library Tool をクリックして下さい。Wizard 形式で必要事項を入力できます。

1. ご希望のガイド RNA/siRNA の遺伝子識別子（Horizon 社製品番号、NCBI 遺伝子 ID、遺伝子記号など）を入力
2. 製品タイプとフォーマットを選択
3. 容量、コントロール、プレート枚数、レイアウトを設定
4. ショッピングカートに入れてチェックアウト

	製品フォーマット	1 ウェルあたりの容量と価格				
		0.1 nmol	0.25 nmol	0.5 nmol	1.0 nmol	2.0 nmol
siGENOME siRNA	SMARTpool	¥6,300	¥9,800	¥12,100	¥13,700	¥15,500
	Individual	¥3,100	¥4,900	¥6,000	¥7,600	¥9,200
ON-TARGETplus siRNA	SMARTpool	¥8,700	¥12,800	¥15,500	¥17,900	¥19,500
	Individual	¥4,000	¥6,300	¥8,000	¥9,800	¥11,900
Accell siRNA	SMARTpool	¥6,300	¥9,800	¥12,100	¥13,700	¥15,500
	Individual	¥3,100	¥4,900	¥6,000	¥7,600	¥9,200

製品は Horizon Discovery 社の Web サイトに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。 → p.6

ユーザー登録の方法

67329



ご注文方法の詳細

81062



実験を始める際に必要な試薬

トランスフェクション試薬で siRNA 試薬を導入するだけで、簡単に Loss-of-Function 実験を行うことができます。

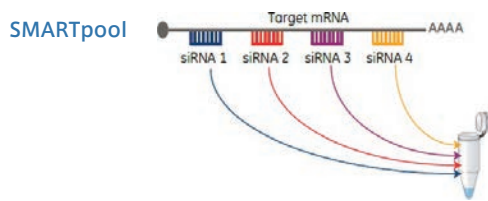
実験では、あらかじめ ポジティブおよびネガティブコントロール siRNA を用いてトランスフェクション条件の至適化を行うことが、実験成功の鍵となります。

- ポジティブコントロール siRNA / ネガティブコントロール siRNA
- DharmaFECT トランスフェクション試薬 (→ p.29)
- ※5×siRNA Buffer (#B-002000-UB-100), ネガティブコントロール siRNA / siRNA 再溶解用の RNase-free Water (#B-003000-WB-100) も合わせてご使用下さい。

■ siGENOME siRNA

独自の SMARTselection アルゴリズムによりデザインされたノックダウン効率に優れたスタンダードな siRNA です。

Web ページ番号 67995



▶ トランスフェクション試薬 : DharmaFECT p.29

siGENOME siRNA

[メーカー : DHA]

製品フォーマット	動物種	商品コード	包装	価格 (¥)
SMARTpool	Human Mouse Rat	M-HUMAN M-MOUSE M-RAT	5 nmol	70,400
			10 nmol	106,400
			20 nmol	166,700
			50 nmol	252,000
Set of 4	Human Mouse Rat	MQ-HUMAN MQ-MOUSE MQ-RAT	2 nmol	101,400
			5 nmol	131,600
			10 nmol	166,400
			20 nmol	227,400
Individual	Human Mouse Rat	D-HUMAN D-MOUSE D-RAT	2 nmol	31,900
			5 nmol	42,200
			10 nmol	52,400
			20 nmol	71,500
			50 nmol	85,400

■ ON-TARGETplus siRNA

センス鎖とアンチセンス鎖の両鎖を化学修飾することで、未修飾 siRNA に比べオフターゲット効果が最大 90% 低減されます。

Web ページ番号 67900

- センス鎖と RISC の相互作用を妨げる修飾を行うことにより、RISC はセンス鎖を取り込むことなく、アンチセンス鎖とのみ複合体を形成するようになります。
- RISC に取り込まれたアンチセンス鎖がターゲット mRNA を認識する際に、より厳密な相補性が必要となる化学修飾により、ターゲット遺伝子に対する特異性が高められます。
- miRNA 様のオフターゲットを引き起こす可能性のある一般的なシード領域を排除して siRNA をデザインしています。

▶ トランスフェクション試薬 : DharmaFECT p.29

ON-TARGETplus siRNA

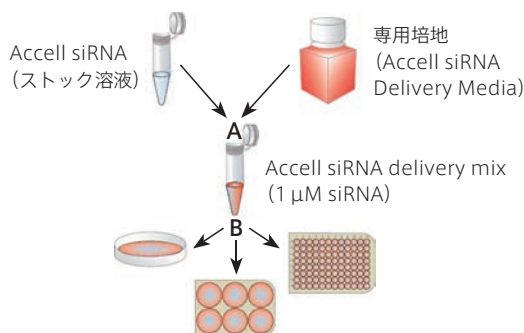
[メーカー : DHA]

製品フォーマット	動物種	商品コード	包装	価格 (¥)
SMARTpool	Human Mouse Rat	L-HUMAN L-MOUSE L-RAT	5 nmol	90,800
			10 nmol	142,400
			20 nmol	177,300
			50 nmol	265,700
Set of 4	Human Mouse Rat	LQ-HUMAN LQ-MOUSE LQ-RAT	2 nmol	118,800
			5 nmol	151,400
			10 nmol	194,800
			20 nmol	257,300
Individual	Human Mouse Rat	J-HUMAN J-MOUSE J-RAT	2 nmol	37,300
			5 nmol	50,100
			10 nmol	62,900
			20 nmol	80,700
			50 nmol	98,000

■ Accell siRNA

専用培地である Accell siRNA delivery media と混ぜて細胞を培養するだけで、ターゲット遺伝子をノックダウンできます。

Web ページ番号 67901



- Accell siRNA と専用培地を混合する。
- 培地を Accell siRNA delivery mix に置き換えて、72 時間培養する。

■ Accell siRNA Delivery Media (Accell siRNA 専用培地)

[メーカー : DHA]

商品コード	包装	価格 (¥)
B-005000-100	100 ml	3,500
B-005000-500	500 ml	7,800

Accell siRNA

[メーカー : DHA]

製品フォーマット	動物種	商品コード	包装	価格 (¥)
SMARTpool	Human Mouse Rat	E-HUMAN E-MOUSE E-RAT	5 nmol	127,500
			10 nmol	176,300
			20 nmol	243,400
			50 nmol	335,900
Set of 4	Human Mouse Rat	EQ-HUMAN EQ-MOUSE EQ-RAT	2 nmol	159,700
			5 nmol	198,800
			10 nmol	249,900
			20 nmol	313,200
Individual	Human Mouse Rat	A-HUMAN A-MOUSE A-RAT	5 nmol	64,300
			10 nmol	80,700
			20 nmol	101,200
			50 nmol	127,500

こんな場合にオススメ

- トランスフェクションが上手くいかない
- トランスフェクション試薬による細胞のダメージに困っている
- ノックダウン期間を伸ばしたい

ヌクレアーゼに対する安定性を高める修飾がされているため、より長期間のノックダウンが可能です。Accell siRNA を混ぜた Delivery Media での培地交換を繰り返せば、細胞へのダメージを抑えつつ、さらにノックダウン期間を伸ばせます。

デザイン済み shRNA 発現用レンチウイルスベクター SMARTvector™ shRNA

レンチウイルスベクターに、microRNA 様に改変した shRNA コンストラクトが組み込まれています。トランスフェクションが困難な細胞での RNAi 実験にも効果的で、長期・安定的に遺伝子をロックダウンできる研究用ツールです。

- shRNA の発現を駆動・制御するプロモーターを選択できます。
- 蛍光レポーター (TurboGFP / TurboRFP) を選択できます。
- 製品形態として大腸菌グリセロールストックと Ready-to-use の高力価レンチウイルス粒子があります。

※目的の細胞に最適なプロモーターを特定するには、SMARTchoice Promoter Selection Plate (#SP-001000-01) をご使用下さい。



*Tet-On® 3G システムを企業でご使用の場合、ご購入の際は事前に Tet system 社とのライセンス契約が必要です。

SMARTvector Lentiviral shRNA

-80°C カルタヘナ [メーカー: DHA]

製品フォーマット	製品形態	商品コード			包装	価格 (¥)
		Human	Mouse	Rat		
恒常発現タイプ Individual	Glycerol stock	V3SH11240	V3SM11241	V3SR11242	1 vial	80,100
	Particles (10 ⁸ TU/ml)	V3SH7590	V3SM7592	V3SR7594	100 µl	239,600
	Particles (10 ⁸ TU/ml)	V3SH7591	V3SM7593	V3SR7595	200 µl	440,000
	Ultra-High Titer (2×10 ⁹ TU/ml)	V3SH7602	V3SM7603	V3SR7604	1 vial	501,200
恒常発現タイプ Set of 3	Glycerol stock	V3SH11243	V3SM11244	V3SR11245	1 set	200,600
	Particles (10 ⁸ TU/ml)	V3SH7596	V3SM7598	V3SR7600	1 set	399,800
	Particles (10 ⁸ TU/ml)	V3SH7597	V3SM7599	V3SR7601	1 set	600,300

SMARTvector Inducible Lentiviral shRNA

-80°C カルタヘナ [メーカー: DHA]

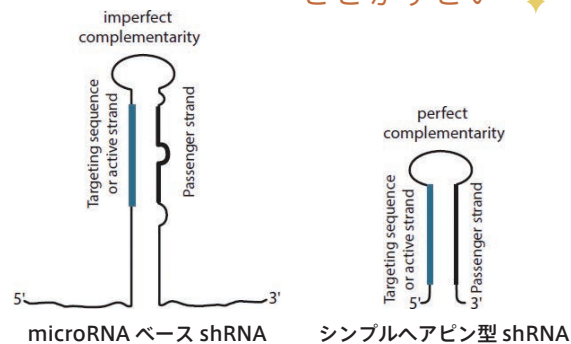
製品フォーマット	製品形態	商品コード			包装	価格 (¥)
		Human	Mouse	Rat		
誘導発現タイプ Individual	Glycerol stock	V3SH11252	V3SM11253	V3SR11254	1 vial	90,400
	Particles (10 ⁷ TU/ml)	V3SH7669	V3SM7671	V3SR7673	100 µl	239,600
	Particles (10 ⁷ TU/ml)	V3SH7670	V3SM7672	V3SR7674	200 µl	440,000
誘導発現タイプ Set of 3	Glycerol stock	V3SH11255	V3SM11256	V3SR11257	1 set	220,500
	Particles (10 ⁷ TU/ml)	V3SH7675	V3SM7677	V3SR7679	1 set	399,800
	Particles (10 ⁷ TU/ml)	V3SH7676	V3SM7678	V3SR7680	1 set	600,300

※Glycerol stock : shRNA 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。

※Particles : レンチウイルス粒子

独自の shRNA 配列設計アルゴリズムと scaffold を採用

shRNA 専用のアルゴリズムによりデザインしたロックダウン効果と特異性の高い shRNA ターゲット配列を、**独自開発の SMARTvector Universal scaffold** に組み込んでいます (左)。この microRNA 様に改変した shRNA は、内在性の microRNA 転写産物を模倣するようにデザインされており、Drosha/Dicer により効率よくプロセッシングされるとともに、shRNA アンチセンス鎖の RISC への優先的な取り込みを実現するため、**より効果的で特異的な遺伝子ロックダウンが可能**です。また、**シンプルヘアピン型の shRNA (右) に比べて細胞毒性が低い**ことが示唆されています (McBride et al., Beer et al.)。



ここがすごい



製品は Horizon Discovery 社の Web サイトに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。 → p.6

ユーザー登録の方法

67329



ご注文方法の詳細

81062



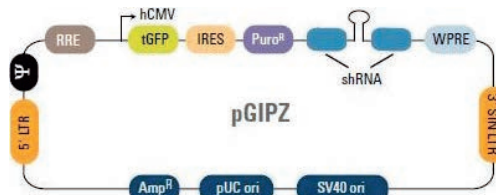


デザイン済み shRNA 発現用レンチウイルスベクター GIPZ shRNA / TRIPZ inducible shRNA

レンチウイルスベクターに、microRNA 様に改変した shRNA コンストラクトが組み込まれています。初代培養細胞や非分裂細胞を含む様々な細胞で shRNA の恒常的な発現が可能です。ピューロマイシン耐性遺伝子が含まれるため、安定発現細胞を薬剤選択できます。

■ GIPZ shRNA

- ヒトおよびマウス全ゲノムを網羅する shRNA コンストラクトを含む pGIPZ レンチウイルスベクターの発現ベクターです。
- ヒトの CMV プロモーターを採用しています。
- 製品形態として大腸菌グリセロールストックと Ready-to-use の高価レンチウイルス粒子があります。



※Glycerol stock : shRNA 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。

※Particles : レンチウイルス粒子 (10⁸ TU/ml)

GIPZ Lentiviral shRNA Clone

-80℃ カルタヘナ [メーカー : DHA]

動物種	製品形態	商品コード	包装	価格 (¥)
Individual (個別クローン)				
Human	Glycerol stock	RHS4430	1 vial	42,900
	Particles	VGH5518	2×25 µl	156,500
Mouse	Glycerol stock	RMM4431	1 vial	42,900
	Particles	VGM5520	2×25 µl	156,500
Gene Set (ターゲット遺伝子 3~6 個のセット)				
Human	Glycerol stock	RHS4531	1 set	87,500
Mouse	Glycerol stock	RMM4532	1 set	87,500

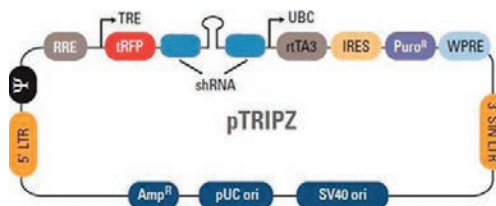
■ GIPZ Lentiviral shRNA のご希望のクローンにコントロールベクターなどをセットにしたスターターキット

[メーカー : DHA]

品名	製品形態	キット内容	商品コード	包装	価格 (¥)
Transduction Starter Kit	Glycerol stock	<ul style="list-style-type: none"> GIPZ lentiviral shRNA clone (1~3 種類) GIPZ GAPDH lentiviral shRNA positive control GIPZ EF5 lentiviral shRNA positive control GIPZ Non-silencing lentiviral shRNA control Calcium phosphate transfection reagent Trans-lentiviral packaging mix (10 回分) 	RHS5086 -80℃ カルタヘナ	1 kit	274,400
Viral Particle Starter Kit	Particles	<ul style="list-style-type: none"> GIPZ lentiviral shRNA clone (1~3 種類) GIPZ GAPDH lentiviral shRNA positive control GIPZ Non-silencing lentiviral shRNA control 	VGH5526 -80℃ カルタヘナ	1 set	207,600

■ TRIPZ inducible shRNA

- ヒト全ゲノムを網羅する shRNA コンストラクトを含む pTRIPZ レンチウイルスベクターの発現ベクターです。
- テトラサイクリン誘導系の Tet-On[®] 発現誘導システムにより、shRNA とレポーター遺伝子の発現が厳密に制御されています。



TRIPZ Inducible Lentiviral shRNA

-80℃ カルタヘナ [メーカー : DHA]

動物種	製品形態	商品コード	包装	価格 (¥)
Individual (個別クローン)				
Human	Glycerol stock	RHS4696	1 vial	42,900
Gene Set (ターゲット遺伝子 3~6 個のセット)				
Human	Glycerol stock	RHS4740	1 set	91,500

■ TRIPZ Inducible Lentiviral shRNA のご希望のクローンにコントロールベクターなどをセットにしたスターターキット

[メーカー : DHA]

品名	製品形態	キット内容	商品コード	包装	価格 (¥)
Packaging Starter Kit	Glycerol stock	<ul style="list-style-type: none"> TRIPZ inducible lentiviral shRNA clone (1~3 種類) TRIPZ human GAPDH inducible lentiviral shRNA positive control TRIPZ inducible lentiviral Non-silencing shRNA control Calcium phosphate transfection reagent Trans-lentiviral packaging mix (10 回分) 	RHS5087 -80℃ カルタヘナ	1 kit	274,400

※Tet-On[®] システムを企業でご使用の場合、ご購入の際は事前に Tet system 社とのライセンス契約が必要です。



製品は Horizon Discovery 社の Web サイトに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。 → p.6

ユーザー登録の方法

67329



ご注文方法の詳細

81062



※第3世代のレンチウイルスパッケージングシステムには適合しません。レンチウイルス粒子へのパッケージングには、Trans-Lentiviral shRNA Packaging System (Web ページ番号 : 64633) のご使用をお勧めします。



遺伝子ノックダウン用デザイン済み siRNA Trilencer-27 siRNA Kit

ターゲット遺伝子あたり 3 種類の二本鎖 siRNA (27-mer, 各 2 nmol) とネガティブコントロール、バッファのセットです。

細胞にトランスフェクションすることにより、遺伝子発現を抑制 (RNAi) できます。

特長

- 標的遺伝子にのみ配列が適合するように BLAST で配列を確認し、二次構造のチェックを行い、RISC 複合体に組み込まれるよう二本鎖の安定性を確認するなど、各種スクリーニングを実施しデザインされています。
- 動物種：ヒト用、マウス用、ラット用があります。

MEMO

従来の 21-mer の二本鎖 RNAi は、細胞内に存在する長い RNA が基質となり、Dicer によって切断されて生じる天然型の siRNA をモデルとしています。

一方、Trilencer-27 siRNA は 27-mer で、Dicer によるプロセッシングを経ることで、21-mer の二本鎖 RNA となり、それ以降は通常の siRNA と同様に RISC によって認識され、標的 mRNA が分解されます。この手法では、同じ部位を標的とした従来の 21-mer siRNA と比較して以下の 2 つの利点があるとされています。

- 短い 21-mer の RNAi フォームよりも 10 倍高い効力と特異性を示します。
- 哺乳動物の細胞でインターフェロン誘導を最小限に抑えることができます。

参考文献

Amarzguoui, M., et al., *Nat. Protoc.*, 1 (2), 508~517 (2006).
 [PMID: 17406276]

製品検索方法

お探しのターゲット遺伝子に対するキットの商品コードは、OriGene 社 Web サイト (<https://www.origene.com/>) で遺伝子名などのキーワードを入力して検索して下さい。

» Search Your siRNA Oligo Duplex (browse all)

Gene Symbol, Product Name, or Keyword:

使用文献あり

Origene 社 Web サイトの各製品のページでは、使用文献が掲載されています。

使用文献例

使用製品：p53 Human siRNA
 (#SR322075)

Li Z., et al.

"Targeting long non-coding RNA PVT1/TGF-β/Smad by p53 prevents glioma progression." *Cancer biology & therapy*, 23 (1), 225~233 (2022).
 [PMID: 35275031]



価格

1 kit / ¥170,000

[メーカー：ORI]

shRNA 発現デザイン済みプラスミド HuSH shRNA Vector

29 mer の shRNA 配列が組み込まれたレトロウイルス/レンチウイルスプラスミドです。

精製済みのプラスミドなので、構築する手間がかからず、低コストかつ Ready-to-use で使いやすい製品です。

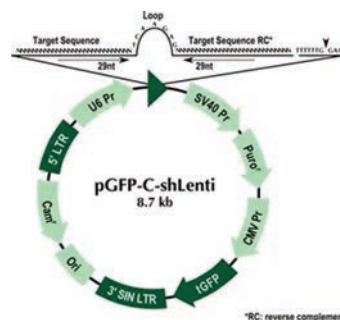
MEMO

OriGene 社は、21 mer よりも効果的であることが実証されている 29 mer の shRNA を使用しています。より効率的に RNAi 経路に入ることで、特異性と有効性が向上し、抗ウイルス防御のインターフェロン応答が最小限に抑えられるという利点を備えています。

特長

- shRNA は U6 プロモーターにより転写されます。
- GC 含量は、50% を理想値 (目標値) として、30~70% の範囲で設計されています。
- GC 含量が 3' 側よりも 5' 側で高くなるように設計されています。
- 動物種：ヒト用、マウス用、ラット用があります。

ベクター名	pRS	pGFP-V-RS	pRFP-B-RS	pGFP-C-shLenti
骨格		レトロウイルス		
蛍光	無し	GFP	RFP	GFP
抗生物質	アンピシリン	カナマイシン	クロラムフェニコール ピューロマイシン	



pGFP-C-shLenti (#TR30023)

第三世代のレンチウイルスベクターで、ウイルス粒子へのパッケージングが必要です。

5LTR と 3LTR の中に U6 プロモーターで駆動する shRNA 発現カセット、SV40 プロモーターで駆動するピューロマイシン耐性遺伝子、CMV プロモーターで駆動する tGFP 遺伝子が組み込まれています。

納品物

- 4 種類の shRNA 発現精製プラスミド (5 µg × 4 本)
- スクランブルネガティブコントロール (1 本)

製品検索方法

お探しのターゲット遺伝子に対するキットの商品コードは、OriGene 社 Web サイト (<https://www.origene.com/>) で遺伝子名などのキーワードを入力して検索して下さい。

» Search Your HuSH-29™ shRNA Plasmid (browse all)

Gene Symbol, Product Name, or Keywords:

価格

レトロウイルスベクター：1 kit / ¥290,000

レンチウイルスベクター：1 kit / ¥332,000

レンチウイルス粒子 -80°C カルタヘナ：1 kit / ご照会下さい

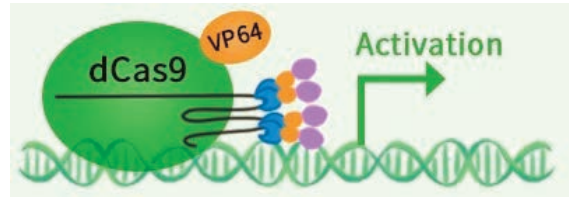
[メーカー：ORI]

NEW

CRISPR ベースの遺伝子発現調節 CRISPRa SAM / CRISPRi

■ CRISPRa SAM (遺伝子発現活性化製品) …CRISPR activation, Synergistic Activation Mediator

CRISPRa SAM は、(1) dCas9-VP64, (2) MS2 RNA アプタマーを含む修飾ガイド RNA, (3) MS2-p65-HSF1 の 3 点から構成されています。VP64 および p65 (●) と HSF1 (●) は転写活性化に関与するドメインです。MS2 (●) とガイド RNA に含まれる MS2 RNA アプタマーとの相互作用を介して、p65 と HSF1 を dCas9-VP64 に近接させることで、相乗的に遺伝子発現を活性化することができます。OriGene 社ではこれらの因子を発現する以下のベクター製品を取り扱っています。



[メーカー：ORI]

タイプ	pCas-Guide-CRISPRa Vector			pCRISPRa Enhancer Vector			Scramble Control Vector		
マップ									
特長	dCas9-VP64 とガイド RNA の発現ベクター。ガイド RNA は任意の配列をクローニングする。			MS2-p65-HSF1 の発現ベクター。CRISPRa Vector と共に使用し、相乗的に遺伝子発現を活性化する。			スクランブルガイド RNA 配列を有したネガティブコントロールベクター。		
マーカー	—	tGFP	Puro	—	—	—	tGFP	Puro	
商品コード	GE100055	GE100074	GE100081	GE100056	GE100077	GE100082	GE100058	GE100077	GE100082
包装	10 µg	10 µg	10 µg	10 µg	10 µg	10 µg	10 µg	10 µg	10 µg
価格 (¥)	173,000	173,000	173,000	246,000	141,000	141,000	141,000	141,000	141,000

※上記 #GE100055, #GE100056, #GE100058 の 3 種類のベクターがセットになった CRISPRa Vector kit (#GE100057) もあります。

■ CRISPRi (遺伝子発現抑制製品) …CRISPR interference

CRISPRi システムでは、dCas9 に KRAB と MeCP2 の抑制ドメインを融合させ、遺伝子抑制を行います。dCas9-KRAB-MeCP2 とガイド RNA を一つのベクターで発現するオールインワンの CRISPRi ベクターシステムです。

[メーカー：ORI]

タイプ	pCas-Guide-CRISPRi Vector			Scramble Control Vector		
マップ						
特長	dCas9-KRAB-MeCP2 とガイド RNA の発現ベクター。ガイド RNA は任意の配列をクローニングする。			スクランブルガイド RNA 配列を有したネガティブコントロールベクター。		
マーカー	—	tGFP	Puro	—	tGFP	Puro
商品コード	GE100059	GE100085	GE100083	GE100060	GE100086	GE100084
包装	10 µg	10 µg	10 µg	10 µg	10 µg	10 µg
価格 (¥)	173,000	173,000	173,000	141,000	141,000	141,000



ロボ



ケンキュウ・ザンマイ (左)
ジッケン・スキョ (右)



らせん状の植物をつたって (2022年9月15日号表紙)

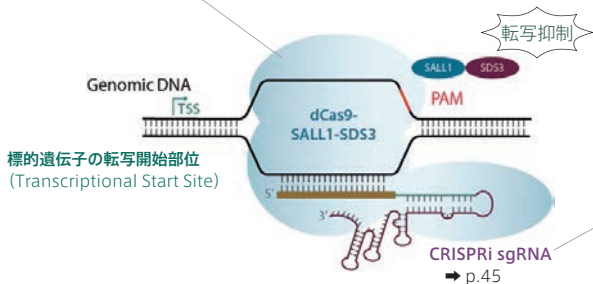
調査のため、大きならせん状の植物が巻きついた巨大な塔に登っていく一行。塔の頂上には仕掛けが施された扉がありましたが、ロボとフナコシの助けにより無事に解読に成功！中に入るとそこにはたくさんの蔵書が並んだ本棚、そして光り輝く一冊の本がありました。未知の神秘的な空間を前に、ザンマイたちは感動し、胸を躍らせるのでした。

標的遺伝子の転写を抑制（ノックダウン）させるシステム Dharmacon™ CRISPRmod CRISPRi

dCas9-SALL1-SDS3 とガイド RNA の 2 つのコンポーネントを細胞に導入することで、標的遺伝子の転写を抑制します。PAM アンカー型ターゲティングを活用した特異性の高い遺伝子ノックダウンが可能です。直交検証として siRNA による RNAi と並行してお使いいただけます。

コンポーネント① dCas9-SALL1-SDS3 → 下記

DNA 切断活性を欠失させた dead Cas9 (dCas9) と転写抑制ドメインを融合させた改変 Cas9 スクレアーゼ

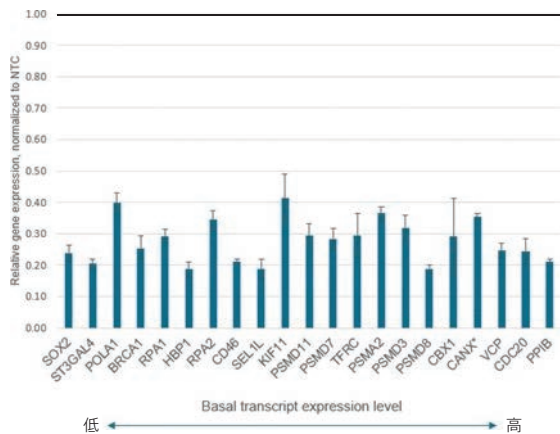


- dCas9 複合体が TSS の下流の DNA に結合して遺伝子の転写をブロックする
- さらに、クロマチンリモデリングと遺伝子サイレンシングに関与するタンパク質をリクルートする

コンポーネント②ガイド RNA

ターゲット遺伝子の転写開始部位のすぐ下流の領域に配列設計した化学合成 sgRNA

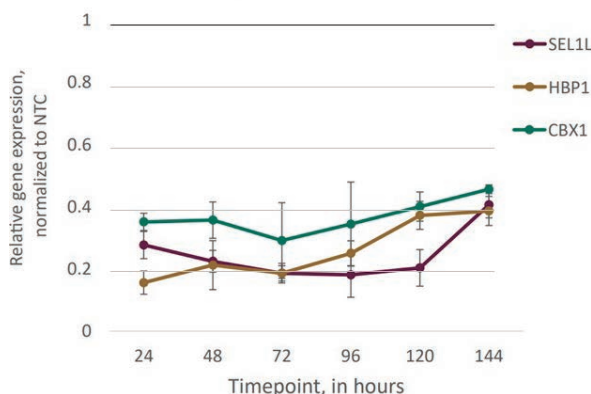
使用例



CRISPRi による転写抑制は内在性発現レベルに依存しない

dCas9-SALL1-SDS3 を安定的に発現する U2OS 細胞に、複数の sgRNA (それぞれ 21 遺伝子を標的、25nM) を DharmaFECT 4 (→ p.29) を用いてトランスフェクションした。72 時間後、RT-qPCR を用いて各標的遺伝子の相対発現量を測定した。U2OS 細胞では、PPIB は SOX2 の約 100 倍のレベルで発現しているが、ともに、CRISPRi 試薬で約 20~25% まで発現を抑制することができる。

CRISPRi repression in U2OS Cells

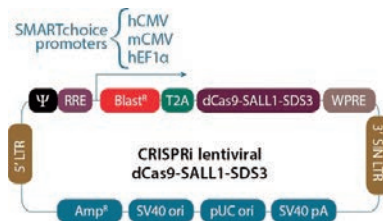


トランスフェクション 24~144 時間後の遺伝子発現抑制

dCas9-SALL1-SDS3 を安定的に発現する U2OS 細胞に、化学合成 sgRNA の混合物 (25 nM) を DharmaFECT 4 (→ p.29) を使用してトランスフェクションした。24, 48, 72, 96, 120, 144 時間後に RT-qPCR を用いて相対的な遺伝子発現を測定した。3 つの遺伝子ターゲットについて、導入 96 時間以降も一貫して強い転写抑制を実現できていることが分かる。

■ dCas9-SALL1-SDS3 (転写抑制因子融合 dCas9)

- CRISPRi dCas9-SALL1-SDS3 レンチウイルス粒子
CRISPRi dCas9 安定発現細胞株を作成し、あらかじめ CRISPRi 実験の準備を行えます。
- CRISPRi dCas9-SALL1-SDS3 mRNA
レンチウイルスフリーのワークフローで一過性の CRISPRi 実験を行えます。



CRISPRmod CRISPRi dCas9-SALL1-SDS3

[メーカー : DHA]

製品形態	Cas9		選択マーカー		商品コード	包装	価格(¥)
	連結	発現	プロモーター	発現			
レンチウイルス粒子 (10 ⁷ TU/ml) -80°C カルタヘナ	T2A	dCas9-SALL1-SDS3	hCMV	Blast ^R	VCAS12245	50 µl	116,900
			mCMV	Blast ^R	VCAS12246	50 µl	116,900
			hEF1α	Blast ^R	VCAS12247	50 µl	116,900
mRNA -80°C	-	dCas9-SALL1-SDS3	なし	なし	CAS12224	20 µg	56,000
			なし	なし	CAS12227	100 µg	224,500
			なし	なし	CAS12230	500 µg	673,800
			EGFP	なし	CAS12225	20 µg	56,000
			EGFP	なし	CAS12228	100 µg	224,500
			EGFP	なし	CAS12231	500 µg	673,800
			Puro ^R	なし	CAS12226	20 µg	56,000
Puro ^R	なし	CAS12229	100 µg	224,500			
Puro ^R	なし	CAS12232	500 µg	673,800			



■ CRISPRi 用ガイド RNA (遺伝子の転写抑制用)

化学合成 sgRNA (デザイン済み)

トランスフェクション後 24 時間以内に抑制を観察できる最も迅速な CRISPRi システムです。

修飾によりヌクレアーゼ分解に対する安定性を高めています。

製品フォーマット	Individual : 配列 1 種類 (チューブ 1 本) ごとの個別でお届けする製品
	Set of 3 : 1 つの遺伝子に対して配列デザインの異なる 3 種類の sgRNA をそれぞれ個別のチューブに入れ、チューブ 3 本で 1 セットとした製品
	Pool : 1 遺伝子に対する 3 配列の sgRNA の混合物を分注 (1 本)

コントロール製品

- ポジティブコントロール用 (SEL1L/PPIB) sgRNA
- ネガティブコントロール用 (Non-targeting) sgRNA

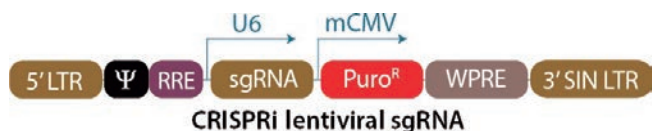
CRISPRmod CRISPRi Synthetic sgRNA [メーカー: DNA]

動物種	商品コード	包装	価格 (¥)
Individual			
Human	CI-HUMAN-XX-0002	2 nmol	37,300
	CI-HUMAN-XX-0005	5 nmol	74,700
	CI-HUMAN-XX-0010	10 nmol	112,200
Set of 3			
Human	CQ-HUMAN-XX-0002	2 nmol	93,500
	CQ-HUMAN-XX-0005	5 nmol	187,100
	CQ-HUMAN-XX-0010	10 nmol	261,900
Pool			
Human	CF-HUMAN-XX-0002	2 nmol	87,900
	CF-HUMAN-XX-0005	5 nmol	117,800
	CF-HUMAN-XX-0010	10 nmol	145,800

※商品コードの XX には、製品ごとに特定の数字が入ります。

レンチウイルス sgRNA (デザイン済み)

トランスフェクションが困難な細胞、または長期間の抑制が必要な場合の CRISPRi の理想的なデリバリー方法です。



※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。

※Particles : レンチウイルス粒子 (10⁸ TU/ml)

CRISPRmod CRISPRi Lentiviral sgRNA

-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	GSGH12233	1 vial	87,700
	Particles	VSGH12234	100 µl	146,000
	Particles	VSGH12235	200 µl	185,100
Set of 3				
Human	Glycerol stock	GSGH12236	1 set	241,400
	Particles	VSGH12237	100 µl	379,300
	Particles	VSGH12238	200 µl	418,200

■ CRISPRi 用ガイド RNA ライブラリー (遺伝子の転写抑制用)



Cherry-Pick CRISPRi 化学合成 sgRNA ライブラリー

● ご予算やニーズに合わせてフレキシブルに sgRNA をご選択いただき、96/384 ウェルプレートに分注してお届けするカスタムライブラリーです。

※最低注文数: 20 ウェル分の製品 (96 ウェルプレートの場合)、40 ウェル分の製品 (384 ウェルプレートの場合)

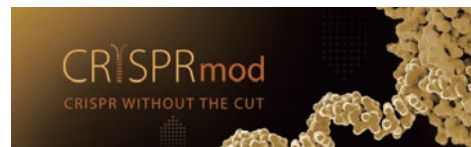
※ご注文は、Cherry-Pick Library Tool をご使用下さい。

動物種	容量	製品フォーマット	1 ウェルあたりの容量と価格				
			0.1 nmol	0.25 nmol	0.5 nmol	1.0 nmol	2.0 nmol
			¥12,100	¥17,900	¥21,800	¥24,700	¥30,100
			¥5,400	¥9,000	¥10,800	¥13,700	¥16,800

MEMO

遺伝子切断を伴わない CRISPR

分子生物学のセントラルドグマでは、DNA は RNA に転写され、次にタンパク質に翻訳されます。研究者は、遺伝子の機能をよりよく理解するために、機能喪失または機能獲得実験を通じて、この経路を複数のポイントで調節することができます。既存の CRISPR ノックアウトおよび HDR ノックイン技術は、細胞内の DNA 編集を可能にしました。一方、従来の RNAi 技術では mRNA が分解され、翻訳が妨げられます。CRISPRmod (CRISPR modulation) は、転写レベルでの遺伝子発現調節に新しい方法を提供する Horizon の試薬群です。内在性遺伝子の転写を活性化する CRISPR activation および、抑制する CRISPR interference の 2 つのシステムがあります。



- 内在性発現調節
- CRISPR レベルの特異性
- マルチプレックス (複数の遺伝子を同時に)
- 直交検証: CRISPR ノックアウトまたは RNAi と並行して使用し、データセットを堅牢に

製品は Horizon Discovery 社の Web サイトに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。 → p.6

ユーザー登録の方法
67329 🔍 検索

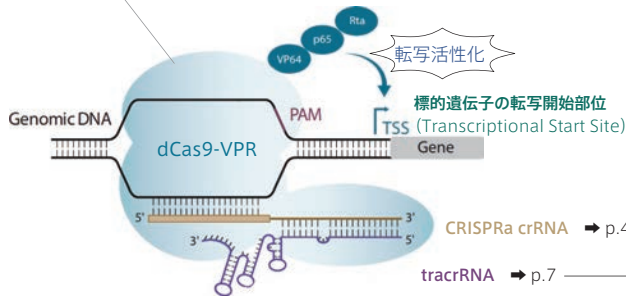
ご注文方法の詳細
81062 🔍 検索

標的遺伝子の転写を活性化させるシステム Dharmacom™ CRISPRmod CRISPRa

VPR システム

dCas9-VPR とガイド RNA の 2 つのコンポーネントだけで、標的遺伝子の転写を活性化します。

コンポーネント① dCas9-VPR → 下記
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を融合させた改変 Cas9 ヌクレアーゼ



• dCas9 複合体が TSS の上流に結合し、転写活性化因子が作用する

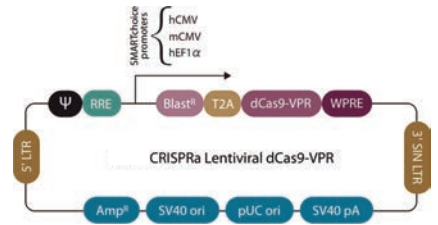
コンポーネント②ガイド RNA

※転写活性化用 CRISPRa crRNA を使用する場合は、tracrRNA (→ p.7) も必要となります。

■ dCas9-VPR (転写活性化因子融合 dCas9)

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。3 つの転写活性化因子 (VP64/p65/Rta) および 2 つの核局在化シグナル (NLS) に融合した、ヒト用にコドン最適化済みのヌクレアーゼ不活化 Cas9 遺伝子を発現します。

* 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。



[メーカー: DHA]

CRISPRmod CRISPRa dCas9-VPR

製品形態	Cas9		選択マーカー		商品コード	包装	価格 (¥)
	連結	発現	プロモーター	発現			
レンチウイルスベクター*	T2A	dCas9-VPR	hCMV	Blast ^R	CAS11914	10 µg	58,400
			mCMV	Blast ^R	CAS11915	10 µg	58,400
			hEF1α	Blast ^R	CAS11916	10 µg	58,400
レンチウイルス粒子 (10 ⁷ TU/ml) -80°C カルタヘナ	T2A	dCas9-VPR	hCMV	Blast ^R	VCAS11918	50 µl	116,900
			mCMV	Blast ^R	VCAS11920	50 µl	116,900
			hEF1α	Blast ^R	VCAS11922	50 µl	116,300
mRNA -80°C	-	dCas9-VPR	-	なし	CAS12024	20 µg	56,000
			-	なし	CAS12211	100 µg	224,500
			-	なし	CAS12214	500 µg	673,800
			-	EGFP	CAS12025	20 µg	56,000
			-	EGFP	CAS12212	100 µg	224,500
			-	EGFP	CAS12215	500 µg	673,800
			-	Puro ^R	CAS12026	20 µg	56,000
-	Puro ^R	CAS12213	100 µg	224,500			
-	Puro ^R	CAS12216	500 µg	673,800			

■ CRISPRa 用ガイド RNA (遺伝子の転写活性化用)

レンチウイルス sgRNA (デザイン済み)

• 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。



• 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。

※ 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。

※ Particles: レンチウイルス粒子 (10⁸ TU/ml)

CRISPRmod CRISPRa Lentiviral sgRNA

-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	84,300
Particles	VSGH11888	VSGM11894	100 µl	140,400
Particles	VSGH11889	VSGM11895	200 µl	177,900
Set of 4				
Glycerol stock	GSGH11890	GSGM11896	1 set	280,800
Particles	VSGH11891	VSGM11897	100 µl	458,700
Particles	VSGH11892	VSGM11898	200 µl	477,400

※ ヒト・マウス用のポジティブ/ネガティブコントロール CRISPRa Lentiviral sgRNA もあります。詳細はフナコシ Web をご覧ください。

化学合成 crRNA (デザイン済み)

- 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.7) または CRISPRa MS2 tracrRNA (⇒ 下記) と組み合わせて使用します。

CRISPRmod CRISPRa crRNA

[メーカー：DHA]

製品フォーマット	商品コード		包装	価格 (¥)
	Human	Mouse		
Individual 1 遺伝子に対する 1~4 配列から選択 (1 本)	CA-HUMAN-XX-0002	CA-MOUSE-XX-0002	2 nmol	18,600
	CA-HUMAN-XX-0005	CA-MOUSE-XX-0005	5 nmol	27,900
	CA-HUMAN-XX-0010	CA-MOUSE-XX-0010	10 nmol	33,500
	CA-HUMAN-XX-0020	CA-MOUSE-XX-0020	20 nmol	42,900
Set of 4 1 遺伝子に対する 4 配列 (4 本) のセット	PQ-HUMAN-XX-0002	PQ-MOUSE-XX-0002	2 nmol	67,200
	PQ-HUMAN-XX-0005	PQ-MOUSE-XX-0005	5 nmol	101,000
	PQ-HUMAN-XX-0010	PQ-MOUSE-XX-0010	10 nmol	134,700
	PQ-HUMAN-XX-0020	PQ-MOUSE-XX-0020	20 nmol	155,200
Pool 1 遺伝子に対する 4 配列の混合 (1 本)	P-HUMAN-XX-0005	P-MOUSE-XX-0005	5 nmol	54,200
	P-HUMAN-XX-0010	P-MOUSE-XX-0010	10 nmol	69,200
	P-HUMAN-XX-0020	P-MOUSE-XX-0020	20 nmol	91,700

*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・マウス用のポジティブ/ネガティブコントロール CRISPRa crRNA もあります。詳細はフナコシ Web をご覧ください。

CRISPRa 用ガイド RNA ライブラリー (遺伝子の転写活性化用)



CRISPRa (activation) crRNA Library

- ライブラリーラインナップ

Cell Cycle Regulation, Cytokine Receptors, Deubiquitinating Enzymes, DNA Damage Response, Drug Targets, Druggable Genome, Epigenetics, GPCRs, Genome, Ion channels, Membrane Trafficking, Nuclear Receptors, Phosphatases, Proteases, Protein Kinases, Transcription Factors, Tyrosine Kinases, Ubiquitin Enzymes

動物種	Human, Mouse
包装形態	96 または 384 ウェルプレート, 凍結乾燥品
容量	0.1, 0.25, 0.5 nmol
製品フォーマット	Pool : 遺伝子あたり 4 種類の crRNA を混合 (1 本) Set of 4 : 1 遺伝子に対する 4 配列 (4 本) のセット

Cherry-Pick CRISPRa (activation) crRNA Library

- ご予算やニーズに合わせてフレキシブルに crRNA をご選択いただき、96/384 ウェルプレートに分注してお届けするカスタムライブラリーです。

*最低注文数: 20 ウェル分の製品 (96 ウェルプレートの場合), 40 ウェル分の製品 (384 ウェルプレートの場合)

*ご注文は、Cherry-Pick Library Tool をご使用下さい。

動物種	Human, Mouse
容量	0.1, 0.25, 0.5, 1.0, 2.0 nmol/well から選択
製品フォーマット	Pool : 遺伝子あたり 4 種類の crRNA を混合 (1 本) Individual : 1 配列ごとに分注 (遺伝子につき 1~4 配列から選択可能)

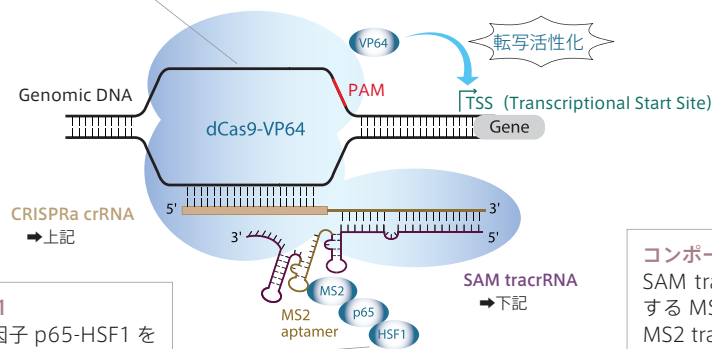
製品フォーマット	1 ウェルあたりの容量と価格				
	0.1 nmol	0.25 nmol	0.5 nmol	1.0 nmol	2.0 nmol
Pool	¥8,700	¥12,800	¥15,500	¥17,900	¥19,500
Individual	¥4,000	¥6,300	¥8,000	¥9,800	¥11,900

SAM システム (SunTag)

SAM (synergistic activation mediator) システムによる転写活性化の場合、2つのコンポーネント (NLS-dCas9-VP64 および MS2-p65-HSF1) を発現する安定細胞株に、標的遺伝子に対する CRISPRa 化学合成 crRNA と CRISPRa MS2 tracrRNA を導入します。

コンポーネント① dCas9-VP64

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



コンポーネント② ガイド RNA

コンポーネント③ 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

コンポーネント② ガイド RNA

SAM tracrRNA MS2 タンパク質と結合する MS2 アプタマー配列を含む専用の MS2 tracrRNA。MS2-p65-HSF1 を TSS にリクルートする。

化学合成 MS2 tracrRNA

SAM 活性化システム¹ の NLS-dCas9-VP64 と MS2-p65-HSF1 の両方を安定発現している細胞に、CRISPRa crRNA (⇒ 上記) と導入して使用します。

1. Konermann S., et al., Nature, 517 (7536), 583~588 (2015). [PMID : 25494202]

Web ページ番号 64900



CRISPRa MS2 tracrRNA

[メーカー：DHA]

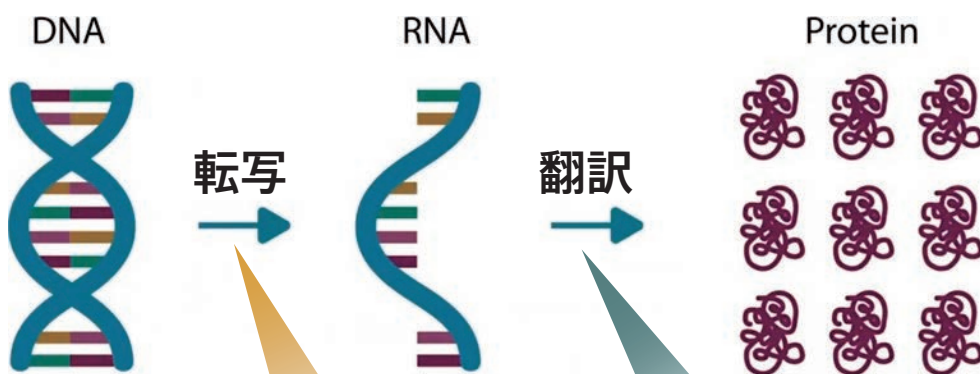
商品コード	包装	価格 (¥)
U-102005-05	5 nmol	19,100
U-102005-20	20 nmol	40,700
U-102005-50	50 nmol	80,100

CRISPRmod

CRISPR WITHOUT THE CUT

CRISPR modulation は、改変型 CRISPR-Cas9 システムを用いて、二本鎖 DNA は切断せずに、標的とする内在性遺伝子の転写を抑制あるいは活性化するシステムです。

高い特異性で複数遺伝子を同時に標的にした実験が可能です。



CRISPR ゲノム編集

DNA を標的位置で切断することでノックアウトやノックインを行い、永続的で遺伝性の変化をもたらす → p.4~29

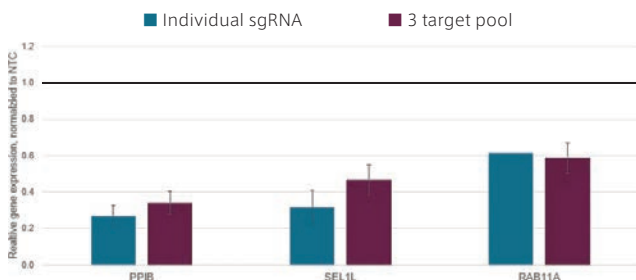
CRISPRmod

CRISPR レベルの特異性で標的遺伝子の転写を抑制 (CRISPRi) または活性化 (CRISPRa) → p.44~47

RNAi

siRNA や shRNA が内在性 mRNA の分解を誘導し、翻訳を阻害する → p.38~41

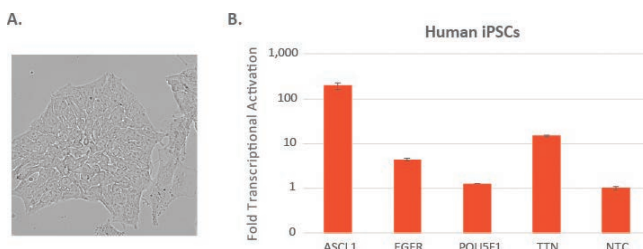
CRISPRi (interference)



sgRNA のマルチプレックス化による複数遺伝子の同時ノックダウン

dCas9-SALL1-SDS3 を安定的に発現する WTC-11 ヒト iPS 細胞に、3 種類の CRISPRi 化学合成 sgRNA (標的遺伝子: PPIB, SEL1L, RAB11A) をヌクレオフェクションにより導入した。ガイド RNA は個別 (Individual), またはガイド RNA あたり 3 μM のプール (3 つの異なる遺伝子をターゲットとする sgRNA の混合物) として導入した。72 時間後、RT-qPCR を用いて相対発現量を測定した。プールガイド RNA の導入時も、細胞の生存率と形態を著しく変化させることなく、3 つの標的遺伝子を同時に抑制することができた。

CRISPRa (activation)



ヒト幹細胞における遺伝子転写活性化

(A) ヒト iPS 細胞をフィーダーフリー/血清フリー培地で培養し、形態を観察した。
(B) 細胞を 96 ウェルプレートに播種し、CRISPRa lentiviral sgRNA をヌクレオフェクションで導入した。3 日後細胞を回収し、RT-qPCR (GAPDH を基準にした Cq 法) で相対発現量を確認した。

フナコシ Dharmacon 製品担当

✉ dharmacon@funakoshi.co.jp

販売店



フナコシ株式会社 〒113-0033 東京都文京区本郷2丁目9番7号

https://www.funakoshi.co.jp ✉ info@funakoshi.co.jp

試薬: TEL 03-5684-1620 ✉ reagent@funakoshi.co.jp

機器: TEL 03-5684-1619 ✉ kiki@funakoshi.co.jp

受託: TEL 03-5684-1645 ✉ jutaku@funakoshi.co.jp

※本紙に記載されている価格は、2022年9月15日現在です。

FUN-7461 (2022.9, No. 755)