

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

■ 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

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
WPRE	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 クレアーゼ発現プラスミド



エンドキシフリー精製 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 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。



- 製品形態として Lentiviral Plasmid DNA (エンドキシフリー) 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

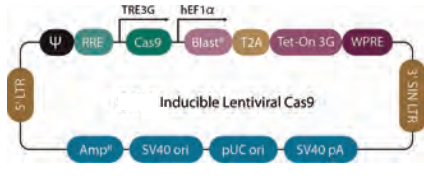
- 「任意の時期までゲノム編集を起こさせたくない」「必要な時だけ Cas9 を発現させたい」「ゲノム編集後は Cas9 産生を抑制したい」場合に有用です。
- テトラサイクリン誘導系である Tet-On® 3G システムを採用しており、より厳密に制御された誘導的ゲノム編集が可能です。



Cas9 Lentivirus

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



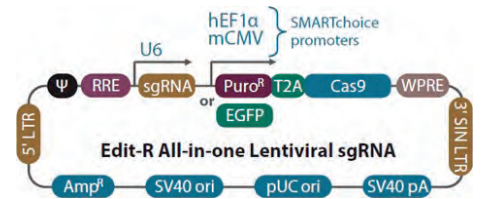
Cas9 と、標的遺伝子に対するデザイン済み sgRNA を同時発現できるレンチウイルスベクターです。

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)

コントロール製品もあります



- 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

