

# 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。

Web ページ番号

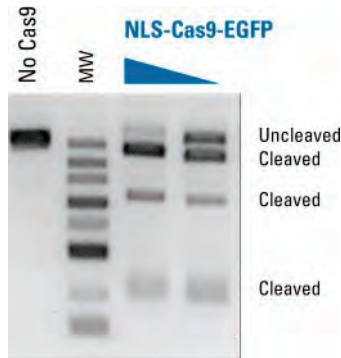
64839



- 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。

Web ページ番号

8121



- 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

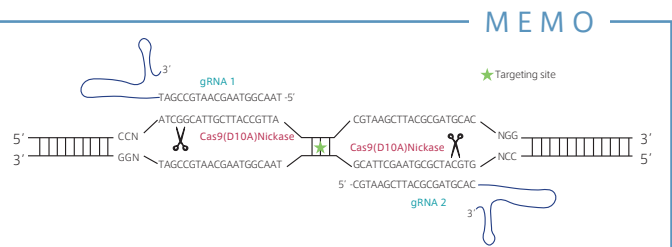
[メーカー : SBI]

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 <b>-80°C</b>	20 µg	80,000
		GFP	CAS530G-1 <b>-80°C</b>	10 µg	70,000
		RFP	CAS531R-1 <b>-80°C</b>	10 µg	70,000
	変異型 (D10A) hspCas9, Nickase	なし	CAS504A-1 <b>-80°C</b>	20 µg	80,000
		GFP	CAS534G-1 <b>-80°C</b>	10 µg	70,000
		RFP	CAS535R-1 <b>-80°C</b>	10 µg	70,000
コントロール	mRNAExpress GFP transcript	GFP	MR700A-2* <b>-80°C</b>	2×10 µg	66,000
コントロール	mRNAExpress RFP transcript	RFP	MR800A-2* <b>-80°C</b>	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。



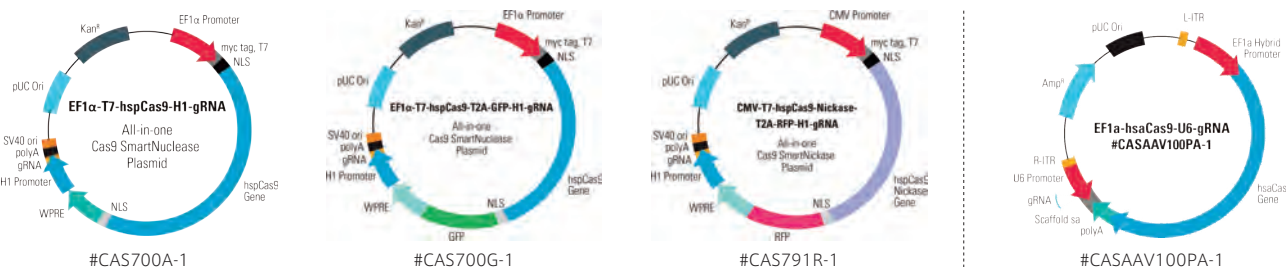
標的部位のアンチセンス鎖に対する gRNA 1 とセンス鎖に対する gRNA 2 を作製し、Cas9 (D10A) を用いてペアでニックを入れ、ゲノム編集の効率を向上させる。

### 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 <sup>R</sup>	CASLV300PA-1	1 kit	148,000	
	MSCV			T2A	Puro <sup>R</sup>	CASLV320PA-1	1 kit	148,000	
	CMV			変異型 (D10A) hspCas9, Nickase	T2A	Puro <sup>R</sup>	CASLV400PA-1	1 kit	148,000
	MSCV				T2A	Puro <sup>R</sup>	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 <sup>R</sup>	CASA AV100PA-1	1 kit	148,000		

saCas9 について

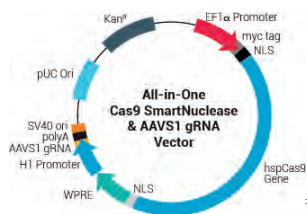
AAV を利用した遺伝子導入において、効率的にパッケージングを行うためには、AAV ゲノムの 2 つの ITR (Inverted Terminal Repeat) 配列間に挿入する配列が 5 kb 以下である必要があります。そのため、spCas9 ではサイズが大きすぎるという問題点がありますが、spCas9 と同様の効率を持ち、サイズが 1 kb 程度短い *Staphylococcus aureus* 由来の Cas9 (saCas9)<sup>1</sup> は、rAAV ベクターへの挿入が可能です。

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

MEMO



■ Cas9 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 <sup>R</sup>	CASLV601PA-1	10 µg	190,000
レンチウイルス粒子						CASLV601VA-1	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 <sup>7</sup> 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 <sup>R</sup>	CASLV100PA-1	10 µg	126,000	CASLV100VA-1	2×25 µl	126,000
MSCV		T2A	Puro <sup>R</sup>	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 <sup>R</sup>	CASLV200PA-1	10 µg	126,000	CASLV200VA-1	2×25 µl	126,000
MSCV		T2A	Puro <sup>R</sup>	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。

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。

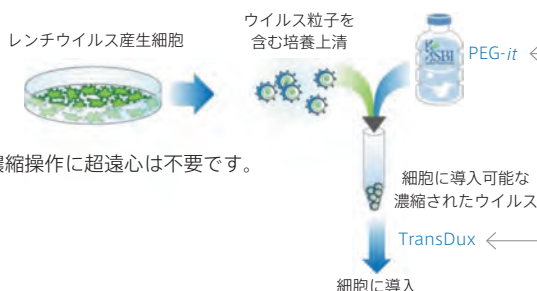
- \* プラスミド DNA の米国への送料が別途必要です。
- \* 参考納期 : System Biosciences 社がプラスミド受領後、約 5 週間



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。

C a s 9  
21  
TEL 03-5684-1620 FAX 03-5684-1775  
reagent@funakoshi.co.jp  
価格・内容は発刊日現在です  
掲載品はすべて研究用です