

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

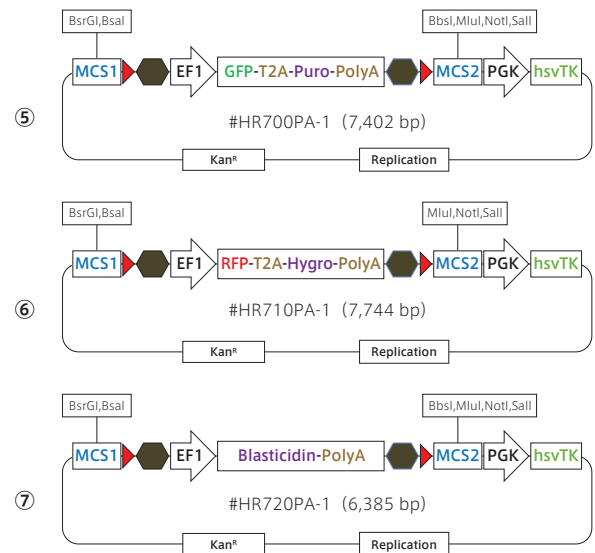
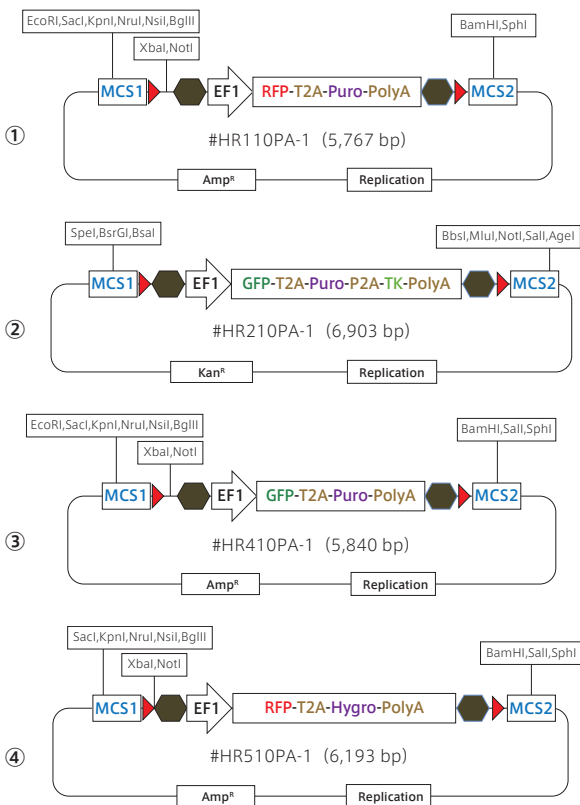


- Cas9 とガイド RNA のみの導入でも遺伝子ノックアウトは可能ですが, 本製品を併用すると, 相同組換え (HR) に成功した細胞を選択マーカーや蛍光レポーターにより効率よく選択できます。
- MCS1/MCS2 に, 目的遺伝子特異的なホモロジーアームを組み込み, 迅速に相同組換えを起こします。



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]

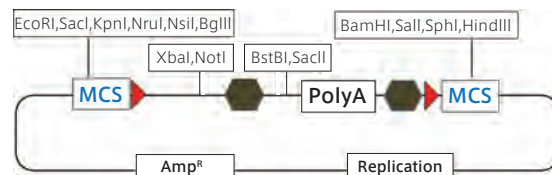
ベクターの配列	プロモーター	レポーター/マーカー	セレクション	商品コード	包装	価格 (¥)
① MCS1-EF1α-RFP-T2A-Puro-pA-MCS2	EF1α	RFP Puro ^R	—	HR110PA-1	10 µg	190,000
② MCS1-EF1α-GFP-T2A-Puro-P2A-hsvTK-pA-MCS2	EF1α	GFP Puro ^R	hsvTK	HR210PA-1	10 µg	217,000
③ MCS1-EF1α-GFP-T2A-Puro-pA-MCS2	EF1α	GFP Puro ^R	—	HR410PA-1	10 µg	190,000
④ MCS1-EF1α-RFP-T2A-Hygro-pA-MCS2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

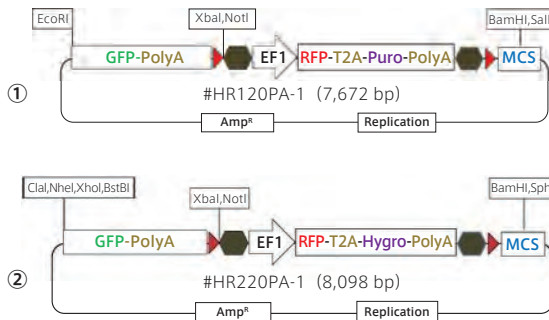


- 相同組換えにより、目的遺伝子に GFP を組み込むためのターゲティングベクターです。
- 細胞内での目的遺伝子産物の局在や動態の解析に最適です。
- 選択マーカー (Puromycin または Hygromycin 耐性および RFP 蛍光) により、相同組換えを起こした細胞株を選択できます。

MCS Multiple Cloning Sites ▶ LoxP Sites ◼ Insulator Sequences

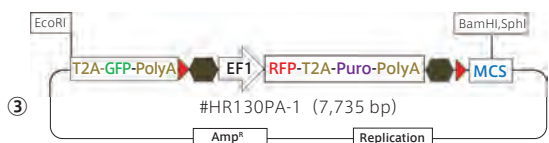
■ GFP-PolyA ベクター

- 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。



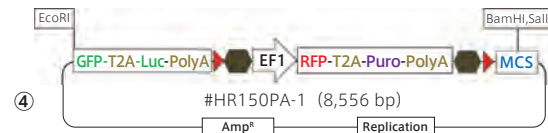
■ T2A-GFP-PolyA ベクター

- 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。



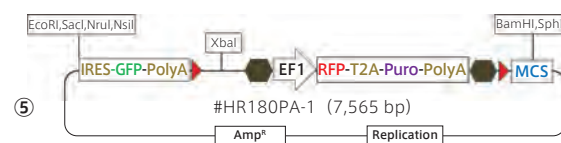
■ GFP-T2A-ルシフェラーゼ-PolyA ベクター

- 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