



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。



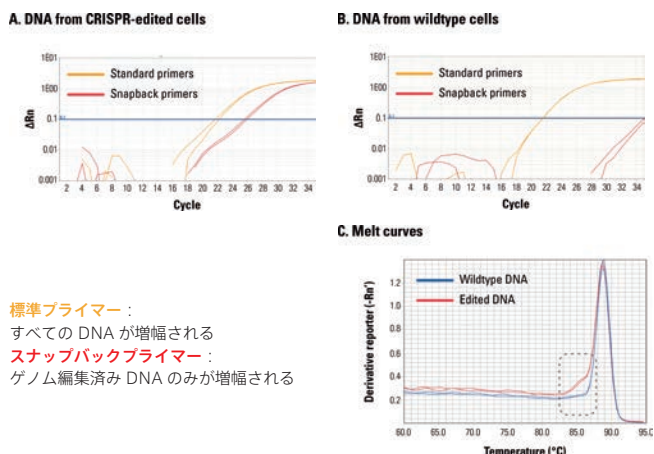
PAM（プロトスペーサー隣接モチーフ）配列の先頭塩基（GGN）から 3~4 塩基上流の塩基を中心とする 14~16 nt を選択し、未編集配列と相同なスナップバックタグを設計する。

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

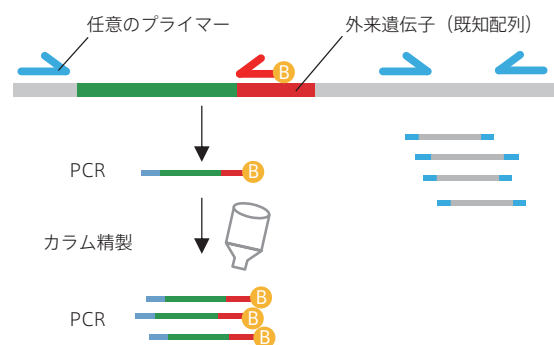
ご用意いただくもの

- トランスジーン/ウイルスの配列情報
- 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読し、外来 DNA の挿入位置を決定する。

ご注文方法/価格

詳細は、当社受託・特注品担当までお問い合わせ下さい。

[メーカー：PGL]