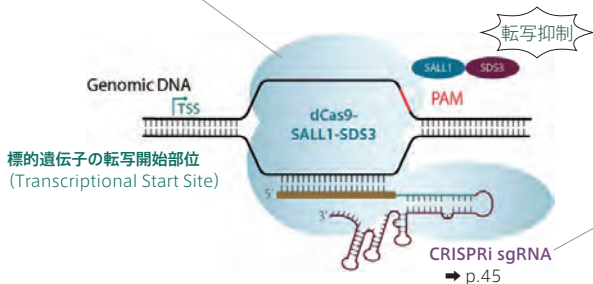


## 標的遺伝子の転写を抑制（ノックダウン）させるシステム Dharmacon™ CRISPRmod CRISPRi

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

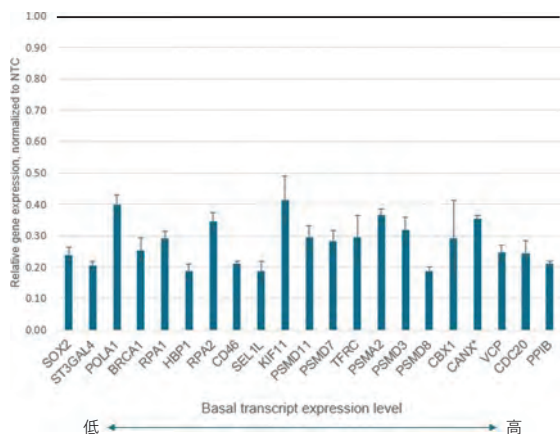


- dCas9 複合体が TSS の下流の DNA に結合して遺伝子の転写をブロックする
- さらに、クロマチンリモデリングと遺伝子サイレンシングに関与するタンパク質をリクルートする

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

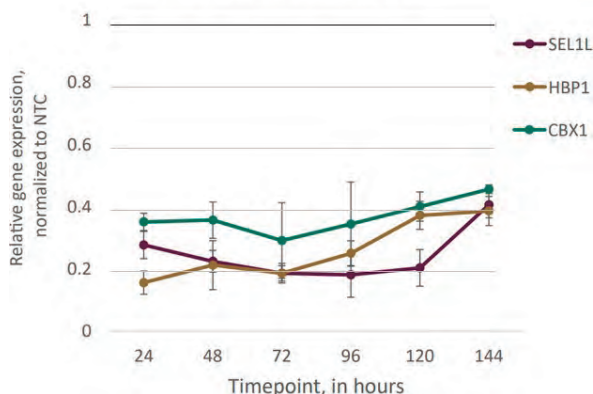
### 使用例



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

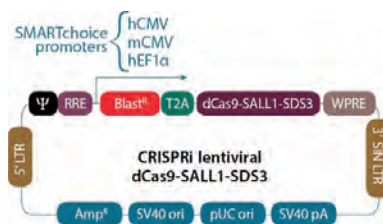


トランスフェクション 24~144 時間後の遺伝子発現抑制

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 <sup>7</sup> TU/ml) -80°C カルタヘナ	T2A	dCas9-SALL1-SDS3	hCMV	Blast <sup>R</sup>	VCAS12245	50 µl	116,900
			mCMV	Blast <sup>R</sup>	VCAS12246	50 µl	116,900
			hEF1α	Blast <sup>R</sup>	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 <sup>R</sup>	なし	CAS12226	20 µg	56,000
Puro <sup>R</sup>	なし	CAS12229	100 µg	224,500			
Puro <sup>R</sup>	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	<b>Individual</b> : 配列 1 種類 (チューブ 1 本) ごとの個別でお届けする製品
	<b>Set of 3</b> : 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
	<b>Pool</b> : 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

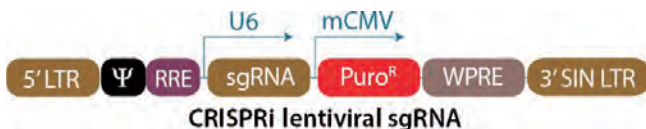
[メーカー: DHA]

動物種	商品コード	包装	価格 (¥)
<b>Individual</b>			
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
<b>Set of 3</b>			
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
<b>Pool</b>			
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 (10<sup>8</sup> TU/ml)

CRISPRmod CRISPRi Lentiviral sgRNA

-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 (¥)
<b>Individual</b>				
Human	Glycerol stock	GSGH12233	1 vial	87,700
	Particles	VSGH12234	100 µl	146,000
	Particles	VSGH12235	200 µl	185,100
<b>Set of 3</b>				
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)

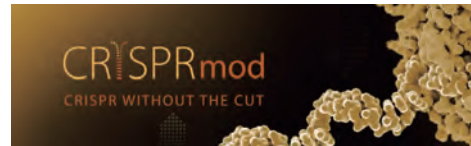
※ご注文は、Cherry-Pick Library Tool をご使用下さい。

動物種	Human				
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 3 種類の crRNA を混合 (1 本) Individual : 1 配列ごとに分注 (遺伝子につき 1~3 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	¥12,100	¥17,900	¥21,800	¥24,700	¥30,100
Individual	¥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 🔍

ご注文方法の詳細  
81062 🔍