



NEW

お手持ちの DNA から簡単に sgRNA ライブラリーを調製できます！ CRISPR-Cas9 sgRNA ライブラリー合成キット

Pioneer Biolabs 社が開発した SLALOM (sgRNA Library Assembly by Ligation Onto Magnetic beads) システムは、酵素反応を用いることでどのような生物由来の DNA 試料からでも、sgRNA ライブラリーを短時間で調製することが可能です。

調製したライブラリーは、CRISPR-Cas9 システムを用いた遺伝子機能のスクリーニングなどに使用できます。

特長

- 既製品が存在しないオリジナルの sgRNA ライブラリーを低価格で調製できます。
- 1 キットで、ライブラリー調製を 10 回行えます。
- 調製したライブラリーの用途に応じて、3 種類の製品があります。

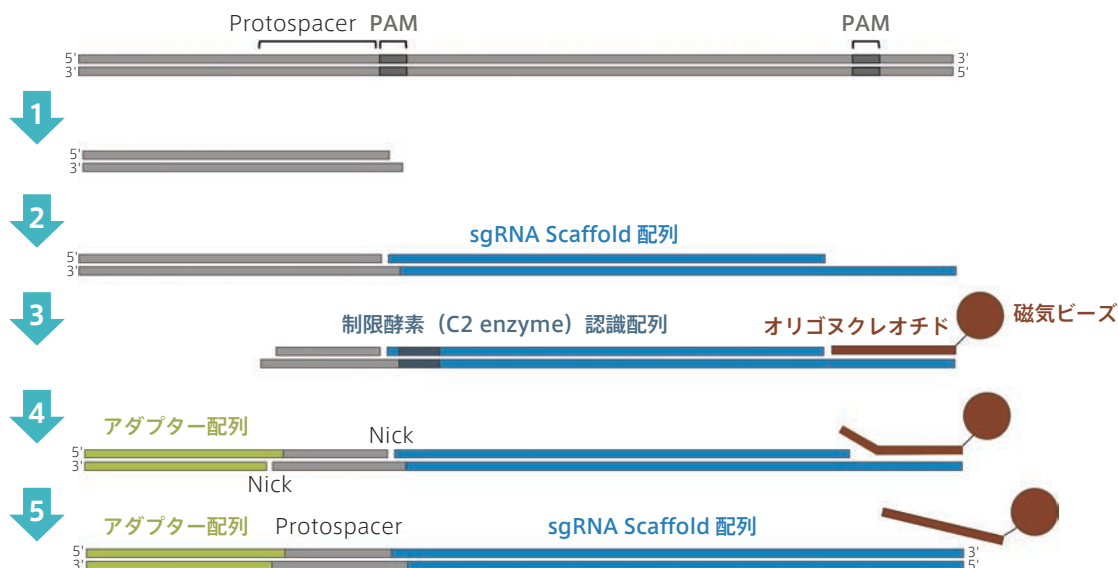
品名

メーカー	商品コード	包装 / 価格 (¥)
SLALOM 1.0 sgRNA Library Synthesis Kit NEW		
PIB	SK-KT	for T7 Transcription 1 kit / 372,000
PIB	SK-KL	for LentiCRISPRv2 1 kit / 372,000
PIB	SK-KM	for Mobile CRISPRi 1 kit / 372,000

参考文献

Yates, J.D., et al, *Nucleic Acids Res.*, **49** (22), e131 (2021).
[PMID : 34554233].

	調製したライブラリーの使用方法	調製したライブラリーのアプリケーション
T7 Transcription	T7 プロモーターによる <i>in vitro</i> 転写	クロマチンライブセルイメージングなど <i>in vitro</i> 転写した sgRNA を用いる手法
LentiCRISPRv2	lentiCRISPRv2 (addgene : 52961) へのクローニング	レンチウイルス系による遺伝子ノックアウトスクリーニング
Mobile CRISPRi	pJMP2846 (addgene : 160676) へのクローニング	Mobile CRISPRi による、バクテリア遺伝子のノックダウン (遺伝子発現抑制) スクリーニング



- DNA 試料を、PAM 配列を標的とする制限酵素 (C1 enzyme^{*1}) で処理し、スペーサー配列を含む断片を作製する。ここで生じたそれぞれの断片が、ライブラリーを構成する個々の sgRNA の元となる。
- DNA ligase によって①の断片を改変型 sgRNA Scaffold 配列を含むアダプターに連結させる。
- ②で連結した断片を磁気ビーズに吸着させ^{*2}、制限酵素 (C2 enzyme) によって PAM 配列からおよそ 20 bp 上流の部位で切断する。
- DNA ligase によって③の断片をプロモーターまたはクローニング用の制限酵素標的部位を含むアダプターに連結させる。
- 酵素 (E1 enzyme) 処理によって、sgRNA 分子中のニックを修復し磁気ビーズからの溶出を行う。
- 溶出したライブラリーを DNA 精製カラム^{*3}で精製する。
- ライブラリーの用途に応じて PCR による増幅、*in vitro* 転写、ベクターへのクローニングなどを行う。

*1 C1 enzyme は CGG 以外の PAM 配列には対応していません。

*2 磁気ビーズには改変 sgRNA Scaffold 配列の 5' 末端にあるオーバーハング配列と相補的なオリゴヌクレオチドが連結されています。

*3 DNA 精製カラムはキットに付属していません。別途ご用意下さい。

※キット付属品やプロトコルの詳細は、フナコシ Web に掲載の製品データシートよりご確認下さい。