

安い・早い・高効率！

## CRISPR/Cas9 による遺伝子改変マウス作製受託サービス

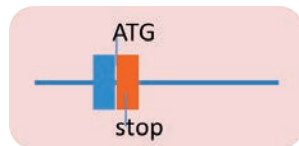
guide RNA 設計から遺伝子改変マウス作製までトータルサービスの提供が可能です。

### 特長

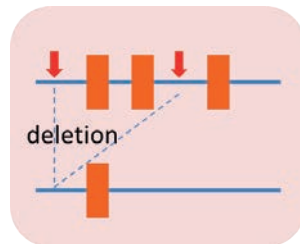
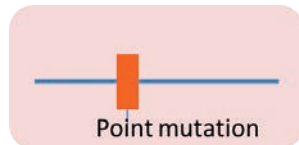
- Broad 研究所よりライセンス許諾を受けて実施いたします。
- 作製したマウス（成果物）の権利は依頼者に帰属いたします。
- Cas9 ベクターあるいは Cas9 タンパク質を用いたインジェクションを実施しております。ES 細胞を用いた相同組換え法との組み合わせも実施しております。
- 標的遺伝子に対する guide RNA 設計から *in vitro* 活性評価も実施いたします。
- guide RNA 設計から遺伝子改変マウス作製までトータルサービスのご提供が可能です。また、一部工程のみの実施も相談させていただきます。
- 各種目的に応じたストラテジー相談から実施させていただきます。標的遺伝子によっては、本手法が実施できない場合もあります。その場合は別の作製方法をご提案させていただきます。

### 実施例

- 終止コドン挿入によるノックアウト
- 2 か所切断による欠失



- 点変異導入によるノックイン



各種目的に応じたストラテジーのご相談から承ります。

### 作業概要（標準工程）

#### ● 工程 1 「guide RNA 設計と活性確認」

標的遺伝子に対する guide RNA と Cas9 タンパク質の複合体 (RNP complex) が認識する guide sequence の候補配列を決定し、決定したデザインと guide sequence に基づき、crRNA を合成します。合成した crRNA と、準備した tracrRNA, Cas9 タンパク質, PCR 増幅した Target 領域を用いて、*in vitro* での活性評価確認を行います。

#### ● 工程 2 「受精卵インジェクション」

標準では C57BL/6N 系統マウス受精卵（約 200 個）を用いて、インジェクションを行います。CRISPR/Cas9 での変異導入効率は高頻度であり、テンプレート DNA となる donor DNA や相同組換えベクターと一緒にインジェクションすることにより、相同組換えによる任意の配列挿入が可能です。  
※マウス系統、インジェクション数はご相談に応じます。

#### ● 工程 3 「ファウンダーマウスの導入変異解析」

Target 領域を PCR で増幅させ、PCR 増幅産物を鋳型にダイレクトシーケンシングにより導入変異の解析を行います。

### オプション

#### ● (オプション) 工程 4 「自然交配による次世代作製」

F0 ファウンダーマウスと野生型マウスとの自然交配により次世代マウスを作製します。取得産子については、PCR 増幅産物を用いたダイレクトシーケンシングにより、生殖系列伝播した導入変異の解析を行います。

#### ● (その他オプション)

体外受精 (IVF) による増産  
凍結胚作製  
微生物検査と生体マウス輸送

### 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：TRG]

## CRISPR/Cas9 のライセンス状況

(株)トランスジェニックは、2015年4月21日に米国 Broad 研究所から CRISPR/Cas9 に関する特許群 (US8697359B1 他) の日本国内における非独占的実施権を取得しております。(株)トランスジェニックを通して(株)安評センターで受託作製した遺伝子組換えマウスは、お客様の機関内における研究目的での使用が認められています。

また、国立大学法人東京医科歯科大学より高効率 CRISPR/Cas9 ノックイン法に関する特許の日本国内での非独占的使用権許諾を受けております。

※作製費用には Broad 研究所および東京医科歯科大学へのライセンス料を含みます。