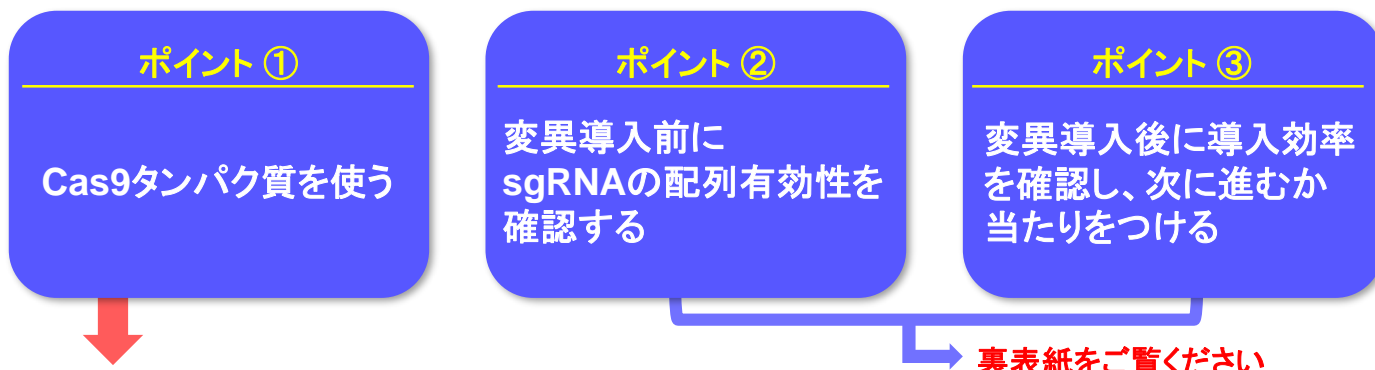


オフターゲットを抑え、効率のよいゲノム編集が可能です！
CRISPR/Cas9の効率Upにつながる③つのポイントお伝えします



Q1. なぜCas9タンパク質を使ったCRISPR/Cas9がおススメなの？

A1. プラスミドによる遺伝子導入法に比べて多くのメリットがあるからです。



- メリット**
- ・プラスミドシステムよりゲノム編集効率が高い
 - ・Cas9遺伝子が残存してCas9を発現し続けることによるオフターゲットリスクが少ない
 - ・ほとんどすべての生物で同じCas9タンパク質を使用できる
 - ・タンパク質への転写・翻訳・発現にかかるプロセスがないのでタイムラグがなく効率的

Q2. 何をを用意すればいいの？

A2. Cas9タンパク質、guide RNA、トランスフェクション試薬を用意すればOK*。

必要な製品はすべてタカラバイオから購入可能です。

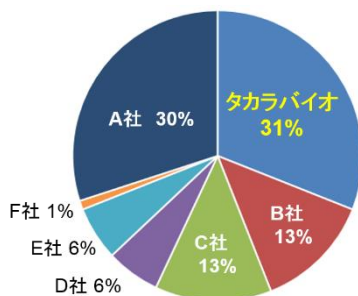
*ノックインの場合は、別途ドナーDNAが必要です。



実施例や製品情報は中面をご覧ください。

	製品名	容量	製品コード	価格(税別)	特長
Cas9 タンパク質	Guide-it™ Recombinant Cas9 (Electroporation-Ready)	100 µg (3 µg/µl)	632641	¥25,000	高濃度Cas9、低グリセロール。 核移行シグナル(NLS)付き
guide RNA	Guide-it™ sgRNA <i>In Vitro</i> Transcription Kit	50回	632635	¥150,000	クローニングなしで簡単にsgRNA 調製が可能。必要な試薬がすべて 入ったオールインワンキット
トランスフェク ション試薬	TransIT-X2® Dynamic Delivery System	0.3 ml	MIR6003	¥22,000	Cas9とsgRNA複合体(RNP)を 効率よく導入可能。他社ゲノム編 集専用導入試薬より高効率

ご存知でしたか？ タカラバイオはゲノム編集関連製品のトップメーカーの一つです！



「使用しているゲノム編集製品のメーカーは？」というアンケートで、一番使っているメーカーに選んでいただきました。

これからもタカラバイオは、皆様のゲノム編集実験に役立つ製品・サービスをご提供して参ります！

アンケート実施場所： 第1回ゲノム編集学会におけるタカラバイオランチョンセミナー
 (2016年9月6日 @ 広島国際会議場)

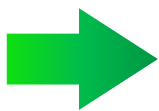
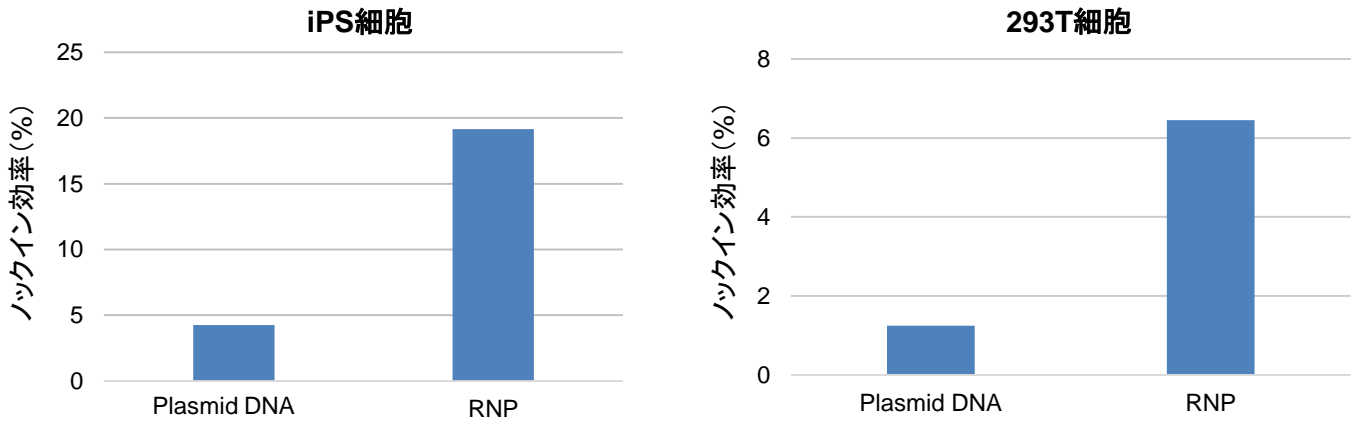
アンケート回答者： 160名

■ 変異導入効率の比較 (1): プラスミドDNA vs Cas9タンパク質 & sgRNA複合体(RNP)

【方法】

サーモフィッシャー社エレクトロポレーション装置Neonを使用し、プラスミドDNA、もしくはGuide-it™ Recombinant Cas9 (Electroporation-Ready) (製品コード 632641)とsgRNAの複合体(RNP)をZsGreen1弱発現細胞(iPSCおよび293T)に導入し、点変異導入(ノックイン)実験を行った。ZsGreen1弱発現細胞は、開始コドンに変異を入れてZsGreen1の発現レベルを抑えており、点変異導入実験は開始コドン領域をターゲットとして発現レベルの回復を目的とした。

Flow cytometryによりZsGreen1発現回復細胞をカウントし、ノックイン効率を解析した。



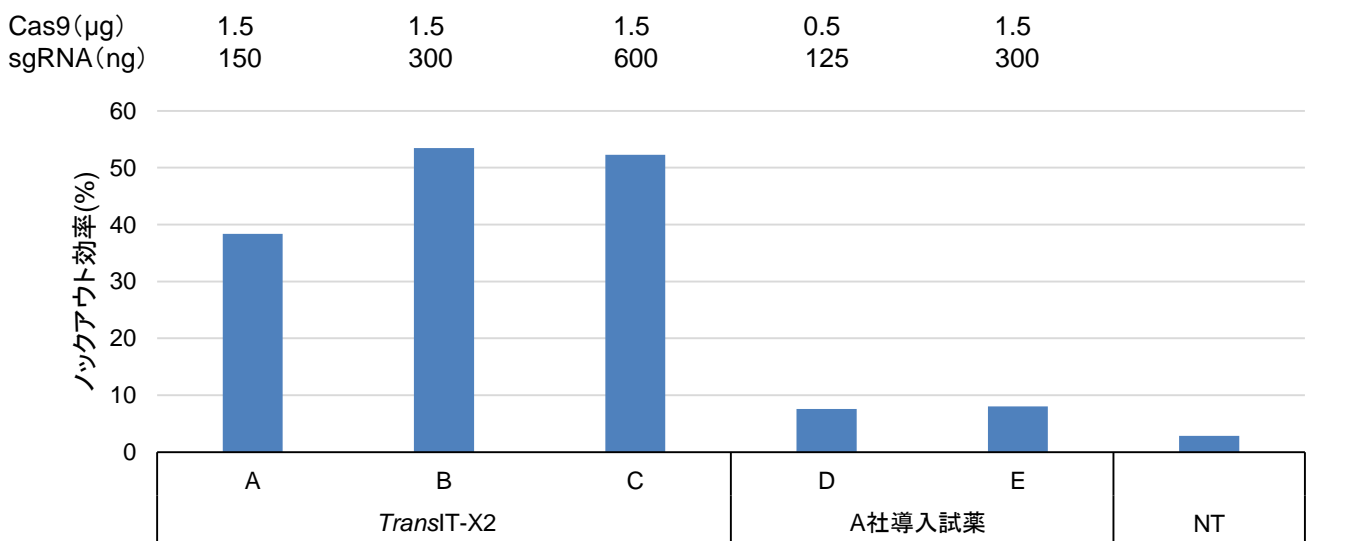
**プラスミドDNAより、Cas9タンパク質 & sgRNA複合体(RNP)を使用した方が高いノックイン効率を示しました。
是非一度、RNPによるCRISPR/Cas9をお試しください！**

■ 変異導入効率の比較 (2): TransIT-X2® vs 他社ゲノム編集専用トランスフェクション試薬

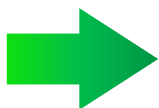
【方法】

Mirus社トランスフェクション試薬TransIT-X2® Dynamic Delivery System (製品コード MIR6003)および他社ゲノム編集専用トランスフェクション試薬を使用し、Guide-it™ Recombinant Cas9 (Electroporation-Ready) (製品コード 632641)とsgRNAの複合体(RNP)をZsGreen1発現293Tクローン細胞に導入し、ノックアウト実験を行った。sgRNAはZsGreen1遺伝子に対して設計した。導入条件は、各製品の標準プロトコールに従った。

Flow cytometryによりZsGreen1陰性細胞をカウントし、ノックアウト効率を解析した。



(弊社取得データ)



**他社専用導入試薬より、TransIT-X2®を用いてRNPの導入を行った方が高いノックアウト効率を示しました。
トランスフェクション試薬によるRNPの導入を行う場合は、ぜひTransIT-X2®をお使いください！**

製品紹介

■ 高品質なCas9タンパク質

製品名	濃度	容量	製品コード	価格(税別)
Guide-it™ Recombinant Cas9 (Electroporation-Ready)	3 µg/µl	100 µg	632641	¥25,000
		100 µg × 3	632640	¥68,000

- <特長>
- ・ 使いやすい**高濃度(3 µg/µl)**タイプ
 - ・ 生体へダメージを与える溶媒中の**グリセロール濃度が他社Cas9より低い**
 - ・ **NLS(核移行シグナル)**付きで導入後速やかに核に移行
 - ・ 継続使用しやすい**リーズナブルな価格**

ワンポイント コメント

トランスフェクション試薬で導入が難しいサンプルの場合は、エレクトロポレーションによる導入がおすすめです。
特にiPS細胞や受精卵へは、エレクトロポレーション法が有効です。

■ 簡便、高収量のsgRNA調製用キット

製品名	容量	製品コード	価格(税別)
Guide-it™ sgRNA <i>In Vitro</i> Transcription Kit	50回	632635	¥150,000

- <特長>
- ・ PCRベースの操作ステップで**クローニング不要**な簡便sgRNA調製キット
 - ・ 必要な試薬がすべて入った**オールインワン**タイプ。
用意するのはターゲット配列を含む約60 ntのDNAだけ
 - ・ 1回の反応で得られるsgRNAの量は**約12 µg以上と高収量**
 - ・ 受託合成に比べて**コストパフォーマンスGOOD**

ワンポイント コメント

sgRNAの精製用にスピカラム式のClean-Up Kitが付いており、面倒なフェノール/クロロホルム抽出は不要です。

■ Cas9タンパク質の導入に最適なトランスフェクション試薬

製品名	容量	製品コード	価格(税別)
TransIT-X2® Dynamic Delivery System	0.3 ml	MIR6003	¥22,000
	0.75 ml	MIR6004	¥55,000
	1.5 ml	MIR6000	¥89,000

- <特長>
- ・ DNAやsiRNA/miRNAを様々な細胞種に高効率に導入可能な汎用性の高い導入試薬
 - ・ 低細胞毒性で培地交換が不要
 - ・ 動物由来成分フリー
 - ・ 正常初代細胞にも使用可能

ワンポイント コメント

Mirus社のトランスフェクション試薬「TransIT-X2® Dynamic Delivery System」は、プラスミドDNAとsiRNAのコトランスフェクションや、Cas9タンパク質 & sgRNA複合体(RNP)の導入にも使える優れものです。また、他社ゲノム編集専用トランスフェクション試薬より、高効率での変異導入が可能です。

CRISPR / Cas9の効率Upにつながる3つのポイント

ポイント② 変異導入前にsgRNAの配列有効性を確認する

■ ワークしないsgRNAを使ってしまいうリスクを減らし、CRISPR/Cas9の成功率Upにつながります！

製品名	容量	製品コード	価格(税別)
Guide-it™ Complete sgRNA Screening System ※	50回	632636	¥180,000

※本キットにはGuide-it sgRNA *In Vitro* Transcription Kit(製品コード 632635)が含まれます。

- <特長>
- ・ *in vitro*でCRISPR/Cas9を模擬的に再現し、**sgRNAの配列有効性をダイレクトに確認**
 - ・ 組換えCas9タンパク質とsgRNA調製用キットが入った**オールインワンタイプ**
 - ・ 調製したsgRNAはそのまま**本番実験に使用可能**

ワンポイント コメント

CRISPR/Cas9による変異導入は、目的ゲノムDNAの切断からすべてスタートします。つまり設計したsgRNA配列が正しくなく、Cas9タンパク質による切断が起こらなければ何も始まりません。本キットを使えば、*in vitro*の簡単な実験系でsgRNAの配列有効性が確認できますので、ワークしないsgRNAを排除できます。コストがかかる実験系や、生育に時間がかかる動物個体や植物のゲノム編集など、失敗するとダメージが大きいときに特に使っていただきたい製品です！

ポイント③ 変異導入後に導入効率を確認し、次に進むか当たりをつける

■ 変異導入が起こったかをざっくり簡単に確認でき、その後のシーケンス解析効率Upにつながります！

製品名	容量	製品コード	価格(税別)
Guide-it™ Mutation Detection Kit	25回	631448	¥28,000
	100回	631443	¥88,000

- <特長>
- ・ **PCRと電気泳動**という簡単な手法で変異導入効率を確認
 - ・ 他社同タイプキットより**高感度アッセイ**が可能
 - ・ 阻害物質に強いPCR酵素付きで、動植物組織からの**直接PCR**が可能
 - ・ 実験系が問題ないか確認できる**ポジティブコントロール**付き

ワンポイント コメント

目的の変異導入が起こったかどうかは、例えば細胞であればクローン化し、最終的にシーケンスで確認する必要があります。しかし、そもそも変異導入が全く起こっていない、もしくは効率が著しく低ければどうでしょうか？クローン化の手間やシーケンスの手間の多くが無駄になってしまいます。本キットを使えば、ざっくり簡単に変異導入効率を確認できますので、クローン化やシーケンス解析に進むかどうか、それとも最初からやり直すかの判断ができ、効率Upにつながります！

・本パンフレットで紹介した製品はすべて研究用として販売しております。ヒト、動物への医療、臨床診断用には使用しないようご注意ください。また、食品、化粧品、家庭用品等として使用しないでください。・タカラバイオの承認を得ずに製品の再販・譲渡、再販・譲渡のための改変、商用製品の製造に使用することは禁止されています。・本パンフレットに記載された社名および製品名は、特に記載がなくても各社の商標または登録商標です。・ライセンス情報については弊社ウェブサイトにてご確認ください。・本パンフレット記載の価格は2017年6月20日現在の希望小売価格です。価格に消費税は含まれておりません。

2017年6月作成G

タカラバイオ株式会社

東京支店 TEL 03-3271-8553 FAX 03-3271-7282
関西支店 TEL 077-565-6969 FAX 077-565-6995
テクニカルサポートライン
TEL 077-565-6999 FAX 077-565-6995
ウェブサイト <http://www.takara-bio.co.jp>
Facebook <http://www.facebook.com/takarabio.jp>

取扱店