

組換えアデノ随伴ウイルスを用いるゲノム編集システム **NEW** AAVpro[®] CRISPR/Cas9 System

組換えアデノ随伴ウイルスは、ウイルスベクターを用いるCRISPR/Cas9システムに最適です。
特にプラスミドベクターではゲノム編集効率の低い細胞にオススメです！

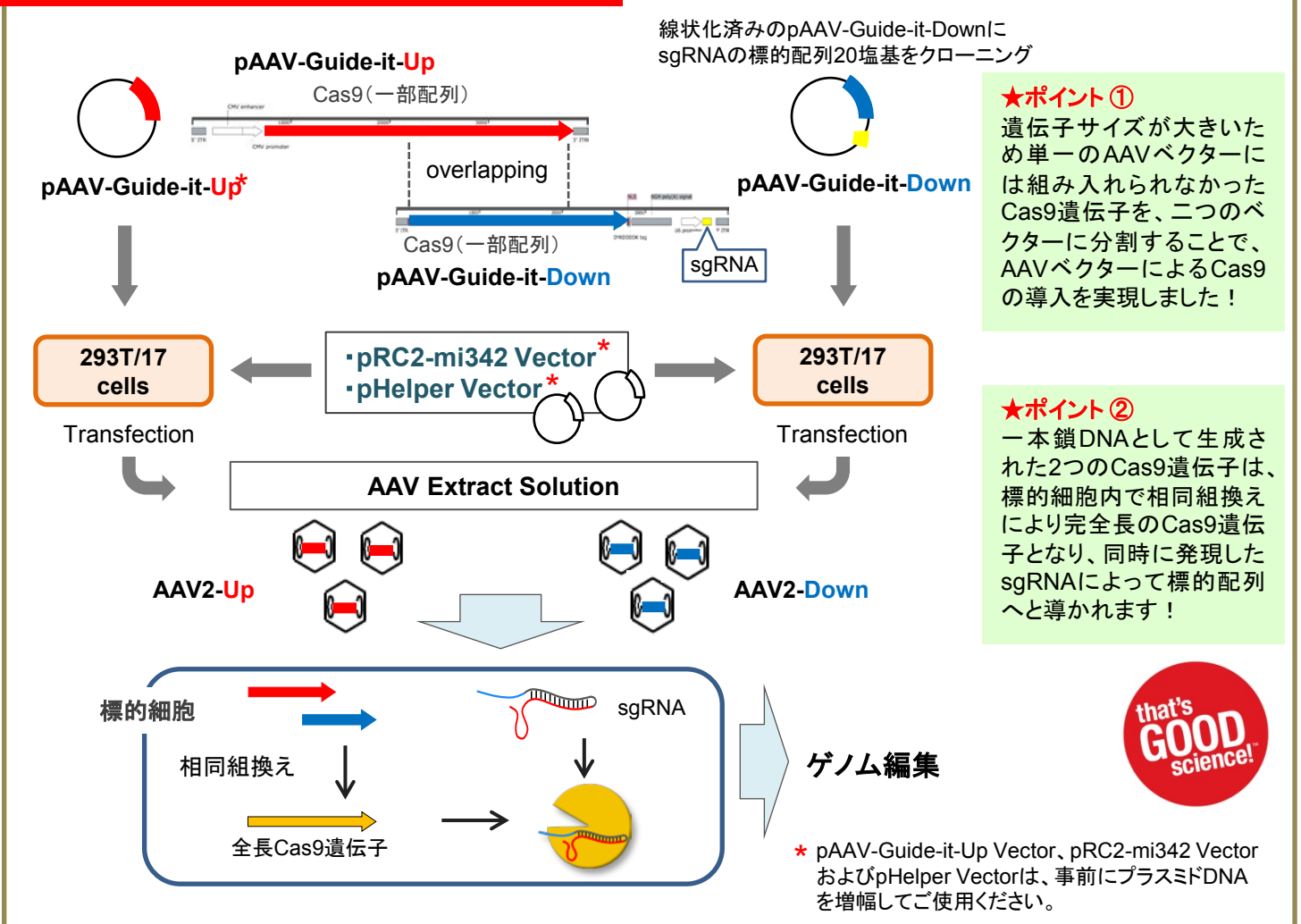
- ◆ アデノ随伴ウイルス(AAV)ベクターを使用してCas9、sgRNAを導入
- ◆ Cas9のゲノムへの組み込みによる持続的なCas9の発現を排除し、細胞毒性やオフターゲットの影響を軽減
- ◆ AAV CRISPR/Cas9の生成に必要な全てのコンポーネントを含んだ**All-in-One**システムです。

組換えアデノ随伴ウイルスは・・・

- P1レベルの施設で取扱いが可能(★)
- 長期間の発現が可能(非分裂細胞の場合)
- 宿主域の広いAAV2ベクターは広範囲の細胞・動物組織に導入可能
- 増殖／非増殖のいずれの細胞にも遺伝子導入が可能
- 免疫原性が低く、動物個体への遺伝子導入にも最適

★文部科学省の定める省令(「研究開発等に係る遺伝子組換え生物等の第二種使用等に当たって執るべき拡散防止措置等を定める省令」平成16年文部科学省・環境省令第1号)にあるP1レベルの施設で取扱いが可能

AAVpro[®] CRISPR/Cas9 Systemの操作フロー

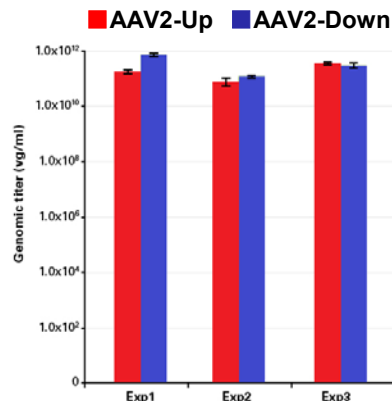


製品名	容量	製品コード	価格(税別)
AAVpro [®] CRISPR/Cas9 Helper Free System (AAV2)	1 Kit	632608	¥150,000
AAVpro [®] CRISPR/Cas9 Vector System	1 Kit	632609	¥90,000

■ 実施例 1: HEK293T細胞において生成した2つのAAV2ベクターの力価測定

【方法】

AAV2-UpウイルスベクターとAAV2-Downウイルスベクターは、AAVpro® Extraction Solutionを用いてHEK293T細胞からそれぞれ回収した。各ウイルスベクターの力価はAAVpro® Titration Kit (for Real Time PCR) (製品コード 6233)を用いて測定した(ベクターゲノム定量法、n=3)。



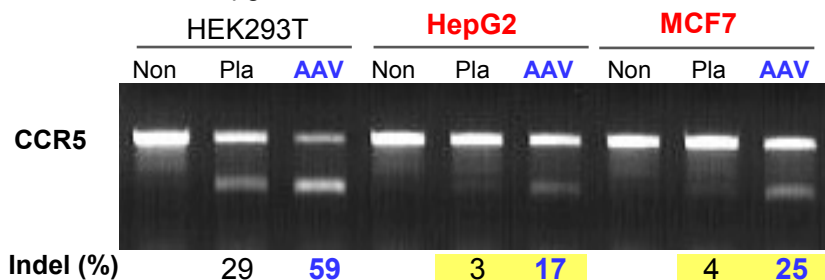
AAV2-Up ウイルスベクター、AAV2-Down ウイルスベクターとも、等しく高タイターで得られました。

■ 実施例 2: AAVpro® CRISPR/Cas9 Systemを用いた異なる細胞種でのゲノム編集効率

【方法】

12ウェルプレートに1×10⁵個の細胞を播種し、一晚培養後、CCR5遺伝子をターゲットとしてゲノム編集を行うため、AAV2-UpウイルスベクターとAAV2-Downウイルスベクターをそれぞれ1×10⁵タイター分(ベクターゲノム定量法)感染させた。72時間後に細胞を回収し、ゲノムDNAへの変異導入効率をGuide-it™ Mutation Detection Kit (製品コード 631448)を用いて比較した(アガロースゲル電気泳動後、デンストメーターで変異導入の割合を測定)。比較実験として、pGuide-it™-ZsGreen1プラスミドベクターをXfect™トランスフェクション試薬を用いて導入した(Pla; 2.5 μg)。

プラスミドベクターではゲノム編集効率が低い細胞株(HepG2、MCF7)でも、AAVベクターを用いたシステムでは高いIndel率が得られました。



AAVpro® CRISPR/Cas9 Helper Free System (AAV2) (製品コード 632608)

<製品内容>

① AAVpro CRISPR/Cas9 Vector Set

- pAAV-Guide-it-Up Vector (500 ng/μl, 20 μl)*
- pAAV-Guide-it-Down Vector (Linear) 10回分 (7.5 ng/μl, 20 μl)

② Guide-it Ligation Components 各10回分

- DNA Ligation Mighty Mix (50 μl)
- Guide-it Oligo Annealing Buffer (1.5 ml)
- Guide-it Control Annealed Oligos (100 fmol/μl, 10 μl)
- Guide-it Sequencing Primer 1 (100 pmol/μl, 10 μl)
- PCR-Grade Water (1 ml)

③ Stellar Competent Cells (製品コード 636763) 各10回分

- Stellar Competent Cells (100 μl/tube, 10 tubes)
- SOC Medium (1 ml × 10)
- pUC19 Vector (0.1 ng/μl, 10 μl)

④ pRC2-mi342 Vector (1 μg/μl, 20 μl)*

⑤ pHelper Vector (1 μg/μl, 20 μl)*

⑥ AAVpro Extraction Solution (製品コード 6235)

- AAV Extraction Solution A (1.5 ml × 3)
- AAV Extraction Solution B (150 μl × 3)

※ AAVpro CRISPR/Cas9 Vector System (製品コード 632609) は上記の①～③で構成されています。

注: *を付けたpAAV-Guide-it-UP Vector、pRC2-mi342 Vector、およびpHelper Vectorは、事前にプラスミドDNAを増幅してご使用ください。

- ・本チラシ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。
- ・本チラシ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。
- ・本チラシ記載の価格は2015年6月1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。

2015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

Website <http://www.takara-bio.co.jp>

Facebook <http://www.facebook.com/takarabio.jp>

取扱店