

# ゲノム編集受託サービス

2017年6月改訂

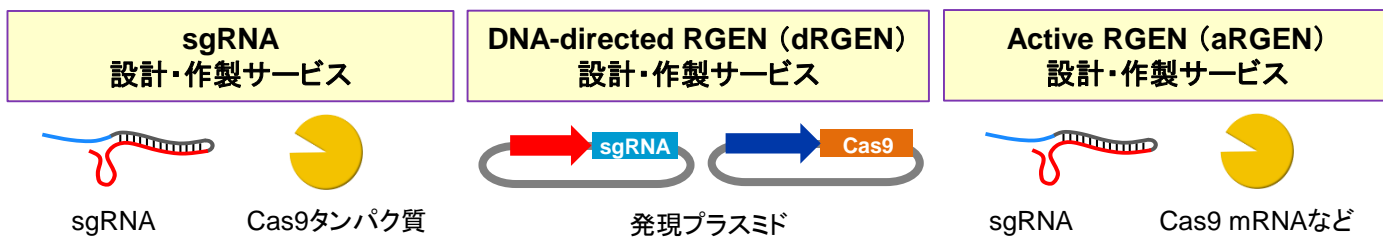
CRISPR/Cas9システムを利用したゲノム編集技術は、先行して普及している従来技術と比較して操作が簡便で効率が良いことから、新たなゲノム改変法として注目されています。

タカラバイオ(株)では、RGEN(RNA-guided endonuclease)を利用したCRISPR/Cas9システムを用いて、ゲノム編集ツール(Cas9、sgRNA発現プラスミドDNA、合成RNA等)をご提供するだけでなく、ゲノム編集細胞株やゲノム編集動物の作製も承っています。これまでに培ってきた細胞加工技術や、ゲノム編集試薬開発の経験を活かし、gRNA設計・作製からゲノム編集細胞株、ゲノム編集動物の作製まで幅広いサービスでお客様の研究を強力にサポートいたします。



## ゲノム編集受託サービス

### CRISPR/Cas9システム作製

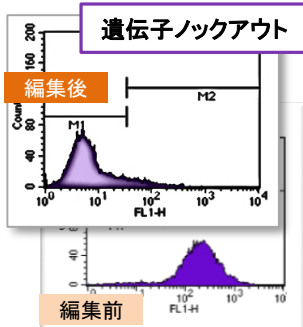


### オフターゲット領域予測 (*in silico*)

### ゲノム編集による細胞株作製

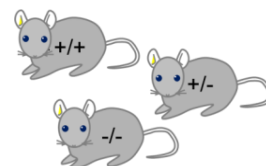
### ゲノム編集による動物作製

ノックアウト細胞株作製  
ノックイン細胞株作製  
塩基置換細胞株作製 等



ご提供いただく細胞:  
iPS細胞、細胞株、初代培養細胞

ノックアウトマウス  
ノックアウトラット  
ノックインマウス  
ノックインラット 等



ターゲット領域確認  
オフターゲット解析  
各種アッセイ試験  
動物系統作製

- ▶▶▶ ダイレクトシーケンス解析、TAクローニングによるシーケンス解析
- ▶▶▶ 全ゲノム解析、エクソーム解析
- ▶▶▶ フローサイトメトリー、ウェスタンブロットティング、定量PCR 等
- ▶▶▶ F1、F2個体の作製、動物飼育代行

# ゲノム編集による細胞株作製サービス

## CRISPR/Cas9システムを利用してノックアウト／ノックインした細胞を作製、納品します

- ◆ sgRNA、ノックイン用オリゴなどの設計・構築から承ります！
- ◆ iPS細胞や各種細胞株で実績あり
- ◆ 米国Broad研究所よりCRISPR/Cas9システムの研究分野における通常実施権を取得済み

### ご提供いただくサンプル／情報

- 遺伝子情報／ターゲットサイト情報
- 目的細胞（マイコプラズマ感染が否定されているもの）
- 培養条件の情報、培地等

### 作業期間

- ノックアウト
  - ノックインオリゴ (ssODN)
- 4.5か月～

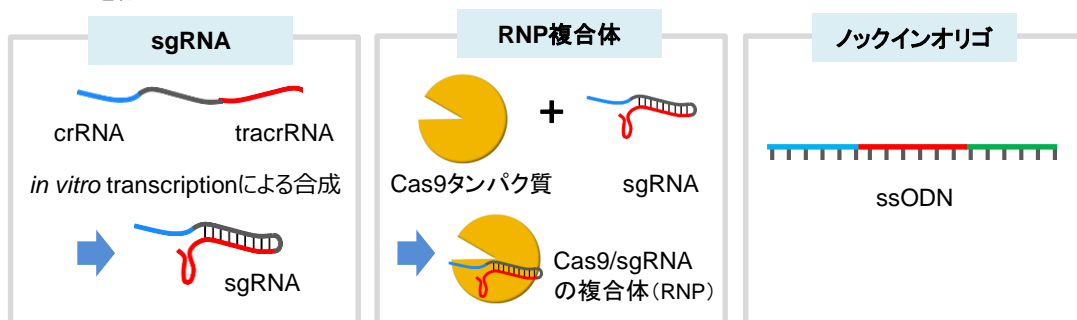
※ 委託費用については作業内容に応じてお見積させていただきます。お気軽にお問い合わせください。

## ノックアウト／ノックイン細胞株の作製フロー

### 設計

- ・sgRNA配列
- ・ノックインオリゴ (ssODN)

- ◆ ご提供いただくターゲット情報から、編集効率が高くオフターゲットをできるだけ除ける最適な配列を設計



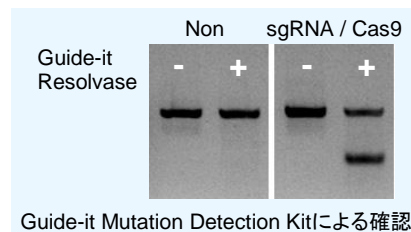
### 細胞のセットアップ 予備検討

- ◆ ご提供細胞のマイコプラズマ否定確認を行い、ご提供情報を用いて細胞を融解・馴化
- ◆ DNA導入条件およびシングルセルクロニングの検討
- ◆ ゲノム編集領域のPCR増幅およびシーケンス確認

### プール細胞での ゲノム編集確認

- ◆ ご指定の細胞に、Cas9タンパク質／sgRNA複合体 (RNP)を導入し、ゲノム編集を確認

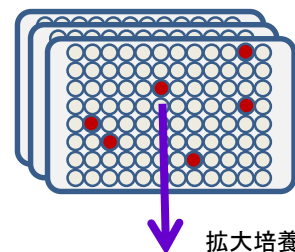
※細胞種やターゲットによって編集が確認できない場合、別途ご相談いたします。



### 細胞株作製

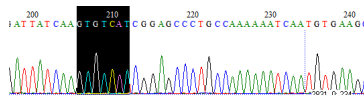
- ◆ 決定した至適条件でRNPを導入し、限界希釈によるクロニングにより細胞株を取得

※クロニング数は事前のご相談により決定します。  
ノックアウト株作製の場合、～40クローンが目安です。



### ゲノム編集確認

- ◆ ダイレクトシーケンス解析による目的領域の解析



※編集株取得に至らなかった場合は、別途ご相談いたします。

### クローン調製

- ◆ 変異株クローンの拡大培養、ストック作製、ダイレクトシーケンス解析

### 充実のオプション サービス！

- オフターゲット領域予測
- TAクローニングによる塩基配列解析
- 各種アッセイ試験
- オフターゲット解析(エクソーム解析等)
- ウェスタンブロット解析

# ゲノム編集による動物作製サービス

## CRISPR/Cas9システム (aRGEN)を利用してノックアウト/ノックインしたマウス・ラットを作製、納品します

- ◆ 組換え動物作製で実績のある日本エスエルシー社との提携業務
- ◆ 活性確認済みのaRGEN (sgRNA + Cas9 mRNA)を利用(基本仕様)
- ◆ 疾患モデルへのゲノム編集についてもご相談ください。

### ご提供いただくサンプル/情報

- 遺伝子情報/ターゲットサイト情報
- 対象動物等の情報

### 作業期間

- ノックアウト
  - ノックイン(ssODN)
- 4.5か月～

※ 委託費用については作業内容に応じてお見積させていただきます。お気軽にお問い合わせください。

## ノックアウト/ノックインマウス・ラットの作製フロー

sgRNA  
配列設計

- ◆ ご提供いただくターゲット情報から、編集効率が高くオフターゲットをできるだけ除ける最適な配列を設計

**ToolGen**  
Genome Engineering

※ゲノム編集技術に特化したToolGen社にて設計を行います。

sgRNA、Cas9  
mRNAの調製

- ◆ 複数種作製したsgRNAの中から、*in vitro*試験による切断確認を行って活性の高いものを選択



※Cas9はタンパク質も作製可能です。  
※標的配列を含むPCR産物に対するCas9タンパク質とsgRNAによる切断効率を確認します。  
※ノックイン動物作製の場合、ノックインベクターやノックインオリゴの設計合成を行います。

受精卵への  
インジェクション

- ◆ 受精卵(160個程度)にCas9 mRNA、sgRNAをマイクロインジェクションし、仮親の卵管へ移植

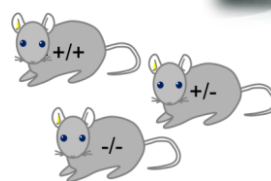
※作製前に組換え動物作製の情報をご提供いただきます。  
※【基本仕様の系統】 マウス C57BL/6NCrSlc ラット Slc:SD 病態モデルなどの系統については別途ご相談ください。  
※動物作製で多数の実績を有する日本エスエルシー社にて行います。



産子(F0)の取得

- ◆ 20匹程度の産子を取得

※編集された遺伝子により産子が少ない場合があります。  
※仮親の微生物検査を行います(検査項目は別途ご相談)。

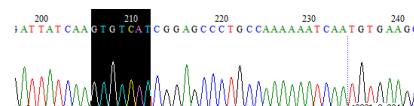


日本エスエルシー株式会社

ゲノム編集確認

- ◆ 尾検体を用いて目的領域の塩基配列を解析

※尾検体からの簡易DNA抽出後、ダイレクトシーケンスによる目的領域の配列確認を行います。PCR条件検討やDNA精製を行う場合、追加費用をお願いしています。



※編集動物取得に至らなかった場合は、ご相談のうえ、本作業工程を減額して費用を申し受けるか、追加作業を行います。  
※編集個体は、日本エスエルシー社より納品いたします。

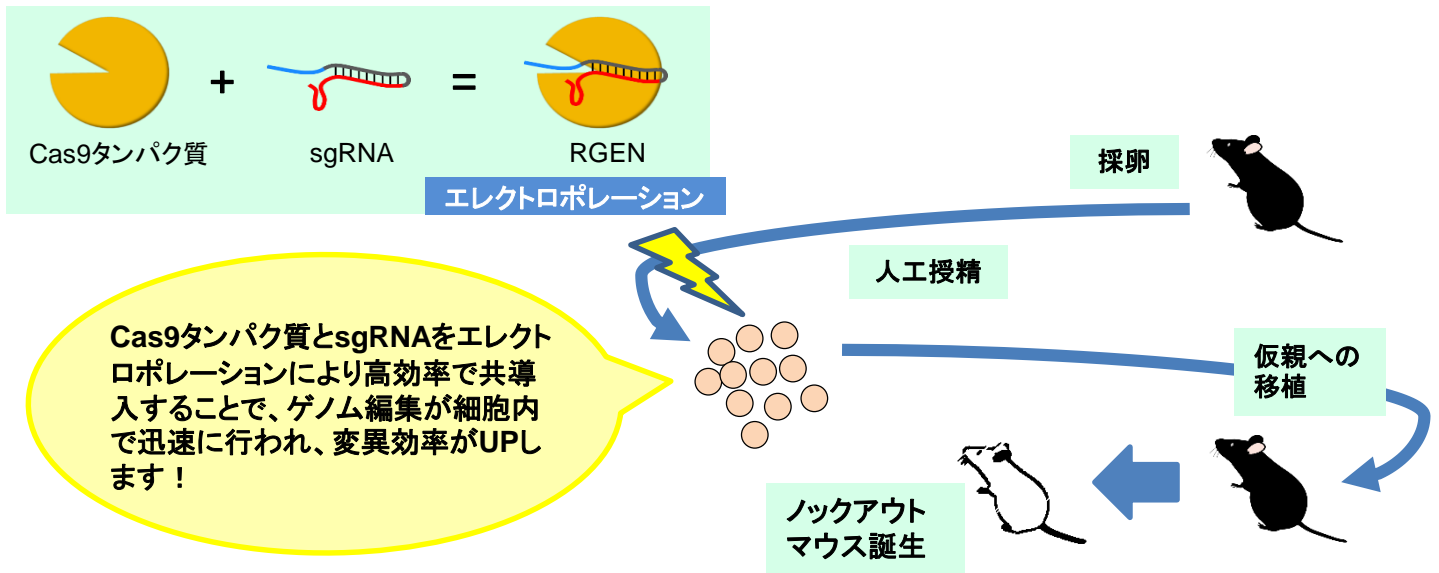
### 充実のオプションサービス!

- オフターゲット領域予測
- TAクローニングによる塩基配列解析
- 各種アッセイ試験
- オフターゲット解析(エクソーム解析等)
- F1やF2個体の作製
- 変異個体の飼育

エレクトロポレーション法で行う高効率ゲノム編集による動物作製サービスは、裏表紙でご紹介

# 高効率ゲノム編集による動物作製サービス

NEW



## 実施例：メラニン色素をつくり出す酸化酵素 Tyrosinase のノックアウトマウス作製

### 【方法】

C57BL/6NCrSlcマウスの受精卵に、クロンテックのCas9タンパク質とTyrosinaseノックアウト用sgRNAをエレクトロポレーションで共導入した。導入後、2細胞期胚を仮親マウスの卵管に移植して、産子を獲得した。

両アレルにTyrosinase遺伝子座の部分欠損が生じ、Tyrosinaseノックアウトマウス(▽毛が白色、ホモ/ヘテロの両アレル欠損型が混在)の作製効率は、ほぼ100%でした。



## CRISPR / Cas9システム作製サービス

GenBank Accession番号、生物種などのターゲット遺伝子情報からsgRNA(single-guide RNA)配列を設計し、プラスミドベクターやRNAの形態でgRNAを作製します。Cas9についてもタンパク質発現プラスミドベクターやmRNA、タンパク質の各形態をご用意しています。活性確認やgRNAセット(ヒトのみ)のサービスと併せて、目的に応じてご利用ください。

※ゲノム編集技術に特化したToolGen社にて設計を行います。

**ToolGen**  
Genome Engineering

	DNA-directed RGEN (dRGEN) 設計・作製	Active RGEN (aRGEN) 設計・作製
用途	DNAトランスフェクション(主にゲノム編集細胞株作製)	胚インジェクション(主にゲノム編集動物作製)
形態	gRNA : プラスミドDNA(U6プロモーター) Cas9 : プラスミドDNA(CMV/EF1αプロモーター) ※動物細胞発現用	gRNA : RNA Cas9 : プラスミドDNA(CMV/EF1αプロモーター) ※動物細胞発現用
参考価格(税別)	活性確認 有: ¥700,000 ~ /件 活性確認 無: ¥98,000 ~ /件	活性確認 有: ¥400,000 ~ /件 活性確認 無: ¥85,000 ~ /件 ※sgRNAのみ
参考納期	3週間~	3週間~
オプション	・トランスフェクショングレードプラスミドの大量調製 ・dRGENヒト遺伝子セット(活性未確認) ・ベクター構築(プロモーターの置換等)	・Cas9 mRNA、Cas9タンパク質の調製

※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。 2017年6月作成G

## タカラバイオ株式会社

### ■ 受託サービスに関するお問い合わせ

滋賀県草津市野路東七丁目4番38号 〒525-0058  
TEL 077-565-6999

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

取扱店