

5月の「タカラバイオマンスリーフォーカス」は、リアルタイムPCR実験の各ステップにおけるおススメ製品を巻頭でご紹介しています。このほか、ゲノム編集関連製品のユーザー様実施例やNGS関連アプリケーションを掲載しています。裏表紙でご紹介している、新たに実験を開始するこの時期にピッタリの無料の技術セミナーも是非チェックしてください。

★ リアルタイムPCR実験のススメ ★

タカラバイオは、リアルタイムPCR(qPCR)の専門家として培った豊富な経験・ノウハウをベースに、リアルタイムPCRに関するあらゆるソリューションを研究者の皆様にお届けします。



プライマー
設計・合成

TB Green®による発現解析に最適なプライマーをご提供

Perfect Real Time サポートシステム

1回あたり注文数	価格(税別)
1、2セット	¥15,000/1セット
3~7セット	¥13,000/1セット
8セット以上	¥10,000/1セット



RNA抽出
キット

動物組織、細胞、バクテリア、酵母などからのtotal RNA調製

NucleoSpin® RNA

製品コード	容量	価格(税別)
740955.10	10回	¥8,000
740955.50	50回	¥34,000



逆転写試薬
(qPCR)

操作簡便！逆転写プライマー添加済みのプレミックスタイプ

PrimeScript™ RT Master Mix (Perfect Real Time)

製品コード	容量 ※1	価格(税別)
RR036A	200回	¥42,000
RR036B	800回	¥144,000

※1：10 µl 反応系



qPCR試薬

インターカラー法リアルタイムPCR試薬の決定版

TB Green® Premix Ex Taq™ II (Tli RNaseH Plus)

製品コード	容量 ※2	価格(税別)
RR820S	40回	¥9,000
RR820A	200回	¥44,000

※2：50 µl 反応系



qPCR装置

96 wellのqPCR装置、タッチパネルを搭載しスタンドアロン制御が可能

Thermal Cycler Dice® Real Time System III

製品コード	容量	価格(税別)
TP950	一式	¥3,300,000
TP970 (PC付き)	一式	¥3,500,000

2019年4月25日(木)新発売！検査目的のリアルタイムPCRに最適

PrimeDirect™ Probe RT-qPCR Mix

製品コード	容量 ※3	価格(税別)
RR650A	200回	¥48,000
RR651A	200回	¥50,000

※3：25 µl 反応系

- ★ RNA精製不要！検体を直接、反応液に添加してターゲットを検出
- ★ ワンステップリアルタイムPCR用試薬、使いやすいプレミックスタイプ
- ★ 弊社従来品と比較して、様々な反応阻害物質に対する耐性が向上
- ★ UNG処理でキャリーオーバーコンタミネーションを防止 * 製品コード RR651Aのみ

★ リアルタイムPCR関連製品の詳細は...

リアルタイムPCR実験のススメ

検索

【ユーザー様実施例】 CRISPR/Cas9によるノックイン実験

『Guide-it™ Long ssDNA Production Systemを用いたノックインマウスの作製』
(マイクロインジェクション法によるマウス受精卵のゲノム編集)

国立精神・神経医療研究センター 疾病研究第6部 井上(上野) 由紀子 様 森本 由起 様



＜研究内容＞

社会性行動や発達障害に関わる遺伝子座に着目して自身の研究を進めるとともに、研究所内外の共同研究者に対して、ゲノム編集マウス作製支援を行っている。特に、神経発生・精神神経疾患・筋疾患において重要な役割を果たす遺伝子の発現を可視化／操作できるノックインマウスを多数作製している。

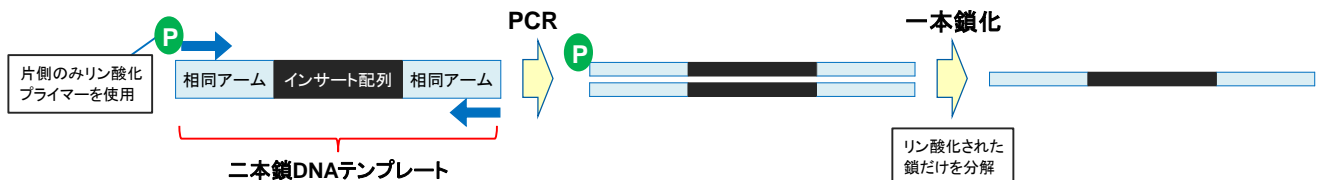
＜実施例＞

■ 本製品を使用するに至った経緯

タカラバイオの「Guide-it™ Long ssDNA Production System」を使う以前は、他の方法でノックイン用の長鎖一本鎖DNA (long ssDNA)を調製していた。2017年に参加した日本ゲノム編集学会第2回大会で本製品を知り、RNAへの転写やゲル抽出などの煩雑な操作が不要な点や、ssDNA調製に必要な試薬がキット化されている点などから、当時行っていた調製法よりも簡便そうだと思い購入するに至った。

■ 実験内容

本キットでlong ssDNAを調製するには、PCR増幅用のテンプレートDNA(インサート配列と左右の相同アームからなる二本鎖DNA断片)が必要である。ターゲット毎に人工合成遺伝子をオーダーし、それらを鋳型として、long ssDNAを調製した(下図)。調製したlong ssDNAをノックイン用のドナーDNAとして、Cas9タンパク質およびガイドRNAと共にB6C3F1マウス由来の受精卵にマイクロインジェクション法で導入し、産仔数をカウントした。産まれたマウスにインサート配列が正しく挿入されていることをシーケンス解析により確認し、その数をカウントした。



■ 実験結果

ターゲット遺伝子(Gene A～D)に対して正確にノックインされたマウスの数を下表にまとめた。

遺伝子	ノックインカセット(bp)	相同アーム(bp)	テンプレートDNA準備方法	卵管移植した受精卵数	産仔数	正確なノックイン	効率
Gene B	1,116 bp	293 bp, 304 bp	人工合成遺伝子	155	7	3	42%
Gene C	1,362 bp	307 bp, 238 bp	人工合成遺伝子	136	28	2	7%
Gene D	1,277 bp	257 bp, 273 bp	人工合成遺伝子	49	5	1	20%

また、上述の人工合成遺伝子や手持ちのプラスミドDNAを元にして、左右の相同アームをIn-Fusion® HD Cloning Kit(製品コード 639648)を用いてクローニングし、long ssDNAのテンプレートを作製した。下表のように、これらをテンプレートとしてssDNAを調製した場合も、効率良くノックインマウスを得ることができた。

遺伝子	ノックインカセット(bp)	相同アーム(bp)	テンプレートDNA準備方法	卵管移植した受精卵数	産仔数	正確なノックイン	効率
Gene A	1,125 bp	297 bp, 313 bp	In-Fusion Cloning	60	13	3	23%
Gene B	1,362 bp	293 bp, 304 bp	In-Fusion Cloning	62	10	2	20%
Gene C	1,116 bp	307 bp, 238 bp	In-Fusion Cloning	68	5	2	40%

■ 本製品の感想など

インサート配列と左右の相同アームからなる二本鎖DNAテンプレートを人工合成遺伝子として準備すれば、Guide-it™ Long ssDNA Production Systemを用いることにより、面倒なクローニング操作を全く行わずにin vivoでノックインマウスを作製することができる。目的のマウスが得られるまでの作業時間も短縮され、1回の受精卵インジェクションにより必要な数のマウスを確実に取得できるようになった。ノックインする遺伝子カセットの配列によってはPCR条件の至適化が必要であるが、1.5 kb程度のlong ssDNAをシンプルな操作で調製することができ、受託サービスでssDNAの人工合成物を注文するよりもコストを大幅に抑えることができるので、今後も引き続き使用予定である。

＜本実施例の使用製品＞ 面倒なクローニング操作不要！ ノックインドナー用長鎖一本鎖DNA調製キット

製品名	容量	製品コード	価格
Guide-it™ Long ssDNA Production System	25回	632644	¥75,000



【NGS関連アプリケーション】 シングルセルからの全ゲノム増幅&エクソーム解析

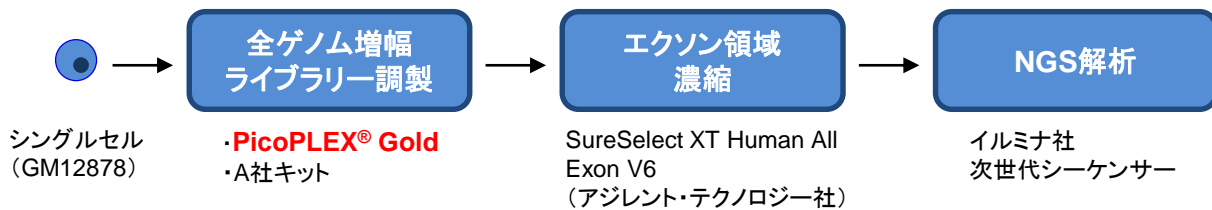
シングルセルからのエクソーム解析における
SMARTer® PicoPLEX® Gold Single Cell DNA-Seq KitとA社同タイプキットの比較

SMARTer® PicoPLEX® Gold Single Cell DNA-Seq KitおよびA社同タイプのMDA (Multiple Displacement Amplification) 法ベースのキットを用いて、シングルセルから全ゲノム増幅してライブラリーを作製した。エクソン領域を濃縮してNGS解析を行い、PicoPLEX® GoldとA社キットのSNV (Single Nucleotide Variants) 検出数とアレルドロップアウト率の比較を行った。
(クロンテック比較データ)



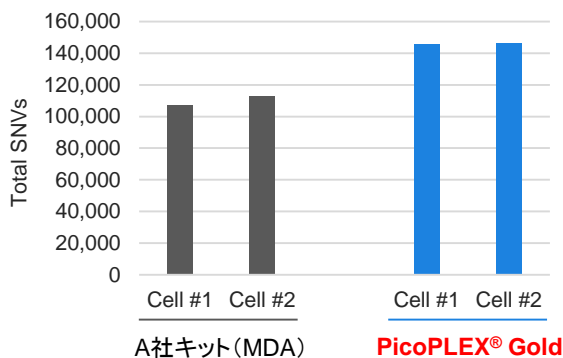
<実施内容>

■ 実験ワークフロー



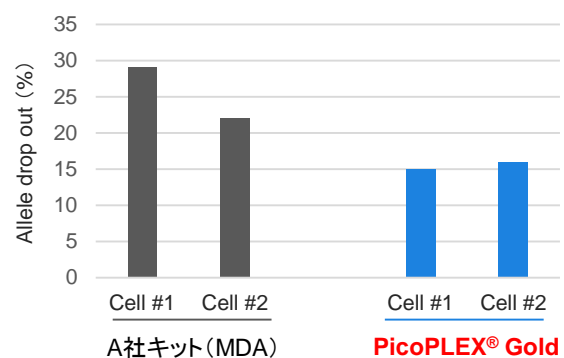
■ PicoPLEX® GoldとA社キットのSNV検出数、アレルドロップアウト率の比較結果

A SNV検出数



PicoPLEX® Goldの方がSNV検出数が高かった。

B アレルドロップアウト率



PicoPLEX® Goldの方がアレルドロップアウト率が低かった

PicoPLEX® Gold はゲノムカバー率が高いため、シングルセルからのエクソーム解析でA社キット (MDA) よりSNV検出数が高く、アレルドロップアウト率が低い結果となり、高精度な解析ができることが示されました。

<使用製品>

製品名	容量	製品コード	価格
SMARTer® PicoPLEX® Gold Single Cell DNA-Seq Kit	24回	R300669	¥134,000
	96回	R300670	¥482,000
	384回	R300698	¥1,580,000

※本キットにIndex Kitは含まれていませんので、別途ご購入ください。Index Kitの詳細は、弊社ウェブサイトをご覧ください。

予告

★ 2019年度お客様アンケートを実施します ★

期間：2019年6月10日(月)～6月14日(金)

don't miss it...

TGCAセミナー情報

★ お申込み・詳細は...

タカラバイオ TGCA

検索

セミナー名	日程	会場	セミナー内容
リアルタイムPCRの基礎 ～発現解析のコツ～	5月22日(水)	東京	PCRおよびリアルタイムPCRの基本的な実験操作やデータの解析方法を、実験の流れに沿って詳しく解説します。また、実験の目的やシーンに適した試薬や手法を選択していただけるよう、各ステップで用いる酵素・試薬についてそれぞれの特長や使い分け方法を具体的にをご紹介します。
ポイントがわかる！遺伝子導入実験 【基礎編】	5月23日(木) 5月30日(木)	大阪 東京	初めて遺伝子導入実験を開始する方やクローニングの基礎を学びたい方に向けた内容になっています。ベクター構築から始まるトランスフェクション法を用いた遺伝子導入実験の流れをわかりやすくご紹介します。
iPS細胞を用いた疾患モデリング研究の 課題と解決策 ～タカラバイオからのご提案！～	5月28日(火)	東京	本セミナーでは、ヒトiPS細胞を用いた疾患モデリング研究を進めるうえで の3つの課題を取上げ、その解決策と関連ツールについて3つのテーマに分けてご説明します。 課題(1) ヒトiPS細胞の安定維持 ヒトiPS細胞の従来培養法の課題と、それを解決する簡便性と再現性に優れたフィーダーフリー培養システムのご紹介 課題(2) 分化誘導実験の再現性の向上 分化誘導実験の再現性向上を実現するためのポイントと分化誘導法最適化の具体例(肝細胞、血管内皮細胞への分化誘導法)のご紹介 課題(3) ゲノム編集の高効率化 CRISPR/Cas9によるゲノム編集を高効率化するヒトiPS細胞のシングルセルクローニング法とリボヌクレオタンパク質によるゲノム編集のご紹介
遺伝子検査を始めよう！ 食品環境検査のリアルタイムPCR	5月29日(水)	大阪	検便検査、食中毒検査、品種判別、水質検査でリアルタイムPCRの導入を検討されている方や、既に実施している中で不安のある方を対象として、遺伝子検査の基本的な原理・概要を始め、豊富なラインナップを誇るタカラバイオの「遺伝子検査システム」の使用例を、結果解析の実演を交えてご紹介いたします。
細胞培養技術の基礎	5月31日(金) 6月6日(木)	東京 大阪	無菌操作や継代、凍結細胞の融解、細胞の凍結保存など細胞培養の基本技術について実験操作動画を交えながらご紹介します。細胞培養における最も重要なプロセスについて解説しますので、初心者の方だけでなく上級者の方にも実験作業や細胞性能を最適化するための基本的な知識を再確認していただける内容です。
レジオネラ属菌遺伝子検査の最新情報 ～「第4版レジオネラ症防止指針」掲載の 生菌遺伝子検査法を解説します～	6月4日(火) 6月13日(木)	大阪 東京	「第4版レジオネラ症防止指針」に迅速検査法として掲載されている3つの検査法について、概要から技術原理、操作フロー、実例までを含めた最新情報をご紹介します。
そろそろNGSが気になりだした方へ —DNA解析、RNA解析、受託、試薬—	6月11日(火) 6月17日(月)	東京 京都	最初にNGSの原理、流れについてざっくり簡単にご説明します。次に、DNA解析、RNA解析それぞれに関連する受託サービス、試薬についてご紹介します。NGSがどんなものか知りたい方や、これから始めるにあたって色々情報を仕入れておきたいという方はぜひご参加ください！
はじめてのゲノム編集 基礎と実施例、そしておススメ製品のご紹介	6月12日(水) 6月18日(火)	東京 京都	CRISPR/Casシステムの原理や特徴、従来のゲノム編集技術との違い、ならびに本システムを利用した実施例についてご説明します。また、効率の高いCRISPR/Casが簡単にスタートできるCas9とsgRNAの導入システムや、CRISPR/Casの成功率と効率Upに繋がるサポート製品をご紹介します。特に効率の良い長鎖ノックインを行いたい方に必見の製品もご用意しています。

・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。
・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。
・本パンフレット記載の価格は2019年5月7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。

2019年4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