

皆様にお伝えしたい  
注目製品

GMPに準拠した、ゲノム編集用 DNAエンドヌクレアーゼ

# Recombinant Cas9 Protein GMP grade

that's  
GOOD  
science!

研究用途より更に高い品質を必要とするお客様向けに、  
ゲノム編集に最適なGMPグレードの組換え型Cas9タンパク質を新発売！

## Recombinant Cas9 Protein GMP grade **NEW**

- ✓ 現在最も広くゲノム編集に用いられている化膿性レンサ球菌 (*Streptococcus pyogenes*) 由来のCas9タンパク質より開発された組換えタンパク質
- ✓ 哺乳動物細胞への導入時に生じる細胞へのダメージを低減するように溶液組成を最適化
- ✓ 本Cas9タンパク質とガイドRNAを細胞内に導入することで、高効率なゲノム編集が可能
- ✓ 医薬品の製造・品質管理基準であるGMPに準拠しており、高い品質を担保

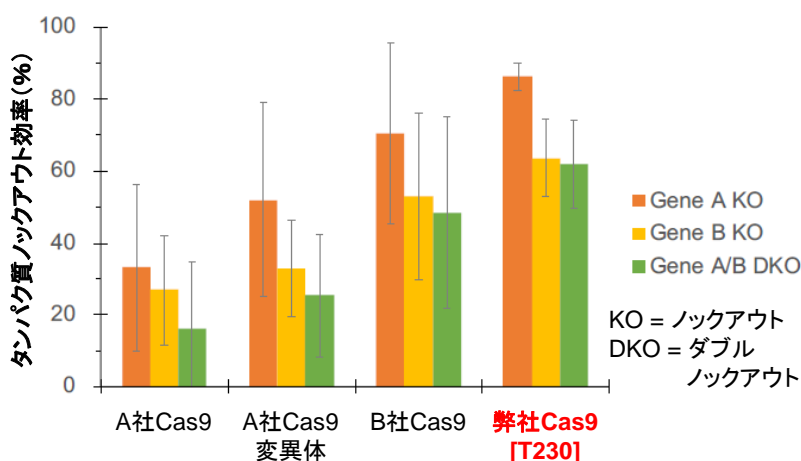


製品名	容量	製品コード	価格
Recombinant Cas9 Protein GMP grade	0.6 mg	T230	¥350,000

## Application Data

### 1. 他社Cas9タンパク質製品との性能比較

(下記のデータは、京都大学 iPS細胞研究所 (CiRA) 臨床応用研究部門 主任研究員/特定拠点講師 堀田秋津 先生、及び堀田研究室 博士研究員 徐准耕 先生よりご提供いただきました。)



#### 【実験条件】

各5 µgのA社Cas9、A社Cas9変異体、B社Cas9およびRecombinant Cas9 Protein GMP gradeと、sgRNA(0.625 µg×2種類)をエレクトロポレーション法によりヒトiPS細胞へ導入することで、2種類の細胞表面タンパク質A(Gene A)、B(Gene B)をそれぞれ別々に、あるいは同時にノックアウトした。

その結果得られた細胞の表面タンパク質A、Bの発現をフローサイトメーターで測定し、タンパク質レベルでのノックアウト効率(%)をプロットした(左グラフ)。

図1. Recombinant Cas9 Protein GMP gradeと他社Cas9製品とのタンパク質ノックアウト効率の比較  
実験は3回実施し、エラーバーはS.D.(標準偏差)を表す。

弊社のGMPグレードCas9タンパク質は、高いノックアウト効率を安定して示しました！

## 2. 哺乳類細胞のゲノム編集

### 【実験条件】

- 標的細胞／遺伝子：293T細胞／CD81
- RNP導入法：エレクトロポレーション  
(使用装置:Neon Transfer System [Thermo Fisher Scientific社])
- RNP作製条件：  
single guide RNA (sgRNA) 0.45 µg、本製品0.75 µg/0.25 µlを  
Resuspension Buffer R(またはT)を用いて計7.5 µlの溶液を調製し、  
37°Cで5分加温後、4°Cにて静置した。
- RNP導入条件：  
細胞を回収後にPBSで洗浄し、Buffer Rを用いて2×10<sup>7</sup> cells/mlと  
なるように懸濁した標的細胞7.5 µlをRNPの溶液7.5 µlと混合させた  
後、装置の使用方法に従いエレクトロポレーションを行った。  
ただし、エレクトロポレーションの条件は、右上の表記載の3種の条件  
を使用(各N=3で実施)した。
- ゲノム編集効率の評価方法：  
上記導入条件にてRNPを導入した細胞を7日間培養後、PE標識抗  
CD81抗体と反応させ、FCM解析にてCD81陰性細胞率(%)を測定  
した。

条件	A	B	C
パルス電圧 (V)	1,300	1,300	1,300
パルス幅 (ms)	20.0	20.0	20.0
パルス回数	2	2	2

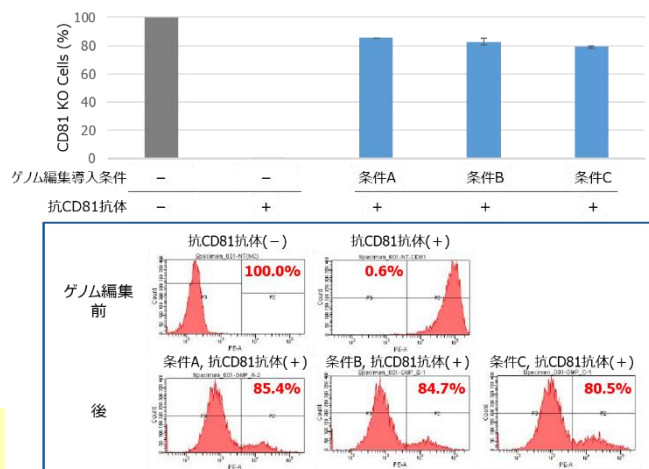


図2. ゲノム編集による機能評価

条件A-Cで比較検討したところ、パルス電圧を1,300 Vに設定した条件Aで、最も高い標的遺伝子CD81ノックアウト(85.4%)効率が得られました。

## 3. 本製品とGuide-it Recombinant Cas9 (Electroporation-Ready)の性能比較

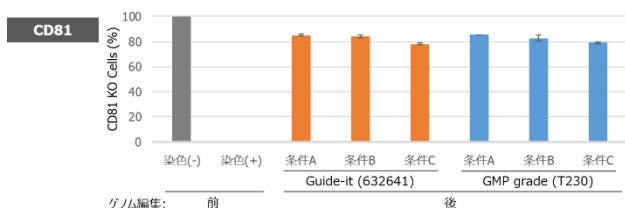


図3. ゲノム編集による機能評価; Guide-it Recombinant Cas9 (Electroporation-Ready)との比較

Recombinant Cas9 Protein GMP grade(製品コード T230)は、Guide-it Recombinant Cas9 (Electroporation-Ready)(製品コード 632641/632640)と同様のゲノム編集効率であることを確認しました。

**関連製品** RNP直接導入に最適！高コストパフォーマンスなCas9タンパク質も好評発売中！

Recombinant Cas9 Protein GMP grade (製品コード T230)と同一のバッファー組成を採用しているため、導入時の細胞へのダメージが低減されており、また同等のゲノム編集効率を得られることを確認しています。

製品名	容量	製品コード	価格
Guide-it™ Recombinant Cas9 (Electroporation-Ready)	100 µg	632641	¥20,000
	100 µg × 3	632640	¥54,000

### ◆ 最近のゲノム編集研究のトレンド ◆◆◆

#### Cas9タンパク質とsgRNAの複合体(RNP)を“直接”導入

Cas9タンパク質とsgRNAの複合体(RNP: Ribonucleoprotein)は細胞導入直後からDNA切断活性が“アクティブ”なため、速やかに標的配列を切断できます。さらに、RNPは細胞内で速やかに分解され、標的配列以外のゲノム上の類似配列の切断(オフターゲット作用)を回避する効果も期待できます。



- 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3月4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。

2020年2月作成

## 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