

小さなCas9 “SaCas9”を用いた組換えアデノ随伴ウイルスによる  
ゲノム編集システム(ワンベクタータイプ)

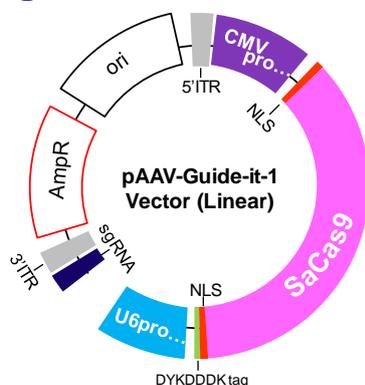
# AAVpro<sup>®</sup> CRISPR/SaCas9 System

- ◆ アデノ随伴ウイルス(AAV)ワンベクターでSaCas9遺伝子、sgRNAを導入
- ◆ Cas9のゲノムへの組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/SaCas9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

## 小さなCas9“SaCas9”を用いたAAVpro<sup>®</sup> CRISPR/SaCas9 System

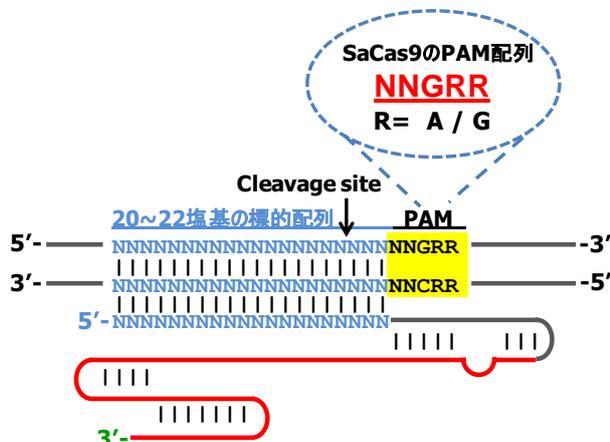
SaCas9とは *Staphylococcus aureus* 由来のCas9で、遺伝子サイズが3.3 kbと、現在広く利用されている *S. pyogenes* 由来のSpCas9(4.1 kb) よりも約1 kb小さいCas9です。

★ 1つのAAVでSaCas9遺伝子とsgRNAを発現可能に！



AAVワンベクター内に、SaCas9遺伝子とsgRNAを入れることが可能となり、*in vitro* および *in vivo* でさまざまな細胞に対するゲノム編集を行うことができます。

★ 異なるPAM配列 NNGRRを認識



PAM配列としてNNGRR (Nはどの塩基でもよく、RはA/G)を認識し、その上流3~4塩基を切断します。

製品名	容量	製品コード	価格(税別)
AAVpro <sup>®</sup> CRISPR/SaCas9 Helper Free System (AAV2)	1 Kit	632619	¥150,000
AAVpro <sup>®</sup> CRISPR/SaCas9 Vector System	1 Kit	632618	¥90,000

### ★ AAV血清型の選択

アデノ随伴ウイルス(AAV)は、P1レベル施設での取り扱いが可能で、免疫原性が低く、動物個体への遺伝子導入にも適しています。

AAVは血清型の違いによって宿主域やウイルスの持つ特徴が異なることが知られています。標的の細胞・組織に合わせて血清型を選択してご利用ください。

※遺伝子導入の程度は、実験条件によって異なる場合がありますので文献を参照してください。

#### 血清型と主な標的組織(血清型1、2、5、6の場合)

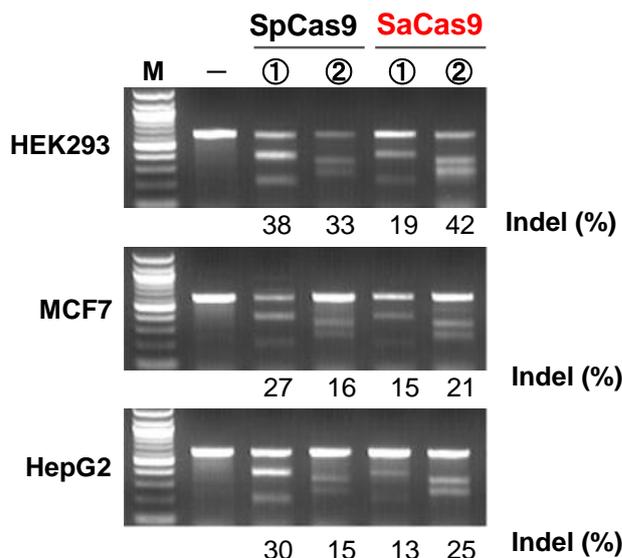
血清型	主な標的組織
AAV1	筋肉、肝臓、気道、中枢神経系
AAV2	広範囲の細胞・組織
AAV5	中枢神経系、肝臓、網膜
AAV6	心臓、筋肉、肝臓

#### 【AAV関連製品一覧】

用途	製品名	容量	製品コード	価格(税別)
血清型2のAAVベクター調製システム	AAVpro <sup>®</sup> Helper Free System (AAV2) ※	1 Kit	6230	¥158,000
様々な血清型のAAVベクター精製に	AAVpro <sup>®</sup> Purification Kit (All Serotypes)	4回	6666	¥126,000
AAVベクターの力価測定	AAVpro <sup>®</sup> Titration Kit (for Real Time PCR) Ver.2	100回	6233	¥79,000

※AAV1, AAV5, AAV6に対応した製品もあります。詳しくはウェブカタログの製品ページをご覧ください。

## ■実施例: AAVを用いたSaCas9とSpCas9のゲノム編集効率の比較



### 【方法】

CYP2遺伝子Exon1の①または②の配列を標的として、ツーベクタータイプの AAVpro CRISPR/Cas9 System (SpCas9) (製品コード 632608) とワンベクタータイプの AAVpro CRISPR/SaCas9 System のsgRNAをそれぞれ設計し、ウィルスベクターを作製した。12ウェルプレートに  $1 \times 10^5$  個の細胞を播種し、一晩培養後、SpCas9またはSaCas9のウィルスベクターをそれぞれ  $1 \times 10^5$  MOI (ベクターゲノム定量法) で感染させ、ゲノムDNAへの変異導入効率 (Indel%) 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)。

SpCas9を用いたツーベクタータイプとSaCas9を用いたワンベクタータイプのAAVベクターを用いたシステムでは、同程度のIndel率が得られました。

## SaCas9を用いたAAVベクターによりマウス組織をゲノム編集した文献

SaCas9を用いたAAVベクターによるゲノム編集で、筋ジストロフィーモデルマウス (mdx mouse) 前脛骨筋ジストロフィン遺伝子のexon23を除去 (exon skipping) しています。詳細は、下記文献をご覧ください。

C.E.Nelson *et al.* *In vivo* genome editing improves muscle function in a mouse model of Duchenne muscular dystrophy. *Science*(2016) ;**351**(6271) ,403-407.

SaCas9を用いたAAVベクターにより、マウスの肝臓のコレステロールを制御する遺伝子 (Psck9) を標的としたゲノム編集を行っています。詳細は、下記文献をご覧ください。

Ran, F.A. *et al.* *In vivo* genome editing using *Staphylococcus aureus* Cas9. *Nature*(2015) ;**520**(7546),186-191.

### AAVpro® CRISPR/SaCas9 Helper Free System (AAV2) (製品コード 632619)

#### 【製品内容】

- |   |   |
|---|---|
| ① pAAV-Guide-it-1 Vector (Linear) 10回分 (7.5 ng/μl, 20 μl)             | ④ pRC2-mi342 Vector (1 μg/μl, 20 μl)*     |
| ② Guide-it Ligation Components v3 各10回分                               | ⑤ pHelper Vector (1 μg/μl, 20 μl)*        |
| DNA Ligation Mighty Mix (50 μl)                                       | ⑥ AAVpro Extraction Solution (製品コード 6235) |
| Guide-it Oligo Annealing Bugger (1.5 ml)                              | AAV Extraction Solution A (1.5 ml × 3)    |
| Guide-it Control Annealed Oligos v3 (100 fmol/μl, 10 μl)              | AAV Extraction Solution B (150 μl × 3)    |
| 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                        |   |
| ※ AAVpro CRISPR/SaCas9 Vector System (製品コード 632618) は上記の①~③で構成されています。 |   |

注: \*を付けた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2022年5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。

2022年5月作成G

## タカラバイオ株式会社

東日本支店・西日本支店 TEL 03-3271-8553 FAX 03-3271-7282  
 関西支店・営業第2部 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 <https://www.takara-bio.co.jp>

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

取扱店