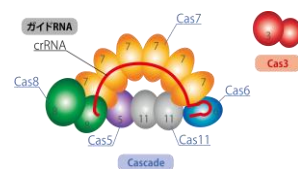


CRISPR-Cas3 ゲノム編集関連製品

新しいゲノム編集技術『CRISPR-Cas3』について

CRISPR-Cas3技術は、東京大学医科学研究所 先進動物ゲノム研究分野の真下知士教授、大阪大学微生物病研究所の竹田潤二招へい教授らの研究成果を基に開発された日本発のゲノム編集技術です。CRISPR-Cas3は、ガイドRNAにあたる「crRNA」（クリスパーRNA）と5種類のCasタンパク質から構成される「Cascade」（カスケード）が複合体を形成し、標的DNA配列を認識して結合します。そこにCas3タンパク質が結合することでDNAを切断します。CRISPR-Cas3ではCas3タンパク質が標的配列の上流側を連続的に分解することで標的配列を大きく削ることができる性質を持ち、さらにcrRNAの相補配列が32塩基と長いため、従来のゲノム編集技術の課題であったオフターゲットへの影響も極めて低い特長があります。



CRISPR-Cas3 の特長

- ゲノムの大規模欠損が可能
- オフターゲット変異のリスクが低く、特異性が高い（安全性の高いゲノム編集技術）
- シンプルなライセンス

【CRISPR-Cas3とCRISPR/Cas9の比較】

	CRISPR-Cas3	CRISPR/Cas9
分類	クラス1* (タイプI)	クラス2** (タイプII)
構成要素	Cas3 protein, crRNA, Cascade構成protein	Cas9 protein, gRNA
PAM配列	AAG (AGG, GAG, TAC, ATG, TAG)	NGG
相補配列の長さ	32塩基	約20塩基
オフターゲット変異 ²⁾	極めて低い	低い
大規模欠損 ²⁾	◎	△
編集効率 ²⁾	◎	◎
切断機構	Cas3の持つヌクレアーゼドメインとヘリカーゼドメインにより一本鎖DNAの切断が繰り返され、結果的に二本鎖切断が導入される ¹⁾	Cas9の持つ2つのヌクレアーゼドメイン (RuvCとHNH) による二本鎖同時切断
特長	<ul style="list-style-type: none"> ● crRNAの相補配列が長いため高い特異性を期待できる ● 数百~数千塩基の大規模欠失変異が可能 	<ul style="list-style-type: none"> ● 実験系の構築が非常に簡単 ● 1~数塩基の挿入or欠失が可能

- 参考文献 1) Yoshimi, K. et al. :Nature Communications, 13:4917 (2022)
 2) Morisaka, H. et al. :Nature Communications, 10:5302 (2019)

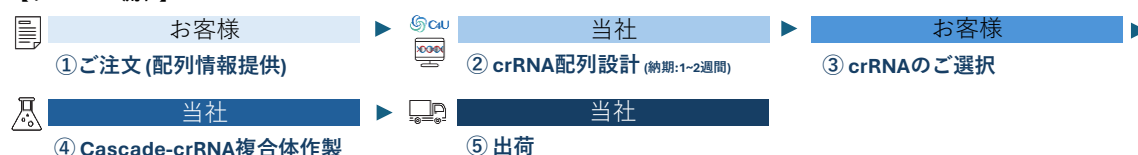
- *クラス1：複数のタンパク質で標的配列を切断
 **クラス2：単一のタンパク質で標的配列を切断

crRNA（クリスパーRNA）配列設計およびカスケード複合体作製

Cascade-crRNA複合体作製サービス

本サービスは、CRISPR-Cas3ゲノム編集用のcrRNAの設計およびcrRNAとCasタンパク質の複合体(Cas complex for antiviral defence, Cascade-crRNA複合体)を作製するサービスです。Cascadeを構成する5種のタンパク質と1種のcrRNAを共発現し、精製したCascade-crRNA複合体を納品いたします。また、Cascadeを構成するタンパク質（Cas11, Cas7, Cas6）は、核移行シグナル（NLS）を有しています。本サービスで作製したCascade-crRNA複合体と、切断活性をもつCas3 protein NLS(Code No.311-09441)を組み合わせることで、CRISPR-Cas3ゲノム編集システムに利用することができます。

【サービスの流れ】



製品名	容量	希望納入価格(税別)	納期(目安)
Cascade-crRNA複合体作製サービス	1配列	照会	1-2週間(設計)+3ヵ月(複合体作製)
	2配列	照会	1-2週間(設計)+3.5ヵ月(複合体作製)
	3配列	照会	1-2週間(設計)+4ヵ月(複合体作製)

Cascade-crRNA複合体 (ヒト B2M遺伝子、EGFP遺伝子)

crRNA配列設計済みCascade-crRNA複合体

本品はCascade複合体と、配列設計済みのcrRNAの複合体です。crRNAはヒトのbeta-2-microglobulin (B2M) 遺伝子および、EGFP遺伝子(Mammalian codon-optimized)を標的とした2種類をラインアップしています。Cas3 protein NLS (Code No.311-09441) と組み合わせることで、標的配列を含むDNAを切断することができます。

- CRISPR-Cas3システムの実験系立ち上げの際の予備実験に使用可能
- 本品とCas3 protein NLSを組み合わせることで標的配列を含むDNAを切断することが可能
- 核移行シグナル (NLS) を付与

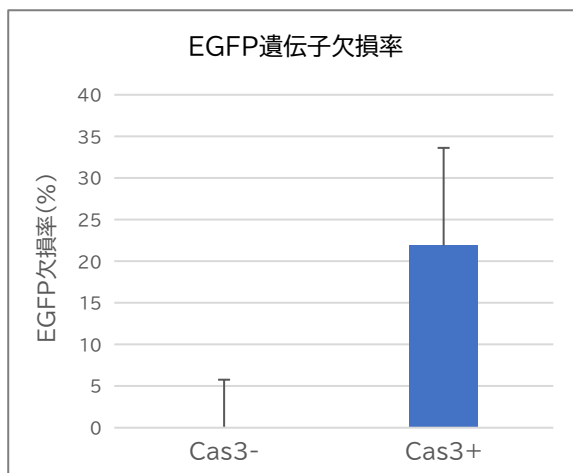
Code No.	製品名	容量	希望納入価格 (税別)
312-09471	Cascade-crRNA complex, hB2M	250 µg	98,000円
312-09611	Cascade-crRNA complex, EGFP	250 µg	98,000円

EGFP遺伝子発現細胞でのゲノム編集実験 (データ提供: C4U株式会社)

エレクトロポレーション法でEGFPを発現するHEK293細胞へCas3 protein NLS (Code No.311-09441) 及び Cascade-crRNA complex, EGFP (Code No. 312-09611)を導入し、培養3日後にDNA抽出した。EGFP遺伝子の欠損率をデジタルPCRを使用し確認した。

- ① RNP (Cas3-Cascade-crRNA複合体) を調製
↓
- ② 細胞懸濁液を用意
↓
- ③ 4D-Nucleofector®でエレクトロポレーション
↓
- ④ エレクトロポレーション後、3日目にDNAを抽出
↓
- ⑤ デジタルPCRで遺伝子の発現割合を測定し、EGFP遺伝子の欠損率を算出

【エレクトロポレーター】 4D-Nucleofector® (Lonza社)
【Pulse Code】 DG150
【細胞】 HEK293-reporter(mCherry-GFP)
【細胞数】 0.3×10^6 cells / well
【RNP】 100 pmol each / well
【プレート】 6 well plate



高純度、高濃度のCas3タンパク質

Cas3 protein NLS

本品は、*E.Coli*由来のCas3タンパク質です。Cas3遺伝子を有する組換えバキュロウイルスに感染した昆虫細胞を使用して発現・精製を *Escherichia coli*行ったものです。核移行シグナル(NLS)をN末端とC末端に有しており、crRNAとCasタンパク質の複合体 (Cascade-crRNA複合体) と組み合わせることにより、CRISPR-Cas3ゲノム編集に利用することができます。

Code No.	製品名	容量	希望納入価格 (税別)
311-09441	Cas3 protein NLS	150 µg	90,000円

ライセンス

CRISPR-Cas3技術は、C4U株式会社の創業メンバーである東京大学医科学研究所先進動物ゲノム研究分野の真下知士教授、大阪大学微生物病研究所の竹田潤二招へい教授らの研究成果を基に開発された日本発のゲノム編集技術です。当社はC4U株式会社とライセンス契約を締結し研究用途のCas3関連製品を提供しています。

