

ゲノム編集ツールのデリバリーによる 標的遺伝子のノックアウト/ノックイン

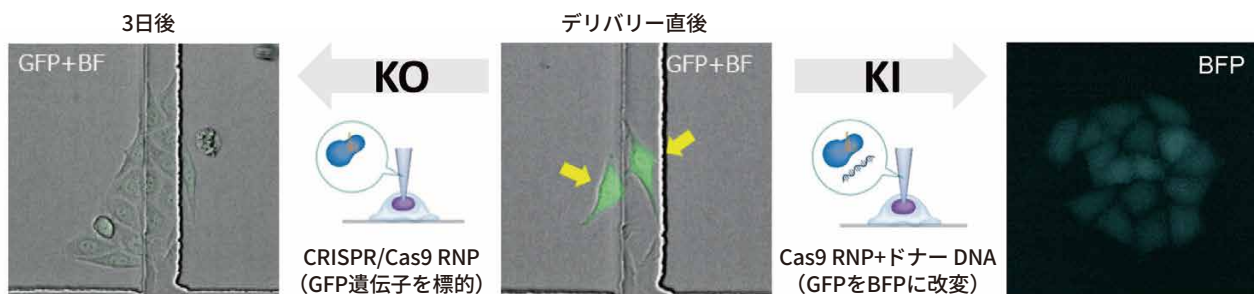
Single Cellome™ Unit SU10

はじめに

SU10は、先端外径が最小数十nmの“ナノ”ピペットにより、目的の物質を1細胞レベルで細胞内（核、細胞質）に自動でデリバリーすることができます。SU10では、ゲノム編集ツールを直接核内に導入できるため、高効率なゲノム編集が期待できます。本アプリケーションノートでは、SU10によりCas9 RNPとドナーDNAを細胞内にデリバリーし、標的遺伝子のノックアウト (KO) 及びノックイン (KI) に成功した事例をご紹介します。

ゲノム編集ツールのデリバリーによる標的遺伝子のノックアウト及びノックイン

GFP発現HeLa細胞に、SU10を用いてCas9 RNP、Cas9 RNP+ドナー DNA (100b) をそれぞれデリバリーし、GFP遺伝子のノックアウト/BFP遺伝子への改変に成功しました。



データご提供：東京理科大学 創域理工学部 生命生物科学科 鎌倉研究室

ゲノム編集ツールのデリバリーによる効率的な標的遺伝子のノックイン

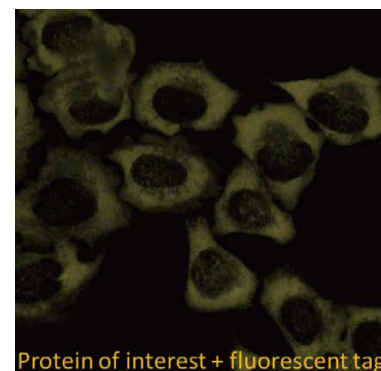
複数の細胞種において、SU10を用いてCas9 RNPとドナー DNAを同時にデリバリーし、内在性遺伝子に蛍光タンパク質タグを挿入することに成功しました。

実験手順

細胞：LNCaP細胞、MCF7細胞、HeLa細胞

試薬：Cas9 RNP (500ng/μL) とドナー DNA*を同時にデリバリー

* 蛍光タグ標識された 1 kb の断片 (100b の相同鎖を持つ)



| | LNCaP細胞 | MCF7細胞 | HeLa細胞 |
|--------------------|---------------|-------------|-------------|
| 蛍光発現細胞 / 総デリバリー細胞数 | 4/7 | 4/10 | 5/10 |
| ゲノム編集効率 | 57.1 % | 40 % | 50 % |

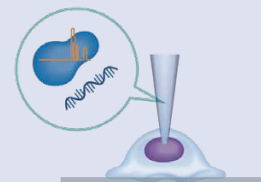
データご提供：Transition Bio, US

SU10とCQ1を組み合わせたソリューション

SU10は、プラスミドやCas9タンパク質などのゲノム編集ツールをデリバリーすることができます。SU10とCQ1を組み合わせることで、以下の現象をリアルタイムに捉えることが可能です。

- ◆ 低光毒性のスピンニングディスク共焦点のため、デリバリー細胞に優しくタイムラプス観察が可能
- ◆ 高速タイムラプスや3次元画像取得も可能
- ◆ 専用解析ソフト (CellPathfinder) を用いてデリバリー細胞の追跡やそれらの定量も可能

ゲノム編集ツールなどの
細胞核への直接注入

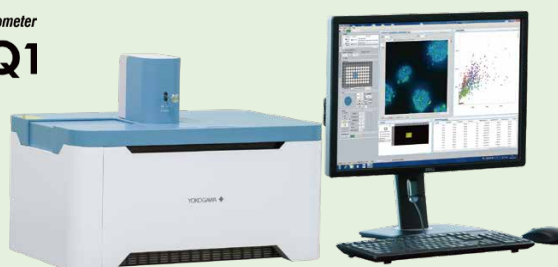


共焦点定量イメージサイトメーター CQ1

CQ1はニポウディスク共焦点により、集塊した細胞でも高速・高精細に3次元撮像し、細胞認識し、定量化するイメージサイトメーターです。外部機器と連携したスクリーニングシステムとして、また単独で簡単操作の共焦点顕微鏡としても活用いただけます。

- ・ 基礎研究からスクリーニング、安全性まで幅広いアプリケーションに適用可能
- ・ ミドルクラスストップの高精細画像を高速に取得
- ・ コンパクトでベンチトップに設置可能
- ・ 全世界で多数の実績、国内ミドルHCA(ハイコンテンツ解析)シェアNo. 1(当社調査による)

Cell
Voyager CQ1
Confocal Quantitative Image Cytometer



まとめ

今回の検証結果から、ゲノム編集においてSU10をご使用いただくと以下のメリットがございます。

- ◆ SU10では様々な細胞種に対して、核内に直接ゲノム編集ツールを導入可能です。
- ◆ Cas9タンパク質とDNA断片など、複数物質を同時にデリバリーすることが可能です。

横河電機株式会社

〒180-8750 東京都武蔵野市中町 2-9-32

E-mail : SingleCell@cs.jp.yokogawa.com

URL : <https://www.yokogawa.co.jp/solutions/products-and-services/life-science/single-cellome/>



記載内容は、お断りなく変更することがありますのでご了承ください。
All Rights Reserved. Copyright © 2024, Yokogawa Electric Corporation.

[Ed:02/d]