

受託サービス

Custom Services

目 次

受託サービスの流れ	3
一般事項	4

人工遺伝子合成

人工遺伝子合成	5
GeneArt Strings DNA Fragments	6
GeneArt Directed Evolution	7

タンパク質発現

タンパク質発現サービス一覧	8
Expi293 発現／ExpiCHO 発現	9
ExpiSf 発現	11
タンパク質精製	12
エクスプレスプラン (抗体発現精製納期短縮サービス)	13
プラスミド精製	14
GeneArt ハイスループット ExpiCHO プレート発現・精製サービス	15

ウイルス作製

AAV 作製	16
レンチウイルス作製	17

クローニング

クローニングサービス一覧	18
クローニング	19

ゲノム編集

ゲノム編集サービス一覧	20
GeneArt CRISPR gRNA 構築 & Nuclease Vector 構築	21
GeneArt CRISPR 活性評価 (オプションサービス)	22
ゲノム編集細胞株構築	23

幹細胞研究

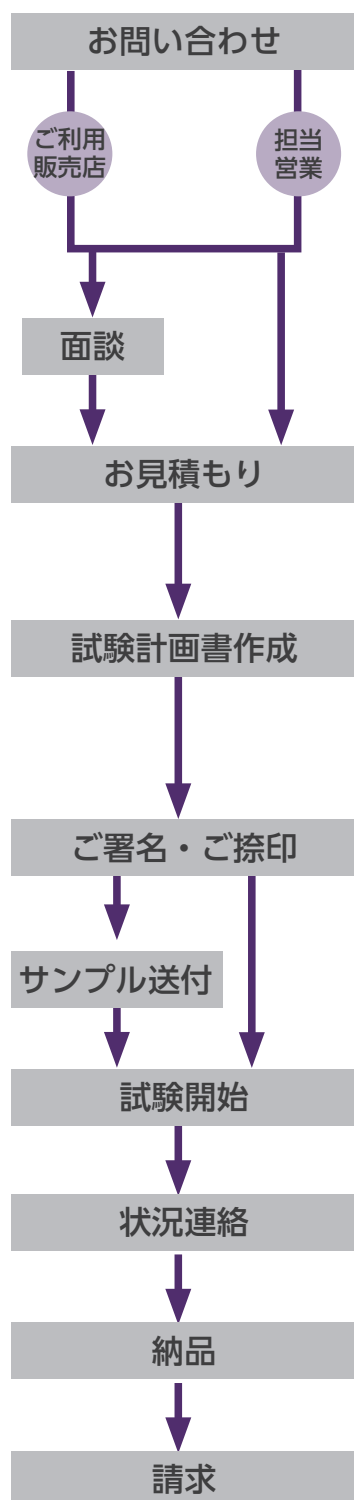
幹細胞 特性評価サービス (PluriTest 解析)	24
-----------------------------------	----

スクリーニング

SelectScreen キナーゼプロファイリング	25
SelectScreen セルベースアッセイ (核内受容体、GPCR、パスウェイ)	26
SelectScreen P450 プロファイリング	27
SelectScreen hERG スクリーニング	28

受託サービスの流れ

当社の受託サービスでは、お客さまのお問い合わせに対して下記の流れに沿って対応しております。ご要望に応じて最適なご提案をさせていただきますので、お気軽にお問い合わせください。



当社担当営業またはご利用販売店までご連絡ください。

お問い合わせの際にWebサイトからダウンロードできる「お問い合わせフォーム」にあらかじめご記入いただくと迅速にお見積もりをお出しすることができます。

サービスの内容についてご不明な点・ご質問などがございましたらお答えします。ご希望により、お伺いして打ち合わせさせていただくこともできます。

ご希望の内容に基づき試験計画書案を作成します。
もし試験内容に対してご希望・ご質問などがございましたらご相談ください。

試験計画書の内容が確定した後、各書類を2部ずつ郵送します。
お受け取り後、ご署名・ご捺印の上、そのうち1部を同封の返信用封筒にてご返送ください。

ご提供サンプルなどは下記送付先までお送りください。

試験計画書の取り交わしが完了し、試験に必要なサンプルがそろいましたら試験開始となります。

試験期間中は適時進捗状況をお知らせします。問題が起きた場合やご指示をいただく必要がある場合は、直ちにご連絡いたします。

試験終了後、納品物の受け渡し時の事故を防ぐため納品日の確認を行います。

納品物を受領後、内容をご確認いただければ同封の受領書にご署名のうえ、FAXまたはPDF（メール添付）にて、ご返送ください。

サンプル・書類などの送付先

住所：〒143-0004 東京都大田区昭和島2-4-3

宛先：サーモフィッシャーサイエンティフィック ライフテクノロジーズジャパン株式会社 羽田事業所 受託サービス宛

TEL: 03-5753-3006 FAX: 03-5753-3007

※誠に恐れいりますがサンプルの到着は平日着（時間指定：9時～17時）にてお願いします。また、お送りいただく際は、事前にご連絡ください。

一般事項

受託サービス

当社が取り扱う受託サービスは、研究目的にのみご利用いただけます。

ヒトを対象とするような医療、臨床、診断などの目的にはご利用いただけません。また本受託サービスによって取得されました成果物に関しまして、当社の了解を得ずに、営利を目的とした再販、譲渡、商品への利用を行うことは、禁止させていただきます。

遺伝子組み換え生物の取り扱い

遺伝子組み換え生物を取り扱う試験（遺伝子組み換え生物の提供・作製）を実施するにあたり、「遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物の多様性の確保に関する法律」に基づき、事前に遺伝子情報の提供をお願いしております。また、納品物に遺伝子組み換え生物が含まれる場合、取り扱いは文科省・環境省省令「研究開発等に係る遺伝子組換え生物等の第二種使用等に当たって執るべき拡散防止措置を定める省令」に準じご対応ください。不明な場合は事前にご所属の安全委員会にお問い合わせいただくことをおすすめしております。カルタヘナ法遵守の観点から、組み換えDNA実験に必要とされる遺伝子情報につきましては配列検索をさせていただく場合がございます。あらかじめご了承ください。

また当社からの納品物中の組み換え生物に関しましては、納品時に関連する情報を記載した遺伝子組換え生物等の譲渡等の情報提供書を添付させていただきます。

サンプルの保管

お客さまからのご提供サンプルは業務終了後、廃棄させていただきます。ご返却をご希望の場合はあらかじめご連絡ください。

ご提供サンプル

ご提供サンプルは、適切な温度帯を保つよう包装し平日着にてご発送ください。お送りいただく際は、事前にご連絡ください。ヒトへの感染の危険があるサンプルおよび臨床サンプルはお受けできません。

感染性が疑われる場合、非感染性であることを証明する書類をご提出いただく場合があります。

保冷剤・ドライアイスなどの圧迫による容器の破損には十分お気を付けください。

納期

当社が提示する納期は、ご依頼内容に基づいた作業期間です。万が一、納期内の納品が困難と判明した場合は直ちにご連絡を差し上げ、以降の対応につきましてご相談をさせていただきます。また海外で実施する試験につきましては、サンプルの輸出入のため別途2週間程度の納期をいただいております。

再委託

受託業務の全部または一部を、当社の関連会社および業務提携先に再委託する場合がございます。この場合には、当該委託先に対して当社が負うべき義務と同等の義務を負わせることを保証いたします。

Thermo Fisher Scientificのプライバシー通知

お客さまの個人情報につきましては、受託サービス遂行の目的にのみ利用いたします。お客さまの個人情報については、「個人情報の保護に関する法律」および関連する法令を遵守し、当社の定めた規定に従い、漏洩、滅失または毀損の防止、その他お客さまの個人情報の安全管理を図るために必要かつ適切な措置を講じます。当社の規定の詳細は「Thermo Fisher Scientificのプライバシー通知」をご覧ください。

thermofisher.com/privacypolicy

販売条件について

受託業務の履行については、当社標準販売条件のほか、サービスに応じて「ライフテクノロジーズ・コーポレーション研究用受託サービスに関する条件」、「遺伝子合成販売条件」が適用されます。詳細はWebページをご覧ください。

thermofisher.com/jp-customerservices

ここに記載されているサービスの仕様は、2023年9月現在のものです。予告なしにサービス内容が変更される場合がございますので、あらかじめご了解いただきますようお願いいたします。

人工遺伝子合成

人工遺伝子合成

概要

ご希望のDNA配列を人工的に合成し、ベクターにクローニング・配列確認します。発現ベクター・ご提供ベクターへのクローニング、プラスミド精製、部位特異的変異導入も提供しております。

Invitrogen™ GeneArt™ Instant Designer オンラインオーダー
人工遺伝子合成配列のデザイン・最適化・オプションサービスの追加から価格・作業期間の確認、注文までの一連の操作をオンライン上で実行できます。また過去に合成した遺伝子のプラスミド精製の再注文もできます。

特長

- 単離が困難な配列、天然に存在しない配列なども入手可能
- 発現生物種に合わせた目的タンパク質のコード最適化が可能
- オンライン最適化可能な生物種は44種類
- 塩基配列が合成予定配列と一致していることを確認済み
- 安価で迅速な発現ベクターへのダイレクトクローニングが可能
- ご提供ベクターへのサブクローニング・プラスミド精製・変異導入のオプションサービスあり
- スピード重視の納期短縮オプションあり

ご提供いただく物

- ① 合成を希望される塩基配列情報
- ② クローニングベクター（お客さまご提供ベクターの場合）
- ③ 最適化生物種名（配列最適化をご希望の場合）

納品物

- ① プラスミド（5 µg、凍結乾燥品）
- ② 配列解析データ、プラスミドマップ

試験フローチャート

受託項目	納期	説明
人工合成遺伝子	12営業日～	ご希望の配列を合成し、合成断片をpMX標準ベクター・ダイレクトクローニングベクターへクローニングします。得られたクローンのインサート全長の配列解析を行います。
オプションサービス	1週間～	サブクローニング・プラスミド精製・部位特異的変異導入などを実施します。

Q&A

Q. どんな塩基配列でも合成できますか？

A. 基本的には合成可能です。サイズが～20 Kbと大変長く、複雑な配列の哺乳類遺伝子を2,000個以上合成した実績があります。ただし極度のGC-rich領域や反復配列などが含まれている場合、合成の難易度が上がるため、通常より時間がかかることがあります。バイオセキュリティの観点から、配列によって同意書にご署名をお願いする場合があります。

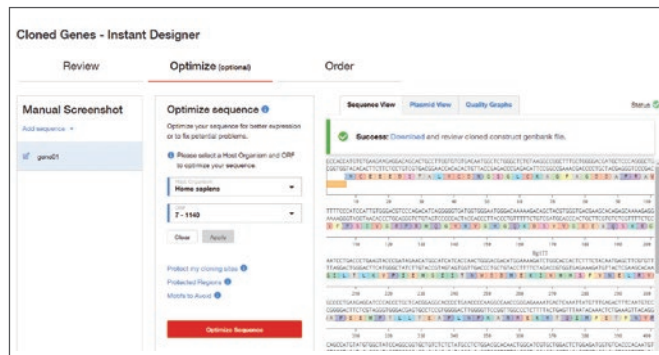
Q. 配列の最適化とはどのようなものですか？

A. 合成予定配列を目的生物種のコード使用頻度に合わせて同時に、mRNAの不安定性や翻訳阻害の原因となる配列が除かれます。そのため、異種生物間だけでなく「ヒト遺伝子→ヒト培養細胞発現系」という同種生物間の場合でも組み換えタンパク質の発現効率の向上が期待できます。

GeneArt Dashboard



GeneArt Instant Designerで最適化



過去に合成した遺伝子のプラスミド精製再注文



GeneArt Strings DNA Fragments

概要

Invitrogen™ GeneArt™ Strings™ DNA Fragmentsは、最長3,000 bpまでの二本鎖DNA断片を提供する受託サービスです。凍結乾燥品でお届けしますので、再溶解後、すぐにクローニングにご利用いただけます。

特長

- 目的遺伝子のコドン最適化が可能
- 人工遺伝子合成よりも低価格で納期が短い
- 最短9営業日でお届け

ご提供いただく物

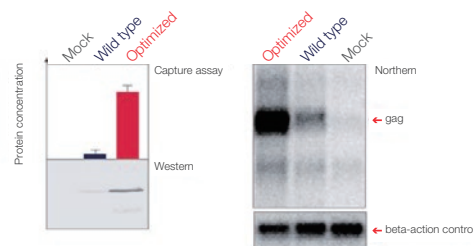
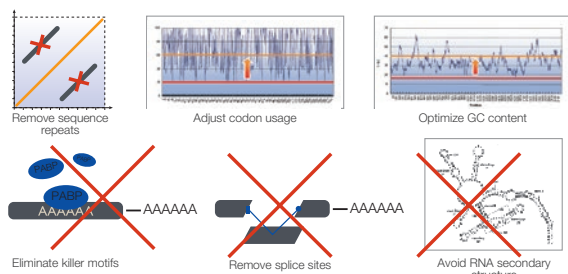
- ① 合成をご希望される塩基配列情報
- ② 最適化生物種名 (最適化をご希望される場合)

納品物

- ① 二本鎖DNA断片 (200 ng以上、凍結乾燥品)



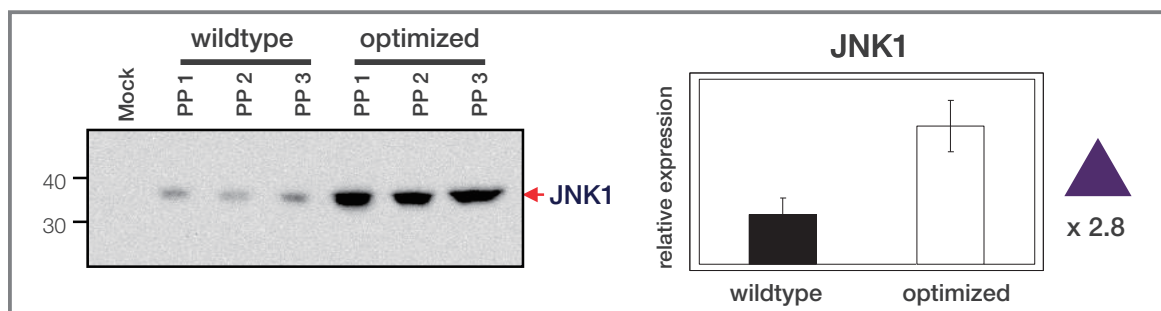
GeneArt Instant Designerで最適化



Expression of HIV-1 Pr55^{Gag} in transiently transfected H1299 cells was analyzed by ELISA, Western and Northern blot analysis. Similar results were obtained after transfection of COS7, CHO and HeLa cells.

さまざまな項目で最適化を実施

最適化で発現効率改善!



同種生物種で最適化しても発現効率改善 (ヒト遺伝子をヒトで最適化)

試験フローチャート

受託項目	納期	説明
GeneArt Strings DNA Fragments 合成	9営業日～	二本鎖DNAを人工的に合成します。得られたDNAフラグメントプールをダイレクトシーケンスで確認します。

納期

約 9 営業日～			約 12 営業日～							
200 ~ 600 bp	601 ~ 750 bp	751 ~ 1,000 bp	1,001 ~ 1,250 bp	1,251 ~ 1,500 bp	1,501 ~ 1,750 bp	1,751 ~ 2,000 bp	2,001 ~ 2,250 bp	2,251 ~ 2,500 bp	2,501 ~ 2,750 bp	2,751 ~ 3,000 bp

Q&A

Q. Stringsではどんな配列でも合成できますか?

A. いいえ。GeneArt Strings DNA Fragmentsで合成できるのは200～3,000 bpまでです。複雑な配列領域が含まれていると、合成をお受けできない場合があります。このような場合は人工遺伝子合成をご利用ください。

Q. 追加オプションとして、もっと大きな遺伝子にするためのサブクローニングやアセンブリーのサービスは提供していますか?

A. いいえ。GeneArt Strings DNA Fragmentsは、目的の遺伝子を得るため迅速で、手頃な価格の方法を提供することを目指しているため、これらのオプションサービスは提供しておりません。

GeneArt Directed Evolution

部位特異的変異導入・変異ライブラリー構築サービス

概要

ご希望の遺伝子へ変異を導入した遺伝子ライブラリーを構築します。部位特異的変異・部位飽和変異・コンビナトリアル・ランダム変異などがあります。

部位特異的変異導入・部位飽和変異導入サービス

Site-directed mutagenesis～部位特異的変異導入～

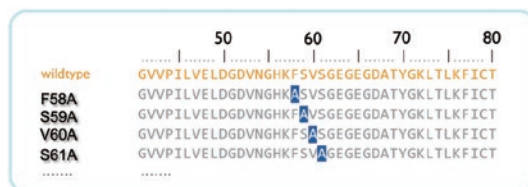
ご希望の変異を導入できます。塩基置換、挿入、欠失、末端伸長を組み合わせることができます。変異体は個別に納品します。

応用例

アラニンスキャニング、タグの付加、Alternative splice formの構築など

納品物

プラスミドDNA、配列解析結果



Site-saturation mutagenesis～部位飽和変異導入～

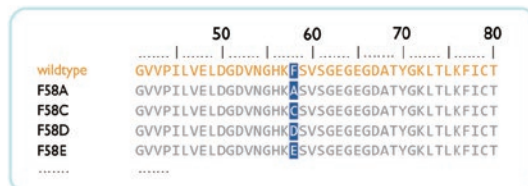
ご希望の部位のアミノ酸を他19種類の全てのアミノ酸に置換します。これらの変異体は1つにまとめたプール、または個別に納品します。

応用例

学術用、産業用酵素の改良、基質特異性・鏡像異性体選択性の改変、抗体の改良など

納品物

グリセロールストック (オプションとしてプラスミド抽出あり)、配列解析結果



変異ライブラリー構築サービス

Combinatorial libraries～コンビナトリアル ライブラリー～

複数のアミノ酸部位に複数のアミノ酸置換を同時に導入します。アミノ酸部位と置換後のアミノ酸を指定します。またランダムコドン (NNN、NNS、etc.) も可能です。廉価版 Invitrogen™ GeneArt™ Strings™ DNA libraries も提供しています。

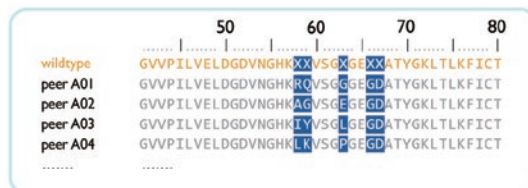
応用例

学術用、産業用酵素の改良、人工抗体の構築、抗体の改良、部位飽和変異導入で特定した有効なアミノ酸同士の組み合わせなど

納品物①または② (Stringsは①のみ)

①クローニング用増幅済み直鎖状DNA、試験報告書

②グリセロールストックとプラスミド、試験報告書



Controlled randomization libraries～ランダム変異ライブラリー～

ご希望のアミノ酸領域に、指定の平均頻度でランダムな位置にランダムな変異を導入します。

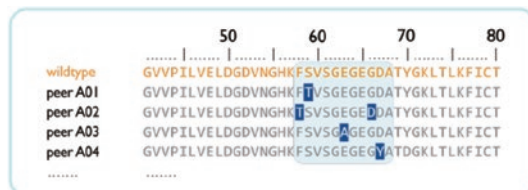
応用例

学術用、産業用酵素の改良、基質特異性・鏡像異性体選択性の改変、抗体の改良、不溶性タンパク質の可溶化など

納品物①または②

①クローニング用増幅済み直鎖状DNA、試験報告書

②グリセロールストックとプラスミド、試験報告書



ご提供いただく物

①変異導入を希望される塩基配列情報などを入力したお問い合わせフォーム (フォームは当社までお問い合わせください)。

タンパク質発現

タンパク質発現サービス一覧

哺乳動物細胞発現：一過性 (Expi293/Expi293 GnTI (-) 発現系)

Gibco™ Expi293™ Expression Systemを用いて、組み換え体タンパク質の小スケールでの発現確認や大量スケールでの培養を行います。高発現293細胞株を高密度で培養することで、7日以内に高収量のタンパク質を産生できます。無血清培地を用いていますので、抗体など分泌タンパク質の発現精製に有効です。

哺乳動物細胞発現：一過性 (ExpiCHO 発現系)

Gibco™ ExpiCHO™ Expression Systemを用いて、組み換え体タンパク質の小スケールでの発現確認や大量スケールでの培養を行います。高発現CHO細胞株を高密度で培養することで、14日以内に高収量のタンパク質を産生できます。3つのプロトコルから培養条件を選択することができ、多くの抗体でExpi293発現系より高い収量が期待できます。無血清培地を用いていますので、抗体など分泌タンパク質の発現精製に有効です。

昆虫細胞発現 (バキュロウイルス発現系)

Gibco™ ExpiSf Baculovirus Expression Systemを用いて組み換え体タンパク質の発現至適条件の検討や大量スケールでの培養を行います。真核生物の昆虫細胞を用いるためタンパク質の翻訳後修飾も起こります。また比較的大きな分子量のタンパク質も発現可能です。糖鎖修飾が哺乳動物細胞ほど複雑でないため結晶構造解析用のタンパク質取得に適しています。

タンパク質発現サービス選択ガイド

	哺乳動物細胞発現系	昆虫細胞発現系
	Expi293 / ExpiCHO	ExpiSf
短期間でやりたい	◎	△
大量のタンパク質が欲しい	◎ (0～3 g/L)	○ (0～20 mg/L)
糖鎖などの修飾をさせたい	◎ (大部分の修飾)	△ (不完全な修飾)
結晶構造解析に用いたい	○	◎
抗体などの分泌タンパク質を発現させたい	◎	△
さまざまなコンストラクトを比較したい	◎	△

Expi293 発現／ExpiCHO 発現

概要

Expi293 Expression System および ExpiCHO Expression System は、哺乳動物細胞で組み換えタンパク質を大量に発現可能な一過性発現システムです。増殖能力が高く、高密度培養ができ、これまでにない大量発現を実現します。発現ベクター構築からタンパク質発現・精製まで、一貫してサポートします。

特長

- Expi293 発現では最長 7 日間、ExpiCHO 発現では最長 14 日間培養することで、大量の組み換えタンパク質を産生します。
- 小スケール培養で高収量のタンパク質が期待できます。
- 国内ラボで培養を行いますので、培養完了から納品まで最短でお届けできます。
- 人工遺伝子合成やプラスミド調製、タンパク質精製など充実したオプションサービスを取りそろえています。

ご提供いただく物

- ①お問い合わせフォーム (Web からダウンロード可能)
- ②哺乳動物細胞用発現プラスミド (フィルター滅菌済のもの)
- ③ターゲット遺伝子、タンパク質情報
- ④ Western Blotting 用抗体
- ⑤参考文献、参考資料など (③、④、⑤は必要に応じて)

納品物

- ①最終発現産物 (細胞ペレット・培養上清)
- ②試験報告書



国内拠点 = 羽田事業所 (ISO 9001:2015)



試験フローチャート

受託項目	納 期	説 明
タイムコース発現 (50 mL)	4～5 週間	発現プラスミドをトランスフェクションし、ご指定の日数 (4 点まで) での発現を SDS-PAGE および Western Blotting で確認します。
発現 (250 mL～)	2 週間～	ご指定のスケール、培養時間で大量培養を行います。
発現確認 (オプション)	2 週間	得られた培養サンプルを用いて SDS-PAGE および Western Blotting を行います。
タンパク質精製 (オプション)	2 週間～	精製プロトコルご提供またはお打ち合わせにより作業内容を決定します。

Q&A

Q. 発現・精製時のタンパク質の発現量および酵素活性を保証してもらえますか？

A. タンパク質の種類によって発現量が異なり、また酵素活性・高次構造の保持につきましても保証対象外となります。そのため、発現や活性の有無に関わらず、実施しました作業については全額のご請求となります。

Q. 発現用ベクターはどのようなものを選べばよいのでしょうか？

A. 293 細胞、CHO 細胞中で機能するプロモーターを持つものであれば、大丈夫です。当社では、CMV プロモーターを持つ pcDNA3.4 ベクターを推奨しています。

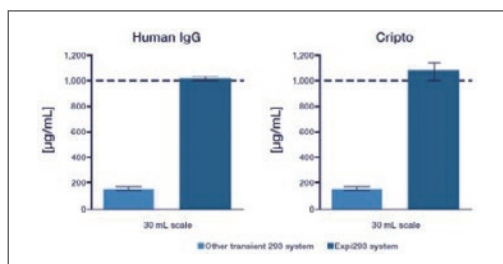
Q. タイムコース発現を省略し、発現試験から依頼できますか？

A. 可能ですが、特に発現実績のないタンパク質の場合には、タイムコース発現の実施を推奨しています。

Expi293 発現

特長

- Expi293 Expression System を利用し、細胞を高密度で最長 7 日間培養することで、大量の組み換えタンパク質 (最大 1 g/L) を産生します。
- 2 週間あるいはそれ以上の時間を要する他の一過性 293 システムに比べて、わずか 1 週間で最大 6 倍高いタンパク質産生量が得られます。
- 1 mL から最大 50 L スケールまで、目的に合わせた培養が可能です。



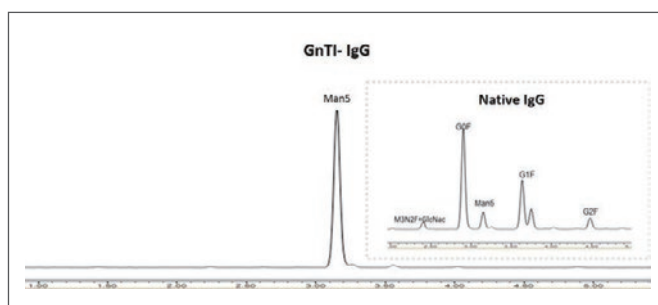
Expi293 と他の一過性 293 システムとのタンパク質産生量比較



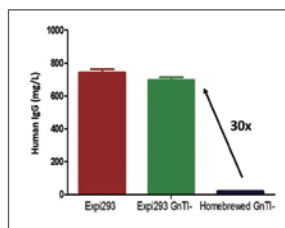
Expi293 GnTI- 発現

特長

- N-acetylglucosaminyltransferase I (GnTI) 活性を欠損した Expi293F 細胞を用いることで、均一な糖鎖を持つ組み換えタンパク質を大量に産生することができます。
- 親株の Expi293F 細胞と同等の発現量が期待できます。
- 50 mL ~ 最大 50 L スケールの培養に対応しています。



Expi293 GnTI- で発現させたヒト IgG の均一な N-グリコシル化

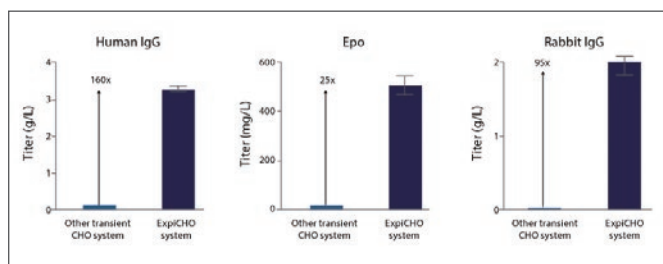


Expi293 GnTI- と HEK293S GnTI- とのタンパク質産生量比較

ExpiCHO 発現

特長

- ExpiCHO Expression System を利用し、細胞を高密度で最長 14 日間培養することで、大量の組み換えタンパク質 (最大 3 g/L) を産生します。
- 他の一過性 CHO システムに比べて、~160 倍高いタンパク質産生量が得られます。
- 3 つのプロトコルから培養条件を選択することができ、多くの抗体で Expi293 発現系より高い収量が期待できます。



ExpiCHO と他の一過性 CHO システムとのタンパク質産生量比較



ExpiSf 発現

概要

Gibco™ ExpiSf™ システムは、既知組成（イーストレート不含）の培地とタンパク質発現エンハンサーを含む初のバキュロウイルス発現システムであり、信頼性の高い結果を期待できます。既存の昆虫細胞発現系に比べて3倍以上高いタンパク質収量を実現します。少ない培養量、培養時間で、より多くのタンパク質を産生することが可能です。

特長

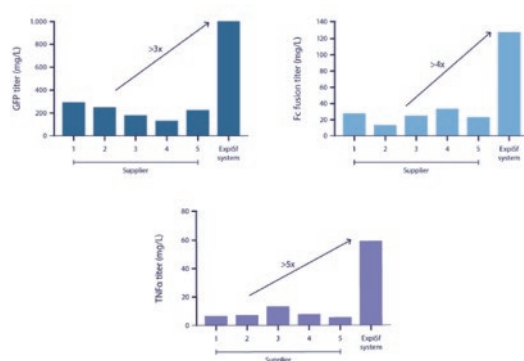
- ExpiSf システムの各コンポーネント（細胞、培地、トランスフェクション試薬など）がタンパク質発現用に最適化されており、従来の昆虫発現系に比べ3倍以上の高いタンパク質収量を実現します。
- 既知組成の培地を用いるため、いつでも安定的な目的タンパク質の発現が可能です。
- 浮遊培養でのタンパク質発現のため、スケールアップが容易です。
- 発現ベクター構築からタンパク質発現・精製まで、一貫してサポートします。

ご提供いただく物

- ① 目的遺伝子を保有したバキュロウイルス発現ベクター
(例: pFastBac1)・バキュロウイルス
- ② お問い合わせフォーム (Web からダウンロード可能)

納品物

- ① 最終発現産物（細胞ペレット・培養上清）または精製産物
- ② 試験報告書
- ③ 遺伝子組換え生物等の譲渡等の情報提供書



試験フローチャート

受託項目	納期	説明
バキュロウイルス作製	4週間	ご提供いただいたサンプルから Bac-to-Bac システムを用いてバクミドDNAを作製しバキュロウイルスを増幅します。
発現至適条件の検討	3週間	ウイルス感染量、感染時間を振ることにより、目的タンパク質の発現に最適な条件を検討します。
大量培養	2週間	上記検討で決定した条件で大量培養を行います。
精製 (オプション)	2週間～	目的タンパク質を精製します。

Q&A

Q. 発現・精製時のタンパク質の酵素活性を保証してもらえますか？

A. 目的タンパク質の酵素活性・高次構造の保持につきましては保証外となります。

Q. バキュロウイルス発現系によって得られた精製タンパク質はカルタヘナ法の対象でしょうか。

A. バキュロウイルスが残存している可能性を否定できないため、遺伝子組換え生物等の譲渡等の情報提供書を添付しております。

Q. 発現するタンパク質の量は保証されますか？ 発現しなかった場合の費用は？

A. 申し訳ありませんが、発現量の保証はできません。そのため、発現至適条件の検討試験の結果を基に大量培養のスケールをご検討ください。また検討試験ではさまざまな条件検討を行いますので、発現が見られない場合でも全額のご請求となります。

タンパク質精製

概要

Expi293 Expression SystemあるいはExpiCHO Expression Systemで発現させた組み換えタンパク質を、各種クロマトグラフィーを用いて精製します。精製作業は全て国内ラボで実施します。タンパク質精製サービスは、当社タンパク質発現サービスとセットでご利用いただく場合のみ、受注を承ります。

特長

- 一次精製として抗体やFcタグ融合タンパク質に対するProtein A精製や、ヒスチジンタグ (His タグ) 精製に対応しています。
- 一次精製の前段階にÅKTA™などのクロマトグラフィーシステムによる予備精製をご提供しています。本精製同様に目的サンプルと不純物が分離されたクロマトグラムから、お客さま自身で溶出条件の判断が可能ということで、ご好評をいただいております。
- 二次精製として不純物の分離が可能なゲルろ過精製に対応します。
- 培養スケール 15 L 以下からの組み換えタンパク質の調製に対応しています (当社実績としてミリグラム〜グラムオーダー)。
- 分析項目のオプションとして、SDS-PAGE、サイズ排除クロマトグラフィー (SEC) 分析やエンドトキシン測定 (日本薬局方対応可) も低価格 (希望小売価格: 6 万円〜) で提供しています。ぜひご相談ください。
- ベクター構築からタンパク質発現・精製まで、お客さまのご希望に沿った試験を無駄のないスケジュールで立案します。

ご提供いただく物

- ①お問い合わせフォーム (Web からダウンロード可能)
- ②当社において Gibco™ Expi シリーズで発現を実施した培養上清あるいは細胞

納品物

- ①精製タンパク質
- ②試験報告書

試験フローチャート

受託項目	納 期	説 明
タイムコース発現 (50 mL)	4〜5 週間	発現 プラスミドをトランスフェクションし、ご指定の日数 (4 点まで) での発現を SDS-PAGE および Western Blotting で確認します。
↓		
発現 (250 mL〜)	2 週間〜	ご指定のスケール、培養時間で大量培養を行います。
↓		
発現確認 (オプション)	2 週間	得られた培養サンプルを用いて SDS-PAGE および Western Blotting を行います。
↓		
一次精製 (Protein A 精製、His タグ精製)	2 週間	お打ち合わせにより精製プロトコルや作業内容を決定します。
二次精製 (ゲルろ過精製)		
↓		
バッファー交換、濃縮、濃度調整	精製の納期に含む	
↓		
最終分析 SDS-PAGE や Western Blot、SEC 分析、 エンドトキシン測定	2 週間	

Q&A

- Q. 精製したタンパク質の収量や生物活性を保証してもらえますか？

A. タンパク質の収量、活性、高次構造の維持、エンドトキシン濃度などについては保証対象外となります。
- Q. どのような精製法を選べばよいのでしょうか。

A. お客さまのご要望を伺い、試験計画を立案します。当社の標準プロトコルを提供することもできます。

エクスプレスプラン (抗体発現精製納期短縮サービス)

概要
Expi293 Expression SystemあるいはExpiCHO Expression Systemを用いたリコンビナント抗体 (Fc融合タンパク質) の一過性発現と精製をセットで実施します。当社標準プロトコルにより、国内のラボで作業します。通常のタンパク質発現および精製サービスと同一の試験条件で、一連の作業を連続的かつ短期間で実施します。

- 特長**
- 通常サービスと同一の試験条件で、タンパク質発現および精製試験の納期が短縮されたプランです。
 - 基本プラン1：哺乳動物細胞発現、Protein A精製とゲルろ過精製を連続して実施いたします。
 - 基本プラン2：ゲルろ過精製を省略することも可能です。
 - 発現スケールは250 mL、500 mLおよび1 Lから選択できます。
 - フラクシオンの回収範囲の決定を経験豊富な当社の研究者が実施し、お客さまへの報告およびご検討の時間を削減することで、納期短縮を実現します。
 - 抗体だけでなく、Fc融合タンパク質 (Protein A精製可能なタンパク質) も対象としています。
 - 人工遺伝子合成など、発現ベクター構築を組み合わせ、ご利用いただくことも可能です。

ご提供いただく物
①哺乳動物細胞用発現プラスミド (フィルター済みのもの)

- 納品物**
- ①精製タンパク質
 - ②データシート

- 精製タンパク質の最終分析**
- ①SDS-PAGE・CBB染色 (デフォルト)
 - ②SEC分析 (オプション)
 - ③凍結融解試験 (オプション)
 - ④エンドトキシン測定 (オプション)

通常サービスとの作業期間の比較



通常サービス：作業工程ごとに報告し、確認を取ったうえで試験を進めて行きます。
エクスプレスプラン：全作業工程を連続して実施いたします。

試験フローチャート (基本プラン2の場合)

受託項目	納 期	説 明
Expi293・CHO 発現 250 mL／500 mL／ 1 Lスケール	3週間 (Expi293)	ご指定の細胞とスケールで大量培養を行います。
Protein A精製、SDS-PAGE (溶出画分分析)	4週間 (ExpiCHO)	当社標準プロトコルによる精製を行います。
SDS-PAGE (最終分析)		SDS-PAGEにより精製タンパク質 (納品物) を分析します。

- Q&A**
- Q.** どのような方にエクスプレスプランを推奨されますか？

A. 発現精製試験の中間報告と内容確認が不要であり、納期を重視される方におすすめいたします。
- Q.** サービス内容で選択可能な項目を教えてください。

A. 宿主、発現スケール、トランスフェクション時のプラスミド比 (H鎖:L鎖)、Protein A精製溶出バッファー、最終バッファー、最終精製品濃度、納品温度帯 (冷凍、冷蔵) は選択肢からお選びいただけます。
- Q.** どのようにして納期を短縮していますか？

A. 当社の研究者が精製の回収フラクションを決定することで、お客さまへの中間報告および回収指示の時間を割愛しています。また、試験報告書をデータシートとすることにより作成期間を短縮しています。

プラスミド精製

概要

培養細胞のトランスフェクションに使用可能な高品質のプラスミドを精製します (50 µg ～100 mg)。

特長

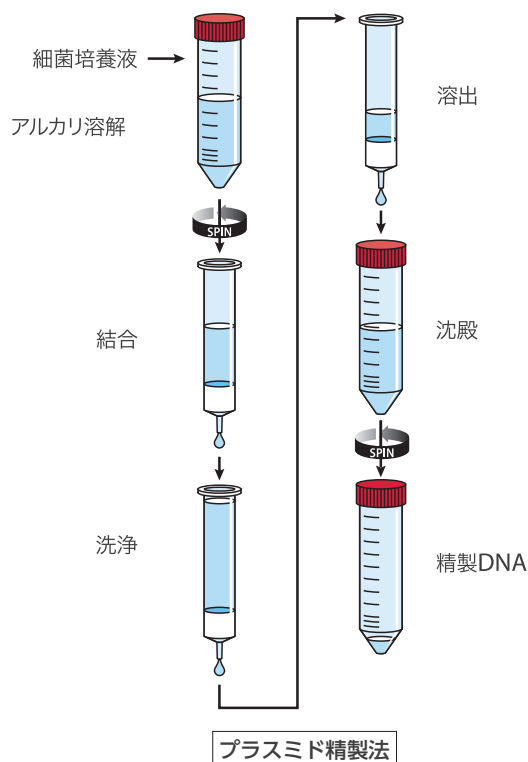
- 高品質プラスミド精製キットを使用しているため、トランスフェクショングレードの精製プラスミドが得られます。
- タンパク質発現 (Expi293/CHO) やウイルス作製、安定発現細胞構築などに必要な大量のプラスミド精製が可能です。オプションサービスとしてシーケンス解析もお受けします。

ご提供いただく物

- ①大量精製を希望されるプラスミド、もしくは大腸菌グリセロールストック
- ②プラスミドの情報 (ベクター名、遺伝子名、塩基数、選択薬剤など)
- ③大腸菌グリセロールストックをご提供の場合は、事前に遺伝子組み換え生物情報
- ④お問い合わせフォーム (②③の情報を記載、Web からダウンロード可能)

納品物

- ①精製プラスミド溶液 (1 µg/µL)
- ②データシート



試験フローチャート

受託項目	納 期	説 明
ミニプレップ プラスミドサイズの確認	2週間～	プラスミドをご提供いただいた際は、大腸菌を形質転換し、大腸菌ストックをご提供いただいた際は、寒天プレート上にそれぞれストリークします。シングルコロニーを取得後、ミニプレップでプラスミドを精製し、アガロースゲル電気泳動によりプラスミドサイズを確認します。
プラスミド大量精製		ご希望のプラスミド量に応じてプラスミドを大量精製します。吸光度測定とアガロースゲル電気泳動により精製されたプラスミドを確認し、ご希望の濃度へ調整します。

Q&A

Q. 低コピーのプラスミドでも依頼することができますか？

A. 承ることは可能ですが、料金および納期が追加となる場合があります。詳細につきましてはお問い合わせください。

Q. 価格表に記載されているプラスミド量以上の精製もお願いできますか？

A. 承ります。価格と納期につきましてはお問い合わせください。

GeneArt ハイスループット ExpiCHO プレート発現・精製サービス

概要

プレート上で Gibco™ ExpiCHO-S™ 細胞株を少量・多数培養することにより、複数多品種の抗体を発現・精製します。抗体の開発をされている方に適したサービスです。

特長

- 抗体発現プラスミドを人工遺伝子合成で構築します。当社 GeneOptimizer での最適化および pcDNA3.4-TOPO ベクターの利用により高発現が期待されます。
- GeneArt Instant Designer でご入力・ご注文いただいた人工遺伝子合成コンストラクトが利用可能です。
- プレートは 24-well と 96-well の 2 種類から選択可能です。
- High titer プロトコルで 10 日間培養します。
- 培養上清から Protein A/G 精製します。
- 精製タンパク質溶液を納品します。
- SDS-PAGE (還元) CBB 染色で分析いたします。

ご提供いただく物

- ①お問い合わせフォーム (配列情報・遺伝子の組み合わせなど)

納品物

- ①人工遺伝子合成凍結乾燥 DNA 5 µg (プラスミド精製の残りは納品せず)
- ②精製タンパク質溶液 (冷凍・96-well プレート)
- ③試験報告書



Size	Culture Volume	Samples per plate	Controls per plate	Quantity after purification	Final Volume	Control Minimum
24-well	2.5 mL	20	4	10 µg ~ 1.8 mg	350 µl	200 µg
96-well	0.8 mL	92	4	1 ~ 500 µg	150 µl	75 µg

試験フローチャート

受託項目	納期	説明
人工遺伝子合成	4週間~	目的遺伝子の配列を人工遺伝子合成し、発現ベクターにクローニングします。
プレート発現	4週間	ご希望のプレートで ExpiCHO-S 細胞を培養します。
Protein A/G 精製		培養上清から目的タンパク質を Protein A/G 精製します。
SDS-PAGE 分析		精製タンパク質を SDS-PAGE 電気泳動します。
納品 (輸入 1 週間)		精製タンパク質溶液を 96-well プレートで冷凍納品します。

Q&A

- Q.** 精製タンパク質の収量や活性の保証について教えてください。

A. タンパク質量・濃度・活性・高次構造の維持・エンドトキシンレベル・精製度については保証しておりません。

Q. 発現ベクターはどれになりますか？

A. pcDNA3.4-TOPO ベクターが基本になります。他のベクターの場合は可否を確認しますので、お問い合わせください。

Q. 最終バッファの種類を指定できますか？

A. PBS が基本になります。その他のバッファは可否含めて検討させていただきます。ご相談ください。
- Q.** 重鎖のみ・Fc 融合タンパク質は対応可能でしょうか？

A. Protein A/G で精製できるタンパク質であれば、承ることは可能です。

Q. 最終分析で SEC 分析・エンドトキシン測定・ウェスタンブロットティングは可能でしょうか？

A. 申し訳ありませんが、最終分析は SDS-PAGE (還元) CBB 染色のみとなります。

Q. プラスミド精製産物を納品することは可能でしょうか？

A. インスタントデザイナーでプラスミド精製 (Midi, Maxi Mega, Giga, 2xGiga) のオプションをお選びください。本サービスとは別サービスとして実施し、精製プラスミドを別途納品します。

ウイルス作製

AAV 作製

概要

当社では、実績のあるGibco™ AAV-MAX Helper Free AAV Production Systemを用いて、目的のアデノ随伴ウイルス (AAV) を浮遊培養系で産生するサービスをご提供しています。作業は全て国内ラボで行いますので、お問い合わせから納品まで最短でお届けすることができます。進捗状況のお問い合わせにも速やかに回答いたします。安心してお任せください。

特長

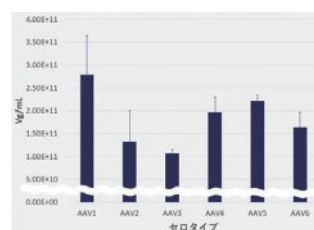
- Gibco™ AAV-MAX Helper Free AAV Production Systemを利用し、細胞を高密度で浮遊培養することで、高タイトルのAAV産生を実現します。
- Thermo Scientific™ POROS™ CaptureSelect™ AAVX Affinity Resinによる高純度の精製および濃縮が可能です。
- 複数のAAVセロタイプへの対応が可能です。
- 分析項目のオプションとして、Applied Biosystems™ TaqMan™ Real-Time PCR法によるタイター測定 (VG:vector genomes) やSDS-PAGE分析による精製度評価も提供しています。



ご提供いただく物

- ①お問い合わせフォーム (Web からダウンロード可能)
- ② AAV 発現用プラスミド3種類
(Transfer Plasmid、Rep/Cap Plasmid、Helper Plasmid)
- ③ TaqMan™ プローブキット (タイター測定用)
- ④ 配列情報、参考文献、参考資料など (必要に応じて)

■複数のセロタイプで高タイターを実現



AAV-MAXシステムは複数のAAVセロタイプで高タイターを実現
125 mLシェーカーフラスコを用いて30 mLスケールで6種類のセロタイプのAAV産生試験を行いました。6種類のセロタイプ全てで高タイトルのウイルスが得られることを確認しました (未精製段階での収量)。

納品物

- ① AAV クルードライセートまたは精製 AAV 溶液
- ② 試験報告書
- ③ 遺伝子組換え生物等の譲渡等の情報提供書

試験フローチャート

受託項目	納 期	説 明
AAV 産生	2～4 週間	ご提供のプラスミド (3 種) と AAV-MAX システムを用いて、AAV 溶液 (クルードライセート) を得ます。
産生した AAV の精製	1 週間	得られたクルードライセートのアフィニティ精製を行います。
精製した AAV の濃縮		限外ろ過法を用いて濃縮を行います。
タイター測定		TaqMan Real-Time PCR によるタイター測定を行います。
産生した AAV の精製		タンパク質の電気泳動を行い純度を確認します。

Q&A

- Q. AAV の収量や活性を保証してもらえますか？

A. AAV の収量、活性などは保証対象外となります。
- Q. AAV 構築に必要な、Transfer Plasmid の構築は行ってもらえますか？

A. 人工遺伝子合成もしくはクローニングサービスにて、承ることが可能です。導入したい遺伝子の配列情報または鋳型となる DNA をご提供ください。
- Q. 最終バッファーの種類を指定できますか？

A. 可否含めて検討させていただきます。ご相談ください。
- Q. 指定プロトコルで実施してもらえますか？

A. ご提供いただければ検討可能です。ご相談ください。
- Q. TaqMan プローブおよびプライマーの設計をしてもらえますか？

A. 目的遺伝子の全長配列をご提供いただき、当社にて設計した候補配列数種類をご案内可能です。

レンチウイルス作製

概要

Gibco™ LV-MAX™レンチウイルス産生システムを用いて、目的遺伝子を発現するレンチウイルスストック液を作製します。哺乳動物細胞での長期発現を目的とし、遺伝子導入の難しい非増殖系細胞、神経細胞、初代腫瘍細胞、接触障害のある細胞などに適しています。

特長

- この産生システムは科学的に定義された無血清・無タンパク質の培地を用いているため、動物由来成分不含です。またCell Therapy Systemsと同等のグレードの製品であるため、基礎研究の次の段階に同じ製品を利用できます。
- 目的タンパク質はGeneArt GeneOptimizerでコドン使用頻度を最適化することにより、発現量の上昇が期待されます。また発現ベクターは人工遺伝子合成で構築します。
- 遺伝子導入が困難な細胞株への遺伝子導入も可能です。特にレトロウイルスでは導入できない非増殖細胞にも導入できます。
- 目的遺伝子をゲノムに挿入できるため、安定株作製に利用可能です。
- 複製能力のない組み換えレンチウイルスなので、他のウイルス種を作らず安全性が高いです(当社のウイルスシステムはバイオセーフティレベルクラス2を推奨しています)。

ご提供いただく物

- ①目的遺伝子の配列情報(人工遺伝子合成でレンチウイルス発現ベクター構築)

納品物

- ①レンチウイルスストック液(1 mL)
- ②データシート
- ③遺伝子組換え生物等の譲渡等の情報提供書

Q&A

Q. タイターはどのように測定しているのでしょうか?

A. 標準方法はp24アッセイになります。ご希望であれば、機能的なアッセイで測定します。薬剤耐性マーカーの場合、HT1080細胞に感染させ、薬剤耐性コロニー数から算出します。一方GFPベクターの場合、感染後の蛍光で算出します。HiPerform™ベクターの場合、 $1 \times 10^5 \sim 10^8$ TU/mLになることが期待されます。

Q. タイターは保証されるのでしょうか?

A. タイターは保証外となります。

Q. ウイルスベクターの構築は行ってもらえますか?

A. 人工遺伝子合成もしくはクローニングサービスにて、レンチウイルス発現ベクター構築を承っております。

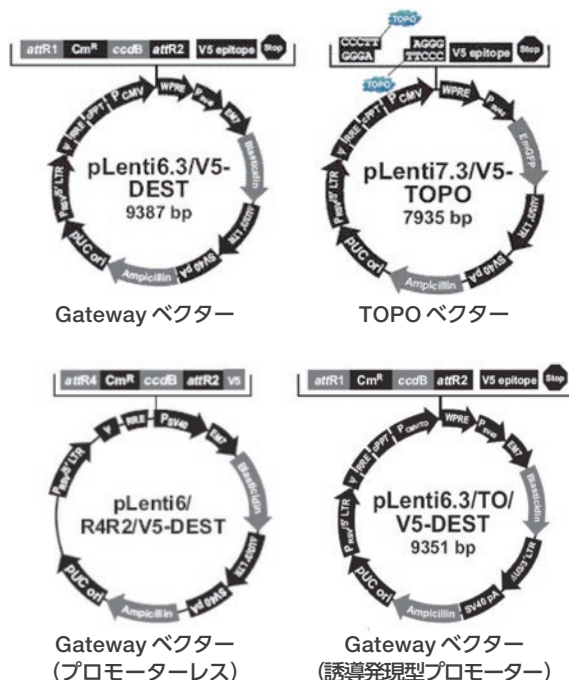
Q. 御社製品以外のベクターでもウイルス作製を行えるのでしょうか。

A. 申し訳ございませんが、当社製品のベクターのみになります。

第3世代レンチウイルスベクター

cPPTとWPPEエレメントが付加され従来のベクターより高い発現量が得られます。

*高タイター・高発現のウイルス作製のため第3世代ベクターでの構築をおすすめします。



Gibco LV-MAXレンチウイルス産生システム

クローニング

クローニングサービス一覧

Gatewayクローニング ～ Gateway対応ベクターへのクローニング ～

HTP対応可

当社は多種・多様な Invitrogen™ Gateway™対応発現ベクターを取りそろえています。最初にエントリークローンを作製すれば、各タンパク質発現用ベクター、遺伝子発現用ベクターへの載せ換えを迅速かつ容易に行えます。さらに当社受託サービスではエントリークローン作製のみ、もしくは発現ベクターへの載せ換えまでのどちらもご用意しています。高い組み換え効率を利用し、長鎖DNAのクローニングなど従来の方法では難しいクローニングにも有効です。

製品のベクターラインアップにご希望のGateway対応発現ベクターがない場合は、お手持ちのベクターをGateway対応ベクターに改変することも可能です。

MultiSite Gatewayクローニング ～ 複数遺伝子を1つの発現ベクターに ～

Invitrogen™ Gatewayシステムの配列特異的組み換え反応を利用し、複数のDNA断片をご希望の順序と方向で1つの発現ベクターにクローニングします。構造遺伝子、プロモーター、タグ配列、IRES (Internal Ribosome Entry Site) など、自由に組み合わせて組み込むことで、キメラ遺伝子発現ベクターや複数遺伝子発現ベクターを構築することが可能です。

パスウェイ再構築、複数遺伝子の発現と調節・タンパク質相互作用研究などが可能です。

TOPOクローニング ～ 各種TOPOベクターへのクローニング ～

HTP対応可

TOPOイソメラーゼの連結反応を利用したクローニング法です。リガーゼ反応による方法と比較して高い組み換え効率を有するため、従来では難しかった少量のPCR産物のクローニングも可能で、マスキングを行う際にも微量に含まれる遺伝子断片を損なうことなくクローニングできます。当社ではタンパク質発現ベクターをはじめGatewayエントリークローン作製用ベクターやDNA断片の配列解析用ベクターなどの多くのTOPOベクターを取りそろえています。

Seamlessクローニング ～ 制限酵素・リガーゼを利用しない型クローニングシステム ～

HTP対応可

従来のクローニング法とは異なり、制限酵素を選ばず、リガーゼ反応を必要としません。構造遺伝子、プロモーター、タグ配列、IRES (Internal Ribosome Entry Site) など、15 bp程度の相同配列を持たせることで連結が可能であり、リンカー配列を必要としません。最大4つのフラグメントの挿入ができ、キメラ発現ベクターの構築などが可能です。

従来法クローニング ～ 制限酵素・リガーゼ反応による切り貼り ～

HTP対応可

一般的に利用されているPCRや制限酵素処理、リガーゼ反応を利用するクローニングです。タグの付加やフレーム合わせなども全て当社で対応します。利用できる制限酵素サイトが不明な場合などは、当社で検索し最適な手順で試験を行います。

HTP (ハイスループット) 対応可：組み換え用のベクターが同じ場合、一度に大量の作業が可能です。
一度に大量の作業を行うことで短期間で安価なサービスをご提供します。



国内拠点 = 羽田事業所
(ISO 9001;2015)

クローニング

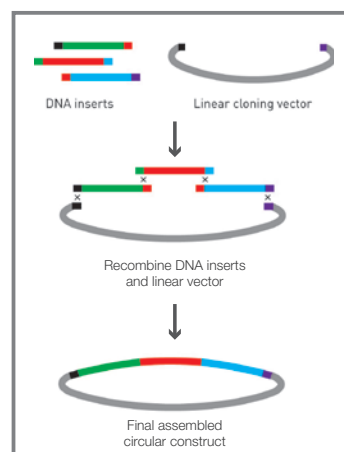
概要

当社独自のクローニングシステムを用いて、豊富な経験に基づいたクローニング技術をご提供します。

- プラスミド→プラスミドへのインサートの載せ換え
- cDNA (またはゲノムDNA) 増幅産物+発現ベクター
- Oligo合成によるshRNAやmiR RNAi発現ベクター構築
- プライマーデザインによる部位特異的変異導入
- データベース未登録配列の取得

特長

- 当社の製品を用いて試験を実施しているため、多くの実績と豊富な知識があります。
- 国内ラボで安心・丁寧なサービスをご提供しています。
- 目的や用途に応じて最適なクローニング方法をご提案させていただきます。



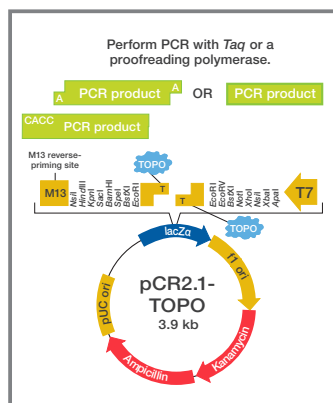
Seamless cloning

ご提供いただく物

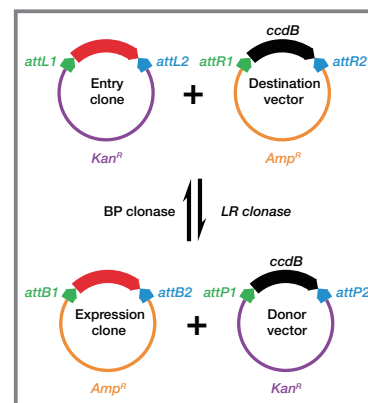
- ①目的遺伝子の配列情報または登録番号 (NM_xxxxxx, ACxxxxxx など)
 - ②鋳型となるDNAサンプル
 - ③クローニングを希望されるベクター: 5 µg以上
- ※当社製品で取り扱いのあるベクターは無償でご利用いただけます (対象外の製品もございます)。

納品物

- ①作製したクローンのプラスミド溶液
- ②試験で合成したプライマー
- ③配列解析結果
- ④試験報告書



TOPO cloning



Gateway cloning

試験フローチャート

受託項目	納期	説明
インサート調製	1週間	目的配列に合わせて設計・合成したプライマーを用いたPCRまたは、相補鎖のoligo DNAをアニーリングさせインサート配列を調製します。
クローニング	2~3週間	ご希望のベクターとインサート配列を連結後、大腸菌を形質転換します。得られたクローンのインサート長および両末端配列を確認します。
配列解析 (オプション)	2週間	ご希望により構築したクローンの全長配列解析を行います。

Q&A

- Q. 提供するテンプレートはRNAでもよいですか？
A. 対応可能です。total RNA (5 µg) をご提供いただければ有償にてcDNAを合成します。
- Q. 大腸菌のグリセロールストックは納品してもらえますか？
A. ご希望をいただきましたら、遺伝子組換え生物等の譲渡等の情報提供書を作成し、無償で対応させていただきます。

- Q. クローニング不成功となった場合の支払いについては？
A. 成功したステップまでは全額、不成功のステップは半額をご請求となります。

ゲノム編集

ゲノム編集サービス一覧

ゲノム上の任意の位置に遺伝子改変を誘導するゲノム編集技術は、生物種を選ばず、これまで不可能だった細胞や生体における遺伝子機能解析を強力に進める技術として期待されています。CRISPR-Cas9システムのgRNA、ベクター構築サービスや、TALsシステムもしくはCRISPR-Cas9システムによる細胞株構築サービスをご用意しています。

GeneArt CRISPR gRNA構築 (p.21)

CRISPR-Cas9システムのgRNAを*in vitro*転写で構築します。

【特長】

Cas9 mRNAもしくはCas9タンパク質と同時にトランスフェクションすることで高効率なゲノム編集を行えます。プラスミドでのトランスフェクションと異なり、外来DNAがゲノムに挿入されるリスクがありません。国内ラボで実施し1週間でお届けします。

GeneArt CRISPR Nuclease Vector構築 (p.21)

CRISPR-Cas9システムのオールインワンベクターを構築します。

【特長】

gRNAとCas9タンパク質をコードする配列がベクターに載っており、普段お使いのトランスフェクション試薬を使って細胞に導入できます。Cas9タンパク質と同時に発現されるOFP/CD4によりトランスフェクションされた細胞を濃縮できます。

GeneArt CRISPR 活性評価 (p.22)

gRNAの切断活性を培養細胞で評価します。

【特長】

切断活性の高いgRNAをあらかじめ選別することで実験の労力を減らすことができます。

ゲノム編集細胞株構築 (p.23)

TALs、CRISPR-Cas9システムを用いて標的遺伝子をノックアウト、ノックインした細胞株を構築します。

【特長】

ゲノム編集ツールをTALs、CRISPRから選択できます。ご提供いただく細胞でゲノム編集効率が高くなるよう、トランスフェクション条件を最適化します。ターゲット部位のゲノムDNA配列の解析結果をご提示し、お選びいただいた細胞株を納品します。

GeneArt CRISPR gRNA構築

概要

Invitrogen™ GeneArt™ Precision gRNA Synthesis Kitを用いてCRISPRによるゲノム編集用のgRNAを*in vitro*転写にて調製します。

特長

- ヒト・マウスはAccession NumberからgRNA配列をデザインし、オフターゲット検索も行います。
- 納品されるgRNAはCas9 mRNAもしくはCas9 Proteinと共に導入することで、すぐに実験にお使いいただけます。
- 国内ラボで実施し約1週間でお届けします。
- Invitrogen™ GeneArt™ Genomic Cleavage Detection Kitを使用して切断効率を確認するための、ゲノムPCR用プライマーセットも合わせてご注文いただけます。

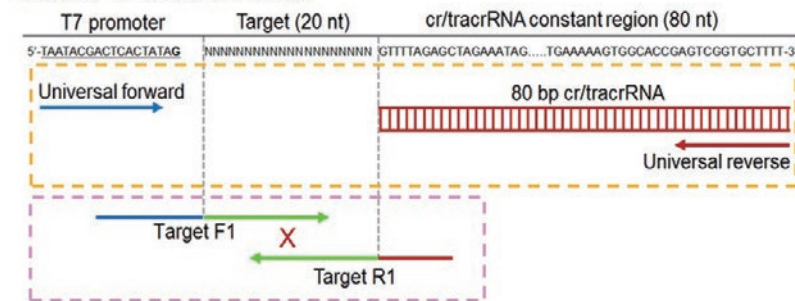
ご提供いただく物

- ①お問い合わせフォーム (Webからダウンロード可能)

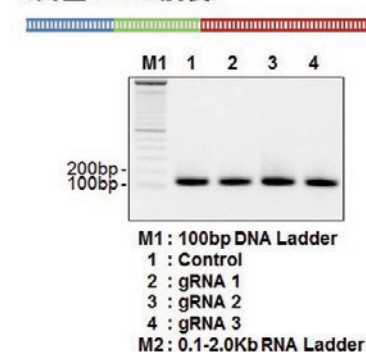
納品物

- ①gRNA溶液 (約20 µg、凍結品)
- ②データシート

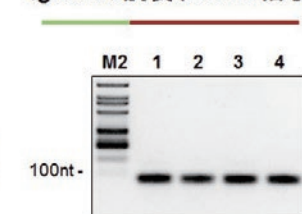
<配列デザイン/オリゴ合成>



<鋳型DNAの調製>



<gRNAの調製 (in vitro 転写)>



GeneArt CRISPR Nuclease Vector構築

概要

Invitrogen™ GeneArt™ CRISPR Nuclease Vector構築は、CRISPR / Cas9システムによるゲノム編集のオールインワンベクターを構築します。お客さまのターゲットに対するgRNAをデザインし、ベクター構築を行い納品します。

特長

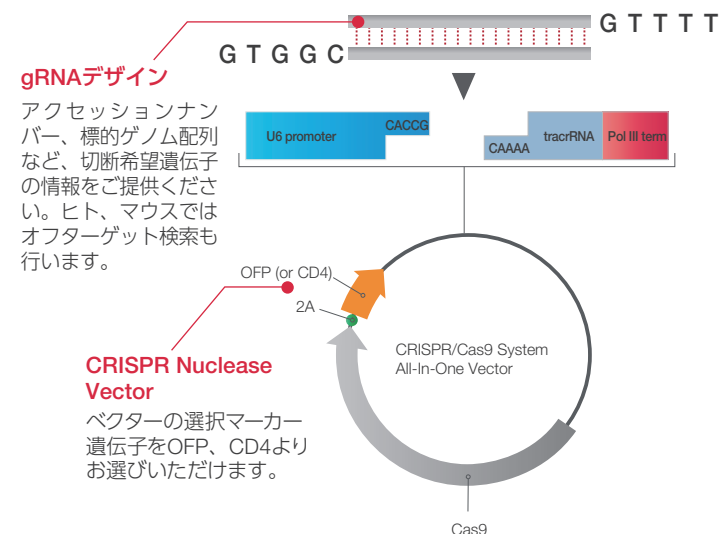
- ヒト・マウスはAccession NumberからgRNA配列をデザインし、オフターゲット検索も行います。
- ベクターの選択マーカー遺伝子を選択可能です (OFP、CD4)。
- 納品されるプラスミドはトランスフェクショングレードですので、細胞への導入にお使いいただけます。

ご提供いただく物

- ①お問い合わせフォーム (Webからダウンロード可能)

納品物

- ①Miniprep プラスミド溶液 (2 mL 培養、凍結品)
- ②試験報告書



GeneArt CRISPR 活性評価 (オプションサービス)



概要

Invitrogen™ GeneArt™ Genomic Cleavage Detection Kitを用いてgRNAもしくはベクターの切断活性を培養細胞で評価します。293FT細胞(ヒト)またはNeuro-2A細胞(マウス)からお選びいただけます。

納品物

- ①試験報告書

試験フローチャート

受託項目	納 期	説 明
お問い合わせフォーム	—	必要事項をご記入の上、ご提供ください。
		
gRNA デザイン	—	ターゲットに対するgRNA デザインを行い、結果をご連絡します。 ご希望のデザインをお選びください。
		
gRNA 構築	1 週間	お選びいただいたデザインに合わせて gRNA もしくはベクターを構築します。
または		
ベクター構築	3 週間	
<オプションサービス>		
活性評価	3 週間	構築した gRNA もしくはベクターの切断活性を培養細胞で評価します。

Q&A

Q. 標的遺伝子1つに対して、いくつかのgRNAをデザインすればよいでしょうか？

A. より切断活性の高いgRNAを用いていただくため、少なくとも3つの配列をデザインすることを推奨いたします。

Q. 切断活性は保証してもらえるのでしょうか？

A. 申し訳ありませんが、切断効率はgRNAの配列だけではなく他の要因によっても影響を受けるため、保証は致しかねます。

Q. デザイン済みの配列でもgRNA構築、ベクター構築を実施してもらえるのでしょうか？

A. はい、構築いたします。デザイン済みの配列をご提供ください。

Q. gRNA、ベクターを提供すれば、活性評価のみを実施してもらえるのでしょうか？

A. 申し訳ありませんが、活性評価はgRNA構築およびベクター構築のオプションサービスとなっておりますので単独ではお受けすることができません。

ゲノム編集細胞株構築

概要

CRISPR-Cas9システムもしくはTALsシステムを用いてターゲット遺伝子をノックアウト、ノックインしたゲノム編集細胞株を構築します。

特長

- ゲノム編集ツールをCRISPR、TALsからお選びいただけます。
- ご希望のゲノム編集に合わせたCRISPR gRNA、TALs mRNA、ドナーDNAを経験豊富なスタッフがデザインします。
- Invitrogen™ Neon™ Transfection Systemを用いて、ご提供いただいた細胞における最適なトランスフェクション条件を検討します。
- CRISPRまたはTALの種類ごとにゲノム編集細胞プールを作製します(最大3種類)。最も編集効率が高いプールからシングルセルクローニングを行います。
- ゲノム編集後の細胞プール作製、シングルセルクローニング、納品用ストック作製の全ての段階でターゲット部位の配列確認を実施します。

ご提供いただく物

- お問い合わせフォーム (Web からダウンロード可能)
- ターゲット遺伝子情報およびノックイン、ノックアウトのデザインを明記したゲノム DNA ファイル
- ゲノム編集をご希望の凍結細胞ストック3本、細胞培養プロトコル

納品物

- ゲノム編集済み細胞株 (1 株当たり凍結細胞ストック3バイアル)
- 試験報告書

試験フローチャート

受託項目	納 期	説 明
トランスフェクション条件最適化 + シングルセルクローニング 方法検討	3週間	ご提供いただいた細胞株でCRISPRもしくはTALs導入のための最適なトランスフェクション条件を検討します。
		FACSおよび限界希釈でシングルセルクローニングが可能かどうか検討します。
gRNA構築 TALEN mRNA構築	3週間	ターゲット遺伝子に対するCRISPR gRNAもしくはTALs mRNAを最大3種類構築します。変異導入用ssDNAオリゴも合わせて合成します。
ゲノム編集細胞プール作製	6週間	検討した中で最適なトランスフェクション条件を用いてCRISPR gRNAもしくはTALs mRNAとドナーDNAを導入し、ゲノム編集細胞プールを作製します。ゲノム編集効率を次世代シーケンサーで確認します。
ゲノム編集細胞株単離	7週間	ゲノム編集した細胞プールをシングルセルクローニング後に拡張し、サンガーシーケンシングによるターゲット部位の配列解析結果をご報告します。
細胞株ストック作製	3週間	お選びいただいた細胞株を拡張し、配列確認、コンタミチェック、マイコプラズマチェック後に凍結細胞ストックを作製します。

*作業内容により納期が異なります。また輸出入・細胞起眠にかかる5週間程度が別途必要となります。

Q&A

Q. 希望した変異体の取得を保証してもらえるのでしょうか？

A. 必ずしもご希望のゲノム編集細胞株の取得を保証するサービスではありません。細胞や遺伝子の特性により取得できない場合があります。

Q. 納品株数は何株まで対応可能でしょうか？

A. 基本は1株です。オプションで株数を増やすことが可能です。

Q. シングルセルクローニング後に、何株のゲノム配列を解析してもらえるのでしょうか？

A. 最大96株解析します。さらに多くの細胞株の解析をご希望の場合はご相談ください。

Q. シングルセルクローニングした細胞株のターゲット部位を次世代シーケンサーで配列解析することは可能でしょうか？

A. オプションで可能です。

幹細胞研究

幹細胞 多能性評価サービス (PluriTest™ 解析)

概要

Applied Biosystems™ PrimeView™ Human Gene Expression Arrayを用いて、ヒト多能性幹細胞 (iPS細胞やES細胞) の多能性を解析します。

特長

- 53万個のプロープで3万6千個以上の転写因子やVariants、総数2万以上の遺伝子を測定します。
- 223個のhES細胞株・41個のiPS細胞株を含む450種類以上の細胞・組織の発現プロファイルと比較します。
- 発現プロファイルから2つの数値指標を算出します。得られた数値指標から各サンプルの多能性を評価します。
- 数値指標をプロットした図も作成しますので、視覚的にも確認できます。

ご提供いただく物

- ①凍結細胞ペレット: 2×10^6 細胞以上
- ②サンプル情報入力フォーム
- ③ご提供サンプルに関する確認書

納品物

- ①解析結果のデータシート

データ例

解析結果一覧表

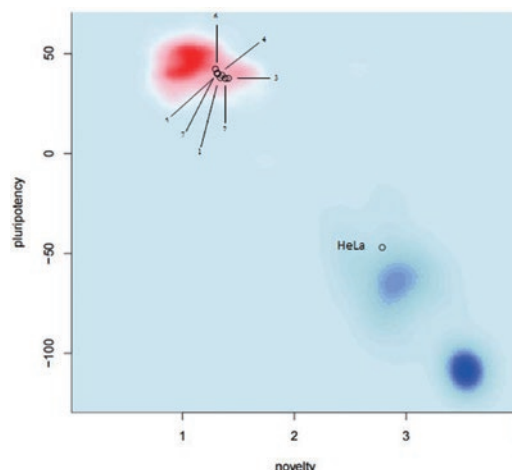
Sample	Sample ID	Type	PluriTest Result	PluriCor	NovelCor
1	I1371V-HE-1	Purified RNA	Pass	37.96209	1.337865
2	I1371V-HE-2	Purified RNA	Pass	37.59399	1.382105
3	I1371V-WT-3	Purified RNA	Pass	37.66662	1.410587
4	I1371V-WT-4	Purified RNA	Pass	39.21261	1.353542
5	I1371V-HZ-1	Purified RNA	Pass	40.32504	1.312132
6	I1371V-HZ-3	Purified RNA	Pass	42.30238	1.294184
7	I1371V-KO-2	Purified RNA	Pass	39.95588	1.309872
8	HeLa	Purified RNA	Fail	-46.9989	2.785876



PrimeView Human Gene Expression Array

解析結果プロット

(赤: Pluripotent、青: Non-Pluripotent)



試験フローチャート

受託項目	納期	説明
PluriTest サービス	5~6週間	ご提供細胞ペレットからRNAを抽出し、マイクロアレイ解析を実施します。

Q&A

Q. 対象となる細胞株は何でしょうか？

A. ヒトiPS細胞、またはヒトPrimary細胞のみとなります。

Q. 細胞ペレットの代わりにRNAサンプルでもよいでしょうか？

A. 申し訳ありませんが、RNAサンプルは承っておりません。

Q. 実績はあるでしょうか？

A. 全世界のアカデミア、バイオベンチャー、大手製薬会社など、幅広いお客さまでの解析実績があります (2022年時点で約60のお客さまから2,500個を超えるサンプル解析実績有)。

スクリーニング

SelectScreen キナーゼプロファイリング

概要

FRET 測定技術を利用したキナーゼプロファイリングサービスです。全ての反応系は、基質の種類や反応試薬の濃度が最適化されているため、化合物の単一濃度における複数のキナーゼの阻害効果や特定のキナーゼの IC50 値を迅速に測定することができます (1 データポイントにつき $n=2$ にて行います)。

タンパク質キナーゼ用の Invitrogen™ Z'-LYTE™ テクノロジー、脂質のような非ペプチド性基質にも対応した Invitrogen™ Adapta™ テクノロジー、活性が弱いあるいは基質が同定されていないキナーゼにも有効な Invitrogen™ LanthaScreen™ Eu Kinase Binding テクノロジーが利用できます。

特長

- 3 つのテクノロジーで 490 種類を超えるキナーゼから選択可能です (変異体を含む)。
(利用可能なキナーゼは随時追加されており、最新のリストはお問い合わせください)
- 蛍光比率測定により、Z' 値が高く安定した結果が得られます。
- 測定後、ご希望のキナーゼをバルクで購入可能です。

ご提供いただく物

- ① 化合物 75 μL 以上 (100% DMSO に測定に用いる 100 倍以上の濃度で溶解した状態。50 アッセイ以上の場合別途ご相談ください)。
- ② お問い合わせフォーム
キナーゼの種類、測定の種類 (シングルポイント測定 / IC50 測定)、化合物の濃度、ATP の濃度など、Web からダウンロード可能

納品物

プロファイリング結果のデータ

試験フローチャート

受託項目	納期	説明
キナーゼ プロファイリング	2~3週間	<ul style="list-style-type: none">キナーゼの種類、測定の種類 (シングルポイント測定または IC50 測定 (3 倍希釈系列での 10 濃度ポイントの測定))、化合物濃度などをご指定いただき、アッセイを行います (1 データポイントにつき $n=2$ にて行います)。ライブラリースクリーニングサービスもご用意しています (ご相談ください。ライブラリーはお客様よりご提供いただきます)。

*化合物サンプルの輸出に別途 1 週間程をいただきます。

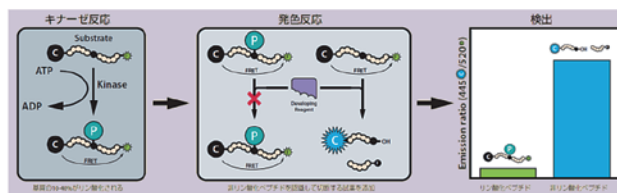
Q&A

Q. データポイントの数え方は？

A. キナーゼの種類、化合物の濃度、ATP の濃度の各 1 条件での測定が 1 データポイントとなります。例えばキナーゼが 12 種類、化合物の濃度が 2 点、ATP の濃度が 1 点で測定した場合、24 データポイントとなります。なお、1 データポイントで 2well 分を測定します ($n=2$)。

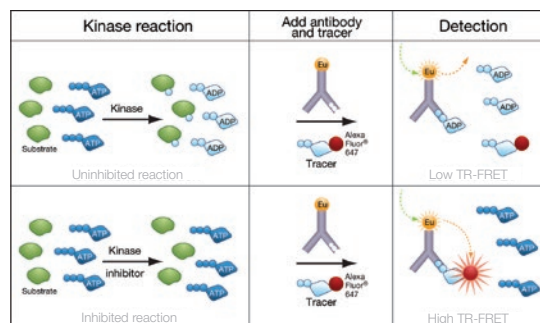
Q. キナーゼの種類はどんなものがありますか？

A. 随時、キナーゼの種類を追加していますので詳しくは当社までお問い合わせください。



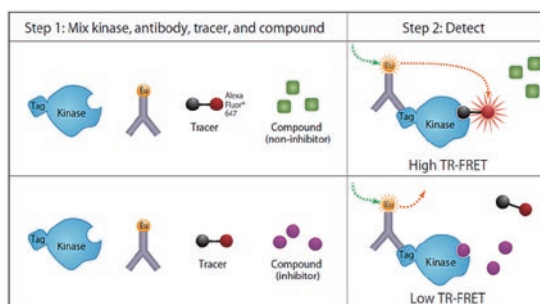
Z'-LYTE テクノロジー

Z'-LYTE ペプチド基質 (クマリン、フルオレセイン標識) を用いた FRET システムです。タンパク質キナーゼはこちらをご利用ください。



Adapta テクノロジー

トレーサー (蛍光標識した ADP) と抗体が結合すると TR-FRET が起こります。キナーゼ反応により ADP が生じるとトレーサーの代わりに ADP が結合し TR-FRET は低くなります。反応が阻害されると ADP が減少し、TR-FRET が高くなります。非タンパク質性基質キナーゼ (脂質キナーゼなど) にはこちらをご利用ください。



LanthaScreen Eu Kinase Binding テクノロジー

ATP 結合部位に結合するトレーサー基質を用いた FRET システム。化合物 (阻害剤) とキナーゼが結合するとトレーサーがキナーゼと結合できないので TR-FRET が低くなります。活性が弱いあるいは基質が同定されていないキナーゼにはこちらをご利用ください。

SelectScreen セルベースアッセイ (核内受容体、GPCR、パスウェイ)

概要

お客さまの化合物サンプルを用いてアゴニスト活性 (EC50 値) 測定、アンタゴニスト活性 (IC50 値) 測定を行います。アッセイ用細胞はアゴニスト活性のある化合物の添加により、βラクタマーゼをレポーター遺伝子として発現するように調製されています。発現したβラクタマーゼの働きにより、FRET 基質が緑色蛍光から青色蛍光へとシフトするため、青色蛍光/緑色蛍光の蛍光比率により、化合物の活性効果・阻害効果を測定します (Invitrogen™ GeneBLAzer™ テクノロジー)。

特長

蛍光比率を用いた GeneBLAzer テクノロジーにより高い Z' 値の安定した結果が得られます。多種類のアッセイ用細胞の中から選択可能です (利用可能な細胞を随時追加しています。最新のリストはお問い合わせください)。

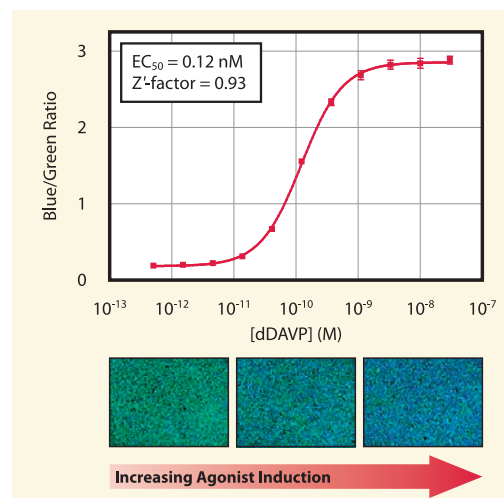
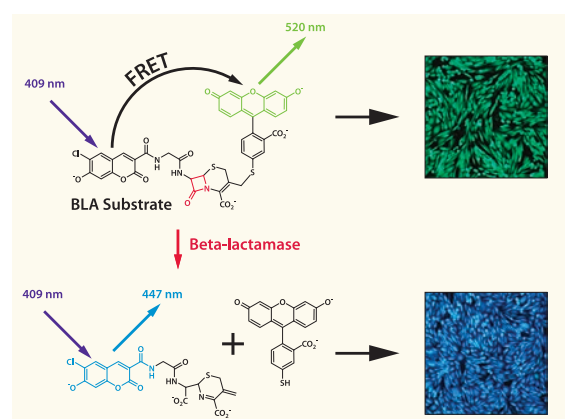
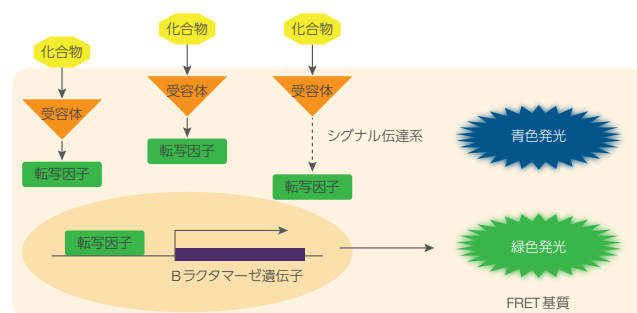
- Invitrogen™ SelectScreen™ Cell-based 核内受容体プロファイリングサービス
アッセイ用細胞: Invitrogen™ GeneBLAzer™ target-specific nuclear receptor cell lines
- Invitrogen™ SelectScreen™ Cell-based GPCR プロファイリングサービス
アッセイ用細胞: GPCR-specific GeneBLAzer Cell Lines、Thermo Scientific™ Tango™ cell lines
- Invitrogen™ SelectScreen™ Cell-based パスウェイプロファイリングサービス
アッセイ用細胞: Invitrogen™ GeneBLAzer™ cell signaling pathway-specific CellSensor™ Cell Lines

ご提供いただく物

- ① 化合物 75 μL 以上 (100% DMSO に測定最大濃度の 1,000 倍の濃度で溶解した状態でお送りください)
- ② 測定条件 (細胞の種類、アッセイモード (アゴニストモード/アンタゴニストモード)、化合物の濃度など)

納品物

プロファイリング結果のデータ



GeneBLAzer テクノロジー

基質には FRET を引き起こす蛍光色素標識がなされており、βラクタマーゼの活性化により基質が切断されると FRET が解消され緑色蛍光 (520 nm) から青色蛍光 (447 nm) へとシフトします。

試験フローチャート

受託項目	納期	説明
SelectScreen セルベースアッセイ (核内受容体、GPCR、 パスウェイ)	5 ~ 7 週間	<ul style="list-style-type: none"> • 細胞の種類、アッセイモード (アゴニストモード/アンタゴニストモード)、化合物濃度をご指定いただきアッセイを行います。 • 10 ポイントの化合物濃度 (1/2log 希釈系列) にてアッセイを行います。 (n=2 にて行います) • アッセイプレートごとに、既知化合物 (アゴニスト) によるコントロールを取り、またアッセイモードに合わせた既知化合物 (アゴニストまたはアンタゴニスト) でタイタレーション試験を行い、予測される EC50 値または IC50 値が得られているかの確認を行います。

*化合物サンプルの輸出に別途 1 週間程をいただきます。

SelectScreen P450 プロファイリング

概要

P450 (CYP) は、生体成分やシグナル分子の合成、物質代謝など多岐の機能に関わる酵素です。特に薬剤や有害物質の代謝に関わるため創薬分野において注目されているタンパク質の1つです。

本サービスでは、当社の Invitrogen™ P450 Vivid™ Assay テクノロジーを用いてお客様の化合物の P450 に対する阻害活性を調べます。

特長

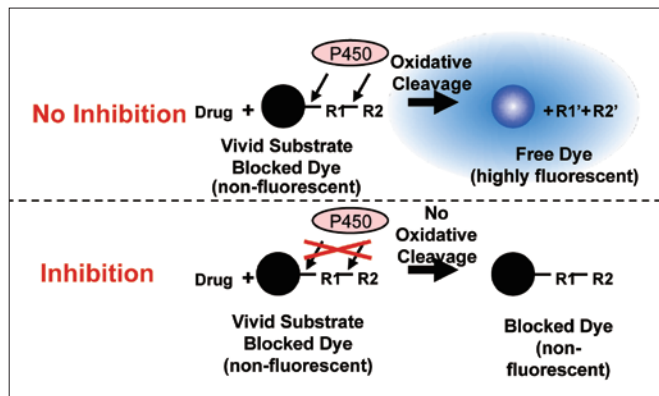
- CYP450 BACULOSOME 試薬は、ヒト P450 アイソザイムとウサギ NADPH-P450 還元酵素を発現する昆虫細胞から調製したミクロソームです。CYP450 BACULOSOME 試薬は1種類の CYP450 酵素だけを発現するので他の CYP450 による代謝がおこらず、ヒト肝ミクロソームより有利です。
- Vivid 蛍光基質は、蛍光、可溶性、動態に優れています。これにより、「高感度」、「シグナルノイズ比の向上」、「アッセイ系としての高い再現性」が得られます。

ご提供いただく物

- ① 化合物 75 μ L 以上 (100%DMSO に測定最大濃度の 100 倍の濃度で溶解した状態でお送りください)
- ② 測定時の化合物の濃度

納品物

プロファイリング結果のデータ



P450 Vivid Assay Technology

CYP450 BACULOSOME 試薬を利用した、チトクロム P450-薬物の相互作用解析用アッセイシステムです。Vivid 基質に P450 が作用すると、蛍光ブロック作用を持つ側鎖が切断され、強い蛍光を発します。本過程が阻害されると基質は非蛍光のままであるため、蛍光値を利用した阻害活性の定量が可能となります。

ご利用可能な P450 アイソザイム

CYP450	Vivid Substrate	known Inhibitor
CYP1A2	EOMCC	alpha-naphthoflavone
CYP2B6	BOMCC	Miconazole
CYP2C8	DBOMF	montelukast
CYP2C9	BOMF	Sulfaphenazole
CYP2C19	EOMCC	Miconazole
CYP2D6	EOMCC	Quinidine
CYP2J2	MOBFC	terfenadine
CYP3A4	BOMCC	Ketoconazole
CYP3A4	DBOMF	Ketoconazole
CYP3A5	BOMCC	Ketoconazole
CYP3A5	DBOMF	Ketoconazole

試験フローチャート

受託項目	納期	説明
P450 プロファイリング	2週間	<ul style="list-style-type: none">• ご希望の P450 アイソザイム、化合物濃度域をご指定いただき、IC₅₀ 値測定を目的としたアッセイを行います。• 10 点の濃度希釈系列 (3 倍 (≒ 1/2log) 希釈系列) を用いて測定を行います (1 点につき n=2 にて行います)。• 数値化した測定データをお送りします。

*化合物サンプルの輸出に別途 1 週間程をいただきます。

SelectScreen hERG スクリーニング

概要

お客様の化合物サンプルを用いて、hERG チャンネル (カリウムチャンネル) に対する阻害効果 (IC₅₀ 測定) を調べます。創業の過程において薬物起因性QT延長症候群のターゲットであるhERG チャンネル (カリウムチャンネル) へのブロック作用のリスク評価は必須ですが、時間と手間を要します。ぜひ、安価でスループット性の高い本サービスを候補化合物群の早期評価にご活用ください。

特長

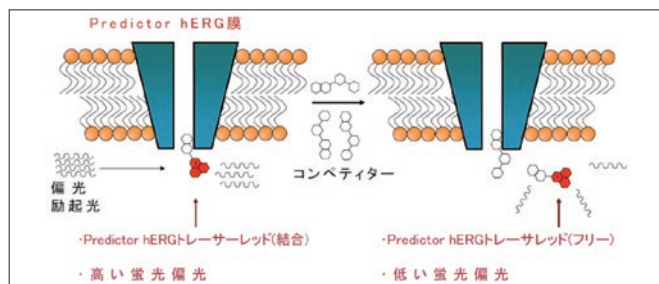
パッチクランプ法で得られるデータと高い相関性を示しながら、より安価で高いスループットの解析を可能とするため、候補化合物群に対する早期評価に最適です。

ご提供いただく物

- ① 化合物 75 μL 以上 (100% DMSO に測定最大濃度の 100 倍の濃度で溶解した状態でお送りください)
- ② 測定時の化合物の濃度

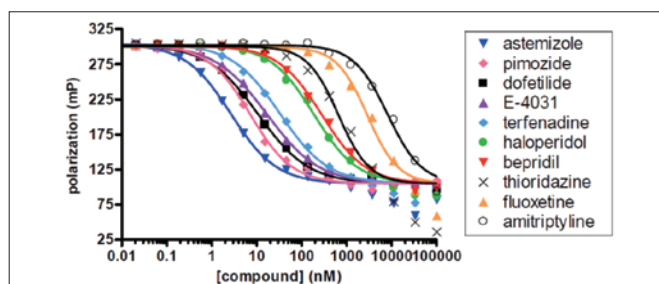
納品物

プロファイリング結果のデータ

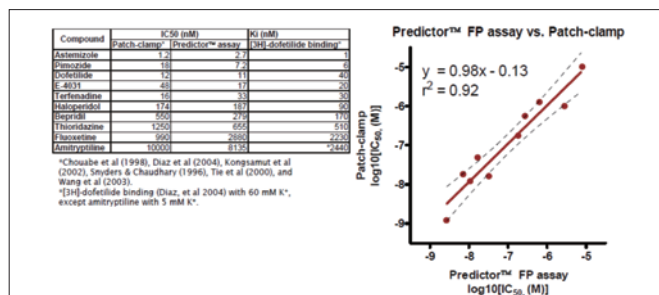


Predictor hERG Fluorescence Polarization Assay システム

Invitrogen™ Predictor™ hERGトレーサーレッドがチャンネルに結合すると高い蛍光偏光を示します。コンペティターにより置き換えられると、Predictor™ hERGトレーサーレッドはフリーになるため偏光値が低くなります (励起: 530 nm 蛍光: 580 nm)。



10個の既知のhERG ブロッカーによるアッセイデータ



Predictor hERG Fluorescence Polarization Assayによるデータとパッチクランプ法によるデータの比較

線形回帰解析により、強い相関が示されました。

試験フローチャート

受託項目	納期	説明
hERG スクリーニング	2週間	<ul style="list-style-type: none"> 化合物濃度をご指定いただきアッセイを行います。 10ポイントの化合物濃度 (1/2log 希釈系列) にてアッセイを行います (n=2 にて行います) 測定後のデータを用いて阻害効果曲線を引き、IC₅₀ 値を算出します。

*化合物サンプルの輸出に別途1週間程をいただきます。

研究用에만使用できます。診断用には使用いただけません。

© 2012, 2015, 2017, 2023 Thermo Fisher Scientific Inc. All rights reserved.

All trademarks are the property of Thermo Fisher Scientific and its subsidiaries unless otherwise specified.

AKTA is a trademark of Global Life Sciences Technologies Japan K.K. TaqMan is a trademark of Roche Molecular Systems, Inc.

実際の価格は、弊社販売代理店までお問い合わせください。

価格、製品の仕様、外観、記載内容は予告なしに変更する場合がありますのであらかじめご了承ください。

標準販売条件はこちらをご覧ください。thermofisher.com/jp-tc IVC010-E23080B

サーモフィッシャーサイエンティフィック ライフテクノロジーズジャパン株式会社

テクニカルサポート ☎ 0120-477-392 ✉ jptech@thermofisher.com

オーダーサポート TEL: 03-6832-6980 FAX: 03-6832-9584

営業部 TEL: 03-6832-9300 FAX: 03-6832-9580

facebook.com/ThermoFisherJapan

@ThermoFisherJP

thermofisher.com

販売店