

化学合成ガイド RNA

はじめに

アジレントの化学合成ガイド RNA は、工業的に標準化された方法で作製された高品質な核酸です。アジレントでは特許済みの独自のケミストリ¹を用いることで、堅牢で効率良く長鎖 RNA オリゴヌクレオチド合成を可能にしました。このケミストリを用いて合成されたアジレントの高品質 CRISPR ガイド RNA は、製造プロセスでのコンタミネーションを最小限に抑え、高い再現性で、挿入・欠失変異を素早く、簡単に導入します。アジレントの研究チームはさまざまな細胞種でガイド RNA の効率・安定性・特異性を向上させる化学修飾を開発しており、特許を取得しております。

特長

- 160 nt までのカスタム配列の合成
- 100 µg から 100 mg (3 – 3,000 nmol) 量の合成
- 臨床グレードおよび GMP 原料専用施設と同等の合成
- 化学修飾 (5'末端および 3'末端での M または MS) の費用を含む
- ご要望に応じ、その他の化学修飾および長鎖 RNA の合成については別途相談

背景

アジレントが開発した化学修飾により、安定性と活性が大幅に向上

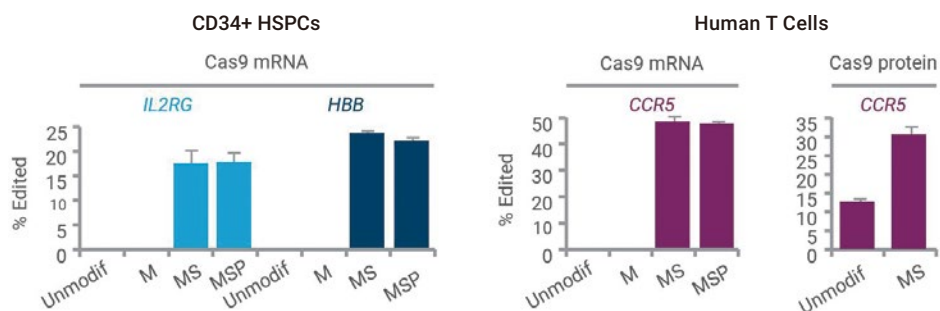


図 1. 化学的に修飾された sgRNA により、細胞内での高頻度の挿入 / 欠失および相同組み換えが促進された²。2'-O-methyl 3'-phosphorothioate (MS), 2'-O-methyl (M)

Agilent sgRNA は厳しい品質基準に適合

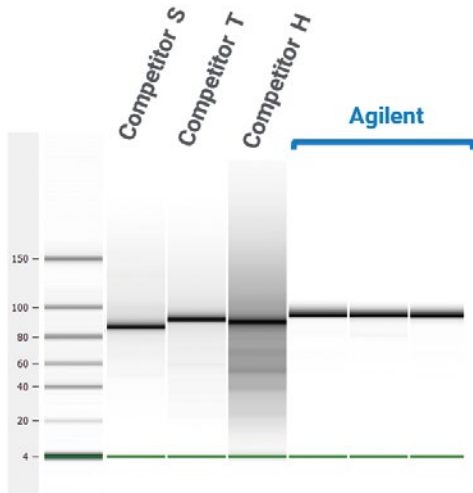


図 2. Agilent Bioanalyzer の Small RNA Assay キットを用いて、長さの異なる sgRNA サンプルを分析

Agilent ケミストリーが長鎖 RNA オリゴの合成を実現

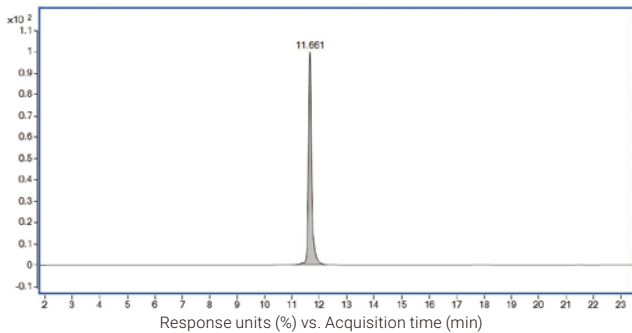


図 3A. Agilent 1290 Infinity II クロマトグラフィーシステムにより、安定的に修飾された精製 100mer sgRNA の HPLC クロマトグラム (ダイオードアレイ検出器、260 nm)。最大 144 ナクレオチドのオリゴでも同様の結果が得られた。なお、最大 162mer までのカスタムシーケンスをご要望により、合成することが可能です。

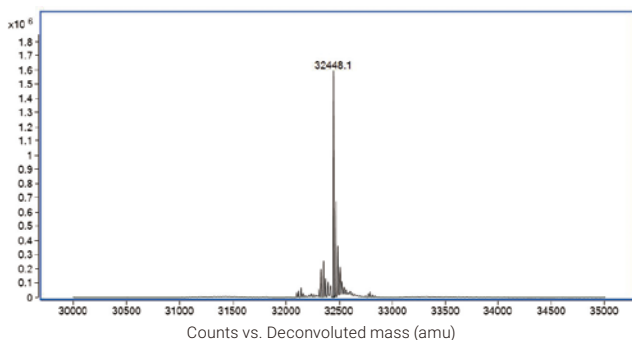


図 3B. Agilent 6545 QTOF 質量分析計により、安定的に修飾された精製 100mer sgRNA のデコンボリューションしたマススペクトル。予想質量、32446.9 amu。実測質量、32448.1 amu。最大 144 ナクレオチドのオリゴでも同様の結果が得られた。なお、最大 162mer までのカスタムシーケンスをご要望により、合成することが可能です。

研究から GMP ソリューションへの移行をサポート

アジレントの核酸ソリューション部門では、研究で見出したオリゴの候補を臨床・市場へ導くための手助けをすることが可能です。アジレントと連携することで得られる数ある利点のうちの 1 つは、研究グレードから GMP グレードまでシームレスにおつなぎすることができる点にあります。

豊富な知識と経験をもつアジレントの核酸エキスパートは、高純度の R&D グレードのオリゴを予備的な研究や開発フェーズのパイロットとして提供し、準備ができた段階で大量の GMP へのスケールアップを加速できます。アジレントは、初期段階の研究から臨床開発、商品化まですべての段階でお客様をサポートいたします。

参考文献

Publications

- Dellinger, D.J., et al. Streamlined Process for the Chemical Synthesis of RNA Using 2'-O-Thionocarbamate-Protected Nucleoside Phosphoramidites in the Solid Phase, *J. Am. Chem. Soc.* 133, 11540–11556 (2011); DOI: [10.1021/ja201561z](https://doi.org/10.1021/ja201561z)
- Hendel, A., et al. Chemically modified guide RNAs enhance CRISPR-Cas genome editing in human primary cells. *Nature Biotechnology*, Vol. 33 No. 9 (2015); DOI: [10.1038/nbt.3290](https://doi.org/10.1038/nbt.3290)
- Ryan, D.E., et al. Improving CRISPR-Cas specificity with chemical modifications in single-guide RNAs. *Nucleic Acids Research*, Vol. 46, No. 2 (2018); DOI: [10.1093/nar/gkx1199](https://doi.org/10.1093/nar/gkx1199)

Agilent patent application (United States)

- US20160289675, US20180051281 - Guide RNA with chemical modifications, Ryan, et al.
- US20170355985 (Patent pending) - High specificity genome editing using chemically modified guide RNAs, Dellinger, et al.

License information

- <https://www.agilent.com/en/product/crispr-cas/limited-license-caribou>
- <https://www.agilent.com/en/product/crispr-cas/limited-license-broad>

製品情報

製品情報	製品
製品 Web サイトへ	SureGuide Chemically Synthesized sgRNA

ガイド RNA 設計につきましては、お手元の設計ツールをご利用ください。また、アジレントが提供する SureDesign (<https://earray.chem.agilent.com/suredesign/>) でも、設計が可能です。

[お問い合わせ窓口]

アジレント・テクノロジー株式会社

本社 / 〒192-8510 東京都八王子市高倉町 9-1
●カスタムコンタクトセンター ☎0120-477-111
mail : email_japan@agilent.com

※仕様は予告なく変更する場合があります。
※本資料掲載の製品はすべて研究用です。
その他の用途にご利用いただくことはできません。

<http://www.agilent.com/chem/genomics:jp>
(PR7000-2127)

© Agilent Technologies, Inc. 2020

本書の一部または全部を書面による事前の許可なしに複製、
改変、翻訳することは、著作権法で認められている場合を除き、
法律で禁止されています。

Printed in Japan, June, 2020
5994-0580JAJP