

# sigmania

シグマニア

Sigma-Aldrichを中心に、バイオロジー研究に  
役立つ新製品と注目の試薬を一気に紹介!  
すでに人気の製品から、隠れた人気製品まで。  
ぜんぶ知っているあなたはシグマニア?

## アップデート 核酸実験



### CONTENTS

#### シグマニア必見!

シリカベースの核酸精製と  
GenElute™-E による新たな核酸精製 . . . . . 2

不純物を減らしてパフォーマンスを向上  
GenElute™-E シングルスピン  
DNA・RNA 精製キット  . . . . . 3

定量 PCR (quantitative PCR) の検出方法 . . . . . 4

 × sigmania  
定量 PCR の試薬 . . . . . 5

カスタムオリゴ・qPCR プローブ . . . . . 6

そうだったんだ!  
テクニカルサービスよりよくあるご質問にお答えします!  
カスタムオリゴ関連 . . . . . 7

RNP による効率の良い遺伝子編集  
Cas9 タンパク質と SygRNA® の RNP 複合体による  
遺伝子編集の概要  . . . . . 8

information  
読んで楽しく役に立つメルクのデジタルツール  
サイエンス系お役立ちメディア  
「M-hub (エムハブ)」 . . . . . 9

メルク的环境への取り組み  
SMASH パッケージ . . . . . 10

省資源・省スペース  
“ファネルレス” ボトルトップフィルター  
ステリカップ® E & ステリトップ® E . . . . . 11

パズルでハカセと対決! . . . . . 12

#### 表紙のスポーツは?

ハカセが挑戦しているのはカイトサーフィン。専用の大きな凧(カイト)で風を受けて、波に乗るだけでなく、飛ぶことも出来るマリンスポーツです。

# シリカベースの核酸精製と GenElute™-E による新たな核酸精製

シグマニア  
必見!

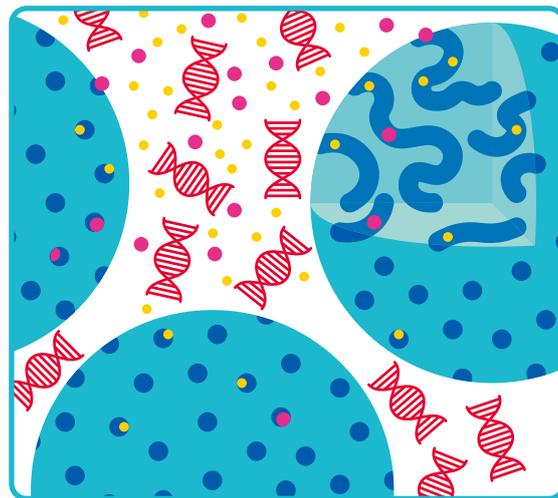
ゲノム DNA や RNA など核酸の精製として、従来からシリカによる核酸の結合とエタノールによる洗浄と溶出による方法が用いられています。このシリカベースによる精製は、フェノールクロロホルムによる抽出より改善された方法として開発されましたが、もっと良い精製方法はないのでしょうか？

## 従来のシリカベースによる核酸精製

シリカベースによる精製方法はパーフェクトではありません。複数回の洗浄と遠心ステップがあり、多くの手作業と待ち時間を要します。さらに、DNA や RNA がシリカに結合するためにカオトロピック塩が必要となり、核酸の濃度を高く見誤ってしまうことや、qPCR などで酵素のプロセスに影響を及ぼすことがあります。

## GenElute™-E の原理と利点

GenElute™-E シングルスピン核酸精製システムは、高濃度の塩による結合やエタノールによる洗浄ステップをなくし、不純物の少ない DNA・RNA の精製が可能です。GenElute™-E DNA・RNA 精製キットはサイズ排除に基づくネガティブクロマトグラフィー法によって、細胞、組織、血液中などのサンプルから小さなタンパク質、脂質およびイオン性物質と核酸分子を分離します。

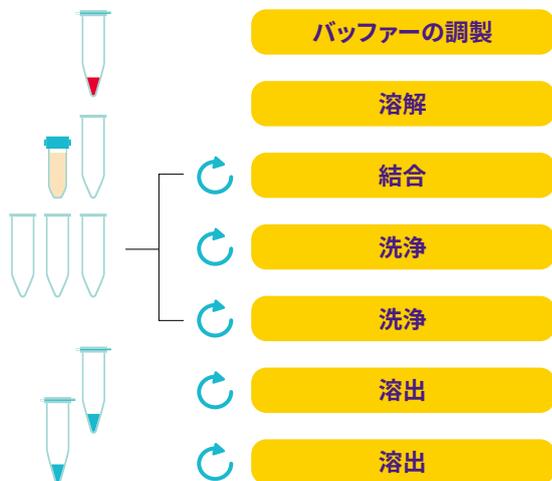


ネガティブクロマトグラフィー法を用いることで、GenElute™-E シングルスピンカラムはサンプル内の不純物を効率的に吸着・保持して核酸をカラムに流し出し、複数のステップを削減することにより廃棄物（プラスチックチューブやチップなど）も削減します。また、新たな溶解方法としてサンプル特異的な溶解をする SmartLyse® プロテアーゼによって効率的に溶解することができ、オーバーナイトの処理が不要となります。

### シリカより優れている 3つのポイント

- シンプルな手順
- 優れたパフォーマンス
- 廃棄物の削減

### 従来のシリカメンブレン法



- 溶解：45 分間 ~ 一晩
- 精製：45 分間の作業、6 回の遠心

### GenElute™-E シングルスピン技術



- ✓ 時間の削減
- ✓ 手間の削減
- ✓ 廃棄物の削減

- 溶解：10 ~ 40 分間
- 精製：3 分間の作業、1 回の遠心

販売取扱について：カタログ番号を青で表記している製品の取扱いはメルク株式会社、赤で表記している製品の取扱いはシグマ アルドリッチ ジャパン合同会社となります。ご確認のうえ、各社へご注文くださいますようお願い申し上げます。

# 不純物を減らしてパフォーマンスを向上 GenElute™-E シングルスピ DNA・RNA 精製キット

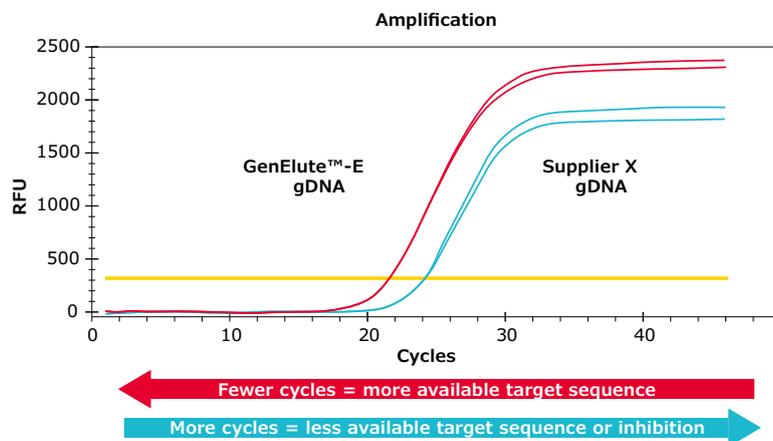


シリカベースの DNA および RNA 調製法では、精製中に変性塩やエタノールなどの有機溶媒をサンプルに添加します。これらの化学物質は下流のアプリケーションに持ち越され、酵素反応の阻害につながる可能性があります。これらの化学物質を除去することで、qPCR などの酵素的手法の感度と堅牢性を高めることができます。結合塩および緩衝成分は、核酸定量で使用される紫外線 (UV) 測定にも影響を与える可能性があります。トリス、EDTA、およびグアニジニウムは 230 nm で強く吸収し、DNA および RNA 濃度の計算に使用される 260 nm の吸光度範囲にブリードして、推定濃度と収量を誤って上昇させる可能性があります。

GenElute™-E 精製キットは調製プロセスから不純物を排除することで、より信頼できる結果をご提供します。

## GenElute™-E シングルスピ精製の特長

- 酵素プロセスへの干渉を最小限に抑え核酸純度と品質の向上
- qPCR などのダウンストリームアプリケーションでのより堅牢なパフォーマンスを提供



## マウス腎臓組織からの同等の計算量の ゲノム DNA を追加した qPCR 分析の結果

増幅曲線は、サプライヤー X のシリカベースのスピプレップキット (青い曲線) と GenElute™-E シングルスピネガティブクロマトグラフィー精製キット (赤い曲線) で調製したサンプルを使用して作成しました。シリカ精製サンプルの曲線は、GenElute™-E ネガティブクロマトグラフィーを使用して精製したサンプルと比較して右にシフトしており、シリカ精製サンプルには干渉物質または過大評価された濃度が存在することが示されています。

## アプリケーションに応じた製品ラインアップ

	フェノール抽出法の代替 <sup>2</sup>	核酸の脱塩	結合・洗浄・溶出ステップを用いた抽出法の代替	PCR 産物の精製	酵素反応の精製	バッファー交換 <sup>3</sup>
GenElute™-E Single Spin DNA CleanUp Kit		✓	✓	✓	✓	✓
GenElute™-E Organic Solvent DNA CleanUp Kit	✓	✓				✓
GenElute™-E Single Spin RNA CleanUp Kit <sup>1</sup>	✓	✓	✓			✓

1. Does not recover miRNAs, tRNAs, small RNA molecules 2. TRIzol™ reagents; Phenol/Chloroform based extractions 3. Buffering to low mM Tris, pH 8.2

## ここもポイント! GenElute™-E は持続可能性および環境に配慮した製品です Greener alternative products

### 廃棄物の削減



シリカベースのキットと比較して、プラスチック消耗品 (チューブ、ピペットチップ) の消費量を 55%削減

### 持続可能性



持続可能な森林認証とパッケージ内容物の 70%以上がリサイクル可能。でんぶん由来のパッケージを使用

### 使いやすさの改善



より少ないステップで簡素化されたワークフロー

### 廃棄物の安全性



エタノールとカオトロピック塩を含む結合と洗浄のステップを排除することにより、有害な廃液を非排出

GenElute™-E キットは、従来のシリカベースの方法と比較して、危険な液体廃棄物を回避し、プラスチック廃棄物の量を大幅に削減するため、「12 原則に準拠した製品」のカテゴリーの下でより環境に優しい代替製品として分類されます。SMASH パッケージング®の原則にも準拠しています。

\*パッケージングの削減、材料の持続可能性の向上、リサイクルの容易化を通じて持続可能性の向上を推進する計画です。(本誌 10 ページ参照)

キットの詳細と製品はこちら

<https://bit.ly/20448851w-CL>

【製品の技術的なお問い合わせ (テクニカルサービス)】

<メルク製品> TEL : 03-4531-1140  
<シグマ製品> TEL : 03-6756-8245

Email : [jpts@merckgroup.com](mailto:jpts@merckgroup.com)  
Email : [jpts@merckgroup.com](mailto:jpts@merckgroup.com)

# 定量 PCR (quantitative PCR) の検出方法

定量 PCR (qPCR、リアルタイム PCR) には SYBR® Green I 蛍光色素のように二本鎖 DNA に結合する色素を用いる方法とプローブを用いる方法があります。

## SYBR® Green I 蛍光色素

この色素は、最も一般的な二本鎖 DNA 結合色素であり、分子生物学において長く使用されてきました。SYBR® Green I 蛍光色素は、一本鎖 DNA (ssDNA) しか存在しない場合、DNA に結合せずに溶液中に遊離した状態で存在し、低強度のシグナルを発生しています (図 1)。PCR が進行し二本鎖 DNA 量が増えると、アンプリコンに結合する色素が増えるため、結果としてシグナル強度が上昇します。しかし、この色素はすべての増幅産物に非選択的に結合するため、プライマーダイマーやプライマーの非特異的結合などに起因するアーティファクト (予期せぬ副産物) も蛍光発光全体に含まれてしまいます。このため、特にテンプレート濃度が低い場合などに正確な定量データが得にくくなりますが、PCR 後の融解曲線解析は、反応の特異性を決定するのに役立つ可能性があります<sup>1</sup> (図 2)。

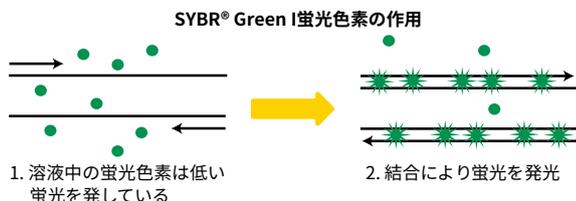


図 1. 反応が進行し、アンプリコン量の増加に伴ってシグナル強度が上昇すると、SYBR® Green I 蛍光色素は、非結合 (変性) 状態と結合 (伸長反応によるアニーリング) 状態を繰り返す。

## プローブ (両末端蛍光プローブ)

両末端蛍光プローブは、両末端がレポーター蛍光色素および消光基で標識された一本鎖オリゴヌクレオチドです。レポーターは 5' 末端に位置し、消光基は 3' 末端に位置します。DNA と反応していない状態では、消光基はフェルスター型の蛍光共鳴エネルギーの移動 (蛍光共鳴エネルギー転移 (Fluorescence Resonance Energy Transfer, FRET) と呼ばれることが多い) により、レポーター蛍光色素が発している蛍光を吸収しています。フォワードプライマーから増幅した後、Taq DNA ポリメラーゼはプローブと接触します。その後、Taq DNA ポリメラーゼに本来備わっている 5' エキソヌクレアーゼ活性により、5' レポーターが 3' 消光基から離されることで (表 1、図 3)、アンプリコンの合成量に比例する蛍光シグナルが放出されます。

この加水分解プローブアッセイは、低コピー数のターゲットの定量にとって特異的で正確なものです。プローブのなかに LNA® などの修飾ヌクレオチドを含ませることで、特異性がさらに向上する可能性があります。LNA 修飾プローブは、一塩基多型 (SNPs) などの極めて良く似ている配列同士または他の類似配列を区別するのに特に有用です。両末端蛍光プローブは綿密にデザインする必要があり、一般的に二本鎖 DNA 結合色素よりも高価です。さらに、非特異的な産物の増幅が見過ごされる可能性があり、副反応が起きて全体の反応の効率を下げる原因になることもあります。したがって、プローブが関わるアッセイはまだ最適化が必要です。

### 参考文献:

1. Kitchen, R.R., Kubista, M., Tichopad, A. Statistical aspects of quantitative real-time PCR experiment design. *Methods* 2010; 50: 231-236.

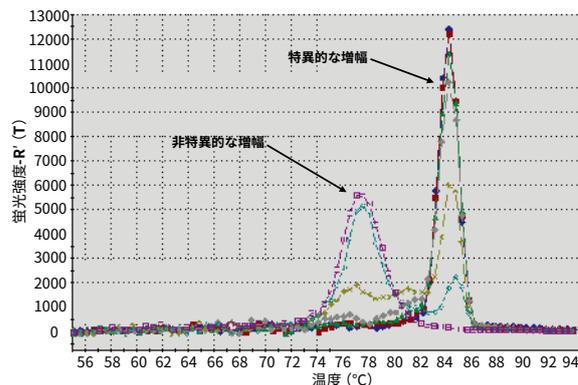


図 2. 融解曲線解析の例。二本鎖 DNA 結合色素は可逆的に結合するため、反応温度が融解温度 (Tm) を上回ると蛍光強度が減少する。このタイプの解析は、コントロールと併せて用いることで、特異的な産物とは異なる温度で融解する非特異的な産物の検出を可能にする。

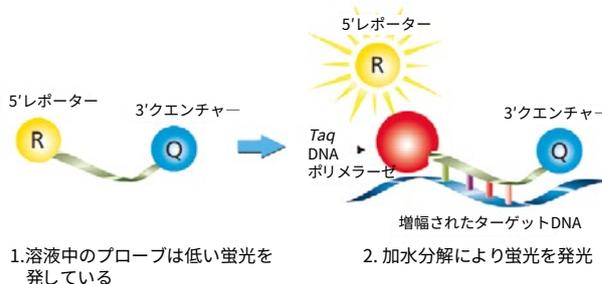


図 3. 両末端蛍光プローブのメカニズム。Taq DNA ポリメラーゼは、プローブの位置に達するまでプローブと同じ鎖に位置しているプライマーを伸長する。内在するエキソヌクレアーゼ活性がプローブを 5'→3' 方向に加水分解し、溶液中にレポーター蛍光色素を放出することにより、蛍光発光を増加させる。測定した蛍光シグナルはターゲット DNA 量に正比例する。

表 1. 一般的な両末端蛍光プローブレポーター蛍光色素の波長特性

品名	励起極大 (nm)	発光極大 (nm)	適合する消光色素
<b>レポーター蛍光色素</b>			
6-FAM™	494	515	BHQ®-1, TAMRA™
JOE™	520	548	BHQ®-1, TAMRA™
TET™	521	536	BHQ®-1, TAMRA™
Cal Fluor® Gold 540 <sup>a</sup>	522	541	BHQ®-1
HEX™ <sup>b</sup>	535	555	BHQ®-1, TAMRA™
Cal Fluor® Orange 560 <sup>b</sup>	540	561	BHQ®-1
TAMRA™	555	576	BHQ®-2
Cyanine 3	550	570	BHQ®-2
Quasar® 570 <sup>c</sup>	548	566	BHQ®-2
Cal Fluor® Red 590 <sup>d</sup>	565	588	BHQ®-2
ROX™	573	602	BHQ®-2
Texas Red™	583	603	BHQ®-2
Cyanine 5	651	674	BHQ®-3
Quasar 670 <sup>e</sup>	647	667	BHQ®-3
Cyanine 5.5	675	694	BHQ®-3

a: JOE/TET の代替      c: Cyanine3 の代替      e: Cyanine5 の代替  
b: VIC™ の代替      d: TAMRA™ の代替

ほとんどのリアルタイム PCR サーマルサイクリャーには、複数の検出チャンネルが備わっており、プローブ標識の柔軟な選択を可能としている。機器の検出チャンネルに対応可能なレポーター蛍光色素の選択に加えて、適正なフィルターの設定とキャリブレーションが確実に実行されていることが重要である。多重解析の場合、光学的なクロストークを最小化するために可能な限り互いに異なるレポーターの組み合わせが必要とされる。代表的なレポーターとしては、FAM™、HEX™、Texas Red™ および Cyanine5 がある。通常は、同一の条件下で異なるレポーターからの発光強度の差を観察する。これは、(プローブ発光に適した異なるしきい値設定により) それぞれのレポーターの組み合わせから個別にデータを解析するのが望ましいためである。

定量 PCR の原理とプローブのデザインが分かる動画はこちら

[https://bit.ly/PCR\\_qPCR\\_RT-PCR](https://bit.ly/PCR_qPCR_RT-PCR)



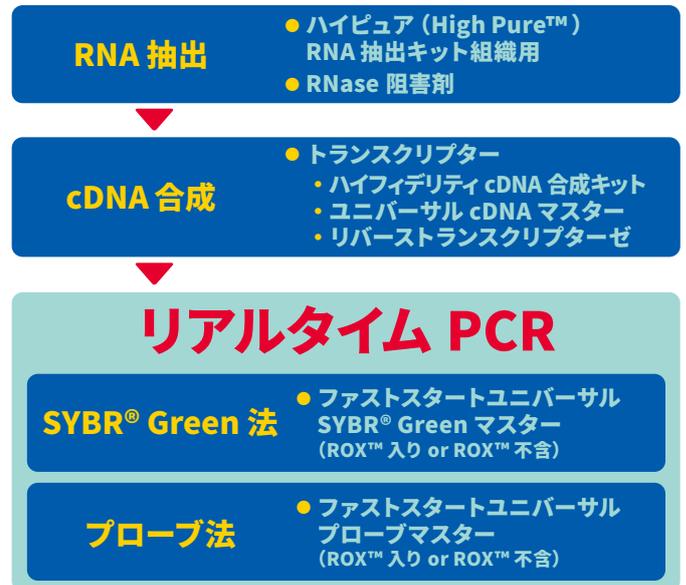
販売取扱について：カタログ番号を青で表記している製品の取扱いはメルク株式会社、赤で表記している製品の取扱いはシグマ アルドリッチ ジャパン合同会社となります。ご確認のうえ、各社へご注文くださいますようお願い申し上げます。

定量 RT-PCR (RT-qPCR) は、mRNA 発現の定量や RNA ウイルスの検出に一般的に行われています。定量 RT-PCR は最初のステップで対象サンプルの RNA を cDNA に逆転写し、次のステップで cDNA をリアルタイム PCR によって定量します。これらを 1 ステップで行う方法と 2 ステップで行う方法があり、2 ステップで行う場合は単一のサンプルに対し並行して複数ターゲットの定量を行えるため、各条件を最適化できるという利点があります。

2 ステップによる定量 RT-PCR (2 ステップリアルタイム PCR) の最初のステップとして、Roche 社のトランスクリプター逆転写酵素 (Transcriptor Reverse Transcriptase、トランスクリプターリバーストランスクリプターゼ) は RNA から cDNA 合成するために理想的な酵素です。トランスクリプター逆転写酵素は巻き戻し (unwinding) 活性および RNase H 活性を持つリコンビナント酵素で、内在するこれらの酵素活性により RNA : DNA ハイブリッド内の RNA を分解します。この作用により、逆転写反応後に時間のかかる RNase H 処理のステップを追加する必要がなくなります。

また、2 ステップ目に用いるファストスタート Taq DNA ポリメラーゼは便利な 2x マスターミックス溶液で、SYBR® Green 用とプローブ用、ROX™ 色素含有と不含のどちらもご用意しており、ABI や BioRad など一般的なリアルタイム PCR 装置に適しています。

## 2 ステップリアルタイム PCR のワークフロー



※ ROX™ 入りのマスターミックスは、ROX™ 色素によるシグナル補正が必要なリアルタイム PCR 装置に適しています。

### RNA 抽出

製品名	説明・製品構成	容量・回数	カタログ番号
ハイピュア (High Pure™) RNA 抽出キット	動物組織サンプル用	50 回分	12033674001
RNase 阻害剤 Protector	RNA サンプルの分解抑制	2,000 U	3335399001
		5 x 2,000 U	3335402001

### cDNA 合成 (逆転写)

製品名	説明・製品構成	容量・回数	カタログ番号
トランスクリプターユニバーサル cDNA マスター	逆転写 (一本鎖 cDNA 合成) Transcriptor Universal Reverse Transcriptase (20 倍濃縮) と反応バッファー (5 倍濃縮) のセット	100 回分	5893151001
トランスクリプターリバーストランスクリプターゼ	逆転写 (一本鎖 cDNA 合成) 用のトランスクリプターリバーストランスクリプターゼ溶液	25 回分	3531317001
		50 回分	3531295001
		200 回分	3531287001
トランスクリプターハイフィデリティ cDNA 合成キット	逆転写 (一本鎖 cDNA 合成) 一本鎖 cDNA 合成反応に必要なすべての試薬が揃っています	50 回分	5081955001
		100 回分	5091284001
		200 回分	5081963001

### 2 ステップリアルタイム PCR 試薬

※ Roche 社の装置 (LightCycler® シリーズ) ではご使用になれませんのでご注意ください。

製品名	検出方法	ROX™ Dye	説明・製品構成	容量・回数	カタログ番号
ファストスタートユニバーサル SYBR® Green マスター /ROX™	SYBR® Green 法	○ <sup>1</sup>	FastStart™ Taq DNA ポリメラーゼ、反応バッファー、ヌクレオチド (dATP、dCTP、dGTP、dUTP)、SYBR® Green I および ROX™ 色素を含む、2 倍濃縮のマスターミックスです	200 回分 (50 µL 反応系)	4913850001
				2,000 回分 (50 µL 反応系)	4913914001
ファストスタート SYBR® Green マスター	SYBR® Green 法	— <sup>2</sup>	2 倍濃縮のマスターミックスで、FastStart™ Taq DNA ポリメラーゼ、反応バッファー、ヌクレオチド (dATP、dCTP、dGTP、dUTP) および SYBR® Green I を含んでいます	500 回分 (20 µL 反応系)	4673484001
				5,000 回分 (20 µL 反応系)	4673492001
ファストスタートユニバーサル プローブマスター /ROX™	プローブ法	○ <sup>1</sup>	FastStart™ Taq DNA ポリメラーゼ、反応バッファー、ヌクレオチド (dATP、dCTP、dGTP、dUTP) および ROX™ 色素を含む、2 倍濃縮のマスターミックスです	250 回分 (20 µL 反応系)	4913949001
				1,250 回分 (20 µL 反応系)	4913957001
				5,000 回分 (20 µL 反応系)	4914058001
ファストスタート TaqMan® プローブマスター /ROX™	プローブ法	— <sup>2</sup>	FastStart™ Taq DNA ポリメラーゼ、反応バッファーおよびヌクレオチド (dATP、dCTP、dGTP、dUTP) を含む 2 倍濃縮のマスターミックスです	100 回分 (50 µL 反応系)	4673409001
				500 回分 (50 µL 反応系)	4673417001

\*1 ROX™ 補正が必要な装置 : ABI 7500、ABI 7900 HT、StepOne Plus™、ViiA™ 7 など

\*2 ROX™ 補正が不要な装置 : Bio-Rad CFX96 Touch、RotorGene Q など

# カスタムオリゴ・qPCR プローブ



## 基礎研究から製品開発までサポート

メルクは PCR 用プライマーから製品開発にも使える高品質なオリゴまで、さまざまなアプリケーションに適したオリゴを合成しています。日常的な研究で使用するプライマーは、高品質なオリゴを迅速かつリーズナブルにご提供できるように努めています。一方で、研究から一歩進んだ製品開発のステップで使用できるような、より厳しい品質管理をクリアしたオリゴや、大容量のオリゴなども合成することが可能です。

### カスタムオリゴのラインナップ

製品名	合成スケール (μモル)	精製 <sup>※1</sup>				鎖長 (塩基) <sup>※2</sup>	修飾	納品形態		
		脱塩	カートリッジ	HPLC	PAGE			乾燥	TE <sup>※4</sup>	
DNA Oligo	0.025	○	○	×	×	~ 120	○ <sup>※3</sup>	○	○	
	0.05	○	○	○	○		○	○	○	
	0.2	○	○	○	○		○	○	○	
	1.0	○	○	○	○		○	○	○	×
	10	○	×	○	×		○	○	○	○
	15	○	×	○	×		○	○	○	○
Easy™ Oligo	0.025	○	×	×	×	15 ~ 30	×	×	○	
Pure & Simple	0.05	×	○	×	×	12 ~ 35	×	○	×	
Long Oligo	—	×	○	×	○	121 ~ 180	○	○	×	
iScale Oligo	仕様によって異なる	○	×	○	×	仕様によって異なる	○	○	○	
Next-Gen Sequencing Oligo	仕様によって異なる	×	○	○	×	仕様によって異なる	○	○	○	

※1 精製の種類によっては対応できない鎖長・修飾があります ※3 特殊塩基のみ対応可能  
 ※2 配列・精製によって 120 mer まで対応できないことがあります ※4 修飾品は乾燥のみ対応可能

### カスタムオリゴのアプリケーション・特長

製品名	アプリケーション <sup>※5</sup>	特長
DNA Oligo	PCR/RT-PCR/ シーケンシング / クローニング等	幅広い修飾・精製に対応可能
Easy™ Oligo	PCR	脱塩、100 μM に調整済みの定額プライマー
Pure & Simple	PCR	カートリッジ精製、乾燥品の定額プライマー
Long Oligo	ゲノム編集等	121 ~ 180 塩基まで対応。CRISPR にも使えるロングオリゴ
iScale Oligo	In vivo 研究等	mg, g 単位で製造するオリゴ
Next-Gen Sequencing Oligo	次世代シーケンス等	シーケンシング用に開発された、高品質なユニバーサルおよびインデックスアダプターオリゴ

※5 実験の精度を保证するものではありません

### qPCR プローブによる遺伝子発現確認や定量化

近年「PCR」というキーワードをよく耳にするようになりました。qPCR プローブは病原体の検出だけでなく、遺伝子の発現や変異、SNP 検出、遺伝子コピー数の決定などに欠かせないもので、高い感度特異性が求められます。目的の遺伝子に対するデザイン済みの qPCR プローブがない場合はカスタムデザイン設計が必要ですが、うまくデザインできないと多くの時間とコストがかかります。メルクでは目的に合わせた qPCR を選択することができ、さらにカスタムデザインサービスも提供しています。

製品名	OD	精製	鎖長 (塩基)	5'	3'	特長
両末端標識プローブ・qPCR プローブ	1.5, 3, 5, 10	HPLC	15 ~ 40	FAM™/HEX™/TET™/TAMRA™/Cy3/Cy5	BHQ®-1, BHQ®-2, BHQ®-3, TAMRA™	qPCR の最も一般的な加水分解プローブ
プライマー&プローブデザインサービス	プローブ: 1.5	プローブ: HPLC	プローブ: 15 ~ 40	FAM™/HEX™/TET™/TAMRA™/Cy3/Cy5	BHQ®-1, BHQ®-2, BHQ®-3, TAMRA™	テクニカルサービスによるプライマーとプローブのデザインサービス
	プライマー: 3	プライマー: カートリッジ	プライマー: 12 ~ 35	—	—	
KiCqStart™ Assay	プローブ: 1	プローブ: HPLC	ターゲット遺伝子により異なる	FAM™/HEX™	Onyx Quencher™ A	ブレデザインのプローブとプライマー 2 本の qPCR アッセイ
	プライマー: 3	プライマー: カートリッジ		—		

※上記以外の修飾をご希望の場合、メールにて弊社テクニカルサービス (customjp.ts@merckgroup.com) にお問い合わせください。



カスタム製品のご注文には会員登録が必要です

新規登録はこちら

<https://jp.surveymonkey.com/r/V5PBLX8>

製品についての詳細はこちら

<https://bit.ly/custom-oligodna-orderinfo>

販売取扱について：カタログ番号を青で表記している製品の取扱いはメルク株式会社、赤で表記している製品の取扱いはシグマ アルドリッチ ジャパン合同会社となります。ご確認のうえ、各社へご注文くださいますようお願い申し上げます。

そうだったんだ！

# テクニカルサービスより よくあるご質問にお答えします！



## カスタムオリゴ関連

### Q: アプリケーションに応じて推奨の精製方法はありますか？

**A:** 下記の表 1 のように、アプリケーションに応じて推奨の精製方法がございます。合成後のオリゴヌクレオチドには不完全長のオリゴヌクレオチドが混入しており、アプリケーションによっては競合する場合があります。精製により完全長オリゴヌクレオチドから不完全長のものを分離できます。また、修飾オリゴの場合は精製により未修飾のものを除去することができます。

表 1: 技法/用途別おすすめ精製方法 (一部のみ抜粋。×が推奨)

用途	脱塩	カートリッジ	HPLC	PAGE
標準的な PCR と RT-PCR	×	×		
シーケンシングプライマー/プローブ	×	×		
qPCR プローブ			×	
クローニング			×	×

精製方法の詳細や、その他用途におすすめの精製方法はこちら <https://bit.ly/best-purification>

### Q: オリゴヌクレオチドの推奨保存温度はありますか？

**A:** オリゴヌクレオチドは長期保存は -20°C、短期間の使用は 4°C での保存を推奨します。また、下記記載 (表 2) の一般的な保存条件と期間についてもご参照ください。

表 2: 保存条件と期間

保管条件	期間
-20°C (冷凍庫)	乾燥状態または溶液中 (水または TE バッファー中) で約 2 年間安定
4°C (冷蔵庫)	乾燥状態または溶液中 (水または TE バッファー中) で約 1 年間安定
室温	乾燥状態または TE バッファー中で約 3 ~ 6 カ月間安定

オリゴの取り扱い方法の詳細や  
作業のポイントはこちら

<https://bit.ly/oligonucleotide-handling-and-stability>

### Q: オリゴヌクレオチドにどのような修飾ができますか？

**A:** 6-FAM™ や HEX™、リン酸化など、200 種類以上の修飾を提供しています。さらに詳細な情報をご希望の場合は、オリゴヌクレオチドの WEB 注文サイトもしくは下記 URL よりご参照ください。また、こちらに記載がない修飾でも対応可能な場合があるので、ご要望の際はお問い合わせください。

カスタム DNA 用修飾の詳細はこちら <https://bit.ly/custom-dna-oligos-modifications>

## カスタムオリゴに関するお問い合わせ

テクニカルサービス

TEL : 03-6756-8260

Email : [customjp.ts@merckgroup.com](mailto:customjp.ts@merckgroup.com)

【製品の技術的なお問い合わせ (テクニカルサービス)】

<メルク製品> TEL : 03-4531-1140

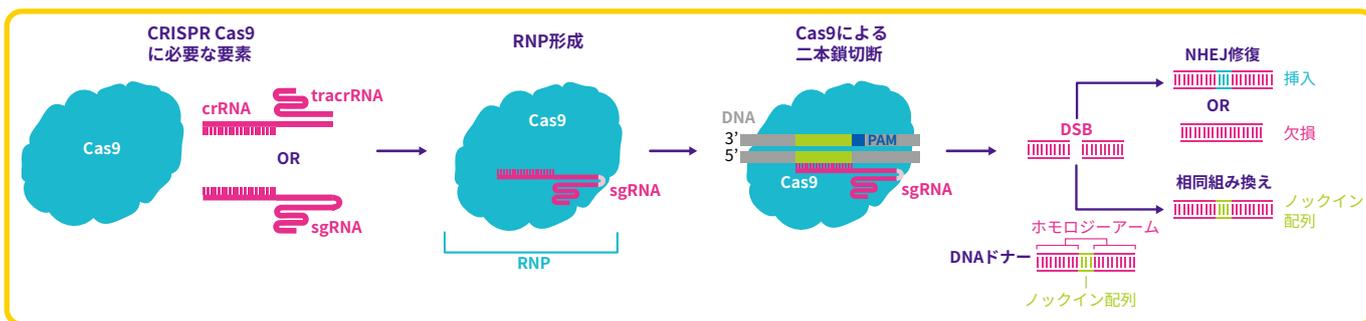
Email : [jpts@merckgroup.com](mailto:jpts@merckgroup.com)

<シグマ製品> TEL : 03-6756-8245

Email : [jpts@merckgroup.com](mailto:jpts@merckgroup.com)

# RNP による効率の良い遺伝子編集 Cas9 タンパク質と SygRNA® の RNP 複合体による遺伝子編集の概要

Cas9 タンパク質と合成ガイド RNA (SygRNA®) を組み合わせたリボ核タンパク質複合体 (RNP 複合体) は、ヌクレアーゼが細胞内で素早く作用することから、より速い遺伝子編集を行うことができます。また、RNP はすぐに分解されるためオフターゲットの影響を抑えることができます。Cas9 タンパク質および SygRNA® はマイクロインジェクション、エレクトロポレーション、リポフェクションなど様々な導入方法に適応しています。



## 高レベルのオンターゲット特異性と活性を示す PURedit™ **NEW**

PURedit™ グレードの Cas9 タンパク質および合成ガイド RNA によって、非常に特異的なオンターゲットに対する高い活性を維持しながらオフターゲット編集を低く抑えた遺伝子編集が可能になり、特に編集が困難なターゲット部位も編集することができます。また、より高い品質基準で製造を行っているため、トランスレーショナルリサーチに適しています。 ※ヒトおよび治療目的ではご使用いただけません。

PURedit™の詳細はこちら <https://bit.ly/cas9-ribonucleoprotein-complexes>

## Cas9 タンパク質

従来の野生型 spCas9 タンパク質に加え、高い遺伝子編集活性を示す改良型の Cas9 Plus や PURedit™ Cas9 タンパク質など、用途に応じた Cas9 タンパク質をご利用いただけます。

	WT Cas9 タンパク質	Cas9 Plus タンパク質	<b>NEW</b> PURedit™ Cas9 タンパク質	dCas9 (Dead Cas9) タンパク質
製品概要	野生型 spCas9 タンパク質	spCas9 タンパク質を改良し高い編集活性とオンターゲット特異性	spCas9 タンパク質を改良し最も高い編集活性とオンターゲット特異性	Cas9 の D10A/H840A 変異によりヌクレアーゼ活性を持たず DNA の結合能を持つ
製品規格	1X NLS タグ <sup>※</sup> 、凍結乾燥品	3X NLS タグ、凍結乾燥品	3X NLS タグ、凍結乾燥品	1X NLS タグ、3X FLAG™- ヒオチンタグ、凍結乾燥品
推奨される用途	初期の実験で gRNA のターゲットに対する効果の測定に適用	高いオンターゲット特異性と低いオフターゲットを期待する一般的な遺伝子編集実験に理想的	非常に高い効率や高品質を必要とする研究に最適	ターゲット遺伝子の抑制 (CRISPRi) や活性化 (CRISPRa)
遺伝子編集活性	+++	+++	++++	N/A
オンターゲット特異性	++	++++	++++	N/A
価格帯	+	++	+++	+
品質基準	ISO 9001	ISO 9001	ISO 9001 に加え拡充した品質管理	ISO 9001
製品番号	CAS9PROT-50UG	CAS9PL-50UG	PECAS9-50UG	DCAS9PROT-50UG

※ NLS タグ: 核局在化シグナル

## 合成ガイド RNA (SygRNA®)

ヒトやマウスの各遺伝子にあらかじめご用意したデザイン (プレデザイン) のガイド RNA をお選びいただくか、ご希望の配列をご指定してカスタムで作成することも可能です。シングルガイド RNA (sgRNA®) と crRNA の合成に対応しています。精製のグレードは一般的な研究に適した Standard グレードと、高品質な PURedit™ グレードをお選びいただけます。

ご注文方法およびご注文はこちら [https://bit.ly/gene-editing\\_orderinfo](https://bit.ly/gene-editing_orderinfo)

販売取扱について: カタログ番号を青で表記している製品の取扱いはメルク株式会社、赤で表記している製品の取扱いはシグマ アルドリッチ ジャパン合同会社となります。ご確認のうえ、各社へご注文くださいますようお願い申し上げます。



## サイエンス系お役立ちメディア M-hub (エムハブ)

### 研究者のための

実験のコツ

ちょっと役立つ情報

意外と知らない基礎知識 など、

読んで楽しく役に立つ情報をお届けしています。



m-hub.jp

### M-hub って?

「M-hub (エムハブ)」は、主にサイエンスに関わる企業や大学の研究者を対象に、日々の研究活動において知っておくべき基礎知識や初めての人にも安心な実験・分析プロトコルなどの課題解決法から、論文執筆や予算獲得のノウハウ、サイエンスの最新トレンドやインタビューなどのコラムをお届けするウェブメディアです。研究者に役立つ情報、楽しめるコンテンツを「調べやすく、読みやすく、わかりやすく」をコンセプトに提供しています。実験から指導まで、幅広くご活用ください。

### 実験のコツ

実験のパフォーマンスを向上させる！  
効率的なる過のコツ



滅菌、濃縮、除去...様々な実験の場面で「ろ過」作業があります。実験効率を上げるための5つのポイントを解説！  
これで“ろ過マスター”になれるかも？



<http://bit.ly/2ScyL9r>

抗体試薬を長持ちさせるコツ  
【保存と取り扱いのポイント】



その抗体、「取りあえず -20°Cに...」になっていませんか？  
適切な保存条件は、**バッファー組成や標識の有無**で変わってきます。一度保管の仕方を見直しましょう。



<http://bit.ly/2UM3RBz>

# メルクの環境への取り組み SMASH パッケージ

メルクはライフサイエンスの研究分野において世界 60 カ国以上で 30 万品目以上の製品とおよそ 23,000 人の従業員を擁するグローバル企業として、自社の事業が環境に与える影響を管理することが重要であると考えています。そのため、製品設計・製造から包装、流通、製品の使用、そして製品寿命 / リサイクルに至るまでの製品ライフサイクルの全段階でサステナビリティを重視した取り組みを積極的に行い、イノベーション、品質、安全性、有効性において最大限のパフォーマンスをお客様に提供しています。

## SMASH パッケージについて

環境への負荷を削減する取り組みとして、メルクは社内外の協力を元に、持続可能な包装に関する環境負荷低減の枠組みを構築しました。これを SMASH パッケージと呼んでいます。

新たなサステナビリティ基準およびガイドラインを定め、製品パッケージの開発と再設計を行っています。改善の機会が最も大きい 3 つの重点分野（「柱」と呼びます）を特定し、それぞれの柱の中で、私たちによる効果を定量化・追跡・増大させるための 4 つの包括的目標を設定しました。

## 3 つの重点分野、4 つの包括的目標と 2022 年までのゴール

### 1. 資源の最適化



#### ① 縮小 - 包装使用量の削減

私たちは、必要以上により多くの資源を消費し、輸送時のエネルギー使用量と大気排出量を増やす、過剰な大きさまたは重さの包装をなくすことを目指します。過剰包装は、包装の管理と処分に伴うコストが生じることから、お客様にとっても望ましいものではありません。

### 2. 循環型経済の設計



#### ② 削減 - リサイクルの最大化

私たちは、リサイクルに対応できない包装材の使用廃止、また包装材すべてに関するリサイクルの手引きをお客様に提供することによって、包装材のリサイクルを最大化することを目指します。

### 3. より持続可能な素材



#### ③ 保護 - 森林破壊ゼロの実現

森林破壊は地球温暖化の重要な一因であり、生物多様性にとって脅威です。私たちは使用する木材および繊維由来の包装材が、森林破壊の一因とならないようにすることを目指します。



#### ④ 変更 - プラスチックのサステナビリティ向上

従来のプラスチック包装には、いくつかのサステナビリティの問題が伴います。私たちは、環境負荷がより低い材料の使用促進や懸念される化学物質からなるプラスチックの使用削減など、包装に使用するプラスチック材料のサステナビリティ向上を目指します。

2022 年までの詳細なターゲットや SMASH パッケージの詳細はこちら

<https://bit.ly/smash-packaging>

2020 年までの SMASH パッケージの進捗状況はこちら

<https://bit.ly/smash-packaging-progress>

販売取扱について：カタログ番号を青で表記している製品の取扱いはメルク株式会社、赤で表記している製品の取扱いはシグマ アルドリッチ ジャパン合同会社となります。ご確認のうえ、各社へご注文くださいますようお願い申し上げます。

省資源・省スペース

“ファネルレス” ボトルトップフィルター

# ステリカップ® E & ステリトップ® E

Millipore®

Preparation, Separation,  
Filtration & Monitoring Products

プラスチックファネル部分をなくすことで、環境負荷を軽減。  
さらに、かさばる保管場所の問題も解消!



ラボの廃棄物を削減し  
研究が与える環境負荷を軽減

- 廃棄プラスチック
- 廃棄物コスト
- 実験室の保管スペース

新しく「E(エコ・フレンドリー)」が付いたステリカップ®のラインナップでは、プラスチック製のファネル部分をなくし、ネジ山に培地ボトルを直接取り付けて使用します。ステリカップ® E/ステリトップ® E 滅菌フィルターデバイスをお使いいただくことで、上記の要素を削減し、環境負荷を軽減することにつながります。



数字でみる環境負荷軽減効果

※従来製品との比較

	プラスチック量	包装材
ステリカップ® E 滅菌フィルター ファネル部分の削減	最大26% ↓	最大20% ↓
ステリトップ® E 滅菌フィルター ファネル部分と容器ボトルを削減	最大48% ↓	最大69% ↓

詳しい情報はこちら

<https://bit.ly/stericup-vacuum-filtration>



YouTube の動画も是非ご覧ください



<https://bit.ly/youtube-steritop>



<https://bit.ly/youtube-steri-e>

製品名	フィルター材質	膜孔径	接続ボトル口径	フラスコ容量	入数	カタログ番号
ステリカップ®-E	親水性 PES	0.22 μm	38 mm	500 mL	12 pk/箱	SEGPU0538
			45 mm	500 mL	12 pk/箱	SEGPU0545
			38 mm	1,000 mL	12 pk/箱	SEGPU1138
			45 mm	1,000 mL	12 pk/箱	SEGPU1145
ステリトップ®-E	親水性 PES	0.22 μm	38 mm	—	12 pk/箱	SEGPT0038
			45 mm	—	12 pk/箱	SEGPT0045

【製品の技術的なお問い合わせ(テクニカルサービス)】

<メルク製品> TEL: 03-4531-1140  
<シグマ製品> TEL: 03-6756-8245

Email: [jpts@merckgroup.com](mailto:jpts@merckgroup.com)  
Email: [jpts@merckgroup.com](mailto:jpts@merckgroup.com)

# パズルでハカセと対決！

## 問題

フィルターを通してある規則で文字が変化しています。  
フィルターの性質を見つけ出し、一番右がどんな言葉になるのかを教えてください。

交差



ハエ

密通



ウマ

隣僕



タイ

募念至



?

制作：ASOBIDEA (アソビディア)

正解者の中から抽選で計5名様に、メルクオリジナル  
「バンブータンブラー」をプレゼントいたします。  
ぜひご応募ください。

応募期間

7月1日(金)～  
8月31日(水)まで!



解答



応募  
待ってるぞ!

ご応募はこちらから  
<https://bit.ly/SigMania14>



SigMania Vol.13 の正解：「抗体」

前号のパズル問題に誤記がございました。お詫びして訂正いたします。

誤：労働組合 正：労働組合

※ 当選者は厳正な抽選の上決定し、発表は賞品の発送をもって代えさせていただきます。  
※ 住所・転居先不明などにより賞品をお届けできない場合には、当選を無効とさせていただきます。  
※ 当選賞品の交換、換金、返品はできませんので予めご了承ください。

個人情報の保護について:ご提供いただきました情報につきましては、賞品の発送や、弊社の製品やサービスに関する情報をお客様に提供する以外の目的では利用いたしません。お客様からお預かりした個人情報はメルク株式会社に管理し、弊社 Web サイトにて公表している個人情報保護方針に従い取り扱いをいたします。(http://www.merck.co.jp/ja/privacy\_statement/privacystatement.html)



よりシンプルに、快適に 新しくなった SigmaAldrich.com



サイエンス系  
お役立ちメディア  
M-hub



かんたんカタログ検索  
カタログ  
ファインダー



メルクライフサイエンス - メールニュース  
[www.merckmillipore.com/wm](http://www.merckmillipore.com/wm)



メルクライフサイエンス公式  
SNS、動画コンテンツをご覧ください。

本紙記載の製品は試験・研究用です。ヒト、動物への治療、もしくは診断目的として使用しないようご注意ください。掲載価格は希望販売価格(税別)です。実際の価格は弊社製品取扱販売店へご確認ください。なお、品目、製品情報、価格等は予告なく変更される場合がございます。予めご了承ください。記載内容は2022年6月時点の情報です。Merck, the vibrant M, and Sigma-Aldrich are trademarks of Merck KGaA, Darmstadt, Germany or its affiliates. All other trademarks are the property of their respective owners. Detailed information on trademarks is available via publicly accessible resources. ©2022 Merck KGaA, Darmstadt, Germany. All rights reserved.

メルク株式会社

ライフサイエンス リサーチ事業部

〒153-8927 東京都目黒区下目黒 1-8-1 アルコタワー 5F

製品の最新情報はこちら [www.merckmillipore.com/bio](http://www.merckmillipore.com/bio)

E-mail: [jpts@merckgroup.com](mailto:jpts@merckgroup.com) Tel: 03-4531-1140

RBM310-2206-20K-H