



Ciblage précis des insertions de gènes et des KO

Plus d'informations sur www.compozrzn.com - Service technique : eurtechserv@sial.com

Nadia Guettari - Chef de produit biologie moléculaire - Tél : 06 15 66 46 99 - Fax : 04 74 99 10 50 - Email : nadia.guettari@sial.com

INTRODUCTION

La technologie CompoZr, fruit d'un partenariat exclusif entre Sigma life Science et Sangamo BioSciences, est une véritable avancée technologique qui permet d'obtenir des modifications spécifiques et ciblées d'une séquence génétique.

PRINCIPE

1. Reconnaissance d'une séquence d'ADN spécifique de vingt-quatre nucléotides par des protéines en doigts de zinc

Ces protéines sont des régulateurs de transcription qui reconnaissent des séquences spécifiques de trois nucléotides successifs sur l'ADN des eucaryotes. La technologie CompoZr utilise deux protéines recombinantes comportant chacune quatre doigts de zinc: la reconnaissance s'effectue donc sur une séquence de 24 nucléotides. Une telle séquence n'a pratiquement aucune chance d'exister à plus d'un exemplaire dans le génome des eucaryotes.

2. Coupure de l'ADN cible

Les protéines recombinantes sont couplées au domaine endonucléasique de FokI, une enzyme non spécifique qui agit sous forme dimérique. La liaison des deux protéines en doigts de zinc sur leurs séquences respectives rapproche les deux endonucléases qui leurs sont associées. Ce rapprochement permet la dimérisation de l'endonucléase et donc le clivage de la molécule d'ADN.

3. Modifications au niveau du site de coupure

Ces modifications peuvent se faire par :

- Déléation, modification ou insertion génétiques lors de la réparation de l'ADN.
- Insertion d'une séquence d'ADN par recombinaison homologue en présence d'un ADN donneur.

AVANTAGES :

- Ciblage très précis
- Fréquence de modifications élevée

- Criblage facilité
- Marqueur de sélection non requis

EXEMPLE D'APPLICATIONS :

- Inactivation de gènes (knockout simple, double ou triple)
- Intégration d'une séquence dans le locus de votre choix
- Construction de lignée
- Nouveaux modèles d'animaux transgéniques

SERVICE SIGMA ALDRICH

- Design par l'algorithme SuperFinder de Sangamo
- Construction des plasmides d'expression
- Transfection des constructions dans une lignée cellulaire proche de l'organisme d'intérêt
- Test de clivage par une enzyme sensible aux mésappariements

Sigma Aldrich vous fournit :

- Le plasmide exprimant la paire de ZFN possédant la meilleure efficacité de clivage
- 10 aliquots d'ARNm
- Les amorces pour la détermination du taux de mutation et le screening des clones
- Un contrôle positif

Un chef de projet dédié suivra avec vous le service. Le délai de fabrication est d'environ 8 semaines.

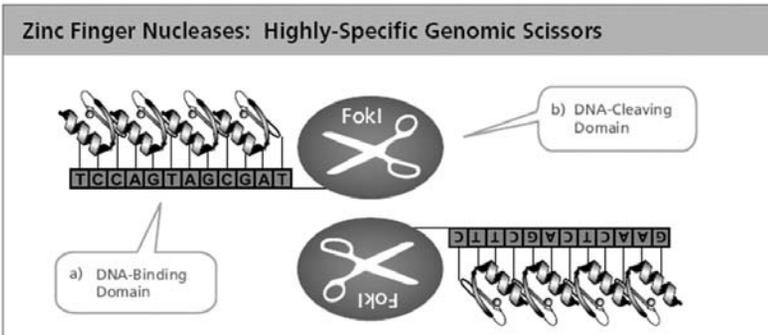
PUBLICATIONS

Heritable targeted gene disruption in zebrafish using designed zinc-finger nucleases
Nature Biotechnology 26, 702 - 708 (01 Jun 2008)

Targeted gene knockout in mammalian cells by using engineered zinc-finger nucleases, *PNAS* 2008 105:5809-5814

Gene editing in human stem cells using zinc finger nucleases and integrase-defective lentiviral vector delivery, *Nature Biotechnology* 25, 1298 - 1306 (28 Oct 2007)

Targeted gene addition into a specified location in the human genome using designed zinc finger nucleases *PNAS* 2007 104:3055-3060



[THÉORIE]

LES AVANCÉES TECHNOLOGIQUES NE CONCERNENT PAS QUE VOTRE LABORATOIRE. ELLES INFLUENT AUSSI TRÈS LARGEMENT SUR VOTRE SOCIÉTÉ.

Jusqu'où votre société peut-elle progresser lorsque la technologie est source de progrès scientifiques ? Grâce au système révolutionnaire ACQUITY UltraPerformance LC® de Waters®, les scientifiques ont le pouvoir de développer des méthodes d'une plus grande fiabilité et efficacité. Le système ACQUITY UPLC® apporte aux chromatographistes des données de qualité nettement supérieure à l'HPLC. Par conséquent, l'impact est ressenti au niveau des laboratoires, des dirigeants et dans tous les domaines où la science peut améliorer les vies. Le système ACQUITY UPLC constitue l'avenir de la chromatographie liquide. Pour en savoir plus, visitez notre site à l'adresse www.waters.com/a1.

© 2007 Waters Corporation. Waters, The Science of What's Possible, ACQUITY UltraPerformance LC, UPLC, et ACQUITY UPLC sont des marques déposées de Waters Corporation.

THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE™