

レンチウイルスベクターを用いる 遺伝子導入

=製品ガイド保存版=

レンチウイルスベクターの特長

- ★初代培養細胞や幹細胞、神経細胞などの非分裂細胞を含む
ほぼすべての哺乳類細胞に遺伝子導入が可能
- ★長期にわたる安定した遺伝子発現を実現



レンチウイルスベクター作製の流れ

Lentiviral High Titer
Packaging Mix

トランスフェクション

pLVSIN Vector

パッケージング細胞
Lenti-X™ 293T
Cell Line

1) ベクタープラスミドと Lentiviral High Titer
Packaging Mix のコトランスフェクション

2) 転写と翻訳

過性発現

ウイルス
タンパク質

3) ウイルス
タンパク質が
Ψを認識

Ψ 目的遺伝子
RNA

4) ウイルスコアの形成

VSV-G

5) 感染性ウイルス粒子の出芽

6) 培養上清中のウイルスを回収

(48~72hr)

7) 標的細胞に感染

カ価測定

Lenti-X™ GoStix™

Lenti-X™ qRT-PCR Titration Kit

Lenti-X™ p24 Rapid Titer Kit

ウイルス濃縮

Lenti-X™ Concentrator

標的細胞への遺伝子導入効率の向上

RetroNectin®

レンチウイルス発現系の特長と各種製品の概要



レンチウイルスベクターは、初代培養細胞や幹細胞、神経細胞などの非分裂細胞を含むほぼすべての哺乳類細胞に遺伝子導入を実現する強力な多用途ベクターです。pLVSINレンチウイルスベクタープラスミドとパッケージングミックスを、極めて効率的なトランスフェクション試薬を用いてLenti-X™ 293T細胞にコトランスフェクションすることで、48時間後には高力価の組換えレンチウイルスを含む培養上清が得られます。

組換えレンチウイルス作製の流れ



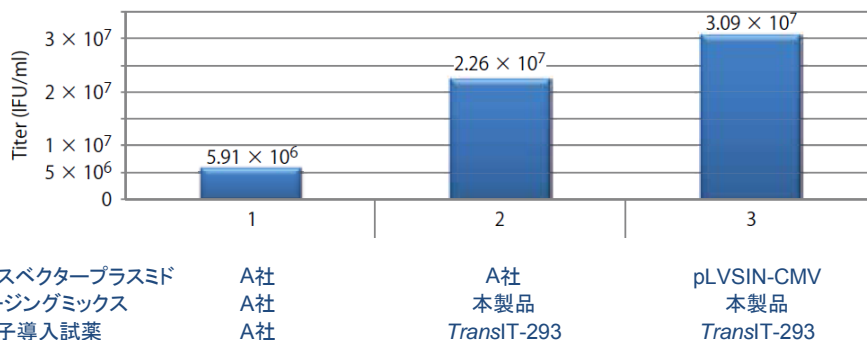
高性能レンチウイルスパッケージング試薬

Lentiviral High Titer Packaging Mix

- 高力価 (>10⁷ IFU/ml) のレンチウイルスベクターを調製
- VSV-Gエンベロープにより広範囲な細胞種に導入可能
- pLVSINベクターとのセット製品もご用意 ⇒ 複製能を欠く安全な組換えレンチウイルスを産生

■ 本製品と他社キットで調製した組換えレンチウイルスの力価比較

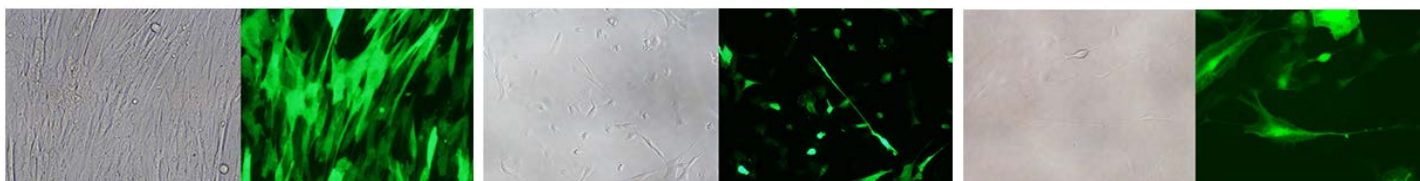
Lenti-X 293T Cell Lineに、ZsGreen1発現レンチウイルスベクタープラスミドとパッケージングミックスをトランスフェクション試薬 TransIT-293 Transfection Reagent (製品コード MIR2704)を用いてコトランスフェクトし、組換えレンチウイルスを取得した。得られたレンチウイルスベクターの生物学的力価をHT-1080細胞にて評価した。(弊社比較データ)



■ 各種初代培養細胞への感染

Lentiviral High Titer Packaging Mixを用いて取得した組換えレンチウイルスは、多くの場合、取得したレンチウイルスを含む培養上清を濃縮することなく、直接、標的細胞の感染に使用できる。

ZsGreen1遺伝子を挿入したpLVSIN-CMV Pur Vectorと本製品を組み合わせることで取得したZsGreen1発現組換えレンチウイルス上清を希釈し、初代ヒト腸筋線維芽細胞、初代ヒト神経細胞(アストロサイト)、および初代ラット神経細胞(脳皮質アストロサイト)に感染させた。感染にはRetroNectin(製品コード T100A)を使用し、RBV(RetroNectin bound virus)-Spin法を採用した。



初代ヒト腸筋線維芽細胞

<感染5日目: ZsGreen1 陽性率 69.2%>

初代ヒトアストロサイト

<感染3日目: ZsGreen1 陽性率 95.7%>

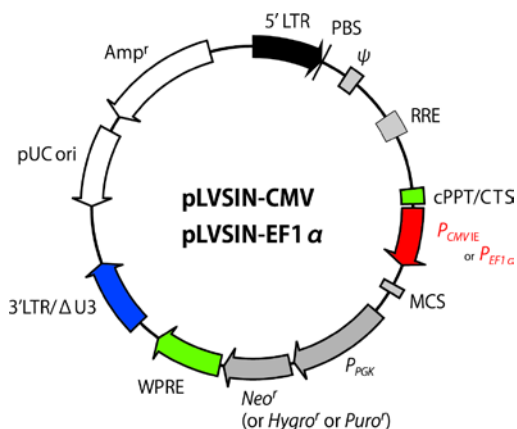
初代ラット脳皮質アストロサイト

<感染3日目: ZsGreen1 陽性率 90.6%>

製品名	容量	製品コード	価格(税別)
Lentiviral High Titer Packaging Mix	60回	6194	¥174,000
Lentiviral High Titer Packaging Mix (pLVSIN-CMV Neo Vector)	1 Set	6950	¥225,000
Lentiviral High Titer Packaging Mix (pLVSIN-CMV Hyg Vector)	1 Set	6951	¥225,000
Lentiviral High Titer Packaging Mix (pLVSIN-CMV Pur Vector)	1 Set	6952	¥225,000
Lentiviral High Titer Packaging Mix (pLVSIN-EF1α Neo Vector)	1 Set	6953	¥225,000
Lentiviral High Titer Packaging Mix (pLVSIN-EF1α Hyg Vector)	1 Set	6954	¥225,000
Lentiviral High Titer Packaging Mix (pLVSIN-EF1α Pur Vector)	1 Set	6955	¥225,000

SIN型レンチウイルスベクタープラスミドシリーズ

- SIN型(自己不活性型)のレンチウイルスベクターを作製可能
- 作製したレンチウイルスベクターは初代培養細胞、非分裂細胞を含むほぼすべての哺乳類細胞に遺伝子導入可能
- 蛍光タンパク質搭載ベクターもラインナップ



搭載プロモーターの特長	CMV	導入した遺伝子が安定して発現する。
	EF1α	CMVプロモーター等の他のプロモーターで発現レベルが低い場合や、胚性幹細胞のようにプロモーターがサイレンシングを受ける場合に有用である。

PGKプロモーターの下流に薬剤耐性遺伝子(ネオマイシン、ハイグロマイシン、またはピューロマイシン耐性)が搭載されており、安定発現株の選択に利用できます。

搭載蛍光タンパク質の特長	AcGFP1 (単量体)	目的タンパク質との融合発現に適している。
	ZsGreen1 (四量体)	遺伝子導入効率のモニタリングなどレポーター発現に適している。IRES配列により目的遺伝子とは独立して翻訳される。

WPRES配列: mRNAを安定化する。

cPPT配列: ウイルスゲノムの核移行や宿主染色体への組換え効率を高める。

製品名	容量	製品コード	価格(税別)
pLVSIN-CMV Neo Vector	20 µg	6181	¥61,000
pLVSIN-EF1α-AcGFP1-C1 Vector	20 µg	6190	¥101,000
pLVSIN-EF1α-IRES-ZsGreen1 Vector	20 µg	6192	¥101,000

この他にも多数ラインナップがあります。詳細はウェブカタログをご覧ください。

パッケージング用細胞株

Lenti-X™ 293T細胞株

- 高力価な組換えレンチウイルス産生を可能にするレンチウイルスパッケージング用細胞株
- 高い形質転換効率、高いウイルス力価 (>10⁸ IFU/ml)を実現

Lenti-X 293T細胞株をレンチウイルスのパッケージングに用いることで、高力価の組換えレンチウイルスを産生することができます。本細胞株は、HEK293T細胞よりSV40 Large T Antigenを高レベルに発現する細胞株を限界希釈法により選別し、更にそこから高い形質転換能力と高いウイルス力価を得ることができる細胞株を単離したものです(他にアデノウイルスE1Aタンパク質を発現します)。

製品名	容量	製品コード	価格(税別)
Lenti-X™ 293T Cell Line	1 ml	632180	¥65,900

ワンステップ操作のレンチウイルスパッケージングシステム Lenti-X™ Packaging Single Shots (VSV-G)



- レンチウイルスベクタープラスミド溶液を加えて293T細胞に添加するだけの簡便・安心プロトコール
- 高タイター(最大10⁸ IFU/ml)レンチウイルス溶液を作製

本製品は、最適化されたパントロピック(エンベロープ: VSV-G) Lenti-X packaging plasmidとトランスフェクション試薬 Xfect Transfection Reagentを1本のチューブ内にプレミックスした製品です。各チューブには、10 cmディッシュでのトランスフェクション試薬とパッケージングプラスミドが含まれており、血清存在下でもトランスフェクションができます。



操作手順



目的遺伝子を搭載したプラスミドを本製品に添加



80~90%コンフルエントの細胞へアプライ
Lenti-X 293T Cells

培地交換



高タイターのレンチウイルス上清を回収(48~72hr)

製品名	容量	製品コード	価格(税別)
Lenti-X™ Packaging Single Shots (VSV-G)	16回	631275	¥160,000
	96回	631276	¥400,000

■カ価測定キット

製品名	測定法	概要	容量	製品コード	価格(税別)
Lenti-X™ qRT-PCR Titration Kit	qPCR法	・わずか4時間で組換えレンチウイルスのRNAタイターを正確に測定	200回	631235	¥108,200
Lenti-X™ p24 Rapid Titer Kit	抗体法	・簡便なELISA法。 HRP-発色試薬で測定	96回	632200	¥85,500
Lenti-X™ GoStix™	簡易測定法	・組換えレンチウイルスカ価をわずか30秒~10分で判定 ・回収の最適タイミングを判断	20回	631243	¥36,100
			50回	631244	¥78,300

GoStix™の操作手順

上清を20 µlサンプリング

Chase Buffer 1を4滴添加

30秒~10分

パッケージング細胞の培養上清中に十分なレンチウイルス(5×10⁵ IFU/ml以上)が含まれ、回収・精製に適していると、明瞭なバンドが現れます。

■レンチウイルス濃縮試薬

製品名	概要	容量	製品コード	価格(税別)
Lenti-X™ Concentrator	・超遠心が不要。組換えレンチウイルス上清と混合して遠心するだけの簡便操作 ・大容量へのスケールアップも簡単	100 ml	631231	¥34,000
		500 ml	631232	¥124,600

操作手順

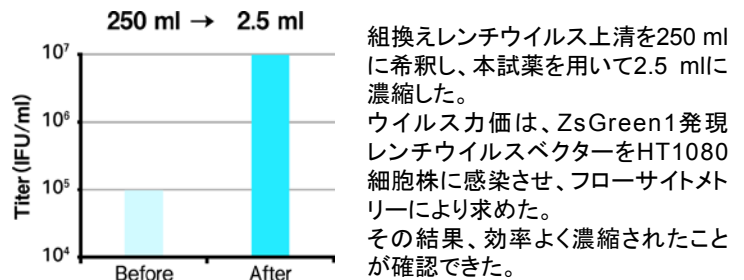
4 × Lenti-X Concentratorを添加

4°Cで30分~1晩インキュベート

1,500 × g、4°Cで45分遠心分離

ペレットを元の1/10~1/100容量に再懸濁

■実施例: 大容量のウイルス上清の濃縮



■その他の関連製品

製品名	概要	容量	製品コード	価格(税別)
TransIT®-293 Transfection Reagent	HEK 293細胞に最適化されたトランスフェクション試薬	0.4 ml	MIR2704	¥36,000
CalPhos™ Mammalian Transfection Kit	哺乳類細胞用のトランスフェクション試薬(リン酸カルシウム法)	1 Set	631312	¥48,400
RetroNectin®	標的細胞への遺伝子導入を促進	0.5 ml (0.5 mg)	T100A	¥28,000
		2.5 ml (2.5 mg)	T100B	¥113,000
Lenti-X™ Maxi Purification Kit	組換えレンチウイルス精製キット	2回	631233	¥44,300

・本パンフレットで紹介した製品はすべて研究用として販売しております。ヒト、動物への医療、臨床診断用には使用しないようご注意ください。また、食品、化粧品、家庭用品等として使用しないでください。
 ・タカラバイオの承認を得ずに製品の再販・譲渡、再販・譲渡のための改変、商用製品の製造に使用することは禁止されています。
 ・本パンフレットに記載された社名および製品名は、特に記載がなくても各社の商標または登録商標です。
 ・ライセンス情報については弊社ウェブサイトにてご確認ください。
 ・本パンフレット記載の価格は2015年5月1日現在の希望小売価格です。価格に消費税は含まれておりません。

2015年4月作成G

タカラバイオ株式会社

東京支店 TEL 03-3271-8553 FAX 03-3271-7282
 関西支店 TEL 077-565-6969 FAX 077-565-6995
 テクニカルサポートライン
 TEL 077-565-6999 FAX 077-565-6995
 ウェブサイト <http://www.takara-bio.co.jp>
 Facebook <http://www.facebook.com/takarabio.jp>

取扱店