

pHEK293 Ultra Expression Vector

特長

- ☑ HEK293系細胞での一過性高発現用ベクター（⇒ 高発現の原理は裏面をご覧ください）
- ☑ 従来のCMVプロモーターを用いた遺伝子発現と比較して**最大約10倍量**のタンパク質生産が可能
- ☑ 選べる2種類の製品ラインナップ



	製品名	製品内容	容量	製品コード	価格(税別)	
簡便に高発現可能な1ベクタータイプ	pHEK293 Ultra Expression Vector I	・pHEK293 Ultra Expression Vector I	20 µg	3390	¥100,000	ラ 営
最適化して高発現可能な2ベクタータイプ	pHEK293 Ultra Expression Vector II	・pHEK293 Ultra Expression Vector II ・pHEK293 Enhancer Vector	20 µg	3392	¥100,000	ラ 営

ラ 本製品のご購入に際してはライセンス確認書(同意書)の提出が必要です。 営 営利施設のユーザー様はご購入前にライセンスの取得が必要です。詳細は弊社ウェブサイトでご確認ください。

★ 実験例-1 蛍光タンパク質の高発現効果

【方法】 pHEK293 Ultra Expression Vector I / II (製品コード 3390 / 3392)、pBApo-CMV DNA (製品コード 3242)、A社タンパク質高発現ベクター各々に、蛍光タンパク質AcGFP1遺伝子配列を挿入して発現プラスミドを構築した。構築プラスミドを接着性HEK293T細胞、浮遊性HEK293細胞にトランスフェクションし(トランスフェクションは各製品のプロトコールに従った)、2日後に顕微鏡観察(接着性HEK293T細胞のみ)およびフローサイトメーターで蛍光強度の確認を行った。

接着性HEK293T細胞

12 ウェル細胞培養用プレートに培養、TransIT-293 Transfection Reagent (製品コード MIR2700)を用いて導入

1. pBApo-CMV / AcGFP1 (1 µg)
2. Vector I / AcGFP1 (1 µg)
3. Vector II / AcGFP1 (1 µg) + Enhancer Vector (0.008 µg)
4. Vector II / AcGFP1 (1 µg) + Enhancer Vector (0.2 µg)
5. A社高発現Vector / AcGFP1 (1 µg)

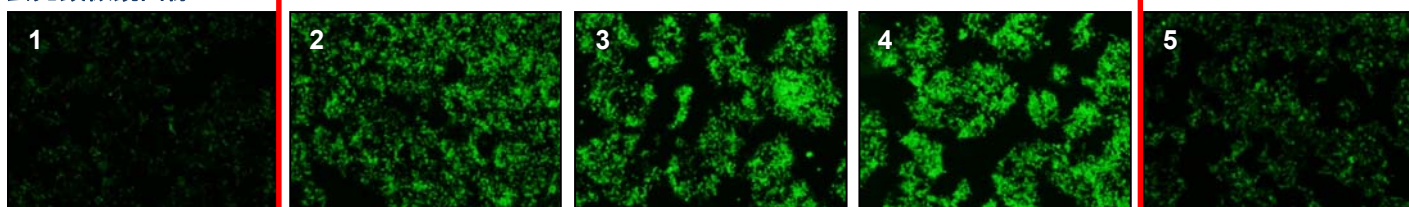
浮遊性HEK293細胞

125 ml 三角フラスコに培養、FreeStyle 293 Expression System (Life Technologies社製)の細胞・試薬を使用

6. pBApo-CMV / AcGFP1 (30 µg)
7. Vector I / AcGFP1 (30 µg)
8. Vector II / AcGFP1 (30 µg) + Enhancer Vector (0.24 µg)
9. Vector II / AcGFP1 (30 µg) + Enhancer Vector (6 µg)
10. A社高発現Vector / AcGFP1 (30 µg)

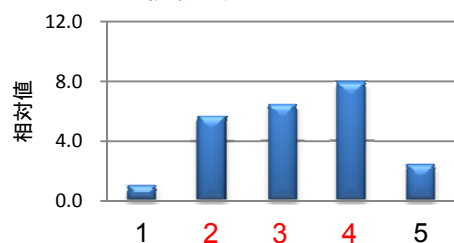
【結果】

蛍光顕微鏡画像

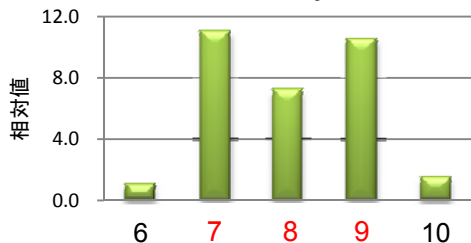


AcGFP陽性細胞の蛍光強度

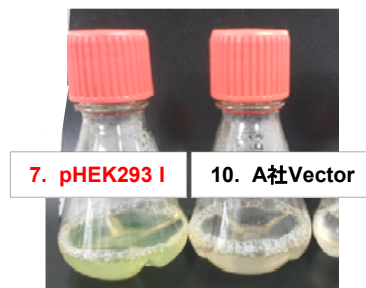
接着性細胞 (HEK293T/17)



浮遊性細胞 (FreeStyle 293-F Cells)



浮遊性細胞培養写真



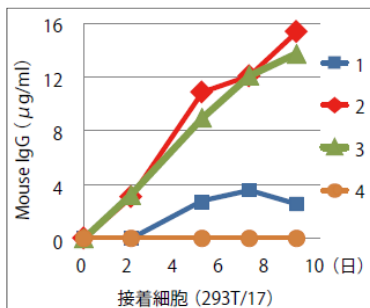
7. pHEK293 I 10. A社Vector

本製品を用いることで、一般的なCMVプロモーターを利用した発現ベクター(pBApo-CMV DNA)と比較して**5~11倍**、A社製高発現ベクターと比較して**2~7倍**の蛍光強度の増加が認められた。

本製品を用いた試験では、**肉眼でも培地が緑色になることを確認**できた。

★ 実験例-2 マウス抗ヒトIgG抗体の高発現効果

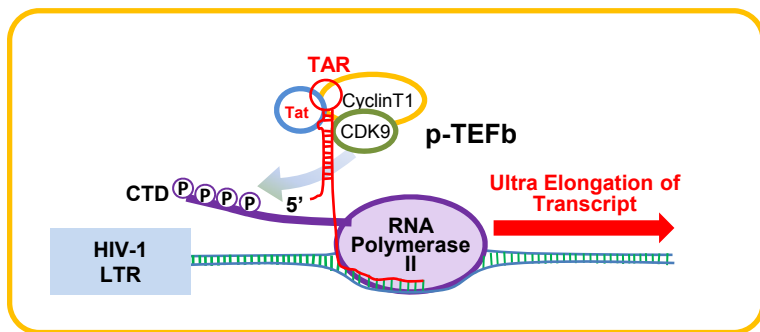
pHEK293 Ultra Expression Vector II, pBApo-CMV DNA に、マウス抗ヒトIgG抗体の重鎖、軽鎖の遺伝子配列を挿入してそれぞれの発現プラスミドを構築した。構築プラスミドを接着性HEK293T細胞(12ウェル細胞培養用プレートで培養)にトランスフェクションし、2、5、7、9日後に培養上清を回収して Mouse IgG EIA Kit(製品コード MK137)によるMouse IgGの定量を行った。
本製品を使用することで、一般的なCMVプロモーターを利用した発現ベクター(pBApo-CMV DNA)と比較して**5~7倍**のMouse IgG発現量の向上が認められた。



使用したプラスミドと使用量 (HC: Heavy Chain, LC: Light Chain)
 1. pBApo-CMV / -HC & -LC (各0.5 µg)
 2. Vector II / -HC & -LC (各0.5 µg) + Enhancer Vector (0.008 µg)
 3. Vector II / -HC & -LC (各0.5 µg) + Enhancer Vector (0.2 µg)
 4. Negative Control

高発現の原理

本製品は、エイズウイルスゲノム由来のRNA配列「TAR」と、転写活性化因子である「Tat」による高発現システム(TAR-Tat発現システム)を利用しています(右図)。TAR-Tat発現システムによるHIV-LTRからの転写活性化は、TatがウイルスRNAの5'末端に形成されるTARと呼ばれるループ構造に結合し、RNA polymerase IIをリン酸化することで行われます。本製品はこの原理を利用して、目的タンパク質発現ベクターとTat発現ベクターの5'側非翻訳領域にTARをコードする配列を付加しています。これにより、Tatタンパク質の効率的な発現が可能となり、目的タンパク質の発現量を大幅に向上させることができます(特許出願中)。



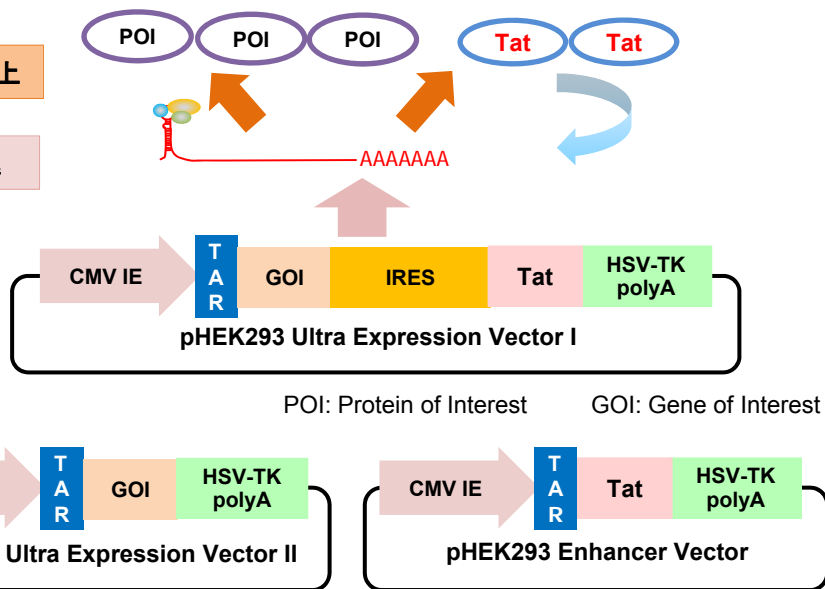
◆ pHEK293 Ultra Expression Vector を用いた目的タンパク質の発現

タンパク質発現向上

mRNA転写促進

pHEK293 Ultra Expression Vector I (製品コード 3390)を使用すると、1ベクターで目的タンパク質発現とTat発現が同時にでき、簡便です。

pHEK293 Ultra Expression Vector II (製品コード 3392)を用いると、目的タンパク質発現とTat発現を別個のベクターにより行うため、目的タンパク質にあわせてトランスフェクションする2種類のプラスミド比率を最適化でき、より効率的な目的タンパク質の生産が可能になります。



関連製品

製品名	概要	容量	製品コード	価格(税別)
NucleoBond® Xtra Midi Plus (※1)	構築プラスミドを高純度、高収量で精製	10回	740412.10	¥16,800
TransIT®-293 Transfection Reagent (※2)	HEK293用トランスフェクション試薬	1 ml	MIR2700	¥52,000

※1はマツハラ・ナーゲル社の、※2はMirus社の製品です。

・本チラシ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。
 ・本チラシ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。
 ・本チラシ記載の価格は2014年2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。

2014年1月作成

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
 Website http://www.takara-bio.co.jp
 Facebook http://www.facebook.com/takarabio.jp

取扱店