

75~95%以上の
ノックダウンレベル

遺伝子ノックダウン検証済み shRNA発現用レンチウイルス

shRNAによる
細胞不死化にBガラクトシダーゼ
のノックダウンにルシフェラーゼ
のノックダウンに

初代細胞や非分裂細胞を含む 幅広い細胞タイプでのターゲットのノックダウン

GenTarget社のレンチベクターシステムは、遺伝子発現とノックダウンのためのヒト免疫不全ウイルス-1 (HIV) ベースのプラスミドです。レンチベクターは、invivoおよび invitroの両方で、幹細胞、初代培養細胞、非分裂細胞を含むほぼすべての種類の哺乳類細胞に形質導入できるレンチウイルス粒子を生成するために使用されます。レンチウイルス粒子は、形質導入された細胞のゲノムに安定して組み込まれ、長期間発現するため、優れた遺伝子導入ツールです。

- 👍 細胞に直接加えるだけの簡単プロトコル
- 👍 脂質やトランスフェクション試薬不要
- 👍 H1プロモーターでは、TetR誘導発現に対応
- 👍 細胞の種類により75~95%のノックダウン
- 👍 1x10e7または5x10e7IFU/mlの高力価で感染

RNA干渉 (RNAi) による遺伝子ノックダウン

RNA干渉 (RNAi) 技術は、哺乳類細胞における機能喪失 (ノックダウン/サイレンシング) 研究のための強力なツールです。もともとは短い二本鎖RNAを介してin vivoで遺伝子発現を阻害することから示されましたが、RNAiはサイレンシングされたターゲットの配列と相補的な配列を持つ短いRNAによって媒介される一連の酵素反応を介して機能します。これらの反応は、ターゲットmRNAの分解または翻訳抑制をもたらします。

RNAiノックダウンは、短鎖合成二本鎖RNA (siRNA) またはベクター発現システムヘアピンRNA (shRNA) によって導入でき、Dicer酵素によってさらに処理されて二本鎖短鎖RNAが生成されます。化学的に合成された二本鎖RNA (siRNA) では、一時的なサイレンシング効果のみです。しかし、RNAiの安定したベクター発現ならば、長期のサイレンシングを得ることができます。

75~95%以上のノックダウンレベル

検証済みのshRNA発現粒子は、ターゲット固有のshRNAヘアピン挿入が含まれており、ターゲットの75~95%を超えるノックダウンを示します。ノックダウン検証は、特定のターゲットがlacZまたはルシフェラーゼレポーターと融合したレポーターアッセイを介して測定されました。ノックダウンレベルは、lacZまたはルシフェラーゼ活性の低下に反映されました。検証済みのすべてのshRNAは、特定の内因性ターゲットで75%を超えるノックダウンレベルが保証されています。

shRNA発現レンチウイルスについて

ターゲット特異的shRNAは、構成的ヒトU6プロモーター、またはオプション誘導性ヒトH1プロモーターの下で発現します。H1プロモーターはTetRを事前に細胞に発現させることで、shRNAの構成的発現とテトラサイクリン誘導性発現を選択可能です (TetRは別途発現させる必要があります。細胞にTetRが発現していない場合は、構成的プロモーターとして機能します)。

shRNAコントロールウイルス (shRNA-Ctr) は、レンチウイルス処理の非特異的ノックダウンコントロールとして使用可能です。ネガティブコントロール配列は、同じshRNAレンチベクターバックボーンにクローン化されています。

Pre-made shRNAレンチウイルスは細胞培養に加えるだけの簡単なプロトコルで使用できます。3日後、形質導入された細胞を抗生物質またはGFP / RFP蛍光細胞選別によって選択し、標的ノックダウン細胞株を生成できます。

+ TetR発現用レンチウイルス

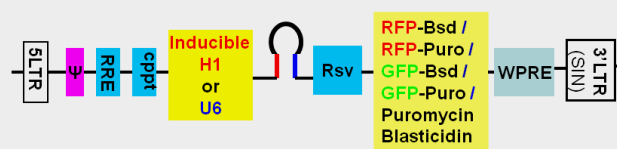
H1プロモーターを誘導発現プロモーターとして使用する場合は、TetRを細胞に発現させる必要があります。
TetR発現用レンチウイルスを見る ⇒ <https://www.gentarget.com/pdf/TetR-LVP017-man.pdf>



製品ラインナップ

ターゲット特異的shRNAは、オプシオン誘導性ヒトH1プロモーターまたは構成的ヒトU6プロモーター下で発現します。RSVプロモーター下で蛍光タンパク質と薬剤耐性遺伝子が発現するので、形質導入後の細胞選抜が容易です。

Schematic representation of shRNA lentivectors:



発現する遺伝子	品番	
	DMEMフォーマット 1 x10e7 IFU/ml x 200ul	PBS濃縮フォーマット 5 x10e7 IFU/ml x 200ul
ヒトP53 shRNA発現用レンチウイルス (細胞不死化用レンチウイルス)		
shRNA (h P53)-(GFP-Bsd)	LVP343-GB	LVP343-GB-PBS
shRNA (h P53)-(GFP-Puro)	LVP343-GP	LVP343-GP-PBS
shRNA (h P53)-(RFP-Bsd)	LVP343-RB	LVP343-RB-PBS
shRNA (h P53)-(RFP-Puro)	LVP343-RP	LVP343-RP-PBS
βガラクトシダーゼ shRNA発現用レンチウイルス		
shRNA (lacZ)-(GFP-Bsd)	LVP344-GB	LVP344-GB-PBS
shRNA (lacZ)-(GFP-Puro)	LVP344-GP	LVP344-GP-PBS
shRNA (lacZ)-(RFP-Bsd)	LVP344-RB	LVP344-RB-PBS
shRNA (lacZ)-(RFP-Puro)	LVP344-RP	LVP344-RP-PBS
ルシフェラーゼ shRNA発現用レンチウイルス		
shRNA (Luc)-(GFP-Bsd)	LVP345-GB	LVP345-GB-PBS
shRNA (Luc)-(GFP-Puro)	LVP345-GP	LVP345-GP-PBS
shRNA (Luc)-(RFP-Bsd)	LVP345-RB	LVP345-RB-PBS
shRNA (Luc)-(RFP-Puro)	LVP345-RP	LVP345-RP-PBS
shRNAネガティブコントロール用レンチウイルス		
shRNA-H1 (Neg)-(GFP-Bsd)	H1(shRNA-Ctr)-GB	H1(shRNA-Ctr)-GB-PBS
shRNA-H1 (Neg)-(GFP-Puro)	H1(shRNA-Ctr)-GP	H1(shRNA-Ctr)-GP-PBS
shRNA-H1 (Neg)-(RFP-Bsd)	H1(shRNA-Ctr)-RB	H1(shRNA-Ctr)-RB-PBS
shRNA-H1(Neg)-(RFP-Puro)	H1(shRNA-Ctr)-RP	H1(shRNA-Ctr)-RP-PBS
shRNA-H1 (Neg)-(blastidicin)	H1(shRNA-Ctr)-Bsd	-
shRNA-H1 (Neg)-(Puromycin)	H1(shRNA-Ctr)-Puro	-
ヒトU6プロモーター発現 shRNAネガティブコントロール用レンチウイルス		
shRNA-U6 (Neg)-(blastidicin)	U6(shRNA-Ctr)-Bsd	-
shRNA-U6 (Neg)-(GFP-Bsd)	U6(shRNA-Ctr)-GB	-
shRNA-U6 (Neg)-(GFP-Puro)	U6(shRNA-Ctr)-GP	-
shRNA-U6 (Neg)-(Puromycin)	U6(shRNA-Ctr)-Puro	-
shRNA-U6 (Neg)-(RFP-Bsd)	U6(shRNA-Ctr)-RB	-
shRNA-U6 (Neg)-(RFP-Puro)	U6(shRNA-Ctr)-RP	-



本製品はカルタヘナ法該当製品のため、ご注文の際に「ご使用者確認書」のご提出をお願いしております。ご使用に際しては、規則に即し、適切にお取り扱いください。

ご使用者確認書 ▶ <https://filgen.jp/Product/Bioscience4/GenTarget/kakuninsho.pdf>

GenTarget社製品をもっとみる



<https://filgen.jp/Product/Bioscience4/GenTarget/index.html>

関連製品



ALSTEM社
細胞不死化キット



Biontex社
トランスフェクション試薬



Synvolux Therapeutics社
トランスフェクション試薬

フィルジェン 株式会社 

【お問い合わせ】 試薬部

TEL : 052-624-4388 FAX : 052-624-4389

メール : biosupport@filgen.jp URL : <https://filgen.jp/>

代理店

(Jul.2021)