

細胞不死化用 Pre-made レンチウイルス粒子

- SV40ラージT抗原
- **L**htert
- p53 siRNA
- **EBNA1**
- EBNA2
- **HpV16-E6**
- E₁A

HOXA9

CDK4

cMyc

KRas G12V

レンチウイルスを用いた細胞不死化

レンチウイルス、遺伝子発現またはノックダウンのため遺伝子導入ツールです。 GenTarget社のレンチウイルスは、ヒト免疫不全ウイルス-1(HIV)ベースで、 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可能です。レンチウイルスは、形質導入さ れた細胞のゲノムに安定して組み込まれるため、長期間発現が可能です。

- **凸 24wellプレートに培養した細胞に50ul/well加え** るだけの簡単な手順
- 細胞選択のための抗生物質・蛍光マーカーを含む
- 心 複数のプロモーター・選択マーカー製品をご用意

細胞不死化の方法

網膜芽細胞腫 (Rb) やp53遺伝子 (腫瘍抑制タンパク質) などの細胞周期の制御遺伝子の抑制は、細胞不死化の方法のひとつです。がん 細胞を誘導する多くのウイルスは、「腫瘍抑制タンパク質」を抑制するウイルス遺伝子をもち、細胞を不死化させます。このようなウイルス遺伝子の 過剰発現は、初代細胞の不死化を可能にします。この中では、シミアンウイルス(SV-40)のラージT抗原が最も一般的です。この他に、ヒトパピ ローマウイルス (HPV) のE6/E7遺伝子、エプスタイン・バーウイルス (EBV)、ヒトアデノウイルス5型のE1A遺伝子、Ras_V12変異体、cMycな どがあります。また、p53またはRbノックダウン用siRNAも使用することができます。

細胞不死化のもう一つの方法は、不死化のための遺伝子を過剰発現させる方法です。最もよく知られている遺伝子は、ヒト腫瘍でよく過剰発現 する遺伝子であるテロメラーゼ(hTERT)です。このほかに、HOX遺伝子やCDK4などがあります。

不死化遺伝子と細胞型

不死化遺伝子	不死化する細胞型
SV40 Large T-antigen	ほとんどの細胞型
hTERT	ほとんどの細胞型
EBV Genes(EBNA1/EBNA2)	B細胞
HpV16-E6/E7	ケラチノサイト
Adenovial E1A	ラット組織由来の上皮細胞

不死化する細胞型
膵管細胞
造血細胞、骨髄前駆細胞
気管支上皮細胞
多種多様な細胞型
前立腺上皮細胞

細胞不死化試薬の選択

細胞の種類に応じて、上記の方法を組み合わせて不死化効率を高めたり、より多くの細胞を不死化することができます。 不死化後、初代細胞の 表現型が変化する場合と変化しない場合があることに注意してください。 そして、不死化は必ずしも発がんということではありません。 ただし、初代 細胞と不死化細胞には実験モデルの違いがあります。

レンチウイルスは、初代細胞の不死化のための最良かつ最も効率的な送達方法です。 Gentarget社では、さまざまなプロモーターと選択マーカー によって駆動される、細胞不死化レンチウイルス製品を提供しています。

製品一覧へ▶









製品について

同じターゲットであっても、プロモーターや選択マーカーの異なる複数の製品をご用意しています。各レンチウイルスは検証済みの特定の遺伝子標的の配列を含み、DMEMまたはPBSのいずれかのフォーマットで提供されます。

標的遺伝子発現のプロモーターについて

suCMVプロモーター	ほとんどの細胞型で最も強力なプロモーターであり、最も高い過剰発現を示します。
EF1aプロモーター	より少ない組織、細胞型特異的に修飾されており、すべての細胞型で活性があります。また、長期細胞中のプロモーターサイレンシング効果もありません。

提供フォーマットについて

DMEMフォーマット (通常のレンチウイルス)	10%FBSおよびポリブレン (10x) を含むDMEM培地で提供される未精製ウイルスです。 ほとんどのアプリケーションに適用可能です。
PBSフォーマット (In vivo ready レンチウイルス)	より高い力価に精製済みで、血清 (FBS) を含有しないPBS溶液に再懸濁して提供されます。 形質導入効率の低い細胞型や、幹細胞などの血清感受性細胞や初代細胞に使用できます。



る SV40ラージT抗原発現レンチウイルス

SV40ラージT抗原(Simian Vacuolating Virus 40 T-Ag)は、ウイルスゲノム複製 およびホストの細胞周期の制御に関与する六量体のタンパク質です。核局在化シグナル や他のウイルスアプリケーションを研究するモデルタンパク質として利用されています。また、様々な細胞型の不死化に広く利用されています。

マニュアル ▶https://www.gentarget.com/pdf/T-ag-LVP016-man.pdf



		DMEMフォーマット	PBSフォーマット
品名	選択マーカー		品番
suCMVプロモーター駆動			
SV40 Large T-antigen (CMV, no selection) lentivirus	なし	LVP016	LVP016-PBS
SV40 large T-antigen (Puro), CMV lentivirus	ピューロマイシン	LVP016-Puro	LVP016-Puro-PBS
SV40 large T-antigen (Bsd), CMV lentivirus	ブラストサイジン	LVP016-Bsd	LVP016-Bsd-PBS
SV40 large T-antigen (Neo), CMV lentivirus	ネオマイシン	LVP016-Neo	LVP016-Neo-PBS
Sv40 Large T-antigen (CMV, Hygro) Lentivirus	ハイグロマイシン	LVP016-Hygro	LVP016-Hygro-PBS
Sv40 Large T-antigen (CMV, Zeo) Lentivirus	ゼオシン	LVP016-Zeo	LVP016-Zeo-PBS
SV40 large T-antigen (GFP-Puro), CMV lentivirus	GFP-ピューロマイシン	LVP016-GP	LVP016-GP-PBS
SV40 large T-antigen (GFP-Bsd), CMV lentivirus	GFP-ブラストサイジン	LVP016-GB	LVP016-GB-PBS
SV40 large T-antigen (RFP-Puro), CMV lentivirus	RFP-ピューロマイシン	LVP016-RP	LVP016-RP-PBS
SV40 large T-antigen (RFP-Bsd), CMV lentivirus	RFP-ブラストサイジン	LVP016-RB	LVP016-RB-PBS
EF1aプロモーター駆動			
SV40 Large T-antigen (EF1a, no selection) lentivirus	なし	LVP557	LVP557-PBS
SV40 large T-antigen (Puro), EF1a lentivirus	ピューロマイシン	LVP557-Puro	LVP557-Puro-PBS
SV40 large T-antigen (Bsd), EF1a lentivirus	ブラストサイジン	LVP557-Bsd	LVP557-Bsd-PBS
SV40 large T-antigen (Neo), EF1a lentivirus	ネオマイシン	LVP557-Neo	LVP557-Neo-PBS
Sv40 Large T-antigen (EF1a, Hygro) Lentivirus	ハイグロマイシン	LVP557-Hygro	LVP557-Hygro-PBS
Sv40 Large T-antigen (EF1a, Zeo) Lentivirus	ゼオシン	LVP557-Zeo	LVP557-Zeo-PBS
SV40 large T-antigen (GFP-Puro), EF1a lentivirus	GFP-ピューロマイシン	LVP557-GP	LVP557-GP-PBS
SV40 large T-antigen (GFP-Bsd), CMV lentivirus	GFP-ブラストサイジン	LVP557-GB	LVP557-GB-PBS
SV40 large T-antigen (RFP-Puro), EF1a lentivirus	RFP-ピューロマイシン	LVP557-RP	LVP557-RP-PBS
SV40 large T-antigen (RFP-Bsd), EF1a lentivirus	RFP-ブラストサイジン	LVP557-RB	LVP557-RB-PBS

※DMEMフォーマット: 1x10e7 IFU/ml x 200ul、PBSフォーマット(ウイルス濃縮済、無血清アッセイ用): 5x10e7 IFU/ml x 200ul



ヒトテロメラーゼ逆転写酵素(hTERT)発現レンチウイルス

hTERTは、細胞老化において役割を果たし、染色体修復にも関与します。hTERTが外因的に発現される場合、細胞はテロメアの長さを維持し、細胞老化を回避することができます。hTERTは、様々な細胞型の初代細胞の不死化に広く用いられています。



マニュアル ▶https://www.gentarget.com/pdf/hTERT-man.pdf

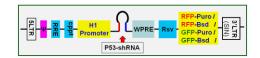
		DMEMフォーマット	PBSフォーマット
品名	選択マーカー	品番	
suCMVプロモーター 駆動			
hTERT (CMV, Puro) lentivirus	ピューロマイシン	LVP1130-Puro	LVP1130-Puro-PBS
hTERT (CMV, Bsd) lentivirus	ブラストサイジン	LVP1130-Bsd	LVP1130-Bsd-PBS
hTERT (CMV, Neo) lentivirus	ネオマイシン	LVP1130-Neo	LVP1130-Neo-PBS
hTERT (CMV, Hygro) Lentivirus	ハイグロマイシン	LVP1130-Hygro	LVP1130-Hygro-PBS
hTERT (CMV, Zeo) Lentivirus	ゼオシン	LVP1130-Zeo	LVP1130-Zeo-PBS
hTERT (CMV, GFP-Puro) lentivirus	GFP-ピューロマイシン	LVP1130-GP	LVP1130-GP-PBS
hTERT (CMV, GFP-Bsd) lentivirus	GFP-ブラストサイジン	LVP1130-GB	LVP1130-GB-PBS
hTERT (CMV, RFP-Puro) lentivirus	RFP-ピューロマイシン	LVP1130-RP	LVP1130-RP-PBS
hTERT (CMV, RFP-Bsd) lentivirus	RFP-ブラストサイジン	LVP1130-RB	LVP1130-RB-PBS
EF1aプロモーター駆動			
hTERT (EF1a) lentivirus (No any antibiotic selection)	なし	LVP1131	LVP1131-PBS
hTERT (EF1a, Puro) lentivirus	ピューロマイシン	LVP1131-Puro	LVP1131-Puro-PBS
hTERT (EF1a, Bsd) lentivirus	ブラストサイジン	LVP1131-Bsd	LVP1131-Bsd-PBS
hTERT (EF1a, Neo) lentivirus	ネオマイシン	LVP1131-Neo	LVP1131-Neo-PBS
hTERT (EF1a, Hygro) Lentivirus	ハイグロマイシン	LVP1131-Hygro	LVP1131-Hygro-PBS
hTERT (EF1a, Zeo) Lentivirus	ゼオシン	LVP1131-Zeo	LVP1131-Zeo-PBS
hTERT (EF1a, GFP-Puro) lentivirus	GFP-ピューロマイシン	LVP1131-GP	LVP1131-GP-PBS
hTERT (EF1a, GFP-Bsd) lentivirus	GFP-ブラストサイジン	LVP1131-GB	LVP1131-GB-PBS
hTERT (EF1a, RFP-Puro) lentivirus	RFP-ピューロマイシン	LVP1131-RP	LVP1131-RP-PBS
hTERT (EF1a, RFP-Bsd) lentivirus	RFP-ブラストサイジン	LVP1131-RB	LVP1131-RB-PBS

※DMEMフォーマット: 1x10e7 IFU/ml x 200ul、PBSフォーマット(ウイルス濃縮済、無血清アッセイ用): 1x10e8 IFU/ml x 200ul



ヒトp53遺伝子ノックダウン用レンチウイルス

p53のようなヒトの「腫瘍抑制タンパク質」をノックダウンまたは抑制することで、多種多様な細胞型を不死化することができます。本製品は、ヒトp53遺伝子をノックダウンするshRNAレンチウイルス粒子です。これらのノックダウンレンチウイルスは、75%以上のノックダウンレベルが検証されています(80%~97%は細胞型に依存します)。



マニュアル トhttps://www.gentarget.com/pdf/P53-siRNA-man.pdf

		DMEMフォーマット	PBSフォーマット
	選択マーカー	品	番
ヒトH1プロモーター 駆動			
shRNA (h P53)-(GFP-Puro) lentivirus	GFP-ピューロマイシン	LVP343-GP	LVP343-GP-PBS
shRNA (h P53)-(GFP-Bsd) lentivirus	GFP-ブラストサイジン	LVP343-GB	LVP343-GB-PBS
shRNA (h P53)-(RFP-Puro) lentivirus	RFP-ピューロマイシン	LVP343-RP	LVP343-RP-PBS
shRNA (h P53)-(RFP-Bsd) lentivirus	RFP-ブラストサイジン	LVP343-RB	LVP343-RB-PBS

※DMEMフォーマット: 1x10e7 IFU/ml x 200ul、PBSフォーマット(ウイルス濃縮済、無血清アッセイ用): 5x10e7 IFU/ml x 200ul



エプスタイン・バーウイルス (EBV) 遺伝子 (EBNA1とEBNA2) は、B細胞とT細胞の 不死化に使用されたことが報告されています。また、HPV16ウイルスのE6/E7遺伝子(ケ ラチノサイト)、アデノウィルス5型のE1A遺伝子(初代げつ歯類細胞)、ヒトHOX遺伝 子(マクロファージを含む様々な造血細胞、造血前駆細胞、骨髄前駆細胞)、ヒト CDK4(気管支細胞や筋芽細胞)、LFKRas V12 変異体、cMyc(多種多様な細 胞) などがあります。



マニュアル ▶https://www.gentarget.com/pdf/Other-cell-immortalization-man.pdf

		DMEMフォーマット	PBSフォーマット
品名	選択マーカー	ŀ	品名
EF1aプロモーター駆動			
EBNA1遺伝子発現(B細胞の不死化)			
EBNA1 (GFP-Puro) Lentivirus	GFP-ピューロマイシン	LVP1134-GP	LVP1134-GP-PBS
EBNA1 (RFP-Bsd) Lentivirus	RFP-ブラストサイジン	LVP1134-RB	LVP1134-RB-PBS
EBNA2 遺伝子発現(B細胞の不死化)			
EBNA2 (GFP-Puro) Lentivirus	GFP-ピューロマイシン	LVP1135-GP	LVP1135-GP-PBS
EBNA2 (RFP-Bsd) Lentivirus	RFP-ブラストサイジン	LVP1135-RB	LVP1135-RB-PBS
HPV16型ウイルスのE6遺伝子発現(ケラチノサイトの不死イ	៤)		
HpV16-E6 (GFP-Puro) Lentivirus	GFP-ピューロマイシン	LVP1136-GP	LVP1136-GP-PBS
HpV16-E6 (RFP-Bsd) Lentivirus	RFP-ブラストサイジン	LVP1136-RB	LVP1136-RB-PBS
アデノウイルスE1A遺伝子発現(初代げつ歯類細胞の不死化	5)		
E1A (GFP-Puro) Lentivirus	GFP-ピューロマイシン	LVP1137-GP	LVP1137-GP-PBS
E1A (RFP-Bsd) Lentivirus	RFP-ブラストサイジン	LVP1137-RB	LVP1137-RB-PBS
HOXA9遺伝子発現(造血細胞の不死化)			
HOXA9 (GFP-Puro) Lentivirus	GFP-ピューロマイシン	LVP1138-GP	LVP1138-GP-PBS
HOXA9 (RFP-Bsd) Lentivirus	RFP-ブラストサイジン	LVP1138-RB	LVP1138-RB-PBS
変異体KRas_G12V遺伝子発現(膵管細胞の不死化)			
KRas_G12V (GFP-Puro) Lentivirus	GFP-ピューロマイシン	LVP1139-GP	LVP1139-GP-PBS
KRas_G12V (RFP-Bsd) Lentivirus	RFP-ブラストサイジン	LVP1139-RB	LVP1139-RB-PBS
CDK4遺伝子発現(ヒト気管支細胞および筋原細胞の不死	化)		
CDK4 (GFP-Puro) Lentivirus	GFP-ピューロマイシン	LVP1140-GP	LVP1140-GP-PBS
CDK4 (RFP-Bsd) Lentivirus	RFP-ブラストサイジン	LVP1140-RB	LVP1140-RB-PBS
cMyc 遺伝子発現(前立腺上皮細胞の不死化)			
cMyc (GFP-Puro) Lentivirus	GFP-ピューロマイシン	LVP1141-GP	LVP1141-GP-PBS
cMyc (RFP-Bsd) Lentivirus	RFP-ブラストサイジン	LVP1141-RB	LVP1141-RB-PBS

※DMEMフォーマット: 1x10e7 IFU/ml x 200ul、PBSフォーマット(ウイルス濃縮済、無血清アッセイ用): 1x10e8 IFU/ml x 200ul

【お問い合わせ・お見積り】 試薬部 biosupport@filgen.jp まで

★ 関連URL

【製品紹介HP】https://filgen.jp/Product/Bioscience4/GenTarget/index.html 【レンチウイルスのベクター情報】 https://filgen.jp/Product/Bioscience4/GenTarget/Gentarget_Biosafety_statement.pdf 【ご注文時の提出書類(ご使用者確認書)】 https://filgen.jp/Product/Bioscience4/GenTarget/kakuninsho.pdf

フィルジェン 株式会社 Filgen 🗧



代理店

【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/