

新発売

AAVベクター調製をより簡便に

pAAV-ZsGreen1 One-Vector

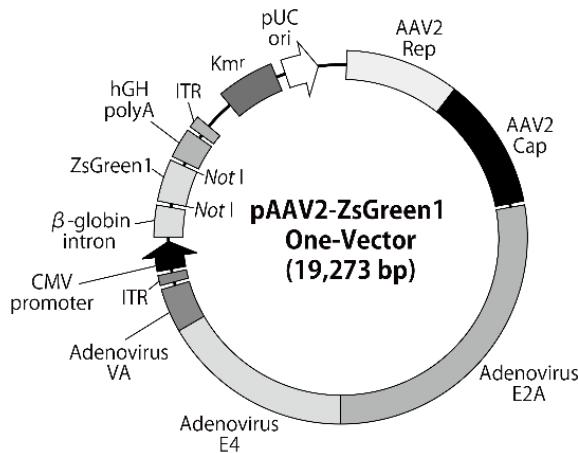


本製品は、アデノ随伴ウイルス(AAV)ベクター作製に必要な3種の要素であるトランスファー・プラスミド(pAAV-ZsGreen1)、Rep/Capプラスミド(pRC1, 2, 5, 6, 8, 9)、およびアデノウイルスヘルパー・プラスミド(pHelper)を1つに統合したプラスミドです。

ITR配列間に、CMVプロモーター制御下で発現するZsGreen1遺伝子が配置されており、このプラスミドを用いてAAVを作製することでZsGreen1発現AAVおよび目的遺伝子を発現するAAVを効率よく作製可能です。

製品名	容量	製品コード	価格(税別)
pAAV1-ZsGreen1 One-Vector	1 mg	6263	¥238,000
pAAV2-ZsGreen1 One-Vector	1 mg	6264	¥238,000
pAAV5-ZsGreen1 One-Vector	1 mg	6265	¥238,000
pAAV6-ZsGreen1 One-Vector	1 mg	6267	¥238,000
pAAV8-ZsGreen1 One-Vector	1 mg	6268	¥238,000
pAAV9-ZsGreen1 One-Vector	1 mg	6269	¥238,000

■ 目的遺伝子発現AAVの作製方法

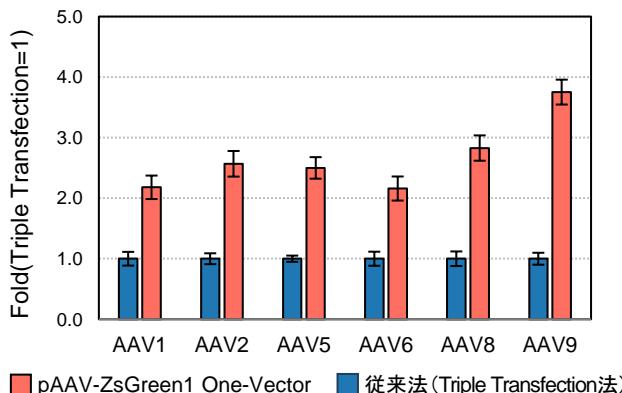


ZsGreen1遺伝子をNot Iで切り出すことができる配列となっており、目的遺伝子をクローニングすることができます。クローニングにはIn-Fusion® Snap Assembly Master Mix(製品コード 638947 ほか)の使用を推奨します。

※ AAV粒子に封入されるDNAサイズには制限があるため、挿入する目的遺伝子のサイズは2.8 kb以内にしてください。

⇒ 単一プラスミドを宿主細胞にトランスフェクションすることで、より簡便にAAVベクターの作製が可能

■ 従来法との比較① AAV産生量



接着HEK293T細胞を用いて、pAAV-ZsGreen1 One-Vectorと従来法(Triple Transfection法)※でZsGreen1発現AAVベクターを調製、回収した。

それぞれの力値をAAVpro® Titration Kit (for Real Time PCR) Ver.2(製品コード 6233)で測定を行い、ウイルス産生量を比較した。Foldは従来法を1とした時のpAAV-ZsGreen1 One-Vectorのウイルス産生量の比率を示す。

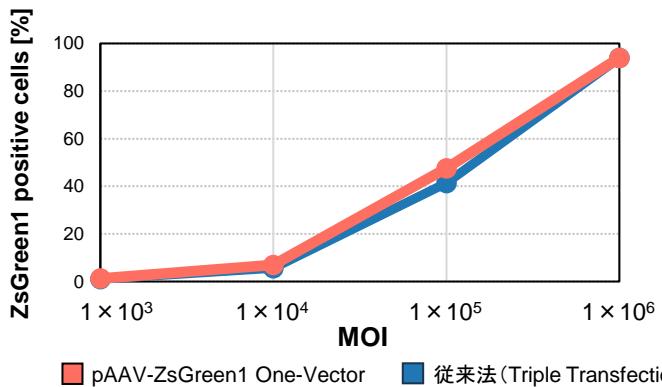
その結果、従来法と比較して、pAAV-ZsGreen1 One-Vectorではどの血清型においてもより多くのAAVベクターを産生することを示した。

※ : AAVpro® Helper Free System(製品コード 6673, 6230, 6650, 6651, 6680, 6690)を使用してAAVベクターを作製した。

⇒ 高いベクター産生量を実現

pAAV-ZsGreen1 One-Vector

■ 従来法との比較② 遺伝子導入効率



接着HEK293T細胞を用いて、pAAV-ZsGreen1 One-Vectorと従来法(Triple Transfection法)でAAV9-CMV-ZsGreen1ベクターを作製・精製した。得られたZsGreen1発現AAVベクターをHeLa細胞に各MOIで感染させ、3日後にフローサイトメーターで遺伝子導入効率を解析した。その結果、pAAV-ZsGreen1 One-Vectorによる遺伝子導入効率は従来法と比較して同等の結果であった。

■ 従来法との比較③ rcAAV(replication-competent AAV)の検出

米国FDAや欧州EMA、日本のPMDAなどの規制当局は、rcAAV(replication-competent AAV)※の検出と管理を遺伝子治療製品の品質管理の重要項目として位置付けている。pAAV-ZsGreen1 One-VectorについてrcAAV発生頻度の評価を行った。

※ : AAV作製時に非相同組換えによって自己複製可能なAAVがごく稀に発生することがある。

【方法】

pAAV-ZsGreen1 One-Vectorおよび従来法(Triple Transfection法)で作製・精製したAAV2ベクター(2×10^{11} vg)とアデノウイルス(MOI=5)をHEK293細胞に共感染させた。その後、感染細胞から抽出液を調製し、その細胞抽出液を再度接着HEK293細胞にアデノウイルスと共に感染させた後、AAVpro® Titration Kit (for Real Time PCR) Ver.2(製品コード 6233)を用いたqPCRによりAAVの有無を確認した。

【結果】

pAAV-ZsGreen1 One-Vectorおよび従来法で作製したZsGreen1発現AAVベクターはいずれもCt値は検出されなかった。また、P.C (野生型AAV2) では 2×10^2 vg/wellにて検出を認め、 2×10^2 vg/wellが検出限界であることが確認された。

感染サンプル名	AAV感染ウイルス量(vg/well)	Ct値
pAAV-ZsGreen1 One-Vector	2×10^{11} vg	--
従来法(Triple Transfection法)	2×10^{11} vg	--
P.C (wtAAV2)	2×10^2 vg	24.2
	2×10^1 vg	--
N.C	-	--

以上の結果より、pAAV-ZsGreen1 One-Vectorで作製したZsGreen1発現AAVベクター(2×10^{11} vg/well)において、AAVは検出限界以下であり、rcAAVは 2×10^2 vg未満であることが示された。このことから理論上AAVベクター 1×10^9 vg中にはrcAAVは存在しない(1以下)ことが示唆された。

■ 関連製品

製品名	容量	製品コード	価格(税別)
In-Fusion® Snap Assembly Master Mix	10回	638947	¥25,000
Not I	500 U	1166A	¥17,000

- ・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ている会社名および商品名などは、各社の商号、または登録済みもしくは未登録の商標であり、これらは各所有者に帰属します。
- ・ライセンスなどに関する最新の情報は弊社ウェブサイトをご覧ください。
- ・本チラシ記載の価格は2025年12月3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。

2025年12月作成N

タカラバイオ株式会社

営業部(東京) TEL 03-3271-8553 FAX 03-3271-7282
営業部(本社) 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 <https://www.takara-bio.co.jp>
公式X @Takara_Bio_JP / https://x.com/Takara_Bio_JP

取扱店