

RetroNectin® GMP grade

Code No. T202

Size: 2.5 mg / 2.5 ml

Description:

RetroNectin, Recombinant Human Fibronectin Fragment CH-296, is a chimeric peptide produced in *E. coli*. This peptide consists of three functional domains: a cell-binding (C-domain), a heparin-binding (H-domain), and a CS-1 site.

RetroNectin GMP grade is manufactured as quality-assured product, according to relevant PIC/S guidelines for Good Manufacturing Practice (GMP).

The RetroNectin method has been widely employed for retroviral and lentiviral vector-mediated gene transfer into mammalian cells. For more details about the RetroNectin method, please refer to technical literature and product information available online for research-grade RetroNectin (Recombinant Human Fibronectin Fragment) (Cat. #T100A/B).

Storage: Store at or below -30°C

Molecular Mass: 62,617 Da (amino acid sequence, 574 amino acids)

Source: *E. coli* expressing human fibronectin fragment CH-296

Purity: >90% by HPLC

Form: 12.5 mM sodium citrate, pH 6.2 and 1.25% sucrose

Packaging: 2.5 mg of protein/2.5 ml in a clear glass 5 ml vial with a slotted stopper and a flip-cap seal

Applications:

To enhance the efficiency of gene transfer into mammalian cells.

Instructions For Use:

[Filtration]

- 1) Materials required
 - Sterile syringe and needle
 - 0.22 μ m Filter (e.g., MERCK MILLIPORE MILLEX-GV, SLGV 033 RS)

- 2) Protocol
Filter the thawed solution (1.0 mg/ml) through a 0.22 μ m Filter.

Note: To avoid protein loss, never filter diluted solution. Only stock solution (1.0 mg protein/ml) should be filtered. Additionally, use low protein binding filters.

[Dilution and RetroNectin Coating]

- 1) Materials required
 - PBS(-) or ACD-A
 - Sterilized pipettes and filter tips

- 2) Protocol
Coat the surface of containers, such as culture dishes, petri dishes, flasks, and bags with RetroNectin Solution, which concentration is 20 - 100 μ g/ml. Also the proper amount of RetroNectin Solution is from 4 - 20 μ g/cm².

1. Before coating, dilute RetroNectin Solution with sterilized phosphate buffered saline (PBS) or Acid Citrate Dextrose Formula A (ACD-A) to adjust its appropriate concentration (ranging 20 - 100 μ g protein/ml).
2. Dispense the appropriate volume of the sterilized RetroNectin solution into containers, then let stand for at least 0.5 hours in room temperature, or overnight at 4°C.
3. Remove the RetroNectin solution, and then add wash solution (e.g. PBS).
4. Remove the wash solution. The surface of the container has been coated, and it is ready to use.

Precautions:

- Work under sterile conditions.
- The thawed product should be used within 12 hours at room temperature.
- Once thawed, use the necessary quantity of thawed solution and discard any unused solution.

Quality Statement:

1. RetroNectin GMP grade is manufactured according to relevant PIC/S GMP guidelines.
2. No animal- or human- derived components are used in the manufacture of this product.
3. Takara Bio has submitted a Drug Master File (DMF application number 18898) to the Food and Drug Administration for this product.

References:

- 1) Kimizuka F, Taguchi Y, Ohdate Y, Kawase Y, Shimojo T, Hashino K, Kato I, Sekiguchi K, and Titani K. Production and characterization of functional domains of human fibronectin expressed in *Escherichia coli*. *J Biochem.* (1991) **110**: 284-291.
- 2) Hanenberg H, Xiao XL, Dilloo D, Hashino K, Kato I, and Williams DA. Colocalization of retrovirus and target cells on specific fibronectin fragments increases genetic transduction of mammalian cells. *Nat Med.* (1996) **2**: 876-882.
- 3) Hanenberg H, Hashino K, Konishi H, Hock RA, Kato I, and Williams DA. Optimization of fibronectin-assisted retroviral gene transfer into human CD34⁺ hematopoietic cells. *Hum Gene Ther.* (1997) **8**: 2193-2206.
- 4) Pollok KE, Hanenberg H, Noblitt TW, Schroeder WL, Kato I, Emanuel D, and Williams DA. High-efficiency gene transfer into normal and adenosine deaminase-deficient T lymphocytes is mediated by transduction on recombinant fibronectin fragments. *J Virol.* (1998) **72**: 4882-4892.
- 5) Chono H, Yoshioka H, Ueno M, and Kato I. Removal of inhibitory substance with recombinant fibronectin-CH-296 plates enhances the retroviral transduction efficiency of CD34⁺CD38⁻ bone marrow cells. *J Biochem.* (2001) **130**: 331-334.

Related Products:

[Research grade RetroNectin, not for clinical trial]

RetroNectin® (Recombinant Human Fibronectin Fragment) 0.5 mg (Cat. #T100A)
RetroNectin® (Recombinant Human Fibronectin Fragment) 2.5 mg (Cat. #T100B)

[Other]

RetroNectin® Dish (RetroNectin Pre-coated Dish, 35 mm ϕ) (Cat. #T110A)
RetroNectin® EIA Kit (Cat. #MK140)
Wash and Stop Solution for ELISA without Sulfuric Acid (Cat. #MK021)
Anti-CD3 mAb GMP grade (Cat. #T210)
LymphoONE™ T-Cell Expansion Xeno-Free Medium, 1L Bottle (Cat. #WK552S)

RetroNectin is a registered trademark of Takara Bio Inc.
LymphoONE is a trademark of Takara Bio Inc.

Note

This product is to be used for research use or non-commercial manufacturing for clinical research. This product is not intended for humans or animals in-vivo applications. Our products may not be transferred to third parties, resold, modified for resale, or used to manufacture commercial products or to provide a service to third parties without our prior written approval. If you require licenses for other use, please contact us by phone at +81 77 565 6972 or e-mail: bio-licensing@takara-bio.co.jp. Your use of this product is also subject to compliance with any applicable licensing requirements described on the product web page. It is your responsibility to review, understand and adhere to any restrictions imposed by such statements. All trademarks are the property of their respective owners. Certain trademarks may not be registered in all jurisdictions.

RetroNectin® GMP grade

Code No. T202

Size : 2.5 mg / 2.5 ml

● 製品概要

RetroNectin (リコンビナントヒトフィブロネクチン: CH-296) は、ヒトフィブロネクチンの細胞接着ドメイン (C-domain)、ヘパリン結合ドメイン (H-domain) および CS-1 部位の 3 種類の機能性ドメインを含む組換えタンパク質である。RetroNectin GMP grade は GMP グレードの RetroNectin であり、PIC/S GMPガイドラインに準拠し、製造および品質管理されている。そのため、研究用として販売している RetroNectin (Recombinant Human Fibronectin Fragment) (製品コード T100A/B) より高品質であり、*ex vivo* の遺伝子治療や細胞調製等の臨床研究に使用可能である。

RetroNectin 法は、レトロウイルスベクターやレンチウイルスベクターを介する哺乳類細胞への遺伝子導入法として広く活用されている (詳細は弊社ウェブカタログの製品ページを参照してください)。

● 保存 - 30℃以下

● 分子量 62,617 Da (アミノ酸配列より算出、574 アミノ酸)

● 起源 *E. coli* expressing human fibronectin fragment CH-296

● 純度 HPLC にて純度 90%以上

● 形状 溶液品 (12.5 mM クエン酸ナトリウム (pH6.2)、1.25% ショ糖)

● 包装形態

2.5 mg のタンパク質を含む溶液 2.5 ml を 5 ml のガラスバイアルで包装

● 用途 哺乳類細胞への遺伝子導入補助剤

● 使用方法

[ろ過]

1) 必要な器具 (主なもの)

- ・滅菌済シリンジ、針
- ・0.22 μ m フィルター (MERCK MILLIPORE MILLEX-GV, SLGV 033 RS など)

2) プロトコール

融解させた 1.0 mg/ml の RetroNectin 溶液を 0.22 μ m のフィルターに通す。

注: フィルターを過は、1.0 mg/ml の RetroNectin 溶液で行ってください。RetroNectin がフィルターに吸着する恐れがあるため、希釈後の溶液はフィルターを過しすぎないでください。また、タンパク質低吸着タイプ以外のフィルターを使用する場合にもフィルターに吸着する恐れがありますので注意が必要です。

[希釈および RetroNectin のコーティング]

1) 必要な器具、試薬 (主なもの)

- ・PBS (-) または ACD-A
- ・滅菌済ピペット、フィルター付き滅菌チップ

2) プロトコール

RetroNectin 濃度が 4 ~ 20 μ g/cm² となるようにプレート等の容器にコーティングを行う。

1. 滅菌済の PBS (Phosphate Buffered Saline) または ACD-A (Acid Citrate Dextrose Formula A) 溶液を用いて、適当な濃度 (20 ~ 100 μ g/ml) となるように無菌的に RetroNectin 溶液を希釈する。
2. 適当量の RetroNectin 希釈液をコートしたい容器全体に広がるように加え、室温で 0.5 時間以上または 4℃で一晩放置する。
3. RetroNectin 希釈液を除き、適当量の洗浄バッファー (PBS 等) で洗浄する。
4. 洗浄バッファーを除き、RetroNectin コート容器とする。

● 使用上の注意

- ・無菌的な環境下で作業してください。
- ・融解した RetroNectin 溶液は室温放置で 12 時間以内に使用してください。
- ・一旦融解した RetroNectin 溶液の後日の再利用は避けてください。

● 品質について

1. 本製品は、PIC/S (医薬品査察協定及び医薬品査察共同スキーム) の GMP ガイドラインに準拠し、製造および品質管理されています。
2. 本製品の製造工程には、ヒトおよび動物由来原料を使用しておりません。
3. 本製品は、米国 FDA (食品医薬品局) のドラッグマスターファイルに登録されています (登録番号: DMF 18898)。

● 参考文献

- 1) Kimizuka F, Taguchi Y, Ohdate Y, Kawase Y, Shimojo T, Hashino K, Kato I, Sekiguchi K, and Titani K. Production and characterization of functional domains of human fibronectin expressed in *Escherichia coli*. *J Biochem.* (1991) **110**: 284-291.
- 2) Hanenberg H, Xiao XL, Dilloo D, Hashino K, Kato I, and Williams DA. Colocalization of retrovirus and target cells on specific fibronectin fragments increases genetic transduction of mammalian cells. *Nat Med.* (1996) **2**: 876-882.
- 3) Hanenberg H, Hashino K, Konishi H, Hock RA, Kato I, and Williams DA. Optimization of fibronectin-assisted retroviral gene transfer into human CD34⁺ hematopoietic cells. *Hum Gene Ther.* (1997) **8**: 2193-2206.
- 4) Pollok KE, Hanenberg H, Noblitt TW, Schroeder WL, Kato I, Emanuel D, and Williams DA. High-efficiency gene transfer into normal and adenosine deaminase-deficient T lymphocytes is mediated by transduction on recombinant fibronectin fragments. *J Virol.* (1998) **72**: 4882-4892.
- 5) Chono H, Yoshioka H, Ueno M, and Kato I. Removal of inhibitory substance with recombinant fibronectin-CH-296 plates enhances the retroviral transduction efficiency of CD34⁺CD38⁻ bone marrow cells. *J Biochem.* (2001) **130**: 331-334.

● 関連製品

[研究用 RetroNectin]

RetroNectin® (Recombinant Human Fibronectin Fragment) 0.5 mg (製品コード T100A)

RetroNectin® (Recombinant Human Fibronectin Fragment) 2.5 mg (製品コード T100B)

[その他]

RetroNectin® Dish (RetroNectin Pre-coated Dish, 35 mm ϕ) (製品コード T110A)

RetroNectin® EIA Kit (製品コード MK140)
Wash and Stop Solution for ELISA without Sulfuric Acid (製品コード MK021)

Anti-CD3 mAb GMP grade (製品コード T210)
LymphoONE™ T-Cell Expansion Xeno-Free Medium, 1L Bottle (製品コード WK552S)

● 注意

本製品は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。ライセンスに関する情報は弊社ウェブカタログをご覧ください。本データシート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。

v201912

タカラバイオ株式会社

ウェブサイト <http://www.takara-bio.co.jp>

製品についての技術的なお問い合わせ先

テクニカルサポートライン

Tel 077-565-6999
Fax 077-565-6995