

JCRB1697 HepaMN

Q : 文献と遺伝子導入

JCRB1697 HepaMN の文献、公開版
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33060611/>

TERT、CDK4^{R24C}, cyclin D1, Tet-off システムをレンチウイルスベクターを介して導入した不死化肝細胞株。ドキシサイクリン添加で CDK4^{R24C}, cyclin D1 の発現がコントロール(抑制)できる。

Hepatocytes were isolated from a liver of 4-year-old girl with biliary atresia and immortalized by inoculation with CSII-CMV-TERT, CSII-CMV-Tet-Off, CSII-TRE-Tight-cyclin D1 and CSII-TRE-Tight-CDK4^{R24C} (mutant CDK4: an INK4a-resistant form of CDK4) lentiviruses at the multiplicity of infection of 3 to 10.

ベクターコンストラクション

樹立文献に構築法のテキストがある (図はなし)

CSII-CMV-Tet-Off は、CSII-CMV-RfA (理研遺伝子バンクにある) の RfA (Reading Frame Cassette A) に Gateway テクノロジーを用いて pTet-Off Advanced (Clontech) の rtTA セグメントを挿入したもの。

CSII-TRE-Tight-cyclin D1、**CSII-TRE-Tight-CDK4^{R24C}** は、CSII-EF-RfA (理研遺伝子バンクにある) の EF1a プロモーター部分を tetracyclin-inducible promoter である TRE-Tight (from pTRE-Tight (Clontech)), に換え、RfA に Gateway テクノロジーを用いて cyclin D1, CDK4^{R24C} を挿入したもの。

樹立論文の Materials and Methods にはなぜか CSII-CMV-TERT の構築法が記されておらず、代わって CSII-TRE-Tight-TERT の構築法が記されているが、アブストラクトや論文全体を眺めると明らかに CSII-CMV-TERT を使っていると思われる。

CSII-CMV-TERT は下記孫引きによると、

<https://academic.oup.com/carcin/article/30/3/423/2476795>

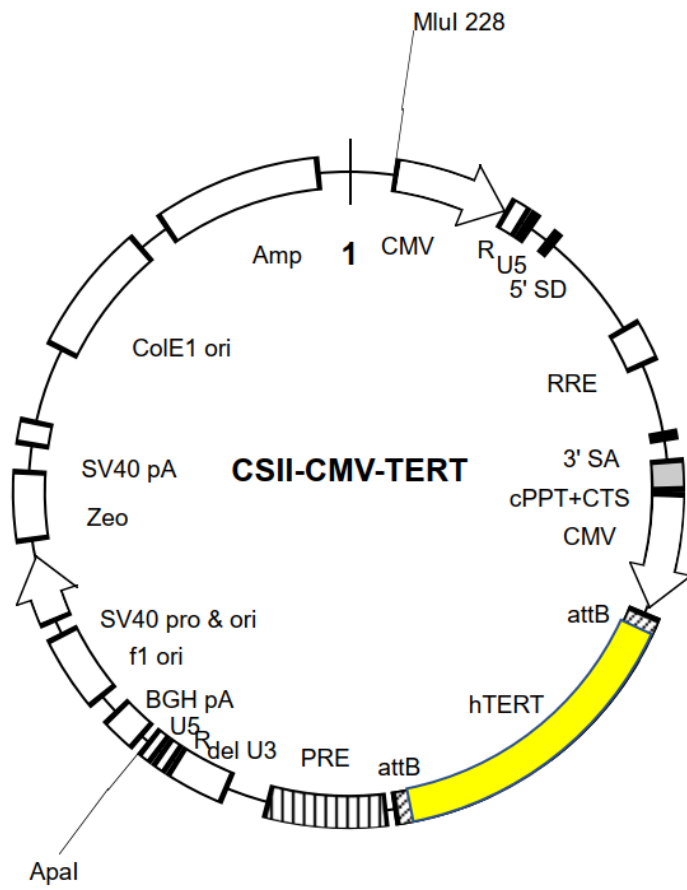
CSII-CMV-RfA (理研遺伝子バンクにある) の RfA (Reading Frame Cassette A) に Gateway テクノロジーを用いて TERT を挿入したもの。

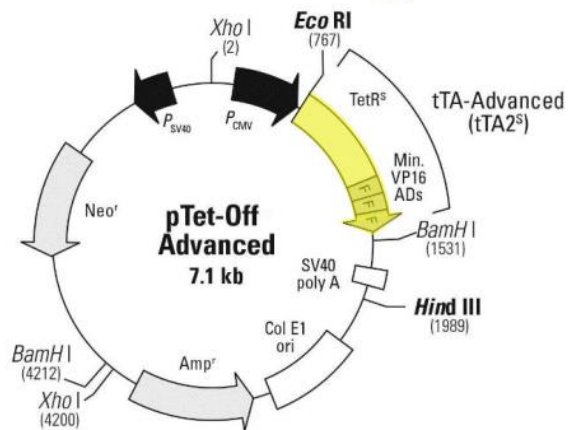
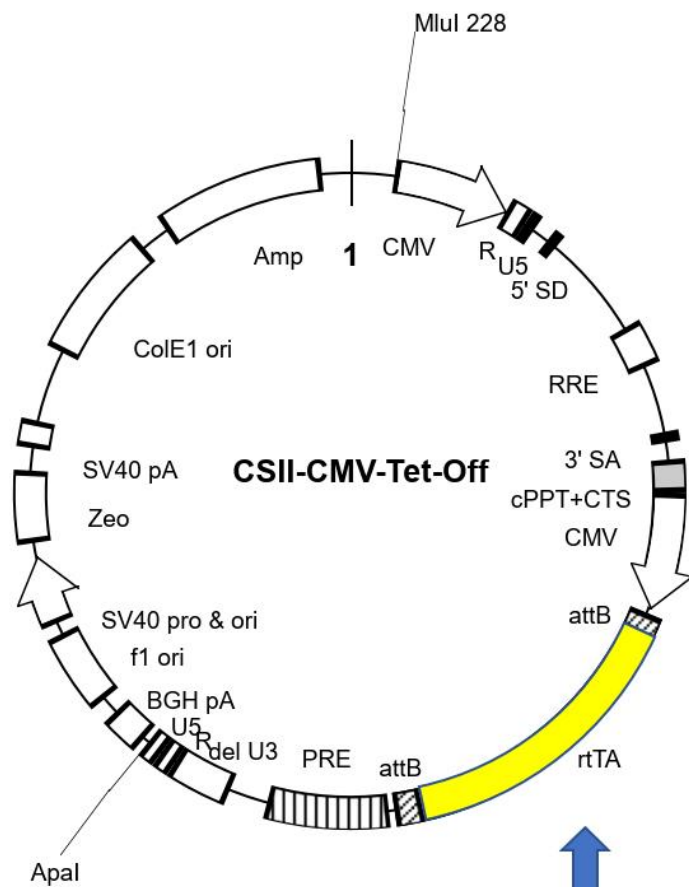
CSII-CMV-RfA のベクターマップは下記

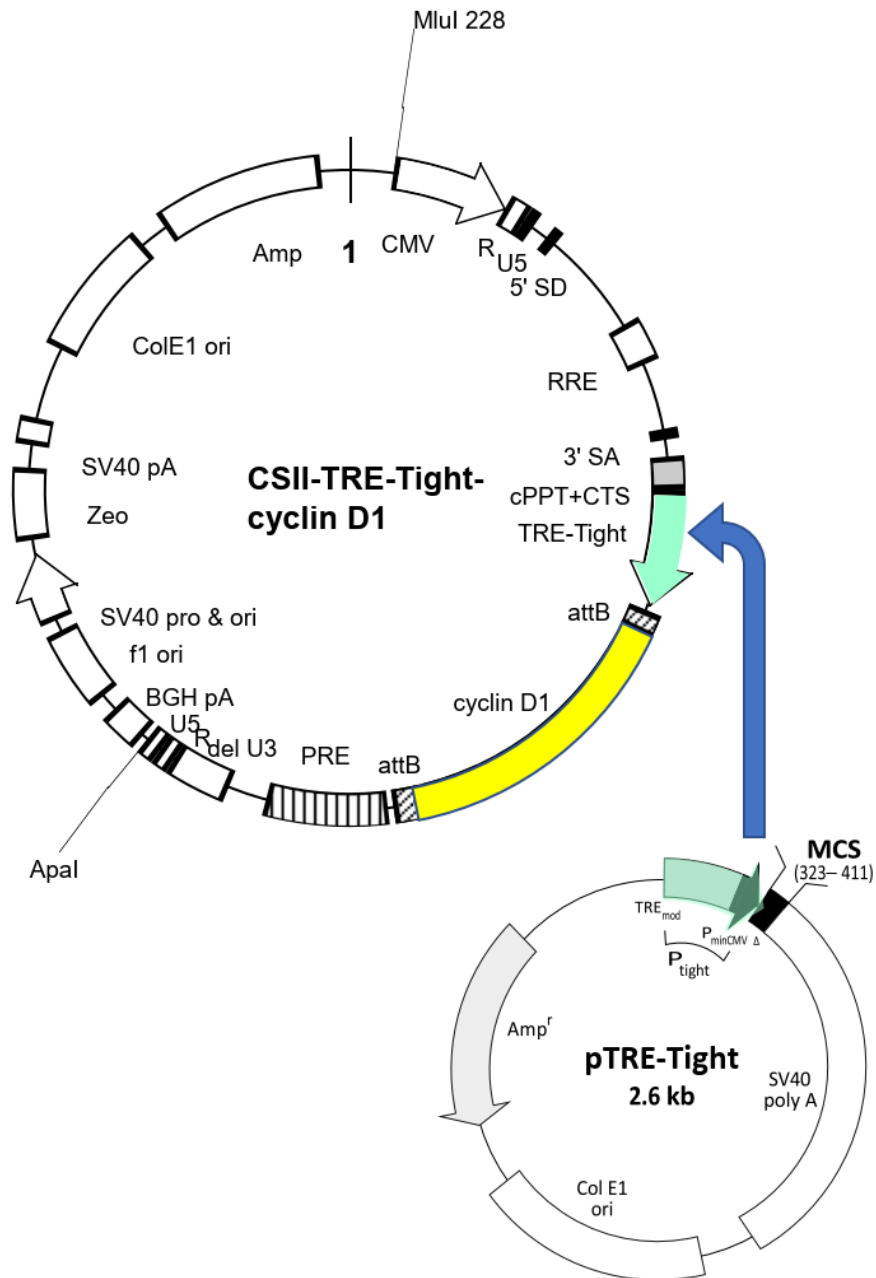
https://dnaconda.riken.jp/search/RDB_clone/RDB04/RDB04386.html

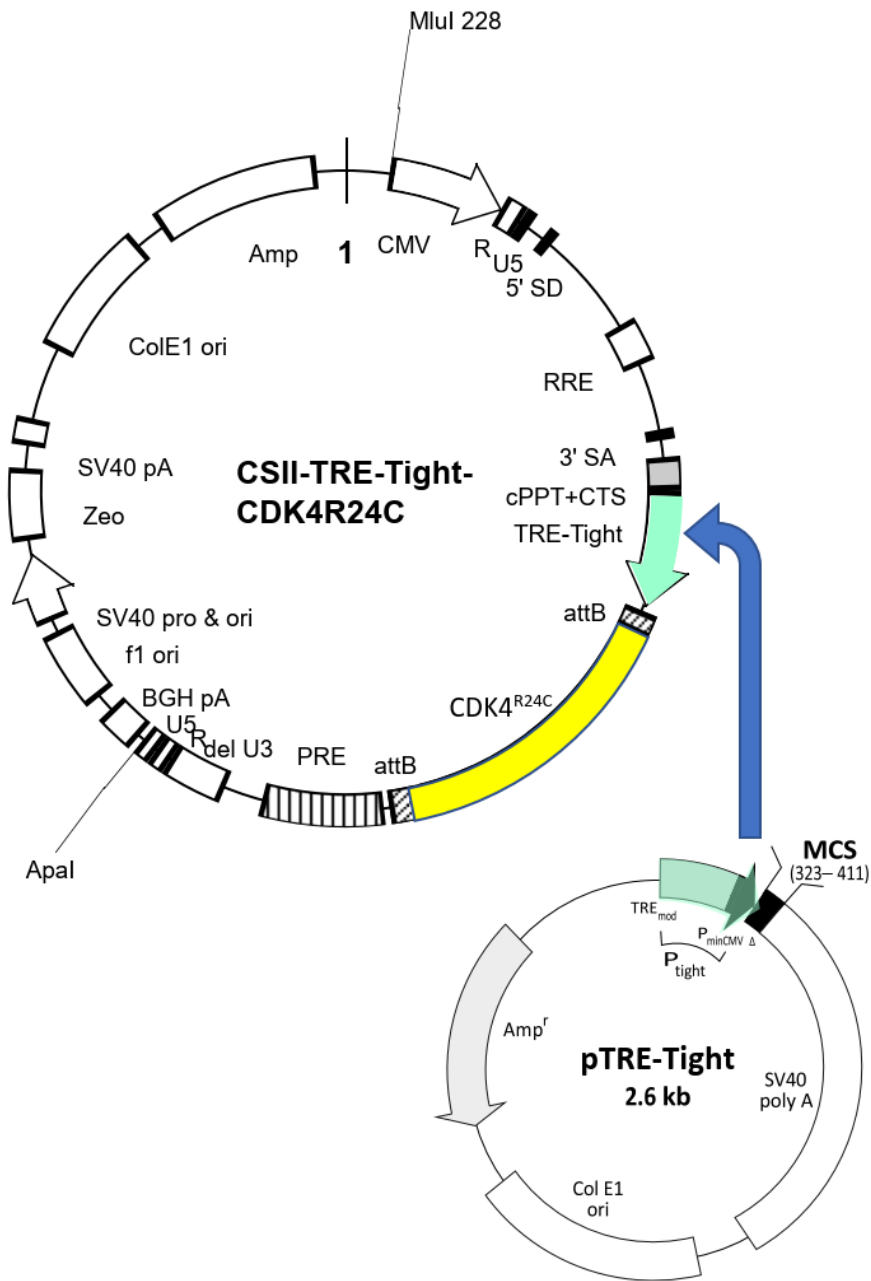
Gateway テクノロジーでは、導入遺伝子は最終的にデスティネーションベクターの RfA カセット中の attR1 と attR2 サイトに挟まれる部分が置換される形で挿入されるので、RfA カセットにあるクロラムフェニコール耐性遺伝子 (Cm) と ccdB 遺伝子はなくなる。

(Invitrogen の PDF などから)









Q. : 指定培地

ESTEM-5494 (MN5494) medium

肝細胞培養用培地

販売 : GlycoTechnica Ltd.

〒225-0012

神奈川県横浜市青葉区あざみ野南 1-3-3

TEL : 045-913-5803

FAX : 045-511-8570

HP : <https://www.glycotechnica.com/>

完全調整済

本培地の組成はまだ公開されておられません。細胞バンクでは、寄託者に指示された上記培地を使用して培養しております。

ESTEM-5494 (MN5494) medium

Dealer is "GlycoTechnica, Ltd."

Contact

GlycoTechnica, Ltd.

1-3-3, Azamino-minami, Aoba-ku

Yokohama 225-0012, Japan

TEL: +81-45-913-5803

FAX: +81-45-511-8570

URL: <https://www.glycotechnica.com/en/culture-media/>