



Diagnosics

FuGENE[®] HD Transfection Reagent (日本語版)

Cover New Ground - One Reagent for superior results



www.roche-applied-science.com

トランスフェクションは、遺伝子の発現のために、遺伝因子を細胞内に導入します。この技術はライフサイエンス研究に必須のもので、遺伝子発現分析と同様にタンパク質の製造にも一般的に使用され、ゲノミクスとプロテオミクス研究の間の重要なリンクです。

目次

FuGENE® HDトランスフェクション試薬の紹介	2-3
新しいレベルのトランスフェクション効率を達成	4-5
信頼性の置ける生理学的に妥当なデータの創造	6-7
より高いレベルのタンパク質発現を演出	8-9
トランスフェクションの特別サイトと特殊なアプリケーション	10
オーダー情報	11



トランスフェクションされる細胞の品質を保証するために、ロシュ・ダイアグノスティックスは、ATCC®から新たに入手した低継代数の細胞株を使用することをお勧めします。

成功率を高めよう

トランスフェクション実験を成功するための重要なファクターは、細胞の品質です。鍵を握る主要な実験要素として、細胞株は大きな変動性を示し、結果の信頼性と再現性に影響します。これらの要素を取り除くために、ロシュ・ダイアグノスティックスは可能な限り、ATCC®の高品質で確実な細胞株の使用を推奨します。

1925年に設立されたATCCは、950種類のがん細胞株を含む、80種類以上の生物種からの3,600種類以上の細胞株を持つ、世界最大の生物資源の供給元です。ATCCの細胞株は、信頼できる標準化された供給と夾雑物フリーの細胞を保証する、包括的かつ繰り返される確認とコンタミネーションのチェック（供託者のオリジナルの材料から出発し、配布のためのバイアルの製造を通じて）がなされています。

ATCCは均質な材料用として実質的に同じ配布ロットを提供する、システマチックな種ストック細胞バンク製造工程を採用しています。これらの手順は、高い継代数の細胞に起因する、遺伝的な不安定性や細胞株選択の変更、老化、形質転換を回避することを保証します。

ATCCなどの確立された供給元から細胞を得ることは、トランスフェクションデータの品質と再現性を保証するための、最初の重要なステップです。

ロシュ・ダイアグノスティックスのトランスフェクション試薬を使用して、トランスフェクションが成功したATCC細胞株に関する情報が載せられた、www.roche-applied-science.com/transfection や www.atcc.org を訪問して、詳細をご覧ください。

ATCC®

新しい地平をカバーする

FuGENE® HDトランスフェクション試薬

ロシュ・ダイアグノスティックスは、FuGENE® 6トランスフェクション試薬により、トランスフェクションのスタンダードを築きました。

FuGENE® HDの上市により、再びロシュはトランスフェクションのより高いレベルを目指し、研究を前進させる素晴らしい結果を可能とします。

■ トランスフェクション効率の新たなレベルを達成：

他の試薬では十分にトランスフェクションできなかった細胞株で達成できます（詳細は4～5ページをご覧ください）。

■ 生理学的に妥当性のあるデータを作成：並外れた低毒性の試薬を使用することでデータの信頼性を保証します

（詳細は6～7ページをご覧ください）。

■ **高レベルのタンパク質発現：**他の試薬では適用できないラージスケールでの長期間にわたる発現が可能です（詳細は8～9ページをご覧ください）。

■ **発見過程の加速：**室温保存、0.1µmフィルターで滅菌済み、動物由来成分を含まない、100%血清中でも活性を持つユニークなノンリポソーム試薬の使用により加速させます。

■ **ハイスループットを達成：**幅広い細胞株とタイプでのサンプルで統一されたプロトコルをもつ試薬の使用により達成しました（図1をご覧ください）。

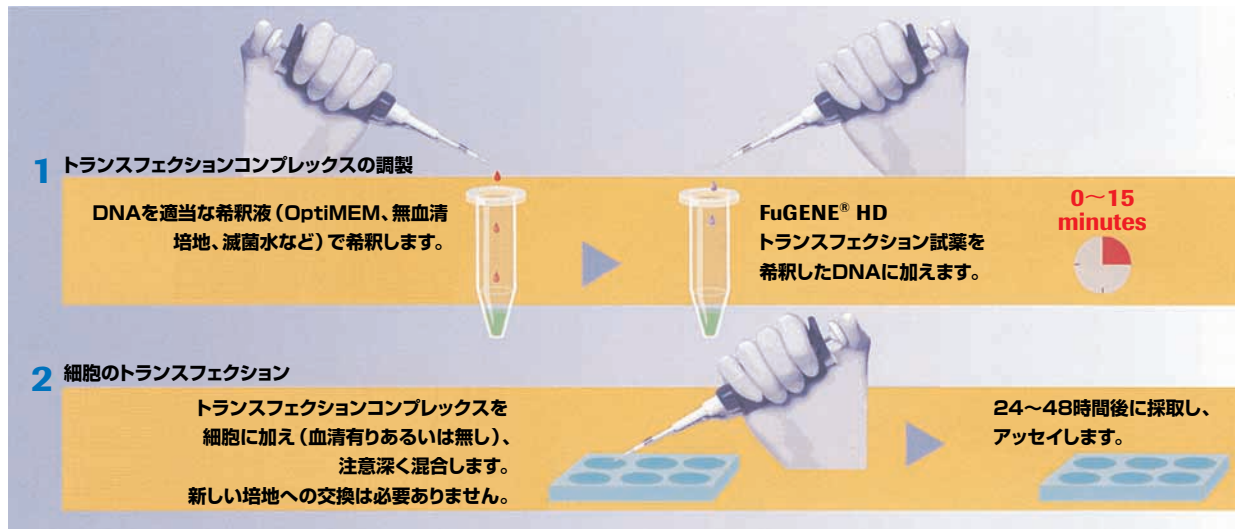


図1：簡単なプロトコルのFuGENE® HDトランスフェクション試薬。
試薬を直接、希釈したDNAに加え、次にトランスフェクションコンプレックスを細胞に加えます。また、逆に希釈したトランスフェクション試薬にDNAを直接加えることも可能です。

“FuGENE® HDトランスフェクション試薬で、ステータブルなトランスフェクションがなされたヒト網膜色素上皮細胞株 (ARPE 19) が我々の研究室で樹立できました。他の試薬では、このアプリケーションと細胞タイプはうまく行きませんでした。

— Swiss Federal Institute of Technology
School of Life Science, Switzerland

“他の試薬では10%以下の効率である特殊な大腸がん細胞株 (KM12) でのトランスフェクション効率を改善しようと試みました。FuGENE® HDトランスフェクション試薬はこの要求にしっかりと答え、トランジェントなトランスフェクションにおける、機能研究には十分な10～20%の効率を達成し、ステータブルなトランスフェクションも可能でした。

— University Hospital Heidelberg,
Applied Tumor Biology, Germany

FuGENE® HD トランスフェクション試薬

トランスフェクション効率の新たなレベルを達成

研究を前進させる多くのアプリケーションにおいて、幅広い細胞をトランスフェクションします。

昆虫細胞や、他の試薬ではトランスフェクションがうまく行かない細胞株を含む、幅広い真核細胞で、優れたトランスフェクション効率を達成したFuGENE® HDトランスフェクション試薬を選んでください。以下の細胞株を含む、多様な種や組織から派生した細胞タイプ(表1、図2、3、4)のトランスフェクションに成功している、次世代のトランスフェクション試薬を選択してください：

- 多種多様ながん細胞株
- 接着および浮遊細胞
- 樹立細胞株
- 初代細胞

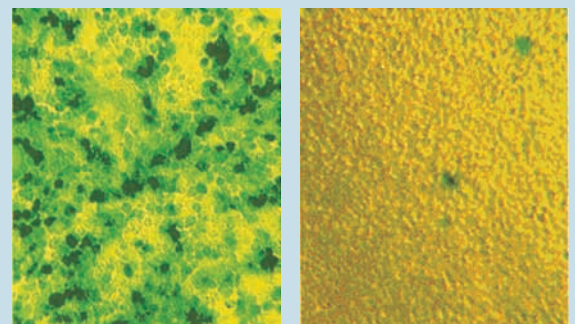
トランスフェクションに成功した細胞タイプの完全な概要は、以下のスペシャルインターネットサイトを訪問してください：

www.roche-applied-science.com/transfection
(10ページ参照)

細胞タイプ	記述、ATCC® ナンバー
2C4	線維芽細胞種、ヒト
3T3 NIH	胚、マウス (NIH)、ATCC® CRL-1658™
A7r5	胸部大動脈、平滑筋、ラット、ATCC® CRL-1444™
ARPE 19	網膜上皮、ヒト、ATCC® CRL-2502™
Fibroblast, foreskin (HFF)	包皮線維芽細胞、ヒト、初代細胞
Hepatocyte, rat	肝臓、ラット、初代細胞
Hep G2	肝芽細胞腫、肝臓、ヒト、ATCC® HB-8065™
HL-60	末梢血、白血病、ヒト、ATCC® CCL-240™
KhES-1	胎児性幹細胞、ヒト
MA-10	精巣レイディグ細胞腫、マウス
NRK-49F	腎臓、ラット、ATCC® CRL-1570™
SCC-61	頭頸部扁平上皮癌、ヒト
Schneider line 2 (S2)	胎児、 <i>Drosophila melanogaster</i> 、ATCC® CRL-1963™
SF9	卵巣、 <i>Spondoptera frugiperda</i> 、ATCC® CRL-1711™
SH-SY5Y	神経膠腫、脳、ヒト、ATCC® CRL-2266™
THP-1	白血病、単球、ヒト、ATCC® TIB-202™
U-2 OS	骨肉腫、骨、ヒト、ATCC® HTB-96™
Vero	腎臓、アフリカミドリサル、ATCC® CCL-81™

表1: FuGENE® HDトランスフェクション試薬で成功した細胞株リストの一部。

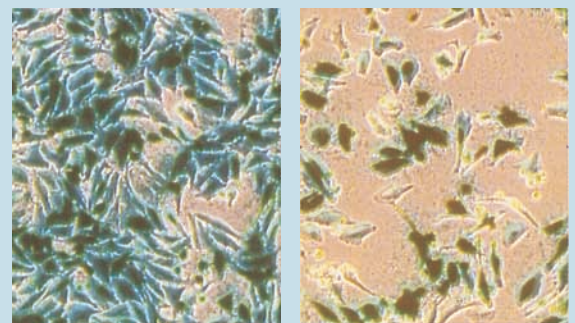
SQ20B [Head and Neck cancer] *



[A] FuGENE® HD

[B] Reagent L

HeLa cells [ATCC® CCL-2™]



[A] FuGENE® HD Transfection Reagent

[B] Reagent L

図2: FuGENE® HDトランスフェクション試薬は、低い細胞毒性で効率的なトランスフェクションをもたらします。

SQ20B (頭頸部扁平上皮癌細胞株)とHeLa細胞 (ATCC® CCL-2™)は、【A】FuGENE® HDと、【B】試薬Lを用いて、 β -Gal発現ベクターがトランスフェクションされました。24時間後 (HeLa)と72時間後 (SQ20B)に染色されました。試薬Lに比べ、FuGENE® HDでトランスフェクションされたHeLa細胞は、未トランスフェクションのコントロールと同様に正常の形態を示し、増殖を続けました (データ未掲載)。

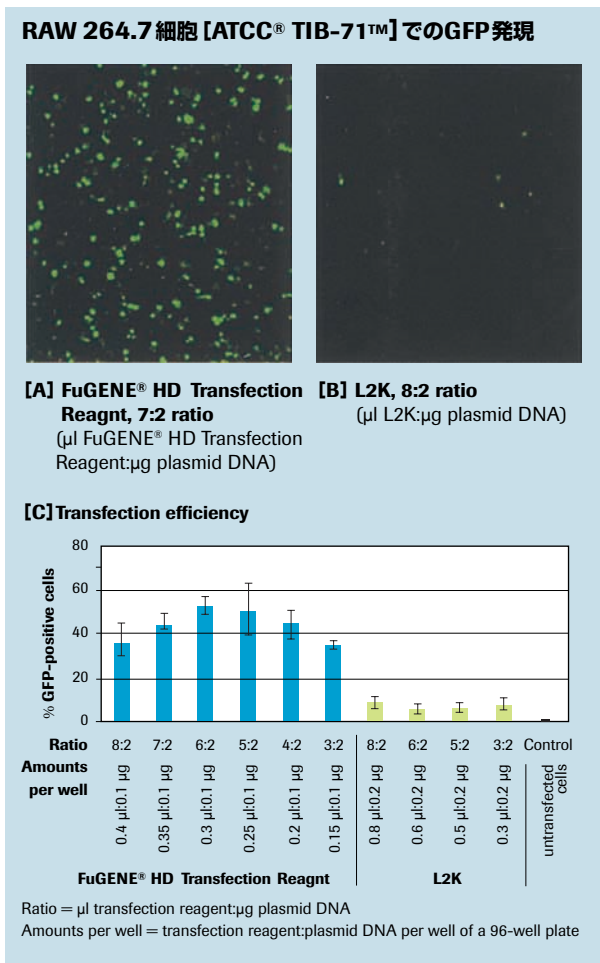
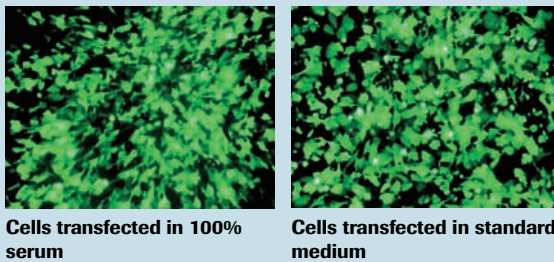


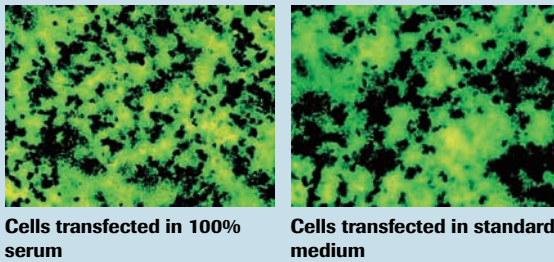
図3：トランスフェクションの困難な細胞株での使用成功例。
RAW 264.7細胞 (ATCC® TIB-71™)でのGFP発現は【A】FuGENE® HDと、【B】試薬Lを用いてのトランスフェクションの48時間後に測定しました。トランスフェクションされた細胞のパーセンテージはGuava PCA-96 AFPシステム【C】で分析しました。

標準的な細胞培地と擬似的な生理条件である100%血清中でのトランスフェクション

T98G [Glioma]* [ATCC® CRL-1690™]



MCF7* [ATCC® HTB-22™]



PC-3 [Prostate Cancer]* [ATCC® CRL-1435™]

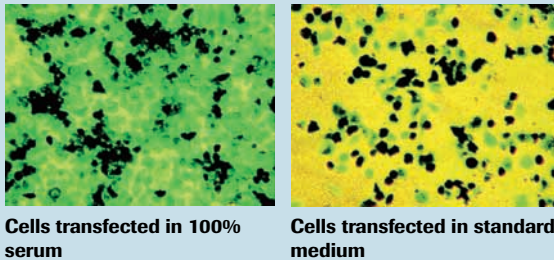


図4：FuGENE® HDトランスフェクション試薬は100%血清中で細胞を効率的にトランスフェクションします。様々な細胞株を10%のFBSを含む標準的な培養培地に播種し、オーバーナイトでインキュベートしました。トランスフェクションの日に、培地を細胞から除去し、100%FBSに置き換えました。トランスフェクションコンプレックスを細胞に加え、100%FBS中で1~2日インキュベーションした後、 β -ガラクトシダーゼの発現を測定しました。
結果：100%FBS中でトランスフェクションしたとき、いくつかの細胞株ではトランスフェクションが改善されました。

*Data courtesy of Fugent L.L.C., USA.

FuGENE® HD トランスフェクション試薬

信頼できる生理的に妥当なデータを作成します

試薬に由来する細胞毒性とオフターゲット効果を最小限にします

他のトランスフェクション試薬で発生する非特異的な副次効果を避けるために、FuGENE® HDトランスフェクション試薬を採用してください。トランスフェクション試薬の効果ではなく、トランスフェクションしたDNA自体の細胞への効果を分析してください：

- 同じ試薬で低い細胞毒性と高い発現レベルを獲得(図7)。

- インターフェロン系の応答などの、試薬に由来する細胞応答の回避(図5)。

- 遺伝子発現プロファイルにおける試薬が誘導する変化が最小限(図5)。

オフターゲット効果は実験結果に多大な影響を与えます。信頼の置ける結果を、FuGENE® HDトランスフェクション試薬で作成してください。

細胞の非特異的なインターフェロン応答を最小限にする FuGENE® HD トランスフェクション試薬の優秀性

Biochemica 3/2006, page 20-23, April 2006よりの抜粋。
完全な叙述は：

www.roche-applied-science.com/biochemica.htm

トランスフェクションとインターフェロン処理による CD2発現の誘導

2C4細胞は、IFN処理に対する応答において細胞表面に、CD2抗原を発現するように、遺伝的に改変されています。インターフェロン刺激遺伝子の発現におけるトランスフェクションの相対的なインパクトを正確に測定するために、(1)トランスフェクション、(2)IFNへの細胞の暴露、(3)トランスフェクション

とIFNの暴露の組み合わせ、に起因する細胞表面CD2発現レベルを測定しました。細胞をFuGENE® HDや試薬T、試薬Gと混合したpEGFP-N3プラスミドに暴露しました(図5)。トランスフェクションの24時間後に、細胞を処理しない(パネルA)、あるいは100 U/mlのIFN-βに暴露しました(パネルB)。FuGENE® HD以外の、試薬Lと試薬Gでトランスフェクションした細胞はA細胞表面のCD2発現が顕著に上昇していました(パネルAとBの比較)。試薬Lと試薬Gの場合、CD2の細胞表面発現レベルは、100 U/mlのIFN-βで処理した細胞と同等でした(パネルCとDの比較)。実際、FuGENE® HDでトランスフェクションした細胞でのみ、IFN-βで処理したとき、実質的なCD2発現が観察されました。

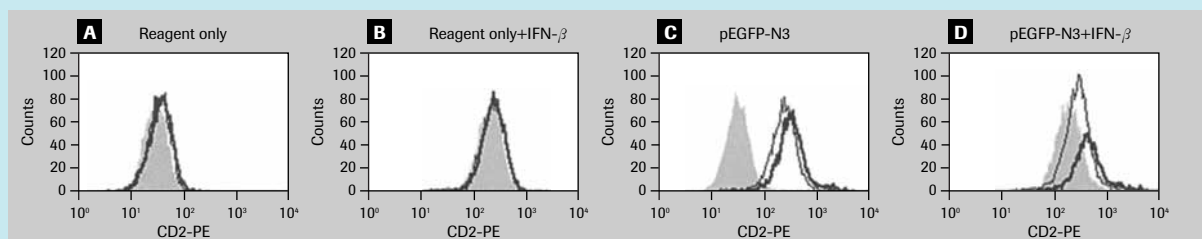


図5：プラスミドDNAとIFN-βの存在/不在下で、FuGENE® HD(灰色部)や試薬T(濃い線)、試薬G(薄い線)に暴露された細胞でのCD2発現の比較。

- (A) トランスフェクション試薬のみに暴露された細胞
- (B) トランスフェクション試薬と100 U/mlのIFN-βに暴露された細胞
- (C) pEGFP-N3プラスミドでトランスフェクションされた細胞
- (D) pEGFP-N3プラスミドでトランスフェクションされ、IFN-βで処理された細胞

FuGENE® 6 トランスフェクション試薬

より高レベルのタンパク質発現を演出

タンパク質製造でしばしば使用される哺乳細胞や昆虫細胞からより多くのタンパク質を作製します。

以下の目的にFuGENE® HD トランスフェクション試薬を使用してください：

- タンパク質生産に一般的に使用される以下の3種類の真核細胞で発現レベルを増加：
 - CHO-S (図8)
 - HEK 293(ATCC® CRL-1573™)やHEK 293 EBNA (図9)
 - High Five細胞 (図10)
- タンパク質発現のスクリーニングとタンパク質製造の簡素化とスピードアップ。

FuGENE® HD：DNA比を段階的に試験することで、タンパク質発現レベルを容易に最適化できます(図8)。

あなたの研究が哺乳細胞や昆虫細胞でのタンパク質発現に関係があるのなら、FuGENE® HD トランスフェクション試薬は第一の選択肢です。

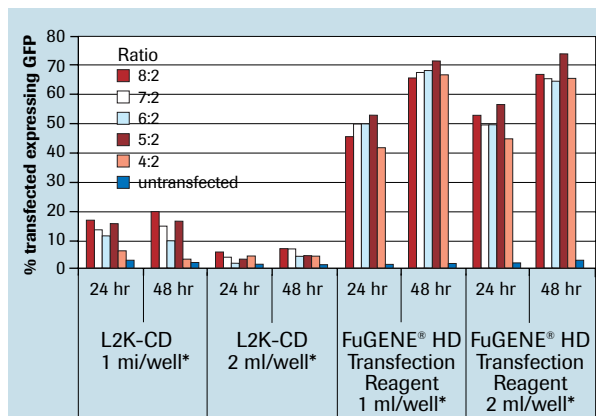


図8：FuGENE® HD トランスフェクション試薬を使用したCHO-S細胞での高いトランスフェクション効率を達成

細胞質タンパク質(GFP)を、FuGENE® HDとL2K-CDを様々な比率(トランスフェクション試薬(μl)：DNA(μg)を4：2～8：2)で使用してトランスフェクションを試験しました。*細胞を1ml当り1,000,000個の割合で、1ないし2mlの培地を含む12ウェルプレートに播種しました。GFPの発現は、トランスフェクションの24時間および48時間後に、Guava Personal Cell Analysis System PCA-96 AFPを使用して分析しました。

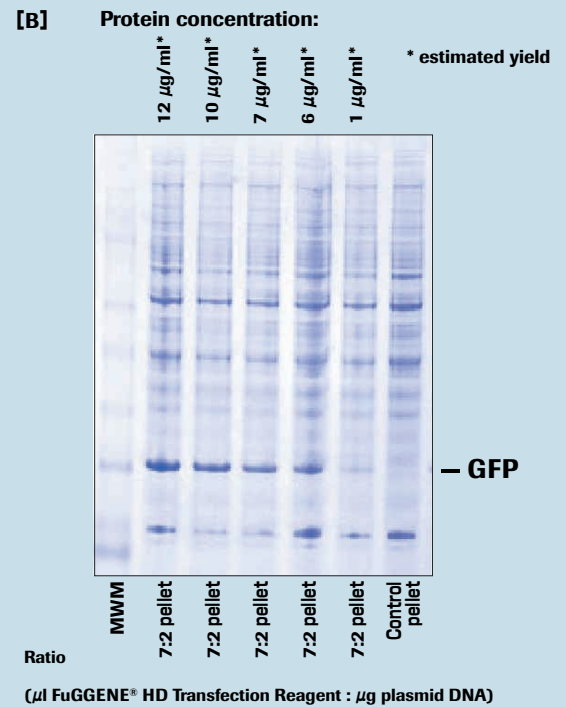
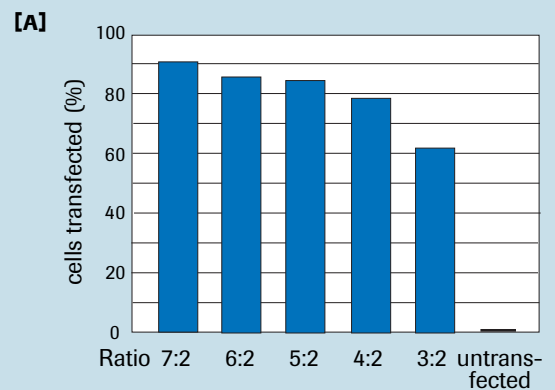


図9：HEK-293 EBNA細胞でのGFP発現。HEK-293 EBNA浮遊馴化細胞をGFP用のプラスミドDNAを7：2、6：2、5：2、4：2、3：2(μl FuGENE® HD：μg DNA)の比率により、プロトコルの推奨に従いトランスフェクションしました。トランスフェクションされた細胞のパーセンテージ【A】トランスフェクションの28時間後に測定し、GFPタンパク質の量【B】はトランスフェクションの72時間後に、クマシーブルー染色ゲルから推計しました。

より高いレベルのタンパク質発現を演出

時間のかかるバキュロウイルスでのタンパク質製造から、FuGENE® HD トランスフェクション試薬を用いたトランジェントなトランスフェクションに替えてみませんか？

FuGENE® HD はまた、High Five や Sf9 (ATCC® CRL-1711™) などの昆虫細胞株での高効率のタンパク質発現が保証され、煩雑で時間のかかるバキュロウイルス細胞発現システムの代替品として提供されます。

昆虫細胞のトランスフェクションに FuGENE® HD を採用すると：

- 実験の開始からタンパク質の精製までに、**バキュロウイルス細胞発現に比べ、18日間も短縮**できます (図11)。

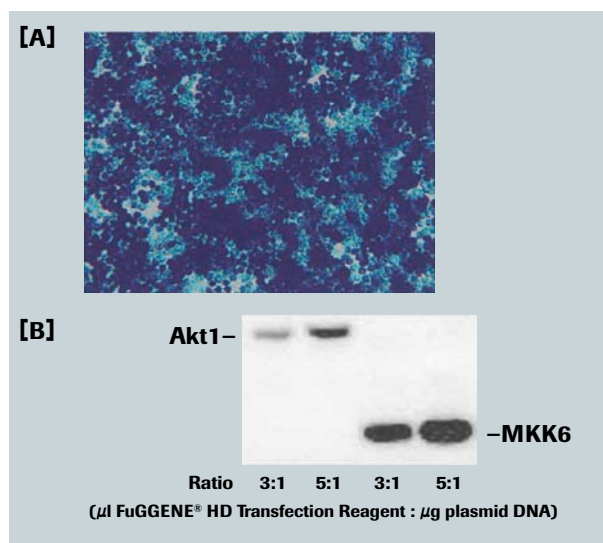


図 10：FuGENE® HD は High Five 昆虫細胞において、高いトランスフェクション効率とタンパク質発現を提供します。 [A] 細胞に Lac-Z 遺伝子を持つベクターをトランスフェクションしました。トランスフェクション効率は、トランスフェクションの24時間後に、 β -ガラクトシダーゼの免疫組織染色で表しました。
[B] 細胞にヒトキナーゼ Akt1 と MKK6 の発現ベクターをトランスフェクションしました。細胞ライセート中のタンパク質発現は、トランスフェクションの72時間後に、ウェスタンブロットで測定しました。

- 高いタンパク質発現レベルを伴う**高トランスフェクション効率を達成**します。
- 簡便で一貫性のあるプロトコルが、必要な**資源を減らし、スループットを増大**させます。
- **目的タンパク質の精製を容易**にし、劇的にコストが下がります。

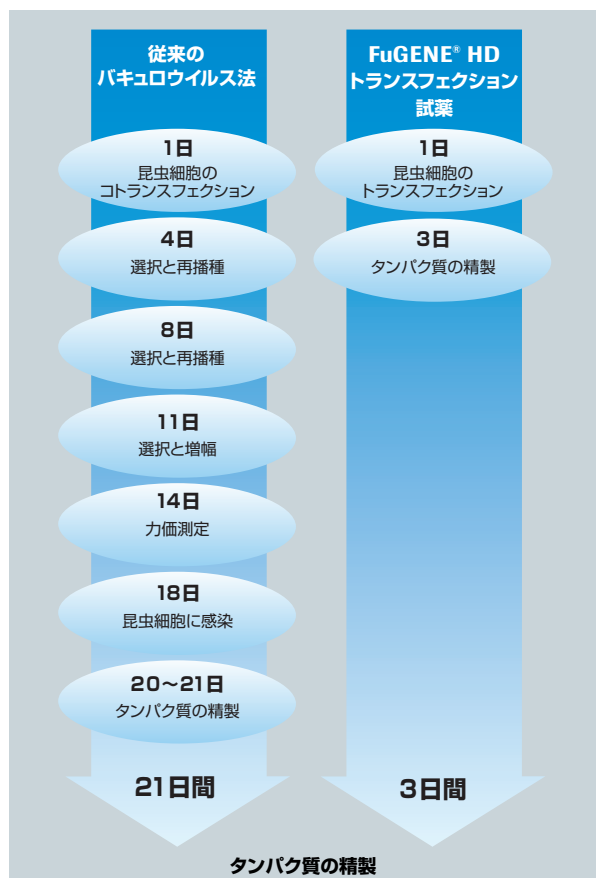


図 11：従来のバキュロウイルス細胞発現システムと FuGENE® HD によるトランジェントなトランスフェクションとの比較。 操作開始から精製タンパク質の回収まで、FuGENE® HD はバキュロウイルス法よりも18日間も時間を短縮します。

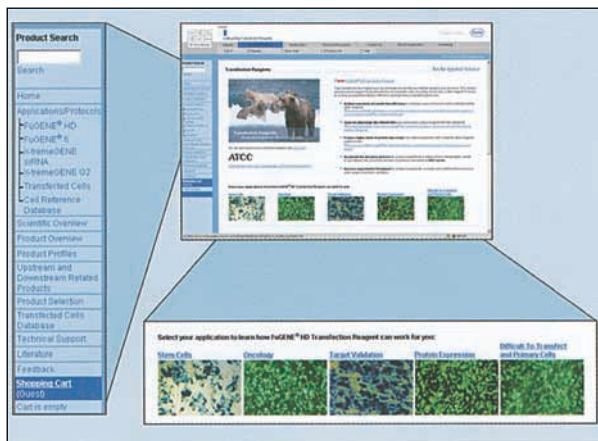
より高いレベルのタンパク質発現を演出

包括的な情報 – 研究をより前へ

www.roche-applied-science.com/transfection

ロシュ・ダイアグノスティックスのトランスフェクション特別サイトがより拡張されて登場しました。

アップデートされた技術情報や、FuGENE® HDトランスフェクション試薬の詳細データにアクセスするなら、この包括的なサイトはあなたの研究の前進の一助となる価値あるリソースです。



アップデートの内容

価値ある情報に簡単にアクセス-左サイドのナビゲーションバー中のトピックスをクリックするだけの簡便さです。

内容は：

- **アプリケーション/プロトコール**：トランスフェクションに成功した初代および樹立細胞株のリストや関連文献、細胞タイプに対応したプロトコールとデータ、至適化や取り扱いに対するチップスなどを含む編集された情報が得られます。
- **製品の紹介**：詳細な製品情報を見ることが出来ます。
- **トランスフェクション細胞データベース**：ロシュ・ダイアグノスティックスのトランスフェクション試薬を使用した論文が定期的にアップデートされています。細胞のタイプ、トランスフェクションされる材料、アプリケーション、トランスフェクション試薬、ならびにこれらのパラメータの組み合わせで、簡単に研究の目的に応じたプロトコールを見つけることが出来ます。

個別のアプリケーション

様々なアプリケーションでFuGENE® HDトランスフェクション試薬を使用した詳細な情報とデータに、トランスフェクション特別サイトからアクセスしてください。

トランスフェクションホームページより、あなたのアプリケーションを選択するか、アプリケーション/プロトコール>FuGENE® HD>アプリケーションインストラクションを開き、“細胞タイプに特異的なプロトコールとデータ”と“その他の個別のアプリケーション”をご覧ください。

アプリケーション/プロトコール>トランスフェクションされた細胞を開くか、トランスフェクション細胞データベースを検索し、このトランスフェクション細胞で成功した初代および樹立細胞株の完全な概要を得てください。

Cell Type	Transfected Material	Expression	Application	Summary	Citation	
293 (HEK-293)	DNA, linear, long (e.g. PCR fragments)	transient	Not specified	good	Reference	
Transfected Cells	293 (HEK-293)	DNA, circular (vector)	transient	Not specified	good	Reference
Stable	293 (HEK-293)	DNA, circular (vector)	transient	Not specified	good	Reference
Technical Support	293 (HEK-293)	DNA, circular (vector)	transient	Not specified	good	Reference
Service	293 (HEK-293)	DNA, circular (vector)	transient	Not specified	good	Reference
Feedback	293 (HEK-293)	DNA, circular (vector)	transient	Not specified	good	Reference
Shoemaker Cart (DS-9)	293 (HEK-293)	DNA, circular (vector)	transient	Protein expression (productive titer)	good	Reference
Overex	293T	DNA, circular (vector)	transient	Not specified	good	Reference
Control empty	293T	DNA, circular (vector)	transient	Not specified	good	Reference
	293T	DNA, circular (vector)	transient	Not specified	neutral	Reference
	293T	DNA, circular (vector)	transient	Not specified	neutral	Reference
	293T	DNA, circular (vector)	transient	Not specified	neutral	Reference

トランスフェクションの特別サイト、

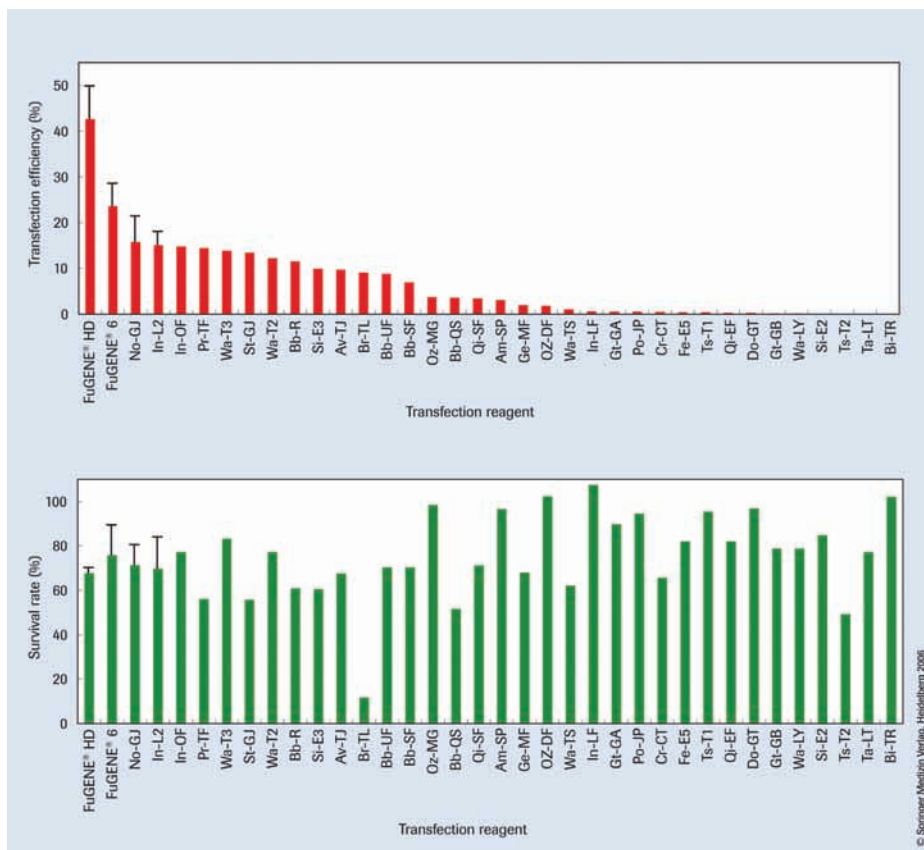
www.roche-applied-science.com/transfectionを訪問し、様々なトピックスを探してください。

オーダー情報

製品名	製品番号	包装単位	希望価格
FuGENE® HD	4 709 691	0.4 ml (6ウェルプレートで120回)	¥29,800
トランスフェクション試薬	4 709 705	1 ml (6ウェルプレートで300回)	¥62,800
	4 709 713	5 × 1 ml (6ウェルプレートで1,500回)	¥252,000
FuGENE® 6	1 815 091	0.4 ml (6ウェルプレートで120回)	¥27,800
トランスフェクション試薬	1 814 443	1 ml (6ウェルプレートで300回)	¥58,700
	1 988 387	5 × 1 ml (6ウェルプレートで1,500回)	¥234,800
X-tremeGENE siRNA	4 476 093	1 ml (24ウェルプレートで400回)	¥23,000
トランスフェクション試薬	4 476 115	5 × 1 ml (24ウェルプレートで2,000回)	¥92,000

速報!!

ヒトES細胞のトランスフェクションにおいて、36種類のトランスフェクション試薬中、FuGENE® HDが最高の効率を示しました (Biochemica 2006, No.4より抜粋)。



図：ヒトES細胞 (KhES-1株) における各遺伝子導入試薬による遺伝子導入効率 (A) と48時間後の生存率 (B)。

ロシュ・ダイアグノスティックス株式会社

本社:〒105-0014 東京都港区芝2丁目6番1号
AS事業部(研究用試薬・機器) TEL.03-5443-5287 FAX.03-5443-7098
E-Mail:tokyo.biochemicals@roche.com
URL:<http://www.roche-biochem.jp>



Diagnostics