

유전자 발현을 자유자재로 조절하는

Tet-On[®] 3G Inducible Expression System

Low background, High Sensitivity & High inducibility

- 7,000건 이상의 논문이 증명하는 Tet System의 최신판
- 5~20배 낮은 백그라운드 발현 & 100~150 배의 높은 유전자 발현 유도
- 독성 유전자와 같은 치명적인 유전자, cell signaling 추적에 적합
- 미생물 유래의 오페론(operon)으로 포유류의 기작에 영향을 미치지 않음
- 극도로 낮은 백그라운드로 *in vivo* 적용에 최적

Tet On[®] 3G Inducible System 개요



- **Regulator vector** : Tetracycline에 의해 조절되는 transactivator를 발현시키며, 발현된 Tet-On[®] 3G transactivator 단백질은 Dox가 결합하면 형태적인 변화가 생겨 P_{TRE3G} Promoter에 결합하여 transcription을 유도한다.
- **Response vector** : 목적 유전자를 발현시키는 P_{TRE3G} Promoter 내에 tetracycline response element (TRE)를 갖고 있어 백그라운드 발현을 억제하고 transactivator 단백질이 강하게 결합하도록 한다. 기존 Tet On[®] Advanced 버전보다 5~20배 백그라운드 발현을 억제한다.
- **Doxycycline (Dox: tetracycline analog)** : Tetracycline의 유도물질로 doxycycline이 tetracycline에 비해 100배 정도의 높은 감도를 갖고 있다. 또한 조직 투과성과 진핵 세포에 대해서도 독성이 낮아 효과적인 유도물질로 사용할 수 있다.

Tet On[®] 3G Inducible System 특징

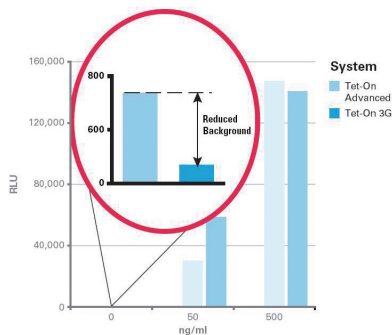


그림 1. P_{TRE3G} promoter는 백그라운드를 극도로 억제한다.

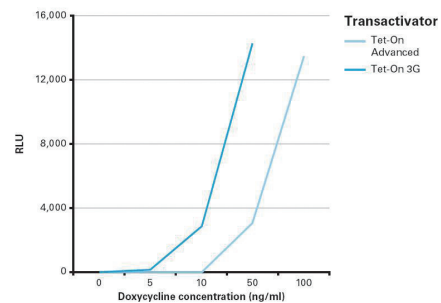


그림 2. Tet-On[®] 3G Transactivator의 Dox에 대한 민감도가 향상되었다.

Tet-On[®] 3G 시스템은 P_{TRE3G} Inducible promoter의 변형을 통해 기존의 promoter에 비해 약 20 배 가량 background를 줄였고 (그림 1) 둘째, Tet-On[®] 3G transactivator protein의 변형을 통해 doxycycline (Dox)에 대한 감도를 획기적으로 높여 아주 낮은 농도의 Dox (5~10 ng/ml)에서도 기존 Tet-On[®] Advanced 보다 100~150 배 이상 발현량을 증가시킬 수 있다 (그림 2). 따라서 월등하게 낮은 백그라운드 발현과 더 민감해진 Dox 민감성으로 높은 목적 유전자 발현과 한층 더 빨라진 반응 유도로, 특히 *in vivo* 실험에 최적이다

Tet[®]-On 3G 시스템 (EF1 α promoter) Stem Cell 과 Hematopoietic Cell 에서의 Silencing 현상 극복

Tet-On[®] 3G Inducible Expression System (EF1α version)은 EF-1α promoter가 포함된 Tet-On[®] 3G System으로 이를 이용하면 시간이 지남에 따라 CMV promoter에서 유전자 silencing 현상이 나타난다고 알려진 줄기세포나 조혈모세포 등의 세포에서도 Tet-On[®] 3G transactivator를 장기간 안정적으로 발현시킬 수 있다 (그림 3). Clontech에 CMV 유래 vector를 사용하였을 때 클론간의 발현에 차이를 나타내거나 발현 수준이 낮다고 알려진 Jurkat cell을 이용해 EF-1 alpha 시스템을 테스트하였다. 그 결과 EF1 α promoter 이용시 83%의 클론이 더 높은 발현을 보였다 (그림 4).

Mouse Embryonic Stem Cells

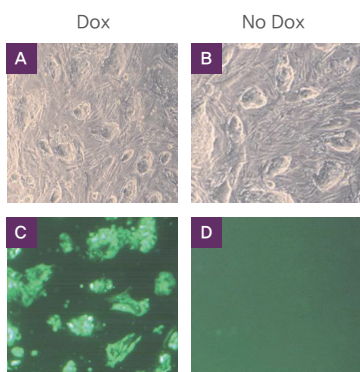


그림 3. Tet-On[®] 3G (EF1α version) 시스템의 줄기세포 적용 예. EF-1 α promoter는 줄기세포의 유전자 발현에 적합하며, Tet-On[®] 3G Inducible Expression System (EF1 α version)이 mouse embryonic stem cell에서도 매우 잘 발현하는 것을 확인하였다.

Jurkat Tet-On 3G Cells

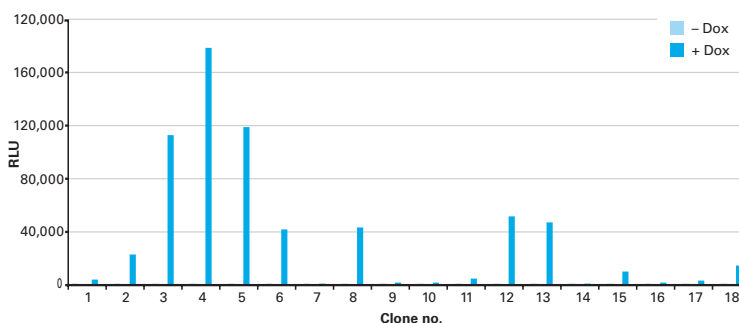
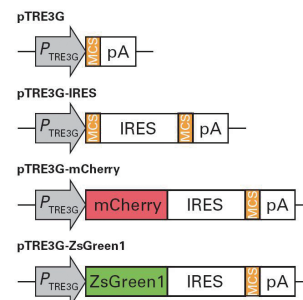


그림 4. Tet-On[®] 3G (EF1α version) 시스템의 조혈모세포 적용 예. 기존의 CMV promoter를 채용한 Tet-On[®] system과 달리 EF-1 α promoter를 채용한 Tet-On[®] 3G로 발현시켰을 때 더 높은 유도 발현을 보이는 Jurkat Tet-On[®] 3G 클론이 83%나 되었다. 또한 2,000 배 이상의 높은 유도 발현을 나타낸 클론도 33%나 되었다.

Regulator Vector와 Response Vector

모든 response vector는 pTRE3G promoter를 포함하고 있으며 2 종의 목적 유전자를 동시에 발현시킬 수 있는 pTRE3G-IRES는 Tet-On 3G bicistronic system 중에는 목적에 따라 mCherry 또는 ZsGreen1 system을 선택할 수도 있다.

TaKaRa Code	Regulator Plasmid	Response Plasmid	TaKaRa Code	Regulator Plasmid	Response Plasmid
631168	pCMV-Tet3G	pTRE3G	631166	pCMV-Tet3G	pTRE3G-IRES
631167	pEF1α-Tet3G	pTRE3G	631165	pCMV-Tet3G	pTRE3G-mCherry
			631164	pCMV-Tet3G	pTRE3G-ZsGreen1



관련 제품

제품명	TaKaRa Code	Size
Tet-On [®] 3G Inducible Expression System	631168	each
Tet-On [®] 3G Inducible Expression System (EF1α Version)	631167	each
Tet-On [®] 3G Inducible Expression System (Bicistronic Version)	631166	each
Tet-On [®] 3G Inducible Expression System (with mCherry)	631165	each
Tet-On [®] 3G Inducible Expression System (with ZsGreen1)	631164	each
Tet System Approved FBS, US-Sourced	631101	500 ml
Tet System Approved FBS, Australia-Sourced	631040	500 ml
Tet System Approved FBS, USDA-Approved	631106	500 ml
Tet System Approved FBS, ES Cell Qualified	631158	500 ml
Doxycycline	631311	5 g
Xfect [™] Transfection Reagent	631317	300 rxns

