

All about Adeno-Associated Virus

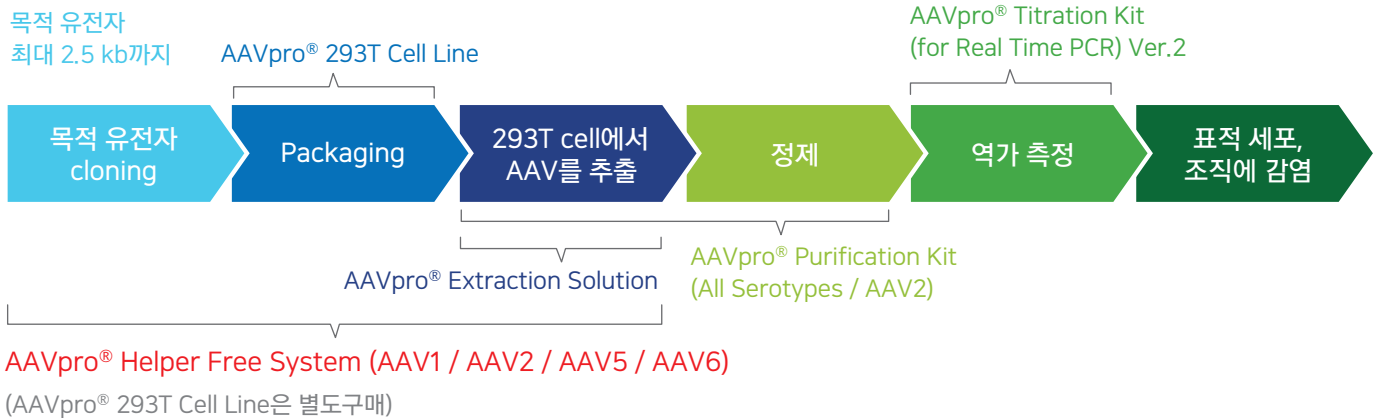
that's
GOOD
science!™

Takara AAVpro® Helper Free System 및 추출 / 정제 / 역가측정 제품



Clontech Takara cellartis

Takara Adeno-Associated Virus 관련제품 AAVpro® 시리즈



Adeno-Associated Virus 유전자 도입 시스템

AAVpro® Helper Free System 시리즈

- Helper virus를 사용하지 않고 안전하게 AAV1, AAV2, AAV5, AAV6 제작
- 독자적인 AAV Extraction Solution을 이용한 효율적이고 간편한 AAV vector 추출
- AAV2 system은 hsa-miR-342 탑재한 vector 사용으로 고역가 바이러스 제작 가능

Code	제품명	용량
6673	AAVpro® Helper Free System (AAV1)	1 Kit
6230	AAVpro® Helper Free System (AAV2)	1 Kit
6650	AAVpro® Helper Free System (AAV5)	1 Kit
6651	AAVpro® Helper Free System (AAV6)	1 Kit

Adeno-Associated Virus에 대하여

Adeno-Associated Virus (AAV)는 adenovirus나 herpes virus와 같은 helper virus와 함께 존재할 때만 복제가 가능한 non-enveloped, single stranded DNA virus 이다. Adenovirus나 retrovirus보다 안전하고 취급이 용이하여 다양한 세포에 유전자를 도입하는 vector로 사용되고 있다. 분열 세포와 비분열 세포의 유전자 도입에 모두 적용 가능하며, 특히 비분열 세포에서는 장기간의 발현이 가능하다. 또한 면역원성이 낮아 동물 개체의 유전자 도입에 적합하다. 다양한 serotype의 AAV가 존재하며, serotype에 따라 조직감염특이성이 다르므로 목적에 맞게 serotype을 선택하여 사용할 것을 권장한다.

Serotype	주요 표적 조직
AAV1	근육, 간, 기도, 중추 신경계
AAV2	광범위한 세포와 조직
AAV5	중추 신경계, 간, 망막
AAV6	심장, 근육, 간

【참고문헌】

- J Nippon Med Sch. 2012;79(6):394-402.

- Virol J. 2013 Mar 6;10:74

- AAV벡터의 개발과 유전자 치료에 응용 : 단백질 핵산 효소 Vol.52 No.10 (2007) 1288-1293

※ 유전자 도입효율은 각 실험조건에 따라 달라질 수 있으므로 관련문헌을 참조하기 바랍니다.

Ultracentrifuge 없이 간편하게 AAV 정제

AAVpro® Purification Kit (All Serotypes) (Code 6666)

- 다양한 serotype에 적용 가능
- 높은 정제 순도와 회수율
- 독자적인 AAV extraction 법 (특히 출원 중)을 적용해 간단하게 추출 후 정제



실험 예-1. 정제된 AAV의 감염 능력 평가

AAVpro® Purification Kit (All Serotypes) (Code 6666)를 이용하여 AAV producing cell로부터 형광 단백질 ZsGreen1을 탑재한 AAV 1, 2, 3, 5, 6를 정제한 후, AAV 1, 2, 3, 6를 5,000 vg/cell, AAV5를 50,000 vg/cell의 농도로 3종의 세포에 감염시켜 3일 후에 flow cytometry 분석을 실시하였다. 본 제품을 이용하여 정제한 AAV는 감염 능력을 보유하고 있음을 확인하였다 (그림 1).

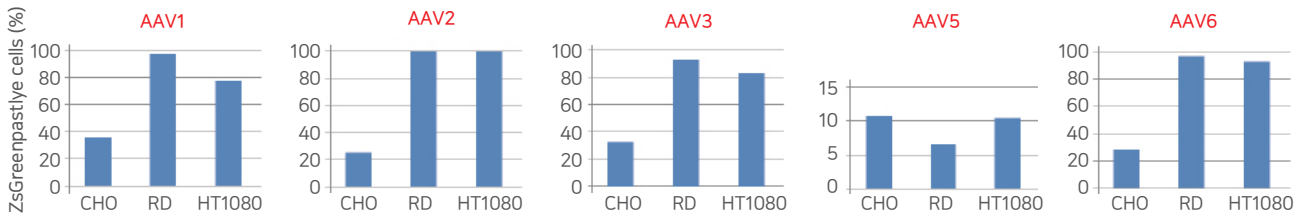


그림1. 정제 후 AAV 감염능력 확인

실험 예-2. 정제된 AAV의 도입효율 평가

실험 예-1 에서 정제한 AAV1, 2, 3, 5, 6를 인간 ES세포 유래 심근 세포 (Cellartis® Pure Cardiomyocytes (from SA121); Code Y10060)에 감염시켰다. 48 well plate에 파종한 심근 세포의 맥박 확인 후 1×10^{10} vg/well로 AAV를 감염시켜 15일 후에 ZsGreen1의 발현을 형광 현미경으로 관찰하였다. 그 결과, serotype에 따른 차이는 있지만 효율적으로 유전자가 도입되었음을 확인하였다.

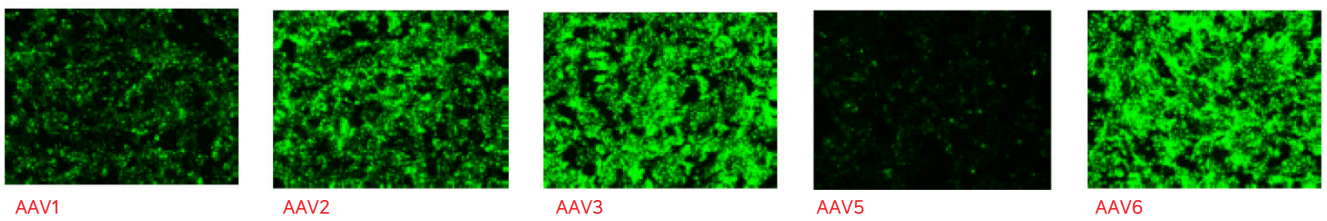


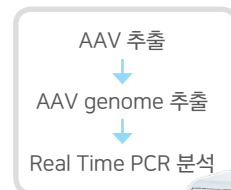
그림2. 정제한 AAV Serotype 5종을 인간 ES세포 유래 심근 세포에 감염시킨 후 ZsGreen1의 발현을 관찰

AAV 추출부터 qPCR Premix까지 포함

AAVpro® Titration Kit (for Real Time PCR) Ver.2 (Code 6233)

- 2.5시간이면 AAV titration 완료
- ITR (Inverted Terminal Repeat)*를 타겟하므로, vector 서열이나 serotype에 관계없이 적용 가능

* 본 제품은 AAV2 유래한 ITR을 타겟으로 정량하므로, AAV2 유래의 ITR을 가진 AAV면 serotype에 관계없이 사용할 수 있습니다.



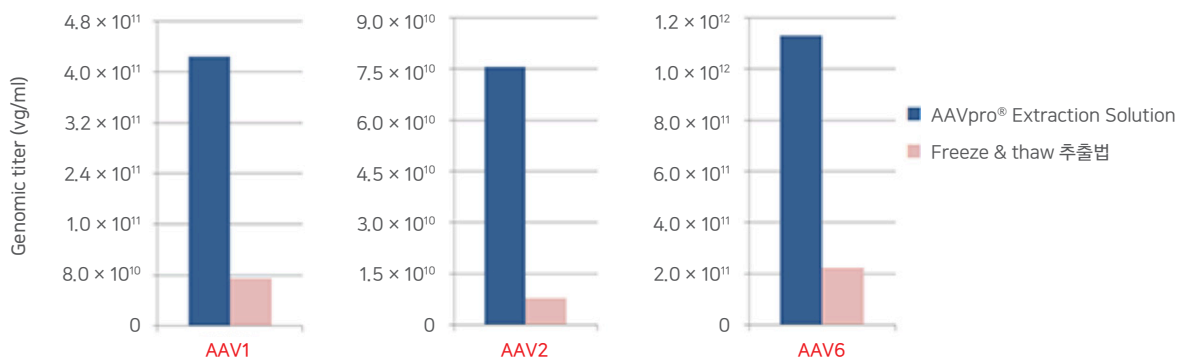
Mix & Extraction

AAVpro® Extraction Solution (Code 6235)

- Freeze & thaw법보다 간편하고, 고효율로 AAV 추출
- AAV producing cell에 처리하여 원심분리하면 완료 (ultracentrifugation 불필요)
- 다양한 serotype에 적용 가능

[추출효율 비교 - AAVpro® Extraction Solution vs. Freeze/thaw 추출법]

각각 AAVpro® Extraction Solution (Code 6235)과 Freeze & thaw 방법으로 AAV producing cell에서 AAV1, 2, 6를 추출하여, AAVpro® Titration Kit (for Real Time PCR) Ver.2 (Code 6233)로 역가측정한 결과, AAVpro® Extraction Solution을 사용하여 추출했을 때 5배 이상의 매우 높은 효율로 AAV1, 2, 6를 추출할 수 있음을 확인하였다.



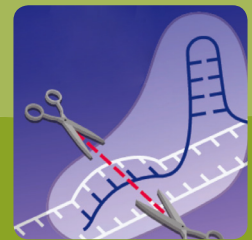
GOOD

AAVpro® Helper Free System, Purification Kit, Titration Kit에는 AAVpro® Extraction Solution이 포함되어 있습니다. 단품 구매시 AAVpro® Extraction Solution (Code 6235)을 이용하세요.

- ✓ Transfection 효율과 hard-to-transfection cell 로 고생 중이다.
- ✓ *in vivo* genome editing tool을 검토하고 있다.
- ✓ Cas9 gene integration으로 인한 off-target effect가 걱정된다.

AAV를 이용한 CRISPR Genome editing 시스템으로 해결하세요

AAVpro® CRISPR/Cas9 Helper Free System (AAV2) (Code 632608 외)



AAVpro® 관련 제품

Code	제품명	용량
6652*	AAVpro® Helper Free System (AAV2-CRE Recombinase)	1 Kit
6655*	AAVpro® Helper Free System (AAV2-LacZ)	1 Kit
6232	AAVpro® Purification Kit (AAV2)	2 회
632273	AAVpro® 293T Cell Line	1 ml
6231	pAAV-ZsGreen1 Vector	20 µg

* AAV1, AAV5, AAV6 System은 www.takara.co.kr/aav를 참고하세요.