

continued...

과 타겟 세포에 적은 바이러스로 효율적으로 유전자를 도입하고 세포 생존능력이 높을 수 있다.

■ 유전자 도입효율을 높이는 RetroNectin

다카라의 연구결과, RetroNectin을 이용한 방법이 다양한 세포타입에서 유전자 도입효율을 매우 높이는 것을 확인하였다. RetroNectin을 이용한 유전자 도입효율은 다음과 같았다; human CD34⁺ bone marrow cell 90% ; human, nonhuman primate CD4⁺ T lymphocytes 70% 이상; K562, Jurkat을 포함한 human T lymphocyte cell line 80% 이상; HT1080 cell 90%. 다른 세포주에 대한 유전자 도입효율은 표 1과 같다.

■ Polybrene 없이 줄기세포와 Jurkat 세포의 유전자 도입효율을 높임

RetroNectin을 이용한 방법은 polybrene 또는 protamine에 의존하던 기존의 방법보다 훨씬 더 효율적으로 인간 줄기세포에 유전자를 도입할 수 있다. 3가지 다른 타입의 인간 줄기세포에 각각 Pit-1 (GaLV Env protein의 receptor; 표 2)를 발현시켰을 때, RBV 방법을 이용하면 약 50~75%의 유전자도입효율을 보였다. 반면 protamine 또는 polybrene을 이용한 일반적인 유전자도입 방법을 사용하였을 때는 도입효율이 매우 낮았다.

유전자 도입이 어려운 Jurkat T-cell line에 RBV 방법을 사용할 경우 역시 높은 효율을 나타냈다. 그림 3에서 나타나듯 Jurkat 세포에서 retroviral vector와 lentiviral vector 모두 효과적으로 도입됨을 알 수 있었다. Infection 후 유전자가 도입되어 ZsGreen1을 발현하는 세포가 전체 세포의 75~95%를 차지하였다.

■ RetroNectin Reagent와 precoated culture dish의 사용

RetroNectin Reagent는 4~20 µg/cm²의 비율로 플레이트를 덮을 수 있도록 20~100 µg/ml의 농도로 플레이트에 코팅한다. 1 vial에 2.5 mg이 포함되어 있으며, 이는 10~60 dish를 코팅하기 충분한 양이다 (지름 3.5 cm, 표면적 10 cm²). RetroNectin Precoated Dishes는 지름 3.5 cm dish에 40 µg/ml이 코팅되어 있다.

표 2: Surface Protein Phenotypes of Some Human Stem Cells

Gene	hCD34 ⁺	hMSC	hADSC
VLA-4 ¹	+	-	+
VLA-5 ¹	+	+	+
Pit-1 ²	0.36	1	0.31

¹ VLA-4 and VLA-5 are integrins that bind RetroNectin.

² Pit-1 is the cellular receptor for the GaLV Env protein. These values represent Pit-1 expression relative to that of hMSC.

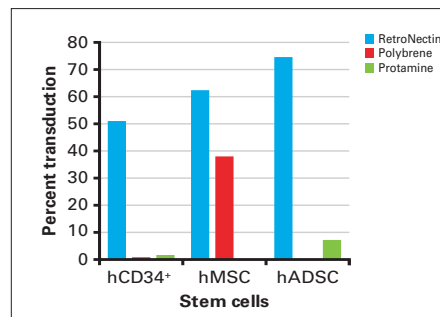


그림 2. RetroNectin-mediated transduction outperforms standard methods of transduction. A GaLV-pseudotyped retrovirus carrying a fluorescent protein marker was used to transduce human hematopoietic (hCD34⁺), mesenchymal (hMSC), and adipose (hADSC) stem cells, all of which express different levels of Pit-1 (the GaLV receptor) (see Table II). In each case, the RBV method transduced the stem cells more efficiently than either the polybrene- or the protamine-based method.

■ 관련제품

제품명	용량	TaKaRa Code
RetroNectin Reagent	0.5 mg	T100A
	2.5 mg	T100B
RetroNectin Precoated Dishes	10 dishes	T110A

■ 참고문헌

- Hanenberg, H. et al. (1996) *Nature Med.* 2(8):876 – 882.
- Hanenberg, H. et al. (1997) *Hum. Gene Ther.* 8(1):2193 – 2206.
- Chono, H. et al. (2001) *J. Biochem.* 130(3):331 – 334.

* License Notice: [16]

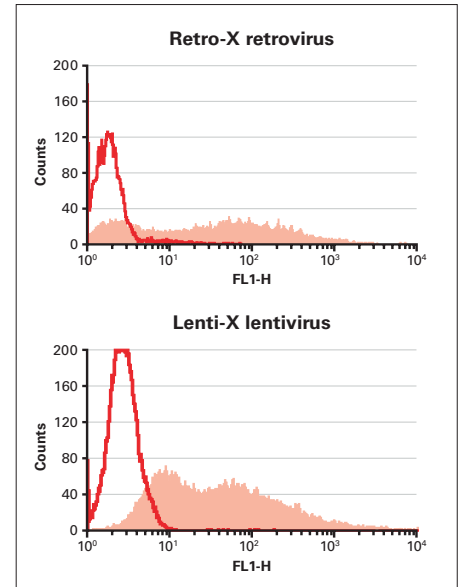


그림 3. Effective retroviral and lentiviral transduction of Jurkat cells on RetroNectin-coated plates. Jurkat cells were transduced with either retrovirus (Panel A) or lentivirus (Panel B) by using serial RBV-based transductions. Each VSV-G pseudotyped virus was engineered to express ZsGreen1. Viruses were bound to RetroNectin-coated plates for 4 hr followed by incubation with the cells for 24 hr. Following the first infection, the cells were collected and added to a second RetroNectin plate containing freshly bound virus. At 96 or 72 hr after the second round of retroviral or lentiviral infection, respectively, the cells were analyzed for fluorescent protein expression using flow cytometry. The transduced cells shown in Panel A were 75.5% positive with an MFI of 138; those shown in Panel B were 94.8% positive with an MFI of 120.