

**SUMMARY :**

**REVIEW**

**Interferons λs: guardians of the front-lines**

**PRODUCTS**

**Interferon-λ Reporter Cell Line**

- HEK-Blue™ IFN-λ cells

**Interferon-λ Antibodies**

- Anti-hIL-28a-IgG (hIFN-λ2)
- Anti-hIL-28b-IgG (hIFN-λ3)
- Anti-hIL-29-IgG (hIFN-λ1)

**JAK/STAT Signaling Inhibitors**

- CP-690550
- CYT387
- Ruxolitinib

**Recombinant Type I Interferons**

- Recombinant human interferon-α

**Mycoplasma Detection & Elimination**

# Interferon λs: guardians of the front-lines

インターフェロン(IFN)は自然免疫系の重要なサイトカインであり、抗ウイルスおよび免疫調節特性を有することで知られる。IFNには、主にIFN-αとIFN-βからなるI型IFN、II型IFNであるIFN-γに加え、近年発見されたIII型IFNであるIFN-λの三つのタイプが報告されている<sup>1,2</sup>。IFN-α/βとIFN-λは多くの機能を重複、共有しているが、IFN-λは粘膜バリア部位で独自の役割を果たしていることが明らかになった。

ヒトでは、IFN-λファミリーはIFN-λ1(IL-29)、IFN-λ2(IL-28A)、IFN-λ3(IL-28B)およびIFN-λ4の四つのタンパク質によって構成される<sup>2</sup>。このうちIFN-λ1~3はアミノ酸配列の相溶性が高いが、IFN-λ4はそれらとは異なる。マウスでは、IFN-λ2およびIFN-λ3のみが機能している<sup>2</sup>。IFN-λは、ウイルス感染後、ウイルス核酸を感知するToll様受容体(TLR)やRIG-I様受容体(RLR)ファミリーといったパターン認識受容体(PRR)によって誘導される<sup>3</sup>。PRRは、MAVSのようなアダプタータンパク質を介したシグナル伝達によってインターフェロン調節因子(IRF)やNF-κBを活性化させ、IFN-λを発現させる。一方、I型IFNのPRR誘導は、主としてIRF依存性である<sup>2,4</sup>。

IFN-λを産生する細胞タイプは多いが、最も強力に産生するのが皮膚、肺、肝臓および消化管といったバリア器官に存在する樹状細胞と上皮細胞である<sup>2</sup>。上皮細胞でのIFN-α/βと比べてIFN-λが優先的に産生されるのは、上皮細胞でのペルオキシソームの存在量とMAVSのミトコンドリアからペルオキシソームへの移行と関連しており、IRF1誘導性のIII型IFN発現を促進する<sup>5</sup>。

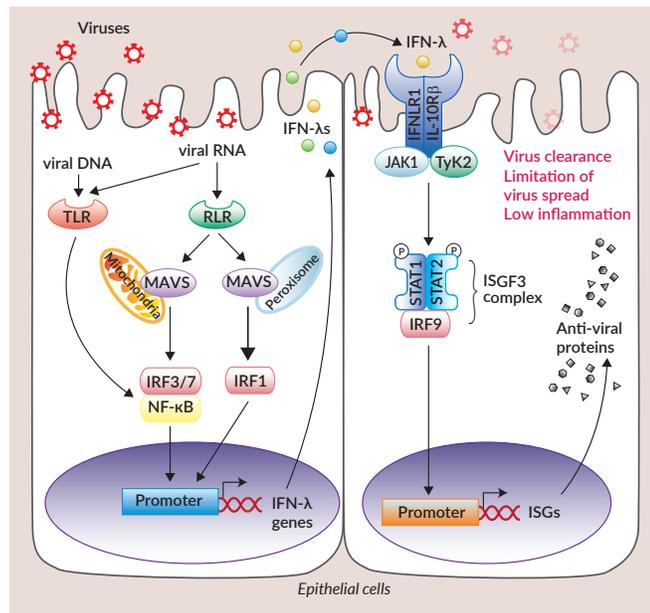
IFN-λは、IL-10Rβ(IL-10サイトカインファミリーで共有)とIFNRL1(IL-28RAとも呼ばれ、IFN-λに特異的)により構成されるヘテロ二量体受容体であるIL-28Rに結合する。IL-10Rβが広範囲に発現しているのに対し、IFNRL1の発現は上皮細胞と免疫細胞のサブセットに限定される。IFN-λは受容体に結合すると、IFN-α/βによるものと非常によく似た抗ウイルス応答を誘導する。この2種類のIFNは共通のJAK-STAT経路を介してISGF3転写複合体を形成し、さまざまな活性に関係する

何百ものIFN誘導遺伝子(ISG)を発現させる<sup>2,3</sup>。

IFN-λの抗ウイルス活性は、肺、消化管および肝臓で高く、これは上皮組織でIL-28Rの発現が高いことと一致する<sup>3</sup>。ウイルスに感染すると、I型IFNとIII型IFNの両方が抗ウイルスISGの発現を誘導するが、炎症性ISGを誘導するのはIFN-αのみである。また、IFN-λによって活性化されるISG発現は、IFN-αに比べて低いものの、長期間持続する<sup>6</sup>。ウイルス刺激に曝露した上皮細胞はIFN-λを産生することによって感染を排除し、周辺細胞への拡大を防ぐというのが現在の見解である。ウイルス量が高い場合やIFN-λによる制御を逃れた場合は、上皮とその下層で抗ウイルス応答を強化し、炎症反応を促進するためにI型IFNが産生される<sup>7</sup>。III型IFNによって誘導される局所的かつ特異的な抗ウイルス反応は、宿主の健康を保証し、過剰なI型IFN活性によって引き起こされる疾患のリスクを低下させることができる。

IFN-λの活性はサブタイプ間で差があり、IL-28Rに対する親和性(総じて低い)や一塩基多型(SNP)の有無によって異なる<sup>3,6</sup>。IFN-λおよびIL-28R遺伝子には多数のSNPが確認されており、とりわけウイルス性肝炎において臨床結果の改善および悪化の両方との関連が報告されている<sup>8</sup>。例えば、IFN-λ4遺伝子では民族系統と関連する二つのSNPが報告されており、このうち一つは偽遺伝子を引き起こし、もう一つはC型肝炎慢性化のリスクを高める<sup>9</sup>。IFN-λシグナル伝達に果たすSNPバリエーションの役割は、ウイルス性肝炎よりも感染性の高い疾患に影響を及ぼす可能性があるため、詳細な調査が行われている。

IFN-λは、粘膜バリアでの抗ウイルス応答に加え、抗菌応答、ウイルス感染への適応免疫応答、自己免疫および抗腫瘍応答にも関与していることが分かっている<sup>3,10</sup>。IFN-λの重複しない機能が注目されており、最小限の全身毒性で感染症を治療できる治療能を明らかにした最新のデータも報告されている。



1. Pestka S., 2007. The Interferons: 50 years after their discovery there is much more to learn. *J. Biol. Chem.* 282: 20047. 2. Kotenko S.V. and Durbin J.E., 2017. Contribution of type III interferons to antiviral immunity: location, location, location. *J. Biol. Chem.* 292: 7295. 3. Lazear H.M. et al., 2015. Interferon-λ: Immune Functions at Barrier Surfaces and Beyond. *Immunity* 43: 15. 4. Durbin R.K. et al., 2013. Diverse intracellular pathogens activate Type III interferon expression from peroxisomes. *Nat. Immunol.* 15:717. 5. Odendall C. et al., 2014. Dynamic expression profiling of type I and type III interferon-stimulated hepatocytes reveals a stable hierarchy of gene expression. *Hepatology*, 59: 1262. 6. Andreakos E. et al., 2017. Interferon-λs: front-line guardians of immunity and homeostasis in the respiratory tract. *Front. Immunol.* 8: 1232. 7. Syedbasha M. and Egli A., 2017. Interferon Lambda: Modulating Immunity in Infectious Diseases. *Frontiers in Immunology* 8: 119. 8. Obajemu A.A. et al., 2017. IFN-λ4 Attenuates Antiviral Responses by Enhancing Negative Regulation of IFN Signaling. *J. Immunol.* 199: 3808. 9. Zanon I. et al., 2017. Interferon (IFN)-λ Takes the Helm: Immunomodulatory Roles of Type III IFNs. *Front. Immunol.* 8: 1661.

# Interferon Lambda Reporter Cell Line

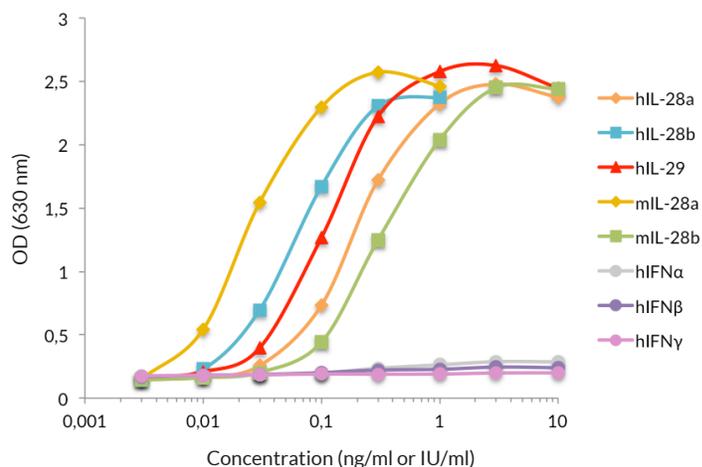
## HEK-Blue™ IFN-λ Cells NEW

- **特異的**：ヒトおよびマウス IFN-λのみを検出
- **高感度**：ELISA と同等
- **簡便**：SEAP 比色アッセイ

HEK-Blue™ IFN-λ細胞は、III型 IFN に特異的に応答するように改変された HEK293 由来のレポーター細胞であり、IFN-λ 受容体をコードするヒト IFNLR1 および IL10Rβ 遺伝子と、ヒト STAT2 および IRF9 遺伝子を安定的に発現する。HEK-Blue™ IFN-λ細胞は、IFN-α/β および IFN-γ 受容体のサブユニットをコードする hIFNAR2 および hIFNGR1 遺伝子がノックアウトされており、さらに ISG 誘導性の分泌型アルカリホスファターゼ (SEAP) レポーター遺伝子が組み込まれている。HEK-Blue™ IFN-λ細胞をリコンビナントヒトまたはマウス IFN-λ、あるいは IFN-λ 産生細胞 (RNA により活性化された A549 細胞や、DNA または環状ジヌクレオチド [CDN] により活性化された THP-1 細胞など) の上清で刺激すると、ISG 応答および SEAP 産生を引き起こす。SEAP の濃度は、SEAP 呈色試薬 QUANTI-Blue™ を用いて容易に測定することができる。

HEK-Blue™ IFN-λ細胞は、プラストサイジン、ピューロマイシンおよび Zeocin™ に耐性がある。

PRODUCT	QUANTITY	CAT. CODE
HEK-Blue™ IFN-λ cells	3-7 × 10 <sup>6</sup> cells	hkb-ifnl
Quanti-Blue™ Solution	5 ml	rep-qbs
Blasticidin	5 × 1 ml	ant-bl-05
Puromycin	10 × 1 ml	ant-pr-1
Zeocin™	5 × 1 ml	ant-zn-05



Cytokine	EC <sub>50</sub> (ng/ml)
hIL28a (hIFN-λ2)	0.19
hIL28b (hIFN-λ3)	0.06
hIL29 (hIFN-λ1)	0.10
mIL28a (mIFN-λ2)	0.02
mIL28b (mIFN-λ3)	0.37
hIFN-α	N/A
hIFN-β	N/A
hIFN-γ	N/A

**Response of HEK-Blue™ IFN-λ cells to type I, II and III IFNs:** HEK-Blue™ IFN-λ cells were incubated with increasing concentrations of recombinant human or mouse IFN-λ (ng/ml) or human IFN-α, IFN-β or IFN-γ (IU/ml). After 24h incubation, ISG activation was assessed by measuring SEAP levels in the supernatant using Quanti-Blue™. EC<sub>50</sub> is indicated for each cytokine (N/A: non applicable).

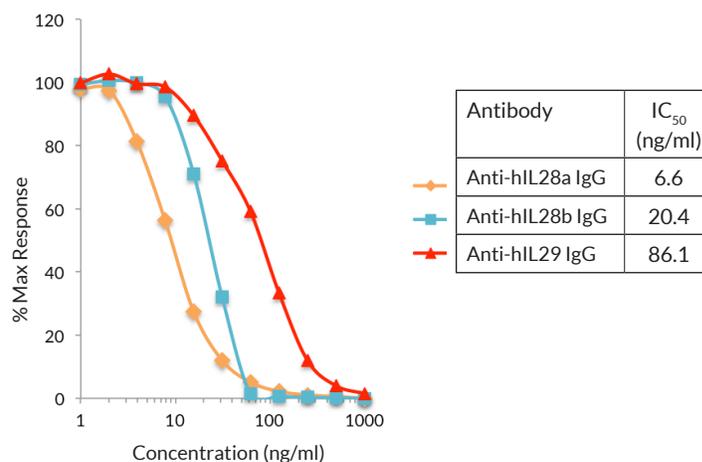
[www.invivogen.com/cytokine-reporter-cells](http://www.invivogen.com/cytokine-reporter-cells)

# Interferon Lambda Antibodies

- **Anti-hIL-28a-IgG** (hIFN-λ2)
- **Anti-hIL-28b-IgG** (hIFN-λ3)
- **Anti-hIL-29-IgG** (hIFN-λ1)

InvivoGen 社は、主要な三つの IFN-λ アイソフォームを標的とするマウスモノクローナル抗体を販売しており、いずれも IFN-λ の生物学的活性を効率的に中和することができる。これらの抗体はハイブリドーマで作製され、アフィニティークロマトグラフィーによって精製されている。抗体の中和活性は、I型およびIII型 IFN を検出する HEK-Blue™ IFN-α/β細胞系を用いてバリデーション済みである。各抗体を使用した三つのパラレルアッセイにより、細胞上清に含まれる主要な IFN-λ アイソフォームを定量することができる。InvivoGen 社の IFN-λ 抗体は、マウス IFN-λ と交差反応しない。

PRODUCT	QUANTITY	CAT. CODE
Anti-hIL28a-IgG	3 × 100 μg	mabg-hil28a-3
Anti-hIL28b-IgG	3 × 100 μg	mabg-hil28b-3
Anti-hIL29-IgG	3 × 100 μg	mabg-hil29-3
HEK-Blue™ IFN-α/β cells	3-7 × 10 <sup>6</sup> cells	hkb-ifnab



Antibody	IC <sub>50</sub> (ng/ml)
Anti-hIL28a IgG	6.6
Anti-hIL28b IgG	20.4
Anti-hIL29 IgG	86.1

**Neutralizing activity of interferon lambda antibodies:** HEK-Blue™ IFN-α/β cells were incubated with 10 ng/ml recombinant hIL-28a, hIL28b, hIL-29 and increasing concentrations of their cognate antibody. After 24h incubation, recombinant IFN-λ induced ISG activation was assessed by measuring SEAP levels in the supernatant using Quanti-Blue™. Percentages of maximal response (no antibody) and IC<sub>50</sub> for 10 ng/ml of each cytokine is shown.

[www.invivogen.com/antibodies](http://www.invivogen.com/antibodies)

# JAK/STAT Signaling Inhibitors

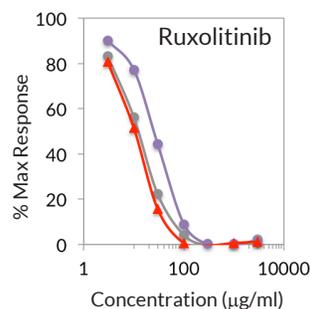
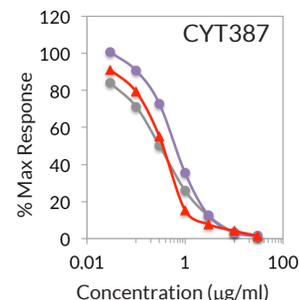
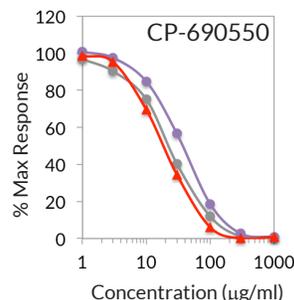
- CP-690550 - Pan-JAK inhibitor
- CYT387 - JAK1/2 and TYK2 inhibitor
- Ruxolitinib - Pan-JAK inhibitor

- 高品質：純度 > 95%、濾過滅菌済み、TLR2/TLR4による活性化は確認されず
- 細胞アッセイによる阻害活性をバリデーション済み

InvivoGen社は、IFNシグナル伝達を阻害することが確認されているヤヌスキナーゼ(JAK)阻害剤のセレクションを販売しています。IFNによる細胞外シグナルはJAKおよびシグナル伝達兼転写活性化因子(STAT)シグナル伝達経路によって伝達され、IFN誘導遺伝子(ISG)の転写を引き起こす。CP-690550、CYT387およびルキソリチニブは、JAK1/2/3およびTYK2の四つのJAKメンバーに対する親和性がそれぞれ異なるため<sup>1</sup>、IFNシグナル伝達の研究に有用なツールである。この三つの阻害剤は、ヒトおよびマウス細胞とリコンビナントIFNを用いて阻害機能をバリデーション済みである。これらの阻害剤は、IFN- $\alpha/\beta$ シグナルよりもIFN- $\lambda$  (IL-29)伝達経路の遮断に有効であるように思われる。

1. Roskoki R, Jr, 2016. Janus kinase (JAK) inhibitors in the treatment of inflammatory and neoplastic diseases. *Pharmacol. Res.* 111:784-803.

 [www.invivogen.com/jakstat-inhibitors](http://www.invivogen.com/jakstat-inhibitors)



Effect of JAK/STAT inhibitors on HEK-Blue™ IFN- $\alpha/\beta$  cell response to type I and type III IFNs: HEK-Blue™ IFN- $\alpha/\beta$  cells were incubated with 3 U/ml hIFN- $\alpha$ 2b (grey), 1 U/ml hIFN- $\beta$ 1 (purple) or 10 ng/ml hIL-29 (hIFN- $\lambda$ 1) (red) and increasing concentrations of JAK inhibitors. After 24h incubation, IFN-induced ISG activation was assessed by measuring SEAP levels in the supernatant using Quanti-Blue™. Percentages of maximal response (no inhibitor) for each cytokine are shown.

PRODUCT	QUANTITY	CAT. CODE
CP-690550 (Tofacitinib)	5 mg	tlrl-cp69
CYT387 (Mometinib)	10 mg	inh-cy87
Ruxolitinib (INC424)	5 mg	tlrl-rux

# Recombinant Type I Interferons

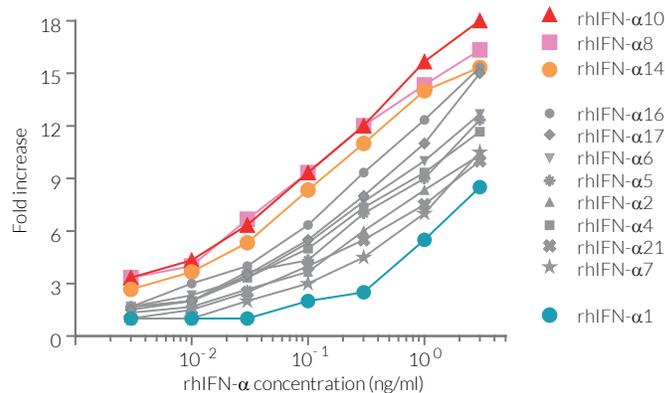
## Recombinant human interferon- $\alpha$ s NEW

- 哺乳類由来：CHO または HEK293 細胞で作製
- 機能試験済み：THP1-Dual™ 細胞により
- 高品質：純度 > 95%、エンドトキシン < 1 EU/ $\mu$ g

I型インターフェロン(IFN)には、12種類のタンパク質からなるIFN- $\alpha$ ファミリーが含まれる。IFN- $\alpha$ の全てのサブタイプが同一のヘテロ二量体受容体(IFNAR1/R2)に結合し、JAK1/TYK2/ISGF3経路を介して種々のIFN誘導遺伝子(ISG)の発現を誘導する<sup>1</sup>。ISGの発現パターンは、本受容体に対する各IFN- $\alpha$ の結合親和性に依存する。IFNAR1/R2への親和性が低いIFN- $\alpha$ はISGF3を介してシグナル伝達され、抗ウイルス機能を持つISGを強く誘導する。逆に、本受容体への親和性が高いIFN- $\alpha$ は、ISGF3以外の因子も介してシグナル伝達され、増殖抑制および免疫調節機能を持つ「調節可能な」ISGを活性化する<sup>2</sup>。IFN- $\alpha$ 8、- $\alpha$ 10および- $\alpha$ 14は最も強力なISG誘導因子であり、IFN- $\alpha$ 1が最も弱いISG調節因子のようである<sup>3</sup>。

InvivoGen社では、哺乳類細胞で作製した12種類のリコンビナントIFN- $\alpha$ を販売しており、細胞ベースのアッセイによりバリデーションを行っており、研究ニーズに合わせて個別またはセットで購入することができます。

1. Hoffmann H-H, et al., 2015. Interferons and viruses: an evolutionary arms race of molecular interactions. *Trends Immunol.* 36:124. 2. Schreiber G. & Piehler J., 2015. The molecular basis for functional plasticity in type I interferon signaling. *Trends Immunol.* 36:139. 3. Kurunganti S, et al., 2014. Production and characterization of thirteen human type-I interferon- $\alpha$  subtypes. *Protein Expr. Purif.* 103:75.



Response of THP1-Dual™ cells to recombinant human IFN- $\alpha$ s: THP1-Dual™ cells were incubated with increasing concentrations of each recombinant human IFN- $\alpha$  subtype (ng/ml). After 24h incubation, ISG activation was assessed by measuring Lucia luciferase activity in the supernatant using Quanti-Luc™.

PRODUCT	QUANTITY	CAT. CODE
Recombinant hIFN- $\alpha$ "n"	1 $\mu$ g	rcyc-hifna"n"
Recombinant hIFN- $\alpha$ set	12 x 1 $\mu$ g	rcyc-hifna
THP1-Dual™ cells	3-7 x 10 <sup>6</sup> cells	thpd-nfs

"n" refers to the number of the IFN- $\alpha$  subtype, e.g. rhIFN- $\alpha$ 2.

Recombinant human IFN- $\alpha$ s comprise IFN- $\alpha$ 1 (D), - $\alpha$ 2 (2b), - $\alpha$ 4 (4a, M1), - $\alpha$ 5 (G), - $\alpha$ 6 (K), - $\alpha$ 7 (J1), - $\alpha$ 8 (B2), - $\alpha$ 10 (C), - $\alpha$ 14 (H2), - $\alpha$ 16 (WA), - $\alpha$ 17 (I) and - $\alpha$ 21 (F).

 [www.invivogen.com/human-ifna](http://www.invivogen.com/human-ifna)

# Mycoplasma Detection and Elimination

培養細胞のマイコプラズマ汚染は依然として重大な問題であり、試験結果の有効性のみならず、細胞をベースとするバイオ医薬品の品質や安全性にも影響を及ぼす。マイコプラズマは細胞壁を持たないため小さく(≤0.8 μm)、目視検査では検出することができず、標準的な濾過器を通過し、非常に多くの抗生物質に耐性を示す<sup>1</sup>。

マイコプラズマは宿主細胞の栄養や生化学的前駆体の吸収を阻害するため、細胞代謝や細胞増殖といったさまざまな細胞機能を変化させ、細胞死を引き起こす。また、マイコプラズマが宿主細胞の細胞膜と接着または融合すると、シグナルカスケードやサイトカイン産生を阻害するなど、さらなる細胞障害を引き起こす<sup>2</sup>。こうした有害作用によって科学的な実験結果に重大な影響を及ぼし、特にマイコプラズマのリポタンパク質を認識するパターン認識受容体である Toll 様受容体 2 (TLR2) を発現する免疫細胞の試験では、試験の結果に支障がでてしまう<sup>3</sup>。

こうしたさまざまな理由から、培養細胞のマイコプラズマ汚染を検出するためのルーチン検査を行い、貴重な細胞株を守るために特異的な抗生物質を使用する必要がある。InvivoGen 社は、細胞株を守るための試薬を販売しています。

1. Drexler H.G and Uphoff C.C., 2002. Mycoplasma contamination of cell cultures: incidence, sources, effects, detection, elimination, prevention. *Cytotechnology*, 39:75. 2. Rottem S. 2003. Interaction of Mycoplasmas with host cells. *Physiol Rev*, 83:417. 3. Zakharova E. et al., 2010. Mycoplasma suppression of THP-1 Cell TLR responses is corrected with antibiotics. *PLoS One*, 5(3):e9900.

## PlasmoTest™

培養細胞のマイコプラズマ汚染検出キット

- **信頼性**：偽陽性なし
- **迅速**：ハンズオンタイム < 1 時間、結果は一晩培養後
- **簡便**：細胞培養上清からの比色検出

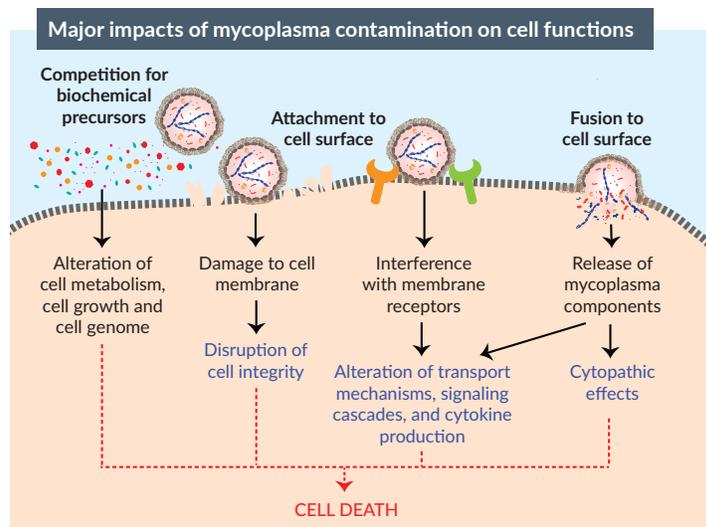
PlasmoTest™ は、TLR2 を安定的に発現する細胞を用いたマイコプラズマ検出キットであり、TLR2 の誘導により SEAP レポータータンパク質を産生する HEK-Blue™ -TLR2 センサー細胞を利用する。HEK-Blue™ -2 センサー細胞にテストサンプルを添加すると、発光ベースの生化学アッセイと同等の感度で比色定量を行うことができる。PlasmoTest™ は、センサー細胞、SEAP 検出培地、ポジコンおよびネガコンを含むキットとして販売されています。

## Plasmocin™ & Plasmocure™

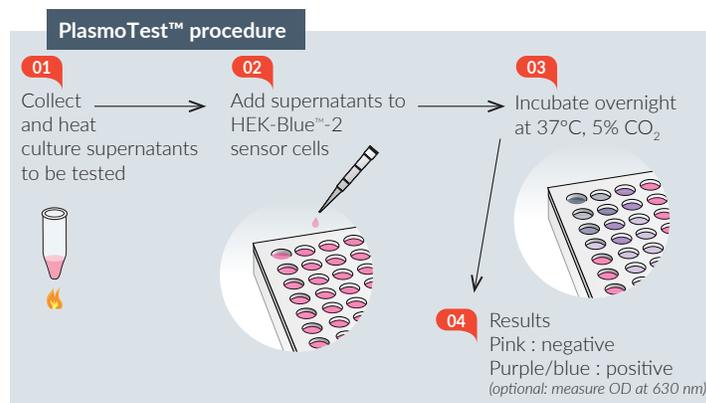
細胞培養のマイコプラズマ汚染除去キット

- **強力**：2 週間で全てのマイコプラズマを除去
- **安全**：細胞の変化なし
- **簡便**：細胞培地に添加するだけ

Plasmocin™ は広く使用されているマイコプラズマ除去剤であり、ほとんどのマイコプラズマ菌株に高い有効性を示す。Plasmocure™ は第 2 のマイコプラズマ除去試薬であり、Plasmocin™ 耐性のマイコプラズマに強力に作用する。Plasmocin™ と Plasmocure™ を併用することにより、培養細胞のマイコプラズマ汚染を確実に除去することができます。



- ### TOP 5 REASONS TO TEST
1. 20 to 35% worldwide contamination, including cell banks
  2. Serious impact on data reliability and reproducibility
  3. Loss of cell lines
  4. Financial impact
  5. Mycoplasma testing required by most journals



PRODUCT	QUANTITY	CAT. CODE
PlasmoTest™	1 kit (250 tests)	rep-pt1
PlasmoTest™ controls	200 tests	pt-ctr2
PlasmoTest™ refills	500 tests	rep-ptrk
Plasmocin™	25 mg (1 ml)	ant-mpt-1
Plasmocure™	100 mg (1 ml)	ant-pc

[www.invivogen.com/mycoplasma](http://www.invivogen.com/mycoplasma)