

# ProCube アプリケーションノート

## Pro<sup>3</sup> ヒトキマーゼ酵素の発現事例

ProCube

ヒトキマーゼはマスト細胞で産生されるセリンプロテアーゼの一種であり、血管収縮作用、腎作用、心血管構築改変作用などに関与する重要な創薬ターゲットのひとつです。このヒトキマーゼを大量に生産するため、カイコーバキュロウイルス発現系を用いて組換え型キマーゼを発現・精製し、活性評価を行いました。この結果、銀染色で単一バンドを示す高純度の組換え型キマーゼを得ることができ、また天然型キマーゼと同等の活性を有することが明らかになりました。

このように、カイコーバキュロウイルス発現系を用いることで、天然型と同等の活性を有する品質の高いタンパク質が生産できることが示唆されます。

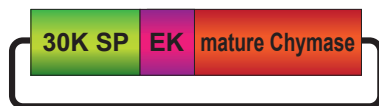


図1 組換え型キマーゼの発現コンストラクト

30K SP：カイコ由来分泌シグナル  
EK：エンテロキナーゼ認識部位



図2 発現・精製スキーム

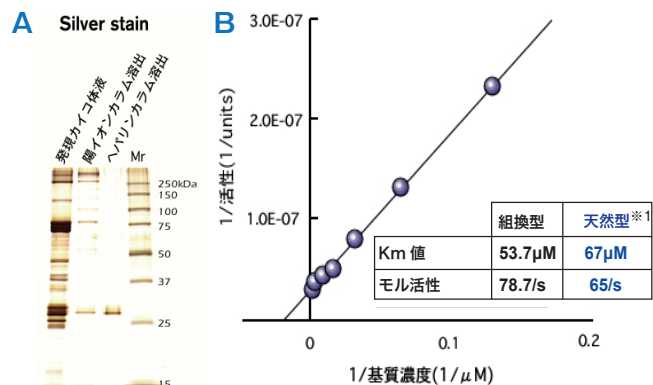


図3 組換え型キマーゼと天然型キマーゼの比活性比較

	キモトリプシン活性 <sup>※2</sup> (mUnit/ml)	タンパク濃度 <sup>※3</sup> ( $\mu$ g/ml)	比活性 (mUnit/ml)
組換え型キマーゼ	31.5	17.8	1769.5
天然型キマーゼ	29.4	20.5	1434.4

※1 Takai et al.(1999)

※2 基質に Suc-Ala-Ala-Pro-Phe-MCA を使用し 1 分間に 1  $\mu$ mol の MCA を遊離させる酵素量を 1Unit とした。

※3 蛋白定量は PIERCE 社の Coomassie Protein Assay Reagent を使用し BSA 換算で算出

図3 組換え型キマーゼの精製結果と活性比較

A：銀染色によるヘパリンカラム精製後の組換え型キマーゼの純度確認

B：組換え型と天然型キマーゼの比活性比較

C：組換え型キマーゼのKm値、モル活性算出

カイコーバキュロウイルス発現系で発現した組換え型キマーゼは、高純度に精製することができ、かつ天然型キマーゼと同等の比活性とKm値を示した。

**ProCube**  
Harness the Power of Nature

カイコーバキュロウイルス発現系を用いたリコンビナントタンパク質発現受託



ProCube についての詳細は [procube.sysmex.co.jp](http://procube.sysmex.co.jp)

メールでのお問い合わせは... [procube.japan@sysmex.co.jp](mailto:procube.japan@sysmex.co.jp)

製造販売元

シスメックス株式会社

本社 神戸市中央区脇浜海岸通 1-5-1 〒651-0073

バイオテクノロジーセンター 神戸市西区室谷 1-1-2 〒651-2241 Tel 078-991-2212 Fax 078-992-1082

東京支社 東京都品川区大崎 1-2-2 〒141-0032 Tel 03-5434-8556 Fax 03-5434-8557

[www.sysmex.co.jp](http://www.sysmex.co.jp)