

ProCube™ アプリケーションノート No.8

組換え抗体の生産とカイネティクス解析

抗体はバイオ医薬品の代表的なひとつに挙げられますが、S-S結合を有することをはじめ複雑な構造を有するため、一般的に微生物を用いた発現系では生産性が低いことが知られています。ProCube™ではカイコ-バキュロウイルス発現系を用いて、各種組換え抗体 (IgG1抗体、Fabフラグメント抗体、ヒト-マウスキメラ抗体) の生産を行いました。この結果、マウスハイブリドーマ由来のネイティブ抗体と同様に、S-S結合を含む4量体 (IgG1、キメラ抗体) または2量体 (Fab) の生産が確認できました。さらに、これら組換え抗体の抗原結合能についてBiacoreで確認したところ、ネイティブ抗体と同等のカイネティクスを示すことが明らかになりました。このように、カイコ-バキュロウイルス発現系は、抗体のような複雑な構造を有するタンパク質について、活性を保持した状態で生産することが可能です。

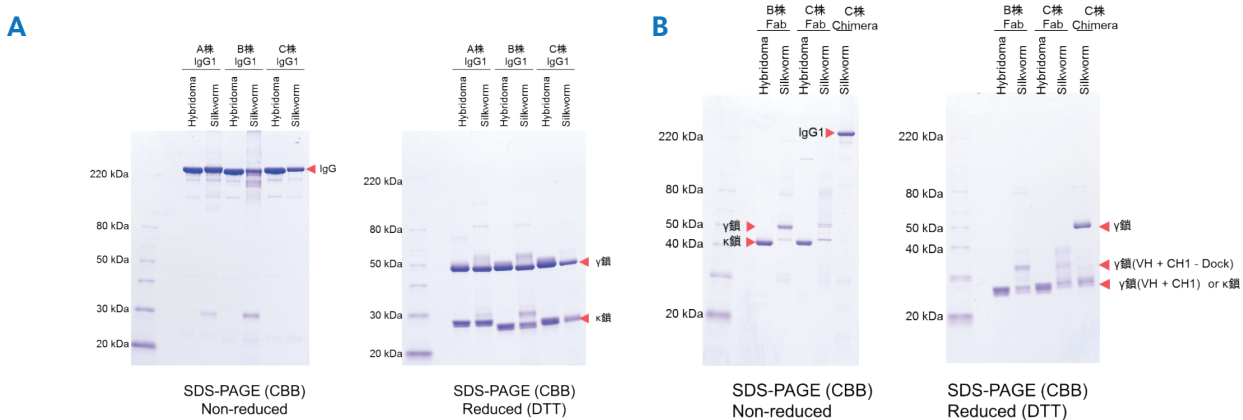


図1 精製組換え抗体のSDS-PAGE

異なるマウスハイブリドーマ株A-C由来のIgG1 (A) とFabフラグメント抗体、ヒト-マウスキメラ抗体 (B) について、還元および非還元状態でのSDS-PAGEを示す。

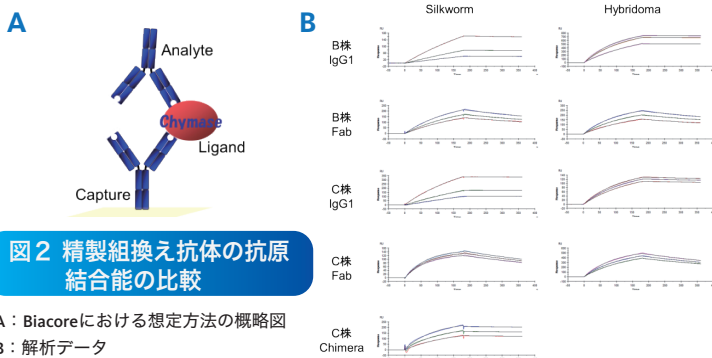


図2 精製組換え抗体の抗原結合能の比較

A: Biacoreにおける想定方法の概略図
B: 解析データ

表1 組換え抗体とハイブリドーマ由来抗体のカイネティクス解析結果

	MW (Da)	K _a (1/Ms)	k _d (1/s)	K _D (M)
B株IgG1 (Silkworm)	141,100	1.42×10 ⁴	1.79×10 ⁻⁴	1.27×10 ⁻⁸
B株IgG1 (Hybridoma)	141,100	1.67×10 ⁴	1.12×10 ⁻⁵	6.69×10 ⁻¹⁰
B株Fab (Silkworm)	53,200	1.01×10 ⁴	1.73×10 ⁻³	1.72×10 ⁻⁷
B株Fab (Hybridoma)	45,500	2.00×10 ⁴	1.59×10 ⁻³	0.79×10 ⁻⁷
C株IgG1 (Silkworm)	146,000	1.12×10 ⁴	5.21×10 ⁻⁵	4.65×10 ⁻⁹
C株IgG1 (Hybridoma)	146,000	2.16×10 ⁴	2.69×10 ⁻⁴	1.25×10 ⁻⁸
C株Fab (Silkworm)	55,700	0.90×10 ⁴	2.04×10 ⁻³	2.27×10 ⁻⁷
C株Fab (Hybridoma)	48,000	1.68×10 ⁴	1.97×10 ⁻³	1.18×10 ⁻⁷
C株Chimera (Silkworm)	154,700	6.99×10 ⁴	1.84×10 ⁻⁴	2.62×10 ⁻⁹

カイコ-バキュロウイルス発現系では、IgG1全長やFabやキメラ抗体などの改変抗体を生産することが可能で、かつこれらの組換え抗体は、ハイブリドーマ由来のネイティブ抗体と同等のカイネティクスを示す。

ProCube™ カイコ-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生産サービス

Harness the Power of Nature



ProCube™ についての詳細は <http://procube.sysmex.co.jp/> メールでのお問合せは ... 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
 テクノパーク 神戸市西区高塚台4-4-4 〒651-2271
 東京支社 東京都品川区大崎 1-2-2 〒141-0032

www.sysmex.co.jp



注: 活動及びサイトの適用範囲は規格により異なります。
 詳細は www.tuv.com の ID 0910589004 を参照。
 Notes: Scopes of sites and activities vary depending on the standard.
 For details, refer to the ID 0910589004 at www.tuv.com