

Our Promise

お客様の期待を超える価値の提供を目指し続けます。

柔軟性 多様なサービスでお客様のニーズにお応えします

初期試験の発現確認から、プロトコルの最適化、多品種同時発現検討までカイコ・バキュロウイルス発現系の特長を活かし、お客様の研究の進捗にあった最適なサービスをリアルタイムでご提供します。

時間 研究開発のスピードアップをサポートします

新規タンパク質を発現する場合、ベクター構築から発現結果報告まで通常4週間、スケールアップの開始から出荷まで最短2週間からご提供いたします。他の発現系にはない高い発現成功率によって、成功までの道のりが一気に加速します。

品質 常に品質にこだわったサービスをご提供します

プロキューブバイオテクノロジーセンターではISO9001:2008の認証を取得しており、ISOの基準に基づいてタンパク質の生産を行っています。また、10年以上にわたり受託サービスを提供している経験を基に、タンパク質発現における質の高いソリューションをご提案いたします。

〈特許〉 日本特許：第5307716号米特許：第8536302号国際特許：国際公開番号WO2009/028531

ProCube™ についてのお問い合わせ：<http://procube.sysmex.co.jp>

E-mail procube.japan@sysmex.co.jp



本製品は研究用のため、診断には使用できません。

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

(お問い合わせ先)

クリニカルソリューション本部 神戸市西区高塚台 4-4-4 〒651-2271 Tel 078-991-2367 Fax 078-992-3284

www.sysmex.co.jp

取扱店

リコンビナントタンパク質生産サービス

ProCube™



Harness the
Power of Nature

臨床検査を支える シスメックスの新たな挑戦

シスメックスは、病気の診断や治療のために行う検体検査に必要な機器や試薬、ソフトウェアを開発し、製造・販売しています。

本社、開発の拠点を神戸に置いて世界190カ国以上へ製品をお届けしており、特に血球計数分野では世界No.1のシェアを誇っています。



血液凝固検査

血液検査

尿検査



**SYSMEX
CORPORATION**



検査用診断薬



生化学検査



免疫検査

検査からバイオテクノロジーへ

シスメックスでは、動物由来のタンパク質を原料として血液凝固検査試薬を生産していましたが、さらなる品質の向上と供給の安定を目指して、片倉工業株式会社が保有するカイコを用いたリコンビナントタンパク質の生産技術に着目し、動物由来原料からリコンビナントタンパク質原料へと切り替えた新たな試薬を開発しました。

シスメックスは、カイコを用いたタンパク質の生産技術を、当社の診断薬製品の開発・生産技術と組み合わせることによりさらに医療に貢献できるものと考え、片倉工業株式会社から事業譲渡を受け、2011年10月にタンパク質生産サービスを開始しました。

1985年6月 前田進博士らがカイコとバキュロウイルスを利用したタンパク質発現事例を発表 (Nature,315,592-4)

2002年3月 片倉工業株式会社がカイコ-バキュロウイルス発現系を用いたタンパク質受託生産サービス、カイコエクスプレスを開始

2011年4月 片倉工業株式会社から生物科学研究所を譲受し、タンパク質受託生産サービスを引き継ぐ

2011年10月 カイコエクスプレスからProCube™へとサービス名を変更し、シスメックスとしてタンパク質生産サービスを開始

2012年11月 タンパク質生産拠点として、プロキューブバイオテクノロジーセンター（神戸）を設置

2013年12月 ISO9001:2008認証取得

バイオ診断薬拠点 テクノパークイーストサイト

シスメックスは、凝固検査分野、免疫検査分野、ライフサイエンス分野などの事業拡大に向け、バイオ診断薬の製品競争力向上および安定供給を目的に、原料調達、開発、生産、物流を一貫して行うバイオ診断薬拠点を新設しました。

本拠点新設により、細胞培養、カイコ系遺伝子組換えタンパク質、微生物系遺伝子組換えタンパク質などの多様な原料の開発を自社で行い、原料の安定確保を実現します。



ProCube™の提供する価値

カイコ-バキュロウイルス発現系

ProCube™では、大腸菌や培養細胞系と異なり、昆虫のカイコそのものを発現プラットフォームとして採用しています。カイコを用いることで、他の発現系と比べて下記のようなさまざまな優位性が得られます。このため、膜局在や複合体を形成する難易度の高いタンパク質もご提供できます。

カイコ個体を用いたタンパク質発現

高い発現成功率

カイコ生体内には多様な組織に応じた多種の細胞が存在するため、単一の細胞株に由来する一般的な培養細胞を利用した発現系に比べて、タンパク質の発現成功率が高まります。

また、ProCube™では、独自に開発したシステインプロテアーゼ欠損バキュロウイルス（CPdバキュロウイルス）株が目的タンパク質の分解を防ぐため、野生株のウイルスと比較して、高品質かつ高収量でタンパク質を得られます。

なお、目的タンパク質の翻訳後修飾は、糖鎖修飾を除いて動物細胞と同等です。

柔軟な生産スケール調整

研究の状況に合わせた最適な生産スケールをご提案

ProCube™では、感染させるカイコの数を増減するだけで、生産量を調整することができます。はじめに1頭あたりの目的タンパク質の収量を見積もれば、次回からお客様のニーズに合わせた最適なスケールでのタンパク質生産が可能です。

他の発現系で必要となる、大量生産時の培養条件検討などは必要ありません。

多種類同時発現

多種類のタンパク質を同時並行で生産

カイコは、それぞれの個体が1つの小型バイオリクターであると言えます。そのため、スペースや設備による影響は少なく、カイコに異なるウイルスを感染させることで多種類のタンパク質を同時に生産することができます。

例えば結晶構造解析やHTSに用いるタンパク質調製において、最適なコンストラクションを選択する場合など、ハイスループットでの発現条件検討に理想的な発現系といえます。

短期間でのタンパク質生産

研究をスピードアップ

カイコ-バキュロウイルス発現系では、感染後6日間で目的タンパク質が得られます。

また、カイコ-バキュロウイルス発現系では一般的な培養細胞発現系で必要となる培養槽の殺菌のダウンタイムや、スケール変更時の培養条件検討がないため、既存のバキュロウイルス発現系にはない、短期間でのタンパク質のご提供が可能です。

各種発現系の比較

発現系	生産性	コスト	生産期間	リフォールディングの必要性	ヒト型への近さ	糖鎖構造 (N型)
大腸菌	○	◎	◎	大多数	×	なし
酵母	○	○	○	一部	△	ハイマンノース型
カイコ-バキュロウイルス	◎	○	○	なし	○	パウチマンノース型
昆虫細胞	◎	○	○	なし	○	パウチマンノース型
動物細胞	×	×	×	なし	◎	複合型 (シアル酸付加)

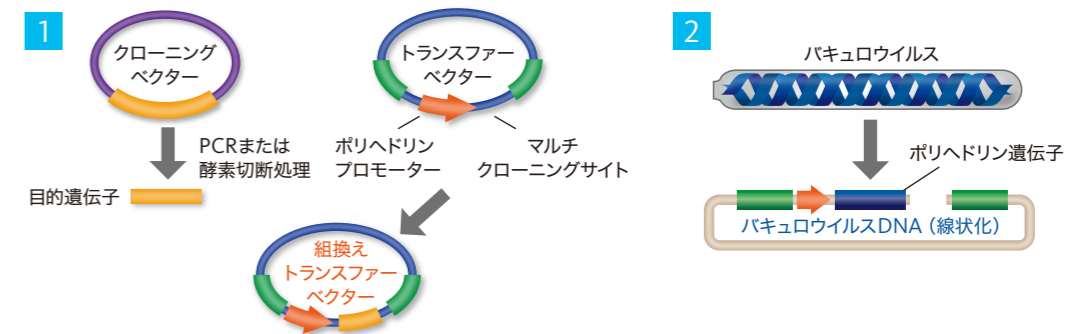
■ アセチルグルコサミン ● マンノース ● ガラクトース ◆ シアル酸

タンパク質発現フロー

Step 1

ベクター構築

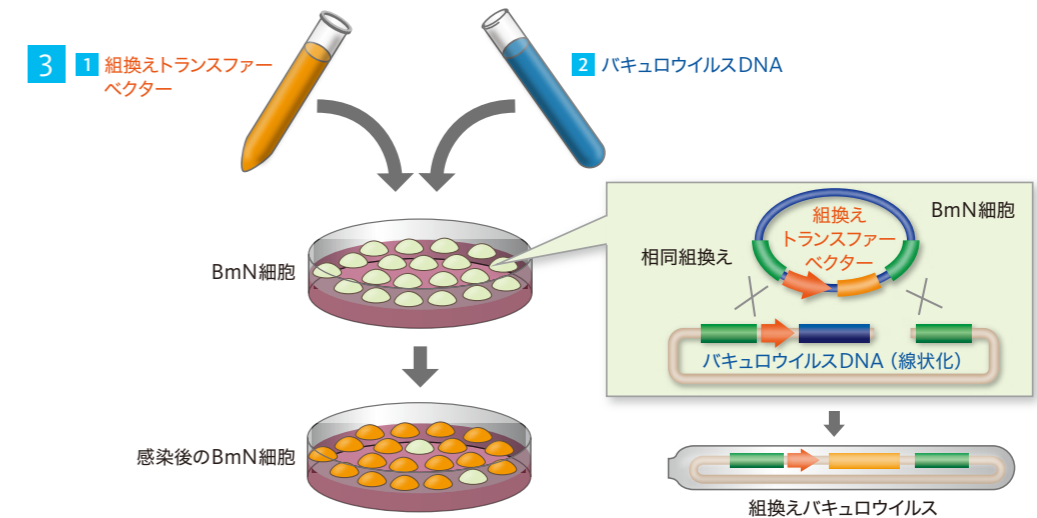
目的のタンパク質をコードするcDNAをトランスファーベクター（相同組換えに必要なウイルスゲノム断片が含まれている）に組み込む。



Step 2

組換えウイルス作製

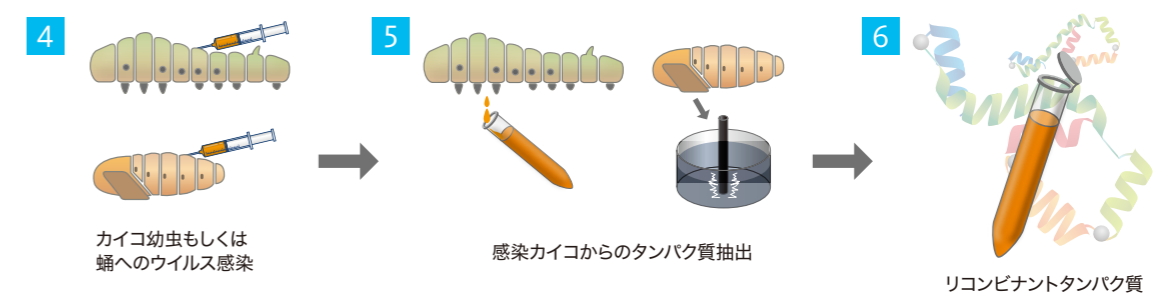
カイコ培養細胞（BmN細胞）中で、組換えトランスファーベクターとバキュロウイルスDNAを導入し、ウイルスの相同組換えを行う。培養6日後に、組換えウイルスを回収する。



Step 3

リコンビナントタンパク質の発現

感染は、カイコの蛹もしくは幼虫にウイルスを注射して行う。感染6日後、蛹の場合は虫体そのものを破碎し、幼虫の場合は体液を回収する。得られた破碎液または体液は、アフィニティ、イオン交換、ゲルろ過など各種精製を行うことで目的タンパク質を精製する。



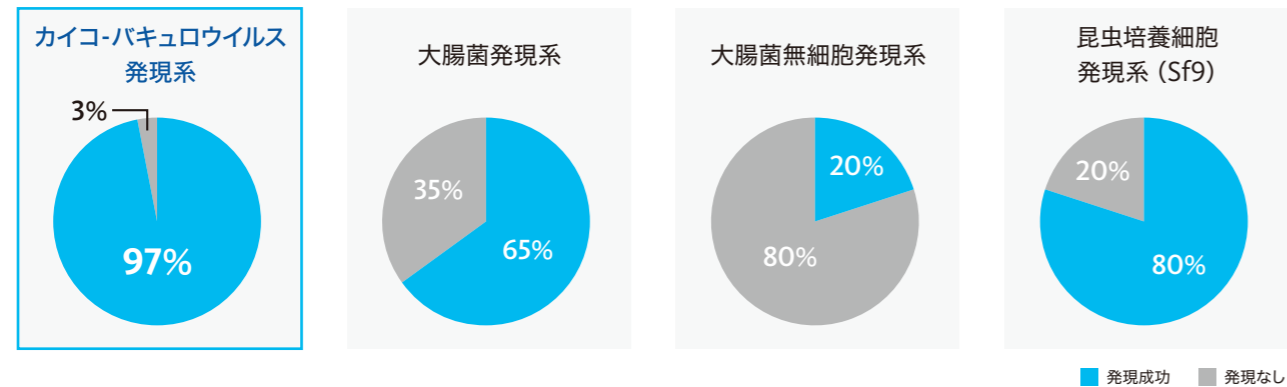
ProCube™の実績

ProCube™では受託サービスとして2,000種類以上、NEDOプロジェクトでは6,000種類近くのタンパク質の発現経験があります。ここでは過去の実績の一部を紹介します。

タンパク質の発現実績

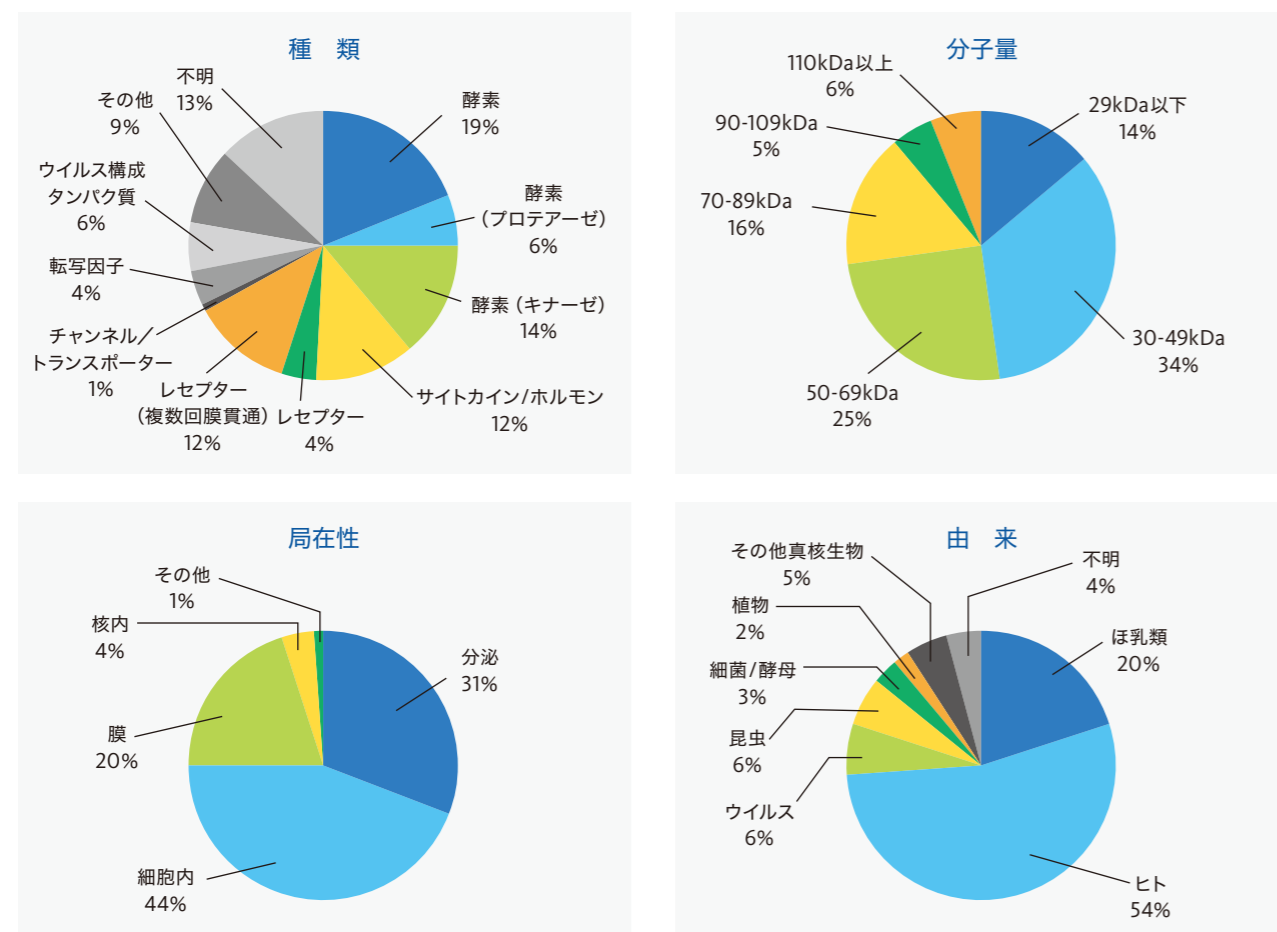
各種発現系で、同じ100種類のタンパク質を用いて発現結果を比較しました。

その結果、カイコ-バキュロウイルス発現系では、他の発現系と比較して非常に高い97%のタンパク質の発現に成功しました。



発現タンパク質の分類

これまでにProCube™で受託したタンパク質の実績より、カイコ-バキュロウイルス発現系では様々な種類、分子量や局在のタンパク質発現が可能であることがわかります。



¹独立行政法人 新エネルギー・産業技術総合開発機構 (NEDO) による「タンパク質機能解析・活用プロジェクト」

これまでに発現・精製を行ったタンパク質の一例

過去の実績より、多くの場合カイコ1頭あたりの精製品収量は10μgから1mg程度であると考えられます。

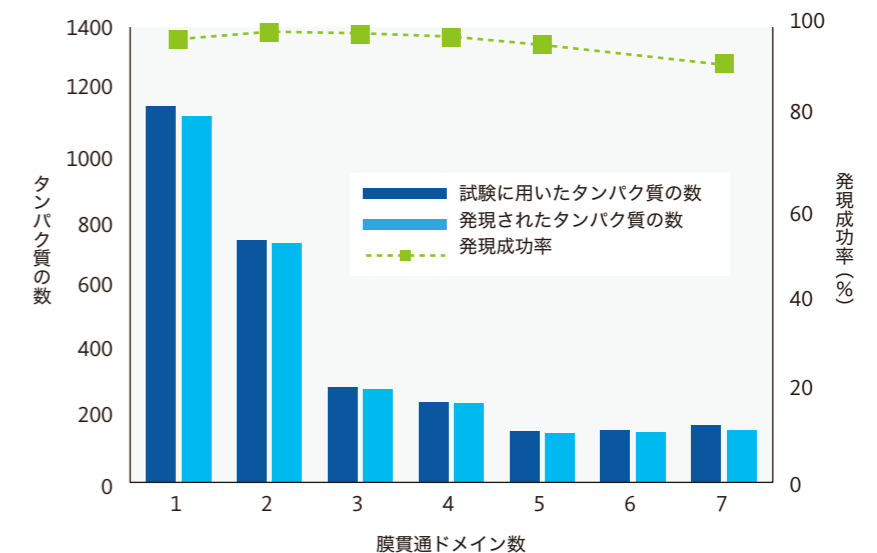
タンパク質名 (蛹)	由来	局在性	分子量	精製品取得量
ヒト由来膜タンパク質 (8回膜貫通ドメイン)	ヒト	膜	77kDa	0.03mg/頭
昆虫由来酵素タンパク質	昆虫	細胞内	65kDa	1.3mg/頭
p38MAPK	ヒト	細胞内	38kDa	0.8mg/頭
2'-5' OA合成酵素	ニワトリ	細胞内	50kDa	0.5mg/頭
ウイルス由来酵素タンパク質	ウイルス	細胞内	59kDa	0.1mg/頭
フォスファターゼ	ヒト	細胞内	49kDa	0.5mg/頭
乳酸脱水素酵素	ヒト	細胞内	37kDa	0.5mg/頭
核タンパク質	-	核内	36kDa	0.6mg/頭

タンパク質名 (幼虫)	由来	局在性	分子量	精製品取得量
IFNβ	マウス	分泌	18kDa	0.02mg/ml
IFNγ	ウシ	分泌	20kDa	0.2mg/ml
インターロイキン-18	ブタ	分泌	22kDa	0.2mg/ml
インターロイキン-13受容体α細胞外ドメイン	ヒト	分泌	60kDa	0.2mg/ml
Fcレセプター細胞外ドメイン	ヒト	分泌	44kDa (monomer)	0.9mg/ml
キマーゼ	ヒト	分泌	27kDa	0.03mg/ml
アディポネクチン	ヒト	分泌	34kDa (monomer)	0.02mg/ml
			400~600kDa (oligomer)	
微生物由来タンパク質	細菌	分泌	15kDa	0.2mg/ml

*精製品取得量は精製条件により変動する場合があります。
*ml表記は体液を表します。

膜貫通ドメイン数による発現成功率

カイコ-バキュロウイルス発現系では、3,000種類以上の膜タンパク質の発現実績があります。そのうち、膜貫通ドメイン数が7回以下の膜タンパク質における発現成功率は93%以上、GPCRファミリーでは85%以上と好成績が認められました。



国立研究開発法人新エネルギー・産業技術総合開発機構 タンパク質機能解析・活用プロジェクトの結果より