

ProCube™ アプリケーションノート

No.18 カイコ発現タンパク質を抗原としたモノクローナル抗体作製

Cytochrome P450 3A4 (CYP3A4) は薬物代謝の中心的な役割を果たす酵素として知られています。ヒトではこのCYP3A4と高い相同性を持つ CYP3A5、CYP3A7 (胎児期にのみ発現) (図1) の存在が報告されており、CYP3A4のみを特異的に認識する抗体の作製は難易度が高いと考えられます。

今回、カイコ-バキュロウイルス発現系を用いて抗原となるCYP3A4を調製し(図2)、これをマウスに免疫してモノクローナル抗体を作製しました。得られた抗CYP3A4抗体はカイコ-バキュロウイルス発現系で調製した各CYPを含むミクロソーム、および大腸菌発現系のCYPミクロソームを対象としたウエスタンブロットングで高い特異性を示すことが分かりました(図3)。

CYP3A4	1	MAITPLCA	ETWLLAVSLVLLVLYGTHSHGLFKKLGIPGPTPLPFLGNA	50
CYP3A5	1	MDLIPNLAVETWLLAVSLVLLVLYGTRTHGLFKLGI	P	50
CYP3A7	1	MDLIPNLAVETWLLAVSLVLLVLYGTRTHGLFKKLGIPGPTPLPFLGNA		50
CYP3A4	51	LSYKFG	CHFDMEQKKYKGVWGHFDGQQVLAITDPMIKTVLVKCEYS	100
CYP3A5	51	LSYKFG	CHFDMEQKKYKGVWGHFDGQQVLAITDPMIKTVLVKCEYS	100
CYP3A7	51	LSYKFG	CHFDMEQKKYKGVWGHFDGQQVLAITDPMIKTVLVKCEYS	100
CYP3A4	101	VFTNRRPFG	VPVGFMSAISAIDEDEEMKRIRLSLSPFTSGKLEMPPIIA	150
CYP3A5	101	VFTNRRPFG	VPVGFMSAISAIDEDEEMKRIRLSLSPFTSGKLEMPPIIA	150
CYP3A7	101	VFTNRRPFG	VPVGFMSAISAIDEDEEMKRIRLSLSPFTSGKLEMPPIIA	150
CYP3A4	151	QYGDVLRNLRREAE	TGKPVTLKDFGAYSDVITSTSFVNIIDSLNNPQ	200
CYP3A5	151	QYGDVLRNLRREAE	TGKPVTLKDFGAYSDVITSTSFVNIIDSLNNPQ	200
CYP3A7	151	QYGDVLRNLRREAE	TGKPVTLKDFGAYSDVITSTSFVNIIDSLNNPQ	200
CYP3A4	201	DPFVENTK	KKLLRFDFLDPFLLSITVFPFLLPTEMLNITVFPREVINFLR	250
CYP3A5	201	DPFVENTK	KKLLRFDFLDPFLLSITVFPFLLPTEMLNITVFPREVINFLR	250
CYP3A7	201	DPFVENTK	KKLLRFDFLDPFLLSITVFPFLLPTEMLNITVFPREVINFLR	250
CYP3A4	251	KSVKRMKES	RLEDTPQKHRVDFLQMLIDSONSKETESHKALSDLELAAQSI	300
CYP3A5	251	KSVKRMKES	RLEDTPQKHRVDFLQMLIDSONSKETESHKALSDLELAAQSI	300
CYP3A7	251	KSVKRMKES	RLEDTPQKHRVDFLQMLIDSONSKETESHKALSDLELAAQSI	300
CYP3A4	301	IFIFAGYETTSSVLS	FTLYELATHPDVQQLQEEIDAVLNPKNAPPTDVT	350
CYP3A5	301	IFIFAGYETTSSVLS	FTLYELATHPDVQQLQEEIDAVLNPKNAPPTDVT	350
CYP3A7	301	IFIFAGYETTSSVLS	FTLYELATHPDVQQLQEEIDAVLNPKNAPPTDVT	350
CYP3A4	351	IQMEYLD	MVWNETLRLFPVAMRLERVKCKDVEINGMIFPKGVVWVIPSVA	400
CYP3A5	351	IQMEYLD	MVWNETLRLFPVAMRLERVKCKDVEINGMIFPKGVVWVIPSVA	400
CYP3A7	351	IQMEYLD	MVWNETLRLFPVAMRLERVKCKDVEINGMIFPKGVVWVIPSVA	400
CYP3A4	401	LHDPKYWTEP	EPKFLPERFSKKNKDNIDPYIYTPFGSGPRNCIGMRFALV	450
CYP3A5	401	LHDPKYWTEP	EPKFLPERFSKKNKDNIDPYIYTPFGSGPRNCIGMRFALV	450
CYP3A7	401	LHDPKYWTEP	EPKFLPERFSKKNKDNIDPYIYTPFGSGPRNCIGMRFALV	450
CYP3A4	451	NMKLAL	RVLQNFSPKPKETQIPLKRLSGGLLQEKPVVLRMESRDQTV	500
CYP3A5	451	NMKLAL	RVLQNFSPKPKETQIPLKRLSGGLLQEKPVVLRMESRDQTV	500
CYP3A7	451	NMKLAL	RVLQNFSPKPKETQIPLKRLSGGLLQEKPVVLRMESRDQTV	500
CYP3A4	501	SGA		503
CYP3A5	501	GE		502
CYP3A7	501	SGA		503

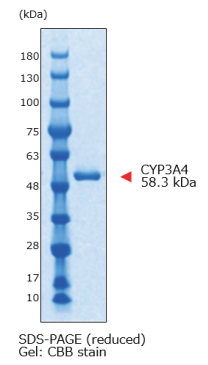
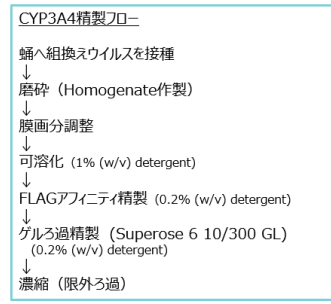


図2 抗原 (CYP3A4) の調製

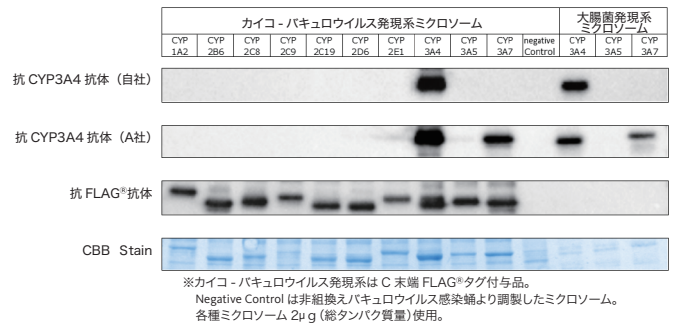


図3 抗CYP3A4抗体の反応性

図1 CYP3A4, CYP3A5, CYP3A7のアミノ酸配列比較

今回の結果から、カイコ-バキュロウイルス発現系は特異性の高い抗体作製を目的とした抗原調製ツールとして有用であることが示唆された。

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

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