

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。

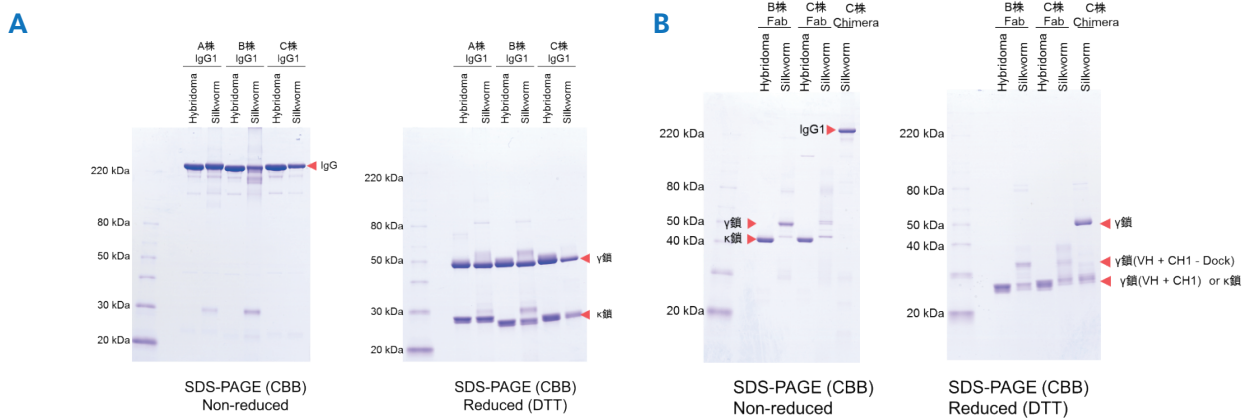


図1 精製組換え抗体のSDS-PAGE

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。

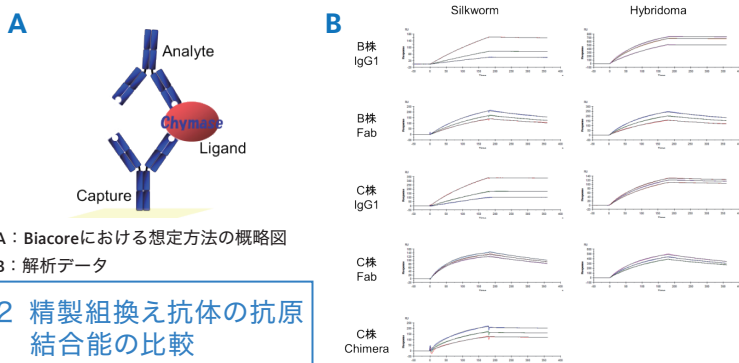


図2 精製組換え抗体の抗原結合能の比較

	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

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

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

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



製造販売元

シスメックス株式会社

本社 神戸市中央区臨海海岸通1-5-1 〒651-0073

(お問い合わせ先)

クリニカルインベション本部 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