

# ProCube™ アプリケーションノート

## No.4 ヒトキマーゼ酵素の発現事例

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-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-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。

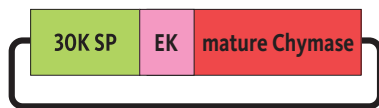


図1 組換え型キマーゼの発現コンストラクト

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

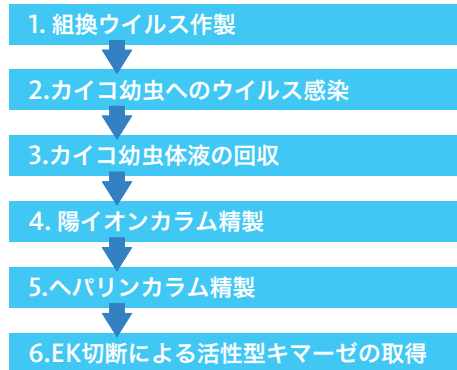


図2 発現・精製スキーム

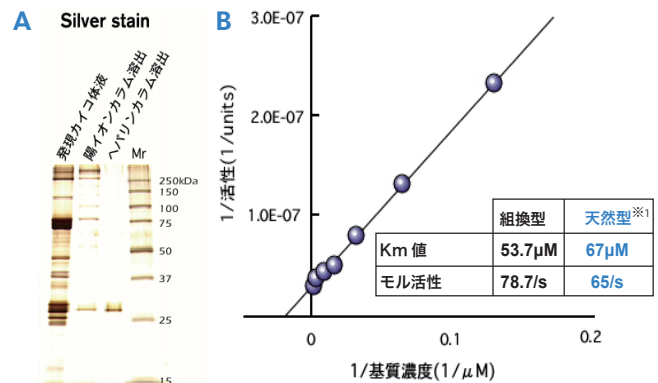


図3 組換え型キマーゼと天然型キマーゼの比活性比較

	キモトリプシン活性 <sup>※2</sup> (mUnit/ml)	タンパク濃度 <sup>※3</sup> (μg/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

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

※1 Takai et al.(1999)

※2 基質に Suc-Ala-Ala-Pro-Phe-MCA を使用し 1 分間に 1μmol 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 組換え型キナーゼの精製結果と活性比較

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

E-mail [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 神戸市中央区臨浜海岸通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](http://www.sysmex.co.jp)