

非営利団体様
向けに販売開始

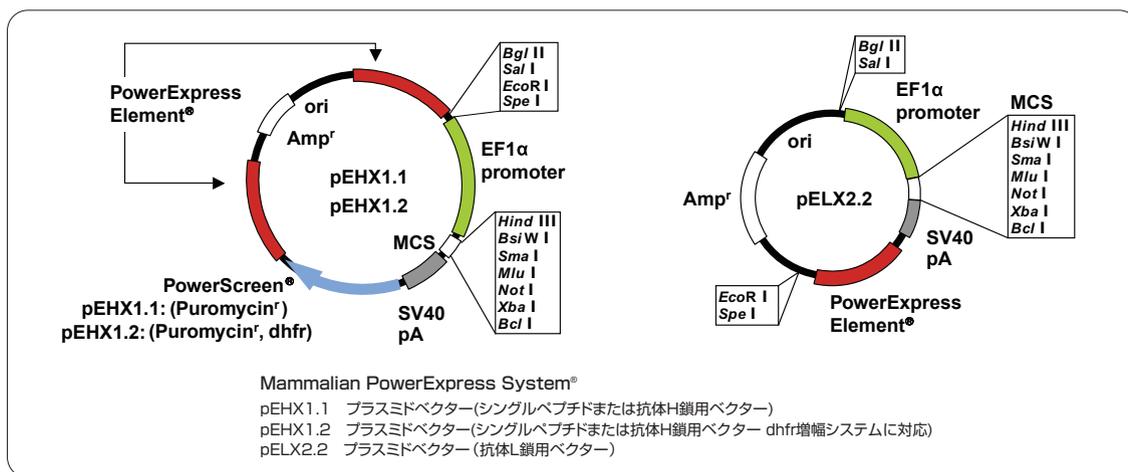
哺乳類細胞タンパク質高発現システム

Mammalian PowerExpress System®

医薬品、診断薬、検査キット用タンパク質の生産に適した高発現システムです。

Mammalian PowerExpress System®は医薬品、診断薬、検査キットなどに使用される抗体等のタンパク質の生産に適した哺乳類細胞タンパク質高発現ベクターシステムです。Mammalian PowerExpress System®では、遺伝子発現安定化のためのPowerExpress Element®と、高発現細胞株の効率的な選択のためのPowerScreen®テクノロジーにより、目的タンパク質を安定かつ高度に生産する細胞株を効率的に取得することができます。

本製品は、すでに製薬企業など営利団体様向けに契約締結の上でご利用いただいておりますが、様々なお客様からのご要望にお応えして、この度、非営利団体様向けにも販売を開始することになりました。非営利団体様以外のお客様は、これまで同様、契約締結の上でのご利用をお願いいたします。



特長1 遺伝子発現の安定化

・CHO (チャイニーズハムスター卵巣) 細胞のゲノムより単離された遺伝子発現安定化エレメントPowerExpress Element®を発現ベクターに配置しています。PowerExpress Element®により、導入部位のゲノム環境により目的タンパク質の発現が不活性化される現象を低減し、導入された遺伝子の発現を安定化しています。

図1はPowerExpress Element®を含む抗体発現ベクターを導入して取得した2つのクローンの継代安定性を調べた結果です。各クローンの1継代と20継代の発現量比を縦軸にとりました。抗生物質を添加して選択圧をかけた場合 (Puromycin (+))、抗生物質を添加せずに選択圧をかけなかった場合 (Puromycin (-))、いずれの場合も1継代と20継代の発現量の比は100%前後となり、20継代後でも発現量が低下していないことがわかります。

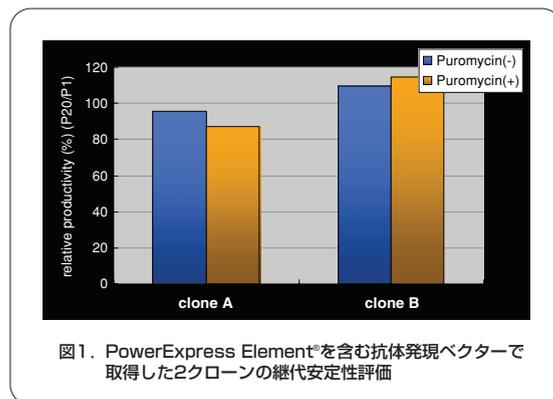


図1. PowerExpress Element®を含む抗体発現ベクターで取得した2クローンの継代安定性評価

特長2 高発現クローン選択の効率化

・弱化した薬剤選択マーカーを使用し、目的タンパク質高発現株の取得効率を高めています (PowerScreen®テクノロジー)。PowerScreen®テクノロジーにより薬剤選択培養後に生じるコロニーの数は約10分の1に減少し、生じたコロニーの多くが目的タンパク質を高度に発現しています。

特長3 dhfr遺伝子を用いた遺伝子増幅に対応

・pEHX1.2プラスミドベクターはdhfr遺伝子をコードしており、MTX (メトレキセート) による遺伝子増幅が可能です。

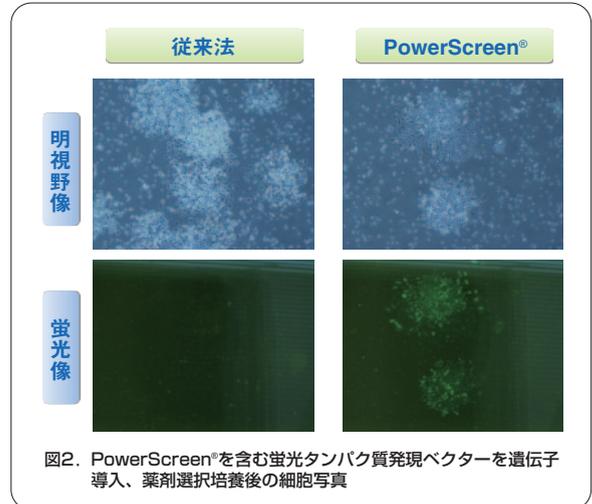


図2. PowerScreen®を含む蛍光タンパク質発現ベクターを遺伝子導入、薬剤選択培養後の細胞写真

特長4 ラボスケールから工業化スケールでの製造まで多様な用途

・抗体医薬などのバイオ医薬品の治験薬製造、市販品製造用としてはもちろんのこと、開発候補品選択のための多種類サンプル生産用としても有効です。

実施例1 抗体発現ベクターの構築

- ・pEHX1.1のマルチクローニングサイトに抗体重鎖遺伝子を挿入しpEHCを得ました。
- ・また、pELX2.2のマルチクローニングサイトに抗体軽鎖遺伝子を挿入しpELC2を得ました。
- ・pEHCのBglII-EcoRI間にpELC2のBglII-EcoRI断片を挿入し、抗体発現ベクターpELC2+HCを得ました。

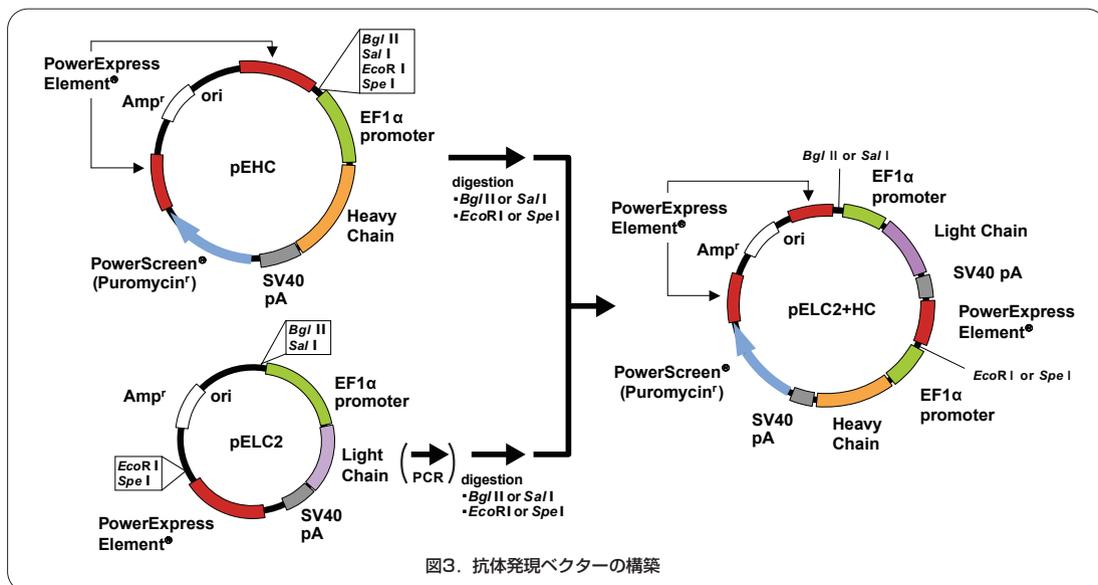


図3. 抗体発現ベクターの構築

実施例2 抗体発現における従来ベクターとMammalian PowerExpress System®との比較 (クローンプール状態での比較)

抗体の重鎖、軽鎖遺伝子を、

1. 従来ベクター
2. PowerExpress Element®ベクター (PowerScreen®テクノロジーは使用していません)
3. Mammalian PowerExpress System®ベクターへ、それぞれ挿入し、CHO-K1細胞へ遺伝子導入、薬剤選択培養後、選択された細胞のクローン化を行う前のプール状態で、抗体の生産性を評価しました。Mammalian PowerExpress System®ベクターでは、従来ベクターに比べ5倍以上生産性が增加することを確認しました。

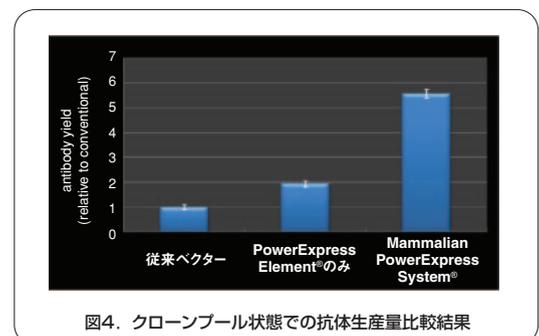


図4. クローンプール状態での抗体生産量比較結果

実施例3 抗体発現における従来ベクターとMammalian PowerExpress System®との比較 (モノクローン化した状態での比較)

実施例2の、1.従来ベクター、3.Mammalian PowerExpress System®ベクターを用いて取得した薬剤選択培養後の細胞集団を限界希釈して、96ウェルプレート2枚に播種しました。2週間後、それぞれのクローンの抗体生産量を測定し、度数分布で比較しました。Mammalian PowerExpress System®では、クローンの分布が高発現側へ顕著にシフトしていることを確認しました。

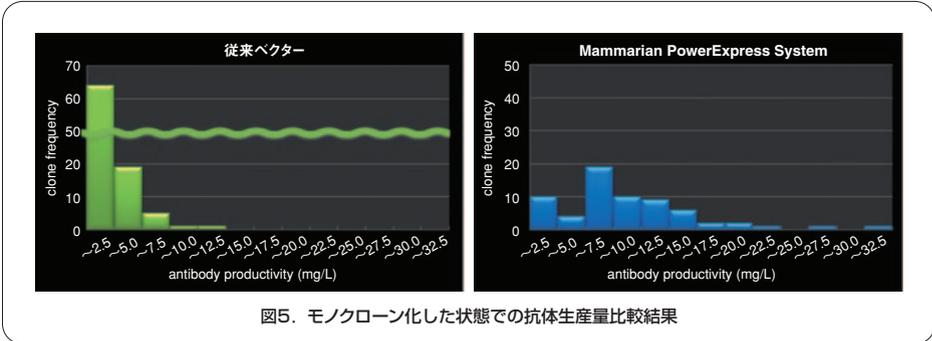


図5. モノクローン化した状態での抗体生産量比較結果

実施例4 dhfr遺伝子を含むMammalian PowerExpress System®でのMTXによる選択効果の検討

- ・抗体の重鎖遺伝子を、dhfr遺伝子を含むpEHX 1.2のマルチクローニングサイトへ挿入しpEHC2を得ました。
- ・実施例1と同様に、軽鎖遺伝子を含むpELC2のBglII-EcoRI断片をpEHC2のBglII-EcoRIサイトに挿入し抗体発現ベクターpELC2+HC2を得ました。
- ・pELC2+HC2をCHO/dhfr-細胞へ遺伝子導入後、薬剤選択培養により安定発現細胞集団を取得しました。この細胞集団から取得した高発現細胞クローンを、MTXで選択培養を行った後、細胞のクローン化を行う前のプールの状態で抗体の生産性を評価しました。MTXでの選択培養により最大で3倍、平均して1.8倍の生産性の増加が可能であることを確認しました。

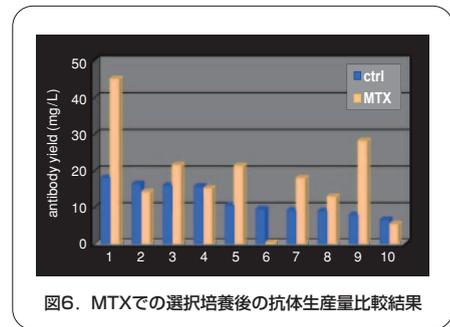


図6. MTXでの選択培養後の抗体生産量比較結果

*詳細は東洋紡・テクニカルライン (tech_osaka@toyobo.jp) までお問い合わせください。

(保存・輸送温度: -20°C)

品名	用途	包装	Code No.	非営利団体様向け価格
pEHX1.1	シングルペプチド用、抗体H鎖用	10μg	MPH-101	¥150,000
pEHX1.2	シングルペプチド用、抗体H鎖用 (遺伝子増幅対応)		MPH-102	¥200,000
pELX2.2	抗体L鎖用		MPL-202	¥50,000

詳細はこちらをご覧ください。
https://lifescience.toyobo.co.jp/detail/detail.php?product_detail_id=116