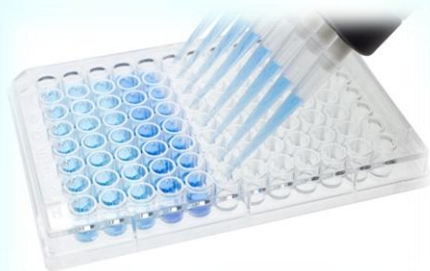


製品/サービス/アプリケーション

Product/Service/Application



目次 Contents

○会社紹介

- ・会社概要

○受託サービス

- ・プラスミド構築、遺伝子解析サービス
- ・タンパク質受託発現サービス
- ・タンパク質受託精製サービス
- ・非天然アミノ酸導入関連サービス
- ・VHH抗体スクリーニングサービス

○製品

- ・抗体精製用レジン
- ・抗体精製用磁気ビーズ
- ・無細胞翻訳系キット
- ・非天然アミノ酸導入試薬～CloverDirectシリーズ
- ・かずさ抗体製品

○アプリケーションデータ集



会社概要 Company Profile

会社名 株式会社プロテイン・エクスプレス (ProteinExpress Co., Ltd.)

設立日 2000年 10月 18日

本社 〒260-0856 千葉県千葉市中央区亥鼻1-8-15

TEL/FAX 043-202-5755 (代表) /043-202-5756

E-mail info@proteinexpress.co.jp

事業内容 タンパク質生産技術を基盤とした研究支援、創薬支援業務

参画プロジェクト等

2006年	5月	NEDO産業実用化開発費補助事業
	8月	JST革新技术開発研究事業
2008年	4月	文科省「ターゲットタンパク研究プログラム」
	7月	文科省都市エリア（発展型）千葉・東葛エリア
2009年	8月	NEDO研究開発型ベンチャー技術開発助成事業
2010年	11月	第9回ベンチャーカップCHIBA優秀賞を獲得
2011年	6月	中小企業庁 戦略的基盤技術高度化支援事業
2013年	5月	ものづくり中小企業・小規模事業者試作開発等支援補助金
2014年	5月	NEDOイノベーション実用化ベンチャー支援事業
	10月	中小企業・小規模事業者ものづくり・商業・サービス革新事業
2015年	6月	ものづくり・商業・サービス革新事業
	9月	AMED革新的バイオ医薬品創出基盤技術開発事業

プラスミド構築、遺伝子解析サービス

【概要】

- ・タンパク質発現ベクターの構築を中心として、人工遺伝子合成や塩基配列解析、ベクターの載せ替えなど、様々な作業に対応いたします。

作業内容例

- * 人工遺伝子合成から発現ベクターの構築
- * 塩基配列の確認
- * 変異導入
- * タグ配列の挿入
- * プラスミドの大量調製
- * 低エンドトキシンプラスミド調製

目的遺伝子の
ベクターへの挿入

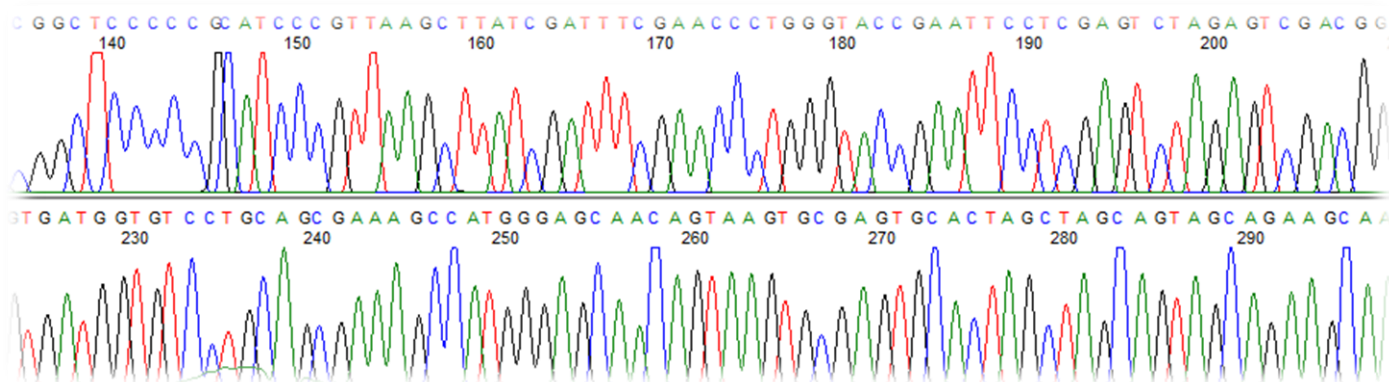


変異導入



<参考価格>

	納期	価格
発現ベクター構築	4週間～	¥110,000～



タンパク質受託発現サービス

【概要】

- ・微生物や無細胞翻訳系、動物細胞と様々な発現系を用いて、ご希望のタンパク質の発現試験を実施いたします。

対応宿主

- * 微生物
(大腸菌、ブレビバチルス菌)
- * 無細胞翻訳系
- * 動物細胞
- * 昆虫細胞

使用用途

- ・ 酵素活性測定
- ・ 結晶構造解析
- ・ 分子間相互作用解析
- ・ 活性化レジン、磁気ビーズへの固定化
- ・ 抗体作製用抗原タンパク質

ブレビバチルス菌について

ブレビバチルス菌 (*Brevibacillus choshinensis* HPD31) はタンパク質を菌体外に高分泌生産可能な宿主です。グラム陽性菌のために、エンドトキシンを持たないこと、菌体外プロテアーゼ活性が低いこと、培養の容易さ、安全性 (GILSP掲載宿主) の観点から組換えタンパク質の生産に優れた宿主です。



<参考価格>

	納期	価格
発現トライアル	2週間～	¥90,000～
大腸菌培養 (100mL)	2週間～	¥110,000～
大腸菌培養 (1,200mL)	4週間～	¥130,000～
大腸菌培養 (4,800mL)	6週間～	¥160,000～
大腸菌培養 (20L)	8週間～	¥660,000～



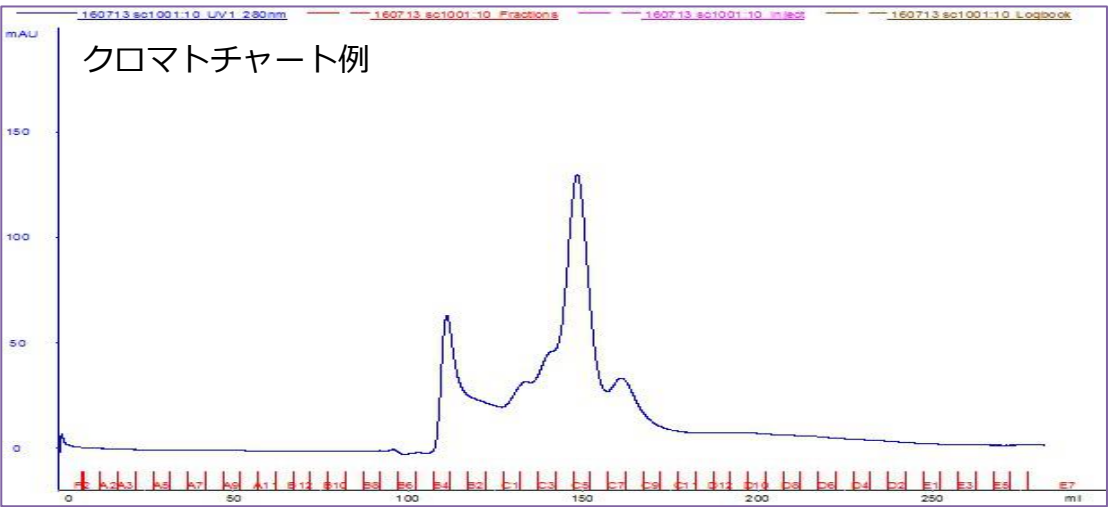
タンパク質受託精製サービス

【概要】

- ・ 各種クロマト担体を用いて、ご希望のタンパク質の精製試験を実施いたします。

対応カラム

- * アフィニティークロマトグラフィ（His、GST、MBP各種タグ）
- * 抗体精製（プロテインA、G、L）
- * イオン交換クロマトグラフィ
- * 疎水性クロマトグラフィ
- * ゲルろ過（サイズ排除）クロマトグラフィ



＜参考価格＞

	納期	価格
Niキレートカラム精製 （予備検討）	4週間～	¥160,000～
Niキレートカラム精製	4週間～	¥190,000～



VHH抗体スクリーニングサービス

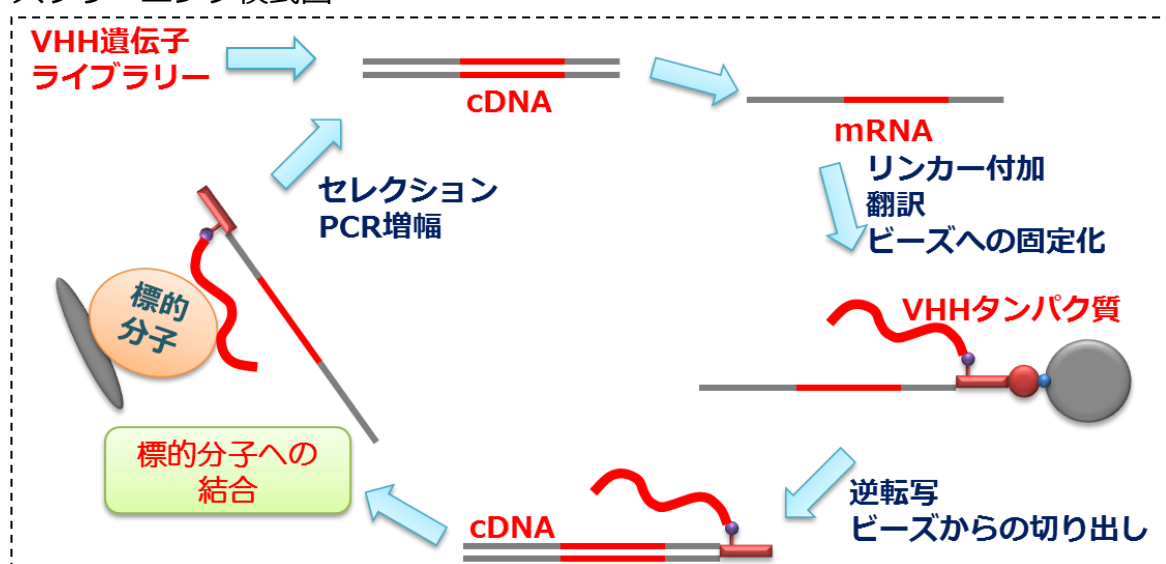
【概要】

- 動物への免疫を行わない方法でVHH抗体遺伝子のスクリーニング、VHH抗体タンパク質の生産を行います。

ラクダ科動物（ラマ、アルパカ等）はH鎖のみで構成される抗体（重鎖抗体）を有し、その可変領域はVHH（Variable domain of Heavy chain of Heavy chain antibody）抗体と呼ばれます。VHH抗体は温度やpHなどに対し高い安定性を持ち、微生物での低コスト生産も可能です。また、多価抗体や多重特異性抗体、薬物・化合物の修飾など、タンパク質工学的な改変も容易です。これら特長により、様々な分野での応用が期待されているものの、希望とするVHH抗体の取得方法に関しては、多くの課題（免疫する動物の確保や飼育等）が存在します。

当社では、種々の外部技術の導入により、ラクダ科動物への免疫を行わず、特異的なVHH抗体遺伝子を効率的にスクリーニングできる体制を構築いたしました。得られたVHH抗体遺伝子は、当社にて、効率的に生産させることが可能です。

スクリーニング模式図



価格、納期等はお問い合わせください。

TEL; 043-202-5755 / E-mail; service@proteinexpress.co.jp

抗体精製用アフィニティレジン

【概要】

- ・ 独自に抗体精製用リガンドタンパク質であるプロテイン A、プロテイン L、プロテイン G のアルカリ耐性変異体を開発いたしました。加えて、産業技術総合研究所にて開発された、弱酸性（pH4）という穏和な条件で抗体を溶出可能なプロテイン A 変異体の製造開発を戦略的基盤技術高度化支援事業（中小企業庁、平成23年度）の下で実施してきました。平成26年には、イノベーション実用化ベンチャー支援事業（NEDO）の支援の下で、これらリガンドを固定化したレジンの商品化開発を実施し、抗体精製用レジンとして、製品化に至りました。

特徴

- * 当社でリガンドタンパク質を製造しているため低コスト
- * 合成ポリマー担体で耐圧性が高い



<製品価格>

	Code	容量	価格
Bipo Resin Protein A (Alkaline Resistance)	AAR-001	1 mL	¥7,500
	AAR-025	25 mL	¥125,000
Bipo Resin Protein A (Weak Acid)	AWA-001	1 mL	¥10,000
	AWA-025	25 mL	¥135,000
Bipo Resin Protein G (Alkaline Resistance)	GAR-001	1 mL	¥12,000
	GAR-025	25 mL	¥160,000
Bipo Resin Protein L (Alkaline Resistance)	LAR-001	1 mL	¥15,000
	LAR-025	25 mL	¥200,000



抗体精製用磁気ビーズ/リガンドタンパク質

【概要】

- ・アフィニティレジンに固定化したリガンドであるプロテイン A、プロテイン L、プロテイン G をナノ磁性微粒子に固定化、免疫沈降（IP, ChIPなど）に使いやすい製品となっています。高い抗体結合能を持ち、コストパフォーマンスに優れております。
- ・リガンドタンパク質単独での販売を行っておりますので、標準品としての使用や、担体、検出用試薬との固定化等にご使用ください。

<磁気ビーズ製品価格>

	Code	容量	価格
Protein A-magnetic beads	MGA-005	5 mg	¥70,000
Protein G-magnetic beads	MGG-005	5 mg	¥70,000
Protein L-magnetic beads	MGL-005	5 mg	¥70,000

<リガンドタンパク質製品価格>

	Code	容量	価格
Protein A ligand (Alkaline Resistance)	AAR-P	250 mg	¥100,000
Protein A ligand (Weak Acid)	AWA-P	250 mg	¥100,000
Protein G ligand (Alkaline Resistance)	GAR-P	200 mg	¥100,000
Protein L ligand (Alkaline Resistance)	LAR-P	100 mg	¥100,000



タンパク質無細胞翻訳キット～RYTS Kit

【概要】

- ・大腸菌無細胞タンパク質合成に必要な全ての試薬を含むキットです。転写・翻訳反応に必要な成分を全て含んでいますので、発現テンプレートを反応液に加えるだけで、迅速、簡便にタンパク質合成を行うことができます。RYTS Kitに含まれる大腸菌抽出液は、広範囲な種類のタンパク質を効率よく合成することを目的として、理化学研究所にて開発されました。大腸菌抽出液内の核酸分解酵素の存在量を大幅に抑えているため、環状DNA以外にも直鎖DNAやmRNAを鋳型として翻訳反応を行うことができます。また、従来では合成が困難であった比較的大きなタンパク質の合成にも適しています。

特徴

- * 高分子量タンパク質の合成
- * CloverDirect試薬を用いた非天然アミノ酸導入タンパク質合成
- * 300 μ Lの当たり、最大150 μ gのタンパク質が合成可能
- * 透析膜を利用することで、長時間の合成反応が可能
- * X線構造解析やNMR構造解析への利用

<RYTSキット製品価格>

	Code	容量	価格
RYTS Trial Kit	CF001	0.3 mL x 1 reaction	¥24,000
RYTS Kit	CF002	0.3 mL x 5 reaction	¥42,000

<リニアテンプレート作製キット製品価格>

	Code	容量	価格
RYTS Linear Template Set for E.coli (His-tag)	TS001	48 reaction	¥26,000
RYTS Linear Template Set for E.coli (ProX-tag)	TS002	48 reaction	¥26,000

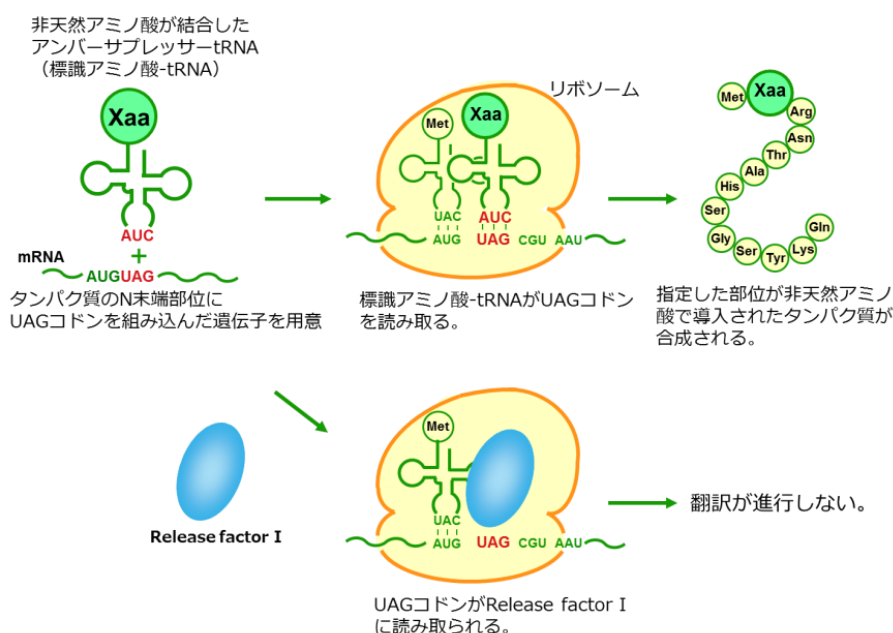


非天然アミノ酸導入用試薬～CloverDirect

【概要】

・ CloverDirect tRNA Reagents for Site-Directed Protein

Functionalizationは、無細胞翻訳系を利用してタンパク質の指定した部位に非天然アミノ酸を導入するための試薬です。蛍光基、ビオチン、PEG鎖、架橋剤を側鎖に持つ非天然アミノ酸や、翻訳後修飾アミノ酸などが用意されています。終止コドンの1つであるアンバーコドンまたは4塩基コドンを組み込んだ遺伝子と本製品を無細胞翻訳系に加えるだけで、非天然アミノ酸導入タンパク質を短時間で効率よく合成することができます。



< CloverDirect製品価格 (例) >

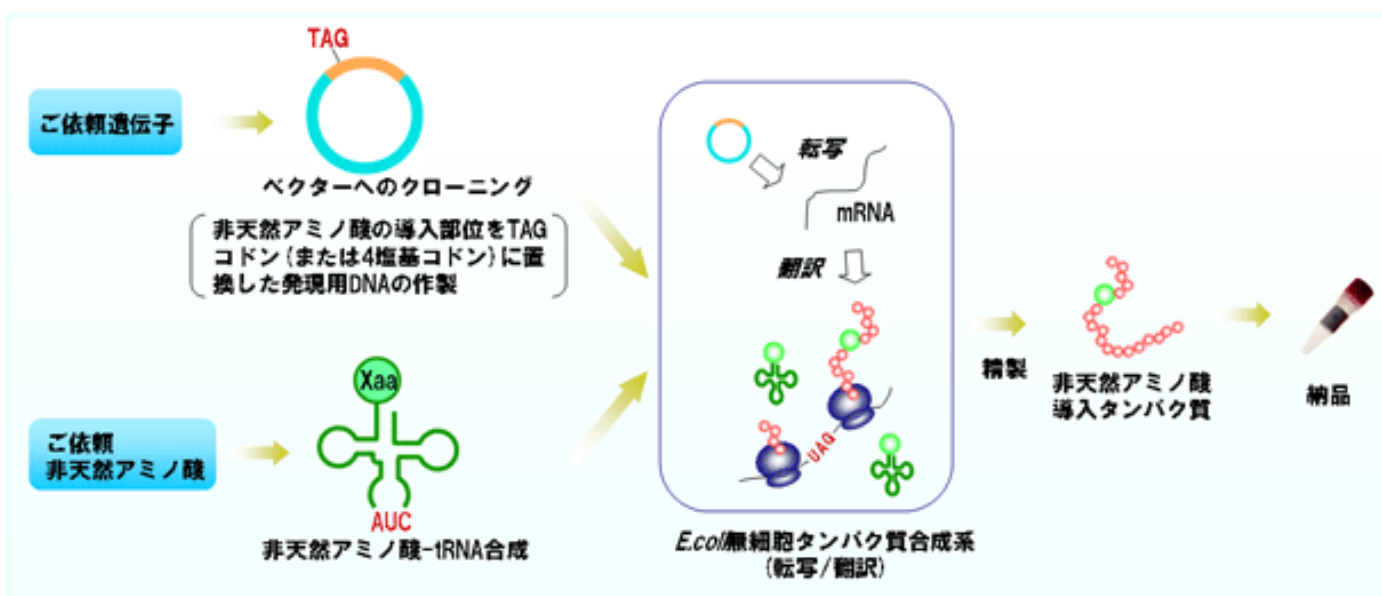
	Code	容量	価格
TAMRA-X-AF-tRNA, amber	CLD02	0.3 mL x 1 reaction	¥28,500
Biotin-XX-AF-tRNA, amber	CLD04	0.3 mL x 1 reaction	¥20,000

上記他、多くの製品群がございますので、弊社ウェブサイトでご確認ください。
http://www.proteinexpress.co.jp/products/clover_direct

非天然アミノ酸導入用試薬（受託合成）

【概要】

- ・ CloverDirect製品に準じ、お客様ご希望の非天然アミノ酸-tRNAを合成するサービスです。対応の可否、価格、納期等はアミノ酸の種類によりますので、まずは弊社までご連絡ください。



非天然アミノ酸導入タンパク質のトータル受託合成サービス

お問い合わせ先

弊社研究開発部（tRNA担当）

TEL; 043-202-5755（代表）

E-mail; tech@proteinexpress.co.jp

Form; <http://www.proteinexpress.co.jp/inquiry>

かずさ抗体製品

【概要】

- ・公益財団法人 かずさDNA研究所（DNA研）との共同プロジェクト（地域結集型共同研究事業およびゲノムネットワークプロジェクト）により、DNA研が保有する長鎖cDNAクローンまたはヒト転写関連タンパク質を抗原としたウサギポリクロナル抗体のコレクションです。

製品リストは下記サイトより、ご確認ください。

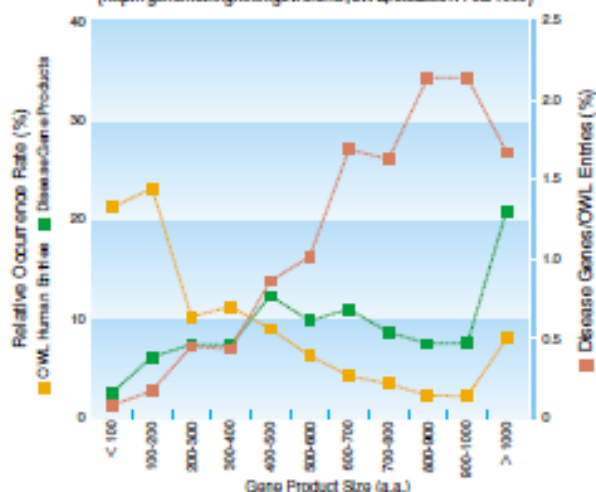
http://www.proteinexpress.co.jp/products/kazusa_antibody

遺伝子クローンの入手も可能です。かずさDNA研究所サイトにてご確認ください。

http://www.proteinexpress.co.jp/products/kazusa_antibody

Size Distribution of Positionally Cloned Gene Products

(http://genome.nih.gov/clone/CWL_release31.4.05/1000)



大きなcDNAの中から、疾患関連遺伝子が高い確率で発見されています。

かずさDNA研究所で解析した遺伝子の中で 遺伝子疾患に関与することが報告されたもの

KIAA番号	遺伝子名	染色体位置	疾患名
KIAA0006	ARHGGE6	Xp25	家族性 X 連鎖精神遅滞
KIAA0023	NUP214	9q34.1	急性骨髄性白血病
KIAA0097	GRB10	7p12-p11.2	ラッセルシンドローム様症
KIAA0243	TSC1	9q34	神経繊維化症
KIAA0347	PSR2	6	聴覚神経温度調節
KIAA0362	ARHGGE12	11q23.3	急性骨髄性白血病
KIAA0557	CIPA1	3q28-q29	精神系萎縮症
KIAA0621	GRAF	5q31	悪性白血病
KIAA0730	SACS/ARSACS	13q12	運動失調歩行
KIAA0837		5q31	急性骨髄性白血病
KIAA0845	NEFH	22q12.2	筋萎縮不全性筋繊維化症
KIAA0846	CYLD	16q12-q13	円柱腫瘍
KIAA0866	MUL	17q22-q23	脂肪腫小児
KIAA0861	MSF	17q25	急性骨髄性白血病
KIAA1073	MTMP2	11q22	チャーコットマリートゥース症
KIAA1083	SPG4	2p24-p21	後天性白癩
KIAA1347	ATP2C1	3q21-q24	急性家族性失明
KIAA1365		14	セリブタン補助因子欠損症
KIAA1774	CDH23	10q21-q22	アッシャー症候群
KIAA1788	ALX4	11p11.2	眼瞼孔閉鎖
KIAA1845	CIAPN10	2q37.3	インスリン分泌不全症候群

既にこのような疾患関連遺伝子が発見されています。

さらにたくさんの有用遺伝子の発見が期待されています。

プロテオーム解析ツールとしての抗体の役割は今後さらに増大

かずさの抗体を順次作成中です。お問い合わせください。



＜プロテインLレジンによる抗体精製＞

低分子抗体精製用アフィニティレジンとして、プロテイン L レジンに注目が高まっています。当社のプロテイン L レジン製品である Bipo Resin Protein L (Alkaline Resistance) (Code: LAR-025) について、抗体精製能、アルカリ耐久性試験について、検討いたしました。

【試験①；抗体精製能試験】

ウサギ血清をプロテイン L レジンに添加
(スピнкаラム)



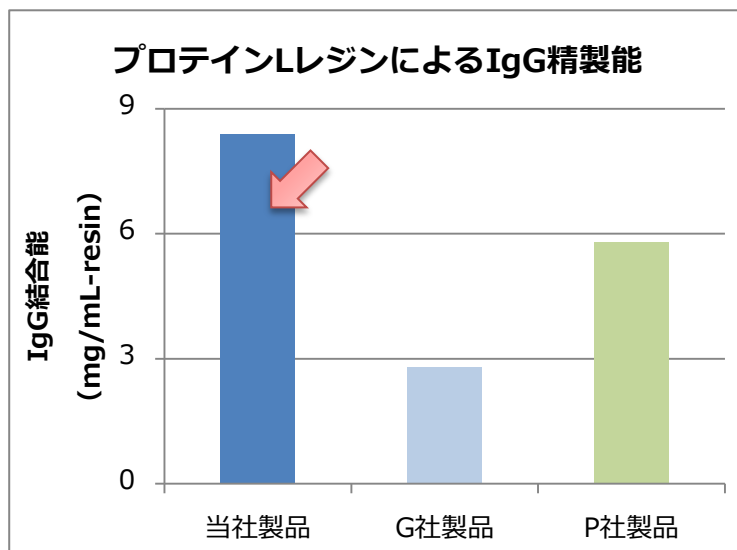
PBS で洗浄 (3回)



100mM Glycine, pH2.5 で溶出 (2回)



溶出された IgG を定量

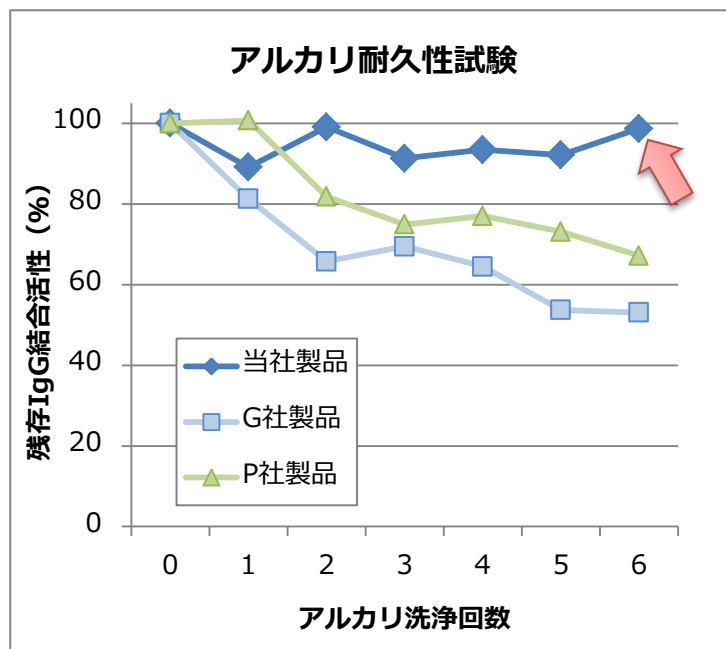


⇒他社製品と比べ、高い抗体結合能であることが示されました。

【試験②；アルカリ耐久性試験】

- アルカリ洗浄条件
0.1M NaOH, 1 時間放置
- 平衡化
PBS

アルカリ洗浄を繰り返した後の
IgG 結合能を測定



⇒当社製品は、アルカリ洗浄条件下での
安定性が高いことが示されました。

当社、アフィニティレジン製品情報は[こちら](#)



ProteinExpress

株式会社プロテイン・エクスプレス
〒260-0856 千葉市中央区亥鼻 1-8-15
TEL: 043-202-5755
<http://www.proteinexpress.co.jp>
service@proteinexpress.co.jp

＜プロテイン A レジンによる VHH 抗体精製＞

ラクダ科由来の VHH 抗体は安定性の高さやタンパク質工学的改変が容易など、近年、その可能性に注目が集まっています。しかしながら、VHH 抗体に特異的なアフィニティリガンドは存在しないため、精製のためにタグを付与するケースがほとんどです。

ところで、プロテイン A には IgG も Fc 領域だけでなく、VH 領域への結合も存在することが報告されています。この特性を使い、当社のプロテイン A レジン製品である Bipo Resin Protein A (Alkaline Resistance) (Code: AAR-025) によって、VHH 抗体が精製可能か検討いたしました。

【試験：VHH 抗体精製能試験】

VHH 抗体 (BSA 存在下) をプロテイン A レジン (当社製品、および G 社、K 社製品) に添加
(A: applied sample)

↓ 素通り画分を回収 (F: flow-through fraction)

PBS で洗浄

↓

100mM Glycine, pH2.5 で溶出 (E: elute fraction)

↓

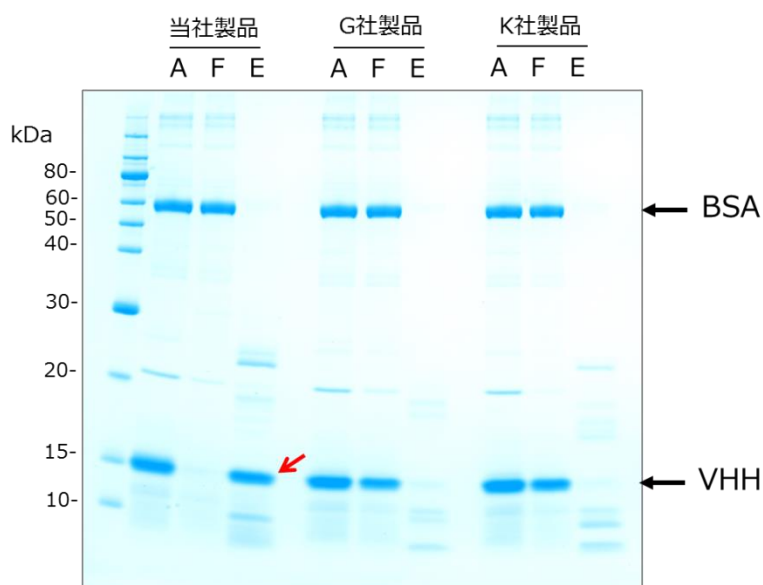
SDS-PAGE による解析 (右図)

結果、G 社、K 社プロテイン A レジンには VHH 抗体結合能が認められませんでした。当社製品を用いた場合は、VHH 抗体の精製が可能であることが示されました。

参考)

Analytical Biochemistry **477** (2015) 92-94

Journal of Biotechnology **78** (2000) 11-21



当社、アフィニティレジン製品情報は[こちら](#)



ProteinExpress

株式会社プロテイン・エクスプレス
〒260-0856 千葉市中央区亥鼻 1-8-15
TEL: 043-202-5755
<http://www.proteinexpress.co.jp>
service@proteinexpress.co.jp

＜当社レジンによる IgA、IgM の精製＞

IgG 以外の抗体分子である IgA、IgM の精製が可能か、当社レジンを用いた結合能測定試験を実施しました。

【試験：IgA、IgM 抗体結合能試験】

IgA または IgM 抗体をプロテイン A またはプロテイン L レジン（当社製品、および G 社製品）に添加

↓ 素通り画分を回収

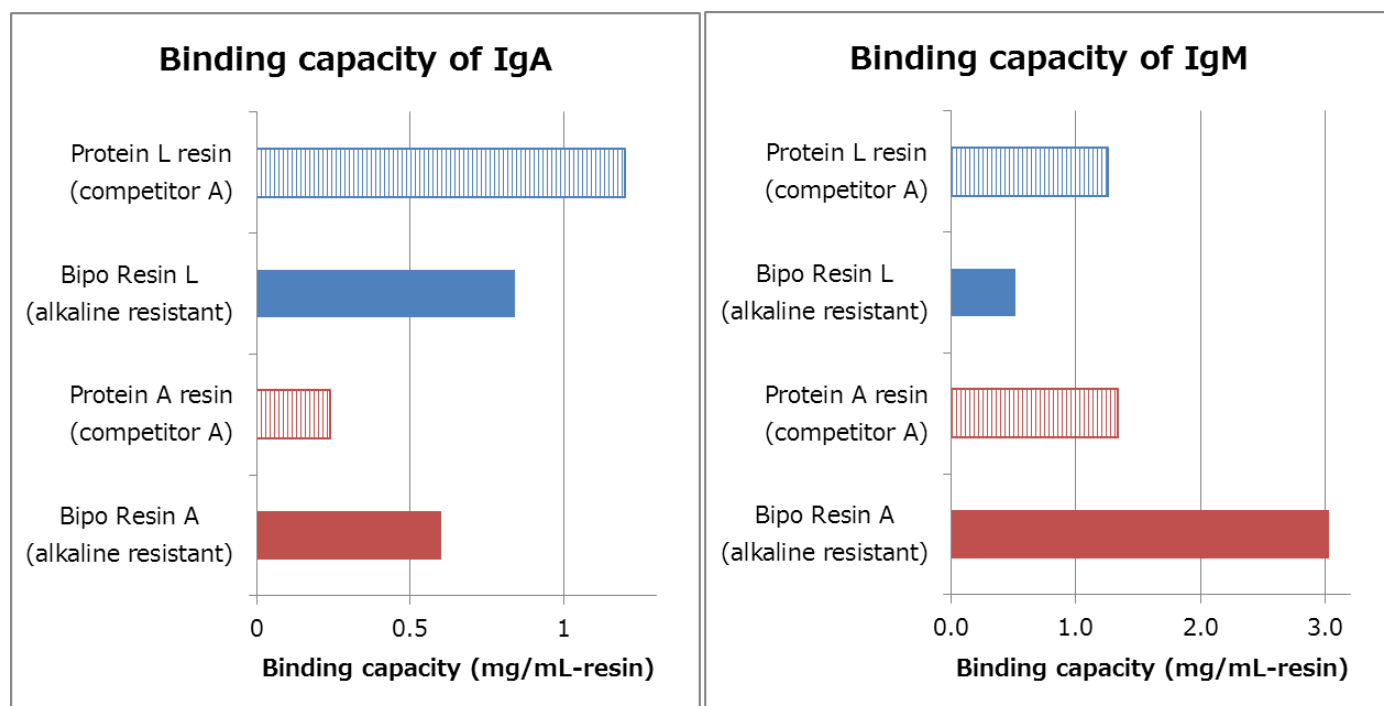
PBS で洗浄

↓

100mM Glycine, pH2.5 で溶出

↓

溶出された抗体を定量（下図）



結果、結合量に差があるものの、IgA、IgM とも、当社プロテイン A レジン、プロテイン L レジンへの結合が確認できました。IgG 以外の抗体分子への使用も可能となります。

当社、アフィニティレジン製品情報は[こちら](#)



ProteinExpress

株式会社プロテイン・エクスプレス
〒260-0856 千葉市中央区亥鼻 1-8-15
TEL: 043-202-5755
<http://www.proteinexpress.co.jp>
service@proteinexpress.co.jp

＜プロテインLレジンによる抗体、低分子抗体精製＞

低分子抗体精製用アフィニティレジンとして、プロテイン L レジンに注目が高まっています。当社のプロテイン L レジン製品である Bipo Resin Protein L (Alkaline Resistance) (Code: LAR-025) について、抗体精製能、アルカリ耐久性試験について、他社製品との比較を行いました。(Application Data 【1】 のデータ拡充となります)

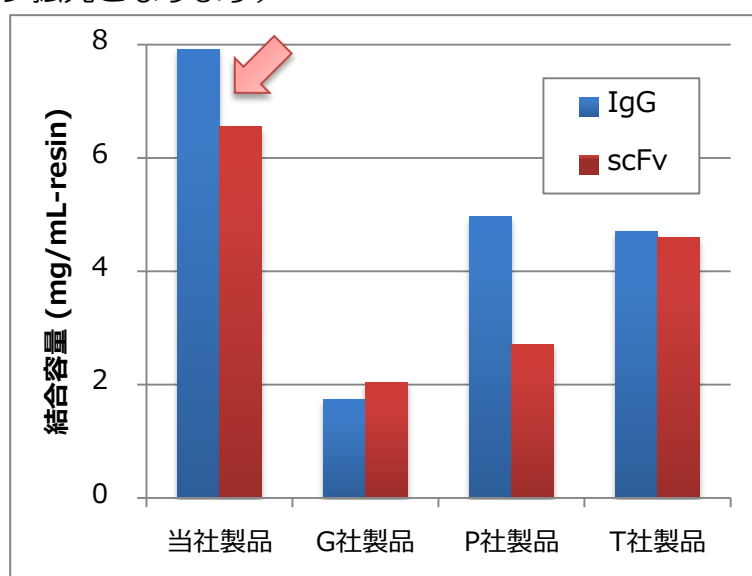
【試験①；抗体精製能試験】

ウサギ血清または scFv を
プロテインL レジンに添加
(スピンカラム)

↓
PBS で洗浄 (3回)

↓
100mM Glycine, pH2.5 で溶出 (2回)

↓
溶出された IgG、scFv を定量



⇒他社製品と比べ、高い抗体結合能であることが示されました。

【試験②；アルカリ耐久性試験】

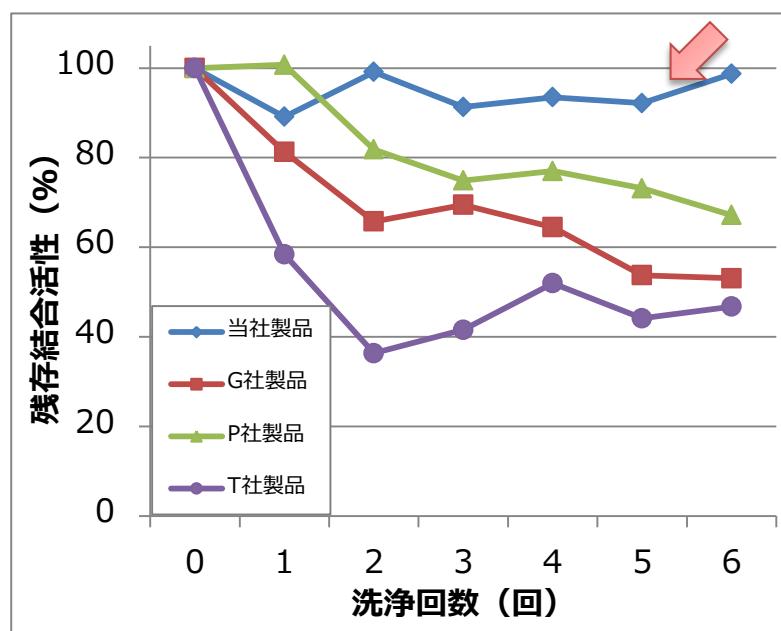
・アルカリ洗浄条件

0.1M NaOH, 1 時間放置

・平衡化

PBS

アルカリ洗浄を繰り返した後の
IgG 結合能を測定



⇒当社製品は、アルカリ洗浄条件下での
安定性が高いことが示されました。

当社、アフィニティレジン製品情報は[こちら](#)



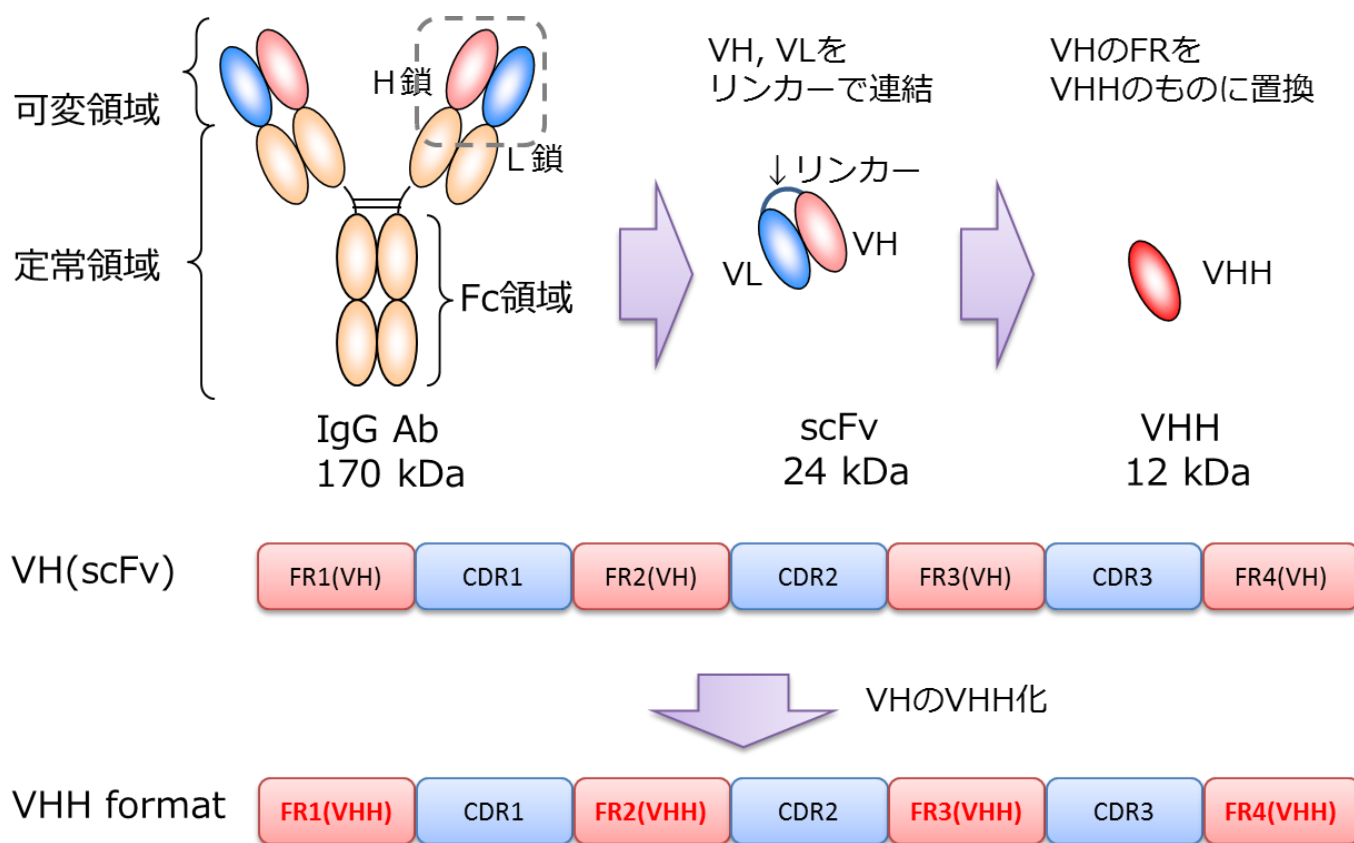
ProteinExpress

株式会社プロテイン・エクスプレス
〒260-0856 千葉市中央区亥鼻 1-8-15
TEL: 043-202-5755
<http://www.proteinexpress.co.jp>
service@proteinexpress.co.jp

＜scFv からの VHH 化及び多価化の効果＞

ラクダ科動物の重鎖抗体由来の低分子抗体 VHH は、一般的な IgG 抗体の重鎖可変領域とアミノ酸配列上の相同性が高いものの、安定性が高いなど、特徴的な物性を示し、多様な分野での使用が期待される分子種であります。

今回、IgG 重鎖可変領域（VH）のフレーム部分を VHH 由来の配列に置き換えることが可能かどうか、さらに VHH 抗体の特徴でもあるタンパク質工学的改変の容易さを活用した多価化（二価）による高親和化が可能か検討しました。



IgG 抗体からの VHH 抗体化デザインの模式図



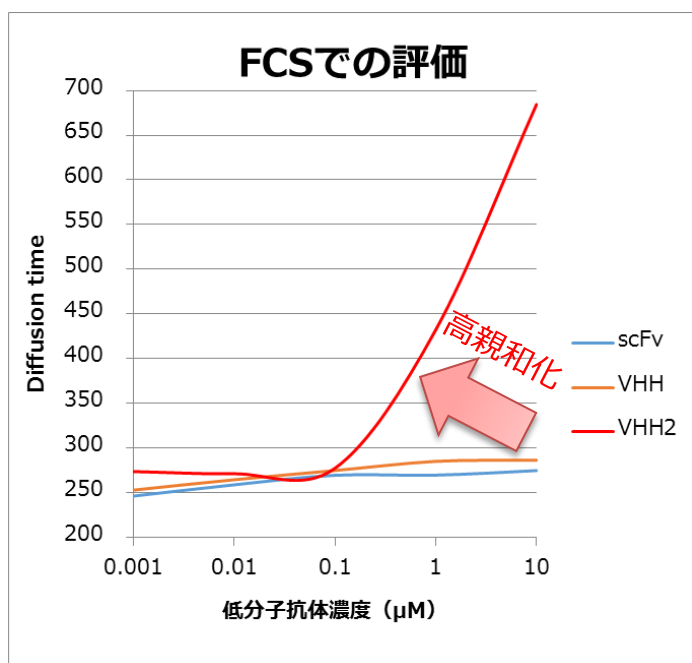
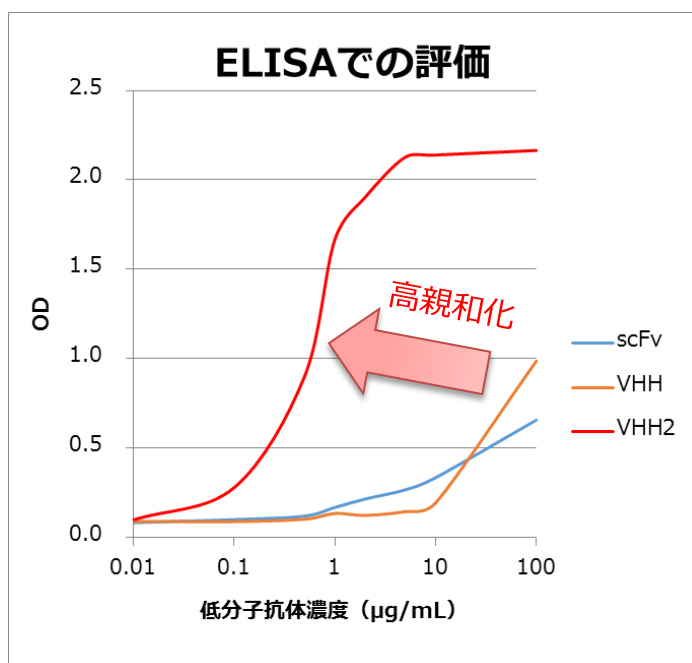
**・低分子抗体の生産**

scFv 抗体の VH の CDR 領域を、VHH 抗体の CDR 領域に置き換えた遺伝子を設計、さらに、この遺伝子をタンデムに連結（二価；VHH2）した遺伝子を構築した。これらの遺伝子を元にブレヴィバチルス菌で scFv 及び VHH 抗体タンパク質を発現させた。

・抗原との親和性の測定

①抗原タンパク質 A を ELISA プレート上に固定化、種々の濃度の低分子抗体を添加して、その反応性を確認した。

②抗原タンパク質 A を蛍光標識し、種々の濃度の低分子抗体を反応させたのちに、FCS（Fluorescence Correlation Spectroscopy）による液相中での拡散時間を測定することで、抗原に対する反応性を評価した。

**結果**

scFv の配列を元に、VHH フォーマットとしても抗原認識能が保持されていること、多価化（二価に連結）することで、抗原に対する親和性が大きく増加していることが確認できました。

従来、抗体の高親和化は可変領域への変異を導入により実施されていますが、数多くのクローンについてその評価を行う必要があります。VHH 抗体は軽鎖が無いために、多価化や二重特異性化など、タンパク質工学的な改変が容易であるという特徴を持ち、この性質を利用することで、本検討（IgG 抗体→scFv 化→VHH 化→VHH の多価化）のように、抗原に対する親和性の高い分子種を容易に取得することができます。

VHH 抗体関連サービス情報は[こちら](#)

