

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第5303464号

(P5303464)

(45) 発行日 平成25年10月2日(2013.10.2)

(24) 登録日 平成25年6月28日(2013.6.28)

(51) Int.Cl. F I
C O 7 K 1/22 (2006.01) C O 7 K 1/22
G O 1 N 33/537 (2006.01) G O 1 N 33/537

請求項の数 7 (全 11 頁)

(21) 出願番号	特願2009-525511 (P2009-525511)	(73) 特許権者	505224569
(86) (22) 出願日	平成20年1月21日(2008.1.21)		インハ インダストリー パートナーシッ ブ インスティテュート
(65) 公表番号	特表2010-501552 (P2010-501552A)		Inha-Industry Partn ership Institute
(43) 公表日	平成22年1月21日(2010.1.21)		大韓民国 402-751 インチョン
(86) 国際出願番号	PCT/KR2008/000356		ナム-グ ヨンヒュン-ドン 253
(87) 国際公開番号	W02008/088200	(74) 代理人	100102842
(87) 国際公開日	平成20年7月24日(2008.7.24)		弁理士 葛和 清司
審査請求日	平成21年2月20日(2009.2.20)	(72) 発明者	クー, ユーン-モ
(31) 優先権主張番号	10-2007-0006001		大韓民国 ソウル 135-505、カン
(32) 優先日	平成19年1月19日(2007.1.19)		ナム-グ、ドゴク-2ドン、ウースン 4
(33) 優先権主張国	韓国 (KR)		チャ アpartment #5-203
前置審査			
			最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 分配向上物質が接合された生物物質を使用した水性二相系抽出法での親和性分離方法

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

a) 目標物質 (T) に分子特異的に結合する親和性分子 (B) に分配向上物質 (P) を接合させて目標物質と異なる相に位置するように B の分配係数を変化させた B-P 接合体を製造する工程と、

b) 工程 a) の前記接合体を、T を含有した水溶性高分子物質 (第 1 の高分子物質) の水溶液と、前記第 1 の高分子物質と異なる水溶性高分子物質 (第 2 の高分子物質) の水溶液又は塩の水溶液とで構成される、水性二相系に投入する工程、及び

c) 工程 b) で投入後、生成された T-B-P 結合体を分離して取り出す工程を含み、
前記親和性分子が、抗体又は抗原であり、
前記分配向上物質が、HRP (horseradish peroxidase) である
ことを特徴とする、親和度による目標物質の分離方法。

【請求項 2】

目標物質が、タンパク質であることを特徴とする、請求項 1 に記載の目標物質の分離方法。

【請求項 3】

タンパク質が、抗体であることを特徴とする、請求項 2 に記載の目標物質の分離方法。

【請求項 4】

第 1 の高分子物質及び／又は第 2 の高分子物質が、PEG (ポリエチレングリコール)、デキストラン、ポリビニルアルコール、ポリエチレンポリプロピレンブロックコポリマ

ー及びオリゴサッカライドからなる群から選択されることを特徴とする、請求項1～3のいずれか一項に記載の目標物質の分離方法。

【請求項5】

塩が、リン酸カリウム、リン酸ナトリウム、硫酸アンモニウム及び硫酸マグネシウムからなる群から選択されることを特徴とする、請求項1～4のいずれか一項に記載の目標物質の分離方法。

【請求項6】

目標物質が抗ヒトIgGであり、親和性物質がヒトIgGであることを特徴とする、請求項1～5のいずれか一項に記載の目標物質の分離方法。

【請求項7】

水性二相系が、PEG（ポリエチレングリコール）溶液及びリン酸カリウム溶液で構成される、又はPEG（ポリエチレングリコール）溶液及びデキストラン溶液で構成される、請求項1～6のいずれか一項に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、分配特性が変化したタンパク質抗体結合体を使用して、抗体に結合する物質を分離する方法に関するもので、より詳細には、抗体にタンパク質を結合させてタンパク質－抗体結合体の分配特性を変化させたあと、前記抗体に分子特異的に結合する物質を分離する親和性分離方法に関するものである。

【背景技術】

【0002】

生物物質の分離は、日々拡大している生物医薬品、細胞治療剤産業から除外できない重要な技術である。しかし、生物物質は、化学物質に比べて変性の憂慮が高くて類似の物理、化学的性質を有する幾多の物質と共存するため、多くの精製工程を経なければならないという短所を有している。水性二相系を使用する生物分離技術は、有機溶媒を使用せずに生物物質の安定性確保に有利で、複雑な精製工程を減らすことができるので、このような生物物質の分離に有用である。水性二相系は、高分子物質または高分子物質と塩が一定濃度以上で存在する二つの水溶液で構成され、ここで、各物質間の静電的反発力によって混じらない二つの層を形成する。

【0003】

水性二相系による物質分離の原理は、ポリエチレングリコールのような高分子とリン酸塩を一定比率で混合すると密度にしたがって、上層はポリエチレングリコール相、下層はリン酸塩相で境界が分けられる。ここで、分離しようとする物質を入れると、二つの相の中で好む一方の相に多量存在するようになる。これは、各相を主に構成する物質の種類及び組成によってその相の物理的、化学的特性が相違しているからである。

【0004】

水性二相系の構成に主に使われる高分子物質には、ポリエチレングリコール、ポリビニルアルコール、デキストラン、オリゴサッカライドなどがあり、塩では、リン酸カリウム、リン酸ナトリウム、硫酸アンモニウム、硫酸マグネシウムなどがある。このような水性二相系は、水の量が65～80%以上で、生物物質の安定性を落とさないもので、同時に多様な種類の物質で二相系を構成することができ、特に生物物質の分離に有利な長所がある。

【0005】

今まで水性二相系を使用した生物物質分離では、分離しようとする目的物質によって系を構成する物質の濃度及び高分子の分子量などに変化を与える試みが多かった。特に、水性二相系構成以後、添加物に使用される塩は、水性二相系の疎水性や目的物質の表面特性を変化させて物質の分配特性変化に大きい影響を及ぼすので多様な種類の塩を使用しようとする試みが多くなされてきた。しかし、このような塩の添加は、溶液内の浸透圧を増加させて生物物質の安定性に障害を与え得るので、選択性が低くて目的物質だけではなく他

10

20

30

40

50

の物質の分配係数にも影響を与え得るため適切な濃度条件を決定するのが難しいという短所を有している。

【0006】

このような短所を克服するために、生物学的または化学的親和性を水性二相系で使用しようとする試みが行なわれたことがある。水性二相系で親和性を付与するために使われた物質としては、抗体、DNA、金属イオン、界面活性剤などがある。

【0007】

これらの中で本発明と係わるもので、水性二相系内で抗体を使用した親和性分離としては、抗体にリガンドとして温度感受性高分子を接合させて特定温度で動物細胞を分離しようとする試みがあった（A. Kumar等, Biotechnol. Bioeng., 2005年, 第75巻, p. 570-580）。しかし、これは分離能を高めるために一定温度を維持しなければならないという点で生物物質の変性をもたらす得、リガンドに使用された高分子の有害性が検証されなかったという短所がある。

【0008】

また、他の例では、抗体をPEG（ポリエチレングリコール）に接合させたPEG化（PEGylation）した分子を使用した場合で（Kim A. Sharp等, Anal. Biochem. 1985年, 第154巻, p. 110-117）、これは、PEG化するために必要な変形されたPEGの価格が高く、変形されたPEG及び抗体の種類によってPEG化の成功率が大きく変わり得るという短所を有している。

【0009】

そこで、本発明者らは、生物物質の安定性を阻害せず、多数存在する不純物から目的物質のみを選択的に分離するための方法として、抗体との結合によって大多数の抗体が存在する相とは反対の相に分配されるようにするタンパク質及び水性二相系条件を選定した後、選定された条件で不純物と混合した目的物質のみを他の相に分配させて回収が可能であることを確認することで、本発明を完成した。

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0010】

本発明の目的は、リガンドとして生物物質に対して安全ながらも水性二相系内での分配調節が容易で抗体との接合効率が高く、これを通じた親和性分離が効果的に成り立つことができる、タンパク質を使用した水性二相系抽出工程内での親和性分離方法を提供することである。

【課題を解決するための手段】

【0011】

本発明は、

- a) 目標物質（T）に分子特異的に結合する親和性分子（B）に分配向上物質（P）を接合させて目標物質と異なる相に位置するようにBの分配係数を変化させたB-P接合体を製造する工程と、
- b) 工程a)の前記接合体をTを含有した水溶性高分子物質の水溶液及び塩の水溶液で構成された水性二相系に投入する工程、及び
- c) 工程b)で投入後生成されたT-B-P結合体を分離して取り出す工程とを含む、親和度による目標物質の分離方法を提供する。

【発明の効果】

【0012】

本発明では、HRPが接合された抗体を使用した水性二相系内親和性分離方法を提示した。本発明において抗体-HRP接合体は、高い効率の抗体、HRP接合を通じて抗原-抗体反応に使用され、目的物質の特異的な分離を誘導することができるので、安全で効果的な水性二相系内物質分離に広く活用することができる。

【図面の簡単な説明】

【0013】

【図1】図1はタンパク質と接合された抗体を使用した水性二相系内親和性分離に対する概略図である。

【図2】図2はPEG（分子量1450、10%、w/w）とリン酸カリウム溶液（15%、w/w）、またはPEG（分子量8000、5%、w/w）とデキストランT500（分子量500000、5%、w/w）で構成された水性二相系でHRP、hIgG、hIgG-HRPそれぞれの分配係数差を示した図である。

【図3】図3はPEG（分子量1450、10%、w/w）とリン酸カリウム溶液（15%、w/w）で親和力があるhIgG-HRPとウサギ（rabbit）抗ヒトIgGのモル比によるそれぞれの分配係数変化を示した図である。

【図4】図4はPEG（分子量8000、5%、w/w）とデキストランT500（分子量500000、5%、w/w）で親和力があるhIgG-HRPとウサギ抗ヒトIgGのモル比によるそれぞれの分配係数変化を示した図である。

10

【図5】図5はPEG（分子量1450、10%、w/w）とリン酸カリウム溶液（15%、w/w）で親和力がないhIgG-HRPとヤギ抗マウスIgGのモル比によるそれぞれの分配係数変化を示した図である。

【図6】図6はPEG（分子量8000、5%、w/w）とデキストランT500（分子量500000、5%、w/w）で親和力がないhIgG-HRP、ヤギ抗マウスIgGのモル比によるそれぞれの分配係数変化を示した図である。

【図7】図7はPEG（分子量1450、10%、w/w）とリン酸カリウム溶液（15%、w/w）での親和性分離を示した図である。

20

【図8】図8はPEG（分子量8000、5%、w/w）とデキストランT500（分子量500000、5%、w/w）での親和性分離を示した図である。

【発明を実施するための形態】

【0014】

以下、本発明で使用する用語を定義する。

水性二相系は、高分子物質または高分子物質と塩が一定濃度以上で存在する二つの水溶液で構成され、ここで、各物質間の静電的反発力によって混じらない2つの層を形成する系を意味する。

【0015】

目標物質（T、target）は、分離しようとする分離対象物質を意味する。

30

【0016】

分配向上物質（P、partition）は、目標物質に結合することができる親和性分子に接合して目標物質と親和性分子が異なる相に位置するように、親和性分子の分配係数を変化させる物質を意味する。

【0017】

以下、本発明を詳細に説明する。

【0018】

本発明は、

a) 目標物質（T）に分子特異的に結合する親和性分子（B）に分配向上物質（P）を接合させて、目標物質と異なる相に位置するようにBの分配係数を変化させたB-P接合体を製造する工程と、

40

b) 工程a)の前記接合体をTを含有した水溶性高分子物質の水溶液及び塩の水溶液で構成された水性二相系に投入する工程、及び

c) 工程b)で投入後、生成されたT-B-P結合体を分離して取り出す工程を含む親和度による目標物質の分離方法を提供する。

【0019】

本発明者らは、水性二相系内で抗体を使用した親和性分離をするとき、抗体の分配係数を変えることができる接合タンパク質を検索した。その結果、HRP（horseradish peroxidase）の場合、抗体との接合方法が常用化していて、接合効率も高いということを確認することができた。しかし、実際に分離するためには、分配係数

50

(K、上層に存在する物質の濃度／下層に存在する物質の濃度)に差がなければならない。HRPと接合された抗体が接合されない抗体と比べて互いに異なる分配係数を有しないこともあるので、多くの種類の水性二相系で実際にこのふたつが互いに異なる分配係数を有するかどうか実験した。

【0020】

具体的に、目的タンパク質であるウサギ抗ヒトIgGを分離するために、HRPと抗体と抗体-HRP接合体は、ヒトIgG(hIgG)とヒトIgG-HRP接合体(hIgG-HRP)で選択し、水性二相系は、PEG(分子量1450、10%、w/w)とリン酸カリウム緩衝溶液(15%、w/w)またはPEG(分子量8000、5%、w/w)とデキストランT500(分子量500000、5%、w/w)で構成した。それぞれの水性二相系にHRP、hIgG、hIgG-HRPが単独で存在する時に有する分配係数を調べた結果、hIgG-HRPが元々の構成タンパク質であるHRPとhIgGに比べて上層となる傾向が示された(図2参照)。

10

【0021】

また、水性二相系内でHRPと接合された抗体と目的タンパク質のモル比による分配傾向を調べた。これを通じて目的タンパク質を分離するのに有利な条件(水性二相系構成物質の種類及び濃度、抗体-HRP接合体と目的タンパク質のモル比など)を選定した。

【0022】

その結果、PEGとリン酸カリウム緩衝溶液で構成された水性二相系では、hIgG-HRP、ウサギ抗ヒトIgG、ヤギ抗マウスIgGのモル比3:1:1、PEGとデキストランで構成された水性二相系では、モル比1:1:1が最適であることを確認した。

20

【0023】

前記方法を通じて、本実験では、目的抗体が不純物である他の抗体と水性二相系の下層に存在する一方、上層に存在しようとする性質が強い抗体-HRP接合体を使用して二物質間の親和性結合を通じて目的タンパク質を水性二相系の上層に誘導して、以後、水性二相系の上層を分離して取り出して目的物質と不純物を分離した。

【0024】

前記方法で、目標物質は、細胞、タンパク質、核酸分子、多糖類、糖蛋白質、糖脂質または脂質タンパク質であることが好ましいが、これに限定されるものではない。

【0025】

前記方法で、分子特異的結合力のある物質は、抗体と抗原、酵素と基質、そしてペプチド、ヌクレオチド、アプタマー、染料、金属イオンなどリガンドとアセプターとして作用可能なすべての物質を使用することができ、分配向上物質は、HRP(horse radish peroxidase)、アルカリフォスファターゼ、ベータガラクトシダーゼ、リゾチーム、ウシ血清アルブミンなどのすべてのポリペプチド及びペプチドを使用することができる。

30

【0026】

工程c)の高分子物質は、PEG(ポリエチレングリコール)、デキストラン、ポリビニルアルコール、ポリエチレンポリプロピレンブロックコポリマー及びオリゴサッカライドからなる群から選択されることが好ましいが、これに限定されるものではない。

40

【0027】

また、工程c)の塩は、リン酸カリウム、リン酸ナトリウム、硫酸アンモニウム及び硫酸マグネシウムからなる群から選択されることが好ましいが、これに限定されるものではない。

【0028】

同時に、工程c)の高分子物質の水溶液及び塩の水溶液で構成される水性二相系は、PEGとリン酸カリウム緩衝溶液またはPEGとデキストラン以外のポリビニルアルコール、デキストラン、ポリエチレンポリプロピレンブロックコポリマー、オリゴサッカライド、リン酸カリウム、リン酸ナトリウム、硫酸アンモニウム及び硫酸マグネシウムなど水性二相系構成が可能なすべての物質が使用可能である。

50

【0029】

以下、本発明を実施例を通じて詳しく説明する。但し、下記の実施例は本発明を例示するためだけのものであって、本発明の内容を制限するものではない。

【0030】

<実施例1> 抗体-HRP接合体と目的タンパク質、不純物各々の分配係数

本実験で使用した抗体-HRP接合体、目的タンパク質及び不純物は、それぞれHRP (horseradish peroxidase) が接合されたヒトIgG (hIgG-HRP)、これと親和性があるウサギ抗ヒトIgG及び親和性がないヤギ抗マウスIgGである (全てPierce Biotechnology, Inc., 米国から購入)。

10

【0031】

本実験で使用した水性二相系は、PEG (分子量1450、10%、w/w) とリン酸カリウム緩衝溶液 (potassium phosphate buffer、15%、w/w)、またはPEG (分子量8000、5%、w/w) とデキストランT500 (分子量500000、5%、w/w) で、二つの水性二相系でhIgG-HRPは、上層を (log Kが0より大きい)、ウサギ抗ヒトIgGとヤギ抗マウスIgGは、下層 (log Kが0より小さい) となる傾向が示された (表1)。

【0032】

水性二相系の構成のために最終濃度に比べて二倍濃縮された濃度の母液4種 (PEG溶液 (分子量1450、20%、w/w)、リン酸カリウム緩衝溶液 (30%、w/w)、PEG溶液 (分子量8000、10%、w/w)、デキストランT500溶液 (分子量500000、10%、w/w)) をまず調製した。以後、分子量1450のPEG溶液とリン酸カリウム溶液または分子量8000のPEG溶液とデキストラン溶液をそれぞれ0.5gずつ混ぜることにより、総重量1gの水性二相系溶液 (PEG (分子量1450、10%、w/w) とリン酸カリウム緩衝溶液 (15%、w/w)、そして、PEG (分子量8000、5%、w/w) とデキストランT500 (分子量500000、5%、w/w)) を調製した。母液を混ぜた後には、3000rpmで15分間遠心分離をした後、1時間常温において相を安定化した。

20

【0033】

表1：水性二相系内hIgG-HRP、ウサギ抗ヒトIgG、ヤギ抗マウスIgGの分配係数

30

【表1】

水性二相系	分配係数 (log K)		
	hIgG-HRP	ウサギ抗ヒトIgG	ヤギ抗マウスIgG
PEG (分子量1450、10%、w/w) とリン酸カリウム溶液 (15%、w/w)	0.59	-0.34	-0.68
PEG (分子量8000、5%、w/w) とデキストランT500 (分子量500000、5%、w/w)	0.29	-0.04	-0.70

40

【0034】

<実施例2> モル比によるhIgG-HRPとウサギ抗ヒトIgG、hIgG-HRPとヤギ抗マウスIgGの分配係数変化

前記実施例1にみられるように、hIgG-HRPとウサギ抗ヒトIgG、ヤギ抗マウスIgGが互いに異なる相となる傾向が分かり、本発明では、hIgG-HRPとウサギ抗ヒトIgG、hIgG-HRPとヤギ抗マウスIgGそれぞれの二つの物質が混じるモル比がこれらの分配係数に及ぼす影響を調べた。

【0035】

50

<2-1> h I g G-H R Pとウサギ抗ヒト I g Gのモル比による親和性分配係数変化

P E G（分子量1450、10%、w/w）とリン酸カリウム緩衝溶液（15%、w/w）または P E G（分子量8000、5%、w/w）とデキストランT500（分子量500000、5%、w/w）の二つの水性二相系で、h I g G-H R P及び抗ヒト I g Gのモル濃度を変えて実験した結果、h I g G-H R Pのモル濃度が高くなるほど、これと親和性があるウサギ抗ヒト I g Gの分配係数が上昇し、一方、ウサギ抗ヒト I g Gのモル濃度が高くなるほどh I g G-H R Pの分配係数が減少した（図3及び図4）。これを通じて本発明では、抗体-H R P接合体を使用した目的物質の親和性分離が可能であり、特に二つの物質間のモル比が分離効率に影響を与えることを確認した。

【0036】

10

前記結果を考慮する時、h I g G-H R P、ウサギ抗ヒト I g G、ヤギ抗マウス I g Gのモル比が塩基に基づく水性二相系では3:1:1、デキストランに基づく水性二相系では1:1:1の時、分離するのに最適条件であることを確認した。

【0037】

<2-2> h I g G-H R Pとヤギ抗マウス I g Gのモル比による非親和性分配係数変化

実施例2-1と同様に、P E G（分子量1450、10%、w/w）とリン酸カリウム緩衝溶液（15%、w/w）またはP E G（分子量8000、5%、w/w）とデキストランT500（分子量500000、5%、w/w）の二つの水性二相系で、h I g G-H R P及びヤギ抗マウス I g Gのモル濃度を10:1、5:1、1:1、1:5、1:10にして実験した結果、h I g G-H R Pのモル濃度が高くなるほどこれと親和性がないヤギ抗マウス I g Gの分配係数も多少上昇し、ヤギ抗マウス I g Gのモル濃度が高くなるほどh I g G-H R Pの分配係数が多少減少した（図5及び図6参照）。

20

【0038】

これは、ヤギ抗マウス I g Gとh I g G-H R P間の交差反応によるもので、元来、親和性がない物質の場合、h I g G-H R Pによって水性二相系の上層で物質の移動する現象がないと予想したが、二つの物質間に非特異的な親和性が弱く存在して前記のような結果を示した。しかし、その傾向は先で詳しくみたウサギ抗ヒト I g Gに比べて軽微であり、溶液内にウサギ抗ヒト I g Gと同時に存在する場合、相互競争によって結合するようになるので、非特異的結合が実際分離過程に及ぼす影響は軽微であると判断される。

【0039】

30

<実施例3> 親和性分配を使用した水性二相系内での親和性分離

本発明の最終目的は、h I g G-H R Pを使用して目的物質であるウサギ抗ヒト I g Gの上層への分配を誘導し、これを通じてより高い効率と純度のウサギ抗ヒト I g G分離を遂行するものである。前記結果で選定されたモル濃度の割合でウサギ抗ヒト I g Gの分配係数及び純度を測定するために下記のような実験を実施した。

【0040】

<3-1> P E G（分子量1450、10%、w/w）とリン酸カリウム溶液（15%、w/w）での親和性分離

実施例2-1、2-2の結果を基にウサギ抗ヒト I g Gの分配を上層に誘導することができるh I g G-H R P、ウサギ抗ヒト I g G、ヤギ抗マウス I g Gのモル比を3:1:1に選定した。この割合で親和性分離を試みた結果、ウサギ抗ヒト I g Gの分配係数は、h I g G-H R Pによって-0.35から0.50に大きく上昇して上層にたくさん存在した。一方、ヤギ抗マウス I g Gの分配係数は、-0.68から-0.08に多少上昇したが相変わらず下層に多く存在することが示された（図7）。上層に存在するウサギ抗ヒト I g Gの純度は72.37%で、これを通じてウサギ抗ヒト I g Gの親和性分離が可能であることを確認した。純度は、上層に存在するウサギ抗ヒト I g Gの量を上層に存在するh I g G-H R P、ウサギ抗ヒト I g G、ヤギ抗マウス I g Gの合計で割った後に100を掛けて計算した。

40

【0041】

<3-2> P E G（分子量8000、5%、w/w）とデキストランT500（分子量5

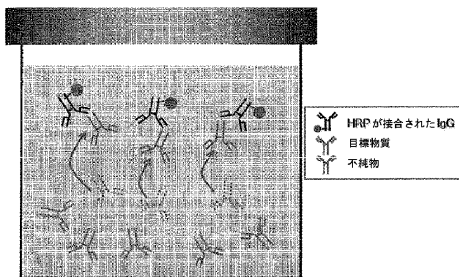
50

0.0000、5%、w/w)での親和性分離

実施例2-1、2-2の結果を基にウサギ抗ヒトIgGの分配を上層に誘導することができるhIgG-HRP、ウサギ抗ヒトIgG、ヤギ抗マウスIgGのモル比を1:1:1に選定した。その結果、ウサギ抗ヒトIgGの分配係数は-0.30から0.75に上昇し、ヤギ抗マウスIgGの分配係数は-0.04から-0.17に、むしろ下層に存在する量が増加したことが示された(図8)。上層に存在するウサギ抗ヒトIgGの純度は、87.68%であった。

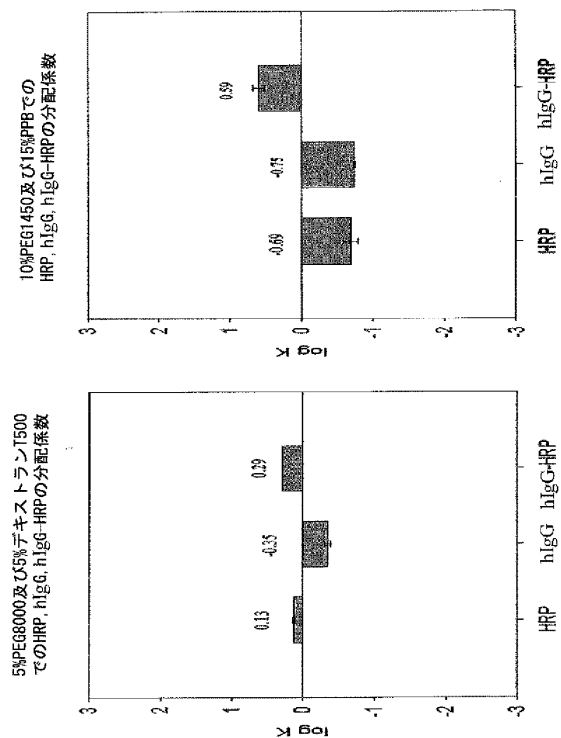
【図1】

図1



【図2】

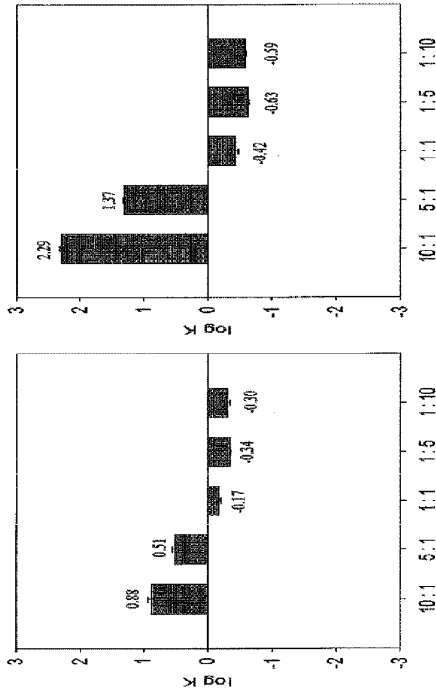
図2



【図 3】

図 3

ウサギIgGとhIgG-HRPのモル比による、ウサギ抗ヒトIgGの分配係数

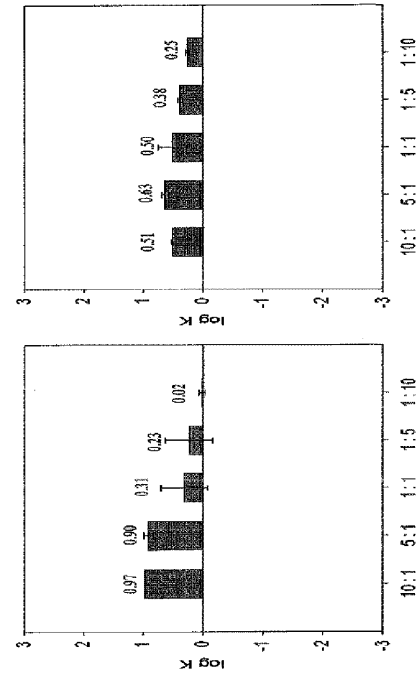


ヒトIgG-HRPとウサギ抗ヒトIgGのモル比

【図 4】

図 4

ウサギIgGとhIgG-HRPのモル比によるウサギ抗ヒトIgGの分配係数

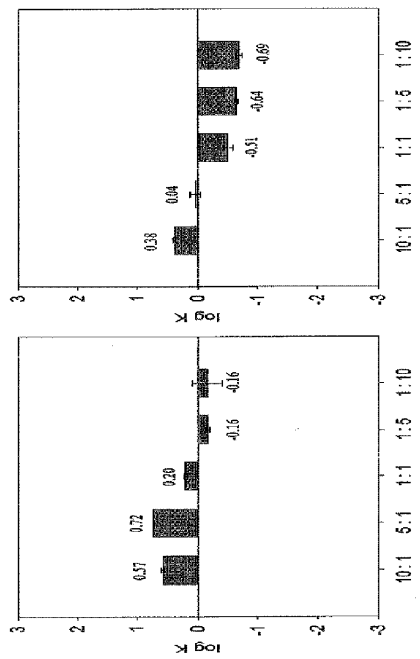


ヒトIgG-HRPとウサギ抗ヒトIgGのモル比

【図 5】

図 5

ヤギIgGとhIgG-HRPのモル比によるヤギ抗マウスIgGの分配係数

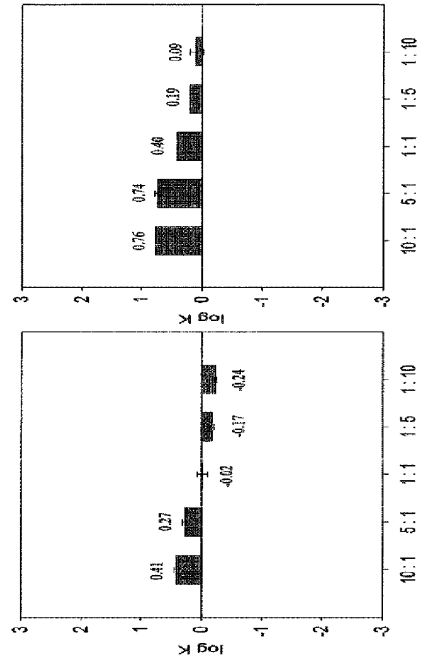


ヒトIgG-HRPとヤギ抗マウスIgGのモル比

【図 6】

図 6

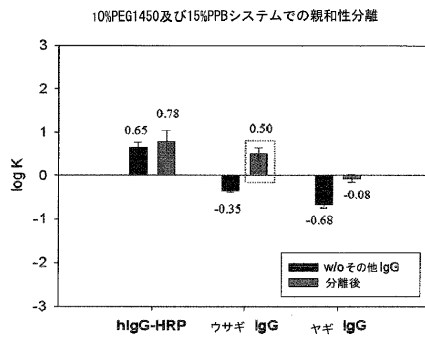
ヤギIgGとhIgG-HRPのモル比によるヤギ抗マウスIgGの分配係数



ヒトIgG-HRPとヤギ抗マウスIgGのモル比

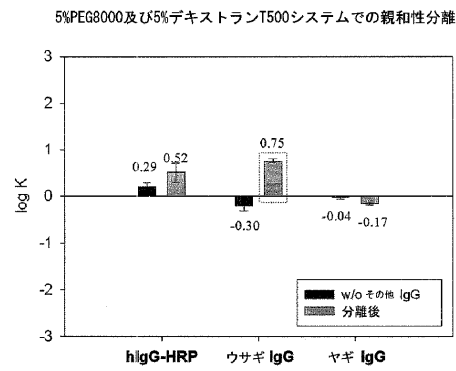
【図 7】

図 7



【図 8】

図 8



フロントページの続き

(72)発明者 チャン, ウージン

大韓民国 キュンギード 431-050、アンヤンシ、ドンガンーク、ピサンードン、セトビ
ュルマウル ハンヤン アパートメント #204-402

(72)発明者 パーク, ヒューミー

大韓民国 ソウル 152-773、グローク、シンドリムードン、トンガ 1チャ アパートメ
ント #104-704

審査官 福澤 洋光

(56)参考文献 Anal.Biochem., vol.154, pp.110-117 (1986)

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

C07K1/00-19/00

CA/MEDLINE/BIOSIS/WPIDS (STN)

JSTPlus (JDreamII)

PubMed