

## REKOMBINÁNS FEHÉRJÉK GYÁRTÁSA

Lehet:

- Prokariótákkal (baktériumokkal)
  - Könnyen, gyorsan szaporíthatók, olcsó táptalaj, de:
  - a termék sokszor intracelluláris (zárványtest), és nincs posztranszlációs modifikáció (glikozilálás, metilezés)
- Élesztőkkel
  - Gyors szaporodás, jó hozam, olcsó táptalaj, de:
  - eltérő glikozilációs mintázat, nem mindig aktív a termék
- állati sejtenyésztéssel
  - Lassú szaporodás, drága tápoldat, kényes fermentáció, kisebb koncentráció, de:
  - termék biztosan biológiailag aktív.



1


## REKOMBINÁNS FEHÉRJÉK

A jelenleg jóváhagyott technológiák 95%-a ezt a három gazdaszervezetet használja:

*E. coli*



*S. cerevisiae*



Chinese Hamster Ovary (CHO)





2

## REKOMBINÁNS FEHÉRJÉK

Funkció szerint:

- Hormonok (inzulin, eritropoietin)
- Enzimek (általában orvosi célra; VIII faktor, tPA, aszparagináz)
- Antitestek (terápia - analitika; Herceptin, ProstaScint)
- Vakcinák (aktív és passzív immunizálás)




3

## Therapeutic Protein Classes

**Combined global prescription sales for the top 50 pharmaceutical companies (excluding generic-drug companies) by molecule type (2009–2014).**

Molecule type	Sales (\$ billion)						Difference in sales between 2009 and 2014
	2009	2010	2011	2012	2013	2014	
Small molecule	411	414	415	405	394	394	-4%
Therapeutic protein	65	68	70	72	74	76	17%
Monoclonal antibody	38	43	48	53	58	62	63%
Vaccine	21	22	24	25	27	28	33%





4

## Inzulin

Az inzulín emlőshormon; ez volt első rekombináns módszerrel előállított fehérje. A gyógyászati célra történő humán inzulín éves termelése eléri a 20 tonnát. Az inzulint a hasnyálmirigy (pancreas) Langerhans-szigetei termelik. Antagonista párja a glükagon. A két hormon együtt biztosítja a vércukorszint megfelelő szabályozását. Az inzulint először 1922-ben izolálták kutya pancreasból. Az aminosavszekvencia meghatározását 1955-ben Sanger végezte el.

Nélkülözhetetlen a cukorbetegség számára. Diabétész: cukor anyagcsere zavar, megemelkedik a vércukorszint. Inzulín: kettős peptidlánc, per os nem adható, mert lebomlana → injekció, vagy inhalálás

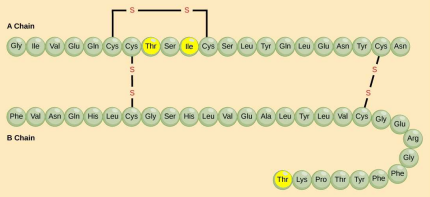
5

## Inzulín szerkezete


**Amino acid comparison of insulin between selected species**

Species	Peptide chain and amino acid number			
	A8	A10	A18	B30
Feline	Ala	Val	His	Ala
Bovine	Ala	Val	Asn	Ala
Porcine/Canine	Thr	Ile	Asn	Ala
Human	Thr	Ile	Asn	Thr

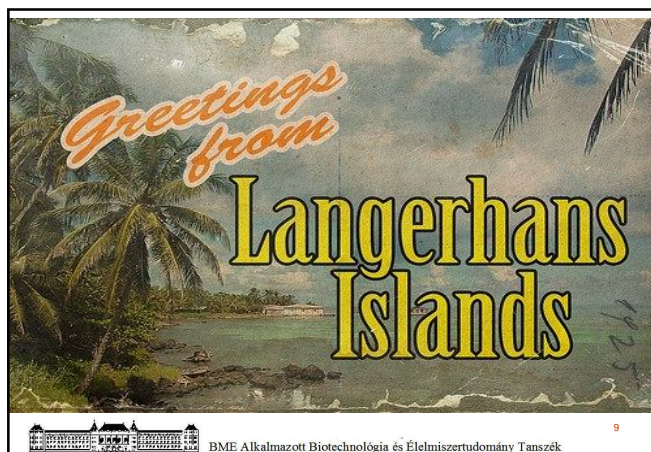
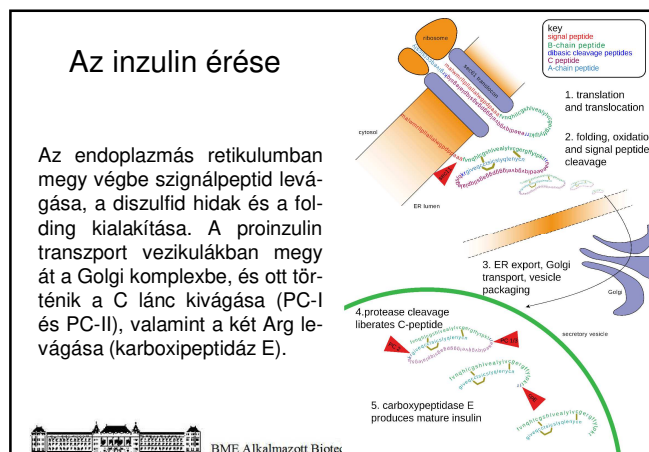
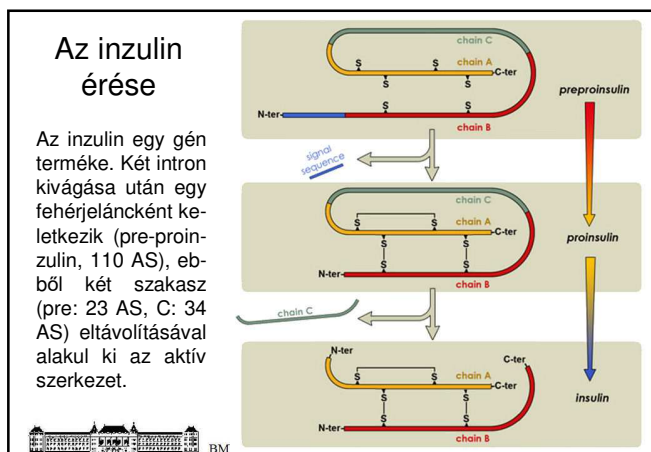
Két aminosavláncból áll (21 + 30 aminosav), amelyeket két diszulfid híd köt össze és egy stabilizál. A humán és az állati inzulínok között csak néhány aminosav a különbség:



zertudomány Tanszék

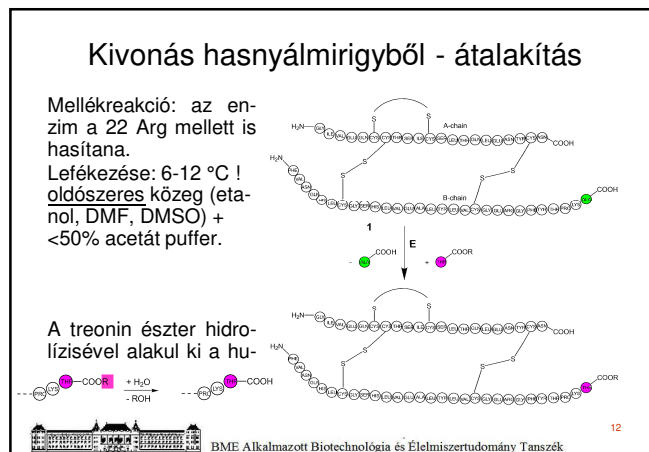


6



- ### Az inzulín előállítás
- Kémiai szintézis aminosavakból
  - Kivonás sertés hasnyálmirigyből és átalakítás humán inzulinná
  - Fermentáció génmanipulált mikroorganizmusokkal
    - Az A és B lánc termelése külön-külön *E. coli*-val, majd összekapcsolás
    - pro-inzulín fermentációja *E. coli*-val, majd átalakítása
    - Pre-pro-inzulín fermentációja *E. coli*-val, hasítások
    - Pro-inzulín fermentáció *S. cerevisiae*-vel, átalakítás
- BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

- ### Kivonás hasnyálmirigyből - átalakítás
- A klasszikus eljárás. Vágóhidakon összegyűjtött hasnyálmirigyből extrahálják az sertés inzulint.
- Nincs elég belőle
  - Az egy aminosav különbség immun-problémákat okozhat
- Ezért inkább átalakítják, lecserélik a láncvégi alanint. A tripszin szintén a hasnyálmirigyből nyerhető peptidáz, ami a bázikus aminosavak (Arg, Lys) melletti peptidkötést bontja → lecsipi a láncvégi alanint. Egyensúlyi folyamat, visszafelé is megy, a lizinre ráköthet egy aminosavat. Ha nagy főlöslében treonint adunk a rendszerbe, akkor az alanin fokozatosan lecserélődik treoninra. A mellékreakciók visszaszorítása érdekében Thr-észtert adnak.
- BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék



## Inzulin fermentációs előállítása

Prokariótákkal is megoldható, mert:

Viszonylag rövid láncok, nincs glikozilezés, metilezés, de:

Két lánc, három diszulfid híd – nehezebb jól összepárosítani

Megoldották a két lánc külön-külön bevitelét és fermentációját, majd összekapcsolását is – és az egészet egyben is.

Az *E. coli* törzsbe a pBR322 plazmiddal viszik be a géndarabot. A Trp-operonból származó szakaszt (121 aminosav) egy Met-nal választják el az inzulint kódoló szakasztól. Ennek az a szerepe, hogy brómián hatására (70%-os HCOOH-ban) a Met elbomlik, és a fehérje lánc elszakad.

Az –SH csoportokat szulfitolízissel ( $\text{Na}_2\text{SO}_3 + \text{Na}_2\text{S}_4\text{O}_6$ , pH>9)

–S–S–O<sub>3</sub> csoporttá alakítják → diszulfid hidak felbontása.

Összekapcsolás –SH vegyületekkel: (merkapto-etanol, ditiotreitól)

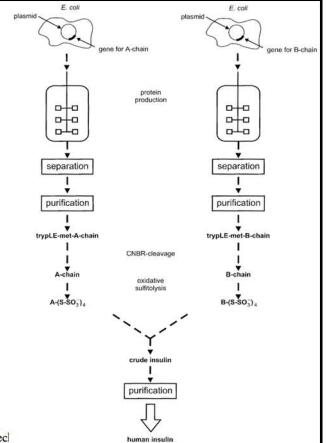


BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

13

## Kettős fermentáció

A két láncot két külön plazmida vitték be. Két *E. coli* törzs, két külön fermentáció, aztán összekapcsolás.



BME Alkalmazott Biotech

## Inzulin fermentációs előállítása

Az egész lánc előállítása génmanipuláció szempontjából nem nehezebb, mert a teljes inzulin gén (pre-pro-inzulin) befér egy *E. coli* plazmida. Nem-patogén coli törzs.

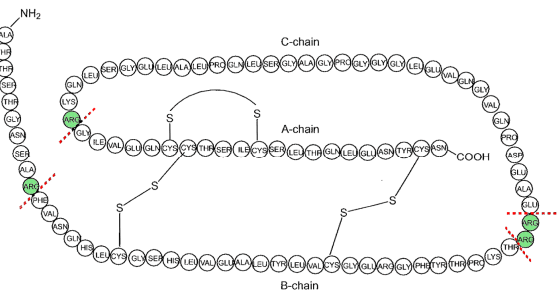
1. Szakaszos fermentáció (15 m<sup>3</sup>)
2. Sejteltárás (lízis), centrifugálás, szűrés
3. Refolding: a terciér szerkezet kialakítása megfelelő pufferben.
4. Hasítás három helyen Arg mellett (tripszin, sertés pancreasból)
5. A B és C lánc közötti két Arg lecsípése (karboxipeptidáz B, exopeptidáz, szintén sertés pancreasból)
6. Tisztítás →



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

15

## A pre-pro-inzulin enzimes hasításai



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

16

## Inzulin fermentációs előállítása

Az inzulin rekombináns előállítása *Saccharomyces cerevisiae*-vel egyszerűbb, mert:

1. Az ER-ben megtörténik a szignálpeptid levágása és a folding
2. A Golgiban pedig a hasítások (PC-I,II helyett a Kex2-proteázok)
3. → a kész inzulin molekulát kell kinyerni és tisztítani.

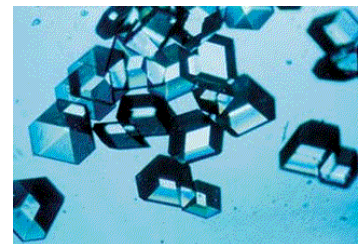


BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

17

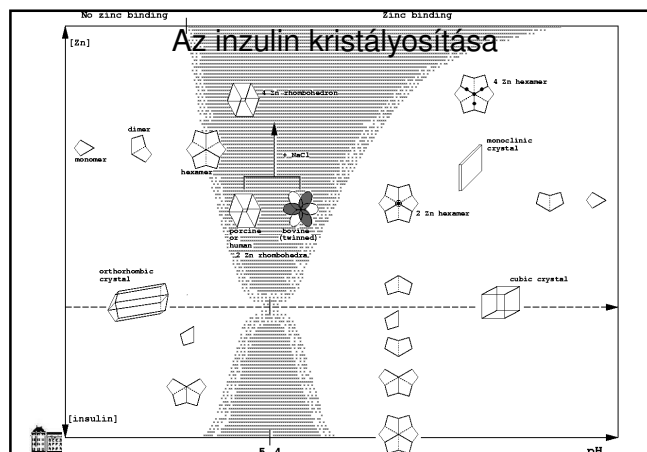
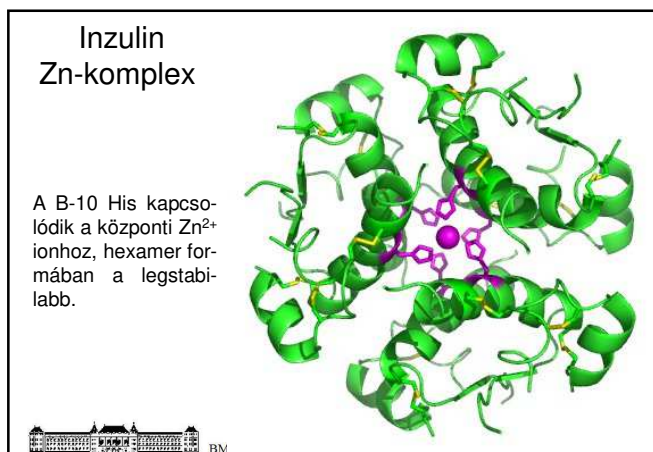
## Inzulin feldolgozás

1. Gélszűrés (hasítási termékek és egyéb, kis peptidek kiszűrése)
2. Ioncsere kromatográfia,
3. Lehet: amorf csapadék vagy kristályos: Zn ionnal. A kristályforma függ a Zn koncentrációtól és a pH-tól (ld. távoly). Így lassabban szívódik fel.  
→ +5 °C, IEP = 5,4  
(inzulin)<sub>6</sub>Zn<sub>(1-2-4)</sub>



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

18



### Inzulin analitika

A rec inzulin azonosítása (azonos-e mindenben a humánnal):

Kémiai analízis: HPLC

- egészben
- enzimesen (V8 proteáz) ötfelé hasítva (fingerprinting)
- aminosav-analízis (teljes hidrolízis után)

Biológiai hatás: - vércukorszint csökkenés nyúlban (lassú, drága)

Immunanalízis: - reakció specifikus ellenanyagokkal

BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

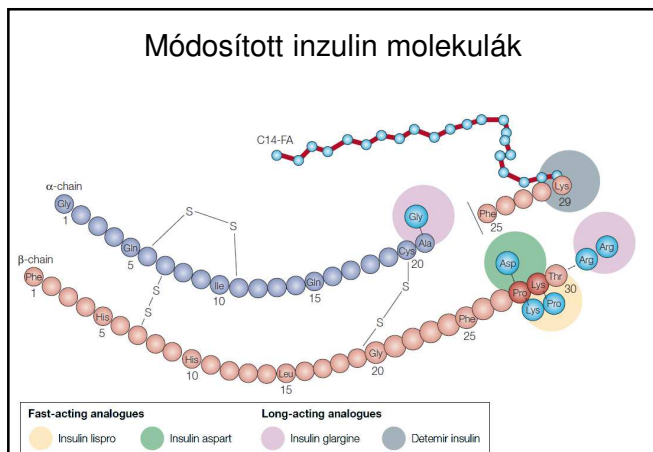
### Módosított inzulin molekulák

Gyors hatású inzulinok:

**Lispro** inzulin: a B28 Pro és 29 Lys sorrendjét megcserélték. Gyorsabban felszívódó anyag, ~15 perc alatt hat a szokásos 45-60 perc helyett. Eli Lilly, Humalog néven.

**Aspart** inzulin: a B28 helyen lévő Pro-t kicserélték Asp-ra. Emiatt nem alkot hexamert → jobban oldódik, gyorsabban felszívódik. *Saccharomyces cerevisiae*-vel termelik. NovoNordisk, NovoLog néven

BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék



### Módosított inzulin molekulák

Elnyújtott hatású inzulinok:

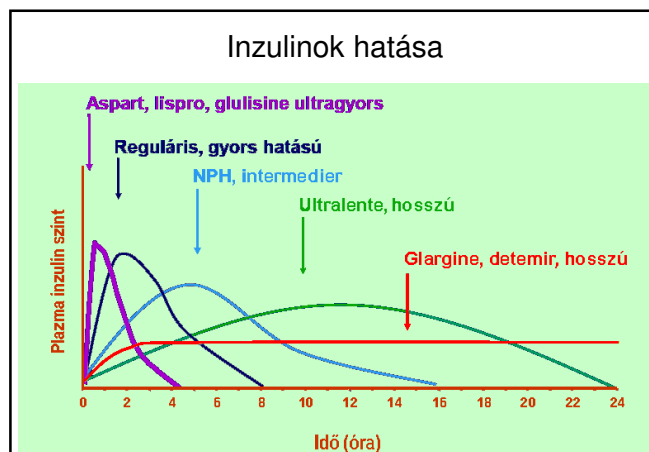
**Glargin** inzulin: (Gly + Arg) mindkét lánc C terminálisát átalakították: az A21 Asp helyére glicint kapcsolnak, a B lánc végére pedig két arginint. Ez megváltoztatja az izoelektromos pontot (5,4 → 6,7) emiatt a szöveti pH-n aggregálódik → lassabban szívódik fel (>24 óra). Sanofi-Aventis, Lantus néven.

**Detemir** inzulin: a B30 Thr-t elhagyták, és a B29 Lys aminos csoportját C14 zsírsavval (mirisztílsav) acilezték. A gyártásnál rövidebb láncot termelnek (Insulin B1-29-Ala-Ala-Lys-Insulin A1-21), ezt enzimesen bontják, majd acilezik. NovoNordisk, Levemir néven

BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

### Módosított inzulin molekulák

Amino Acid Substitutions						
	A- chain Position	B- chain Position				
Source/ Type	A21	B3	B28	B29	B30	B31 And B32
Human	Asn	Asn	Pro	Lys	Thr	
Aspart	Asn		Aspartic acid	Lys	Thr	
Lispro	Asn		Lys	Pro	Thr	
Glulisine	Asn	Lys	Pro	Glu	Thr	
Glargine	Gly		Pro	Lys	Thr	Arg
Detemir				Lys	Myristic acid	



### Eritropoietin, EPO

Hormon, glikoprotein, a citokinek közé tartozik.  
Emberi szervezetben: 85-90%-a a vesében képződik, 10-15%-a a májban.

A hormon funkciója: stimulálja a vörösvértestek (erythrociták) képződését a csontvelőben.  
Képződését a vér alacsony oxigénkoncentrációja (hipoxia) indukálja (érzékelő: a vese kéregállományában)

A hormon normális koncentrációja a szérumban 10-20 mU/ml.  
Erős hipoxia esetén ez 5-10 000-re is emelkedhet.

27

### Az EPO gyógyászati felhasználása

- vesekéreg-károsodás
- anaemia tumor illetve kemoterápia következtében (csontvelő)
- anaemia (veseelégtelenség, művese kezelés következtében)  
A dialízissel 10-20 év után anaemia alakul ki, ekkor transzfúzió szükséges. Panaszok: gyengeség, hideg intolerancia, alvászavar, agyelégtelenség, stb. Az EPO javítja a beteg életminőségét.
- akut vérzések
- akut véresejt-pusztulás (HIV betegek, fertőzések, malária)

Doppingszerként is használják az állóképességi sportokban (hosszútávfutás, sífutás, kerékpározás, néha labdarúgók is)

28

### Az EPO szerkezete

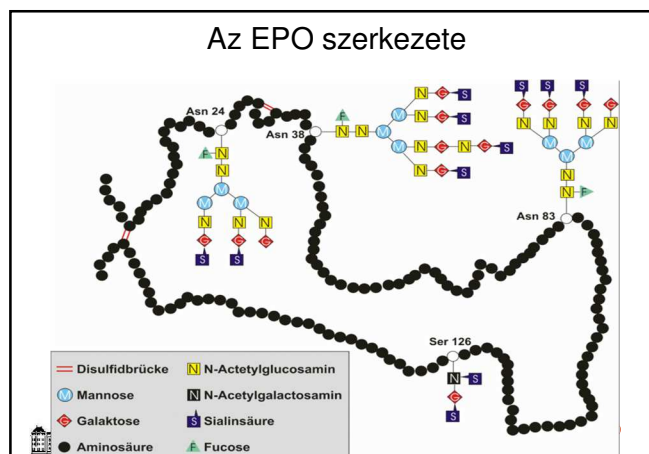
Glikoprotein: 34 kDa, 165 aminosav, 55 szénhidrát egység  
A szénhidrát rész a molekulatömeg közel 40 %-át teszi ki.

- 1 O-glikozid rész (Ser 126).
- 3 N-glikozid rész (Asn 24, 38, 83).

A cukorrész variábilis, a szialsavak mennyiségével arányos a biológiai aktivitás és a felezési idő.  
A cukorrész felelős a molekula stabilitásáért is: hőmérséklet, pH, „carbohydrate engineering”

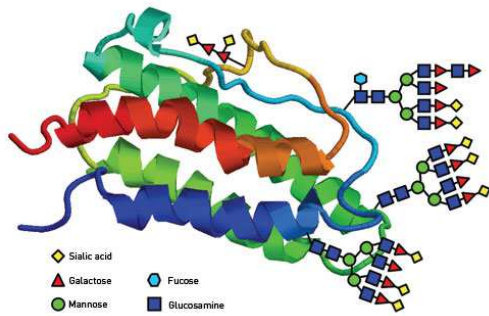
Bioszintézise: mRNS: 5 exon, 4 intron, eredetileg 193 aminosav  
Posztranszlációs módosulások: az N-terminálisról 28 AS (szignálpeptid), a C-terminálisról Asp hasad le.

29



### Az EPO harmadlagos szerkezete

... 4 antiparalel lefutású α-hélixből áll:



31

### Az EPO előállítás

Ki lehetne vonni vérből és vizeletből, de nagyon kicsi a koncentráció és korlátozott az alapanyag. Ezért:

rekombináns fehérjeként célszerű termeltetni.

De ez nem megy prokariótákkal, mert:

- nem működik az intronok kivágása (ez még megoldható a kész mRNS reverz transzkripciójával)
- nem képesek a glikozilálásra

Ezért állati sejtekben, sejtenyésztésben kell megoldani.



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

32

### Állati sejtenyésztés

Egészen más, mint a mikroorganizmusok tenyésztése. A szövetekből elkülönített, diszpergált sejtek szaporítása in vitro. A gerincesek legtöbb sejtje csak korlátozott számban osztódik az izolálást követően, a tenyészet elöregszik (szeneszencia). Csak a tumorsejtek osztódnak korlátlanul (immortality). Szinte minden szövet szaporítható, az izom és ideg kevésbé. A sejtvonalak nagy része csak felülethez kötve növekszik (monolayer, kontakt gátlás) → speciális tenyésztő edények. Van néhány, ami szuszpenzióban is szaporodik (CHO, BHK, VeRo, HeLa), mint a mikrobák → fermentorszerű készülékek.



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

33

### Az állati sejtenyésztés tápoldatai

Tápoldatok: reprodukálni kell a természetes környezetet: vér, sejtközi folyadék (sokkomponensű, drága)  
Szénforrás: glükóz (mint a vércukor), + glutaminsav  
15 - 20 féle aminosav, vitaminok, koenzimek, lipidek, ionok (pontos összetétel, ozmózis nyomás)

SZÉRUM: a sejtvonalak nagy része igényli a vérfehérjék jelenlétét is → ezt újszülött állatok (borjú) vérszérumával biztosítják (5-15%). Ez szörnyű drága (és nehezen reprodukálható), ezért töreksenek a minimalizálására, helyettesítésére vagy teljes elhagyására.



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

34

### Módosított Eagle médium (MEM)

Dulbecco's Modified Eagle's Medium				
Component	D5546 [1x] g/L	D5648 g/L	D5546 [1x] g/L	D5648 g/L
<b>INORGANIC SALTS</b>				
Calcium Chloride	0.2	0.2	L-Tyrosine • 2Na • 2H <sub>2</sub> O	0.10379
Ferrous Nitrate • 9H <sub>2</sub> O	0.0001	0.0001	L-Valine	0.094
Magnesium Sulfate (anhydrous)	0.09767	0.09767	<b>VITAMINS</b>	
Potassium Chloride	0.4	0.4	Choline Chloride	0.004
Sodium Bicarbonate	3.7	—	Folic Acid	0.004
Sodium Chloride	6.4	6.4	myo-Inositol	0.0072
Sodium Phosphate Monobasic (anhydrous)	0.109	0.109	Niacinamide	0.004
<b>AMINO ACIDS</b>				
L-Arginine • HCl	0.084	0.084	D-Pantothenic Acid (hemicalcium)	0.004
L-Cystine • 2HCl	0.0626	0.0626	Pyridoxal • HCl	—
L-Glutamine	—	0.584	Pyridoxine • HCl	0.004
Glycine	0.03	0.03	Riboflavin	0.0004
L-Histidine • HCl • H <sub>2</sub> O	0.042	0.042	Thiamine • HCl	0.004
L-Isoleucine	0.105	0.105	<b>OTHER</b>	
L-Leucine	0.105	0.105	D-Glucose	1.0
L-Lysine • HCl	0.146	0.146	HEPES	—
L-Methionine	0.03	0.03	Phenol Red • Na	0.0159
L-Phenylalanine	0.066	0.066	Pyruvic Acid • Na	0.11
L-Serine	0.042	0.042	<b>ADD</b>	
L-Threonine	0.095	0.095	Glucose	—
L-Tryptophan	0.016	0.016	L-Glutamine	0.584
			Sodium Bicarbonate	—
				3.7

### A szérum aktív komponensei

Important Components of Serum and Their Probable Role in Cell Culture

Component	Probable function
<b>Proteins</b>	
Albumin	Osmoticum and buffer
Fetuin	Lipid, hormone, mineral carrier
Fibronectin	Cell attachment
α <sub>2</sub> -Macroglobulin	Trypsin inhibitor
Transferrin	Binds iron
<b>Polypeptides</b>	
Endothelial growth factor (ECGF)	Mitogen*
Epidermal growth factor (EGF)	Mitogen
Fibroblast growth factor (FGF)	Mitogen
Insulin-like growth factors (IGF1 and IGF2)	Mitogen
Platelet-derived growth factor (PDGF)	Mitogen and major growth factor
<b>Hormones</b>	
Hydrocortisone	Promotes attachment and proliferation
Insulin	Promotes uptake of glucose and amino acids
Growth hormones	Mitogen—present in fetal sera
<b>Metabolites and nutrients</b>	
Amino acids	Cell proliferation
Glucose	Cell proliferation
Keto-acids (e.g., pyruvate)	Cell proliferation
Lipids (e.g., cholesterol)	Membrane synthesis
<b>Minerals</b>	
Iron, copper, zinc, and selenium	Enzymes and other constituents
<b>Inhibitors</b>	
γ-globulin	
Bacterial toxins from prior contaminants	
Chalones (tissue-specific inhibitors)	



BME

## Az állati sejtenyésztés tápoldatai

Törekednek a szérumentes, kémiai komponensekből össze-mért tápoldatok használatára, mert ezek olcsóbbak, állandó az összetételük, és reprodukálhatóbbak az eredmények, kisebb a fertőzés kockázata, könnyebb a fehérje termékek izolálása.

Pl. próbálkoznak a szérum részbeni vagy teljes pótlására hidrofíl polimerekkel pl. dextránnal.

A sejtek érzékenyek a szerves ionok pontos koncentrációjára, pl az üveg edényekből kioldódó anyagokra, ezért vagy műanyag edényeket, vagy víztöltéssel többször autoklávozott üveget használnak tenyésztésükhöz.

A víznek is különlegesen tisztának kell lennie (ionmentes, szerves anyag-mentes, endotoxin-mentes, pirogén-mentes) és ezt is műanyag edényben tárolják.



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

37

## Az állati sejtenyésztés körülményei

A sejtek nagyon érzékenyek pl. a nyírásra:

- nagyon kíméletes keverés,
- sok sejtvonal érzékeny a buborékokra

Az oxigénigény nagyon kicsi, rendszerint elég a fejtérfogatot át-öblíteni levegővel. Sok sejtvonal kedveli a CO<sub>2</sub> jelenlétét (2-5%)

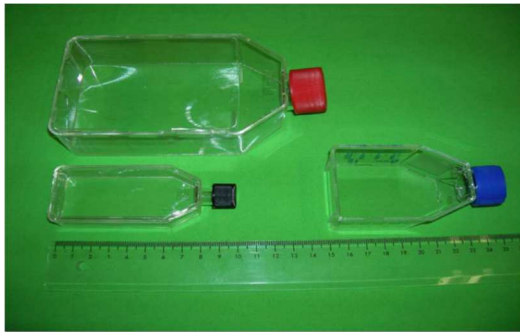
Hőmérséklet: emlős sejteknél 37°C, madársejteknél 41°C



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

38

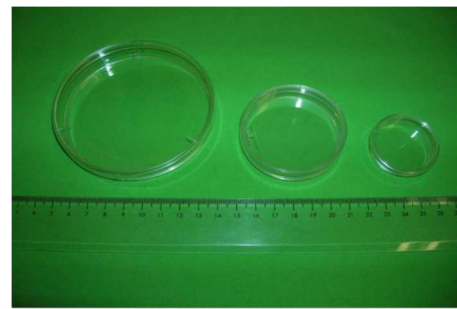
## Laboratóriumi tenyésztő edények (felületi)



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

39

## Laboratóriumi tenyésztő edények (felületi)



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

40

## Laboratóriumi tenyésztő edények (felületi)

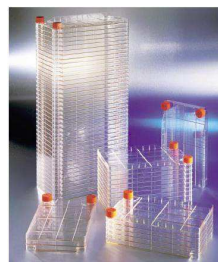


BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

41

## Felület növelése

Multitray



roller bottles



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

42

## Forgó palackok/roller bottles

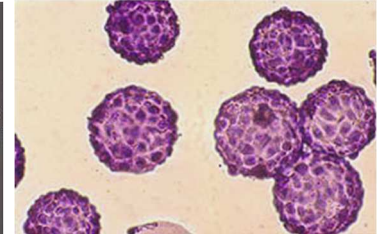


43

## Mikrokarrires tenyésztés

Inokulálási/tapadási fázis

kialakult monolayer



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

44

## „Spinner flask”

Mágneses keverő, lassú fordulat  
Mikrokarrires és szuszpenziós tenyésztés



45



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

## Kevert reaktorok

Általánosan szuszpenziós tenyésztéshez, de mikrokarrierrel felületi tenyészetekhez is használható.

Max. 10.000 liter (pl: interferon, tPA)

Energiabevitel kisebb, kevesebb O<sub>2</sub> kell, így kevésbé károsodik a sejt, néha elegendő a felületi levegőztetés, a cél csak a homogenizálás és szuszpenzióban tartani a sejteket/mikrokarriereket  
Diffúziós levegőztetés: szilikon csövek falán át, nincs károsodás  
Keverő: propeller, hajócsavar, lekerekített formák, 25-250rpm

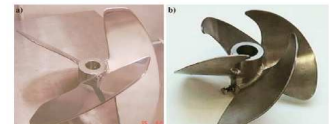


Fig. 11 (a) An ABC 'olephant ear' impeller (used down-pumping); (b) Hayward Tyler up-pumping B2 hydrofoil



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

46

## Sterilitás

A baktériumok gyors szaporodási képességük miatt igen hamar túlnővnek a tenyészetet (a savasodást az indikátor kimutatja). Gyakran tesznek a tápoldatba antibiotikumot (prokarióták ellen).

A vírusok elpusztítják a sejteket (forrása: a szövet izolátum vagy a savó). (HEPA szűrők)

47



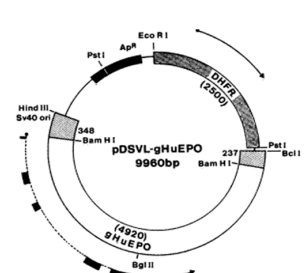
BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

## Az EPO génbevitel vektora

Az alap egy *E. coli* plazmid, ami tartalmazza a humán EPO gént. Ahhoz, hogy ez emlős sejtekben szaporodni tudjon, kell egy replikációs origó (SV40, majom-vírusból).

A szelekcióhoz DHFR = dihidrofolát-reduktáz markergén (metotrexát rezisztencia)

Ez Ca-foszfáttal bevihető a CHO (= chinese hamster ovary) sejtbe

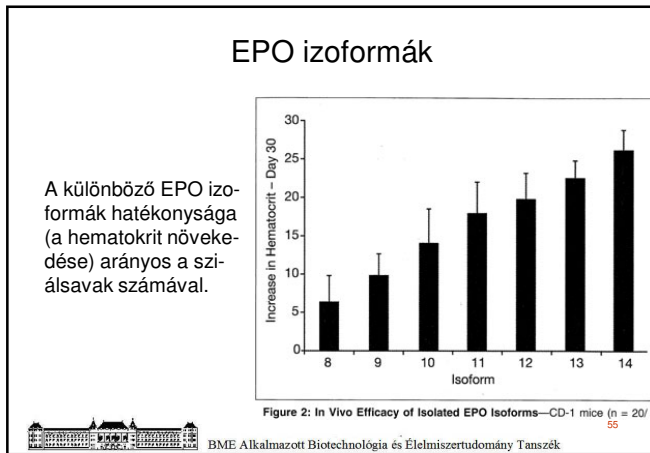


BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

48





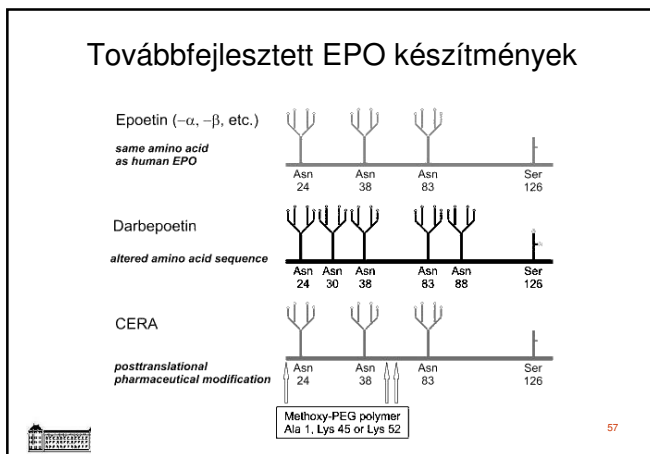


### Továbbfejlesztett EPO készítmények

**Darbepoetin alfa/Aranesp** (Amgen): módosított EPO, amelyben öt aminosavat cseréltek ki: Asn-30, Thr-37, Val-87, Asn-88 és Thr-90, ezzel újabb két N-glikozilációs helyet alakítottak ki, → +két cukorláncot tartalmaz, ettől a szialsav-tartalma nagyobb → 3-szorosára nőtt a molekula felezési ideje.

**CERA** (Continuous erythropoietin receptor activator): az EPO-ra PEG láncot kötöttek → a felezési idő a húszszorosára nőtt (Roche)

BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék



### Továbbfejlesztett EPO készítmények

	Epoetin alpha	Epoetin beta	epoetin omega	Epoetin delta (Discont.)	Epoetin theta (stand-alone product)	Epoetin zeta	Darbepoetin	Methoxy-PEG-Epoetin beta
<b>Clinical use (Brand names)</b>	Epogen (Amgen), Procrit (Janssen-US), Eprex (Janssen-non-US), Erypo, ESPO (Kirin)	Recormon (Roche-US), Neo-Recormon (Roche-non-US), Epogin (Chugai-non-US)	Repotin (Bioclones), EPOMAX (Baxter)	Dynepo (Shire)-unfavorable market conditions	Biopoin (CT Arzneimittel), Eporatio and Ratiopoe (Ratiopharm)	Silapo (Stada)	Aranesp (Amgen)	Mircera (Roche)
<b>Cell substrate of origin</b>	Chinese hamster ovary Cell	Chinese hamster ovary Cell	baby hamster kidney cells	Human cell line	Chinese hamster ovary Cell	Chinese hamster ovary Cell	Chinese hamster ovary Cell	Chinese hamster ovary Cell
<b>Terminal half life</b>	6-9 hr	6-9 hr	6-9 hr	6-9 hr	6-9 hr	6-9 hr	25hr	130-140 hr
<b>Mass (Dalton)</b>	30.4	30.4	<30	<30	30.6	~30.4	37.10	60.4