

# ProCube® ユーザ事例

2016年3月

## Pro<sup>3</sup> DPP-4 と 2 型糖尿病治療薬アナグリプチンの複合体結晶構造解析

株式会社三和化学研究所 三重研究パーク 製剤研究所 原薬グループ長 岡みつる 株式会社創晶 代表取締役社長 安達宏昭 結晶化チームリーダー 岡田詩乃  
 医薬開発センター臨床開発部データサイエンスグループ 渡辺幸久 結晶化チーム 研究員 元山朋子

**【お客様からのコメント】** ジペプチジルペプチターゼ-4 (DPP-4) を阻害し、糖尿病による症状を抑える治療薬「アナグリプチン」(製品名: スイニー®錠100 mg) の結合様式を知るため、複合体結晶を作製してX線構造解析により解明したいと考えました。そこでProCube®サービスを利用してHuman DPP-4を発現・精製したところ、結晶化に必要なサンプルを大量、かつ高品質に生産できました。

ProCube®のカイコ発現系を利用して、結晶化グレードのDPP-4を合計10 mg(濃度10 mg/ml)、取得することに成功しました。SDS-PAGE上の純度は99%以上で(図1)、動的光散乱測定では単分散性を示し、結晶化実験で使用するタンパク質サンプルとしては、十分な品質であると判断しました。

結晶化実験では、まずDPP-4とアナグリプチン(リガンド)の共結晶化溶液を作製し、シッティングドロップ蒸気拡散法にて結晶化スクリーニングを実施しました。その際、溶液中にフェムト秒レーザー照射を集光照射して、強制的な核発生を試みました。その結果、いくつかの結晶化条件が見つかりました。その後、レーザー照射や溶液攪拌技術などを用いて最適化検討を行ったところ、良質な結晶を得ることができました(図2)。

この結晶を凍結させ、100Kの低温環境下でX線を照射したところ、良好な回折像が得られました。構造解析用のフルデータを収集したところ、2.85Å分解能での構造解析につながり、DPP-4とアナグリプチンの複合体構造を明らかにすることができました(図3)。

参考文献 Y. S. Watanabe *et al.*, J Enzyme Inhib Med Chem. 2015; 30(6): 981-988

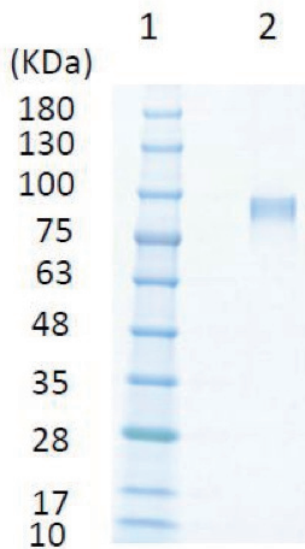


図1 精製したDPP-4サンプルのSDS-PAGE結果 (Lane2がDPP-4; 500 ng)

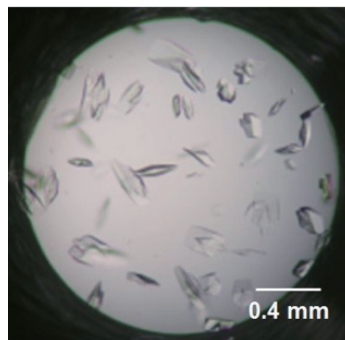


図2 DPP-4とアナグリプチンの共結晶



図3 DPP-4とアナグリプチンの複合体結晶構造解析結果

本事例で掲載している図表は安達様よりご提供いただいております。

**ProCube®**

Harness the Power of Nature

ProCube® についての詳細は

カイコバキュロウイルス発現系を用いたリコンビナントタンパク質発現受託

[procube.sysmex.co.jp](http://procube.sysmex.co.jp)

メールでのお問い合わせは... [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 神戸市中央区脇浜海岸通 1-5-1 〒651-0073

研究開発センター 神戸市西区室谷 1-1-2 〒651-2241 Tel 078-991-2212 Fax 078-992-1082

東京支社 東京都品川区大崎 1-2-2 〒141-0032 Tel 03-5434-8556 Fax 03-5434-8557

[www.sysmex.co.jp](http://www.sysmex.co.jp)