

ProCube® アプリケーションノート No.16

NanoDisc の構成および機能評価例 (Cytochrome P450)

NanoDiscは、不溶性の膜タンパク質をMembrane Scaffold Proteins (MSP) のベルトによって抱合し、リン脂質二重膜構造を形成させることによって可溶化する技術です (図1)。今回、薬物代謝酵素Cytochrome P450の一つであるヒトCYP3A4をNanoDisc化し、その機能を評価しました。CYPが代謝活性を示すためには還元酵素 (CPR) が必要なため、CYP3A4とCPRの複合体を挿入したNanoDiscを構成しました (図2,図3)。得られたNanoDiscは、基質濃度に依存した代謝活性 (Testosterone 6β-hydroxylation) を示すことが確認されています (図4)。このように、NanoDisc化サービスは、膜タンパク質の活性を保持した状態で可溶化することが可能です。

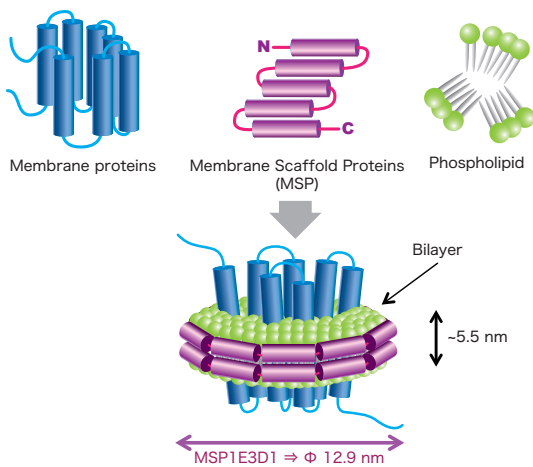


図1 NanoDiscによる膜タンパク質の再構成

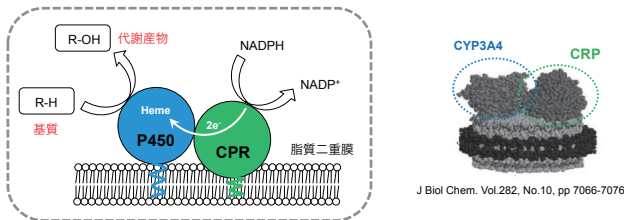


図2 P450の反応機構 (左) および (CYP3A4+CPR)-NanoDiscの模式図 (右)

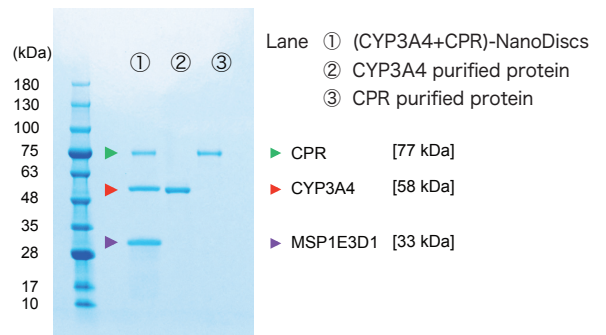


図3 SDS-PAGEによる (CYP3A4+CPR)-NanoDiscの構成確認

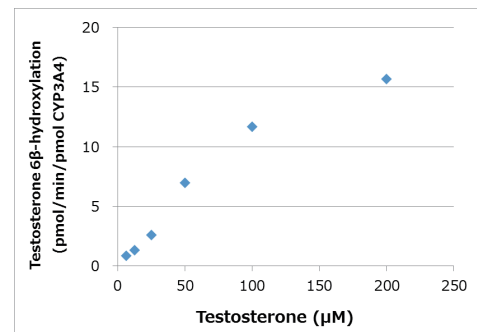


図4 (CYP3A4+CPR)-NanoDiscの代謝活性

薬物代謝酵素 (CYP3A4) と還元酵素 (CPR) をNanoDiscに挿入し、複合体として再構成した。得られた (CYP3A4+CPR)-NanoDiscは、基質濃度に依存した代謝活性を示した。

ProCube® カイコー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生産サービス

Harness the Power of Nature



ProCube® についての詳細は procube.sysmex.co.jp

メールでのお問合せは ... 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
 ソリューションセンター 神戸市西区室谷 1-3-2 〒651-2241 Tel 078-991-2091 Fax 078-997-9976
 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