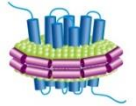


# ProCube®

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生産サービス



## NEW!! NanoDisc化サービス ProCube®OND



シスメックス株式会社では、**NanoDisc化サービス ProCube®OND** をリリースしました。

膜タンパク質を用いた創薬研究向けサービスとして、可溶化検討サービスProCube®Oss、可溶化サービスProCube®OSに続き、NanoDisc化サービスProCube®ONDをスタートしました。精製した膜タンパク質をNanoDiscに挿入すると、天然に近い存在状態となり、界面活性剤無しで可溶性タンパク質として取扱うことができるため、機能評価などに使用いただけます。

そのタンパク質、あきらめていませんか？ ぜひNanoDisc化サービス ProCube®ONDをご利用ください。

### ProCube®OND – NanoDisc化サービス

#### 【サービス概要】

ProCube®ONDは界面活性剤で可溶化した膜タンパク質をMSP (Membrane Scaffold Protein) で固定されたリン脂質二重膜に再構成し、目的タンパク質をNanoDisc化させるサービスです。

ProCube®サービスを利用して作製したタンパク質はもちろんのこと、お客様がご用意されたタンパク質をNanoDiscに挿入することも可能です。

Step	作業工程
1	NanoDisc化
2	ゲルろ過、精製、濃縮
3	SDS-PAGE

可溶化条件決定には、ProCube®OSsをぜひご利用ください。

#### 【納品物】

NanoDisc化タンパク質を含む溶液\*、報告書

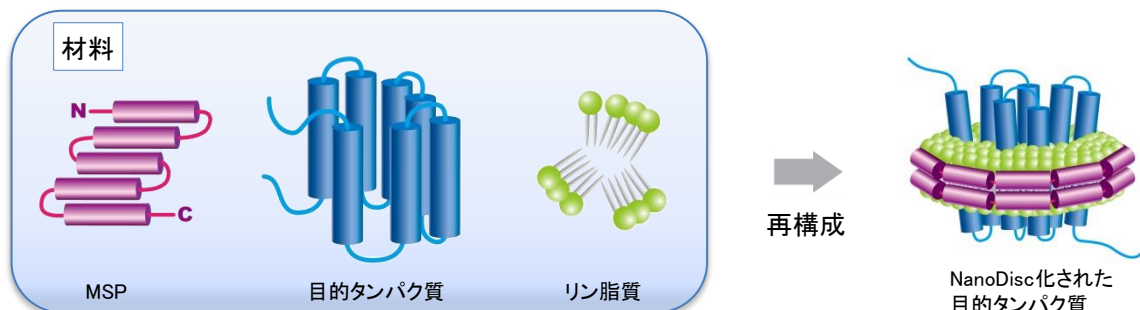
#### 【納期】

2週間～

\*ProCube®ONDは作業代行サービスです。

目的タンパク質の種類によってはNanoDiscに挿入されない場合がありますので、ご了承ください。

#### 【イメージ図】



# アプリケーション例 – NanoDisc作製例

## 【プロトコル】

タンパク質Aを発現させた蛹を磨碎



膜画分の調製 ProCube®OM



可溶化条件の検討 ProCube®OSs



膜タンパク質の可溶化 ProCube®OS  
精製



NanoDisc化 ProCube®OND

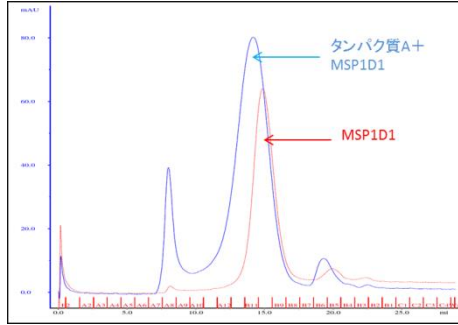


図1. ゲルろ過によるNanoDisc化タンパク質AとNanoDiscのみの溶出比較

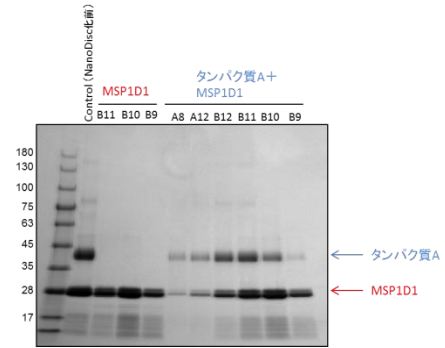


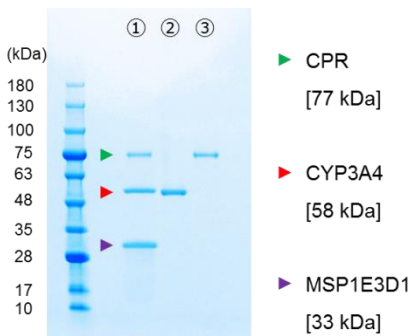
図2. 各溶出画分のSDS-PAGE

ゲルろ過では図1.の通り、NanoDisc化タンパク質A (タンパク質A+MSP1D1)とNanoDiscのみ(MSP1D1)では溶出時間の差が見られた。各溶出画分をSDS-PAGEに供したところ、NanoDisc化タンパク質Aを含むサンプルではタンパク質AとMSP1D1が同一の画分に確認された(図2.)。これらより、想定通りにNanoDisc化タンパク質A が形成されたことを示唆する結果が得られた。

# アプリケーション例 – NanoDisc化タンパク質機能評価例

薬物代謝の8割以上に関与するといわれているのが代謝酵素Cytochrome P450(P450)である。P450は小胞体やミトコンドリアに局在する膜タンパク質であり、ヒトでは57種類のP450遺伝子が同定されている。なかでもCYP3A4は最も多くの薬物代謝に関与するとされている。P450が薬物代謝活性を発揮するにはP450還元酵素(Cytochrome P450 reductase, CPR)と複合体を形成することが必要である。そこで、カイコで発現させたCYP3A4とCPRをそれぞれ精製してCYP3A4の活性評価を行った。

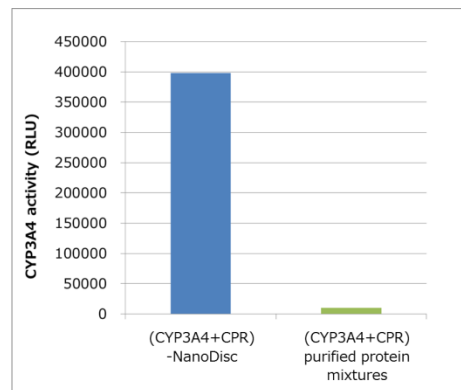
その結果、CYP3A4とCPRの混合溶液では活性がみられなかったが、NanoDisc化されたCYP3A4複合体では活性が確認された(図3.および図4.)。これらの結果から、NanoDisc化することで活性を有するCYP3A4複合体が形成されたことが示唆された。



SDS-PAGE

- ① (CYP3A4+CPR)-NanoDisc
- ② CYP3A4 purified protein, 0.6μg/Lane
- ③ CPR purified protein, 0.4μg/Lane

図3. NanoDisc化されたCYP3A4複合体のSDS-PAGE



Comparison of CYP3A4 activity in NanoDisc (①) and purified protein mixtures (②+③).

CYP assays were performed with P450-Glo™ CYP3A4 Screening System (Promega).

図4. CYP3A4複合体の活性評価

