

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 特 許 公 報 (B2)

(11) 特許番号

特許第6535960号
(P6535960)

(45) 発行日 令和1年7月3日 (2019.7.3)

(24) 登録日 令和1年6月14日 (2019.6.14)

(51) Int. Cl.

F 1

C 1 2 N 15/57 (2006.01)

C 1 2 N 15/57 Z N A

C 1 2 N 9/52 (2006.01)

C 1 2 N 9/52

C 1 2 N 15/63 (2006.01)

C 1 2 N 15/63 Z

C 1 2 N 1/21 (2006.01)

C 1 2 N 1/21

請求項の数 10 (全 10 頁)

(21) 出願番号 特願2017-39917 (P2017-39917)
 (22) 出願日 平成29年3月2日 (2017.3.2)
 (65) 公開番号 特開2018-143142 (P2018-143142A)
 (43) 公開日 平成30年9月20日 (2018.9.20)
 審査請求日 平成30年10月31日 (2018.10.31)

早期審査対象出願

(73) 特許権者 501174550
 国立研究開発法人国際農林水産業研究センター
 茨城県つくば市大わし1-1
 (73) 特許権者 591108178
 秋田県
 秋田県秋田市山王4丁目1番1号
 (74) 代理人 100082876
 弁理士 平山 一幸
 (74) 代理人 100086807
 弁理士 柿本 恭成
 (72) 発明者 荏澤 悟
 茨城県つくば市大わし1番地1 国立研究
 開発法人国際農林水産業研究センター内

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 アンジオテンシン変換酵素2 活性を有するポリペプチド、前記ポリペプチドをコードする遺伝子、前記遺伝子を含有する発現プラスミド、前記発現プラスミドで形質転換された形質転換体及び

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

配列番号 1 記載のアミノ酸配列を含むアンジオテンシン変換酵素 2 活性を有するポリペプチド。

【請求項 2】

配列番号 6、8 及び 10 から 17 記載のアミノ酸配列を有するポリペプチドのうち、すくなくとも 1 種類のポリペプチドの C 末端アミノ酸残基を 1 残基切断する活性を有することを特徴とする、請求項 1 記載のアンジオテンシン変換酵素 2 活性を有するポリペプチド。

【請求項 3】

請求項 1 記載のアンジオテンシン変換酵素 2 活性を有するポリペプチドをコードする遺伝子。

【請求項 4】

配列番号 2 記載のアンジオテンシン変換酵素 2 活性を有するポリペプチドをコードする遺伝子。

【請求項 5】

請求項 3 に記載の遺伝子を含有する発現プラスミド。

【請求項 6】

請求項 5 記載の発現プラスミドにより形質転換された形質転換体。

【請求項 7】

10

20

前記形質転換体が原核微生物由来である、請求項 6 記載の形質転換体。

【請求項 8】

請求項 6 記載の形質転換体を培地で培養し、培養物からアンジオテンシン変換酵素 2 活性を有するポリペプチドを採取することを特徴とする、アンジオテンシン変換酵素 2 活性を有するポリペプチドの製造法。

【請求項 9】

配列番号 1 記載のアミノ酸配列を含むポリペプチドを有効成分とする、アンジオテンシン変換酵素 2 活性を有する酵素剤。

【請求項 10】

配列番号 6、8 及び 10 から 17 記載のアミノ酸配列を有するポリペプチドのうち、少なくとも 1 種類のポリペプチドの C 末端アミノ酸残基を 1 残基切断する活性を有することを特徴とする、請求項 9 記載のアンジオテンシン変換酵素 2 活性を有する酵素剤。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、微生物由来のヒトアンジオテンシン変換酵素 2 活性を有するポリペプチド、前記ポリペプチドをコードする遺伝子、前記遺伝子を含有する発現プラスミド、前記発現プラスミドで形質転換された形質転換体及び原核微生物による前記ヒトアンジオテンシン変換酵素 2 活性を有するポリペプチドの大量生産に関する。

【背景技術】

【0002】

アンジオテンシン変換酵素 2 は、ヒトを含む哺乳類の血圧調整機構であるレニン - アンジオテンシン系において重要な酵素の一つである。図 3 にレニン - アンジオテンシン系の血圧調整機構を示す。

【0003】

レニンは、主に腎臓の傍系球体細胞で生合成され、様々な刺激で血中に放出され、肝臓で合成された基質タンパクであるアンジオテンシノーゲンに作用してアンジオテンシン I を遊離する。

アンジオテンシン I は、主に肺循環中において、アンジオテンシン変換酵素やキマーゼによりアンジオテンシン II に変換される。生じたアンジオテンシン II は、AT1 受容体に作用し、血管収縮、細胞増殖、肥大などを引き起こす。また、アンジオテンシン II は、AT2 受容体にも作用し、血管拡張、増殖抑制などを引き起こす。

一方、アンジオテンシン変換酵素 2 は、アンジオテンシン I またはアンジオテンシン II に作用して、それぞれアンジオテンシン (1 - 9) またはアンジオテンシン (1 - 7) を遊離する。また、アンジオテンシン (1 - 9) は ACE の働きでアンジオテンシン (1 - 7) に変換される。

なお、図 3 において、枠線内の二段表記の上段はホルモンの名称、下段はそのアミノ酸配列、二重枠線内は反応を触媒する酵素の名称を示す。ACE はアンジオテンシン変換酵素、ACE 2 はアンジオテンシン変換酵素 2 の略である。

アンジオテンシン (1 - 7) は Mas 受容体に作用し、血管拡張、増殖抑制等の作用を引き起こす。これらの作用は血圧降下を惹起するのみではなく、急性呼吸促迫症候群 (ARDS) 発症時における炎症を抑制する効果ももたらす。例えば、呼吸不全 (非特許文献 1) や心不全のモデルマウス (非特許文献 2 及び非特許文献 3) にアンジオテンシン変換酵素 2 を投与すると症状が改善することが報告されている。

【0004】

アンジオテンシン変換酵素 2 は、多様な糖鎖を持つ糖タンパク質であり、疎水性細胞膜貫通領域を持つ膜タンパク質であることから、大量生産は難しく、遺伝子組換え技術を利用して大量に生産できるものが求められていた。遺伝子組換え技術を用いたアンジオテンシン変換酵素 2 に関する研究として、昆虫由来のアンジオテンシン変換酵素 2 が知られている (特許文献 1)。

10

20

30

40

50

【先行技術文献】

【特許文献】

【0005】

【特許文献1】特表2011-519264

【非特許文献】

【0006】

【非特許文献1】Imai et. al., Nature 436, 112-116, 2005

【非特許文献2】Zhong et al., Circulation 122, 717-728, 2010

【非特許文献3】Sato et al., J. Clin. Invest. 123, 5203-5211, 2013

【非特許文献4】Takahashi et al., Biomedical Research, Vol. 36, No. 3, p. 219-224, 2015 10

【非特許文献5】Vickers et al., J. Biol. Chem. 277, 14838-14843, 2002

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0007】

しかしながら、特許文献1に開示されたアンジオテンシン変換酵素2は、糖タンパク質であり、そのため、宿主として真核細胞微生物又は哺乳動物細胞を用いる必要がある。

【0008】

本発明の目的は、糖鎖のない可溶性アンジオテンシン変換酵素2活性を有する酵素を提供し、原核微生物による大量生産の可能な遺伝子、前記遺伝子を含有する発現プラスミド及び前記発現プラスミドにより形質転換された形質転換体を提供することにある。 20

【課題を解決するための手段】

【0009】

本発明は、配列番号1記載のアミノ酸配列を有するアンジオテンシン変換酵素2活性を有するポリペプチド又は、配列番号1記載のアミノ酸配列において1以上のアミノ酸残基の置換、欠失、挿入、付加及び/又は逆位を有するアミノ酸配列であって、アンジオテンシン変換酵素2活性を有するポリペプチドを提供する。

【0010】

本発明は、配列番号1記載のアミノ酸配列を有するアンジオテンシン変換酵素2活性を有するポリペプチド又は、配列番号1記載のアミノ酸配列において1以上のアミノ酸残基の置換、欠失、挿入、付加及び/又は逆位を有するアミノ酸配列であって、アンジオテンシン変換酵素2活性を有するポリペプチドをコードする遺伝子を提供する。 30

【0011】

本発明は、配列番号2記載のアンジオテンシン変換酵素2活性を有するポリペプチドをコードする遺伝子又は、配列番号2記載の塩基配列に相補的な塩基配列とストリンジェントな条件でハイブリダイズするアンジオテンシン変換酵素2活性を有するポリペプチドをコードする遺伝子を提供する。

【0012】

また本発明は、前記アンジオテンシン変換酵素2活性を有するポリペプチドをコードする遺伝子を含有する発現プラスミド及び前記発現プラスミドにより形質転換された形質転換体を提供する。 40

【0013】

さらに本発明は、前記形質転換体を培地に培養し、培養物からアンジオテンシン変換酵素2活性を有するポリペプチドを採取することを特徴とする、アンジオテンシン変換酵素2活性を有するポリペプチドの製造法を提供する。

【発明の効果】

【0014】

本発明によって、糖鎖のない可溶性アンジオテンシン変換酵素2活性を有するポリペプチドが提供され、又、原核微生物による前記ペプチドを大量に生産することが可能な遺伝子、前記遺伝子を含有する発現プラスミド及び前記発現プラスミドにより形質転換された 50

形質転換体が提供される。

【 0 0 1 5 】

本発明の糖鎖のない可溶性アンジオテンシン変換酵素 2 活性を有するポリペプチドは、血圧降下剤や急性呼吸促進症候群 (A R D S) 発症時における炎症抑制剤などの医薬として利用することが可能である。また、アンジオテンシン変換酵素 2 の阻害作用や亢進作用を判定する試薬としても利用することが可能である。

【 図面の簡単な説明 】

【 0 0 1 6 】

【 図 1 】 本発明により精製した組換え原核微生物由来アンジオテンシン変換酵素 2 の S D S - ポリアクリルアミド電気泳動を示す図である。

10

【 図 2 】 本発明に係る原核微生物由来アンジオテンシン変換酵素 2 によるアンジオテンシン I I の分解を表す図である。

【 図 3 】 レニン - アンジオテンシン系による血圧調節機構を説明する図である。

【 発明を実施するための形態 】

【 0 0 1 7 】

本発明の糖鎖のない可溶性アンジオテンシン変換酵素 2 活性を有するポリペプチド (以下、本ポリペプチドという) は、糖鎖修飾が起こらない原核微生物由来のタンパク質で、しかも可溶性タンパク質である。本ポリペプチドは、*Paenibacillus* sp. B38 株 (独立行政法人製品評価技術基盤機構特許微生物寄託センターに ARIF-B38 (FERM P-20321) として寄託されている) からゲノム DNA を単離して、アミノ酸配列を配列番号 1、遺伝子配列を配列番号 2 として、特定したものである。

20

【 0 0 1 8 】

本ポリペプチドは、ヒトアンジオテンシン変換酵素 2 と同様の基質特異性と酵素活性を示しており、血圧降下剤や急性呼吸促進症候群 (A R D S) 発症時における炎症抑制剤などの医薬として利用することが可能である。

なお、ヒトアンジオテンシン変換酵素 2 のアミノ酸配列は、他の哺乳類のアンジオテンシン変換酵素 2 のアミノ酸配列と非常に類似しており、例えば、ゴリラ (*Gorilla gorilla gorilla*) とは 9 9 % の類似性があり (以下、カッコ内の数字は類似の割合を示す)、チンパンジー (*Pan troglodytes*、9 9 %)、オラウータン (*Pongo abelii*、9 8 %)、ヤギ (*Capra hircus*、8 2 %)、ブタ (*Sus scrofa*、8 1 %)、イヌ (*Canis lupus familiaris*、8 4 %)、ヒツジ (*Ovis aries*、8 2 %)、アライグマ (*Procyon lotor*、8 4 %)、ヤク (*Bos mutus*、8 1 %)、シャチ (*Orcinus orca*、8 1 %)、ハンドウイルカ (*Tursiops truncatus*、8 1 %)、ゴールデンハムスター (*Mesocricetus auratus*、8 4 %)、ウシ (*Bos taurus*、8 1 %)、ウサギ (*Oryctolagus cuniculus*、8 5 %)、ウマ (*Equus caballus*、8 7 %)、アルパカ (*Vicugna pacos*、8 3 %)、ネコ (*Felis catus*、8 5 %)、マウス (*Mus musculus*、8 2 %)、ラット (*Rattus norvegicus*、8 2 %) と 8 0 % 以上の高い類似性を示している。したがって、人以外の哺乳動物においても、血圧降下剤や急性呼吸促進症候群発症時における炎症抑制剤などの動物医薬として利用することが考えられる。

30

【 0 0 1 9 】

また、本ポリペプチドのアミノ酸配列は、配列番号 1 に限定されるわけではなく、アンジオテンシン変換酵素 2 活性を有する範囲で、1 以上のアミノ酸残基が置換、欠失、挿入、付加及び / 又は逆位となっても良い。

40

【 0 0 2 0 】

ただし、本ポリペプチドの活性中心アミノ酸残基は、His-Glu-Xaa-Xaa-His あるいは His-Glu といった特有なアミノ酸配列中に存在するため、このような配列の箇所のアミノ酸残基の変更は好ましくない。具体的には、His (2 6 9 位) - Glu (2 7 0 位) - Xaa - Xaa - His (2 7 3 位) 及び His (2 9 8 位) - Glu (2 9 9 位) のアミノ酸残基を変更することは好ましくない。

【 0 0 2 1 】

50

本ポリペプチドをコードする遺伝子は、配列番号 1 記載のアミノ酸配列をコードする遺伝子、又は配列番号 1 記載のアミノ酸配列において、1 以上のアミノ酸残基の置換、欠失、挿入、付加及び/又は逆位を有するアミノ酸配列であって、アンジオテンシン変換酵素 2 活性を有するポリペプチドをコードする遺伝子である。

具体的な例として、配列番号 2 の遺伝子配列がある。しかし、本ポリペプチドをコードする遺伝子は、配列番号 2 の遺伝子配列に限定されるものではなく、配列番号 2 記載の塩基配列に相補的な塩基配列と、ストリンジェントな条件でハイブリダイズする遺伝子配列であれば良い。

また、配列番号 2 の遺伝子検索によって得られる配列番号 2 に該当する遺伝子配列または、合成遺伝子配列であっても良い。

10

遺伝子検索によって得られる遺伝子配列には、例えば、*Paenibacillus durus* (ATCC 35681)、*Paenibacillus polymyxa* (ATCC 15970)、*Bacillus coagulans* DSM1 株 (ATCC 7050) などの原核微生物の配列番号 2 に該当する遺伝子配列を挙げることができる。

【0022】

本ポリペプチドは、配列番号 2 記載のアンジオテンシン変換酵素 2 活性を有するポリペプチドをコードする遺伝子又は、配列番号 2 記載の塩基配列に相補的な塩基配列とストリンジェントな条件でハイブリダイズするアンジオテンシン変換酵素 2 活性を有するポリペプチドをコードする遺伝子を発現用プラスミドに組み込んで発現プラスミドとしたのち、前記発現プラスミドで原核微生物を形質転換し、得られた形質転換体を培地中で培養することにより製造することができる。

20

【0023】

本ポリペプチドは、原核微生物由来であるため、糖鎖形成を必要とせず、発現用プラスミド及び宿主を原核微生物の形質転換に適したものをを用いれば良く、又は、酵母、麹菌、昆虫細胞、動物細胞、植物細胞などの異種タンパク質発現系を用いても生産することができる。

【0024】

発現用プラスミドは、特に限定されるものではなく、形質転換する宿主を原核微生物とし、原核微生物の発現用プラスミドとして用いられるものであれば良い。宿主を大腸菌とする場合には、例えば、大腸菌発現プラスミド pET-32a を使用することができる。

大腸菌と pET-32a との組合せ以外に、例えば以下のものを用いることができる。

30

宿主として大腸菌を用いる場合：発現プラスミドとして pET シリーズ、pUC シリーズ、M13mp シリーズ、pCambia シリーズ、pKK223、pACYC184、pBR322、pMAL シリーズ、pGEX シリーズ、pCold シリーズなど。

宿主として枯草菌 (*Bacillus subtilis*) を用いる場合：発現プラスミドとして pHT シリーズ、pAL シリーズ、pBE-S など。

宿主としてブレヴィバチルス菌 (*Brevibacillus*) を用いる場合：発現プラスミドとして pBIC シリーズ、pNC シリーズ、pNI シリーズ、pNY326、pNCM02 など。

【実施例】

【0025】

(1) 原核微生物由来アンジオテンシン変換酵素 2 (以下、アンジオテンシン変換酵素 2 を ACE2 と略記する) のスクリーニング

40

Paenibacillus sp. B38 株 (独立行政法人製品評価技術基盤機構特許微生物寄託センターに ARIF-B38 (FERM P-20321) として寄託されている) からゲノム DNA を単離した。つぎに、得られたゲノム DNA の塩基配列をシーケンサーにより解析した。ACE2 はカルボキシペプチダーゼ活性を有していることから、Basic Local Alignment Search Tool (BLAST) を用いて、解析したゲノム DNA 塩基配列の中からカルボキシペプチダーゼをコードすると推定される領域 (推定領域) を検索した。推定領域の塩基配列から設計したプライマー (塩基配列 3 及び 4) を用いて、ポリメラーゼ連鎖反応 (PCR) 法により推定領域の DNA を増幅した。増幅した DNA の塩基配列を配列番号 5 に示す。

増幅した DNA を大腸菌用発現プラスミド pET-32a のマルチクロニングサイト

50

に挿入し、推定領域の発現プラスミドを構築した。得られた発現プラスミドにより大腸菌 B L 2 1 (D E 3) 株を形質転換し、これを L B 培地中で培養することにより、推定領域にコードされたタンパク質を発現させた。

A C E 2 活性の測定は非特許文献 4 に従って行った。すなわち、消光性蛍光基質 2 - メチルアミノベンゾイル (N m a) - ヒスチジン (H i s) - プロリン (P r o) - [N - (2 , 4 - ジニトロフェニル) - リシル] [L y s (D n p)] を用いて、これを分解する活性を有するタンパク質を、大腸菌により発現したタンパク質からスクリーニングした。その結果、配列番号 1 のアミノ酸配列を有するタンパク質を発見した。また、このタンパク質をコードする塩基を配列番号 2 に示す。

【 0 0 2 6 】

10

(2) 原核微生物由来 A C E 2 の精製

大腸菌用発現プラスミド p E T - 3 2 a のマルチクローニングサイトに配列番号 2 に示した原核微生物由来 A C E 2 をコードする D N A 全長を組み込み、発現プラスミドを構築した。得られた発現プラスミドにより大腸菌 B L 2 1 (D E 3) 株を形質転換し、これを L B 培地中で培養することにより、原核微生物由来 A C E 2 を発現させた。超音波破碎機により大腸菌を破碎し、遠心分離により菌体破碎液上清を取得した。陰イオン交換クロマトグラフィー、並びにゲルろ過クロマトグラフィーにより、単一酵素を取得した (図 1) 。図 1 中、符号 1 は分子量マーカー、符号 2 は精製タンパク質を電気泳動したレーンである。

精製タンパク質の分子量は約 5 7 k D a であり、アミノ酸配列から計算した分子量 5 7 , 5 9 7 と一致した。また、培養液 1 L (リットル) あたり約 1 0 0 m g の原核微生物由来 A C E 2 が得られた。

20

【 0 0 2 7 】

(3) 原核微生物由来 A C E 2 の酵素活性

精製酵素の基質 Nma-His-Pro-Lys(Dnp) に対する動力学定数を非特許文献 4 に基づき測定した。表 1 にその結果を示す。なお、動力学定数は、実験を 3 回繰り返して行って得られた平均値である。本実施例で使用したヒト A C E 2 はコスモ・バイオ株式会社から購入した。

動力学定数は、ヒト A C E 2 と近似な値を示した。

なお、ヒト A C E 2 の動力学定数値は、非特許文献 4 から引用した値である。

30

【 0 0 2 8 】

【表 1】

酵素	K_m (μM)	k_{cat} (s^{-1})	k_{cat} / K_m ($\mu M^{-1} s^{-1}$)
原核微生物由来 A C E 2	21. 7	188	8. 66
ヒト A C E 2	23. 3	167	7. 17

【 0 0 2 9 】

(4) 原核微生物由来 A C E 2 による各種ペプチドの加水分解実験

40

原核微生物由来 A C E 2 によるアンジオテンシン I I の加水分解実験を行ったところ、ヒト A C E 2 と同様にアンジオテンシン I I からアンジオテンシン (1 - 7) を生成した。結果を図 2 に示す。

【 0 0 3 0 】

図 2 において、(A) は、アンジオテンシン I I のみ、(B) は、アンジオテンシン (1 - 7) のみ、(C) は、アンジオテンシン I I にヒト A C E 2 を添加し、3 7 ° C で 2 時間インキュベーションしたものの、(D) は、アンジオテンシン I I に原核微生物由来 A C E 2 を添加し、3 7 ° C で 2 時間インキュベーションしたものである。

H P L C の測定条件は、溶媒 A から B へのリニアグラジエント (溶媒 A : 0 . 1 % トリフルオロ酢酸、溶媒 B : 5 0 % アセトニトリル、0 . 1 % トリフルオロ酢酸) 、分析時間

50

20分、検出波長：210nm、カラム：TSKgel Super-ODS(10cm)とした。

また、各種ペプチドの加水分解実験の結果を表2に示す。

【0031】

【表2】

ペプチド名	アミノ酸配列と切断部位	ヒトACE2	原核微生物由来ACE2
Angiotensin I	DRVYIHPFH↓L (配列番号6)	○	○
Angiotensin II	DRVYIHP↓F (配列番号8)	○	○
Angiotensin 1-7	DRVYIHP (配列番号9)	×	×
Apelin-13	QRPRLSHKGPMP↓F (配列番号10)	○	○
Apelin-36	LVQPRGSRNGPGPWQGGRKFRQRPRLSHK GPMP↓F (配列番号11)	○	○
des-Arg ⁹ -bradykinin	RPPGFSP↓F (配列番号12)	○	○
Lys-des-Arg ⁹ -bradykinin	KRPPGFSP↓F (配列番号13)	○	○
beta-Casomorphin	YPFVEP↓I (配列番号14)	○	○
Dynorphin A 1-13	YGGFLRRIRPKL↓K (配列番号15)	○	○
Ghrelin	GSSFLSPEHQRVQQRKESKKPPAKLQP↓R (配列番号16)	○	○
Neurotensin 1-8	pE-LYENKP↓R (配列番号17)	○	○

(下向き矢印)：切断部位、○：切断される、×：切断されない。

なお、ヒトACE2のデータは、非特許文献5から引用した値である。

表2中、Neurotensin 1-8のアミノ酸配列に記載されたpEは、ピログルタミン酸残基を表し、配列表17では、pEを除くアミノ酸配列のみを記載している。

表2に示すように、原核微生物由来ACE2、すなわち、本発明のポリペプチドは、ヒトACE2と同じ酵素活性を示すことがわかる。

【0032】

(4) ヒトACE2阻害剤による原核微生物由来ACE2の阻害実験

原核微生物由来ACE2も既知のヒトACE2阻害剤であるニコチアナミンによる阻害を受けた(IC₅₀：原核微生物由来ACE2 74nM, ヒトACE2 84nM)。

【0033】

本発明は、上記実施の形態に限定されるものではなく、特許請求の範囲に記載した発明

10

20

30

40

50

の範囲内で種々の変形が可能であり、それらも本発明の範囲内に含まれることはいうまでもない。

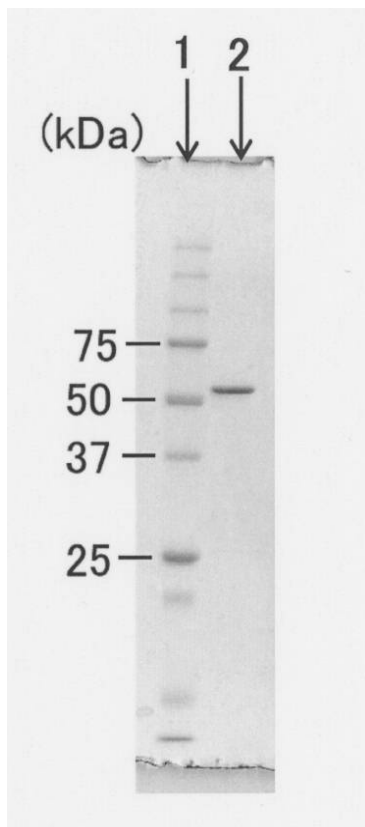
【符号の説明】

【 0 0 3 4 】

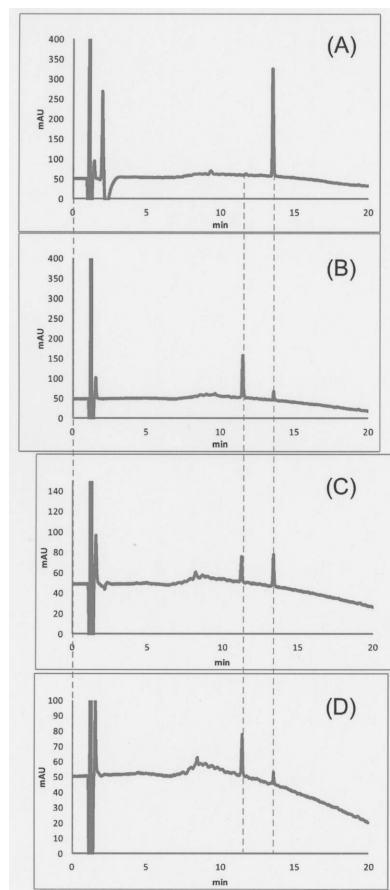
1：分子量マーカーの電気泳動レーン

2：精製タンパク質の電気泳動レーン

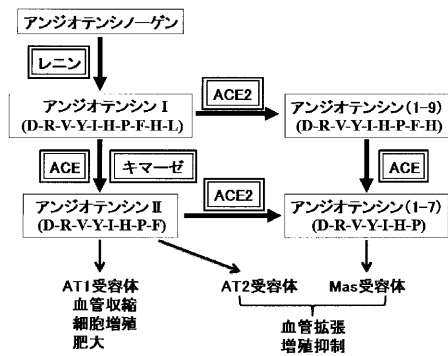
【図 1】



【図 2】



【図 3】



【配列表】

0006535960000001.app

フロントページの続き

(72)発明者 高橋 砂織

秋田県秋田市新屋町字砂奴寄4番26号 秋田県総合食品研究センター内

審査官 鈴木 優志

(56)参考文献 NIEMIROWICZ, Gabriela et al., Two metallo-carboxypeptidases from the protozoan *Trypanosoma cruzi* belong to the M32 family, found so far only in prokaryotes, *Biochemical Journal*, 2007年, Vol.401, No.2, p.399-410

Paenibacillus sp. BIHB4019, complete genome, Database DDBJ, Accession No. CP016808, [online]; http://getentry.ddbj.nig.ac.jp/getentry/na/CP016808/2016-08-07+08%3A19%3A51/?format=flatfile& filetype=text&trace=false&show_suppressed=true, 2016年 8月 5日

DONOGHUE, Mary et al., A novel angiotensin-converting enzyme-related carboxypeptidase (ACE2) converts angiotensin I to angiotensin 1-9, *Circulation Research*, 2000年, Vol.87, p.e1-e9

VICKERS, Chad et al., Hydrolysis of biological peptides by human angiotensin-converting enzyme-related carboxypeptidase, *The Journal of Biological Chemistry*, 2002年, Vol.277, No.17, p.14838-14843

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

C12N 15/00 ~ 15/90

C12N 1/00 ~ 7/08

C12N 9/00 ~ 9/99

C12Q 1/00 ~ 3/10

JSTPlus/JMEDPlus/JST7580(JDreamIII)

CAplus/DWPI/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS(STN)

UniProt/GeneSeq

GenBank/EMBL/DDBJ/GeneSeq

(54)【発明の名称】アンジオテンシン変換酵素2活性を有するポリペプチド、前記ポリペプチドをコードする遺伝子、前記遺伝子を含有する発現プラスミド、前記発現プラスミドで形質転換された形質転換体及び前記酵素の製造法