



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2007-0114520
(43) 공개일자 2007년12월04일

(51) Int. Cl.

C12N 15/11 (2006.01) *C12N 15/63* (2006.01)

(21) 출원번호 10-2006-0048209

(22) 출원일자 2006년05월29일

심사청구일자 2006년05월29일

(71) 출원인

울산대학교 산학협력단

울산 남구 무거동 산29

(72) 발명자

이희란

경기 성남시 분당구 정자동 124 상록마을 106-201

박기량

충북 청주시 흥덕구 가경동 1506 진로아파트 102동 1401호

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

이처영

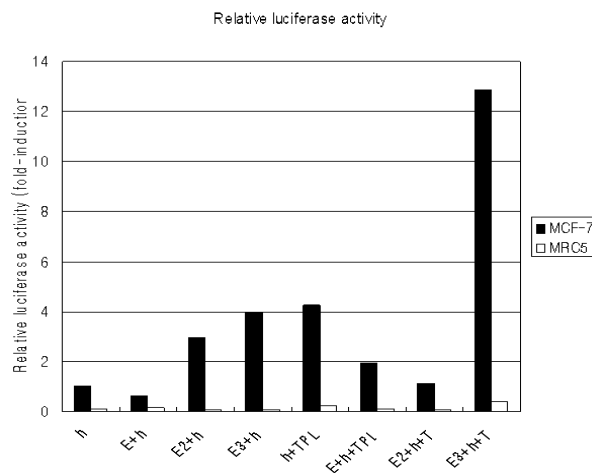
전체 청구항 수 : 총 7 항

(54) 유전자 발현을 증가시키는 합성 h T E R T 프로모터

(57) 요약

본 발명은 유전자 발현을 증가시키는 합성 hTERT 프로모터에 관한 것으로 보다 구체적으로는, hTERT 염기 프로모터(hTERT basic promoter, H)의 업스트림(upstream)에는 3개의 hTERT 프로모터 조절 부위(hTERT promoter regulatory region, E)를 부착하고, 다운스트림(downstream)에는 TPL 서열(tripartite leader sequence, T)을 부착한 E3-H-T 프로모터에 관한 것이다.

대표도 - 도3



(72) 발명자

정선주

서울특별시 강남구 압구정동 458 현대아파트
83-302

김성진

충북 충주시 호암동 643-1

이한샘

서울 송파구 풍납2동 미성아파트 3동 401호

신오규

서울 송파구 풍납동 126-63동 203호

특허청구의 범위

청구항 1

hTERT 염기 프로모터(hTERT basic promoter, H)의 업스트림(upstream)에는 3개의 hTERT 프로모터 조절 부위(hTERT promoter regulatory region, E)를 부착하고, 다운스트림(downstream)에는 TPL 서열(tripartite leader sequence, T)을 부착한 E3-H-T 프로모터.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 프로모터는 서열번호 1인 hTERT 염기 프로모터(hTERT basic promoter, H), 서열번호 2인 hTERT 프로모터의 조절 부위(hTERT promoter regulatory region, E), 서열번호 3인 TPL 서열(tripartite leader sequence, T)를 포함하는 프로모터.

청구항 3

제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 프로모터는 종양세포에서 유전자 발현을 증가시키는 것을 특징으로 하는 프로모터.

청구항 4

제1항 또는 제2항의 프로모터 및 목적 유전자를 함유하는 재조합 발현벡터.

청구항 5

제4항의 발현벡터로 형질감염된 세포주.

청구항 6

제5항에 있어서, 상기 세포주는 간암, 유방암, 자궁암, 갑상선암 및 망막모세포종으로 구성된 군에서 선택되는 것을 특징으로 하는 세포주.

청구항 7

제1항에 있어서, 상기 프로모터는 c-Myc 또는 Sp1과 결합하는 것을 특징으로 하는 프로모터.

명 세 서

발명의 상세한 설명

발명의 목적

발명이 속하는 기술 및 그 분야의 종래기술

<4>

발명의 분야

<5>

본 발명은 유전자 발현을 증가시키는 합성 hTERT 프로모터에 관한 것으로 보다 구체적으로는, 유전자 발현을 증가시키는 합성 hTERT 프로모터를 제작하여 상기 프로모터 중 hTERT 염기 프로모터(hTERT basic promoter, H)의 업스트림(upstream)에는 3개의 hTERT 프로모터 조절 부위(hTERT promoter regulatory region, E)를 부착하고, 다운스트림(downstream)에는 TPL 서열(tripartite leader sequence, T)을 부착한 E3-H-T 프로모터가 종양세포에서 유전자 발현을 증가시키며, c-Myc 또는 Sp1과 결합한다는 것을 규명하였다.

<6>

배경기술

<7>

종양 유전자 치료에 있어 유전자의 선택적이고 효과적인 발현은 만족스러운 임상 결과를 얻기 위해 중요하다. 종래 종양 특이적 유전자 조절 요소(cancer-specific gene regulatory element)에 대한 많은 연구가 있어 왔다. 예를 들어, 전립선 특이적 요소는 전립선암 특이적 유전자 발현을 유도한다 (Choo, R., *et al.*, *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 50(3):615-620, 2001, Rodriguez, R., *et al.*, *Cancer. Res.* 57(13):2559-

2563,1997). 암배 항원(carcinoembryonic antigen, CEA) 유전자 프로모터는 직장암(colorectal cancer) 및 폐암을 타겟으로 하는 유전자를 조절하는데 유용하다 (Osaki, T., *et al.*, *Cancer. Res.* 54(20):5258-5261,1994, Kijima, T., *et al.*, *Cancer. Res.* 59(19):4906-4911,1999). MUC-1(mucin-1) 및 E2F(elongation factor 2) 프로모터는 유방암 및 RB 유전자(retinoblastoma)가 상대적으로 부족한 종양에 적용되어졌다 (Kurihara, T., *et al.*, *J. Clin. Invest.* 106(6):763-771, 2000, Putzer, BM., *et al.*, *J. Virol.* 71(12):9538-9548, 1997). 그러나 이들 프로모터의 특이성은 특이적 인간 종양에 대한 유전자 조절 요소의 조합 때문에 일정한 종양 타입에 한정된다. 인간 텔로머레이즈 역전사 효소(human telomerase reverse transcriptase, hTERT)는 인간 종양의 80% 이상에서 종양 특이적 유전자를 조절한다 (Kim, N.W., *et al.*, *Science.* 266(5193):2011-2015, 1994). 그러므로 hTERT는 종양 특이적 유전자 발현에 있어 중요한 연구 대상으로 여겨지고 있다. hTERT 프로모터의 종양 특이적 잠재성은 Bax(Bcl2-associated x-protein), p53, 캐스페이즈-8(caspase-8)을 코딩하는 유전자를 포함한 다양한 치료 유전자를 유도한다는 것이 증명되었다 (Koga, S., *et al.*, *Hum. Gene. Ther.* 11(10):1397-1406, 2000). 그러나, 변형되지 않은 hTERT는 충분한 유전자 발현을 유도하기에는 너무 약하다. 프로모터 시퀀싱 및 기능 분석을 통해 181 bp 코어 프로모터가 Sp1 및 c-Myc의 다중 결합 모티프(multiple binding motif)를 코딩한다는 것을 밝혀냈다. 서브그룹 C 인간 아데노바이러스 트리파타이트 리더(subgroup C human adenovirus tripartite leader, TPL) 서열은 번역(translation)시 유전자 발현을 증가시키는 것으로 보고되고 있다. TPL은 약 200 bp로 아데노바이러스의 후기 유전자 발현을 촉진한다.

- <8> 이에 본 발명자들은 hTERT 염기 프로모터(hTERT basic promoter)의 활성도를 향상시켜 유전자 발현을 조절하기 위하여, hTERT 코어 프로모터 서열(nt -200에서 nt -11)과 TPL을 hTERT 염기 프로모터에 융합한 후, 상기 프로모터가 다양한 종양세포에서 유전자 발현을 증가시킨다는 것을 확인하고 본 발명을 완성하게 되었다.

발명이 이루고자 하는 기술적 과제

- <9> 본 발명의 주된 목적은 hTERT 염기 프로모터(hTERT basic promoter, H)의 업스트림(upstream)에는 3개의 hTERT 프로모터 조절 부위(hTERT promoter regulatory region, E)를 부착하고, 다운스트림(downstream)에는 TPL 서열(tripartite leader sequence, T)을 부착한 E3-H-T 프로모터를 제공하는 데 있다.
- <10> 본 발명의 다른 목적은 상기 프로모터 및 목적 유전자를 함유하는 재조합 발현벡터를 제공하는 데 있다.
- <11> 본 발명의 또 다른 목적은 상기 발현벡터로 형질감염된 세포주를 제공하는 데 있다.

발명의 구성 및 작용

- <12> 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 hTERT 염기 프로모터(hTERT basic promoter, H)의 업스트림(upstream)에는 3개의 hTERT 프로모터 조절 부위(hTERT promoter regulatory region, E)를 부착하고, 다운스트림(downstream)에는 TPL 서열(tripartite leader sequence, T)을 부착한 E3-H-T 프로모터를 제공한다.
- <13> 본 발명에 있어서, 상기 프로모터는 서열번호 1인 hTERT 염기 프로모터(hTERT basic promoter, H), 서열번호 2인 hTERT 프로모터의 조절 부위(hTERT promoter regulatory region, E), 서열번호 3인 TPL 서열(tripartite leader sequence, T)를 포함하는 것을 특징으로 할 수 있고, 종양세포에서 유전자 발현을 증가시키는 것을 특징으로 할 수 있다. 이는 E3-H-T 프로모터를 함유하는 재조합 발현벡터로 형질감염시켜 정상 세포인 MRC-5(human lung fibroblast 세포주)와 인간 유방암세포(human breast cancer cell)인 MCF-7에서의 루시퍼레이즈의 활성도를 비교함으로써 행하여졌다.
- <14> 본 발명은 또한, 상기 프로모터 및 목적 유전자를 함유하는 재조합 발현벡터를 제공한다.
- <15> 본 발명은 또한, 상기 발현벡터로 형질감염된 세포주를 제공한다.
- <16> 본 발명에 있어서, 상기 세포주는 간암, 유방암, 자궁암, 갑상선암 및 망막모세포종(retinoblastoma)으로 구성된 군에서 선택되는 것을 특징으로 할 수 있다.
- <17> 본 발명에 있어서, 상기 프로모터는 c-Myc 또는 Sp1과 결합하는 것을 특징으로 할 수 있다. c-Myc 또는 Sp1과의 결합 여부는 E3-H-T 프로모터와 핵 추출물을 반응시켜 EMSA(electrophoretic mobility shift assay)를 수행함으로써 행하여졌다.
- <18> 이하, 실시예를 통하여 본 발명을 더욱 상세히 설명하고자 한다. 이들 실시예는 오로지 본 발명을 예시하기 위한 것으로서, 본 발명의 범위가 이들 실시예에 의해 제한되는 것으로 해석되지는 않는 것은 당업계에서 통상의

지식을 가진 자에게 있어서 자명할 것이다.

- <19> 실시예 1. 본 발명에 따른 합성 hTERT 프로모터 제작
- <20> 인간 유방암세포(human breast cancer cell, MCF-7, ATCC HTB-22), 간암세포(SK-Hep1(ATCC HTB-52), HepG2(ATCC HB-8065), Hep3B(ATCC HB-8064)), 자궁암세포(Hela cell, ATCC CCL2.2), 293 cell(ATCC CRL-1573), 인간 배아망막아세포(human embryonic retinoblast)로부터 유래한 망막모세포종(retinoblastoma)인 911 세포주(Van Der Eb, University of Leiden, Netherlands) 및 갑상선암세포인 ARO(undifferentiated thyroid, from Dr. Jhiang, Ohio State University, USA), FRO(follicular, from Dr. Jhiang, Ohio State University, USA), NPA(papillary carcinoma, from Dr. Jhiang, Ohio State University, USA)(Huang, W. & Flint, S.J. *J. Virol.*, 72(1):225-235, 1998)를 10% fetal bovine serum, 2 mM L-글루타민, 100 IU/ml 페니실린 및 50 µg/ml 스트렙토마이신을 포함하는 Dulbecco's modified Eagle's 배지에서 37℃, 5% CO₂/95% 습도로 배양하였다.
- <21> 변형된 hTERT(human telomerase reverse transcriptase) 프로모터가 인간 종양 세포에서 유전자 발현을 증가시키는지 확인하기 위하여, MCF-7 세포에서 다양하게 변형된 hTERT 프로모터를 제작하였다.
- <22> hTERT 프로모터의 조절하에서 루시페레이즈(luciferase)를 발현시키는 pGL2-H를 만들기 위하여, hTERT 염기 프로모터(hTERT basic promoter, H)를 코딩하는 플라스미드인 pT7-blue-hTERT(Logan, J. & Shenk, T. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 81(12):3655-3659, 1984; Shin, J.M., *et al.*, *Oncol Rep.* 10(6):2063-2069, 2003)의 hTERT 염기 프로모터를 *KpnI* 및 *HindIII*로 자른 후, 루시페레이즈(luciferase)를 내재하고 있는 pGL2-C 벡터(Promega Co.)를 동일 효소로 잘라 결합시켰다. pT7-blue-hTERT를 주형으로 하고 서열번호 4 및 5의 프라이머를 사용하여 hTERT 코어 프로모터 부위(nt -200에서 nt -11)를 PCR로 증폭하였다.
- <23> 서열번호 4: 5'-GATTCGCGGGCACAGACGC-3'
- <24> 서열번호 5: 5'-CGCGGAAAGGAAGGGGAGG-3'
- <25> PCR 산물을 pMOSblue(pMOSblue blunt-ending kit; Amersham Pharmacia)로 서브클론하였고, 서열을 ABI PRISM377 자동 DNA 서열기(ABI PRISM377 automatic DNA sequencer)를 이용하여 확인하였다.
- <26> pGL2-E-H, pGL2-E2-H 및 pGL2-E3-H를 만들기 위하여 하기의 방법으로 pSP72 서브클론벡터(Promega Co.)들을 제작하였다. pSP72(Promega Co.)를 *KpnI* 및 *HindIII*로 자른 후, pGL2-H(Promega Co.)를 동일 효소로 잘라 H(hTERT basic promoter) 단편을 삽입하여 pSP72-H를 제작하였다. pMOSblue-E(Amersham Pharmacia)의 E(hTERT 프로모터 조절 부위, hTERT promoter regulatory region) 단편을 *HindIII*로 자르고 blunt end로 만든 후 *KpnI*으로 자른 다음, *EcoRV* 및 *KpnI*으로 자른 pSP72-H 벡터(Promega Co.)에 결합시켜 pSP72-E-H를 제작하였다. pMosblue-E(Amersham Pharmacia)를 *NdeI* 및 *BamHI*으로 잘라 blunt 처리한 후, E 단편을 얻어내고, *StuI*으로 자른 pSP72-E-H 또는 pSP72-E2-H에 삽입하여 pSP72-E2-H 및 pSP72-E3-H를 제작하였다. 상기 pSP72-E-H, pSP72-E2-H 및 pSP72-E3-H 벡터를 *BglII* 및 *HindIII*로 자르고, 루시페레이즈(luciferase)를 내재하고 있는 pGL2-C 벡터(Promega Co.)를 동일 효소로 잘라, 프로모터 부분을 절단한 pGL2-C 벡터에 삽입하여 각각 pGL2-E-H, pGL2-E2-H 및 pGL2-E3-H를 제작하여 E-H, E2-H, E3-H 프로모터로 루시페레이즈 발현이 조절되도록 하였다. 인간 아데노 바이러스 5가 감염된 293 세포의 전체 RNA를 주형으로 하고 서열번호 6 및 7의 프라이머를 사용하여 TPL(서브그룹 C 인간 아데노바이러스 트리파타이트 리더, subgroup C human adenovirus tripartite leader) 서열을 RT-PCR를 수행하여 수득하였다 (Lee, W.W., *et al.*, *Oncol. Rep.*, 10(4):845-849, 2003).
- <27> 서열번호 6: 5'-ACTCTCTTCCGCATCGCTTGC-3'
- <28> 서열번호 7: 5'-CTTGCGACTGTGACTGGTTAGACGCC-3'
- <29> PCR산물은 pCR2.1 플라스미드(Invitrogen, Carlsbad, CA)로 서브클론하여 서열을 확인하였다.
- <30> pGL2-H-T를 만들기 위하여, 루시페레이즈를 내재하고 있는 pGL2-H 벡터(Promega Co.)를 *SpeI* 및 *PstI*으로 절단하고, pCR2.1-T 벡터(Invitrogen, Carlsbad, CA)를 *SpeI* 및 *NotI*으로 절단하여 획득한 TPL DNA 조각을, 절단한 벡터에 삽입하여 pGL2-H-T를 확보하였다.
- <31> pGL2-E-H-T, pGL2-E2-H-T 및 pGL2-E3-H-T를 만들기 위하여, 하기의 방법으로 pSP72 서브클론벡터(Promega Co.)들을 제작하였다. pGL2-H-T벡터(Promega Co.)를 *KpnI* 및 *PstI*으로 절단하여 획득한 H(hTERT 염기 프로모터, hTERT basic promoter)-T(tripartite leader sequence, TPL) DNA 조각을, 동일한 효소로 자른 pSP72(Promega Co.)에 결합시켜 pSP72-H-T를 확보하였다. 상기 pSP-H-T에 E를 삽입하기 위해서, pMosblue-E(Amersham

Pharmacia)를 *NdeI*로 자르고 blunt처리한 후 다시 *BamHI*으로 잘라 E(hTERT 프로모터의 조절 부위, hTERT promoter regulatory region) DNA 조각을 얻어내고, 이를 *KpnI*으로 잘라 blunt처리한 다음, *BamHI*으로 처리된 pSP72-H-T(Promega Co.)에 삽입하여 pSP72-E-H-T를 확보하였다. E를 순차적으로 추가 삽입하기 위하여, pMosblue-E(Amersham Pharmacia)를 *NdeI* 및 *BamHI*으로 잘라 blunt처리한 후, E DNA 조각을 얻어내고, *StuI*으로 자른 pSP72-E-H-T 또는 pSP72-E2-H-T에 삽입하여 pSP72-E-H-T, pSP-E2-H-T 및 pSP-E3-H-T를 제작하였다. 상기 pSP72-E-H-T, pSP-E2-H-T 및 pSP-E3-H-T의 프로모터 부분을 *BglII* 및 *HindIII*로 자르고, 루시퍼레이스를 내재하고 있는 pGL2-C 벡터(Promega Co.)를 동일 효소로 잘라, 프로모터 부분을 절단한 pGL2-C 벡터에 삽입하여 각각 pGL2-E-H-T, pGL2-E2-H-T 및 pGL2-E3-H-T를 제작하였다.

<32> 실시예 2. 합성 hTERT 프로모터의 루시퍼레이스 활성도 측정

<33> 상기 프로모터의 루시퍼레이스 활성도를 조절하는 능력을 측정하기 위해, Lipofectamine plus reagent(Gibco BRL, Gaithersburg, MD)를 이용하여 0.8 μ g pGL2 발현 벡터(Promega Co.), 0.2 μ g pGK β gal(from Dr. Jung, Harvard Medical School)을 MCF-7 세포(ATCC HTB-22)에 형질감염(transfection)시켰다. 2일 후, 세포를 PBS(phosphate buffered saline)로 씻고, 200 μ l reporter lysis buffer(Luciferase assay kit; Promega, Madison, WI)로 용해시켰다. 루시퍼레이스 활성도는 Luminometer(LS50B; Perkin Elmers Corp)로 측정하였으며, β -갈락토시데이즈(β -galactosidase) 활성도로 표준화하였다.

<34> 그 결과, E3-H-T 프로모터를 함유하는 재조합 발현벡터로 형질감염시킨 경우 대조군(hTERT 염기 프로모터를 포함하는 pGL2발현벡터로 형질감염시킨 세포)보다 8.5 ± 2.3 배 루시퍼레이스 활성도가 증가하였다 (도 1). 이것은 hTERT 프로모터의 조절 부위를 3배 첨가함으로써 hTERT 염기 프로모터의 유전자 발현 능력을 향상시킬 수 있음을 의미한다.

<35> 실시예 3. 다양한 인간 종양세포에서 합성 E3-H-T 프로모터의 유전자 발현 능력 측정

<36> 다양한 인간 종양세포에서 합성 E3-H-T 프로모터가 유전자 발현을 조절하는지 여부를 측정하였다. 합성 E3-H-T 프로모터를 함유하는 pGL2 발현벡터를 간암세포인 SK-Hep1, Hep3B(hepatocellular carcinoma), HepG2(hepatoblastoma), 유방암세포인 MCF-7, 자궁암세포인 HeLa, 갑상선암세포인 ARO(undifferentiated thyroid), FRO(follicular), NPA(papillary carcinoma) 및 망막모세포종(retinoblastoma)인 911 세포주에 형질감염시켜 루시퍼레이스 활성도를 상기 실시예 2의 방법으로 측정하였다.

<37> 그 결과, hTERT 염기 프로모터에 비하여 합성 E3-H-T 프로모터를 함유하는 pGL2 발현벡터를 형질감염시킨 경우 루시퍼레이스의 활성도가 증가하였다 (도 2). 특히 SK-Hep1에서는 1,000배이상 루시퍼레이스의 활성도가 증가된 것을 확인할 수 있었다. 이는 합성 E3-H-T 프로모터가 다양한 종양세포에서 hTERT 염기 프로모터의 유전자 발현 능력을 향상시킬 수 있음을 나타낸다.

<38> 실시예 4. 합성 E3-H-T 프로모터의 종양 특이적 유전자 발현 여부 측정

<39> 정상세포인 MRC-5 및 인간 유방암세포(human breast cancer cell)인 MCF-7에서 상기 실시예 2에서 제작된 프로모터의 루시퍼레이스의 활성도를 상기 실시예 2에 기재된 바와 같은 방법으로 비교하였다. 그 결과, 합성 E3-H-T 프로모터를 함유하는 pGL2 발현벡터를 형질감염시킨 경우, MRC-5에서는 유전자 발현이 증가되지 않았으나, MCF-7에서는 유전자 발현이 증가되었다 (도 3). 이로써 합성 E3-H-T 프로모터에 의해 종양세포에서만 유전자 발현이 증가됨을 알 수 있다.

<40> 실시예 5. 합성 E3-H-T 프로모터가 c-Myc 또는 Sp1에 결합하는지 여부 측정

<41> E3-H-T 프로모터의 hTERT 프로모터 조절 부위(hTERT promoter regulatory region, E)가 c-Myc(cellular-myelocytomatosis viral oncogene homolog) 및 Sp1(transcription factor specificity protein 1) 전사 요소와 결합하는지 여부를 확인하게 위하여 EMSA(electrophoretic mobility shift assay)를 수행하였다.

<42> hTERT 프로모터의 조절 부위(E)와 Sp1 결합 부위를 가지는 E3-H-T 프로모터의 110 bp *SmaI* subfragment의 5'말단을 [γ -³²P]ATP 및 T4 폴리뉴클레오타이드 카이네이즈(T4 polynucleotide kinase, Promega, USA)를 이용하여 라벨하였다. c-Myc 및 Sp1을 추출하기 위하여 1×10^7 293T 세포를 모아 용해한 다음, 핵 추출물을 회수하였다. 라벨된 hTERT 프로브(probe) 1 ng 을 핵 추출물 12 μ l와 함께 반응 부피가 25 μ l가 되도록 하여 실온에서 20분 동안 배양하였다. 한편, 반응물에 c-Myc 항체(Santa Cruz Biotechnology) 및 Sp1 항체(Santa Cruz Biotechnology) 1 μ g을 처리 전후에 첨가하였다. 6% PAGE로 전기영동한 후 방사선 사진촬영(autoradiography)

을 수행하였다.

<43> 그 결과, c-Myc 또는 Sp1는 hTERT 프로모터의 조절 부위(E)와 결합하였으며(lane 2), c-Myc 또는 Sp1 항체는 hTERT 프로모터의 조절 부위(E)와의 결합을 효과적으로 방해하였다 (lane 3-6, 도 4). 이는 종양 세포에서 E3-H-T 프로모터의 결합 모티프(binding motif)가 c-Myc 또는 Sp1에 결합함을 보여준다.

<44>

발명의 효과

<45> 이상 상세히 기술한 바와 같이, 본 발명에서는 유전자 발현을 증가시키는 합성 hTERT 프로모터를 제작하여 hTERT 염기 프로모터(hTERT basic promoter, H)의 업스트림(upstream)에는 3개의 hTERT 프로모터 조절 부위(hTERT promoter regulatory region, E)를 부착하고, 다운스트림(downstream)에는 TPL 서열(tripartite leader sequence, T)을 부착한 E3-H-T 프로모터를 제공하는 효과가 있다.

<46> 이상으로 본 발명 내용의 특정한 부분을 상세히 기술하였는바, 당업계의 통상의 지식을 가진 자에게 있어서, 이러한 구체적 기술은 단지 바람직한 실시양태일 뿐이며, 이에 의해 본 발명의 범위가 제한되는 것이 아닌 점은 명백할 것이다. 따라서 본 발명의 실질적인 범위는 첨부된 청구항들과 그것들의 등가물에 의하여 정의된다고 할 것이다.

도면의 간단한 설명

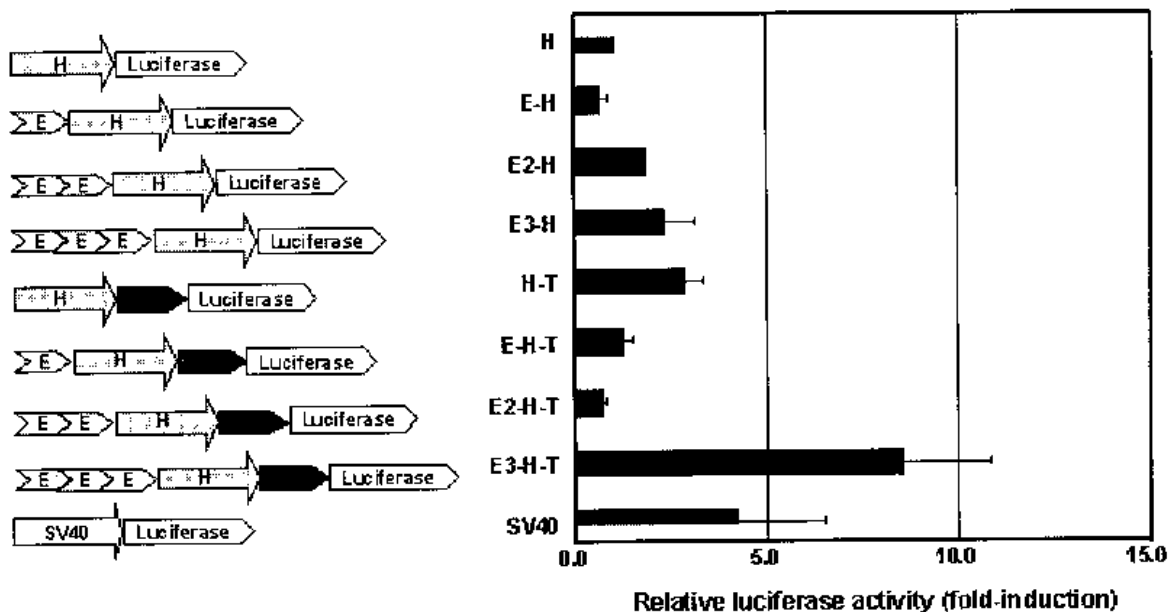
<1> 도 1은 다양하게 변형된 hTERT 프로모터에 의해 유도된 루시페레이즈의 활성도를 나타낸 것이다. 여기서 H는 hTERT 염기 프로모터, E는 hTERT 프로모터의 조절 부위, T는 TPL 서열, SV40는 SV40 프로모터를 의미한다.

<2> 도 2는 다양한 인간 종양세포에서 합성 E3-H-T 프로모터에 의해 유전자 발현이 증가됨을 나타내는 것이다.

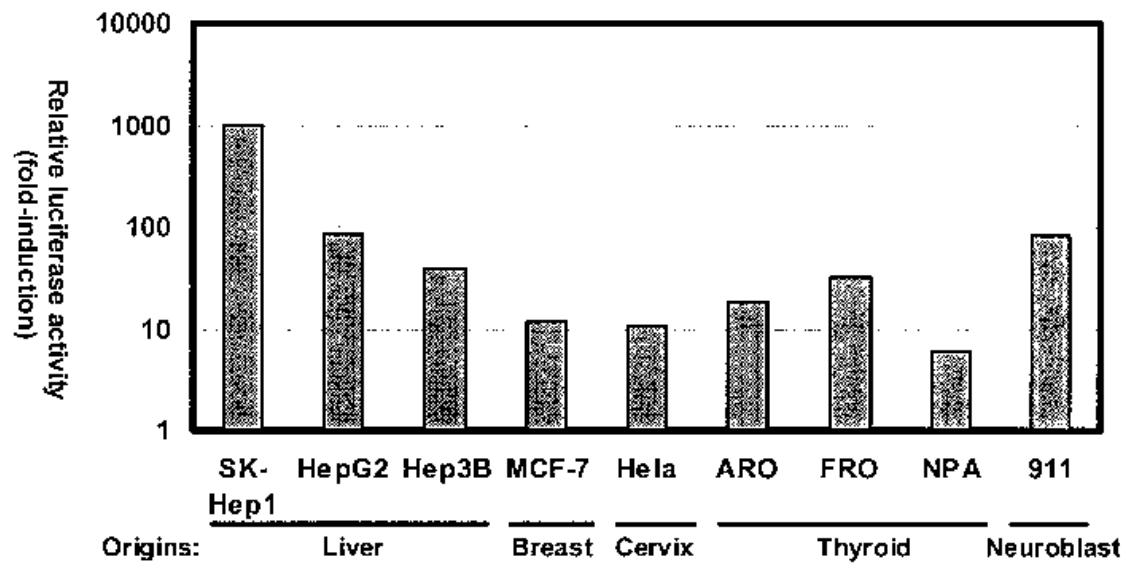
<3> 도 3은 hTERT 프로모터가 c-Myc 또는 Sp1에 특이적으로 결합한다는 것을 나타내는 것이다. 여기서 lane 1은 세포 추출물을 첨가하지 않은 DNA 프로브, lane 2는 세포 추출물과 프로브, lane 3 및 4는 세포 추출물과 c-Myc 항체와 프로브, lane 5 및 6은 세포 추출물과 Sp1 항체와 프로브를 처리한 것이다.

도면

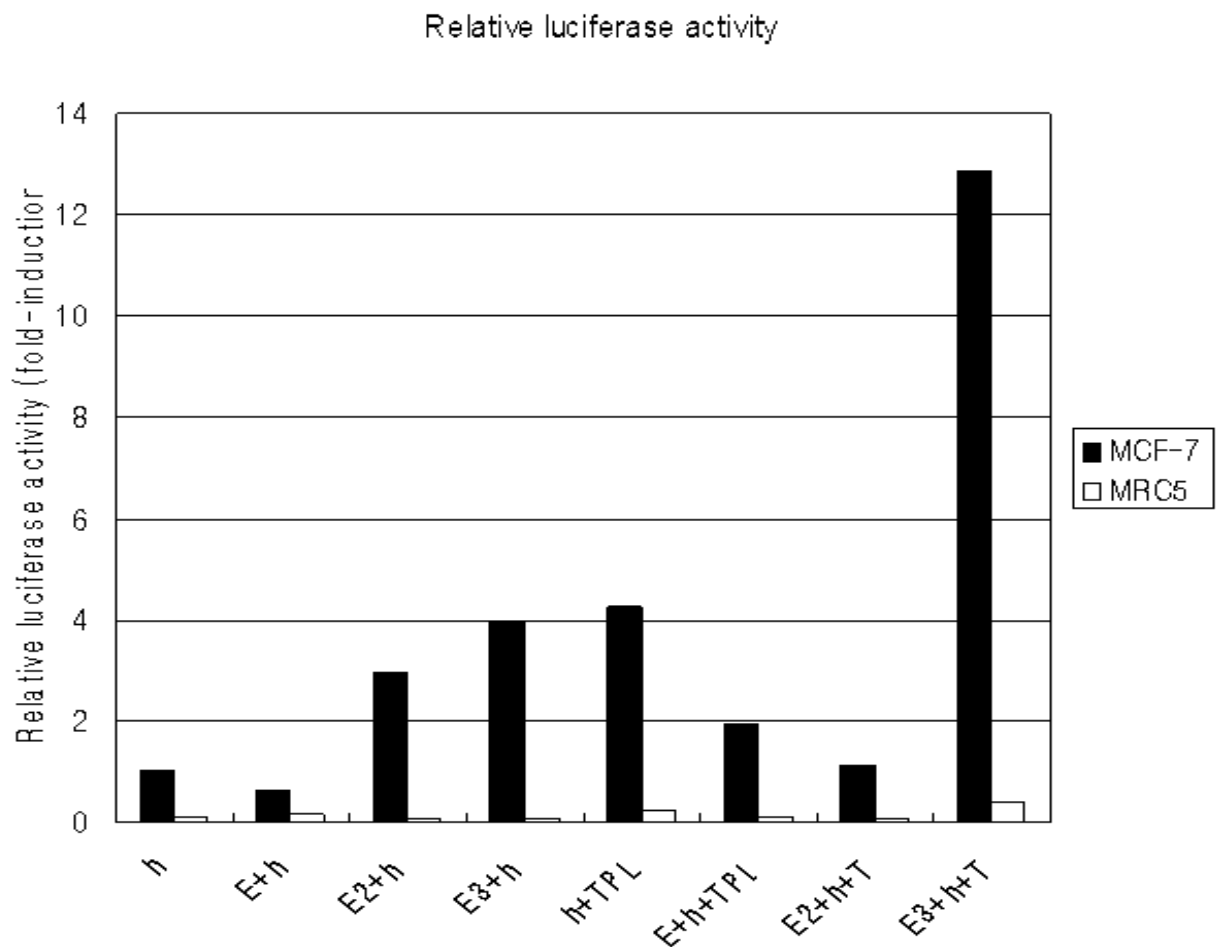
도면1



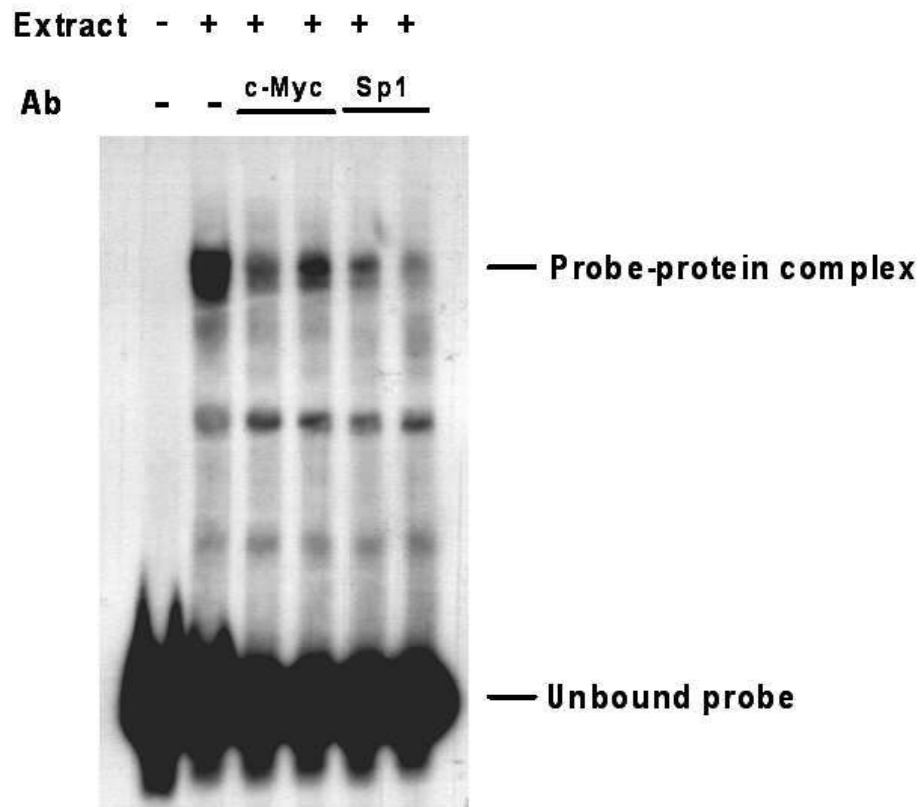
도면2



도면3



도면4



서열목록

- <110> LEE, Heuiran
 PARK, Ki-rang
 JEONG, Sun-joo
 Technology Licensing Center Joo-Sung University
- <120> SYNTHETIC HUMAN TELOMERASE REVERSE TRANSCRIPTASE PROMOTER
 ENHANCING EXPRESSION
- <160> 7
- <170> Kopatent In 1.71
- <210> 1
- <211> 364
- <212> DNA
- <213> Homo sapiens

<400> 1
ctgcaccctg ggagcgcgag cggcgcgcgg gcggggaagc gcggcccaga cccccgggtc 60

gccccggagc agctgcgctg tcggggccag gccgggctcc cagtggattc gcgggcacag 120

acgccaggga ccgcgcttcc cactggcggg agggactggg gaccgggca cccgtcctgc 180

cccttcacct tcacgtccg cctctccgc gcggacccg cccgtccg accctccg 240

ggtccccggc ccagccccct ccgggccctc ccagccctc ccttctttt ccgcggcccc 300

gccctctct cgcggcgca gtttcaggca gcgtgcgtc ctgctcgca cgtgggaagc 360

cctg 364

<210> 2
<211> 193
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 2
gtggattcgc gggcacagac gccaggacc gcgtcccca cgtggcggag ggactgggga 60

cccgggcacc cgtctgccc cttcacctt cagctccgc tcctccgcgc ggaccccgcc 120

ccgtcccgac cctcccggt tccccggcc agccctctc ggccctccc agccctccc 180

cttcttttc gcg 193

<210> 3
<211> 582
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 3

actctcttcc gcatcgctgt ctgcgagggc cagctgttgg ggtgagtact ccctctggaa	60
agcgggcatg acttctgcgc taaggttgtc agtttccaaa aacgaggagg atttgatatt	120
cacctggccc gcggtgatgc ctttgagggt ggccgcgtcc atctggtcag aaaagacaat	180
ctttttgttg tcaagcttgg tggcaaacga cccgtagagg gcgttggaca gcaacttggc	240
gatggagcgc agggtttggg ttttgcgcg atcggcgcgc tccttggccg cgatgtttag	300
ctgcacgtat tcgcgcgcaa cgcaccgcca ttcgggaaag acgttgggtgc gctcgtcggg	360
caccaggtgc acgcgccaac cgcggttgtg cagggtgaca aggtcaacgc tggcggctac	420
ctctccgctg aggcgctcgt tggccagca gaggcggccg cccttgcgcg agcagaatgg	480
cggtaggggg tctagctgcg tctcgtccgg ggggtccgcg tccacggtaa agatcccggg	540
caacaggcgc gcgtcgaagt agttatcttg catccttgca ag	582

<210> 4

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> primer

<400> 4	
gattcgcggg cacagacgc	19

<210> 5

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> primer

<400> 5

cgcggaaagg aaggggagg

19

<210> 6

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> primer

<400> 6

actctcttcc gcatcgcttg c

21

<210> 7

<211> 26

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> primer

<400> 7

cttgcgactg tgactggtta gacgcc

26