

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特許公報(B2)

(11) 特許番号

特許第4227778号
(P4227778)

(45) 発行日 平成21年2月18日(2009.2.18)

(24) 登録日 平成20年12月5日(2008.12.5)

(51) Int. Cl.		F I		
C 1 2 N	15/09	(2006.01)	C 1 2 N	15/00 Z N A A
A 6 1 K	38/00	(2006.01)	A 6 1 K	37/02
A 6 1 P	5/24	(2006.01)	A 6 1 P	5/24
A 6 1 P	43/00	(2006.01)	A 6 1 P	43/00 1 1 1

請求項の数 3 (全 9 頁)

(21) 出願番号	特願2002-243750 (P2002-243750)	(73) 特許権者	503360115 独立行政法人科学技術振興機構 埼玉県川口市本町4丁目1番8号
(22) 出願日	平成14年8月23日(2002.8.23)	(74) 代理人	100107984 弁理士 廣田 雅紀
(65) 公開番号	特開2004-81038 (P2004-81038A)	(72) 発明者	汾陽 光盛 青森県十和田市西二十三番町35-1 B -201
(43) 公開日	平成16年3月18日(2004.3.18)	審査官	山中 隆幸
審査請求日	平成16年7月21日(2004.7.21)		

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 アネキシン5の生理活性抑制物質

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

配列表の配列番号1に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列表の配列番号1に記載のアミノ酸配列からなるペプチド配列を持ち、かつアネキシン5の続きのペプチド配列とは相違する続きのペプチド配列を持つポリペプチド誘導体、又は配列表の配列番号1に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチドのアミノ基末端をアセチル基で修飾した修飾ポリペプチドからなるアネキシン5の生理活性抑制物質を有効成分とするアネキシン5の生理活性抑制剤。

【請求項2】

配列表の配列番号1に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチドの1~数個のアミノ酸を、欠失、置換したペプチド配列又は配列表の配列番号1に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド中に1~数個のアミノ酸を付加したペプチド配列を持ち、かつアネキシン5の生理活性抑制作用を有するアネキシン5の生理活性抑制物質を有効成分とするアネキシン5の生理活性抑制剤。

【請求項3】

アネキシン5の生理活性抑制が、アネキシン5の性腺刺激ホルモンの合成・放出を調節する生理活性の抑制であることを特徴とする請求項1又は2記載のアネキシン5の生理活性抑制物質を有効成分とするアネキシン5の生理活性抑制剤。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】

本発明は、アネキシン 5 の生理活性抑制物質及び該生理活性抑制物質を有効成分とするアネキシン 5 の生理活性抑制剤、特にアネキシン 5 の生理活性を抑制するポリペプチド、該ポリペプチドのポリペプチド誘導體又は修飾ポリペプチド、該ポリペプチドをコードする DNA、該ポリペプチドに特異的に結合する抗体及びそれらの利用に関する。

【0002】**【従来の技術】**

動物個体において、細胞間の情報連絡とそれに基づく細胞の機能変化は、動物個体の恒常性を維持するための基本的プロセスであり、そのために、無機イオンからタンパク質までのさまざまな物質が情報担体として関与している。中でも、カルシウムイオンは、多くの細胞で情報伝達に利用される重要な情報担体である。カルシウムイオンは、各種タンパク質に結合することによって、そのタンパク質機能の賦活化や分布の変化をもたらす、細胞固有の生理機能の発現に寄与している。

10

【0003】

近年、新しいカルシウム結合タンパク質として、アネキシンファミリーのタンパク質が注目を集めている (Cell 55, 1-3, 1988、Biochim. Biophys. Acta 1197, 63-93, 1994)。アネキシンは、分子内に約 70 アミノ酸残基からなる相同性の高い 4 回 (アネキシン 6 は 8 回) の繰り返し構造を持ち、この部位がカルシウムとリン脂質への結合能を示す (Cell 55, 1-3, 1988、Biochemistry 26, 8067-8092, 1987)。カルモジュリンやトロポニンなどの、いわゆる EF バンドスーパーファミリーに属するタンパク質とは、カルシウム結合様式の異なる新しいカテゴリーのタンパク質である。アネキシンは、カルシウム濃度に依存したリン脂質結合能という機能を持つこと、動物種間で相同性が極めて高いことから、重要な生理機能を担ったタンパク質であると推定されている。

20

【0004】

アネキシンを用いた生化学的実験では、(1) プロスタグランジン産生の律速酵素である、ホスホリパーゼ A₂ の抑制作用 (Nature 320, 77-81, 1986、J. Biol. Chem. 263, 10, 799-811, 1988)、(2) 血液凝固抑制作用 (Biochemistry 26, 8087-8092, 1987、Biochemistry 27, 6645-6653, 1988、J. Biol. Chem. 265, 17, 420-423, 1990)、(3) 電位依存性のカルシウムチャネル活性、(4) プロテインキナーゼ C の抑制作用 (Eur. J. Biochem. 191, 421-429, 1990、Biochemistry 31, 1886-1891, 1992)、(5) 膜の融合活性などの細胞内外を作用点とする機能 (Cell 55, 1-3, 1988、J. Biol. Chem. 110, 13-25, 1990、J. Cell. Biol. 114, 1135-1147, 1991) が示唆されているものの、作用点を含め実際の生理機能は不明のままであった。

30

【0005】

アネキシン 5 は、各種組織にもっとも豊富に存在するアネキシンのひとつである。上記の機能に加え、アネキシン 5 はタンパク質キナーゼ C 活性及び血液凝固を阻害する (J. Biol. Chem. 265, 17420-17423, 1990、Biochemistry 31, 1886-1891, 1992)。コラーゲンに対する高い親和性が報告されており、基底膜への細胞付着における役割が示唆されている (FEBS Lett 310, 143-147, 1992)。アネキシン 5 は、広く組織間に分布しており、その分布は、細胞種に特異的である (J. Histochem. 39, 1189-1198, 1991、Endocrine 5, 9-14, 1996)。また、アネキシン 5 は卵巣腫瘍のマーカータンパク質として利用可能であり (Gynecol Obstet Invest 32, 107-111, 1991)、アネキシン 5 の自己抗体は何人かの紅斑性狼瘡 (LE: lupus erythematosus) 患者で検出されている (Am. J. Hematol. 47, 56-58, 1994)。こうした観察結果は、アネキシン 5 が、いくつかの重要な細胞機能に関与していることを示唆している。

40

【0006】

本発明者は、アネキシン 5 が下垂体前葉で発現することを報告した (Biochem. Biophys. Res. Commun. 186, 894-898, 1992)。以前、本発明者の研究室にて行った、抗アネキシン 5 又は抗 LH (LH = 黄体形成ホルモン) のいずれかで染色した下垂体組織隣接切片の免疫組織化学的研究では、性腺刺激ホルモン産生細胞上でアネキシン 5 が集約的に発現

50

していた (Cell Tissue Res. 292, 85-89, 1998)。しかし、性腺刺激ホルモン産生細胞
それ自体がアネキシン 5 を合成しているのかはわからなかった。というのは、たとえ性腺
刺激ホルモン産生細胞と比較すれば弱いものであるにしろ、下垂体細胞の大半がアネキシ
ン 5 に対する免疫応答性をもつことが判明しているからである (Cell Tissue Res. 292,
85-89, 1998、Endocr. J. 2, 357-362, 1994)。

【 0 0 0 7 】

下垂体前葉におけるアネキシン 5 の m R N A の発現は、卵巣切除後に増大し、この増大は
エストロゲンの投与によって抑制された (Mol. Cell Endocrinol. 141, 73-78, 1998)。
これらの知見から、本発明者は、性腺刺激ホルモン分泌にアネキシン 5 が果たす役割を提
案し、下垂体性腺刺激ホルモン産生細胞におけるアネキシン 5 の役割について調査した結
果、性腺刺激ホルモン放出ホルモン (G n R H) の刺激作用のもとで性腺刺激ホルモン産
生細胞によってアネキシン 5 の m R N A が発現することを実証し、アネキシン 5 がインピ
トロでの L H 及び卵胞刺激ホルモン (F S H) の放出を刺激することを報告した (Neuroe
ndocrinology 75, 2-11, 2002)。アネキシン 5 の遺伝子及びアミノ酸配列については、
既に報告があり (J. Bio. Chem. 263, 22, 10799-10811, 1988、Gene 149, 2, 253-260,
1994)、それらの配列については、GenBankのデータベースにおいて、アクセション
ナンバー、M 2 1 7 3 1 によって、N C B I のデータベースにおいて、アクセション
ナンバー、N M 0 0 1 1 5 4 によって検索することができる。

10

【 0 0 0 8 】

【発明が解決しようとする課題】

本発明の課題は、アネキシン 5 の生理活性抑制物質及び該生理活性抑制物質を有効成分と
するアネキシン 5 の生理活性抑制剤、特にアネキシン 5 の生理活性を抑制するポリペプチ
ド、該ポリペプチドのポリペプチド誘導體又は修飾ポリペプチドを提供すること、及び該
ポリペプチドをコードする D N A、該ポリペプチドに特異的に結合する抗体及びそれらの
利用方法を提供することにある。

20

【 0 0 0 9 】

【課題を解決するための手段】

本発明者は、アネキシン 5 の生理的機能及び構造について研究の結果、アネキシン 5 のア
ミノ末端側、15 アミノ酸残基からなるアネキシン 5 作用ペプチド配列があることを見
出し、本発明を完成するに至った。この配列は、アネキシン 5 に特異的な配列であり、こ
の配列を含有するポリペプチド誘導體又は修飾ポリペプチドを構築することにより、アネ
キシン 5 の作用を拮抗的に阻害し、アネキシン 5 の生理活性を抑制することができる。

30

【 0 0 1 0 】

例えば、前記するように、アネキシン 5 については、その生理機能研究が進展し、近年本
発明者らによって、このタンパク質が下垂体前葉で、性腺刺激ホルモン (黄体形成ホルモ
ンと卵胞刺激ホルモン) の分泌を著しく刺激することが見い出され、性腺刺激ホルモン産
生細胞における当該ホルモンの合成・放出を調節することが確認されている。この下垂体
性腺刺激ホルモン産生細胞におけるアネキシン 5 の作用に拮抗して、本発明の生理活性抑
制物質を投与することにより、アネキシン 5 の作用を阻害して、その結果として性腺刺激
ホルモン放出ホルモン (G n R H) の作用を抑制することができる。

40

【 0 0 1 1 】

また、本発明においては、本発明のアネキシン 5 における作用特異配列を利用して、該ポ
リペプチド配列に特異的に結合する抗体を作製することにより、該抗体を用いて、アネキ
シン 5 の検出、測定を行うことができる。また、該アネキシン 5 における作用特異配列を
コードする D N A 配列を用いて、該配列のアンチセンスオリゴヌクレオチドを作製する
ことにより、アネキシン 5 の遺伝子の発現を抑制したり、またアネキシン 5 の遺伝子の検出
用プローブとして用いることができる。

【 0 0 1 2 】

すなわち本発明は、配列表の配列番号 1 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、
配列表の配列番号 1 に記載のアミノ酸配列からなるペプチド配列を持ち、かつアネキシン

50

5の続きのペプチド配列とは相違する続きのペプチド配列を持つポリペプチド誘導体、又は配列表の配列番号1に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチドのアミノ基末端をアセチル基で修飾した修飾ポリペプチドからなるアネキシン5の生理活性抑制物質を有効成分とするアネキシン5の生理活性抑制剤(請求項1)からなる。

【0013】

また本発明は、配列表の配列番号1に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチドの1～数個のアミノ酸を、欠失、置換したペプチド配列又は配列表の配列番号1に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド中に1～数個のアミノ酸を付加したペプチド配列を持ち、かつアネキシン5の生理活性抑制作用を有するアネキシン5の生理活性抑制物質を有効成分とするアネキシン5の生理活性抑制剤(請求項2)からなる。

10

【0014】

さらに本発明は、アネキシン5の生理活性抑制が、アネキシン5の性腺刺激ホルモンの合成・放出を調節する生理活性の抑制であることを特徴とする請求項1又は2記載のアネキシン5の生理活性抑制物質を有効成分とするアネキシン5の生理活性抑制剤(請求項3)からなる。

【0015】

【発明の実施の形態】

本発明は、配列表の配列番号1のポリペプチド又は配列表の配列番号1のポリペプチド配列を含むアネキシン5の生理活性抑制物質からなる。該配列番号1のポリペプチド配列は、アネキシン5のアミノ末端側、15アミノ酸残基に相当する。該配列は、アネキシン5の作用ペプチド配列としての機能を有する特異的な配列であり、この配列を含有し、かつアネキシン5の続きの配列とは相違するポリペプチド誘導体又は修飾ポリペプチドを構築することにより、アネキシン5の作用を拮抗的に阻害し、アネキシン5の生理活性を抑制することができる。

20

【0016】

本発明のポリペプチド誘導体としては、機能、合成或いは取り扱いの容易性から、配列番号1の15アミノ酸残基に続いて、数個から数十の適宜のアミノ酸を結合したポリペプチド誘導体を用いることが好ましい。アセチル基等で修飾したポリペプチドとしては、アミノ末端をアセチル基で修飾したポリペプチドが、特に好ましい。

また、本発明は、配列表の配列番号1のポリペプチドの1～数個のアミノ酸を欠失、置換又は付加したポリペプチド配列を含み、かつアネキシン5の生理活性抑制作用を有する、配列表の配列番号1のポリペプチドの変異体のアネキシン5生理活性抑制物質からなる。

30

【0017】

本発明のアネキシン5の生理活性抑制物質はアネキシン5の生理活性抑制剤として使用することができる。本発明のアネキシン5の生理活性抑制物質は、アネキシン5の生理機能を、拮抗阻害的に阻害し、アネキシン5の生理活性を抑制する。例えば、アネキシン5は、視床下部の分泌する性腺刺激ホルモン放出ホルモン(GnRH)の下垂体ゴナドトロフでの作用を媒介することが知られているが、本発明の生理活性抑制物質の投与により、アネキシン5の生理機能を拮抗的に阻害し、性腺刺激ホルモン(LH及びFSH)の合成・放出を抑制することができる。

40

【0018】

本発明のアネキシン5の生理活性抑制物質を、細胞に投与するには、該生理活性抑制物質を注射剤のような形で投与することができる。この場合には、該生理活性抑制物質を水や生理食塩水又はブドウ糖溶液等に溶解させて調製し、必要に応じて薬学的に許容される緩衝剤、保存剤或いは安定化剤を含有させて投与することができる。本発明のアネキシン5の生理活性抑制物質を、アネキシン5が発現されている卵巣、副腎、心臓、肺、甲状腺などの器官に投与して、アネキシン5が関与している生理機能を抑制することができる。

【0019】

本発明のアネキシン5の生理活性抑制物質におけるポリペプチドは、周知のポリペプチドの合成法によって合成することができる。また、該ポリペプチドをコードするDNA配列

50

を用いて遺伝子工学操作によって、製造することもできる。本発明のアネキシン5の生理活性抑制物質である配列表の配列番号1のポリペプチドをコードするDNA配列は、配列表の配列番号2の配列で示される。該配列は、アネキシン5の特異配列を示す。該DNA配列とストリンジェントな条件下でハイブリダイズするアンチセンスオリゴヌクレオチドを構築し、用いることにより、アネキシン5の遺伝子の発現及びアネキシン5の生理活性機能を特異的に抑制することができる。

【0020】

なお、ここで本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドが「DNA配列とストリンジェントな条件下でハイブリダイズする」条件としては、例えば、42でのハイブリダイゼーション、及び1×SSC、0.1%のSDSを含む緩衝液による42での洗浄処理を挙げることができ、65でのハイブリダイゼーション、及び0.1×SSC、0.1%のSDSを含む緩衝液による65での洗浄処理をより好ましく挙げることができる。ハイブリダイゼーションのストリンジェンシーに影響を与える要素としては、該温度条件以外に種々の要素があるが、当業者であれば種々の要素を組み合わせて、前記ハイブリダイゼーションのストリンジェンシーと同等のストリンジェンシーを実現することができる。

10

【0021】

アンチセンスオリゴヌクレオチドを細胞に導入するには、この分野で通常用いられる方法を用いることができる。例えば、アンチセンスオリゴヌクレオチドを、細胞へ直接投与することができる。また、必要に応じて、薬学的に許容される細胞内導入試薬、例えば、リポフェクチン試薬、リポフェクトアミン試薬、DOTAP試薬等と共に投与することができる。また、該DNA配列のアンチセンス鎖の全部又は一部からなる配列を作製して、アネキシン5の遺伝子検出用プローブとして用いることもできる。

20

【0022】

更に、本発明においては、本発明のポリペプチドである配列表の配列番号1のポリペプチドを抗原として用いて、抗体を誘導し、該ポリペプチドに特異的に結合する抗体を産生することができる。該抗体は、モノクローナル抗体として、又は、ポリクローナル抗体として、本発明のポリペプチドを抗原として、常法により作製することができる。該抗体とアネキシン5の抗原抗体反応を用いて、周知の免疫検査法により、アネキシン5の検出、測定を行うことができる。

30

【0023】

【実施例】

以下、実施例により本発明をより具体的に説明するが、本発明の技術的範囲はこれらの例示に限定されるものではない。

(アネキシン5生理活性抑制物質AN-14の調製)

ヒトアネキシン5のcDNA配列(データベース: GenBank アクセションナンバー: M21731 (J. Biol. Chem. 263, 22, 10799-10811, 1988))をもとに、アミノ末端側15アミノ酸残基からなるペプチドの設計・合成を行い、AN-14とした。AN-14は、ヒトアネキシン5のアミノ末端側15アミノ酸残基(配列表配列番号1)を有し、該ペプチドのアミノ末端側(アラニン)をアセチル化したものである。すなわち、Ac-AQVLRGTVTDFPGFDなるペプチド構造を有する。AN-14のMASSデータ、及びHPLCデータを、図1及び図2に示す。

40

【0024】

(AN-14の下垂体初代培養細胞におけるGnRHのLH放出促進作用の抑制)

成熟したメスのウイスター・イマミチ系ラットの下垂体より細胞を分離し(Endocrinology 107, 1095-1104, 1980)、1ウエルあたり 10^5 個の細胞を96ウエルの培養トレーを用いて10%牛胎児血清を含むDMEM培地中で2日間前培養した。実験当日に牛胎児血清を除いた培養液で3時間前培養し、性腺刺激ホルモン放出ホルモン(GnRH: コンセラル)を加えて1時間培養した。実験群には、GnRHに加えてAN-14を $1\mu\text{g}/\text{ml}$ の濃度で加えた。各群とも、 $n=5$ で行った。1時間後に培養液を回収して時間分解蛍光免疫測定法でラットの黄体形成ホルモン(luteinizing hormone: LH)の放出量を

50

測定した(図3)。その結果、GnRHのみの群()と比べ、GnRHにAN-14を添加した群()ではGnRH濃度依存的にLHの放出が抑制されることが明らかになった。

【0025】

(下垂体ゴナドトロフ株化細胞であるL T2細胞の増殖に対するGnRHの抑制効果に対するAN-14の拮抗作用)

下垂体の性腺刺激ホルモン産生細胞(ゴナドトロフ)を腫瘍化して樹立した株化細胞であるL T2細胞(カリフォルニア大学サンディエゴ校のP. Mellon博士より供与)を継代し、コンフルエントの状態に達する前に分離し、直径3.5mmのディッシュに20万個の細胞を播種して10%の牛胎児血清を含むDMEM培地中で培養した。その際、L T2細胞をGnRH未添加群(対照群)、DMEM培地に 10^{-7} MのGnRH(コンセラル)のみを添加した群、GnRHと $1\mu\text{g}/\text{ml}$ のAN-14を添加した群、GnRHと細胞増殖に関わるシグナル伝達因子であるMAPKK(MEK)の抑制剤であるPD98059を添加した群の計4群に分けてそれぞれ培養を行い、4日目に細胞をトリプシンで剥離して顕微鏡観測下で細胞数を数えた(図4)。その結果、GnRHは細胞増殖を抑制し、AN-14はその作用に拮抗することが明らかになった。

10

【0026】

(GnRHのLHサブユニット遺伝子発現に対する促進効果へのAN-14の拮抗作用の観察)

LHプロモーター領域(-797~+5)をルシフェラーゼ遺伝子発現ベクターであるpGL3(Promega社製)に導入し、ホタル・ルシフェラーゼ遺伝子をレポーターとするLHプロモーターレポーターベクター(-797/+5 LH LUC:図5)を作製した。このレポーターベクターをリポフェクション法によりL T2細胞に導入後、42時間の培養を行った。次に、LHプロモーターレポーターベクター導入L T2細胞をそれぞれ、G-群(プロモーターを入れない空のベクターを導入した対照群)、G群(10^{-7} MのGnRH(コンセラル)を添加)、AN0.1+G群(GnRHと $0.1\mu\text{g}/\text{ml}$ のAN-1を添加)、AN1+G群(GnRHと $1\mu\text{g}/\text{ml}$ のAN-14を添加)、AN10+G群(GnRHと $10\mu\text{g}/\text{ml}$ のAN-14を添加)の計5群(各群とも、 $n=5$)にわけ、6時間の培養を行った後、常法により細胞を溶解してルシフェラーゼ活性を測定した(図6)。その結果、GnRHは著しくLHサブユニット遺伝子発現を促進し、AN-14は濃度依存的にGnRHの作用に対して拮抗することが明らかになった。

20

30

【0027】

【発明の効果】

本発明により、アネキシン5の生理活性抑制物質及び該生理活性抑制物質を有効成分とするアネキシン5の生理活性抑制剤を提供することによって、アネキシン5の生理活性を調整することができる。例えば、本発明のアネキシン5の生理活性抑制物質を、アネキシン5が発現している卵巣、副腎、心臓、肺、甲状腺などの器官に投与して、アネキシン5が関与している生理機能を抑制することができる。これによって、例えば、性ホルモンの分泌を抑制して、性ホルモン依存性疾患に対する予防或いは治療を可能とする。

40

また、本発明によって、アネキシン5の特異配列であるポリペプチドをコードするDNA、そのアンチセンスオリゴヌクレオチド、更には本発明のポリペプチドに特異的に結合する抗体を提供することによって、アネキシン5の遺伝子の発現の調整を行ったり、或いはアネキシン5の検出、測定を可能とする。これらはアネキシン5の生理機能の解明に役立つ、かつアネキシン5の生理活性調節にも役立つものであり、アネキシン5に関する機能障害の予防や治療に役立つものである。

【0028】

【配列表】

SEQUENCE LISTING

<120> Bioactive substances of Annexin 5 (AN-14)
 <130> YG2003-24PCT
 <160> 2
 <170> PatentIn version 3.1
 <210> 1
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 1
 Ala Gln Val Leu Arg Gly Thr Val Thr Asp Phe Pro Gly Phe Asp 10
 1 5 10 15
 <210> 2
 <211> 45
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens
 <220>
 <221> misc#feature
 <223> Base Sequence 145-190 of Annexin 5
 <400> 2
 gca cag gtt ctc aga ggc act gtg act gac ttc cct gga ttt gat 45 20
 Ala Gln Val Leu Arg Gly Thr Val Thr Asp Phe Pro Gly Phe Asp
 1 5 10 15

【図面の簡単な説明】

【図1】本発明の実施例において調製された、本発明のアネキシン5の生理活性抑制物質AN-14のMASSスペクトル分析の結果を示す図である。

【図2】本発明の実施例において調製された、本発明のアネキシン5の生理活性抑制物質AN-14のHPLCの結果を示す図である。(紫外線波長：210nm、溶出：A溶液：0.1% TFA / H₂O、B溶液：0.1% TFA / ACN、グラジエント：10% ~ 60%のB溶液で30分間、流速：1.0ml / 分)

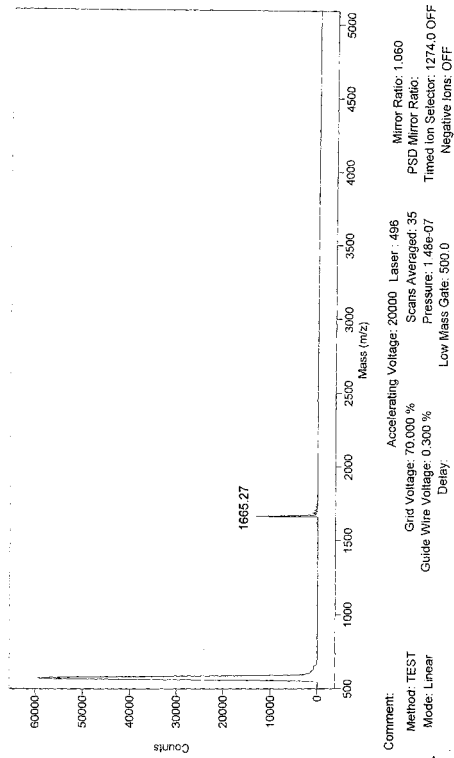
【図3】ラット下垂体初代培養細胞におけるGnRHのLH放出量に対するAN-14の影響を時間分解蛍光免疫測定法により測定した結果を示す図である。 30

【図4】下垂体ゴナドトロフ株化細胞であるL T2細胞の増殖に対するGnRHの抑制効果に対するAN-14の拮抗作用を示す図である。

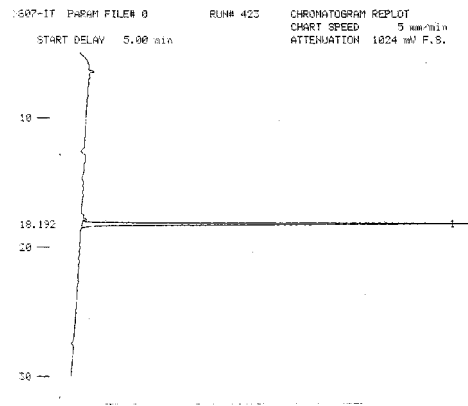
【図5】LHプロモーター領域(-797 ~ +5)をルシフェラーゼ遺伝子発現ベクターであるpGL3に導入して作製した、LHプロモーターレポーターベクターを示す図である。

【図6】GnRHのLHサブユニット遺伝子発現に対する促進効果へのAN-14の拮抗作用をルシフェラーゼ活性を測定することにより解析した結果を示す図である。

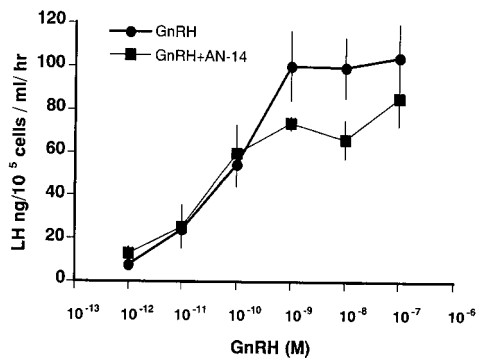
【 1 】



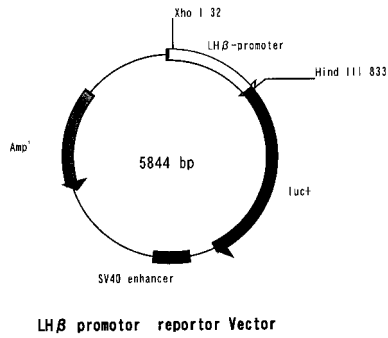
【 2 】



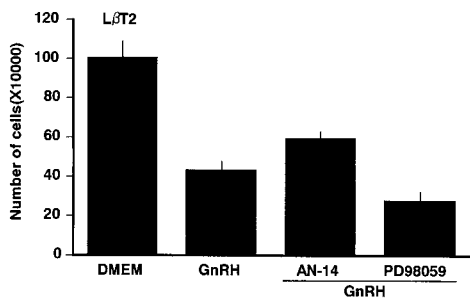
【 3 】



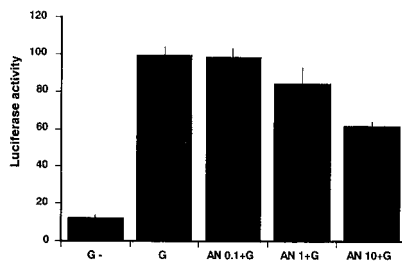
【 5 】



【 4 】



【 6 】



フロントページの続き

(56)参考文献 特開平02-000496(JP,A)

Molecular Cell, 2000年, vol.5, p.831-840

Gene, 1994年, vol.149, p.253-260

The Journal of Biological Chemistry, 1988年, vol.263, p.10799-10811

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

C12N1/00-15/00

CAplus(STN)

REGISTRY(STN)

BIOSIS/WPI(DIALOG)

GenBank/EMBL/DDBJ/GeneSeq

SwissProt/PIR/GeneSeq

PubMed

JSTPlus(JDreamII)