

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公開特許公報(A)

(11) 特許出願公開番号

特開2004-8055

(P2004-8055A)

(43) 公開日 平成16年1月15日(2004.1.15)

(51) Int. Cl.⁷

C12N 15/09

C07K 14/47

F I

C12N 15/00

Z N A A

C07K 14/47

テーマコード (参考)

4B024

4H045

審査請求 有 請求項の数 5 O L (全 12 頁)

(21) 出願番号 特願2002-164694 (P2002-164694)

(22) 出願日 平成14年6月5日 (2002.6.5)

(71) 出願人 391016923

北海道大学長

北海道札幌市北区北8条西5丁目8番地

(74) 代理人 100072051

弁理士 杉村 興作

(72) 発明者 三輪 聡一

北海道札幌市東区北26条東3丁目1番1

6-301号

(72) 発明者 滝川 修

北海道札幌市北区北23条西13丁目10

-401号

(72) 発明者 長井 和彦

北海道札幌市北区新琴似9条4丁目1-1

8

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 輸送活性を有するポリペプチド及びこれをコード化する遺伝子

(57) 【要約】 (修正有)

【課題】 カルニチンおよびアシルカルニチンを細胞内へ輸送するOCTN2の活性を増強させる有効な手段の提供。

【解決手段】 本発明にかかる遺伝子は、以下の(a)又は(b)のDNA、すなわち、(a) プタ脳由来の特定の塩基配列からなること、又は、(b) (a)の塩基配列からなるDNAとストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつ、OCTN2のカルニチン又はアシルカルニチン輸送活性を有するタンパク質をコード化することを特徴とする。

【選択図】 なし

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

以下の (a) 又は (b) の DNA からなる遺伝子。

(a) 配列表の配列番号 1 に示す、塩基配列 1 - 2928 で示される塩基配列からなることを特徴とする DNA。

(b) (a) の塩基配列からなる DNA とストリンジेंटな条件下でハイブリダイズし、かつ、OCTN2 のカルニチン又はアシルカルニチン輸送活性を有するタンパク質をコード化する DNA。

【請求項 2】

配列表の配列番号 1 に示す、塩基配列 1 - 2928 で示される塩基配列の一部が欠失、置換若しくは付加された塩基配列からなり、かつ、OCTN2 のカルニチン又はアシルカルニチン輸送活性を有するタンパク質をコード化することを特徴とする DNA。 10

【請求項 3】

配列表の配列番号 1 に示す、塩基配列 1 - 2928 で示される塩基配列の一部又は全部を、化学又は物理的に修飾して得られる塩基配列からなり、かつ、OCTN2 のカルニチン又はアシルカルニチン輸送活性を有するタンパク質をコード化することを特徴とする DNA。

【請求項 4】

以下の (a) 又は (b) に示すアミノ酸配列からなることを特徴とする、ポリペプチド。

(a) 配列表の配列番号 2 に示す、アミノ酸番号 1 - 146 で示されるアミノ酸配列からなることを特徴とする、ポリペプチド。 20

(b) OCTN2 のカルニチン又はアシルカルニチン輸送活性を有し、(a) のアミノ酸の一部が欠失、置換若しくは付加された、ポリペプチド。

【請求項 5】

配列表の配列番号 2 に示す、アミノ酸番号 1 - 146 で示されるアミノ酸配列の一部又は全部を、化学的又は物理的に修飾して得られるポリペプチドからなり、かつ、OCTN2 のカルニチン又はアシルカルニチン輸送活性を有することを特徴とするポリペプチド。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】 30

本発明は、新規ポリペプチド及びそれをコード化する遺伝子に関し、特に、カルニチン及び/又はアシルカルニチン輸送分子である有機性陽イオン輸送分子 (OCTN2) を活性化させる新規ポリペプチド及びそれをコード化する遺伝子に関する。

【0002】

【従来の技術】

カルニチンはミトコンドリア内における長鎖脂肪酸の代謝に必須の分子である。細胞内の脂肪酸 (アシル CoA) は、カルニチンと結合してアシルカルニチンとなって初めてミトコンドリア内膜を通過できるようになり、ミトコンドリア内において酸化を受け、エネルギーが産生される [Bremer, J., Carnitine - Metabolism and Functions. Physiol. Rev., 63, 1420 - 1480 (1983)]. 40

【0003】

また、カルニチンが全身性に欠乏すると、低血糖や高アンモニア血症など Reye 症候群症状や心肥大を来す [Wang, Y., et al., Mutations in the organic cation/carnitine transporter OCTN2 in primary carnitine deficiency. Proc. Natl. Acad. Sci., USA., 96, 2356 - 2360 (1999)]. 一方、長期にわたる原因不明の強い全身疲労・倦怠感を主訴とする慢性疲労症候群の患者では、血清アシルカルニチンレベルが低下し、同時に脳へのアセチルカルニチン取り込みも低下しており、アセチルカルニチンの投与でその症状が改 50

善する。

【0004】

さらに、アセチルカルニチンは興奮性の神経伝達物質の生合成にも利用される [倉恒弘彦 慢性疲労症候群の病因と治療, 111-118頁, 疲労の科学(井上正康, 倉恒弘彦, 渡辺恭良編), 講談社サイエンティフィク, (2001)]。

【0005】

このように細胞のエネルギー代謝や神経伝達物質生合成において重要なカルニチンやアセチルカルニチンは、有機性陽イオン輸送分子(以下OCTN2ともいう。)で輸送される [Tamai, I. et al., Molecular and functional identification of sodium ion-dependent, high affinity carnitine transporter OCTN2. J. Biol. Chem., 273, 20378-20382 (1998)]。 10

【0006】

【発明が解決しようとする課題】

しかしながら、有機性陽イオン輸送分子(OCTN2)は、その活性調節機構が不明であるため、OCTN2を標的にした医薬品開発の障害となっている。

【0007】

すなわち、カルニチン又はアセチルカルニチン欠乏は重篤な病態を惹起し、これらを補うことで症状が著しく改善されるが、その活性調節機構が不明であるため、有用な治療薬の提供を困難としているという問題を有する。それゆえ、活性調節機構を明らかにできれば、カルニチンおよびアセチルカルニチン輸送増強遺伝子治療薬、疲労回復剤のスクリーニングシステム、及び神経伝達物質生合成促進剤のスクリーニングシステムの構築に多大な利益をもたらす。しかし、かかる有機性陽イオン輸送分子(OCTN2)の活性増強手段について、有効な結果が得られていない。 20

【0008】

そこで、本発明の目的は、カルニチンおよびアシルカルニチン(アセチルカルニチンなどを含む。)を細胞内へ輸送するOCTN2の活性を増強させる有効な手段を提供することにある。本発明は、カルニチンおよびアシルカルニチンの細胞内への取り込みを効率的に促進させる薬剤の開発など、カルニチン欠乏症や慢性疲労症候群に対する新治療法の開発に有用である。 30

【0009】

【課題を解決するための手段】

上記目的を達成するために、発明者らは、カルニチンおよびアシルカルニチンを輸送するOCTN2の活性を増強する分子に着目して鋭意検討した結果、OCTN2に部分的に相同性を有する小分子をコード化する新規遺伝子を単離し、本発明を完成するに至った。

【0010】

本発明の遺伝子は、以下の(a)又は(b)のDNAからなることを特徴とする。すなわち、(a)配列表の配列番号1に示す、塩基配列1-2928で示される塩基配列からなることを特徴とするDNA。 40

(b)(a)の塩基配列からなるDNAとストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつ、OCTN2のカルニチン又はアシルカルニチン輸送活性を有するタンパク質をコード化するDNA。

【0011】

また、本発明の遺伝子は、配列表の配列番号1に示す、塩基配列1-2928で示される塩基配列の一部又は全部を、化学又は物理的に修飾して得られる塩基配列からなり、かつ、OCTN2のカルニチン又はアシルカルニチン輸送活性を有するタンパク質をコードすることを特徴とする。

【0012】

また、本発明の遺伝子は、配列表の配列番号1に示す、塩基配列1-2928で示される 50

塩基配列の一部が欠失、置換若しくは付加された塩基配列からなり、かつ、OCTN2のカルニチン又はアシルカルニチン輸送活性を有するタンパク質をコード化することを特徴とする。

【0013】

また、本発明のポリペプチドは、以下の(a)又は(b)に示すアミノ酸配列からなることを特徴とする。すなわち、(a)配列表の配列番号2に示す、アミノ酸番号1-146で示されるアミノ酸配列からなることを特徴とする、ポリペプチド。(b)OCTN2のカルニチン又はアシルカルニチン輸送活性を有し、(a)のアミノ酸の一部が欠失、置換若しくは付加された、ポリペプチド。

【0014】

また、本発明のポリペプチドは、配列表の配列番号2に示す、アミノ酸番号1-146で示されるアミノ酸配列の一部又は全部を、化学的又は物理的に修飾して得られるポリペプチドからなり、かつ、OCTN2のカルニチン又はアシルカルニチン輸送活性を有することを特徴とする。

【0015】**【発明の実施の形態】**

本発明の遺伝子は、配列表の配列番号1において塩基配列1-2928で示される塩基配列からなるDNA、又は当該塩基配列からなるDNAとストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつ、OCTN2のカルニチン又はアセチルカルニチンなどのアシルカルニチン輸送活性を有するタンパク質をコード化するDNA、からなる。本発明の遺伝子は、適当な発現ベクターに結合させることによって、OCTN2のカルニチン又はアセチルカルニチンなどのアシルカルニチン輸送活性を有するタンパク質を発現し得る。さらに、本発明の遺伝子は、OCTN2のカルニチン又はアシルカルニチン輸送活性を有する類似タンパク質を探索するプローブとして使用することができる。

【0016】

本発明の遺伝子を得るには、まず、脊椎動物等の脳、腎臓、睾丸等より、RNAを抽出し、アフィニティークロマトグラフィーなどの常法を用いて該RNAからmRNAを精製することから始まる。

【0017】

得られたmRNAを逆転写酵素で逆転写することによりcDNAを得ることができる。当該cDNAから目的とするタンパク質(OCTN2のカルニチン又はアセチルカルニチンなどのアシルカルニチン輸送活性を有するタンパク質)を発現し得る遺伝子をスクリーニングするには、例えば、短時間に探索することができるという観点から、PCR法等の増幅法を利用するのが好ましい。

【0018】

PCR法に用いるプライマーは、既知のOCTN2に共通する配列を参考にして設計、合成することができる。逆転写酵素により得たcDNAを鋳型として上記プライマーにより、目的とするcDNA断片を増幅することができる。

【0019】

また、cDNAからのスクリーニングを常法のコロニー又はプラークハイブリダイゼーション等により行うこともできる。

【0020】

目的とするcDNAの配列決定は、ターミネータ法等の常法を利用して行うことができる。

【0021】

また、遺伝子組み換え技術によれば、基本となるDNAの特定の部位に、当該DNAの基本的な特性を変化させることなく、人為的に変異を起こすことができる。本発明により提供される天然の塩基配列を有する遺伝子に関しても、同様に人為的に挿入、欠失、置換を行うことにより、天然の遺伝子と同様の或いは改善された特性を有するものとするのが可能であり、本発明は、そのような変異遺伝子を含むものである。

10

20

30

40

50

【0022】

すなわち、本発明の遺伝子は、配列表の配列番号1に示す遺伝子の一部が欠失、置換若しくは付加された遺伝子であってもよい。

【0023】

遺伝子の一部が欠失、置換若しくは付加された遺伝子とは、配列番号1に示す塩基配列において10個以下、好ましくは7個以下、更に好ましくは3個以下の塩基が欠失、置換若しくは付加された配列を有する遺伝子である。また、そのような遺伝子は、配列表の配列番号1に示す遺伝子と90%以上、好ましくは、95%以上、更に好ましくは99%以上の同一性を有する。また、当該遺伝子は、ストリンジェントな条件下で、配列表の配列番号1に示す遺伝子とハイブリッドを形成する。こうした遺伝子もOCTN2のカルニチン又はアセチルカルニチンなどのアシルカルニチン輸送活性を有する限り、本発明の遺伝子に含まれる。

10

【0024】

また、本発明の遺伝子は、配列表の配列番号1に示す、塩基配列1-2928で示される塩基配列の一部又は全部を、化学又は物理的に修飾して得られる塩基配列からなり、かつ、OCTN2のカルニチン又はアセチルカルニチンなどのアシルカルニチン輸送活性を有するタンパク質をコード化することを特徴とする。

【0025】

かかる遺伝子であっても配列番号1に示す遺伝子同様に、OCTN2のカルニチン又はアシルカルニチン輸送活性を有するからである。化学又は物理的修飾としては、塩基のメチル化等を挙げることができる。これらの修飾は、常法に従って行うことができる。

20

【0026】

また、本発明のポリペプチドは、以下の(a)又は(b)に示すアミノ酸配列からなることを特徴とする。すなわち、(a)配列表の配列番号2に示す、アミノ酸番号1-146で示されるアミノ酸配列からなることを特徴とする、ポリペプチド。(b)OCTN2のカルニチン又はアシルカルニチン輸送活性を有し、(a)のアミノ酸の一部が欠失、置換若しくは付加された、ポリペプチド。

【0027】

遺伝子の一部が欠失、置換若しくは付加された遺伝子とは、配列番号1に示す塩基配列において10個以下、好ましくは7個以下、更に好ましくは3個以下の塩基が欠失、置換若しくは付加された配列を有する遺伝子である。また、そのような遺伝子は、配列表の配列番号1に示す遺伝子と90%以上、好ましくは、95%以上、更に好ましくは99%以上の同一性を有する。

30

【0028】

また、本発明のポリペプチドは、配列表の配列番号2に示す、アミノ酸番号1-146で示されるアミノ酸配列の一部又は全部を、化学的又は物理的に修飾して得られるポリペプチドからなり、かつ、OCTN2のカルニチン又はアシルカルニチン輸送活性を有することを特徴とする。化学的又は物理的に修飾した場合であっても、OCTN2のカルニチン又はアセチルカルニチンなどのアシルカルニチン輸送活性を有する限り、本発明のポリペプチドに含まれる。化学的又は物理的修飾の例としては、メチル化、アミド化などのN末端修飾、C末端修飾等を挙げることができる。これらの修飾を常法に従って行うことができる。

40

【0029】

また、本発明の活性化因子は、請求項4又は5項に記載のポリペプチドを含有することを特徴とする。本発明の活性化因子は、本発明のポリペプチドを有効的な量で含有する。

【0030】

【実施例】

ここで、本発明の一実施例を説明するが、本発明は、下記の実施例に限定して解釈されるものではない。また、本発明の要旨を逸脱することなく、適宜変更することが可能であることは言うまでもない。

50

【0031】

実施例 1

まず、本発明の配列番号 1 に示される DNA、及び本発明の配列番号 2 に示されるポリペプチドの精製を試みた。7 10 週令の雄 Wistar ラットの脳から抽出精製して得られた poly (A)⁺ mRNA から、GIBCO BRL 社の Superscript plasmid system を使用して cDNA ライブラリーを作製した。次にこの cDNA ライブラリーを Stratagene 社の Zap express kit を使用して、ファージ cDNA ライブラリーを作製した。この cDNA ライブラリーをラット OCTN2 cDNA [Wu et al., Functional characteristics and tissue distribution pattern of organic cation transporter 2 (OCTN2), an organic cation/carnitine transporter. J. Pharmacol. Exp. Ther. 290, 1482-1492 (1999)] の部分塩基配列、すなわち、25 から 375 番目の配列をプローブに用いた ブラクハイブリダイゼーション法によりスクリーニングを行った。具体的には、5 x SSC、5 x デンハルト試薬、0.1 % SDS、30 % フォルムアミド、50 mM Na-リン酸緩衝液 (pH 6.5、100 µg/ml 変成サケ DNA を含む溶液中、55 °C で 16 時間、ハイブリダイゼーションを行った。この条件下で、2 x 10⁶ 個のブラクから成るラット脳 cDNA ライブラリーのスクリーニングを行い、陽性ブラクを得、各クローンについて更にハイブリダイゼーションを繰り返すことによりクローンを均一化した。最終的にヘルパーファージを反応させ cDNA を組み込んだファージミドベクター (pBK-CMV) を切り出すことにより OCTN2 と相同性を有する cDNA クローン、2b-1 を得た。2b-1 cDNA クローンの塩基配列を ABI PRISM 310 Genetic Analyzer 及び Li-COR DNA シクエンサーを用いて決定したところ、本 cDNA クローンは全長が 2928 kb からなる塩基配列 (配列番号 1) を有し、146 個のアミノ酸配列 (配列番号 2) からなる新しいタンパク質をコードしていた。

【0032】

OCTN2 は N 末端および C 末端が細胞内に存在する 12 回膜貫通型構造をしていると推定されている [Tamai, I. et al., Molecular and functional identification of sodium ion-dependent, high affinity carnitine transporter OCTN2. J. Biol. Chem., 273, 20378-20382 (1998)]。2b-1 クローンがコードするタンパク質は OCTN2 に共通の N 末端側の第 1 膜貫通領域 (-LIFFLLSASII-) を有していることから、1 回膜貫通型の膜タンパク質として細胞膜に存在していると予想された。

【0033】

次に 2b-1 遺伝子発現の組織分布を調べるためにノーザンハイブリダイゼーション分析と RT-PCR を以下のようにして行った。全 RNA をラットの組織からセパゾール RNAI (nacalai tesque 社製) で抽出し、GENE E LUTE mRNA Miniprep Kit (Sigma 社製) を用いて得られた poly (A)⁺ RNA (30 µg) をホルムアルデヒドを含有するアガロースゲルで分離し、ニトロセルロース膜 (Schleicher & Schuell 社製) に転写した。プローブは 2b-1 cDNA の 0.2 kb PCR 産物 (18-212 位) を使用した。³²P 標識は、DNA labelling kit (タカラ社製) を使用した。ハイブリダイゼーションは 20 mM リン酸ナトリウム緩衝液 (pH 6.5) / 5 x SSC / 0.1 % SDS / 5 x デンハルト試薬 / 0.01 % 超音波処理済鮭精子 DNA / 50 % フォルムアミド / 10 % デ硫酸キストランを含有する溶液中、42 °C で、16 時間実施した。ハイブリダイゼーション後、膜を 2 x SSC / 0.1 % SDS を用いて 30 分間、25 °C で洗浄し、続けて、0.1 x SSC / 0.1 % SDS を

用いて1時間、65℃で洗浄した。放射能はBAS2000(フジ写真フィルム社製)で測定した。RT-PCRは、各1μgのpoly(A)⁺RNAから逆転写酵素SuperScript II(GIBCO-BRM社製)を用いて合成したcDNAを、5'-CCTCACGCCCTGGGTGTCTTTG-3'(塩基配列1の18-41)のセンスプライマーと5'-CCCGCTGGGAATCTGAAGAC-3'(塩基配列1の193-212)のアンチセンスプライマーを用いて増幅した。増幅は、TaqDNA polymerase(Promega社製)を用い、94℃15秒間、57℃30秒間、72℃45秒間で25回行った。増幅されたcDNAは2%のアガロースゲルで分離した後、エチジウムブロマイドで染色した。ノーザンブロット分析とRT-PCRの結果を図1に示す。2b-1 mRNAは、脳、肺、心臓、小腸、大腸、腎臓、睪丸、副睪丸、筋肉などに発現していたが、肝臓、脾臓、胃のレベルは検出限界以下であった。

【0034】

次にOCTN2のアセチルカルニチン輸送活性に与える2b-1の影響を検討した。具体的には、COS-7細胞(培養液:90%DMEM/10%FCS)を24-ウェルプレートで、1ウェル当り、 1×10^5 個/mlの細胞密度で24時間培養した後、総量で0.3μgのプラスミドを8μlのPolyfect(QIAGEN社)と混合して添加してトランスフェクションした。48時間培養後、細胞を1mlのNa含有OCTN2輸送活性測定用緩衝液[125mM NaCl/4.8mM KCl/5.6mM D-glucose/1.2mM CaCl₂/1.2mM KH₂PO₄/1.2mM MgSO₄/25mM HEPES, pH 7.4(以下TBと略称)][Tamai, I. et al., Molecular and functional identification of sodium ion-dependent, high affinity carnitine transporter OCTN2. J. Biol. Chem., 273, 20378-20382(1998)]で洗浄した後、0.2mlのTBを加えて、10分間37℃でプレインキュベーションした後、10μM(最終濃度5μM)の¹⁴C-アセチルカルニチンを含む0.2mlのTBを加えて取り込み反応を開始した。37℃で1時間反応後、氷冷した1mlのTBで細胞を2回洗浄して反応を停止させ、0.5mlの0.2N NaOH/1%SDSで細胞を可溶化し、細胞内に取り込まれた¹⁴C-アセチルカルニチン量を液体シンチレーションカウンターで測定した。2b-1単独では、アセチルカルニチンの輸送活性を示さなかったが、図2に示すようにOCTN2と同時に発現させると、その輸送活性は2倍以上に増強された。

【0035】

当該輸送活性の増強効果が、本発明の2b-1に起因するものであるか否かを確実にするためOCTN1を代わりに用いて比較実験を行った。その結果、図2に示すように、この増強活性は、2b-1に特異的であり、別の有機性陽イオン輸送分子、例えば、OCTN1[Wu et al.: Structural and functional characteristics and tissue distribution pattern of rat OCTN1, an organic cation transporter, cloned from placenta]には観察されなかったことが判明した。

【0036】

【発明の効果】

本発明のポリペプチド、遺伝子、及び活性化因子によれば、当該遺伝子等を、たとえば、アデノウイルスなど遺伝子治療で汎用されるベクターに組み込んで使用することにより、OCTN2の活性化を行うことが可能であるという有利な効果を奏する。これによって、カルニチン欠乏症や慢性疲労症候群を治療することが可能となるという有利な効果も奏する。

【0037】

10

20

30

40

50

また、本発明によれば、輸送活性因子のポリペプチド量を増大させ、その結果としてOCTN2活性が増加し、カルニチン欠乏症や慢性疲労症候群を治療する新規薬剤の開発も可能となるという有利な効果を奏する。

【0038】

【配列表】

<110>北海道大学長

<120>輸送活性を有するポリペプチド及びこれをコード化する遺伝子

<130>U2002P037

<160>2

<210>1

<211>2928

<212>核酸

<213>ラット脳

<400>1

```

ggcggagicc aacatggcct cacgccctgg gtgtctttgg cactggcggga gctcaggcgg 60
gcgggaggaa ctcacgagct tgttcgigtg gaaaacgtct cccgacgctt tctcgcactc 120
ctctiggacc agtgactggg gtccggggcg cacgcgcata gccaaaccgt gcgtctccca 180
ctgcgccccaa gtgtcttcag attcccagcg ggacccggtg gactgcctac tatatgccig 240
actacgacga gttgaccgcc tttctggggcg agtggggggcc ctccagcgc ctcactttct 300
tcctgctcag tgccagcatt atcccctaat gccttactgg gttgtcagcc gtgttccctga 360
cggcgagicc ggagcacctg tgccctggtag cagacaccgt gaacctgagc agcgcgtggc 420
gcaaccacag cctcccgttg gagatgaagg acggacggca ggtgcctcat aaatgccgcc 480
gctaccgact ggccaccatt gccaacctct ctgctctggg actggagcca ggagaggatg 540
tggacctgaa gcagctggaa ctggagaact gcctggatgg ctgggaatac agcaaggagg 600
cttccctgtc caccatcgtg acagaggaac agaaattctt tccaagtcaa ttcgaattat 660
attcggcacc ttaggaattt gcatatitit tgcatttggc ttcattggcgc tgcctctggt 720
tgcatacttc atcagagact ggaggatgct gctgatggca attactttac caggggtgct 780
gtgtggggct ctctgggtgt tcatccctga gtccccgat ggctcatctc tcaaggccga 840
gttaaagagg cagaggatg catccgcaa gcctgccaat tcaatgggat tgttgcgcct 900
tccactatct tcgatcccag tgagaccact aacttacaag atggaaatgc caaaaatact 960
cagtcgcacc acatttatga tctggctcga acacggaata tcaggatcct caccatcatg 1020
tccataatcc tgtggctgac catacagtg ggtacttctg gactttctct tgacactcct 1080
aacttgaatg ggaacatcta cgtgaatggc ttctacttgg cagctgttga agtccctgcc 1140

```

10

20

30

40

tatgtgttgg cctggctatt gctacagcat gtgacccggc gttattccat ggcttggttc 1200
 cttttcttgg gtggcagtgt ccttctcata ttgcaacttg tgccttcaga tttactttac 1260
 ttgtccactg cccigtgat ggtgggcaag ttiggaatca cctctgccta tccatggtc 1320
 tatgtgtaca cggccgagct gtaccccact gtggtcagaa acatgggtgt gggggtcagc 1380
 tccacagcat cccgccttgg cagcatcctg tctccctact ttgtctacct tggtgccat 1440
 gatgccacc tgccttatai cgtcatggga agtctgacca tcttgacagc tatcactact 1500
 ttctcttcc cagagagctc tggagtcca cticcagaca ccattgacga gatgcaaaaag 1560
 gtcaagcga taagacgagt gtcagccatg agtaagaaag ggtctgcacc agattctaaa 1620
 agaaaagict ccacatccta aaggctitta acacctgggti cagaagctaa aaaactgaac 1680
 tgaaaacctg catgctgtca gaaatactgt gagtgtccca gggctttctg ttctgttgac 1740
 ctgtgtcta acaagcatct gtccgaaga gccaccttcc tccatggcca ccaaggctaa 1800
 cgacacacag cttgcacatc ccatacagt gtggctctggg gccctcccaga gaagttactg 1860
 agtctctiga agccgtggga ctggaagac tgagaaacat ctgctagaca tgctttgtta 1920
 tccctggaaga cctgatagtc acagacagaa cagcaggctt gttcccctcc ttactaact 1980
 gaagaacta caggaaagga ataaaagtga ctcagtgggtg gtgtgttgtt ttggatggca 2040
 cagggccctg gacatgatca aatgcaccaa aaagaaacaa aaaaaaagt cttttcagaa 2100
 aataaatgat ttcatggata gtttgattc ttgtctttc tcagttaaaa agttttaact 2160
 gtgatgctct taactcatga cagaacacaa gaccaagggg acctaaagga aactgagggtg 2220
 aggcctggac ataaagcaga cagtgtgtgg actgtggctg ctctgcccct cagccagctg 2280
 tactgtgtgt gcttggtcag ggtcctgcct tgcctcagacc ctgtgagaaa cctactgttg 2340
 aggccaggct tggcctccac tgctgtgtaa atcagaactc aggcctgccag acacttggct 2400
 gtgtcttgag ggaaatgtat ggataacaga gtgtcccctc cttcttccag cactgtcatg 2460
 ggagtttgc atctgtgtt gtgtctcaag ctatttgtcc tttagcagaa actgcctgtg 2520
 ttcccagct cagggttacc ctgactgggtg tgcagttgcc aacatacatg gccctcccag 2580

10

20

30

tcttaagcca ctgagctgc cctgagtgcc aaaatacta acaccatgct tcttcctttt 2640
 acaatgcgta atcatgagga aaattacaag aaagaaatgt aaattgtgtt cacagtctct 2700
 cagtcgciga ctgcggtcac gtcacatcgg tggggatttc atgttcagtg gttgtcttct 2760
 cttctgatta tgttgccatg gtgctccaaa agcacacgct tcacactctt aaaatgcaaa 2820
 acaaacacaa aaaccctgat tttgtgaaaa ctactgaagt gccttgggca atgaaatggt 2880
 ttttaataaac tgatttttta aaaaaataa taaaaaaaa aaaaaaaaa 2928

10

<2 1 0>2

<2 1 1>1 4 6

<2 1 2>アミノ酸

<2 1 3>ラット脳

<4 0 0>2

Met Pro Asp Tyr Asp Glu Leu Thr Ala Phe Leu Gly Glu Trp Gly Pro

20

1 5 10 15

Phe Gln Arg Leu Ile Phe Phe Leu Leu Ser Ala Ser Ile Ile Pro Asn

20 25 30

Gly Phe Thr Gly Leu Ser Ala Val Phe Leu Thr Ala Ser Pro Glu His

35 40 45

Arg Cys Leu Val Pro Asp Thr Val Asn Leu Ser Ser Ala Trp Arg Asn

50 55 60

30

His Ser Ile Pro Leu Glu Met Lys Asp Gly Arg Gln Val Pro His Lys

65 70 75 80

Cys Arg Arg Tyr Arg leu Ala Thr Ile Ala Asn Phe Ser Ala Leu Gly

85 90 95

Leu Glu Pro Gly Glu Asp Val Asp Leu Lys Gln Leu Glu Leu Glu Asn

100 105 110

Cys Leu Asp Gly Trp Glu Tyr Ser Lys Glu Val Phe Leu Ser Thr Ile

115 120 125

40

Val Thr Glu Glu Gln Lys Phe Phe Pro Ser Gln Phe Glu Leu Tyr Ser

130 135 140

Pro Pro

145

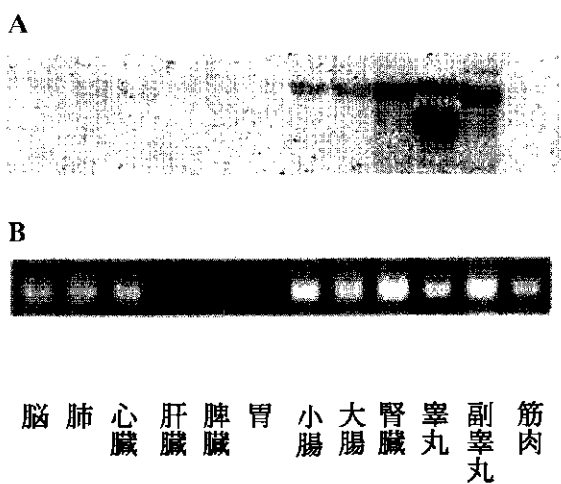
50

【図面の簡単な説明】

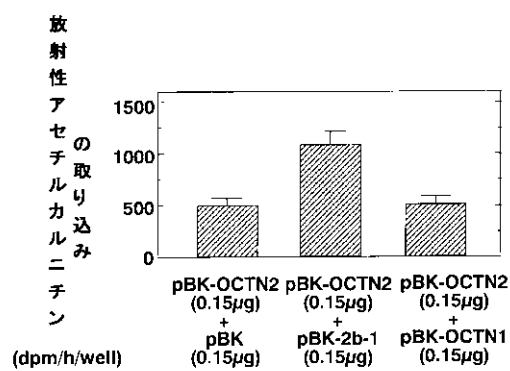
【図1】 2b-1 遺伝子発現のノーザンブロット分析 (A) と RT-PCR (B) の結果を示す。

【図2】 OCTN2 のアセチルカルニチン輸送活性に対する 2b-1 の効果を調べた結果を示す。

【図1】



【図2】



フロントページの続き

Fターム(参考) 4B024 AA01 BA80 CA04 DA02 EA04 GA11 HA17
4H045 AA10 AA30 BA10 CA45 EA21 EA27 FA74