

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第4070081号
(P4070081)

(45) 発行日 平成20年4月2日(2008.4.2)

(24) 登録日 平成20年1月25日(2008.1.25)

(51) Int.Cl.

F I

C07K	14/80	(2006.01)	C07K	14/80	ZNA
A61K	38/00	(2006.01)	A61K	37/02	
A61P	3/06	(2006.01)	A61P	3/06	
A61P	3/10	(2006.01)	A61P	3/10	
A61P	7/04	(2006.01)	A61P	7/04	

請求項の数 8 (全 18 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2002-58086 (P2002-58086)
 (22) 出願日 平成14年3月4日(2002.3.4)
 (65) 公開番号 特開2003-252900 (P2003-252900A)
 (43) 公開日 平成15年9月10日(2003.9.10)
 審査請求日 平成17年1月27日(2005.1.27)

(73) 特許権者 899000057
 学校法人日本大学
 東京都千代田区九段南四丁目8番24号
 (74) 代理人 100101591
 弁理士 川俣 静子
 (74) 代理人 100097191
 弁理士 實川 栄一郎
 (72) 発明者 奥 忠武
 東京都千代田区九段南四丁目8番24号日
 本大学内
 (72) 発明者 西尾 俊幸
 東京都千代田区九段南四丁目8番24号日
 本大学内

最終頁に続く

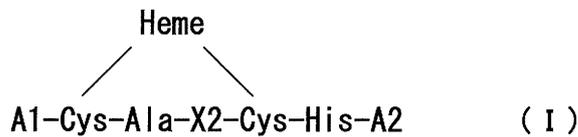
(54) 【発明の名称】 新規ヘムペプチド

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

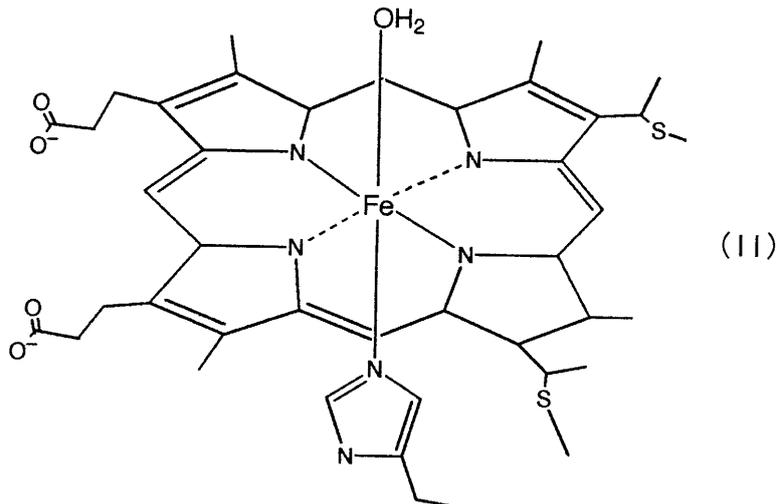
次式 I で表されるヘムペプチド。

【化1】



(式中、X2はAla またはGlnを表し；Hemeは次式：

【化 2】



10

で表されるヘム核を表し；X2がAlaを表すとき、A1がアミノ酸配列Phe Ser Ala Asnからなるペプチド鎖を表し且つA2がアミノ酸配列Ala Gly Gly Asn Asn Alaからなるペプチド鎖を表すか、またはA1がアミノ酸配列Val Phe Ser Ala Asnからなるペプチド鎖を表し且つA2がアミノ酸配列Ala Gly Gly Asn Asn Ala Ile Met Pro Asp LysまたはAla Gly Gly Asn Asn Ala Ile Met Pro Asp Lys Thr Leu Lys Lys Asp Val Leu Gluからなるペプチド鎖を表し；X2がGlnのとき、A1が水素原子を表し且つA2がアミノ酸配列Thr Val Glu Lysからなるペプチド鎖を表すか、A1がアミノ酸配列Val Gln Lysからなるペプチド鎖を表し且つA2がアミノ酸配列Thr Val Glu Lys Gly Gly Lys His Lys Thr Gly Pro Asn Leuからなるペプチド鎖を表すか、またはA1がアミノ酸配列Gly Asp Val Glu Lys Gly Lys Lys Ile Phe Val Gln Lys からなるペプチド鎖を表し且つA2がThr Val Glu Lys Gly Gly Lys His Lys Thr Gly Pro Asn Leu His Gly Leu Phe Gly Arg Lys Thr Gly Gln Ala Pro Gly Phe Thr Tyr Thr Asp Ala Asn Lys Asn Lys Gly Ile Thr Trp Lys Glu Glu Thr Leu Metからなるペプチド鎖を表すか、またはA1がアミノ酸配列Lys Gly Lys Lys Ile Phe Val Gln Lysからなるペプチド鎖を表し且つA2がアミノ酸配列Thr Val Gluからなるペプチド鎖を表す)

20

30

【請求項 2】

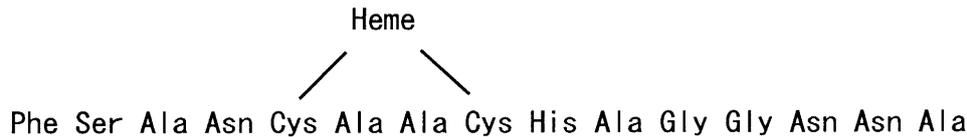
上記式1中、X2及びHemeは上記の意味を表し、X2がAlaのとき、A1がアミノ酸配列Phe Ser Ala Asnからなるペプチド鎖を表し且つA2がアミノ酸配列Ala Gly Gly Asn Asn Alaからなるペプチド鎖を表し；X2がGlnのとき、A1が水素原子を表し且つA2がアミノ酸配列Thr Val Glu Lysからなるペプチド鎖を表すか、A1がアミノ酸配列Val Gln Lysからなるペプチド鎖を表し且つA2がアミノ酸配列Thr Val Glu Lys Gly Gly Lys His Lys Thr Gly Pro Asn Leuからなるペプチド鎖を表すか、またはA1がアミノ酸配列Gly Asp Val Glu Lys Gly Lys Lys Ile Phe Val Gln Lys からなるペプチド鎖を表し且つA2がThr Val Glu Lys Gly Gly Lys His Lys Thr Gly Pro Asn Leu His Gly Leu Phe Gly Arg Lys Thr Gly Gln Ala Pro Gly Phe Thr Tyr Thr Asp Ala Asn Lys Asn Lys Gly Ile Thr Trp Lys Glu Glu Thr Leu Metからなるペプチド鎖を表す請求項1記載のヘムペプチド。

40

【請求項 3】

次式で表される請求項1記載のヘムペプチド。

【化3】



【請求項4】

次式で表される請求項1記載のヘムペプチド。

【化4】

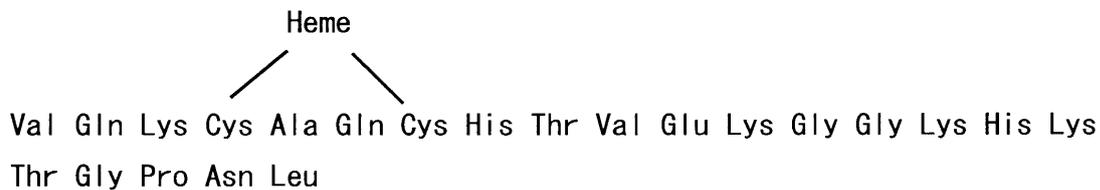


10

【請求項5】

次式で表される請求項1記載のヘムペプチド。

【化5】

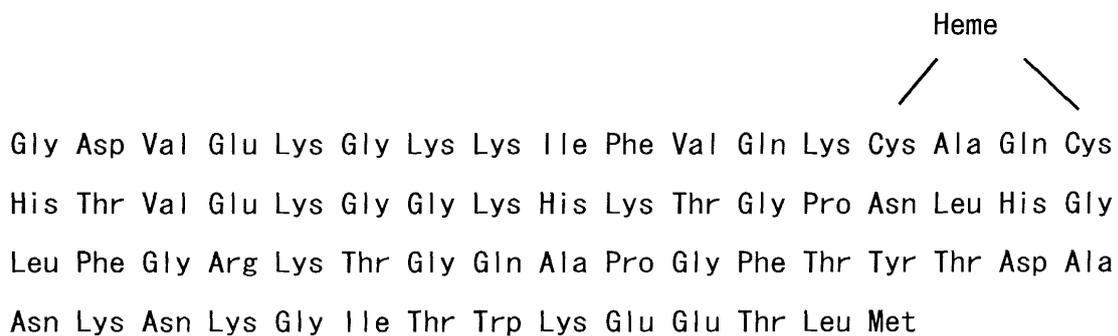


20

【請求項6】

次式で表される請求項1記載のヘムペプチド。

【化6】



30

【請求項7】

シトクロムcをサーモライシン、トリプシン、キモトリプシン、AchromobacterプロテアーゼI及びStaphylococcus aureus V8プロテアーゼからなる群から選択される酵素で消化または臭化シアンで分解し、ゲル濾過クロマトグラフィーで精製することからなる請求項1～6のいずれかに記載のヘムペプチドの製造方法。

40

【請求項8】

請求項1～6のいずれか1項に記載のヘムペプチドを含むNO捕捉剤。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】

本発明は、新規ヘムペプチド、特にNO捕捉能を有するヘムペプチド、該ヘムペプチドの

50

製造方法、並びに該ヘムペプチドを含むNO捕捉剤及び医薬組成物に関する。

【0002】

【従来の技術】

近年、糖尿病、動脈硬化、癌等の生活習慣病への一酸化窒素(NO)の関与が報告されている。即ち、NOの生産異常が多くの生理機能や病気に関与していることが報告されている。例えば、NOの不足が、高血圧、高脂血症、動脈硬化、心不全、冠動脈攣縮等に関与しており、NOの過多が脳卒中、ハンチントン病、パーキンソン病等に関与していることが知られている。

また、NOは、環境汚染物質NOxの一つでもあり、NOを捕捉する物質の開発は、環境汚染の測定において、また汚染された大気、水等の浄化においても重要である。

10

従って、NOの定量や捕捉物質の開発が望まれていた。

【0003】

【発明が解決しようとする課題】

しかしながら、NOは常温でガス体であり、不安定であるため、取扱いや定量が困難であり、有効なNO捕捉物質も知られていなかった。

本発明者らは、これまでにシトクロムcがNO捕捉能を有することを見出している(化学と生物34(12),784-785(1996))。また、同様のC-typeシトクロムを紅藻スサビノリ、緑藻クロレラ、光合成細菌など各種生物から単離し、NO捕捉能を確認している(Biosci. Biotechnol. Biochem., 64(3), 628-632, 2000, Jap. J. Pharmacol., 75(Suppl.1), 113 P(1997))。さらに、本発明者らは、紅藻スサビノリPorphyra yezoensis由来のシトクロムc₆のX線立体構造解析により三次構造を決定しており(Acta Cryst., D56, 1577-1582(2000))、またシトクロムc₆の組換え大腸菌での発現系を構築している。

20

本発明者らは、NO捕捉能を有する物質についてさらに研究を進め、シトクロムcに比べてさらに高いNO捕捉能を有するヘムペプチドを見出した。

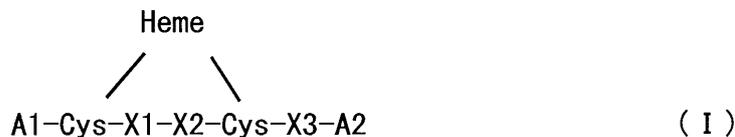
【0004】

【課題を解決するための手段】

本発明は下記式Iで表されるヘムペプチドに関する。

【0005】

【化3】



30

【0006】

(式中、A1は水素原子または1~20個、好ましくは1~10個、特に1~5個のアミノ酸残基からなるペプチド鎖を表し、

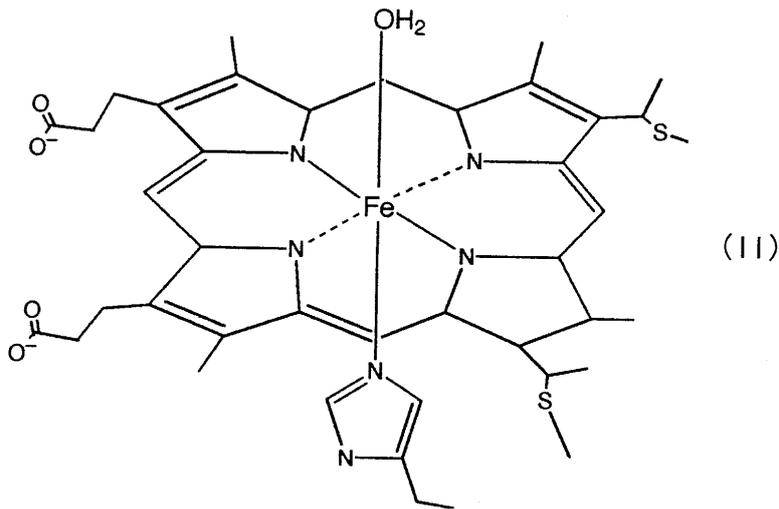
A2は水酸基または1~50個、好ましくは1~10個、特に1~5個のアミノ酸残基からなるペプチド鎖を表し、

40

Hemeは次式：

【0007】

【化4】



10

【0008】

で表されるヘム核を表し、

X1, X2は各々独立に任意のアミノ酸残基を表し、

X3は、His LysまたはArgを表す。）

上記ヘム核は、3,8位のシステニルチオエーテル結合を介してシステイン残基に結合することができる。

20

(2) X1及びX2が各々独立にAla、Gln、Lys、Arg及びValからなる群より選択されるアミノ酸残基を表す(1)のヘムペプチド。

(3) X1がAlaであり、X2がGlnまたはAlaであり、X3がHisである(1)のヘムペプチド。

(4) A1が、水素原子またはアミノ酸配列Val Gln Lysを有するペプチド鎖であり、A2がアミノ酸配列Thr Val Glu Lysまたはアミノ酸配列Thr Val Glu Lys Gly Gly Lys His Lys Thr Gly Pro Asn Leuを有するペプチド鎖であり、

X1がAlaであり、X2がGlnであり、X3がHisである(1)のヘムペプチド。

(5) A1がアミノ酸配列Phe Ser Ala Asnを有するペプチド鎖であり、

A2がアミノ酸配列Ala Gly Gly Asn Asn Alaを有するペプチド鎖であり、

X1がAlaであり、X2がAlaであり、X3がHisである(1)のヘムペプチド。

30

【0009】

また、本発明は、シトクロムcをタンパク質分解酵素で消化し、所望により塩析処理を行った後、ゲル濾過クロマトグラフィーで精製することからなる(1)~(5)のヘムペプチドの製造方法に関する。タンパク質分解酵素は、好ましくはサーモライシン、トリプシン、キモトリプシン、AchromobacterプロテアーゼI及びStaphylococcus aureus V8プロテアーゼからなる群から選択される。

さらに、本発明は、(1)~(5)のヘムペプチドを含むNO捕捉剤に関する。

本発明の上記ペプチドは、特に、シトクロムcの少なくとも14番目のCysから18番目のアミノ酸までのアミノ酸配列、または該配列において15番目、16番目及び18番目のアミノ酸残基が置換されたアミノ酸配列を有するペプチドを含み、ヘム核が14番目のCysと17番目のCysに3,8位のシステニルチオエーテル結合を介して結合しており、18番目のアミノ酸残基がHis、LysまたはArgであり、15番目及び16番目のアミノ酸が好ましくはAla、Gln、Lys、ArgまたはValであり、14番目のCysのN末端側のペプチド鎖と17番目のCysのC末端側のペプチド鎖が好ましくは50塩基以下、より好ましくは10塩基以下であることを特徴とするものである。このようなヘムペプチドがシトクロムcよりも高いNO捕捉能を有することは、本発明者の鋭意研究により見出されたものであるが、これは、おそらく分子が小さくなることにより単位面積あたりの溶媒分子数が増大することに加えて、ヘム核が溶媒面に露出してNOとの衝突確率が高まったためであると考えられる。

40

50

【 0 0 1 0 】

【 発明の実施の形態 】

A1の具体例としては、例えば、配列表の配列番号1（ウマ心筋シトクロムcの配列）または配列番号2（紅藻スサビノリのシトクロムc₆の配列）のアミノ酸番号1～13のアミノ酸配列またはそれらの1～数個のアミノ酸が置換、欠失または付加されたアミノ酸配列のうち、アミノ酸番号13からN末端側に連続する1～13個のアミノ酸残基からなるペプチド鎖が挙げられる。

A2の具体例としては、例えば、配列表の配列番号1（ウマ心筋シトクロムcの配列）または配列番号2（紅藻スサビノリのシトクロムc₆の配列）のアミノ酸番号19～70のアミノ酸配列またはそれらにおいて1～数個のアミノ酸が置換、欠失または付加されたアミノ酸配列のうち、アミノ酸番号19のアミノ酸からC末端側に連続する1～50個のアミノ酸残基からなるペプチド鎖が挙げられる。

10

【 0 0 1 1 】

本明細書において「NO捕捉剤」は、NOの捕捉に用いられるものであれば、目的を問わない。典型的には、生体内、例えば血中のNO濃度の測定のための診断剤、生体内、例えば血中のNOの捕捉するNOの過剰に関連する疾病の予防剤・治療剤、研究用試薬、大気中、排気ガス中、または水中のNO濃度の測定のための試薬、また水処理または排気ガス処理のための処理剤として使用されるものである。

【 0 0 1 2 】

本発明のヘムペプチドは、シトクロムcのアミノ酸配列をコードする塩基配列を有するDNA、またはこれに部位特異的変異を導入したDNAを含むベクターを宿主細胞に導入し、該宿主細胞を培養し、培養物からシトクロムcを単離し、これをタンパク質分解酵素で消化した後、クロマトグラフィー等の方法により精製することにより製造することもできる。この場合、形質転換に用いるベクターとしては、バイオテクノロジーの分野で慣用のプラスミド、ファージ等を使用することができる。宿主細胞は、好ましくは原核生物の細胞、より好ましくは細菌、特に大腸菌である。シトクロムcの単離は、例えば培養細胞を採取し、物理的に破碎し、抽出し、精製することにより行うことができる。培養細胞の採取は、固体培地の場合は培養細胞をかきとることにより、また液体培地の場合には遠心分離により行うことができる。

20

なお、本発明において、「シトクロムc」は、シトクロムc₁、シトクロムc₂、シトクロムc₆、シトクロムc-551等、全てのc型シトクロムを含む。

30

また、本発明のペプチドを構成する「アミノ酸残基」には、修飾されたアミノ酸残基も含まれる。

【 0 0 1 3 】

【 実施例 】

以下の実施例において、試薬は特記しない限り、和光純薬製のものを使用した。等電点は、Ampholine PAGplateゲル（Pharmacia社製、IEF用、pH3.5-9.5）を用いた等電点電気泳動により解析した。吸収極大は、HITACHI U-3310spectrophotometer（HITACHI社製）を用いて測定した。酸化還元電位は、HITACHI U-3310spectrophotometer（HITACHI社製）、ORP電極（Metrohm社製）を用いて測定した。

40

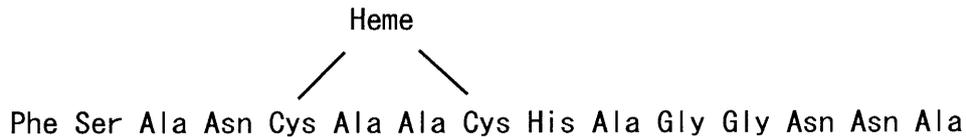
【 0 0 1 4 】

実施例1：ヘムペプチド（mp15）の調製

下記のアミノ酸配列を有するヘムペプチドを調製した。

【 0 0 1 5 】

【 化 5 】



【0016】

(配列番号3の配列を有するペプチドの5番目及び8番目のシステインに前記式IIのヘム核が結合したもの)

紅藻スサビノリ (*Porphyra yezonesis*)より精製したシトクロム c_6 1 mg を 0.1 M トリス - 塩酸緩衝液 pH 7.8 (2 mM 塩化カルシウムを含む) 200 μ l に溶解した。得られたシトクロム c_6 溶液を 37 で 5 分間保温し、これに 0.1 M トリス塩酸緩衝液に溶解した 1 mg / ml サーマライシン溶液 62.5 μ l を添加し、さらに上記と同じ緩衝液 37.5 μ l を添加した。この反応溶液を、37 で 4.5 時間保温した。この反応溶液を氷冷して反応を停止させた後、上記と同じ緩衝液 700 μ l を加えた。得られた反応溶液をゲル濾過カラムクロマトグラフィー (Toyopearl HW-40F, 1.0 x 80cm, 東ソー社製) で精製し、標記のペプチドを得た。得られたペプチドを電気泳動にかけ、単一物質であることを確認した。また、このペプチドのアミノ酸配列をアミノ酸シーケンサーで調べ、標記の配列を有するペプチドであることを確認した。

10

【0017】

また、得られたペプチドは、下記の物理学的性質を有していた：

等電点：4.15，酸化型の吸収極大：404, 526nm，還元型の吸収極大：413.5, 549.5nm，酸化還元電位 -82.2mV，分子量：2200。

20

【0018】

実施例2：ヘムペプチド (mp9) の調製

下記のアミノ酸配列を有するペプチドを調製した。

【0019】

【化6】



30

【0020】

(配列番号4の配列を有するペプチドの1番目及び4番目のシステインに前記式IIのヘム核が結合したもの)

ウマ心筋シトクロム c (和光純薬社製) 1 mg を 0.1 M トリス - 塩酸緩衝液 (pH 8.0) 100 μ l に溶解した。得られたシトクロム c 溶液を 37 で 5 分間保温し、これに 0.1 M トリス塩酸緩衝液に溶解した 1 mg / ml トリプシン溶液 40 μ l を添加し、さらに上記と同じ緩衝液 60 μ l を添加した。この反応溶液は、37 で 24 時間保温した。この反応溶液を氷冷して反応を停止させた後、硫酸アンモニウム 78 mg を添加した後、沈殿物を濾取し、ゲル濾過カラムクロマトグラフィー (Toyopearl HW-40F, 1.0 x 80cm, 東ソー社製) で精製し、標記のペプチドを調製した。得られたペプチドを電気泳動にかけ、単一物質であることを確認した。また、このペプチドのアミノ酸配列をアミノ酸シーケンサーで調べ、標記の配列を有するペプチドであることを確認した。

40

また、得られたペプチドは、下記の物理学的性質を有していた：

等電点：4.95，酸化型の吸収極大：395, 619nm，還元型の吸収極大：412, 520, 549nm，酸化還元電位 -132mV，分子量：1637。

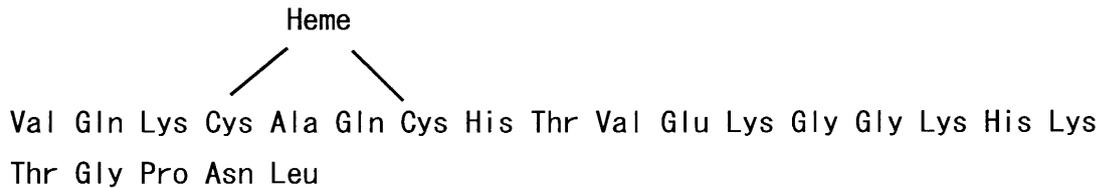
【0021】

50

実施例 3 : ヘムペプチド (m p 2 2) の調製
 下記のアミノ酸配列を有するペプチドを調製した。

【 0 0 2 2 】

【 化 7 】



10

【 0 0 2 3 】

(配列番号 5 の配列を有するペプチドの 4 番目及び 7 番目のシステインに前記式 II のヘム核が結合したもの)

ウマ心筋シトクロム c (和光純薬社製) 1 m g を 0 . 1 M トリス - 塩酸緩衝液 (p H 8 . 0) 1 0 0 μ l に溶解した。得られたシトクロム c 溶液を 3 7 ° で 5 分間保温し、これに 0 . 1 M トリス塩酸緩衝液に溶解した 1 m g / m l キモトリプシン溶液 4 0 μ l を添加し、さらに上記と同じ緩衝液 6 0 μ l を添加した。この反応溶液は、3 7 ° で 2 4 時間保温した。この反応溶液を氷冷して反応を停止させた後、硫酸アンモニウム 7 8 m g を添加した後、沈殿物を濾取し、ゲル濾過カラムクロマトグラフィー (Toyopearl HW-40F, 1.0 x 80cm, 東ソー社製) で精製し、標記のペプチドを調製した。得られたペプチドを H P L C にか

20

け、単一物質であることを確認した。また、このペプチドのアミノ酸配列をアミノ酸シーケンサーで調べ、標記の配列を有するペプチドであることを確認した。

また、得られたペプチドは、下記の物理学的性質を有していた：

等電点 : 6.02, 酸化型の吸収極大 : 398, 620nm, 還元型の吸収極大 : 416, 520, 549nm,

酸化還元電位 -66.5mV, 分子量 3065。

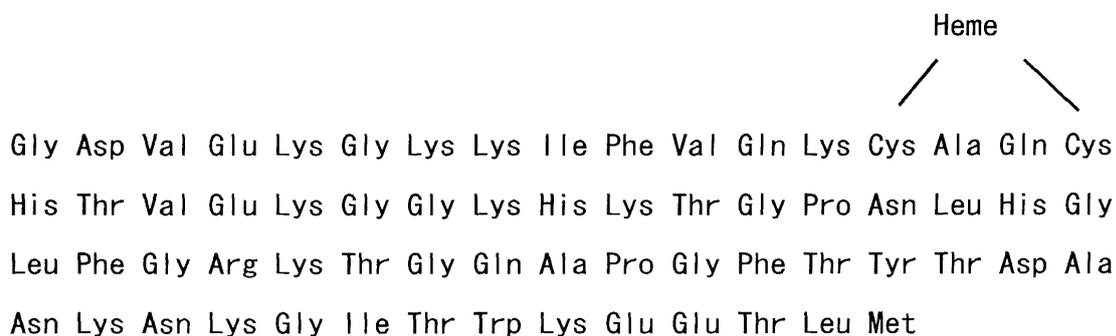
【 0 0 2 4 】

実施例 4 : ヘムペプチド (m p 6 5) の調製

下記のアミノ酸配列を有するペプチドを調製した。

【 0 0 2 5 】

【 化 8 】



40

【 0 0 2 6 】

(配列番号 6 の配列を有するペプチドの 1 4 番目及び 1 7 番目のシステインに前記式 II のヘム核が結合したもの)

ウマ心筋シトクロム c (和光純薬社製) 1 m g を 1 0 m g / m l 臭化シアン (7 0 % ギ酸に溶解したもの) 1 0 0 μ l に溶解し、反応チューブ内を窒素通気した。得られたシトクロム c 溶液を 2 0 ° で 2 4 時間保温した。この反応溶液を水冷して反応を停止させた後、超純水 4 0 0 μ l を加え、ゲル濾過カラムクロマトグラフィー (Toyopearl HW-40F, 1.0 x 80cm, 東ソー社製) で精製し、標記のペプチドを調製した。得られたペプチドを電気泳動にか

50

酸シーケンサーで調べ、標記の配列を有するペプチドであることを確認した。

また、得られたペプチドは、下記の物理学的性質を有していた：

等電点：9.52，酸化型の吸収極大：404，535nm，還元型の吸収極大：415，520，549nm，酸化還元電位-62.1mV，分子量8900。

【0027】

実施例5：タンパク質分解酵素として、キモトリプシンの代わりにAchromobacterプロテアーゼI（リシルエンドペプチダーゼ）を使用すること以外は、実施例3と同様の方法により、下記式で表されるNO捕捉ヘムペプチドを調製した。

【0028】

【化9】



【0029】

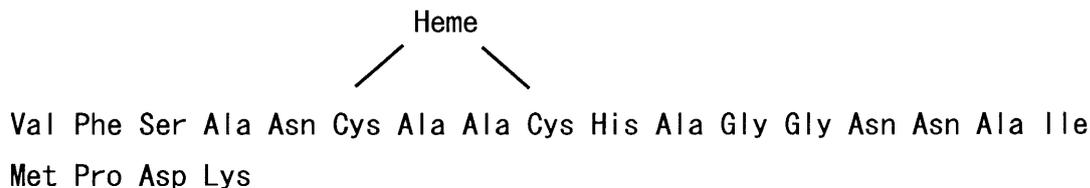
（配列番号7の配列を有するペプチドの1番目及び4番目のシステインに前記式IIのヘム核が結合したもの）

【0030】

実施例6：タンパク質分解酵素として、サーモライシンの代わりにAchromobacterプロテアーゼI（リシルエンドペプチダーゼ）を使用すること以外は、実施例1と同様の方法により、下記式で表されるNO捕捉ヘムペプチドを調製した。

【0031】

【化10】



【0032】

（配列番号8の配列を有するペプチドの6番目及び9番目のシステインに前記式IIのヘム核が結合したもの）

【0033】

実施例7：タンパク質分解酵素として、キモトリプシンの代わりにStaphylococcus aureus V8プロテアーゼ（エンドプロテナーゼGlu-C）を使用し、リン酸緩衝液の代わりにアンモニウム系緩衝液を使用すること以外は、実施例3と同様の方法により、下記式で表されるNO捕捉ヘムペプチドを調製した。

【0034】

【化11】



【0035】

（配列番号9の配列を有するペプチドの10番目及び13番目のシステインに前記式IIの

10

20

30

40

50

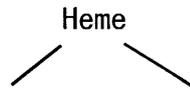
ヘム核が結合したもの)

【0036】

実施例8：タンパク質分解酵素として、サーモライシンの代わりにStaphylococcus aureus V8プロテアーゼ(エンドプロテナーゼGlu-C)を使用し、リン酸緩衝液の代わりにアンモニウム系緩衝液を使用すること以外は、実施例1と同様の方法により、下記式で表されるNO捕捉ヘムペプチドを調製した。

【0037】

【化12】



Val Phe Ser Ala Asn Cys Ala Ala Cys His Ala Gly Gly Asn Asn Ala Ile
Met Pro Asp Lys Thr Leu Lys Lys Asp Val Leu Glu

10

【0038】

(配列番号10の配列を有するペプチドの6番目及び9番目のシステインに前記式IIのヘム核が結合したもの)

【0039】

試験例1：NO捕捉能の測定

10mlのバイアルに、100mMリン酸緩衝液(pH7.0)0.3ml、10mM亜硝酸ナトリウム0.4ml、上記各ペプチド溶液0.5ml、3mMメチルピオロゲン(東京化成工業株式会社製)0.4mlを入れ、ブチルゴム栓とアルミシールで密封した。このバイアルを、アルゴンを通気しながら37℃で5分間保温した後、100mM亜ジチオン酸ナトリウム(50mM炭酸水素ナトリウムに溶解したもの)0.3mlを添加することにより、反応を開始した。一定の時間間隔で反応液を0.2mlずつ分取し、ポルテックスミキサーで空気酸化させることにより反応を停止した。

残存亜硝酸量をジアゾ化法により測定した。反応液を0.02mlとり、超純水を1.98ml添加した後、1%スルファニルアミド1ml、0.02%のN-1-ナフチルエチレンジアミン塩酸塩1ml、超純水1mlを添加し、室温で20分間放置した後、生成アゾ色素の540nmにおける吸光度を測定し、既知濃度の亜硝酸溶液から作製した検量線より、残存亜硝酸量を算出した。

測定は、SHIMADZU UV-1600 UV-VISIBLE SPECTROPHOTOMETERを用いて行った。

反応速度論的解析は、2, 4, 6, 8, 10mM亜硝酸ナトリウムに対する比活性を求め、その後Lineweaver-Burkプロットにより反応回転数 k_{cat} (s^{-1})を算出することにより行った。

各実施例で得られたペプチドの反応速度定数を下記の表に示す。

また、比較のためにウマ心筋シトクロムc及び紅藻サビノリシトクロム c_6 の反応速度定数を併記した。

【0040】

【表1】

20

30

40

ペプチド	反応速度定数 $k_{cat} (s^{-1})$
実施例 1 mp 15	2. 5 4
実施例 2 mp 9	1. 6 6
実施例 3 mp 2 2	0. 8 0
実施例 4 mp 6 5	0. 1 2
比較例 1 ウマ心筋シトクロム c	$15. 21 \times 10^{-3}$
比較例 2 紅藻スサビノリシトクロム c ₆	0. 0 5

10

【0041】

表より、本発明のヘムペプチドが、シトクロム c と比較して、著しく高い NO 捕捉能を有することが明らかである。

【0042】

【発明の効果】

生体内での NO の定量のための試薬、生体内で NO を制御する医薬品組成物、環境中の NO 濃度を測定するための試薬、汚染大気や汚染排水の浄化剤として利用可能な NO 捕捉剤が提供される。さらに、本発明のヘムペプチドのうち、水溶性のものは、液体試料中での用途に適している。

20

【0043】

【配列表】

SEQUENCE LISTING

<110> NIHON UNIVERSITY

<120> Novel Heme peptide

<130> PANU013

<160> 10

<210> 1

<211> 104

10

<212> PRT

<213> Horse

<400> 1

Gly Asp Val Glu Lys Gly Lys Lys Ile Phe Val Gln Lys Cys Ala Gln

1

5

10

15

20

Cys His Thr Val Glu Lys Gly Gly Lys His Lys Thr Gly Pro Asn Leu

20

25

30

His Gly Leu Phe Gly Arg Lys Thr Gly Gln Ala Pro Gly Phe Thr Tyr

35

40

45

Thr Asp Ala Asn Lys Asn Lys Gly Ile Thr Trp Lys Glu Glu Thr Leu

30

50

55

60

Met Glu Tyr Leu Glu Asn Pro Lys Lys Tyr Ile Pro Gly Thr Lys Met

65

70

75

80

Ile Phe Ala Gly Ile Lys Lys Lys Thr Glu Arg Glu Asp Leu Ile Ala

85

90

95

40

Tyr Leu Lys Lys Ala Thr Asn Glu
100

<210> 2

<211> 85

<212> PRT

<213> *Porphyra yezoensis*

10

<400> 2

Ala Asp Leu Asp Asn Gly Glu Lys Val Phe Ser Ala Asn Cys Ala Ala
1 5 10 15

Cys His Ala Gly Gly Asn Asn Ala Ile Met Pro Asp Lys Thr Leu Lys
20 25 30

20

Lys Asp Val Leu Glu Ala Asn Ser Met Asn Thr Ile Asp Ala Ile Thr
35 40 45

Tyr Gln Val Gln Asn Gly Lys Asn Ala Met Pro Ala Phe Gly Gly Arg
50 55 60

30

Leu Val Asp Glu Asp Ile Glu Asp Ala Ala Asn Tyr Val Leu Ser Gln
65 70 75 80

40

Ser Glu Lys Gly Trp

85

<210> 3

<211> 15

<212> PRT

10

<213> *Porphyra yezoensis*

<400> 3

Phe	Ser	Ala	Asn	Cys	Ala	Ala	Cys	His	Ala	Gly	Gly	Asn	Asn	Ala
1				5					10					15

<210> 4

<211> 9

20

<212> PRT

<213> Horse

<400> 4

Cys	Ala	Gln	Cys	His	Thr	Val	Glu	Lys
1				5				

30

<210> 5

<211> 22

<212> PRT

<213> Horse

<400> 5

Val	Gln	Lys	Cys	Ala	Gln	Cys	His	Thr	Val	Glu	Lys	Gly	Gly	Lys	His
1				5					10					15	

40

Lys Thr Gly Pro Asn Leu

20

<210> 6

<211> 65

<212> PRT

<213> Horse

10

<400> 6

Gly Asp Val Glu Lys Gly Lys Lys Ile Phe Val Gln Lys Cys Ala Gln

1

5

10

15

Cys His Thr Val Glu Lys Gly Gly Lys His Lys Thr Gly Pro Asn Leu

20

25

30

20

His Gly Leu Phe Gly Arg Lys Thr Gly Gln Ala Pro Gly Phe Thr Tyr

35

40

45

Thr Asp Ala Asn Lys Asn Lys Gly Ile Thr Trp Lys Glu Glu Thr Leu

50

55

60

30

Met

65

<210> 7

<211> 9

<212> PRT

<213> Horse

40

<400> 7

Cys Ala Gln Cys His Thr Val Glu Lys

1 5

<210> 8

<211> 21

10

<212> PRT

<213> *Porphyra yezoensis*

<400> 8

Val Phe Ser Ala Asn Cys Ala Ala Cys His Ala Gly Gly Asn Asn Ala

1 5 10 15

Ile Met Pro Asp Lys

20

20

<210> 9

<211> 17

<212> PRT

<213> Horse

<400> 9

30

Lys Gly Lys Lys Ile Phe Val Gln Lys Cys Ala Gln Cys His Thr Val

1 5 10 15

Glu

<210> 10

40

<211> 29

<212> PRT

<213> *Porphyra yezoensis*

<400> 10

Val Phe Ser Ala Asn Cys Ala Ala Cys His Ala Gly Gly Asn Asn Ala

1

5

10

15

Ile Met Pro Asp Lys Thr Leu Lys Lys Asp Val Leu Glu

20

25

フロントページの続き

(51)Int.Cl.		F I	
A 6 1 P	9/00 (2006.01)	A 6 1 P	9/00
A 6 1 P	9/04 (2006.01)	A 6 1 P	9/04
A 6 1 P	9/10 (2006.01)	A 6 1 P	9/10
A 6 1 P	9/12 (2006.01)	A 6 1 P	9/10 1 0 1
A 6 1 P	25/14 (2006.01)	A 6 1 P	9/12
A 6 1 P	25/16 (2006.01)	A 6 1 P	25/14
A 6 1 P	35/00 (2006.01)	A 6 1 P	25/16
C 1 2 P	21/02 (2006.01)	A 6 1 P	35/00
		C 1 2 P	21/02 C

- (72)発明者 河内 隆
東京都千代田区九段南四丁目 8 番 2 4 号日本大学内
- (72)発明者 駿河 康平
東京都千代田区九段南四丁目 8 番 2 4 号日本大学内

審査官 内藤 伸一

- (56)参考文献 特表平05 - 500899 (J P , A)
 独国特許出願公開第03134526 (D E , A 1)
 Eur.J.Biochem.,(2001),268,p3783-3788
 J.Biol.Chem,(1962),237(7),p2151-2160
 J.Biol.Chem,(1971),246(5),p1511-1535
 Acta Cyst.,(2000),D56,p1577-1582
 Biosci.Biotechnol.Biochem.,(2000),64(3),p628-632
 化学と生物,(1996),34(12),p784-785

(58)調査した分野(Int.Cl., D B 名)

C07K 14/80
 A61K 38/00
 CA(STN)
 REGISTRY(STN)
 WPIDS(STN)