

(19)日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11)特許出願公開番号

特開2003 - 18996

(P2003 - 18996A)

(43)公開日 平成15年1月21日 (2003.1.21)

(51) Int. Cl ⁷	識別記号	F I	テ-マコード (参考)
C 1 2 N 15/09	ZNA	C 0 7 K 14/47	4 B 0 2 4
C 0 7 K 14/47		C 1 2 Q 1/02	4 B 0 6 3
C 1 2 Q 1/02		1/68	A 4 H 0 4 5
1/68		G 0 1 N 33/15	Z
G 0 1 N 33/15		33/53	D

審査請求 有 請求項の数 12 O L (全 18数) 最終頁に続く

(21)出願番号 特願2002 - 123454(P2002 - 123454)

(22)出願日 平成14年4月25日 (2002.4.25)

(31)優先権主張番号 10121710.2

(32)優先日 平成13年5月4日 (2001.5.4)

(33)優先権主張国 ドイツ (DE)

(31)優先権主張番号 10161325.3

(32)優先日 平成13年12月13日 (2001.12.13)

(33)優先権主張国 ドイツ (DE)

(71)出願人 502148901

イエナファルム ゲ-エムペ-ハー ウン
ト コ- . カーゲー

JENAPHARM GMBH & C
O . KG

ドイツ連邦共和国 D - 07745 イエナ オ
ットー - スコット - シュトラ-セ 15

(72)発明者 マイク オーベンドルフ

ドイツ連邦共和国 D - 99423 ワイマール
パウル - シュナイダー - シュトラ-セ
14

(74)代理人 100068755

弁理士 恩田 博宣 (外 1 名)

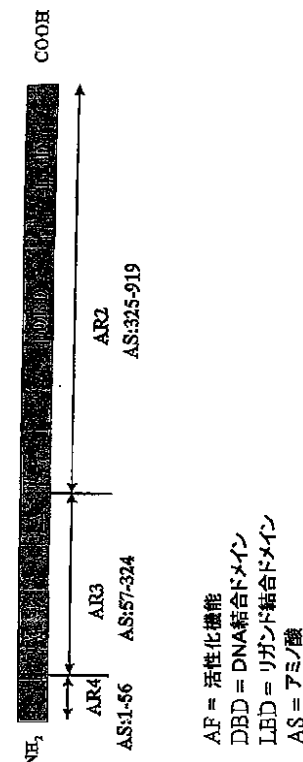
最終頁に続く

(54)【発明の名称】 物質のホルモン作用の試験方法

(57)【要約】

【課題】ある物質のホルモン作用を、低コストで簡易、迅速、高感度の信頼し得る様式で試験すること。

【解決手段】物質のホルモン作用 (特にアンドロゲンまたは抗アンドロゲン作用) の試験方法は、 a) 二つのベクター (一方のベクターは核内受容体タンパク質またはそのフラグメントをコードする DNA を含み、他方のベクターはコモジュレーターまたはそのフラグメントをコードする DNA を含む) で形質移入した細胞を物質に暴露する工程と、 b) 前記核内受容体またはそのフラグメントが前記コモジュレーターまたはそのフラグメントの存在下で誘発する転写活性か、前記核内受容体またはそのフラグメントと前記コモジュレーターまたはそのフラグメント間の相互作用に及ぼす該物質の影響か、の少なくともいずれか一方を、タンパク質 - タンパク質相互作用またはタンパク質 - タンパク質 - DNA 相互作用により測定する工程と、から成る。



【特許請求の範囲】

【請求項1】ある物質のホルモン作用、特に、アンドロゲンまたは抗アンドロゲン作用の試験方法であって、
a) 二つのベクター（一方のベクターは、核内受容体タンパク質またはそのフラグメントをコードするDNAを含み、他方のベクターは、コモジュレーターまたはそのフラグメントをコードするDNAを含む）で形質移入した細胞を物質に暴露する工程と、

b) 核内受容体またはそのフラグメントがコモジュレーターまたはそのフラグメントの存在下で誘発する転写活性か、前記核内受容体またはそのフラグメントと前記コモジュレーターまたはそのフラグメント間の相互作用に及ぼす該物質の影響が、の少なくともいずれか一方を、タンパク質-タンパク質相互作用またはタンパク質-タンパク質-DNA相互作用により測定する工程と、から成る方法。

【請求項2】コモジュレーターが配列番号2のアミノ酸配列を含むARAP11である、請求項1に記載の方法。

【請求項3】コモジュレーターのフラグメントがARAP11のアミノ酸813~1390を有する、請求項1に記載の方法。

【請求項4】核内受容体がアンドロゲン受容体、エストロゲン受容体、エストロゲン受容体、プロゲステロン受容体A、プロゲステロン受容体B、糖質コルチコイド受容体、鉱質コルチコイド受容体、甲状腺ホルモン受容体、ビタミンD受容体、ペルオキシソーム増殖因子活性化受容体、レチン酸受容体、レチノイドX受容体およびオーファン受容体から選択される、請求項1乃至3のいずれか一項に記載の方法。

【請求項5】細胞が株化細胞か真核細胞の少なくともいずれかである、請求項1乃至4のいずれか一項に記載の方法。

【請求項6】真核細胞が、前立腺細胞、神経細胞、グリア細胞、繊維芽細胞、血球、骨芽細胞、破骨細胞、肝細胞、上皮細胞または筋細胞から選択される、請求項5に記載の方法。

【請求項7】ベクターが真核性発現ベクターである、請求項1乃至6のいずれか一項に記載の方法。

【請求項8】ARAP11またはそのフラグメントか、アンドロゲン受容体またはそのフラグメントかの少なくともいずれか一方の濃度を測定する、アンドロゲン受容体とARAP11間の共同調節機序障害の測定方法。

【請求項9】放射免疫アッセイ、ELISA試験、免疫染色、RT-PCR、ウェスタンブロット、ノーザンブロット、DNAチップまたはタンパク質チップにより、濃度を測定する、請求項8に記載の方法。

【請求項10】請求項2に記載のアミノ酸配列を含む、アンドロゲン受容体に対してコモジュレーター特性を有するタンパク質またはそのフラグメント。

【請求項11】前記フラグメントがアミノ酸813~1390を有する請求項10に記載のタンパク質。

【請求項12】請求項10または11に記載のタンパク質をコードするDNAまたはそれとハイブリダイズするDNA。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は、物質のホルモン作用の試験方法、核内受容体の共同調節機序（Co-Modulationsmechanismus）障害の測定方法、特にヒトアンドロゲン受容体および他の核内受容体のコアクチベーターARAP11とそれをコードするDNAに関する。

【0002】

【従来の技術】医薬への適用について物質を評価する場合、通常、これらの物質の起こり得るホルモン作用、特に、存在するアンドロゲンまたは抗アンドロゲン活性を試験する。薬理効果のある物質を投与するとき、これらの物質のホルモン作用、特に、アンドロゲンまたは抗アンドロゲン作用の知識が重要である場合が少なくない。

何故なら、これらの物質が患者で不都合な副作用を誘発し得るからである。物質のホルモン作用の試験には、特に、ホルモン受容体と結合し、その転写活性を活性化する物質の能力を測定する方法が用いられる。

【0003】しかし、物質のホルモン作用に関する知識は、薬剤の場合だけでなく、非医薬物質の場合でも重要である。何故なら、環境に存在する多くの物質の一部の集団で、アンドロゲンまたは抗アンドロゲンないしはエストロゲンまたは抗エストロゲン活性を示し得ると考えられるからである。場合によっては、それによって、不都合な有害作用が誘発される。

【0004】従って、コストが安く、簡易、迅速、高感度の信頼し得る様式で物質のホルモン作用を適切に表現し得る方法とその方法を実行するのに適した薬剤が非常に必要とされる。これまで公知の方法は、これを十分満たしていない。

【0005】

【発明が解決しようとする課題】本発明は、コストが安く、簡易、迅速、高感度の信頼し得る様式で試験すべき物質のホルモン作用を適切に表現し得る方法とそれに適した薬剤を提供することにある。

【0006】

【課題を解決するための手段】上記問題点を解決するために、請求項1に記載の発明は、ある物質のホルモン作用、特に、アンドロゲンまたは抗アンドロゲン作用の試験方法であって、a) 二つのベクター（一方のベクターは、核内受容体タンパク質またはそのフラグメントをコードするDNAを含み、他方のベクターは、コモジュレーターまたはそのフラグメントをコードするDNAを含む）で形質移入した細胞を物質に暴露する工程と、b) 核内受容体またはそのフラグメントがコモジュレーター

またはそのフラグメントの存在下で誘発する転写活性か、前記核内受容体またはそのフラグメントと前記コモジュレーターまたはそのフラグメント間の相互作用に及ぼす該物質の影響か、の少なくともいずれか一方を、タンパク質 - タンパク質相互作用またはタンパク質 - タンパク質 - DNA相互作用により測定する工程とから成る方法を要旨とする。

【0007】請求項2に記載の発明は、請求項1に記載の方法において、コモジュレーターが配列番号2のアミノ酸配列を含むARAP11であることを要旨とする。10

請求項3に記載の発明は、請求項1に記載の方法において、コモジュレーターのフラグメントがARAP11のアミノ酸813~1390を有することを要旨とする。【0008】請求項4に記載の発明は、請求項1乃至3のいずれか一項に記載の方法において、核内受容体がアンドロゲン受容体、エストロゲン受容体、エストロゲン受容体、プロゲステロン受容体A、プロゲステロン受容体B、糖質コルチコイド受容体、鉱質コルチコイド受容体、甲状腺ホルモン受容体、ビタミンD受容体、ペルオキシソーム増殖因子活性化受容体、レチン酸受容体、レチノイドX受容体およびオーファン受容体から選択されることを要旨とする。20

【0009】請求項5に記載の発明は、請求項1乃至4のいずれか一項に記載の方法において、細胞が株化細胞か真核細胞の少なくともいずれかであることを要旨とする。

【0010】請求項6に記載の発明は、請求項5に記載の方法において、真核細胞が、前立腺細胞、神経細胞、グリア細胞、繊維芽細胞、血球、骨芽細胞、破骨細胞、肝細胞、上皮細胞または筋細胞から選択されることを要旨とする。30

【0011】請求項7に記載の発明は、請求項1乃至6のいずれか一項に記載の方法において、ベクターが真核性発現ベクターであることを要旨とする。請求項8に記載の発明は、ARAP11またはそのフラグメントか、アンドロゲン受容体またはそのフラグメントかの少なくともいずれか一方の濃度を測定することを要旨とする。

【0012】請求項9に記載の発明は、請求項8に記載の方法において、放射免疫アッセイ、ELISA試験、免疫染色、RT-PCR、ウェスタンブロット、ノーザンブロット、DNAチップまたはタンパク質チップにより、濃度を測定することを要旨とする。40

【0013】請求項10に記載の発明は、請求項2に記載のアミノ酸配列を含む、アンドロゲン受容体に対してコモジュレーター特性を有することを要旨とする。請求項11に記載の発明は、請求項10に記載のタンパク質において、前記フラグメントがアミノ酸813~1390を有することを要旨とする。

【0014】請求項12に記載の発明は、請求項10または11に記載のタンパク質をコードするDNAまたは50

それとハイブリダイズするDNAをその要旨とする。

【0015】

【発明の実施の形態】本発明によれば、ある物質のホルモン作用、特に、アンドロゲンまたは抗アンドロゲン作用の試験方法が提供される。本方法では、

a) 二つのベクター（一方のベクターは核内受容体タンパク質またはそのフラグメント（特にヒト核内受容体タンパク質またはそのフラグメント）をコードするDNAを含み、他方のベクターはコモジュレーターまたはそのフラグメントをコードするDNAを含む）で形質移入した細胞を物質に暴露する工程と、

b) 前記核内受容体またはそのフラグメントが前記コモジュレーターまたはそのフラグメントの存在下で誘発する転写活性か、前記核内受容体またはそのフラグメントと前記コモジュレーターまたはそのフラグメント間の相互作用に及ぼす該物質の影響か、の少なくともいずれか一方を、タンパク質 - タンパク質相互作用またはタンパク質 - タンパク質 - DNA相互作用により測定する工程と、から成る。

【0016】本発明の方法では、ベクターで形質転換した細胞を用いる。該ベクターは、核内受容体タンパク質またはそのフラグメントをコードするDNAを含む。50を超える種々のタンパク質が属する核内受容体(NR)のスーパーファミリーは、特異的リガンド、例えば、ホルモンに対する反応としてそれぞれの目的遺伝子の転写を制御する類似転写因子の一群である。そのファミリーは、例えば、二量体化状態、リガンドの種類またはDNA反応要素の構造など、特定の特徴に従って、幾つかのサブファミリーに分類し得る(Beatons, 2000, Human Reproduct. Update, 6, 225-236)。

【0017】NRの特徴的指標は、自律性構造的活性化機能(AF-1)を有する可変性が大きく保存性の低いN末端領域と、特異的なDNA反応要素認識のための、二つのジンクフィンガーモチーフからなる保存性の高いDNA結合ドメイン(DBD)と、ヒンジドメインと、二量体化 - およびリガンド - 依存性トランス活性化機能(AF-2)を有する保存性の高い多機能性C末端リガンド結合ドメイン(LBD)と、機能性ドメイン(記号A~F)の構造の一致である。この次に、最も離れたC末端につながる領域が続く。その機能は未知で、例えば、PR(プロゲステロン受容体)、PPAR(ペルオキシソーム増殖因子活性化受容体)およびRXR(レチノイドX受容体)などの受容体では、その領域が欠失している(Mangelsdorf & Evans, 1995; Cell, 83, 841-850; Robyrs, 2000, Mol. Endocrinol., 14, 329-347)。若干のNR(例えば、アンドロゲン受容体(AR))について、N末端領域が、C末端領域と相互に作用し得ることが検出された(Brink

mannら1999, J. Steroid Biochem. and Mol. Biol., 69, 307-313)。例えば、エストロゲン受容体(ER)、プロゲステロン受容体(PR)、糖質コルチコイド受容体(GR)、鉱質コルチコイド受容体(MR)およびアンドロゲン受容体(AR)などのステロイドホルモン受容体は、プロゲステロン、エストロゲン、糖質コルチコイドおよび鉱質コルチコイド、ならびにアンドロゲンなどのプレグネノロンに由来するステロイド性リガンドと結合する。リガンドとの結合により、受容体が活性化され、該

10 目的の遺伝子の発現を制御する。
【0018】上記で説明したように、本発明の方法の工程a)では、コモジュレーターまたはそのフラグメントをコードするDNAを有するベクターを含有する細胞が用いられる。

【0019】コモジュレーターは、遺伝子転写の活性化(コアクチベーター)ないしは抑制(コリプレッサー)時に、転写開始複合体とNR間の架橋分子として働くクラスのタンパク質である(McKennaら, 1999, Endocr. Rev., 20, 321-347)。コアクチベーターは、受容体機能を増強し、作動剤の存在下でNRの活性化ドメインと直接相互に作用できなければならない。コアクチベーターは、基準の転写機構とも相互作用するにちがいないが、最終的に、基準の転写活性自体を増強してはいけない。大部分のコモジュレーターは、一つ以上のLXLLモチーフ(NR-Box)を用いてNRのAF-2ドメインと相互作用するが、他のNR領域と相互作用する若干のコモジュレーターもまた記載されている(Dingら, 1998, Mol. Endocrinol., 12, 302-313)。さらに、類似の方法で幾つかの様々なNRと相互に作用する多くのコモジュレーターが既に同定されているので、好都合なことに、それぞれのコモジュレーターの特異性の程度を試験できるようになるだろう。

【0020】本発明の方法の1つの好ましい実施態様では、ARAP11と表記したコモジュレーターまたはアミノ酸813~1390を含むARAP11のフラグメントを使用する。コモジュレーターARAP11の1390個のアミノ酸を有するcDNA配列またはアミノ酸配列が、配列番号1または配列番号2で示される。これらのタンパク質を使用すると、特に、低コストで、簡易、迅速、高感度の信頼し得る様式で、本発明の方法を実行し得る。さらに、ARAP11フラグメント、特に、ARAP11のアミノ酸813~1390を有するフラグメントは、簡単に取り扱い、クローニングし得るが、なおARAP11の機能的特性を示すという利点を有する。

【0021】ARAP11は、ヒトアンドロゲン受容体や、アンドロゲンとその受容体間の相互作用を増強する他の核内受容体に対するコアクチベーターである。AR

AP11の配列の一部は、すでにGenbank X M 005253においてPro2000として記載されている。ただし、そこには機能はなにも報告されていない。今では、すでにGenbankから既知の配列と比較して、ARAP11のアミノ酸配列が公知配列よりも大きく、つまり、N末端領域にさらに別のアミノ酸を有することが確認された。さらに、核内受容体間(特に、一方がARで他方がARAP11)の相互作用ならびにAR介在性トランス活性化の増強を確認し得た。ARAP11は、核内受容体にステロイドが結合した後、転写作用を増強または抑制し、さらに、以前はホルモン作用がないとみなされた分子と核内受容体の結合および活性化を促進することによってコメディエーターとして機能するタンパク質である。

【0022】タンパク質ARAP11は、アンドロゲン受容体および、エストロゲン受容体、エストロゲン受容体、プロゲステロン受容体A、プロゲステロン受容体B、糖質コルチコイド受容体、鉱質コルチコイド受容体、甲状腺ホルモン受容体、ビタミンD受容体、ペルオキシソーム増殖因子活性化受容体、レチン酸受容体、レチノイドX受容体およびオーファン受容体など、さらに別の核内受容体のコアクチベーターである。従って、本発明の方法では、これらの受容体を用いるのが好ましい。何故なら、それによって、本発明の方法の利点が特に好都合に達成され得るからである。

【0023】本発明の方法において、上記タンパク質のフラグメントをコードするベクターもまた使用し得る。上記タンパク質に関連した用語「フラグメント」とは、全長が上記タンパク質よりも短い1または複数のアミノ酸を含み、核内受容体またはコモジュレーターの機能的特性を示すものを指すと理解する。

【0024】すでに上記で説明したように、本発明の方法の工程a)では、特定タンパク質をコードするDNAを含む二つのベクターで形質移入した細胞を用いる。従って、これらの細胞は、これら両方の異なるタンパク質を発現し得る。

【0025】特に、細胞は、株化細胞および/または真核細胞、特に、前立腺細胞、神経細胞、グリア細胞、繊維芽細胞、血球、骨芽細胞、破骨細胞、肝細胞、上皮細胞または筋細胞である。株化細胞を用いると、本発明の方法を特に低コストかつ迅速に実行し得る。真核細胞、特に、上記の真核細胞を用いると、本発明の方法を用いて都合よく特に証拠性の高い結果を獲得し得る。

【0026】本発明の方法の一好適実施態様では、真核性発現ベクター、例えば、pCMXまたはpSG5を用いる。このベクターを、特に、上記の株化細胞および/または真核細胞に用いる場合、本発明の方法を、特に、好都合に、迅速に実行でき、特に証拠性の高い結果が得られる。

【0027】当業者には、上記のタンパク質をコードす

るDNAをベクター内に挿入し、これを細胞に導入し、得られた細胞を、これらのタンパク質を発現し得るような適当な条件下で培養するための方法とそれに必要な物質が公知である。

【0028】本発明の方法の工程b)によれば、核内受容体またはそのフラグメントがコモジュレーターまたはそのフラグメントの存在下で誘発する転写活性を測定することができる。これは、例えば、レポーター遺伝子を検出することにより行い得る。

【0029】レポーター遺伝子は、この配列の活性を検出可能にするため、他の遺伝子または調節配列と連結される遺伝子または遺伝子フラグメントである。レポーター遺伝子は、例えば、呈色反応により光度測定法で、できるだけ簡単に検出できる遺伝子生成物を産生する。よく用いられるレポーター遺伝子は、 β -ガラクトシダーゼに対する遺伝子、アルカリ性ホスファターゼに対する遺伝子、クロラムフェニコール-アセチルトランスフェラーゼに対する遺伝子、カテコール-ジオキシゲナーゼに対する遺伝子、「緑色蛍光タンパク質」の遺伝子ならびに細胞を発光させ得る種々のルシフェラーゼに対する遺伝子である。

【0030】そのようなレポーター遺伝子も、同様に、ベクター、特に真核性発現ベクターを用いて細胞内に導入し得る。レポーター遺伝子をコードするDNAを含むベクター例は、ベクターMMTVルシフェラーゼで、物質のアンドロゲン作用の測定に用いられる。

【0031】ホルモン作用、特に、アンドロゲン/抗アンドロゲン作用を有する物質は、レポーター遺伝子活性の上昇ないしは低下によって識別することができる。工程b)における、受容体またはそのフラグメントと、コモジュレーターまたはそのフラグメントとの間の相互作用に及ぼす試験物質の影響の測定は、同様に、例えば、二重ハイブリッド系、免疫沈降、GSTプルダウンアッセイ、FRET分析およびABCDアッセイによるタンパク質-タンパク質相互作用の測定ならびにゲル保持アッセイによるタンパク質-タンパク質-DNA相互作用の測定により行い得る。

【0032】さらに、ARAP11は、高齢になると一部発症するアンドロゲン誘発性疾患の指標として非常に良好に使用し得ることが認められた。例えば、前立腺癌、勃起能力機能障害、不妊、脱毛症、アクネまたは性機能低下などの関連アンドロゲン誘発性疾患ならびに、例えば、睾丸性女性化症などのアンドロゲン耐性症候群は、ARとARAP11間の共同調節機序の欠損に基づくものである。従って、そのような障害患者でのARおよびARAP11の相対濃度の測定は、一つの方法である。この測定は、好都合なことに、体液、体細胞または体組織を用いて体外で行われる。これは、それぞれの患者で両分子の相対量を測定する定量的方法を用いることにより可能になる。その方法では、例えば、ARおよび

ARAP11に対する抗体またはそれらのmRNAに対する核酸プローブを使用し得る。この比較比を測定するのに幾つかの方法があり、これらの方法は、当業者にとって公知である。同様に、当業者には、これに適した物質および、放射免疫アッセイ、ELISA試験、免疫染色、RT-PCR、ウェスタンブロット、ノーザンブロット、DNAチップまたはタンパク質チップなどの装置も周知である。さらに、通常の方法でARAP11-cDNAを用いて、PCRアッセイのプローブを構築し得る。このアッセイを用いて、特定の患者で正常なDNA配列の変異を検出し、またはノーザンブロットアッセイの転写物ないしはin situハイブリダイゼーションアッセイのDNAを生成させ得る。

【0033】その際、AR対ARAP11の測定比は、健常者の場合よりも大きくまたは小さくなり得る。健常者での正常値は、例えば、多数の健常被験者でAR対ARAP11の比を算出することによって簡単に測定し得る。正常値を検査すべき患者のAR対ARAP11の算出比と比較することにより、算出比の値が正常値よりも大きいか、小さいかを確認し得る。

【0034】ARAP11および/またはARの濃度は、例えば、ARAP11濃度は睾丸中で非常に高く、それに反して肝臓、心臓、胸腺および前立腺で低くなり、組織によって異なり得るので、評価には、様々な組織の濃度を考慮しなければならない。すなわち、試験値および正常値は、同じ組織に由来すべきである。

【0035】ARとARAP11間の共同調節機序の欠損は、ARAP11濃度だけを測定する別の方法で測定し得る。その方法では、AR濃度が少なくとも、ほぼ一定であることに由来する。この場合、正常値より低いARAP11濃度が測定されたら、AR対ARAP11比が変動したことを意味し、これは同様に、指標として共同調節機序障害を示す。

【0036】従って、ARAP11に特異的なプローブを用いてARAP11発現変化を測定し、それを用いてARに対する比を測定し得る。そのような変化は、種々の病像に因果関係的に付随するか、または続発症として発生し得る。

【0037】このようなAR/ARAP11比ないしはARAP11の測定は、例えば、アンドロゲン抵抗性症候群が目的細胞中のAR-とARAP11優勢間の平衡障害により得るといいうARAP11の同定および特性決定に基づく驚くべき知見に拠る。ARAP11が高すぎると、AR系の過敏症が起こり、通常はアンドロゲン作用を持たない分子と反応し得るようになる。逆に、あらゆるレベルでARAP11が欠失するかまたは機能不全であると、アンドロゲン抵抗性が生じる。高すぎるARAP11が検出された患者では、臨床条件下でそれぞれの患者のARAP11力価を低下させるため、例えば、アンチセンス-または類似の薬剤など、ダウンレギュレ

ーションする薬剤の適用が支持されるだろう。同じことをARとARAP11間の相互作用を阻止できる分子によっても達成し得る。患者のARAP11が低すぎれば、このように、活性ARAP11の力価を高めるため、それ自体公知の種々の機序を介してARAP11 cDNA、ARAP11タンパク質またはARAP11 DNAを患者に供給し得る。低分子医薬品により、または特異的なARAP11プロモータータンパク質を用いる自己合成刺激により、ARAP11の濃度または活性を上昇させることも可能である。

【0038】本発明の方法に関する上記の説明から明らかのように、タンパク質ARAP11は本方法を実行するのに最も適している。従って、本発明の対象は、さらに、配列番号2のアミノ酸配列を有するARAP11またはこのタンパク質のアミノ酸813~1390を有するARAP11フラグメントである。

【0039】本願のさらなる対象は、ARAP11またはそのフラグメント(特にアミノ酸813~1390を有するフラグメント)をコードするDNAならびにそれとハイブリダイズするDNAである。用語「ハイブリダイズするDNA」は、通常の条件下、特に、DNAの融点下、20でコーディングDNAとハイブリダイズするDNAを示す。

【0040】以下の実施例は、本発明を詳しく説明するものであるが、それに限定されない。

実施例1: ARAP11によるアンドロゲン受容体シグナルの同時活性化

ヒト胎児脳由来のcDNAライブラリー(Clontech MATCHMAKER)およびプローブ(図1)としてアミノ酸325~919をコードするヒトARフラグメントを使用して、通常の2ハイブリッド酵母系を用いてアンドロゲンの存在下でスクリーニングを行った。製造業者(Clontech)の使用説明書通りにスクリーニングしたクローン数は 6×10^7 であった。独立したクローン数は、製造業者の記述によれば、 3.5×10^6 であった。その中から350陽性クローンを選択し、ガラクトシダーゼアッセイを用いて試験した。そのアッセイでは、lacZ陽性クローンとして240クローンが確認された。これらのクローンの挿入体をPCRにより増幅した。制限フラグメント分析および配列決定を用いて、少なくとも17の種々のクローンを同定した。その内の一つは、1169bpの包括的インサート(3243bp~4412bp)を有するクローンであった。このインサートは、ORF(オープンリーディングフレーム)の1部をコードする。この配列は、すでにPro2000(Genbank受け入れ番号XM005253)に記載したORFのほぼ完全な部分も含む。

【0041】通常のPCR方法を用いて、次に、コーディングARAP11-cDNAを完全長でクローンニ

ングした。コーディングARAP11-cDNAは、1390アミノ酸から構成されるタンパク質(配列番号2)をコードし、362アミノ酸のタンパク質を表す、これまでに知られていたPro2000配列を著しく超える。5'と3'の非翻訳領域を合わせて、ここに記載の配列は、4412bpの長さを有する(配列番号1)。

【0042】図2は、ノーザンプロット分析を用いるそれ自体公知の方法で算出したARAP11の組織分布を示す。種々のヒト組織から単離したポリA+RNA(2 μ g)をホルムアルデヒド含有アガロースゲルを用いて分離し、ナイロン膜上にプロットした後、標識ARAP11-cDNAフラグメントとハイブリダイズさせた。図2aと2bに記載の実験には、ARAP11のcDNA配列の3111~4217bpのフラグメントを用い、図2cに記載の実験には、2065~2476bpのフラグメントを用いた。洗浄後、膜をフィルム上に置き、24時間(図2aと2c)または8日間(図2b)露光後、現像した。図2から読み取れるように、ARAP11の発現は睾丸中で非常に強く、それに対して肝臓、心臓、胸腺および前立腺では弱くしか検出されなかった。その際、二つの転写物(6.0kbと5.2kb)が認められた。

【0043】ARAP11のcDNA配列の2065~2476bpの411bpからなるフラグメントのプローブを用いても、睾丸中に二つの同じ大きさの転写物が検出されたため、検出された転写物は、図2aと2bで3111~4217のプローブで検出された転写物と同一であると考えられ得る。これは、GenbankにXM005253で寄託されたPro2000の配列が不完全であり、5'領域が2480bpだけ長いことを証明するものである。

【0044】PCRを用いて得られた、アミノ酸813~1390のARAP11フラグメントをコードするARAP11-cDNAを通常の方法でベクターCMXに入れてクローニングし、pSG5-ARおよびMMTVルシフェラーゼを用いて同様に通常の方法でSH-SY5Y細胞内に形質移入した。

【0045】図3から読み取れるように、SH-SY5Y細胞でのARAP11-cDNAの一過性形質移入は、特に 10^{-10} ~ 10^{-12} Mの低アンドロゲン濃度でARシグナル作用の強い同時活性化をもたらした。そのため、ウェルを設けた細胞培養シャーレのウェル当り 3×10^5 細胞を1 μ gコアクチベーター(ARAP11-3もしくはARAP11-1、それぞれARAP11のアミノ酸813~1390をコードする)のCMX、ないしは対照プラスミドとして1 μ gのCMX、1.5 μ gのMMTVルシフェラーゼプラスミドおよび0.75 μ gのpSG5ARプラスミドで形質移入し、24時間後、アンドロゲンとして上記濃度のジヒドロキシテスト

ステロン（DHT）で処理した。さらに24時間後に形質移入細胞を収穫し、レポーター遺伝子のルシフェラーゼ活性を測定した。さらに、標準化のため、総細胞タンパク質量を測定した。形質移入沈積物および物質濃度ごとに、実験一回とそれぞれ4回の測定を行った。偏差はSDとして記載した。全シグナルで、DHTなしの該当対照値を差し引いた。活性は、相対単位で記載してある。

【0046】実施例2：ラット睾丸中のARAP11の測定

図4は、ラット睾丸中のARAP11と - アクチンの発現を示す。ラット睾丸組織からポリA+RNA（4μg）を単離し、ホルムアルデヒド含有アガロースゲルで分離し、ナイロン膜上に移し、標識化ARAP11-cDNAフラグメント（2226～4228bp）が標識化 - アクチンcDNA（ラット）のいずれかとハイブリダイズさせた。洗浄後、膜をフィルム上に置き、5日間露光後、現像した。ラットの睾丸組織中にRNA転写*

SEQUENCE LISTING

<110> JENAPHARM GmbH & Co. KG
 <120> A Method for Testing Hormonal Effects of a Substance
 <130> PF3174
 <140>
 <141>
 <150>DE 101 21 710.2
 <151>2001-5-4
 <150>DE 101 61 325.3
 <151>2001-12-13
 <160> 2
 <170> PatentIn Ver. 2.1
 <210> 1
 <211> 4412
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens
 <220>
 <221> CDS
 <222> (45)..(4214)
 <400> 1
 gatctctctc cggtcgca cgccgagcc agta
 gggaga gaag atg gtg gtt ctc 56

Met Val Val

Leu

1

cgc agc agc ttg gag ctg cac aac cac tcc
 gcg gcc tcg gcc acg ggc 104
 Arg Ser Ser Leu Glu Leu His Asn His Ser
 Ala Ala Ser Ala Thr Gly

5

10

15

20

tcc ttg gac ctg tcc agt gac ttc ctc agt

*物（6.0kb）が認められた。レーン1に3週齢ラットの単離RNA、レーン2に6週齢ラットの単離RNAおよびレーン3に2年齢ラットの単離RNAをアプライした。ARAP11遺伝子発現の明らかな年齢に起因する依存性が認められる。このとき、 - アクチン遺伝子の発現は変化を示さない。出生後6週間でARAP11の発現が明らかに低下し（50%超）、老齢ラット（2年）ではさらに極僅かのARAP11遺伝子の発現しか確認できない。コモジュレーターARAP11の遺伝子発現変化の類似した挙動が、病像で予期し得る。

【0047】

【発明の効果】本発明によれば、低コストで簡易、迅速、高感度の信頼し得る様式で、環境関連的または薬理的に重要な物質がホルモン作用を誘発するかどうかを試験することができる。

【0048】

【配列表】

40	45	50	
aca gcc aaa gcg ggc gat ggg tca tca gtt			
aag gaa gtt gaa acc tac 248			
Thr Ala Lys Ala Gly Asp Gly Ser Ser Val			
Lys Glu Val Glu Thr Tyr			
55	60	65	
cac cgg aca cgt gct tta aga tct ttg aga			
aaa gat gca cag aat tct 296			
His Arg Thr Arg Ala Leu Arg Ser Leu Arg			
Lys Asp Ala Gln Asn Ser			
70	75	80	
tca gat tct agt ttt gag aag aat gtg gaa			
ata acg gag caa ctt gct 344			
Ser Asp Ser Ser Phe Glu Lys Asn Val Glu			
Ile Thr Glu Gln Leu Ala			
85	90	95	10
0			
aat ggc agg cat ttt aca agg cag ttg gcc			
aga cag cag gct gat aaa 392			
Asn Gly Arg His Phe Thr Arg Gln Leu Ala			
Arg Gln Gln Ala Asp Lys			
105	110	115	
aaa aaa gaa gag cac aga gaa gac aaa gtg			
att cca gtt act cgg tca 440			
Lys Lys Glu Glu His Arg Glu Asp Lys Val			
Ile Pro Val Thr Arg Ser			
120	125	130	
ttg agg gct aga aac atc gtt caa agt aca			
gaa cac tta cat gaa gat 488			
Leu Arg Ala Arg Asn Ile Val Gln Ser Thr			
Glu His Leu His Glu Asp			
135	140	145	
aat ggt gat gtt gaa gtg cgt cga agt tgt			
agg att aga agt cgt tat 536			
Asn Gly Asp Val Glu Val Arg Arg Ser Cys			
Arg Ile Arg Ser Arg Tyr			
150	155	160	
agt ggt gta aac cag tcc atg ctg ttt gac			
aaa ctt ata act aac act 584			
Ser Gly Val Asn Gln Ser Met Leu Phe Asp			
Lys Leu Ile Thr Asn Thr			
165	170	175	1
80			
gct gaa gct gta ctt caa aaa atg gat gac			
atg aag aag atg cgt aga 632			
Ala Glu Ala Val Leu Gln Lys Met Asp Asp			
Met Lys Lys Met Arg Arg			
185	190	195	

ttg gaa aaa cct cgt cac cag aga aag ccc
 aac ata ttt tat agt ggc 1016
 Leu Glu Lys Pro Arg His Gln Arg Lys Pro
 Asn Ile Phe Tyr Ser Gly
 310 315 320

cca gct tct cct gca aga cca aga tac cga
 tta tct tcc gca gga cca 1064
 Pro Ala Ser Pro Ala Arg Pro Arg Tyr Arg
 Leu Ser Ser Ala Gly Pro
 325 330 335 3
 40

aga agt cct tac tgt aaa cga atg aac agg
 cga agg cat gca atc cac 1112
 Arg Ser Pro Tyr Cys Lys Arg Met Asn Arg
 Arg Arg His Ala Ile His
 345 350 355

agt agt gac tcg act tca tct tcc tcc tct
 gaa gat gaa cag cac ttt 1160
 Ser Ser Asp Ser Thr Ser Ser Ser Ser Ser
 Glu Asp Glu Gln His Phe
 360 365 370

gag agg cgg agg aaa agg agt cgt aat agg
 gct atc aat agg tgc ctc 1208
 Glu Arg Arg Arg Lys Arg Ser Arg Asn Arg
 Ala Ile Asn Arg Cys Leu
 375 380 385

cca cta aat ttt cgg aaa gat gaa tta aaa
 ggc att tat aaa gat cga 1256
 Pro Leu Asn Phe Arg Lys Asp Glu Leu Lys
 Gly Ile Tyr Lys Asp Arg
 390 395 400

atg aaa att gga gca agc ctt gcc gat gtt
 gat cca atg caa cta gat 1304
 Met Lys Ile Gly Ala Ser Leu Ala Asp Val
 Asp Pro Met Gln Leu Asp
 405 410 415 4
 20

tct tca gta cga ttt gat agt gtt ggt ggc
 ctg tct aat cat ata gca 1352
 Ser Ser Val Arg Phe Asp Ser Val Gly Gly
 Leu Ser Asn His Ile Ala
 425 430 435

gct cta aaa gag atg gtg gtg ttt cca tta
 ctt tat cca gaa gtc ttt 1400
 Ala Leu Lys Glu Met Val Val Phe Pro Leu
 Leu Tyr Pro Glu Val Phe
 440 445 450

Arg Gly Glu Ile Val Val Ile Gly Ala Thr
 Asn Arg Leu Asp Ser Ile
 565 570 575 5
 80
 gat cct gct tta cga agg cct ggt cgc ttt
 gat aga gaa ttc ctc ttt 1832
 Asp Pro Ala Leu Arg Arg Pro Gly Arg Phe
 Asp Arg Glu Phe Leu Phe
 585 590 595

agc ctg cct gat aaa gag gct cga aaa gag
 att cta aag att cac acc 1880
 Ser Leu Pro Asp Lys Glu Ala Arg Lys Glu
 Ile Leu Lys Ile His Thr
 600 605 610

agg gat tgg aat ccc aaa cca ctg gac aca
 ttt tta gaa gag cta gca 1928
 Arg Asp Trp Asn Pro Lys Pro Leu Asp Thr
 Phe Leu Glu Glu Leu Ala
 615 620 625

gaa aac tgt gtt gga tac tgt gga gca gat
 att aaa tca ata tgt gct 1976
 Glu Asn Cys Val Gly Tyr Cys Gly Ala Asp
 Ile Lys Ser Ile Cys Ala
 630 635 640

gaa gct gct tta tgt gct tta cga cga cgc
 tac cca cag atc tat acc 2024
 Glu Ala Ala Leu Cys Ala Leu Arg Arg Arg
 Tyr Pro Gln Ile Tyr Thr
 645 650 655 6
 60

act agt gag aaa ctg cag ttg gat ctc tct
 tca att aat atc tca gct 2072
 Thr Ser Glu Lys Leu Gln Leu Asp Leu Ser
 Ser Ile Asn Ile Ser Ala
 665 670 675

aag gat ttc gag gta gct atg caa aag atg
 ata cca gcc tcc caa aga 2120
 Lys Asp Phe Glu Val Ala Met Gln Lys Met
 Ile Pro Ala Ser Gln Arg
 680 685 690

gct gtg aca tca cct ggg cag gca ctg tcc
 acc gtt gtg aaa cca ctc 2168
 Ala Val Thr Ser Pro Gly Gln Ala Leu Ser
 Thr Val Val Lys Pro Leu
 695 700 705

act gta tat aca tta gac att cct gtt ctt
 ttt gga gtt agt act aca 2552
 Thr Val Tyr Thr Leu Asp Ile Pro Val Leu
 Phe Gly Val Ser Thr Thr
 825 830 835

tcc cct gaa gaa aca tgt gcc cag gtg att
 cgt gaa gct aag aga aca 2600
 Ser Pro Glu Glu Thr Cys Ala Gln Val Ile
 Arg Glu Ala Lys Arg Thr
 840 845 850

gca cca agt ata gtg tat gtt cct cat atc
 cac gtg tgg tgg gaa ata 2648
 Ala Pro Ser Ile Val Tyr Val Pro His Ile
 His Val Trp Trp Glu Ile
 855 860 865

gtt gga ccg aca ctt aaa gcc aca ttt acc
 aca tta tta cag aat att 2696
 Val Gly Pro Thr Leu Lys Ala Thr Phe Thr
 Thr Leu Leu Gln Asn Ile
 870 875 880

cct tca ttt gct cca gtt tta cta ctt gca
 act tct gac aaa ccc cat 2744
 Pro Ser Phe Ala Pro Val Leu Leu Leu Ala
 Thr Ser Asp Lys Pro His
 885 890 895 9

00
 tcc gct ttg cca gaa gag gtg caa gaa ttg
 ttt atc cgt gat tat gga 2792
 Ser Ala Leu Pro Glu Glu Val Gln Glu Leu
 Phe Ile Arg Asp Tyr Gly
 905 910 915

gag att ttt aat gtc cag tta ccg gat aaa
 gaa gaa ccg aca aaa ttt 2840
 Glu Ile Phe Asn Val Gln Leu Pro Asp Lys
 Glu Glu Arg Thr Lys Phe
 920 925 930

ttt gaa gat tta att cta aaa caa gct gct
 aag cct cct ata tca aaa 2888
 Phe Glu Asp Leu Ile Leu Lys Gln Ala Ala
 Lys Pro Pro Ile Ser Lys
 935 940 945

aag aaa gca gtt ttg cag gct ttg gag gta
 ctc cca gta gca cca cca 2936
 Lys Lys Ala Val Leu Gln Ala Leu Glu Val
 Leu Pro Val Ala Pro Pro

Arg Ala Cys Ala Leu Arg Asp Thr Ala Tyr
 Ala Ile Ile Lys Glu Glu
 1080 1085 1090

ctt gat gaa gac ttt gag cag ctc tgt gaa
 gaa att cag gaa tct aga 3368
 Leu Asp Glu Asp Phe Glu Gln Leu Cys Glu
 Glu Ile Gln Glu Ser Arg
 1095 1100 1105

aag aaa aga ggt tgt agc tcc tcc aaa tat
 gcc ccg tct tac tac cat 3416
 Lys Lys Arg Gly Cys Ser Ser Ser Lys Tyr
 Ala Pro Ser Tyr Tyr His
 1110 1115 1120

gtg atg cca aag caa aat tcc act ctt gtt
 ggt gat aaa aga tca gac 3464
 Val Met Pro Lys Gln Asn Ser Thr Leu Val
 Gly Asp Lys Arg Ser Asp
 1125 1130 1135
 1140

cca gag cag aat gaa aag cta aag aca ccg
 agt act cct gtg gct tgc 3512
 Pro Glu Gln Asn Glu Lys Leu Lys Thr Pro
 Ser Thr Pro Val Ala Cys
 1145 1150 1155

agc act cct gct cag ttg aag agg aaa att
 cgc aaa aag tca aac tgg 3560
 Ser Thr Pro Ala Gln Leu Lys Arg Lys Ile
 Arg Lys Lys Ser Asn Trp
 1160 1165 1170

tac tta ggc acc ata aaa aag cga agg aag
 att tca cag gca aag gat 3608
 Tyr Leu Gly Thr Ile Lys Lys Arg Arg Lys
 Ile Ser Gln Ala Lys Asp
 1175 1180 1185

gat agc cag aat gcc ata gat cac aaa att
 gag agt gat aca gag gaa 3656
 Asp Ser Gln Asn Ala Ile Asp His Lys Ile
 Glu Ser Asp Thr Glu Glu
 1190 1195 1200

act caa gac aca agt gta gat cat aat gag
 acc gga aac aca gga gag 3704
 Thr Gln Asp Thr Ser Val Asp His Asn Glu
 Thr Gly Asn Thr Gly Glu
 1205 1210 1215
 1220

Leu Lys Asn Leu Leu Lys Thr Val Val Lys
Lys Ser Gln Asn Tyr Asn

1335 1340 1345

ata ttt cag ttg gaa aat ttg tat gca gta
atc agc caa tgt att tat 4136

Ile Phe Gln Leu Glu Asn Leu Tyr Ala Val
Ile Ser Gln Cys Ile Tyr

1350 1355 1360

cgg cat cgc aag gac cat gat aaa aca tca
ctt att cag aaa atg gag 4184

Arg His Arg Lys Asp His Asp Lys Thr Ser
Leu Ile Gln Lys Met Glu

1365 1370 1375

1380

caa gag gta gaa aac ttc agt tgt tcc aga
tgatgatgtc atggtatcga 4234

Gln Glu Val Glu Asn Phe Ser Cys Ser Arg

1385 1390

gtattcttta tattcagttc ctatttaagt catt
tttgtc atgtccgcct aattgatgta 4294

gtatgaaacc ctgcatcttt aaggaaaaga ttaa
aatagt aaaataaaag tatttaaaact 4354

ttcctgatat ttatgtacat attaagataa atgt
catgtg taagataact gataaata 4412

<210> 2

<211> 1390

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 2

Met Val Val Leu Arg Ser Ser Leu Glu Leu
His Asn His Ser Ala Ala

1 5 10 15

Ser Ala Thr Gly Ser Leu Asp Leu Ser Ser
Asp Phe Leu Ser Leu Glu

20 25 30

His Ile Gly Arg Arg Arg Leu Arg Ser Ala
Gly Ala Ala Gln Lys Lys

35 40 45

Pro Ala Ala Thr Thr Ala Lys Ala Gly Asp
Gly Ser Ser Val Lys Glu

50 55 60

Val Glu Thr Tyr His Arg Thr Arg Ala Leu
Arg Ser Leu Arg Lys Asp

65 70 75 80

Ser Val Glu Ser Ser Glu Glu Gly Glu Asp Gln Glu His Glu Asp Asp 245 250 255
Gly Glu Asp Glu Asp Asp Glu Asp Asp Asp Asp Asp Asp Asp Asp Asp 260 265 270
Asp Asp Asp Asp Asp Glu Asp Asp Glu Asp Glu Glu Asp Gly Glu Glu 275 280 285
Glu Asn Gln Lys Arg Tyr Tyr Leu Arg Gln Arg Lys Ala Thr Val Tyr 290 295 300
Tyr Gln Ala Pro Leu Glu Lys Pro Arg His Gln Arg Lys Pro Asn Ile 305 310 315 3 20
Phe Tyr Ser Gly Pro Ala Ser Pro Ala Arg Pro Arg Tyr Arg Leu Ser 325 330 335
Ser Ala Gly Pro Arg Ser Pro Tyr Cys Lys Arg Met Asn Arg Arg Arg 340 345 350
His Ala Ile His Ser Ser Asp Ser Thr Ser Ser Ser Ser Ser Glu Asp 355 360 365
Glu Gln His Phe Glu Arg Arg Arg Lys Arg Ser Arg Asn Arg Ala Ile 370 375 380
Asn Arg Cys Leu Pro Leu Asn Phe Arg Lys Asp Glu Leu Lys Gly Ile 385 390 395 4 00
Tyr Lys Asp Arg Met Lys Ile Gly Ala Ser Leu Ala Asp Val Asp Pro 405 410 415
Met Gln Leu Asp Ser Ser Val Arg Phe Asp Ser Val Gly Gly Leu Ser 420 425 430
Asn His Ile Ala Ala Leu Lys Glu Met Val Val Phe Pro Leu Leu Tyr 435 440 445

Glu Glu Leu Ala Glu Asn Cys Val Gly Tyr			
Cys Gly Ala Asp Ile Lys			
625	630	635	6
40			
Ser Ile Cys Ala Glu Ala Ala Leu Cys Ala			
Leu Arg Arg Arg Tyr Pro			
	645	650	655
Gln Ile Tyr Thr Thr Ser Glu Lys Leu Gln			
Leu Asp Leu Ser Ser Ile			
	660	665	670
Asn Ile Ser Ala Lys Asp Phe Glu Val Ala			
Met Gln Lys Met Ile Pro			
	675	680	685
Ala Ser Gln Arg Ala Val Thr Ser Pro Gly			
Gln Ala Leu Ser Thr Val			
	690	695	700
Val Lys Pro Leu Leu Gln Asn Thr Val Asp			
Lys Ile Leu Glu Ala Leu			
705	710	715	7
20			
Gln Arg Val Phe Pro His Ala Glu Phe Arg			
Thr Asn Lys Thr Leu Asp			
	725	730	735
Ser Asp Ile Ser Cys Pro Leu Leu Glu Ser			
Asp Leu Ala Tyr Ser Asp			
	740	745	750
Asp Asp Val Pro Ser Val Tyr Glu Asn Gly			
Leu Ser Gln Lys Ser Ser			
	755	760	765
His Lys Ala Lys Asp Asn Phe Asn Phe Leu			
His Leu Asn Arg Asn Ala			
	770	775	780
Cys Tyr Gln Pro Met Ser Phe Arg Pro Arg			
Ile Leu Ile Val Gly Glu			
785	790	795	8
00			
Pro Gly Phe Gly Gln Gly Ser His Leu Ala			
Pro Ala Val Ile His Ala			
	805	810	815
Leu Glu Lys Phe Thr Val Tyr Thr Leu Asp			
Ile Pro Val Leu Phe Gly			
	820	825	830

Phe Thr Lys Pro Val Asp Pro Asp Glu Val Pro Asp Tyr Val Thr Val 1010	1015	1020
Ile Lys Gln Pro Met Asp Leu Ser Ser Val Ile Ser Lys Ile Asp Leu 1025	1030	1035
1040 His Lys Tyr Leu Thr Val Lys Asp Tyr Leu Arg Asp Ile Asp Leu Ile 1045	1050	1055
Cys Ser Asn Ala Leu Glu Tyr Asn Pro Asp Arg Asp Pro Gly Asp Arg 1060	1065	1070
Leu Ile Arg His Arg Ala Cys Ala Leu Arg Asp Thr Ala Tyr Ala Ile 1075	1080	1085
Ile Lys Glu Glu Leu Asp Glu Asp Phe Glu Gln Leu Cys Glu Glu Ile 1090	1095	1100
Gln Glu Ser Arg Lys Lys Arg Gly Cys Ser Ser Ser Lys Tyr Ala Pro 1105	1110	1115
1120 Ser Tyr Tyr His Val Met Pro Lys Gln Asn Ser Thr Leu Val Gly Asp 1125	1130	1135
Lys Arg Ser Asp Pro Glu Gln Asn Glu Lys Leu Lys Thr Pro Ser Thr 1140	1145	1150
Pro Val Ala Cys Ser Thr Pro Ala Gln Leu Lys Arg Lys Ile Arg Lys 1155	1160	1165
Lys Ser Asn Trp Tyr Leu Gly Thr Ile Lys Lys Arg Arg Lys Ile Ser 1170	1175	1180
Gln Ala Lys Asp Asp Ser Gln Asn Ala Ile Asp His Lys Ile Glu Ser 1185	1190	1195
1200 Asp Thr Glu Glu Thr Gln Asp Thr Ser Val Asp His Asn Glu Thr Gly 1205	1210	1215

【図面の簡単な説明】

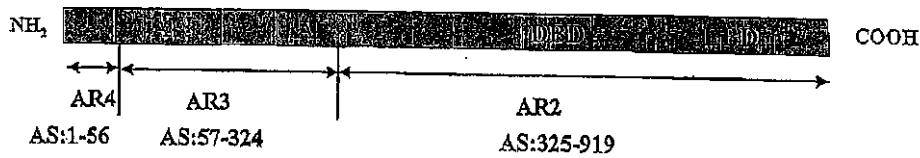
【図1】 アンドロゲンの存在下でARAP11と相互作用可能な、アミノ酸325~919にわたるアンドロゲン受容体ドメイン(AR2)を符号で図示したアンドロゲン受容体である。

*【図2】 ARAP11の組織分布を示す。

【図3】 SH-SY5Y細胞でのアンドロゲン受容体シグナルの同時活性化を示す。

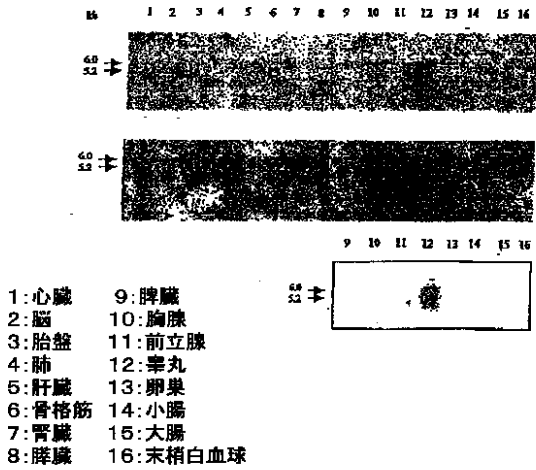
【図4】 ラット睾丸中のARAP11およびβ-アクチンの発現を示す。

【図1】

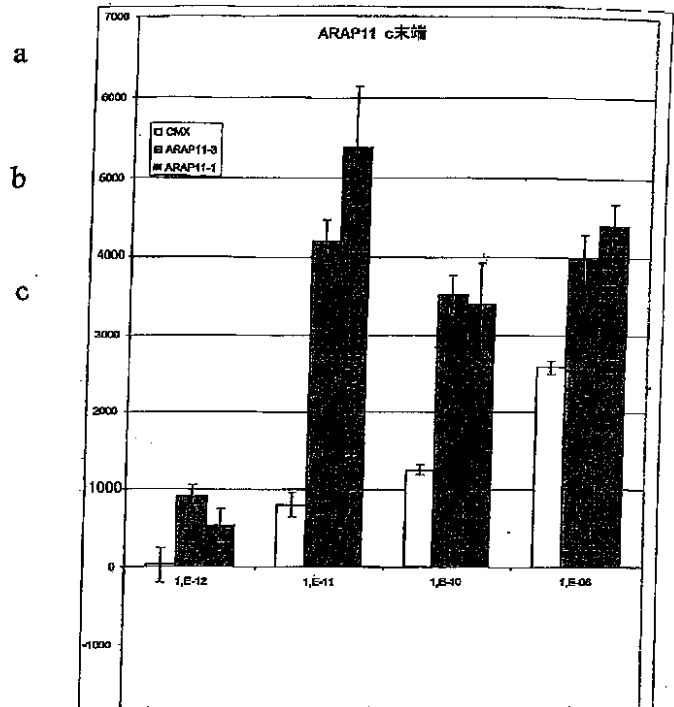


AF = 活性化機能
 DBD = DNA結合ドメイン
 LBD = リガンド結合ドメイン
 AS = アミノ酸

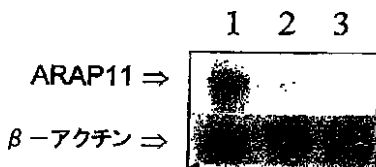
【図2】



【図3】



【図4】



フロントページの続き

(51)Int.Cl. ⁷	識別記号	F I	テ-マコ-ド [*] (参考)
G 0 1 N 33/53		G 0 1 N 33/53	M
	33/566	33/566	
		C 1 2 N 15/00	Z N A A
(72)発明者	マイク オーベンドルフ ドイツ連邦共和国 D - 99423 ワイマ- ル パウル - シュナイダー - シュトラ-セ 14	(72)発明者	イエンス シュレーダー ドイツ連邦共和国 D - 07743 イェナ ヤ-ンシュトラ-セ 19
(72)発明者	ジ-クムント ヴォルフ ドイツ連邦共和国 D - 07745 イェナ グレーテ - ウンライン - シュトラ-セ 3	F タ-ム(参考)	4B024 AA11 BA31 CA04 DA03 EA04 GA11 HA14 4B063 QA18 QQ08 QQ43 QR33 QR55 QS34 4H045 AA10 BA10 CA40 DA86 EA54 FA74

专利名称(译)	物质激素作用的试验方法		
公开(公告)号	JP2003018996A	公开(公告)日	2003-01-21
申请号	JP2002123454	申请日	2002-04-25
申请(专利权)人(译)	lenafarumu GMBH UND代码. 卡格		
[标]发明人	マイクオーベンドルフ ジークムントヴォルフ イエンスシュレーダー		
发明人	マイク オーベンドルフ ジークムント ヴォルフ イエンス シュレーダー		
IPC分类号	G01N33/53 C07K14/47 C12N15/09 C12Q1/02 C12Q1/68 G01N33/15 G01N33/566 G01N33/74		
CPC分类号	C07K14/4705 G01N33/743 G01N2500/10		
FI分类号	C07K14/47 C12Q1/02 C12Q1/68.A G01N33/15.Z G01N33/53.D G01N33/53.M G01N33/566 C12N15/00.ZNA.A C12N15/00.A C12N15/00.AZN.A		
F-TERM分类号	4B024/AA11 4B024/BA31 4B024/CA04 4B024/DA03 4B024/EA04 4B024/GA11 4B024/HA14 4B063/QA18 4B063/QQ08 4B063/QQ43 4B063/QR33 4B063/QR55 4B063/QS34 4H045/AA10 4H045/BA10 4H045/CA40 4H045/DA86 4H045/EA54 4H045/FA74		
优先权	10121710 2001-05-04 DE 10161325 2001-12-13 DE		
其他公开文献	JP4071033B2		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

要解决的问题：以可靠，低成本，简单，快速和敏感的方式测试物质的激素作用。 解决方案：一种物质的荷尔蒙作用（特别是雄激素或抗雄激素作用）的测试方法是：a）两个载体（一个载体包含编码核受体蛋白或其片段的DNA，另一个载体将用一种物质（包含编码共调节剂或其片段的DNA）转染的细胞暴露于该物质，以及b）在共调节剂或其片段的存在下由核受体或其片段诱导的转录活性。 和/或所述物质通过蛋白质-蛋白质相互作用或蛋白质-蛋白质-DNA相互作用对核受体或其片段与助调节剂或其片段之间的相互作用的至少一种作用。 和一个测量步骤。

