

【11】證書號數：I327168

【45】公告日：中華民國 99 (2010) 年 07 月 11 日

【51】Int. Cl. : C12Q1/68 (2006.01) G01N33/53 (2006.01)

發明

全 6 頁

【54】名稱：用於篩選多胜肽聚集調節劑之重組蛋白與方法

RECOMBINANT PROTEIN AND METHOD OF SCREENING FOR AGENTS
THAT MODULATE POLYPEPTIDE AGGREGATION

【21】申請案號：096134789

【22】申請日：中華民國 96 (2007) 年 09 月 19 日

【11】公開編號：200837196

【43】公開日期：中華民國 97 (2008) 年 09 月 16 日

【30】優先權：2006/09/19

美國

11/523,090

【72】發明人：鄭子豪 (TW) CHENG, TZU HAO ; 劉珈榮 (TW) LIU, CHIA RUNG

【71】申請人：國立陽明大學

NATIONAL YANG-MING
UNIVERSITY

臺北市北投區立農街 2 段 155 號

【56】參考文獻：

US 6420122B1

[57]申請專利範圍

1. 一重組蛋白，其組成成分包含式 A-B，其中 A 係一個含有 8-200 個羰胺醯胺之多羰胺醯胺區域；B 係一個能被調節而決定細胞顏色的酵素。
2. 根據申請專利範圍第 1 項之重組蛋白，其中多羰胺醯胺之區域包含 25~100 個羰胺醯胺。
3. 根據申請專利範圍第 1 項之重組蛋白，其中該酵素可反應重組蛋白的形態改變。
4. 根據申請專利範圍第 3 項之重組蛋白，其中該酵素係為 ADE2(磷酸核醯胺基咪唑羧酶)。
5. 一個表現載體，其可表現出申請專利範圍第 1 項重組蛋白。
6. 根據申請專利範圍第 5 項之載體，該載體更包含一個啟動子位於重組蛋白之核苷酸序列上游。
7. 一種細胞，其係以申請專利範圍第 5 項之載體轉型或轉染。
8. 根據申請專利範圍第 7 項之細胞，其中該細胞係細菌、酵母菌、真菌、哺乳動物或昆蟲細胞。
9. 根據申請專利範圍第 7 項之細胞，其中該細胞呈紅色則代表重組蛋白之聚集。
10. 一種篩選神經退化疾病藥物的方法，其包含：(A)一申請專利範圍第 7 項之細胞，其中表現含有 8~25 個羰胺醯胺蛋白之細胞為正對照組，表現含有 85~100 個羰胺醯胺蛋白之細胞為實驗組；(B)令一候選藥物在實驗組和正對照組同時處理；及(C)藉由實驗組和正對照組不同的顏色改變，確認候選藥物是否為治療劑。
11. 根據申請專利範圍第 10 項之方法，其中該方法更包含未用候選藥物處理並且表現含 85~100 個羰胺醯胺蛋白之細胞當作負對照組。
12. 根據申請專利範圍第 11 項之方法，其中該負對照組係用於確認實驗組的顏色改變。
13. 根據申請專利範圍第 10 項之方法，其中神經退化疾病係由蛋白質多胜肽聚集所造成。
14. 根據申請專利範圍第 13 項之方法，其中神經退化疾病係為杭丁頓式舞蹈症、齒狀核紅核蒼白球路易體萎縮症(DRPLA)、脊髓小腦萎縮症、脊髓性肌肉萎縮症、阿茲海默症、帕金森氏症、克一亞二氏症或克魯症。

(2)

15. 根據申請專利範圍第 10 項之方法，其中重組蛋白包含多肽胺醯胺區域及 ADE2 酵素。
16. 根據申請專利範圍第 10 項之方法，其中細胞顏色係由紅色改變為粉紅色或白色。
17. 一種篩選神經退化疾病藥劑之套組，其包含申請專利範圍第 1 項之重組蛋白。
18. 根據申請專利範圍第 17 項之套組，其中神經退化疾病係為杭丁頓式舞蹈症、齒狀核紅核蒼白球路易體萎縮症(DRPLA)、脊髓小腦萎縮症、脊髓性肌肉萎縮症、阿茲海默症、帕金森氏症、克一亞二氏症或克魯症。
19. 根據申請專利範圍第 17 項之套組，其包含一轉型或轉染入重組蛋白之細胞。
20. 根據申請專利範圍第 19 項之套組，其中該細胞係為酵母菌細胞。

圖式簡單說明

圖一：(A)不同長度的多肽胺醯胺片段和 ADE2 重組基因的建立。(B)表現不同 ADE2 重組蛋白之細胞菌落顏色。

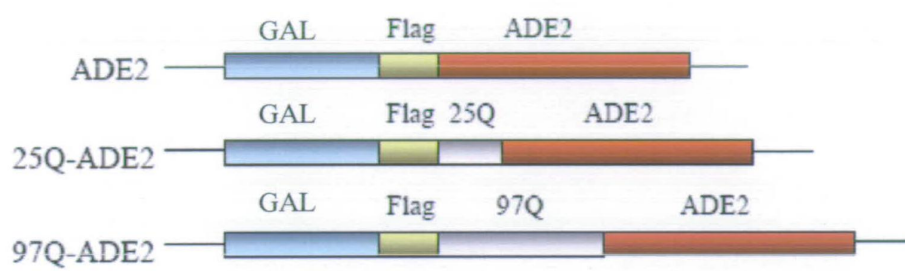
圖二：(A)用過濾萃取的方法偵測 ADE2 重組蛋白的聚集。(B)藉由狹縫吸漬的方法證明不同 ADE2 品系報導蛋白表現量相似。

圖三：(A)以顏色為依據之酵母菌藥物篩選系統進行藥物處理。(B)(A)中產生的顏色變化，是因為 97Q-ADE2 聚集量減少造成。

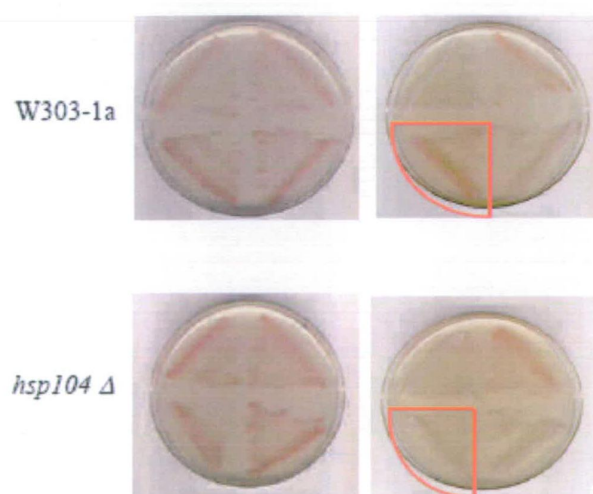
圖四：確認以細胞顏色為依據之藥物篩選系統。酵母菌中加入不同濃度的氫氯化胍 (GuHCL)，並培養在 48 孔盤中。

(3)

(A)



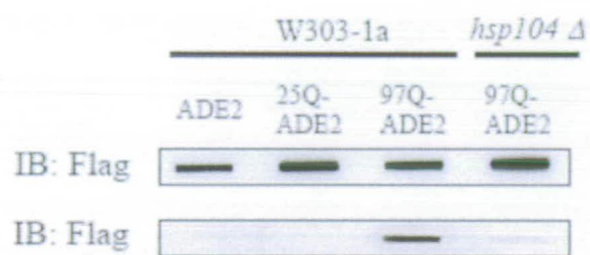
(B)



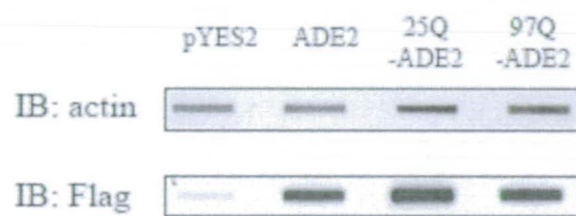
圖一

(4)

(A)



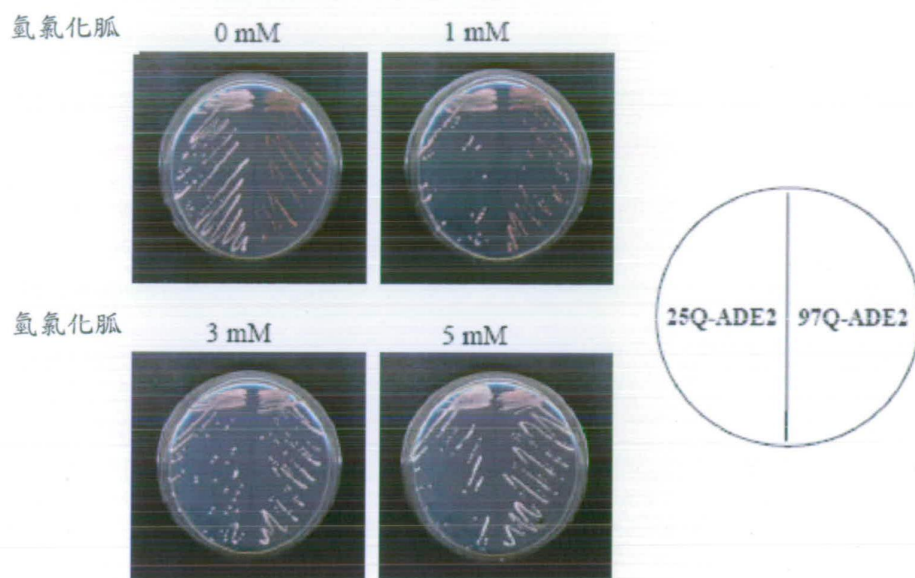
(B)



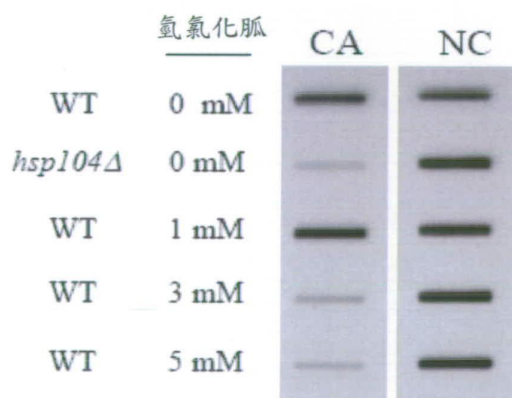
圖二

(5)

(A)



(B)



圖三

(6)



氫氯化胍 0 mM 1 mM 3 mM 5 mM

圖四