

【11】證書號數：I606061

【45】公告日：中華民國 106 (2017) 年 11 月 21 日

【51】Int. Cl. : C07K14/00 (2006.01) C12N15/11 (2006.01)
C12N15/63 (2006.01) A61K38/16 (2006.01)
A61P35/00 (2006.01)

發明

全 20 頁

【54】名稱：用於治療乳癌的細胞穿透胜肽及其應用

CELL-PENETRATING PEPTIDE FOR TREATING BREAST CANCER AND ITS APPLICATION

【21】申請案號：105118621 【22】申請日：中華民國 105 (2016) 年 06 月 14 日

【72】發明人：蔡英美 (TW) TSAI, EING-MEI；謝宗樺 (TW) HSIEH, TSUNG-HUA

【71】申請人：高雄醫學大學 KAOHSIUNG MEDICAL UNIVERSITY
高雄市三民區十全一路 100 號

【74】代理人：葉大慧

【56】參考文獻：

US 7067474B1 WO 2008/051048A2
Yuli Wang et al., The Journal of Biological Chemistry, 270,
354-360, 1995.
Hsieh TH et al., FASEB J. 2012 Feb; 26(2):778-87.

審查人員：黃教威

【57】申請專利範圍

1. 一種細胞穿透胜肽，係由一如 SEQ ID NO：3 或 6 所示的胺基酸序列所組成的。
2. 一種核酸分子，係包括：一核苷酸序列，係用以編碼一如請求項第 1 項所述之細胞穿透胜肽。
3. 一種細胞，係包括：一如請求項第 1 項所述之細胞穿透胜肽。
4. 如請求項第 3 項所述之細胞，更包括：一如請求項第 3 項所述之核酸分子。
5. 如請求項第 3 項所述之細胞，係原核細胞或真核細胞。
6. 一種如請求項第 1 項所述之細胞穿透胜肽用於製備治療乳癌之藥劑的用途。
7. 如請求項第 6 項所述之用途，其中該藥劑係透過血管內、椎管內、肌肉內、皮下、腹膜內、口服、直腸、陰道、鼻部、或腫瘤之途徑投予至一有該治療需求的個體內。
8. 如請求項第 6 項所述之用途，其中該藥劑用於抑制乳癌細胞的生長、增生、侵襲、遷移、及/或群落成形。
9. 如請求項第 6 項所述之用途，其中該藥劑用於促進乳癌細胞的凋亡。
10. 如請求項第 6 項所述之用途，其中該藥劑用於抑制 β -catenin/TCF4/LEF-1 下游基因的表現。
11. 如請求項第 10 項所述之用途，其中該下游基因為 BMP4、BTRC、CDKN2A、CLDN1、CLTA4、EDA、EDN1、FGF4、FGF9、FGF18、FOXP1、FST、ID2、IL6、MET、MITF、MYC、MYOG、NANOG、RUNX2、PITX2、SALL4、SOX2、ITAM1、VCAN、VEGFA、或 WISP1。

圖式簡單說明

(2)

圖 1A 為一長條圖，說明不同胜肽處理後之 MCF-7 與 MDA-MB-231 細胞的生長。圖 1B 為一長條圖，說明不同濃度 TAT-NLS-BLBD-6 處理不同時間後之 MCF-7 細胞的生長。圖 1C 為一長條圖，說明不同濃度 TAT-NLS-BLBD-6 處理不同時間後之 MDA-MB-231 細胞的生長。圖 1D 為一長條圖，說明不同物質處理 48 小時後之 MCF-7 與 MDA-MB-231 細胞的生長。圖 1E 為一長條圖，說明不同濃度 TAT-NLS-BLBD-6 處理 48 小時後之人類正常乳腺上皮細胞 H184B5F5/M10 與人類胚腎細胞 HEK293 的生長。圖 2A 為一免疫螢光染色照片圖，說明 TAT-NLS-BLBD-6 於 MCF-7 與 MDA-MB-231 細胞內的分布，其中箭頭指出其位於細胞核內。圖 2B 為一免疫沉澱結果圖，說明 TAT-NLS-BLBD-6 於 MCF-7 細胞內與 β -catenin 結合。圖 2C 為一鄰位連接分析結果圖，說明 TAT-NLS-BLBD-6 於 MCF-7 及 MDA-MB-231 細胞內與 β -catenin 結合，其中箭頭指出結合發生於細胞核內。圖 3A 為一流式細胞儀結果圖，說明 TAT-NLS-BLBD-6 對 MCF-7 及 MDA-MB-231 細胞週期的影響。圖 3B 為一 TUNEL 結果圖，說明 TAT-NLS-BLBD-6 對 MCF-7 及 MDA-MB-231 細胞凋亡的影響。圖 3C 為一侵襲分析結果圖，說明 TAT-NLS-BLBD-6 對 MCF-7 及 MDA-MB-231 細胞移動的影響。圖 3D 為一傷口閉合結果圖，說明 TAT-NLS-BLBD-6 對 MCF-7 及 MDA-MB-231 細胞移動的影響。圖 3E 為一群落成形結果圖，說明 TAT-NLS-BLBD-6 對 MCF-7 及 MDA-MB-231 細胞增生的影響。圖 4A 為一 GFP 影像照片圖，說明 TAT-NLS-BLBD-6 於異種移植模型中對腫瘤生長的影響。圖 4B 為一曲線圖，說明 TAT-NLS-BLBD-6 於異種移植模型中對腫瘤體積與個體重量的影響。圖 4C 為一免疫化學染色結果圖，說明 TAT-NLS-BLBD-6 於異種移植模型中位於腫瘤的細胞核內。圖 5A 為一流程圖，說明斑馬魚異種栽植模型的建立。圖 5B 為一螢光顯微鏡照片圖，說明 TAT-NLS-BLBD-6 於異種栽植模型中對細胞生長的影響。圖 5C 為一長條圖，說明圖 5B 的螢光定量結果。圖 6A 為一人類全球基因表現譜，其為分析 TAT-NLS-BLBD-6 與 TAT-NLS-BLBD-6m 處理過之乳癌細胞的 RNA 樣本而取得的。圖 6B 為一長條圖，呈現 TAT-NLS-BLBD-6 於 MCF-7 細胞中所向下調控的基因。圖 6C 為一長條圖，呈現 TAT-NLS-BLBD-6 於 MDA-MB-231 細胞中所向下調控的基因。圖 6D 為一長條圖，說明 TAT-NLS-BLBD-6 對 HER2 陽性細胞 ZR-75-30 生長的影響。圖 6E 為一長條圖，呈現 TAT-NLS-BLBD-6 於 HER2 陽性細胞 ZR-75-30 中所向下調控的基因。

(3)

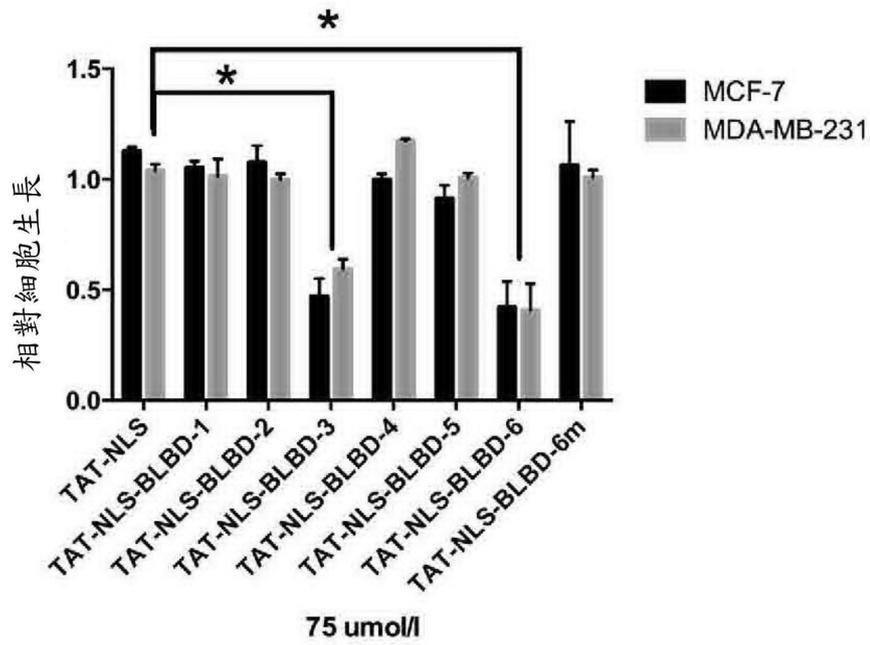


圖1A

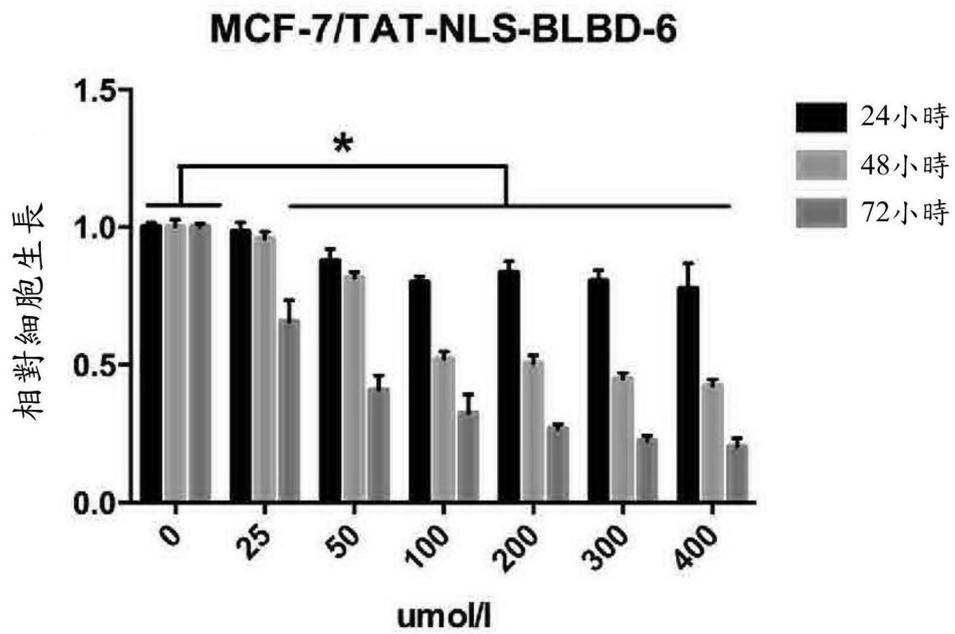


圖1B

(4)

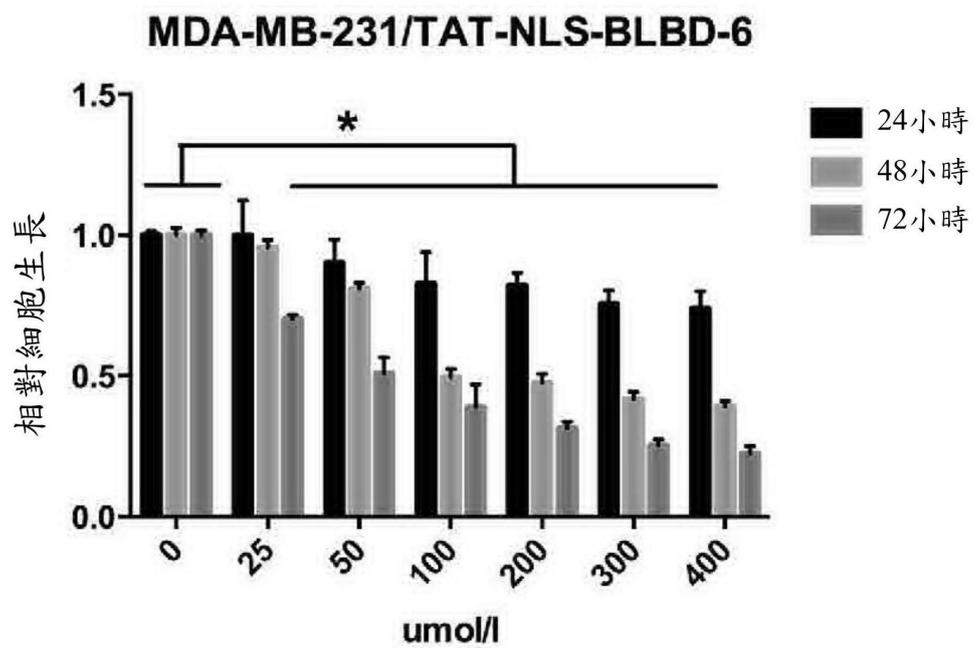
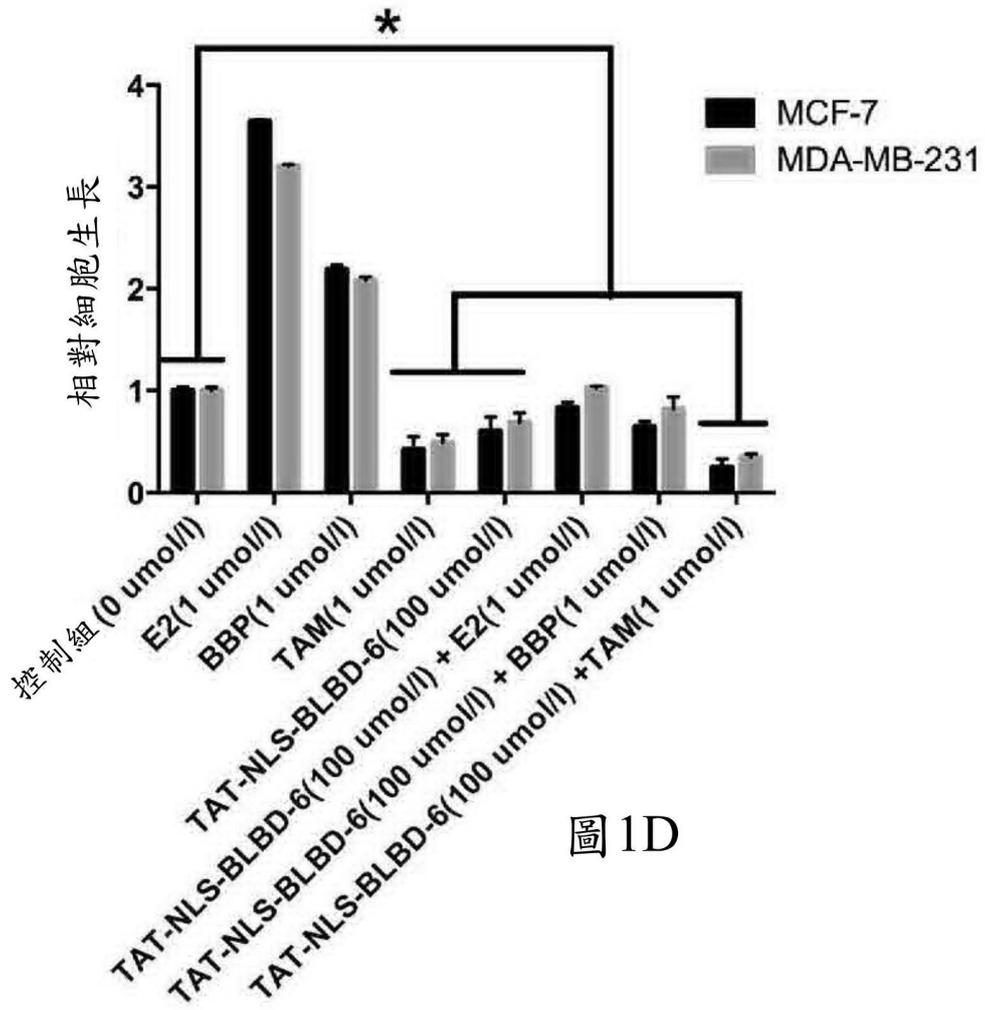


圖1C

(5)



(6)

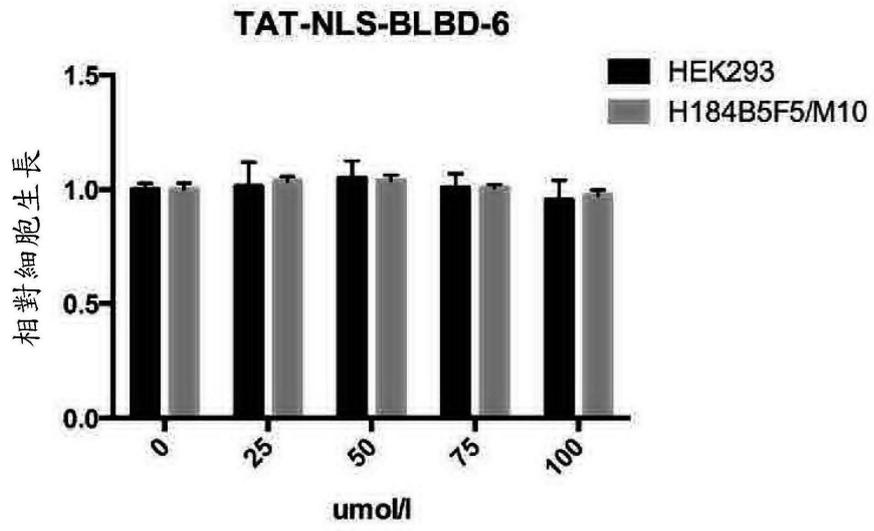


圖 1E

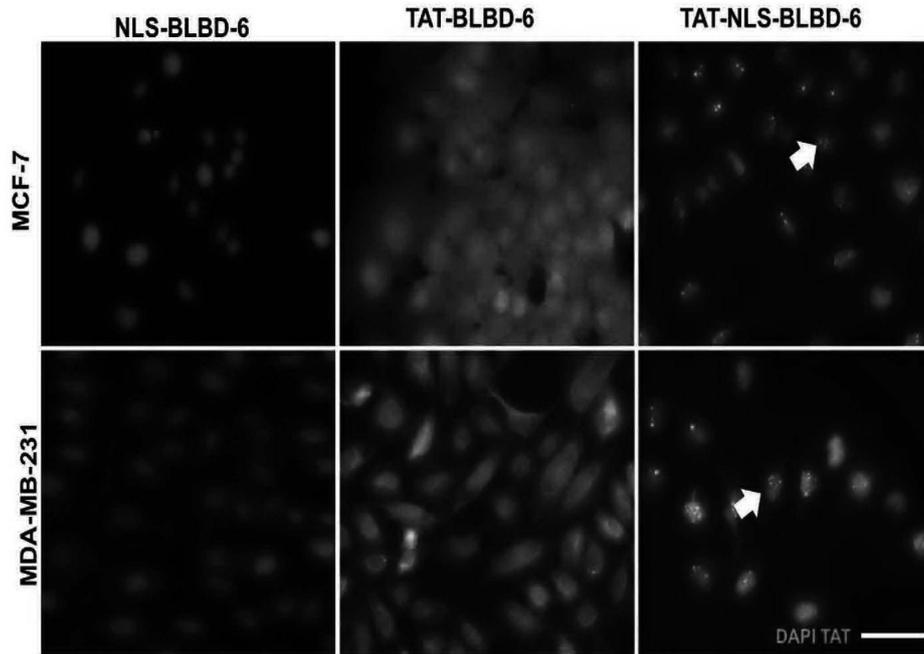
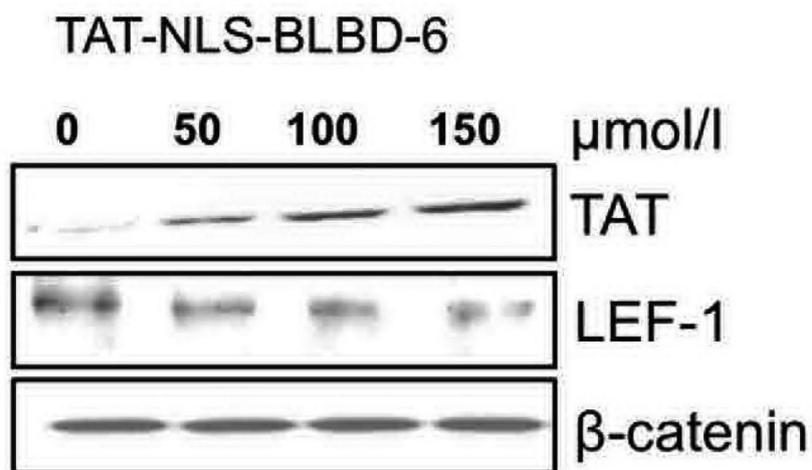
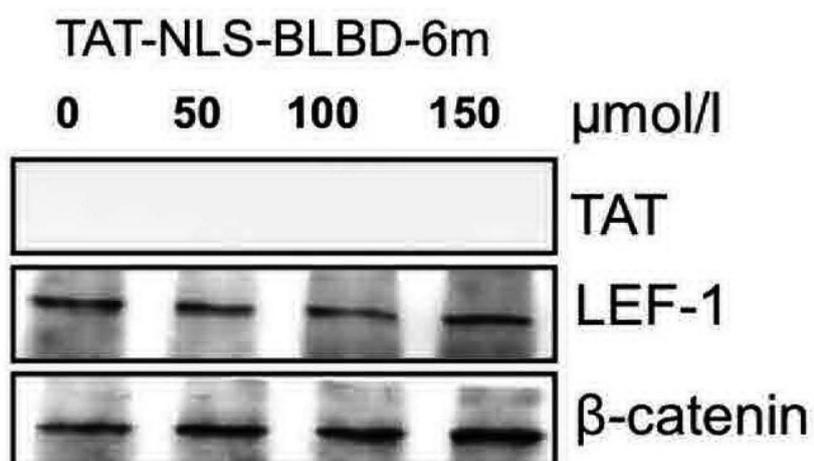


圖 2A

(7)



免疫沉澱： β -catenin



免疫沉澱： β -catenin

圖2B

(8)

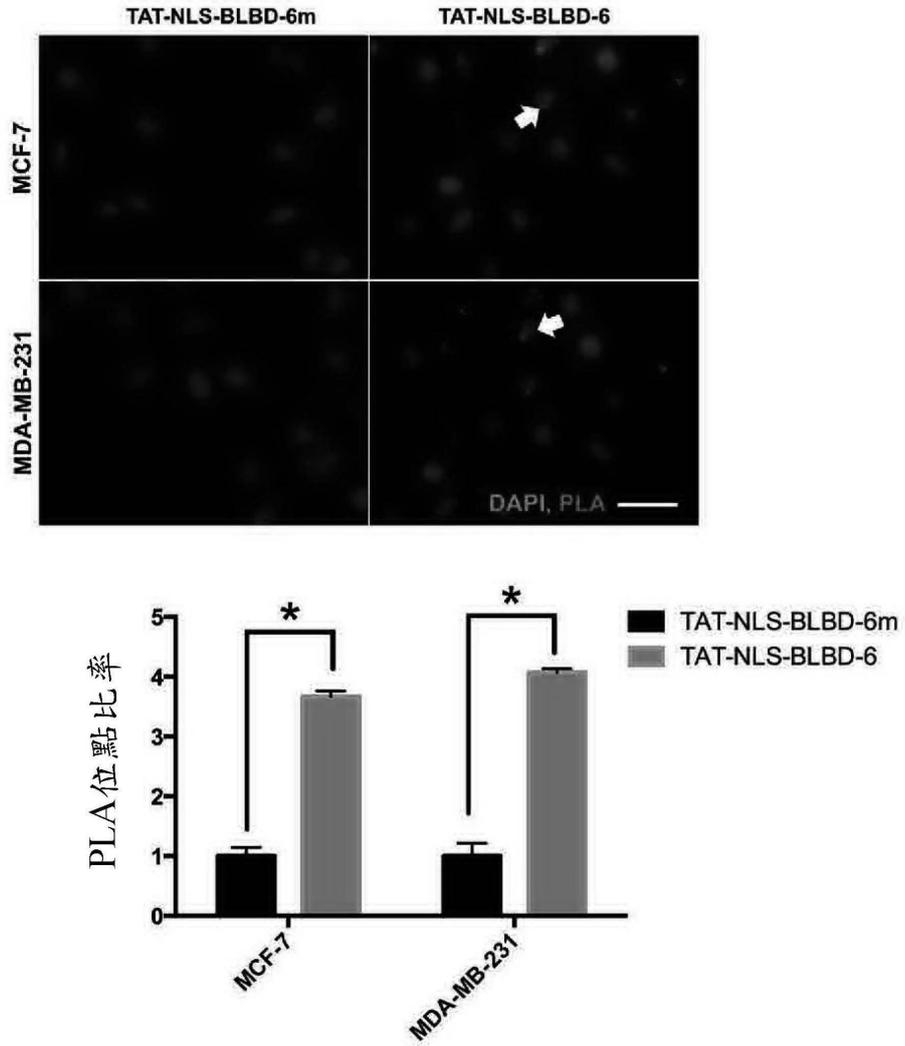


圖2C

(9)

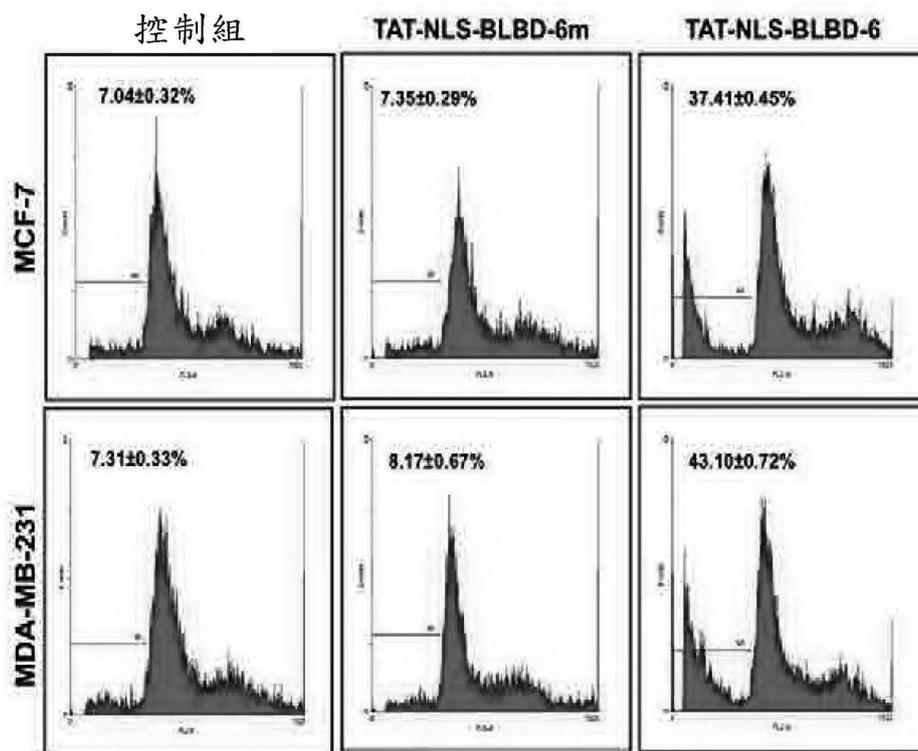


圖3A

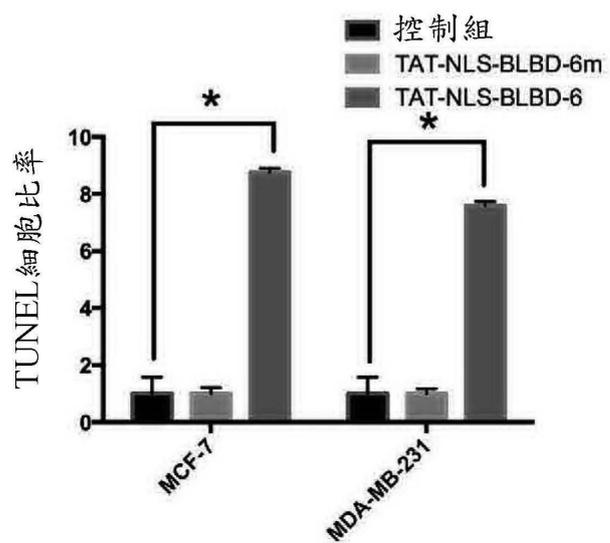
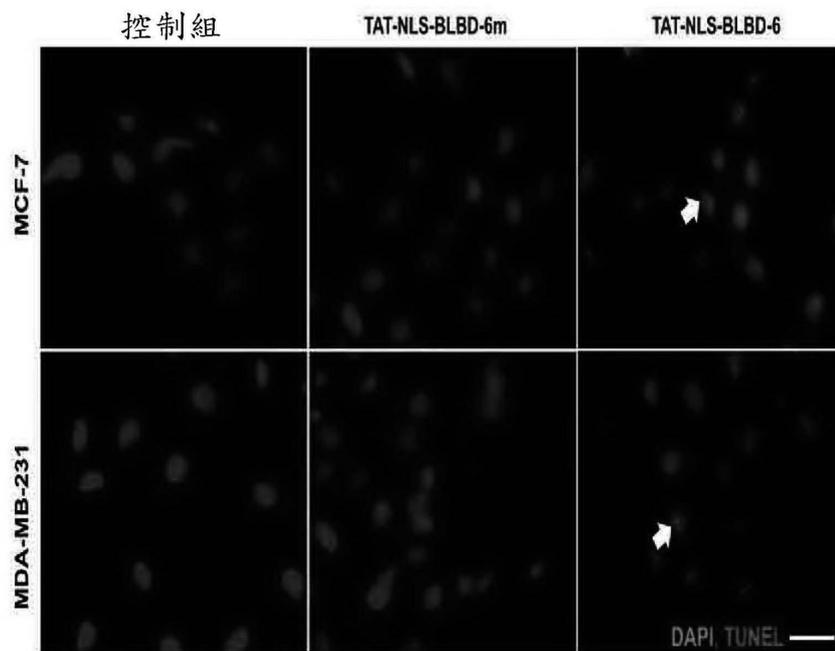


圖3B

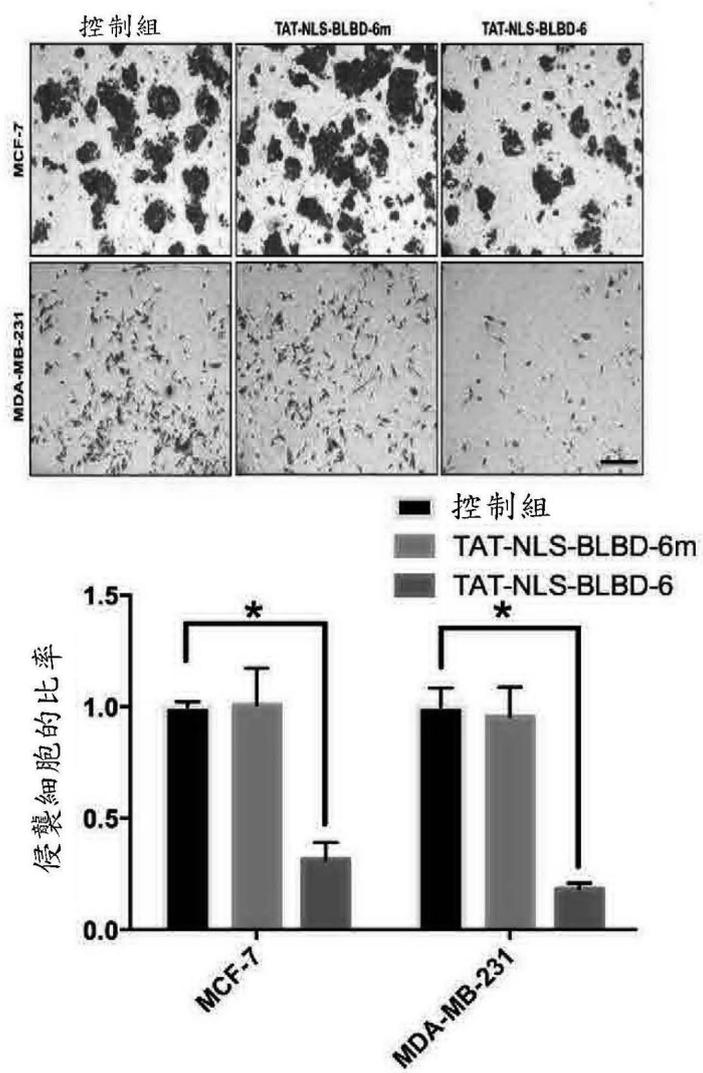


圖3C

(12)

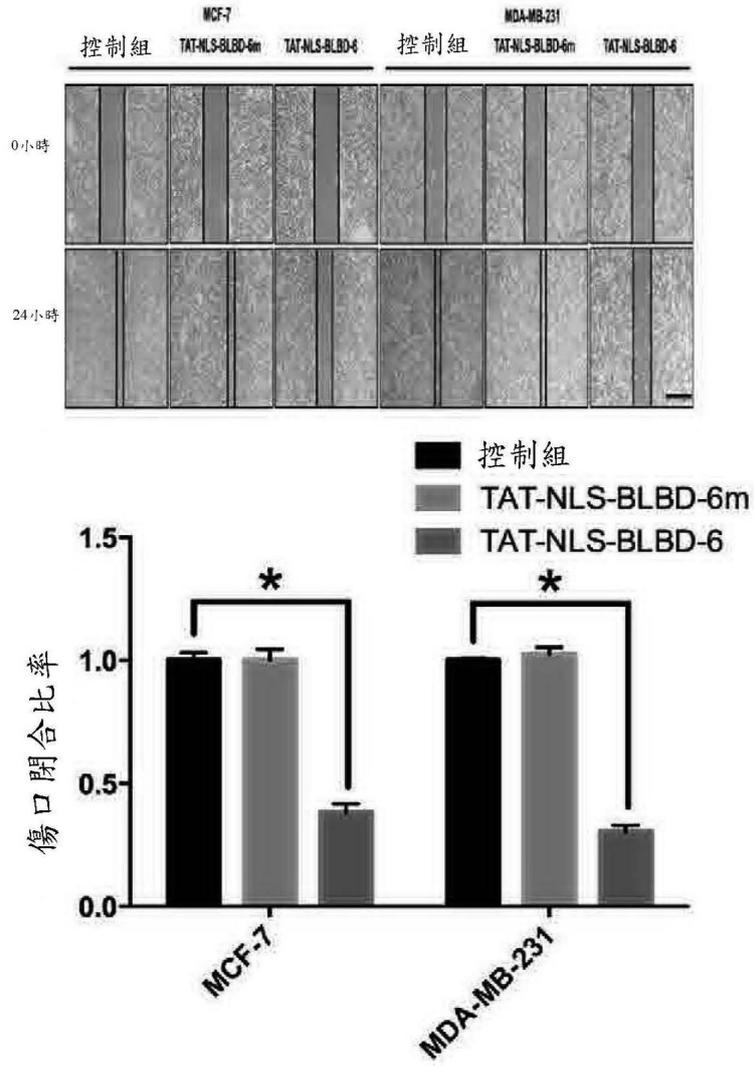


圖3D

(13)

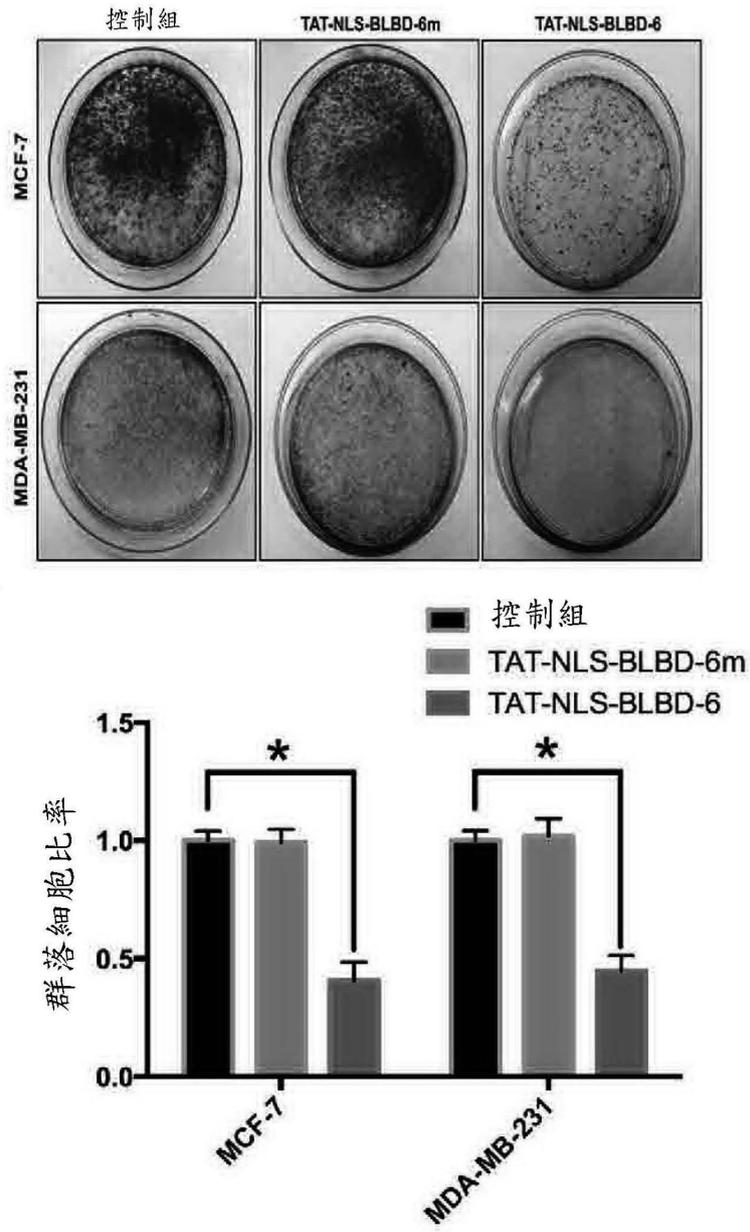


圖3E

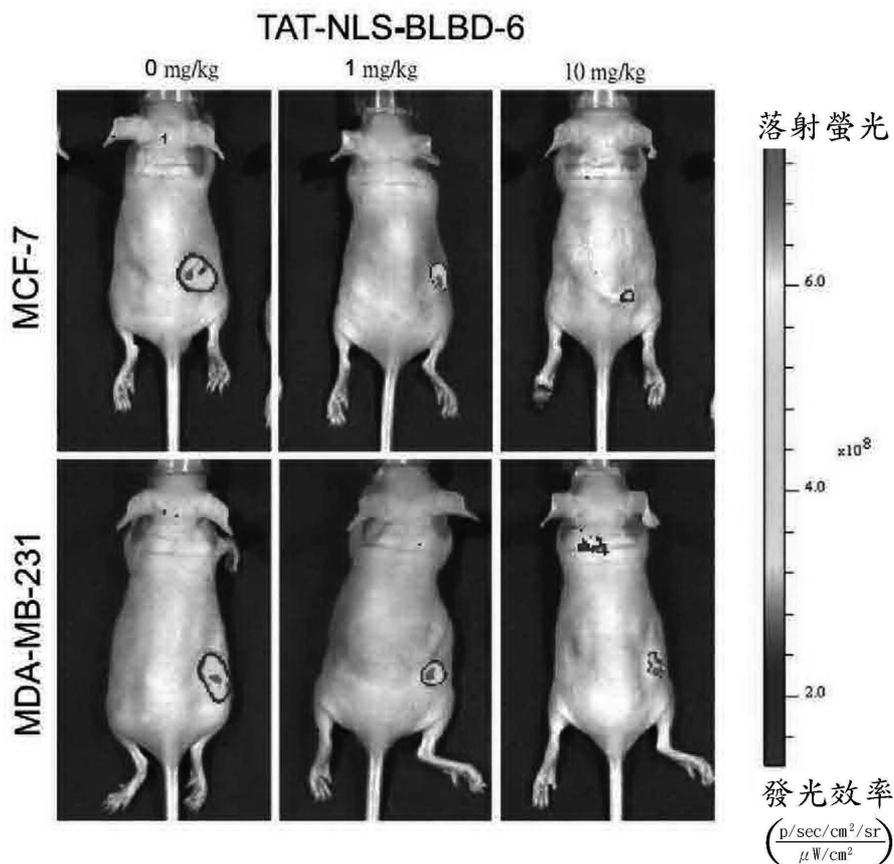


圖4A

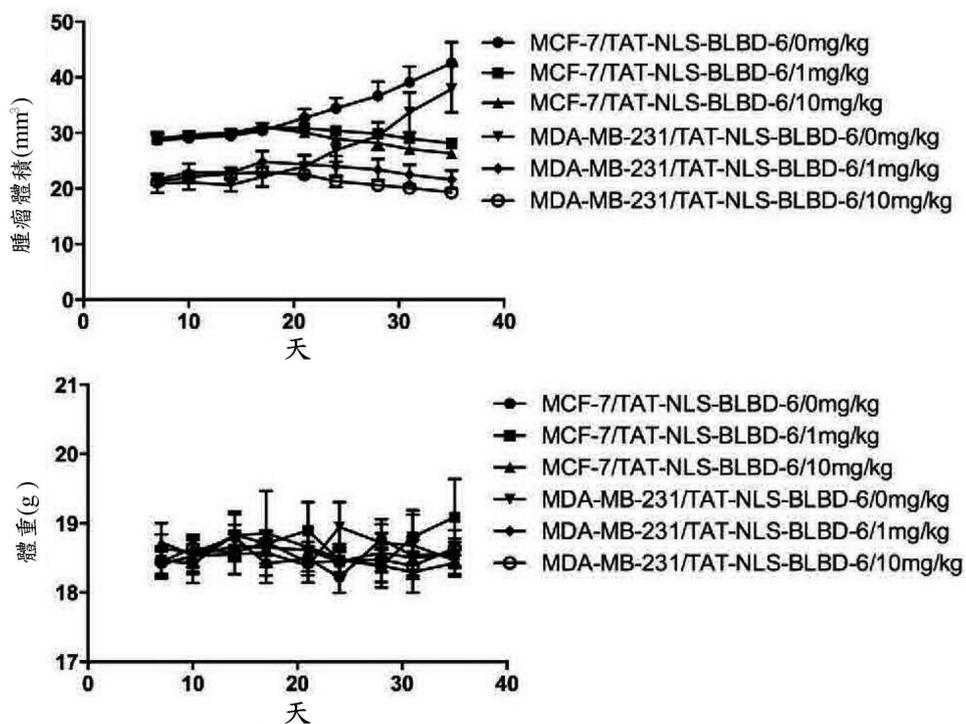


圖4B

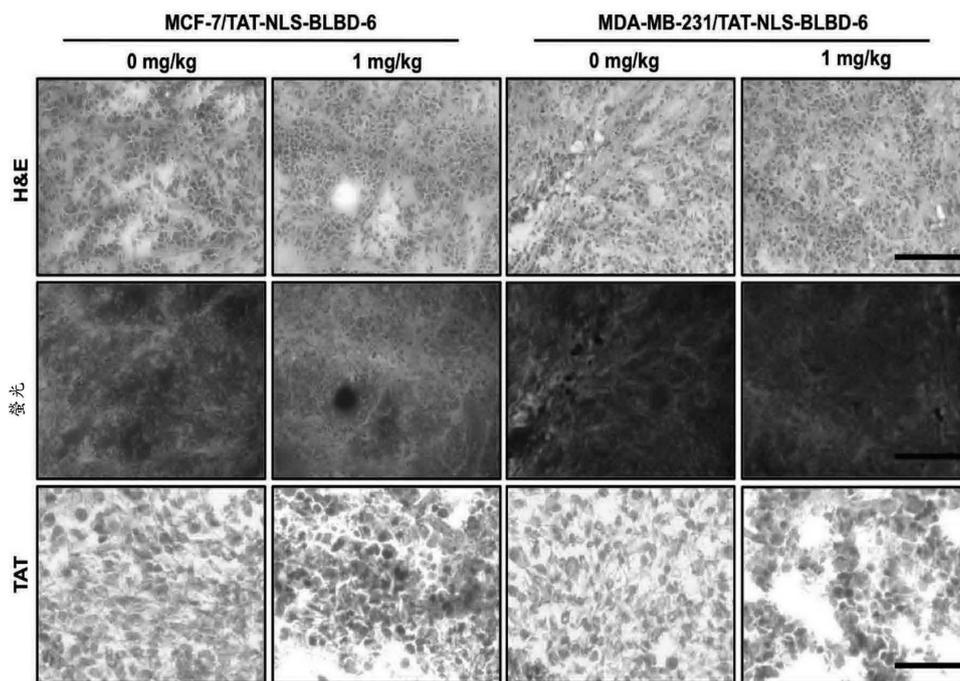


圖4C

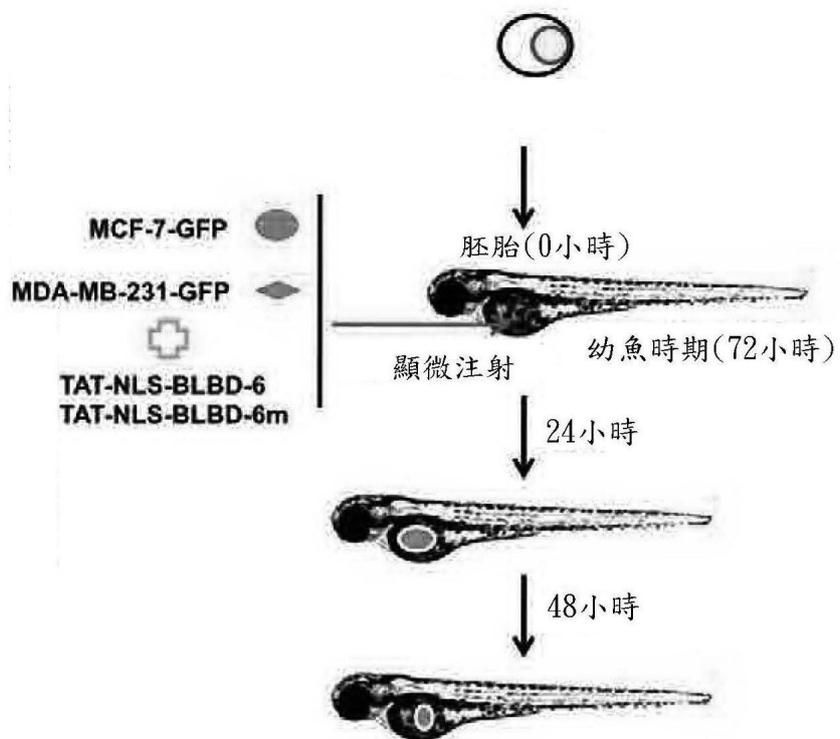


圖5A

(16)

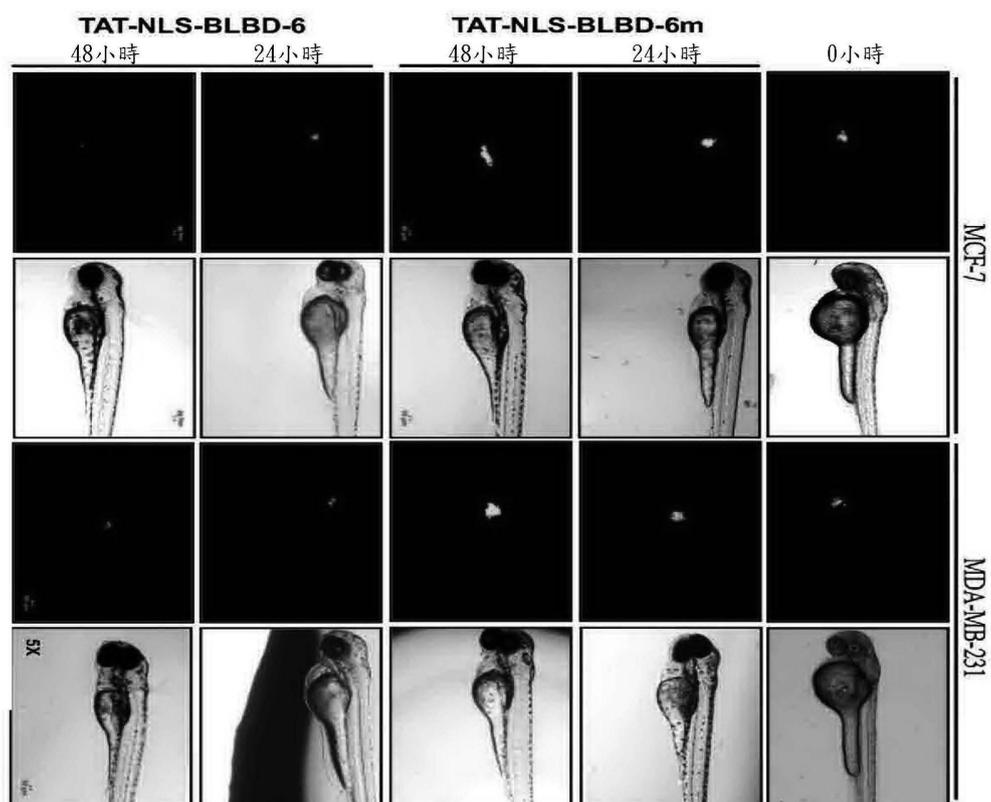


圖5B

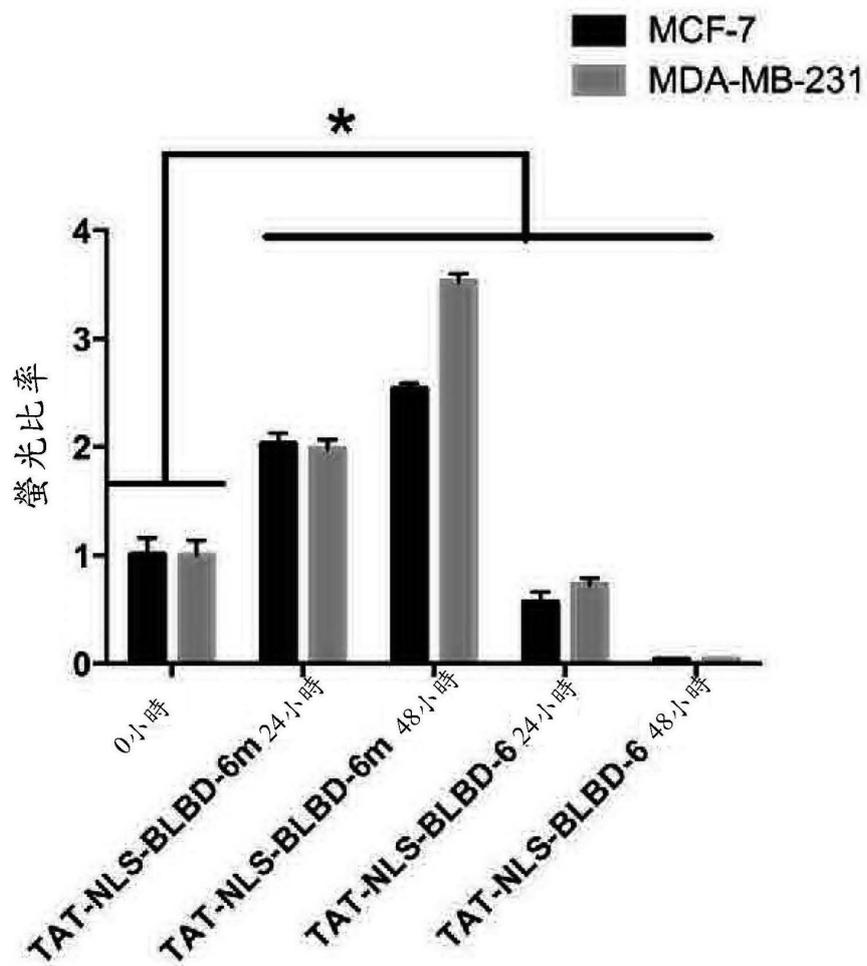


圖5C

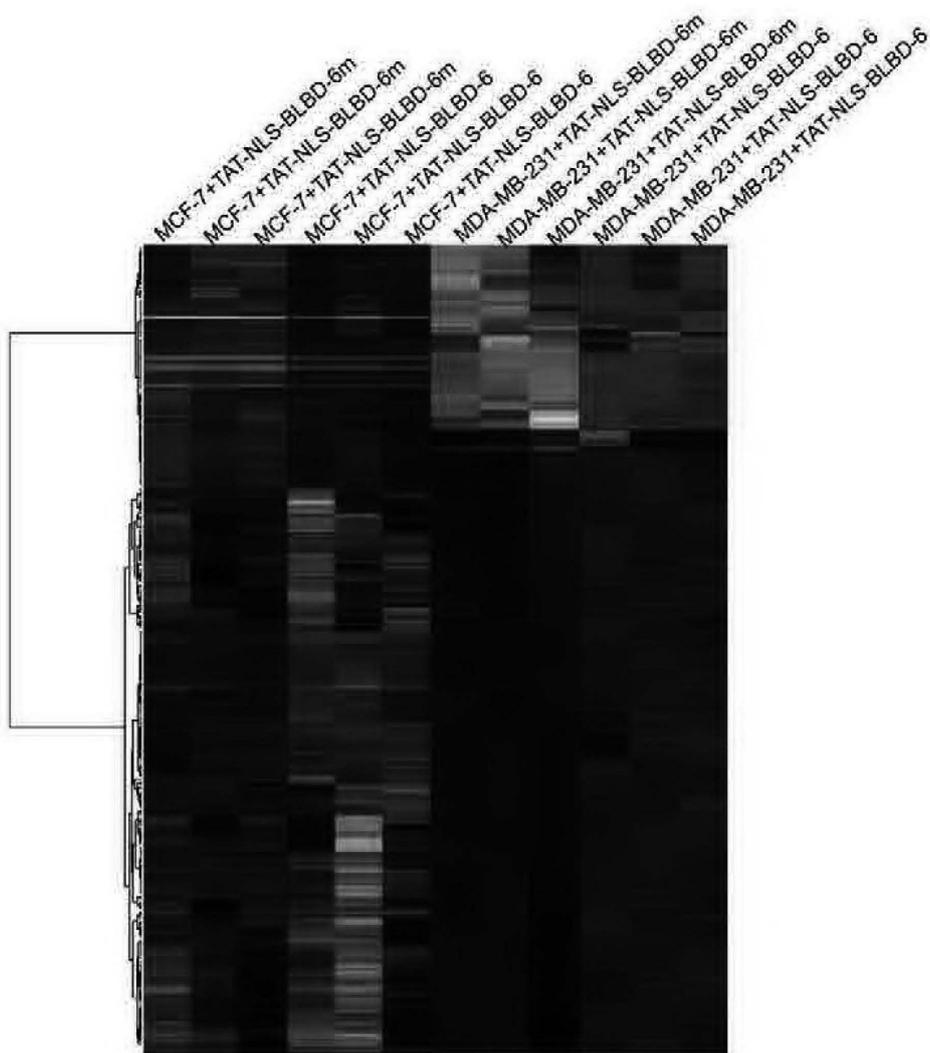


圖6A

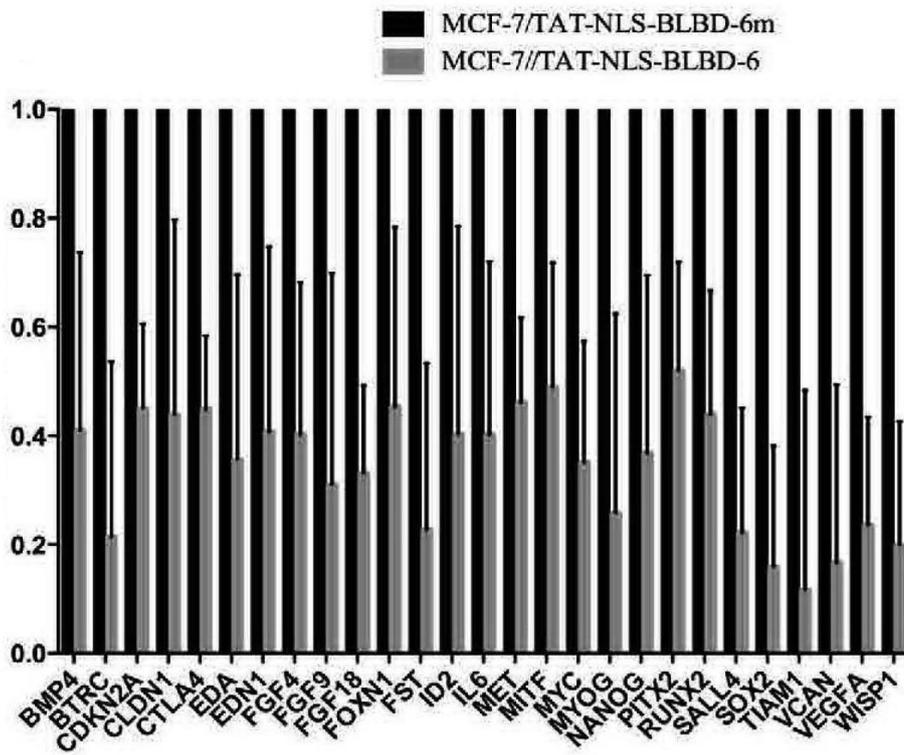


圖 6B

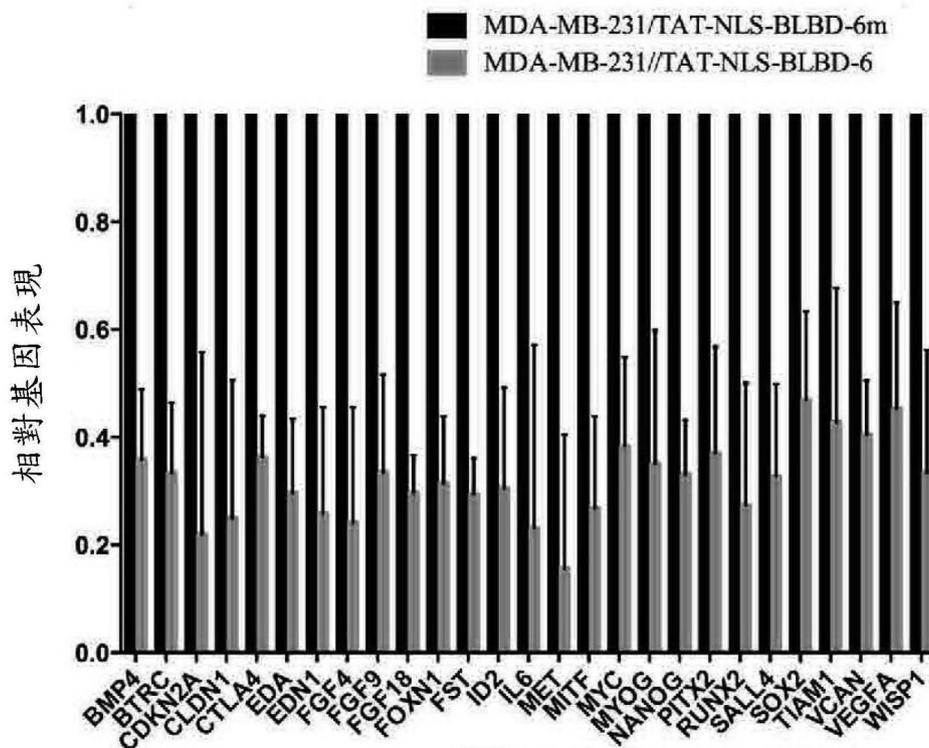


圖 6C

(20)

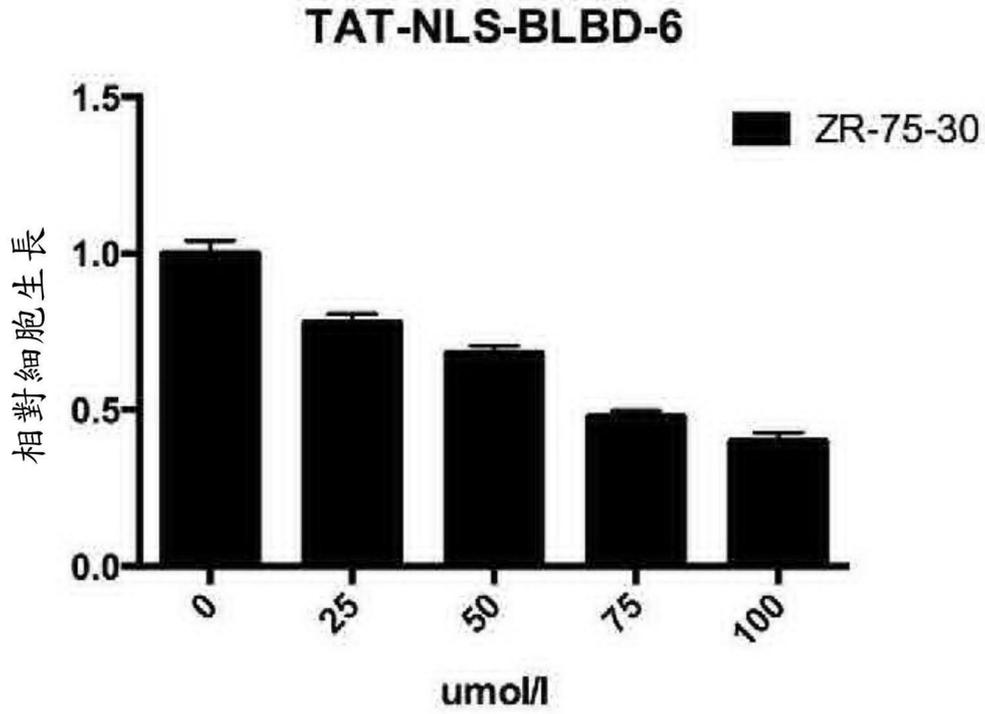


圖 6D

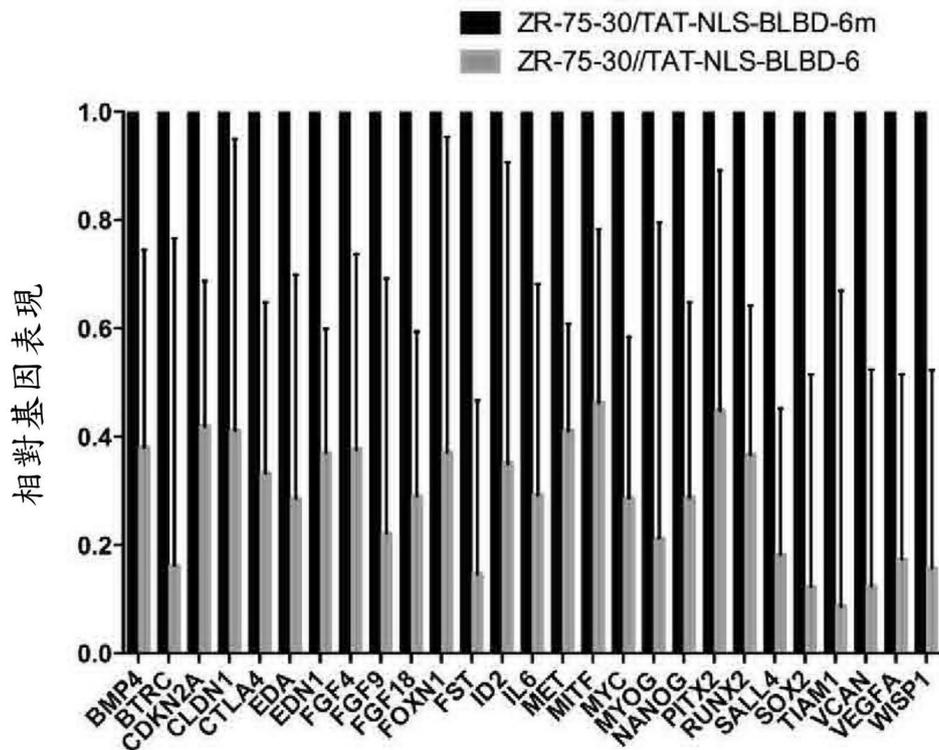


圖 6E