



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公告本

(11)證書號數：TW I521204 B

(45)公告日：中華民國 105 (2016) 年 02 月 11 日

(21)申請案號：101114746

(22)申請日：中華民國 101 (2012) 年 04 月 25 日

(51)Int. Cl. : G01N33/53 (2006.01)

G01N33/68 (2006.01)

(71)申請人：高雄醫學大學(中華民國) KAOHSIUNG MEDICAL UNIVERSITY (TW)

高雄市三民區十全一路 100 號

(72)發明人：田育彰 TYAN, YU CHANG (TW)；楊明慧 YANG, MING HUI (TW)；楊淵韓

YANG, YUAN HAN (TW)；鍾相彬 JONG, SHIAN BIN (TW)

(74)代理人：黃耀霆

(56)參考文獻：

US 2004/0072261A1

WO 2011083461A2

2009 年 10 月 21 日，Fernandez-Montesinos, R., et al., " Activity-Dependent Neuroprotective Protein (ADNP) Expression in the Amyloid Precursor Protein/Presenilin 1 Mouse Model of Alzheimer's Disease", J. Mol. Neurosci., 2010, Vol.41, P.114-120.

2012 年 05 月 10 日，Kim, E.B., et al., " Genome Sequencing Reveals Insights into Physiology and Longevity of the Naked Mole Rat", Nature, 2011, Vol.479, No.7372, P.223-227. (Also published on NIH Public Access, available in PMC 2012 May 1. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3319411/>)

2004 年 03 月 16 日，Genbank:AAS59145.1

審查人員：張榮興

申請專利範圍項數：1 項 圖式數：5 共 30 頁

(54)名稱

阿茲海默症之分子指標

MOLECULAR BIOMARKER FOR ALZHEIMER'S DISEASE

(57)摘要

本發明阿茲海默症之分子指標，係以源自於 ADNP 之胺基酸片段，作為早期診斷其為阿茲海默症高風險族群之判斷指標。

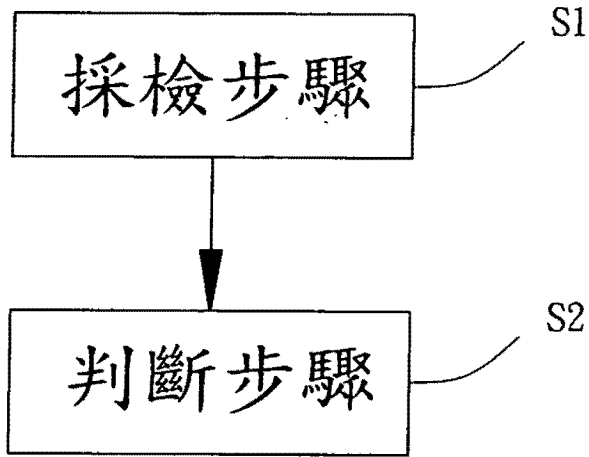
A molecular biomarker for Alzheimer's disease is applying an amino-acid fragment of ADNP as an index for Alzheimer's disease.

指定代表圖：

符號簡單說明：

S1 . . . 採檢步驟

S2 . . . 判斷步驟



第 1 圖

公告本**發明專利說明書**

(本說明書格式、順序，請勿任意更動，※記號部分請勿填寫)

※申請案號：101114746

※申請日：101.4.25

※IPC 分類：G01N 33/53, 33/68

一、發明名稱：(中文/英文)

阿茲海默症之分子指標 / Molecular Biomarker for Alzheimer's Disease

二、中文發明摘要：

本發明阿茲海默症之分子指標，係以源自於 ADNP 之胺基酸片段，作為早期診斷其為阿茲海默症高風險族群之判斷指標。

三、英文發明摘要：

A molecular biomarker for Alzheimer's disease is applying an amino-acid fragment of ADNP as an index for Alzheimer's disease.

四、指定代表圖：

(一)本案指定代表圖為：第 (1) 圖。

(二)本代表圖之元件符號簡單說明：

S1 採檢步驟

S2 判斷步驟

五、本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式：

(無)

六、發明說明：

【發明所屬之技術領域】

本發明係關於一種阿茲海默症的早期診斷方法，特別是一種以活性依賴神經保護同源匣蛋白（簡稱 ADNP）作為早期評估阿茲海默症依據的診斷方法。

【先前技術】

阿茲海默症（Alzheimer's disease，簡稱 AD）係一種神經退化性疾病，好發於 65 歲以上的人，在臨床組織病理診斷上，AD 患者的腦細胞或神經細胞有退化、萎縮及凋亡的情形，例如，患者腦組織中可觀察到類澱粉蛋白（Amyloid β ）沉積及神經纖維糾結的病理特徵。

腦組織隨時都有類澱粉蛋白的產生，而正常腦組織具有清除類澱粉蛋白的能力，以保護腦組織不受類澱粉蛋白的沉積而損害腦區正常功能，當清除類澱粉蛋白的速率低於生成類澱粉蛋白的速率時，腦組織中類澱粉蛋白的沉積量越來越多，更加劇了神經纖維糾結的情形，因而破壞腦部的各區域細胞，進而影響其記憶力、注意力、定向力、構圖能力、語言能力、計算力、判斷力、知覺力或情緒控制力等。

目前臨床上習用診斷 AD 的方法，係以如簡單智能狀態檢查量表（Mini-mental status examination，簡稱 MMSE）、臨床失智評分表（Clinical dementia rating，簡稱 CDR）、阿茲海默症評估量表（Alzheimer's disease assessment scale，簡稱 ADAS）、阿茲海默症聯合登錄暨研

究組織所設計之試驗（Consortium to establish a registry for Alzheimer's disease，簡稱 CERAD）或認知功能篩檢工具（Cognitive abilities screening instrument，簡稱 CASI）等失智症評量方式，初步判斷受測者的精神智能，獲得一評分值，舉例而言，可由如第 1 表所示之 MMSE 評分值或 CDR 評分值評估受測者的認知能力是否有退化的現象。

第 1 表：MMSE 評分值或 CDR 評分值與認知能力對照表

認知能力	CDR 評分值	MMSE 評分值
正常	0	27~30
輕度認知功能障礙	0.5	24~27
輕度失智	1	23 以下
中度失智	2	
重度失智	3	

根據該受測者的認知能力初步評估，可再進行如血液、生化檢查、腦部的電腦斷層掃描（Computer tomography，簡稱 CT）或磁振造影（Magnetic resonance imaging，簡稱 MRI）等檢查，供醫師判斷該受測者是否罹患 AD。

然而，由於 AD 患者在早期發病時，其行為能力異常的情形較不明顯，無法藉由習用方法加以診斷，往往延誤治療時程。更甚者，即使以 CDR 判斷為輕度（CDR=1）或中度（CDR=2）AD 時，由組織病理及藥理學而言，其腦損傷的程度雖尚不及影響其行為能力，但就給予藥物的時機已稍嫌太遲，由此可知，習用診斷 AD 的方法靈敏度低，且無法及時給予藥物治療或控制損傷區域的擴張，因

而造成 AD 患者的病程惡化速度無法受到控制。

再者，當受測者被迫與診斷醫師面對面進行檢測時，可能會對受測者造成緊迫的心理狀態，而影響評估結果；對於高教育程度的受測者而言，其退化程度又較不易區分，相對來說此評估結果無鑑別力，因此，習用診斷 AD 方法較不具指標性。

此外，MCI 族群中每年約有 10~15% 會轉變成失智症，相較於正常對照組僅有 1~2%。由此可知，MCI 可視為退化成失智症的過渡時期，且阿茲海默症的發生與年齡具有高度正相關性，特別係該 MCI 族群於未來有極高的比例會發生 AD，然而，習用診斷 AD 方法卻沒有一種具有指標性的判斷標準，而無法及早發現 AD 的發生，更無法進行早期 AD 的初步篩檢，以提早對輕度 AD 患者、甚至是極早期的 AD 患者施予適當的治療手段，才能夠延緩 AD 發病的病程。

有鑑於此，確實有必要提供一種評估 AD 之檢測方法，係能夠針對可能發生 AD 的族群（例如 65 歲以上的人口）進行初步的篩檢，以即早施予適當的治療手段。

【發明內容】

本發明之主要目的係提供一種阿茲海默症之分子指標，其係對於早期評估阿茲海默症之高風險族群具有高指標性及靈敏度者。

為達到前述發明目的，本發明所運用之技術內容包含有：

一種阿茲海默症之分子指標，係以源自於活性依賴神經保護同源匣蛋白（Activity-dependent neuroprotector homeobox protein，簡稱 ADNP）之胺基酸片段，作為早期診斷其為阿茲海默症高風險族群之判斷指標。

本發明阿茲海默症之分子指標中，該源自於 ADNP 之胺基酸片段較佳係包含如 SEQ ID NO：1、2、3、4 或 7 所示之胺基酸序列。

【實施方式】

為讓本發明之上述及其他目的、特徵及優點能更明顯易懂，下文特舉本發明之較佳實施例，並配合所附圖式，作詳細說明如下：

本發明之阿茲海默症之分子指標係以源自於「活性依賴神經保護同源匣蛋白（Activity-dependent neuroprotector homeobox protein，簡稱 ADNP）」之胺基酸片段，作為早期評估阿茲海默症的分子指標，特別係以「受試者血液或腦脊液（CSF）中 ADNP 的含量，低於正常人血液或腦脊液中 ADNP 的含量」作為早期診斷阿茲海默症患者之判斷依據，且本發明 ADNP 之胺基酸片段係包含如 SEQ ID NO：1、2、3、4 或 7 所示之胺基酸序列作為診斷阿茲海默症之高風險族群之分子指標，其中，該 SEQ ID NO：1 為 ADNP 之整段序列，而 SEQ ID NO：2、3、4 或 7 為 ADNP 之部分序列。

更詳言之，正常人的腦細胞可表現 ADNP，藉由 ADNP 來抑制腦部的類澱粉蛋白沉積，一但腦部 ADNP 含量降

低，其類澱粉蛋白的沉積情形加劇，進而導致 AD 的發生，因此，AD 的發生與 ADNP 的負調控 (Down-regulation) 具有高度相關性。此外，在發生類澱粉蛋白沉積，但尚未對腦部造成重大影響而影響其行為能力之前，腦部 ADNP 的含量便已下降，藉由比較正常人與 AD 患者的 ADNP 含量，即可用以判斷受試者是否屬於 AD 之高風險族群。

本發明之阿茲海默症之早期診斷方法所指「正常人」，係指其個人病史上並無失智症相關記錄，且以 MMSE、CDR、ADAS、CERAD 或 CASI 等失智症評量方式評估後，判斷為正常的族群。

請參照第 1 圖所示，係本發明阿茲海默症之早期診斷方法的步驟方塊圖，其包含：一採檢步驟 S1 及一判斷步驟 S2。

該採檢步驟 S1，係採取一受試者之檢體，於體外測量該檢體中的 ADNP 含量，其中，該檢體為血液或腦脊液。更詳言之，腦部的 ADNP 係主要抑制腦部類澱粉蛋白沉積的作用者，因此，可合理推得藉由擴散作用而存在於血液或腦脊液的 ADNP，係能夠作為間接測量腦細胞中 ADNP 含量的參數。該 ADNP 含量係指源自於 ADNP 之胺基酸片段，較佳係包含如 SEQ ID NO: 1、2、3、4 或 7 所示之胺基酸序列，其中，該 SEQ ID NO: 1 為 ADNP 之整段序列，而 SEQ ID NO: 2、3、4 或 7 為 ADNP 之部分序列。

舉例而言，本實施例係可選擇以西方墨點法 (Western blotting) 或酵素連結免疫吸附法 (Enzyme-linked immunosorbent assay, 簡稱 ELISA) 來測量該檢體中的

ADNP 含量。

該判斷步驟 S2，該受試者檢體之 ADNP 含量與一正常人的血液或腦脊液檢體之 ADNP 含量的比值，做為該受試者之一 AD 風險值，該 AD 風險值小於 0.3 者，則判斷該受試者屬於阿茲海默症患者之高風險族群。更詳言之，正常細胞中會表現 ADNP，藉由體內的循環及擴散作用，正常人的血液及腦脊液中亦包含有一相對應含量的 ADNP，當血液或腦脊液檢體中的 ADNP 含量減少，則代表腦部抑制類澱粉蛋白沉積的效果變差，則該受試者屬於容易發生阿茲海默症的高風險族群。據此，比較正常人與 AD 患者之血液或腦脊液檢體中的 ADNP 含量，係能夠做為判斷該受試者為阿茲海默症的高風險族群的指標。

為證實本發明之阿茲海默症之分子指標確實能夠做為高指標性及高靈敏度之阿茲海默症判斷指標，遂進行以下試驗：(A) 西方墨點法、(B) 酵素連結免疫吸附法及 (C) ADNP 部分片段之定性試驗。

(A) 西方墨點法

本實施例係由高雄醫學大學神經內科醫師尋找受試者，並根據受試者之個人病史區分成預期患者及正常人，其中有 45 名為預期患者（經 MMSE 評量確認為輕度 AD 患者，年齡為 63 至 84 歲，平均年齡為 77.2 歲）以及 20 名正常人（無相關失智症病史且經 MMSE 評量確認為正常人，年齡為 55 至 84 歲，平均年齡為 72.3 歲）之血液，其中，該 20 名正常人並無任何失智徵狀，且於採血前 2 週內並未服用阿斯匹靈或任何非類固醇類抗發炎藥物

(nonsteroidal anti-inflammatory) 等藥物。

本實施例係分別取得 45 個預期患者及 20 個正常人之血液檢體後，在不添加任何抗凝血劑的情況下盡快進行離心作業，該離心作業係於溫度為 4°C 環境中，以 1000×g 離心 10 分鐘，共獲得 65 個血清樣本，並將該血清樣本儲藏於 -20°C。

將上述該 65 個血清樣本以商用蛋白質定量套組 (Bio-Rad Bradford total protein assay kit, Bio-Rad Laboratories, Inc., Redmond, WA, USA) 對各該血清樣本進行蛋白質定量後，將該血清樣本 (將其定量至 5 µg) 以一 10% 之電泳膠 (Tris-glycine gel, Mini-Protein cell, Bio-Rad, Hercules, CA) 於 100 伏特 3 小時進行蛋白質電泳，再將該電泳膠上的蛋白質藉由一蛋白質轉印器 (Criterion Blotter, Bio-Rad) 於 100 伏特之電壓下進行轉印 60 分鐘，使該電泳膠上的蛋白質轉印至 PVDF 膜 (Polyvinylidene difluoride membrane, 購自 Millipore, Bedford, CA) 上，接著以一固定液 (5 克之奶粉定量至 100 毫升之 PBS 溶液中，該 PBS 溶液中含有 0.05% 之 Tween20，且酸鹼值為 7.4)，再以一級抗體標定該 PVDF 膜上的 ADNP 後，再以二級抗體標定該一級抗體，並以一蛋白質偵測系統 (Enhanced chemiluminescence system) 偵測，再以一圖片分析軟體 (ImageQuant-TL7.0 software, version 2010, Amersham Biosciences) 定量該目標蛋白-ADNP；本實施例之一級抗體係選擇為兔抗 ADNP 抗體 (A300-104A, Bethyl, USA，其濃度配製為 1 µg/ml) 與該經固定之 PVDF 膜於室溫下共

培養 18~24 小時，該二級抗體係選擇為羊抗兔之 IgG 抗體 (111-035-003, Immuno Research, USA, 其濃度配製為 1 $\mu\text{g/ml}$) 於於室溫下共培養 1 小時。

請參照第 2 圖，係本實施 45 預期患者之血清樣本及 20 個正常人血清樣本之 ADNP 蛋白質西方墨點圖，由此可知，正常血清樣本中的 ADNP 含量係明顯高於預期患者之 ADNP 含量，且該預期患者的 ADNP 含量幾乎無法被偵測。以此計算「該預期患者血清樣本之 ADNP 含量平均值」比「該正常血清樣本之 ADNP 含量平均值」約為 20%，即以本實施例之西方墨點法確認該預期患者的 AD 風險值約為 0.2。

(B) 酵素連結免疫吸附法

本實施例係採取 45 名預期患者及 20 名正常人之血液，在不添加任何抗凝血劑的情況下對該 65 個血液樣本盡快進行離心作業，該離心作業係於溫度為 4°C 環境中，以 1000 \times g 離心 10 分鐘，分別獲得 65 個血清樣本，並將該 65 個血清樣本儲藏於 -20°C。

將上述該 65 個血清樣本以商用蛋白質定量套組 (Bio-Rad Bradford total protein assay kit, Bio-Rad Laboratories, Inc., Redmond, WA, USA) 對各該血清樣本進行蛋白質定量後，各血清樣本皆以一 ELISA 套組及一 ADNP 抗體 (ADNP, E9867Hu, Uscn Life Science Inc., USA) 測試其 ADNP 含量 (各血清樣本皆為二重複)，其中，該預期患者血清樣本中有 9 個樣本的 ADNP 含量低於偵測極限。

請參照第 3 圖，係以一 ELISA 讀取機 (Multiskan EX, Thermo scientific, Vantaa, Finland) 獲得該 45 個預期患者之血清樣本及該 20 個正常血清樣本中 ADNP 含量後，以 XY 散佈圖表示各血清樣本之 ADNP 含量，並分別計算該預期患者血清樣本之 ADNP 含量平均值為 $0.43 \pm 0.052 \mu\text{g/ml}$ ，及該正常血清樣本之 ADNP 含量平均值為 $1.53 \pm 0.096 \mu\text{g/ml}$ ，並以該二平均值計算其 AD 風險值約為 0.28。據此，以本實施例之 ELISA 所獲得該預期患者之 AD 風險值係低於 0.3。

綜上所述，本實施例之西方墨點法或酵素連結免疫吸附法所獲得之 AD 風險值皆低於 0.3，証實該預期患者之 ADNP 含量確實與 AD 具有正相關性，且與正常人之 ADNP 含量相較，具有顯著差異 ($p < 0.05$)。

另請參照第 4 圖，以接受特徵曲線 (Receiver operating characteristic curve, 又稱 ROC 曲線) 分析該預期患者與該正常人的 ADNP 含量關係落於 95% 信賴區間中，其值為 0.972，亦代表本發明之 ADNP 確實可作為判斷該預期患者屬於 AD 高風險族群的分子指標，達到提早評估一預期患者的 AD 罹患風險，進而達到及早預防 AD 病徵的發生，並達到抑制 AD 進程之功效。

(C) ADNP 部分片段之定性試驗

本實施例係取 45 名預期患者之血液樣本，以前述試驗 (A) 或 (B) 之離心作業及蛋白質定量處理，獲得各該預期患者之血清樣本，藉由二維電泳 (Two-dimensional gel electrophoresis, 簡稱 2DE) 分析各該血清樣本中的蛋白質。

本實施例之 IEF 電泳條 (pH4-7, IPGphor, Amersham Biosciences, Uppsala, Sweden) 係置於電壓環境下 (30V 下 16 小時, 500V 下 1 小時, 1000V 下 1 小時, 8000V 下 4 小時, 總功率為 34k V-hr) 進行第一維之等電法電泳分離, 該第一維之等電法電泳係包含有二階段, 第一階段之緩衝溶液包含 6 M 尿素、30%之甘油、2%之 SDS、50 mM 之 Tris-HCl (pH8.8) 及 1% (w/v)之 Dithiothreitol; 該第二階段之緩衝溶液係將 1% (w/v)之 Dithiothreitol 替換為 2.5% (w/v)之 iodoacetamide。再將該 IEF 電泳條移至一 8-16%之梯度 SDS-PAGE 膠體進行第二維電泳, 完成電泳後再以銀染標記膠體上的蛋白質。

請參照第 5 圖, 係以上述二維電泳法所獲得預期患者血清樣本的 2DE 電泳圖, 以 ImageMaster 2D(Version 2002.1, Amersham Biosciences) 將預期患者及正常血清樣本之 2DE 電泳圖進行比較, 並分析該預期患者及正常的血清樣本的 2DE 電泳圖上的數個差異墨點 (Spot), 如箭頭標示處, 其中該差異墨點 P01 特別係於正常血清樣本中有表現, 而預期患者之血清樣本中之表現量降低之差異墨點。

本實施例以 HPLC-ESI-MS/MS 對該差異墨點 P01 所含有的蛋白質進行定性, 再根據胺基酸序列以 Mascot 軟體 (Version 2.2.1, Matrix Science, London, UK) 比對人類蛋白質序列資料庫 (Swiss-Prot, Release 52.0 of 22-Dec-09)。

經分析獲得該差異墨點 P01 中含有 3 個胺基酸片段, 係如 SEQ ID NO: 2 至 4 所示, 該 4 個胺基酸片段於正常血清樣本中的表現量, 確實高於該預期患者之血清樣本中

的表現量，且具有顯著差異（Mascot 分數大於 50 者， $p < 0.05$ ）。

此外，已知 NAP 為 ADNP 的常見具有神經保護作用的重要序列，如 SEQ ID NO：7 所示之胺基酸序列，NAP 雖未於本實施例之試驗（C）中被定性出來，但仍可合理推得 NAP 亦可作為本發明阿茲海默症之分子指標之一。

綜上所述，本發明確實能夠以 ADNP 之全部或部份序列作為阿茲海默症之分子指標，並藉由比較一受試者與正常人的血清或腦脊液中，源自於 ADNP 的全部或部份胺基酸序列之含量，並以該含量計算該受試者的 AD 風險值，特別係當該受試者之 AD 風險值小於 0.3 者，則可判斷為 AD 的高風險族群，並應持續追蹤該受試者之智能變化情況，並即時施予適當的 AD 治療藥物。如此，本發明阿茲海默症之早期診斷方法確實能夠提高對於極早期 AD 患者的靈敏度及篩檢準確率，供醫師準確判斷該受試者的腦損傷情況，及時給予適當的治療藥物，以延緩受試者中可能為 AD 高風險族群者的 AD 病程進展。

本發明阿茲海默症之分子指標，係對於早期評估阿茲海默症之高風險族群具有高指標性及靈敏度，能夠達到提高早期評估的準確率之功效。

雖然本發明已利用上述較佳實施例揭示，然其並非用以限定本發明，任何熟習此技藝者在不脫離本發明之精神和範圍之內，相對上述實施例進行各種更動與修改仍屬本發明所保護之技術範疇，因此本發明之保護範圍當視後附之申請專利範圍所界定者為準。

【圖式簡單說明】

第 1 圖：本發明阿茲海默症之早期診斷方法之步驟方塊圖。

第 2 圖：本實施例試驗 (A) 西方墨點法之 ADNP 蛋白質電泳圖。

第 3 圖：本實施例試驗 (B) ELISA 之 ADNP 含量 XY 散佈圖。

第 4 圖：本實施例試驗 (B) 之 ROC 曲線關係圖。

第 5 圖：本實施例試驗 (C) 預期患者血清樣本之二維電泳圖。

【主要元件符號說明】

S1 採檢步驟

S2 判斷步驟

序列表

<110> 高雄醫學大學

<120> 一種阿茲海默症之分子指標及一種阿茲海默症的早期診斷方法

<160> 7

<210> 1

<211>

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<400> SEQUENCE:1

Met Phe Gln Leu Pro Val Asn Asn Leu Gly Ser Leu Arg Lys Ala
 1 5 10 15

Arg Lys Thr Val Lys Lys Ile Leu Ser Asp Ile Gly Leu Glu Tyr
 16 20 25 30

Cys Lys Glu His Ile Glu Asp Phe Lys Gln Phe Glu Pro Asn Asp
 31 35 40 45

Phe Tyr Leu Lys Asn Thr Thr Try Glu Asp Val Gly Leu Try Asp
 46 50 55 60

Pro Ser Leu Thr Lys Asn Gln Asp Tyr Arg Thr Lys Pro Phe Cys
 61 65 70 75

Cys Ser Ala Cys Pro Phe Ser Ser Lys Phe Phe Ser Ala Tyr Lys
 76 80 85 90

Ser His Phe Arg Asn Val His Ser Glu Asp Phe Glu Asn Arg Ile
 91 95 100 105

Leu Leu Asn Cys Pro Tyr Cys Thr Phe Asn Ala Asp Lys Lys Thr
 106 110 115 120

Leu Glu Thr His Ile Lys Ile Phe His Ala Pro Asn Ala Ser Ala
 121 125 130 135

Pro Ser Ser Ser Leu Ser Thr Phe Lys Asp Lys Asn Lys Asn Asp
 136 140 145 150

Gly	Leu	Lys	Pro	Lys	Gln	Ala	Asp	Ser	Val	Glu	Gln	Ala	Val	Tyr
151				155					160					165
Tyr	Cys	Lys	Lys	Cys	Thr	Tyr	Arg	Asp	Pro	Leu	Tyr	Glu	Ile	Val
166				170					175					180
Arg	Lys	His	Ile	Tyr	Arg	Glu	His	Phe	Gln	His	Val	Ala	Ala	Pro
181				185					190					195
Tyr	Ile	Ala	Lys	Ala	Gly	Glu	Lys	Ser	Leu	Asn	Gly	Ala	Val	Pro
196				200					205					210
Leu	Gly	Ser	Asn	Ala	Arg	Glu	Glu	Ser	Ser	Ile	His	Cys	Lys	Arg
211				215					220					225
Cys	Leu	Phe	Met	Pro	Lys	Ser	Tyr	Glu	Ala	Leu	Val	Gln	His	Val
226				230					235					240
Ile	Glu	Asp	His	Glu	Arg	Ile	Gly	Tyr	Gln	Val	Thr	Ala	Met	Ile
241				245					250					255
Gly	His	Thr	Asn	Val	Val	Val	Pro	Arg	Ser	Lys	Pro	Leu	Met	Leu
256				260					265					270
Ile	Ala	Pro	Lys	Pro	Gln	Asp	Lys	Lys	Ser	Met	Gly	Leu	Pro	Pro
271				275					280					285
Arg	Ile	Gly	Ser	Leu	Ala	Ser	Gly	Asn	Val	Arg	Ser	Leu	Pro	Ser
286				290					295					300
Gln	Gln	Met	Val	Asn	Arg	Leu	Ser	Ile	Pro	Lys	Pro	Asn	Leu	Asn
301				305					310					315
Ser	Thr	Gly	Val	Asn	Met	Met	Ser	Ser	Val	His	Leu	Gln	Gln	Asn
316				320					325					330
Asn	Tyr	Gly	Val	Lys	Ser	Val	Gly	Gln	Gly	Tyr	Ser	Val	Gly	Gln
331				335					340					345
Ser	Met	Arg	Leu	Gly	Leu	Gly	Gly	Asn	Ala	Pro	Val	Ser	Ile	Pro
346				350					355					360

Gln Gln Ser Gln Ser Val Lys Gln Leu Leu Pro Ser Gly Asn Gly
 361 365 370 375
 Arg Ser Tyr Gly Leu Gly Ser Glu Gln Arg Ser Gln Ala Pro Ala
 376 380 385 390
 Arg Tyr Ser Leu Gln Ser Ala Asn Ala Ser Ser Leu Ser Ser Gly
 391 395 400 405
 Gln Leu Lys Ser Pro Ser Leu Ser Gln Ser Gln Ala Ser Arg Val
 406 410 415 420
 Leu Gly Gln Ser Ser Ser Lys Pro Ala Ala Ala Ala Thr Gly Pro
 421 425 430 435
 Pro Pro Gly Asn Thr Ser Ser Thr Gln Lys Try Lys Ile Cys Thr
 436 440 445 450
 Ile Cys Asn Glu Leu Phe Pro Glu Asn Val Tyr Ser Val His Phe
 451 455 460 465
 Glu Lys Glu His Lys Ala Glu Lys Val Pro Ala Val Ala Asn Tyr
 466 470 475 480
 Ile Met Lys Ile His Asn Phe Thr Ser Lys Cys Leu Tyr Cys Asn
 481 485 490 495
 Arg Tyr Leu Pro Thr Asp Thr Leu Leu Asn His Met Leu Ile His
 496 500 505 510
 Gly Leu Ser Cys Pro Tyr Cys Arg Ser Thr Phe Asn Asp Val Glu
 511 515 520 525
 Lys Met Ala Ala His Met Arg Met Val His Ile Asp Glu Glu Met
 526 530 535 540
 Gly Pro Lys Thr Asp Ser Thr Leu Ser Phe Asp Leu Thr Leu Gln
 541 545 550 555
 Gln Gly Ser His Thr Asn Ile His Leu Leu Val Thr Thr Tyr Asn
 556 560 565 570

Leu	Arg	Asp	Ala	Pro	Ala	Glu	Ser	Val	Ala	Tyr	His	Ala	Gln	Asn
571				575					580					585
Asn	Pro	Pro	Val	Pro	Pro	Lys	Pro	Gln	Pro	Lys	Val	Gln	Glu	Lys
586				590					595					600
Ala	Asp	Ile	Pro	Val	Lys	Ser	Ser	Pro	Gln	Ala	Ala	Val	Pro	Tyr
601				605					610					615
Lys	Lys	Asp	Val	Gly	Lys	Thr	Leu	Cys	Pro	Leu	Cys	Phe	Ser	Ile
616				620					625					630
Leu	Lys	Gly	Pro	Ile	Ser	Asp	Ala	Leu	Ala	His	His	Leu	Arg	Glu
631				635					640					645
Arg	His	Gln	Val	Ile	Gln	Thr	Val	His	Pro	Val	Glu	Lys	Lys	Leu
646				650					655					660
Thr	Tyr	Lys	Cys	Ile	His	Cys	Leu	Gly	Val	Tyr	Thr	Ser	Asn	Met
661				665					670					675
Thr	Ala	Ser	Thr	Ile	Thr	Leu	His	Leu	Val	His	Cys	Arg	Gly	Val
676				680					685					690
Gly	Lys	Thr	Gln	Asn	Gly	Gln	Asp	Lys	Thr	Asn	Ala	Pro	Ser	Arg
691				695					700					705
Leu	Asn	Gln	Ser	Pro	Ser	Leu	Ala	Pro	Val	Lys	Arg	Thr	Tyr	Glu
706				710					715					720
Gln	Met	Glu	Phe	Pro	Leu	Leu	Lys	Lys	Arg	Lys	Leu	Asp	Asp	Asp
721				725					730					735
Ser	Asp	Ser	Pro	Ser	Phe	Phe	Glu	Glu	Lys	Pro	Glu	Glu	Pro	Val
736				740					745					750
Val	Leu	Ala	Leu	Asp	Pro	Lys	Gly	His	Glu	Asp	Asp	Ser	Tyr	Glu
751				755					760					765
Ala	Arg	Lys	Ser	Phe	Leu	Thr	Lys	Tyr	Phe	Asn	Lys	Gln	Pro	Tyr
766				770					775					780

Pro	Thr	Arg	Arg	Glu	Ile	Glu	Lys	Leu	Ala	Ala	Ser	Leu	Try	Leu
781				785					790					795
Try	Lys	Ser	Asp	Ile	Ala	Ser	His	Phe	Ser	Asn	Lys	Arg	Lys	Lys
796				800					805					810
Cys	Val	Arg	Asp	Cys	Glu	Lys	Tyr	Lys	Pro	Gly	Val	Leu	Leu	Gly
811				815					820					825
Phe	Asn	Met	Lys	Glu	Leu	Asn	Lys	Val	Lys	His	Glu	Met	Asp	Phe
826				830					835					840
Asp	Ala	Glu	Try	Leu	Phe	Glu	Asn	His	Asp	Glu	Lys	Asp	Ser	Arg
841				845					850					855
Val	Asn	Ala	Ser	Lys	Thr	Ala	Asp	Lys	Lys	Leu	Asn	Leu	Gly	Lys
856				860					865					870
Glu	Asp	Asp	Ser	Ser	Ser	Asp	Ser	Phe	Glu	Asn	Leu	Glu	Glu	Glu
871				875					880					885
Ser	Asn	Glu	Ser	Gly	Ser	Pro	Phe	Asp	Pro	Val	Phe	Glu	Val	Glu
886				890					895					900
Pro	Lys	Ile	Ser	Asn	Asp	Asn	Pro	Glu	Glu	His	Val	Leu	Lys	Val
901				905					910					915
Ile	Pro	Glu	Asp	Ala	Ser	Glu	Ser	Glu	Glu	Lys	Leu	Asp	Gln	Lys
916				920					925					930
Glu	Asp	Gly	Ser	Lys	Tyr	Glu	Thr	Ile	His	Leu	Thr	Glu	Glu	Pro
931				935					940					945
Thr	Lys	Leu	Met	His	Asn	Ala	Ser	Asp	Ser	Glu	Val	Asp	Gln	Asp
946				950					955					960
Asp	Val	Val	Glu	Try	Lys	Asp	Gly	Ala	Ser	Pro	Ser	Glu	Ser	Gly
961				965					970					975
Pro	Gly	Ser	Gln	Gln	Val	Ser	Asp	Phe	Glu	Asp	Asn	Thr	Cys	Glu
976				980					985					990

Met Lys Pro Gly Thr Try Ser Asp Glu Ser Ser Gln Ser Glu Asp
 991 995 1000 1005

Ala Arg Ser Ser Lys Pro Ala Ala Lys Lys Lys Ala Thr Met Gln
 1006 1010 1015 1020

Gly Asp Arg Glu Gln Leu Lys Try Lys Asn Ser Ser Tyr Gly Lys
 1021 1025 1030 1035

Val Glu Gly Phe Try Ser Lys Asp Gln Ser Gln Try Lys Asn Ala
 1036 1040 1045 1050

Ser Glu Asn Asp Glu Arg Leu Ser Asn Pro Gln Ile Glu Try Gln
 1051 1055 1060 1065

Asn Ser Thr Ile Asp Ser Glu Asp Gly Glu Gln Phe Asp Asn Met
 1066 1070 1075 1080

Thr Asp Gly Val Ala Glu Pro Met His Gly Ser Leu Ala Gly Val
 1081 1085 1090 1095

Lys Leu Ser Ser Gln Gln Ala
 1196 1100 1102

<210> 2

<211> 18

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<400> SEQUENCE:2

Ile Phe His Ala Pro Asn Ala Ser Ala Pro Ser Ser Ser Leu Ser
 1 5 10 15

Thr Phe Lys
 16 18

<210> 3

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<400> SEQUENCE:3

Ser Gln Ala Pro Ala Arg
1 5 6

<210> 4

<211> 13

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<400> SEQUENCE:4

Gln Ala Asp Ser Val Glu Gln Ala Val Tyr Tyr Cys Lys
1 5 10 13

<210> 7

<211> 8

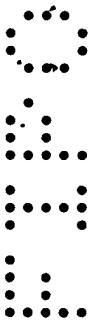
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<400> SEQUENCE:7

Asn Ala Pro Val Ser Ile Pro Gln
1 5 8



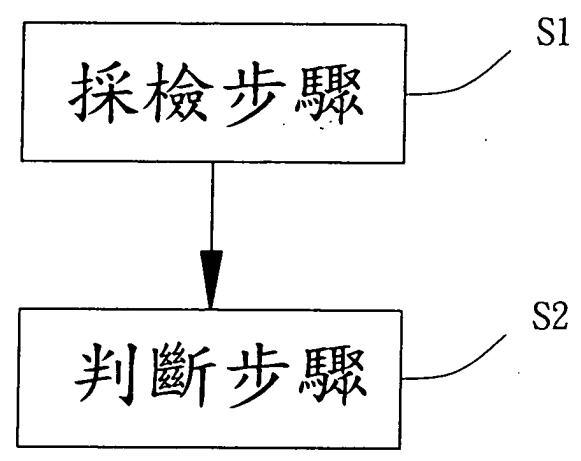
七、申請專利範圍：

- 1、一種阿茲海默症之分子指標，係以源自於活性依賴神經保護同源匣蛋白（以下簡稱 ADNP）之胺基酸片段，作為早期診斷其為阿茲海默症高風險族群之判斷指標，受試者血液或腦脊液檢體之該 ADNP 含量較低時，則判斷該受試者屬於阿茲海默症患者之高風險族群；其中，該源自於 ADNP 之胺基酸片段的胺基酸序列係為如 SEQ ID NO：2、3 或 4 所示之序列。

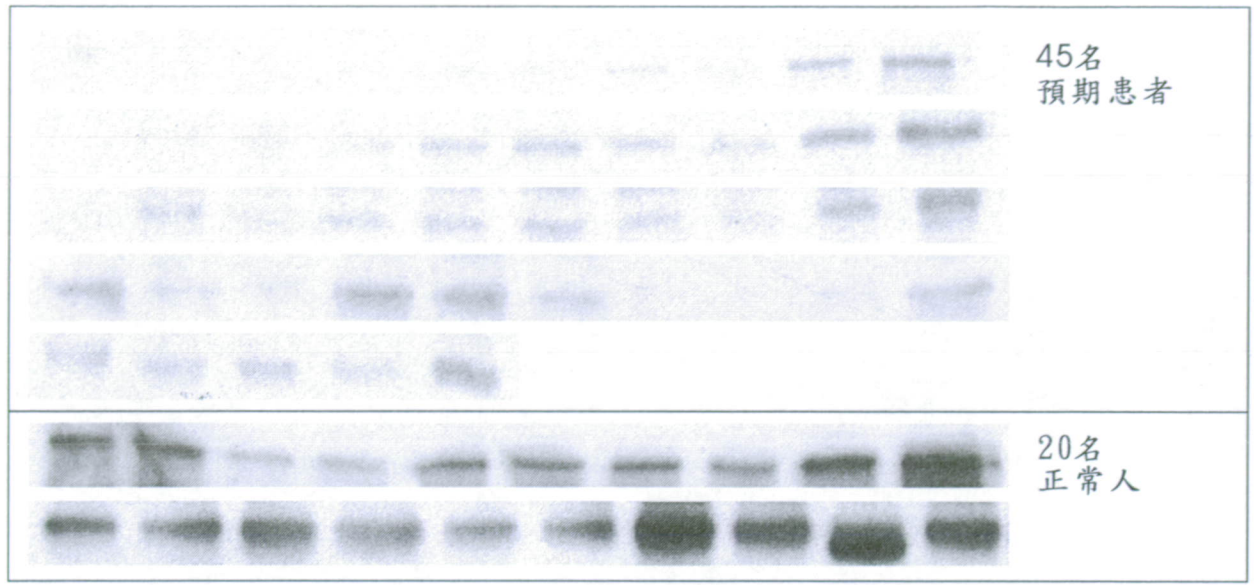
101114746

101年5月2日修正
補充
替換頁

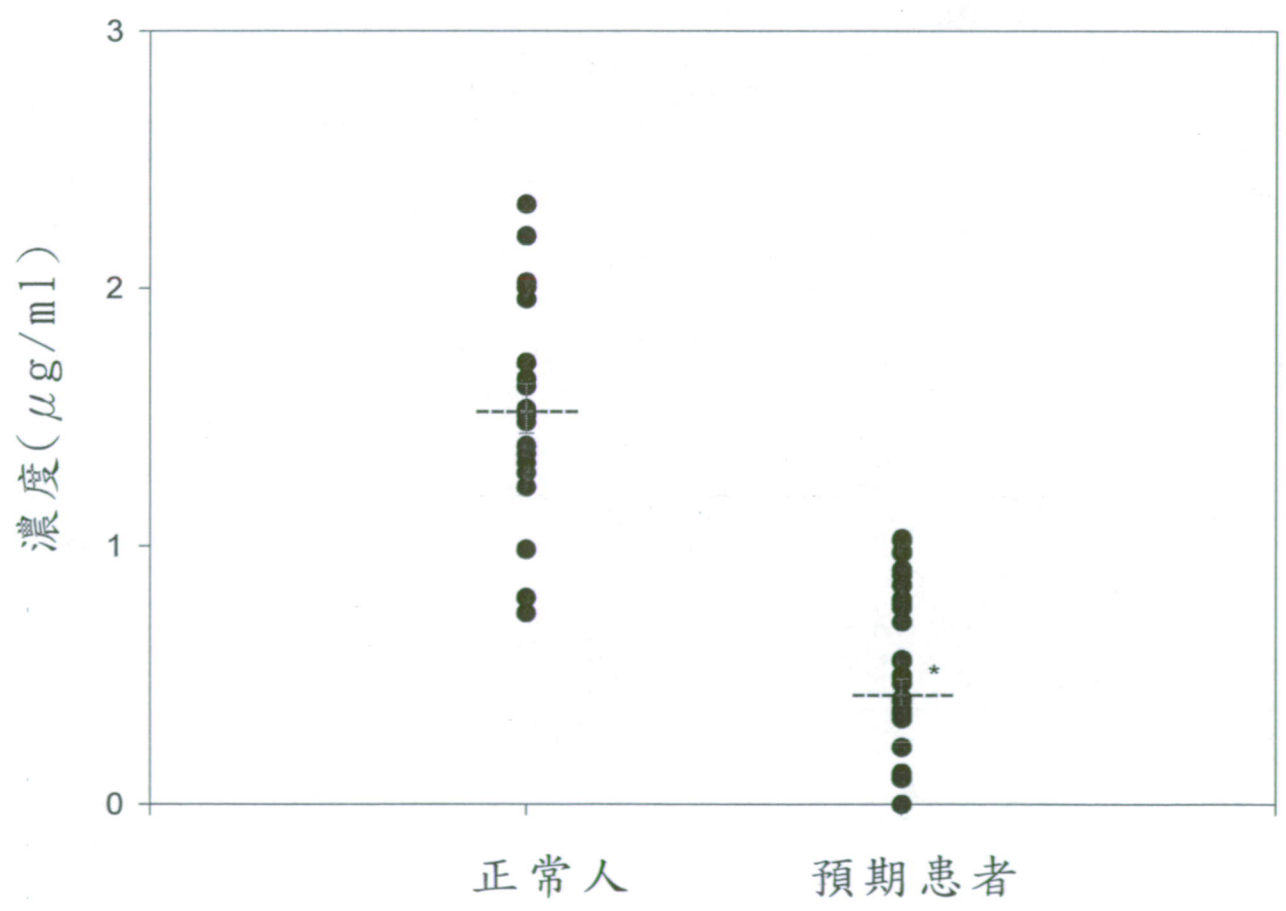
八、圖式：



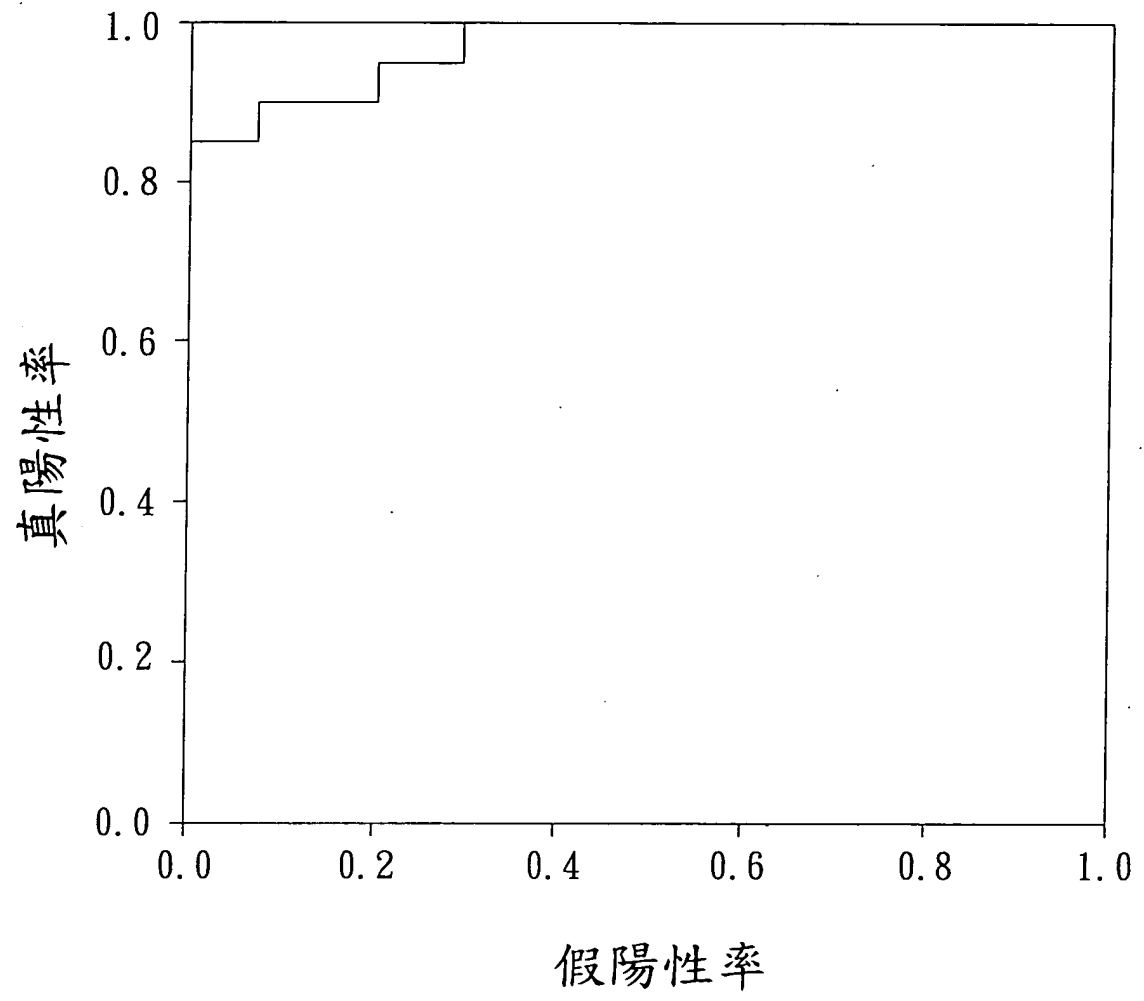
第 1 圖



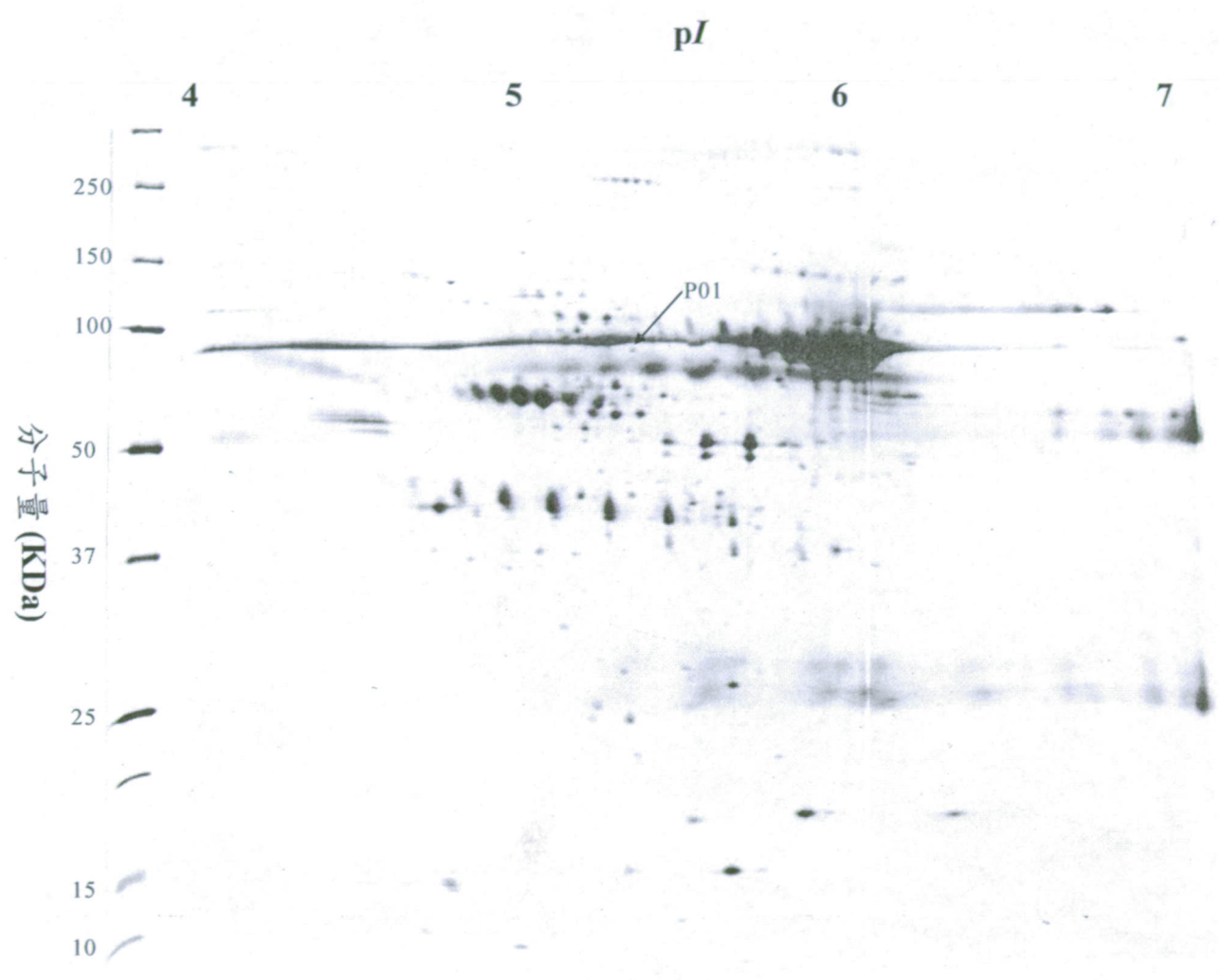
第 2 圖



第 3 圖



第 4 圖



第 5 圖