

修正頁
年 月 日
補充

申請日期	84.10.6	
案 號	84110549	Int. Cl ⁶
類 別	C07K14/435, 16/18, A61K 13/17, G01N 1/24, 3/68	

A4
C4
公告本

(以上各欄由本局填註) C/N 15/12

發 明 專 利 說 明 書 472062

一、發明 名稱	中 文	外寄生蟲唾液蛋白質及收集此蛋白質的裝置
	英 文	NOVEL ECTOPARASITE SALIVA PROTEINS AND APPARATUS TO COLLECT SUCH PROTEINS
二、發明 人	姓 名	(1) 格稜 R. 法蘭克 (2) 雪莉 W. 韓特爾 (3) 琳達·渥蘭費爾斯
	國 籍	美 國
三、申請人	住、居所	(1) 美國科羅拉多州威靈頓市北國路13號 (2) 美國科羅拉多州克林斯堡坦格爾渥道2325號 (3) 美國科羅拉多州克林斯堡西姆爾貝利街1224號
	姓 名 (名稱)	美商·希斯卡公司
	國 籍	美 國
	住、居所 (事務所)	美國科羅拉多州克林斯堡夏波因特道1825號
	代 表 人 姓 名	弗列德 H. 史瓦勒

裝 訂 線

A6

B6

IPC分類：

美 國 (地 區) 申 請 專 利 , 申 請 日 期 : 案 號 : , ☐ 有 ☐ 無 主 張 優 先 權

	1994.10.7	08/319,520
	1995.6.7	08/487,001
	1995.6.7	08/487,608

有關微生物已寄存於： _____，寄存日期： _____，寄存號碼： _____

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁各欄)

裝

訂

線

經濟部中央標準局員工消費合作社印製

五、發明說明()

發明領域

本發明係關於分離外寄生蟲唾液蛋白之新穎產物及方法，及檢測及／或治療動物體之過敏性皮炎之新穎產物及方法。

發明背景

外寄生蟲，特別蚤可咬可能引起動物的過敏反應。特別對蚤叮咬的過敏反應表現於一種稱為蚤過敏性皮炎(FAD)之疾病。過敏係一種事先暴露於化合物之動物，於隨後暴露時，出現該化合物之過敏反應之反應性改變狀態。過敏反應包含第一型、第二型、第三型及第四型過敏。第一型過敏稱為IgE-媒介型過敏，其中過敏原誘使IgE交聯物結合至肥大細胞表面的Fc受體。此種交聯導致肥大細胞的顆粒崩解。第二型過敏描述為抗體媒介型細胞毒性過敏，其中抗體結合至細胞表面過敏原，導致經由補體活化作用，而使細胞破壞。第三型過敏描述為免疫複合體媒介型過敏，其中過敏原-抗體複合體沈積於各種組織，並誘生發炎反應。延遲過敏反應包含第四型過敏，描述為細胞媒介型過敏，其中T淋巴細胞（亦即T細胞），釋放細胞激素，其活化巨噬細胞或細胞毒性T細胞而媒介細胞的破壞。

第一型過敏反應通常出現於暴露於過敏性化合物（常為可溶性過敏原）後約2至30分鐘內。第二及三型過敏反應出現於暴露於過敏性化合物後，約2至8小時。另外，於延遲型過敏反應中，細菌對過敏性化合物之過敏反應典型地係於暴露於化合物後約24至約72小時出現。於24小時

（請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁）

裝

訂

五、發明說明()

之延遲期間，單核細胞進入過敏性化合物所在位置。浸潤包含淋巴細胞，單核細胞，巨噬細胞及嗜鹼細胞。產生淋巴激素（例如干擾素- γ ）其活化單核細胞或巨噬細胞，而釋放引起組織破壞的酵素（例如蛋白酶）。

可誘發即發型及／或延遲型過敏症狀的外表蛋白質於此處稱為過敏原。“過敏原”一詞主要表示可引起過敏反應的外表化合物。該詞可與“抗原”一詞互換使用，特別就可誘發即發型及／或延遲型過敏之外表化合物尤為如此。影響動物對過敏原之易感性之因素包括遺傳成份及／或環境暴露於過敏原。動物可藉反覆注射動物對其過敏的過敏原，而對該過敏原脫敏。

FAD可表現為即發型及延遲型過敏。典型FAD易感動物之即發型過敏反應包括蚤叮咬部位生成風疹塊。風疹塊發展成帶有痂皮的丘疹，此乃表示延遲型過敏反應。對蚤叮咬的過敏反應可出現於遺傳脆弱動物，以及事先經由暴露於蚤叮咬而敏化的動物。

FAD有效治療困難（即使並非不可行）。FAD出現於約15%蚤流行區的貓、狗身上，每年發作頻率逐漸升高。於該地理區中，有效控制蚤要求對全部動物進行治療。一位研究學者提議包含使用蚤過敏原使動物脫敏。但此種治療需要蚤過敏原之可靠的，且經界定的製劑。

至發現本發明之新穎配方為止，尚未曾明確界定FAD之蚤過敏原。整體蚤抗原製劑曾經用來診斷及脫敏FAD動物(Benjamini et al., 1960, pp.214-222, Experimental

（請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁）

裝

訂

五、發明說明()

Parasitology, Vol. 10; Keep et al., 1967, pp.425-426, Australian Veterinary Journal, Vol. 43; Kristensen et al., 1978, pp. 414-423, Nord. Vet-Med, Vol. 30; Van Winkle, 1981, pp.343-354, J. Amer. Animal Hosp. Assoc., Vol. 17; Haliwell et al., 1987, pp. 203-213, Veterinary Immunology and Immunopathology, Vol. 15; Greene et al., 1993, pp. 69-74, Parasite Immunology, Vol. 15); PCT Publication No. WO 93/18788 by Opdebeeck et al.; 及 Van Winkle, pp.343-354, 1981, J. Am. Anim. Hosp. Assoc., vol. 32。但現成全蚤萃取物商品無法預期，因此效果有限。

早先研究學者提議含蚤唾液產品可用於FAD，因此提議此種產品的分離方法：Benjamini et al., 1963, pp. 143-154, Experimental Parasitology, Vol. 13; Young et al., 1963, pp.155-166, Experimental Parasitology 13, Vol. 13; Michaeli et al., 1965, pp.162-170, J. Immunol., Vol. 95;及 Michaeli et al., 1996, pp.402-406, J. Immunol., Vol. 97。但此種研究之特徵為蚤唾液之過敏因子為分子量小於6千道爾吞(KD)之半抗原。並非蛋白質也證實其暴露於強酸（例如6N鹽酸）~~變~~熱時，對分解不敏感。某干特定低分子量過敏因子也有高度螢光芳族部分特徵(Young et al., ibid)。此外，研究學者研究指出欲具有過敏原性，此等因子必須與共軛體及／或載體

（請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁）

裝

訂

五、發明說明()

，例如膠原或用來收集口腔分泌的部分膜結合。此外，收集蚤唾液因子的方法困難，且無法預測。此外，此等方法分離的因子典型地污染來自蚤的物質，培養基或用來餵食蚤的以皮膚為主的膜。

如此，仍然需要有更明確界定的蚤唾液過敏原，其可於動物誘生過敏反應。此外，仍需開發一種收集大體純質蚤唾液過敏原之方法，其提供可預測，且更廉價的過敏原製劑，可用於脫敏患有FAD之動物。

發明概述

一個具體例中，本發明係有關一種配方，包括一種胺基酸序列的至少一部分，其中該部分係由於嚴苛條件下，可與（編碼存在於蚤唾液萃取物FS-1，FS-2及／或FS-3之蚤唾液蛋白）核酸分子雜交的核酸分子編碼。較佳蚤唾液蛋白包含fspA，fspB，fspC1，fspC2，fspD1，fspD2，fspE，fspF，fspG1，fspG2，fspG3，fspH，fspI，fspJ1，fspJ2，fspK，fspL1，fspL2，fspM1，fspM2，fspN1，fspN2及／或fspN3。此外，配方之蚤唾液蛋白包括下列表示之胺基酸序列之至少一部分：序列識別編號1，序列識別編號2，序列識別編號3，序列識別編號4，序列識別編號5，序列識別編號6，序列識別編號7，序列識別編號8，序列識別編號9，序列識別編號10，序列識別編號11，序列識別編號12，序列識別編號13，序列識別編號14，序列識別編號25，序列識別編號26，序列識別編號27，序列識別編號28，序列識別編號29，序列識別編號30，序

（請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁）

裝

訂

五、發明說明()

列識別編號31，序列識別編號33，序列識別編號35，序列識別編號51，序列識別編號53及／或序列識別編號54。

本發明之另一具體例包含一種配方，包括至少一種分離的外寄生蟲唾液蛋白，其中該外寄生蟲唾液蛋白包括胺基酸序列之至少一部分，其中該部分係由於嚴苛條件下，可與（編號第2圖中以蛋白峰表示的蚤唾液蛋白）核酸分子雜交的核酸分子編碼。

本發明之一態樣包含一種配方，包括一種外寄生蟲唾液產物，其中該配方當進行Tris甘胺酸SDS-PAGE時，包括第1B圖，道13及／或第1B圖，道14說明的分選圖。

本發明之又另一具體例包含一種配方，包括至少一種大體不含污染物質分離的外寄生蟲唾液產物，該配方係由一種方法生產包括：(a)於容納外寄生蟲之唾液收集裝置內，於收集裝置上收集外寄生蟲唾液產物，該裝置包括(i)一個殼體以可作業方式連結至小室，小室之周溫比殼體更溫暖，因此可於殼體與小室間維持溫差，殼體可固定外寄生蟲，及(ii)介於殼體與小室間之介面，該介面包括((a))一種裝置其可收集由容納於裝置之外寄生蟲沈積的唾液產物之至少一部分，及((b))一種載體裝置，其可大體預防污染物質接觸收集裝置，其中該溫差吸引養在殼體內的外寄生蟲嘗試通過載體裝置及收集裝置進食，因此，沈積唾液產物於收集裝置上；及(b)由收集裝置萃取唾液產物獲得配方。本發明亦包含此種裝置及使用此種裝置生產包括大體不含污染物質之蚤唾液產物之配方。

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

經濟部中央標準局員工消費合作社印製

五、發明說明()

本發明之另一態樣包含一種可於嚴苛條件下，與（編碼蚤唾液萃取物 FS-1，FS-2 及／或 FS-3 中存在的蚤唾液蛋白）基因雜交的分離的核酸分子，包含但非僅限於 fspA，fspB，fspC1，fspC2，fspD1，fspD2，fspE，fspF，fspG1，fspG2，fspG3，fspH，fspI，fspJ1，fspJ2，fspK，fspL1，fspL2，fspM1，fspM2，fspN1，fspN2 及／或 fspN3。特別，核酸分子可於嚴苛條件下，與核酸序列，序列識別編號 20，序列識別編號 24，序列識別編號 32，序列識別編號 34，序列識別編號 50 及／或序列識別編號 51 雜交。本發明又包含重組份子及含有本發明之核酸分子之重組細胞。

本發明亦包含一種生產至少一種外寄生蟲唾液蛋白之方法，包括 (a) 培養使用至少一種可於嚴苛條件下與（編碼蚤唾液萃取物 FS-1，FS-2，及／或 FS-3 存在的蚤唾液蛋白）基因雜交的核酸轉型的細胞，而生產蛋白質；及 (b) 回收外寄生蟲唾液蛋白。

本發明之另一態樣包含可選擇性結合至外寄生蟲唾液產物之抗體，或其模擬體 (mimotope)。

本發明之又另一態樣包含一種治療過敏性皮炎之治療組成物包括任一種此處揭示的配方。特別，治療組成物可用於治療蚤過敏性皮炎，蚊過敏性皮炎及／或蚊總科過敏性皮炎。此外，含於治療性組成物之特殊蚤唾液蛋白包含至少一種下列唾液蛋白之至少一部分：fspE，fspF，fspG1，fspG2，fspG3，fspH，fspI，fspJ1，fspJ2，fspK，

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

五、發明說明()

fspL1, fspL2, fspM1, fspM2, fspN1, fspN2及／或 fspN3

。本發明亦包含使寄主動物對過敏性皮炎脫敏之方法，包括對該動物投予治療組成物。

本發明又係關於試驗動物是否易感或患有過敏性皮炎之檢定分析套件組，套件組包括：(a)如此處揭示的配方；及(b)測定動物是否易感或患有過敏性皮炎之裝置，其中該裝置包括使用配方來鑑別動物是否易感，或患有過敏性皮炎。

根據本發明，一種方法可用於鑑別動物是否易感或患有過敏性皮炎，該方法包含：(a)對動物體某一部位投予本發明配方，及於動物體不同部位投予選自陽性對照溶液及陰性對照溶液之對照溶液；及(b)比較投予配方與投予對照溶液所得反應結果。測定動物為易感或患有過敏性皮炎時，對配方的反應至少如同對陽性對照溶液之反應一般大。測得非易感或未患有過敏性皮炎之動物為對配方之反應約與陰性對照溶液一般大。特別，該方法可檢測即發型過敏及／或延遲型過敏。

又根據本發明，一種方法可用於經由測量動物體是否存在有代表過敏性皮炎之抗體，而鑑別動物是否易感或患有過敏性皮炎之方法，該方法包括：(a)本發明配方與來自動物的體液於足夠於配方與體液內存在的抗體（若存在時）生成免疫複合體之條件下接觸；及(b)測定生成免疫複合體量，其中免疫複合體之生成表示動物易感或患有過敏性皮炎。特別，該方法可用於檢測IgE抗體，作為動物

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

五、發明說明()

之即發型抗體的指標。

本發明亦包含對過敏性皮炎處方治療之方法，包括：
(a)藉活體內或活體外檢定分析（包括本發明之配方）鑑別動物是否易感或患有過敏性皮炎；及(b)對動物處方包括投予本發明之配方之治療方法。

圖式之簡單說法

第1A圖說明藉還原16% Tris甘胺酸 SDS-PAGE分析蚤唾液蛋白。

第1B圖說明藉還原16% Tris甘胺酸 SDS-PAGE分析蚤唾液蛋白，FS-1及FS-2。

第1C圖說明藉還原16% Tris甘胺酸 SDS-PAGE分析 fspN。

第2圖說明使用高壓液相層析分析蚤唾液蛋白。

第3圖說明由使用蛋白內切酶 Asp-N消化 fspH蛋白之蛋白分解片段，進行反相HPLC分析所得峰。

第4A圖說明本發明之蚤唾液收集裝置之剖面圖。

第4B圖說明本發明之蚤唾液收集裝置之分解圖。

第5圖說明蚤敏化犬注射各種蚤唾液蛋白配方後15分鐘產生的風疹塊相對大小。

第6圖說明蚤敏化犬注射各種蚤唾液蛋白配方後6小時產生的風疹塊相對硬結。

第7圖說明蚤敏化犬注射各種蚤唾液蛋白配方後6小時產生的風疹塊相對紅疹。

第8圖說明蚤敏化犬注射各種蚤唾液蛋白配方後24小

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

五、發明說明()

時產生的風疹塊相對硬結。

第9圖說明蚤敏化犬注射各種蚤唾液蛋白配方後24小時產生的風疹塊相對紅疹。

第10圖說明於蚤敏化犬血清測量抗蚤唾液IgE之ELISA結果。

第11A及11B圖說明於蚤敏化犬血清測量抗蚤唾液IgE抗體及心絲蟲感染犬缺乏該抗體之ELISA結果。

發明之詳細說明

本發明包含一種診斷及治療動物因外寄生蟲發生過敏性皮炎之新穎產物及方法。本發明之特殊優點為提供一種充分不含污染物（如血液蛋白，糞便物質及幼蟲培養基）之外寄生蟲唾液產物獨特配方，可用於診斷及治療因外寄生蟲引起的過敏病。此外，本發明包含具有例如對蚤進食能力及／或對抗寄主對蚤之抗性重要的其它活性之外寄生蟲唾液產物，例如具有凝血，抗凝血，蛋白酶，磷脂酶，前列腺素，抗補體，其它免疫抑制，磷酸酶，脫焦磷酸酶

（請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁）

裝

訂

五、發明說明()

蟲唾液表示當外寄生蟲嘗試回應於溫差，例如本發明裝置存在的溫差，覓食時由外寄生蟲口釋放的物質。外寄生蟲唾液包含外寄生蟲唾液產物。本發明之外寄生蟲唾液產物包含外寄生蟲唾液結合至本發明收集裝置（詳述如後）之該部位，此處稱為外寄生蟲唾液成分。如此外寄生蟲唾液產物也包含由本發明之收集裝置萃取的外寄生蟲唾液部分，此處稱為外寄生蟲唾液萃取物。外寄生蟲唾液萃取物包含，例如可使用此處之任一種方法分離的外寄生蟲唾液蛋白。本發明之外寄生蟲唾液萃取物也包含其它外寄生蟲唾液產物，例如前列腺素，及其它藥理活性分子。

本發明之一具體例為一種配方其含有外寄生蟲唾液產物，其可用於診斷及／或治療易感或患有（亦即出現）過敏性皮炎之動物。較佳使用本發明之外寄生蟲唾液產物診斷及／或治療過敏性皮炎之類型，包含蚤過敏性皮炎，蚊總科過敏性皮炎，及蚊過敏性皮炎。使用本發明之外寄生蟲唾液產物診斷及／或治療之過敏性皮炎之較佳類型為蚤過敏性皮炎。如此處使用，對過敏性皮炎易感動物稱為遺傳上容易發生過敏性皮炎之動物及／或已經使用抗原引發之動物，因此，再度暴露於抗原時，會產生過敏症狀，例如觀察動物或藉測量動物產生抗原之抗體查覺。如此，過敏性皮炎易感動物包含患有亞臨床過敏性皮炎之動物。亞臨床過敏性皮炎表示過敏症狀無法單純藉觀察動物檢測之病情（亦即疾病的表現包含生病動物出現抗外寄生蟲唾液蛋白抗體，但未出現皮炎），例如亞臨床過敏性皮炎可使

（請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁）

裝

訂

五、發明說明()

用本發明之活體內或活體外檢定分析檢定(容後詳述)。
稱動物患有過敏性皮炎包括未顯現過敏症狀，而可單純觀察動物及／或使用本發明之活體內或活體外檢定分析檢測之動物(容後詳述)。

本發明之一具體例為一種包含一種或多種分離的外寄生蟲唾液蛋白之配方。根據本發明，分離的蛋白質為已經由其天然環境移出的蛋白質(後文稱為分離蛋白)。分離外寄生蟲唾液蛋白例如可分離自天然來源，使用重組DNA技術生產，或以化學合成。如此處使用分離外寄生蟲唾液蛋白可為全長外寄生蟲唾液蛋白，或此種蛋白之同系物，例如其中胺基酸已經被刪失(例如蛋白質之截頭部分，例如肽)，插入，反轉，取代及／或衍生(例如藉糖化，磷酸化，乙酸化，肉豆蔻酸化，苯四酸化，棕櫚酸化，醯胺化及／或添加糖基磷脂基肌糖醇衍生)之外寄生蟲唾液蛋白。外寄生蟲唾液蛋白同系物為含胺基酸序列充分類似天然外寄生蟲唾液蛋白胺基酸序列，因此編碼該同系物之核酸序列於嚴苛條件下，可與編碼天然外寄生蟲唾液蛋白的胺基酸序列之核酸序列雜交的蛋白質。如此處使用嚴苛雜交條件表示於該條件下，核酸分子包含寡核苷酸用以鑑別類似核酸分子之標準條件。此等標準條件揭示於例如 Sambrook et al., Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Labs Press, 1989。本發明之蛋白同系物之最小尺寸為足夠由可與編碼對應天然蛋白之核酸分子之互補序列，生成穩定雜交體的核酸分子編碼大小。如此，

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

五、發明說明()

編碼此種蛋白同系物之核酸分子大小依據核酸組成及核酸分子與互補序列間之同源性百分率，以及依據雜交條件本身（例如溫度，鹽濃度，及甲醯胺濃度）決定。此種核酸分子之最小尺寸典型至少長約12至15核苷酸（核酸分子富含GC）及至少長15至約17鹼基（富含AT）。如此，用以編碼本發明之外寄生蟲唾液蛋白同系物之核酸分子最小尺寸長約12至約18核苷酸。除實際限制外，對此種核酸分子之最大尺寸並無特殊限制，核酸分子可含基因之一部分，整個基因，或多個基因，或其部分。同理，本發明之外寄生蟲唾液蛋白同系物之最小尺寸長約4至約6胺基酸，較佳尺寸依據需要此種蛋白質全長，多價（亦即具有多於一個領域，且個別有功能之融合蛋白），或功能部分決定。

外寄生蟲唾液蛋白同系物可為編碼外寄生蟲唾液蛋白之天然基因，進行等位變化結果。天然基因表示天然常見的基因型。外寄生蟲唾液蛋白同系物可使用業界已知技術生產，包含但非僅限於，例如使用傳統或重組DNA技術影響散亂或鎖定目標的突變發生作用來直接修改編碼蛋白質之一。

本發明之較佳外寄生蟲唾液蛋白包含其同系物，可檢測及／或治療由外寄生蟲叮咬導致的過敏性皮炎。較佳外寄生蟲唾液蛋白同系物包含至少一種可誘生對天然外寄生蟲唾液蛋白相對部分產生過敏反應的抗原決定部位。外寄生蟲唾液蛋白同系物亦含可使動物對天然形蛋白質降低敏感之抗原決定部位。外寄生蟲唾液蛋白同系物之檢測及／

（請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁）

裝

訂

五、發明說明()

或治療（亦即例如藉脫敏免疫調理或調節）易感或患有過敏性皮炎動物之過敏程度的能力，可使用業界已知技術試驗。此等技術包含皮膚試驗及免疫吸收劑檢定分析（容後詳述）。本發明之又較佳外寄生蟲唾液蛋白具有其它活性，包含對外寄生蟲之覓食與存活要緊的活性。

一個具體例中，本發明之配方包括一種具有離體外寄生蟲唾液蛋白之一部分之蛋白質。根據本發明“外寄生蟲唾液蛋白之至少一部分”表示由可於嚴苛條件下，與編碼本發明之全長外寄生蟲唾液蛋白之核酸雜交的核酸分子編碼的外寄生蟲唾液蛋白之一部分。外寄生蟲唾液蛋白之較佳部分可用於檢測及／或治療由外寄生蟲叮咬引起的過敏性皮炎。又較佳部分具有蚤覓食與存活重要的活性。本發明之外寄生蟲唾液蛋白部分之適當尺寸揭示於本發明之唾液蛋白同系物。

業界人士顯然易知，本發明預期可應用於全部外寄生蟲。本發明之配方包含來自任一種外寄生蟲之唾液產物。本發明之較佳外寄生蟲，由該寄生蟲可分離唾液產物（包含蛋白質），及／或可鑑別以重組或合成方式生產的蛋白質，包含蜘蛛網，昆蟲及水蛭。更佳可獲取唾液產物之外寄生蟲包含蚤；扁蝨包含Ixodida科之硬扁蝨（例如Ixodes及Amblyomma），及Argasidae科之軟扁蝨（例如Ornithodoros，如O. parkeri及O. turicata）；蠅如小蚊（例如Culicoides），蚊，砂蠅，黑蠅，馬蠅，角蠅，鹿蠅，采采蠅，馬廐蠅，引發蛆病蠅，及可咬蚋；蟻；蜘蛛；蝨；蟎；

（請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁）

裝

訂

五、發明說明()

及臭蟲如床臭蟲及接吻臭蟲包含帶有查格氏(Chagas)病者。又更佳外寄生蟲唾液產物包含得自蚤，蚊，小蚊，沙蠅，黑蠅，扁蟲及Rhodnius者，以得自蚤，蚊及蚊總科(Culicoides)之產物又更佳。

本發明之特佳配方包含蚤唾液蛋白。較佳蚤唾液蛋白產物包含得Ctenocephalides, Xenopsylla, Pulex, Tunga, Nosopsyllus; Diamanus, Ctropsyllus及Echidnophaga蚤者，以得自Ctenocephalides canis及Ctenocephalides felis蚤之產物又更佳。供舉例說明用，下文多個具體例討論蚤唾液蛋白。但此等蚤唾液蛋白之討論絕非預期圍限本發明之範圍。

一個具體例中，本發明之配方大體不含污染物質。污染物質包含例如外寄生蟲糞便物質，來自先前外寄生蟲覓食的血液蛋白（例如fetuin, ferritin, 白蛋白，血紅素及其它大型血液蛋白），表皮殘骸，及外寄生蟲幼蟲培養基（例如血液，鼠食及沙）。如此處使用，大體不含污染物質之配方為未經進一步純化，可用作治療劑不會引起不期望的副作用之配方。較佳，大體不含污染物質之配方包括少於約50%污染物質，更佳少於約10%污染物質。又更佳少於約5%污染物質。如此，本發明配方較佳包括至少約50%蚤唾液產物，更佳至少約90%蚤唾液產物，又更佳至少約95%蚤唾液產物。本發明之大體不含污染物質之配方包括未含血液污染物或蚤中腸內容物之配方。大體不含污染物質之配方可使用本發明之唾液收集裝置獲得（容後

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

五、發明說明()

詳述)。

大體不含污染物質之配方可使用業界已知典型方法鑑定。例如，存在有污染物可藉下列方法鑑定：(1)藉硫酸十二酯鈉聚丙烯醯胺凝膠電泳(SDS-PAGE)過載並分析配方；(2)藉多種層析技術分析配方；(3)使用例如免疫墨點或酶聯結免疫檢定分析技術以可結合污染物之抗體篩檢配方；(4)藉毛細電泳分析配方；或(5)使用血紅素檢測之檢定分析篩檢配方。

本發明配方之一具體例包含至少一種或多種分子量於約6 KD至約65 KD範圍之蚤唾液蛋白，分子量係藉Tris-甘胺酸SDS-PAGE，較佳使用14%聚丙烯醯胺凝膠測定，及使用業界標準方法分析。較佳配方包含一種或多種分子量於約6 KD至約55 KD範圍之蚤唾液蛋白。更佳配方包含一種或多種具有第1圖所示溶離(或遷移)圖形之蛋白質。

另一具體例中，本發明之配方包含至少一種或多種由Tris-甘胺酸SDS-PAGE測定，且使用業界標準方法分析，具有分子量於約40 KD至約300 KD範圍之蚤唾液蛋白。此種配方所含多於50%蚤唾液蛋白，具有分子量於約40 KD至約55 KD之範圍，且顯然類似fspN。更佳配方包含一種或多種具有第1圖所示溶離(或遷移)圖形之蛋白質。

另一具體例中，本發明配方包含一種或多種具有碱性等電點或pI值之蚤唾液蛋白。等電點pH或pI值表示分子不含淨電荷，且無法於電場移動的pH值。本發明之較佳配方包含具有pI值至少約pI 8.5，較佳至少約pI 9.0之蛋白質

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

五、發明說明()

。蚤唾液蛋白 fspH 例如具有 pI 值於約 pI 8.5 至約 pI 9.5 之範圍，表示由於收集蚤唾液蛋白之蚤族群的等位變異，造成蛋白質非均質。

又另一具體例，本發明之配方包含由本發明之收集裝置，溶離出之一種或多種蚤唾液產物之至少一部分。此種配方範例包含蚤萃取物 FS-1，FS-2 及 FS-3。FS-1，FS-2 及 FS-3 蚤唾液萃取物係根據實例 2 詳細說明的方法生產。根據本發明，FS-1 蚤唾液萃取物，FS-2 蚤唾液萃取物或 FS-3 蚤唾液萃取物等詞分別與 FS-1 蚤唾液產物混合物，FS-2 蚤唾液產物混合物或 FS-3 蚤唾液產物混合物互換使用。

FS-1 蚤唾液萃取物包含下列蛋白之混合物：(a) 進行還原 16% Tris 甘胺酸 SDS-PAGE 時，可如第 1B 圖，道 13 呈帶狀遷移；及 (b) 接受反相高壓液相層析 (HPLC) 可如第 2 圖顯示呈峰遷移裝置收集。第 2 圖之峰係於 FS-1 所含蛋白使用本發明之唾液收集（容後詳述）所得，且又藉收集的蛋白質通過 C4 HPLC 柱，解析成蛋白質峰，使用 5% 至 63% 乙腈，或 5.6% 至 70% 溶劑 B，流速 0.82 毫升／分鐘，其中溶劑 A 為約 0.1% TFA 於水，及溶劑 B 為約 0.085% TFA 於 90% 乙腈。參考第 2 圖，峰闡明為峰 A，峰 B，峰 C，峰 D，峰 E，峰 F，峰 G，峰 H，峰 I，峰 J，峰 K，峰 L，峰 M 及峰 N。此等峰所含蚤唾液蛋白（或蛋白質片段）稱為 fspA，fspB，fspC，fspD，fspE，fspF，fspG，fspH，fspI，fspJ，fspK，fspL，fspM 及 fspN。此等峰表示第 2 圖標記區，發現峰無需僅含一種蛋白質（或蛋白質片段）

五、發明說明()

。例如藉胺基酸序列或SDS-PAGE凝膠電泳進一步解析前述峰所含蛋白質指示fspC包含至少兩種稱為fspC1及fspC2之蛋白質，fspD包含至少兩種稱為fspD1及fspD2之蛋白質，fspG包含至少三種稱為fspG1，fspG2及fspG3之蛋白質，fspJ包含至少兩種稱為fspJ1及fspJ2之蛋白質，fspL包含至少兩種稱為fspL1及fspL2之蛋白質，fspM包含至少兩種稱為fspM1及fspM2之蛋白質，及fspN包含至少三種稱為fspN1，fspN2及fspN3之蛋白質及／或蛋白質片段。至少部分胺基酸序列得自多種蚤唾液蛋白表示為序列識別編號1 (fspA之部分N端-(胺基端)胺基酸序列)，序列識別編號2 (胺基酸序列，始於N-端表示大部分fspH蛋白質)，序列識別編號3 (fspH之蛋白內切酶Asp-N片段之部分N-端胺基酸序列，標示為fspHe)，序列識別編號4 (fspH之蛋白內切酶Asp-N片段之部分N-端胺基酸序列，標示為fspHh)，序列識別編號5 (fspHj之蛋白內切酶Asp-N片段之部分N-端胺基酸序列，其亦表示fspH之部分N-端胺基酸序列)，序列識別編號6 (fspI之部分N-端胺基酸序列)，序列識別編號7 (fspJ1之部分N-端胺基酸序列)，序列識別編號8 (fspJ2之部分N-端胺基酸序列)，序列識別編號9 (fspL1之部分N-端胺基酸序列)，序列識別編號10 (fspL2之部分N-端胺基酸序列)，序列識別編號11 (fspN1之部分N-端胺基酸序列)，序列識別編號12 (fspN2之部分N-端胺基酸序列)，序列識別編號13 (fspN3之部分N-端胺基酸序列)，序列識別編號14 (fspH

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

五、發明說明()

之部分N-端胺基酸序列)，序列識別編號25(序列識別編號24表示之核酸序列之轉譯，對應於fspI)，序列識別編號26(fspI之名目全長轉譯產物)，序列識別編號27

(fspB之部分N-端胺基酸序列)，序列識別編號28(fspG1之部分N-端胺基酸序列)，序列識別編號29(fspG2之部分N-端胺基酸序列)，序列識別編號30(fspG3之部分N-端胺基酸序列)，序列識別編號31(fspN之蛋白內切酶Asp-N片段之部分N-端胺基酸序列，標示為fspN(100-101)，序列識別編號33(標示為序列識別編號32，對應於fspH，定名為nfspH 242之部分核酸序列之轉譯產物，定名為pfspH 80)，序列識別編號35(標示為序列識別編號34，對應於fspI，定名為nfspH 591之部分核酸序列之轉譯產物，定名為pfspI 155)，序列識別編號51(標示為序列識別編號50，對應於fspN蛋白質，定名為pfspN(A) 646之部分核酸序列之轉譯產物，定名為PfspN(A) 172)，序列識別編號53(標示為序列識別編號52，對應於fspN蛋白質，定名為nfspN(B) 612之部分核酸序列之轉譯產物，定名為pfspN(B) 153)及序列識別編號54(fspN蛋白質之定名為pfspN(A) 56之部分名目N-端胺基酸序列，定名為pfspN(A)。蛋白質細節說明於實例2及3。

FS-2蚤唾液萃取物包含當接受還原性16%Tris甘胺酸SDS-PAGE時，遷移如帶且示於第1B圖，道14及15之蛋白質混合物。

本發明範圍包括留在收集裝置上其它感興趣的蚤唾液

五、發明說明 ()

產物，於溶離過程後可獲得FS-1，FS-2及FS-3蚤唾液萃取物。本發明之範圍也包括本發明配方，其包含使用其它技術例如高濃度溶離劑溶離，而由收集裝置移出的蚤唾液產物。

另一具體例中，本發明配方包含外寄生蟲唾液蛋白質同系物之至少一部分較佳具有與唾液萃取物FS-1，FS-2或FS-3所含至少一種產物之至少一部分具有至少約50%，更佳至少約75%，又更佳至少約85%胺基酸同源（於媲美區鑑別）。較佳同系物包含外寄生蟲唾液產物之至少一部分具有與一種或多種蛋白質fspA，fspB，fspC1，fspC2，fspD1，fspD2，fspE，fspF，fspG1，fspG2，fspG3，fspH，fspI，fspJ1，fspJ2，fspK，fspL1，fspL2，fspM1，fspM2，fspN1，fspN2及fspN3之至少一部分，至少約50%，更佳至少約75%，又更佳至少約85%胺基酸同源。如此，亦包含至少有一部分下列胺基酸序列之蛋白質：序列識別編號1，序列識別編號2，序列識別編號3，序列識別編號4，序列識別編號5，序列識別編號6，序列識別編號7，序列識別編號8，序列識別編號9，序列識別編號10，序列識別編號11，序列識別編號12，序列識別編號13，序列識別編號14，序列識別編號25，序列識別編號26，序列識別編號27，序列識別編號28，序列識別編號29，序列識別編號30，序列識別編號31，序列識別編號33，序列識別編號35，序列識別編號51，序列識別編號53及／或序列識別編號54。

（請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁）

裝

訂

五、發明說明()

較佳具體例中，本發明之配方包含本發明之外寄生蟲唾液產物同系物之至少一部分，其係由一種核酸分子編碼，該核酸分子與編碼唾液萃取物 FS-1，FS-2 或 FS-3 所含產物之至少一部分的核酸分子，至少約 50%，更佳至少約 75%，又更佳至少約 85% 同源。較佳外寄生蟲唾液產物同系物係由具有與一種或多種蛋白質 fspA，fspB，fspC1，fspC2，fspD1，fspD2，fspE，fspF，fspG1，fspG2，fspG3，fspH，fspI，fspJ1，fspJ2，fspK，fspL1，fspL2，fspM1，fspM2，fspN1，fspN2 及 fspN3 之至少一部分之編碼核酸分子，至少約 50%，更佳至少約 75%，又更佳至少約 85% 同源的核酸分子編碼。

又另一具體例中，本發明之配方包含蛋白質，當以蛋白內切酶 Asp-N 消化時可產生蛋白分解片段，而當接受反向 HPLC 時，如第 3 圖之說明遷移成峰。反向 HPLC 係使用 Stone et al., Enzymatic Digestion of Proteins and HPLC Peptide Isolation, in A Practical Guide to Protein and Peptide Purification for Microsequencing, PT Matsudaira ed., Academic Press, San Diego, CA (亦即，Narrowbore 程序：Vydac C18 反相，300A，5 μ m 摺體；流速 0.2 ml/min；溶劑 A 為 0.6% TFA 於水，及溶劑 B 為 0.052% TFA 於 80% 乙腈於水；樣品於 2% B 注入；維持於 2% B 後，梯度為 2-37.5% B，經歷 60 分鐘，37.5%-75% B 歷 30 分鐘，75%-98% B 歷 15 分鐘；及於 214nm 檢測)。此種蛋白之範例為 fspH，藉 ESMS 測定時，也具有分子

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

五、發明說明 ()

量約8613±6道爾吞之特徵。本發明之特性配方包含具有序列識別編號2，序列識別編號3，序列識別編號4，序列識別編號5，序列識別編號14或序列識別編號33表示之胺基酸序列fspH蛋白質。

較佳具體例中，本發明之配方包含至少一種具有胺基酸至少一部分（使用標準單一字母胺基酸代碼）之至少一種分離蛋白質：

Y G K Q Y S E K G G R G Q R H Q I L K K G K
Q Y S S K I L D L
S
R

（序列識別編號1；表示fspA之部分N-端序列）。

本發明之配方也包含至少有一部分胺基酸序列之至少一種分離蛋白質：

D R R V S K T C Q S G G K I Q S E X Q V V I K S G Q
H/Y I L E N Y X S D G R N N N N P C H L F C M R E C R
S G N G G C G N G G R T R P D S K H C Y C E A P Y S

（序列識別編號2；表示fspH之N-端近完整序列）。

本發明之配方也包含至少有一部分胺基酸序列之至少一種分離蛋白質：

D R R V S K T X Q S G G K I Q S E X Q V V I K S G Q
H/Y I L E N Y X S D G R

（序列識別編號14；表示fspH之部分N-端序列）。

本發明之配方也包含至少有一部分胺基酸序列之至少一種分離蛋白質：

（請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁）

裝

訂

經濟部中央標準局員工消費合作社印製

五、發明說明 ()

D S K H C Y C E A P Y S

(序列識別編號 3 ; 表示 fspHe 之部分 N-端序列)。

本發明之配方也包含至少有一部分胺基酸序列之至少一種分離蛋白質：

D G R N N N N P C H L F C M R E C R S G N G G C G N G
G R T R P D S K H C

(序列識別編號 4 ; 表示 fspHh 之部分 N-端序列)。

本發明之配方也包含至少有一部分胺基酸序列之至少一種分離蛋白質：

D R R V S K T C Q S G

(序列識別編號 5 ; 表示 fspHj 之部分 N-端序列)。

P

本發明之配方也包含至少有一部分胺基酸序列之至少一種分離蛋白質：

E D I W K V N K K X T S G G K N Q D R K L D Q I I Q K
G Q Q V X X Q N X X K

P

(序列識別編號 6 ; 表示 fspI 之部分 N-端序列)。

本發明之配方也包含至少有一部分胺基酸序列之至少一種分離蛋白質：

N S H E P G N T R K I R E V M D K L R K Q H P

(序列識別編號 7 ; 表示 fspJ1 之部分 N-端序列)。

本發明之配方也包含至少有一部分胺基酸序列之至少一種分離蛋白質：

E I K R N S H E P G N T R K I R E V M D K L R K Q H P

(序列識別編號 8 ; 表示 fspJ2 之部分 N-端序列)。

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

經濟部中央標準局員工消費合作社印製

五、發明說明 ()

本發明之配方也包含至少有一部分胺基酸序列之至少一種分離蛋白質：

N D K E P G N T R K I R E V M D K L R K Q A Q P R T D
G Q R P K T X I M

(序列識別編號9；表示fspL1之部分N-端序列)。

本發明之配方也包含至少有一部分胺基酸序列之至少一種分離蛋白質：

X L X R N D K E P G N T R K I R E V M D K

(序列識別編號10；表示fspL2之部分N-端序列)。

本發明之配方也包含至少有一部分胺基酸序列之至少一種分離蛋白質：

N D E L K F V F V M A K

(序列識別編號11；表示fspN1之部分N-端序列)。

本發明之配方也包含至少有一部分胺基酸序列之至少一種分離蛋白質：

X D E L K F V F V M A K G P S X Q A X D Y P C

(序列識別編號12；表示fspN2之部分N-端序列)。雖然fspN1和fspN2顯然具有類似，但非相同的部分N-端序列，但兩種蛋白質接受Tris甘胺酸SDS-PAGE時的遷移不同，表示其為不同蛋白質，可能由於蛋白質之一之羧端截頭及／或轉譯後改質如糖化之故。

本發明之配方也包含至少有一部分胺基酸序列之至少一種分離蛋白質：

E L K F V F A T A R G M S H T P C D Y F

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

經濟部中央標準局員工消費合作社印製

五、發明說明()

(序列識別編號13；表示fspN3之部分N-端序列)。

本發明之配方也包含至少有一部分胺基酸序列之至少一種分離蛋白質：

S G K Q Y S E X G K
Q S

(序列識別編號27；表示fspB之部分N-端序列)。

本發明之配方也包含至少有一部分胺基酸序列之至少一種分離蛋白質：

D R R V S K

(序列識別編號28；表示fspG1之部分N-端序列)。

本發明之配方也包含至少有一部分胺基酸序列之至少一種分離蛋白質：

S K M V T E K X K S G G N N P S T K E V S I P

(序列識別編號29；表示fspG2之部分N-端序列)。

本發明之配方也包含至少有一部分胺基酸序列之至少一種分離蛋白質：

E V S I P S G K L T I E D F X I G N H Q

(序列識別編號30；表示fspG3之部分N-端序列)

本發明之配方也包含至少有一部分胺基酸序列之至少一種分離蛋白質：

F S L C V L Y Q I V V A D R R V S K T C Q S G G K I Q
S E E / X Q V V I K S G Q H / Y I L E N Y X S D G R N N N
N P C H L F C M R E C R S G N G G C G N G G R T R P D
S

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

經濟部中央標準局員工消費合作社印製

五、發明說明 ()

(序列識別編號33；表示序列識別編號32表示的核酸序列之轉譯產物，對應於fspH)。

本發明之配方也包含至少有一部分胺基酸序列之至少一種分離蛋白質：

L T S G G K N Q D R K L D Q I I Q K G Q Q V K I Q N I
C K L I R D K P H T N Q E K E K C M K F C T K N V C K
G Y R G A C D G N I C Y C S R P S N L G P D W K V N E
R I E R L P I T K I L V S G N S S I S T T I T N S K Y
F E T K N S E T N E D S K S K K H S K E K C R G G N D
R G C D G N V L L L S T K K

(序列識別編號25；表示序列識別編號24表示的核酸序列之轉譯產物，對應於fspI)。

本發明之配方也包含至少有一部分胺基酸序列之至少一種分離蛋白質：

E D I W K V N K K L T S G G K N Q D R K L D Q I I Q K
G Q Q V K I Q N I C K L I R D K P H T N Q E K E K C M
K F C T K N V C K G Y R G A C D G N I C Y C S R P S N
L G P D W K V N E R I E R L P I T K I L V S G N S S I
S T T I T N S K Y F E T K N S E T N E D S K S K K H S
K E K C R G G N D R G C D G N V L L L S T K K

(序列識別編號26；對應於fspI之名目全長轉譯產物)。

本發明之配方也包含至少有一部分胺基酸序列之至少一種分離蛋白質：

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

經濟部中央標準局員工消費合作社印製

五、發明說明 ()

W K V N K K L T S G G K N Q D R K L D Q I I Q K G Q Q
V K I Q N I C K L I R D K P H T N Q E K E K C M K F C
T K N V C K G Y R G A C D G N I C Y C S R P S N L G P
D W K V N E R I E R L P I T K I L V S G N S S I S T T
I T N S K Y F E T K N S E T N E D S K S K K H S K E K
C R G G N D R G C D G N V L L L S T K K

(序列識別編號35；表示序列識別編號34表示的核酸序列之轉譯產物，對應於fspl)。

本發明之配方也包含至少有一部分胺基酸序列之至少一種分離蛋白質：

D I E N I K K G E G Q P G A P G G K E N N L S V L

(序列識別編號31；fspN之核酸內切酶Asp-N片段之部分N-端胺基酸序列，定名為PfspN(100-101))。

本發明之配方也包含至少有一部分胺基酸序列之至少一種分離蛋白質：

A R A R S V G S M K N K L K S F S E K Y V W A A L T S
N D N L R K M S G G R M I N D I L N D I D N I K K G N
G Q P N A P G K T E N K L S V S D R S S R Y L S S I R
F S L F R P R Y K I E N Q D L E P S S L Y P G Q G A L
H V I E L H K D K N Q W N V K T L Y R N N D Q Q E L K
P M K L A K C G D T C S Y E T F K S T L Q S Y N M D K
T A H D K L C K S S

(序列識別編號51；表示序列識別編號50表示的核酸序列之轉譯產物，對應於fspN蛋白質)。比較胺基酸序列序列識別編號51與GenBank報告之胺基酸序列指示序列識別編

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

經濟部中央標準局員工消費合作社印製

五、發明說明 ()

號 51，與人類前列腺酸性磷酸酶約 28% 相同。

本發明之配方也包含至少有一部分胺基酸序列之至少一種分離蛋白質：

G T R K N E L K S F S E E Y L W R A L T S N E N L R K
M S G G R M I N D I L N D I D S I K E E R D N R V L L
E K Q E I K L S M L T V P Q A I L A A F V S A F A P K
G T K I E N Q D L G P S S L Y P G Q G A L H V I E L H
K D N N Q W S V K V L Y R N N D K M E L E P M K L P S
C D D K C P C E L L N Q L Y N P M I

(序列識別編號 53；表示序列識別編號 52 表示的核酸序列之轉譯產物，對應於 fspN 蛋白質)。比較胺基酸序列序列識別編號 53 與 GenBank 報告之胺基酸序列指示序列識別編號 53，與人類前列腺酸性磷酸酶約 30% 相同。

本發明之配方也包含至少有一部分胺基酸序列之至少一種分離蛋白質：

M W R L L L V I S S A L I I Q N V N A E L K F V F A T
A T R Y V S H T P S P C D P G G P K I T N K P G D F Q
R V

(序列識別編號 54；表示 fspN 蛋白質之部分 N-端胺基酸序列)。

據了解，本發明之外寄生蟲唾液蛋白包含，但非僅限於，全長蛋白質，雜交蛋白質，融合蛋白質，多價蛋白質，及唾液萃取物 FS-1，FS-2 或 FS-3 所含蛋白質之至少一部分之截頭同系物，或為蛋白質分解產物；較佳為唾液蛋白

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

經濟部中央標準局員工消費合作社印製

五、發明說明 ()

質 fspA, fspB, fspC1, fspC2, fspD1, fspD2, fspE, fspF, fspG1, fspG2, fspG3, fspH, fspI, fspJ1, fspJ2, fspK, fspL1, fspL2, fspM1, fspM2, fspN1, fspN2及／或 fspN3之至少一部分。如此，也包含含有下列任一種胺基酸之至少一部分之蛋白質：序列識別編號 1，序列識別編號 2，序列識別編號 3，序列識別編號 4，序列識別編號 5，序列識別編號 6，序列識別編號 7，序列識別編號 8，序列識別編號 9，序列識別編號 10，序列識別編號 11，序列識別編號 12，序列識別編號 13，序列識別編號 14，序列識別編號 25，序列識別編號 26，序列識別編號 27，序列識別編號 28，序列識別編號 29，序列識別編號 30，序列識別編號 31，序列識別編號 33，序列識別編號 35，序列識別編號 51，序列識別編號 53及／或序列識別編號 54。如此處所用，雜交蛋白質表示有兩種不同蛋白質生產的單一蛋白質。

前述敘列識別編號表示根據實例揭示之方法，演繹之胺基酸序列。需注意，由於胺基酸決定序列技術並非完全無誤差，故前述序列識別編號至多表示本發明之外寄生蟲唾液蛋白之名目胺基酸。此外，前述序列識別編號所見變異，至少部分來自本位變異，原因為決定序列之蛋白質係衍生自蚤族群。

根據本發明，本發明配方包含業已進行轉譯後改質的蚤唾液蛋白。此種改質包含例如糖化。糖化包含添加 N-鍵連及／或 O-鍵連寡糖。需了解，本發明蛋白質轉譯後改質

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

五、發明說明()

可於即發型或延遲型過敏反應促進抗原決定部位，誘生抗蛋白質之過敏反應的能力。

本發明之另一具體例為分離核酸分子，其可於嚴苛條件下，與編碼本發明之外寄生蟲唾液蛋白之外寄生蟲唾液蛋白基因雜交。根據本發明，分離核酸分子為已經由天然環境移出的核酸分子（亦即已經接受人為處理）。如此，“分離”並未反映核酸分子之純化程序。分離核酸分子包含DNA，RNA或DNA或RNA衍生物。

本發明之分離核酸分子可呈全體（亦即完整）基因或其可與該基因生成安定雜交體的部分，由天然來源獲得。如此處所用，實體“之至少一部分”一詞表示至少可發揮實體的功能特點之量。例如，如此處所用“至少部分核酸序列”，表示可於嚴苛雜交條件下，與對應基因生成安定雜交體之核酸序列數量。本發明之分離核酸分子也可使用重組DNA技術（例如聚合酶連鎖反應(PCR)放大，選殖）或化學合成生產。離體外寄生蟲蛋白核酸分子包含核酸分子，及其同系物包含，但非僅限於天然等位變異株，或其中已經以下述方式插入、刪失、取代及／或反轉核苷酸之改質分子，此種改質大體不會干擾核酸分子編碼本發明之外寄生蟲唾液蛋白質之能力，或於嚴苛條件下，與天然核酸分子單離株生產安定雜交體的能力。

本發明之分離核酸分子包含編碼至少一種本發明之外寄生蟲唾液蛋白之核酸序列，此種蛋白之範例揭示如文。雖然“核酸分子”一詞主要表示物理核酸分子，而“核酸

（請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁）

裝

訂

五、發明說明()

序列”一詞主要表示核酸分子上核苷酸之序列，但二詞可互換使用，特別就可編碼外寄生蟲唾液蛋白之核酸分子或核酸序列而言尤為如此。如前文揭示，本發明之外寄生蟲唾液蛋白包含，但非僅限於具有全長外寄生蟲唾液蛋白編碼區之蛋白質，其部分，及其它外寄生蟲唾液蛋白同系物。

需了解，本發明之外寄生蟲唾液蛋白可由編碼多蛋白之全長核酸序列編碼。多蛋白可以後轉譯方式處理成唾液內所見之多種蛋白質。如此處使用，外寄生蟲唾液蛋白基因包含全部有關天然外寄生蟲唾液蛋白基因之核酸序列，例如控制該基因編碼的外寄生蟲唾液蛋白之生產之調節區（包含但非僅限於轉錄，轉譯，或轉譯後控制區）及其編碼區。本發明之核酸分子可為分離天然外寄生蟲唾液蛋白核酸分子，或其同系物。本發明之核酸分子可包含一或多個調節區，全長或部分編碼區或其組合。本發明之外寄生蟲唾液蛋白核酸分子之最小尺寸為可於嚴苛條件下，與對應天然基因生成穩定雜交體的最小大小。

外寄生蟲唾液蛋白質核酸分子同系物可使用業界已知之多種方法生產（例如參見Sambrook et al., 1989）。例如，核酸可使用多種技術改質，此等技術包含但非僅限於傳統突變發生技術及重組DNA技術，以及位置指導突變，化學處理核酸分子而誘生突變，限剪酶割裂核酸片段，核酸片段之接合，聚合酶連鎖反應(PCR)放大及／或核酸序特選區之突變，寡核苷酸混合物之合成，及混合物群接合

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

五、發明說明()

而“營建”核酸分子混合物及其組合。核酸分子同系物可經由篩檢核酸編碼蛋白質之功能（例如同系物於患有過敏性皮炎之動物，提引出過敏反應之能力，或同系物作為抗凝血劑之能力）及／或經由與分離外寄生蟲唾液蛋白核酸於嚴苛條件下雜交，而選自改質核酸混合物。

本發明之一個具體例為可編碼至少部分蚤唾液產物之外寄生蟲唾液蛋白核酸分子，或含於唾液萃取物FS-1，FS-2或FS-3之同系物（例如其它外寄生蟲唾液產物），其中FS-1接受HPLC時解析成峰A，峰B，峰C，峰D，峰E，峰F，峰G，峰H，峰I，峰J，峰K，峰L，峰M及峰N。較佳核酸分子可編碼一種或多種蛋白質fspA，fspB，fspC1，fspC2，fspD1，fspD2，fspE，fspF，fspG1，fspG2，fspG3，fspH，fspI，fspJ1，fspJ2，fspK，fspL1，fspL2，fspM1，fspM2，fspN1，fspN2及fspN3，或其同系物之至少一部分。如此，較佳核酸分子包含但非僅限於編碼有下列一種或多種胺基酸序列之至少一部分之蛋白質的核酸分子：序列識別編號1，序列識別編號2，序列識別編號3，序列識別編號4，序列識別編號5，序列識別編號6，序列識別編號7，序列識別編號8，序列識別編號9，序列識別編號10，序列識別編號11，序列識別編號12，序列識別編號13，序列識別編號14，序列識別編號25，序列識別編號26，序列識別編號27，序列識別編號28，序列識別編號29，序列識別編號30，序列識別編號31，序列識別編號33，序列識別編號35，序列識別編號51，序列

（請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁）

裝

訂

五、發明說明()

識別編號53及／或序列識別編號54，或其同系物。

本發明之較佳核酸分子可於嚴苛條件下，與含於唾液萃取物FS-1、FS-2或FS-3之編碼蚤唾液產物之至少一部分，或其同系物（例如其它外寄生蟲唾液產物）之核酸雜交。又較佳為外寄生蟲唾液蛋白核酸分子包含一種核酸序列，其與編碼含於唾液萃取物FS-1，FS-2或FS-3之蚤唾液產物之至少一部分或其同系物（例如其它外寄生蟲唾液產物）之對應核酸序列區至少約65%，較佳至少約75%，更佳至少約85%，且又更佳至少約95%同源。特佳核酸序列為一種核酸序列具有與編碼一種或多種蛋白質fspA，fspB，fspC1，fspC2，fspD1，fspD2，fspE，fspF，fspG1，fspG2，fspG3，fspH，fspI，fspJ1，fspJ2，fspK，fspL1，fspL2，fspM1，fspM2，fspN1，fspN2及fspN3之至少一部分的核酸序列，至少約65%，較佳至少約70%，更佳至少約85%，且又更佳至少約95%同源。如此，亦屬較佳者為核酸分子，其與編碼下列一種或多種胺基酸序列之至少一部分，至少約65%，較佳至少約75%，更佳至少約85%，且又更佳至少約95%同源：序列識別編號1，序列識別編號2，序列識別編號3，序列識別編號4，序列識別編號5，序列識別編號6，序列識別編號7，序列識別編號8，序列識別編號9，序列識別編號10，序列識別編號11，序列識別編號12，序列識別編號13，序列識別編號14，序列識別編號25，序列識別編號26，序列識別編號27，序列識別編號28，序列識別編號29，序列識別編號30，序列

（請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁）

裝

訂

五、發明說明 ()

識別編號31，序列識別編號33，序列識別編號35，序列識別編號51，序列識別編號53及／或序列識別編號54。

此等核酸分子可為全長基因及／或編碼全長蛋白質，雜交蛋白質，融合蛋白質，多價蛋白質或截頭片段之核酸分子。更佳本發明之核酸分子包括具有序列識別編號20，序列識別編號24，序列識別編號32，序列識別編號34，序列識別編號50或序列識別編號52表示之核酸序列之離體核酸分子。序列識別編號20，包含約60編碼蚤唾液蛋白fspH之名目基因之核苷酸，包含約25%fspH編碼區。序列識別編號24，包含約編碼唾液蛋白fspI名目基因之573核苷酸之核酸序列，編碼約149胺基酸蛋白質，以序列識別編號25表示。fspI之整體轉譯產物名目約158胺基酸，且標示為序列識別編號26。序列識別編號32，編碼蚤唾液蛋白fspH之名目基團之242 bp核酸序列，編碼約80胺基酸蛋白質，其標示為序列識別編號33。序列識別編號34，編碼蚤唾液蛋白fspI名目基因之591 bp核酸序列，編碼約155胺基酸之蛋白質，標示為序列識別編號35。序列識別編號50，編碼fspN蚤唾液蛋白名目基因之646 bp核酸序列，編碼約172胺基酸蛋白質，標示為序列識別編號51。序列識別編號52，編碼fspN蚤唾液蛋白名目基因之612 bp核酸序列，標碼約153胺基酸之蛋白質，標示為序列識別編號53。

瞭解本發明之外寄生蟲唾液蛋白之核酸分子可使業界人士製造核酸分子複本，以及獲得包含外寄生蟲唾液蛋白編碼基因之額外部分（例如包含轉譯起始位置及／或轉錄

（請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁）

裝

訂

五、發明說明()

及／或轉譯控制區之核酸分子)，及／或外寄生蟲唾液蛋白核酸分子同系物。了解本發明之外寄生蟲唾液蛋白之胺基酸序列之一部分，可使業界人士選殖編碼此種外寄生蟲唾液蛋白之核酸序列。此外，所需外寄生蟲唾液蛋白核酸分子可以廣泛多種方式，獲得包含以可結合至本發明之外寄生蟲唾液蛋白的抗體，篩檢適當表現存庫；使用本發明之寡核苷酸探針，篩檢適當存庫或DNA之傳統選殖方法；及使用本發明之寡核苷酸引子進行適當存庫，或RNA或DNA之PCR放大（可使用基因組及／或cDNA存庫）。欲分離蚤唾液蛋白質核酸分子，較佳cDNA存庫包含有未進食全蚤，進食全蚤，進食蚤中腸，未進食蚤中腸，及蚤唾腺製成的cDNA存庫。選殖及放大基因技術例如揭示於。實例部分包含標碼本發明之蚤唾液蛋白質cDNA序列之分離例。

本發明也包含核酸分子，其含有寡核苷酸其於嚴苛條件下，可與編碼唾液萃取物FS-1，FS-2或FS-3所含蚤唾液產物之一部分或其同系物（例如其它外寄生蟲唾液產物）之本發明之其它較佳較長核酸分子互補區雜交。較佳寡核苷酸為可於嚴苛條件下，與（可編碼至少一種或多種蛋白質fspA，fspB，fspC1，fspC2，fspD1，fspD2，fspE，fspF，fspG1，fspG2，fspG3，fspH，fspI，fspJ1，fspJ2，fspK，fspL1，fspL2，fspM1，fspM2，fspN1，fspN2及fspN3之一部分或其同系物）核酸分子雜交。如此，某些較佳寡核苷酸可雜交至一種核酸分子，該核酸分子可編碼具有下列一種或多種胺基酸序列：序列識別編號1，序列

（請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁）

裝

訂

五、發明說明()

識別編號 2，序列識別編號 3，序列識別編號 4，序列識別編號 5，序列識別編號 6，序列識別編號 7，序列識別編號 8，序列識別編號 9，序列識別編號 10，序列識別編號 11，序列識別編號 12，序列識別編號 13，序列識別編號 14，序列識別編號 25，序列識別編號 26，序列識別編號 27，序列識別編號 28，序列識別編號 29，序列識別編號 30，序列識別編號 31，序列識別編號 33，序列識別編號 35，序列識別編號 51，序列識別編號 53及／或序列識別編號 54，或其同系物之至少一部分之蛋白質。某些較佳寡核苷酸可雜交至包含序列識別編號 20，序列識別編號 24，序列識別編號 32，序列識別編號 34，序列識別編號 50，序列識別編號 52表示之核酸序列，或其補體。

本發明之寡核苷酸可為 RNA、DNA，或其衍生物。此等寡核苷酸之最小尺寸為介於特定寡核苷酸與另一本發明之核酸分子的互補序列間，生成穩定雜交體所需大小。最小尺寸特徵揭示如文。寡核苷酸尺寸也需足夠使用本發明之寡核苷酸。本發明之寡核苷酸可用於多種用途，包含但非限於作為鑑別額外分子之探針，作為放大或延長核酸分子之引子，或用於治療用途，例如抑制外寄生蟲表現唾液蛋白。此等治療用途包含例如此等寡核苷酸用於以反訊息-，三聚體生成-，核糖酶-及／或 RNA 藥物為主的技術。因此，本發明包含此等寡核苷酸，及使用一種或多種技術干擾外寄生蟲唾液蛋白之生產方法。

本發明亦包含重組媒傳者，其包含本發明之外寄生蟲唾液蛋白核酸分子插入任何可輸送核酸分子入寄主細胞之

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

五、發明說明 ()

媒傳者。此種媒傳者含有非同源核酸序列，亦即非天然發現毗鄰本發明之外寄生蟲唾液蛋白核酸分子的核酸序列。媒傳者可為RNA或DNA，原核或真核，典型為病毒或質體。重組媒傳者可用於選殖，決定序列，及／或以其它方式操作本發明之外寄生蟲唾液蛋白核酸分子。一型重組媒傳者（此處稱為重組分子，且詳述如後）可用於表現本發明之核酸分子。較佳重組媒傳者可於轉形細胞複製。

含於本發明之重組媒傳者之較佳核酸分子為編碼含於唾液萃取物FS-1，FS-2或FS-3之至少一種蚤唾液產物之至少一部分或其同系物（例如其它外寄生蟲之唾液產物）之核酸分子。含於重組媒傳者之特佳核酸分子可編碼一種或多種蛋白質fspA，fspB，fspC1，fspC2，fspD1，fspD2，fspE，fspF，fspG1，fspG2，fspG3，fspH，fspI，fspJ1，fspJ2，fspK，fspL1，fspL2，fspM1，fspM2，fspN1，fspN2及fspN3之一部分或其同系物。如此，亦包含編碼具有下列一種或多種胺基酸序列之至少一部分之蛋白質之核酸分子：序列識別編號：1，序列識別編號：2，序列識別編號：3，序列識別編號：4，序列識別編號：5，序列識別編號：6，序列識別編號：7，序列識別編號：8，序列識別編號：9，序列識別編號：10，序列識別編號：11，序列識別編號：12，序列識別編號：13，序列識別編號：14，序列識別編號：25，序列識別編號：26，序列識別編號：27，序列識別編號：28，序列識別編號：29，序列識別編號：30，序列識別編號：31，序列識別編號：

（請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁）

裝

訂

五、發明說明 ()

33，序列識別編號：35，序列識別編號51，序列識別編號53及／或序列識別編號：54，或其同系物，及包含序列識別編號：20，序列識別編號：24，序列識別編號：32，序列識別編號：34，序列識別編號：50及／或序列識別編號：52表示之核酸序列之至少一部分的核酸分子。

一個具體例中，本發明之離體外寄生蟲唾液蛋白係經由於可有效生產該種蛋白質之條件下，培養可表現該蛋白質之細胞，而生產蛋白質，並回收蛋白質。較佳培養細胞為可表現外寄生蟲唾液蛋白之重組細胞，該重組細胞可經由使用一種或多種本發明之核酸分子轉形寄主細胞生產。核酸分子轉形成細胞可藉另一種將核酸分子插入細胞的方法完成。轉形技術包含，但非僅限於，轉移感染，電穿孔，顯微注射，脂肪感染，吸附及原生質體融合。重組細胞可維持單細胞，或可生長成組織，器官或多細胞有機體。本發明之轉形核酸分子可保持於染色體外，或可整合入轉形（亦即重組）分子之染色體內一或多個分子，因此可保有其表現能力。較佳可用來轉形寄主細胞之核酸分子包含編碼唾液萃取物FS-1，FS-2或FS-3所含蚤唾液蛋白產物或其同系物（例如其它外寄生蟲唾液產物）之至少一部分的核酸分子。可用來轉型寄主細胞之特佳核酸分子為如本文揭示含於本發明之重組媒傳者之核酸分子。

轉形用之適當寄主細胞包含任何可被轉形，且可表現引進的外寄生蟲唾液蛋白之細胞。因此，此等細胞於使用至少一種本發明之核酸分子轉形後，可生產本發明之外寄

（請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁）

裝

訂

五、發明說明()

生蟲唾液蛋白。寄主細胞可為未轉形細胞，或已經使用至少一種核酸分子轉形的細胞。合宜之本發明之寄主細胞包含細菌，真菌（包含酵母），昆蟲，動物及植物細胞。較佳寄主細胞包含細菌，酵母，昆蟲及哺乳類細胞，以細菌（例如大腸桿菌）及昆蟲（例如黏蟲(Spodoptera)）細胞為特佳。

重組細胞較佳經由一種或多種重組分子轉形寄主細胞生產，各自包括一種或多種本發明之核酸分子，以可作業方式連結至含一或多個轉錄控制序列之表現媒傳者。以可作業方式聯結一詞表示核酸分子插入表現媒傳者之方式，可使分子轉形成寄主細胞時可表現。如此處使用，表現媒傳者為可轉型寄主細胞，並影響特定核酸分子之表現的DNA或RNA之媒傳者。較佳表現媒傳者也可於寄主細胞複製。表現媒傳者可為原核或真核，典型為病毒或質體。本發明之表現媒傳者包含任一種可於本發明之重組細胞，包含細菌、真菌、昆蟲、動物及／或植物細胞發揮功能（亦即指導基因表現）的媒傳者。如此，本發明之核酸分子可以可作業方式連結至含調節序列，如啟動基因，操縱基因，抑制基因，促進基因，終結序列，複製起點，及其它可與重組細胞相容。且可控制本發明之核酸分子表現的調節序列之表現媒傳者。如此處使用，轉錄控制序列包含可控制轉錄引發，延長，及終結的序列。特別重要的轉錄控制序列為可控制轉錄引發之序列，例如啟動基因，促進基因，操縱基因及抑制基因序列。適當轉錄控制序列包含可於至

五、發明說明 ()

少一個本發明之重組細胞發揮功效的轉錄控制序列。多種轉錄控制序列為業界已知。較佳轉錄控制序列包含於細菌，酵母，蠕蟲，昆蟲及哺乳類細胞發揮功能者，例如但非僅限於tac，lac，trp，trc，oxy-pro，omp/lpp，rrnB，噬菌體 λ （例如 λP_L 及 λP_R 及包含此等啟動基因之融合株），噬菌體T7，T7lac，噬菌體SP6，噬菌體SP01，金屬硫辛(metallothionein)， α 配對因子，比奇菌(Pichia)醇氧化酶， α 病毒亞基因組啟動基因（例如Sindbis病毒亞基因組啟動基因），桿病毒，Heliothis zea昆蟲病毒，牛痘病毒，疱疹病毒，痘病毒，腺病毒，猴病毒40，反錄病毒actin，反錄病毒長端重複子，Rous肉瘤病毒，熱震，磷酸鹽及硝酸鹽轉錄控制序列，及其它可於原核或真核細胞控制基因表現之序列。其它適當轉錄控制序列包含組織特異性啟動基因及促進基因，以及淋巴激素-可誘生的啟動基因（例如可由干擾素或介白素誘生啟動基因）。本發明轉錄控制序列也包含天然與編碼外寄生蟲唾液蛋白之DNA序列結合的天然轉錄控制序列。

本發明之表現載體也可含有分泌信號（亦即信號節段核酸序列）可使表現的外寄生蟲唾液蛋白由表現該蛋白之細胞分泌。適當信號節段包含外寄生蟲唾液蛋白信號節段，或任何可指導本發明之外寄生蟲唾液蛋白包含融合蛋白質分泌之非同源信號節段。較佳信號節段包含，但非僅限於組織胞質素原活化劑(t-PA)，干擾素，介白素，生長激素，組織相容及病毒套膜糖蛋白信號節段。

（請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁）

裝

訂

五、發明說明()

本發明之表現載體也可含有可導致本發明之經插入的核酸分子呈融合蛋白質表現的融合序列。包含融合序列作為本發明之外寄生蟲核酸分子之一部分，可促進於核酸分子編碼蛋白質之生產，儲存及／或使用期間的安定性。此外，融合節段可作為工具來簡化外寄生蟲唾液蛋白之純化，例如可使用親和層析純化所得融合蛋白質。適當融合節段可為具有所需功能（例如穩定性增高及／或純化工具）之任何大小的領域。本發明之範圍包含使用一種或多種融合節段。融合節段可接合至外寄生蟲唾液蛋白之胺基端及／或羧基端。融合節段與外寄生蟲唾液蛋白之鍵聯可構成對割裂敏感，因此可直接回收外寄生蟲唾液蛋白。融合蛋白較佳經由使用編碼一種蛋白質（包含融合節段搭接於外寄生蟲唾液蛋白之羧基端及／或胺基端）之融合核酸序列轉形的重組細胞。

本發明之重組分子為可包含至少一種先前描述為以作為方式連結至至少一種轉錄控制序列（可於有待轉型細胞有效調節核酸分子之表現）的任一種核酸分子。較佳重組分子包含一種或多種核酸分子，其編碼唾液萃取物FS-1，FS-2或FS-3所含蚤唾液產物或其同系物（例如其它外寄生蟲唾液產物）之至少一部分。含於重組分子之特佳核酸分子為此處揭示包含於本發明之重組媒傳者之核酸分子。

本發明之重組細胞包含任一種可以至少一種本發明之核酸分子轉形的細胞。較佳重組細胞為以至少一種核酸分子轉形的細胞，該核酸分子編碼唾液萃取物FS-1，FS-2及

（請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁）

裝

訂

五、發明說明()

／或FS-3所含蚤唾液產物或其同系物（例如其它外寄生蟲之唾液產物）之至少一部分。較佳重組細胞為以至少一種可編碼一種或多種蛋白質 fspA, fspB, fspC1, fspC2, fspD1, fspD2, fspE, fspF, fspG1, fspG2, fspG3, fspH, fspI, fspJ1, fspJ2, fspK, fspL1, fspL2, fspM1, fspM2, fspN1, fspN2及 fspN3, 或其同系物之至少一部分的核酸分子轉形。因此，也包含下列核酸分子：編碼帶有一種或多種下列胺基酸序列之至少一部分：序列識別編號：1，序列識別編號：2，序列識別編號：3，序列識別編號：4，序列識別編號：5，序列識別編號：6，序列識別編號：7，序列識別編號：8，序列識別編號：9，序列識別編號：10，序列識別編號：11，序列識別編號：12，序列識別編號：13，序列識別編號：14，序列識別編號：25，序列識別編號：26，序列識別編號：27，序列識別編號：28，序列識別編號：29，序列識別編號：30，序列識別編號：31，序列識別編號：33，序列識別編號：35，序列識別編號51，序列識別編號53及／或序列識別編號：54或其同系物之蛋白質的核酸分子，及包含序列識別編號：20，序列識別編號：24，序列識別編號：32，序列識別編號：34，序列識別編號：50及／或序列識別編號：52表示的核酸序列之至少一部分的核酸分子。特佳重組細胞包含以至少一種前述核酸分子轉形的大腸桿菌。

業界人士了解使用重組DNA技術可藉操縱，而改善轉形核酸分子的表現，例如操縱寄主細胞內之核酸分子複本

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

五、發明說明()

數目，核酸分子轉錄效率所得轉錄本被轉譯之效率，及轉譯後改質效率。可用於提高本發明之核酸分子之表現的重組技術包含，但非僅限於以可作業方式連結核酸分子至高套數質體，核酸分子整合入一或多寄主細胞染色體，媒傳者安定序列添加至質體，轉錄控制信號（例如啟動基因，操縱基因，促進基因）之取代或改質。轉譯控制信號（例如核糖結合位置，Shine-Dalgarno序列）之取代或改質，本發明之核酸分子改質而對應於寄主細胞之密碼子用途，刪除可使轉錄本不安定的序列，及使用控制序列其於發酵期間可暫時由重組蛋白質生產分開重組細胞的生長。本發明之表現重組蛋白質之活性可藉分段，改質，或衍生蛋白質改善。

根據本發明，重組細胞可經由有效生產蛋白質之條件下，培養細胞及回收蛋白質，而用來生產本發明之外寄生蟲唾液蛋白。生產蛋白質有效條件包含，但非僅限於適當培養基，生物反應器，溫度，pH及可生產蛋白質的氧條件。適當或有效培養基表示當本發明之細胞培養時，可產生外寄生蟲唾液蛋白之任一種培養基，此種培養基典型為水性培養基包括同化碳水化合物，氮及磷酸來源，以及適當鹽類，礦物質，金屬及其它營養素，例如維生素。培養基可包括複合營養或可為經界定的最低培養基。

本發明之細胞可於習知發酵生物反應器培養，包含但非僅限於，批次，進料批次，細胞循環及連續發酵器。培養也可於振搖瓶，試管，微滴定盤，及培養皿進行。培養

（請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁）

裝

訂

五、發明說明()

係於重組細胞之適當溫度，pH及氧含量進行。培養條件為業界人士眾所周知。

依據生產使用的媒傳者及寄主系統而定，所得外寄生蟲唾液蛋白可保有於重組細胞；分泌於發酵培養基；分泌於兩張細胞膜間空間，如大腸桿菌之胞質周圍空間；或保有於細菌或病毒膜之外表面上。“回收蛋白質”一詞單純表示收集含蛋白質之全體發酵培養基，而非暗示額外分離或純化步驟。本發明之外寄生蟲唾液蛋白可使用多種標準蛋白質純化技術純化，例如但非僅限於親和層析，離子交換層析，過濾，電泳，疏水交互作用層析，凝膠過濾層析，反相層析，層析聚焦及差異溶解。

外寄生蟲唾液蛋白較佳以“實質純質”形回收。如此處所用“實質純質”表示可有效使用蛋白質作為治療組成物或診斷用之純度。例如，投予由本發明之重組細胞分離的外寄生蟲唾液蛋白劑量之動物必須大體不具有來自混合於蛋白質之污染物的毒性。

大體不含污染物質之外寄生蟲唾液產物可使用本發明之唾液收集裝置分離。本發明之唾液收集裝置設計成可刺激保有於容器的外寄生蟲覓食，因此放出唾液，且與污染物質分開收集。

外寄生蟲寄生於溫血寄主動物，且由動物體覓食。此處使用寄主動物一詞表示外寄生蟲可由其覓食，或於其覓食的動物。不欲受限於任何理論，相信外寄生蟲如蚤具有熱受體，因此可使外寄生蟲感知寄主動物溫暖皮膚與周圍空

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

五、發明說明()

氣間之溫差。溫差刺激(亦即引起)外寄生蟲由溫暖面(亦即由溫暖的動物皮膚)覓食。也相信移動,擺動及黑暗可由外寄生蟲查覺,因此鼓勵其覓食。外寄生蟲以其口器刺穿動物皮膚覓食,於外寄生蟲分泌唾液促進覓食時,口器保留於該位置。覓食中,外寄生蟲可放出污染物,例如血液蛋白及糞便物質。

本發明之唾液收集裝置包含一個小室及殼體,因此,介於由裝置小室與殼體間維持溫差,可引起或促成保留於殼體內的外寄生蟲嘗試由小室覓食。當圈養於此種裝置的外寄生蟲嘗試根據本發明覓食時,節肢動物放出唾液,而唾液之收集方式為唾液所含蛋白質及其它產物,可以大體不含污染物質之方式分離。欲收集大體不含污染物質之唾液,本發明之裝置也含收集裝置,可捕捉與捕捉污染物質之表面分開的表面上之唾液。

本發明之唾液收集裝置可用於由任一種外寄生蟲如此處揭示者收集唾液。本發明之外寄生蟲可於對外寄生蟲感染易感的動物(亦即寄主動物)體覓食,此等動物包含,但非僅限於廣泛多種脊椎動物。較佳寄主動物包含哺乳類及鳥類。更佳寄主動物包含貓、犬、人、馬、兔、綿羊、牛、豬、山羊、浣熊、雪貂、大鼠和鼯鼠以及其它寵物、經濟食用動物及,感染寵物及經濟食用動物的蚤類寄主動物。特性寄主動物為貓和犬。

本發明可收集唾液之特性外寄生蟲包含任何適合的蚤類。較佳蚤包含可感染貓和犬的蚤。以剛孵化的蚤(亦即

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

五、發明說明()

剛從蛹階段跑出的蚤) 尚未吃第一餐血為佳，其理由如下：
由於剛孵化蚤尚未吃第一餐血液，故此種蚤嘗試覓食。
因為剛孵化蚤尚未吃第一餐血液，故不會如同已進食蚤般放出大量污染物質。剛孵化蚤比較已經至少吃過一餐血液的蚤壽命更長。須注意已進食者也可用於本發明之裝置。

業界人士將了解本發明之唾液收集裝置可用於由任何外寄生蟲收集唾液。供舉例說明之用，本發明之蚤唾液收集裝置詳細說明如下。此等說明絕非意圖圍限本發明之範圍。業界人士可基於由蚤收集唾液之方法以直接方式由其它外寄生蟲收集唾液。

本發明之一個具體例為唾液收集裝置其包含小室和殼體以可作業方式連結至介面，因此介於小室與殼體維持溫差。界面包含收集裝置和障壁裝置其位置可使嘗試進食的蚤口器在穿入收集裝置之前先穿入障壁裝置。小室與可體間之溫差為嘗試吸引裝在殼體內的蚤試圖通過界面進食，因此將唾液產物沈積於收集裝置上。由於收集裝置與障壁裝置的相對位置，污染物質沈積於障壁裝置上。

本發明之蚤收集裝置包含殼體。殼體包括可盛裝蚤而提供結構支撐的適當材料且可連結至容納裝置。殼體較佳由可忍受業界人士常用的清潔及／或消毒過程的材料製成。如此殼體可再度使用。本發明之較佳殼體材料包含但非僅限於塑膠、金屬、橡膠、木材及玻璃材料及此等材料的組合。更佳殼體材料包含塑膠和金屬材料，以塑膠材料又更佳。較佳塑膠材料包含普列西玻璃(plexiglass)，鐵氟

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

五、發明說明()

龍，尼龍及聚碳酸酯。特佳塑膠材料為普列西玻璃，或其它耐久、耐裂塑膠，較佳透明因此可觀察容器內的蚤。

根據本發明，本發明之殼體大小為殼體可承載所需數目的蚤而不會太擠。殼體表面和容積皆要緊。殼體大小可根據有待盛裝於殼體的蚤數目決定。較佳殼體大小足夠容納約1,000至約6,000蚤／殼體經歷約72，更佳約2,000至約5,000／殼體經歷約72小時，又更佳約3,000至約4,000蚤／殼體經歷約72小時。

本發明之殼體之適當高度為夠高而可使蚤進食時活動。殼體高度較佳約1.0cm至約3.0cm更佳約1.5cm至約2.5cm，又更佳約1.8cm至約2.2cm。

本發明之殼體形狀可為任何形狀至少有個平坦面適合殼體內盛裝的蚤進食。本發明的殼體較佳成形為圓柱體，有四面或四面以上的盒體，半圓頂形或半圓柱體。特佳形狀為短圓柱體。

本發明之較佳殼體直徑可有廣泛變化。不同直徑容器例如可根據容納於殼體內不會過擠的蚤數目決定。本發明之圓形殼體內徑較佳由約4.0cm至約5.5cm，更佳由約4.5cm至約5.5cm，及又更佳約5.0cm。

根據本發明，殼體之大小、形狀、高度及直徑可根據盛裝於殼體內的節肢動物大小和數目而隨不同的外寄生蟲而改變。

根據本發明，殼體以可作業方式連結到容納裝置和交換裝置。如此處使用“可作業方式連結”表示本發明之唾

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

五、發明說明()

液收集裝置的連結部分為蚤可容納於裝置內而沈積唾液於收集裝置上。本發明之容納裝置可由蚤的口器穿透。本發明之容納裝置包括任何適合容納蚤且通過高材料蚤可進食（亦即容納裝置可由口器穿透）的材料或材料組合。如此，容納裝置可包括有個夠大（亦即足夠大）開口可供蚤口器穿透，但夠小（亦即足夠小）而可有效防止容納於其中的蚤逃跑。較佳容納裝置包括具有口徑約0.25mm至約0.50mm，更佳約0.30mm至約0.50mm，又更佳約0.35mm至約0.45mm的材料。業界人士了解開口尺寸可根據容納於殼體的外寄生蟲類別改變。舉例言之，容納特別小的寄生蟲（但非僅限於蟲）需要容納裝置的開口小。相反地，頭蝨其為口器粘在寄主動物的外寄生蟲之容納裝置則需較大開口，較佳約1mm範圍。

用作容納裝置之較佳材料包括但非僅限於金屬網、尼龍網、塑膠膜、布及此等材料之組合。更佳容納裝置包含尼龍網及金屬網，又更佳容納裝置包含尼龍網。收集裝置可反嵌合有多種容納裝置。較佳容納裝置可再用。

本發明之交換裝置包括任一種可經由交換殼體內部環境與外部環境的氣體、濕度和熱，而於殼體內維持蚤的容許環境之任一種材料或材料組合。殼體可反嵌合有具有不同的氣體、濕度和熱滲透性的不同交換裝置。如此處使用，氣體一詞表示蚤存活所需大氣氣體，包含但非僅限於二氧二碳、氧和氮。氣體亦指容納於本發明殼體之蚤產生的氣體產物，如代謝氣體產物包含蚤呼出的氣體或來自蚤的

（請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁）

裝

訂

五、發明說明()

氣體。

本發明之交換裝置包括具有開口的材料，開口夠大而可使氣體和濕氣逃逸，但又夠小而可有效防止蚤逃跑。較佳交換裝置包括具有約0.10mm至約0.45mm，更佳約0.10mm至約0.30mm，又更佳約0.13mm至約0.15mm開口之材料。

用作交換裝置之較佳材料包括但非僅限於金屬網、尼龍網、塑膠、布及此等材料之組合。更佳容納裝置包含尼龍網及金屬網，又更佳容納裝置包含尼龍網。較佳容納裝置可再用。

根據本發明，裝置包含以可作業方式連結到殼體的小室。本發明之小室可維持適合介於裝置殼體與小室間產生溫差的內溫其促進容納於殼體內的蚤沈積唾液於裝置收集裝置上。較佳小室也可維持適合容納於裝置內的外寄生蟲存活（亦即適合避免外寄生蟲乾燥）的內部濕度。本發明之小室也如實例詳細說明可搭接到人工進食系統。小室包括可維持小室內適當溫度及濕度的材料。小室較佳由可忍受業界人士常用的清潔或殺菌過程之材料製成。如此小室可再用。本發明較佳室材包含但非僅限於玻璃、塑膠、金屬、橡膠及木材及材料組合。更佳室材包含玻璃及塑膠材，以玻璃材又更佳。

根據本發明，本發明之小室大小為小室可維持適當溫度而刺激蚤沈積唾液於裝置之收集裝置上。小室大小根據小室內放置的吸墨材料量（容後詳述）改變，接到小室之收集裝置直徑或小室是否接到人工餵食系統容後詳述。較

（請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁）

裝

訂

線

五、發明說明()

佳本發明之小室高度夠高而可放置適量吸墨材料於小室，因此吸墨材料可於小室內維持適合蚤存活的濕度。小室高度較佳約1.0cm至約7.0cm，較佳2.0cm至約6.0cm，及更佳約3.0cm至約5.0cm。

根據本發明小室可為任何具有至少一個開放端可搭接本發明之介面的形狀。本發明之小室較佳成型為圓柱體兩端開口或圓柱體一端開口。特佳形狀為兩端皆開口的圓柱體。

本發明之較佳小室直徑可有廣泛不同變化。不同直徑小室例如可根據搭接於小室的界面直徑或搭接於小室的殼體直徑使用。本發明之小室內徑較佳為約2.0cm至約6.5cm，更佳約3.0cm至約5.5cm，又更佳約4.0cm至約4.5cm。

本發明之小室可含有適合於小室內維持蚤存活的適當濕度之吸墨材料。維持適當濕度方法詳述如後。本發明之小室可含食物或水，但較佳為潮濕（亦即，有濕氣而非濕）且不含食物。

本發明之唾液收集裝置包含一介面。本發明介面包含可收集大體不含污染物料唾液產物之裝置。如此本發明之介面可由蚤口器穿透，但可保持污染物質如血液及糞便與蚤進食時分泌的唾液產物分開。本發明之介面包括一種收集唾液產物之裝置及介於污染物質與收集的唾液產物間產生障壁之裝置。

本發明之收集裝置可為任何適合收集（亦即吸附）盛裝的蚤嘗試通過介面覓食時沈積的（亦即分泌的）唾液蛋

（請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁）

裝

訂

五、發明說明()

白之至少一部分。此外，本發明之收集裝置可收集蚤嘗試通過介面進食沈積的唾液之蛋白以外的唾液產物。收集裝置為唾液產物不僅可結合至收集裝置同時也可於曝露於適當溶離劑（亦即萃取劑）時，由收集溶離（亦即萃取）。如此，本發明之較佳收集材料包含疏水材料且具低結合能力，原因為唾液成分容易由材料溶離。本發明之收集裝置材料必須也可由蚤口器穿透。

本發明之較佳收集裝置材料包含但非僅限於尼龍、硝基纖維素，CM-衍生物，二乙胺基乙基(DEAE)-衍生物，紙，聚矽、纖維素酯，聚四氟乙烯(PTFE)及聚偏氟乙烯(PVDF)膜。特佳陰離子交換膜收集裝置材料包含DE-81層析紙，其可得自Whatman, Inc., Clifton, NJ。特佳收集裝置包含PVDF。較佳PVDF收集裝置材料包含Durapore™。

本發明之收集裝置形狀可隨收集裝置搭接的小室形狀改變。收集裝置之較佳形狀包含但非僅限於圓形或有四邊或有多邊的盒形，以圓形為更佳。

本發明之收集裝置大小也可根據收集裝置搭接的小室尺寸改變。收集裝置大小較佳比小室開口端更大，因此可防止收集裝置進入室內。收集裝置大小較佳為直徑約2.2cm至約6.5cm，更佳約3.2cm至約5.7cm，又更佳約4.2cm至約4.7cm。

本發明之唾液收集裝置提供新穎障壁裝置其可收集大體不含污染物質的外寄生蟲唾液。本發明之障壁裝置可為任何可大體防止污染物質接觸收集裝置之材料（亦即大體

（請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁）

裝

訂

五、發明說明()

防止污染物質如蚤糞便物質及血液產品通經收集裝置)，但仍可由蚤口器穿透且可使唾液通過障壁裝置。較佳本發明之障壁裝置材料厚度為微米厚度。本發明之較佳障壁材料包含但非僅限於極薄塑膠，鐵氟龍，布，紙，石蠟及蠟材料。本發明之更佳障壁材料包含拉伸塑膠，以Saran Wrap™及特別Parafilm™，拉伸成極薄（亦即儘量以機器及／或手拉伸變薄）又更佳。

本發明之障壁裝置大小可隨障壁裝置搭接的小室大小改變。障壁裝置大小較佳夠大可使障壁裝置延伸至本發明之小室邊，因此障壁裝置可固定於小室。障壁裝置夠小，因此障壁裝置不會干擾例如盛裝於小室內的唾液收集裝置搭接於人工餵食系統的能力。

根據本發明，收集裝置和障壁裝置以可作業方式連結到唾液裝置小室，因此容納於裝置殼體內的蚤可穿過障壁裝置和收集裝置沈積唾液於收集裝置上。本發明之收集裝置以可移開方式利用障壁裝置搭接於小室邊。搭接收集裝置和障壁裝置之較佳位置為設計成與殼體介面的小室部分。收集裝置和障壁裝置之更佳搭接位置為小室開放端。

本發明之唾液收集裝置也含吸墨裝置。本發明之吸墨裝置可於裝置內維持適合蚤存活的濕度，因此可維持液體經歷蚤容納於裝置內的期間。如此吸墨裝置可為任一種適當吸收材。較佳吸墨裝置包含天然及合成海綿、發泡體、紙、布及瓊脂。更佳吸墨裝置材包含海綿或紙，以濾紙又更佳。特佳具體例中，一塊或多塊VWR吸墨墊320號（得自

（請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁）

裝

訂

五、發明說明()

VWR Scientific, Denver, Co) 構成吸墨裝置。

如前述本發明之唾液吸收裝置可介於裝置殼體與小室間維持溫差。本發明之裝置內適當溫差包含可刺激容納於裝置內的蚤穿過裝置介面而沈積唾液於收集裝置上的溫差。本發明之小室之較佳溫度為約 20℃ 至約 45℃，更佳溫度為約 5℃ 至約 35℃。較佳具體例中，小室溫度係於約 35℃ 至約 40℃ 之範圍。而殼體溫度係於約 10℃ 至約 30℃ 之溫度範圍。特佳小室溫度由約 35℃ 至約 37℃ 之範圍；及特佳殼體溫度為約 20℃ 至約 27℃。

外寄生蟲之存活受濕度影響。因此本發明之裝置之殼體內之濕度適合維持其中容納的外寄生蟲存活。本發明裝置內之適當相對濕度可根據裝置內容納的外寄生蟲改變。如此處所用相對濕度表示大氣水蒸氣相對於大氣水蒸氣導致沈澱的最大程度之程度。如此相對濕度以百分濕度表示，其中 100% 濕度表示大氣水蒸氣飽和。本發明之小室內的較佳濕度係於約 5% 至約 100% 之範圍，而本發明之殼體內之較佳濕度係於約 40% 至約 60% 之範圍。較佳具體例中，小室之濕度係於約 50% 至約 94% 之範圍，而殼體之濕度為約 50%。

本發明之另一具體例為使用對比色來誘捕蚤。例如本發明之收集裝置之至少一面可為夠暗色可使蚤穿過裝置介面。不欲囿限於理論，相信蚤可由暗處感測光線，因此嘗試朝向暗面進行。因此根據本發明，小室可比殼體暗，因此吸引蚤至殼體與小室間之介界。適當暗色包含由黑至淺

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

五、發明說明()

褐之色彩，較佳黑色。

本發明之收集裝置之較佳具體例闡明於第4A及4B圖。唾液收集裝置(2)分隔成殼體(4)及小室(6)。本發明之唾液收集裝置之橫剖面(2)示於第4A圖。參照第4A及4B圖，殼體(4)有個末端開放的圓柱體，具有第一部分(8)及第二部分(10)。殼體(4)之第二部分(10)有個外徑(12)及內徑(14)。交換裝置(16)以可作業方式搭接於殼體(4)的第一部分(8)，及容納裝置(18)搭接於第一部分(8)相反端介於第一部分(8)與第二部分(10)之外徑(12)與內徑(14)間。交換裝置(16)及保留裝置(18)可以防止蚤脫逃的方式搭接。搭接交換裝置(16)及保有裝置(18)至殼體(4)第一部分(8)之裝置包含但非僅限於橡膠黏膠、膠水、膠帶、焊料及araldite。較佳搭接裝置為橡膠黏膠。

唾液收集裝置(2)之小室(6)含有一個末端開口的圓柱體，具有一個頂端(20)及底端(22)。頂端(20)之直徑適合使小室(6)搭接至人工餵食系統(詳述於實例)。底端(22)之直徑適合底端可反向搭接於殼體(4)，因此可提供供滑動嵌合。底端(22)由收集裝置(24)覆蓋。收集裝置(24)的直徑比小室(6)底端(22)的內周長更大，因而防止收集裝置(24)進入小室(6)的內部(26)。較佳收集裝置(24)之直徑不大於小室(6)底端(22)之外周長。收集裝置(24)可連結到底端(22)俾提供拆卸式連結，因此有助於由唾液收集裝置(2)移開收集裝置(24)而由收集裝置(24)回收唾液產物。

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

五、發明說明 ()

搭接於室(6)底端(22)之收集裝置(24)由障壁裝置(28)覆蓋。障壁裝置(28)以可作業方式連結到室(6)，因此形成對可防止收集裝置(24)接觸蚤沈積的污染物質。障壁裝置(28)可連結到室(6)俾提供可拆卸式連結。較佳障壁裝置(28)包括可拉伸塑膠材例如Parafilm™，其橫跨接觸室(6)底端(22)的收集裝置(24)拉伸成儘可能薄且又沿室(6)側壁(30)朝向室(6)頂端(20)拉伸。障壁裝置(28)又可使用橡皮封(32)固定於室(6)側壁(30)。橡皮封(32)以可卸式連結障壁裝置(28)之吻合室(6)側壁(30)部分，因此進一步將收集裝置(24)固定於室(6)及封固定於室(6)環境。

吸墨(吸收)材料可放置於室(6)底端(22)內部空間(26)而形成吸墨裝置(34)。吸墨裝置(34)包括一或多個個別吸墨墊(例如吸墨材料塊)。較佳吸墨裝置(34)放置於47cm高室(6)時厚約2.0mm至約15.0mm(乾燥)，放置於47cm高室(6)時，較佳厚約2.2mm至約12.5mm(乾燥)，又更佳2.45mm至約10.0mm。特佳具體例中，吸墨裝置(34)包括約2至6塊VWR吸墨墊320號，較佳約3至5塊VWR吸墨墊320號。吸墨裝置(34)直徑選擇可接觸室(6)內側壁(36)。吸墨裝置(34)較佳充分預先濕潤而可對室(6)提供濕度但又不會太濕因而使液體由吸墨裝置(34)滴下。吸墨裝置(34)放置毗鄰收集裝置(24)之面對室(6)頂端(20)側。吸墨裝置(34)可以可卸式直接接觸收集裝置(24)。

室(6)與殼體(4)反向分開。室(6)以反向固定方式例如滑動、咬合或螺栓在一起而互連至殼體(4)。較佳室(6)

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

五、發明說明()

滑入殼體(4)且使用橡皮筋固定。

室(6)之相對高度可相對於殼體(4)改變。典型地室(6)高度大於殼體(4)。較佳室(6)高度係於約1.0cm至約7.0cm，更佳約2.0cm至約6.0cm，又更佳約3.0cm至約5.0cm之範圍。殼體(4)之高度較佳約1.0cm至約3.0cm，更佳約1.5cm至約2.5cm，又更佳約1.8cm至約2.2cm之範圍。

本發明之具體例為使用本發明之裝置由外寄生蟲收集唾液產物之方法。此種方法特佳原因為可分離大體不含污染物質的外寄生蟲唾液，包含唾液蛋白。如此，該方法例如可用於特徵化外寄生蟲唾液蛋白及分離外寄生蟲唾液蛋白供診斷及治療用。

本方法之一具體例包含下列步驟：(a)於容納外寄生蟲於裝置殼體的唾液收集裝置內將外寄生蟲唾液產物收集於收集裝置；及(b)使用溶液由收集裝置萃取(亦即溶離)收集的外寄生蟲唾液產物而形成含經萃取的產物溶液。此種萃取溶液可直接用作本發明配方或如此處所述用於分餾及／或純化步驟而生成其它本發明配方。此等經萃取溶液範例包含FS-1，FS-2及FS-3。

根據本發明，含外寄生蟲之唾液裝置介於室與殼體間有個介面包含收集裝置其可收集由容納於裝置內的外寄生蟲沈積的唾液產物之至少一部分及障壁裝置可大體防止污染物質接觸收集裝置。裝置內容納的外寄生蟲維持於室與殼體有溫差的條件下；亦即裝置小室比容納外寄生蟲的殼體溫暖，因此小室更溫暖吸引養在殼體內的外寄生蟲嘗試

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

五、發明說明()

穿過障壁裝置及收集裝置而沈積唾液產物於收集裝置上。

一個具體例中收集唾液產物之方法包含於安放收集裝置於本發明之裝置前預先濕潤本發明之收集裝置。適用於本發明之預先濕潤溶液可方便唾液產物吸附(亦即收集)因此於萃取步驟(亦即曝露於適當溶劑)時也可被萃取。本發明之適當預先濕潤溶液包含任何對外寄生蟲無毒的緩衝液且具生理 pH。適當緩衝液包含磷酸鹽緩衝鹽，水，磷酸鹽緩衝液，HEPES緩衝液(N-2-羥乙基六氫吡咩-N'-2-乙烷磺酸緩衝鹽水)，TES緩衝液(Tris-EDTA緩衝鹽水)，Tris緩衝鹽及TAE緩衝鹽(Tris-乙酸鹽-EDTA)。較佳預先濕潤溶液包含含 50U/ml 青黴素及 50μg/ml 鏈黴素之無菌水。

用來收集唾液產物之裝置包含吸墨裝置時，該吸墨裝置於放置於小室前或後必須打濕。較佳打濕溶液包含但非僅限於水，磷酸鹽緩衝鹽水，磷酸鹽緩衝液，tris緩衝液，HEPES緩衝液，TEA緩衝液及TES緩衝液。特佳打濕溶液包含水及 50U/ml 青黴素及 50μg/ml 鏈黴素。根據本發明吸墨裝置充分濕潤而於室內產生濕度不會滴下液體而讓盛裝於裝置內的外寄生蟲喝到。較佳具體例中，吸墨裝置直徑約 4.0cm 厚度約 2.5mm，且以 2.3ml 打濕溶液打濕。

一個具體例中，預定量之外寄生蟲引進本發明裝置之殼體內。引進殼體之外寄生蟲數目可隨殼體大小改變，且需為不會妨礙外寄生蟲沈積唾液於本發明之收集裝置上的能力之數目。

本發明之較佳具體例中，蚤加至本發明裝置蚤引進殼

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

五、發明說明 ()

體之適當且較佳數目揭示於前文。特別使用由蛹期剛孵化的蚤。此種蚤可如 Wade et al., pp 186-190, 1988, J. Med Entomol., vol 25 飼養。較佳蚤未曾使用血液。蚤可藉放置於魚缸中且真空吸引入殼體而載入裝置。其它適合維持蚤之選擇性組件可添加至容器，如動物毛髮與乾燥組織。

較佳具體例中，至少一種有蚤容納於殼體的本發明裝置搭接於人工餵食系統(揭示如文)。裝置可於蚤穿透收集裝置連續釋放唾液時保持搭接於餵食系統。較佳蚤維持於搭接於餵食系統之裝置內經歷12至約120小時，更佳24小時至約95小時，又更佳約72小時，原因為蚤至該時間為止大體不會停止分泌唾液。根據本發明方法較佳由約 10^6 蚤-小時可收集至少約80 μ g，更佳至少約90 μ g，又更佳至少約200 μ g蚤唾液蛋白，使用Bio-Rad Bradford檢定分析(得自Bio-Rad, Hercules, CA)測量。

根據本發明外寄生蟲唾液產物可使用可由本發明之收集裝置萃取唾液產物之溶劑萃取，較佳呈可維持溶離產物之功能活性形式。若蚤唾液蛋白之功能活性無法維持，則本發明之範圍包括使用業界人士已知技術重新折疊蛋白質，再度獲得功能。適當萃取溶劑包含但非僅限於磷酸鹽緩衝鹽水，含氯化鈉之磷酸鹽緩衝鹽水，TFA於乙腈，趨混亂劑，清潔劑，有機物，鹽類或其組合。較佳萃取溶劑包含磷酸鹽緩衝鹽水，含氯化鈉之磷酸鹽緩衝鹽水，乙腈，TFA於乙腈。更佳萃取溶劑含1M NaCl於磷酸鹽緩衝鹽水，

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

五、發明說明 ()

0.1% TFA於50% 乙腈，1% TFA於50% 乙腈，12.8% 乙腈及50% 乙腈。由收集裝置溶離蛋白質及其它產物之適當萃取時間詳述於後文之實例。

由本發明之收集裝置萃取的唾液蛋白之進一步純化方式為分餾經萃取的含產物溶液獲得個別峰部分，及回收大體不含其餘部分之峰部分之至少一者，而獲得外寄生蟲唾液蛋白配方。較佳具體例中，本發明之經萃取的唾液產物中所含蛋白質進一步進行HPLC純化獲得峰部分。特佳具體例中，本發明之經萃取的唾液蛋白進一步藉HPLC解析獲得第2圖所示峰部分。有關蛋白質之萃取及解析細節示於實例。

根據本發明，包括至少一種本發明之外寄生蟲唾液產物或其模擬體之配方可用來鑑別易感或患有過敏性皮炎的動物。

根據本發明“模擬體”表示任一種可模擬本發明之離體外寄生蟲唾液產物而發揮其功能的化合物(例如抗凝血劑，抗補體，血管擴張劑，蛋白酶，酸性磷酸酶，或檢測及／或治療易感或患有過敏性皮炎動物之過敏)。模擬體可為已經改質而降低對分解的敏感度但能保有所需活性之肽。模擬體之其它例包含但非僅限於以碳水化合物為主的化合物，以脂質為主的化合物，以核酸為主的化合物，天然有機化合物，合成衍生有機化合物，抗遺傳型抗體及／或抗催化型抗體或其片斷。本發明之模擬體也可包含具有過敏原性及／或抗原活性之外寄生蟲之非蛋白質部分(例

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

五、發明說明()

如與外寄生蟲唾液蛋白結合的碳水化合物部分)。模擬體例如可經由篩檢合成化合物之存庫尋找可改變外寄生蟲進食能力之化合物或檢測及／或治療經由外寄生蟲叮咬引發的過敏性皮炎之化合物獲得。模擬體也可經由例如合理藥物設計獲得，合理藥物設計過程中，本發明化合物之三度空間構造例如可藉核磁共振(NMR)或X光結晶照相分析。然後三度空間構造可用來例如藉計算機模式預測可能的模擬體構造。預測的模擬體構造隨後例如藉化學合成，重組DNA技術或由天然來源(例如植物、動物、細菌及真菌)分離模擬體生產。

本發明之一種具體例為活體內試驗其可檢測動物是否對外寄生蟲唾液產物過敏。本發明之活體內試驗最初用來測定動物是否對外寄生蟲唾液產物過敏，然後用來測定動物是否對特定外寄生蟲唾液成分特別對外寄生蟲唾液蛋白過敏。本發明之活體內過敏試驗特別可用於鑑別易感或患有過敏性皮炎的動物。本發明之試管內過敏試驗又更可用於鑑別易感或患有FAD動物。本發明之適當活體內過敏試驗可為但非僅限於皮膚試驗包括投予(例如皮內注射或表皮刮擦)有效量之含至少一種外寄生蟲唾液產物或其模擬體之配方。本發明之皮膚試驗之進行方法為業界人士已知，簡單揭示如文。

適用於試管內皮膚試驗之配方包含外寄生蟲唾液成分(亦即收集於且維持吸收於本發明之收集裝置之唾液產物，外寄生蟲唾液之萃取物，及一種或多種離體外寄生蟲唾

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

五、發明說明()

液蛋白)。較佳配方包含一種或多種離體蛋白質。

用於本發明之皮膚試驗之外寄生蟲唾液萃取物之適當量隨試驗所用產物之過敏原性及隨產物輸送部位可有廣泛變化。用於本發明之皮膚試驗之適量外寄生蟲唾液產物包含可形成反應之量，例如因產物過敏反應引發可檢測的風疹塊或硬結(變硬)。用於本發明之皮膚試驗之外寄生蟲唾液萃取物或蛋白之較佳量於約1ng至約500 μ g，更佳約5ng至約300 μ g，又更佳約10ng至約50 μ g之範圍。業界人士了解此等量將隨投予的萃取物及／或蛋白質之過敏原性改變。

根據本發明，本發明之外寄生蟲唾液產物可與免疫增強劑(例如本發明之載劑或佐劑，容後詳述)組合。但本發明之新穎態樣為本發明之外寄生蟲唾液產物可於無免疫增強劑存在下誘發過敏反應。

本發明之皮膚試驗又包括對動物投予對照溶液。對照溶液包含陰性對照溶液及／或陽性對照溶液。本發明之陽性對照溶液含有有效量之至少一種投予動物時已知可誘發過敏反應之化合物。用作陽性對照溶液之較佳化合物包含但非僅限於組胺。本發明之陰性對照溶液包括已知投予動物時不會誘生過敏反應之溶液。如此陰性對照溶液包含大體無法誘生過敏反應之化合物之溶液或單純為用來製備配方之緩衝液如鹽水。較佳陰性對照溶液之範例為酚化磷酸鹽緩衝鹽水(得自Greer Laboratories, Inc., Lenoir, NC)。

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

五、發明說明()

動物對一種或多種本發明配方之過敏性可藉下述方式評估：測量投予一種或多種實驗樣品或對照樣品至動物體產生的反應(例如風疹塊大小，硬結或變硬；使用業界人士已知技術)並比較該反應與投予一種或多種對照溶液產生的反應。較佳皮內注射裝置包含個別注射器。較佳刮擦裝置包含一次可投予多種樣品的裝置。動物之過敏性可藉測量投予本發明配方所得反應是否大於投予陰性對照之反應，及／或測量投予配方所得反應是否至少約略與投予陽性對照所得反應大小而評估。如此，若實驗樣品產生的反應大於或等於投予陽性對照樣品產生的風疹塊大小，則該動物對實驗樣品敏感。相反地若實驗樣品產生反應類似陰性對照樣品產生的反應，則動物對試驗樣品不過敏。

較佳評估動物過敏反應之風疹塊大小直徑於約16mm至約8mm，更佳約15mm至約9mm，又更佳約14mm至約10mm之範圍。

較佳動物是否對本發明配方呈現即發型過敏反應係藉下述方式測定：投予樣品後約2分鐘至約30分鐘，更佳約10分鐘至約25分鐘，又更佳約15分鐘測量風疹塊大小。

較佳動物對本發明配方是否呈現延遲型過敏反應係藉下述方式測量：於投予樣品後約18至30小時，更佳約20至約28小時，又更佳約24小時測量風疹塊大小。延遲型過敏反應也可使用業界人士已知技術藉測量如上界定的時間內投予部位之細胞浸潤程度測定。

較佳具體例中，本發明之皮膚試驗包括於特定位置於

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

訂

五、發明說明()

動物體皮內注射有效量之包含蚤唾液萃取物(亦即，由本發明之收集裝置萃取的蚤唾液產物)或至少一種本發明之蚤唾液蛋白之配方，及於不同部位皮內注射有效量之對照溶液至相同動物體。業界人士了解可於多個部位同時輸送多種樣品之裝置，較佳可同時評估多種配方。一種較佳配方包括根據本發明收集的蚤唾液產物。亦屬較佳者為包括一種或多種重組生產的蚤唾液蛋白之配方。

用於本發明之皮膚試驗之適當蚤唾液產物包含FS-1，FS-2及FS-3以及可由FS-1，FS-2及／或FS-3分離的至少一種蚤唾液產物之一部分。用於皮膚試驗之較佳蚤唾液產物包含FS-1，FS-2，FS-3及／或一種或多種蛋白質fspA，fspB，fspC1，fspC2，fspD1，fspD2，fspE，fspF，fspG1，fspG2，fspG3，fspH，fspI，fspJ1，fspJ2，fspK，fspL1，fspL2，fspM1，fspM2，fspN1，fspN2及fspN3，或其同系物之至少一部分。用於皮膚試驗之更佳蚤唾液產物包含FS-1，FS-2，FS-3及／或一種或多種蛋白質fspE，fspF，fspG1，fspG2，fspG3，fspH，fspI，fspJ1，fspJ2，fspK，fspL1，fspL2，fspM1，fspM2，fspN1，fspN2，及fspN3之至少一部分。又更佳用於皮膚試驗之蚤唾液產物包含FS-1，FS-2，FS-3及／或一種或多種蛋白質fspG1，fspG2，fspG3，fspH，fspM1，fspM2，fspN1，fspN2及fspN3之至少一部分。此等配方示於實例且可於犬誘發FAD。較佳陽性對照樣品可為含組胺樣品較佳陰性對照樣品可為含稀釋劑樣品。

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

五、發明說明()

適合且較佳用於採用本發明之皮膚試驗試驗對外寄生蟲唾液蛋白之過敏性的動物揭示如文。使用本發明之皮膚試驗試驗之特佳動物包含犬，貓及馬，以犬及貓又更佳。

本發明之另一具體例為試管試驗免疫吸收劑試驗其可經由推定含抗體溶液與含外寄生蟲唾液產物溶液以可形成及檢測免疫複合體之方式接觸而檢測是否存在有可結合至一種或多種本發明之外寄生蟲唾液產物的抗體存在。如此，本發明之試管內免疫吸收劑試驗特別可用於經由驗證動物先前已經曝露於外寄生蟲唾液抗原，因此對進一步曝露於外寄生蟲唾液抗原過敏而鑑別易感或患有過敏性皮炎動物。

根據本發明，本發明之試管內過敏試驗可為但非僅限於免疫吸收劑試驗包括：(a)本發明配方與動物體液於足夠生成介於配方與抗體(若存在於體液)之免疫複合體之條件下接觸；及(b)測定免疫複合體生成量，其中免疫複合體之生成表示動物易感或患有過敏性皮炎。免疫吸收劑試驗特別可用於檢測體液之IgE抗體，因此代表動物的即發型過敏。測定免疫複合體生成量包含依據檢測模式分離步驟。免疫吸收劑檢定分析可為廣泛多種方案且可由業界人士設計。

本發明之較佳免疫吸收劑試驗包括第一步驟，以適量一種或多種本發明之外寄生蟲唾液產物或其模擬體塗覆固體基材之一或多部分，及使用適量本發明之陽性及／或陰性對照溶液塗覆該(或另一)固體基材之一或多個其它部分

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂



五、發明說明()

。本發明之較佳固體基材包含但非僅限於ELISA板，浸量尺，放射性免疫檢定分析板，瓊脂珠，塑膠珠，免疫墨點膜及紙；更佳固體基材包含ELISA板，浸量尺或放射性免疫檢定分析板，以ELISA板和浸量尺又更佳。如此處使用，浸量尺表示具有抗體可結合表面之固體物質，此種固體物質具有仿棒型可插入試管內。用於本發明之試管內之過敏試驗之適當及較佳蚤唾液產物揭示於本發明之皮膚試驗。

本發明之較佳試管內過敏試驗之第二步驟包括經塗覆基材與得自過敏性皮炎易感動物的體液，如血清、血漿或全血接觸，因此可使體液內所含可與外寄生蟲唾液產物結合的抗體結合至此種已經與基材結合的產物，而形成免疫複合體。然後，過量體液和抗體由基材洗掉。較佳具體例中，欲測量體液之IgE抗體，體液可事先處理而去除至少若干體液內存在的其它免疫球蛋白及／或其它蛋白例如白蛋白之異構型。此種去除包含但非僅限於體液與物質如蛋白質G接觸經由體液例如曝露於刀豆球蛋白A(Con-A)而由體液之其它成分去除IgE抗體及／或親和純化IgE抗體。

本發明之較佳試管內過敏試驗之第三步驟包括結合至基材的免疫複合體與可結合至免疫複合體之化合物，例如第二抗體或其它可結合至外寄生蟲過敏動物產生的過敏相關抗體重鏈之化合物，因此化合物可結合至免疫複合體。較佳結合化合物包含但非僅限於可結合至IgE抗體重鏈之抗體。較佳試驗動物揭示如文。可結合至免疫複合體之化

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

訂

五、發明說明()

合物通常加標籤，因此可測量化合物與得自體液之抗體結合量。此等標籤包含但非僅限於放射性標籤，與基材接觸時可產生顏色反應的酵素，螢光標籤，化學光標籤，發色標籤，或可由其它化合物結合的化合物。較佳標籤包含但非僅限於螢光素，放射性同位素，鹼性磷酸酶，生物素，抗生物素或過氧化酶。

本發明之較佳試管內過敏性試驗之第四步驟包括使用業界已知技術測量結合至固體基材之可檢測標籤量。本發明之範圍包括得自體液之抗體結合至基材量可使用一層或多層第二抗體或其它結合化合物測定。例如未加標籤的第二抗體可結合至血清抗體隨後未加標籤的第二抗體可由已加標籤的第三抗體結合。

過敏動物係經由比較使用體液樣品生成免疫複合體程度與使用對照樣品生成免疫複合體程度鑑別。免疫複合體表示包括抗體及其配合基(亦即抗原)的複合體。如此，使用陽性對照樣品可形成免疫複合體，而使用陰性對照樣品不會形成。如此若體液樣品導致免疫複合體之生成大於或等於使用陽性對照樣品之免疫複合體之生成，則採體液動物對結合至基材的外寄生蟲唾液產物過敏。相反地，若體液樣品導致免疫複合體之生成類似使用陰性對照樣品之免疫複合體之生成，則將體液動物對結合至基材的外寄生蟲唾液產物不過敏。

本發明之一個具體例為可用於鑑別易感或患有過敏性皮炎之動物之套件組。如此處使用，易感動物為試驗動物

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

五、發明說明()

。本發明套件組包括本發明配方及檢測動物是否易感或患有過敏性皮炎之裝置，其中使用該配方來鑑別易感或患有過敏性皮炎動物。測定動物是否易感或患有過敏性皮炎之裝置可包含本發明之活體內或試管內過敏性試驗(詳述如前)。本發明之套件組又包括至少一種對照溶液，例如此處揭示者。

本發明之較佳套件組包括可用於進行免疫檢定分析之元件。本發明之套件組包括一種或多種實驗樣品(亦即本發明配方)及一種或多種結合至至少一根預充填浸量尺之對照樣品，及介於試驗動物體液所含抗體與結合至浸量尺的蛋白質間之免疫複合體生成(例如加標籤的第二抗體或其它結合化合物及任何解析標籤所需溶液，詳述如前)所需檢測裝置。本發明範圍包括套件組，其包括單純本發明之配方而檢測裝置可以另一種方式提供。

本發明之另一較佳套件組包括可用於進行皮膚試驗之元件。本發明之套件組包括至少一根預先填充的注射筒及注射針裝置內含一種或多種實驗樣品及／或一種或多種對照樣品。

本發明範圍包括兩種或多種不同的活體試驗及／或試管試驗合併用於診斷用途。例如動物對外寄生蟲唾液過敏原的即發型過敏可使用可檢測動物體液內之外寄生蟲唾液過敏原特異性IgE抗體之試管內免疫吸收劑試驗。雖然大多數對外寄生蟲唾液過敏原呈現延遲型過敏的動物也顯現即發型過敏，但少數對過敏原呈現延遲型過敏的動物不會

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

五、發明說明()

對過敏原產生即發型過敏。此種情況下，於由IgE特異性試管試驗獲得陰性結果後，動物對外寄生蟲唾液過敏原之延遲型過敏可使用本發明之活體試驗。

本發明之另一態樣包含使用本發明配方治療易感或患有過敏性皮炎動物。根據本發明治療一詞表示調節動物對外寄生蟲叮咬產生的過敏反應。調節包含例如動物過敏反應相關的細胞的免疫調理，或改變外寄生蟲將過敏原引進動物之能力，例如經由抑制唾液酶之抗凝血活性因而阻礙節肢動物穿過動物表皮進食的能力。免疫調理包含調理典型設計免疫反應之分子活性(例如抗體，抗原，主要組織相容分子(MHC)及與MHC分子共同反應的分子)。特別免疫調理表示過敏反應相關之細胞抗原抗體交互作用結果導致發炎反應之調理，免疫抑制作用及免疫耐受作用。免疫抑制表示例如藉殺死免疫反應相關的特定細胞而抑制免疫反應。免疫耐受表示藉使免疫反應相關特殊細胞的能力喪失(亦即使T細胞對抗原的反應性消失)而抑制免疫反應。適當較佳治療動物使其具有抗性之外寄生蟲揭示如文。本發明之特佳配方用來治療FAD。

本發明之一個具體例為治療組成物其當以有效方式投予動物時可用於免疫調理動物之免疫反應(亦即免疫調理動物)因此阻斷(亦即抑制、減少或大體預防)動物隨後曝露於經由外寄生蟲叮咬傳遞的過敏物成分引發過敏反應。此種治療組成物可用於免疫調理已知對外寄生蟲唾液產物過敏的動物及對外寄生蟲唾液產物之過敏反應易感動物。

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

訂

五、發明說明()

本發明之一個具體例為一種治療組成物其包含可抑制對本發明之外寄生蟲唾液產物之免疫反應的脫敏化合物。此等脫敏化合物包含阻斷化合物，耐受原(toleragens)及／或抑制劑化合物。阻斷化合物包括可調理引起發炎反應的抗原：抗體交互作用之化合物，耐受原為可調理動物之化合物及抑制劑化合物為可抑制免疫抑制動物之化合物。本發明之脫敏化合物為可溶或可以膜結合。可以膜結合的脫敏化合物可與生物膜包含細胞，脂小體，平面膜或小粒結合。本發明之可溶性脫敏化合物可用於：(1)經由阻斷IgE抗原媒介的肥大細胞顆粒崩解而抑制第I型過敏反應；(2)經由阻斷可導致細胞之補體破壞的IgE:抗原複合體生成而抑制第III型過敏反應；及(3)經由阻斷T輔助細胞刺激巨噬細胞分泌細胞激素而抑制IV型過敏反應。本發明之膜結合脫敏化合物可用於：(1)經由阻斷於細胞表面生成會導致細胞補體破壞的IgG:抗原複合體而抑制第II型過敏反應；(2)經由阻斷免疫細胞的IgG調節信號轉導而抑制第II型過敏反應；及(3)經由阻斷T細胞毒性殺死載有抗原的細胞而抑制IV型過敏反應。

本發明之脫敏化合物也可共價連結至配合基分子，其可使脫敏化合物對外寄生蟲唾液產物過敏反應相關特定細胞鎖定目標。脫敏化合物可鍵聯之適當配合基例如包含免疫球蛋白分子，細胞激素，植物血液凝集素(lectins)，非同源過敏原，CD8分子或主要組織相容分子(例如MHC I類或MHC II類分子)之至少一部分。鍵聯至脫敏化合物免

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

訂

五、發明說明 ()

疫球蛋白分子之較佳部分包含可結合至表面分子特異性免疫細胞的可變區，及可結合至免疫細胞上FC受體的恆定區，特別IgE 恆定區。較佳CD8分子包含至少CD8 α 鏈的胞外功能領域。免疫細胞表示涉及免疫反應的細胞，特別含MHC I類或MHC II類分子之細胞。較佳免疫細胞包含抗原呈現細胞，T細胞及B細胞。

一個具體例中，本發明之治療組成物包含本發明之外寄生蟲唾液產物或其模擬體。較佳治療組成物包含配方包括外寄生蟲唾液產物或至少一種本發明之外寄生蟲唾液產物(較佳蛋白質)或其模擬體。

可用於治療蚤過敏性皮炎之適當本發明之治療組成物包含蚤唾液萃取物及其它含至少一種蚤唾液產物，較佳蛋白質或其模擬體之配方。較佳治療組成物包含FS-1，FS-2及／或FS-3以及至少一種由FS-1，FS-2及／或FS-3分離蚤唾液產物之至少一部分。如此用作治療組成物之較佳配方包含FS-1，FS-2，FS-3 及／或一種或多種蛋白質fspA，fspB，fspC1，fspC2，fspD1，fspD2，fspE，fspF，fspG1，fspG2，fspG3，fspH，fspI，fspJ1，fspJ2，fspK，fspL1，fspL2，fspM1，fspM2，fspN1，fspN2及fspN3，或其同系物之至少一部分。更佳可用作治療組成物之蚤唾液萃取物包含FS-1，FS-2，FS-3 及／或一種或多種蛋白質fspE，fspF，fspG1，fspG2，fspG3，fspH，fspI，fspJ1，fspJ2，fspK，fspL1，fspL2，fspM1，fspM2，fspN1，fspN2 及fspN3之至少一部分。可用作治療組成物之又更佳蚤唾液

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

象

五、發明說明()

萃取物包含 FS-1, FS-2, 及 / 或一種或多種蛋白質 fspG1, fspG2, fspG3, fspH, fspM1, fspM2, fspN1, fspN2 及 fspN3 之至少一部分。

另一具體例中，治療組成物包含本發明之外寄生蟲產物與適當賦形劑結合。本發明之治療組成物可於接受治療動物可忍受的賦形劑配方。較佳賦形劑可維持本發明產物於可由動物過敏反應相關細胞結合形式，因此細胞可被刺激而引發或促進免疫反應。此等賦形劑範例包含水，鹽水，林格氏溶液，葡萄糖溶液，漢克氏溶液及其它水性生理平衡鹽溶液。非水性媒劑例如固定油，芝麻油，油酸乙酯或三酸甘油酯也可使用。其它有用的配方包含含黏度促進劑如羧甲基纖維素鈉，山梨糖醇或葡萄聚糖之懸浮液。賦形劑也可含有小量添加劑例如可促進等張性及化學安定性之物質。緩衝劑範例包含磷酸鹽緩衝劑，重碳酸鹽緩衝劑及 Tris 緩衝劑，而保藏劑實例包含柳硫汞，間-或鄰-甲酚，福馬林及苯甲醇。標準配方可為注射劑或可呈注射懸浮液或溶液攝取於液體的固體。如此於非液體配方，賦形劑包括葡萄糖，人類血清白蛋白，保藏劑等，投藥前於其中可添加無菌水或鹽水。

另一具體例中，本發明之治療組成物也包括載劑或佐劑，但需了解本發明之唾液產物之優點為無需投予佐劑及 / 或載劑。佐劑典型為一般可促進動物對特定抗原的免疫反應之物質。適當佐劑包含但非僅限於 Freund 佐劑；其它細菌細胞壁成分；以鋁為主的鹽；以鈣為主的鹽；氧化矽

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

訂

象

五、發明說明()

；聚核苷酸類毒素；血清蛋白；病毒套膜蛋白；其它細菌衍生製劑； γ 干擾素；嵌段共聚物佐劑如漢特氏Titermax佐劑(Vaxcel™, Inc. Norcross, GA)；Ribi佐劑(得自Ribi ImmunoChem Research, Inc., Hamilton, MT)；及皂素及其衍生物，例如Quil A(得自Superfos Biosector A/S, Denmark)。

載劑典型為可於接受治療的動物體延長治療組成物之半生期之化合物。適當載劑包含但非僅限於聚合物控制釋放配方，可生物分解植入錠，脂小體，細菌，病毒，油，酯及二醇。

本發明之一個具體例為控制釋放配方，其可緩慢釋放本發明之治療組成物至動物血流。適當控制釋放配方包含但非僅限於生物相容(包含生物分解)聚合物，其它聚合物基體，膠囊，微囊，微粒，大劑量製劑，滲透唧筒，滲透裝置，脂小體，脂肪球及穿皮輸送系統。其它本發明之控制釋放配方包含液體其投予動物時可原地形成固體或凝膠。

本發明也包含重組病毒顆粒治療組成物。此等組成物包含本發明之重組分子包裝於病毒套膜且可於投予動物後於動物體表現。較佳重組分子為包裝缺乏。多種重組病毒顆粒可使用包含但非僅限於基於阿爾發病毒，痘病毒，腺病毒，疱疹病毒及反錄病毒者。較佳重組病毒顆粒為基於阿爾發病毒(如Sindbis病毒)，疱疹病毒及痘病毒者。此等重組病毒顆粒疫苗之製法及用法揭示於美國專利申請案

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

五、發明說明()

第08/015/414號(申請日1993年2月8日，名稱“Recombinant Virus Particle Vaccines”，併述於此以供參考)。

當投予動物時本發明之重組病毒顆粒治療組成物可感染免疫動物體內細胞，並指導產生保護性蛋白質或RNA核酸分子，其可保護動物不因外寄生蟲叮咬引起過敏性皮炎。舉例言之，包括編碼一種或多種本發明之外寄生蟲唾液蛋白之核酸分子的重組病毒顆粒之投藥方式可使動物對外寄生蟲唾液過敏原產生耐受性。

本發明之治療組成物可藉不會導致蛋白質分解(例如過濾)及／或凍乾的習知方法滅菌。

本發明之治療組成物可投予前文所述之任何外寄生蟲感染易感動物。以有效方式投予本發明之治療組成物之可接受方案隨個別劑量，投藥劑數，投藥頻率及投藥模式改變。業界人士可決定使用方案。有效劑量表示可處理動物對抗外寄生蟲唾液過敏原過敏反應之劑量。有效劑量例如隨所用治療組成物，衍生得組成物之節肢動物及接受者動物體及類別而定。免疫調理動物對抗外寄生蟲唾液過敏原之有效劑量包含隨時間之經過投藥之劑量其可改善動物對外寄生蟲唾液過敏原之過敏反應。例如第一耐受劑量包括投予過敏動物時可引發最低過敏反應之本發明治療組成物用量。第二耐受劑量包括比較第一劑量較大量的相同治療組成物。有效耐受劑量包括使動物具耐受性所需治療組成物濃度提高而使動物對外寄生蟲叮咬不會出現過敏反應。使動物脫敏的有效劑量包括充分濃度之本發明之治療組成

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

五、發明說明 ()

物，該種濃度足夠阻斷動物對外寄生蟲的叮咬引發過敏反應。有效脫敏劑量包含投予過敏動物時可引發最低過敏反應之該種治療組成物濃度之重複劑量。

適當單一劑量於適當時間內投藥一次或多次可治療動物不會對外寄生蟲唾液過敏原產生過敏反應之劑量。例如較佳單一劑量外寄生蟲唾液產物或模擬體治療組成物為每千克動物體重約0.5ng至1g治療組成物。進一步使用治療組成物治療可於初次投藥後約1小時至1年投藥。進一步使用治療組成物治療較佳於動物體對外寄生蟲的過敏反應不再呈現保護效果時投藥。特佳投藥劑量及劑量表可由業界人士根據前述參數決定。投藥模式包含但非僅限於皮下，皮內，靜脈，鼻內，經口，經皮及肌肉途徑。

本發明之治療組成物可與其它可修改動物對外寄生蟲叮咬之過敏反應之化合物併用。例如動物可使用可修改過敏反應相關化合物功能之化合物處理，使用可降低過敏反應之化合物處理。例如藉注射用藥或消炎劑(例如抗組胺，抗類固醇藥劑，消炎劑，及可驅使免疫球蛋白重鏈類別由IgE切換成IgG之藥劑)處理。可用於修改過敏反應相關細胞功能之適當化合物包含但非僅限於抗組胺，Cromolyn 鈉，茶鹼，環孢靈A，腎上腺素，可體松(cortisone)，可調節細胞信號轉導之化合物，可調節腺核甘3',5'-環形磷酸(cAMP)活性之化合物，及可阻斷IgE活性之化合物，例如得自IgE或IgE特異性Fc受體之肽，對得自IgE或IgE特異性Fc受體具有特異性之抗體，或可阻斷IgE結合至Fc受體

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

五、發明說明()

之抗體。

本發明之另一態樣包含使用本發明配方對易感或患有過敏性皮炎的動物處方之治療方法。較佳蚤過敏性皮炎之處方治療方法例如包括：(1)於動物體一個部位皮內注射有效量之配方，配方含有至少一種本發明蚤唾液抗原或其模擬體(適當及較佳配方揭示如文)；(2)於動物體第二部位皮內注射有效量之對照溶液；(3)經由測量及比較注射配方以及注射對照溶液產生的風疹塊大小而評估動物是否患有蚤過敏性皮炎；及(4)處方蚤過敏性皮炎療法。

處方蚤過敏性皮炎療法之另一較佳方法包括：(1)得自試驗動物之體液樣品第一部分與有效量之含有至少一種蚤唾液抗原或其模擬體之配方(適當及較佳配方揭示如文)接觸生成第一免疫複合體溶液；(2)接觸陽性對照抗體形成第二免疫複合體；(3)經由測量及比較第一及第二免疫複合體溶液內之免疫複合體生成量而評估動物是否患有蚤過敏性皮炎；及(4)處方蚤過敏性皮炎之療法。需注意類似方法可用於處方使用此處揭示的外寄生蟲唾液產物配方治療由其它外寄生蟲引起的過敏。

本發明之另一態樣包含使用本發明配方監測易感或患有過敏性皮炎動物之方法。本發明之活體試驗和試管試驗可用於過敏性皮炎治療前及後試驗動物是否患有過敏性皮炎。監測蚤過敏性皮炎之治療之較佳方法(也適合監測其它外寄生蟲過敏之治療)包括：(1)於動物體一個部位皮下注射有效量之含至少一種蚤唾液產物，或其模擬體配方(

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

訂

五、發明說明()

適當及較佳配方揭示如文)；(2)於動物第二部位皮下注射有效量之對照溶液；及(3)經由測量及比較注射配方所得風疹塊大小與注射對照溶液所得風疹塊大小，可測定動物是否對蚤唾液抗原脫敏。

監測蚤過敏性皮炎之另一種較佳方法(也適合監測其它外寄生蟲過敏之治療)包括：(1)得自試驗動物之體液樣品之第一部份與有效量之含有至少一種蚤唾液產物或其模擬體之配方接觸(適當及較佳配方揭示如文)形成第一免疫複合體；(2)接觸陽性對照抗體形成第二免疫複合體溶液；及(3)經由測量及比較於第一及第二免疫複合體溶液形成的免疫複合體量來決定動物是否對蚤唾液抗原脫敏。

本發明也包含可選擇性結合至外寄生蟲唾液產物或其模擬體之抗體。此等抗體於此處稱為抗外寄生蟲唾液產物抗體。如此處所用“選擇性結合至”一詞表示此種抗體偏好結合至外寄生蟲唾液產物及其模擬體。特別，本發明包含可選擇性結合至蚤唾液產物之抗體。結合可使用業界已知方法測量包含免疫墨點檢定分析，免疫沈澱檢定分析，酶免疫檢定分析(例如ELISA)，放射性免疫檢定分析，免疫螢光抗體檢定分析及免疫電子顯微鏡；例如參見Sambrook et al., *ibid*。

本發明之抗體可為多株或單株抗體。本發明抗體包含功能相當物如抗體此段及遺傳工程處理抗體，包含單鏈抗體，其可選擇性結合至用來獲得抗體之蛋白質或模擬體之抗原決定部位之至少一個部位。較佳抗體係回應於外寄生

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

五、發明說明()

蟲唾液蛋白或其模擬體提引。特佳抗體係回應於至少一種外寄生蟲唾液蛋白或其模擬體提引，且含有由本發明之收集裝置溶離的外寄生蟲唾液蛋白之至少一部份。又更佳抗體係對唾液萃取物 FS-1，FS-2 及／或 FS-3 所含之至少一種蚤唾液產物或其同系物(例如其它外寄生蟲唾液產物)提引。更佳外寄生蟲唾液蛋白而可對該等蛋白提引抗體者包含一種或多種蛋白 fspA, fspB, fspC1, fspC2, fspD1, fspD2, fspE, fspF, fspG1, fspG2, fspG3, fspH, fspI, fspJ1, fspJ2, fspK, fspL1, fspL2, fspM1, fspM2, fspN1, fspN2 及 fspN3，或其同系物之至少一部份。較佳，本發明抗體具有約 10^3 M^{-1} 至約 10^{12} M^{-1} 之對本發明之蚤唾液產物之單一部位結合親和力。

生產本發明抗體之較佳方法包含對動物投予有效量之外寄生蟲唾液產物或其模擬體而產生抗體並回收該抗體。對界定的產物或模擬體提引出的抗體為較佳，原因為此種抗體大體未污染有對其它物質的抗體，若污染則可能引起整段套件組的干擾，或用於治療組成物時引起副作用。

本發明之抗體具有多種屬於本發明範圍之可能用途。例如，此等抗體(a)可用作疫苗而被動免疫動物俾保護動物不引起過敏性皮炎，(b)作為試驗套件組的陽性對照，及／或(c)作為由蛋白質與其它污染物之混合物回收所需外寄生蟲唾液產物之工具。

下例實例係供舉例說明而非意圖圈限本發明之範圍。

實例

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

訂

五、發明說明()

實例 1

本例說明使用本發明之唾液收集裝置收集蚤唾液蛋白。

唾液收集裝置之製法如下。參考第4A及4B圖，溼化裝置(34)包括約4塊VWR吸墨點#320(VWR, Denver, Co)其製妥並嵌入唾液收集裝置(2)之小室(6)內徑(直徑約47mm)。吸墨點預先使用足量預溼潤溶液溼潤(含50U/ml青黴素及50μg/ml鏈黴素之無菌水，得自Sigma, St. Louis, MO)，因此吸墨點有潮氣但不會溼到滴流。預先溼潤的濾紙(34)放置於唾液收集裝置(2)之小室(6)底端(22)，因此濾紙緊鄰小室(6)底端(22)內側。

包括Durapore膜(得自Millipore, Bedford, MA)之收集裝置(24)切割成適合唾液收集裝置(2)之小室(6)外徑(約48mm)。Durapore膜預先使用前述預溼潤溶液溼潤。Durapore膜(24)緊鄰室(6)底端(22)外側，因此Durapore膜(24)接觸底端(22)外緣同時也接觸溼潤濾紙。包括一塊經拉伸的Parafilm (28)(得自American National Can™, Greenwich, CT)之障壁裝置拉伸於室(6)之收集裝置(24)及底端(22)且向上拉至室(6)外壁(30)。橡皮封(32)(亦即O形環)放置於Parafilm (28)頂上，因此進一步固定Parafilm (28)橫跨收集裝置(24)且固定至外壁(30)而密封於室(6)環境。

預先組裝收集裝置(2)然後室(6)頂端(20)搭接於人工餵食系統，人工餵食系統如Wade等(ibid)所述可作為溼與

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

訂

五、發明說明 ()

熱之來源。人工餵食系統包括大型plexiglass箱(40cm×40cm×40cm)由鑽有多孔的plexiglass架水平分成上隔間及下隔間。收集裝置(2)插入孔內，因此裝置(2)之室(6)位在上隔間的架上而殼體(4)位在下隔間的殼體下方。裝置(2)利用橡皮筋勾到安置於架的金屬鈎而固定於架上。架的開口使用橡皮塞關閉而將上隔間的環境與下隔間的環境隔離。上隔間有兩盤水，一部風扇和一個加熱塊。兩盤水放置成風扇面對盤。裝置(2)維持於人工餵食系統時，風扇連續吹風因此將施予熱循環遍布收集裝置(2)的上隔間及室(6)。如此，室(6)之相對溼度維持於約94%及溫度維持於約37℃。

約3,000至5,000值剛孵化未進食的Ctenocephalides felis蚤加至收集裝置(2)的殼體(4)。蚤首先收集在20加倫玻璃水箱。然後經由將具有交換裝置(16)之尼龍網的殼體(4)端放置於真空室頂上並由水箱經由tygon管抽取蚤入殼體(4)，而將蚤移入收集裝置(2)的殼體(4)。然後殼體(4)覆蓋以維持裝置(18)的尼龍網而將蚤維持於殼體(4)內。然後室(6)底端(22)放置於殼體(4)上因此使Parafilm™(28)與維持裝置(18)的尼龍網毗鄰。當收集裝置(2)接到人工餵食系統時，殼體(4)內之周圍溫度維持於約27℃，而室(6)之周圍溫度維持於約37℃。殼體(4)之相對溼度藉由使用plexiglass棚架封閉下隔間而維持於約50%。

一個實驗中，蚤唾液產物收集於Durapore™膜(24)上，將膜泡於0.1%庫馬西藍色染料20分鐘，將膜於50%甲

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

五、發明說明()

醇脫去染色並風乾膜目測觀察。沈積於膜上蛋白質藉藍色檢測。

另一實驗中，蚤唾液產物於蚤載入收集裝置後0至24小時，24至72小時，及72至120小時收集。24，72及120小時後，移開搭接於收集裝置(2)之Durapore™膜(24)將一片新的預先溼潤的Durapore™膜(24)接到相同裝置上。再度放置妥新的Durapore™膜(24)後，吸墨點再度與前述預溼潤溶液溼潤。蚤唾液產物係經由將各時間點所得之各膜分別浸泡於包括50%乙腈及1%TFA之溶劑內於室溫伴以攪動隔夜，獲得溶離於溶劑之包括蚤唾液產物之蚤唾液產物混合物，因而由Durapore™膜(24)萃取出。含蚤唾液產物之混合物經回收及凍乾生成丸粒。由各時間點由各張Durapore™膜溶離出的蚤唾液蛋白數量及特徵係經由使用類似Sambrook等ibid所述技術經由還原性14%Tris-甘胺酸SDS-PAGE測定。所得蛋白質圖形經由使用前述技術以庫馬西藍色染色凝膠目測觀察。蚤關在收集裝置內超過72小時時收集於膜上的唾液產物量減少。

實例2

收集本發明之FS-1，FS-2及FS-3蚤唾液萃取物之標準程序如下施行。使用實例1所述方法於收集裝置上收集蚤唾液產物經歷72小時，蚤唾液萃取物FS-3除外，收集膜為DE-81層析紙，得自Whatman, Inc., Clifton, NJ。

A. 蚤唾液萃取物FS-1及FS-2

藉將得自各時間點的膜浸泡於包括50%乙腈及0.1%

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

五、發明說明()

TFA之第一溶劑經歷8小時而由Durapore™膜(24)萃取出蚤唾液產物。含溶離的蚤唾液產物之第一混合物經回收及凍乾因而形成第一丸粒。然後該膜浸泡於包括50%乙腈及1%TFA之第二溶劑於室溫攪拌隔夜獲得包括蚤唾液產物溶離於第二溶劑的蚤唾液產物混合物。第二混合物由此第二萃取回收及凍乾形成第二丸粒。

由二次凍乾步驟回收的兩種丸粒與包括12.8%乙腈之第三溶劑混合並回收溶解於溶劑的蚤唾液產物。未溶解物料再度與12.8%乙腈混合並回收溶解於溶劑的額外蚤唾液產物。合併兩種混合物獲得萃取物FS-1。

然後第二溶解步驟後剩餘的未溶解物料與50%乙腈混合，其溶解其餘物料獲得萃取物FS-2。

至少一次實驗所得FS-1及FS-2蚤唾液萃取物所含蚤唾液蛋白之數量及特徵係依據下述方法測定。萃取物藉真空蒸發濃縮及使用類似Sambrook等ibid所述技術藉還原性16%Tris-甘胺酸SDS-PAGE評估。使用此種標準程序，約10μg由Durapore™膜溶離出的FS-1或FS-2載於16%Tris-甘胺酸聚丙烯醯胺膠並於還原條件下進行電泳。凝膠以庫馬西藍染色及乾燥。

結果示於第1B圖。FS-1示於第1B圖道13及FS-2示於第1B圖道14及15。發現FS-1所含蛋白質估計具有下述分子量：9kD，11kD，12kD，15kD，22kD，48kD，50kD，53kD，80kD，124kD，130kD，189kD及201kD。80kD及80kD以上的蛋白質比低分子量帶遠更淡。發現FS-2含有具下列分子量

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

訂

五、發明說明 ()

的蛋白質：47kD, 49kD, 52kD, 57kD, 64kD, 71kD, 88kD, 96kD, 97kD, 130kD, 161kD, 175kD, 189kD, 222kD, 235kD及302kD。於47kD, 49kD及52kD帶比高分子量帶更明顯。結果提示FS-2 所含蛋白質之實質部份為fspN1, fspN2, 及／或fspN3。

使用Bio-Rad Bradford檢定分析(得自Bio-Rad, Hercules, CA)測量蛋白質濃度。結果指示約 3.66×10^7 蚤小時(5.08×10^5 蚤計72小時)可收集約750 μ g蛋白質於FS-1萃取物而約2.35mg蛋白質於 3.66×10^7 蚤小時收集於FS-2萃取物。

B. 蚤唾液萃取物FS-3

生產FS-3蚤唾液萃取物之蚤唾液產物以類似收集FS-1及FS-2之方法收集，但收集膜(24)為DE-81層析紙。經由將各時間點之膜分別浸泡於包括1M NaCl於磷酸鹽緩衝鹽水的溶劑經歷約8小時而由DE-81膜萃取蚤唾液產物。產物使用標準技術由溶劑回收，如FS-1及FS-2之揭示。

分析FS-3蚤唾液萃取物指示至少基於一度空間凝膠電泳，FS-3顯然含有FS-1及FS-2所含蛋白質。例如FS-3之SDS-PAGE圖形極為類似FS-1但FS-3萃取物中顯然含較高量之較高分子量蛋白質。FS-3蚤唾液萃取物使用業界標準技術也顯示具有抗凝血活性；例如Dunwiddle et al., 1991, Thrombosis Research 64, 787-794; Ribeiro et al., 1990, Comp. Biochem. Physiol. 95, 215-218; Ribeiro et al., 1990, Br. J. Pharmacol. 101, 932-936; Ribeiro

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

訂

五、發明說明 ()

et al., 1987, Exper. Parasitol. 64, 347-353; Cupp et al., 1994, Am. J. Trop. Med. Hyg. 50, 241-246; Garcia et al., 1994, Exper. Parasitol. 78, 287-293。FS-3使用業界標準技術，例如Sigma, St. Louis, MO，提供技術，使用Sigma酸性磷酸酶檢定分析套件組顯示具有酸性磷酸酶活性。

實例 3

本例描述藉HPLC特徵化使用本發明之唾液收集裝置收集的蚤唾液蛋白。

FS-1蚤唾液萃取物如實例2所述由約140,000蚤收集經歷72小時。FS-1所含蛋白質使用高壓液相層析(HPLC)標準技術解析。特別，蛋白質通過15cm×0.46cm C4柱，使用由0.1% TFA於水(溶劑A)至0.085% TFA於90% CH₃CN(溶劑B)之梯度以流速0.8ml/分鐘溶離。如此，梯度於15分鐘時為約5.6%溶劑B及於75分鐘時為約100%溶劑B。

結果示於第2圖。約解析14個主要蛋白質溶離分。各峰回收率約5μg至10μg蛋白質/峰。峰標示為峰A，峰B，峰C，峰D，峰E，峰F，峰G，峰H，峰I，峰J，峰K，峰L，峰M及峰N，如第2圖所示，分別表示蛋白質配方fspA，fspB，fspC1及fspC2，fspD1及fspD2，fspE，fspF，fspG1，fspG2，fspG3，fspH，fspI，fspJ1及fspJ2，fspK，fspL1，及fspL2，fspM1及fspM2，及fspN1，fspN2及fspN3。

HPLC各峰樣品使用實例1所述方法藉Tris-甘胺酸SDS-PAGE 解析。結果示於第1A，1B及1C圖。第1A及1B圖所示

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

五、發明說明 ()

蛋白質於16% Tris-甘胺酸 SDS-PAGE凝膠解析而第1C圖所示蛋白質於14% -Tris-甘胺酸 SDS-PAGE凝膠解析。蛋白質標記示於第1A圖道1，第1B圖道2及第1C圖道1。額外道顯示唾液配方樣品如下：

第1A圖

道	溶離分 (s)	Fs- ()
1)	--	標準分子量
2)	10	--
3)	11-13	A
4)	14	B
5)	15	B
6)	16	C1
7)	17	C2
8)	18	D1
9)	19	D1
10)	20	D2
11)	21	D2
12)	22	E
13)	23	F
14)	24	G
15)	25	G

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

線

經濟部中央標準局員工消費合作社印製

五、發明說明 ()

第1B圖

道	溶 離 分 (s)	FS-()
1)	26-27	G
2)	--	標 準 分 子 量
3)	28	H
4)	29-30	I
5)	31	J
6)	32	K
7)	33	K
8)	34	L
9)	35	M1
10)	36-37	M1
11)	38	M1
12)	39-50	M2
13)	--	FS-1
14)	--	FS-2
15)	--	FS-2

第1C圖

道	溶 離 分 (s)	FS-()
1)	--	標 準 分 子 量
2)	56-68	N

參 考 第 1A圖 ， 觀 察 下 列 蚤 唾 液 蛋 白 (稱 為 帶)： 峰 A及
峰 B樣 品 約 10kD明 顯 帶 ； 稱 為 C1的 峰 C樣 品 約 6kD明 顯 帶 及 9
kD較 不 明 顯 帶 ； 稱 為 C2的 峰 C樣 品 約 7kD明 顯 帶 ； 稱 為 D1的

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

訂

五、發明說明 ()

峰D樣品約7kD明顯帶及8kD較不明顯帶；稱為D2的峰D樣品約8kD明顯帶及9kD較不明顯帶；峰E及F樣品8kD明顯帶及約7kD較不明顯帶；及峰G樣品約9kD明顯帶及約7kD及10kD較不明顯帶。參考第1B圖，觀察到下列蚤唾液蛋白：於峰H樣品約9kD明顯帶及約12kD較不明顯帶；於峰I樣品約21kD明顯帶及7kD，9kD，12kD，14kD及70kD較不明顯帶；於峰J樣品約11kD明顯帶及17kD較不明顯帶；於峰K樣品約14kD及15kD明顯帶及約12kD，18kD及21kD較不明顯帶；於峰L樣品約15kD明顯帶；稱為M1的峰M樣品約11kD，12kD及21kD明顯帶及15kD，17kD，22kD及37kD較不明顯帶；及稱為M2的峰M樣品約36kD明顯帶及11kD，21kD及22kD較不明顯帶。參考第1C圖，於峰N樣品約42kD，43kD及44kD明顯帶及約32kD較不明顯帶。

實例 4

本例描述經分離且經HPLC純化蚤唾液蛋白之胺基酸序列分析。

胺基(N-)端胺基酸決定序列分析係使用業界已知標準技術(例如參考Geisow et al., 1989, in Protein Sequencing: A Practical Approach, JBC Findlay and MJ Geisow (eds.), IRL Press, Oxford, England, pp. 85-98; Hewick et al., 1981, J. Biol Chem., Vol. 256, pp. 7990-7997)對實例3描述的數種藉HPLC分離的蚤唾液蛋白進行。

於第2圖遷移成峰A的蚤唾液蛋白fspA之N端部份胺基

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

五、發明說明 ()

酸序列測定為

Y G K Q Y S E K G G R G Q R H Q I L K K G K
Q Y S S K I L D L
S
R

，以標準單字母代碼表示。此種 fspA 之 N-端部份胺基酸序列標示為序列識別編號：1。須注意於若干位置有異源性表示收集唾液蛋白的蚤族群有序列誤差(例如胺基酸鑑別錯誤)或等位變異。於指示位置顯然對其它胺基酸也有同等發現。

第 2 圖遷移成峰 B 之蚤唾液蛋白 fspB 之 N-端部份胺基酸序列測定為 S/Q G K Q Y S E X G/S K，標示為序列識別編號：27。此種胺基酸序列大體相同，或至少為得自蚤唾液蛋白 fspA 之 N-端胺基酸序列之小群。

峰 G 蛋白質之序列分析指示該峰出現三種蛋白質，於此處稱為 fspG1，fspG2 及 fspG3。蚤唾液蛋白 fspG1，分子量約 9kD，具有 N-端部份胺基酸序列 D R R V S K，標示為序列識別編號：28。此種 N 端胺基酸序列與 fspH 相同，如序列識別編號：2，3，4，5 及 14 所示。蚤唾液蛋白 fspG2 分子量約 7kD，具有 N-端部份胺基酸序列 S K M V T E K X K S G G N N P S T K E V S I P，標示為序列識別編號：29。蚤唾液蛋白 fspG3 分子量約 6kD，具有 N-端部份胺基酸序列 E V S I P S G K L T I E D F X I G N H Q，標示為序列識別編號：30。比較序列識別編號：30 與序列識

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

錄

經濟部中央標準局員工消費合作社印製

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

錄

五、發明說明 ()

別編號：29指示 fspg3可能為 fspG2之蛋白質分解產物，由於 fspG2最末之5個胺基酸與 fspG3的N端相同。

第2圖中從峰H遷移的蚤唾液蛋白 fspH之N端部份胺基酸序列測得為D R R V S K T X Q S G G K I Q S E X Q V V I K S G Q H/Y I L E N Y X S D G R，此處標示為序列識別編號：14。於胺基酸位置27組胺酸及酪胺酸皆同等可能。

蚤唾液蛋白 fspH也接受蛋白質分解割裂俾獲得內部胺基酸序列資料。特別，fspH使用業界標準技術以蛋白內切酶 Asp-N (得自Boehringer Mannheim Biochemica, Indianapolis, IN)割裂。然後消化後的蛋白質使用Stone等 (ibid)技術藉HPLC解析。所得HPLC圖形示於第3圖。分離三段蛋白質分解片段於此處稱為 fspHe, fpHh及 fspHj。

fspHe之N端部份胺基酸序列測得為D S K H C Y C E A P Y S，亦稱為序列識別編號：3。fspHh之N端部份胺基酸序列測得為D G R N N N N P C H L F C M R E C R S G N G G C G N G G R T R P D S K H C，亦標示為序列識別編號：4。fspHj之N端部份胺基酸序列測得為D R R V S K T C Q S G，亦標示為序列識別編號：5。比較序列識別編號：5與序列識別編號：14指示 fspHj為 fspH的N端片段。

經由排齊序列識別編號：14，3，4及5演譯出如下胺基酸序列，始於 fspH N端：D R R V S K T C Q S G G K I Q S E X Q V V I K S G Q H/Y I L E N Y X S D G R

經濟部中央標準局員工消費合作社印製

五、發明說明()

N N N N P C H L F C M R E C R S G N G G C G N G G
R T R P D S K H C Y C E A P Y S. 此種胺基酸序列標
示為序列識別編號：2且相信代表大部份fspH，原因為具
有此序列之蛋白質分子量約為8600kD。

於第2圖遷移成峰I之蚤唾液蛋白fspI之N端部份胺基
酸序列測得為E D I W K V N K K X T S G G K N Q D R
K L D Q I I Q K G Q Q V X X Q N X X K，此處標示為
序列識別編號：6。

峰J蛋白之序列分析指示該峰存在有兩種蛋白質，於
此處稱為fspJ1及fspJ2。蚤唾液蛋白fspJ1之N端胺基酸序
列測得為N S H E P G N T R K I R E V M D K L R K Q
H P，此處標示為序列識別編號：7。蚤唾液蛋白fspJ2之N
端胺基酸序列測得為K I K R N S H E P G N T R K I R
E V M D K L R K Q H P，此處標示為序列識別編號：8。
序列識別編號：7及序列識別編號：8表示的蛋白質如實例
1所述並未藉SDS-PAGE分開解析。比較序列識別編號：7
及序列識別編號：8提示fspJ1可為fspJ2的截頭部份，原
因為fspJ1之N端部份胺基酸序列顯然極為類似fspJ2，但
fspJ1缺fspJ2 N端首4個胺基酸。

序列分析峰L蛋白質指示該峰存在有兩種蛋白質，於
此處稱為fspL1及fspL2。兩種蛋白質，亦即fspL1及fspL2
，係經由使用0.13%七氟丁酸(溶劑A)及0.1%七氟丁酸於
90%乙腈(溶劑B)以如下梯度使峰L進行C4反相層析而顯示
：80分鐘由30%溶劑B至70%溶劑B梯度。HPLC分離的fspL1

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

五、發明說明()

之N端部份胺基酸序列測定為N D K E P G N T R K I R E
V M D K L R K Q A Q P R T D G Q R P K T X I M, 亦
標示為序列識別編號: 9。fspL2之N端部份胺基酸序列測
得為X L X R N D K E P G N T R K I R E V M D K, 亦
標示為序列識別編號: 10。比較序列識別編號: 9及序列
識別編號: 10指示fspL1及fspL2為類似的蛋白質, 但
fspL1於N端比fspL2短4個胺基酸。

如實例3所述藉SDS-PAGE解析峰N所含蛋白質顯示三
個分立帶。帶標示為蚤唾液蛋白fspN1, fspN2及fspN3。
fspN1之N端部份胺基酸序列測得為N D E L K F V F V M
A K, 亦標示為序列識別編號: 11。fspN2之N端部份胺基
酸序列測得為X D E L K F V F V M A K G P S X Q A X
D Y P C, 亦標示為序列識別編號: 12。fspN3之N端部份
胺基酸序列測得為E L K F V F A T A R G M S H T P C
D Y P, 亦標示為序列識別編號: 13。比較序列識別編號
: 11及序列識別編號: 12提示fspN1及fspN2具有相同的N
端序列。但因fspN1及fspN2進行SDS-PAGE時遷移情形不同
，故兩種蛋白質可能為不同的同系物，可能原因為一種蛋
白質含有較長的C端領域及／或可能由於轉譯後改質故。
比較序列識別編號: 13與序列識別編號: 11及12提示fspN3
可能為fspN1及fspN2之同系物而有內部序列改變。

峰N之蚤唾液蛋白也接受蛋白質分解割裂俾獲得內部
胺基酸序列資料。特別，峰N蛋白質使用業界標準技術以
蛋白質內切酶Asp-N(得自Boehringer Mannheim Biochemica,

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

五、發明說明 ()

Indianapolis, IN)割裂。然後消化後的蛋白質使用Stone等 (ibid)所述方法藉HPLC解析及如前述決定序列。峰N之蚤唾液蛋白之部份胺基酸序列定名為片段pfspN(100-101)測得為D I E N I K K G E G Q P G A P G G K E N N L S/L V L, 此處標示為序列識別編號: 31。

實例 5

本例描述峰H所含蛋白質之進一步特徵。

欲測定峰H所含蛋白質之等電pH, 該峰出現的蛋白質使用業界已知標準等電聚焦技術解析; 例如參見O'Farrell, 1975, J. Biol. Chem., Vol. 250, pp. 4007-4021。峰H所含蛋白質pI值為約pI9, 於約pI8.5至約pI9.6之範圍。

峰H所含蛋白質分子量藉ESMS測定。ESMS程序係於Fisons VG quattro-SQ質譜儀進行。對100-2000m/z校準質量範圍。注入速率為每分鐘4 μ l。錐形電壓設定為45伏。注入樣品含有0.1%甲酸於50%乙腈, 蛋白質濃度約100pmol/ μ l。結果指示峰H顯然含有一群蛋白質皆具分子量8613 $\pm$ 6道爾吞。

實例 6

本例描述編碼蚤唾液蛋白fspH及fspI之至少一部份之核酸序列的分離。

A. 蚤存庫之說明

使用標準程序準備進食蚤及未進食蚤cDNA存庫。簡言之, 分別收集約3000至4000已進食蚤及約等數未進食蚤放置於乾冰冷卻研砵/研杵並研磨成細粉。研磨蚤所得RNA

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

五、發明說明 ()

係使用硫氰酸鉍直接萃取，接著於氯化銫銻度離心製備（例如參見Sambrook et al., *ibid.*）。經氯化銫純化的含明膠RNA丸粒經收集並溶解於含0.1%十二基硫酸鈉之無菌TE緩衝液（10 mM Tris-HCl, pH7.6及1mM EDTA）。溶解丸粒藉添加3M乙酸鈉，pH5.2至終濃度0.2mM及二倍體積絕對乙醇沈澱去除殘餘CsCl。全部RNA使用FastTrack™ 套件組（得自Invitrogen Corp., San Diego, CA，並採用其程序）分選變成富含mRNA部份。

分離的全蚤mRNA直接用於cDNA合成及分子選殖。cDNA合成及分子選殖方法為Lambda Zap-cDNA合成套件組（得自Stratagene, Inc., La Jolla, CA）提供。以下為具有指示數目之總包裝溶菌斑生成單位（PFU）製妥的蚤cDNA存庫清單：（a）兩個全進食蚤cDNA表現存庫稱為存庫C（約 2.5×10^6 PFU）及存庫H（約 1.3×10^6 PFU）；（b）全未進食蚤cDNA表現存庫（約 1.3×10^6 PFU）；（c）由進食及未進食蚤收集約6000唾腺製妥的蚤唾腺cDNA表現存庫（約 1.5×10^6 PFU）；及（d）由約5000分離的中腸製妥的蚤進食中腸cDNA表現存庫（約 2.3×10^6 PFU）。

B. 編碼fspH之核酸分子之分離

編碼部份蚤唾液蛋白fspH之核酸分子使用實例6A所述蚤唾腺cDNA表現存庫鑑別。

由對fspH演譯的胺基酸序列（參見實例4）設計簡併合成寡核苷酸引子。合成三種合成寡核苷酸對應於序列識別編號：2由約殘基38至51的fspH區域；引子1，對應於序列

（請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁）

裝

訂

裝

五、發明說明 ()

識別編號：2之胺基酸殘基約38至約44之“訊息”引子，具有核酸序列5’ AAT(C) AAT(C) AAT(C) AAT(C) CCT(GAC) TGT(C) CA 3’，且標示為序列識別編號：15。引子2，對應於序列識別編號：2之胺基酸殘基約46至約51之“反訊息”引子具有核酸序列5’ CA C(T)TC C(TAG)CT(G) CATG(A)CA G(A)AA 3’目標示為序列識別編號：16。引子3，對應於序列識別編號：2之胺基酸殘基約43至約48的訊息引子具有核酸序列5’ TGT(C) CAT(C) T(C)TG(ATC) TTT(C) TGC(T) ATG-3’且標示為序列識別編號：17。第四引子，引子4，經合成且對應於fspH之羧基區，亦即由序列識別編號：2之胺基酸殘基69至76。引子4之反訊息引子具有核酸序列5’ GGA(CGA) GCT(C) TC(G) CAA(G) TAA(G) CAA(G) TGT(C) TT’ 3’，標示為序列識別編號：18。

得自蚤唾腺存庫之片段之PCR放大係使用標準技術進行。PCR放大產物係使用引子1與M13前向萬用標準引子5’ GTAAAACGACGGCCAGT 3’生成，標示為序列識別編號：19。所得PCR放大產物，用於使用引子3及引子4進行承窩PCR放大作用。所得PCR產物為101核苷酸片段，標示為nfspH₁₀₁，且選殖入InVitrogen, Corp., TA™ 選殖媒傳者(InVitrogen, Corp.提供之程序)且使用標準技術接受DNA序列分析。如下核酸序列表示序列識別編號：20：

T TGT CAC TTT TTT TGT ATG AGA GAA TGC AGG TCA GGA AAC GGC
GGT TGC GGA AAC GGA GGA AGG ACA AGA CCT GAT TCG AAG CAC TGC
TAT GC

經濟部中央標準局員工消費合作社印製

五、發明說明 ()

(引子衍生序列為粗體)。內非引子衍生序列之60核苷酸編碼 fspH 之20核苷酸由殘基約48至約68，如序列識別編號：2之編號。

使用標準技術，核酸分子 n f s p H ₁₀₁ 可用作探針來分離編碼對應於全長或較大部份 fspH 蛋白的蛋白質之核酸分子。

C. 編碼 fspI 之核酸分子之分離

實例4揭示的 fspI 胺基酸序列(序列識別編號：6)用來設計一組合成簡併寡核苷酸PCR放大引子。簡併引子5為對應於序列識別編號：6殘基約1至約8的訊息引子，具有核酸序列 5' GAA(G) GAT(C) ATT(CA) TGGAAA(G) GTT(AG) AAT(C) AA 3'，標示為序列識別編號：21。簡併引子6，為對應於序列識別編號：6之殘基約11至約18的訊息引子，具有核酸序列 5' ACT(CGA) TCT(CGA) GGT(CGA) GGT(CGA) AAA(G) AAT(C) CAA(G) GA 3'，標示為序列識別編號：22。

引子5及6與媒傳者引子BSKX (5' TTGGGTACCGGGCCCCCCT 3'，序列識別編號：23)及標示為序列識別編號：19的M13引子併用俾生成PCR放大產物。PCR產物選殖於InVitrogen TA™ 媒傳者並接受DNA序列分析。一種接受分析的選殖產物，稱為 n f s p I ₅₇₃ 含有573核苷酸產物，至少部份對應於對 fspI 測得之部份胺基酸序列。n f s p I ₅₇₃ 之核苷酸序列示於序列識別編號：24。序列識別編號：24轉譯獲得如下最長的開放解讀架構，標示為序列識別編號：25。

五、發明說明 ()

經由組合 fspI 之部份 N 端序列 (序列識別編號：6) 與由核酸序列序列識別編號：24 演譯的蛋白質序列序列識別編號 25，可獲得 fspI 之名目全長胺基酸序列，標示為序列識別編號：26。

實例 7

本例進一步描述編碼蚤唾液蛋白 fspH 及 fspI 之至少一部份的核酸序列之分離。

A. 編碼 fspI 之核酸分子之放大

實例 6B 由羧基端 PCR 產物測定之 DNA 序列 (序列識別編號：20) 用於合成兩種非簡併合成同系物引子：引子 7，5' CCT GAC CTG CAT TCT CTC ATA C 3'，標示為序列識別編號：38，及引子 8，5' AGG TCT TGT CCT TCC TCC GTT TCC GCA 3'，標示為序列識別編號：39。引子 8 與 M13 反向引子 5' GGAAACAGCTATGACCTAG 3' (標示為序列識別編號：40) 合併用於使用標準技術放大得自前文實例 6A 所述唾腺 cDNA 表現存庫部份之 fspH 5'-端部。所得 PCR 產物雖然於明膠上並非明顯可見，但藉南方雜交使用引子 7 作為 [³²P] 放射性標記探針可鑑別為單一產物。經由使用承窩 PCR 反應利用引子 7 及媒傳者 T3 引子，5' ATTAACCCTCACTAAAG 3' (標示為序列識別編號：41) 可獲得明顯可見的使用 ethidium 溴化物染色的 PCR 產物。於 1% 瓊脂糖膠上明白可見約 400-bp 產物且與 [³²P] 標記的簡併引子 1 (序列識別編號：15) 呈雜交陽性。

fspH 之 400-bp 產物之部份 (242-bp) 核苷酸序列定名為

五、發明說明 ()

nfspH₂₄₂示於序列識別編號：32。序列識別編號：32轉譯獲得胺基酸序列，定名為PfsPh₃₀，標示為序列識別編號：33。

B. 編碼fspi之核酸分子之放大

又製造兩種引子供由如實例6A所述製備之蚤唾腺存庫分離fspi蛋白cDNA序列。分離程序使用蚤唾腺存庫重複進行PCR及探針雜交至PCR產物。於蚤唾腺存庫(迷你存庫)部份重複進行PCR於末次溶菌斑舉升並經由與[³²P]標記探針雜交鑑別之前，可縮窄經選殖fspi蛋白cDNA之發生頻率至約1/200溶菌斑生成單位(PFU)。

使用基於序列識別編號：24之兩種引子：引子9，5' GCA AAG GTT ATA GAG GAG CTT G 3'，標示為序列識別編號：42，及引子10，5' AGC TTT CCA TCA CAT CCA GC 3'，標示為序列識別編號：43。引子產生268 bp內PCR DNA序列(含引子)用作標記序列供篩滅唾腺迷你存庫。末次篩滅唾腺迷你存庫係使用標準技術使用四種[³²P]標記引子匯集物進行：引子5，序列識別編號：21，引子6，序列識別編號：22，引子8，序列識別編號：42及引子10，序列識別編號：43。由此技術鑑別的核酸定名為nfspi₅₉₁，係使用標準技術決定序列獲得序列識別編號：34。序列識別編號：34轉譯獲得定名為Pfspl₁₅₅之蛋白質之胺基酸序列，標示為序列識別編號：35。此種胺基酸序列類似序列識別編號：26，但序列識別編號：35於胺基端未含胺基酸序列E D I，及序列識別編號：35於位置7含有“C”，而序

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

經濟部中央標準局員工消費合作社印製

五、發明說明()

列識別編號：26於對應位置含有“L”。

實例 8

本例驗證本發明配方於蚤過敏性皮炎易感動物體誘發蚤過敏性皮炎之能力。

欲測定實例 2 及 3 所述分離的蚤唾液蛋白是否可於蚤過敏性皮炎易感動物誘發過敏反應，對敏化犬進行皮膚試驗。六條犬使用 Gross, et al., 1985, Veterinary Pathology, Vol. 22, pp. 78-71 之方法對照敏化。簡言之，各犬暴露於小室內之約 25 隻 *C. felis* 蚤，每間隔一週使小室內的蚤於實驗犬身上進食約 15 分鐘。六條犬之敏化時間如下：犬 2080109 於 1993 年 8 月 31 日至 1994 年 6 月 7 日暴露於蚤 38 次。犬 2082101 於 1993 年 12 月 14 日至 1994 年 6 月 7 日暴露於蚤 22 次。犬 2082128 於 1993 年 8 月 13 日至 1994 年 5 月 24 日暴露於蚤 20 次。犬 BFQ2 於 1994 年 3 月 15 日至 1994 年 7 月 12 日暴露於蚤 17 次。犬 CP02 於 1994 年 3 月 15 日至 1994 年 6 月 7 日暴露於蚤 12 次。犬 CQQ2 於 1994 年 3 月 15 日暴露於蚤 1 次。

1994 年 6 月 21 日上午進行皮膚試驗。犬外側胸／腹區剃毛，皮下注射多種本發明配方及對照溶液。每次注射總體積為 50 μ l，配方及對照係於酚化鹽水稀釋。各條犬接受表 1 列舉的注射。

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

五、發明說明 ()

表 1 投予犬之樣品

樣品	重複次數	μg / 注射	蚤 - 小時
稀釋劑	2	N/A*	N/A
組胺	2	1.38	N/A
GREER	3	50 (w/v)	N/A
FS-1	3	1.88	4,660
A	3	0.23	23,000
B	3	0.32	23,000
C1	3	1.10**	23,000
C2	3	0.42	23,000
D1	3	0.24	23,000
D2	3	0.29	23,000
E	3	0.16	23,000
F	3	0.10	23,000
G	3	0.21	23,000
H	3	0.20	23,000
I	3	0.12	23,000
J	3	0.08	23,000
K	3	0.12	23,000
L	3	0.08	23,000
M1	3	0.16	23,000
M2	3	0.27	23,000
N	3	0.20	23,000
FS-2	3	0.71	4,660

* N/A為不適用

** 名目數量，顯然由於檢定分析干擾，故人為地變高。

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

五、發明說明 ()

註：此等研究中，fspJ1及fspJ2係共同投藥作為fspJ；fspL1及fspL2係共同投藥作為fspL；fspN1及fspN2係共同投藥作為fspN。也須注意A，B，C1，C2，D1，D2，E，F，G，H，I，J，K，L，M1，M2及N分別表示蚤唾液蛋白fspA，fspB，fspC1，fspC2，fspD1，fspD2，fspE，fspF，fspG，fspH，fspI，fspJ，fspK，fspL，fspM1，fspM2及fspN。陰性對照包括稀釋劑(NC)及陽性對照包括Greer抗原(GR)及組胺(HIS)。Greer抗原用量係根據製造商(Greer Laboratories, Inc., Lenoir, NC)提供的資訊以(w/v)測定。組胺用量係藉供應商標籤(得自Greer Laboratories, Inc., Lenoir, NC)提供的資訊測定。

A. 比較注射部位的風疹塊大小

全部注射部位皆於15分鐘客觀(obj)測量(以mm表示)並依0至4之等級主觀評分(Sub)。主觀評分係由Kenneth W. Kwochka, D.V.M., Diplomate ACVD(美國獸醫皮膚科大學)於俄亥俄州哥倫比亞俄亥俄州立大學施行。表2至7表示各犬所得結果。#表示各樣品代號；抗原表示樣品。Inj1，Inj2及Inj3表示重複注射三次；而NA表示“不適用”。

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

五、發明說明 ()

表 2 犬編號：2082101

# 抗原	Inj 1 Sub	Inj 1 Obj	Inj 2 Sub	Inj 2 Obj	Inj 3 Sub	Inj 3 Obj
1 陰性對照	0	6	NA	NA	NA	NA
2 組胺	4	12	NA	NA	NA	NA
3 Greer	3	10	3	10	3	10
4 FS-1	3	10	4	12	4	12
5 A	1	8	0	8	0	8
6 B	0	6	0	6	0	6
7 C1	0	6	0	6	0	6
8 C2	0	6	0	6	0	6
9 D1	0	8	0	8	0	6
10 D2	0	6	0	6	0	8
11 E	3	12	3	12	3	12
12 F	3	14	3	12	3	12
13 G	3	12	3	12	3	12
14 H	3	11	2	12	3	12
15 I	3	12	2	12	3	11
16 J	2	10	2	11	2	10
17 K	2	11	2	10	2	9
18 L	2	9	1	10	1	10
19 M1	2	12	2	11	2	11
20 M2	3	12	3	11	3	12
21 N	3	11	3	10	2	11
22 FS-2	2	11	3	12	2	10
23 陰性對照	0	8	NA	NA	NA	NA
24 組胺	4	14	NA	NA	NA	NA

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

五、發明說明 ()

表 3 犬 編號：2080109

# 抗原	Inj 1 Sub	Inj 1 Obj	Inj 2 Sub	Inj 2 Obj	Inj 3 Sub	Inj 3 Obj
陰性對照	0	7	NA	NA	NA	NA
2 組胺	4	14	NA	NA	NA	NA
3 Greer	0	8	0	8	0	8
4 FS-1	4	13	4	13	4	13
5 A	0	9	0	8	0	8
6 B	0	7	0	7	0	7
7 C1	0	8	0	7	0	7
8 C2	0	8	0	7	0	8
9 D1	1	9	1	9	1	9
10 D2	1	9	1	8	1	8
11 E	3	11	3	11	2	10
12 F	3	11	3	13	4	13
13 G	3	14	3	13	3	13
14 H	2	12	2	11	2	10
15 I	2	10	3	10	3	10
16 J	2	10	3	10	3	10
17 K	2	9	2	9	2	9
18 L	1	9	1	6	1	7
19 M1	3	11	3	13	3	13
20 M2	3	14	3	13	3	14
21 N	3	13	3	14	2	10
22 FS-2	2	9	1	7	1	8
23 陰性對照	0	6	NA	NA	NA	NA
24 組胺	4	16	NA	NA	NA	NA

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

經濟部中央標準局員工消費合作社印製

A7

B7

五、發明說明 ()

表 4 犬編號：2082128

# 抗原	Inj 1 Sub	Inj 1 Obj	Inj 2 Sub	Inj 2 Obj	Inj 3 Sub	Inj 3 Obj
1 陰性對照	0	6	NA	NA	NA	NA
2 組胺	4	12	NA	NA	NA	NA
3 Greer	0	6	0	6	0	6
4 FS-1	3	12	3	12	3	12
5 A	0	7	0	7	0	6
6 B	0	7	0	7	0	6
7 C1	0	7	0	6	0	7
8 C2	0	6	0	7	0	7
9 D1	0	7	0	7	0	7
10 D2	0	7	0	7	0	7
11 E	0	7	0	6	0	7
12 F	0	6	0	6	0	6
13 G	1	10	1	9	1	9
14 H	2	10	2	10	2	11
15 I	3	12	3	12	3	11
16 J	3	12	3	11	3	11
17 K	3	11	3	12	3	12
18 L	3	11	3	10	3	11
19 M1	3	11	3	11	3	12
20 M2	3	12	3	12	3	12
21 N	3	12	3	12	3	12
22 FS-2	3	12	3	11	3	12
23 陰性對照	0	6	NA	NA	NA	NA
24 組胺	4	14	NA	NA	NA	NA

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

訂

五、發明說明 ()

表 5 犬編號：BFQ2

# 抗原	Inj 1 Sub	Inj 1 Obj	Inj 2 Sub	Inj 2 Obj	Inj 3 Sub	Inj 3 Obj
1 陰性對照	0	6	NA	NA	NA	NA
組胺	4	12	NA	NA	NA	NA
3 Greer	0	6	0	6	0	6
4 FS-1	1	9	1	9	1	9
5 A	0	7	0	7	0	7
6 B	0	7	0	7	0	7
7 C1	0	7	1	7	1	7
8 C2	0	7	0	7	0	6
9 D1	0	8	1	7	1	8
10 D2	0	7	0	6	1	7
11 E	1	7	0	6	0	6
12 F	1	6	1	7	0	7
13 G	0	8	1	8	1	8
14 H	0	8	0	7	0	7
15 I	1	7	0	7	0	8
16 J	0	7	0	7	0	7
17 K	0	7	0	7	0	6
18 L	0	8	0	7	0	7
19 M1	0	7	0	7	0	7
20 M2	0	7	0	7	1	8
21 N	3	12	3	11	3	11
22 FS-2	3	11	3	11	3	11
23 陰性對照	0	7	NA	NA	NA	NA
24 組胺	4	15	NA	NA	NA	NA

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

A7

B7

五、發明說明()

表 6 犬編號：CP02

# 抗原	Inj 1 Sub	Inj 1 Obj	Inj 2 Sub	Inj 2 Obj	Inj 3 Sub	Inj 3 Obj
1 陰性對照	0	3	NA	NA	NA	NA
2 組胺	4	13	NA	NA	NA	NA
3 Greer	0	7	0	7	0	6
4 FS-1	4	12	4	12	4	12
5 A	0	7	0	6	0	6
6 B	0	6	0	7	0	7
7 C1	0	7	0	6	0	7
8 C2	0	6	0	6	0	6
9 D1	0	7	1	7	0	7
10 D2	1	6	0	6	0	5
11 E	0	6	0	6	0	6
12 F	0	6	0	6	2	7
13 G	2	9	2	8	2	8
14 H	4	11	4	12	4	11
15 I	3	12	3	11	3	10
16 J	3	10	3	11	3	10
17 K	2	8	2	8	2	8
18 L	1	8	1	7	1	7
19 M1	3	11	3	11	3	11
20 M2	3	11	4	12	4	12
21 N	4	12	3	10	3	11
22 FS-2	3	11	3	12	3	12
23 陰性對照	0	6	NA	NA	NA	NA
24 組胺	4	13	NA	NA	NA	NA

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

五、發明說明 ()

表 7 犬編號：CQQ2

# 抗原	Inj 1 Sub	Inj 1 Obj	Inj 2 Sub	Inj 2 Obj	Inj 3 Sub	Inj 3 Obj
1 陰性對照	0	6	NA	NA	NA	NA
2 組胺	4	13	NA	NA	NA	NA
3 Greer	0	7	0	7	0	7
4 FS-1	2	8	2	8	2	8
5 A	0	6	0	6	0	7
6 B	0	7	0	7	0	6
7 C1	0	7	0	6	0	6
8 C2	0	7	0	7	0	6
9 D1	0	6	0	6	0	6
10 D2	0	6	0	6	0	7
11 E	0	6	0	6	0	6
12 F	0	6	0	7	0	7
13 G	0	7	0	7	0	6
14 H	1	7	1	7	1	7
15 I	2	8	2	9	2	8
16 J	2	8	2	8	2	8
17 K	1	7	1	7	1	7
18 L	1	6	0	6	0	6
19 M1	2	7	2	8	2	8
20 M2	2	8	2	8	2	9
21 N	3	11	3	12	3	11
22 FS-2	3	11	3	11	3	10
23 陰性對照	0	7	NA	NA	NA	NA
24 組胺	4	14	NA	NA	NA	NA

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

五、發明說明 ()

至於對照，2條未感染蚤犬(亦即未曾暴露於蚤之犬)也使用注射敏化犬之相同樣品進行單次重複試驗。此等犬稱為WANU及WBCE。樣品注射後15分鐘客觀及主觀風疹塊大小測量值示於表8及9。

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

五、發明說明 ()

表 8 犬編號：WANU

# 抗原	Inj 1 Sub	Inj 1 Obj
1 陰性對照	0	7
2 組胺	4	10
3 Greer	0	6
4 FS-1	0	6
5 A	0	7
6 B	0	6
7 C1	0	6
8 C2	0	6
9 D1	0	7
10 D2	0	6
11 E	0	6
12 F	0	6
13 G	0	7
14 H	0	7
15 I	0	7
16 J	0	7
17 K	0	6
18 L	0	7
19 M1	0	6
20 M2	0	6
21 N	1	8
22 FS-2	1	8
23 陰性對照	NA	NA
24 組胺	NA	NA

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

五、發明說明 ()

表 9 犬 編號：WBCE

# 抗原	Inj 1 Sub	Inj 1 Obj
1 陰性對照	0	6
2 組胺	4	12
3 Greer	0	7
FS-1	0	7
5 A	0	7
6 B	0	7
7 C1	0	7
8 C2	0	7
9 D1	0	7
10 D2	0	6
11 E	0	7
12 F	0	7
13 G	0	8
14 H	0	7
15 I	0	7
16 J	0	7
17 K	0	7
18 L	0	6
19 M1	0	7
20 M2	0	7
21 N	0	7
22 FS-2	0	7
23 陰性對照	NA	NA
24 組胺	NA	NA

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

經濟部中央標準局員工消費合作社印製

五、發明說明()

求出六頭敏化犬之蚤唾液抗原所得主觀分數平均值摘述於第5圖。結果指示如實例2及3生產的蚤唾液產物包含一種可於敏化犬誘發急發型過敏反應的過敏性蛋白質。特別，注射稱為FS-1及FS-2之蚤唾液抗原混合物導致實質生成風疹塊。蚤唾液蛋白fspE, fspF, fspG, fspH, fspI, fspJ, fspK, fspL, fspM1, fspM2及fspN也導致實質生成風疹塊。蚤唾液蛋白fspA, fspB, fspC1, fspC2, fspD1及fspD2產生極少(若有)過敏性反應(依據接受試驗之犬而定)。含fspH樣品當與其它蚤唾液蛋白比較時可產生最大風疹塊。

*B. 比較注射部位之硬結及紅斑程度

除風疹塊大小外，於各個注射部位也測量硬結及紅斑量。於6小時及24小時藉主觀評分測量注射蚤唾液抗原引發的硬結。此種主觀硬結測量係由Kenneth W. Kwochka, D.V.M.進行。此外，各注射部位之紅斑量係由Kenneth W. Kwochka, D.V.M.主觀評分。

於6小時藉主觀評分測量得之硬結及紅斑量對各頭敏化及對照犬皆為陰性，但下列配方用於下列敏化犬除外。FS-1投予犬2082101於兩個注射部位產生硬結分數1，但紅斑0分。fspL投予犬2082101未產生硬結，但於一個注射部位產生紅斑分數1。fspM1投予犬2082101未產生硬結，但於1個注射部位產生紅斑分數3。FS-2投予犬2082101未產生硬結，但於3個注射部位產生平均紅斑分數1.33。fspH投予犬2082128未產生硬結，但於3個注射部位獲得

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

五、發明說明 ()

平均紅斑分數 2。fspI 投予犬 2082128 產生硬結分數 1，及於 2 個注射部位獲得平均紅斑分數 1。fspJ 投予犬 2082128 產生硬結分數 1，及於 3 個注射部位獲得平均紅斑分數 1。FS-2 投予犬 2082128 未產生硬結，但於 3 個注射部位獲得平均紅斑分數 2。

FS-1 投予犬 BFQ2 產生硬結分數 2，及於 3 個注射部位獲得平均紅斑分數 2。fspN 投予犬 BFQ2 產生硬結分數 1，及於 2 個注射部位獲得平均紅斑分數 2。FS-2 投予犬產生 1 個硬結，及於 2 個注射部位獲得平均紅斑分數 2。

FS-1 投予犬 CP02 產生硬結分數 2.5，但於 2 個注射部位平均紅斑為 0。fspG 投予犬 CP02 未產生硬結，但於 3 個注射部位獲得平均紅斑分數 2。fspH 投予犬 CP02 未產生硬結，但於 2 個注射部位獲得平均紅斑分數 1。FS-2 投予犬 CP02 未產生硬結，但於 3 個注射部位獲得平均紅斑分數 2。

求出六頭敏化試驗犬對各種蚤唾液抗原所得硬結之主觀分數平均值，並摘述於第 6 圖。求出六頭敏化試驗犬對各種蚤唾液抗原所得紅斑之主觀分數平均值，並摘述於第 7 圖。

蚤敏化犬中五頭及二頭對照犬之 24 小時結果進行主觀評分，測量硬結量及紅斑皆為陰性，但下列配方用於下列敏化犬除外。

fspI 投予犬 2082101 於 3 個注射部位產生平均硬結分數 1 及平均紅斑分數 1。fspJ 投予犬 2082101 於 3 個注射

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

五、發明說明 ()

部位產生平均硬結分數 1 及平均紅斑分數 1。fspM1 投予犬 2082101 於 3 個注射部位產生平均硬結分數 1 及平均紅斑分數 3。fspN 投予犬 2082101 於 3 個注射部位產生平均硬結分數 1 及平均紅斑分數 2。FS-2 投予犬 2082101 於 3 個注射部位產生平均硬結分數 3 及平均紅斑分數 4。

FS-1 投予犬 BFQ2 於 3 個注射部位產生平均硬結分數 1 及平均紅斑分數 1。FS-2 投予犬 BFQ2 於 1 個注射部位產生平均硬結分數 1 及平均紅斑分數 1。

FS-1 投予犬 CP02 於 1 個注射部位產生平均硬結分數 2 及平均紅斑分數 1。fspI 投予犬 CP02 於 3 個注射部位產生平均硬結分數 1 及平均紅斑分數 1。FS-2 投予犬 CP02 於 3 個注射部位產生平均硬結分數 1 及平均紅斑分數 2。

Greer 抗原投予犬 CQQ2 於 3 個注射部位未產生硬結，但獲得平均紅斑分數 1。FS-1 投予犬 CQQ2 於 1 個注射部位產生平均硬結分數 1 及平均紅斑分數 1。fspI，fspJ，fspM1 或 fspM2 投予犬 CQQ2 於 3 個注射部位未產生硬結，但獲得平均紅斑分數 1。fspN 投予犬 CQQ2 於 1 個注射部位產生平均硬結分數 1 及平均紅斑分數 1。FS-2 投予犬 CQQ2 於 3 個注射部位產生平均硬結分數 1 及平均紅斑分數 2。

求出六頭敏化試驗犬對各種蚤唾液抗原所得硬結之主觀分數平均值並摘述於第 8 圖。求出六頭敏化試驗犬對各種蚤唾液抗原所得紅斑之主觀分數平均值並摘述於第 9 圖。

結果指示如實例 2 及 3 所述生產的至少若干蚤唾液蛋

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

五、發明說明 ()

白配方包含至少一種可於敏化犬誘生延遲型過敏反應之過敏原性蛋白質。注射稱為FS-1及FS-2之蚤唾液蛋白混合物可誘發實質硬結及紅斑至少經歷24小時。此外，蚤唾液蛋白樣品fspI，fspJ，M1及fspN具有充分過敏原性而可誘生硬結及紅斑至少經歷24小時。蚤唾液蛋白樣品fspL及fspM2可誘生實質硬結程度但於24小時大體已無紅斑。

總而言之，上式結果及第5至9圖所示結果指示本發明之唾液蛋白配方具充分過敏原性而可於敏化犬誘生過敏反應。無數樣品可誘生即發型反應及延遲性過敏反應。

實例 9

本例驗證實例2及3分離的無數蚤唾液蛋白樣品可誘生過敏反應，由實例8所述對犬特選病變取出的組織進行組織病理試驗可證。

由實例8所述各頭過敏犬取出兩塊組織樣品。兩頭未感染犬未進行活體剖檢。採取組織樣品的特選部位標示於下表10。活體剖檢係於皮下注射Lidocaine後以4mm活體剖檢衝頭取得。活體剖檢係由Dr. David M. Getzy, DVM, Diplomate ACVP (美國獸醫病理學院)位於科羅拉多州獸醫診斷實驗室(科羅拉多州，福特科林，科羅拉多州立大學獸醫及生物化學學院)處理並讀值。

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

錄

A7
B7

五、發明說明 ()

表 10 組織病理

犬	抗原	時間	編號	切片	病變類型	等級
101	FS-1	15 min.	1	A	A	1
		6 hr.	2	B	A	2.5
		24 hr.	3	C	A	3
109	FS-1	15 min.	4	D	A	1
		6 hr.	5	E	C	2
		24 hr.	6	F	C	3
128	FS-1	15 min.	7	G	A	1.5
		6 hr.	8	H	C	1.5
		24 hr.	9	I	C	3
CPO2	FS-1	15 min.	10	J	A	1.5
		6 hr.	11	K	C	3
		24 hr.	12	L	C	4
CQQ2	FS-1	15 min.	13	M	A	1.5
		6 hr.	14	N	C	2.5
		24 hr.	15	O	C	2.5
101	fspE	15 min.	16	P	A	1
		6 hr.	17	Q	C	1.5
		24 hr.	18	R	A	1.5
109	fspF	15 min.	19	S	A	1
		6 hr.	20	T	A	1.5
		24 hr.	21	U	A	1.5
128	fspI	15 min.	22	V	A	1
		6 hr.	23	W	C	2.5
		24 hr.	24	X	C	2.5
BFQ2	fspN	15 min.	25	Y	A	1.5
		6 hr.	26	Z	C	2
		24 hr.	27	AA	C	3.5

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝
訂

經濟部中央標準局員工消費合作社印製

五、發明說明 ()

表 10 組織病理

犬	抗原	時間	編號	切片	病變類型	等級
BFQ2	fsp0	15 min.	28	BB	A	1
		6 hr.	29	CC	C	3
		24 hr.	30	DD	C	2.5
CPO2	fspH	15 min.	31	EE	A	1.5
		6 hr.	32	FF	C	1.5
		24 hr.	33	GG	A	1.5
CQQ2	fspN	15 min.	34	HH	A	1
		6 hr.	35	II	C	2.5
		24 hr.	36	JJ	C	2.5

試驗組織樣品發現兩型病變。A 型病變表示中等淺層真皮水腫，於淺層真皮內於血管周圍取向有輕微數目的肥大細胞。血管內皮具有輕度反應性增生。此區也發現最少數目的嗜中性細胞。C 型病變為類似 A 型病變之病變嗜伊紅細胞之嚴重程度為輕度至中度，而嗜中性細胞之肥大細胞之嚴重程度為輕度。

以 0 至 5 的等級，病變嚴重程度係於第 1 級至第 4 級之範圍。若干檢體主要出現肥大細胞發炎性血管周圍浸潤，水腫，及最少數目的其它細胞成分。其它部份顯示嗜伊紅細胞發炎性浸潤，有較少數目的肥大細胞和嗜中性細胞。但病變程度可變，某些區域發展成表皮嗜伊紅細胞產膿及淺層真皮內部膠原生理性壞死。

合併而言，組織樣品指示出現淺層血管周圍／腺體周圍、肥大細胞性及嗜伊紅細胞性亞急性皮炎。全部檢體切片之病變皆與 I 型過敏性過敏反應一致。

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

五、發明說明 ()

實例 10

本例經由對犬施行皮膚試驗驗證實例 2 及 3 所示蛋白質可於天然對蚤過敏性皮炎易感動物誘發過敏反應。此等反應比較使用腺型診斷蚤過敏性皮炎標準品—Greer 全蚤萃取物 (Greer Laboratories, Inc., Lenoir, NC) 所得反應。此外，欲測定反應特異性，試驗結果與帶有正常皮膚的對照犬族群及患有蚤過敏性皮炎以外的搔癢性皮膚病犬族群所得結果比較。

研究使用三組犬：(1) 藉臨床症狀，診斷時出現蚤及對 Greer 全蚤萃取物呈現陽性即發型或延遲型反應，測定天然發生蚤過敏性皮炎之犬 10 頭；(2) 10 頭患有非蚤相關搔癢性皮膚病犬包含但非僅限於非異位性皮炎，食物過敏性皮炎，膿性皮炎，脂漏，及其它寄生蟲過敏反應；及 (3) 10 頭帶有正常皮膚且無慢性皮膚病病史之犬。犬可為任何品種，年齡或性別。得自俄亥俄州，哥倫比亞，俄亥俄州立大學獸醫教學醫院之住院犬群。全部犬皆有主人的書面同意來參與本研究。

全部試驗和主觀分數皆由 Kenneth W. Kwochka, D.V.M., Diplomate ACVD (美國獸醫皮膚科學院) 於俄亥俄州，哥倫比亞，俄亥俄州立大學獸醫學院，獸醫教學醫院實施。全部犬皆於胸部左側前-背-外側方向實驗。犬使用標準劑量 xylazine 及阿托品 (atropine) 恰在皮膚試驗前靜脈投藥麻醉供試驗。試驗前至少三週不可使用任何糖皮質固醇，抗組胺或其它非類固醇消炎藥。試驗區使用 40 號電

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

五、發明說明 ()

剪刀溫和剪毛且注射部位使用黑色毛筆尖的奇異筆劃記。
共劃記22個位置：兩行10點而一行2點。皮內注射係於各
記號上方及下方共進行44次，投藥順序如下：

第1行：陰性對照-組胺-Greer-Greer-蚤唾液-蚤唾液-
A-A-B-B

第2行：C1-C1-C2-C2-D1-D1-D2-D2-E-E

第3行：F-F-G-G-H-H-I-I-J-J-

第4行：K-K-L-L-M1-M1-M2-M2-N-N

第5行：FS2-FS2

第6行：陰性對照一組胺

各部位皮內注射50μl無菌稀釋劑(陰性對照)，1/100,000
w/v組胺磷酸鹽(組胺)，Greer全蚤萃取物(Greer)，全蚤
唾液(蚤唾液)或各別唾液蛋白部份(fspA, (a); fspB,
(B); fspC1, (C1); fspC2, (C2); fspD1, (D1); fspD2,
(D2); fspE, (E); fspF, (F); fspG, (G); fspH, (H);
fspI, (I); fspJ, (J); fspK, (K); fspL, (L); fspM1,
(M1); fspM2, (M2); fspN, (N);及FS-2 (FS2)。全部注
射液皆稀釋於陰性對照之相同無菌稀釋劑。

注射後15分鐘及24小時主觀或客觀讀出皮膚反應。要
求主人將犬送回獸醫教學醫院進行24小時讀值。主觀評估
係基於風疹塊大小，紅斑數量及硬結數量分成0，H，2+，
3+及4+等級。客觀評估係基於風疹塊直徑測量值(mm)。

皮膚反應之比較

A. FAD犬：

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

五、發明說明 ()

10頭 Greer陽性犬中，7頭(70%)為蚤唾液(FS)陽性。
○ 3頭FS陰性犬皆未對任一種唾液蛋白部份反應。此外，
3頭於15分鐘對FS呈陰性犬於24小時對任何成分皆呈陰性
反應。7頭FS陽性犬用來摘述15分鐘反應，示於下表11。
表11. 7頭FS陽性犬對試驗抗原之即發型(15分鐘)主觀

分數

% 陽性	分數 ≥2+	分數 ≥3+
0		I
14	B, I, J, L	B, D1, J, L
29	A, C1, C2, D1	A, C1, C2, K
43	E, F, K	D2, E, F, H, M2
57	D2, H, M2	G, N, FS2
71	G, M1	M1
86	N, FS2	Greer
100	Greer, FS	FS

7頭FS陽性犬中4頭於24小時時無法評估，原因為即
發型過敏太過嚴重而必須接受消炎治療。其餘3頭FS陽性
犬用來摘述24小時反應，示於下表12。

表12 7頭FS陽性犬對試驗抗原之延遲型(24小時)主觀分數

% 陽性	分數 ≥2+	分數 ≥3+
0		
33	M2	
67	Greer, FS, N, FS2	FS, N, FS2
100		

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

五、發明說明 ()

B. 正常犬

3 頭犬對皮膚試驗抗原出現即發型反應至某種程度。
於 24 小時皆未出現陽性延遲型反應。即發型 (15 分鐘) 主觀
結果摘述於下表 13。

表 13 10 頭正常犬對試驗抗原之即發性 (15 分鐘) 主觀分數

% 陽性	分數 ≥2+	分數 ≥3+
0		
10	N, FS2	FS2
20	Greer, FS	Greer, FS
30		
40		
50		
60		
70		
80		
90		
100		

各別犬備註：

- 犬 #1: Greer 3+, FS 3+, N 2+, FS2 4+
- 犬 #2: Greer 3+
- 犬 #3: FS 3+

C. 非 FAD 搔癢病犬

6 頭犬對皮膚試驗抗原呈現即發型反應至某種程度。
即發型 (15 分鐘) 主觀結果摘述於下表 14。

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

經濟部中央標準局員工消費合作社印製

A7
B7

五、發明說明 ()

表 14 10頭非FAD搔癢病犬對試驗抗原之即發型(15分鐘)
主觀分數

% 陽性	分數 ≥2+	分數 ≥3+
0		
10	G, O	G, O
20	Greer, M1	Greer, FS, M1, M2
30	FS, M2, N	N
40		
50		
60		
70		
80		
90		
100		

各別犬備註：

犬 #1：FS 2+， M1 3+， M2 3+， N 3+， FS2 3+
特異反應性犬慢性暴露於蚤

犬 #2：FS 4+， G 4+， M1 4+， M2， 3+， N 3+
特異反應性犬慢性暴露於蚤

犬 #3：FS 4+， M2 2+
特異反應性犬慢性暴露於蚤

犬 #4：N 3+
特異反應性犬慢性暴露於蚤

犬 #5：Greer 4+
慢性外耳炎

犬 #6：Greer 4+
全身性恙蟲病(疥蟲病)

犬 1， 2 及 3 號隨後回到診所診斷患有FAD且為Greer
陽性。

3 頭犬對皮膚試驗抗原出現延遲型反應至某種程度。
延遲型(24小時)主觀結果摘述於下表 15。

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

經濟部中央標準局員工消費合作社印製

五、發明說明 ()

表 15 10頭FAD搔癢病犬對試驗抗原之延遲型(24小時)主觀分數

% 陽性	分數 ≥2+	分數 ≥3+
0		
10	FS, N, FS2	Greer, FS, N, FS2
20		
30	Greer	
40		
50		
60		
70		
80		
90		
100		

各別犬備註：

犬 #3：Greer 2+

特異反應性炎慢性暴露於蚤

犬 #4：Greer 2+

特異反應性犬慢性暴露於蚤

犬 #6：Greer 3+, FS 3+, N 3+, FS2 3+

全身性恙蟲病(疥蟲病)

為輔助測定蚤唾液部份與陽性皮膚試驗結果有最佳關係，全部人工敏化且經過臨床診斷的FAD犬之資料(對FS為

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

經濟部中央標準局員工消費合作社印製

五、發明說明 ()

2+或以上，共12頭犬；5頭人工敏化而7頭臨床診斷為
FAD陽性)根據對試驗抗原的反應列表。即發型(15分鐘)主
觀結果示於下表16，而延遲型(24小時)主觀結果示於下表
17。

表 16 %反應(15分鐘主觀分數)

抗原	人工敏化(5)		臨床診斷(7)		合併(12)	
	分數 ≥2+	分數 ≥3+	分數 ≥2+	分數 ≥3+	分數 ≥2+	分數 ≥3+
Greer	20	20	100	86	67	58
FS	100	80	100	100	100	92
A	0	0	29	29	17	17
B	0	0	14	14	8	8
C	0	0	29	29	17	17
D1	0	0	29	14	17	8
D2	0	0	57	43	33	25
E	40	20	43	43	42	33
F	40	40	43	43	42	42
G	60	40	71	57	67	50
H	80	20	57	43	67	33
I	100	40	14	0	50	17
J	100	40	14	14	50	25
K	80	20	43	29	58	25
L	20	20	14	14	17	17
M1	100	60	71	71	83	67
M2	100	80	57	43	75	58
N	100	60	86	57	92	58
FS2	80	60	86	57	83	58

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

訂

A7
B7

五、發明說明 ()

表 17 % 反應 (24 小時主觀分數)

抗原	人工敏化 (5)		臨床診斷 (7)		合併 (12)	
	≥2+ 分數	≥3+ 分數	≥2+ 分數	≥3+ 分數	≥2+ 分數	≥3+ 分數
Greer	0	0	67	0	25	0

(請先閱讀)

五、發明說明 ()

消化，經凝膠純化及次選殖入已經使用BamHI消化及CIP處理的表現媒傳者pTrcHisB(得自InVitrogen Corp.)生產重組分子pHis-nfspl₅₃₅。

重組分子轉形入HB101(得自BRL, Gaithersburg, MD)及BL21(得自Novagen, Madison, WI)合格細胞生成重組細胞 E. coliHB:pHis-nfspl₅₃₅ 及 E. coliBL:pHis-nfspl₅₃₅。重組細胞於32℃於0.1 mg/ml安比西林及0.1%葡萄糖之豐富細胞生長培養基培養。細胞達到OD約0.4-0.5時，藉加入0.5mM異丙基B-D-硫半乳糖苷(IPTG)誘發表現，細胞於32℃培育2小時。

含融合蛋白PHIS-Pfspl₁₅₅之重組細胞溶解產物之SDS-聚丙烯醯胺凝膠電泳及西方免疫墨點分析係藉標準程序使用下列完成：T7 Tag單株抗體(得自InVitrogen Corp.)或兔抗-FAD抗血清(#A3381)係由Paravax, Inc.於Fort Collins, Co.生產，使用含實例2生產的蚤唾液之硝基纖維素膜免疫接種兔生產。抗原／抗體反應係使用鹼性磷酸酶共軛接合抗鼠或抗兔抗體藉比色酶反應檢測。於使用兩種第一次抗體誘發溶解產物進行墨點分析檢測28kD蛋白質。

B. 於昆蟲細胞表現蚤蛋白fspi

核酸分子nfspl₄₇₅使用如下引子由fspi核酸分子進行PCR放大，引子設計為可使用桿病毒媒傳者於昆蟲細胞表現：訊息引子13，BamHI位置為粗體為5'CGC GGA TCC TAT AAA TAT GGA GGA CAT CTG GAA AGT TAA TAA AAA ATG TAC ATC 3'標示為序列識別編號44及反訊息引子14，XbaI位置

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

線

五、發明說明()

為粗體為5' GCT CTA GAG CAT TTA TTT TTT GGT CGA CAA
TAA CAA AAC 3'標示為序列識別編號45。PCR產物與BamHI
及XbaI消化切下約475bp DNA片斷並由瓊脂糖凝膠電泳。

核酸分子nfspI₄₇₅接合入使用BamHI及XbaI消化的
pVL1393媒傳者(得自InVitrogen Corp.)生產重組細胞pVL-
nfspI₄₇₅。

重組分子轉移感染入具有線性化桿病毒DNA之S.
frugiperda Sf9細胞生成重組細胞S. frugiperda:pVL-
nfspI₄₇₅。重組細胞使用標準條件培養生產重組病毒。也
發現轉移感染上清液含有23kD蛋白質其藉西方墨點分析與
兔抗-FAD抗血清(#A3381)反應。

實例12

本例描述於fspN分離編碼至少部分蚤唾液蛋白之核酸
序列，及其相對於人類前列腺酸性磷酸酶之特徵化。

前文實例6A描述的蚤唾腺及全進食蚤cDNA存庫使用紐
西蘭白兔抗血清，〔此種抗血清係對收集的蚤唾液蛋白混
合物發展的抗血清(例如兔使用堆疊的硝基纖維素濾膜作
為收集膜免疫接種一次或多次收集蚤唾液蛋白，接著使用
由Duropore濾膜溶離出的蚤唾液蛋白萃取物免疫接種一次
或多次)〕。所用免疫篩檢計畫為picoBlue™免疫篩檢套
件組使用手冊(得自Stratagene Inc.)所述。免疫篩檢用
cDNA表現存庫製法，之即表現cDNA純株及轉移入噬菌體溶
菌斑至膜進行免疫篩檢程序述於ZAP-cDNA合成套件組使用
手冊(亦得自Stratagene, Inc. La Jolla, California)。

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

線

五、發明說明 ()

由篩檢收集40免疫陽性純株。一種陽性免疫純株係衍生自唾腺cDNA存庫，而39株其它免疫陽性純株係衍生自全進食蚤cDNA存庫。初fspA-蛋白cDNA序列定名為nfspN(A)及nfspN(B)，分離自全進食蚤cDNA存庫，也來自此種初步篩檢。

nfspN(A)及nfspN(B)之部分核苷酸序列以序別識別編號表示。各序列約略表示cDNA基團編碼區之羧端該半及通過poly(A)區的3'末轉移區。nfspN(A)核酸分子之核苷酸序列定名為nfspN(A)₆₄₆，標示為序列識別編號50。序列識別編號50轉譯獲得具有序列識別編號51之胺基酸序列的蛋白質定名PfspN(A)₁₇₂。nfspN(B)核酸分子之核苷酸序列定名為nfspN(B)₆₁₂，標示為序列識別編號52。序列識別編號52。序列識別編號52獲得一種定名為PfspN(B)₁₅₃之蛋白質具有胺基酸序列，標示為序列識別編號53。

此外測得由nfspN(A)核酸序列演繹的名目N-端胺基酸序列定名為PfspN(A)₅₆，標示為序列識別編號54。PfspN(A)₅₆之胺基酸序列(亦即序列識別編號54)類似但非與得自fspN1(序列識別編號11)，fspN2(序列識別編號12)及fspN3(序列識別編號13)的N-端胺基酸序列完全相同。雖然不欲囿限於理論但相信蚤唾液發現一族fspN蛋白質，其可能由於蚤基因族內等位變異或多個基因所致。核酸分子nfspN(A)₆₄₆及nfspN(B)₆₁₂約76%相同，而轉譯產物約65%相同。

第二免疫篩檢實驗中由兔收集的抗血清〔兔使用實例

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

五、發明說明 ()

4 所述蚤唾液萃取物之 HPLC 分鐘 N 峰蛋白質 (亦即 fspN 蛋白質) 免疫接種] 用來探測蚤唾腺 cDNA 存庫 (如實例 6 所述製備) , 分離約 20 陽性純株。回收的核酸分子之一的核酸序列顯然與 nfspN(A) 相同。其它核酸分子中至少兩種具有類似 nfspN(A) 之核酸序列但非相同, 再度證實蚤唾液有一類 fspN 蛋白的可能。又另一核酸分子顯然具有類似肌球蛋白基因序列的核酸序列。

fspN(A) 及 fspN(B) 核酸分子及蛋白質之核酸及胺基酸序列使用 Genbank 同源性研究與已知核酸及胺基酸序列比較。發現兩種核酸序列類似人類前列腺酸性磷酸酶之核酸序列對應 (亦即羧端) 區。蚤與人類胺基酸序列間之最高度保留連續類似區, 係由人類酶之胺基酸 272 至約胺基酸 233。比較編碼人類酶約 268 至 233 之核酸序列與 nfspN(A) 及 nfspN(B) 核酸序列之對應區, 指示 nfspN(A) 約 40% 與人類前列腺酸性磷酸酶基因區相同而 nfspN(B) 約 43% 相同。比較由人類酶約胺基酸 268 至約胺基酸 333 之區域 PfspN(A) 及 PfspN(B) 對應區指示 PfspN(A) 與人類前列腺酸性磷酸酶基因區約 28% 相同, 而 PfspN(B) 約 30% 相同。可能至少若干 fspN 蛋白質編碼活性酸性磷酸酶由下述發現獲得證實, 發現蚤唾液蛋白萃取物 FS-3 具有酸性磷酸酶活性, 如實例 3 所述。

實例 13

本例驗證細胞重組細胞 (包含 fsp 蛋白) 之生產。

約 1000bp DNA 片斷, 標示為 nfspN₁₀₀₀, 使用下列引

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

五、發明說明 ()

子由編碼 fspN 蛋白質的核酸分子進行 PCR 放大：F7 訊息引子具有核酸序列 5' GGCGTCTCGAGAGAATTGAAATTTGTGTTTGC 3' (XhoI 位置為粗體) 標示為序列識別編號 46 及 F7 反訊息引子具有核酸序列 5' AGACGAGAATTCCAATTTATCATGAGCGG 3' (EcoRI 位置為粗體) 標示為序列識別編號 47。PCR 產物以 XhoI 及 EcoRI 限剪核酸內切酶消化，凝膠純化並次選殖入表現媒傳者 (得自 InVitrogen, Corp., 已經使用 XhoI 及 EcoRI 消化) 生成重組分子 pHis-nfspN₁₀₀₀。重組分子轉形入大腸桿菌 BL21 合格細胞 (得自 Novagen) 生產重組細胞 E. coli:pHis-nfspN₁₀₀₀。

實例 14

本例驗證於昆蟲細胞表現 fspN 蛋白質。

重組分子 pVL-nfspN₁₀₀₀ (含 nfspN₁₀₀₀ 核酸分子以可操作方式聯結至桿病毒多面積轉入控制序列) 係以下述方式生產。約 1000bp DNA 片斷標示為 nfspN₁₀₀₀，使用下列引子由編碼 fspN 蛋白質之核酸分子進行 PCR 放大：訊息引子 17 具有核酸序列 5' CCG GAA TTC CGG TAT AAA TAT GTG GCG TCT ACT G 3' (EcoRI 位置為粗體)，標示為序列識別編號 48 且設計為可促進昆蟲細胞的表現；及反訊息引子 18 具有核酸序列 5' CCG GAA TTC TTA AGA CGA TTT ACA TTT ATC 3' (EcoRI 位置為粗體)，標示為序列識別編號 49。PCR 產物以 EcoRI 消化且未經指導選殖入桿病毒穿梭媒傳者 pVL 1393 (得自 InVitrogen, Corp.)。取向係由酶 EcoRV 限剪消化測定。所得重組分子亦即 pVL-nfspN₁₀₀₀ 根據製

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

訂

經濟部中央標準局員工消費合作社印製

五、發明說明 ()

造商規格 (得自 InVitrogen Corp.) 與野生型線性桿病毒 DNA (AcMNPV) 及 insectin 陽離子脂小體共同轉移感染入 *S. frugiperda* 細胞 (科羅拉多州, Fort Collins, 科羅拉多生物處理中心提供) 生產重組細胞 *S. frugiperda*:pVL-nfspN₁₀₀₀。上清液使用兔抗蚤 fspN 蛋白抗血清 (由實例 12 所述, 標示為 B2237) 藉西方墨點分析於轉移感染後 5 日試驗並測得約 40kD 蛋白質。重組病毒 vBV-nfspN₁₀₀₀ 由上清液回收且經溶菌斑純化。

實例 15

本例驗證 ELISAs 用於對蚤或蚤唾液敏化犬血清檢測抗蚤唾液 IgE 抗體。

A. 第一研究中三頭已經對蚤叮咬人工敏化的犬收集得的血清匯集, 並經由匯集血清與蛋白質 G 接觸去除至少部分存在於血清的 non-IgE 免疫球蛋白而預先處理。然後 IgE 抗體使抗-A 層析術由預先處理的血清親和純化。

親和純化 IgE 抗體曝露於下列蚤唾液產物及蛋白: FS-1 唾液萃取物於 2mg/ml (23,300 蚤小時/ μ l); fspA, fspB, fspC1, fspC2, fspD1, fspD2, fspE, fspF, fspG, fspH, fspI, fspJ, fspK, fspL, fspM1, fspM2, 及 fspN (如實例 3 所述得自 233,000 蚤小時/ μ l 樣品接受 HPLC 層析)。蚤唾液產物及蛋白懸浮於 0.1M 碳酸鈉 pH9.6, 各 100 μ l 樣品放置於微力價皿的孔內。樣品於室溫培育隔夜, 以 PBS/Tween 洗 5 次, 以 PBS, 2% BSA, 0.02% NaN₃ 溶液於 37°C 封阻 1 小時並以 PBS/Tween 洗 5 次。洗滌後的孔於 37°C 曝露於

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

訂

五、發明說明 ()

100 μ l親和純化犬IgE抗體1小時。孔以PBS/Tween洗5次且於37℃曝露於100 μ l單株鼠抗貓IgE抗體製劑(於PBS2%BSA, 0.05% Triton X-100稀釋1:1000)1小時。孔以PBS/Tween洗5次, 於37℃曝露於100 μ l驢抗鼠IgG(H+L)-HRP1小時並以PBS/Tween洗5次。孔以100 μ l KPL TMB:H₂O₂展開10分鐘以50 μ l 2.5N硫酸氫鹽終止反應。孔於450nm讀值。

表18及第10圖所示結果指示FAD+犬血清含有IgE抗體其以敏感特異性方式與FS-1蚤唾液萃取物及蚤唾液蛋白fspF, fspG, fspH, fspI, fspJ, fspK, fspL, fspM1, fspM2及fspN反應。IgE抗體極少(即使有反應)與蚤唾液蛋白fspA, fspB, fspC1, fspC2, fspD1及fspD2反應。如此IgE反應密切遵循實例8之人工敏化犬使用相同蚤唾液產物及蛋白之皮膚試驗結果。

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

84110529

A7
B7

五、發明說明 ()

表 18

溶離分	抗 原 量			
	0.5μl	0.25μl	0.125 μl	0.063 μl
	0.007	0.008	0.012	0.018
B	0.016	0.010	0.013	0.052
C1	0.035	0.008	0.035	0.020
C2	0.022	0.009	0.002	0.005
D1	0.013	0.025	0.004	0.005
D2	0.059	0.018	0.017	0.012
E	0.214	0.263	0.206	0.092
F	0.276	0.393	0.217	0.114
G	0.288	0.217	-0.010	-0.010
H	0.503	0.336	0.203	0.062
I	1.076	0.997	0.917	0.637
J	0.955	0.816	0.673	0.456
K	1.095	0.898	0.815	0.690
L	0.991	0.721	0.485	0.162
M1	1.251	1.190	0.840	0.454
M2	1.561	1.105	0.902	0.558
N	1.989	1.887	1.819	1.435
FS-1	1.367	1.246	0.982	0.604
無	0.002	0.005	0.008	0.121

B. 第二研究中，由對蚤叮咬人工敏化犬收集的血清，經由與蛋白質G接觸去除至少部分存在於血清的non-IgE免疫球蛋白而預先處理。預先處理血清對FS-1蚤唾液萃取物之反應性示於實例15A測定。也試驗由感染心絲蟲犬收集的血清之FS-1蚤唾液萃取物之反應性，該血清經匯集且經由與蛋白質G接觸預先處理。結果示於表19及第11A及11B圖驗證

經濟部中央標準局員工消費合作社印製

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

線

五、發明說明 ()

得自FAD+犬之IgE具有劑量相關的反應性而得自心絲蟲感
染犬之IgE對FS-1蚤唾液萃取物不具反應性。

表 19

	血清稀釋							
	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64	1:128	無
犬 2082128								
2 µg	1.67	1.20	0.85	0.57	0.34	0.19	0.11	0.01
1 µg	1.43	1.16	0.80	0.49	0.30	0.17	0.10	0.00
0.5 µg	1.32	1.02	0.71	0.46	0.28	0.14	0.08	0.00
0.25 µg	1.18	0.92	0.59	0.38	0.22	0.12	0.06	0.00
0.13 µg	0.95	0.80	0.52	0.30	0.19	0.11	0.06	0.00
none	0.00	0.01	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.01
心絲蟲匯集物								
2 µg	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
1 µg	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
0.5 µg	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
0.25 µg	0.00	0.01	0.01	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
0.13 µg	0.01	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
無	0.01	0.01	0.01	0.00	0.00	0.00	0.01	0.00

序列清單

以下序列清單係遵照37CFR§ 1.821呈送。同時也呈送
電腦可讀程式副本。

申請人遵照37CFR§ 1.821斷言序列識別編號 1 至序列
識別編號 54之書面及電腦可讀副本內容完全相同。

(1) 一般資訊：

(1) 申請人：FRANK, CLENN R. HUNTER, SHIRLEY WU
WALLENFELS, LYNDIA

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

訂

經濟部中央標準局員工消費合作社印製

五、發明說明()

(ii)發明名稱：NOVEL ECTOPARASITE SALIVA PROTEINS
AND APPARATUS TO COLLECT SUCH
PROTEINS

(iii)序列數目：54

(iv)信函地址：

(A) 受信人：Sheridan Ross & McIntosh

(B) 街名：1700 Lincoln Street, Suite 3500

(C) 市名：Denver

(D) 州名：Colorado

(E) 國名：U.S.A.

(F) 郵遞區號：80203

(v)電腦可讀格式：

(A) 媒體類型：軟體磁碟

(B) 電腦：IBM PC相容

(C) 操作系統：PC-DOS/MS-DOS

(D) 軟體：PatentIn Release #1.0, Version #1.25

(vi)目前申請案資料：

(A) 申請案號：

(B) 申請日期：

(C) 類別：

(vii)律師／代理人資訊：

(A) 姓名：Connell, Gary J.

(B) 登錄號碼：32,020

(C) 參考編號／代理人檔案案號：2618-17-C2

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

裝

五、發明說明 ()

(ix) 電傳資訊：

(A) 電話：(303)863-9700

(B) 傳真：(303)863-0223

(2) 序列識別編號：1：

(i) 序列特點：

(A) 長度：22胺基酸

(B) 類別：胺基酸

(D) 形狀：線性

(ii) 分子類別：蛋白質

(ix) 特徵：

(A) 名稱／關鍵字：Xaa = Tyr, Gln, Ser或Arg

(B) 所在位置：1

(ix) 特徵：

(A) 名稱／關鍵字：Xaa = Gly或

(B) 所在位置：2

(ix) 特徵：

(A) 名稱／關鍵字：Xaa = Lys或Ser

(B) 所在位置：3

(ix) 特徵：

(A) 名稱／關鍵字：Xaa = Gly或Ser

(B) 所在位置：9

(ix) 特徵：

(A) 名稱／關鍵字：Xaa = Gly或Lys

(B) 所在位置：10

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

象

經濟部中央標準局員工消費合作社印製

A7
B7

五、發明說明 ()

(ix) 特徵：

(A) 名稱／關鍵字：Xaa = Arg或Ile

(B) 所在位置：14

(ix) 特徵：

(A) 名稱／關鍵字：Xaa = Ile或Leu

(B) 所在位置：17

(ix) 特徵：

(A) 名稱／關鍵字：Xaa = Lys或Asp

(B) 所在位置：19

(ix) 特徵：

(A) 名稱／關鍵字：Xaa = Gly或Leu

(B) 所在位置：21

(ix) 序列說明：序列識別編號：1：

Xaa Xaa Xaa Gln Tyr Ser Glu Lys Xaa Xaa Arg Gly Gln Xaa His Gln
1 5 10 15
Xaa Leu Xaa Lys Xaa Lys
20



(2) 序列識別編號：2：

(i) 序列特點：

(A) 長度：78胺基酸

(B) 類別：胺基酸

(D) 形狀：線性

(ii) 分子類別：蛋白質

(ix) 特徵：

(A) 名稱／關鍵字：Xaa = His或Tyr

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

象

經濟部中央標準局員工消費合作社印製

136

五、發明說明 ()

(B) 所在位置：27

(x 1) 序列說明：序列識別編號：2：

Asp Arg Arg Val Ser Lys Thr Cys Gln Ser Gly Gly Lys Ile Gln Ser
1 5 10 15
Glu Xaa Gln Val Val Ile Lys Ser Gly Gln Xaa Ile Leu Glu Asn Tyr
20 25 30
Xaa Ser Asp Gly Arg Asn Asn Asn Asn Pro Cys His Leu Phe Cys Met
35 40 45
Arg Glu Cys Arg Ser Gly Asn Gly Gly Cys Gly Asn Gly Gly Arg Thr
50 55 60
Arg Pro Asp Ser Lys His Cys Tyr Cys Glu Ala Pro Tyr Ser
65 70 75



(2) 序列識別編號：3：

(1) 序列特點：

- (A) 長度：12胺基酸
- (B) 類別：胺基酸
- (D) 形狀：線性

(11) 分子類別：蛋白質

(x 1) 序列說明：序列識別編號：3：

Asp Ser Lys His Cys Tyr Cys Glu Ala Pro Tyr Ser
1 5 10



(2) 序列識別編號：4：

(1) 序列特點：

- (A) 長度：37胺基酸
- (B) 類別：胺基酸
- (D) 形狀：線性

(11) 分子類別：蛋白質

(x 1) 序列說明：序列識別編號：4：

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

象

經濟部中央標準局員工消費合作社印製

A7
B7

五、發明說明 ()

Asp Gly Arg Asn Asn Asn Asn Pro Cys His Leu Phe Cys Met Arg Glu
1 5 10 15
Cys Arg Ser Gly Asn Gly Gly Cys Gly Asn Gly Gly Arg Thr Arg Pro
20 25 30
Asp Ser Lys His Cys
35



(2) 序列識別編號：5：

(i) 序列特點：

- (A) 長度：11胺基酸
- (B) 類別：胺基酸
- (D) 形狀：線性

(ii) 分子類別：蛋白質

(x 1) 序列說明：序列識別編號：5：

Asp Arg Arg Val Ser Lys Thr Cys Gln Ser Gly
1 5 10



(2) 序列識別編號：6：

(i) 序列特點：

- (A) 長度：38胺基酸
- (B) 類別：胺基酸
- (D) 形狀：線性

(ii) 分子類別：蛋白質

(x 1) 序列說明：序列識別編號：6：

Glu Asp Ile Trp Lys Val Asn Lys Lys Xaa Thr Ser Gly Gly Lys Asn
1 5 10 15
Gln Asp Arg Lys Leu Asp Gln Ile Ile Gln Lys Gly Gln Gln Val Xaa
20 25 30
Xaa Gln Asn Xaa Xaa Lys
35

(2) 序列識別編號：7：

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

象

五、發明說明 ()

(i) 序 列 特 點 :

- (A) 長 度 : 23 胺 基 酸
- (B) 類 別 : 胺 基 酸
- (D) 形 狀 : 線 性

(ii) 分 子 類 別 : 蛋 白 質

(x i) 序 列 說 明 : 序 列 識 別 編 號 : 7 :

Asn	Ser	His	Glu	Pro	Gly	Asn	Thr	Arg	Lys	Ile	Arg	Glu	Val	Met	Asp
1				5					10					15	
Lys	Leu	Arg	Lys	Gln	His	Pro									
				20											



(2) 序 列 識 別 編 號 : 8 :

(i) 序 列 特 點 :

- (A) 長 度 : 27 胺 基 酸
- (B) 類 別 : 胺 基 酸
- (D) 形 狀 : 線 性

(ii) 分 子 類 別 : 蛋 白 質

(x i) 序 列 說 明 : 序 列 識 別 編 號 : 8 :

Glu	Ile	Lys	Arg	Asn	Ser	His	Glu	Pro	Gly	Asn	Thr	Arg	Lys	Ile	Arg
1				5					10					15	
Glu	Val	Met	Asp	Lys	Leu	Arg	Lys	Gln	His	Pro					
			20					25							



(2) 序 列 識 別 編 號 : 9 :

(i) 序 列 特 點 :

- (A) 長 度 : 36 胺 基 酸
- (B) 類 別 : 胺 基 酸
- (D) 形 狀 : 線 性

(ii) 分 子 類 別 : 蛋 白 質

(x i) 序 列 說 明 : 序 列 識 別 編 號 : 9 :

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

象

經濟部中央標準局員工消費合作社印製

A7
B7

五、發明說明 ()

Asn Asp Lys Glu Pro Gly Asn Thr Arg Lys Ile Arg Glu Val Met Asp
1 5 10 15
Lys Leu Arg Lys Gln Ala Gln Pro Arg Thr Asp Gly Gln Arg Pro Lys
20 25 30
Thr Xaa Ile Met
35



(2) 序列識別編號：10：

(1) 序列特點：

- (A) 長度：21胺基酸
- (B) 類別：胺基酸
- (D) 形狀：線性

(11) 分子類別：蛋白質

(x 1) 序列說明：序列識別編號：10：

Xaa Leu Xaa Arg Asn Asp Lys Glu Pro Gly Asn Thr Arg Lys Ile Arg
1 5 10 15
Glu Val Met Asp Lys
20



(2) 序列識別編號：11：

(1) 序列特點：

- (A) 長度：12胺基酸
- (B) 類別：胺基酸
- (D) 形狀：線性

(11) 分子類別：DNA(基因組)

(x 1) 序列說明：序列識別編號：11：

Asn Asp Glu Leu Lys Phe Val Phe Val Met Ala Lys
1 5 10



(2) 序列識別編號：12：

(1) 序列特點：

- (A) 長度：23胺基酸
- (B) 類別：胺基酸

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

象

經濟部中央標準局員工消費合作社印製

五、發明說明 ()

(D) 形狀：線性

(II) 分子類別：蛋白質

(X 1) 序列說明：序列識別編號：12：

Xaa Asp Glu Leu Lys Phe Val Phe Val Met Ala Lys Gly Pro Ser Xaa
1 5 10 15
Gln Ala Xaa Asp Tyr Pro Cys
20



(2) 序列識別編號：13：

(I) 序列特點：

(A) 長度：20胺基酸

(B) 類別：胺基酸

(D) 形狀：線性

(II) 分子類別：蛋白質

(X 1) 序列說明：序列識別編號：13：

Glu Leu Lys Phe Val Phe Ala Thr Ala Arg Gly Met Ser His Thr Pro
1 5 10 15
Cys Asp Tyr Pro
20



(2) 序列識別編號：14：

(I) 序列特點：

(A) 長度：37胺基酸

(B) 類別：胺基酸

(D) 形狀：線性

(II) 分子類別：蛋白質

(IX) 特徵：

(A) 名稱／關鍵字：Xaa = His或Yyr

(B) 所在位置：27

(X 1) 序列說明：序列識別編號：14：

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

錄

A7
B7

五、發明說明 ()

Asp Arg Arg Val Ser Lys Thr Xaa Gln Ser Gly Gly Lys Ile Gln Ser
1 5 10 15
Glu Xaa Gln Val Val Ile Lys Ser Gly Gln Xaa Ile Leu Glu Asn Tyr
20 25 30
Xaa Ser Asp Gly Arg
35



(2) 序列識別編號：15：

(1) 序列特點：

- (A) 長度：20鹼基對
- (B) 類別：核酸
- (C) 股數：單
- (D) 形狀：線性

(II) 分子類別：DNA(引子)

(X 1) 序列說明：序列識別編號：15：

AAYAAYA AYCCNTGYCA 20



(2) 序列識別編號：16：

(1) 序列特點：

- (A) 長度：17鹼基對
- (B) 類別：核酸
- (C) 股數：單
- (D) 形狀：線性

(II) 分子類別：DNA(引子)

(X 1) 序列說明：序列識別編號：16：

CAYTCNCKCA TRCARAA 17



(2) 序列識別編號：17：

(1) 序列特點：

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

象

五、發明說明()

(A) 長度：18鹼基對

(B) 類別：核酸

(C) 股數：單

(D) 形狀：線性

(II) 分子類別：DNA(引子)

(X 1) 序列說明：序列識別編號：17：

TGYCAYYTNT TYTGYATG 18

(2) 序列識別編號：18：

(1) 序列特點：

(A) 長度：23鹼基對

(B) 類別：核酸

(C) 股數：單

(D) 形狀：線性

(II) 分子類別：DNA(引子)

(X 1) 序列說明：序列識別編號：18：

GGNGCYTCRC ARTARCARTG YTT 23

(2) 序列識別編號：19：

(1) 序列特點：

(A) 長度：17鹼基對

(B) 類別：核酸

(C) 股數：單

(D) 形狀：線性

(II) 分子類別：DNA(引子)

(X 1) 序列說明：序列識別編號：19：

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

象

五、發明說明 ()

GTAAAACGAC GGCCAGT 17

(2) 序列識別編號：20：

(i) 序列特點：

- (A) 長度：93鹼基對
- (B) 類別：核酸
- (C) 股數：單
- (D) 形狀：線性

(ii) 分子類別：DNA(引子)

(x 1) 序列說明：序列識別編號：20：

TTGTCACTTT TTTTGTATGA GAGAATGCAG GTCAGGAAAC GGCGGTTGCG GAAACGGAGG 60
AAGGACAAGA CCTGATTCTGA AGCACTGCTA TGC 93

(2) 序列識別編號：21：

(i) 序列特點：

- (A) 長度：23鹼基對
- (B) 類別：核酸
- (C) 股數：單
- (D) 形狀：線性

(ii) 分子類別：DNA(引子)

(x 1) 序列說明：序列識別編號：21：

GARGAYATHT GGAARGTNAA YAA 23

(2) 序列識別編號：22：

(i) 序列特點：

- (A) 長度：23鹼基對
- (B) 類別：核酸

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

象

經濟部中央標準局員工消費合作社印製

五、發明說明 ()

(C) 股數：單

(D) 形狀：線性

(II) 分子類別：DNA(引子)

(X 1) 序列說明：序列識別編號：22：

ACNTCNGGNG GNAARAAYCA  23

(2) 序列識別編號：23：

(1) 序列特點：

(A) 長度：20鹼基對

(B) 類別：核酸

(C) 股數：單

(D) 形狀：線性

(II) 分子類別：DNA(引子)

(X 1) 序列說明：序列識別編號：23：

TTGGGTACCG GGCCCCCCT  20

(2) 序列識別編號：24：

(1) 序列特點：

(A) 長度：573鹼基對

(B) 類別：核酸

(C) 股數：單

(D) 形狀：線性

(II) 分子類別：cDNA

(X 1) 序列說明：序列識別編號：24：

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

象

經濟部中央標準局員工消費合作社印製

五、發明說明 ()

CTTACGTCCG GGGGTAAGAA TCAGGATAGA AAACCTCGATC AAATAATTCA AAAAGGCCAA 60
CAAGTTAAAA TCCAAAATAT TTGCAAATTA ATACGAGATA AACCACATAC AAATCAAGAG 120
AAAGAAAAAT GTATGAAATT TTGCACAAAA AACGTTTGCA AAGGTTATAG AGGAGCTTGT 180
GATGGCAATA TTTGCTACTG CAGCAGGCCA AGTAATTTAG GTCCTGATTG GAAAGTCAAC 240
GAAAGAATCG AAAGACTCCC AATAACAAAG ATTCTCGTCT CAGGAAATAG TTCCATATCG 300
ACAACAATTA CGAATTCCAA ATATTTTCGAA ACTAAAAATT CAGAGACCAA TGAAGATTCC 360
AAATCGAAAA AACATTCGAA AGAAAAATGT CGTGGTGGA ATGATGCTGG ATGTGATGGA 420
AACGTTTTGT TATTGTGAC CAAAAATAA ATAATAATTA TAATAATAA ATTGTTATAG 480
TTATTAGTTA TCCCGTCACA TATTAGAAAA GTGGCTTATA ATTTATGAAC AATATAACAC 540
ATAAATTAGT TGTGTAAAAA AAAAAAAAAA AAA 573



(2) 序列識別編號：25：

(i) 序列特點：

(A) 長度：149胺基酸

(B) 類別：胺基酸

(D) 形狀：線性

(ii) 分子類別：蛋白質

(x i) 序列說明：序列識別編號：25：

Leu Thr Ser Gly Gly Lys Asn Gln Asp Arg Lys Leu Asp Gln Ile Ile
1 5 10 15
Gln Lys Gly Gln Gln Val Lys Ile Gln Asn Ile Cys Lys Leu Ile Arg
20 25 30
Asp Lys Pro His Thr Asn Gln Glu Lys Glu Lys Cys Met Lys Phe Cys
35 40 45
Thr Lys Asn Val Cys Lys Gly Tyr Arg Gly Ala Cys Asp Gly Asn Ile
50 55 60
Cys Tyr Cys Ser Arg Pro Ser Asn Leu Gly Pro Asp Trp Lys Val Asn
65 70 75 80
Glu Arg Ile Glu Arg Leu Pro Ile Thr Lys Ile Leu Val Ser Gly Asn
85 90 95
Ser Ser Ile Ser Thr Thr Ile Thr Asn Ser Lys Tyr Phe Glu Thr Lys
100 105 110
Asn Ser Glu Thr Asn Glu Asp Ser Lys Ser Lys Lys His Ser Lys Glu
115 120 125
Lys Cys Arg Gly Gly Asn Asp Arg Gly Cys Asp Gly Asn Val Leu Leu
130 135 140
Leu Ser Thr Lys Lys
145

經濟部中央標準局員工消費合作社印製

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

象

五、發明說明 ()

(2) 序列識別編號：26：

(i) 序列特點：

- (A) 長度：158胺基酸
- (B) 類別：胺基酸
- (D) 形狀：線性

(ii) 分子類別：蛋白質

(x i) 序列說明：序列識別編號：26：

Glu Asp Ile Trp Lys Val Asn Lys Lys Leu Thr Ser Gly Gly Lys Asn
1 5 10 15
Gln Asp Arg Lys Leu Asp Gln Ile Ile Gln Lys Gly Gln Gln Val Lys
20 25 30
Ile Gln Asn Ile Cys Lys Leu Ile Arg Asp Lys Pro His Thr Asn Gln
35 40 45
Glu Lys Glu Lys Cys Met Lys Phe Cys Thr Lys Asn Val Cys Lys Gly
50 55 60
Tyr Arg Gly Ala Cys Asp Gly Asn Ile Cys Tyr Cys Ser Arg Pro Ser
65 70 75 80
Asn Leu Gly Pro Asp Trp Lys Val Asn Glu Arg Ile Glu Arg Leu Pro
85 90 95
Ile Thr Lys Ile Leu Val Ser Gly Asn Ser Ser Ile Ser Thr Thr Ile
100 105 110
Thr Asn Ser Lys Tyr Phe Glu Thr Lys Asn Ser Glu Thr Asn Glu Asp
115 120 125
Ser Lys Ser Lys Lys His Ser Lys Glu Lys Cys Arg Gly Gly Asn Asp
130 135 140
Arg Gly Cys Asp Gly Asn Val Leu Leu Leu Ser Thr Lys Lys
145 150 155



(2) 序列識別編號：27：

(i) 序列特點：

- (A) 長度：10胺基酸
- (B) 類別：胺基酸
- (D) 形狀：線性

(ii) 分子類別：蛋白質

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

象

五、發明說明 ()

(ix) 特徵：

(A) 名稱／關鍵字：Xaa = Ser 或 Gln

(B) 所在位置：1

(ix) 特徵：

(A) 名稱／關鍵字：Xaa = 任何胺基酸

(B) 所在位置：8

(ix) 特徵：

(A) 名稱／關鍵字：Xaa = Gly 或 Lys

(B) 所在位置：9

(x i) 序列說明：序列識別編號：27：

Xaa Gly Lys Gln Tyr Ser Glu Xaa Xaa Lys
1 5 10

(2) 序列識別編號：28：

(i) 序列特點：

(A) 長度：6 胺基酸

(B) 類別：胺基酸

(D) 形狀：線性

(ii) 分子類別：蛋白質

(x i) 序列說明：序列識別編號：28：

Asp Arg Arg Val Ser Lys
1 5

(2) 序列識別編號：29：

(i) 序列特點：

(A) 長度：23 胺基酸

(B) 類別：胺基酸

(D) 形狀：線性

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

象

五、發明說明 ()

(ii) 分子類別：蛋白質

(ix) 特徵：

(A) 名稱／關鍵字：Xaa = 任何胺基酸

(B) 所在位置：8

(xi) 序列說明：序列識別編號：29：

Ser Lys Met Val Thr Glu Lys Xaa Lys Ser Gly Gly Asn Asn Pro Ser
1 5 10 15
Thr Lys Glu Val Ser Ile Pro
20



(2) 序列識別編號：30：

(i) 序列特點：

(A) 長度：20胺基酸

(B) 類別：胺基酸

(D) 形狀：線性

(ii) 分子類別：蛋白質

(ix) 特徵：

(A) 名稱／關鍵字：Xaa = 任何胺基酸

(B) 所在位置：15

(xi) 序列說明：序列識別編號：30：

Glu Val Ser Ile Pro Ser Gly Lys Leu Thr Ile Glu Asp Phe Xaa Ile
1 5 10 15
Gly Asn His Gln
20



(2) 序列識別編號：31：

(i) 序列特點：

(A) 長度：25胺基酸

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

裝

經濟部中央標準局員工消費合作社印製

五、發明說明 ()

(B) 類別：胺基酸

(D) 形狀：線性

(II) 分子類別：蛋白質

(X 1) 序列說明：序列識別編號：31：

Asp Ile Glu Asn Ile Lys Lys Gly Glu Gly Gln Pro Gly Ala Pro Gly
1 5 10 15
Gly Lys Glu Asn Asn Leu Ser Val Leu
20 25



(2) 序列識別編號：32：

(1) 序列特點：

(A) 長度：242鹼基對

(B) 類別：核酸

(C) 股數：單

(D) 形狀：線性

(II) 分子類別：cDNA

(IX) 特徵：

(A) 名稱／關鍵字：CDS

(B) 所在位置：3..242

(X 1) 序列說明：序列識別編號：32：

AT TTT TCC CTT TGT GTT TTA TAC CAA ATT GTG GTT GCT GAT AGA AGA
Phe Ser Leu Cys Val Leu Tyr Gln Ile Val Val Ala Asp Arg Arg
1 5 10 15
GTT TCC AAA ACA TGT CAA AGT GGA GGA AAG ATA CAA AGT GAG GAG CAA 95
Val Ser Lys Thr Cys Gln Ser Gly Gly Lys Ile Gln Ser Glu Gln
20 25 30
GTG GTA ATT AAA TCT GGA CAA CAT ATT CTT GAA AAT TAT TGC TCA GAT 143
Val Val Ile Lys Ser Gly Gln His Ile Leu Gln Asn Tyr Cys Ser Asp
35 40 45
GGG AGA AAT AAT AAT AAT CCA TGC CAC TTG TTT TGT ATG AGA GAA TGC 191
Gly Arg Asn Asn Asn Pro Cys His Leu Phe Cys Met Arg Glu Cys
50 55 60
AGG TCA GGA AAC GGC GGT TGC GGA AAC GGA GGA AGG ACA AGA CCT GAT 239
Arg Ser Gly Asn Gly Gly Cys Gly Asn Gly Gly Arg Thr Arg Pro Asp
65 70 75
TCG 242
Ser
80



(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

製

經濟部中央標準局員工消費合作社印製

五、發明說明 ()

(2) 序列識別編號：33：

(i) 序列特點：

- (A) 長度：80胺基酸
- (B) 類別：胺基酸
- (D) 形狀：線性

(ii) 分子類別：蛋白質

(x i) 序列說明：序列識別編號：33：

Phe Ser Leu Cys Val Leu Tyr Gln Ile Val Val Ala Asp Arg Arg Val
1 5 10 15
Ser Lys Thr Cys Gln Ser Gly Gly Lys Ile Gln Ser Glu Glu Gln Val
20 25 30
Val Ile Lys Ser Gly Gln His Ile Leu Glu Asn Tyr Cys Ser Asp Gly
35 40 45
Arg Asn Asn Asn Asn Pro Cys His Leu Phe Cys Met Arg Glu Cys Arg
50 55 60
Ser Gly Asn Gly Gly Cys Gly Asn Gly Gly Arg Thr Arg Pro Asp Ser
65 70 75 80

(2) 序列識別編號：34：

(i) 序列特點：

- (A) 長度：591鹼基對
- (B) 類別：核酸
- (C) 股數：單
- (D) 形狀：線性

(ii) 分子類別：cDNA

(ix) 特徵：

- (A) 名稱／關鍵字：CDS
- (B) 所在位置：1..466

(x i) 序列說明：序列識別編號：34：

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

象

經濟部中央標準局員工消費合作社印製

A7
B7

五、發明說明 ()

TGG AAA GTT AAT AAA AAA TGT ACA TCA GGT GGA AAA AAT CAA GAT AGA Trp Lys Val Asn Lys Lys Cys Thr Ser Gly Gly Lys Asn Gln Asp Arg 1 5 10 15	48
AAA CTC GAT CAA ATA ATT CAA AAA GGC CAA CAA GTT AAA ATC CAA AAT Lys Leu Asp Gln Ile Ile Gln Lys Gly Gln Gln Val Lys Ile Gln Asn 20 25 30	96
ATT TGC AAA TTA ATA CGA GAT AAA CCA CAT ACA AAT CAA GAG AAA GAA Ile Cys Lys Leu Ile Arg Asp Lys Pro His Thr Asn Gln Glu Lys Glu 35 40 45	144
AAA TGT ATG AAA TTT TGC ACA AAA AAC GTT TGC AAA GGT TAT AGA GGA Lys Cys Met Lys Phe Cys Thr Lys Asn Val Cys Lys Gly Tyr Arg Gly 50 55 60	192
GCT TGT GAT GGC AAT ATT TGC TAC TGC AGC AGG CCA AGT AAT TTA GGT Ala Cys Asp Gly Asn Ile Cys Tyr Cys Ser Arg Pro Ser Asn Leu Gly 65 70 75 80	240
CCT GAT TGG AAA GTC AAC GAA AGA ATC GAA AGA CTC CCA ATA ACA AAG Pro Asp Trp Lys Val Asn Glu Arg Ile Glu Arg Leu Pro Ile Thr Lys 85 90 95	288
ATT CTC GTC TCA GGA AAT AGT TCC ATA TCG ACA ACA ATT ACG AAT TCC Ile Leu Val Ser Gly Asn Ser Ser Ile Ser Thr Thr Ile Thr Asn Ser 100 105 110	336
AAA TAT TTC GAA ACT AAA AAT TCA GAG ACC AAT GAA GAT TCC AAA TCG Lys Tyr Phe Glu Thr Lys Asn Ser Glu Thr Asn Glu Asp Ser Lys Ser 115 120 125	384
AAA AAA CAT TCG AAA GAA AAA TGT CGT GGT GGA AAT GAT CGT GGA TGT Lys Lys His Ser Lys Glu Lys Cys Arg Gly Gly Asn Asp Arg Gly Cys 130 135 140	432
GAT GGA AAC GTT TTG TTA TTG TCG ACC AAA AAA T AAATAATAAT Asp Gly Asn Val Leu Leu Ser Thr Lys Lys 145 150 155	476
TATAATAAAT AAATTGTTAT AGTTATTAGT TATCCCGTCA CATATTAGAA AAGTGGCTTA TAATTTATGA ACAATATAAC ACATAAATTA GTTGTGTAAA AAAAAAAAAA AAAAA	536 591

(2) 序列識別編號：35：

(1) 序列特點：

- (A) 長度：155胺基酸
- (B) 類別：胺基酸
- (D) 形狀：線性

(ii) 分子類別：蛋白質

(x i) 序列說明：序列識別編號：35：



經濟部中央標準局員工消費合作社印製

五、發明說明 ()

Trp Lys Val Asn Lys Lys Cys Thr Ser Gly Gly Lys Asn Gln Asp Arg
1 5 10 15
Lys Leu Asp Gln Ile Ile Gln Lys Gly Gln Gln Val Lys Ile Gln Asn
20 25 30
Ile Cys Lys Lys Leu Ile Arg Asp Lys Pro His Thr Asn Gln Glu Lys Glu
35 40 45
Lys Cys Met Lys Phe Cys Thr Lys Asn Val Cys Lys Gly Tyr Arg Gly
50 55 60
Ala Cys Asp Gly Asn Ile Cys Tyr Cys Ser Arg Pro Ser Asn Leu Gly
65 70 75 80
Pro Asp Trp Lys Val Asn Glu Arg Ile Glu Arg Leu Pro Ile Thr Lys
85 90 95
Ile Leu Val Ser Gly Asn Ser Ser Ile Ser Thr Thr Ile Thr Asn Ser
100 105 110
Lys Tyr Phe Glu Thr Lys Asn Ser Glu Thr Asn Glu Asp Ser Lys Ser
115 120 125
Lys Lys His Ser Lys Glu Lys Cys Arg Gly Gly Asn Asp Arg Gly Cys
130 135 140
Asp Gly Asn Val Leu Leu Ser Thr Lys Lys
145 150 155



(2) 序列識別編號：36：

(i) 序列特點：

- (A) 長度：34鹼基對
- (B) 類別：核酸
- (C) 股數：單
- (D) 形狀：線性

(ii) 分子類別：引子

(x i) 序列說明：序列識別編號：36：

ATTCGGATCC ATGGAAAGTT AATAAAAAAT GTAC 34

(2) 序列識別編號：37：

(i) 序列特點：

- (A) 長度：37鹼基對
- (B) 類別：核酸

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

訂

象

五、發明說明 ()

(C) 股數：單

(D) 形狀：線性

(II) 分子類別：引子

(X 1) 序列說明：序列識別編號：37：

TAATGGATCC TTATTTTTTG GTCGACAATA AC 32

(2) 序列識別編號：38：

(I) 序列特點：

(A) 長度：22鹼基對

(B) 類別：核酸

(C) 股數：單

(D) 形狀：線性

(II) 分子類別：引子

(X 1) 序列說明：序列識別編號：38：

CCTGACCTGC ATTCTCTCAT AC 22

(2) 序列識別編號：39：

(I) 序列特點：

(A) 長度：27鹼基對

(B) 類別：核酸

(C) 股數：單

(D) 形狀：線性

(II) 分子類別：引子

(X 1) 序列說明：序列識別編號：39：

AGGTCTTGTC CTTCTCCGT TTCCCA 27

(2) 序列識別編號：40：

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

象

經濟部中央標準局員工消費合作社印製

A7
B7

五、發明說明 ()

(1) 序 列 特 點 :

- (A) 長 度 : 19 鹼 基 對
- (B) 類 別 : 核 酸
- (C) 股 數 : 單
- (D) 形 狀 : 線 性

(11) 分 子 類 別 : 引 子

(x 1) 序 列 說 明 : 序 列 識 別 編 號 : 40 :

GGAAACAGCT ATGACCATC 19

(2) 序 列 識 別 編 號 : 41 :

(1) 序 列 特 點 :

- (A) 長 度 : 17 鹼 基 對
- (B) 類 別 : 核 酸
- (C) 股 數 : 單
- (D) 形 狀 : 線 性

(11) 分 子 類 別 : 引 子

(x 1) 序 列 說 明 : 序 列 識 別 編 號 : 41 :

ATTAACCCTC ACTAAAG 17

(2) 序 列 識 別 編 號 : 42 :

(1) 序 列 特 點 :

- (A) 長 度 : 22 鹼 基 對
- (B) 類 別 : 核 酸
- (C) 股 數 : 單
- (D) 形 狀 : 線 性

(11) 分 子 類 別 : 引 子

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

象

經濟部中央標準局員工消費合作社印製

A7

B7

五、發明說明 ()

(x i) 序列說明：序列識別編號：42：

GCAAAGGTTA TAGAGGAGCT TG 22

(2) 序列識別編號：43：

(i) 序列特點：

(A) 長度：20鹼基對

(B) 類別：核酸

(C) 股數：單

(D) 形狀：線性

(ii) 分子類別：引子

(x i) 序列說明：序列識別編號：43：

AGCTTTCCAT CACATCCAGC 20

(2) 序列識別編號：44：

(i) 序列特點：

(A) 長度：54鹼基對

(B) 類別：核酸

(C) 股數：單

(D) 形狀：線性

(ii) 分子類別：引子

(x i) 序列說明：序列識別編號：44：

CGCGGATCCT ATAAATATGG AGGACATCTG GAAAGTTAAT AAAAAATGTA CAC 54

(2) 序列識別編號：45：

(i) 序列特點：

(A) 長度：39鹼基對

(B) 類別：核酸

A7
B7

五、發明說明 ()

(C) 股數：單

(D) 形狀：線性

(II) 分子類別：引子

(X I) 序列說明：序列識別編號：45：

GCTCTAGAGC ATTTATTTTT TGGTCGACAA TAACAAAAC



39

(2) 序列識別編號：46：

(I) 序列特點：

(A) 長度：33鹼基對

(B) 類別：核酸

(C) 股數：單

(D) 形狀：線性

(II) 分子類別：引子

(X I) 序列說明：序列識別編號：46：

GGCGTCTCGA GAGAATTGAA ATTTGTGTTT GCG



33

(2) 序列識別編號：47：

(I) 序列特點：

(A) 長度：29鹼基對

(B) 類別：核酸

(C) 股數：單

(D) 形狀：線性

(II) 分子類別：引子

(X I) 序列說明：序列識別編號：47：

AGACGAGAAT TCCAATTTAT CATGAGCGG

29

(2) 序列識別編號：48：

經濟部中央標準局員工消費合作社印製

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

象

五、發明說明 ()

(i) 序列特點：

- (A) 長度：34鹼基對
- (B) 類別：核酸
- (C) 股數：單
- (D) 形狀：線性

(ii) 分子類別：引子

(x 1) 序列說明：序列識別編號：48：

CCGGAATTCC GGTATAAATA TGTGGCGTCT  34

(2) 序列識別編號：49：

(i) 序列特點：

- (A) 長度：33鹼基對
- (B) 類別：核酸
- (C) 股數：單
- (D) 形狀：線性

(ii) 分子類別：引子

(x 1) 序列說明：序列識別編號：49：

CCGGAATTCT TAAGACGATT TACACAATT  33

(2) 序列識別編號：50：

(i) 序列特點：

- (A) 長度：646鹼基對
- (B) 類別：核酸
- (C) 股數：單
- (D) 形狀：線性

(ii) 分子類別：cDNA

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

象

經濟部中央標準局員工消費合作社印製

五、發明說明 ()

(ix) 特徵：

(A) 名稱 / 關鍵字：CDS

(B) 所在位置：3..519

(x 1) 序列說明：序列識別編號：50：

CG GCA CGA GCT CGG TCT GTT GGA AGT ATG AAA AAC AAA TTG AAA AGT	47
Ala Arg Ala Arg Ser Val Gly Ser Met Lys Asn Lys Leu Lys Ser	
1 5 10 15	
TTT TCC GAG AAA TAT GTA TGG GCG GCT TTA ACT TCT AAC GAC AAT CTT	95
Phe Ser Glu Lys Tyr Val Trp Ala Ala Leu Thr Ser Asn Asp Asn Leu	
20 25 30	
AGG AAA ATG TCT GGA GGT CGT ATG ATT AAC GAT ATA TTG AAC GAT ATC	143
Arg Lys Met Ser Gly Gly Arg Met Ile Asn Asp Ile Leu Asn Asp Ile	
35 40 45	
GAT AAT ATA AAG AAA GGA AAT GGA CAA CCG AAT GCT CCT GGA AAA ACT	191
Asp Asn Ile Lys Lys Gly Asn Gly Gln Pro Asn Ala Pro Gly Lys Thr	
50 55 60	
GAA AAT AAA TTA TCG GTG TCT GAC CGT TCC TCA AGG TAT CTT AGC AGC	239
Glu Asn Lys Leu Ser Val Ser Asp Arg Ser Ser Arg Tyr Leu Ser Ser	
65 70 75	
ATT CGT TTC AGC CTT TTT CGT CCA AGG TAC AAA ATT GAA AAT CAG GAC	287
Ile Arg Phe Ser Leu Phe Arg Pro Arg Tyr Lys Ile Glu Asn Gln Asp	
80 85 90 95	
CTT GAA CCG TCT AGT TTA TAT CCT GGC CAA GGA GCC CTC CAT GTT ATT	335
Leu Glu Pro Ser Ser Leu Tyr Pro Gly Gln Gly Ala Leu His Val Ile	
100 105 110	
GAA CTG CAC AAA GAT AAG AAT CAG TGG AAT GTA AAA ACC CTC TAT AGA	383
Glu Leu His Lys Asp Lys Asn Gln Trp Asn Val Lys Thr Leu Tyr Arg	
115 120 125	
AAC AAT GAC CAA CAG GAA CTC AAA CCT ATG AAA CTT GCA AAA TGC GGT	431
Asn Asn Asp Gln Gln Glu Leu Lys Pro Met Lys Leu Ala Lys Cys Gly	
130 135 140	
GAC ACA TGT TCT TAT GAA ACT TTC AAA TCA ACT CTA CAA TCC TAT AAC	479
Asp Thr Cys Ser Tyr Glu Thr Phe Lys Ser Thr Leu Gln Ser Tyr Asn	
145 150 155	
ATG GAT AAG ACC GCT CAT GAT AAA TTG TGT AAA TCG TCT T AAAAATTATT	529
Met Asp Lys Thr Ala His Asp Lys Leu Cys Lys Ser Ser	
160 165 170	
CGTGAAAAAT AGAATTTTAT TGCTATTTTC TGTAACCA TATAAAGCTA TTTTAATACT	589
TTGTACAGTA TATACATAAT AAATTGCTAC ATTTGCTCTA AAAAAAAAAA AAAAAA	646

(2) 序列識別編號：51：

(1) 序列特點：

(A) 長度：172胺基酸

經濟部中央標準局員工消費合作社印製

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

製

A7
B7

五、發明說明 ()

(B) 類別：胺基酸

(D) 形狀：線性

(II) 分子類別：蛋白質

(X 1) 序列說明：序列識別編號：51：

Ala Arg Ala Arg Ser Val Gly Ser Met Lys Asn Lys Leu Lys Ser Phe
1 5 10 15
Ser Glu Lys Tyr Val Trp Ala Ala Leu Thr Ser Asn Asp Asn Leu Arg
20 25 30
Met Ser Gly Gly Arg Met Ile Asn Asp Ile Leu Asn Asp Ile Asp
35 40 45
Asn Ile Lys Lys Gly Asn Gly Gln Pro Asn Ala Pro Gly Lys Thr Glu
50 55 60
Asn Lys Leu Ser Val Ser Asp Arg Ser Ser Arg Tyr Leu Ser Ser Ile
65 70 75 80
Arg Phe Ser Leu Phe Arg Pro Arg Tyr Lys Ile Glu Asn Gln Asp Leu
85 90 95
Glu Pro Ser Ser Leu Tyr Pro Gly Gln Gly Ala Leu His Val Ile Glu
100 105 110
Leu His Lys Asp Lys Asn Gln Trp Asn Val Lys Thr Leu Tyr Arg Asn
115 120 125
Asn Asp Gln Gln Glu Leu Lys Pro Met Lys Leu Ala Lys Cys Gly Asp
130 135 140
Thr Cys Ser Tyr Glu Thr Phe Lys Ser Thr Leu Gln Ser Tyr Asn Met
145 150 155 160
Asp Lys Thr Ala His Asp Lys Leu Cys Lys Ser Ser
165 170

(2) 序列識別編號：52：

(1) 序列特點：

(A) 長度：612鹼基對

(B) 類別：核酸

(C) 股數：單

(D) 形狀：線性

(II) 分子類別：cDNA

(IX) 特徵：

經濟部中央標準局員工消費合作社印製

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

裝

A7
B7

五、發明說明 ()

(A) 名稱 / 關鍵字 : CDS

(B) 所在位置 : 2..461

(X 1) 序列說明 : 序列識別編號 : 52 :

C GGC ACG AGG AAA AAC GAG CTG AAA AGT TTT TCC GAA GAA TAT TTA	46
Gly Thr Arg Lys Asn Glu Leu Lys Ser Phe Ser Glu Glu Tyr Leu	
1 5 10 15	
CGG AGG GCT CTA ACT TCT AAT GAG AAT CTT AGA AAG ATG TCA GGA GGC	94
Arg Ala Leu Thr Ser Asn Glu Asn Leu Arg Lys Met Ser Gly Gly	
20 25 30	
CGT ATG ATT AAC GAT ATA TTG AAC GAT ATC GAT AGT ATA AAA GAA GAA	142
Arg Met Ile Asn Asp Ile Leu Asn Asp Ile Asp Ser Ile Lys Glu Glu	
35 40 45	
AGG GAC AAC CGG GTG CTC CTG GAA AAA CAG GAA ATT AAA TTA TCA ATG	190
Arg Asp Asn Arg Val Leu Leu Glu Lys Gln Glu Ile Lys Leu Ser Met	
50 55 60	
CTG ACC GTT CCT CAA GCT ATC TTA GCA GCA TTT GTT TCA GCT TTT GCT	238
Leu Thr Val Pro Gln Ala Ile Leu Ala Ala Phe Val Ser Ala Phe Ala	
65 70 75	
CCC AAA GGT ACA AAA ATT GAA AAT CAG GAC CTT GGT CCG TCT AGT TTA	286
Pro Lys Gly Thr Lys Ile Glu Asn Gln Asp Leu Gly Pro Ser Ser Leu	
80 85 90 95	
TAT CCT GGC CAA GGA GCA CTC CAC GTT ATT GAA CTG CAC AAG GAT AAC	334
Tyr Pro Gly Gln Gly Ala Leu His Val Ile Glu Leu His Lys Asp Asn	
100 105 110	
AAC CAA TGG AGT GTG AAA GTT CTC TAT AGA AAC AAT GAC AAA ATG GAA	382
Asn Gln Trp Ser Val Lys Val Leu Tyr Arg Asn Asn Asp Lys Met Glu	
115 120 125	
CTG GAA CCT ATG AAA CTT CAA TCA TGC GAT GAC AAA TGT CCT TGT GAA	430
Leu Glu Pro Met Lys Leu Pro Ser Cys Asp Asp Lys Cys Pro Cys Glu	
130 135 140	
CTT TTA AAT CAA CTC TAC AAT CCT ATG ATA T GAAAAAGCAG TCATGTAAAT	481
Leu Leu Asn Gln Leu Tyr Asn Pro Met Ile	
145 150	
TATGTAAAAA GCAATAAAAC TGTGGGCAAA ACATACACTT GAACATATTC TGCAAAATTA	541
TATGACGTTA TTTTAAATAT CACGAAATAA ACTACAAACA AACATATACA AATAAAAAAA	601
AAAAAAAAA A	612

(2) 序列識別編號 : 53 :

(i) 序列特點 :

(A) 長度 : 153胺基酸

(B) 類別 : 胺基酸

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

五、發明說明 ()

(D) 形狀：線性

(II) 分子類別：蛋白質

(X 1) 序列說明：序列識別編號：53：

 Gly Thr Arg Lys Asn Glu Leu Lys Ser Phe Ser Glu Glu Tyr Leu Trp
1 5 10 15
Arg Ala Leu Thr Ser Asn Glu Asn Leu Arg Lys Met Ser Gly Gly Arg
20 25 30
Met Ile Asn Asp Ile Leu Asn Asp Ile Asp Ser Ile Lys Glu Glu Arg
35 40 45
Asp Asn Arg Val Leu Leu Glu Lys Gln Glu Ile Lys Leu Ser Met Leu
50 55 60
Thr Val Pro Gln Ala Ile Leu Ala Ala Phe Val Ser Ala Phe Ala Pro
65 70 75 80
Lys Gly Thr Lys Ile Glu Asn Gln Asp Leu Gly Pro Ser Ser Leu Tyr
85 90 95
Pro Gly Gln Gly Ala Leu His Val Ile Glu Leu His Lys Asp Asn Asn
100 105 110
Gln Trp Ser Val Lys Val Leu Tyr Arg Asn Asn Asp Lys Met Glu Leu
115 120 125
Glu Pro Met Lys Leu Pro Ser Cys Asp Asp Lys Cys Pro Cys Glu Leu
130 135 140
Leu Asn Gln Leu Tyr Asn Pro Met Ile
145 150

(2) 序列識別編號：54：

(1) 序列特點：

(A) 長度：56胺基酸

(B) 類別：胺基酸

(D) 形狀：線性

(II) 分子類別：蛋白質

(X 1) 序列說明：序列識別編號：54：

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

經濟部中央標準局員工消費合作社印製

A7
B7

五、發明說明 ()

Met Trp Arg Leu Leu Val Ile Ser Ser Ala Leu Ile Ile Gln Asn
1 5 10 15
Val Asn Ala Glu Leu Lys Phe Val Phe Ala Thr Ala Thr Arg Tyr Val
20 25 30
Ser His Thr Pro Ser Pro Cys Asp Pro Gly Gly Pro Lys Ile Thr Asn
35 40 45
Lys Pro Gly Asp Phe Gln Arg Val
50 55

雖然已經詳細說明本發明之多個具體例，但顯然易知
業界人士可對該等具體例做修改與調整。但需明白了解此
等修改及調整皆屬如下申請專利範圍界定的本發明之範圍
。

元件標號對照

- | | |
|-------------|------------|
| 2....唾液收集裝置 | 20....頂端 |
| 4....殼體 | 22....底端 |
| 6....小室，室 | 24....收集裝置 |
| 8....第一部分 | 26....內部空間 |
| 10....第二部分 | 28....障壁裝置 |
| 12....外徑 | 30....側壁 |
| 14....內徑 | 32....橡皮封 |
| 16....交換裝置 | 34....吸墨裝置 |
| 18....容納裝置 | |

經濟部中央標準局員工消費合作社印製

所
163
15

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

訂

四、中文發明摘要 (發明之名稱：

外寄生蟲唾液蛋白質及收集此蛋白質的裝置)

本發明係關於一種新穎產物及一種用以分離外寄生蟲唾液蛋白之方法，及一種於檢測及／或治療動物體內過敏性皮膚炎之新穎產物及方法。本發明包含一種可收集大體不含污染物質之外寄生蟲唾液蛋白之唾液蛋白收集裝置。本發明亦係關於外寄生蟲唾液蛋白，具有編碼該等蛋白質之序列的核酸分子，及針對該蛋白質而被提引出之抗體。本發明亦包含獲得此等蛋白質之方法，及使用此種蛋白質來鑑別對過敏性皮膚炎敏感或患有該病的動物之方法。本發明亦包含包括含有此等蛋白質之治療組成物，及其用於治療對過敏性皮膚炎敏感或患有該症的動物之用途。

英文發明摘要 (發明之名稱：

NOVEL ECTOPARASITE SALIVA PROTEINS AND APPARATUS TO COLLECT SUCH PROTEINS)

The present invention is directed to a novel product and method for isolating ectoparasite saliva proteins, and a novel product and method for detecting and/or treating allergic dermatitis in an animal. The present invention includes a saliva protein collection apparatus capable of collecting ectoparasite saliva proteins substantially free of contaminating material. The present invention also relates to ectoparasite saliva proteins, nucleic acid molecules having sequences that encode such proteins, and antibodies raised against such proteins. The present invention also includes methods to obtain such proteins and to use such proteins to identify animals susceptible to or having allergic dermatitis. The present invention also includes therapeutic compositions comprising such proteins and their use to treat animals susceptible to or having allergic dermatitis.



(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁各欄)

裝

訂

線

經濟部中央標準局員工消費合作社印製

公告本

A8
B8
C8
D8

六、申請專利範圍

修正
90.10.10 補充

第084110549號專利再審查案申請專利範圍修正本

修正日期：90年10月

1. 一種治療或診斷患有蚤過敏性皮炎之患者的藥學組成物，該組成物包含有一蚤唾液蛋白，其具有選自下列群組的胺基酸序列：

Xaa Xaa Xaa Gln Tyr Ser Glu Lys Xaa Xaa Arg Gly Gln Xaa
His Gln Xaa Leu Xaa Lys Xaa Lys (序列識別編號：1)； 001-

其中 Xaa 於位置 1 為 Tyr、Gln、Ser 或 Arg，
Xaa 於位置 2 為 Gly 或 Tyr，
Xaa 於位置 3 為 Lys 或 Ser，
Xaa 於位置 9 為 Gly 或 Ser，
Xaa 於位置 10 為 Gly 或 Lys，
Xaa 於位置 14 為 Arg 或 Ile，
Xaa 於位置 17 為 Ile 或 Leu，
Xaa 於位置 19 為 Lys 或 Asp，
及 Xaa 於位置 21 為 Gly 或 Leu；

Asp

Arg Arg Val Ser Lys Thr Cys Gln Ser Gly Gly Lys Ile Gln Ser Glu
Xaa Gln Val Val Ile Lys Ser Gly Gln Xaa Ile Leu Glu Asn Tyr Xaa
Ser Asp Gly Arg Asn Asn Asn Asn Pro Cys His Leu Phe Cys Met Arg
Glu Cys Arg Ser Gly Asn Gly Gly Cys Gly Asn Gly Gly Arg Thr Arg
Pro Asp Ser Lys His Cys Tyr Cys Glu Ala Pro Tyr Ser (序列識別編號：2)； 001

其中 Xaa 於位置 18 及 33 為一種胺基酸，
及 Xaa 於位置 27 為 His 或 Tyr；

Asp Ser Lys His Cys Tyr Cys Glu Ala Pro Tyr Ser (序列識別編號：3)； 002

A8
B8
C8
D8

六、申請專利範圍

Asp Gly Arg Asn Asn Asn Asn Pro Cys His Leu Phe Cys Met
Arg Glu Cys Arg Ser Gly Asn Gly Gly Cys Gly Asn Gly Gly Arg Thr
Arg Pro Asp Ser Lys His Cys (序列識別編號: 4);

Asp Arg Arg Val Ser Lys Thr Cys Gln Ser Gly (序列識別編號: 5);

Glu Asp Ile Trp Lys Val
Asn Lys Lys Xaa Thr Ser Gly Gly Lys Asn Gln Asp Arg Lys Leu Asp
Gln Ile Ile Gln Lys Gly Gln Gln Val Xaa Xaa Gln Asn Xaa Xaa Lys
(序列識別編號: 6);

其中 Xaa 於位置 10、32、33、36 及 37 為一種胺基酸;

Asn Ser His Glu Pro Gly Asn Thr Arg Lys Ile Arg
Glu Val Met Asp Lys Leu Arg Lys Gln His Pro (序列識別編號: 7);

Glu
Ile Lys Arg Asn Ser His Glu Pro Gly Asn Thr Arg Lys Ile Arg Glu
Val Met Asp Lys Leu Arg Lys Gln His Pro (序列識別編號: 8);

Asn Asp
Lys Glu Pro Gly Asn Thr Arg Lys Ile Arg Glu Val Met Asp Lys Leu
Arg Lys Gln Ala Gln Pro Arg Thr Asp Gly Gln Arg Pro Lys Thr Xaa
Ile Met (序列識別編號: 9);

其中 Xaa 於位置 34 為一種胺基酸;

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝
訂
線

經濟部智慧財產局員工消費合作社印製

六、申請專利範圍

Xaa Leu Xaa Arg Asn Asp Lys Glu Pro Gly
Asn Thr Arg Lys Ile Arg Glu Val Met Asp Lys (序列識別編號：10)；

其中 Xaa 於位置 1 及 3 為一種 胺基酸；

Asn Asp Glu Leu Lys Phe Val Phe Val Met Ala Lys (序列識別編號：11)；

Xaa Asp Glu Leu Lys Phe Val Phe Val Met Ala Lys Gly Pro Ser
Xaa Gln Ala Xaa Asp Tyr Pro Cys (序列識別編號：12)；

其中 Xaa 於位置 1、16 及 19 為一種 胺基酸；

Glu Leu Lys Phe Val Phe Ala Thr Ala Arg Gly Met Ser His Thr
Pro Cys Asp Tyr Pro (序列識別編號：13)；

Asp Arg Arg Val Ser Lys Thr Xaa Gln Ser Gly Gly Lys Ile
Gln Ser Glu Xaa Gln Val Val Ile Lys Ser Gly Gln Xaa Ile Leu Glu
Asn Tyr Xaa Ser Asp Gly Arg (序列識別編號：14)；

Xaa 於位置 8、18 及 33 為一種胺基酸，
及 Xaa 於位置 27 為 His 或 Tyr；

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

訂
線

經濟部智慧財產局員工消費合作社印製

六、申請專利範圍

Leu Thr Ser Gly Gly

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

(序列識別編號: 25);

Glu Asp Ile Trp Lys Val Asn Lys Lys Leu Thr Ser
Gly Gly Lys Asn Gln Asp Arg Lys Leu Asp Gln Ile Ile Gln Lys Gly
Gln Gln Val Lys Ile Gln Asn Ile Cys Lys Leu Ile Arg Asp Lys Pro
His Thr Asn Gln Glu Lys Glu Lys Cys Met Lys Phe Cys Thr Lys Asn
Val Cys Lys Gly Tyr Arg Gly Ala Cys Asp Gly Asn Ile Cys Tyr Cys
Ser Arg Pro Ser Asn Leu Gly Pro Asp Trp Lys Val Asn Glu Arg Ile
Glu Arg Leu Pro Ile Thr Lys Ile Leu Val Ser Gly Asn Ser Ser Ile
Ser Thr Thr Ile Thr Asn Ser Lys Tyr Phe Glu Thr Lys Asn Ser Glu
Thr Asn Glu Asp Ser Lys Ser Lys Lys His Ser Lys Glu Lys Cys Arg
Gly Gly Asn Asp Arg Gly Cys Asp Gly Asn Val Leu Leu Leu Ser Thr
Lys Lys (序列識別編號: 26);

Xaa Gly Lys Gln Tyr Ser Glu Xaa Xaa Lys (序列識別編號: 27);

其中 Xaa 於位置 1 為 Ser 或 Gln，
Xaa 於位置 8 為一種胺基酸，
及 Xaa 於位置 9 為 Gly 或 Lys；

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

訂
線

六、申請專利範圍

Asp Arg Arg Val Ser Lys (序列識別編號：28)；

Ser Lys

Met Val Thr Glu Lys Xaa Lys Ser Gly Gly Asn Asn Pro Ser Thr Lys
Glu Val Ser Ile Pro (序列識別編號：29)；

其中 Xaa 於位置 8 為一種胺基酸；

Glu Val Ser Ile Pro Ser Gly

Lys Leu Thr Ile Glu Asp Phe Xaa Ile Gly Asn His Gln (序列識別編號：30)

其中 Xaa 於位置 15 為一種胺基酸；

Asp Ile Glu Asn Ile Lys Lys Gly Glu Gly Gln Pro Gly Ala
Pro Gly Gly Lys Glu Asn Asn Leu Ser Val Leu (序列識別編號：31)；

Phe

Ser Leu Cys Val Leu Tyr Gln Ile Val Val Ala Asp Arg Arg Val Ser
Lys Thr Cys Gln Ser Gly Gly Lys Ile Gln Ser Glu Glu Gln Val Val
Ile Lys Ser Gly Gln His Ile Leu Glu Asn Tyr Cys Ser Asp Gly Arg
Asn Asn Asn Asn Pro Cys His Leu Phe Cys Met Arg Glu Cys Arg Ser
Gly Asn Gly Gly Cys Gly Asn Gly Gly Arg Thr Arg Pro Asp Ser (序列
識別編號：33)；

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

經濟部智慧財產局員工消費合作社印製

六、申請專利範圍

Thr Asn Ser Lys Tyr Phe Glu Thr Lys Asn Ser Glu Thr Asn Glu Asp
Ser Lys Ser Lys Lys His Ser Lys Glu Lys Cys Arg Gly Gly Asn Asp
Arg Gly Cys Asp Gly Asn Val Leu Leu Leu Ser Thr Lys Lys (序列識別編號: 35);

Ala Arg Ala Arg Ser Val Gly Ser Met Lys Asn Lys Leu Lys
Ser Phe Ser Glu Lys Tyr Val Trp Ala Ala Leu Thr Ser Asn Asp Asn
Leu Arg Lys Met Ser Gly Gly Arg Met Ile Asn Asp Ile Leu Asn Asp
Ile Asp Asn Ile Lys Lys Gly Asn Gly Gln Pro Asn Ala Pro Gly Lys
Thr Glu Asn Lys Leu Ser Val Ser Asp Arg Ser Ser Arg Tyr Leu Ser
Ser Ile Arg Phe Ser Leu Phe Arg Pro Arg Tyr Lys Ile Glu Asn Gln
Asp Leu Glu Pro Ser Ser Leu Tyr Pro Gly Gln Gly Ala Leu His Val
Ile Glu Leu His Lys Asp Lys Asn Gln Trp Asn Val Lys Thr Leu Tyr
Arg Asn Asn Asp Gln Gln Glu Leu Lys Pro Met Lys Leu Ala Lys Cys
Gly Asp Thr Cys Ser Tyr Glu Thr Phe Lys Ser Thr Leu Gln Ser Tyr
Asn Met Asp Lys Thr Ala His Asp Lys Leu Cys Lys Ser Ser (序列識別編號: 51);

Gly Thr Arg Lys Asn Glu Leu Lys Ser Phe Ser Glu Glu Tyr
Leu Trp Arg Ala Leu Thr Ser Asn Glu Asn Leu Arg Lys Met Ser Gly
Gly Arg Met Ile Asn Asp Ile Leu Asn Asp Ile Asp Ser Ile Lys Glu
Glu Arg Asp Asn Arg Val Leu Leu Glu Lys Gln Glu Ile Lys Leu Ser
Met Leu Thr Val Pro Gln Ala Ile Leu Ala Ala Phe Val Ser Ala Phe
Ala Pro Lys Gly Thr Lys Ile Glu Asn Gln Asp Leu Gly Pro Ser Ser
Leu Tyr Pro Gly Gln Gly Ala Leu His Val Ile Glu Leu His Lys Asp
Asn Asn Gln Trp Ser Val Lys Val Leu Tyr Arg Asn Asn Asp Lys Met
Glu Leu Glu Pro Met Lys Leu Pro Ser Cys Asp Asp Lys Cys Pro Cys
Glu Leu Leu Asn Gln Leu Tyr Asn Pro Met Ile (序列識別編號: 53); 以及

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝
訂
線

經濟部智慧財產局員工消費合作社印製

六、申請專利範圍

Met Trp Arg Leu Leu Leu Val Ile Ser Ser Ala Leu Ile Ile Gln Asn
Val Asn Ala Glu Leu Lys Phe Val Phe Ala Thr Ala Thr Arg Tyr Val
Ser His Thr Pro Ser Pro Cys Asp Pro Gly Gly Pro Lys Ile Thr Asn
Lys Pro Gly Asp Phe Gln Arg Val (序列識別編號:54) 017

2. 如申請專利範圍第1項之藥學組成物，其中該組成物係為一種用以治療過敏性皮膚炎之治療組成物，其中該蚤唾液蛋白存在於一選自下列群組的蚤唾液萃取物中：
FS-1、FS-2和FS-3蚤唾液萃取物。
3. 如申請專利範圍第1或2項之藥學組成物，其中該蚤唾液蛋白係選自於由 fspA、fspB、fspG1、fspG2、fspG3、fspH、fspI、fspJ1、fspJ2、fspK、fspL1、fspL2、fspM1、fspM2、fspN1、fspN2及 fspN3所構成之群組中。
4. 如申請專利範圍第1或2項之藥學組成物，其中該組成物包括一選自於下列所構成之群組中的蚤唾液萃取物：
FS-1蚤唾液萃取物、FS-2蚤唾液萃取物及FS-3蚤唾液萃取物。
5. 如申請專利範圍第1或2項之藥學組成物，其中該組成物包括至少一種選自下列群組之蚤唾液蛋白：fspA、fspB、fspG1、fspG2、fspG3、fspH、fspI、fspJ1、fspJ2、fspK、fspL1、fspL2、fspM1、fspM2、fspN1、fspN2及 fspN3。
6. 如申請專利範圍第1或2項之藥學組成物，其中該組成物包括一選自下列群組之外寄生蟲唾液蛋白：fspA、fspB、fspG1、fspG2、fspG3、fspH、fspI、fspJ1、fspJ2、

六、申請專利範圍

fspK、fspL1、fspL2、fspM1、fspM2、fspN1、fspN2及 fspN3。

7. 如申請專利範圍第1或2項之藥學組成物，其中該組成物係由一種包含下列步驟之方法所生產：

(a)在一內含外寄生蟲之唾液收集裝置內的收集裝置中收集外寄生蟲唾液產物，該裝置包括：

(i) 一個殼體以可操作方式聯結至一室，該室具有一比殼體為溫暖之周溫，因而在該殼體與該室之間形成溫差，該殼體能夠留滯外寄生蟲；以及

(ii) 一個位在該殼體與該室之間的介面，該介面包括 ((a))一個能夠收集至少一部分由留滯於該裝置內之外寄生蟲所沈積出之唾液產物的的裝置；和 ((b)) 一個能夠大體防止污染物質接觸該收集裝置之障壁裝置，其中該溫差可吸引留滯於該殼體之外寄生蟲，以嘗試經由該障壁裝置和該收集裝置進食，並因此沈積唾液產物於該收集裝置上；以及

(b)由該收集裝置中萃取出唾液產物，因而獲得該組成物。

8. 如申請專利範圍第7項之藥學組成物，其中在該室內之周溫係於在約20℃至約40℃之範圍內，而在該殼體內的周溫係在約5℃至約35℃之範圍內。

9. 如申請專利範圍第7項之藥學組成物，其中該室內相對濕度係於約50%相對濕度至約100%相對濕度之範圍，而該殼體之相對濕度係於40%相對濕度至約60%相對

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

線

六、申請專利範圍

濕度之範圍。

10.如申請專利範圍第1或2項之藥學組成物，其中該組成物係由一種包含下列步驟的方法所生產：

(a)在一內含外寄生蟲之唾液收集裝置內的收集裝置中收集外寄生蟲唾液產物，該裝置包括：

(i) 一個殼體以可操作方式聯結至一室，該室具有一比殼體為溫暖之周溫，因而在該殼體與該室之間形成溫差，該殼體能夠留滯外寄生蟲；以及

(ii) 一個位在該殼體與該室之間的介面，該介面包括((a))一個能夠收集至少一部分由留滯於該裝置內之外寄生蟲所沈積出之唾液產物的的裝置；和((b))一個能夠大體防止污染物質接觸該收集裝置之障壁裝置，其中該溫差可吸引留滯於該殼體之外寄生蟲，以嘗試經由該障壁裝置和該收集裝置進食，並因此沈積唾液產物於該收集裝置上；以及

(b)由該收集裝置中萃取出唾液產物，因而得到外寄生蟲萃取物；

(c)分餾該外寄生蟲萃取物，以獲得經分離的峰分部分離餾分；以及

(d)回收實質上不含其餘溶離分之至少一種峰分部分離餾分，以獲得該組成物。

11.如申請專利範圍第1或2項之藥學組成物，其中該組成物包括一種蚤唾液蛋白，該蛋白係以包含下列步驟的方法所生產：培養一經至少一種編碼至少一種蚤唾液蛋白之

六、申請專利範圍

核酸分子所轉形的重組細胞來生產該組成物。

- 12.如申請專利範圍第1或2項之藥學組成物，其中當該組成物被投與一寄主動物時，實質上可使該動物對過敏性皮炎脫敏。
- 13.如申請專利範圍第12項之藥學組成物，其中該過敏性皮炎係選自蚤過敏性皮炎、蚊過敏性皮炎及蚊總科(*Culicoides*)過敏性皮炎。
- 14.如申請專利範圍第1或2項之藥學組成物，其中該組成物係用於鑑定動物是否易感或患有過敏性皮炎。
- 15.如申請專利範圍第14項之藥學組成物，其中該過敏性皮炎係選自蚤過敏性皮炎、蚊過敏性皮炎及蚊總科(*Culicoides*)過敏性皮炎。
- 16.如申請專利範圍第1或2項之藥學組成物，其中該組成物實質上不含污染物質。
- 17.如申請專利範圍第16項之藥學組成物，其中該污染物質包括選自血液蛋白、糞便物質、幼蟲培養基及混合物之物質。
- 18.如申請專利範圍第1或2項之藥學組成物，其中該組成物包括低於約50%污染物質。
- 19.如申請專利範圍第1或2項之藥學組成物，其中該組成物包括低於約10%污染物質。
- 20.如申請專利範圍第2項之藥學組成物，其中該組成物進一步包括至少一種選自賦形劑、佐劑及載劑之成份。
- 21.如申請專利範圍第2項之藥學組成物，其中該組成物包

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

線

六、申請專利範圍

括一控制釋放組成物。

22.如申請專利範圍第1或2項之藥學組成物，其中該組成物包括至少一種選自於下列之蚤唾液蛋白：fspG1、fspG2、fspG3、fspH、fspI、fspJ1、fspJ2、fspK、fspL1、fspL2、fspM1、fspM2、fspN1、fspN2及fspN3。

23.如申請專利範圍第1或2項之藥學組成物，其中該組成物包括至少一種選自於下列的蚤唾液蛋白：fspG1、fspG2、fspG3、fspH、fspM1、fspM2、fspN1、fspN2及fspN3。

24.一種於活體外辨識一動物體內是否存在有可指示過敏性皮炎的抗體而鑑定一動物是否易感或患有過敏性皮炎之方法，其包括：

(a)令一種組成物與一源自於該動物之體液在一足以使該組成物與該抗體（若其存在於體液中）形成免疫複合體之條件下相接觸，該組成物包含有一選自於下列之蚤唾液蛋白：fspA、fspB、fspG1、fspG2、fspG3、fspH、fspI、fspJ1、fspJ2、fspK、fspL1、fspL2、fspM1、fspM2、fspN1、fspN2及fspN3；以及

(b)測定所生成之免疫複合體量，其中該生成免疫複合體之形成係顯示動物易感或患有過敏性皮炎。

25.如申請專利範圍第24項之方法，其中該蚤唾液蛋白係選自fspA、fspB、fspG1、fspG2、fspG3、fspH、fspI、fspJ1、fspJ2、fspK、fspL1、fspL2、fspM1、fspM2、fspN1、fspN2及fspN3。

六、申請專利範圍

- 26.如申請專利範圍第24項之方法，其中該組成物包括一選自於下列群組的蚤唾液萃取物：FS-1蚤唾液萃取物、FS-2蚤唾液萃取物、FS-3蚤唾液萃取物及其混合物。
- 27.如申請專利範圍第24項之方法，其中該組成物包含選自於下列之至少一種蚤唾液蛋白：fspA、fspB、fspG1、fspG2、fspG3、fspH、fspI、fspJ1、fspJ2、fspK、fspL1、fspL2、fspM1、fspM2、fspN1、fspN2及fspN3。
- 28.如申請專利範圍第24項之方法，其中該組成物包括一選自下列之外寄生蟲唾液蛋白：fspA、fspB、fspG1、fspG2、fspG3、fspH、fspI、fspJ1、fspJ2、fspK、fspL1、fspL2、fspM1、fspM2、fspN1、fspN2、fspN3及其混合物。
- 29.如申請專利範圍第24項之方法，其中該組成物係由一種包含下列步驟的方法所生產：
- (a)在一內含外寄生蟲之唾液收集裝置內的收集裝置中收集外寄生蟲唾液產物，該裝置包括：
 - (i)一個殼體以可操作方式聯結至一室，該室具有一比殼體為溫暖之周溫，因而在該殼體與該室之間形成溫差，該殼體能夠留滯外寄生蟲；以及

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝
訂
線

六、申請專利範圍

- (ii) 一個位在該殼體與該室之間的介面，該介面包括
- ((a))一個能夠收集至少一部分由留滯於該裝置內之外寄生蟲所沈積出之唾液產物的裝置；和((b))一個實質上能夠防止污染物質接觸該收集裝置之障壁裝置，其中該溫差可吸引留滯於該殼體之外寄生蟲，以嘗試經由該障壁裝置和該收集裝置進食，並因此沈積唾液產物於該收集裝置上；以及
- (b)由該收集裝置中萃取出唾液產物，因而得到外寄生蟲萃取物；
- (c)分餾該外寄生蟲萃取物，以獲得經分離的峰分部分離餾分；以及
- (d)回收實質上不含其餘溶離分之至少一種峰分部分離餾分，以獲得該組成物。

30.如申請專利範圍第24項之方法，其中該組成物包括一種蚤唾液蛋白，該蛋白係以包含下列步驟的方法所生產：培養一經至少一種編碼至少一種蚤唾液蛋白之核酸分子所轉形的重組細胞來生產該組成物。

31.如申請專利範圍第24項之方法，其中該組成物實質上不含污染物質。

32.如申請專利範圍第31項之方法，其中該污染物質包括選自血液蛋白、糞便物質、幼蟲培養基及混合物之物質。

33.如申請專利範圍第24項之方法，其中該組成物包括低於約50%污染物質。

34.如申請專利範圍第24項之方法，其中該組成物包括低於

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

訂

六、申請專利範圍

約10%污染物質。

35.如申請專利範圍第24項之方法，其中該組成物進一步包括至少一種選自賦形劑、佐劑及載劑之成份。

36.如申請專利範圍第24項之方法，其中該方法可檢測選自即發型過敏及延遲型過敏之過敏。

37.如申請專利範圍第24項之方法，其中該組成物係被固定於基材上。

38.如申請專利範圍第24項之方法，其中該抗體包括免疫球蛋白IgE抗體。

39.如申請專利範圍第24項之方法，其中一套組可檢測動物之即發型過敏。

40.如申請專利範圍第24項之方法，其中該組成物包括至少一種選自於下列之蚤唾液蛋白的至少一部分：fspG1、fspG2、fspG3、fspH、fspI、fspJ1、fspJ2、fspK、fspL1、fspL2、fspM1、fspM2、fspN1、fspN2及fspN3。

41.如申請專利範圍第24項之方法，其中該組成物包括至少一種選自於下列的蚤唾液蛋白之至少一部：fspG1、fspG2、fspG3、fspH、fspM1、fspM2、fspN1、fspN2及fspN3。

42.如申請專利範圍第24項之方法，其中該體液經預先處理而由體液中去除非IgE抗體。

43.一種分離的核酸分子，其係為：

(i)一編碼有外寄生蟲唾液蛋白之核酸，該蛋白質具有一

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

線

六、申請專利範圍

擇自下列群組之胺基酸序列：

Xaa Xaa Xaa Gln Tyr Ser Glu Lys Xaa Xaa Arg
Gly Gln Xaa His Gln Xaa Leu Xaa Lys Xaa Lys (序列識別編號：1)，

其中 Xaa 於位置 1 為 Tyr、Gln、Ser 或 Arg，
Xaa 於位置 2 為 Gly 或 Tyr，
Xaa 於位置 3 為 Lys 或 Ser，
Xaa 於位置 9 為 Gly 或 Ser，
Xaa 於位置 10 為 Gly 或 Lys，
Xaa 於位置 14 為 Arg 或 Ile，
Xaa 於位置 17 為 Ile 或 Leu，
Xaa 於位置 19 為 Lys 或 Asp，
及 Xaa 於位置 21 為 Gly 或 Leu；

Asp
Arg Arg Val Ser Lys Thr Cys Gln Ser Gly Gly Lys Ile Gln Ser Glu
Xaa Gln Val Val Ile Lys Ser Gly Gln Xaa Ile Leu Glu Asn Tyr Xaa
Ser Asp Gly Arg Asn Asn Asn Asn Pro Cys His Leu Phe Cys Met Arg
Glu Cys Arg Ser Gly Asn Gly Gly Cys Gly Asn Gly Gly Arg Thr Arg
Pro Asp Ser Lys His Cys Tyr Cys Glu Ala Pro Tyr Ser (序列識別編號：2)；

其中 Xaa 於位置 18 及 33 為一種胺基酸，
及 Xaa 於位置 27 為 His 或 Tyr；

Asp Ser Lys His Cys Tyr Cys Glu Ala Pro Tyr Ser (序列識別編號：3)；

Asp Gly Arg Asn Asn Asn Asn Pro Cys His Leu Phe Cys Met
Arg Glu Cys Arg Ser Gly Asn Gly Gly Cys Gly Asn Gly Gly Arg Thr
Arg Pro Asp Ser Lys His Cys (序列識別編號：4)；

六、申請專利範圍

Asp Arg Arg Val Ser Lys Thr Cys Gln Ser Gly (序列識別編號: 5);

Glu Asp Ile Trp Lys Val
Asn Lys Lys Xaa Thr Ser Gly Gly Lys Asn Gln Asp Arg Lys Leu Asp
Gln Ile Ile Gln Lys Gly Gln Gln Val Xaa Xaa Gln Asn Xaa Xaa Lys
(序列識別編號: 6);

其中 Xaa 於位置 10、32、33、36 及 37 為一種胺基酸;

Asn Ser His Glu Pro Gly Asn Thr Arg Lys Ile Arg
Glu Val Met Asp Lys Leu Arg Lys Gln His Pro (序列識別編號: 7);

Glu
Ile Lys Arg Asn Ser His Glu Pro Gly Asn Thr Arg Lys Ile Arg Glu
Val Met Asp Lys Leu Arg Lys Gln His Pro (序列識別編號: 8);

Asn Asp
Lys Glu Pro Gly Asn Thr Arg Lys Ile Arg Glu Val Met Asp Lys Leu
Arg Lys Gln Ala Gln Pro Arg Thr Asp Gly Gln Arg Pro Lys Thr Xaa
Ile Met (序列識別編號: 9);

其中 Xaa 於位置 34 為一種胺基酸;

Xaa Leu Xaa Arg Asn Asp Lys Glu Pro Gly
Asn Thr Arg Lys Ile Arg Glu Val Met Asp Lys (序列識別編號: 10);

其中 Xaa 於位置 1 及 3 為一種胺基酸;

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝
訂
線

經濟部智慧財產局員工消費合作社印製

A8
B8
C8
D8

六、申請專利範圍

Asn Asp Glu Leu Lys Phe Val Phe Val Met Ala Lys (序列識別編號: 11);

Xaa Asp Glu Leu Lys Phe Val Phe Val Met Ala Lys Gly Pro Ser
Xaa Gln Ala Xaa Asp Tyr Pro Cys (序列識別編號: 12);

其中 Xaa 於位置 1、16 及 19 為一種胺基酸；

Glu Leu Lys Phe Val Phe Ala Thr Ala Arg Gly Met Ser His Thr
Pro Cys Asp Tyr Pro (序列識別編號: 13);

Asp Arg Arg Val Ser Lys Thr Xaa Gln Ser Gly Gly Lys Ile
Gln Ser Glu Xaa Gln Val Val Ile Lys Ser Gly Gln Xaa Ile Leu Glu
Asn Tyr Xaa Ser Asp Gly Arg (序列識別編號: 14);

Xaa 於位置 8、18 及 33 為一種胺基酸；
及 Xaa 於位置 27 為 His 或 Tyr；

Leu Thr Ser Gly Gly
Lys Asn Gln Asp Arg Lys Leu Asp Gln Ile Ile Gln Lys Gly Gln Gln
Val Lys Ile Gln Asn Ile Cys Lys Leu Ile Arg Asp Lys Pro His Thr
Asn Gln Glu Lys Glu Lys Cys Met Lys Phe Cys Thr Lys Asn Val Cys
Lys Gly Tyr Arg Gly Ala Cys Asp Gly Asn Ile Cys Tyr Cys Ser Arg
Pro Ser Asn Leu Gly Pro Asp Trp Lys Val Asn Glu Arg Ile Glu Arg
Leu Pro Ile Thr Lys Ile Leu Val Ser Gly Asn Ser Ser Ile Ser Thr
Thr Ile Thr Asn Ser Lys Tyr Phe Glu Thr Lys Asn Ser Glu Thr Asn
Glu Asp Ser Lys Ser Lys Lys His Ser Lys Glu Lys Cys Arg Gly Gly
Asn Asp Arg Gly Cys Asp Gly Asn Val Leu Leu Leu Ser Thr Lys Lys
(序列識別編號: 25);

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

訂

經濟部智慧財產局員工消費合作社印製

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝
訂
線

六、申請專利範圍

Glu Asp Ile Trp Lys Val Asn Lys Lys Leu Thr Ser
Gly Gly Lys Asn Gln Asp Arg Lys Leu Asp Gln Ile Ile Gln Lys Gly
Gln Gln Val Lys Ile Gln Asn Ile Cys Lys Leu Ile Arg Asp Lys Pro
His Thr Asn Gln Glu Lys Glu Lys Cys Met Lys Phe Cys Thr Lys Asn
Val Cys Lys Gly Tyr Arg Gly Ala Cys Asp Gly Asn Ile Cys Tyr Cys
Ser Arg Pro Ser Asn Leu Gly Pro Asp Trp Lys Val Asn Glu Arg Ile
Glu Arg Leu Pro Ile Thr Lys Ile Leu Val Ser Gly Asn Ser Ser Ile
Ser Thr Thr Ile Thr Asn Ser Lys Tyr Phe Glu Thr Lys Asn Ser Glu
Thr Asn Glu Asp Ser Lys Ser Lys Lys His Ser Lys Glu Lys Cys Arg
Gly Gly Asn Asp Arg Gly Cys Asp Gly Asn Val Leu Leu Leu Ser Thr
Lys Lys (序列識別編號:26);

Xaa Gly Lys Gln Tyr Ser Glu Xaa Xaa Lys (序列識別編號: 27);

其中 Xaa 於位置 1 為 Ser 或 Gln，
Xaa 於位置 8 為一種胺基酸，
及 Xaa 於位置 9 為 Gly 或 Lys；

Asp Arg Arg Val Ser Lys (序列識別編號: 28);

Met Val Thr Glu Lys Xaa Lys Ser Gly Gly Asn Asn Pro Ser Thr Lys
Glu Val Ser Ile Pro (序列識別編號: 29);

其中 Xaa 於位置 8 為一種胺基酸；

經濟部智慧財產局員工消費合作社印製

六、申請專利範圍

Glu Val Ser Ile Pro Ser Gly
Lys Leu Thr Ile Glu Asp Phe Xaa Ile Gly Asn His Gln (序列識別編號: 30)

其中 Xaa 於位置 15 為一種胺基酸;

Asp Ile Glu Asn Ile Lys Lys Gly Glu Gly Gln Pro Gly Ala
Pro Gly Gly Lys Glu Asn Asn Leu Ser Val Leu (序列識別編號: 31);

Phe
Ser Leu Cys Val Leu Tyr Gln Ile Val Val Ala Asp Arg Arg Val Ser
Lys Thr Cys Gln Ser Gly Gly Lys Ile Gln Ser Glu Glu Gln Val Val
Ile Lys Ser Gly Gln His Ile Leu Glu Asn Tyr Cys Ser Asp Gly Arg
Asn Asn Asn Asn Pro Cys His Leu Phe Cys Met Arg Glu Cys Arg Ser
Gly Asn Gly Gly Cys Gly Asn Gly Gly Arg Thr Arg Pro Asp Ser (序列
識別編號: 33);

Trp Lys Val Asn Lys Lys Cys Thr Ser Gly Gly Lys Asn
Gln Asp Arg Lys Leu Asp Gln Ile Ile Gln Lys Gly Gln Gln Val Lys
Ile Gln Asn Ile Cys Lys Leu Ile Arg Asp Lys Pro His Thr Asn Gln
Glu Lys Glu Lys Cys Met Lys Phe Cys Thr Lys Asn Val Cys Lys Gly
Tyr Arg Gly Ala Cys Asp Gly Asn Ile Cys Tyr Cys Ser Arg Pro Ser
Asn Leu Gly Pro Asp Trp Lys Val Asn Glu Arg Ile Glu Arg Leu Pro
Ile Thr Lys Ile Leu Val Ser Gly Asn Ser Ser Ile Ser Thr Thr Ile
Thr Asn Ser Lys Tyr Phe Glu Thr Lys Asn Ser Glu Thr Asn Glu Asp
Ser Lys Ser Lys Lys His Ser Lys Glu Lys Cys Arg Gly Gly Asn Asp
Arg Gly Cys Asp Gly Asn Val Leu Leu Leu Ser Thr Lys Lys
(序列識別編號: 35);

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

訂
線

經濟部智慧財產局員工消費合作社印製

六、申請專利範圍

Ala Arg Ala Arg Ser Val Gly Ser Met Lys Asn Lys Leu Lys
Ser Phe Ser Glu Lys Tyr Val Trp Ala Ala Leu Thr Ser Asn Asp Asn
Leu Arg Lys Met Ser Gly Gly Arg Met Ile Asn Asp Ile Leu Asn Asp
Ile Asp Asn Ile Lys Lys Gly Asn Gly Gln Pro Asn Ala Pro Gly Lys
Thr Glu Asn Lys Leu Ser Val Ser Asp Arg Ser Ser Arg Tyr Leu Ser
Ser Ile Arg Phe Ser Leu Phe Arg Pro Arg Tyr Lys Ile Glu Asn Gln
Asp Leu Glu Pro Ser Ser Leu Tyr Pro Gly Gln Gly Ala Leu His Val
Ile Glu Leu His Lys Asp Lys Asn Gln Trp Asn Val Lys Thr Leu Tyr
Arg Asn Asn Asp Gln Gln Glu Leu Lys Pro Met Lys Leu Ala Lys Cys
Gly Asp Thr Cys Ser Tyr Glu Thr Phe Lys Ser Thr Leu Gln Ser Tyr
Asn Met Asp Lys Thr Ala His Asp Lys Leu Cys Lys Ser Ser (序列識別編號：51)；

Gly Thr Arg Lys Asn Glu Leu Lys Ser Phe Ser Glu Glu Tyr
Leu Trp Arg Ala Leu Thr Ser Asn Glu Asn Leu Arg Lys Met Ser Gly
Gly Arg Met Ile Asn Asp Ile Leu Asn Asp Ile Asp Ser Ile Lys Glu
Glu Arg Asp Asn Arg Val Leu Leu Glu Lys Gln Glu Ile Lys Leu Ser
Met Leu Thr Val Pro Gln Ala Ile Leu Ala Ala Phe Val Ser Ala Phe
Ala Pro Lys Gly Thr Lys Ile Glu Asn Gln Asp Leu Gly Pro Ser Ser
Leu Tyr Pro Gly Gln Gly Ala Leu His Val Ile Glu Leu His Lys Asp
Asn Asn Gln Trp Ser Val Lys Val Leu Tyr Arg Asn Asn Asp Lys Met
Glu Leu Glu Pro Met Lys Leu Pro Ser Cys Asp Asp Lys Cys Pro Cys
Glu Leu Leu Asn Gln Leu Tyr Asn Pro Met Ile (序列識別編號：53)；以及

Met Trp Arg Leu Leu Leu Val Ile Ser Ser Ala Leu Ile Ile Gln Asn
Val Asn Ala Glu Leu Lys Phe Val Phe Ala Thr Ala Thr Arg Tyr Val
Ser His Thr Pro Ser Pro Cys Asp Pro Gly Gly Pro Lys Ile Thr Asn
Lys Pro Gly Asp Phe Gln Arg Val (序列識別編號：54)

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝
訂
線

經濟部智慧財產局員工消費合作社印製

六、申請專利範圍

(ii)一與(i)之核酸完全互補的核酸序列；或

(iii)一核酸序列(i)或是(ii)之簡併性核酸序列。

44.如申請專利範圍第43之核酸序列，其具有自擇下列群組之核酸序列：

TTGTCACTTT TTTTGTATGA GAGAATGCAG GTCAGGAAAC GGCGGTTGCG GAAACGGAGG
AAGGACAAGA CCTGATTCTGA AGCACTGCTA TGC (序列識別編號： 20)；

CTTACGTCCG

GGGGTAAGAA TCAGGATAGA AACTCGATC AAATAATTCA AAAAGGCCAA CAAGTTAAAA
TCCAAAATAT TTGCAAATTA ATACGAGATA AACCACATAC AAATCAAGAG AAAGAAAAAT
GTATGAAATT TTGCACAAAA AACGTTTGCA AAGGTTATAG AGGAGCTTGT GATGGCAATA
TTTGCTACTG CAGCAGGCCA AGTAATTTAG GTCCTGATTG GAAAGTCAAC GAAAGAATCG
AAAGACTCCC AATAACAAAG ATTCTCGTCT CAGGAAATAG TTCCATATCG ACAACAATTA
CGAATTCCAA ATATTTTCGAA ACTAAAAATT CAGAGACCAA TGAAGATTCC AAATCGAAAA
AACATTCGAA AGAAAAATGT CGTGGTGGAA ATGATGCTGG ATGTGATGGA AACGTTTTGT
TATTGTCGAC CAAAAATAA ATAATAATTA TAATAAATAA ATTGTTATAG TTATTAGTTA
TCCCGTCACA TATTAGAAAA GTGGCTTATA ATTTATGAAC AATATAACAC ATAAATTAGT
TGTGTAAAAA AAAAAAAAAA AAA (序列識別編號： 24)；

AT TTT TCC CTT TGT GTT

TTA TAC CAA ATT GTG GTT GCT GAT AGA AGA GTT TCC AAA ACA TGT CAA
AGT GGA GGA AAG ATA CAA AGT GAG GAG CAA GTG GTA ATT AAA TCT GGA
CAA CAT ATT CTT GAA AAT TAT TGC TCA GAT GGG AGA AAT AAT AAT AAT
CCA TGC CAC TTG TTT TGT ATG AGA GAA TGC AGG TCA GGA AAC GGC GGT
TGC GGA AAC GGA GGA AGG ACA AGA CCT GAT TCG (序列識別編號： 32)；

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

訂
線

六、申請專利範圍

TGG

AAA GTT AAT AAA AAA TGT ACA TCA GGT GGA AAA AAT CAA GAT AGA AAA
CTC GAT CAA ATA ATT CAA AAA GGC CAA CAA GTT AAA ATC CAA AAT ATT
TGC AAA TTA ATA CGA GAT AAA CCA CAT ACA AAT CAA GAG AAA GAA AAA
TGT ATG AAA TTT TGC ACA AAA AAC GTT TGC AAA GGT TAT AGA GGA GCT
TGT GAT GGC AAT ATT TGC TAC TGC AGC AGG CCA AGT AAT TTA GGT CCT
GAT TGG AAA GTC AAC GAA AGA ATC GAA AGA CTC CCA ATA ACA AAG ATT
CTC GTC TCA GGA AAT AGT TCC ATA TCG ACA ACA ATT ACG AAT TCC AAA
TAT TTC GAA ACT AAA AAT TCA GAG ACC AAT GAA GAT TCC AAA TCG AAA
AAA CAT TCG AAA GAA AAA TGT CGT GGT GGA AAT GAT CGT GGA TGT GAT
GGA AAC GTT TTG TTA TTG TCG ACC AAA AAA T AAATAATAAT TATAATAAAT
AAATTGTTAT AGTTATTAGT TATCCCGTCA CATATTAGAA AAGTGGCTTA TAATTTATGA
ACAATATAAC ACATAAATTA GTTGTGTAAA AAAAAAAAAA AAAAA (序列識別編號: 34);

CG GCA CGA GCT CGG TCT GTT GGA AGT ATG AAA AAC AAA TTG AAA AGT
TTT TCC GAG AAA TAT GTA TGG GCG GCT TTA ACT TCT AAC GAC AAT CTT
AGG AAA ATG TCT GGA GGT CGT ATG ATT AAC GAT ATA TTG AAC GAT ATC
GAT AAT ATA AAG AAA GGA AAT GGA CAA CCG AAT GCT CCT GGA AAA ACT
GAA AAT AAA TTA TCG GTG TCT GAC CGT TCC TCA AGG TAT CTT AGC AGC
ATT CGT TTC AGC CTT TTT CGT CCA AGG TAC AAA ATT GAA AAT CAG GAC
CTT GAA CCG TCT AGT TTA TAT CCT GGC CAA GGA GCC CTC CAT GTT ATT
GAA CTG CAC AAA GAT AAG AAT CAG TGG AAT GTA AAA ACC CTC TAT AGA
AAC AAT GAC CAA CAG GAA CTC AAA CCT ATG AAA CTT GCA AAA TGC GGT
GAC ACA TGT TCT TAT GAA ACT TTC AAA TCA ACT CTA CAA TCC TAT AAC
ATG GAT AAG ACC GCT CAT GAT AAA TTG TGT AAA TCG TCT T AAAATTATT
CGTGAAAAAT AGAATTTTAT TGCTATTTTC TGTAACCA TATAAGCTA TTTTAATACT
TTGTACAGTA TATACATAAT AAATTGCTAC ATTTGCTCTA AAAAAAAAAA AAAAAA

(序列識別編號: 50); 及

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝
訂
線

經濟部智慧財產局員工消費合作社印製

六、申請專利範圍

C GGC ACG AGG AAA AAC GAG CTG AAA AGT TTT TCC
GAA GAA TAT TTA TGG AGG GCT CTA ACT TCT AAT GAG AAT CTT AGA AAG
ATG TCA GGA GGC CGT ATG ATT AAC GAT ATA TTG AAC GAT ATC GAT AGT
ATA AAA GAA GAA AGG GAC AAC CGG GTG CTC CTG GAA AAA CAG GAA ATT
AAA TTA TCA ATG CTG ACC GTT CCT CAA GCT ATC TTA GCA GCA TTT GTT
TCA GCT TTT GCT CCC AAA GGT ACA AAA ATT GAA AAT CAG GAC CTT GGT
CCG TCT AGT TTA TAT CCT GGC CAA GGA GCA CTC CAC GTT ATT GAA CTG
CAC AAG GAT AAC AAC CAA TGG AGT GTG AAA GTT CTC TAT AGA AAC AAT
GAC AAA ATG GAA CTG GAA CCT ATG AAA CTT CCA TCA TGC GAT GAC AAA
TGT CCT TGT GAA CTT TTA AAT CAA CTC TAC AAT CCT ATG ATA T
GAAAAAGCAG TCATGTAAAT TATGTAAAAA GCAATAAAAC TGTGTCGCAA ACATACACTT
GAACATATTC TGCAAAATTA TATGACGTTA TTTTAAATAT CACGAAATAA ACTACAAACA
AACATATACA AATAAAAAAA AAAAAAAAAA A (序列識別編號：52)

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

訂

線

經濟部智慧財產局員工消費合作社印製

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝
訂
線

六、申請專利範圍

45.一種多肽，其具有選自於下列群組的胺基酸序列：

Xaa Xaa Xaa Gln Tyr Ser Glu Lys Xaa Xaa Arg Gly Gln Xaa
His Gln Xaa Leu Xaa Lys Xaa Lys (序列識別編號：1)；

其中 Xaa 於位置 1 為 Tyr、Gln、Ser 或 Arg，
Xaa 於位置 2 為 Gly 或 Tyr，
Xaa 於位置 3 為 Lys 或 Ser，
Xaa 於位置 9 為 Gly 或 Ser，
Xaa 於位置 10 為 Gly 或 Lys，
Xaa 於位置 14 為 Arg 或 Ile，
Xaa 於位置 17 為 Ile 或 Leu，
Xaa 於位置 19 為 Lys 或 Asp，
及 Xaa 於位置 21 為 Gly 或 Leu；

Asp
Arg Arg Val Ser Lys Thr Cys Gln Ser Gly Gly Lys Ile Gln Ser Glu
Xaa Gln Val Val Ile Lys Ser Gly Gln Xaa Ile Leu Glu Asn Tyr Xaa
Ser Asp Gly Arg Asn Asn Asn Asn Pro Cys His Leu Phe Cys Met Arg
Glu Cys Arg Ser Gly Asn Gly Gly Cys Gly Asn Gly Gly Arg Thr Arg
Pro Asp Ser Lys His Cys Tyr Cys Glu Ala Pro Tyr Ser (序列識別編號：2)；

其中 Xaa 於位置 18 及 33 為一種胺基酸，
及 Xaa 於位置 27 為 His 或 Tyr；

Asp Ser Lys His Cys Tyr Cys Glu Ala Pro Tyr Ser (序列識別編號：3)；

經濟部智慧財產局員工消費合作社印製

六、申請專利範圍

Asp Gly Arg Asn Asn Asn Asn Pro Cys His Leu Phe Cys Met
Arg Glu Cys Arg Ser Gly Asn Gly Gly Cys Gly Asn Gly Gly Arg Thr
Arg Pro Asp Ser Lys His Cys (序列識別編號：4)；

Asp Arg Arg Val Ser Lys Thr Cys Gln Ser Gly (序列識別編號：5)；

Glu Asp Ile Trp Lys Val
Asn Lys Lys Xaa Thr Ser Gly Gly Lys Asn Gln Asp Arg Lys Leu Asp
Gln Ile Ile Gln Lys Gly Gln Gln Val Xaa Xaa Gln Asn Xaa Xaa Lys
(序列識別編號：6)；

其中 Xaa 於位置 10、32、33、36 及 37 為一種胺基酸；

Asn Ser His Glu Pro Gly Asn Thr Arg Lys Ile Arg
Glu Val Met Asp Lys Leu Arg Lys Gln His Pro (序列識別編號：7)；

Glu
Ile Lys Arg Asn Ser His Glu Pro Gly Asn Thr Arg Lys Ile Arg Glu
Val Met Asp Lys Leu Arg Lys Gln His Pro (序列識別編號：8)；

Asn Asp
Lys Glu Pro Gly Asn Thr Arg Lys Ile Arg Glu Val Met Asp Lys Leu
Arg Lys Gln Ala Gln Pro Arg Thr Asp Gly Gln Arg Pro Lys Thr Xaa
Ile Met (序列識別編號：9)；

其中 Xaa 於位置 34 為一種胺基酸；

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

訂
線

經濟部智慧財產局員工消費合作社印製

A8
B8
C8
D8

六、申請專利範圍

Xaa Leu Xaa Arg Asn Asp Lys Glu Pro Gly
Asn Thr Arg Lys Ile Arg Glu Val Met Asp Lys (序列識別編號: 10);

025

其中 Xaa 於位置 1 及 3 為一種 胺 基 酸;

Asn Asp Glu Leu Lys Phe Val Phe Val Met Ala Lys (序列識別編號: 11);

Xaa Asp Glu Leu Lys Phe Val Phe Val Met Ala Lys Gly Pro Ser
Xaa Gln Ala Xaa Asp Tyr Pro Cys (序列識別編號: 12);

026

其中 Xaa 於位置 1、16 及 19 為一種 胺 基 酸;

Glu Leu Lys Phe Val Phe Ala Thr Ala Arg Gly Met Ser His Thr
Pro Cys Asp Tyr Pro (序列識別編號: 13);

Asp Arg Arg Val Ser Lys Thr Xaa Gln Ser Gly Gly Lys Ile
Gln Ser Glu Xaa Gln Val Val Ile Lys Ser Gly Gln Xaa Ile Leu Glu
Asn Tyr Xaa Ser Asp Gly Arg (序列識別編號: 14);

027

Xaa 於位置 8、18 及 33 為一種胺 基 酸，
及 Xaa 於位置 27 為 His 或 Tyr;

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝
訂
線

經濟部智慧財產局員工消費合作社印製

六、申請專利範圍

Leu Thr Ser Gly Gly

Lys Asn Gln Asp Arg Lys Leu Asp Gln Ile Ile Gln Lys Gly Gln Gln
Val Lys Ile Gln Asn Ile Cys Lys Leu Ile Arg Asp Lys Pro His Thr
Asn Gln Glu Lys Glu Lys Cys Met Lys Phe Cys Thr Lys Asn Val Cys
Lys Gly Tyr Arg Gly Ala Cys Asp Gly Asn Ile Cys Tyr Cys Ser Arg
Pro Ser Asn Leu Gly Pro Asp Trp Lys Val Asn Glu Arg Ile Glu Arg
Leu Pro Ile Thr Lys Ile Leu Val Ser Gly Asn Ser Ser Ile Ser Thr
Thr Ile Thr Asn Ser Lys Tyr Phe Glu Thr Lys Asn Ser Glu Thr Asn
Glu Asp Ser Lys Ser Lys Lys His Ser Lys Glu Lys Cys Arg Gly Gly
(Asn Asp Arg Gly Cys Asp Gly Asn Val Leu Leu Leu Ser Thr Lys Lys
(序列識別編號: 25);

Glu Asp Ile Trp Lys Val Asn Lys Lys Leu Thr Ser
Gly Gly Lys Asn Gln Asp Arg Lys Leu Asp Gln Ile Ile Gln Lys Gly
Gln Gln Val Lys Ile Gln Asn Ile Cys Lys Leu Ile Arg Asp Lys Pro
His Thr Asn Gln Glu Lys Glu Lys Cys Met Lys Phe Cys Thr Lys Asn
Val Cys Lys Gly Tyr Arg Gly Ala Cys Asp Gly Asn Ile Cys Tyr Cys
Ser Arg Pro Ser Asn Leu Gly Pro Asp Trp Lys Val Asn Glu Arg Ile
Glu Arg Leu Pro Ile Thr Lys Ile Leu Val Ser Gly Asn Ser Ser Ile
Ser Thr Thr Ile Thr Asn Ser Lys Tyr Phe Glu Thr Lys Asn Ser Glu
Thr Asn Glu Asp Ser Lys Ser Lys Lys His Ser Lys Glu Lys Cys Arg
Gly Gly Asn Asp Arg Gly Cys Asp Gly Asn Val Leu Leu Leu Ser Thr
Lys Lys (序列識別編號: 26);

Xaa Gly Lys Gln Tyr Ser Glu Xaa Xaa Lys (序列識別編號: 27);

其中 Xaa 於位置 1 為 Ser 或 Gln ,
Xaa 於位置 8 為一種胺基酸 ,
及 Xaa 於位置 9 為 Gly 或 Lys ;

六、申請專利範圍

Asp Arg Arg Val Ser Lys (序列識別編號: 28);

Met Val Thr Glu Lys Xaa Lys Ser Gly Gly Asn Asn Pro Ser Thr Lys
Glu Val Ser Ile Pro (序列識別編號: 29);

其中 Xaa 於位置 8 為一種胺基酸;

Lys Leu Thr Ile Glu Asp Phe Xaa Ile Gly Asn His Gln (序列識別編號: 30)
其中 Xaa 於位置 15 為一種胺基酸;

Asp Ile Glu Asn Ile Lys Lys Gly Glu Gly Gln Pro Gly Ala
Pro Gly Gly Lys Glu Asn Asn Leu Ser Val Leu (序列識別編號: 31);

Ser Leu Cys Val Leu Tyr Gln Ile Val Val Ala Asp Arg Arg Val Ser
Lys Thr Cys Gln Ser Gly Gly Lys Ile Gln Ser Glu Glu Gln Val Val
Ile Lys Ser Gly Gln His Ile Leu Glu Asn Tyr Cys Ser Asp Gly Arg
Asn Asn Asn Asn Pro Cys His Leu Phe Cys Met Arg Glu Cys Arg Ser
Gly Asn Gly Gly Cys Gly Asn Gly Gly Arg Thr Arg Pro Asp Ser (序列
識別編號: 33);

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

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝
訂
線

經濟部智慧財產局員工消費合作社印製

六、申請專利範圍

Thr Asn Ser Lys Tyr Phe Glu Thr Lys Asn Ser Glu Thr Asn Glu Asp
Ser Lys Ser Lys Lys His Ser Lys Glu Lys Cys Arg Gly Gly Asn Asp
Arg Gly Cys Asp Gly Asn Val Leu Leu Leu Ser Thr Lys Lys (序列識別編號: 35);

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

Ala Arg Ala Arg Ser Val Gly Ser Met Lys Asn Lys Leu Lys
Ser Phe Ser Glu Lys Tyr Val Trp Ala Ala Leu Thr Ser Asn Asp Asn
Leu Arg Lys Met Ser Gly Gly Arg Met Ile Asn Asp Ile Leu Asn Asp
Ile Asp Asn Ile Lys Lys Gly Asn Gly Gln Pro Asn Ala Pro Gly Lys
Thr Glu Asn Lys Leu Ser Val Ser Asp Arg Ser Ser Arg Tyr Leu Ser
Ser Ile Arg Phe Ser Leu Phe Arg Pro Arg Tyr Lys Ile Glu Asn Gln
Asp Leu Glu Pro Ser Ser Leu Tyr Pro Gly Gln Gly Ala Leu His Val
Ile Glu Leu His Lys Asp Lys Asn Gln Trp Asn Val Lys Thr Leu Tyr
Arg Asn Asn Asp Gln Gln Glu Leu Lys Pro Met Lys Leu Ala Lys Cys
Gly Asp Thr Cys Ser Tyr Glu Thr Phe Lys Ser Thr Leu Gln Ser Tyr
Asn Met Asp Lys Thr Ala His Asp Lys Leu Cys Lys Ser Ser (序列識別編號: 51);

Gly Thr Arg Lys Asn Glu Leu Lys Ser Phe Ser Glu Glu Tyr
Leu Trp Arg Ala Leu Thr Ser Asn Glu Asn Leu Arg Lys Met Ser Gly
Gly Arg Met Ile Asn Asp Ile Leu Asn Asp Ile Asp Ser Ile Lys Glu
Glu Arg Asp Asn Arg Val Leu Leu Glu Lys Gln Glu Ile Lys Leu Ser
Met Leu Thr Val Pro Gln Ala Ile Leu Ala Ala Phe Val Ser Ala Phe
Ala Pro Lys Gly Thr Lys Ile Glu Asn Gln Asp Leu Gly Pro Ser Ser
Leu Tyr Pro Gly Gln Gly Ala Leu His Val Ile Glu Leu His Lys Asp
Asn Asn Gln Trp Ser Val Lys Val Leu Tyr Arg Asn Asn Asp Lys Met
Glu Leu Glu Pro Met Lys Leu Pro Ser Cys Asp Asp Lys Cys Pro Cys
Glu Leu Leu Asn Gln Leu Tyr Asn Pro Met Ile (序列識別編號: 53); 以及

訂
線

經濟部智慧財產局員工消費合作社印製

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝
訂
線

六、申請專利範圍

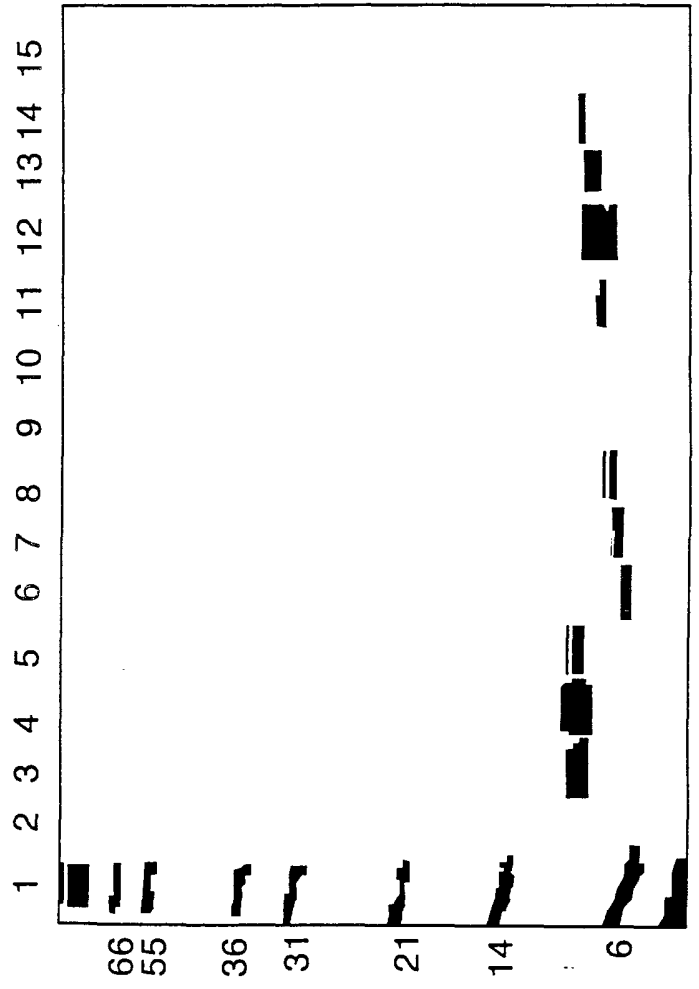
Met Trp Arg Leu Leu Leu Val Ile Ser Ser Ala Leu Ile Ile Gln Asn
Val Asn Ala Glu Leu Lys Phe Val Phe Ala Thr Ala Thr Arg Tyr Val
Ser His Thr Pro Ser Pro Cys Asp Pro Gly Gly Pro Lys Ile Thr Asn
Lys Pro Gly Asp Phe Gln Arg Val (序列識別編號:54)

- 46.如申請專利範圍第45項之多肽，其中該多肽存在於一選自下列群組的蚤唾液萃取物中：FS-1、FS-2和FS-3蚤唾液萃取物。
- 47.如申請專利範圍第45或46項之多肽，其中該蚤唾液蛋白係選自於fspA、fspB、fspG1、fspG2、fspG3、fspH、fspI、fspJ1、fspJ2、fspK、fspL1、fspL2、fspM1、fspM2、fspN1、fspN2及fspN3所構成之群組中。
- 48.如申請專利範圍第45或46項之多肽，其中多肽係得自於由下列所構成之群組中的蚤唾液萃取物：FS-1蚤唾液萃取物、FS-2蚤唾液萃取物及FS-3蚤唾液萃取物。
- 49.一種經分離之多株抗體，其對抗如申請專利範圍第24項之方法所製得的外寄生蟲蛋白。
- 50.一種經分離之多株抗體，其對抗如申請專利範圍第45、46或47項之多肽。

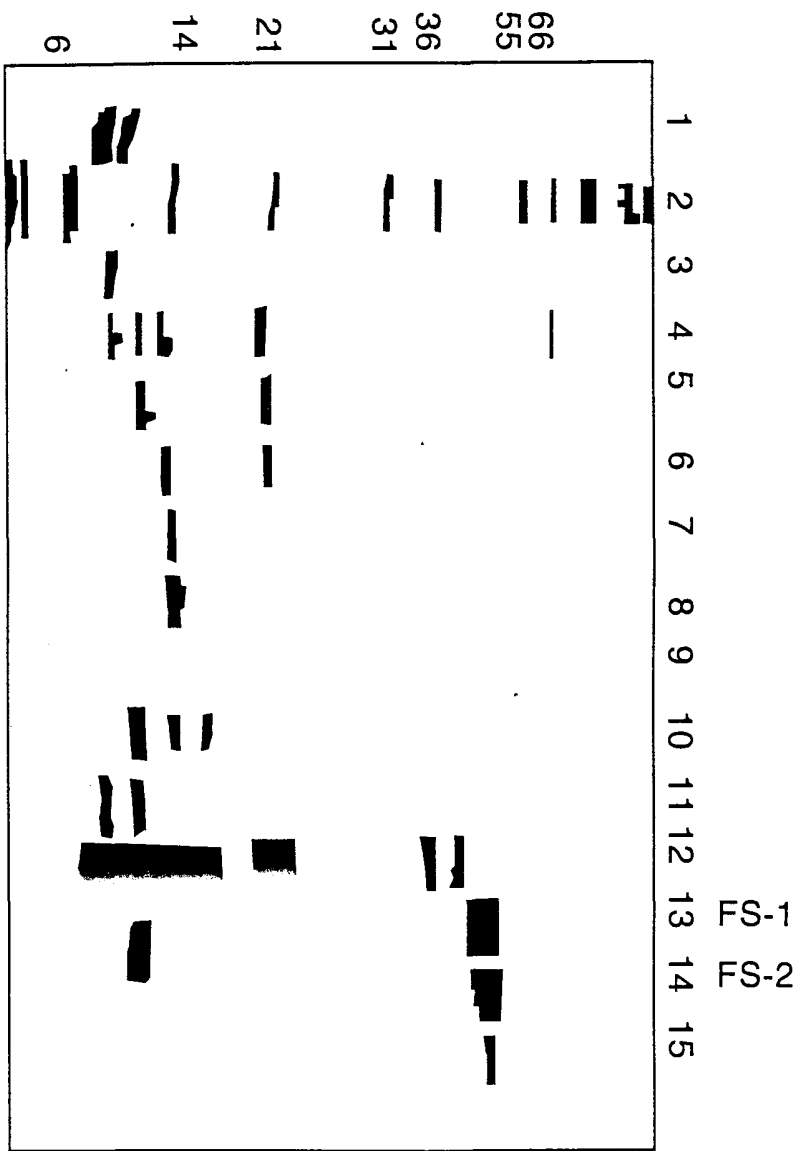
經濟部智慧財產局員工消費合作社印製

中 譯 圖

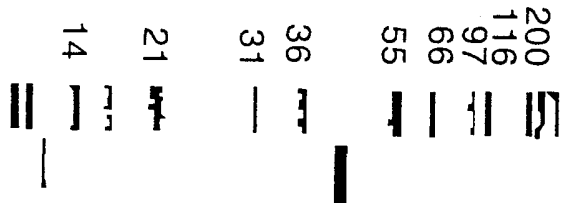
1992.12.15
年 月 日
第 1A 圖



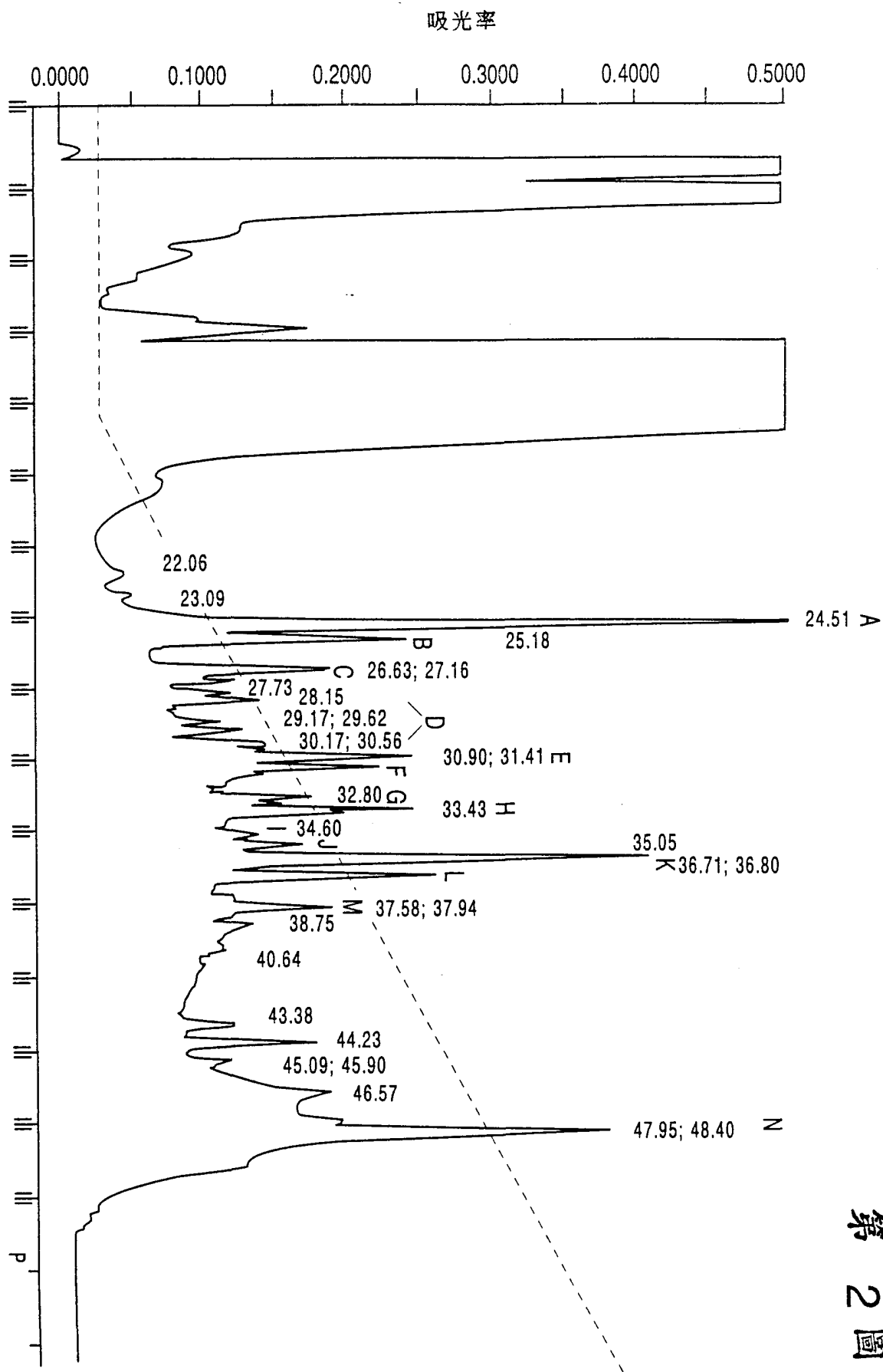
第 1A 圖



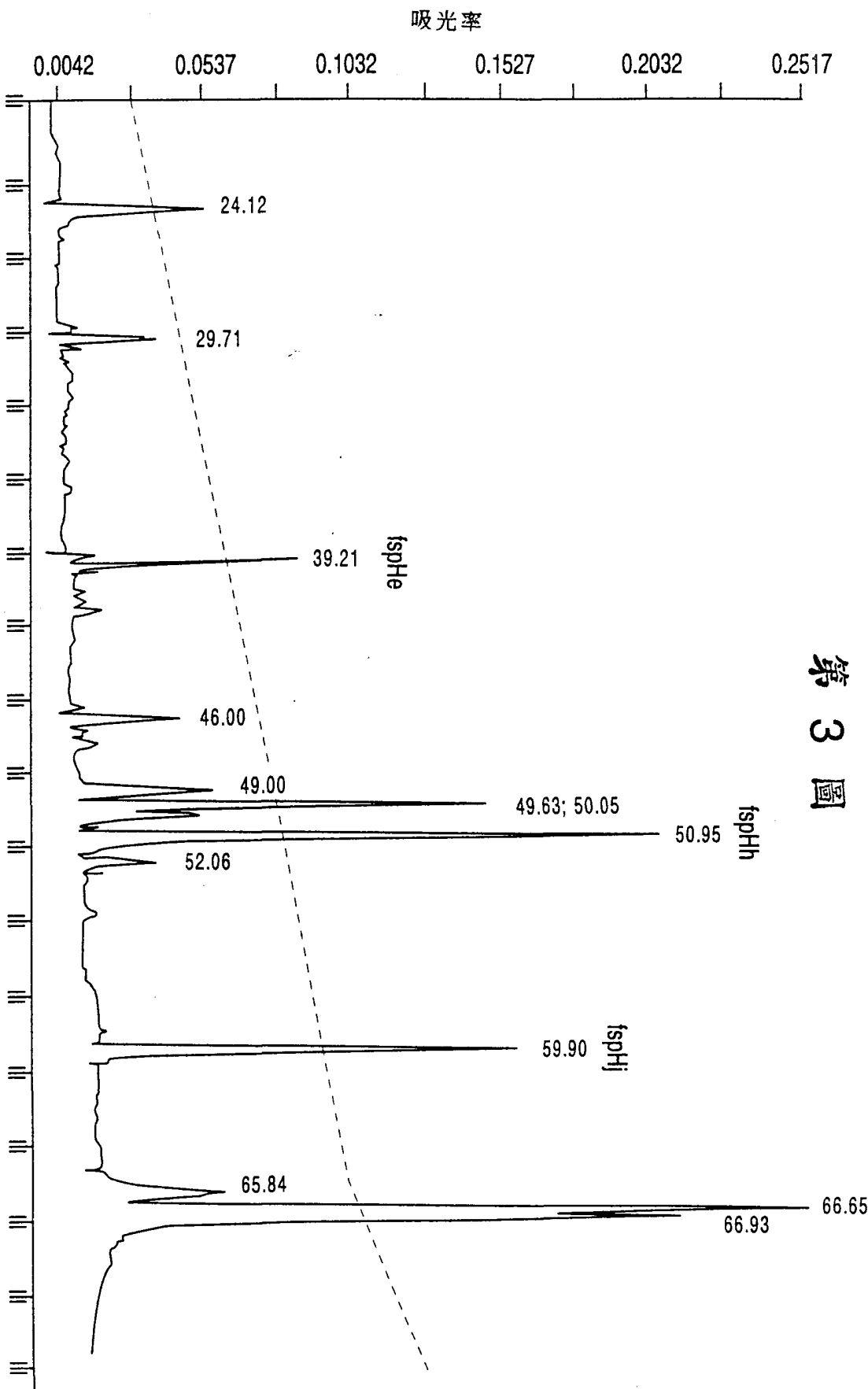
第1B 圖



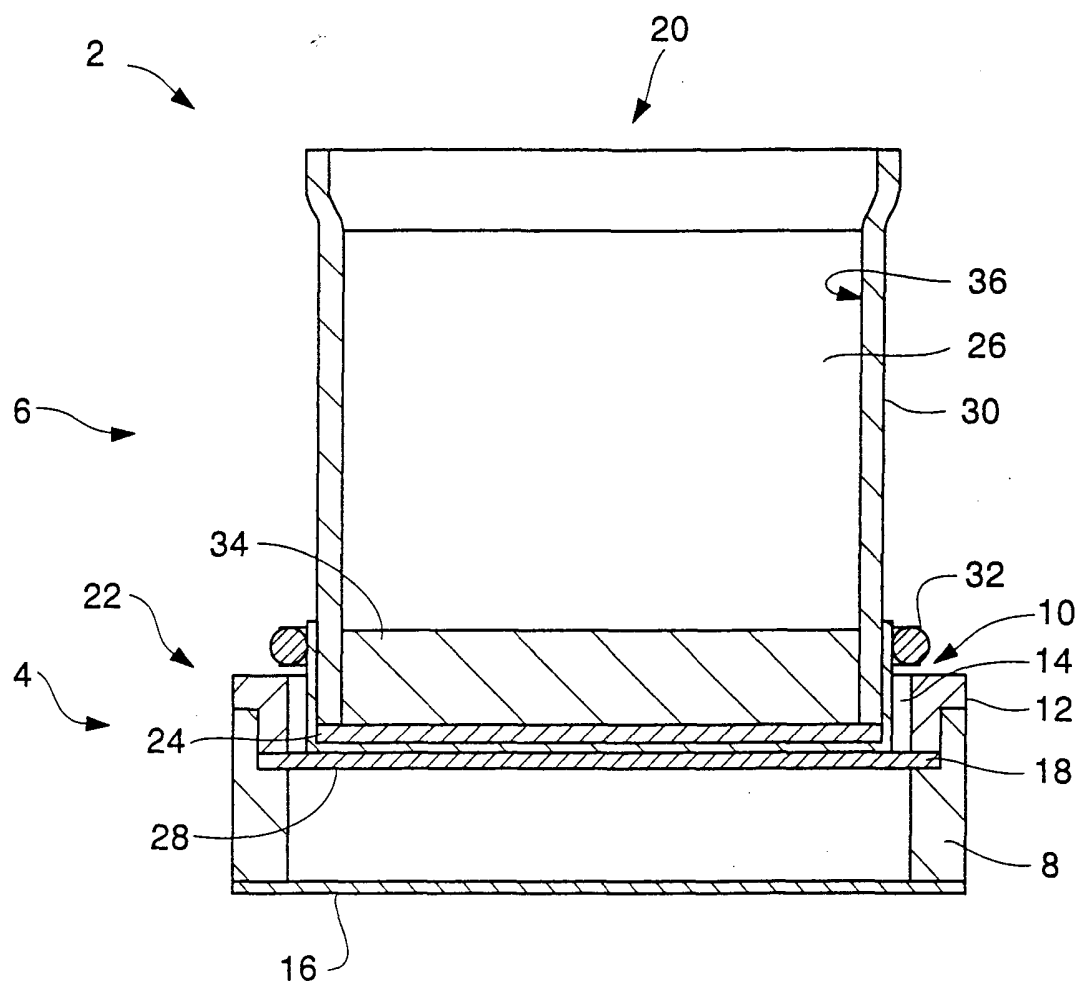
第1C圖



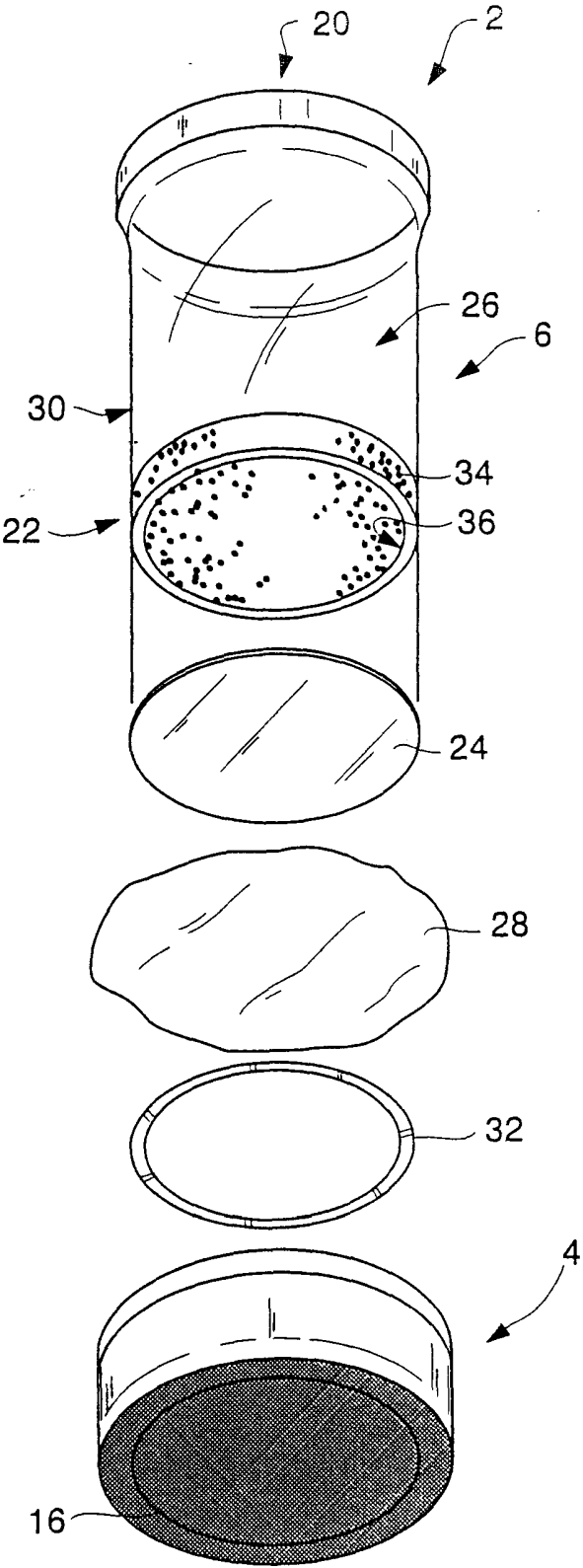
第 2 圖



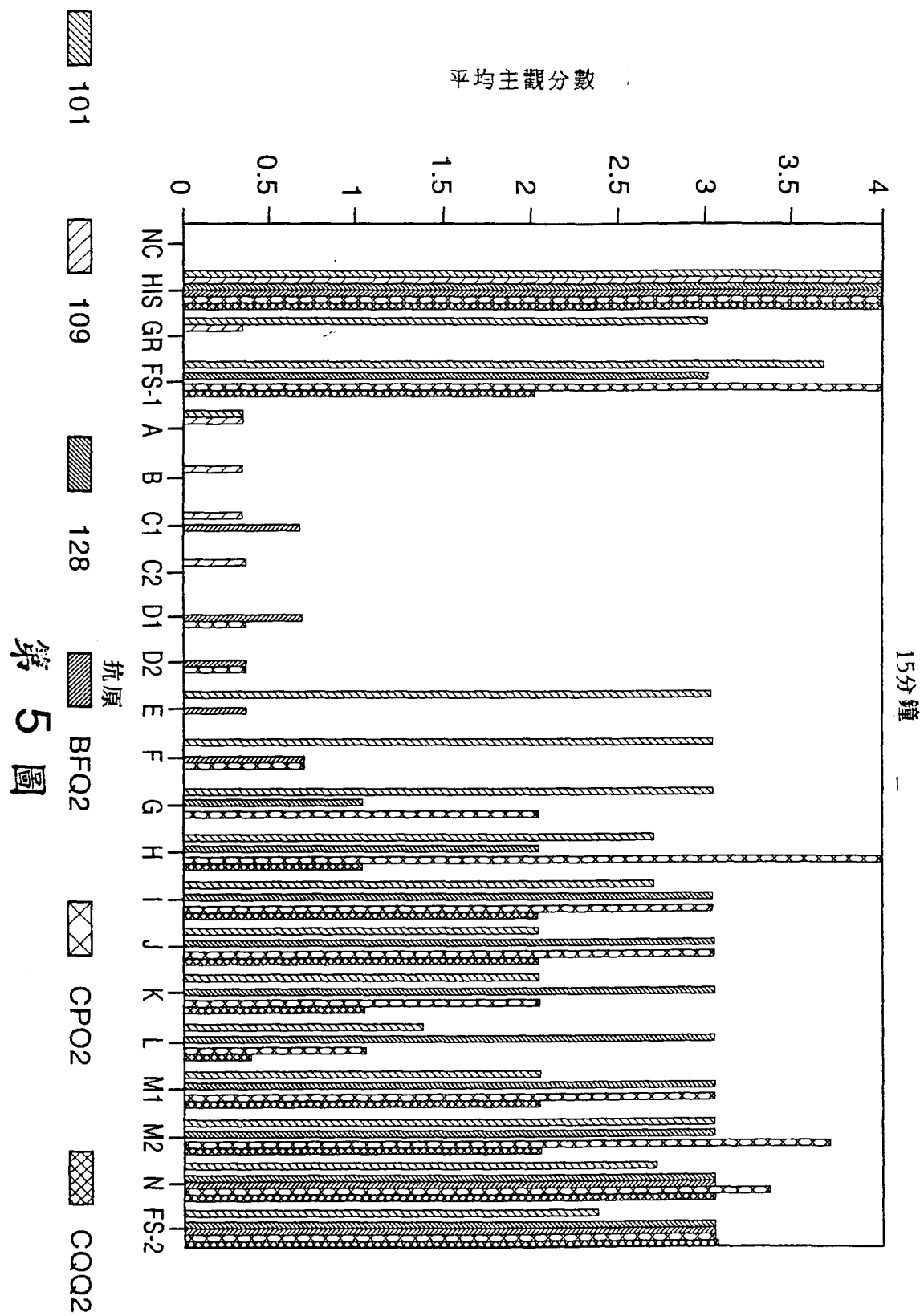
第 3 圖

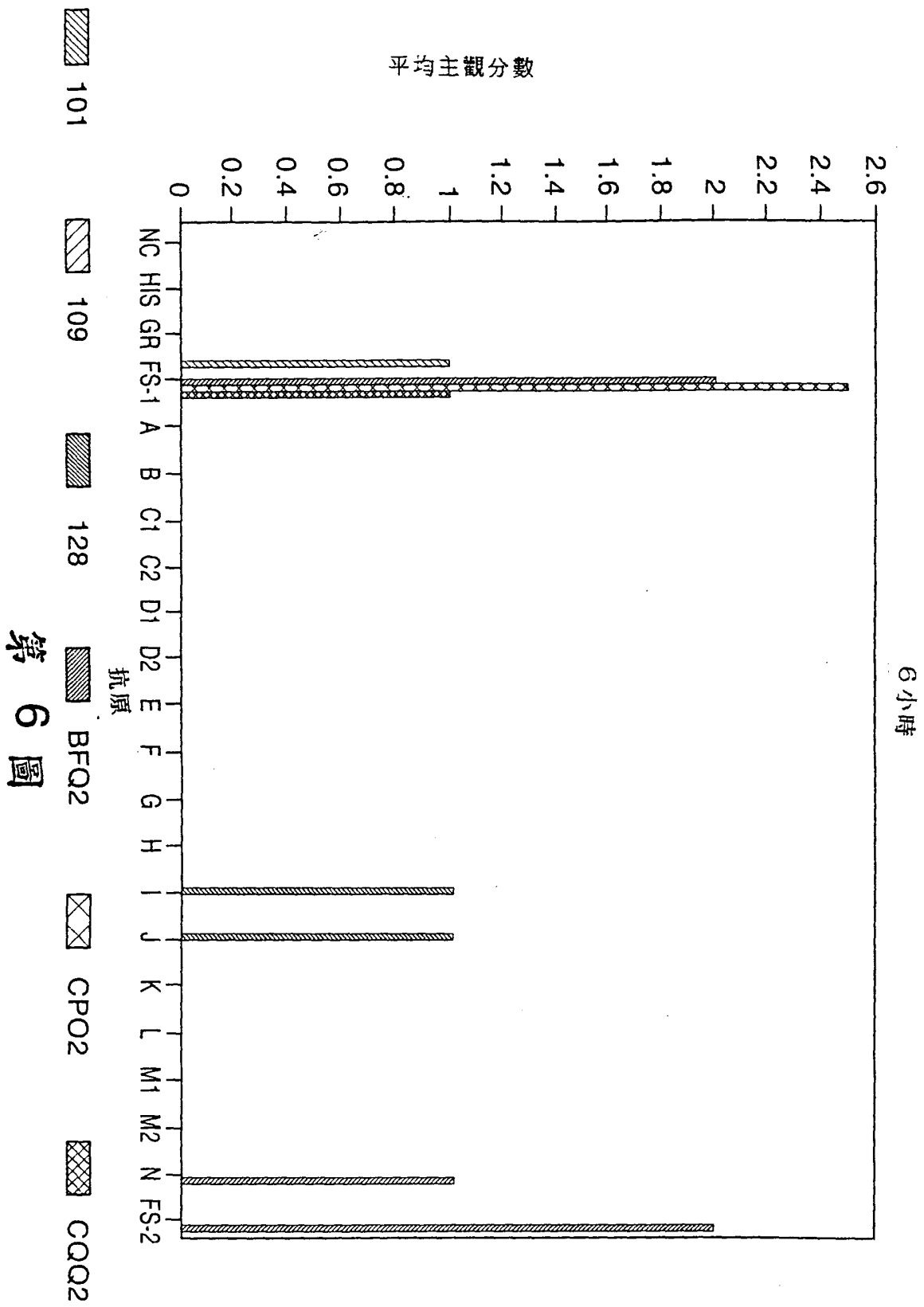


第 4A 圖

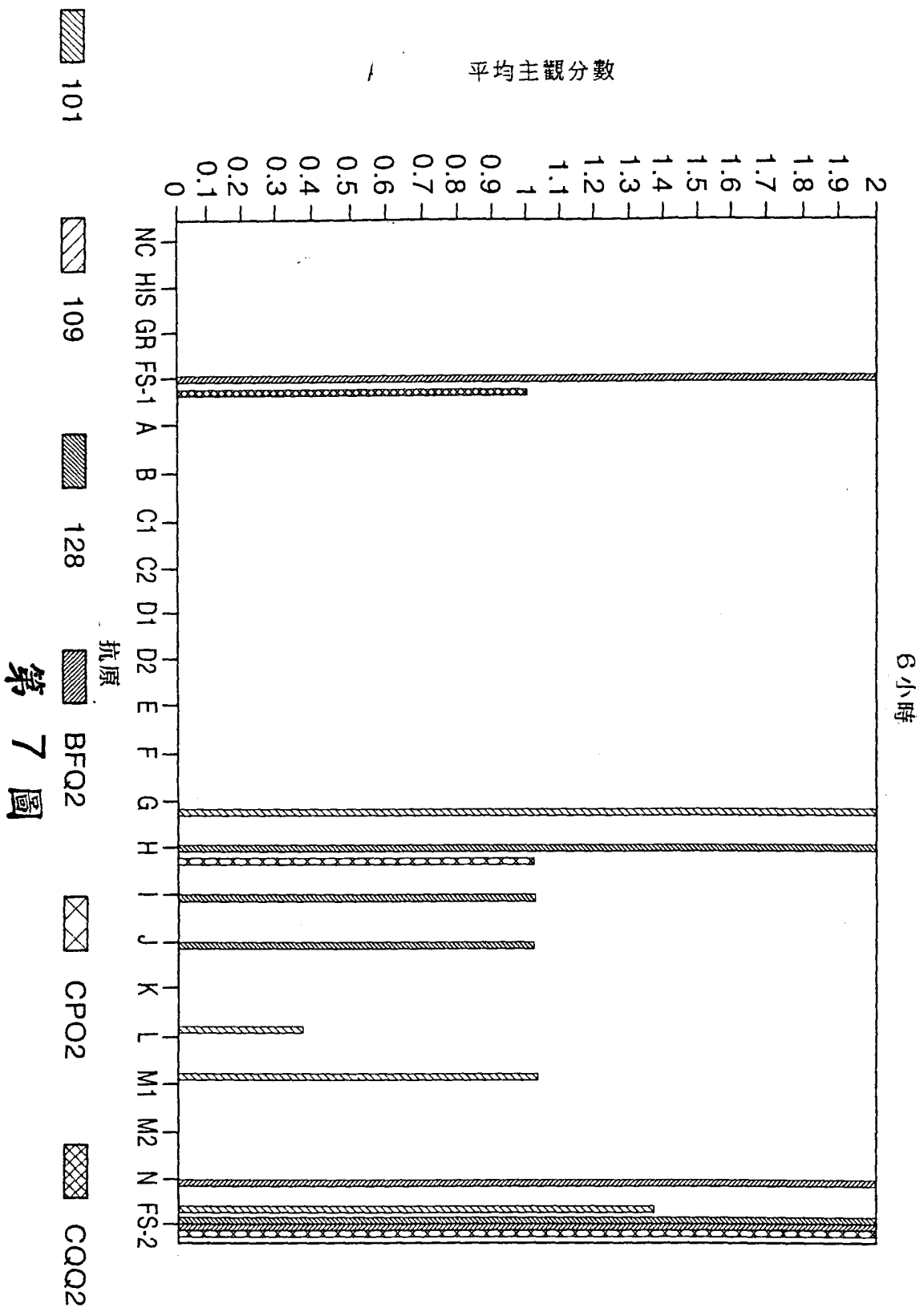


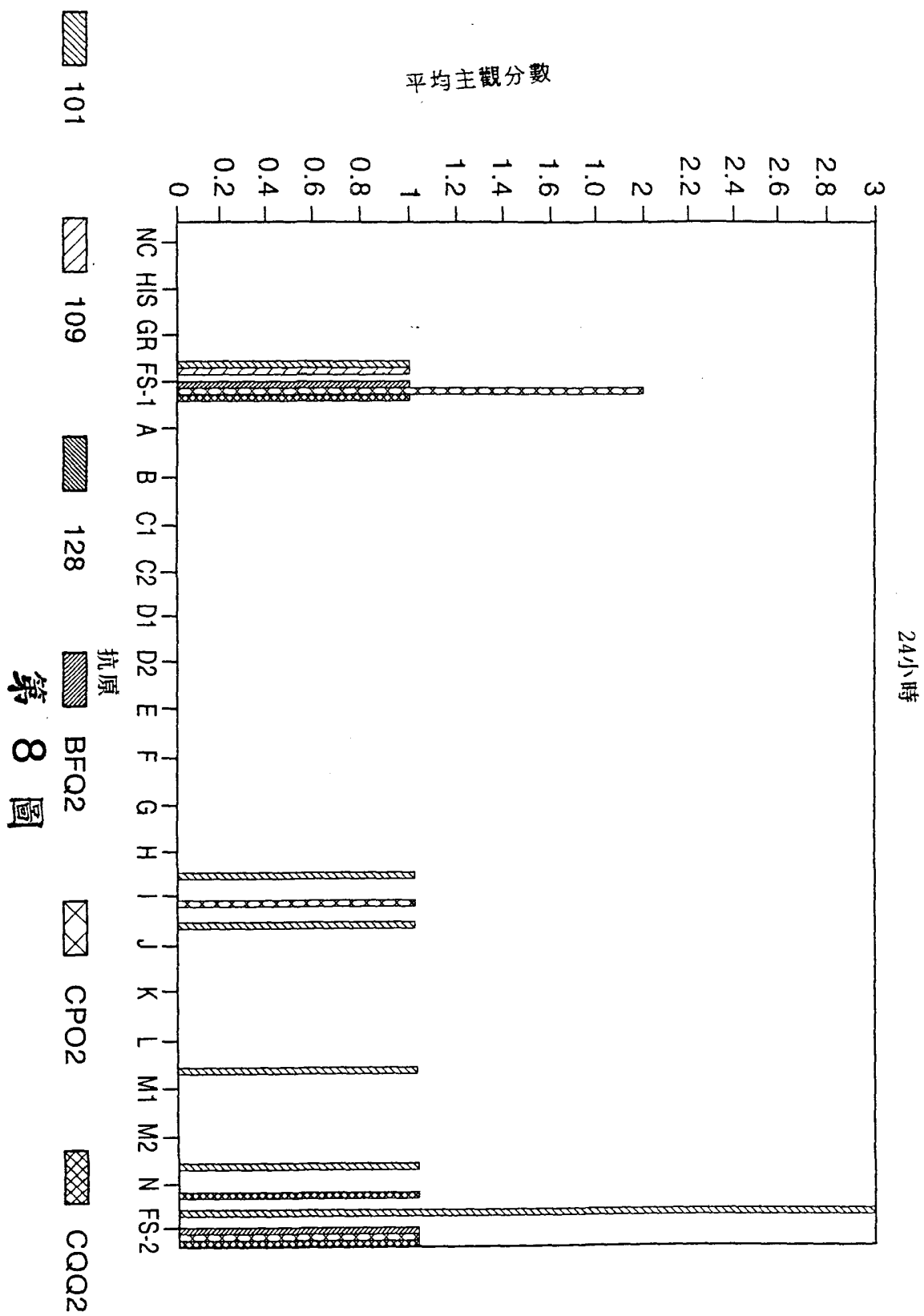
第4B圖

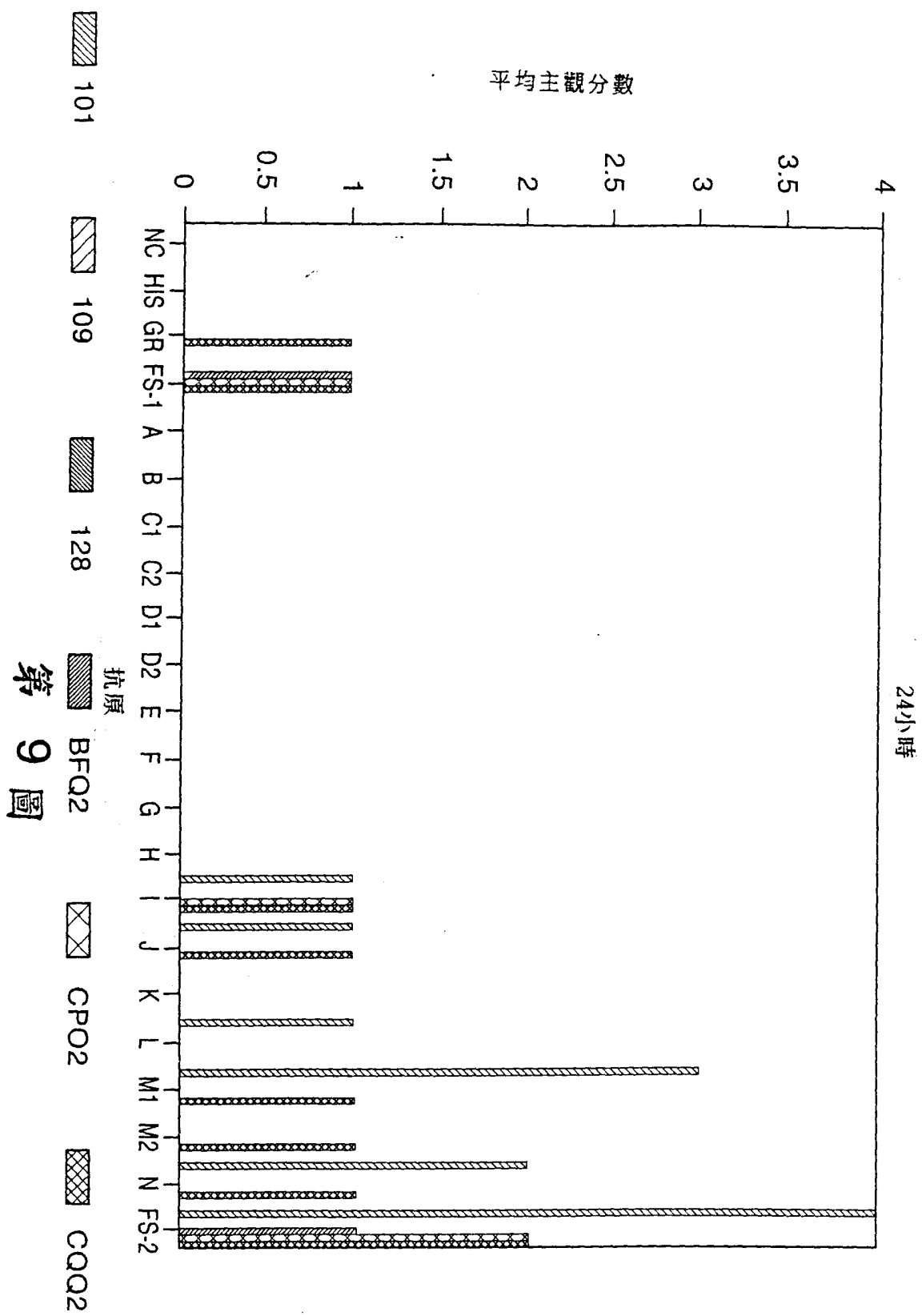




第 6 圖

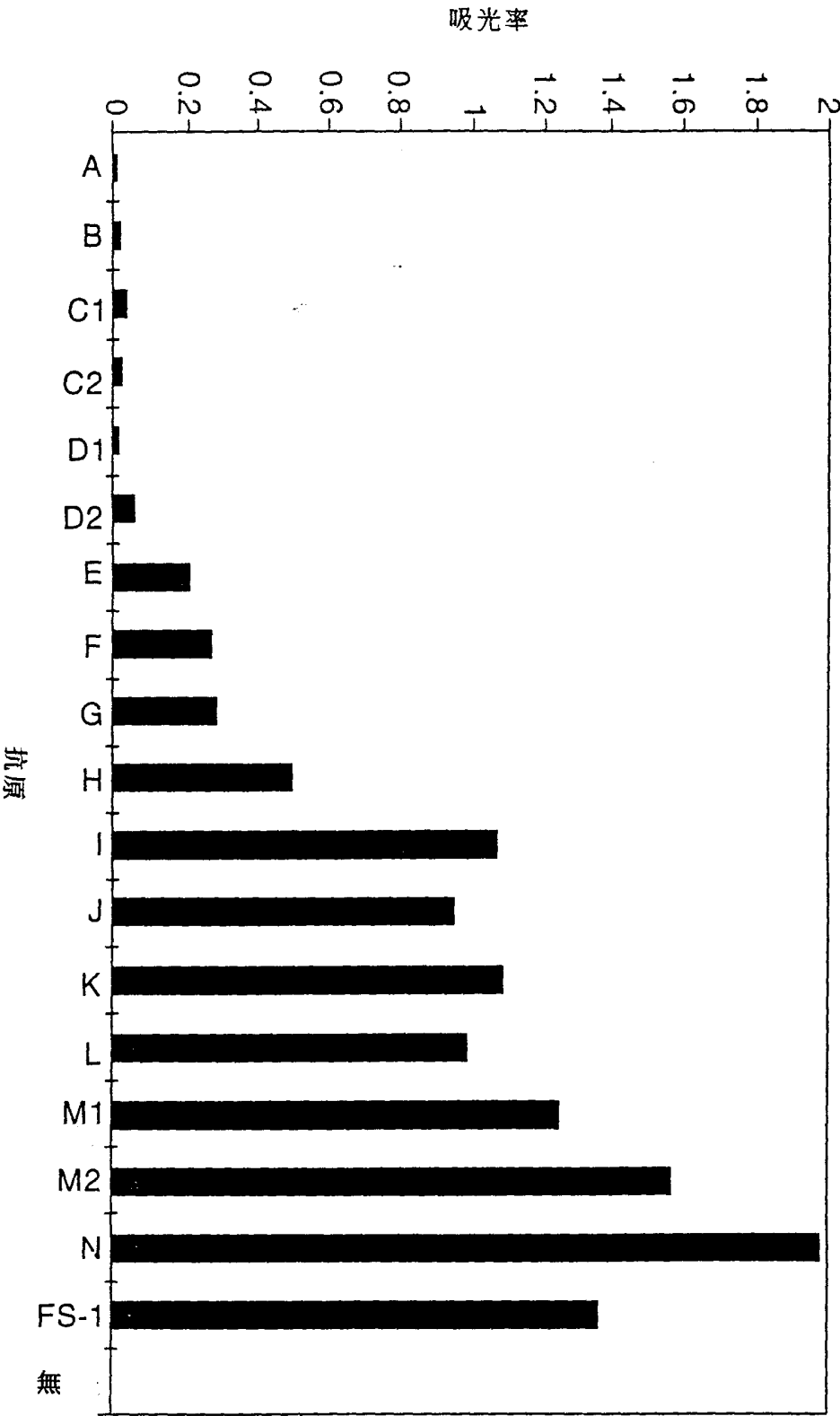






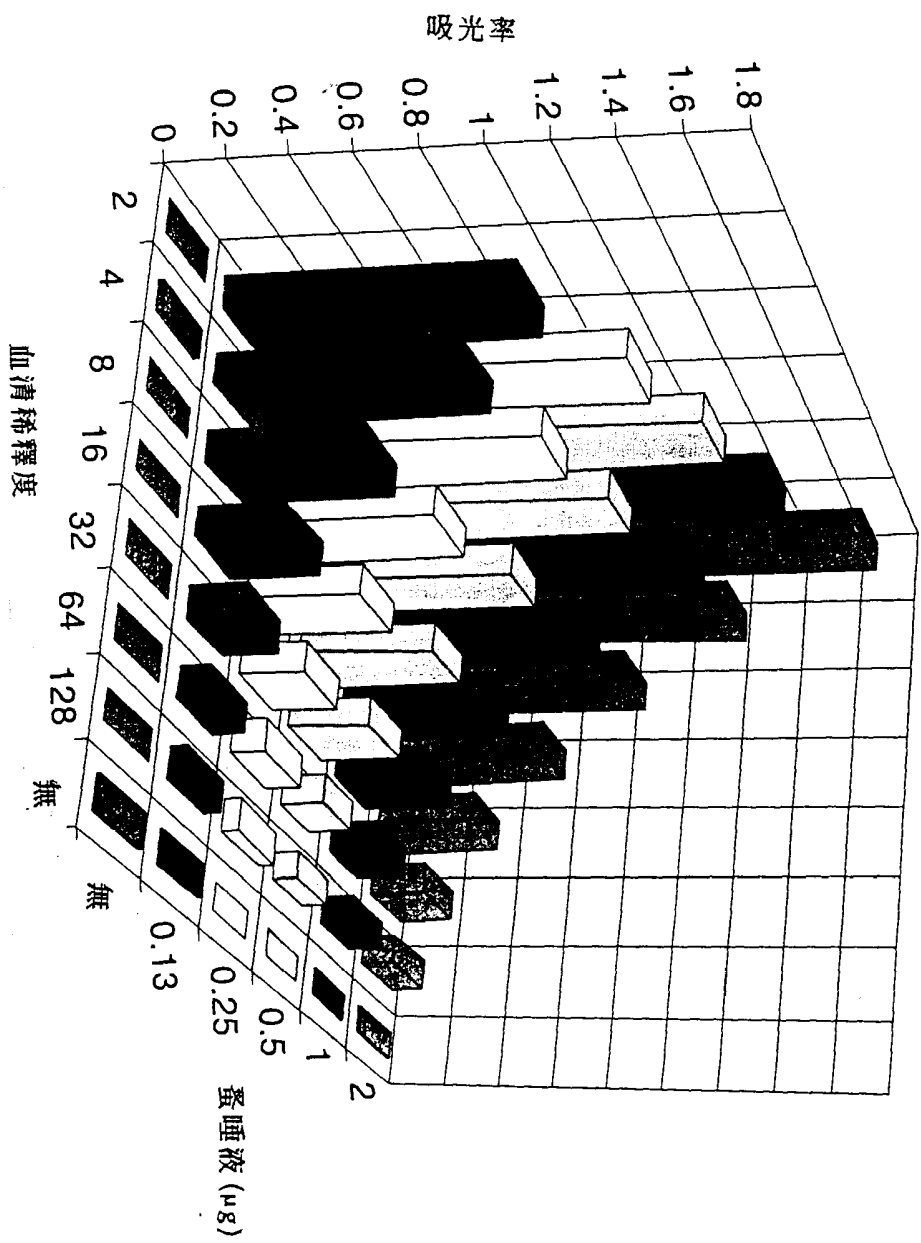
第10圖

使用純過敏性犬IgE進行分段蛋唾液ELISA



第 11A 圖

抗 蚤 唾 液 IgE ELISA, 犬 2082128



第11B圖

抗蛋唾液 IgE, ELISA, 心絲蟲陽性匯集物

