

【11】證書號數：I913053

【45】公告日：中華民國 115 (2026) 年 01 月 21 日

【51】Int. Cl. : C12Q1/686 (2018.01)

發明

全 12 頁

【54】名稱：醣奈米材料於 DNA 聚合酶之用途

【21】申請案號：113148813

【22】申請日：中華民國 113 (2024) 年 12 月 13 日

【72】發明人：黃志清 (TW) HUANG, CHIH-CHING ; 毛儒毅 (TW) MAO, JU-YI ; 唐鈺 (TW) TANG, YU ; 李鎮宇 (TW) LEE, CHEN-YU ; 王晨祐 (TW) WANG, CHEN-YOW

【71】申請人：國立臺灣海洋大學

NATIONAL TAIWAN OCEAN
UNIVERSITY

基隆市中正區北寧路 2 號

【74】代理人：蔡嘉慧

【56】參考文獻：

TW 202231286

期刊 黃志清 開發碳奈米粒子具熱啟動酶活性於多重病毒檢測之應用 (1/2) 國家科學及技術委員會補助產學合作研究計畫成果精簡進度報告 MOST 110-2622-

B-019-005 2022/08/01 1-14

審查人員：陳婷妤

【57】申請專利範圍

1. 一種醣奈米材料用於抑制 DNA 聚合酶的用途，其中該醣奈米材料係至少一種選自於下列所組成的群組：
 - (1) 在約 150 或 200 下進行乾式加熱之葡萄糖、麥芽糖、糊精、瓊脂糖或羥乙基纖維素；
 - (2) 在約 150、200 或 250 下進行乾式加熱之黃原膠；及
 - (3) 在約 150、200、250 或 300 下進行乾式加熱之海藻酸鈉。
2. 一種提升聚合酶連鎖反應之精確性的方法，其係透過添加一醣奈米材料於聚合酶連鎖反應中，其中該醣奈米材料係至少一種選自於下列所組成的群組：
 - (1) 將海藻酸鈉在約 200 下進行乾式加熱所生成，其中該添加的濃度約為 100 µg/mL；
 - (2) 將海藻酸鈉在約 250 下進行乾式加熱所生成，其中該添加的濃度約為 10 µg/mL；
 - (3) 將海藻酸鈉在約 300 下進行乾式加熱所生成，其中該添加的濃度約為 10 µg/mL；
 - (4) 將葡萄糖在約 180 下進行乾式加熱所生成，其中該添加的濃度約為 2.5 mg/mL；及
 - (5) 將葡萄糖在約 210 下進行乾式加熱所生成，其中該添加的濃度約為 2.5 mg/mL。
3. 如請求項 2 所述的方法，其中該聚合酶連鎖反應包含傳統聚合酶連鎖反應、熱啟動聚合酶連鎖反應(hot-start PCR)、毛細管電泳聚合酶連鎖反應(PCR-capillary electrophoresis)、即時聚合酶連鎖反應(real-time PCR)、多重聚合酶連鎖反應(multiplex PCR)或等位基因特異性聚合酶連鎖反應(allele-specific PCR)。

圖式簡單說明

圖 1 係為本發明所述醣奈米材料的生成示意圖。

圖 2 係為不同醣類前驅物所生成之醣奈米材料對於 DNA 聚合酶的抑制效果圖。

(2)

圖 3A 係為海藻酸鈉經 150、200、250 及 300 乾式加熱後(上圖)及溶解於去離子水中(下圖)的照片；圖 3B 係為海藻酸鈉經 150、200、250 及 300 乾式加熱後的穿透式電子顯微鏡(transmission electron microscopy, TEM)圖像，圖中比例尺依序為 1000 nm、2000 nm、250 nm 及 500 nm；圖 3C 係為海藻酸鈉經 150、200、250 及 300 乾式加熱後的高解析穿透式電子顯微鏡(high-resolution transmission electron microscopy, HRTEM)圖像，圖中比例尺為 5 nm，圖中標記的長度為 0.24 nm。

圖 4 係為海藻酸鈉經 150、200、250 及 300 乾式加熱後所生成之醣奈米材料的傅立葉轉換紅外光譜(Fourier transform infrared spectroscopy, FT-IR)圖及各吸收峰值所對應的官能基對照表。

圖 5A 係為將海藻酸鈉經 150、200、250 及 300 乾式加熱後所生成之醣奈米材料，進行 PCR 實驗後所得之電泳圖，圖中目標序列大小為 653 bp；圖 5B 係為將葡萄糖經 150、180 及 210 乾式加熱後所生成之醣奈米材料，進行 PCR 實驗後所得之電泳圖，圖中目標片段大小為 406 bp，其中符號「◀」係為目標片段長度的位置。

圖 6 係為海藻酸鈉經 250 乾式加熱後所生成之醣奈米材料在 35、45、55、65 及 75 的溫度下對於 DNA 聚合酶的相對活性影響圖(***代表 $p < 0.001$)。

圖 7A 係為海藻酸鈉經 250 乾式加熱後所生成之醣奈米材料於不同濃度 DNA 模板下進行 PCR 的影響電泳圖，圖中泳道 1、2、3、4 及 5 分別對應 30、3、0.3、0.03、0 ng 的 DNA 模板；圖 7B 係為添加不同濃度之經 250 乾式加熱後所生成之海藻酸鈉奈米材料進行 PCR 反應的電泳圖；圖 7C 係為添加(右圖)及未添加(左圖)本發明所述醣奈米材料對於 PCR 反應的影響電泳圖；圖 7D 係為添加本發明所述醣奈米材料與市面上的熱啟動 PCR 試劑進行比較的電泳圖，圖中泳道 1、2、3 及 4 分別對應本發明所述醣奈米材料、DreamTaq DNA polymerase (Thermo Scientific, USA)、DreamTaq Hot Start DNA polymerase (Thermo Scientific, USA)及 KAPA2G Fast HotStart PCR Kit (Roche, Switzerland)，其中黑色指標為目標序列長度的位置；圖 7E 係為未添加(對照組，上圖)及添加(實驗組，下圖)本發明所述醣奈米材料於市面上的 PCR 試劑組進行反應的電泳圖，其中符號「◀」係為目標片段長度的位置。

圖 8A 係為添加本發明所述醣奈米材料進行 SARS-CoV-2 樣本的 PCR 檢測比較結果圖(**代表 $p < 0.01$ ，***代表 $p < 0.001$ ； $n=3$)；圖 8B 係為添加本發明所述醣奈米材料進行 omicron 變異的 SARS-CoV-2 突變樣本的 PCR 檢測之包膜蛋白(envelope, E)比較結果圖(*代表 $p < 0.05$ ； $n=3$)；圖 8C 係為添加本發明所述醣奈米材料進行 ALDH2 (E487K) SNP 突變樣本的 PCR 檢測之引子二聚體的比較結果圖(*代表 $p < 0.05$ ； $n=3$)。

圖 9A 係為 2000 PFU 病毒濃度組別的即時 PCR 檢測之指數倍增曲線圖(左圖)及溶解曲線分析圖(右圖)；圖 9B 係為 200 PFU 病毒濃度組別的即時 PCR 檢測之指數倍增曲線圖(左圖)及溶解曲線分析圖(右圖)；圖 9C 係為不同病毒濃度樣本的即時 PCR 檢測之 Ct 值分析圖。

(3)

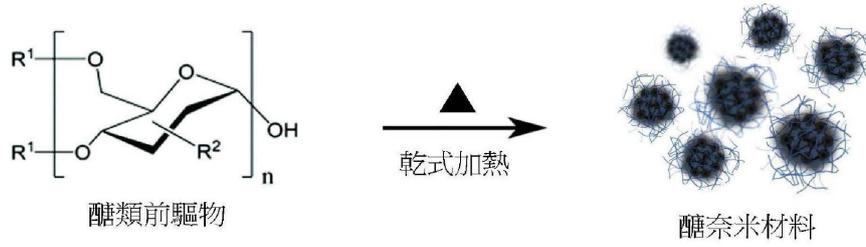


圖1

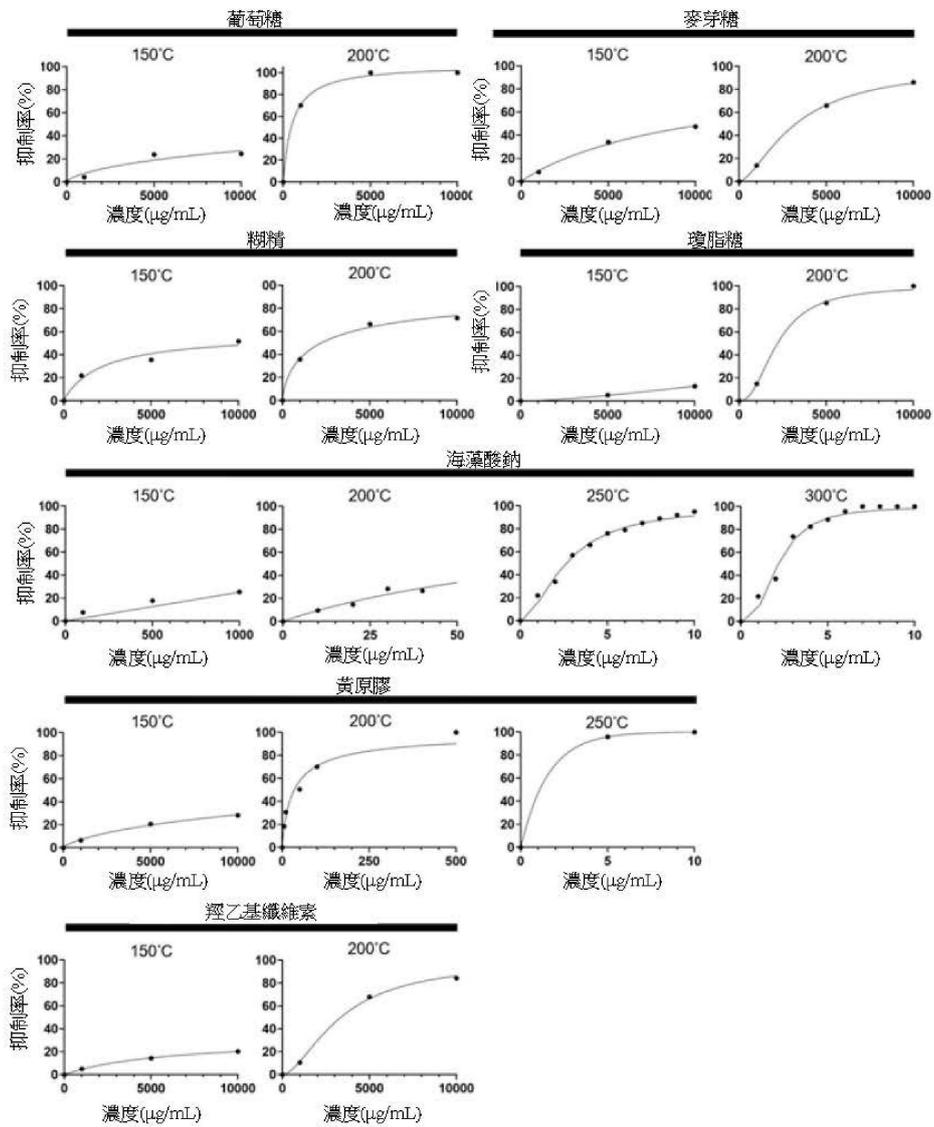


圖2

(4)

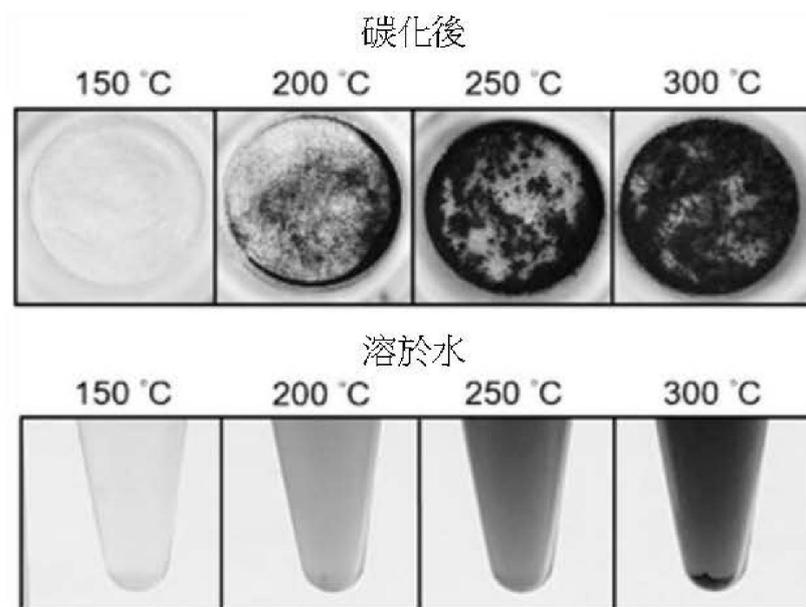


圖3A

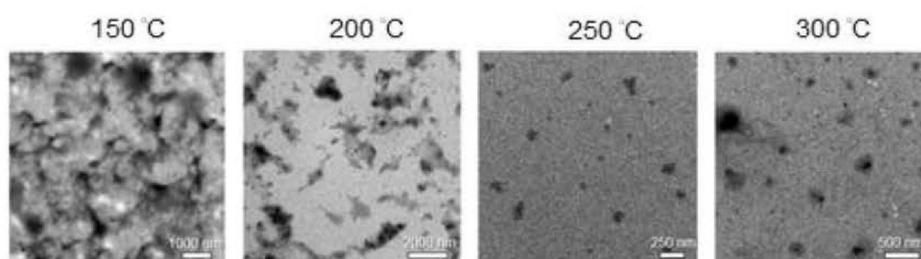


圖3B

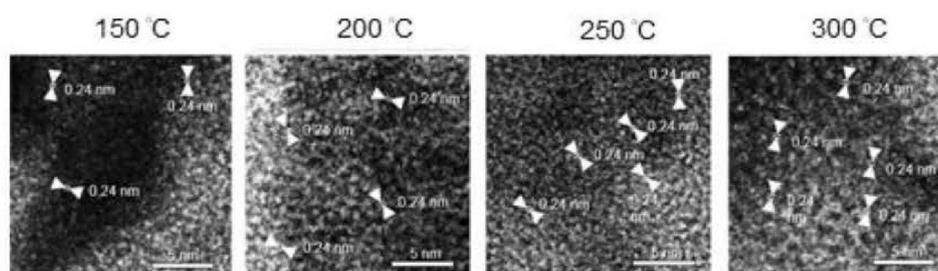


圖3C

(5)

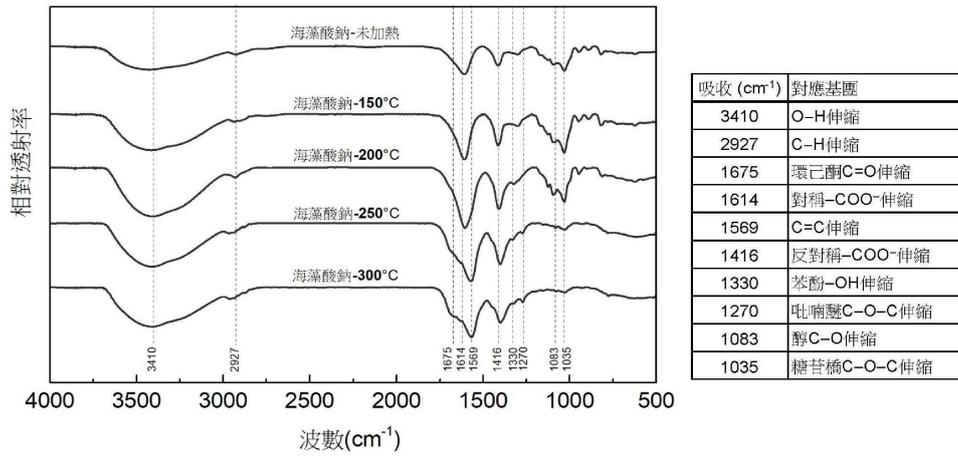


圖4

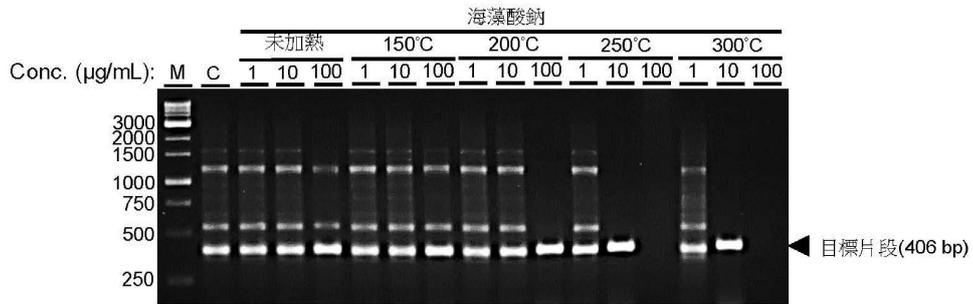


圖5A

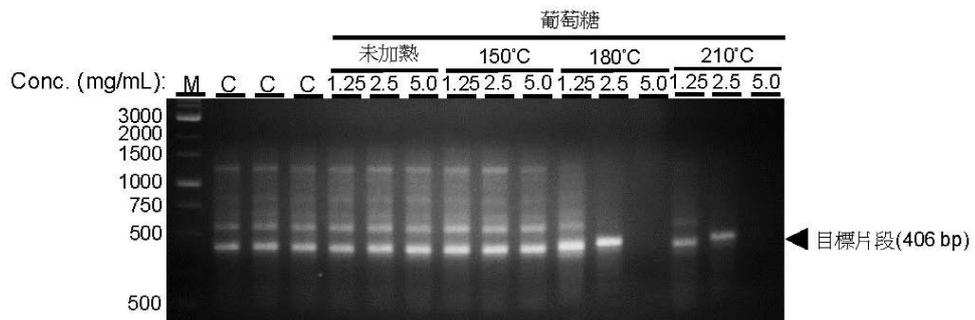


圖5B

(6)

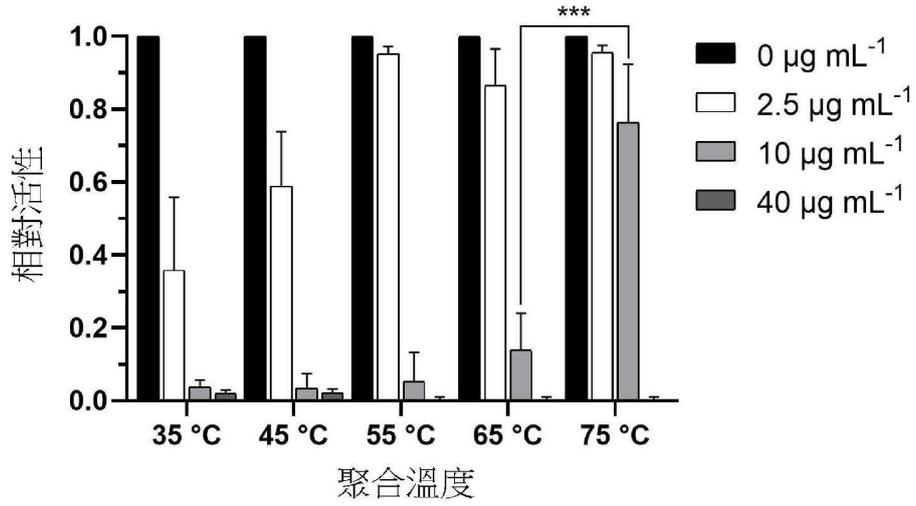


圖6

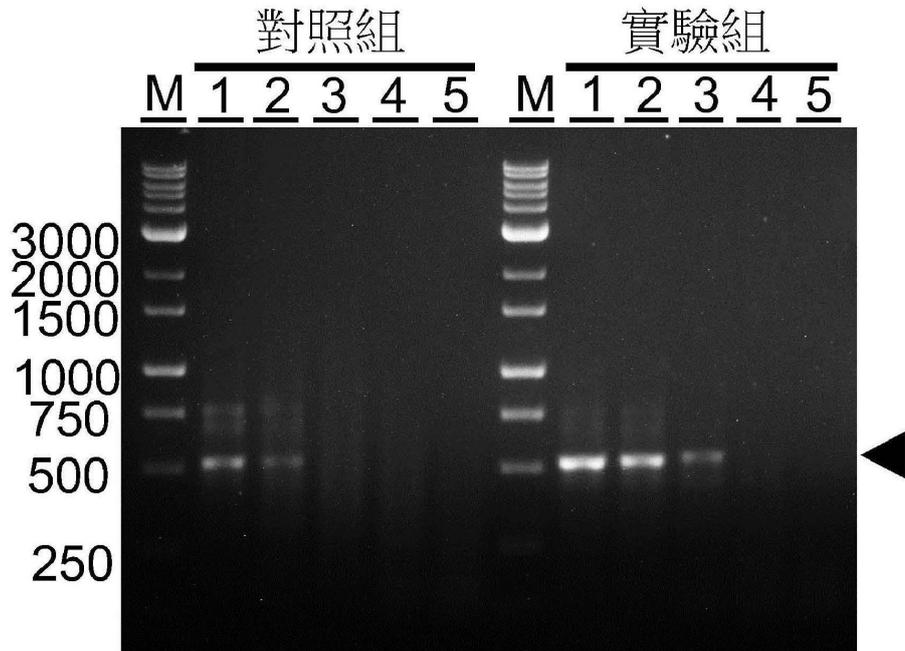


圖7A

(7)

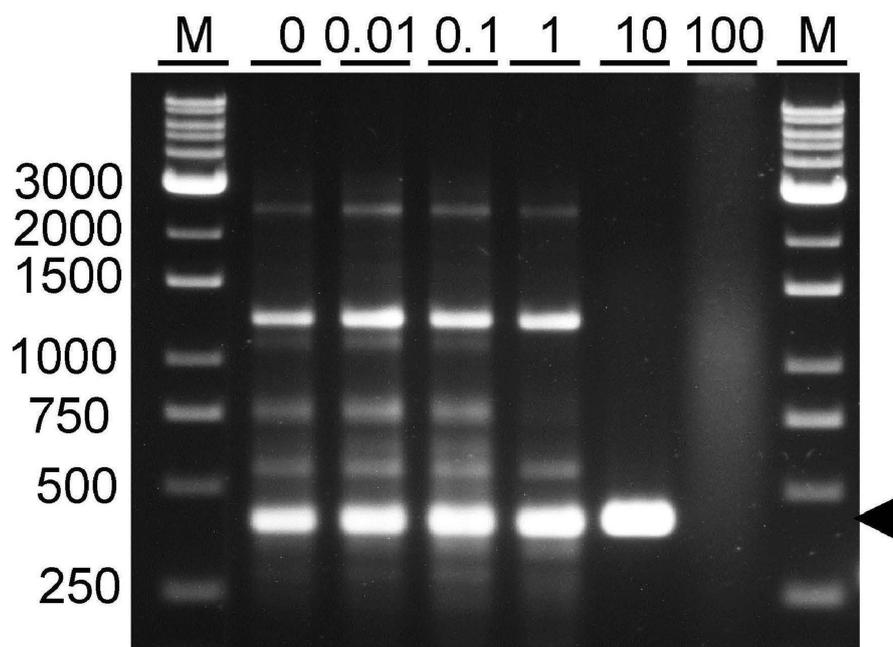


圖7B

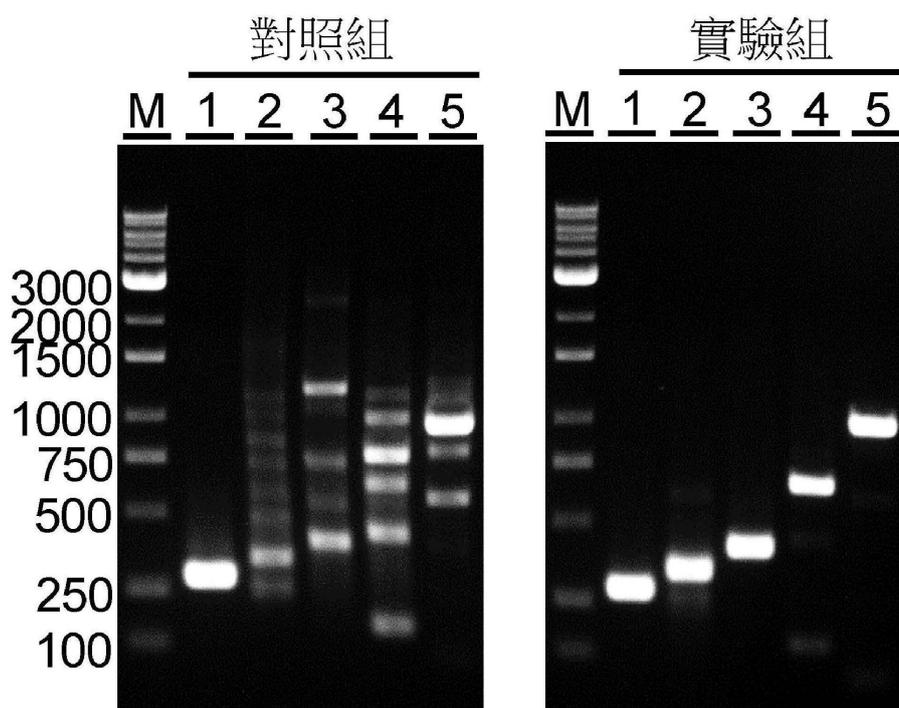


圖7C

(8)

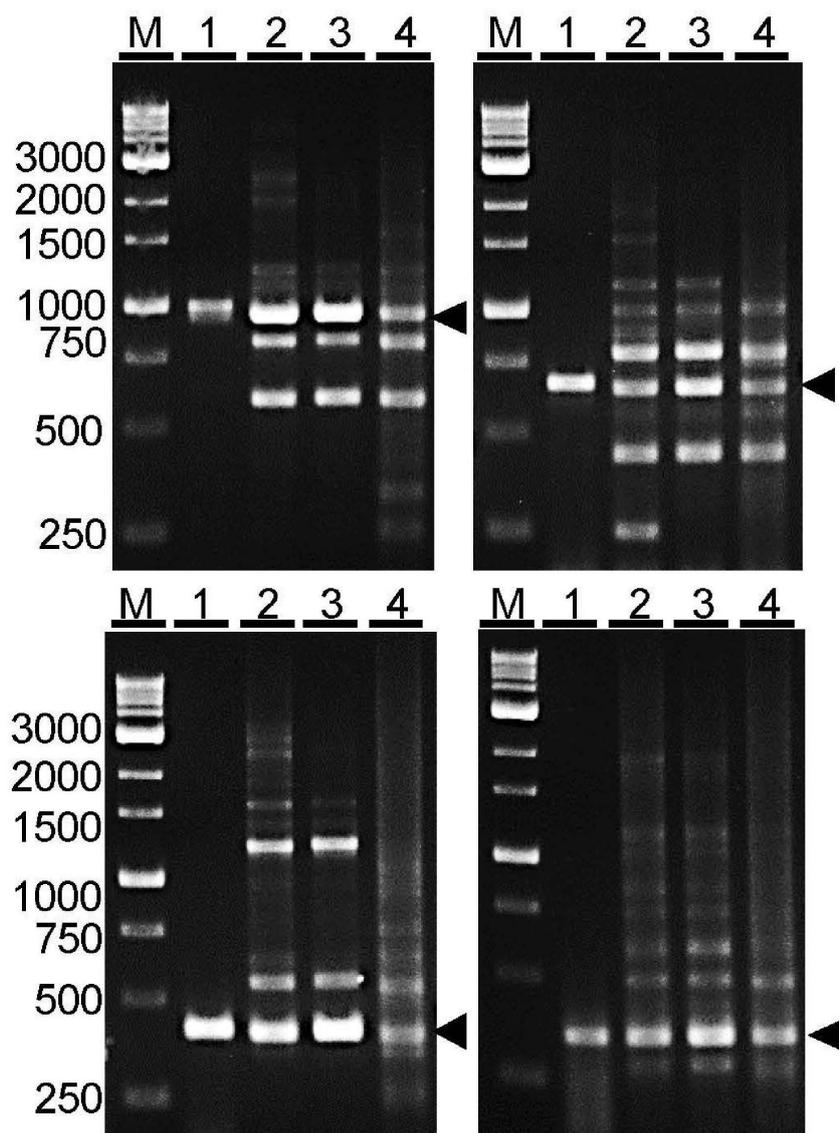


圖7D

(9)

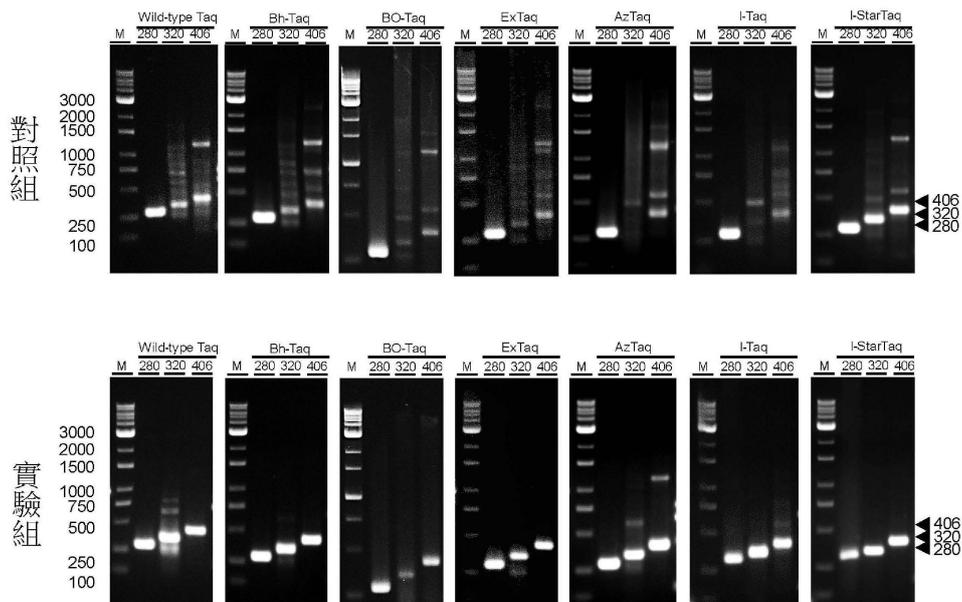


圖7E

SARS-CoV-2病毒

■ 對照組 □ 實驗組

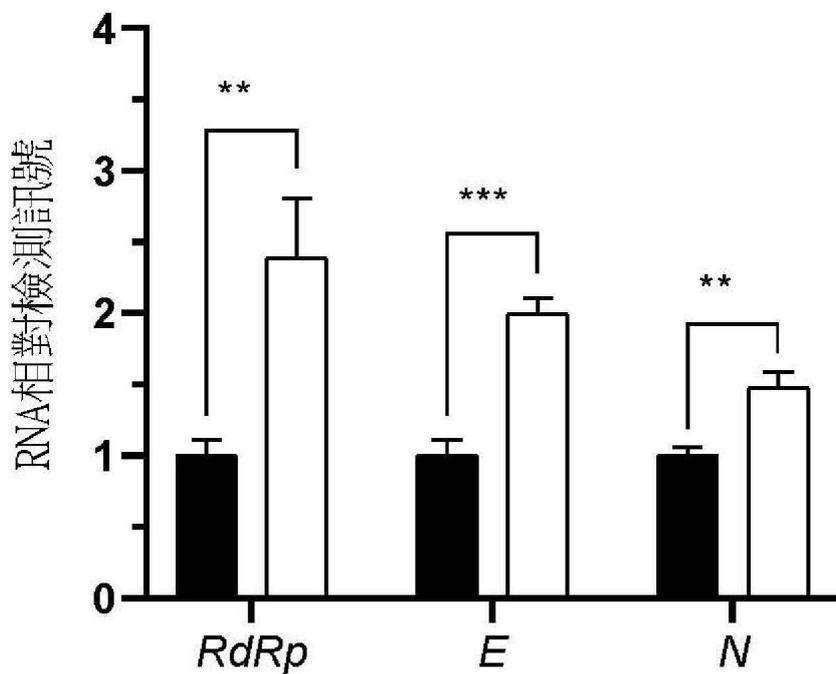


圖8A

SARS-CoV-2病毒變異株(Omicron)

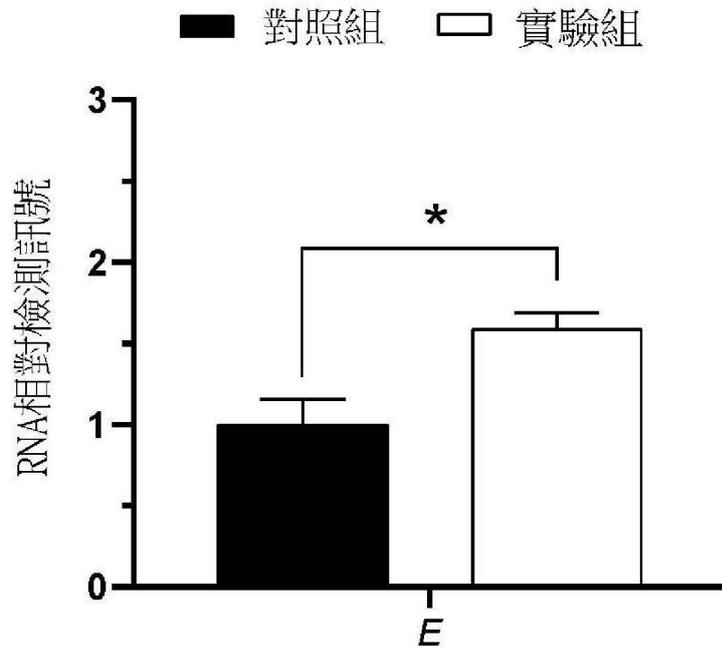


圖8B

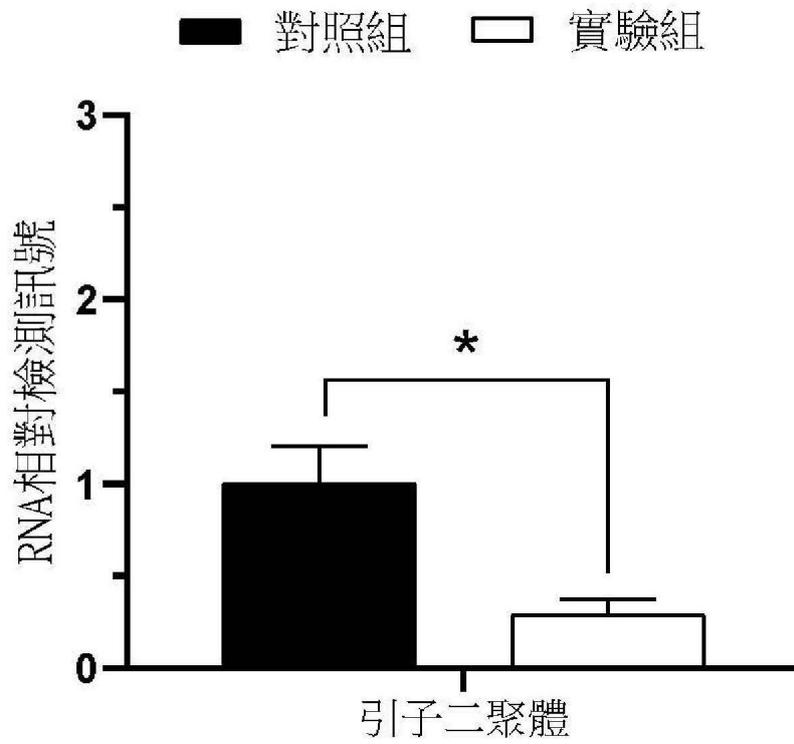


圖8C

(11)

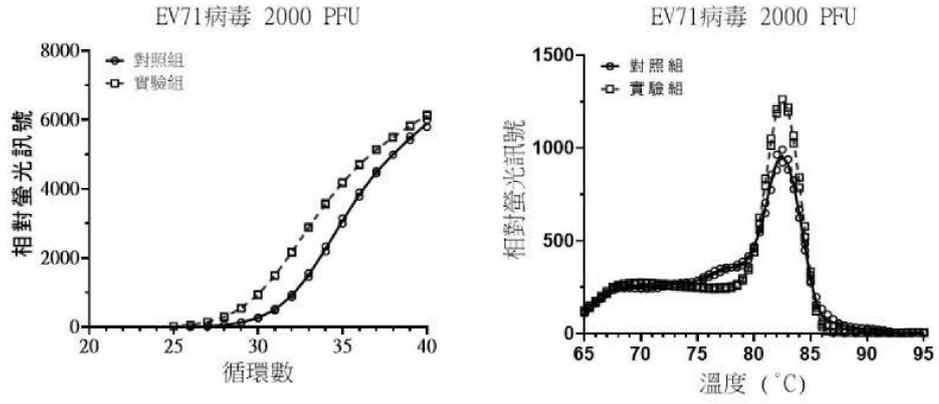


圖9A

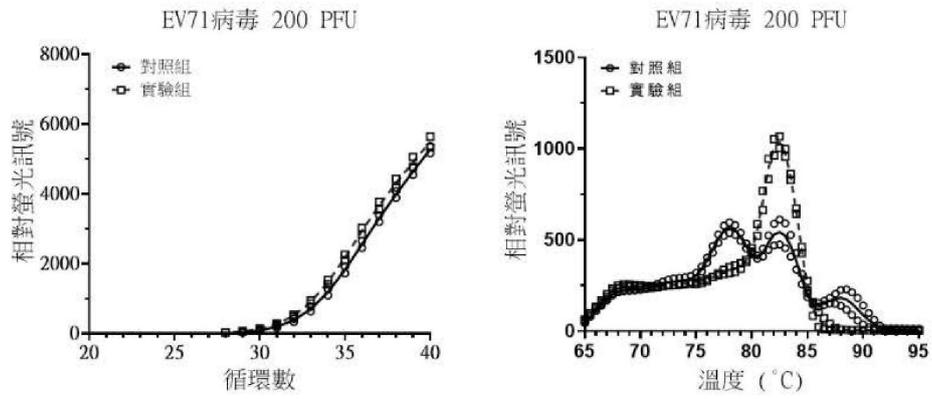


圖9B

(12)

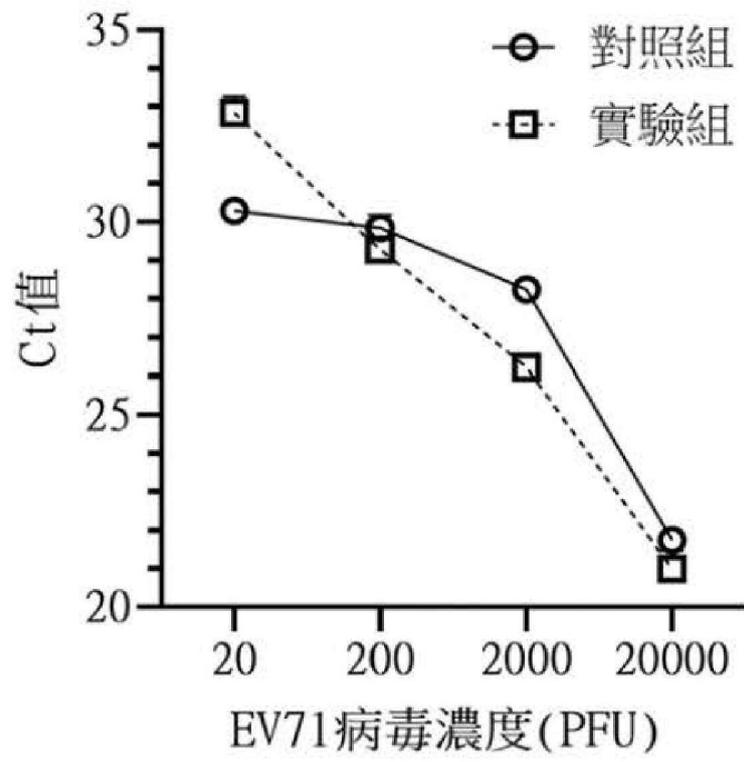


圖9C