

行政院國家科學委員會補助專題計畫成果報告

計畫名稱：以單分子IL-12核酸載體在過敏性氣喘的動物
模式中進行基因治療(II)

計畫類別：個別型計畫

計畫編號：NSC 89-2314-B-002-039

執行日期：民國八十八年八月一日至民國八十九年七月三
十一日

計畫主持人：蔡銘哲 醫師

共同主持人：江伯倫 教授

計畫參與人員：陳柔安小姐

執行單位：台大醫學院小兒科

中文摘要

本研究計畫的主要目的是建立單一分子的介白質12，並進一步利用此一分子來進行相關的研究。以往我們曾經報告過建立雙分子及單一分子的介白質12載體，同時在動物模式證明明確可以有效地增強第一型T輔助細胞的反應。但是由先前的實驗顯示雖然那個單分子介白質IL-12具有生物活性，但是明顯地其活性要比雙分子的介白質IL-12來得低。所以在本計畫中我們又另外合成了兩個介白質IL-12載體，跟先前的單一分子介白質IL-12不同的是，前一個單一分子介白質IL-12是p35在前，而p40在後，利用p35的leader sequence來讓IL-12釋放到細胞外面。而新的單一分子介白質IL-12則是將p40放在前面，而p35放在後面。同時，在將p35及p40結合的胺基酸序列也由14個胺基酸加長到18個胺基酸。結果發現將p40接到前面來的單一分子介白質IL-12，不論是在分泌量或是生物活性上都明顯地比前一個組合蛋白要來得好。同時，我們也建立好以卵蛋白為主的氣喘動物模式，可以來評估這些IL-12在此一動物模式所得到的成效。基本上，本研究已經完成大部份我們所計畫的工作內容。

關鍵詞：過敏氣喘，介白質12

Abstract

The major purpose of this project is to construct single chain IL-12 plasmid and establish the animal model of asthma for the future study on the effect of cytokines on improvement of animal model of asthma. The previous data suggested that construction of both heterodimeric and single chain p35-p40 IL-12 plasmids exerted the effect on the Th1 development and immune response. However, both bioactivity and secreted proteins by single chain p35-p40 IL-12 plasmid are lower compared to those of heterodimeric IL-12 plasmid. To construct the more effective single chain IL-12 plasmid, we construct the new single chain IL-12 with p40-p35 IL-12 plasmid and a 18 amino acids linker. The results suggested that p40-p35 IL-12 plasmid has the better bioactivity and secretion levels compared to those of heterodimeric and p35-p40 IL-12 plasmids. The new p40-p35 IL-12 plasmid will be used for the treatment of animal model of asthma.

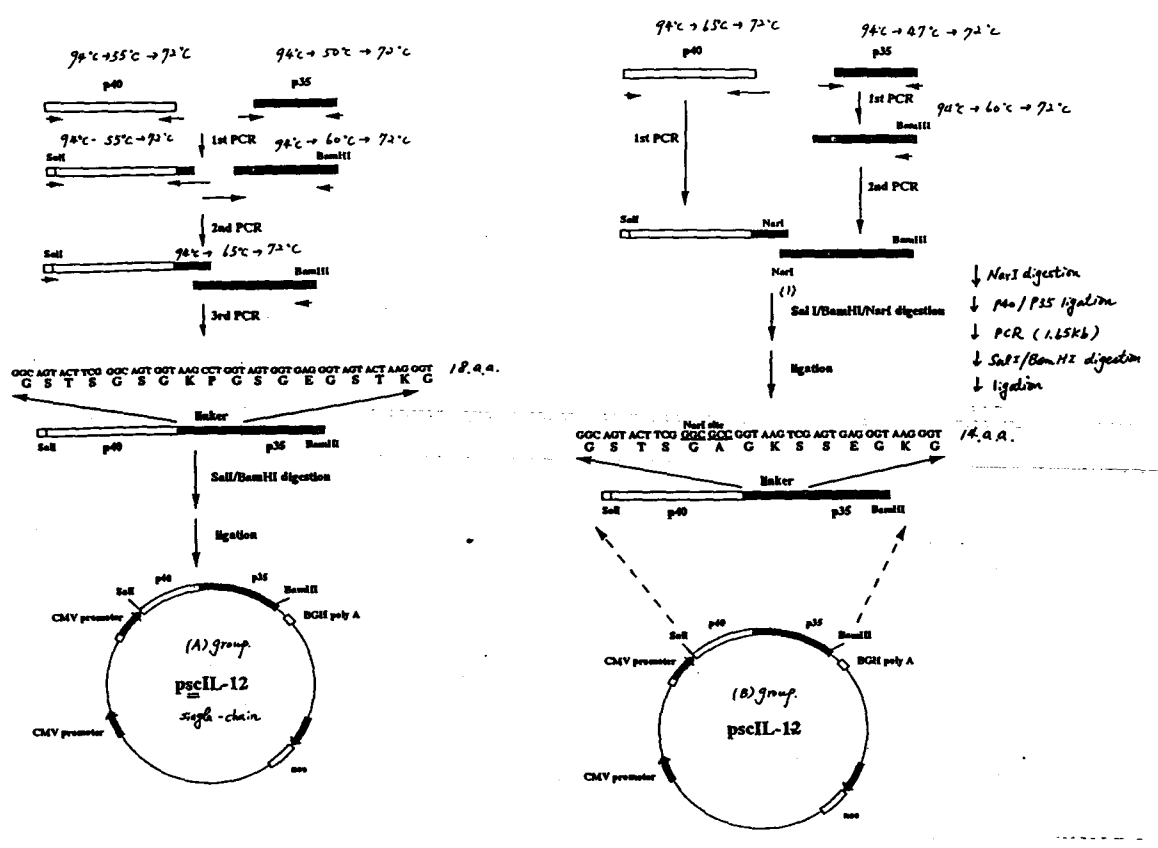
Key words: Health food, immune function

計畫目標：建立單一分子的IL-12載體及氣喘的動物模式來評估如IL-12的細胞激素是否能夠在氣喘疾病的治療上扮演著一個重要的較色。

計畫內容：本計畫的主要內容是建立一個新的單一分子IL-12載體，以應用到動物的氣喘模式來評估是否能夠達到降低氣管發炎反應的效果。

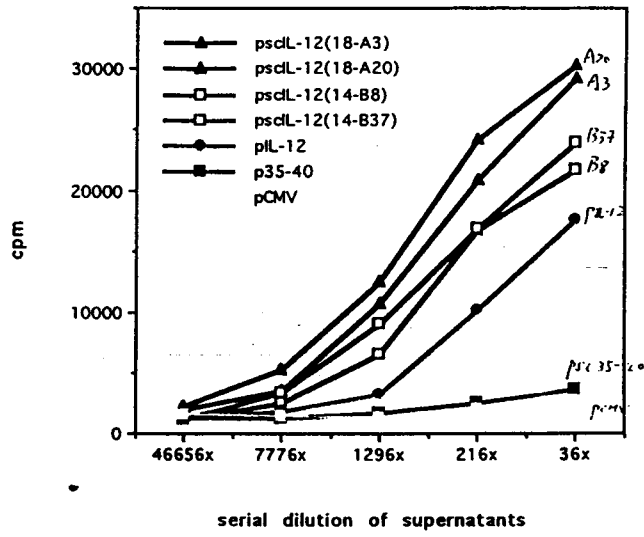
成果報告：

本計畫主要的目的是要建立新的單一分子的IL-12載體，在此一研究中我們一改以前利用p35-p40所製備完成的方法，我們重新設計了新的排列及linker，亦即讓p40在前而p35在後，同時linker的氨基酸由原來的14個增加到18個。這次的實驗中我們成功地得到這兩種不同的單一分子IL-12載體(圖一)。進一步利用生物活性的研究結果，我們利用小鼠脾臟細胞加上裂殖素和IL-12培養兩天後，當作活性測定細胞。同時，將我們取得的載體加上微脂體轉染Cos-1和C2C12細胞，收取上清液加入測定活性的細胞內。我們的研究結果顯示這兩種單一分子IL-12的活性要比原來的單一分子IL-12和異合體IL-12的活性來得高(圖二)。進一步利用ELISA的方法測定上清液內IL-12蛋白的濃度也顯示新合成的載體也能夠分泌較多的IL-12蛋白(圖三)。由此一研究結果，再加上前一年氣喘動物模式的建立，讓我們有更好的機會來進一步研究這些相關的細胞介質應用在氣喘動物模式治療的效果。



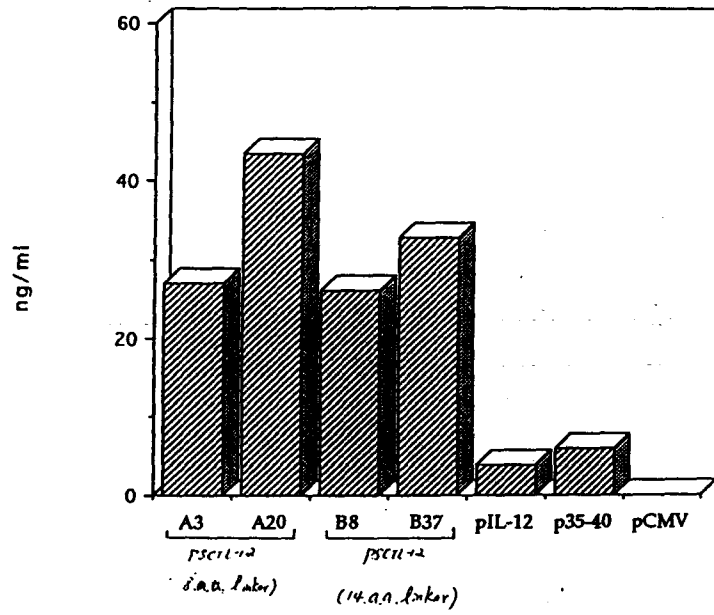
圖一

IL-12 bioassay



圖二

IL-12 ELISA



圖三