

# 構建14個鳥嘌呤於DNA序列以增進3kb範圍內之突變率

## 本院覽號

13A-1040402

## 公告日期

2020-11-02

## 智財權狀態

美國臨時案已申請、台灣(發明)I618795放棄維護、美國放棄申請

## 摘要

具備穩定誘發局部區域高突變率之獨特短核酸序列。

## 技術優勢

G14這項發明是標靶式地增加特定基因或操縱子的突變。首先，其所導致的突變產生於生物演化的自然過程，不需額外萃取DNA進行突變實驗及轉型作用（將突變基因送入生物體內的實驗）；於是，節省了相當多的時間及花費。而G14的第二項優勢在於其突變圖譜：市面上的標靶突變是利用聚合酶連鎖反應（PCR）所達到，此技術侷限於既定的突變數量；但G14所導致的突變是自然產生，沒有數目上的限制，於是得以產生更完整的突變圖譜。我們將命名此產品為G14 停機坪（“landing pad”），由生技公司進一步研發及銷售。每個停機坪的設計（如下圖）主要是，在ccdB基因末端的上游30bp處插入G14序列，而遭G14插入後的ccdB基因由於框架轉移將無法轉譯出蛋白，失去活性；當G14序列缺失而喪失了突變能力，使得ccdB可以成功產出蛋白。但因ccdB所產出的蛋白為一毒素，會殺死該細菌，這樣的設計便可去除喪失突變能力的G14。另外，為加高突變率，我們多插入一組G14加上ccdB基因最後30bp的片段；而為了避免後來插入的ccdB part2b片段與上游的ccdB part2片段序列重組而去除掉G14，ccdB part2b是以替代密碼子編碼而成。在每個停機坪的兩端，可以接上被易位酶（transposase）辨識的反向重複序列（IR，inverted repeat），於是進一步利用易位酶，不只可將整個停機坪插入單一基因，更可插入整個DNA基因庫（DNA library），系統性地擴大了G14標的突變的範圍。最後，我們在最外側的兩端加上了限制性內切酶（Mme1）位點，方便截取出整個停機坪。我們預期，僅需額外搭配轉座子克隆步驟（transposon-based cloning step），G14停機坪便可提供穩定及高針對性突變的效率提升；此停機坪更為第一個可以將個別區域性的突變策略發揮到系統性範圍的發明。

## 應用範圍

新蛋白、新基因及生物體演化相關研究；系統生物學；高通量篩選系統。

## 創作人

呂俊毅、Michael J. McDonald



中央研究院  
ACADEMIA SINICA