



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公告本

(11)證書號數：TW I864611 B

(45)公告日：中華民國 113 (2024) 年 12 月 01 日

(21)申請案號：112106695

(22)申請日：中華民國 112 (2023) 年 02 月 23 日

(51)Int. Cl. : C07K7/06 (2006.01)

A61K38/08 (2019.01)

A61P3/10 (2006.01)

A23L33/18 (2016.01)

(30)優先權：2022/03/24 南韓

10-2022-0036947

(71)申請人：南韓商凱爾格恩有限公司(南韓) CAREGEN CO., LTD. (KR)

南韓

(72)發明人：鄭鎔池 CHUNG, YONG JI (KR)；金銀美 KIM, EUN MI (KR)；金先洙 KIM, SEON SOO (KR)

(74)代理人：祁明輝；林素華；涂綺玲

(56)參考文獻：

CN 106459152A

期刊 Priya Antony et al, "Bioactive Peptides as Potential
Nutraceuticals for Diabetes Therapy: A Comprehensive Review",
Review Int J Mol Sci. 2021 Aug 22;22(16):9059. ijms22169059_

審查人員：余家嫻

申請專利範圍項數：13 項 圖式數：12 共 90 頁

(54)名稱

具有抗糖尿病活性的胜肽複合物、包含其之醫藥組成物及包含其之機能性食品組成物

(57)摘要

本發明係有關於具有抗糖尿病活性的胜肽複合物及其用途。本發明之胜肽複合物促進細胞吸收葡萄糖、抑制胰島素抵抗訊息、提升胰島素敏感訊息、以及抑制胰島

 β

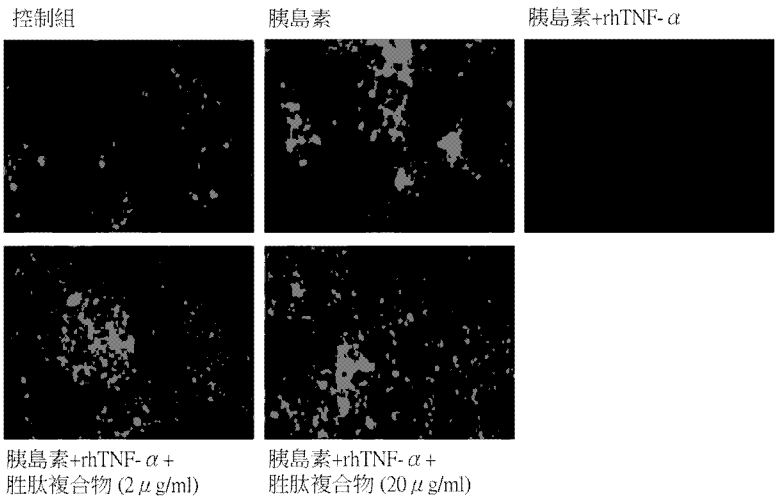
細胞的細胞凋亡，胰島

 β

細胞是胰島素生產細胞，且從而可展現降低血糖的功效。

The present invention relates to a peptide complex having anti-diabetic activity and uses thereof. The peptide complex of the present invention promotes glucose uptake into cells, inhibits an insulin-resistant signal, promotes an insulin-sensitive signal, and inhibits apoptosis of pancreatic beta cells, which are insulin-producing cells, and thus can exhibit the effect of lowering the blood glucose levels.

指定代表圖：



第 1a 圖



I864611

【發明摘要】

【中文發明名稱】具有抗糖尿病活性的胜肽複合物、包含其之醫藥組成物及包含其之機能性食品組成物

【英文發明名稱】PEPTIDE COMPLEX HAVING
ANTI-DIABETIC ACTIVITY, PHARMACEUTICAL
COMPOSITION COMPRISING THE SAME AND
FUNCTIONAL FOOD COMPOSITION COMPRISING THE
SAME

【中文】

本發明係有關於具有抗糖尿病活性的胜肽複合物及其用途。本發明之胜肽複合物促進細胞吸收葡萄糖、抑制胰島素阻抗訊息、提升胰島素敏感訊息、以及抑制胰島 β 細胞的細胞凋亡，胰島 β 細胞是胰島素生產細胞，且從而可展現降低血糖的功效。

【英文】

The present invention relates to a peptide complex having anti-diabetic activity and uses thereof. The peptide complex of the present invention promotes glucose uptake into cells, inhibits an insulin-resistant signal, promotes an insulin-sensitive signal, and inhibits apoptosis of pancreatic beta cells, which are insulin-producing cells, and thus can exhibit the effect of lowering the blood glucose levels.

【指定代表圖】第 1a 圖。

【代表圖之符號簡單說明】無

【特徵化學式】無

【發明說明書】

【中文發明名稱】具有抗糖尿病活性的胜肽複合物、包含其之醫藥組成物及包含其之機能性食品組成物

【英文發明名稱】PEPTIDE COMPLEX HAVING
ANTI-DIABETIC ACTIVITY, PHARMACEUTICAL
COMPOSITION COMPRISING THE SAME AND
FUNCTIONAL FOOD COMPOSITION COMPRISING THE
SAME

【技術領域】

【0001】 本發明係有關於具有抗糖尿病活性(anti-diabetic activity)的胜肽複合物(peptide complex)及其用途。

【先前技術】

【0002】 糖尿病是一種代謝性疾病，會出現胰島素分泌不足或正常功能缺失，且特徵在於高血糖(hyperglycemia)，亦即血糖值增加，其會造成各種症狀(symptoms)和徵候(signs)，並導致葡萄糖排入尿液中。近年來，由於肥胖率增加，尤其是腹部肥胖，糖尿病的發病率呈現爆炸性成長趨勢。糖尿病主要可分為第 1 型糖尿病與第 2 型糖尿病，第 1 型糖尿病是胰島素依賴型糖尿病，第 2 型糖尿病是非胰島素依賴型糖尿病。第 2 型糖尿病的特徵在於高血糖、胰島素阻抗和胰島素分泌相對不足。

【0003】 當攝取食物時，來自食物的葡萄糖會從消化道被吸收，且刺激胰腺的 β 細胞分泌胰島素，分泌出的胰島素會促進肌肉吸收葡萄糖。胰島素亦和肝臟的葡萄糖吸收部分相關，但主要是抑制肝臟產生葡萄糖。胰島素藉由抑制肝臟中的葡萄糖產生與促進包含肌肉之周圍組織吸收葡萄糖來使血糖濃度降低。胰島素阻抗是指給定的胰島素濃度產生低於正常血糖反應的情況。胰島素藉由促進肌肉吸收葡萄糖或抑制肝臟中的葡萄糖產生來調節血糖。胰島素阻抗是指即便未發生胰島素分泌不足仍發生胰島素作用降低的情況。細胞膜上的胰島素受體和周圍組織的細胞吸收葡萄糖有關，且胰島素受體的數量降低或受體結合後的細胞內缺陷導致胰島素阻抗。雖然在第 2 型糖尿中發現胰島素受體缺陷，但已知主要是受體後細胞內缺陷 (post-receptor intracellular defects) 發揮更大的作用，受體後細胞內缺陷是由胰島素調節的磷酸化/去磷酸化的缺陷。在這些機制中，已知磷脂酰肌醇-3-激酶 (phosphatidylinositol-3-kinase; PI3K) 訊息傳送缺陷會降低葡萄糖轉運蛋白 GLUT-4 (葡萄糖轉運蛋白 4 型) 易位 (translocation) 至細胞膜。

【0004】 如今，可藉由改善生活方式(飲食療法、運動療法)與藥物來控制血糖值。然而，飲食療法或運動療法難以嚴格管理與實踐，且其效果有限。因此，多數糖尿病病患仰賴例如胰島素、促胰島素分泌劑 (insulin secretagogues)、胰島素增敏劑 (insulin sensitizers) 和降血糖劑等藥物控制血糖，並改善生活方式。

【0005】 [先前技術文獻]

【0006】 [專利文獻]

【0007】 (專利文獻 1) WO2016-175362

【0008】 (專利文獻 2) WO2018-074682

【發明內容】

【0009】 <技術問題>

【0010】 本發明人已進行研究並努力尋找具有改良的功效與確保安全性之的活性物質，其可從抑制胰島素阻抗與增加胰島素敏感度以促進葡萄糖吸收、以及保護來自游離脂肪酸之胰島β細胞(pancreatic beta cells)的方面來治療糖尿病。因此，本發明人透過實驗發現兩種類型胜肽的複合物滿足上述要求並完成本發明。

【0011】 因此，本發明的一目的是提供具有抗糖尿病活性的胜肽複合物。

【0012】 本發明的另一目的是提供用以預防或治療糖尿病的醫藥組成物(pharmaceutical composition)，組成物包含具有上述活性的胜肽複合物作為有效成分(active ingredient)。

【0013】 本發明的另一目的是提供用以控制血糖值的機能性食品組成物(functional food composition)，組成物包含具有上述活性的胜肽複合物作為有效成分。

【0014】 <技術解決方案>

【0015】 根據本發明之一方面，

【0016】 提供胜肽複合物，其包含：(i) 包含 SEQ ID NO: 1 的胺基酸序列的胜肽；以及(ii) 包含 SEQ ID NO: 2 的胺基酸序列的胜肽。

【0017】 此外，根據本發明之另一方面，提供用以預防或治療糖尿病的醫藥組成物，組成物包含胜肽複合物作為有效成分。

【0018】 此外，根據本發明之另一方面，提供用以預防或減緩(alleviating)糖尿病的機能性食品組成物，組成物包含具有上述活性的胜肽複合物作為有效成分。

【0019】 以下將詳細描述本發明。

【0020】 1. 胜肽複合物及其活性

【0021】 根據本發明之一方面，提供胜肽複合物，其包含：(i) 包含 SEQ ID NO: 1 的胺基酸序列的胜肽；以及(ii) 包含 SEQ ID NO: 2 的胺基酸序列的胜肽。

【0022】 此處使用之用語「胜肽」代表多個胺基酸殘基透過肽鍵聯(peptide linkages)互聯連接形成的線型分子。

【0023】 可使用本發明之包含 SEQ ID NO: 1 的胺基酸序列的胜肽或包含 SEQ ID NO: 2 的胺基酸序列的胜肽而不需要修飾，但在不影響原本的胜肽活性（例如抗糖尿病活性）的範圍內亦可為胺基酸變體(variants)或片段(fragments)，其透過胺基酸殘基之刪除、插入與取代或其組合而具有不同胺基酸序列。

【0024】 在不改變胜肽活性的範圍內，本發明之胜肽可藉由磷酸化、硫酸化、醯化(acrylation)、醯基化、甲基化、法尼基化(farnesylation)等方式修飾。

【0025】 本發明之胜肽包含一包含胺基酸序列的胜肽，其實質相同於包含 SEQ ID NO: 1 的胺基酸序列的胜肽或包含 SEQ ID NO: 2 的胺基酸序列的胜肽及其變體或其活性片段。實質相同的胺基酸序列代表，相較於 SEQ ID NO: 1 的胺基酸序列或 SEQ ID NO: 2 的胺基酸序列分別具有 75% 或更多的序列相似度的胺基酸序列，例如 80% 或更多、85% 或更多、90% 或更多、95% 或更多、97% 或更多。此外，胜肽可更包含導向序列(targeting sequence)、標籤(tag)、標定的殘基(labeled residue)或為了特定目的製備的胺基酸序列以增加半衰期或胜肽穩定性。

【0026】 為了選擇胺基酸序列的部分區域以及增加其活性，本發明之胜肽可在 N-或 C-末端進行修飾。通過此 N-末端及/或 C-末端修飾，可大幅提升本發明之胜肽的穩定性。例如，當胜肽施用於活體內(in vivo)時，可增加半衰期。用語「穩定性」意在包含儲存穩定性（例如儲存於室溫期間的穩定性）以及保護本發明之胜肽使其免於被活體內蛋白質裂解酶攻擊的活體內穩定性。

【0027】 N-末端修飾可以是將選自由乙醯基(acetyl group)、芴甲氧羰基(fluorenyl methoxycarbonyl group)、甲醯基(formyl group)、棕櫚醯基(palmitoyl group)、蔻基(myristyl group)、硬脂醯基(stearyl group)、以及聚乙二醇(polyethylene

glycol; PEG)所組成的群組中的保護基連接至胜肽的 N-末端。C-末端修飾可以是將羥基(-OH)、胺基(-NH₂)、疊氮基(-NHNH₂)等連接至胜肽的 C-末端，但不限於此。

【0028】 本發明之胜肽可使用本發明所屬技術領域中已知的各種方法加以製備。例如，本發明之胜肽可使用本技術領域中已知的化學合成法加以製備，尤其是固相合成技術(Merrifield, J. Amer. Chem. Soc. 85:2149-54(1963); Stewart, et al., Solid Phase Peptide Synthesis, 2nd. ed., Pierce Chem. Co.: Rockford, 111(1984))或液相合成技術(美國專利第 5,516,891 號)。

【0029】 本發明之胜肽複合物包含：包含 SEQ ID NO: 1 的胺基酸序列的胜肽、以及包含 SEQ ID NO: 2 的胺基酸序列的胜肽。

【0030】 本發明之胜肽複合物可代表上述之包含 SEQ ID NO: 1 的胺基酸序列的胜肽與包含 SEQ ID NO: 2 的胺基酸序列的胜肽之混合物。

【0031】 在本發明之胜肽複合物中，包含 SEQ ID NO: 1 的胺基酸序列的胜肽與包含 SEQ ID NO: 2 的胺基酸序列的胜肽的比例不限於特定範圍。例如，關於上述比例，可以在 1:0.1-100 之重量比例範圍內選擇適當的範圍。

【0032】 本發明之胜肽複合物具有抗糖尿病活性。

【0033】 本發明之胜肽複合物具有促進細胞吸收葡萄糖之活性。細胞可為脂肪細胞(adipocytes)、肌細胞(myocytes)或肝細胞(hepatocytes)。

【0034】 本發明之胜肽複合物具有促進選自由瘦體素(leptin)、脂聯素(adiponectin)、胰島素受體受質 1 (insulin receptor substrate 1; IRS-1)、葡萄糖轉運蛋白 4 型(glucose transporter type 4; GLUT4)、PGC-1 α (peroxisome proliferator-activated receptor-gamma coactivator-1 alpha)、ACOX-1 (acyl-CoA oxidase 1)、PPAR- α (peroxisome proliferator-activated receptor-alpha)、以及 CPT-1 α (carnitine palmitoyltransferase 1 alpha)所組成的群組中的一或更多的基因在細胞中的表現之活性。

【0035】 本發明之胜肽複合物具有抑制胰島素阻抗訊息之活性。

【0036】 本發明之胜肽複合物具有抑制抑制胰島素受體受質(insulin receptor substrate; IRS)之 Ser302 磷酸化或 c-Jun N-terminal kinase (JNK)磷酸化之活性。

【0037】 本發明之胜肽複合物具有在誘導胰島素阻抗的環境(insulin resistance-inducing environment)中抑制 TNF- α 基因、哺乳動物雷帕黴素標靶蛋白(mammalian target of rapamycin; mTOR)基因、或 p70S6K 基因的表現之活性。

【0038】 本發明之胜肽複合物具有提升胰島素敏感訊息之活性。

【0039】 本發明之胜肽複合物具有增強胰島素受體受質(IRS)之 Tyr632 磷酸化、促進磷酸肌醇 3-激酶(phosphoinositide 3-kinase; PI3K)活化、促進 ATK 活化、或促進單磷酸腺苷活化蛋白質激酶(AMP-activated protein kinase; AMPK)活化之活性。

【0040】 本發明之胜肽複合物具有抑制由游離脂肪酸(free fatty acids)誘導之活性氧化物質(reactive oxygen species; ROS)的產生、TNF- α 基因的表現、TNF- α 蛋白質的表現、或 IL-1 β 蛋白質的表現之活性。

【0041】 本發明之胜肽複合物具有抑制由游離脂肪酸誘導之胰島 β 細胞的細胞凋亡(apoptosis)之活性。

【0042】 由於上述本發明之胜肽複合物具有上述活性，其可在治療糖尿病方面展現優異的功效。

【0043】 2. 用以預防、治療或減緩糖尿病的組成物

【0044】 根據本發明之另一方面，提供用以預防或治療糖尿病的醫藥組成物，組成物包含包含胜肽複合物作為有效成分，胜肽複合物包含：(i) 包含 SEQ ID NO: 1 的胺基酸序列的胜肽；以及(ii) 包含 SEQ ID NO: 2 的胺基酸序列的胜肽。

【0045】 如上所述，本發明之胜肽複合物具有促進葡萄糖吸收的活性、抑制胰島素阻抗的活性、提升胰島素敏感度的活性、

以及保護胰島 β 細胞的活性，從而在治療或預防糖尿病方面具有優異功效。

【0046】 在本發明中，糖尿病可以是第 1 型糖尿病或第 2 型糖尿病，尤其是第 2 型糖尿病。

【0047】 在用以預防或治療糖尿病的醫藥組成物中，胜肽複合物可促進葡萄糖吸收。

【0048】 在用以預防或治療糖尿病的醫藥組成物中，胜肽複合物可抑制胰島素阻抗訊息或提升胰島素敏感訊息。

【0049】 在用以預防或治療糖尿病的醫藥組成物中，胜肽複合物可抑制胰島素受體受質(IRS)之 Ser302 磷酸化或 c-Jun N-terminal kinase (JNK)磷酸化。

【0050】 在用以預防或治療糖尿病的醫藥組成物中，胜肽複合物可在誘導胰島素阻抗的環境中抑制 TNF- α 基因、哺乳動物雷帕黴素標靶蛋白基因、或 p70S6K 基因的表現。

【0051】 在用以預防或治療糖尿病的醫藥組成物中，胜肽複合物可增強胰島素受體受質(IRS)之 Tyr632 磷酸化、促進磷酸肌醇 3-激酶(PI3K)活化、促進 ATK 活化、或促進單磷酸腺苷活化蛋白質激酶(AMPK)活化。

【0052】 在用以預防或治療糖尿病的醫藥組成物中，胜肽複合物可促進選自由瘦體素、脂聯素、胰島素受體受質 1 (IRS-1)、葡萄糖轉運蛋白 4 型(GLUT4)、PGC-1 α 、ACOX-1、PPAR- α 、以及 CPT-1 α 所組成的群組中的一或更多的基因的表現。

【0053】 在用以預防或治療糖尿病的醫藥組成物中，胜肽複合物可抑制由游離脂肪酸誘導之活性氧化物質(ROS)的產生、TNF- α 基因的表現、TNF- α 蛋白質的表現、或 IL-1 β 蛋白質的表現，或者可抑制由游離脂肪酸誘導之胰島 β 細胞的細胞凋亡。

【0054】 用以預防或治療糖尿病的醫藥組成物中可包含治療有效劑量(therapeutically effective amount)的胜肽複合物與醫藥上可接受載體(pharmaceutically acceptable carrier)。

【0055】 用語「治療有效劑量」代表足以實現作為醫藥組成物的有效成分的胜肽複合物之活性或功效的劑量，例如，足以實現治療或預防糖尿病之劑量。

【0056】 醫藥上可接受載體是製備中常用的，其包含但不限於乳糖(lactose)、右旋糖(dextrose)、蔗糖(sucrose)、山梨糖醇(sorbitol)、甘露醇(mannitol)、澱粉(starch)、阿拉伯膠(acacia gum)、磷酸鈣(calcium phosphate)、藻酸鹽(alginate)、明膠(gelatin)、矽酸鈣(calcium silicate)、微晶纖維素(microcrystalline cellulose)、聚乙炔吡咯烷酮(polyvinylpyrrolidone)、纖維素(cellulose)、水、糖漿(syrup)、甲基纖維素(methyl cellulose)、羥基苯甲酸甲酯(methyl hydroxybenzoate)、對羥基苯甲酸丙酯(propyl hydroxybenzoate)、滑石(talc)、硬脂酸鎂(magnesium stearate)、礦物油(mineral oil)等。

【0057】除了上述成分，本發明之醫藥組成物可更包含潤滑劑(lubricant)、保溼劑(humectant)、矯味劑(flavoring agent)、乳化劑(emulsifier)、懸浮劑(suspending agent)、防腐劑(preservative)等。然而本發明不以此為限。

【0058】 Remington: The Science and Practice of Pharmacy (19th ed., 1995, Williams & Wilkins) 詳細描述了合適的醫藥上可接受載體與製劑。

【0059】可通過任意合適的給藥途徑施用本發明之醫藥組成物以治療糖尿病，例如，可通過口服(orally)給藥或腸胃外(parenterally)給藥。腸胃外給藥可以是靜脈注射、皮下注射、肌肉注射、腹膜內注射、局部給藥、經皮給藥(transdermal administration)等。

【0060】醫藥組成物之劑量可以是(但不限於)每日 0.0001 微克(μg)至 100 毫克(mg)、0.001 μg 至 100 mg 、0.01 μg 至 100 mg 、0.1 μg 至 100 mg 、或 1.0 μg 至 1000 mg 。取決於製備方法、給藥方式、病患的年齡、體重、性別、病理狀況、飲食、給藥時間、給藥途徑、排泄速率和反應敏感度等多種因素，可以各種方式開立醫藥組成物。

【0061】可按照本發明所屬技術領域中具有通常知識者可輕易執行的方法，使用醫藥上可接受載體及/或賦形劑(excipient)，以單劑型(unit dosage form)或併入多劑型(multi-dose)容器的形式製備本發明之醫藥組成物。此處，劑型可為液劑、懸浮劑、

或油或水性介質中的乳劑的形式，或者可為浸膏劑、粉劑、顆粒劑、錠劑或膠囊劑的形式，且可更包含分散劑或安定劑。

【0062】 根據本發明之另一方面，提供用以控制血糖值的機能性食品組成物，組成物包含胜肽複合物作為有效成分，胜肽複合物包含：(i) 包含 SEQ ID NO: 1 的胺基酸序列的胜肽；以及(ii) 包含 SEQ ID NO: 2 的胺基酸序列的胜肽。

【0063】 在本發明的機能性食品組成物中，控制血糖值可以是控制糖尿病病患或前期糖尿病(pre-diabetes)高危險病患的血糖值。

【0064】 在本發明的機能性食品組成物中，糖尿病可以是第 1 型糖尿病或第 2 型糖尿病，尤其是第 2 型糖尿病。

【0065】 在本發明的機能性食品組成物中，控制血糖值可以是降低血糖值。

【0066】 在本發明的機能性食品組成物中，胜肽複合物的含量可以是選自基於組成物的總重量，0.0001 wt% 至 10 wt% 之範圍內的合適含量。

【0067】 在一實施例中，本發明的機能性食品組成物可包含食品學有效劑量(bromatologically effective amount)的胜肽複合物與食品學上可接受載體(bromatologically acceptable carrier)。

【0068】 本發明的機能性食品組成物不僅可包含胜肽複合物作為有效成分，還可包含食品製造過程中經常添加的成分，例

如蛋白質、醣類、脂肪、營養素、調味劑(seasonings)與香料(flavoring agents)。此醣類例如是單醣、雙醣和常見的糖類；單醣例如是葡萄糖、果糖等；雙醣例如是麥芽糖、蔗糖、低聚醣等；常見的糖類例如是如糊精、環糊精等多醣和木糖醇、山梨糖醇和赤蘚糖醇等糖醇。香料可包含天然香料、索馬甜(thaumatin)、甜菊萃取物（例如甜菊糖雙苷 A (rebaudioside A)、甘草甜素(glycyrrhizin)等）、以及合成香料（糖精、阿斯巴甜等）。醣類的比例可為（但不限於），每 100 g 的本發明之食品組成物包含約 1 g 至 20 g 的醣類，較佳係為每 100 g 的本發明之食品組成物包含約 5 g 至 12 g 的醣類。

【0069】除了上述成分之外，本發明的機能性食品組成物還可包含各種營養素、維生素、礦物質（電解質）、例如合成香料和天然香料等香料、著色劑和增稠劑（起司、巧克力等）、果膠酸及其鹽類、藻酸及其鹽類(alginic acid and salts thereof)、有機酸、保護性膠體增稠劑(protective colloidal thickeners)、pH 值調節劑、安定劑、防腐劑、甘油、酒精、用於碳酸飲料中的碳酸化劑等。此外，本發明的機能性食品組成物可包含果漿(pulp)以製備天然果汁、果汁飲料或蔬菜飲料。

【0070】例如，當本發明的機能性食品組成物被製備為飲料，除了作為有效成分的胜肽複合物之外，還可包含檸檬酸、液態果糖、糖、葡萄糖、乙酸、蘋果酸(malic acid)、果汁、杜仲萃取物

(eucommia extract)、棗萃取物(jujube extract)、甘草萃取物(licorice extract)等。

【0071】 根據本發明之另一方面，本發明提供用以治療糖尿病的方法，方法包含對糖尿病病患投予治療有效劑量的上述胜肽複合物，胜肽複合物包含：(i) 包含 SEQ ID NO: 1 的胺基酸序列的胜肽；以及(ii) 包含 SEQ ID NO: 2 的胺基酸序列的胜肽。

【0072】 根據本發明之另一方面，本發明提供用以控制血糖值的方法，方法包含對需要其的主體投予治療有效劑量的上述胜肽複合物，胜肽複合物包含：(i) 包含 SEQ ID NO: 1 的胺基酸序列的胜肽；以及(ii) 包含 SEQ ID NO: 2 的胺基酸序列的胜肽。

【0073】 <有利功效>

【0074】 本發明的胜肽複合物促進細胞吸收葡萄糖、抑制胰島素阻抗訊息、提升胰島素敏感訊息、以及抑制生產胰島素的胰島 β 細胞的細胞凋亡，從而可展現降低血糖值之功效。本發明的胜肽複合物可用於治療、預防與減緩糖尿病，且可有效用於降低糖尿病病患或前期糖尿病高危險病患的血糖值。

【0075】 然而，本發明的功效不限於上述功效，而且本技術領域中具有通常知識者透過以下敘述將能清楚了解未提及的其他功效。

【圖式簡單說明】

【0076】 透過以下實施方式並搭配隨附圖式，將能更加清楚地了解本發明的以上和其他方面、特徵與其他益處：

第 1a 圖和第 1b 圖係為本發明之胜肽複合物促進脂肪細胞吸收葡萄糖的實驗結果；

第 2a 圖和第 2b 圖係為本發明之胜肽複合物促進肌母細胞 (myoblasts) 吸收葡萄糖的實驗結果；

第 3a 圖和第 3b 圖係為本發明之胜肽複合物具有促進磷酸化-AMPK (phospho-AMPK) 與磷酸化-ACC (phospho-ACC) 的活性之功效的實驗結果，phospho-AMPK 和 phospho-ACC 為胰島素敏感度促進因子 (insulin sensitivity-promoting factors)；

第 4a 圖和第 4b 圖係為本發明之胜肽複合物具有抑制 IRS Serine302 和 JNK 磷酸化之功效的實驗結果，IRS Serine302 和 JNK 為胰島素阻抗訊息傳送因子 (insulin resistance-signaling factor)；

第 5a 圖和第 5b 圖係為本發明之胜肽複合物使被 rhTNF- α 處理誘導而提升的胰島素阻抗誘導細胞激素 (insulin resistance-inducing cytokine) TNF- α 、以及胰島素阻抗促進訊息傳送因子 (insulin resistance-promoting signaling factor) mTOR 和 p70S6K 的基因表現再次降低的實驗結果；

第 6a 圖和第 6b 圖係為，當以本發明之胜肽複合物處理原本已被 rhTNF- α 處理誘發胰島素阻抗的脂肪細胞時，增強了 IRS

Tyrosine632 之磷酸化，且促進了 PI3K、ATK 和 AMPK 之活化的實驗結果，IRS Tyrosine632 是胰島素敏感度促進因子；

第 7a 圖和第 7b 圖係為脂肪細胞中，使用本發明的胜肽複合物處理可使原本已被 rhTNF- α 處理而降低的葡萄糖吸收相關基因瘦體素、脂聯素、IRS-1 和 GLUT4 的表現提升的實驗結果；

第 8a 圖和第 8b 圖係為本發明的胜肽複合物使由棕櫚酸 (palmitate) 誘導之活性氧化物質 (ROS) 降低的實驗結果；

第 9a 圖和第 9b 圖係為使用本發明的胜肽複合物處理使 TNF- α 的基因表現顯著降低的實驗結果，TNF- α 是由棕櫚酸誘導之發炎蛋白質 (inflammatory protein)；

第 10a 圖和第 10b 圖係為使用本發明的胜肽複合物處理使原本被棕櫚酸處理而增加的 INS-1 細胞（大鼠胰島 β 細胞）中的 TNF- α 和 IL-1 β 蛋白質的基因表現程度顯著降低的實驗結果；

第 11 圖係為使用本發明的胜肽複合物處理使被棕櫚酸誘導而增加的 NS-1 細胞死亡再次降低，從而提升細胞存活率 (cell viability) 的實驗結果；及

第 12a 圖和第 12b 圖係為本發明的胜肽複合物促進 HepG2 細胞中的 PGC-1 α 、ACOX-1、PPAR- α 或 CPT-1 α 之基因表現的實驗結果，PGC-1 α 、ACOX-1、PPAR- α 或 CPT-1 α 是和 FFA β -氧化有關的基因。

【實施方式】

【0077】 以下將透過多個實施例詳細描述本發明。以下實施例具體描述本發明，然而本發明不限於以下實施例。

【0078】 <實施例>

【0079】 製備例 1：製備胜肽與胜肽複合物

【0080】 使用自動胜肽合成儀（ Milligen 9050, Millipore, USA ）來合成描述於下表 1 的具有 SEQ ID NO: 1 的胺基酸序列的胜肽與具有 SEQ ID NO: 2 的胺基酸序列的胜肽。使用 C18 逆向高效液相層析(reversed-phase HPLC)（ Waters Associates, USA ）來完全分離那些合成胜肽。使用 ACQUITY UPLC BEH300 C18（ 2.1 mm × 100 mm, 1.7 μm, Waters Co, USA ）管柱。

【0081】 [表 1]

SEQ ID NO:	胜肽的胺基酸序列
1	LKTRN
2	KGSATGWMA

【0082】 以等量混合製備之 SEQ ID NO: 1 的胜肽與 SEQ ID NO: 2 的胜肽，以製備胜肽複合物，並評估其功效。

【0083】 實驗例 1：促進脂肪細胞吸收葡萄糖

【0084】 使用脂肪細胞測試在製備例 1 中製備的胜肽複合物是否可促進細胞吸收葡萄糖。

【0085】 當 3T3-L1 前脂肪細胞(preadipocytes)達到 80% 匯集度(confluence)時，以 5×10^3 細胞/孔(cells/well)將其接

種於 96 孔培養盤中並用於實驗。在達到匯集度 2 天後，將培養基換成分化誘導培養基(differentiation induction medium)，並誘導分化為脂肪細胞。在誘導 2 天後，前脂肪細胞已在包含 10% FBS 和 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 胰島素的培養基中培養 2 天，接著每 2 天將培養基換成包含 10% FBS 的培養基，直到前脂肪細胞分化為脂肪細胞。當分化完成時，將培養基換成無葡萄糖培養基並培養細胞 16 小時，接著在 100 μL 的包含 2% BSA 的 KRPB 緩衝液中培養細胞 40 分鐘以誘導飢餓。以 rhTNF- α (2 nM)、胰島素 (10 $\mu\text{g}/\text{ml}$) 和 胜肽複合物 (2 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 和 20 $\mu\text{g}/\text{ml}$) 處理細胞，培養 1 小時，以 80 μM 2-NBDG 處理並培養 1 小時，從而製備出樣品。使用「葡萄糖吸收分析套組(glucose uptake assay kit)」(Abcam, Cambridge, UK)來測量葡萄糖吸收，並以螢光顯微鏡(ECLIPSE 80i, Nikon, Japan)拍攝被吸入細胞的葡萄糖。

【0086】 如第 1a 圖和第 1b 圖所示，實驗顯示胜肽複合物處理可增加已被 TNF- α 抑制的細胞吸收葡萄糖。此外，以下實驗例 3 證實了此作用是通過單磷酸腺苷活化蛋白質激酶(AMPK)和乙醯輔酶 A 羧化酶(acetyl-CoA carboxylase; ACC)訊息傳送路徑而發生的。這些實驗結果顯示胜肽複合物再次顯著地增加了發炎誘導之對細胞吸收葡萄糖的抑制。

【0087】 實驗例 2：促進肌細胞吸收葡萄糖

【0088】 使用肌細胞測試在製備例 1 中製備的胜肽複合物是否可促進細胞吸收葡萄糖。

【0089】 將 C2C12 肌細胞以 5×10^3 細胞/孔(cells/well) 接種於 96 孔培養盤中，並在包含 10% FBS 的 DMEM 培養基中培養 2 天。將培養基換成包含 2% 馬血清(horse serum)的 DMEM 培養基，培養 C2C12 肌細胞六天以誘導分化為肌管(myotubes)。以 rhTNF- α (2 nM)、胰島素(10 μ g/ml)和胜肽複合物(2 μ g/ml 和 20 μ g/ml)處理培養的肌管，培養 1 小時，以 80 μ M 2-NBDG 處理並培養 1 小時，從而製備出樣品。使用「葡萄糖吸收分析套組」(Abcam, Cambridge, UK)來測量葡萄糖吸收，並以螢光顯微鏡(ECLIPSE 80i, Nikon, Japan)拍攝被吸入細胞的葡萄糖。如第 2a 圖和第 2b 圖所示，實驗顯示本發明的胜肽複合物可增加已被 rhTNF- α 處理抑制的肌細胞吸收葡萄糖。

【0090】 實驗例 3：胜肽複合物在促進葡萄糖吸收作用中的訊息傳送路徑

【0091】 通過蛋白質表現分析(西方墨點法)確認製備例 1 的胜肽複合物是否具有促進胰島素敏感度促進因子的活性之功效。

【0092】 當 3T3-L1 前脂肪細胞達到 80% 匯集度時，將其以 5×10^3 細胞/孔接種於 96 孔培養盤中並用於實驗。在達到匯集度 2 天後，將培養基換成分化誘導培養基，並誘導分化為脂肪細胞。在誘導 2 天後，前脂肪細胞已在包含 10% FBS 和 10 μ g/mL 胰島素的培養基中培養 2 天，接著每 2 天將培養基換成包含 10% FBS 的培養基，直到前脂肪細胞分化為脂肪細胞。當分化完成時，將

培養基換成無葡萄糖培養基並培養細胞 16 小時，接著在 100 μ L 的包含 2% BSA 的 KRPB 緩衝液中培養細胞 40 分鐘以誘導飢餓。將製備例 1 的胜肽複合物（0.2 μ g/ml、2 μ g/ml 和 20 μ g/ml）加入細胞中並培養細胞 1 小時，再將裂解緩衝液加入細胞中以使細胞裂解。接著，在 4 $^{\circ}$ C 和 12,000 rpm 下使裂解液離心 30 分鐘。使用 BCA 套組對獲得的蛋白質進行定量。對蛋白質進行十二烷基硫酸鈉聚丙烯醯胺凝膠電泳 (sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis; SDS-PAGE) 並使其電轉移 (electrotransfere) 至薄膜。以 5% 脫脂乳 (skim milk) 處理使連接蛋白質的薄膜封閉，接著使一級抗體 (primary antibody) 在 4 $^{\circ}$ C 下反應過夜。以 PBS-T 清洗薄膜，使二級抗體 (secondary antibody) 在室溫下反應 1 小時，再次以 PBS-T 清洗薄膜，接著使用 Gel Doc 系統 (Bio-Rad, Hercules, CA, USA) 與 Western 偵測試劑 (Elpis Biotech, Daejeon, Korea) 來進行可視化。以下是用於實驗中的抗體：anti-phospho-AMPK 抗體 (Cell signaling technology (CST), USA)、anti-phospho-ACC 抗體 (Cell signaling technology (CST), USA)、以及 anti- α -tubulin 抗體 (Santa Cruz Biotechnology)。如第 3a 圖與第 3b 圖所示，實驗顯示本發明的胜肽複合物具有促進 phospho-AMPK 與 phospho-ACC 的活性之功效，phospho-AMPK 與 phospho-ACC 是胰島素敏感度促進因子。

【0093】實驗例 4：以胜肽複合物抑制胰島素阻抗訊息

第 20 頁，共 37 頁(發明說明書)

【0094】 通過蛋白質表現分析（西方墨點法）確認製備例 1 的胜肽複合物是否具有抑制胰島素阻抗訊息之功效。

【0095】 當 3T3-L1 前脂肪細胞達到 80%匯集度時，將其以 1×10^5 細胞/孔接種於 12 孔培養盤中並用於實驗。在達到匯集度 2 天後，將培養基換成分化誘導培養基，並誘導分化為脂肪細胞。在誘導 2 天後，前脂肪細胞已在包含 10% FBS 和 10 $\mu\text{g/mL}$ 胰島素的培養基中培養 2 天，接著每 2 天將培養基換成包含 10% FBS 的培養基，直到前脂肪細胞分化為脂肪細胞。當分化完成時，將培養基換成無葡萄糖培養基並培養細胞 16 小時，接著在 100 μL 的包含 2% BSA 的 KRPH 緩衝液中培養細胞 40 分鐘以誘導飢餓。以 rhTNF- α (2 nM)、胰島素 (10 $\mu\text{g/mL}$) 和胜肽複合物 (0.2 $\mu\text{g/mL}$ 、2 $\mu\text{g/mL}$ 和 20 $\mu\text{g/mL}$)處理細胞並培養 1 小時，再將裂解緩衝液加入每一實驗組的細胞中以使細胞裂解。接著，在 4 $^{\circ}\text{C}$ 和 12,000 rpm 下使裂解液離心 30 分鐘。使用 BCA 套組對獲得的蛋白質進行定量。對蛋白質進行十二烷基硫酸鈉聚丙稀醯胺凝膠電泳(SDS-PAGE)並使其電轉移至薄膜。以 5%脫脂乳處理使連接蛋白質的薄膜封閉，接著使一級抗體在 4 $^{\circ}\text{C}$ 下反應過夜。以 PBS-T 清洗薄膜，使二級抗體在室溫下反應 1 小時，再次以 PBS-T 清洗薄膜，接著使用 Gel Doc 系統 (Bio-Rad, Hercules, CA, USA) 與 Western 偵測試劑 (Elpis Biotech, Daejeon, Korea) 來進行可視化。以下是用於實驗中的抗體：anti-phospho-IRS (Ser302) 抗體 (Cell signaling technology (CST), USA) 、

anti-phospho-JNK 抗體 (Santa Cruz Biotechnology, USA) 、
以及 anti- α -tubulin 抗體 (Santa Cruz Biotechnology , USA) 。
如第 4a 圖與第 4b 圖所示，實驗顯示本發明的胜肽複合物抑制胰
島素受體受質(IRS)之 Serine302 與 c-Jun N-terminal kinase
(JNK)磷酸化，IRS 之 Serine302 與 c-Jun N-terminal kinase
(JNK)是胰島素阻抗訊息傳送因子。

**【0096】 實驗例 5：以胜肽複合物抑制胰島素阻抗誘導基因
(insulin resistance-inducing genes)的表現**

【0097】 測試製備例 1 中製備的胜肽複合物是否可抑制胰
島素阻抗誘導基因的表現。以 rhTNF- α 處理脂肪細胞以誘導胰島
素阻抗，以胜肽複合物處理脂肪細胞，接著測量 mTOR 和 p70S6K
基因的表現程度。

【0098】 當 3T3-L1 前脂肪細胞達到 80% 匯集度時，將其以
 1×10^5 細胞/孔接種於 12 孔培養盤中並用於實驗。在達到匯集度
2 天後，將培養基換成分化誘導培養基，並誘導分化為脂肪細胞。
在誘導 2 天後，前脂肪細胞已在包含 10% FBS 和 10 μ g/mL 胰島
素的培養基中培養 2 天，接著每 2 天將培養基換成包含 10% FBS
的培養基，直到前脂肪細胞分化為脂肪細胞。當分化完成時，將
培養基換成無葡萄糖培養基並培養細胞 16 小時，接著在 100 μ L
的包含 2% BSA 的 KRPH 緩衝液中培養細胞 40 分鐘以誘導飢餓。
以 rhTNF- α (2 nM) 、胰島素 (10 μ g/ml) 和胜肽複合物 (0.2
 μ g/ml 、 2 μ g/ml 和 20 μ g/ml) 處理細胞。24 小時後，從未處理

控制組與實驗組中提取 RNA，並進行 RT-PCR。使用 easy-BLUE™ Total RNA Extraction Kit (Qiagen, Germany) 以從 3T3-L1 細胞中提取 RNA。使用 RT-PCR premix (iNtRON Biotechnology, Seongnam, Korea) 使提取出的 RNA 轉換為 cDNA。使用 PCR premix (iNtRON Biotechnology, Seongnam, Korea) 和 TNF-α、mTOR、p70S6K 或 GAPDH 基因引子(primer) 製備反應混合物，並使用 PCR 儀器 (Eppendorf, Germany) 進行 PCR。然後，以瓊脂膠體電泳(agarose gel electrophoresis) 決定 mRNA 表現模式(expression pattern)。用於實驗中的引子的核苷酸序列示於下表 2。

【0099】 [表 2]

基因	引子	序列 (5' → 3')	SEQ ID NO:
TNF-α	F	CGT CAG CCG ATT TGC TAT CT	3
	R	CGG ACT CCG CAA AGT CTA AG	4
mTOR	F	TTG AGG TCG CTA TGA CCA GAG AGA A	5
	R	TTA CCA GAA GGG ACA CCA GCC AAT G	6
p70S6K	F	GGA GCC TGG GAG CCC TGA TGT	7
	R	GAA GCC CTC TTT GAT GCT GTC C	8
GAPDH	F	GTG ATG GCA TGG ACT GTG GT	9
	R	GGA GCC AAA AGG GTC ATC AT	10

【0100】 如第 5a 圖與第 5b 圖所示，實驗顯示 rhTNF- α 處理可增加 TNF- α 基因、mTOR 基因、以及 p70S6K 基因的表現，但胜肽複合物使基因的表現再次降低。TNF- α 基因是胰島素抵抗誘導發炎細胞激素(insulin resistance-inducing inflammatory cytokine)，mTOR 基因和 p70S6K 基因是胰島素抵抗促進訊息傳送因子。

【0101】 實驗例 6：以胜肽複合物提升胰島素敏感訊息

【0102】 測試製備例 1 中製備的胜肽複合物是否可提升胰島素敏感訊息。

【0103】 當 3T3-L1 前脂肪細胞達到 80% 匯集度時，將其以 1×10^5 細胞/孔接種於 12 孔培養盤中並用於實驗。在達到匯集度 2 天後，將培養基換成分化誘導培養基，並誘導分化為脂肪細胞。在誘導 2 天後，前脂肪細胞已在包含 10% FBS 和 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 胰島素的培養基中培養 2 天，接著每 2 天將培養基換成包含 10% FBS 的培養基，直到前脂肪細胞分化為脂肪細胞。當分化完成時，將培養基換成無葡萄糖培養基並培養細胞 16 小時，接著在 100 μL 的包含 2% BSA 的 KRPH 緩衝液中培養細胞 40 分鐘以誘導飢餓。以 rhTNF- α (2 nM)、胰島素 (10 $\mu\text{g}/\text{ml}$) 和胜肽複合物 (0.2 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 、2 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 和 20 $\mu\text{g}/\text{ml}$) 處理細胞並培養 1 小時，再將裂解緩衝液加入每一實驗組的細胞中以使細胞裂解。接著，在 4 $^{\circ}\text{C}$ 和 12,000 rpm 下使裂解液離心 30 分鐘。使用 BCA 套組對獲得的蛋白質進行定量。對蛋白質進行十二烷基硫酸鈉聚丙烯醯胺凝膠電

泳(SDS-PAGE)並使其電轉移至薄膜。以 5%脫脂乳處理使連接蛋白質的薄膜封閉，接著使一級抗體在 4 °C 下反應過夜。以 PBS-T 清洗薄膜，使二級抗體在室溫下反應 1 小時，再次以 PBS-T 清洗薄膜，接著使用 Gel Doc 系統 (Bio-Rad, Hercules, CA, USA) 與 Western 偵測試劑 (Elpis Biotech, Daejeon, Korea) 來進行可視化。以下是用於實驗中的抗體：anti-phospho-IRS (Tyr632) 抗體 (Cell signaling technology (CST), USA) 、 anti-phospho-PI3K 抗體 (Cell signaling technology(CST), USA) 、 anti-phospho-AKT 抗體 (Cell signaling technology(CST), USA) 、 anti-phospho-AMPK 抗體 (Cell signaling technology(CST), USA) 、以及 anti- α -tubulin 抗體 (Santa Cruz Biotechnology, USA) 。如第 6a 圖與第 6b 圖所示，實驗顯示在具有被 rhTNF- α 處理誘導之胰島素抵抗的脂肪細胞中，胜肽複合物處理增加了胰島素受體受質 (IRS) 之 Tyrosine632 磷酸化，胰島素受體受質(IRS)之 Tyrosine632 是胰島素敏感度促進因子；因此，促進了磷酸肌醇 3-激酶(PI3K)、ATK 和單磷酸腺苷活化蛋白質激酶(AMPK)之活化。

【0104】 實驗例 7：促進葡萄糖吸收相關基因的表現

【0105】 通過對瘦體素、脂聯素、胰島素受體受質 1(IRS-1) 和葡萄糖轉運蛋白 4 型(GLUT4)基因進行表現分析以確認製備例 1 中製備的胜肽複合物是否可促進葡萄糖吸收相關基因的表現。

【0106】 當 3T3-L1 前脂肪細胞達到 80%匯集度時，將其以 1×10^5 細胞/孔接種於 12 孔培養盤中並用於實驗。在達到匯集度 2 天後，將培養基換成分化誘導培養基，並誘導分化為脂肪細胞。在誘導 2 天後，前脂肪細胞已在包含 10% FBS 和 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 胰島素的培養基中培養 2 天，接著每 2 天將培養基換成包含 10% FBS 的培養基，直到前脂肪細胞分化為脂肪細胞。當分化完成時，將培養基換成無葡萄糖培養基並培養細胞 16 小時，接著在 100 μL 的包含 2% BSA 的 KRPH 緩衝液中培養細胞 40 分鐘以誘導飢餓。以 rhTNF- α (2 nM)、胰島素 (10 $\mu\text{g}/\text{ml}$) 和胜肽複合物 (0.2 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 、2 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 和 20 $\mu\text{g}/\text{ml}$) 處理細胞。24 小時後，從未處理控制組與實驗組中提取 RNA，並進行 RT-PCR。使用 easy-BLUETM Total RNA Extraction Kit (Qiagen, Germany) 以從 3T3-L1 細胞中提取 RNA。使用 RT-PCR premix (iNtRON Biotechnology, Seongnam, Korea) 使提取出的 RNA 轉換為 cDNA。使用 PCR premix (iNtRON Biotechnology, Seongnam, Korea) 和每一基因引子製備反應混合物，並使用 PCR 儀器 (Eppendorf, Germany) 進行 PCR。然後，以瓊脂膠體電泳決定 mRNA 表現模式。用於實驗中的引子的核苷酸序列示於下表 3。

【0107】 [表 3]

基因	引子	序列 (5' → 3')	SEQ ID NO:
----	----	-----------------	---------------

瘦體素	F	GGA TCA GGT TTT GTG GTG CT	11
	R	TTG TGG CCC ATA AAG TCC TC	12
脂聯素	F	TCC TGC TTT GGT CCC TCC AC	13
	R	TCT CCA GCC CCA CAC TGA AC	14
IRS-1	F	GCC AAT CTT CAT CCA GTT GC	15
	R	CAT CGT GAA GAA GGC ATA GG	16
GAPDH	F	GTG ATG GCA TGG ACT GTG GT	9
	R	GGA GCC AAA AGG GTC ATC AT	10
GLUT4	F	ACT AAG AGC ACC GAG ACC AA	27
	R	CTG CCC GAA AGA GTC TAA AG	28

【0108】 如第 7a 圖與第 7b 圖所示，實驗顯示脂肪細胞中，胜肽複合物處理可提升已被 rhTNF- α 處理降低的葡萄糖吸收相關基因瘦體素、脂聯素、IRS-1 和 GLUT4 的表現。

【0109】 實驗例 8：抑制由棕櫚酸誘導之活性氧化物質產生

【0110】 通過細胞內 ROS 檢測分析（FACS）以確認製備例 1 中製備的胜肽複合物是否可抑制被棕櫚酸誘導而產生的活性氧化物質(ROS)。棕櫚酸是一種游離脂肪酸。

【0111】 當 3T3-L1 前脂肪細胞達到 80% 匯集度時，將其以 1×10^5 細胞/孔接種於 12 孔培養盤中並用於實驗。在達到匯集度 2 天後，將培養基換成分化誘導培養基，並誘導分化為脂肪細胞。在誘導 2 天後，前脂肪細胞已在包含 10% FBS 和 10 μ g/mL 胰島素的培養基中培養 2 天，接著每 2 天將培養基換成包含 10% FBS

的培養基，直到前脂肪細胞分化為脂肪細胞。當分化完成時，將培養基換成無葡萄糖培養基並培養細胞 16 小時，接著在 100 μ L 的包含 2% BSA 的 KRPH 緩衝液中培養細胞 40 分鐘以誘導飢餓。以 rhTNF- α (2 nM)、胰島素 (10 μ g/ml) 和胜肽複合物 (2 μ g/ml) 處理細胞。培養未處理控制組與實驗組 24 小時，並以 DCF-DH 處理 30 分鐘。接著，使用 FACS (Becton Dickinson & Company (BD), USA) 測量螢光下的氧化活性(oxidative activity)。如第 8a 圖與第 8b 圖所示，測量結果顯示胜肽複合物使由棕櫚酸誘導之活性氧化物質減少。

【0112】 實驗例 9：抑制棕櫚酸誘導之 TNF- α 基因表現

【0113】 通過基因表現分析 (RT-PCR) 以確認製備例 1 中製備的胜肽複合物是否可抑制被棕櫚酸誘導之發炎。棕櫚酸是一種游離脂肪酸。

【0114】 使用無血清培養基 RPMI 1640 (Gibco, New York, USA) 誘導 INS-1 細胞飢餓，然後以 25 μ M 的棕櫚酸預處理 2 小時，並以胜肽複合物 (0.2 μ g/ml、2 μ g/ml 和 20 μ g/ml) 處理。24 小時後，使用 easy-BLUE™ Total RNA Extraction Kit (Qiagen, Germany) 提取 RNA。使用 RT-PCR premix (iNtRON Biotechnology, Seongnam, Korea) 使提取出的 RNA 轉換為 cDNA。使用 PCR premix (iNtRON Biotechnology, Seongnam, Korea)、以及 TNF- α 和 GAPDH 基因引子製備反應混合物，並使用 PCR 儀器 (Eppendorf, Germany) 進行 PCR。然後，以瓊

脂膠體電泳決定 mRNA 表現模式。用於實驗中的引子的核苷酸序列示於下表 4。

【0115】 [表 4]

基因	引子	序列 (5' → 3')	SEQ ID NO:
TNF- α	F	ATG AGC ACG GAA AGC ATG AT	17
	R	CTC TTG ATG GCA GAG AGG AG	18
GAPDH	F	GTG ATG GCA TGG ACT GTG GT	9
	R	GGA GCC AAA AGG GTC ATC AT	10

【0116】 如第 9a 圖與第 9b 圖所示，實驗顯示胜肽複合物處理使被棕櫚酸誘導之發炎蛋白質 TNF- α 的基因表現顯著降低。

【0117】 **實驗例 10：抑制棕櫚酸誘導之發炎細胞激素的表現**

【0118】 通過蛋白質表現分析（西方墨點法）以確認製備例 1 中製備的胜肽複合物是否可抑制被棕櫚酸誘導之發炎細胞激素的表現。棕櫚酸是一種游離脂肪酸。

【0119】 使用無血清培養基 RPMI 1640(Gibco, New York, USA) 誘導 INS-1 細胞（大鼠胰島 β 細胞）飢餓，然後以 25 μ M 的棕櫚酸預處理 2 小時，並以胜肽複合物（0.2 μ g/ml、2 μ g/ml 和 20 μ g/ml)處理。24 小時後，以 PBS 清洗細胞，加入包含 10 mM Tris（pH 7.5）、100 mM NaCl、1% NP-40 和蛋白酶抑制劑的裂解緩衝液（Millipore, Darmstadt, Germany）並在冰上使細

胞裂解 30 分鐘。接著，在 4 °C 和 13,000 rpm 下使裂解液離心 10 分鐘。使用 BCA 套組（Thermo Fisher Scientific, Waltham, USA）對獲得的蛋白質進行定量。以十二烷基硫酸鈉聚丙稀醯胺凝膠電泳(SDS-PAGE)分離等量蛋白質，接著使其電轉移至聚偏二氟乙烯膜(polyvinylidene difluoride membrane)。為了封閉抗體的非特定結合，以 5% 脫脂乳（BD, New Jersey, USA）處理已有蛋白質連接於其上的膜並封閉 1 小時，接著使一級抗體在 4 °C 下反應過夜。以 PBS-T 清洗薄膜，使二級抗體在室溫下反應 1-2 小時，再次以 PBS-T 清洗薄膜，接著使用增強型化學發光 (enhanced chemiluminescence; ECL) （Thermo Fisher Scientific, Waltham, USA）以使蛋白質顯示於 X 光片上。以下是用於實驗中的抗體：anti-TNF- α 抗體（Cell signaling technology (CST), USA）、anti-IL-1 β 抗體（Cell signaling technology (CST), USA）、以及 anti-actin 抗體（Santa Cruz Biotechnology, USA）。如第 10a 圖與第 10b 圖所示，實驗顯示胜肽複合物處理使原本被棕櫚酸處理而增加的 INS-1 細胞（大鼠胰島 β 細胞）中的 TNF- α 和 IL-1 β 蛋白質的表現程度再次顯著降低。

【0120】 實驗例 11：抑制棕櫚酸誘導之胰島 β 細胞的細胞凋亡

【0121】 通過細胞毒性分析(cell cytotoxicity assay)以確認製備例 1 中製備的胜肽複合物是否可抑制被棕櫚酸誘導之胰島 β 細胞的細胞凋亡。棕櫚酸是一種游離脂肪酸。

【0122】 使用無血清培養基 RPMI 1640(Gibco, New York, USA) 誘導 INS-1 細胞(大鼠胰島 β 細胞)飢餓，然後以 25 μ M 的棕櫚酸預處理 2 小時，並以胜肽複合物(0.2 μ g/ml、2 μ g/ml 和 20 μ g/ml)處理。24 小時後，加入 CCK-8 溶液(Dojindo, Kumamoto, Japan)直到培養基的體積的 1/10，每 30 分鐘或 1 小時測量吸收度。當控制組的吸收值平均為 1.0 時，實驗終止。使用微量盤分析儀(microplate reader)在 450 nm 波長下測量反應產物的吸收度。如第 11 圖所示，實驗顯示胜肽複合物處理使被棕櫚酸處理誘導而增加的 INS-1 細胞死亡再次降低，從而提升細胞存活率。

【0123】 實驗例 12：促進葡萄糖吸收相關基因的表現

【0124】 通過對葡萄糖吸收相關基因，peroxisome proliferator-activated receptor-gamma coactivator-1 alpha (PGC-1 α)、acyl-CoA oxidase 1 (ACOX-1)、peroxisome proliferator-activated receptor-alpha (PPAR- α)或 carnitine palmitoyltransferase 1 alpha (CPT-1 α)，進行基因表現分析(RT-PCR)以確認製備例 1 中製備的胜肽複合物是否可促進葡萄糖吸收相關基因的表現。

【0125】 當 HepG2 肝癌細胞達到 80%匯集度時，將其以 2×10^5 細胞/孔接種於 12 孔培養盤中並用於實驗。隔天，將培養基換成無血清培養基以誘導飢餓 4 小時。4 小時後，以胜肽複合物（0.2 $\mu\text{g/ml}$ 、2 $\mu\text{g/ml}$ 和 20 $\mu\text{g/ml}$ ）處理細胞。24 小時後，從未處理控制組與實驗組中提取 RNA，並進行 RT-PCR。使用 easy-BLUE™ Total RNA Extraction Kit（Qiagen, Germany）提取 RNA。使用 RT-PCR premix（iNtRON Biotechnology, Seongnam, Korea）使提取出的 RNA 轉換為 cDNA。使用 PCR premix（iNtRON Biotechnology, Seongnam, Korea）、以及 PGC-1 α 、ACOX-1、PPAR- α 或 CPT-1 α 基因引子製備反應混合物，並使用 PCR 儀器（Eppendorf, Germany）進行 PCR。然後，以瓊脂膠體電泳決定 mRNA 表現模式。用於實驗中的引子的核苷酸序列示於下表 5。

【0126】 [表 5]

基因	引子	序列 (5' → 3')	SEQ ID NO:
PGC-1 α	F	AGTCTGTATGGAGTGACATCGAG	19
	R	GGCAATCCGTCTTCATCCAC	20
ACOX-1	F	CCGCCGAGAGATCGAGAAC	21
	R	CAGTTGCCTGGTGAAGCAAG	22
PPAR- α	F	AAGGGCTTCTTTCGGCGAAC	23

	R	TGACCTTGTTTCATGTTGAAGTTCTT CA	24
CPT-1 α	F	CCTCCAGTTGGCTTATCGTG	25
	R	TTCTTCGTCTGGCTGGACAT	26
GAPDH	F	GTG ATG GCA TGG ACT GTG GT	9
	R	GGA GCC AAA AGG GTC ATC AT	10

【0127】 如第 12a 圖與第 12b 圖所示，實驗顯示在 HepG2 細胞中，胜肽複合物促進 PGC-1 α 、ACOX-1、PPAR- α 或 CPT-1 α 基因的表現，PGC-1 α 、ACOX-1、PPAR- α 和 CPT-1 α 基因是和 FFA β -氧化有關的基因。

【0128】 製備例 2：製備醫藥組成物

【0129】 2-1. 製備粉劑

【0130】 2 g 的本發明之胜肽複合物；

【0131】 1 g 的乳糖。

【0132】 將上述成分混合並填入密封袋中以製備粉劑。

【0133】 2-2. 製備錠劑

【0134】 100 mg 的本發明之胜肽複合物；

【0135】 100 mg 的玉米澱粉；

【0136】 100 mg 的乳糖；

【0137】 2 mg 的硬脂酸鎂。

【0138】 依據常規的錠劑製備方法混合上述成分並壓片 (tabletted)，以提供錠劑。

【0139】 **2-3. 製備膠囊劑**

【0140】 100 mg 的本發明之胜肽複合物；

【0141】 100 mg 的玉米澱粉；

【0142】 100 mg 的乳糖；

【0143】 2 mg 的硬脂酸鎂。

【0144】 依據常規的膠囊劑製備方法混合上述成分並填入明膠膠囊中，以製備膠囊劑。

【0145】 **2-4. 製備丸劑(pill)**

【0146】 1 g 的本發明之胜肽複合物；

【0147】 1.5 g 的乳糖；

【0148】 1 g 的甘油(glycerine)；

【0149】 0.5 g 的木糖醇。

【0150】 依據常規方法混合上述成分並製備為丸劑，一丸劑具有 4 g 的重量。

【0151】 **2-5. 製備顆粒劑**

【0152】 150 mg 的本發明之胜肽複合物；

【0153】 50 mg 的大豆萃取物；

【0154】 200 mg 的葡萄糖；

【0155】 600 mg 的澱粉。

【0156】 將上述成分混合，加入 100 mg 的 30% 乙醇，再於 60°C 下乾燥。形成顆粒劑後，將顆粒劑填入包裝袋中。

【0157】 製備例 3：製備機能性食品組成物

【0158】 3-1. 製備保健食品

【0159】 500 µg 的本發明之胜肽複合物；

【0160】 維生素混合物的合適劑量

【0161】 70 mg 的維生素 A 醋酸酯；

【0162】 1.0 mg 的維生素 E；

【0163】 0.13 mg 的維生素 D；

【0164】 0.15 mg 的維生素 B2；

【0165】 0.5 mg 的維生素 B6；

【0166】 0.2 mg 的維生素 B12；

【0167】 10 mg 的維生素 C；

【0168】 10 mg 的生物素；

【0169】 1.7 mg 的菸鹼醯胺；

【0170】 50 mg 的葉酸；

【0171】 0.5 mg 的泛酸鈣(calcium pantothenate)；

【0172】 礦物質混合物的合適劑量

【0173】 1.75 mg 的硫酸亞鐵(ferrous sulfate)；

【0174】 0.82 mg 的氧化鋅；

【0175】 25.3 mg 的碳酸鎂；

【0176】 15 mg 的磷酸二氫鉀 (monopotassium phosphate) ；

【0177】 55 mg 的磷酸氫二鉀(dipotassium phosphate) ；

【0178】 90 mg 的檸檬酸鉀 ；

【0179】 100 mg 的碳酸鈣 ；

【0180】 24.8 mg 的氯化鎂 。

【0181】 雖然作為較佳實施例，相對適合用於保健食品的多種成分以維生素混合物與礦物質混合物的組成比例混合，但混合比例可任意變化，且可依據一般的保健食品製備方法混合多種成分並接著製備為顆粒劑，然後可依據一般方法將其用於製備保健食品組成物。

【0182】 3-2. 製備保健飲料

【0183】 500 µg 的本發明之胜肽複合物 ；

【0184】 1000 mg 的檸檬酸 ；

【0185】 100 g 的寡醣 ；

【0186】 2 g 的青梅濃縮物(green plum concentrate) ；

【0187】 1 g 的牛磺酸 ；

【0188】 加入純水直到總體積 900 ml 。

【0189】 依據一般保健飲料製備方法混合上述成分，在 85°C 下將混合物加熱和攪拌 1 小時以製備溶液，過濾溶液，將濾液收集於滅菌容器(sterilized container)中，接著密封和殺菌，然後冷藏保存，之後可用於製備保健飲料組成物。雖然作為較佳實

施例，以上述組成比例混合相對適合用於喜歡的飲料的多種成分，但混合比例可依據當地和國家的偏好任意變化，例如需求等級、需求地域、使用目的等。

【0190】 雖然本申請案的多個代表性實施例已描述於上，但本申請案的範圍不限於上述多個具體實施例，本技術領域中具有通常知識者可在本申請案的申請專利範圍中描述的範圍內改變本申請案。

【符號說明】

【0191】

無

```
<?xml version="1.0" encoding="UTF-8"?>
<!DOCTYPE ST26SequenceListing PUBLIC "-//WIPO//DTD Sequence Listing 1.3//EN"
"ST26SequenceListing_V1_3.dtd">
<ST26SequenceListing dtdVersion="V1_3" fileName="TW16401序列表new.xml"
softwareName="WIPO Sequence" softwareVersion="2.3.0" productionDate="2023-07-
12">
  <ApplicationIdentification>
    <IPOfficeCode>TW</IPOfficeCode>
    <ApplicationNumberText>112106695</ApplicationNumberText>
    <FilingDate>2023-02-23</FilingDate>
  </ApplicationIdentification>
  <ApplicantFileReference>2021-DPA-4553</ApplicantFileReference>
  <EarliestPriorityApplicationIdentification>
    <IPOfficeCode>KR</IPOfficeCode>
    <ApplicationNumberText>10-2022-0036947</ApplicationNumberText>
    <FilingDate>2022-03-24</FilingDate>
  </EarliestPriorityApplicationIdentification>
  <ApplicantName languageCode="zh">南韓商凱爾格恩股份有限公司</ApplicantName>
  <ApplicantNameLatin>CAREGEN CO., LTD.</ApplicantNameLatin>
  <InventionTitle languageCode="zh">具有抗糖尿病活性的胜肽複合物、包含其之醫藥組
成物及包含其之機能性食品組成物</InventionTitle>
  <SequenceTotalQuantity>28</SequenceTotalQuantity>
  <SequenceData sequenceIDNumber="1">
    <INSDSeq>
      <INSDSeq_length>5</INSDSeq_length>
      <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
      <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
      <INSDSeq_feature-table>
        <INSDFeature>
          <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
          <INSDFeature_location>1..5</INSDFeature_location>
          <INSDFeature_qual>
            <INSDQualifier id="q1">
              <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
              <INSDQualifier_value>Peptide</INSDQualifier_value>
            </INSDQualifier>
          </INSDFeature_qual>
        </INSDFeature>
        <INSDFeature>
```

```
<INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
<INSDFeature_location>1..5</INSDFeature_location>
<INSDFeature_qual>
  <INSDQualifier>
    <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
  <INSDQualifier id="q57">
    <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>Artificial Sequence</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>LKTRN</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="2">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>9</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..9</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier id="q3">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>Peptide</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..9</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_qual>
        <INSDQualifier>
          <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
```

```
<INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q58">
  <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
  <INSDQualifier_value>Artificial Sequence</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>KGSATGWMA</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="3">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>20</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>misc_feature</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..20</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier id="q5">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>TNF-alpha Forward primer</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..20</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>other DNA</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q59">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>Artificial Sequence</INSDQualifier_value>
```



```
</INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>cgtcagccgatttgctatct</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="4">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>20</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>misc_feature</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..20</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier id="q7">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>TNF-alpha Reverse primer</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..20</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>other DNA</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q60">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>Artificial Sequence</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>cggactccgcaaagtctaag</INSDSeq_sequence>
```

```
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="5">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>25</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>misc_feature</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..25</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier id="q9">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>mTOR forward primer</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..25</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>other DNA</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q61">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>Artificial Sequence</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>ttgaggtcgctatgaccagagagaa</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="6">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>25</INSDSeq_length>
```

```
<INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
  <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>misc_feature</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..25</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_qual>
      <INSDQualifier id="q11">
        <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>mTOR reverse primer</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
    </INSDFeature_qual>
  </INSDFeature>
  <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..25</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_qual>
      <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>other DNA</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q62">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>Artificial Sequence</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
    </INSDFeature_qual>
  </INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>ttaccagaaggacaccagccaatg</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="7">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>21</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>misc_feature</INSDFeature_key>
```

```
<INSDFeature_location>1..21</INSDFeature_location>
<INSDFeature_qual>
  <INSDQualifier id="q13">
    <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>p70S6K forward primer</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
<INSDFeature>
  <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
  <INSDFeature_location>1..21</INSDFeature_location>
  <INSDFeature_qual>
    <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>other DNA</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
    <INSDQualifier id="q63">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>Artificial Sequence</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
  </INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>ggagcctgggagccctgatgt</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="8">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>22</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>misc_feature</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..22</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier id="q15">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>p70S6K reverse primer</INSDQualifier_value>
```

```
</INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
<INSDFeature>
  <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
  <INSDFeature_location>1..22</INSDFeature_location>
  <INSDFeature_qual>
    <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>other DNA</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
    <INSDQualifier id="q64">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>Artificial Sequence</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
  </INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>gaagccctctttgatgctgtcc</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="9">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>20</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>misc_feature</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..20</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier id="q17">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>GAPDH forward primer</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
```

```
<INSDFeature_location>1..20</INSDFeature_location>
<INSDFeature_qual>
  <INSDQualifier>
    <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>other DNA</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
  <INSDQualifier id="q65">
    <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>Artificial Sequence</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>gtgatggcatggactgttgt</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="10">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>20</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>misc_feature</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..20</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier id="q19">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>GAPDH reverse primer</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..20</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>other DNA</INSDQualifier_value>
```

```
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q66">
  <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
  <INSDQualifier_value>Artificial Sequence</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>ggagccaaaagggtcatcat</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="11">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>20</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>misc_feature</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..20</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier id="q21">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>Leptin forward primer</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..20</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>other DNA</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q67">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>Artificial Sequence</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
```

```
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>ggatcagggttttgtggtgct</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="12">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>20</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>misc_feature</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..20</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier id="q23">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>Leptin reverse primer</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..20</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>other DNA</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q68">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>Artificial Sequence</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>ttgtggcccataaagtcctc</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
```



```
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="13">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>20</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>misc_feature</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..20</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier id="q25">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>Adiponectin forward primer</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..20</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>other DNA</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q69">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>Artificial Sequence</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>tcctgctttggtccctccac</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="14">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>20</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
```

```
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
  <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>misc_feature</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..20</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_qual>
      <INSDQualifier id="q27">
        <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>Adiponectin reverse primer</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
    </INSDFeature_qual>
  </INSDFeature>
  <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..20</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_qual>
      <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>other DNA</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q70">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>Artificial Sequence</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
    </INSDFeature_qual>
  </INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>tctccagccccacactgaac</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="15">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>20</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>misc_feature</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..20</INSDFeature_location>
```

```
<INSDFeature_qual>
  <INSDQualifier id="q29">
    <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>IRS-1 forward primer</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
<INSDFeature>
  <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
  <INSDFeature_location>1..20</INSDFeature_location>
  <INSDFeature_qual>
    <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>other DNA</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
    <INSDQualifier id="q71">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>Artificial Sequence</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
  </INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>gccaatcttcattccagttgc</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="16">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>20</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>misc_feature</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..20</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier id="q31">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>IRS-1 reverse primer</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
```

112106695

```
<INSDFeature_qual>
  <INSDQualifier>
    <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>other DNA</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
  <INSDQualifier id="q73">
    <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>Artificial Sequence</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>atgagcacggaagcatgat</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="18">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>20</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>misc_feature</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..20</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier id="q35">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>TNF-alpha reverse primer</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..20</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>other DNA</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
```

```
<INSDQualifier id="q74">
  <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
  <INSDQualifier_value>Artificial Sequence</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>ctcttgatggcagagaggag</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="19">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>23</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>misc_feature</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..23</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier id="q37">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>PGC-1 forward primer</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..23</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>other DNA</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q75">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>Artificial Sequence</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
```

```

    </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>agtctgtatggagtgacatcgag</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="20">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>20</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>misc_feature</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..20</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier id="q39">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>PGC-1 reverse primer</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..20</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>other DNA</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q76">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>Artificial Sequence</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>ggcaatccgtcttcatccac</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>

```

```
<SequenceData sequenceIDNumber="21">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>19</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>misc_feature</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..19</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier id="q41">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>ACOX-1 forward primer</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..19</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>other DNA</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q83">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>Artificial Sequence</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>ccgccgagagatcgagaac</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="22">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>20</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
```



```
<INSDSeq_feature-table>
  <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>misc_feature</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..20</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_qual>
      <INSDQualifier id="q43">
        <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>ACOX-1 reverse primer</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
    </INSDFeature_qual>
  </INSDFeature>
  <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..20</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_qual>
      <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>other DNA</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q84">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>Artificial Sequence</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
    </INSDFeature_qual>
  </INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>cagttgcctggtgaagcaag</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="23">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>20</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>misc_feature</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..20</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
```

```
<INSDQualifier id="q45">
  <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
  <INSDQualifier_value>PPAR-alpha forward primer</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
<INSDFeature>
  <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
  <INSDFeature_location>1..20</INSDFeature_location>
  <INSDFeature_qual>
    <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>other DNA</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
    <INSDQualifier id="q82">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>Artificial Sequence</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
  </INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>aagggtcttctttcggcgaac</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="24">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>27</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>misc_feature</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..27</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier id="q47">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>PPAR-alpha reverse primer</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
```

```
</INSDFeature>
<INSDFeature>
  <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
  <INSDFeature_location>1..27</INSDFeature_location>
  <INSDFeature_qual>
    <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>other DNA</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
    <INSDQualifier id="q81">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>Artificial Sequence</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
  </INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>tgaccttggtcatgttgaagttcttca</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="25">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>20</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>misc_feature</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..20</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier id="q49">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>CTP-1alpha forward primer</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="25">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>20</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>misc_feature</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..20</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier id="q49">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>CTP-1alpha forward primer</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="25">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>20</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>misc_feature</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..20</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier id="q49">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>CTP-1alpha forward primer</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
```

```

<INSDQualifier>
  <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
  <INSDQualifier_value>other DNA</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q80">
  <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
  <INSDQualifier_value>Artificial Sequence</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>cctccagttggcttatcgtg</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="26">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>20</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>misc_feature</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..20</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier id="q51">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>CTP-1alpha reverse primer</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..20</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>other DNA</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q79">

```

```
<INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>Artificial Sequence</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>ttcttcgtctggctggacat</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="27">
<INSDSeq>
<INSDSeq_length>20</INSDSeq_length>
<INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
<INSDFeature>
<INSDFeature_key>misc_feature</INSDFeature_key>
<INSDFeature_location>1..20</INSDFeature_location>
<INSDFeature_qual>
<INSDQualifier id="q53">
<INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>GLUT4 forward primer</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
<INSDFeature>
<INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
<INSDFeature_location>1..20</INSDFeature_location>
<INSDFeature_qual>
<INSDQualifier>
<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>other DNA</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q78">
<INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>Artificial Sequence</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
```

```

    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>actaagagcaccgagaccaa</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="28">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>20</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>misc_feature</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..20</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier id="q55">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>GLUT4 reverse primer</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..20</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>other DNA</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q77">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>Artificial Sequence</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>ctgccccgaaagagtctaaag</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
</ST26SequenceListing>

```

【發明申請專利範圍】

【請求項 1】 一種胜肽複合物，包含：

(i) 由如 SEQ ID NO: 1 所示的胺基酸序列所組成的胜肽；以及

(ii) 由如 SEQ ID NO: 2 所示的胺基酸序列所組成的胜肽。

【請求項 2】 如請求項 1 所述之胜肽複合物，其中該胜肽複合物具有抗糖尿病活性。

【請求項 3】 一種用以預防或治療糖尿病的醫藥組成物，包含如請求項 1 所述之胜肽複合物作為有效成分 (active ingredient)。

【請求項 4】 如請求項 3 所述之用以預防或治療糖尿病的醫藥組成物，其中該胜肽複合物促進葡萄糖吸收。

【請求項 5】 如請求項 3 所述之用以預防或治療糖尿病的醫藥組成物，其中該胜肽複合物抑制胰島素阻抗訊息或提升胰島素敏感訊息。

【請求項 6】 如請求項 3 所述之用以預防或治療糖尿病的醫藥組成物，其中該胜肽複合物抑制胰島素受體受質 (insulin receptor substrate; IRS) 之 Ser302 磷酸化或 c-Jun N-terminal kinase (JNK) 磷酸化。

【請求項 7】 如請求項 3 所述之用以預防或治療糖尿病的醫藥組成物，其中該胜肽複合物在誘發胰島素阻抗的環境中抑制

TNF- α 基因、哺乳動物雷帕黴素標靶蛋白(mammalian target of rapamycin; mTOR)基因、或 p70S6K 基因的表現。

【請求項 8】 如請求項 3 所述之用以預防或治療糖尿病的醫藥組成物，其中該胜肽複合物增強胰島素受體受質(IRS)之 Tyr632 磷酸化、促進磷酸肌醇 3-激酶(phosphoinositide 3-kinase; PI3K)活化、促進 ATK 活化、或促進單磷酸腺苷活化蛋白質激酶(AMP-activated protein kinase; AMPK)活化。

【請求項 9】 如請求項 3 所述之用以預防或治療糖尿病的醫藥組成物，其中該胜肽複合物促進選自由瘦體素(leptin)、脂聯素(adiponectin)、胰島素受體受質 1(insulin receptor substrate 1; IRS-1)、葡萄糖轉運蛋白 4 型(glucose transporter type 4; GLUT4)、PGC-1 α 、ACOX-1、PPAR- α 、以及 CPT-1 α 所組成的群組中的一或更多的基因的表現。

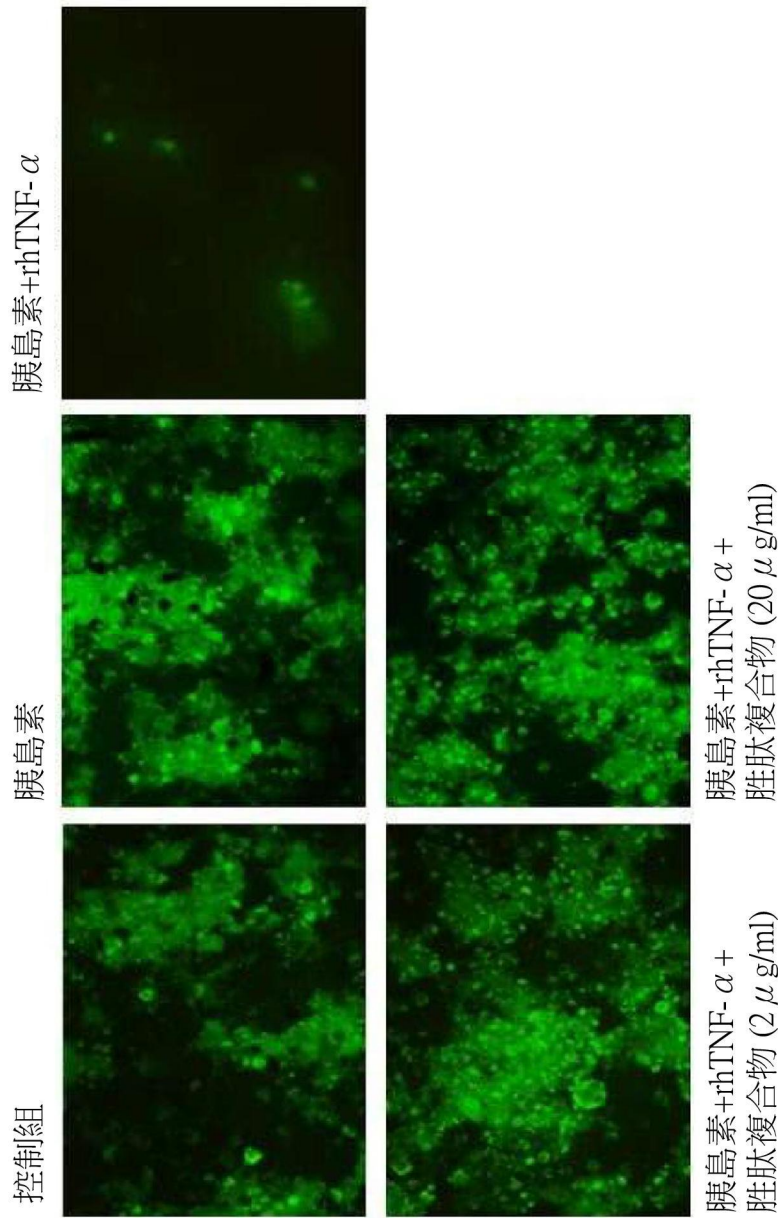
【請求項 10】 如請求項 3 所述之用以預防或治療糖尿病的醫藥組成物，其中該胜肽複合物抑制由游離脂肪酸(free fatty acids)誘導之活性氧化物質(reactive oxygen species; ROS)的產生、TNF- α 基因的表現、TNF- α 蛋白質的表現、或 IL-1 β 蛋白質的表現，或者抑制由游離脂肪酸誘導之胰島 β 細胞(pancreatic beta cells)的細胞凋亡。

【請求項 11】 一種用以控制血糖值的機能性食品組成物，包含如請求項 1 所述之胜肽複合物作為有效成分。

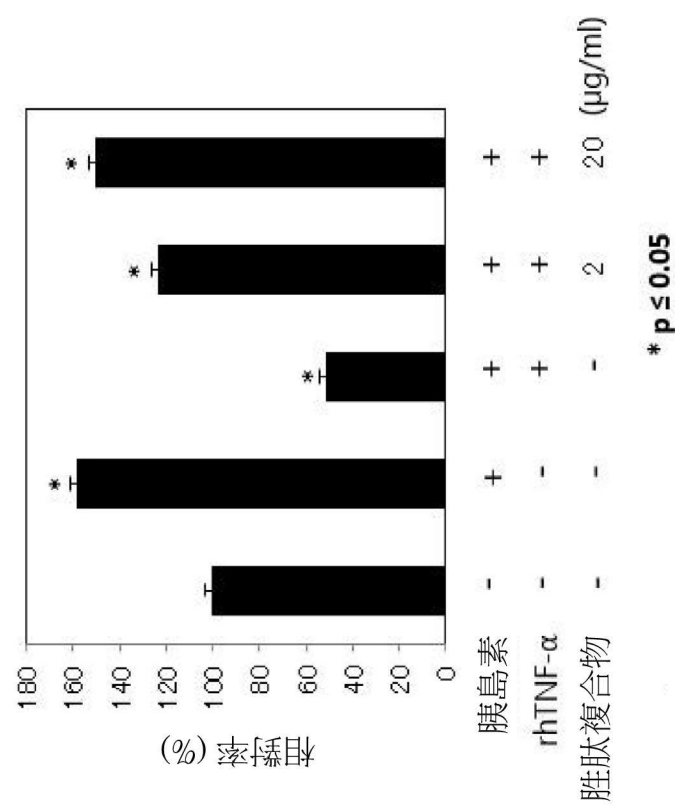
【請求項 12】 如請求項 11 所述之用以控制血糖值的機能性食品組成物，其中該胜肽複合物促進葡萄糖吸收。

【請求項 13】 如請求項 11 所述之用以控制血糖值的機能性食品組成物，其中該胜肽複合物抑制胰島素阻抗訊息或提升胰島素敏感訊息。

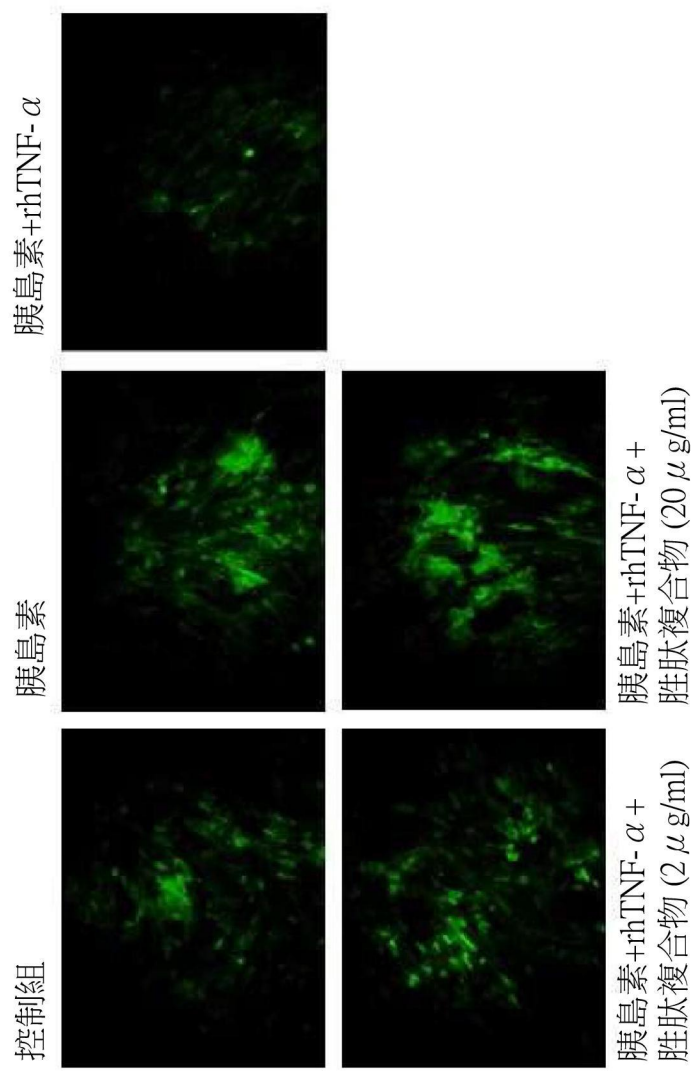
【發明圖式】



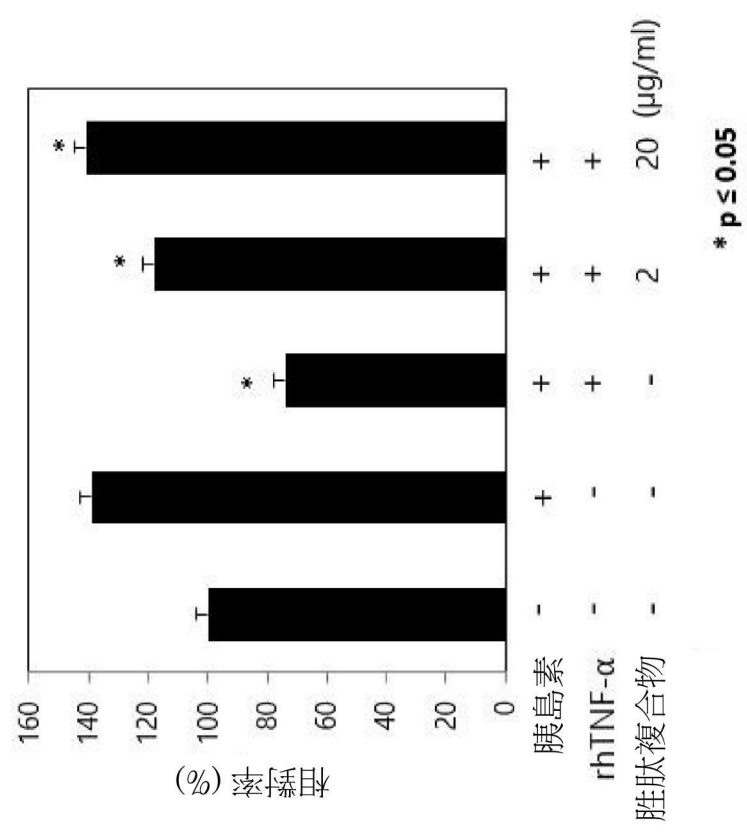
第 1a 圖



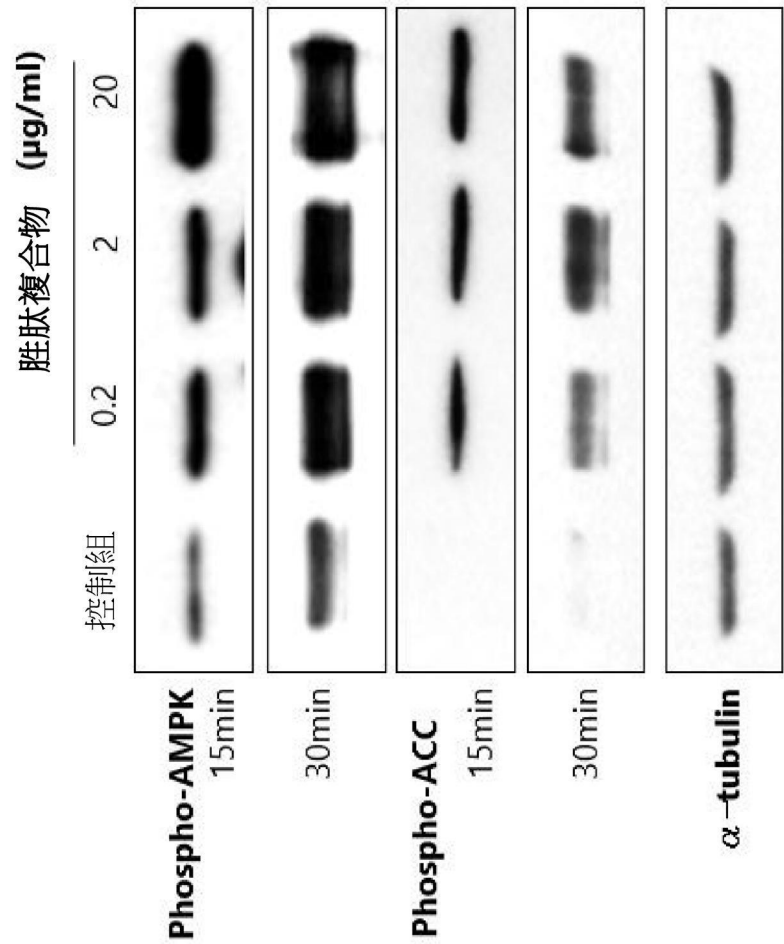
第1b圖



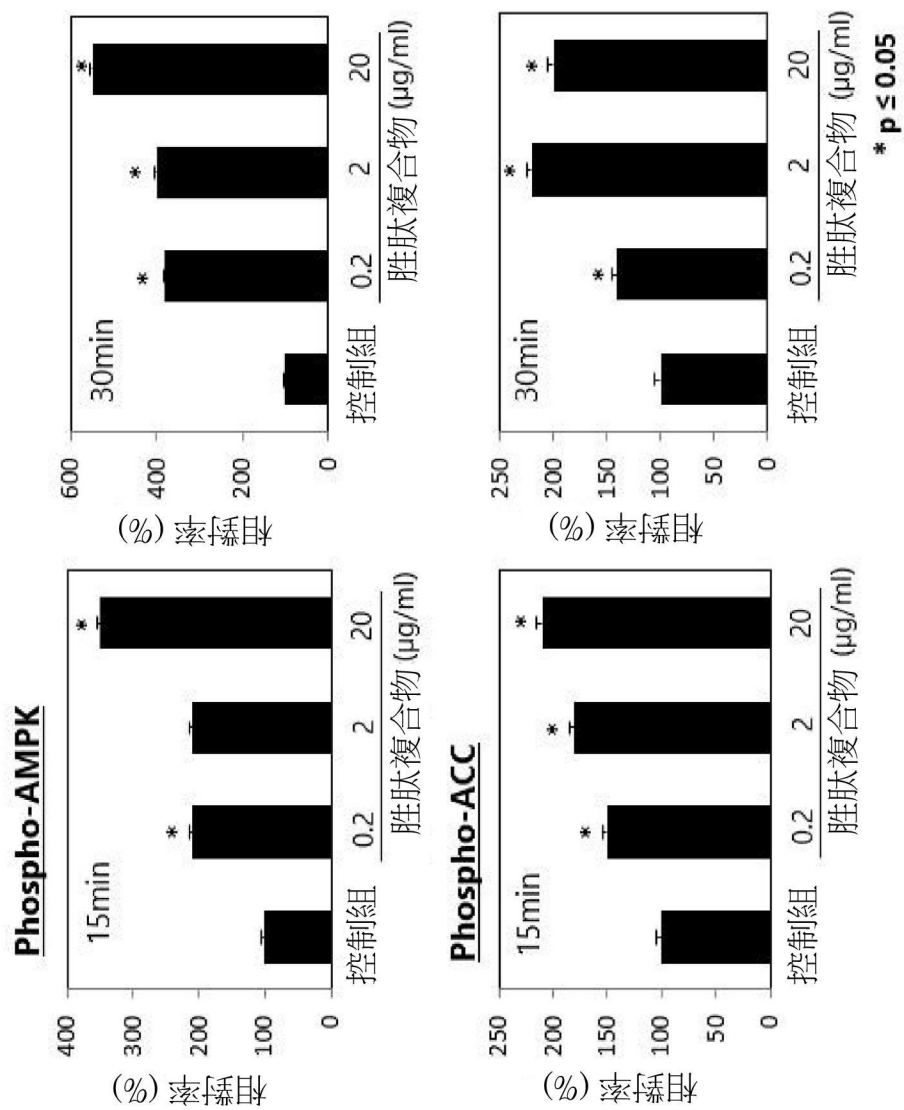
第 2a 圖



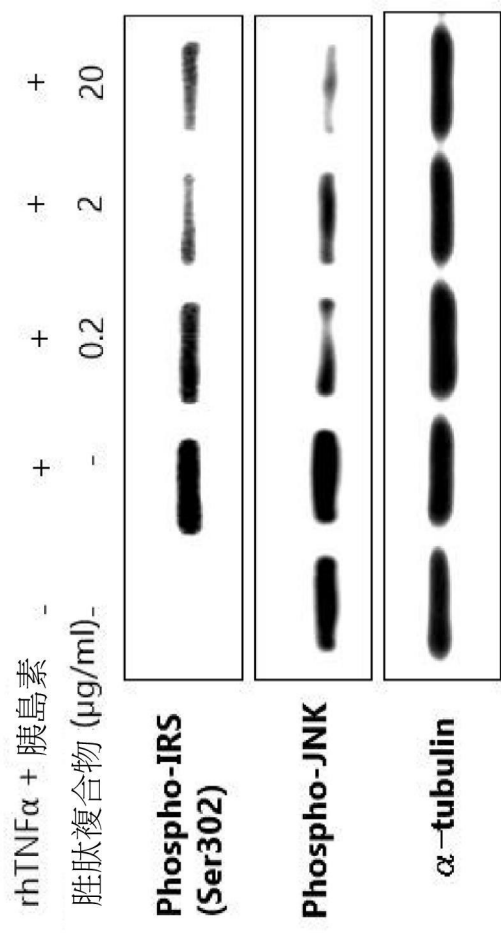
第2b 圖



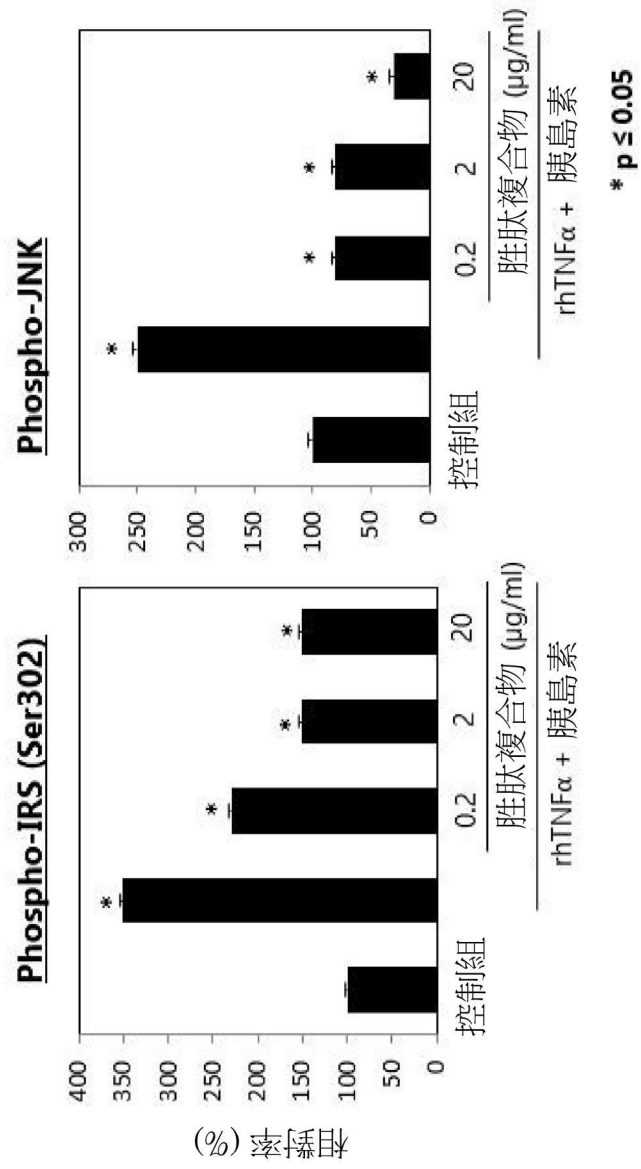
第3a圖



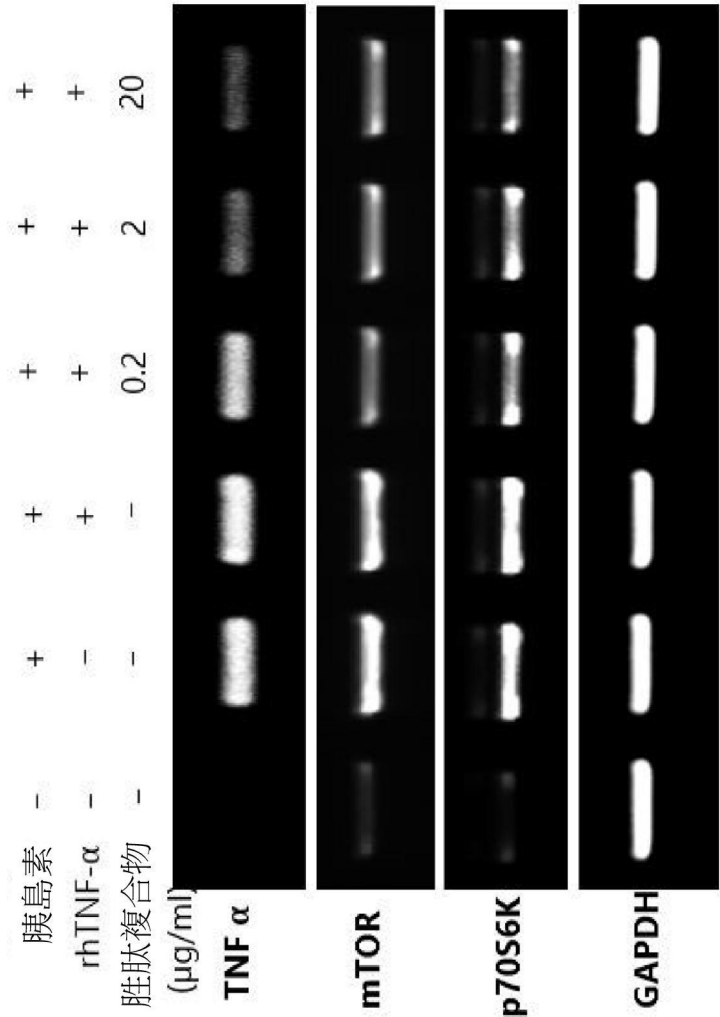
第3b圖



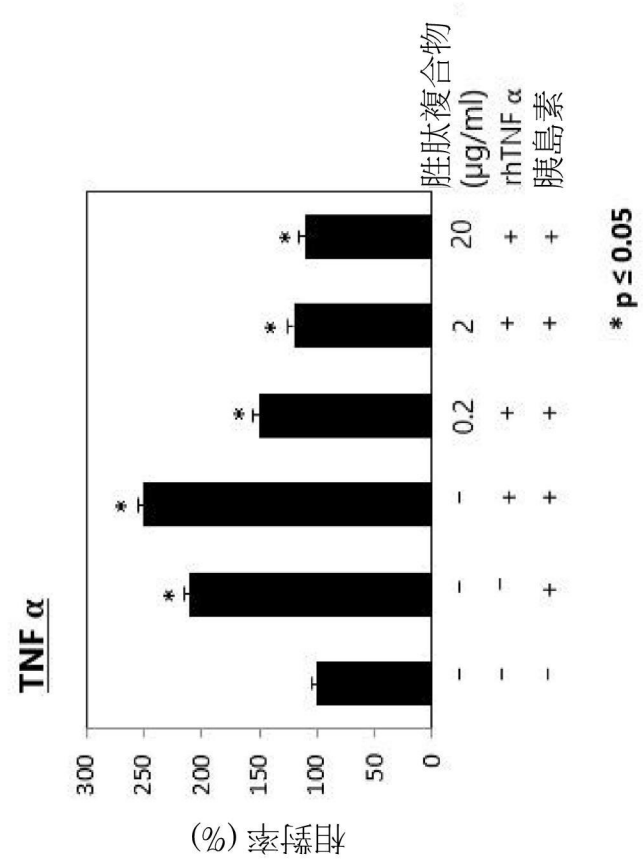
第4a圖



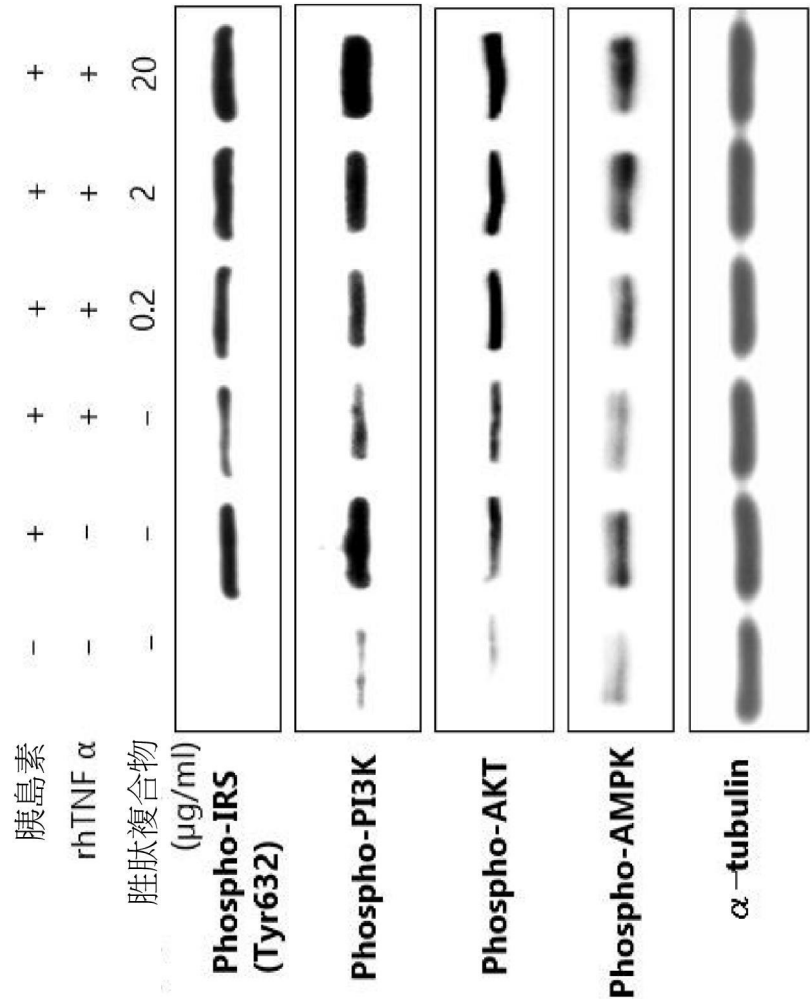
第 4b 圖



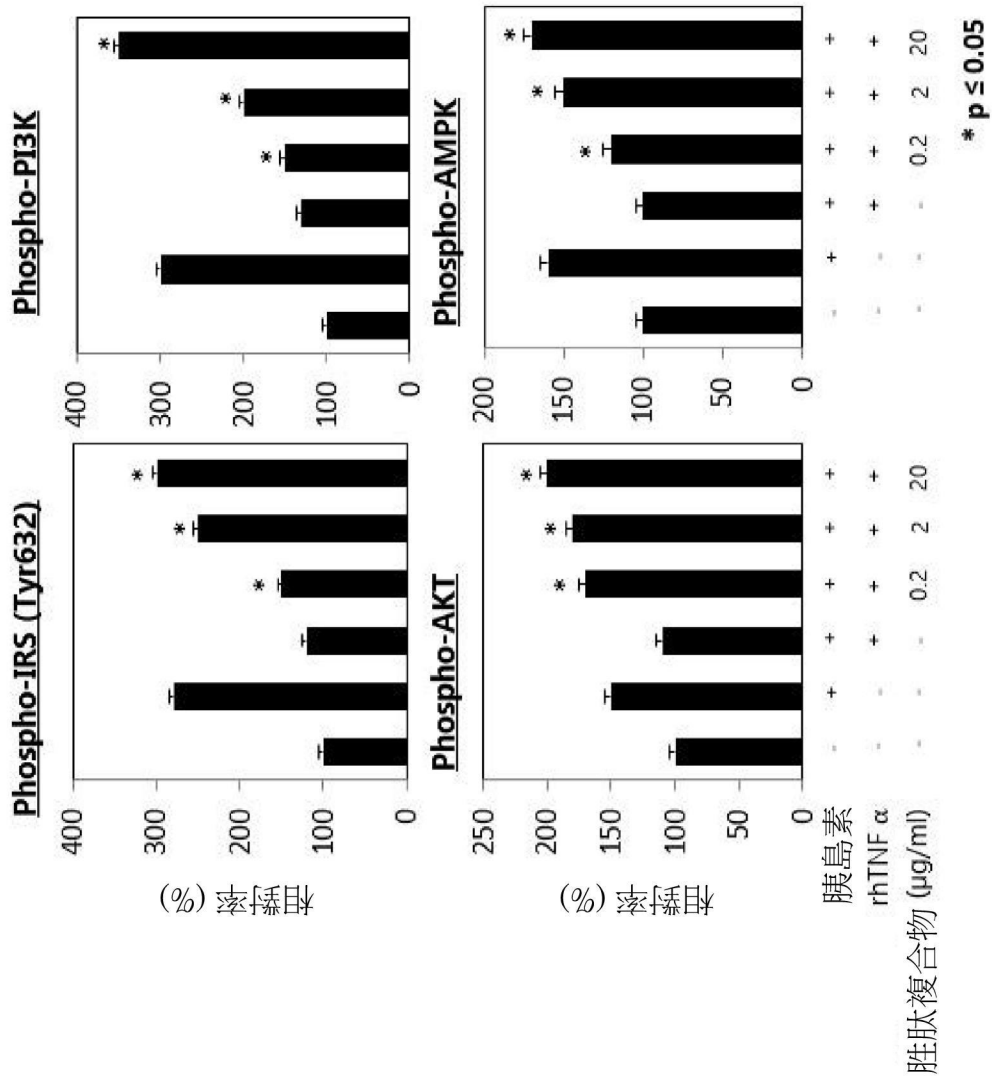
第 5a 圖



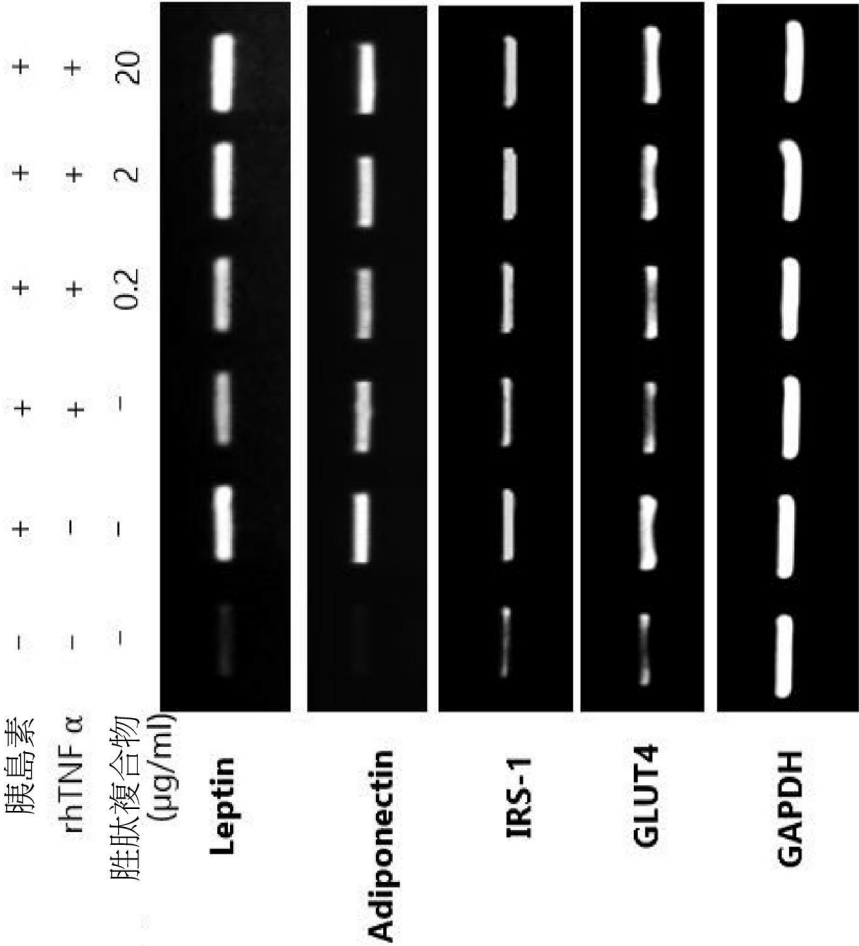
第 5b 圖



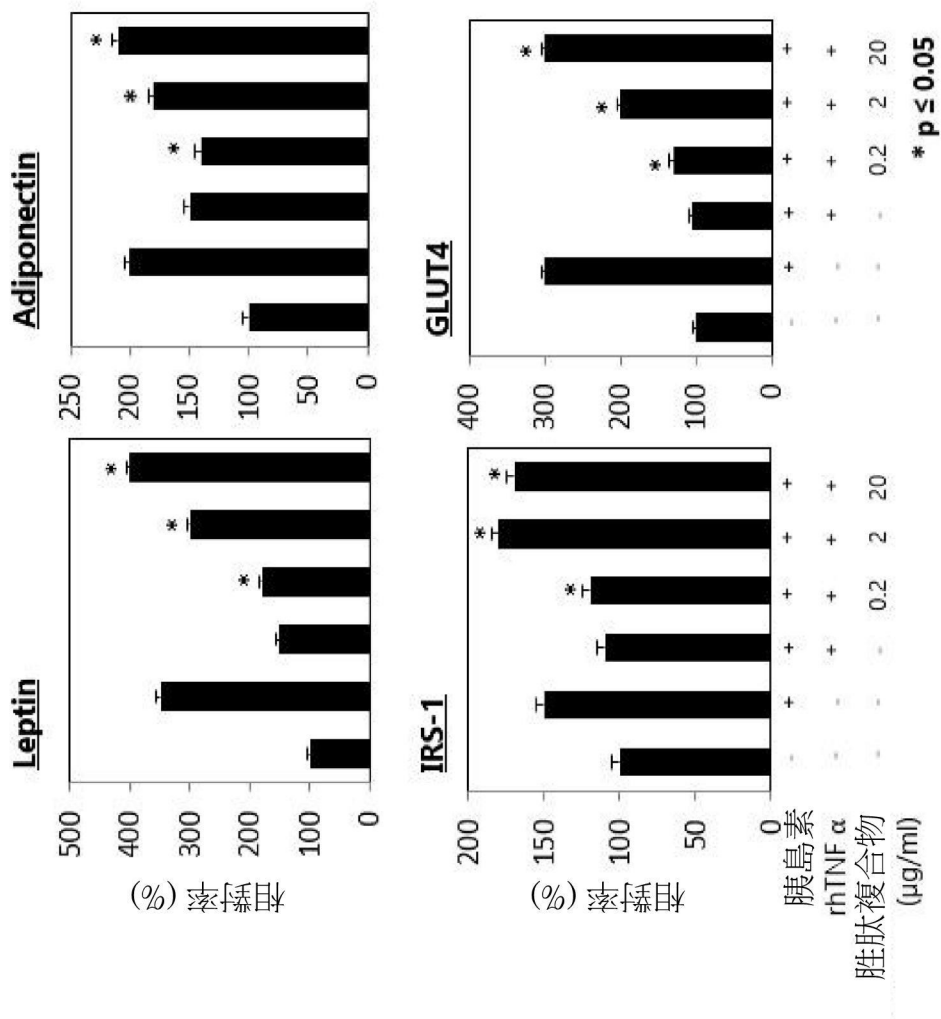
第6a圖



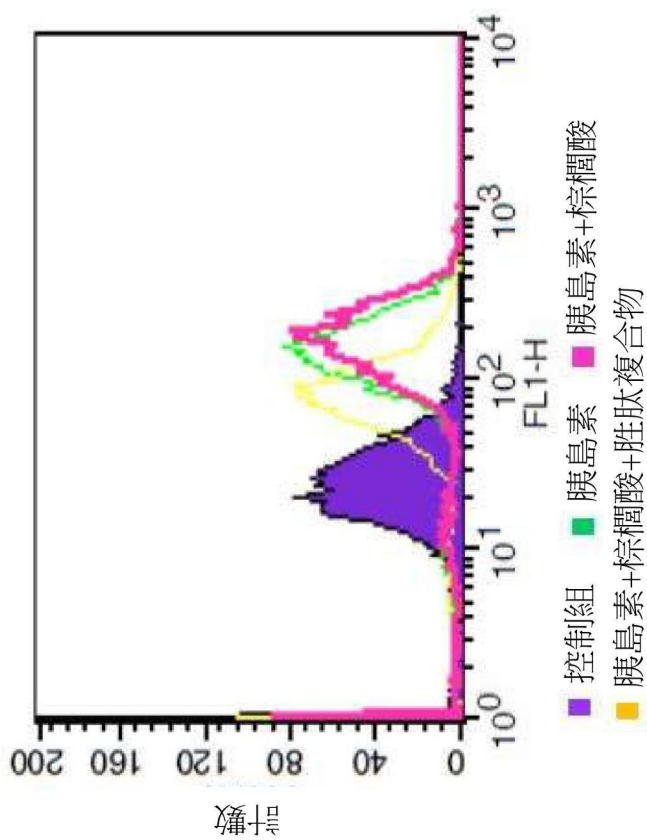
第6b圖



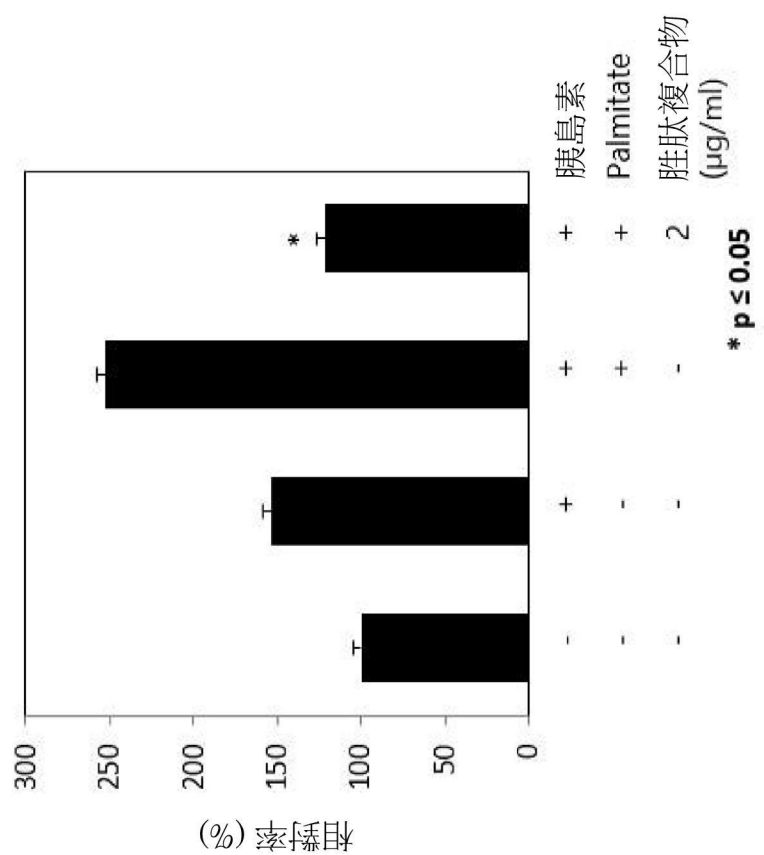
第7a圖



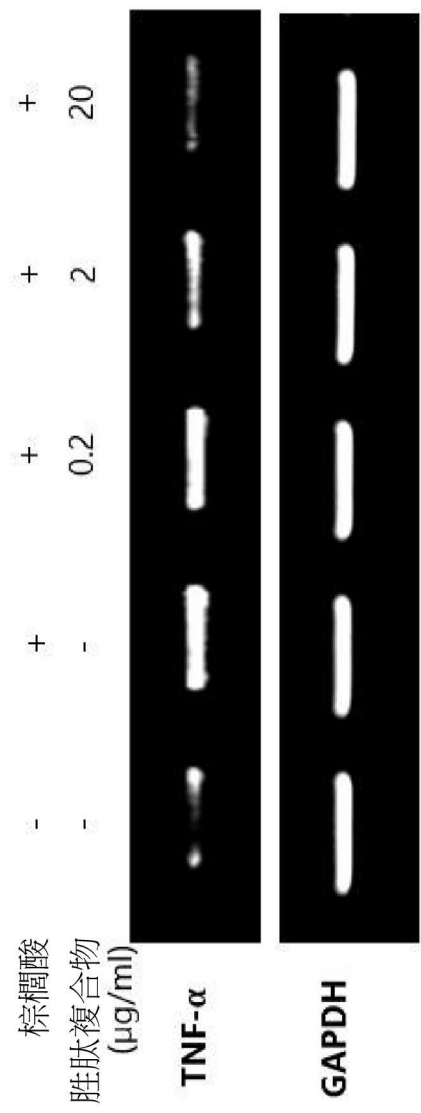
第7b圖



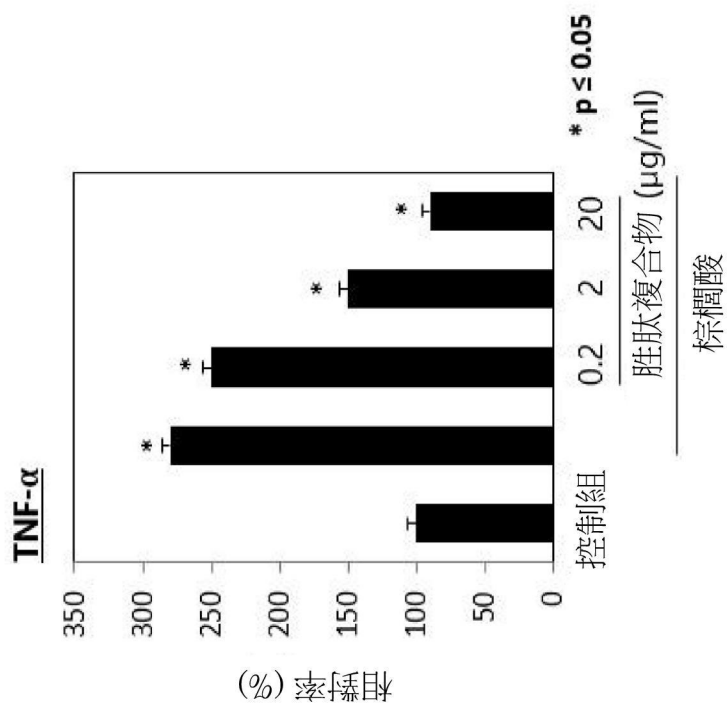
第8a圖



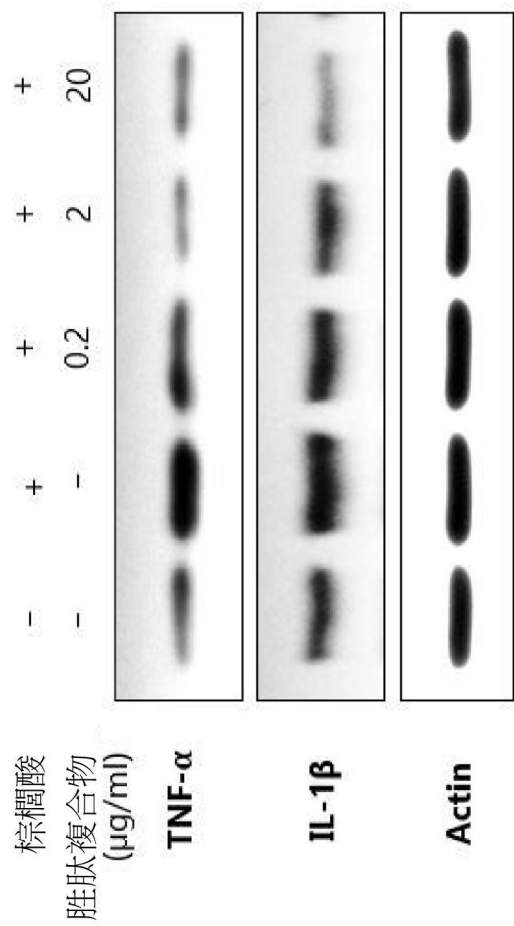
第8b圖



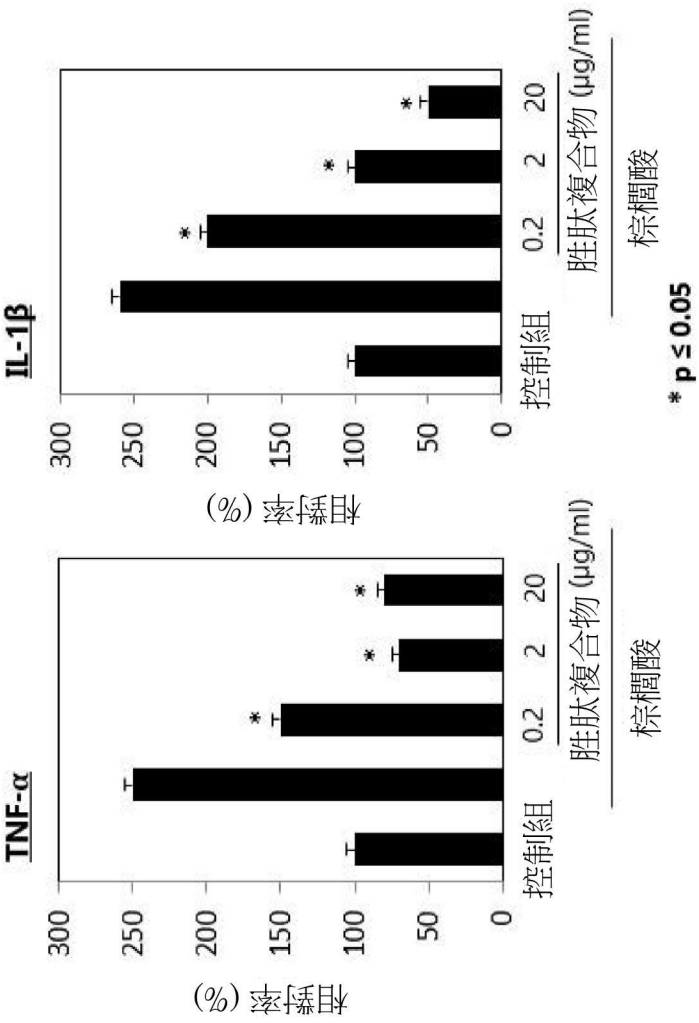
第9a圖



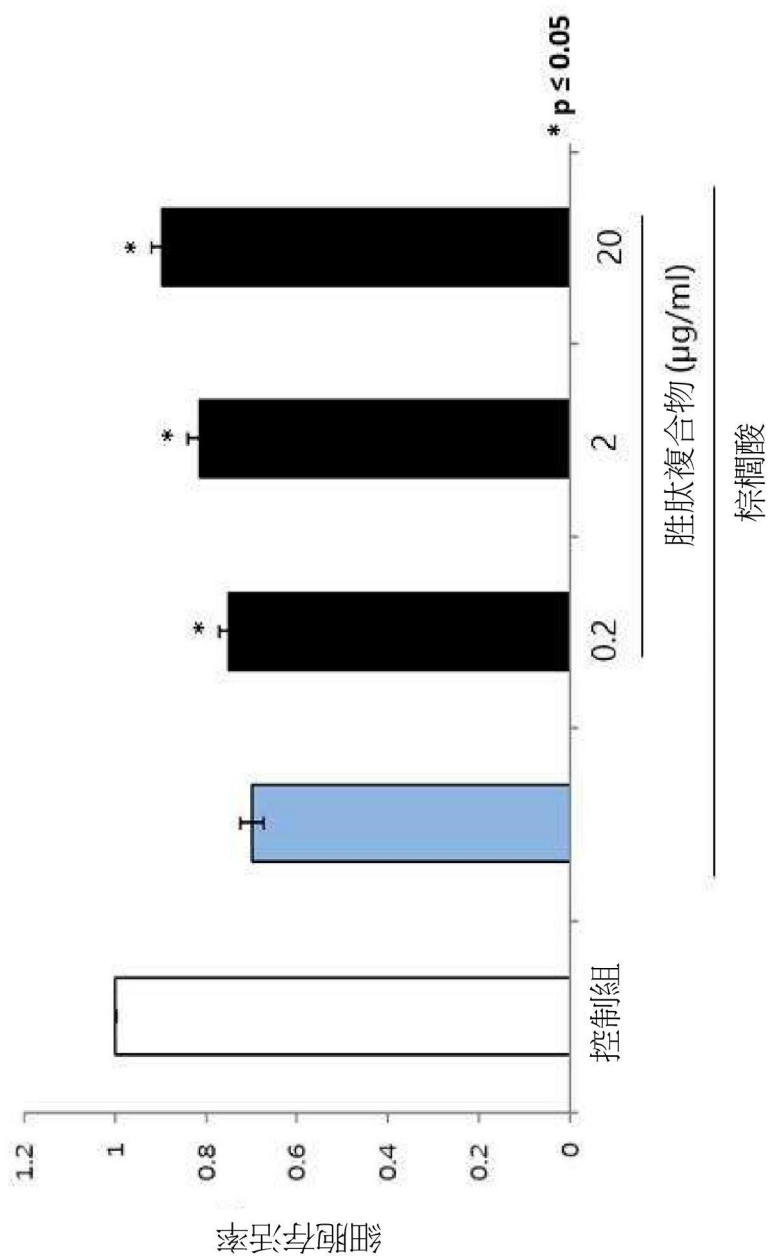
第9b 圖



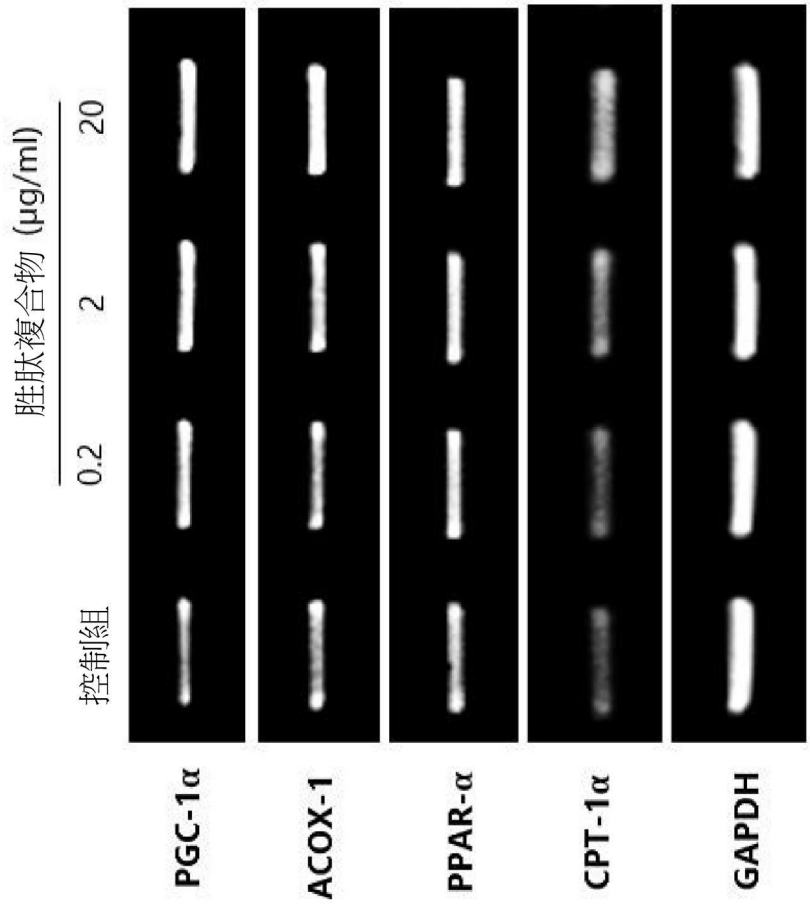
第 10a 圖



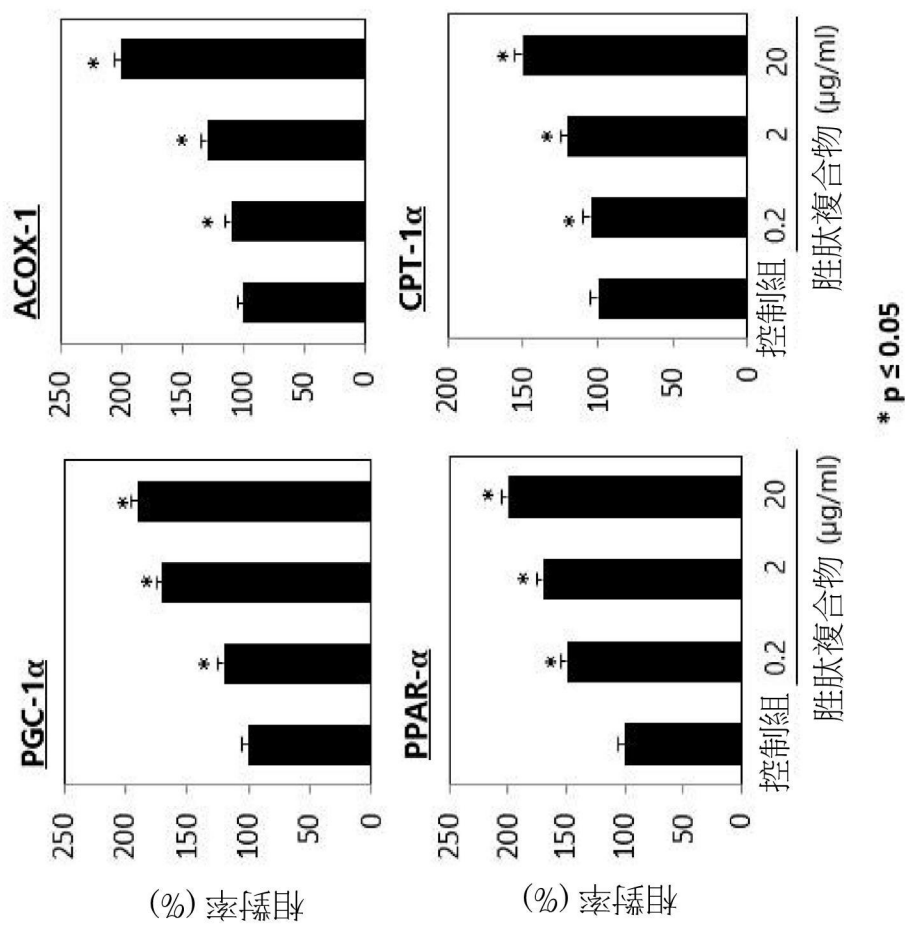
第 10b 圖



第11圖



第12a 圖



第12b 圖