

申請日期：92.7.11	IPC分類
申請案號：92118986	A61K38/16, C07K14/435

(以上各欄由本局填註)

發明專利說明書 200409641

一、 發明名稱	中 文	腦下腺腺苷酸環化酶活化胜肽(PACAP)受體(VPAC2)作用劑及其使用之藥理方法
	英 文	Pituitary adenylate cyclase activating peptide (PACAP) receptor (VPAC2) agonists and their pharmacological methods of use
二、 發明人 (共7人)	姓 名 (中文)	1. 潘曉群 2. 威廉 3. 王有章
	姓 名 (英文)	1. Clark PAN 2. James WHELAN 3. Yu-Chang John WANG
	國 籍 (中英文)	1. 2. 3.
	住居所 (中 文)	1. 美國加州卡斯楚城普林斯頓路22362號 2. 美國康乃狄克州麥迪遜市夏山路210號 3. 美國加州柏林格市卡布里路1341號
	住居所 (英 文)	1. 22362 Princeton Place, Castro Valley, California 94552, U.S.A. 2. 210 Summer Hill Road, Madison, Connecticut 06443, U.S.A. 3. 1341 Cabrillo Avenue, Burlingame, California 94010 U.S.A.
三、 申請人 (共1人)	名稱或 姓 名 (中文)	1. 拜耳醫藥品公司
	名稱或 姓 名 (英文)	1. Bayer Pharmaceuticals Corporation
	國 籍 (中英文)	1. 美國 US
	住居所 (營業所) (中 文)	1. 美國康乃狄克州西海凡市摩根路400號 (本地址與前向貴局申請者不同)
	住居所 (營業所) (英 文)	1. 400 Morgan Lane, West Haven, Connecticut 06516, U.S.A.
	代表人 (中文)	1. 貝保羅
	代表人 (英文)	1. Paul R. Berry



申請日期：	IPC分類
申請案號：	

(以上各欄由本局填註)

發明專利說明書

一、 發明名稱	中 文	
	英 文	
二、 發明人 (共7人)	姓 名 (中文)	4. 弗羅倫 5. 凱爾諾 6. 杜瑪斯
	姓 名 (英文)	4. Wayne A. FROLAND 5. Drew N. KELNER 6. Michael L. DUMAS
	國 籍 (中英文)	4. 5. 6.
	住居所 (中 文)	4. 美國加州艾勒門市海若路3號 5. 美國加州新柏利公園克里斯多路1715號 6. 美國加州里奇蒙市港景路27號
	住居所 (英 文)	4. 3 Heron Court, Alameda, California 94510, U.S.A. 5. 1715 Crystal View Circle, Newbury Park, California 91320 U.S.A. 6. 27 Harbor View Drive, Richmond, California 94804, U.S.A.
三、 申請人 (共1人)	名稱或 姓 名 (中文)	
	名稱或 姓 名 (英文)	
	國 籍 (中英文)	
	住居所 (營業所) (中 文)	
	住居所 (營業所) (英 文)	
	代表人 (中文)	
	代表人 (英文)	



申請日期：	IPC分類
申請案號：	

(以上各欄由本局填註)

發明專利說明書

一、 發明名稱	中 文	
	英 文	
二、 發明人 (共7人)	姓 名 (中 文)	7. 王煒
	姓 名 (英 文)	7. Wei WANG
	國 籍 (中 英 文)	7.
	住 居 所 (中 文)	7. 美國加州艾勒門市紫丁香路923號
	住 居 所 (英 文)	7. 923 Lilac Street, Alameda, California 94502, U. S. A.
三、 申請人 (共1人)	名稱或 姓 名 (中 文)	
	名稱或 姓 名 (英 文)	
	國 籍 (中 英 文)	
	住 居 所 (營 業 所) (中 文)	
	住 居 所 (營 業 所) (英 文)	
	代 表 人 (中 文)	
	代 表 人 (英 文)	



一、本案已向

國家(地區)申請專利

申請日期

案號

主張專利法第二十四條第一項優先權

美國 US

2002/07/12

60/395,738

有

二、☐主張專利法第二十五條之一第一項優先權：

申請案號：

無

日期：

三、主

日期：

四、☐有

寄存國家：

寄存機構：

寄存日期：

寄存號碼：

無

☐有關微生物已寄存於國內(本局所指定之寄存機構)：

寄存機構：

寄存日期：

寄存號碼：

無

☐熟習該項技術者易於獲得，不須寄存。

五、發明說明 (1)

本申請案主張 2002 年 7 月 12 日申請的美國臨時申請案序號 60/395,738 之優先權，其全部內容併入本文以資參考。

[發明所屬之技術領域]

5 本發明乃有關新確認之多肽及該等多肽供治療目的之用途。更特別地，本發明之多肽可用於以依賴葡萄糖的方式激發胰島素自胰臟 β 細胞釋放，因而為罹患代謝失調例如糖尿病或葡萄糖耐力受損(糖尿病前期狀態)的病人提供一種治療選擇。

10 [先前技術]

糖尿病的特徵為葡萄糖代謝受損，糖尿病患者血中葡萄糖含量明顯地升高。依照根本缺陷可將糖尿病分為兩大類：1 型糖尿病，或胰島素依賴型糖尿病(IDDM)，發生於病人的胰腺缺乏製造胰島素的 β 細胞；及 2 型糖尿病，或非胰島素依賴型糖尿病(NIDDM)，發生於 β 細胞功能受損及胰島素作用改變的病人。

15

1 型糖尿病患者目前係以胰島素治療，而 2 型糖尿病患者多數以刺激 β 細胞功能之製劑或以增進病人對胰島素的組織敏感度之製劑來治療。長期以後，幾乎一半的 2 型糖尿病患者對這些製劑失去反應而必須採用胰島素療法。目前用於治療 2 型糖尿病的藥物如下。

20

α - 葡萄糖苷酶抑制劑(例如，Precose[®]、Voglibose[™]、與 Miglitol[®])藉由延緩小腸吸收葡萄糖而減少餐後葡萄糖之昇幅。彼等藥物很安全且為輕度至中度染

五、發明說明 (2)

感糖尿病患者提供治療。然而，文獻中曾報導其胃腸方面之副作用。

胰島素敏化劑為加強身體對胰島素的反應之藥物。噻唑啉二酮類例如 AvandiaTM[洛西利塔宗(rosiglitazone)]與 ActosTM 活化過氧化物酶體增生劑活化受體(PPAR) γ 亞型及調節尚未被完整敘述的一組基因之活性。此類別的第一個藥物，RezulinTM[措利塔宗(troglitazone)]，由於肝酵素含量升高及藥物引發之肝毒，已自市場上退出。這些肝效應對於使用 AvandiaTM 與 ActosTM 的病人並未造成重大問題。縱使如此，仍建議接受治療的第一年每隔 2 個月及其後定期進行肝酵素試驗。AvandiaTM 與 ActosTM 似與體液滯留及水腫有關。由於擔心發生充血性心臟衰竭，AvandiaTM 未被指示與胰島素一起使用。另一個潛在的副作用為體重增加。

15 胰島素分泌促進素[例如，利用依賴 ATP 之 K^+ 通道產生作用之磺醯脲類(SFUs)與其他製劑]為目前用於治療 2 型糖尿病的另一種藥物。SFUs 為具有輕度至中度空腹糖尿病症的 2 型糖尿病患者之標準療法。SFUs 具有包括引發低血糖之可能性、體重增加、及高初級與二級失敗率等極限。10 至 20% 初期治療的病人未能顯示明顯的治療效果(初級失敗)。二級失敗係指經六個月的 SFU 治療後，再喪失 20-30% 治療效果。有 50% 的 SFU 反應者於治療 5-7 年後需要胰島素治療(Scheen, et al., Diabetes Res. Clin. Pract. 6:533-543, 1989)。

五、發明說明 (3)

Glucophage™(二甲雙胍 HCl)為雙胍類，其利用降低肝臟葡萄糖生產及增加周邊葡萄糖攝取與利用而降低血糖。此藥物對於輕度至中度罹患者之血糖降低有效，且沒有體重增加或引發低血糖之可能性等副作用。然而，

5 Glucophage™具有包括胃腸不適與乳酸性酸毒症等許多副作用，為 70 歲以上之糖尿病患者與腎或肝功能受損的患者之禁忌。最後，Glucophage™和 SFUs 一樣，具有相同之初級及二級失敗率。

胰島素療法係於膳食、運動，及口服給藥未能適當控制血糖後，才著手進行。此治療法的缺點為可注射、會產生低血糖及引起體重增加。

10

由於目前的治療法有許多問題，因此需要新的治療法來治療 2 型糖尿病患者。特別是，需要新的治療法來保持正常(葡萄糖依賴性)之胰島素分泌。此種新穎藥物需具備

15 下列特徵：依賴葡萄糖來促進胰島素分泌(亦即，僅在出現血糖升高時才產生胰島素分泌)；初級及二級失敗率低；及保持胰島細胞的功能。本文所揭示的新療法之開發策略乃基於環狀腺苷單磷酸(cAMP)的傳訊機制及其對胰島素分泌之影響。

20 環狀 AMP 為胰島素分泌過程的主要調控子。於蛋白激酶 A 路徑被活化後，此傳訊分子之升高促進 K^+ 通道之關閉。關閉 K^+ 通道引起細胞去極化，接著打開 Ca^{++} 通道，隨即引致胰島素顆粒之胞外分泌。在低葡萄糖濃度不存在下，對胰島素分泌幾乎沒有影響(Weinhaus, et al.,

五、發明說明 (4)

- Diabetes 47: 1426-1435, 1998)。分泌促進素如腦下腺腺苷酸環化酶活化胜肽(“PACAP”)與 GLP-1(似胰高血糖素胜肽-1)利用該 cAMP 系統以依賴葡萄糖之方式調控胰島素分泌(Komatsu, et al., Diabetes 46: 1928-1938, 1997 ;
- 5 Filipsson, et al., Diabetes 50:1959-1969, 2001 ; Drucker, Endocrinology 142:521-527, 2001)。藉由 cAMP 例如 GLP-1 與 PACAP 之升高而作用之胰島素分泌促進素，除了增進胰島素釋放之外，亦可增進胰島素合成(Skoglund, et al., Diabetes 49:1156-1164, 2000 ; Borboni, et al.,
- 10 Endocrinology 140:5530-5537, 1999)。

- PACAP 為依賴葡萄糖而自胰臟 β 細胞分泌胰島素之強力刺激子。有三種不同的 PACAP 受體型(PAC1、VPAC1、與 VPAC2)曾被敘述(Harmar, et al., Pharmacol. Reviews 50:265-270, 1998 ; Vaudry, et al., Pharmacol.
- 15 Reviews 52:269-324, 2000)。PACAP 未表現受體選擇性，對所有三種受體具有可比較的活性及效力。PAC1 主要位於 CNS，而 VPAC1 與 VPAC2 分佈較為廣泛。VPAC1 位於 CNS 以及肝、肺及腸。VPAC2 位於 CNS、胰臟、骨骼肌、心、腎、脂肪組織、睪丸及胃。最近的研究爭辯
- 20 VPAC2 為自 β 細胞分泌胰島素之原由(Inagaki, et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 91:2679-2683, 1994 ; Tsutsumi, et al., Diabetes 51:1453-1460, 2002)。PACAP 之此趨胰島素性作用係由結合諸蛋白質 G 之 GTP 居間促成。細胞內 cAMP 之堆積接著活化 β 細胞中之非選擇性陽離子通道而增加

五、發明說明 (5)

[Ca⁺⁺]，並促進含胰島素的分泌顆粒之胞外分泌。

PACAP 為經由 cAMP 居間促成的訊息轉導路徑發揮其作用之代謝、神經內分泌及神經遞質胜肽激素超級家族之最新成員(Arimura, Regul. Peptides 37:287-303, 1992)。

- 5 此具生物活性之胜肽呈 38-胺基酸胜肽(PACAP-38)及/或呈具有醯胺化羧基末端之 27-胺基酸胜肽(PACAP-27)兩種分子型，自生合成前驅物中釋放出來(Arimura, 前文文獻)。

- 10 最高濃度之此二型胜肽出現於腦及睪丸(Arimura, 前文文獻)。較短型胜肽，PACAP-27，與血管活性腸多肽(VIP)具有 68%結構同質性。然而，PACAP 與 VIP 於中樞神經系統中之分佈暗示這些結構相關的胜肽具有不同的神經遞質功能(Koves, et al., Neuroendocrinology 54:159-169, 1991)。

- 15 最近的研究已證明 PACAP-38 從生殖作用中的角色(McArdle, Endocrinology 135:815-817, 1994)到激發胰島素分泌能力(Yada et al., J. Biol. Chem. 269: 1290-1293 (1994))之各種不同生物效應。此外，PACAP 似乎在脂質與碳水化合物代謝之激素調控(Gray, et al., Mol. Endocrinol. 20 15:1739-47, 2001)；晝夜節律功能(Harmar, et al., Cell 109:497-508, 2002)；及免疫系統、生長、能量衡定、與男性生殖功能(Asnicar, et al., Endocrinol. 143:3994-4006, 2002)；食慾調控(Tachibana, et al., Neurosci. Lett. 339:203-206, 2003)；以及急性與慢性炎症、敗血性休

五、發明說明 (6)

克、與自體免疫疾病(例如,全身性紅斑狼瘡)(Pozo, Trends Mol. Med. 9:211-217, 2003)上扮演重要角色。

血管活性腸胜肽(VIP)為最先從肉豬小腸上部分離出之 28 個胺基酸胜肽(Said and Mutt, Science 169:1217-1218, 5 1970; 美國專利案 3,879,371)。此胜肽屬於結構相關、包括蜥蜴素(helodermin)、促胰泌素、生長激素釋放抑制因子、與胰高血糖素等小多肽類之一族。VIP 的生物效應由活化與細胞內 AMP 傳訊系統相連接的膜結合受體蛋白質居間促成。這些受體最初即所謂 VIP-PAC1 與 VIP-10 VPAC1, 但是, 後來發現彼等為與 VPAC1 及 VPAC2 相同之受體。VIP 對 VPAC1 及 VPAC2 表現可比較的活性與效力。

為了增進 VIP 在人類肺液中之穩定性, Bolin 等(Biopolymers 37:57-66, 1995)製造一系列設計用來增進此 15 胜肽的螺旋傾向及減少蛋白水解降解之 VIP 變異體。取代作用集中於被暗指在受體結合中不重要之位置 8、12、17、及 25-28。此外, "GGT"序列被附加在 VIP 變異蛋白質 C-端, 希望更為有效地罩蓋螺旋結構。最後, 為了進一步穩定螺旋結構而合成數個環狀變異體(美國專利案 20 5,677,419)。雖然這些努力並非針對受體選擇性, 但卻得到比 VPAC2 選擇性大 100 倍以上的兩個相似物(Gourlet, et al., Peptides 18:403-408, 1997; Xia, et al., J. Pharmacol. Exp. Ther., 281:629-633, 1997)。

GLP-1 於餐後自腸之 L-細胞釋出, 具有腸降血糖素

五、發明說明 (7)

激素之功能(亦即，促使葡萄糖誘導之胰島素自胰臟 β 細胞釋出)。GLP-1 為由胰高血糖素基因視組織種類而分化表現之 37-胺基酸胜肽。各種臨床數據證實 GLP-1 對於提升 β 細胞中 cAMP 之含量具有有利的影響。對控制不良的 2 型糖尿病患者注射 GLP-1 會使其空腹血糖量正常化(Gutniak, et al., New Eng. J. Med. 326:1316-1322, 1992)，較長期之注射可改善 β 細胞至具有正常患者的功能(Rachman, J. et al., Diabetes 45:1524-1530, 1996)。最近有報導證實，對於葡萄糖耐力受損的患者，GLP-1 可改善 β 細胞的能力至對葡萄糖有反應(Byrne, et al., Diabetes 47:1259-1265, 1998)。然而，由於此胜肽半衰期短，因此所有這些效果均很短暫。

Amylin 製藥公司正以 Exendin 4TM (AC2993)，原先被 Gila Monster 鑑定出之 39 個胺基酸胜肽，進行第 III 期試驗。Amylin 已提出報告記述，臨床研究證明以 Exendin 4TM 處理的 2 型糖尿病病患，其血糖控制有所改善。但是，明顯地發生噁心及嘔吐現象。

申請人於 WO 01/23420 中揭示於活體內具有 VPAC2 受體作用劑功能之新穎多肽，其全部內容併入本文以資參考，特別是，申請人揭示被鑑定為 R3P66 之 VPAC2 作用劑。然而，其中敘述之多肽，包括 R3P66 在內，就調配中與多肽相關的穩定性問題，以及多肽的半衰期問題而言，均非適當之業界候選者。

因此，業界對於具有 PACAP、GLP-1、或 Exendin

五、發明說明(8)

葡萄糖依賴性胰島素促分泌素活性，惟副作用較少，較佳為調製穩定且具有長的血漿半衰期之改良胜肽有所需求。再者，緊密控制血糖含量可預防長期之糖尿病併發症。因此，新穎的糖尿病藥物可提供病人增進之生活品質。

5 [發明內容]

發明概述

本發明提供於活體內具有 VPAC2 受體(下文稱 VPAC2)作用劑之功能、且有效治療可由具有 VPAC2 作用劑活性的製劑改善之疾病與狀況之新穎多肽。較佳為，
10 本發明之多肽選擇性 VPAC2 作用劑，對 VPAC2 比對 VPAC1 與 PAC1 具有較大效力。舉例而言，惟不受此限，這些多肽激發胰島素合成及以依賴葡萄糖的方式自胰臟 β 細胞釋出，及隨後之血糖減少。這些胰島素促分泌素多肽被證實於葡萄糖激發下，比載劑對照組更能降低血
15 糖。又更佳為，本發明多肽於調配時穩定，且具有長半衰期，於衍生化時，具有長期之活體內作用。

本發明之多肽為罹患，如，代謝失調例如由於內源胰島素分泌降低而產生疾病之病人，特別是 2 型糖尿病患者，或葡萄糖耐力受損(胰島素分泌輕微改變之糖尿病前期狀態)之患者，提供新穎之療法。此外，本發明多肽可用於預防及/或治療 1 型糖尿病、妊娠糖尿病、年輕人成熟發病型糖尿病(MODY)、隱性自體免疫糖尿病成人(LADA)、及相關之糖尿病性血脂異常與其他糖尿病併發症，以及高血糖症、高胰島素血症、葡萄糖耐力受損、空
20

五、發明說明 (9)

腹葡萄糖障礙、血脂異常、高三酸甘油脂血症、X 症候群、及胰島素抗阻。

本發明多肽亦可用於預防及/或治療肥胖症(例如，調
控食慾與食物攝取)、粥樣硬化性疾病、高脂血症、高膽
5 固醇血症、低 HDL 含量、高血壓、心血管疾病(包括粥樣
硬化、冠狀心臟疾病、冠狀動脈疾病、與高血壓)、腦血
管疾病與末梢血管疾病；預防及/或治療狼瘡、多囊性卵
巢症候群、致癌性、與增生症、氣喘、男性生殖問題、潰
瘍、睡眠失調、脂質與碳水化合物代謝失調、晝夜調節異
10 常、生長失調、能量衡定失調、免疫疾病包括自體免疫疾
病(例如，全身性紅斑狼瘡)、以及急性與慢性炎症、敗血
性休克、經本文確認之其他狀況，或如後文所述之其他功
能。

詳言之，本發明之一態樣為選自包括 SEQ ID NOs: 1
15 至 152、其至少一種生物功能證明與所列諸序列編號之多
肽(總稱為「本發明多肽」)實質上相同之片段、衍生物及
變異體(包含其功能相等物)所成組群之多肽。本發明之較
佳具體實例為選自包括 SEQ ID NOs: 1 至 38 與 SEQ ID
NOs: 115 至 152、其至少一種生物功能證明與前列諸序列
20 編號之多肽實質上相同之片段、衍生物及變異體所成組群
之多肽。本發明之更佳具體實例為選自包括 SEQ ID NOs:
1 至 5 與 SEQ ID NOs: 115 至 119、其至少一種生物功能
證明與前列諸序列編號之多肽實質上相同之片段、衍生物
及變異體所成組群之多肽。本發明之最佳具體實例為選自

五、發明說明 (10)

包括 SEQ ID NOs: 1、2、115、與 116、其至少一種生物功能證明與前列諸序列編號之多肽實質上相同之片段、衍生物及變異體所成組群之多肽。

本發明另一具體實例為編碼本發明多肽之多核苷酸，
5 及重組表現本發明多肽所需之隨從載體及宿主細胞。這些多核苷酸序列包含 SEQ ID NOs: 154-264。

本發明亦提供選擇性結合本發明多肽之抗體與抗體片段。此等抗體係用於檢測本發明多肽，及可藉此項技藝中
10 端 IgG 抗體與單株 C 端 Fab 抗體。亦產生辨識本發明多肽之多株 N 端 IgG 抗體與單株 C 端 Fab 抗體。

本發明也有關治療哺乳動物糖尿病、糖尿病相關病症、及/或受本發明多肽影響，較佳為受本發明多肽之 VPAC2 作用劑功能影響之其他疾病或狀況之方法，該方法包括投與該哺乳動物治療有效量之本發明之任何多肽或
15 對 VPAC2 具活性之任何多肽，例如 SEQ ID Nos: 1 至 152。

本發明同時揭示製造本發明多肽(包括重組多肽及合成多肽二者)之方法。

發明之詳細說明

20 本發明提供新穎之多肽、及其片段、衍生物及變異體，其顯露至少一種與第 1a 至 1d 圖之多肽(總稱為本發明多肽)實質上相同之生物功能。本發明多肽於活體內具有 VPAC2 作用劑之功能，或者具有預防及/或治療例如糖尿病(包括 1 型與 2 型糖尿病)、妊娠糖尿病、年輕人成熟發病型糖

五、發明說明 (11)

尿病(MODY)(Herman, et al., Diabetes 43:40, 1994)、隱性自體免疫糖尿病成人(LADA)(Zimmet, et al., Diabetes Med. 11:299, 1994)、及相關之糖尿病性血脂異常與其他糖尿病併發症，以及高血糖症、高胰島素血症、葡萄糖耐力受損、空腹葡萄糖障礙、血脂異常、高三酸甘油脂血症、X
5 症候群、及胰島素抗阻等病症或狀況之功能。

此外，本發明多肽亦可用於預防及/或治療肥胖症(例如，調控食慾與食物攝取)、粥樣硬化性疾病、高脂血症、高膽固醇血症、低 HDL 含量、高血壓、心血管疾病
10 (包括粥樣硬化、冠狀心臟疾病、冠狀動脈疾病、與高血壓)、腦血管疾病與末梢血管疾病；用於預防及/或治療狼瘡、多囊性卵巢症候群、致癌性、與增生症、氣喘、男性生殖問題包括人類精子活動力、潰瘍、睡眠失調、經本文確認之其他狀況，或如後文所述之其他功能。

15 較佳為，本發明多肽以依賴葡萄糖的方式激發胰島素自胰臟 β 細胞釋出。又更佳為，本發明多肽於水性與非水性調配物二者中均穩定，並展現大於一小時之血漿半衰期。

本發明多肽為 VPAC2 作用劑；彼等較佳為對 VPAC2
20 之選擇性為對 VPAC1 及/或 PAC1 選擇性之至少 10 倍之選擇性 VPAC2 作用劑；更佳為，對 VPAC2 之選擇性為對 VPAC1 及/或 PAC1 選擇性之至少 100 倍之選擇性 VPAC2 作用劑；最佳為，彼等以依賴葡萄糖的方式激發胰島素釋入血漿中而不致引發血漿葡萄糖含量停滯或增加

五、發明說明 (12)

(該等血糖含量停滯或增加為例如 2 型糖尿病之治療帶來不良後果)。此外，本發明多肽較好為 VPAC2 受體之選擇性作用劑，因而導致，例如，增加釋出胰島素至血漿中，而選擇性地對抗為例如胃腸持水性、及/或不希望之心血管效應如心搏數增加等不為所喜或危險副作用的原由之其他受體。

本發明多肽於水性與非水性調配物二者中均穩定。較佳為，本發明多肽溶於水(pH 介於 7 與 8 之間)或非水性有機溶劑時，於 37-40°C，一週期間內，展現小於 10%之降解率。又更佳為，本發明多肽溶於水(pH 介於 7 與 8 之間)或非水性有機溶劑中時，於 37-40°C，一週期間內，展現小於 5%之降解率。再者，本發明之組成物與調配物可含有本發明多肽與約 2%至約 30%之 DMSO。於本發明另一具體實例中，組成物與調配物可視需要包含約 0.2%至約 3%(w/v)另外的溶劑例如丙二醇、二甲基甲醯胺、碳酸丙烯酯、聚乙二醇、與三酸甘油酯。

最後，本發明衍生化之多肽經 IV 注射於大鼠後，較好展現至少一小時之血漿半衰期，更好此血漿半衰期為至少 2 小時，又更好為至少 3 小時。

20 本發明多肽為內源胰島素分泌降低或葡萄糖耐力受損的病人，特別是 2 型糖尿病患者，提供新穎的療法。亦即，本發明多肽為長效之 VPAC2 作用劑，可用於維持、改善、及恢復受葡萄糖激發之胰島素分泌。再者，VPAC2 受體之選擇性肽作用劑可加強胰臟中依賴葡萄

五、發明說明 (13)

糖之胰島素分泌，不會引致與其他 PACAP 受體之非選擇性活化相關之副作用。

茲界定本說明書全文所用的一些名詞於下，其他名詞則於提出時予以界定。特定胺基酸之單字母簡寫、其對應
5 胺基酸、及三字母簡寫如下示：A，丙胺酸(ala)；C，半胱胺酸(cys)；D，天冬胺酸(asp)；E，麩胺酸(glu)；F，苯丙胺酸(phe)；G，甘胺酸(gly)；H，組胺酸(his)；I，異白胺酸(ile)；K，離胺酸(lys)；L，白胺酸(leu)；M，甲硫胺酸(met)；N，天冬醯胺(asn)；P，脯胺酸(pro)；Q，麩胺
10 醯胺(gln)；R，精胺酸(arg)；S，絲胺酸(ser)；T，蘇胺酸(thr)；V，纈胺酸(val)；W，色胺酸(trp)；Y，酪胺酸(Tyr)。

「編碼多肽之多核苷酸」一詞涵蓋僅含有編碼該多肽之多核苷酸以及含有另外的編碼及/或非編碼序列之多核苷酸。
15 本發明進一步有關與上文所述序列雜交之多核苷酸，只要該等序列之間具有至少約 70%、較佳至少約 90%、更佳至少約 95%之同一性。本發明特別有關在嚴苛條件下雜交於上文所述多核苷酸之編碼多肽之多核苷酸。本文所用之「嚴苛條件」意指「嚴苛雜交條件」。較佳
20 為，只在序列之間具有至少約 90%及較佳 95%至 97%同一性下才發生雜交。於一較佳具體實例中，雜交於上文所述多核苷酸之多核苷酸編碼保留與由 cDNA 編碼之成熟多肽實質上相同生物功能或活性之多肽。

「功能相等」及「實質上相同生物功能或活性」各指

五、發明說明 (14)

當各多肽之生物活性係以相同程序測定時，生物活性之程度在與其相較之另一多肽所展示生物活性之約 30%之內至 100%或更多者。例如，與第 1 圖之多肽功能相等之多肽為，在進行實例 7 之環狀 AMP 閃爍接近測定法測試
5 時，證明於表現人類 VPAC2 受體之 CHO 細胞株中堆積 cAMP 者。

為 VPAC2 作用劑之本發明多肽為，進行實例 7 之實驗流程測試時，證明約 30%至約 100%或更多最大 PACAP-27 VPAC2 作用劑活性者。本發明之較佳多肽，
10 為對 VPAC2 勝於對 PACAP、VPAC1、與 PAC1 受體之選擇性作用劑，係於使用表現適當受體之細胞進行實例 7 實驗流程測試該多肽時，證明 VPAC2 作用劑活性對 VPAC1 活性比率為約 10:1 或更高，更佳約 100:1 或更高，及/或證明 VPAC2 作用劑活性對 PAC1 活性比率為約
15 10:1 或更高，更佳約 100:1 或更高之彼等多肽。

「嚴苛雜交條件」係指將欲雜交之二多核苷酸(或片段)置於含 50%甲醯胺、5x SSC(750 mM NaCl、75 mM 檸檬酸鈉)、50 mM 磷酸鈉(pH 7.6)、5x 鄧哈氏溶液(Denhard's solution)、10%葡聚糖硫酸鹽、與 20 微克/毫
20 升變性、剪切之鱈魚精子 DNA 之溶液中，於 42°C 保育隔夜，然後於約 65°C 之 0.1x SSC 洗滌濾片。

「片段」、「衍生物」與「變異體」等詞，在述及第 1 圖之多肽時，意指保留與該等多肽實質上相同的生物功能或活性之多肽之片段、衍生物與變異體，進一步詳述於

五、發明說明 (15)

下文。

相似物包含於其內含有本發明多肽胺基酸序列之前多肽。本發明之活性多肽可藉天然、活體內程序或藉此項技藝中悉知之程序例如藉酵素性或化學切割法，自完整前多肽分子之附加胺基酸處切割。例如，28-胺基酸原態胜肽VIP 係呈較大分子之多肽自然表現，然後經活體內處理，釋出 28-胺基酸活性成熟胜肽。

片段乃如本文揭示的活體內模式中所述，保留實質上類似功能活性之部分多肽。

10 衍生物包含對多肽之所有修飾，其實質上保存本文揭示之功能，及包含附加結構及伴隨之功能(例如，具有較大半衰期之經 PEG 基化之多肽)，及賦與標靶導向專一性或附加活性(例如對意指標靶之毒性)之融合多肽，進一步詳述於下文。

15 本發明多肽可為重組多肽、天然純化之多肽、或合成多肽。

本發明多肽之片段、衍生物或變異體可為(i)其中一或多個胺基酸殘基被保守性或非保守性胺基酸殘基(較佳為保守性胺基酸殘基)取代且該經取代之胺基酸殘基可或不可由遺傳密碼編碼者，或(ii)其中一或多個胺基酸殘基包含取代基基團者，或(iii)其中成熟多肽與另一化合物[例如增加該多肽的半衰期之化合物(例如，聚乙二醇)]融合者，或(iv)其中附加之胺基酸與成熟多肽融合者，例如領導序列或促進分泌序列或用於純化該成熟多肽或前多肽序

20

五、發明說明 (16)

列之序列，或(v)其中多肽序列與較大多肽(例如，人類白蛋白、抗體或 Fc)融合以增加作用時間者。從本文之教示顯知，此等片段、衍生物及變異體與相似物均在熟習此項技藝人士熟知之範圍內。

- 5 較好，本發明之衍生物含有於一或多個預測位置製造之保守性胺基酸取代(界定於下文)，較佳為非必要胺基酸殘基。「非必要」胺基酸殘基為改變蛋白質之野生型序列而不更改生物活性之殘基，至於「必要」胺基酸殘基乃生物活性所需。「保守性胺基酸取代」為其中胺基酸殘基經
- 10 具有相似側鏈之胺基酸殘基置換者。具有相似側鏈之胺基酸殘基家族於此項技藝中已有界定。此家族包含具鹼性側鏈之胺基酸(例如，離胺酸、精胺酸、組胺酸)、具酸性側鏈之胺基酸(例如，天冬胺酸、麩胺酸)、具未帶電荷的極性側鏈之胺基酸(例如，甘胺酸、天冬醯胺、麩胺醯胺、
- 15 絲胺酸、蘇胺酸、酪胺酸、半胱胺酸)、具有非極性側鏈之胺基酸(例如，丙胺酸、纈胺酸、白胺酸、異白胺酸、脯胺酸、苯丙胺酸、甲硫胺酸、色胺酸)、具有 β 分支側鏈之胺基酸(例如，蘇胺酸、纈胺酸、異白胺酸)及具芳族側鏈之胺基酸(例如，酪胺酸、苯丙胺酸、色胺酸、組胺
- 20 酸)。保守性胺基酸殘基或存在保守性蛋白質功能部位內之胺基酸殘基(例如 19 與 27 殘基，此等殘基為蛋白質活性例如 VPAC2 活性及/或 VPAC2 選擇性所必需)不可進行非保守性取代。片段、或具生物活性部分包括適於作為藥劑以產生抗體、適於作為研究試劑等之多肽片段。片段包

五、發明說明 (17)

括含有足夠類似於或衍生自本發明多肽胺基酸序列之胺基酸序列，及展現該多肽之至少一種活性，惟較本文揭示之全長多肽含有較少胺基酸之胜肽。典型地，該等生物活性部分含有具有多肽的至少一種活性之功能部位或主結構。

- 5 多肽之生物活性部分可為，例如，其長度為 5 或 5 個以上胺基酸之胜肽。此等生物活性部分可合成或以重組技術製備，及可藉本文揭示或此項技藝中悉知之方法評估本發明多肽之一或多種功能活性。

- 此外，本發明之較佳衍生物包括與另一化合物融合之成熟多肽，其中該另一化合物為例如增加該多肽的半衰期及/或減少該多肽之潛在免疫發生性之化合物(例如，聚乙二醇，"PEG")。於 PEG 基化之情形下，多肽與 PEG 之融合可藉熟悉此項技藝人士已知之任何方法來完成。例如，PEG 基化作用可藉先於多肽中引入半胱胺酸突變，以提供連接 PEG 之連接子，隨後以 PEG-馬來醯亞胺進行部位-專一性衍生化而完成。半胱胺酸可添加於胜肽之 C-端，為本發明中之較佳位點(參見，例如，Tsutsumi, et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 97(15):8548-53, 2000 ; Veronese, Biomaterials 22:405-417, 2001 ; Goodsoon & Katre, Bio/Technology 8:343-346, 1990)。
- 10
15
20

本發明多肽之變異體包括具有足夠類似於第 1 圖諸序列編號或其功能部位的胺基酸序列之胺基酸序列之多肽。

「足夠類似」一詞意指相對於第二胺基酸序列，第一胺基酸序列含有足夠或最小數量之相同或相等胺基酸殘基，使

五、發明說明 (18)

第一與第二胺基酸序列具有共同結構功能部位及/或共同功能活性。例如，含有至少約 45%(較佳約 75%至 98%)相同共同結構功能部位之胺基酸序列，於本文中即界定為足夠類似。較好，變異體與本發明較佳多肽之胺基酸序列足夠類似。變異體包括由在嚴苛條件下，與本發明多核苷酸或其補體雜交之多核苷酸編碼之多肽之變異體。此等變異體通常保留本發明多肽之功能活性。多核苷酸之片段庫可用來產生供篩選與接續之選定之各式各樣之片段群。例如，片段庫之產生可藉由在每一個分子只產生約一個切口之條件下，以核酸酶處理多核苷酸之雙股 PCR 片段，使雙股 DNA 變性，再使該 DNA 復性形成包含得自不同切口產物之意義/反義對雙股 DNA，以 S1 核酸酶處理以自再形成之雙股結構除去單股部分，及將生成之片段庫連接於表現載體中。利用此方法，可得到編碼本發明多肽之各種大小的 N-端及內部片段之表現庫。

變異體包括由於發生誘變而有不同胺基酸序列之多肽。具有如 VPAC2 作用劑功能之變異體可利用篩選本發明多肽的突變物(例如截頭突變物)組合庫之 VPAC2 作用劑活性予以鑑定。

20 於一具體實例中，各式各樣之相似物庫係藉於核苷酸層次之組合誘變而產生，及由各式各樣之基因庫來編碼。各式各樣之變異體庫之製造可藉，例如，酵素性地將合成之寡核苷酸混合物連接於基因序列中，使潛在變異體胺基酸序列之簡併組可呈個別多肽表現，或者，呈含有該組序

五、發明說明 (19)

列之一組較大融合蛋白質(例如，供噬菌體表現)表現。有多種方法可用於自簡併寡核苷酸序列製造潛在變異體庫。簡併基因序列的化學合成可於自動化 DNA 合成器中進行，然後將該合成基因連接於適當表現載體中。簡併組基

5 因之使用容許將編碼所需潛在變異體序列組之所有序列供應於一混合物中。合成簡併寡核苷酸的方法於此項技藝中為已知(參見，例如，Narang, Tetrahedron 39:3, 1983；Itakura, et al., Annu. Rev. Biochem. 53:323, 1984；Itakura, et al., Science 198:1056, 1984；Ike, et al., Nucleic Acid Res.

10 11:477, 1983)。

此項技藝中用於篩選由點突變或切截製造的組合庫之基因產物及用於篩選 cDNA 庫中具有選定性質的基因產物之數種技術為已知。此等技術適用於迅速篩選由 R-作用劑多肽組合變異產生之基因庫。可處理高產量分析之最

15 廣為使用之篩選大基因庫之技術典型地包括將基因庫選殖至可複製之表現載體中，以所得載體庫轉形適當細胞，及在所需活性之檢測有助於單離編碼基因(其產物被檢測)的載體之條件下，表現該組合基因。重複整體誘變(REM)，一種提高基因庫中功能突變物頻率之技術，可與篩選測定

20 法組合使用以鑑定所需變異體。

本發明也提供嵌合型或融合型多肽。標靶導向序列經設計而定位輸送多肽至胰臟，使潛在之副作用減至最小。本發明多肽可由彼此以肽鍵或經修飾之肽鍵(亦即，肽同位質)相連接之胺基酸組成，及可含有由基因編碼的 20 個

五、發明說明（20）

胺基酸以外之胺基酸。該等多肽可藉由天然程序，例如後轉譯作用處理，或以此項技藝中悉知之化學修飾技術予以修飾。此等修飾作用詳述於基礎教科書及更為細述之專題論文，以及許多研究文獻中。修飾作用可發生於多肽的任何地方，包括胜肽主鏈、胺基酸側鏈及胺基或羧基末端。

5 可以理解的是，相同類型之修飾作用可能以相同或不同程度存在特定多肽的數個部位。同時，特定多肽可能含有許多類型之修飾作用。多肽可具支鏈，例如，泛素化的結果，亦可為具或不具支鏈之環狀。環狀、分支鏈、及分支

10 鏈環狀多肽可由後轉譯作用之天然程序產生，或可利用合成法製造。修飾作用包括乙醯化、醯化、ADP-核糖基化、醯胺化、共價連接黃素、共價連接血基質部分、共價連接核苷酸或核苷酸衍生物、共價連接脂質或脂質衍生物、共價連接磷脂醯肌醇、交聯、環化、形成二硫鍵、脫

15 甲基化、形成共價交聯、形成半胱胺酸、形成焦麩胺酸、甲醯化、 γ -羧基化、糖基化、形成 GPI 固定物(anchor)、羥化、碘化、甲基化、肉豆蔻醯化、氧化、PEG 基化、蛋白水解處理、磷醯化、異戊烯化(prenylation)、消旋化、硒醯化、硫酸鹽化、轉移 RNA 居間促成之添加胺基

20 酸於蛋白質例如精胺酸化、及泛素化(參見，例如，Proteins, Structure and Molecular Properties, 2nd ed., T. E. Creighton, W. H. Freeman and Company, New York (1993)；Posttranslational Covalent Modification of Proteins, B. C. Johnson, ed., Academic Press, New York, pgs.1-12

五、發明說明 (21)

(1983); Seifter et al., Meth. Enzymol 182:626-646, 1990 ;
Rattan, et al., Ann. N.Y. Acad. Sci. 663:48-62, 1992)。

本發明之多肽包含第 1 圖之多肽(SEQ ID NOs: 1 至
152)，以及其中於序列中具有非實質變異之序列。「非實
5 質變異」包括實質上維持本發明多肽之至少一種生物功能
之任何序列添加、取代或缺失變異體，其中生物功能較佳
為 VPAC2 作用劑活性，更佳為選擇性 VPAC2 作用劑活
性，及最佳為本文中闡明之胰島素分泌活性。彼等功能相
等物較好包括與第 1 圖之多肽具有至少約 90%同一性之
10 多肽，更好為與第 1 圖之多肽具有至少 95%同一性之多
肽，又更好為與第 1 圖之多肽具有至少 97%同一性之多
肽，也包括該等多肽實質上具有相同生物活性之部分。然
而，其胺基酸序列具有第 1 圖多肽之非實質變異且展示本
文進一步敘述之功能相等性之任何多肽均涵蓋於本發明之
15 敘述中。

如此項技藝中所已知，兩多肽間之「相似性」係針對
一多肽之胺基酸序列及其保守性胺基酸取代與第二多肽之
序列進行比較而決定。此等保守性取代包括上文、
Dayhoff (The Atlas of Protein Sequence and Structure 5,
20 1978)、及 Argon (EMBO J. 8:779-785, 1989)所述者。例
如，屬於下列組群之一之胺基酸代表保守性變化：

- ala、pro、gly、gln、asn、ser、thr；
- cys、ser、tyr、thr；
- val、ile、leu、met、ala、phe；

五、發明說明 (22)

- lys、arg、his；
- phe、tyr、trp、his；及
- asp、glu。

本發明也有關編碼本發明多肽之多核苷酸、以及包含
5 彼等多核苷酸之載體、經本發明載體基因工程改造之宿主
細胞、及利用重組技術製造本發明多肽。宿主細胞可為經
本發明載體(其可為，例如，選殖載體或表現載體)基因工
程改造(轉導、轉形或轉染)者。載體可，例如，呈質體、
病毒顆粒、噬菌體等形式。經改造之宿主細胞可培養於經
10 修飾適於活化啟動子、或選擇轉形株之習知營養培養基
中。培養條件，例如溫度、pH 等，係先前選擇表現宿主
細胞所用者，為熟悉此項技藝人士所顯知。本發明之多核
苷酸可用於以重組技術製造多肽。因此，例如，該多核苷
酸序列可包含於任何一種或多種表現載劑中，特別是用於
15 表現多肽之載體或質體。此等載體包含染色體、非染色體
及合成 DNA 序列(例如，SV40 之衍生物)；細菌質體；噬
菌體 DNA；酵母質體；衍生自質體及噬菌體 DNA 組合之
載體；病毒 DNA 例如疫苗、腺病毒、禽痘病毒、與假狂
犬病病毒。然而，只要可於宿主中複製及存活，任何載體
20 或質體均可使用。

適當之 DNA 序列可利用多種程序嵌入載體中。通
常，DNA 序列係利用此項技藝已知之程序嵌入適當核酸
內切限制酶位置中。此等及其他程序係在熟習此項技藝人
士悉知之範圍內。將表現載體中之 DNA 序列操作性地連

五、發明說明 (23)

接於適當表現控制序列(啟動子)，以引導 mRNA 合成。此等啟動子之代表性實例包含，惟不限於，LTR 或 SV40 啟動子、大腸桿菌 lac 或 trp、噬菌體 λ P_L 啟動子、及已知可於原核生物或真核生物細胞或其病毒中控制基因表現之其他啟動子。表現載體亦含有開始轉譯之核糖體結合位點及轉錄終結子。載體也可包含用於擴增表現之適當序列。此外，表現載體較好含有提供用於選擇轉形宿主細胞之表現型特性(例如用於真核細胞培養之二氫葉酸還原酶或新黴素抗性、或例如於大腸桿菌之四環素或胺苄青黴素抗性)之基因。含有如上文所述適當 DNA 序列、以及適當啟動子或控制序列之載體，可用於轉形適當宿主，使該宿主表現該蛋白質。適當宿主之代表性實例包含，惟不限於，細菌細胞，例如大腸桿菌、鼠傷寒沙門桿菌 (*Salmonella typhimurium*)、鏈黴菌屬；真菌細胞，例如酵母；昆蟲細胞，例如果蠅屬 S2 及黏蟲屬 Sf9；動物細胞例如 CHO、COS 或 Bowes 黑色素瘤；腺病毒；植物細胞等。從本文之教示顯知，適當宿主之選擇係在熟習此項技藝人士悉知之範圍內。

本發明亦包括含有一或多個上文廣泛敘述的序列之重組構築體。該構築體包含其內已以正向或逆向嵌入本發明序列之載體，例如質體或病毒載體。於此具體實例之較佳態樣中，該構築體進一步包含操作性連接於該序列之調控序列，包括，例如，啟動子。有大量適當載體及啟動子為熟習此項技藝人士所悉知，且為市售可得。茲提供下

五、發明說明 (24)

列載體作為例示，細菌性：pQE70、pQE60、pQE-9、
pBS、phagescript、psiX174、pBluescript SK、pBsKS、
pNH8a、pNH16a、pNH18a、pNH46a、pTRC99A、
5 pKK223-3、pKK233-3、pDR540、與 PRIT5；真核生物
性：pWLneo、pSV2cat、pOG44、pXT1、pSG、pSVK3、
pBPV、pMSG、與 PSVL。然而，只要可於宿主中複製及
存活，任何質體或載體均可使用。啟動子區域可使用帶有
可選擇標記之 CAT(氯黴素轉移酶)載體或其他載體，從任
何需要之基因中選擇。二適當載體為 pKK232-8 與
10 pCM7。特別指名之細菌啟動子包括 lacI、lacZ、T3、
T7、gpt、 λ P_R、P_L 與 trp。真核生物性啟動子包括緊鄰
CMV 前端、HSV 胸腺核苷激酶、SV40 前後端、得自反
轉錄酶病毒之 LTRs、及小鼠金屬巰基蛋白-1。適當載體
及啟動子之選擇係在熟習此項技藝者悉知之範圍內。

15 本發明也有關含上述構築體之宿主細胞。宿主細胞可
為高等真核生物細胞，例如哺乳動物細胞，或低等真核生
物細胞，例如酵母細胞，或者宿主細胞可為原核生物細
胞，例如細菌細胞。欲將構築體引入宿主細胞中，可利用
磷酸鈣轉染法、DEAE-葡聚糖居間促成之轉染法、或電穿
20 孔法予以進行(Davis, et al., Basic Methods in Molecular
Biology, 1986)。可以習知方法利用宿主細胞中之構築體
以製造由重組序列編碼之基因產物。或者，本發明之多肽
可利用習知之胜肽合成器予以合成製造。

在控制適當啟動子下，成熟蛋白質可於哺乳動物細

五、發明說明 (25)

胞、酵母、細菌、或其他細胞中表現。不含細胞之轉譯系統亦可使用衍生自本發明 DNA 構築體之 RNA 來製造該等蛋白質。用於原核生物及真核生物宿主中之適當選殖及表現載體見述於 Sambrook, et al., Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Second Edition, (Cold Spring Harbor, N.Y., 1989), 其揭示內容併入本文以資參考。

藉嵌入促進子序列於載體中，可增加高等真核生物中編碼本發明多肽的 DNA 之轉錄作用。促進子為 DNA 之順式作用元件，通常為約 10 至約 300 bp，係作用於啟動子以增加其轉錄作用，其實例包括在複製起點後側之 SV 促進子(bp 100 至 270)、巨細胞病毒啟動子前端促進子、在複製起點後側之多瘤促進子、及腺病毒促進子。通常，重組表現載體包括複製起點與容許宿主細胞轉形之可選擇標記(例如大腸桿菌之胺苄青黴素抗性基因或釀酒酵母 TRP1 基因)，及衍生自高度表現基因之啟動子，以引導下游結構序列之轉錄作用。此等啟動子可衍生自編碼糖原酵解酵素例如 3-磷酸甘油酸激酶(PGK)、 α 因子、酸性磷酸酶、或熱休克蛋白質之操縱子。異質結構序列係以轉譯、起始及終止序列組合成適當狀態，較佳為，具有引導轉譯蛋白質分泌至周質空間或細胞外培養基的能力之前導序列。視需要地，異質序列可編碼包括賦與需要特性(例如，表現重組產物的安定或單一純化作用)之 N-端鑑定胜肽之融合蛋白質。

供細菌用途的有用表現載體之構築係將編碼所需蛋白

五、發明說明 (26)

質之結構 DNA 序列與適當轉譯、起始及終止訊息一起嵌入，成為具有功能啟動子之可操作讀取狀態。載體含有一或多個表現型選擇標記及一複製起點以確定保持該載體及，如果需要，則於宿主內提供擴增作用。用於轉形之適當原核生物宿主包括大腸桿菌、枯草桿菌、鼠傷寒沙門桿菌、及假單胞菌、鏈黴菌、與葡萄球菌等屬之多種菌種，惟亦可選用其他菌種。供細菌用途的有用表現載體可包含選擇標記及衍生自含有悉知選殖載體 pBR322(ATCC 37017)之基因元件的市售可得質體之細菌性複製起點。此等市售載體包括，例如，pKK223-3 (Pharmacia Fine Chemicals, Uppsala, Sweden) 與 GEM1 (Promega, Madison, Wis., USA)。彼等 pBR322「主鏈」部分可與適當啟動子及欲表現之結構序列結合。

於適當宿主株轉形並生長至適當細胞密度後，利用適當方法(例如，溫度轉移或化學誘導法)對所選定啟動子去阻遏，使細胞再培養一段時間。典型地離心收集細胞，以物理或化學方法使其破裂，保留所得粗抽取物供進一步純化用。表現蛋白質所用之微生物細胞可利用任何習知方法使其破裂，包括冷凍-解凍循環、超音波處理、機械破碎、或使用溶胞劑等方法。

多種哺乳類細胞培養系統也可用來表現重組蛋白。哺乳類表現系統之實例包含 Gluzman (Cell 23:175, 1981)所述之猴腎纖維母細胞 COS-7 系，及能表現相容載體之其他細胞株，例如，C127、3T3、CHO、HeLa 與 BHK 細胞

五、發明說明 (27)

株。哺乳類表現載體可包含複製起點、適當啟動子與促進子，也包含任何必需之核糖體結合位點、聚腺苷酸化位點、接合供體與受體位點、轉錄終止序列、及 5'側接非轉錄序列。衍生自 SV40 病毒基因體之 DNA 序列，例如，SV40 起點、啟動子前側、促進子、接合、及聚腺苷酸化位點可用來提供必需之非轉錄基因元件。

本發明之多肽可利用迄今使用之方法，包括硫酸銨或乙醇沉澱法、酸抽取法、陰離子或陽離子交換層析法、磷酸纖維素層析法、疏水性交互作用層析法、親和層析法、
10 羧磷灰石層析法、及外源凝集素層析法，自重組細胞培養液回收與純化。可依需要使用蛋白質再折疊步驟，完成成熟蛋白質之構形。最後，使用高效能液相層析法(HPLC)進行最後純化步驟。

本發明多肽可為化學合成程序之產物，或利用重組技術以原核生物或真核生物宿主(例如，細菌、酵母、高等植物、昆蟲及哺乳類細胞)予以製造。視重組製造程序所用宿主而定，本發明多肽可以哺乳類或其他真核生物性碳水化合物予以糖基化，亦可未予以糖基化。本發明多肽也可包含起始甲硫胺酸胺基酸殘基。經單離或純化之本發明
15 多肽或其生物活性部分，以重組技術製造時，實質上不含其他細胞物質或培養基；以化學方法合成時，實質上不含化學前驅體或其他化學藥劑。較好，本發明經單離之多肽實質上不含細胞物質及具有少於約 30%(乾重比)之非多肽、或污染物質。重組製造本發明多肽或其生物活性部分
20

五、發明說明 (28)

時，培養基較好佔多肽製劑容積之少於約 30%。化學合成本發明多肽時，製劑較好含有少於約 30%乾重比之化學前驅體或非本發明化學藥劑。

本發明多肽可如下文詳細實例所述，方便地予以單
5 離。純化之多肽製劑純度至少約 70%；較好，其純度為約 85%至約 99%。製劑的純度可利用此項技藝中已知之任何方法予以評估，例如 SDS-聚丙烯醯胺凝膠電泳法與質譜儀/液相層析法。

編碼本發明多肽之多核苷酸可使用此項技藝中悉知之
10 方法整體或部分合成(參見，例如，Caruthers, et al., Nucl. Acids Res. Symp. Ser. 215-223, 1980；Horn, et al., Nucl. Acids Res. Symp. Ser. 225-232, 1980)。然後將編碼多肽之多核苷酸選殖入表現載體中，以表現該多肽。

熟習此項技藝人士將瞭解，製造具有非天然存在的密
15 碼子之編碼多肽之核苷酸序列可能有所助益。例如，可選擇為特定原核生物或真核生物宿主所喜之密碼子，以增加多肽之表現率，或製造具有所需性質(例如半衰期比以天然存在的序列產生的轉錄本更長)之 RNA 轉錄本。

基於多種原因，本文揭示之核苷酸序列可使用此項技
20 藝中一般已知之方法建造，以更改編碼多肽之序列，其中更改包括，惟不限於，修飾多肽或 mRNA 產物之閉合、處理、及/或表現。藉由基因片段及合成寡核苷酸之無規破碎與 PCR 再組合使 DNA 重新洗牌，可用來建造核苷酸序列。例如，位點導向之誘變可用來嵌入新的限制切割位

五、發明說明 (29)

點、更改糖基化模式、改變密碼子偏好、製造接合變異體、引入突變等。

本發明亦提供在熟習此項技藝人士瞭解範圍內之相關化合物，例如化學模擬物、有機模擬物、或胜肽模擬物。

- 5 本文所用之「模擬物」、「胜肽模擬物」、「有機模擬物」與「化學模擬物」等詞擬涵蓋具有與本發明胜肽等同之立體方位原子排列之胜肽衍生物、胜肽相似物、與化學化合物。可以瞭解的是，本文所用「等同」一詞擬涵蓋於模擬化合物中具有產生與該等原子之相同或足夠相似之排列或方位而具有本發明胜肽之生物功能之具特定原子取代之化合物、或該胜肽中之化學基團。於本發明之胜肽模擬物中，化學組成之立體排列於結構上及/或功能上等同於該胜肽主鏈與胺基酸側鏈成分之立體排列，而產生具有實質生物活性的本發明胜肽之該等胜肽-、有機-、及化學模
- 10 擬物。彼等名詞係根據此項技藝中之瞭解而使用，例如，見述於 Fauchere (Adv. Drug Res. 15:29, 1986)；Veber & Freidinger (TINS p.392, 1985)；與 Evans 等(J. Med. Chem. 30:1229, 1987)，均併入本文以資參考。
- 15

- 20 可以瞭解的是，本發明各胜肽之生物活性均存在藥效團。此項技藝中之藥效團據瞭解，係包含生物活性結構需求之理想化、立體界定。胜肽-、有機-、及化學模擬物可經設計，使各藥效團符合當前之電腦模擬軟體(電腦輔助藥物設計)。該等模擬物可利用根據得自本發明胜肽取代基原子位置資訊之結構-功能分析予以製造。

五、發明說明 (30)

本發明提供之胜肽可藉由此項技藝中已知之任何化學方法，有利地予以合成，特別是，例如，使用市售可得的自動化胜肽合成器之固相合成技術。本發明之模擬物可藉由習知用於合成胜肽之固相或溶液相方法合成(參見，例如，
5 如，Merrifield, J. Am. Chem. Soc. 85:2149-2154, 1963 ; Carpino, Acc. Chem. Res. 6:191-98, 1973 ; Birr, Aspects of the Merrifield Peptide Synthesis, Springer-Verlag: Heidelberg, 1978 ; The Peptides: Analysis, Synthesis, Biology, Vols. 1, 2, 3, and 5, (Gross & Meinhofer, eds.),
10 Academic Press: New York, 1979 ; Stewart, et al., Solid Phase Peptide Synthesis, 2nd ed., Pierce Chem. Co.: Rockford, Ill., 1984 ; Kent, Ann. Rev. Biochem. 57:957-89, 1988 ; 及 Gregg, et al., Int. J. Peptide Protein Res. 55:161-214, 1990，該等文獻全部內容均併入本文以資參考)。

15 以使用固相合成方法為佳。簡言之，將 N-經保護之 C 端胺基酸殘基連接於不溶性支撐體例如二乙烯苯交聯聚苯乙烯、聚丙烯醯胺樹脂、矽藻土/聚醯胺(pepsin K)、經控制之細孔玻璃、纖維素、聚丙烯膜、塗覆丙烯酸之聚乙烯棒等。使用脫保護、中和、及相繼經保護胺基酸衍生物
20 偶聯之週期循環，根據胺基酸序列，從 C 端連接胺基酸。有些胜肽之合成可使用採用酸敏感性樹脂之 FMOC 策略。此時，較佳固體支撐體為二乙烯苯交聯聚苯乙烯，其係市售可得且呈多種官能化形式，包括氯甲基樹脂、羥甲基樹脂、對位乙醯胺基甲基樹脂、二苯甲胺(BHA)樹

五、發明說明 (31)

脂、4-甲基二苯甲胺(MBHA)樹脂、肟樹脂、4-烷氧苄醇樹脂(Wang 樹脂)、4-(2',4'-二甲氧苯基胺甲基)-苄氧甲基樹脂、2,4-二甲氧二苯甲基-胺樹脂、與 4-(2',4'-二甲氧苯基-FMOC-胺基-甲基)-苄氧乙醯胺基正白胺醯基-MBHA 樹脂(Rink 醯胺 MBHA 樹脂)。此外，如果需要，則酸敏感性樹脂亦提供 C 端酸。 α -胺基酸之特佳保護基為鹼不穩定之 9-芴基甲氧羰基(FMOC)。

與 BOC(第三丁氧羰基)及 FMOC 基團化學相容的胺基酸側鏈官能基之適當保護基於此項技藝中為悉知。使用 FMOC 化學法時，以下述經保護之胺基酸衍生物較佳：FMOC-Cys(Trit)、FMOC-Ser(But)、FMOC-Asn(Trit)、FMOC-Leu、FMOC-Thr(Trit)、FMOC-Val、FMOC-Gly、FMOC-Lys(Boc)、FMOC-Gln(Trit)、FMOC-Hlu(Obut)、FMOC-His(Trit)、FMOC-Tyr(But)、FMOC-Arg(PMC (2,2,5,7,8-五甲基色滿-6-磺醯基))、FMOC-Arg(BOC)₂、FMOC-Pro、與 FMOC-Trp(BOC)。胺基酸殘基可藉使用多種偶聯劑與此項技藝中已知之化學方法予以偶聯，例如與 DIC(二異丙基-碳化二亞胺)、DCC(二環己基碳化二亞胺)、BOP(六氟磷酸苯并三唑基-N-氧基參二甲胺基鎂)、PyBOP(六氟磷酸苯并三唑基-1-基-氧基-參-吡咯啶鎂)、PyBrOP(六氟磷酸溴-參-吡咯啶鎂)直接偶聯；經由完成之(performed)對稱酐；經由活性酯例如五氟苯酯類；或經由完成之 HOBt (1-羥基苯并三唑)活性酯或藉使用 FMOC-胺基酸氟化物與氯化物；或藉使用 FMOC-胺基酸-N-羧基酐

五、發明說明 (32)

類。較佳為於 HOBt 或 HOAt (7-吡啶基苯并三唑)存在下，以 HBTU (六氟磷酸 2-(1H-苯并三唑-1-基),1,1,3,3-四甲基鎂)或 HATU (六氟磷酸 2-(1H-7-吡啶-基),1,1,3,3-四甲基鎂)予以活化。

- 5 固相方法可以人工技術進行，惟以於市售可得之胜肽合成器上(例如，Applied Biosystems 431A 等；Applied Biosystems, Foster City, CA))自動合成為佳。於典型之合成中，係將第一個(C 端)胺基酸裝載於氯三苯甲基樹脂上。然後可使用根據 ABI FastMoc 實驗流程(Applied
10 Biosystems)之相繼脫保護(使用 20%吡啶/NMP (N-甲基吡啶))與偶聯循環，產生胜肽序列。亦可使用以乙酸酐封端之雙偶聯及三偶聯。

- 合成的模擬胜肽可與樹脂裂離，並以含適當清除劑之 TFA (三氟乙酸)處理，進行脫保護。許多裂離試劑均可使用，例如 Reagent K (0.75 克結晶苯酚、0.25 毫升乙二硫
15 醇、0.5 毫升茴香硫醚、0.5 毫升脫離子水、10 毫升 TFA)等。過濾使胜肽與樹脂分離，並以乙醚沉澱法予以單離。進一步之純化可利用習知方法達成，例如凝膠過濾法與逆相 HPLC (高效能液相層析法)。根據本發明之合成模擬物
20 可呈醫藥上可接受之鹽型，尤其是鹼加成鹽，包括有機鹼與無機鹼之鹽。酸性胺基酸殘基之鹼加成鹽係根據熟習此項技藝人士悉知之方法，以適當鹼或無機鹼處理胜肽而製備，或可將該適當鹼凍乾，直接製得所需鹽。

通常，熟習此項技藝人士將認知，本文所述之胜肽可

五、發明說明 (33)

利用各種化學技術加以修飾，以產生主要具有與未修飾胜肽相同活性及視需要具有其他需要性質之胜肽。例如，胜肽之羧基基團可呈醫藥上可接受之陽離子之鹽型而提供。胜肽內之胺基可呈醫藥上可接受之酸加成鹽型，例如

5 HCl、HBr、乙酸、苯甲酸、甲苯磺酸、馬來酸、酒石酸、與其他有機酸鹽，或可轉化成醯胺。硫醇可以任何一種或許多公認之保護基，例如，乙醯胺基，予以保護。熟習此項技藝人士亦將認知於本發明胜肽中引入環狀結構之方法，俾使與原態結合組態更為接近。例如，可於胜肽中

10 添加羧基端或胺基端半胱胺酸殘基，使胜肽於氧化時含有二硫鍵，因而產生環狀胜肽。其他胜肽環化方法包括形成硫醚及羧基-與胺基-終端醯胺與酯。

詳言之，可使用多種技術構築與對應胜肽化合物具有相同或類似之所需生物活性，但是比該胜肽在溶解性、穩定性、及對水解與蛋白水解之感受性上具有更有利活性之胜肽衍生物與相似物。該等衍生物與相似物包括，於 N

15 端胺基、C 端羧基經修飾之胜肽，及/或將胜肽中之一或多個醯胺鍵結改變為非醯胺鍵結之胜肽。可以瞭解的是，可於一個胜肽模擬結構上結合二或多個該等修飾(例如，

20 於 C 端羧基上進行修飾並於胜肽的兩個胺基酸之間含入-CH₂-胺甲酸根鍵結)。

胺基終端之修飾作用包括烷化、乙醯化、添加苯醯羰基(carbobenzoyl)、及形成琥珀醯亞胺基。詳言之，可使 N 端胺基反應形成具式 RC(O)NH--之醯胺基，式中 R 為

五、發明說明 (34)

烷基，較佳為低級烷基，係藉與醯基鹵化物， $RC(O)Cl$ ，或酸酐反應而加入。典型地，此反應可藉於惰性稀釋劑(例如，二氯甲烷)中，使約等莫耳或過量(例如約 5 莫耳)醯基鹵化物與胜肽接觸而進行，稀釋劑中較好含過量(例如，約 10 當量)三級胺，例如二異丙基乙胺，以清除反應中產生的酸。其餘反應條件為習知(例如，室溫 30 分鐘)。於終端胺基進行烷化提供低級烷基 N-取代，隨後如上述與醯基鹵化物反應，將提供具式 $RC(O)NR$ -之 N-烷基醯胺基。或者，使胺基終端與琥珀酸酐反應，令其共價連接於琥珀醯亞胺基。使用大約等莫耳量或過量琥珀酸酐(例如，約 5 當量)，以此項技藝中悉知之方法，包括使用過量(例如，10 當量)三級胺例如二異丙基乙胺，於適當惰性溶劑(例如，二氯甲烷)中，如 Wollenberg 等(美國專利案 4,612,132，其全部內容併入本文以資參考)所述，使終端胺基轉化成琥珀醯亞胺。亦可瞭解的是，該琥珀醯基可被，例如，以習知方法製備之 C_2 -至 C_6 -烷基或--SR 取代基取代，以於胜肽之 N 端提供經取代之琥珀醯亞胺。該等烷基取代基可利用使低級烯烴(C_2 -至 C_6 -烷基)與馬來酸酐以 Wollenberg 等(上文文獻)敘述之方法反應而製備；--SR 取代基可利用使 RSH 與馬來酸酐(其中 R 如上述界定)反應而製備。於另一有利具體實例中，可將終端胺基衍生化，形成苄氧羰基-NH--或經取代之苄氧羰基-NH--基。此衍生物可利用於適當惰性稀釋劑(例如，二氯甲烷)中，與約等當量或過量苄氧羰基氯($CBZ-Cl$)或經取代之 $CBZ-Cl$

五、發明說明 (35)

- 反應予以製備，稀釋劑中較好含三級胺，以清除反應中產生的酸。於又一衍生物中，其 N 端含有磺醯胺基，係利用於適當惰性稀釋劑(例如，二氯甲烷)中，與等當量或過量(例如，5 當量) $R-S(O)_2Cl$ (其中 R 為烷基，較佳為低級烷基)反應而將終端胺轉化成磺醯胺。較好，該惰性稀釋劑含過量(例如，10 當量)三級胺例如二異丙基乙胺，以清除反應中產生的酸。其餘反應條件為習知(例如，室溫 30 分鐘)。終端胺可產生胺甲醯基，係利用於適當惰性稀釋劑(例如，二氯甲烷)中，與等當量或過量(例如，5 當量) $R-OC(O)Cl$ 或 $R-OC(O)OC_6H_4-p-NO_2$ (其中 R 為烷基，較佳為低級烷基)反應，將終端胺轉化成胺甲醯基。較好，該惰性稀釋劑含過量(例如，約 10 當量)三級胺例如二異丙基乙胺，以清除反應中產生的酸。其餘反應條件為習知(例如，室溫 30 分鐘)。終端胺亦可形成脲基，係利用於適當惰性稀釋劑(例如，二氯甲烷)中，與等當量或過量(例如，5 當量) $R-N=C=O$ 反應，將終端胺轉化成脲(亦即， $RNHC(O)NH-$)，其中 R 如上述界定。較好，該惰性稀釋劑含過量(例如，約 10 當量)三級胺，例如二異丙基乙胺。其餘反應條件為習知(例如，室溫約 30 分鐘)。
- 20 製備 C 端羧基被酯(例如， $--C(O)OR$ ，式中 R 為烷基，較佳為低級烷基)置換之胜肽模擬物時，可使用製備胜肽酸時所用之樹脂，側鏈經保護之胜肽可以鹼與適當醇(例如，甲醇)予以裂離。側鏈保護基可以習知方式去除，利用以氟化氫處理，得到所需之酯。製備 C 端羧基被醯

五、發明說明 (36)

胺--C(O)NR₃R₄ 置換之胜肽模擬物時，係使用二苯甲胺樹脂作為胜肽合成之固體支撐體。合成完成後，以氟化氫處理，使胜肽自支撐體釋離，直接產生游離之胜肽醯胺(亦即，C 端為--C(O)NH₂)。或者，於合成胜肽時，使用氯甲基化樹脂，結合與氫之反應，使側鏈經保護之胜肽自支撐體釋離，獲得游離胜肽醯胺，並與烷基胺或二烷基胺反應，獲得側鏈經保護之烷基醯胺或二烷基醯胺(亦即，C 端為--C(O)NRR₁，其中 R 與 R₁ 為烷基，較佳為低級烷基)。然後利用以氟化氫處理，以習知方式去除側鏈保護，得到游離之醯胺、烷基醯胺、或二烷基醯胺。

於另一替代具體實例中，C 端羧基或 C 端酯可利用將羧基之--OH 或酯之酯(--OR)分別以 N 端胺基置換，引起環化反應而形成環狀胜肽。例如，在合成及釋離，得到胜肽酸後，於溶液例如二氯甲烷(CH₂Cl₂)、二甲基甲醯胺(DMF)或其混合物中，將該游離酸以適當羧基活化劑例如二環己基碳化二亞胺(DCC)轉化成活化酯。然後以 N 端胺置換該活化酯，形成環狀胜肽。環化反應，不是聚合反應，可根據此項技藝中悉知之方法，藉使用極稀之溶液予以增進。

此項技藝中所瞭解及由本發明提供之胜肽模擬物係與本發明胜肽於結構上類似，惟具有一或多個視需要被選自於下之鍵結置換之胜肽鍵結者：--CH₂NH--、--CH₂S--、--CH₂CH₂--、--CH=CH-- (順式與反式兩種構象體)、--COCH₂--、--CH(OH)CH₂--、與--CH₂SO--，該置換反應係

五、發明說明 (37)

利用此項技藝中已知並進一步於下述文獻中敘述之方法：
Spatola, Chemistry and Biochemistry of Amino Acids,
Peptides, and Proteins, (Weinstein, ed.), Marcel Dekker:
New York, p. 267, 1983 ; Spatola, Peptide Backbone
5 Modifications 1:3, 1983 ; Morley, Trends Pharm. Sci. pp.
463-468, 1980 ; Hudson, et al., Int. J. Pept. Prot. Res.
14:177-185, 1979 ; Spatola, et al., Life Sci. 38:1243-1249,
1986 ; Hann, J. Chem. Soc. Perkin Trans. I 307-314, 1982 ;
Almquist, et al., J. Med. Chem. 23:1392-1398, 1980 ;
10 Jennings-White, et al., Tetrahedron Lett. 23:2533, 1982 ;
Szelke, et al., EP045665A ; Holladay, et al., Tetrahedron
Lett. 24:4401-4404, 1983 ; 及 Hruby, Life Sci. 31:189-199,
1982 ; 均併入本文以資參考。此等胜肽模擬物較胜肽具體
實例具有明顯的優點，包括例如，製造較為經濟、具有較
15 大的化學穩定性或增進之藥理性質(例如半衰期、吸收、
效力、功效等)、抗原性減少、及其他性質。

本發明胜肽之模擬相似物亦可使用習知原則或循理性
藥物設計製得(參見，例如，Andrews, et al., Proc. Alfred
Benzon Symp. 28:145-165, 1990 ; McPherson, Eur. J.
20 Biochem. 189:1-24, 1990 ; Hol, et al., in Molecular
Recognition: Chemical and Biochemical Problems, (Roberts,
ed.) ; Royal Society of Chemistry, pp. 84-93, 1989a ; Hol,
Arzneim-Forsch. 39:1016-1018, 1989b ; Hol, Agnew Chem.
Int. Ed. Engl. 25:767-778, 1986 ; 其揭示內容均併入本文以

五、發明說明 (38)

資參考)。

根據習知藥物設計方法，可針對其結構與「原態」胜肽結構具有共同屬性之分子任意進行測試，製得所需之模擬分子。由結合分子特定基團之改變產生的定量貢獻可藉
5 測定該推定模擬物之生物活性，與胜肽活性進行比較而決定。於循理性藥物設計之較佳具體實例中，係將模擬物設計成共享該胜肽最穩定立體構象之屬性。因此，例如，可設計模擬物，使其擁有如本文所揭示，與本發明胜肽所展示者類似之以足以引發離子性、疏水性、或凡得瓦爾作用
10 之方式定位之化學基團。

進行循理性模擬物設計之較佳方法係使用能形成胜肽立體結構代表之電腦系統，例如 Hol, 1989a；Hol, 1989b；及 Hol, 1986 所例示者。本發明胜肽的胜肽-、有機-、及化學模擬物之分子結構可使用此項技藝中市售可
15 得之電腦輔助藥物設計程式予以製造。該等程式之實例包括 SYBYL 6.5®、HQSAR™、與 ALCHEMY 2000™ (Tripos)；GALAXY™ 與 AM2000™ (AM Technologies, Inc., San Antonio, TX)；CATALYST™ 與 CERIUS™ (Molecular Simulations, Inc., San Diego, CA)；CACHE
20 PRODUCTS™、TSAR™、AMBER™、與 CHEM-X™ (Oxford Molecular Products, Oxford, CA) 及 CHEMBUILDER3D™ (Interactive Simulations, Inc., San Diego, CA)。

使用，例如，技藝公認之分子模擬程式，以本文揭示

五、發明說明 (39)

之胜肽製造之胜肽-、有機-、及化學模擬物可使用習知化學合成技術予以製造，該等技術較佳為經設計能提供高產生量篩選者，包括組合化學法。用於製造本發明之胜肽-、有機-、及化學模擬物之組合方法包括例如，由

5 SIDDCO (Tuscon, Arizona) ; Tripos, Inc. ; Calbiochem/Novabiochem (San Diego, CA) ; Symyx Technologies, Inc. (Santa Clara, CA) ; Medichem Research, Inc. (Lemont, IL) ; Pharm-Eco Laboratories, Inc. (Bethlehem, PA) ; 或 N.V. Organon (Oss, Netherlands) 提供

10 之噬菌體表現陣列、固相合成法、及組合化學陣列。本發明胜肽-、有機-、及化學模擬物之組合化學生產可根據此項技藝中已知之方法，包括，惟不限於，於 Terrett, (Combinatorial Chemistry, Oxford University Press, London, 1998) ; Gallop, et al., J. Med. Chem. 37:1233-51, 1994 ;

15 Gordon, et al., J. Med. Chem. 37:1385-1401, 1994 ; Look, et al., Bioorg. Med. Chem. Lett. 6:707-12, 1996 ; Ruhland, et al., J. Amer. Chem. Soc. 118:253-4, 1996 ; Gordon, et al., Acc. Chem. Res. 29:144-54, 1996 ; Thompson & Ellman, Chem. Rev. 96:555-600, 1996 ; Fruchtel & Jung, Angew.

20 Chem. Int. Ed. Engl. 35:17-42, 1996 ; Pavia, "The Chemical Generation of Molecular Diversity", Network Science Center, www.netsci.org, 1995 ; Adnan, et al., "Solid Support Combinatorial Chemistry in Lead Discovery and SAR Optimization," Id., 1995 ; Davies and Briant,

五、發明說明 (40)

“Combinatorial Chemistry Library Design using Pharmacophore Diversity,” Id., 1995 ; Pavia, “Chemically Generated Screening Libraries: Present and Future,” Id., 1996 ; 及美國專利案 5,880,972 ; 5,463,564 ; 5,331,573 與 5,573,905 中揭示之技術予以製造。

新合成之多肽可利用製備性高效能液相層析法實質純化 (參見, 例如, Creighton, Proteins: Structure And Molecular Principles, WH Freeman and Co., New York, N.Y., 1983)。本發明合成多肽之組成可利用胺基酸分析或以, 例如, Edman 降解程序 (Creighton, 前文文獻) 予以證實。此外, 多肽胺基酸序列的任何部分可於直接合成期間加以更改及/或使用化學方法與得自其他蛋白質之序列組合, 以製造變異多肽或融合多肽。

亦可根據本發明使用本發明多肽, 於活體內表現該等多肽, 此常稱為「基因治療」。因此, 例如, 於活體外, 可用編碼多肽之多核苷酸 (DNA 或 RNA) 建造細胞, 然後提供建造細胞給擬以該多肽治療的病人。此等方法在此項技藝中已悉知。舉例而言, 可藉此項技藝中已知之程序, 使用含有編碼本發明多肽的 RNA 之反轉錄病毒粒子建造細胞。

使用基因治療的胰島素促分泌素之局部輸送, 可將治療劑供應至標的區域 (例如胰臟)。其實例如: 使用胰臟專一性啟動子製造小鼠 β 細胞胰臟腫瘤模式 (Hanahan, Nature 315(6015):115-22, 1985)。

五、發明說明 (41)

活體內與試管內之基因治療方法均被慮及。數種用於將潛在性治療基因轉移至經界定之細胞群之方法為已知(參見，例如，Mulligan, Science 260:926-31, 1993)。這些方法包括，例如：

- 5 1) 直接基因轉移(參見，例如，Wolff, et al., Science 247:1465-68, 1990)；
- 2) 脂質體居間促成之 DNA 轉移(參見，例如，Caplen, et al., Nature Med. 3:39-46, 1995；Crystal, Nature Med. 1:15-17, 1995；Gao and Huang, Biochem. Biophys. Res. Comm. 179:280-85, 1991)；
- 10 3) 反轉錄病毒居間促成之 DNA 轉移(參見，例如，Kay, et al., Science 256:808-13, 1992)；
- 4) DNA 病毒居間促成之 DNA 轉移；此等 DNA 病毒
- 15 包括，例如，腺病毒(較佳為 Ad-2 或 Ad-5 為基底之載體)、疱疹病毒(較佳為單純疱疹病毒為基底之載體)、與細小病毒(較佳為「缺陷」或非自體細小病毒為基底之載體，更佳為以腺苷相關病毒為基底之載體，最佳為 AAV-2 為基底之載體)(參見，例如，Ali. et al., Gene Therapy 20 1:367-84, 1994；美國專利案 4,797,368；與美國專利案 5,139,941；併入本文以資參考。

用於轉移所關注基因之特定載體系統之選擇取決於多項因素，其一重要因素為標的細胞群的性質。反轉錄病毒載體雖然已被精深研究及用於許多基因治療用途，惟彼等

五、發明說明 (42)

載體通常不適用於感染未分裂的細胞。此外，反轉錄病毒具有發生腫瘤的可能性。然而，慢病毒載體領域之新近發展可能規避一些此等限制(參見，例如，Naldini, et al., Science 272:263-67, 1996)。

- 5 衍生反轉錄病毒質體載體之反轉錄病毒包含，惟不限於，莫洛尼氏(Moloney)鼠類白血病毒、脾臟壞死病毒、例如勞氏肉瘤病毒、哈偉氏(Harvey)肉瘤病毒、鳥類白血球增生病病毒、長臂猿白血病毒、人類免疫缺乏症病毒、腺病毒、骨髓增生性肉瘤病毒、與哺乳類腫瘤病毒
- 10 等反轉錄病毒。

- 腺病毒的優點為具有寬廣的宿主範圍、可感染停止分化或分化末期之細胞(例如神經元或肝細胞)、且本質上被認為不會致癌(參見，例如，Ali et al., 1994)。腺病毒似乎不會整合入宿主基因體中。由於存在染色體外，因此發生
- 15 嵌入性誘變的風險大為減少(Ali et al., 1994)。

腺苷相關病毒具有與腺病毒基底載體類似之優點。然而，AAVs 對於人類染色體 19 具有部位專一性整合作用(參見，例如，Ali et al., 1994)。

- 於一較佳具體實例中，係使用編碼本發明多肽胰島素
- 20 促分泌素之 DNA 進行例如糖尿病及糖尿病相關疾病等病症之基因治療。

根據此具體實例，係提供使用編碼本發明多肽胰島素促分泌素或變異蛋白質的 DNA 之基因治療給有其需要、感染中、或剛診斷後之病人。

五、發明說明 (43)

熟習此項技藝人士將瞭解，根據此具體實例，可使用含有多肽胰島素促分泌素、多肽胰島素促分泌素之 DNA 或 DNA 片段、衍生物或變異體之任何適當之基因治療載體。構築該等載體之技術於此項技藝中已悉知(參見，例如，Anderson, Nature 392:25-30, 1998; Verma, et al., Nature 389:239-242, 1998)。欲將含有多肽胰島素促分泌素 DNA 之載體引入標的部位，可使用已知技術來達成。

載體可含一或多個啟動子。可使用之適當啟動子包含，惟不限於，反轉錄病毒 LTR、SV40 啟動子；與人類巨細胞病毒(CMV)啟動子(Miller, et al., Biotechniques 7(9):980-990, 1989)；或任何其他啟動子(例如，細胞啟動子如真核生物細胞啟動子包括，惟不限於，組織蛋白、pol III、與 β -肌動蛋白啟動子)。可使用之其他病毒啟動子包含，惟不限於，腺病毒啟動子、胸腺核苷激酶(TK)啟動子、與 B19 細小病毒啟動子。從本文涵蓋之教示，適當啟動子之選擇對熟習此項技藝人士而言為顯而易見。

編碼本發明多肽的核苷酸序列係在適當啟動子之控制下。可使用之適當啟動子包含，惟不限於，腺病毒啟動子例如腺病毒大後側(major late)啟動子；或異質啟動子例如巨細胞病毒(CMV)啟動子；呼吸性融合細胞病毒(RSV)啟動子；可誘發之啟動子例如 MMT(金屬巰基蛋白)啟動子；熱休克啟動子；白蛋白啟動子；ApoAI 啟動子；人類球蛋白啟動子；病毒性胸腺核苷激酶啟動子例如單純疱疹胸腺核苷激酶啟動子；反轉錄病毒 LTRs(包括上文所述經

五、發明說明 (44)

修飾之反轉錄病毒 LTRs)； β -肌動蛋白啟動子；與人類生長激素啟動子。啟動子亦可為控制編碼多肽的基因之原態啟動子。

反轉錄病毒質體載體係用於將包裝細胞株轉導形成生
5 產者細胞株。可被轉導的包裝細胞實例包含，惟不限於，
PE501、PA317、 ψ -2、 ψ -AM、PA12、T19-14X、VT-19-
17-H2、 ψ CRE、 ψ CRIP、GP+E-86、GP+envAm12、與如
Miller (Human Gene Ther. 1:5-14, 1990，其全部內容併入
10 本文以資參考)所述之 DAN 細胞株。載體可經由此項技藝
中已知之任何方法轉導包裝細胞。此等方法包括，惟不限
於，電穿孔法、使用脂質體、與 CaPO_4 沉澱法。或者，
可將反轉錄病毒質體載體包埋於脂質體中，或與脂質結
合，然後投與宿主。生產者細胞株產生包含編碼多肽的核
苷酸序列之感染性反轉錄病毒載體粒子，接著可使用此等
15 反轉錄病毒載體粒子於試管內或活體內轉導真核生物細
胞。經轉導之真核生物細胞將表現編碼多肽的核苷酸序
列。可被轉導之真核生物細胞包括，惟不限於，胚幹細
胞、胚胎細胞、以及造血幹細胞、肝細胞、纖維母細胞、
肌胚細胞、角質細胞、內皮細胞、與支氣管上皮細胞。

20 基因治療之不同處理方法為「轉核治療」，其係於活
體外處理病人細胞，以於再引入病人體內後，誘發休眠染
色體基因製造所關注之蛋白質。轉核治療假設個體具有活
化所需之正常互補基因。轉核治療涉及於活體外將能活化
新生基因之啟動子或其他外源調控序列引入病人細胞之染

五、發明說明 (45)

色體 DNA 中，培養及選擇具製造蛋白質活性之細胞，然後將活化細胞再引入病人體內，意圖使其徹底建立。於是該「基因活化」細胞可於相當長，可能與病人的壽命一樣長的時間內，製造所關注之蛋白質(參見，例如，美國專利案 5,641,670 與 5,733,761，其全部內容併入本文以資參考)。

本發明亦涵蓋選擇性結合本發明多肽之抗體與抗體片段。此項技藝中已知之任何種類之抗體均可使用此項技藝中悉知之方法產生。舉例而言，可產生專一性地與本發明多肽的抗原決定部位結合之抗體。本文所用之「抗體」包含完整之免疫球蛋白分子，以及其片段，例如 Fab、F(ab')₂、與 Fv，彼等能與本發明多肽之抗原決定部位結合。典型地，形成抗原決定部位需要至少 6、8、10、或 12 個鄰接胺基酸(contiguous amino acids)。然而，涉及非鄰接胺基酸之抗原決定部位可能需要更多胺基酸，例如，至少 15、25、或 50 個胺基酸。

專一性地與本發明多肽抗原決定部位結合之抗體可治療性地使用，以及用於免疫化學試驗，例如西方墨點反應、ELISAs、放射免疫試驗、免疫組織化學試驗、免疫沉澱反應、或此項技藝中已知之其他免疫化學試驗中。各種免疫試驗可用於鑑定具有所需專一性之抗體。用於競爭性結合試驗或免疫放射試驗的許多實驗流程於此項技藝中為悉知。該等免疫試驗典型地涉及測量免疫原與專一性地與該免疫原結合的抗體間錯合物之形成。

五、發明說明 (46)

典型地，用於免疫化學試驗時，專一性地與本發明多肽結合之抗體所提供之檢測訊號，比與其他蛋白質提供之檢測訊號高出至少 5、10、或 20 倍。較佳為，專一性地與本發明多肽結合之抗體不檢測免疫化學試驗中之其他蛋白質，且可於溶液中之本發明多肽進行免疫沉澱反應。

本發明多肽可用於使哺乳動物，例如小鼠、大鼠、兔子、天竺鼠、猴子、或人類免疫以產生多株抗體。如果需要，則可使本發明多肽與載劑蛋白質(例如胎牛血清白蛋白、甲狀腺球蛋白、及頂孔透螺血藍蛋白)併合。視宿主種類而異，可使用多種佐劑以增進免疫反應。此等佐劑包含，惟不限於，佛氏佐劑(Freund's adjuvant)、礦物膠(例如，氫氧化鋁)、及界面活性物質(例如，脫脂酸卵磷脂、多元醇乳化劑、聚陰離子類、胜肽、油乳液、頂孔透螺血藍蛋白、與二硝基苯酚)。用於人類之佐劑中，以 BCG (卡介苗)與細小棒狀桿菌(*Corynebacterium parvum*)尤其有用。

欲製備專一性地與本發明多肽結合之單株抗體時，可使用提供以連續細胞株培養製造抗體分子之任何技術。此等技術包含，惟不限於，融合瘤技術、人類 B 細胞融合瘤技術、與 EBV 融合瘤技術(Kohler, et al., Nature 256:495-97, 1985; Kozbor, et al., J. Immunol. Methods 81:3142, 1985; Cote et al., Proc. Natl. Acad. Sci. 80:2026-30, 1983; Cole, et al., Mol. Cell Biol. 62:109-20, 1984)。

此外，可使用被開發用於製造「嵌合型抗體」，使小

五、發明說明 (47)

- 鼠抗體基因與人類抗體基因接合而製得具有適當抗原專一性與生物活性的分子之技術(Morrison, et al., Proc. Natl. Acad. Sci. 81:6851-55, 1984 ; Neuberger, et al., Nature 312:604-08, 1984 ; Takeda, et al., Nature 314:452-54, 5 1985)。亦可將單株抗體與其他抗體「人類化」，以於治療使用時，防止病人對該抗體產生免疫反應。該等抗體之序列與欲直接用於治療之人類抗體足夠類似，或可能需要更改幾個關鍵殘基。利用個別殘基位點導向誘變或利用置入(grating of)整個互補決定區，置換與人類序列不同的殘基，可使啮齒類抗體與人類抗體間之序列差異減至最小。10 或者，可使用重組方法(參見，例如，GB2188638B)製造人類化抗體。專一性地與本發明多肽結合之抗體亦可含有部分或完全人類化之抗原結合部位，如美國專利案 5,565,332 中所揭示。
- 15 或者，可使用此項技藝中已知之方法將產生單鏈抗體所述技術加以改良，以製造專一性地與本發明多肽結合之單鏈抗體。具有相關專一性惟不同個體基因型組成之抗體，可利用對無規組合免疫球蛋白庫進行鏈洗牌而產生(Burton, Proc. Natl. Acad. Sci. 88:11120-23, 1991)。
- 20 單鏈抗體之構築亦可使用 DNA 擴增法，例如使用融合瘤 cDNA 作為模板之 PCR 法(Thirion, et al., Eur. J. Cancer Prev. 5:507-11, 1996)。單鏈抗體可具單專一性或雙專一性，且可為二價或四價。四價、雙專一性單鏈抗體之構築見，例如，Coloma & Morrison (Nat. Biotechnol.

五、發明說明 (48)

15:159-63, 1997)之教示。二價、雙專一性單鏈抗體之構築見，例如，Mallender & Voss (J. Biol. Chem. 269:199-206, 1994)之教示。

編碼單鏈抗體的核苷酸序列之構築可使用人工或自動
5 核苷酸合成法，如下文所述，將其選殖入使用標準重組DNA 方法之表現構築體中，並引入至表現該編碼序列之細胞中。或者，可使用，例如，纖維狀噬菌體技術 (Verhaar, et al., Int. J. Cancer 61:497-501, 1995; Nicholls, et al., J. Immunol. Meth. 165:81-91, 1993)直接產生。

10 專一性地與本發明多肽結合之單株抗體亦可如文獻中所揭示 (Orlandi, et al., Proc. Natl. Acad. Sci. 86:3833-37, 1989; Winter, et al., Nature 349:293-99, 1991)，藉於淋巴細胞體中誘發活體內生產或藉篩選具有高專一性結合試劑之免疫球蛋白庫或小組而產生。

15 可構築其他種類的抗體，供本發明方法之治療用途。例如，可如 WO 93/03151 所揭示，構築嵌合型抗體。亦可製備衍生自免疫球蛋白且為多價及多專一性之結合蛋白，例如「二株抗體(diabodies)」(參見，例如，WO 94/13804)。

20 具有與本發明多肽結合的能力之人類抗體亦可如下述，以 MorphoSys HuCAL[®]庫鑑定。可將本發明多肽塗覆於微量滴定盤上，並與 MorphoSys HuCAL[®]Fab 噬菌體庫一起培育。未與本發明多肽結合之連接噬菌體之 Fabs 自盤中被沖洗掉，只留下與本發明多肽緊密結合之噬菌體。

五、發明說明 (49)

該結合噬菌體可，例如，藉改變 pH 予以溶洗或利用以大腸桿菌溶洗及藉感染大腸桿菌宿主予以擴增。可重複此定位程序一或兩次，以獲得緊密結合本發明多肽之抗體族群。然後表現其中之 Fabs，純化，以 ELISA 試驗進行篩

5 檢。

根據本發明之抗體可利用此項技藝中悉知之方法予以純化。例如，可使抗體通過結合本發明多肽的管柱，進行親和純化。然後使用高鹽濃度的緩衝液，將結合抗體自管柱中溶洗出來。

- 10 本發明多肽，由於具有於試管內激發自胰臟胰島細胞分泌胰島素之能力，及藉由於活體內引起血糖降低，而可用於治療糖尿病，包括 1 型與 2 型糖尿病(非胰島素依賴型糖尿病)。該等治療亦可延緩糖尿病與糖尿併發症之發生。本發明多肽可用於防止葡萄糖耐力受損之患者繼續進
- 15 展成 2 型糖尿病。可使用本發明多肽治療或預防的其他疾病與狀況包括：年輕人成熟發病型糖尿病(MODY)(Herman, et al., Diabetes 43:40, 1994)；隱性自體免疫糖尿病成人(LADA)(Zimmet, et al., Diabetes Med. 11:299, 1994)；葡萄糖耐力受損(IGT)(Expert Committee
- 20 on Classification of Diabetes Mellitus, Diabetes Care 22 (Supp. 1):S5, 1999)；空腹葡萄糖障礙(IFG)(Charles, et al., Diabetes 40:796, 1991)；妊娠糖尿病(Metzger, Diabetes, 40:197, 1991)；及代謝性 X 症候群。

本發明多肽對於例如肥胖症之病症亦有效，且可用於

五、發明說明 (50)

治療粥樣硬化性疾病、高脂血症、高膽固醇血症、低HDL 含量、高血壓、心血管疾病(包括粥樣硬化、冠狀心臟疾病、冠狀動脈疾病、與高血壓)、腦血管疾病與末梢血管疾病；及用於治療狼瘡、多囊性卵巢症候群、致癌性、與增生症、氣喘、男性生殖問題、潰瘍、睡眠失調、脂質與碳水化合物代謝失調、晝夜調節異常、生長失調、能量衡定失調、免疫疾病包括自體免疫疾病(例如，全身性紅斑狼瘡)、以及急性與慢性炎症、及敗血性休克。

本發明多肽亦可用於治療有關，例如，細胞分化以製造脂質堆積細胞、胰島素敏感性與血糖含量調控(彼等涉及例如胰臟 β 細胞功能異常、分泌胰島素之腫瘤及/或由於對胰島素之自體抗體、對胰島素受體之自體抗體、或對胰臟 β 細胞具刺激作用之自體抗體造成之自體免疫低血糖)、導致形成動脈粥樣硬化斑之巨噬細胞分化、炎症反應、致癌性、增殖、脂肪細胞基因表現、脂肪細胞分化、胰臟 β 細胞量減少、胰島素分泌、對胰島素之組織敏感性、脂肉瘤細胞生長、多囊性卵巢疾病、慢性不排卵症、雄性素過多症、黃體激素製造、類固醇生成、細胞之氧化還原電位與氧化壓力、氧化氮合成酶(NOS)製造、 γ -穀胺鹽基轉胺酶、過氧化氫酶、血漿三酸甘油酯、HDL、與LDL 膽固醇含量等之生理性疾病。

本發明多肽亦可用於本發明方法中，以治療糖尿病之續發病因(Expert Committee on Classification of Diabetes Mellitus, Diabetes Care 22 (Supp. 1):S5, 1999)。該等續發

五、發明說明 (51)

病因包括糖皮質激素過量、生長激素過量、嗜鉻細胞瘤、與藥物誘發之糖尿病。可能誘發糖尿病之藥物包含，惟不限於，吡嘧尼劑(pyriminil)、菸鹼酸、糖皮質激素、苯妥因(phenytoin)、甲狀腺激素、 β -腎上腺素能劑、 α -干擾素及用於治療 HIV 感染之藥物。

此外，本發明多肽可用於治療氣喘(Bolin, et al., Biopolymer 37:57-66, 1995)；美國專利案 5,677,419；顯示多肽 R3P0 對鬆弛天竺鼠支氣管平滑肌具有活性)；低血壓感應(VIP 誘發之氣喘病人之低血壓、心跳過速、臉部潮紅)(Morice, et al., Peptides 7:279-280, 1986；Morice, et al., Lancet 2:1225-1227, 1983)；男性生殖問題(Siow, et al., Arch. Androl. 43(1):67-71, 1999)；作為抗細胞凋亡/神經保護劑(Brenneman, et al., Ann. N. Y. Acad. Sci. 865:207-12, 1998)；於局部缺血狀態時之心臟保護作用(Kalfin, et al., J. Pharmacol. Exp. Ther. 1268(2):952-8, 1994；Das, et al., Ann. N. Y. Acad. Sci. 865:297-308, 1998)，生理時鐘之操控及其相關病症(Hamar, et al., Cell 109:497-508, 2002；Shen, et al., Proc. Natl. Acad. Sci. 97:11575-80, 2000)；及最後作為抗潰瘍劑(Tuncel, et al., Ann. N. Y. Acad. Sci. 865:309-22, 1998)。

本發明多肽可單獨使用或與熟習此項技藝人士已知之其他治療劑及/或化合物組合使用，以治療糖尿病及相關病症。或者，本文所述之方法與化合物可於組合療法中部分或完全使用。

五、發明說明 (52)

本發明多肽亦可與用於治療糖尿病之其他已知治療劑組合投與，該等治療劑包括 PPAR 作用劑、磺醯脲藥物、非磺醯脲促分泌素、 α -葡萄糖苷酶抑制劑、胰島素敏化劑、胰島素促分泌素、降低肝臟葡萄糖生產之化合物、胰島素與抗肥胖症藥物。該等治療劑可於投與本發明多肽之前、同時或之後進行投與。胰島素包含長效與短效型及胰島素調配物。PPAR 作用劑可包含任何 PPAR 次單元作用劑或其組合。例如，PPAR 作用劑可包含 PPAR- α 、PPAR- γ 、PPAR- δ 或二或三種 PPAR 次單元之任何組合。PPAR 作用劑包含，例如，洛西利塔宗與皮歐利塔宗 (pioglitazone)。磺醯脲藥物包含，例如，優降糖 (glyburide)、亞曼瑞 (glimepiride)、氯磺丙脲與泌樂得 (glipizide)。可與本發明多肽一起投與用於治療糖尿病之 α -葡萄糖苷酶抑制劑包含阿卡波糖 (acarbose)、米格利妥 (miglitol) 與培欣 (voglibose)。可用於治療糖尿病之胰島素敏化劑包含噻唑啉二酮類與非噻唑啉二酮類。可與本發明多肽一起投與用於治療糖尿病之降低肝臟葡萄糖生產之化合物包含二甲雙胍，例如 Glucophage 與 Glucophage XR。可與本發明多肽一起投與用於治療糖尿病之胰島素促分泌素包含磺醯脲與非磺醯脲藥物：GLP-1、GIP、腸促胰液肽、那替利耐 (nateglinide)、美格替耐 (meglitinide)、諾和隆錠 (repaglinide)、優降糖、亞曼瑞、氯磺丙脲與泌樂得。GLP-1 包含半衰期比原態 GLP-1 更長的 GLP-1 衍生物，例如，脂肪酸衍生之 GLP-1 與激素

五、發明說明 (53)

exendin。於本發明之一具體實例中，本發明多肽係與胰島素促分泌素組合使用，以增加胰臟 β 細胞對胰島素促分泌素之敏感性。

本發明多肽亦可組合抗肥胖症藥物而於本發明方法中
5 使用。抗肥胖症藥物包含 β -3 作用劑、CB-1 拮抗劑、食慾抑制劑例如諾美婷(sibutramine, Meridia)、與脂肪酶抑制劑例如使你酷(orlistat, Xenical)。

本發明多肽亦可組合常見用於治療糖尿病病人脂質失調之藥物而於本發明方法中使用。該等藥物包含，惟不限
10 於，HMG-CoA 還原酶抑制劑、菸鹼酸、膽汁酸結合劑、及纖維酸衍生物。此外，本發明多肽亦可與抗高血壓藥物例如 β -封阻劑及 ACE 抑制劑組合使用。

此等共同療法可以兩種或兩種以上藥物之任何組合投與(例如，本發明多肽組合胰島素敏化劑與抗肥胖症藥
15 物)。此等共同療法可呈如上述之醫藥組成物形式投與。

茲於下文界定本文所用之各名詞。

於介紹本發明或其較佳具體實例之元件時，均意指一或一種以上之元件。「包括」、「包含」、與「具有」等詞均擬包括一切而意指可能存在所列元件以外之附加元
20 件。

本文所用「實驗對象」一詞包含哺乳類(例如，人類與動物)。

「治療」一詞包含於直接或間接地改善包括人類在內的實驗對象之狀況、延緩該實驗對象狀況或疾病進展之目

五、發明說明 (54)

的下，提供該實驗對象醫療援助之任何程序、行為、應用、療法等。

「組合療法」或「共同療法」意指投與二或多種治療劑以治療糖尿病狀況及/或病症。該等投與涵蓋二或多種治療劑以實際上同時之方式共同投與，例如呈具有固定比率的活性成分之單一膠囊，或各抑制劑分立之分別多個膠囊。此外，此等投與包括以連續方式使用各種治療劑。

「治療有效」意指於避免或使給與治療處理之相關副作用減至最小下，達成改善糖尿病或病症嚴重性目標所投與各製劑之量。

「醫藥上可接受」意指主題項目適用於醫藥產品。

根據一般悉知用於測定哺乳動物上述確認狀況治療效力之試驗方法，並將其結果與用於治療彼等狀況的已知醫藥劑之結果進行比較，則易於決定本發明多肽治療各所需指徵之有效劑量。治療各該等病症所投與活性成分(例如，多肽)之量，根據例如所用特定化合物與劑量單位、投與方式、治療期長短、所治療病人年齡與性別、及所治療病症性質與程度等狀況，可有極大差異。

所投與活性成分之總量通常每天每公斤體重介於約0.001 毫克至約 200 毫克之間，較佳為介於 0.01 毫克至約 200 毫克之間。單位劑量可含約 0.05 毫克至約 1500 毫克活性成分，每天可投與一或多次。供注射(包括靜脈內、肌內、皮下、及非經腸注射)及使用灌注技術投與之日劑量可為約 0.01 至約 200 毫克/公斤。每日之直腸劑量療法

五、發明說明 (55)

可為 0.01 至 200 毫克/公斤總體重。經皮投與之濃度可為維持 0.01 至約 200 毫克/公斤日劑量所需之濃度。

當然，各病患特定之起始與持續劑量療法將隨參與診斷者裁定之病症性質與嚴重性、所用特定多肽之活性、病人年齡、病人飲食、投與時間、投與路徑、藥物排泄率、藥物組合等而不同。本發明多肽治療所需模式與用劑次數可由熟習此項技藝人士使用習知治療試驗予以確定。

本發明多肽藉由呈適當調配之醫藥組成物投與有其需要之病人而可達成所需之藥理效果。供本發明目的之病人為需要治療特定狀況或疾病之哺乳動物，包括人類。因此，本發明涵蓋一種醫藥組成物，其係由醫藥上可接受之載劑與醫藥上有效量之多肽所組成。醫藥上可接受之載劑為於與活性成分有效活性一致之濃度下，對病人較為無毒無害，俾使起因於載劑之任何副作用不損及活性成分之有利效應之任何載劑。多肽之治療有效量為對所治療之特定病症產生效果或發揮影響之量。本文所述之多肽可以任何有效之習知劑量單位形式(包括，例如，立即及定時釋放之製劑、經口、非經腸、局部等)，與醫藥上可接受之載劑一起投與。

供經口投與時，多肽可調配成固體或液體製劑，例如，膠囊、丸劑、錠劑、片劑、酏劑、熔體、粉劑、溶液、懸浮液、或乳液，及可根據此項技藝中製造醫藥組成物之已知方法予以製備。固體單位劑量型可為含有例如界面活性劑、潤滑劑、與惰性填充劑(例如乳糖、蔗糖、磷

五、發明說明 (56)

酸鈣、與玉米澱粉)之一般硬-或軟-殼明膠型膠囊。

- 於另一具體實例中，本發明多肽可與習知錠劑基底(例如乳糖、蔗糖、與玉米澱粉)組合黏合劑(例如阿拉伯膠、玉米澱粉、或明膠)；於投與後意欲協助破碎及溶解
- 5 錠劑之崩解劑(例如馬鈴薯澱粉、海藻酸、玉米澱粉、及關華豆膠)；意欲增進錠劑粒化流速及防止錠劑物質黏著於製錠模具與衝壓機表面之潤滑劑(例如，滑石粉、硬脂酸、或硬脂酸鎂、鈣或鋅)；染料；著色劑；及意欲增加錠劑之美學品質使其更為病人接受之調味劑一起製錠。用
- 10 於口服液體劑量型之適當賦形劑包括稀釋劑例如水及醇類，例如，乙醇、苳醇、與聚乙烯醇類、醫藥上可接受之界面活性劑(可添加或不添加)、懸浮劑、或乳化劑。亦可存在多種其他物質作為塗層或者修飾劑量單位之物理形式。例如錠劑、丸劑或膠囊可以蟲膠、糖或二者予以塗
- 15 覆。

- 可分散的粉劑與粒劑適用於製備水性懸浮液，其提供活性成分與分散劑或潤濕劑、懸浮劑、及一或多種防腐劑之摻合物。適當之分散劑或潤濕劑與懸浮劑已如上述例示。亦可存在其他賦形劑，例如，上文敘述之增甜劑、調
- 20 味劑與著色劑。

本發明醫藥組成物亦可呈水包油乳液之形式。其油相可為植物油例如液態石蠟或植物油之混合物。適當之乳化劑可為(1)天然存在之膠例如阿拉伯膠與黃耆膠；(2)天然存在之磷脂例如黃豆及卵磷脂；(3)衍生自脂肪酸與己糖

五、發明說明 (57)

醇酐之酯或部分酯，例如，山梨聚糖單油酸酯；及(4)該部分酯與環氧乙烷之縮合產物，例如，聚氧乙烯山梨聚糖單油酸酯。乳液中亦可含增甜劑與調味劑。

油性懸浮液可藉懸浮活性成分於植物油(例如花生油、橄欖油、芝麻油、或椰子油)或無機油(例如液態石蠟)中予以調配。油性懸浮液中可含增稠劑，例如，蜂蠟、硬石蠟、或鯨蠟醇。懸浮液中亦可含一或多種防腐劑，例如，對羥苯甲酸-乙酯或-正丙酯；一或多種著色劑；一或多種調味劑；及一或多種增甜劑例如蔗糖或糖精。

10 糖漿與酞劑可使用增甜劑例如甘油、丙二醇、山梨糖醇、或蔗糖予以調配。此等調配物亦可含鎮痛劑與防腐劑、調味劑及著色劑。

本發明多肽亦可於生理上可接受之稀釋劑中，與醫藥載劑一起成為多肽之可注射劑量型供非經腸投與(亦即，
15 經皮下、靜脈內、肌內、或腹膜內投與)，該等載劑可為無菌液體或液體混合物例如水、食鹽水、葡萄糖水及相關糖溶液；醇例如乙醇、異丙醇、或十六基醇；二醇類例如丙二醇或聚乙二醇；甘油縮酮類例如 2,2-二甲基-1,1-二噁環戊烷-4-甲醇、醚類例如聚(乙二醇)400；油；脂肪酸；
20 脂肪酸酯或甘油酯；或乙醯基化之脂肪酸甘油酯；添加或不添加醫藥上可接受之界面活性劑例如肥皂或清潔劑、懸浮劑例如果膠、增稠劑(carbomers)、甲基纖維素、羥丙基甲基纖維素、或羧甲基纖維素、或乳化劑及其他醫藥佐劑。

五、發明說明 (58)

可用於本發明非經腸調配物中的油類之實例為石油、動物、植物油類，或合成來源者，例如，花生油、黃豆油、芝麻油、棉籽油、玉米油、橄欖油、礦脂、及無機油。適當之脂肪酸包含油酸、硬脂酸、及異硬脂酸。適當之脂肪酸酯為，例如，油酸乙酯與肉豆蔻酸異丙酯。適當之皂類包含脂肪鹼金屬、銨、與三乙醇胺鹽及適當清潔劑包含陽離子性清潔劑，例如，二甲基二烷基銨鹵化物、烷基吡啶鹵化物、及烷基胺乙酸鹽；陰離子性清潔劑，例如，烷基、芳基、與烯烴磺酸酯，烷基、烯烴、醚、與單甘油酯硫酸鹽，及磺基琥珀酸酯；非離子性清潔劑，例如，脂肪胺氧化物、脂肪酸烷醇鹽胺、與聚氧乙烯聚丙烯共聚物；及兩性清潔劑，例如，烷基- β -氨基丙酸酯、與2-烷基咪唑啉四級銨鹽，以及其混合物。

本發明之非經腸組成物可於溶液中典型地含有約 0.5 至約 25 重量%活性成分。亦可有利地使用防腐劑與緩衝劑。為了減少或消除注射部位之刺激，該等組成物可含親水-親脂平衡值(HLB)為約 12 至約 17 之非離子性界面活性劑。於該等調配物中，界面活性劑之量可介於約 5 至約 15 重量%之間。該界面活性劑可為具有上述 HLB 值之單一成分或可為具有所需 HLB 值的二或多種成分之混合物。

非經腸調配物中所用的界面活性劑實例為聚乙山梨聚糖脂肪酸酯族，例如，山梨聚糖單油酸酯及環氧乙烷與由環氧丙烷與丙二醇縮合形成的親脂基底之高分子量加合

五、發明說明 (59)

物。

醫藥組成物可呈無菌之可注射水性懸浮液形式。該等懸浮液可根據已知方法使用適當分散劑或潤濕劑及懸浮劑(例如羧甲基纖維素鈉、甲基纖維素、羥丙基甲基纖維素、海藻酸鈉、聚乙烯吡咯啉酮、黃耆膠與阿拉伯膠)予以調配；分散劑或潤濕劑可為天然存在之磷脂(例如卵磷脂)、環氧烷與脂肪酸之縮合產物(例如，聚氧乙烯硬脂酸酯)、環氧乙烷與長鏈脂族醇之縮合產物(例如，十七烯氧鯨蠟醇)、環氧乙烷與衍生自脂肪酸及己糖醇的部分酯之縮合產物(例如聚氧乙烯山梨糖醇單油酸酯)、或環氧乙烷與衍生自脂肪酸與己糖醇酐的部分酯之縮合產物(例如，聚氧乙烯山梨聚糖單油酸酯)。

無菌注射製劑亦可為於無毒非經腸可接受稀釋劑或溶劑中之無菌注射溶液或懸浮液。可使用之稀釋劑或溶劑為，例如，水、林格氏溶液、及等張氯化鈉溶液。此外，可方便地使用無菌固定油作為溶劑或懸浮介質。欲達此目的，可使用任何廠牌之固定油，包括合成之單或二甘油酯。此外，可使用脂肪酸(例如油酸)製備注射劑。

本發明組成物亦可呈栓劑形式供藥物之經直腸投與。彼等組成物可利用混合藥物(例如，多肽)與在一般溫度時為固體，但是在直腸溫度時為液體，因此於直腸中溶解而釋出藥物之適當無刺激性賦形劑予以製備。該等物質為，例如，可可脂及聚乙二醇。

於本發明方法中使用之另一調配物使用經皮之輸送裝

五、發明說明 (60)

置(「貼片」)。此等經皮貼片可用於提供控制量之本發明多肽之持續性或非持續性注入。輸送醫藥劑的經皮貼片之建構與使用為此項技藝所悉知(參見，例如，美國專利案 5,023,252，併入本文以資參考)。此等貼片可建構為持續

5 性、脈動性、或依需要輸送醫藥劑。

亦可能需求或需要經由機械式輸送裝置將醫藥組成物引入病人體內。輸送醫藥劑之機械式輸送裝置之建構與使用為此項技藝所悉知。例如，直接投與藥物至腦部之直接技術通常涉及放置藥物輸送導管於病人之腦室系統內，以
10 繞過腦血管障壁。一種用於輸送藥劑至體內特定結構部位之該等植入式輸送系統敘述於美國專利案 5,011,472，其內容併入本文以資參考。

本發明組成物亦可依需求或需要而含其他習知之醫藥上可接受之複合成分，通常稱為載劑或稀釋劑。本發明之
15 任何組成物可藉添加抗氧化劑(例如抗壞血酸)或其他適當防腐劑予以保藏。可使用將該等組成物製備成適當劑量型之習知程序。

適用於調配組成物供其意指投與途徑之常用醫藥成分包含：酸化劑，例如，惟不限於，乙酸、檸檬酸、富馬
20 酸、鹽酸、硝酸；及鹼化劑，例如，惟不限於，氨溶液、碳酸銨、二乙醇胺、單乙醇胺、氫氧化鉀、硼酸鈉、碳酸鈉、氫氧化鈉、三乙醇胺、三乙醇胺水楊酸鹽(trolamine)。

其他醫藥成分包含，例如，惟不限於，吸附劑(例

五、發明說明 (61)

如，粉末纖維素及活性焦碳)；氣溶膠推進劑(例如，二氧化碳、 CCl_2F_2 、 $\text{F}_2\text{ClC-CClF}_2$ 及 CClF_3)；空氣置換劑(例如，氮及氬)；抗真菌防腐劑(例如，苯甲酸、對羥苯甲酸丁酯、對羥苯甲酸乙酯、對羥苯甲酸甲酯、對羥苯甲酸丙酯、苯甲酸鈉)；抗微生物防腐劑(例如，氯化苳烷銨、氯化苳乙氧銨、苳醇、氯化鯨蠟基吡錠、氯丁醇、酚、苯基乙基醇、硝酸苯基汞及硫柳汞)；抗氧化劑(例如，抗壞血酸、棕櫚酸抗壞血酸酯、丁基化之羥基甲苯醚、丁基化之羥基甲苯、次亞磷酸、單硫甘油、五倍子酸丙酯、抗壞血酸鈉、亞硫酸氫鈉、甲醛硫羥酸鈉、偏亞硫酸鈉)；黏合物質(例如，嵌段聚合物、天然與合成橡膠、聚丙烯酸酯、聚胺基甲酸酯、矽酮及苯乙烯-丁二烯共聚物)；緩衝劑(例如，偏磷酸鉀、磷酸二氫鉀、乙酸钠、無水檸檬酸鈉及檸檬酸鈉二水合物)；載劑(例如，阿拉伯膠糖漿、芳香族糖漿、芳香族醑劑、櫻桃糖漿、可可糖漿、柑橘糖漿、糖漿、玉米油、礦物油、花生油、芝麻油、抑菌性氯化鈉注射劑及抑菌性注射用水)；嵌合劑(例如，乙二胺四乙酸二鈉及乙二胺四乙酸)；著色劑(例如，FD&C 紅色 3 號、FD&C 紅色 20 號、FD&C 黃色 6 號、FD&C 藍色 2 號、D&C 綠色 5 號、D&C 橘色 5 號、D&C 紅色 8 號、焦糖與氧化鐵紅)；澄清劑(例如，膨潤土)；乳化劑(例如，惟不限於，阿拉伯膠、鯨蠟基聚乙二醇、鯨蠟醇、單硬脂酸甘油酯、卵磷脂、山梨聚糖單油酸酯、聚硬脂酸乙二酯 50)；膠囊化劑(例如，明膠與纖維素乙酸酞酸酯)；

五、發明說明 (62)

- 調味劑(例如，大茴香油、肉桂油、可可亞、薄荷醇、柑橘油、薄荷油與香草精)；潤濕劑(例如，甘油、丙二醇與山梨糖醇)；研磨劑(例如，礦物油與甘油)、油類(例如，花生油、礦物油、橄欖油、芝麻油與植物油)；軟膏基底
- 5 (例如，羊毛脂、親水性軟膏、聚乙二醇軟膏、礦脂、親水性礦脂、白軟膏、黃軟膏、與玫瑰水軟膏)；滲透增強劑(經皮輸送)(例如，單羥或多羥醇類、飽和或不飽和脂肪醇類、飽和或不飽和脂肪酯類、飽和或不飽和脂肪二羧酸類、精油、磷脂醯基衍生物、腦磷脂、萜類、醯胺類、
- 10 醚類、酮類及脲類)；增塑劑(例如，酞酸二乙酯與甘油)；溶劑(例如，醇、玉米油、棉籽油、甘油、異丙醇、礦物油、油酸、花生油、純水、注射用水、注射用無菌水及灌注用無菌水)；硬化劑(例如，鯨蠟醇、鯨蠟酯蠟、微結晶蠟、石蠟、硬脂醇、白蠟與黃蠟)；栓劑基底(例如，
- 15 可可脂與聚乙二醇類(混合物))；界面活性劑(例如，氯化苳烷銨、壬氧醇(nonoxynol)10、oxtoxynol 9、聚山梨糖醇酯 80、硫酸十二酯鈉與山梨聚糖單棕櫚酸酯)；懸浮劑(例如，洋菜、膨潤土、增稠劑、羧甲基纖維素鈉、羥乙基纖維素、羥丙基纖維素、羥丙基甲基纖維素、高嶺土、甲基
- 20 纖維素、黃耆膠與矽酸鋁鎂(veegum))；增甜劑(例如，阿斯巴甜、葡萄糖、甘油、甘露糖醇、丙二醇、糖精鈉、山梨糖醇與蔗糖)；錠劑抗黏著劑(例如，硬脂酸鎂與滑石粉)；錠劑黏合劑(例如，阿拉伯膠、海藻酸、羧甲基纖維素鈉、壓縮性糖、乙基纖維素、明膠、液態葡萄糖、甲基

五、發明說明 (63)

- 纖維素、吡咯啉酮與預糊化澱粉)；錠劑與膠囊稀釋劑(例如，磷酸氫二鈣、高嶺土、乳糖、甘露糖醇、微晶纖維素、粉末纖維素、沉澱之碳酸鈣、碳酸鈉、磷酸鈉、山梨糖醇與澱粉)；錠劑塗覆劑(例如，液態葡萄糖、羥乙基纖維素、羥丙基纖維素、羥丙基甲基纖維素、甲基纖維素、乙基纖維素、纖維乙酸酐酸酯與蟲膠)；錠劑直接壓縮賦形劑(例如，磷酸氫二鈣)；錠劑崩解劑(例如，海藻酸、羧甲基纖維素鈣、微晶纖維素、安柏萊特樹脂(polacrillin potassium)、海藻酸鈉、澱粉乙醇酸鈉與澱粉)；錠劑滑移劑(例如，膠態矽石、玉米澱粉與滑石粉)；錠劑潤滑劑(例如，硬脂酸鈣、硬脂酸鎂、礦物油、硬脂酸與硬脂酸鋅)；錠劑/膠囊不透明劑(例如，二氧化鈦)；錠劑拋光劑(例如巴西棕櫚蠟與白蠟)；增稠劑(例如，蜂蠟、鯨蠟醇與石蠟)；張力劑(例如，葡萄糖與氯化鈉)；黏度增加劑(例如，海藻酸、膨潤土、增稠劑、羧甲基纖維素鈉、甲基纖維素、吡咯啉酮、海藻酸鈉與黃耆膠)；及潤濕劑(例如，十七烯氧基鯨蠟醇、卵磷脂、聚乙烯山梨糖醇單油酸酯、聚氧乙烯山梨糖醇單油酸酯、及聚氧乙烯硬脂酸酯)。
- 20 本文所述之多肽可呈單一醫藥劑投與，或與一或多種其他醫藥劑組合(該組合不會引致不被接受之不利效應)投與。例如，本發明多肽可與已知之抗肥胖症劑，或與已知之抗糖尿病或抗其他指徵之製劑等，以及與其摻合物或組合物組合投與。

五、發明說明 (64)

本文所述之多肽亦可於研究與診斷學上呈游離鹼形式或呈組成物，或呈分析參考標準等予以利用。因此，本發明包含一種組成物，其係由惰性載劑及有效量與本文所述之多肽，或其鹽或酯所組成。惰性載劑為不干預所攜帶的

5 多肽並為其提供支撐、輸送方式、容積、微量物質等之任何材質。有效量之多肽乃對所進行之特定程序產生效果或造成影響之量。

- 一般已知，於水性及非水性環境中，多肽會進行水解、脫醯胺、氧化、消旋化及異構化等反應。利用毛細管
- 10 電泳法，易於檢測例如水解、脫醯胺或氧化等降解反應。儘管酵素性降解，惟具有延長的血漿半衰期或生物駐留時間之多肽至少於水性溶液中很穩定。多肽於體溫下，必需於一天以上期間，展現小於 10%之降解。又更佳者為，多肽於體溫下，於一天以上期間，展現小於 5%之降解。
- 15 由於慢性糖尿病病人為終身治療，因此彼等治療劑最好方便投與，若係經由非經腸途徑，則更以減少投與次數為佳。於體溫下，數週期間之穩定性(亦即，降解率小於幾個百分比)容許用藥頻率減少。於冷藏溫度下，數年的穩定性將容許製造商提供液體調配物，避免再組成之不便。
- 20 此外，於有機溶劑中之穩定性可提供調配成為新穎劑量形式(例如植入物)之多肽。

適用於供經皮下、靜脈內、肌內等之調配物及適當之醫藥載劑可利用此項技藝中悉知之任何方法予以製備，其調配與投與技術亦見述於先前技藝中(參見，例如，

五、發明說明 (65)

Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Co., Easton, Pa., 20th edition, 2000)。

下文之實例係用於說明前文敘述之本發明，惟決不對本發明之範圍構成侷限。

5 膠囊調配物

膠囊係以下述成分製備：

本發明多肽	10 毫克
澱粉	109 毫克
硬脂酸鎂	1 毫克

摻合諸成分，以適當網篩過篩，然後裝填於硬明膠膠囊中。

錠劑調配物

10 錠劑係以下述成分製備：

本發明多肽	25 毫克
纖維素，微晶	200 毫克
膠態二氧化矽	10 毫克
硬脂酸	5.0 毫克

混合諸成分並壓製成錠。可施敷適當之水性與非水性塗層以增加美味、增進精緻性與穩定性或延遲吸收。

無菌 IV 溶液

使用無菌、注射用水製造本發明多肽之毫克/毫升溶液，並依需要調整 pH。以無菌之 5%葡萄糖稀釋該溶液，

15 液，

五、發明說明 (66)

使其呈 IV 注入物投與。

肌內懸浮液

製備下述肌內懸浮液：

本發明多肽	50 微克/毫升
羧甲基纖維素鈉	5 毫克/毫升
TWEEN 80	4 毫克/毫升
氯化鈉	9 毫克/毫升
苄醇	9 毫克/毫升

此懸浮液係供肌內投與。

5 硬殼膠囊

將標準的兩片硬明膠膠囊各以粉末活性成分、150 毫克乳糖、50 毫克纖維素與 6 毫克硬脂酸鎂裝填，製備大量單位膠囊。

軟明膠膠囊

- 10 製備活性成分於易消化油(例如黃豆油、棉籽油或橄欖油)中之混合物，利用正排量泵浦將其注入熔融明膠中，形成含有活性成分之軟明膠膠囊。洗滌該等膠囊及乾燥。活性成分可溶於聚乙二醇、甘油與山梨糖醇之混合物中，以製備水可溶混之藥物混合物。

15 立即釋放之錠劑/膠囊

彼等係以習知與新穎程序製造之固體口服劑量型，這些單位不需使用水即可口服而立即溶解並輸送藥物。活性成分係混於含有例如糖、明膠、果膠與增甜劑之液體中，

五、發明說明 (67)

利用冷凍乾燥及固態抽取技術將該等液體固化成為固體錠劑或膠囊。該醫藥化合物可以黏彈性與熱彈性糖及聚合物或發泡成分壓製，以製造意欲供不需要水即立即釋放之多孔性基質。

- 5 對於熟習此項技藝人士而言，可以顯見的是，可對本發明進行更改或修飾而仍不偏離本文揭示之本發明之精神或範疇。

[實施方式]

- 茲敘述下列實例，使本發明更易被瞭解。惟此等實例
10 僅供說明之用而決不對本發明範圍構成局限。本文提及的所有文獻全部內容均併入本文以資參考。

實例 1. 胜肽合成方法

- 本發明之多肽係經設計以增進穩定性及延長其半衰期。詳言之，彼等胜肽之未突變形式(參見，例如，WO
15 01/23420，併入本文以資參考)於水性與非水性環境中展現 N 端水解、脫醯胺、以及二聚與三聚等作用。欲增進穩定性及減少水解、脫醯胺、及二聚/三聚等作用，乃使天冬醯胺殘基(位置 9 與 28)突變成為麩胺醯胺殘基。此外，亦使位置 17 之纈胺酸、位置 19 之丙胺酸、位置 29
20 之離胺酸、位置 30 之精胺酸、與位置 31 之酪胺酸產生突變。再者，如下文所述，亦將本發明多肽 PEG 基化，以延長半衰期。

本發明之一些多肽乃依照下述一般程序進行合成：
利用 FMOC/第三丁基策略(Pennington & Dunn, Peptide

五、發明說明 (68)

Synthesis Protocols, Volume 35, 1994), 於使用 Rapp-Polymere PEG-聚苯乙烯樹脂(Rapp-Polymere, Tubingen, Germany)之連續流動條件下, 進行胜肽合成; 完成合成後, 將胜肽自樹脂裂離, 使用 TFA/DTT/H₂O/三異丙基矽烷(88/5/5/2)脫除保護基; 以冷乙醚將胜肽自裂離混合液中沉澱出來; 此沉澱以冷乙醚洗滌三次, 溶於 5%乙酸後, 將其凍結乾燥; 利用 Waters ALLIANCE[®]系統(Waters Corporation, Milford, MA), 於 YMC-Pack ODS-AQ 管柱(YMC, Inc., Wilington, NC)上使用水/含 3%TFA 之 0%至 100%乙腈梯度流洗, 進行逆相層析; 及利用 VOYAGER DETM MALDI 質量光譜儀(型號 5-2386-00, PerSeptive BioSystems, Framingham, MA)之 MALDI 質量光譜, 檢測該等胜肽; 以 1/1 之比率添加胜肽試樣至 Matrix 緩衝液(50/50 dH₂O/含 3%TFA 之乙腈)中; 純度未符合>95%標準之胜肽以 Waters Delta Prep 4000 HPLC 系統(Waters Corporation, MA), 利用逆相層析法予以純化。

實例 2. 胜肽 PEG 基化

活體內胜肽可經由連接聚乙二醇(PEG)基團, 從而減少被腎臟清除及降低蛋白酶降解而增加其半衰期。VPAC2 受體作用劑由於在活體內的半衰期極短, 因此其用途大為受限; 但是, 將 PEG 基團連接於胜肽(PEG 基化)足以延長其半衰期至容許進行一天一次至一週一次之治療。

PEG 基化可利用熟習此項技藝人士已知之任何方法

五、發明說明 (69)

進行。然而，於此實例中，PEG 基化之進行係於胜肽中引入單一半胱胺酸突變，隨後經由胜肽的硫氫基與甲氧基-PEG-馬來醯亞胺試劑(Nektar (Inhale/Shearwater), San Carlos, CA)的馬來醯亞胺基團間之穩定硫醚鍵結，使該半

5 胱胺酸 PEG 基化。較好將該單一半胱胺酸引入胜肽之 C 端，俾使 PEG 基化使活性減小之可能性減至最小。

詳言之，添加 2 倍莫耳過量之 mPEG-mal (MW 22kD 與 43kD)試劑至 1 毫克胜肽(例如，於胜肽 C 端具有半胱胺酸突變之 SEQ ID NO: 1)，使其溶解於 pH 6 之反應緩衝

10 液(0.1M Na 磷酸鹽/0.1M NaCl/0.1M EDTA)中。於室溫 0.5 小時後，添加 2 倍莫耳過量之 DTT 至 mPEG-mal 中，以終止反應。施加該胜肽-PEG-mal 反應混合物陽離子交換管柱，去除殘留的 PEG 試劑，隨後利用凝膠過濾管柱去除殘留的游離胜肽。利用 SDS-PAGE 與 MALDI-TOF

15 質譜分析法測定純度、質量與 PEG 基化位置數。於連接 22 kD PEG 於本發明胜肽時，保留具效力之 VPAC2 受體活性。再者，VPAC2 相對於 VPAC1 與 PAC1 之受體選擇性活性仍保留。可能以較小 PEG(例如，線型 22 kD PEG)進行 PEG 基化，較不可能減少胜肽活性；而以較大

20 PEG(例如，分支鏈 43 kD PEG)進行 PEG 基化，較可能減少活性。然而，較大之 PEG 將增加血漿半衰期，使一週注射一次成為可能(Harris, et al., Clin. Pharmacokinet. 40:539-551, 2001)。

實例 3. 胜肽選擇

五、發明說明 (70)

為了重組表現彼等胜肽，將編碼胜肽之 DNA 序列自 C 端選殖至具有分開單體型胜肽與麩胱甘肽 S-轉移酶 (GST)之單一因子 Xa 識別位點之 GST。編碼融合於欲製造胜肽的 DNA 序列之因子 Xa 識別位置之基因，其合成

5 係將緊鄰欲選殖基因 DNA 序列 5'端含有 Bam HI 或 Xho I 限制酶切割位置的兩個重疊單股 DNA 片段(70-90 單元)雜交，隨後經由大片段 DNA 聚合酶 I (Life Technologies, Inc., Gaithersburg, MD)進行反股之 DNA 合成。根據各胜肽所設計胺基酸序列之反轉譯而選擇各基因之 DNA 序

10 列。在某些情形下，係利用已由上述方法製得的基因之 PCR 變異方法產生編碼胜肽之基因(Picard, et al., Nucleic Acids Res 22:2587-91, 1994; Sambrook, et al., Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 2nd ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York, 1989)。然後將該雙股產物以

15 Bam HI 與 Xho I 分解並連接於亦以 Bam HI 及 Xho I 切割過之 pGEX-6P-1 (Amersham Pharmacia Biotech, Piscataway, NJ)。例如，欲表現與 GST 融合之 SEQ ID NO: 1 時，將經設計之 DNA 序列(第 2 圖)選殖入 pGEX-6P-1 中。

20 實例 4. 胜肽重組表現與純化

於 37°C，使以含 GST-胜肽融合體的質體轉形之 BL21 細胞(Stratagene, La Jolla, CA)生長至 OD₆₀₀ 達 0.6 至 1.0，並於 37°C 以 1 mM IPTG(Life Technologies, Carlsbad, CA)培育 2 小時。使細胞(2 升)於 7,700 g 離心 15 分鐘，

五、發明說明 (71)

稱重，於-20℃貯存至少 3 小時。將冷凍之細胞沉澱物每克細胞再懸浮於 100 毫升含有 250 微升蛋白酶抑制劑混合液(Sigma Chemical, St. Louis, MO)之冰冷 PBS 中，進行 1 分鐘之超音波處理共 3 次，每次間隔 15 秒。於 10,000 g 再使細胞離心 20 分鐘。於 4℃，使上澄液與 2 毫升 50% 麩胱甘肽瓊脂糖 4B 樹脂(Pharmacia)於振盪器上混合隔夜。於 1,500 g 離心上澄液/樹脂 15 分鐘，將其裝填於空的 Poly-Prep 層析管柱(Bio-Rad, Hercules, CA)中，以 30 毫升 PBS、隨後以 10 毫升因子 Xa 緩衝液(1 mM CaCl₂、100 mM NaCl、及 50 mM Tris-HCl, pH 8.0)洗滌。以添加 60 單位因子 Xa(Pharmacia)之 1 毫升因子 Xa 緩衝液於 4℃ 培育隔夜，使胜肽自管柱裂離，並使用 2 毫升回路(loop)及 2 毫升/分鐘流速依下述程序於 C18 HPLC (Beckman System Gold)上進行分離：10 分鐘緩衝液 A (0.1% TFA/H₂O)、30 分鐘梯度至緩衝液 B (0.1% TFA/ACN)、10 分鐘緩衝液 A、10 分鐘梯度、及 10 分鐘緩衝液 A。收集波峰區分(各 1 毫升)，並利用 10-20%麥黃酮-SDS 凝膠電泳法進行篩選。收集含第 1 圖胜肽之區分，予以乾燥。典型產率為每升大腸桿菌培養液獲得數百毫克游離胜肽。重組胜肽經證實具有與其合成版相同的活性。

實例 5. 自分散的大鼠胰島細胞分泌胰島素

如下文所述，測量由許多本發明胜肽傳介的分散大鼠胰島之胰島素分泌。使用膠原酶分解自 SD 大鼠(200-250 克)單離出之蘭氏小島。此分散之胰島細胞以胰蛋白

五、發明說明 (72)

酶處理，接種於 96 V 形底培養盤，使其成為丸狀。接著於添加或未添加本發明胜肽的培養基中培養隔夜。抽吸出培養基，於 37°C，以含 3 mM 葡萄糖的 Krebs-Ringer-HEPES 緩衝液預培育細胞 30 分鐘。去除預培育緩衝液，
5 添加或未添加胜肽下，於 37°C，以含適當葡萄糖濃度(例如，8 mM)的 Krebs-Ringer-HEPES 緩衝液培育細胞適當時間。一些研究中，亦包含適當濃度之 GLP-1。取出部分上澄液，以 SPA 測定其胰島素含量。其結果以「相對於對照組之倍數」(FOC)表示。於 300 nM 濃度下，胺基酸
10 序列為 SEQ ID NO: 1+cys+PEG(43 kD)的胜肽，使分散胰島細胞之胰島素分泌增加為大約 1.7 倍(第 4 圖)。

此試驗中，自分散的大鼠胰島細胞胰島素分泌之增加係界定為增加至少 1.4 倍。本發明多肽之 VPAC2 受體作用劑成分產生至少 1.4 倍至約 1.7 倍之自分散的胰島細胞胰島素分泌之增加。
15

實例 6. PEG 基化胜肽對大鼠腹膜內葡萄糖耐力之影響

皮下投與大鼠本發明 PEG 基化胜肽後，檢測其活體內活性。對禁食過夜的大鼠皮下注射對照組或 PEG 基化胜肽(1-100 微克/公斤)。三小時後，測量基礎血糖，自腹
20 膜內投與大鼠 2 克/公斤葡萄糖。經 15、30、及 60 分鐘後，再測量血糖。相對於載劑進行 IPGTT(IP 葡萄糖耐力試驗)後，本發明代表性 PEG 基化胜肽明顯地降低血糖含量，其葡萄糖 AUC 減少 17%至 28%(第 5 圖)。此結果證明 PEG 基化胜肽延長活體內之葡萄糖降低活性。除此之

五、發明說明 (73)

外，也顯示延長之活體內胜肽半衰期。PACAP-27 具有很短的活體內半衰期(<10 分鐘)。於投與胜肽 3 小時後，本發明 PEG 基化胜肽仍具降低血糖的能力，此為胜肽於此時間點存在循環中之明顯指徵，因此，相對於 PACAP-27，本發明胜肽之半衰期已延長。

實例 7. 環狀 AMP SPA

將表現 VPAC2 胜肽之 CHO 細胞以 8×10^4 個細胞/槽之量平板培養於 96 槽培養盤，於 37°C ，使其於 α MEM、核苷、麩胺鹽胺(Gibco/BRL, Rockville, MD)、5% FBS、100 微克/毫升 Pen/Strep、0.4 毫克/毫升潮黴素、與 1.5 毫克/毫升遺傳質(Geneticin)(Gibco/BRL)中生長 24 小時。除去培養基，以 PBS 洗滌培養盤。於 37°C ，使細胞與胜肽(在具有 1% BSA 與 $100 \mu\text{M}$ IBMX 之 10 mM Hepes、150 mM NaCl、5 mM KCl、2.5 mM CaCl_2 、1.2 mM KH_2PO_4 、1.2 mM MgSO_4 、25 mM NaHCO_3 (pH 7.4)中)一起培育 15 分鐘。使用 cAMP SPA 直接篩選測定系統(Amersham Pharmacia Biotech Inc., Piscataway, NJ)定量細胞抽取液中之環狀 AMP。根據此套組中之指示，測定溶胞產物中存在之 cAMP 量。針對各胜肽濃度產生之 cAMP 量作圖，使用 Prism 軟體進行非線性迴歸分析，測定各胜肽之 EC_{50} 。

本發明多係根據 VIP 設計，VIP 已被證實對 PAC1 缺乏活性(Vaudry, et al., Pharmacol. Re. 52:269-324, 2000)。因此，一般相信本發明多肽對 PAC1 不具有可觀察到之活

五、發明說明 (74)

性。

以本發明代表性多肽進行此試驗的結果示於下文表 1。經確認為 P5、P7、P8、P12、與 P12 + PEG 之多肽均為 VPAC2 受體之強力作用劑，其活化受體至內源胜肽 5 (PACAP-27)達成受體活化最高量之 100%。再者，該等經確認為 P5、P7、P8、P12、與 P12 + PEG 之多肽為選擇性 VPAC2 受體作用劑，對 VPAC1 的作用活性很弱。PACAP-27 為 VPAC1 之強力作用劑。

表 1

胜肽	SEQ ID NO.	VPAC2 EC ₅₀ (nM)	VPAC1 EC ₅₀ (nM)
PACAP-27	SEQ ID NO: 116	0.09	0.35
P5	SEQ ID NO: 1	0.33	232.5
P7	SEQ ID NO: 5	7.81	>1000
P8	SEQ ID NO: 2	0.19	130.5
P12	SEQ ID NO: 1 + Cys (於 C 端)	0.38	>1000
P12	加 22 kD PEG	1.32	>1000
P12	加 43 kD PEG	4.19	>1000

實例 8. 醫藥組成物 - IV 與 SC 調配物

使用此項技藝中悉知之任何製造方法，以 4 毫克 SEQ ID NO: 1 之多肽、或具有相當於 4 毫克多肽含量之衍生多肽、與 1 升無菌食鹽水製備無菌之 IV 注射用調配

五、發明說明 (75)

物。SC 調配物可使用較高濃度之多肽。於確認為 SEQ ID NO: 1 之多肽、或衍生多肽之情形下，取 4 毫克溶於 100 毫升食鹽水或 DNSO 中，無菌過濾後，將此組成物裝填於無菌小瓶中。

5 實例 9. 含本發明多肽的調配物之穩定性

將實例 8 所述調配物置於恒定室中，定期取出試樣，以毛細管電泳法進行分析，此測定法為檢測彼等調配物中多肽降解作用最敏感之方法。計算各個波峰面積之總和，將母多肽之波峰面積除以總波峰面積(第 6 與第 7 圖)，其商為純度%。由於新鮮多肽中存在不純物質，因此將不同時間點的純度除以初始純度，使純度變化常態化。

實例 10. 胜肽專一性抗體之產生及利用 ELISA 測定胜肽

藉使用 ABI 433A 胜肽合成器合成本發明多肽之專一片段，產生對本發明多肽具專一性之多株抗體。然後使胜肽與樹脂裂離，於 Beckman System Gold Analytical and Preparative HPLC 系統上進行純化。使用 Perspective MALDI 質譜分析儀鑑定正確產物，並使用凍乾機乾燥胜肽。然後經由 Cys 上之游離硫氫基，使胜肽(2 毫克)與頂孔透螺血藍蛋白(KLH)併合。

於第 0、14、35、56、及 77 天，對紐西蘭白母兔進行免疫處理。第 0 天，以 250 微克胜肽與完全佛氏佐劑皮下注射投與各兔。接續之免疫處理，每隻兔子使用 125 微克胜肽。第 21 天開始採血，以後每隔 21 天持續為之。抗胜肽抗體之純化係將粗血清通過專一胜肽親和性純化管柱

五、發明說明 (76)

予以進行。利用 ELISA 測定抗體力價。

- 以對本發明胜肽具專一性之 C 端 Morphosys F(ab)胜肽被覆 96 槽 Immulon 4HBX 培養盤，於 4°C，令其培育隔夜。然後封阻培養盤，以防止非專一性結合。接著，於
- 5 33%血漿中稀釋標準胜肽溶液(2500 奈克/毫升至 160 微微克/毫升)，試樣於緩衝液中進行 1:3 之稀釋，隨後於室溫培育 1.5 小時。洗滌後，於培養盤上培育對本發明胜肽具專一性之多株 N 端抗體一小時。隨後添加辣根過氧化酶 (HRP)-驢-抗-兔抗體，將試樣與標準溶液再培育一小時。
- 10 與 3,3',5,5'-四甲基聯苯胺(TMB)溶液一起培育後，讀取培養盤之 OD₄₅₀，進行檢測評估(第 8 圖)。

- 透過此項技藝中悉知之試管內、活體外、及活體內試驗可達成本發明多肽活性之表露。例如，欲表露醫藥劑用於治療糖尿病與相關病症例如 X 症候群、葡萄糖耐力受損、空腹葡萄糖障礙、與高胰島素血症；粥樣硬化性疾病與相關病症例如高三酸甘油酯血症與高膽固醇血症；及肥胖症之效力，可進行下述試驗。
- 15

血糖含量測定方法

- 進行 db/db 小鼠(得自 Jackson Laboratories, Bar Harbor, ME)之抽血(經由眼睛或尾靜脈)，根據相等的血糖含量平均值將小鼠分組。每天以測試多肽進行經口給藥(於醫藥上可接受之載劑中強行餵飼)一次，共計 14 天。此時，再經由眼睛或尾靜脈抽血及測定血糖含量。各情形下，係以 Glucometer Elite XL (Bayer Corporation, Elkhart,
- 20

五、發明說明 (77)

IN)測定葡萄糖含量。

三酸甘油酯含量測定方法

進行 hApoA1 小鼠(得自 Jackson Laboratories, Bar Harbor, ME)之抽血(經由眼睛或尾靜脈)，根據相等的血清
5 三酸甘油酯含量平均值將小鼠分組。每天以測試多肽進行
經口給藥(於醫藥上可接受之載劑中強行餵飼)一次，共計
8 天。然後，再經由眼睛或尾靜脈抽血及測定血清三酸甘
油酯含量。各情形下，係以 Technicon Axon Autoanalyzer
(Bayer Corporation, Tarrytown, NY)測定三酸甘油酯含
10 量。

HDL-膽固醇含量測定方法

欲測定血漿 HDL-膽固醇含量時，進行 hApoA1 小鼠
之抽血，並根據相等的血漿 HDL-膽固醇含量平均值將小
鼠分組。每天以載劑或測試多肽經口給藥一次，共計 7
15 天，於第 8 天再進行抽血。使用 Synchron Clinical System
(CX4) (Beckman Coulter, Fullerton, CA)分析血漿之 HDL-
膽固醇。

總膽固醇、HDL-膽固醇、三酸甘油酯、與葡萄糖含量測定方法

20 於另一活體內試驗中，進行肥胖猴之抽血，然後每天
以載劑或測試多肽經口給藥一次，共計 4 週，再抽血一
次。使用 Synchron Clinical System (CX4) (Beckman
Coulter, Fullerton, CA)分析血清之總膽固醇、HDL-膽固
醇、三酸甘油酯、與葡萄糖。如 Oliver 等(Proc. Natl.

五、發明說明 (78)

Acad. Sci. USA 98:5306-5311, 2001)所述，利用 NMR 光譜法進行脂蛋白亞族分析。

對心血管參數的影響之測定方法

亦針對心血管參數(例如，心搏數與血壓)進行評估。

- 5 以載劑或多肽每天一次，對 SHR 大鼠經口給藥 2 週。使用如 Grinsell 等(Am. J. Hypertens. 13:370-375, 2000)所述之尾動脈收縮壓測量法(tail-cuff method)測量血壓與心搏數。於猴子之試驗中，係如 Shen 等(J. Pharmacol. Exp. Therap. 278:1435-1443, 1996)所述，偵測血壓與心搏數。
- 10 **化合物對於整夜禁食之瘦鼠飼料攝取量減少(抑制食慾)之效力評估**

禁食後再餵飼之短期餵食試驗(Fasted-Refed Acute Feeding Assay)

- 此實驗流程之目的在於測定單一劑量未知化合物對於
- 15 整夜禁食之瘦鼠消耗食物之效應。肥胖症領域中常使用禁食後再餵飼之大鼠模式來鑑定具有抑制食慾效應潛力之化合物。此動物模式曾成功地用來鑑別與確認用於或已用於處理肥胖者的體重的化合物之效力性質(參見，例如，Balvet et al., Gen. Pharmacol. 13:293-297, 1982 ;
- 20 Grignaschi et al., Br. J. Pharmacol. 127:1190-1194, 1999 ; McTavish and Heel, Drug 43:713-733, 1992 ; Rowland et al., Life Sci. 36:2295-2300, 1985)。

典型之研究包含平均體重大約 280 克之 60-80 隻大公鼠(n=10/處理組)。於控制溫度與濕度及 12/12 光暗週期之

五、發明說明 (79)

標準動物室中餵飼大鼠。將大鼠分籠餵飼於鋪設網狀物之吊籠中，持續供應水及飼料至禁食供研究用為止。

載劑試驗：根據大鼠在載劑試驗中之表現予以分組。

載劑試驗在進行效力試驗之前 2 至 7 天間進行。於暗期，

- 5 使大鼠整夜禁食(共約 16-18 小時)。然後供與 0.5 毫升脫離子水，一小時後，將預先稱重之飼料罐放回動物籠中，令大鼠食用一小時。1 小時後，將溢出之飼料回收於飼料罐中，測量大鼠消耗之飼料重。根據其結果將大鼠分組，使得各組間平均 1 小時飼料消耗量之平均值與標準誤差均
- 10 相近。

- 效力試驗：於暗期，使大鼠整夜禁食(共約 16-18 小時)。然後以指定之多肽劑量處理。一小時後，將預先稱重之飼料罐放回籠中。其後 30、60、90、180、與 240 分鐘，記錄飼料之攝取量。於各時間點，將溢出之飼料回收
- 15 於飼料罐中，然後將飼料罐稱重。測量各時間點之飼料消耗量。使用適當統計分析測定各處理組間之差異。

化合物對於肥胖的薩克(Zucker)fa/fa 大鼠體重及飼料與水消耗量減少之效力評估

長期餵食試驗(Chronic Feeding Assay)

- 20 此實驗流程之目的在於測定未知化合物之長期投與對於肥胖的薩克 fa/fa 大鼠體重及飼料與水消耗量之效力。肥胖的薩克 fa/fa 大鼠常用來測定減重中之化合物效力。此動物模式曾成功地用來鑑別及確認用於或已用於處理肥胖者的體重的化合物之效力性質(參見，例如，A1-

五、發明說明 (80)

- Barazanji et al., Obes Res. 8:317-323, 2000 ;
Assimacopoulos-Jeannet et al., Am. J. Physiol. 260(2 Pt
2):R278-283, 1991 ; Dryden et al., Horm. Metab. Res.
31:363-366, 1999 ; Edwards and Stevens, Pharmacol.
5 Biochem. Behav. 47:865-872, 1994 ; Grinker et al.,
Pharmacol. Biochem. Behav. 12:265-275, 1980)。

典型之研究包含平均體重大約 550 克之 60-80 隻薩克
fa/fa 公鼠(n=10/處理組)。於控制溫度與濕度及 12/12 光
暗週期之標準動物室中餵飼大鼠。持續供應水及飼料。將
10 每大鼠分籠餵飼於鋪設方格網之大鼠鞋盒中。於記錄體重
及 24 小時飼料與水消耗量之二日基線測量之前，使老鼠
適應方格網地板及研究載劑之模擬用藥至少四天。根據其
基線體重，將老鼠分派於 6-8 個處理組之一，使得各組間
平均體重之平均值與標準誤差均相近。

- 15 每天於光暗週期之暗期以前，以分派之多肽劑量經口
強飼老鼠，如此進行預定之日數(典型地為 6-14 天)。於
餵飼時，同時測量體重、飼料與水之消耗量。最後一天，
利用 CO₂ 吸入法使老鼠安樂死，並測量體重。

- 20 使用此長期餵食試驗，可測定本發明多肽對於減少或
控制體重之效力。

以上說明書中提及的所有文獻及專利案均併入本文以
資參考。對於熟悉此項技藝人士而言，在不偏離本發明範
圍及精神下，本發明所述組成物與方法之各種修飾及變化
乃顯見之事。本發明中雖曾以詳細較佳具體實例加以敘

五、發明說明 (81)

述，惟需瞭解本發明之請求不應過度受限於此等詳例。事實上，熟習分子生物或相關領域人士顯知之實施本發明上述模式之各種修飾意欲涵蓋於下述申請專利範圍內。熟習此項技藝人士將認知，或可確信只要使用例行實驗，即可
5 獲得本文所述本發明詳細具體實例之許多相等物。該等相等物意欲涵蓋於下述申請專利範圍內。

[圖式簡單說明]

第 1a 至 1d 圖描述多肽 SEQ ID NOs: 1 至 152 之胺基酸序列。SEQ ID NOs: 115 至 152 係指於半胱胺酸 C 端經由馬來醯亞胺鍵結被 PEG 基化之胜肽。PEG 可為 22 kD
10 線型 PEG 或 43 kD 分支鏈 PEG。

第 2 圖描述選殖入 pGEX-6P-1 中以產生 SEQ ID NO: 1 胺基酸序列之 DNA 序列(SEQ ID NO: 153)。劃出底線之限制切割酶位置 BamHI 與 Xho 容許對框選殖(in frame
15 cloning)入 pGEX-6P-1 表現載體中。編碼 Xa 因子識別位置之 12 單元 DNA 序列及 2 個終止密碼子以粗字體突顯出來。中間未突顯的序列編碼 SEQ ID NO: 1 (胺基酸序列)。得自 VIP 之突變密碼子以小寫字母核苷酸描述。

第 3a 至 3h 圖描述 SEQ ID NOs: 154 至 264 之核苷酸
20 序列。這些核苷酸序列編碼本發明之多肽。

第 4 圖乃說明暴露於本發明 PEG 基化胜肽後，分散的大鼠胰島細胞分泌胰島素之條形圖。

第 5 圖乃表露利用皮下(SC)途徑投與本發明 PEG 基化胜肽，葡萄糖消耗(disposal)增進之條形圖。

五、發明說明 (82)

第 6 圖描述三個 VPAC2 類似物(P5、P7、與對照組 R3P66)在 1 毫克/毫升含 150 mM NaCl 與 20 mM 磷酸鹽，pH 8.0 之水性溶液中，於 40°C 培育期間之穩定性趨向。

試樣係利用毛細管電泳法進行分析，以測定胜肽純度。於

5 第 2 週與第 4 週時間點之純度係以初始之純度百分比予以常態化。

第 7 圖描述三個 VPAC2 類似物(P7、P8、與對照組 R3P66)在 2 毫克/毫升二甲亞砜(DMSO)溶液中，於 40°C 培育期間之穩定性趨向。試樣係利用毛細管電泳法進行分

10 析，以測定胜肽純度。於第 2 週與第 4 週時間點之純度係以初始之純度百分比予以常態化。

第 8 圖說明全長 PEG 基化胜肽相較於 N 端缺少一個胺基酸之相似 PEG 基化胜肽之選擇性辨識。

裝

訂

線

五、發明說明 (83)

序列表

<110> 拜耳醫藥品公司 (Bayer Pharmaceuticals Corporation)

潘曉群 (Clark PAN)

威廉 (James WHELAN)

王有章 (Yu-Chang John WANG)

弗羅倫 (Wayne A. FROLAND)

凱爾諾 (Drew N. KELNER)

杜瑪斯 (Michael L. DUMAS)

王煒 (Wei WANG)

<120> 腦下腺腺苷酸環化酶活化胜肽 (PACAP) 受體 (VPAC2) 作用劑及其使用之藥理方法

<130> MSB-7295

<150> US 60/395,738

<151> 2002-07-12

<160> 264

<170> PatentIn 版本 3.2

<210> 1

<211> 31

<212> PRT

<213> 智人

<400> 1

His Ser Asp Ala Val Phe Thr Asp Gln Tyr Thr Arg Leu Arg Lys Gln
 1 5 10 15

Val Ala Ala Lys Lys Tyr Leu Gln Ser Ile Lys Gln Lys Arg Tyr
 20 25 30

<210> 2

<211> 31

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<221> 各項特徵

<222> (1) .. (31)

<223> AC為乙酯基

<400> 2

Ac-His Thr Asp Ala Val Phe Thr Asp Gln Tyr Thr Arg Leu Arg Lys Gln
 1 5 10 15

Val Ala Ala Lys Lys Tyr Leu Gln Ser Ile Lys Gln Lys Arg Tyr
 20 25 30

<210> 3

<211> 31

<212> PRT

<213> 智人

<400> 3

His Ser Asp Ala Val Phe Thr Asp Gln Tyr Thr Arg Leu Arg Lys Gln
 1 5 10 15

五、發明說明 (84)

Met Ala Ala Lys Lys Tyr Leu Gln Ser Ile Lys Gln Lys Arg Tyr
 20 25 30

<210> 4
 <211> 29
 <212> PRT
 <213> 智人

<400> 4

His Ser Asp Ala Val Phe Thr Asp Gln Tyr Thr Arg Leu Arg Lys Gln
 1 5 10 15

Val Ala Ala Lys Lys Tyr Leu Gln Ser Ile Lys Gln Lys
 20 25

<210> 5
 <211> 31
 <212> PRT
 <213> 智人

<400> 5

His Thr Glu Ala Val Phe Thr Asp Gln Tyr Thr Arg Leu Arg Lys Gln
 1 5 10 15

Val Ala Ala Lys Lys Tyr Leu Gln Ser Ile Lys Gln Lys Arg Tyr
 20 25 30

<210> 6
 <211> 31
 <212> PRT
 <213> 智人

<400> 6

His Ser Asp Ala Val Phe Thr Asp Gln Tyr Thr Arg Leu Arg Lys Gln
 1 5 10 15

Leu Ala Val Lys Lys Tyr Leu Gln Asp Ile Lys Gln Gly Gly Thr
 20 25 30

<210> 7
 <211> 30
 <212> PRT
 <213> 智人

<400> 7

His Ser Asp Ala Val Phe Thr Asp Gln Tyr Thr Arg Leu Arg Lys Gln
 1 5 10 15

Met Ala Ala Lys Lys Tyr Leu Gln Ser Ile Lys Gln Lys Arg
 20 25 30

<210> 8
 <211> 31
 <212> PRT
 <213> 智人

五、發明說明 (85)

<400> 8

His Ser Asp Ala Val Phe Thr Asp Gln Tyr Thr Arg Leu Arg Lys Gln
 1 5 10 15

Leu Ala Ala Lys Lys Tyr Leu Gln Thr Ile Lys Gln Lys Arg Tyr
 20 25 30

<210> 9

<211> 31

<212> PRT

<213> 智人

<400> 9

His Ser Asp Ala Val Phe Thr Asp Gln Tyr Thr Arg Leu Arg Lys Gln
 1 5 10 15

Met Ala Ala Lys Lys Tyr Leu Gln Thr Ile Lys Gln Lys Arg Tyr
 20 25 30

<210> 10

<211> 31

<212> PRT

<213> 智人

<400> 10

His Ser Asp Ala Val Phe Thr Asp Gln Tyr Thr Arg Leu Arg Lys Gln
 1 5 10 15

Met Ala Ala His Lys Tyr Leu Gln Ser Ile Lys Gln Lys Arg Tyr
 20 25 30

<210> 11

<211> 31

<212> PRT

<213> 智人

<400> 11

His Ser Asp Ala Val Phe Thr Asp Gln Tyr Thr Arg Leu Arg Lys Gln
 1 5 10 15

Met Ala Ala Lys His Tyr Leu Gln Ser Ile Lys Gln Lys Arg Tyr
 20 25 30

<210> 12

<211> 30

<212> PRT

<213> 智人

<400> 12

His Ser Asp Ala Val Phe Thr Asp Gln Tyr Thr Arg Leu Arg Lys Gln
 1 5 10 15

Met Ala Gly Lys Lys Tyr Leu Gln Ser Ile Lys Gln Lys Arg
 20 25 30

五、發明說明 (86)

<210> 13
 <211> 30
 <212> PRT
 <213> 智人

<400> 13

His Ser Asp Ala Val Phe Thr Asp Gln Tyr Thr Arg Leu Arg Lys Gln
 1 5 10 15

Met Ala Lys Lys Lys Tyr Leu Gln Ser Ile Lys Gln Lys Arg
 20 25 30

<210> 14
 <211> 30
 <212> PRT
 <213> 智人

<400> 14

His Ser Asp Ala Val Phe Thr Asp Gln Tyr Thr Arg Leu Arg Lys Gln
 1 5 10 15

Met Ala Arg Lys Lys Tyr Leu Gln Ser Ile Lys Gln Lys Arg
 20 25 30

<210> 15
 <211> 30
 <212> PRT
 <213> 智人

<400> 15

His Ser Asp Ala Val Phe Thr Asp Gln Tyr Thr Arg Leu Arg Lys Gln
 1 5 10 15

Met Ala Ser Lys Lys Tyr Leu Gln Ser Ile Lys Gln Lys Arg
 20 25 30

<210> 16
 <211> 30
 <212> PRT
 <213> 智人

<400> 16

His Ser Asp Ala Val Phe Thr Asp Gln Tyr Thr Arg Leu Arg Lys Gln
 1 5 10 15

Met Ala Ala Lys Lys Tyr Leu Gln Ser Ile Pro Gln Lys Arg
 20 25 30

<210> 17
 <211> 30
 <212> PRT
 <213> 智人

<400> 17

五、發明說明 (87)

His Ser Asp Ala Val Phe Thr Asp Gln Tyr Thr Arg Leu Arg Lys Gln
1 5 10 15

Met Ala Ala Lys Lys Tyr Leu Gln Ser Ile Gln Gln Lys Arg
20 25 30

<210> 18
<211> 30
<212> PRT
<213> 智人

<400> 18

His Ser Asp Ala Val Phe Thr Asp Gln Tyr Thr Arg Leu Arg Lys Gln
1 5 10 15

Met Ala Ala Lys Lys Tyr Leu Gln Ser Ile Arg Gln Lys Arg
20 25 30

<210> 19
<211> 30
<212> PRT
<213> 智人

<400> 19

His Ser Asp Ala Val Phe Thr Asp Gln Tyr Thr Arg Leu Arg Lys Gln
1 5 10 15

Met Ala Ala Lys Lys Tyr Leu Gln Ser Ile Lys Gln Arg Arg
20 25 30

<210> 20
<211> 30
<212> PRT
<213> 智人

<400> 20

His Ser Asp Ala Val Phe Thr Asp Gln Tyr Thr Arg Leu Arg Lys Gln
1 5 10 15

Met Ala Ala Lys Lys Tyr Leu Gln Ser Ile Lys Gln Lys Ala
20 25 30

<210> 21
<211> 30
<212> PRT
<213> 智人

<400> 21

His Ser Asp Ala Val Phe Thr Asp Gln Tyr Thr Arg Leu Arg Lys Gln
1 5 10 15

Met Ala Ala Lys Lys Tyr Leu Gln Ser Ile Lys Gln Lys Phe
20 25 30

<210> 22

裝
訂
線

五、發明說明 (88)

<211> 30
 <212> PRT
 <213> 智人

<400> 22

His Ser Asp Ala Val Phe Thr Asp Gln Tyr Thr Arg Leu Arg Lys Gln
 1 5 10 15

Met Ala Ala Lys Lys Tyr Leu Gln Ser Ile Lys Gln Lys His
 20 25 30

<210> 23
 <211> 30
 <212> PRT
 <213> 智人

<400> 23

His Ser Asp Ala Val Phe Thr Asp Gln Tyr Thr Arg Leu Arg Lys Gln
 1 5 10 15

Met Ala Ala Lys Lys Tyr Leu Gln Ser Ile Lys Gln Lys Ile
 20 25 30

<210> 24
 <211> 30
 <212> PRT
 <213> 智人

<400> 24

His Ser Asp Ala Val Phe Thr Asp Gln Tyr Thr Arg Leu Arg Lys Gln
 1 5 10 15

Met Ala Ala Lys Lys Tyr Leu Gln Ser Ile Lys Gln Lys Lys
 20 25 30

<210> 25
 <211> 30
 <212> PRT
 <213> 智人

<400> 25

His Ser Asp Ala Val Phe Thr Asp Gln Tyr Thr Arg Leu Arg Lys Gln
 1 5 10 15

Met Ala Ala Lys Lys Tyr Leu Gln Ser Ile Lys Gln Lys Leu
 20 25 30

<210> 26
 <211> 30
 <212> PRT
 <213> 智人

<400> 26

His Ser Asp Ala Val Phe Thr Asp Gln Tyr Thr Arg Leu Arg Lys Gln
 1 5 10 15

五、發明說明 (89)

Met Ala Ala Lys Lys Tyr Leu Gln Ser Ile Lys Gln Lys Met
20 25 30

<210> 27
<211> 30
<212> PRT
<213> 智人

<400> 27

His Ser Asp Ala Val Phe Thr Asp Gln Tyr Thr Arg Leu Arg Lys Gln
1 5 10 15

Met Ala Ala Lys Lys Tyr Leu Gln Ser Ile Lys Gln Lys Pro
20 25 30

<210> 28
<211> 30
<212> PRT
<213> 智人

<400> 28

His Ser Asp Ala Val Phe Thr Asp Gln Tyr Thr Arg Leu Arg Lys Gln
1 5 10 15

Met Ala Ala Lys Lys Tyr Leu Gln Ser Ile Lys Gln Lys Gln
20 25 30

<210> 29
<211> 30
<212> PRT
<213> 智人

<400> 29

His Ser Asp Ala Val Phe Thr Asp Gln Tyr Thr Arg Leu Arg Lys Gln
1 5 10 15

Met Ala Ala Lys Lys Tyr Leu Gln Ser Ile Lys Gln Lys Ser
20 25 30

<210> 30
<211> 30
<212> PRT
<213> 智人

<400> 30

His Ser Asp Ala Val Phe Thr Asp Gln Tyr Thr Arg Leu Arg Lys Gln
1 5 10 15

Met Ala Ala Lys Lys Tyr Leu Gln Ser Ile Lys Gln Lys Thr
20 25 30

<210> 31
<211> 30
<212> PRT
<213> 智人

五、發明說明 (90)

<400> 31
His Ser Asp Ala Val Phe Thr Asp Gln Tyr Thr Arg Leu Arg Lys Gln
1 5 10 15
Met Ala Ala Lys Lys Tyr Leu Gln Ser Ile Lys Gln Lys Val
20 25 30

<210> 32
<211> 30
<212> PRT
<213> 智人

<400> 32
His Ser Asp Ala Val Phe Thr Asp Gln Tyr Thr Arg Leu Arg Lys Gln
1 5 10 15
Met Ala Ala Lys Lys Tyr Leu Gln Ser Ile Lys Gln Lys Trp
20 25 30

<210> 33
<211> 30
<212> PRT
<213> 智人

<400> 33
His Ser Asp Ala Val Phe Thr Asp Gln Tyr Thr Arg Leu Arg Lys Gln
1 5 10 15
Met Ala Ala Lys Lys Tyr Leu Gln Ser Ile Lys Gln Lys Tyr
20 25 30

<210> 34
<211> 30
<212> PRT
<213> 智人

<400> 34
His Ser Asp Ala Val Phe Thr Asp Gln Tyr Thr Arg Leu Arg Lys Gln
1 5 10 15
Met Ala Gly Lys Lys Tyr Leu Gln Ser Ile Lys Gln Arg Ile
20 25 30

<210> 35
<211> 30
<212> PRT
<213> 智人

<400> 35
His Ser Asp Ala Val Phe Thr Asp Gln Tyr Thr Arg Leu Arg Lys Gln
1 5 10 15
Met Ala Lys Lys Lys Tyr Leu Gln Ser Ile Lys Gln Arg Ile
20 25 30

五、發明說明 (91)

<210> 36
 <211> 30
 <212> PRT
 <213> 智人

<400> 36

His Ser Asp Ala Val Phe Thr Asp Gln Tyr Thr Arg Leu Arg Lys Gln
 1 5 10 15

Met Ala Ser Lys Lys Tyr Leu Gln Ser Ile Lys Gln Arg Ile
 20 25 30

<210> 37
 <211> 30
 <212> PRT
 <213> 智人

<400> 37

His Ser Asp Ala Val Phe Thr Asp Gln Tyr Thr Arg Leu Arg Lys Gln
 1 5 10 15

Met Ala Ala Lys Lys Tyr Leu Gln Ser Ile Pro Gln Arg Ile
 20 25 30

<210> 38
 <211> 30
 <212> PRT
 <213> 智人

<400> 38

His Ser Asp Ala Val Phe Thr Asp Gln Tyr Thr Arg Leu Arg Lys Gln
 1 5 10 15

Met Ala Ser Lys Lys Tyr Leu Gln Ser Ile Arg Gln Arg Ile
 20 25 30

<210> 39
 <211> 31
 <212> PRT
 <213> 智人

<400> 39

His Ser Asp Ala Val Phe Thr Asp Asn Tyr Thr Arg Leu Arg Lys Gln
 1 5 10 15

Val Ala Ala Lys Lys Tyr Leu Gln Ser Ile Lys Gln Lys Arg Tyr
 20 25 30

<210> 40
 <211> 31
 <212> PRT
 <213> 智人

<220>

五、發明說明 (92)

<221> 各項特徵
 <222> (1)..(31)
 <223> AC為乙酰基

<400> 40

Ac-His Thr Asp Ala Val Phe Thr Asp Asn Tyr Thr Arg Leu Arg Lys Gln
 1 5 10 15

Val Ala Ala Lys Lys Tyr Leu Gln Ser Ile Lys Gln Lys Arg Tyr
 20 25 30

<210> 41
 <211> 31
 <212> PRT
 <213> 智人

<400> 41

His Ser Asp Ala Val Phe Thr Asp Asn Tyr Thr Arg Leu Arg Lys Gln
 1 5 10 15

Met Ala Ala Lys Lys Tyr Leu Gln Ser Ile Lys Gln Lys Arg Tyr
 20 25 30

<210> 42
 <211> 29
 <212> PRT
 <213> 智人

<400> 42

His Ser Asp Ala Val Phe Thr Asp Asn Tyr Thr Arg Leu Arg Lys Gln
 1 5 10 15

Val Ala Ala Lys Lys Tyr Leu Gln Ser Ile Lys Gln Lys
 20 25

<210> 43
 <211> 31
 <212> PRT
 <213> 智人

<400> 43

His Thr Glu Ala Val Phe Thr Asp Asn Tyr Thr Arg Leu Arg Lys Gln
 1 5 10 15

Val Ala Ala Lys Lys Tyr Leu Gln Ser Ile Lys Gln Lys Arg Tyr
 20 25 30

<210> 44
 <211> 31
 <212> PRT
 <213> 智人

<400> 44

His Ser Asp Ala Val Phe Thr Asp Asn Tyr Thr Arg Leu Arg Lys Gln
 1 5 10 15

五、發明說明 (93)

Leu Ala Val Lys Lys Tyr Leu Gln Asp Ile Lys Gln Gly Gly Thr
20 25 30

<210> 45
<211> 30
<212> PRT
<213> 智人

<400> 45

His Ser Asp Ala Val Phe Thr Asp Asn Tyr Thr Arg Leu Arg Lys Gln
1 5 10 15

Met Ala Ala Lys Lys Tyr Leu Gln Ser Ile Lys Gln Lys Arg
20 25 30

<210> 46
<211> 31
<212> PRT
<213> 智人

<400> 46

His Ser Asp Ala Val Phe Thr Asp Asn Tyr Thr Arg Leu Arg Lys Gln
1 5 10 15

Leu Ala Ala Lys Lys Tyr Leu Gln Thr Ile Lys Gln Lys Arg Tyr
20 25 30

<210> 47
<211> 31
<212> PRT
<213> 智人

<400> 47

His Ser Asp Ala Val Phe Thr Asp Asn Tyr Thr Arg Leu Arg Lys Gln
1 5 10 15

Met Ala Ala Lys Lys Tyr Leu Gln Thr Ile Lys Gln Lys Arg Tyr
20 25 30

<210> 48
<211> 31
<212> PRT
<213> 智人

<400> 48

His Ser Asp Ala Val Phe Thr Asp Asn Tyr Thr Arg Leu Arg Lys Gln
1 5 10 15

Met Ala Ala His Lys Tyr Leu Gln Ser Ile Lys Gln Lys Arg Tyr
20 25 30

<210> 49
<211> 31
<212> PRT
<213> 智人

五、發明說明 (94)

<400> 49

His Ser Asp Ala Val Phe Thr Asp Asn Tyr Thr Arg Leu Arg Lys Gln
 1 5 10 15

Met Ala Ala Lys His Tyr Leu Gln Ser Ile Lys Gln Lys Arg Tyr
 20 25 30

<210> 50
 <211> 30
 <212> PRT
 <213> 智人

<400> 50

His Ser Asp Ala Val Phe Thr Asp Asn Tyr Thr Arg Leu Arg Lys Gln
 1 5 10 15

Met Ala Gly Lys Lys Tyr Leu Gln Ser Ile Lys Gln Lys Arg
 20 25 30

<210> 51
 <211> 30
 <212> PRT
 <213> 智人

<400> 51

His Ser Asp Ala Val Phe Thr Asp Asn Tyr Thr Arg Leu Arg Lys Gln
 1 5 10 15

Met Ala Lys Lys Lys Tyr Leu Gln Ser Ile Lys Gln Lys Arg
 20 25 30

<210> 52
 <211> 30
 <212> PRT
 <213> 智人

<400> 52

His Ser Asp Ala Val Phe Thr Asp Asn Tyr Thr Arg Leu Arg Lys Gln
 1 5 10 15

Met Ala Arg Lys Lys Tyr Leu Gln Ser Ile Lys Gln Lys Arg
 20 25 30

<210> 53
 <211> 30
 <212> PRT
 <213> 智人

<400> 53

His Ser Asp Ala Val Phe Thr Asp Asn Tyr Thr Arg Leu Arg Lys Gln
 1 5 10 15

Met Ala Ser Lys Lys Tyr Leu Gln Ser Ile Lys Gln Lys Arg
 20 25 30

五、發明說明 (95)

<210> 54
<211> 30
<212> PRT
<213> 智人

<400> 54

His Ser Asp Ala Val Phe Thr Asp Asn Tyr Thr Arg Leu Arg Lys Gln
1 5 10 15

Met Ala Ala Lys Lys Tyr Leu Gln Ser Ile Pro Gln Lys Arg
20 25 30

<210> 55
<211> 30
<212> PRT
<213> 智人

<400> 55

His Ser Asp Ala Val Phe Thr Asp Asn Tyr Thr Arg Leu Arg Lys Gln
1 5 10 15

Met Ala Ala Lys Lys Tyr Leu Gln Ser Ile Gln Gln Lys Arg
20 25 30

<210> 56
<211> 30
<212> PRT
<213> 智人

<400> 56

His Ser Asp Ala Val Phe Thr Asp Asn Tyr Thr Arg Leu Arg Lys Gln
1 5 10 15

Met Ala Ala Lys Lys Tyr Leu Gln Ser Ile Arg Gln Lys Arg
20 25 30

<210> 57
<211> 30
<212> PRT
<213> 智人

<400> 57

His Ser Asp Ala Val Phe Thr Asp Asn Tyr Thr Arg Leu Arg Lys Gln
1 5 10 15

Met Ala Ala Lys Lys Tyr Leu Gln Ser Ile Lys Gln Arg Arg
20 25 30

<210> 58
<211> 30
<212> PRT
<213> 智人

<400> 58

經濟部智慧財產局員工消費合作社印製

裝
訂
線

五、發明說明 (96)

His Ser Asp Ala Val Phe Thr Asp Asn Tyr Thr Arg Leu Arg Lys Gln
1 5 10 15

Met Ala Ala Lys Lys Tyr Leu Gln Ser Ile Lys Gln Lys Ala
20 25 30

<210> 59
<211> 30
<212> PRT
<213> 智人

<400> 59

His Ser Asp Ala Val Phe Thr Asp Asn Tyr Thr Arg Leu Arg Lys Gln
1 5 10 15

Met Ala Ala Lys Lys Tyr Leu Gln Ser Ile Lys Gln Lys Phe
20 25 30

<210> 60
<211> 30
<212> PRT
<213> 智人

<400> 60

His Ser Asp Ala Val Phe Thr Asp Asn Tyr Thr Arg Leu Arg Lys Gln
1 5 10 15

Met Ala Ala Lys Lys Tyr Leu Gln Ser Ile Lys Gln Lys His
20 25 30

<210> 61
<211> 30
<212> PRT
<213> 智人

<400> 61

His Ser Asp Ala Val Phe Thr Asp Asn Tyr Thr Arg Leu Arg Lys Gln
1 5 10 15

Met Ala Ala Lys Lys Tyr Leu Gln Ser Ile Lys Gln Lys Ile
20 25 30

<210> 62
<211> 30
<212> PRT
<213> 智人

<400> 62

His Ser Asp Ala Val Phe Thr Asp Asn Tyr Thr Arg Leu Arg Lys Gln
1 5 10 15

Met Ala Ala Lys Lys Tyr Leu Gln Ser Ile Lys Gln Lys Lys
20 25 30

<210> 63

五、發明說明 (97)

<211> 30
<212> PRT
<213> 智人

<400> 63

His Ser Asp Ala Val Phe Thr Asp Asn Tyr Thr Arg Leu Arg Lys Gln
1 5 10 15

Met Ala Ala Lys Lys Tyr Leu Gln Ser Ile Lys Gln Lys Leu
20 25 30

<210> 64
<211> 30
<212> PRT
<213> 智人

<400> 64

His Ser Asp Ala Val Phe Thr Asp Asn Tyr Thr Arg Leu Arg Lys Gln
1 5 10 15

Met Ala Ala Lys Lys Tyr Leu Gln Ser Ile Lys Gln Lys Met
20 25 30

<210> 65
<211> 30
<212> PRT
<213> 智人

<400> 65

His Ser Asp Ala Val Phe Thr Asp Asn Tyr Thr Arg Leu Arg Lys Gln
1 5 10 15

Met Ala Ala Lys Lys Tyr Leu Gln Ser Ile Lys Gln Lys Pro
20 25 30

<210> 66
<211> 30
<212> PRT
<213> 智人

<400> 66

His Ser Asp Ala Val Phe Thr Asp Asn Tyr Thr Arg Leu Arg Lys Gln
1 5 10 15

Met Ala Ala Lys Lys Tyr Leu Gln Ser Ile Lys Gln Lys Gln
20 25 30

<210> 67
<211> 30
<212> PRT
<213> 智人

<400> 67

His Ser Asp Ala Val Phe Thr Asp Asn Tyr Thr Arg Leu Arg Lys Gln
1 5 10 15

五、發明說明 (98)

Met Ala Ala Lys Lys Tyr Leu Gln Ser Ile Lys Gln Lys Ser
20 25 30

<210> 68
<211> 30
<212> PRT
<213> 智人

<400> 68

His Ser Asp Ala Val Phe Thr Asp Asn Tyr Thr Arg Leu Arg Lys Gln
1 5 10 15

Met Ala Ala Lys Lys Tyr Leu Gln Ser Ile Lys Gln Lys Thr
20 25 30

<210> 69
<211> 30
<212> PRT
<213> 智人

<400> 69

His Ser Asp Ala Val Phe Thr Asp Asn Tyr Thr Arg Leu Arg Lys Gln
1 5 10 15

Met Ala Ala Lys Lys Tyr Leu Gln Ser Ile Lys Gln Lys Val
20 25 30

<210> 70
<211> 30
<212> PRT
<213> 智人

<400> 70

His Ser Asp Ala Val Phe Thr Asp Asn Tyr Thr Arg Leu Arg Lys Gln
1 5 10 15

Met Ala Ala Lys Lys Tyr Leu Gln Ser Ile Lys Gln Lys Trp
20 25 30

<210> 71
<211> 30
<212> PRT
<213> 智人

<400> 71

His Ser Asp Ala Val Phe Thr Asp Asn Tyr Thr Arg Leu Arg Lys Gln
1 5 10 15

Met Ala Ala Lys Lys Tyr Leu Gln Ser Ile Lys Gln Lys Tyr
20 25 30

<210> 72
<211> 30
<212> PRT
<213> 智人

五、發明說明 (99)

<400> 72

His Ser Asp Ala Val Phe Thr Asp Asn Tyr Thr Arg Leu Arg Lys Gln
 1 5 10 15

Met Ala Gly Lys Lys Tyr Leu Gln Ser Ile Lys Gln Arg Ile
 20 25 30

<210> 73

<211> 30

<212> PRT

<213> 智人

<400> 73

His Ser Asp Ala Val Phe Thr Asp Asn Tyr Thr Arg Leu Arg Lys Gln
 1 5 10 15

Met Ala Lys Lys Lys Tyr Leu Gln Ser Ile Lys Gln Arg Ile
 20 25 30

<210> 74

<211> 30

<212> PRT

<213> 智人

<400> 74

His Ser Asp Ala Val Phe Thr Asp Asn Tyr Thr Arg Leu Arg Lys Gln
 1 5 10 15

Met Ala Ser Lys Lys Tyr Leu Gln Ser Ile Lys Gln Arg Ile
 20 25 30

<210> 75

<211> 30

<212> PRT

<213> 智人

<400> 75

His Ser Asp Ala Val Phe Thr Asp Asn Tyr Thr Arg Leu Arg Lys Gln
 1 5 10 15

Met Ala Ala Lys Lys Tyr Leu Gln Ser Ile Pro Gln Arg Ile
 20 25 30

<210> 76

<211> 30

<212> PRT

<213> 智人

<400> 76

His Ser Asp Ala Val Phe Thr Asp Asn Tyr Thr Arg Leu Arg Lys Gln
 1 5 10 15

Met Ala Ser Lys Lys Tyr Leu Gln Ser Ile Arg Gln Arg Ile
 20 25 30

五、發明說明 (100)

<210> 77
<211> 31
<212> PRT
<213> 智人

<400> 77

His Ser Asp Ala Val Phe Thr Asp Gln Tyr Thr Arg Leu Arg Lys Gln
1 5 10 15
Val Ala Ala Lys Lys Tyr Leu Gln Ser Ile Lys Asn Lys Arg Tyr
20 25 30

<210> 78
<211> 31
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<221> 各項特徵
<222> (1)..(31)
<223> AC為乙酰基

<400> 78

Ac-His Thr Asp Ala Val Phe Thr Asp Gln Tyr Thr Arg Leu Arg Lys Gln
1 5 10 15
Val Ala Ala Lys Lys Tyr Leu Gln Ser Ile Lys Asn Lys Arg Tyr
20 25 30

<210> 79
<211> 31
<212> PRT
<213> 智人

<400> 79

His Ser Asp Ala Val Phe Thr Asp Gln Tyr Thr Arg Leu Arg Lys Gln
1 5 10 15
Met Ala Ala Lys Lys Tyr Leu Gln Ser Ile Lys Asn Lys Arg Tyr
20 25 30

<210> 80
<211> 29
<212> PRT
<213> 智人

<400> 80

His Ser Asp Ala Val Phe Thr Asp Gln Tyr Thr Arg Leu Arg Lys Gln
1 5 10 15
Val Ala Ala Lys Lys Tyr Leu Gln Ser Ile Lys Asn Lys
20 25

<210> 81

裝
訂
線

五、發明說明 (101)

<211> 31
<212> PRT
<213> 智人

<400> 81
His Thr Glu Ala Val Phe Thr Asp Gln Tyr Thr Arg Leu Arg Lys Gln
1 5 10 15

Val Ala Ala Lys Lys Tyr Leu Gln Ser Ile Lys Asn Lys Arg Tyr
20 25 30

<210> 82
<211> 31
<212> PRT
<213> 智人

<400> 82
His Ser Asp Ala Val Phe Thr Asp Gln Tyr Thr Arg Leu Arg Lys Gln
1 5 10 15

Leu Ala Val Lys Lys Tyr Leu Gln Asp Ile Lys Asn Gly Gly Thr
20 25 30

<210> 83
<211> 30
<212> PRT
<213> 智人

<400> 83
His Ser Asp Ala Val Phe Thr Asp Gln Tyr Thr Arg Leu Arg Lys Gln
1 5 10 15

Met Ala Ala Lys Lys Tyr Leu Gln Ser Ile Lys Asn Lys Arg
20 25 30

<210> 84
<211> 31
<212> PRT
<213> 智人

<400> 84
His Ser Asp Ala Val Phe Thr Asp Gln Tyr Thr Arg Leu Arg Lys Gln
1 5 10 15

Leu Ala Ala Lys Lys Tyr Leu Gln Thr Ile Lys Asn Lys Arg Tyr
20 25 30

<210> 85
<211> 31
<212> PRT
<213> 智人

<400> 85
His Ser Asp Ala Val Phe Thr Asp Gln Tyr Thr Arg Leu Arg Lys Gln
1 5 10 15

裝
訂
線

經濟部智慧財產局員工消費合作社印製

五、發明說明 (102)

Met Ala Ala Lys Lys Tyr Leu Gln Thr Ile Lys Asn Lys Arg Tyr
 20 25 30

<210> 86
 <211> 31
 <212> PRT
 <213> 智人

<400> 86

His Ser Asp Ala Val Phe Thr Asp Gln Tyr Thr Arg Leu Arg Lys Gln
 1 5 10 15

Met Ala Ala His Lys Tyr Leu Gln Ser Ile Lys Asn Lys Arg Tyr
 20 25 30

<210> 87
 <211> 31
 <212> PRT
 <213> 智人

<400> 87

His Ser Asp Ala Val Phe Thr Asp Gln Tyr Thr Arg Leu Arg Lys Gln
 1 5 10 15

Met Ala Ala Lys His Tyr Leu Gln Ser Ile Lys Asn Lys Arg Tyr
 20 25 30

<210> 88
 <211> 30
 <212> PRT
 <213> 智人

<400> 88

His Ser Asp Ala Val Phe Thr Asp Gln Tyr Thr Arg Leu Arg Lys Gln
 1 5 10 15

Met Ala Gly Lys Lys Tyr Leu Gln Ser Ile Lys Asn Lys Arg
 20 25 30

<210> 89
 <211> 30
 <212> PRT
 <213> 智人

<400> 89

His Ser Asp Ala Val Phe Thr Asp Gln Tyr Thr Arg Leu Arg Lys Gln
 1 5 10 15

Met Ala Lys Lys Lys Tyr Leu Gln Ser Ile Lys Asn Lys Arg
 20 25 30

<210> 90
 <211> 30
 <212> PRT
 <213> 智人

五、發明說明 (103)

<400> 90

His Ser Asp Ala Val Phe Thr Asp Gln Tyr Thr Arg Leu Arg Lys Gln
 1 5 10 15

Met Ala Arg Lys Lys Tyr Leu Gln Ser Ile Lys Asn Lys Arg
 20 25 30

<210> 91

<211> 30

<212> PRT

<213> 智人

<400> 91

His Ser Asp Ala Val Phe Thr Asp Gln Tyr Thr Arg Leu Arg Lys Gln
 1 5 10 15

Met Ala Ser Lys Lys Tyr Leu Gln Ser Ile Lys Asn Lys Arg
 20 25 30

<210> 92

<211> 30

<212> PRT

<213> 智人

<400> 92

His Ser Asp Ala Val Phe Thr Asp Gln Tyr Thr Arg Leu Arg Lys Gln
 1 5 10 15

Met Ala Ala Lys Lys Tyr Leu Gln Ser Ile Pro Asn Lys Arg
 20 25 30

<210> 93

<211> 30

<212> PRT

<213> 智人

<400> 93

His Ser Asp Ala Val Phe Thr Asp Gln Tyr Thr Arg Leu Arg Lys Gln
 1 5 10 15

Met Ala Ala Lys Lys Tyr Leu Gln Ser Ile Gln Asn Lys Arg
 20 25 30

<210> 94

<211> 30

<212> PRT

<213> 智人

<400> 94

His Ser Asp Ala Val Phe Thr Asp Gln Tyr Thr Arg Leu Arg Lys Gln
 1 5 10 15

Met Ala Ala Lys Lys Tyr Leu Gln Ser Ile Arg Asn Lys Arg
 20 25 30

五、發明說明 (104)

<210> 95
 <211> 30
 <212> PRT
 <213> 智人

<400> 95

His Ser Asp Ala Val Phe Thr Asp Gln Tyr Thr Arg Leu Arg Lys Gln
 1 5 10 15

Met Ala Ala Lys Lys Tyr Leu Gln Ser Ile Lys Asn Arg Arg
 20 25 30

<210> 96
 <211> 30
 <212> PRT
 <213> 智人

<400> 96

His Ser Asp Ala Val Phe Thr Asp Gln Tyr Thr Arg Leu Arg Lys Gln
 1 5 10 15

Met Ala Ala Lys Lys Tyr Leu Gln Ser Ile Lys Asn Lys Ala
 20 25 30

<210> 97
 <211> 30
 <212> PRT
 <213> 智人

<400> 97

His Ser Asp Ala Val Phe Thr Asp Gln Tyr Thr Arg Leu Arg Lys Gln
 1 5 10 15

Met Ala Ala Lys Lys Tyr Leu Gln Ser Ile Lys Asn Lys Phe
 20 25 30

<210> 98
 <211> 30
 <212> PRT
 <213> 智人

<400> 98

His Ser Asp Ala Val Phe Thr Asp Gln Tyr Thr Arg Leu Arg Lys Gln
 1 5 10 15

Met Ala Ala Lys Lys Tyr Leu Gln Ser Ile Lys Asn Lys His
 20 25 30

<210> 99
 <211> 30
 <212> PRT
 <213> 智人

<400> 99

五、發明說明 (105)

His Ser Asp Ala Val Phe Thr Asp Gln Tyr Thr Arg Leu Arg Lys Gln
1 5 10 15

Met Ala Ala Lys Lys Tyr Leu Gln Ser Ile Lys Asn Lys Ile
20 25 30

<210> 100

<211> 30

<212> PRT

<213> 智人

<400> 100

His Ser Asp Ala Val Phe Thr Asp Gln Tyr Thr Arg Leu Arg Lys Gln
1 5 10 15

Met Ala Ala Lys Lys Tyr Leu Gln Ser Ile Lys Asn Lys Lys
20 25 30

<210> 101

<211> 30

<212> PRT

<213> 智人

<400> 101

His Ser Asp Ala Val Phe Thr Asp Gln Tyr Thr Arg Leu Arg Lys Gln
1 5 10 15

Met Ala Ala Lys Lys Tyr Leu Gln Ser Ile Lys Asn Lys Leu
20 25 30

<210> 102

<211> 30

<212> PRT

<213> 智人

<400> 102

His Ser Asp Ala Val Phe Thr Asp Gln Tyr Thr Arg Leu Arg Lys Gln
1 5 10 15

Met Ala Ala Lys Lys Tyr Leu Gln Ser Ile Lys Asn Lys Met
20 25 30

<210> 103

<211> 30

<212> PRT

<213> 智人

<400> 103

His Ser Asp Ala Val Phe Thr Asp Gln Tyr Thr Arg Leu Arg Lys Gln
1 5 10 15

Met Ala Ala Lys Lys Tyr Leu Gln Ser Ile Lys Asn Lys Pro
20 25 30

<210> 104

五、發明說明 (106)

<211> 30
<212> PRT
<213> 智人

<400> 104

His Ser Asp Ala Val Phe Thr Asp Gln Tyr Thr Arg Leu Arg Lys Gln
1 5 10 15

Met Ala Ala Lys Lys Tyr Leu Gln Ser Ile Lys Asn Lys Gln
20 25 30

<210> 105
<211> 30
<212> PRT
<213> 智人

<400> 105

His Ser Asp Ala Val Phe Thr Asp Gln Tyr Thr Arg Leu Arg Lys Gln
1 5 10 15

Met Ala Ala Lys Lys Tyr Leu Gln Ser Ile Lys Asn Lys Ser
20 25 30

<210> 106
<211> 30
<212> PRT
<213> 智人

<400> 106

His Ser Asp Ala Val Phe Thr Asp Gln Tyr Thr Arg Leu Arg Lys Gln
1 5 10 15

Met Ala Ala Lys Lys Tyr Leu Gln Ser Ile Lys Asn Lys Thr
20 25 30

<210> 107
<211> 30
<212> PRT
<213> 智人

<400> 107

His Ser Asp Ala Val Phe Thr Asp Gln Tyr Thr Arg Leu Arg Lys Gln
1 5 10 15

Met Ala Ala Lys Lys Tyr Leu Gln Ser Ile Lys Asn Lys Val
20 25 30

<210> 108
<211> 30
<212> PRT
<213> 智人

<400> 108

His Ser Asp Ala Val Phe Thr Asp Gln Tyr Thr Arg Leu Arg Lys Gln
1 5 10 15

五、發明說明 (107)

Met Ala Ala Lys Lys Tyr Leu Gln Ser Ile Lys Asn Lys Trp
 20 25 30

<210> 109

<211> 30

<212> PRT

<213> 智人

<400> 109

His Ser Asp Ala Val Phe Thr Asp Gln Tyr Thr Arg Leu Arg Lys Gln
 1 5 10 15

Met Ala Ala Lys Lys Tyr Leu Gln Ser Ile Lys Asn Lys Tyr
 20 25 30

<210> 110

<211> 30

<212> PRT

<213> 智人

<400> 110

His Ser Asp Ala Val Phe Thr Asp Gln Tyr Thr Arg Leu Arg Lys Gln
 1 5 10 15

Met Ala Gly Lys Lys Tyr Leu Gln Ser Ile Lys Asn Arg Ile
 20 25 30

<210> 111

<211> 30

<212> PRT

<213> 智人

<400> 111

His Ser Asp Ala Val Phe Thr Asp Gln Tyr Thr Arg Leu Arg Lys Gln
 1 5 10 15

Met Ala Lys Lys Lys Tyr Leu Gln Ser Ile Lys Asn Arg Ile
 20 25 30

<210> 112

<211> 30

<212> PRT

<213> 智人

<400> 112

His Ser Asp Ala Val Phe Thr Asp Gln Tyr Thr Arg Leu Arg Lys Gln
 1 5 10 15

Met Ala Ser Lys Lys Tyr Leu Gln Ser Ile Lys Asn Arg Ile
 20 25 30

<210> 113

<211> 30

<212> PRT

<213> 智人

五、發明說明 (108)

<400> 113

His Ser Asp Ala Val Phe Thr Asp Gln Tyr Thr Arg Leu Arg Lys Gln
 1 5 10 15

Met Ala Ala Lys Lys Tyr Leu Gln Ser Ile Pro Asn Arg Ile
 20 25 30

<210> 114

<211> 30

<212> PRT

<213> 智人

<400> 114

His Ser Asp Ala Val Phe Thr Asp Gln Tyr Thr Arg Leu Arg Lys Gln
 1 5 10 15

Met Ala Ser Lys Lys Tyr Leu Gln Ser Ile Arg Asn Arg Ile
 20 25 30

<210> 115

<211> 32

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<221> 各項特徵

<222> (1)..(32)

<223> PEG為聚乙二醇

<400> 115

His Ser Asp Ala Val Phe Thr Asp Gln Tyr Thr Arg Leu Arg Lys Gln
 1 5 10 15

Val Ala Ala Lys Lys Tyr Leu Gln Ser Ile Lys Gln Lys Arg Tyr Cys-PEG
 20 25 30

<210> 116

<211> 32

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<221> 各項特徵

<222> (1)..(32)

<223> AC為乙酰基；PEG為聚乙二醇

<400> 116

Ac-His Thr Asp Ala Val Phe Thr Asp Gln Tyr Thr Arg Leu Arg Lys Gln
 1 5 10 15

Val Ala Ala Lys Lys Tyr Leu Gln Ser Ile Lys Gln Lys Arg Tyr Cys-PEG
 20 25 30

<210> 117

五、發明說明 (109)

<211> 32
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<221> 各項特徵
<222> (1)..(32)
<223> PEG為聚乙二醇

<400> 117

His Ser Asp Ala Val Phe Thr Asp Gln Tyr Thr Arg Leu Arg Lys Gln
1 5 10 15

Met Ala Ala Lys Lys Tyr Leu Gln Ser Ile Lys Gln Lys Arg Tyr Cys-PEG
20 25 30

<210> 118
<211> 30
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<221> 各項特徵
<222> (1)..(30)
<223> PEG為聚乙二醇

<400> 118

His Ser Asp Ala Val Phe Thr Asp Gln Tyr Thr Arg Leu Arg Lys Gln
1 5 10 15

Val Ala Ala Lys Lys Tyr Leu Gln Ser Ile Lys Gln Lys Cys-PEG
20 25 30

<210> 119
<211> 32
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<221> 各項特徵
<222> (1)..(32)
<223> PEG為聚乙二醇

<400> 119

His Thr Glu Ala Val Phe Thr Asp Gln Tyr Thr Arg Leu Arg Lys Gln
1 5 10 15

Val Ala Ala Lys Lys Tyr Leu Gln Ser Ile Lys Gln Lys Arg Tyr Cys-PEG
20 25 30

<210> 120
<211> 32
<212> PRT
<213> 智人

<220>

裝
訂
線

經濟部智慧財產局員工消費合作社印製

五、發明說明 (110)

<221> 各項特徵
 <222> (1)..(32)
 <223> PEG為聚乙二醇

<400> 120

His Ser Asp Ala Val Phe Thr Asp Gln Tyr Thr Arg Leu Arg Lys Gln
 1 5 10 15

Leu Ala Val Lys Lys Tyr Leu Gln Asp Ile Lys Gln Gly Gly Thr Cys-PEG
 20 25 30

<210> 121
 <211> 31
 <212> PRT
 <213> 智人

<220>
 <221> 各項特徵
 <222> (1)..(31)
 <223> PEG為聚乙二醇

<400> 121

His Ser Asp Ala Val Phe Thr Asp Gln Tyr Thr Arg Leu Arg Lys Gln
 1 5 10 15

Met Ala Ala Lys Lys Tyr Leu Gln Ser Ile Lys Gln Lys Arg Cys-PEG
 20 25 30

<210> 122
 <211> 32
 <212> PRT
 <213> 智人

<220>
 <221> 各項特徵
 <222> (1)..(32)
 <223> PEG為聚乙二醇

<400> 122

His Ser Asp Ala Val Phe Thr Asp Gln Tyr Thr Arg Leu Arg Lys Gln
 1 5 10 15

Leu Ala Ala Lys Lys Tyr Leu Gln Thr Ile Lys Gln Lys Arg Tyr Cys-PEG
 20 25 30

<210> 123
 <211> 32
 <212> PRT
 <213> 智人

<220>
 <221> 各項特徵
 <222> (1)..(32)
 <223> PEG為聚乙二醇

<400> 123

五、發明說明 (111)

His Ser Asp Ala Val Phe Thr Asp Gln Tyr Thr Arg Leu Arg Lys Gln
1 5 10 15

Met Ala Ala Lys Lys Tyr Leu Gln Thr Ile Lys Gln Lys Arg Tyr Cys-PEG
20 25 30

<210> 124
<211> 32
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<221> 各項特徵
<222> (1)..(32)
<223> PEG為聚乙二醇

<400> 124

His Ser Asp Ala Val Phe Thr Asp Gln Tyr Thr Arg Leu Arg Lys Gln
1 5 10 15

Met Ala Ala His Lys Tyr Leu Gln Ser Ile Lys Gln Lys Arg Tyr Cys-PEG
20 25 30

<210> 125
<211> 32
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<221> 各項特徵
<222> (1)..(32)
<223> PEG為聚乙二醇

<400> 125

His Ser Asp Ala Val Phe Thr Asp Gln Tyr Thr Arg Leu Arg Lys Gln
1 5 10 15

Met Ala Ala Lys His Tyr Leu Gln Ser Ile Lys Gln Lys Arg Tyr Cys-PEG
20 25 30

<210> 126
<211> 31
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<221> 各項特徵
<222> (1)..(31)
<223> PEG為聚乙二醇

<400> 126

His Ser Asp Ala Val Phe Thr Asp Gln Tyr Thr Arg Leu Arg Lys Gln
1 5 10 15

Met Ala Gly Lys Lys Tyr Leu Gln Ser Ile Lys Gln Lys Arg Cys-PEG
20 25 30

經濟部智慧財產局員工消費合作社印製

裝
訂
線

五、發明說明 (112)

<210> 127
 <211> 31
 <212> PRT
 <213> 智人

<220>
 <221> 各項特徵
 <222> (1)..(31)
 <223> PEG為聚乙二醇

<400> 127

His Ser Asp Ala Val Phe Thr Asp Gln Tyr Thr Arg Leu Arg Lys Gln
 1 5 10 15

Met Ala Lys Lys Lys Tyr Leu Gln Ser Ile Lys Gln Lys Arg Cys-PEG
 20 25 30

<210> 128
 <211> 31
 <212> PRT
 <213> 智人

<220>
 <221> 各項特徵
 <222> (1)..(31)
 <223> PEG為聚乙二醇

<400> 128

His Ser Asp Ala Val Phe Thr Asp Gln Tyr Thr Arg Leu Arg Lys Gln
 1 5 10 15

Met Ala Arg Lys Lys Tyr Leu Gln Ser Ile Lys Gln Lys Arg Cys-PEG
 20 25 30

<210> 129
 <211> 31
 <212> PRT
 <213> 智人

<220>
 <221> 各項特徵
 <222> (1)..(31)
 <223> PEG為聚乙二醇

<400> 129

His Ser Asp Ala Val Phe Thr Asp Gln Tyr Thr Arg Leu Arg Lys Gln
 1 5 10 15

Met Ala Ser Lys Lys Tyr Leu Gln Ser Ile Lys Gln Lys Arg Cys-PEG
 20 25 30

<210> 130
 <211> 31
 <212> PRT
 <213> 智人

五、發明說明 (113)

<220>
 <221> 各項特徵
 <222> (1)..(31)
 <223> PEG為聚乙二醇

<400> 130

His Ser Asp Ala Val Phe Thr Asp Gln Tyr Thr Arg Leu Arg Lys Gln
 1 5 10 15

Met Ala Ala Lys Lys Tyr Leu Gln Ser Ile Pro Gln Lys Arg Cys-PEG
 20 25 30

<210> 131
 <211> 31
 <212> PRT
 <213> 智人

<220>
 <221> 各項特徵
 <222> (1)..(31)
 <223> PEG為聚乙二醇

<400> 131

His Ser Asp Ala Val Phe Thr Asp Gln Tyr Thr Arg Leu Arg Lys Gln
 1 5 10 15

Met Ala Ala Lys Lys Tyr Leu Gln Ser Ile Gln Gln Lys Arg Cys-PEG
 20 25 30

<210> 132
 <211> 31
 <212> PRT
 <213> 智人

<220>
 <221> 各項特徵
 <222> (1)..(31)
 <223> PEG為聚乙二醇

<400> 132

His Ser Asp Ala Val Phe Thr Asp Gln Tyr Thr Arg Leu Arg Lys Gln
 1 5 10 15

Met Ala Ala Lys Lys Tyr Leu Gln Ser Ile Arg Gln Lys Arg Cys-PEG
 20 25 30

<210> 133
 <211> 31
 <212> PRT
 <213> 智人

<220>
 <221> 各項特徵
 <222> (1)..(31)
 <223> PEG為聚乙二醇

五、發明說明 (114)

<400> 133

His Ser Asp Ala Val Phe Thr Asp Gln Tyr Thr Arg Leu Arg Lys Gln
1 5 10 15

Met Ala Ala Lys Lys Tyr Leu Gln Ser Ile Lys Gln Arg Arg Cys-PEG
20 25 30

<210> 134
<211> 31
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<221> 各項特徵
<222> (1)..(31)
<223> PEG為聚乙二醇

<400> 134

His Ser Asp Ala Val Phe Thr Asp Gln Tyr Thr Arg Leu Arg Lys Gln
1 5 10 15

Met Ala Ala Lys Lys Tyr Leu Gln Ser Ile Lys Gln Lys Ala Cys-PEG
20 25 30

<210> 135
<211> 31
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<221> 各項特徵
<222> (1)..(31)
<223> PEG為聚乙二醇

<400> 135

His Ser Asp Ala Val Phe Thr Asp Gln Tyr Thr Arg Leu Arg Lys Gln
1 5 10 15

Met Ala Ala Lys Lys Tyr Leu Gln Ser Ile Lys Gln Lys Phe Cys-PEG
20 25 30

<210> 136
<211> 31
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<221> 各項特徵
<222> (1)..(31)
<223> PEG為聚乙二醇

<400> 136

His Ser Asp Ala Val Phe Thr Asp Gln Tyr Thr Arg Leu Arg Lys Gln
1 5 10 15

五、發明說明 (115)

Met Ala Ala Lys Lys Tyr Leu Gln Ser Ile Lys Gln Lys His Cys-PEG
20 25 30

<210> 137
<211> 31
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<221> 各項特徵
<222> (1)..(31)
<223> PEG為聚乙二醇

<400> 137

His Ser Asp Ala Val Phe Thr Asp Gln Tyr Thr Arg Leu Arg Lys Gln
1 5 10 15

Met Ala Ala Lys Lys Tyr Leu Gln Ser Ile Lys Gln Lys Ile Cys-PEG
20 25 30

<210> 138
<211> 31
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<221> 各項特徵
<222> (1)..(31)
<223> PEG為聚乙二醇

<400> 138

His Ser Asp Ala Val Phe Thr Asp Gln Tyr Thr Arg Leu Arg Lys Gln
1 5 10 15

Met Ala Ala Lys Lys Tyr Leu Gln Ser Ile Lys Gln Lys Lys Cys-PEG
20 25 30

<210> 139
<211> 31
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<221> 各項特徵
<222> (1)..(31)
<223> PEG為聚乙二醇

<400> 139

His Ser Asp Ala Val Phe Thr Asp Gln Tyr Thr Arg Leu Arg Lys Gln
1 5 10 15

Met Ala Ala Lys Lys Tyr Leu Gln Ser Ile Lys Gln Lys Leu Cys-PEG
20 25 30

<210> 140

五、發明說明 (116)

<211> 31
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<221> 各項特徵
<222> (1)..(31)
<223> PEG為聚乙二醇

<400> 140

His Ser Asp Ala Val Phe Thr Asp Gln Tyr Thr Arg Leu Arg Lys Gln
1 5 10 15
Met Ala Ala Lys Lys Tyr Leu Gln Ser Ile Lys Gln Lys Met Cys-PEG
20 25 30

<210> 141
<211> 31
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<221> 各項特徵
<222> (1)..(31)
<223> PEG為聚乙二醇

<400> 141

His Ser Asp Ala Val Phe Thr Asp Gln Tyr Thr Arg Leu Arg Lys Gln
1 5 10 15
Met Ala Ala Lys Lys Tyr Leu Gln Ser Ile Lys Gln Lys Pro Cys-PEG
20 25 30

<210> 142
<211> 31
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<221> 各項特徵
<222> (1)..(31)
<223> PEG為聚乙二醇

<400> 142

His Ser Asp Ala Val Phe Thr Asp Gln Tyr Thr Arg Leu Arg Lys Gln
1 5 10 15
Met Ala Ala Lys Lys Tyr Leu Gln Ser Ile Lys Gln Lys Gln Cys-PEG
20 25 30

<210> 143
<211> 31
<212> PRT
<213> 智人

<220>

裝
訂
線

經濟部智慧財產局員工消費合作社印製

五、發明說明 (117)

<221> 各項特徵
 <222> (1)..(31)
 <223> PEG為聚乙二醇

<400> 143

His Ser Asp Ala Val Phe Thr Asp Gln Tyr Thr Arg Leu Arg Lys Gln
 1 5 10 15

Met Ala Ala Lys Lys Tyr Leu Gln Ser Ile Lys Gln Lys Ser Cys-PEG
 20 25 30

<210> 144
 <211> 31
 <212> PRT
 <213> 智人

<220>
 <221> 各項特徵
 <222> (1)..(31)
 <223> PEG為聚乙二醇

<400> 144

His Ser Asp Ala Val Phe Thr Asp Gln Tyr Thr Arg Leu Arg Lys Gln
 1 5 10 15

Met Ala Ala Lys Lys Tyr Leu Gln Ser Ile Lys Gln Lys Thr Cys-PEG
 20 25 30

<210> 145
 <211> 31
 <212> PRT
 <213> 智人

<220>
 <221> 各項特徵
 <222> (1)..(31)
 <223> PEG為聚乙二醇

<400> 145

His Ser Asp Ala Val Phe Thr Asp Gln Tyr Thr Arg Leu Arg Lys Gln
 1 5 10 15

Met Ala Ala Lys Lys Tyr Leu Gln Ser Ile Lys Gln Lys Val Cys-PEG
 20 25 30

<210> 146
 <211> 31
 <212> PRT
 <213> 智人

<220>
 <221> 各項特徵
 <222> (1)..(31)
 <223> PEG為聚乙二醇

<400> 146

五、發明說明 (118)

His Ser Asp Ala Val Phe Thr Asp Gln Tyr Thr Arg Leu Arg Lys Gln
1 5 10 15

Met Ala Ala Lys Lys Tyr Leu Gln Ser Ile Lys Gln Lys Trp Cys-PEG
20 25 30

<210> 147
<211> 31
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<221> 各項特徵
<222> (1)..(31)
<223> PEG 為聚乙二醇

<400> 147

His Ser Asp Ala Val Phe Thr Asp Gln Tyr Thr Arg Leu Arg Lys Gln
1 5 10 15

Met Ala Ala Lys Lys Tyr Leu Gln Ser Ile Lys Gln Lys Tyr Cys-PEG
20 25 30

<210> 148
<211> 31
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<221> 各項特徵
<222> (1)..(31)
<223> PEG 為聚乙二醇

<400> 148

His Ser Asp Ala Val Phe Thr Asp Gln Tyr Thr Arg Leu Arg Lys Gln
1 5 10 15

Met Ala Gly Lys Lys Tyr Leu Gln Ser Ile Lys Gln Arg Ile Cys-PEG
20 25 30

<210> 149
<211> 31
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<221> 各項特徵
<222> (1)..(31)
<223> PEG 為聚乙二醇

<400> 149

His Ser Asp Ala Val Phe Thr Asp Gln Tyr Thr Arg Leu Arg Lys Gln
1 5 10 15

Met Ala Lys Lys Lys Tyr Leu Gln Ser Ile Lys Gln Arg Ile Cys-PEG
20 25 30

五、發明說明 (119)

<210> 150
 <211> 31
 <212> PRT
 <213> 智人

<220>
 <221> 各項特徵
 <222> (1)..(31)
 <223> PEG 為聚乙二醇

<400> 150

His Ser Asp Ala Val Phe Thr Asp Gln Tyr Thr Arg Leu Arg Lys Gln
 1 5 10 15

Met Ala Ser Lys Lys Tyr Leu Gln Ser Ile Lys Gln Arg Ile Cys-PEG
 20 25 30

<210> 151
 <211> 31
 <212> PRT
 <213> 智人

<220>
 <221> 各項特徵
 <222> (1)..(31)
 <223> PEG 為聚乙二醇

<400> 151

His Ser Asp Ala Val Phe Thr Asp Gln Tyr Thr Arg Leu Arg Lys Gln
 1 5 10 15

Met Ala Ala Lys Lys Tyr Leu Gln Ser Ile Pro Gln Arg Ile Cys-PEG
 20 25 30

<210> 152
 <211> 31
 <212> PRT
 <213> 智人

<220>
 <221> 各項特徵
 <222> (1)..(31)
 <223> PEG 為聚乙二醇

<400> 152

His Ser Asp Ala Val Phe Thr Asp Gln Tyr Thr Arg Leu Arg Lys Gln
 1 5 10 15

Met Ala Ser Lys Lys Tyr Leu Gln Ser Ile Arg Gln Arg Ile Cys-PEG
 20 25 30

<210> 153
 <211> 123
 <212> DNA
 <213> 智人

五、發明說明 (120)

<400> 153	
ggatccatcg aaggtcgtca ctccgacgct gttttcacg accagtacac gcgtctgcgt	60
aaacaggttg ctgcaaagaa atacctgcag tccatcaagc agaagcgta ctaatgactc	120
gag	123
<210> 154	
<211> 93	
<212> DNA	
<213> 智人	
<400> 154	
cactccgacg ctgttttcac cgaccagtac acgcgtctgc gtaaacaggt tgctgcaaag	60
aaatacctgc agtccatcaa gcagaagcgt tac	93
<210> 155	
<211> 93	
<212> DNA	
<213> 智人	
<400> 155	
cactccgacg ctgttttcac cgaccagtac acgcgtctgc gtaaacagat ggctgcaaag	60
aaatacctgc agtccatcaa gcagaagcgt tac	93
<210> 156	
<211> 87	
<212> DNA	
<213> 智人	
<400> 156	
cactccgacg ctgttttcac cgaccagtac acgcgtctgc gtaaacaggt tgctgcaaag	60
aaatacctgc agtccatcaa gcagaag	87
<210> 157	
<211> 93	
<212> DNA	
<213> 智人	
<400> 157	
cacaccgaag ctgttttcac cgaccagtac acgcgtctgc gtaaacaggt tgctgcaaag	60
aaatacctgc agtccatcaa gcagaagcgt tac	93
<210> 158	
<211> 93	
<212> DNA	
<213> 智人	
<400> 158	
cactccgacg ctgttttcac cgaccagtac acgcgtctgc gtaaacagct ggctgttaag	60
aaatacctgc aggacatcaa gcagggcggt acc	93
<210> 159	
<211> 90	
<212> DNA	
<213> 智人	

裝
訂
線

經濟部智慧財產局員工消費合作社印製

五、發明說明 (121)

<400> 159		
cactccgacg ctgttttcac cgaccagtac acgcgtctgc gtaaacagat ggctgcaaag	60	
aaatacctgc agtccatcaa gcagaagcgt	90	
<210> 160		
<211> 93		
<212> DNA		
<213> 智人		
<400> 160		
cactccgacg ctgttttcac cgaccagtac acgcgtctgc gtaaacagct ggctgcaaag	60	
aaatacctgc agaccatcaa gcagaagcgt tac	93	
<210> 161		
<211> 93		
<212> DNA		
<213> 智人		
<400> 161		
cactccgacg ctgttttcac cgaccagtac acgcgtctgc gtaaacagat ggctgcaaag	60	
aaatacctgc agaccatcaa gcagaagcgt tac	93	
<210> 162		
<211> 93		
<212> DNA		
<213> 智人		
<400> 162		
cactccgacg ctgttttcac cgaccagtac acgcgtctgc gtaaacagat ggctgcacac	60	
aaatacctgc agtccatcaa gcagaagcgt tac	93	
<210> 163		
<211> 93		
<212> DNA		
<213> 智人		
<400> 163		
cactccgacg ctgttttcac cgaccagtac acgcgtctgc gtaaacagat ggctgcaaag	60	
cactacctgc agtccatcaa gcagaagcgt tac	93	
<210> 164		
<211> 90		
<212> DNA		
<213> 智人		
<400> 164		
cactccgacg ctgttttcac cgaccagtac acgcgtctgc gtaaacagat ggctggcaag	60	
aaatacctgc agtccatcaa gcagaagcgt	90	
<210> 165		
<211> 90		
<212> DNA		
<213> 智人		
<400> 165		
cactccgacg ctgttttcac cgaccagtac acgcgtctgc gtaaacagat ggctaaaaag	60	

裝
訂
線

經濟部智慧財產局員工消費合作社印製

五、發明說明 (122)

aaatacctgc agtccatcaa gcagaagcgt	90
<210> 166	
<211> 90	
<212> DNA	
<213> 智人	
<400> 166	
cactccgacg ctgttttcac cgaccagtac acgcgtctgc gtaaacagat ggctcgtaag	60
aaatacctgc agtccatcaa gcagaagcgt	90
<210> 167	
<211> 90	
<212> DNA	
<213> 智人	
<400> 167	
cactccgacg ctgttttcac cgaccagtac acgcgtctgc gtaaacagat ggctccaag	60
aaatacctgc agtccatcaa gcagaagcgt	90
<210> 168	
<211> 90	
<212> DNA	
<213> 智人	
<400> 168	
cactccgacg ctgttttcac cgaccagtac acgcgtctgc gtaaacagat ggctgcaaag	60
aaatacctgc agtccatccc ccagaagcgt	90
<210> 169	
<211> 90	
<212> DNA	
<213> 智人	
<400> 169	
cactccgacg ctgttttcac cgaccagtac acgcgtctgc gtaaacagat ggctgcaaag	60
aaatacctgc agtccatcca gcagaagcgt	90
<210> 170	
<211> 90	
<212> DNA	
<213> 智人	
<400> 170	
cactccgacg ctgttttcac cgaccagtac acgcgtctgc gtaaacagat ggctgcaaag	60
aaatacctgc agtccatccg tcagaagcgt	90
<210> 171	
<211> 90	
<212> DNA	
<213> 智人	
<400> 171	
cactccgacg ctgttttcac cgaccagtac acgcgtctgc gtaaacagat ggctgcaaag	60
aaatacctgc agtccatcaa gcagcgtcgt	90

五、發明說明 (123)

<210>	172	
<211>	90	
<212>	DNA	
<213>	智人	
<400>	172	
cactccgacg	ctgttttcac cgaccagtac acgcgtctgc gtaaacagat ggctgcaaag	60
aaatacctgc	agtccatcaa gcagaaggca	90
<210>	173	
<211>	90	
<212>	DNA	
<213>	智人	
<400>	173	
cactccgacg	ctgttttcac cgaccagtac acgcgtctgc gtaaacagat ggctgcaaag	60
aaatacctgc	agtccatcaa gcagaagttc	90
<210>	174	
<211>	90	
<212>	DNA	
<213>	智人	
<400>	174	
cactccgacg	ctgttttcac cgaccagtac acgcgtctgc gtaaacagat ggctgcaaag	60
aaatacctgc	agtccatcaa gcagaagcac	90
<210>	175	
<211>	90	
<212>	DNA	
<213>	智人	
<400>	175	
cactccgacg	ctgttttcac cgaccagtac acgcgtctgc gtaaacagat ggctgcaaag	60
aaatacctgc	agtccatcaa gcagaagatc	90
<210>	176	
<211>	90	
<212>	DNA	
<213>	智人	
<400>	176	
cactccgacg	ctgttttcac cgaccagtac acgcgtctgc gtaaacagat ggctgcaaag	60
aaatacctgc	agtccatcaa gcagaagaag	90
<210>	177	
<211>	90	
<212>	DNA	
<213>	智人	
<400>	177	
cactccgacg	ctgttttcac cgaccagtac acgcgtctgc gtaaacagat ggctgcaaag	60
aaatacctgc	agtccatcaa gcagaagctg	90
<210>	178	
<211>	90	
<212>	DNA	

五、發明說明 (124)

<213> 智人		
<400> 178		
cactccgacg	ctgttttcac cgaccagtac acgcgtctgc gtaaacagat ggctgcaaag	60
aaatacctgc	agtccatcaa gcagaagatg	90
<210> 179		
<211> 90		
<212> DNA		
<213> 智人		
<400> 179		
cactccgacg	ctgttttcac cgaccagtac acgcgtctgc gtaaacagat ggctgcaaag	60
aaatacctgc	agtccatcaa gcagaagccc	90
<210> 180		
<211> 90		
<212> DNA		
<213> 智人		
<400> 180		
cactccgacg	ctgttttcac cgaccagtac acgcgtctgc gtaaacagat ggctgcaaag	60
aaatacctgc	agtccatcaa gcagaagcag	90
<210> 181		
<211> 90		
<212> DNA		
<213> 智人		
<400> 181		
cactccgacg	ctgttttcac cgaccagtac acgcgtctgc gtaaacagat ggctgcaaag	60
aaatacctgc	agtccatcaa gcagaagtcc	90
<210> 182		
<211> 90		
<212> DNA		
<213> 智人		
<400> 182		
cactccgacg	ctgttttcac cgaccagtac acgcgtctgc gtaaacagat ggctgcaaag	60
aaatacctgc	agtccatcaa gcagaagacc	90
<210> 183		
<211> 90		
<212> DNA		
<213> 智人		
<400> 183		
cactccgacg	ctgttttcac cgaccagtac acgcgtctgc gtaaacagat ggctgcaaag	60
aaatacctgc	agtccatcaa gcagaagggt	90
<210> 184		
<211> 90		
<212> DNA		
<213> 智人		
<400> 184		

裝
訂
線

五、發明說明 (125)

cactccgacg	ctgttttcac	cgaccagtac	acgcgtctgc	gtaaacagat	ggctgcaaag	60
aaatacctgc	agtccatcaa	gcagaagtgg				90
<210>	185					
<211>	90					
<212>	DNA					
<213>	智人					
<400>	185					
cactccgacg	ctgttttcac	cgaccagtac	acgcgtctgc	gtaaacagat	ggctgcaaag	60
aaatacctgc	agtccatcaa	gcagaagtac				90
<210>	186					
<211>	90					
<212>	DNA					
<213>	智人					
<400>	186					
cactccgacg	ctgttttcac	cgaccagtac	acgcgtctgc	gtaaacagat	ggctggtaaag	60
aaatacctgc	agtccatcaa	gcagcgtatc				90
<210>	187					
<211>	90					
<212>	DNA					
<213>	智人					
<400>	187					
cactccgacg	ctgttttcac	cgaccagtac	acgcgtctgc	gtaaacagat	ggctaaaaag	60
aaatacctgc	agtccatcaa	gcagcgtatc				90
<210>	188					
<211>	90					
<212>	DNA					
<213>	智人					
<400>	188					
cactccgacg	ctgttttcac	cgaccagtac	acgcgtctgc	gtaaacagat	ggcttccaag	60
aaatacctgc	agtccatcaa	gcagcgtatc				90
<210>	189					
<211>	90					
<212>	DNA					
<213>	智人					
<400>	189					
cactccgacg	ctgttttcac	cgaccagtac	acgcgtctgc	gtaaacagat	ggctgcaaag	60
aaatacctgc	agtccatccc	ccagcgtatc				90
<210>	190					
<211>	90					
<212>	DNA					
<213>	智人					
<400>	190					
cactccgacg	ctgttttcac	cgaccagtac	acgcgtctgc	gtaaacagat	ggcttccaag	60
aaatacctgc	agtccatccg	tcagcgtatc				90

裝
計
線

五、發明說明 (126)

<210>	191	
<211>	93	
<212>	DNA	
<213>	智人	
<400>	191	
cactccgacg	ctgtttttcac cgacaactac acgcgtctgc gtaaacaggt tgctgcaaag	60
aaatacctgc	agtccatcaa gcagaagcgt tac	93
<210>	192	
<211>	93	
<212>	DNA	
<213>	智人	
<400>	192	
cactccgacg	ctgtttttcac cgacaactac acgcgtctgc gtaaacagat ggctgcaaag	60
aaatacctgc	agtccatcaa gcagaagcgt tac	93
<210>	193	
<211>	87	
<212>	DNA	
<213>	智人	
<400>	193	
cactccgacg	ctgtttttcac cgacaactac acgcgtctgc gtaaacaggt tgctgcaaag	60
aaatacctgc	agtccatcaa gcagaag	87
<210>	194	
<211>	93	
<212>	DNA	
<213>	智人	
<400>	194	
cacaccgaag	ctgtttttcac cgacaactac acgcgtctgc gtaaacaggt tgctgcaaag	60
aaatacctgc	agtccatcaa gcagaagcgt tac	93
<210>	195	
<211>	93	
<212>	DNA	
<213>	智人	
<400>	195	
cactccgacg	ctgtttttcac cgacaactac acgcgtctgc gtaaacagct ggctgttaag	60
aaatacctgc	aggacatcaa gcagggcggt acc	93
<210>	196	
<211>	90	
<212>	DNA	
<213>	智人	
<400>	196	
cactccgacg	ctgtttttcac cgacaactac acgcgtctgc gtaaacagat ggctgcaaag	60
aaatacctgc	agtccatcaa gcagaagcgt	90
<210>	197	

裝
訂
線

五、發明說明 (127)

<211>	93	
<212>	DNA	
<213>	智人	
<400>	197	
cactccgacg	ctgttttcac cgacaactac acgcgtctgc gtaaacagct ggctgcaaag	60
aaatacctgc	agaccatcaa gcagaagcgt tac	93
<210>	198	
<211>	93	
<212>	DNA	
<213>	智人	
<400>	198	
cactccgacg	ctgttttcac cgacaactac acgcgtctgc gtaaacagat ggctgcaaag	60
aaatacctgc	agaccatcaa gcagaagcgt tac	93
<210>	199	
<211>	93	
<212>	DNA	
<213>	智人	
<400>	199	
cactccgacg	ctgttttcac cgacaactac acgcgtctgc gtaaacagat ggctgcacac	60
aaatacctgc	agtccatcaa gcagaagcgt tac	93
<210>	200	
<211>	93	
<212>	DNA	
<213>	智人	
<400>	200	
cactccgacg	ctgttttcac cgacaactac acgcgtctgc gtaaacagat ggctgcaaag	60
cactacctgc	agtccatcaa gcagaagcgt tac	93
<210>	201	
<211>	93	
<212>	DNA	
<213>	智人	
<400>	201	
cactccgacg	ctgttttcac cgacaactac acgcgtctgc gtaaacagat ggctgcaaag	60
cactacctgc	agtccatcaa gcagaagcgt tac	93
<210>	202	
<211>	90	
<212>	DNA	
<213>	智人	
<400>	202	
cactccgacg	ctgttttcac cgacaactac acgcgtctgc gtaaacagat ggctaaaaag	60
aaatacctgc	agtccatcaa gcagaagcgt	90
<210>	203	
<211>	90	
<212>	DNA	
<213>	智人	

五、發明說明 (128)

<400> 203	
cactccgacg ctgttttcac cgacaactac acgcgtctgc gtaaacagat ggctcgtaag	60
aaatacctgc agtccatcaa gcagaagcgt	90
<210> 204	
<211> 90	
<212> DNA	
<213> 智人	
<400> 204	
cactccgacg ctgttttcac cgacaactac acgcgtctgc gtaaacagat ggcttccaag	60
aaatacctgc agtccatcaa gcagaagcgt	90
<210> 205	
<211> 90	
<212> DNA	
<213> 智人	
<400> 205	
cactccgacg ctgttttcac cgacaactac acgcgtctgc gtaaacagat ggctgcaaag	60
aaatacctgc agtccatccc ccagaagcgt	90
<210> 206	
<211> 90	
<212> DNA	
<213> 智人	
<400> 206	
cactccgacg ctgttttcac cgacaactac acgcgtctgc gtaaacagat ggctgcaaag	60
aaatacctgc agtccatcca gcagaagcgt	90
<210> 207	
<211> 90	
<212> DNA	
<213> 智人	
<400> 207	
cactccgacg ctgttttcac cgacaactac acgcgtctgc gtaaacagat ggctgcaaag	60
aaatacctgc agtccatccg tcagaagcgt	90
<210> 208	
<211> 90	
<212> DNA	
<213> 智人	
<400> 208	
cactccgacg ctgttttcac cgacaactac acgcgtctgc gtaaacagat ggctgcaaag	60
aaatacctgc agtccatcaa gcagcgtcgt	90
<210> 209	
<211> 90	
<212> DNA	
<213> 智人	
<400> 209	
cactccgacg ctgttttcac cgacaactac acgcgtctgc gtaaacagat ggctgcaaag	60

五、發明說明 (129)

aaatacctgc agtccatcaa gcagaaggca	90
<210> 210	
<211> 90	
<212> DNA	
<213> 智人	
<400> 210	
cactccgacg ctgttttcac cgacaactac acgcgtctgc gtaaacagat ggctgcaaag	60
aaatacctgc agtccatcaa gcagaagttc	90
<210> 211	
<211> 90	
<212> DNA	
<213> 智人	
<400> 211	
cactccgacg ctgttttcac cgacaactac acgcgtctgc gtaaacagat ggctgcaaag	60
aaatacctgc agtccatcaa gcagaagcac	90
<210> 212	
<211> 90	
<212> DNA	
<213> 智人	
<400> 212	
cactccgacg ctgttttcac cgacaactac acgcgtctgc gtaaacagat ggctgcaaag	60
aaatacctgc agtccatcaa gcagaagatc	90
<210> 213	
<211> 90	
<212> DNA	
<213> 智人	
<400> 213	
cactccgacg ctgttttcac cgacaactac acgcgtctgc gtaaacagat ggctgcaaag	60
aaatacctgc agtccatcaa gcagaagaag	90
<210> 214	
<211> 90	
<212> DNA	
<213> 智人	
<400> 214	
cactccgacg ctgttttcac cgacaactac acgcgtctgc gtaaacagat ggctgcaaag	60
aaatacctgc agtccatcaa gcagaagctg	90
<210> 215	
<211> 90	
<212> DNA	
<213> 智人	
<400> 215	
cactccgacg ctgttttcac cgacaactac acgcgtctgc gtaaacagat ggctgcaaag	60
aaatacctgc agtccatcaa gcagaagatg	90

五、發明說明 (130)

<210>	216		
<211>	90		
<212>	DNA		
<213>	智人		
<400>	216		
cactccgacg	ctgtttttcac	cgacaactac	acgcgtctgc gtaaacagat ggctgcaaag 60
aaatacctgc	agtccatcaa	gcagaagccc	90
<210>	217		
<211>	90		
<212>	DNA		
<213>	智人		
<400>	217		
cactccgacg	ctgtttttcac	cgacaactac	acgcgtctgc gtaaacagat ggctgcaaag 60
aaatacctgc	agtccatcaa	gcagaagcag	90
<210>	218		
<211>	90		
<212>	DNA		
<213>	智人		
<400>	218		
cactccgacg	ctgtttttcac	cgacaactac	acgcgtctgc gtaaacagat ggctgcaaag 60
aaatacctgc	agtccatcaa	gcagaagtcc	90
<210>	219		
<211>	90		
<212>	DNA		
<213>	智人		
<400>	219		
cactccgacg	ctgtttttcac	cgacaactac	acgcgtctgc gtaaacagat ggctgcaaag 60
aaatacctgc	agtccatcaa	gcagaagacc	90
<210>	220		
<211>	90		
<212>	DNA		
<213>	智人		
<400>	220		
cactccgacg	ctgtttttcac	cgacaactac	acgcgtctgc gtaaacagat ggctgcaaag 60
aaatacctgc	agtccatcaa	gcagaagggtt	90
<210>	221		
<211>	90		
<212>	DNA		
<213>	智人		
<400>	221		
cactccgacg	ctgtttttcac	cgacaactac	acgcgtctgc gtaaacagat ggctgcaaag 60
aaatacctgc	agtccatcaa	gcagaagtgg	90
<210>	222		
<211>	90		

五、發明說明 (131)

<212> DNA

<213> 智人

<400> 222

cactccgacg ctgttttcac cgacaactac acgcgtctgc gtaaacagat ggctgcaaag 60

aaatacctgc agtccatcaa gcagaagtac 90

<210> 223

<211> 90

<212> DNA

<213> 智人

<400> 223

cactccgacg ctgttttcac cgacaactac acgcgtctgc gtaaacagat ggctggtaag 60

aaatacctgc agtccatcaa gcagcgtatc 90

<210> 224

<211> 90

<212> DNA

<213> 智人

<400> 224

cactccgacg ctgttttcac cgacaactac acgcgtctgc gtaaacagat ggctaaaaag 60

aaatacctgc agtccatcaa gcagcgtatc 90

<210> 225

<211> 90

<212> DNA

<213> 智人

<400> 225

cactccgacg ctgttttcac cgacaactac acgcgtctgc gtaaacagat ggcttccaag 60

aaatacctgc agtccatcaa gcagcgtatc 90

<210> 226

<211> 90

<212> DNA

<213> 智人

<400> 226

cactccgacg ctgttttcac cgacaactac acgcgtctgc gtaaacagat ggctgcaaag 60

aaatacctgc agtccatccc ccagcgtatc 90

<210> 227

<211> 90

<212> DNA

<213> 智人

<400> 227

cactccgacg ctgttttcac cgacaactac acgcgtctgc gtaaacagat ggcttccaag 60

aaatacctgc agtccatccg tcagcgtatc 90

<210> 228

<211> 93

<212> DNA

<213> 智人

五、發明說明 (132)

<400> 228		
cactccgacg	ctgttttcac cgaccagtac acgcgtctgc gtaaacaggt tgctgcaaag	60
aaatacctgc	agtccatcaa gaacaagcgt tac	93
<210> 229		
<211> 93		
<212> DNA		
<213> 智人		
<400> 229		
cactccgacg	ctgttttcac cgaccagtac acgcgtctgc gtaaacagat ggctgcaaag	60
aaatacctgc	agtccatcaa gaacaagcgt tac	93
<210> 230		
<211> 87		
<212> DNA		
<213> 智人		
<400> 230		
cactccgacg	ctgttttcac cgaccagtac acgcgtctgc gtaaacaggt tgctgcaaag	60
aaatacctgc	agtccatcaa gaacaag	87
<210> 231		
<211> 93		
<212> DNA		
<213> 智人		
<400> 231		
cacaccgaag	ctgttttcac cgaccagtac acgcgtctgc gtaaacaggt tgctgcaaag	60
aaatacctgc	agtccatcaa gaacaagcgt tac	93
<210> 232		
<211> 93		
<212> DNA		
<213> 智人		
<400> 232		
cactccgacg	ctgttttcac cgaccagtac acgcgtctgc gtaaacagct ggctgttaag	60
aaatacctgc	aggacatcaa gaacggcggt acc	93
<210> 233		
<211> 90		
<212> DNA		
<213> 智人		
<400> 233		
cactccgacg	ctgttttcac cgaccagtac acgcgtctgc gtaaacagat ggctgcaaag	60
aaatacctgc	agtccatcaa gaacaagcgt	90
<210> 234		
<211> 93		
<212> DNA		
<213> 智人		
<400> 234		
cactccgacg	ctgttttcac cgaccagtac acgcgtctgc gtaaacagct ggctgcaaag	60

五、發明說明 (133)

aaatacctgc agaccatcaa gaacaagcgt tac	93
<210> 235	
<211> 93	
<212> DNA	
<213> 智人	
<400> 235	
cactccgacg ctgttttcac cgaccagtac acgcgtctgc gtaaacagat ggctgcaaag	60
aaatacctgc agaccatcaa gaacaagcgt tac	93
<210> 236	
<211> 93	
<212> DNA	
<213> 智人	
<400> 236	
cactccgacg ctgttttcac cgaccagtac acgcgtctgc gtaaacagat ggctgcacac	60
aaatacctgc agtccatcaa gaacaagcgt tac	93
<210> 237	
<211> 93	
<212> DNA	
<213> 智人	
<400> 237	
cactccgacg ctgttttcac cgaccagtac acgcgtctgc gtaaacagat ggctgcaaag	60
cactacctgc agtccatcaa gaacaagcgt tac	93
<210> 238	
<211> 90	
<212> DNA	
<213> 智人	
<400> 238	
cactccgacg ctgttttcac cgaccagtac acgcgtctgc gtaaacagat ggctggcaag	60
aaatacctgc agtccatcaa gaacaagcgt	90
<210> 239	
<211> 90	
<212> DNA	
<213> 智人	
<400> 239	
cactccgacg ctgttttcac cgaccagtac acgcgtctgc gtaaacagat ggctaaaaag	60
aaatacctgc agtccatcaa gaacaagcgt	90
<210> 240	
<211> 90	
<212> DNA	
<213> 智人	
<400> 240	
cactccgacg ctgttttcac cgaccagtac acgcgtctgc gtaaacagat ggctcgtaag	60
aaatacctgc agtccatcaa gaacaagcgt	90

五、發明說明 (134)

<210>	241		
<211>	90		
<212>	DNA		
<213>	智人		
<400>	241		
cactccgacg	ctgttttcac	cgaccagtac	acgcgtctgc gtaaacagat ggcttccaag 60
aaatacctgc	agtccatcaa	gaacaagcgt	90
<210>	242		
<211>	90		
<212>	DNA		
<213>	智人		
<400>	242		
cactccgacg	ctgttttcac	cgaccagtac	acgcgtctgc gtaaacagat ggctgcaaag 60
aaatacctgc	agtccatccc	caacaagcgt	90
<210>	243		
<211>	90		
<212>	DNA		
<213>	智人		
<400>	243		
cactccgacg	ctgttttcac	cgaccagtac	acgcgtctgc gtaaacagat ggctgcaaag 60
aaatacctgc	agtccatcca	gaacaagcgt	90
<210>	244		
<211>	90		
<212>	DNA		
<213>	智人		
<400>	244		
cactccgacg	ctgttttcac	cgaccagtac	acgcgtctgc gtaaacagat ggctgcaaag 60
aaatacctgc	agtccatccg	taacaagcgt	90
<210>	245		
<211>	90		
<212>	DNA		
<213>	智人		
<400>	245		
cactccgacg	ctgttttcac	cgaccagtac	acgcgtctgc gtaaacagat ggctgcaaag 60
aaatacctgc	agtccatcaa	gaaccgtcgt	90
<210>	246		
<211>	90		
<212>	DNA		
<213>	智人		
<400>	246		
cactccgacg	ctgttttcac	cgaccagtac	acgcgtctgc gtaaacagat ggctgcaaag 60
aaatacctgc	agtccatcaa	gaacaaggca	90
<210>	247		
<211>	90		
<212>	DNA		

裝
訂
線

經濟部智慧財產局員工消費合作社印製

五、發明說明 (135)

<213> 智人		
<400> 247		
cactccgacg	ctgtttttcac cgaccagtac acgcgtctgc gtaaacagat ggctgcaaag	60
aaatacctgc	agtccatcaa gaacaagttc	90
<210> 248		
<211> 90		
<212> DNA		
<213> 智人		
<400> 248		
cactccgacg	ctgtttttcac cgaccagtac acgcgtctgc gtaaacagat ggctgcaaag	60
aaatacctgc	agtccatcaa gaacaagcac	90
<210> 249		
<211> 90		
<212> DNA		
<213> 智人		
<400> 249		
cactccgacg	ctgtttttcac cgaccagtac acgcgtctgc gtaaacagat ggctgcaaag	60
aaatacctgc	agtccatcaa gaacaagatc	90
<210> 250		
<211> 90		
<212> DNA		
<213> 智人		
<400> 250		
cactccgacg	ctgtttttcac cgaccagtac acgcgtctgc gtaaacagat ggctgcaaag	60
aaatacctgc	agtccatcaa gaacaagaag	90
<210> 251		
<211> 90		
<212> DNA		
<213> 智人		
<400> 251		
cactccgacg	ctgtttttcac cgaccagtac acgcgtctgc gtaaacagat ggctgcaaag	60
aaatacctgc	agtccatcaa gaacaagctg	90
<210> 252		
<211> 90		
<212> DNA		
<213> 智人		
<400> 252		
cactccgacg	ctgtttttcac cgaccagtac acgcgtctgc gtaaacagat ggctgcaaag	60
aaatacctgc	agtccatcaa gaacaagatg	90
<210> 253		
<211> 90		
<212> DNA		
<213> 智人		
<400> 253		

裝
訂
線

五、發明說明 (136)

cactccgacg	ctgttttcac	cgaccagtac	acgcgtctgc	gtaaacagat	ggctgcaaag	60
aaatacctgc	agtccatcaa	gaacaagccc				90
<210>	254					
<211>	90					
<212>	DNA					
<213>	智人					
<400>	254					
cactccgacg	ctgttttcac	cgaccagtac	acgcgtctgc	gtaaacagat	ggctgcaaag	60
aaatacctgc	agtccatcaa	gaacaagcag				90
<210>	255					
<211>	90					
<212>	DNA					
<213>	智人					
<400>	255					
cactccgacg	ctgttttcac	cgaccagtac	acgcgtctgc	gtaaacagat	ggctgcaaag	60
aaatacctgc	agtccatcaa	gaacaagtcc				90
<210>	256					
<211>	90					
<212>	DNA					
<213>	智人					
<400>	256					
cactccgacg	ctgttttcac	cgaccagtac	acgcgtctgc	gtaaacagat	ggctgcaaag	60
aaatacctgc	agtccatcaa	gaacaagacc				90
<210>	257					
<211>	90					
<212>	DNA					
<213>	智人					
<400>	257					
cactccgacg	ctgttttcac	cgaccagtac	acgcgtctgc	gtaaacagat	ggctgcaaag	60
aaatacctgc	agtccatcaa	gaacaagggt				90
<210>	258					
<211>	90					
<212>	DNA					
<213>	智人					
<400>	258					
cactccgacg	ctgttttcac	cgaccagtac	acgcgtctgc	gtaaacagat	ggctgcaaag	60
aaatacctgc	agtccatcaa	gaacaagtgg				90
<210>	259					
<211>	90					
<212>	DNA					
<213>	智人					
<400>	259					
cactccgacg	ctgttttcac	cgaccagtac	acgcgtctgc	gtaaacagat	ggctgcaaag	60
aaatacctgc	agtccatcaa	gaacaagtac				90

五、發明說明 (137)

<210> 260
<211> 90
<212> DNA
<213> 智人

<400> 260
cactccgacg ctgttttcac cgaccagtac acgcgtctgc gtaaacagat ggctggtaag 60
aaatacctgc agtccatcaa gaaccgtatc 90

<210> 261
<211> 90
<212> DNA
<213> 智人

<400> 261
cactccgacg ctgttttcac cgaccagtac acgcgtctgc gtaaacagat ggctaaaaag 60
aaatacctgc agtccatcaa gaaccgtatc 90

<210> 262
<211> 90
<212> DNA
<213> 智人

<400> 262
cactccgacg ctgttttcac cgaccagtac acgcgtctgc gtaaacagat ggcttccaag 60
aaatacctgc agtccatcaa gaaccgtatc 90

<210> 263
<211> 90
<212> DNA
<213> 智人

<400> 263
cactccgacg ctgttttcac cgaccagtac acgcgtctgc gtaaacagat ggctgcaaag 60
aaatacctgc agtccatccc caaccgtatc 90

<210> 264
<211> 90
<212> DNA
<213> 智人

<400> 264
cactccgacg ctgttttcac cgaccagtac acgcgtctgc gtaaacagat ggcttccaag 60
aaatacctgc agtccatccg taaccgtatc 90

裝
訂
線

經濟部智慧財產局員工消費合作社印製

四、中文發明摘要（發明之名稱：

腦下腺腺苷酸環化酶活化胜肽(PACAP)受體
(VPAC2)作用劑及其使用之藥理方法

本發明提供於活體內具有 VPAC2 受體作用劑功能之新穎胜肽。彼等胰島素促分泌素多肽被證實於葡萄糖激發下，比對照組更能降低血糖。本發明多肽於調配時穩定，且具有長半衰期，可為內源胰島素分泌降低的病人，特別是 2 型糖尿病患者，提供新療法。詳言之，本發明乃有關選自與 VPAC2 相關多肽特定組群之多肽，或其功能相等物。本發明亦有關治療哺乳動物代謝疾病之方法，包括投與該哺乳動物治療有效量之胰島素促分泌素胜肽。本發明同時揭示製造該等胜肽(包括重組胜肽與合成胜肽二者)之方法。

英文發明摘要（發明之名稱 Pituitary adenylate cyclase activating peptide (PACAP) receptor (VPAC2) agonists and their pharmacological methods of use

This invention provides novel peptides that function *in vivo* as agonists of the VPAC2 receptor. These insulin secretagogue polypeptides are shown to lower blood glucose *in vivo* more than controls upon glucose challenge. The polypeptides of this invention are also stable in formulation and have long half-lives. The peptides of the present invention provide a new therapy for patients with decreased endogenous insulin secretion, in particular type 2 diabetics. In particular, the invention is a polypeptide selected from a specific group of VPAC2-related polypeptides, or functional equivalents thereof. The invention is also directed to a method of treating a metabolic disease in a mammal comprising administering a therapeutically effective amount of the insulin secretagogue peptides to said mammal. Also disclosed are methods of making the peptides, both recombinant and synthetic.

六、申請專利範圍

1. 一種多肽，係選自包括 SEQ ID NOs: 1 至 152、與其功能相等片段、衍生物、及變異體之組群。
2. 一種多核苷酸，係編碼如申請專利範圍第 1 項之多肽序列、或其簡併變異體。
- 5 3. 一種載體，包括如申請專利範圍第 2 項之多核苷酸。
4. 一種宿主細胞，包括如申請專利範圍第 3 項之載體。
5. 一種用於製造多肽之方法，包括：
 - a) 在適於表現該多肽的條件下，培養如申請專利範圍第 4 項之宿主細胞；及
 - 10 b) 從該宿主細胞培養液中回收該多肽。
6. 一種純化抗體，其專一性地與如申請專利範圍第 1 項之多肽結合。
7. 如申請專利範圍第 1 項之多肽，其中該多肽係選自包括 SEQ ID NOs: 1、2、3、4、與 5 之組群。
- 15 8. 如申請專利範圍第 1 項之多肽，其中該多肽係選自包括 SEQ ID NOs: 115、116、117、118、與 119 之組群。
9. 一種多核苷酸，係選自包括 SEQ ID NOs: 154 至 264 之組群。
- 20 10. 一種醫藥組成物，其包括治療有效量之如申請專利範圍第 1 項之多肽、或其功能相等片段、衍生物、及變異體，與醫藥上可接受載劑之組合。
11. 如申請專利範圍第 10 項之醫藥組成物，其中該組成物含有約 2%至約 30% DMSO 及視需要地，含有選自

六、申請專利範圍

包括丙二醇、二甲基甲醯胺、碳酸丙烯酯、聚乙二醇、與三酸甘油酯之溶劑。

12. 如申請專利範圍第 10 項之醫藥組成物，其中該多肽係選自包括 SEQ ID NOs: 1、2、3、4、5、115、
5 116、117、118、與 119 之組群。
13. 一種醫藥組成物，其包括治療有效量之如申請專利範圍第 1 項之多肽或其功能相等片段、衍生物、及變異體，與醫藥上可接受載劑及一或多種醫藥劑之組合。
14. 如申請專利範圍第 13 項之醫藥組成物，其中該醫藥
10 劑係選自包括 PPAR 作用劑、磺醯脲藥物、非磺醯脲促分泌素、 α -葡萄糖苷酶抑制劑、胰島素敏化劑、胰島素促分泌素、降低肝臟葡萄糖生產之化合物、胰島素、抗肥胖症藥物、HMG-CoA 還原酶抑制劑、菸鹼酸、膽汁酸結合劑、纖維酸衍生物與抗高血壓劑之組
15 群。
15. 一種醫藥組成物，其包括治療有效量之如申請專利範圍第 1 項之多肽、或其功能相等片段、衍生物、及變異體，與惰性載劑之組合。
16. 一種用於治療糖尿病之醫藥組成物，其包括治療有效
20 量之如申請專利範圍第 1 項之多肽。
17. 如申請專利範圍第 16 項之醫藥組成物，其中該糖尿病係選自包括 1 型糖尿病、2 型糖尿病、年輕人成熟發病型糖尿病、隱性自體免疫糖尿病成人、與妊娠糖尿病之組群。

六、申請專利範圍

18. 一種用於治療 X 症候群之醫藥組成物，其包括治療有效量之如申請專利範圍第 1 項之多肽。
19. 一種用於治療糖尿病相關病症之醫藥組成物，其包括治療有效量之如申請專利範圍第 1 項之多肽。
- 5 20. 如申請專利範圍第 19 項之醫藥組成物，其中該糖尿病相關病症係選自包括高血糖症、高胰島素血症、葡萄糖耐力受損、空腹葡萄糖障礙、血脂異常、高三酸甘油酯血症、與胰島素抗阻之組群。
- 10 21. 一種用於治療糖尿病之醫藥組成物，其包括治療有效量之如申請專利範圍第 1 項之多肽與一或多種醫藥劑之組合。
- 15 22. 如申請專利範圍第 21 項之醫藥組成物，其中該醫藥劑係選自包括 PPAR 作用劑、磺醯脲藥物、非磺醯脲促分泌素、 α -葡萄糖苷酶抑制劑、胰島素敏化劑、胰島素促分泌素、降低肝臟葡萄糖生產之化合物、胰島素與抗肥胖症藥物之組群。
- 20 23. 如申請專利範圍第 22 項之醫藥組成物，其中該糖尿病係選自 1 型糖尿病、2 型糖尿病、年輕人成熟發病型糖尿病、隱性自體免疫糖尿病成人、與妊娠糖尿病之組群。
24. 一種用於治療 X 症候群之醫藥組成物，其包括治療有效量之如申請專利範圍第 1 項之多肽與一或多種醫藥劑之組合。
25. 如申請專利範圍第 24 項之醫藥組成物，其中該醫藥

六、申請專利範圍

劑係選自包括 PPAR 作用劑、磺醯脲藥物、非磺醯脲促分泌素、 α -葡萄糖苷酶抑制劑、胰島素敏化劑、胰島素促分泌素、降低肝臟葡萄糖生產之化合物、胰島素與抗肥胖症藥物之組群。

- 5 26. 一種用於治療糖尿病相關病症之醫藥組成物，其包括治療有效量之如申請專利範圍第 1 項之多肽與一或多種醫藥劑之組合。
- 10 27. 如申請專利範圍第 26 項之醫藥組成物，其中該糖尿病相關病症係選自包括高血糖症、高胰島素血症、葡萄糖耐力受損、空腹葡萄糖障礙、血脂異常、高三酸甘油酯血症、與胰島素抗阻之組群。
- 15 28. 如申請專利範圍第 27 項之醫藥組成物，其中該醫藥劑係選自包括 PPAR 作用劑、磺醯脲藥物、非磺醯脲促分泌素、 α -葡萄糖苷酶抑制劑、胰島素敏化劑、胰島素促分泌素、降低肝臟葡萄糖生產之化合物、胰島素與抗肥胖症藥物之組群。
- 20 29. 一種用於治療糖尿病、X 症候群、或糖尿病相關病症之醫藥組成物，其包括治療有效量之如申請專利範圍第 1 項之多肽與一或多種選自包括 HMG-CoA 還原酶抑制劑、菸鹼酸、膽汁酸結合劑、纖維酸衍生物、與抗高血壓劑之醫藥劑之組合。
30. 如申請專利範圍第 29 項之醫藥組成物，其中該糖尿病相關病症係選自包括高血糖症、高胰島素血症、葡萄糖耐力受損、空腹葡萄糖障礙、血脂異常、高三酸

六、申請專利範圍

甘油酯血症、與胰島素抗阻之組群。

31. 如申請專利範圍第 21 至 30 項之醫藥組成物，其中該如申請專利範圍第 1 項之多肽及一或多種醫藥劑係呈單一醫藥劑量調配物投與。
- 5 32. 一種用於治療或預防糖尿病續發病因之醫藥組成物，其包括治療有效量之如申請專利範圍第 1 項之多肽。
33. 如申請專利範圍第 32 項之醫藥組成物，其中該續發病因係選自包括糖皮質激素過量、生長激素過量、嗜鉻細胞瘤、與藥物誘發之糖尿病之組群。
- 10 34. 一種用於治療或預防糖尿病續發病因之醫藥組成物，其包括治療有效量之如申請專利範圍第 1 項之多肽與一或多種醫藥劑之組合。
35. 如申請專利範圍第 34 項之醫藥組成物，其中該醫藥劑係選自包括 PPAR 作用劑、磺醯脲藥物、非磺醯脲促分泌素、 α -葡萄糖苷酶抑制劑、胰島素敏化劑、胰島素促分泌素、降低肝臟葡萄糖生產之化合物、胰島素與抗肥胖症藥物之組群。
- 15 36. 一種用於治療呼吸性疾病之醫藥組成物，其包括治療有效量之如申請專利範圍第 1 項之多肽。
- 20 37. 一種用於治療肥胖症之醫藥組成物，其包括治療有效量之如申請專利範圍第 1 項之多肽。
38. 一種用於調控食慾之醫藥組成物，其包括治療有效量之如申請專利範圍第 1 項之多肽。
39. 一種用於治療心血管疾病之醫藥組成物，其包括治療

六、申請專利範圍

有效量之如申請專利範圍第 1 項之多肽。

40. 一種用於治療脂質與碳水化合物代謝失調之醫藥組成物，其包括治療有效量之如申請專利範圍第 1 項之多肽。
- 5 41. 一種用於治療睡眠失調之醫藥組成物，其包括治療有效量之如申請專利範圍第 1 項之多肽。
42. 一種用於治療男性生殖失調之醫藥組成物，其包括治療有效量之如申請專利範圍第 1 項之多肽。
43. 一種用於治療生長失調或能量衡定失調之醫藥組成物，其包括治療有效量之如申請專利範圍第 1 項之多肽。
- 10 44. 一種用於治療免疫疾病之醫藥組成物，其包括治療有效量之如申請專利範圍第 1 項之多肽。
45. 一種用於治療自體免疫疾病之醫藥組成物，其包括治療有效量之如申請專利範圍第 1 項之多肽。
- 15 46. 一種用於治療急性與慢性炎症之醫藥組成物，其包括治療有效量之如申請專利範圍第 1 項之多肽。
47. 一種用於治療敗血性休克之醫藥組成物，其包括治療有效量之如申請專利範圍第 1 項之多肽。
- 20 48. 一種用於對有其需要的實驗對象激發胰島素以依賴葡萄糖的方式釋出之醫藥組成物，其包括如申請專利範圍第 1 項之多肽。
49. 一種基因治療組成物，其包括如申請專利範圍第 2 項之多核苷酸與治療有效的基因治療載體之組合。

六、申請專利範圍

50. 如申請專利範圍第 1 項之多肽，係用於治療及/或預防糖尿病與糖尿病相關病症。
51. 一種藥劑，其含有至少一種如申請專利範圍第 1 項之多肽，與至少一種醫藥上可接受、醫藥上安全之載劑或賦形劑之組合。
52. 一種使用如申請專利範圍第 1 項之多肽製造用於治療及/或預防糖尿病與糖尿病相關病症藥劑之用途。
53. 如申請專利範圍第 51 項之多肽，係用於治療及/或預防糖尿病。

SEQ ID NO:	序列
1	HSDAVFTDQYTRLRKQVAACKYLQSIQKRY
2	Ac-HTDAVFTDQYTRLRKQVAACKYLQSIQKRY
3	HSDAVFTDQYTRLRKQMAACKYLQSIQKRY
4	HSDAVFTDQYTRLRKQVAACKYLQSIQKQ
5	HTEAVFTDQYTRLRKQVAACKYLQSIQKRY
6	HSDAVFTDQYTRLRKQLAVKKYLQDIKQGGT
7	HSDAVFTDQYTRLRKQMAACKYLQSIQKQR
8	HSDAVFTDQYTRLRKQLAACKYLQTIQKRY
9	HSDAVFTDQYTRLRKQMAACKYLQTIQKRY
10	HSDAVFTDQYTRLRKQMAAHKYLQSIQKRY
11	HSDAVFTDQYTRLRKQMAAKHYLQSIQKRY
12	HSDAVFTDQYTRLRKQMAGKKYLQSIQKQR
13	HSDAVFTDQYTRLRKQMAKKKYLQSIQKQR
14	HSDAVFTDQYTRLRKQMARKKYLQSIQKQR
15	HSDAVFTDQYTRLRKQMASKKYLQSIQKQR
16	HSDAVFTDQYTRLRKQMAACKYLQSIQKQR
17	HSDAVFTDQYTRLRKQMAACKYLQSIQKQR
18	HSDAVFTDQYTRLRKQMAACKYLQSIQKQR
19	HSDAVFTDQYTRLRKQMAACKYLQSIQKRR
20	HSDAVFTDQYTRLRKQMAACKYLQSIQKKA
21	HSDAVFTDQYTRLRKQMAACKYLQSIQKQF
22	HSDAVFTDQYTRLRKQMAACKYLQSIQKH
23	HSDAVFTDQYTRLRKQMAACKYLQSIQKI
24	HSDAVFTDQYTRLRKQMAACKYLQSIQKK
25	HSDAVFTDQYTRLRKQMAACKYLQSIQKQL
26	HSDAVFTDQYTRLRKQMAACKYLQSIQKQM
27	HSDAVFTDQYTRLRKQMAACKYLQSIQKQP
28	HSDAVFTDQYTRLRKQMAACKYLQSIQKQO
29	HSDAVFTDQYTRLRKQMAACKYLQSIQKQS
30	HSDAVFTDQYTRLRKQMAACKYLQSIQKQT
31	HSDAVFTDQYTRLRKQMAACKYLQSIQKQV
32	HSDAVFTDQYTRLRKQMAACKYLQSIQQKW
33	HSDAVFTDQYTRLRKQMAACKYLQSIQQKY
34	HSDAVFTDQYTRLRKQMAGKKYLQSIQQRI
35	HSDAVFTDQYTRLRKQMAKKKYLQSIQQRI
36	HSDAVFTDQYTRLRKQMASKKYLQSIQQRI
37	HSDAVFTDQYTRLRKQMAACKYLQSIQORI
38	HSDAVFTDQYTRLRKQMASKKYLQSIQORI

第1a圖

SEQ ID NO:	序列
39	HSDAVFTDNYTRLRKQVAAKKYLQSIKQKRY
40	Ac-HTDAVFTDNYTRLRKQVAAKKYLQSIKQKRY
41	HSDAVFTDNYTRLRKQMAAKKYLQSIKQKRY
42	HSDAVFTDNYTRLRKQVAAKKYLQSIKQK
43	HTEAVFTDNYTRLRKQVAAKKYLQSIKQKRY
44	HSDAVFTDNYTRLRKQLAVKKYLQDIKQGGT
45	HSDAVFTDNYTRLRKQMAAKKYLQSIKQKR
46	HSDAVFTDNYTRLRKQLAAKKYLQTIKQKRY
47	HSDAVFTDNYTRLRKQMAAKKYLQTIKQKRY
48	HSDAVFTDNYTRLRKQMAAHKYLQSIKQKRY
49	HSDAVFTDNYTRLRKQMAAKHYLQSIKQKRY
50	HSDAVFTDNYTRLRKQMAGKKYLQSIKQKR
51	HSDAVFTDNYTRLRKQMAKKKYLQSIKQKR
52	HSDAVFTDNYTRLRKQMARKKYLQSIKQKR
53	HSDAVFTDNYTRLRKQMASKKYLQSIKQKR
54	HSDAVFTDNYTRLRKQMAAKKYLQSI PQKR
55	HSDAVFTDNYTRLRKQMAAKKYLQSIQQKR
56	HSDAVFTDNYTRLRKQMAAKKYLQSI RQKR
57	HSDAVFTDNYTRLRKQMAAKKYLQSIKQRR
58	HSDAVFTDNYTRLRKQMAAKKYLQSIKQKA
59	HSDAVFTDNYTRLRKQMAAKKYLQSIKQKF
60	HSDAVFTDNYTRLRKQMAAKKYLQSIKQKH
61	HSDAVFTDNYTRLRKQMAAKKYLQSIKQKI
62	HSDAVFTDNYTRLRKQMAAKKYLQSIKQKK
63	HSDAVFTDNYTRLRKQMAAKKYLQSIKQKL
64	HSDAVFTDNYTRLRKQMAAKKYLQSIKQKM
65	HSDAVFTDNYTRLRKQMAAKKYLQSIKQKP
66	HSDAVFTDNYTRLRKQMAAKKYLQSIKQKQ
67	HSDAVFTDNYTRLRKQMAAKKYLQSIKQKS
68	HSDAVFTDNYTRLRKQMAAKKYLQSIKQKT
69	HSDAVFTDNYTRLRKQMAAKKYLQSIKQKV
70	HSDAVFTDNYTRLRKQMAAKKYLQSIKQKW
71	HSDAVFTDNYTRLRKQMAAKKYLQSIKQKY
72	HSDAVFTDNYTRLRKQMAGKKYLQSIKQRI
73	HSDAVFTDNYTRLRKQMAKKKYLQSIKQRI
74	HSDAVFTDNYTRLRKQMASKKYLQSIKQRI
75	HSDAVFTDNYTRLRKQMAAKKYLQSI PQRI
76	HSDAVFTDNYTRLRKQMASKKYLQSI RQRI

第 1b 圖

SEQ ID NO:	序列
77	HSDAVFTDQYTRLRKQVAACKYLQSIKNKRY
78	Ac-HTDAVFTDQYTRLRKQVAACKYLQSIKNKRY
79	HSDAVFTDQYTRLRKQMAACKYLQSIKNKRY
80	HSDAVFTDQYTRLRKQVAACKYLQSIKNK
81	HTEAVFTDQYTRLRKQVAACKYLQSIKNKRY
82	HSDAVFTDQYTRLRKQLAVKKYLQDIKNGGT
83	HSDAVFTDQYTRLRKQMAACKYLQSIKNKR
84	HSDAVFTDQYTRLRKQLAACKYLQTIKNKRY
85	HSDAVFTDQYTRLRKQMAACKYLQTIKNKRY
86	HSDAVFTDQYTRLRKQMAAHKYLQSIKNKRY
87	HSDAVFTDQYTRLRKQMAAKHYLQSIKNKRY
88	HSDAVFTDQYTRLRKQMAGKKYLQSIKNKR
89	HSDAVFTDQYTRLRKQMAKKYLQSIKNKR
90	HSDAVFTDQYTRLRKQMARKKYLQSIKNKR
91	HSDAVFTDQYTRLRKQMASKKYLQSIKNKR
92	HSDAVFTDQYTRLRKQMAACKYLQSI PNKR
93	HSDAVFTDQYTRLRKQMAACKYLQSI QNKR
94	HSDAVFTDQYTRLRKQMAACKYLQSI RNKR
95	HSDAVFTDQYTRLRKQMAACKYLQSIKNRR
96	HSDAVFTDQYTRLRKQMAACKYLQSIKNKA
97	HSDAVFTDQYTRLRKQMAACKYLQSIKNKF
98	HSDAVFTDQYTRLRKQMAACKYLQSIKNKH
99	HSDAVFTDQYTRLRKQMAACKYLQSIKNKI
100	HSDAVFTDQYTRLRKQMAACKYLQSIKNKK
101	HSDAVFTDQYTRLRKQMAACKYLQSIKNKL
102	HSDAVFTDQYTRLRKQMAACKYLQSIKNKM
103	HSDAVFTDQYTRLRKQMAACKYLQSIKNKP
104	HSDAVFTDQYTRLRKQMAACKYLQSIKNKQ
105	HSDAVFTDQYTRLRKQMAACKYLQSIKNKS
106	HSDAVFTDQYTRLRKQMAACKYLQSIKNKT
107	HSDAVFTDQYTRLRKQMAACKYLQSIKNKV
108	HSDAVFTDQYTRLRKQMAACKYLQSIKNKW
109	HSDAVFTDQYTRLRKQMAACKYLQSIKNKY
110	HSDAVFTDQYTRLRKQMAGKKYLQSIKNRI
111	HSDAVFTDQYTRLRKQMAKKYLQSIKNRI
112	HSDAVFTDQYTRLRKQMASKKYLQSIKNRI
113	HSDAVFTDQYTRLRKQMAACKYLQSI PNRI
114	HSDAVFTDQYTRLRKQMASKKYLQSI RNRI

第 1c 圖

SEQ ID NO:	序列
115	HSDAVFTDQYTRLRKQVAACKYLQSIKQKRYC-PEG
116	Ac-HTDAVFTDQYTRLRKQVAACKYLQSIKQKRYC-PEG
117	HSDAVFTDQYTRLRKQMAACKYLQSIKQKRYC-PEG
118	HSDAVFTDQYTRLRKQVAACKYLQSIKQKRC-PEG
119	HTEAVFTDQYTRLRKQVAACKYLQSIKQKRYC-PEG
120	HSDAVFTDQYTRLRKQLAVKKYLQDIKQGGTC-PEG
121	HSDAVFTDQYTRLRKQMAACKYLQSIKQKRC-PEG
122	HSDAVFTDQYTRLRKQLAACKYLQTIKQKRYC-PEG
123	HSDAVFTDQYTRLRKQMAACKYLQTIKQKRYC-PEG
124	HSDAVFTDQYTRLRKQMAAHKYLQSIKQKRYC-PEG
125	HSDAVFTDQYTRLRKQMAAKHYLQSIKQKRYC-PEG
126	HSDAVFTDQYTRLRKQMAGKKYLQSIKQKRC-PEG
127	HSDAVFTDQYTRLRKQMAKKYLQSIKQKRC-PEG
128	HSDAVFTDQYTRLRKQMARKKYLQSIKQKRC-PEG
129	HSDAVFTDQYTRLRKQMASKKYLQSIKQKRC-PEG
130	HSDAVFTDQYTRLRKQMAACKYLQSIQKRC-PEG
131	HSDAVFTDQYTRLRKQMAACKYLQSIQKRC-PEG
132	HSDAVFTDQYTRLRKQMAACKYLQSIQKRC-PEG
133	HSDAVFTDQYTRLRKQMAACKYLQSIQRRRC-PEG
134	HSDAVFTDQYTRLRKQMAACKYLQSIKQKAC-PEG
135	HSDAVFTDQYTRLRKQMAACKYLQSIKQKFC-PEG
136	HSDAVFTDQYTRLRKQMAACKYLQSIKQKHC-PEG
137	HSDAVFTDQYTRLRKQMAACKYLQSIKQKIC-PEG
138	HSDAVFTDQYTRLRKQMAACKYLQSIKQKCC-PEG
139	HSDAVFTDQYTRLRKQMAACKYLQSIKQKLC-PEG
140	HSDAVFTDQYTRLRKQMAACKYLQSIKQKMC-PEG
141	HSDAVFTDQYTRLRKQMAACKYLQSIKQKPC-PEG
142	HSDAVFTDQYTRLRKQMAACKYLQSIKQKQC-PEG
143	HSDAVFTDQYTRLRKQMAACKYLQSIKQKSC-PEG
144	HSDAVFTDQYTRLRKQMAACKYLQSIKQKTC-PEG
145	HSDAVFTDQYTRLRKQMAACKYLQSIKQKVC-PEG
146	HSDAVFTDQYTRLRKQMAACKYLQSIKQKWC-PEG
147	HSDAVFTDQYTRLRKQMAACKYLQSIKQKYC-PEG
148	HSDAVFTDQYTRLRKQMAGKKYLQSIKQRIC-PEG
149	HSDAVFTDQYTRLRKQMAKKYLQSIKQRIC-PEG
150	HSDAVFTDQYTRLRKQMASKKYLQSIKQRIC-PEG
151	HSDAVFTDQYTRLRKQMAACKYLQSIQRIC-PEG
152	HSDAVFTDQYTRLRKQMASKKYLQSIQRIC-PEG

第1d圖

BamHI Xa 因子
GGATCC ATC GAA GGT CGT CAC TCC GAC GCT GTT TTC ACC GAC cag TAC
ACG CGT CTG CGT AAA CAG gtt GCT gca AAG AAA TAC CTG cag TCC ATC aag
cag aag cgt tac TAA TGA CTCGAG (SEQ ID NO: 153)
 终止密码子 XhoI

第 2 圖

SEQ ID NO:	序列
154	CAC TCC GAC GCT GTT TTC ACC GAC CAG TAC ACG CGT CTG CGT AAA CAG GTT GCT GCA AAG AAA TAC CTG CAG TCC ATC AAG CAG AAG CGT TAC
155	CAC TCC GAC GCT GTT TTC ACC GAC CAG TAC ACG CGT CTG CGT AAA CAG ATG GCT GCA AAG AAA TAC CTG CAG TCC ATC AAG CAG AAG CGT TAC
156	CAC TCC GAC GCT GTT TTC ACC GAC CAG TAC ACG CGT CTG CGT AAA CAG GTT GCT GCA AAG AAA TAC CTG CAG TCC ATC AAG CAG AAG
157	CAC ACC GAA GCT GTT TTC ACC GAC CAG TACACG CGT CTG CGT AAA CAG GTT GCT GCA AAG AAA TAC CTG CAG TCC ATC AAG CAG AAG CGT TAC
158	CAC TCC GAC GCT GTT TTC ACC GAC CAG TAC ACG CGT CTG CGT AAA CAG CTG GCT GTT AAG AAA TAC CTG CAG GAC ATC AAG CAG GGC GGT ACC
159	CAC TCC GAC GCT GTT TTC ACC GAC CAG TAC ACG CGT CTG CGT AAA CAG ATG GCT GCA AAG AAA TAC CTG CAG TCC ATC AAG CAG AAG CGT
160	CAC TCC GAC GCT GTT TTC ACC GAC CAG TAC ACG CGT CTG CGT AAA CAG CTG GCT GCA AAG AAA TAC CTG CAG ACC ATC AAG CAG AAG CGT TAC
161	CAC TCC GAC GCT GTT TTC ACC GAC CAG TAC ACG CGT CTG CGT AAA CAG ATG GCT GCA AAG AAA TAC CTG CAG ACC ATC AAG CAG AAG CGT TAC
162	CAC TCC GAC GCT GTT TTC ACC GAC CAG TAC ACG CGT CTG CGT AAA CAG ATG GCT GCA CAC AAA TAC CTG CAG TCC ATC AAG CAG AAG CGT TAC
163	CAC TCC GAC GCT GTT TTC ACC GAC CAG TAC ACG CGT CTG CGT AAA CAG ATG GCT GCA AAG CAC TAC CTG CAG TCC ATC AAG CAG AAG CGT TAC
164	CAC TCC GAC GCT GTT TTC ACC GAC CAG TAC ACG CGT CTG CGT AAA CAG ATG GCT GGC AAG AAA TAC CTG CAG TCC ATC AAG CAG AAG CGT
165	CAC TCC GAC GCT GTT TTC ACC GAC CAG TAC ACG CGT CTG CGT AAA CAG ATG GCT AAA AAG AAA TAC CTG CAG TCC ATC AAG CAG AAG CGT
166	CAC TCC GAC GCT GTT TTC ACC GAC CAG TAC ACG CGT CTG CGT AAA CAG ATG GCT CGT AAG AAA TAC CTG CAG TCC ATC AAG CAG AAG CGT
167	CAC TCC GAC GCT GTT TTC ACC GAC CAG TAC ACG CGT CTG CGT AAA CAG ATG GCT TCC AAG AAA TAC CTG CAG TCC ATC AAG CAG AAG CGT

第 3a 圖

168	CAC TCC GAC GCT GTT TTC ACC GAC CAG TAC ACG CGT CTG CGT AAA CAG ATG GCT GCA AAG AAA TAC CTG CAG TCC ATC CCC CAG AAG CGT
169	CAC TCC GAC GCT GTT TTC ACC GAC CAG TAC ACG CGT CTG CGT AAA CAG ATG GCT GCA AAG AAA TAC CTG CAG TCC ATC CAG CAG AAG CGT
170	CAC TCC GAC GCT GTT TTC ACC GAC CAG TAC ACG CGT CTG CGT AAA CAG ATG GCT GCA AAG AAA TAC CTG CAG TCC ATC CGT CAG AAG CGT
171	CAC TCC GAC GCT GTT TTC ACC GAC CAG TAC ACG CGT CTG CGT AAA CAG ATG GCT GCA AAG AAA TAC CTG CAG TCC ATC AAG CAG CGT CGT
172	CAC TCC GAC GCT GTT TTC ACC GAC CAG TAC ACG CGT CTG CGT AAA CAG ATG GCT GCA AAG AAA TAC CTG CAG TCC ATC AAG CAG AAG GCA
173	CAC TCC GAC GCT GTT TTC ACC GAC CAG TAC ACG CGT CTG CGT AAA CAG ATG GCT GCA AAG AAA TAC CTG CAG TCC ATC AAG CAG AAG TTC
174	CAC TCC GAC GCT GTT TTC ACC GAC CAG TAC ACG CGT CTG CGT AAA CAG ATG GCT GCA AAG AAA TAC CTG CAG TCC ATC AAG CAG AAG CAC
175	CAC TCC GAC GCT GTT TTC ACC GAC CAG TAC ACG CGT CTG CGT AAA CAG ATG GCT GCA AAG AAA TAC CTG CAG TCC ATC AAG CAG AAG ATC
176	CAC TCC GAC GCT GTT TTC ACC GAC CAG TAC ACG CGT CTG CGT AAA CAG ATG GCT GCA AAG AAA TAC CTG CAG TCC ATC AAG CAG AAG AAG
177	CAC TCC GAC GCT GTT TTC ACC GAC CAG TAC ACG CGT CTG CGT AAA CAG ATG GCT GCA AAG AAA TAC CTG CAG TCC ATC AAG CAG AAG CTG
178	CAC TCC GAC GCT GTT TTC ACC GAC CAG TAC ACG CGT CTG CGT AAA CAG ATG GCT GCA AAG AAA TAC CTG CAG TCC ATC AAG CAG AAG ATG
179	CAC TCC GAC GCT GTT TTC ACC GAC CAG TAC ACG CGT CTG CGT AAA CAG ATG GCT GCA AAG AAA TAC CTG CAG TCC ATC AAG CAG AAG CCC
180	CAC TCC GAC GCT GTT TTC ACC GAC CAG TAC ACG CGT CTG CGT AAA CAG ATG GCT GCA AAG AAA TAC CTG CAG TCC ATC AAG CAG AAG CAG
181	CAC TCC GAC GCT GTT TTC ACC GAC CAG TAC ACG CGT CTG CGT AAA CAG ATG GCT GCA AAG AAA TAC CTG CAG TCC ATC AAG CAG AAG TCC

第 3b 圖

182	CAC TCC GAC GCT GTT TTC ACC GAC CAG TAC ACG CGT CTG CGT AAA CAG ATG GCT GCA AAG AAA TAC CTG CAG TCC ATC AAG CAG AAG ACC
183	CAC TCC GAC GCT GTT TTC ACC GAC CAG TAC ACG CGT CTG CGT AAA CAG ATG GCT GCA AAG AAA TAC CTG CAG TCC ATC AAG CAG AAG GTT
184	CAC TCC GAC GCT GTT TTC ACC GAC CAG TAC ACG CGT CTG CGT AAA CAG ATG GCT GCA AAG AAA TAC CTG CAG TCC ATC AAG CAG AAG TGG
185	CAC TCC GAC GCT GTT TTC ACC GAC CAG TAC ACG CGT CTG CGT AAA CAG ATG GCT GCA AAG AAA TAC CTG CAG TCC ATC AAG CAG AAG TAC
186	CAC TCC GAC GCT GTT TTC ACC GAC CAG TAC ACG CGT CTG CGT AAA CAG ATG GCT GGT AAG AAA TAC CTG CAG TCC ATC AAG CAG CGT ATC
187	CAC TCC GAC GCT GTT TTC ACC GAC CAG TAC ACG CGT CTG CGT AAA CAG ATG GCT AAA AAG AAA TAC CTG CAG TCC ATC AAG CAG CGT ATC
188	CAC TCC GAC GCT GTT TTC ACC GAC CAG TAC ACG CGT CTG CGT AAA CAG ATG GCT TCC AAG AAA TAC CTG CAG TCC ATC AAG CAG CGT ATC
189	CAC TCC GAC GCT GTT TTC ACC GAC CAG TAC ACG CGT CTG CGT AAA CAG ATG GCT GCA AAG AAA TAC CTG CAG TCC ATC CCC CAG CGT ATC
190	CAC TCC GAC GCT GTT TTC ACC GAC CAG TAC ACG CGT CTG CGT AAA CAG ATG GCT TCC AAG AAA TAC CTG CAG TCC ATC CGT CAG CGT ATC
191	CAC TCC GAC GCT GTT TTC ACC GAC AAC TAC ACG CGT CTG CGT AAA CAG GTT GCT GCA AAG AAA TAC CTG CAG TCC ATC AAG CAG AAG CGT TAC
192	CAC TCC GAC GCT GTT TTC ACC GAC AAC TAC ACG CGT CTG CGT AAA CAG ATG GCT GCA AAG AAA TAC CTG CAG TCC ATC AAG CAG AAG CGT TAC
193	CAC TCC GAC GCT GTT TTC ACC GAC AAC TAC ACG CGT CTG CGT AAA CAG GTT GCT GCA AAG AAA TAC CTG CAG TCC ATC AAG CAG AAG
194	CAC ACC GAA GCT GTT TTC ACC GAC AAC TAC ACG CGT CTG CGT AAA CAG GTT GCT GCA AAG AAA TAC CTG CAG TCC ATC AAG CAG AAG CGT TAC
195	CAC TCC GAC GCT GTT TTC ACC GAC AAC TAC ACG CGT CTG CGT AAA CAG CTG GCT GTT AAG AAA TAC CTG CAG GAC ATC AAG CAG GGC GGT ACC

196	CAC TCC GAC GCT GTT TTC ACC GAC AAC TAC ACG CGT CTG CGT AAA CAG ATG GCT GCA AAG AAA TAC CTG CAG TCC ATC AAG CAG AAG CGT
197	CAC TCC GAC GCT GTT TTC ACC GAC AAC TAC ACG CGT CTG CGT AAA CAG CTG GCT GCA AAG AAA TAC CTG CAG ACC ATC AAG CAG AAG CGT TAC
198	CAC TCC GAC GCT GTT TTC ACC GAC AAC TAC ACG CGT CTG CGT AAA CAG ATG GCT GCA AAG AAA TAC CTG CAG ACC ATC AAG CAG AAG CGT TAC
199	CAC TCC GAC GCT GTT TTC ACC GAC AAC TAC ACG CGT CTG CGT AAA CAG ATG GCT GCA CAC AAA TAC CTG CAG TCC ATC AAG CAG AAG CGT TAC
200	CAC TCC GAC GCT GTT TTC ACC GAC AAC TAC ACG CGT CTG CGT AAA CAG ATG GCT GCA AAG CAC TAC CTG CAG TCC ATC AAG CAG AAG CGT TAC
201	CAC TCC GAC GCT GTT TTC ACC GAC AAC TAC ACG CGT CTG CGT AAA CAG ATG GCT GGC AAG AAA TAC CTG CAG TCC ATC AAG CAG AAG CGT
202	CAC TCC GAC GCT GTT TTC ACC GAC AAC TAC ACG CGT CTG CGT AAA CAG ATG GCT AAA AAG AAA TAC CTG CAG TCC ATC AAG CAG AAG CGT
203	CAC TCC GAC GCT GTT TTC ACC GAC AAC TAC ACG CGT CTG CGT AAA CAG ATG GCT CGT AAG AAA TAC CTG CAG TCC ATC AAG CAG AAG CGT
204	CAC TCC GAC GCT GTT TTC ACC GAC AAC TAC ACG CGT CTG CGT AAA CAG ATG GCT TCC AAG AAA TAC CTG CAG TCC ATC AAG CAG AAG CGT
205	CAC TCC GAC GCT GTT TTC ACC GAC AAC TAC ACG CGT CTG CGT AAA CAG ATG GCT GCA AAG AAA TAC CTG CAG TCC ATC CCC CAG AAG CGT
206	CAC TCC GAC GCT GTT TTC ACC GAC AAC TAC ACG CGT CTG CGT AAA CAG ATG GCT GCA AAG AAA TAC CTG CAG TCC ATC CAG CAG AAG CGT
207	CAC TCC GAC GCT GTT TTC ACC GAC AAC TAC ACG CGT CTG CGT AAA CAG ATG GCT GCA AAG AAA TAC CTG CAG TCC ATC CGT CAG AAG CGT
208	CAC TCC GAC GCT GTT TTC ACC GAC AAC TAC ACG CGT CTG CGT AAA CAG ATG GCT GCA AAG AAA TAC CTG CAG TCC ATC AAG CAG CGT CGT
209	CAC TCC GAC GCT GTT TTC ACC GAC AAC TAC ACG CGT CTG CGT AAA CAG ATG GCT GCA AAG AAA TAC CTG CAG TCC ATC AAG CAG AAG GCA

第 3d 圖

210	CAC TCC GAC GCT GTT TTC ACC GAC AAC TAC ACG CGT CTG CGT AAA CAG ATG GCT GCA AAG AAA TAC CTG CAG TCC ATC AAG CAG AAG TTC
211	CAC TCC GAC GCT GTT TTC ACC GAC AAC TAC ACG CGT CTG CGT AAA CAG ATG GCT GCA AAG AAA TAC CTG CAG TCC ATC AAG CAG AAG CAC
212	CAC TCC GAC GCT GTT TTC ACC GAC AAC TAC ACG CGT CTG CGT AAA CAG ATG GCT GCA AAG AAA TAC CTG CAG TCC ATC AAG CAG AAG ATC
213	CAC TCC GAC GCT GTT TTC ACC GAC AAC TAC ACG CGT CTG CGT AAA CAG ATG GCT GCA AAG AAA TAC CTG CAG TCC ATC AAG CAG AAG AAG
214	CAC TCC GAC GCT GTT TTC ACC GAC AAC TAC ACG CGT CTG CGT AAA CAG ATG GCT GCA AAG AAA TAC CTG CAG TCC ATC AAG CAG AAG CTG
215	CAC TCC GAC GCT GTT TTC ACC GAC AAC TAC ACG CGT CTG CGT AAA CAG ATG GCT GCA AAG AAA TAC CTG CAG TCC ATC AAG CAG AAG ATG
216	CAC TCC GAC GCT GTT TTC ACC GAC AAC TAC ACG CGT CTG CGT AAA CAG ATG GCT GCA AAG AAA TAC CTG CAG TCC ATC AAG CAG AAG CCC
217	CAC TCC GAC GCT GTT TTC ACC GAC AAC TAC ACG CGT CTG CGT AAA CAG ATG GCT GCA AAG AAA TAC CTG CAG TCC ATC AAG CAG AAG CAG
218	CAC TCC GAC GCT GTT TTC ACC GAC AAC TAC ACG CGT CTG CGT AAA CAG ATG GCT GCA AAG AAA TAC CTG CAG TCC ATC AAG CAG AAG TCC
219	CAC TCC GAC GCT GTT TTC ACC GAC AAC TAC ACG CGT CTG CGT AAA CAG ATG GCT GCA AAG AAA TAC CTG CAG TCC ATC AAG CAG AAG ACC
220	CAC TCC GAC GCT GTT TTC ACC GAC AAC TAC ACG CGT CTG CGT AAA CAG ATG GCT GCA AAG AAA TAC CTG CAG TCC ATC AAG CAG AAG GTT
221	CAC TCC GAC GCT GTT TTC ACC GAC AAC TAC ACG CGT CTG CGT AAA CAG ATG GCT GCA AAG AAA TAC CTG CAG TCC ATC AAG CAG AAG TGG
222	CAC TCC GAC GCT GTT TTC ACC GAC AAC TAC ACG CGT CTG CGT AAA CAG ATG GCT GCA AAG AAA TAC CTG CAG TCC ATC AAG CAG AAG TAC
223	CAC TCC GAC GCT GTT TTC ACC GAC AAC TAC ACG CGT CTG CGT AAA CAG ATG GCT GGT AAG AAA TAC CTG CAG TCC ATC AAG CAG CGT ATC

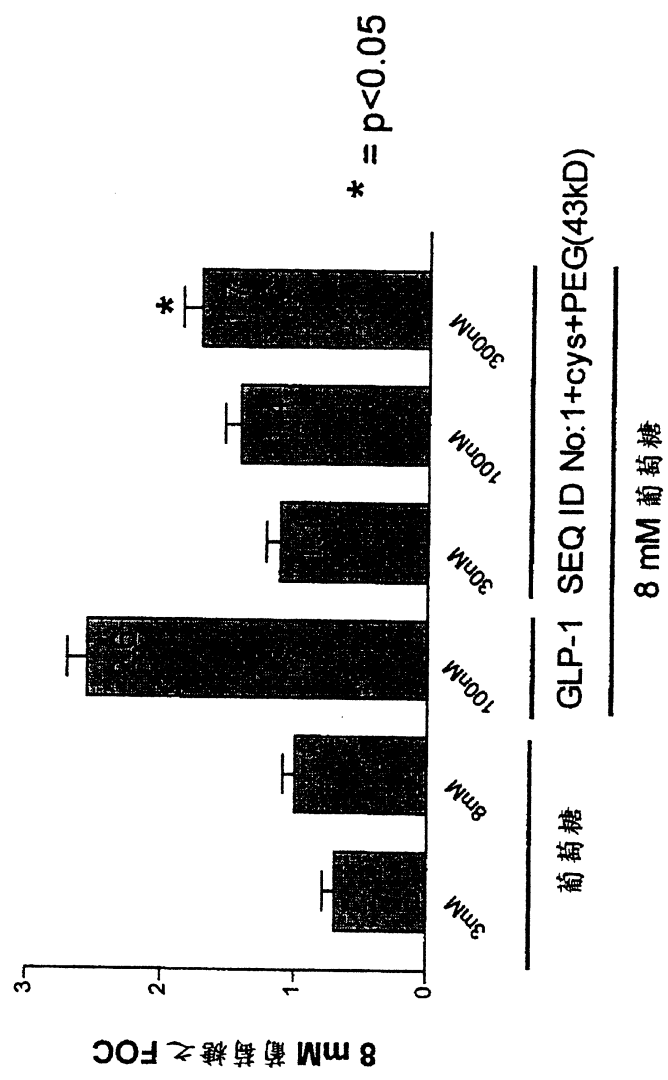
224	CAC TCC GAC GCT GTT TTC ACC GAC AAC TAC ACG CGT CTG CGT AAA CAG ATG GCT AAA AAG AAA TAC CTG CAG TCC ATC AAG CAG CGT ATC
225	CAC TCC GAC GCT GTT TTC ACC GAC AAC TAC ACG CGT CTG CGT AAA CAG ATG GCT TCC AAG AAA TAC CTG CAG TCC ATC AAG CAG CGT ATC
226	CAC TCC GAC GCT GTT TTC ACC GAC AAC TAC ACG CGT CTG CGT AAA CAG ATG GCT GCA AAG AAA TAC CTG CAG TCC ATC CCC CAG CGT ATC
227	CAC TCC GAC GCT GTT TTC ACC GAC AAC TAC ACG CGT CTG CGT AAA CAG ATG GCT TCC AAG AAA TAC CTG CAG TCC ATC CGT CAG CGT ATC
228	CAC TCC GAC GCT GTT TTC ACC GAC CAG TAC ACG CGT CTG CGT AAA CAG GTT GCT GCA AAG AAA TAC CTG CAG TCC ATC AAG AAC AAG CGT TAC
229	CAC TCC GAC GCT GTT TTC ACC GAC CAG TAC ACG CGT CTG CGT AAA CAG ATG GCT GCA AAG AAA TAC CTG CAG TCC ATC AAG AAC AAG CGT TAC
230	CAC TCC GAC GCT GTT TTC ACC GAC CAG TAC ACG CGT CTG CGT AAA CAG GTT GCT GCA AAG AAA TAC CTG CAG TCC ATC AAG AAC AAG
231	CAC ACC GAA GCT GTT TTC ACC GAC CAG TAC ACG CGT CTG CGT AAA CAG GTT GCT GCA AAG AAA TAC CTG CAG TCC ATC AAG AAC AAG CGT TAC
232	CAC TCC GAC GCT GTT TTC ACC GAC CAG TAC ACG CGT CTG CGT AAA CAG CTG GCT GTT AAG AAA TAC CTG CAG GAC ATC AAG AAC GGC GGT ACC
233	CAC TCC GAC GCT GTT TTC ACC GAC CAG TAC ACG CGT CTG CGT AAA CAG ATG GCT GCA AAG AAA TAC CTG CAG TCC ATC AAG AAC AAG CGT
234	CAC TCC GAC GCT GTT TTC ACC GAC CAG TAC ACG CGT CTG CGT AAA CAG CTG GCT GCA AAG AAA TAC CTG CAG ACC ATC AAG AAC AAG CGT TAC
235	CAC TCC GAC GCT GTT TTC ACC GAC CAG TAC ACG CGT CTG CGT AAA CAG ATG GCT GCA AAG AAA TAC CTG CAG ACC ATC AAG AAC AAG CGT TAC
236	CAC TCC GAC GCT GTT TTC ACC GAC CAG TAC ACG CGT CTG CGT AAA CAG ATG GCT GCA CAC AAA TAC CTG CAG TCC ATC AAG AAC AAG CGT TAC
237	CAC TCC GAC GCT GTT TTC ACC GAC CAG TAC ACG CGT CTG CGT AAA CAG ATG GCT GCA AAG CAC TAC CTG CAG TCC ATC AAG AAC AAG CGT TAC

238	CAC TCC GAC GCT GTT TTC ACC GAC CAG TAC ACG CGT CTG CGT AAA CAG ATG GCT GGC AAG AAA TAC CTG CAG TCC ATC AAG AAC AAG CGT
239	CAC TCC GAC GCT GTT TTC ACC GAC CAG TAC ACG CGT CTG CGT AAA CAG ATG GCT AAA AAG AAA TAC CTG CAG TCC ATC AAG AAC AAG CGT
240	CAC TCC GAC GCT GTT TTC ACC GAC CAG TAC ACG CGT CTG CGT AAA CAG ATG GCT CGT AAG AAA TAC CTG CAG TCC ATC AAG AAC AAG CGT
241	CAC TCC GAC GCT GTT TTC ACC GAC CAG TAC ACG CGT CTG CGT AAA CAG ATG GCT TCC AAG AAA TAC CTG CAG TCC ATC AAG AAC AAG CGT
242	CAC TCC GAC GCT GTT TTC ACC GAC CAG TAC ACG CGT CTG CGT AAA CAG ATG GCT GCA AAG AAA TAC CTG CAG TCC ATC CCC AAC AAG CGT
243	CAC TCC GAC GCT GTT TTC ACC GAC CAG TAC ACG CGT CTG CGT AAA CAG ATG GCT GCA AAG AAA TAC CTG CAG TCC ATC CAG AAC AAG CGT
244	CAC TCC GAC GCT GTT TTC ACC GAC CAG TAC ACG CGT CTG CGT AAA CAG ATG GCT GCA AAG AAA TAC CTG CAG TCC ATC CGT AAC AAG CGT
245	CAC TCC GAC GCT GTT TTC ACC GAC CAG TAC ACG CGT CTG CGT AAA CAG ATG GCT GCA AAG AAA TAC CTG CAG TCC ATC AAG AAC CGT CGT
246	CAC TCC GAC GCT GTT TTC ACC GAC CAG TAC ACG CGT CTG CGT AAA CAG ATG GCT GCA AAG AAA TAC CTG CAG TCC ATC AAG AAC AAG GCA
247	CAC TCC GAC GCT GTT TTC ACC GAC CAG TAC ACG CGT CTG CGT AAA CAG ATG GCT GCA AAG AAA TAC CTG CAG TCC ATC AAG AAC AAG TTC
248	CAC TCC GAC GCT GTT TTC ACC GAC CAG TAC ACG CGT CTG CGT AAA CAG ATG GCT GCA AAG AAA TAC CTG CAG TCC ATC AAG AAC AAG CAC
249	CAC TCC GAC GCT GTT TTC ACC GAC CAG TAC ACG CGT CTG CGT AAA CAG ATG GCT GCA AAG AAA TAC CTG CAG TCC ATC AAG AAC AAG ATC
250	CAC TCC GAC GCT GTT TTC ACC GAC CAG TAC ACG CGT CTG CGT AAA CAG ATG GCT GCA AAG AAA TAC CTG CAG TCC ATC AAG AAC AAG AAG
251	CAC TCC GAC GCT GTT TTC ACC GAC CAG TAC ACG CGT CTG CGT AAA CAG ATG GCT GCA AAG AAA TAC CTG CAG TCC ATC AAG AAC AAG CTG

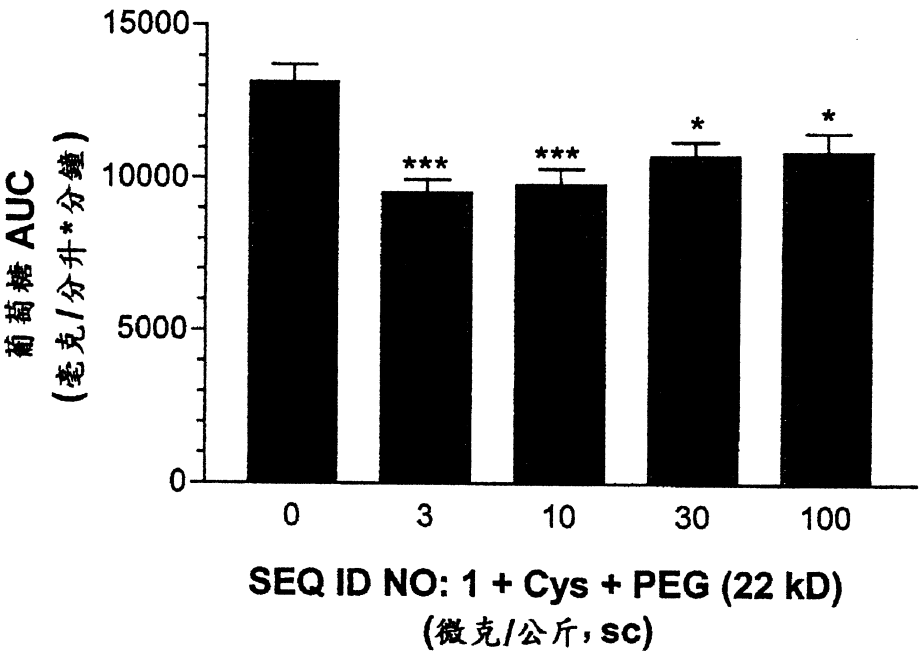
第 3g 圖

252	CAC TCC GAC GCT GTT TTC ACC GAC CAG TAC ACG CGT CTG CGT AAA CAG ATG GCT GCA AAG AAA TAC CTG CAG TCC ATC AAG AAC AAG ATG
253	CAC TCC GAC GCT GTT TTC ACC GAC CAG TAC ACG CGT CTG CGT AAA CAG ATG GCT GCA AAG AAA TAC CTG CAG TCC ATC AAG AAC AAG CCC
254	CAC TCC GAC GCT GTT TTC ACC GAC CAG TAC ACG CGT CTG CGT AAA CAG ATG GCT GCA AAG AAA TAC CTG CAG TCC ATC AAG AAC AAG CAG
255	CAC TCC GAC GCT GTT TTC ACC GAC CAG TAC ACG CGT CTG CGT AAA CAG ATG GCT GCA AAG AAA TAC CTG CAG TCC ATC AAG AAC AAG TCC
256	CAC TCC GAC GCT GTT TTC ACC GAC CAG TAC ACG CGT CTG CGT AAA CAG ATG GCT GCA AAG AAA TAC CTG CAG TCC ATC AAG AAC AAG ACC
257	CAC TCC GAC GCT GTT TTC ACC GAC CAG TAC ACG CGT CTG CGT AAA CAG ATG GCT GCA AAG AAA TAC CTG CAG TCC ATC AAG AAC AAG GTT
258	CAC TCC GAC GCT GTT TTC ACC GAC CAG TAC ACG CGT CTG CGT AAA CAG ATG GCT GCA AAG AAA TAC CTG CAG TCC ATC AAG AAC AAG TGG
259	CAC TCC GAC GCT GTT TTC ACC GAC CAG TAC ACG CGT CTG CGT AAA CAG ATG GCT GCA AAG AAA TAC CTG CAG TCC ATC AAG AAC AAG TAC
260	CAC TCC GAC GCT GTT TTC ACC GAC CAG TAC ACG CGT CTG CGT AAA CAG ATG GCT GGT AAG AAA TAC CTG CAG TCC ATC AAG AAC CGT ATC
261	CAC TCC GAC GCT GTT TTC ACC GAC CAG TAC ACG CGT CTG CGT AAA CAG ATG GCT AAA AAG AAA TAC CTG CAG TCC ATC AAG AAC CGT ATC
262	CAC TCC GAC GCT GTT TTC ACC GAC CAG TAC ACG CGT CTG CGT AAA CAG ATG GCT TCC AAG AAA TAC CTG CAG TCC ATC AAG AAC CGT ATC
263	CAC TCC GAC GCT GTT TTC ACC GAC CAG TAC ACG CGT CTG CGT AAA CAG ATG GCT GCA AAG AAA TAC CTG CAG TCC ATC CCC AAC CGT ATC
264	CAC TCC GAC GCT GTT TTC ACC GAC CAG TAC ACG CGT CTG CGT AAA CAG ATG GCT TCC AAG AAA TAC CTG CAG TCC ATC CGT AAC CGT ATC

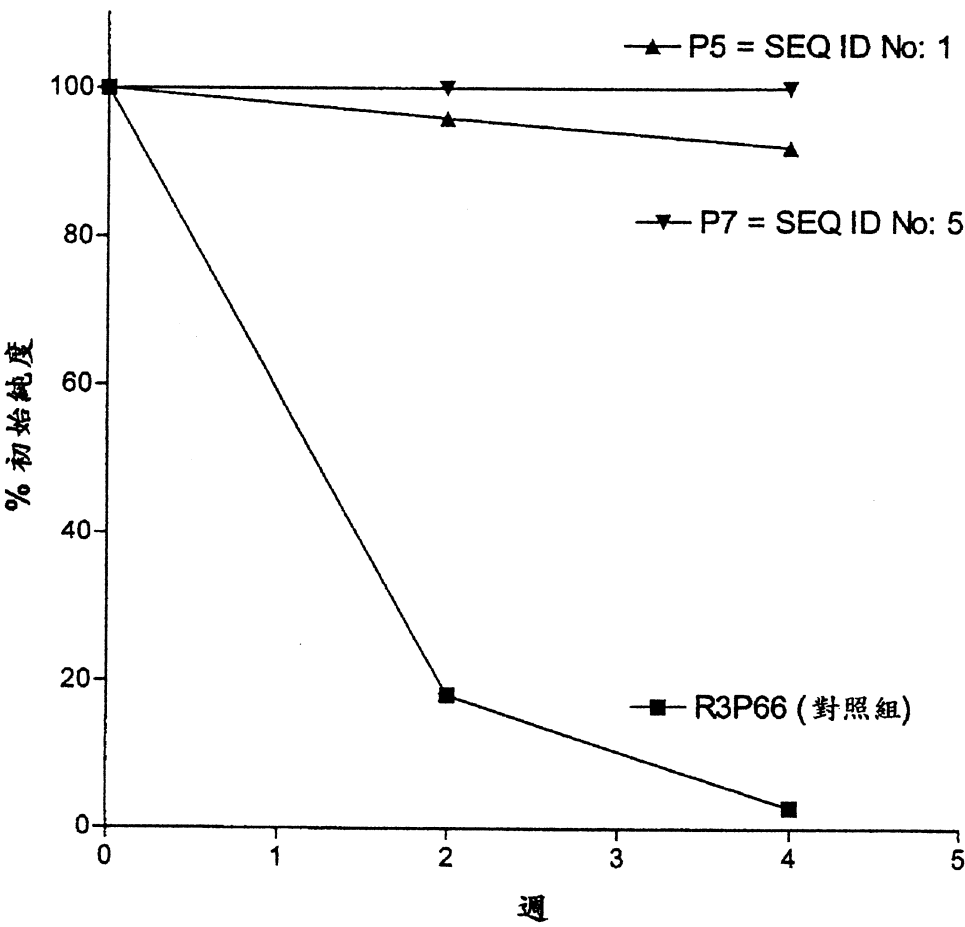
第 3h 圖



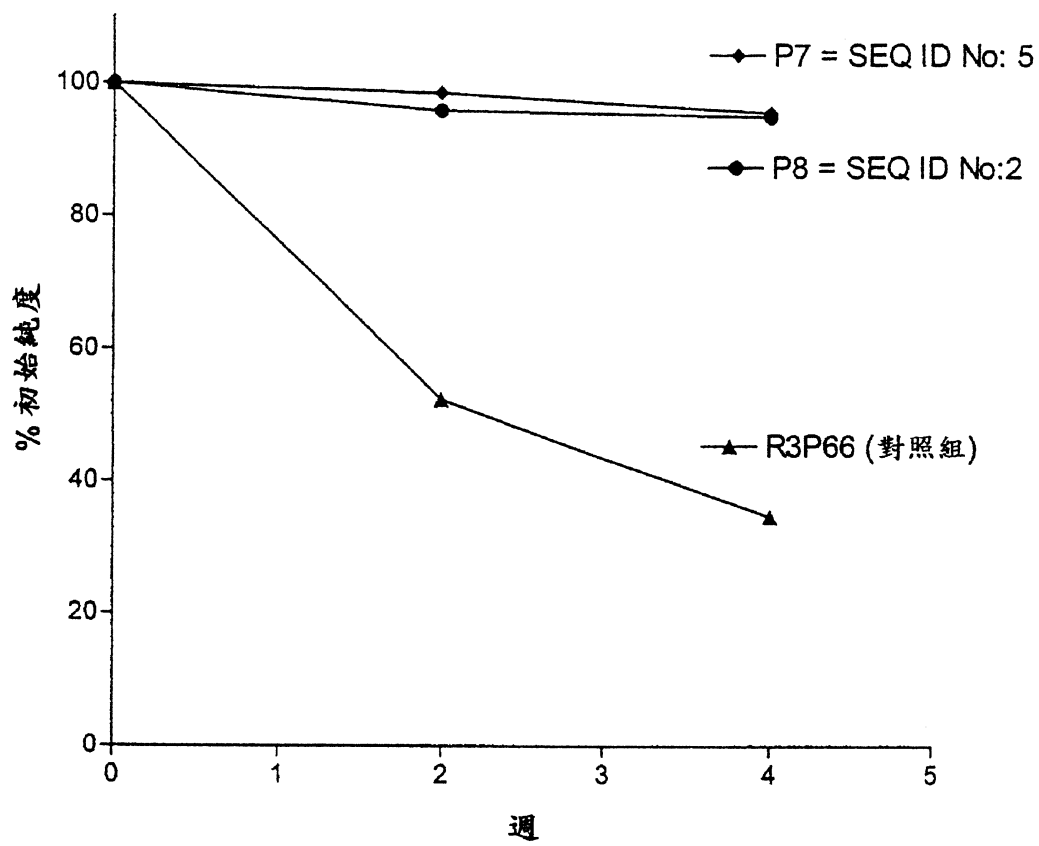
第 4 圖



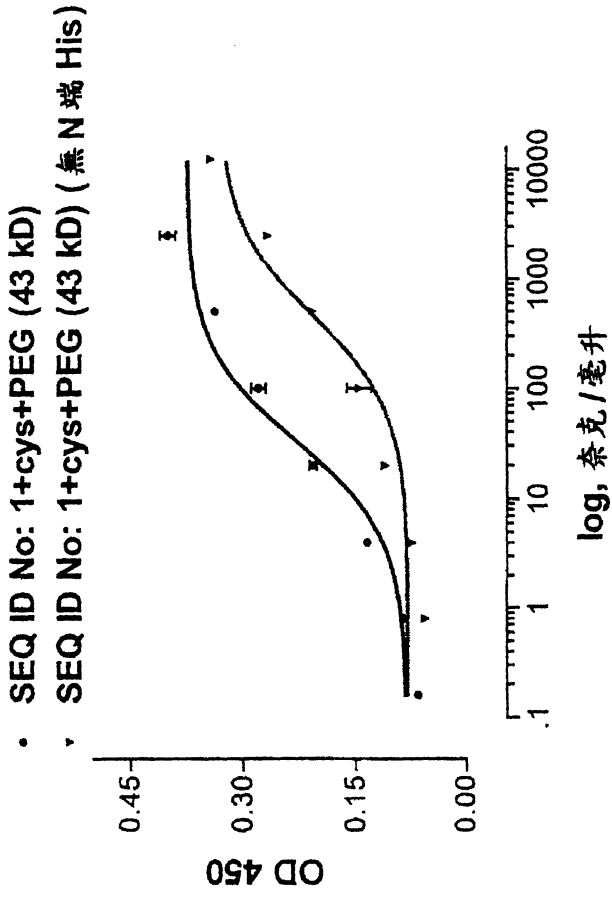
第 5 圖



第 6 圖



第 7 圖



第 8 圖

(一)、本案指定代表圖為：第 1a 圖

(二)、本代表圖之元件代表符號簡單說明：

無

本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式：

無