



(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 103930125 B

(45)授权公告日 2017.11.03

(21)申请号 201280049850.X
 (22)申请日 2012.08.10
 (65)同一申请的已公布的文献号
 申请公布号 CN 103930125 A
 (43)申请公布日 2014.07.16
 (30)优先权数据
 1113770.0 2011.08.10 GB
 (85)PCT国际申请进入国家阶段日
 2014.04.10
 (86)PCT国际申请的申请数据
 PCT/GB2012/051955 2012.08.10
 (87)PCT国际申请的公布数据
 W02013/021212 EN 2013.02.14
 (73)专利权人 富力卡姆股份公司
 地址 瑞典伦德
 (72)发明人 J.艾伦法尔 P.杜纳
 A.赫特嘉思尼尔森
 (74)专利代理机构 北京市柳沈律师事务所
 11105
 代理人 宋莉
 (51)Int.Cl.
 A61K 38/19(2006.01)
 A61K 8/64(2006.01)
 A61Q 7/00(2006.01)
 A61P 17/14(2006.01)

CN 1513000 A,2004.07.14,
 WO 01/84159 A2,2001.11.08,
 WO 2008/086449 A2,2008.07.17,
 CN 1930295 A,2007.03.14,
 Yu DW,et al.Osteopontin gene is expressed in the dermal papilla of pelage follicles in a hair-cycle-dependent mannerOsteopontin gene is expressed in the dermal papilla of pelage follicles in a hair-cycle-dependent manner.《J Invest Dermatol》.2001,第117卷(第6期),1554-1558.
 Yu DW,et al.Osteopontin gene is upregulated during the catagen phase of the hair cylce.《Journal of Investigative Dermatology》.1997,第108卷(第4期),692.
 Katagiri YU,et al.Non-RGD domains of osteopontin promote cell adhesion without involving alpha v integrins.《J Cell Biochem》.1996,第62卷(第1期),123-131.
 Courter D,et al.The RGD domain of human osteopontin promotes tumor growth and metastasis through activation of survival pathways.《PLoS One》.2010,第5卷(第3期),e9633.

杨恬等.大鼠皮肤及毛囊骨桥蛋白研究.《中国医学科学院学报》.2000,第22卷(第3期),296-299.

审查员 曲凯

(56)对比文件
 WO 96/32961 A1,1996.10.24,

权利要求书2页 说明书30页
 序列表23页 附图8页

(54)发明名称
 具有失活RGD域的修饰的骨桥蛋白肽及其用途

上可接受的赋形剂、载体或稀释剂。本发明进一步提供了在哺乳动物中刺激毛发生长的方法。

(57)摘要
 本发明提供了在哺乳动物中刺激毛发生长的组合物,所述组合物包含RGD域失活的修饰的骨桥蛋白多肽;和药学上可接受的和/或美容学

CN 103930125 B

1. 在哺乳动物中刺激毛发生长的组合物,其包含:
 - (a) 由选自SEQ ID.N0:1、5和63的氨基酸序列组成的修饰的骨桥蛋白多肽;和
 - (b) 药学上可接受的和/或美容学上可接受的赋形剂、载体或稀释剂。
2. 根据权利要求1的组合物,其中所述修饰的骨桥蛋白多肽由SEQ ID N0:1的氨基酸序列组成。
3. 根据权利要求1的组合物,其中所述修饰的骨桥蛋白多肽由SEQ ID N0:5的氨基酸序列组成。
4. 根据权利要求1的组合物,其中所述修饰的骨桥蛋白多肽由SEQ ID N0:63的氨基酸序列组成。
5. 根据权利要求1-4中任一项的组合物,用于局部给药。
6. 根据权利要求1-4中任一项的组合物,用于经皮给药。
7. 根据权利要求1-4中任一项的组合物,用于皮内给药。
8. 多肽,其由SEQ ID N0:63的氨基酸序列组成。
9. 多肽,其由SEQ ID N0:5的氨基酸序列组成。
10. 根据权利要求8或9的多肽在制备用于治疗或预防与毛发损失相关的疾病或状况的药物中的用途。
11. 根据权利要求8或9的多肽用于在哺乳动物中刺激毛发生长的用途,其中所述用途是美容用途。
12. 根据权利要求1至4中任一项的组合物在制备用于治疗或预防与毛发损失相关的疾病或状况的药物中的用途。
13. 根据权利要求12的用途,其中与毛发损失相关的疾病或状况是脱发。
14. 根据权利要求13的用途,其中脱发与生长期毛发损失相关。
15. 根据权利要求13的用途,其中脱发与毛发生长终期毛发损失相关。
16. 根据权利要求13的用途,其中脱发选自:
 - (a) 雄激素性脱发;
 - (b) 牵引性脱发;
 - (c) 生长期脱发;
 - (d) 休止期脱发;
 - (e) 斑秃;
 - (f) 全秃;
 - (g) 普秃;
 - (h) 须疮脱发;
 - (i) 粘蛋白性脱发;
 - (j) 肿瘤性脱发;
 - (k) 瘢痕性脱发;和
 - (l) 疤痕性脱发。
17. 根据权利要求16的用途,其中脱发是雄激素性脱发。
18. 根据权利要求16的用途,其中脱发是生长期脱发。
19. 根据权利要求12的用途,其中毛发损失由放疗和/或化疗剂诱导。

20. 根据权利要求12的用途,其中哺乳动物是人类。
21. 由选自SEQ ID.N0:1、5和63的氨基酸序列组成的修饰的骨桥蛋白多肽在制备在哺乳动物中刺激毛发生长的药物中的用途。
22. 根据权利要求21的用途,其中药物用于刺激现有毛囊。
23. 根据权利要求21的用途,其中药物用于诱导生长新的毛囊,或产生新毛囊的干细胞。
24. 根据权利要求21的用途,其中药物用于治疗或预防与毛发损失相关的疾病或状况。
25. 根据权利要求24的用途,其中所述与毛发损失相关的疾病或状况是脱发。
26. 根据权利要求25的用途,其中脱发与生长期毛发损失相关。
27. 根据权利要求25的用途,其中脱发与毛发生长终期毛发损失相关。
28. 根据权利要求25的用途,其中脱发选自:
 - (a) 雄激素性脱发;
 - (b) 牵引性脱发;
 - (c) 生长期脱发;
 - (d) 休止期脱发;
 - (e) 斑秃;
 - (f) 全秃;
 - (g) 普秃;
 - (h) 须疮脱发;
 - (i) 粘蛋白性脱发;
 - (j) 肿瘤性脱发;
 - (k) 瘢痕性脱发;和
 - (l) 疤痕性脱发。
29. 根据权利要求28的用途,其中脱发是雄激素性脱发。
30. 根据权利要求28的用途,其中脱发是生长期脱发。
31. 根据权利要求24的用途,其中毛发损失由放疗和/或化疗剂诱导。
32. 根据权利要求24的用途,其中哺乳动物是人类。
33. 根据权利要求1至4中任一项的组合物用于在哺乳动物中刺激毛发生长的用途,其中所述用途是美容用途。
34. 根据权利要求33的用途,用于刺激现有毛囊。
35. 根据权利要求33的用途,用于诱导生长新的毛囊,或产生新毛囊的干细胞。
36. 根据权利要求33的用途,用于促进胡须、睫毛或眉毛生长。
37. 根据权利要求33的用途,其中哺乳动物是人类。
38. 制备根据权利要求1至4中任一项的组合物的方法,所述方法包括混合选自SEQ ID.N0:1、5和63的氨基酸序列组成的修饰的骨桥蛋白多肽与药学上可接受的和/或美容学上可接受的赋形剂、载体或稀释剂。

具有失活RGD域的修饰的骨桥蛋白肽及其用途

发明领域

[0001] 本发明涉及在哺乳动物中刺激毛发生长的试剂。特别地,提供了包含修饰的骨桥蛋白多肽(modified osteopontin polypeptide)的组合物,及其用于在哺乳动物(包括人类)中刺激毛发生长的药学和美容学用途。

[0002] 背景

[0003] 毛发生长是周期性的,发生在三个阶段中:生长期,活跃生长期;生长中期,退化期;和毛发生长终期(telogen),休息期(resting phase)。毛发生长终期后,老的毛发纤维脱落且新的毛发产生,作为重复循环的一部分。

[0004] 脱发或毛发损失发生在男性和女性两者中,且归因于多种原因,包括衰老、激素水平、压力和化疗。在这些情况下,越来越多毛囊停留在毛发生长终期阶段,导致毛发纤维长度和直径逐渐减小,最终到达部分或完全秃发的阶段。

[0005] 已知各种类型的毛发损失,包括斑秃、雄激素源性脱发、生长期脱发、自身诱导性脱发、休止期脱发和疤痕性脱发。斑秃,被认为是一种自身免疫性疾病,开始于头皮上圆斑内的脱发。斑秃包括头皮上的轻微不完整毛发损失、以及头皮完全脱发(称作全秃)、以及脱去所有头皮和机体毛发,称作(普秃)。雄激素性脱发,包括男性型和女性型脱发,被认为由遗传素质、衰老和雄激素水平组合引起。雄激素性脱发与增加的雄激素刺激相关,其对毛囊产生不利影响。增加的雄激素刺激可产生自,其它机制当中增加的5- α -还原酶水平,所述酶将睾酮转化为二氢睾酮。生长期脱发是由于化学品或放射物,例如癌症化疗或放疗的毛发损失。自身诱导性毛发损失包括由有意或无意的自身损伤毛发引起的脱发。自身诱导性脱发的两种常见类型是拔毛发癖(或当某人持续拉扯其自身毛发时引起脱发)和牵引性脱发(其由持续用力拉发的发型例如马尾辫或花辫所引起)。休止期脱发是应激相关性脱发,由例如外科手术、分娩或妊娠终止的事件所引起。休止期脱发的进一步的原因包括口服避孕药或其它处方药的使用、甲状腺异常、糖尿病、狼疮和精神紧张。疤痕性脱发包括由毛囊感染和炎症引起的毛发损失,以及由烧伤或其它创伤引起的毛发损失。

[0006] 毛发损失是被一些人考虑为美容学上不吸引人的普遍问题并经常引起当事个体精神痛苦。因此,存在脱发治疗的巨大需求。已测试了多种组合物刺激毛发生长的能力,例如通过促进或延长生长期。此类组合物的实例包括钾通道开放剂,例如米诺地尔(Regaine RTM., Pharmacia Corp.)和二氮嗪;5- α -还原酶抑制剂,例如非那雄胺(Propecia RTM., Merck&Co.);以及免疫抑制剂环孢菌素A。

[0007] 然而,这些刺激毛发生长的已知疗法呈现出有限的有效性并引起不想要的副作用。例如,在其它不合需要的副作用中,钾通道开放剂引起心血管反应,非那雄胺对怀孕或可能开始怀孕的女性不安全,且环孢菌素A抑制免疫系统。进一步地,即便当局部施用在想毛发生长的区域时,已知的脱发疗法经常引起毛发在不想要的机体区域生长,例如女性面部毛发。治疗脱发的已知组合物的这些缺点导致经历毛发损失的许多个体依赖于假发和男用假发。其他个体尝试头发移植手术,其为昂贵、非完全有效的,且有时是不可能的,例如对于化疗患者。

[0008] 因此,存在适用于医学和美容学应用的刺激毛发生长的新疗法的需求。

[0009] 发明概述

[0010] 本发明的第一方面提供了在哺乳动物中刺激毛发生长的组合物,所述组合物包含:

[0011] (a) RGD域失活(inactivated)的修饰的骨桥蛋白多肽;和

[0012] (b) 药学上可接受的和/或美容学上可接受的赋形剂、载体或稀释剂。

[0013] 因此,本发明组合物的活性成分来源于天然存在骨桥蛋白蛋白质(即包括对应于天然存在骨桥蛋白蛋白质的修饰的(例如突变)版本的氨基酸序列的多肽)。

[0014] 骨桥蛋白,还称作骨唾液蛋白I(BSP-1或BNSP)、早期T-淋巴细胞活化蛋(ETA-1)、分泌磷蛋白1(SPP1)、2ar和耐立克次氏体(Rickettsia resistance)(Ric),是在数种哺乳动物中保守的一种基因产物。

[0015] 该基因具有七个外显子,长度跨越5千个碱基且在人类中其位于4号染色体13区(4q13)的长臂上。该蛋白由~300个氨基酸残基组成且富含酸性残基:30-36%为天冬氨酸或谷氨酸。骨桥蛋白具有~30个附加糖类残基,包括10个唾液酸残基,其在翻译后修饰期间在高尔基体中附加至该蛋白。

[0016] 首先发现骨桥蛋白(osteopontin)为锚定破骨细胞在矿化骨基质上的骨中的新型唾液蛋白(Franzen&Heinegard,1985,Biochem.J.232(3)715-24)。名称骨桥蛋白来自于所述蛋白存在于骨(osteo-)中以及其在骨细胞和矿物相之间成桥的能力(-pons)。序列分析及随后结构研究显示骨桥蛋白为由数十个天冬氨酸残基的高度酸性域组成的32kDa糖蛋白,所述域被认为介导骨桥蛋白的矿物结合特性。此外,在骨桥蛋白分子的中间部分中还存在着通过R-G-D序列介导的细胞连接域(Oldberg等人,1986,Proc.Natl.Acad.Sci.USA83(23):8819-23)。

[0017] 骨桥蛋白在成骨细胞和一些上皮细胞类型中组成型表达,导致骨桥蛋白被分泌入多种体液中。骨是可沉积骨桥蛋白的唯一组织类型,且骨桥蛋白可从骨上大量恢复。骨桥蛋白的诱导表达还可在血管平滑肌细胞中、在不同癌细胞类型中以及炎症细胞(特别是巨噬细胞和T淋巴细胞)中。数种重要的细胞功能已归因于骨桥蛋白,例如粘附、增殖、迁移、抗凋亡和趋化作用(chemo attraction)。据信部分这些功能是通过RGD细胞粘附域介导的,所述RGD细胞粘附域与不同整联蛋白相互作用,主要是 $\alpha v \beta 3$ 但还有 $\alpha v \beta 1$ 和 $\alpha v \beta 5$ (综述参见Scatena等人,2007,Arterio.Thromb.Vasc.Biol.27:2302-2309)。

[0018] 近年来,骨桥蛋白已成为可调节数种涉及炎症和免疫反应的细胞类型的有效细胞因子。归因于骨桥蛋白的宽范围功能令人迷惑且无法通过单一的细胞结合RDG序列全部解释。当骨桥蛋白中一段十一氨基酸肽 $R^{145}-G-D-S-L-A-Y-G-L-R-S^{155}$ (SEQ ID NO:122)(对应于UniProt代码P10923的氨基酸144至154)经确认并之后功能定位(mapped)时解释出现。除了已知的介导结合 $\alpha v \beta 3$ 整联蛋白的 $R^{145}-G-D^{147}$ 位点以外,还发现了骨桥蛋白分子中两个附加的必需区域,即高度特异性凝血酶切割位点,即 $R^{154}-S^{155}$,和隐藏的整联蛋白结合位点,即 $S^{148}-L-A-Y-G-L-R^{154}$ (SEQ ID NO:123),其结合至 $\alpha 9 \beta 1$ 整联蛋白(参见在上Scatena等人)。还确认了附加的 $\alpha 4 \beta 1$ 结合位点(参见在上Scatena等人)。

[0019] 本发明组合物中的骨桥蛋白衍生多肽的一个表征特征是骨桥蛋白中天然存在的RGD域失活以使得其为非功能性的(至少部分)。例如,失活RGD域可阻止该骨桥蛋白衍生多

肽结合至一种或多种结合天然存在骨桥蛋白蛋白质的整联蛋白。

[0020] 因此,我们通过“修饰的骨桥蛋白多肽”包括对应于其中RGD域是非功能性的(至少部分)的天然存在骨桥蛋白蛋白质修饰形式的多肽,以及保持‘全长’修饰的骨桥蛋白毛发刺激特性的其的片段和变体。例如,该修饰的骨桥蛋白多肽的非功能性RGD域可无法结合整联蛋白 $\alpha v \beta 3$ (参见在上Scatena等人)。

[0021] 有利地,该天然存在骨桥蛋白蛋白质是哺乳动物例如人类的。

[0022] 本发明组合中存在的修饰的骨桥蛋白多肽可在哺乳动物中刺激毛发生长。

[0023] 在一实施方案中,该多肽可刺激人类毛发生长。

[0024] 在另一实施方案中,该多肽可体内刺激毛发生长。

[0025] 在另一实施方案中,该多肽可以相比于野生型人类骨桥蛋白更大的效力在体内刺激毛发生长。通过本文中的“更大的效力”,我们包括更快的起始作用和/或更低剂量下的功效和/或更大的最大效果(例如更大数目的新毛囊或毛发密度)。在一实施方案中,该多肽相比于野生型人类骨桥蛋白在相同剂量下能够以更快的起始作用及更大的最大毛发生长效果在体内刺激毛发生长(例如参见实施例B)。

[0026] 本领域技术人员将会理解毛发生长刺激可通过现有毛囊的作用和/或通过诱导形成新的毛囊来介导。

[0027] 因此,在一实施方案中,该修饰的骨桥蛋白多肽可刺激现有毛囊(例如,通过延长生长期阶段和/或通过缩短毛发生长终期阶段以使休眠的毛囊变得活跃)。

[0028] 在另一实施方案中,该多肽可诱导形成新的毛囊,或产生所述毛囊的干细胞。

[0029] 天然存在骨桥蛋白蛋白质的长度典型为约300个氨基酸。然而,本领域技术人员将会理解本发明组合中存在的修饰的骨桥蛋白多肽可不同于此长度。

[0030] 典型地,该多肽的长度小于500个氨基酸,例如长度小于400、350、340、330、320、310、300、290、280、270、260、250、200、150、100、50、40、30、20、15、10个或更少的氨基酸。

[0031] 在一实施方案中,该多肽的长度为250~350个氨基酸,例如长度为280~300个氨基酸(例如长度为293个氨基酸)。

[0032] 在一替代实施方案中,该多肽的长度为10~20个氨基酸,例如长度为12~18个氨基酸(例如长度为15个氨基酸)。

[0033] 如上所讨论的,该修饰的骨桥蛋白多肽缺乏通常发现于天然存在骨桥蛋白蛋白质中的活性三肽序列“精氨酸-甘氨酸-天冬氨酸”。将理解此RGD域的失活可通过多种不同策略。

[0034] 在一实施方案中,该RGD域在修饰的骨桥蛋白多肽中的一或多个氨基酸处被突变,以使其相对于天然存在骨桥蛋白蛋白质包含一或多处删除、取代和/或添加,或其组合。

[0035] 例如,该RGD域可至少部分被删除,以使该精氨酸和/或甘氨酸和/或天冬氨酸残基不存在。

[0036] 替代地,或此外,该RGD域可在一或多个氨基酸处被取代。例如,该精氨酸和/或甘氨酸和/或天冬氨酸残基可被另一氨基酸取代。此取代可为保守的或非保守的。

[0037] 同样地,该RGD域的失活可通过取代和删除的组合,包括:

[0038] (a) 取代精氨酸残基并删除甘氨酸和天冬氨酸残基;

[0039] (b) 取代精氨酸和甘氨酸残基并删除天冬氨酸残基(例如,该-RGD-三肽可替代为

二肽序列-DI-);

[0040] (c) 取代精氨酸和天冬氨酸残基并删除甘氨酸残基;或

[0041] (d) 删除精氨酸和天冬氨酸残基并取代甘氨酸残基。

[0042] 在一实施方案中,该三肽-RGD-序列被二肽-DI-序列置换。

[0043] 在不希望受限于理论的情况下,据信失活该RGD序列可导致骨桥蛋白多肽中构象改变(相对于对应的天然存在骨桥蛋白蛋白质),其导致创建/暴露至周围环境的新的位点。

[0044] 在一优选实施方案中,该修饰的骨桥蛋白多肽包含或组成为(consist of) SEQ ID NO:1的氨基酸序列(其中包含失活RGD域的区域加了下划线):

[0045] MRLAVICFLFGIASSLPVKVTDSGSSEEKLYSLHPDPIATWLVPDPSQKQN
LLAPQNAVSSEKDDFKQETLPSNSNESHDHMDDDDDDDDDGDHAESE
DSVDSDESDESHHSDESDETVTASTQADTFTPIVPTVDVPNGDISLAYGLR
SKSRSFQVSDEQYPDATDEDLTSHEKSGESKESLDVIPVAQLLSMPSDQD
NNGKGSHESSQLDEPSLETHRLEHSKESQESADQSDVIDSQASSKASLEH
QSHKFHSHKDKLVDPKSKEDDRYLKFRISHELESSSSEVN

[0046] SEQ ID NO:1

[0047] 或其片段、变体、衍生物或融合物(或所述片段、变体或衍生物的融合物),其保持(至少部分)SEQ ID NO:1的氨基酸序列的毛发生长刺激活性。

[0048] 如本文使用的术语‘氨基酸’包括标准的二十个基因编码氨基酸及其‘D’形式的立体异构体(相比于天然的‘L’形), ω -氨基酸及其它天然存在氨基酸,非常规氨基酸(例如, α,α -双取代氨基酸、N-烷基氨基酸等)以及化学衍生氨基酸(见下)。

[0049] 当特别枚举一氨基酸时,例如‘丙氨酸’或‘Ala’或‘A’,该术语是指L-丙氨酸和D-丙氨酸二者,除非另外明确规定。其它非常规氨基酸也可为本发明的适当多肽组分,只要该多肽保持想要的功能特性。对于所示多肽,各编码氨基酸残基,在适当情况下,通过单一字母表示,对应于该常规氨基酸的惯用名。

[0050] 依照惯例,本文公开的氨基酸序列是以N-末端至C-末端方向提供。

[0051] 典型地,本发明组合物中使用的修饰的骨桥蛋白多肽包含或组成为L-氨基酸。

[0052] 在一实施方案中,该多肽可包含或组成为SEQ ID NO:1的氨基酸序列的片段或其变体。

[0053] 我们通过“片段”包括SEQ ID NO:1的氨基酸序列的至少6个邻接氨基酸(contiguous amino acid),例如SEQ ID NO:1的至少7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、30、40、50、100、150、200、210、220、230、240、250、255、260、265、270、275、280、285、286、287、288、289、290、291或292个邻接氨基酸。

[0054] 有利地,该片段包含或组成为SEQ ID NO:2的失活RGD域序列,即:

[0055] DISLAYGLRS SEQ ID NO:2

[0056] 例如,该片段可包含或组成为根据SEQ ID NO:5至62中任一项的氨基酸序列。

[0057] 在一特别实施方案中,该多肽包含或组成为SEQ ID NO:5的氨基酸序列。

[0058] VDVPNGDISLAYGLR SEQ ID NO:5 [“FOL-004”]

[0059] 在另一实施方案中,该多肽包含或组成为SEQ ID NO:1的氨基酸序列或其片段的变体。

[0060] 我们通过“变体”表示该多肽不与SEQ ID NO:1分享100%的氨基酸序列同一性,即必须突变SEQ ID NO:1的一或多个氨基酸。例如,该多肽可包含或组成为与SEQ ID NO:1的氨基酸序列至少50%同一性的氨基酸序列,更优选与所述序列至少60%、70%或80%或85%或90%同一性,且最优选与所述氨基酸序列至少95%、96%、97%、98%或99%同一性。

[0061] 同一性百分数的测定可通过本领域众所周知的方法,例如使用Expasy设施网址的LALIGN程序(Huang和Miller,Adv.Appl.Math.(1991)12:337-357)

[0062] (http://www.ch.embnet.org/software/LALIGN_form.html)

[0063] 使用全局对比选项参数,打分矩阵BLOSUM62,打开空隙罚分-14(gap penalty-14),扩展空隙罚分-4。

[0064] 替代地,两种多肽间的序列同一性百分数的测定可使用适当的计算机程序,例如威斯康星(Wisconsin)大学遗传计算组的GAP程序,且将理解同一性百分数的计算涉及序列已优化对齐的多肽。

[0065] 通过“突变”我们表示特定位置处的氨基酸相比于根据SEQ ID NO:1的多肽中的氨基酸发生了改变。例如,特定位置处的氨基酸可被删除、取代或可为一或多个氨基酸插入/添加的位点。本领域技术人员将会理解该取代可为保守的或非保守的。

[0066] 替代地,或此外,特定位置处的该氨基酸可被化学修饰的(衍生);见下。

[0067] 在一实施方案中,该变体多肽包含或组成为SEQ ID NO:1的氨基酸序列或其片段,其中一或多个氨基酸被保守取代。通过“保守取代”我们表示用另一具有相似性质(大小、疏水性等)的氨基酸取代一个氨基酸,以使该多肽的功能不显著改变。因此,通过“保守取代”意图为组合例如Gly,Ala;Val,Ile,Leu;Asp,Glu;Asn,Gln;Ser,Thr;Lys,Arg;和Phe,Tyr。

[0068] 有利地,该变体包含或组成为SEQ ID NO:2的失活RGD域序列,即:

[0069] DISLAYGLRS SEQ ID NO:2

[0070] 该变体多肽还可包含一或多个额外的氨基酸,在SEQ ID NO:1的氨基酸序列的N-和/或C-末端和/或内部插入。例如,该多肽在N-和/或C-末端和/或内部可包含或组成为至少2、3、4、5、6、7、8、9、10、15或20个额外的氨基酸。

[0071] 有利地,该变体多肽是非天然存在的。

[0072] 在一优选实施方案中,该修饰的骨桥蛋白多肽是SEQ ID NO:1的氨基酸序列的物种同源物(species homologue)。

[0073] 因此,该多肽可包含或组成为修饰的人类骨桥蛋白蛋白质的氨基酸序列或其片段,其中RGD域失活。适当的人类骨桥蛋白蛋白质序列是现有技术中众所周知的,例如参见数据库登记号AAA59974.1、AAC28619.1、AAA86886.1。

[0074] 例如,该修饰的骨桥蛋白多肽可包含或组成为SEQ ID NO:3的氨基酸序列(其中包含失活RGD域的区域加了下划线)

[0075] MRIAVICFCLLGITCAIPVKQADSGSSEEKQLYNKYPDAVATWLNPDPSQK
 QNLLAPQTLPSKSNESHDMDDMDEDDDDHVDSQDSIDSNDSDDVDD
 TDDSHQSDESHHSDESDELVTDFPTDLPATEVFTPVVPTVDTYDGDISVVY
GLRSKSKKFRRPDIQYPDATDEDITSHMESEELNGAYKAIPVAQDLNAPSD
 WDSRGKDSYETSQLDDQSAETHSHKQSRLYKRKANDESNEHSDVIDSQE
 LSKVSREFHSHEFHSHEDMLVDPKSKEEDKHLKFRISHELDSASSEVN

[0076] SEQ ID NO:3

[0077] 或其片段、变体、衍生物或融合物(或所述片段、变体或衍生物的融合物),其保持SEQ ID NO:3氨基酸序列的毛发生长刺激活性。

[0078] 有利地,该片段或变体包含或组成为SEQ ID NO:4的失活RGD域序列,即:

[0079] DISVYGLRS SEQ ID NO:4

[0080] 例如,该片段或变体可包含或组成为根据SEQ ID NO:63至120中任一项的氨基酸序列(如下详述)。

[0081] 在一特别实施方案中,该多肽包含或组成为SEQ ID NO:63的氨基酸序列。

[0082] VDTYDGDISVYGLR SEQ ID NO:63[“FOL-005”]

[0083] 在另一实施方案中,该修饰的骨桥蛋白多肽包含或组成为SEQ ID NO:1或3的氨基酸序列或其片段、变体或融合物的衍生物。

[0084] 有利地,该衍生物包含SEQ ID NO:3或4的失活RGD域序列。

[0085] 例如,该多肽可包含或组成为SEQ ID NO:5或63的氨基酸序列的衍生物

[0086] 一种或多种氨基酸的化学衍生物可通过与功能性侧基的反应实现。此类衍生分子包括,例如,其中自由氨基已衍生形成胺盐酸盐、对甲苯磺酰基、羧苄氧基、叔丁氧羰基、氯乙酰基或甲酰基的那些分子。游离羧基可经衍生以形成盐、甲酯和乙酯或其它类型的酯和酰肼。游离羟基可经衍生以形成O-酰基或O-烷基衍生物。还包含为化学衍生物的是那些含有二十个标准氨基酸的天然存在氨基酸衍生物的肽。例如:4-羟基脯氨酸可代替脯氨酸;5-羟基赖氨酸可代替赖氨酸;3-甲基组氨酸可代替组氨酸;高丝氨酸可代替丝氨酸且鸟氨酸代替赖氨酸。衍生物还包括含有一或多处添加或删除的肽,只要保持必需的活性。其它包含的修饰为酰胺化、氨基末端酰化(例如乙酰化或巯基乙酸酰胺化)、末端羧基酰胺化(例如采用氨水或甲胺)、及类似的末端修饰。

[0087] 本领域技术人员将会进一步理解拟肽化合物也可为有用的,所述拟肽化合物模拟以上详述的修饰的骨桥蛋白多肽的构象及想要的特性。因此,我们通过‘多肽’包括具有SEQ ID NO:1的多肽的毛发生长刺激活性的拟肽化合物。

[0088] 例如,本发明多肽不但包括其中氨基酸残基通过肽键(-CO-NH-)连接的分子,还包括其中肽键反转的分子。此类逆反拟肽(retro-inverso peptidomimetics)的制备可使用本领域已知的方法,例如Meziere等人(1997) J. Immunol. 159, 3230-3237中描述的那些,其在此通过参照并入。该方法包括制备含有涉及骨架而非侧链方向的改变的假肽。包含代替CO-NH肽键的NH-CO键的逆反肽更耐蛋白水解。替代地,本发明多肽可为其中一或多个氨基酸残基通过代替常规酰胺键的 γ (CH₂NH)-键连接的拟肽化合物。

[0089] 在进一步的替代中,该肽键可被完全省去,条件是使用保持氨基酸碳原子间间隔的适当连接模块;连接模块具有与肽键基本上相同的电荷分布以及基本上相同的平面性可为有利的。

[0090] 将会进一步理解可便利地封闭所述多肽的N-或C-末端以帮助减小对于胞外蛋白水解(exoproteolytic)消化的敏感性、

[0091] 还已使用各种未编码或修饰的氨基酸例如D-氨基酸和N-甲基氨基酸修饰的哺乳动物多肽。此外,通过共价修饰(例如成环)或通过并入内酰胺或其它桥类型可稳定推测的生物活性构象,例如参见Veber等人,1978, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 75: 2636和Thursell等

人,1983,Biochem.Biophys.Res.Comm.111:166,其在此通过参照并入。

[0092] 多种合成策略中的一种共同主题是将一些环状部分引入肽基框架。该环状部分限制肽结构的构象空间并经常导致所述肽对于特定生物学受体的增加的特异性。此策略额外的优点是将环状部分引入肽中还可导致所述肽对于细胞肽酶具有减小的敏感性。

[0093] 因此,本发明的示例性多肽包含末端半胱氨酸。此多肽可存在为通过末端半胱氨酸中硫醇基形成二硫键的杂键环肽形式或通过末端氨基酸之间形成酰胺肽键的同环肽形式。如上所述,通过N-和C-末端区域半胱氨酸间的二硫化物或酰胺键的小肽成环可避免线性肽有时观测到的特异性和半衰期问题,通过减少蛋白水解以及增加结构刚性,其可获得更高特异性的化合物。通过二硫键成环的多肽具有游离氨基和羧基末端,其仍可能对于蛋白水解降解敏感,而通过N-末端氨基和C-末端羧基间形成酰胺键成环的肽不再包含游离氨基或羧基末端。因此,本发明的肽可通过C-N连接或二硫键连接。

[0094] 本发明不以任何方式受限于肽的成环方法,而是包括其环状结构可通过任何适当合成方法实现的肽。因此,杂键连接(heterodetic linkage)可包括但不限于由二硫化物、亚烃基或硫化物桥所形成。同环肽和杂键环肽(包括二硫化物、硫化物和亚烃基桥)的合成方法公开在US5,643,872中,其在此通过参照并入。成环方法的其它实例包括通过点击化学、环氧化物、醛胺反应的成环以及US6,008,058中公开的方法,其在此通过参照并入。

[0095] 如同众所周知的,这类末端修饰可用于减小对于蛋白水解消化的敏感性且因此延长肽在溶液中,特别是在可能存在蛋白酶的生物体液中的半衰期。多肽成环也为有用的修饰,因为通过成环形成的稳定结构以及鉴于环状肽观测到的生物学活性。

[0096] 因此,在一实施方案中,本发明第一方面的多肽是环状的。

[0097] 然而,在一替代实施方案中,该多肽是线性的。

[0098] 然而,在一优选实施方案中,该修饰的骨桥蛋白多肽包含一或多个氨基酸修饰的或通过PEG化、酰胺化、酯化、酰化、乙酰化和/或烷基化衍生。

[0099] 本领域技术人员将会理解该修饰的骨桥蛋白多肽在一或多个氨基酸处可为糖基化的。例如,该多肽可保持对应(‘母体’)骨桥蛋白蛋白质的一或多个糖基化位点,其上可附加糖类基团。

[0100] 在另一实施方案中,该修饰的骨桥蛋白多肽包含或组成为SEQ ID NO:1或3的氨基酸序列或其片段或变体的融合物。

[0101] 例如,该多肽可包含SEQ ID NO:5或63的氨基酸序列的融合物。

[0102] 我们过多肽的‘融合物’包括融合任意其它多肽的对应于SEQ ID NO:1或3(或其片段或变体)的氨基酸序列。例如,所述多肽可融合多肽例如谷胱甘肽-S-转移酶(GST)或蛋白A以促进所述多肽的纯化。此类融合物的实例是本领域技术人员众所周知的。同样地,所述多肽可融合低聚组氨酸标签例如His6或被抗体识别的表位例如众所周知的Myc标记表位。所述多肽的任何变体或衍生物的融合物也包括在本发明范围内。

[0103] 该融合物可进一步包含赋予本发明所述多肽希望特征的部分;例如,该部分可用于增加或延长毛发生长刺激效应。例如,在一实施方案中,该融合物包含人类血清白蛋白或类似蛋白(如US2009/0005312中所公开的,其公开内容在此通过参照并入)。

[0104] 替代地,该融合部分可为如本领域技术人员所知的可促进该多肽细胞摄取的亲脂性分子或多肽域。

[0105] 在另一实施方案中,该修饰的骨桥蛋白多肽包含或组成为氨基酸序列的串联重复序列(tandem repeat)。例如,该多肽可包含或组成为SEQ ID NO:2和/或4(或其组合)的串联重复序列,以上序列可彼此直接相邻或被一或多个介入氨基酸隔开。

[0106] 替代地,该多肽可包含或组成为SEQ ID NO:5或63的氨基酸序列的串联重复序列。

[0107] 然而,在一优选实施方案中,该修饰的骨桥蛋白多肽简单包含或组成为SEQ ID NO:1或3的氨基酸序列。例如,该多肽可由根据SEQ ID NO:1或3的多肽组成。

[0108] 在另一优选实施方案中,该修饰的骨桥蛋白多肽简单包含或组成为SEQ ID NO:5或63的氨基酸序列。例如,该多肽可由根据SEQ ID NO:5或63的多肽组成。

[0109] 适用于本发明组合物中的修饰的骨桥蛋白多肽的制备可通过本领域技术人员众所周知的基于细胞的体外表达方法(例如,参见Sambrook&Russell,2000,Molecular Cloning,A Laboratory Manual,第三版,Cold Spring Harbor,New York,其在此通过参照并入)。所使用的表达载体和宿主细胞的选择可取决于多种因素。例如,若该修饰的骨桥蛋白多肽为糖基化的,则将需要哺乳动物表达系统。

[0110] 适当的表达载体和宿主细胞商业可购自多种来源。

[0111] 替代地,该修饰的骨桥蛋白多肽的合成可通过已知的方法,例如液相和固相合成(例如,t-Boc固相多肽合成和BOP-SPPS)。

[0112] 本领域技术人员将会理解本发明还包括上述修饰的骨桥蛋白多肽的药学上和/或美容学上可接受的酸或碱加成盐。用于制备本发明中使用的前述基础化合物的药学上和/或美容学上可接受的酸加成盐的酸是形成无毒酸加成盐的那些,即包含药学上和/或美容学上可接受的阴离子的盐,尤其例如盐酸盐、氢溴酸盐、氢碘酸盐、硝酸盐、硫酸盐、硫酸氢盐、磷酸盐、酸式磷酸盐、醋酸盐、乳酸盐、柠檬酸盐、酸式柠檬酸盐、酒石酸盐、酒石酸氢盐、琥珀酸盐、马来酸盐、延胡索酸盐、葡萄糖酸盐、蔗糖酸盐、苯甲酸盐、甲磺酸盐、乙磺酸盐、苯磺酸盐、对甲苯磺酸盐和双羟萘酸盐[即1,1'-亚甲基-双-(2-羟基-3-萘甲酸盐)]盐等。

[0113] 药学上和/或美容学上可接受的碱加成盐还可用于产生修饰的骨桥蛋白多肽的药学上和/或美容学上可接受的盐形式。可用作试剂以制备天然酸性的本发明化合物的药学上和/或美容学上可接受的碱盐的化学碱是与此类化合物形成无毒碱盐的那些。此类无毒碱盐包括但不限于来源于此类药学上和/或美容学上可接受的阳离子的那些,尤其例如碱金属阳离子(例如钾和钠)和碱土金属阳离子(例如钙和镁)、铵或水溶性胺加成盐例如N-甲基葡糖胺-(葡甲胺)、及低级烷醇铵及其它药学上可接受的有机胺的碱盐等。

[0114] 将进一步理解本发明的修饰的骨桥蛋白多肽可被冻干用于贮存并在使用前在适当载体中重构。可使用任何适当的冻干方法(例如喷雾干燥、滤饼干燥)和/或重构工艺。本领域技术人员将会理解冻干和重构可导致不同程度的活性损失且必须上调使用水平以补偿。优选地,当再水化时冻干(冷冻干燥)多肽损失不超过其活性(冻干前)的约20%、或不超过约25%、或不超过约30%、或不超过约35%、或不超过约40%、或不超过约45%、或不超过约50%。

[0115] 以组合物的形式提供该修饰的骨桥蛋白多肽,该组合物包含该多肽以及针对意图给药途径以及标准药学或美容学实践所选择的药学上可接受的和/或美容学上可接受的赋形剂、载体或稀释剂(例如,参见Remington:The Science and Practice of Pharmacy,第19版,1995,Alfonso Gennaro编,Mack Publishing Company,Pennsylvania,USA,其在此通

过参照并入)。

[0116] “药学上可接受的”包括该制剂是无菌和无热源的。适当的药物载体是药学领域众所周知的。该载体(一种或多种)从与本发明化合物相容且无害于其接受者的意义上来说必须是“可接受的”。典型地,该载体为无菌和无热源的水或盐水;尽管如此,可使用其它可接受的载体。因此,“药学上可接受的载体”和“药学上可接受的赋形剂”包括用于形成制剂一部分的意于仅用作载体的任何化合物(一种或多种),即,无意于其自身具有生物学活性。该药学上可接受的载体或赋形剂通常是安全、无毒且非生物学或其它方面不受欢迎的。如本文使用的药学上可接受的载体或赋形剂包括一种此类载体或赋形剂及多于一种此类载体或赋形剂。

[0117] 同样地,术语“美容学上可接受的”用于表示适用作美容产品的制剂。适当的美容学载体是现有技术中众所周知的,例如通常用于洗发剂、洗剂、面霜及其它此类产品的那些。

[0118] 赋形剂可为一种或多种碳水化合物、聚合物、脂质和矿物质。碳水化合物的实例包括乳糖、蔗糖、甘露醇和环糊精,其加至组合物例如用于促进冻干。聚合物的实例是所有不同分子量的淀粉、纤维素醚、纤维素羧甲基纤维素、羟丙基甲基纤维素、羟乙基纤维素、乙基羟乙基纤维素、海藻酸盐、卡拉胶、透明质酸及其衍生物、聚丙烯酸、聚磺酸酯、聚乙二醇/聚氧乙烯、聚氧乙烯/聚氧丙烯共聚物、不同水解度的聚乙烯醇/聚醋酸乙烯酯、以及聚乙烯吡咯烷酮,其加至组合物例如用于粘度控制、用于实现生物粘附、或用于保护脂质避免化学和蛋白降解。脂质的实例是脂肪酸、磷脂、甘油单酯、二酯和三酯、神经酰胺、鞘脂和糖脂,所有不同酰基链长度和饱和度、蛋黄卵磷脂、大豆卵磷脂、氢化蛋黄和大豆卵磷脂,其加至组合物用于类似于聚合物的那些原因。矿物质的实例是滑石粉、氧化镁、氧化锌和氧化钛,其加至组合物以获得益处例如减少的流体积聚或有利的颜料特性。

[0119] 术语“稀释剂”意图表示目的为稀释药物制剂中所述肽的水性或非水性溶液。稀释剂可为一种或多种盐水、水、聚乙二醇、丙二醇、乙醇或油(例如红花油、玉米油、花生油、棉籽油或芝麻油)。

[0120] 稀释剂还可用作缓冲剂。术语“缓冲剂”意图表示包含酸-碱混合物的目的为稳定pH的水溶液。缓冲剂的实例是Trizma、Bicine、Tricine、MOPS、MOPSO、MOBS、Tris、Hepes、HEPBS、MES、磷酸盐、碳酸盐、醋酸盐、柠檬酸盐、乙醇酸盐、乳酸盐、硼酸盐、ACES、ADA、酒石酸盐、AMP、AMPD、AMPSO、BES、CABS、甲次砷酸盐、CHES、DIPSO、EPPS、乙醇胺、甘氨酸、HEPPSO、咪唑、咪唑乳酸、PIPES、SSC、SSPE、POPSO、TAPS、TABS、TAPSO和TES。

[0121] 可选地,该组合物可包含佐剂。术语“佐剂”意图表示加至制剂中以增加所述肽的生物学效应的任意化合物。该佐剂可为一种或多种锌、铜或银与不同阴离子的盐,例如但不限于氟化物、氯化物、溴化物、碘化物、硫氰酸盐、亚硫酸盐、氢氧化物、磷酸盐、碳酸盐、乳酸盐、乙醇酸盐、柠檬酸盐、硼酸盐、酒石酸盐、以及不同酰基成分的醋酸盐。

[0122] 本发明药物组合物还可为生物可降解微球的形式。脂肪族聚酯,例如聚(乳酸)(PLA)、聚(乙醇酸)(PGA)、PLA和PGA共聚物(PLGA)或聚(己内酯)(PCL)、以及聚酸酐已广泛用作微球制造中的生物可降解聚合物。此类微球的制备可见于US5,851,451和EP0213303中。

[0123] 本发明药物组合物还可为聚合物凝胶的形式,其中聚合物例如淀粉、纤维素醚、纤

纤维素羧甲基纤维素、羟丙基甲基纤维素、羟乙基纤维素、乙基羟乙基纤维素、海藻酸盐、卡拉胶、透明质酸及其衍生物、聚丙烯酸、聚磺酸酯。

[0124] 可在不同浓度下配制该修饰的骨桥蛋白多肽,取决于所使用特定多肽的功效/毒性。优选地,该组合物包含的修饰的骨桥蛋白多肽浓度为1nM至1M,例如为0.1 μ M至1mM、1 μ M至100 μ M、5 μ M至50 μ M、10 μ M至50 μ M、20 μ M至40 μ M且可选约30 μ M。对于离体(ex vivo)及体外(in vitro)应用,组合物可包含较低浓度的修饰的骨桥蛋白多肽,例如0.0025 μ M至1 μ M。

[0125] 本领域技术人员将会理解本发明组合物可通过各种途径给药,例如局部、经皮、肠胃外或口服给药。

[0126] 有利地,本发明组合物适于局部给药或皮内给药。

[0127] 因此,本发明组合物可局部给药至皮肤(例如头皮)。例如,该组合物可提供为包含活性多肽的软膏的形式,所述多肽混悬于或溶于例如下列一种或多种的混合物中:矿物油、液体石蜡、白凡士林、丙二醇、聚氧乙烯聚氧丙烯化合物、乳化蜡和水。替代地,该多肽可被制剂为适当的洗剂或面霜,混悬于或溶于例如下列一种或多种的混合物中:矿物油、脱水山梨醇单硬脂酸酯、聚乙二醇、液体石蜡、聚山梨醇酯60、十六醇酯蜡、鲸蜡硬脂醇、2-辛基十二烷醇、苜醇和水。

[0128] 可选地,用于局部给药的组合物可包含渗透促进剂(例如,如Osborne&Henke, 1997, Pharmaceutical Technology, 11月:58-82以及Pathan&Setty, 2009, Tropical Journal of Pharmaceutical Research 8(2):173-179中所述的,其公开内容在此通过参照并入)。

[0129] 替代地,本发明组合物可为肠胃外给药,例如皮内给药。此类组合物最好以无菌水溶液的形式使用,该无菌水溶液可含有其它物质,例如,足量盐或葡萄糖以使该溶液与血液等渗。若需要的话,该水溶液应为适当缓冲的(优选至3-9的pH)。通过本领域技术人员众所周知的制药工艺很容易完成在无菌条件下制备适当的肠胃外制剂。

[0130] 适于肠胃外给药的组合物包括水性和非水性无菌注射溶液,所述溶液可含有抗菌剂、缓冲剂、抑菌剂以及使得制剂与意图接受者的血液等渗的溶质;以及水性和非水性无菌混悬液,所述混悬液可包含混悬剂和增稠剂。该制剂可呈现在单一剂量或多剂量容器,例如密封安瓶和小瓶中,并可在贮存在冷冻干燥(冻干)条件下,即用前仅需加入无菌液体载体,例如注射用水。可由前述无菌粉末、颗粒及片剂种类制备即用型注射溶液和混悬液。

[0131] 使用控释系统,例如微球制剂,用于递送该修饰的骨桥蛋白多肽可为有益的。

[0132] 替代地,组合物的给药可通过将活性多肽直接释放至所需位点(即表皮)的外科植入装置。

[0133] 本发明组合物还可通过经皮方法递送。

[0134] 例如,可使用电穿孔疗法(EPT)和/或电离子透入疗法系统用于给药蛋白和多肽。在此类方法中,使用装置以递送脉冲电场至细胞,导致增加的细胞膜对药物渗透性以及细胞内药物递送的显著增强。

[0135] 一个替代的经皮方法,电并入(electroincorporation),使用直径直至30微米的小颗粒在皮肤表面上经历等同或类似于那些在电穿孔中使用的电脉冲。该颗粒经驱动通过角质层并进入皮肤的更深层。该颗粒可装载或涂覆药物或基因或者可简单用作在皮肤中产生小孔的“子弹”,药物可通过该小孔进入。

[0136] PowderJect Pharmaceuticals还已开发了额外的经皮方法(不为Novartis AG所有)。

[0137] 用于给药本发明多肽和组合物的适当方法是现有技术中众所周知的,例如,参见Therapeutic Protein and Peptide Formulation and Delivery,Zahra Shahrokh等人(编),1997,American Chemical Society,ISBN13:9780841235281。

[0138] 本发明的第二方面提供了多肽,所述多肽包含或组成为SEQ ID NO:63的氨基酸序列或其片段、变体、衍生物或融合物(或所述片段、变体或衍生物的融合物),其保持SEQ ID NO:63的氨基酸序列的毛发生长刺激活性。

[0139] 在一实施方案中,该多肽是分离的(例如在哺乳动物机体外)。

[0140] 术语“片段”、“变体”、“衍生物”或“融合物”如关于本发明第一方面的以上定义。

[0141] 在一个相关的方面,该多肽是包含失活的RGD域(通过取代或删除RGD域的一或多个氨基酸和/或在RGD域内加入一或多个氨基酸)的人类骨桥蛋白片段。例如,野生型人类骨桥蛋白蛋白质“R-G-D”域的三个氨基酸可替代为两个氨基酸,“D-I”。优选地,该片段的长度为5至30个氨基酸,例如长度为10至20个氨基酸。

[0142] 例如,该多肽可包含或组成为SEQ ID NO:5至62中任一项的氨基酸序列或其片段、变体、衍生物或融合物。

[0143] 优选的15-氨基酸肽

[0144] VDVPNGDISLAYGLR [“FOL-004”] SEQ ID NO:5

[0145] DVPNGDISLAYGLRS SEQ ID NO:6

[0146] 优选的14-氨基酸肽:

[0147] VDVPNGDISLAYGL SEQ ID NO:7

[0148] DVPNGDISLAYGLR SEQ ID NO:8

[0149] VPNGDISLAYGLRS SEQ ID NO:9

[0150] 优选的13-氨基酸肽:

VDVPNGDISLAYG **SEQ ID NO: 10**

DVPNGDISLAYGL **SEQ ID NO: 11**

[0151] VPNGDISLAYGLR **SEQ ID NO: 12**

PNGDISLAYGLRS **SEQ ID NO: 13**

[0152] 优选的12-氨基酸肽:

VDVPNGDISLAY **SEQ ID NO: 14**

DVPNGDISLAYG **SEQ ID NO: 15**

[0153] VPNGDISLAYGL **SEQ ID NO: 16**

PNGDISLAYGLR **SEQ ID NO: 17**

NGDISLAYGLRS **SEQ ID NO: 18**

[0154] 优选的11-氨基酸肽:

	<u>VDVPNGDISLA</u>	SEQ ID NO: 19
	<u>DVPNGDISLAY</u>	SEQ ID NO: 20
	<u>VPNGDISLAYG</u>	SEQ ID NO: 21
[0155]	<u>PNGDISLAYGL</u>	SEQ ID NO: 22
	<u>NGDISLAYGLR</u>	SEQ ID NO: 23
	<u>GDISLAYGLRS</u>	SEQ ID NO: 24
[0156]	<u>优选的10-氨基酸肽:</u>	
	<u>VDVPNGDISL</u>	SEQ ID NO: 25
	<u>DVPNGDISLA</u>	SEQ ID NO: 26
	<u>VPNGDISLAY</u>	SEQ ID NO: 27
[0157]	<u>PNGDISLAYG</u>	SEQ ID NO: 28
	<u>NGDISLAYGL</u>	SEQ ID NO: 29
	<u>GDISLAYGLR</u>	SEQ ID NO: 30
	<u>DISLAYGLRS</u>	SEQ ID NO: 31
[0158]	<u>优选的9-氨基酸肽:</u>	
	<u>VDVPNGDIS</u>	SEQ ID NO: 32
	<u>DVPNGDISL</u>	SEQ ID NO: 33
	<u>VPNGDISLA</u>	SEQ ID NO: 34
	<u>PNGDISLAY</u>	SEQ ID NO: 35
[0159]	<u>NGDISLAYG</u>	SEQ ID NO: 36
	<u>GDISLAYGL</u>	SEQ ID NO: 37
	<u>DISLAYGLR</u>	SEQ ID NO: 38
	<u>ISLAYGLRS</u>	SEQ ID NO: 39
[0160]	<u>优选的8-氨基酸肽:</u>	
[0161]	<u>VDVPNGDI</u>	SEQ ID NO: 40

	<u>DVPNGDIS</u>	SEQ ID NO: 41
	<u>VPNGDISL</u>	SEQ ID NO: 42
	<u>PNGDISLA</u>	SEQ ID NO: 43
[0162]	<u>NGDISLAY</u>	SEQ ID NO: 44
	<u>GDISLAYG</u>	SEQ ID NO: 45
	<u>DISLAYGL</u>	SEQ ID NO: 46
	<u>ISLAYGLR</u>	SEQ ID NO: 47
[0163]	<u>优选的7-氨基酸肽:</u>	
	<u>VDVPNGD</u>	SEQ ID NO: 48
	<u>DVPNGDI</u>	SEQ ID NO: 49
	<u>VPNGDIS</u>	SEQ ID NO: 50
[0164]	<u>PNGDISL</u>	SEQ ID NO: 51
	<u>NGDISLA</u>	SEQ ID NO: 52
	<u>GDISLAY</u>	SEQ ID NO: 53
	<u>DISLAYG</u>	SEQ ID NO: 54
	<u>ISLAYGL</u>	SEQ ID NO: 55
[0165]	<u>优选的6-氨基酸肽:</u>	
	<u>DVPNGD</u>	SEQ ID NO: 56
	<u>VPNGDI</u>	SEQ ID NO: 57
	<u>PNGDIS</u>	SEQ ID NO: 58
[0166]	<u>NGDISL</u>	SEQ ID NO: 59
	<u>GDISLA</u>	SEQ ID NO: 60
	<u>DISLAY</u>	SEQ ID NO: 61
	<u>ISLAYG</u>	SEQ ID NO: 62
[0167]	在一优选实施方案中,该多肽包含或组成为SEQ ID NO:5的氨基酸序列。	
[0168]	在一替代实施方案中,该多肽包含或组成为SEQ ID NO:5的氨基酸序列的变体。	
[0169]	例如,该多肽可包含或组成为SEQ ID NO:63至120中任一项的氨基酸序列或其片段、变体、衍生物或融合物。	
[0170]	<u>优选的15-氨基酸肽:</u>	
[0171]	<u>VDTYDGDISVYGLR</u> [“FOL-005”] SEQ ID NO:63	
[0172]	<u>VDTYDGDISVYGLS</u> SEQ ID NO:64	
[0173]	<u>优选的14-氨基酸肽:</u>	

- [0174] VDTYDGDISVVYGL SEQ ID NO:65
- [0175] DTYDGDISVVYGLR SEQ ID NO:66
- [0176] TYDGDISVVYGLRS SEQ ID NO:67
- [0177] 优选的13-氨基酸肽:
VDTYDGDISVVYG SEQ ID NO: 68
DTYDGDISVVYGL SEQ ID NO: 69
- [0178] TYDGDISVVYGLR SEQ ID NO: 70
YDGDISVVYGLRS SEQ ID NO: 71
- [0179] 优选的12-氨基酸肽:
VDTYDGDISVVY SEQ ID NO: 72
DTYDGDISVVYG SEQ ID NO: 73
- [0180] TYDGDISVVYGL SEQ ID NO: 74
YDGDISVVYGLR SEQ ID NO: 75
DGDISVVYGLRS SEQ ID NO: 76
- [0181] 优选的11-氨基酸肽:
VDTYDGDISVV SEQ ID NO: 77
DTYDGDISVVY SEQ ID NO: 78
TYDGDISVVYG SEQ ID NO: 79
- [0182] YDGDISVVYGL SEQ ID NO: 80
DGDISVVYGLR SEQ ID NO: 81
GDISVVYGLRS SEQ ID NO: 82
- [0183] 优选的10-氨基酸肽:
VDTYDGDISV SEQ ID NO: 83
DTYDGDISVV SEQ ID NO: 84
TYDGDISVVY SEQ ID NO: 85
- [0184] YDGDISVVYG SEQ ID NO: 86
DGDISVVYGL SEQ ID NO: 87
GDISVVYGLR SEQ ID NO: 88
- [0185] DISVVYGLRS SEQ ID NO: 89
- [0186] 优选的9-氨基酸肽:

	<u>VDTYDGDIS</u>	SEQ ID NO: 90
	<u>DTYDGDISV</u>	SEQ ID NO: 91
	<u>TYDGDISVV</u>	SEQ ID NO: 92
[0187]	<u>YDGDISVVY</u>	SEQ ID NO: 93
	<u>DGDISVVYG</u>	SEQ ID NO: 94
	<u>GDISVVYGL</u>	SEQ ID NO: 95
	<u>DISVVYGLR</u>	SEQ ID NO: 96
	<u>ISVVYGLRS</u>	SEQ ID NO: 97
[0188]	优选的8-氨基酸肽:	
	<u>VDTYDGD</u> I	SEQ ID NO: 98
	<u>DTYDGD</u> IS	SEQ ID NO: 99
	<u>TYDGD</u> ISV	SEQ ID NO: 100
[0189]	<u>YDGD</u> ISVV	SEQ ID NO: 101
	<u>DGD</u> ISVVY	SEQ ID NO: 102
	<u>GDIS</u> VVYG	SEQ ID NO: 103
	<u>DIS</u> VVYGL	SEQ ID NO: 104
	<u>IS</u> VVYGLR	SEQ ID NO: 105
[0190]	优选的7-氨基酸肽:	
	<u>VDTYDGD</u>	SEQ ID NO: 106
	<u>DTYDGD</u> I	SEQ ID NO: 107
	<u>TYDGD</u> IS	SEQ ID NO: 108
[0191]	<u>YDGD</u> ISV	SEQ ID NO: 109
	<u>DGD</u> ISVV	SEQ ID NO: 110
	<u>GDIS</u> VVY	SEQ ID NO: 111
	<u>DIS</u> VVYG	SEQ ID NO: 112
	<u>IS</u> VVYGL	SEQ ID NO: 113
[0192]	优选的6-氨基酸肽:	
	<u>DTYDGD</u>	SEQ ID NO: 114
[0193]	<u>TYDGD</u> I	SEQ ID NO: 115

	<u>YDGDIS</u>	SEQ ID NO: 116
	<u>DGDISV</u>	SEQ ID NO: 117
[0194]	<u>GDISVV</u>	SEQ ID NO: 118
	<u>DISVVY</u>	SEQ ID NO: 119
	<u>ISVVYG</u>	SEQ ID NO: 120

[0195] 在一优选实施方案中,该多肽包含或组成为SEQ ID NO:63的氨基酸序列。

[0196] 本发明多肽可用于治疗或预防与毛发损失相关的疾病或状况的医学用途(如下详述)。

[0197] 本发明进一步提供了本发明多肽用于在哺乳动物中刺激毛发生长的用途,其中所述用途是美容或商业用途(如下详述)。

[0198] 本发明的第三方面提供了根据本发明第一方面的组合物,用于在哺乳动物中刺激毛发生长。

[0199] 因此,该组合物可用于刺激现有毛囊和/或诱导生长新的毛囊(或产生所述毛囊的干细胞)。

[0200] 在一实施方案中,该组合物用于治疗或预防与毛发损失相关的疾病或状况,例如脱发。

[0201] 脱发典型与生长期毛发损失相关。然而,将理解本发明组合物还可用于治疗与毛发生长终期毛发损失相关的状况。

[0202] 在一实施方案中,脱发选自:

[0203] (a) 雄激素性脱发(还称作雄激素源性脱发、雄性秃、男性型脱发或女性型脱发);

[0204] (b) 牵引性脱发(traction alopecia);

[0205] (c) 生长期脱发;

[0206] (d) 休止期脱发;

[0207] (e) 斑秃;

[0208] (f) 全秃;

[0209] (g) 普秃;

[0210] (h) 须疮脱发(alopecia barbae);

[0211] (i) 粘蛋白性脱发;

[0212] (j) 肿瘤性脱发;

[0213] (k) 瘢痕性脱发;和

[0214] (l) 疤痕性脱发。

[0215] 例如,该脱发可为雄激素源性脱发。

[0216] 替代地,该脱发可为生长期脱发。此状况,源自毛发早期进入毛发生长终期阶段,可归因于各种原因,包括饮食失调、发烧、分娩、慢性疾病、大手术、贫血、严重情绪失调、节食、甲状腺功能减退和药物。

[0217] 因此,在一实施方案中,该毛发损失由放疗和/或化疗剂诱导。例如,毛发损失是采用化疗药物例如顺铂、依托泊苷和紫杉醇治疗的常见和烦恼的副作用。

[0218] 便利地,该哺乳动物是人类。

[0219] 相关的本发明第四方面提供了如以上关于本发明第一方面所定义的修饰的骨桥蛋白多肽在制备在哺乳动物中刺激毛发生长的药物中的用途。

[0220] 因此,该药物可用于刺激现有毛囊和/或诱导生长新的毛囊(或产生所述毛囊的干细胞)。

[0221] 在一实施方案中,该药物用于治疗或预防与毛发损失相关的疾病或状况,例如脱发(例如与生长期毛发损失相关的脱发)。

[0222] 在一实施方案中,该脱发选自:

[0223] (a) 雄激素性脱发(还称作雄激素源性脱发、雄性秃、男性型脱发或女性型脱发);

[0224] (b) 牵引性脱发;

[0225] (c) 生长期脱发;

[0226] (d) 休止期脱发;

[0227] (e) 斑秃;

[0228] (f) 全秃;

[0229] (g) 普秃;

[0230] (h) 须疮脱发;

[0231] (i) 粘蛋白性脱发;

[0232] (j) 肿瘤性脱发;

[0233] (k) 瘢痕性脱发;和

[0234] (l) 疤痕性脱发。

[0235] 例如,该脱发可为雄激素源性脱发。

[0236] 替代地,该脱发可为生长期脱发,例如由放疗和/或化疗诱导(见上)。

[0237] 便利地,该哺乳动物是人类。

[0238] 相关的本发明第五方面提供了在哺乳动物中刺激毛发生长的方法,该方法包括给药有效量的如以上关于本发明第一方面所定义的修饰的骨桥蛋白多肽。

[0239] 因此,该方法可用于刺激现有毛囊和/或诱导生长新的毛囊(或产生所述毛囊的干细胞)。

[0240] 本发明的多肽组合物以有效量给药至患者。如本文所使用的‘治疗有效量’、或‘有效量’或‘治疗有效’是指对于毛发生长提供刺激效应的量。此为经计算产生想要的治疗效果的活性物质的预设量。如本领域技术人员所理解的,化合物的所述量可取决于其特定活性而不同。适当的剂量可含有与所需稀释剂联合的经计算产生想要的治疗效果的活性组合物预设量。在本发明方法和组合物的制造用途中,提供了活性组分的治疗有效量。治疗有效量的确定可通过普通技术医生或兽医工作者基于患者特性,例如年龄、体重、性别、状况、并发症、其它疾病等,如本领域所众所周知的。

[0241] 在一实施方案中,该方法为用于治疗或预防与毛发损失相关的疾病或状况,例如脱发(例如与生长期毛发损失相关的脱发)。

[0242] 在一实施方案中,该脱发选自:

[0243] (a) 雄激素性脱发(还称作雄激素源性脱发、雄性秃、男性型脱发或女性型脱发);

[0244] (b) 牵引性脱发;

[0245] (c) 生长期脱发;

[0246] (d) 休止期脱发;

[0247] (e) 斑秃;

[0248] (f) 全秃;

[0249] (g) 普秃;

[0250] (h) 须疮脱发;

[0251] (i) 粘蛋白性脱发;

[0252] (j) 肿瘤性脱发;

[0253] (k) 瘢痕性脱发;和

[0254] (l) 疤痕性脱发。

[0255] 例如,该脱发可为雄激素源性脱发。

[0256] 替代地,该脱发可为生长期脱发,例如由放疗和/或化疗诱导(见上)。

[0257] 便利地,该哺乳动物是人类。

[0258] 本领域技术人员将会理解本发明第一方面的组合物不限于医学用途,而是还可用作美容剂(就它们不照此向哺乳动物提供任何身体健康改善而仅提供美学益处的意义而言)。

[0259] 因此,本发明第六方面提供了根据本发明第一方面的组合物用于在哺乳动物中刺激毛发生长的用途,其中该用途是美容用途。

[0260] 因此,该美容组合物可用于刺激现有毛囊和/或诱导生长新的毛囊(或产生所述毛囊的干细胞)。

[0261] 在一实施方案中,该美容组合物用于治疗或预防秃发(baldness),所述秃发可与后退的发际线(receding hairline)和/或稀疏的头发(thinning hair)相关。

[0262] 此类组合物不限用于头皮,还可应用在身体的其它地方(包括应用在面部以促进胡须、睫毛、眉毛等生长)。

[0263] 便利地,该哺乳动物是人类。

[0264] 本领域技术人员将会理解本发明组合物可独立使用或与其它治疗或美容剂组合使用。例如,本发明组合物可用于与现有疗法的组合治疗以预防损失现有毛发和/或刺激生长新的毛发,现有疗法例如钾通道开放剂,例如米诺地尔(Regaine RTM., Pharmacia Corp.)和二氮嗪;5- α -还原酶抑制剂,例如非那雄胺(Propecia RTM., Merck&Co.);以及免疫抑制剂环孢菌素A。

[0265] 本领域技术人员将会进一步理解本发明组合物可体内、离体或体外使用。

[0266] 因此,除了直接施用或给药至哺乳动物以外,该组合物还可用于离体刺激毛发生长,例如在移植至哺乳动物之前的皮肤外植体中。

[0267] 替代地,该组合物可用于体外生长毛囊,例如在细胞培养中,其之后可移植至患者。

[0268] 因此,本发明的进一步的方面提供了根据本发明第一方面的多肽用于在体外或离体刺激毛发生长的用途。

[0269] 在一实施方案中,该多肽用于刺激生长毛囊(或所述毛囊的干细胞前体)。

[0270] 本发明的又进一步的方面提供了制备根据本发明第一方面的组合物的方法,该方法包括混合RGD域失活的修饰的骨桥蛋白多肽与药学上可接受的和/或美容学上可接受的

赋形剂、载体或稀释剂。

[0271] 优选地,现将描述体现本发明某些方面的非限制性实施例,伴随参照下列附图:

[0272] 图1显示了小鼠皮肤样本区域的示意图。

[0273] 图2是来自采用修饰的骨桥蛋白多肽处理后48小时的小鼠的皮肤横切面的代表性照片。表皮内的毛囊通过箭头指示。毛囊的线密度为18.3个毛囊/mm (32.65mm表皮中598个毛囊)。

[0274] 图3是来自采用阴性对照物处理后48小时的小鼠的皮肤横切面的代表性照片。表皮内的毛囊通过箭头指示。毛囊的线密度为11.7个毛囊/mm (32.50mm表皮中379个毛囊)。

[0275] 图4显示了(a) 14日的具有毛发生长分数0分的对照处理动物、(b) 14日的采用示例性‘全长’多肽“Cx”(对应于SEQ ID NO:1但不具有起始的16个氨基酸信号肽,60nM)处理的具有毛发生长分数1.5分的动物、(c) 5日的采用示例性短肽“FOL-004”(SEQ ID NO:5,60nM)处理的具有毛发生长分数2.5分的动物以及(d) 5日的采用示例性短肽“FOL-005”(SEQ ID NO:5,63nM)处理的具有毛发生长分数2.0分的动物的代表性照片。

[0276] 图5显示了本发明示例性‘全长’多肽“Cx”和SEQ ID NO:5和63的多肽对毛发生长的影响。

[0277] 图6显示了示例性多肽SEQ ID NO:5相比于来自野生型小鼠骨桥蛋白的对应多肽SEQ ID NO:121对于毛发生长的影响。

[0278] 实施例A-小鼠中突变小鼠骨桥蛋白的毛发生长作用的体内研究

[0279] 材料和方法

[0280] 创建并生产测试多肽

[0281] 通过使用XhoI和BamHI限制性内切酶位点将SEQ ID NO:1的修饰的骨桥蛋白多肽序列克隆入pCEP4表达载体。该pCEP4表达载体包含用于在细菌中表达的氨苄青霉素抗性基因以及在真核生物EBNA细胞中表达的潮霉素抗性基因。将含多肽载体转入感受态XL-10细菌细胞,繁殖并采用Qiagen中量提取试剂盒分离。然后根据厂商说明(Invitrogen)通过使用Fugene转染试剂将经分离载体转染入人类EBNA细胞。

[0282] 分离测试多肽

[0283] 培养三至四天后收集来自EBNA细胞培养的包含所产生多肽的培养基。通过pCEP4质粒产生的多肽含有嵌入的His标签,其用于促进采用Ni-琼脂糖凝胶色谱(Invitrogen)分离。用结合缓冲液(20mM磷酸钠,500mM氯化钠,pH7.8)稀释经收集培养基,加入Ni-琼脂糖混悬液后在摇床上4°C温育过夜。通过1000g下离心七分钟将Ni-琼脂糖凝胶压丸并倾入BioRad一次性迷你柱。用结合缓冲液然后是洗涤缓冲液(20mM磷酸钠,500mM氯化钠,pH6.0)除去未结合蛋白。采用500mM咪唑从柱洗脱多肽。

[0284] 一般性研究设计

[0285] 该研究由四个实验组构成,每组包含5只雄性wtC57BL/6N小鼠。

[0286] 在-1日在所有参与小鼠的颈部约1.5x1.0cm方形内仔细剃毛并除去小的残留发簇。在第二日(0日),各动物在剃毛的长方形内的各不同位点(各约0.5x0.5cm)接受四次25μl的皮内注射(参见图1)。

[0287] 各动物接受两次25μl包含SEQ ID NO:1的示例性修饰的骨桥蛋白多肽(“测试多

肽”或“Cx”,PBS中60nmol/l)的组合物注射以及两次25 μ l PBS的阴性对照注射(根据表1中概述的计划)。

[0288] 表1:研究设计

组	皮内施用		动物数目	
	体积	施用后时间表		
1	测试多肽 + PBS	25 μ l	24h 后尸检(1 日)	5
2	测试多肽 + PBS	25 μ l	48h 后尸检(2 日)	5
3	测试多肽 + PBS	25 μ l	96h 后尸检(4 日)	5
4	测试多肽 + PBS	25 μ l	336h 后尸检(14 日)	5

[0289] 来自处理组1至4的动物分别在施用化合物24h(组1)、48h(组2)、96h(组3)和336h(14日,组4)后被杀死。

[0291] 在所有情况下,移除颈部的经标记皮肤区域并如下处理:一个多肽处理皮肤样本和一个PBS处理对照皮肤样本固定在4%多聚甲醛中并随后包埋在石蜡中。其它两个皮肤样本(多肽处理及PBS处理)在液氮中速冻并贮存在约-80°C下。

[0292] 进行石蜡包埋切片的苏木精染色。

[0293] 动物

[0294] 基本原理用于研究目的的可接受测试系统

[0295] 家族 雄性wtC57BL/6N

[0296] 来源 Charles River GmbH

[0297] Sandhofer Weg7

[0298] D97633Sulzfeld

[0299] 动物总数20

[0300] 交付年龄5-6周

[0301] 体重及范围 约30g

[0302] (驯化时)

[0303] 鉴定 通过耳号标记

[0304] 驯化 2011年2月17日至3月1日

[0305] 饲养

[0306] 条件 最佳卫生条件,空调调节每小时换气10-15次,并用温度22 \pm 3°C和相对湿度

30-70%的目标范围不断监控环境,12小时人工荧光灯/12小时黑暗。

- [0307] 住处 每笼最大3只动物
- [0308] 饮食 M-Zucht
- [0309] ssniff Spezialdiäten GmbH
- [0310] Ferdinand Gabriel Weg16
- [0311] D-59494Soest
- [0312] 水 社区自来水(经灭菌处理)
- [0313] 测试多肽
- [0314] 鉴定 SEQ ID NO:1的修饰的骨桥蛋白多肽
- [0315] 贮存条件贮存在4°C下Hepes缓冲液中
- [0316] 安全防护措施避免摄入、吸入、戴手套及面罩,皮肤接触后用肥皂和水清洗;无特别防护措施
- [0317] 样品制备用PBS稀释经递送储备溶液15倍以获得注射前的60nM工作液
- [0318] 媒介物
- [0319] 身份 PBS pH7.4
- [0320] 处理
- [0321] 给药途径:皮内注射
- [0322] 给药频率0日单次施用
- [0323] 剂量体积25 μ l
- [0324] 观测
- [0325] 记录以下参数:
- [0326] 生存能力/死亡率 每日
- [0327] 临床症状 每日
- [0328] 组1石蜡包埋切片的苏木精染色方案
- [0329] 1.二甲苯(Xylen)浴5分钟
- [0330] 2.二甲苯浴5分钟
- [0331] 3.EtOH100%浴5分钟
- [0332] 4.EtOH95%浴5分钟
- [0333] 5.EtOH70%浴5分钟
- [0334] 6.PBS浴5分钟
- [0335] 7.苏木精浴约20秒(Harrys苏木精) a) , b)
- [0336] 8.水浴3次3分钟
- [0337] 9.EtOH70%浴5分钟
- [0338] 10.EtOH95%浴5分钟
- [0339] 11.EtOH100%浴5分钟
- [0340] 12.二甲苯浴5分钟
- [0341] 13.二甲苯浴5分钟
- [0342] 14.使用Permount(中性树脂封片剂)和盖玻片封片。
- [0343] a) 时间取决于所使用的苏木精类型,20秒至10分钟(其确定可通过使用测试载玻

片)

[0344] b) 使用前过滤

[0345] 结果

[0346] 采用修饰的骨桥蛋白多肽 (SEQ ID NO:1) 处理对于毛发毛囊密度的影响

[0347] 汇总在下表1 (a) 和 (b) 中。

[0348] 表1 (a) - 多肽处理动物

[0349]

多肽处理 载玻片 1	毛囊数目	表皮长度, mm
区域 a1	18	0.90
区域 a2	21	0.90
区域 a3	25	0.95
区域 b1	13	0.90
区域 b2	21	0.90
区域 b3	26	0.95
总计	124	5.50

[0350]

多肽处理 载玻片 2	毛囊数目	表皮长度, mm
区域 a1	16	0.90
区域 a2	18	0.90
区域 a3	25	0.95
区域 b1	14	0.90
区域 b2	18	0.90
区域 b3	19	0.95
总计	110	5.50

[0351]

多肽处理 载玻片 3	毛囊数目	表皮长度, mm
区域 a1	18	0.90
区域 a2	13	0.90
区域 a3	19	0.95
区域 b1	20	0.90
区域 b2	17	0.90
区域 b3	14	0.90
总计	101	5.45

[0352]

多肽处理 载玻片 4	毛囊数目	表皮长度, mm
区域 a1	18	0.90
区域 a2	17	0.90
区域 a3	15	0.90
区域 b1	18	0.90
区域 b2	17	0.90
区域 b3	13	0.90
总计	98	5.40

[0353] 表1 (a) -续

[0354]

多肽处理 载玻片 5	毛囊数目	表皮长度, mm
区域 a1	13	0.90
区域 a2	10	0.90
区域 a3	21	0.90
区域 b1	12	0.90
区域 b2	10	0.90
区域 b3	16	0.90
总计	82	5.40

[0355]

多肽处理 载玻片 6	毛囊数目	表皮长度, mm
区域 a1	18	0.90
区域 a2	10	0.90
区域 a3	10	0.90
区域 b1	18	0.90
区域 b2	17	0.90
区域 b3	10	0.90
总计	83	5.40

[0356]

多肽处理 载玻片 7	毛囊数目	表皮长度, mm
载玻片 34	124	5.50
载玻片 38	110	5.50
载玻片 42	101	5.45
载玻片 46	98	5.40
载玻片 50	82	5.40
载玻片 54	83	5.40
总计	598	32.65

[0357] 表1 (b) -对照处理动物

[0358]

对照处理 载玻片 1	毛囊数目	表皮长度, mm
区域 a1	9	0.90
区域 a2	17	0.90
区域 a3	7	0.90
区域 b1	11	0.90
区域 b2	14	0.95
区域 b3	10	0.90
总计	68	5.45

[0359]

对照处理 载玻片 2	毛囊数目	表皮长度, mm
区域 a1	12	0.90
区域 a2	17	0.90
区域 a3	7	0.90
区域 b1	12	0.90
区域 b2	13	0.90
区域 b3	10	0.90
总计	71	5.40

[0360]

对照处理 载玻片 3	毛囊数目	表皮长度, mm
区域 a1	8	0.90
区域 a2	7	0.90
区域 a3	11	0.90
区域 b1	19	0.95
区域 b2	8	0.90
区域 b3	14	0.90
总计	67	5.45

[0361]

对照处理 载玻片 4	毛囊数目	表皮长度, mm
区域 a1	21	0.90
区域 a2	5	0.90
区域 a3	2	0.90
区域 b1	16	0.90
区域 b2	11	0.90
区域 b3	3	0.90
总计	58	5.40

[0362] 表1 (b) -续

[0363]

对照处理 载玻片 5	毛囊数目	表皮长度, mm
区域 a1	13	0.90
区域 a2	2	0.90
区域 a3	9	0.90
区域 b1	12	0.90
区域 b2	7	0.90
区域 b3	15	0.90
总计	58	5.40

[0364]

对照处理 载玻片 6	毛囊数目	表皮长度, mm
区域 a1	7	0.90
区域 a2	11	0.90
区域 a3	10	0.90
区域 b1	6	0.90
区域 b2	8	0.90
区域 b3	15	0.90
总计	57	5.40

[0365]

对照处理 载玻片 7	毛囊数目	表皮长度, mm
载玻片 18	68	5.45
载玻片 22	71	5.40
载玻片 26	67	5.45
载玻片 34	58	5.40
载玻片 38	58	5.40
载玻片 42	57	5.40
总计	379	32.50

[0366] 结果汇总示于下表2中

[0367] 表2

[0368]

	经分析毛囊数目	每 mm 毛囊数目
采用 SEQ ID NO: 1 处 理	356	18.3
对照组	356	11.7

[0369] 显示处理和对照动物中毛囊的代表性组织切片示于图2和3中。

[0370] 相比之下,观测到野生型小鼠骨桥蛋白对于毛发生长不具有可检测的影响(数据未示出)。

[0371] 结论

[0372] 数据显示采用SEQ ID NO:1的示例性修饰的骨桥蛋白多肽处理增加了毛囊数目/mm表皮约60%。

[0373] 这些发现证实了本发明类骨桥蛋白多肽在刺激毛发生长中的有用性。

[0374] 实施例B-小鼠中SEQ ID NOS:5和63的毛发生长作用的体内研究

[0375] 材料和方法

[0376] 动物

[0377] 使用6-8周龄的小鼠(C57BL/6)。

[0378] 研究设计概述

- [0379] • 选择在毛发生长毛发生长终期阶段中的动物。
- [0380] • 裁剪动物后背
- [0381] • 皮下注射测试肽/媒介物
- [0382] • 目视分析:生长期诱导百分数;平均毛发生长分数;可视黑色素生成:
- [0383] 素生成:
- [0384] • 组织学分析:皮下组织中毛囊计数;形态测量皮肤厚度。
- [0385] 处理组
- [0386] • 随机分配动物至处理组(参见表3)
- [0387] 表3

处理	动物数目	剂量	体积
[0388] “Cx”	5	60 nM	25 μ l

[0389] “FOL-004” (= SEQ ID NO:5)	5	60 nM	25 μ l
“FOL-005” (= SEQ ID NO:63)	5	60 nM	25 μ l
媒介物对照	5	-	25 μ l

- [0390] • 在1、5和9日给药动物特定的处理
- [0391] • 通过皮下注射进入背部经裁剪皮肤给药处理
- [0392] 评分标准
- [0393] • 每日观测处理效果并根据表4中的标准打分
- [0394] 表4

背部皮肤观测	毛发生长分数
无毛发生长, 粉红色皮肤	0
皮肤颜色从粉红色变为灰色, 无可见的毛发生长	0.5
[0395] 皮肤颜色从粉红色变为灰色或黑色, 无可见的毛发生长, 表明生长期开始	1
稀疏的毛发生长	1.5
扩散的短毛发生长	2
适中的毛发生长	2.5
浓密、正常覆盖毛发	3

- [0396] 结果

[0397] 本发明示例性多肽的毛发生长作用示于表5中。

[0398] 表5

[0399]

动物	日											
	1	2	5	6	7	8	9	12	13	14	15	16
(A) 媒介物(对照)												
1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	NA	NA
2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	NA	NA
3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	NA	NA
4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	NA	NA
5	0	0	0	0	0	0	0	0.5	1	1	NA	NA
均值	0.0	0.1	0.2	0.2	-	-						
(B) “Cx” (SEQ ID NO:1 减去起始的 16 个氨基酸信号肽)												
1	0	0	0	1	1.5	2	2.5	3	3	3	NA	NA
2	0	0	0	0.5	0.5	0.5	0.5	1	1	1	NA	NA
3	0	0	0	0.5	0.5	0.5	1	1.5	1.5	1.5	NA	NA
4	0	0	0	0.5	0.5	0.5	1	1.5	1.5	1.5	NA	NA
5	0	0	0	0	0	0	0.5	1	1.5	2	NA	NA
均值	0.0	0.0	0.0	0.5	0.6	0.7	1.1	1.6	1.7	1.8	-	-
(C) FOL-004 (SEQ ID NO: 5)												
1	0	0	0.5	1	1	1	1	1.5	1.5	1.5	2.5	3
2	0	0	2.5	2.5	3	3	3	3	3	3	3	3
3	0	0	2.5	2.5	2.5	3	3	3	3	3	3	3
4	0	0	1.5	2.5	3	3	3	3	3	3	3	3
5	0	0	1.5	2	2.5	2.5	3	3	3	3	3	3
均值	0.0	0.0	1.7	2.1	2.4	2.5	2.6	2.7	2.7	2.7	2.9	3.0
(D) FOL-005 (SEQ ID NO: 63)												
1	0	0	2	2.5	3	3	3	3	3	3	3	3
2	0	0	2	3	3	3	3	3	3	3	3	3
3	0	0	0.5	0.5	1	1	1.5	2.5	2.5	2.5	3	3
4	0	0	2	2.5	2.5	3	3	3	3	3	3	3
5	0	0	0	0	0	0.5	1	2	2.5	2.5	3	3
均值	0.0	0.0	1.3	1.7	1.9	2.1	2.3	2.7	2.8	2.8	3.0	3.0

[0400] 图4显示了(a) 14日的具有毛发生长分数0分的对照处理动物、(b) 14日的采用示例性‘全长’多肽“Cx”(SEQ ID NO:1, 60nM)处理的具有毛发生长分数1.5分的动物、(c) 5日的采用示例性短肽“FOL-004”(SEQ ID NO:5, 60nM)处理的具有毛发生长分数2.5分的动物以及(d) 5日的采用示例性短肽“FOL-005”(SEQ ID NO:5, 63nM)处理的具有毛发生长分数2.0分的动物的代表性照片。

[0401] 结果汇总在图5中。

[0402] 示例性多肽FOL-004(SEQ ID NO:5)和FOL-005(SEQ ID NO:63)二者诱导了快速的毛发生长,其从5日开始明显并维持直至评估期结束(16日)。

[0403] 本发明的‘全长’多肽, (“Cx”)也诱导了显著的毛发生长,虽然起始慢于FOL-004(SEQ ID NO:5)或FOL-005(SEQ ID NO:63)。

[0404] 采用媒介物对照处理的动物经实验期显示出很少的毛发生长迹象。

[0405] 没有一种测试多肽导致动物中任何不良反应(没有体重减轻或任何其它可察觉的不良症状)。

[0406] 结论

[0407] 所有经测试突变骨桥蛋白多肽显示出显著的体内毛发生长效果,较短的示例性多肽FOL-004 (SEQ ID NO:5)和FOL-005 (SEQ ID NO:63)呈现出特别快的起始作用。

[0408] 实施例C-小鼠中等同于SEQ ID NO:5的野生型骨桥蛋白片段的毛发生长作用的体内研究

[0409] 材料和方法

[0410] 如表6中所述处理如实施例B中上述动物:

[0411] 表6

处理	动物数 目	剂量	体积
[0412] “FOL-001”* (= SEQ ID NO:121)	6	60 nM	25 μ l

[0413] *“FOL-001”由下列氨基酸序列组成:

[0414] VDVPNGRGDSLAYGLR [SEQ ID NO:121]

[0415] 此序列是野生型小鼠骨桥蛋白的片段,且对应于由其衍生“FOL-004”的蛋白区域(即“FOL-004”是野生型片段“FOL-001”的突变版本)。

[0416] • 在1、5和9日给药动物特定的处理

[0417] • 通过皮下注射进入背部经裁剪皮肤给药处理

[0418] 评分标准

[0419] • 如实施例B中所述每日观测处理效果并打分。

[0420] 结果

[0421] 多肽“FOL-001”对于毛发生长的影响示于表7和图6中。

[0422] 表7

[0423]

动物	日											
	1	2	5	6	7	8	9	12	13	14	15	16
FOL-001 (SEQ ID NO: 121, 60nM)												
1	0	0	0.5	0.5	0.5	0.5	1	2	2	2.5	2.5	NA
2	0	0	0.5	0.5	0.5	0.5	1	2	2	2.5	2.5	NA
3	0	0	0	0	0	0	0.5	1	1	1	1	NA
4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	NA
5	0	0	0	0	0	0	0.5	1	1	1	1	NA
6	0	0	0	0	0	0	0.5	1	1	1	1	NA
均值	0	0	0.17	0.17	0.17	0.17	0.58	1.17	1.17	1.33	1.33	-

[0424] 肽FOL-001 (SEQ ID NO:121) 在小鼠中产生了延迟但可检测的毛发生长效果,其在

约第9日开始明显并达到分数约1.3的稳定水平。

[0425] 结论

[0426] 相比于对应的本发明突变肽序列 (FOL-004; SQE ID NO:5), 等同的未突变野生型序列呈现出毛发生长刺激的延迟起始, 最大效应比用FOL-004观测到的小50%。

[0427] 因此, 该示例性多肽相比于等同的未突变野生型序列显示出明显更大的功效。

[0428] 实施例D-在剥皮皮肤中生长长期诱导的体内研究

[0429] 材料和方法

[0430] 动物及处理为如实施例B中上述。

[0431] 在16日杀死所有动物。

[0432] 黑素生成观测

[0433] 完成例如B的毛发生长评价期后, 将动物安乐死, 剥皮并移除背部皮肤用于观测内表面。

[0434] 组织学分析

[0435] 如实施例A中所述制备用于组织学分析的剥皮皮肤切片。然后测定皮下组织中毛囊数及皮肤厚度。

[0436] 结果

[0437] 结果汇总在下表8和9中。

[0438] 表8

[0439] 黑素生成观测

[0440]

组	皮肤颜色 (外部)	% 生长长期 诱导*	剥皮皮肤中 黑色 (16 日)	% 生长长期 诱导**	显示毛发生 长的动物数 目
Cx (60nM)	黑色 (5/5 动物)	100	3/5	60	5/5
FOL-004 (60nM)	黑色 (5/5 动物)	100	1/5	20	5/5
FOL-005 (60nM)	黑色 (5/5 动物)	100	3/5	60	5/5
媒介物	粉红色 (4/5 动物)	20	1/5	20	1/5

[0441] *与外部皮肤颜色从粉红色变为黑色相关

[0442] **与剥皮皮肤中黑色相关

[0443] 表9a (所有动物)

[0444]

组	经考虑动物数目	均值±标准误差	
		皮下组织中毛囊数 (数目)	皮肤厚度
Cx (60nM)	5	22.20 ± 10.69	308.8 ± 21.94
FOL-004 (60nM)	5	6.20 ± 5.80	312.2 ± 15.60
FOL-005 (60nM)	5	34.80 ± 14.58	348.80 ± 40.05
媒介物	4*	0 ± 0	246.5 ± 8.35

[0445] *发现5号动物明显异常 ($p < 0/05$, 格鲁布斯检验法) 并因此在分析中忽略

[0446] 表9b (仅在生长期的动物)

[0447]

组	经考虑动物数目	均值±标准误差	
		皮下组织中毛囊数 (数目)	皮肤厚度
Cx (60nM)	3/5	36.67 ± 10.69	308.8 ± 21.94
FOL-004 (60nM)	1/5	29 ± 5.8	312.2 ± 15.60
FOL-005 (60nM)	3/5	58 ± 14.58	348.80 ± 40.05
媒介物	0/4*	0 ± 0	246.5 ± 8.35

[0448] 毛发生长周期由三个阶段组成: 休息毛发生长终期阶段 (C57BL/6 皮肤为浅粉色)、活跃毛发生生长长期阶段 (其中皮肤变为深灰色或黑色) 和最终的毛发生生长中期阶段 (其中毛发生长停止且皮肤转变回毛发生长终期阶段, 回归浅粉色)。

[0449] 在本研究中, 预选粉红色皮肤 (毛发生长终期阶段) 的动物并通过皮下/局部途径给药测试多肽。良好的毛发生长促进剂触发从休息毛发生长终期阶段至活跃生长期阶段的转变, 且因而从浅色皮肤转变为深色皮肤。此深色色素沉积可能是由于毛囊中聚集黑色素用于准备生长期阶段期间的毛发生长。毛囊黑色素细胞的黑色素合成严格对应于生长期阶段, 在生长中期期间停止且在毛发生长终期阶段不存在。因此良好的毛发生长促进剂引起背部皮肤变黑。结束后接着通过剥皮切除动物的背部皮肤并将剥皮的皮肤翻转及观察通过视觉变黑所指示的黑素生成诱导。组织学分析揭示了毛囊数目及皮肤厚度。良好的毛发生长促进剂增加皮下组织中毛囊数目及皮肤厚度。

[0450] 在本研究中, 所有三种测试多肽导致了三次皮下注射后的密集毛发生长外观 (参见以上实施例B)。还观测到在一些动物中毛发充分生长之后皮肤颜色从黑色变为灰色至粉红色, 其为生长中期阶段的特征。本研究中收集的剥皮皮肤显示黑斑点, 因为黑素细胞隔离表明毛发生长周期的生长期阶段 (活跃期)。在这些动物中, 组织学结果显示大量毛囊以及皮肤厚度增加。但在一些生长中期阶段已发生的动物中, 发现剥皮皮肤为粉红色, 即便被毛 (hair coat) 是完整的。因此, 此类剥皮皮肤切片的分析证明皮下组织中缺乏毛囊但皮肤厚度仍良好增加。

[0451] 结论

[0452] 本发明的示例性突变骨桥蛋白多肽显示出显著的生长期诱导, 其通过皮下组织中毛囊数目的增加和/或增加的皮肤厚度可证实。

序列表

<110> 富力卡姆股份公司
 <120> 具有失活 RGD 域的修饰的骨桥蛋白肽及其用途

<130> FOLBA/P51811PC

<140> PCT/GB2012/051955
 <141> 10 August 2012

<150> GB 1113770.0
 <151> 10 August 2011

<160> 123

<170> SeqWin99

<210> 1
 <211> 293
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 修饰的骨桥蛋白

<400> I
 Met Arg Leu Ala Val Ile Cys Phe Cys Leu Phe Gly Ile Ala Ser Ser
 1 5 10 15
 Leu Pro Val Lys Val Thr Asp Ser Gly Ser Ser Glu Glu Lys Leu Tyr
 20 25 30
 Ser Leu His Pro Asp Pro Ile Ala Thr Trp Leu Val Pro Asp Pro Ser
 35 40 45
 Gln Lys Gln Asn Leu Leu Ala Pro Gln Asn Ala Val Ser Ser Glu Glu
 50 55 60
 Lys Asp Asp Phe Lys Gln Glu Thr Leu Pro Ser Asn Ser Asn Glu Ser
 65 70 75 80
 His Asp His Met Asp Asp Asp Asp Asp Asp Asp Asp Asp Gly Asp
 85 90 95
 His Ala Glu Ser Glu Asp Ser Val Asp Ser Asp Glu Ser Asp Glu Ser
 100 105 110
 His His Ser Asp Glu Ser Asp Glu Thr Val Thr Ala Ser Thr Gln Ala
 115 120 125
 Asp Thr Phe Thr Pro Ile Val Pro Thr Val Asp Val Pro Asn Gly Asp
 130 135 140
 Ile Ser Leu Ala Tyr Gly Leu Arg Ser Lys Ser Arg Ser Phe Gln Val
 145 150 155 160
 Ser Asp Glu Gln Tyr Pro Asp Ala Thr Asp Glu Asp Leu Thr Ser His
 165 170 175
 Met Lys Ser Gly Glu Ser Lys Glu Ser Leu Asp Val Ile Pro Val Ala
 180 185 190
 Gln Leu Leu Ser Met Pro Ser Asp Gln Asp Asn Asn Gly Lys Gly Ser
 195 200 205
 His Glu Ser Ser Gln Leu Asp Glu Pro Ser Leu Glu Thr His Arg Leu
 210 215 220
 Glu His Ser Lys Glu Ser Gln Glu Ser Ala Asp Gln Ser Asp Val Ile
 225 230 235 240

[0001]

Asp Ser Gln Ala Ser Ser Lys Ala Ser Leu Glu His Gln Ser His Lys
 245 250 255

Phe His Ser His Lys Asp Lys Leu Val Leu Asp Pro Lys Ser Lys Glu
 260 265 270

Asp Asp Arg Tyr Leu Lys Phe Arg Ile Ser His Glu Leu Glu Ser Ser
 275 280 285

Ser Ser Glu Val Asn
 290

<210> 2
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 失活的RGD域

<400> 2
 Asp Ile Ser Leu Ala Tyr Gly Leu Arg Ser
 1 5 10

<210> 3
 <211> 299
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 修饰的骨桥蛋白

<400> 3
 Met Arg Ile Ala Val Ile Cys Phe Cys Leu Leu Gly Ile Thr Cys Ala
 1 5 10 15

Ile Pro Val Lys Gln Ala Asp Ser Gly Ser Ser Glu Glu Lys Gln Leu
 20 25 30

Tyr Asn Lys Tyr Pro Asp Ala Val Ala Thr Trp Leu Asn Pro Asp Pro
 35 40 45

Ser Gln Lys Gln Asn Leu Leu Ala Pro Gln Thr Leu Pro Ser Lys Ser
 50 55 60

Asn Glu Ser His Asp His Met Asp Asp Met Asp Asp Glu Asp Asp Asp
 65 70 75 80

Asp His Val Asp Ser Gln Asp Ser Ile Asp Ser Asn Asp Ser Asp Asp
 85 90 95

Val Asp Asp Thr Asp Asp Ser His Gln Ser Asp Glu Ser His His Ser
 100 105 110

Asp Glu Ser Asp Glu Leu Val Thr Asp Phe Pro Thr Asp Leu Pro Ala
 115 120 125

Thr Glu Val Phe Thr Pro Val Val Pro Thr Val Asp Thr Tyr Asp Gly
 130 135 140

Asp Ile Ser Val Val Tyr Gly Leu Arg Ser Lys Ser Lys Lys Phe Arg
 145 150 155 160

Arg Pro Asp Ile Gln Tyr Pro Asp Ala Thr Asp Glu Asp Ile Thr Ser
 165 170 175

His Met Glu Ser Glu Glu Leu Asn Gly Ala Tyr Lys Ala Ile Pro Val
 180 185 190

Ala Gln Asp Leu Asn Ala Pro Ser Asp Trp Asp Ser Arg Gly Lys Asp
 195 200 205

[0002]

Ser Tyr Glu Thr Ser Gln Leu Asp Asp Gln Ser Ala Glu Thr His Ser
 210 215 220
 His Lys Gln Ser Arg Leu Tyr Lys Arg Lys Ala Asn Asp Glu Ser Asn
 225 230 235 240
 Glu His Ser Asp Val Ile Asp Ser Gln Glu Leu Ser Lys Val Ser Arg
 245 250 255
 Glu Phe His Ser His Glu Phe His Ser His Glu Asp Met Leu Val Val
 260 265 270
 Asp Pro Lys Ser Lys Glu Glu Asp Lys His Leu Lys Phe Arg Ile Ser
 275 280 285
 His Glu Leu Asp Ser Ala Ser Ser Glu Val Asn
 290 295

<210> 4
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 失活的 RGD 域

<400> 4
 Asp Ile Ser Val Val Tyr Gly Leu Arg Ser
 1 5 10

<210> 5
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> 人工序列

[0003]

<220>
 <223> 优选的 15-氨基酸肽 (FOL-004)

<400> 5
 Val Asp Val Pro Asn Gly Asp Ile Ser Leu Ala Tyr Gly Leu Arg
 1 5 10 15

<210> 6
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 优选的 15-氨基酸肽

<400> 6
 Asp Val Pro Asn Gly Asp Ile Ser Leu Ala Tyr Gly Leu Arg Ser
 1 5 10 15

<210> 7
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 优选的 14-氨基酸肽

<400> 7
 Val Asp Val Pro Asn Gly Asp Ile Ser Leu Ala Tyr Gly Leu
 1 5 10

<210> 8
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>

<223> 优选的 14-氨基酸肽
 <400> 8
 Asp Val Pro Asn Gly Asp Ile Ser Leu Ala Tyr Gly Leu Arg
 1 5 10

<210> 9
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 优选的 14-氨基酸肽

<400> 9
 Val Pro Asn Gly Asp Ile Ser Leu Ala Tyr Gly Leu Arg Ser
 1 5 10

<210> 10
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 优选的 13-氨基酸肽

<400> 10
 Val Asp Val Pro Asn Gly Asp Ile Ser Leu Ala Tyr Gly
 1 5 10

<210> 11
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> 人工序列

[0004]

<220>
 <223> 优选的 13-氨基酸肽

<400> 11
 Asp Val Pro Asn Gly Asp Ile Ser Leu Ala Tyr Gly Leu
 1 5 10

<210> 12
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 优选的 13-氨基酸肽

<400> 12
 Val Pro Asn Gly Asp Ile Ser Leu Ala Tyr Gly Leu Arg
 1 5 10

<210> 13
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 优选的 13-氨基酸肽

<400> 13
 Pro Asn Gly Asp Ile Ser Leu Ala Tyr Gly Leu Arg Ser
 1 5 10

<210> 14
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>

<223> 优选的 12-氨基酸肽
 <400> 14
 Val Asp Val Pro Asn Gly Asp Ile Ser Leu Ala Tyr
 1 5 10
 <210> 15
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 优选的 12-氨基酸肽
 <400> 15
 Asp Val Pro Asn Gly Asp Ile Ser Leu Ala Tyr Gly
 1 5 10
 <210> 16
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 优选的 12-氨基酸肽
 <400> 16
 Val Pro Asn Gly Asp Ile Ser Leu Ala Tyr Gly Leu
 1 5 10
 <210> 17
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 [0005] <220>
 <223> 优选的 12-氨基酸肽
 <400> 17
 Pro Asn Gly Asp Ile Ser Leu Ala Tyr Gly Leu Arg
 1 5 10
 <210> 18
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 优选的 12-氨基酸肽
 <400> 18
 Asn Gly Asp Ile Ser Leu Ala Tyr Gly Leu Arg Ser
 1 5 10
 <210> 19
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 优选的 11-氨基酸肽
 <400> 19
 Val Asp Val Pro Asn Gly Asp Ile Ser Leu Ala
 1 5 10
 <210> 20
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>

<223> 优选的 11-氨基酸肽
 <400> 20
 Asp Val Pro Asn Gly Asp Ile Ser Leu Ala Tyr
 1 5 10

<210> 21
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 优选的 11-氨基酸肽

<400> 21
 Val Pro Asn Gly Asp Ile Ser Leu Ala Tyr Gly
 1 5 10

<210> 22
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 优选的 11-氨基酸肽

<400> 22
 Pro Asn Gly Asp Ile Ser Leu Ala Tyr Gly Leu
 1 5 10

<210> 23
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> 人工序列

[0006]

<220>
 <223> 优选的 11-氨基酸肽

<400> 23
 Asn Gly Asp Ile Ser Leu Ala Tyr Gly Leu Arg
 1 5 10

<210> 24
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 优选的 11-氨基酸肽

<400> 24
 Gly Asp Ile Ser Leu Ala Tyr Gly Leu Arg Ser
 1 5 10

<210> 25
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 优选的 10-氨基酸肽

<400> 25
 Val Asp Val Pro Asn Gly Asp Ile Ser Leu
 1 5 10

<210> 26
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>

<223> 优选的 10-氨基酸肽
 <400> 26
 Asp Val Pro Asn Gly Asp Ile Ser Leu Ala
 1 5 10
 <210> 27
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 优选的 10-氨基酸肽
 <400> 27
 Val Pro Asn Gly Asp Ile Ser Leu Ala Tyr
 1 5 10
 <210> 28
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 优选的 10-氨基酸肽
 <400> 28
 Pro Asn Gly Asp Ile Ser Leu Ala Tyr Gly
 1 5 10
 <210> 29
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 [0007] <220>
 <223> 优选的 10-氨基酸肽
 <400> 29
 Asn Gly Asp Ile Ser Leu Ala Tyr Gly Leu
 1 5 10
 <210> 30
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 优选的 10-氨基酸肽
 <400> 30
 Gly Asp Ile Ser Leu Ala Tyr Gly Leu Arg
 1 5 10
 <210> 31
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 优选的 10-氨基酸肽
 <400> 31
 Asp Ile Ser Leu Ala Tyr Gly Leu Arg Ser
 1 5 10
 <210> 32
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>

<223> 优选的 9-氨基酸肽
 <400> 32
 Val Asp Val Pro Asn Gly Asp Ile Ser
 1 5
 <210> 33
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 优选的 9-氨基酸肽
 <400> 33
 Asp Val Pro Asn Gly Asp Ile Ser Leu
 1 5
 <210> 34
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 优选的 9-氨基酸肽
 <400> 34
 Val Pro Asn Gly Asp Ile Ser Leu Ala
 1 5
 <210> 35
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 [0008] <220>
 <223> 优选的 9-氨基酸肽
 <400> 35
 Pro Asn Gly Asp Ile Ser Leu Ala Tyr
 1 5
 <210> 36
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 优选的 9-氨基酸肽
 <400> 36
 Asn Gly Asp Ile Ser Leu Ala Tyr Gly
 1 5
 <210> 37
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 优选的 9-氨基酸肽
 <400> 37
 Gly Asp Ile Ser Leu Ala Tyr Gly Leu
 1 5
 <210> 38
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>

<223> 优选的 9-氨基酸肽
 <400> 38
 Asp Ile Ser Leu Ala Tyr Gly Leu Arg
 1 5
 <210> 39
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 优选的 9-氨基酸肽
 <400> 39
 Ile Ser Leu Ala Tyr Gly Leu Arg Ser
 1 5
 <210> 40
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 优选的 8-氨基酸肽
 <400> 40
 Val Asp Val Pro Asn Gly Asp Ile
 1 5
 <210> 41
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 [0009] <220>
 <223> 优选的 8-氨基酸肽
 <400> 41
 Asp Val Pro Asn Gly Asp Ile Ser
 1 5
 <210> 42
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 优选的 8-氨基酸肽
 <400> 42
 Val Pro Asn Gly Asp Ile Ser Leu
 1 5
 <210> 43
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 优选的 8-氨基酸肽
 <400> 43
 Pro Asn Gly Asp Ile Ser Leu Ala
 1 5
 <210> 44
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>

<223> 优选的 8-氨基酸肽
 <400> 44
 Asn Gly Asp Ile Ser Leu Ala Tyr
 1 5
 <210> 45
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 优选的 8-氨基酸肽
 <400> 45
 Gly Asp Ile Ser Leu Ala Tyr Gly
 1 5
 <210> 46
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 优选的 8-氨基酸肽
 <400> 46
 Asp Ile Ser Leu Ala Tyr Gly Leu
 1 5
 <210> 47
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 [0010] <220>
 <223> 优选的 8-氨基酸肽
 <400> 47
 Ile Ser Leu Ala Tyr Gly Leu Arg
 1 5
 <210> 48
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 优选的 7-氨基酸肽
 <400> 48
 Val Asp Val Pro Asn Gly Asp
 1 5
 <210> 49
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 优选的 7-氨基酸肽
 <400> 49
 Asp Val Pro Asn Gly Asp Ile
 1 5
 <210> 50
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>

<223> 优选的 7-氨基酸肽
 <400> 50
 Val Pro Asn Gly Asp Ile Ser
 1 5
 <210> 51
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 优选的 7-氨基酸肽
 <400> 51
 Pro Asn Gly Asp Ile Ser Leu
 1 5
 <210> 52
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 优选的 7-氨基酸肽
 <400> 52
 Asn Gly Asp Ile Ser Leu Ala
 1 5
 <210> 53
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 [0011] <220>
 <223> 优选的 7-氨基酸肽
 <400> 53
 Gly Asp Ile Ser Leu Ala Tyr
 1 5
 <210> 54
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 优选的 7-氨基酸肽
 <400> 54
 Asp Ile Ser Leu Ala Tyr Gly
 1 5
 <210> 55
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 优选的 7-氨基酸肽
 <400> 55
 Ile Ser Leu Ala Tyr Gly Leu
 1 5
 <210> 56
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>

<223> 优选的 6-氨基酸肽
 <400> 56
 Asp Val Pro Asn Gly Asp
 1 5
 <210> 57
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 优选的 6-氨基酸肽
 <400> 57
 Val Pro Asn Gly Asp Ile
 1 5
 <210> 58
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 优选的 6-氨基酸肽
 <400> 58
 Pro Asn Gly Asp Ile Ser
 1 5
 <210> 59
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 [0012] <220>
 <223> 优选的 6-氨基酸肽
 <400> 59
 Asn Gly Asp Ile Ser Leu
 1 5
 <210> 60
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 优选的 6-氨基酸肽
 <400> 60
 Gly Asp Ile Ser Leu Ala
 1 5
 <210> 61
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 优选的 6-氨基酸肽
 <400> 61
 Asp Ile Ser Leu Ala Tyr
 1 5
 <210> 62
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>

- <223> 优选的 6-氨基酸肽
 <400> 62
 Ile Ser Leu Ala Tyr Gly
 1 5
 <210> 63
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 优选的 15-氨基酸肽
 <400> 63
 Val Asp Thr Tyr Asp Gly Asp Ile Ser Val Val Tyr Gly Leu Arg
 1 5 10 15
 <210> 64
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 优选的 15-氨基酸肽
 <400> 64
 Val Asp Thr Tyr Asp Gly Asp Ile Ser Val Val Tyr Gly Leu Ser
 1 5 10 15
 <210> 65
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 [0013] <220>
 <223> 优选的 14-氨基酸肽
 <400> 65
 Val Asp Thr Tyr Asp Gly Asp Ile Ser Val Val Tyr Gly Leu
 1 5 10
 <210> 66
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 优选的 14-氨基酸肽
 <400> 66
 Asp Thr Tyr Asp Gly Asp Ile Ser Val Val Tyr Gly Leu Arg
 1 5 10
 <210> 67
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 优选的 14-氨基酸肽
 <400> 67
 Thr Tyr Asp Gly Asp Ile Ser Val Val Tyr Gly Leu Arg Ser
 1 5 10
 <210> 68
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>

<223> 优选的 13-氨基酸肽
 <400> 68
 Val Asp Thr Tyr Asp Gly Asp Ile Ser Val Val Tyr Gly
 1 5 10

<210> 69
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 优选的 13-氨基酸肽

<400> 69
 Asp Thr Tyr Asp Gly Asp Ile Ser Val Val Tyr Gly Leu
 1 5 10

<210> 70
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 优选的 13-氨基酸肽

<400> 70
 Thr Tyr Asp Gly Asp Ile Ser Val Val Tyr Gly Leu Arg
 1 5 10

<210> 71
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> 人工序列

[0014]

<220>
 <223> 优选的 13-氨基酸肽

<400> 71
 Tyr Asp Gly Asp Ile Ser Val Val Tyr Gly Leu Arg Ser
 1 5 10

<210> 72
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 优选的 12-氨基酸肽

<400> 72
 Val Asp Thr Tyr Asp Gly Asp Ile Ser Val Val Tyr
 1 5 10

<210> 73
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 优选的 12-氨基酸肽

<400> 73
 Asp Thr Tyr Asp Gly Asp Ile Ser Val Val Tyr Gly
 1 5 10

<210> 74
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>

<223> 优选的 12-氨基酸肽
 <400> 74
 Thr Tyr Asp Gly Asp Ile Ser Val Val Tyr Gly Leu
 1 5 10

<210> 75
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 优选的 12-氨基酸肽

<400> 75
 Tyr Asp Gly Asp Ile Ser Val Val Tyr Gly Leu Arg
 1 5 10

<210> 76
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 优选的 12-氨基酸肽

<400> 76
 Asp Gly Asp Ile Ser Val Val Tyr Gly Leu Arg Ser
 1 5 10

<210> 77
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> 人工序列

[0015]

<220>
 <223> 优选的 11-氨基酸肽

<400> 77
 Val Asp Thr Tyr Asp Gly Asp Ile Ser Val Val
 1 5 10

<210> 78
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 优选的 11-氨基酸肽

<400> 78
 Asp Thr Tyr Asp Gly Asp Ile Ser Val Val Tyr
 1 5 10

<210> 79
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 优选的 11-氨基酸肽

<400> 79
 Thr Tyr Asp Gly Asp Ile Ser Val Val Tyr Gly
 1 5 10

<210> 80
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>

<223> 优选的 11-氨基酸肽
 <400> 80
 Tyr Asp Gly Asp Ile Ser Val Val Tyr Gly Leu
 1 5 10

<210> 81
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 优选的 11-氨基酸肽

<400> 81
 Asp Gly Asp Ile Ser Val Val Tyr Gly Leu Arg
 1 5 10

<210> 82
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 优选的 11-氨基酸肽

<400> 82
 Gly Asp Ile Ser Val Val Tyr Gly Leu Arg Ser
 1 5 10

<210> 83
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> 人工序列

[0016]

<220>
 <223> 优选的 10-氨基酸肽

<400> 83
 Val Asp Thr Tyr Asp Gly Asp Ile Ser Val
 1 5 10

<210> 84
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 优选的 10-氨基酸肽

<400> 84
 Asp Thr Tyr Asp Gly Asp Ile Ser Val Val
 1 5 10

<210> 85
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 优选的 10-氨基酸肽

<400> 85
 Thr Tyr Asp Gly Asp Ile Ser Val Val Tyr
 1 5 10

<210> 86
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>

<223> 优选的 10-氨基酸肽
 <400> 86
 Tyr Asp Gly Asp Ile Ser Val Val Tyr Gly
 1 5 10
 <210> 87
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 优选的 10-氨基酸肽
 <400> 87
 Asp Gly Asp Ile Ser Val Val Tyr Gly Leu
 1 5 10
 <210> 88
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 优选的 10-氨基酸肽
 <400> 88
 Gly Asp Ile Ser Val Val Tyr Gly Leu Arg
 1 5 10
 <210> 89
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 [0017] <220>
 <223> 优选的 10-氨基酸肽
 <400> 89
 Asp Ile Ser Val Val Tyr Gly Leu Arg Ser
 1 5 10
 <210> 90
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 优选的 9-氨基酸肽
 <400> 90
 Val Asp Thr Tyr Asp Gly Asp Ile Ser
 1 5
 <210> 91
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 优选的 9-氨基酸肽
 <400> 91
 Asp Thr Tyr Asp Gly Asp Ile Ser Val
 1 5
 <210> 92
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>

<223> 优选的 9-氨基酸肽
 <400> 92
 Thr Tyr Asp Gly Asp Ile Ser Val Val
 1 5
 <210> 93
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 优选的 9-氨基酸肽
 <400> 93
 Tyr Asp Gly Asp Ile Ser Val Val Tyr
 1 5
 <210> 94
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 优选的 9-氨基酸肽
 <400> 94
 Asp Gly Asp Ile Ser Val Val Tyr Gly
 1 5
 <210> 95
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 [0018] <220>
 <223> 优选的 9-氨基酸肽
 <400> 95
 Gly Asp Ile Ser Val Val Tyr Gly Leu
 1 5
 <210> 96
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 优选的 9-氨基酸肽
 <400> 96
 Asp Ile Ser Val Val Tyr Gly Leu Arg
 1 5
 <210> 97
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 优选的 9-氨基酸肽
 <400> 97
 Ile Ser Val Val Tyr Gly Leu Arg Ser
 1 5
 <210> 98
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>

<223> 优选的 8-氨基酸肽
 <400> 98
 Val Asp Thr Tyr Asp Gly Asp Ile
 1 5
 <210> 99
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 优选的 8-氨基酸肽
 <400> 99
 Asp Thr Tyr Asp Gly Asp Ile Ser
 1 5
 <210> 100
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 优选的 8-氨基酸肽
 <400> 100
 Thr Tyr Asp Gly Asp Ile Ser Val
 1 5
 <210> 101
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 [0019] <220>
 <223> 优选的 8-氨基酸肽
 <400> 101
 Tyr Asp Gly Asp Ile Ser Val Val
 1 5
 <210> 102
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 优选的 8-氨基酸肽
 <400> 102
 Asp Gly Asp Ile Ser Val Val Tyr
 1 5
 <210> 103
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 优选的 8-氨基酸肽
 <400> 103
 Gly Asp Ile Ser Val Val Tyr Gly
 1 5
 <210> 104
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>

<223> 优选的 8-氨基酸肽
 <400> 104
 Asp Ile Ser Val Val Tyr Gly Leu
 1 5
 <210> 105
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 优选的 8-氨基酸肽
 <400> 105
 Ile Ser Val Val Tyr Gly Leu Arg
 1 5
 <210> 106
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 优选的 7-氨基酸肽
 <400> 106
 Val Asp Thr Tyr Asp Gly Asp
 1 5
 <210> 107
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 [0020] <220>
 <223> 优选的 7-氨基酸肽
 <400> 107
 Asp Thr Tyr Asp Gly Asp Ile
 1 5
 <210> 108
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 优选的 7-氨基酸肽
 <400> 108
 Thr Tyr Asp Gly Asp Ile Ser
 1 5
 <210> 109
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 优选的 7-氨基酸肽
 <400> 109
 Tyr Asp Gly Asp Ile Ser Val
 1 5
 <210> 110
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>

- <223> 优选的 7-氨基酸肽
 <400> 110
 Asp Gly Asp Ile Ser Val Val
 1 5
- <210> 111
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> 人工序列
- <220>
 <223> 优选的 7-氨基酸肽
 <400> 111
 Gly Asp Ile Ser Val Val Tyr
 1 5
- <210> 112
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> 人工序列
- <220>
 <223> 优选的 7-氨基酸肽
 <400> 112
 Asp Ile Ser Val Val Tyr Gly
 1 5
- <210> 113
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> 人工序列
- [0021] <220>
 <223> 优选的 7-氨基酸肽
 <400> 113
 Ile Ser Val Val Tyr Gly Leu
 1 5
- <210> 114
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> 人工序列
- <220>
 <223> 优选的 6-氨基酸肽
 <400> 114
 Asp Thr Tyr Asp Gly Asp
 1 5
- <210> 115
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> 人工序列
- <220>
 <223> 优选的 6-氨基酸肽
 <400> 115
 Thr Tyr Asp Gly Asp Ile
 1 5
- <210> 116
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> 人工序列
- <220>

<223> 优选的 6-氨基酸肽
 <400> 116
 Tyr Asp Gly Asp Ile Ser
 1 5
 <210> 117
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 优选的 6-氨基酸肽
 <400> 117
 Asp Gly Asp Ile Ser Val
 1 5
 <210> 118
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 优选的 6-氨基酸肽
 <400> 118
 Gly Asp Ile Ser Val Val
 1 5
 <210> 119
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 [0022] <220>
 <223> 优选的 6-氨基酸肽
 <400> 119
 Asp Ile Ser Val Val Tyr
 1 5
 <210> 120
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 优选的 6-氨基酸肽
 <400> 120
 Ile Ser Val Val Tyr Gly
 1 5
 <210> 121
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> F0L-001
 <400> 121
 Val Asp Val Pro Asn Gly Arg Gly Asp Ser Leu Ala Tyr Gly Leu Arg
 1 5 10 15
 <210> 122
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> 人类

<400> 122
Arg Gly Asp Ser Leu Ala Tyr Gly Leu Arg Ser
1 5 10

[0023]

<210> 123
<211> 7
<212> PRT
<213> 人类

<400> 123
Ser Leu Ala Tyr Gly Leu Arg
1 5

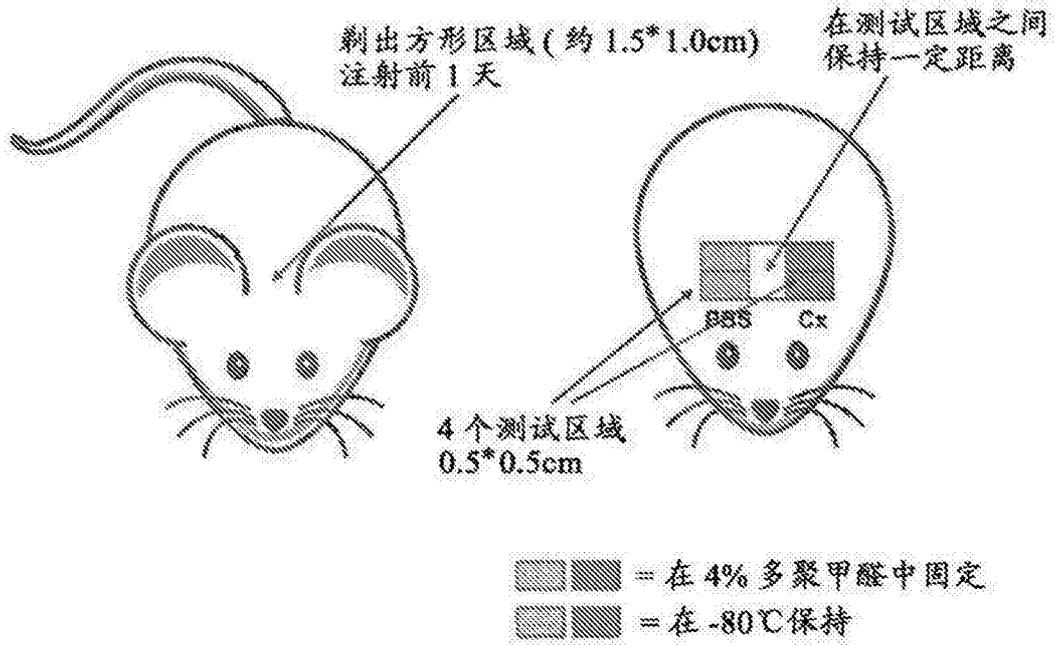


图1

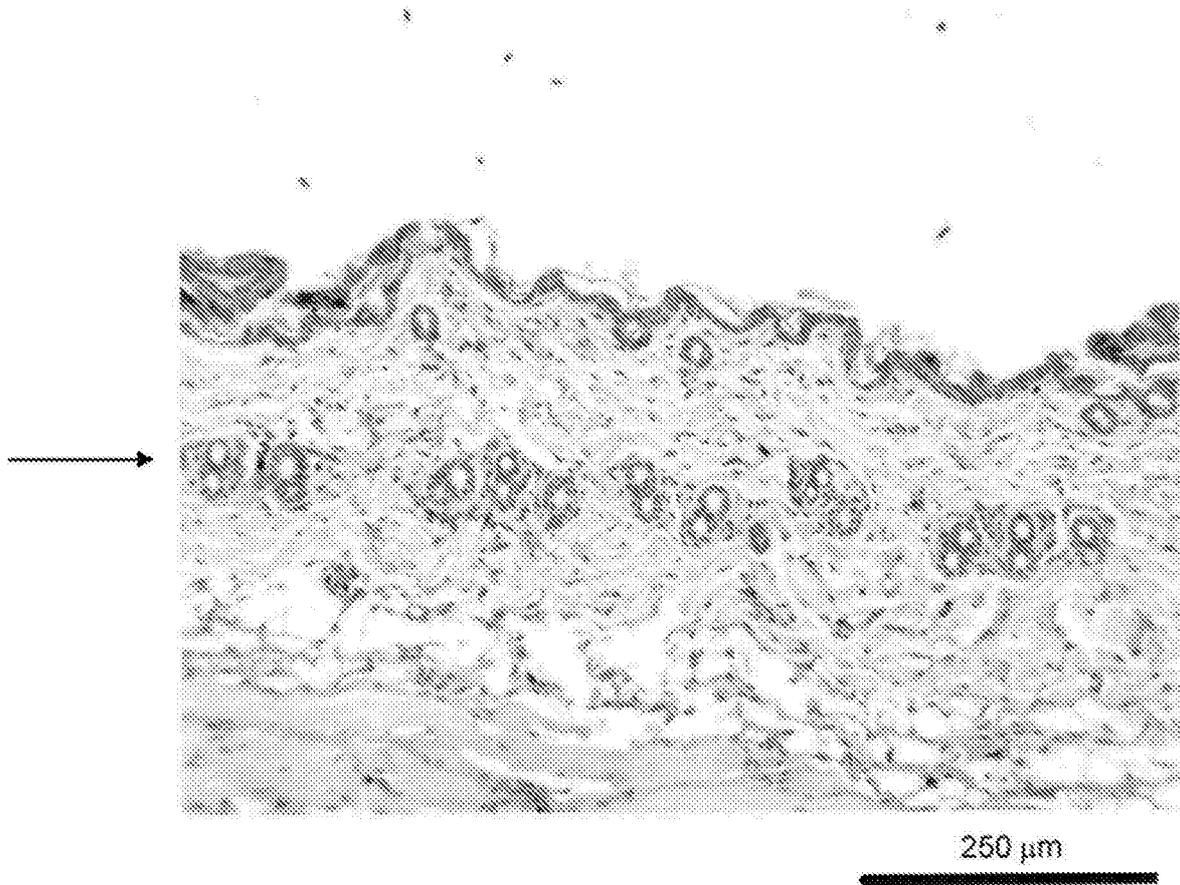


图2

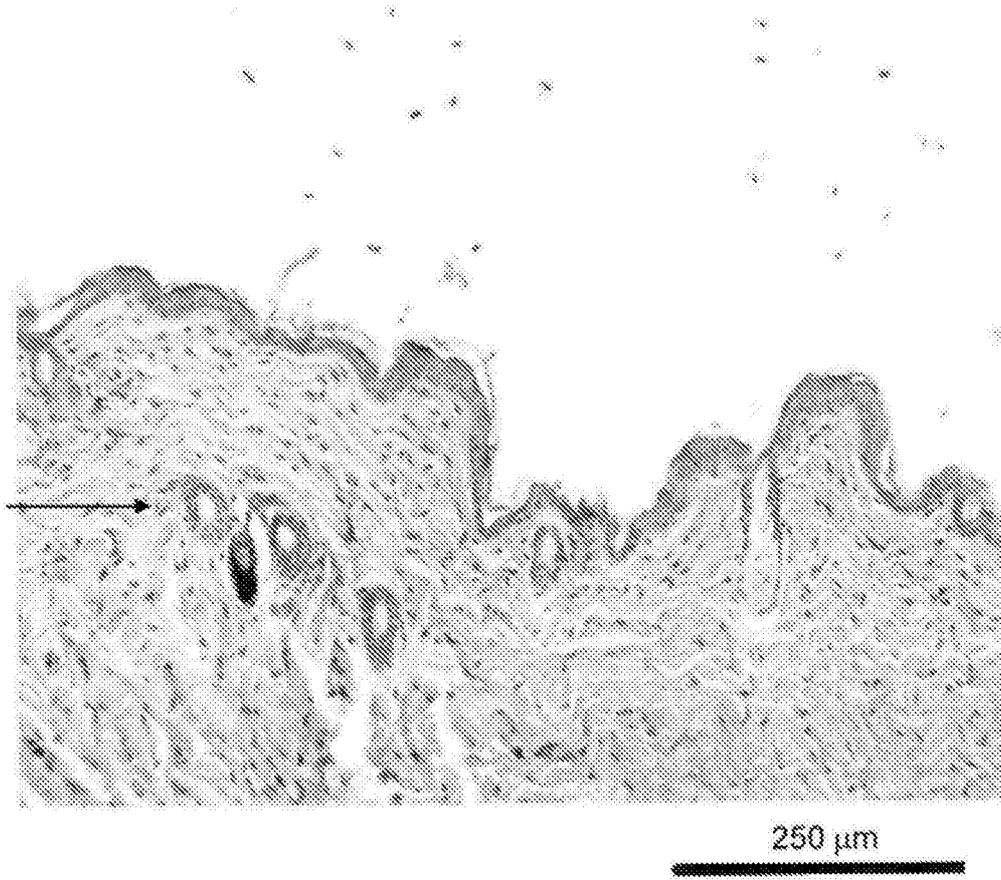


图3



图4 (A)



图4 (B)



图4 (C)



图4 (D)

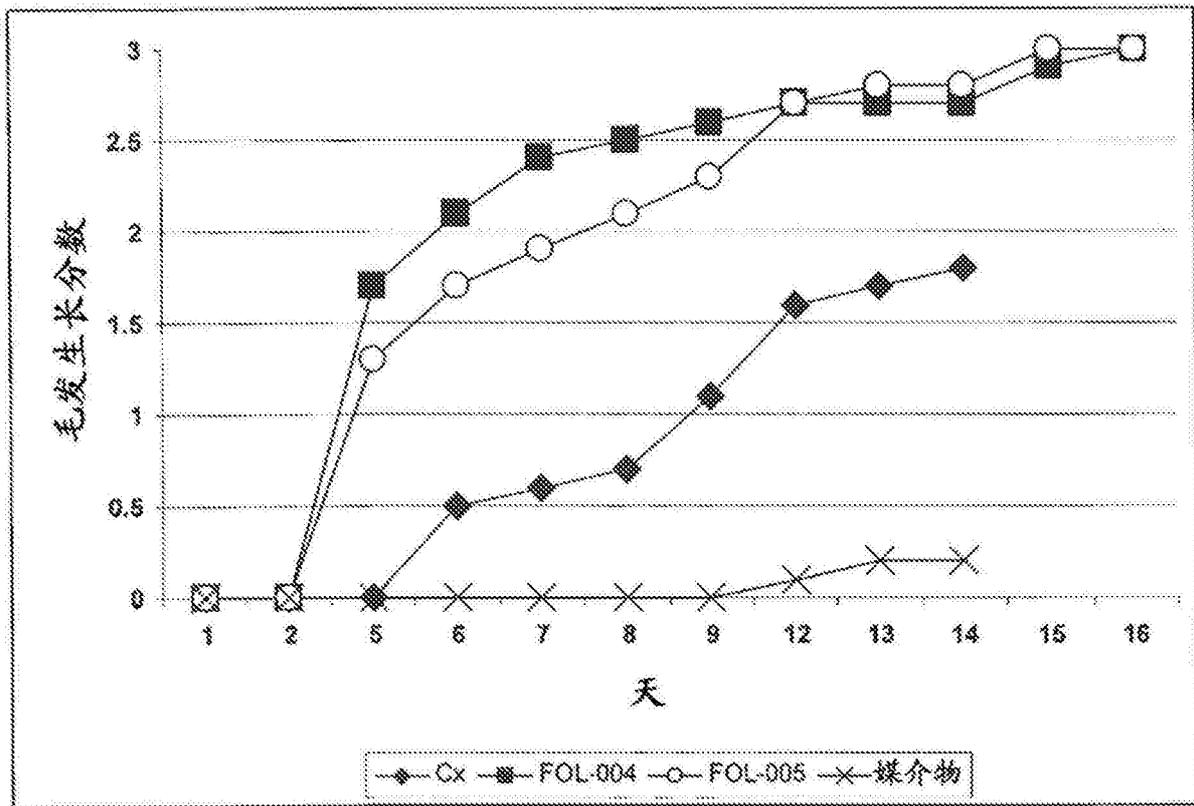


图5

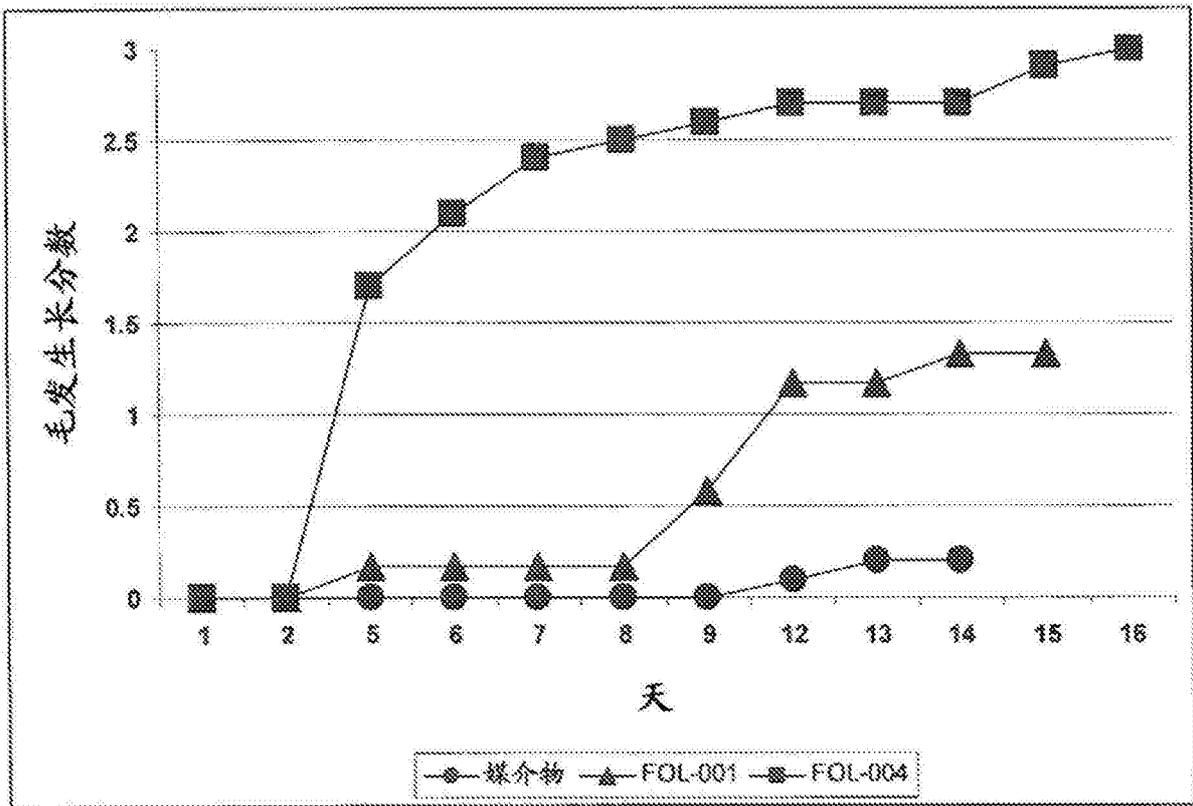


图6