202246301

(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公開本 (11)公開編號：TW 202246301 A

(43)公開日： 中華民國 111 (2022) 年 12 月 01 日

(21)申請案號：111127474 (22)申請日： 中華民國 102 (2013) 年 05 月 01 日

(51)Int. Cl.：

C07K5/00	*(2006.01)*	*C07K5/087*	*(2006.01)*
C07K5/103	*(2006.01)*	*C07K5/107*	*(2006.01)*
C07K7/08	*(2006.01)*	*C12N9/00*	*(2006.01)*
A61K8/64	*(2006.01)*	*A61K38/45*	*(2006.01)*
A61P35/00	*(2006.01)*	*A61Q19/00*	*(2006.01)*

(30)優先權：

2012/05/11	南韓	10-2012-0050529
2012/05/11	南韓	10-2012-0050533
2012/07/02	南韓	10-2012-0071989
2012/09/19	南韓	10-2012-0104144
2012/09/19	南韓	10-2012-0104207

(71)申請人：韓商傑姆維克斯＆凱爾有限公司 (南韓) GEMVAX & KAEL CO., LTD. (KR)
南韓
金商在 (南韓) KIM, SANGJAE (KR)
南韓

(72)發明人：金商在 KIM, SANGJAE (KR) ；金京姬 KIM, KYUNG HEE (KR) ；李圭庸 LEE, KYU-YONG (KR) ；高成昊 KOH, SEONG-HO (KR) ；朴賢喜 PARK, HYUN-HEE (KR) ；許成珍 HUH, SUNG JIN (KR) ；李宇珍 LEE, WOO JIN (KR) ；金範埈 KIM, BUM JOON (KR)

(74)代理人：李世章；彭國洋

申請實體審查：有 申請專利範圍項數：9 項 圖式數：159 共 203 頁

(54)名稱

抗發炎胜肽及包含其之成分(二)

(57)摘要

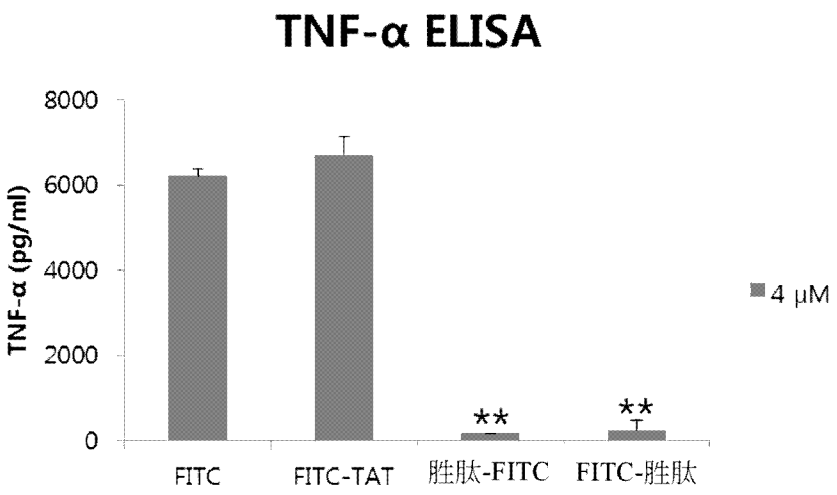
本發明關於具有抗發炎活性的胜肽，其中該胜肽包含序列編號：2 至序列編號：179 中之至少一個胺基酸序列；該胜肽具有與上述序列有 80%以上之同源性的胺基酸序列；或該胜肽為上述胜肽的片段。本發明也關於包含上述胜肽的抗發炎組成物。根據本發明，具有序列編號：2 至序列編號：179 中之至少一個胺基酸序列的胜肽對抑制發炎及以預防性手段抑制發炎二者皆具有優異的功效。因此，包含此發明之胜肽的組成物可被用作抗發炎醫藥組成物或用作化妝品組成物，從而治療或防止多種不同類型的發炎疾病。

The present invention relates to a peptide with anti-inflammatory activity, wherein the peptide comprises at least one amino acid sequence among SEQ ID NO: 2 to SEQ ID NO: 179, the peptide has above 80% homology of amino acid sequence with above-mentioned sequences, or the peptide is the fragment of the above-mentioned peptides. The present invention also relates to an anti-inflammatory composition comprising the above mentioned peptides. According to the present invention, the peptides that have at least one amino acid sequence of SEQ ID NO: 2 to SEQ ID NO: 179 shows outstanding efficacy in both suppressing inflammation and in prophylactic means. Therefore, the composition comprising the peptides

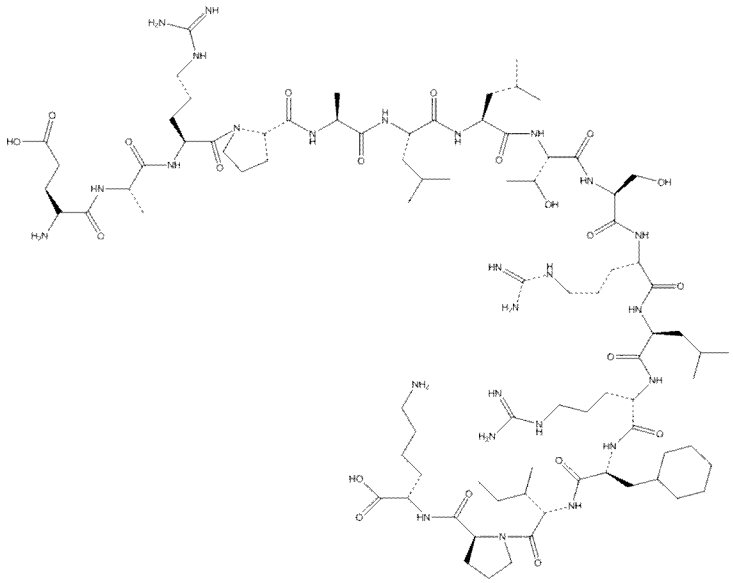
of this invention can be used as anti-inflammatory pharmaceutical compositions or as cosmetic compositions, in turn, treating and preventing a variety of different types of inflammatory diseases.

指定代表圖：

第 1 圖



特徵化學式：



【發明摘要】

【中文發明名稱】抗發炎胜肽及包含其之成分(二)

【英文發明名稱】ANTI-INFLAMMATORY PEPTIDES AND COMPOSITION COMPRISING THE SAME(2)

【中文】

本發明關於具有抗發炎活性的胜肽，其中該胜肽包含序列編號：2至序列編號：179中之至少一個胺基酸序列；該胜肽具有與上述序列有80%以上之同源性的胺基酸序列；或該胜肽為上述胜肽的片段。本發明也關於包含上述胜肽的抗發炎組成物。根據本發明，具有序列編號：2至序列編號：179中之至少一個胺基酸序列的胜肽對抑制發炎及以預防性手段抑制發炎二者皆具有優異的功效。因此，包含此發明之胜肽的組成物可被用作抗發炎醫藥組成物或用作化妝品組成物，從而治療或防止多種不同類型的發炎疾病。

【英文】

The present invention relates to a peptide with anti-inflammatory activity, wherein the peptide comprises at least one amino acid sequence among SEQ ID NO: 2 to SEQ ID NO: 179, the peptide has above 80% homology of amino acid sequence with above-mentioned

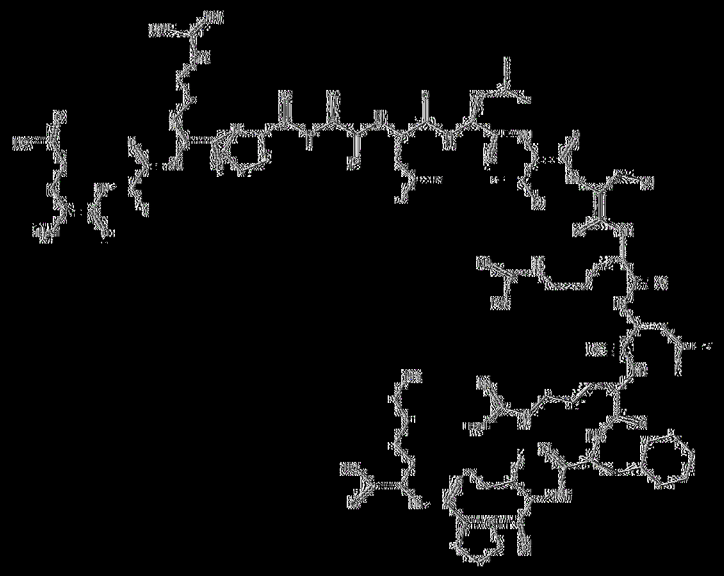
sequences, or the peptide is the fragment of the above-mentioned peptides. The present invention also relates to an anti-inflammatory composition comprising the above mentioned peptides. According to the present invention, the peptides that have at least one amino acid sequence of SEQ ID NO: 2 to SEQ ID NO: 179 shows outstanding efficacy in both suppressing inflammation and in prophylactic means. Therefore, the composition comprising the peptides of this invention can be used as anti-inflammatory pharmaceutical compositions or as cosmetic compositions, in turn, treating and preventing a variety of different types of inflammatory diseases.

（指定代表圖）第（ 1 ）圖。

（代表圖之符號簡單說明）

無

（特徵化學式）



【發明說明書】

【中文發明名稱】抗發炎胜肽及包含其之成分(二)

【英文發明名稱】ANTI-INFLAMMATORY PEPTIDES AND COMPOSITION COMPRISING THE SAME(2)

【技術領域】

【0001】本發明係有關於抗發炎胜肽及包含抗發炎胜肽的組成物。

【先前技術】

【0002】發炎是一種生物防禦的型態，作為保護身體不受到可能由外部物理性刺激、化學性刺激(如暴露在多種過敏原下，或包括細菌、黴菌及病毒等微生物的入侵)所造成的生物組織損傷的手段。

【0003】產生前列腺素、血栓素等的環氧化酶(Cyclooxygenase；COX)路徑或脂氧化酶(Lipoxygenase；LOX)路徑可用來傳遞發炎訊息。一旦發炎訊號被傳遞，身體所發生的諸多改變之一是血管擴張，以增加發炎周邊的血液供給，集中發炎反應所需的諸如嗜中性白血球等血液細胞。然而，當不正常的生物防禦過度反應發生時，可能導致發炎疾病。

為了防止這種情況，目前正在發展可藉由壓制發炎訊號傳遞路徑中所用的酵素(如，COX-1、COX-2、5-LOX、12-LOX 等)來抑制過度發炎反應的藥物。

【0004】根據反應時間，發炎可分為急性發炎(即時反應、非專一性反應、數天至數周)、慢性發炎(延遲的反應、專一性反應、數周或更久)、亞急性發炎(急性發炎與慢性發炎之間的中間階段、特徵在於混合產生單核及多型核)。

【0005】並且，除了胜肽因子之外，諸如前列腺素、白三烯、脂質因子(包括血小板活化因子(platelet activating factor；PAF))、發炎因子的合成酵素、諸如 NO(一氧化氮)等自由基、多種細胞黏著分子、免疫系統及凝血因子等因子皆可導致發炎。

【0006】一旦細胞因為已知的致發炎物質而受損時，將釋出組織胺及激肽，所述致發炎物質諸如外部生物因子(微生物、病毒、寄生蟲)、物理因子(機械性刺激、熱、輻射、電流)及化學因子。釋出的組織胺及激肽將造成血管擴張、毛細血管滲透性增加及發炎處的巨噬細胞濃度增加，並導致血液流速增加、浮腫、免疫細胞及抗體遷移及產生疼痛與熱。

【0007】目前使用諸如異布洛芬(ibuprofen)、抗組織胺、類固醇、皮質醇(cortisone)、免疫抑制劑及免疫促效劑(immune agonist)等合成藥物來治療發炎；但這些藥物僅能暫時性緩解發炎。這些藥物無法從根本上治療發炎，且它們具有諸如高敏感性反應(hypersensitivity reaction)及免疫系統退化等副作用。

【0008】因此，為了有效緩解發炎，已開始進行研究以開發能抑制上述發炎蛋白表現的物質。然而，先前開發的抗發炎物質具有若干問題。已開發出包括非類固醇類抗發炎藥物(Non-steroidal Anti-Inflammatory Drugs；NSAIDs)及類固醇類抗發炎藥物(Steroidal Anti-Inflammatory Drugs；SAIDs)等許多類型的抗發炎藥物；但這些藥物不但時常在服用時產生副作用，且它們無法從根本上治療發炎。因此，目前需要在身體上及經濟上皆可行的抗發炎藥物。就急性或慢性發炎(如慢性類風濕性關節炎)的例子而言，非類固醇類抗發炎藥物不僅會抑制 COX-2 酵素的活性，也已知此類藥物會抑制 COX-1 的活性，導致如腸胃道失調等副作用。

【0009】本案發明人發現從端粒酶所衍生的

胜肽可具有抗發炎特性而完成本發明。

【0010】因此，此發明的目的在於提供新穎胜肽。

【0011】本發明的另一個目的在於提供編碼該新穎胜肽的聚核苷酸。

【0012】本發明的另一個目的在於提供具有抗發炎活性的胜肽。

【0013】本發明的另一個目的在於提供使用此胜肽作為活性成分的抗發炎組成物。

【0014】本發明的另一個目的在於提供使用此胜肽作為活性成分的化妝品組成物。

【0015】本發明的另一個目的在於提供使用此胜肽作為活性成分的醫藥組成物。

【發明內容】

【0016】在本發明的一個實施例中，茲提供一種具抗發炎活性的胜肽，其中該胜肽包含序列編號：2至序列編號：179中的至少一個胺基酸序列，或其中該胜肽與上述序列具有至少80%的序列相同度，或該胜肽為上述胜肽之片段。

【0017】在另一個實施例中，上述片段可由3個或更多個胺基酸所組成。舉例而言，該片段可由4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、

14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25或26個胺基酸殘基所組成。

【0018】在另一個實施例中，上述胜肽由30個或更少個胺基酸所組成。舉例而言，該胜肽可由29、28、27、26、25、24、23、22、21、20、19、18、17、16、15、14、13、12、11、10、9或8個胺基酸殘基所組成。

【0019】在另一個實施例中，上述胜肽由序列編號：2至序列編號：179中之任何一個胺基酸序列所組成。

【0020】在另一個實施例中，上述胜肽包含選自由：序列編號：9、序列編號：10、序列編號：11、序列編號：12、序列編號：13、序列編號：17、序列編號：18、序列編號：19、序列編號：20、序列編號：21、序列編號：25、序列編號：26、序列編號：27、序列編號：28、序列編號：33、序列編號：34、序列編號：35、序列編號：36、序列編號：38、序列編號：42、序列編號：43、序列編號：44、序列編號：45、序列編號：46、序列編號：54、序列編號：55、序列編號：56、序列編號：57、序列編號：58、序列編號：62、序列編號：63、序列編號：64、序列編號：65、序列編號：66、序列編號：70、序

列編號：71、序列編號：72、序列編號：73、序列編號：74、序列編號：80、序列編號：81、序列編號：82、序列編號：83、序列編號：84、序列編號：88、序列編號：89、序列編號：90、序列編號：91、序列編號：92、序列編號：96、序列編號：97、序列編號：98、序列編號：99、序列編號：100、序列編號：101、序列編號：102、序列編號：103、序列編號：104、序列編號：105、序列編號：108、序列編號：109、序列編號：110、序列編號：111、序列編號：112、序列編號：113、序列編號：116、序列編號：117、序列編號：118、序列編號：119、序列編號：124、序列編號：131、序列編號：140、序列編號：141、序列編號：142、序列編號：148、序列編號：149、序列編號：150、序列編號：156、序列編號：157、序列編號：158、序列編號：159、序列編號：164、序列編號：165、序列編號：166、序列編號：167、序列編號：168、序列編號：172、序列編號：173、序列編號：174、序列編號：175、序列編號：176、序列編號：177及序列編號：178所組成之群組中的任何一個胺基酸序列。

【0021】在另一個實施例中，上述胜肽包含

選自由：序列編號：9、序列編號：10、序列編號：11、序列編號：17、序列編號：18、序列編號：19、序列編號：20、序列編號：25、序列編號：26、序列編號：27、序列編號：33、序列編號：34、序列編號：42、序列編號：43、序列編號：44、序列編號：54、序列編號：55、序列編號：56、序列編號：62、序列編號：63、序列編號：64、序列編號：65、序列編號：70、序列編號：71、序列編號：72、序列編號：73、序列編號：80、序列編號：81、序列編號：82、序列編號：83、序列編號：88、序列編號：89、序列編號：90、序列編號：91、序列編號：96、序列編號：97、序列編號：98、序列編號：99、序列編號：100、序列編號：101、序列編號：102、序列編號：102、序列編號：103、序列編號：108、序列編號：109、序列編號：110、序列編號：116、序列編號：117、序列編號：140、序列編號：148、序列編號：149、序列編號：156、序列編號：157、序列編號：164、序列編號：165、序列編號：166、序列編號：167、序列編號：172、序列編號：173及序列編號：174所組成之群組中的任何一個胺基酸序列。

【0022】在另一個實施例中，上述胜肽包含選自由：序列編號：2至序列編號：5、序列編號：7至序列編號：36、序列編號：38至序列編號：73、序列編號：75、序列編號：78至序列編號：107及序列編號：109至序列編號：179所組成之群組中的任何一個胺基酸序列。

【0023】在另一個實施例中，上述胜肽包含選自由：序列編號：2、序列編號：3、序列編號：30、序列編號：41、序列編號：112及序列編號：113所組成之群組中的任何一個胺基酸序列。

【0024】在另一個實施例中，上述胜肽包含選自由：序列編號：3、序列編號：4、序列編號：6、序列編號：7、序列編號：8、序列編號：9、序列編號：10、序列編號：11、序列編號：13、序列編號：14、序列編號：15、序列編號：16、序列編號：17、序列編號：22、序列編號：23、序列編號：24、序列編號：26、序列編號：27、序列編號：28、序列編號：29、序列編號：30、序列編號：35、序列編號：36、序列編號：37、序列編號：38、序列編號：40、序列編號：43、序列編號：45、序列編號：46、序列編號：47、序

列編號：48、序列編號：57、序列編號：58、序列編號：61、序列編號：64、序列編號：65、序列編號：66、序列編號：68、序列編號：70、序列編號：73、序列編號：74、序列編號：75、序列編號：82、序列編號：83、序列編號：87、序列編號：88、序列編號：89、序列編號：91、序列編號：93、序列編號：95、序列編號：96、序列編號：98、序列編號：102、序列編號：109、序列編號：110、序列編號：111、序列編號：112、序列編號：113、序列編號：115、序列編號：116、序列編號：117、序列編號：118、序列編號：119、序列編號：120、序列編號：121、序列編號：123、序列編號：127、序列編號：128、序列編號：130、序列編號：132、序列編號：133、序列編號：134、序列編號：135、序列編號：136、序列編號：142、序列編號：143、序列編號：144、序列編號：145、序列編號：147、序列編號：148、序列編號：149、序列編號：153、序列編號：154、序列編號：155、序列編號：157、序列編號：158、序列編號：164、序列編號：165、序列編號：166、序列編號：167、序列編號：170、序列編號：171、序列編號：172、序列編號：173、序列編號：

175、序列編號：176、序列編號：177、序列編號：178及序列編號：179所組成之群組中的任何一個胺基酸序列。

【0025】在另一個實施例中，上述胜肽源自人類端粒酶。

【0026】在本發明的一個實施例中，茲提供一種聚核苷酸，該聚核苷酸編碼具抗發炎活性的胜肽，其中該胜肽包含序列編號：2至序列編號：179中之至少一個胺基酸序列，或該胜肽與上述序列具有至少80%的序列相同度，或該胜肽為上述胜肽的片段。

【0027】在聚核苷酸的另一個實施例中，上述胜肽由30個或更少個胺基酸所組成。舉例而言，該胜肽可由29、28、27、26、25、24、23、22、21、20、19、18、17、16、15、14、13、12、11、10、9或8個胺基酸殘基所組成。在聚核苷酸的另一個實施例中，上述胜肽序列編號：2至序列編號：179中之任何一個胺基酸序列所組成。

【0028】在聚核苷酸的另一個實施例中，上述胜肽源自人類端粒酶。

【0029】在本發明的一個實施例中，茲提供一種抗發炎組成物，其包含作為活性成分的胜肽，其中該胜肽包含序列編號：2至序列編

號：179中之至少一個胺基酸序列，該胜肽與上述序列具有80%以上的胺基酸序列同源性，或該胜肽為上述胜肽之片段。

【0030】在組成物的另一個實施例中，上述胜肽可由30個或更少個胺基酸所組成(參照上文)。

【0031】在組成物的另一個實施例中，上述胜肽由序列編號：2至序列編號：179中的任何一個胺基酸序列所組成。

【0032】在組成物的另一個實施例中，上述胜肽源自人類端粒酶。

【0033】在組成物的另一個實施例中，上述組成物係用於治療或預防發炎疾病。

【0034】在組成物的另一個實施例中，上述組成物為用於改善或防止皮膚發炎之化妝品組成物。

【0035】在組成物的另一個實施例中，上述組成物為用於治療或預防發炎疾病之醫藥組成物。

【0036】在組成物的另一個實施例中，上述組成物為用於治療或預防發炎之食品組成物。

【0037】在組成物的另一個實施例中，上述發炎疾病的特徵在於其選自由下列疾病所組

成之群組：(1)普遍的或局部的發炎疾病(例如，過敏症；免疫複合體疾病(immune-complex disease)；乾草熱(hayfever)；過敏性休克(hypersensitive shock)；內毒素休克(endotoxin shock)；惡病質(cachexia)、體溫過高(hyperthermia)；肉芽腫(granulomatosis)；或類肉瘤病(sarcoidosis))；(2)腸胃相關疾病(例如，闌尾炎；胃潰瘍；十二指腸潰瘍；腹膜炎；胰臟炎；潰瘍性結腸炎、急性結腸炎或缺血性結腸炎；膽管炎；膽囊炎、脂肪痢(steatorrhea)、肝炎、克隆氏症(Crone's disease)；或惠氏症(Whipple's Disease))；(3)皮膚相關疾病(例如，牛皮癬；燒傷；曬傷；皮膚炎；蕁麻疹性疣或水皰)；(4)血管相關疾病(例如，脈管炎(angiitis)；血管炎(vasculitis)；心內膜炎；動脈炎(arteritis)；動脈硬化；血栓靜脈炎；心包炎；充血性心臟衰竭；心肌炎；心肌缺血；結節性動脈周圍炎(periarteritis nodosa)；週期性狹窄症(recurrent stenosis)；柏格氏症(Buerger's disease)；或風濕熱)；(5)呼吸道疾病(例如，氣喘；會厭炎；支氣管炎；肺氣腫；鼻炎；囊性纖維化；間質性肺炎；COPD(慢性阻塞性肺病)；成人呼吸窘迫症候群；肺塵病

(coniosis)；肺泡炎；細支氣管炎；咽炎；肋膜炎；或鼻竇炎)；(6)骨骼、關節、肌肉及結締組織相關疾病(例如，嗜伊紅性肉芽腫；關節炎；關節痛；骨髓炎；皮肌炎；筋膜炎；柏哲氏症(Paget's disease)；痛風；牙周病；類風濕性關節炎；重症肌無力症；僵直性脊椎炎；或滑膜炎)；(7)泌尿生殖器失調(例如，附睪炎；陰道炎；前列腺炎；或尿道炎)；(8)中樞或周邊神經系統相關疾病(例如，阿茲海默氏症(Alzheimer’s diease)；腦膜炎；腦炎；多發性硬化症；腦梗塞(cerebral infarction)；腦栓塞(cerebral embolism)；格林-巴利症候群(Guillain-Barre syndrome)；神經炎；神經痛；脊椎損傷；麻痺；或葡萄膜炎)；(9)病毒(例如，流行性感冒；呼吸道融合病毒；HIV；B型肝炎；C型肝炎；或皰疹病毒)、感染症(例如，登革熱；或敗血症)、黴菌感染(例如，念珠菌症)；或細菌、寄生蟲及類似微生物感染(例如，瀰漫性菌血症(disseminated bacteremia)；瘧疾；蟠尾絲蟲病(onchocerciasis)；或阿米巴症)；(10)自體免疫疾病(例如，甲狀腺炎；紅斑性狼瘡；古巴士德氏症候群(Goodpasture's syndrome)；移植體排斥(allograft rejection)；移植體對抗宿

主疾病(graft versus host disease)；或糖尿病)；及(11)癌症或腫瘤疾病(例如，何杰金氏病(Hodgkin's disease))。

【0038】在本發明的一個實施例中，茲提供藉由給予所述抗發炎組成物來治療或防止發炎疾病的方法。

【0039】在本發明的一個實施例中，茲提供用於預防或治療發炎疾病的套組，包含：具抗發炎活性之胜肽或包含所述胜肽之組成物，其中所述胜肽包含序列編號：2至序列編號：179之至少一個胺基酸序列、所述胜肽與上述序列具有80%以上之同源性、或所述胜肽為上述胜肽之片段；以及包括給藥劑量、給藥途徑、給藥頻率及該胜肽或組成物之標示中之至少一者的說明書。

【0040】產業利用性

【0041】根據本發明，具有序列編號：2至序列編號：179之序列的胜肽對抑制發炎及以預防性手段抑制發炎二者皆具有優異的功效。因此，包含此發明之胜肽的組成物可被用作抗發炎醫藥組成物或用作化妝品組成物，從而治療或防止多種不同類型的發炎疾病。

【0042】參考

KR2012-0130996A。

KR2012-0133661A。

KR2011-0060940A。

US2011-0150873A1。

Bonaldi T 等人，EMBO J, (22)5551-60, 2003。

Yankner BA 等人，Science (New York, N.Y.) [1990, 250(4978): 279-282]。

Dahlgren KN 等人，J. Biol. Chem. 277:32046-32053, 2002。

【圖式簡單說明】

【0043】第 1 圖為顯示以 PBMC 衍生之單核球培養進行 TNF-α ELISA 的結果之作圖。以 LPS (10 ng/ml)刺激單核球達 2 小時，接著分別與胜肽、FITC、FITC-TAT、PEP 1-FITC 及 FITC-胜肽反應 2 小時(** P < 0.01，相較於陰性對照組(FITC 及 FITC-TAT))。

【0044】第 2 圖為顯示以 NF-kB 螢光酵素轉染 HEK293/缺失及 HEK293/TLR2 細胞株，接著與脂蛋白(10 ng/ml)及 FITC 及 FITC-PEP1(4 μM)進行反應，並培育 18 小時後，進行螢光酵素分析的結果之作圖。藉由使用校正而獲得螢光酵素的結果 (** P < 0.01，相較於陰性對照組(未處理)且將較於脂蛋白處理樣本)。

【0045】第 3 至 23 圖為篩選單核球上之 TNF-α 抑制功效的結果。

【0046】第 24 至 46 圖為篩選 THP-1 細胞株上之 TNF-α 抑制功效的結果。

【0047】第 47 圖代表以 0、2.5、5.0、10、20 及 40 μM 之類澱粉-β 蛋白處理之神經幹細胞的存活比例。

【0048】第 48 圖代表以 0、2.5、5.0、10、20 及 40 μM 之類澱粉-β 蛋白處理之神經幹細胞的增生。

【0049】第 49 圖代表以 0、1、10、50、100 及 200 μM 的 PEP 1 處理之神經幹細胞的存活比例。

【0050】第 50 圖代表以 0、1、10、50、100 及 200 μM 的 PEP 1 處理之神經幹細胞的增生。

【0051】第 51 圖代表以 1、10、50 及 100 μM 的 PEP 1 處理之神經幹細胞的存活比例；神經幹細胞受到 20 μM 的類澱粉 β 蛋白之損傷，且接著在以不同濃度的 PEP1 處理後測量細胞的存活比例(對照組未以類澱粉 β 蛋白及端粒酶系胜肽處理)。

【0052】第 52 圖代表以 1、10、50 及 100 μM 的 PEP 1 處理之神經幹細胞的毒性；神經幹細

胞受到20μM的類澱粉β蛋白之損傷，且接著在以不同濃度的PEP1處理後測量細胞毒性(對照組未以類澱粉β蛋白及端粒酶系胜肽處理)。

【0053】第53圖代表以1、10、50及100μM的PEP1處理之神經幹細胞的增生；神經幹細胞受到20μM的類澱粉β蛋白之損傷，且接著在以不同濃度的PEP1處理後測量細胞增生(對照組未以類澱粉β蛋白及端粒酶系胜肽處理)。

【0054】第54圖代表以1、10、50及100μM的PEP1處理之神經幹細胞的遷移；神經幹細胞受到20μM的類澱粉β蛋白之損傷，且接著在以不同濃度的PEP1處理後測量細胞遷移(對照組未以類澱粉β蛋白及端粒酶系胜肽處理)。

【0055】第55圖代表以1、10、50及100μM的PEP1處理之神經幹細胞的凋亡；神經幹細胞受到20μM的類澱粉β蛋白之損傷，且接著在以不同濃度的PEP1處理後測量細胞凋亡(對照組未以類澱粉β蛋白及端粒酶系胜肽處理)。

【0056】第56圖代表PEP1在受到類澱粉β蛋白損傷之神經幹細胞中的ROS(活性氧化物)

抑制功效；神經幹細胞受到 20 μM 的類澱粉 β 蛋白之損傷，且接著在以不同濃度的 PEP1（1、10、50 及 100 μM）處理後測量 ROS 的抑制（對照組未以類澱粉 β 蛋白及 PEP1 處理）。

【0057】第 57 圖代表以（A）2D 電泳及（B）抗體陣列所分析之蛋白質表現量的結果；神經幹細胞受到 20 μM 的類澱粉 β 蛋白之損傷，且接著在以不同濃度的 PEP1（1、10 及 50 μM）處理後測量蛋白質表現量（對照組未以類澱粉 β 蛋白及 PEP1 處理）。

【0058】第 58 圖代表西方墨點法的結果，其顯示了發炎相關蛋白質的表現量：神經幹細胞受到 20 μM 的類澱粉 β 蛋白之損傷，且接著以不同濃度的 PEP1（1、10 及 50 μM）處理細胞。

【0059】第 59 圖代表 PEP 1 對類澱粉 β 蛋白聚結的抑制功效；（A）顯示當以 1 μM 的類澱粉 β 蛋白與 PEP 1（0.1、1 及 10 μM）共同處理時，減少的類澱粉 β 蛋白寡聚化；（B）顯示以 PEP-1 處理已經被誘導聚結的類澱粉 -β 蛋白的例子。

【0060】第 60 圖代表 PI3K- 抑制劑，LY294002，對以 PEP 1 處理之細胞的存活比例的影響。以 PEP 1 處理後所增加的細胞存活

比例因 LY294002 的處理而減少。

【0061】第 61 至 159 圖為經選擇的胜肽之西方墨點分析結果，其顯示了細胞中的 HMGB1 堆積。

【實施方式】

【0062】由於本發明可適應各種轉型及實務應用實例，以下是對本發明的更詳細描述。然而，這不意味著對實務應用形式的限制；應理解的是，本發明的意圖在於包括所有轉型中之技術概念及延伸、等效例及替代例。在描述本發明時，若有關於先前技術的任何細節描述被認為會使本發明的基本原則變質的話，則將省略該描述。

【0063】已知端粒為染色體端部的遺傳材料之反覆序列，端粒可防止染色體受損或與其它染色體合併。端粒的長度會在每次細胞分裂時縮短，且在細胞分裂若干次後，端粒的長度會縮得非常短而使細胞停止分裂並死亡。另一方面，已知端粒的延長可延續細胞的壽命。舉例而言，癌細胞分泌一種稱為端粒酶的酵素，其可防止端粒縮短，因而導致癌細胞的增生。本發明是基於發現具抗發炎功效的端粒酶衍生之胜肽而完成。

【0064】在本發明的一個實施例中，茲提供具有抗發炎活性的胜肽。所述胜肽包含序列編號：2至序列編號：179中之至少一個胺基酸序列；所述胜肽與上述序列具有80%以上的同源性；或者所述胜肽為上述胜肽的片段。

【0065】序列編號：2至序列編號：179中所述之胜肽如下表1所示。序列編號：180依序列出完整長度的人類端粒酶蛋白。序列編號：1列出由16個胺基酸序列所組成之端粒酶-衍生胜肽。序列編號：2至序列編號：179中所述之胜肽如下表1所示。序列編號：180依序列出完整長度的人類端粒酶蛋白。序列編號：1列出由16個胺基酸序列所組成之端粒酶-衍生胜肽。序列編號：2至序列編號：77中的胜肽為包括序列編號：1之胜肽。序列編號：78至序列編號：179中的胜肽為序列編號：1之胜肽的片段。

【0066】下表1中的「名稱(name)」可用以區別胜肽。在本發明的不同特定實施例中，序列編號：2至序列編號：179中之所述胜肽之超過一種胜肽包含「合成胜肽(synthetic peptide)」，經選擇之端粒酶區域的合成胜肽。在本說明書中，本文的術語「pep」係關於具有序列編號：2至序列編號：179中之任一者

的胜肽，或關於包含與上述序列具有 80%以上之同源性之胺基酸序列的胜肽，或關於上述胜肽之胜肽片段。

【0067】 表 1

序列編號	名稱	端粒酶中位置	序列	長度
1.	pep1	[611-626]	EARPALLTSRLRFIPK	16 aa
2.	pep-RIA-1	[610-626]	REARPALLTSRLRFIPK	17 aa
3.	pep-RIA-2	[609-626]	HREARPALLTSRLRFIPK	18 aa
4.	pep-RIA-3	[608-626]	QHREARPALLTSRLRFIPK	19 aa
5.	pep-RIA-4	[607-626]	RQHREARPALLTSRLRFIPK	20 aa
6.	pep-RIA-5	[606-626]	VRQHREARPALLTSRLRFIPK	21 aa
7.	pep-RIA-6	[605-626]	EVRQHREARPALLTSRLRFIPK	22 aa
8.	pep-RIA-7	[604-626]	AEVRQHREARPALLTSRLRFIPK	23 aa
9.	pep-RIA-8	[603-626]	EAEVRQHREARPALLTSRLRFIPK	24 aa
10.	pep-RIA-9	[602-626]	SEAEVRQHREARPALLTSRLRFIPK	25 aa
11.	pep-RIA-10	[601-626]	LSEAEVRQHREARPALLTSRLRFIPK	26 aa
12.	pep-RIA-11	[600-626]	ELSEAEVRQHREARPALLTSRLRFIPK	27 aa
13.	pep-RIA-12	[599-626]	RELSEAEVRQHREARPALLTSRLRFIPK	28 aa
14.	pep-RIA-13	[598-626]	LRELSEAEVRQHREARPALLTSRLRFIPK	29 aa
15.	pep-RIA-14	[597-626]	QLRELSEAEVRQHREARPALLTSRLRFIPK	30 aa
16.	pep-RIA-15	[610-627]	REARPALLTSRLRFIPKP	18 aa
17.	pep-RIA-16	[609-627]	HREARPALLTSRLRFIPKP	19 aa
18.	pep-RIA-17	[609-628]	HREARPALLTSRLRFIPKPD	20 aa
19.	pep-RIA-18	[610-628]	REARPALLTSRLRFIPKPD	19 aa
20.	pep-RIA-19	[608-627]	QHREARPALLTSRLRFIPKP	20 aa

序列編號	名稱	端粒酶中位置	序列	長度
21.	pep-RIA-20	[608-628]	QHREARPALLTSRLRFIPKPD	21 aa
22.	pep-RIA-21	[608-629]	QHREARPALLTSRLRFIPKPDG	22 aa
23.	pep-RIA-22	[609-629]	HREARPALLTSRLRFIPKPDG	21 aa
24.	pep-RIA-23	[610-629]	REARPALLTSRLRFIPKPDG	20 aa
25.	pep-RIA-24	[607-627]	RQHREARPALLTSRLRFIPKP	21 aa
26.	pep-RIA-25	[607-628]	RQHREARPALLTSRLRFIPKPD	22 aa
27.	pep-RIA-26	[607-629]	RQHREARPALLTSRLRFIPKPDG	23 aa
28.	pep-RIA-27	[607-630]	RQHREARPALLTSRLRFIPKPDGL	24 aa
29.	pep-RIA-28	[608-630]	QHREARPALLTSRLRFIPKPDGL	23 aa
30.	pep-RIA-29	[609-630]	HREARPALLTSRLRFIPKPDGL	22 aa
31.	pep-RIA-30	[610-630]	REARPALLTSRLRFIPKPDGL	21 aa
32.	pep-RIA-31	[606-627]	VRQHREARPALLTSRLRFIPKP	22 aa
33.	pep-RIA-32	[606-628]	VRQHREARPALLTSRLRFIPKPD	23 aa
34.	pep-RIA-33	[606-629]	VRQHREARPALLTSRLRFIPKPDG	24 aa
35.	pep-RIA-34	[606-630]	VRQHREARPALLTSRLRFIPKPDGL	25 aa
36.	pep-RIA-35	[606-631]	VRQHREARPALLTSRLRFIPKPDGLR	26 aa
37.	pep-RIA-36	[607-631]	RQHREARPALLTSRLRFIPKPDGLR	25 aa
38.	pep-RIA-37	[608-631]	QHREARPALLTSRLRFIPKPDGLR	24 aa
39.	pep-RIA-38	[609-631]	HREARPALLTSRLRFIPKPDGLR	23 aa
40.	pep-RIA-39	[610-631]	REARPALLTSRLRFIPKPDGLR	22 aa
41.	pep-RIA-40	[605-627]	EVRQHREARPALLTSRLRFIPKP	23 aa

序列編號	名稱	端粒酶中位置	序列	長度
42.	pep-RIA-41	[605-628]	EVRQHREARPALLTSRLRFIPKPD	24 aa
43.	pep-RIA-42	[605-629]	EVRQHREARPALLTSRLRFIPKPDG	25 aa
44.	pep-RIA-43	[605-630]	EVRQHREARPALLTSRLRFIPKPDGL	26 aa
45.	pep-RIA-44	[605-631]	EVRQHREARPALLTSRLRFIPKPDGLR	27 aa
46.	pep-RIA-45	[605-632]	EVRQHREARPALLTSRLRFIPKPDGLRP	28 aa
47.	pep-RIA-46	[606-632]	VRQHREARPALLTSRLRFIPKPDGLRP	27 aa
48.	pep-RIA-47	[607-632]	RQHREARPALLTSRLRFIPKPDGLRP	26 aa
49.	pep-RIA-48	[608-632]	QHREARPALLTSRLRFIPKPDGLRP	25 aa
50.	pep-RIA-49	[609-632]	HREARPALLTSRLRFIPKPDGLRP	24 aa
51.	pep-RIA-50	[610-632]	REARPALLTSRLRFIPKPDGLRP	23 aa
52.	pep-RIA-51	[604-627]	AEVRQHREARPALLTSRLRFIPKP	24 aa
53.	pep-RIA-52	[604-628]	AEVRQHREARPALLTSRLRFIPKPD	25 aa
54.	pep-RIA-53	[604-629]	AEVRQHREARPALLTSRLRFIPKPDG	26 aa
55.	pep-RIA-54	[604-630]	AEVRQHREARPALLTSRLRFIPKPDGL	27 aa
56.	pep-RIA-55	[604-631]	AEVRQHREARPALLTSRLRFIPKPDGLR	28 aa
57.	pep-RIA-56	[604-632]	AEVRQHREARPALLTSRLRFIPKPDGLRP	29 aa
58.	pep-RIA-57	[604-633]	AEVRQHREARPALLTSRLRFIPKPDGLRPI	30 aa
59.	pep-RIA-58	[605-633]	EVRQHREARPALLTSRLRFIPKPDGLRPI	29 aa
60.	pep-RIA-59	[606-633]	VRQHREARPALLTSRLRFIPKPDGLRPI	28 aa
61.	pep-RIA-60	[607-633]	RQHREARPALLTSRLRFIPKPDGLRPI	27 aa
62.	pep-RIA-61	[608-633]	QHREARPALLTSRLRFIPKPDGLRPI	26 aa

序列編號	名稱	端粒酶中位置	序列	長度
63.	pep-RIA-62	[609-633]	HREARPALLTSRLRFIPKPDGLRPI	25 aa
64.	pep-RIA-63	[610-633]	REARPALLTSRLRFIPKPDGLRPI	24 aa
65.	pep-RIA-64	[611-627]	EARPALLTSRLRFIPKP	17 aa
66.	pep-RIA-65	[611-628]	EARPALLTSRLRFIPKPD	18 aa
67.	pep-RIA-66	[611-629]	EARPALLTSRLRFIPKPDG	19 aa
68.	pep-RIA-68	[611-631]	EARPALLTSRLRFIPKPDGLR	21 aa
69.	pep-RIA-69	[611-632]	EARPALLTSRLRFIPKPDGLRP	22 aa
70.	pep-RIA-70	[611-633]	EARPALLTSRLRFIPKPDGLRPI	23 aa
71.	pep-RIA-71	[611-634]	EARPALLTSRLRFIPKPDGLRPIV	24 aa
72.	pep-RIA-72	[611-635]	EARPALLTSRLRFIPKPDGLRPIVN	25 aa
73.	pep-RIA-73	[611-636]	EARPALLTSRLRFIPKPDGLRPIVNM	26 aa
74.	pep-RIA-74	[611-637]	EARPALLTSRLRFIPKPDGLRPIVNMD	27 aa
75.	pep-RIA-75	[611-638]	EARPALLTSRLRFIPKPDGLRPIVNMDY	28 aa
76.	pep-RIA-76	[611-639]	EARPALLTSRLRFIPKPDGLRPIVNMDYV	29 aa
77.	pep-RIA-77	[611-640]	EARPALLTSRLRFIPKPDGLRPIVNMDYVV	30 aa
78.	pep-RIA-78	[611-625]	EARPALLTSRLRFIP	15 aa
79.	pep-RIA-79	[611-624]	EARPALLTSRLRFI	14 aa
80.	pep-RIA-80	[611-623]	EARPALLTSRLRF	13 aa
81.	pep-RIA-81	[611-622]	EARPALLTSRLR	12 aa
82.	pep-RIA-82	[611-621]	EARPALLTSRL	11 aa
83.	pep-RIA-83	[611-620]	EARPALLTSR	10 aa
84.	pep-RIA-84	[611-619]	EARPALLTS	9 aa
85.	pep-RIA-85	[611-618]	EARPALLT	8 aa
86.	pep-RIA-86	[611-617]	EARPALL	7 aa
87.	pep-RIA-87	[611-616]	EARPAL	6 aa
88.	pep-RIA-88	[611-615]	EARPA	5 aa
89.	pep-RIA-89	[611-614]	EARP	4 aa
90.	pep-RIA-90	[611-613]	EAR	3 aa
91.	pep-RIA-91	[612-626]	ARPALLTSRLRFIPK	15 aa

序列編號	名稱	端粒酶中位置	序列	長度
92.	pep-RIA-92	[613-626]	RPALLTSRLRFIPK	14 aa
93.	pep-RIA-93	[614-626]	PALLTSRLRFIPK	13 aa
94.	pep-RIA-94	[615-626]	ALLTSRLRFIPK	12 aa
95.	pep-RIA-95	[616-626]	LLTSRLRFIPK	11 aa
96.	pep-RIA-96	[617-626]	LTSRLRFIPK	10 aa
97.	pep-RIA-97	[618-626]	TSRLRFIPK	9 aa
98.	pep-RIA-98	[619-626]	SRLRFIPK	8 aa
99.	pep-RIA-99	[620-626]	RLRFIPK	7 aa
100.	pep-RIA-100	[621-626]	LRFIPK	6 aa
101.	pep-RIA-101	[622-626]	RFIPK	5 aa
102.	pep-RIA-102	[623-626]	FIPK	4 aa
103.	pep-RIA-103	[624-626]	IPK	3 aa
104.	pep-RIA-104	[612-625]	ARPALLTSRLRFIP	14 aa
105.	pep-RIA-105	[613-624]	RPALLTSRLRFI	12 aa
106.	pep-RIA-106	[614-623]	PALLTSRLRF	10 aa
107.	pep-RIA-107	[615-622]	ALLTSRLR	8 aa
108.	pep-RIA-108	[616-621]	LLTSRL	6 aa
109.	pep-RIA-109	[617-620]	LTSR	4 aa
110.	pep-RIA-110	[612-624]	ARPALLTSRLRFI	13 aa
111.	pep-RIA-111	[612-623]	ARPALLTSRLRF	12 aa
112.	pep-RIA-112	[612-622]	ARPALLTSRLR	11 aa
113.	pep-RIA-113	[612-621]	ARPALLTSRL	10 aa
114.	pep-RIA-114	[612-620]	ARPALLTSR	9 aa
115.	pep-RIA-115	[612-619]	ARPALLTS	8 aa
116.	pep-RIA-116	[612-618]	ARPALLT	7 aa
117.	pep-RIA-117	[612-617]	ARPALL	6 aa
118.	pep-RIA-118	[612-616]	ARPAL	5 aa
119.	pep-RIA-119	[612-615]	ARPA	4 aa
120.	pep-RIA-120	[612-614]	ARP	3 aa
121.	pep-RIA-121	[613-625]	RPALLTSRLRFIP	13 aa
122.	pep-RIA-122	[613-623]	RPALLTSRLRF	11 aa
123.	pep-RIA-123	[613-622]	RPALLTSRLR	10 aa
124.	pep-RIA-124	[613-620]	RPALLTSR	8 aa
125.	pep-RIA-125	[613-619]	RPALLTS	7 aa
126.	pep-RIA-126	[613-618]	RPALLT	6 aa
127.	pep-RIA-127	[613-617]	RPALL	5 aa
128.	pep-RIA-128	[613-616]	RPAL	4 aa
129.	pep-RIA-129	[613-615]	RPA	3 aa
130.	pep-RIA-130	[614-625]	PALLTSRLRFIP	12 aa
131.	pep-RIA-131	[614-624]	PALLTSRLRFI	11 aa
132.	pep-RIA-132	[614-622]	PALLTSRLR	9 aa

序列編號	名稱	端粒酶中位置	序列	長度
133.	pep-RIA-133	[614-621]	PALLTSRL	8 aa
134.	pep-RIA-134	[614-620]	PALLTSR	7 aa
135.	pep-RIA-135	[614-619]	PALLTS	6 aa
136.	pep-RIA-136	[614-618]	PALLT	5 aa
137.	pep-RIA-137	[614-617]	PALL	4 aa
138.	pep-RIA-138	[614-616]	PAL	3 aa
139.	pep-RIA-139	[615-625]	ALLTSRLRFIP	11 aa
140.	pep-RIA-140	[615-623]	ALLTSRLRF	9 aa
141.	pep-RIA-141	[615-621]	ALLTSRL	7 aa
142.	pep-RIA-142	[615-620]	ALLTSR	6 aa
143.	pep-RIA-143	[615-619]	ALLTS	5 aa
144.	pep-RIA-144	[615-618]	ALLT	4 aa
145.	pep-RIA-145	[615-617]	ALL	3 aa
146.	pep-RIA-146	[616-625]	LLTSRLRFIP	10 aa
147.	pep-RIA-147	[616-624]	LLTSRLRFI	9 aa
148.	pep-RIA-148	[616-623]	LLTSRLRF	8 aa
149.	pep-RIA-149	[616-622]	LLTSRLR	7 aa
150.	pep-RIA-150	[616-620]	LLTSR	5 aa
151.	pep-RIA-151	[616-619]	LLTS	4 aa
152.	pep-RIA-152	[616-618]	LLT	3 aa
153.	pep-RIA-153	[617-625]	LTSRLRFIP	9 aa
154.	pep-RIA-154	[617-624]	LTSRLRFI	8 aa
155.	pep-RIA-155	[617-623]	LTSRLRF	7 aa
156.	pep-RIA-156	[617-622]	LTSRLR	6 aa
157.	pep-RIA-157	[617-621]	LTSRL	5 aa
158.	pep-RIA-158	[617-619]	LTS	3 aa
159.	pep-RIA-159	[618-625]	TSRLRFIP	8 aa
160.	pep-RIA-160	[618-624]	TSRLRFI	7 aa
161.	pep-RIA-161	[618-623]	TSRLRF	6 aa
162.	pep-RIA-162	[618-622]	TSRLR	5 aa
163.	pep-RIA-163	[618-621]	TSRL	4 aa
164.	pep-RIA-164	[618-620]	TSR	3 aa
165.	pep-RIA-165	[619-625]	SRLRFIP	7 aa
166.	pep-RIA-166	[619-624]	SRLRFI	6 aa
167.	pep-RIA-167	[619-623]	SRLRF	5 aa
168.	pep-RIA-168	[619-622]	SRLR	4 aa
169.	pep-RIA-169	[619-621]	SRL	3 aa
170.	pep-RIA-170	[620-625]	RLRFIP	6 aa
171.	pep-RIA-171	[620-624]	RLRFI	5 aa
172.	pep-RIA-172	[620-623]	RLRF	4 aa
173.	pep-RIA-173	[620-622]	RLR	3 aa

序列編號	名稱	端粒酶中位置	序列	長度
174.	pep-RIA-174	[621-625]	LRFIP	5 aa
175.	pep-RIA-175	[621-624]	LRFI	4 aa
176.	pep-RIA-176	[621-623]	LRF	3 aa
177.	pep-RIA-177	[622-625]	RFIP	4 aa
178.	pep-RIA-178	[622-624]	RFI	3 aa
179.	pep-RIA-179	[623-625]	FIP	3 aa
180.	端粒酶	[1-1132]	MPRAPRCRAVRSLLRSHY REVLPLATFVRR LGPQGWRLVQRGDPAAF RALVAQCLVCVPWDARP PPAAPSFRQVSCLKELVA RVLQRLCERGAKNVLAF GFALLDGARGGPPEAFTT SVRSYLPNTVTDALRGSG AWGLLLRRVGDDVLVHL LARCALFVLVAPSCAYQV CGPPLYQLGAATQARPPP HASGPRRRLGCERAWNH SVREAGVPLGLPAPGARR RGGSASRSLPLPKRPRRG AAPEPERTPVGQGSWAHP GRTRGPSDRGFCVVSPAR PAEEATSLEGALSGTRHS HPSVGRQHHAGPPSTSRP PRPWDTPCPPVYAETKHF LYSSGDKEQLRPSFLLSSL RPSLTGARRLVETIFLGSR PWMPGTPRRLPRLPQRY WQMRPLFLELLGNHAQC PYGVLLKTHCPLRAAVTP AAGVCAREKPQGSVAAP EEEDTDPRRLVQLLRQHS SPWQVYGFVRACLRRLV PPGLWGSRHNERRFLRNT KKFISLGKHAKLSLQELT W KMSVRDCAWLRRSPGVG CVPAAEHRLREEILAKFL HWLMSVYVVELLRSFFY VTETTFQKNRLFFYRKSV WSKLQSIGIRQHLKRVQL RELSEAEVRQHREARPAL	1132 aa

序列編號	名稱	端粒酶中位置	序列	長度
			LTSRLRFIPKPDGLRPIVN MDYVVGARTFRREKRAE RLTSRVKALFSVLNYERA RRPGLLGASVLGLDDIHR AWRTFVLRVRAQDPPPEL YFVKVDVTGAYDTIPQDR LTEVIASIIKPQNTYCVRR YAVVQKAAHGHVRKAFK SHVSTLTDLQPYMRQFVA HLQETSPLRDAVVIEQSSS LNEASSGLFDVFLRFMCH HAVRIRGKSYVQCQGIPQ GSILSTLLCSLCYGDMEN KLFAGIRRDGLLLRLVDD FLLVTPHLTHAKTFLRTL VRGVPEYGCVVNLRKTV VNFPVEDEALGGTAFVQ MPAHGLFPWCGLLLDTR TLEVQSDYSSYARTSIRAS LTFNRGFKAGRNMRRKL FGVLRLKCHSLFLDLQ VNSLQTVCTNIYKILLLQ AYRFHACVLQLPFHQQV WKNPTFFLRVISDTASLC YSILKAKNAGMSLGAKG AAGPLPSEAVQWLCHQA FLLKLTRHRVTYVPLLGS LRTAQTQLSRKLPGTTLT ALEAAANPALPSDFKTIL D	

【0068】在本發明的一個實施例中，茲提供一種聚核苷酸，其編碼具抗發炎活性之胜肽。該聚核苷酸可編碼：包含序列編號：2至序列編號：179之至少一個胺基酸序列的胜肽、與上述序列具有80%以上的同源性之胜肽，或為上述胜肽之片段的胜肽。上述聚核苷酸能大

量製造該等胜肽。例如，培養包括有編碼胜肽之聚核苷酸的載體可容許大量製造該等胜肽。

【0069】本文所揭示的胜肽可包括：包含80%以上、85%以上、90%以上、95%以上、96%以上、97%以上、98%以上或99%以上之同源性的胺基酸序列之胜肽。並且，本發明所揭示之胜肽可包括：包含序列編號：1或序列編號：1的片段的胜肽，及具有超過1個轉型胺基酸(transformed amino acid)、超過2個轉型胺基酸、超過3個轉型胺基酸、超過4個轉型胺基酸、超過5個轉型胺基酸、超過6個轉型胺基酸或超過7個轉型胺基酸的胜肽。

【0070】在本案說明書及申請專利範圍中，術語「同源性(homology)」及「序列相同度(sequence identity)」被用來可互換地指示兩個胺基酸(或若有關的話：核酸)序列之間的序列重疊程度。

【0071】除非另外陳述，本文所用針對胜肽之術語「序列相同度」指的是依$(n_{ref} - n_{dif}) \cdot 100 / n_{ref}$計算之序列相同度，其中$n_{dif}$是指當兩個序列對齊使得相等胺基酸的數目最大時，所述兩個序列中不相等殘基(non-identical residue)的數目，且其中n_{ref}

是指該等序列中最短者的殘基數目。因此，DNA序列agtcagtc與序列aatcaatc將具有75%的序列相同度(n_{dif} = 2且 n_{ref} = 8)。

【0072】在某些實施例中，可藉由習用方法決定序列相同度，習用方法如：Smith與Waterman，1981，Adv. Appl. Math. 2:482；藉由相似度尋找方法(Pearson & Lipman，1988，Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85:2444)；使用CLUSTAL W演算法(Thompson等人，1994，核酸s Res 22:467380)；藉由電腦化執行這些演算法(威斯康辛遺傳學軟體包(Wisconsin Genetics Software Package)中的GAP、BESTFIT、FASTA及TFASTA，遺傳學電腦集團(Genetics Computer Group))等。也可使用BLAST演算法(Altschul等人，1990，Mol. Biol. 215:403-10)，可透過國家生物技術資訊中心(National Center for Biotechnology Information)(www.ncbi.nlm.nih.gov/)獲得用於BLAST演算法的軟體。當使用任何上述演算法時，就「視窗(Window)」長度、間隔扣分(gap penalty)等使用預設參數。

【0073】在本發明的一個實施例中，胺基酸序列的改變屬於胜肽之物理及化學特性的修飾。例如，可藉由增進胜肽的熱穩定性、改

變基材特異性及改變最適 pH 來進行胺基酸轉型(transformation)。

【0074】在本發明的一個實施例中，包含序列編號：2 至序列編號：179 之至少一者的胺基酸序列的胜肽、包含與上述序列具有 80%以上的同源性之胺基酸序列的胜肽，或上述胜肽的胜肽片段較佳地由 30 個或更少個胺基酸所形成。

【0075】在本發明的一個實施例中，包含序列編號：2 至序列編號：179 之至少一者的胺基酸序列之胜肽、包含與上述序列具有 80%以上的同源性的胺基酸序列之胜肽，或上述胜肽的胜肽片段包含源自端粒酶(更特定言之，智人(*Homo sapiens*)的端粒酶)的胜肽。

【0076】本文之術語「胺基酸(amino acid)」不僅包括可自然地整合成胜肽的 22 種標準胺基酸，也包括 D-異構物及轉型的胺基酸。因此，在本發明之特定實施例中，本文之胜肽包括具有 D-胺基酸的胜肽。另一方面，胜肽可包括非標準胺基酸，諸如那些經轉譯後修飾的胺基酸。轉譯後修飾的例子包括磷酸化、醣化(glycosylation)、醯化(包括乙醯化、肉荳蔻酸酯化(myristorylation)、棕櫚酸酯化(plamitoylation))、烷化、羧化、羥化、糖化

(glycation)、生物素化、泛素化(ubiquitinylation)、化學特性的變性(例如，β-移除去亞醯胺作用(β-removing deimidation)、去醯胺作用(deamidation))及結構變型(例如，雙硫鍵得形成)。並且，也包括胺基酸的改變，胺基酸發生改變是起因於在以用於形成胜肽共軛物(peptide conjugate)的交聯劑進行的結合過程期間的化學反應。

【0077】本文所揭示之胜肽可為已被辨識並從自然界來源分離出來的原生型(wild-type)胜肽。另一方面，當與序列編號：1的胜肽片段比較時，本文所揭示的胜肽可為人工突變體，該等人工突變體包含一或多個被取代、被刪除及/或被插入的胺基酸。原生型多胜肽中的胺基酸變動－不僅在人工突變體－包含了不會影響蛋白質摺疊及/或活性的胺基酸保留性取代(conservative substitution)。保留性取代的例子屬於由以下胺基酸所組成之群組：鹼性胺基酸(精胺酸、離胺酸及組胺酸)、酸性胺基酸(麩胺酸及天門冬胺酸)、極性胺基酸(麩醯胺酸及天門冬醯胺酸)、疏水性胺基酸(白胺酸、異白胺酸、纈胺酸及甲硫胺酸)、芳香族胺基酸(苯丙胺酸、色胺酸及酪胺酸)，及小型胺基酸(甘胺酸、丙胺酸、絲胺酸及蘇胺

酸)。通常不會改變特定活性的胺基酸取代已為本發明所屬技術領域所知。最常發生的取代為 Ala/Ser、Val/Ile、Asp/Glu、Thr/Ser、Ala/Gly、Ala/Thr、Ser/Asn、Ala/Val、Ser/Gly、Tyr/Phe、Ala/Pro、Lys/Arg、Asp/Asn、Leu/Ile、Leu/Val、Ala/Glu、Asp/Gly，及相反的取代。保留性取代的另外實例列示於下表 2 中。

【0078】表 2

原始胺基酸	殘基取代範例	較佳殘基取代
Ala (A)	val；leu；ile	Val
Arg (R)	lys；gln；asn	Lys
Asn (N)	gln；his；asp；lys；arg	Gln
Asp (D)	glu；asn	Glu
Cys (C)	ser；ala	Ser
Gln (Q)	asn；glu	Asn
Glu (E)	asp；gln	Asp
Gly (G)	ala	Ala
His (H)	asn；gln；lys；arg	Arg
Ile (I)	leu；val；met；ala；phe；正白胺酸	Leu
Leu (L)	正白胺酸；ile；val；met；ala；phe	Ile
Lys (K)	arg；gln；asn	Arg

Met (M)	leu；phe；ile	Leu
Phe (F)	leu；val；ile；ala；tyr	Tyr
Pro (P)	ala	Ala
Ser (S)	thr	Thr
Thr (T)	ser	Ser
Trp (W)	tyr；phe	Tyr
Tyr (Y)	trp；phe ；thr；ser	Phe
Val (V)	ile；leu；met；phe；ala；正白胺酸	Leu

【0079】可藉由依據下列功效選擇顯著不同的取代基來進行胜肽的生物特性之實質轉變：(a)在取代區域中維持多胜肽基幹結構(如片狀或螺旋狀三維結構)之功效；(b)維持目標區域中之分子的電荷或疏水性之功效；或(c)維持側鏈主體之功效。可藉由一般的側鏈特性將天然殘基分為以下群組：

(1) 疏水性：正白胺酸、met、ala、val、leu、ile；

(2) 中性親水性：cys、ser、thr；

(3) 酸性：asp、glu；

(4) 鹼性：asn、gln、his、lys、arg；

(5) 影響鏈取向(chain orientation)的殘基：gly、pro；及

(6) 芳香性：trp、tyr、phe。

可藉由將以上分組的一員交換成不同的分組來進行非保留性取代。與維持胜肽的合適三維結構無關的任何半胱胺酸殘基典型地可被取代為絲胺酸，因而增加了分子的氧化穩定性，並可預防不適當的交聯。相反的，可藉由將(多個)半胱胺酸鍵結加入胜肽來增進穩定性。

【0080】胜肽的胺基酸變異的型態變更屬於抗體醣化態樣改變。本文的術語「改變(change)」與碳水化合物殘基的刪除及/或不存在於胜肽內之至少一個經醣化殘基的加入有關。

【0081】胜肽中的醣化為典型的 N-連結型(N-connected)或 O-連結型醣化。本文之術語「N-連結型(N-connected)」與碳水化合物殘基接附至天門冬醯胺酸殘基的側鏈有關。作為三胜肽序列，天門冬醯胺酸-X-絲胺酸及天門冬醯胺酸-X-蘇胺酸(其中 X 為除了脯胺酸之外的任何胺基酸)為碳水化合物殘基經由酵素作用而附接至天門冬醯胺酸側鏈之辨識序列。因此，有這些三胜肽序列中之一者存在於多胜肽中，便可創造出潛在的醣化位置。「O-連結型醣化」意指將糖 N-乙醯半乳糖胺(N-acetylgalactosamine)、半乳糖或木糖中之

一者附接至羥基胺基酸(hydroxyl amino acid)。最典型的羥基胺基酸為絲胺酸或蘇胺酸，但也可使用5-羥基脯胺酸或5-羥基離胺酸。

【0082】通常藉由改變胺基酸序列以含有上述三胜肽序列(用於N-連結的醣化位置)來將醣化位置加入胜肽。可藉由將至少一個絲胺酸或蘇胺酸殘基加入至第一抗體序列，或藉由以彼等殘基取代(用於O-連結的醣化位置)，來完成這些改變。

【0083】在本發明的一個實施例中，聚核苷酸為核酸分子，所述核酸分子可為自然發生的或人工的DNA或RNA分子，無論是單股或雙股。核酸分子可為相同類型(例如，具有相同的核苷酸序列)的一或多個核酸，或不同類型的核酸。核酸分子包含一或多個DNA、cDNA、誘導DNA、RNA、siRNA、miRNA shRNA、stRNA、snoRNA、snRNA PNA、反意寡聚物、質體及其它經修飾的核酸，但不限於彼等核酸。

【0084】已知HMGB1蛋白為細胞激素。HMGB1蛋白首先進行乙醯化並藉由外部刺激而移位至細胞質。接著HMGB1被分泌至細胞外，因而扮演著致炎細胞激素(inflammation-causing cytokine)的角色。因為當此作用導致一個人發炎時，HMGB1蛋白

自細胞分泌，且發炎疾病(如 Churg strauss 症候群、類風濕性關節炎及修格蘭氏症候群(Sjogren's syndrome))的患者將呈現升高的 HMGB1 血中濃度。因此，若即使在致炎刺激存在的情況下細胞核仍含有大量 HMGB1 時，暗示著 HMGB1 未被分泌離開細胞的事實，這意味著發炎受到抑制。

【0085】在本發明的一個實施例中，當以包含序列編號：2 至序列編號：179 之任何一個胺基酸序列的胜肽處理細胞；以具有與上述序列有 80%以上的同源性之胺基酸序列的胜肽處理細胞；或以上述胜肽的片段處理細胞時，會增加細胞核內的 HMGB1 量。這代表上述胜肽具有卓越的發炎預防或抑制功效。

【0086】並且，在本發明的特定實施例中，包含序列編號：2 至序列編號：179 之任何一個胺基酸序列的胜肽、具有與上述序列有 80%以上的同源性之胺基酸序列的胜肽，或上述胜肽的片段的優點在於：因為在細胞內的低毒性而具有高度可行性。

【0087】在本發明中，「發炎疾病(inflammatory disease)」泛指以發炎為主因的任何疾病或因疾病所造成的發炎。詳言之，發炎疾病包括，但不限於：(1)普遍的或局部

的發炎疾病(例如，過敏症；免疫複合體疾病；乾草熱；過敏性休克；內毒素休克；惡病質、體溫過高；肉芽腫；或類肉瘤病)；(2)腸胃相關疾病(例如，闌尾炎；胃潰瘍；十二指腸潰瘍；腹膜炎；胰臟炎；潰瘍性結腸炎、急性結腸炎或缺血性結腸炎；膽管炎；膽囊炎、脂肪痢、肝炎、克隆氏症；或惠氏症)；(3)皮膚相關疾病(例如，牛皮癬；燒傷；曬傷；皮膚炎；蕁麻疹性疣或水皰)；(4)血管相關疾病(例如，脈管炎；血管炎；心內膜炎；動脈炎；動脈硬化；血栓靜脈炎；心包炎；充血性心臟衰竭；心肌炎；心肌缺血；結節性動脈周圍炎；週期性狹窄症；柏格氏症；或風濕熱)；(5)呼吸道疾病(例如，氣喘；會厭炎；支氣管炎；肺氣腫；鼻炎；囊性纖維化；間質性肺炎；COPD(慢性阻塞性肺病)；成人呼吸窘迫症候群；肺塵病；肺泡炎；細支氣管炎；咽炎；肋膜炎；或鼻竇炎)；(6)骨骼、關節、肌肉及結締組織相關疾病(例如，嗜伊紅性肉芽腫；關節炎；關節痛；骨髓炎；皮肌炎；筋膜炎；柏哲氏症；痛風；牙周病；類風濕性關節炎；重症肌無力症；僵直性脊椎炎；或滑膜炎)；(7)泌尿生殖器失調(例如，附睪炎；陰道炎；前列腺炎；或尿道炎)；(8)

中樞或周邊神經系統相關疾病(例如，阿茲海默氏症；腦膜炎；腦炎；多發性硬化症；腦梗塞；腦栓塞；格林-巴利症候群；神經炎；神經痛；脊椎損傷；麻痺；或葡萄膜炎)；(9)病毒(例如，流行性感冒；呼吸道融合病毒；HIV；B型肝炎；C型肝炎；或皰疹病毒)、感染症(例如，登革熱；或敗血症)、黴菌感染(例如，念珠菌症)；或細菌、寄生蟲及類似微生物感染(例如，瀰漫性菌血症；瘧疾；蟠尾絲蟲病；或阿米巴症)；(10)自體免疫疾病(例如，甲狀腺炎；紅斑性狼瘡；古巴士德氏症候群；移植體排斥；移植體對抗宿主疾病；或糖尿病)；及(11)癌症或腫瘤疾病(例如，何杰金氏病)。

【0088】數十年來，治療這些疾病的發炎成分已成為國際製藥工業的主要目標，且已開發出多種有用的治療劑。例子包括皮質類固醇(被設計來模擬皮質醇的功效之各種自然、半合成及合成的製劑，包括培尼皮質醇(prednisolone)、甲基培尼皮質醇(methylprednisolone)、地塞米松(dexamethasone)、貝他每松(betamethasone)、氟替卡松(fluticasone)等等)、環氧化酶抑制劑(非選擇性抑制劑或 cox-1 選擇性抑制劑二

者，如吲哚美辛(indomethacin)、磺胺塞拉金(sulfasalzine)及乙醯水楊酸(aspirin)，且更近的還有 cox-2 選擇性抑制劑，如塞來考昔(celecoxib))、白三烯(leukotriene)阻斷劑(如孟魯司特(monteleukast))及抗-TNF (如經修飾的單株中和抗體，包括英夫利昔單抗(infliximab) (Remicade™)及阿達木單抗(adalimumab)(Humira™)、TNF受器融合蛋白，如依那西普(etanercept) (Enbrel™)，還有小分子 TNF-α 合成抑制劑如沙利竇邁(thalidomide))。

【0089】在本發明的一個實施例中，茲提供一種抗發炎組成物，其包含胜肽作為活性成分。該胜肽包含序列編號：2至序列編號：179中之至少一個胺基酸序列；該胜肽與上述序列具有 80%以上的同源性；或該胜肽為上述胜肽的片段。

【0090】在本發明的一個實施例中，抗發炎組成物可含有 0.1 μg/mg 至 1 mg/mg，特別地 1 μg/mg 至 0.5 mg/mg，更特別地 10 μg/mg 至 0.1 mg/mg 的包含序列編號：2至序列編號：179中之至少一者的胺基酸序列之胜肽、包含與上述序列具有 80%以上的同源性的胺基酸序列之胜肽，或上述胜肽之胜肽片段。當含

有上述範圍的胜肽時，可滿足該組成物的所有安全性及穩定性，且就成本效益而言為適當的。

【0091】在本發明的一個實施例中，組成物可應用在所有動物，包括人類、狗、雞、豬、牛、羊、天竺鼠及猴子。

【0092】在本發明的一個實施例中，茲提供用於以活性成分治療或預防發炎疾病的醫藥組成物，所述活性成分包含：由選自序列編號：2至序列編號：179之胺基酸序列所組成之胜肽、包含與上述序列具有80%以上的同源性之胺基酸序列的胜肽，或序列編號：1的胜肽片段。在本發明的一個實施例中，醫藥組成物可透過如口服、直腸、經皮、靜脈內、肌肉內、腹膜內、骨髓內、硬膜上或皮下等方式給藥。

【0093】口服給藥的形式可為，但不限於，錠劑、丸劑、軟式或硬式膠囊、顆粒、粉末、溶液或乳化液。非口服給藥的形式可為，但不限於，注射劑、滴劑、乳液、軟膏、凝膠、乳霜、懸浮液、乳化液、栓劑、貼片或噴劑。

【0094】在本發明的一個實施例中，若有需要的話，醫藥組成物可含有添加劑，如稀釋劑、賦形劑、潤滑劑、結合劑、崩解劑、緩

衝劑、分散劑、表面活性劑、著色劑、芳香劑或甜味劑。在本發明的一個實施例中，可由本案技術領域中的工業之習用方法來製造醫藥組成物。

【0095】在本發明的一個實施例中，可根據患者的年齡、性別、體重、病理及狀態、給藥途徑或開處方者的判斷來改變醫藥組成物中的活性成分。可在本案所屬技術領域中之習知技藝者的水平內根據這些因素來決定劑量，舉例而言，每日劑量可為，但不限於，每日每公斤 0.1 μg 至每日每公斤 1 g，特別為每日每公斤 1 μg 至每日每公斤 10 mg，更特別為每日每公斤 10 μg 至每日每公斤 1 mg，更特別為每日每公斤 50 μg 至每日每公斤 100 μg。在本發明的一個實施例中，可以，但不限於，每日 1 至 3 次給予醫藥組成物。

【0096】在本發明的一個實施例中，茲提供用於改善或防止皮膚發炎的皮膚外用組成物。皮膚外用組成物可含有活性成分，該活性成分為：包含來自序列編號：2 至序列編號：179 中之胺基酸序列的胜肽；包含與上述序列具有 80%以上之同源性的胺基酸序列之胜肽；或上述胜肽之胜肽片段。

【0097】在本發明的另一個實施例中，茲提

供用以改善或防止皮膚發炎的化妝品組成物。化妝品組成物可含有活性成分，該活性成分可為：包含選自序列編號：2至序列編號：179之胺基酸序列的胜肽、包含與上述序列具有80%以上的同源性之胺基酸序列的胜肽，或上述胜肽的胜肽片段。

【0098】在本發明的一個實施例中，可提供適於局部施用(topical application)的所有型式之外用組成物或化妝品組成物。例如，可提供溶液、藉由將油相分散於水中所獲得的乳液、藉由將水分散於油相中所獲得的乳液、懸浮液、固體、凝膠、粉末、糊劑(paste)、泡沫或氣溶膠等型式。這些形式可藉由本技術領域中之產業的習用法來製造。

【0099】在本發明的一個實施例中，在無損於主要功效的程度內，化妝品組成物可包括可如預期般增進主要功效的其它成份。在本發明的一個實施例中，化妝品組成物可額外地包括：保濕劑、軟化劑、表面活性劑、UV吸收劑、防腐劑、殺真菌劑、抗氧化劑、pH調節劑、有機或無機色素、芳香劑、冷卻劑或止汗劑。所屬領域中的習知技術者可在無損本發明的目的及功效的程度內決定上述成分的配方比例，且基於化妝品組成物的總重

量的配方比例可為 0.01 至 5 重量%，特別是 0.01 至 3 重量%。

【0100】在本發明的一個實施例中，茲提供用於預防或抑制發炎的食品組成物。食品組成物可含有活性成分，該活性成分可為：包含選自序列編號：2 至序列編號：179 之胺基酸序列的胜肽；包含與上述序列具有 80%以上之同源性的胺基酸序列之胜肽；或上述胜肽的胜肽片段。

【0101】在本發明的一個實施例中，食品組成物可形成，例如，但不限於，顆粒、粉末、液體及固體型式。除了活性成分之外，可用由本案所屬技術領域中的習知技藝者適當地選擇的相關工業中常用的成分來形成上述各型式，且可用其它成分來增加功效。

【0102】本案所屬技術領域中的習知技藝者可決定上述活性成分之劑量，且每日劑量的例子可為每日每公斤 1 μg 至每日每公斤 10 mg，更特別地為每日每公斤 10 μg 至每日每公斤 1 mg，更特別地為每日每公斤 50 μg 至每日每公斤 100 μg，但不限於這些數量而可依照年齡、健康狀態、併發症及其它多種因素而改變。

【0103】在本發明的一個實施例中，茲提供

以包含選自序列編號：2至序列編號：179中之胺基酸序列的胜肽、包含與上述序列具有80%以上的同源性的胺基酸序列之胜肽，或上述胜肽的胜肽片段來預防或治療發炎疾病的用途。

【0104】在本發明的一個實施例中，茲提供以施用上述胜肽至患者來預防或治療發炎疾病的方法。

【0105】在本發明的一個實施例中，茲提供用於預防或治療發炎疾病的套組。該套組可含有：具抗發炎活性的胜肽或包含該胜肽之組成物，其中該胜肽包含序列編號：2至序列編號：179中之任何一個胺基酸序列；該胜肽與上述序列有80%以上之同源性；或者該胜肽為上述胜肽的片段；且該套組可含有包括給藥劑量、給藥途徑、給藥頻率及該胜肽或組成物之標示中之至少一者的說明書。

【0106】本文所用的術語意在用來描述實施例，而非用來限制本發明。在前面沒有數字的術語並非用來限制量，而是用來顯示所使用的術語可能超過一項。術語「包括」、「具有」、「由…構成」及「包含」應作開放性解釋(即，「包括但不限於」)。

【0107】提及數字範圍是用來代替指名該範

圍內的個別數字，因此除非特別指明，各個數字可被解讀為本文所整合之個別的數字。所有範圍的終值皆包括在該範圍內，且可被單獨結合。

【0108】除非在內容中有另外註記或明顯牴觸，否則可以合適的順序進行本文所述的所有方法。除非包括於申請專利範圍中，否則任一個實施例及所有實施例，或範例語言(如，使用「類~(like~)」者)的使用是為了更清楚地描述本發明，而非限制本發明的範疇。在申請專利範圍以外的本文的任何語言不應被解讀為本發明的必然。除非另外界定，本文所用的技術性及科學性術語的意思應該普遍為本發明所屬技術領域中的習知技藝者所了解。

【0109】本發明的較佳實施例為本案發明人已知用於進行本發明的最佳模式。在閱讀前文對較佳實施例中之變化例的陳述後，所屬技術領域中的習知技藝者應能清楚本發明。本案發明人希望所屬技術領域中的習知技藝者可充分使用該等變化例，且本發明可以本文所列的方式以外的其它方式實施。因此，本發明，在專利法允許下，包括本發明的等效例及變化例，而本發明的重點陳述於隨附

申請專利範圍中。此外，除非另有清楚陳述或於內文中產生牴觸，否則上述組成分的任何組合內的所有可能變化例皆包括在本發明中。儘管藉由示範性實施例來說明並示意本發明，所屬技術領域中的習知技藝者將可充分了解在不悖離本發明之精神及範疇下，可有由以下申請專利範圍所界定的多種形式及細節上的變化。

【0110】已知會從發炎細胞釋出腫瘤壞死因子(Tumor necrosis factor；TNF)，特別是TNF-α，並造成多種細胞毒性反應、免疫反應及發炎反應。已知 TNF-α 涉及許多發炎與自體免疫疾病的發生及延長，且當 TNF-α 被釋出而進入血液並同步作用時，會進一步導致嚴重的敗血症和敗血性休克。因為 TNF-α 為與活體的免疫系統廣泛相關的因子，所以目前積極進行抑制 TNF-α 之製劑的開發。可藉由生物性合成不活化形式的 TNF-α，且受到蛋白酶的剪切而變成活化形式；負責上述活動的酵素稱作腫瘤壞死因子轉化酵素(tumor necrosis factor-converting enzyme；TACE)。因此，抑制此 TACE 的物質可治療、改善或防止歸因於 TNF-α 的疾病、病理狀態、異常狀態、疑難、不利的症狀等

(KR2011-0060940A)。

【0111】高遷移率族1(High-mobility group box 1；HMGB1)蛋白以高濃度存在於胸腺、淋巴結、睪丸中，且存在胎兒肝臟中，且不存在於肝臟及腦細胞中，通常存在於細胞核內。所述HMGB1蛋白具有由A-box、B-box及C-端部所組成的3個域段(domain)。

【0112】Tracey等人於1999年報導指出HMGB1蛋白扮演著可誘導發炎的細胞激素的角色，且所述HMGB1的發炎誘導機制是藉由外部刺激導致HMGB1的乙醯化，並接著自細胞核移動進入細胞質。此後，已知HMGB1會被分泌至細胞外，或被分泌至壞死的細胞外(Bonaldi T等人，EMBO J，(22)5551-60，2003)。

【0113】可藉由圖式、以下的實例及實驗來進一步描述本發明，所述圖式、實例及實驗僅為闡明本發明的特定實施例之目的，且無論如何都不應被解釋為對本發明之範疇的限制。

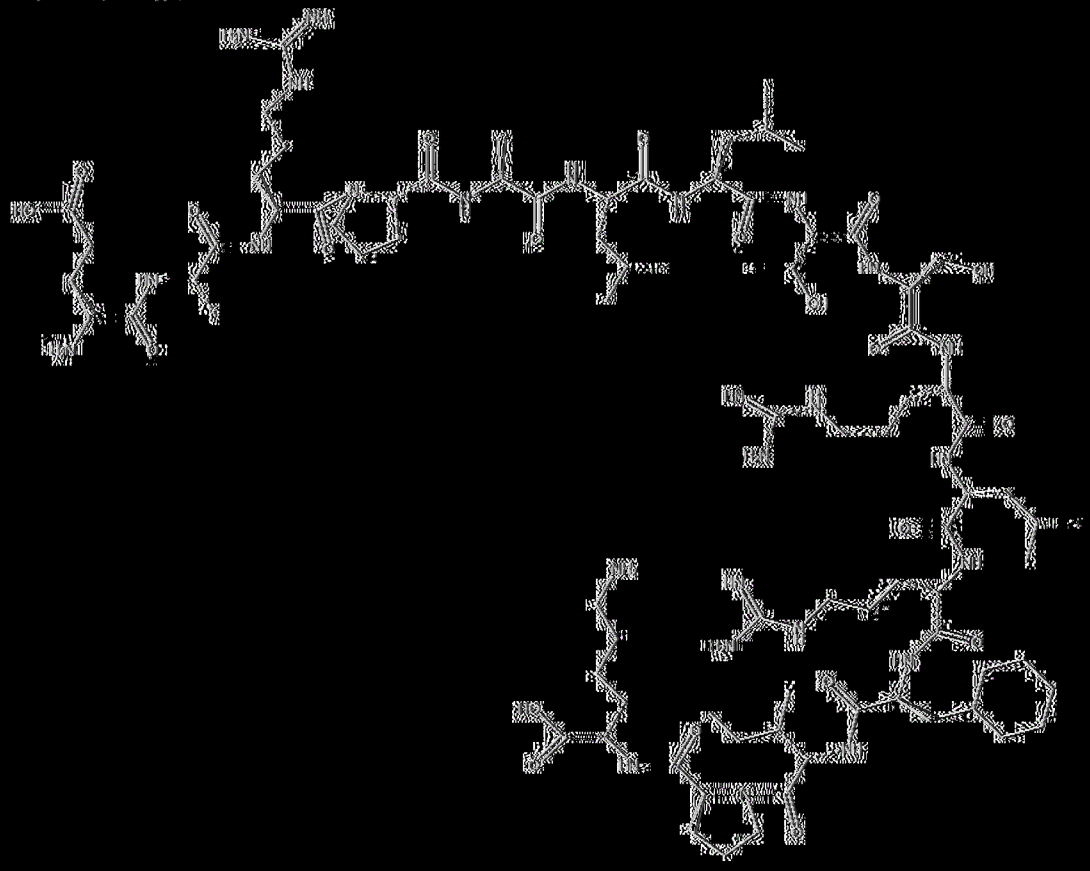
【0114】**實例1**

【0115】*PEP-1的合成及PEP-1(序列編號：1)的抗發炎活性測量*

【0116】**實驗1：合成PEP-1(序列編號：1)**

（0117）合成由16個胺基酸組成具有如下所示之化學結構 1 的胜肽，該胜肽具有源自人類端粒酶的序列，即序列編號：1（PEP-1）：

<化學結構 1>



（0118）可根據現有的固相胜肽合成方法來合成序列編號：1（PEP-1）。詳言之，可透過 Fmoc 固相胜肽合成、SPPS、使用 ASP48S（Peptron, Inc.，Daejeon，ROK），藉由從 C-端耦合各胺基酸來合成胜肽。所使用的該典胜肽（該典胜肽位於 C-端的第一個胺基酸被附接至樹脂）如下：

NH_2-Lys(Boc)-2-氯-三苯甲基樹脂

NH_2-Ala-2-氯-三苯甲基樹脂

NH_2-Arg(Pbf)-2-氯-三苯甲基樹脂

【0119】用於合成胜肽的所有胺基酸材料的N-端受到Fmoc保護，且胺基酸殘基受到可溶解於酸中的Trt、Boc、t-Bu（三級丁酯(t-butylester)）、Pbf（2,2,4,6,7-五甲基二氫-苯并呋喃-5-磺醯基(2,2,4,6,7-pentamethyl dihydro-benzofuran-5-sulfonyl)）保護。例如：

Fmoc-Ala-OH、Fmoc-Arg(Pbf)-OH、Fmoc-Glu(OtBu)-OH、Fmoc-Pro-OH、Fmoc-Leu-OH、Fmoc-Ile-OH、Fmoc-Phe-OH、Fmoc-Ser(tBu)-OH、Fmoc-Thr(tBu)-OH、Fmoc-Lys(Boc)-OH、Fmoc-Gln(Trt)-OH、Fmoc-Trp(Boc)-OH、Fmoc-Met-OH、Fmoc-Asn(Trt)-OH、Fmoc-Tyr(tBu)-OH、Fmoc-Ahx-OH、Trt-巯乙酸(Trt-Mercaptoacetic acid)。

【0120】可使用HBTU[2-(1H-苯并三唑-1-基)-1,1,3,3-六氟化磷酸四甲銨(2-(1H-Benzotriazole-1-yl)-1,1,3,3-tetamethylaminium hexafluorophosphate)]/HOBt [N-羥苯并三唑(N-Hydroxybenzotriazole)]/NMM [4-甲基嗎

啉(4-Methylmorpholine)]作為耦合試劑。在20%的 DMF 中，使用哌啶(piperidine)移除Fmoc。為了從殘基移除保護或為了將合成的胜肽從樹脂分離，可使用切割雞尾酒配方(cleavage cocktail)[TFA(三氟乙酸)/TIS(三異丙基矽烷(triisopropylsilane))/EDT(乙二硫醇(ethanedithiol))/H_2O=92.5/2.5/2.5/2.5]。

【0121】可藉由使用固相鷹架(solid phase scaffold)結合以下製程來合成胜肽：以胺基酸保護成分所保護的胺基酸起始、分別使對應的胺基酸反應、以溶劑洗滌並去保護，及重複該製程。在從樹脂切下合成的胜肽之後，以 HPLC 純化合成的胜肽，並以 MS 驗證合成狀況，並接著冷凍乾燥。

【0122】PEP 1 的特定合成製程描述如下。

【0123】1) 耦合

將 NH_2-Lys(Boc)-2-氯-三苯甲基樹脂所保護的胺基酸(8當量)融化，且耦合劑 HBTU(8當量)/HOBt(8當量)/NMM(16當量)加入 DMF 內，接著使反應在室溫下進行 2 小時，接著依序以 DMF、MeOH 及 DMF 洗滌。

【0124】2) Fmoc 去保護

將 20%的哌啶加入 DMF 中並於室溫下進行 5

分鐘的反應2次，接著依序以DMF、MeOH及DMF洗滌。

【0125】3) 藉由重覆進行反應1及2來製造胜肽的基本架構。

【0126】4) 切割：將切割雞尾酒(Cleavage Cocktail)加入完全合成的胜肽，並自樹脂分離胜肽。

【0127】5) 將冷卻的乙醚加入所獲得的混合物內，並接著使用離心來沉澱聚集的胜肽。

【0128】6) 在藉由Prep-HPLC純化之後，藉由LC/MS確認分子量，並冷凍乾燥以產生粉末形式的胜肽。

【0129】**實驗2：PEP 1的抗發炎活性測量**

【0130】**細胞株培養**

【0131】於37°C下，伴隨著5%的CO_2，將來自韓國細胞庫(Korea Cell Bank)的Raw 264.7巨噬細胞(KCBL，40071)維持在含有10%的胎牛血清(FBS；Gibco Laboratories)、100單位/mL的鏈黴素及青黴素(Gibco Laboratories)的杜貝可氏改良之伊格氏培養基(Dulbecco's modified Eagle's medium (DMEM)；PAA，奧地利)中。以1×10^6個細胞/mL的密度將Raw 264.7細胞播種至96孔盤內並隔夜培育。

【0132】隔日，以新鮮培養基取代上述培養基，並將 5 ug/mL 的胜肽(以實例 1 的實驗 1 所述方式獲得)加入細胞。在以胜肽進行 30 分鐘的細胞培育後，加入 50 uL 的 LPS (達 1 ug/mL 的最終濃度)，且培育細胞達額外的 24 小時。以 1 ug/mL 脂多醣(LPS；Sigma，USA)處理誘導發炎反應的實驗樣本，並以磷酸緩衝鹽水(PBS；pH 7.2)處理對照樣本。將來自各實驗條件的上清液樣本收集於 eppendorf 管中，並執行進一步分析。

【0133】**實驗 2-1：分析 NO 量**

【0134】可使用格里斯試劑系統(Griess reagent system) (Promega，USA)測量 Raw 264.7 細胞(1×10^6 個細胞/ml)中之一氧化氮(NO)的量。50 μl 的培養基加入 96 孔盤，接著加入相同量的 Griess 試劑 I (NED)溶液及 Griess 試劑 II (苯磺胺(Sulfaniliamide)溶液)。在以該等試劑培育細胞 10 分鐘之後，在 30 分鐘內使用微盤分析儀(Molecular Devices，USA)測量 540 nm 波長下的光學密度。可使用亞硝酸鈉的標準曲線(0~100 μM)來計算 NO 的濃度。

【0135】如以下表 3 所示，以 LPS 刺激細胞會增加 NO 的表現，但在以 LPS 與 Pep1 共同

處理的情況中，上述 NO 的表現量降低了。NO 是在發炎期間所產生的，且這樣的結果顯示出 Pep1 降低達對照組的 65%之 NO 量，因而有力地支持了 Pep1 的抗發炎功效。

【0136】**表 3. 人類端粒酶衍生之 PEP 1 的抗發炎功效測量**

試驗樣本		NO 表現量佔對照組的(%)	降低的 NO 表現量(%)
PBS		0	-
LPS 1 ug/mL	PBS	100	0
	PEP 1 (0.5 ug/mL)	35	65

【0137】**實驗 2-2：細胞激素抑制功效的分析**

【0138】為了研究 PEP1 對產生促發炎細胞激素的抑制功效，以濃度 5 μg/mL 的 PEP 1 預先處理受濃度 1 μg/mL 的 LPS 所刺激的 RAW 264.7 細胞，並進一步培育細胞達 24 小時。收集含有細胞培養基的上清液樣本，並使用 ELISA 套組(eBioscience，San Diego)分析細胞激素的量。

【0139】以 100 uL 的捕捉抗體(在塗佈緩衝液中稀釋至製造商的科學實驗計劃所建議的濃度)塗佈 96 孔盤在 4°C 下隔夜。接著，在洗

滌該盤5次之後，將200 uL的分析稀釋劑加入各孔，並於室溫下培育1小時以進行阻斷。在以洗滌緩衝液洗滌各孔5次之後，將細胞培養樣本或各細胞激素標準蛋白質樣本稀釋，並將100 uL的各細胞培養樣本或各細胞激素標準蛋白質樣本加入各孔內。在4 °C下隔夜培育含有該等樣本的該盤。接著，在以洗滌緩衝液洗滌該盤5次之後，加入100 uL與抗生物素(avidin)共軛的二次抗體，並在室溫下培育1小時。

【0140】在以二次抗體培育之後，洗滌該盤5次，並在室溫下以100 uL的抗生物素-HRP (BD Bioscience)培育30分鐘。在洗滌該盤7次之後，加入100 uL的TMB溶液(Pierce)並在室溫下培育15分鐘。藉由在各孔中加入50 μl的2N H_2SO_4來停止反應。使用微盤分析儀測量450 nm波長下的光學密度。可藉由使用SPSS程式的ANOVA程序之差異分析來進行統計分析，並使用鄧肯氏多變域測試(Duncan's multiple range test)來驗證分析之間的顯著性。

【0141】**實驗2-3：IL-6分泌測量**

【0142】如下表4所示，單獨以LPS處理會增加細胞激素IL-6(介白素-6)分泌。然而，以

LPS 與 PEP-1 共同處理顯示出促發炎細胞激素 IL-6 分泌量的減少。更重要地，在以 PEP-1 處理之後，促發炎細胞激素分泌的量減少超過 70%，這象徵著 Pep1 的強大抗發炎功效。

【0143】表 4. 由 PEP-1 抑制細胞激素 IL-6 生成

試驗樣本		細胞激素 IL-6 生成	
		佔對照組的 %	抑制%
PBS		0	-
LPS 1ug/ml	PBS	100	0
	PEP 1 (5ug/ml)	28	72

【0144】實驗 2-4：HMGB1、TNF-α、COX-2 表現抑制

【0145】可藉由西方墨點法分析來測定蛋白質表現量。以 PBS 洗滌在含 PEP-1 培養基中所生長的細胞，以 0.05%的胰蛋白-EDTA 處理，並藉由離心來收集。將收集的細胞溶解在適當體積的分解緩衝液中。藉由離心來丸粒化細胞內的碎屑，並藉由 SDS-聚丙烯醯胺凝膠電泳分離來自各樣本的等量蛋白質。將分離出來的蛋白質轉移至硝化纖維膜(Schleicherand Schuell，Keene，NH，USA)，接著對各種蛋白質進行抗體專一性測試。以

ECL（增強的化學發光）溶液（Amersham Life Science Corp.，Arlington Heights，IL，USA）培育硝化纖維膜；將硝化纖維膜暴露於X光；並根據X光膜上顯示的曝光程度分析蛋白質表現量。

【0146】可進行西方墨點法分析來測定Ppep1對細胞激素蛋白質表現的抑制功效。如下表5所示，以LPS刺激細胞會增加細胞激素（HMGB1、TNF-α及COX）的表現。然而，若以LPS和Pep1二者處理細胞的話，可減少上述促發炎細胞激素的表現量。結果顯示以Pep1進行處理可減少超過70%的促發炎細胞激素量，因而提供了有力的證據支持Pep1的抗發炎功效。

【0147】表5. Pep1對促發炎細胞激素表現量的抑制功效測量

試驗樣本		細胞激素表現量（染色帶強度(band intensity)) 佔對照組的%		
		HMGB1	TNF -a	COX-2
PBS		-	-	-
LPS 1 ug/ml	PBS	100	100	100
	PEP 1 (5 ug/ml)	30	25	22

【0148】實驗3：Pep1對HepG2細胞中之

TNF-α 量的抑制功效之研究

【0149】實驗 3-1：細胞培養

【0150】使用 Ficoll-PaqueTM PLUS (GE Healthcare Life Sciences，Piscataway，NJ，USA)從收集自健康對象的血液樣本(50 ml)中分離出 PBMC (周邊血液單核細胞)。在含有20%的人類血清之完整 RPMI 1640培養基中滋養 PBMC，接著將 PBMC 轉移到塗佈有人類血清的 100 mm聚苯乙烯細胞培養盤達 30分鐘。在 37 °C 及 5%的 CO^2 下培育 2 小時後，使用冷卻的 PBS (磷酸緩衝鹽水) (Gibco/Life Technologies，Carlsbad，CA，USA)使單核球自細胞培養盤底部脫離，且在 96 孔盤的各個孔中，於 RPMI 1640 培養基(補充有青黴素-鏈黴素；100 mg/ml，及人類血清；20%)中隔夜培養 1×10^5 個細胞。

【0151】針對螢光酵素分析，使用從首爾國立大學(Seoul National University)牙醫學院(School of Dental Medicine)獲得的 HEK293/缺失(null) (人類胚胎腎臟)細胞及穩定表現 TLR2 (類鐸受體 2)的 HEK293/TRL 細胞。在螢光酵素實驗前一天，將 2.5×10^5 個細胞播種至 12 孔盤的各孔內，並在 DMEM (杜貝可氏改良之伊格氏培養基)培養基(補充有保米

黴素(blasticidin)；10 μg/ml，胎牛血清；10%)(Invitrogen/Life Technologies，Carlsbad，CA，USA)中隔夜培養。

【0152】**實驗 3-2：細胞激素分析**

【0153】為了從蛋白質表現量的關點觀察PEP-1對TNF-α量的影響，可進行ELISA(酵素連結免疫吸附分析)。在96孔盤中隔夜培養1×10^5個PBMC-衍生的單核球。接著，以LPS(脂多醣；10 ng/ml，Sigma)處理2小時，隨後以PBS洗滌3次。接著以OPTI-MEM培養基(Invitrogen/Life Technologies，Carlsbad，CA，USA)處理1小時，以誘導飢餓，且在測量TNF-α量之前，以4 uM的FITC(異硫氰酸螢光素)、FITC-TAT、PEP-1-FITC及FITC-PEP-1處理2小時。在培養後，收及細胞湯(cell soup)，並使用ELISA套組(R&D，Minneapolis，MN，USA)測量TNF-α的量，如下：

【0154】TNF測量使用三明治ELISA方法。將100 ul的TNF-α初級抗體加入預先塗佈的96孔盤的各個孔內，並於4°C下隔夜培育該盤。翌日，以0.5%的Tween20洗滌溶液洗滌該盤3次，每次5分鐘，並接著加入100 ul的各樣本及標準溶液，並置於室溫2小時。

以如上述方式洗滌該盤之後，將 100 ul 之 HRP-共軛的次級抗體加入各孔中，並置於室溫 2 小時。再次洗滌 96 孔盤，並加入卵白素/生物素進行吸光度測量。使用從標準溶液的吸光度所計算的標準圖形來定量各樣本的 TNF-α 量。

【0155】以內毒素 LPS (10ng/ml) 刺激 PBMC-衍生的單核球達 2 小時，用 OPTI-MEM 使 PBMC-衍生的單核球飢餓達 1 小時，並接著以 4uM 的 FITC、FITC-TAT、PEP 1-FITC 及 FITC-PEP 1 處理達 2 小時。在培育之後，使用 ELISA 測量伴隨著細胞培養基的 TNF-α 量。結果，在 FITC 及 FITC-TAT 的例子中，因 LPS (分別為 6.2 及 6.7 ng/ml)之故而使 TNF-α 量增加，但在 PEP-1-FITC 及 FITC-PEP-1 (分別為 0.17 及 0.25 ng/ml)的例子中，TNF-α 量顯著減少了，且這樣的差異有統計顯著性(P < 0.01)(第 1 圖)。

【0156】**實驗 3-3：螢光酵素分析**

【0157】為了研究 PEP 1 在發炎反應中的角色，吾人透過螢光酵素分析來評估 NF-kB 表現態樣。首先，吾人在 12 孔盤中培育 HEK293/缺失及 HEK293/TLR2 細胞(首爾國立大學牙醫學研究所)達 24 小時，以獲得 2.5×10^5 個

細胞/孔。在以PBS洗滌3次後，將培養基換成OPTI-MEM(Invitrogen/Life Technologies，Carlsbad，CA，USA)並培育4小時，接著將3μl的lipofectamine (Invitrogen/Life Technologies)、1μg的NF-kB螢光酵素與10ng的水母螢光酵素(renilla luciferase)(Promega，Madison，WI，USA)之混合物加入各孔內，並再次培育4小時。將脂蛋白pam3cys(10ng/ml，Sigma-Aldrich，St. Louis，MO，USA)置入除了陰性對照組之外的所有孔內，並以FITC (4 μM)及FITC-PEP 1 (4 μM)處理18小時後以PBS洗滌3次。在藉由將雙螢光酵素報導載體分析系統(dual-luciferase reporter assay system)(Promega)所提供的50μl的被動胞溶緩衝液(passive lysis buffer)置入各孔以溶解(胞溶)細胞之後，吾人透過TD-20/20光度計(Turner designs，Sunnyvale，CA，USA)來確認NF-kB的活化。藉由pCMV-水母螢光酵素(Promega)的共同轉染可確認轉染效率，且吾人藉由校準螢光酵素值來分析結果。

【0158】在將NF-kB螢光酵素轉染至HEK293/缺失及HEK293/TLR2細胞株後，以pam3cys(一種合成脂蛋白)與FITC (4 μM)(陰

性對照)一起處理，並再次以 pam3cys 與 FITC-PEP 1 (4 μM)一起處理並培養 18 小時。透過雙螢光酵素報導載體分析系統(Promega)所提供的被動胞溶緩衝液使細胞產生胞溶，藉由螢光酵素強度測量 NF-kB 的表現態樣顯示以脂蛋白處理或以 FITC-PEP1 處理或未處理的 HEK293/缺失細胞之間並無差異性。然而，當以脂蛋白(TLR2 的促效劑)處理 HEK293/TLR2 細胞株時，NF-kB 表現量相較於未處理的細胞株增加(P < 0.01)，因而確認了發炎反應的發生。並且，相較於未處理的細胞株，當以 FITC-PEP 1 一起處理時，NF-kB 表現量增加；且相較於以脂蛋白與 FITC 一起處理的陰性對照組，以 FITC-PEP 1 一起處理時的 NF-kB 表現量減少(P < 0.01)(第 2 圖)。最終，吾人能確認當以 PEP 1 一起處理時能降低可由 TLR 2 所造成的發炎反應。

【0159】**實例 2**

【0160】*PEP RIA 系列(序列編號：2 至 179)胜肽的 TNF-α 抑制功效*

【0161】根據實例 1 的結果(其中序列編號：1 (PEP1)具有 TNF-α 抑制功效)，進行使用序列編號：2 至 179 之胜肽的實驗，以確認它們的 TNF-α 抑制功效。可使用與上述實例 1 中

相同的方法(用於合成 PEP1 的方法)，但加入不同的胺基酸，來合成序列編號：2 至 179 之胜肽。

【0162】**實驗 1：細胞培養**

【0163】使用 Biocoll 分離溶液(Biocoll Separating Solution)(Biochrom AG，Berlin，Germany)從收集自健康對象的血液樣本(50 ml)中的 PBMC(周邊血液單核細胞)層分離出來。在含有 20%的人類血清之 RPMI 1640 培養基中滋養收集到的 PBMC 達 30 分鐘，並接著將 PBMC 轉移到塗佈有人類血清的 100-mm 聚苯乙烯細胞培養盤，並在培養箱中於 37 °C 及 5%的 CO^2 下培育 2 小時。使用冷卻的 PBS 使單核球自培養盤底部脫離，並以 RPMI 1640 培養基(補充有青黴素-鏈黴素；100 mg/ml，及人類血清；20%)在 96 孔盤中隔夜培育單核球，以達到每孔 1×10^5 個細胞的數目。

【0164】**實驗 2：TNF-α 抑制功效分析**

【0165】進行 ELISA 以瞭解 PEP RIA 系列的胜肽如何影響 TNF-α 的量。在 96 孔盤中培育 PBMC-衍生之單核球，以達到每孔 1×10^5 個細胞的數目，並接著以 LPS(脂多醣；10 ng/ml，Sigma)處理達 2 小時。將 OPTI-MEM 培養基加入以 PBS 洗滌 3 次後的單核球，以誘導細胞

飢餓達1小時，拿出4μM的胜肽來培育2小時。共有三個陰性對照組。第一組不以任何物質作處理。第二組以雌激素(在這個實驗中，使用雌二醇作為一類的雌激素)作處理。第三組則是以LPS(10 ng/ml)或以LPS(10 ng/ml)加上雌激素(20 nM)作處理。使用已確認具有TNF-α抑制活性的PEP1作為陽性對照組，以測量TNF-α抑制活性。在培育後，依照ELISA套組手冊(R&D，Minneapolis，MN，USA)來測量TNF-α。定量方法的細節可見於實例1的實驗2.2。

【0166】使用上文所陳述之方法，以篩選具TNF-α抑制功效的胜肽。以LPS(10 ng/ml)，LPS(10 ng/ml)為內毒素，刺激PBMC-衍生之單核球2小時，並藉由加入OPTI-MEM誘導PBMC-衍生之單核球飢餓達1小時。隨後，以4 uM的179種胜肽處理並培養2小時。使用ELISA測量細胞培養基中之TNF-α的量，並藉由與陰性對照組及陽性對照組比較來篩選具TNF-α抑制功效的胜肽(第3至23圖)。

【0167】以下為相較於對照組(僅以LPS處理)顯示出TNF-α抑制功效的胜肽序列：序列編號：9、序列編號：10、序列編號：11、序列編號：12、序列編號：13、序列編號：17、

序列編號：18、序列編號：19、序列編號：20、序列編號：21、序列編號：25、序列編號：26、序列編號：27、序列編號：28、序列編號：33、序列編號：34、序列編號：35、序列編號：36、序列編號：38、序列編號：42、序列編號：43、序列編號：44、序列編號：45、序列編號：46、序列編號：54、序列編號：55、序列編號：56、序列編號：57、序列編號：58、序列編號：62、序列編號：63、序列編號：64、序列編號：65、序列編號：66、序列編號：70、序列編號：71、序列編號：72、序列編號：73、序列編號：74、序列編號：80、序列編號：81、序列編號：82、序列編號：83、序列編號：84、序列編號：88、序列編號：89、序列編號：90、序列編號：91、序列編號：92、序列編號：96、序列編號：97、序列編號：98、序列編號：99、序列編號：100、序列編號：101、序列編號：102、序列編號：103、序列編號：104、序列編號：105、序列編號：108、序列編號：109、序列編號：110、序列編號：111、序列編號：112、序列編號：113、序列編號：116、序列編號：117、序列編號：118、序列編號：119、序列編號：124、序列編號：131、序列

編號：140、序列編號：141、序列編號：142、序列編號：148、序列編號：149、序列編號：150、序列編號：156、序列編號：157、序列編號：158、序列編號：159、序列編號：164、序列編號：165、序列編號：166、序列編號：167、序列編號：168、序列編號：172、序列編號：173、序列編號：174、序列編號：175、序列編號：176、序列編號：177及序列編號：178。

【0168】並且，以下為相較於以LPS及雌激素處理的組別顯示出TNF-α抑制功效的胜肽序列：序列編號：9、序列編號：10、序列編號：11、序列編號：17、序列編號：18、序列編號：19、序列編號：20、序列編號：25、序列編號：26、序列編號：27、序列編號：33、序列編號：34、序列編號：42、序列編號：43、序列編號：44、序列編號：54、序列編號：55、序列編號：56、序列編號：62、序列編號：63、序列編號：64、序列編號：65、序列編號：70、序列編號：71、序列編號：72、序列編號：73、序列編號：80、序列編號：81、序列編號：82、序列編號：83、序列編號：88、序列編號：89、序列編號：90、序列編號：91、序列編號：96、序列編

號：97、序列編號：98、序列編號：99、序列編號：100、序列編號：101、序列編號：102、序列編號：103、序列編號：108、序列編號：109、序列編號：110、序列編號：116、序列編號：117、序列編號：140、序列編號：148、序列編號：149、序列編號：156、序列編號：157、序列編號：164、序列編號：165、序列編號：166、序列編號：167、序列編號：172、序列編號：173、序列編號：174。

【0169】實驗3：胜肽影響THP1細胞株中之TNF-α量的分析

【0170】使用THP-1細胞株(American Type Culture Collection (ATCC)，Manassas，VA，USA)進行實驗，THP-1細胞株為人類急性單核白血球(human acute monocytic leukemia)。

【0171】在96孔盤中以RPMI 1640培養基培育THP-1細胞24小時而達到每孔1 × 10^5個細胞的數量，隨後加入100 uM的PMA(巴豆醇-12-十四烷酸酯-13-乙酸酯(phorbol 12-myristate 13-acetate))用以將THP-1細胞分化成巨噬細胞。在藉由PMA將THP-1分化成巨噬細胞一天之後，以LPS處理2小時候洗掉。使細胞飢餓1小時後接著進行PEP1處

理。

【0172】以 LPS(脂多醣；10 ng/ml，Sigma)處理藉由 PMA 所分化的 THP-1 細胞 2 小時，接著以 PBS 洗滌 2 次。將 OPTI-MEM 培養基加入細胞，以誘導細胞飢餓達一小時，且 1 μM 的 179 個胜肽被去除並培育一小時。在培育後，藉由使用 ELISA 套組測量 TNF-α 的量，並篩選出可降低 TNF-α 的量之胜肽(第 24 圖至第 46 圖)。

【0173】結果顯示，相較於僅以 LPS 處理的對照組而言，序列編號：5、序列編號：7、序列編號：36、序列編號：38、序列編號：73、序列編號：75、序列編號：78、序列編號：107、序列編號：109 及序列編號：179 的胜肽序列可降低 TNF-α 的量。此外，序列編號：2、序列編號：3、序列編號：30、序列編號：41、序列編號：112 及序列編號：113 被選作可相較於以 LPS 及雌激素處理的組別而言降低 TNF-α 之表現量的胜肽。

【0174】**實例 3**

【0175】*類澱粉-β 蛋白所誘導之發炎反應分析*

【0176】HMGB1 首先進行乙醯化並藉由外部刺激而移位至細胞質。接著 HMGB1 被分泌至

細胞外，因而扮演著致炎細胞激素的角色。因為當此作用導致一個人發炎時，HMGB1 蛋白自細胞分泌，且發炎疾病(如 Churg strauss 症候群、類風濕性關節炎及修格蘭氏症候群)的患者將呈現升高的 HMGB1 血中濃度。因此，若即使在致炎刺激存在的情況下細胞核仍含有大量 HMGB1 時，暗示著 HMGB1 未被分泌離開細胞的事實，這意味著發炎受到抑制。

【0177】實驗 1：由 PEP-1 之抗發炎功效所導致之神經幹細胞的存活及增生之分析

【0178】首先，根據實例 1 中所描述的製造方法來製備 PEP-1。

【0179】實驗 1-1：神經幹細胞培養及類澱粉-β 毒性評估

【0180】在從懷胎 13 天的胚胎大鼠的頭部移出皮質後，以鹼性纖維母細胞生長因子(Basic Fibroblast Growth Factor；bFGF)培養皮質一周，以獲得神經幹細胞。為了分析類澱粉-β 蛋白對神經幹細胞的影響，以濃度為 0 至 40 μM 之預先寡聚化的類澱粉-β 蛋白處理神經幹細胞達 48 小時，接著使用 CCK-8 分析、BrdU，及 TUNEL 分析進行細胞毒性評估(參考 BA Yankner 等人，1990 及 KN Dahlgren 等人，2002)。在吾人確認以 20μM 的類澱粉-β 蛋白

處理時，細胞存活比例降至 60%（參見第 47 及 48 圖）之後，吾人在後續實驗中使用相同濃度的類澱粉-β蛋白。

【0181】**實驗 1-2：以 PEP-1 處理之細胞毒性評估**

【0182】為了評估 PEP-1 對培養的神經幹細胞的影響，首先藉由已知方法（BA Yankner 等人，1990 及 KN Dahlgren 等人，2002）培養神經幹細胞。接著，以不同濃度（0、1、10、50、100、200 μM）的 PEP-1 處理 48 小時，接下來使用 MTT 分析、BrdU 及 TUNEL 分析進行細胞存活率及細胞增生評估。自 0 至 200 μM 的 PEP-1 濃度在神經系統中顯得穩定，因為它們沒有抑制神經幹細胞的生存及增生（參見第 49 及 50 圖）。

【0183】**實驗 1-3：以類澱粉-β蛋白與端粒酶胜肽共同處理之細胞毒性評估**

【0184】為了測定 PEP 1 是否有抑制類澱粉-β蛋白所造成的神經毒性之功效，以 20 μM 的類澱粉-β蛋白與多種濃度的 PEP-1 共同處理 48 小時。使用 MMT 分析、CCK-8 分析、LDH 分析及 TUNEL 分析來測量細胞存活率及細胞凋亡，並藉由 BrdU 分析來測量神經幹細胞增生。

【0185】MMT分析及CCK-8分析的結果確認了10μM的PEP-1開始保護神經幹細胞免於受到類澱粉-β引起之神經毒性的影響，且100μM的PEP-1提供了最有效的保護(參見第51圖)。進行LDH分析作為評估細胞死亡程度的另一種方法，且吾人確認由類澱粉-β所導致的細胞死亡增加程度可被PEP-1減少，從1μM濃度開始可看到這樣的效果(參見第52圖)。

【0186】吾人也用BrdU分析確認了當以PEP-1處理時，可恢復歸因於類澱粉-β蛋白的減少的細胞增生(參見第53圖)。

【0187】由於神經幹細胞的本質，細胞活動性是一種生存要素(vital matter)。根據細胞活動性的實驗結果，吾人確認了相較於對照組，當以PEP-1處理時，可恢復歸因於類澱粉-β蛋白的減少的細胞增生，且甚至在PEP-1濃度為10μM時可使細胞活動性更為增加。這暗示著在未來的臨床試驗中，在幹細胞移植之前進行處理可能帶來更有效率的結果(參見第54圖)。

【0188】為了確認神經幹細胞損傷的程度，可進行TUNEL分析。在20μM的類澱粉-β蛋白處理組中，可觀察到神經幹細胞死亡顯著增加，且當以1μM至100μM的PEP 1處理

時，神經幹細胞死亡減少(參見第 55 圖)。

【0189】PEP-1 對類澱粉-β 蛋白引起的細胞凋亡起到保護功效的作用機制也被研究。首先，研究 PEP-1 是否能將類澱粉-β 蛋白造成的氧化性損傷降到最小。藉由使用 DCF-DA 染色(Molecular Probes，Eugene，OR)觀察以類澱粉-β 蛋白與 PEP-1 處理後，活性氧化物生成的改變。在活性氧化物因 20 μM 的類澱粉-β 蛋白而增加的組別中，藉由 PEP-1(1 μM、10 μM、50 μM)處理可使增加的活性氧化物減少(參見第 56 圖)。

【0190】實驗 1-4：以 PEP-1 處理的組別與未以 PEP-1 處理的組別之間的蛋白質表現量之比較性分析

【0191】藉由 2D-電泳技術及抗體微陣列技術分析以 PEP-1 處理的組別與未以 PEP-1 處理的組別的蛋白質表現量。製備從實例 3 的實驗 1-1 中培養的神經幹細胞所萃取的蛋白質體 200 ug。此外，使用未以 PEP-1 處理的組別作為相同條件下的比較組別。

【0192】使用 12%的丙烯醯胺凝膠進行 2D-電泳。首先使用 8.5 × 7 cm 的凝膠尺寸在 PI 4~10N 下進行凝膠電泳。在電泳之後，以膠體考馬斯藍(Colloidal Coomassie Blue)染色，並

接著使用 PDQuest 軟體分析各個點來比較表現量。

【0193】使用 MALDI-TOF MS (基質輔助雷射脫附離子化－飛行時間質譜儀)辨識表現量的差異超過 1.5 倍者。其中，辨識出與發炎相關訊號釋放有關的蛋白質，如 i-NOS 及 HMGB-1 (參見表 6)。無論是增加或減少，類澱粉-β 蛋白對蛋白質表現量的改變都超過 1.5 倍，但可確定的是，當加入 PEP-1 時，表現量都受到控制而接近陰性對照組(參見第 57 圖)。

【0194】藉由使用細胞發訊套組(CSAA1，PanoramaTM Ab Microarray Cell Signaling kit)來完成抗體微陣列，由 GenePix Personal 4100A 掃描器(Molecular Devices)掃描陣列載片，並由 GenePix Pro 5.0 (Molecular Devices)分析數據。

【0195】下表 6 為藉由 2D 電泳技術所完成之發炎相關蛋白質的表現量分析。對照組呈現的是未以類澱粉-β 蛋白處理也未以 PEP-1 處理之細胞的蛋白質表現量。表 6 顯示基於對照組的表現量之蛋白質表現的增加或減少倍數。

【0196】根據與下表 6 所示類似的分析結果，

吾人可確認發炎相關蛋白質的過量表現或不足量表現可受到 PEP-1 控制；蛋白質表現量接近陰性對照組。

【0197】 **表 6**

蛋白質	陰性對照組	以 20 μg 的 β-類澱粉處理組(倍數)	以 20 μg 的 β-類澱粉+PEP 1 處理組(倍數)
HSP 70	1.0	-2.3	1.2
HSP 90	1.0	-1.8	1.0
HMGB1	1.0	-1.5	2.8
GADD 153	1.0	1.6	1.2
i-NOS	1.0	1.9	-1.1
e-NOS	1.0	1.9	-1.1
Pyk2	1.0	2.0	1.2
MAP 激酶	1.0	2.2	1.0

【0198】 磷脂醯肌醇 3-激酶(PI3K)/AKT 訊號釋放路徑在神經幹細胞的生長及存活中扮演著關鍵角色。PI3K 路徑可被生長因子及調控因子活化，且 PI3K 路徑涉及神經幹細胞生長及存活的正常調控。AKT 訊號釋放路徑可使多種促凋亡因子(pro-apoptotic factor)失效，包括習知的凋亡訊號釋放分子 GSK3β。

【0199】 由於 HMGB1 在蛋白質分析中顯示出

較大的改變，因此為了進一步研究 PEP-1 的抗發炎功效，吾人對 HMGB1 進行西方墨點法分析。結果，PEP-1 的處理增加了諸如 Ki67、pAKT、PI3K、HSTF-1 及 Bcl-2 等抗凋亡蛋白的蛋白質表現量，並減少了諸如 Bax、GSK3β、細胞色素-c 及凋亡蛋白酶-3 等凋亡訊號因子的蛋白質表現量(參見第 58 圖)。

【0200】HMGB1，一種與 DNA 結合的非組織蛋白結構蛋白質，在細胞內扮演多種角色；如穩定核小體結構及調控基因表現。作為在發炎反應後期分泌的致發炎物質之一，當發炎反應被刺激時，巨噬細胞及單核球分泌出 HMGB1，但當神經顯著受損並導致細胞壞死時，HMGB1 將被分泌至細胞外，導致劇烈的發炎反應。在以類澱粉-β 處理使得神經細胞的細胞質中之 HMGB1 減少之後，藉由 PEP-1 處理可增加神經細胞的細胞質中之 HMGB1，這反映了 PEP-1 可抑制 HMGB1 因神經細胞死亡而被分泌至細胞外的事實；因而暗示了 PEP-1 具有有力的抗發炎功效(參見第 58 圖)。

【0201】此外，吾人研究了 PEP-1 對類澱粉-β 聚結的反應。在誘導類澱粉-β 聚結的情況下，當以 PEP-1 處理時，可抑制蛋白質聚結(參見

第 59(A)圖)，且以 PEP-1 處理已被誘導而聚結的類澱粉-β 蛋白可使蛋白質降解(參見第 59(B)圖)。

【0202】在 PEP-1 作用的機制中，先前吾人已確認了對 PI3K 之細胞存活訊號釋放的增加，以及對 PI3K 之凋亡訊號釋放的減少。為了研究這些功效是直接還是間接的，吾人以 PI3K-抑制劑，LY294002(Promega)，進行處理。結果，當以 LY294002 處理時，在以 PEP 1 處理後所增加的細胞存活比例降低了。因此，吾人可獲得 PI3K 與 PEP 1 的神經保護功效直接有關之結論(參見第 60 圖)。

【0203】PEP-1 可抑制因類澱粉-β 蛋白所致的神經幹細胞凋亡。並且，也確認了 PEP-1 可增進神經幹細胞的細胞活動性，因此暗示了臨床應用的各種可能性。對由 β-類澱粉蛋白所引起的神經毒性之抑制功效可由 PEP 1 作用機制的抗發炎功效、增加的神經幹細胞的存活因子及減少的凋亡因子，特別是 PI3K 訊號釋放路徑的活化及抗氧化功效的活化而獲得證實。

【0204】**實例 4**

【0205】*PEP RIA 系列胜肽(序列編號：2 至 179)對類澱粉-β 蛋白(amyloid-β protein)引起*

之發炎的功效

【0206】**實驗 1. 細胞培養**

【0207】將在預塗佈有聚-l-離胺酸(Sigma，Saint Louis，MO，USA)的 100mm 培養皿(Corning，PA，USA)上之 RPMI 1640 培養基(GIBCO，Grand Island，NY，USA)中生長的未分化 PC12 細胞(ATCC，Rockville，MD，USA)維持在生長對數期(logarithmic-phase)，所述 RPMI 1640 培養基含有 10%的熱去活化(heat-inactivated)之馬血清、5%的熱去活化之胎牛血清、100 單位/ml 的青黴素及 100g/ml 的鏈黴素。在具有 5%的 CO^2 之加濕氣氛中，於 37 °C 下培育培養物。使培養物生長到 50%密集度後，在含有 1mM EDTA 之無 Ca^{2+}/Mg^{2+} 漢克氏平衡鹽溶液(Hank's balanced salt solution)中收或細胞。以每個 100mm 培養皿 1×10^6 個細胞的密度將將細胞分盤，並培育 24 小時。就神經分化而言，PC12 細胞受到血清飢餓 12 小時(RPMI1640 培養基，其含有 100 單位/ml 的青黴素及 100 g/ml 的鏈黴素，而無馬血清或胎牛血清)；其後，在無血清培養基中維持細胞。兩天之後，以新鮮無血清培養基取代前述培養基。第三天，將 NGF(50 ng/ml，Sigma，Saint Louis，MO，USA)加入培養基，

並再維持培養物 3 天。在分化後，以 20μM 類澱粉-β加上數種濃度[0(對照)、1、10 及 50 μM]的胜肽培育 nPC12 細胞達 48 小時。

【0208】**實驗 2：西方墨點法分析**

【0209】藉由西方墨點法分析 HMGB1 的量。簡言之，5×10^6 個細胞在冷的 PBS 中洗滌兩次，並在分解緩衝液[50 mM Tris (pH 8.0)、150 mM NaCl、0.02%疊氮化鈉、0.2% SDS、100 μg/ml 苯甲基磺醯化氟(PMSF)、50 μl/ml 抑肽酶(aprotinin)、1% Igepal 630、100 mM NaF、0.5%去氧膽酸鈉(sodium deoxy choate)、0.5 mM EDTA、0.1 mM EGTA]中於冰上培養 10 分鐘；藉由在 2000 x g 下離心 10 分鐘使未破裂的細胞及細胞核成丸粒，並藉由在 10,000 x g 下離心以澄清溶胞產物。所使用的抗體為：抗-HMGB1 (1:1000，Cell Signaling，Beverly，MA，USA)及抗-β-微管蛋白(1:1000，Cell Signaling，Beverly，MA，USA)。以含有 0.05% Tween-20 (TBST)的三羥甲基氨基甲烷緩衝鹽水(Tris-buffered saline)洗滌濾膜，並接著使用 HRP 標記之抗-兔子抗體(Amersham Pharmacia Biotech，Piscataway，NJ，USA)處理濾膜，隨後進行 ECL 針測(Amersham Pharmacia Biotech)。以影像分析儀(GE

Healthcare，ImageQuant LAS 4000)來定量墨點。

【0210】根據西方墨點法分析的結果，選擇可在細胞中產生 HMGB1 堆積的胜肽。第 60 至 159 圖為所選胜肽的西方墨點法結果。在這些圖中，使用微管蛋白來確認蛋白質表現。所選擇的胜肽之序列如下：

【0211】序列編號：3、序列編號：4、序列編號：6、序列編號：7、序列編號：8、序列編號：9、序列編號：10、序列編號：11、序列編號：13、序列編號：14、序列編號：15、序列編號：16、序列編號：17、序列編號：22、序列編號：23、序列編號：24、序列編號：26、序列編號：27、序列編號：28、序列編號：29、序列編號：30、序列編號：35、序列編號：36、序列編號：37、序列編號：38、序列編號：40、序列編號：43、序列編號：45、序列編號：46、序列編號：47、序列編號：48、序列編號：57、序列編號：58、序列編號：61、序列編號：64、序列編號：65、序列編號：66、序列編號：68、序列編號：70、序列編號：73、序列編號：74、序列編號：75、序列編號：82、序列編號：83、序列編號：87、序列編號：88、序列編號：

89、序列編號：91、序列編號：93、序列編號：95、序列編號：96、序列編號：98、序列編號：102、序列編號：109、序列編號：110、序列編號：111、序列編號：112、序列編號：113、序列編號：115、序列編號：116、序列編號：117、序列編號：118、序列編號：119、序列編號：120、序列編號：121、序列編號：123、序列編號：127、序列編號：128、序列編號：130、序列編號：132、序列編號：133、序列編號：134、序列編號：135、序列編號：136、序列編號：142、序列編號：143、序列編號：144、序列編號：145、序列編號：147、序列編號：148、序列編號：149、序列編號：153、序列編號：154、序列編號：155、序列編號：157、序列編號：158、序列編號：164、序列編號：165、序列編號：166、序列編號：167、序列編號：170、序列編號：171、序列編號：172、序列編號：173、序列編號：175、序列編號：176、序列編號：177、序列編號：178、and 序列編號：179。

【符號說明】

【0212】

無

【生物材料寄存】

【 0 2 1 3 】　　國內寄存資訊 (請依寄存機構、日期、號碼順序註記)

無

【 0 2 1 4 】　　國外寄存資訊 (請依寄存國家、機構、日期、號碼順序註記)

無

【序列表】

<110> KAEL-GemVax Co., Ltd
KIM, Sangjae

<120> 抗發炎胜肽及包含其之成分

<130> OF13P081TW

<150> KR 10-2012-0050529
<151> 2012-05-11

<150> KR 10-2012-0050533
<151> 2012-05-11

<150> KR 10-2012-0071989
<151> 2012-07-02

<150> KR 10-2012-0104144
<151> 2012-09-19

<150> KR 10-2012-0104207
<151> 2012-09-19

<160> 180

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1
<211> 16
<212> PRT
<213> 智人

<400> 1

Glu Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg Leu Arg Phe Ile Pro Lys
1 5 10 15

<210> 2
<211> 17
<212> PRT
<213> 智人

<400> 2

Arg Glu Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg Leu Arg Phe Ile Pro
1 5 10 15

Lys

<210> 3
<211> 18
<212> PRT
<213> 智人

<400> 3

His Arg Glu Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg Leu Arg Phe Ile
1 5 10 15

Pro Lys

<210> 4
<211> 19
<212> PRT
<213> 智人

<400> 4

Gln His Arg Glu Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg Leu Arg Phe
1 5 10 15

Ile Pro Lys

<210> 5
<211> 20
<212> PRT
<213> 智人

<400> 5

Arg Gln His Arg Glu Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg Leu Arg
1 5 10 15

Phe Ile Pro Lys
20

<210> 6
<211> 21
<212> PRT
<213> 智人

<400> 6

Val Arg Gln His Arg Glu Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg Leu
1 5 10 15

Arg Phe Ile Pro Lys
20

<210> 7
<211> 22
<212> PRT
<213> 智人

<400> 7

Glu Val Arg Gln His Arg Glu Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg
1 5 10 15

Leu Arg Phe Ile Pro Lys
20

<210> 8
<211> 23
<212> PRT
<213> 智人

<400> 8

Ala Glu Val Arg Gln His Arg Glu Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser
1 5 10 15

Arg Leu Arg Phe Ile Pro Lys
20

<210> 9
<211> 24
<212> PRT
<213> 智人

<400> 9

Glu Ala Glu Val Arg Gln His Arg Glu Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr

1 5 10 15

Ser Arg Leu Arg Phe Ile Pro Lys
20

<210> 10
<211> 25
<212> PRT
<213> 智人

<400> 10

Ser Glu Ala Glu Val Arg Gln His Arg Glu Ala Arg Pro Ala Leu Leu
1 5 10 15

Thr Ser Arg Leu Arg Phe Ile Pro Lys
20 25

<210> 11
<211> 26
<212> PRT
<213> 智人

<400> 11

Leu Ser Glu Ala Glu Val Arg Gln His Arg Glu Ala Arg Pro Ala Leu
1 5 10 15

Leu Thr Ser Arg Leu Arg Phe Ile Pro Lys
20 25

<210> 12
<211> 27
<212> PRT
<213> 智人

<400> 12

Glu Leu Ser Glu Ala Glu Val Arg Gln His Arg Glu Ala Arg Pro Ala
1 5 10 15

Leu Leu Thr Ser Arg Leu Arg Phe Ile Pro Lys
20 25

<210> 13
<211> 28
<212> PRT
<213> 智人

<400> 13

Arg Glu Leu Ser Glu Ala Glu Val Arg Gln His Arg Glu Ala Arg Pro
1 5 10 15

Ala Leu Leu Thr Ser Arg Leu Arg Phe Ile Pro Lys
20 25

<210> 14
<211> 29
<212> PRT
<213> 智人

<400> 14

Leu Arg Glu Leu Ser Glu Ala Glu Val Arg Gln His Arg Glu Ala Arg
1 5 10 15

Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg Leu Arg Phe Ile Pro Lys
20 25

<210> 15
<211> 30
<212> PRT
<213> 智人

<400> 15

Gln Leu Arg Glu Leu Ser Glu Ala Glu Val Arg Gln His Arg Glu Ala
1 5 10 15

Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg Leu Arg Phe Ile Pro Lys
20 25 30

<210> 16
<211> 18
<212> PRT
<213> 智人

<400> 16

Arg Glu Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg Leu Arg Phe Ile Pro
1 5 10 15

Lys Pro

<210> 17
<211> 19
<212> PRT
<213> 智人

<400> 17

His Arg Glu Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg Leu Arg Phe Ile
1 5 10 15

Pro Lys Pro

<210> 18
<211> 20
<212> PRT
<213> 智人

<400> 18

His Arg Glu Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg Leu Arg Phe Ile
1 5 10 15

Pro Lys Pro Asp
20

<210> 19
<211> 19
<212> PRT
<213> 智人

<400> 19

Arg Glu Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg Leu Arg Phe Ile Pro
1 5 10 15

Lys Pro Asp

<210> 20
<211> 20
<212> PRT
<213> 智人

<400> 20

Gln His Arg Glu Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg Leu Arg Phe
1 5 10 15

Ile Pro Lys Pro
20

<210> 21
<211> 21
<212> PRT
<213> 智人

<400> 21

Gln His Arg Glu Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg Leu Arg Phe
1 5 10 15

Ile Pro Lys Pro Asp
20

<210> 22
<211> 22
<212> PRT
<213> 智人

<400> 22

Gln His Arg Glu Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg Leu Arg Phe
1 5 10 15

Ile Pro Lys Pro Asp Gly
20

<210> 23
<211> 21
<212> PRT
<213> 智人

<400> 23

His Arg Glu Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg Leu Arg Phe Ile
1 5 10 15

Pro Lys Pro Asp Gly
20

<210> 24
<211> 20
<212> PRT
<213> 智人

<400> 24

Arg Glu Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg Leu Arg Phe Ile Pro
1 5 10 15

Lys Pro Asp Gly
20

<210> 25
<211> 21
<212> PRT
<213> 智人

<400> 25

Arg Gln His Arg Glu Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg Leu Arg
1 5 10 15

Phe Ile Pro Lys Pro
20

<210> 26
<211> 22
<212> PRT
<213> 智人

<400> 26

Arg Gln His Arg Glu Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg Leu Arg
1 5 10 15

Phe Ile Pro Lys Pro Asp
20

<210> 27
<211> 23
<212> PRT
<213> 智人

<400> 27

Arg Gln His Arg Glu Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg Leu Arg
1 5 10 15

Phe Ile Pro Lys Pro Asp Gly
20

<210> 28
<211> 24
<212> PRT
<213> 智人

<400> 28

Arg Gln His Arg Glu Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg Leu Arg
1 5 10 15

Phe Ile Pro Lys Pro Asp Gly Leu
20

<210> 29
<211> 23
<212> PRT
<213> 智人

<400> 29

Gln His Arg Glu Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg Leu Arg Phe
1 5 10 15

Ile Pro Lys Pro Asp Gly Leu

20

<210> 30
<211> 22
<212> PRT
<213> 智人

<400> 30

His Arg Glu Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg Leu Arg Phe Ile
1 5 10 15

Pro Lys Pro Asp Gly Leu
20

<210> 31
<211> 21
<212> PRT
<213> 智人

<400> 31

Arg Glu Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg Leu Arg Phe Ile Pro
1 5 10 15

Lys Pro Asp Gly Leu
20

<210> 32
<211> 22
<212> PRT
<213> 智人

<400> 32

Val Arg Gln His Arg Glu Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg Leu
1 5 10 15

Arg Phe Ile Pro Lys Pro
20

<210> 33
<211> 23
<212> PRT
<213> 智人

<400> 33

Val Arg Gln His Arg Glu Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg Leu
1 5 10 15

Arg Phe Ile Pro Lys Pro Asp
20

<210> 34
<211> 24
<212> PRT
<213> 智人

<400> 34

Val Arg Gln His Arg Glu Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg Leu
1 5 10 15

Arg Phe Ile Pro Lys Pro Asp Gly
20

<210> 35
<211> 25
<212> PRT
<213> 智人

<400> 35

Val Arg Gln His Arg Glu Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg Leu
1 5 10 15

Arg Phe Ile Pro Lys Pro Asp Gly Leu
20 25

<210> 36
<211> 26
<212> PRT
<213> 智人

<400> 36

Val Arg Gln His Arg Glu Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg Leu
1 5 10 15

Arg Phe Ile Pro Lys Pro Asp Gly Leu Arg
20 25

<210> 37
<211> 25
<212> PRT
<213> 智人

<400> 37

Arg Gln His Arg Glu Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg Leu Arg
1 5 10 15

Phe Ile Pro Lys Pro Asp Gly Leu Arg
20 25

<210> 38
<211> 24
<212> PRT
<213> 智人

<400> 38

Gln His Arg Glu Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg Leu Arg Phe
1 5 10 15

Ile Pro Lys Pro Asp Gly Leu Arg
20

<210> 39
<211> 23
<212> PRT
<213> 智人

<400> 39

His Arg Glu Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg Leu Arg Phe Ile
1 5 10 15

Pro Lys Pro Asp Gly Leu Arg
20

<210> 40
<211> 22
<212> PRT
<213> 智人

<400> 40

Arg Glu Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg Leu Arg Phe Ile Pro
1 5 10 15

Lys Pro Asp Gly Leu Arg
20

<210> 41
<211> 23
<212> PRT
<213> 智人

<400> 41

Glu Val Arg Gln His Arg Glu Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg
1 5 10 15

Leu Arg Phe Ile Pro Lys Pro
20

<210> 42
<211> 24
<212> PRT
<213> 智人

<400> 42

Glu Val Arg Gln His Arg Glu Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg
1 5 10 15

Leu Arg Phe Ile Pro Lys Pro Asp
20

<210> 43
<211> 25
<212> PRT
<213> 智人

<400> 43

Glu Val Arg Gln His Arg Glu Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg
1 5 10 15

Leu Arg Phe Ile Pro Lys Pro Asp Gly
20 25

<210> 44
<211> 26
<212> PRT
<213> 智人

<400> 44

Glu Val Arg Gln His Arg Glu Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg
1 5 10 15

Leu Arg Phe Ile Pro Lys Pro Asp Gly Leu
20 25

<210> 45
<211> 27
<212> PRT
<213> 智人

<400> 45

Glu Val Arg Gln His Arg Glu Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg
1 5 10 15

Leu Arg Phe Ile Pro Lys Pro Asp Gly Leu Arg
20 25

<210> 46
<211> 28
<212> PRT
<213> 智人

<400> 46

Glu Val Arg Gln His Arg Glu Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg
1 5 10 15

Leu Arg Phe Ile Pro Lys Pro Asp Gly Leu Arg Pro
20 25

<210> 47
<211> 27
<212> PRT
<213> 智人

<400> 47

Val Arg Gln His Arg Glu Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg Leu
1 5 10 15

Arg Phe Ile Pro Lys Pro Asp Gly Leu Arg Pro
20 25

<210> 48
<211> 26
<212> PRT
<213> 智人

<400> 48

Arg Gln His Arg Glu Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg Leu Arg
1 5 10 15

Phe Ile Pro Lys Pro Asp Gly Leu Arg Pro
20 25

<210> 49
<211> 25
<212> PRT
<213> 智人

<400> 49

Gln His Arg Glu Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg Leu Arg Phe
1 5 10 15

Ile Pro Lys Pro Asp Gly Leu Arg Pro
20 25

<210> 50

<211> 24
<212> PRT
<213> 智人

<400> 50

His Arg Glu Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg Leu Arg Phe Ile
1 5 10 15

Pro Lys Pro Asp Gly Leu Arg Pro
20

<210> 51
<211> 23
<212> PRT
<213> 智人

<400> 51

Arg Glu Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg Leu Arg Phe Ile Pro
1 5 10 15

Lys Pro Asp Gly Leu Arg Pro
20

<210> 52
<211> 24
<212> PRT
<213> 智人

<400> 52

Ala Glu Val Arg Gln His Arg Glu Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser
1 5 10 15

Arg Leu Arg Phe Ile Pro Lys Pro
20

<210> 53
<211> 25
<212> PRT
<213> 智人

<400> 53

Ala Glu Val Arg Gln His Arg Glu Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser
1 5 10 15

Arg Leu Arg Phe Ile Pro Lys Pro Asp
20 25

<210> 54
<211> 26
<212> PRT
<213> 智人

<400> 54

Ala Glu Val Arg Gln His Arg Glu Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser
1 5 10 15

Arg Leu Arg Phe Ile Pro Lys Pro Asp Gly
20 25

<210> 55
<211> 27

<212> PRT
<213> 智人

<400> 55

Ala Glu Val Arg Gln His Arg Glu Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser
1 5 10 15

Arg Leu Arg Phe Ile Pro Lys Pro Asp Gly Leu
20 25

<210> 56
<211> 28
<212> PRT
<213> 智人

<400> 56

Ala Glu Val Arg Gln His Arg Glu Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser
1 5 10 15

Arg Leu Arg Phe Ile Pro Lys Pro Asp Gly Leu Arg
20 25

<210> 57
<211> 29
<212> PRT
<213> 智人

<400> 57

Ala Glu Val Arg Gln His Arg Glu Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser
1 5 10 15

Arg Leu Arg Phe Ile Pro Lys Pro Asp Gly Leu Arg Pro
20 25

<210> 58
<211> 30
<212> PRT
<213> 智人

<400> 58

Ala Glu Val Arg Gln His Arg Glu Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser
1 5 10 15

Arg Leu Arg Phe Ile Pro Lys Pro Asp Gly Leu Arg Pro Ile
20 25 30

<210> 59
<211> 29
<212> PRT
<213> 智人

<400> 59

Glu Val Arg Gln His Arg Glu Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg
1 5 10 15

Leu Arg Phe Ile Pro Lys Pro Asp Gly Leu Arg Pro Ile
20 25

<210> 60
<211> 28
<212> PRT

<213> 智人

<400> 60

Val Arg Gln His Arg Glu Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg Leu
1 5 10 15

Arg Phe Ile Pro Lys Pro Asp Gly Leu Arg Pro Ile
20 25

<210> 61
<211> 27
<212> PRT
<213> 智人

<400> 61

Arg Gln His Arg Glu Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg Leu Arg
1 5 10 15

Phe Ile Pro Lys Pro Asp Gly Leu Arg Pro Ile
20 25

<210> 62
<211> 26
<212> PRT
<213> 智人

<400> 62

Gln His Arg Glu Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg Leu Arg Phe
1 5 10 15

Ile Pro Lys Pro Asp Gly Leu Arg Pro Ile
20 25

<210> 63
<211> 25
<212> PRT
<213> 智人

<400> 63

His Arg Glu Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg Leu Arg Phe Ile
1 5 10 15

Pro Lys Pro Asp Gly Leu Arg Pro Ile
20 25

<210> 64
<211> 24
<212> PRT
<213> 智人

<400> 64

Arg Glu Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg Leu Arg Phe Ile Pro
1 5 10 15

Lys Pro Asp Gly Leu Arg Pro Ile
20

<210> 65
<211> 17
<212> PRT
<213> 智人

<400> 65

Glu Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg Leu Arg Phe Ile Pro Lys
1 5 10 15

Pro

<210> 66
<211> 18
<212> PRT
<213> 智人

<400> 66

Glu Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg Leu Arg Phe Ile Pro Lys
1 5 10 15

Pro Asp

<210> 67
<211> 19
<212> PRT
<213> 智人

<400> 67

Glu Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg Leu Arg Phe Ile Pro Lys
1 5 10 15

Pro Asp Gly

<210> 68
<211> 21
<212> PRT
<213> 智人

<400> 68

Glu Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg Leu Arg Phe Ile Pro Lys
1 5 10 15

Pro Asp Gly Leu Arg
20

<210> 69
<211> 22
<212> PRT
<213> 智人

<400> 69

Glu Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg Leu Arg Phe Ile Pro Lys
1 5 10 15

Pro Asp Gly Leu Arg Pro
20

<210> 70
<211> 23
<212> PRT
<213> 智人

<400> 70

Glu Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg Leu Arg Phe Ile Pro Lys
1 5 10 15

Pro Asp Gly Leu Arg Pro Ile
20

<210> 71
<211> 24
<212> PRT
<213> 智人

<400> 71

Glu Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg Leu Arg Phe Ile Pro Lys
1 5 10 15

Pro Asp Gly Leu Arg Pro Ile Val
20

<210> 72
<211> 25
<212> PRT
<213> 智人

<400> 72

Glu Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg Leu Arg Phe Ile Pro Lys
1 5 10 15

Pro Asp Gly Leu Arg Pro Ile Val Asn
20 25

<210> 73
<211> 26
<212> PRT
<213> 智人

<400> 73

Glu Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg Leu Arg Phe Ile Pro Lys
1 5 10 15

Pro Asp Gly Leu Arg Pro Ile Val Asn Met
20 25

<210> 74
<211> 27
<212> PRT
<213> 智人

<400> 74

Glu Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg Leu Arg Phe Ile Pro Lys
1 5 10 15

Pro Asp Gly Leu Arg Pro Ile Val Asn Met Asp
20 25

<210> 75
<211> 28
<212> PRT
<213> 智人

<400> 75

Glu Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg Leu Arg Phe Ile Pro Lys
1 5 10 15

Pro Asp Gly Leu Arg Pro Ile Val Asn Met Asp Tyr
20 25

<210> 76
<211> 29
<212> PRT
<213> 智人

<400> 76

Glu Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg Leu Arg Phe Ile Pro Lys
1 5 10 15

Pro Asp Gly Leu Arg Pro Ile Val Asn Met Asp Tyr Val
20 25

<210> 77
<211> 30
<212> PRT
<213> 智人

<400> 77

Glu Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg Leu Arg Phe Ile Pro Lys
1 5 10 15

Pro Asp Gly Leu Arg Pro Ile Val Asn Met Asp Tyr Val Val
20 25 30

<210> 78
<211> 15
<212> PRT
<213> 智人

<400> 78

Glu Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg Leu Arg Phe Ile Pro
1 5 10 15

<210> 79
<211> 14
<212> PRT
<213> 智人

<400> 79

Glu Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg Leu Arg Phe Ile
1 5 10

<210> 80
<211> 13
<212> PRT
<213> 智人

<400> 80

Glu Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg Leu Arg Phe
1 5 10

<210> 81
<211> 12
<212> PRT
<213> 智人

<400> 81

Glu Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg Leu Arg
1 5 10

<210> 82
<211> 11
<212> PRT
<213> 智人

<400> 82

Glu Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg Leu
1 5 10

<210> 83
<211> 10
<212> PRT
<213> 智人

<400> 83

Glu Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg
1 5 10

<210> 84
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人

<400> 84

Glu Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser
1 5

<210> 85
<211> 8
<212> PRT
<213> 智人

<400> 85

Glu Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr
1 5

<210> 86
<211> 7
<212> PRT
<213> 智人

<400> 86

Glu Ala Arg Pro Ala Leu Leu
1 5

<210> 87
<211> 6
<212> PRT
<213> 智人

<400> 87

Glu Ala Arg Pro Ala Leu
1 5

<210> 88
<211> 5
<212> PRT

<213> 智人

<400> 88

Glu Ala Arg Pro Ala
1 5

<210> 89
<211> 4
<212> PRT
<213> 智人

<400> 89

Glu Ala Arg Pro
1

<210> 90
<211> 3
<212> PRT
<213> 智人

<400> 90

Glu Ala Arg
1

<210> 91
<211> 15
<212> PRT
<213> 智人

<400> 91

Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg Leu Arg Phe Ile Pro Lys
1 5 10 15

<210> 92
<211> 14
<212> PRT
<213> 智人

<400> 92

Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg Leu Arg Phe Ile Pro Lys
1 5 10

<210> 93
<211> 13
<212> PRT
<213> 智人

<400> 93

Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg Leu Arg Phe Ile Pro Lys
1 5 10

<210> 94
<211> 12
<212> PRT
<213> 智人

<400> 94

Ala Leu Leu Thr Ser Arg Leu Arg Phe Ile Pro Lys
1 5 10

<210> 95
<211> 11

<212> PRT
<213> 智人

<400> 95

Leu Leu Thr Ser Arg Leu Arg Phe Ile Pro Lys
1 5 10

<210> 96
<211> 10
<212> PRT
<213> 智人

<400> 96

Leu Thr Ser Arg Leu Arg Phe Ile Pro Lys
1 5 10

<210> 97
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人

<400> 97

Thr Ser Arg Leu Arg Phe Ile Pro Lys
1 5

<210> 98
<211> 8
<212> PRT
<213> 智人

<400> 98

Ser Arg Leu Arg Phe Ile Pro Lys
1 5

<210> 99
<211> 7
<212> PRT
<213> 智人

<400> 99

Arg Leu Arg Phe Ile Pro Lys
1 5

<210> 100
<211> 6
<212> PRT
<213> 智人

<400> 100

Leu Arg Phe Ile Pro Lys
1 5

<210> 101
<211> 5
<212> PRT
<213> 智人

<400> 101

Arg Phe Ile Pro Lys
1 5

<210> 102

<211> 4
<212> PRT
<213> 智人

<400> 102

Phe Ile Pro Lys
1

<210> 103
<211> 3
<212> PRT
<213> 智人

<400> 103

Ile Pro Lys
1

<210> 104
<211> 14
<212> PRT
<213> 智人

<400> 104

Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg Leu Arg Phe Ile Pro
1 5 10

<210> 105
<211> 12
<212> PRT
<213> 智人

<400> 105

Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg Leu Arg Phe Ile
1 5 10

<210> 106
<211> 10
<212> PRT
<213> 智人

<400> 106

Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg Leu Arg Phe
1 5 10

<210> 107
<211> 8
<212> PRT
<213> 智人

<400> 107

Ala Leu Leu Thr Ser Arg Leu Arg
1 5

<210> 108
<211> 6
<212> PRT
<213> 智人

<400> 108

Leu Leu Thr Ser Arg Leu
1 5

<210> 109
<211> 4
<212> PRT
<213> 智人

<400> 109

Leu Thr Ser Arg
1

<210> 110
<211> 13
<212> PRT
<213> 智人

<400> 110

Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg Leu Arg Phe Ile
1 5 10

<210> 111
<211> 12
<212> PRT
<213> 智人

<400> 111

Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg Leu Arg Phe
1 5 10

<210> 112
<211> 11
<212> PRT
<213> 智人

<400> 112

Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg Leu Arg
1 5 10

<210> 113
<211> 10
<212> PRT
<213> 智人

<400> 113

Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg Leu
1 5 10

<210> 114
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人

<400> 114

Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg
1 5

<210> 115
<211> 8
<212> PRT
<213> 智人

<400> 115

Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser
1 5

<210> 116
<211> 7
<212> PRT
<213> 智人

<400> 116

Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr
1 5

<210> 117
<211> 6
<212> PRT
<213> 智人

<400> 117

Ala Arg Pro Ala Leu Leu
1 5

<210> 118
<211> 5
<212> PRT
<213> 智人

<400> 118

Ala Arg Pro Ala Leu
1 5

<210> 119
<211> 4
<212> PRT
<213> 智人

<400> 119

Ala Arg Pro Ala
1

<210> 120
<211> 3
<212> PRT
<213> 智人

<400> 120

Ala Arg Pro
1

<210> 121
<211> 13
<212> PRT
<213> 智人

<400> 121

Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg Leu Arg Phe Ile Pro
1 5 10

<210> 122
<211> 11
<212> PRT
<213> 智人

<400> 122

Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg Leu Arg Phe
1 5 10

<210> 123
<211> 10
<212> PRT
<213> 智人

<400> 123

Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg Leu Arg
1 5 10

<210> 124
<211> 8
<212> PRT
<213> 智人

<400> 124

Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg
1 5

<210> 125
<211> 7
<212> PRT
<213> 智人

<400> 125

Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser
1 5

<210> 126
<211> 6
<212> PRT
<213> 智人

<400> 126

Arg Pro Ala Leu Leu Thr
1 5

<210> 127
<211> 5
<212> PRT
<213> 智人

<400> 127

Arg Pro Ala Leu Leu
1 5

<210> 128
<211> 4
<212> PRT
<213> 智人

<400> 128

Arg Pro Ala Leu
1

<210> 129
<211> 3
<212> PRT
<213> 智人

<400> 129

Arg Pro Ala

1

<210> 130
<211> 12
<212> PRT
<213> 智人

<400> 130

Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg Leu Arg Phe Ile Pro
1 5 10

<210> 131
<211> 11
<212> PRT
<213> 智人

<400> 131

Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg Leu Arg Phe Ile
1 5 10

<210> 132
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人

<400> 132

Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg Leu Arg
1 5

<210> 133
<211> 8
<212> PRT
<213> 智人

<400> 133

Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg Leu
1 5

<210> 134
<211> 7
<212> PRT
<213> 智人

<400> 134

Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg
1 5

<210> 135
<211> 6
<212> PRT
<213> 智人

<400> 135

Pro Ala Leu Leu Thr Ser
1 5

<210> 136
<211> 5
<212> PRT
<213> 智人

<400> 136

Pro Ala Leu Leu Thr
1 5

<210> 137
<211> 4
<212> PRT
<213> 智人

<400> 137

Pro Ala Leu Leu
1

<210> 138
<211> 3
<212> PRT
<213> 智人

<400> 138

Pro Ala Leu
1

<210> 139
<211> 11
<212> PRT
<213> 智人

<400> 139

Ala Leu Leu Thr Ser Arg Leu Arg Phe Ile Pro
1 5 10

<210> 140
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人

<400> 140

Ala Leu Leu Thr Ser Arg Leu Arg Phe
1 5

<210> 141
<211> 7
<212> PRT
<213> 智人

<400> 141

Ala Leu Leu Thr Ser Arg Leu
1 5

<210> 142
<211> 6
<212> PRT
<213> 智人

<400> 142

Ala Leu Leu Thr Ser Arg
1 5

<210> 143
<211> 5
<212> PRT
<213> 智人

<400> 143

Ala Leu Leu Thr Ser
1 5

<210> 144
<211> 4
<212> PRT
<213> 智人

<400> 144

Ala Leu Leu Thr
1

<210> 145
<211> 3
<212> PRT
<213> 智人

<400> 145

Ala Leu Leu
1

<210> 146
<211> 10
<212> PRT
<213> 智人

<400> 146

Leu Leu Thr Ser Arg Leu Arg Phe Ile Pro
1 5 10

<210> 147
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人

<400> 147

Leu Leu Thr Ser Arg Leu Arg Phe Ile
1 5

<210> 148
<211> 8
<212> PRT
<213> 智人

<400> 148

Leu Leu Thr Ser Arg Leu Arg Phe
1 5

<210> 149
<211> 7
<212> PRT
<213> 智人

<400> 149

Leu Leu Thr Ser Arg Leu Arg
1 5

<210> 150
<211> 5
<212> PRT
<213> 智人

<400> 150

Leu Leu Thr Ser Arg
1 5

<210> 151
<211> 4
<212> PRT
<213> 智人

<400> 151

Leu Leu Thr Ser
1

<210> 152
<211> 3
<212> PRT
<213> 智人

<400> 152

Leu Leu Thr
1

<210> 153
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人

<400> 153

Leu Thr Ser Arg Leu Arg Phe Ile Pro
1 5

<210> 154
<211> 8
<212> PRT
<213> 智人

<400> 154

Leu Thr Ser Arg Leu Arg Phe Ile
1 5

<210> 155
<211> 7
<212> PRT
<213> 智人

<400> 155

Leu Thr Ser Arg Leu Arg Phe
1 5

<210> 156
<211> 6
<212> PRT
<213> 智人

<400> 156

Leu Thr Ser Arg Leu Arg
1 5

<210> 157
<211> 5
<212> PRT
<213> 智人

<400> 157

Leu Thr Ser Arg Leu
1 5

<210> 158
<211> 3
<212> PRT
<213> 智人

<400> 158

Leu Thr Ser
1

<210> 159
<211> 8
<212> PRT
<213> 智人

<400> 159

Thr Ser Arg Leu Arg Phe Ile Pro
1 5

<210> 160
<211> 7
<212> PRT
<213> 智人

<400> 160

Thr Ser Arg Leu Arg Phe Ile
1 5

<210> 161
<211> 6
<212> PRT
<213> 智人

<400> 161

Thr Ser Arg Leu Arg Phe
1 5

<210> 162
<211> 5
<212> PRT
<213> 智人

<400> 162

Thr Ser Arg Leu Arg
1 5

<210> 163
<211> 4
<212> PRT
<213> 智人

<400> 163

Thr Ser Arg Leu
1

<210> 164
<211> 3
<212> PRT

<213> 智人

<400> 164

Thr Ser Arg
1

<210> 165
<211> 7
<212> PRT
<213> 智人

<400> 165

Ser Arg Leu Arg Phe Ile Pro
1 5

<210> 166
<211> 6
<212> PRT
<213> 智人

<400> 166

Ser Arg Leu Arg Phe Ile
1 5

<210> 167
<211> 5
<212> PRT
<213> 智人

<400> 167

Ser Arg Leu Arg Phe
1 5

<210> 168
<211> 4
<212> PRT
<213> 智人

<400> 168

Ser Arg Leu Arg
1

<210> 169
<211> 3
<212> PRT
<213> 智人

<400> 169

Ser Arg Leu
1

<210> 170
<211> 6
<212> PRT
<213> 智人

<400> 170

Arg Leu Arg Phe Ile Pro
1 5

<210> 171
<211> 5

<212> PRT
<213> 智人

<400> 171

Arg Leu Arg Phe Ile
1 5

<210> 172
<211> 4
<212> PRT
<213> 智人

<400> 172

Arg Leu Arg Phe
1

<210> 173
<211> 3
<212> PRT
<213> 智人

<400> 173

Arg Leu Arg
1

<210> 174
<211> 5
<212> PRT
<213> 智人

<400> 174

Leu Arg Phe Ile Pro
1 5

<210> 175
<211> 4
<212> PRT
<213> 智人

<400> 175

Leu Arg Phe Ile
1

<210> 176
<211> 3
<212> PRT
<213> 智人

<400> 176

Leu Arg Phe
1

<210> 177
<211> 4
<212> PRT
<213> 智人

<400> 177

Arg Phe Ile Pro
1

<210> 178

<211> 3
<212> PRT
<213> 智人

<400> 178

Arg Phe Ile
1

<210> 179
<211> 3
<212> PRT
<213> 智人

<400> 179

Phe Ile Pro
1

<210> 180
<211> 1132
<212> PRT
<213> 智人

<400> 180

Met Pro Arg Ala Pro Arg Cys Arg Ala Val Arg Ser Leu Leu Arg Ser
1 5 10 15

His Tyr Arg Glu Val Leu Pro Leu Ala Thr Phe Val Arg Arg Leu Gly
20 25 30

Pro Gln Gly Trp Arg Leu Val Gln Arg Gly Asp Pro Ala Ala Phe Arg
35 40 45

Ala Leu Val Ala Gln Cys Leu Val Cys Val Pro Trp Asp Ala Arg Pro
50 55 60

Pro Pro Ala Ala Pro Ser Phe Arg Gln Val Ser Cys Leu Lys Glu Leu
65 70 75 80

Val Ala Arg Val Leu Gln Arg Leu Cys Glu Arg Gly Ala Lys Asn Val
85 90 95

Leu Ala Phe Gly Phe Ala Leu Leu Asp Gly Ala Arg Gly Gly Pro Pro
100 105 110

Glu Ala Phe Thr Thr Ser Val Arg Ser Tyr Leu Pro Asn Thr Val Thr
115 120 125

Asp Ala Leu Arg Gly Ser Gly Ala Trp Gly Leu Leu Leu Arg Arg Val
130 135 140

Gly Asp Asp Val Leu Val His Leu Leu Ala Arg Cys Ala Leu Phe Val
145 150 155 160

Leu Val Ala Pro Ser Cys Ala Tyr Gln Val Cys Gly Pro Pro Leu Tyr
165 170 175

Gln Leu Gly Ala Ala Thr Gln Ala Arg Pro Pro Pro His Ala Ser Gly
180 185 190

Pro Arg Arg Arg Leu Gly Cys Glu Arg Ala Trp Asn His Ser Val Arg
195 200 205

Glu Ala Gly Val Pro Leu Gly Leu Pro Ala Pro Gly Ala Arg Arg Arg
210 215 220

Gly Gly Ser Ala Ser Arg Ser Leu Pro Leu Pro Lys Arg Pro Arg Arg
225 230 235 240

Gly Ala Ala Pro Glu Pro Glu Arg Thr Pro Val Gly Gln Gly Ser Trp
245 250 255

Ala His Pro Gly Arg Thr Arg Gly Pro Ser Asp Arg Gly Phe Cys Val
260 265 270

Val Ser Pro Ala Arg Pro Ala Glu Glu Ala Thr Ser Leu Glu Gly Ala
275 280 285

Leu Ser Gly Thr Arg His Ser His Pro Ser Val Gly Arg Gln His His
290 295 300

Ala Gly Pro Pro Ser Thr Ser Arg Pro Pro Arg Pro Trp Asp Thr Pro
305 310 315 320

Cys Pro Pro Val Tyr Ala Glu Thr Lys His Phe Leu Tyr Ser Ser Gly
325 330 335

Asp Lys Glu Gln Leu Arg Pro Ser Phe Leu Leu Ser Ser Leu Arg Pro
340 345 350

Ser Leu Thr Gly Ala Arg Arg Leu Val Glu Thr Ile Phe Leu Gly Ser
355 360 365

Arg Pro Trp Met Pro Gly Thr Pro Arg Arg Leu Pro Arg Leu Pro Gln
370 375 380

Arg Tyr Trp Gln Met Arg Pro Leu Phe Leu Glu Leu Leu Gly Asn His
385 390 395 400

Ala Gln Cys Pro Tyr Gly Val Leu Leu Lys Thr His Cys Pro Leu Arg
405 410 415

Ala Ala Val Thr Pro Ala Ala Gly Val Cys Ala Arg Glu Lys Pro Gln
420 425 430

Gly Ser Val Ala Ala Pro Glu Glu Glu Asp Thr Asp Pro Arg Arg Leu
435 440 445

Val Gln Leu Leu Arg Gln His Ser Ser Pro Trp Gln Val Tyr Gly Phe
450 455 460

Val Arg Ala Cys Leu Arg Arg Leu Val Pro Pro Gly Leu Trp Gly Ser
465 470 475 480

Arg His Asn Glu Arg Arg Phe Leu Arg Asn Thr Lys Lys Phe Ile Ser
485 490 495

Leu Gly Lys His Ala Lys Leu Ser Leu Gln Glu Leu Thr Trp Lys Met
500 505 510

Ser Val Arg Asp Cys Ala Trp Leu Arg Arg Ser Pro Gly Val Gly Cys
515 520 525

Val Pro Ala Ala Glu His Arg Leu Arg Glu Glu Ile Leu Ala Lys Phe
530 535 540

Leu His Trp Leu Met Ser Val Tyr Val Val Glu Leu Leu Arg Ser Phe
545 550 555 560

Phe Tyr Val Thr Glu Thr Thr Phe Gln Lys Asn Arg Leu Phe Phe Tyr
565 570 575

Arg Lys Ser Val Trp Ser Lys Leu Gln Ser Ile Gly Ile Arg Gln His
580 585 590

Leu Lys Arg Val Gln Leu Arg Glu Leu Ser Glu Ala Glu Val Arg Gln
595 600 605

His Arg Glu Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg Leu Arg Phe Ile
610 615 620

Pro Lys Pro Asp Gly Leu Arg Pro Ile Val Asn Met Asp Tyr Val Val
625 630 635 640

Gly Ala Arg Thr Phe Arg Arg Glu Lys Arg Ala Glu Arg Leu Thr Ser
645 650 655

Arg Val Lys Ala Leu Phe Ser Val Leu Asn Tyr Glu Arg Ala Arg Arg
660 665 670

Pro Gly Leu Leu Gly Ala Ser Val Leu Gly Leu Asp Asp Ile His Arg
675 680 685

Ala Trp Arg Thr Phe Val Leu Arg Val Arg Ala Gln Asp Pro Pro Pro
690 695 700

Glu Leu Tyr Phe Val Lys Val Asp Val Thr Gly Ala Tyr Asp Thr Ile
705 710 715 720

Pro Gln Asp Arg Leu Thr Glu Val Ile Ala Ser Ile Ile Lys Pro Gln
725 730 735

Asn Thr Tyr Cys Val Arg Arg Tyr Ala Val Val Gln Lys Ala Ala His
740 745 750

Gly His Val Arg Lys Ala Phe Lys Ser His Val Ser Thr Leu Thr Asp
755 760 765

Leu Gln Pro Tyr Met Arg Gln Phe Val Ala His Leu Gln Glu Thr Ser
770 775 780

Pro Leu Arg Asp Ala Val Val Ile Glu Gln Ser Ser Ser Leu Asn Glu
785 790 795 800

Ala Ser Ser Gly Leu Phe Asp Val Phe Leu Arg Phe Met Cys His His
805 810 815

Ala Val Arg Ile Arg Gly Lys Ser Tyr Val Gln Cys Gln Gly Ile Pro
820 825 830

Gln Gly Ser Ile Leu Ser Thr Leu Leu Cys Ser Leu Cys Tyr Gly Asp
835 840 845

Met Glu Asn Lys Leu Phe Ala Gly Ile Arg Arg Asp Gly Leu Leu Leu
850 855 860

Arg Leu Val Asp Asp Phe Leu Leu Val Thr Pro His Leu Thr His Ala
865 870 875 880

Lys Thr Phe Leu Arg Thr Leu Val Arg Gly Val Pro Glu Tyr Gly Cys
885 890 895

Val Val Asn Leu Arg Lys Thr Val Val Asn Phe Pro Val Glu Asp Glu
900 905 910

Ala Leu Gly Gly Thr Ala Phe Val Gln Met Pro Ala His Gly Leu Phe
915 920 925

Pro Trp Cys Gly Leu Leu Leu Asp Thr Arg Thr Leu Glu Val Gln Ser
930 935 940

Asp Tyr Ser Ser Tyr Ala Arg Thr Ser Ile Arg Ala Ser Leu Thr Phe
945 950 955 960

Asn Arg Gly Phe Lys Ala Gly Arg Asn Met Arg Arg Lys Leu Phe Gly
965 970 975

Val Leu Arg Leu Lys Cys His Ser Leu Phe Leu Asp Leu Gln Val Asn
980 985 990

Ser Leu Gln Thr Val Cys Thr Asn Ile Tyr Lys Ile Leu Leu Leu Gln
995 1000 1005

Ala Tyr Arg Phe His Ala Cys Val Leu Gln Leu Pro Phe His Gln
1010 1015 1020

Gln Val Trp Lys Asn Pro Thr Phe Phe Leu Arg Val Ile Ser Asp
1025 1030 1035

Thr Ala Ser Leu Cys Tyr Ser Ile Leu Lys Ala Lys Asn Ala Gly
1040 1045 1050

Met Ser Leu Gly Ala Lys Gly Ala Ala Gly Pro Leu Pro Ser Glu
1055 1060 1065

Ala Val Gln Trp Leu Cys His Gln Ala Phe Leu Leu Lys Leu Thr
1070 1075 1080

Arg His Arg Val Thr Tyr Val Pro Leu Leu Gly Ser Leu Arg Thr
1085 1090 1095

Ala Gln Thr Gln Leu Ser Arg Lys Leu Pro Gly Thr Thr Leu Thr
1100 1105 1110

Ala Leu Glu Ala Ala Ala Asn Pro Ala Leu Pro Ser Asp Phe Lys
1115 1120 1125

Thr Ile Leu Asp
1130

【發明申請專利範圍】

【請求項1】 一種具有抗發炎活性之胜肽，其中該胜肽係由選自序列編號：108、80、81、82、83、91、96、97、109及140中之至少一個胺基酸序列所構成。

【請求項2】 如請求項1所述之胜肽，其中該胜肽源自人類端粒酶。

【請求項3】 一種聚核苷酸，其編碼如前述請求項中任一項所述之一胜肽。

【請求項4】 如請求項1所述之胜肽用於製造一抗發炎組成物之用途。

【請求項5】 如請求項4所述之用途，其中該組成物係用於改善皮膚發炎之一化妝品組成物。

【請求項6】 如請求項4所述之用途，其中該組成物係用於治療或改善發炎疾病之一醫藥組成物。

【請求項7】 如請求項6所述之用途，其中該發炎疾病係選自由：(1)普遍的或局部的發炎疾病；(2)腸胃相關疾病；(3)皮膚相關疾病；(4)血管相關疾病；(5)呼吸道疾病；(6)骨骼、關節、肌肉及結締組織相關疾病；(7)

泌尿生殖器失調；(8)中樞或周邊神經系統相關疾病；(9)感染症；(10)自體免疫疾病；以及(11)癌症或腫瘤疾病所組成之群組。

【請求項8】 如請求項7所述之用途，其中該發炎疾病係選自由：過敏症；免疫複合體疾病(immune-complex disease)；乾草熱(hayfever)；過敏性休克(hypersensitive shock)；內毒素休克(endotoxin shock)；惡病質(cachexia)、體溫過高(hyperthermia)；肉芽腫(granulomatosis)；類肉瘤病(sarcoidosis)；闌尾炎；胃潰瘍；十二指腸潰瘍；腹膜炎；胰臟炎；潰瘍性結腸炎、急性結腸炎或缺血性結腸炎；膽管炎；膽囊炎、脂肪痢(steatorrhea)、肝炎、克隆氏症(Crone's disease)；惠氏症(Whipple's Disease)；牛皮癬；燒傷；曬傷；皮膚炎；蕁麻疹性疣；水皰；脈管炎(angiitis)；血管炎(vasculitis)；心內膜炎；動脈炎(arteritis)；動脈硬化；血栓靜脈炎；心包炎；充血性心臟衰竭；心肌炎；心肌缺血；結節性動脈周圍炎(periarteritis nodosa)；週期性狹窄症(recurrent stenosis)；柏格氏

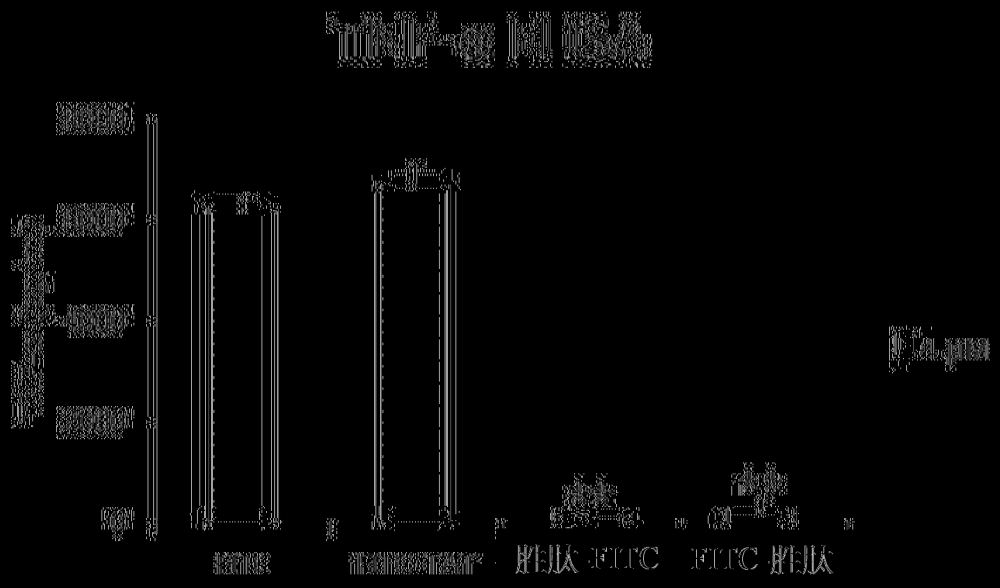
症(Buerger's disease)；風濕熱；氣喘；會厭炎；支氣管炎；肺氣腫；鼻炎；囊性纖維化；間質性肺炎；COPD(慢性阻塞性肺病)；成人呼吸窘迫症候群；肺塵病(coniosis)；肺泡炎；細支氣管炎；咽炎；肋膜炎；鼻竇炎；嗜伊紅性肉芽腫；關節炎；關節痛；骨髓炎；皮肌炎；筋膜炎；柏哲氏症(Paget's disease)；痛風；牙周病；類風濕性關節炎；重症肌無力症；僵直性脊椎炎；滑膜炎；附睪炎；陰道炎；前列腺炎；尿道炎；阿茲海默氏症(Alzheimer’s diease)；腦膜炎；腦炎；多發性硬化症；腦梗塞(cerebral infarction)；腦栓塞(cerebral embolism)；格林-巴利症候群(Guillain-Barre syndrome)；神經炎；神經痛；脊椎損傷；麻痺；葡萄膜炎病毒；流行性感冒；呼吸道融合病毒；HIV；B型肝炎；C型肝炎；皰疹病毒；登革熱；敗血症；黴菌感染；細菌、寄生蟲及類似微生物感染；甲狀腺炎；紅斑性狼瘡；古巴士德氏症候群(Goodpasture's syndrome)；移植體排斥(allograft rejection)；移植體對抗宿主疾病

(graft versus host disease)；糖尿病；及何杰金氏病(Hodgkin's disease)所組成之群組。

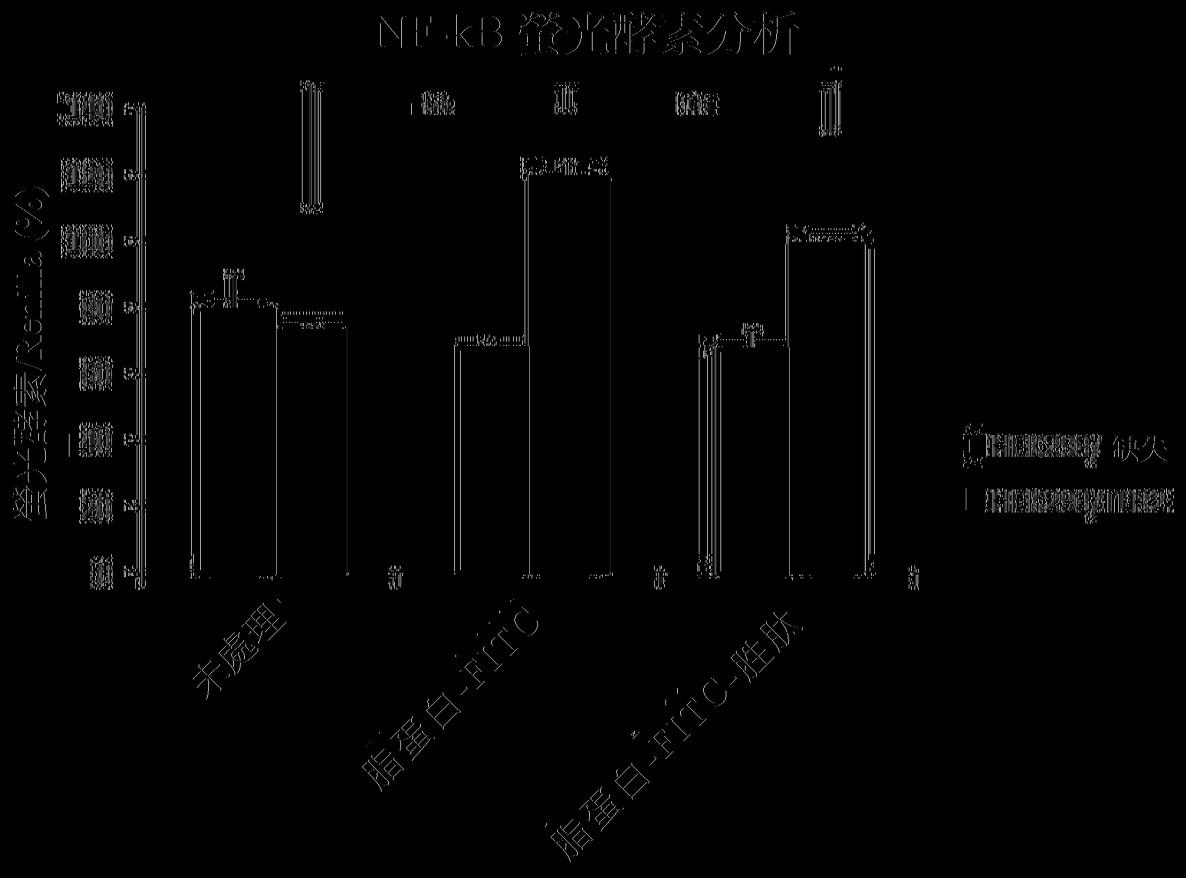
【請求項9】 一種用於治療發炎疾病的套組，包含：如請求項1所述之一胜肽。

1(發明圖式)

第 1 圖



第 2 圖



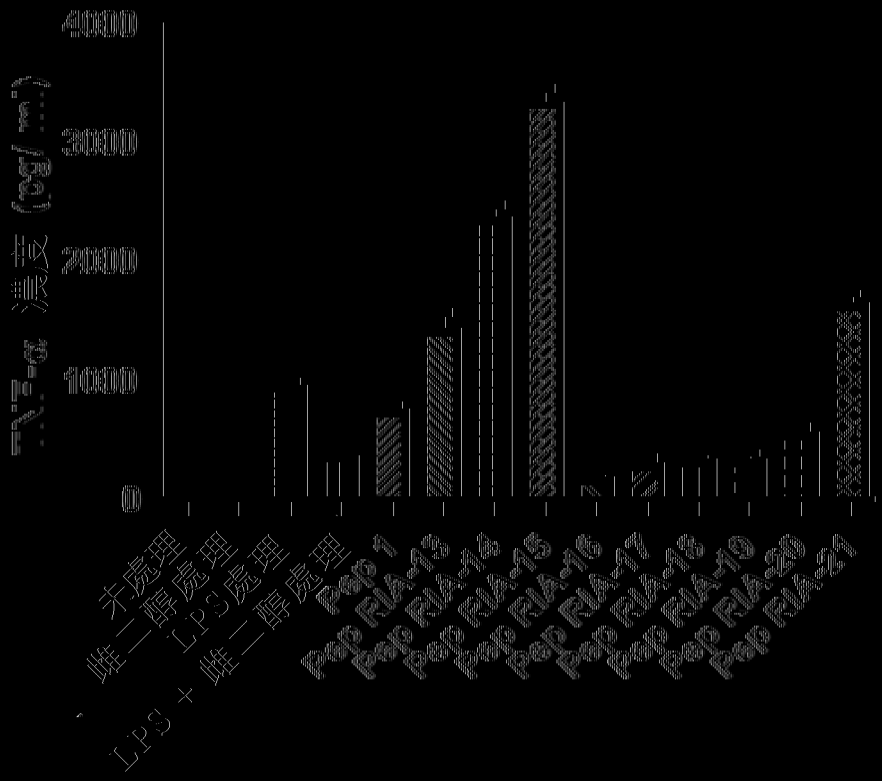
第3圖

5000
4000
3000
2000
1000
0
PGE-3 濃度 (pg/mL)
未處理
唯一醇處理
LPS處理
LPS + 唯一醇處理
Pop 1
Pop 2
Pop 3
Pop 4

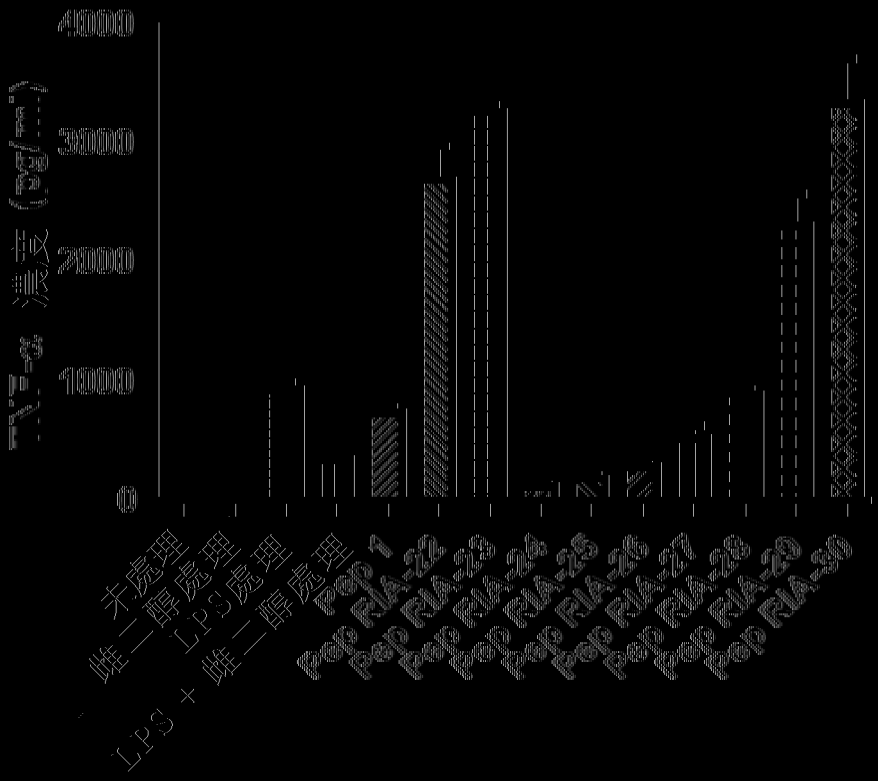
第4圖

3000
2000
1000
0
PGE-3 濃度 (pg/mL)
未處理
唯一醇處理
LPS處理
LPS + 唯一醇處理
Pop 1
Pop 2
Pop 3
Pop 4
Pop 5
Pop 6
Pop 7
Pop 8
Pop 9
Pop 10
Pop 11
Pop 12

第5圖


RNA-seq 讀取 (bp/mm)
4000
3000
2000
1000
0
未處理
唯二酵處理
LPS處理
LPS + 唯二酵處理
Rep 1
Rep 2
Rep 3
Rep 4
Rep 5
Rep 6
Rep 7
Rep 8
Rep 9
Rep 10

第6圖


RNA-seq 讀取 (bp/mm)
4000
3000
2000
1000
0
未處理
唯二酵處理
LPS處理
LPS + 唯二酵處理
Rep 1
Rep 2
Rep 3
Rep 4
Rep 5
Rep 6
Rep 7
Rep 8
Rep 9
Rep 10

第７図

ペプチド濃度（pg/mL）
4000
3000
2000
1000
0
未處理
雌二醇處理
LPS處理
LPS＋雌二醇處理
pep-1
pep-2
pep-3
pep-4
pep-5
pep-6
pep-7
pep-8
pep-9
pep-10

第８図

ペプチド濃度（pg/mL）
3000
2000
1000
0
未處理
雌二醇處理
LPS處理
LPS＋雌二醇處理
pep-1
pep-2
pep-3
pep-4
pep-5
pep-6
pep-7
pep-8
pep-9
pep-10

第 9 圖

400000
300000
200000
100000
0
PAH 吸收量 (ng/g)
未處理
雌二醇處理
LPS處理
LPS + 雌二醇處理
PAH-1
PAH-2
PAH-3
PAH-4
PAH-5
PAH-6
PAH-7
PAH-8
PAH-9

第 10 圖

500000
400000
300000
200000
100000
0
PAH 吸收量 (ng/g)
未處理
雌二醇處理
LPS處理
LPS + 雌二醇處理
PAH-1
PAH-2
PAH-3
PAH-4
PAH-5
PAH-6
PAH-7
PAH-8
PAH-9

第 11 圖

400000
300000
200000
100000
0
未處理
峰二醇處理
LPS處理
LPS + 峰二醇處理

第 12 圖

400000
300000
200000
100000
0
未處理
峰二醇處理
LPS處理
LPS + 峰二醇處理

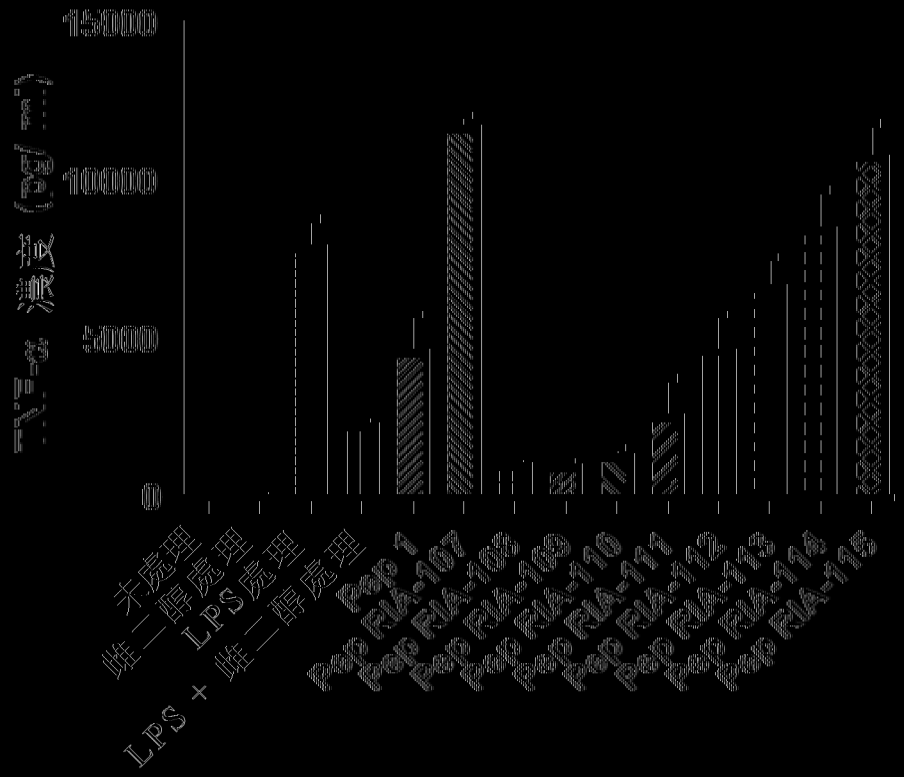
第 13 圖

400000
300000
200000
100000
0
ペプチド 吸着量 (μg/g)
未處理
雌二醇處理
LPS處理
LPS + 雌二醇處理
PEP-1
PEP-1 RA-01
PEP-1 RA-02
PEP-1 RA-03
PEP-1 RA-04
PEP-1 RA-05
PEP-1 RA-06
PEP-1 RA-07
PEP-1 RA-08
PEP-1 RA-09
PEP-1 RA-10

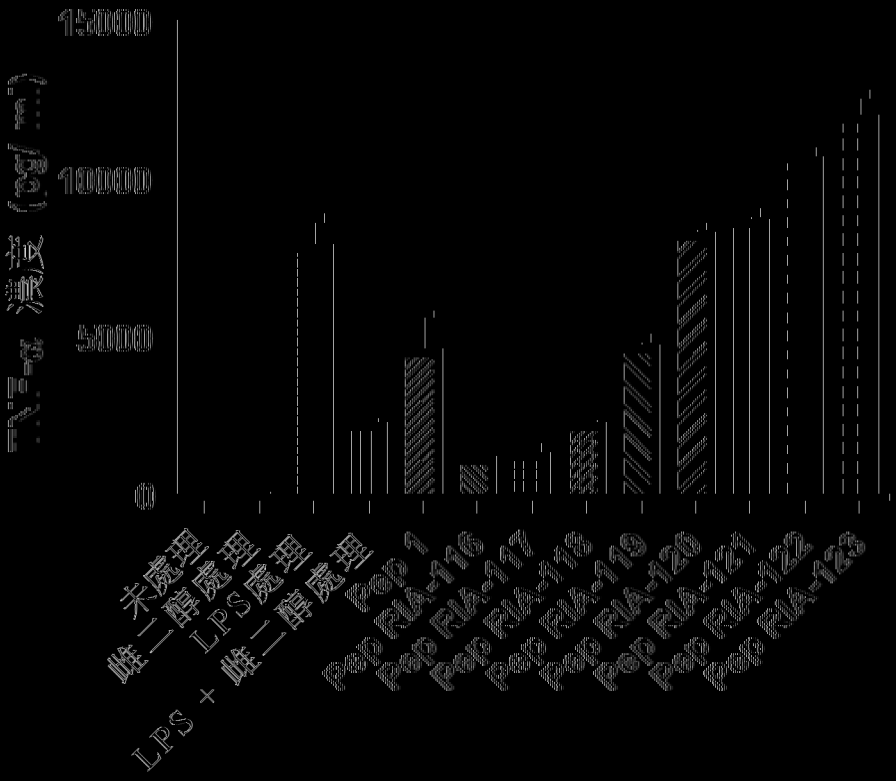
第 14 圖

15000
10000
5000
0
ペプチド 吸着量 (μg/g)
未處理
雌二醇處理
LPS處理
LPS + 雌二醇處理
PEP-1
PEP-1 RA-01
PEP-1 RA-02
PEP-1 RA-03
PEP-1 RA-04
PEP-1 RA-05

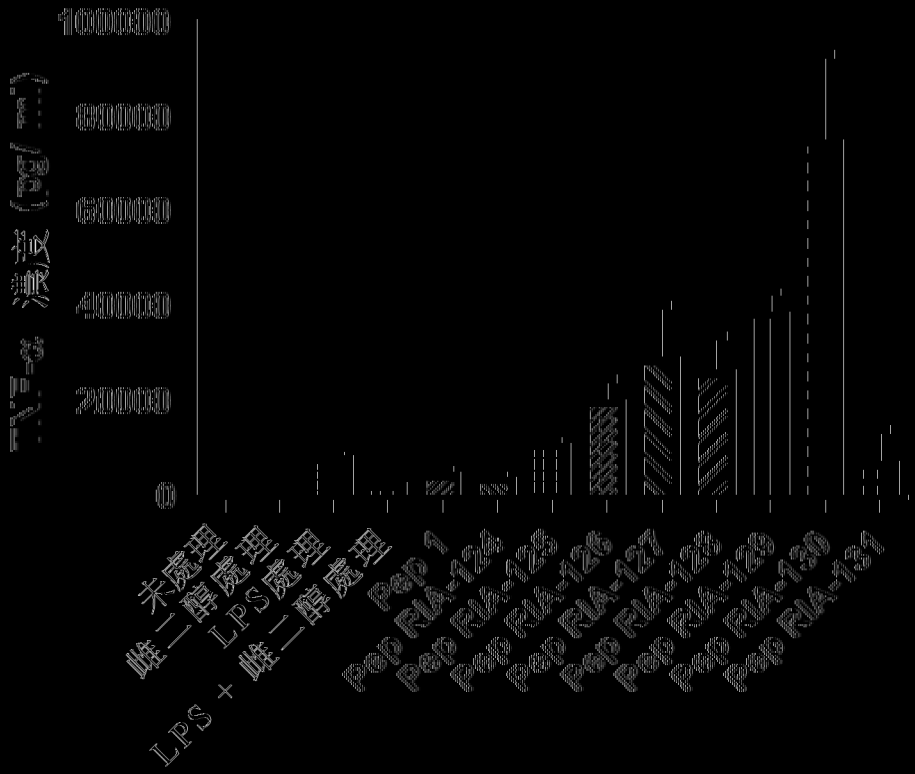
第15圖


未處理
雌二醇處理
LPS處理
LPS＋雌二醇處理
0
50000
100000
150000
相對螢光強度(RFU)
PGP 1
PGP RA-101
PGP RA-106
PGP RA-109
PGP RA-110
PGP RA-111
PGP RA-112
PGP RA-113
PGP RA-114
PGP RA-115

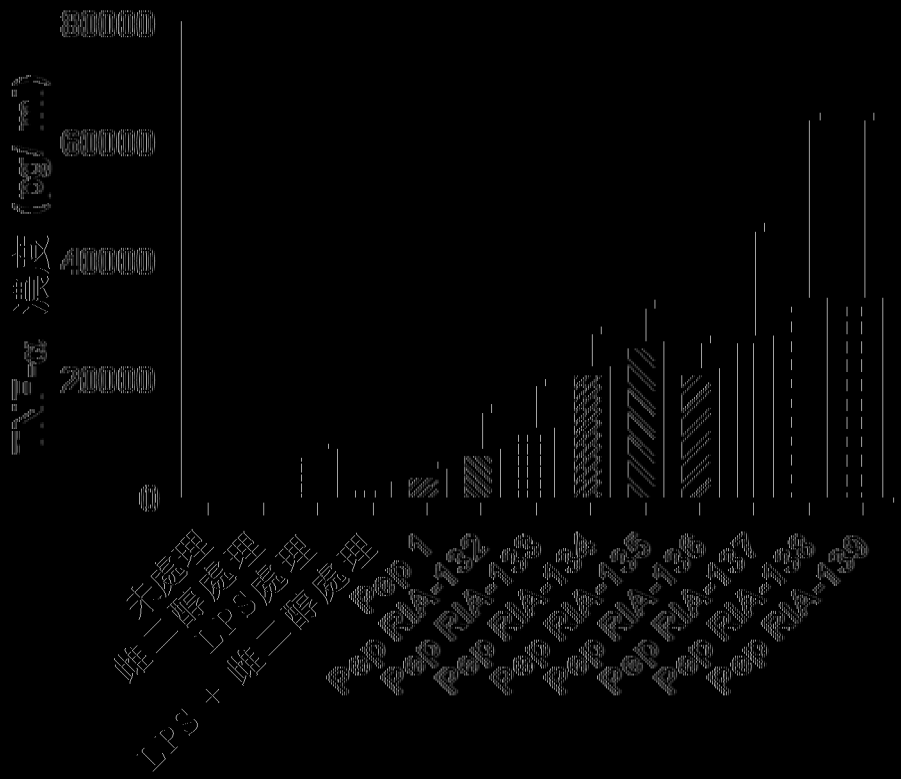
第16圖


未處理
雌二醇處理
LPS處理
LPS＋雌二醇處理
0
50000
100000
150000
相對螢光強度(RFU)
PGP 1
PGP RA-116
PGP RA-117
PGP RA-118
PGP RA-119
PGP RA-120
PGP RA-121
PGP RA-122
PGP RA-123

第 17 圖


1000000
800000
600000
400000
200000
0
內毒素 吸收量 (pg/mL)
未處理
雌二醇處理
LPS處理
LPS + 雌二醇處理
PBP 1
PBP RIA-125
PBP RIA-126
PBP RIA-127
PBP RIA-128
PBP RIA-129
PBP RIA-130
PBP RIA-131

第 18 圖


800000
600000
400000
200000
0
內毒素 吸收量 (pg/mL)
未處理
雌二醇處理
LPS處理
LPS + 雌二醇處理
PBP 1
PBP RIA-129
PBP RIA-130
PBP RIA-131
PBP RIA-132
PBP RIA-133
PBP RIA-134
PBP RIA-135
PBP RIA-136
PBP RIA-137
PBP RIA-138
PBP RIA-139

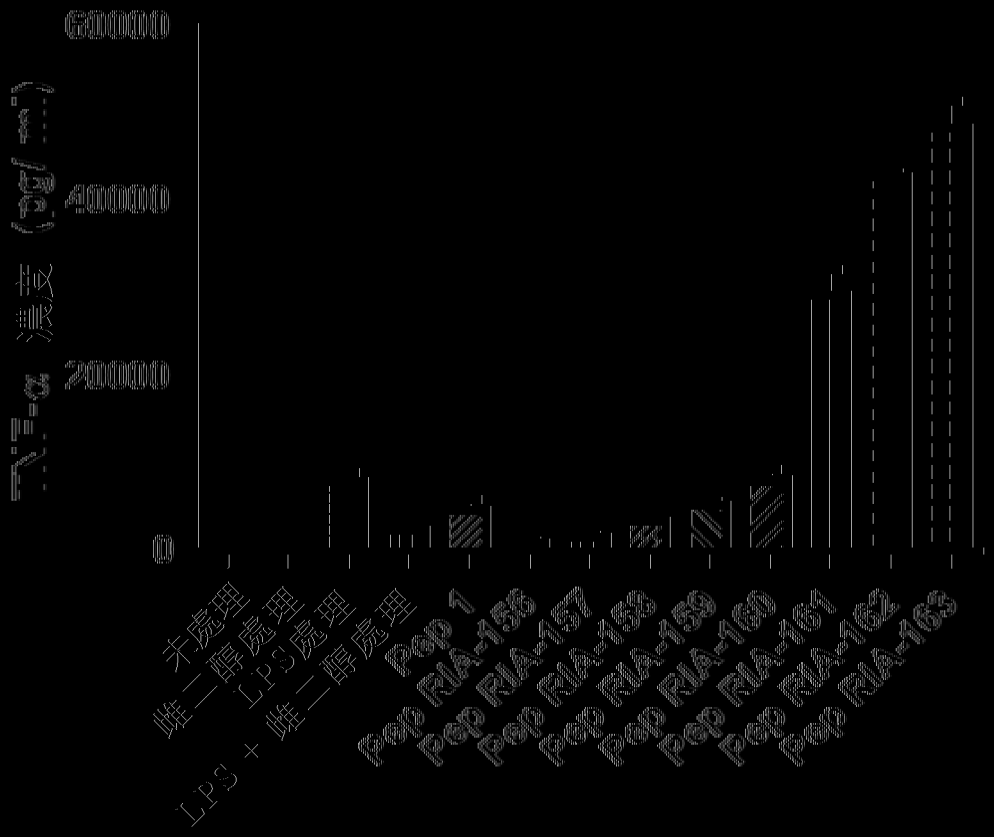
第 19 圖

800000
600000
400000
200000
0
ベンゼン 蒸散 [pg/m³]
未處理
唯二暉處理
LPS處理
LPS ＋ 唯二暉處理
PEP-1
PEP-148
PEP-149
PEP-150
PEP-151
PEP-152
PEP-153
PEP-154
PEP-155
PEP-156
PEP-157

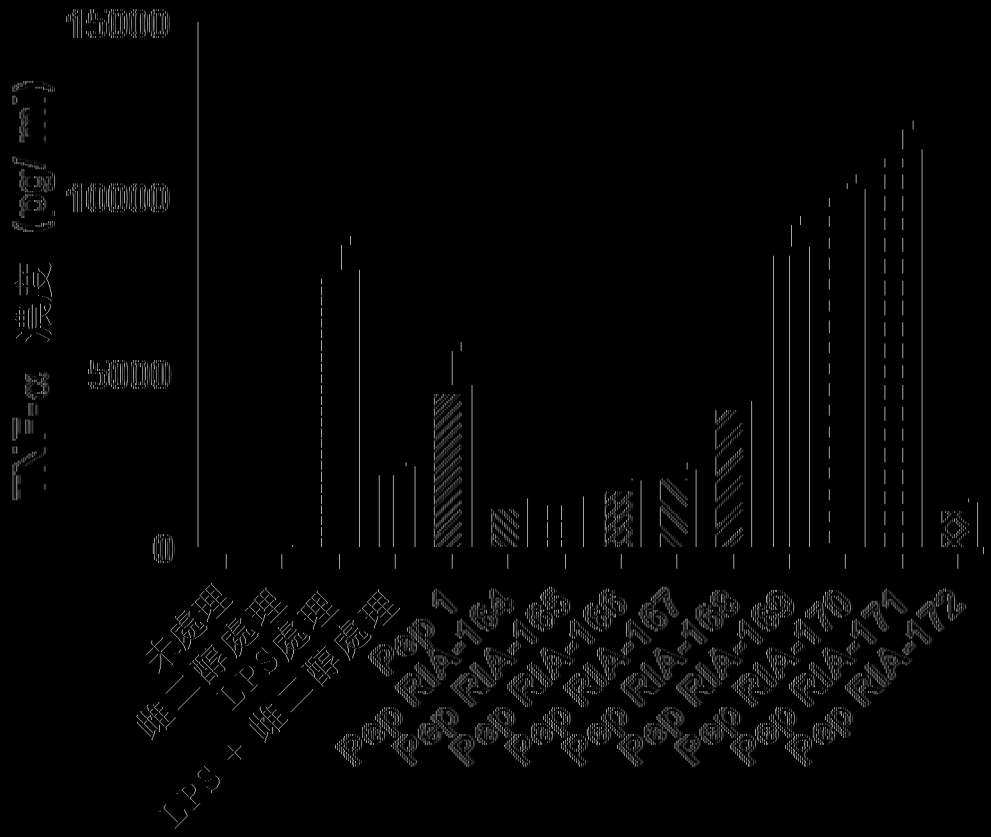
第 20 圖

800000
600000
400000
200000
0
ベンゼン 蒸散 [pg/m³]
未處理
唯二暉處理
LPS處理
LPS ＋ 唯二暉處理
PEP-1
PEP-148
PEP-149
PEP-150
PEP-151
PEP-152
PEP-153
PEP-154
PEP-155
PEP-156

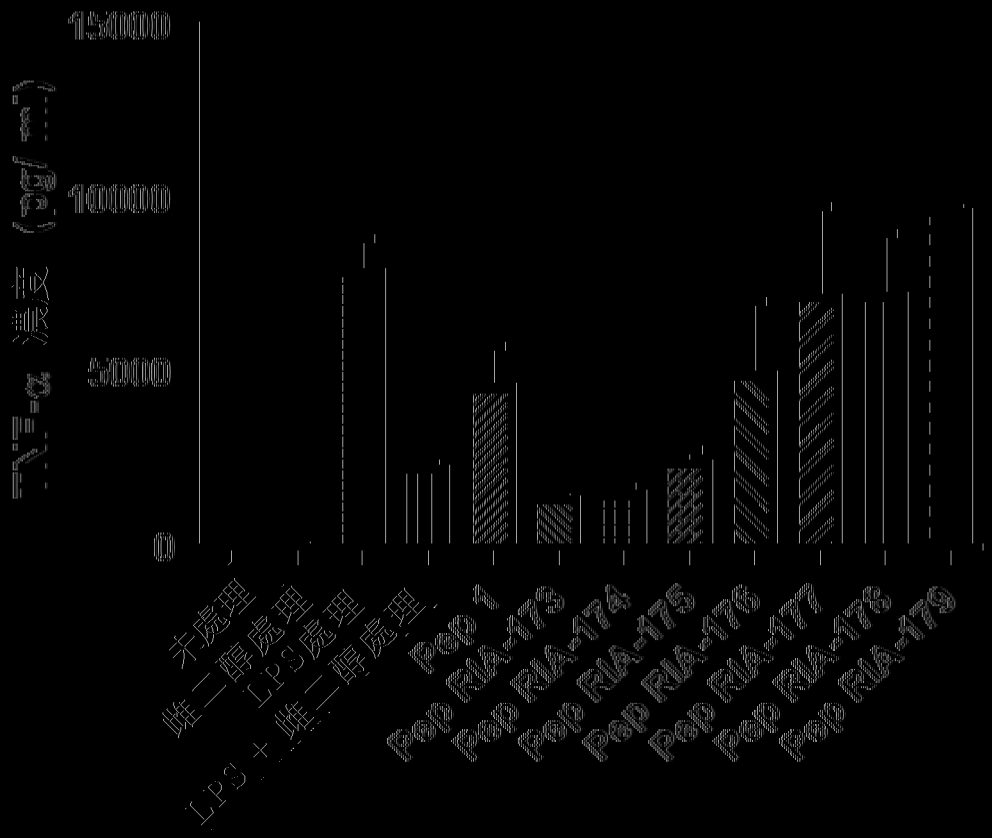
第21圖


600000
400000
200000
0
ペニーダ 数値 (秒)
未處理
唯一無二處理
LPS處理
LPS + 唯一無二處理
POP-1
POP-15
POP-16
POP-17
POP-18
POP-19
POP-20
POP-21
POP-22
POP-23
POP-24
POP-25
POP-26
POP-27
POP-28
POP-29
POP-30
POP-31
POP-32
POP-33
POP-34
POP-35
POP-36
POP-37
POP-38
POP-39
POP-40
POP-41
POP-42
POP-43
POP-44
POP-45
POP-46
POP-47
POP-48
POP-49
POP-50
POP-51
POP-52
POP-53
POP-54
POP-55
POP-56
POP-57
POP-58
POP-59
POP-60
POP-61
POP-62
POP-63
POP-64
POP-65
POP-66
POP-67
POP-68
POP-69
POP-70
POP-71
POP-72
POP-73
POP-74
POP-75
POP-76
POP-77
POP-78
POP-79
POP-80
POP-81

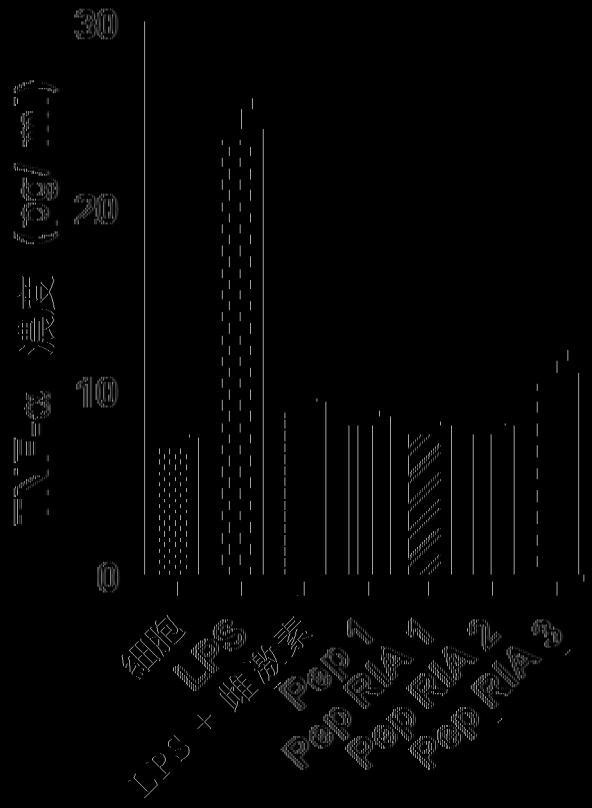
第22圖


150000
100000
50000
0
ペニーダ 数値 (秒)
未處理
唯一無二處理
LPS處理
LPS + 唯一無二處理
POP-1
POP-15
POP-16
POP-17
POP-18
POP-19
POP-20
POP-21
POP-22
POP-23
POP-24
POP-25
POP-26
POP-27
POP-28
POP-29
POP-30
POP-31
POP-32
POP-33
POP-34
POP-35
POP-36
POP-37
POP-38
POP-39
POP-40
POP-41
POP-42
POP-43
POP-44
POP-45
POP-46
POP-47
POP-48
POP-49
POP-50
POP-51
POP-52
POP-53
POP-54
POP-55
POP-56
POP-57
POP-58
POP-59
POP-60
POP-61
POP-62
POP-63
POP-64
POP-65
POP-66
POP-67
POP-68
POP-69
POP-70
POP-71
POP-72
POP-73
POP-74
POP-75
POP-76
POP-77
POP-78
POP-79
POP-80
POP-81

第23圖


ペプチド濃度 (pg/ml)
150000
100000
50000
0
未處理
雌二醇處理
LPS處理
LPS＋雌二醇處理
pep 1
pep RIA-179
pep RIA-178
pep RIA-176
pep RIA-176
pep RIA-177
pep RIA-176
pep RIA-179

第24圖


ペプチド濃度 (pg/ml)
30
20
10
0
細胞
LPS
LPS＋雌激素
pep 1
pep RIA-1
pep RIA-2

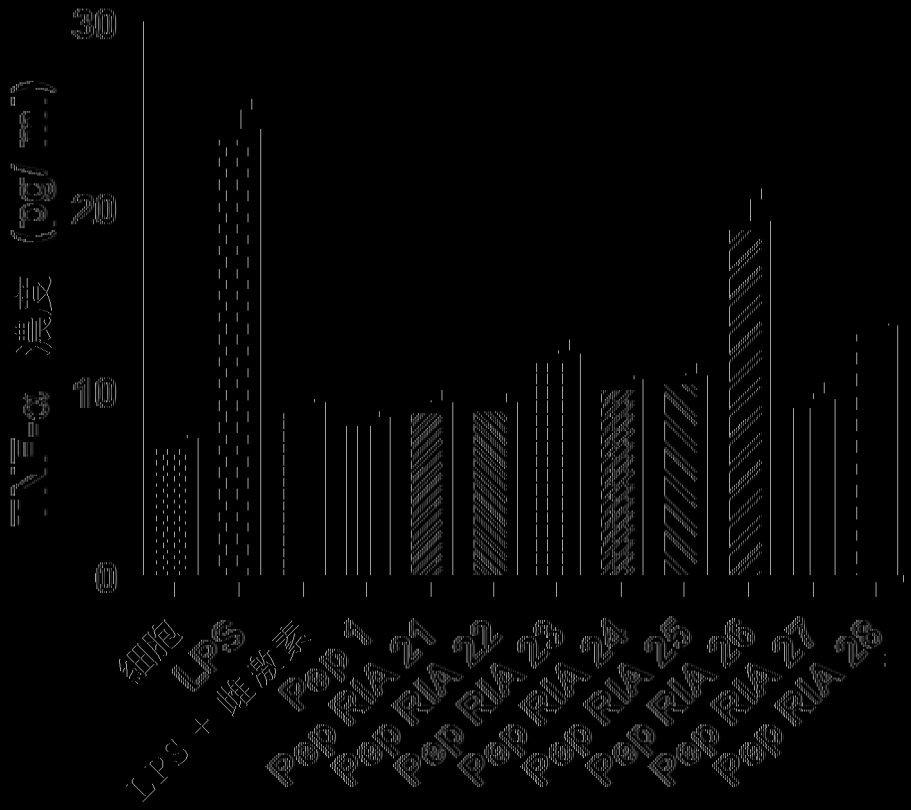
第 25 圖

TNF-α 濃度 (pg/mL)
30
20
10
0
細胞
LPS
LPS + 雌激素
pep 1
pep RIA 5
pep RIA 6
pep RIA 7
pep RIA 8
pep RIA 9
pep RIA 10
pep RIA 11
pep RIA 12

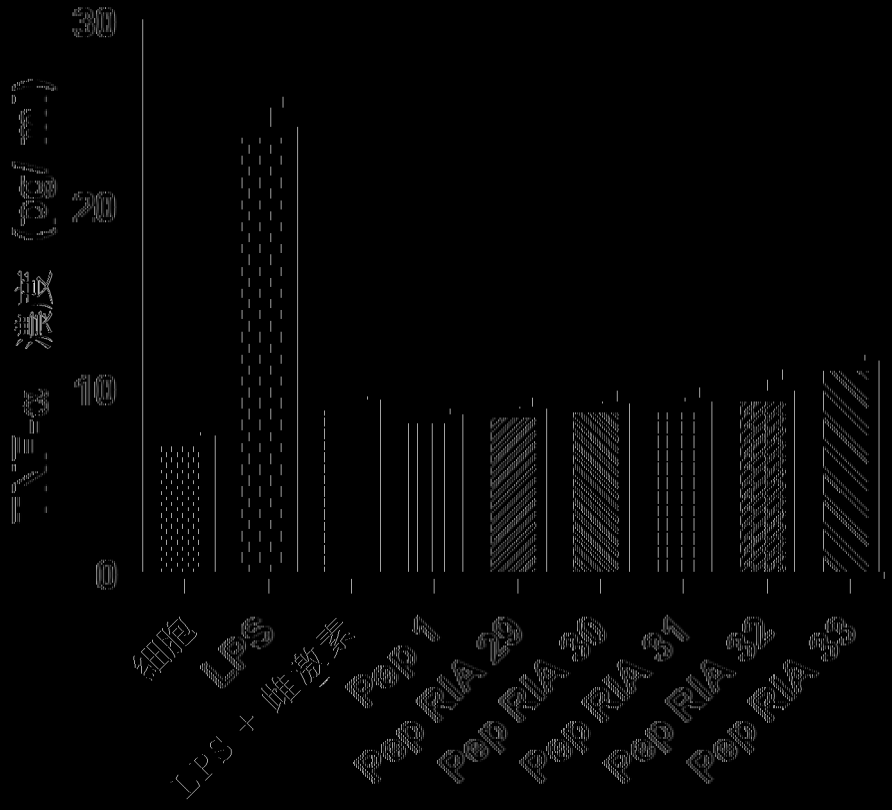
第 26 圖

TNF-α 濃度 (pg/mL)
30
20
10
0
細胞
LPS
LPS + 雌激素
pep 1
pep RIA 13
pep RIA 14
pep RIA 15
pep RIA 16
pep RIA 17
pep RIA 18
pep RIA 19
pep RIA 20

第27圖


30
20
10
0
ＴＮＦ-α 濃度 (pg/mL)
細胞
LPS
LPS ＋ 雌激素
pep 1
pep RIA-2
pep RIA-3
pep RIA-4
pep RIA-5
pep RIA-6
pep RIA-7
pep RIA-8

第28圖


30
20
10
0
ＴＮＦ-α 濃度 (pg/mL)
細胞
LPS
LPS ＋ 雌激素
pep 1
pep RIA-2
pep RIA-3
pep RIA-4
pep RIA-5
pep RIA-6
pep RIA-7
pep RIA-8

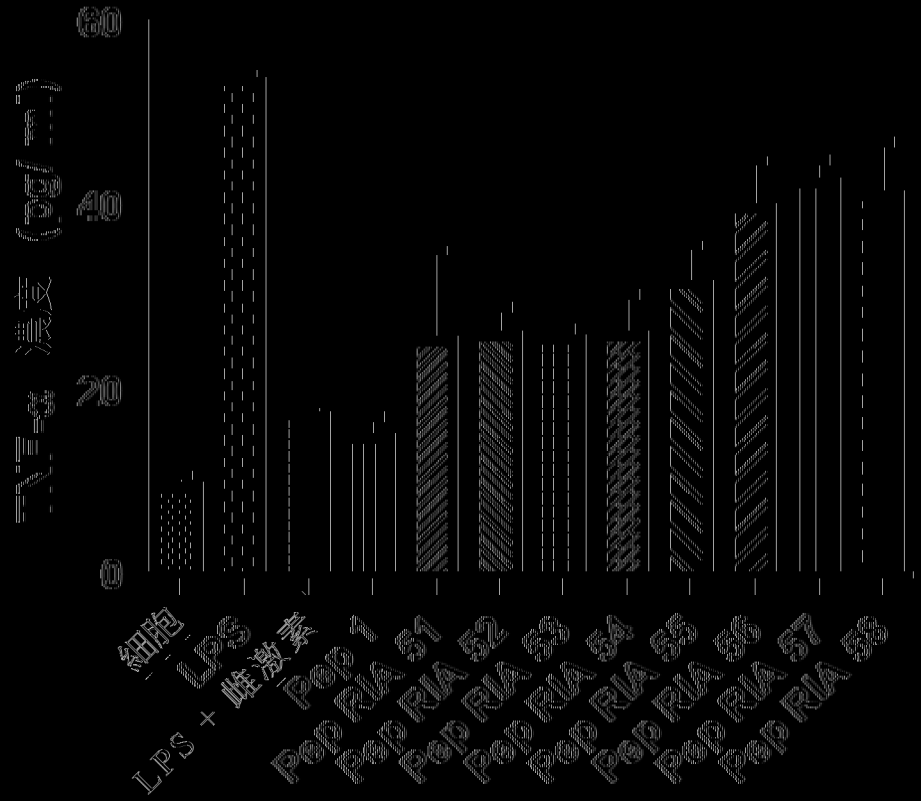
第 29 圖

60
40
20
0
ペプチド 抵抗 (pg/mg)
細胞
LPS
LPS + 脂肪素
pep RIA 34
pep RIA 36
pep RIA 38
pep RIA 40
pep RIA 61
pep RIA 62

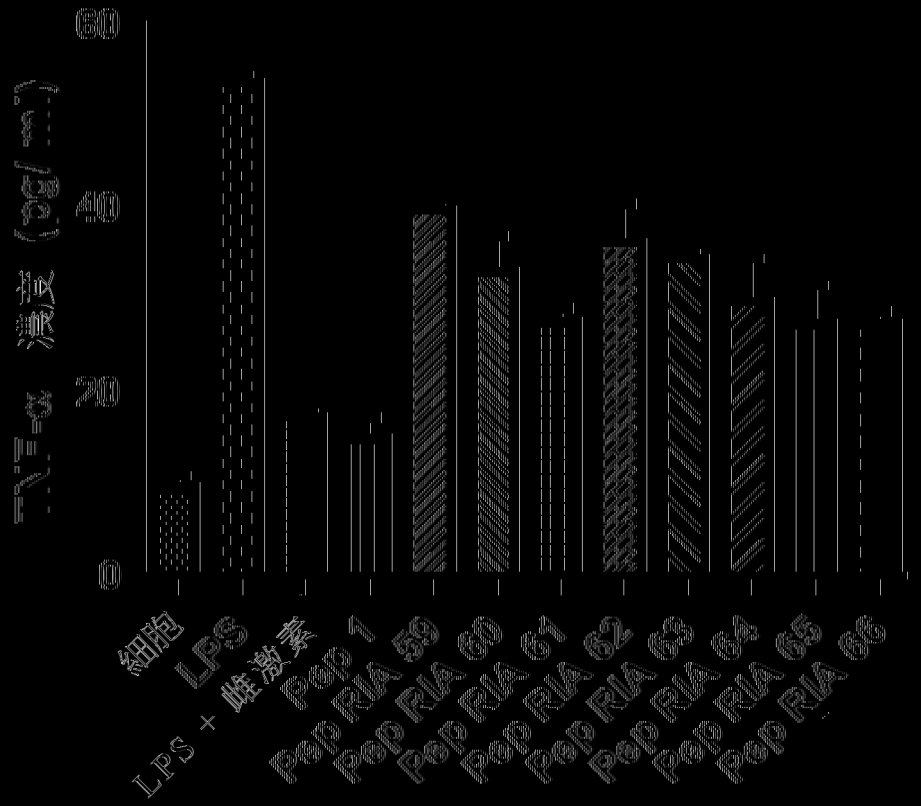
第 30 圖

60
40
20
0
ペプチド 抵抗 (pg/mg)
細胞
LPS
LPS + 脂肪素
pep RIA 43
pep RIA 45
pep RIA 46
pep RIA 47
pep RIA 48
pep RIA 49
pep RIA 50

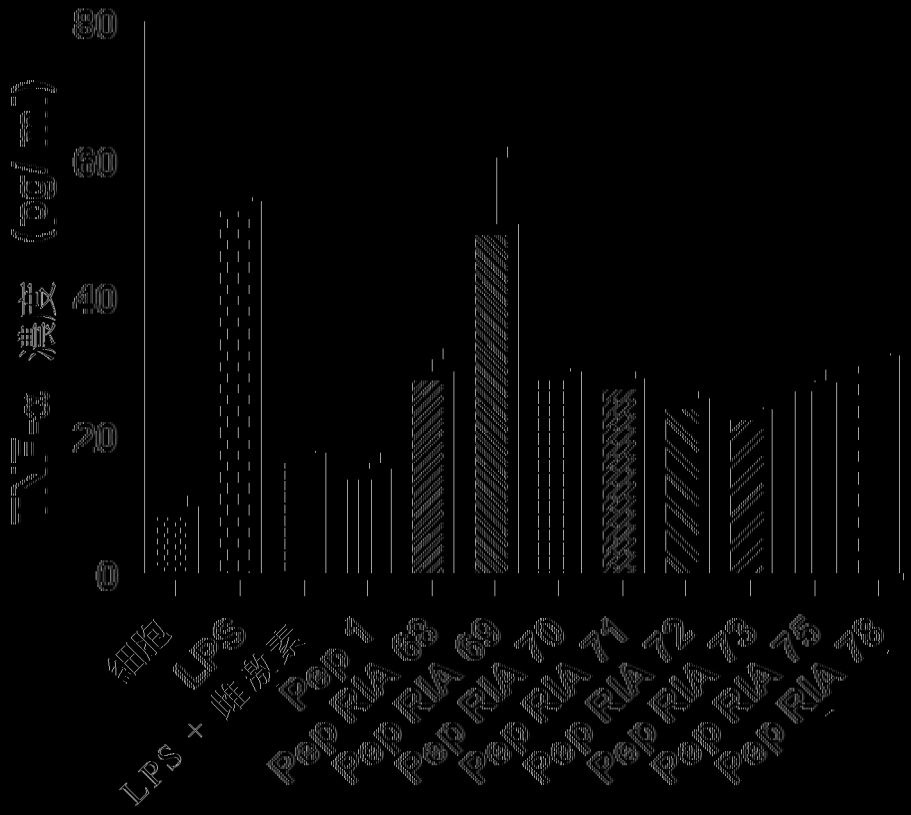
第 31 圖


細胞
LPS
LPS ＋ 雌激素
pep 1
pep RIA 57
pep RIA 58
pep RIA 59
pep RIA 60
pep RIA 61
pep RIA 62
pep RIA 63
pep RIA 64
pep RIA 65
pep RIA 66
0
20
40
60
抑制率（%）

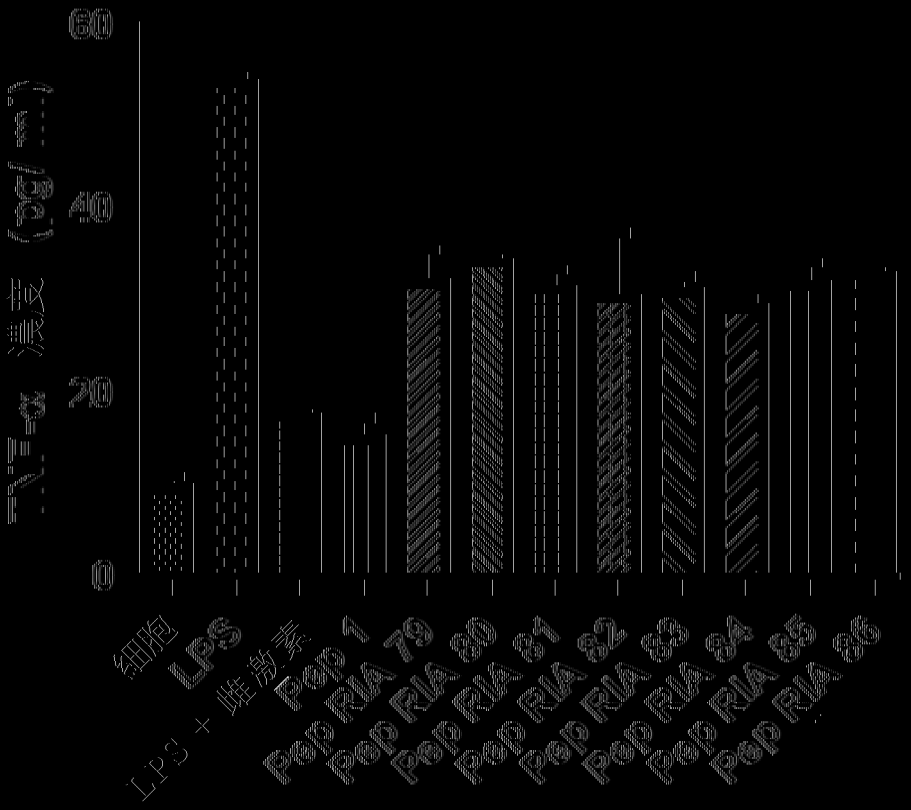
第 32 圖


細胞
LPS
LPS ＋ 雌激素
pep 1
pep RIA 58
pep RIA 59
pep RIA 60
pep RIA 61
pep RIA 62
pep RIA 63
pep RIA 64
pep RIA 65
pep RIA 66
0
20
40
60
抑制率（%）

第 33 圖


80
60
40
20
0
入侵率 [pg/mL]
細胞
UPS
LPS + 嗜熱素
pop 1
pop 2
pop 3
pop 4
pop 5
pop 6
pop 7
pop 8
pop 9
pop 10
pop 11
pop 12
pop 13
pop 14
pop 15
pop 16

第 34 圖


60
40
20
0
入侵率 [pg/mL]
細胞
UPS
LPS + 嗜熱素
pop 1
pop 2
pop 3
pop 4
pop 5
pop 6
pop 7
pop 8
pop 9
pop 10
pop 11
pop 12
pop 13
pop 14
pop 15
pop 16

第 35 圖

60
40
20
0
ヘモサイト 濃度 (pg/mL)
細胞
LPS
LPS + 雌激素
pep-1
pep-2
pep-3
pep-4
pep-5
pep-6
pep-7
pep-8
pep-9
pep-10

第 36 圖

60
40
20
0
ヘモサイト 濃度 (pg/mL)
細胞
LPS
LPS + 雌激素
pep-1
pep-2
pep-3
pep-4
pep-5
pep-6
pep-7
pep-8
pep-9
pep-10

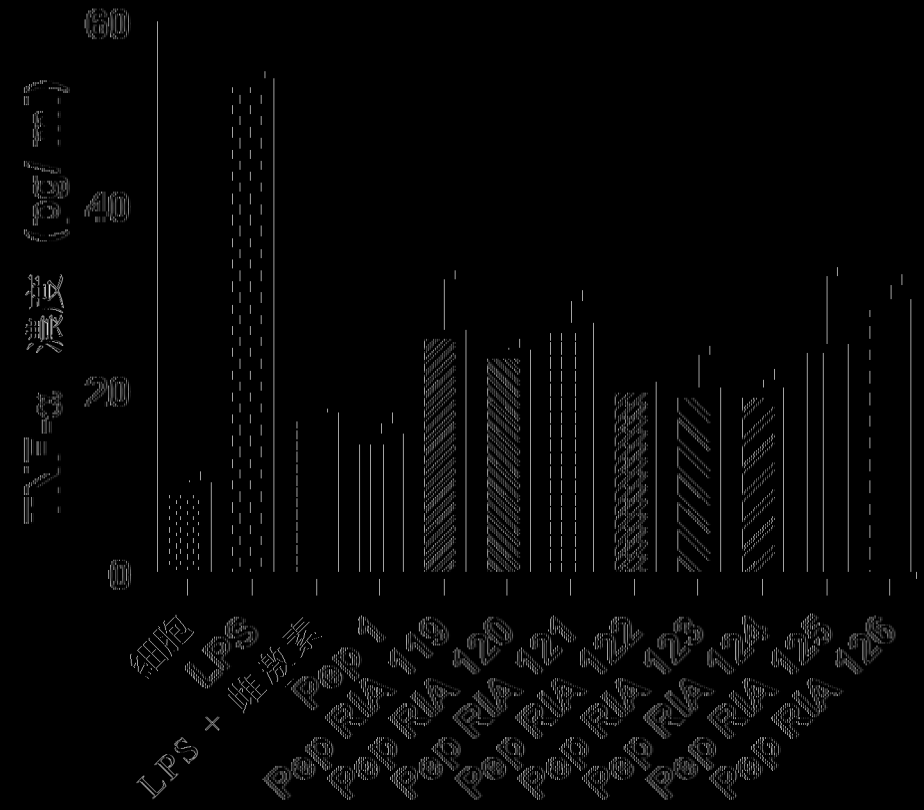
第 37 圖

80
60
40
20
0
ペプチド濃度 (μg/mL)
細胞
LPS
LPS + 雌激素
pep 1
pep 102
pep 103
pep 104
pep 105
pep 106
pep 107
pep 108
pep 109
pep 110

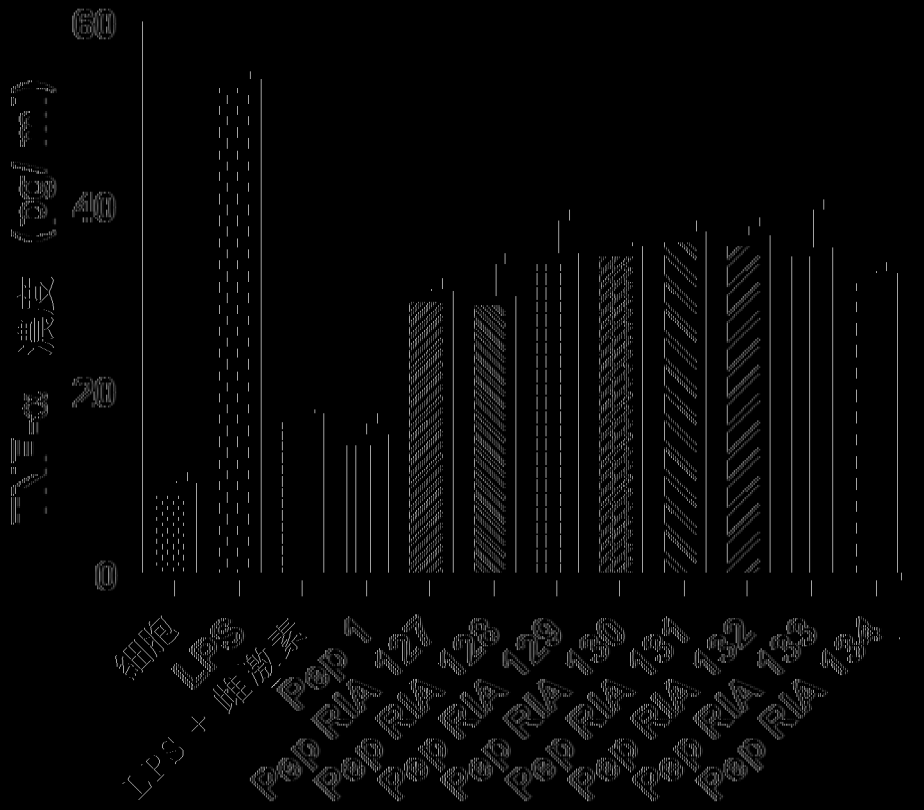
第 38 圖

60
40
20
0
ペプチド濃度 (μg/mL)
細胞
LPS
LPS + 雌激素
pep 111
pep 112
pep 113
pep 114
pep 115
pep 116
pep 117
pep 118

第39圖


60
40
20
0
バンコマイシン感受性（%）
細胞
LPS
LPS＋雌胞素
pep 1
pep 10
pep 11
pep 12
pep 13
pep 14
pep 15
pep 16

第40圖


60
40
20
0
バンコマイシン感受性（%）
細胞
LPS
LPS＋雌胞素
pep 1
pep 10
pep 11
pep 12
pep 13
pep 14
pep 15
pep 16

第41圖

TNF-α 濃度 (pg/mL)
80
40
20
0
細胞
LPS
LPS + 胜肽素
pep 1
pep RIA 135
pep RIA 136
pep RIA 137
pep RIA 138
pep RIA 139
pep RIA 140
pep RIA 141
pep RIA 142

第42圖

TNF-α 濃度 (pg/mL)
200
150
100
50
0
細胞
LPS
LPS + 胜肽素
pep 1
pep RIA 143
pep RIA 144
pep RIA 145
pep RIA 146
pep RIA 147
pep RIA 148
pep RIA 149
pep RIA 150

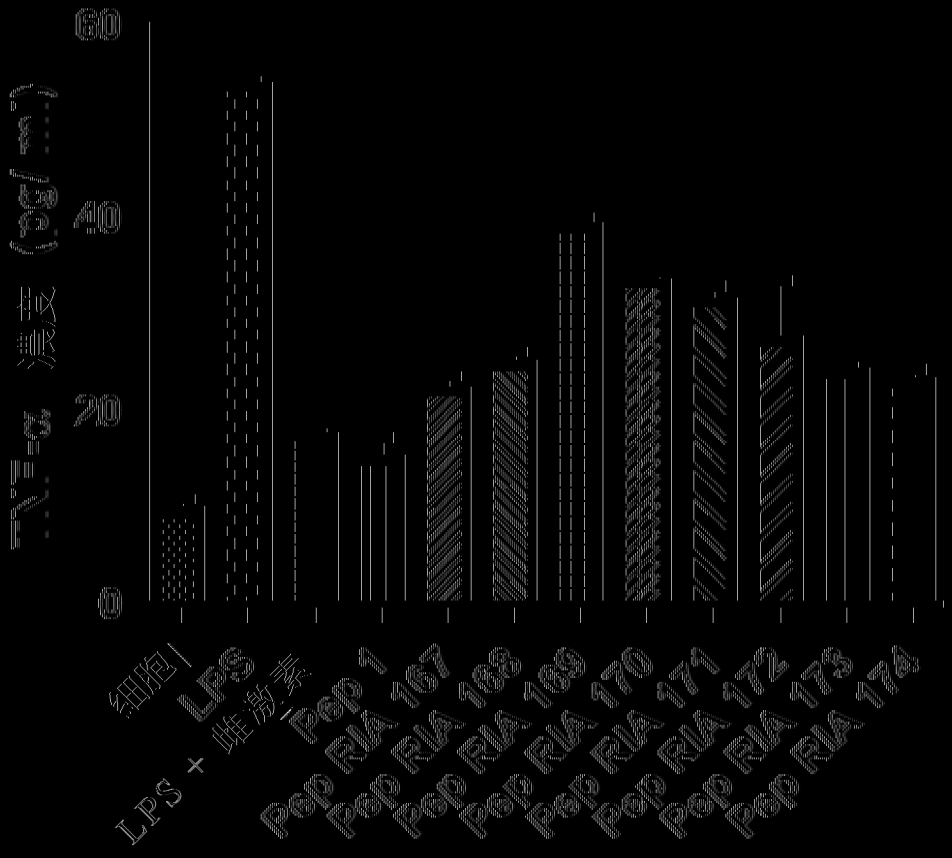
第43回

ペプチド濃度（μg/ml）
60
40
20
0
細胞
LPS
LPS ＋ 唾液素
pep-1
pep-2
pep-3
pep-4
pep-5
pep-6
pep-7
pep-8
pep-9
pep-10
pep-11
pep-12
pep-13
pep-14
pep-15
pep-16

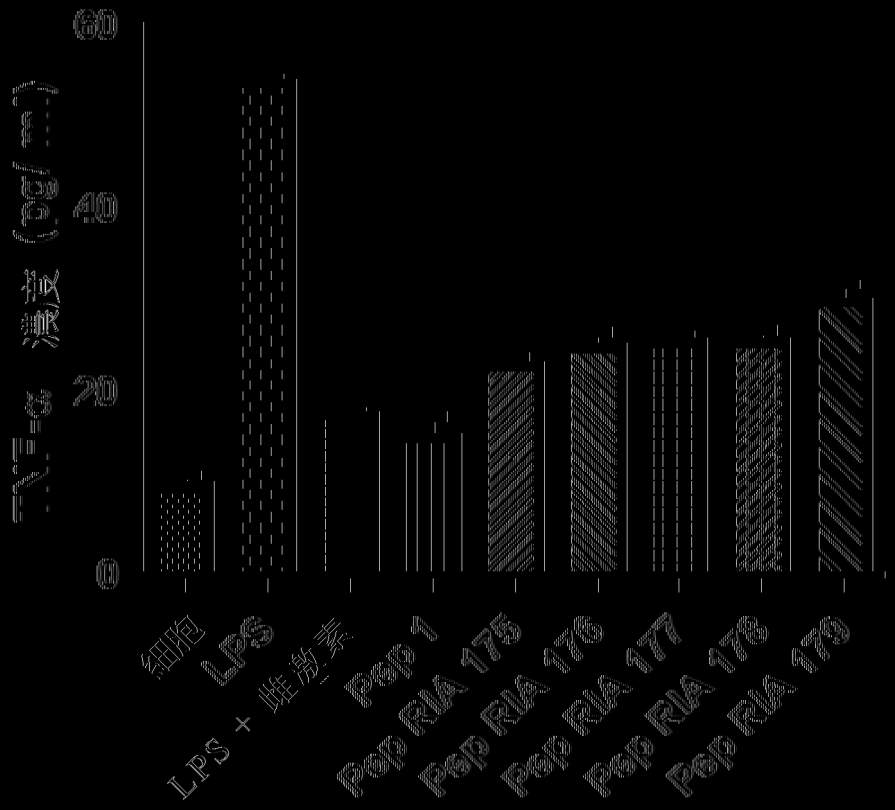
第44回

ペプチド濃度（μg/ml）
60
40
20
0
細胞
LPS
LPS ＋ 唾液素
pep-1
pep-2
pep-3
pep-4
pep-5
pep-6
pep-7
pep-8
pep-9
pep-10
pep-11
pep-12
pep-13
pep-14
pep-15
pep-16

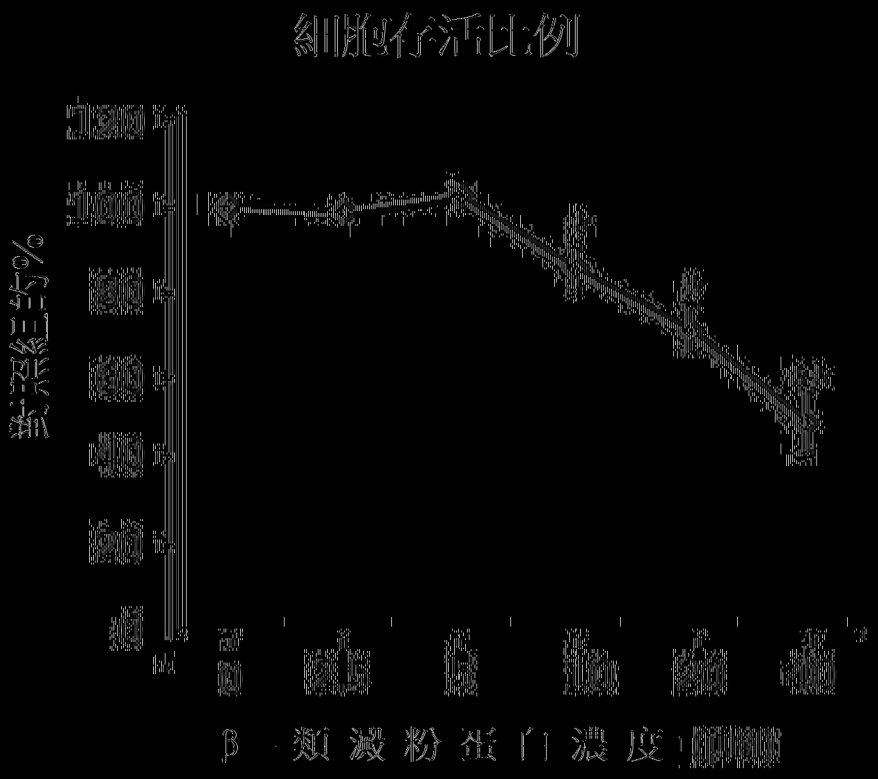
第45圖


60
40
20
0
細胞
LPS
LPS + 唾液素
PAP 1
PAP 167
PAP 168
PAP 169
PAP 170
PAP 171
PAP 172
PAP 173
PAP 174

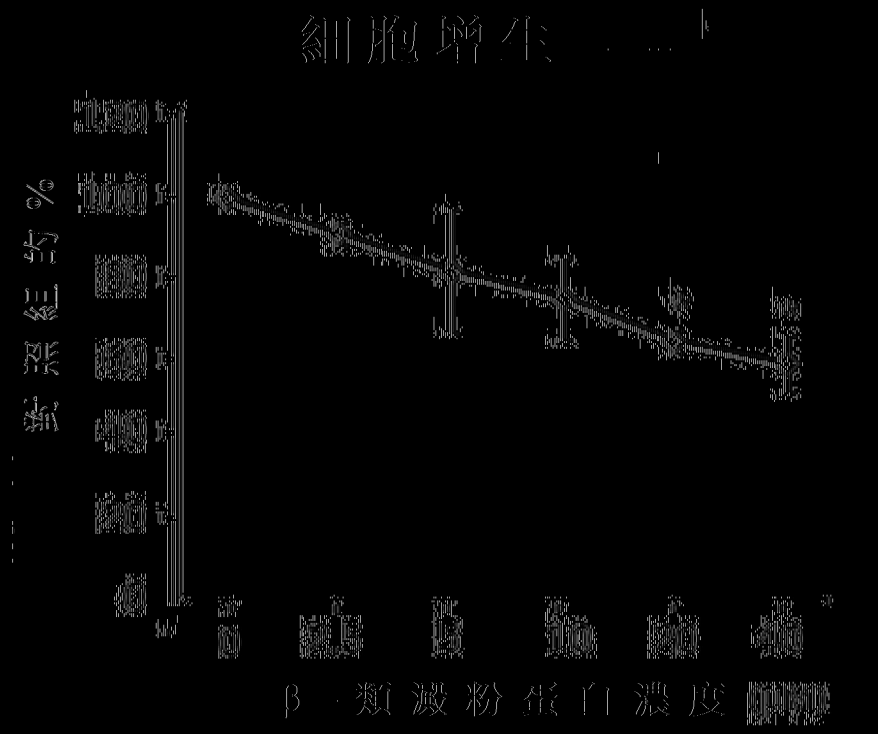
第46圖


60
40
20
0
細胞
LPS
LPS + 唾液素
PAP 1
PAP 175
PAP 176
PAP 177
PAP 178
PAP 179

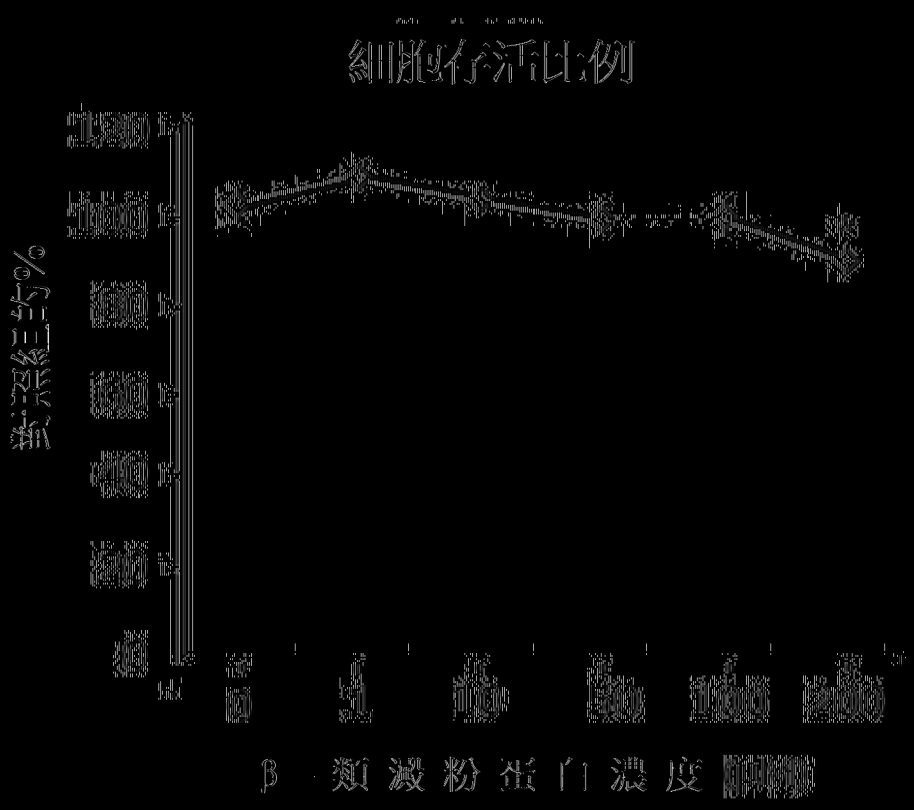
第47圖


細胞存活比例
100%
90%
80%
70%
60%
50%
40%
30%
20%
10%
0%
0
0.5
1.0
1.5
2.0
β－類澱粉蛋白濃度(μM)

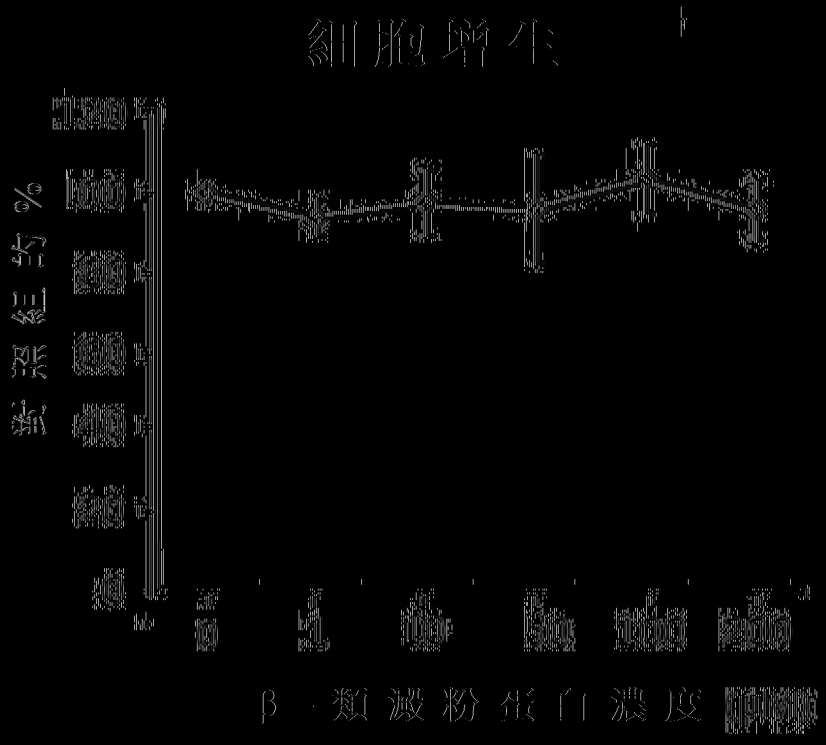
第48圖


細胞增生
100%
90%
80%
70%
60%
50%
40%
30%
20%
10%
0%
0
0.5
1.0
1.5
2.0
β－類澱粉蛋白濃度(μM)

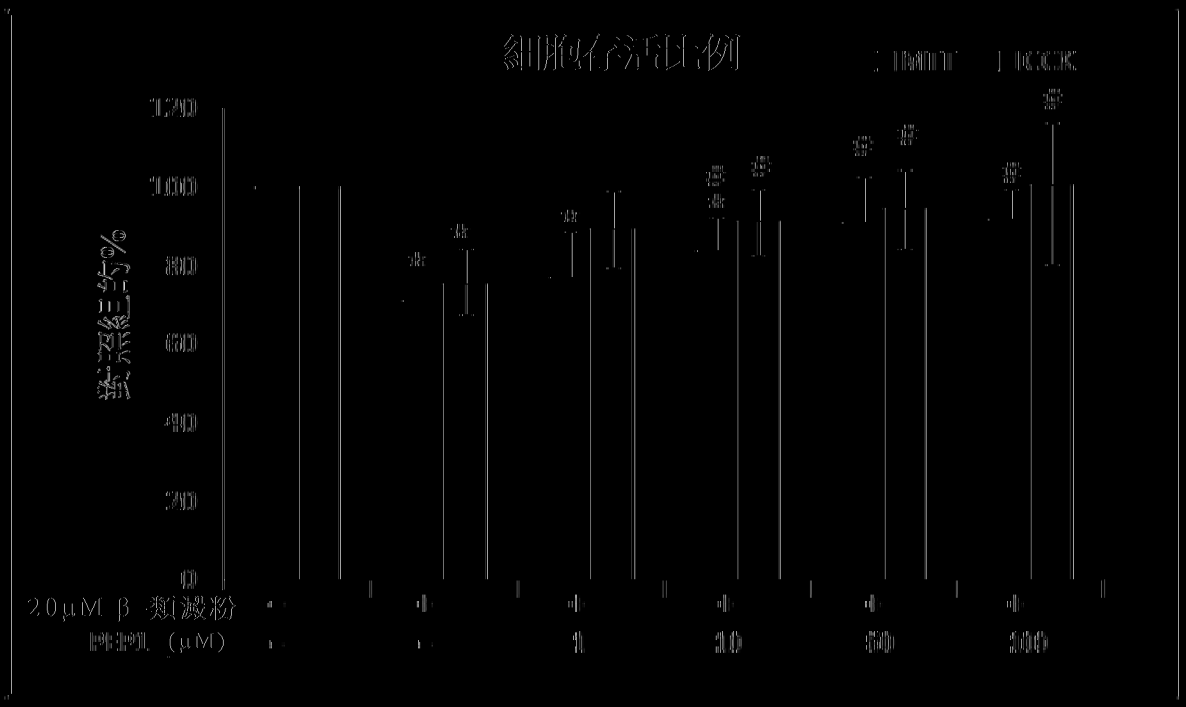
第49圖


細胞存活比例
100%
90%
80%
70%
60%
50%
熱穩定性%
0
10
20
30
40
50
β－類澱粉蛋白濃度 μM

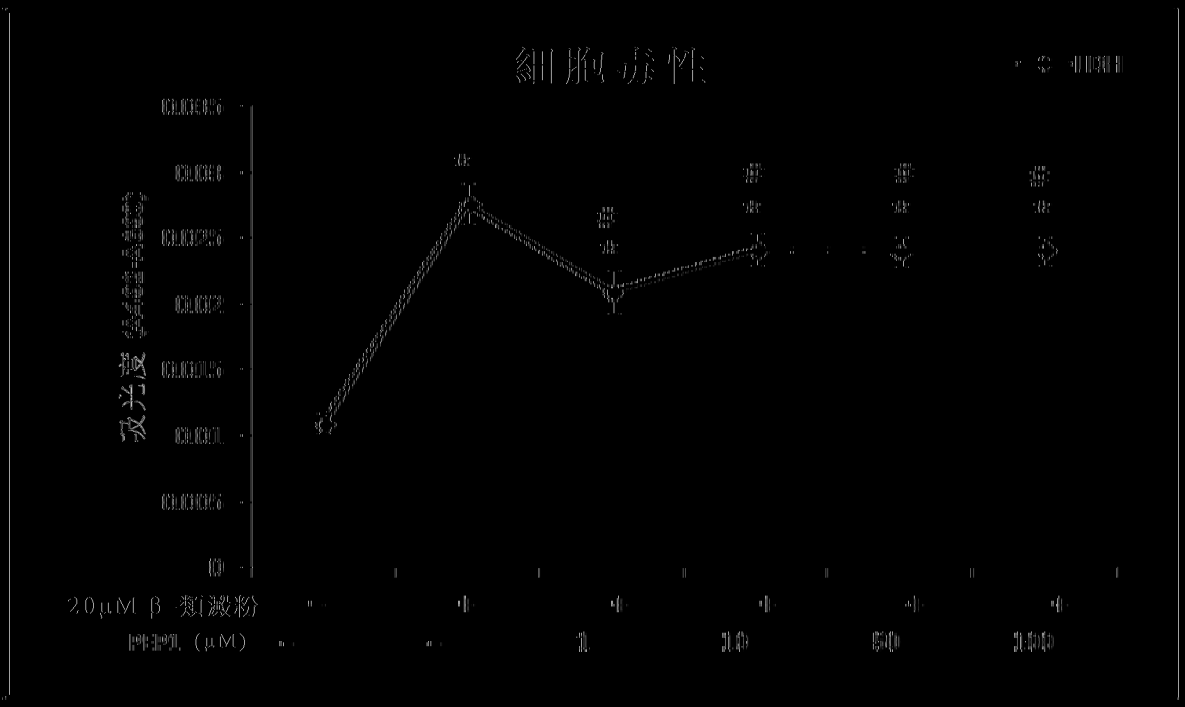
第50圖


細胞增生
100%
90%
80%
70%
60%
50%
熱穩定性%
0
10
20
30
40
50
β－類澱粉蛋白濃度 μM

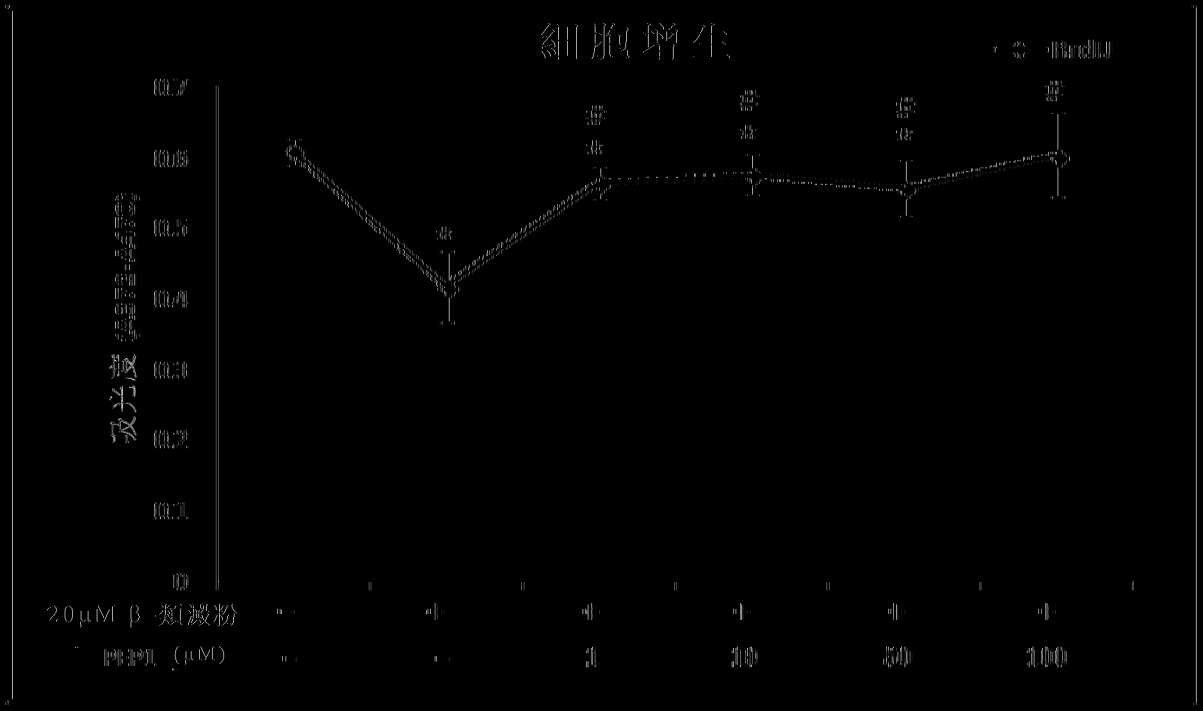
第 51 圖


細胞存活比例
DMOT
DCCK
染料強度%
1200
1000
800
600
400
200
0
20μM β-類澱粉
PEPL (μM)
1
10
50
100

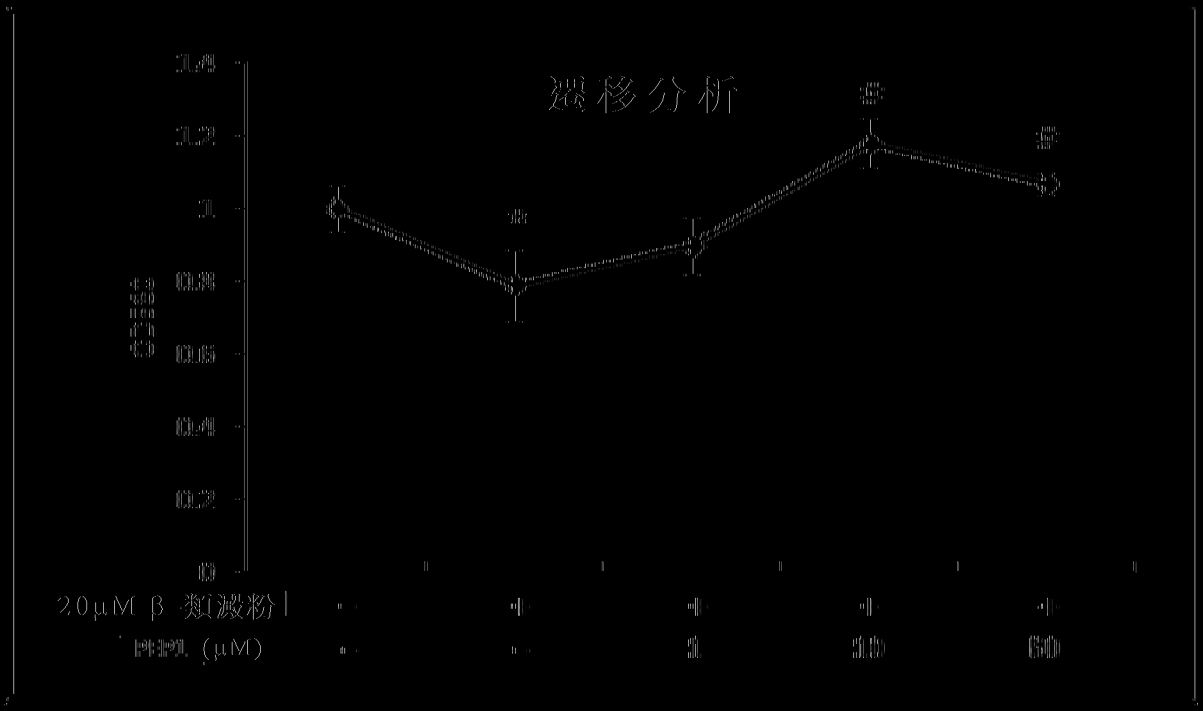
第 52 圖


細胞毒性
S-DMOT
發光度 (相對於對照組)
0.0008%
0.0006
0.0004%
0.0002
0.0000%
0.0001
0.0000%
0
20μM β-類澱粉
PEPL (μM)
1
10
50
100

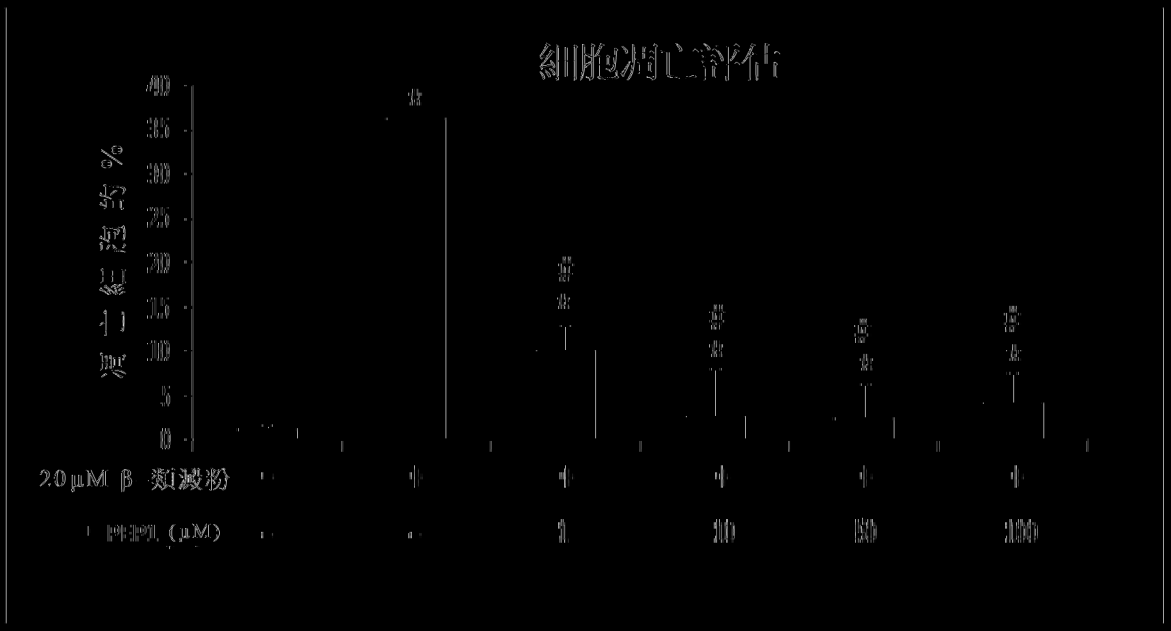
第 53 圖


細胞增生
n = mdlu
0.07
0.06
0.05
0.04
0.03
0.02
0.01
0
吸光度 450 nm
2.0μM β-類澱粉
PEP1 (μM)
1
10
50
100

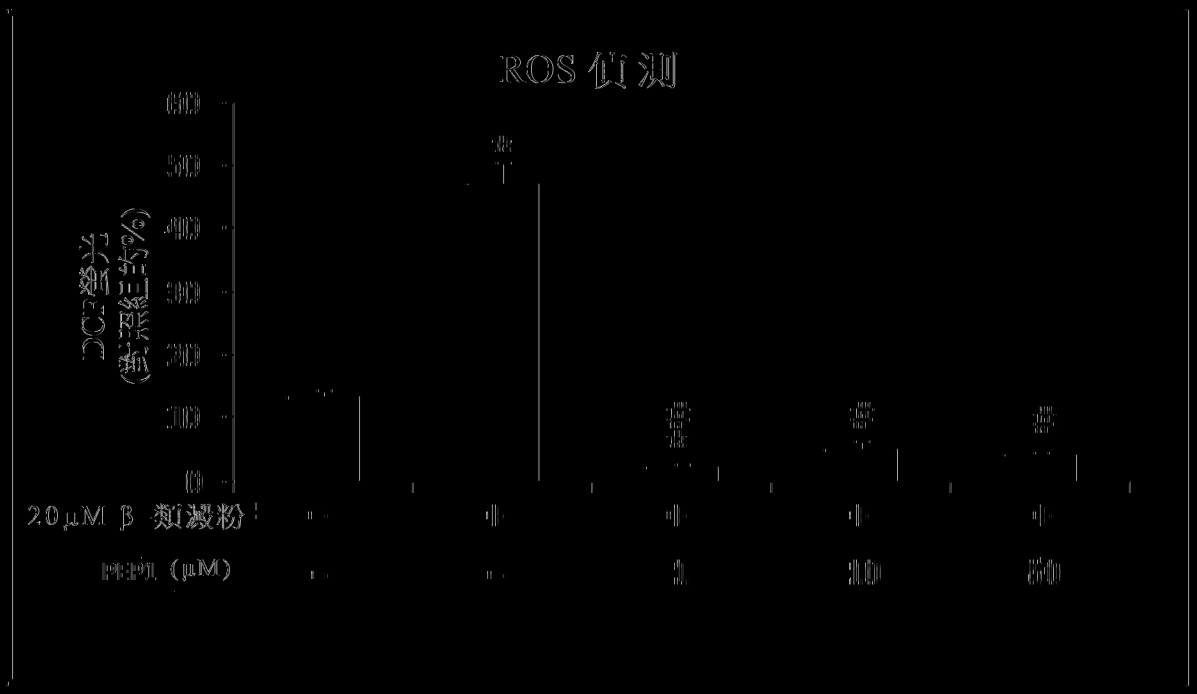
第 54 圖


遷移分析
1.4
1.2
1
0.8
0.6
0.4
0.2
0
遷移率
2.0μM β-類澱粉
PEP1 (μM)
1
10
60

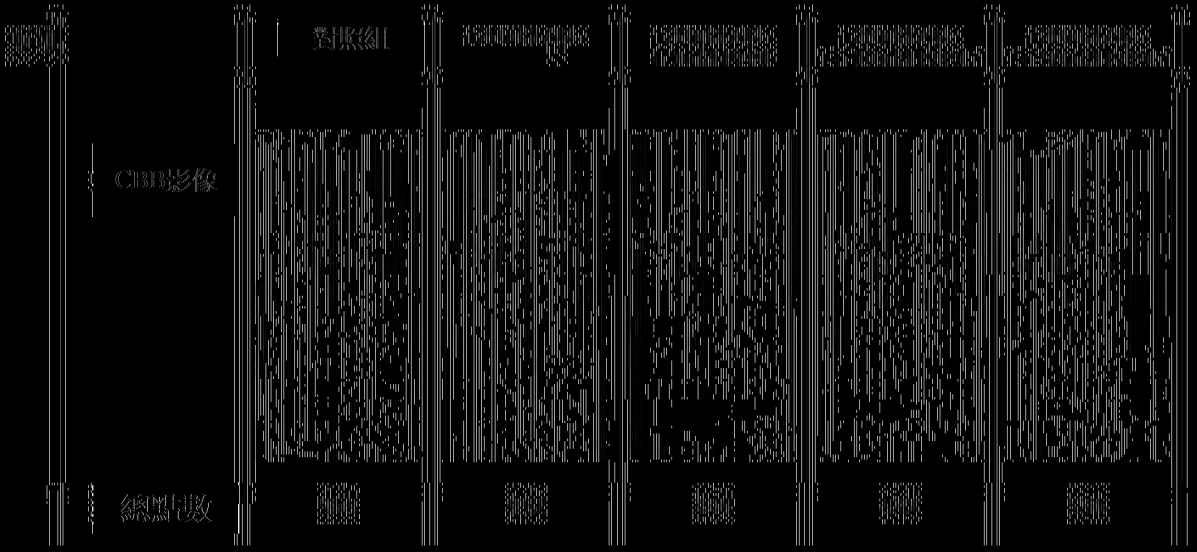
第 55 圖

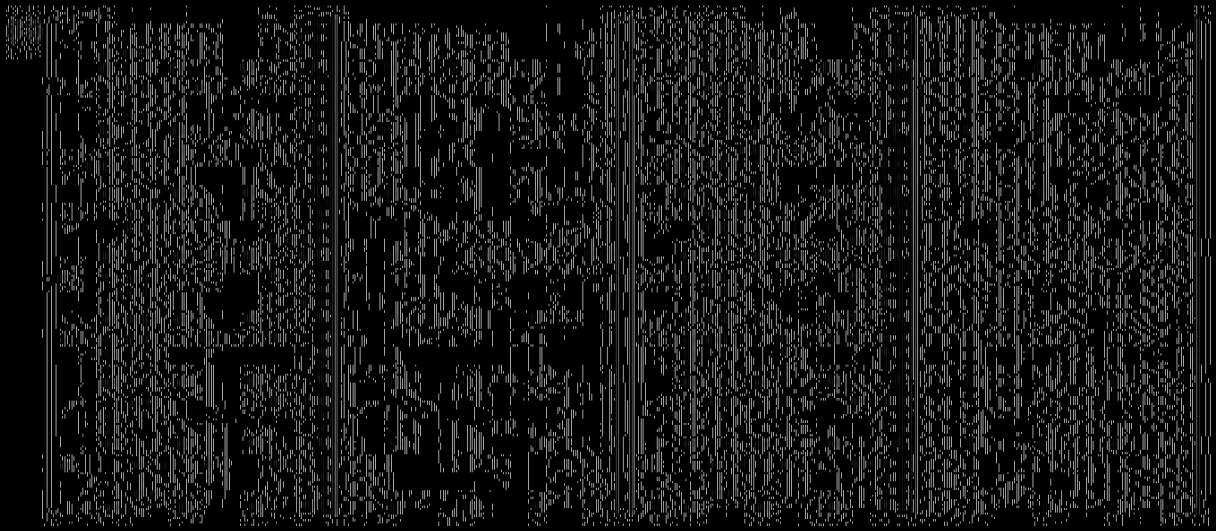

細胞凋亡評估
細胞凋亡率 (%)
40
35
30
25
20
15
10
5
0
2.0μM β-類澱粉
PEPL (μM)
1
10
50
100

第 56 圖

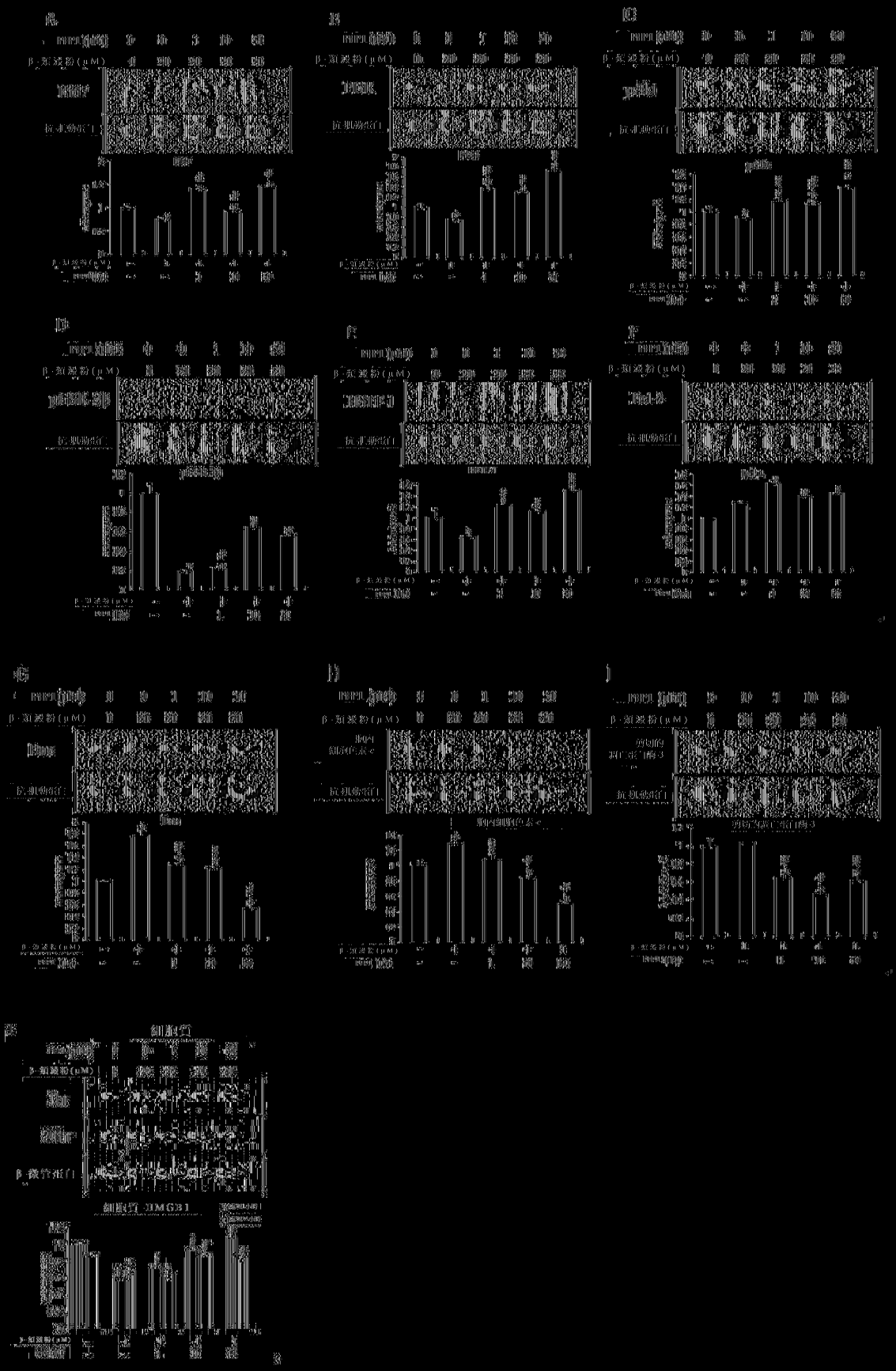

ROS 偵測
DCF 螢光強度 (相對於對照組%)
600
500
400
300
200
100
0
2.0μM β-類澱粉
PEPL (μM)
1
10
50

第 57 回

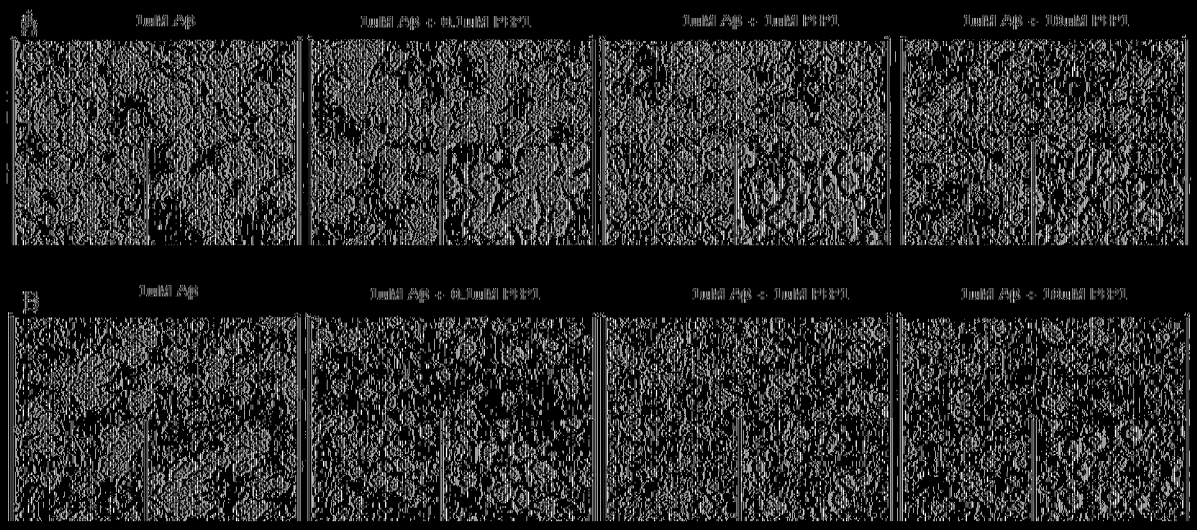




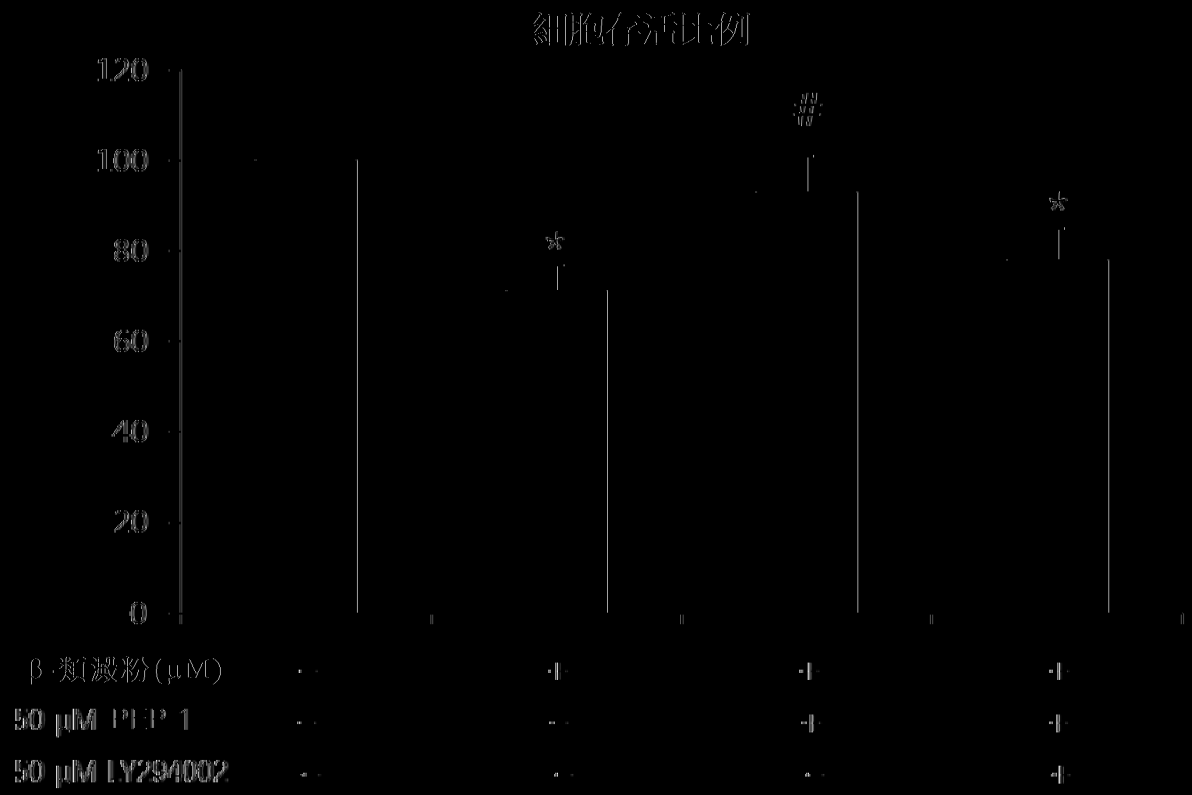
第58圖



第 59 圖


A
1μM Aβ
1μM Aβ + 0.1μM PEP1
1μM Aβ + 1μM PEP1
1μM Aβ + 10μM PEP1
B
1μM Aβ
1μM Aβ + 0.1μM PEP1
1μM Aβ + 1μM PEP1
1μM Aβ + 10μM PEP1

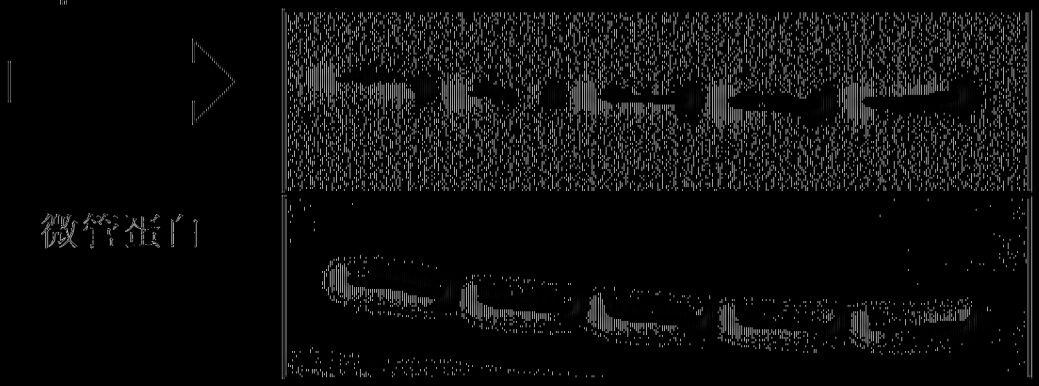
第 60 圖


細胞存活比例
120
100
80
60
40
20
0
β-類澱粉(μM)
50 μM PEP 1
50 μM LY294002

第 61 圖

HMGB1

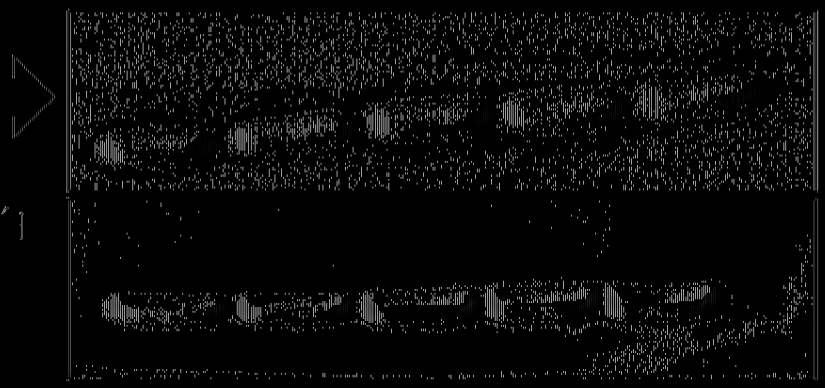
Pep RIA 2 (μM)	0	0	1	10	50
20μM β-類澱粉	0	+	+	+	+



第 62 圖

HMGB1

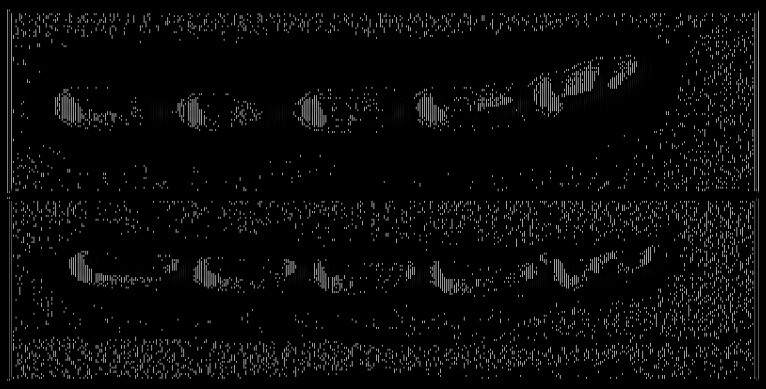
Pep RIA 3 (μM)	0	0	1	10	50
20μM β-類澱粉	0	+	+	+	+



第 63 圖

HMGB1

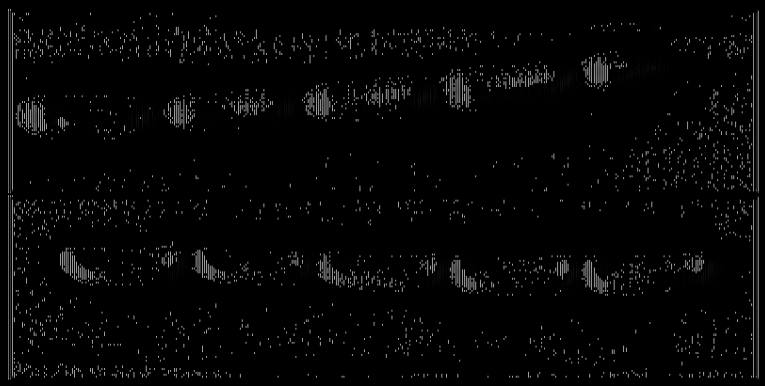
Pep RIA 5 (μM)	0	0	1	10	50
20μM β-類澱粉	0	+	+	+	+



第 64 圖

HMGB1

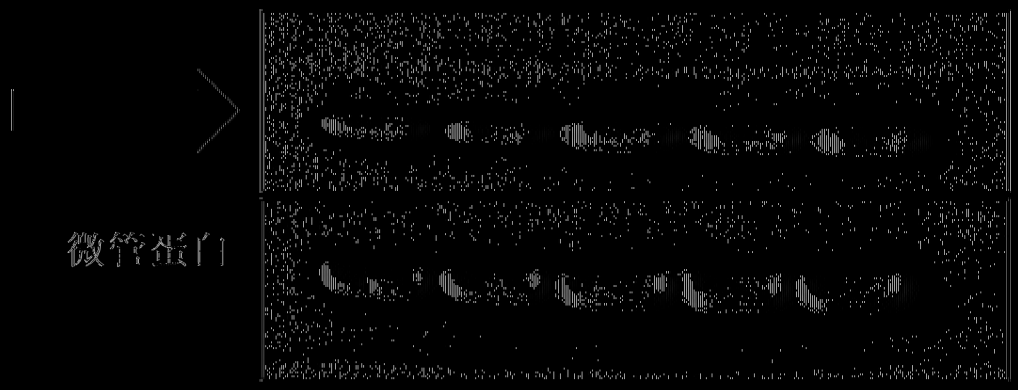
Pep RIA 6 (μM)	0	0	1	10	50
20μM β-類澱粉	0	+	+	+	+



第 65 圖

HMGB1

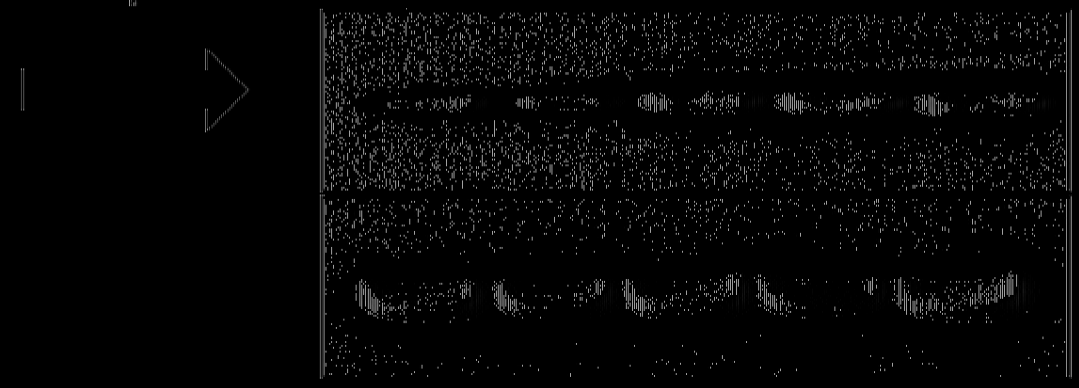
Pep RIA 7 (μM)	0	0	1	10	50
20μM β-類澱粉	0	+	+	+	+



第 66 圖

HMGB1

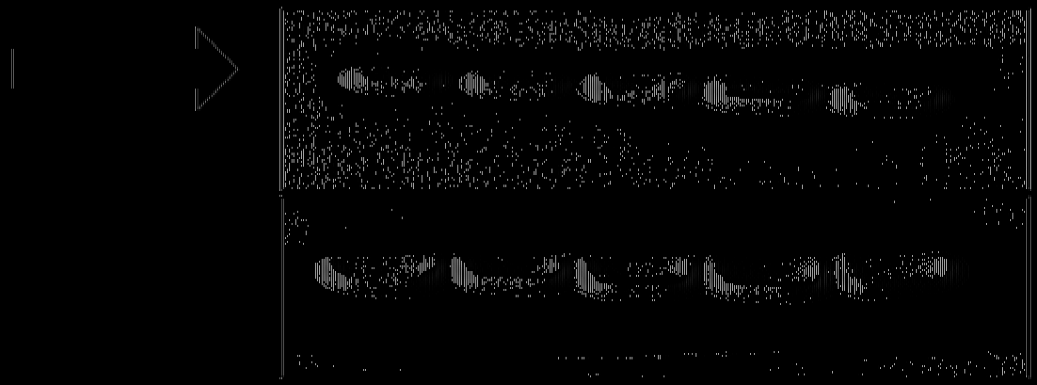
Pep RIA 8 (μM)	0	0	1	10	50
20μM β-類澱粉	0	+	+	+	+



第 67 回

HMGB1

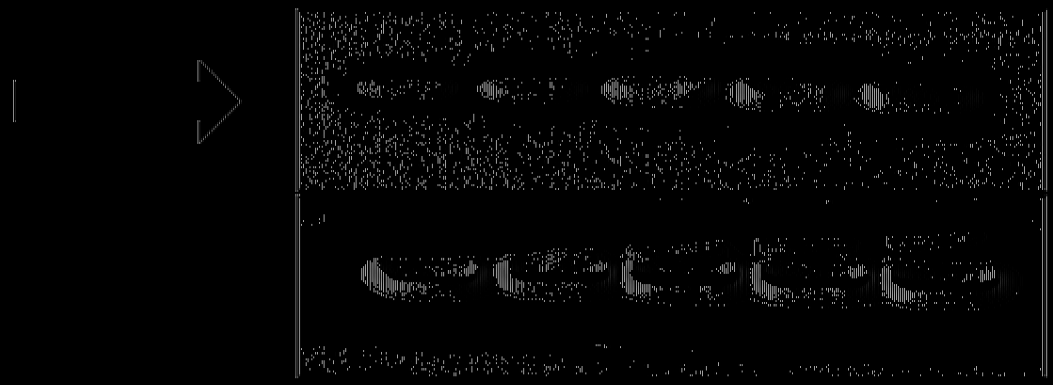
PepRIA9 (μM)	0	0	1	10	50
20μM β-類澱粉	0	+	+	+	+



第 68 回

HMGB1

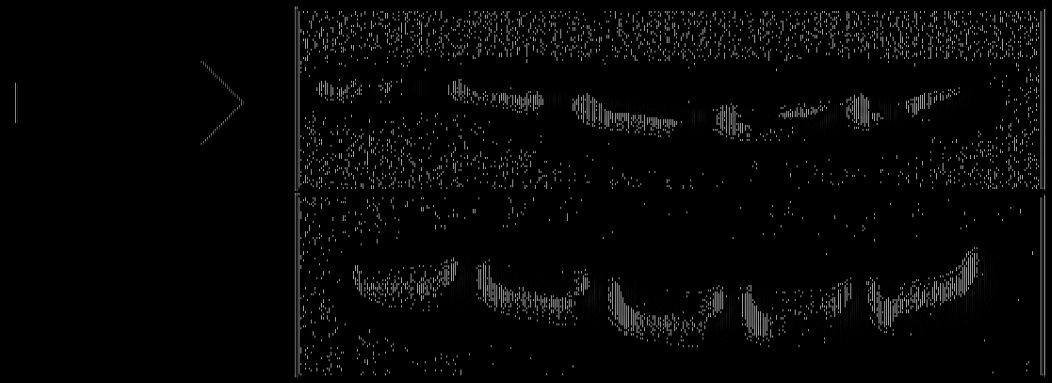
PepRIA10 (μM)	0	0	1	10	50
20μM β-類澱粉	0	+	+	+	+



第 69 回

HMGB1

Pep RIA 12 (μM)	0	0	1	10	50
20μM β-類澱粉	0	+	+	+	+



第 70 回

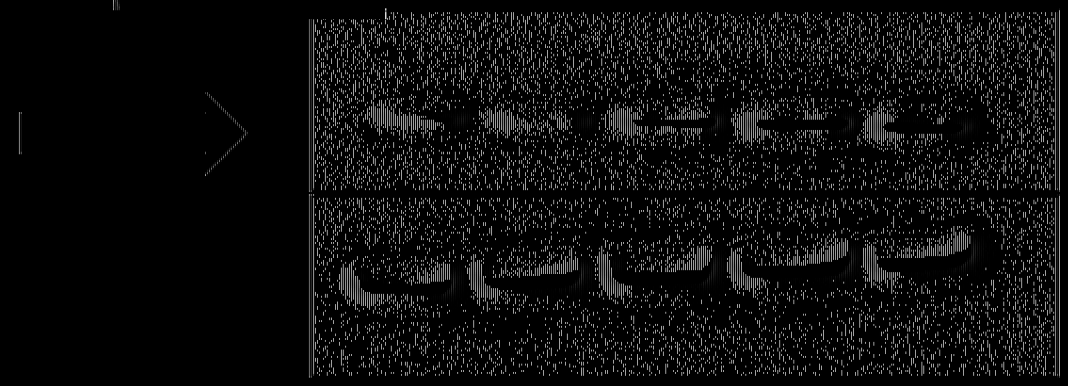
HMGB1

Pep RIA 13 (μM)	0	0	1	10	50
20μM β-類澱粉	0	+	+	+	+

第71圖

HMGB1

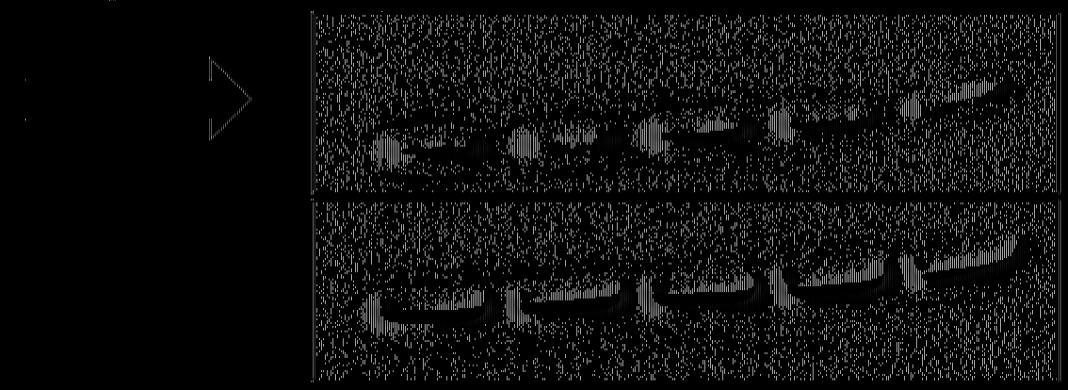
Pep RIA 14 (μM)	0	0	1	10	50
20μM β-類澱粉	0	+	+	+	+



第72圖

HMGB1

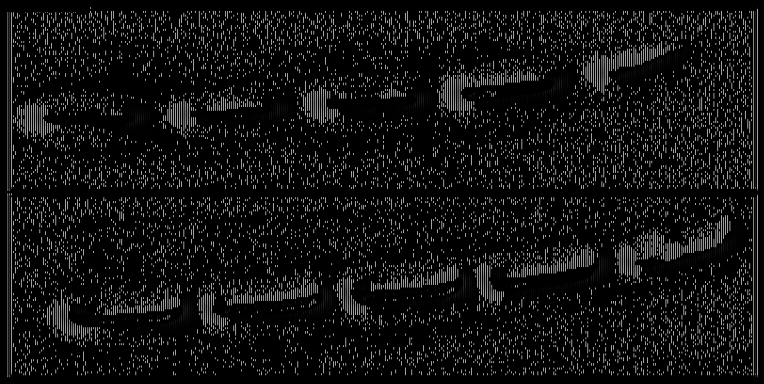
Pep RIA 15 (μM)	0	0	1	10	50
20μM β-類澱粉	0	+	+	+	+



第 73 圖

HMGB1

Pep RIA 16 (μM)	0	0	1	10	50
20μM β-類澱粉	0	+	+	+	+



第 74 圖

HMGB1

Pep RIA 21 (μM)	0	0	1	10	50
20μM β-類澱粉	0	+	+	+	+

第 75 圖

HMGB1

Pep RIA 22 (μM)	0	0	1	10	50
20μM β-類澱粉	0	+	+	+	+

第 76 圖

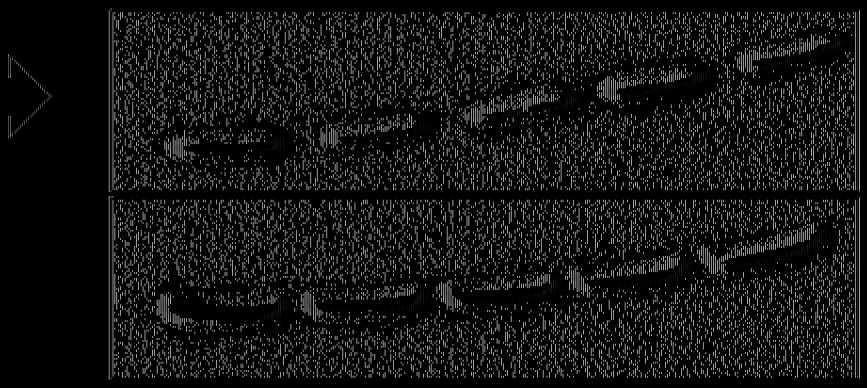
HMGB1

Pep RIA 23 (μM)	0	0	1	10	50
20μM β-類澱粉	0	+	+	+	+

第77圖

HMGB1

Pep RIA 25 (μM)	0	0	1	10	50
20μM β-類澱粉	0	+	+	+	+



第78圖

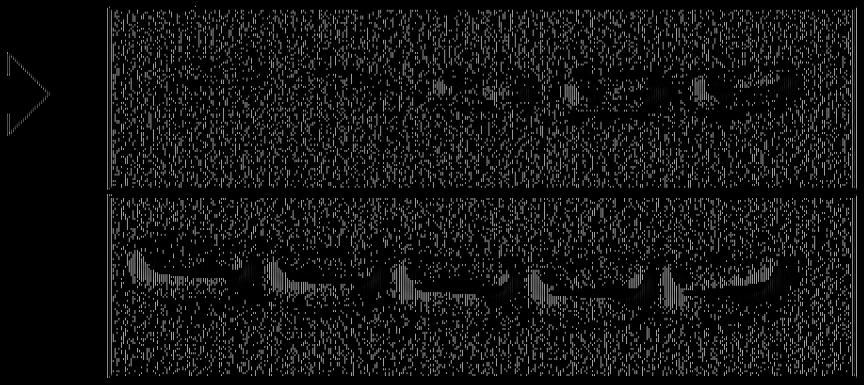
HMGB1

Pep RIA 26 (μM)	0	0	1	10	50
20μM β-類澱粉	0	+	+	+	+

第 79 回

HMGB1

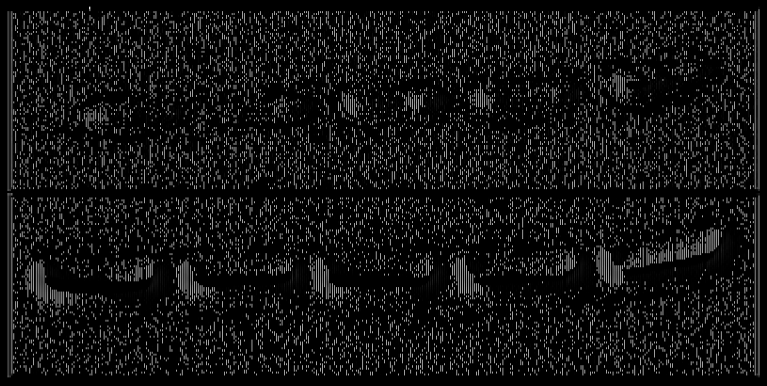
Pep RIA 27 (μM)	0	0	1	10	50
20μM β-類澱粉	0	+	+	+	+



第 80 回

HMGB1

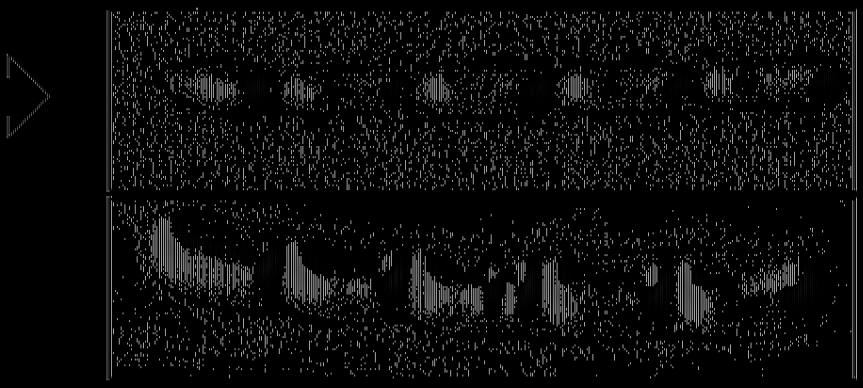
Pep RIA 28 (μM)	0	0	1	10	50
20μM β-類澱粉	0	+	+	+	+



第 81 回

HMGB1

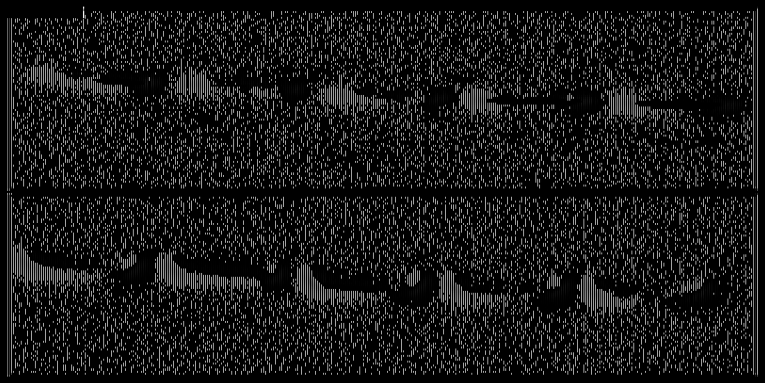
Pep RIA 29 (μM)	0	0	1	10	50
20μM β-類澱粉	0	+	+	+	+



第 82 回

HMGB1

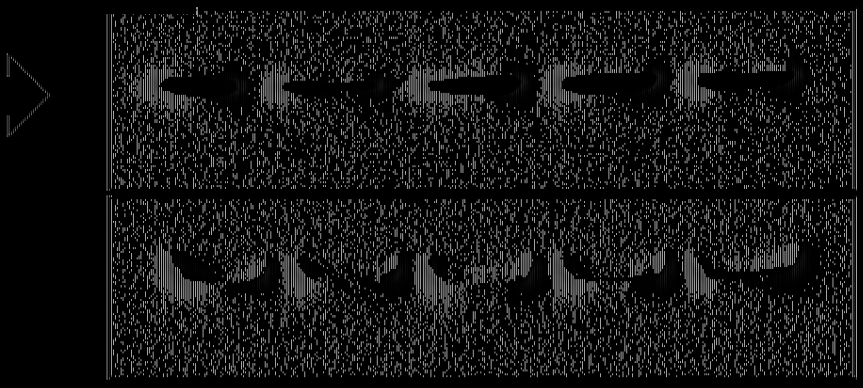
Pep RIA 34 (μM)	0	0	1	10	50
20μM β-類澱粉	0	+	+	+	+



第 83 圖

HMGB1

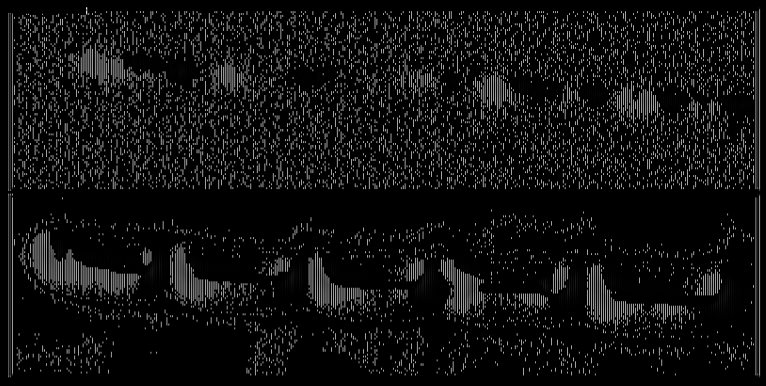
Pep RIA 35 (μM)	0	0	1	10	50
20μM β-類澱粉	0	+	+	+	+



第 84 圖

HMGB1

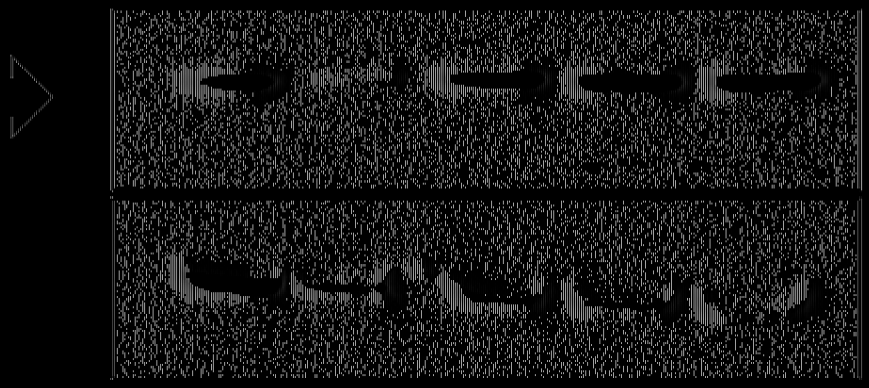
Pep RIA 36 (μM)	0	0	1	10	50
20μM β-類澱粉	0	+	+	+	+



第 85 回

HMGB1

Pep KIA 37 (μM)	0	0	1	10	50
20μM β-類澱粉	0	+	+	+	+



第 86 回

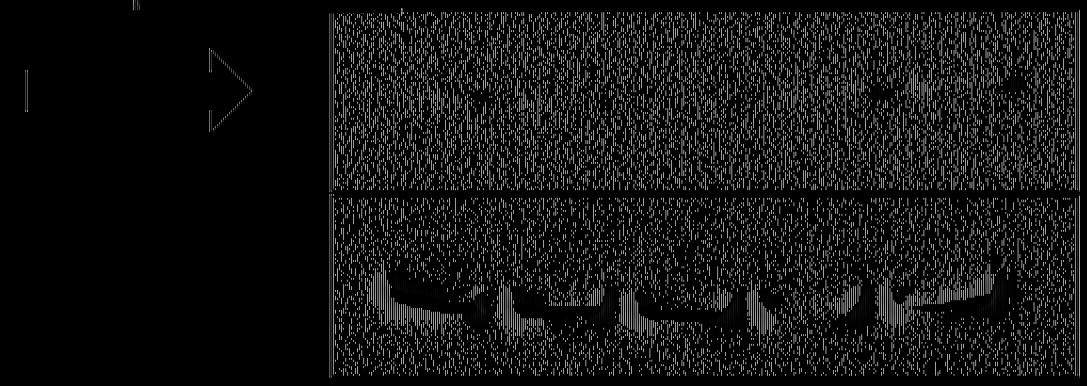
HMGB1

Pep KIA 39 (μM)	0	0	1	10	50
20μM β-類澱粉	0	+	+	+	+

第87圖

HMGB1

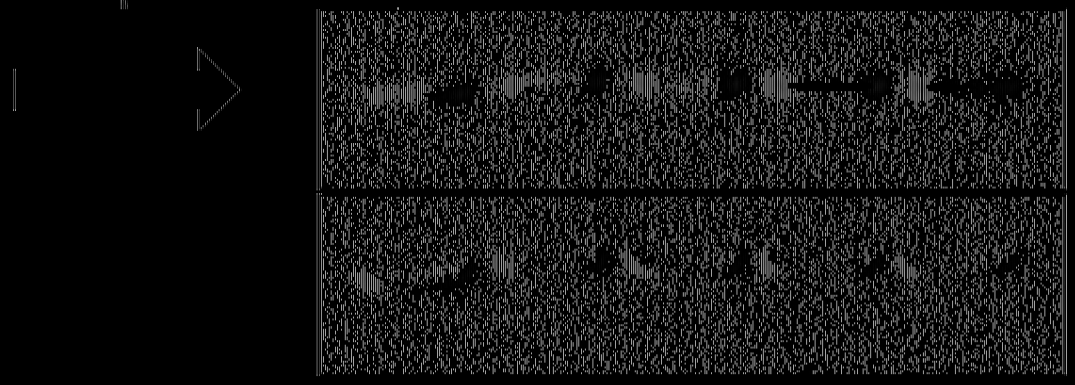
Pep RIA 42 (μM)	0	0	1	10	50
20μM β-類澱粉	0	+	+	+	+



第88圖

HMGB1

Pep RIA 44 (μM)	0	0	1	10	50
20μM β-類澱粉	0	+	+	+	+



第 89 圖

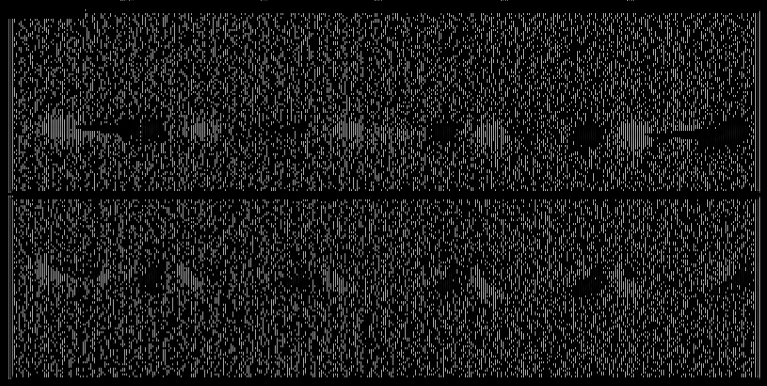
HMGB1

Pep RIA 45 (μM)	0	0	1	10	50
20μM β-類澱粉	0	+	+	+	+

第 90 圖

HMGB1

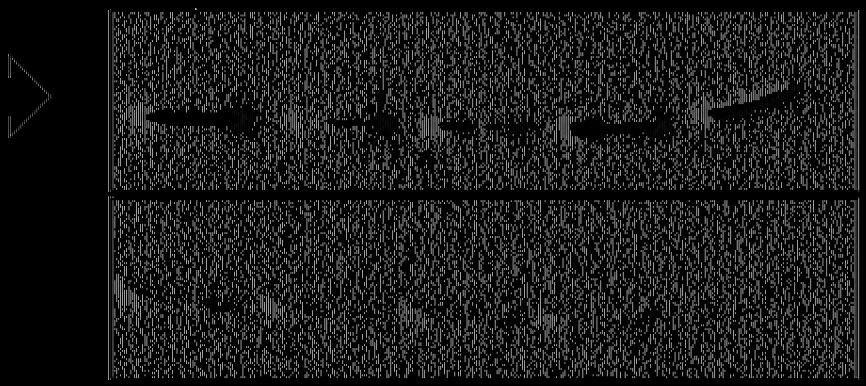
Pep RIA 46 (μM)	0	0	1	10	50
20μM β-類澱粉	0	+	+	+	+



第91回

HMGB1

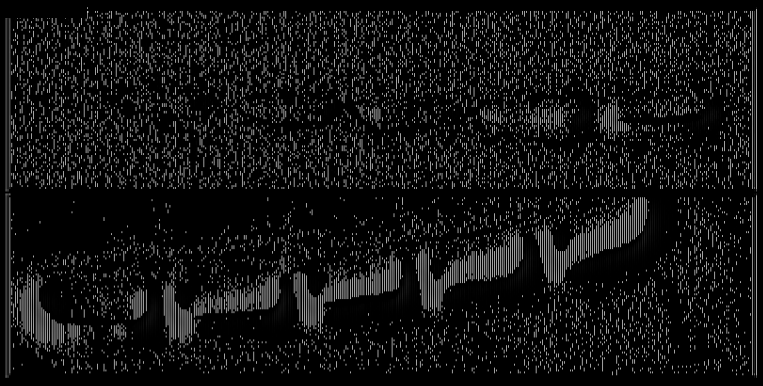
PepRIA47 (μM)	0	0	1	10	50
20μM β-類澱粉	0	+	+	+	+



第92回

HMGB1

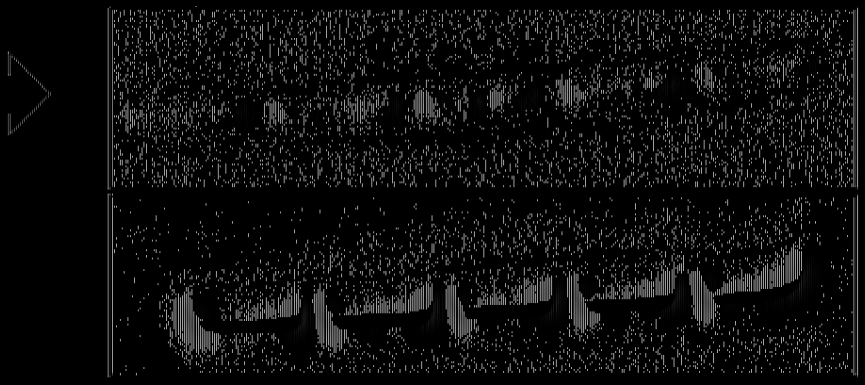
PepRIA56 (μM)	0	0	1	10	50
20μM β-類澱粉	0	+	+	+	+



第 93 回

HIMGBT.

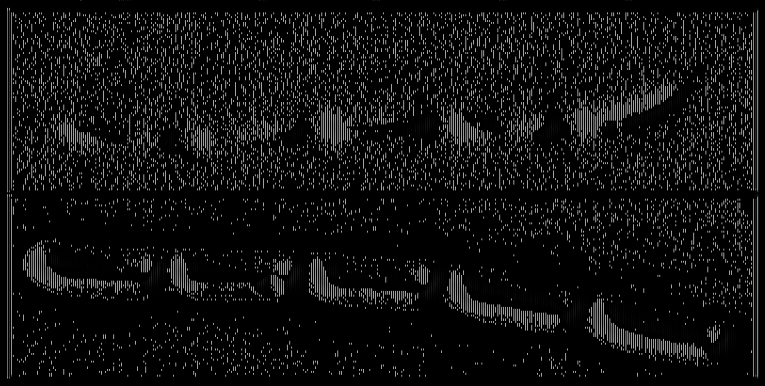
Pep KIA 57 (μM)	0	0	1	10	50
20μM β-類澱粉	0	+++	+++	+++	+++



第 94 回

HIMGBT.

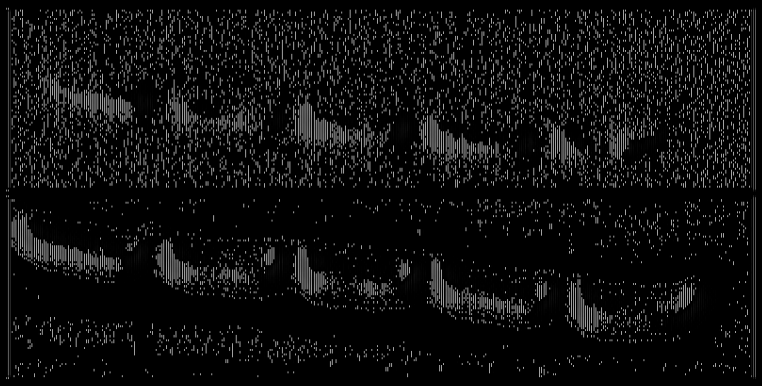
Pep KIA 60 (μM)	0	0	1	10	50
20μM β-類澱粉	0	+++	+++	+++	+++



第 95 圖

HMGB1

Pep RIA 63 (μM)	0	0	1	10	50
20μM β-類澱粉	0	+	+	+	+



第 96 圖

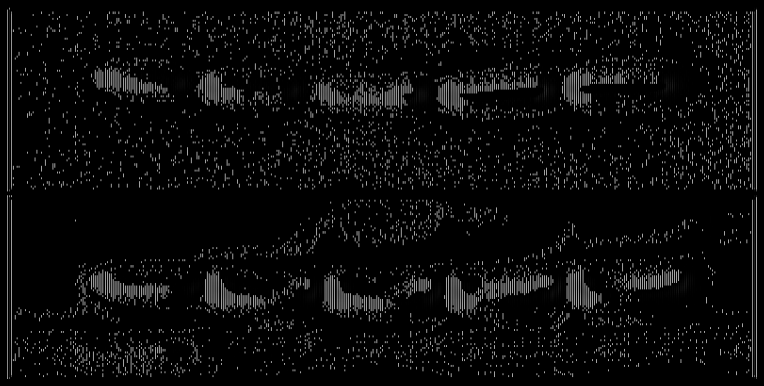
HMGB1

Pep RIA 64 (μM)	0	0	1	10	50
20μM β-類澱粉	0	+	+	+	+

第 97 圖

HIMGB1

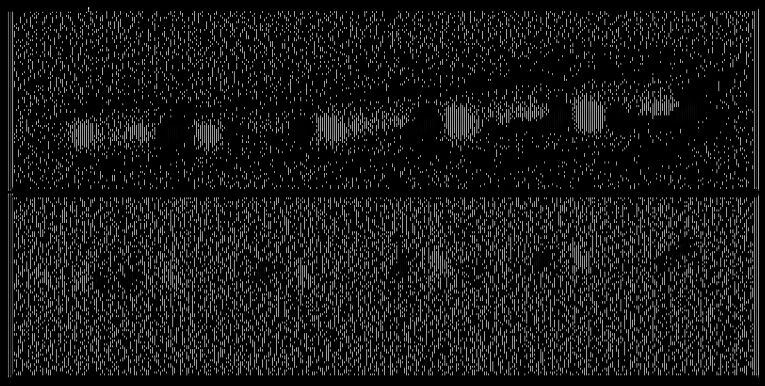
Pep RIA 65 (μM)	0	0	1	10	50
20μM β-類澱粉	0	+	+	+	+



第 98 圖

HIMGB1

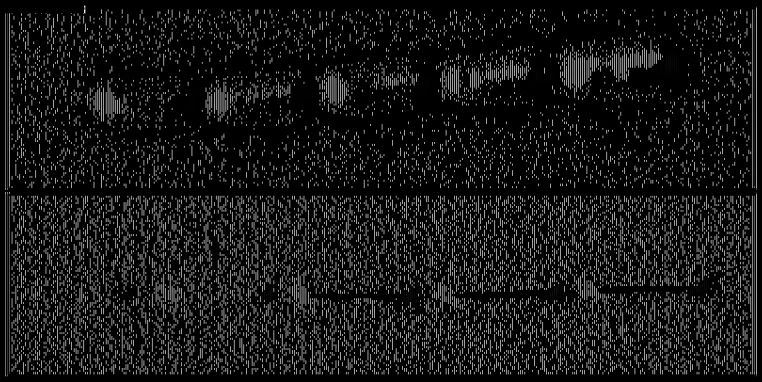
Pep RIA 68 (μM)	0	0	1	10	50
20μM β-類澱粉	0	+	+	+	+



第 99 回

HMGB1

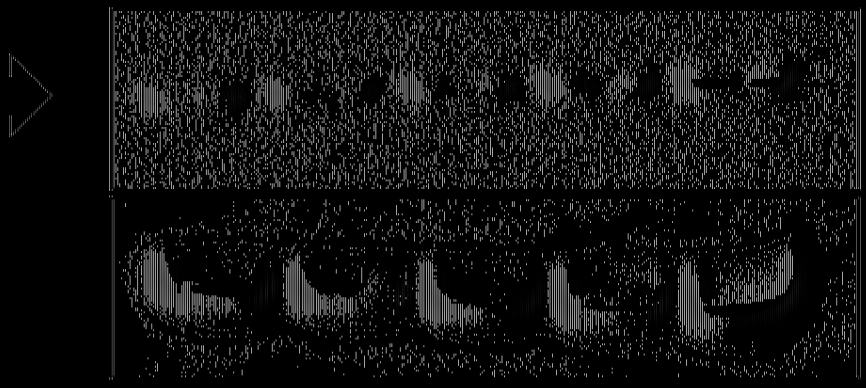
Pep RIA 70 (μM)	0	0	1	10	50
20μM β-類澱粉	0	+	+	+	+



第 100 回

HMGB1

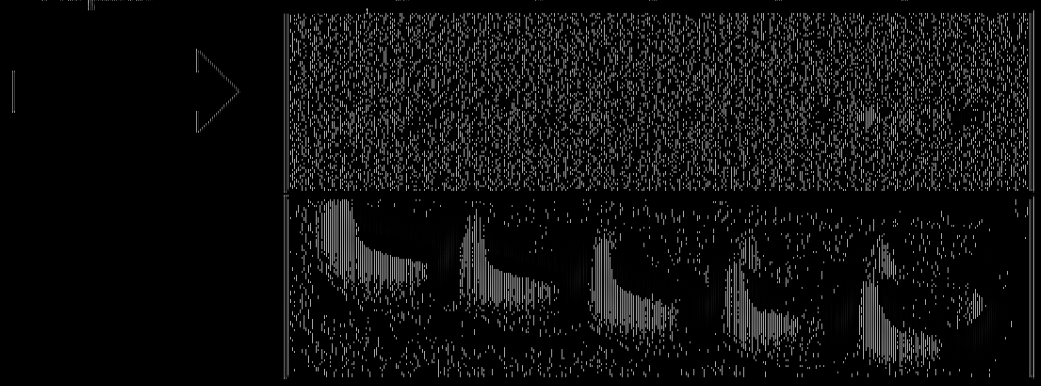
Pep RIA 73 (μM)	0	0	1	10	50
20μM β-類澱粉	0	+	+	+	+



第 101 圖

HMGB1

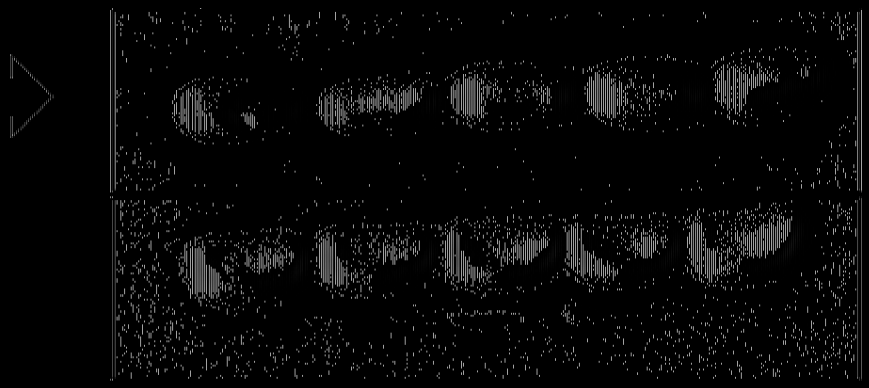
Pep RIA 74 (μM)	0	0	1	10	50
20μM β-類澱粉	0	+	+	+	+



第 102 圖

HMGB1

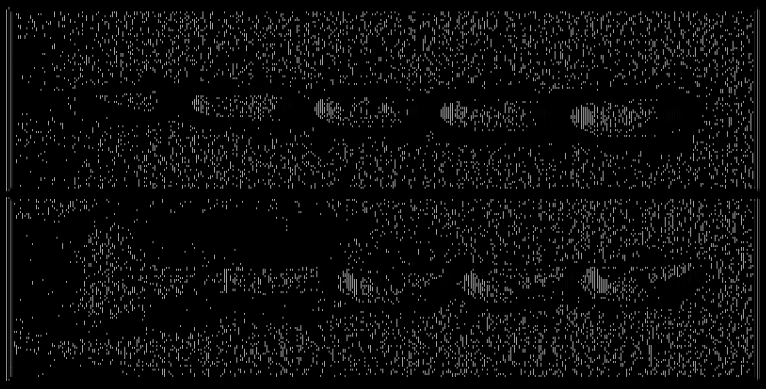
Pep RIA 75 (μM)	0	0	1	10	50
20μM β-類澱粉	0	+	+	+	+



第 103 圖

HIMGB1.

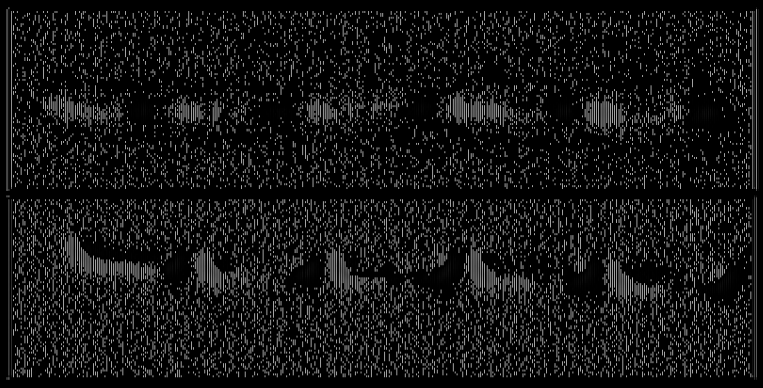
Pep RIA 82 (μM)	0	0	1	10	50
20μM β-類澱粉	0	+	+	+	+



第 104 圖

HIMGB1.

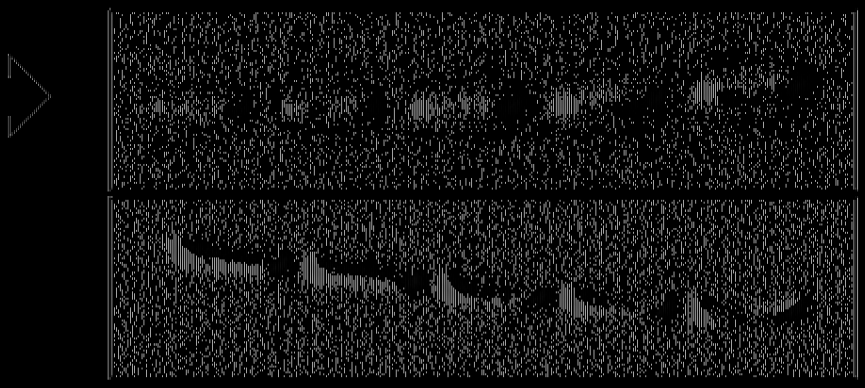
Pep RIA 83 (μM)	0	0	1	10	50
20μM β-類澱粉	0	+	+	+	+



第 105 圖

HMGB1

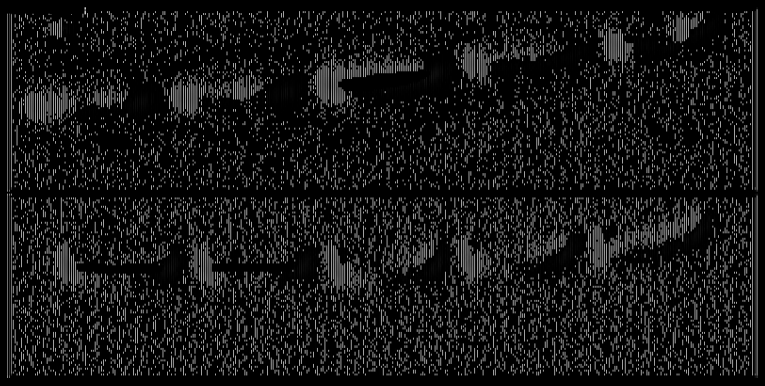
Pep RIA 87 (μM)	0	0	1	10	50
20μM β-類澱粉	0	+++	+++	+++	+++



第 106 圖

HMGB1

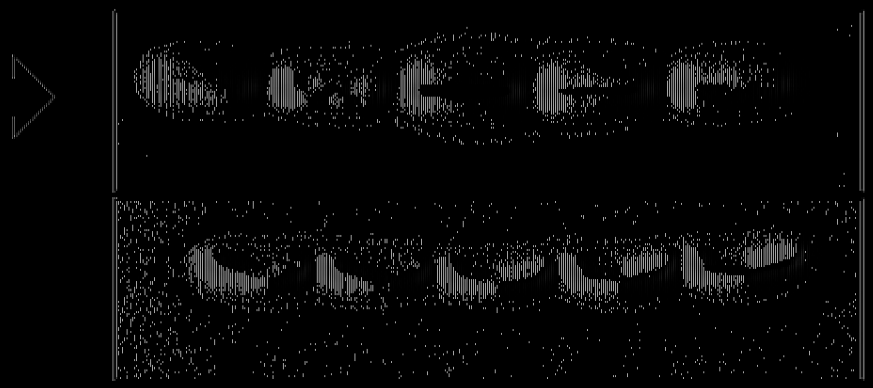
Pep RIA 88 (μM)	0	0	1	10	50
20μM β-類澱粉	0	+++	+++	+++	+++



第 107 圖

HMGB1

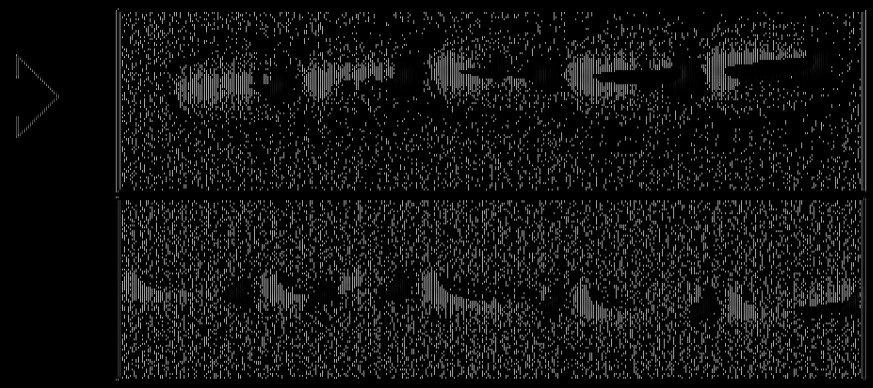
Pep RIA 89 (μM)	0	0	1	10	50
20μM β-類澱粉	0	+	+	+	+



第 108 圖

HMGB1

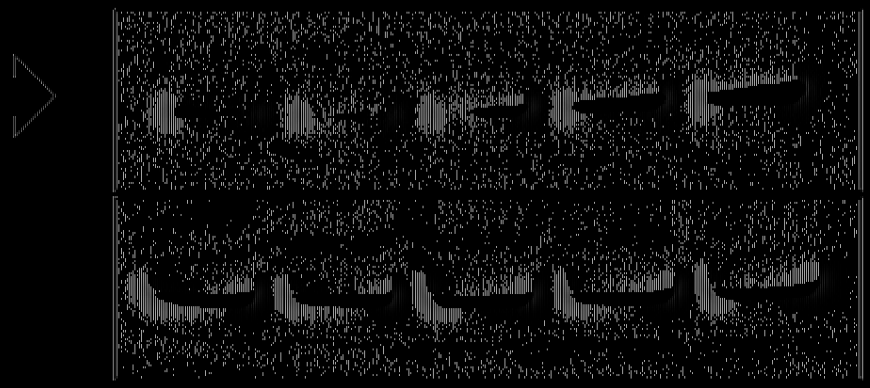
Pep RIA 91 (μM)	0	0	1	10	50
20μM β-類澱粉	0	+	+	+	+



第 109 圖

HMGB1

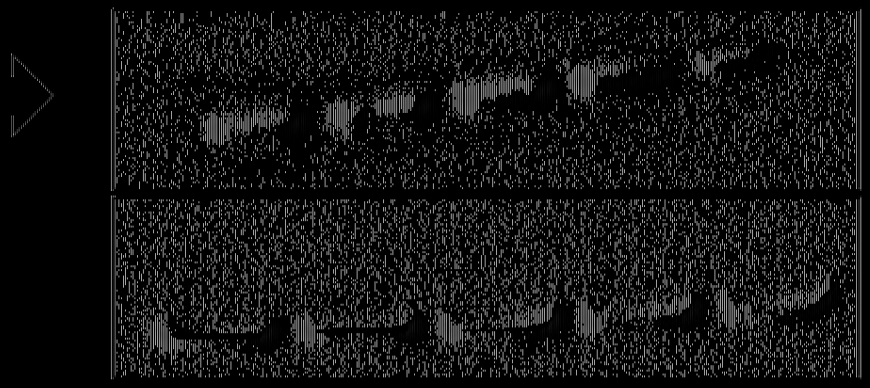
Pep RIA 93 (μM)	0	0	1	10	50
20μM β-類澱粉	0	+	+	+	+



第 110 圖

HMGB1

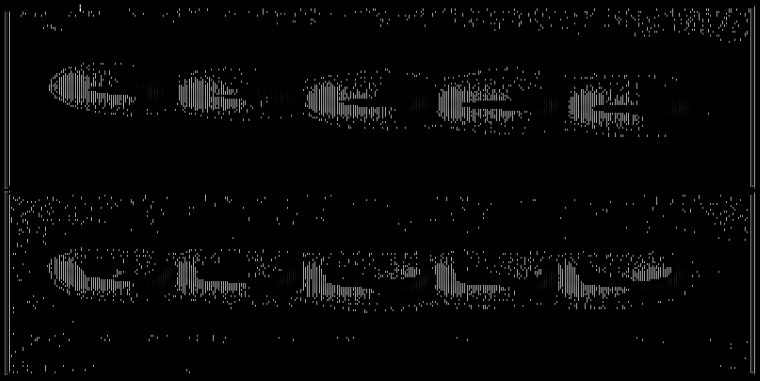
Pep RIA 95 (μM)	0	0	1	10	50
20μM β-類澱粉	0	+	+	+	+



第 111 圖

HMGB1

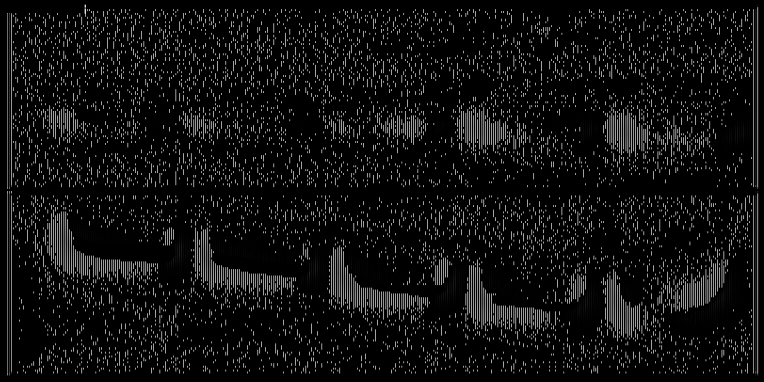
Pep RIA 96 (μM)	0	0	1	10	50
20μM β-類澱粉	0	+	+	+	+



第 112 圖

HMGB1

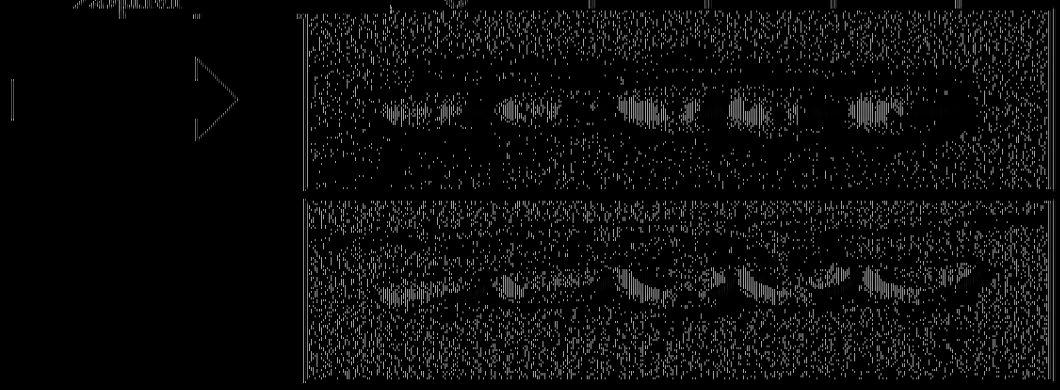
Pep RIA 98 (μM)	0	0	1	10	50
20μM β-類澱粉	0	+	+	+	+



第 113 圖

HMGB1

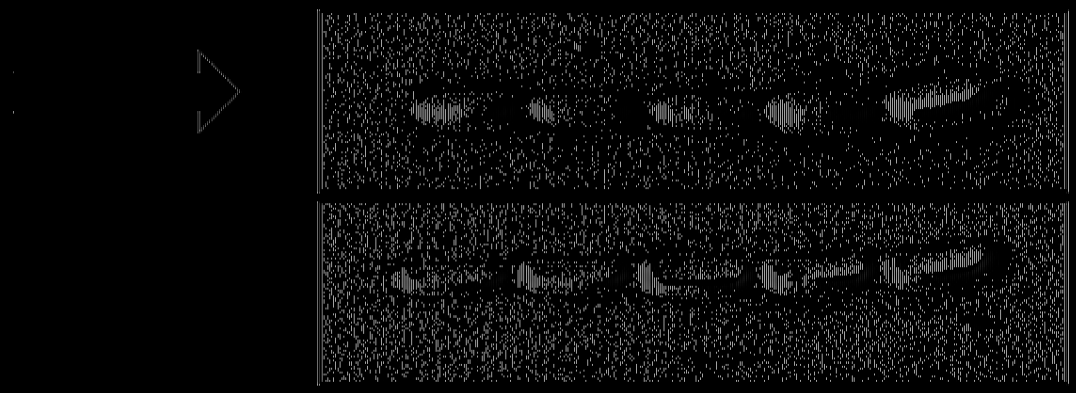
Pep RIA 102 (μM)	0	0	1	10	50
20μM β-類澱粉	0	+	+	+	+



第 114 圖

HMGB1

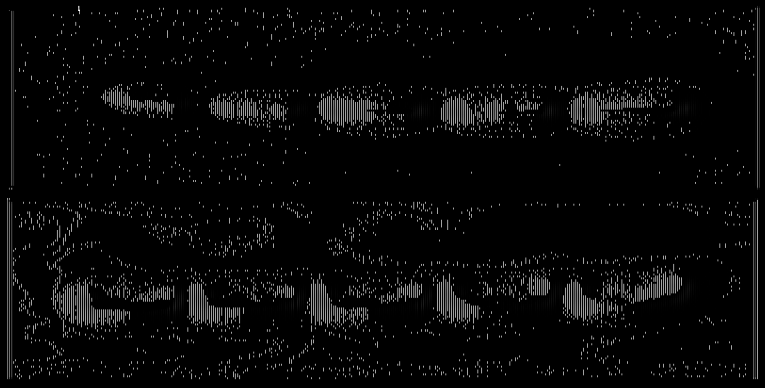
Pep RIA 109 (μM)	0	0	1	10	50
20μM β-類澱粉	0	+	+	+	+



第 115 圖

HMGB1

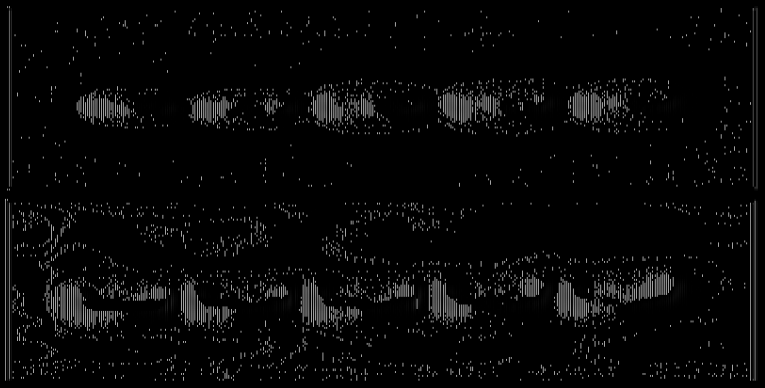
Pep RIA 110 (μM)	0	0	1	10	50
20μM β-類澱粉	0	+	+	+	+



第 116 圖

HMGB1

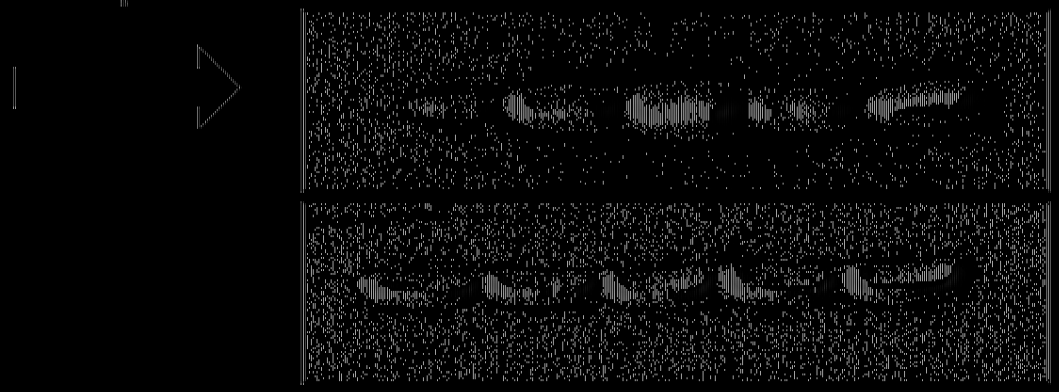
Pep RIA 111 (μM)	0	0	1	10	50
20μM β-類澱粉	0	+	+	+	+



第 117 圖

HMGB1

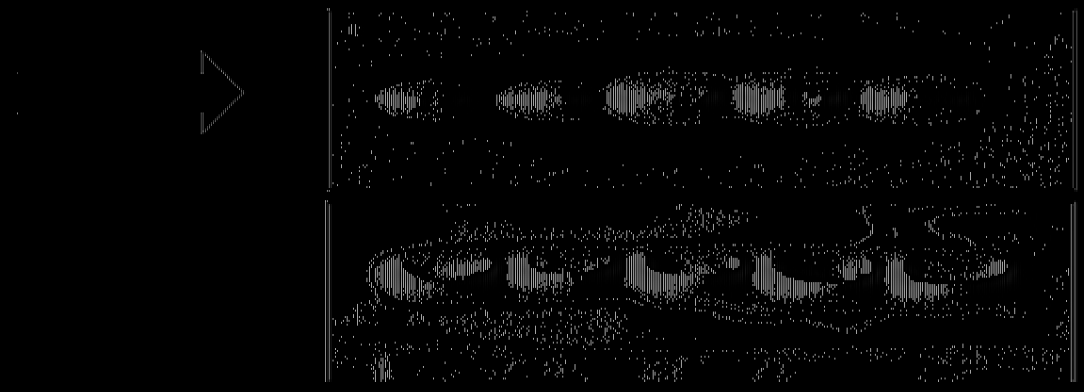
Pep KIA 112 (μM)	0	0	1	10	50
20μM β-類澱粉	0	+	+	+	+



第 118 圖

HMGB1

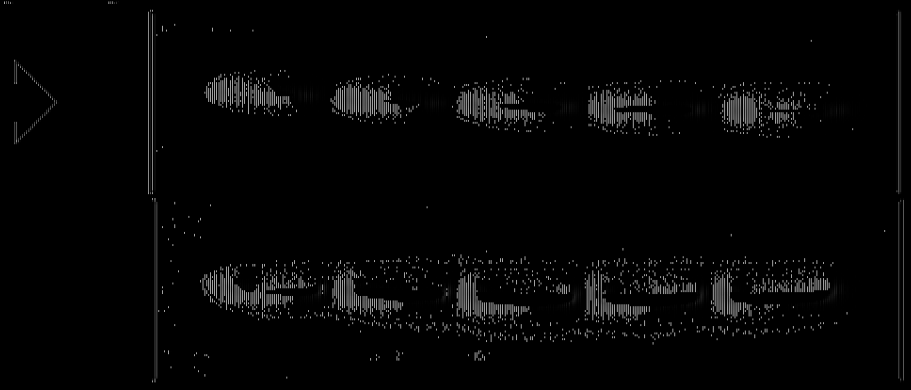
Pep KIA 113 (μM)	0	0	1	10	50
20μM β-類澱粉	0	+	+	+	+



第 119 圖

HMGB1

Pep RIA 115 (μM)	0	0	1	10	50
20μM β-類澱粉	0	+	+	+	+



第 120 圖

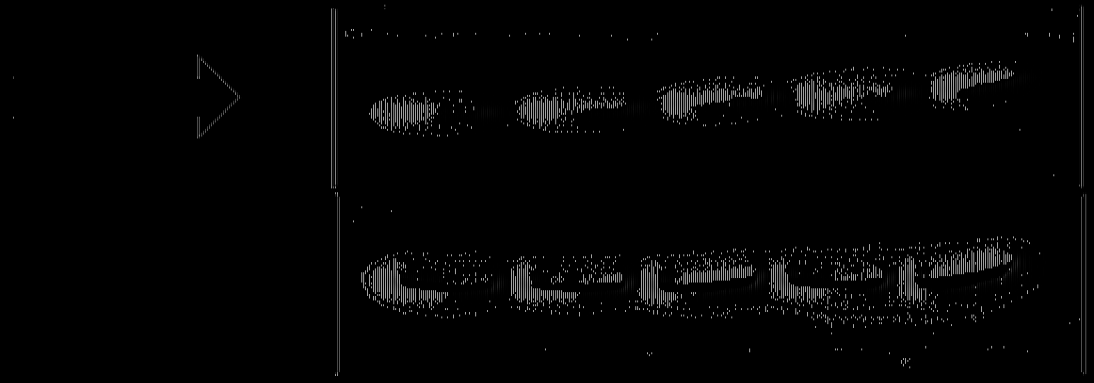
HMGB1

Pep RIA 116 (μM)	0	0	1	10	50
20μM β-類澱粉	0	+	+	+	+

第 121 圖

HMGB1

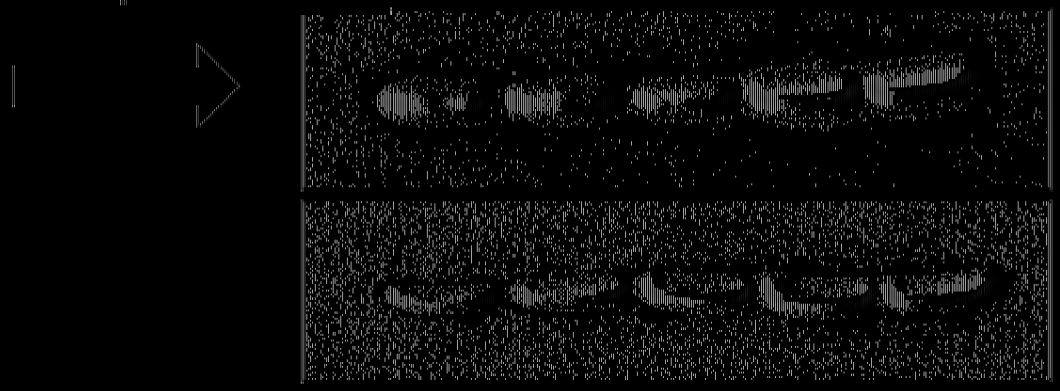
Pep RIA 117 (μM)	0	0	1	10	50
20μM β-類澱粉	0	+	+	+	+



第 122 圖

HMGB1

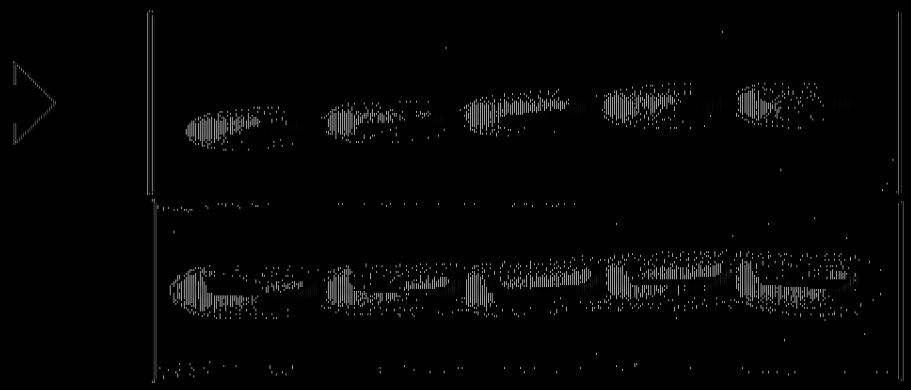
Pep RIA 118 (μM)	0	0	1	10	50
20μM β-類澱粉	0	+	+	+	+



第 123 圖

HMGB1

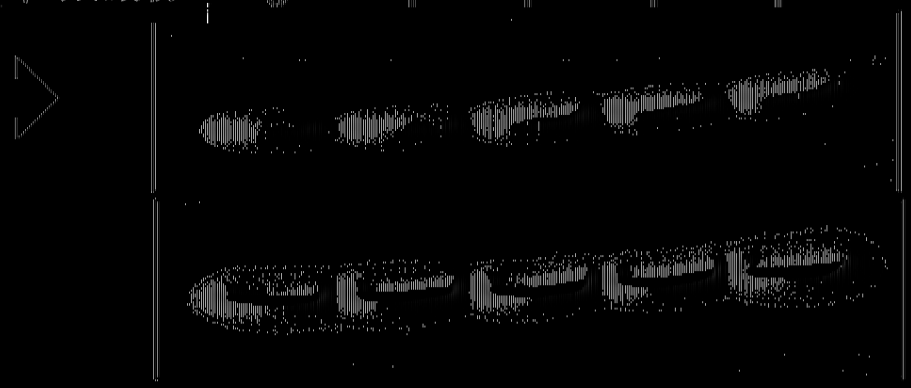
Pep RIA 119 (μM)	0	0	1	10	50
20μM β-類澱粉	0	+	+	+	+



第 124 圖

HMGB1

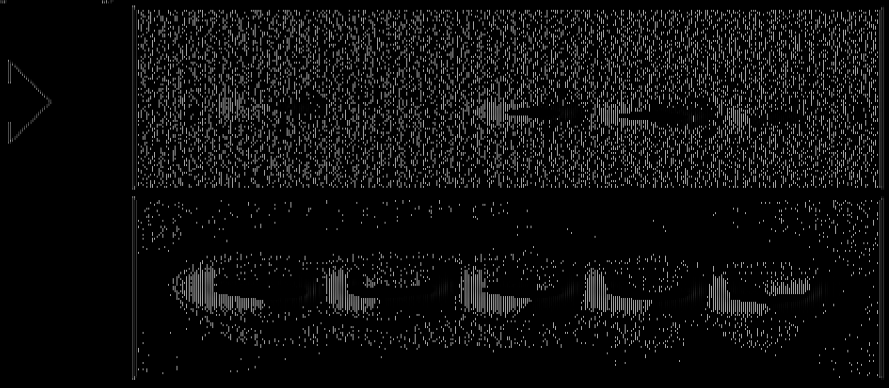
Pep RIA 120 (μM)	0	0	1	10	50
20μM β-類澱粉	0	+	+	+	+



第 125 回

HMGB1.

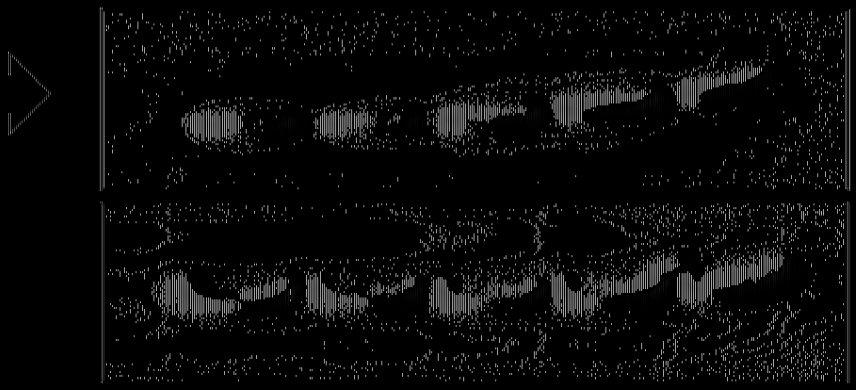
Pep RIA 121 (μM)	0	0	1	10	50
20μM β-類澱粉	0	+	+	+	+



第 126 回

HMGB1.

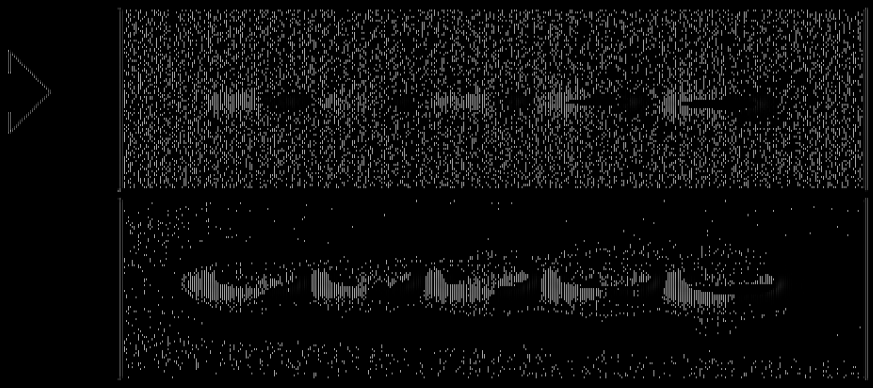
Pep RIA 123 (μM)	0	0	1	10	50
20μM β-類澱粉	0	+	+	+	+



第 127 圖

HMGB1

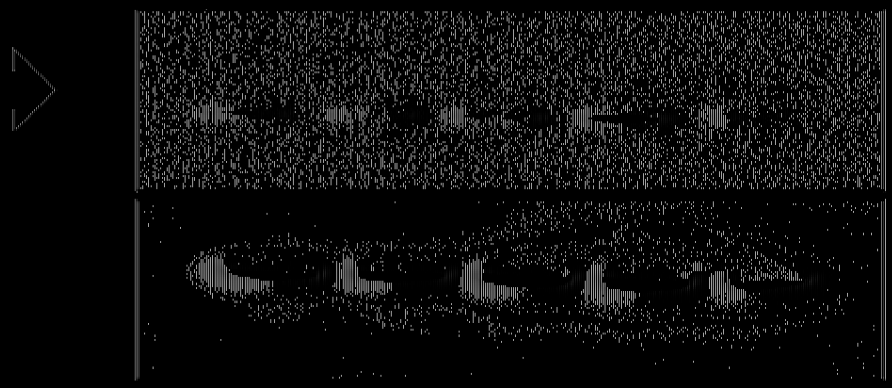
Pep RIA 127 (μM)	0	0	1	10	50
20μM β-類澱粉	0	+	+	+	+



第 128 圖

HMGB1

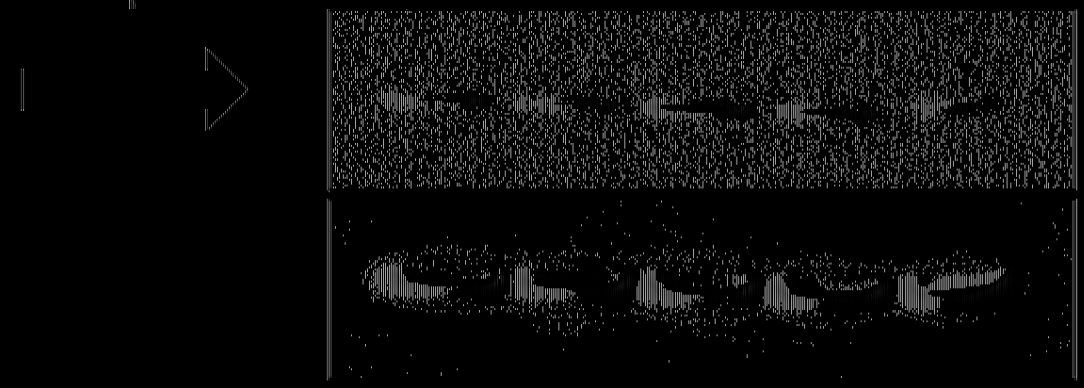
Pep RIA 128 (μM)	0	0	1	10	50
20μM β-類澱粉	0	+	+	+	+



第 129 圖

HMGB1

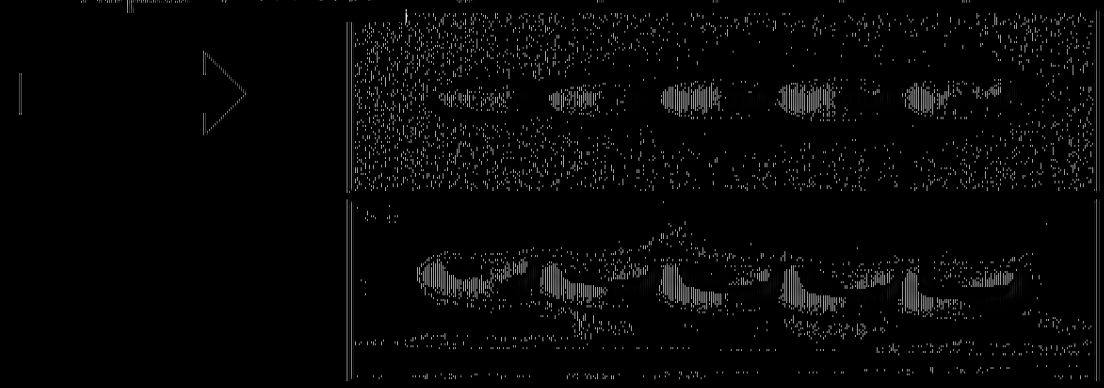
Pep RIA 130 (μM)	0	0	1	10	50
20μM β-類澱粉	0	+	+	+	+



第 130 圖

HMGB1

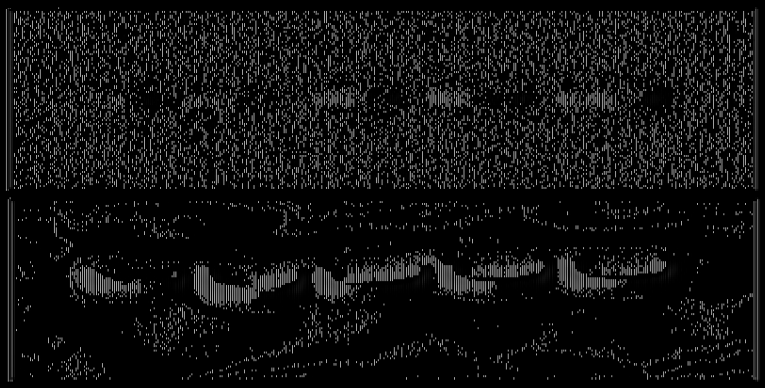
Pep RIA 132 (μM)	0	0	1	10	50
20μM β-類澱粉	0	+	+	+	+



第 131 圖

HMGB1

Pep RIA 133 (μM)	0	0	1	10	50
20μM β-類澱粉	0	+	+	+	+



第 132 圖

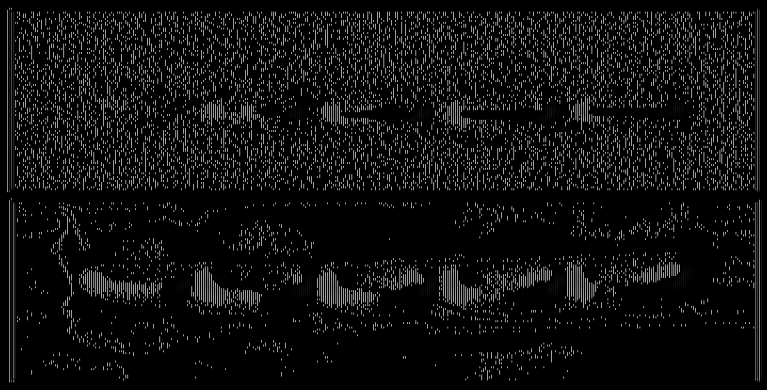
HMGB1

Pep RIA 134 (μM)	0	0	1	10	50
20μM β-類澱粉	0	+	+	+	+

第 133 圖

HMGB1

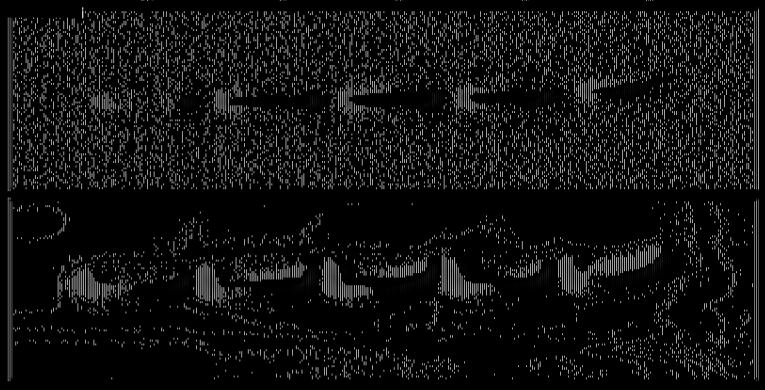
Pep RIA 135 (μM)	0	0	1	10	50
20μM β-類澱粉	0	+	+	+	+



第 134 圖

HMGB1

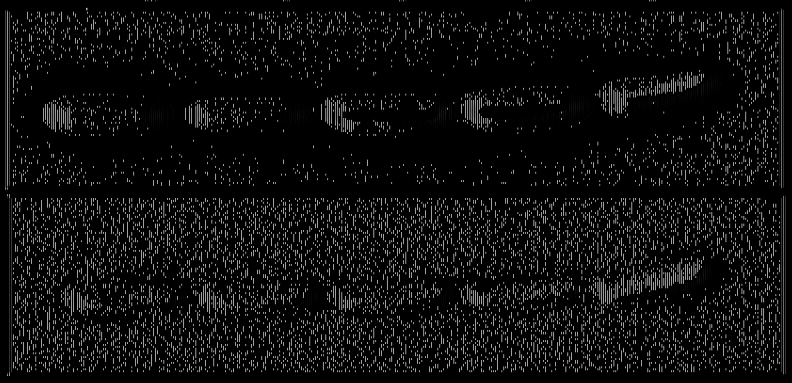
Pep RIA 136 (μM)	0	0	1	10	50
20μM β-類澱粉	0	+	+	+	+



第 135 圖

HMGB1

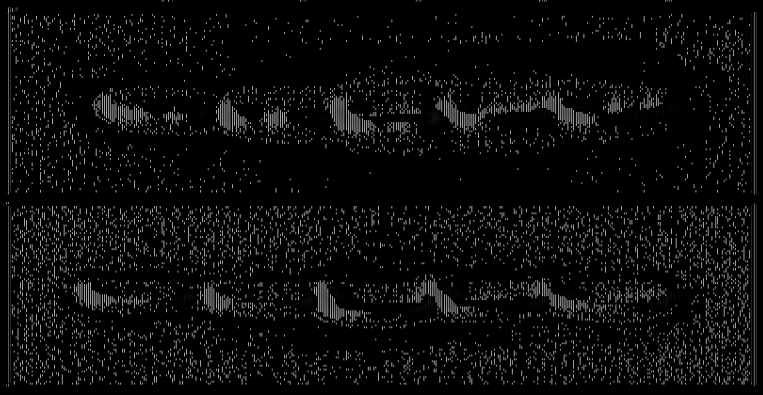
Pep RIA 142(μM)	0	0	1	10	50
20μM β-類澱粉	0	+	+	+	+



第 136 圖

HMGB1

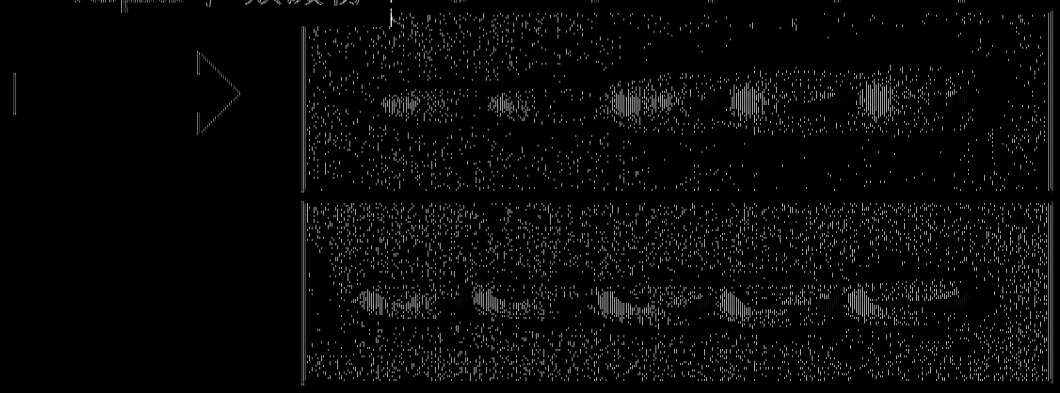
Pep RIA 143 (μM)	0	0	1	10	50
20μM β-類澱粉	0	+	+	+	+



第 137 圖

HMGB1

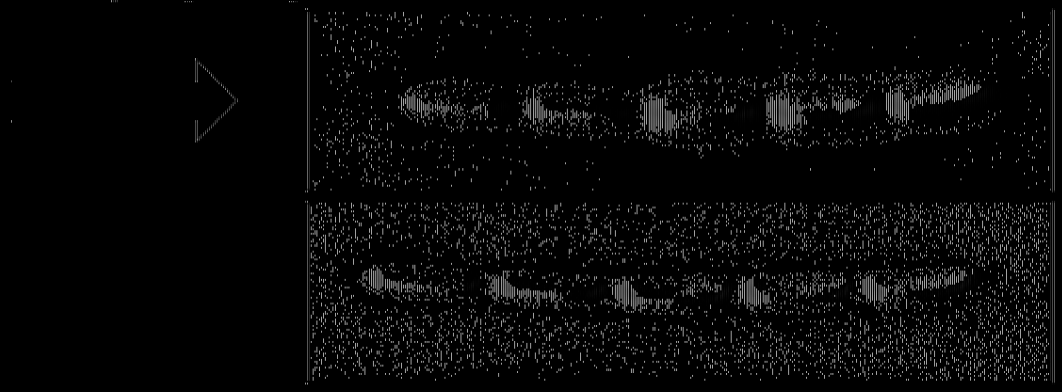
Pep RIA 144 (μM)	0	0	1	10	50
20μM β-類澱粉	0	+	+	+	+



第 138 圖

HMGB1

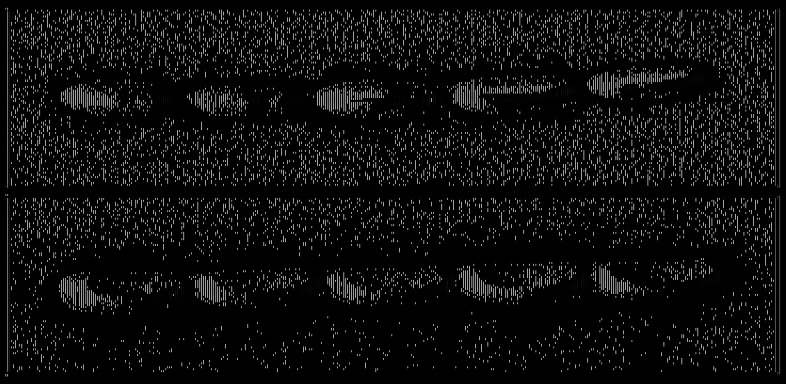
Pep RIA 145 (μM)	0	0	1	10	50
20μM β-類澱粉	0	+	+	+	+



第 139 圖

HMGB1

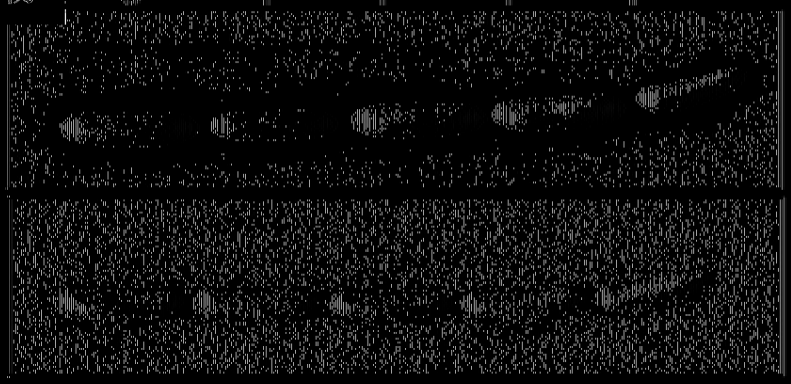
Pep RIA 147 (μM)	0	0	1	10	50
20μM β-類澱粉	0	+	+	+	+



第 140 圖

HMGB1

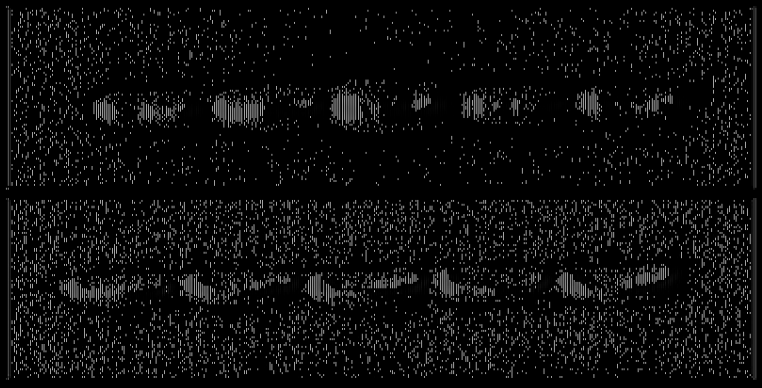
Pep RIA 148 (μM)	0	0	1	10	50
20μM β-類澱粉	0	+	+	+	+



第 141 回

HMGB1

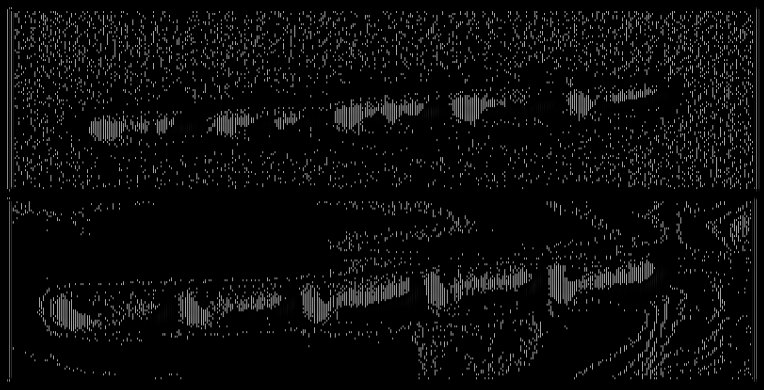
Pep RIA 149 (μM)	0	0	1	10	50
20μM β-類澱粉	0	+	+	+	+



第 142 回

HMGB1

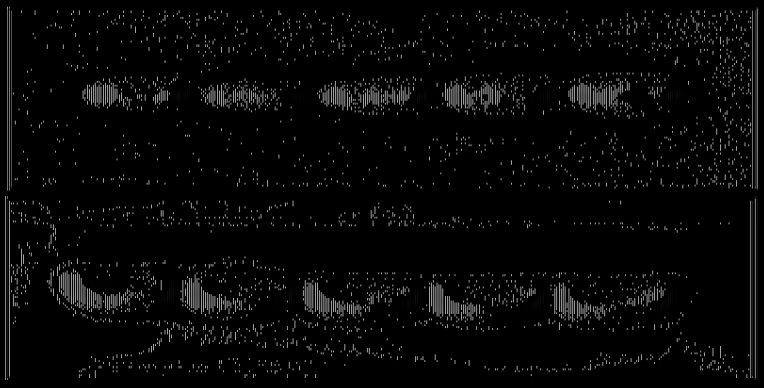
Pep RIA 153 (μM)	0	0	1	10	50
20μM β-類澱粉	0	+	+	+	+



第 143 圖

HMGB1

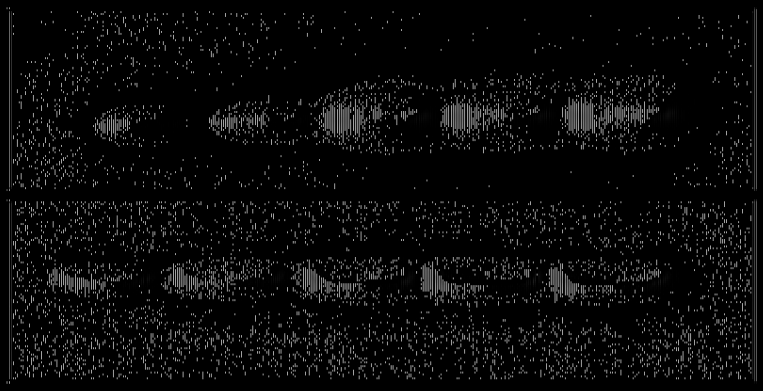
Pep RIA 154 (μM)	0	0	1	10	50
20μM β-類澱粉	0	+	+	+	+



第 144 圖

HMGB1

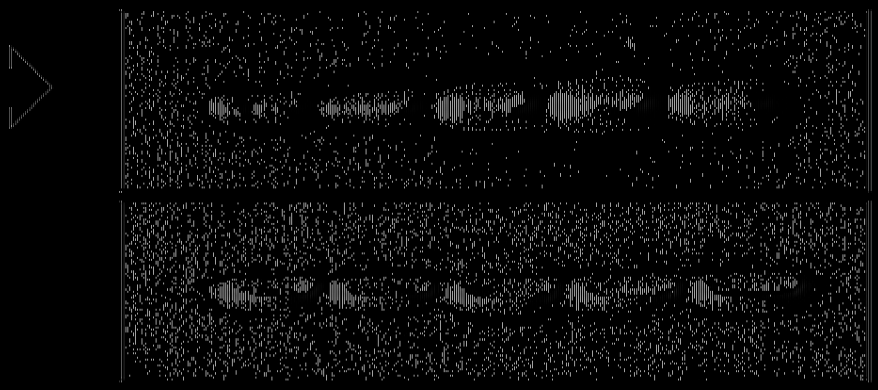
Pep RIA 155 (μM)	0	0	1	10	50
20μM β-類澱粉	0	+	+	+	+



第 145 圖

HMGB1

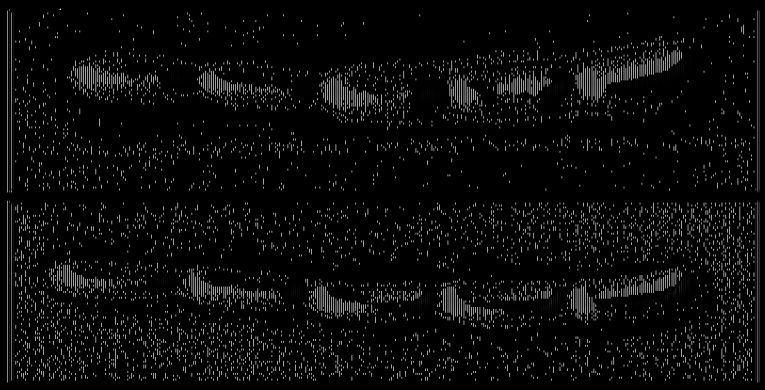
Pep RIA 157 (μM)	0	0	1	10	50
20μM β-類澱粉	0	+	+	+	+



第 146 圖

HMGB1

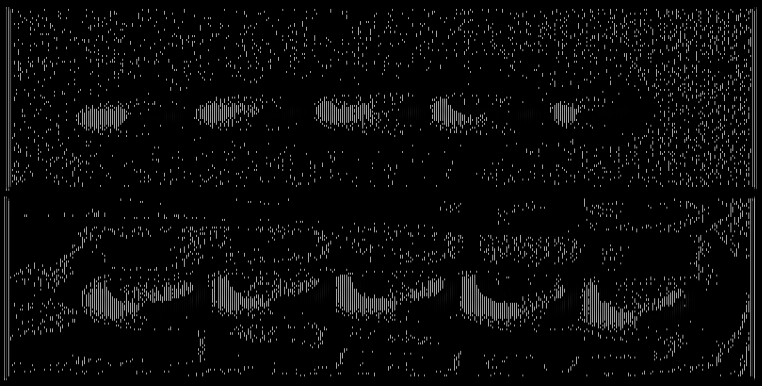
Pep RIA 158 (μM)	0	0	1	10	50
20μM β-類澱粉	0	+	+	+	+



第147圖

HMGB1

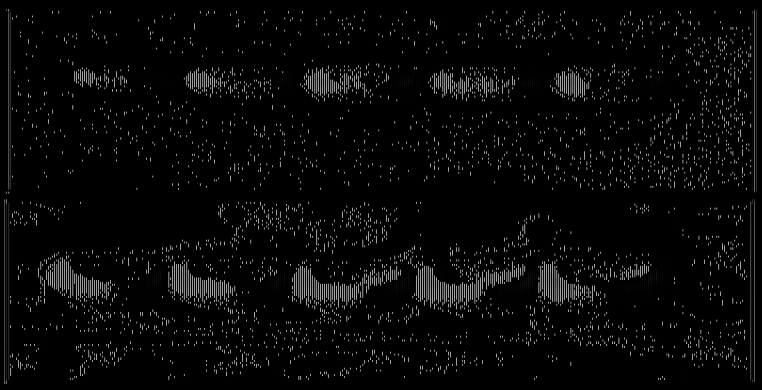
Pep RIA 164 (μM)	0	0	1	10	50
20μM β-類澱粉	0	+	+	+	+



第148圖

HMGB1

Pep RIA 165 (μM)	0	0	1	10	50
20μM β-類澱粉	0	+	+	+	+



第 149 回

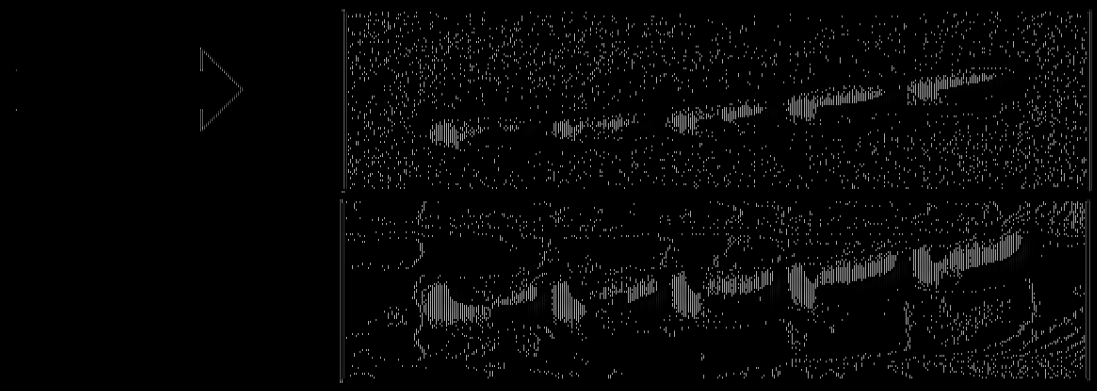
HMGB1

Pep RIA 166 (μM)	0	0	1	10	50
20μM β-類澱粉	0	+	+	+	+

第 150 回

HMGB1

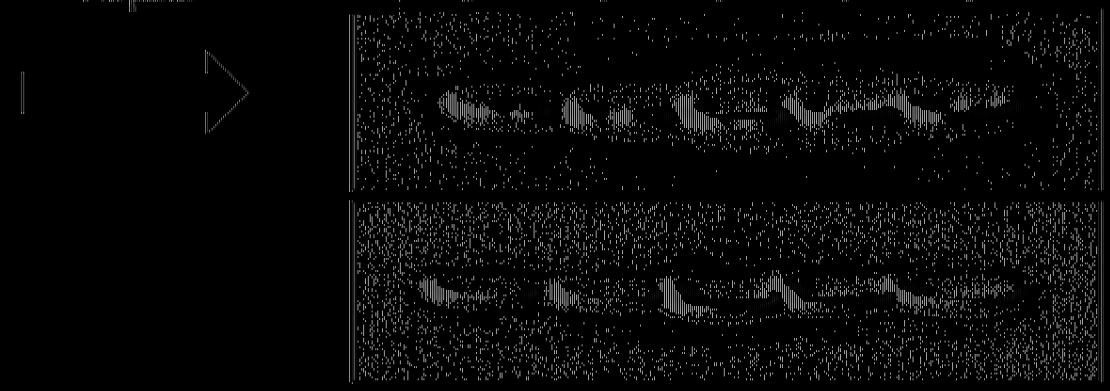
Pep RIA 167 (μM)	0	0	1	10	50
20μM β-類澱粉	0	+	+	+	+



第 151 圖

HMGB1

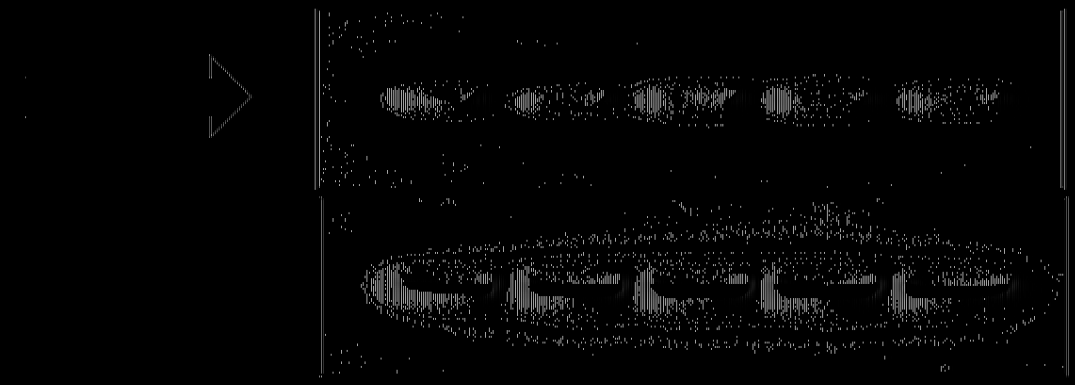
Pep RIA 170 (μM)	0	0	1	10	50
20μM β-類澱粉	0	+	+	+	+



第 152 圖

HMGB1

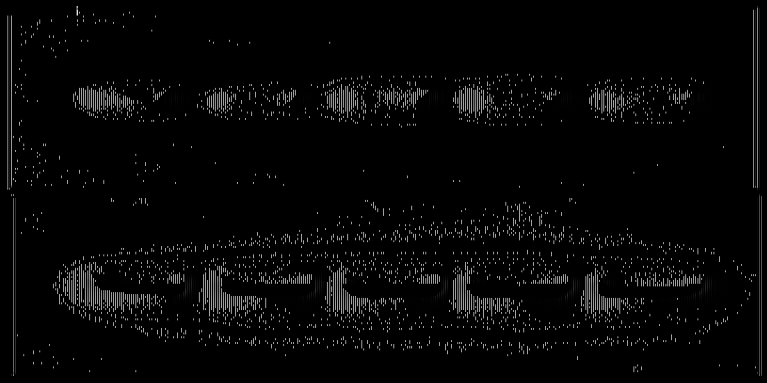
Pep RIA 171 (μM)	0	0	1	10	50
20μM β-類澱粉	0	+	+	+	+



第 153 圖

HMGB1

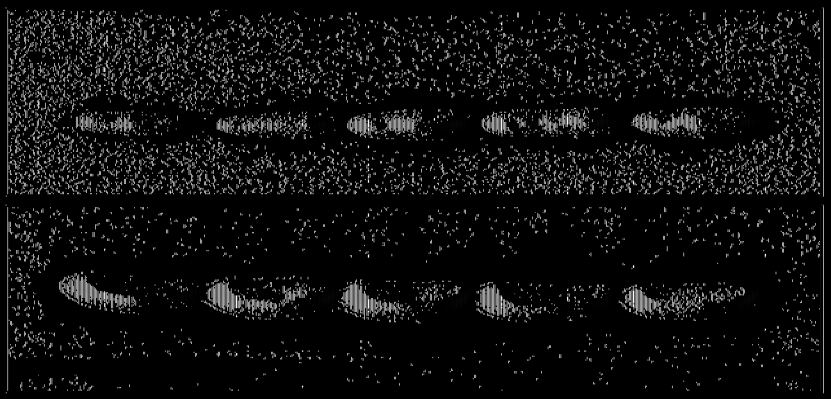
Pep RIA 1/2 (μM)	0	0	1	10	50
20μM β-類澱粉	0	+	+	+	+



第 154 圖

HMGB1

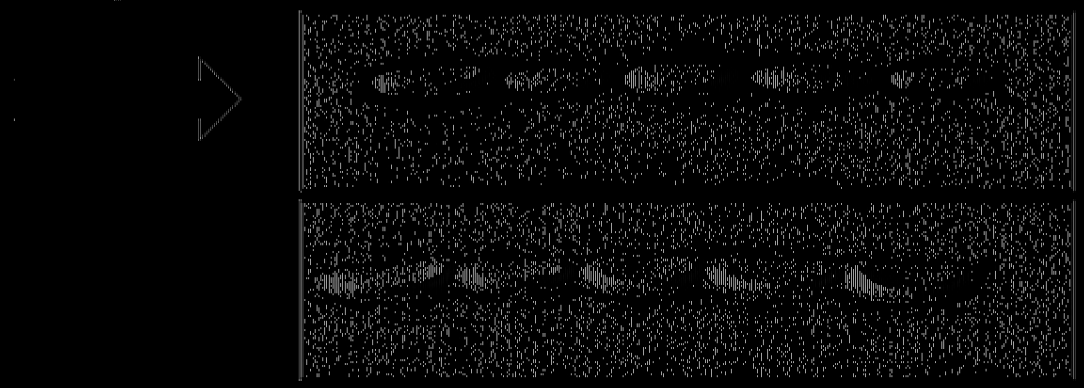
Pep RIA 1/3 (μM)	0	0	1	10	50
20μM β-類澱粉	0	+	+	+	+



第 155 圖

HMGB1

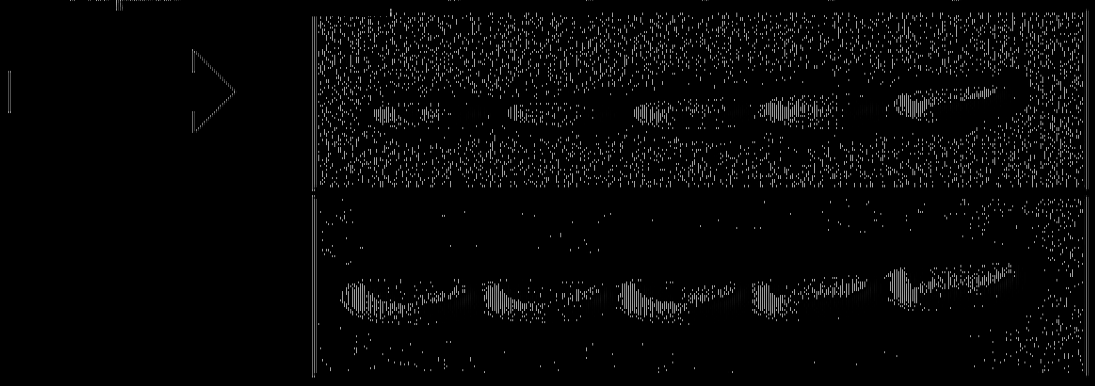
Pep RIA 175 (μM)	0	0	1	10	50
20μM β-類澱粉	0	+	+	+	+



第 156 圖

HMGB1

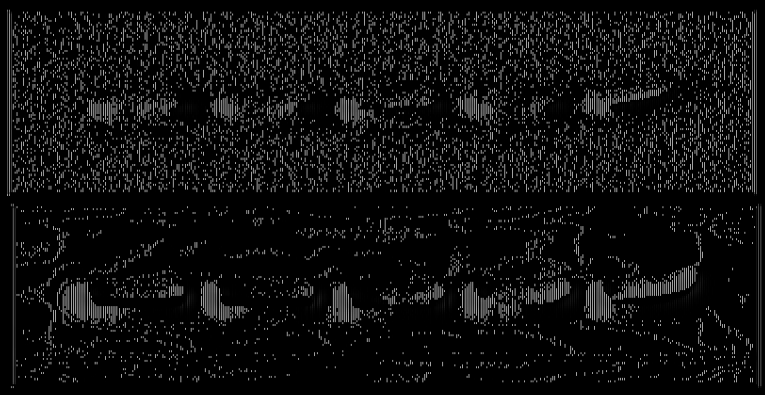
Pep RIA 176 (μM)	0	0	1	10	50
20μM β-類澱粉	0	+	+	+	+



第 157 圖

HMGB1

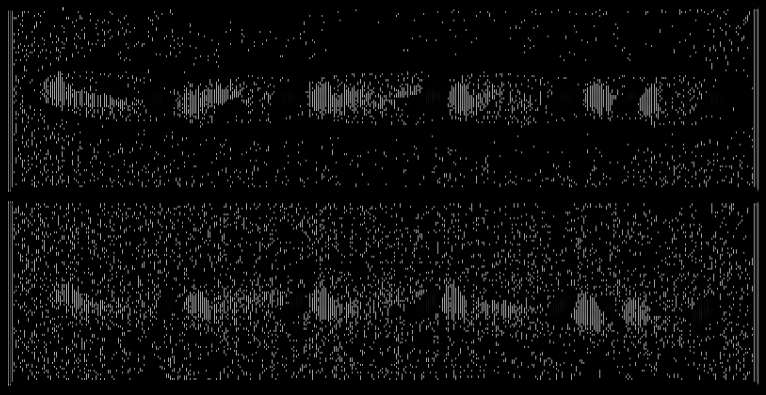
Pep RIA 177 (μM)	0	0	1	10	50
20μM β-類澱粉	0	+	+	+	+



第 158 圖

HMGB1

Pep RIA 178 (μM)	0	0	1	10	50
20μM β-類澱粉	0	+	+	+	+



第 159 回

HMGB1

PepRIA 179 (μM)	0	0	1	10	50
20μM β-類澱粉	0	+	+	+	+