



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公告本

(11)證書號數：TW I878203 B

(45)公告日：中華民國 114 (2025) 年 04 月 01 日

(21)申請案號：106133749

(22)申請日：中華民國 106 (2017) 年 09 月 29 日

(51)Int. Cl. : A61K38/10 (2006.01)

A61P27/02 (2006.01)

C07K7/08 (2006.01)

(71)申請人：全福生物科技股份有限公司 (中華民國) BRIM BIOTECHNOLOGY, INC. (TW)

臺北市內湖區瑞光路 358 巷 30 弄 1 號 8 樓

(72)發明人：李 文機 LEE, FRANK WEN-CHI (US) ; 林冠吟 LIN, KUANYIN KAREN (TW) ;

曹友平 TSAO, YEOU-PING (TW) ; 何宗權 HO, TSUNG-CHUAN (TW)

(74)代理人：陳長文

(56)參考文獻：

EP 2508196A1

US 2015/0079094A1

審查人員：莊智惠

申請專利範圍項數：14 項 圖式數：12 共 94 頁

(54)名稱

包含 PEDF-衍生之短肽之組合物及其用途

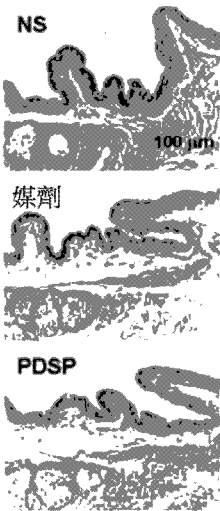
(57)摘要

本發明係關於一種用於治療個體之眼科疾病的醫藥組合物，其包括肽及醫藥學上可接受之賦形劑，其中該肽含有 SEQ ID NO: 1: **S-X-X-A-X-Q/H-X-X-X-X-I/V-I-X-R** 之序列，其中各 X 獨立地為任何胺基酸。

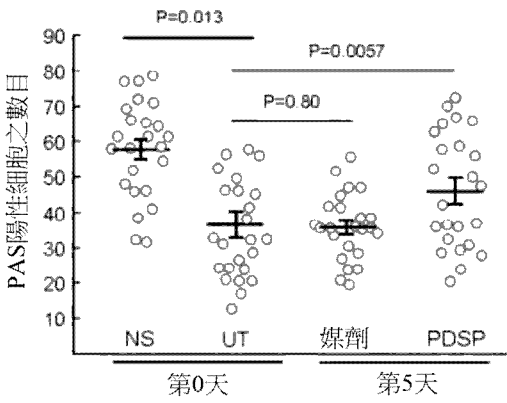
A pharmaceutical composition for treating an ophthalmic disease in a subject includes a peptide and a pharmaceutically acceptable excipient, wherein the peptide contains the sequence of SEQ ID NO: 1: **S-X-X-A-X-Q/H-X-X-X-X-I/V-I-X-R**, wherein each X is independently any amino acid.

指定代表圖：

A



B



【圖2】



I878203

【發明摘要】

【中文發明名稱】

包含PEDF-衍生之短肽之組合物及其用途

【英文發明名稱】

COMPOSITIONS COMPRISING PEDF-DERIVED SHORT
PEPTIDES AND USES THEREOF

【中文】

本發明係關於一種用於治療個體之眼科疾病的醫藥組合物，其包括肽及醫藥學上可接受之賦形劑，其中該肽含有SEQ ID NO: 1: S-X-X-A-X-Q/H-X-X-X-X-I/V-I-X-R之序列，其中各X獨立地為任何胺基酸。

【英文】

A pharmaceutical composition for treating an ophthalmic disease in a subject includes a peptide and a pharmaceutically acceptable excipient, wherein the peptide contains the sequence of SEQ ID NO: 1: S-X-X-A-X-Q/H-X-X-X-X-I/V-I-X-R, wherein each X is independently any amino acid.

【指定代表圖】

圖2

【代表圖之符號簡單說明】

無

【發明說明書】

【中文發明名稱】

包含PEDF-衍生之短肽之組合物及其用途

【英文發明名稱】

COMPOSITIONS COMPRISING PEDF-DERIVED SHORT
PEPTIDES AND USES THEREOF

【技術領域】

本發明係關於PEDF-衍生之短肽及其在治療及/或改善眼科疾病(尤其乾眼病)中之用途。

【先前技術】

乾眼病或乾眼症候群(DED或DES)亦稱為乾燥性角膜結膜炎(Keratoconjunctivitis Sicca)，其係複雜的疾病，會導致不適、視覺障礙及淚膜不穩定之症狀，產生眼表損傷的可能性。乾眼伴隨著淚膜的重量莫耳滲透濃度升高及眼表發炎。患者之間的乾眼徵兆/症狀的嚴重程度亦大大不同。在一些患者僅遭受輕微的刺激時，另一些人經歷會導致重度角膜損傷及視覺障礙的顯著併發症。

乾眼病(DED)或乾眼症候群(DES)亦稱為乾燥性角膜結膜炎，其係多因素眼表病症，會影響淚膜組成(脂質、水及黏蛋白)、眼表或淚液產生，導致眼乾燥，異物感、刺激及疼痛。DED可源自多種原因，該等原因影響淚液組成中之任一者的產生或淚膜的穩定性(例如，淚液的快速蒸發)。此外，淚液高容積莫耳滲透濃度、淚膜不穩定、眼表上皮完整性之不充分地支撐亦可引起乾眼。

淚液高容積莫耳滲透濃度病況可潛在地損傷及刺激眼部上皮細胞之

發炎級聯，引起表面上皮細胞(包括結膜杯狀細胞)的損失。杯狀細胞的損失減少黏蛋白分泌，其隨後導致對表面上皮之保護的損失及淚膜不穩定，且最終引起乾眼症狀的出現以及角膜上皮細胞的損傷。此隨之發生的淚膜不穩定往往導致慢性發炎週期及對眼表的損傷，引起DED。

對治療DED患者之此多因素眼部病況有著巨大的未滿足的需求。目前，可用於DED患者的少數治療選擇方案包括人工淚液、消炎藥及鎮痛劑。儘管此等治療可以緩解一些患者的一些症狀，但對DED仍廣泛需要更好的治療及預防手段。

【發明內容】

本發明之實施例係關於預防及/或治療乾眼之試劑及用途。

本發明之一個態樣係關於用於治療個體之眼科疾病的醫藥組合物。根據本發明之一個實施例之醫藥組合物包含肽及醫藥學上可接受之賦形劑，其中該肽包含SEQ ID NO:1: **S-X-X-A-X-Q/H-X-X-X-X-I/V-I-X-R**之序列，其中各X獨立地為任何胺基酸，其限制條件為該肽不包含分別對應於人及小鼠PDSP序列的**SLGAEQRTESIHR** (SEQ ID NO:2) 或**SLGAEHRTESVIHR** (SEQ ID NO:3)之序列。該組合物可呈溶液、軟膏或凝膠形式。

根據本發明之一些實施例，該肽包含SEQ ID NO: 6至SEQ ID NO: 75中之任一者之序列。根據本發明之一些實施例，該肽之長度由20、22、24或29個胺基酸殘基構成。

根據本發明之一些實施例，該眼科疾病為角膜損傷相關之疾病，其可能為乾眼症候群(DES)。

本發明之一個態樣係關於治療眼科疾病之用途。根據本發明之一個

實施例之用途包含向有需要之個體投與含有上述肽中之任一者之組合物。
該眼科疾病為角膜損傷相關之疾病，其可能為乾眼症候群(DES)。

本發明之其他態樣將藉由以下描述及所附圖式變得顯而易見。

【圖式簡單說明】

圖1(A)展示如由用於評估角膜損傷之角膜螢光素染色所揭露，PEDF-衍生之短肽(PDSP)在乾燥壓力誘發之乾眼中之作用。在受控環境室(CEC)中圈養C57BL6小鼠14天以誘發眼表破壞(第0天)且隨後用PDSP或媒劑再處理5天(第5天)。圖1(B)展示由酚紅棉線測試所評估之水樣淚液的產生量。NS：圈養在正常環境條件下的非受壓力小鼠。UT：圈養在CEC中14天的未經處理的小鼠。

圖2(A)展示穹窿結膜內之杯狀細胞之過碘酸希夫試劑(Periodic Acid Schiff reagent, PAS)染色的代表性影像。原始放大 $\times 100$ 。在CEC中圈養C57BL6小鼠14天且隨後用PDSP或媒劑再處理5天。圖2(B) PAS染色陽性細胞之平均數目在PDSP處理之後顯著增加。資料以平均值 $\pm$ SD形式呈現。

圖3展示局部施用PDSP之結果，證實了對由乾燥壓力引起的眼表障壁破壞的預防。在CEC中圈養小鼠14天且自開始在CEC中圈養開始按100 μ M PDSP給藥。值以平均值 $\pm$ SD形式表示。

圖4展示局部PDSP施用對乾燥壓力誘發之眼部發炎的影響。在CEC中圈養C57BL6小鼠14天(第0天)且隨後用PDSP或媒劑再處理5天(第5天)。藉由定量即時PCR評估不同發炎因子的mRNA含量。各組中之值以平均值 $\pm$ SE形式表示。 $*P < 0.05$ 對比NS：非受壓力小鼠。 $**P < 0.05$ 對比媒劑處理組。

圖5展示局部施用PDSP預防氧化壓力誘發的脂質過氧化。在CEC中圈養小鼠14天且自開始在CEC中圈養開始按100 μ M PDSP給藥。圖5(A)展示乾眼中角膜上皮中之氧化壓力標記物4-HNE的代表性免疫組織化學。圖5(B)展示陽性4-HNE細胞之定量分析之結果。值以平均值 $\pm$ SD形式表示。 $*P < 0.00002$ 對比媒劑處理組。(C)乾眼中結膜上皮中之4-HNE的代表性免疫組織化學。

圖6展示PDSP對經NaCl處理之兔角膜上皮細胞中之細胞內ROS及GSH含量的影響。用10 μ M PDSP或對照肽(ConP, PEDF之殘基93-110)預處理兔角膜上皮細胞20小時且隨後用NaCl處理以誘發高壓力。在NaCl再處理24小時之後，利用H₂DCFDA探針(A)對細胞進行ROS偵測或利用OPA探針(B)對細胞進行麩胱甘肽(GSH)偵測。 $*P < 0.002$ 對比未經處理之細胞(於等張培養基中之細胞)。 $^{\#}P < 0.05$ 對比經ContP/NaCl處理之細胞(於高張培養基中之細胞)。

圖7展示PDSP對經NaCl處理之兔角膜上皮細胞中之MMP-9 mRNA表現及活性的影響。圖7(A)展示MMP-9 mRNA含量，如由定量即時PCR所評估。各組中之值以平均值 $\pm$ SE形式表示。 $*P < 0.005$ 對比未經處理之細胞。 $^{\#}P < 0.02$ 對比經ContP/NaCl處理之細胞。圖7(B)展示如利用明膠酶譜法所評估之MMP-9活性。各組中之值以平均值 $\pm$ SE形式表示。 $*P < 0.0001$ 對比未經處理之細胞。 $^{\#}P < 0.0003$ 對比經ContP/NaCl處理之細胞。

圖8展示如由螢光素染色所揭露，各種丙胺酸取代之肽在預防或治療乾燥誘發之角膜損傷中的作用。在CEC環境中圈養小鼠14天以誘發乾眼，且在眼上施加不同的肽持續5天。在5天之後，用螢光素染色角膜以評定表

面的損傷。

圖9展示如由酚紅棉線方法所揭露，各種丙胺酸取代之肽在增強淚液產生中的作用。

圖10展示各種丙胺酸取代之肽對所培養之C2C12細胞的細胞存活率的影響。利用MTT分析法評估細胞存活率。

圖11展示人PDSP 29聚體及moPDSP 29聚體變異體在乾燥壓力誘發之乾眼中的治療作用。在受控環境室(CEC)中圈養C57BL6小鼠14天以誘發眼表破壞(第0天)且隨後開始用肽或媒劑處理3天(第3天)。藉由角膜螢光素染色評定角膜損傷。小鼠對不同肽持續3天起反應之平均角膜染色分數。 $*P < 0.05$ 對比第0天。

圖12展示如利用酚紅棉線測試所評定之淚液產生之結果。在受控環境室(CEC)中圈養C57BL6小鼠14天以誘發眼表破壞(第0天)且隨後開始用肽或媒劑處理3天(第3天)。NS：圈養在正常環境條件下的非受壓力小鼠。 $*P < 0.05$ 對比第0天。

【實施方式】

人色素上皮衍生因子(Pigment Epithelium-derived Factor, PEDF)係含有418個胺基酸的分泌蛋白，具有約50 kDa的分子量。PEDF係具有多種生物學功能的多功能蛋白(參見例如，美國專利申請公開案第2010/0047212號)。已發現PEDF之不同的肽區負責不同的功能。舉例而言，34聚體片段(PEDF之殘基44-77)已經鑑別出具有抗血管生成活性，而44聚體片段(PEDF之殘基78-121)已經鑑別出具有神經營養特性。

美國專利申請公開案第2010/0047212號揭示PEDF可以促進幹細胞的自我更新。美國專利第9,051,547號及美國專利第9,617,311號揭示長度有

20至39個胺基酸之PEDF之片段(PEDF之殘基93-121)可以促進幹細胞增殖及傷口癒合，尤其角膜緣上皮幹細胞的增殖。

本發明之實施例係關於衍生自PEDF之短肽片段及其變異體。本發明之實施例亦關於此等肽在預防及/或治療乾眼症候群(DES)中之用途。

當眼睛未產生足夠的淚液或當淚液蒸發過快時出現乾眼。乾眼片刻可導致眼睛之表面上之擦傷。在進一步的情況下，上皮可發生病理性改變，諸如鱗狀化生或杯狀細胞損失。在嚴重的情況下，患者可能以角膜損壞告終，包括角膜表面之增厚、角膜糜爛、點狀角膜病變、上皮缺損、角膜潰瘍、角膜新血管生成、角膜瘢痕形成、角膜變薄以及甚至角膜穿孔。

本發明之發明人已發現某些衍生自PEDF之肽片段可預防及/或治療由乾燥引起的角膜損傷。

在乾眼病之動物模型中，將小鼠放入受控環境室(CEC)中以誘發乾眼，如先前所述(Barabino等人，2005)。放入CEC中之小鼠曝露於相對濕度(relative humidity, RH) < 25%、20°C至22°C之溫度、15 L/min之氣流下，每天12小時。將非受壓力小鼠保持在正常的環境(RH > 50%，無氣流，21°C至23°C之溫度)下相同持續時間。在14天之後，用媒劑處理非受壓力小鼠，而用測試肽(例如29聚體PDSP)或媒劑溶液(媒劑組)處理受壓力小鼠5天。隨後，藉由螢光素染色檢查角膜。

如圖1(A)中所示，在第14天，角膜損傷根據螢光素染色在非受壓力組及測試組中均為顯而易見的。在用PEDF-衍生之短肽(PDSP，PEDF之殘基93-121)處理5天之後，角膜表面上之損傷基本上消失，而對照組(用媒劑處理)中的仍顯現角膜損傷。

另外，在本發明中已發現具有不同長度(20至29個胺基酸，自PEDF

之殘基93開始)之PDSP能夠在10 μ M至200 μ M之濃度下修復乾眼病動物模型中之角膜損傷。

圖1(B)展示如由酚紅棉線測試揭露之淚液產生之結果(詳細地描述於隨後部分中)。在圖1(B)中，NS代表非受壓力小鼠，且UT代表受壓力且未經處理之小鼠。如圖1(B)中所示，如相較於UT及媒劑處理組，用PDSP處理顯著增加淚液產生。

在人類中，塗佈眼睛的淚膜稱為前角膜，其具有三個不同的層：脂質層(由瞼腺分泌)、水層(由淚腺分泌)及黏膜層(由結膜杯狀細胞分泌)。壓力誘發之乾眼可能由此等組份中之任一者或所有之產生減少引起。

杯狀細胞減少可引起黏蛋白產生減少。本發明展示PDSP可預防因乾眼所致的杯狀細胞的減少。圖2(A)展示來自小鼠眼睛之過碘酸希夫(PAS)試劑染色之結果。簡言之，在CEC中圈養C57BL6小鼠14天且隨後用PDSP或媒劑再處理5天。包括非受壓力眼睛作為非受壓力對照(NS)。圖2(A)展示非受壓力眼睛(NS)、經媒劑處理之眼睛及經PDSP處理之眼睛中之杯狀細胞的代表性染色。圖2(B)展示如相比於未經處理之受壓力眼睛及經媒劑處理之眼睛，經PDSP處理之眼睛具有更多杯狀細胞(更多PAS陽性細胞)。

除了能夠逆轉或治癒乾眼症候群，本發明人亦發現PDSP可預防由乾眼病況引起的損傷。在實驗中，將濃度為100 μ M的PDSP或媒劑(作為對照)施用於C57BL6小鼠的眼睛上，且隨後將小鼠保持在受控環境室(具有較低的濕度及氣流)中14天。隨後，藉由螢光素染色觀測由乾燥壓力引起的眼表障壁破壞。基於眼表損傷的程度，將由乾燥壓力引起的眼表障壁破壞記為0至3分。如圖3中所示，如相比於媒劑處理組，PDSP有效預防眼表

損傷。

乾眼與前角膜淚膜之異常及整個眼表(包括附件、結膜及角膜)之後續發炎變化相關。(參見，Hessen等人，「Dry eye: An Inflammatory Ocular Disease」, J. Ophthalmic Vis. Res., 2014, 9(2): 240-250)。因此，接下來檢查PDSP在角膜發炎反應中之作用。簡言之，在CEC中圈養C57BL6小鼠14天(第0天)且隨後用PDSP或媒劑再處理5天(第5天)。隨後，藉由定量即時PCR評估發炎因子之mRNA含量。

如圖4中所示，例如IL-1 β 、IL-6、TNF- α 及MCP-1(單核球化學誘導蛋白-1 (MCP-1/CCL2)係關鍵的發炎趨化因子，其控制發炎及組織反應中之白血球之募集)之各種發炎相關因子之表現在壓力誘發之乾眼中增加(參見未經處理之UT組)。如相較於未經處理之UT組或媒劑處理組，用PDSP處理顯著降低此等發炎因子的表現。因此，PDSP可有效減少壓力誘發之乾眼中之發炎。

此外，已推測在乾眼症候群與氧化壓力之積累之間存在聯繫。(參見，Nakamura等人 Invest. Ophthalmol. Vis. Sci., 2007, 48(4): 1552-8)。因此，亦研究PDSP是否可以減少或預防乾眼中之氧化壓力。

就此測試，在CEC中圈養小鼠14天且自開始在CEC中圈養時開始PDSP處理。隨後，檢查氧化壓力產物(例如，4-羥基-2-壬烯醛，4-HNE)之產生。發現4-HNE遍及動物組織，且由於脂質過氧化之增加而在氧化壓力期間的量更高。4-HNE含有反應性醛，其可修飾蛋白質。可用對4-HNE部分具有特異性之抗體偵測4-HNE修飾之蛋白質。

如圖5(A)中所示，非受壓力眼睛具有極少4-HNE。壓力誘發之乾眼具有增加的4-HNE染色(媒劑處理組)。相比之下，對壓力誘發之乾眼進行

PDSP處理引起4-HNE之產生明顯減少。圖5(B)展示對陽性4-HNE細胞定量分析之結果。圖5(C)展示乾眼中結膜上皮中之4-HNE的代表性免疫組織化學染色。

一般咸信淚液之高滲透壓(high osmotic pressure, HOP)係眼部發炎及損傷之病因。HOP可以誘導產生活性含氧物(ROS)，其係細胞代謝之副產物。已報導ROS生成在圓錐形角膜患者之角膜纖維母細胞及乾眼動物模型之角膜上皮細胞中增加。此觀察結果表明ROS可能在乾眼中之角膜損傷中起作用。另一方面，麩胱甘肽(GSH)係能夠對抗自由基或ROS並減輕或預防由自由基或ROS引起的損傷的天然物。

因此，吾人檢查PDSP對經NaCl處理(HOP)之兔角膜上皮細胞中之細胞內ROS及GSH含量的影響。簡言之，用10 μ M PDSP或陰性對照肽(ConP)預處理兔角膜上皮細胞20小時，接著用NaCl處理以誘發高張壓力。在NaCl再處理24小時之後，使用2',7'-二氯二氫螢光黃二乙酸酯(H₂DCFDA)探針(其係ROS指示劑染料)評估細胞之ROS。H₂DCFDA可擴散進入細胞，其中其乙酸酯鍵被細胞內酯酶分解且被ROS氧化，ROS將非螢光二氯二氫螢光黃二乙酸酯(H₂DCFDA)轉化為強螢光的2',7'-二氯二氫螢光黃二乙酸酯(DCF)。

如圖6(A)中所示，如相比於未經處理之小鼠，在沒有HOP之情況下，單獨的PDSP並未增加DCF螢光。當用NaCl誘發HOP時，如相較於用陰性對照肽(ConP)預處理，用PDSP預處理導致ROS產生減少(亦即，較低DC螢光)。此結果表明PDSP可減少HOP誘發之ROS形成。

圖6(B)展示不同的處理組中之相對GSH含量。有趣的是，如相比於未經處理之小鼠，在沒有HOP壓力之情況下，單獨的PDSP誘發GSH含量

之略微增加。此增加的GSH(抗氧化劑)之含量將使得細胞能夠更好地忍受氧化壓力。如相較於使用對照肽(ConP)之處理，在HOP下，PDSP處理亦引起GSH增加。此等結果表明PDSP處理使ROS產生降至最低且同時增加GSH含量。組合作用將使得細胞更耐受氧化壓力或高張壓力。

乾眼症候群(DES)包括淚膜的容積莫耳滲透濃度增加及眼表發炎。淚液之高容積莫耳滲透濃度促成發炎級聯，其使受損上皮細胞產生升高含量的細胞介素MMP-9。乾眼中之MMP-9活性增加可能會造成角膜上皮障壁功能紊亂、角膜上皮脫落增加及角膜表面不規則。(Chotikavanich等人, 「Production and activity of matrix metalloproteinase-9 on the ocular surface increase in dysfunctional tear syndrome」, Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 2009; 50: 3203-3209)。

因此，吾人亦檢查PDSP對經NaCl處理之兔角膜上皮細胞之MMP-9 mRNA表現及活性的影響。簡言之，如上文所述處理兔角膜上皮細胞。圖7(A)展示如藉由定量即時PCR所評估，在無高張壓力之情況下，單獨的PDSP對MMP-9 mRNA含量並無影響。高張壓力誘發MMP-9 mRNA含量大幅(約2倍)增加(陰性對照肽，ConP，接著藉由NaCl處理)。相比而言，PDSP處理有效地抑制高張壓力(經NaCl，隨後PDSP處理)下MMP-9 mRNA含量之大部分增加。如圖7(B)中所示，如用SDS凝膠及酶活性所量測，MMP-9 mRNA含量之升高基本上與MMP-9蛋白之表現相關。

上述結果明確顯示本發明之PDSP可預防及治療乾眼病(DED)或乾眼症候群(DES)。具體而言，本發明之PDSP在預防及治療DED中之作用包括：(1)預防及治癒由乾眼壓力誘發的角膜表面損傷；(2)增加淚液產生；(3)維持或保護結膜杯狀細胞；(4)抑制乾眼誘發之發炎；(5)使氧化壓力誘

發的脂質過氧化緩解或降至最低；(6)抑制細胞內活性含氧物(ROS)之形成及增加細胞內麩胱甘肽(GSH)含量；及(7)抑制MMP-9表現。

因為本發明之PDSP係預防及治療DED之有效藥劑，所以吾人藉由丙胺酸掃描進一步研究PDSP之結構活性關係。在丙胺酸掃描實驗中，吾人使用來自人 PEDF 之殘基 93-121 之 29 聚體：⁹³SLGAEQRTESEIIHRALYYDLISSPDIHGT¹²¹ (SEQ ID NO:4)。29聚體中之每一胺基酸經丙胺酸(或在殘基係丙胺酸時經甘胺酸)置換，且評估經丙胺酸取代或經甘胺酸取代之突變體之活性。

圖8展示來自眼部染色分析之例示性結果。在此等測試中，如上文所述及在後續部分中實驗詳述中，在CEC中誘發乾燥誘發之角膜表面損傷(如藉由螢光素染色評估)。此等結果顯示在29聚體中之殘基1 (L93A)、4 (A96G)、6 (Q98A)、11 (I103A)、12 (I104A)及14 (R106A)處之丙胺酸或甘胺酸取代引起PDSP活性之大幅損失，表明此等殘基為PDSP活性所必需的。

圖9展示來自淚液產生分析之例示性結果，該等淚液產生分析如上文所述及隨後部分中詳述般進行。基於圖9中所示之淚液產生之結果與基於圖8中所示之螢光素染色之結果一致。亦即，在29聚體中之殘基1 (S93A)、4 (A96G)、6 (Q98A)、11 (I103A)、12 (I104A)及14 (R106A)處之丙胺酸或甘胺酸取代引起PDSP誘發淚液產生之能力的大幅損失，表明此等殘基為PDSP活性所必需的。

本發明之PDSP能夠預防角膜表面損傷、減少細胞中之氧化壓力及使發炎反應減至最少之事實表明PDSP可能具有總體上維持細胞存活率的能力。此係用細胞培養中之細胞存活率進行測試。圖10展示使用C2C12細胞

培養物進行丙胺酸掃描實驗之結果。藉由染色及細胞數目計數或藉由MTT分析法評估細胞存活率。此等技術在此項技術中為熟知的。

如圖 10 中所示，在 29 聚體中之位置 1 (S93A)、4 (A96G)、6 (Q98A)、11 (I103A)、12 (I104A)及14 (R106A)處之殘基的丙胺酸(或甘胺酸)取代基本上消除此等肽維持/增強細胞之存活率的能力。利用乾眼動物模型，此等丙胺酸掃描結果與圖8及圖9中所示之結果一致。

儘管上述實驗已用人 PDSP 序列 (PDSP 29 聚體：SLGAEQRTESEIIHRALYYDLISSPDIHGT，SEQ ID NO:4)進行，但吾人發現相對應的小鼠序列 (moPDSP 29 聚體：SLGAEHRTESEVIHRALYYDLITNPDIHST，SEQ ID NO:5)功能相當。舉例而言，圖11展示保護人(PDSP 29聚體)及小鼠(moPDSP 29聚體)兩者之由乾燥誘發的角膜表面損傷的結果，如由眼部染色所揭露。顯然小鼠序列之作用與人序列之作用類似。類似地，圖12展示人PDSP及小鼠PDSP均在相同程度上改善淚液產生。此等結果證實，在預防及/或治療DES之能力方面，人PDSP與小鼠PDSP之間沒有可辨別的功能差異。

此區域中人PEDF與小鼠PEDF之間的胺基酸殘基差異由兩種同源取代構成，亦即，人序列中之Q-98相當於小鼠序列中之H-98，且人序列中之I-103相當於小鼠序列中之V-103。因此，在此兩個位置(98及103)處的必需殘基可經相對應的殘基(⁹⁸Q/H及¹⁰³I/V)置換。

熟習此項技術者應理解，同源胺基酸取代通常不會明顯地影響生物活性，即使已發現此兩個殘基對乾眼治療及預防至關重要。此外，熟習此項技術者應理解，在非必需位置處的類似同源取代應甚至更好地被耐受。何種胺基酸取代視為同源係此項技術中已熟知的。一些實例為：(I, V, L,

M)、(Q, N, H)、(D, E)、(R, K, H)、(S, T, C)及(F, Y, W)，其中相同括弧群組中之胺基酸通常可以彼此取代而不顯著影響肽或蛋白質的生物活性。

基於此等結果，能夠得出結論，對於PDSP預防或治療DED必需的肽序列可以表示如下：¹S-²X-³X-⁴A-⁵X-⁶Q/H-⁷X-⁸X-⁹X-¹⁰X-¹¹I/V-¹²I-¹³X-¹⁴R (SEQ ID NO: 1)，其中各X表示非必需殘基且可為任何胺基酸，較佳為天然胺基酸。人PDSP之相對應序列為：SLGAEQRTESEIHR (SEQ ID NO:2)且小鼠PDSP的相對應序列為：SLGAEHRTESEVIHR (SEQ ID NO:3)。

熟習此項技術者應理解，可使用包含此等必需殘基的肽來預防或治療乾眼。此類肽總體上可稱作PDSP(亦即，PEDF衍生之短肽)。此等PDSP中的一些實例在下表中說明：

肽序列	SEQ ID NO
¹ S- ² X- ³ X- ⁴ A- ⁵ X- ⁶ Q/H- ⁷ X- ⁸ X- ⁹ X- ¹⁰ X- ¹¹ I/V- ¹² I- ¹³ X- ¹⁴ R	1
¹ S- ² L- ³ X- ⁴ A- ⁵ X- ⁶ Q/H- ⁷ X- ⁸ X- ⁹ X- ¹⁰ X- ¹¹ I/V- ¹² I- ¹³ X- ¹⁴ R	6
¹ S- ² A- ³ X- ⁴ A- ⁵ X- ⁶ Q/H- ⁷ X- ⁸ X- ⁹ X- ¹⁰ X- ¹¹ I/V- ¹² I- ¹³ X- ¹⁴ R	7
¹ S- ² X- ³ G- ⁴ A- ⁵ X- ⁶ Q/H- ⁷ X- ⁸ X- ⁹ X- ¹⁰ X- ¹¹ I/V- ¹² I- ¹³ X- ¹⁴ R	8
¹ S- ² X- ³ A- ⁴ A- ⁵ X- ⁶ Q/H- ⁷ X- ⁸ X- ⁹ X- ¹⁰ X- ¹¹ I/V- ¹² I- ¹³ X- ¹⁴ R	9
¹ S- ² X- ³ X- ⁴ A- ⁵ E- ⁶ Q/H- ⁷ X- ⁸ X- ⁹ X- ¹⁰ X- ¹¹ I/V- ¹² I- ¹³ X- ¹⁴ R	10
¹ S- ² X- ³ X- ⁴ A- ⁵ A- ⁶ Q/H- ⁷ X- ⁸ X- ⁹ X- ¹⁰ X- ¹¹ I/V- ¹² I- ¹³ X- ¹⁴ R	11
¹ S- ² X- ³ X- ⁴ A- ⁵ X- ⁶ Q/H- ⁷ R- ⁸ X- ⁹ X- ¹⁰ X- ¹¹ I/V- ¹² I- ¹³ X- ¹⁴ R	12
¹ S- ² L- ³ X- ⁴ A- ⁵ X- ⁶ Q/H- ⁷ A- ⁸ X- ⁹ X- ¹⁰ X- ¹¹ I/V- ¹² I- ¹³ X- ¹⁴ R	13
¹ S- ² A- ³ X- ⁴ A- ⁵ X- ⁶ Q/H- ⁷ X- ⁸ T- ⁹ X- ¹⁰ X- ¹¹ I/V- ¹² I- ¹³ X- ¹⁴ R	14
¹ S- ² X- ³ G- ⁴ A- ⁵ X- ⁶ Q/H- ⁷ X- ⁸ A- ⁹ E- ¹⁰ X- ¹¹ I/V- ¹² I- ¹³ X- ¹⁴ R	15
¹ S- ² X- ³ A- ⁴ A- ⁵ X- ⁶ Q/H- ⁷ X- ⁸ X- ⁹ A- ¹⁰ X- ¹¹ I/V- ¹² I- ¹³ X- ¹⁴ R	16
¹ S- ² X- ³ X- ⁴ A- ⁵ E- ⁶ Q/H- ⁷ X- ⁸ X- ⁹ X- ¹⁰ S- ¹¹ I/V- ¹² I- ¹³ X- ¹⁴ R	17
¹ S- ² X- ³ X- ⁴ A- ⁵ A- ⁶ Q/H- ⁷ X- ⁸ X- ⁹ X- ¹⁰ A- ¹¹ I/V- ¹² I- ¹³ X- ¹⁴ R	18
¹ S- ² X- ³ X- ⁴ A- ⁵ X- ⁶ Q/H- ⁷ X- ⁸ X- ⁹ X- ¹⁰ X- ¹¹ I/V- ¹² I- ¹³ H- ¹⁴ R	19
¹ S- ² X- ³ X- ⁴ A- ⁵ X- ⁶ Q/H- ⁷ X- ⁸ X- ⁹ X- ¹⁰ X- ¹¹ I/V- ¹² I- ¹³ A- ¹⁴ R	20
¹ S- ² L- ³ G- ⁴ A- ⁵ X- ⁶ Q/H- ⁷ X- ⁸ X- ⁹ X- ¹⁰ X- ¹¹ I/V- ¹² I- ¹³ X- ¹⁴ R	21

¹ S- ² L- ³ G- ⁴ A- ⁵ E- ⁶ Q/H- ⁷ X- ⁸ X- ⁹ X- ¹⁰ X- ¹¹ I/V- ¹² I- ¹³ X- ¹⁴ R	22
¹ S- ² L- ³ G- ⁴ A- ⁵ A- ⁶ Q/H- ⁷ X- ⁸ X- ⁹ X- ¹⁰ X- ¹¹ I/V- ¹² I- ¹³ X- ¹⁴ R	23
¹ S- ² L- ³ G- ⁴ A- ⁵ X- ⁶ Q/H- ⁷ R- ⁸ X- ⁹ X- ¹⁰ X- ¹¹ I/V- ¹² I- ¹³ X- ¹⁴ R	24
¹ S- ² L- ³ G- ⁴ A- ⁵ X- ⁶ Q/H- ⁷ A- ⁸ X- ⁹ X- ¹⁰ X- ¹¹ I/V- ¹² I- ¹³ X- ¹⁴ R	25
¹ S- ² L- ³ G- ⁴ A- ⁵ X- ⁶ Q/H- ⁷ X- ⁸ T- ⁹ X- ¹⁰ X- ¹¹ I/V- ¹² I- ¹³ X- ¹⁴ R	26
¹ S- ² L- ³ G- ⁴ A- ⁵ X- ⁶ Q/H- ⁷ X- ⁸ A- ⁹ E- ¹⁰ X- ¹¹ I/V- ¹² I- ¹³ X- ¹⁴ R	27
¹ S- ² L- ³ G- ⁴ A- ⁵ X- ⁶ Q/H- ⁷ X- ⁸ X- ⁹ A- ¹⁰ X- ¹¹ I/V- ¹² I- ¹³ X- ¹⁴ R	28
¹ S- ² L- ³ G- ⁴ A- ⁵ X- ⁶ Q/H- ⁷ X- ⁸ X- ⁹ X- ¹⁰ S- ¹¹ I/V- ¹² I- ¹³ X- ¹⁴ R	29
¹ S- ² L- ³ G- ⁴ A- ⁵ X- ⁶ Q/H- ⁷ X- ⁸ X- ⁹ X- ¹⁰ A- ¹¹ I/V- ¹² I- ¹³ X- ¹⁴ R	30
¹ S- ² L- ³ G- ⁴ A- ⁵ X- ⁶ Q/H- ⁷ X- ⁸ X- ⁹ X- ¹⁰ S- ¹¹ I/V- ¹² I- ¹³ H- ¹⁴ R	31
¹ S- ² L- ³ G- ⁴ A- ⁵ X- ⁶ Q/H- ⁷ X- ⁸ X- ⁹ X- ¹⁰ A- ¹¹ I/V- ¹² I- ¹³ A- ¹⁴ R	32
¹ S- ² L- ³ G- ⁴ A- ⁵ E- ⁶ Q/H- ⁷ X- ⁸ X- ⁹ X- ¹⁰ X- ¹¹ I/V- ¹² I- ¹³ X- ¹⁴ R	33
¹ S- ² L- ³ G- ⁴ A- ⁵ E- ⁶ Q/H- ⁷ R- ⁸ X- ⁹ X- ¹⁰ X- ¹¹ I/V- ¹² I- ¹³ X- ¹⁴ R	34
¹ S- ² L- ³ G- ⁴ A- ⁵ E- ⁶ Q/H- ⁷ A- ⁸ X- ⁹ X- ¹⁰ X- ¹¹ I/V- ¹² I- ¹³ X- ¹⁴ R	35
¹ S- ² L- ³ G- ⁴ A- ⁵ E- ⁶ Q/H- ⁷ X- ⁸ T- ⁹ X- ¹⁰ X- ¹¹ I/V- ¹² I- ¹³ X- ¹⁴ R	36
¹ S- ² L- ³ G- ⁴ A- ⁵ E- ⁶ Q/H- ⁷ X- ⁸ A- ⁹ E- ¹⁰ X- ¹¹ I/V- ¹² I- ¹³ X- ¹⁴ R	37
¹ S- ² L- ³ G- ⁴ A- ⁵ E- ⁶ Q/H- ⁷ X- ⁸ X- ⁹ A- ¹⁰ X- ¹¹ I/V- ¹² I- ¹³ X- ¹⁴ R	38
¹ S- ² L- ³ G- ⁴ A- ⁵ E- ⁶ Q/H- ⁷ X- ⁸ X- ⁹ X- ¹⁰ S- ¹¹ I/V- ¹² I- ¹³ X- ¹⁴ R	39
¹ S- ² L- ³ G- ⁴ A- ⁵ E- ⁶ Q/H- ⁷ X- ⁸ X- ⁹ X- ¹⁰ A- ¹¹ I/V- ¹² I- ¹³ X- ¹⁴ R	40
¹ S- ² L- ³ G- ⁴ A- ⁵ E- ⁶ Q/H- ⁷ X- ⁸ X- ⁹ X- ¹⁰ S- ¹¹ I/V- ¹² I- ¹³ H- ¹⁴ R	41
¹ S- ² L- ³ G- ⁴ A- ⁵ E- ⁶ Q/H- ⁷ X- ⁸ X- ⁹ X- ¹⁰ A- ¹¹ I/V- ¹² I- ¹³ A- ¹⁴ R	42
¹ S- ² L- ³ G- ⁴ A- ⁵ E- ⁶ Q/H- ⁷ R- ⁸ X- ⁹ X- ¹⁰ X- ¹¹ I/V- ¹² I- ¹³ X- ¹⁴ R	43
¹ S- ² L- ³ G- ⁴ A- ⁵ E- ⁶ Q/H- ⁷ R- ⁸ T- ⁹ X- ¹⁰ X- ¹¹ I/V- ¹² I- ¹³ X- ¹⁴ R	44
¹ S- ² L- ³ G- ⁴ A- ⁵ E- ⁶ Q/H- ⁷ R- ⁸ A- ⁹ E- ¹⁰ X- ¹¹ I/V- ¹² I- ¹³ X- ¹⁴ R	45
¹ S- ² L- ³ G- ⁴ A- ⁵ E- ⁶ Q/H- ⁷ R- ⁸ X- ⁹ A- ¹⁰ X- ¹¹ I/V- ¹² I- ¹³ X- ¹⁴ R	46
¹ S- ² L- ³ G- ⁴ A- ⁵ E- ⁶ Q/H- ⁷ R- ⁸ X- ⁹ X- ¹⁰ S- ¹¹ I/V- ¹² I- ¹³ X- ¹⁴ R	47
¹ S- ² L- ³ G- ⁴ A- ⁵ E- ⁶ Q/H- ⁷ R- ⁸ X- ⁹ X- ¹⁰ A- ¹¹ I/V- ¹² I- ¹³ X- ¹⁴ R	48
¹ S- ² L- ³ G- ⁴ A- ⁵ E- ⁶ Q/H- ⁷ R- ⁸ X- ⁹ X- ¹⁰ S- ¹¹ I/V- ¹² I- ¹³ H- ¹⁴ R	49
¹ S- ² L- ³ G- ⁴ A- ⁵ E- ⁶ Q/H- ⁷ R- ⁸ X- ⁹ X- ¹⁰ A- ¹¹ I/V- ¹² I- ¹³ A- ¹⁴ R	50
¹ S- ² L- ³ G- ⁴ A- ⁵ E- ⁶ Q/H- ⁷ R- ⁸ T- ⁹ X- ¹⁰ X- ¹¹ I/V- ¹² I- ¹³ X- ¹⁴ R	51
¹ S- ² L- ³ G- ⁴ A- ⁵ E- ⁶ Q/H- ⁷ R- ⁸ T- ⁹ E- ¹⁰ X- ¹¹ I/V- ¹² I- ¹³ X- ¹⁴ R	52
¹ S- ² L- ³ G- ⁴ A- ⁵ E- ⁶ Q/H- ⁷ R- ⁸ T- ⁹ A- ¹⁰ X- ¹¹ I/V- ¹² I- ¹³ X- ¹⁴ R	53
¹ S- ² L- ³ G- ⁴ A- ⁵ E- ⁶ Q/H- ⁷ R- ⁸ T- ⁹ X- ¹⁰ S- ¹¹ I/V- ¹² I- ¹³ X- ¹⁴ R	54
¹ S- ² L- ³ G- ⁴ A- ⁵ E- ⁶ Q/H- ⁷ R- ⁸ T- ⁹ X- ¹⁰ A- ¹¹ I/V- ¹² I- ¹³ X- ¹⁴ R	55
¹ S- ² L- ³ G- ⁴ A- ⁵ E- ⁶ Q/H- ⁷ R- ⁸ T- ⁹ X- ¹⁰ S- ¹¹ I/V- ¹² I- ¹³ H- ¹⁴ R	56

¹ S- ² L- ³ G- ⁴ A- ⁵ E- ⁶ Q/H- ⁷ R- ⁸ T- ⁹ X- ¹⁰ A- ¹¹ I/V- ¹² I- ¹³ A- ¹⁴ R	57
¹ S- ² L- ³ G- ⁴ A- ⁵ E- ⁶ Q/H- ⁷ R- ⁸ T- ⁹ E- ¹⁰ S- ¹¹ I/V- ¹² I- ¹³ X- ¹⁴ R	58
¹ S- ² L- ³ G- ⁴ A- ⁵ E- ⁶ Q/H- ⁷ R- ⁸ T- ⁹ E- ¹⁰ A- ¹¹ I/V- ¹² I- ¹³ X- ¹⁴ R	59
¹ S- ² L- ³ G- ⁴ A- ⁵ E- ⁶ Q/H- ⁷ R- ⁸ T- ⁹ E- ¹⁰ X- ¹¹ I/V- ¹² I- ¹³ H- ¹⁴ R	60
¹ S- ² L- ³ G- ⁴ A- ⁵ E- ⁶ Q/H- ⁷ R- ⁸ T- ⁹ E- ¹⁰ X- ¹¹ I/V- ¹² I- ¹³ A- ¹⁴ R	61
¹ S- ² L- ³ G- ⁴ A- ⁵ E- ⁶ Q/H- ⁷ R- ⁸ T- ⁹ E- ¹⁰ S- ¹¹ I/V- ¹² I- ¹³ X- ¹⁴ R	62
¹ S- ² L- ³ G- ⁴ A- ⁵ E- ⁶ Q/H- ⁷ R- ⁸ T- ⁹ E- ¹⁰ S- ¹¹ I/V- ¹² I- ¹³ A- ¹⁴ R	63
¹ S- ² L- ³ G- ⁴ A- ⁵ E- ⁶ Q/H- ⁷ R- ⁸ T- ⁹ X- ¹⁰ S- ¹¹ I/V- ¹² I- ¹³ H- ¹⁴ R	64
¹ S- ² L- ³ G- ⁴ A- ⁵ E- ⁶ Q/H- ⁷ R- ⁸ T- ⁹ A- ¹⁰ S- ¹¹ I/V- ¹² I- ¹³ H- ¹⁴ R	65
¹ S- ² L- ³ G- ⁴ A- ⁵ E- ⁶ Q/H- ⁷ R- ⁸ X- ⁹ E- ¹⁰ S- ¹¹ I/V- ¹² I- ¹³ H- ¹⁴ R	66
¹ S- ² L- ³ G- ⁴ A- ⁵ E- ⁶ Q/H- ⁷ R- ⁸ A- ⁹ E- ¹⁰ S- ¹¹ I/V- ¹² I- ¹³ H- ¹⁴ R	67
¹ S- ² L- ³ G- ⁴ A- ⁵ E- ⁶ Q/H- ⁷ X- ⁸ T- ⁹ E- ¹⁰ S- ¹¹ I/V- ¹² I- ¹³ H- ¹⁴ R	68
¹ S- ² L- ³ G- ⁴ A- ⁵ E- ⁶ Q/H- ⁷ A- ⁸ T- ⁹ E- ¹⁰ S- ¹¹ I/V- ¹² I- ¹³ H- ¹⁴ R	69
¹ S- ² L- ³ G- ⁴ A- ⁵ X- ⁶ Q/H- ⁷ R- ⁸ T- ⁹ E- ¹⁰ S- ¹¹ I/V- ¹² I- ¹³ H- ¹⁴ R	70
¹ S- ² L- ³ G- ⁴ A- ⁵ A- ⁶ Q/H- ⁷ R- ⁸ T- ⁹ E- ¹⁰ S- ¹¹ I/V- ¹² I- ¹³ H- ¹⁴ R	71
¹ S- ² L- ³ X- ⁴ A- ⁵ E- ⁶ Q/H- ⁷ R- ⁸ T- ⁹ E- ¹⁰ S- ¹¹ I/V- ¹² I- ¹³ H- ¹⁴ R	72
¹ S- ² L- ³ A- ⁴ A- ⁵ E- ⁶ Q/H- ⁷ R- ⁸ T- ⁹ E- ¹⁰ S- ¹¹ I/V- ¹² I- ¹³ H- ¹⁴ R	73
¹ S- ² X- ³ G- ⁴ A- ⁵ E- ⁶ Q/H- ⁷ R- ⁸ T- ⁹ E- ¹⁰ S- ¹¹ I/V- ¹² I- ¹³ H- ¹⁴ R	74
¹ S- ² A- ³ G- ⁴ A- ⁵ E- ⁶ Q/H- ⁷ R- ⁸ T- ⁹ E- ¹⁰ S- ¹¹ I/V- ¹² I- ¹³ H- ¹⁴ R	75

熟習此項技術者應理解，在上表中所列之肽序列僅用於說明且其他排列在不背離本發明之範疇的情況下為可能的。此外，儘管上文可表示在預防及/或治療乾眼症候群方面有效的短肽或極小肽，但亦可使用較長的肽。特定言之，較長的肽可能提供更有利的藥物動力學及/或生物可用性。

對於較長的肽，可在上述肽中之任一者之N端及/或C端包括額外的胺基酸。額外的胺基酸可為任何適合之殘基，諸如側接上述肽之區域的來自人或小鼠PEDF之殘基。較長肽之特定實例可包括20聚體(PEDF之殘基93-112；SEQ ID NO:76)，22聚體(PEDF之殘基93-114；SEQ ID NO:77)，24聚體(PEDF之殘基93-116；SEQ ID NO:78)及29聚體(PEDF之殘基93-

121 ; SEQ ID NO:4)。

本發明之實施例亦關於預防及/或治療個體之乾眼之用途。根據本發明之實施例之個體可為人或動物。根據本發明之一實施例之用途可包含用包含選自上述中之任一者的肽之組合物投與需要預防或治療乾眼之個體。根據本發明之實例，組合物可包含本發明之肽或此類肽之鹽以及醫藥學上可接受之載劑或賦形劑，諸如蒸餾水、鹽水、油或凝膠。

本發明之組合物可以任何適合之劑型調配，諸如溶液、軟膏、懸浮液、凝膠或乳液，其可以任何適合之濃度調配，諸如10 μ M至200 μ M。熟習此項技術者應能夠以適合之濃度調配此等劑型以傳遞有效劑量而無需創造性努力。此等劑型可經調配以用於眼睛局部施用或其他適合之投藥途徑(例如經口或注射)。

本發明之實施例將用以下實驗細節及實例進一步說明。熟習此項技術者應理解，此等實驗細節及實例僅用於說明且其他修改及變化形式在不背離本發明之範疇的情況下為可能的。

原料及方法

羧甲基纖維素鈉(CMC)、過碘酸希夫(PAS)試劑及地塞米松(dexamethasone)皆來自Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA)。將含CMC (1% w/v)之平衡鹽溶液(BSS; Alcone)用作PDSP之媒劑。PDSP及陰性對照肽(ConP)經合成，且藉由在NH₂端乙醯化及在COOH端醯胺化進行修飾以達成穩定，且藉由質譜表徵(> 95%純度)以在GenScript (Piscataway, NJ, USA)訂購。

動物

使用7至8週齡雌性C57BL/6小鼠進行此等實驗。實驗程序由Mackay

Memorial Hospital 評審委員會批准且根據眼科及視覺研究中之動物使用 (Use of Animals in Ophthalmic and Vision Research) 之 ARVO 聲明進行。

乾眼模型

如先前所述 (Barabino 等人, 2005), 藉由將小鼠放入受控環境室 (CEC) 中來誘發乾眼。簡言之, 被放入 CEC 中之小鼠曝露於相對濕度 (RH) $< 25\%$ 、 20°C 至 22°C 之溫度及 15 公升/分鐘之氣流下, 每天 12 小時。將不患有壓力誘發之乾眼的非受壓力 (NS) 小鼠保持在正常的環境 (RH $> 50\%$, 無氣流, 21°C 至 23°C 之溫度) 下相同持續時間。

角膜螢光素染色及評分

藉由腹膜內注射舒泰 (zoletil) (6 mg/kg) 與甲苯噻嗪 (3 mg/kg) 之混合物來麻醉動物。藉由用局部螢光素 (Fluor-I-Strip, Ayerst Laboratories, Philadelphia, PA) 染色來測定角膜上皮損傷。角膜螢光素染色用裂隙燈生物顯微鏡在鈷藍光下檢查且用數位相機攝影。角膜之染料染色評分方式如下: 無斑點染色記 0 分; 當少於三分之一的角膜染色時記 1 分; 當三分之二或更少染色時記 2 分; 且當超過三分之二染色時記 3 分 (Horwath-Winter J 2013)。

淚液產生之量測

用酚紅浸漬棉線 (Zone-Quick; Oasis, Glendora, 加拿大) 量測淚液產生。如先前所述 (Dursun 等人, 2002), 在小鼠中驗證此測試。用珠寶商鑷子 (jeweler forceps) 固持棉線且放入外眥 60 秒。淚液產生係以被眼淚潤濕後變紅之棉線之毫米數形式表示。

杯狀細胞之 PAS 染色

在安樂死動物之後, 眼睛以手術方式切除, 固定在 10% 福馬林中,

石蠟包埋，且切成5- μ m切片。該等切片經過碘酸希夫試劑(PAS；Sigma-Aldrich)染色以用於量測上下結膜中之杯狀細胞，且用配備有數位相機之顯微鏡檢查及攝影。在來自各眼睛之五個切片中量測結膜中之PAS陽性杯狀細胞。

RNA提取及定量即時PCR

總RNA使用TRIzol (Invitrogen)自細胞提取且用不含RNA酶之DNA酶I (Qiagen, Santa Clarita, CA)處理以去除染色體組DNA且隨後經RNA純化套組(Dynabeads；Invitrogen)純化。利用Superscript III (Invitrogen)進行cDNA之合成。在GeneAmp 7700序列偵測系統(Applied Biosystems, Foster City, CA)中進行定量即時PCR。在含有3 pmol引子、連續稀釋之RT產物及SYBR Green PCR核心試劑(Applied Biosystems)的40 μ l總體積中進行擴增。特異性PCR引子之序列為小鼠TNF- α (寄存編號：NM_013693) 有義，5'-CTACCTTGTTGCCTCCTCTTT-3' (SEQ ID NO:79)，反義，5'-GAGCAGAGGTTTCAGTGATGTAG-3' (SEQ ID NO:80)；小鼠IL-1 β (寄存編號：NM_008361) 有義，5'-GGTGTGTGACGTTCCCATTA-3' (SEQ ID NO:81)，反義，5'-ATTGAGGTGGAGAGCTTTCAG-3' (SEQ ID NO:82)；小鼠IL-6 (寄存編號：NM_031168)有義，5'-GTCTGTAGCTCATTCTGCTCTG-3' (SEQ ID NO:83)，反義，5'-GAAGGCAACTGGATGGAAGT-3' (SEQ ID NO:84)；小鼠MCP-1 (寄存編號：NM_011333) 有義，5'-CTCGGACTGTGATGCCTTAAT-3' (SEQ ID NO:85)，反義，5'-TGGATCCACACCTTGCATTTA-3' (SEQ ID NO:86)；兔MMP-9 (寄存編號：NM_001082203) 有義，5'-TGCGAGTTTCCGTTCATCTT-3' (SEQ

ID NO:87)，反義，5'-GTAGAGCTTGTCCTTGTCGTAG-3' (SEQ ID NO:88)；設置步驟-循環程式為在95℃變性15秒，並在62℃黏合及延伸1分鐘，總共40個循環。所有測定以三重複量測。利用GeneAmp 7700 SDS軟體分析對應於在即時螢光發射達到高於基線發射之臨限值時之PCR循環次數的循環臨限值(Ct)。隨後用所關注的PCR產物及對照mRNA (GAPDH)的Ct值來計算樣品之間的mRNA的相對數量。

免疫組織化學

藉由角膜及結膜中之4-羥基-2-壬烯醛(4HNE)之免疫組織化學偵測來評估氧化壓力誘發之脂質過氧化。將經福馬林固定、石蠟包埋之眼睛標本在二甲苯中脫蠟且在一系列梯度乙醇濃度中復水。用10%山羊血清阻斷載玻片60分鐘且隨後將其與抗4-HNE之初級抗體 (1:100稀釋) (ab46545, Abcam)一起在室溫下培育4小時。隨後將載玻片與適合之過氧化酶標記的山羊免疫球蛋白(1:500稀釋；Chemicon, Temecula, CA)一起培育20分鐘，且接著將其與色原受質(3,3'-二胺基聯苯胺)一起培育2分鐘，隨後用蘇木精對比染色。

角膜上皮細胞培養及處理

自6個月大的紐西蘭白兔分離角膜緣幹細胞，且藉由基於DMEM/F-12基礎培養基之細胞懸浮培養連續培養14天以達成角膜樣上皮細胞分化，如先前所述(Ho等人，2013)。為誘導由高張壓力引起之ROS或MMP-9活性，將細胞在藉由添加90 mM NaCl達成之高張培養基(463 mOsm)中培育隔夜。在DMEM/F-12基礎培養基(309 mOsm)中培養之細胞用作陰性對照。為偵測對高張壓力誘發的ROS或MMP-9活性的預防作用，細胞在NaCl之處理之前用10 μ M PDSP預處理20小時。

明膠酶譜法

為偵測MMP-9活性，如先前所述之方法(Li 等人，2004)，使用10 μ L培養基進行明膠酶譜法。譜帶強度用GS-700型號成像密度計(Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA)在酶譜法中評估並利用Labworks 4.0軟體分析。

細胞內ROS及麩胱甘肽含量之量測

使用2',7'-二氯二氫螢光黃二乙酸酯(H₂DCFDA；Molecular Probes, Eugene, OR)分析細胞內ROS的產生，當2',7'-二氯二氫螢光黃二乙酸酯經ROS氧化時，釋放綠色螢光化合物2',7'-二氯螢光黃(DCF)。為了利用光譜螢光分析偵測ROS，細胞用PBS洗滌且隨後利用NP-40裂解緩衝液(10 mM Tris-Cl，pH 7.4，10 mM NaCl及0.5% NP-40)裂解，且在37°C下於黑暗中與含5 μ M H₂DCFDA之PBS一起培育15分鐘。利用Spectra MAX GEMINI讀取器 (Molecular Devices, Sunnyvale, CA USA)量測螢光(激發，488 nm；發射，520 nm)。自實驗讀數中減去來自不添加有H₂DCFDA之對照孔之背景螢光。

據製造商之推薦，使用麩胱甘肽分析套組定量GSH含量(BioVision Research Products, Mountain View, CA)。簡言之，在室溫下將經過氯酸處理之細胞裂解物與鄰苯二醛(o-phthalaldehyde，OPA)探針及GSH緩衝液一起培育40分鐘。在SPECTRAmax GEMINI XS螢光微盤式分光光度計(Molecular Devices, Sunnyvale, CA)在340 nm(激發)及420 nm(發射)下讀取螢光。

局部PDSP處理恢復由乾燥壓力誘發之眼表損傷

為了判定PDSP在乾燥壓力(DS)誘發之眼表缺陷中是否具有治療作

用，在受控環境室(CEC)中圈養小鼠14天以形成眼表破壞。在CEC中14天之後，吾人使用螢光分數超過2的小鼠進行首次實驗(圖1A)。隨後，乾眼在維持相同乾燥壓力方案的同時用25 μM 至200 μM (3次/天)之PDSP或PDSP媒劑(含1% CMC之BSS)局部再處理5天。

在第0天，與非受壓力(NS)小鼠相比較，小鼠之淚液體積平均值顯著地降低，如藉由棉線測試所量測(3.8 ± 0.5 mm對比 5.4 ± 0.4 mm；圖1B)。與媒劑組相比較，在用PDSP處理小鼠5天之後，眼睛中之淚液產生顯著增加(5 ± 0.3 對比 4.5 ± 0.2)。

PDSP部分恢復結膜中之杯狀細胞的量

杯狀細胞主要存在於結膜穹窿之淺上皮中，並負責產生黏液性淚液。NS眼睛之過碘酸希夫(PAS)染色顯示杯狀細胞在結膜上皮呈連續均勻型態(圖2A)。然而，在乾燥壓力(第0天)14天之後，結膜之PAS染色顯示杯狀細胞之數量相比於NS組明顯減小(58 ± 3.1 對比 38 ± 3.2 ；圖2B)。用含PDSP或媒劑之滴眼劑處理5天，如相比於經媒劑處理之對照，經PDSP處理之眼睛中之結膜的杯狀細胞數顯著增多(46 ± 3.8 對比 37 ± 1.1)。總體而言，PDSP處理確實拯救杯狀細胞之數量。

局部PDSP預防由乾燥壓力誘發之眼表損傷

為研究PDSP是否能夠抑制DS誘發之角膜上皮破壞，吾人對小鼠施加14天的乾燥壓力方案，並用PDSP一天3次局部處理此等小鼠。在14天之後，藉由螢光素染料染色評估角膜上皮缺陷(圖3)，且結果顯示，相較於經PDSP處理之眼睛，經媒劑處理之眼睛中之角膜螢光素染色分數顯著升高(1.7 ± 0.3 對比 0.7 ± 0.2)。此結果表明，PDSP對眼表抗乾燥壓力亦可展現預防作用。

乾燥壓力動物模型中之人及小鼠PDSP之相當的功能

為研究人及小鼠中之PEDF之相同區在治療DED個體方面是否具有相當性。在小鼠中之乾燥壓力誘發之乾眼模型中檢查人PDSP及鼠PDSP之活性。已顯示，人及小鼠PDSP皆能夠在患有壓力誘發之乾眼之小鼠中恢復由乾燥壓力誘發之眼表損傷(圖11)以及淚液產生(圖12)。

PDSP抑制乾燥壓力誘發之發炎反應

已提出發炎可能在實驗動物之乾燥壓力誘發之乾眼中增加眼表損傷(Luo等人，2004；De Paiva等人，2006)。在促炎性介體中，已報導乾燥壓力誘發之乾眼在用TNF- α 或介白素-1 (IL-1)阻斷劑預處理之小鼠中得到改善[Ji YW 2013；Okanobo A 2012]。如圖4中所示，在CEC中圈養小鼠14天(設定為第0天；未經處理之小鼠)之後，相較於在非受壓力(NS)環境中圈養的小鼠，促炎性介體(包括IL-1 β 、TNF- α 、IL-6及MCP-1)之mRNA含量分別顯著上調了3.9倍、2.8倍、2.6倍及2.4倍。但是，相較於媒劑處理組，在小鼠中局部PDSP處理5天明顯抑制了眼部IL-1 β 、TNF- α 、IL-6及MCP-1之mRNA表現2.4、1.9、2.0及1.7倍數。綜合而言，吾人之結果表明PDSP減輕DS誘發之眼部發炎反應。

PDSP部分預防脂質過氧化相關之眼表損傷

由活性含氧物(ROS)過度產生造成的眼表處氧化損傷已牽涉在乾眼之致病機制中(Wakamatsu等人，2013)。吾人經由4-HNE免疫組織化學染色研究PDSP是否能夠抑制脂質過氧化相關之膜損傷。如圖5A中所示，在CEC中圈養小鼠14天之後，角膜上皮中之4-HNE染色顯示出上皮之翼狀細胞上的細胞核及/或核周定位與先前的報導(Nakamura等人，2007)一致。NS、媒劑及PDSP組中之4-HNE染色陽性細胞的數目分別為 1.9 ± 0.6 、

20.1 $\pm$ 1.4及5.3 $\pm$ 1.0 (圖5B)，表明PDSP能夠預防脂質過氧化。此外，結膜中之DS誘發之脂質過氧化亦利用4-HNE染色及免疫組織化學染色結果評估，該等結果顯示4-HNE信號在經媒劑處理之眼睛中比經受PDSP處理之眼睛明顯更強，進一步支持PDSP之抗氧化作用中的發現(圖5C)。總體而言，PDSP處理顯著地抑制眼表中之DS誘發之氧化損傷。

PDSP預防角膜上皮細胞中之高張壓力誘發之ROS累積及麩胱甘肽耗盡

升高的淚液容積莫耳滲透濃度被認為係乾眼中引發發炎及眼表損傷之核心機制(Stahl等人，2012)。相較於正常眼睛中之300 mOsm至310 mOsm，當前乾眼診斷之截止值係316 mOsm (Liu等人，2009)。但是，在角膜上皮細胞中之高容積莫耳滲透濃度之活體外研究中，需要將細胞長期曝露於較高程度之淚液容積莫耳滲透濃度(350 mOsm至500 mOsm)以誘導ROS及MMP-9活性(Li DQ 2004；Li J 2016)。

為研究高張壓力對細胞內ROS形成的影響，兔角膜上皮細胞在藉由添加90 mM NaCl形成之高張培養基(463 mOsm)中培養24小時。細胞內ROS含量利用H₂DCFDA探針偵測並利用光譜螢光計量測DCF螢光之形成。

如圖6A中所示，相較於在等張培養基(309 mOsm)中培養的細胞，在高張培養基中培養細胞24小時之後DCF螢光增加1.6倍。但是，如相比於經單獨NaCl處理之細胞，經PDSP預處理之兔角膜上皮細胞顯示抑制DCF螢光含量1.3倍數($P < 0.04$)。對照肽(ContP)預處理無此作用。與等張環境中之對照細胞相比，NaCl誘發之高張壓力亦明顯耗盡麩胱甘肽(GSH，一種抗氧化劑)之含量(圖6B；46.7 $\pm$ 15.4%對比100 $\pm$ 7.0%)，而經PDSP再處理之細胞顯著增加GSH含量高達70.5 $\pm$ 11.4%。此等結果表明PDSP

在經NaCl誘發之高張壓力(463 mOsM)處理之角膜上皮細胞中具有抗氧化作用，至少部分經由提高GSH含量達成。

PDSP抑制角膜上皮細胞中之高張壓力誘發之MMP-9表現

為研究PDSP對角膜上皮細胞中之高張壓力誘發之MMP-9表現的作用，用PDSP或對照肽(ConP)預處理細胞20小時且隨後使細胞再曝露於高張培養基(463 mOsM)中24小時。如圖7A中所示，如相比於在等張培養基中培養的細胞(未經處理之對照)，經ConP/高張培養基處理之細胞中之MMP-9的mRNA含量顯著地上調了3倍。但是，PDSP預處理抑制了MMP-9 mRNA表現2倍。

明膠酶譜法亦表明，如相比於未經處理之對照，高張壓力誘發了MMP-9活性2.7倍(大小接近90 kDa；圖7B)。酶譜法進一步顯示PDSP預處理抑制了MMP-9活性3倍。此等結果表明PDSP抑制由高張壓力誘發之MMP-9表現及活性。

雖然已用有限數目之實例說明本發明之實施例。熟習此項技術者應理解，其他修改或變型在不背離本發明之範疇之情況下係可能的。因此，保護的範疇應由所附申請專利範圍限制。

【序列表】

<110> 全福生物科技股份有限公司 (BRIM Biotechnology, Inc.)

<120> 包含PEDF-衍生之短肽之組合物及其用途

<130> BM-PPD07

<140> TW 106133749

<141> 2017-09-29

<150> US 62/405,522

<151> 2016-10-07

<150> PCT/US17/42474

<151> 2017-07-18

<160> 88

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 14

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<220>

<221> misc_feature

<222> (2)..(3)

<223> Xaa可為任何天然產生之胺基酸

<220>

<221> misc_feature

<222> (5)..(5)

<223> Xaa可為任何天然產生之胺基酸

<220>

<221> misc_feature

<222> (6)..(6)

<223> Xaa為Gln或His

<220>

<221> misc_feature

<222> (7)..(10)

<223> Xaa可為任何天然產生之胺基酸

<220>
<221> misc_feature
<222> (11)..(11)
<223> Xaa爲Ile或Val

<220>
<221> misc_feature
<222> (13)..(13)
<223> Xaa可爲任何天然產生之胺基酸

<400> 1

Ser Xaa Xaa Ala Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Ile Xaa Arg
1 5 10

<210> 2
<211> 14
<212> PRT
<213> 智人

<400> 2

Ser Leu Gly Ala Glu Gln Arg Thr Glu Ser Ile Ile His Arg
1 5 10

<210> 3
<211> 14
<212> PRT
<213> 小鼠

<400> 3

Ser Leu Gly Ala Glu His Arg Thr Glu Ser Val Ile His Arg
1 5 10

<210> 4
<211> 29
<212> PRT
<213> 智人

<400> 4

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

Tyr Tyr Asp Leu Ile Ser Ser Pro Asp Ile His Gly Thr
20 25

<210> 5
<211> 29
<212> PRT
<213> 小鼠

<400> 5

Ser Leu Gly Ala Glu His Arg Thr Glu Ser Val Ile His Arg Ala Leu
1 5 10 15

Tyr Tyr Asp Leu Ile Thr Asn Pro Asp Ile His Ser Thr
20 25

<210> 6
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<220>
<221> misc_feature
<222> (3)..(3)
<223> Xaa可為任何天然產生之胺基酸

<220>
<221> misc_feature
<222> (5)..(5)
<223> Xaa可為任何天然產生之胺基酸

<220>
<221> misc_feature
<222> (6)..(6)
<223> Xaa為Gln或His

<220>
<221> misc_feature
<222> (7)..(10)
<223> Xaa可為任何天然產生之胺基酸

<220>
<221> misc_feature

<222> (11)..(11)
<223> Xaa爲Ile或Val

<220>
<221> misc_feature
<222> (13)..(13)
<223> Xaa可爲任何天然產生之胺基酸

<400> 6

Ser Leu Xaa Ala Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Ile Xaa Arg
1 5 10

<210> 7
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<220>
<221> misc_feature
<222> (3)..(3)
<223> Xaa可爲任何天然產生之胺基酸

<220>
<221> misc_feature
<222> (5)..(5)
<223> Xaa可爲任何天然產生之胺基酸

<220>
<221> misc_feature
<222> (6)..(6)
<223> Xaa爲Gln或His

<220>
<221> misc_feature
<222> (7)..(10)
<223> Xaa可爲任何天然產生之胺基酸

<220>
<221> misc_feature
<222> (11)..(11)
<223> Xaa爲Ile或Val

<220>
<221> misc_feature

<222> (13)..(13)
<223> Xaa可為任何天然產生之胺基酸

<400> 7

Ser Ala Xaa Ala Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Ile Xaa Arg
1 5 10

<210> 8
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<220>
<221> misc_feature
<222> (2)..(2)
<223> Xaa可為任何天然產生之胺基酸

<220>
<221> misc_feature
<222> (5)..(5)
<223> Xaa可為任何天然產生之胺基酸

<220>
<221> misc_feature
<222> (6)..(6)
<223> Xaa為Gln或His

<220>
<221> misc_feature
<222> (7)..(10)
<223> Xaa可為任何天然產生之胺基酸

<220>
<221> misc_feature
<222> (11)..(11)
<223> Xaa為Ile或Val

<220>
<221> misc_feature
<222> (13)..(13)
<223> Xaa可為任何天然產生之胺基酸

<400> 8

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<220>
<221> misc_feature
<222> (2)..(3)
<223> Xaa可為任何天然產生之胺基酸

<220>
<221> misc_feature
<222> (6)..(6)
<223> Xaa為Gln或His

<220>
<221> misc_feature
<222> (7)..(10)
<223> Xaa可為任何天然產生之胺基酸

<220>
<221> misc_feature
<222> (11)..(11)
<223> Xaa為Ile或Val

<220>
<221> misc_feature
<222> (13)..(13)
<223> Xaa可為任何天然產生之胺基酸

<400> 10

Ser Xaa Xaa Ala Glu Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Ile Xaa Arg
1 5 10

<210> 11
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<220>
<221> misc_feature
<222> (2)..(3)
<223> Xaa可為任何天然產生之胺基酸

<220>
<221> misc_feature
<222> (6)..(6)
<223> Xaa爲Gln或His

<220>
<221> misc_feature
<222> (7)..(10)
<223> Xaa可爲任何天然產生之胺基酸

<220>
<221> misc_feature
<222> (11)..(11)
<223> Xaa爲Ile或Val

<220>
<221> misc_feature
<222> (13)..(13)
<223> Xaa可爲任何天然產生之胺基酸

<400> 11

Ser Xaa Xaa Ala Ala Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Ile Xaa Arg
1 5 10

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

<220>
<223> 合成

<220>
<221> misc_feature
<222> (2)..(3)
<223> Xaa可爲任何天然產生之胺基酸

<220>
<221> misc_feature
<222> (5)..(5)
<223> Xaa可爲任何天然產生之胺基酸

<220>
<221> misc_feature
<222> (6)..(6)
<223> Xaa爲Gln或His

<220>
<221> misc_feature
<222> (8)..(10)
<223> Xaa可為任何天然產生之胺基酸

<220>
<221> misc_feature
<222> (11)..(11)
<223> Xaa為Ile或Val

<220>
<221> misc_feature
<222> (13)..(13)
<223> Xaa可為任何天然產生之胺基酸

<400> 12

Ser Xaa Xaa Ala Xaa Xaa Arg Xaa Xaa Xaa Xaa Ile Xaa Arg
1 5 10

<210> 13
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<220>
<221> misc_feature
<222> (3)..(3)
<223> Xaa可為任何天然產生之胺基酸

<220>
<221> misc_feature
<222> (5)..(5)
<223> Xaa可為任何天然產生之胺基酸

<220>
<221> misc_feature
<222> (6)..(6)
<223> Xaa為Gln或His

<220>
<221> misc_feature
<222> (8)..(10)
<223> Xaa可為任何天然產生之胺基酸

<220>
<221> misc_feature
<222> (11)..(11)
<223> Xaa爲Ile或Val

<220>
<221> misc_feature
<222> (13)..(13)
<223> Xaa可爲任何天然產生之胺基酸

<400> 13

Ser Leu Xaa Ala Xaa Xaa Ala Xaa Xaa Xaa Xaa Ile Xaa Arg
1 5 10

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

<220>
<223> 合成

<220>
<221> misc_feature
<222> (2)..(3)
<223> Xaa可爲任何天然產生之胺基酸

<220>
<221> misc_feature
<222> (5)..(5)
<223> Xaa可爲任何天然產生之胺基酸

<220>
<221> misc_feature
<222> (6)..(6)
<223> Xaa爲Gln或His

<220>
<221> misc_feature
<222> (7)..(7)
<223> Xaa可爲任何天然產生之胺基酸

<220>
<221> misc_feature
<222> (9)..(10)
<223> Xaa可爲任何天然產生之胺基酸

<220>
<221> misc_feature
<222> (11)..(11)
<223> Xaa爲Ile或Val

<220>
<221> misc_feature
<222> (13)..(13)
<223> Xaa可爲任何天然產生之胺基酸

<400> 14

Ser Ala Xaa Ala Xaa Xaa Xaa Thr Xaa Xaa Xaa Ile Xaa Arg
1 5 10

<210> 15
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<220>
<221> misc_feature
<222> (2)..(2)
<223> Xaa可爲任何天然產生之胺基酸

<220>
<221> misc_feature
<222> (5)..(5)
<223> Xaa可爲任何天然產生之胺基酸

<220>
<221> misc_feature
<222> (6)..(6)
<223> Xaa爲Gln或His

<220>
<221> misc_feature
<222> (7)..(7)
<223> Xaa可爲任何天然產生之胺基酸

<220>
<221> misc_feature
<222> (10)..(10)
<223> Xaa可爲任何天然產生之胺基酸

<220>
<221> misc_feature
<222> (11)..(11)
<223> Xaa爲Ile或Val

<220>
<221> misc_feature
<222> (13)..(13)
<223> Xaa可爲任何天然產生之胺基酸

<400> 15

Ser Xaa Gly Ala Xaa Xaa Xaa Ala Glu Xaa Xaa Ile Xaa Arg
1 5 10

<210> 16
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<220>
<221> misc_feature
<222> (2)..(2)
<223> Xaa可爲任何天然產生之胺基酸

<220>
<221> misc_feature
<222> (5)..(5)
<223> Xaa可爲任何天然產生之胺基酸

<220>
<221> misc_feature
<222> (6)..(6)
<223> Xaa爲Gln或His

<220>
<221> misc_feature
<222> (7)..(8)
<223> Xaa可爲任何天然產生之胺基酸

<220>
<221> misc_feature
<222> (10)..(10)
<223> Xaa可爲任何天然產生之胺基酸

<220>
<221> misc_feature
<222> (11)..(11)
<223> Xaa爲Ile或Val

<220>
<221> misc_feature
<222> (13)..(13)
<223> Xaa可爲任何天然產生之胺基酸

<400> 16

Ser Xaa Ala Ala Xaa Xaa Xaa Xaa Ala Xaa Xaa Ile Xaa Arg
1 5 10

<210> 17
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<220>
<221> misc_feature
<222> (2)..(3)
<223> Xaa可爲任何天然產生之胺基酸

<220>
<221> misc_feature
<222> (6)..(6)
<223> Xaa爲Gln或His

<220>
<221> misc_feature
<222> (7)..(9)
<223> Xaa可爲任何天然產生之胺基酸

<220>
<221> misc_feature
<222> (11)..(11)
<223> Xaa爲Ile或Val

<220>
<221> misc_feature
<222> (13)..(13)
<223> Xaa可爲任何天然產生之胺基酸

<400> 17

Ser Xaa Xaa Ala Glu Xaa Xaa Xaa Xaa Ser Xaa Ile Xaa Arg
1 5 10

- <210> 18
- <211> 14
- <212> PRT
- <213> 人工序列

- <220>
- <223> 合成

- <220>
- <221> misc_feature
- <222> (2)..(3)
- <223> Xaa可為任何天然產生之胺基酸

- <220>
- <221> misc_feature
- <222> (6)..(6)
- <223> Xaa為Gln或His

- <220>
- <221> misc_feature
- <222> (7)..(9)
- <223> Xaa可為任何天然產生之胺基酸

- <220>
- <221> misc_feature
- <222> (11)..(11)
- <223> Xaa為Ile或Val

- <220>
- <221> misc_feature
- <222> (13)..(13)
- <223> Xaa可為任何天然產生之胺基酸

<400> 18

Ser Xaa Xaa Ala Ala Xaa Xaa Xaa Xaa Ala Xaa Ile Xaa Arg
1 5 10

- <210> 19
- <211> 14
- <212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<220>

<221> misc_feature

<222> (2)..(3)

<223> Xaa可為任何天然產生之胺基酸

<220>

<221> misc_feature

<222> (5)..(5)

<223> Xaa可為任何天然產生之胺基酸

<220>

<221> misc_feature

<222> (6)..(6)

<223> Xaa為Gln或His

<220>

<221> misc_feature

<222> (7)..(10)

<223> Xaa可為任何天然產生之胺基酸

<220>

<221> misc_feature

<222> (11)..(11)

<223> Xaa Ile或Val

<400> 19

Ser Xaa Xaa Ala Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Ile His Arg
1 5 10

<210> 20

<211> 14

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<220>

<221> misc_feature

<222> (2)..(3)

<223> Xaa可為任何天然產生之胺基酸

<220>
<221> misc_feature
<222> (5)..(5)
<223> Xaa可為任何天然產生之胺基酸

<220>
<221> misc_feature
<222> (6)..(6)
<223> Xaa為Gln或His

<220>
<221> misc_feature
<222> (7)..(10)
<223> Xaa可為任何天然產生之胺基酸

<220>
<221> misc_feature
<222> (11)..(11)
<223> Xaa為Ile或Val

<400> 20

Ser Xaa Xaa Ala Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Ile Ala Arg
1 5 10

<210> 21
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<220>
<221> misc_feature
<222> (5)..(5)
<223> Xaa可為任何天然產生之胺基酸

<220>
<221> misc_feature
<222> (6)..(6)
<223> Xaa為Gln或His

<220>
<221> misc_feature
<222> (7)..(10)
<223> Xaa可為任何天然產生之胺基酸

<220>
<221> misc_feature
<222> (11)..(11)
<223> Xaa爲Ile或Val

<220>
<221> misc_feature
<222> (13)..(13)
<223> Xaa可爲任何天然產生之胺基酸

<400> 21

Ser Leu Gly Ala Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Ile Xaa Arg
1 5 10

<210> 22
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<220>
<221> misc_feature
<222> (6)..(6)
<223> Xaa爲Gln或His

<220>
<221> misc_feature
<222> (7)..(10)
<223> Xaa可爲任何天然產生之胺基酸

<220>
<221> misc_feature
<222> (11)..(11)
<223> Xaa爲Ile或Val

<220>
<221> misc_feature
<222> (13)..(13)
<223> Xaa可爲任何天然產生之胺基酸

<400> 22

Ser Leu Gly Ala Glu Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Ile Xaa Arg
1 5 10

<210> 23
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<220>
<221> misc_feature
<222> (6)..(6)
<223> Xaa為Gln或His

<220>
<221> misc_feature
<222> (7)..(10)
<223> Xaa可為任何天然產生之胺基酸

<220>
<221> misc_feature
<222> (11)..(11)
<223> Xaa為Ile或Val

<220>
<221> misc_feature
<222> (13)..(13)
<223> Xaa可為任何天然產生之胺基酸

<400> 23

Ser Leu Gly Ala Ala Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Ile Xaa Arg
1 5 10

<210> 24
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<220>
<221> misc_feature
<222> (5)..(5)
<223> Xaa可為任何天然產生之胺基酸

<220>
<221> misc_feature
<222> (6)..(6)

<223> Xaa爲Gln或His

<220>

<221> misc_feature

<222> (8)..(10)

<223> Xaa可爲任何天然產生之胺基酸

<220>

<221> misc_feature

<222> (11)..(11)

<223> Xaa爲Ile或Val

<220>

<221> misc_feature

<222> (13)..(13)

<223> Xaa可爲任何天然產生之胺基酸

<400> 24

Ser Leu Gly Ala Xaa Xaa Arg Xaa Xaa Xaa Xaa Ile Xaa Arg
1 5 10

<210> 25

<211> 14

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<220>

<221> misc_feature

<222> (5)..(5)

<223> Xaa可爲任何天然產生之胺基酸

<220>

<221> misc_feature

<222> (6)..(6)

<223> Xaa爲Gln或His

<220>

<221> misc_feature

<222> (8)..(10)

<223> Xaa可爲任何天然產生之胺基酸

<220>

<221> misc_feature

<222> (11)..(11)

<223> Xaa爲Ile或Val

<220>
<221> misc_feature
<222> (13)..(13)
<223> Xaa可為任何天然產生之胺基酸

<400> 25

Ser Leu Gly Ala Xaa Xaa Ala Xaa Xaa Xaa Xaa Ile Xaa Arg
1 5 10

<210> 26
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<220>
<221> misc_feature
<222> (5)..(5)
<223> Xaa可為任何天然產生之胺基酸

<220>
<221> misc_feature
<222> (6)..(6)
<223> Xaa為Gln或His

<220>
<221> misc_feature
<222> (7)..(7)
<223> Xaa可為任何天然產生之胺基酸

<220>
<221> misc_feature
<222> (9)..(10)
<223> Xaa可為任何天然產生之胺基酸

<220>
<221> misc_feature
<222> (11)..(11)
<223> Xaa為Ile或Val

<220>
<221> misc_feature
<222> (13)..(13)
<223> Xaa可為任何天然產生之胺基酸

<400> 26

Ser Leu Gly Ala Xaa Xaa Xaa Thr Xaa Xaa Xaa Ile Xaa Arg
1 5 10

- <210> 27
- <211> 14
- <212> PRT
- <213> 人工序列

- <220>
- <223> 合成

- <220>
- <221> misc_feature
- <222> (5)..(5)
- <223> Xaa可為任何天然產生之胺基酸

- <220>
- <221> misc_feature
- <222> (6)..(6)
- <223> Xaa為Gln或His

- <220>
- <221> misc_feature
- <222> (7)..(7)
- <223> Xaa可為任何天然產生之胺基酸

- <220>
- <221> misc_feature
- <222> (10)..(10)
- <223> Xaa可為任何天然產生之胺基酸

- <220>
- <221> misc_feature
- <222> (11)..(11)
- <223> Xaa為Ile或Val

- <220>
- <221> misc_feature
- <222> (13)..(13)
- <223> Xaa可為任何天然產生之胺基酸

<400> 27

Ser Leu Gly Ala Xaa Xaa Xaa Ala Glu Xaa Xaa Ile Xaa Arg
1 5 10

<210> 28
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<220>
<221> misc_feature
<222> (5)..(5)
<223> Xaa可為任何天然產生之胺基酸

<220>
<221> misc_feature
<222> (6)..(6)
<223> Xaa為Gln或His

<220>
<221> misc_feature
<222> (7)..(8)
<223> Xaa可為任何天然產生之胺基酸

<220>
<221> misc_feature
<222> (10)..(10)
<223> Xaa可為任何天然產生之胺基酸

<220>
<221> misc_feature
<222> (11)..(11)
<223> Xaa為Ile或Val

<220>
<221> misc_feature
<222> (13)..(13)
<223> Xaa可為任何天然產生之胺基酸

<400> 28

Ser Leu Gly Ala Xaa Xaa Xaa Xaa Ala Xaa Xaa Ile Xaa Arg
1 5 10

<210> 29
<211> 14
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<220>

<221> misc_feature

<222> (5)..(5)

<223> Xaa可為任何天然產生之胺基酸

<220>

<221> misc_feature

<222> (6)..(6)

<223> Xaa為Gln或His

<220>

<221> misc_feature

<222> (7)..(9)

<223> Xaa可為任何天然產生之胺基酸

<220>

<221> misc_feature

<222> (11)..(11)

<223> Xaa為Ile或Val

<220>

<221> misc_feature

<222> (13)..(13)

<223> Xaa可為任何天然產生之胺基酸

<400> 29

Ser Leu Gly Ala Xaa Xaa Xaa Xaa Ser Xaa Ile Xaa Arg
1 5 10

<210> 30

<211> 14

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<220>

<221> misc_feature

<222> (5)..(5)

<223> Xaa可為任何天然產生之胺基酸

<220>
<221> misc_feature
<222> (6)..(6)
<223> Xaa爲Gln或His

<220>
<221> misc_feature
<222> (7)..(9)
<223> Xaa可爲任何天然產生之胺基酸

<220>
<221> misc_feature
<222> (11)..(11)
<223> Xaa爲Ile或Val

<220>
<221> misc_feature
<222> (13)..(13)
<223> Xaa可爲任何天然產生之胺基酸

<400> 30

Ser Leu Gly Ala Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Ala Xaa Ile Xaa Arg
1 5 10

<210> 31
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<220>
<221> misc_feature
<222> (5)..(5)
<223> Xaa可爲任何天然產生之胺基酸

<220>
<221> misc_feature
<222> (6)..(6)
<223> Xaa爲Gln或His

<220>
<221> misc_feature
<222> (7)..(9)
<223> Xaa可爲任何天然產生之胺基酸

<220>
<221> misc_feature
<222> (11)..(11)
<223> Xaa爲Ile或Val

<400> 31

Ser Leu Gly Ala Xaa Xaa Xaa Xaa Ser Xaa Ile His Arg
1 5 10

<210> 32
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<220>
<221> misc_feature
<222> (5)..(5)
<223> Xaa可爲任何天然產生之胺基酸

<220>
<221> misc_feature
<222> (6)..(6)
<223> Xaa爲Gln或His

<220>
<221> misc_feature
<222> (7)..(9)
<223> Xaa可爲任何天然產生之胺基酸

<220>
<221> misc_feature
<222> (11)..(11)
<223> Xaa爲Ile或Val

<400> 32

Ser Leu Gly Ala Xaa Xaa Xaa Xaa Ala Xaa Ile Ala Arg
1 5 10

<210> 33
<211> 14
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<220>

<221> misc_feature

<222> (6)..(6)

<223> Xaa爲Gln或His

<220>

<221> misc_feature

<222> (7)..(10)

<223> Xaa可爲任何天然產生之胺基酸

<220>

<221> misc_feature

<222> (11)..(11)

<223> Xaa爲Ile或Val

<220>

<221> misc_feature

<222> (13)..(13)

<223> Xaa可爲任何天然產生之胺基酸

<400> 33

Ser Leu Gly Ala Glu Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Ile Xaa Arg
1 5 10

<210> 34

<211> 14

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<220>

<221> misc_feature

<222> (6)..(6)

<223> Xaa爲Gln或His

<220>

<221> misc_feature

<222> (8)..(10)

<223> Xaa可為任何天然產生之胺基酸

<220>

<221> misc_feature

<222> (11)..(11)

<223> Xaa為Ile或Val

<220>

<221> misc_feature

<222> (13)..(13)

<223> Xaa可為任何天然產生之胺基酸

<400> 34

Ser Leu Gly Ala Glu Xaa Arg Xaa Xaa Xaa Xaa Ile Xaa Arg
1 5 10

<210> 35

<211> 14

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<220>

<221> misc_feature

<222> (6)..(6)

<223> Xaa為Gln或His

<220>

<221> misc_feature

<222> (8)..(10)

<223> Xaa可為任何天然產生之胺基酸

<220>

<221> misc_feature

<222> (11)..(11)

<223> Xaa為Ile或Val

<220>

<221> misc_feature

<222> (13)..(13)

<223> Xaa可為任何天然產生之胺基酸

<400> 35

Ser Leu Gly Ala Glu Xaa Ala Xaa Xaa Xaa Xaa Ile Xaa Arg

1	5	10
<210>	36	
<211>	14	
<212>	PRT	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成	
<220>		
<221>	misc_feature	
<222>	(6)..(6)	
<223>	Xaa爲Gln或His	
<220>		
<221>	misc_feature	
<222>	(7)..(7)	
<223>	Xaa可爲任何天然產生之胺基酸	
<220>		
<221>	misc_feature	
<222>	(9)..(10)	
<223>	Xaa可爲任何天然產生之胺基酸	
<220>		
<221>	misc_feature	
<222>	(11)..(11)	
<223>	Xaa爲Ile或Val	
<220>		
<221>	misc_feature	
<222>	(13)..(13)	
<223>	Xaa可爲任何天然產生之胺基酸	
<400>	36	
Ser	Leu	Gly
Ala	Glu	Xaa
Xaa	Xaa	Thr
Xaa	Xaa	Xaa
Ile	Xaa	Arg
1	5	10
<210>	37	
<211>	14	
<212>	PRT	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成	

<220>
<221> misc_feature
<222> (6)..(6)
<223> Xaa爲Gln或His

<220>
<221> misc_feature
<222> (7)..(7)
<223> Xaa可爲任何天然產生之胺基酸

<220>
<221> misc_feature
<222> (10)..(10)
<223> Xaa可爲任何天然產生之胺基酸

<220>
<221> misc_feature
<222> (11)..(11)
<223> Xaa爲Ile或Val

<220>
<221> misc_feature
<222> (13)..(13)
<223> Xaa可爲任何天然產生之胺基酸

<400> 37

Ser Leu Gly Ala Glu Xaa Xaa Ala Glu Xaa Xaa Ile Xaa Arg
1 5 10

<210> 38
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<220>
<221> misc_feature
<222> (6)..(6)
<223> Xaa爲Gln或His

<220>
<221> misc_feature
<222> (7)..(8)

<223> Xaa可爲任何天然產生之胺基酸

<220>

<221> misc_feature

<222> (10)..(10)

<223> Xaa可爲任何天然產生之胺基酸

<220>

<221> misc_feature

<222> (11)..(11)

<223> Xaa爲Ile或Val

<220>

<221> misc_feature

<222> (13)..(13)

<223> Xaa可爲任何天然產生之胺基酸

<400> 38

Ser Leu Gly Ala Glu Xaa Xaa Xaa Ala Xaa Xaa Ile Xaa Arg
1 5 10

<210> 39

<211> 14

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<220>

<221> misc_feature

<222> (6)..(6)

<223> Xaa爲Gln或His

<220>

<221> misc_feature

<222> (7)..(9)

<223> Xaa可爲任何天然產生之胺基酸

<220>

<221> misc_feature

<222> (11)..(11)

<223> Xaa爲Ile或Val

<220>

<221> misc_feature

<222> (13)..(13)

<223> Xaa可爲任何天然產生之胺基酸

<400> 39

Ser Leu Gly Ala Glu Xaa Xaa Xaa Xaa Ser Xaa Ile Xaa Arg
1 5 10

<210> 40

<211> 14

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<220>

<221> misc_feature

<222> (6)..(6)

<223> Xaa爲Gln或His

<220>

<221> misc_feature

<222> (7)..(9)

<223> Xaa可爲任何天然產生之胺基酸

<220>

<221> misc_feature

<222> (11)..(11)

<223> Xaa爲Ile或Val

<220>

<221> misc_feature

<222> (13)..(13)

<223> Xaa可爲任何天然產生之胺基酸

<400> 40

Ser Leu Gly Ala Glu Xaa Xaa Xaa Xaa Ala Xaa Ile Xaa Arg
1 5 10

<210> 41

<211> 14

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

1	5	10
<210>	43	
<211>	14	
<212>	PRT	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成	
<220>		
<221>	misc_feature	
<222>	(6)..(6)	
<223>	Xaa爲Gln或His	
<220>		
<221>	misc_feature	
<222>	(8)..(10)	
<223>	Xaa可爲任何天然產生之胺基酸	
<220>		
<221>	misc_feature	
<222>	(11)..(11)	
<223>	Xaa爲Ile或Val	
<220>		
<221>	misc_feature	
<222>	(13)..(13)	
<223>	Xaa可爲任何天然產生之胺基酸	
<400>	43	
Ser	Leu	Gly
Ala	Glu	Xaa
Arg	Xaa	Xaa
Xaa	Xaa	Xaa
Ile	Xaa	Arg
1	5	10
<210>	44	
<211>	14	
<212>	PRT	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成	
<220>		
<221>	misc_feature	
<222>	(6)..(6)	

<223> Xaa爲Gln或His

<220>

<221> misc_feature

<222> (9)..(10)

<223> Xaa可爲任何天然產生之胺基酸

<220>

<221> misc_feature

<222> (11)..(11)

<223> Xaa爲Ile或Val

<220>

<221> misc_feature

<222> (13)..(13)

<223> Xaa可爲任何天然產生之胺基酸

<400> 44

Ser Leu Gly Ala Glu Xaa Arg Thr Xaa Xaa Xaa Ile Xaa Arg
1 5 10

<210> 45

<211> 14

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<220>

<221> misc_feature

<222> (6)..(6)

<223> Xaa爲Gln或His

<220>

<221> misc_feature

<222> (10)..(10)

<223> Xaa可爲任何天然產生之胺基酸

<220>

<221> misc_feature

<222> (11)..(11)

<223> Xaa爲Ile或Val

<220>

<221> misc_feature

<222> (13)..(13)

<223> Xaa可爲任何天然產生之胺基酸

<400> 45

Ser Leu Gly Ala Glu Xaa Arg Ala Xaa Xaa Xaa Ile Xaa Arg
1 5 10

<210> 46

<211> 14

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<220>

<221> misc_feature

<222> (6)..(6)

<223> Xaa爲Gln或His

<220>

<221> misc_feature

<222> (8)..(8)

<223> Xaa可爲任何天然產生之胺基酸

<220>

<221> misc_feature

<222> (10)..(10)

<223> Xaa可爲任何天然產生之胺基酸

<220>

<221> misc_feature

<222> (11)..(11)

<223> Xaa爲Ile或Val

<220>

<221> misc_feature

<222> (13)..(13)

<223> Xaa可爲任何天然產生之胺基酸

<400> 46

Ser Leu Gly Ala Glu Xaa Arg Xaa Ala Xaa Xaa Ile Xaa Arg
1 5 10

<210> 47

<211> 14

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<220>
<221> misc_feature
<222> (6)..(6)
<223> Xaa爲Gln或His

<220>
<221> misc_feature
<222> (8)..(9)
<223> Xaa可爲任何天然產生之胺基酸

<220>
<221> misc_feature
<222> (11)..(11)
<223> Xaa爲Ile或Val

<220>
<221> misc_feature
<222> (13)..(13)
<223> Xaa可爲任何天然產生之胺基酸

<400> 47

Ser Leu Gly Ala Glu Xaa Arg Xaa Xaa Ser Xaa Ile Xaa Arg
1 5 10

<210> 48
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<220>
<221> misc_feature
<222> (6)..(6)
<223> Xaa爲Gln或His

<220>
<221> misc_feature
<222> (8)..(9)

<223> Xaa可為任何天然產生之胺基酸

<220>

<221> misc_feature

<222> (11)..(11)

<223> Xaa為Ile或Val

<220>

<221> misc_feature

<222> (13)..(13)

<223> Xaa可為任何天然產生之胺基酸

<400> 48

Ser Leu Gly Ala Glu Xaa Arg Xaa Xaa Ala Xaa Ile Xaa Arg
1 5 10

<210> 49

<211> 14

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<220>

<221> misc_feature

<222> (6)..(6)

<223> Xaa為Gln或His

<220>

<221> misc_feature

<222> (8)..(9)

<223> Xaa可為任何天然產生之胺基酸

<220>

<221> misc_feature

<222> (11)..(11)

<223> Xaa為Ile或Val

<400> 49

Ser Leu Gly Ala Glu Xaa Arg Xaa Xaa Ser Xaa Ile His Arg
1 5 10

<210> 50

<211> 14

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<220>
<221> misc_feature
<222> (6)..(6)
<223> Xaa爲Gln或His

<220>
<221> misc_feature
<222> (8)..(9)
<223> Xaa可爲任何天然產生之胺基酸

<220>
<221> misc_feature
<222> (11)..(11)
<223> Xaa爲Ile或Val

<400> 50

Ser Leu Gly Ala Glu Xaa Arg Xaa Xaa Ala Xaa Ile Ala Arg
1 5 10

<210> 51
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<220>
<221> misc_feature
<222> (6)..(6)
<223> Xaa爲Gln或His

<220>
<221> misc_feature
<222> (9)..(10)
<223> Xaa可爲任何天然產生之胺基酸

<220>
<221> misc_feature
<222> (11)..(11)

<223> Xaa爲Ile或Val

<220>

<221> misc_feature

<222> (13)..(13)

<223> Xaa可爲任何天然產生之胺基酸

<400> 51

Ser Leu Gly Ala Glu Xaa Arg Thr Xaa Xaa Xaa Ile Xaa Arg
1 5 10

<210> 52

<211> 14

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<220>

<221> misc_feature

<222> (6)..(6)

<223> Xaa爲Gln或His

<220>

<221> misc_feature

<222> (10)..(10)

<223> Xaa可爲任何天然產生之胺基酸

<220>

<221> misc_feature

<222> (11)..(11)

<223> Xaa爲Ile或Val

<220>

<221> misc_feature

<222> (13)..(13)

<223> Xaa可爲任何天然產生之胺基酸

<400> 52

Ser Leu Gly Ala Glu Xaa Arg Thr Glu Xaa Xaa Ile Xaa Arg
1 5 10

<210> 53

<211> 14

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<220>
<221> misc_feature
<222> (6)..(6)
<223> Xaa爲Gln或His

<220>
<221> misc_feature
<222> (10)..(10)
<223> Xaa可爲任何天然產生之胺基酸

<220>
<221> misc_feature
<222> (11)..(11)
<223> Xaa爲Ile或Val

<220>
<221> misc_feature
<222> (13)..(13)
<223> Xaa可爲任何天然產生之胺基酸

<400> 53

Ser Leu Gly Ala Glu Xaa Arg Thr Ala Xaa Xaa Ile Xaa Arg
1 5 10

<210> 54
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<220>
<221> misc_feature
<222> (6)..(6)
<223> Xaa爲Gln或His

<220>
<221> misc_feature
<222> (9)..(9)

<223> Xaa可爲任何天然產生之胺基酸

<220>

<221> misc_feature

<222> (11)..(11)

<223> Xaa爲Ile或Val

<220>

<221> misc_feature

<222> (13)..(13)

<223> Xaa可爲任何天然產生之胺基酸

<400> 54

Ser Leu Gly Ala Glu Xaa Arg Thr Xaa Ser Xaa Ile Xaa Arg
1 5 10

<210> 55

<211> 14

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<220>

<221> misc_feature

<222> (6)..(6)

<223> Xaa爲Gln或His

<220>

<221> misc_feature

<222> (9)..(9)

<223> Xaa可爲任何天然產生之胺基酸

<220>

<221> misc_feature

<222> (11)..(11)

<223> Xaa爲Ile或Val

<220>

<221> misc_feature

<222> (13)..(13)

<223> Xaa可爲任何天然產生之胺基酸

<400> 55

Ser Leu Gly Ala Glu Xaa Arg Thr Xaa Ala Xaa Ile Xaa Arg

1	5	10
<210>	56	
<211>	14	
<212>	PRT	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成	
<220>		
<221>	misc_feature	
<222>	(6)..(6)	
<223>	Xaa爲Gln或His	
<220>		
<221>	misc_feature	
<222>	(9)..(9)	
<223>	Xaa可爲任何天然產生之胺基酸	
<220>		
<221>	misc_feature	
<222>	(11)..(11)	
<223>	Xaa爲Ile或Val	
<400>	56	
Ser	Leu	Gly
Ala	Glu	Xaa
Arg	Thr	Xaa
Ser	Xaa	Ile
His	Arg	
1	5	10
<210>	57	
<211>	14	
<212>	PRT	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成	
<220>		
<221>	misc_feature	
<222>	(6)..(6)	
<223>	Xaa爲Gln或His	
<220>		
<221>	misc_feature	
<222>	(9)..(9)	

<223> Xaa可為任何天然產生之胺基酸

<220>
<221> misc_feature
<222> (11)..(11)
<223> Xaa為Ile或Val

<400> 57

Ser Leu Gly Ala Glu Xaa Arg Thr Xaa Ala Xaa Ile Ala Arg
1 5 10

<210> 58
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<220>
<221> misc_feature
<222> (6)..(6)
<223> Xaa為Gln或His

<220>
<221> misc_feature
<222> (11)..(11)
<223> Xaa為Ile或Val

<220>
<221> misc_feature
<222> (13)..(13)
<223> Xaa可為任何天然產生之胺基酸

<400> 58

Ser Leu Gly Ala Glu Xaa Arg Thr Glu Ser Xaa Ile Xaa Arg
1 5 10

<210> 59
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<220>
<221> misc_feature
<222> (6)..(6)
<223> Xaa爲Gln或His

<220>
<221> misc_feature
<222> (11)..(11)
<223> Xaa爲Ile或Val

<220>
<221> misc_feature
<222> (13)..(13)
<223> Xaa可爲任何天然產生之胺基酸

<400> 59

Ser Leu Gly Ala Glu Xaa Arg Thr Glu Ala Xaa Ile Xaa Arg
1 5 10

<210> 60
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<220>
<221> misc_feature
<222> (6)..(6)
<223> Xaa爲Gln或His

<220>
<221> misc_feature
<222> (10)..(10)
<223> Xaa可爲任何天然產生之胺基酸

<220>
<221> misc_feature
<222> (11)..(11)
<223> Xaa爲Ile或Val

<400> 60

Ser Leu Gly Ala Glu Xaa Arg Thr Glu Xaa Xaa Ile His Arg

1	5	10
<210>	61	
<211>	14	
<212>	PRT	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成	
<220>		
<221>	misc_feature	
<222>	(6)..(6)	
<223>	Xaa爲Gln或His	
<220>		
<221>	misc_feature	
<222>	(10)..(10)	
<223>	Xaa可爲任何天然產生之胺基酸	
<220>		
<221>	misc_feature	
<222>	(11)..(11)	
<223>	Xaa爲Ile或Val	
<400>	61	
Ser	Leu	Gly
Ala	Glu	Xaa
Arg	Thr	Glu
Xaa	Xaa	Ile
Ala	Arg	
1	5	10

<210>	62	
<211>	14	
<212>	PRT	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成	
<220>		
<221>	misc_feature	
<222>	(6)..(6)	
<223>	Xaa爲Gln或His	
<220>		
<221>	misc_feature	
<222>	(11)..(11)	

<223> Xaa爲Ile或Val

<220>

<221> misc_feature

<222> (13)..(13)

<223> Xaa可爲任何天然產生之胺基酸

<400> 62

Ser Leu Gly Ala Glu Xaa Arg Thr Glu Ser Xaa Ile Xaa Arg
1 5 10

<210> 63

<211> 14

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<220>

<221> misc_feature

<222> (6)..(6)

<223> Xaa爲Gln或His

<220>

<221> misc_feature

<222> (11)..(11)

<223> Xaa爲Ile或Val

<400> 63

Ser Leu Gly Ala Glu Xaa Arg Thr Glu Ser Xaa Ile Ala Arg
1 5 10

<210> 64

<211> 14

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<220>

<221> misc_feature

<222> (6)..(6)

<223> Xaa爲Gln或His

<220>

<221> misc_feature

<222> (9)..(9)

<223> Xaa可爲任何天然產生之胺基酸

<220>

<221> misc_feature

<222> (11)..(11)

<223> Xaa爲Ile或Val

<400> 64

Ser Leu Gly Ala Glu Xaa Arg Thr Xaa Ser Xaa Ile His Arg
1 5 10

<210> 65

<211> 14

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<220>

<221> misc_feature

<222> (6)..(6)

<223> Xaa爲Gln或His

<220>

<221> misc_feature

<222> (11)..(11)

<223> Xaa爲Ile或Val

<400> 65

Ser Leu Gly Ala Glu Xaa Arg Thr Ala Ser Xaa Ile His Arg
1 5 10

<210> 66

<211> 14

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<220>
<221> misc_feature
<222> (6)..(6)
<223> Xaa爲Gln或His

<220>
<221> misc_feature
<222> (8)..(8)
<223> Xaa可爲任何天然產生之胺基酸

<220>
<221> misc_feature
<222> (11)..(11)
<223> Xaa爲Ile或Val

<400> 66

Ser Leu Gly Ala Glu Xaa Arg Xaa Glu Ser Xaa Ile His Arg
1 5 10

<210> 67
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<220>
<221> misc_feature
<222> (6)..(6)
<223> Xaa爲Gln或His

<220>
<221> misc_feature
<222> (11)..(11)
<223> Xaa爲Ile或Val

<400> 67

Ser Leu Gly Ala Glu Xaa Arg Ala Glu Ser Xaa Ile His Arg
1 5 10

<210> 68
<211> 14

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<220>
<221> misc_feature
<222> (6)..(6)
<223> Xaa爲Gln或His

<220>
<221> misc_feature
<222> (7)..(7)
<223> Xaa可爲任何天然產生之胺基酸

<220>
<221> misc_feature
<222> (11)..(11)
<223> Xaa爲Ile或Val

<400> 68

Ser Leu Gly Ala Glu Xaa Xaa Thr Glu Ser Xaa Ile His Arg
1 5 10

<210> 69
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<220>
<221> misc_feature
<222> (6)..(6)
<223> Xaa爲Gln或His

<220>
<221> misc_feature
<222> (11)..(11)
<223> Xaa爲Ile或Val

<400> 69

Ser Leu Gly Ala Glu Xaa Ala Thr Glu Ser Xaa Ile His Arg

1	5	10
<210>	70	
<211>	14	
<212>	PRT	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成	
<220>		
<221>	misc_feature	
<222>	(5)..(5)	
<223>	Xaa可為任何天然產生之胺基酸	
<220>		
<221>	misc_feature	
<222>	(6)..(6)	
<223>	Xaa為Gln或His	
<220>		
<221>	misc_feature	
<222>	(11)..(11)	
<223>	Xaa為Ile或Val	
<400>	70	
Ser	Leu	Gly
Ala	Xaa	Xaa
Arg	Thr	Glu
Ser	Xaa	Ile
His	Arg	
1	5	10
<210>	71	
<211>	14	
<212>	PRT	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成	
<220>		
<221>	misc_feature	
<222>	(6)..(6)	
<223>	Xaa為Gln或His	
<220>		
<221>	misc_feature	
<222>	(11)..(11)	

<223> Xaa爲Ile或Val

<400> 71

Ser Leu Gly Ala Ala Xaa Arg Thr Glu Ser Xaa Ile His Arg
1 5 10

<210> 72

<211> 14

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<220>

<221> misc_feature

<222> (3)..(3)

<223> Xaa可爲任何天然產生之胺基酸

<220>

<221> misc_feature

<222> (6)..(6)

<223> Xaa爲Gln或His

<220>

<221> misc_feature

<222> (11)..(11)

<223> Xaa爲Ile或Val

<400> 72

Ser Leu Xaa Ala Glu Xaa Arg Thr Glu Ser Xaa Ile His Arg
1 5 10

<210> 73

<211> 14

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<220>

<221> misc_feature

<222> (6)..(6)

<223> Xaa爲Gln或His

<220>

<221> misc_feature

<222> (11)..(11)

<223> Xaa爲Ile或Val

<400> 73

Ser Leu Ala Ala Glu Xaa Arg Thr Glu Ser Xaa Ile His Arg
1 5 10

<210> 74

<211> 14

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<220>

<221> misc_feature

<222> (2)..(2)

<223> Xaa可爲任何天然產生之胺基酸

<220>

<221> misc_feature

<222> (6)..(6)

<223> Xaa爲Gln或His

<220>

<221> misc_feature

<222> (11)..(11)

<223> Xaa爲Ile或Val

<400> 74

Ser Xaa Gly Ala Glu Xaa Arg Thr Glu Ser Xaa Ile His Arg
1 5 10

<210> 75

<211> 14

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<220>
<221> misc_feature
<222> (6)..(6)
<223> Xaa爲Gln或His

<220>
<221> misc_feature
<222> (11)..(11)
<223> Xaa爲Ile或Val

<400> 75

Ser Ala Gly Ala Glu Xaa Arg Thr Glu Ser Xaa Ile His Arg
1 5 10

<210> 76
<211> 20
<212> PRT
<213> 智人

<400> 76

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

Tyr Tyr Asp Leu
20

<210> 77
<211> 22
<212> PRT
<213> 智人

<400> 77

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

Tyr Tyr Asp Leu Ile Ser
20

<210> 78
<211> 24

<212> PRT
<213> 智人

<400> 78

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

Tyr Tyr Asp Leu Ile Ser Ser Pro
20

<210> 79
<211> 21
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 79
ctaccttggt gcctcctctt t 21

<210> 80
<211> 22
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 80
gagcagaggt tcagtgatgt ag 22

<210> 81
<211> 20
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 81
ggtgtgtgac gttccatta 20

<210> 82

<211>	21	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成	
<400>	82	
attgaggtgg agagctttca g		21
<210>	83	
<211>	22	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成	
<400>	83	
gtctgtagct cattctgctc tg		22
<210>	84	
<211>	20	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成	
<400>	84	
gaaggcaact ggatggaagt		20
<210>	85	
<211>	21	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成	
<400>	85	
ctcggactgt gatgccttaa t		21
<210>	86	
<211>	21	
<212>	DNA	

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 86

tgga**tc**caca ccttgcattt a21

<210> 87

<211> 20

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 87

tgcgagtttc cgttcac**tt**20

<210> 88

<211> 22

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 88

gtagagcttg tccttgtcgt ag22

【發明申請專利範圍】

【請求項1】

一種用於預防及/或治療個體之眼科疾病之醫藥組合物，其包含肽及醫藥學上可接受之賦形劑，其中該肽包含衍生自人色素上皮衍生因子(PEDF)之肽片段，其中該肽片段由 S-X-X-A-X-Q/H-X-X-X-X-I/V-I-X-R(SEQ ID NO: 1)之序列組成，其中各X獨立地為任何胺基酸，其限制條件為該肽不包含 SLGAEQRTESEIHR (SEQ ID NO:2) 或 SLGAEHRTESEVIHR (SEQ ID NO:3)、S-L-X-A-X-Q/H-X-X-X-X-I/V-I-X-R (SEQ ID NO:6) 或 S-X-G-A-E-Q/H-R-T-E-S-I/V-I-H-R (SEQ ID NO:74)之序列。

【請求項2】

如請求項1之醫藥組合物，其中該肽包含SEQ ID NO: 7至73及75中之任一者之序列。

【請求項3】

如請求項1之醫藥組合物，其中該肽之長度由20、22、24或29個胺基酸殘基構成。

【請求項4】

如請求項1至3中任一項之醫藥組合物，其中該肽藉由在N端之乙醯化修飾或藉由在C端之醯胺化修飾。

【請求項5】

如請求項1至3中任一項之醫藥組合物，其中該眼科疾病係角膜損傷相關之疾病。

【請求項6】

如請求項5之醫藥組合物，其中該角膜損傷相關之疾病係乾眼症候群。

【請求項7】

如請求項5之醫藥組合物，其中該肽之濃度為10至200 μM 。

【請求項8】

如請求項5之醫藥組合物，其中該組合物呈溶液、軟膏或凝膠形式。

【請求項9】

如請求項5之醫藥組合物，其中該個體係人類個體。

【請求項10】

一種如請求項1至9中任一項之醫藥組合物之用途，其用於製造治療個體之乾眼症之藥劑。

【請求項11】

如請求項10之用途，其中該藥劑係用於治療乾眼症引起之角膜損傷。

【請求項12】

如請求項10之用途，其中該肽之濃度為10至200 μM 。

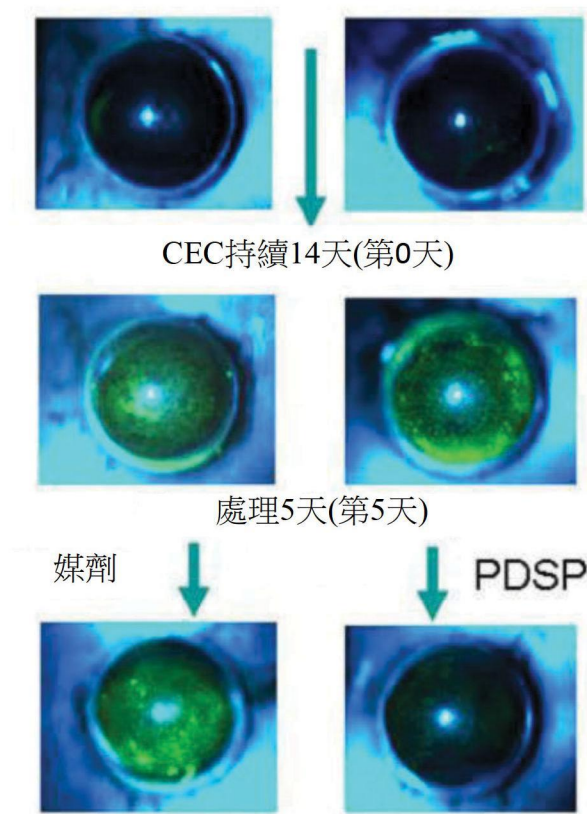
【請求項13】

如請求項10之用途，其中該組合物呈溶液、軟膏或凝膠形式。

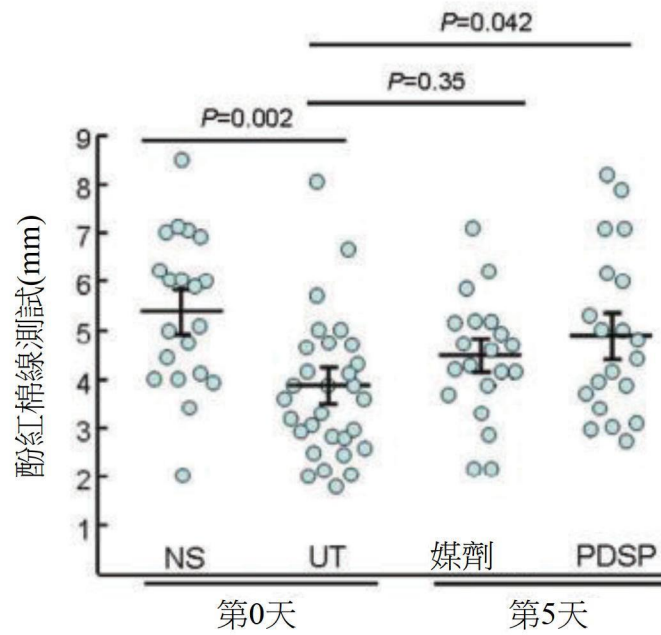
【請求項14】

如請求項10之用途，其中該個體係人類個體。

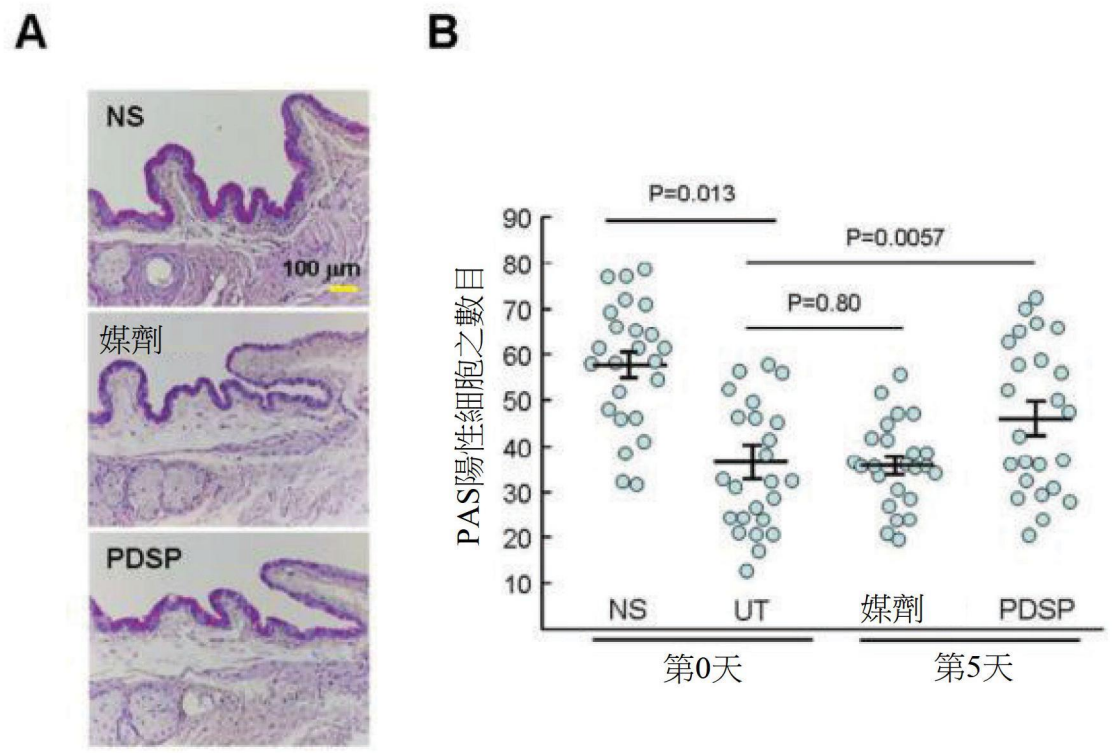
【發明圖式】



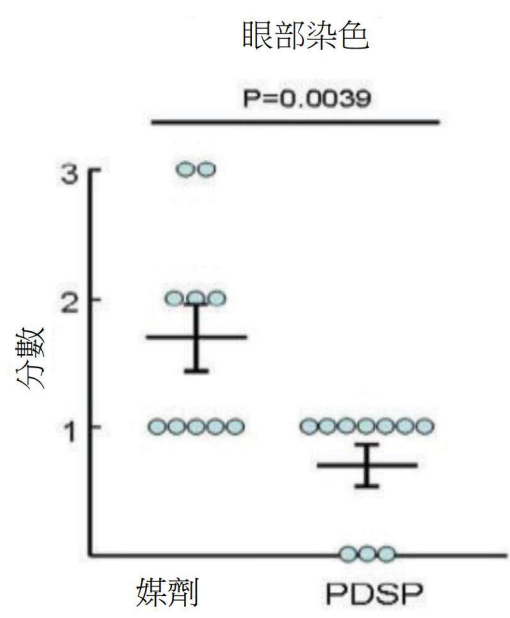
【圖1(A)】



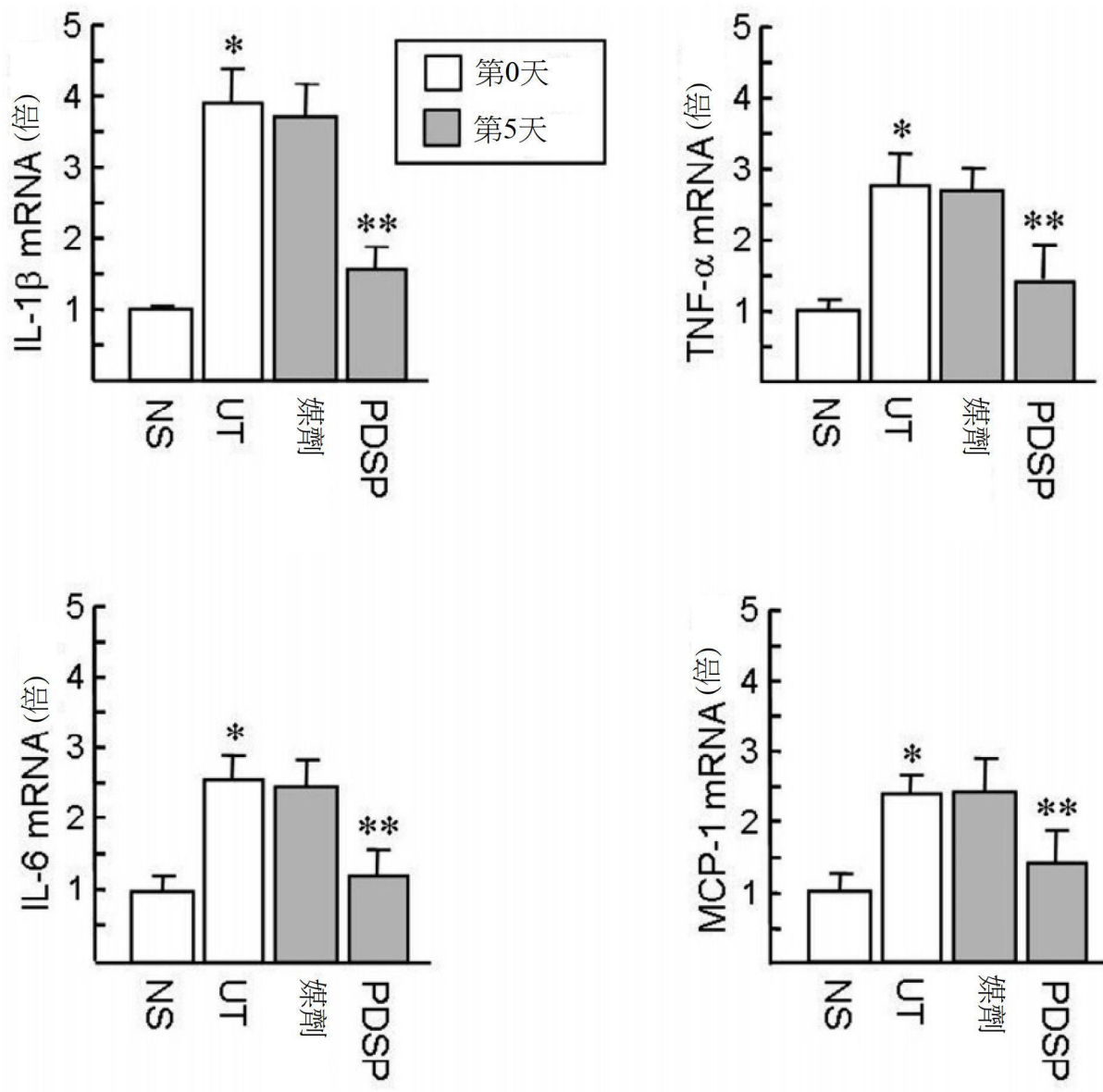
【圖1(B)】



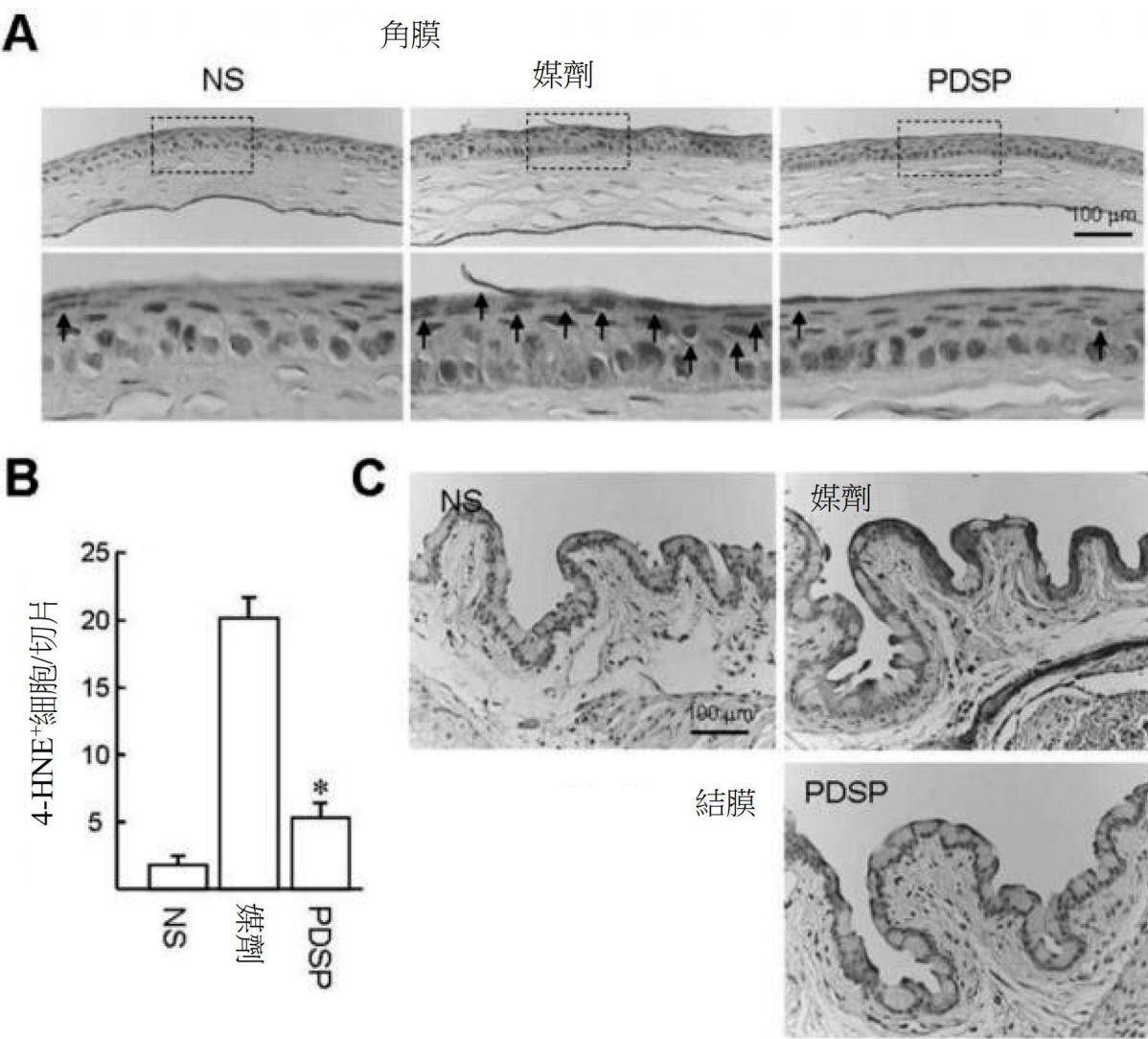
【圖2】



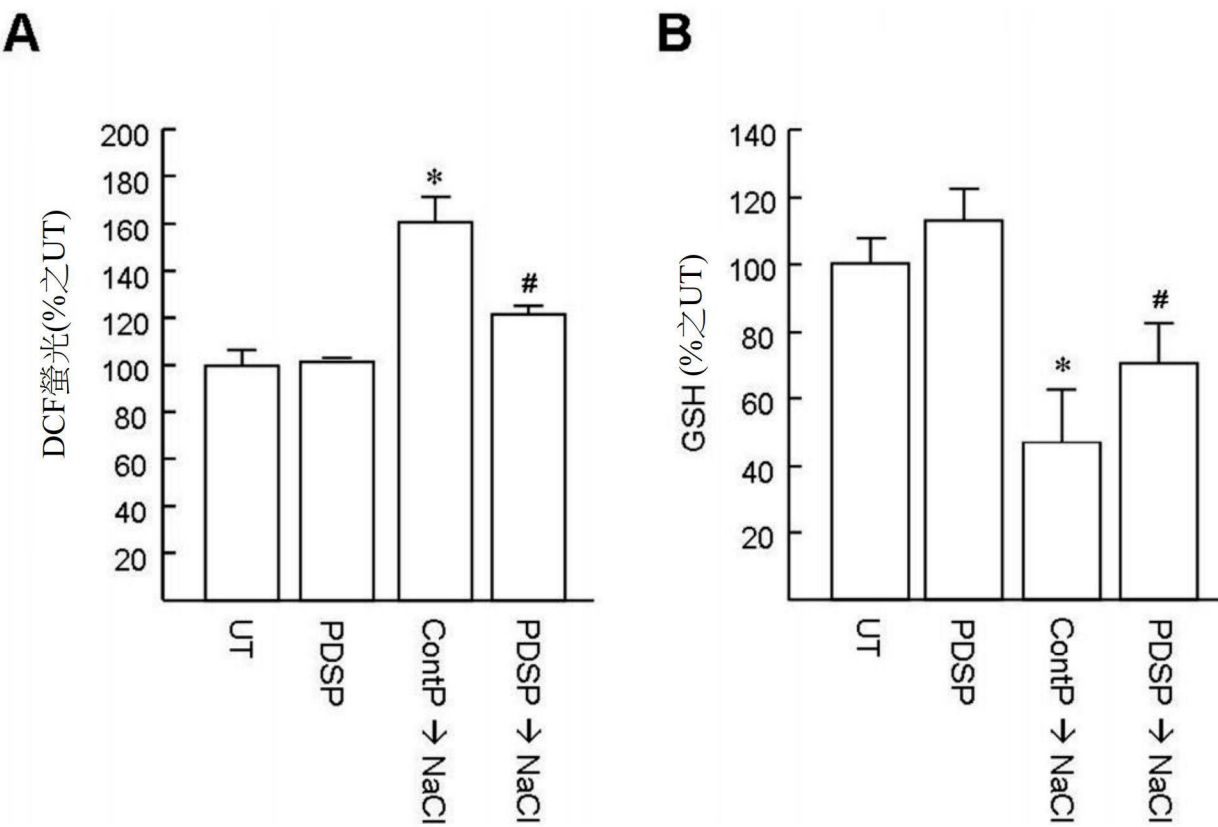
【圖3】



【圖4】

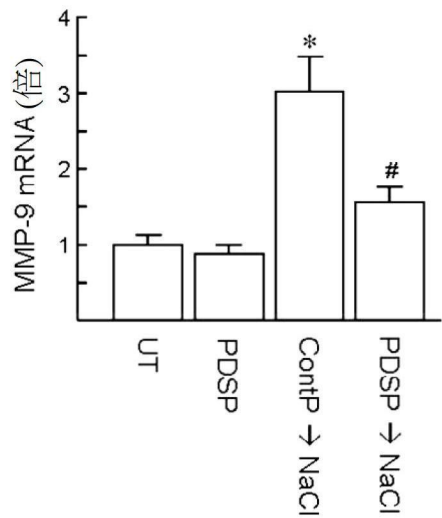


【圖5】

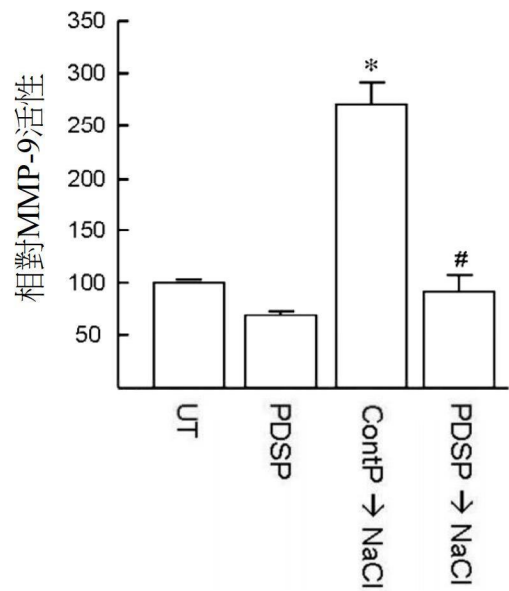


【圖6】

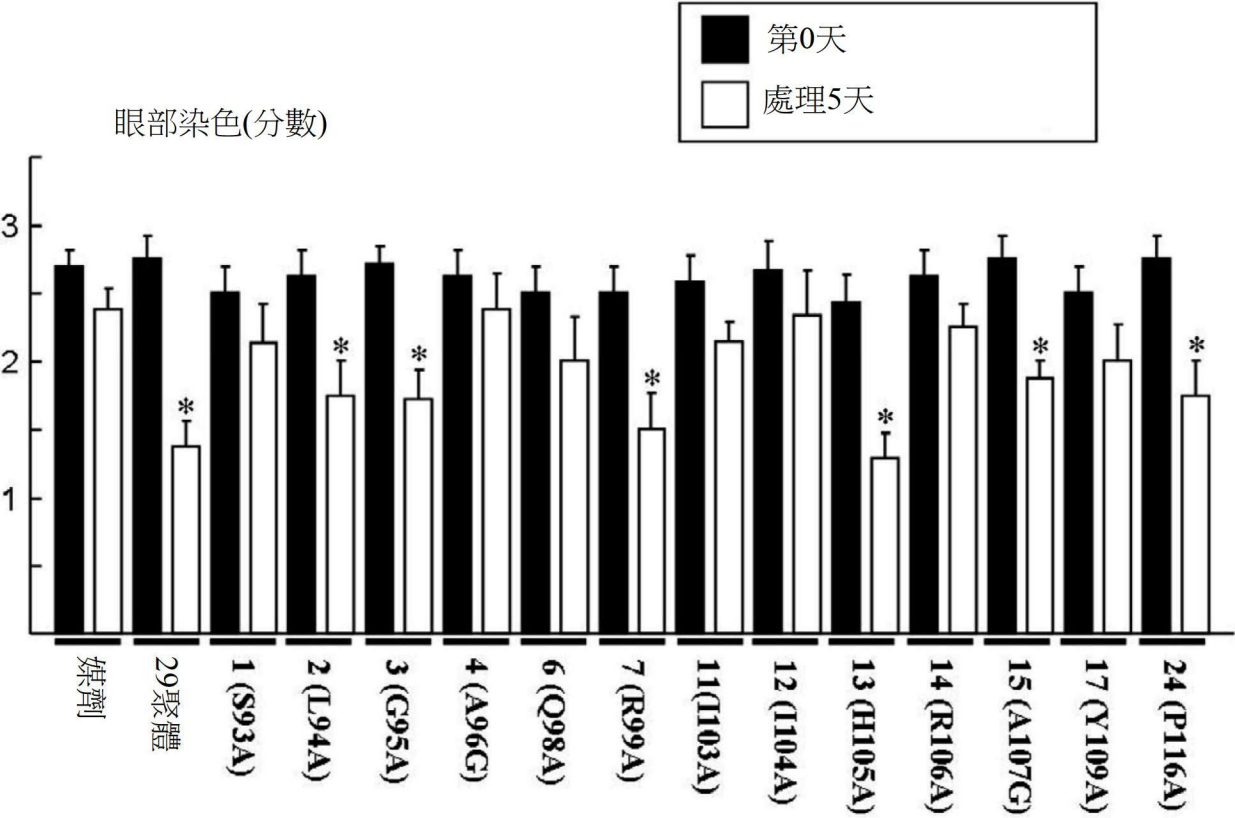
A



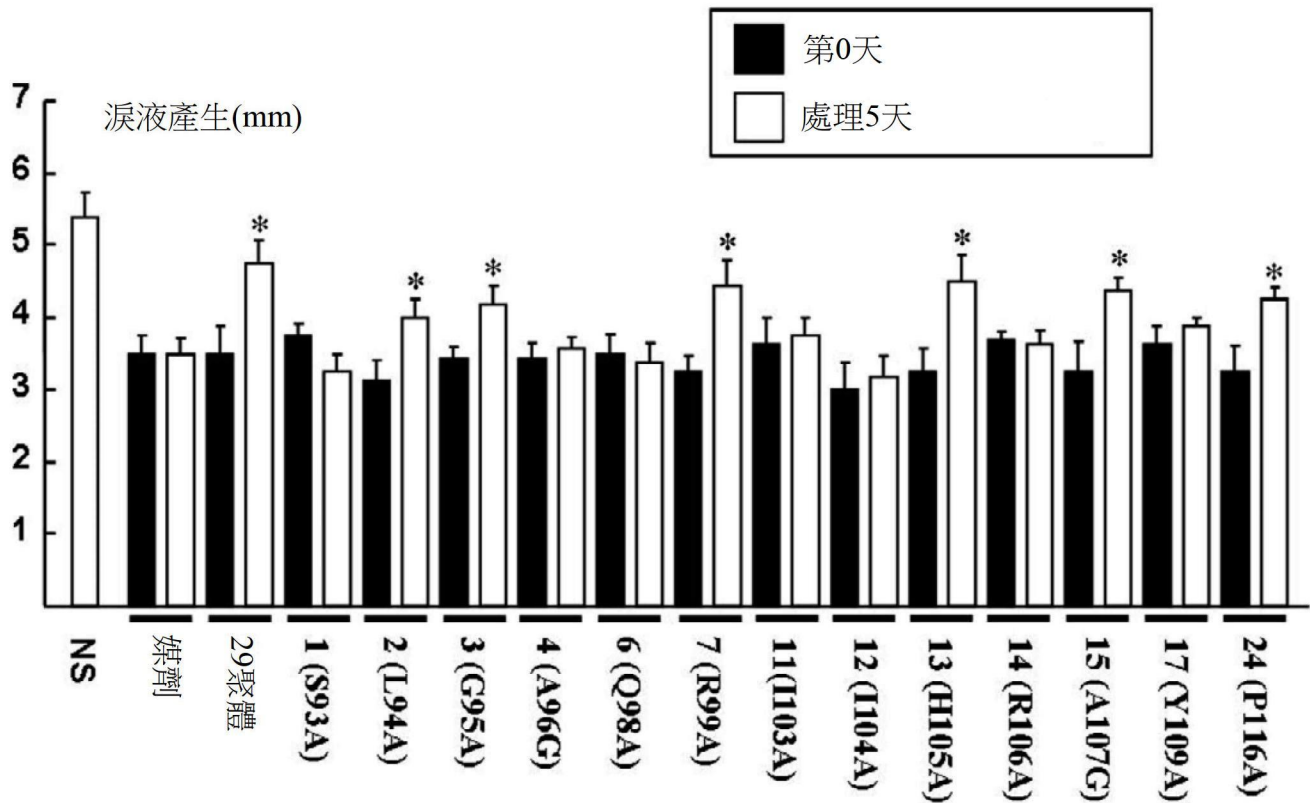
B



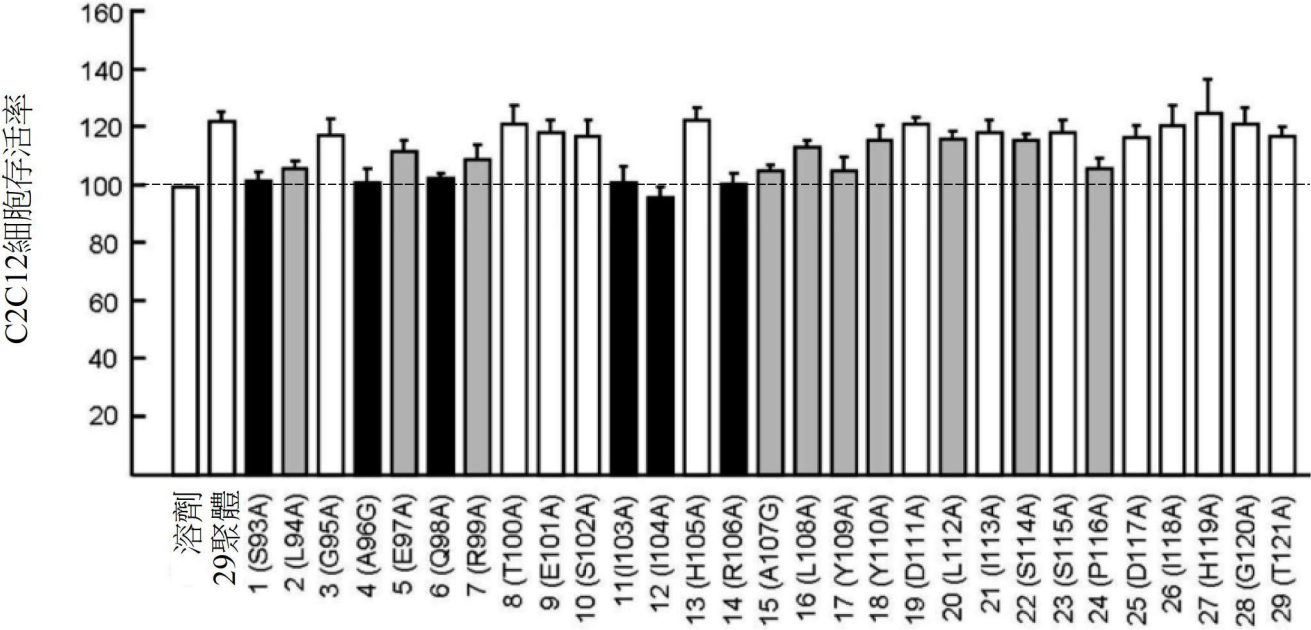
【圖7】



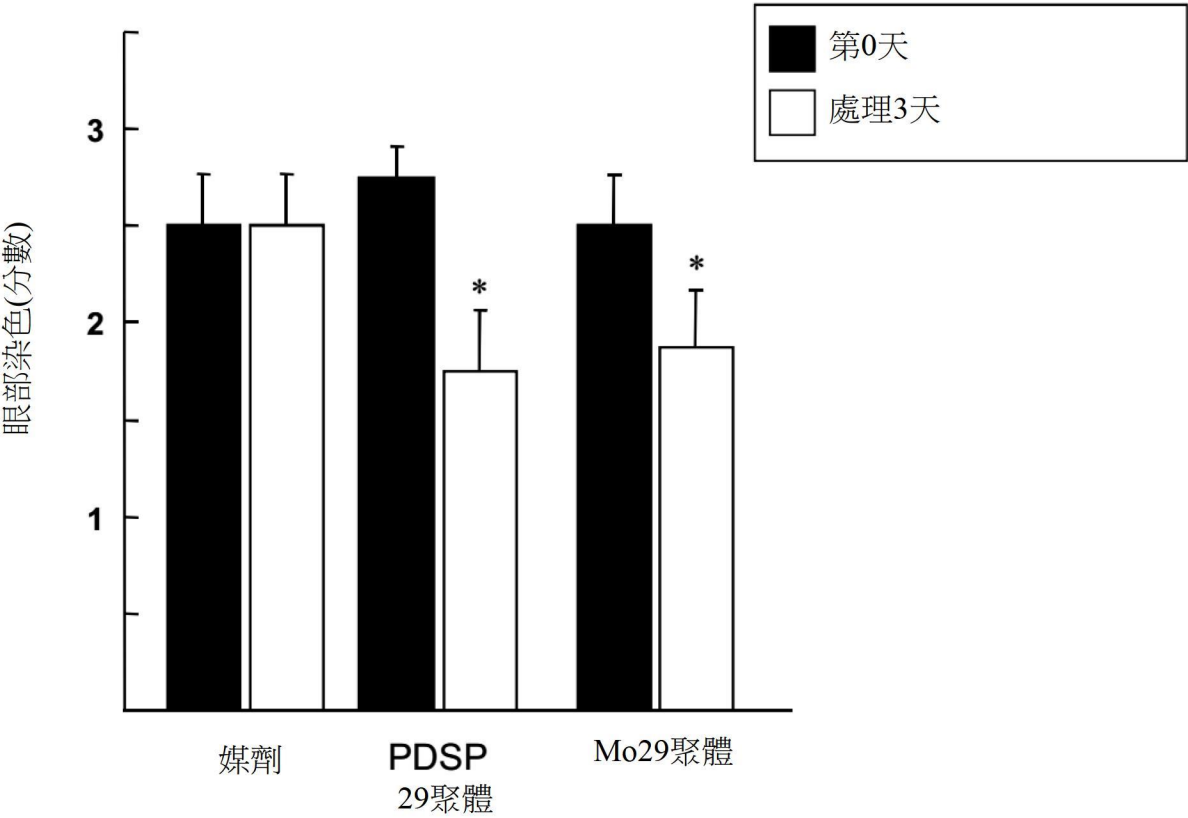
【圖8】



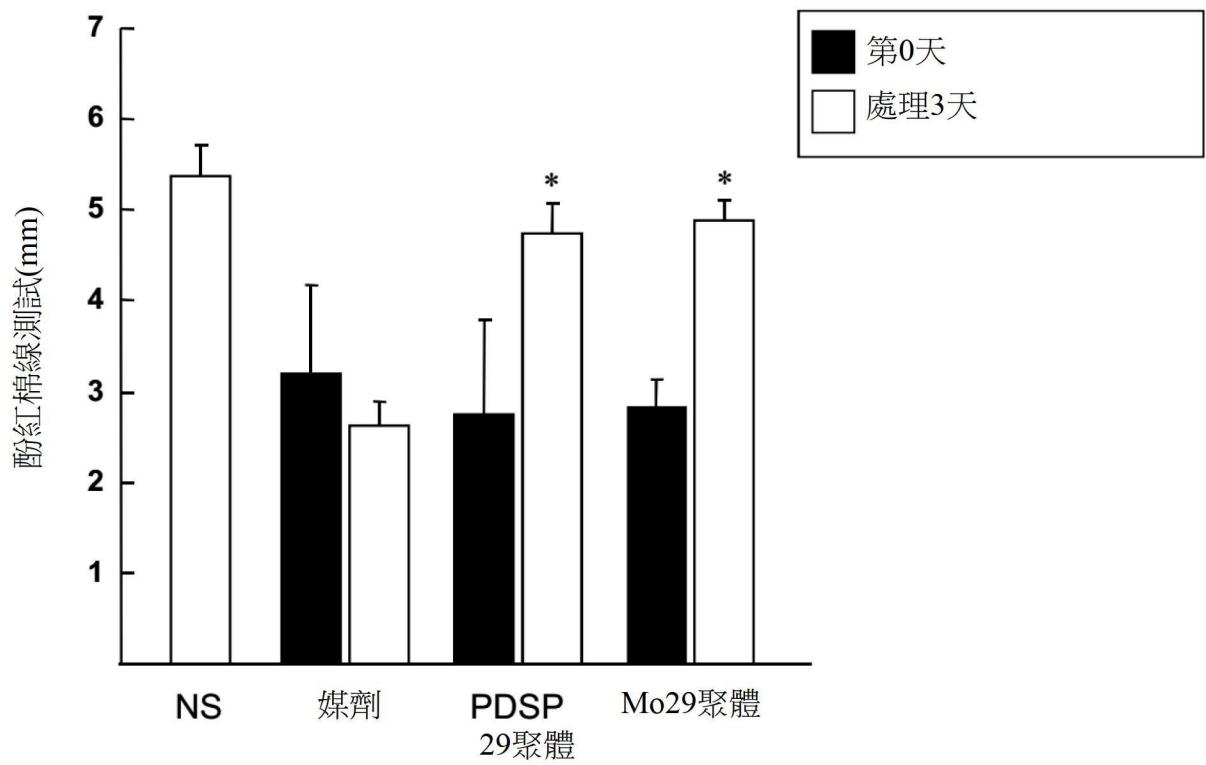
【圖9】



【圖10】



【圖11】



【圖12】