I788323

(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 I788323 B**

(45)公告日： 中華民國 112 (2023) 年 01 月 01 日

(21)申請案號：107102123 (22)申請日： 中華民國 107 (2018) 年 01 月 19 日

(51)Int. Cl.： *C07K14/435 (2006.01)* *A61K38/17 (2006.01)*
A61K47/51 (2017.01) *A61P3/04 (2006.01)*
A61P3/06 (2006.01) *A61P9/00 (2006.01)*

(30)優先權：2017/01/19 美國 62/448,358
2017/03/24 美國 62/476,535
2017/03/24 美國 62/476,531

(71)申請人：丹麥商諾佛 儂迪克股份有限公司 (丹麥) NOVO NORDISK A/S (DK)
丹麥
美國衛生與公眾服務部 (美國) THE UNITED STATES OF AMERICA, AS REPRESENTED BY THE SECRETARY, DEPARTMENT OF HEALTH AND HUMAN SERVICES (US)
美國

(72)發明人：瑞茉莉 艾倫 湯瑪斯 REMALEY, ALAN THOMAS (US)；高希 艘米特拉 尚卡爾 GHOSH, SOUMITRA SHANKER (US)；提伐羅 馬達夫 N DEVALARAJA, MADHAV N. (US)；羅 志鴻 LO, CHIH-HUNG (US)；思維瑞杜 丹尼斯 O SVIRIDOV, DENIS O. (US)；沃斯卡 安娜 WOLSKA, ANNA (PL)

(74)代理人：閻啓泰；林景郁

(56)參考文獻：
US 2011/0033518A1

審查人員：林佳慧

申請專利範圍項數：24 項 圖式數：56 共 170 頁

(54)名稱

APOC-II 擬肽

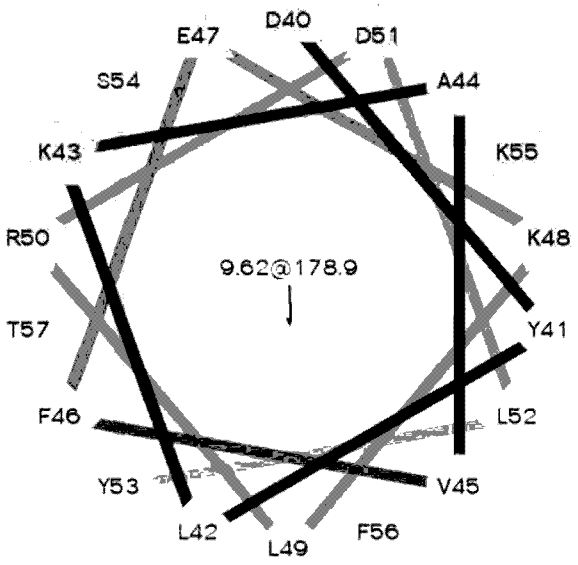
(57)摘要

本發明提供脂蛋白元 C-II (apolipoprotein C-II；apoC-II)擬肽及利用有效量之 apoC-II 擬肽治療患者之高三酸甘油酯血症之方法。

The disclosure provides apolipoprotein C-II (apoC-II) mimetic peptides and methods for treating hypertriglyceridemia in a patient with an effective amount of an apoC-II mimetic peptide.

指定代表圖：

δ4'：DYLKAVFEKLRDLYSKFT



【圖2B】

公告本

I788323

【發明摘要】

【中文發明名稱】

APOC-II擬肽

【英文發明名稱】

APOC-II MIMETIC PEPTIDES

【中文】

本發明提供脂蛋白元C-II (apolipoprotein C-II；apoC-II)擬肽及利用有效量之apoC-II擬肽治療患者之高三酸甘油酯血症之方法。

【英文】

The disclosure provides apolipoprotein C-II (apoC-II) mimetic peptides and methods for treating hypertriglyceridemia in a patient with an effective amount of an apoC-II mimetic peptide.

【指定代表圖】

圖2B

【代表圖之符號簡單說明】

無

【發明說明書】

【中文發明名稱】

APOC-II擬肽

【英文發明名稱】

APOC-II MIMETIC PEPTIDES

【技術領域】

【先前技術】

高三酸甘油酯血症通常定義為高於150 mg/dL之血清三酸甘油酯含量(Berglund等人，*J. Clin. Endocrinol. Metab.* 97:2969-2989, 2012)。具有甘油三酯中等增加之患者處於心血管疾病風險下(Budoff, *Am J Cardiol* 118:138-45, 2016)。患有嚴重高三酸甘油酯血症之患者另外處於急性胰臟炎風險下(Viljoen及Wierzbicki, *Expert Rev Cardiovasc Ther* 10:505-514, 2012)。

高三酸甘油酯血症最常繼發於肥胖、糖尿病、妊娠、酒精及廣泛多種藥物(Anderson等人，*Pancreatology* 9:252-257, 2009；Dominguez-Munoz等人，*Int. J. Pancreatol.* 10:261-267, 1991)。甘油三酯在乳糜微粒及極低密度脂蛋白(VLDL)中增濃，且藉由脂蛋白脂肪酶(LPL)之脂肪分解為代謝此等富含三酸甘油酯之脂蛋白粒子中的一個關鍵步驟。罕見地，高三酸甘油酯血症為LPL或apoC-II (一種LPL之專性活化劑) (Fojo等人，*J. Intern. Med.* 231:669-677, 1992)中或其他基因中的遺傳缺陷的結果。

富含ω-3多不飽和脂肪酸(諸如魚油)之纖維酸酯及補充物為高三酸甘油酯血症之主要治療(Berglund等人，J. Clin. Endocrinol. Metab. 97:2969-2989, 2012)。然而，尚未明確地證實，此等藥劑在降低與甘油

三酯提高相關的風險(諸如心血管疾病)中有效(Budoff, *Am J Cardiol* 118:138-45, 2016)。

因此，需要一種用於治療高三酸甘油酯血症，高三酸甘油酯血症之常見形式及由遺傳缺陷引起之高三酸甘油酯血症兩者的新型治療劑。

【發明內容】

吾人已設計且製得擁有在活體外及在活體內兩者降低三酸甘油酯含量的能力的apoC-II擬肽。此等肽可用於治療高三酸甘油酯血症。

在典型實施例中，apoC-II擬肽為一種多螺旋肽，其中螺旋域中之一或多個為兩親性的，從而賦予肽結合至脂和/或脂蛋白之表面的能力且其他螺旋域活化LPL。在某些實施例中，apoC-II擬肽為一種雙螺旋肽，其自N端至C端依次包含第一螺旋域、鉸鏈區及第二螺旋域，其中第一螺旋域為兩親性的且第二螺旋域活化LPL。吾人已發現，各種兩親性螺旋為適合的，其中一些在已知脂蛋白元(諸如apoC-II)之兩親性螺旋上模型化。吾人亦已發現，肽的降低三酸甘油酯的能力不限於活化LPL，從而允許其在LPL減弱或不存在之病症中使用；且發現，其可置換來自脂蛋白表面之apoC-III，從而允許其在apoC-III含量提高的病症中使用。

因此，在一第一態樣中，本文提供一種不多於50個胺基酸之經分離apoC-II擬肽，其自N端至C端包含：第一螺旋域、鉸鏈區及第二螺旋域，其中該第一螺旋域為兩親性的，其中該apoC-II擬肽不為SEQ ID NO: 56之肽。

在一些實施例中，經分離apoC-II擬肽之第一域為apoC-II之天然螺旋1。在一些其他實施例中，經分離apoC-II擬肽之第一域為apoC-II之螺旋1之變體。在一些實施例中，經分離apoC-II擬肽之第一域為apoC-II之天然

螺旋2。在一些其他實施例中，經分離apoC-II擬肽之第一域為apoC-II之螺旋2之變體。

在一些實施例中，apoC-II之螺旋2之變體包含ApoC-II之螺旋2之伸長。在各種實施例中，apoC-II之螺旋2在N端伸長1-10個胺基酸。在某些實施例中，apoC-II之螺旋2在N端伸長1個胺基酸。在一些此等實施例中，胺基酸為天冬胺酸。在某些實施例中，apoC-II之螺旋2在N端伸長2個胺基酸。在一些此等實施例中，胺基酸自N端至C端為離胺酸及丙胺酸。在某些實施例中，apoC-II之螺旋2在N端伸長5個胺基酸。在一些此等實施例中，apoC-II之螺旋2藉由人類apoC-II之天然上游胺基酸序列或人類apoC-II之天然上游胺基酸序列之突變伸長。在特定實施例中，apoC-II之螺旋2之變體包含位置40處之天冬胺酸。在特定實施例中，apoC-II之螺旋2之變體包含位置41處之酪胺酸或色胺酸。在特定實施例中，apoC-II之螺旋2之變體包含位置42處之白胺酸。在特定實施例中，apoC-II之螺旋2之變體包含位置43處之離胺酸或精胺酸。在特定實施例中，apoC-II之螺旋2之變體包含位置44處之丙胺酸或麩胺酸。在特定實施例中，apoC-II之螺旋2之變體包含位置40處之天冬胺酸、位置41處之酪胺酸、位置42處之白胺酸、位置43處之離胺酸及位置處44之麩胺酸。

在一些實施例中，apoC-II之螺旋2之變體包含apoC-II之螺旋2之截斷。在一些此等實施例中，apoC-II之天然螺旋2之胺基酸殘基45-46係經刪減缺失。在一些此等實施例中，apoC-II之天然螺旋2之胺基酸殘基45-48係經刪減缺失。在一些此等實施例中，apoC-II之天然螺旋2之胺基酸殘基45-49係經刪減缺失。在一些此等實施例中，apoC-II之天然螺旋2之胺基酸殘基45-50係經刪減缺失。在一些此等實施例中，apoC-II之天然螺旋

2之胺基酸殘基45-53係經刪減缺失。

在一些實施例中，apoC-II之螺旋2之變體包含apoC-II之螺旋2之至少一個突變。在一些此等實施例中，突變為胺基酸取代。在某些實施例中，apoC-II之螺旋2之初始胺基酸經天然胺基酸取代。在某些實施例中，apoC-II之螺旋2之初始胺基酸經非天然胺基酸取代。在某些實施例中，apoC-II之螺旋2之初始胺基酸經胺基酸類似物取代。在特定實施例中，胺基酸取代在位置45處。在一些此等實施例中，位置45處之纈胺酸經苯丙胺酸取代。在特定實施例中，胺基酸取代在位置46處。在一些此等實施例中，位置46處之天冬胺酸經苯丙胺酸取代。在一些此等實施例中，位置46處之天冬胺酸經離胺酸取代。在一些此等實施例中，位置46處之天冬胺酸經胺基異丁酸取代。在特定實施例中，胺基酸取代在位置48處。在一些此等實施例中，位置48處之離胺酸經精胺酸取代。在特定實施例中，胺基酸取代在位置49處。在一些此等實施例中，位置49處之白胺酸經離胺酸取代。在特定實施例中，胺基酸取代在位置50處。在一些此等實施例中，位置50處之精胺酸經離胺酸取代。在特定實施例中，胺基酸取代在位置處53。在一些此等實施例中，位置53處之酪胺酸經白胺酸取代。在特定實施例中，胺基酸取代在位置54處。在一些此等實施例中，位置54處之絲胺酸經麩胺酸取代。在一些此等實施例中，位置54處之絲胺酸經離胺酸取代。在一些此等實施例中，位置54處之絲胺酸經天冬胺酸取代。在特定實施例中，胺基酸取代在位置55處。在一些此等實施例中，位置55處之離胺酸經精胺酸取代。在特定實施例中，胺基酸取代在位置56處。在一些此等實施例中，位置56處之絲胺酸經苯丙胺酸取代。在一些此等實施例中，位置56處之絲胺酸經離胺酸取代。在一些此等實施例中，位置56處

之絲胺酸經丙胺酸取代。在一些此等實施例中，位置56處之絲胺酸經胺基異丁酸取代。在特定實施例中，胺基酸取代在位置57處。在一些此等實施例中，位置57處之蘇胺酸經苯丙胺酸取代。在特定實施例中，apoC-II之螺旋2之變體包含三個胺基酸取代，其中胺基酸取代在位置46、位置54及位置56處。在一些此等實施例中，位置46處之天冬胺酸經苯丙胺酸取代，位置54處之絲胺酸經麩胺酸取代及位置56處之絲胺酸經苯丙胺酸取代。

在一些實施例中，apoC-II之螺旋2之變體包含至少一個化學修飾。在某些實施例中，化學修飾為脂肪酸之共價連接。在各種實施例中，脂肪酸包含4至26個碳。在特定實施例中，脂肪酸包含10個碳。在特定實施例中，脂肪酸包含12個碳。在特定實施例中，脂肪酸包含14個碳。在特定實施例中，脂肪酸包含16個碳。在特定實施例中，脂肪酸包含18個碳。在特定實施例中，脂肪酸包含20個碳。在一些實施例中，脂肪酸為飽和的。在一些其他實施例中，脂肪酸為不飽和的。在某些實施例中，脂肪酸連接至N端胺基酸。在某些實施例中，脂肪酸連接至胺基酸側基。在某些實施例中，脂肪酸連接至離胺酸殘基之ε胺。

在一些實施例中，經分離apoC-II擬肽之鉸鏈區包含5-10個胺基酸。在某些實施例中，鉸鏈區包含7個胺基酸。在特定實施例中，鉸鏈區包含脯胺酸。在一些此等實施例中，鉸鏈區包含位置58處之脯胺酸。在特定實施例中，鉸鏈區包含丙胺酸。在一些此等實施例中，鉸鏈區包含位置58處之丙胺酸。在特定實施例中，鉸鏈區包含正白胺酸。在一些此等實施例中，鉸鏈區包含位置60處之正白胺酸。在特定實施例中，鉸鏈區包含離胺酸。在一些此等實施例中，鉸鏈區包含位置60處之離胺酸。在特定實施例

中，鉸鏈區包含纈胺酸。在一些此等實施例中鉸鏈區包含位置60處之纈胺酸。在特定實施例中，鉸鏈區包含白胺酸。在一些此等實施例中鉸鏈區包含位置60處之白胺酸。在特定實施例中，鉸鏈區包含甲硫胺酸。在一些此等實施例中，鉸鏈區包含位置60處之甲硫胺酸。

在一些實施例中，鉸鏈區包含至少一個化學修飾。在某些實施例中，化學修飾為脂肪酸之共價連接。在各種實施例中，脂肪酸包含4至26個碳。在特定實施例中，脂肪酸包含10個碳。在特定實施例中，脂肪酸包含12個碳。在特定實施例中，脂肪酸包含14個碳。在特定實施例中，脂肪酸包含16個碳。在特定實施例中，脂肪酸包含18個碳。在特定實施例中，脂肪酸包含20個碳。在一些實施例中，脂肪酸為飽和的。在一些其他實施例中，脂肪酸為不飽和的。在某些實施例中，脂肪酸連接至胺基酸側基。在某些實施例中，脂肪酸連接至離胺酸殘基之ε胺。

在各種實施例中，鉸鏈區允許第一螺旋域及第二螺旋域保持幾乎直鏈構形，其中第二域係以不大於約20º之角度內彎離第一域。

在一些實施例中，經分離apoC-II擬肽之第二域為apoC-II之天然螺旋3。在一些其他實施例中，經分離apoC-II擬肽之第二域為apoC-II之螺旋3之變體。

在一些實施例中，apoC-II之螺旋3之變體包含apoC-II之螺旋3之伸長。在各種實施例中，apoC-II之螺旋3在C端伸長1-10個胺基酸。在某些實施例中，apoC-II之螺旋3在C端伸長4個胺基酸。在特定實施例中，apoC-II之螺旋3藉由胺基酸離胺酸、甘胺酸、麩胺酸及麩胺酸自N端至C端伸長。

在一些實施例中，apoC-II之螺旋3之變體包含apoC-II之螺旋3之至少

一個突變。在一些此等實施例中，突變為胺基酸取代。在某些實施例中，apoC-II之螺旋3之初始胺基酸經天然胺基酸取代。在某些實施例中，apoC-II之螺旋3之初始胺基酸經非天然胺基酸取代。在某些實施例中，apoC-II之螺旋3之初始胺基酸經胺基酸類似物取代。在特定實施例中，胺基酸取代在位置70處。在一些此等實施例中，位置70處之麩醯胺酸經精胺酸取代。在一些此等實施例中，位置70處之麩醯胺酸經離胺酸取代。

在一些實施例中，apoC-II之螺旋3之變體包含至少一個化學修飾。在某些實施例中，化學修飾為脂肪酸之共價連接。在各種實施例中，脂肪酸包含4至26個碳。在特定實施例中，脂肪酸包含10個碳。在特定實施例中，脂肪酸包含12個碳。在特定實施例中，脂肪酸包含14個碳。在特定實施例中，脂肪酸包含16個碳。在特定實施例中，脂肪酸包含18個碳。在特定實施例中，脂肪酸包含20個碳。在一些實施例中，脂肪酸為飽和的。在一些其他實施例中，脂肪酸為不飽和的。在某些實施例中，脂肪酸連接至C端胺基酸。在某些實施例中，脂肪酸連接至胺基酸側基。在某些實施例中，脂肪酸連接至離胺酸殘基之ε胺。在某些實施例中，C端胺基酸藉由C端醯胺修飾。

在各種實施例中，經分離apoC-II擬肽進一步包含純化標籤。在一些此等實施例中，純化標籤為聚組胺酸標籤、myc標籤或HA標籤。

在各種實施例中，apoC-II擬肽之第一域具有針對結合至脂蛋白之親和力。在各種實施例中，第二域能夠活化脂蛋白脂肪酶(LPL)。在一些實施例中，肽能夠藉由LPL活化脂肪分解。在一些實施例中，肽能夠置換脂蛋白中之apoC-III。在一些實施例中，肽能夠降低活體內之三酸甘油酯(TG)含量。在一些此等實施例中，肽能夠降低由LPL缺陷引起的提高的

TG含量。在一些此等實施例中，肽能夠降低由apoC-III提高引起的提高的TG含量。在一些此等實施例中，肽能夠降低由apoC-II缺陷引起的提高的TG含量。在一些此等實施例中，肽能夠降低餐後提高的TG含量。

在特定實施例中，肽具有在SEQ ID NO: 6中闡述之序列。

在特定實施例中，肽具有在SEQ ID NO: 9中闡述之序列。

在另一態樣中，本文提供一種不多於30個胺基酸之經分離apoC-II擬肽，其由apoC-II之螺旋3之變體組成。

在一些實施例中，apoC-II之螺旋3之變體包含apoC-II之螺旋3之伸長。在各種實施例中，apoC-II之螺旋3在N端伸長1-10個胺基酸。在某些實施例中，apoC-II之螺旋3在N端伸長6個胺基酸。在特定實施例中，apoC-II之螺旋3之變體包含位置60處之離胺酸或甲硫胺酸。在各種實施例中，apoC-II之螺旋3在C端伸長1-10個胺基酸。在某些實施例中，apoC-II之螺旋3在C端伸長4個胺基酸。在特定實施例中，apoC-II之螺旋3藉由胺基酸離胺酸、甘胺酸、麩胺酸及麩胺酸自N端至C端伸長。

在一些實施例中，apoC-II之螺旋3之變體包含apoC-II之螺旋3之至少一個突變。在一些此等實施例中，突變為胺基酸取代。在某些實施例中，apoC-II之螺旋3之初始胺基酸經天然胺基酸取代。在某些實施例中，apoC-II之螺旋3之初始胺基酸經非天然胺基酸取代。在某些實施例中，apoC-II之螺旋3之初始胺基酸經胺基酸類似物取代。

在一些實施例中，apoC-II之螺旋3之變體包含至少一個化學修飾。在某些實施例中，化學修飾為脂肪酸之共價連接。在各種實施例中，脂肪酸包含4至26個碳。在特定實施例中，脂肪酸包含10個碳。在特定實施例中，脂肪酸包含12個碳。在特定實施例中，脂肪酸包含14個碳。在特定

實施例中，脂肪酸包含16個碳。在特定實施例中，脂肪酸包含18個碳。在特定實施例中，脂肪酸包含20個碳。在一些實施例中，脂肪酸為飽和的。在一些其他實施例中，脂肪酸為不飽和的。在某些實施例中，脂肪酸連接至N端胺基酸。在某些實施例中，脂肪酸連接至C端胺基酸。在某些實施例中，脂肪酸連接至胺基酸側基。在某些實施例中，脂肪酸連接至離胺酸殘基之ε胺。

在各種實施例中，經分離apoC-II擬肽進一步包含純化標籤。在一些此等實施例中，純化標籤為聚組胺酸標籤、myc標籤或HA標籤。

在各種實施例中，apoC-II之螺旋3之變體具有針對結合至脂蛋白之親和力。在各種實施例中，apoC-II之螺旋3之變體能夠活化脂蛋白脂肪酶(LPL)。在一些實施例中，肽能夠藉由LPL活化脂肪分解。在一些實施例中，肽能夠置換脂蛋白中之apoC-III。在一些實施例中，肽能夠降低活體內之三酸甘油酯(TG)含量。在一些此等實施例中，肽能夠降低由LPL缺陷引起的提高的TG含量。在一些此等實施例中，肽能夠降低由apoC-III提高引起的提高的TG含量。在一些此等實施例中，肽能夠降低由apoC-II缺陷引起的提高的TG含量。在一些此等實施例中，肽能夠降低餐後提高的TG含量。

在另一態樣中，本文提供一種醫藥組合物，其包含apoC-II擬肽及醫藥學上可接受之載劑。在一些實施例中，醫藥組合物適合於皮下注射。

在另一態樣中，本文提供一種治療患者之高三酸甘油酯血症之方法，其包含向患者投與有效量之apoC-II擬肽或包含apoC-II擬肽之醫藥組合物。在一些實施例中，高三酸甘油酯血症與肥胖相關。在一些實施例中，高三酸甘油酯血症與糖尿病相關。在一些實施例中，高三酸甘油酯血

症與飲酒消耗量相關。在一些實施例中，高三酸甘油酯血症與藥物治療相關。

在一些實施例中，高三酸甘油酯血症由LPL缺陷引起。在某些實施例中，高三酸甘油酯血症為家族性脂蛋白脂肪酶缺陷。在一些實施例中，LPL缺陷由突變LPL基因引起。在某些實施例中，突變導致LPL酶活性降低。在某些實施例中，突變導致LPL酶活性不存在。在一些實施例中，藉由在患者血清中不存在LPL活性來診斷LPL缺陷。在一些實施例中，突變藉由DNA序列分析來偵測。在一些實施例中，高三酸甘油酯血症由apoC-II缺陷引起。在一些實施例中，高三酸甘油酯血症由apoC-III提高引起。

在某些實施例中，患者之治療前血清三酸甘油酯(TG)濃度在150 mg/dL與199 mg/dL之間。在某些實施例中，患者之治療前血清三酸甘油酯(TG)濃度在200 mg/dL與499 mg/dL之間。在某些實施例中，患者之治療前血清三酸甘油酯(TG)濃度在500 mg/dL與999 mg/dL之間。在某些實施例中，患者之治療前血清三酸甘油酯(TG)濃度在1000 mg/dL與1999 mg/dL之間。在某些實施例中，患者之治療前血清三酸甘油酯(TG)濃度等於或高於2000 mg/dL。

在特定實施例中，患者已發展出急性胰臟炎或處於急性胰臟炎風險下。在特定實施例中，患者已發展出急性心血管疾病或處於急性心血管疾病風險下。

在另一態樣中，本文亦提供一種製備apoC-II擬肽之方法，其包含以重組方式製造肽。

在又一態樣中，本文亦提供一種製備apoC-II擬肽之方法，其包含藉由化學合成製造肽。

【圖式簡單說明】

就以下描述及隨附圖式將更好地理解本發明之此等及其他特徵、態樣及優勢，其中：

圖1展示各種物種中成熟人類apoC-II蛋白之胺基酸殘基40-58之同源性。

圖2A及圖2B呈現天然apoC-II及變體δ4'之胺基酸殘基40-57之螺旋輪圖，其中圖2A表示天然apoC-II且圖2B表示變體δ4'。球之大小指示電荷程度及疏水性。螺旋輪中心中之第一個數目指示疏水矩。螺旋輪中心中之第二個數目及箭頭指示疏水矩之角度。

圖3A及圖3B呈現天然apoC-II及變體δ5'之胺基酸殘基40-57之螺旋輪圖，其中圖3A表示天然apoC-II且圖3B表示變體δ5'。

圖4A及圖4B呈現天然apoC-II及變體δ6'之胺基酸殘基40-57之螺旋輪圖，其中圖4A表示天然apoC-II且圖4B表示變體δ6'。

圖5展示變體δ4'之化學修飾之實施例。單醯基δ4'包括硬脂酸修飾之N端。二醯基δ4'包括硬脂酸修飾之N端及位置49處之硬脂酸修飾之白胺酸殘基。

圖6呈現使用apoC-II缺陷型患者血清作為受質，先導apoC-II擬肽及具有化學修飾之變體之活體外LPL分析的結果。天然全長人類apoC-II蛋白用作對照。

圖7呈現使用英脫利匹特(Intralipid)作為受質，先導apoC-II擬肽及具有化學修飾之變體之活體外LPL分析的結果。天然全長人類apoC-II蛋白用作對照。

圖8呈現使用apoC-II缺陷型患者血清作為受質，先導apoC-II擬肽

δ4、δ4變體及apoC-II之第三螺旋之變體之活體外LPL分析的結果。

圖9展示使用apoC-II缺陷型患者血清作為受質，apoC-II之第三螺旋之變體之活體外LPL分析的結果。

圖10展示使用apoC-II缺陷型患者血清作為受質，先導apoC-II擬肽δ4之變體之活體外LPL分析的結果。

圖11展示使用apoC-II缺陷型患者血清作為受質，先導apoC-II擬肽δ4之變體之活體外LPL分析的結果。

圖12呈現使用apoC-II缺陷型患者血清作為受質，先導apoC-II擬肽δ4及其變體之活體外LPL分析的結果。apoC-II擬肽之濃度介於100 pM至10 μM範圍內。天然全長人類apoC-II蛋白用作對照。

圖13呈現使用apoC-II缺陷型患者血清作為受質，先導apoC-II擬肽δ4之截斷變體之活體外LPL分析的結果。apoC-II擬肽之濃度介於10 pM至100 μM範圍內。

圖14呈現使用apoC-II缺陷型患者血清作為受質，先導apoC-II擬肽δ5之變體及先導apoC-II擬肽δ6之活體外LPL分析的結果。apoC-II擬肽之濃度介於100 pM至10 μM範圍內。

圖15A、圖15B、圖15C及圖15D展示使用高三酸甘油酯血症患者血清作為受質，先導apoC-II擬肽δ6及其變體之活體外LPL分析中之LPL活性的百分比改變。圖15A、圖15B、圖15C及圖15D中之患者血清之三酸甘油酯濃度分別為1084 mg/dL、1224 mg/dL、1442 mg/dL及1669 mg/dL。

圖16呈現皮下注射apoC-II擬肽δ4後apoC-II基因剔除小鼠之血清三酸甘油酯(TG)含量。鹽水用作對照。

圖17呈現皮下注射apoC-II擬肽δ4後apoC-II基因剔除小鼠之總膽固醇

(TC)含量。鹽水用作對照。

圖18呈現腹膜內注射apoC-II擬肽δ4後apoC-II基因剔除小鼠之血清三酸甘油酯(TG)含量。鹽水用作對照。

圖19呈現腹膜內注射apoC-II擬肽δ4後apoC-II基因剔除小鼠之總膽固醇(TC)含量。鹽水用作對照。

圖20展示在存在或不存在腹膜內注射apoC-II擬肽下在植物油管飼後野生型小鼠之血清三酸甘油酯(TG)含量的百分比改變。所測試apoC-II擬肽包括δ4、δ4b及δ4b-3。鹽水用作對照。

圖21呈現腹膜內注射apoC-II擬肽δ6後apoC-II基因剔除小鼠之血清三酸甘油酯(TG)含量。鹽水用作對照。

圖22呈現腹膜內注射apoC-II擬肽δ6後apoC-II基因剔除小鼠之總膽固醇(TC)含量。鹽水用作對照。

圖23呈現腹膜內注射不同劑量之apoC-II擬肽δ6後apoC-II基因剔除小鼠之血清三酸甘油酯(TG)含量。鹽水用作對照。計算注射後不同時間點之血清TG含量相比於注射時之血清TG含量的百分比。

圖24呈現腹膜內注射δ6變體後apoC-II基因剔除小鼠之血清三酸甘油酯(TG)的百分比改變。鹽水用作對照。計算血清TG相比於注射時之血清TG的百分比改變。

圖25展示在自人類血漿分離之VLDL及乳糜微粒中apoC-II擬肽δ6對apoC-III的置換。

圖26展示在自人類血漿分離之VLDL中apoC-II擬肽δ6之變體對apoC-III的置換。

圖27展示使用具有高apoC-III含量之高三酸甘油酯血症患者血清作為

受質，apoC-II擬肽δ4及δ6之活體外LPL分析的結果。

圖28展示在自人類血漿(TG = 291 mg/dL)分離之VLDL中apoC-II-a肽對apoC-III的置換。

圖29A及圖29B展示藉由質譜分析(MALDI-TOF)所分析的apoC-II-a肽對apoC-III之劑量依賴性置換，其中圖29A展示apoC-II-a選擇性地置換apoC-III及apoC-I但不置換apoC-II，且圖29B展示apoC-II-a肽至VLDL之結合大致與其濃度成比例。

圖30展示在自人類血漿分離之乳糜微粒中apoC-II-a肽對apoC-III的置換。

圖31呈現來自LPL活化分析之結果，其中英脫利匹特(Intralipid)作為受質且重組apoC-III作為抑制劑。ApoC-II-a肽克服apoC-III之抑制。

圖32呈現來自LPL活化分析之結果，其中高TG人類血漿作為受質且重組apoC-III作為抑制劑。ApoC-II-a肽克服apoC-III之抑制。

圖33圖示來自LPL活化分析之結果，其使用apoC-III轉殖基因(tg)小鼠血漿作為受質。ApoC-III tg1、ApoC-III tg2及ApoC-III tg3小鼠之TG濃度分別為323 mg/dL、497 mg/dL及478 mg/dL。ApoC-II-a肽克服提高apoC-III之表現在所有三種轉殖基因小鼠血漿樣本中之抑制性效果。

圖34A及圖34B展示在存在或不存在LPL抑制劑曲拉通(Triton) WR1339下及在存在或不存在apoC-II-a肽下，口服管飼植物油後小鼠24小時血清餐後TG含量，其中圖34A聚焦於0-100 mg/dL之TG濃度範圍，且圖34B展示0-4500 mg/dL之TG濃度範圍。

圖35A及圖35B展示在存在或不存在LPL抑制劑曲拉通下於具有或不具有腹膜內注射δ6PV肽下，英脫利匹特注射後野生型小鼠之血清TG含量

的百分比改變，其中圖35A展示注射之時間線且圖35B展示在存在或不存在曲拉通下腹膜內注射δ6PV後血清TG含量的百分比改變。鹽水用作對照。

圖36A、圖36B及圖36C展示注射apoC-II擬肽δ6PV後apoC-II基因剔除小鼠之血清TG含量的百分比改變，其中圖36A展示注射之時間線，圖36B展示腹膜內注射δ6PV後血清TG含量的百分比改變，且圖36C展示皮下注射δ6PV後血清TG含量的百分比改變。鹽水用作對照。SM表示δ6PV與鞘磷脂(SM) (一種細胞膜組分)混合的條件。

圖37A及圖37B展示具有或不具有腹膜內注射δ6PV肽下英脫利匹特注射後apoC-II基因剔除小鼠之血清TG含量的百分比改變，其中圖37A展示注射之時間線且圖37B展示以5 μmol/kg及10 μmol/kg (B. W.)腹膜內注射δ6PV後血清TG含量的百分比改變。鹽水用作對照。

圖38A及圖38B展示注射apoC-II擬肽δ6PV後apoC-III轉殖基因小鼠之血清TG含量的百分比改變，其中圖38A展示注射之時間線，圖38B展示以1 μmol/kg、5 μmol/kg及10 μmol/kg (B.W.)腹膜內注射δ6PV後血清TG含量的百分比改變。鹽水用作對照。

圖39展示具有或不具有以5 μmol/kg及10 μmol/kg (B.W.)腹膜內注射δ6PV肽下英脫利匹特注射後apoC-III轉殖基因小鼠之血清TG含量的百分比改變。鹽水用作對照。

圖40展示以0.25 μmol/kg及1 μmol/kg (B.W.)多次注射apoC-II擬肽δ6PV後apoC-II基因剔除小鼠之血清TG含量的百分比改變。箭頭指示δ6PV注射之時間點。鹽水用作對照。

圖41呈現1 μmol/kg (B.W.) δ6PV投與之apoC-II基因剔除小鼠中之各

種脂質級分之SEC-FPLC分離的結果。脂蛋白粒子之含量由磷脂表示。

圖42呈現1 μmol/kg δ6PV投與之apoC-II基因剔除小鼠中之各種脂質級分之SEC-FPLC分離的結果。脂蛋白粒子之含量由TG表示。

圖43A及圖43B展示多次注射apoC-II擬肽δ6PV後apoC-III轉殖基因小鼠之血清TG含量的百分比改變，其中圖43A展示注射之時間線且圖43B展示以5 μmol/kg (B. W.)腹膜內注射δ6PV後血清TG含量的百分比改變。箭頭指示δ6PV注射之時間點。鹽水用作對照。

圖44展示以5 μmol/kg (B.W.)多次注射apoC-II擬肽δ6PV後apoC-III轉殖基因小鼠之血清TG含量的百分比改變。箭頭指示δ6PV注射之時間點。鹽水用作對照。

圖45A及圖45B展示δ6PV注射後apoC-III轉殖基因小鼠中之apoC-III含量，如藉由ELISA所量測，其中圖45A展示在注射前第1天及第5天與注射後3小時VLDL粒子中之apoC-III含量，且圖45B展示在注射前第1天及第5天與注射後3小時HDL粒子中之apoC-III含量。

圖46A及圖46B展示具有或不具有多次腹膜內注射δ6PV肽下英脫利匹特注射後野生型小鼠之血清TG含量的百分比改變，其中圖46A展示注射之時間線且圖46B展示以0.25 μmol/kg及1 μmol/kg (B.W.)腹膜內注射δ6PV後血清TG含量的百分比改變。鹽水用作對照。

圖47展示具有或不具有以1 mg/kg及5 mg/kg (B.W.)靜脈內注射δ6PV肽下肥胖猴模型中之血清TG相比於基線含量的比率。鹽水用作對照。

圖48A、圖48B及圖48C展示具有或不具有以1 mg/kg及5 mg/kg (B.W.)靜脈內注射δ6PV肽下肥胖猴模型中之VLDL、LDL及HDL相比於基線含量的百分比，其中圖48A展示肥胖猴模型中之VLDL相比於基線含

量的百分比，圖48B展示肥胖猴模型中之LDL相比於基線含量的百分比，且圖48C展示肥胖猴模型中之HDL相比於基線含量的百分比。

圖49展示在自人類血漿分離之VLDL中δ6PV肽對apoC-III的置換。

圖50呈現來自LPL活化分析之結果，其中高TG人類血漿作為受質且重組apoC-III作為抑制劑。δ6PV肽克服apoC-III之抑制。

圖51表示使用apoC-II缺陷型患者血清作為受質，δ6及δ6PV肽之活體外LPL分析的結果。

圖52表示使用apoC-II缺陷型患者血清作為受質，apoC-II擬肽δ6PV、δ6-T18F-PV、δ6-T18F-PV-AIB7,17及Delta13-31-PV之活體外LPL分析的結果。

圖53呈現腹膜內注射δ6變體δ6PV及δ6-T18F-PV後apoC-II基因剔除小鼠中之血清TG的百分比改變。鹽水用作對照。計算血清TG相比於注射時之血清TG的百分比改變。

圖54A、圖54B及圖54C呈現apoC-II擬肽、apoC-II-a之螺旋輪及網圖。圖54A為18A螺旋之螺旋輪圖。球之大小指示電荷程度及疏水性。圖54B為apoC-II之第三螺旋之螺旋輪圖。圖54C為apoC-II-a肽之螺旋網圖。ApoC-II-a具有DWLKAFYDKVAEKLKEAFPAMSTYTGIFTDQVLSVLKGEE (SEQ ID NO: 56)之序列。中心區指示疏水面之位置。

圖55展示用於測試小鼠中之餐後高三酸甘油酯血症的研究設計。

圖56展示用於測試在LPL抑制劑存在下小鼠中之餐後高三酸甘油酯血症的研究設計。

【實施方式】

關於聯邦獎助研究或開發之聲明

由美國國家衛生研究院(衛生及公共服務部門之機構)在執行合作研究及開發協議第HL-CR-16-005號中創建本發明。美國政府具有本發明之某些權利。

序列表

本申請案含有序列表，其已由EFS-Web提交且以全文引用的方式併入本文中。在2018年XX月創建之該ASCII複本命名為XXXXXUS_sequencelisting.txt，且大小為X,XXX,XXX位元組。

定義

除非另外定義，否則本文所使用之所有技術及科學術語具有與本發明所屬領域之一般熟習此項技術者通常所理解相同之含義。

術語「胺基酸」係指天然胺基酸、非天然胺基酸及胺基酸類似物。除非另外指示，否則術語「胺基酸」包括D及L立體異構體兩者，若個別結構允許此類立體異構形式。

天然胺基酸包括丙胺酸(Ala或A)、精胺酸(Arg或R)、天冬醯胺(Asn或N)、天冬胺酸(Asp或D)、半胱胺酸(Cys或C)、麩醯胺酸(Gln或Q)、麩胺酸(Glu或E)、甘胺酸(Gly或G)、組胺酸(His或H)、異白胺酸(Ile或I)、白胺酸(Leu或L)、離胺酸(Lys或K)、甲硫胺酸(Met或M)、苯丙胺酸(Phe或F)、脯胺酸(Pro或P)、絲胺酸(Ser或S)、蘇胺酸(Thr或T)、色胺酸(Trp或W)、酪胺酸(Tyr或Y)及纈胺酸(Val或V)。

非天然胺基酸(Unnatural amino acids/non - natural amino acid)包括但不限於氮雜環丁烷羧酸、2-胺基己二酸、3-胺基己二酸、β-丙胺酸、萘基丙胺酸(「naph」)、胺丙酸、2-胺基丁酸、4-胺基丁酸、6-胺基己酸、2-胺基庚酸、2-胺基異丁酸、3-胺基異丁酸、2-胺基庚二酸、第三丁基甘

胺酸(「tBuG」)、2,4-二胺基異丁酸、鎖鏈素、2,2'-二胺基庚二酸、2,3-二胺基丙酸、N-乙基甘胺酸、N-乙基天冬醯胺、高脯胺酸(「hPro」或「homoP」)、羥離胺酸、別-羥離胺酸、3-羥脯胺酸(「3Hyp」)、4-羥脯胺酸(「4Hyp」)、異鎖鏈素、別-異白胺酸、N-甲基丙胺酸(「MeAla」或「Nime」)、包括N-甲基甘胺酸之N-烷基甘胺酸(「NAG」)、N-甲基異白胺酸、包括N-甲基戊基甘胺酸之N-烷基烷基戊基甘胺酸(「NAPG」)、N-甲基纈胺酸、萘基丙胺酸、正纈胺酸(「Norval」)、正白胺酸(「Norleu」)、辛基甘胺酸(「OctG」)、鳥胺酸(「Orn」)、戊基甘胺酸(「pG」或「PGly」)、哌啶甲酸、硫代脯胺酸(「ThioP」或「tPro」)、高離胺酸(「hLys」)及高精胺酸(「hArg」)。

術語「胺基酸類似物」係指天然或非天然胺基酸，其中C端羧基、N端胺基及側鏈官能基中之一或多個已以化學方式可逆或不可逆地封端，或以其他方式修飾為另一官能基。舉例而言，天冬胺酸-(β-甲酯)為一種天冬胺酸之胺基酸類似物；N-乙基甘胺酸為一種甘胺酸之胺基酸類似物；或丙胺酸甲醯胺為一種丙胺酸之胺基酸類似物。其他胺基酸類似物包括甲硫胺酸亞碸、甲硫胺酸碸、S-(羧甲基)-半胱胺酸、S-(羧甲基)半胱胺酸亞碸及S-(羧甲基)-半胱胺酸碸。

如本文所使用，術語「肽」指藉由肽鍵連接在一起之短胺基酸聚合物。與其他胺基酸聚合物(例如蛋白質、多肽等)相比，肽之長度約75個胺基酸或更少。肽可包含天然胺基酸、非天然胺基酸、胺基酸類似物和/或經修飾胺基酸。肽可為天然存在之蛋白質之子序列或非天然(合成)序列。

如本文所使用，術語「突變肽」係指具有不同於自然界中存在之最常見變體(被稱作「野生型」序列)的胺基酸序列的肽的變體。相比於野生

型序列，突變肽可包含一或多個胺基酸取代、缺失或插入。突變肽可為突變蛋白質或多肽之子序列(例如不為自然界中最常見序列之天然存在之蛋白質之子序列)或可為不為天然存在之蛋白質或多肽之子序列的肽。舉例而言，「突變apoC-II肽」可為apoC-II之突變型式之子序列或可為未在天然存在之apoC-II蛋白質中發現之不同序列。

如本文所使用，術語「合成肽」係指具有不同於在天然肽和/或蛋白質中發現之彼等的胺基酸序列的肽。合成蛋白質不為天然存在之蛋白質、其野生型(亦即，最豐富)或突變型式的子序列。舉例而言，「合成apoC-II肽」不為天然存在之apoC-II之子序列。如本文中所使用，「合成肽」可藉由任何合適的方法(例如重組表現、化學合成、酶合成等)來製造或合成。

術語「肽模擬物(peptide mimetic/peptidomimetic)」係指模仿源於蛋白質或肽之序列的肽樣分子。肽模擬物(peptide mimetic/peptidomimetic)可含有胺基酸和/或非胺基酸組分。肽模擬物之實施例包括經化學修飾之肽、類肽(側基連接至肽主鏈之氮原子而不是連接至α碳)、β-肽(胺基鍵合至β碳而不是α碳)等。化學修飾包括胺基酸側基、α碳原子、末端胺基或末端羧基處之一或多個修飾。化學修飾可添加化學部分、產生新鍵或移除化學部分。胺基酸側基處之修飾包括但不限於離胺酸ε-胺基之醯化；精胺酸、組胺酸或離胺酸之N-烷化；麩胺酸或天冬胺酸羧酸基之烷化；經由離胺酸ε-胺基與麩胺酸或天冬胺酸側基羧基之環化形成內醯胺；經「切斷」(例如以使α螺旋構形穩定)；及麩醯胺酸或天冬醯胺之去醯胺。末端胺基之修飾包括但不限於去胺基、N-低碳烷基、N-二低碳烷基、受限制烷基(例如分支鏈、環狀、融合的、金剛烷基)及N-醯基修飾。末端羧基之修飾包括但不限於醯胺、低碳烷基醯胺、受限制烷

基(例如分支鏈、環狀、融合的、金剛烷基的烷基)、二烷基醯胺及低碳烷基酯修飾。低碳烷基為C_1-C_4烷基。此外，一或多個側基或端基可藉由一般熟習的肽化學家已知之保護基團保護。胺基酸之α碳可為單-或二甲基化的。

如本文中所使用，「保守」胺基酸取代係指肽或多肽中之胺基酸用具有類似化學特性(諸如大小或電荷)之另一胺基酸取代。出於本發明之目的，以下八組中之每一者含有彼此為保守取代之胺基酸：

1)丙胺酸(A)及甘胺酸(G)；

2)天冬胺酸(D)及麩胺酸(E)；

3)天冬醯胺(N)及麩醯胺酸(Q)；

4)精胺酸(R)及離胺酸(K)；

5)異白胺酸(I)，白胺酸(L)，甲硫胺酸(M)及纈胺酸(V)；

6)苯丙胺酸(F)，酪胺酸(Y)及色胺酸(W)；

7)絲胺酸(S)及蘇胺酸(T)；及

8)半胱胺酸(C)及甲硫胺酸(M)。

天然存在之殘基可基於例如以下常見側基特性分成以下類別：正(組胺酸(H)、離胺酸(K)及精胺酸(R))；極性負(天冬胺酸(D)、麩胺酸(E))；極性中性(絲胺酸(S)、蘇胺酸(T)、天冬醯胺(N)、麩醯胺酸(Q))；非極性脂族(丙胺酸(A)、纈胺酸(V)、白胺酸(L)、異白胺酸(I)、甲硫胺酸(M))；非極性芳族(苯丙胺酸(F)、酪胺酸(Y)、色胺酸(W))；脯胺酸及甘胺酸；以及半胱胺酸。如本文中所使用，「半保守」胺基酸取代係指肽或多肽中之胺基酸用相同類別內之另一胺基酸取代。

在一些實施例中，除非另外規定，否則保守或半保守胺基酸取代亦

可涵蓋與天然殘基具有類似化學特性之非天然存在之胺基酸殘基。此等非天然殘基通常藉由化學肽合成而不是藉由生物系統中之合成來併入。此等包括但不限於肽模擬物及胺基酸部分之其他逆向或反向形式。本文中之實施例包括天然胺基酸、非天然胺基酸及胺基酸類似物。舉例而言，正白胺酸可用於取代甲硫胺酸。

非保守取代可涉及將一類之成員用來自另一類之成員交換。

如本文所使用，術語「序列一致性」係指兩個聚合物序列(例如肽、多肽、核酸等)具有相同的單體次單元之序列組成的程度。術語「序列相似性」係指兩個聚合物序列(例如肽、多肽、核酸等)僅相差保守及/或半保守胺基酸取代之程度。藉由以下來計算「序列一致性百分比」(或「序列相似性百分比」)：(1)在比較窗口(例如較長序列之長度、較短序列之長度、規定窗口等)內比較兩個最佳比對的序列，(2)測定含有相同(或類似者)單體(例如相同胺基酸存在於兩個序列中，類似胺基酸存在於兩個序列中)的位置數以產生匹配位置數，(3)將匹配位置數除以比較窗(例如較長序列之長度、較短序列之長度、規定窗口)中之總位置數，及(4)將結果乘以100以序列一致性百分比或序列相似性百分比。舉例而言，若肽A及B兩者的長度均為20個胺基酸且除1個位置外在所有處具有相同的胺基酸，則肽A及肽B具有95%序列一致性。若不同位置處之胺基酸共有相同生物物理學特徵(例如兩者均為酸性)，則肽A及肽B應具有100%序列相似性。作為另一實例，若肽C之長度為20個胺基酸且肽D之長度為15個胺基酸，且肽D中之14/15胺基酸與肽C之一部分之彼等一致，則肽C及D具有70%序列一致性，但肽D與最佳比較窗之肽C具有93.3%序列一致性。出於本文中計算「序列一致性百分比」(或「序列相似性百分比」)之目的，比對序列

中之任何間隙處理為彼位置處之錯配。

如本文所使用，術語「分組殘基」係指在肽、多肽或蛋白質內物理地在三維空間中定位在一起的胺基酸集合。分組殘基在肽、多肽或蛋白質之一級序列中可為或可不為依序的。殘基可分組為球狀域，可存在於同一表面上，或可呈現在肽、多肽或蛋白質內之二級結構(例如α螺旋)或三級結構之同一端或側上。在一些實施例中，除物理地定位在一起以外，分組殘基亦在殘基特徵(例如大小、極性電荷等)中呈現一些類似程度。

如本文中所使用，「疏水矩(μ_H)」係指螺旋之兩親性之量測。多域肽或肽類似物中之兩親性程度(亦即，疏水性之不對稱性之程度)可藉由計算兩親性α-螺旋區中之每一者之疏水矩(μ_H)來定量。用於計算特定肽序列之μ_H之方法為此項技術中熟知的，且例如描述於Eisenberg等人，*Faraday Symp. Chem. Soc.*17: 109-120, 1982；Eisenberg等人，*PNAS* 81:140-144, 1984；以及Eisenberg等人，*J. Mal. Biol.* 179:125-142, 1984中。對於特定肽序列實際所獲得之μ_H將視組成肽之胺基酸殘基之總數而定。不同長度之肽之兩親性可直接藉助於平均疏水矩來比較。平均疏水矩/殘基可藉由將μ_H除以肽中之殘基數來獲得。

除非另外規定，否則「apoC-II」(同義地，「apoC2」)係指人類脂蛋白元C-II。本文中根據殘基在信號序列裂解之後形成人類apoC-II蛋白之成熟79個胺基酸中之位置來對其編號。成熟脂蛋白元C-II蛋白為包括以下三個螺旋之79個胺基酸蛋白：螺旋1，殘基17-38；螺旋2，殘基45-57；以及螺旋3，殘基65-74/75 (Zdunek等人，*Biochemistry* 42: 1872-1889, 2003)。apoC-II之脂肪酶活化區先前已定位至序列之自約殘基56之C端域，而序列之N端域(殘基1-50)涉及脂質結合。來自各種物種之apoC-II直

系同源物之核酸及蛋白質序列為公開可獲得的。人類apoC-II前體之GenBank NCBI登錄號為NP_000474。成熟人類apoC-II、人類apoC-II之胺基酸殘基40-79及人類apoC-II之天然螺旋1-3之胺基酸序列展示於下表1中。

表1		
名稱	**序列**	**SEQ ID NO**
天然ApoC-II (全長)	TQQPQQDEMPSPTFLTQVKESLSSYWESAKTAAQNLYEKTYLPAVDEKLRDLYSKSTAAMSTYTGIFTDQVLSVLKGEE	SEQ ID NO: 1
天然ApoC-II (胺基酸40-胺基酸79)	TYLPAVDEKLRDLYSKSTAAMSTYTGIFTDQVLSVLKGEE	SEQ ID NO: 2
天然ApoC-II (螺旋1)	QVKESLSSYWESAKTAAQNLYE	SEQ ID NO: 3
天然ApoC-II (螺旋2)	VDEKLRDLYSKST	SEQ ID NO: 4
天然ApoC-II (螺旋3)	GIFTDQVLSVL	SEQ ID NO: 5

除非另外規定，否則「LPL」係指脂蛋白脂肪酶。人類LPL蛋白質之GenBank NCBI登錄號為NP_000228。

如本文所使用，術語「個體」廣泛地係指任何動物，其包括但不限於人類及非人類動物(例如狗、貓、牛、馬、綿羊、豬、家禽、魚、甲殼動物等)。如本文所使用，術語「患者」通常係指正治療疾病或病狀之個體。

如本文所使用，術語「有效量」係指足以實現有益或所需結果之組合物(例如合成肽)之量。有效量可以一或多次投藥、施藥或給藥來投與且不欲限於特定調配物或投藥途徑。

如本文中所使用，術語「投與(administration/administering)」係指向個體或在活體內、在活體外或離體細胞、組織及器官給予藥物、前藥、或其他藥劑或治療性治療(例如合成肽)的動作。向人體之例示性投藥途徑

可藉由注射(例如靜脈內、皮下、瘤內、腹膜內等)及其類似方式，經由大腦或脊髓之蛛網膜(鞘內)、眼部(經眼)、口(經口)、皮膚(體表或經皮)、鼻(經鼻)、肺(吸入劑)、口腔黏膜(頰內或經舌)、耳部、直腸、陰道下之空間。

如本文中所使用，術語「共投與(co-administration/co-administering)」係指向個體投與至少兩種藥劑(例如多種合成肽或合成肽與另一種治療劑)或療法。在一些實施例中，共投與兩種或更多種藥劑或療法係同時發生的。在其他實施例中，在第二藥劑/療法之前投與第一藥劑/療法。熟習此項技術者理解，所使用之各種藥劑或療法之配方及/或投藥途徑可變化。共投與之適當劑量可輕易地由熟習此項技術者判定。在一些實施例中，當共投與藥劑或療法時，以低於適合於其單獨投與之劑量投與個別藥劑或療法。因此，在共投與藥劑或療法降低潛在有害(例如有毒)藥劑之劑量之實施例中，及/或在共投與兩種或更多種藥劑使得個體經由共投與另一種藥劑而對於藥劑中之一者之有益效果敏感時，尤其需要共投與。

如本文所使用，術語「治療」意謂一種獲得有益或預期臨床結果之的方法。有益或預期臨床結果可包括緩解症狀、減小疾病之嚴重程度、抑制疾病或病狀之潛在病因、使疾病穩定在非晚期狀態、延緩疾病進程、及/或改善或緩解疾病病狀。

如本文所使用，術語「醫藥組合物」係指活性劑(例如apoC-II擬肽)與載劑(惰性或活性)組合，使得組合物尤其適合於活體外、活體內或離體之治療性或診斷性用途。

如本文中所使用，術語「醫藥學上可接受」或「藥理學上可接受」

係指當向個體投與時實質上不產生不良反應(例如有毒、過敏性或免疫反應)的組合物。

如本文所使用，術語「醫藥學上可接受之載劑」係指標準醫藥載劑中之任一者，其包括但不限於磷酸鹽緩衝鹽水溶液；水；乳液(例如油/水或水/油乳液)；甘油；液體聚乙二醇；非質子性溶劑，諸如二甲亞碸、N-甲基吡咯啶酮及其混合物；及各種類型之潤濕劑、增溶劑、抗氧化劑、增積劑、蛋白質載劑，諸如白蛋白、任何及所有溶劑、分散介質、包衣、月桂基硫酸鈉、等張及吸收延緩劑、崩解劑(例如馬鈴薯澱粉或羥基乙酸澱粉鈉)；及其類似物。組合物亦可包括穩定劑及防腐劑。對於載劑、穩定劑及佐劑之實例，參見例如*Martin, Remington's Pharmaceutical Sciences*, 第21版, *Mack Publ. Co., Easton, Pa. (2005)*，其以全文引用的方式併入本文中。

1.1. ApoC-II擬肽

在一第一態樣中，本文中揭示一種經分離apoC-II擬肽。

在一些實施例中，經分離apoC-II擬肽為一種包含複數個螺旋域之多螺旋肽。在一些多螺旋實施例中，螺旋域中之一或多個為兩親性的且可結合至脂及/或脂蛋白之表面。在某些實施例中，經分離apoC-II擬肽為一種包含兩個螺旋域之雙螺旋肽。在一些雙螺旋實施例中，至少一個螺旋域為兩親性的。在一些雙螺旋實施例中，一個螺旋域為兩親性的，且另一個螺旋域為球狀蛋白質中發現之G型螺旋。

在一些實施例中，經分離apoC-II擬肽為一種單一螺旋肽。在一些此等實施例中，螺旋域為兩親性的。在一些其他此等實施例中，螺旋域為G型螺旋。

在各種實施例中，經分離apoC-II擬肽不多於75個胺基酸。在某些實施例中，經分離apoC-II擬肽不多於70個胺基酸。在某些實施例中，經分離apoC-II擬肽不多於60個胺基酸。在某些實施例中，經分離apoC-II擬肽不多於50個胺基酸。在某些實施例中，經分離apoC-II擬肽不多於40個胺基酸。在某些實施例中，經分離apoC-II擬肽不多於30個胺基酸。在某些實施例中，經分離apoC-II擬肽不多於20個胺基酸。

在典型實施例中，經分離apoC-II擬肽包含第一螺旋域、鉸鏈區及第二螺旋域。

在一些實施例中，經分離apoC-II擬肽自N端至C端依次包含第一螺旋域、鉸鏈區及第二螺旋域。在一些此等實施例中，第一螺旋域為兩親性的。在一些此等實施例中，第二螺旋域形成球狀螺旋。在某些此等實施例中，第一螺旋域為兩親性的且第二螺旋域形成球狀螺旋。

在一些實施例中，第一域具有針對結合至脂蛋白之親和力。在一些實施例中，第二域能夠活化脂蛋白脂肪酶(LPL)。在某些實施例中，第一域具有針對結合至脂蛋白之親和力，且第二域能夠活化脂蛋白脂肪酶(LPL)。

在某些實施例中，經分離apoC-II擬肽能夠藉由LPL來活化脂肪分解。在某些實施例中，經分離apoC-II擬肽能夠置換來自脂蛋白之apoC-III。

在各種實施例中，經分離apoC-II擬肽能夠降低在活體內之三酸甘油酯(TG)含量。在一些此等實施例中，肽能夠降低由LPL缺陷引起的提高的TG含量。在一些此等實施例中，肽能夠降低由apoC-III提高引起的提高的TG含量。在一些此等實施例中，肽能夠降低由apoC-II缺陷引起的提高的

TG含量。在又一些此等實施例中，肽能夠降低餐後提高的TG含量。

在各種實施例中，經分離apoC-II擬肽具有SEQ ID NO: 6-52 (表2)中之任一者中闡述之胺基酸序列。在一些實施例中，經分離apoC-II擬肽與SEQ ID NO: 6-52中之任一者中闡述之胺基酸序列具有90%序列相似性。在一些實施例中，經分離apoC-II擬肽與SEQ ID NO: 6-52中之任一者中闡述之胺基酸序列具有91%、92%、93%、94%或95%序列相似性。在一些實施例中，經分離apoC-II擬肽與SEQ ID NO: 6-52中之任一者中闡述之胺基酸序列具有96%、97%、98%或99%序列相似性。

1.1.1. 第一螺旋域

在各種實施例中，第一螺旋域具有針對結合至脂蛋白之親和力。在一些實施例中，第一螺旋域為兩親性的。在某些此等實施例中，螺旋域具有約6至約15之疏水矩分值，諸如約7至約15、約8至約15、約9至約15、約10至約15、約11至約15、約12至約15、約13至約15、約14至約15、約8至約14、約9至約14、約10至約14、約11至約14、約12至約14、約13至約14、約8至約13、約9至約13、約10至約13、約11至約13、約12至約13、約8至約12、約9至約12、約10至約12、約11至約12、約8至約11、約9至約11、約10至約11、約8至約10、約9至約10或約8至約9。可利用線上工具來計算肽之疏水矩，諸如rzlab.ucr.edu/scripts/wheel/wheel.cgi。

在一些實施例中，經分離apoC-II擬肽之第一螺旋域為apoC-II蛋白之天然螺旋1。apoC-II蛋白之螺旋1由胺基酸殘基17-38 (SEQ ID NO: 3)組成，其根據胺基酸在成熟79個胺基酸apoC-II蛋白中之位置編號。在一些其他實施例中，經分離apoC-II擬肽之第一螺旋域為一種apoC-II蛋白之螺旋1之變體。

在一些實施例中，經分離apoC-II擬肽之第一螺旋域為apoC-II蛋白之天然螺旋2。apoC-II蛋白之螺旋2由胺基酸殘基45-57 (SEQ ID NO: 4)組成，其根據胺基酸在成熟79個胺基酸apoC-II蛋白中之位置編號在一些其他實施例中，經分離apoC-II擬肽之第一螺旋域為一種apoC-II蛋白之螺旋2之變體。在某些實施例中，apoC-II蛋白之螺旋2之變體包含apoC-II蛋白之天然螺旋2之至少一個修飾。在某些實施例中，apoC-II蛋白之螺旋2之變體包含apoC-II蛋白之天然螺旋2之複數個修飾。在各種實施例中，各修飾獨立地選自伸長、截斷、突變及/或化學修飾。

在一些其他實施例中，經分離apoC-II擬肽之第一螺旋域為一種在除apoC-II以外之脂蛋白元上或自可結合脂之其他蛋白發現之兩親性螺旋的變體。

1.1.1.1. ApoC-II之螺旋2之伸長

在某些實施例中，apoC-II之螺旋2之變體包含apoC-II之螺旋2之伸長。在各種實施例中，相比於apoC-II之天然螺旋2，伸長增加apoC-II之螺旋2之變體的兩親性。在一些實施例中，伸長增加apoC-II之螺旋2之變體針對結合至脂蛋白之親和力。

在一些實施例中，apoC-II之螺旋2在N端伸長。在各種實施例中，apoC-II之螺旋2在N端伸長1-20個胺基酸。在一些此等實施例中，apoC-II之螺旋2在N端伸長1-10個胺基酸。在某些實施例中，apoC-II之螺旋2在N端伸長1個胺基酸。在某些實施例中，apoC-II之螺旋2在N端伸長2個胺基酸。在某些實施例中，apoC-II之螺旋2在N端伸長3個胺基酸。在某些實施例中，apoC-II之螺旋2在N端伸長4個胺基酸。在某些實施例中，apoC-II之螺旋2在N端伸長5個胺基酸。在某些實施例中，apoC-II之螺旋2在N

端伸長6個胺基酸。在某些實施例中，apoC-II之螺旋2在N端伸長7個胺基酸。在某些實施例中，apoC-II之螺旋2在N端伸長8個胺基酸。在某些實施例中，apoC-II之螺旋2在N端伸長9個胺基酸。在某些實施例中，apoC-II之螺旋2在N端伸長10個胺基酸。

在特定實施例中，當apoC-II之螺旋2在N端伸長1個胺基酸時，伸長胺基酸為天冬胺酸。

在特定實施例中，當apoC-II之螺旋2在N端伸長2個胺基酸時，伸長胺基酸自N端至C端為離胺酸及丙胺酸。

在典型實施例中，apoC-II之螺旋2在N端伸長5個胺基酸。在一些實施例中，apoC-II之螺旋2藉由人類apoC-II之天然上游胺基酸序列伸長。在一些實施例中，apoC-II之螺旋2藉由人類apoC-II之天然上游胺基酸序列之突變伸長。在一些實施例中，胺基酸在位置40至44處，其根據胺基酸在成熟79個胺基酸人類apoC-II蛋白中之位置編號。在一些實施例中，apoC-II之螺旋2之變體包含位置40處之天冬胺酸。在一些實施例中，apoC-II之螺旋2之變體包含位置41處之色胺酸。在一些實施例中，apoC-II之螺旋2之變體包含位置42處之白胺酸。在一些實施例中，apoC-II之螺旋2之變體包含位置43處之離胺酸或精胺酸。在一些實施例中，apoC-II之螺旋2之變體包含位置44處之丙胺酸或麩胺酸。

在特定實施例中，當apoC-II之螺旋2在N端伸長5個胺基酸時，apoC-II之螺旋2之變體包含位置40處之天冬胺酸、位置41處之酪胺酸、位置42處之白胺酸、位置43處之離胺酸及位置44處之麩胺酸。

在特定實施例中，當apoC-II之螺旋2在N端伸長5個胺基酸時，apoC-II之螺旋2之變體包含位置40處之天冬胺酸、位置41處之酪胺酸、位置42

處之白胺酸、位置43處之離胺酸及位置44處之丙胺酸。

1.1.1.2. ApoC-II之螺旋2之截斷

在某些實施例中，apoC-II之螺旋2之變體包含apoC-II之螺旋2之截斷。在各種實施例中，相比於apoC-II之天然螺旋2，截斷增加apoC-II之螺旋2之變體之兩親性。在一些實施例中，截斷增加apoC-II之螺旋2之變體針對結合至脂蛋白之親和力。

在一些實施例中，apoC-II之螺旋2在N端截斷。在各種實施例中，apoC-II之螺旋2在N端截斷1-12個胺基酸。在某些實施例中，apoC-II之螺旋2在N端截斷1個胺基酸。在某些實施例中，apoC-II之螺旋2在N端截斷2個胺基酸。在某些實施例中，apoC-II之螺旋2在N端截斷3個胺基酸。在某些實施例中，apoC-II之螺旋2在N端截斷4個胺基酸。在某些實施例中，apoC-II之螺旋2在N端截斷5個胺基酸。在某些實施例中，apoC-II之螺旋2在N端截斷6個胺基酸。在某些實施例中，apoC-II之螺旋2在N端截斷7個胺基酸。在某些實施例中，apoC-II之螺旋2在N端截斷8個胺基酸。在某些實施例中，apoC-II之螺旋2在N端截斷9個胺基酸。在某些實施例中，apoC-II之螺旋2在N端截斷10個胺基酸。在某些實施例中，apoC-II之螺旋2在N端截斷11個胺基酸。在某些實施例中，apoC-II之螺旋2在N端截斷12個胺基酸。

在特定實施例中，當apoC-II之螺旋2在N端截斷2個胺基酸時，apoC-II之天然螺旋2之胺基酸殘基45-46係經刪減缺失。

在特定實施例中，當apoC-II之螺旋2在N端截斷4個胺基酸時，apoC-II之天然螺旋2之胺基酸殘基45-48係經刪減缺失。

在特定實施例中，當apoC-II之螺旋2在N端截斷5個胺基酸時，apoC-

II之天然螺旋2之胺基酸殘基45-49係經刪減缺失。

在特定實施例中，當apoC-II之螺旋2在N端截斷6個胺基酸時，apoC-II之天然螺旋2之胺基酸殘基45-50係經刪減缺失。

在特定實施例中，當apoC-II之螺旋2在N端截斷9個胺基酸時，apoC-II之天然螺旋2之胺基酸殘基45-53係經刪減缺失。

1.1.1.3. ApoC-II之螺旋2之突變

在某些實施例中，apoC-II之螺旋2之變體包含apoC-II之螺旋2之至少一個突變。在各種實施例中，相比於apoC-II之天然螺旋2，突變增加apoC-II之螺旋2之變體之兩親性。在一些實施例中，突變增加apoC-II之螺旋2之變體針對結合至脂蛋白之親和力。

在某些實施例中，apoC-II之螺旋2之變體包含apoC-II之螺旋2之一個突變。在某些實施例中，apoC-II之螺旋2之變體包含apoC-II之螺旋2之兩個突變。在某些實施例中，apoC-II之螺旋2之變體包含apoC-II之螺旋2之三個突變。在某些實施例中，apoC-II之螺旋2之變體包含apoC-II之螺旋2之四個突變。在某些實施例中，apoC-II之螺旋2之變體包含apoC-II之螺旋2之五個突變。在某些實施例中，apoC-II之螺旋2之變體包含apoC-II之螺旋2之多於五個突變。

在一些實施例中，突變為胺基酸取代。在一些實施例中，突變為胺基酸插入。在一些實施例中，突變為胺基酸缺失。

在一些實施例中，apoC-II之螺旋2之初始胺基酸經天然胺基酸取代。在一些實施例中，apoC-II之螺旋2之初始胺基酸經非天然胺基酸取代。在一些實施例中，apoC-II之螺旋2之初始胺基酸經胺基酸類似物取代。在一些實施例中，apoC-II之螺旋2之初始胺基酸經經化學修飾之胺基

酸取代。

在各種實施例中，胺基酸取代為保守或半保守取代。在一些實施例中，胺基酸取代對於所得肽之活性及/或結構具有極小影響。在某些實施例中，胺基酸取代保持取代區域中之肽主鏈之結構，例如保持為螺旋構形。在某些實施例中，胺基酸取代保持靶位點處之分子之電荷或疏水性。在某些實施例中，胺基酸取代保持大多數胺基酸側基。

在各種實施例中，胺基酸取代為非保守取代。在一些實施例中，胺基酸取代產生肽特性之顯著改變。在某些實施例中，親水性殘基經疏水性殘基取代。在某些其他實施例中，疏水性殘基經親水性殘基取代。在某些實施例中，半胱胺酸或脯胺酸經另一殘基取代。在某些其他實施例中，非半胱胺酸或非脯胺酸經半胱胺酸或脯胺酸取代。在某些實施例中，具有正電性側基之殘基經負電性殘基取代。在某些其他實施例中，具有負電性側基之殘基經正電性殘基取代。在某些實施例中，具有大型側基之殘基經不具有側基之殘基取代。在某些其他實施例中，不具有側基之殘基經具有大型側基之殘基取代。

在某些實施例中，胺基酸取代在位置45處。在一些實施例中，位置45處之纈胺酸經苯丙胺酸取代。

在某些實施例中，胺基酸取代在位置46處。在一些實施例中，位置46處之天冬胺酸經苯丙胺酸取代。在一些實施例中，位置46處之天冬胺酸經離胺酸取代。在一些實施例中，位置46處之天冬胺酸經胺基異丁酸取代。

在某些實施例中，胺基酸取代在位置47處。

在某些實施例中，胺基酸取代在位置48處。在一些實施例中，位置

48處之離胺酸經精胺酸取代。

在某些實施例中，胺基酸取代在位置49處。在一些實施例中，位置49處之白胺酸經離胺酸取代。在一些此等實施例中，離胺酸藉由脂肪酸來修飾。

在某些實施例中，胺基酸取代在位置50處。在一些實施例中，位置50處之精胺酸經離胺酸取代。

在某些實施例中，胺基酸取代在位置51處。

在某些實施例中，胺基酸取代在位置52處。

在某些實施例中，胺基酸取代在位置53處。在一些實施例中，位置53處之酪胺酸經白胺酸取代。

在某些實施例中，胺基酸取代在位置54處。在一些實施例中，位置54處之絲胺酸經麩胺酸取代。在一些實施例中，位置54處之絲胺酸經離胺酸取代。在一些實施例中，位置54處之絲胺酸經天冬胺酸取代。

在某些實施例中，胺基酸取代在位置55處。在一些實施例中，位置55處之離胺酸經精胺酸取代。

在某些實施例中，胺基酸取代在位置56處。在一些實施例中，位置56處之絲胺酸經苯丙胺酸取代。在一些實施例中，位置56處之絲胺酸經離胺酸取代。在一些實施例中，位置56處之絲胺酸經丙胺酸取代。在一些實施例中，位置56處之絲胺酸經胺基異丁酸取代。

在某些實施例中，胺基酸取代在位置57處。在一些實施例中，位置57處之蘇胺酸經苯丙胺酸取代。

在特定實施例中，apoC-II之螺旋2之變體包含兩個胺基酸取代，且胺基酸取代在位置46及位置56處。在一些此等實施例中，位置46處之天

冬胺酸經苯丙胺酸取代且位置56處之絲胺酸經苯丙胺酸取代。

在特定實施例中，apoC-II之螺旋2之變體包含三個胺基酸取代，且胺基酸取代在位置46、位置54及位置56處。在一些此等實施例中，位置46處之天冬胺酸經苯丙胺酸取代，位置54處之絲胺酸經麩胺酸取代且位置56處之絲胺酸經苯丙胺酸取代。

1.1.1.4. ApoC-II之螺旋2之變體之化學修飾

在某些實施例中，apoC-II之螺旋2之變體包含至少一個化學修飾。在各種實施例中，相比於apoC-II之天然螺旋2，化學修飾增加apoC-II之螺旋2之變體之兩親性。在一些實施例中，化學修飾增加apoC-II之螺旋2之變體針對結合至脂蛋白之親和力。

在一些實施例中，化學修飾在第一域之N端。在各種實施例中，N端之胺基端可藉由與各種官能基結合來修飾。脂蛋白元之合成肽模擬物之末端電荷之中和已展示增加其脂質親和力(Yancey等人，*Biochem.* 34:7955-7965, 1995；Venkatachalapathi等人，*Protein: Structure, Function and Genetics* 15:349-359, 1993)。舉例而言，兩親性肽之胺基末端之乙醯化增加肽之脂質親和力(Mishra等人，*J. Biol. Chem.* 269:7185-7191, 1994)。其他可能末端修飾描述於例如Brouillette等人，*Biochem. Biophys. Acta* 1256: 103-129, 1995；Mishra等人，*J. Biol. Chem.* 269:7185-7191, 1994；以及Mishra等人，*J. Biol. Chem.* 270:1602-1611, 1995中。

在一些實施例中，化學修飾在第一域之胺基酸側基處。胺基酸側基處之修飾包括但不限於離胺酸ε-胺基之醯化；精胺酸、組胺酸或離胺酸之N-烷化；麩胺酸或天冬胺酸羧酸基之烷化；經由離胺酸ε-胺基與麩胺酸或

天冬胺酸側基羧基之環化形成內醯胺；烴「切斷」(例如以使α螺旋構形穩定)；及麩醯胺酸或天冬醯胺之去醯胺。在一些實施例中，第一域藉由用其他側基(諸如烷基，低碳烷基，環狀4-、5-、6-至7-員烷基，醯胺，醯胺低碳烷基，醯胺二(低碳烷基)，低碳烷氧基，羥基，羧基及其低碳酯衍生物)及用4-、5-、6-至7-員雜環族化合物置換一或多個側基來修飾。舉例而言，可製備脯胺酸類似物，其中脯胺酸殘基之環大小自5員環改變為4-、6-或7-員環。環狀基團可為飽和或不飽和的，且若為不飽和的，則可為芳族或非芳族。雜環基可含有一或多個氮、氧及/或硫雜原子。此類基團之實施例包括呋喃基、呋喃基、咪唑啶基、咪唑基、二氫咪唑基、異噻唑基、異噁唑基、嗎啉基(例如嗎啉基(morpholino))、噁唑基、哌嗪基(例如1-哌嗪基)、哌啶基(例如1-哌啶基、哌啶基(piperidino))、哌喃基、吡嗪基、吡唑啶基、吡唑啉基、吡唑基、噠嗪基、吡啶基、嘧啶基、吡咯啶基(例如1-吡咯啶基)、吡咯啉基、吡咯基、噻二唑基、噻唑基、噻吩基、硫代嗎啉基(例如硫代嗎啉基(thiomorpholino))及三唑基。此等雜環基可經取代或未經取代。當基團經取代時，取代基可為烷基、烷氧基、鹵素、氧、或經取代或未經取代之苯基。肽以及肽類似物及模擬物亦可共價鍵結至各種非蛋白質聚合物(例如聚乙二醇、聚丙二醇或聚氧化烯)中之一或多者，如美國專利第4,640,835號、第4,496,689號、第4,301,144號、第4,670,417號、第4,791,192號及第4,179,337號中所描述。

在某些實施例中，化學修飾為非共價修飾。在某些其他實施例中，化學修飾共價連接至經修飾胺基酸。在各種實施例中，化學修飾可為磷酸化、糖基化或脂質化。

在一些實施例中，化學修飾為脂肪酸之共價連接。在某些實施例

中，脂肪酸為飽和的。在某些其他實施例中，脂肪酸為不飽和的。

在各種實施例中，脂肪酸包含2至30個碳，諸如4至26個碳、6至24個碳、10至20個碳、12至18個碳及14至16個碳。在某些實施例中，脂肪酸包含6個碳。在某些實施例中，脂肪酸包含7個碳。在某些實施例中，脂肪酸包含8個碳。在某些實施例中，脂肪酸包含9個碳。在某些實施例中，脂肪酸包含10個碳。在某些實施例中，脂肪酸包含11個碳。在某些實施例中，脂肪酸包含12個碳。在某些實施例中，脂肪酸包含13個碳。在某些實施例中，脂肪酸包含14個碳。在某些實施例中，脂肪酸包含15個碳。在某些實施例中，脂肪酸包含16個碳。在某些實施例中，脂肪酸包含17個碳。在某些實施例中，脂肪酸包含18個碳。在某些實施例中，脂肪酸包含19個碳。在某些實施例中，脂肪酸包含20個碳。在某些實施例中，脂肪酸包含21個碳。在某些實施例中，脂肪酸包含22個碳。在某些實施例中，脂肪酸包含23個碳。在某些實施例中，脂肪酸包含24個碳。

在一些實施例中，不飽和脂肪酸具有1、2、3、4、5或6個雙鍵。在某些實施例中，不飽和脂肪酸為花生油酸。在某些實施例中，不飽和脂肪酸為亞麻油酸。在某些實施例中，不飽和脂肪酸為油酸。在某些實施例中，不飽和脂肪酸為棕櫚油酸。在某些實施例中，不飽和脂肪酸為次亞麻油酸。在某些實施例中，不飽和脂肪酸為二十碳五烯酸。在某些實施例中，不飽和脂肪酸為二十二碳六烯酸。

在特定實施例中，脂肪酸為棕櫚酸。在特定實施例中，脂肪酸為硬脂酸。

在某些實施例中，經分離apoC-II擬肽包含共價連接至N端胺基酸之硬脂酸。在一些此等實施例中，N端胺基酸為天冬胺酸。

在某些實施例中，經分離apoC-II擬肽包含共價連接至離胺酸殘基之側基之硬脂酸。在特定實施例中，當經分離apoC-II擬肽包含位置46處之離胺酸時，硬脂酸共價連接至位置46處之離胺酸殘基。在特定實施例中，當經分離apoC-II擬肽包含位置49處之離胺酸時，硬脂酸共價連接至位置49處之離胺酸殘基。在特定實施例中，當經分離apoC-II擬肽包含位置56處之離胺酸時，硬脂酸共價連接至位置56處之離胺酸殘基。

1.1.2. 鉸鏈區

在一些實施例中，經分離apoC-II擬肽包含連接第一螺旋域與第二螺旋域之鉸鏈區。在某些實施例中，鉸鏈區功能上分隔第一螺旋域與第二螺旋域。在各種實施例中，鉸鏈區輔助第二域(其具有LPL活化活性)將自身連接至脂蛋白之膠束表面。在某些實施例中，鉸鏈區允許第一螺旋域及第二螺旋域保持幾乎直鏈構形，其中第二域係以不大於約20º (諸如不大於約15º、不大於約10º或不大於約5º)之角度內彎離第一域。

1.1.2.1. 鉸鏈區之胺基酸組成

在各種實施例中，鉸鏈區包含3-15個胺基酸，諸如4-12個胺基酸、5-10個胺基酸、6-9個胺基酸或7-8個胺基酸。在某些實施例中，鉸鏈區包含3個胺基酸。在某些實施例中，鉸鏈區包含4個胺基酸。在某些實施例中，鉸鏈區包含5個胺基酸。在某些實施例中，鉸鏈區包含6個胺基酸。在某些實施例中，鉸鏈區包含7個胺基酸。在某些實施例中，鉸鏈區包含8個胺基酸。在某些實施例中，鉸鏈區包含9個胺基酸。在某些實施例中，鉸鏈區包含10個胺基酸。在某些實施例中，鉸鏈區包含11個胺基酸。在某些實施例中，鉸鏈區包含12個胺基酸。在某些實施例中，鉸鏈區包含13個胺基酸。在某些實施例中，鉸鏈區包含14個胺基酸。在某些實施例中，鉸

鏈區包含15個胺基酸。

在一些實施例中，鉸鏈區包含天然胺基酸。在一些實施例中，鉸鏈區包含非天然胺基酸。在一些實施例中，鉸鏈區包含胺基酸類似物。

在各種實施例中，鉸鏈區包含脯胺酸。在一些實施例中，鉸鏈區包含羥基脯胺酸。亦可使用功能上分隔兩個螺旋域之其他合適胺基酸(諸如甘胺酸、絲胺酸、蘇胺酸及丙胺酸)。

在一些實施例中，鉸鏈區包含脯胺酸。在一些此等實施例中，鉸鏈區包含位置58處之脯胺酸。在某些實施例中，鉸鏈區包含丙胺酸。在一些此等實施例中，鉸鏈區包含位置58處之丙胺酸。在一些此等實施例中，鉸鏈區包含位置59處之丙胺酸。在一些實施例中，鉸鏈區包含正白胺酸。在一些此等實施例中，鉸鏈區包含位置60處之正白胺酸。在一些實施例中，鉸鏈區包含離胺酸。在一些此等實施例中，鉸鏈區包含位置60處之離胺酸。在一些實施例中，鉸鏈區包含甲硫胺酸。在一些此等實施例中，鉸鏈區包含位置60處之甲硫胺酸。在一些實施例中，鉸鏈區包含絲胺酸。在一些此等實施例中，鉸鏈區包含位置61處之絲胺酸。在一些實施例中，鉸鏈區包含蘇胺酸。在一些此等實施例中，鉸鏈區包含位置62處之蘇胺酸。在一些此等實施例中，鉸鏈區包含位置64處之蘇胺酸。在一些實施例中，鉸鏈區包含酪胺酸。在一些此等實施例中，鉸鏈區包含位置63處之酪胺酸。

1.1.2.2. 鉸鏈區之化學修飾

在某些實施例中，鉸鏈區包含至少一個化學修飾。

在一些實施例中，化學修飾在鉸鏈區之胺基酸側基處。胺基酸側基處之修飾包括但不限於離胺酸ε-胺基之醯化；精胺酸、組胺酸或離胺酸之N-烷化；麩胺酸或天冬胺酸羧酸基之烷化；經由離胺酸ε-胺基與麩胺酸或

天冬胺酸側基羧基之環化形成內醯胺；烴「切斷」(例如以使α螺旋構形穩定)；及麩醯胺酸或天冬醯胺之去醯胺。在一些實施例中，鉸鏈區藉由用其他側基(諸如烷基，低碳烷基、環狀4-、5-、6-至7-員烷基，醯胺，醯胺低碳烷基，醯胺二(低碳烷基)，低碳烷氧基，羥基，羧基及其低碳酯衍生物)及用4-、5-、6-至7-員雜環族化合物置換一或多個側基來修飾。舉例而言，可製備脯胺酸類似物，其中脯胺酸殘基之環大小自5員環改變為4-、6-或7-員環。環狀基團可為飽和或不飽和的，且若為不飽和的，則可為芳族或非芳族。雜環基可含有一或多個氮、氧及/或硫雜原子。此類基團之實施例包括呋呫基、呋喃基、咪唑啶基、咪唑基、二氫咪唑基、異噻唑基、異噁唑基、嗎啉基(例如嗎啉基(morpholino))、噁唑基、哌嗪基(例如1-哌嗪基)、哌啶基(例如1-哌啶基、哌啶基(piperidino))、哌喃基、吡嗪基、吡唑啶基、吡唑啉基、吡唑基、噠嗪基、吡啶基、嘧啶基、吡咯啶基(例如1-吡咯啶基)、吡咯啉基、吡咯基、噻二唑基、噻唑基、噻吩基、硫代嗎啉基(例如硫代嗎啉基(thiomorpholino))及三唑基。此等雜環基可經取代或未經取代。當基團經取代時，取代基可為烷基、烷氧基、鹵素、氧、或經取代或未經取代之苯基。肽以及肽類似物及模擬物亦可共價鍵結至各種非蛋白質聚合物(例如聚乙二醇、聚丙二醇或聚氧化烯)中之一或多者，如美國專利第4,640,835號、第4,496,689號、第4,301,144號、第4,670,417號、第4,791,192號及第4,179,337號中所描述。

在某些實施例中，化學修飾為非共價修飾。在某些其他實施例中，化學修飾為共價連接的。在各種實施例中，化學修飾可為磷酸化、糖基化或脂質化。

在一些實施例中，化學修飾為脂肪酸之共價連接。在某些實施例

中，脂肪酸為飽和的。在某些其他實施例中，脂肪酸為不飽和的。

在各種實施例中，脂肪酸包含2至30個碳，諸如4至26個碳、6至24個碳、10至20個碳、12至18個碳及14至16個碳。在某些實施例中，脂肪酸包含6個碳。在某些實施例中，脂肪酸包含7個碳。在某些實施例中，脂肪酸包含8個碳。在某些實施例中，脂肪酸包含9個碳。在某些實施例中，脂肪酸包含10個碳。在某些實施例中，脂肪酸包含11個碳。在某些實施例中，脂肪酸包含12個碳。在某些實施例中，脂肪酸包含13個碳。在某些實施例中，脂肪酸包含14個碳。在某些實施例中，脂肪酸包含15個碳。在某些實施例中，脂肪酸包含16個碳。在某些實施例中，脂肪酸包含17個碳。在某些實施例中，脂肪酸包含18個碳。在某些實施例中，脂肪酸包含19個碳。在某些實施例中，脂肪酸包含20個碳。在某些實施例中，脂肪酸包含21個碳。在某些實施例中，脂肪酸包含22個碳。在某些實施例中，脂肪酸包含23個碳。在某些實施例中，脂肪酸包含24個碳。

在一些實施例中，不飽和脂肪酸具有1、2、3、4、5或6個雙鍵。在某些實施例中，不飽和脂肪酸為花生油酸。在某些實施例中，不飽和脂肪酸為亞麻油酸。在某些實施例中，不飽和脂肪酸為油酸。在某些實施例中，不飽和脂肪酸為棕櫚油酸。在某些實施例中，不飽和脂肪酸為次亞麻油酸。在某些實施例中，不飽和脂肪酸為二十碳五烯酸。在某些實施例中，不飽和脂肪酸為二十二碳六烯酸。

在特定實施例中，脂肪酸為棕櫚酸。在特定實施例中，脂肪酸為硬脂酸。

在某些實施例中，經分離apoC-II擬肽包含共價連接至離胺酸殘基之側基之棕櫚酸。在特定實施例中，當經分離apoC-II擬肽包含位置60處之

離胺酸時，棕櫚酸共價連接至位置60處之離胺酸殘基。

1.1.3. 第二螺旋域

在一些實施例中，經分離apoC-II擬肽之第二螺旋域為apoC-II蛋白之天然螺旋3。apoC-II蛋白之螺旋3由胺基酸殘基65-74/75 (SEQ ID NO: 5)組成，其根據胺基酸在成熟79個胺基酸apoC-II蛋白中之位置編號。在一些其他實施例中，經分離apoC-II擬肽之第二螺旋域為apoC-II蛋白之螺旋3之變體。

在某些實施例中，apoC-II蛋白之螺旋3之變體包含apoC-II蛋白之天然螺旋3之修飾。在各種實施例中，修飾包括伸長、截斷、突變及化學修飾。

1.1.3.1. ApoC-II之螺旋3之伸長

在某些實施例中，apoC-II之螺旋3之變體包含apoC-II之螺旋3之伸長。在一些實施例中，伸長增加apoC-II之螺旋3之變體針對藉由LPL而活化脂肪分解之能力。

在一些實施例中，apoC-II之螺旋3在C端伸長。在各種實施例中，apoC-II之螺旋3在C端伸長1-20個胺基酸。在一些此等實施例中，apoC-II之螺旋3在C端伸長1-10個胺基酸。在某些實施例中，apoC-II之螺旋3在C端伸長1個胺基酸。在某些實施例中，apoC-II之螺旋3在C端伸長2個胺基酸。在某些實施例中，apoC-II之螺旋3在C端伸長3個胺基酸。在某些實施例中，apoC-II之螺旋3在C端伸長4個胺基酸。在某些實施例中，apoC-II之螺旋3在C端伸長5個胺基酸。在某些實施例中，apoC-II之螺旋3在C端伸長6個胺基酸。在某些實施例中，apoC-II之螺旋3在C端伸長7個胺基酸。在某些實施例中，apoC-II之螺旋3在C端伸長8個胺基酸。在某些實施

例中，apoC-II之螺旋3在C端伸長9個胺基酸。在某些實施例中，apoC-II之螺旋3在C端伸長10個胺基酸。

在特定實施例中，當apoC-II之螺旋3在C端伸長4個胺基酸時，胺基酸自N端至C端為離胺酸、甘胺酸、麩胺酸及麩胺酸。

在特定實施例中，當apoC-II之螺旋3在C端伸長4個胺基酸時，胺基酸自N端至C端為精胺酸、甘胺酸、麩胺酸及麩胺酸。

1.1.3.2. ApoC-II之螺旋3之突變

在某些實施例中，apoC-II之螺旋3之變體包含apoC-II之螺旋3之至少一個突變。在一些實施例中，突變增加apoC-II之螺旋3之變體針對藉由LPL而活化脂肪分解之能力。

在某些實施例中，apoC-II之螺旋3之變體包含apoC-II之螺旋3之一個突變。在某些實施例中，apoC-II之螺旋3之變體包含apoC-II之螺旋3之兩個突變。在某些實施例中，apoC-II之螺旋3之變體包含apoC-II之螺旋3之三個突變。在某些實施例中，apoC-II之螺旋3之變體包含apoC-II之螺旋3之四個突變。在某些實施例中，apoC-II之螺旋3之變體包含apoC-II之螺旋3之五個突變。在某些實施例中，apoC-II之螺旋3之變體包含apoC-II之螺旋3之多於五個突變。

在一些實施例中，突變為胺基酸取代。在一些實施例中，突變為胺基酸插入。在一些實施例中，突變為胺基酸缺失。

在一些實施例中，apoC-II之螺旋3之初始胺基酸經天然胺基酸取代。在一些實施例中，apoC-II之螺旋3之初始胺基酸經非天然胺基酸取代。在一些實施例中，apoC-II之螺旋3之初始胺基酸經胺基酸類似物取代。

在各種實施例中，胺基酸取代為保守或半保守取代。在一些實施例中，胺基酸取代對於所得肽之活性及/或結構具有極小影響。在某些實施例中，胺基酸取代保持取代區域中之肽主鏈之結構，例如保持為螺旋構形。在某些實施例中，胺基酸取代保持靶位點處之分子之電荷或疏水性。在某些實施例中，胺基酸取代保持大多數胺基酸側基。

在各種實施例中，胺基酸取代為非保守取代。在一些實施例中，胺基酸取代產生肽特性之顯著改變。在某些實施例中，親水性殘基經疏水性殘基取代。在某些其他實施例中，疏水性殘基經親水性殘基取代。在某些實施例中，半胱胺酸或脯胺酸經另一殘基取代。在某些其他實施例中，非半胱胺酸或非脯胺酸經半胱胺酸或脯胺酸取代。在某些實施例中，具有正電性側基之殘基經負電性殘基取代。在某些其他實施例中，具有負電性側基之殘基經正電性殘基取代。在某些實施例中，具有大型側基之殘基經不具有側基之殘基取代。在某些其他實施例中，不具有側基之殘基經具有大型側基之殘基取代。

在某些實施例中，胺基酸取代在位置70處。在一些此等實施例中，位置70處之麩醯胺酸經精胺酸取代。在一些其他此等實施例中，位置70處之麩醯胺酸經離胺酸取代。

1.1.3.3. ApoC-II之螺旋3之變體之化學修飾

在某些實施例中，apoC-II之螺旋3之變體包含至少一個化學修飾。在一些實施例中，化學修飾增加螺旋3之變體藉由LPL而活化脂肪分解之能力。

在一些實施例中，化學修飾在第二域之C端。在各種實施例中，C端之羧基端可藉由與各種官能基結合來修飾。脂蛋白元之合成肽模擬物之末

端電荷之中和已展示增加其脂質親和力(Yancey等人，*Biochem.* 34:7955-7965, 1995；Venkatachalapathi等人，*Protein: Structure, Function and Genetics* 15:349-359, 1993)。舉例而言，兩親性肽之胺基末端之乙醯化增加肽之脂質親和力(Mishra等人，*J. Biol. Chem.* 269:7185-7191, 1994)。其他可能末端修飾描述於例如Brouillette等人，*Biochem. Biophys. Acta* 1256: 103-129, 1995；Mishra等人，*J. Biol. Chem.* 269:7185-7191, 1994；以及Mishra等人，*J. Biol. Chem.* 270:1602-1611, 1995中。

在一些實施例中，化學修飾在第二域中之胺基酸之胺基酸側基處。胺基酸側基處之修飾包括但不限於離胺酸ε-胺基之醯化；精胺酸、組胺酸或離胺酸之N-烷化；麩胺酸或天冬胺酸羧酸基之烷化；經由離胺酸ε-胺基與麩胺酸或天冬胺酸側基羧基之環化形成內醯胺；烴「切斷」(例如以使α螺旋構形穩定)；及麩醯胺酸或天冬醯胺之去醯胺。在一些實施例中，第二域藉由用其他側基(諸如烷基，低碳烷基、環狀4-、5-、6-至7-員烷基，醯胺，醯胺低碳烷基，醯胺二(低碳烷基)，低碳烷氧基，羥基，羧基及其低碳酯衍生物)及用4-、5-、6-至7-員雜環族化合物置換一或多個側基來修飾。舉例而言，可製備脯胺酸類似物，其中脯胺酸殘基之環大小自5員環改變為4-、6-或7-員環。環狀基團可為飽和或不飽和的，且若為不飽和的，則可為芳族或非芳族。雜環基可含有一或多個氮、氧及/或硫雜原子。此類基團之實施例包括呋喃基、呋喃基、咪唑啶基、咪唑基、二氫咪唑基、異噻唑基、異噁唑基、嗎啉基(例如嗎啉基(morpholino))、噁唑基、哌嗪基(例如1-哌嗪基)、哌啶基(例如1-哌啶基、哌啶基(piperidino))、哌喃基、吡嗪基、吡唑啶基、吡唑啉基、吡唑基、噠嗪

基、吡啶基、嘧啶基、吡咯啶基(例如1-吡咯啶基)、吡咯啉基、吡咯基、噻二唑基、噻唑基、噻吩基、硫代嗎啉基(例如硫代嗎啉基(thiomorpholino))及三唑基。此等雜環基可經取代或未經取代。當基團經取代時，取代基可為烷基、烷氧基、鹵素、氧、或經取代或未經取代之苯基。肽以及肽類似物及模擬物亦可共價鍵結至各種非蛋白質聚合物(例如聚乙二醇、聚丙二醇或聚氧化烯)中之一或多者，如美國專利第4,640,835號、第4,496,689號、第4,301,144號、第4,670,417號、第4,791,192號及第4,179,337號中所描述。

在某些實施例中，化學修飾為非共價修飾。在某些其他實施例中，化學修飾為共價連接的。在各種實施例中，化學修飾可為磷酸化、糖基化或脂質化。

在一些實施例中，化學修飾為脂肪酸之共價連接。在某些實施例中，脂肪酸為飽和的。在某些其他實施例中，脂肪酸為不飽和的。

在各種實施例中，脂肪酸包含2至30個碳，諸如4至26個碳、6至24個碳、10至20個碳、12至18個碳及14至16個碳。在某些實施例中，脂肪酸包含6個碳。在某些實施例中，脂肪酸包含7個碳。在某些實施例中，脂肪酸包含8個碳。在某些實施例中，脂肪酸包含9個碳。在某些實施例中，脂肪酸包含10個碳。在某些實施例中，脂肪酸包含11個碳。在某些實施例中，脂肪酸包含12個碳。在某些實施例中，脂肪酸包含13個碳。在某些實施例中，脂肪酸包含14個碳。在某些實施例中，脂肪酸包含15個碳。在某些實施例中，脂肪酸包含16個碳。在某些實施例中，脂肪酸包含17個碳。在某些實施例中，脂肪酸包含18個碳。在某些實施例中，脂肪酸包含19個碳。在某些實施例中，脂肪酸包含20個碳。在某些實施例中，脂

肪酸包含21個碳。在某些實施例中，脂肪酸包含22個碳。在某些實施例中，脂肪酸包含23個碳。在某些實施例中，脂肪酸包含24個碳。

在一些實施例中，不飽和脂肪酸具有1、2、3、4、5或6個雙鍵。在某些實施例中，不飽和脂肪酸為花生油酸。在某些實施例中，不飽和脂肪酸為亞麻油酸。在某些實施例中，不飽和脂肪酸為油酸。在某些實施例中，不飽和脂肪酸為棕櫚油酸。在某些實施例中，不飽和脂肪酸為次亞麻油酸。在某些實施例中，不飽和脂肪酸為二十碳五烯酸。在某些實施例中，不飽和脂肪酸為二十二碳六烯酸。

在特定實施例中，脂肪酸為棕櫚酸。在特定實施例中，脂肪酸為硬脂酸。

在某些實施例中，C端胺基酸藉由C端醯胺修飾。在一些此等實施例中，C端胺基酸為麩胺酸。

1.1.4. 單一域ApoC-II擬肽

在一些實施例中，apoC-II擬肽由一個螺旋域組成。在一些此等實施例中，螺旋域為兩親性的。在一些其他此等實施例中，螺旋域為球狀螺旋。在某些實施例中，apoC-II擬肽為apoC-II蛋白之天然螺旋3。apoC-II蛋白之螺旋3由胺基酸殘基65-74/75 (SEQ ID NO: 5)組成，其根據胺基酸在成熟79個胺基酸apoC-II蛋白中之位置編號。在某些其他實施例中，apoC-II擬肽為apoC-II之螺旋3之變體。

在一些實施例中，apoC-II之螺旋3之變體不多於40個胺基酸，諸如不多於30個胺基酸或不多於20個胺基酸。在一些實施例中，apoC-II之螺旋3之變體包含apoC-II之天然螺旋3之修飾。在各種實施例中，修飾包括伸長、截斷、突變及化學修飾。

1.1.4.1. ApoC-II之螺旋3之伸長

在某些實施例中，apoC-II之螺旋3之變體包含apoC-II之螺旋3之伸長。在一些實施例中，伸長增加螺旋3之變體針對結合至脂蛋白之親和力。在一些實施例中，伸長增加apoC-II之螺旋3之變體針對藉由LPL而活化脂肪分解之能力。

在一些實施例中，apoC-II之螺旋3在N端伸長。在各種實施例中，apoC-II之螺旋3在N端伸長1-20個胺基酸。在一些此等實施例中，apoC-II之螺旋3在N端伸長1-10個胺基酸。在某些實施例中，apoC-II之螺旋3在N端伸長1個胺基酸。在某些實施例中，apoC-II之螺旋3在N端伸長2個胺基酸。在某些實施例中，apoC-II之螺旋3在N端伸長3個胺基酸。在某些實施例中，apoC-II之螺旋3在N端伸長4個胺基酸。在某些實施例中，apoC-II之螺旋3在N端伸長5個胺基酸。在某些實施例中，apoC-II之螺旋3在N端伸長6個胺基酸。在某些實施例中，apoC-II之螺旋3在N端伸長7個胺基酸。在某些實施例中，apoC-II之螺旋3在N端伸長8個胺基酸。在某些實施例中，apoC-II之螺旋3在N端伸長9個胺基酸。在某些實施例中，apoC-II之螺旋3在N端伸長10個胺基酸。

在一些實施例中，apoC-II之螺旋3在C端伸長。在各種實施例中，apoC-II之螺旋3在C端伸長1-20個胺基酸。在一些此等實施例中，apoC-II之螺旋3在C端伸長1-10個胺基酸。在某些實施例中，apoC-II之螺旋3在C端伸長1個胺基酸。在某些實施例中，apoC-II之螺旋3在C端伸長2個胺基酸。在某些實施例中，apoC-II之螺旋3在C端伸長3個胺基酸。在某些實施例中，apoC-II之螺旋3在C端伸長4個胺基酸。在某些實施例中，apoC-II之螺旋3在C端伸長5個胺基酸。在某些實施例中，apoC-II之螺旋3在C端

伸長6個胺基酸。在某些實施例中，apoC-II之螺旋3在C端伸長7個胺基酸。在某些實施例中，apoC-II之螺旋3在C端伸長8個胺基酸。在某些實施例中，apoC-II之螺旋3在C端伸長9個胺基酸。在某些實施例中，apoC-II之螺旋3在C端伸長10個胺基酸。

在某些實施例中，apoC-II之螺旋3在N端及C端兩者處伸長。在特定實施例中，apoC-II之螺旋3在N端伸長6個胺基酸且在C端處伸長4個胺基酸。在一些此等實施例中，當apoC-II之螺旋3在C端伸長4個胺基酸時，胺基酸自N端至C端為精胺酸、甘胺酸、麩胺酸及麩胺酸。在一些此等實施例中，當apoC-II之螺旋3在N端伸長6個胺基酸時，胺基酸自N端至C端為丙胺酸、甲硫胺酸、絲胺酸、蘇胺酸、酪胺酸及蘇胺酸。在一些其他此等實施例中，當apoC-II之螺旋3在N端伸長6個胺基酸時，胺基酸自N端至C端為丙胺酸、離胺酸、絲胺酸、蘇胺酸、酪胺酸及蘇胺酸。

1.1.4.2. ApoC-II之螺旋3之突變

在某些實施例中，apoC-II之螺旋3之變體包含apoC-II之螺旋3之至少一個突變。在一些實施例中，突變增加螺旋3之變體針對結合至脂蛋白之親和力。在一些實施例中，突變增加apoC-II之螺旋3之變體針對藉由LPL而活化脂肪分解之能力。

在某些實施例中，apoC-II之螺旋3之變體包含apoC-II之螺旋3之一個突變。在某些實施例中，apoC-II之螺旋3之變體包含apoC-II之螺旋3之兩個突變。在某些實施例中，apoC-II之螺旋3之變體包含apoC-II之螺旋3之三個突變。在某些實施例中，apoC-II之螺旋3之變體包含apoC-II之螺旋3之四個突變。在某些實施例中，apoC-II之螺旋3之變體包含apoC-II之螺旋3之五個突變。在某些實施例中，apoC-II之螺旋3之變體包含apoC-II之

螺旋3之多於五個突變。

在一些實施例中，突變為胺基酸取代。在一些實施例中，突變為胺基酸插入。在一些實施例中，突變為胺基酸缺失。

在一些實施例中，apoC-II之螺旋3之初始胺基酸經天然胺基酸取代。在一些實施例中，apoC-II之螺旋3之初始胺基酸經非天然胺基酸取代。在一些實施例中，apoC-II之螺旋3之初始胺基酸經胺基酸類似物取代。

在各種實施例中，胺基酸取代為保守或半保守取代。在一些實施例中，胺基酸取代對於所得肽之活性及/或結構具有極小影響。在某些實施例中，胺基酸取代保持取代區域中之肽主鏈之結構，例如保持為螺旋構形。在某些實施例中，胺基酸取代保持靶位點處之分子之電荷或疏水性。在某些實施例中，胺基酸取代保持大多數胺基酸側基。

在各種實施例中，胺基酸取代為非保守取代。在一些實施例中，胺基酸取代產生肽特性之顯著改變。在某些實施例中，親水性殘基經疏水性殘基取代。在某些其他實施例中，疏水性殘基經親水性殘基取代。在某些實施例中，半胱胺酸或脯胺酸經另一殘基取代。在某些其他實施例中，非半胱胺酸或非脯胺酸經半胱胺酸或脯胺酸取代。在某些實施例中，具有正電性側基之殘基經負電性殘基取代。在某些其他實施例中，具有負電性側基之殘基經正電性殘基取代。在某些實施例中，具有大型側基之殘基經不具有側基之殘基取代。在某些其他實施例中，不具有側基之殘基經具有大型側基之殘基取代。

1.1.4.3. ApoC-II之螺旋3之變體之化學修飾

在某些實施例中，apoC-II之螺旋3之變體包含至少一個化學修飾。

在一些實施例中，化學修飾增加螺旋3之變體針對結合至脂蛋白之親和力。在一些實施例中，化學修飾增加螺旋3之變體針對藉由LPL而活化脂肪分解之能力。

在一些實施例中，化學修飾在apoC-II之螺旋3之變體之N端。在一些實施例中，化學修飾在apoC-II之螺旋3之變體之C端。在各種實施例中，N端之胺基端及/或C端之羧基端可藉由與各種官能基之結合來修飾。脂蛋白元之合成肽模擬物之末端電荷之中和已展示增加其脂質親和力(Yancey等人，*Biochem.* 34:7955-7965, 1995；Venkatachalapathi等人，*Protein: Structure, Function and Genetics* 15:349-359, 1993)。舉例而言，兩親性肽之胺基末端之乙醯化增加肽之脂質親和力(Mishra等人，*J. Biol. Chem.* 269:7185-7191, 1994)。其他可能末端修飾描述於例如Brouillette等人，*Biochem. Biophys. Acta* 1256: 103-129, 1995；Mishra等人，*J. Biol. Chem.* 269:7185-7191, 1994；以及Mishra等人，*J. Biol. Chem.* 270:1602-1611, 1995中。

在一些實施例中，化學修飾在apoC-II之螺旋3之變體之胺基酸側基處。胺基酸側基處之修飾包括但不限於離胺酸ε-胺基之醯化；精胺酸、組胺酸或離胺酸之N-烷化；麩胺酸或天冬胺酸羧酸基之烷化；經由離胺酸ε-胺基與麩胺酸或天冬胺酸側基羧基之環化形成內醯胺；烴「切斷」(例如以使α螺旋構形穩定)；及麩醯胺酸或天冬醯胺之去醯胺。在一些實施例中，apoC-II之螺旋3之變體藉由用其他側基(諸如烷基，低碳烷基、環狀4-、5-、6-至7-員烷基，醯胺，醯胺低碳烷基，醯胺二(低碳烷基)，低碳烷氧基，羥基，羧基及其低碳酯衍生物)及用4-、5-、6-至7-員雜環族化合物置換一或多個側基來修飾。舉例而言，可製備脯胺酸類似物，其中脯胺

酸殘基之環大小自5員環改變為4-、6-或7-員環。環狀基團可為飽和或不飽和的，且若為不飽和的，則可為芳族或非芳族。雜環基可含有一或多個氮、氧及/或硫雜原子。此類基團之實施例包括呋呫基、呋喃基、咪唑啶基、咪唑基、二氫咪唑基、異噻唑基、異噁唑基、嗎啉基(例如嗎啉基(morpholino))、噁唑基、哌嗪基(例如1-哌嗪基)、哌啶基(例如1-哌啶基、哌啶基(piperidino))、哌喃基、吡嗪基、吡唑啶基、吡唑啉基、吡唑基、噠嗪基、吡啶基、嘧啶基、吡咯啶基(例如1-吡咯啶基)、吡咯啉基、吡咯基、噻二唑基、噻唑基、噻吩基、硫代嗎啉基(例如硫代嗎啉基(thiomorpholino))及三唑基。此等雜環基可經取代或未經取代。當基團經取代時，取代基可為烷基、烷氧基、鹵素、氧、或經取代或未經取代之苯基。肽以及肽類似物及模擬物亦可共價鍵結至各種非蛋白質聚合物(例如聚乙二醇、聚丙二醇或聚氧化烯)中之一或多者，如美國專利第4,640,835號、第4,496,689號、第4,301,144號、第4,670,417號、第4,791,192號及第4,179,337號中所描述。

在某些實施例中，化學修飾為非共價修飾。在某些其他實施例中，化學修飾為共價連接的。在各種實施例中，化學修飾可為磷酸化、糖基化或脂質化。

在一些實施例中，化學修飾為脂肪酸之共價連接。在某些實施例中，脂肪酸為飽和的。在某些其他實施例中，脂肪酸為不飽和的。

在各種實施例中，脂肪酸包含2至30個碳，諸如4至26個碳、6至24個碳、10至20個碳、12至18個碳及14至16個碳。在某些實施例中，脂肪酸包含6個碳。在某些實施例中，脂肪酸包含7個碳。在某些實施例中，脂肪酸包含8個碳。在某些實施例中，脂肪酸包含9個碳。在某些實施例中，脂

肪酸包含10個碳。在某些實施例中，脂肪酸包含11個碳。在某些實施例中，脂肪酸包含12個碳。在某些實施例中，脂肪酸包含13個碳。在某些實施例中，脂肪酸包含14個碳。在某些實施例中，脂肪酸包含15個碳。在某些實施例中，脂肪酸包含16個碳。在某些實施例中，脂肪酸包含17個碳。在某些實施例中，脂肪酸包含18個碳。在某些實施例中，脂肪酸包含19個碳。在某些實施例中，脂肪酸包含20個碳。在某些實施例中，脂肪酸包含21個碳。在某些實施例中，脂肪酸包含22個碳。在某些實施例中，脂肪酸包含23個碳。在某些實施例中，脂肪酸包含24個碳。

在一些實施例中，不飽和脂肪酸具有1、2、3、4、5或6個雙鍵。在某些實施例中，不飽和脂肪酸為花生油酸。在某些實施例中，不飽和脂肪酸為亞麻油酸。在某些實施例中，不飽和脂肪酸為油酸。在某些實施例中，不飽和脂肪酸為棕櫚油酸。在某些實施例中，不飽和脂肪酸為次亞麻油酸。在某些實施例中，不飽和脂肪酸為二十碳五烯酸。在某些實施例中，不飽和脂肪酸為二十二碳六烯酸。

在特定實施例中，脂肪酸為棕櫚酸。在特定實施例中，脂肪酸為硬脂酸。

在某些實施例中，經分離apoC-II擬肽包含共價連接至N端胺基酸之硬脂酸。在一些此等實施例中，N端胺基酸為丙胺酸。

在某些實施例中，經分離apoC-II擬肽包含共價連接至離胺酸殘基之側基之硬脂酸。在特定實施例中，當經分離apoC-II擬肽包含位置60處之離胺酸時，硬脂酸共價連接至離胺酸殘基。在特定實施例中，當經分離apoC-II擬肽包含位置76處之離胺酸時，硬脂酸共價連接至離胺酸殘基。

1.1.5. ApoC-II擬肽之製備

本文亦揭示用於製造經分離apoC-II擬肽之方法。

1.1.5.1. 重組合成

在某些實施例中，以重組方式製造經分離apoC-II擬肽，例如使用細菌、酵母菌或真核表現系統。

對於重組製造，將編碼單一或多域肽之聚核苷酸序列插入至適當表現媒介物中，該媒介物亦即含有用於轉錄及轉譯所插入編碼序列之必需元件的載體，或在RNA病毒載體之情況下，其含有用於複製及轉譯的必需元件。接著，將表現媒介物轉染至將表現單一或多域肽之適合靶細胞中。視所使用之表現系統而定，接著，藉由在此項技術中公認之步驟分離所表現肽。用於重組蛋白及肽生產之方法為此項技術中所熟知。

為了提高生產效率，可將聚核苷酸設計成編碼由酶裂解位點分隔之單一或多域肽之多個單位。可裂解(例如藉由用適當酶處理)所得多肽以恢復肽單位。此可提高由單一啟動子驅動之肽的產量。在一些實施例中，可設計多順反子聚核苷酸，使得轉錄編碼多種肽，各編碼區可操作地連接至端帽獨立轉譯控制序列(例如內部核糖體進入位點(IRES))的單一mRNA。當用於適當病毒表現系統中時，在轉錄中例如由IRES內部導引由mRNA編碼之各肽之轉譯。因此，多順反子的構築體導引單一大型多順反子mRNA之轉錄，該單一大型多順反子mRNA轉而導引多種個別肽之轉譯。此方法消除多肽之產生及酶處理，且可顯著地增加由單一啟動子驅動之肽的產量。

可使用各種宿主表現載體系統以表現本文中所描述之肽。此等包括但不限於微生物，諸如用含有適當編碼序列之重組噬菌體DNA或質體DNA表現載體轉化的細菌；用含有適當編碼序列之重組酵母菌或真菌表

現載體轉化之酵母菌或絲狀真菌；用含有適當編碼序列之重組病毒表現載體(例如桿狀病毒)轉染的昆蟲細胞系統；用重組病毒表現載體(例如花椰菜嵌紋病毒(CaMV)或菸草花葉病毒(TMV))轉染或用含有適當編碼序列之重組質體表現載體(例如Ti質體)轉化的植物細胞系統；或動物細胞系統。

表現系統之表現元件之其強度及特異性不同。視所使用之宿主/載體系統而定，多種適合轉錄及轉譯元件(包括組成性及誘導型啟動子)中之任一者可用於表現載體。舉例而言，當在細菌系統中選殖時，可使用誘導型啟動子，諸如噬菌體λ之pL、plac、ptrp、ptac (ptrp-lac雜合啟動子)及其類似物。當在昆蟲細胞系統中選殖時，可使用啟動子，諸如桿狀病毒多面體啟動子。當在植物細胞系統中選殖時，可使用源於植物細胞基因組(例如熱休克啟動子，RUBISCO之小型次單元之啟動子、葉綠素a/b結合蛋白之啟動子)或源於植物病毒(例如CaMV之35S RNA啟動子、TMV之鞘蛋白啟動子)之啟動子。當在哺乳動物細胞系統中選殖時，可使用源於哺乳動物細胞基因組(例如金屬硫蛋白啟動子)或源於哺乳動物病毒(例如腺病毒晚期啟動子、痘苗病毒7.5 K啟動子)之啟動子。

1.1.5.2. 化學合成

在某些其他實施例中，藉由化學合成來製造經分離apoC-II擬肽。在一些實施例中，使用液相肽合成技術製造肽。在一些其他實施例中，使用固相肽合成技術製造肽。

可藉由此項技術中熟知之自動化固相步驟合成具有D-或L-組態的肽。可藉由利用「Boc」或「Fmoc」步驟進行適合合成。固相合成之技術及步驟為此項技術中熟知的。亦可藉由如例如以下中所描述之片段縮合方法來製備單一及多域肽：Liu等人，*Tetrahedron Lett.* 37:933-936, 1996；

Baca等人，*J. Am. Chem. Soc.*117: 1881-1887, 1995；Tam等人,*Int. J. Peptide Protein Res.* 45:209-216, 1995；Schnolzer及Kent, *Science* 256:221-225, 1992；Liu及Tam, *J. Am. Chem. Soc.* 116:4149-4153,1994；Liu及Tam, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 91:6584-6588, 1994；以及Yamashiro及Li, *Int. J. Peptide Protein Res.*31:322-334, 1988。對於含有甘胺酸之肽之情況尤其如此。適用於合成本發明之單一及多域肽之其他方法描述於Nakagawa等人，*J. Am. Chem. Soc.* 107:7087-7092, 1985中。

一般熟習肽及肽類似物合成技術者已知之其他例示性技術由Bodanszky, M.及Bodanszky, A., *The Practice of Peptide Synthesis*, Springer Verlag, New York, 1994；及由Jones, *J., Amino Acid and Peptide Synthesis*, 第2版, Oxford University Press, 2002所教示。Bodanszky及Jones參考案詳述了用於活化及偶合胺基酸與胺基酸衍生物之參數及技術。此外，參考案教示如何選擇、使用及移除各種適用官能基團及保護基團。

具有D-或L-組態之肽亦可購自合成肽之商業供應商。此類供應商包括例如Advanced ChemTech (Louisville, KY)、Applied Biosystems (Foster City, CA)、Bachem (Torrance, CA)、Anaspec (San Jose, CA)及Cell Essentials (Boston, MA)。

1.1.6. ApoC-II擬肽之純化

可藉由此項技術中熟知之許多技術來純化本發明之肽或肽類似物，諸如逆相層析、高效液相層析、離子交換層析、尺寸排外層析、親和性層析、凝膠電泳及類似方法。用於純化特定單一或多域肽或肽類似物之實際

條件將部分上視合成策略及諸如淨電荷、疏水性、親水性及其類似者之因素而定，且對於一般熟習此項技術者將為顯而易見的。

在各種實施例中，經分離apoC-II擬肽進一步包含純化標籤。在一些實施例中，純化標籤為聚組胺酸標籤、myc標籤或HA標籤。

1.2. 醫藥組合物

本文亦提供藥物組合物，其包含本文中所描述之一或多種經分離apoC-II擬肽及醫藥學上可接受之載劑。

可提供活性肽(例如不破壞或損害載劑內之肽)之任何載劑為適合載劑，且此類載劑為此項技術中所熟知。可例如使用目前用於調配其他治療性肽之任何配方來調配apoC-II擬肽，該等其他治療性肽諸如胰島素、GLP-1促效劑及FDA批准之治療性肽及蛋白質之THPdb資料庫中揭示的所有經批准肽(crdd.osdd.net/raghava/thpdb/)。

基於apoC-II擬肽之醫藥組合物可呈固體、半固體或液體劑型形式，諸如散劑、溶液、酏劑、糖漿、懸浮液、乳膏、滴劑、膏體及噴霧劑。如熟習此項技術者可認識到，視所選擇投藥途徑而定，決定組合物形式。

在一些實施例中，調配組合物以用於藉由任何合適的途徑投與，該途徑包括但不限於經口(例如呈錠劑、膠囊、粒劑或散劑形式)、舌下、經頰、非經腸(諸如藉由皮下、靜脈內、肌肉內、皮內或胸骨內注射或輸注(例如呈無菌可注射水性或非水性溶液或懸浮液等))、經鼻(包括向鼻膜投與，諸如藉由吸入噴霧劑)、體表(諸如呈乳膏或軟膏形式)、經皮(諸如藉由經皮貼片)、經直腸(諸如呈栓劑形式)或藉由在特定位點處手術移植等。

在某些實施例中，調配藥物組合物以變得適合於皮下注射。

1.3. 治療方法

本文亦提供用於治療脂質異常性及血管病症之方法，該等病症包括但不限於高脂質血症、高脂蛋白血症、高膽固醇血症、高三酸甘油酯血症、HDL缺陷、冠狀動脈疾病、動脈粥樣硬化、血栓性中風、周邊血管疾病、再狹窄、急性冠狀動脈症候群及再灌注心肌損傷。

在一些實施例中，方法包含向患有高三酸甘油酯血症之病患投與如本文中所描述之肽或醫藥組合物。

在一些實施例中，患者處於發展高三酸甘油酯血症之風險下。

在各種實施例中，基於禁食血漿或血清TG濃度高於某一含量，患者患有高三酸甘油酯血症。在一些實施例中，如治療前血清三酸甘油酯(TG)濃度在150 mg/dL與199 mg/dL之間所定義，患者患有輕度高三酸甘油酯血症。在一些實施例中，如治療前血清三酸甘油酯(TG)濃度在200 mg/dL與999 mg/dL之間，諸如在200 mg/dL與499 mg/dL之間及在500 mg/dL與999 mg/dL之間所定義，患者患有中度高三酸甘油酯血症。在一些實施例中，如治療前血清三酸甘油酯(TG)濃度在1000 mg/dL與1999 mg/dL之間所定義，患者患有重度高三酸甘油酯血症。在一些實施例中，如治療前血清三酸甘油酯(TG)濃度等於或高於2000 mg/dL所定義，患者患有極重度高三酸甘油酯血症。

在一些實施例中，患者具有高於正常的LDL-c含量。在一些其他實施例中，患者具有低於正常的HDL-c含量。

在某些實施例中，高三酸甘油酯血症由LPL缺陷引起。在一些此等實施例中，患者之高三酸甘油酯血症為家族性脂蛋白脂肪酶缺陷。

在一些實施例中，LPL缺陷由基因突變引起。在一些此等實施例中，

藉由DNA序列分析來偵測基因突變。在各種實施例中，LPL缺陷由LPL、APOC2、APOA5、GPIHBP1或LMF1基因中之突變引起。

在某些實施例中，LPL缺陷由LPL基因中之突變引起。在一些此等實施例中，突變使得LPL酶活性降低。在一些此等實施例中，突變使得LPL酶活性不存在。

在某些實施例中，患者之高三酸甘油酯血症為單基因性的。在某些其他實施例中，患者之高三酸甘油酯血症為多基因性的。在某些實施例中，突變呈純合狀態。在某些實施例中，突變呈雜合狀態。

在一些實施例中，藉由在患者血清中不存在LPL活性來診斷LPL缺陷。

在某些實施例中，高三酸甘油酯血症由apoC-II缺陷引起。在某些實施例中，高三酸甘油酯血症由apoC-III提高引起。

在一些實施例中，患者患有糖尿病。在一些實施例中，患者患有代謝症候群。在一些此等實施例中，代謝症候群為肥胖。在一些實施例中，患者患有胰臟炎。在一些此等實施例中，患者患有急性胰臟炎。在一些實施例中，患者患有脂肪變性或脂肪變性肝炎。在一些此等實施例中，脂肪變性或脂肪變性肝炎為酒精相關的。在一些此等實施例中，脂肪變性或脂肪變性肝炎為非酒精性的。在一些實施例中，患者患有心血管疾病。在一些此等實施例中，患者患有急性心血管疾病。在一些實施例中，患者患有關節硬化。在一些實施例中，患者已進行會導致高三酸甘油酯血症之藥物治療。

在某些實施例中，患者為成年人。在某些其他實施例中，患者為兒童。

在各種實施例中，在方案上以足以降低患者之血液三酸甘油酯含量之量及持續時間投與肽或醫藥組合物。在一些實施例中，在方案上以相比於在恰好開始治療前之含量足以降低三酸甘油酯含量至少5%、10%、15%、20%、25%或更多的量及持續時間投與多肽。在某些實施例中，在劑量方案上以足以降低三酸甘油酯含量至少30%、35%、40%、45%、50%或更多之量及持續時間投與多肽。在特定實施例中，在方案上以足以降低三酸甘油酯含量至少55%、60%、65%、70%或更多之量及時間投與多肽。

治療可由單一劑量或一段時間內之複數個劑量組成。

實例

下文為執行本發明之特定實施例之實例。該等實例僅出於說明性目的提供，且不意欲以任何方式限制本發明之範疇。已儘力確保關於所用數字(例如量、溫度等)之準確性，但當然應該允許一些實驗誤差及偏差。

除非另外指示，否則本發明之實踐應採用此項技術之技術內之蛋白質化學、生物化學、重組DNA技術及藥理學的習知方法。此類技術在文獻中充分闡述。

方法

LPL分析

LPL之製備：使用10 μL 0.5 mg/mL牛LPL之冷凍儲備液，且以1:100稀釋(10 μL + 990 μL PBS)。

20%英脫利匹特之製備：藉由用998.5 μL PBS稀釋1.5 μL儲備液，或藉由首先以1:10稀釋儲備液且接著使15 μL經稀釋儲備液與985 μL PBS混合，使用2000 mg/dL TG英脫利匹特以製備3 mg/dL TG英脫利匹特。

當apoC-II缺陷型人類血清用作受質時，藉由添加990 μL PBS (1:100稀釋)來稀釋1711 mg/dL (TG)之冷凍10 μL等分試樣。

游離脂肪酸(NEFA)分析液之製備：NEFA試劑購自Wako Diagnostics, Wako Life Sciences, Inc。藉由使著色劑A與溶劑A混合來製備試劑A (225 μL/孔)。藉由使著色劑B與溶劑B混合來製備試劑B (75 μL/孔)。藉由用180 μL 0.2% BSA稀釋20 μL 1 mM油酸儲備液(WAKO NEFA標準溶液)來製備5 nmoL油酸標準液。

LPL活性分析：在各孔中使用重複移液管添加10 μL英脫利匹特、人類血漿樣本或小鼠血漿樣本。在各孔中使用重複移液管添加10 μL (或15 μL於孔中，其中無LPL對照)PBS及10 μL 1% BSA。向豎直一式三份之對應孔(最低濃度在左側上，最高在右側上)中添加10 μL肽。以1000 RPM快速離心盤10秒，以混合各孔之溶液及自各孔壁移除溶液。將盤放置在冰上，且使用重複移液管添加5 μL LPL。以1000 RPM再次快速離心盤10秒。遮蓋上盤且放置回冰上培育30 min。接著將盤變為37℃且培育1小時。

游離脂肪酸(NEFA)分析：向對應孔中添加45 μL 5 nmoL標準液及0 nmoL對照(0.2% BSA)。在各孔中使用試劑托盤及12通道移液管添加225 μL試劑A。在向各孔使用試劑托盤及12通道移液管添加75 μL試劑B之前，培育盤10 min。由於高體積，不遮蓋盤。量測550 nm及660 nm下之吸光度。

ApoC-III置換研究

將自人類血漿分離之VLDL或乳糜微粒與apoC-II擬肽一起在37℃下培育1小時，且使用具有100 kDa截止值之膜之旋轉過濾器用PBS洗滌3

次。用PBS將上清液調至初始體積，且負載至4-12% Bis-TRIS SDS PAGE凝膠。藉由其對應大小鑑別ApoC-I、apoC-II、apoC-III及apoE條帶。

ApoC-III研究之抑制

使用英脫利匹特、高TG人類血漿(1:50稀釋)或apoC-III轉殖基因小鼠血漿(1:50稀釋)進行LPL分析。當英脫利匹特用作受質時，添加25或50 μM重組ApoC-III作為抑制劑。當高TG人類血漿用作受質時，在具有或不具有於37℃下預培育1小時，添加25或50 μM重組ApoC-III作為抑制劑。以各種濃度添加apoC-II擬肽。

活體內研究

C57BL/6小鼠(野生型)、apoC-II基因剔除(apoC-II KO)小鼠及apoC-III轉殖基因小鼠用於活體內研究。C57BL/6小鼠(野生型)購自Taconic Biosciences Inc。apoC-II KO小鼠如Sakurai等人，*J Pharmacol Exp Ther* 356:341-353, 2016中所描述產生。藉由在C57BL/6小鼠中過度表現人類apoC-III來產生apoC-III轉殖基因小鼠。參見Qu等人，*J. Lipid Res.* 48:1476-1487, 2007。

在研究之前使小鼠禁食隔夜(大致12小時)且次日在研究期間禁食6小時。合成製造apoC-II擬肽且不含生物雜質(不可用作FDA批准之化合物/治療)。製造肽，且在無菌條件下使用，且在以皮下注射(S.Q.或S.C.)、腹膜內注射(I.P.)或靜脈內注射(I.V.) (呈無菌醫藥級別PBS溶液，體積≤200 μL)中之任一者投與以單一劑量1-10 μmol/kg體重(B. W.)注射之前由0.2 nm過濾器過濾，如Sakurai等人，*J Pharmacol Exp Ther* 356:341-353, 2016中所描述。

活體內英脫利匹特研究

在一些實驗中，藉由呈10-20微升/公克體重(B. W.)之劑量經口管飼(使用特定無菌單一用途無毒動物進食針) (Tuzcu等人. *Drug Chem Toxicol* 37: 261-267, 2014；Kusminski 等人，*Nature Medicine* 18: 1539-1549, 2012)，或藉由腹膜內注射0.1-1.0 mL之單一藥團(Mahadero等人. *American J Surgery* 164: 45-50, 1992)，或藉由呈10-20微升/公克體重之單一劑量胃內投與營養性市售可得的液體油(食品級植物、玉米、大豆或橄欖油)，各動物接受呈單一劑量之20%英脫利匹特(FDA批准，Fresenius Kabi, Uppsala, Sweden)。當所吸收TG趨向於在3 h內分解(峰值在30 min)時，此等油為TG源(Kritchevsky *Nutritional Biochemistry* 6:172-178, 1995)。在以下時間點自眶後血管叢獲得血液樣本(20-30 μL)以用於量測脂：-1 h、0 h、1 h、3 h、6 h及24 h。在6 h時間點後將小鼠返回至放回食物之代謝籠。一旦研究完成(自脂投與24小時後)，將小鼠安樂死且採集器官。

在一些情況下，在另一實驗中研究之前，使小鼠返回至常規籠且另外圈養2-3週以完全恢復。存在1個對照組，其接受替代肽之無菌醫藥級別鹽水。

研究設計呈現於圖55上。

活體內曲拉通WR1339研究

評定在藉由20%英脫利匹特提供之高TG存在下，脂蛋白元擬肽使用LPL抑制劑泰洛沙泊處理之小鼠之高三酸甘油酯血症正常的能力。

在研究之前使小鼠禁食隔夜(大致12小時)且次日在研究期間禁食6小時。合成製造apo擬肽且不含生物雜質(不可用作FDA批准之化合物/治

療)。製造肽且在無菌條件下使用，且在以S.C.或I.P.或I.V. (呈無菌醫藥級別PBS溶液，體積≤200 μL)中之任一者以1-5微莫耳/公斤B.W.之單一劑量注射之前，由0.2 nm過濾器過濾。接下來，以5微升/公克B.W.之單一劑量靜脈內注射10%泰洛沙泊(曲拉通WR-1339, T-0307, Sigma-Aldrich)，如前所描述(Zhang Y.L.等人，*J Biol Chem.* 279: 19362-19374, 2004；Abe C.等人，*J. Nutr.* 137: 345-350, 2007)。泰洛沙泊為一種抑制LPL且因此自血清清除甘油三酯之非離子清潔劑(Rasouli M.等人，*J Clin. Diagn. Research.* 10: BF01-BF05, 2016)。最終，藉由呈10-20微升/公克B.W.之劑量之經口管飼(使用特定無菌單一用途無毒動物進食針) (Tuzcu K.等人，*Drug Chem Toxicol.*, 37: 261-267, 2014；Kusminski C.等人，*Nature Medicine.* 18: 1539-1549, 2012)，或藉由呈0.1-1.0 mL之單一藥團之腹膜內注射(Mahadero G.等人，*American J Surgery.* 164: 45-50, 1992)，各動物以單一劑量接受20%英脫利匹特(FDA批准，Fresenius Kabi, Uppsala, Sweden)。在以下時間點自眶後血管叢獲得血液樣本(20-30 μL)以用於量測脂：-1 h、0 h、1 h、3 h、6 h及24 h。在6 h時間點後將小鼠返回至放回食物之代謝籠。一旦研究完成(自英脫利匹特投與24小時後)，將小鼠安樂死且採集器官。

在一些情況下，在另一實驗中研究之前，使小鼠返回至常規籠且另外圈養2-3週以完全恢復。存在2個對照組，其兩者均接受替代肽或曲拉通WR1339之無菌醫藥級別鹽水。

研究設計呈現於圖56中。

肥胖猴模型中之活體內研究

選擇TG含量大於2 mmol/L之猴，且對其進行訓練並指定為3組(對

照、1 mg/kg δ6PV及5 mg/kg δ6PV)。在0 h時間點將所需劑量靜脈內注射至動物中。在72小時病程內監測猴，且在不同時間點採集血液樣本以用於生物標記分析。

實例1：肽設計

脂蛋白元C-II (apoC-II)為一種脂蛋白脂肪酶(LPL)之生理活化劑，且其可促進脂蛋白中之三酸甘油酯之水解。功能性apoC-II之缺乏導致重度高三酸甘油酯血症，類似於對於LPL之遺傳缺陷所看到的(Breckenridge等人，*N Engl J Med.* 298: 1265-1273, 1978)。

人類apoC-II之成熟形式由79個胺基酸殘基組成。已藉由各種量測來測定apoC-II之二級結構，其中殘基17-38稱為螺旋1，殘基45-57稱為螺旋2，且殘基65-74/75稱為螺旋3 (Zdunek等人，*Biochemistry* 42: 1872-1889, 2003)。在不同物種與之間，apoC-II之C端三分之一(活化LPL所需要的)比apoC-II之N端三分之二(脂質結合所需要的)更保守(Shen等人，*Gene* 254:189-198, 2000)。成熟人類apoC-II蛋白之胺基酸殘基40-58與各種物種之同源性展示於圖1上。

為了製備臨床上適用的LPL活化肽，吾人設計單螺旋及雙螺旋apoC-II擬肽。吾人向天然人類apoC-II蛋白之螺旋中引入各種修飾，諸如伸長、截斷、突變及化學修飾。

一些修飾，諸如胺基酸取代，增加apoC-II之天然胺基酸序列之疏水矩。舉例而言，如圖2A及圖2B中所展示，位置40處之D取代T、位置43處之K取代P、位置46處之F取代D及位置56處之F取代S，使胺基酸殘基40-57之疏水矩自6.04增加至9.62。如圖3A及圖3B中所展示，位置40處之D取代T、位置43處之K取代P、位置44處之E取代A、位置46處之F取代D及

位置56處之F取代S，使胺基酸殘基40-57之疏水矩自6.04增加至11.08。圖4A及圖4B展示，位置40處之D取代T、位置43處之K取代P、位置44處之E取代A、位置46處之F取代D、位置54處之E取代S及位置56處之F取代S，使胺基酸殘基40-57之疏水矩自6.04增加至12.48。

亦引入化學修飾以增加apoC-II擬肽對於脂質粒子之結合，且增強apoC-II擬肽之其他治療性特徵，諸如增加細胞滲透性及/或延長生物半衰期。圖5展示由硬脂酸修飾之apoC-II擬肽之實例。

apoC-II擬肽及其序列之清單展示於下文表2中，其中「nL」指示正白胺酸且「Aib」指示胺基異丁酸。

表2		
名稱	**序列**	**SEQ ID NO**
δ6	DYLKEVFEKLRDLYEKFTAAnLSTYTGIFTDQVLSVLKGEE	SEQ ID NO: 6
δ6V	DYLKEVFEKLRDLYEKFTAAVSTYTGIFTDQVLSVLKGEE	SEQ ID NO: 7
δ6L	DYLKEVFEKLRDLYEKFTAALSTYTGIFTDQVLSVLKGEE	SEQ ID NO: 8
δ6PV	DYLKEVFEKLRDLYEKFTPAVSTYTGIFTDQVLSVLKGEE	SEQ ID NO: 9
δ6PL	DYLKEVFEKLRDLYEKFTPALSTYTGIFTDQVLSVLKGEE	SEQ ID NO: 10
δ6MP	DYLKEVFEKLRDLYEKFTPAMSTYTGIFTDQVLSVLKGEE	SEQ ID NO: 11
δ6MPK-4R	DYLREVFERLRDLYERKTPAMSTYTGIFTDQVLSVLRGEE	SEQ ID NO: 12
δ6-NH	DYLKEVFEKLRDLYEKFTAAnLSTYTGIFTDQVLSVLKGEE$_{NH2}$	SEQ ID NO: 13
δ6b-P	DYLKEVFEKLRDLYEKK$_{C18}$TPAnLSTYTGIFTDQVLSVLKGEE	SEQ ID NO: 14
δ6b-A	DYLKEVFEKLRDLYEKK$_{C18}$TAAnLSTYTGIFTDQVLSVLKGEE	SEQ ID NO: 15
δ4	DYLKAVFEKLRDLYSKFTAAnLSTYTGIFTDQVLSVLKGEE	SEQ ID NO: 16
δ4 S15E	DYLKAVFEKLRDLYEKFTAAnLSTYTGIFTDQVLSVLKGEE	SEQ ID NO: 17
δ4 T18F	DYLKAVFEKLRDLYSKFFAAnLSTYTGIFTDQVLSVLKGEE	SEQ ID NO: 18
δ4 Y24S	DYLKAVFEKLRDLYSKFTAAnLSTSTGIFTDQVLSVLKGEE	SEQ ID NO: 19
δ4 Q31R	DYLKAVFEKLRDLYSKFTAAnLSTYTGIFTDRVLSVL	SEQ ID NO: 20

表2		
名稱	序列	SEQ ID NO
	KGEE	
δ4 Q31K	DYLKAVFEKLRDLYSKFTAAnLSTYTGIFTDKVLSVLKGEE	SEQ ID NO: 21
δ4截斷的	KRDLYEKKFAAnLSTYTGIFTDQVLSVLKGEE	SEQ ID NO: 22
單醯基δ4	$_{C18}$DYLKAVFEKLRDLYSKFTAAnLSTYTGIFTDQVLSVLKGEE	SEQ ID NO: 23
二醯基δ4	$_{C18}$DYLKAVFEKK$_{C18}$RDLYSKFTAAnLSTYTGIFTDQVLSVLKGEE	SEQ ID NO: 24
δ4b	DYLKAVFEKLRDLYSKFTPAMSTYTGIFTDQVLSVLKGEE	SEQ ID NO: 25
δ4b S15E	DYLKAVFEKLRDLYEKFTPAMSTYTGIFTDQVLSVLKGEE	SEQ ID NO: 26
δ4b S15K	DYLKAVFEKLRDLYKKFTPAMSTYTGIFTDQVLSVLKGEE	SEQ ID NO: 27
δ4b R11K	DYLKAVFEKLKDLYSKFTPAMSTYTGIFTDQVLSVLKGEE	SEQ ID NO: 28
δ4b Y2W	DWLKAVFEKLRDLYSKFTPAMSTYTGIFTDQVLSVLKGEE	SEQ ID NO: 29
δ4b T18F	DYLKAVFEKLRDLYSKFFPAMSTYTGIFTDQVLSVLKGEE	SEQ ID NO: 30
δ4b V6F/F7Y/Y14L/F17A/T18F	DYLKAFYEKLRDLLSKAFPAMSTYTGIFTDQVLSVLKGEE	SEQ ID NO: 31
δ4b-1	DYLKAVK$_{C18}$EKLRDLYSKFTPAMSTYTGIFTDQVLSVLKGEE	SEQ ID NO: 32
δ4b-2	DYLKAVFEKK$_{C18}$RDLYSKFTPAMSTYTGIFTDQVLSVLKGEE	SEQ ID NO: 33
δ4b-3	DYLKAVFEKLRDLYSKK$_{C18}$TPAMSTYTGIFTDQVLSVLKGEE	SEQ ID NO: 34
δ4c	DYLKAVFEKLRDLYSKFTAAK$_{C16}$STYTGIFTDQVLSVLKGEE	SEQ ID NO: 35
δ4c截斷3	KAVFEKLRDLYSKFTAAK$_{C16}$STYTGIFTDQVLSVLKGEE	SEQ ID NO: 36
δ4c截斷4	DVFEKLRDLYSKFTAAK$_{C16}$STYTGIFTDQVLSVLKGEE	SEQ ID NO: 37
δ4c截斷7	EKLRDLYSKFTAAK$_{C16}$STYTGIFTDQVLSVLKGEE	SEQ ID NO: 38
δ4c截斷10	RDLYSKFTAAK$_{C16}$STYTGIFTDQVLSVLKGEE	SEQ ID NO: 39
δ4c截斷11	DLYSKFTAAK$_{C16}$STYTGIFTDQVLSVLKGEE	SEQ ID NO: 40
δ4c截斷14	DKFTAAK$_{C16}$STYTGIFTDQVLSVLKGEE	SEQ ID NO: 41
δ5	DYLKEVFEKLRDLYSKFTAAnLSTYTGIFTDQVLSVLKGEE	SEQ ID NO: 42
δ5b Y2W	DWLKAVFEKLRDLYEKFTPAMSTYTGIFTDQVLSVLKGEE	SEQ ID NO: 43
δ5b T18F	DYLKAVFEKLRDLYEKFFPAMSTYTGIFTDQVLSVLKGEE	SEQ ID NO: 44
δ5b Y2W/T18F	DWLKAVFEKLRDLYEKFFPAMSTYTGIFTDQVLSVLKGEE	SEQ ID NO: 45

表2		
名稱	序列	SEQ ID NO
δ5b Y2W M21NL	DWLKAVFEKLRDLYEKFTPAnLSTYTGIFTDQVLSVLKGEE	SEQ ID NO: 46
δ5b T18F M21NL	DYLKAVFEKLRDLYEKFFPAnLSTYTGIFTDQVLSVLKGEE	SEQ ID NO: 47
δ5b Y2W/T18F M21NL	DWLKAVFEKLRDLYEKFFPAnLSTYTGIFTDQVLSVLKGEE	SEQ ID NO: 48
C2thirdhelix	AMSTYTGIFTDQVLSVLKGEE	SEQ ID NO: 49
C2thirdhelixStearylpos1	$_{C18}$AMSTYTGIFTDQVLSVLKGEE	SEQ ID NO: 50
C2thirdhelix Stearylpos2	AK$_{C18}$STYTGIFTDQVLSVLKGEE	SEQ ID NO: 51
C2thridhelix Stearylpos17	AMSTYTGIFTDQVLSVLK$_{C18}$GEE	SEQ ID NO: 52
δ6T18F-PV	DYLKEVFEKLRDLYEKFFPAVSTYTGIFTDQVLSVLKGEE	SEQ ID NO: 53
δ6T18F-PV-AIB7,17	DYLKEVAibEKLRDLYEKAibFPAVSTYTGIFTDQVLSVLKGEE	SEQ ID NO: 54
δ13-31-PV	DKVKEFLSEYWEKAKEFAPAVSTYTGIFTDQVLSVLKGEE	SEQ ID NO: 55

實例2：具有胺基酸取代之先導apoC-II擬肽在活體外促進TG水解

為了測定apoC-II擬肽對於TG水解之可能影響，吾人使用活體外脂肪分解分析評定肽之效果。

具有apoC-II缺陷型患者血清之LPL分析展示，先導apoC-II擬肽δ4、δ5及δ6以及δ4變體單醯基δ4與二醯基δ4能夠在LPL存在下促進TG水解。在較低濃度下，所測試擬肽之大部分(諸如δ4、δ5及δ6)比天然apoC-II蛋白更有效地起作用(圖6)。

使用英脫利匹特作為受質之LPL分析確認，所測試之所有apoC-II擬肽均能夠在LPL存在下促進TG水解。在約1 nM至約10 μM之間的濃度下，apoC-II擬肽δ4及δ5比天然apoC-II蛋白更有效地起作用(圖7)。

此等結果展示，先導apoC-II擬肽δ4、δ5及δ6能夠在活體外促進TG水解。

實例3：δ4及apoC-II之第三螺旋之變體在活體外促進TG水解

apoC-II蛋白之螺旋2與螺旋3之間的鉸鏈區允許兩個螺旋保持相對直鏈構形。螺旋3係以不大於約20º之角度內在不同方向上均一地彎離螺旋2。認為此構形輔助螺旋3 (其含有LPL活化域)連接至脂蛋白之膠束表面。在鉸鏈域之位置58處併入脯胺酸保留且增強該構形。δ4之變體，諸如δ4b、δ4b-1及δ4b S54E，包含位置58處之脯胺酸。

apoC-II擬肽C2thirdhelix包含apoC-II蛋白之胺基酸殘基59-79。C2thirdhelixStearylpos1、C2thirdhelixStearylpos2及C2thirdhelixStearylpos17包含在不同胺基酸殘基處C2thirdhelix之硬脂酸修飾。

如圖8中所展示，當apoC-II缺陷型患者血清用作受質時，上文所提及之apoC-II擬肽之大部分呈現在LPL存在下促進TG水解之能力。C2thirdhelix、C2thirdhelixStearylpos1、C2thirdhelixStearylpos2及C2thirdhelixStearylpos17之結果之更近查看揭露，脂質化增強C2thirdhelix促進TG水解之能力(圖9)。apoC-II擬肽δ4、δ4b及δ4b-3之比較揭露，在位置58處併入脯胺酸及在位置56處於離胺酸殘基處之硬脂酸修飾增強先導apoC-II擬肽δ4之TG清除能力(圖10)。圖11確認，apoC-II擬肽δ4b之脂質化，尤其在較低濃度下，增強其增強脂肪分解之能力。

吾人進一步測試自100 pM至10 μM之廣泛濃度範圍之apoC-II擬肽。apoC-II擬肽δ4b-1、δ4b-2、δ4b-3、δ4b、δ4b T57F及δ4以劑量依賴性方式促進TG水解。在此實驗中所測試之所有apoC-II擬肽均比全長apoC-II蛋白更有效地起作用(圖12)。

δ4c肽包含位置60處之棕櫚酸修飾之離胺酸(K)，且其衍生物包括在C端截斷3、4、7、10、11或14個胺基酸之截斷。在用apoC-II缺陷型患者血清作為受質且在自10 pM至100 μM之肽濃度範圍內之LPL分析中，δ4c

及其截斷變體促進TG水解(圖13)。

總之，此等結果展示，先導apoC-II擬肽δ4之變體及apoC-II之第三螺旋之變體可在活體外促進TG水解。

實例4：δ5之變體在活體外促進TG水解

對於apoC-II擬肽Delta5b (其包含位置58處之脯胺酸及位置60處之甲硫胺酸)進行其他胺基酸取代。

使用apoC-II缺陷型患者血清作為受質進行LPL分析。在自100 pM至10 nM之濃度範圍內測試肽。如圖14中所展示，具有所指示胺基酸取代之δ5之所有變體及δ6均呈現以劑量依賴性方式促進TG水解的能力。

此等結果展示，先導apoC-II擬肽δ5之變體能夠在活體外促進TG水解。

實例5：δ6之變體在活體外促進TG水解

先導apoC-II擬肽δ6經進一步修飾以更適合於重組表現。δ6L包含位置60處之白胺酸(L)殘基。δ6PV包含位置58處之脯胺酸(P)及位置60處之纈胺酸(V)。δ6PV包含位置58處之脯胺酸(P)及位置60處之白胺酸(V)。相比於δ6PV，δ6T18F-PV進一步包含位置57處之苯丙胺酸(F)。相比於δ6PV，δ6T18F-PV-AIB7,17進一步包含位置46及56處之胺基異丁酸(Aib)及位置57處之苯丙胺酸(F)。

如圖15A至圖15D中所展示，當高三酸甘油酯血症患者血清用作受質時，δ6肽及其變體δ6L、δ6PV及δ6PL在活體外活化LPL。患者血清之三酸甘油酯濃度範圍為約1000 mg/dL至約1700 mg/dL。

吾人進一步測試在自10 pM至10 μM之廣泛濃度範圍中之δ6肽及其變體δ6PV活性。ApoC-II缺陷型患者血清用作受質。如圖51中所展示，δ6及

δ6PV比全長apoC-II蛋白更有效地在活體外活化LPL。

另外，在血清樣本來自apoC-II缺陷型患者下，δ6變體δ6PV、δ6T18F-PV及δ6T18F-PV-AIB7,17在活體外活化LPL(圖52)。

吾人生成apoC-II擬肽δ13-31-PV，其包含apoC-II之螺旋1之變體。δ13-31-PV 具 有 DKVKEFLSEYWEKAKEFAPAVSTYTGIFTDQVLSVLKGEE (SEQ ID NO: 55)之序列，其中apoC-II之螺旋1之胺基酸取代加底線。δ13-31-PV肽在活體外以劑量依賴性方式促進TG水解(圖52)。

此等結果展示，先導apoC-II擬肽δ6及apoC-II擬肽之變體包含能夠在活體外促進TG水解之apoC-II之螺旋1的變體。

實例6：δ4及其變體在活體內增強脂肪分解

ApoC-II為一種脂蛋白脂肪酶(水解甘油三酯之酶)的輔因子。ApoC-II缺陷導致人類個體之高三酸甘油酯血症。如Sakurai等人，*J Pharmacol Exp Ther* 356:341-353, 2016中所描述，吾人創造具有高血漿TG之apoC-II基因剔除小鼠。

將ApoC-II擬肽δ4皮下注射至apoC-II基因剔除小鼠中，且隨著時間推移監測血漿脂質(圖16)。注射δ4使得血漿TG之迅速及明顯減少。皮下注射δ4亦使得總膽固醇含量降低(圖17)。

亦用δ4肽腹膜內注射apoC-II基因剔除小鼠(圖18及圖19)。類似地，δ4注射使得血漿TG明顯減少，其中最大降低在約3小時後。腹膜內注射亦使得總膽固醇含量降低。

亦測試δ4衍生物δ4b及δ4b-3之其在活體內促進TG水解的能力(圖20)。在經口管飼植物油之後，在C57BL/6小鼠中血清TG在3 h增加約4.5倍。當在管飼之前30 min用apoC-II擬肽δ4、δ4b或δ4b-3腹膜內注射小鼠

時，TG增加顯著降低。

此等結果展示，apoC-II擬肽δ4及其變體具有增強活體內脂肪分解之能力。

實例7：δ6及其變體增強活體內脂肪分解

將ApoC-II擬肽δ6腹膜內注射至apoC-II基因剔除小鼠中，且隨著時間推移監測血漿脂質(圖21)。注射δ6使得血漿TG之迅速及明顯減少。腹膜內注射δ6亦使得總膽固醇含量降低(圖22)。

如圖23中所展示，將三個不同劑量之δ6肽(0.25、0.5及1 μmol/kg體重)腹膜內注射至apoC-II基因剔除小鼠中，且隨著時間推移監測血漿TG。所有δ6劑量均使得血漿TG之迅速及明顯減少。

亦測試在0.25 μmol/kg體重之濃度下，δ6之變體δ6b-A、δ6b-P及δ6-NH之其增強活體內脂肪分解之能力。所有δ6變體均使得在其腹膜內注射之後apoC-II基因剔除小鼠之血漿TG之顯著減少(圖24)。

如圖53中所展示，將δ6變體δ6PV及δ6-T18F-PV以0.1 μmol/kg體重腹膜內注射至apoC-II基因剔除小鼠中，且隨著時間推移監測血漿TG。δ6PV及δ6-T18F-PV兩者均導致apoC-II基因剔除小鼠之血漿TG之迅速減少，其中最大減少在肽注射後約6小時。

此等結果展示，apoC-II擬肽δ6及其變體具有增強活體內脂肪分解之能力。

實例8：藉由ApoC-II擬肽置換ApoC-III

ApoC-III通常與三酸甘油酯富含脂蛋白結合，且已鑑別為血漿TG含量之強效調節劑。ApoC-III經由各種機制調節血漿TG含量，包括抑制脂蛋白脂肪酶(LPL)活性及對於TG清除之LPL獨立效果。吾人研究apoC-II

擬肽對於置換apoC-III之效果。

自具有不同濃度之apoC-II擬肽δ6之人類血漿分離之VLDL及乳糜微粒的培育展示，針對VLDL及乳糜微粒，δ6比脂蛋白元具有更高的親和力(圖25)。類似地，自具有δ6及其衍生物δ6-A、δ6-P及δ6-NH之人類血漿分離之VLDL的培育展示，δ6及衍生物能夠置換apoC-III (圖26)。

如圖27中所展示，利用高三酸甘油酯血症患者血清進行活體外LPL分析。ApoC-II擬肽δ4及δ6增加具有高apoC-III蛋白含量之患者之LPL活性。

此等結果展示，apoC-II擬肽δ4、δ6及其變體能夠置換具有高apoC-III蛋白之患者血清中之apoC-III且增強活體外脂肪分解。

實例9：藉由ApoC-II-a肽置換ApoC-III

吾人研究apoC-II-a肽對於置換apoC-III之效果。

自具有外源性apoC-II-a肽之人類血漿分離之VLDL的培育展示，針對VLDL，apoC-II-a比脂蛋白元具有更高的親和力(圖28)。MALDI-TOF質譜分析分析展示，apoC-II-a肽選擇性地置換apoC-III及apoC-I，但不置換apoC-II (圖29A)。有趣的是，apoC-II-a肽與VLDL之結合幾乎與其濃度成比例(圖29B)。

自具有外源性apoC-II-a肽之人類血漿分離之乳糜微粒的培育展示，針對乳糜微粒，apoC-II-a比脂蛋白元具有更高的親和力(圖30)。

使用英脫利匹特作為受質進行LPL分析。如圖31中所展示，apoC-III抑制游離脂肪酸(NEFA)之產生。添加apoC-II-a肽克服apoC-III之抑制性效果，且以劑量依賴性方式有助於脂肪分解。

亦使用高TG人類血漿作為1:50稀釋之受質進行LPL分析。結果展示

於圖32上。當添加50 μM apoC-III重組蛋白時，游離脂肪酸(NEFA)產量自約3.2 μM降至約1.7 μM。以各種濃度添加apoC-II-a肽。在0.01 μM濃度下，其開始影響脂肪分解。在約0.2 μM濃度下，其克服apoC-III之抑制性效果。較高apoC-II-a濃度進一步有助於脂肪分解。將apoC-III與人類血漿一起預培育並不改變apoC-II-a肽之效果。

吾人亦測試來自過度表現人類apoC-III之轉殖基因小鼠的血漿。血漿中之apoC-III抑制脂肪分解，與高濃度apoC-III導致高三酸甘油酯血症之已知能力一致。在使用來自apoC-III轉殖基因小鼠之血漿之LPL分析中，在所有三個轉殖基因小鼠血漿樣本中，apoC-II-a肽均克服apoC-III之表現提高之抑制性效果(圖33)。

實例10：藉由除脂蛋白脂肪酶活化以外之機制，ApoC-II-a鈍化小鼠之餐後高三酸甘油酯血症

餐後高三酸甘油酯血症為一種重要的心血管疾病(CVD)風險因素。吾人最近描述一種活化apoC-II-KO小鼠中之LPL且降低血清TG的apoC-II擬肽(apoC-II-a)。為了研究作為用於餐後高三酸甘油酯血症之療法之apoC-II-a，吾人研究其在脂刺激測試之後對於若干個小鼠模型的效果。

在經口管飼植物油(10微升/公克)之後，在C57BL/6小鼠中，血清TG在3 h增加至少5倍，但當在管飼apoC-II-a (1 μmoL/kg；IP或SQ)之前30 min注射小鼠時，餐後TG上升幾乎完全鈍化。小鼠血清中之餐後TG含量展示於圖34A及圖34B中。在apoE-KO小鼠中發現類似結果，指示apoC-II-a之效果不依賴於apoE (未展示)。ApoC-II-a在TG吸收之層級上似乎不起作用，此係因為其在IP注射20%英脫利匹特之後亦快速加速TG之血清清除。向在IP注射英脫利匹特後採集之血清樣本中添加外源性LPL揭露，

來自用apoC-II-a處理之小鼠的脂蛋白粒子為LPL的較佳受質。

當用LPL抑制劑曲拉通WR1339共注射小鼠時，在IP注射英脫利匹特後血清TG之上升僅部分地阻斷約50%，指示apoC-II-a另外藉由LPL獨立機制其作用。圖34A及圖34B展示具有或不具有曲拉通共注射之小鼠血清中之餐後TG的比較。將人類血清與外源性apoC-II-a以與達成小鼠活體內相當的劑量培育展示，apoC-II-a結合至所有脂蛋白(包括HDL)，且引起apoC-I及apoC-III之置換。此外，由添加外源性apoC-III之LPL之活體外抑制可藉由以相比於apoC-III至少1:10的莫耳比添加apoC-II-a來克服。

總之，相對較低劑量下之apoC-II-a擬肽可加速脂負載後之餐後TG的清除。因此，如所預期，其部分地活化LPL進行。然而，出乎意料地，吾人發現，apoC-II-a亦藉由緩解藉由apoC-III之LPL之抑制及亦可能藉由阻斷apoC-III(且可能apoC-I)於延緩TG之餐後清除中之其他已知LPL獨立性效果來減少三酸甘油酯含量。

實例11：δ6PV增強小鼠模型中之活體內脂肪分解(單次劑量研究)

在野生型、apoC-II基因剔除及apoC-III轉殖基因小鼠中利用單次劑量研究研究δ6PV肽對於活體內脂肪分解的效果。

在腹膜內注射英脫利匹特之後，在野生型小鼠中，血清TG顯著地增加。共注射LPL抑制劑曲拉通在6 h時間點進一步增加血清TG含量多於1000倍。當用apoC-II擬肽δ6PV腹膜內注射小鼠時，TG增加顯著地降低(圖35B)。δ6PV肽逆轉藉由曲拉通之LPL抑制。

將apoC-II擬肽δ6PV腹膜內(圖36B)或皮下(圖36C)注射至apoC-II基因剔除小鼠中，且隨著時間推移監測血漿TG含量。注射δ6PV使得血漿TG之迅速及明顯減少。

在腹膜內注射英脫利匹特之後，在apoC-II基因剔除小鼠中，血清TG在注射後6小時增加約7倍。當在注射英脫利匹特後1小時用δ6PV肽腹膜內注射小鼠時，TG增加顯著地降低(圖37B)。

將δ6PV肽腹膜內注射至apoC-III轉殖基因小鼠中，且隨著時間推移監測血漿TG含量。注射δ6PV使得血漿TG之迅速及明顯減少，其中最大降低在注射後約6小時後(圖38B)。

在腹膜內注射英脫利匹特之後，在apoC-III轉殖基因小鼠中，血清TG在注射後6小時增加約4倍。當在注射英脫利匹特後1小時用δ6PV肽腹膜內注射小鼠時，TG增加顯著地降低(圖39)。

單次劑量研究展示，apoC-II擬肽δ6PV在小鼠模型中具有增強活體內脂肪分解之能力。

實例12：δ6PV在小鼠模型中增強活體內脂肪分解(重複劑量研究)

藉由腹膜內注射用apoC-II擬肽δ6PV多次注射野生型小鼠、apoC-II基因剔除小鼠及apoC-III轉殖基因小鼠。

將δ6PV肽以24 h間隔持續6天腹膜內注射至apoC-II基因剔除小鼠中，且在第1天之0 h、3 h及6 h與第6天之0 h、3 h及6 h量測血漿TG含量。重複注射δ6PV使得血漿TG之明顯及持續減少(圖40)。在來自用δ6PV肽以1 μmol/kg (B.W.)處理之小鼠之第1天之0 h及6 h與第6天之0 h及6 h的合併血漿樣本上運行SEC-FPLC (尺寸排外層析-快速蛋白液相層析)。如圖41中所展示，含量VLDL在注射δ6PV肽後6小時減少，而HDL含量增加，如藉由磷脂含量所量測。TG含量亦在VLDL池中減少(圖42)。

將δ6PV肽以24 h間隔持續5天腹膜內注射至apoC-III轉殖基因小鼠中，且如圖43A上所指示在第1天及第5天監測血漿脂質。相比於對照條

件，重複注射δ6PV使得在第1天及第5天肽注射後1 h、3 h及6 h血漿降低(圖43B及圖44)。將來自用5 μmol/kg (B.W.) δ6PV肽處理之小鼠之第1天及第5天之0 h及3 h的血漿樣本應用於SEC-FPLC，以分離VLDL及HDL群體。藉由ELISA來量測VLDL及HDL上之apoC-III含量。apoC-III在δ6PV處理小鼠中之VLDL及HDL兩者上均減少(圖45A及圖45B)。此結果指示，δ6PV藉由置換降低VLDL及HDL上之apoC-III含量。

在腹膜內注射英脫利匹特之後，在野生型小鼠中，血清TG在注射3小時後增加多於40倍。當在注射英脫利匹特後1小時用δ6PV肽腹膜內注射小鼠時，TG增加顯著地降低(圖46B)。

重複劑量研究展示，apoC-II擬肽δ6PV在小鼠模型中具有增強活體內脂肪分解之能力。

實例13：δ6PV在肥胖猴模型中增強活體內脂肪分解

將ApoC-II擬肽δ6PV靜脈內注射至血漿TG含量大於2 mmol/L之肥胖猴中，且隨著時間推移監測血漿脂質。單一注射δ6PV肽使得在注射後24 h、48 h及72 h量測之血漿TG含量顯著減少(圖47)。δ6PV肽在肥胖猴模型中之效果為劑量依賴性的。

注射δ6PV肽亦使得VLDL含量明顯減少(圖48A)，但LDL及HDL之含量並不顯著地改變(圖48B及圖48C)。

總之，apoC-II擬肽δ6PV具有增強肥胖猴模型中之活體內脂肪分解及降低VLDL含量的能力。

實例14：藉由δ6PV肽置換ApoC-III

吾人研究δ6PV肽對於置換apoC-III之效果。

將自人類血漿分離之VLDL與δ6PV肽一起培育展示，針對VLDL，

δ6PV肽比脂蛋白元具有更高的親和力。如圖49中所展示，δ6PV肽以劑量依賴性方式置換apoC-III。亦藉由δ6PV肽置換VLDL中之apoC-II。

亦使用人類apoC-II缺陷型血漿作為受質進行LPL分析。結果展示於圖50上。當添加25 μM apoC-III重組蛋白時，游離脂肪酸(NEFA)產量自約1.5 μM降至約0.8 μM。以各種濃度添加δ6及δ6PV肽。添加δ6及δ6PV肽克服apoC-III之抑制性效果且有助於脂肪分解。

此等結果展示，δ6PV肽能夠置換apoC-III且增強活體外脂肪分解。

儘管本發明已參考較佳實施例及各種替代實施例進行特定展示且描述，但應理解，在不背離本發明之精神及範疇之情況下，熟習相關技術者可對其中的形式及細節進行各種變更。

出於所有目的，引用在本說明書之正文內之所有參考文獻、發佈專利及專利申請案以引用之方式全文併入本文中。

【序列表】

<110> 丹麥商諾佛・儂迪克股份有限公司(NOVO NORDISK A/S)
美國衛生與公眾服務部(THE UNITED STATES OF AMERICA, AS REPRESENTED BY THE SECRETARY, DEPARTMENT OF HEALTH AND HUMAN SERVICES)

<120> APOC-II擬肽

<130> 32601-36431/PCT

<140> PCT/US2018/014532
<141> 2018-01-19

<150> 62/476,535
<151> 2017-03-24

<150> 62/476,531
<151> 2017-03-24

<150> 62/448,358
<151> 2017-01-19

<160> 73

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1
<211> 79
<212> PRT
<213> 智人

<400> 1
Thr Gln Gln Pro Gln Gln Asp Glu Met Pro Ser Pro Thr Phe Leu Thr
1 5 10 15

Gln Val Lys Glu Ser Leu Ser Ser Tyr Trp Glu Ser Ala Lys Thr Ala
20 25 30

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

Leu Arg Asp Leu Tyr Ser Lys Ser Thr Ala Ala Met Ser Thr Tyr Thr
50 55 60

Gly Ile Phe Thr Asp Gln Val Leu Ser Val Leu Lys Gly Glu Glu
65 70 75

<210> 2
<211> 40
<212> PRT

<213> 智人

<400> 2
Thr Tyr Leu Pro Ala Val Asp Glu Lys Leu Arg Asp Leu Tyr Ser Lys
1 5 10 15

Ser Thr Ala Ala Met Ser Thr Tyr Thr Gly Ile Phe Thr Asp Gln Val
20 25 30

Leu Ser Val Leu Lys Gly Glu Glu
35 40

<210> 3
<211> 22
<212> PRT
<213> 智人

<400> 3
Gln Val Lys Glu Ser Leu Ser Ser Tyr Trp Glu Ser Ala Lys Thr Ala
1 5 10 15

Ala Gln Asn Leu Tyr Glu
20

<210> 4
<211> 13
<212> PRT
<213> 智人

<400> 4
Val Asp Glu Lys Leu Arg Asp Leu Tyr Ser Lys Ser Thr
1 5 10

<210> 5
<211> 11
<212> PRT
<213> 智人

<400> 5
Gly Ile Phe Thr Asp Gln Val Leu Ser Val Leu
1 5 10

<210> 6
<211> 40
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之描述：合成多肽

<220>
<221> MOD_RES
<222> (21)..(21)
<223> 正白胺酸

<400> 6
Asp Tyr Leu Lys Glu Val Phe Glu Lys Leu Arg Asp Leu Tyr Glu Lys
1 5 10 15

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

Leu Ser Val Leu Lys Gly Glu Glu
35 40

<210> 7
<211> 40
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 7
Asp Tyr Leu Lys Glu Val Phe Glu Lys Leu Arg Asp Leu Tyr Glu Lys
1 5 10 15

Phe Thr Ala Ala Val Ser Thr Tyr Thr Gly Ile Phe Thr Asp Gln Val
20 25 30

Leu Ser Val Leu Lys Gly Glu Glu
35 40

<210> 8
<211> 40
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 8
Asp Tyr Leu Lys Glu Val Phe Glu Lys Leu Arg Asp Leu Tyr Glu Lys

1 5 10 15

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

Leu Ser Val Leu Lys Gly Glu Glu
35 40

<210> 9
<211> 40
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 9
Asp Tyr Leu Lys Glu Val Phe Glu Lys Leu Arg Asp Leu Tyr Glu Lys
1 5 10 15

Phe Thr Pro Ala Val Ser Thr Tyr Thr Gly Ile Phe Thr Asp Gln Val
20 25 30

Leu Ser Val Leu Lys Gly Glu Glu
35 40

<210> 10
<211> 40
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 10
Asp Tyr Leu Lys Glu Val Phe Glu Lys Leu Arg Asp Leu Tyr Glu Lys
1 5 10 15

Phe Thr Pro Ala Leu Ser Thr Tyr Thr Gly Ile Phe Thr Asp Gln Val
20 25 30

Leu Ser Val Leu Lys Gly Glu Glu
35 40

<210> 11
<211> 40
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 11
Asp Tyr Leu Lys Glu Val Phe Glu Lys Leu Arg Asp Leu Tyr Glu Lys
1 5 10 15

Phe Thr Pro Ala Met Ser Thr Tyr Thr Gly Ile Phe Thr Asp Gln Val
20 25 30

Leu Ser Val Leu Lys Gly Glu Glu
35 40

<210> 12
<211> 40
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 12
Asp Tyr Leu Arg Glu Val Phe Glu Arg Leu Arg Asp Leu Tyr Glu Arg
1 5 10 15

Lys Thr Pro Ala Met Ser Thr Tyr Thr Gly Ile Phe Thr Asp Gln Val
20 25 30

Leu Ser Val Leu Arg Gly Glu Glu
35 40

<210> 13
<211> 40
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<220>

<221> MOD_RES
<222> (21)..(21)
<223> 正白胺酸

<400> 13
Asp Tyr Leu Lys Glu Val Phe Glu Lys Leu Arg Asp Leu Tyr Glu Lys
1 5 10 15

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

Leu Ser Val Leu Lys Gly Glu Glu
35 40

<210> 14
<211> 40
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<220>
<221> MOD_RES
<222> (21)..(21)
<223> 正白胺酸

<400> 14
Asp Tyr Leu Lys Glu Val Phe Glu Lys Leu Arg Asp Leu Tyr Glu Lys
1 5 10 15

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

Leu Ser Val Leu Lys Gly Glu Glu
35 40

<210> 15
<211> 40
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<220>
<221> MOD_RES
<222> (21)..(21)
<223> 正白胺酸

<400> 15
Asp Tyr Leu Lys Glu Val Phe Glu Lys Leu Arg Asp Leu Tyr Glu Lys
1 5 10 15

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

Leu Ser Val Leu Lys Gly Glu Glu
35 40

<210> 16
<211> 40
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<220>
<221> MOD_RES
<222> (21)..(21)
<223> 正白胺酸

<400> 16
Asp Tyr Leu Lys Ala Val Phe Glu Lys Leu Arg Asp Leu Tyr Ser Lys
1 5 10 15

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

Leu Ser Val Leu Lys Gly Glu Glu
35 40

<210> 17
<211> 40
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<220>
<221> MOD_RES
<222> (21)..(21)
<223> 正白胺酸

<400> 17
Asp Tyr Leu Lys Ala Val Phe Glu Lys Leu Arg Asp Leu Tyr Glu Lys
1 5 10 15

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

Leu Ser Val Leu Lys Gly Glu Glu
35 40

<210> 18
<211> 40
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<220>
<221> MOD_RES
<222> (21)..(21)
<223> 正白胺酸

<400> 18
Asp Tyr Leu Lys Ala Val Phe Glu Lys Leu Arg Asp Leu Tyr Ser Lys
1 5 10 15

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

Leu Ser Val Leu Lys Gly Glu Glu
35 40

<210> 19
<211> 40
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<220>
<221> MOD_RES
<222> (21)..(21)
<223> 正白胺酸

<400> 19
Asp Tyr Leu Lys Ala Val Phe Glu Lys Leu Arg Asp Leu Tyr Ser Lys
1 5 10 15

Phe Thr Ala Ala Leu Ser Thr Ser Thr Gly Ile Phe Thr Asp Gln Val
20 25 30

Leu Ser Val Leu Lys Gly Glu Glu
35 40

<210> 20
<211> 40
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<220>
<221> MOD_RES
<222> (21)..(21)
<223> 正白胺酸

<400> 20
Asp Tyr Leu Lys Ala Val Phe Glu Lys Leu Arg Asp Leu Tyr Ser Lys
1 5 10 15

Phe Thr Ala Ala Leu Ser Thr Tyr Thr Gly Ile Phe Thr Asp Arg Val
20 25 30

Leu Ser Val Leu Lys Gly Glu Glu
35 40

<210> 21
<211> 40
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<220>
<221> MOD_RES
<222> (21)..(21)
<223> 正白胺酸

<400> 21
Asp Tyr Leu Lys Ala Val Phe Glu Lys Leu Arg Asp Leu Tyr Ser Lys
1 5 10 15

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

Leu Ser Val Leu Lys Gly Glu Glu
35 40

<210> 22
<211> 31
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<220>
<221> MOD_RES
<222> (12)..(12)
<223> 正白胺酸

<400> 22
Lys Arg Asp Leu Tyr Glu Lys Lys Phe Ala Ala Leu Ser Thr Tyr Thr
1 5 10 15

Gly Ile Phe Thr Asp Gln Val Leu Ser Val Leu Lys Gly Glu Glu
20 25 30

<210> 23
<211> 40
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<220>
<221> MOD_RES
<222> (21)..(21)
<223> 正白胺酸

<400> 23
Asp Tyr Leu Lys Ala Val Phe Glu Lys Leu Arg Asp Leu Tyr Ser Lys
1 5 10 15

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

Leu Ser Val Leu Lys Gly Glu Glu
35 40

<210> 24
<211> 40
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<220>
<221> MOD_RES
<222> (21)..(21)
<223> 正白胺酸

<400> 24
Asp Tyr Leu Lys Ala Val Phe Glu Lys Lys Arg Asp Leu Tyr Ser Lys
1 5 10 15

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

Leu Ser Val Leu Lys Gly Glu Glu
35 40

<210> 25
<211> 40
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 25
Asp Tyr Leu Lys Ala Val Phe Glu Lys Leu Arg Asp Leu Tyr Ser Lys
1 5 10 15

Phe Thr Pro Ala Met Ser Thr Tyr Thr Gly Ile Phe Thr Asp Gln Val
20 25 30

Leu Ser Val Leu Lys Gly Glu Glu
35 40

<210> 26
<211> 40
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 26
Asp Tyr Leu Lys Ala Val Phe Glu Lys Leu Arg Asp Leu Tyr Glu Lys
1 5 10 15

Phe Thr Pro Ala Met Ser Thr Tyr Thr Gly Ile Phe Thr Asp Gln Val
20 25 30

Leu Ser Val Leu Lys Gly Glu Glu
35 40

<210> 27
<211> 40
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 27
Asp Tyr Leu Lys Ala Val Phe Glu Lys Leu Arg Asp Leu Tyr Lys Lys
1 5 10 15

Phe Thr Pro Ala Met Ser Thr Tyr Thr Gly Ile Phe Thr Asp Gln Val
20 25 30

Leu Ser Val Leu Lys Gly Glu Glu
35 40

<210> 28
<211> 40
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 28
Asp Tyr Leu Lys Ala Val Phe Glu Lys Leu Lys Asp Leu Tyr Ser Lys
1 5 10 15

Phe Thr Pro Ala Met Ser Thr Tyr Thr Gly Ile Phe Thr Asp Gln Val
20 25 30

Leu Ser Val Leu Lys Gly Glu Glu
35 40

<210> 29
<211> 40
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 29
Asp Trp Leu Lys Ala Val Phe Glu Lys Leu Arg Asp Leu Tyr Ser Lys
1 5 10 15

Phe Thr Pro Ala Met Ser Thr Tyr Thr Gly Ile Phe Thr Asp Gln Val
20 25 30

Leu Ser Val Leu Lys Gly Glu Glu
35 40

<210> 30
<211> 40
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 30
Asp Tyr Leu Lys Ala Val Phe Glu Lys Leu Arg Asp Leu Tyr Ser Lys
1 5 10 15

Phe Phe Pro Ala Met Ser Thr Tyr Thr Gly Ile Phe Thr Asp Gln Val
20 25 30

Leu Ser Val Leu Lys Gly Glu Glu
35 40

<210> 31
<211> 40
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 31
Asp Tyr Leu Lys Ala Phe Tyr Glu Lys Leu Arg Asp Leu Leu Ser Lys
1 5 10 15

Ala Phe Pro Ala Met Ser Thr Tyr Thr Gly Ile Phe Thr Asp Gln Val
20 25 30

Leu Ser Val Leu Lys Gly Glu Glu
35 40

<210> 32
<211> 40
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 32
Asp Tyr Leu Lys Ala Val Lys Glu Lys Leu Arg Asp Leu Tyr Ser Lys
1 5 10 15

Phe Thr Pro Ala Met Ser Thr Tyr Thr Gly Ile Phe Thr Asp Gln Val
20 25 30

Leu Ser Val Leu Lys Gly Glu Glu
35 40

<210> 33
<211> 40
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 33
Asp Tyr Leu Lys Ala Val Phe Glu Lys Lys Arg Asp Leu Tyr Ser Lys
1 5 10 15

Phe Thr Pro Ala Met Ser Thr Tyr Thr Gly Ile Phe Thr Asp Gln Val
20 25 30

Leu Ser Val Leu Lys Gly Glu Glu
35 40

<210> 34
<211> 40
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 34
Asp Tyr Leu Lys Ala Val Phe Glu Lys Leu Arg Asp Leu Tyr Ser Lys
1 5 10 15

Lys Thr Pro Ala Met Ser Thr Tyr Thr Gly Ile Phe Thr Asp Gln Val
20 25 30

Leu Ser Val Leu Lys Gly Glu Glu
35 40

<210> 35
<211> 40
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 35
Asp Tyr Leu Lys Ala Val Phe Glu Lys Leu Arg Asp Leu Tyr Ser Lys
1 5 10 15

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

Leu Ser Val Leu Lys Gly Glu Glu
35 40

<210> 36
<211> 37
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 36
Lys Ala Val Phe Glu Lys Leu Arg Asp Leu Tyr Ser Lys Phe Thr Ala
1 5 10 15

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

Leu Lys Gly Glu Glu
35

<210> 37
<211> 36
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 37
Asp Val Phe Glu Lys Leu Arg Asp Leu Tyr Ser Lys Phe Thr Ala Ala
1 5 10 15

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

Lys Gly Glu Glu
35

<210> 38
<211> 33
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 38
Glu Lys Leu Arg Asp Leu Tyr Ser Lys Phe Thr Ala Ala Lys Ser Thr
1 5 10 15

Tyr Thr Gly Ile Phe Thr Asp Gln Val Leu Ser Val Leu Lys Gly Glu
20 25 30

Glu

<210> 39
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 39
Arg Asp Leu Tyr Ser Lys Phe Thr Ala Ala Lys Ser Thr Tyr Thr Gly
1 5 10 15

Ile Phe Thr Asp Gln Val Leu Ser Val Leu Lys Gly Glu Glu
20 25 30

<210> 40
<211> 29
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 40
Asp Leu Tyr Ser Lys Phe Thr Ala Ala Lys Ser Thr Tyr Thr Gly Ile
1 5 10 15

Phe Thr Asp Gln Val Leu Ser Val Leu Lys Gly Glu Glu
20 25

<210> 41
<211> 26
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 41
Asp Lys Phe Thr Ala Ala Lys Ser Thr Tyr Thr Gly Ile Phe Thr Asp
1 5 10 15

Gln Val Leu Ser Val Leu Lys Gly Glu Glu
20 25

<210> 42
<211> 40
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<220>
<221> MOD_RES
<222> (21)..(21)
<223> 正白胺酸

<400> 42
Asp Tyr Leu Lys Glu Val Phe Glu Lys Leu Arg Asp Leu Tyr Ser Lys
1 5 10 15

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

Leu Ser Val Leu Lys Gly Glu Glu
35 40

<210> 43
<211> 40
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 43
Asp Trp Leu Lys Ala Val Phe Glu Lys Leu Arg Asp Leu Tyr Glu Lys
1 5 10 15

Phe Thr Pro Ala Met Ser Thr Tyr Thr Gly Ile Phe Thr Asp Gln Val
20 25 30

Leu Ser Val Leu Lys Gly Glu Glu
35 40

<210> 44
<211> 40
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 44
Asp Tyr Leu Lys Ala Val Phe Glu Lys Leu Arg Asp Leu Tyr Glu Lys
1 5 10 15

Phe Phe Pro Ala Met Ser Thr Tyr Thr Gly Ile Phe Thr Asp Gln Val
20 25 30

Leu Ser Val Leu Lys Gly Glu Glu
35 40

<210> 45
<211> 40
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 45
Asp Trp Leu Lys Ala Val Phe Glu Lys Leu Arg Asp Leu Tyr Glu Lys
1 5 10 15

Phe Phe Pro Ala Met Ser Thr Tyr Thr Gly Ile Phe Thr Asp Gln Val

20 25 30

Leu Ser Val Leu Lys Gly Glu Glu
35 40

<210> 46
<211> 40
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<220>
<221> MOD_RES
<222> (21)..(21)
<223> 正白胺酸

<400> 46
Asp Trp Leu Lys Ala Val Phe Glu Lys Leu Arg Asp Leu Tyr Glu Lys
1 5 10 15

Phe Thr Pro Ala Leu Ser Thr Tyr Thr Gly Ile Phe Thr Asp Gln Val
20 25 30

Leu Ser Val Leu Lys Gly Glu Glu
35 40

<210> 47
<211> 40
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<220>
<221> MOD_RES
<222> (21)..(21)
<223> 正白胺酸

<400> 47
Asp Tyr Leu Lys Ala Val Phe Glu Lys Leu Arg Asp Leu Tyr Glu Lys
1 5 10 15

Phe Phe Pro Ala Leu Ser Thr Tyr Thr Gly Ile Phe Thr Asp Gln Val
20 25 30

Leu Ser Val Leu Lys Gly Glu Glu
35 40

<210> 48
<211> 40
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<220>
<221> MOD_RES
<222> (21)..(21)
<223> 正白胺酸

<400> 48
Asp Trp Leu Lys Ala Val Phe Glu Lys Leu Arg Asp Leu Tyr Glu Lys
1 5 10 15

Phe Phe Pro Ala Leu Ser Thr Tyr Thr Gly Ile Phe Thr Asp Gln Val
20 25 30

Leu Ser Val Leu Lys Gly Glu Glu
35 40

<210> 49
<211> 21
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 49
Ala Met Ser Thr Tyr Thr Gly Ile Phe Thr Asp Gln Val Leu Ser Val
1 5 10 15

Leu Lys Gly Glu Glu
20

<210> 50

<211> 21
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 50
Ala Met Ser Thr Tyr Thr Gly Ile Phe Thr Asp Gln Val Leu Ser Val
1 5 10 15

Leu Lys Gly Glu Glu
20

<210> 51
<211> 21
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 51
Ala Lys Ser Thr Tyr Thr Gly Ile Phe Thr Asp Gln Val Leu Ser Val
1 5 10 15

Leu Lys Gly Glu Glu
20

<210> 52
<211> 21
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 52
Ala Met Ser Thr Tyr Thr Gly Ile Phe Thr Asp Gln Val Leu Ser Val
1 5 10 15

Leu Lys Gly Glu Glu
20

<210> 53
<211> 40

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 53
Asp Tyr Leu Lys Glu Val Phe Glu Lys Leu Arg Asp Leu Tyr Glu Lys
1 5 10 15

Phe Phe Pro Ala Val Ser Thr Tyr Thr Gly Ile Phe Thr Asp Gln Val
20 25 30

Leu Ser Val Leu Lys Gly Glu Glu
35 40

<210> 54
<211> 40
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<220>
<221> MOD_RES
<222> (7)..(7)
<223> Aib

<220>
<221> MOD_RES
<222> (17)..(17)
<223> Aib

<400> 54
Asp Tyr Leu Lys Glu Val Xaa Glu Lys Leu Arg Asp Leu Tyr Glu Lys
1 5 10 15

Xaa Phe Pro Ala Val Ser Thr Tyr Thr Gly Ile Phe Thr Asp Gln Val
20 25 30

Leu Ser Val Leu Lys Gly Glu Glu
35 40

<210> 55
<211> 40

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 55
Asp Lys Val Lys Glu Phe Leu Ser Glu Tyr Trp Glu Lys Ala Lys Glu
1 5 10 15

Phe Ala Pro Ala Val Ser Thr Tyr Thr Gly Ile Phe Thr Asp Gln Val
20 25 30

Leu Ser Val Leu Lys Gly Glu Glu
35 40

<210> 56
<211> 40
<212> PRT
<213> 智人

<400> 56
Asp Trp Leu Lys Ala Phe Tyr Asp Lys Val Ala Glu Lys Leu Lys Glu
1 5 10 15

Ala Phe Pro Ala Met Ser Thr Tyr Thr Gly Ile Phe Thr Asp Gln Val
20 25 30

Leu Ser Val Leu Lys Gly Glu Glu
35 40

<210> 57
<211> 19
<212> PRT
<213> 智人

<400> 57
Thr Tyr Leu Pro Ala Val Asp Glu Lys Leu Arg Asp Leu Tyr Ser Lys
1 5 10 15

Ser Thr Ala

<210> 58
<211> 19
<212> PRT

<213> 黑猩猩

<400> 58
Thr Tyr Leu Pro Ala Val Asp Glu Lys Leu Arg Asp Leu Tyr Ser Lys
1 5 10 15

Ser Thr Ala

<210> 59
<211> 19
<212> PRT
<213> 食蟹猴

<400> 59
Thr Tyr Leu Pro Ala Val Asp Glu Lys Leu Arg Asp Leu Tyr Ser Lys
1 5 10 15

Ser Thr Ala

<210> 60
<211> 19
<212> PRT
<213> 獼猴

<400> 60
Thr Tyr Leu Pro Ala Val Asp Glu Lys Leu Arg Asp Leu Tyr Ser Lys
1 5 10 15

Ser Thr Ala

<210> 61
<211> 19
<212> PRT
<213> 狒狒

<400> 61
Thr Tyr Leu Pro Ala Val Asp Glu Lys Leu Arg Asp Leu Tyr Ser Lys
1 5 10 15

Ser Thr Ala

<210> 62
<211> 19

<212> PRT
<213> 絨猴

<400> 62
Thr Tyr Leu His Thr Val Asp Glu Lys Leu Arg Asp Met Tyr Ser Lys
1 5 10 15

Ser Thr Ala

<210> 63
<211> 19
<212> PRT
<213> 家鼠

<400> 63
Thr Tyr Pro Ile Ser Met Asp Glu Lys Leu Arg Asp Met Tyr Ser Lys
1 5 10 15

Ser Ser Ala

<210> 64
<211> 19
<212> PRT
<213> 褐家鼠

<400> 64
Thr Tyr Leu Thr Ser Val Asp Glu Lys Leu Arg Asp Met Tyr Ser Lys
1 5 10 15

Ser Ser Ala

<210> 65
<211> 19
<212> PRT
<213> 鬥牛犬

<400> 65
Ala Tyr Pro Thr Thr Met Asp Glu Lys Ile Arg Asp Ile Tyr Ser Lys
1 5 10 15

Ser Thr Ala

<210> 66

<211> 19
<212> PRT
<213> 黃牛

<400> 66
Thr Tyr Leu Pro Ala Val Asp Glu Lys Ile Arg Asp Ile Tyr Ser Lys
1 5 10 15

Ser Thr Ala

<210> 67
<211> 19
<212> PRT
<213> 野豬

<400> 67
Thr Tyr Leu Pro Thr Val Asp Glu Lys Ile Arg Asp Met Tyr Ser Lys
1 5 10 15

Ser Thr Ala

<210> 68
<211> 19
<212> PRT
<213> 天竺鼠

<400> 68
Thr Tyr Leu Pro Ala Val Asp Glu Thr Ile Arg Asp Ile Tyr Ser Lys
1 5 10 15

Gly Ser Ala

<210> 69
<211> 18
<212> PRT
<213> 智人

<400> 69
Thr Tyr Leu Pro Ala Val Asp Glu Lys Leu Arg Asp Leu Tyr Ser Lys
1 5 10 15

Ser Thr

<210> 70
<211> 18
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 70
Asp Tyr Leu Lys Ala Val Phe Glu Lys Leu Arg Asp Leu Tyr Ser Lys
1 5 10 15

Phe Thr

<210> 71
<211> 18
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 71
Asp Tyr Leu Lys Glu Val Phe Glu Lys Leu Arg Asp Leu Tyr Ser Lys
1 5 10 15

Phe Thr

<210> 72
<211> 18
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 72
Asp Tyr Leu Lys Glu Val Phe Glu Lys Leu Arg Asp Leu Tyr Glu Lys
1 5 10 15

Phe Thr

<210> 73

<211> 18
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 73
Asp Tyr Leu Asp Ala Val Trp Glu Lys Leu Arg Asp Leu Tyr Ser Lys
1 5 10 15

Phe Thr

【發明申請專利範圍】

【請求項1】

一種不多於50個胺基酸之經分離apoC-II擬肽，其自N端至C端包含兩親性第一螺旋域、鉸鏈區及第二螺旋域，其中第一螺旋域為兩親性且其中該肽具有與SEQ ID NO: 9所闡述之全長序列具有至少90%序列一致性之序列，其中該擬肽具有促進三酸甘油酯(TG)水解之功效。

【請求項2】

如請求項1之經分離apoC-II擬肽，其中該經分離apoC-II擬肽之該第二螺旋域包含apoC-II之螺旋3。

【請求項3】

如請求項1之經分離apoC-II擬肽，其中該鉸鏈區包含1或2個殘基取代。

【請求項4】

如請求項1之經分離apoC-II擬肽，其中該擬肽具有與SEQ ID NO: 9所闡述之全長序列具有至少95%序列一致性之序列。

【請求項5】

如請求項1之經分離apoC-II擬肽，其包含SEQ ID NO: 9所闡述之序列。

【請求項6】

如請求項1之經分離apoC-II擬肽，其係由SEQ ID NO: 9所闡述之序列所組成。

【請求項7】

一種經分離apoC-II擬肽，其自N端至C端包含兩親性第一螺旋域、鉸

鏈區及第二螺旋域，其中該擬肽具有SEQ ID NO: 6-11、13-17、23、25、26及42中任一者之序列。

【請求項8】

如請求項1之經分離apoC-II擬肽，其中在位置60之殘基係選自纈胺酸 (V)、白胺酸 (L)、正白胺酸 (nL)及甲硫胺酸。

【請求項9】

如請求項1之經分離apoC-II擬肽，其中在位置58之殘基係選自脯胺酸(P)及丙胺酸(A)。

【請求項10】

如請求項1之經分離apoC-II擬肽，其中在位置56之殘基係選自絲胺酸(S)、苯丙胺酸(F)及共價連接至離胺酸殘基(K_{C18})之側基之硬脂酸。

【請求項11】

一種醫藥組合物，其包含如請求項1至10中任一項之肽及醫藥學上可接受之載劑。

【請求項12】

如請求項11之醫藥組合物，其中該醫藥組合物適合於皮下注射。

【請求項13】

一種如請求項1至10中任一項之肽或如請求項11或12之醫藥組合物的用途，其係用以製備用於治療患者之高三酸甘油酯血症之藥物。

【請求項14】

如請求項13之用途，其中該高三酸甘油酯血症與肥胖相關、與糖尿病相關、與飲酒消耗量相關或與藥物相關。

【請求項15】

如請求項13之用途，其中該高三酸甘油酯血症係由LPL缺陷引起。

【請求項16】

如請求項15之用途，其中該高三酸甘油酯血症係由家族性脂蛋白脂肪酶缺陷引起。

【請求項17】

如請求項15或16之用途，其中該LPL缺陷係由於LPL基因中之突變引起。

【請求項18】

如請求項17之用途，其中該突變係藉由DNA序列分析來偵測。

【請求項19】

如請求項17之用途，其中該突變導致LPL酶活性降低或缺乏。

【請求項20】

如請求項15或16之用途，其中該LPL缺陷係藉由該患者血清中缺乏LPL活性來診斷。

【請求項21】

如請求項13之用途，其中該高三酸甘油酯血症係由apoC-II缺陷或經升高apoC-III引起。

【請求項22】

如請求項13至16中任一項之用途，其中該患者之治療前血清三酸甘油酯(TG)濃度為：

介於150 mg/dL與199 mg/dL之間；

介於200 mg/dL至499 mg/dL之間；

介於500 mg/dL至999 mg/dL之間；

介於1000 mg/dL與1999 mg/dL之間；或

等於或高於2000 mg/dL。

【請求項23】

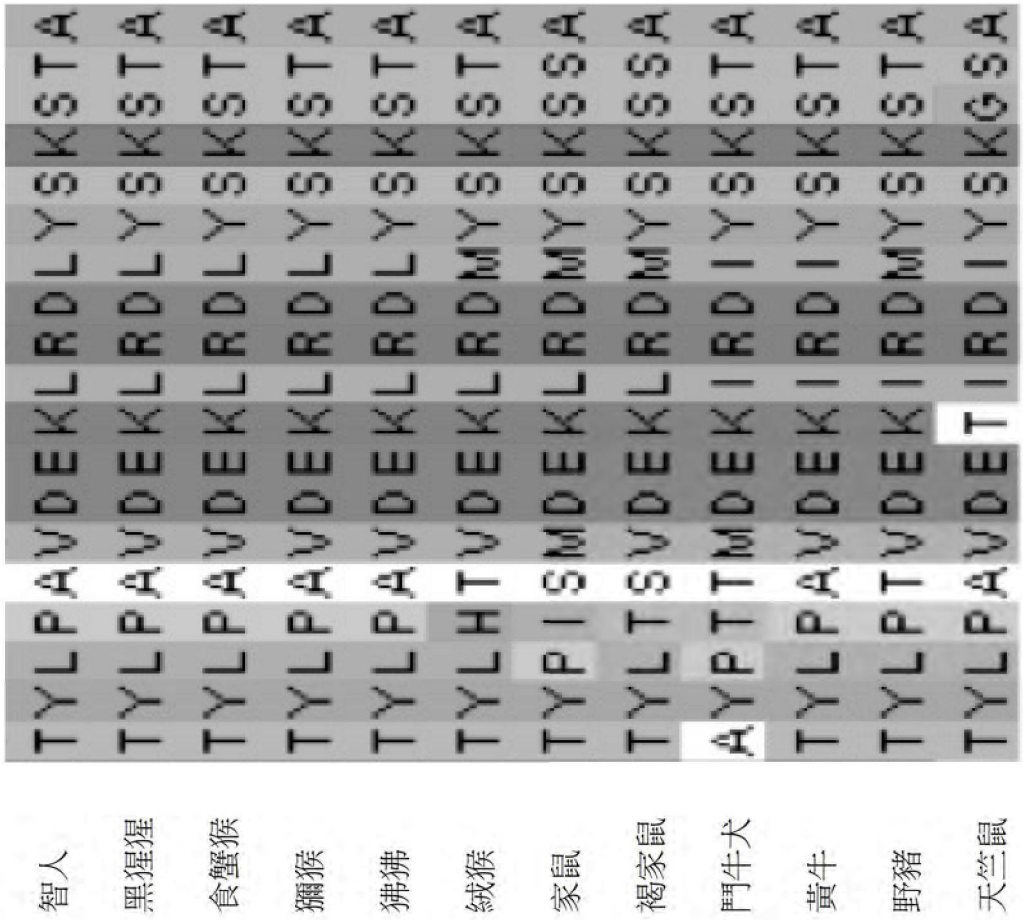
如請求項13至16及21中任一項之用途，其中該患者已發展出急性胰臟炎或處於急性胰臟炎或急性心血管疾病風險下。

【請求項24】

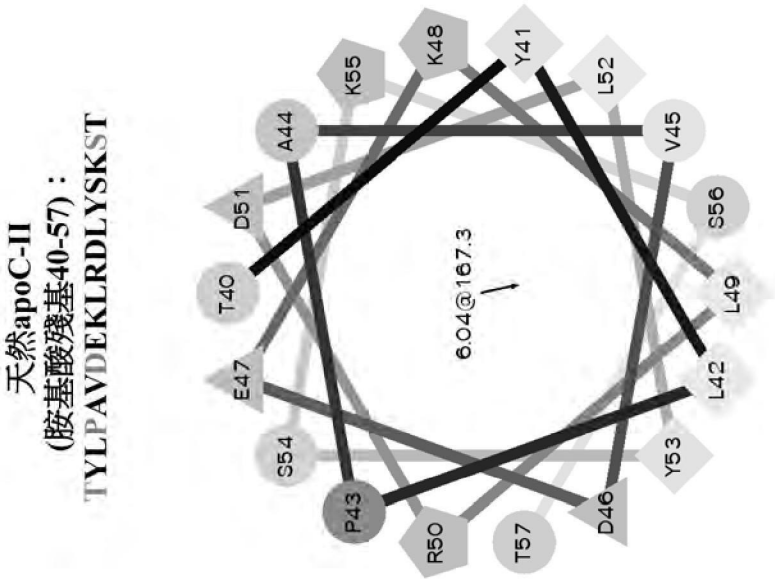
一種製備如請求項1至10中任一項之肽之方法，其包含以重組方式或化學合成方式製造該肽。

【發明圖式】

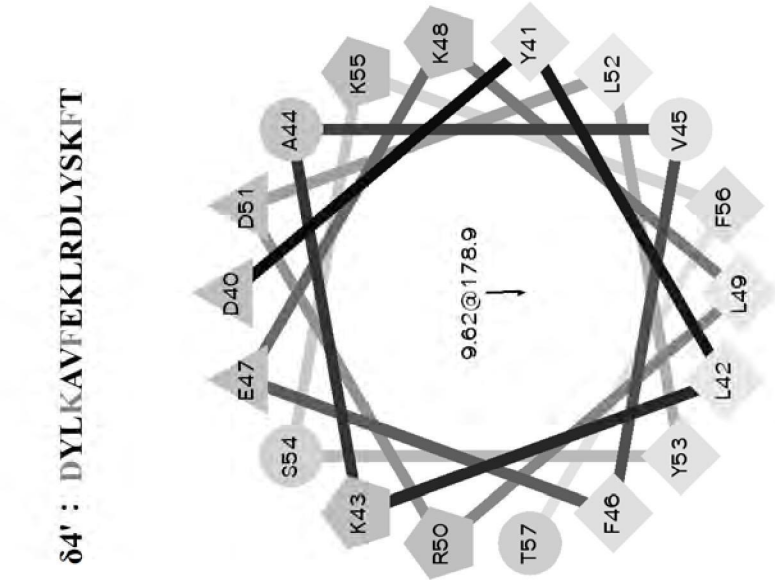
111年9月8日修正後之發明圖式



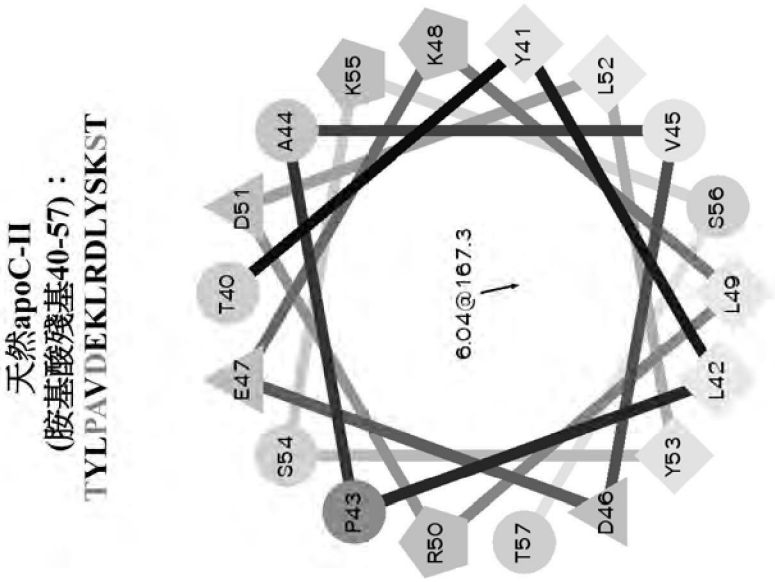
【圖1】


天然apoC-II
(胺基酸殘基40-57)：
TYLPAVDEKLRDLYSKST
P43
S54
E47
T40
D51
A44
K55
K48
Y41
L52
V45
S56
L49
L42
Y53
D46
T57
R50
6.04@167.3

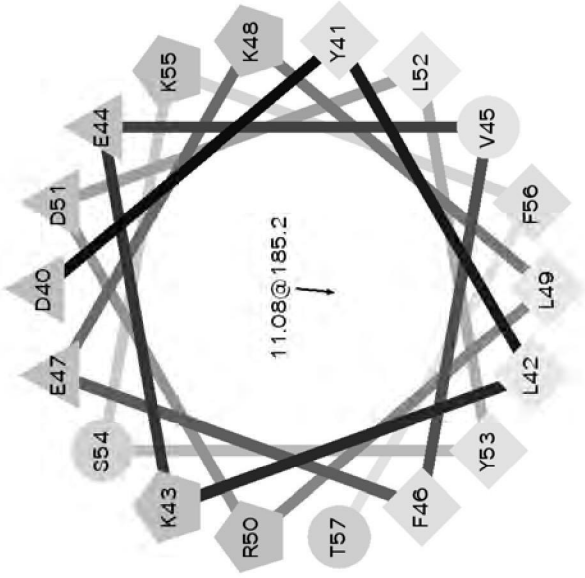
【圖2A】


δ4'：DYLKAVFEKLRDLYSKFT
K43
S54
E47
D40
D51
A44
K55
K48
Y41
L52
V45
F56
L49
L42
Y53
F46
T57
R50
9.62@178.9

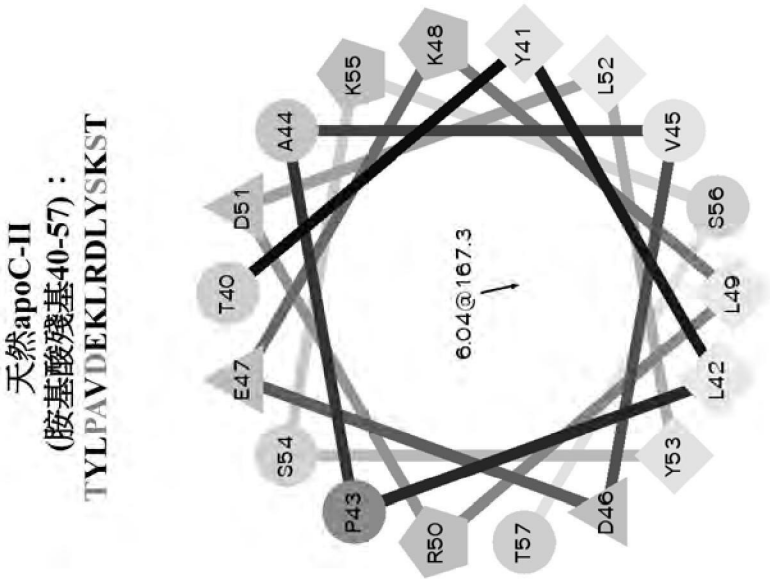
【圖2B】


天然apoC-II
(胺基酸殘基40-57)：
TYLPAVDEKLRDLYSKST
6.04@167.3
P43
S54
E47
T40
D51
A44
K55
K48
Y41
L52
V45
S56
L49
L42
Y53
D46
T57
R50

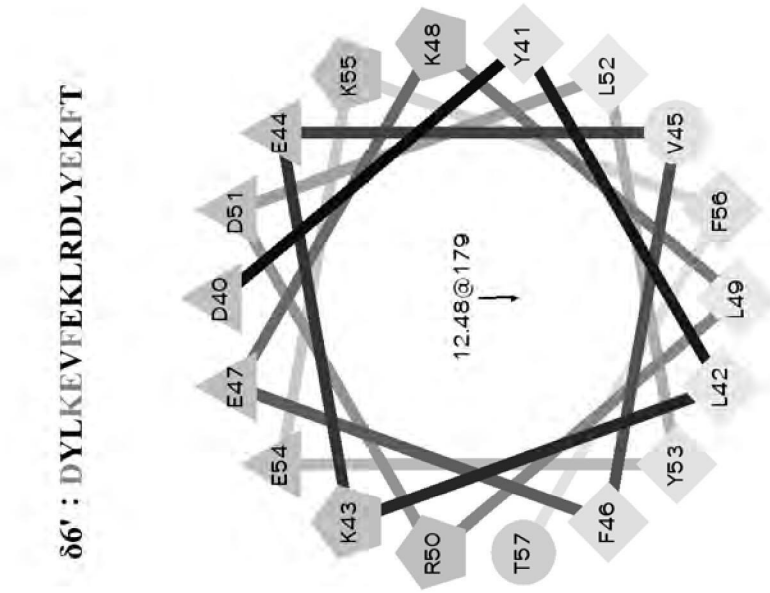
【圖3A】


δ5'：DYLKEVFEKLRDLYSKFT
11.08@185.2
S54
E47
D40
D51
E44
K55
K48
Y41
L52
V45
F56
L49
L42
Y53
F46
T57
R50
K43

【圖3B】


天然apoC-II
(胺基酸殘基40-57)：
TYLPAVDEKLRDLYSKST
6.04@167.3
P43
S54
E47
T40
D51
A44
K55
K48
Y41
L52
V45
S56
L49
L42
Y53
D46
T57
R50

【圖4A】


δ6'：DYLKEVFEKLRDLYEKFT
12.48@179
K43
E54
E47
D40
D51
E44
K55
K48
Y41
L52
V45
F56
L49
L42
Y53
F46
T57
R50

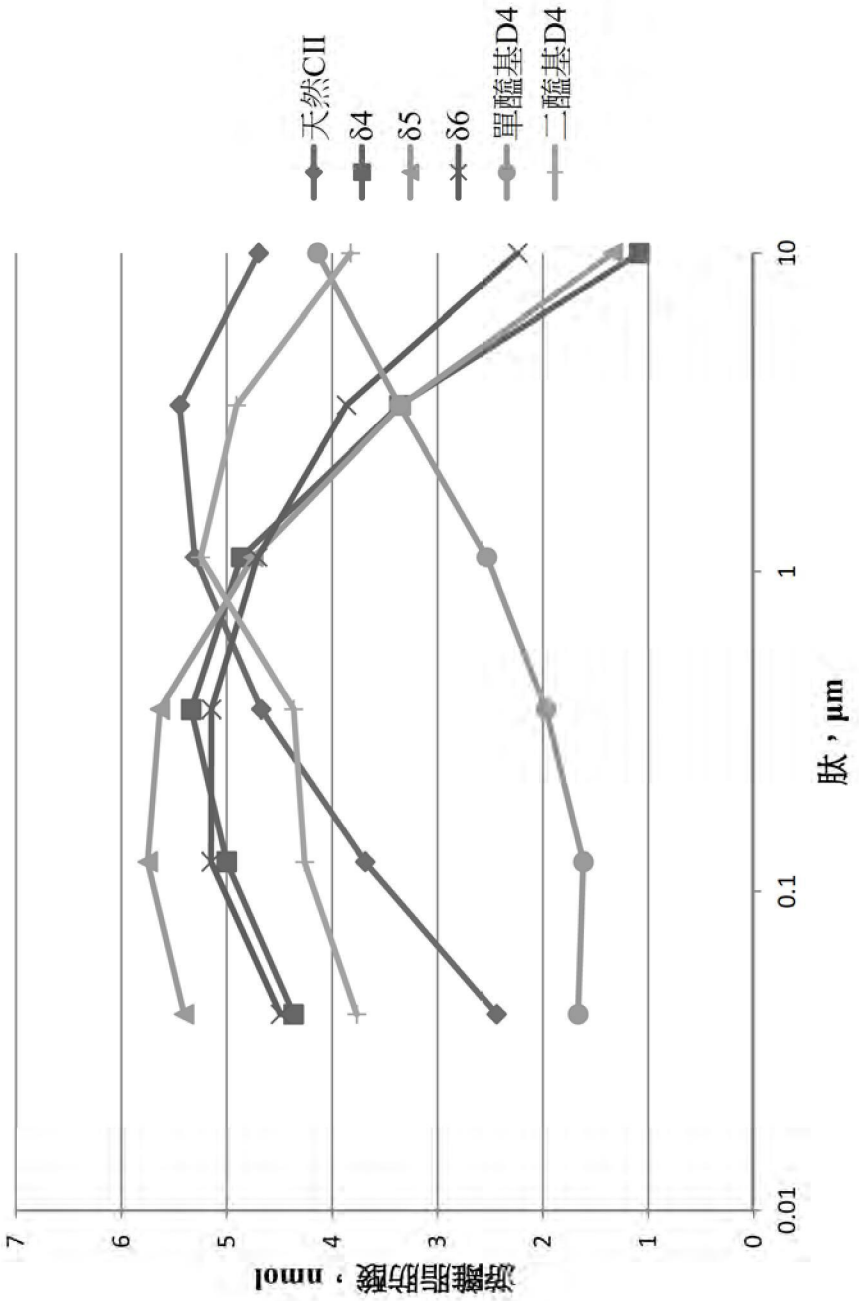
【圖4B】

δ4'：DYLDAVWEKLRDLYSKFT

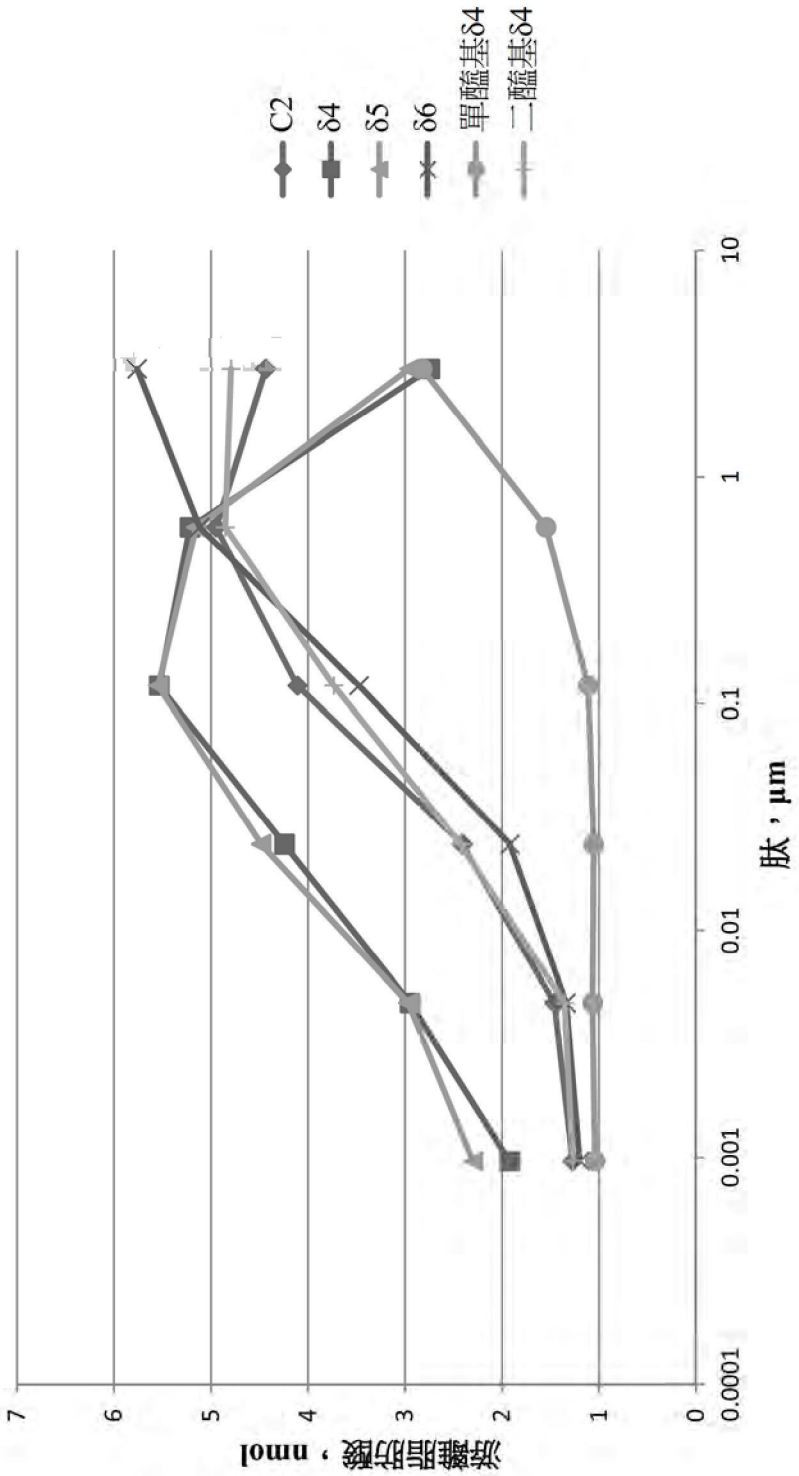
單醯基δ4'：DYLDAVWEKLRDLYSKFT
|
(C18)

二醯基δ4'：DYLDAVWEKLRDLYSKFT
| |
(C18) (C18)

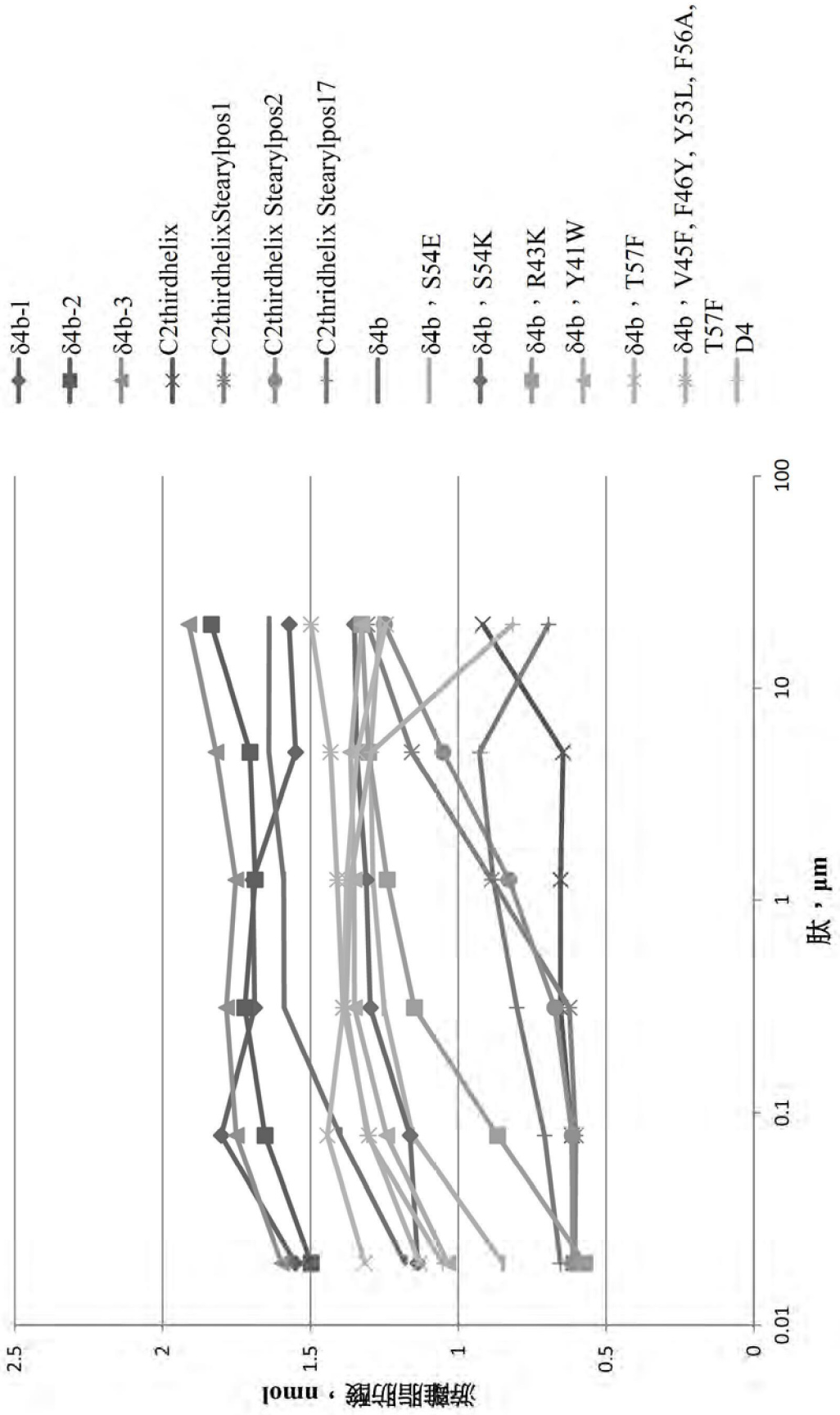
【圖5】



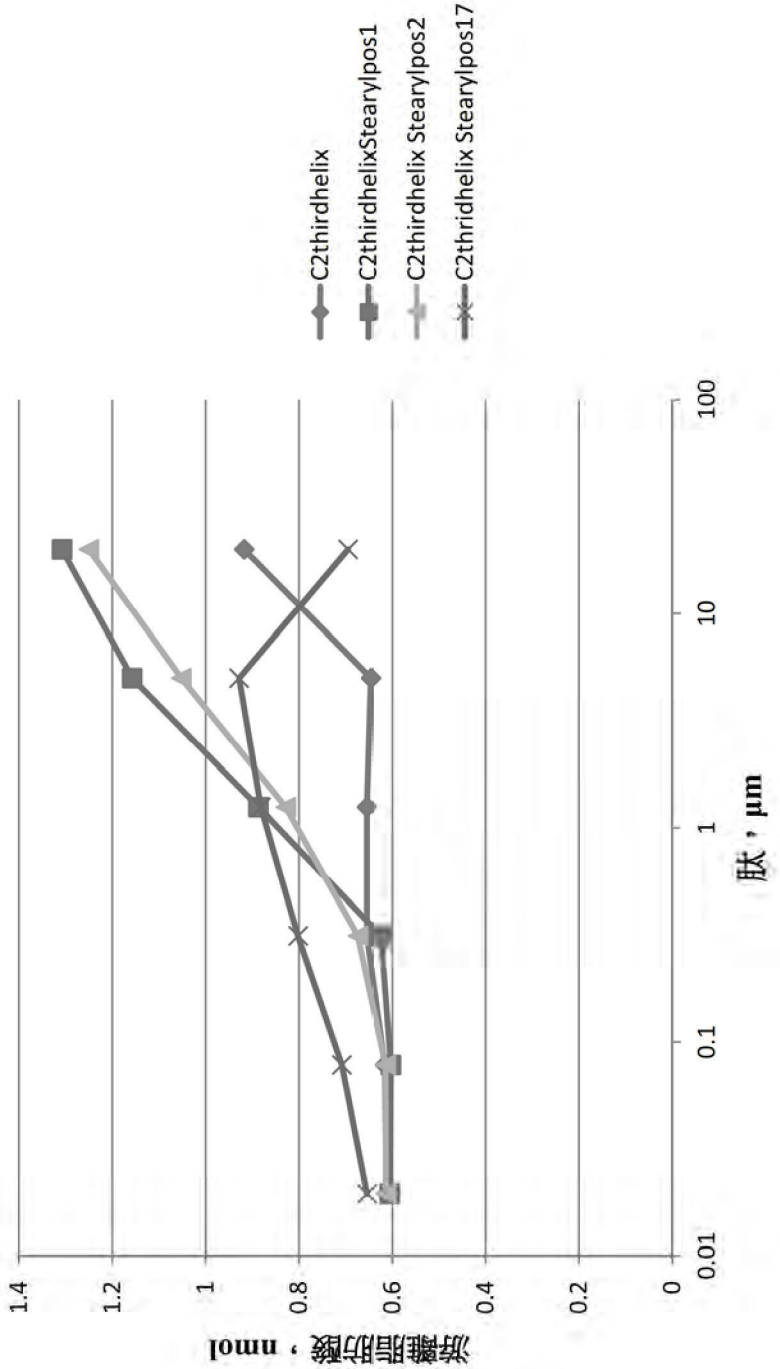
【圖6】


游離脂肪酸，nmol
0
1
2
3
4
5
6
7
0.0001
0.001
0.01
0.1
1
10
肽，μm
C2
δ4
δ5
δ6
單醯基δ4
二醯基δ4

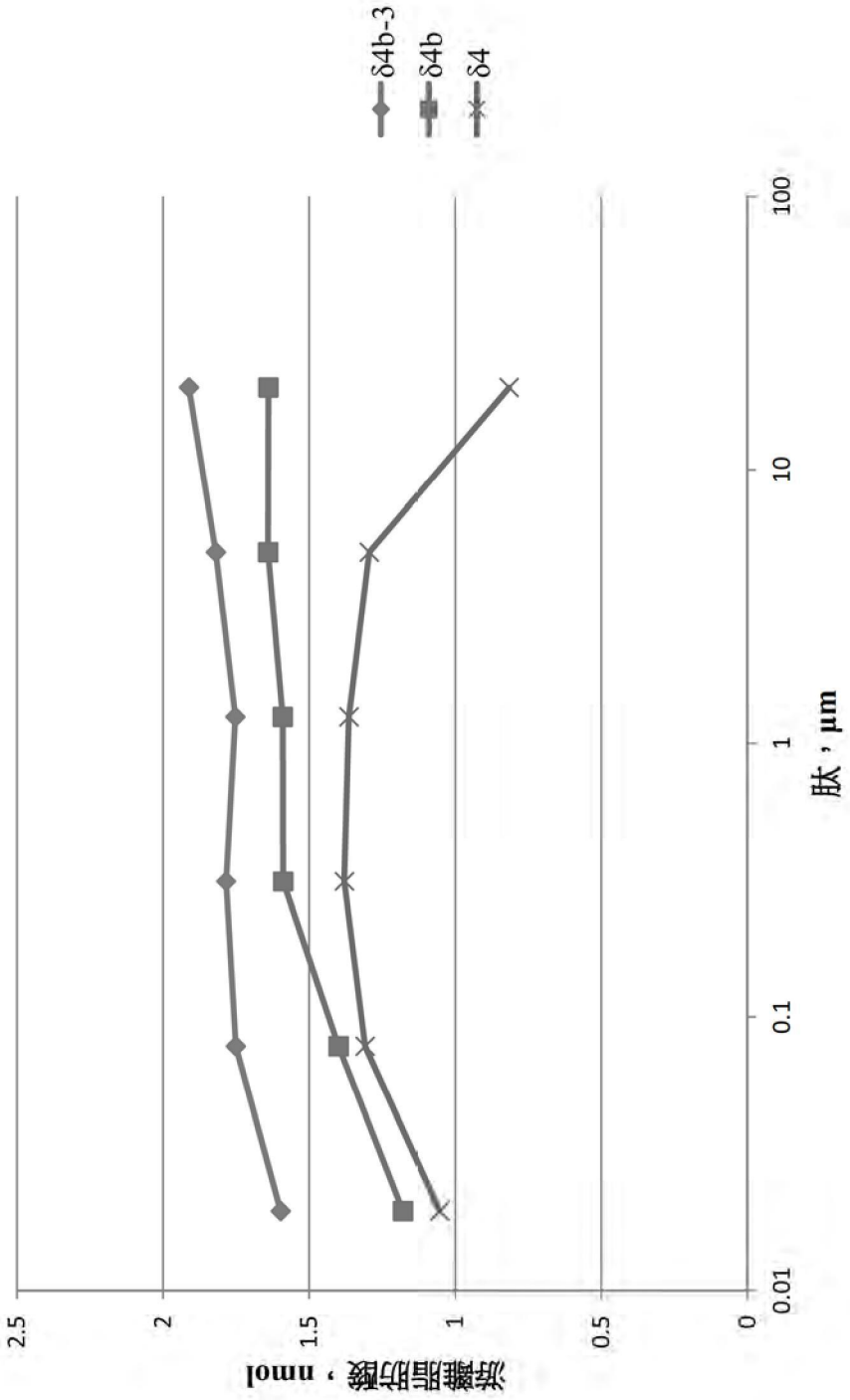
【圖7】


δ4b-1
δ4b-2
δ4b-3
C2thirdhelix
C2thirdhelixStearylpos1
C2thirdhelix Stearylpos2
C2thridhelix Stearylpos17
δ4b
δ4b，S54E
δ4b，S54K
δ4b，R43K
δ4b，Y41W
δ4b，T57F
δ4b，V45F, F46Y, Y53L, F56A, T57F
D4
游離脂肪酸，nmol
2.5
2
1.5
1
0.5
0
0.01
0.1
1
10
100
肽，μm

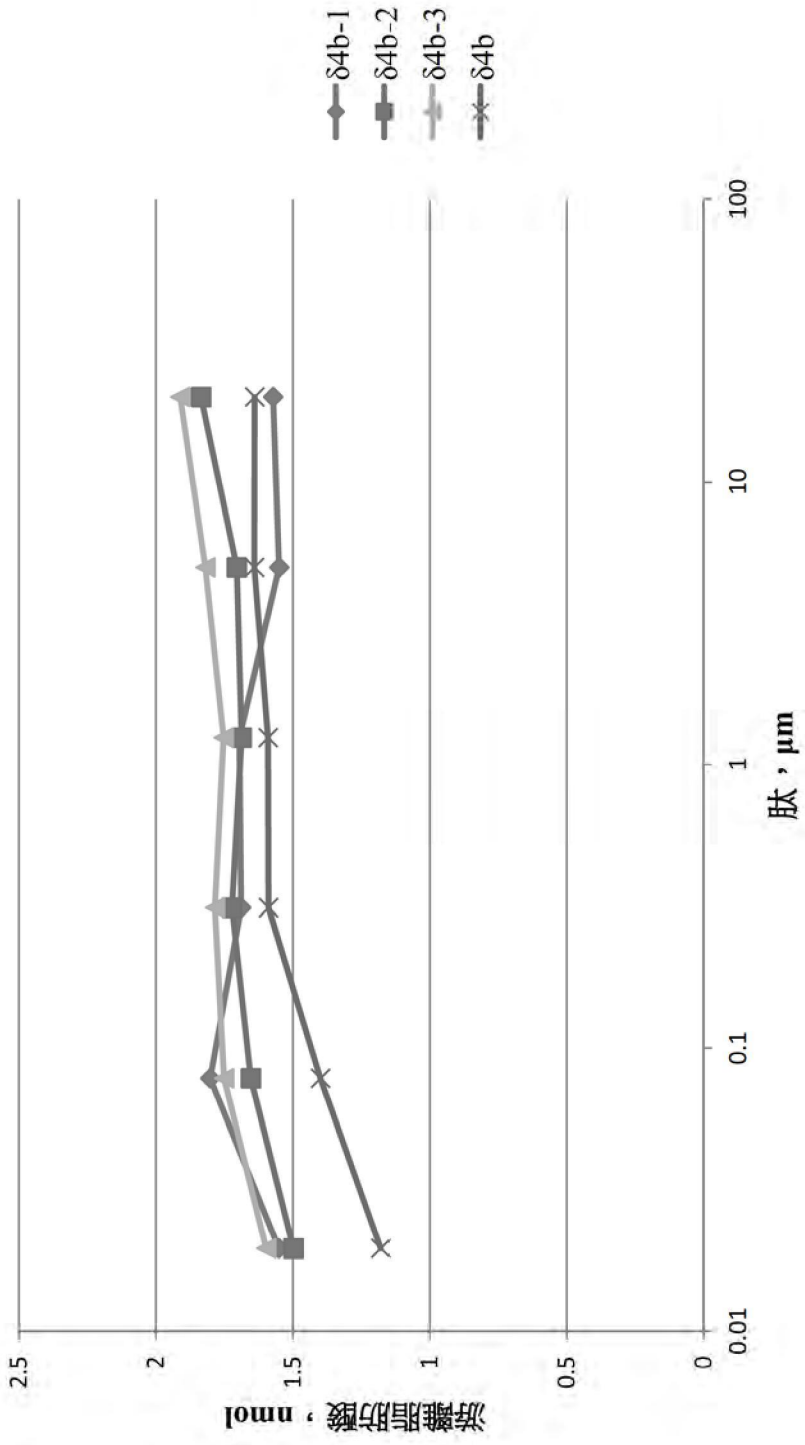
【圖8】


C2thirdhelix
C2thirdhelixStearylpos1
C2thirdhelix Stearylpos2
C2thridhelix Stearylpos17
游離脂肪酸，nmol
1.4
1.2
1
0.8
0.6
0.4
0.2
0
0.01
0.1
1
10
100
肽，μm

【圖9】



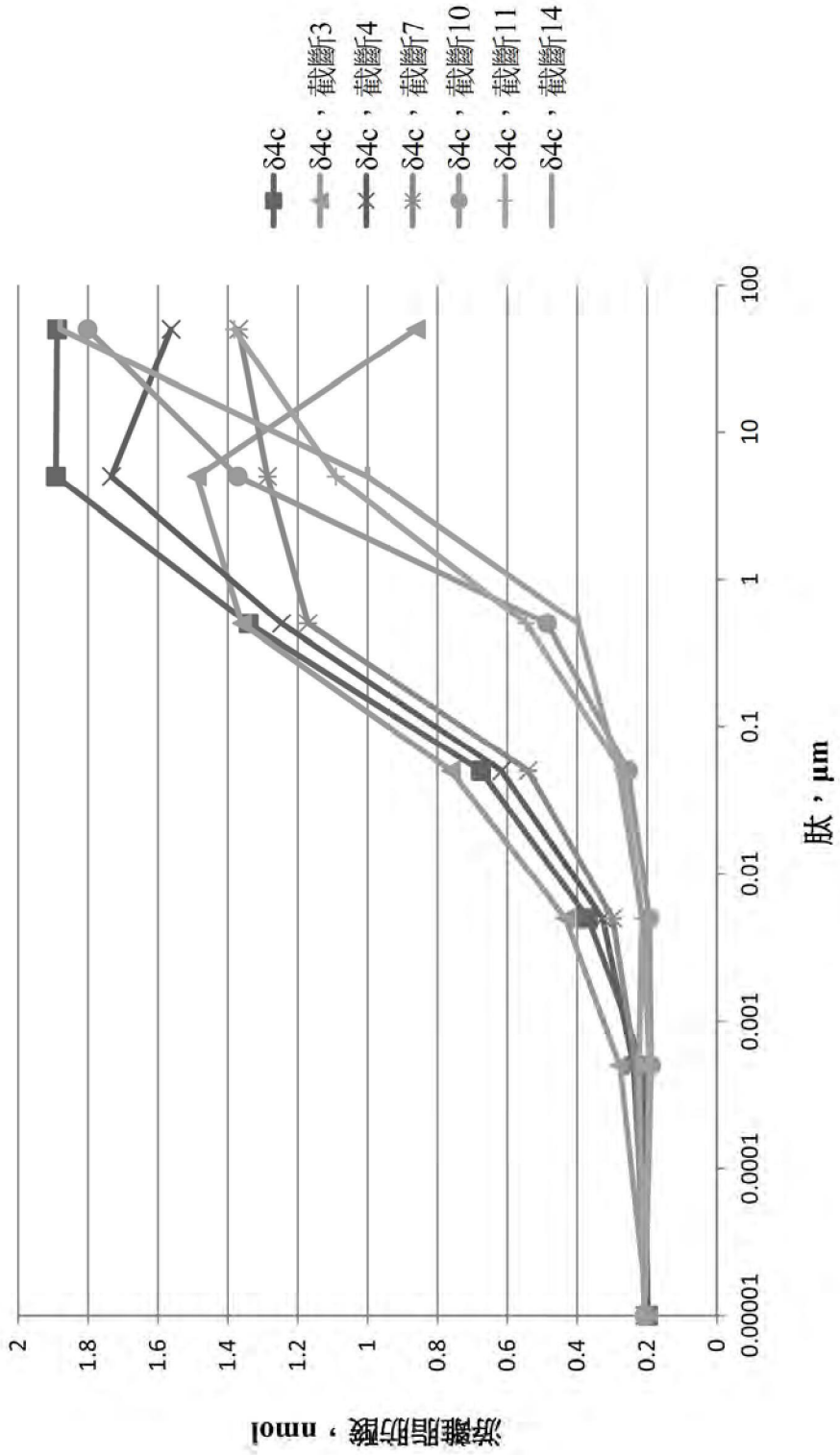
【圖10】



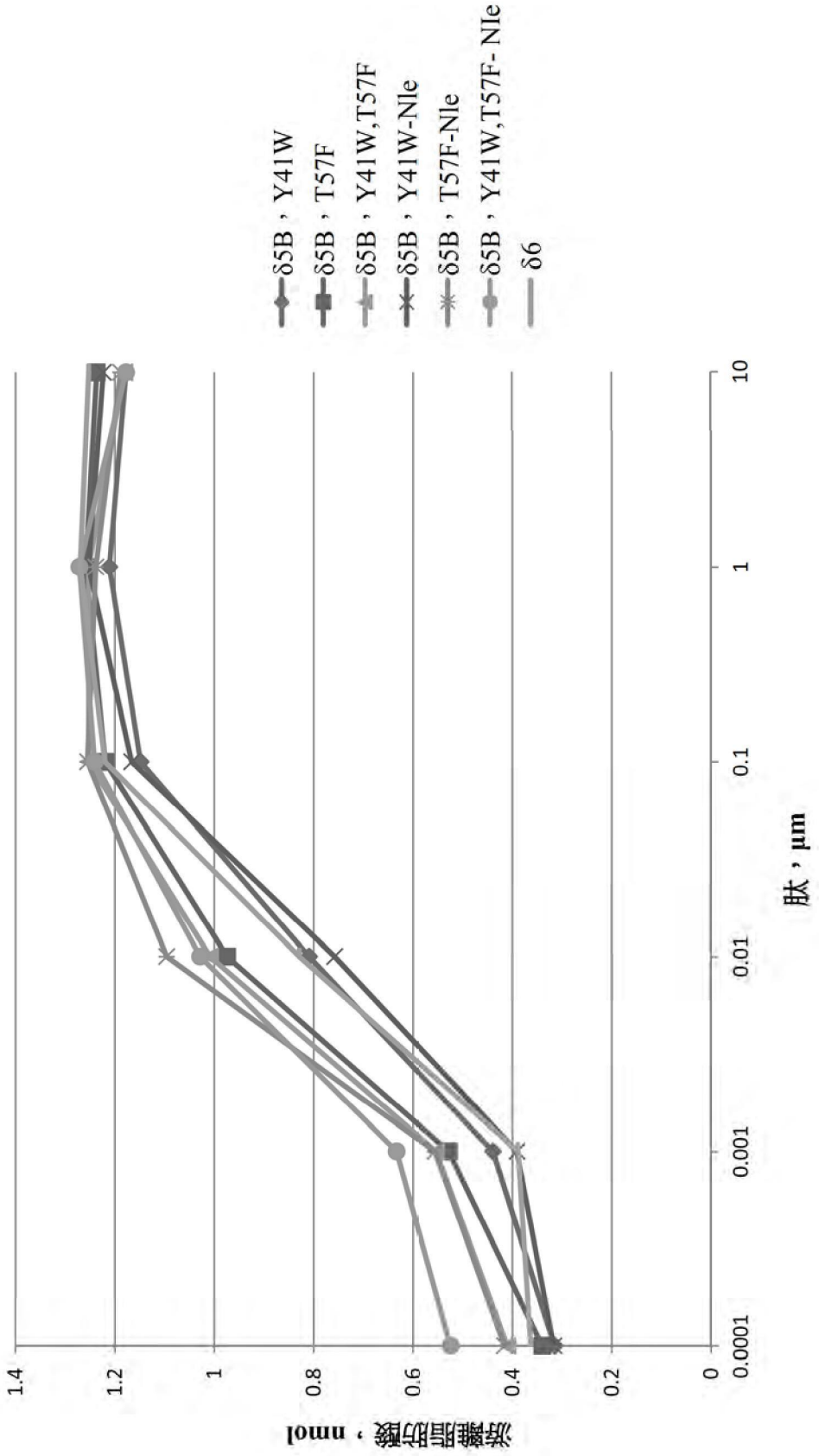
【圖11】


游離脂肪酸，nmol
1.8
1.6
1.4
1.2
1
0.8
0.6
0.4
0.2
0
0.0001
0.001
0.01
0.1
1
10
肽，μm
δ4b-1
δ4b-2
δ4b-3
δ4b
δ4b，T57F
δ4
C2

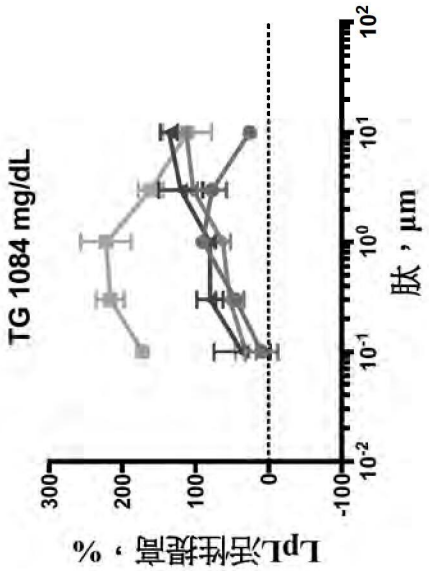
【圖12】


δ4c
δ4c，截斷F3
δ4c，截斷F4
δ4c，截斷F7
δ4c，截斷F10
δ4c，截斷F11
δ4c，截斷F14
游離脂肪酸，nmol
2
1.8
1.6
1.4
1.2
1
0.8
0.6
0.4
0.2
0
0.00001
0.0001
0.001
0.01
0.1
1
10
100
肽，μm

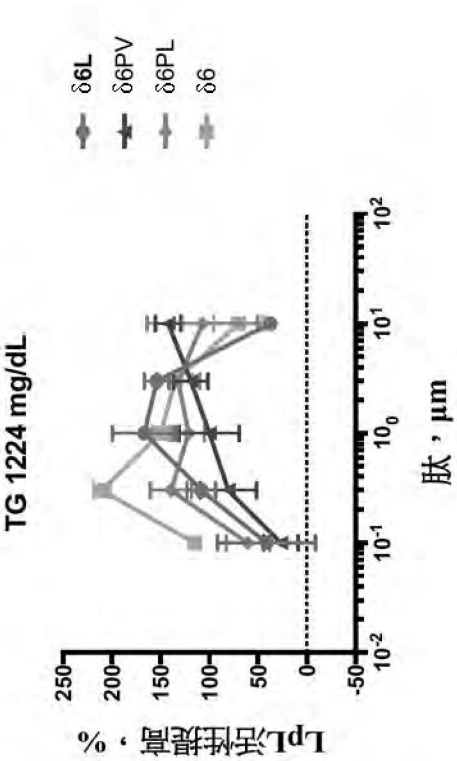
【圖13】


δ5B，Y41W
δ5B，T57F
δ5B，Y41W,T57F
δ5B，Y41W-Nle
δ5B，T57F-Nle
δ5B，Y41W,T57F- NIe
δ6
游離脂肪酸，nmol
1.4
1.2
1
0.8
0.6
0.4
0.2
0
0.0001
0.001
0.01
0.1
1
10
肽，μm

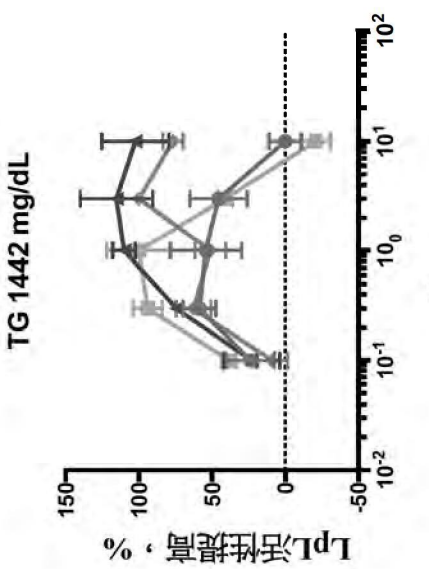
【圖14】



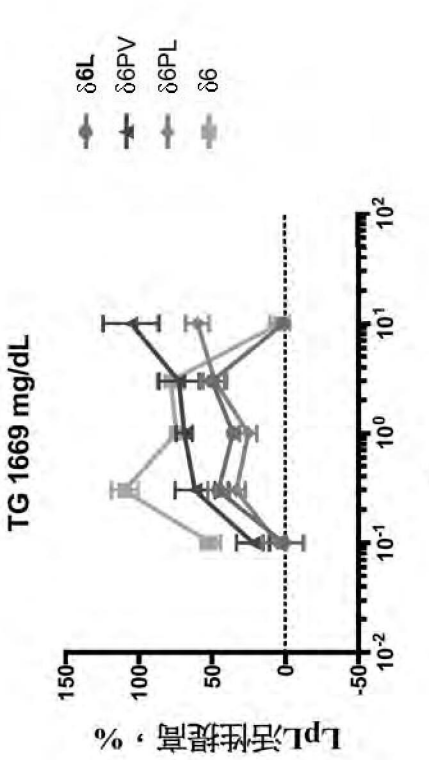
【圖15A】



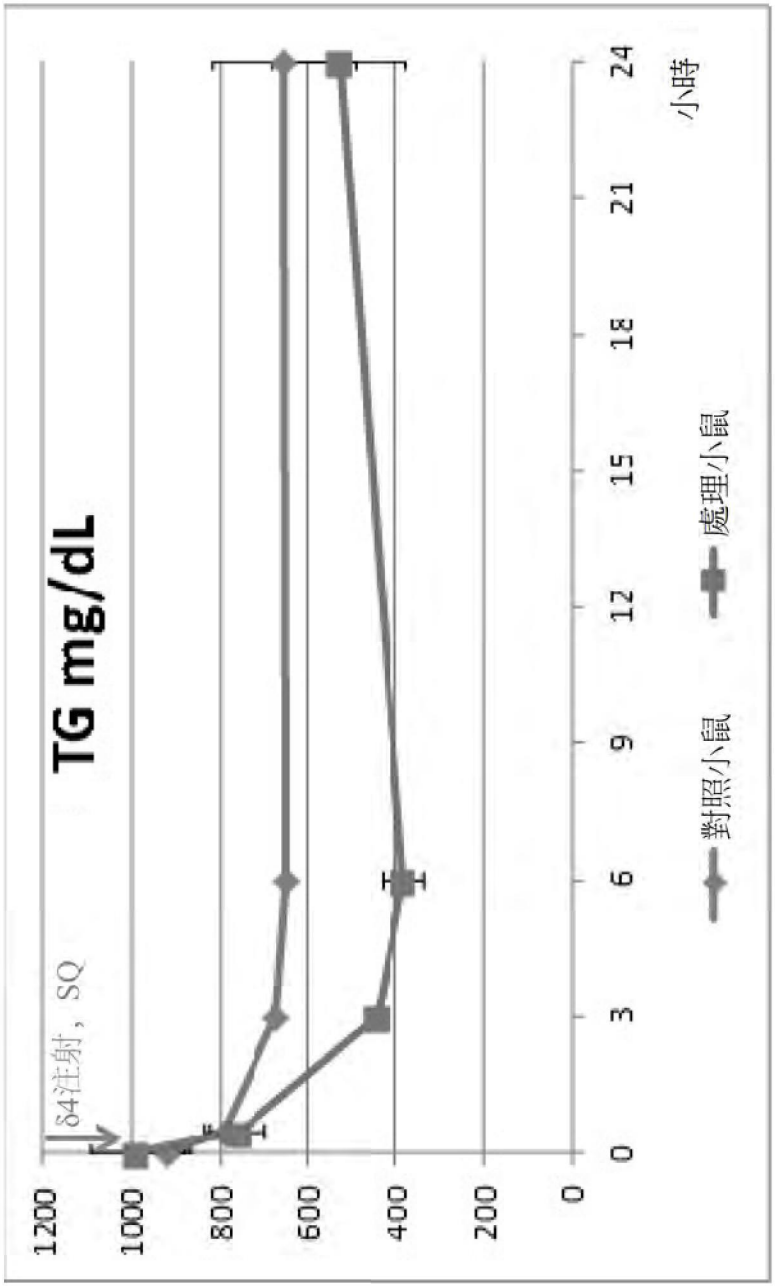
【圖15B】



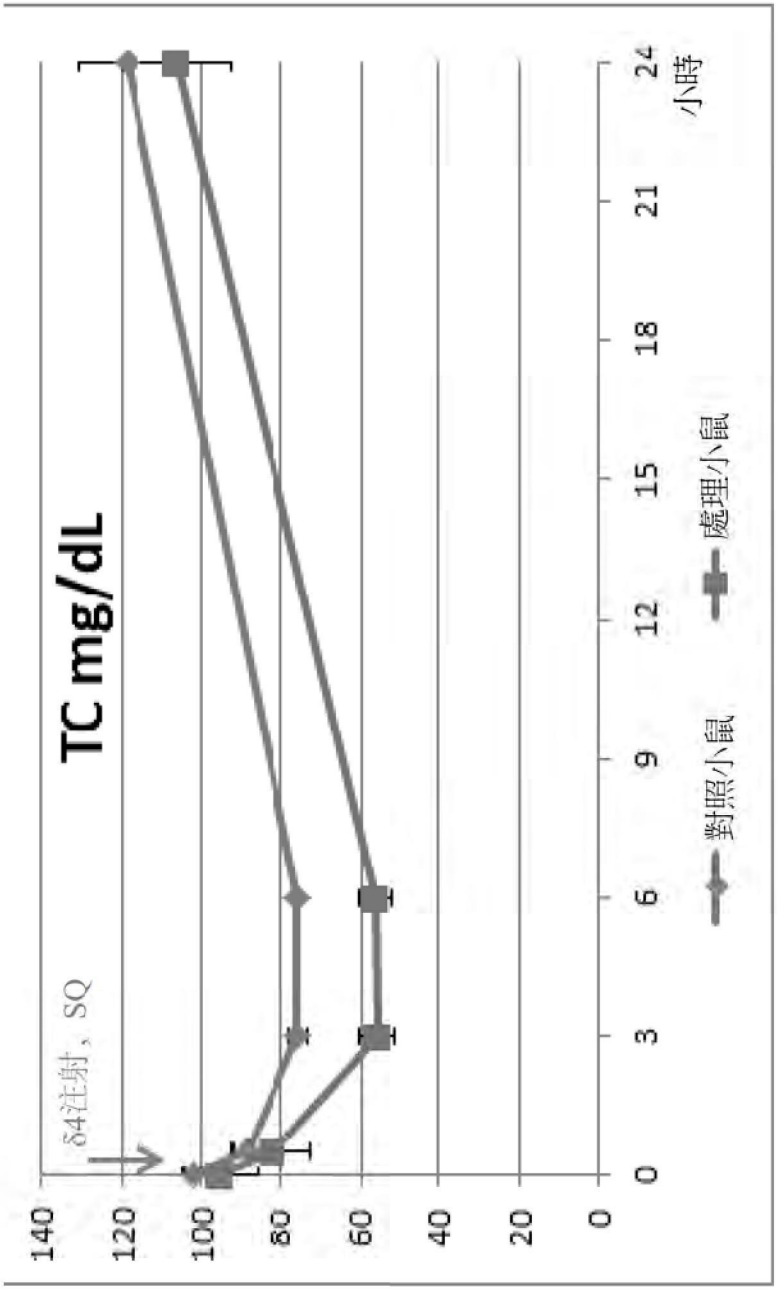
【圖15C】



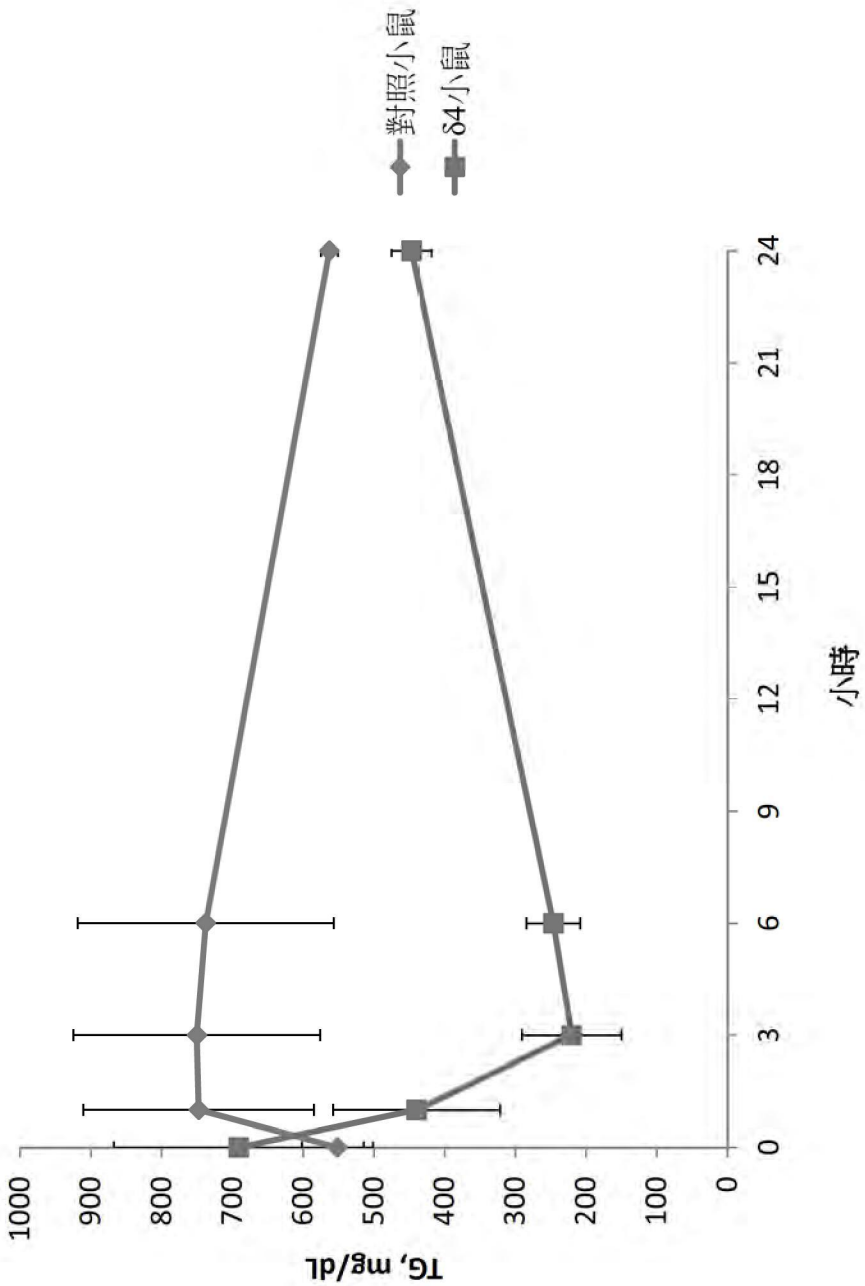
【圖15D】


TG mg/dL
84注射，SQ
1200
1000
800
600
400
200
0
0
3
6
9
12
15
18
21
24
小時
對照小鼠
處理小鼠

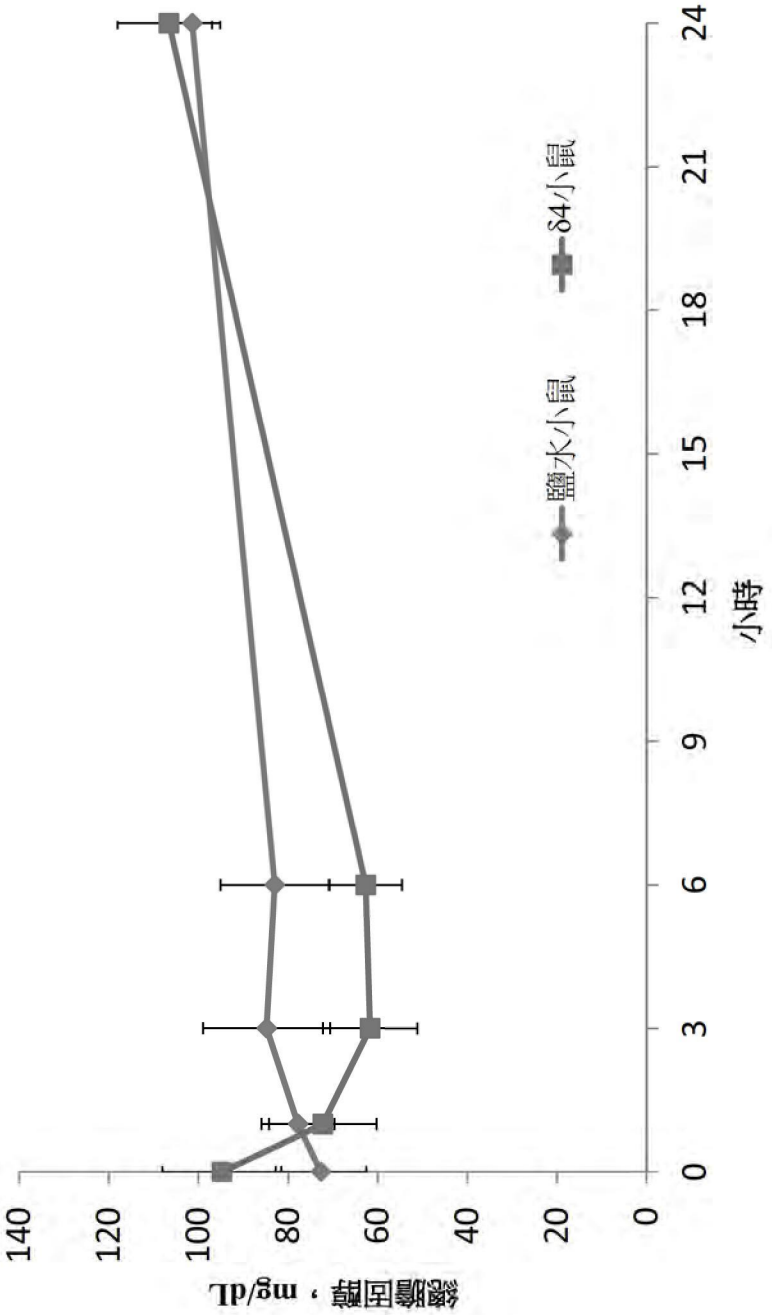
【圖16】


δ4注射，SQ
TC mg/dL
140
120
100
80
60
40
20
0
0
3
6
9
12
15
18
21
24
小時
對照小鼠
處理小鼠

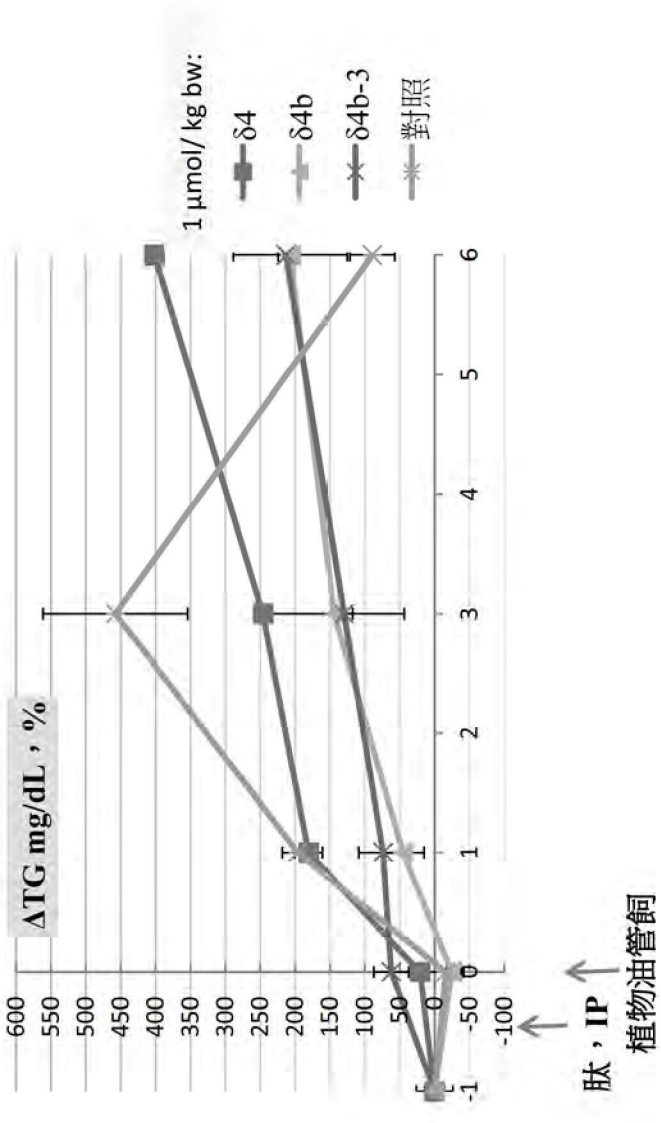
【圖17】


對照小鼠
δ4小鼠
TG, mg/dl
1000
900
800
700
600
500
400
300
200
100
0
0
3
6
9
12
15
18
21
24
小時

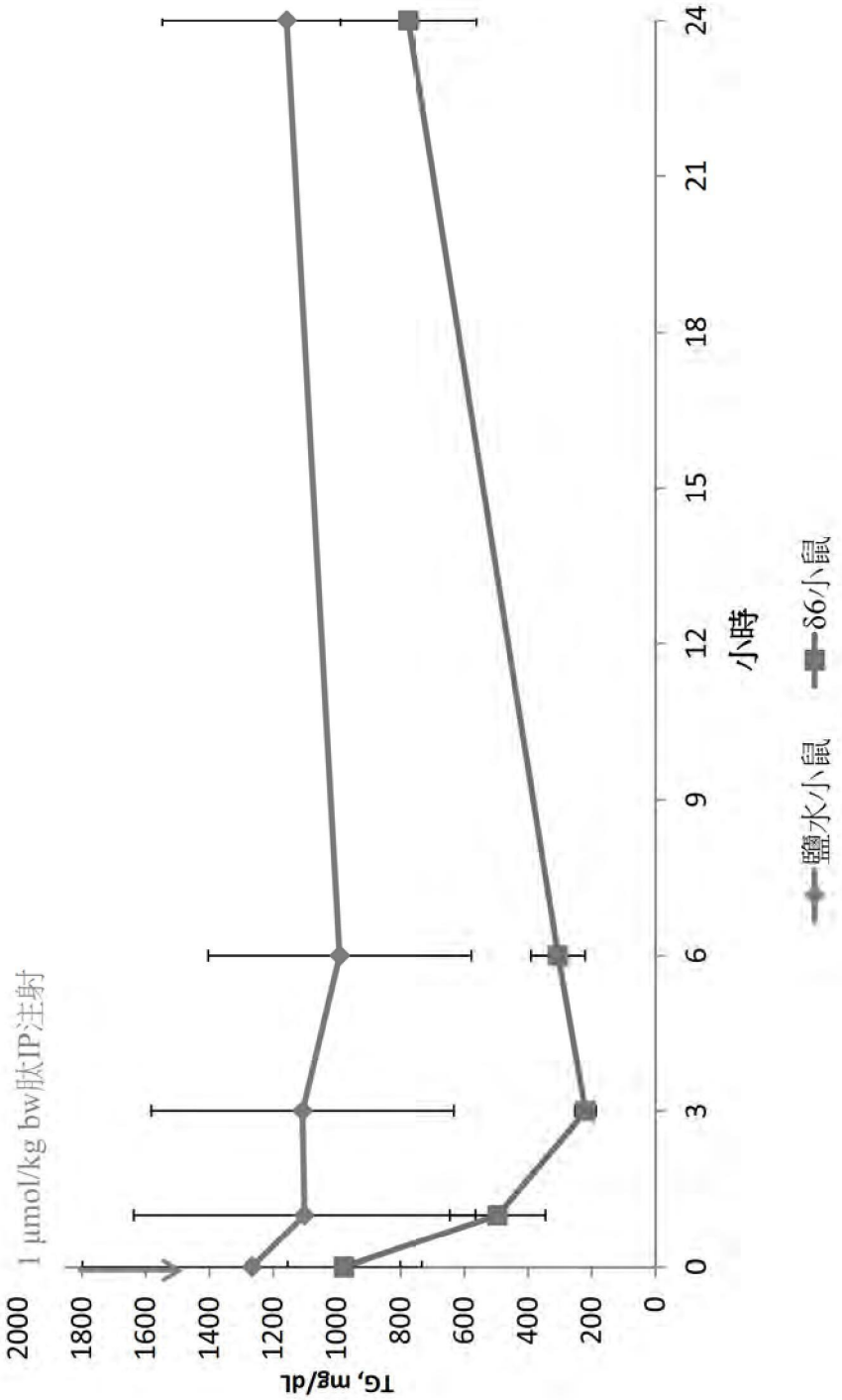
【圖18】


總膽固醇，mg/dL
140
120
100
80
60
40
20
0
0
3
6
9
12
15
18
21
24
小時
鹽水小鼠
δ4小鼠

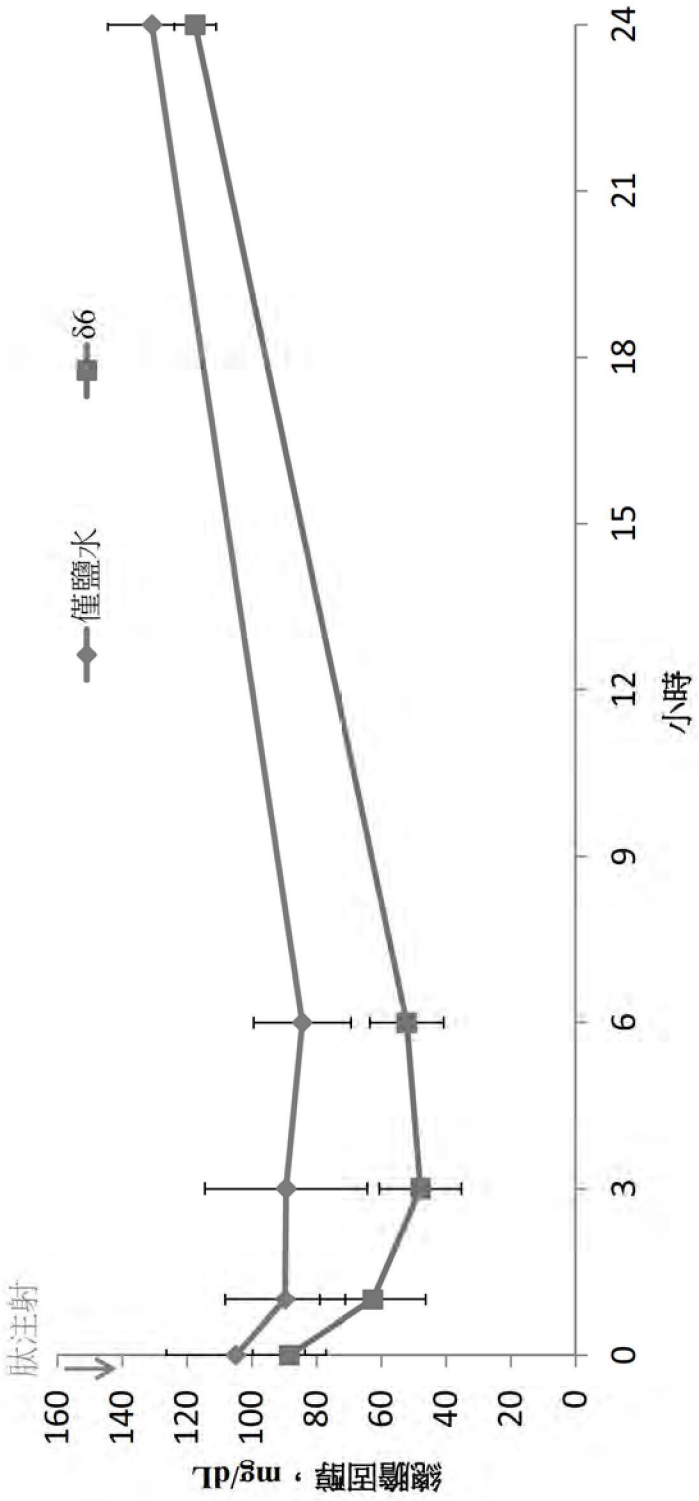
【圖19】


ΔTG mg/dL，%
600
550
500
450
400
350
300
250
200
150
100
50
0
-50
-100
-1
0
1
2
3
4
5
6
1 μmol/ kg bw:
δ4
δ4b
δ4b-3
對照
肽，IP
植物油管飼

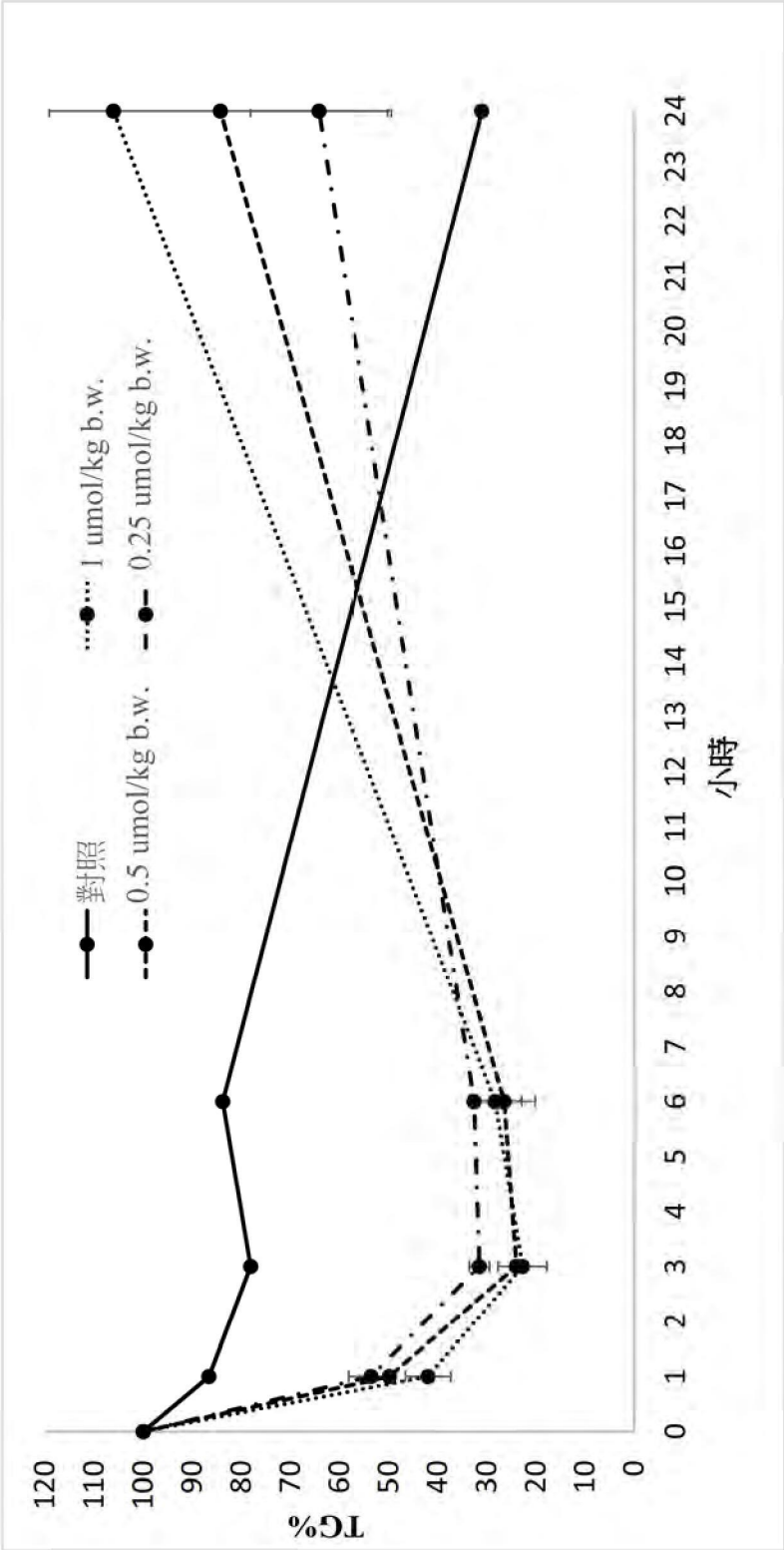
【圖20】


1 μmol/kg bw肽IP注射
TG, mg/dL
2000
1800
1600
1400
1200
1000
800
600
400
200
0
0
3
6
9
12
15
18
21
24
小時
鹽水小鼠
δ6小鼠

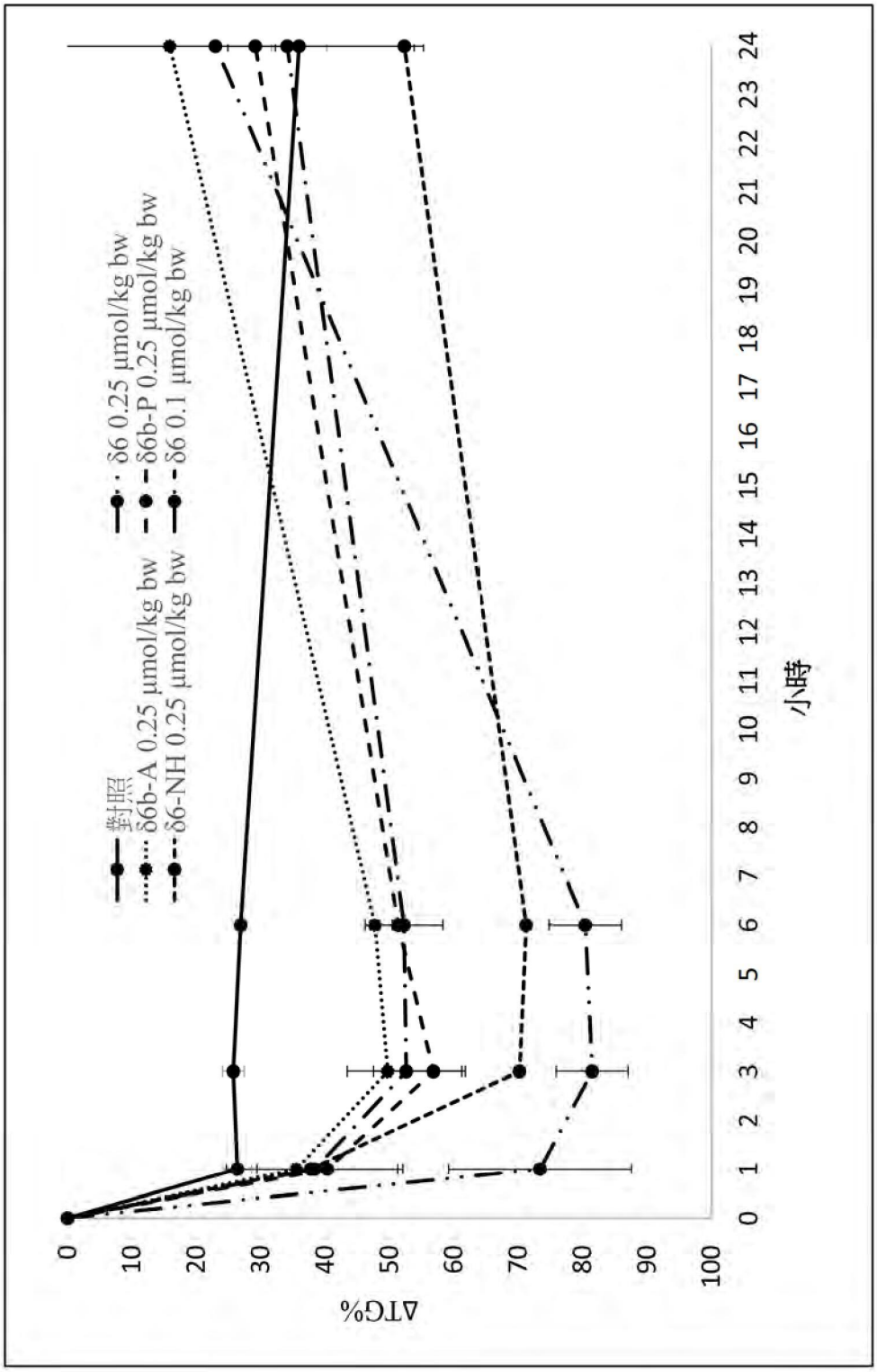
【圖21】


肽注射
160
140
120
100
80
60
40
20
0
總膽固醇，mg/dL
0
3
6
9
12
15
18
21
24
小時
僅鹽水
δ6

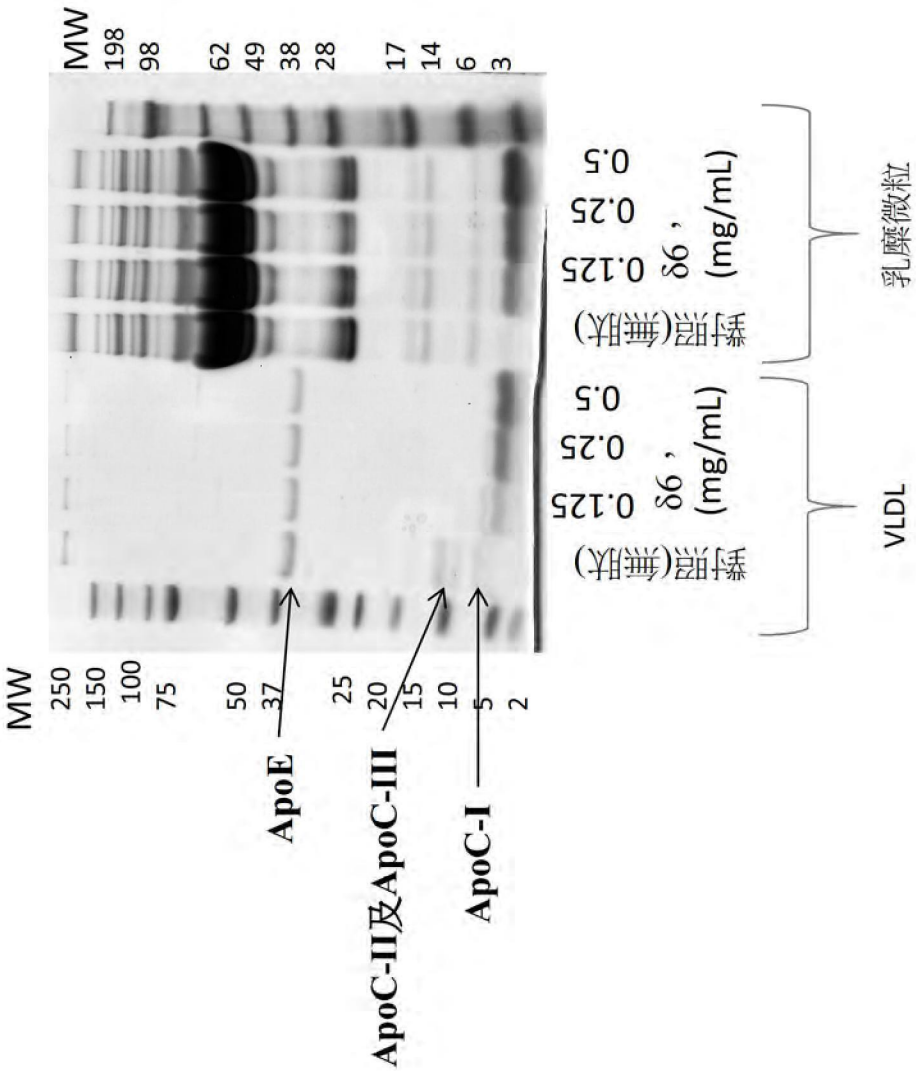
【圖22】


對照
0.5 umol/kg b.w.
1 umol/kg b.w.
0.25 umol/kg b.w.
TG%
120
110
100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0
0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21 22 23 24
小時

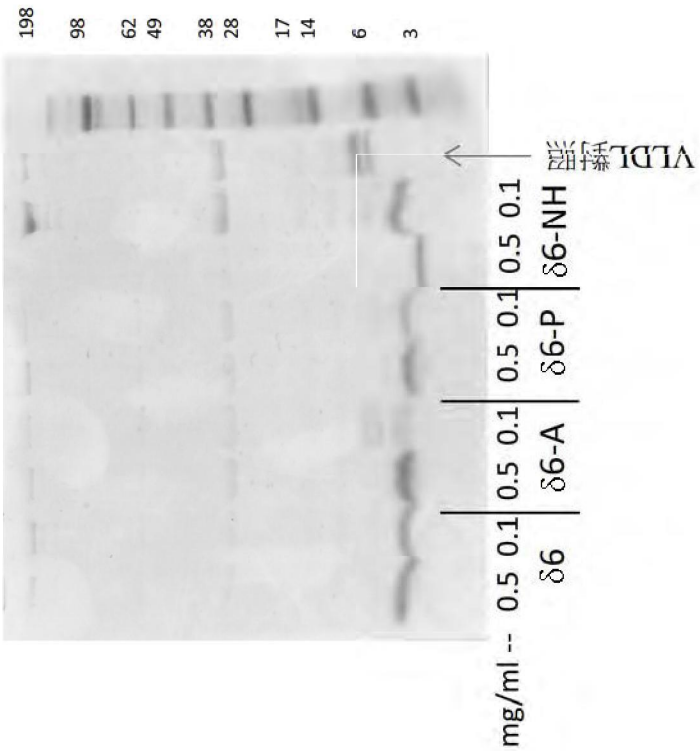
【圖23】


對照
δ6b-A 0.25 μmol/kg bw
δ6-NH 0.25 μmol/kg bw
δ6 0.25 μmol/kg bw
δ6b-P 0.25 μmol/kg bw
δ6 0.1 μmol/kg bw
ΔTG%
0
10
20
30
40
50
60
70
80
90
100
小時
0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21 22 23 24

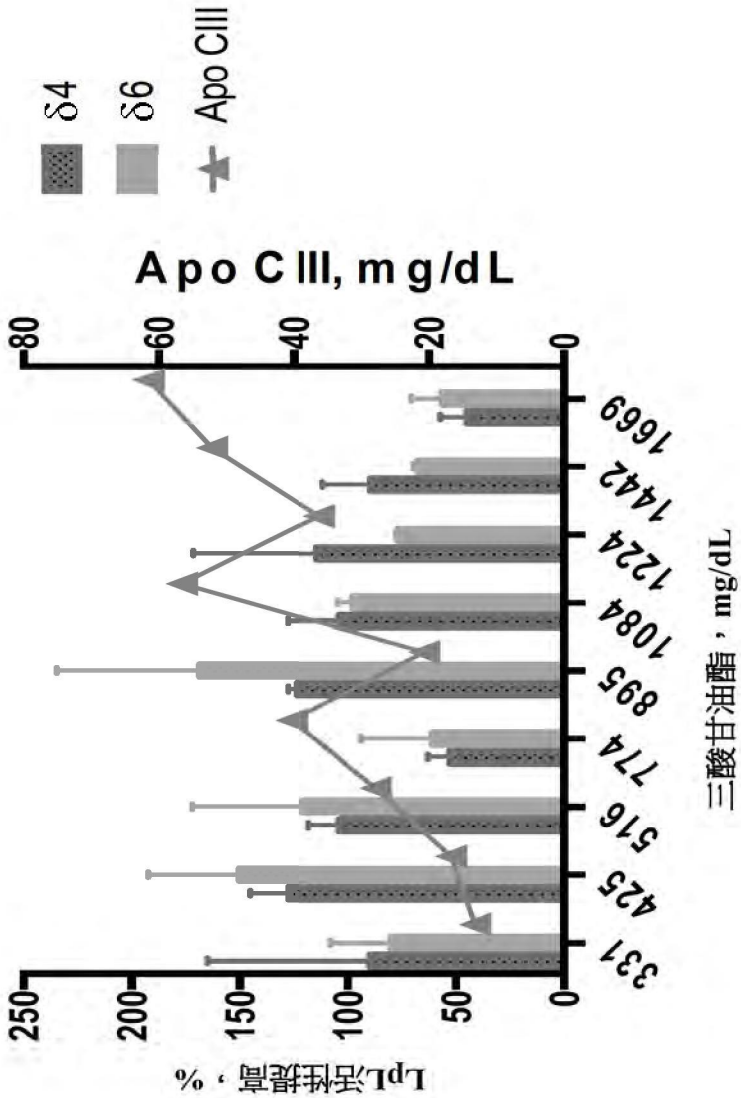
【圖24】


MW
250
150
100
75
50
37
25
20
15
10
5
2
ApoE
ApoC-II及ApoC-III
ApoC-I
MW
198
98
62
49
38
28
17
14
6
3
對照(無肽)
9β，(mg/mL)
0.125
0.25
0.5
對照(無肽)
9β，(mg/mL)
0.125
0.25
0.5
VLDL
乳糜微粒

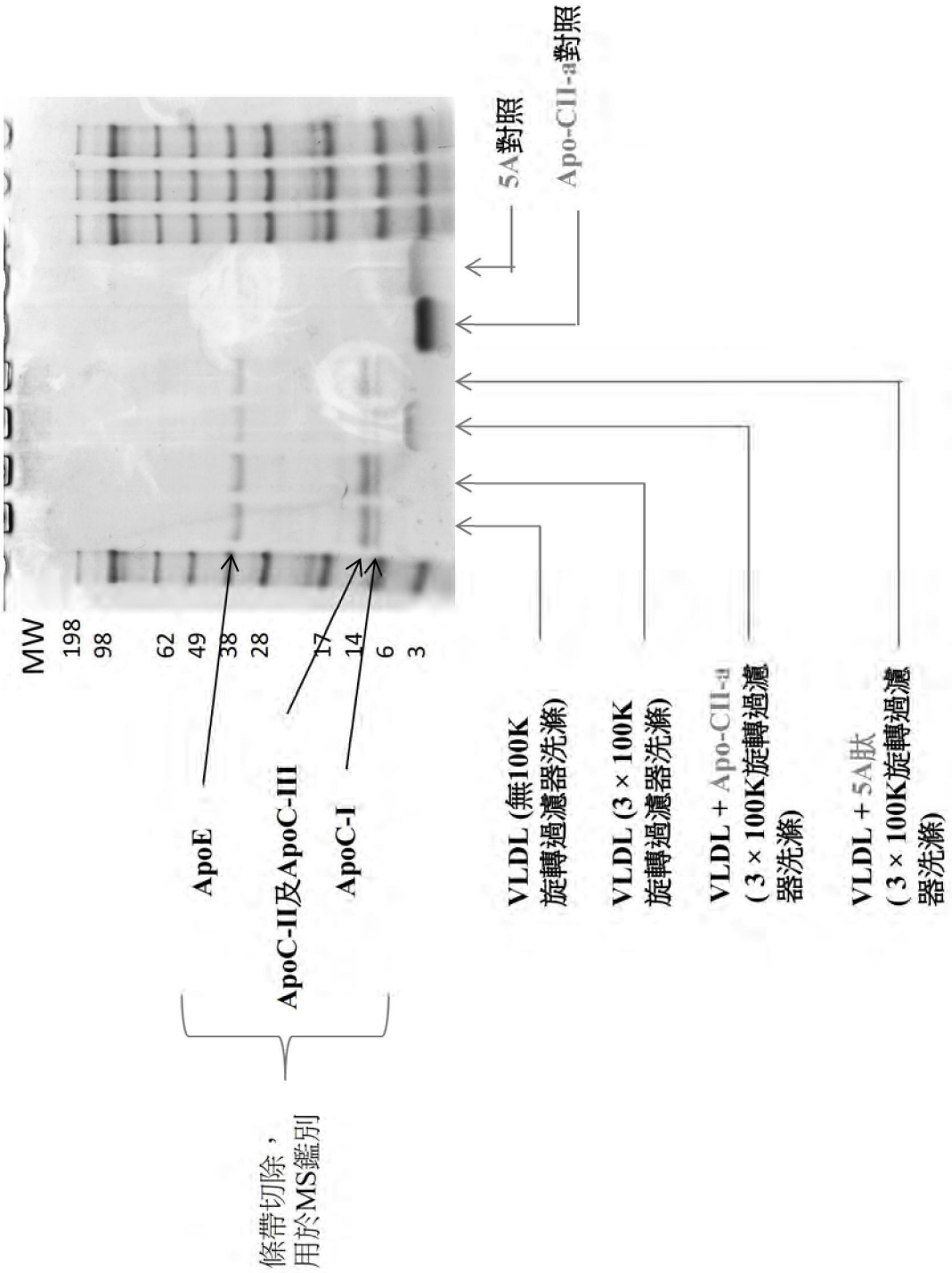
【圖25】


198
98
62
49
38
28
17
14
6
3
mg/ml -- 0.5 0.1 0.5 0.1 0.5 0.1 0.5 0.1
δ6 δ6-A δ6-P δ6-NH
VLDL對照

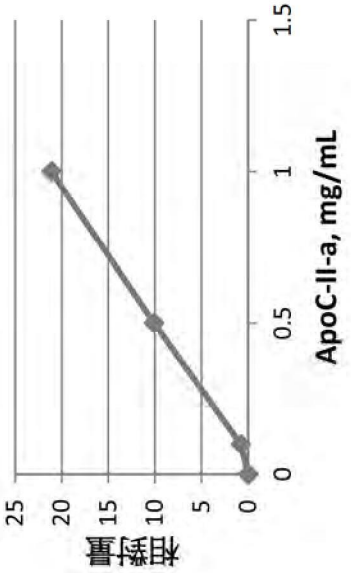
【圖26】


δ4
δ6
Apo CIII
Apo C III, mg/dL
80
60
40
20
0
250
200
150
100
50
0
LpL活性提高，%
331
425
516
774
895
1084
1224
1442
1669
三酸甘油酯，mg/dL

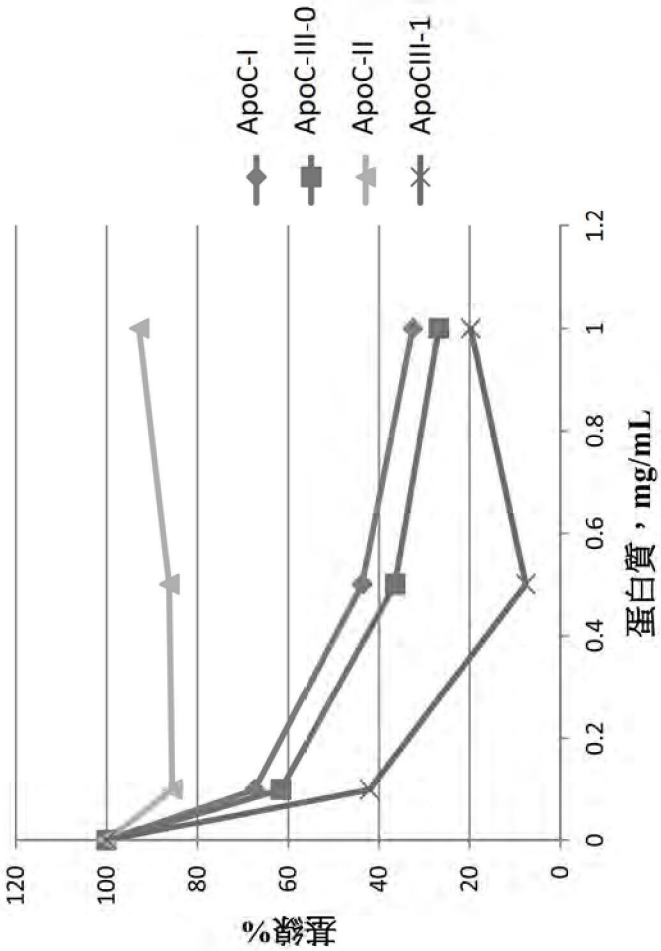
【圖27】


MW
198
98
62
49
38
28
17
14
6
3
ApoE
ApoC-II及ApoC-III
ApoC-I
條帶切除，
用於MS鑑別
VLDL (無100K
旋轉過濾器洗滌)
VLDL (3 × 100K
旋轉過濾器洗滌)
VLDL + Apo-CII-a
(3 × 100K旋轉過濾
器洗滌)
VLDL + 5A肽
(3 × 100K旋轉過濾
器洗滌)
5A對照
Apo-CII-a對照

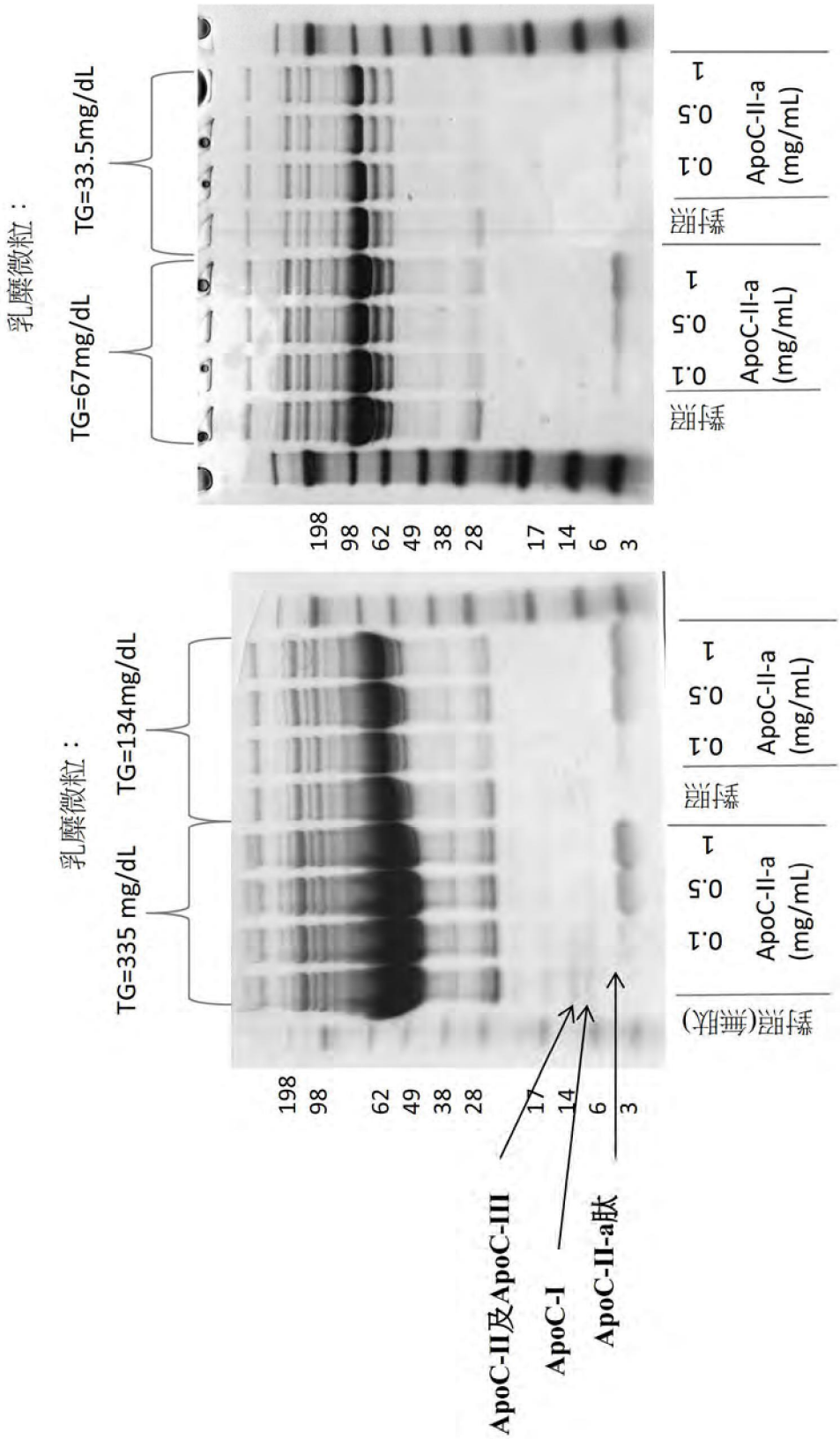
【圖28】


相對量
25
20
15
10
5
0
0
0.5
1
1.5
ApoC-II-a, mg/mL

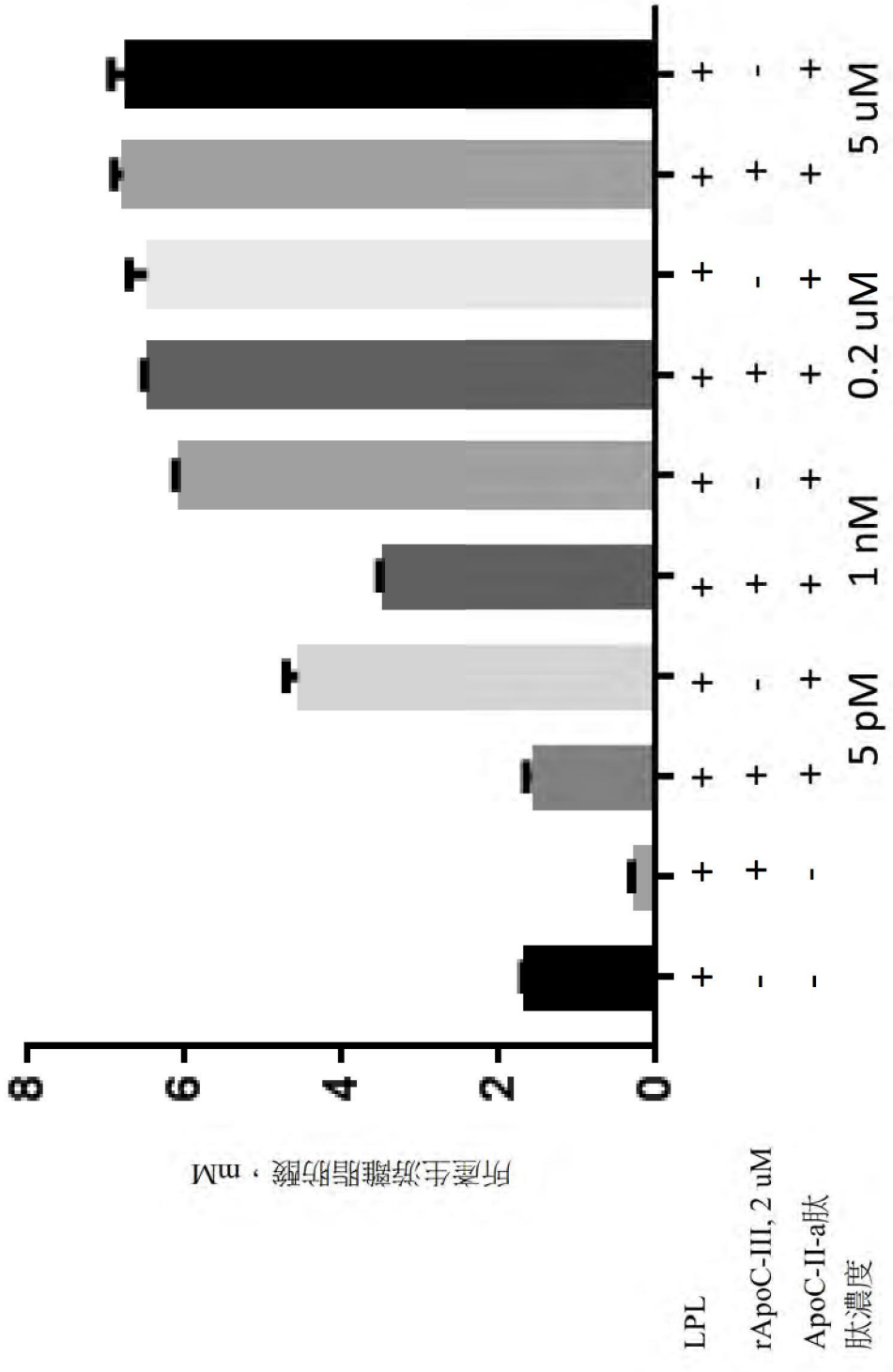
【圖29B】


基線%
120
100
80
60
40
20
0
0
0.2
0.4
0.6
0.8
1
1.2
蛋白質，mg/mL
ApoC-I
ApoC-III-0
ApoC-II
ApoCIII-1

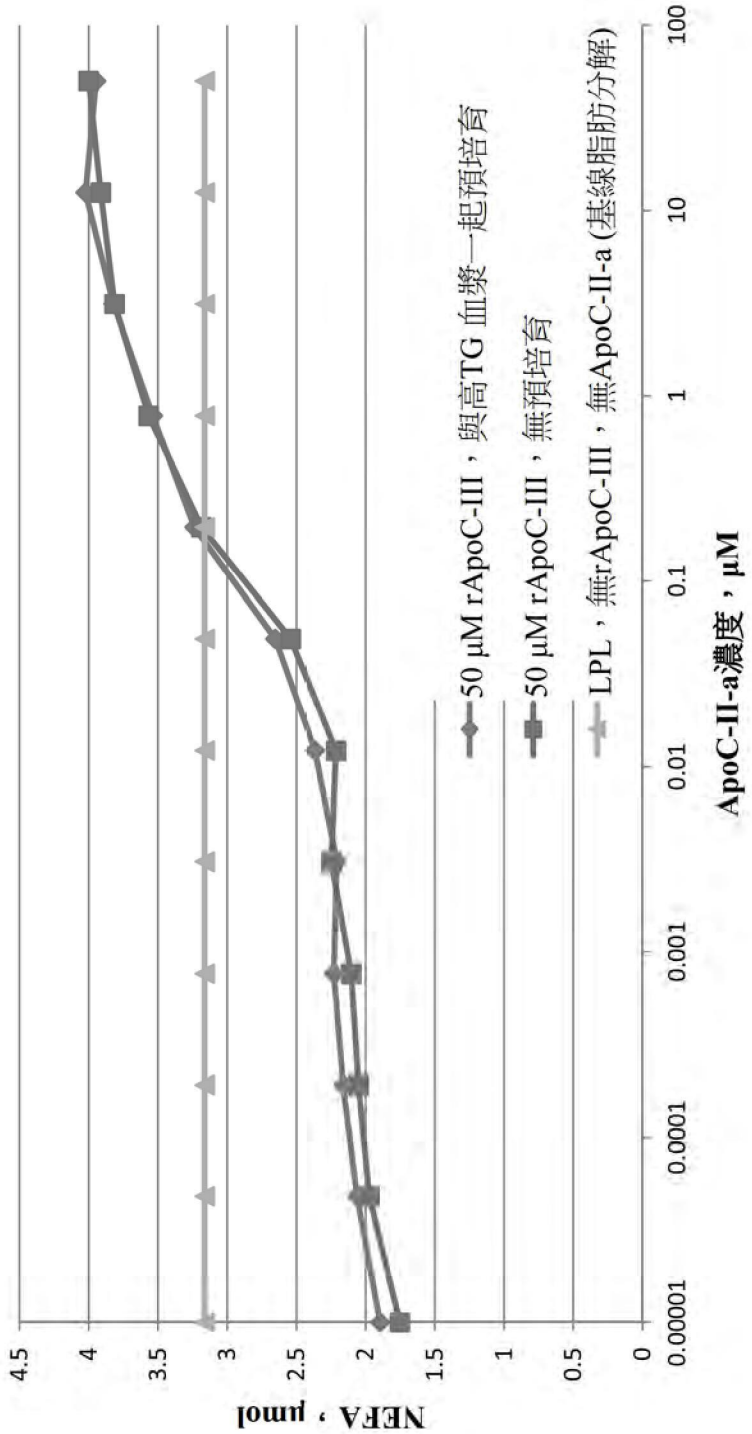
【圖29A】


乳糜微粒：
TG=335 mg/dL
TG=134mg/dL
TG=67mg/dL
TG=33.5mg/dL
198
98
62
49
38
28
17
14
6
3
ApoC-II及ApoC-III
ApoC-I
ApoC-II-a肽
對照(無肽)
對照
ApoC-II-a (mg/mL)
0.1
0.5
1

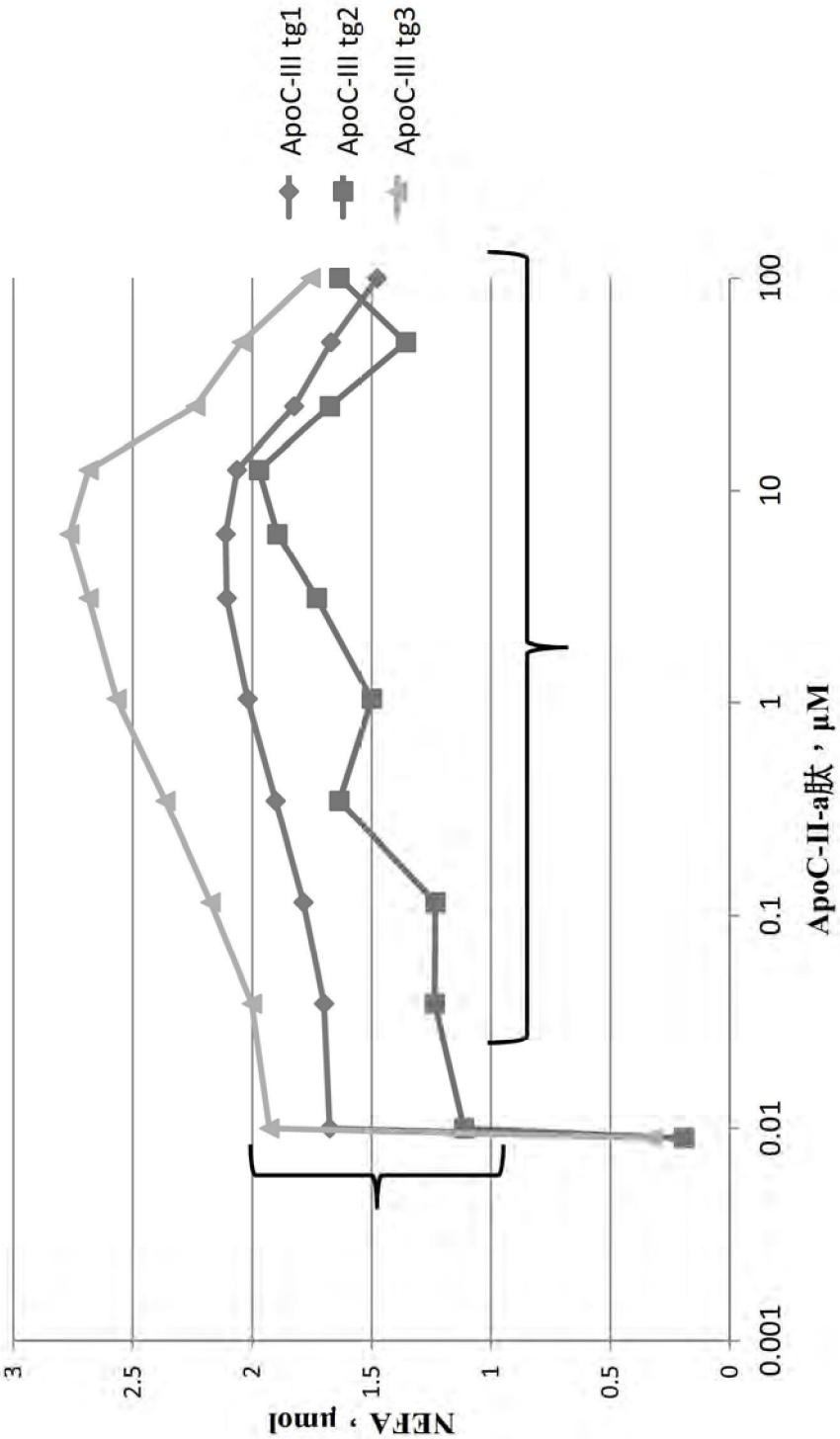
【圖30】


所產生游離脂肪酸，mM
8
6
4
2
0
LPL
rApoC-III, 2 uM
ApoC-II-a肽
肽濃度
5 pM
1 nM
0.2 uM
5 uM

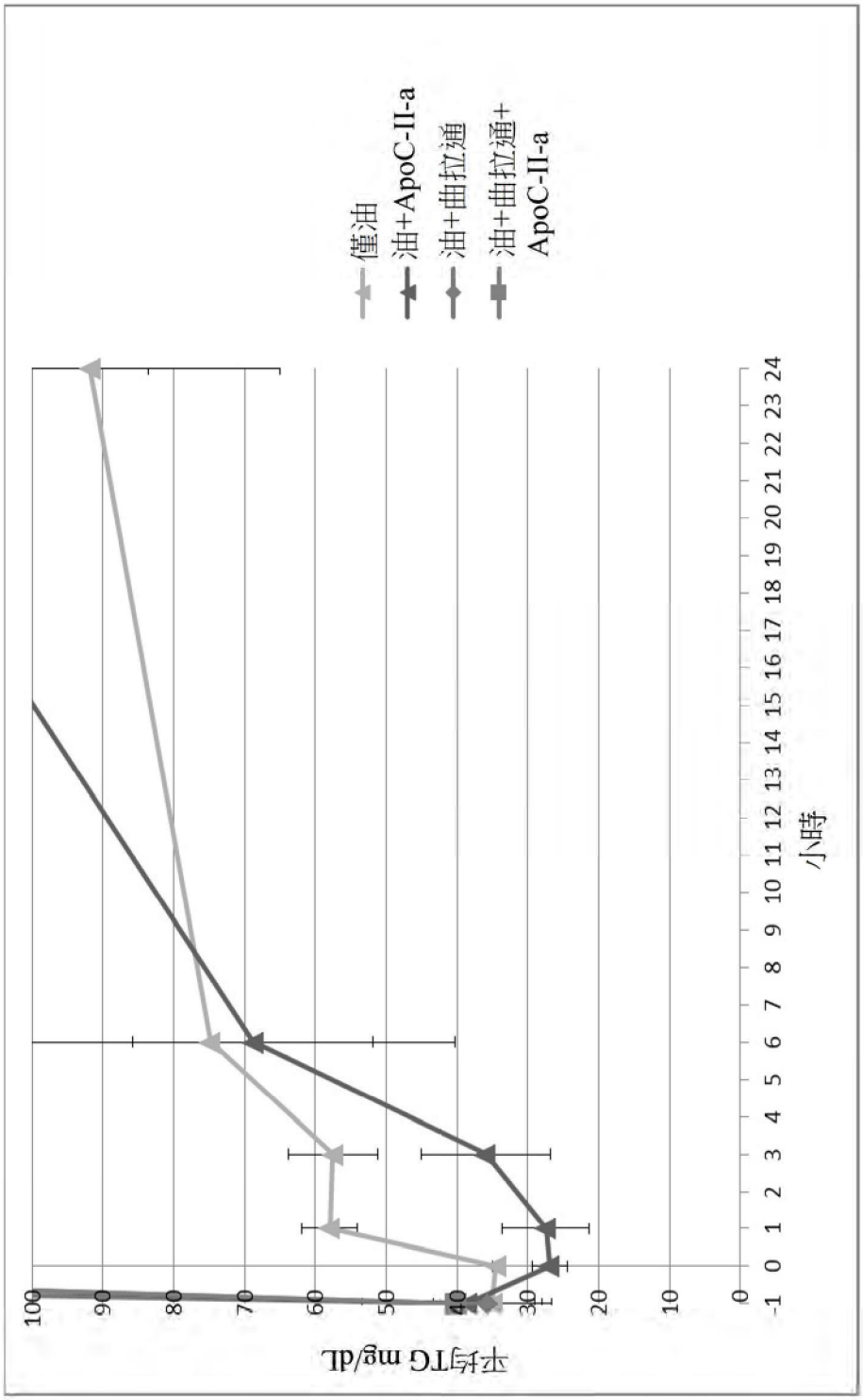
【圖31】


NEFA，μmol
4.5
4
3.5
3
2.5
2
1.5
1
0.5
0
0.00001
0.0001
0.001
0.01
0.1
1
10
100
ApoC-II-a濃度，μM
50 μM rApoC-III，與高TG 血漿一起預培育
50 μM rApoC-III，無預培育
LPL，無rApoC-III，無ApoC-II-a (基線脂肪分解)

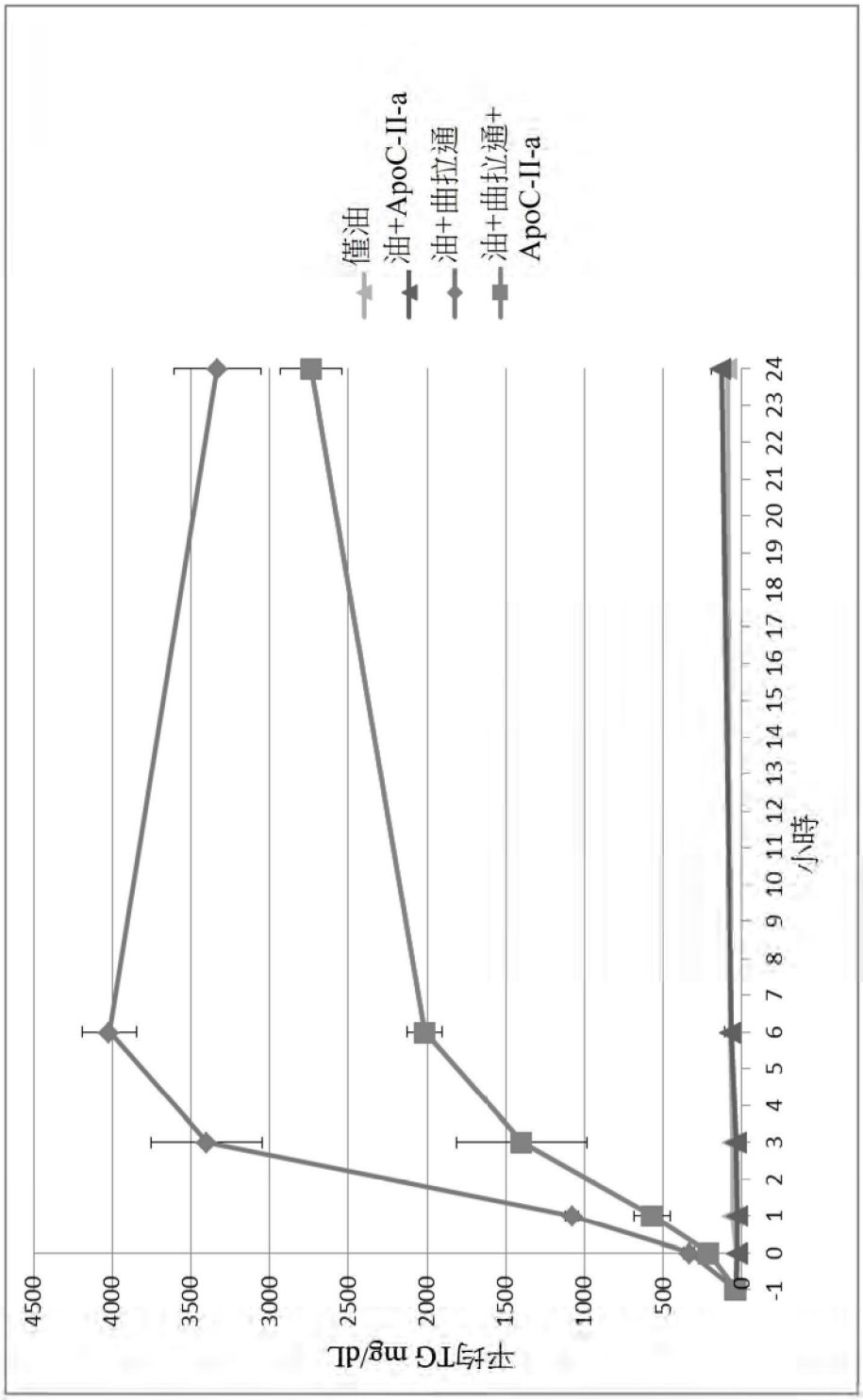
【圖32】


ApoC-III tg1
ApoC-III tg2
ApoC-III tg3
NEFA，μmol
3
2.5
2
1.5
1
0.5
0
0.001
0.01
0.1
1
10
100
ApoC-II-a肽，μM

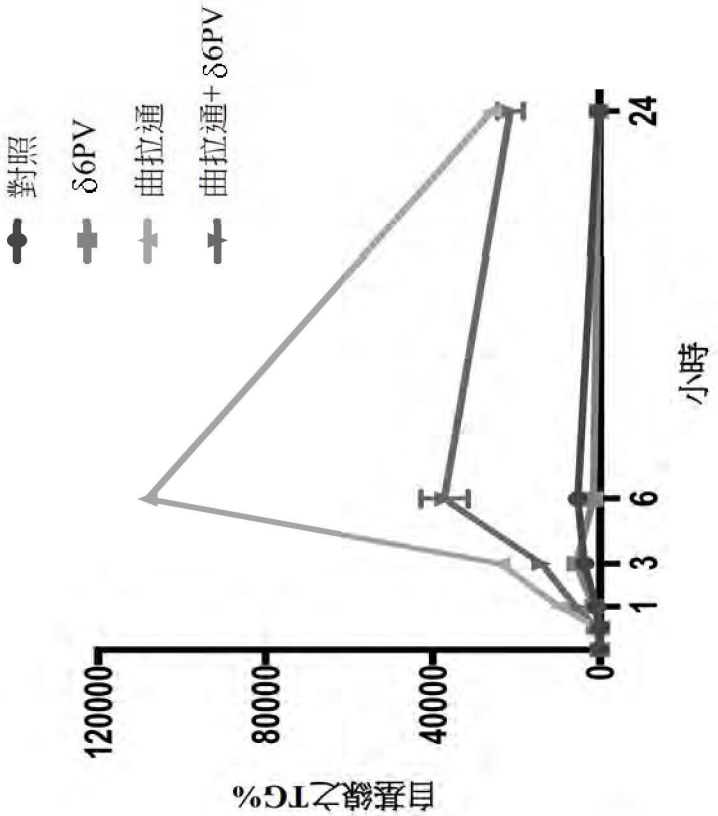
【圖33】


平均TG mg/dL
100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0
-1 0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21 22 23 24
小時
僅油
油+ApoC-II-a
油+曲拉通
油+曲拉通+ApoC-II-a

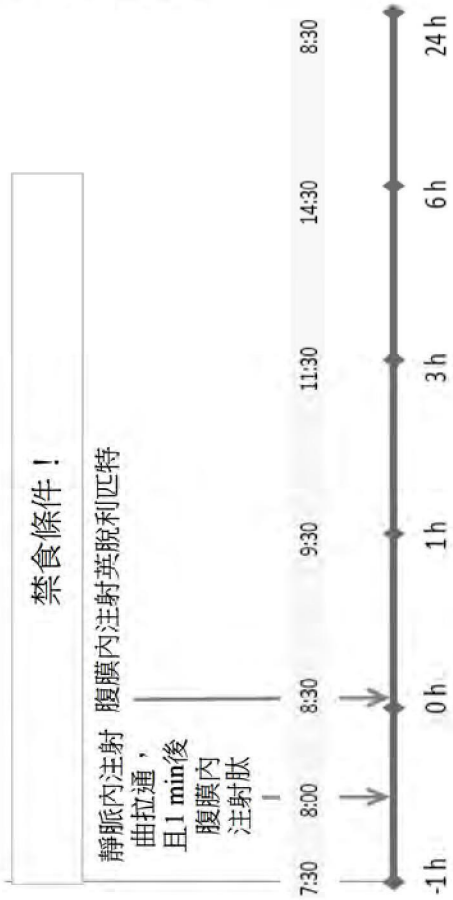
【圖34A】


平均TG mg/dL
4500
4000
3500
3000
2500
2000
1500
1000
500
0
-1 0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21 22 23 24
小時
僅油
油+ApoC-II-a
油+曲拉通
油+曲拉通+ApoC-II-a

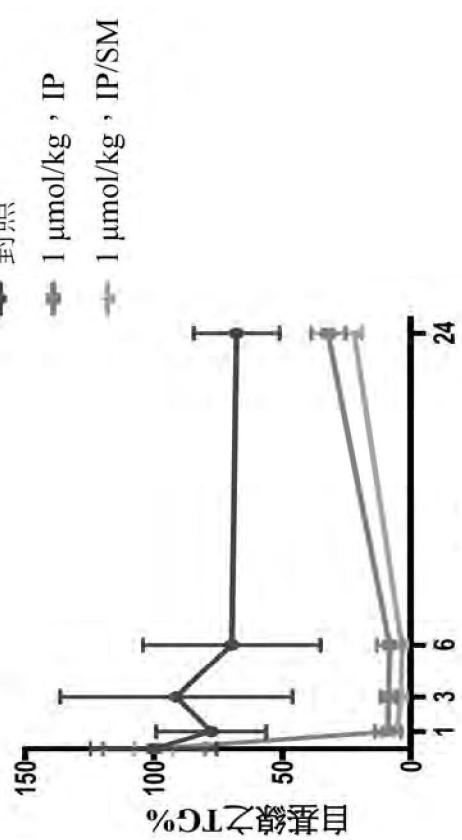
【圖34B】


對照
δ6PV
曲拉通
曲拉通+δ6PV
120000
80000
40000
0
1
3
6
24
小時
自基線之TG%

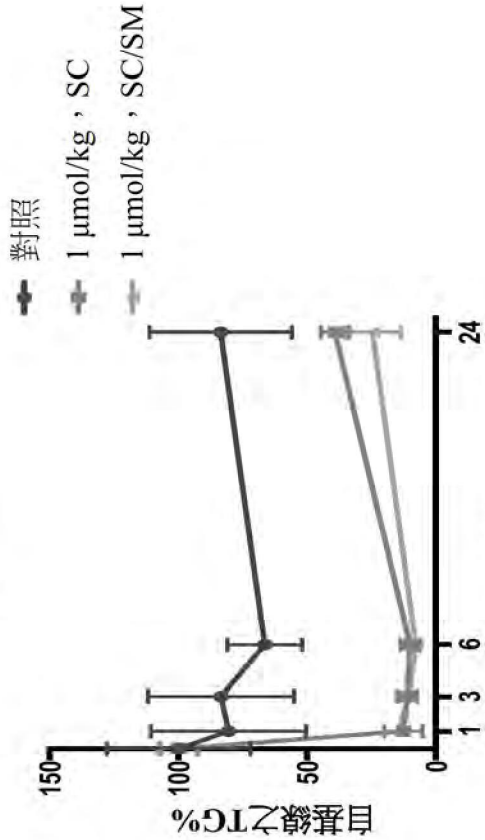
【圖35B】


禁食條件！
靜脈內注射 曲拉通，且1 min後腹膜內注射肽
腹膜內注射英脫利匹特
7:30
8:00
8:30
9:30
11:30
14:30
8:30
-1 h
0 h
1 h
3 h
6 h
24 h

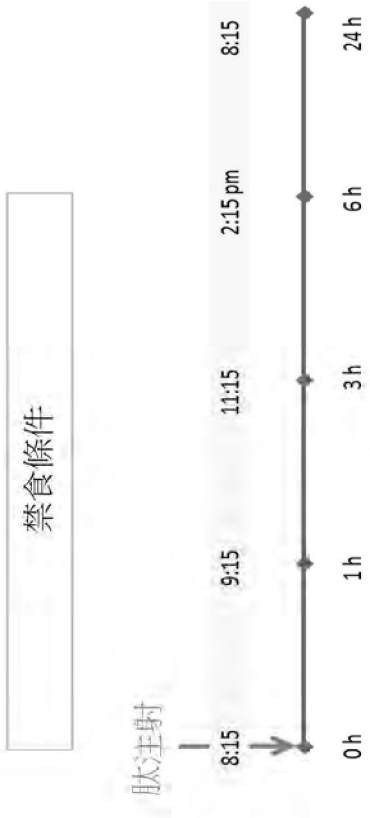
【圖35A】



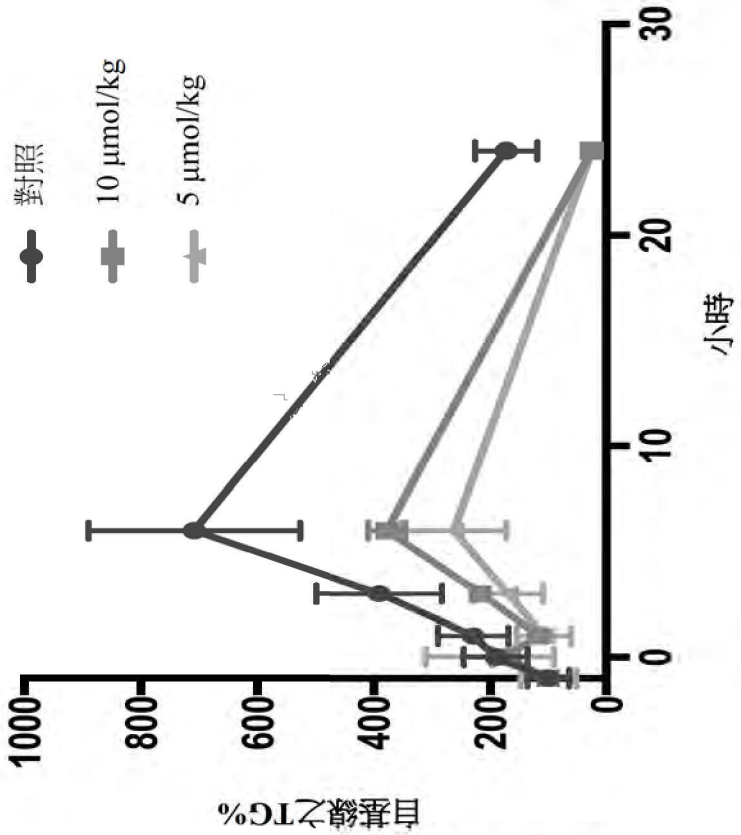
【圖36B】



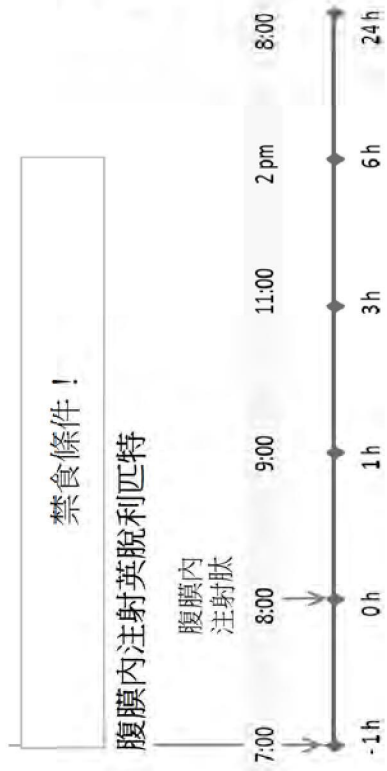
【圖36C】



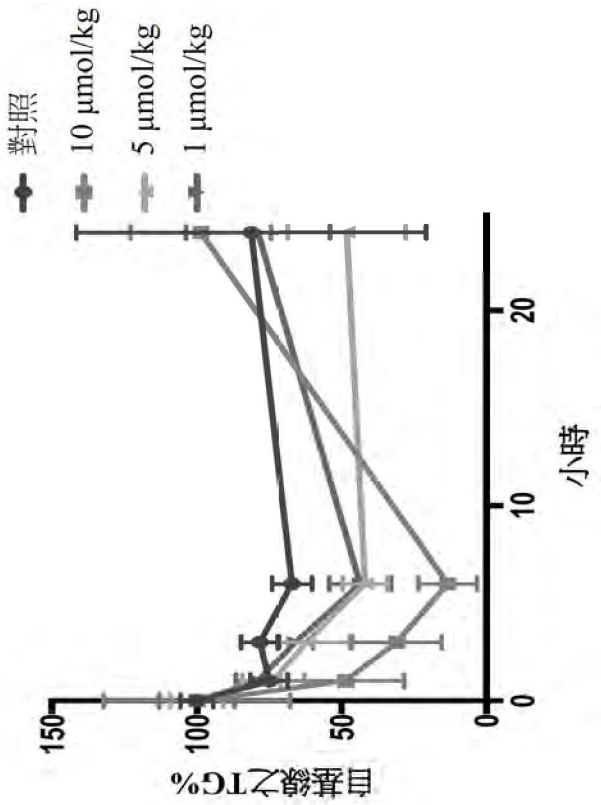
【圖36A】


對照
10 μmol/kg
5 μmol/kg
1000
800
600
400
200
0
0
10
20
30
小時
基線之TG%

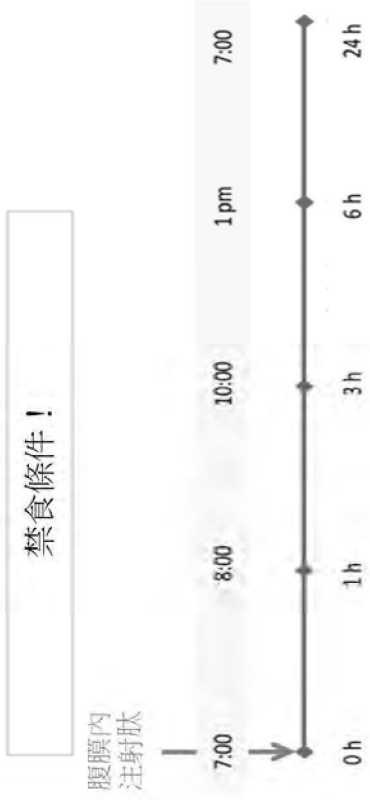
【圖37B】


禁食條件！
腹膜內注射英脫利匹特
腹膜內
注射肽
7:00
8:00
9:00
11:00
2 pm
8:00
-1 h
0 h
1 h
3 h
6 h
24 h

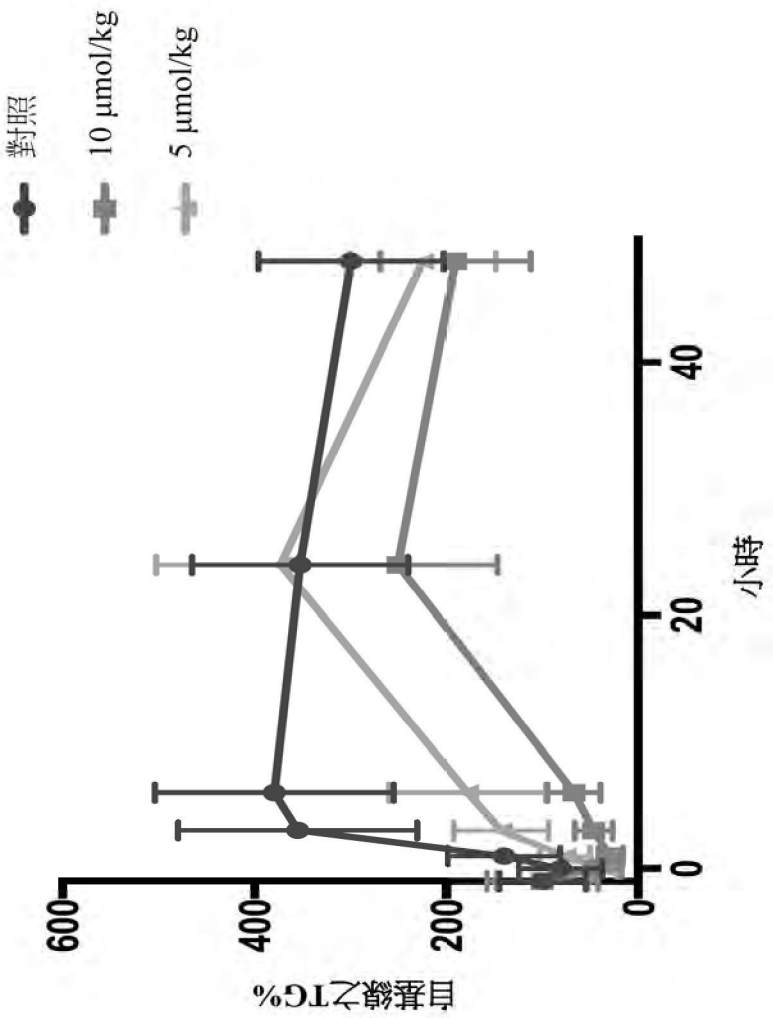
【圖37A】


對照
10 μmol/kg
5 μmol/kg
1 μmol/kg
基線之TG%
150
100
50
0
0
10
20
小時

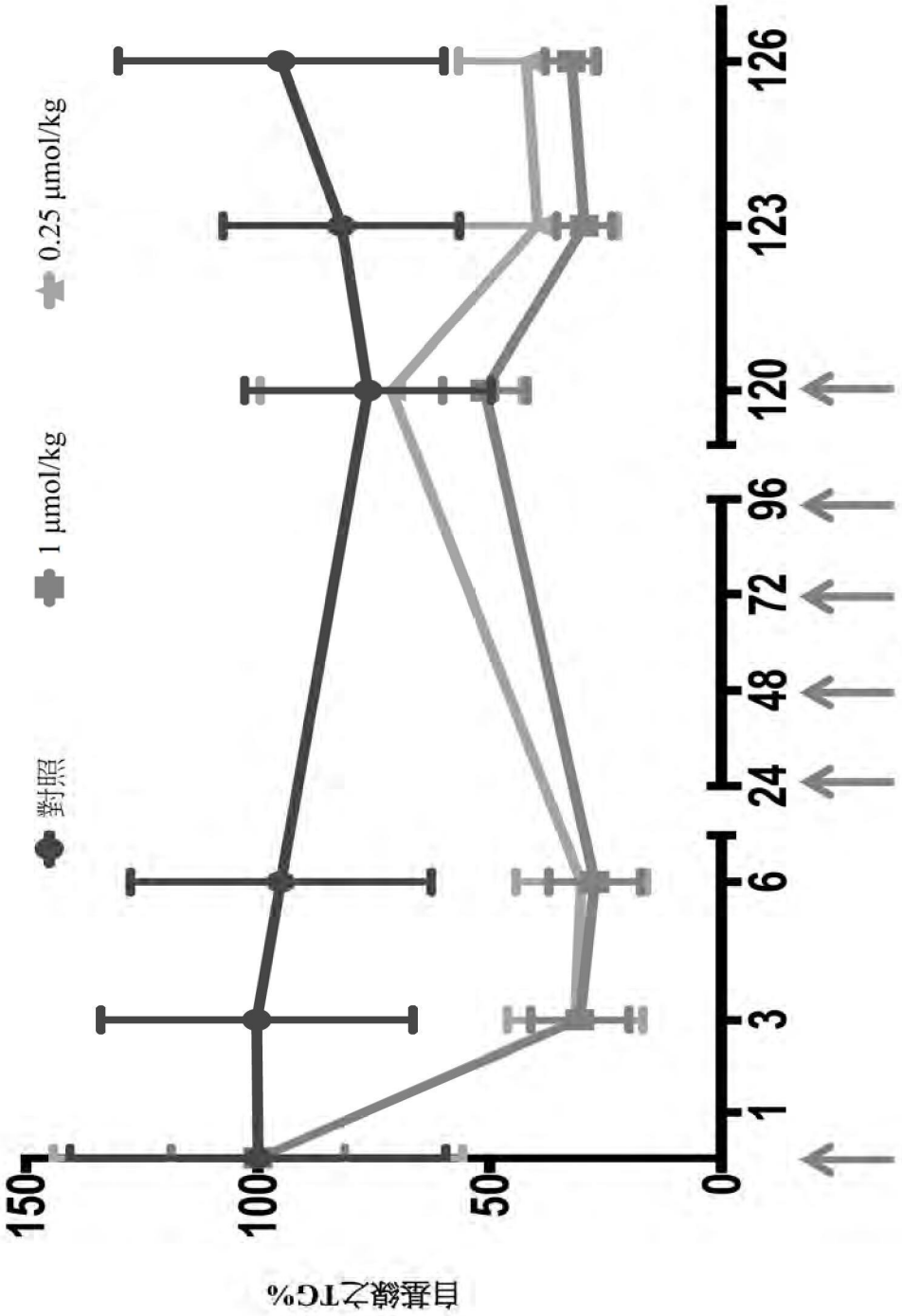
【圖38B】


禁食條件！
腹膜內
注射肽
7:00
8:00
10:00
1 pm
7:00
0 h
1 h
3 h
6 h
24 h

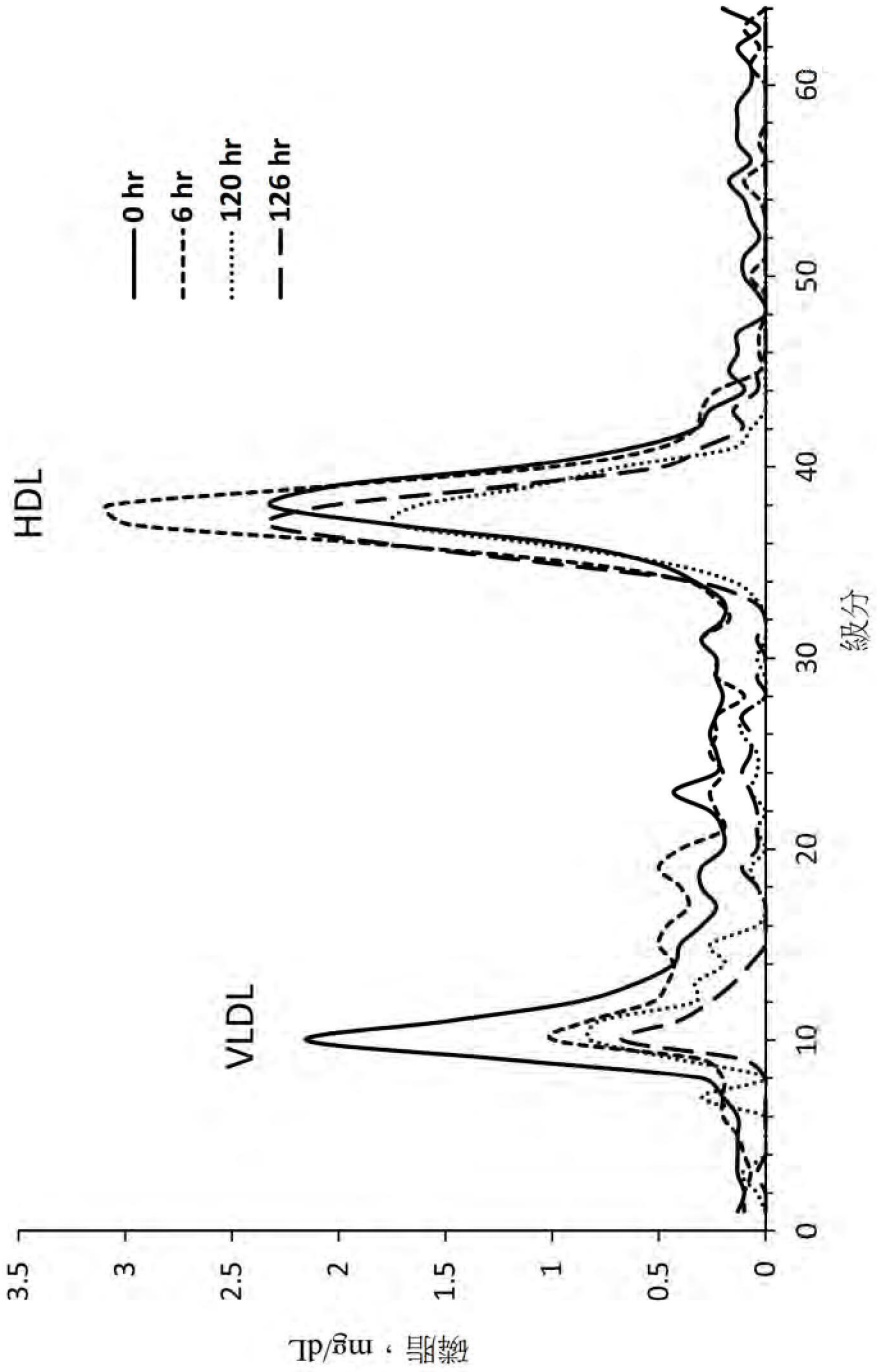
【圖38A】



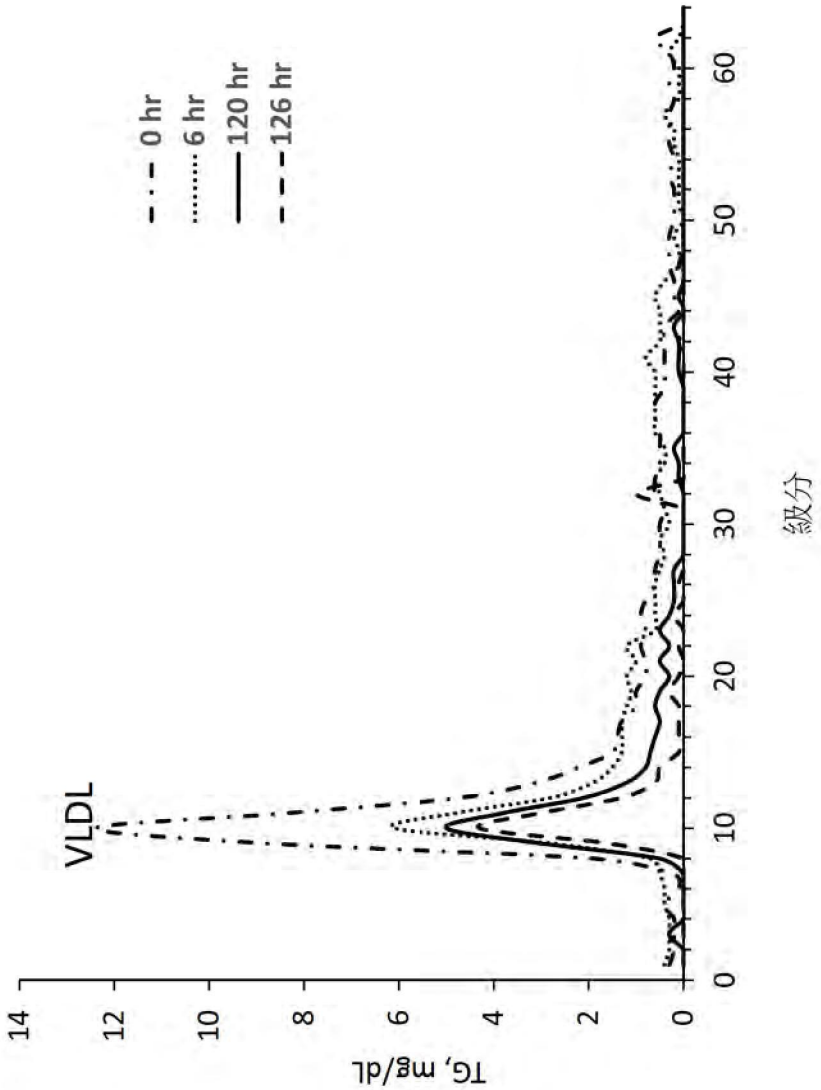
【圖39】


對照
1 μmol/kg
0.25 μmol/kg
150
100
50
0
1
3
6
24
48
72
96
120
123
126
小時
自基線之TG%

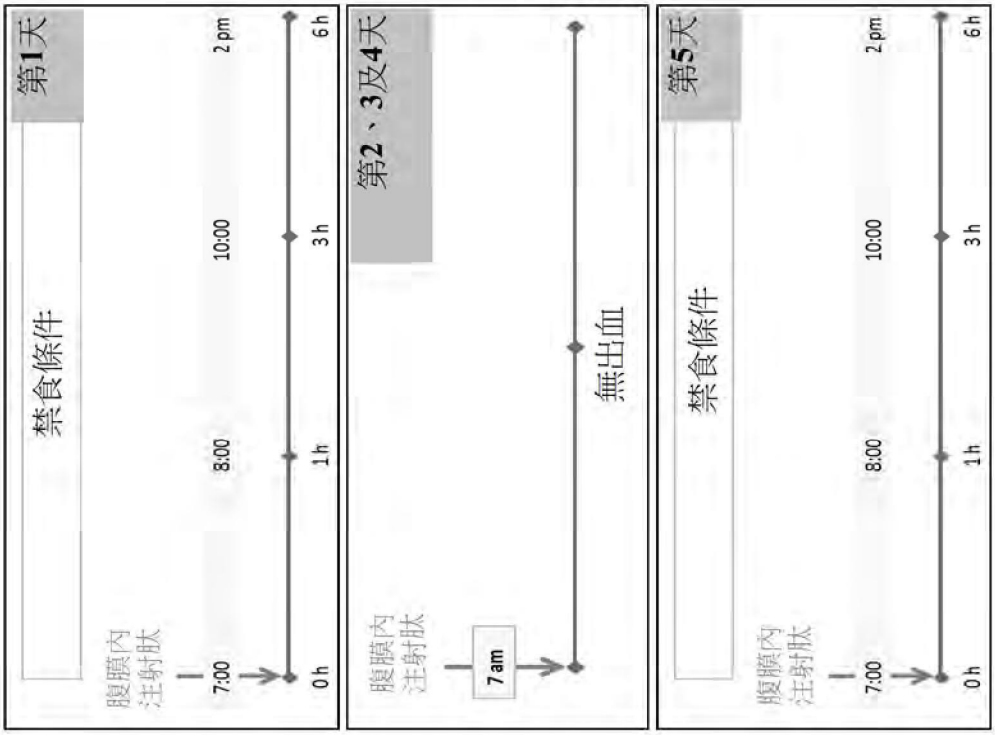
【圖40】


0 hr
6 hr
120 hr
126 hr
HDL
VLDL
磷脂，mg/dL
3.5
3
2.5
2
1.5
1
0.5
0
0
10
20
30
40
50
60
級分

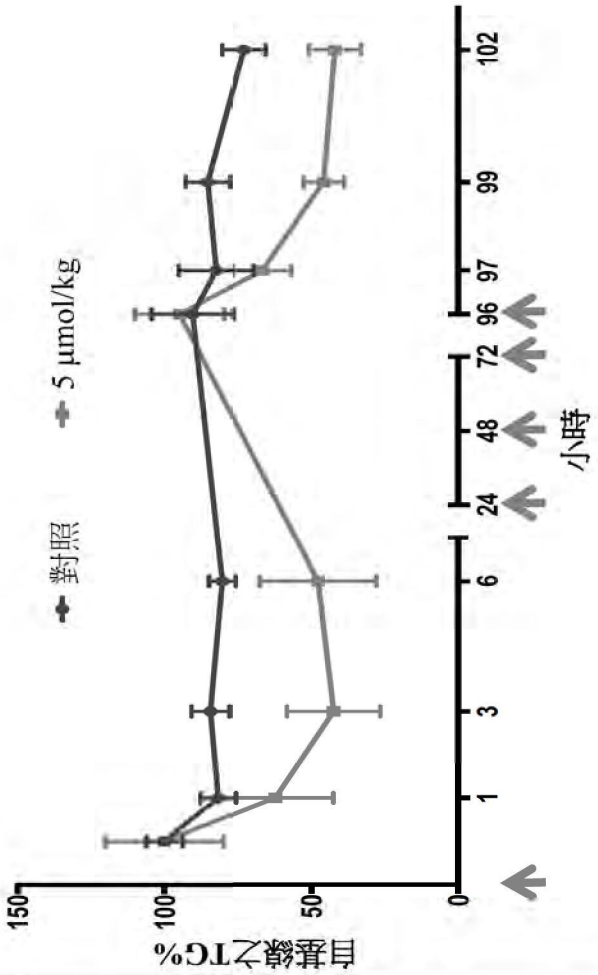
【圖41】


VLDL
0 hr
6 hr
120 hr
126 hr
TG, mg/dL
14
12
10
8
6
4
2
0
0
10
20
30
40
50
60
級分

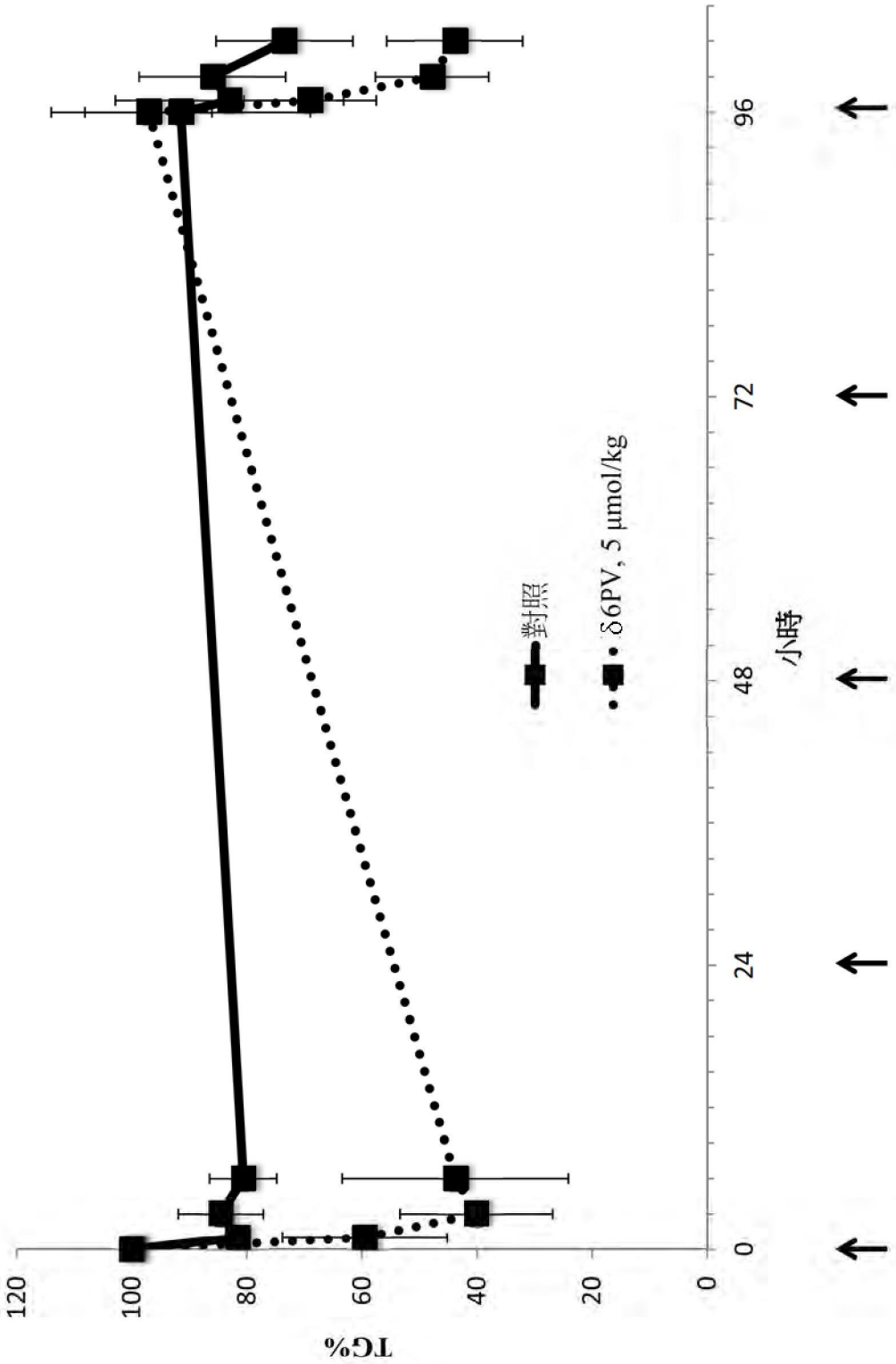
【圖42】


第1天
禁食條件
腹膜內
注射肽
7:00
8:00
10:00
2 pm
0 h
1 h
3 h
6 h
第2、3及4天
腹膜內
注射肽
7 am
無出血
第5天
禁食條件
腹膜內
注射肽
7:00
8:00
10:00
2 pm
0 h
1 h
3 h
6 h

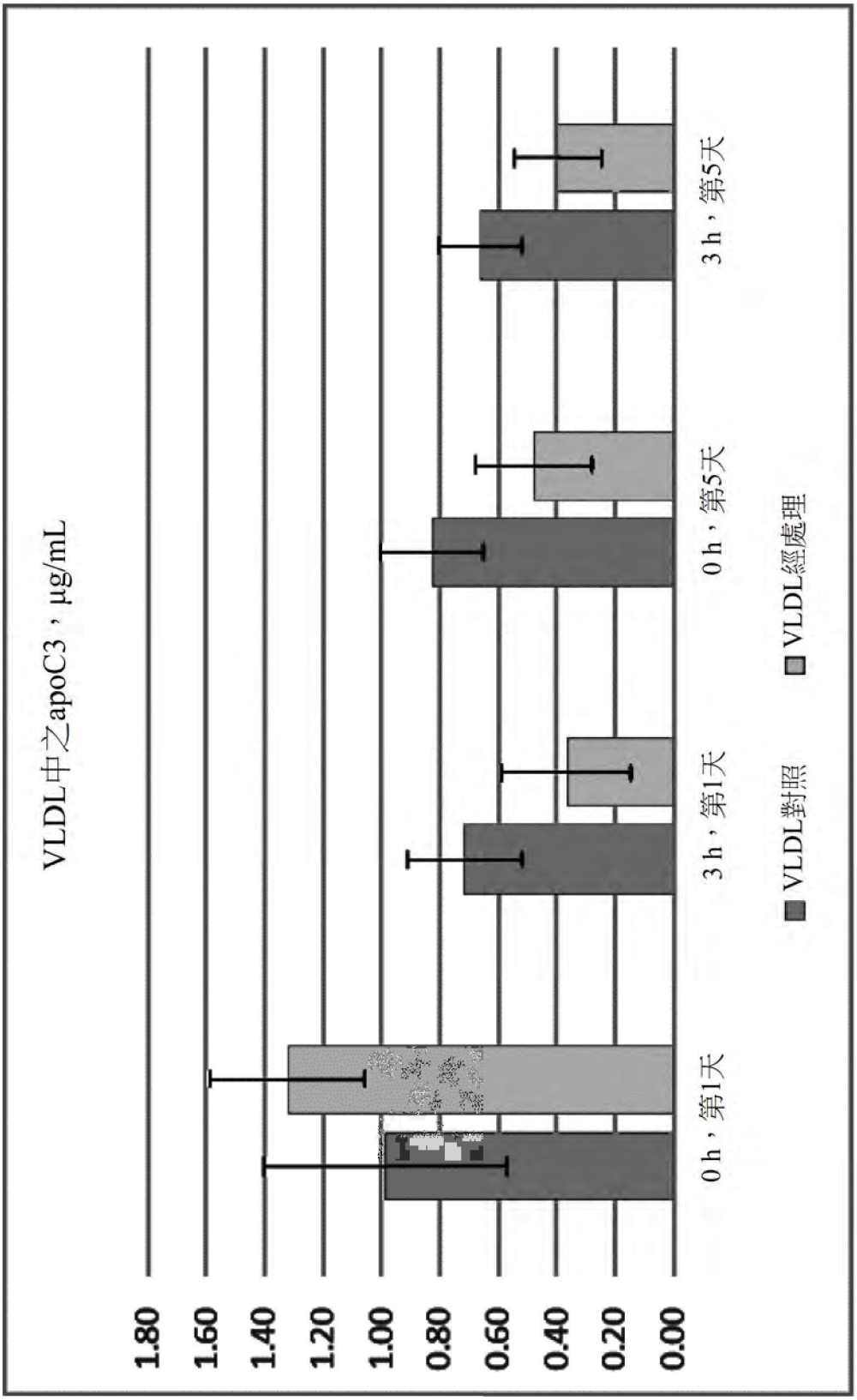
【圖43A】


對照
5 μmol/kg
血漿之TG%
150
100
50
0
1
3
6
24
48
72
96
97
99
102
小時

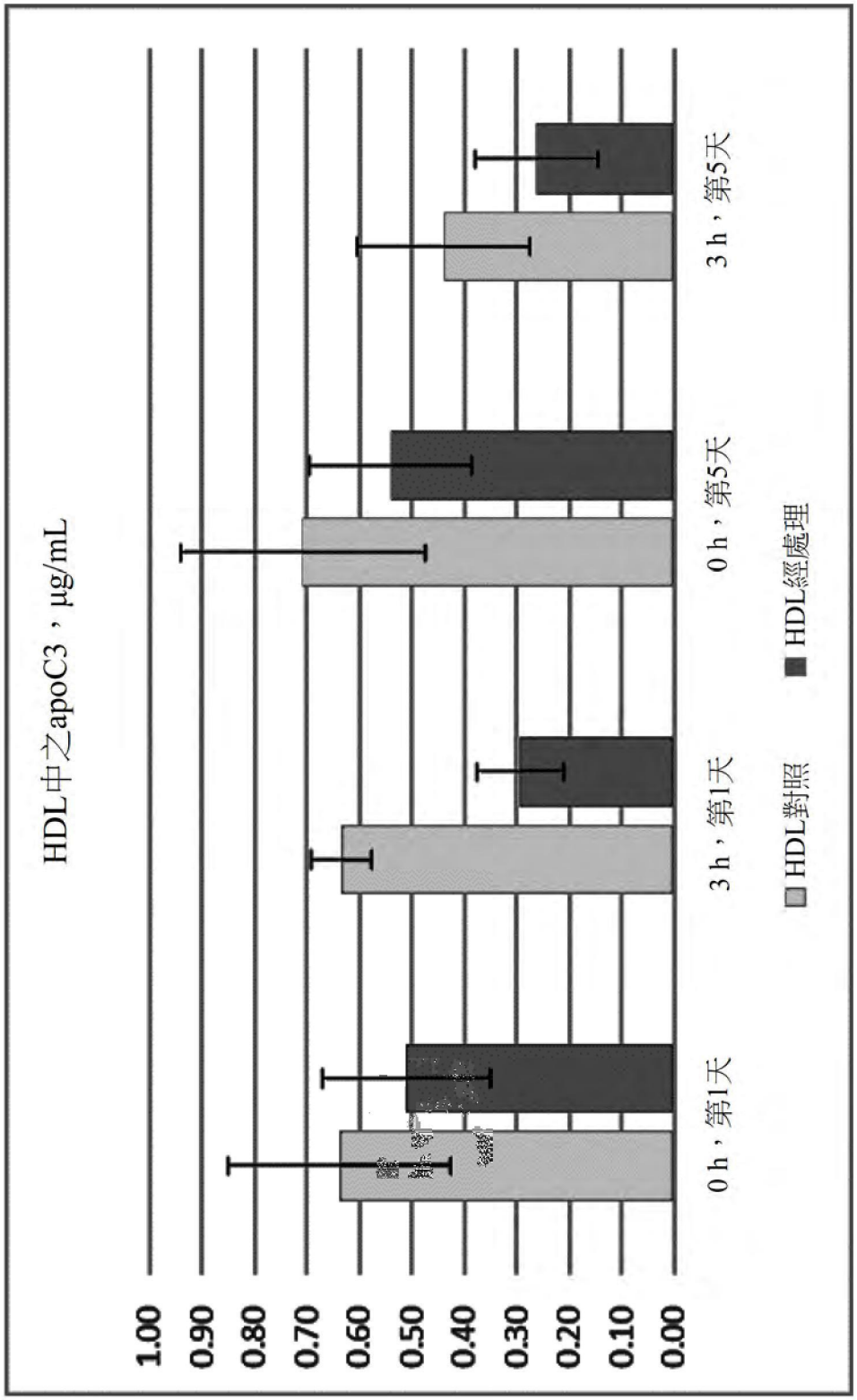
【圖43B】



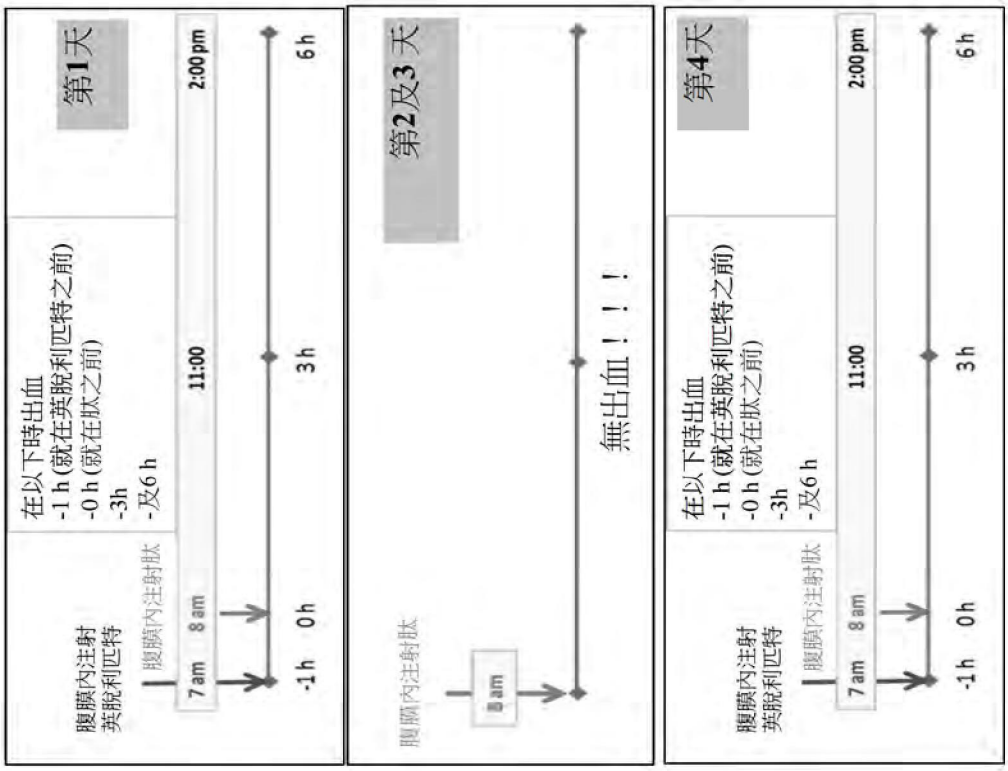
【圖44】


VLDL中之apoC3，μg/mL
1.80
1.60
1.40
1.20
1.00
0.80
0.60
0.40
0.20
0.00
0 h，第1天
3 h，第1天
0 h，第5天
3 h，第5天
VLDL對照
VLDL經處理

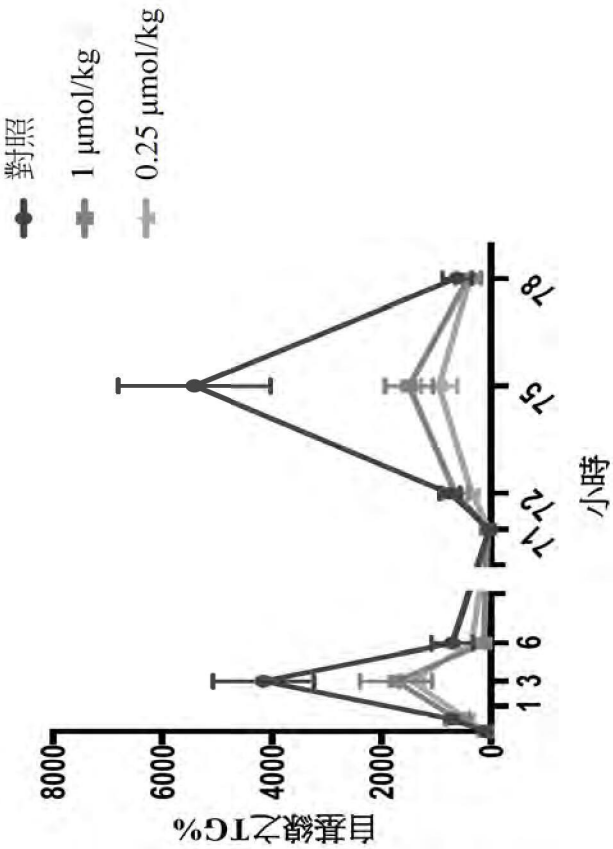
【圖45A】


HDL中之apoC3，μg/mL
1.00
0.90
0.80
0.70
0.60
0.50
0.40
0.30
0.20
0.10
0.00
0 h，第1天
3 h，第1天
0 h，第5天
3 h，第5天
HDL對照
HDL經處理

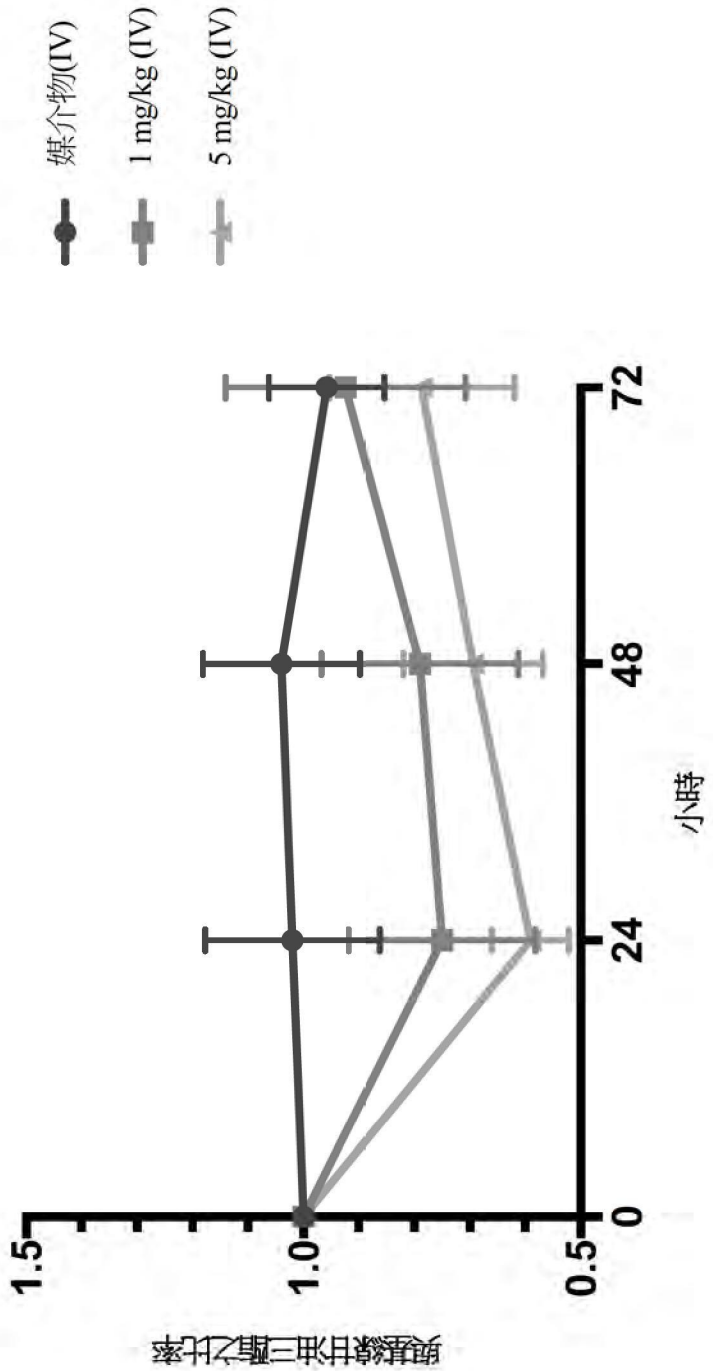
【圖45B】


第1天
在以下時出血
-1 h (就在英脫利匹特之前)
-0 h (就在肽之前)
-3h
-及6 h
腹膜內注射
英脫利匹特
腹膜內注射肽
7 am
8 am
11:00
2:00 pm
-1 h
0 h
3 h
6 h
第2及3天
腹膜內注射肽
8 am
無出血！！！
第4天
在以下時出血
-1 h (就在英脫利匹特之前)
-0 h (就在肽之前)
-3h
-及6 h
腹膜內注射
英脫利匹特
腹膜內注射肽
7 am
8 am
11:00
2:00 pm
-1 h
0 h
3 h
6 h

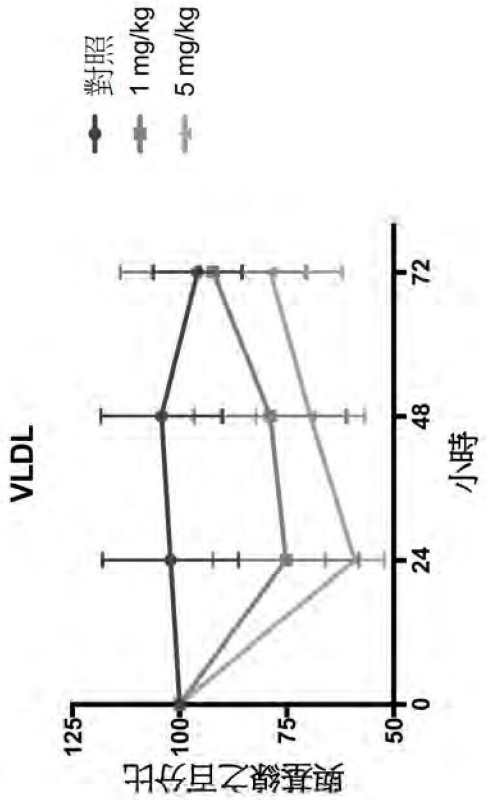
【圖46A】


自基線之TG%
8000
6000
4000
2000
0
1
3
6
小時
對照
1 μmol/kg
0.25 μmol/kg

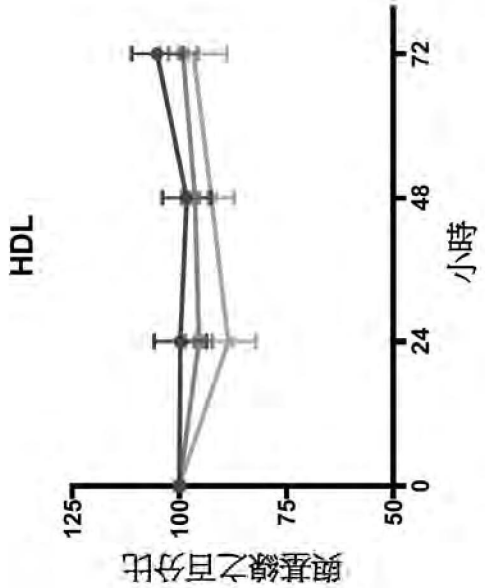
【圖46B】



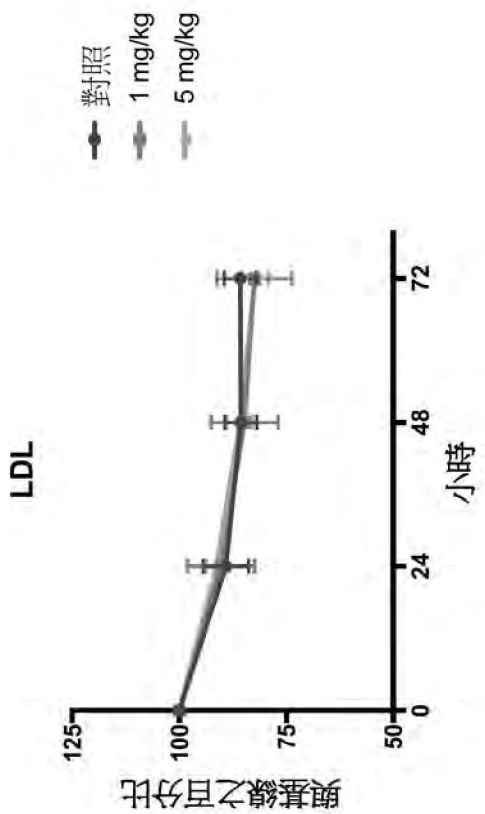
【圖47】



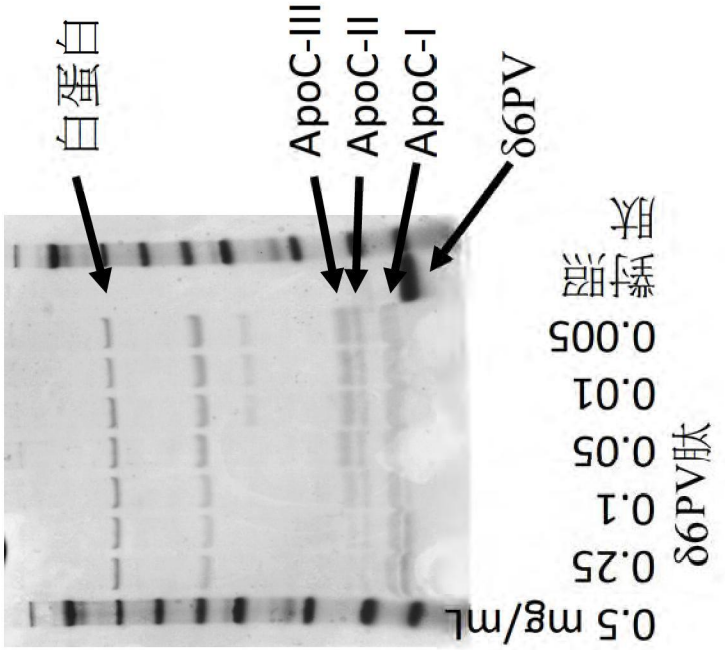
【圖48A】



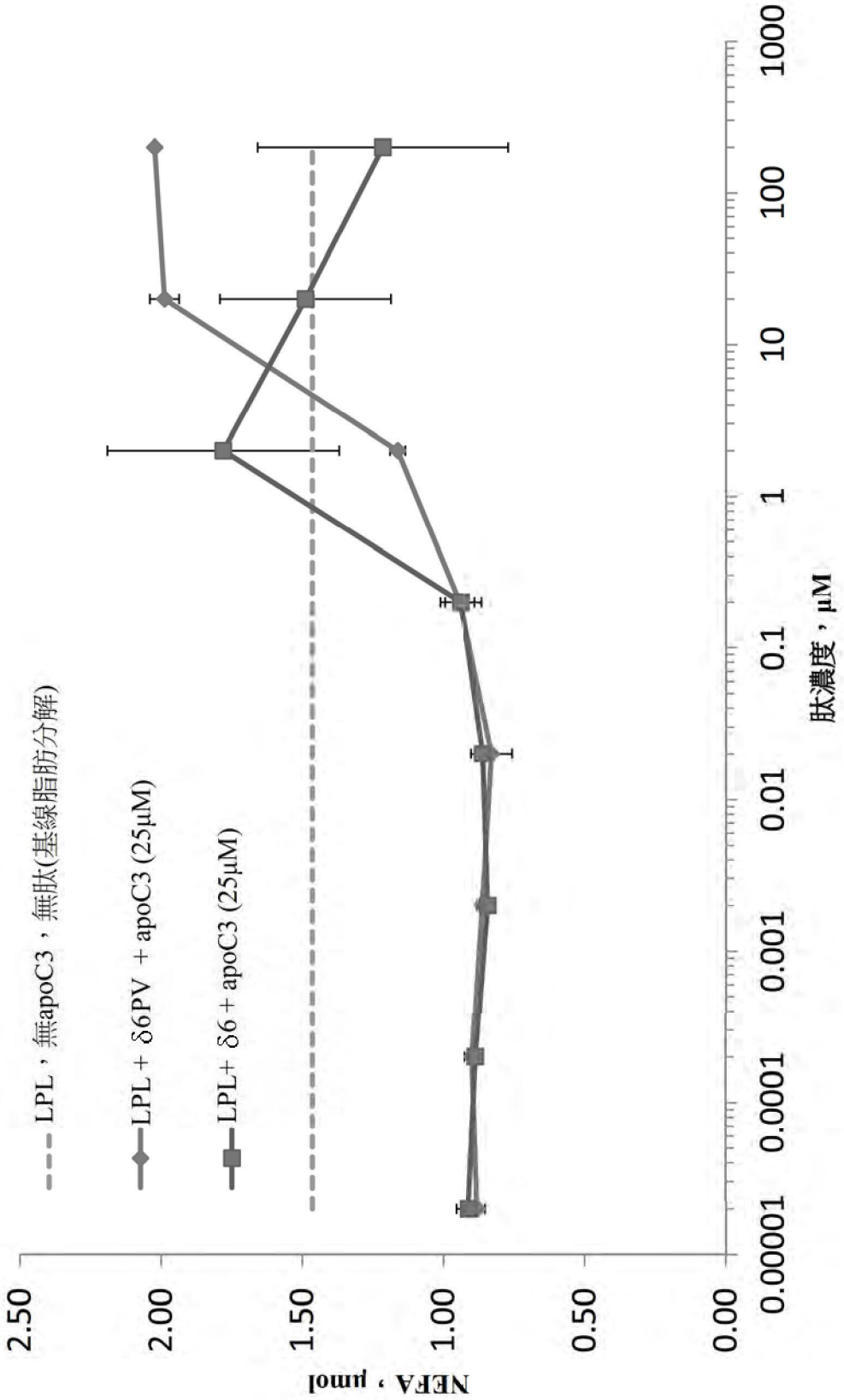
【圖48C】



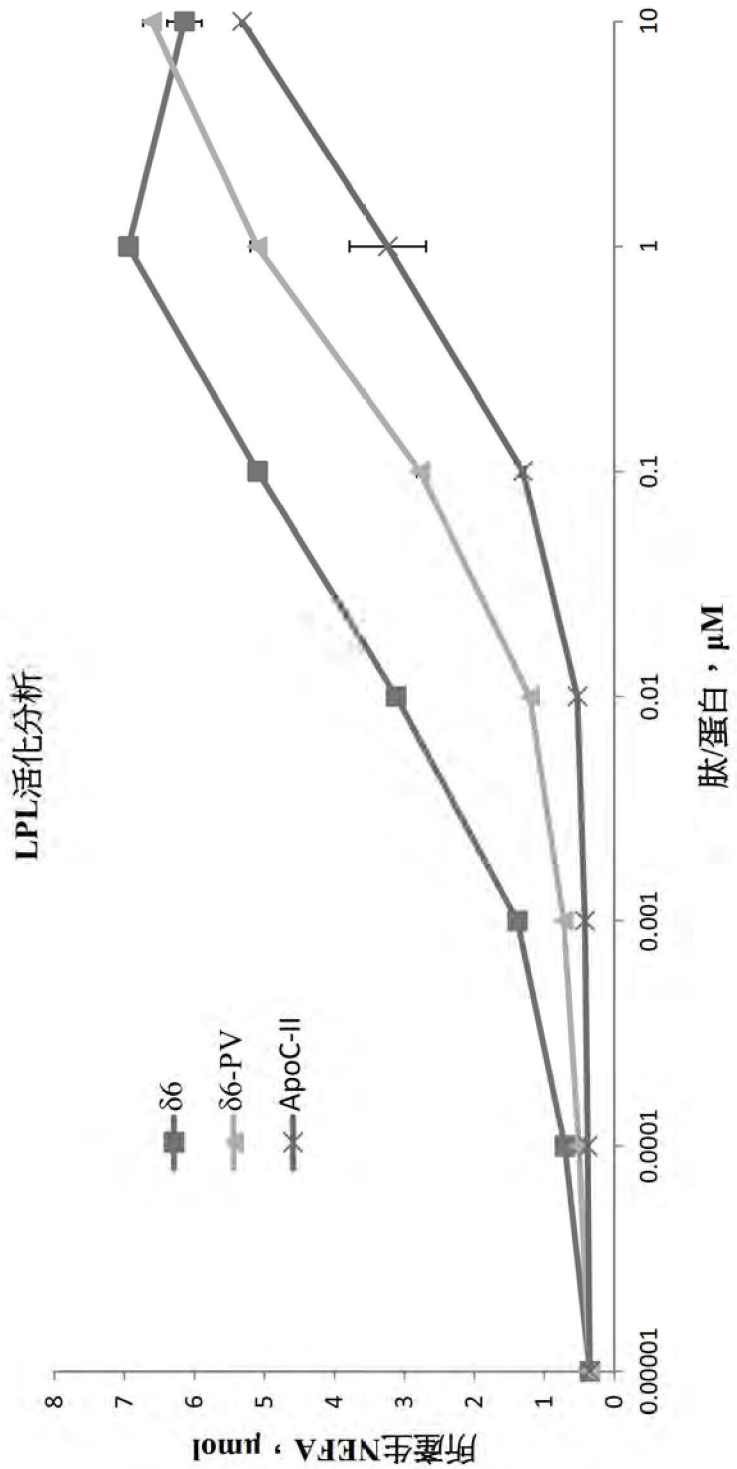
【圖48B】


0.5 mg/mL
0.25
0.1
0.05
0.01
0.005
δ6PV肽
對照肽
白蛋白
ApoC-III
ApoC-II
ApoC-I
δ6PV

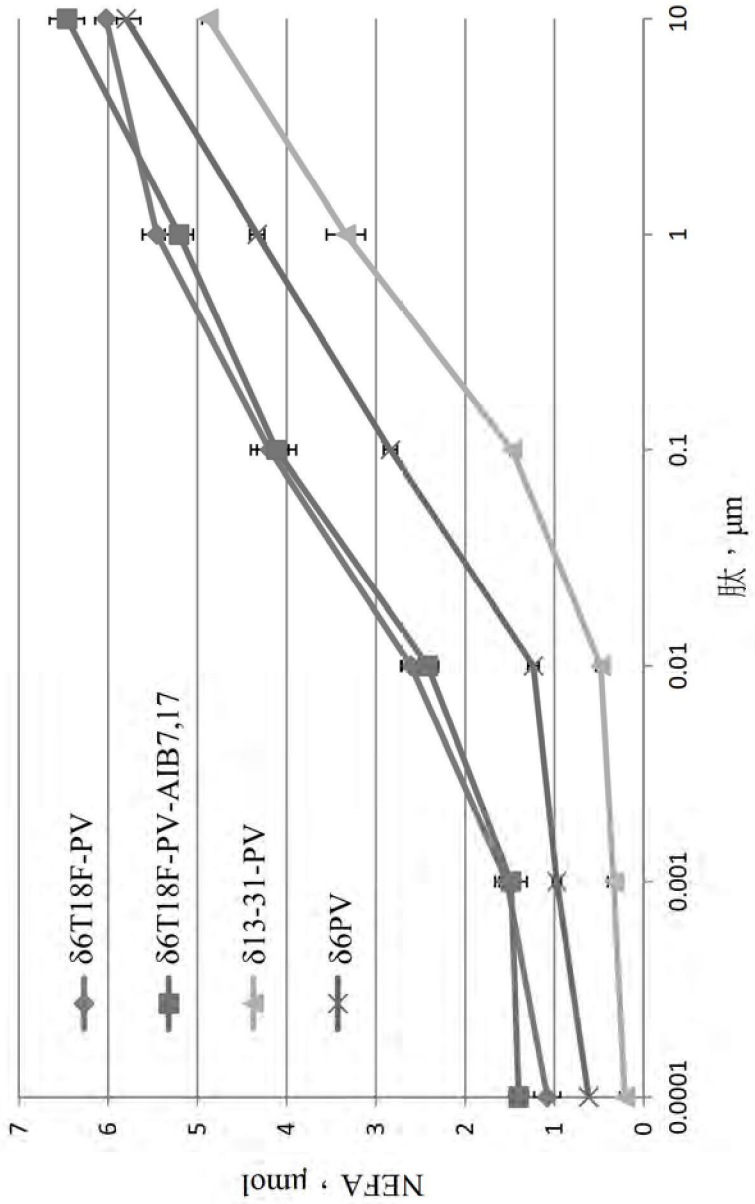
【圖49】


LPL，無apoC3，無肽(基線脂肪分解)
LPL + δ6PV + apoC3 (25μM)
LPL+ δ6 + apoC3 (25μM)
NEFA，μmol
2.50
2.00
1.50
1.00
0.50
0.00
0.00001
0.0001
0.001
0.01
0.1
1
10
100
1000
肽濃度，μM

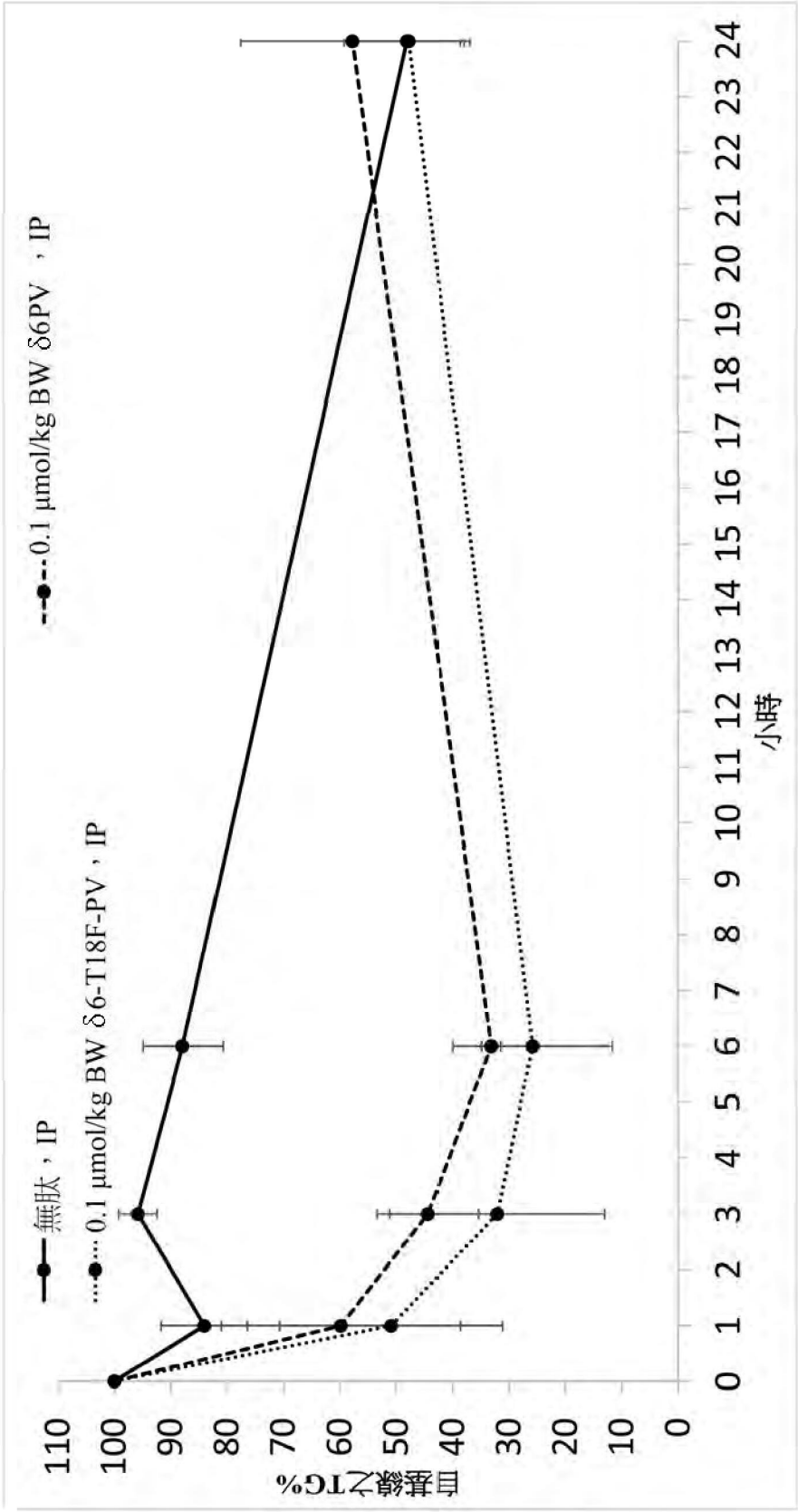
【圖50】


LPL活化分析
δ6
δ6-PV
ApoC-II
所產生NEFA，μmol
肽/蛋白，μM
0
1
2
3
4
5
6
7
8
0.00001
0.0001
0.001
0.01
0.1
1
10

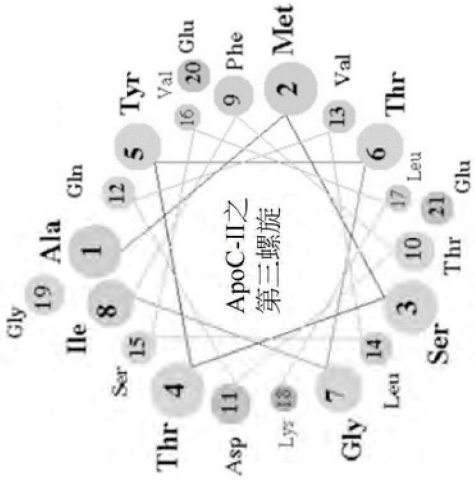
【圖51】


δ6T18F-PV
δ6T18F-PV-AIB7,17
δ13-31-PV
δ6PV
NEFA，μmol
肽，μm
0
1
2
3
4
5
6
7
0.0001
0.001
0.01
0.1
1
10

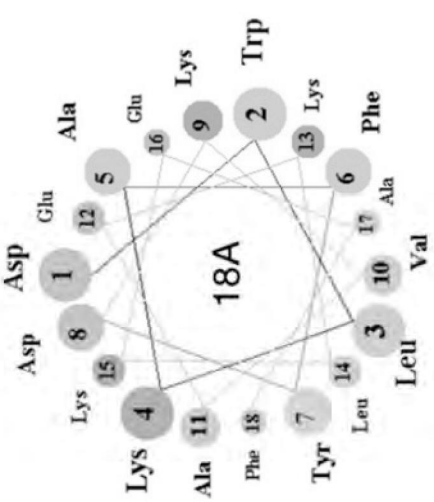
【圖52】


無肽，IP
0.1 μmol/kg BW δ6-T18F-PV，IP
0.1 μmol/kg BW δ6PV ，IP
自基線之TG%
110
100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0
0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21 22 23 24
小時

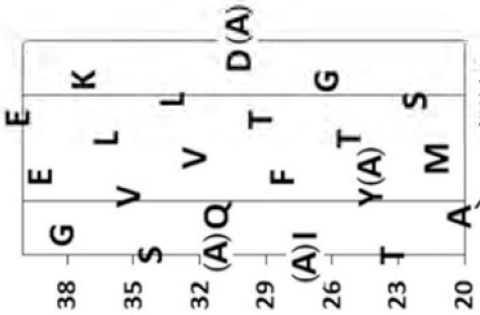
【圖53】



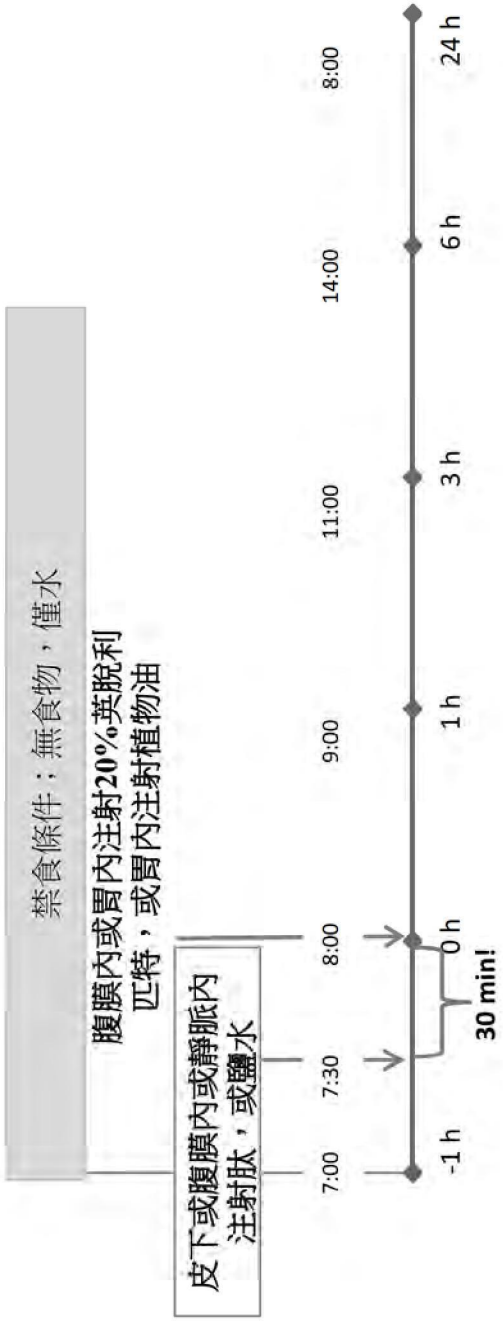
【圖54B】



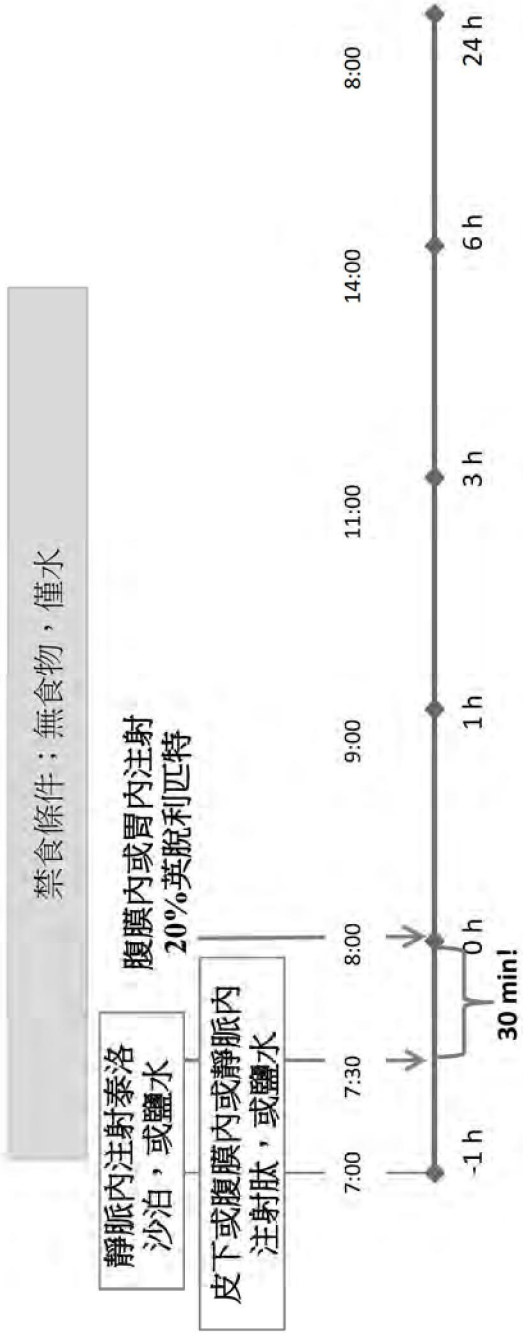
【圖54A】



【圖54C】


禁食條件；無食物，僅水
腹膜內或胃內注射20%英脫利
匹特，或胃內注射植物油
皮下或腹膜內或靜脈內
注射肽，或鹽水
7:00
7:30
8:00
9:00
11:00
14:00
8:00
-1 h
0 h
1 h
3 h
6 h
24 h
30 min!

【圖55】


禁食條件：無食物，僅水
靜脈內注射泰洛沙泊，或鹽水
皮下或腹膜內或靜脈內注射肽，或鹽水
腹膜內或胃內注射20%英脫利匹特
7:00
7:30
8:00
9:00
11:00
14:00
8:00
-1 h
0 h
1 h
3 h
6 h
24 h
30 min!

【圖56】