



**(19) 대한민국특허청(KR)**  
**(12) 공개특허공보(A)**

(11) 공개번호 10-2019-0141659  
(43) 공개일자 2019년12월24일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)  
C07K 16/18 (2006.01) A61K 39/00 (2006.01)  
A61P 3/06 (2006.01) A61P 9/10 (2006.01)
- (52) CPC특허분류  
C07K 16/18 (2013.01)  
A61P 3/06 (2018.01)
- (21) 출원번호 10-2019-7029285
- (22) 출원일자(국제) 2018년04월20일  
심사청구일자 없음
- (85) 번역문제출일자 2019년10월04일
- (86) 국제출원번호 PCT/IB2018/052780
- (87) 국제공개번호 WO 2018/193427  
국제공개일자 2018년10월25일
- (30) 우선권주장  
62/488,425 2017년04월21일 미국(US)

- (71) 출원인  
스태튼 바이오테크놀로지 비.브이.  
네덜란드, 6534 에이티 네이메겐, 트랜시스토르웨그 5제이
- (72) 발명자  
다실마-자딘 폴  
미국, 코네티컷 06437, 길포드, 160 샘 힐 로드  
드 하드 한스  
네덜란드, 엔엘-4436엔에이 우드랜데, '티 지원트 1
- (74) 대리인  
손민

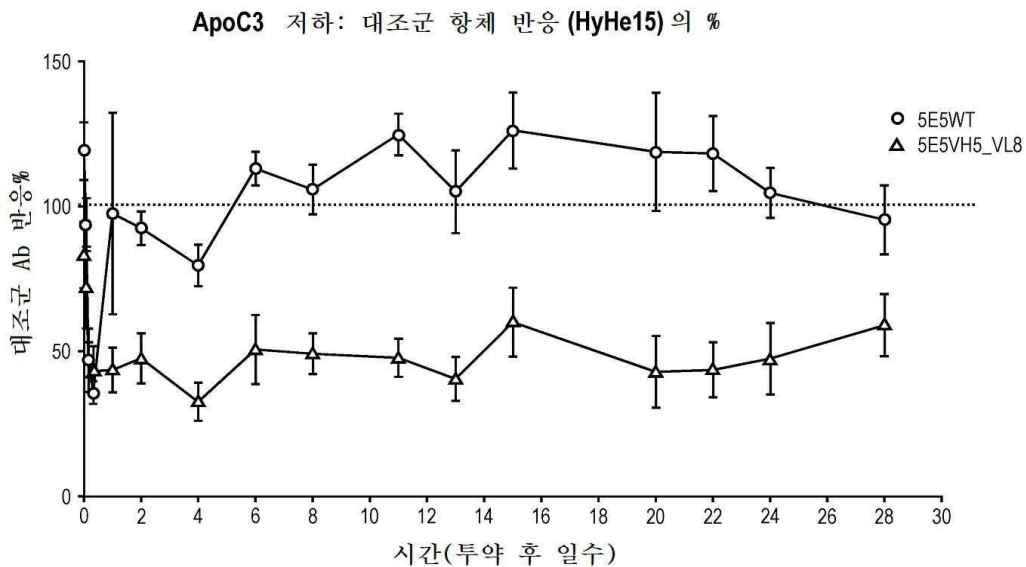
전체 청구항 수 : 총 62 항

(54) 발명의 명칭 **항-APOC3 항체 및 이의 사용 방법**

(57) 요약

본 개시내용은 ApoC3(예를 들어, 인간 ApoC3)에 특이적으로 결합하고 ApoC3 기능을 길항하는 항체를 제공한다. 또한, 이러한 항체를 포함하는 약제학적 조성물, 이러한 항체를 암호화하는 핵산, 이러한 항체를 제조하기 위한 발현 벡터 및 숙주 세포, 및 이러한 항체를 이용하여 대상체를 치료하는 방법이 제공된다.

대표도 - 도2b



(52) CPC특허분류

**A61P 9/10** (2018.01)  
C07K 2317/24 (2013.01)  
C07K 2317/51 (2013.01)  
C07K 2317/565 (2013.01)  
C07K 2317/622 (2013.01)  
C07K 2317/64 (2013.01)  
C07K 2317/76 (2013.01)  
C07K 2317/92 (2013.01)  
C07K 2317/94 (2013.01)

---

## 명세서

### 청구범위

#### 청구항 1

pH 7.4에서 제1 해리상수( $K_D$ )로 그리고 pH 5.5에서 제2  $K_D$ 로 ApoC3에 특이적으로 결합하는 단리된 항체로서, 상기 제2  $K_D$ 와 상기 제1  $K_D$  간의 비는 약 5 초과인, 단리된 항체.

#### 청구항 2

제1항에 있어서, 상기 제1  $K_D$ 는 10nM 미만인, 단리된 항체.

#### 청구항 3

제1항 또는 제2항에 있어서, 마우스 발현 ApoC3에서 상기 항체의 반감기는 약 3일 초과인, 단리된 항체.

#### 청구항 4

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항체는 초저밀도 지질단백질(very low density lipoprotein: VLDL)의 간세포 흡수를 저해하는 ApoC3의 능력을 약화시키는, 단리된 항체.

#### 청구항 5

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항체는 대상체에서 혈액으로부터의 ApoC3의 청소율을 증가시킬 수 있는, 단리된 항체.

#### 청구항 6

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항체는 대상체에서 혈액으로부터의 ApoB의 청소율을 증가시킬 수 있는, 단리된 항체.

#### 청구항 7

제1항 내지 제6항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항체는 대상체에서 혈액 중의 ApoC3 수준을 감소시킬 수 있는, 단리된 항체.

#### 청구항 8

제7항에 있어서, 상기 항체는 적어도 2주 동안 적어도 40%만큼 대상체에서 혈액 중의 ApoC3 수준을 감소시킬 수 있는, 단리된 항체.

#### 청구항 9

제1항 내지 제8항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항체는 대상체에서 혈액 중의 ApoB 수준을 감소시킬 수 있는, 단리된 항체.

#### 청구항 10

제9항에 있어서, 상기 항체는 대상체에서 혈액 중의 ApoB 수준을 적어도 2주 동안 적어도 20%만큼 감소시킬 수 있는, 단리된 항체.

#### 청구항 11

제1항 내지 제10항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항체는 대상체에서 식후 지방혈증을 저해할 수 있는, 단리된 항체.

#### 청구항 12

제1항 내지 제11항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항체는 지질-결합 ApoC3에 결합할 수 있는, 단리된 항체.

**청구항 13**

제1항 내지 제12항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항체는 서열번호 2에 제시된 아미노산 서열 내의 에피토프에 결합하는, 단리된 항체.

**청구항 14**

제13항에 있어서, 상기 에피토프는 서열번호 2의 2, 5, 6, 8 또는 10번 위치에서의 아미노산 중 적어도 하나를 포함하는, 단리된 항체.

**청구항 15**

제14항에 있어서, 상기 에피토프는 서열번호 2의 5 및 6번 위치에서의 아미노산을 포함하는, 단리된 항체.

**청구항 16**

제14항에 있어서, 상기 에피토프는 서열번호 2의 2, 5, 6 및 8번 위치에서의 아미노산을 포함하는, 단리된 항체.

**청구항 17**

제14항에 있어서, 상기 에피토프는 서열번호 2의 10번 위치에서의 아미노산을 포함하는, 단리된 항체.

**청구항 18**

제14항에 있어서, 상기 에피토프는 서열번호 2의 6, 8 및 10번 위치에서의 아미노산을 포함하는, 단리된 항체.

**청구항 19**

제14항에 있어서, 상기 에피토프는 서열번호 2의 6 및 8번 위치에서의 아미노산을 포함하는, 단리된 항체.

**청구항 20**

제1항 내지 제19항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항체는 상보성 결정 영역인 CDRH1, CDRH2 및 CDRH3을 갖는 중쇄 가변 영역, 및 상보성 결정 영역인 CDRL1, CDRL2 및 CDRL3을 갖는 경쇄 가변 영역을 포함하고, 그리고:

- (a) CDRH1은 TYSMR(서열번호 3)의 아미노산 서열을 포함하고;
- (b) CDRH2는 SIX<sub>1</sub>TDGGGTAYRDSVKG의 아미노산 서열을 포함하되, X<sub>1</sub>은 S 또는 H(서열번호 4)이며;
- (c) CDRH3은 X<sub>2</sub>GYSD의 아미노산 서열을 포함하되, X<sub>2</sub>는 A 또는 H(서열번호 5)이고;
- (d) CDRL1은 KTSQGLVHSDGKTYFY(서열번호 6)의 아미노산 서열을 포함하며;
- (e) CDRL2는 QVSNRAS(서열번호 7)의 아미노산 서열을 포함하고; 그리고
- (f) CDRL3은 AX<sub>3</sub>GTYYPHY의 아미노산 서열을 포함하되, X<sub>3</sub>은 Q 또는 H(서열번호 8)이며,

그리고 X<sub>1</sub>, X<sub>2</sub> 및 X<sub>3</sub> 중 적어도 하나는 H인, 단리된 항체.

**청구항 21**

제20항에 있어서, 상기 CDRH1, CDRH2, CDRH3, CDRL1, CDRL2 및 CDRL3은 서열번호 3, 11, 10, 6, 7 및 13; 3, 9, 12, 6, 7 및 13; 3, 9, 10, 6, 7 및 14; 3, 11, 10, 6, 7 및 14; 3, 9, 12, 6, 7 및 14; 3, 11, 12, 6, 7 및 13; 또는 3, 11, 12, 6, 7 및 13에 각각 제시된 아미노산 서열을 포함하는, 단리된 항체.

**청구항 22**

제21항에 있어서, 상기 중쇄 가변 영역은 서열번호 16 내지 18로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는, 단리된 항체.

**청구항 23**

제21항 또는 제22항에 있어서, 상기 경쇄 가변 영역은 서열번호 20에 제시된 아미노산 서열을 포함하는, 단리된 항체.

**청구항 24**

제20항 내지 제23항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 중쇄 가변 영역 및 상기 경쇄 가변 영역은 각각 서열번호 16 및 19, 17 및 19, 18 및 19, 15 및 20, 16 및 20, 17 및 20 또는 18 및 20에 각각 제시된 아미노산 서열을 포함하는, 단리된 항체.

**청구항 25**

ApoC3에 특이적으로 결합하는 단리된 항체로서, 상보성 결정 영역인 CDRH1, CDRH2 및 CDRH3을 갖는 중쇄 가변 영역, 및 상보성 결정 영역인 CDRL1, CDRL2 및 CDRL3을 갖는 경쇄 가변 영역을 포함하되,

- (a) CDRH1은 TYSMR(서열번호 3)의 아미노산 서열을 포함하고;
- (b) CDRH2는 SIX<sub>1</sub>TDGGGTAYRDSVKG의 아미노산 서열을 포함하되, X<sub>1</sub>은 S 또는 H(서열번호 4)이며;
- (c) CDRH3은 X<sub>2</sub>GYSD의 아미노산 서열을 포함하되, X<sub>2</sub>은 A 또는 H(서열번호 5)이고;
- (d) CDRL1은 KTSQGLVHSDGKTYFY(서열번호 6)의 아미노산 서열을 포함하며;
- (e) CDRL2는 QVSNRAS(서열번호 7)의 아미노산 서열을 포함하고; 그리고
- (f) CDRL3은 AX<sub>3</sub>GTYYPHY의 아미노산 서열을 포함하되, X<sub>3</sub>은 Q 또는 H(서열번호 8)이며,

그리고 X<sub>1</sub>, X<sub>2</sub> 및 X<sub>3</sub> 중 적어도 하나는 H인, 단리된 항체.

**청구항 26**

제25항에 있어서, 상기 CDRH1, CDRH2, CDRH3, CDRL1, CDRL2 및 CDRL3은 서열번호 3, 11, 10, 6, 7 및 13; 3, 9, 12, 6, 7 및 13; 3, 9, 10, 6, 7 및 14; 3, 11, 10, 6, 7 및 14; 3, 9, 12, 6, 7 및 14; 3, 11, 12, 6, 7 및 13; 또는 3, 11, 12, 6, 7 및 13에 각각 제시된 아미노산 서열을 포함하는, 단리된 항체.

**청구항 27**

ApoC3에 특이적으로 결합하는 단리된 항체로서, 서열번호 16 내지 18로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함하는, 중쇄 가변 영역을 포함하는, 단리된 항체.

**청구항 28**

ApoC3에 특이적으로 결합하는 단리된 항체로서, 서열번호 20에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는, 단리된 항체.

**청구항 29**

ApoC3에 특이적으로 결합하는 단리된 항체로서, 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역을 포함하되, 상기 중쇄 가변 영역 및 상기 경쇄 가변 영역은 각각 서열번호 16 및 19, 17 및 19, 18 및 19, 15 및 20, 16 및 20, 17 및 20, 또는 18 및 20에 각각 제시된 아미노산 서열을 포함하는, 단리된 항체.

**청구항 30**

제1항 내지 제29항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항체는 인간 또는 인간화된 불변 영역을 더 포함하는, 단리된 항체.

**청구항 31**

제30항에 있어서, 상기 불변 영역은 야생형 인간 면역글로불린 중쇄 불변 영역의 변이체이고, 그리고 상기 변이체 인간 면역글로불린 중쇄 불변 영역은 pH 6에서 인간 신생아 Fc 수용체(human neonatal Fc receptor: FcRn)

에 대한 야생형 인간 면역글로불린 중쇄 불변 영역의 친화도에 비해 pH 6에서 인간 FcRn에 대해 증가된 친화도를 갖는, 단리된 항체.

**청구항 32**

제30항 또는 제31항에 있어서, 상기 불변 영역은 인간 IgG의 중쇄 불변 영역인, 단리된 항체.

**청구항 33**

제32항에 있어서, 상기 불변 영역은 인간 IgG<sub>1</sub>, IgG<sub>2</sub> 또는 IgG<sub>4</sub>의 중쇄 불변 영역인, 단리된 항체.

**청구항 34**

제31항 내지 제33항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 불변 영역은 각각 433, 434 및 436번의 EU 위치에서의 아미노산 K, F 및 Y를 포함하는, 단리된 항체.

**청구항 35**

제31항 내지 제33항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 불변 영역은 각각 252, 254 및 256번의 EU 위치에서의 아미노산 Y, T 및 E를 포함하는, 단리된 항체.

**청구항 36**

제31항 내지 제33항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 불변 영역은 각각 428 및 434번의 EU 위치에서의 아미노산 L 및 S를 포함하는, 단리된 항체.

**청구항 37**

제34항 내지 제36항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 불변 영역은 서열번호 22 내지 24, 37 내지 39 및 42 내지 47로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는, 단리된 항체.

**청구항 38**

제1항 내지 제37항 중 어느 한 항에 있어서, ApoC3은 인간 ApoC3인, 단리된 항체.

**청구항 39**

제1항 내지 제38항 중 어느 한 항의 항체 및 약제학적으로 허용 가능한 담체를 포함하는, 약제학적 조성물.

**청구항 40**

제1항 내지 제38항 중 어느 한 항의 항체의 중쇄 가변 영역 또는 경쇄 가변 영역을 암호화하는, 폴리뉴클레오타이드.

**청구항 41**

제40항의 폴리뉴클레오타이드를 포함하는, 발현 벡터.

**청구항 42**

제41항의 발현 벡터를 포함하는, 숙주 세포.

**청구항 43**

ApoC3에 결합하는 항체의 생산 방법으로서, 상기 항체의 발현을 허용하는 조건하에 제42항의 숙주 세포를 배양시키는 단계를 포함하는, 항체의 생산 방법.

**청구항 44**

대상체에서 ApoC3의 활성을 저해하는 방법으로서, 상기 대상체에게 유효량의 제1항 내지 제39항 중 어느 한 항의 항체 또는 약제학적 조성물을 투여하는 단계를 포함하는, ApoC3의 활성을 저해하는 방법.

**청구항 45**

대상체의 혈액 중의 트라이글리세라이드 수준을 감소시키는 방법으로서, 상기 대상체에게 유효량의 제1항 내지 제39항 중 어느 한 항의 항체 또는 약제학적 조성물을 투여하는 단계를 포함하는, 트라이글리세라이드 수준을 감소시키는 방법.

**청구항 46**

대상체에서 식후 지질혈증을 저해하는 방법으로서, 상기 대상체에게 유효량의 제1항 내지 제39항 중 어느 한 항의 항체 또는 약제학적 조성물을 투여하는 단계를 포함하는, 식후 지질혈증을 저해하는 방법.

**청구항 47**

대상체에서 과중성지방혈증을 치료하는 방법으로서, 상기 대상체에게 유효량의 제1항 내지 제39항 중 어느 한 항의 항체 또는 약제학적 조성물을 투여하는 단계를 포함하는, 과중성지방혈증을 치료하는 방법.

**청구항 48**

대상체에서 암죽미립혈증을 치료하는 방법으로서, 상기 대상체에게 유효량의 제1항 내지 제39항 중 어느 한 항의 항체 또는 약제학적 조성물을 투여하는 단계를 포함하는, 암죽미립혈증을 치료하는 방법.

**청구항 49**

과중성지방혈증이 있는 대상체에서 심혈관계 질환의 위험을 감소시키는 방법으로서, 상기 대상체에게 유효량의 제1항 내지 제39항 중 어느 한 항의 항체 또는 약제학적 조성물을 투여하는 단계를 포함하는, 심혈관계 질환의 위험을 감소시키는 방법.

**청구항 50**

제49항에 있어서, 상기 심혈관계 질환은 심근경색증인, 심혈관계 질환의 위험을 감소시키는 방법.

**청구항 51**

제49항에 있어서, 상기 심혈관계 질환은 협심증인, 심혈관계 질환의 위험을 감소시키는 방법.

**청구항 52**

제49항에 있어서, 상기 심혈관계 질환은 뇌졸중인, 심혈관계 질환의 위험을 감소시키는 방법.

**청구항 53**

제49항에 있어서, 상기 심혈관계 질환은 죽상동맥경화증인, 심혈관계 질환의 위험을 감소시키는 방법.

**청구항 54**

제44항 내지 제53항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항체는 상기 대상체의 혈액 중의 암죽미립 또는 암죽미립 잔여물 수준을 감소시키는, 방법.

**청구항 55**

제44항 내지 제53항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 대상체는 추가적인 지질 저하제를 받는, 방법.

**청구항 56**

제55항에 있어서, 상기 추가적인 지질 저하제는 HMG-CoA 환원효소 저해제인, 방법.

**청구항 57**

제56항에 있어서, 상기 HMG-CoA 환원효소 저해제는 아토르바스타틴(atorvastatin), 플루바스타틴(fluvastatin), 로바스타틴(lovastatin), 피타바스타틴(pitavastatin), 프라바스타틴(pravastatin), 로수바스타틴(rosuvastatin) 또는 심바스타틴(simvastatin)인, 방법.

**청구항 58**

제55항에 있어서, 상기 추가적인 지질 저하제는 PCSK9 저해제인, 방법.

**청구항 59**

제58항에 있어서, 상기 PCSK9 저해제는 알리로쿠맙(alirocumab), 에볼로쿠맙(evolocumab) 또는 보코시주맙(bococizumab)인, 방법.

**청구항 60**

제55항에 있어서, 상기 추가적인 지질 저하제는 에제티미브(ezetimibe)인, 방법.

**청구항 61**

제55항에 있어서, 상기 추가적인 지질 저하제는 에제티미브와 HMG-CoA 환원효소 저해제의 조합물인, 방법.

**청구항 62**

제55항에 있어서, 상기 추가적인 지질 저하제는 에제티미브와 HMG-CoA 환원효소 저해제와 PCSK9 저해제의 조합물인, 방법.

**발명의 설명**

**기술분야**

**[0001] 관련 출원**

[0002] 본 출원은 2017년 4월 21일자로 출원된 미국 가출원 특허 제62/488,425호의 유익을 주장하며, 이 기초출원은 본 명세서에 그의 전문이 참고로 편입된다.

**[0003] 기술분야**

[0004] 본 개시내용은 ApoC3(예를 들어, 인간 ApoC3)에 특이적으로 결합하는 항체 및 이의 사용 방법에 관한 것이다.

**배경 기술**

[0005] 상승된 혈액 트라이글리세라이드 수준(과중성지방혈증)은 죽상동맥경화증에 대한 유발요인이며, 심혈관계 사건, 예컨대 심혈관 사망, 협심증, 심근경색증 및 뇌졸중의 위험을 증가시킨다.

[0006] ApoC3은 혈액 중에서 매우 고농도(10µM 초과)로 순환하며, 주로 트라이글리세라이드 풍부 지질단백질(triglyceride rich lipoprotein: TRL), TRL 잔여물 및 고밀도 지질단백질에 결합되는, 단백질이다. ApoC3은 혈액 트라이글리세라이드 수준의 중요한 조절자인 것으로 나타난다. 예를 들어, 인간에서 ApoC3 수준은 혈액 트라이글리세라이드 수준과 양의 상관관계가 있고(positively correlate), 상승된 ApoC3 수준은 과중성지방혈증과 관련된 것으로 나타났다. 추가로, ApoC3은 지질단백질 리파제(TRL에서 트라이글리세라이드를 가수분해하는 효소)의 활성을 저해하고 또한 혈액 트라이글리세라이드 수준의 상승을 야기하는 TRL 잔여물의 간 흡수를 저해하는 것으로 나타났다.

[0007] 몇몇 요법, 예컨대, 피브레이트, 니아신 및 오메가-3 지방산은 과중성지방혈증의 치료를 위해 승인되었다. 그러나 이들 요법은 혈장 트라이글리세라이드를 낮추는 데 단지 보통으로 효과적이다. 따라서, 혈장 트라이글리세라이드를 낮추기 위한 개선된 요법에 대한 당업계의 필요가 있다.

**발명의 내용**

[0008] 본 개시내용은 ApoC3(예를 들어, 인간 ApoC3)에 특이적으로 결합하고 ApoC3 기능을 저해하는 항체를 제공한다. 또한 이들 항체, 이들 항체를 암호화하는 핵산, 이들 항체의 제조를 위한 발현 벡터 및 숙주 세포 및 이들 항체를 이용하여 대상체를 치료하는 방법을 포함하는, 약제학적 조성물이 제공된다.

[0009] 소정의 실시형태에서, 본 명세서에 개시된 항-ApoC3 항체는 간세포에 의해TRL 흡수를 저해하는 ApoC3의 능력을 약화시킬 수 있고, 대상체에게 투여될 때 ApoC3 및 ApoB의 혈청 수준의 빠르고 지속적인 감소를 야기할 수 있다. 따라서, 개시된 항-ApoC3 항체는 과중성지방혈증 및 관련된 질환(예를 들어, 심혈관계 질환 및 췌장염)의

치료 및 예방에 유용하다.

- [0010] 따라서, 일 양상에서, 본 개시내용은 pH 7.4에서 제1 해리상수( $K_D$ )로 그리고 pH 5.5에서 제2  $K_D$ 로 ApoC3에 특이적으로 결합하는 단리된 항체를 제공하되, 제2  $K_D$ 와 제1  $K_D$  간의 비는 적어도 약 5, 10, 20 또는 50 이상이다. 소정의 실시형태에서, 제1  $K_D$ 는 10, 5, 2, 1, 0.5, 0.2 또는 0.1nM 미만이다. 소정의 실시형태에서, 마우스 발현 ApoC3에서 항체의 반감기는 적어도 약 3, 7, 14, 21 또는 28일 이상이다.
- [0011] 소정의 실시형태에서, 상기 항체는 초저밀도 지질단백질(very low density lipoprotein: VLDL)의 간세포 흡수를 저해하는 ApoC3의 능력을 약화시킨다. 소정의 실시형태에서, 항체는 대상체에서 혈액으로부터의 ApoC3의 청소율을 증가시킬 수 있다. 소정의 실시형태에서, 항체는 대상체에서 혈액으로부터의 ApoB의 청소율을 증가시킬 수 있다. 소정의 실시형태에서, 항체는 대상체에서 혈액 중의 ApoC3 수준을 감소시킬 수 있다. 소정의 실시형태에서, 항체는 대상체에서 혈액 중의 ApoC3 수준을 적어도 2주 동안 적어도 40%만큼 감소시킬 수 있다. 소정의 실시형태에서, 항체는 대상체에서 혈액 중의 ApoB 수준을 감소시킬 수 있다. 소정의 실시형태에서, 항체는 대상체에서 혈액 중의 ApoB 수준을 적어도 2주 동안 적어도 20%만큼 감소시킬 수 있다. 소정의 실시형태에서, 항체는 대상체에서 식후 지방혈증을 저해할 수 있다. 소정의 실시형태에서, 항체는 지질-결합된 ApoC3에 결합할 수 있다.
- [0012] 소정의 실시형태에서, 항체는 서열번호 2에 제시된 아미노산 서열 내의 에피토프에 결합한다. 소정의 실시형태에서, 에피토프는 서열번호 2의 2, 5, 6, 8 또는 10번 위치에서의 아미노산 중 적어도 하나를 포함한다. 소정의 실시형태에서, 에피토프는 서열번호 2의 5 및 6번 위치에서의 아미노산을 포함한다. 소정의 실시형태에서, 에피토프는 서열번호 2의 2, 5, 6 및 8번 위치에서의 아미노산을 포함한다. 소정의 실시형태에서, 에피토프는 서열번호 2의 10번 위치에서의 아미노산을 포함한다. 소정의 실시형태에서, 에피토프는 서열번호 2의 6, 8 및 10번 위치에서 아미노산을 포함한다. 소정의 실시형태에서, 에피토프는 서열번호 2의 6 및 8번 위치에서 아미노산을 포함한다.
- [0013] 소정의 실시형태에서, 항체는 상보성 결정 영역인 CDRH1, CDRH2 및 CDRH3을 갖는 중쇄 가변 영역, 및 상보성 결정 영역인 CDRL1, CDRL2 및 CDRL3을 갖는 경쇄 가변 영역을 포함하되,
- [0014] (a) CDRH1은 TYSMR(서열번호 3)의 아미노산 서열을 포함하고;
- [0015] (b) CDRH2는 SIX<sub>1</sub>TDGGGTAYRDSVKG의 아미노산 서열을 포함하되, X<sub>1</sub>은 S 또는 H (서열번호 4)이며;
- [0016] (c) CDRH3은 X<sub>2</sub>GYSD의 아미노산 서열을 포함하되, X<sub>2</sub>는 A 또는 H(서열번호 5)이고;
- [0017] (d) CDRL1은 KTSQGLVHSDGKTYFY(서열번호 6)의 아미노산 서열을 포함하며;
- [0018] (e) CDRL2는 QVSNRAS(서열번호 7)의 아미노산 서열을 포함하고; 그리고
- [0019] (f) CDRL3은 AX<sub>3</sub>GTYYPHT의 아미노산 서열을 포함하되, X<sub>3</sub>은 Q 또는 H(서열번호 8)이며,
- [0020] 그리고 X<sub>1</sub>, X<sub>2</sub> 및 X<sub>3</sub> 중 적어도 하나는 H이다.
- [0021] 소정의 실시형태에서, CDRH1, CDRH2, CDRH3, CDRL1, CDRL2 및 CDRL3은 서열번호 3, 11, 10, 6, 7 및 13; 3, 9, 12, 6, 7 및 13; 3, 9, 10, 6, 7 및 14; 3, 11, 10, 6, 7 및 14; 3, 9, 12, 6, 7 및 14; 3, 11, 12, 6, 7 및 13; 또는 3, 11, 12, 6, 7 및 13에 각각 제시된 아미노산 서열을 포함한다. 소정의 실시형태에서, 중쇄 가변 영역은 서열번호 16 내지 18의 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함한다. 소정의 실시형태에서, 경쇄 가변 영역은 서열번호 20에 제시된 아미노산 서열을 포함한다. 소정의 실시형태에서, 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역은 각각 서열번호 16 및 19, 17 및 19, 18 및 19, 15 및 20, 16 및 20, 17 및 20, 또는 18 및 20에 각각 제시된 아미노산 서열을 포함한다.
- [0022] 다른 양상에서, 본 개시내용은 ApoC3에 특이적으로 결합하는 단리된 항체를 제공하며, 상기 항체는 상보성 결정 영역인 CDRH1, CDRH2 및 CDRH3을 갖는 중쇄 가변 영역, 및 상보성 결정 영역인 CDRL1, CDRL2 및 CDRL3을 갖는 경쇄 가변 영역을 포함하되,
- [0023] (a) CDRH1은 TYSMR(서열번호 3)의 아미노산 서열을 포함하고;
- [0024] (b) CDRH2는 SIX<sub>1</sub>TDGGGTAYRDSVKG의 아미노산 서열을 포함하되, X<sub>1</sub>은 S 또는 H (서열번호 4)이며;

- [0025] (c) CDRH3은 X<sub>2</sub>GYSD의 아미노산 서열을 포함하되, X<sub>2</sub>은 A 또는 H(서열번호 5)이고;
- [0026] (d) CDRL1은 KTSQGLVHSDGKTYFY(서열번호 6)의 아미노산 서열을 포함하며;
- [0027] (e) CDRL2는 QVSNRAS(서열번호 7)의 아미노산 서열을 포함하고; 그리고
- [0028] (f) CDRL3은 AX<sub>3</sub>GTYYPHT의 아미노산 서열을 포함하되, X<sub>3</sub>은 Q 또는 H(서열번호 8)이며,
- [0029] 그리고 X<sub>1</sub>, X<sub>2</sub> 및 X<sub>3</sub> 중 적어도 하나는 H이다.
- [0030] 소정의 실시형태에서, CDRH1, CDRH2, CDRH3, CDRL1, CDRL2 및 CDRL3은 서열번호 3, 11, 10, 6, 7 및 13; 3, 9, 12, 6, 7 및 13; 3, 9, 10, 6, 7 및 14; 3, 11, 10, 6, 7 및 14; 3, 9, 12, 6, 7 및 14; 3, 11, 12, 6, 7 및 13; 또는 3, 11, 12, 6, 7 및 13에 각각 제시된 아미노산 서열을 포함한다.
- [0031] 다른 양상에서, 본 개시내용은 ApoC3에 특이적으로 결합하는 단리된 항체를 제공하되, 상기 항체는 서열번호 16 내지 18로 이루어진 균으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역을 포함한다.
- [0032] 다른 양상에서, 본 개시내용은 ApoC3에 특이적으로 결합하는 단리된 항체를 제공하되, 상기 항체는 서열번호 20에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함한다.
- [0033] 다른 양상에서, 본 개시내용은 ApoC3에 특이적으로 결합하는 단리된 항체를 제공하고, 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역을 포함하되, 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역은 각각 서열번호 16 및 19, 17 및 19, 18 및 19, 15 및 20, 16 및 20, 17 및 20, 또는 18 및 20에 각각 제시된 아미노산 서열을 포함한다.
- [0034] 앞의 양상 중 어느 하나의 소정의 실시형태에서, 상기 항체는 불변 영역(예를 들어, 인간 또는 인간화된 불변 영역)을 추가로 포함한다. 소정의 실시형태에서, 불변 영역은 야생형 인간 면역글로불린 중쇄 불변 영역의 변이체이고, 그리고 변이체 인간 면역글로불린 중쇄 불변 영역은 pH 6에서 인간 신생아 Fc 수용체(human neonatal Fc receptor: FcRn)에 대한 야생형 인간 면역글로불린 중쇄 불변 영역의 친화도에 비해 pH 6에서 인간 FcRn에 대해 증가된 친화도를 갖는다.
- [0035] 소정의 실시형태에서, 불변 영역은 인간 IgG의 중쇄 불변 영역이다. 소정의 실시형태에서, 불변 영역은 인간 IgG<sub>1</sub>, IgG<sub>2</sub> 또는 IgG<sub>4</sub>의 중쇄 불변 영역이다. 소정의 실시형태에서, 불변 영역은 각각 EU 위치 433, 434 및 436번의 EU 위치에서의 아미노산 K, F 및 Y를 포함한다. 소정의 실시형태에서, 불변 영역은 각각 252, 254 및 256번의 EU 위치에서의 아미노산 Y, T 및 E를 포함한다. 소정의 실시형태에서, 불변 영역은 각각 428 및 434번의 EU 위치에서의 아미노산 L 및 S를 포함한다. 소정의 실시형태에서, 불변 영역은 서열번호 22 내지 24, 37 내지 39 및 42 내지 47로 이루어진 균으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함한다.
- [0036] 본 명세서에 개시된 양상 중 임의의 하나의 소정의 실시형태에서, ApoC3은 인간 ApoC3이다.
- [0037] 다른 양상에서, 본 개시내용은 본 명세서에 개시된 항체 및 약제학적으로 허용 가능한 담체를 포함하는 약제학적 조성물을 제공한다.
- [0038] 다른 양상에서, 본 개시내용은 본 명세서에 개시된 항체의 중쇄 가변 영역 또는 경쇄 가변 영역을 암호화하는 폴리뉴클레오타이드를 제공한다. 다른 양상에서, 본 개시내용은 본 명세서에 개시된 바와 같은 폴리뉴클레오타이드를 포함하는 발현 벡터를 제공한다. 다른 양상에서, 본 개시내용은 본 명세서에 개시된 바와 같은 발현 벡터를 포함하는 숙주 세포를 제공한다.
- [0039] 다른 양상에서, 본 개시내용은 ApoC3에 결합하는 항체를 생산하는 방법을 제공하며, 상기 방법은 항체의 발현을 허용하는 조건하에 본 명세서에 개시된 바와 같은 숙주 세포를 배양시키는 단계를 포함한다.
- [0040] 다른 양상에서, 본 개시내용은 대상체에서 ApoC3의 활성을 저해하는 방법을 제공하며, 상기 방법은 대상체에게 유효량의 본 명세서에 개시된 바와 같은 항체 또는 약제학적 조성물을 투여하는 단계를 포함한다. 다른 양상에서, 본 개시내용은 대상체의 혈액 중의 트라이글리세라이드 수준을 감소시키는 방법을 제공하며, 상기 방법은 대상체에게 유효량의 본 명세서에 개시된 바와 같은 항체 또는 약제학적 조성물을 투여하는 단계를 포함한다. 다른 양상에서, 본 개시내용은 대상체에서 식후 지방혈증을 저해하는 방법을 제공하며, 상기 방법은 대상체에게 유효량의 본 명세서에 개시된 바와 같은 항체 또는 약제학적 조성물을 투여하는 단계를 포함한다. 다른 양상에서, 본 개시내용은 대상체에서 과중성지방혈증을 치료하는 방법을 제공하며, 상기 방법은 대상체에게 유효량의 본 명세서에 개시된 바와 같은 항체 또는 약제학적 조성물을 투여하는 단계를 포함한다. 다른 양상에서, 본 개

시내용은 대상체에서 암죽미립혈증을 치료하는 방법을 제공하며, 상기 방법은 대상체에게 유효량의 본 명세서에 개시된 바와 같은 항체 또는 약제학적 조성물을 투여하는 단계를 포함한다.

[0041] 다른 양상에서, 본 개시내용은 과중성지방혈증이 있는 대상체에서 심혈관계 질환의 위험을 감소시키는 방법을 제공하며, 상기 방법은 대상체에게 유효량의 본 명세서에 개시된 바와 같은 항체 또는 약제학적 조성물을 투여하는 단계를 포함한다. 소정의 실시형태에서, 심혈관계 질환은 심근경색증이다. 소정의 실시형태에서, 심혈관계 질환은 협심증이다. 소정의 실시형태에서, 심혈관계 질환은 뇌졸중이다. 소정의 실시형태에서, 심혈관계 질환은 죽상동맥경화증이다.

[0042] 치료 방법에 관한 앞의 양상의 소정의 실시형태에서, 상기 항체는 대상체의 혈액 중의 암죽미립 또는 암죽미립 잔여물 수준을 감소시킨다. 소정의 실시형태에서, 대상체는 추가적인 지질 저하제를 받는 중이다. 소정의 실시형태에서, 추가적인 지질 저하제는 HMG-CoA 환원효소 저해제이다. 소정의 실시형태에서, HMG-CoA 환원효소 저해제는 아토르바스타틴, 플루바스타틴, 로바스타틴, 피타바스타틴, 프라바스타틴, 로수바스타틴 또는 심바스타틴이다. 소정의 실시형태에서, 추가적인 지질 저하제는 PCSK9 저해제이다. 소정의 실시형태에서, PCSK9 저해제는 알리로쿠맙, 에블로쿠맙 또는 보코시주맙이다. 소정의 실시형태에서, 추가적인 지질 저하제는 에제티미브이다. 소정의 실시형태에서, 추가적인 지질 저하제는 에제티미브와 HMG-CoA 환원효소 저해제의 조합물이다. 소정의 실시형태에서, 추가적인 지질 저하제는 에제티미브와 HMG-CoA 환원효소 저해제와 PCSK9 저해제의 조합물이다.

### 도면의 간단한 설명

[0043] 도 1a, 도 1b 및 도 1c는 5E5WT(도 1a), 5E5VH5\_VL8(도 1b), 및 5E5VHWT\_VL8("VL8"), 5E5VH12\_VLWT("VH12"), 5E5VH5\_VLWT("VH5") 및 5E5VH5\_VL8("VH5\_VL8")(도 1c) 항체는 HepG2 세포에 의해 초저밀도 지질단백질 (VLDL) 흡수를 저해하는 ApoC3의 항체를 약화시킨다는 것을 나타내는 일련의 그래프를 도시한 도면. HepG2 세포는 단독으로 또는 표시된 바와 같은 항-ApoC3 항체의 존재하에 DiI VLDL 및 정제된 ApoC3과 함께 인큐베이션시켰다. HepG2 세포에 의해 섭취된 DiI VLDL을 DiI 염료의 형광 분석법에 의해 측정하였다. DiI VLDL 단독("VLDL")와 함께 인큐베이션시킨 HepG2 세포는 양성 대조군으로서 작용하고, 항-ApoC3 항체("ApoC3")의 부재하에 DiI VLDL 및 정제된 ApoC3와 함께 인큐베이션시킨 HepG2 세포는 음성 대조군으로서 작용하였다.

도 2a 내지 도 2c는 AAV8-인간 ApoC3 마우스 모델에서 2종의 항-ApoC3 항체, 즉, 5E5 및 5E5VH5\_VL8과 항-암탉 달걀 라이소솜 인간 IgG<sub>1</sub> 항체(HyHe15)의 약물동태학 및 약력학을 나타내는 그래프를 도시한 도면. 시험 항체를 유전자이식 인간 ApoC3을 발현시키는 마우스에 정맥내로 투여하였다. 주사후 다양한 시간에 인간 IgG<sub>1</sub>(도 2a), 인간 ApoC3(도 2b), 및 마우스 ApoB(도 2c)의 혈청 수준을 측정하였고, 0시간에 비교되는 절대 또는 상대적 수준을 플롯팅하였다.

도 3A 내지 도 3D는 AAV8-인간 ApoC3 마우스 모델(처리군당 n=6)에서 5E5VH5\_VL8에 의한 공복 트라이글리세라이드 수준 및 순환 식후 트라이글리세라이드 수준의 감소를 나타내는 그래프를 도시한 도면. 밤새 공복 전에 그리고 후에 5E5VH5\_VL8 또는 HyHe15 항체로 처리한 마우스에서 혈장 트라이글리세라이드 수준을 도 3A에 나타낸다. 올리브 오일 시험감염 후에 이들 마우스에서의 혈장 트라이글리세라이드 수준을 도 3B에 나타내고, 계산된 곡선하면적값을 도 3C에서 플롯팅한다. 항체 치료, 공복 및 올리브오일 시험감염 과정 전체적으로 ApoC3 수준을 도 3D에 플롯팅한다.

### 발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0044] 본 개시내용은 ApoC3(예를 들어, 인간 ApoC3)에 특이적으로 결합하고 ApoC3 기능을 저해하는 항체를 제공한다. 또한 이들 항체를 포함하는 약제학적 조성물, 이들 항체를 암호화하는 핵산, 이들 항체를 제조하기 위한 발현 벡터 및 숙주 세포, 및 이들 항체를 이용하여 대상체를 치료하는 방법이 제공된다. 소정의 실시형태에서, 본 명세서에 개시된 항-ApoC3 항체는 대상체에게 투여될 때, 간세포에 의해 TRL 흡수를 저해하는 ApoC3의 능력을 약화시킬 수 있고, ApoC3 및 ApoB의 혈청 수준의 빠르고 지속적인 감소를 야기할 수 있다. 따라서, 개시된 항-ApoC3 항체는 과중성지방혈증 및 관련된 질환(예를 들어, 심혈관계 질환 및 췌장염)의 치료 및 예방에 유용하다.

[0045] 1. 정의

[0046] 본 명세서에서 사용되는 용어 "ApoC3"은 아포지질단백질 C3 단백질을 지칭한다. 소정의 실시형태에서, ApoC3은 인간 ApoC3이다. 예시적인 인간 ApoC3 아미노산 서열은 RefSeq 수탁 번호 NP\_000031.1에 제시된다.

NP\_000031.1의 성숙 아미노산 서열은 다음과 같다:

- [0047] SEAEADASLLSFMQGYMKHATKTAKDALSSVQESQVAQQARGWVTDGFSCLKDYWSTVKDKFSEFWLDPEVVRPTSAVAA (서열번호 1).
- [0048] 본 명세서에서 사용되는 용어 "항체" 및 "항체들"은 전장 항체, 전장 항체의 항원-결합 단편, 및 항체 CDR, VH 영역 및/또는 VL 영역을 포함하는 분자를 포함한다. 항체의 예는 단클론성 항체, 재조합적으로 생산된 항체, 단일특이성 항체, 다중특이성 항체(이중특이성 항체를 포함), 인간 항체, 인간화된 항체, 키메라 항체, 면역글로불린, 면역글로불린, 2개의 중쇄 및 2개의 경쇄 분자를 포함하는 사량체 항체, 항체 경쇄 단량체, 항체 중쇄 단량체, 항체 경쇄 이량체, 항체 중쇄 이량체, 항체 경쇄- 항체 중쇄쌍, 인트라바디, 이형접합체 항체, 단일 도메인 항체, 1가 항체, 단일쇄 항체 또는 단일쇄 Fv(scFv), scFv-Fc, 낙타 항체(예를 들어, 라마 항체), 낙타화된 항체, 애피바디, Fab 단편, F(ab')<sub>2</sub> 단편, 이항화-연결된 Fv(sdFv), 항-유전자형(항-Id) 항체(예를 들어, 항-항-Id 항체를 포함), 및 상기 중 어떤 것의 항원-결합 단편을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. 소정의 실시형태에서, 본 명세서에 개시된 항체는 다클론성 항체 집단을 지칭한다. 항체는 면역글로불린 분자의 임의의 유형(예를 들어, IgG, IgE, IgM, IgD, IgA 또는 IgY), 임의의 부류(예를 들어, IgG<sub>1</sub>, IgG<sub>2</sub>, IgG<sub>3</sub>, IgG<sub>4</sub>, IgA<sub>1</sub> 또는 IgA<sub>2</sub>), 또는 임의의 하위부류(예를 들어, IgG<sub>2a</sub> 또는 IgG<sub>2b</sub>)를 가질 수 있다. 소정의 실시형태에서, 본 명세서에 개시된 항체는 IgG 항체, 또는 이의 부류(예를 들어, 인간 IgG<sub>1</sub> 또는 IgG<sub>4</sub>) 또는 하위부류이다. 구체적 실시형태에서, 항체는 인간화된 단클론성 항체이다.
- [0049] 본 명세서에 사용된 바와 같은 용어 "단리된 항체"는 그의 천연 환경의 적어도 하나의 성분으로부터 동정되고 분리되고/되거나 회수된 항체를 지칭한다. 용어 "단리된 항체"는 재조합 숙주 세포 내에서 인시추로 항체를 포함한다.
- [0050] 본 명세서에 사용되는 용어 "CDR" 또는 "상보성 결정 영역"은 중쇄와 경쇄 폴리펩타이드 둘 다의 가변 영역 내에서 발견되는 비인접 항원 조합 부위를 의미한다. 이들 특정 영역은 문헌[Kabat *et al.*, J. Biol. Chem. 252, 6609-6616 (1977) 및 Kabat *et al.*, Sequences of protein of immunological interest. (1991)]에 의해, 문헌[Chothia *et al.*, J. Mol. Biol. 196:901-917 (1987)], 그리고 문헌[MacCallum *et al.*, J. Mol. Biol. 262:732-745 (1996)]에 의해 기재되었으며, 이들 모두는 그들의 전문이 본 명세서에 참고로 편입되며, 정의는 서로에 대해 비교할 때 아미노산 잔기의 중복 또는 서브세트를 포함한다. 소정의 실시형태에서, 용어 "CDR"은 문헌[Kabat *et al.*, J. Biol. Chem. 252, 6609-6616 (1977) 및 Kabat *et al.*, Sequences of protein of immunological interest. (1991)]에 의해 정의되는 바와 같은 CDR이다. CDRH1, CDRH2 및 CDRH3은 중쇄 CDR을 나타내고, 그리고 CDRL1, CDRL2 및 CDRL3은 경쇄 CDR을 나타낸다.
- [0051] 본 명세서에서 사용되는 용어 "프레임워크(-framework: FR) 아미노산 잔기"는 면역글로불린 쇠의 프레임워크 영역 내 해당 아미노산을 지칭한다. 본 명세서에서 사용되는 용어 "프레임워크 영역" 또는 "FR 영역"은 가변 영역의 부분이지만, CDR의 부분이 아닌 아미노산 잔기를 포함한다(예를 들어, CDR의 카바트(Kabat) 정의를 이용).
- [0052] 본 명세서에서 사용되는 용어 "가변 영역" 및 "가변 도메인"은 호환 가능하게 사용되고, 당업계에서 통상적이다. 가변 영역은 전형적으로 항체 중에서 서열이 광범위하게 상이하고 그의 특정 항원에 대한 특정 항체의 결합 및 특이성에서 사용되는 항체의 일부, 일반적으로, 경쇄 또는 중쇄의 일부, 전형적으로 성숙 중쇄 내 약 아미노-말단의 110 내지 120개의 아미노산 또는 110 내지 125개의 아미노산 및 성숙 경쇄 내 약 90 내지 115개의 아미노산을 지칭한다. 서열의 가변성은 상보성 결정 영역(CDR)으로 불리는 해당 영역에 집중되지만, 가변 도메인에서 더 고도로 보존된 영역은 프레임워크 영역(FR)으로 불린다. 임의의 특정 메커니즘 또는 이론에 의해 구속되는 일 없이, 경쇄 및 중쇄의 CDR은 항원과 항원의 상호작용 및 특이성을 주로 초래하는 것으로 여겨진다. 소정의 실시형태에서, 가변 영역은 인간 가변 영역이다. 소정의 실시형태에서, 가변 영역은 설치류 또는 무린 CDR 및 인간 프레임워크 영역(FR)을 포함한다. 특정 실시형태에서, 가변 영역은 영장류(예를 들어, 비-인간 영장류) 가변 영역이다. 소정의 실시형태에서, 가변 영역은 설치류 또는 무린 CDR 및 영장류(예를 들어, 비-인간 영장류) 프레임워크 영역(FR)을 포함한다.
- [0053] 용어 "VL" 및 "VL 도메인"은 항체의 경쇄 가변 영역을 지칭하기 위해 호환 가능하게 사용된다.
- [0054] 용어 "VH" 및 "VH 도메인"은 항체의 중쇄 가변 영역을 지칭하기 위해 호환 가능하게 사용된다.
- [0055] 본 명세서에서 사용되는 용어 "불변 영역" 및 "불변 도메인"은 호환 가능하게 사용 가능하고, 당업계에서 통상적이다. 불변 영역은 항체 부분, 예를 들어, 항원에 대한 항체의 결합에 직접적으로 연루되지 않지만, 다양한 효과기 기능, 예컨대 Fc 수용체와의 상호작용을 나타낼 수 있는 경쇄 및/또는 중쇄의 카복실 말단 부분이다. 면

역글로불린 분자의 불변 영역은 일반적으로 면역글로불린 가변 도메인에 비해 더 보존된 아미노산 서열을 가진다.

- [0056] 본 명세서에서 사용되는 용어 "중쇄"는 항체와 관련하여 사용될 때, IgG의 하위부류, 예를 들어, IgG<sub>1</sub>, IgG<sub>2</sub>, IgG<sub>3</sub> 및 IgG<sub>4</sub>를 비롯한, 항체의 IgA, IgD, IgE, IgG 및 IgM을 각각 생기게 하는, 불변 도메인의 아미노산 서열에 기반한 임의의 별개의 유형, 예를 들어, **알파(α)**, **델타(δ)**, **엡실론(ε)**, **감마(γ)** 및 **뮤(μ)**를 지칭할 수 있다.
- [0057] 본 명세서에서 사용되는 용어 "경쇄"는 항체와 관련하여 사용될 때 불변 도메인의 아미노산 서열에 기반하여 임의의 별개의 유형, 예를 들어, **카파(κ)** 또는 **람다(λ)**를 지칭할 수 있다. 경쇄 아미노산 서열은 당업계에 잘 공지되어 있다. 구체적 실시형태에서, 경쇄는 인간 경쇄이다.
- [0058] 본 명세서에서 사용되는 용어 "EU 위치"는 각각은 본 명세서에 그의 전문이 참고로 편입된 문헌[Edelman, G.M. et al., Proc. Natl. Acad. USA, 63, 78-85 (1969) 및 Kabat et al, Sequences of Proteins of Immunological Interest, U.S. Dept. Health and Human Services, 5th edition, 1991]에 기재된 바와 같은 항체의 불변 영역에 대한 EU 넘버링 관례에 따른 아미노산 위치를 지칭한다.
- [0059] 본 명세서에서 사용되는 용어 "에 특이적으로 결합한다"는 약  $1 \times 10^{-6}$  M,  $1 \times 10^{-7}$  M,  $1 \times 10^{-8}$  M,  $1 \times 10^{-9}$  M,  $1 \times 10^{-10}$  M,  $1 \times 10^{-11}$  M,  $1 \times 10^{-12}$  M 또는 이 보다 더 적은 수 이하의 해리상수(K<sub>D</sub>)로 항원에 결합하거나, 또는 비특이적 항원에 대한 그의 친화도보다 적어도 2배 초과인 친화도로 항원에 결합하는 항체의 능력을 지칭한다.
- [0060] 본 명세서에서 사용되는 "에피토프"는 항체가 특이적으로 결합할 수 있는 항원의 국소화된 영역을 지칭한다. 에피토프는, 예를 들어, 폴리펩타이드의 인접한 아미노산(선형 또는 인접한 에피토프)일 수 있거나 또는 에피토프는, 예를 들어, 폴리펩타이드 또는 폴리펩타이드들의 2 이상의 비인접 영역(입체배좌, 비선형, 불연속 또는 비인접 에피토프)으로부터 형성될 수 있다. 소정의 실시형태에서, 항체가 결합하는 에피토프는, 예를 들어, NMR 분광학, X-선 회절 결정학 연구, ELISA 분석, 질량분석법과 결합된 수소/중수소 교환(예를 들어, 액체 크로마토그래피 전기분무 질량분석법), 펩타이드 주사 검정 또는 돌연변이유발 맵핑(예를 들어, 부위-지정 돌연변이유발 맵핑)에 의해 결정될 수 있다.
- [0061] 용어 "치료하다", "치료하는" 및 "치료"는 본 명세서에 개시된 치료적 또는 예방적 측정을 지칭한다. "치료" 방법은 질환 또는 장애 또는 질환 또는 장애의 재발의 중증도를 예방하거나, 치유하거나, 지연시키거나, 감소시키거나, 발생 위험을 감소시키거나 또는 이의 하나 이상의 증상을 개선시키기 위해, 또는 이러한 치료의 부재하에서 예상된 것 이상으로 대상체의 생존을 연장시키기 위해 질환 또는 장애를 갖거나 또는 이러한 질환 장애를 갖는 경향이 있는 대상체에게 항-ApoC3 항체의 투여를 사용한다.
- [0062] 대상체에 대한 투여 요법과 관련하여 본 명세서에서 사용되는 용어 "유효량"은 목적하는 예방적 또는 치료적 효과를 달성하는 요법의 양을 지칭한다.
- [0063] 본 명세서에 사용되는 용어 "대상체"는 임의의 인간 또는 비인간 동물을 포함한다.
- [0064] 본 명세서에서 사용되는 용어 "또는"은 및/또는을 의미한다.
- [0065] 본 명세서에서 사용되는 용어 "약" 및 "대략"은 수치적 값 또는 수치적 범위를 변형시키기 위해 사용될 때, 값 또는 범위의 5% 내지 10% 초과 및 5% 내지 10% 미만의 편차는 인용된 값 또는 범위의 의도된 의미 내에 남아있다는 것을 나타낸다.
- [0066] **2. 항-ApoC3 항체**
- [0067] 본 개시내용은 ApoC3(예를 들어, 인간 ApoC3)에 특이적으로 결합하고 ApoC3 기능을 저해하는 단리된 항체를 제공한다.
- [0068] 소정의 실시형태에서, 단리된 항체는 포유류의 ApoC3 단백질에 결합한다. 소정의 실시형태에서, 단리된 항체는 인간 ApoC3에 결합한다. 소정의 실시형태에서, 단리된 항체는 마카카 파스시쿨라리스(*Macaca fascicularis*)(사이노몰거스 원숭이) ApoC3에 결합한다.
- [0069] 소정의 실시형태에서, 단리된 항체는 산성 pH(예를 들어, pH 5.5 내지 pH 6) 하에서보다 생리적 pH(예를 들어, pH 7.4)에서 더 높은 친화도로 ApoC3(예를 들어, 인간 ApoC3)에 결합한다. 이러한 pH-의존적 항체를 생성하는

방법은 당업계에 잘 공지되어 있다. 예를 들어, 하나의 예시적인 방법에서, 각각 본 명세서에 전문이 참고로 편입된 문헌[Igawa et al., Nat Biotechnol. (2010) 28(11):1203-1207; Chaparro-Riggers et al., J Biol Chem. (2012) 287(14):11090-11097]; 미국 특허 제9,096,651호, 및 미국 특허 공개 제20110111406A1호에 기재된 바와 같이, 항-ApoC3 항체의 중쇄 및/또는 경쇄 CDR에서 하나 이상의 아미노산 잔기는 히스티딘 잔기로 치환된다. 그러나, 이러한 방법은 당업계에 잘 공지되어 있지만, 당업자는 임의의 주어진 항체에 대해 항원에 대한 항체의 친화도를 붕괴시키는 일 없이 항원에 대한 pH-의존적 결합을 달성하기 위해 히스티딘으로 돌연변이될 수 있는 정확한 CDR 아미노산은 경험적으로만 결정될 수 있다는 것을 인식할 것이다(예를 들어, 본 명세서에 전문이 참고로 편입된 문헌[Edgcomb and Murphy, Proteins (2002) 49:1-6] 참조).

[0070] 당업자는 항원에 대한 항체의 친화도를 해리상수( $K_D$ )로 나타낼 수 있되, 더 작은  $K_D$ 는 더 큰 친화도를 나타낸다는 것을 인식할 것이다. 따라서, 소정의 실시형태에서, 항-ApoC3 항체는 pH 7.4에서 제1  $K_D$ 로 그리고 pH 5.5에서 제2  $K_D$ 로 ApoC3(예를 들어, 인간 ApoC3)에 결합하되 제2  $K_D$ 와 제1  $K_D$  간의 비는 적어도 1 이상이다(예를 들어, 적어도 1.1, 1.2, 1.3, 1.4, 1.5, 1.6, 1.7, 1.8, 1.9, 2, 2.5, 3, 3.5, 4, 4.5, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 60, 70, 80, 90 또는 100 이상).

[0071] 소정의 실시형태에서, 제1  $K_D$ 는 100nM 미만(예를 들어, 50, 20, 10, 5, 2, 1, 0.5, 0.2 또는 0.1nM 미만)이다. 소정의 실시형태에서, 제2  $K_D$ 는 1nM 초과(예를 들어, 2, 5, 10, 20 또는 50nM 초과, 또는 0.1, 0.2, 0.5, 1, 2, 5, 10, 20, 50 또는 100  $\mu$ M 초과)이다. 소정의 실시형태에서, 제1  $K_D$ 는 100nM 미만(예를 들어, 50, 20, 10, 5, 2, 1, 0.5, 0.2 또는 0.1nM 미만)이고, ApoC3(예를 들어, 인간 ApoC3)을 발현시키는 동물(예를 들어, 인간 또는 마우스)에서 항체의 반감기는 적어도 약 1일 이상(예를 들어, 적어도 약 2, 3, 4, 5, 6 또는 7일 이상, 또는 약 1, 2, 3, 4, 6 또는 8주 이상)이다. 소정의 실시형태에서, ApoC3은 인간 ApoC3이고, 그리고 ApoC3을 발현시키는 동물은 인간이다. 소정의 실시형태에서, ApoC3은 인간 ApoC3이고, 그리고 ApoC3을 발현시키는 동물은 인간 ApoC3을 발현시키는 마우스이다.

[0072] 소정의 실시형태에서, 본 명세서에 개시된 단리된 항체는 TRL(예를 들어, VLDL) 또는 TRL 잔여물(생체내 또는 시험관내)의 간세포 흡수를 저해하는 ApoC3의 능력을 약화시킨다. 소정의 실시형태에서, 본 명세서에 개시된 단리된 항체는 본 명세서에 개시된 방법에 의해 또는 당업자에게 공지된 방법에 의해 평가하여, TRL(예를 들어, VLDL) 또는 TRL 잔여물의 간세포 흡수를 저해하는 ApoC3의 능력을 적어도 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%만큼 약화시킨다. 소정의 실시형태에서, 본 명세서에 개시된 단리된 항체는 본 명세서에 개시된 방법에 의해 또는 당업자에게 공지된 방법에 의해 평가하여, TRL(예를 들어, VLDL) 또는 TRL 잔여물의 간세포 흡수를 저해하는 ApoC3의 능력을 적어도 약 1.1배, 1.2배, 1.3배, 1.4배, 1.5배, 2배, 2.5배, 3배, 3.5배, 4배, 4.5배, 5배, 6배, 7배, 8배, 9배, 10배, 15배, 20배, 30배, 40배, 50배, 60배, 70배, 80배, 90배 또는 100배만큼 약화시킨다.

[0073] 소정의 실시형태에서, 본 명세서에 개시된 단리된 항체는 식사 전에, 식사 동안에 또는 식사 후에 대상체에게 투여될 때, 대상체에서 식후 지방혈증을 저해할 수 있다. 소정의 실시형태에서, 본 명세서에 개시된 항-ApoC3 항체는 본 명세서에 개시된 방법에 의해 또는 당업자에게 공지된 방법에 의해 평가하여, 대상체에서 식후 지방혈증을 적어도 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%만큼 저해할 수 있다. 소정의 실시형태에서, 본 명세서에 개시된 항-ApoC3 항체는 본 명세서에 개시된 방법에 의해 또는 당업자에게 공지된 방법에 의해 평가하여, 적어도 약 1.1배, 1.2배, 1.3배, 1.4배, 1.5배, 2배, 2.5배, 3배, 3.5배, 4배, 4.5배, 5배, 6배, 7배, 8배, 9배, 10배, 15배, 20배, 30배, 40배, 50배, 60배, 70배, 80배, 90배 또는 100배만큼 식후 지방혈증을 저해할 수 있다.

[0074] 소정의 실시형태에서, 본 명세서에 개시된 단리된 항체는 식사 전에, 식사 동안에 또는 식사 후에 대상체에게 투여될 때 대상체에서 식후 암죽미립 또는 암죽미립 잔여물 수준을 감소시킬 수 있다. 소정의 실시형태에서, 본 명세서에 개시된 항-ApoC3 항체는 본 명세서에 개시된 방법에 의해 또는 당업자에게 공지된 방법에 의해 평가하여, 대상체에서 식후 암죽미립 또는 암죽미립 잔여물 수준을 적어도 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%만큼 감소시킬 수 있다. 소정의 실시형태에서, 본 명세서에 개시된 항-ApoC3 항체는 본 명세서에 개시된 방법에 의해 또는 당업자에게 공지된 방법에 의해 평가하여, 대상체에서 식후 암죽미립 또는 암죽미립 잔여물 수준을 적어도 약 1.1배, 1.2배, 1.3배, 1.4배, 1.5배, 2배, 2.5배, 3배, 3.5배, 4배, 4.5배, 5배, 6배, 7배, 8배, 9배, 10배, 15배, 20배, 30배, 40배, 50배, 60배, 70배, 80배, 90배 또는 100배만큼 감소시킬 수 있다.

- [0075] 소정의 실시형태에서, 본 명세서에 개시된 단리된 항체는 대상체에서 혈액으로부터의 대상체에서 혈액으로부터의 ApoC3 및/또는 ApoB(예를 들어, ApoB48 및/또는 ApoB100)의 청소율을 증가시킬 수 있다. 소정의 실시형태에서, 항-ApoC3 항체는 본 명세서에 개시된 방법에 의해 또는 당업자에게 공지된 방법에 의해 평가하여, 대상체에서 혈액으로부터의 ApoC3 및/또는 ApoB(예를 들어, ApoB48 및/또는 ApoB100)의 청소율을 적어도 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%만큼 증가시킬 수 있다. 소정의 실시형태에서, 본 명세서에 개시된 항-ApoC3 항체는 본 명세서에 개시된 방법에 의해 또는 당업자에게 공지된 방법에 의해 평가하여, 대상체에서 혈액으로부터의 ApoC3 및/또는 ApoB(예를 들어, ApoB48 및/또는 ApoB100)의 청소율을 적어도 약 1.1배, 1.2배, 1.3배, 1.4배, 1.5배, 2배, 2.5배, 3배, 3.5배, 4배, 4.5배, 5배, 6배, 7배, 8배, 9배, 10배, 15배, 20배, 30배, 40배, 50배, 60배, 70배, 80배, 90배 또는 100배만큼 증가시킬 수 있다. ApoC3 및/또는 ApoB(예를 들어, ApoB48 및/또는 ApoB100)의 청소율을 평가하는 방법은 동위원소 추적 기법을 포함하지만, 이것으로 제한되지 않으며, 동위원소는 방사성 또는 안정성일 수 있다.
- [0076] 소정의 실시형태에서, 본 명세서에 개시된 단리된 항체는 대상체에서 혈액 중의 ApoC3 및/또는 ApoB(예를 들어, ApoB48 및/또는 ApoB100) 수준을 감소시킬 수 있다. 소정의 실시형태에서, 항-ApoC3 항체는 본 명세서에 개시된 방법에 의해 또는 당업자에게 공지된 방법에 의해 평가하여, 대상체에서 혈액 중의 ApoC3 및/또는 ApoB(예를 들어, ApoB48 및/또는 ApoB100) 수준을 적어도 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%만큼 감소시킬 수 있다. 소정의 실시형태에서, 본 명세서에 개시된 항-ApoC3 항체는 본 명세서에 개시된 방법에 의해 또는 당업자에게 공지된 방법에 의해 평가하여, 대상체에서 혈액 중의 ApoC3 및/또는 ApoB(예를 들어, ApoB48 및/또는 ApoB100) 수준을 적어도 약 1.1배, 1.2배, 1.3배, 1.4배, 1.5배, 2배, 2.5배, 3배, 3.5배, 4배, 4.5배, 5배, 6배, 7배, 8배, 9배, 10배, 15배, 20배, 30배, 40배, 50배, 60배, 70배, 80배, 90배 또는 100배만큼 감소시킬 수 있다. 소정의 실시형태에서, 대상체에서 혈액 중의 ApoC3 및/또는 ApoB(예를 들어, ApoB48 및/또는 ApoB100) 수준 감소는 적어도 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45 또는 50일, 또는 적어도 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 또는 8주 동안 유지된다.
- [0077] 소정의 실시형태에서, 본 명세서에 개시된 단리된 항체는 지질-결합된 ApoC3(예를 들어, 트라이글리세라이드, TRL(예를 들어, VLDL) 또는 TRL 잔여물에 결합된 ApoC3)에 결합할 수 있다. 소정의 실시형태에서, 본 명세서에 개시된 단리된 항체는 ApoC3이 지질 또는 지질단백질에 결합하는 것을 저해하지 않는다. 소정의 실시형태에서, 본 명세서에 개시된 항체는 ApoC3과 지질 또는 지질단백질의 결합과 경쟁하지 않는다. 소정의 실시형태에서, 지질은 지방산 쇄를 포함한다. 소정의 실시형태에서, 지질은 포스파티딜기를 포함한다. 소정의 실시형태에서, 지질은 포스파티딜콜린(예를 들어, DMPC), 포스파티딜세린, 포스파티딜에탄올아민, 포스파티딜이노시톨 또는 포스파티딜글리세롤을 포함한다. 소정의 실시형태에서, 지질은 트라이글리세라이드이다. 소정의 실시형태에서, 지질단백질은 TRL(예를 들어, VLDL) 또는 TRL 잔여물이다. 소정의 실시형태에서, 본 명세서에 개시된 항-ApoC3 항체의 존재하에 지질 및 지질단백질(예를 들어, 트라이글리세라이드, TRL(예를 들어, VLDL) 또는 TRL 잔여물)에 결합하는 ApoC3의 능력은 본 명세서에 개시된 방법에 의해 또는 당업자에게 공지된 방법에 의해 평가하여, 항-ApoC3 항체의 부재하에 동일한 지질 및 지질단백질에 결합하는 ApoC3 능력의 적어도 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%이다.
- [0078] 소정의 실시형태에서, 본 명세서에 개시된 단리된 항체는 TRL(예를 들어, VLDL) 또는 TRL 잔여물의 간세포 흡수를 저해하는 ApoC3의 능력을 약화시킨다. 소정의 실시형태에서, 본 명세서에 개시된 항-ApoC3 항체의 존재하에 간세포(예를 들어, HepG2 세포)에 의한 TRL(예를 들어, VLDL) 또는 TRL 잔여물의 흡수는 항-ApoC3 항체의 부재하에 간세포(예를 들어, HepG2 세포)에 의한 TRL(예를 들어, VLDL) 또는 TRL 잔여물의 흡수보다 적어도 1.1, 1.2, 1.3, 1.4, 1.5, 1.6, 1.7, 1.8, 1.9, 2, 2.5, 3, 3.5, 4, 4.5 또는 5배 더 높다.
- [0079] 소정의 실시형태에서, 본 명세서에 개시된 단리된 항체는 TRL(예를 들어, VLDL) 또는 TRL 잔여물의 간세포 흡수를 저해하는 ApoC3의 능력을 약화시키고, 지질-결합된 ApoC3(예를 들어, 트라이글리세라이드, TRL(예를 들어, VLDL) 또는 TRL 잔여물에 결합된 ApoC3)에 결합할 수 있다.
- [0080] 소정의 실시형태에서, 본 명세서에 개시된 단리된 항체는 아미노산 서열 FSEFWLDPE(서열번호 2) 내에서 ApoC3의 에피토프에 결합한다. 소정의 실시형태에서, 에피토프는 서열번호 2 내에서 적어도 하나의 아미노산을 포함하고, 그리고 선택적으로 서열번호 2에 인접한 서열번호 1로부터 하나 이상의 아미노산을 포함한다. 소정의 실시형태에서, 에피토프는 서열번호 2의 2, 5, 6, 8 또는 10번 위치에서 아미노산 중 적어도 하나를 포함한다. 소정의 실시형태에서, 에피토프는 서열번호 2의 2, 5, 6, 8 또는 10번 위치에서 아미노산 중 적어도 둘을 포함한다. 소정의 실시형태에서, 에피토프는 서열번호 2의 2, 5, 6, 8 또는 10번 위치에서 아미노산 중 적어도 셋을 포함한다. 소정의 실시형태에서, 에피토프는 서열번호 2의 2, 5, 6, 8 또는 10번 위치에서 아미노산 중 적어도

넷을 포함한다. 소정의 실시형태에서, 에피토프는 서열번호 2의 5 및 6번 위치에서 아미노산을 포함한다. 소정의 실시형태에서, 에피토프는 서열번호 2의 2, 5 및 6번 위치에서 아미노산을 포함한다. 소정의 실시형태에서, 에피토프는 서열번호 2의 2, 5 및 8번 위치에서 아미노산을 포함한다. 소정의 실시형태에서, 에피토프는 서열번호 2의 2, 5, 6 및 8번 위치에서 아미노산을 포함한다. 소정의 실시형태에서, 에피토프는 서열번호 2의 10번 위치에서 아미노산을 포함한다. 소정의 실시형태에서, 에피토프는 서열번호 2의 6 및 10번 위치에서 아미노산을 포함한다. 소정의 실시형태에서, 에피토프는 서열번호 2의 위치 8 및 10에서 아미노산을 포함한다. 소정의 실시형태에서, 에피토프는 서열번호 2의 6 및 8번 위치에서 아미노산을 포함한다. 소정의 실시형태에서, 에피토프는 서열번호 2의 6, 8 및 10번 위치에서 아미노산을 포함한다. 소정의 실시형태에서, 항체는 지질-결합된 ApoC3(예를 들어, 트라이글리세라이드, TRL(예를 들어, VLDL) 또는 TRL 잔여물에 결합된 ApoC3)에 결합할 수 있다. 소정의 실시형태에서, 항체는 TRL(예를 들어, VLDL)의 지질단백질 리파제-매개 지방분해를 저해하는 ApoC3의 능력을 약화시킬 수 없다. 소정의 실시형태에서, 항체는 또한 TRL(예를 들어, VLDL) 또는 TRL 잔여물의 간세포 흡수를 저해하는 ApoC3의 능력을 약화시킨다. 소정의 실시형태에서, 항체는 또한 식사 전에, 식사 동안에 또는 식사 후에 대상체에게 투여될 때 대상체에서 식후 지질혈증을 저해할 수 있다. 소정의 실시형태에서, 본 명세서에 개시된 항체는 또한 식사 전에, 식사 동안에 또는 식사 후에 대상체에게 투여될 때 대상체에서 식후 암죽미립 또는 암죽미립 잔여물 수준을 감소시킬 수 있다.

[0081] 임의의 적합한 검정은 본 명세서에 개시된 항체의 앞서 언급한 기능성 활성을 측정하기 위해 사용될 수 있다. 예시적인 검정은 본 명세서의 실시예에 개시된 기능성 검정을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다.

[0082] 예시적인 항-ApoC3 항체의 아미노산 서열은 본 명세서의 표 1 내지 7에 제시된다.

**표 1**

예시적인 항-ApoC3 항체의 중쇄 CDR 아미노산 서열.

VH 클론	CDRH1	서열번호	CDRH2	서열번호	CDRH3	서열번호
5E5VHWT	TYSMR	3	SISTDGGGTAYRDSVKG	9	AGYSD	10
5E5VH5	TYSMR	3	SIHTDGGGTAYRDSVKG	11	AGYSD	10
5E5VH12	TYSMR	3	SISTDGGGTAYRDSVKG	9	HGYSD	12
5E5VH5VH12	TYSMR	3	SIHTDGGGTAYRDSVKG	11	HGYSD	12

[0083]

**표 2**

예시적인 항-ApoC3 항체의 경쇄 CDR 아미노산 서열.

VL 클론	CDRL1	서열번호	CDRL2	서열번호	CDRL3	서열번호
5E5VLWT	KTSQGLVHSDGKTYFY	6	QVSNRAS	7	AQGTYYPHT	13
5E5VL8	KTSQGLVHSDGKTYFY	6	QVSNRAS	7	AHGTYYPHT	14

[0084]

**표 3**

예시적인 항-ApoC3 항체의 VH 아미노산 서열.

VH 클론	아미노산 서열	서열번호
5E5VHWT	QLQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFGTYSMRWVRQVP RKALEWVSSISTDGGGTAYRDSVKGRFTISRDNKNTLYLQ MNNLKPEDTAIYYCVIAGYSDWGQGTQVTVSS	15
5E5VH5	QLQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFGTYSMRWVRQVP RKALEWVSSIHTDGGGTAYRDSVKGRFTISRDNKNTLYLQ MNNLKPEDTAIYYCVIAGYSDWGQGTQVTVSS	16
5E5VH12	QLQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFGTYSMRWVRQVP RKALEWVSSISTDGGGTAYRDSVKGRFTISRDNKNTLYLQ MNNLKPEDTAIYYCVIHGYSDWGQGTQVTVSS	17
5E5VH5V H12	QLQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFGTYSMRWVRQVP RKALEWVSSIHTDGGGTAYRDSVKGRFTISRDNKNTLYLQ MNNLKPEDTAIYYCVIHGYSDWGQGTQVTVSS	18

[0085]

**표 4**

예시적인 항-ApoC3 항체의 VL 아미노산 서열.

VL 클론	아미노산 서열	서열번호
5E5VLWT	ATMLTQSPGSLVVPGESASISCKTSQGLVHSDGKTYFYWFL QKPGQSPQLIYQVSNRASGVPDRFTGSGSGTDFTLKISGVK AEDAGVYYCAQGTYYPHFTFGSGTRLEIK	19
5E5VL8	ATMLTQSPGSLVVPGESASISCKTSQGLVHSDGKTYFYWFL QKPGQSPQLIYQVSNRASGVPDRFTGSGSGTDFTLKISGVK AEDAGVYYCAHGTYYPHFTFGSGTRLEIK	20

[0086]

**표 5**

예시적인 항-ApoC3 항체의 VH 및 VL 서열.

항체	VH	서열번호	VL	서열번호
5E5WT	5E5VHWT	15	5E5VLWT	19
5E5VH5_VLWT	5E5VH5	16	5E5VLWT	19
5E5VH12_VLWT	5E5VH12	17	5E5VLWT	19
5E5VH5VH12_VLWT	5E5VH5VH12	18	5E5VLWT	19
5E5VHWT_VL8	5E5VHWT	15	5E5VL8	20
5E5VH5_VL8	5E5VH5	16	5E5VL8	20
5E5VH12_VL8	5E5VH12	17	5E5VL8	20
5E5VH5VH12_VL8	5E5VH5VH12	18	5E5VL8	20

[0087]

표 6

예시적인 중쇄 및 경쇄 불변 영역의 서열.

불변 영역	아미노산 서열	서열 번호
인간 IgG <sub>1</sub> 불변 영역 야생형	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPQAVLQSSGLYSLSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSN TKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMIS RTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIISKAKG QPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHE ALHNHYTQKSLSLSPGK	21
인간 IgG <sub>1</sub> 불변 영역 야생형	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPQAVLQSSGLYSLSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSN TKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMIS RTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIISKAKG QPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHE ALHNHYTQKSLSLSPG	36
인간 IgG <sub>1</sub> 불변 영역 YTE	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPQAVLQSSGLYSLSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSN TKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTL <u>YTI</u> <u>RE</u> PEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIISKAKG QPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHE ALHNHYTQKSLSLSPGK	22
인간 IgG <sub>1</sub> 불변 영역 YTE	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPQAVLQSSGLYSLSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSN TKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTL <u>YTI</u> <u>RE</u> PEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIISKAKG QPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHE ALHNHYTQKSLSLSPG	37
인간 IgG <sub>1</sub> 불변 영역 HNance	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPQAVLQSSGLYSLSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSN TKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMIS RTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIISKAKG QPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHE AL <u>KF</u> HYTQKSLSLSPGK	23

[0088]

불변 영역	아미노산 서열	서열 번호
인간 IgG <sub>1</sub> 불변 영역 HNance	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSN TKVDKDKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMIS RTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIISKAKG QPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHE AL <u>K</u> FHYTQKSLSLSPG	38
인간 IgG <sub>1</sub> 불변 영역 Xtend	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSN TKVDKDKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMIS RTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIISKAKG QPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCV <u>L</u> HE ALH <u>S</u> HYTQKSLSLSPGK	24
인간 IgG <sub>1</sub> 불변 영역 Xtend	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSN TKVDKDKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMIS RTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIISKAKG QPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCV <u>L</u> HE ALH <u>S</u> HYTQKSLSLSPG	39
인간 IgG <sub>4</sub> 불변 영역 야생형	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYTCNVDHKPS NTKVDKRVESKYGPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVVDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIISKAKGQP REPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFCSCVMHEAL HNHYTQKSLSLSLGK	40
인간 IgG <sub>4</sub> S228P 불변 영역 야생형	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYTCNVDHKPS NTKVDKRVESKYGPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVVDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIISKAKGQP REPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFCSCVMHEAL HNHYTQKSLSLSLG	41

[0089]

불변 영역	아미노산 서열	서열 번호
인간 IgG <sub>4</sub> S228P 불변 영역 YTE	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGKTKYTCNVDPKPS NTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTL <u>YITRE</u> PEVTCVVVDVSDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQP REPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEAL HNHYTQKSLSLGLGK	42
인간 IgG <sub>4</sub> S228P 불변 영역 YTE	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGKTKYTCNVDPKPS NTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTL YITRE PEVTCVVVDVSDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQP REPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEAL HNHYTQKSLSLGLG	43
인간 IgG <sub>4</sub> S228P 불변 영역 HNance	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGKTKYTCNVDPKPS NTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVVDVSDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQP REPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEAL <u>KF</u> HYTQKSLSLGLGK	44
인간 IgG <sub>4</sub> S228P 불변 영역 HNance	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGKTKYTCNVDPKPS NTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVVDVSDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQP REPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEAL KFHYTQKSLSLGLG	45
인간 IgG <sub>4</sub> S228P 불변 영역 Xtend	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGKTKYTCNVDPKPS NTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVVDVSDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQP REPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSV <u>L</u> HEAL HSHYTQKSLSLGLGK	46

[0090]

불변 영역	아미노산 서열	서열 번호
인간 IgG <sub>4</sub> S228P 불변 영역 Xtend	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGKTKYTCNVDPKPS NTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVVDVSDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQP REPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVLHEAL HSHYTQKSLSLGLG	47
인간 Igk 불변 영역	RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVD NALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACE VTHQGLSPVTKSFNRGEC	25
인간 Igλ 불변 영역	GQPKANPTVITLPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKA DGSPVKAGVETTKPSKQSNKYAASSYLSTPEQWKS <hr/> SHRSYSCQ VTHEGSTVEKTVAPTECS	26

[0091]

표 7

예시적인 항-ApoC3 항체의 전체 중쇄 및 경쇄 서열.

항체쇄	아미노산 서열	서열번호
5E5VH5	QLQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFGTYSMRWVRQVPRKALEWVSSIHTDGGGTAYRDSVKGRFTISRDNANKNTLYLQMNNLKPEDTAIYYCVIAGYSDWGQGTQVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHNKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	27
5E5VH5_YTE	QLQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFGTYSMRWVRQVPRKALEWVSSIHTDGGGTAYRDSVKGRFTISRDNANKNTLYLQMNNLKPEDTAIYYCVIAGYSDWGQGTQVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHNKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	28
5E5VH5_HNance	QLQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFGTYSMRWVRQVPRKALEWVSSIHTDGGGTAYRDSVKGRFTISRDNANKNTLYLQMNNLKPEDTAIYYCVIAGYSDWGQGTQVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHNKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVSCSVMHEALKFHYTQKSLSLSPGK	29
5E5VH5_Xtend	QLQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFGTYSMRWVRQVPRKALEWVSSIHTDGGGTAYRDSVKGRFTISRDNANKNTLYLQMNNLKPEDTAIYYCVIAGYSDWGQGTQVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHNKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVSCSVLHEALHSHYHTQKSLSLSPGK	30

[0092]

항체쇄	아미노산 서열	서열번호
5E5VH12	QLQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFGTYSMRWVRQVPRKALEWVSSISIDGGGTAYRDSVKGRFTISRDNNAKNTLYLQMNNLKPEDTAIYYCVIHGYSYDWGQGTQVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSVSVTVPSSSLGTQTYICNVNHNKPSNTKVDKKEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	31
5E5VH12_YTE	QLQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFGTYSMRWVRQVPRKALEWVSSISIDGGGTAYRDSVKGRFTISRDNNAKNTLYLQMNNLKPEDTAIYYCVIHGYSYDWGQGTQVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSVSVTVPSSSLGTQTYICNVNHNKPSNTKVDKKEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTL <b>YITRE</b> PEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	32
5E5VH12_HNance	QLQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFGTYSMRWVRQVPRKALEWVSSISIDGGGTAYRDSVKGRFTISRDNNAKNTLYLQMNNLKPEDTAIYYCVIHGYSYDWGQGTQVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSVSVTVPSSSLGTQTYICNVNHNKPSNTKVDKKEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEAL <b>KF</b> HYTQKSLSLSPGK	33
5E5VH12_Xtend	QLQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFGTYSMRWVRQVPRKALEWVSSISIDGGGTAYRDSVKGRFTISRDNNAKNTLYLQMNNLKPEDTAIYYCVIHGYSYDWGQGTQVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSVSVTVPSSSLGTQTYICNVNHNKPSNTKVDKKEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSV <b>L</b> HEALH <b>S</b> HYTQKSLSLSPGK	34
5E5VL8_전체경쇄	ATMLTQSPGSLSVVPGESASISCKTSQGLVHSDGKTYFYWFLQKPGQSPQHLIYQVSNRASGVPDRFTGSGSGTDFTLKISGVKAEDAGVYYCAHQITGYPHTFGSGTRLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	35

[0093]

[0094]

소정의 실시형태에서, 본 개시내용은 ApoC3(예를 들어, 인간 ApoC3)에 특이적으로 결합하는 단리된 항체를 제공하며, 상기 항체는 본 명세서의 표 3에 제시된 VH 도메인의 CDR 중 1, 2 또는 모두 3개를 포함하는 VH 도메인을 포함한다. 소정의 실시형태에서, 항체는 표 3에 제시된 VH 도메인 중 하나의 CDR1을 포함한다. 소정의 실시형태에서, 항체는 표 3에 제시된 VH 도메인 중 하나의 CDR2를 포함한다. 소정의 실시형태에서, 항체는 표 3에 제시된 VH 도메인 중 하나의 CDR3을 포함한다.

[0095]

소정의 실시형태에서, 본 개시내용은 ApoC3(예를 들어, 인간 ApoC3)에 특이적으로 결합하는 단리된 항체를 제공하며, 상기 항체는 본 명세서의 표 4에 개시된 VL 도메인의 CDR 중 1, 2 또는 모두 3개를 포함하는 VL 도메인을 포함한다. 소정의 실시형태에서, 항체는 표 4에 제시된 VL 도메인 중 하나의 CDRL1을 포함한다. 소정의 실시형태에서, 항체는 표 4에 제시된 VL 도메인 중 하나의 CDRL2를 포함한다. 소정의 실시형태에서, 항체는 표 4에 제시된 VL 도메인 중 하나의 CDRL3을 포함한다.

[0096]

소정의 실시형태에서, 본 개시내용은 ApoC3(예를 들어, 인간 ApoC3)에 특이적으로 결합하는 단리된 항체를 제공하며, 상기 항체는 상보성 결정 영역인 CDRH1, CDRH2 및 CDRH3을 갖는 중쇄 가변 영역, 및 상보성 결정 영역인 CDRL1, CDRL2 및 CDRL3을 갖는 경쇄 가변 영역을 포함하되, CDRH1, CDRH2, CDRH3, CDRL1, CDRL2 및 CDRL3은 표 5에 제시된 항체의 CDRH1, CDRH2, CDRH3, CDRL1, CDRL2 및 CDRL3 영역의 아미노산 서열을 각각 포함한다.

- [0097] 소정의 실시형태에서, 항체의 CDR은 문헌[Kabat et al., J. Biol. Chem. 252, 6609-6616 (1977) 및 Kabat et al., Sequences of protein of immunological interest (1991)]에 따라 결정될 수 있다. 소정의 실시형태에서, 항체의 경쇄 CDR은 카바트에 따라 결정되고, 항체의 중쇄 CDR은 맥칼럼에 따라 결정된다(상기 참조).
- [0098] 소정의 실시형태에서, 항체의 CDR은 면역글로불린 구조적 루프의 위치를 지칭하는 코티아 넘버링 체계에 따라 결정될 수 있다(예를 들어, 문헌[Chothia C & Lesk AM, (1987), J Mol Biol 196: 901-917; Al-Lazikani B et al., (1997) J Mol Biol 273: 927-948; Chothia C et al., (1992) J Mol Biol 227: 799-817; Tramontano A et al., (1990) J Mol Biol 215(1): 175-82]; 및 미국 특허 제7,709,226호 참조). 전형적으로, 카바트 넘버링 관례를 이용할 때, 코티아 CDRH1 루프는 중쇄 아미노산 26 내지 32, 33 또는 34에 존재하고, 코티아 CDRH2 루프는 중쇄 아미노산 52 내지 56에 존재하며, 코티아 CDRH3 루프는 중쇄 아미노산 95 내지 102에 존재하는 반면, 코티아 CDRL1 루프는 경쇄 아미노산 24 내지 34에 존재하고, 코티아 CDRL2 루프는 경쇄 아미노산 50 내지 56에 존재하고, 코티아 CDRL3 루프는 경쇄 아미노산 89 내지 97에 존재한다. 카바트 넘버링 관례를 이용하여 넘버링할 때 코티아 CDRH1 루프의 말단은 루프의 길이에 따라서 H32와 H34 사이에서 변한다(이는 카바트 넘버링 체계가 H35A 및 H35B에서 일어나기 때문이며; 35A도 35B도 존재하지 않는다면, 루프는 32에서 종결되고; 35A만이 존재한다면, 루프는 33에서 종결되고; 35A와 35B가 둘 다 존재한다면, 루프는 34에서 종결된다).
- [0099] 소정의 실시형태에서, 항체의 CDR은 문헌[Lefranc M-P, (1999) The Immunologist 7: 132-136 및 Lefranc M-P et al., (1999) Nucleic Acids Res 27: 209-212]에 기재된 바와 같은 IMGT 넘버링 시스템에 따라 결정될 수 있다. IMGT 넘버링 체계에 따르면, CDRH1은 위치 26 내지 35에 있고, CDRH2는 위치 51 내지 57에 있으며, CDRH3은 위치 93 내지 102에 있고, CDRL1은 위치 27 내지 32에 있으며, CDRL2는 위치 50 내지 52에 있고, 그리고 CDRL3은 위치 89 내지 97에 있다.
- [0100] 소정의 실시형태에서, 항체의 CDR은 카바트 CDR과 코티아 구조적 루프 사이의 절충을 나타내는 AbM 추가변 영역을 지칭하며, 본 명세서에 전체가 참고로 편입된 옥스퍼드 몰레큘러사의 AbM 항체 모델링 소프트웨어(옥스퍼드 몰레큘러 그룹, 인코포레이티드(Oxford Molecular Group, Inc.))에 의해 사용되는 AbM 넘버링 체계에 따라 결정될 수 있다.
- [0101] 소정의 실시형태에서, 항체의 CDR은 문헌[MacCallum RM et al., (1996) J Mol Biol 262: 732-745]에 따라 결정될 수 있다. 또한, 예를 들어, 문헌[Martin A. "Protein Sequence and Structure Analysis of Antibody Variable Domains," in *Antibody Engineering*, Kontermann and **Dübel**, eds., Chapter 31, pp. 422-439, Springer-Verlag, Berlin (2001)] 참조.
- [0102] 소정의 실시형태에서, 본 개시내용은 ApoC3(예를 들어, 인간 ApoC3)에 특이적으로 결합하는 단리된 항체를 제공하되, 항체는 표 3에 제시된 VH 도메인의 CDRH1, CDRH2 및 CDRH3 영역 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 및 표 4에 제시된 VL 도메인의 CDRL1, CDRL2 및 CDRL3 영역 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하고, 각각의 CDR은 본 명세서에 개시된 바와 같은 카바트, 코티아, IMGT, 맥칼럼 또는 AbM 정의에 따라 독립적으로 정의된다.
- [0103] 소정의 실시형태에서, 본 개시내용은 ApoC3(예를 들어, 인간 ApoC3)에 특이적으로 결합하는 단리된 항체를 제공하며, 항체는 상보성 결정 영역인 CDRH1, CDRH2 및 CDRH3을 갖는 중쇄 가변 영역, 및 상보성 결정 영역인 CDRL1, CDRL2 및 CDRL3을 갖는 경쇄 가변 영역을 포함하고, 그리고:
- [0104] (a) CDRH1은 TYSMR(서열번호 3)의 아미노산 서열을 포함하고;
- [0105] (b) CDRH2는 SIX<sub>1</sub>TDGGGTAYRDSVKG의 아미노산 서열을 포함하되, X<sub>1</sub>은 S 또는 H(서열번호 4)이며;
- [0106] (c) CDRH3은 X<sub>2</sub>GYSD의 아미노산 서열을 포함하되, X<sub>2</sub>는 A 또는 H(서열번호 5)이고;
- [0107] (d) CDRL1은 KTSQGLVHSDGKTYFY(서열번호 6)의 아미노산 서열을 포함하며;
- [0108] (e) CDRL2는 QVSNRAS(서열번호 7)의 아미노산 서열을 포함하고; 그리고/또는
- [0109] (f) CDRL3은 AX<sub>3</sub>GTYYPHT의 아미노산 서열을 포함하되, X<sub>3</sub>은 Q 또는 H(서열번호 8)이다.
- [0110] 소정의 실시형태에서, 본 개시내용은 ApoC3(예를 들어, 인간 ApoC3)에 특이적으로 결합하는 단리된 항체를 제공하며, 항체는 상보성 결정 영역인 CDRH1, CDRH2 및 CDRH3을 갖는 중쇄 가변 영역, 및 상보성 결정 영역인 CDRL1, CDRL2 및 CDRL3을 갖는 경쇄 가변 영역을 포함하고, 그리고:

- [0111] (a) CDRH1은 TYSMR(서열번호 3)의 아미노산 서열을 포함하고;
- [0112] (b) CDRH2는 SIX<sub>1</sub>TDGGGTAYRDSVKG의 아미노산 서열을 포함하되, X<sub>1</sub>은 S 또는 H(서열번호 4)이며;
- [0113] (c) CDRH3은 X<sub>2</sub>GYSD의 아미노산 서열을 포함하되, X<sub>2</sub>는 A 또는 H(서열번호 5)이고;
- [0114] (d) CDRL1은 KTSQGLVHSDGKTYFY(서열번호 6)의 아미노산 서열을 포함하며;
- [0115] (e) CDRL2는 QVSNRAS(서열번호 7)의 아미노산 서열을 포함하고; 그리고
- [0116] (f) CDRL3은 AX<sub>3</sub>GTYYPHT의 아미노산 서열을 포함하되, X<sub>3</sub>은 Q 또는 H(서열번호 8)이며,
- [0117] 그리고 X<sub>1</sub>, X<sub>2</sub> 및 X<sub>3</sub> 중 적어도 하나는 H이다.
- [0118] 소정의 실시형태에서, 본 개시내용은 ApoC3(예를 들어, 인간 ApoC3)에 특이적으로 결합하는 단리된 항체를 제공하며, 항체는:
- [0119] (a) 서열번호 3의 아미노산 서열을 포함하는 CDRH1;
- [0120] (b) 서열번호 9 또는 11의 아미노산 서열을 포함하는 CDRH2;
- [0121] (c) 서열번호 10 또는 12의 아미노산 서열을 포함하는 CDRH3;
- [0122] (d) 서열번호 6의 아미노산 서열을 포함하는 CDRL1;
- [0123] (e) 서열번호 7의 아미노산 서열을 포함하는 CDRL2; 및/또는
- [0124] (f) 서열번호 13 또는 14의 아미노산 서열을 포함하는 CDRL3
- [0125] 을 포함한다.
- [0126] 소정의 실시형태에서, 본 개시내용은 ApoC3(예를 들어, 인간 ApoC3)에 특이적으로 결합하는 단리된 항체를 제공하고, 상기 항체는:
- [0127] (a) 서열번호 3의 아미노산 서열을 포함하는 CDRH1;
- [0128] (b) 서열번호 9 또는 11의 아미노산 서열을 포함하는 CDRH2;
- [0129] (c) 서열번호 10 또는 12의 아미노산 서열을 포함하는 CDRH3;
- [0130] (d) 서열번호 6의 아미노산 서열을 포함하는 CDRL1;
- [0131] (e) 서열번호 7의 아미노산 서열을 포함하는 CDRL2; 및
- [0132] (f) 서열번호 13 또는 14의 아미노산 서열을 포함하는 CDRL3을 포함하되,
- [0133] 상기 단리된 항체는 서열번호 3, 9, 10, 6, 7 및 13에 각각 제시된 CDRH1, CDRH2, CDRH3, CDRL1, CDRL2 및 CDRL3을 포함하지 않는다.
- [0134] 소정의 실시형태에서, 본 개시내용은 ApoC3(예를 들어, 인간 ApoC3)에 특이적으로 결합하는 단리된 항체를 제공하되, 상기 항체는 서열번호 3, 9 및 10; 3, 11 및 10; 3, 9 및 12; 또는 3, 11 및 12에 각각 제시된 CDRH1, CDRH2 및 CDRH3 아미노산 서열을 포함하는 VH 도메인을 포함한다. 소정의 실시형태에서, VH 도메인은 서열번호 3, 11 및 10에 각각 제시된 CDRH1, CDRH2 및 CDRH3 아미노산 서열을 포함한다. 소정의 실시형태에서, VH 도메인은 서열번호 3, 9 및 12에 각각 제시된 CDRH1, CDRH2 및 CDRH3 아미노산 서열을 포함한다. 소정의 실시형태에서, VH 도메인은 서열번호 3, 11 및 12에 각각 제시된 CDRH1, CDRH2 및 CDRH3 아미노산 서열을 포함한다.
- [0135] 소정의 실시형태에서, 본 개시내용은 ApoC3(예를 들어, 인간 ApoC3)에 특이적으로 결합하는 단리된 항체를 제공하되, 상기 항체는 서열번호 6, 7 및 13; 또는 6, 7 및 14에 각각 제시된 CDRL1, CDRL2 및 CDRL3 아미노산 서열을 포함하는 VL 도메인을 포함한다. 소정의 실시형태에서, VL 도메인은 서열번호 6, 7 및 14에 각각 제시된 CDRL1, CDRL2 및 CDRL3 아미노산 서열을 포함한다.
- [0136] 소정의 실시형태에서, 본 개시내용은 ApoC3(예를 들어, 인간 ApoC3)에 특이적으로 결합하는 단리된 항체를 제공하되, 상기 항체는 CDRH1, CDRH2 및 CDRH3 영역을 포함하는 중쇄 가변 영역, 및 CDRL1, CDRL2 및 CDRL3 영역을

포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하고, CDRH1, CDRH2, CDRH3, CDRL1, CDRL2 및 CDRL3 영역은 서열번호 3, 11, 10, 6, 7 및 13; 3, 9, 12, 6, 7 및 13; 3, 9, 10, 6, 7 및 14; 3, 11, 10, 6, 7 및 14; 3, 9, 12, 6, 7 및 14; 3, 11, 12, 6, 7 및 13; 또는 3, 11, 12, 6, 7 및 13에 각각 제시된 아미노산 서열을 포함한다. 소정의 실시형태에서, CDRH1, CDRH2, CDRH3, CDRL1, CDRL2 및 CDRL3 영역은 서열번호 3, 11, 10, 6, 7 및 14에 각각 제시된 아미노산 서열을 포함한다. 소정의 실시형태에서, CDRH1, CDRH2, CDRH3, CDRL1, CDRL2 및 CDRL3 영역은 서열번호 3, 9, 12, 6, 7 및 14에 각각 제시된 아미노산 서열을 포함한다.

[0137] 소정의 실시형태에서, 본 개시내용은 서열번호 15, 16, 17 또는 18에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 95% 또는 100%(예를 들어, 적어도 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98 또는 99%) 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역을 포함하는, ApoC3(예를 들어, 인간 ApoC3)에 특이적으로 결합하는 단리된 항체를 제공한다. 소정의 실시형태에서, 항체는 서열번호 15, 16, 17 또는 18에 제시된 아미노산 서열을 갖는 중쇄 가변 영역을 포함한다. 소정의 실시형태에서, 항체는 서열번호 16에 제시된 아미노산 서열을 갖는 중쇄 가변 영역을 포함한다. 소정의 실시형태에서, 항체는 서열번호 17에 제시된 아미노산 서열을 갖는 중쇄 가변 영역을 포함한다. 소정의 실시형태에서, 항체는 서열번호 18에 제시된 아미노산 서열을 갖는 중쇄 가변 영역을 포함한다.

[0138] 소정의 실시형태에서, 본 개시내용은 서열번호 19 또는 20에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 95% 또는 100%(예를 들어, 적어도 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98 또는 99%) 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는, ApoC3(예를 들어, 인간 ApoC3)에 특이적으로 결합하는 단리된 항체를 제공한다. 소정의 실시형태에서, 항체는 서열번호 20에 제시된 아미노산 서열을 갖는 경쇄 가변 영역을 포함한다.

[0139] 소정의 실시형태에서, 본 개시내용은 하고, 서열번호 15, 16, 17 또는 18에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 95% 또는 100%(예를 들어, 적어도 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98 또는 99%) 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 및 서열번호 19 또는 20에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 95% 또는 100%(예를 들어, 적어도 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98 또는 99%) 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는, ApoC3(예를 들어, 인간 ApoC3)에 특이적으로 결합하는 단리된 항체를 제공한다. 소정의 실시형태에서, 항체는 서열번호 15, 16, 17 또는 18에 제시된 아미노산 서열을 갖는 중쇄 가변 영역, 및 서열번호 19 또는 20에 제시된 아미노산 서열을 갖는 경쇄 가변 영역을 포함한다. 소정의 실시형태에서, 항체는 서열번호 16 및 19, 17 및 19, 18 및 19, 15 및 20, 16 및 20, 17 및 20, 또는 18 및 20에 각각 제시된 아미노산 서열을 갖는 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역을 포함한다. 소정의 실시형태에서, 항체는 서열번호 16 및 20에 각각 제시된 아미노산 서열을 갖는 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역을 포함한다. 소정의 실시형태에서, 항체는 서열번호 17 및 20에 각각 제시된 아미노산 서열을 갖는 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역을 포함한다.

[0140] 임의의 Ig 불변 영역은 본 명세서에 개시된 단리된 항체에서 사용될 수 있다. 소정의 실시형태에서, Ig 불변 영역은 인간 IgG, IgE, IgM, IgD, IgA 또는 IgY 면역글로불린(Ig) 분자의 불변 영역, 및/또는 면역글로불린 분자의 임의의 부류(예를 들어, IgG<sub>1</sub>, IgG<sub>2</sub>, IgG<sub>3</sub>, IgG<sub>4</sub>, IgA<sub>1</sub> 및 IgA<sub>2</sub>) 또는 임의의 하위부류(예를 들어, IgG<sub>2a</sub> 및 IgG<sub>2b</sub>)의 불변 영역이다. 소정의 실시형태에서, Ig 불변 영역은 인간 또는 인간화된 Ig 불변 영역이다.

[0141] 소정의 실시형태에서, 불변 영역은 야생형 인간 Ig(예를 들어, IgG) 중쇄 불변 영역의 변이체이고, 변이체 인간 Ig 중쇄 불변 영역은 산성 pH(예를 들어, pH 5.5 내지 pH 6)에서 인간 신생아 Fc 수용체(FcRn)에 대해, 동일한 조건하에 인간 FcRn에 대한 대응하는 야생형 인간 Ig 중쇄 불변 영역의 친화도에 비해 증가된 친화도(예를 들어, 적어도 1.5, 2, 2.5, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15 또는 20배만큼 증가됨)를 갖는다. 소정의 실시형태에서, 변이체 인간 Ig 중쇄 불변 영역은 생리적 pH에서(예를 들어, pH 7.4에서) 인간 신생아 Fc 수용체(FcRn)에 대해, 동일한 조건하의 인간 FcRn에 대한 야생형 인간 Ig 중쇄 불변 영역의 친화도에 비해 유사한 또는 감소된 친화도(예를 들어, 1.1, 1.2, 1.3, 1.4, 1.5, 1.6, 1.7, 1.8, 1.9 또는 2배 초과만큼 증가되거나, 동일하거나 또는 감소됨)를 가진다. 소정의 실시형태에서, 불변 영역은 야생형 Ig(예를 들어, IgG) 불변 도메인 또는 이의 FcRn-결합 단편(예를 들어, Fc 또는 힌지-Fc 도메인 단편)으로부터의 1, 2개 이상의 아미노산(예를 들어, 하나 이상의 치환, 삽입 또는 결실)을 포함한다. 소정의 실시형태에서, 생체내 변이체 불변 영역을 갖는 항체의 반감기는 생체내에서 야생형 불변 도메인 또는 이의 FcRn-결합 단편을 갖는 대응하는 항체의 반감기에 비해 증가된다. 생체내에서 항체의 반감기를 증가시키는 돌연변이의 예에 대해, 예를 들어, 국제 특허 출원 공개 WO 02/060919; WO 98/23289; 및 WO 97/34631; 및 미국 특허 제5,869,046호, 제6,121,022호, 제6,277,375호, 제

6,165,745호, 제8,088,376호 및 제8,163,881호를 참조하며, 이들 모두는 본 명세서에 그들의 전문이 참고로 편입된다. 소정의 실시형태에서, 하나 이상의 상이한 아미노산은 EU 넘버링 시스템에 따라 넘버링된 제2 불변(CH2) 도메인(인간 IgG<sub>1</sub>의 잔기 231 내지 340) 및/또는 제3 불변(CH3) 도메인(인간 IgG<sub>1</sub>의 잔기 341 내지 447)에 있다. 소정의 실시형태에서, 본 명세서에 개시된 항체의 IgG(예를 들어, IgG<sub>1</sub>, IgG<sub>2</sub> 또는 IgG<sub>4</sub>)의 불변 영역은 EU 넘버링 시스템에 따라 넘버링된 252, 254 및 256번 위치에서 각각 아미노산 타이로신(Y) 트레오닌(T) 및 글루탐산(E)을 포함한다. 본 명세서에 전문이 참고로 편입된 미국 특허 제7,658,921호 참조. "YTE IgG"로서 지칭되는 이 유형의 IgG는 동일한 항체의 야생형 형태에 비해 4배 증가된 반감기를 나타내는 것으로 나타낸다(본 명세서에 전문이 참고로 편입된 문헌[Da11'Acqua WF *et al.*, (2006) J Biol Chem 281: 23514-24] 참조). 소정의 실시형태에서, 본 명세서에 개시된 항체의 IgG(예를 들어, IgG<sub>1</sub>, IgG<sub>2</sub> 또는 IgG<sub>4</sub>)의 불변 영역은 EU 넘버링 시스템에 따라 넘버링된 434번 위치에서 아미노산 알라닌(A), 세린(S), 타이로신(Y) 또는 페닐알라닌(F)을 포함한다. 소정의 실시형태에서, 본 명세서에 개시된 항체의 IgG(예를 들어, IgG<sub>1</sub>, IgG<sub>2</sub> 또는 IgG<sub>4</sub>)의 불변 영역은 EU 넘버링 시스템에 따라 넘버링된 433, 434 및 436번 위치에서 아미노산(K), 페닐알라닌(F) 및 타이로신(Y)을 포함한다. 소정의 실시형태에서, 본 명세서에 개시된 항체의 IgG(예를 들어, IgG<sub>1</sub>, IgG<sub>2</sub> 또는 IgG<sub>4</sub>)의 불변 영역은 EU 넘버링 시스템에 따라 넘버링된 428 및 434번 위치에서 아미노산 류신(L) 및 세린(S)을 포함한다. 산성 조건하에 FcRn에 대해 증가된 친화도를 가질 수 있는 추가적인 IgG 불변 영역은 본 명세서에 전문이 참고로 편입된 문헌[Ward *et al.*, Mol. Immunol. (2015) 67(200):131-41]에 기재되어 있다. 소정의 실시형태에서, 항체는 EU 넘버링 시스템에 따라 넘버링된 251 내지 257, 285 내지 290, 308 내지 314, 385 내지 389, 및 428 내지 436번 위치에서 아미노산 잔기의 1, 2, 3개 이상의 아미노산 치환을 포함하는 IgG 불변 도메인을 포함한다. 소정의 실시형태에서, 본 명세서에 개시된 단리된 항체는 서열번호 21, 22, 23, 24, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46 또는 47에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 불변 영역을 포함한다. 소정의 실시형태에서, 본 명세서에 개시된 단리된 항체는 서열번호 25 또는 26에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 불변 영역을 포함한다.

[0142] 소정의 실시형태에서, 본 개시내용은 서열번호 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33 또는 34에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄를 포함하는 ApoC3(예를 들어, 인간 ApoC3)에 특이적으로 결합하는 단리된 항체를 제공한다. 소정의 실시형태에서, 본 개시내용은 서열번호 35에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함하는 ApoC3(예를 들어, 인간 ApoC3)에 특이적으로 결합하는 단리된 항체를 제공한다. 소정의 실시형태에서, 본 개시내용은 서열번호 27 및 35, 28 및 35, 29 및 35, 30 및 35, 31 및 35, 32 및 35, 33 및 35, 또는 34 및 35에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 경쇄를 포함하는, ApoC3(예를 들어, 인간 ApoC3)에 특이적으로 결합하는 단리된 항체를 제공한다.

[0143] **3. 사용 방법**

[0144] ApoC3은 간세포에 의한 TRL(예를 들어, VLDL) 및 TRL 잔여물 흡수 및 청소율을 저해하고 TRL(예를 들어, VLDL)의 지질단백질 리파제-매개 지방분해의 저해함으로써, 대상체의 혈액 중의 트라이글리세라이드 수준을 증가시키는 작용을 한다. 소정의 실시형태에서, 본 명세서에 개시된 항-ApoC3 항체는 TRL(예를 들어, VLDL) 및 TRL 잔여물 흡수 및 간세포의 청소율을 저해하는 ApoC3의 능력을 약화시키거나 또는 TRL(예를 들어, VLDL)의 지질단백질 리파제-매개 지방분해를 저해하는 ApoC3의 능력을 약화시킬 수 있다. 따라서, 소정의 실시형태에서, 본 개시내용은 대상체의 혈액 중의 ApoC3의 활성을 저해하는 방법을 제공하며, 상기 방법은 대상체에게 유효량의 본 명세서에 개시된 항-ApoC3 항체 또는 약제학적 조성물을 투여하는 단계를 포함한다. 소정의 실시형태에서, ApoC3의 활성은 간세포에 의한 TRL(예를 들어, VLDL) 및 TRL 잔여물 흡수 및 청소율의 저해이다. 소정의 실시형태에서, ApoC3의 활성은 TRL의 지질단백질 리파제-매개 지방분해 저해이다. 소정의 실시형태에서, ApoC3의 활성은 간세포에 의한 TRL(예를 들어, VLDL) 및 TRL 잔여물 흡수 및 청소율의 저해 및 TRL의 지질단백질 리파제-매개 지방분해의 저해이다.

[0145] 본 명세서에 개시된 항-ApoC3 항체는 대상체에서 혈액으로부터의 ApoC3 및/또는 ApoB(예를 들어, ApoB48 및/또는 ApoB100)의 청소율을 증가시키는 데 유용하다. 따라서, 소정의 실시형태에서, 본 개시내용은 대상체에서 혈액으로부터 ApoC3 및/또는 ApoB(예를 들어, ApoB48 및/또는 ApoB100)의 청소율을 증가시키는 방법을 제공하며, 상기 방법은 대상체에게 유효량의 본 명세서에 개시된 항-ApoC3 항체 또는 약제학적 조성물을 투여하는 단계를 포함한다.

[0146] 본 명세서에 개시된 항-ApoC3 항체는 대상체의 혈액 중의 ApoC3 및/또는 ApoB(예를 들어, ApoB48 및/또는 ApoB100) 수준을 감소시키는 데 유용하다. 따라서, 소정의 실시형태에서, 본 개시내용은 대상체의 혈액 중의

ApoC3 및/또는 ApoB(예를 들어, ApoB48 및/또는 ApoB100) 수준을 감소시키는 방법을 제공하며, 상기 방법은 대상체에게 유효량의 본 명세서에 개시된 항-ApoC3 항체 또는 약제학적 조성물을 투여하는 단계를 포함한다. 소정의 실시형태에서, 상기 방법은 본 명세서에 개시된 방법에 의해 또는 당업자에게 공지된 방법에 의해 평가하여, 혈액 중의 대상체의 ApoC3 및/또는 ApoB(예를 들어, ApoB48 및/또는 ApoB100) 수준을 적어도 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%만큼 감소시킨다. 소정의 실시형태에서, 상기 방법은 본 명세서에 개시된 방법에 의해 또는 당업자에게 공지된 방법에 의해 평가하여, 대상체에서 혈액 중의 ApoC3 및/또는 ApoB(예를 들어, ApoB48 및/또는 ApoB100) 수준을 적어도 약 1.1배, 1.2배, 1.3배, 1.4배, 1.5배, 2배, 2.5배, 3배, 3.5배, 4배, 4.5배, 5배, 6배, 7배, 8배, 9배, 10배, 15배, 20배, 30배, 40배, 50배, 60배, 70배, 80배, 90배 또는 100배만큼 감소시킨다. 소정의 실시형태에서, 대상체에서 혈액 중의 ApoC3 및/또는 ApoB(예를 들어, ApoB48 및/또는 ApoB100) 수준 감소는 적어도 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45 또는 50일, 또는 적어도 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 또는 8주 동안 유지된다.

[0147] 본 명세서에 개시된 항-ApoC3 항체는 대상체의 혈액 중의 트라이글리세라이드 수준을 감소시키는 데 유용하다. 따라서, 소정의 실시형태에서, 본 개시내용은 대상체의 혈액 중의 트라이글리세라이드 수준을 감소시키는 방법을 제공하며, 상기 방법은 대상체에게 유효량의 본 명세서에 개시된 항-ApoC3 항체 또는 약제학적 조성물을 투여하는 단계를 포함한다.

[0148] 본 명세서에 개시된 항-ApoC3 항체는 과중성지방혈증의 치료에 유용하다. 따라서, 소정의 실시형태에서, 본 개시내용은 대상체에서 과중성지방혈증을 치료하는 방법을 제공하며, 상기 방법은 대상체에게 유효량의 본 명세서에 개시된 항-ApoC3 항체 또는 약제학적 조성물을 투여하는 단계를 포함한다. 소정의 실시형태에서, 본 개시내용은 대상체에서 암죽미립혈증을 치료하는 방법을 제공하며, 상기 방법은 대상체에게 유효량의 본 명세서에 개시된 항-ApoC3 항체 또는 약제학적 조성물을 투여하는 단계를 포함한다. 소정의 실시형태에서, 본 개시내용은 대상체에서 암죽미립혈증 증후군을 치료하는 방법을 제공하며, 상기 방법은 대상체에게 유효량의 본 명세서에 개시된 항-ApoC3 항체 또는 약제학적 조성물을 투여하는 단계를 포함한다.

[0149] 본 명세서에 개시된 항-ApoC3 항체는 대상체에서 식후 지방혈증의 치료 및 예방에 유용하다. 따라서, 소정의 실시형태에서, 본 개시내용은 대상체에서 식후 지방혈증을 저해하는 방법을 제공하며, 상기 방법은 대상체에게 유효량의 본 명세서에 개시된 항-ApoC3 항체 또는 약제학적 조성물을 투여하는 단계를 포함한다. 항-ApoC3 항체는 대상체에게 식사 전에, 식사 동안에 또는 식사 후에 투여될 수 있다.

[0150] 이론에 의해 구속되는 일 없이, 출원인은, 소정의 실시형태에서, 본 명세서에 개시된 항체가 대상체에게 식사 전에, 식사 동안에 또는 식사 후에 투여될 때 식후 암죽미립 또는 암죽미립 잔여물 수준을 감소시킬 수 있는 것으로 여긴다. 따라서, 소정의 실시형태에서, 본 개시내용은 대상체에서 식후 암죽미립 또는 암죽미립 잔여물 수준을 감소시키는 방법을 제공하며, 상기 방법은 대상체에게 유효량의 본 명세서에 개시된 항-ApoC3 항체 또는 약제학적 조성물을 투여하는 단계를 포함한다. 항-ApoC3 항체는 대상체에게 식사 전에, 식사 동안에 또는 식사 후에 투여될 수 있다.

[0151] 과중성지방혈증을 갖는 환자에서 혈액 중의 트라이글리세라이드 수준의 감소는 췌장염의 발생 위험을 감소시킬 수 있다. 따라서, 소정의 실시형태에서, 본 개시내용은 과중성지방혈증을 갖는 대상체에서 췌장염의 위험을 감소시키는 방법을 제공하며, 상기 방법은 대상체에게 유효량의 본 명세서에 개시된 항-ApoC3 항체 또는 약제학적 조성물을 투여하는 단계를 포함한다.

[0152] 본 명세서에 개시된 항-ApoC3 항체는 대상체에서 심혈관계 질환의 위험을 감소시키는 데 유용하다. 따라서, 소정의 실시형태에서, 본 개시내용은 과중성지방혈증을 갖는 대상체에서 심혈관계 질환의 위험을 감소시키는 방법을 제공하며, 상기 방법은 대상체에게 유효량의 본 명세서에 개시된 항-ApoC3 항체 또는 약제학적 조성물을 투여하는 단계를 포함한다. 과중성지방혈증 또는 과도한 식후 지방혈증과 관련되거나 또는 이에 의해 야기된 임의의 심혈관계 질환이 발생할 위험은 본 명세서에 개시된 항-ApoC3 항체 또는 약제학적 조성물의 투여에 의해 감소될 수 있다. 위험이 감소될 수 있는 심혈관계 질환은 관상동맥질환, 죽상동맥경화증, 협심증, 심근경색증 및 뇌졸중을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다.

[0153] 본 명세서에 개시된 항-ApoC3 항체 또는 약제학적 조성물은 단독으로 또는 추가적인 치료제와 병용하여 투여될 수 있다. 소정의 실시형태에서, 추가적인 치료제는 다른 지질 저하제이다. 임의의 1종 이상의 지질 저하제는 본 명세서에 개시된 항-ApoC3 항체 또는 약제학적 조성물과 병용하여 사용될 수 있다. 적합한 지질 저하제는 HMG-CoA 환원효소 저해제(예를 들어, 아토르바스타틴, 플루바스타틴, 로바스타틴, 피타바스타틴, 프라바스타틴, 로

수바스타틴 또는 심바스타틴), 피브레이트, 나이아신, 담즙산 격리제(예를 들어, 콜레스티라민, 콜레스티폴 및 콜레세베람), 식이 콜레스테롤 흡수의 저해제(예를 들어, 에제티미브), 마이크로솜 트라이글리세라이드 전달 단백질(microsomal triglyceride transfer protein: MTP) 저해제(예를 들어, 로미타과이드), 피토스테롤, 췌장 리파제 저해제(예를 들어, 올리스타트), 콜레스테릴 에스터 전달 단백질 저해제, 스쿠알렌 신타제 저해제(예를 들어, TAK-475, 자라고진산 및 RPR 107393), ApoA-1 밀라노(Milano), 석시노부콜(succinobucol)(AGI-1067), 아포단백질-B 저해제(예를 들어, 미포머센) 및 프로단백질 전환효소 서브틸리신/켁신 9형(PCSK9) 저해제(예를 들어, 알리로쿠맙, 에볼로쿠맙 및 보코시주맙)을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. 소정의 실시형태에서, 추가적인 지질 저해제는 에제티미브와 HMG-CoA 환원효소 저해제의 조합물이다. 소정의 실시형태에서, 지질 저해제는 에제티미브와, HMG-CoA 환원효소 저해제와 PCSK9 저해제의 조합물이다.

[0154] 본 명세서에 개시된 항-ApoC3 항체 또는 약제학적 조성물은 다양한 경로에 의해 대상체에게 전달될 수 있다. 이들은 비경구, 진피내, 근육내, 복강내, 정맥내 및 피하 경로를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. 소정의 실시형태에서, 본 명세서에 개시된 항체 또는 약제학적 조성물은 피하로 또는 정맥내로 전달된다.

[0155] 병태의 치료 또는 예방에서 유효할 본 명세서에 개시된 항-ApoC3 항체 또는 약제학적 조성물의 양은 질환의 특성에 의존할 것이며, 표준 임상 기법에 의해 경험에 의해 결정될 수 있다. 조성물 중에서 사용될 정확한 용량은 또한 투여 경로, 그에 의해 야기되는 감염 또는 질환의 심각성에 의존할 것이며, 실행자의 판단 및 각각의 대상체의 상황에 따라 결정되어야 한다. 예를 들어, 유효한 용량은 또한 투여 수단, 표적 부위, 환자의 생리적 상태(연령, 체중 및 건강상태를 포함), 환자가 인간인지 또는 동물인지의 여부, 투여되는 다른 의약 또는 치료가 예방적인지 또는 치료적인지의 여부에 따라서 다를 수 있다. 본 명세서에 개시된 항-ApoC3 항체 또는 약제학적 조성물은 임의의 빈도로(예를 들어, 약 매주, 2주마다, 3주마다, 4주마다, 매달 또는 2개월마다) 투여될 수 있다. 보통, 환자는 인간이지만, 유전자이식 포유류를 포함하는 비인간 포유류가 또한 치료될 수 있다. 치료 투약량 및 요법은 안전성 및 효능을 최적화하기 위해 최적으로 적정된다.

[0156] 본 명세서에 개시된 항-ApoC3 항체는 효소 결합 면역흡착 분석(enzyme-linked immunoabsorbent assay: ELISA), 면역침전 또는 웨스턴 블로팅과 같은 면역분석을 포함하는, 당업자에게 공지된 고전적 면역조직학적 방법을 이용하여 생물학적 샘플 내 ApoC3(예를 들어, 인간 ApoC3) 단백질 수준을 검정하기 위하여 사용될 수 있다. 적합한 항체 검정 표지는 당업계에 공지되어 있으며, 효소 표지, 예컨대, 글루코스 옥시다제; 방사성동위원소, 예컨대 아이오딘(<sup>125</sup>I, <sup>121</sup>I), 탄소(<sup>14</sup>C), 황(<sup>35</sup>S), 삼중수소(<sup>3</sup>H), 인듐(<sup>121</sup>In) 및 테크네튬(<sup>99</sup>Tc); 발광 표지, 예컨대 루미놀; 및 형광 표지, 예컨대 플루오레세인 및 로다민 및 바이오틴을 포함한다. 이러한 표지는 본 명세서에 개시된 항체를 표지하기 위해 사용될 수 있다. 대안적으로, 본 명세서에 개시된 항-ApoC3 항체를 인식하는 제2 항체는 표지될 수 있고, ApoC3(예를 들어, 인간 ApoC3) 단백질 수준을 검출하기 위해 항-ApoC3 항체와 병용하여 사용될 수 있다.

[0157] ApoC3(예를 들어, 인간 ApoC3) 단백질의 발현 수준에 대해 검정하는 것은 직접적으로(예를 들어, 절대 단백질 수준을 결정하거나 또는 추정함으로써) 또는 상대적으로(예를 들어, 제2 생물학적 샘플에서 질환 관련 단백질 수준과 비교함으로써) 제1 생물학적 샘플 내 ApoC3(예를 들어, 인간 ApoC3) 단백질 수준을 정성적으로 또는 정량적으로 측정하거나 또는 추정하는 것을 포함하도록 의도된다. 제1 생물학적 샘플에서 ApoC3(예를 들어, 인간 ApoC3) 폴리펩타이드 발현 수준이 측정되거나 또는 추정되고, 표준 ApoC3(예를 들어, 인간 ApoC3) 단백질 수준에 비교될 수 있으며, 표준은 장애를 갖지 않는 개체로부터 얻은 제2 생물학적 샘플로부터 취하거나 또는 장애를 갖지 않는 개체 집단으로부터의 평균 수준에 의해 결정된다. 당업계에 인식되는 바와 같이, 일단 "표준" ApoC3(예를 들어, 인간 ApoC3) 폴리펩타이드 수준이 알려지면, 이는 비교를 위한 표준으로서 반복적으로 사용될 수 있다.

[0158] 본 명세서에서 사용되는 용어 "생물학적 샘플"은 ApoC3(예를 들어, 인간 ApoC3)을 잠재적으로 발현시키는 대상체, 세포주, 조직 또는 세포의 다른 공급원으로부터 얻은 임의의 생물학적 샘플을 지칭한다. 동물(예를 들어, 인간)로부터 조직 생검 및 체액을 얻기 위한 방법은 당업계에 잘 공지되어 있다. 생물학적 샘플은 말초 단핵구 혈액 세포를 포함한다.

[0159] 본 명세서에 개시된 항-ApoC3 항체는 잘 공지된 시험관내 및 생체내 적용 및 당업자에 대한 그리고 본 설명에 기반한 표준을 비롯한, 예후적, 진단적, 모니터링 및 선별 적용을 위해 사용될 수 있다. 면역계 상태 또는 면역 반응의 시험관내 평가 및 사정을 위한 예후적, 진단적, 모니터링 및 선별 검정은 상승된 ApoC3 활성을 갖거나 또는 갖는 것으로 의심되는 것으로 알려진 것을 포함하는 환자 샘플을 평가하기 위해 예측, 진단 및 모니터링하는 데 이용될 수 있다. 일 실시형태에서, 항-ApoC3 항체는 생검 샘플의 면역조직화학에서 사용될 수 있다. 다른

실시형태에서, 항-ApoC3 항체는 ApoC3(예를 들어, 인간 ApoC3) 수준을 검출하기 위해 사용될 수 있으며, 이 수준은, 이어서, 소정의 질환 증상과 관련될 수 있다. 본 명세서에 개시된 항-ApoC3 항체는 검출 가능한 또는 기능성 표지를 운반할 수 있다. 형광 표지가 사용될 때, 현재 입수 가능한 현미경 및 형광-활성화 세포 분류 분석(fluorescence-activated cell sorter analysis: FACS) 또는 당업계에 공지된 방법 절차 둘 다의 조합은 특정 결합 구성원을 동정하기 위해 그리고 정량화하기 위해 이용될 수 있다. 본 명세서에 개시된 항-ApoC3 항체는 형광 표지를 운반할 수 있다. 예시적인 형광 표지는, 예를 들어, 반응성 및 접합된 프로브, 예를 들어, 아미노쿠마린, 플루오레세인 및 텍사스 레드, 알렉사 플루오르 염료, Cy 염료 및 DyLight 염료를 포함한다. 항-ApoC3 항체는 방사성 표지, 예컨대 동위원소 <sup>3</sup>H, <sup>14</sup>C, <sup>32</sup>P, <sup>35</sup>S, <sup>36</sup>Cl, <sup>51</sup>Cr, <sup>57</sup>Co, <sup>58</sup>Co, <sup>59</sup>Fe, <sup>67</sup>Cu, <sup>90</sup>Y, <sup>99</sup>Tc, <sup>111</sup>In, <sup>117</sup>Lu, <sup>121</sup>I, <sup>124</sup>I, <sup>125</sup>I, <sup>131</sup>I, <sup>198</sup>Au, <sup>211</sup>At, <sup>213</sup>Bi, <sup>225</sup>Ac 및 <sup>186</sup>Re를 운반할 수 있다. 방사성 표지가 사용될 때, 당업계에 공지된 현재 입수 가능한 계수 절차는 ApoC3(예를 들어, 인간 ApoC3)에 대한 항-ApoC3 항체의 특정 결합을 동정하고 정량화하는 데 이용될 수 있다. 표지가 효소인 예에서, 검출은 당업계에 공지된 바와 같은 임의의 현재 이용되는 비색, 분광광도법적, 형광분광광도법적, 전류적정 또는 가스분석 기법에 의해 달성될 수 있다. 이는 항체와 ApoC3(예를 들어, 인간 ApoC3) 간의 복합체 형성을 허용하는 조건하에 샘플 또는 대조군 샘플을 항-ApoC3 항체와 접촉시킴으로써 달성될 수 있다. 항체와 ApoC3(예를 들어, 인간 ApoC3) 간에 형성된 임의의 복합체가 검출되며, 샘플 및 대조군에서 비교된다. 본 명세서에 개시된 항체는 또한 면역친화도 정제를 통해 ApoC3(예를 들어, 인간 ApoC3)을 정제하기 위해 사용될 수 있다. 또한 본 명세서에서, 예를 들어, ApoC3(예를 들어, 인간 ApoC3)의 존재 정도의 정량적 분석을 위해 시험 키트의 형태로 제조될 수 있는 검정 시스템이 포함된다. 시스템 또는 시험 키트는 표지된 성분, 예를 들어, 표지된 ApoC3 항체 및 1종 이상의 추가적인 면역화학적 시약을 포함할 수 있다.

[0160] 4. 약제학적 조성물

[0161] 본 명세서에서 생리적으로 허용 가능한 담체, 부형제 또는 안정제에서 목적하는 순도를 갖는 본 명세서에 개시된 항-ApoC3 항체를 포함하는 조성물이 제공된다(Remington's Pharmaceutical Sciences (1990) Mack Publishing Co., Easton, PA). 허용 가능한 담체, 부형제 또는 안정제는 사용되는 투약량 및 농도로 수용자에 대해 비독성이고, 완충제, 예컨대 인산염, 시트르산염 및 다른 유기산; 아스코르브산 및 메티오닌을 포함하는 항산화제; 보존제(예컨대 옥타데실다이메틸벤질 염화암모늄; 염화헥사메토늄; 염화벤즈알코늄, 염화벤즈에토늄; 페놀, 뷰틸 또는 벤질 알코올; 알킬 파라벤, 예컨대 메틸 또는 프로필 파라벤; 카테콜; 레조르시놀; 사이클로헥산올; 3-펜탄올; 및 m-크레졸); 저분자량(약 10개 미만의 잔기) 폴리펩타이드; 단백질, 예컨대 혈청 알부민, 젤라틴, 또는 면역글로불린; 친수성 중합체, 예컨대 폴리비닐피롤리돈; 아미노산, 예컨대 글리신, 글루타민, 아스파라긴, 히스티딘, 알기닌 또는 라이신; 단당류, 이당류, 및 글루코스, 만노스 또는 텍스트린을 포함하는 다른 탄수화물; 킬레이트제, 예컨대 EDTA; 당, 예컨대, 수크로스, 만니톨, 트레할로스 또는 솔비톨; 염-형성 반대이온, 예컨대 나트륨; 금속 복합체(예를 들어, Zn-단백질 복합체); 및/또는 비이온성 계면활성제, 예컨대 트윈(TWEEN)(상표명), 플루로닉스(PLURONICS)(상표명) 또는 폴리에틸렌 글리콜(PEG)을 포함한다.

[0162] 구체적 실시형태에서, 약제학적 조성물은 약제학적으로 허용 가능한 담체에서 본 명세서에 개시된 항-ApoC3 항체 및 선택적으로 1종 이상의 추가적인 예방 또는 치료제를 포함한다. 구체적 실시형태에서, 약제학적 조성물은 약제학적으로 허용 가능한 담체에서 유효량의 본 명세서에 개시된 항체, 및 선택적으로 1종 이상의 추가적인 예방 또는 치료제를 포함한다. 소정의 실시형태에서, 상기 항체는 약제학적 조성물에 포함된 단독 활성 성분이다. 본 명세서에 개시된 약제학적 조성물은 ApoC3 활성을 저해하는 데 그리고 암 또는 감염성 질환과 같은 병태를 치료하는 데 유용할 수 있다.

[0163] 비경구 제제에서 사용되는 약제학적으로 허용 가능한 담체는 수성 비히클, 비수성 비히클, 항미생물제, 등장제, 완충제, 항산화제, 국소 마취제, 현탁제 및 분산제, 유화제, 봉쇄제 또는 킬레이트제 및 다른 약제학적으로 허용 가능한 물질을 포함한다. 수성 비히클의 예는 염화나트륨 주사액, 링거 주사액, 등장성 텍스트로스 주사액, 멸균수 주사액, 텍스트로스 및 젖산 링거 주사액을 포함한다. 비수성 비경구 비히클은 식물성 유래의 고정유, 면실유, 옥수수유, 참깨유 및 땅콩유를 포함한다. 정균 또는 정진균 농도의 항미생물제가 페놀 또는 크레졸, 수은, 벤질 알코올, 클로로부탄올, 메틸 및 프로필 p-하이드록시벤조산 에스터, 티메로살, 염화벤즈알코늄 및 염화벤즈에토늄을 포함하는 다회 용량 용기로 패키징된 비경구 제제에 첨가될 수 있다. 등장성 제제는 염화나트륨 및 텍스트로스를 포함한다. 완충제는 인산염 및 시트르산염을 포함한다. 항산화제는 황산수소나트륨을 포함한다. 국소 마취제는 염산프로카인을 포함한다. 현탁제 및 분산제는 카복시메틸셀룰로스나트륨, 하이드록시프로필 메틸셀룰로스 및 폴리비닐피롤리돈을 포함한다. 유화제는 폴리솔베이트 80(트윈(등록상표) 80)을 포함한다.

다. 금속 이온의 봉쇄제 또는 킬레이트제는 EDTA를 포함한다. 약제학적 담체는 또한 수 혼화성 비히클에 대해 에틸 알코올, 폴리에틸렌 글리콜 및 프로필렌 글리콜; 및 pH 조절을 위해 수산화나트륨, 염산, 시트르산 또는 락트산을 포함한다.

[0164] 약제학적 조성물은 대상체에 대한 임의의 투여 경로에 대해 제형화될 수 있다. 투여 경로의 구체적 예는 비경구, 경구, 폐, 경피, 진피내 및 비경구를 포함한다. 피하, 근육내 또는 정맥내 주사를 특징으로 하는 비경구 투여는 또한 본 명세서에 상정된다. 주사액은 액체 용액 또는 현탁액으로서, 주사 전 액체 중의 용액 또는 현탁액에 적합한 고체 형태, 또는 에멀션으로서 통상적인 형태로 제조될 수 있다. 주사 가능한, 용액 및 에멀션은 또한 1종 이상의 부형제를 함유한다. 적합한 부형제는, 예를 들어, 물, 식염수, 텍스트로스, 글리세롤 또는 에탄올이다. 추가로, 요망된다면, 투여될 약제학적 조성물은 또한 소량의 비독성 보조 물질, 예컨대 습윤 또는 유향제, pH 완충제, 안정제, 용해도 향상제, 및 기타 제제, 예를 들어, 아세트산나트륨, 솔비탄 모노라우레이트, 트라이에탄올아민 올리에이트 및 사이클로덱스트린을 함유할 수 있다.

[0165] 항체의 비경구 투여를 위한 제조는 바로 주사할 수 있는 멸균 용액, 피하 정제를 비롯하여 사용 직전에 용매와 바로 조합되어 사용되는 멸균 건조 가용성 제품, 예컨대 동결건조된 분말, 바로 주사할 수 있는 멸균 현탁액, 사용 직전에 비히클과 바로 조합되는 멸균 건조 불용성 제품 및 멸균 에멀션을 포함한다. 용액은 수성 또는 비수성일 수 있다.

[0166] 정맥내로 투여된다면, 적합한 담체는 생리 식염수 또는 인산염 완충 식염수(phosphate buffered saline: PBS) 및 농조화제 및 가용화제, 예컨대 글루코스, 폴리에틸렌 글리콜 및 폴리프로필렌 글리콜 및 이들의 혼합물을 함유하는 용액 포함한다.

[0167] 항체를 포함하는 국소 혼합물은 국소 및 전신 투여에 대해 기재된 바와 같이 제조된다. 얻어진 혼합물은 용액, 현탁액, 에멀션 등일 수 있고, 크림, 젤, 연고, 에멀션, 용액, 엘릭시르, 로션, 현탁액, 팅크제, 페이스트, 폼(foam), 에어로졸, 관류, 스프레이, 좌약, 붕대, 진피 패치 또는 국소 투여에 적합한 임의의 다른 제형으로서 제형화될 수 있다.

[0168] 본 명세서에 기재된 항-ApoC3 항체는 국소 적용을 위한, 예컨대 흡입에 의한 에어로졸로서 제형화될 수 있다(예를 들어, 염증성 질환, 특히 천식의 치료에 유용한 스테로이드의 전달을 위한 에어로졸을 기재하고, 미국 특허 제4,044,126호, 제4,414,209호 및 제4,364,923호 참조). 호흡관에 투여를 위한 이들 제형은 단독으로 또는 락토스와 같은 비활성 담체와 조합하여 네블라이저용 에어로졸 또는 용액의 형태로 또는 흡입제용 마이크로핀 분말로서의 형태일 수 있다. 이러한 경우에, 제형의 입자는 일 실시형태에서 50 마이크로미터, 일 실시형태에서 10 마이크로미터의 직경을 가질 것이다.

[0169] 본 명세서에 개시된 항-ApoC3 항체는 국소 또는 국부 적용을 위해, 피부 및 점막, 예컨대 눈에 대한 국부 적용을 위해, 젤, 크림 및 로션의 형태로, 눈에 대한 적용을 위해 또는 낭내 또는 척추내 적용을 위해 제형화될 수 있다. 국소 투여는 경피 전달을 위해 그리고 또한 눈 또는 점막에 대한 투여를 위해, 또는 흡입 요법에 대해 상정된다. 단독으로 또는 다른 약제학적으로 허용 가능한 부형제와 조합한 항체의 비강 용액이 또한 투여될 수 있다.

[0170] 이온영동 및 전기영동 장치를 포함하는 경피 패치는 당업자에게 잘 공지되어 있으며, 항체를 투여하기 위해 사용될 수 있다. 예를 들어, 이러한 패치는 미국 특허 제6,267,983호, 제6,261,595호, 제6,256,533호, 제6,167,301호, 제6,024,975호, 제6,010,715호, 제5,985,317호, 제5,983,134호, 제5,948,433호 및 제5,860,957호에 개시되어 있다.

[0171] 소정의 실시형태에서, 본 명세서에 개시된 항체를 포함하는 약제학적 조성물은 용액, 에멀션 및 다른 혼합물로서 투여를 위해 재구성될 수 있는 동결건조 분말이다. 이는 또한 재구성될 수 있고, 고체 또는 겔로서 제형화될 수 있다. 동결건조 분말은 본 명세서에 개시된 항체, 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 유도체를 적합한 용매 중에 용해시킴으로써 제조된다. 일부 실시형태에서, 동결건조 분말은 멸균이다. 용매는 안정성을 개선시키는 부형제 또는 분말 또는 분말로부터 제조되는 재구성 용액의 다른 약학적 성분을 함유할 수 있다. 사용될 수 있는 부형제는 텍스트로스, 솔비톨, 프럭토스, 옥수수 시럽, 자일리톨, 글리세린, 글루코스, 수크로스 또는 다른 적합한 제제를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. 용매는 또한 완충제, 예컨대 시트르산염, 인산나트륨 또는 인산칼륨 또는 일 실시형태에서 중성 pH에서 당업자에게 공지된 다른 완충제를 함유할 수 있다. 용매의 후속적 멸균 여과 다음에 당업자에게 공지된 표준 조건하의 동결건조는 목적하는 제형을 제공한다. 일 실시형태에서, 얻어진 용액은 동결건조를 위해 바이알 내로 배분될 것이다. 각각의 바이알은 화합물의 단일 투약량 또는 다회

투약량을 함유할 것이다. 동결건조된 분말은 적절한 조건하에, 예컨대 약 4°C 내지 실온에서 저장될 수 있다. 주사용수에 의한 이 동결건조 분말의 재구성은 비경구 투여에서 사용하기 위한 제형을 제공한다. 재구성을 위해, 동결건조 분말은 멸균수 또는 다른 적합한 담체에 첨가된다. 정확한 양은 선택된 화합물에 의존한다. 이러한 양은 경험적으로 결정될 수 있다.

[0172] 본 명세서에 개시된 항-ApoC3 항체 및 다른 조성물은 또한 치료될 대상체 신체의 특정 조직, 수용체 또는 다른 면적에 대해 표적화되도록 제형화될 수 있다. 다수의 이러한 표적화 방법은 당업자에게 잘 공지되어 있다. 모든 이러한 표적화 방법은 본 조성물에서 사용하기 위해 본 명세서에서 상정된다. 표적화 방법의 비제한적 예에 대해, 예를 들어, 미국 특허 제6,316,652호, 제6,274,552호, 제6,271,359호, 제6,253,872호, 제6,139,865호, 제6,131,570호, 제6,120,751호, 제6,071,495호, 제6,060,082호, 제6,048,736호, 제6,039,975호, 제6,004,534호, 제5,985,307호, 제5,972,366호, 제5,900,252호, 제5,840,674호, 제5,759,542호 및 제5,709,874호를 참조한다.

[0173] 생체내 투여를 위해 사용될 조성물은 멸균일 수 있다. 이는, 예를 들어, 멸균 여과막을 통한 여과에 의해 용이하게 달성된다.

[0174] **5. 항-ApoC3 항체를 생산하는 폴리뉴클레오타이드, 벡터 및 방법**

[0175] 다른 양상에서, 본 명세서에 개시된 항-ApoC3 항체를 암호화하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 폴리뉴클레오타이드(예를 들어, 경쇄 가변 영역 또는 중쇄 가변 영역), 및 벡터, 예를 들어, 숙주 세포(예를 들어, 이콜라이 및 포유류 세포)에서 재조합 발현을 위해 이러한 폴리뉴클레오타이드를 포함하는 벡터가 본 명세서에서 제공된다.

[0176] 본 명세서에서 "단리된" 폴리뉴클레오타이드 또는 핵산 분자는 핵산 분자의 천연 공급원에(예를 들어, 마우스 또는 인간에) 존재하는 다른 핵산 분자로부터 분리된 것이다. 게다가, "단리된" 핵산 분자, 예컨대 cDNA 분자는 재조합 기법에 의해 생산될 때 다른 세포 물질 또는 배양물 배지가 실질적으로 없을 수 있거나, 또는 화학적으로 합성될 때 화학적 전구체 또는 다른 화학물질이 실질적으로 없을 수 있다. 예를 들어, 언어 "실질적으로 없는"은 다른 물질, 예를 들어, 세포의 물질, 배양물 배지, 다른 핵산 분자, 화학적 전구체 또는 다른 화학물질이 약 15%, 10%, 5%, 2%, 1%, 0.5% 또는 0.1% 미만인(특히, 약 10% 미만인) 폴리뉴클레오타이드 또는 핵산 분자의 제제를 포함한다. 구체적 실시형태에서, 본 명세서에 개시된 항체를 암호화하는 핵산 분자(들)는 단리되거나 또는 정제된다.

[0177] 특정 양상에서, 본 명세서에서 ApoC3(예를 들어, 인간 ApoC3) 폴리펩타이드에 특이적으로 결합하고 그리고 본 명세서에 개시된 바와 같은 아미노산 서열을 포함하는 항체뿐만 아니라 ApoC3(예를 들어, 인간 ApoC3) 폴리펩타이드에 결합하기 위해(예를 들어, 용량 의존적 방식으로) 이러한 항체와 경쟁하거나, 또는 이러한 항체와 동일한 에피토프에 결합하는 항체를 암호화하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 폴리뉴클레오타이드가 제공된다.

[0178] 소정의 양상에서, 본 명세서에서 본 명세서에 개시된 항체의 경쇄 또는 중쇄를 암호화하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 폴리뉴클레오타이드가 제공된다. 폴리뉴클레오타이드는 본 명세서에 개시된 항체의 VH, VL 또는 CDR을 암호화하는 뉴클레오타이드 서열을 포함할 수 있다(예를 들어, 본 명세서의 표 1 내지 4를 참조).

[0179] 또한 본 명세서에서, 예를 들어, 코돈/RNA 최적화, 이중성 신호 서열로 대체 및 mRNA 불안정 요소의 제거에 의해 최적화된 항-ApoC3 항체를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드가 제공된다. mRNA에서 코돈 변화를 도입하고/하거나 저해 영역을 제거함으로써 재조합 발현을 위한 항-ApoC3 항체(예를 들어, 경쇄, 중쇄, VH 도메인 또는 VL 도메인)을 암호화하는 최적화된 핵산을 생성하는 방법은, 예를 들어, 미국 특허 제5,965,726호; 제6,174,666호; 제6,291,664호; 제6,414,132호; 및 제6,794,498호에 기재된 최적화 방법을 적용함으로써 수행될 수 있다. 예를 들어, RNA 내에서 잠재적 스플라이스 부위 및 불안정 요소(예를 들어, A/T 또는 A/U 풍부 요소)는 재조합 발현을 위해 RNA의 안정성을 증가시키기 위하여 핵산 서열에 의해 암호화된 아미노산을 변경시키는 일 없이 돌연변이될 수 있다. 변경은, 예를 들어, 동일한 아미노산에 대한 대안의 코돈을 이용하는 유전자 암호의 축퇴를 이용한다. 일부 실시형태에서, 보존적 돌연변이, 예를 들어, 본래의 아미노산과 유사한 화학적 구조 및 특성 또는 기능을 갖는 유사한 아미노산을 암호화하기 위해 하나 이상의 코돈을 변경하는 것이 바람직할 수 있다. 이러한 방법은 최적화되지 않은 폴리뉴클레오타이드에 의해 암호화된 항-ApoC3 항체의 발현에 비해 항-ApoC3 항체 또는 이의 단편의 발현을 적어도 1배, 2배, 3배, 4배, 5배, 10배, 20배, 30배, 40배, 50배, 60배, 70배, 80배, 90배 또는 100배만큼 증가시킬 수 있다.

[0180] 소정의 실시형태에서, 본 명세서에 개시된 항-ApoC3 항체를 암호화하는 최적화된 폴리뉴클레오타이드 서열(예를 들어, VL 도메인 또는 VH 도메인)은 본 명세서에 개시된 항-ApoC3 항체를 암호화하는 비최적화된 폴리뉴클레오

타이드 서열(예를 들어, VL 도메인 또는 VH 도메인의 안티센스(예를 들어, 상보성) 폴리뉴클레오타이드에 혼성화될 수 있다. 구체적 실시형태에서, 본 명세서에 개시된 항-ApoC3 항체 또는 단편을 암호화하는 최적화된 뉴클레오타이드 서열은 본 명세서에 개시된 항-ApoC3 항체를 암호화하는 비최적화된 폴리뉴클레오타이드 서열의 안티센스 폴리뉴클레오타이드에 대해 높은 엄격 조건하에 혼성화된다. 구체적 실시형태에서, 본 명세서에 개시된 항-ApoC3 항체 또는 이의 단편을 암호화하는 최적화된 뉴클레오타이드 서열은 본 명세서에 개시된 항-ApoC3 항체를 암호화하는 비최적화된 뉴클레오타이드 서열의 안티센스 폴리뉴클레오타이드에 대해 높은 엄중, 중간 또는 더 낮은 엄중 혼성화 조건하에 혼성화한다. 혼성화 조건에 관한 정보는, 예를 들어, 본 명세서에 참고로 편입된 미국 특허 출원 공개 제2005/0048549호(예를 들어, 단락 72 내지 73)에 기재된 것을 참조한다.

[0181] 폴리뉴클레오타이드는 당업계에 공지된 임의의 방법에 의해 얻어지고, 폴리뉴클레오타이드 서열이 결정된다. 본 명세서에 개시된 항체, 예를 들어, 표 1에 기재된 항체를 암호화하는 뉴클레오타이드 서열 및 이들 항체의 변형된 형태는 당업계에 잘 공지된 방법을 이용하여 결정될 수 있고, 즉, 특정 아미노산을 암호화하도록 공지된 뉴클레오타이드 코돈은 항체를 암호화하는 핵산을 생성하기 위해 이러한 방법으로 조립된다. 항체를 암호화하는 이러한 폴리뉴클레오타이드는 화학적으로 합성된 올리고뉴클레오타이드(예를 들어, 문헌[Kutmeier G *et al.*, (1994), *BioTechniques* 17: 242-6]에 기재된 바와 같음)로부터 조립될 수 있는데, 이는 간략하게는 항체를 암호화하는 서열의 일부를 함유하는 중복 올리고뉴클레오타이드의 합성, 해당 올리고뉴클레오타이드의 어닐링 및 결합, 및 PCR에 의한 결합된 올리고뉴클레오타이드의 증폭을 수반한다.

[0182] 대안적으로, 본 명세서에 개시된 항체를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드는 당업계에 잘 공지된 방법(예를 들어, PCR 및 다른 분자 클로닝 방법)을 이용하여 적합한 공급원(예를 들어, 하이브리도마)으로부터의 핵산으로부터 생성될 수 있다. 예를 들어, 공지된 서열의 3' 및 5' 단부에 혼성화 가능한 합성 프라이머를 이용하는 PCR 증폭은 관심 대상의 항체를 생산하는 하이브리도마 세포로부터 얻어진 게놈 DNA를 이용하여 수행될 수 있다. 이러한 PCR 증폭 방법은 항체의 경쇄 또는 중쇄를 암호화하는 서열을 포함하는 핵산을 얻기 위해 사용될 수 있다. 이러한 PCR 증폭 방법은 항체의 가변 경쇄 영역 또는 가변 중쇄 영역을 암호화하는 서열을 포함하는 핵산을 얻기 위해 사용될 수 있다. 증폭된 핵산은 숙주 세포에서의 발현을 위해 그리고 추가적인 클로닝을 위해, 예를 들어, 키메라 및 인간화된 항체를 생성하기 위해 벡터에 클로닝될 수 있다.

[0183] 특정 항체를 암호화하는 핵산을 함유하는 클론이 이용 가능하지 않지만, 항체 분자의 서열이 공지된다면, 면역글로불린을 암호화하는 핵산은 서열의 3' 및 5' 단부에 혼성화 가능한 합성 프라이머를 이용하는 PCR 증폭에 의해 또는, 예를 들어, 항체를 암호화하는 cDNA 라이브러리로부터의 cDNA 클론을 동정하기 위해 특정 유전자 서열에 특이적인 올리고뉴클레오타이드 프로브를 이용하는 클로닝에 의해 적합한 공급원(예를 들어, 항체를 발현시키는 임의의 조직 또는 세포, 예컨대 본 명세서에 개시된 항체를 발현시키도록 선택된 하이브리도마 세포로부터 생성된 항체 cDNA 라이브러리 또는 cDNA 라이브러리 또는 단리된 핵산, 바람직하게는 폴리 A+ RNA)으로부터 화학적으로 합성되거나 또는 얻어질 수 있다. 이어서, PCR에 의해 생성되는 증폭된 핵산은 당업계에 잘 공지된 임의의 방법을 이용하여 복제 가능한 클로닝 벡터에 클로닝될 수 있다.

[0184] 본 명세서에 개시된 항-ApoC3(예를 들어, 인간 ApoC3) 항체를 암호화하는 DNA는 통상적인 절차를 이용하여 (예를 들어, 항-ApoC3(예를 들어, 인간 ApoC3) 항체의 중쇄 및 경쇄를 암호화하는 유전자에 특이적으로 결합할 수 있는 올리고뉴클레오타이드 프로브를 이용함으로써) 용이하게 단리되고 서열분석될 수 있다. 하이브리도마 세포는 이러한 DNA의 공급원으로서 작용할 수 있다. 일단 단리되면, DNA는 발현 벡터에 위치될 수 있고, 이어서, 이는 재조합 숙주 세포에서 항-ApoC3(예를 들어, 인간 ApoC3) 항체의 합성을 얻기 위해 숙주 세포, 예컨대 이콜라이 세포, 유인원 COS 세포, 중국 햄스터 난소(CHO) 세포(예를 들어, CHO GS 시스템(CHO GS System)(상표명)(론자(Lonza))로부터의 CHO 세포) 또는 면역글로불린 단백질을 달리 생산하지 않는 골수종 세포에 형질감염된다.

[0185] 전체 항체를 생성하기 위해, VH 또는 VL 뉴클레오타이드 서열, 제한 부위 및 제한 부위를 보호하기 위한 측접 서열을 포함하는 PCR 프라이머를 사용하여 scFv 클론에서 VH 또는 VL 서열을 증폭시킬 수 있다. 당업자에게 공지된 클로닝 기법을 이용하여, PCR 증폭된 VH 도메인은 중쇄 불변 영역, 예를 들어, 인간 감마 4 불변 영역을 발현시키는 벡터에 클로닝될 수 있고, PCR 증폭된 VL 도메인은 경쇄 불변 영역, 예를 들어, 인간 카파 또는 람다 불변 영역을 발현시키는 벡터에 클로닝될 수 있다. 소정의 실시형태에서, VH 또는 VL 도메인을 발현시키기 위한 벡터는 EF-1 $\alpha$  프로모터, 분비 신호, 가변 영역에 대한 클로닝 부위, 불변 도메인 및 선택 마커, 예컨대 네오마이신을 포함한다. VH 및 VL 도메인은 또한 필수 불변 영역을 발현시키는 하나의 벡터에 클로닝될 수 있다. 이어서, 중쇄 전환 벡터 및 경쇄 전환 벡터는 당업자에게 공지된 기법을 이용하여 전장 항체, 예를 들어, IgG를 발현시키는 안정한 또는 일시적 세포주를 생성하기 위해 세포주에 공동형질감염된다.

- [0186] DNA는 또한, 예를 들어, 인간 중쇄 및 경쇄 불변 도메인에 대한 암호화 서열을 유린 서열 대신 치환함으로써, 또는 비-면역글로불린 폴리펩타이드에 대한 암호 서열의 모두 또는 일부를 면역글로불린 암호화 서열에 공유 결합시킴으로써, 변형될 수 있다.
- [0187] 또한 본 명세서에 개시된 항체를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드에 대해 높은 엄중, 중간 또는 낮은 엄중 혼성화 조건하에 혼성화 가능한 폴리뉴클레오타이드가 제공된다. 구체적 실시형태에서, 본 명세서에 개시된 폴리뉴클레오타이드는 본 명세서에 제공된 VH 도메인 및/또는 VL 도메인을 암호화하는 폴리뉴클레오타이드에 대해 높은 엄중, 중간 또는 낮은 엄중 혼성화 조건하에 혼성화한다.
- [0188] 혼성화 조건은 당업계에 기재되어 있고, 당업자에게 공지되어 있다. 예를 들어, 엄중 조건하의 혼성화는 약 45°C에서 6x 염화나트륨/시트르산나트륨(SSC) 중에서 필터-결합된 DNA에 대한 혼성화 다음에 약 50 내지 65°C에서 0.2xSSC/0.1% SDS 중에서 1회 이상의 세척; 고도로 엄중한 조건하의 혼성화는 약 45°C에서 6xSSC 중에서 필터-결합된 DNA에 대한 혼성화 다음에 약 68°C에서 0.1xSSC/0.2% SDS 중에서 1회 이상의 세척을 수반할 수 있다. 다른 엄중 혼성화 조건하의 혼성화는 당업자에게 공지되어 있고, 예를 들어, 본 명세서에 전문이 참고로 편입된 문헌[Ausubel FM *et al.*, eds., (1989) *Current Protocols in Molecular Biology*, Vol. I, Green Publishing Associates, Inc. 및 John Wiley & Sons, Inc., New York, 페이지 6.3.1-6.3.6 및 2.10.3]에 기재되어 있다.
- [0189] 소정의 양상에서, 본 명세서에서 ApoC3(예를 들어, 인간 ApoC3) 및 관련된 폴리뉴클레오타이드 및 발현 벡터에 특이적으로 결합하는 본 명세서에 개시된 항체를 (예를 들어, 재조합적으로) 발현시키는 세포(예를 들어, 숙주 세포)가 제공된다. 본 명세서에서 숙주 세포, 바람직하게는 포유류 세포에서 재조합 발현을 위해 항-ApoC3(예를 들어, 인간 ApoC3) 항체 또는 단편을 암호화하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 폴리뉴클레오타이드를 포함하는 벡터(예를 들어, 발현 벡터)가 제공된다. 또한 본 명세서에서 본 명세서에 개시된 항-ApoC3(예를 들어, 인간 ApoC3) 항체(예를 들어, 인간 또는 인간화된 항체)를 재조합적으로 발현시키기 위해 이러한 벡터를 포함하는 숙주 세포가 제공된다. 특정 양상에서, 본 명세서에서 숙주 세포로부터 이러한 항체를 발현시키는 단계를 포함하는, 본 명세서에 개시된 항체를 생산하는 방법이 제공된다.
- [0190] ApoC3(예를 들어, 인간 ApoC3)에 특이적으로 결합하는 본 명세서에 개시된 항체(예를 들어, 본 명세서에 개시된 전장 항체, 항체의 중쇄 또는 경쇄 또는 단일쇄 항체)의 재조합 발현은 일반적으로 항체를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드를 함유하는 발현 벡터의 구성을 수반한다. 일단, 본 명세서에 개시된 항체 분자, 항체의 중쇄 및/또는 경쇄(예를 들어, 중쇄 및/또는 경쇄 가변 영역)가 얻어지면, 항체 분자의 생산을 위한 벡터는 당업계에 잘 공지된 기법을 이용하는 재조합 DNA 기법에 의해 생산될 수 있다. 따라서, 뉴클레오타이드 서열을 암호화하는 항체 또는 항체 단편(예를 들어, 경쇄 또는 중쇄)을 함유하는 폴리뉴클레오타이드를 발현시킴으로써 단백질을 제조하기 위한 방법이 본 명세서에 기재된다. 당업자에게 잘 공지된 방법은 항체 또는 항체 단편(예를 들어, 경쇄 또는 중쇄) 암호화 서열 및 적절한 전사 및 번역 제어 신호를 함유하는 발현 벡터를 작제하기 위해 사용될 수 있다. 이들 방법은, 예를 들어, 시험관내 재조합 DNA 기법, 합성 기법 및 생체내 유전자 재조합을 포함한다. 또한 프로모터에 작동 가능하게 연결된, 본 명세서에 개시된 항체 분자, 항체의 중쇄 또는 경쇄의 중쇄 또는 경쇄 가변 영역 또는 중쇄 또는 경쇄 CDR를 암호화하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 복제 가능한 벡터가 제공된다. 이러한 벡터는, 예를 들어, 항체 분자의 불변 영역을 암호화하는 뉴클레오타이드 서열(예를 들어, 국제 특허 출원 공개 WO 86/05807 및 WO 89/01036; 및 미국 특허 제5,122,464호 참조)을 포함할 수 있고, 항체의 가변 영역은 전체 중쇄, 전체 경쇄, 또는 전체 중쇄와 경쇄 둘 다의 발현을 위해 이러한 벡터에 클로닝될 수 있다.
- [0191] 발현 벡터는 통상적인 기법에 의해 세포(예를 들어, 숙주 세포)에 전달될 수 있고, 이어서, 얻어진 세포는 본 명세서에 개시된 항체를 생산하기 위해 통상적인 기법에 의해 배양될 수 있다. 따라서, 본 명세서에서 숙주 세포에서 이러한 서열의 발현을 위해 프로모터에 작동 가능하게 연결된 본 명세서에 개시된 항체, 또는 이의 중쇄 또는 경쇄, 또는 본 명세서에 기재된 단일쇄 항체를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드를 함유하는 숙주 세포가 제공된다. 소정의 실시형태에서, 이중쇄 항체의 발현을 위해, 중쇄와 경쇄를 둘 다 암호화하는 벡터는 개개로 이하에 상술하는 바와 같이 전체 면역글로불린 분자의 발현을 위해 숙주 세포에서 공동 발현될 수 있다. 소정의 실시형태에서, 숙주 세포는 본 명세서에 개시된 항체의 중쇄와 경쇄를 둘 다 암호화하는 폴리뉴클레오타이드를 포함하는 벡터를 함유한다. 구체적 실시형태에서, 숙주 세포는 두 상이한 벡터, 즉, 본 명세서에 개시된 항체의 중쇄 또는 중쇄 가변 영역을 암호화하는 폴리뉴클레오타이드, 또는 이의 단편을 포함하는 제1 벡터, 및 본 명세서에 개시된 항체의 경쇄 또는 경쇄 가변 영역을 암호화하는 폴리뉴클레오타이드, 또는 이의 단편을 포함하는 제2 벡터를 함유한다. 다른 실시형태에서, 다른 실시형태에서, 제1 숙주 세포는 본 명세서에 개시된 항체의 중쇄 또는 중쇄 가변 영역을 암호화하는 폴리뉴클레오타이드, 또는 이의 단편을 포함하는 제1 벡터를 포함하고,

제2 숙주 세포는 본 명세서에 개시된 항체의 경쇄 또는 경쇄 가변 영역을 암호화하는 폴리뉴클레오타이드를 포함하는 제2 벡터를 포함한다. 구체적 실시형태에서, 제1 세포에 의해 발현된 중쇄/중쇄 가변 영역은 본 명세서에 개시된 ApoC3 항체를 형성하기 위해 제2 세포의 경쇄/경쇄 가변 영역과 회합된다. 소정의 실시형태에서, 본 명세서에서 이러한 제1 숙주 세포 및 이러한 제2 숙주 세포를 포함하는 숙주 세포의 집단이 제공된다.

[0192] 특정 실시형태에서, 본 명세서에서 본 명세서에 개시된 항-ApoC3 항체의 경쇄/경쇄 가변 영역을 암호화하는 폴리뉴클레오타이드를 포함하는 제1 벡터, 및 본 명세서에 개시된 항-ApoC3 항체의 중쇄/중쇄 가변 영역을 암호화하는 폴리뉴클레오타이드를 포함하는 제2 벡터를 포함하는, 벡터의 집단이 제공된다.

[0193] 다양한 숙주-발현 벡터 시스템은 본 명세서에 개시된 항체 분자를 발현시키기 위해 이용될 수 있다(예를 들어, 미국 특허 제5,807,715호 참조). 이러한 숙주-발현 시스템은 관심 대상의 암호화 서열이 생산될 수 있고 후속될 수 있는 비히클을 나타내지만, 또한 적절한 뉴클레오타이드 암호화 서열로 형질전환되거나 또는 형질감염될 때, 본 명세서에서 인시유로 개시된 항체 분자를 발현시킬 수 있는 세포를 나타낸다. 이들은 미생물, 예컨대 항체 암호화 서열을 함유하는 재조합 박테리오파지 DNA, 플라스미드 DNA 또는 코스미드 DNA 발현 벡터로 형질전환된 박테리아(예를 들어, 이콜라이 및 바실러스 서브틸리스); 효모(예를 들어, 항체 암호화 서열을 함유하는 재조합 효모 발현 벡터로 형질전환된 사카로마이세스 피키아(*Saccharomyces Pichia*)); 항체 암호화 서열을 함유하는 재조합 바이러스 발현 벡터(예를 들어, 바칼로바이러스)로 감염된 곤충 세포 시스템; 재조합 바이러스 발현 벡터(예를 들어, 킬리플라워 모자이크 바이러스, CaMV; 담배 모자이크 바이러스, TMV)로 감염되거나 또는 항체 암호화 서열을 함유하는 재조합 플라스미드 발현 벡터(예를 들어, Ti 플라스미드)로 형질전환된 식물 세포 시스템(예를 들어, 녹조류, 예컨대 클라미도모나스 레인하르티(*Chlamydomonas reinhardtii*)); 또는 포유류 세포(예를 들어, 메탈로티오네인 프로모터)의 게놈으로부터 또는 포유류 바이러스로부터 유래된 프로모터(예를 들어, 아데노바이러스 후기 프로모터; 백시니아 바이러스 7.5K 프로모터)를 함유하는 재조합 발현 작제물을 보유하는 포유류 세포 시스템(예를 들어, COS(예를 들어, COS1 또는 COS), CHO, BHK, MDCK, HEK 293, NSO, PER.C6, VERO, CRL7030, HsS78Bst, HeLa 및 NIH 3T3, HEK-293T, HepG2, SP210, R1.1, B-W, L-M, BSC1, BSC40, YB/20 및 BMT10 세포)을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. 구체적 실시형태에서, 본 명세서에 개시된 항체를 발현시키기 위한 세포는 CHO 세포, 예를 들어, CHO GS 시스템(상표명)(룬자)으로부터의 CHO 세포이다. 특정 실시형태에서, 본 명세서에 개시된 항체를 발현시키기 위한 세포는 인간 세포, 예를 들어, 인간 세포주이다. 구체적 실시형태에서, 포유류 발현 벡터는 pOptiVEC(상표명) 또는 pcDNA3.3이다. 특정 실시형태에서, 특히 전체 재조합 항체 분자의 발현을 위한 박테리아 세포, 예컨대 에스케리키아 콜라이 또는 진핵 세포(예를 들어, 포유류 세포)는 재조합 항체 분자의 발현을 위해 사용된다. 예를 들어, 인간 거대세포 바이러스로부터의 주요 중간 초기 유전자 프로모터 요소와 같은 벡터와 함께 포유류 세포, 예컨대 CHO 세포는 항체에 대한 효과적인 발현 시스템이다(Foecking MK & Hofstetter H (1986) Gene 45: 101-5; 및 Cockett MI *et al.*, (1990) Biotechnology 8(7): 662-7). 소정의 실시형태에서, 본 명세서에 개시된 항체는 중국 햄스터 난소(CHO) 세포 또는 NSO 세포에 의해 생산된다. 구체적 실시형태에서, ApoC3(예를 들어, 인간 ApoC3)에 특이적으로 결합하는 본 명세서에 기재된 항체를 암호화하는 뉴클레오타이드 서열의 발현은 구성적 프로모터, 유도성 프로모터 또는 조직 특이적 프로모터에 의해 조절된다.

[0194] 박테리아 시스템에서, 다수의 발현 벡터는 발현 중인 항체 분자에 대해 의도되는 용도에 따라서 유리하게 선택될 수 있다. 예를 들어, 다량의 이러한 항체가 생산될 때, 항체 분자의 약제학적 조성물의 생성을 위해, 용이하게 정제되는 고수준의 융합 단백질 산물의 발현을 지시하는 벡터가 바람직할 수 있다. 이러한 벡터는 융합 단백질이 생산되도록 항체 암호화 서열이 lac Z 암호화 영역을 갖는 프레임 내 벡터에 개개로 결합될 수 있는 이콜라이 발현 벡터 pUR278(Ruether U & Mueller-Hill B (1983) EMBO J 2: 1791-1794); pIN 벡터(Inouye S & Inouye M (1985) Nuc Acids Res 13: 3101-3109; Van Heeke G & Schuster SM (1989) J Biol Chem 24: 5503-5509); 등을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. 예를 들어, pGEX 벡터는 또한 글루타티온 5-트랜스퍼라제(GST)를 갖는 융합 단백질로서 외래 폴리펩타이드를 발현시키기 위해 사용될 수 있다. 일반적으로, 이러한 융합 단백질은 가용성이고, 매트릭스 글루타티온 아가로스 비드에 대한 흡수 및 결합 다음에 유리 글루타티온의 존재 하의 용리에 의해 용해된 세포로부터 용이하게 정제될 수 있다. 클로닝된 표적 유전자 산물이 GST 모이어티로부터 방출될 수 있도록 pGEX 벡터는 트롬빈 또는 인자 Xa 프로테아제 절단 부위를 포함하도록 설계된다.

[0195] 곤충 시스템에서, 아우토그라파 칼리포니카(*Autographa californica*) 핵다면체 형성 바이러스(AcNPV)는, 예를 들어, 외래 유전자를 발현시키기 위한 벡터로서 사용될 수 있다. 상기 바이러스는 스포도테라 프루기페르다(*Spodoptera frugiperda*) 세포에서 성장한다. 항체 암호 서열은 바이러스의 비필수 영역(예를 들어, 폴리헤드린 유전자)에 개개로 클로닝될 수 있고, AcNPV 프로모터(예를 들어, 폴리헤드린 프로모터)의 제어하에 위치된다.

- [0196] 포유류 숙주 세포에서, 다수의 바이러스 기반 발현 시스템이 이용될 수 있다. 아데노바이러스가 발현 벡터로서 사용되는 경우에, 관심대상의 항체 암호화 서열은 아데노바이러스 전사/번역 제어 복합체, 예를 들어, 후기 프로모터 및 삼중 리더 서열에 결합될 수 있다. 이어서, 이 키메라 유전자는 시험관내 또는 생체내 재조합에 의해 아데노바이러스 계놈에 삽입될 수 있다. 바이러스 계놈(예를 들어, 영역 E1 또는 E3)에서 삽입은 생존 가능하고 감염된 숙주에서 항체 분자를 발현시킬 수 있는 재조합 바이러스를 초래할 것이다(예를 들어, 문헌[Logan J & Shenk T (1984) PNAS 81(12): 3655-9] 참조). 삽입된 항체 암호화 서열의 효율적인 번역에 특정 개시 신호가 필요할 수 있다. 이들 신호는 ATG 개시 코돈 및 인접한 서열을 포함한다. 더 나아가, 개시 코돈은 전체 삽입의 번역을 보장하기 위해 목적하는 암호화 서열의 판독 프레임에 맞게 작동하여야 한다. 이들 외인성 번역 제어 신호 및 개시 코돈은 천연과 합성 둘 다의 다양한 유래를 가질 수 있다. 발현 효율은 적절한 전사 인핸서 요소, 전사 종결자 등의 포함에 의해 향상될 수 있다(예를 들어, 문헌[Bitter G *et al.*, (1987) Methods Enzymol. 153: 516-544] 참조).
- [0197] 추가로, 삽입된 서열의 발현을 조절하거나 또는 목적하는 특정 방식으로 유전자 산물을 변형시키고 처리하는 숙주 세포 균주가 선택될 수 있다. 단백질 산물의 이러한 변형(예를 들어, 글리코실화) 및 가공(예를 들어, 절단)은 단백질의 기능에 중요할 수 있다. 상이한 숙주 세포는 단백질 및 유전자 산물의 번역후 가공 및 변형에 대한 특징적이고 구체적인 메커니즘을 가진다. 적절한 세포주 또는 숙주 시스템은 발현되는 외래 유전자의 정확한 변형 및 가공을 보장하도록 선택될 수 있다. 이를 위하여, 유전자 산물의 1차 전사체, 글리코실화 및 인산화의 적절한 가공을 위한 세포 기작을 갖는 진핵 숙주 세포가 사용될 수 있다. 이러한 포유류 숙주 세포는 CHO, VERO, BHK, HeLa, MDCK, HEK 293, NIH 3T3, W138, BT483, Hs578T, HTB2, BT20 및 T47D, NS0(임의의 면역글로불린 쇄를 내인성으로 생산하지 않는 무린 골수종 세포주), CRL7030, COS(예를 들어, COS1 또는 COS), PER.C6, VERO, HsS78Bst, HEK-293T, HepG2, SP210, R1.1, B-W, L-M, BSC1, BSC40, YB/20, BMT10 및 HsS78Bst 세포를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. 소정의 실시형태에서, 본 명세서에 개시된 ApoC3(예를 들어, 인간 ApoC3) 항체는 포유류 세포, 예컨대 CHO 세포에서 생산된다.
- [0198] 구체적 실시형태에서, 본 명세서에 개시된 항체는 감소된 푸코스 함량을 갖거나 또는 푸코스 함량이 없다. 이러한 항체는 당업자에게 공지된 기법을 이용하여 생산될 수 있다. 예를 들어, 항체는 푸코실레이트의 능력이 결핍되거나 또는 결여하는 세포에서 발현될 수 있다. 구체적 예에서,  $\alpha$ 1,6-푸코실트랜스퍼라제의 대립유전자 둘 다의 녹아웃을 갖는 세포주는 감소된 푸코스 함량을 갖는 항체를 생산하기 위해 사용될 수 있다. 포텔리전트(Potelligent)(등록상표) 시스템(문자)은 감소된 푸코스 함량을 갖는 항체를 생산하기 위해 사용될 수 있는 이러한 시스템의 예이다.
- [0199] 재조합 단백질의 장기간, 고수율의 생산을 위해, 안정한 발현 세포가 생성될 수 있다. 예를 들어, 본 명세서에 개시된 항-ApoC3 항체를 안정하게 발현시키는 세포주가 조작될 수 있다. 구체적 실시형태에서, 본 명세서에 제공된 세포는 본 명세서에 개시된 항체를 형성하기 위해 회합되는 경쇄/경쇄 가변 영역 및 중쇄/중쇄 가변 영역을 안정하게 발현시킨다.
- [0200] 소정의 양상에서, 바이러스 복제기점을 함유하는 발현 벡터를 이용하기보다는, 숙주 세포는 적절한 발현 제어 요소(예를 들어, 프로모터, 인핸서, 서열, 전사 종결자, 폴리아데닐화 부위 등), 및 선택 가능한 마커에 의해 제어된 DNA로 형질전환될 수 있다. 외래 DNA/폴리뉴클레오타이드의 도입 후에, 조작된 세포는 농축 배지에서 1 내지 2일 동안 성장하도록 허용될 수 있고, 이어서, 선택 배지로 전환된다. 재조합 플라스미드에서 선택 가능한 마커는 선택에 대한 내성을 부여하며, 세포가 플라스미드를 그들의 염색체에 안정하게 통합하도록 그리고 결국 세포주로 클로닝되고 확장될 수 있는 초점을 형성하기 위해 성장하도록 허용한다. 이 방법은 본 명세서에 기재된 항-ApoC3 항체를 발현시키는 세포주를 조작하기 위해 유리하게 사용될 수 있다. 이러한 조작된 세포주는 항체 분자와 직접적으로 또는 간접적으로 상호작용하는 조성물의 선별 및 평가에 특히 유용할 수 있다.
- [0201] 각각 tk-, hgpRT- 또는 aprt-세포에서, 단순포진바이러스 티미딘 키나제(Wigler M *et al.*, (1977) Cell 11(1): 223-32), 하이포잔틴구아닌 포스포리보실트랜스퍼라제(Szybalska EH & Szybalski W (1962) PNAS 48(12): 2026-2034) 및 아데닌 포스포리보실트랜스퍼라제(Lowy I *et al.*, (1980) Cell 22(3): 817-23) 유전자를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는 다수의 선택 시스템이 사용될 수 있다. 또한, 대사길항물질 내성은 다음의 유전자에 대한 선택 기초로서 사용될 수 있다: 메토티렉세이트에 대한 내성을 부여하는 *dhfr*(Wigler M *et al.*, (1980) PNAS 77(6): 3567-70; O'Hare K *et al.*, (1981) PNAS 78: 1527-31); 마이코페놀산에 대한 내성을 부여하는 *gpt*(Mulligan RC & Berg P (1981) PNAS 78(4): 2072-6); 아미노글리코사이드 G-418에 대한 내성을 부여하는 neo(Wu GY & Wu CH (1991) Biotherapy 3: 87-95; Tolstoshev P (1993) Ann Rev Pharmacol Toxicol 32: 573-596; Mulligan RC (1993) Science 260: 926-932; 및 Morgan RA & Anderson WF (1993) Ann Rev Biochem 62:

191-217; Nabel GJ & Felgner PL (1993) Trends Biotechnol 11(5): 211-5); 및 하이그로마이신에 대한 내성을 부여하는 *hygro*(Santerre RF *et al.*, (1984) Gene 30(1-3): 147-56). 재조합 DNA 기법의 당업계에 통상적으로 공지된 방법은 목적하는 재조합 클론을 선택하기 위해 관례적으로 적용될 수 있고, 이러한 방법은, 예를 들어, 문헌[Ausubel FM *et al.*, (eds.), Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons, NY (1993); Kriegler M, Gene Transfer and Expression, A Laboratory Manual, Stockton Press, NY (1990); 및 Chapters 12 and 13, Dracopoli NC *et al.*, (eds.), Current Protocols in Human Genetics, John Wiley & Sons, NY (1994); Colbère-Garapin F *et al.*, (1981) J Mol Biol 150: 1-14]에 기재되어 있으며, 이들은 본 명세서에 전문이 참고로 편입된다.

[0202] 항체 분자의 발현 수준은 벡터 증폭에 의해 증가될 수 있다(검토를 위해, 문헌[Bebbington CR & Hentschel CCG, The use of vectors based on gene amplification for the expression of cloned genes in mammalian cells in DNA cloning, Vol. 3 (Academic Press, New York, 1987)] 참조). 항체를 발현시키는 벡터 시스템에서 마커가 증폭 가능할 때, 숙주 세포의 배양물에 존재하는 저해제 수준의 증가는 마커 유전자의 복제물 수를 증가시킬 것이다. 증폭된 영역이 항체 유전자와 회합되기 때문에, 항체의 생산은 또한 증가할 것이다(문헌[Crouse GF *et al.*, (1983) Mol Cell Biol 3: 257-66] 참조).

[0203] 숙주 세포는 본 명세서에 기재된 2 이상의 발현 벡터, 즉, 중쇄 유래된 폴리펩타이드를 암호화하는 제1 벡터 및 경쇄 유래 폴리펩타이드를 암호화하는 제2 벡터로 공동 형질감염될 수 있다. 두 벡터는 중쇄와 경쇄 폴리펩타이드의 동일한 발현을 가능하게 하는 동일한 선택 가능한 마커를 함유할 수 있다. 숙주 세포는 상이한 양의 2 이상의 발현 벡터로 공동 형질감염될 수 있다. 예를 들어, 숙주 세포는 제1 발현 벡터 및 제2 발현 벡터의 다음의 비 중 임의의 하나로 형질감염될 수 있다: 1:1, 1:2, 1:3, 1:4, 1:5, 1:6, 1:7, 1:8, 1:9, 1:10, 1:12, 1:15, 1:20, 1:25, 1:30, 1:35, 1:40, 1:45 또는 1:50.

[0204] 대안적으로, 중쇄와 경쇄 폴리펩타이드를 둘 다 암호화하고 발현시킬 수 있는 단일 벡터가 사용될 수 있다. 이러한 상황에서, 경쇄는 과량의 무 독성 중쇄를 회피하기 위해 중쇄 앞에 놓여야 한다(문헌[Proudfoot NJ (1986) Nature 322: 562-565; 및 Köhler G (1980) PNAS 77: 2197-2199]). 중쇄와 경쇄에 대한 암호화 서열은 cDNA 또는 게놈 DNA를 포함할 수 있다. 발현 벡터는 단일시스트론성(monocistronic) 또는 다중시스트론성(multicistronic)일 수 있다. 다중시스트론성 핵산 작제물은 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10개 이상, 또는 2 내지 5, 5 내지 10, 또는 10 내지 20개의 유전자/뉴클레오타이드 서열 범위로 암호화할 수 있다. 예를 들어, 이시스트론성(bicistronic) 핵산 작제물은 다음의 순서로 프로모터, 제1 유전자(예를 들어, 본 명세서에 개시된 항체의 중쇄), 및 제2 유전자(예를 들어, 본 명세서에 개시된 항체의 경쇄)를 포함할 수 있다. 이러한 발현 벡터에서, 유전자 둘 다의 전사는 프로모터에 의해 유도될 수 있는 반면, 제1 유전자로부터의 mRNA의 번역은 캡-의존적 스캐닝 메커니즘에 의할 수 있고, 제2 유전자로부터의 mRNA의 번역은, 예를 들어, IRES에 의한 캡-독립적 메커니즘에 의할 수 있다.

[0205] 일단 본 명세서에 개시된 항체 분자가 재조합 발현에 의해 생산되었다면, 이는 번역글로불린 분자의 정제를 위해 당업계에 공지된 임의의 방법에 의해, 예를 들어, 크로마토그래피(예를 들어, 이온 교환, 친화도, 특히 단백질 A 다음에 특정 항원에 대한 친화도, 및 크기결정 칼럼 크로마토그래피에 의해), 원심분리, 분별적 용해도에 의해 또는 단백질 정제를 위한 임의의 다른 표준 기법에 의해 정제될 수 있다. 추가로, 본 명세서에 개시된 항체는 본 명세서에 개시된 이중성 폴리펩타이드 서열 또는 정제를 용이하게 하기 위한 당업계에 공지된 다른 것에 융합될 수 있다.

[0206] 구체적 실시형태에서, 본 명세서에 개시된 항체는 단리되거나 또는 정제된다. 일반적으로, 단리된 항체는 단리된 항체와 상이한 항원 특이성을 갖는 다른 항체가 실질적으로 없는 것이다. 예를 들어, 특정 실시형태에서, 본 명세서에 개시된 항체의 제조는 세포 물질 또는 화학적 전구체가 실질적으로 없다. 언어 "세포 물질이 실질적으로 없는"은 항체가 단리되거나 또는 재조합적으로 생산된 세포의 세포 성분으로부터 항체가 분리된 항체의 제조를 포함한다. 따라서, 세포 물질이 실질적으로 없는 항체는 이중성 단백질(또한 본 명세서에서 "오염 단백질"로서 지칭됨) 또는 항체의 변이체, 예를 들어, 항체 또는 항체의 다른 상이한 형태(예를 들어, 항체 단편)의 상이한 번역후 변형 형태의 약 30%, 20%, 10%, 5%, 2%, 1%, 0.5% 또는 0.1%(건조 중량으로) 미만을 갖는 항체의 제조를 포함한다. 항체가 재조합적으로 생산될 때, 이는 또한 일반적으로 배양물 배지가 실질적으로 없으며, 즉, 배양물 배지는 단백질 제조 용적의 약 20%, 10%, 2%, 1%, 0.5% 또는 0.1% 미만을 나타낸다. 항체가 화학적 합성에 의해 생산될 때, 이는 일반적으로 화학적 전구체 또는 다른 화학물질이 실질적으로 없고, 즉, 이는 화학적 전구체 또는 단백질의 합성에 연루된 다른 화학물질로부터 분리된다. 따라서, 항체의 이러한 제조는 관심 대상

의 항체 이외의 화학적 전구체 또는 화합물의 약 30%, 20%, 10% 또는 5%(건조 중량으로) 미만을 가진다. 구체적 실시형태에서, 본 명세서에 개시된 항체는 단리되거나 또는 정제된다.

- [0207] ApoC3(예를 들어, 인간 ApoC3)에 특이적으로 결합하는 항체는 항체의 합성을 위한 당업계에 공지된 임의의 방법에 의해, 예를 들어, 화학적 합성에 의해 또는 재조합 발현 기법에 의해 생산될 수 있다. 본 명세서에 개시된 방법은, 달리 표시되지 않는 한, 분자 생물학, 미생물학, 유전자 분석, 재조합 DNA, 유기 화학, 생화학, PCR, 올리고뉴클레오타이드 합성 및 변형, 핵산 혼성화 및 당업계의 기술 내의 관련 분야에서 통상적인 기법을 사용한다. 이들 기법은, 예를 들어, 본 명세서에 인용된 참고문헌에 개시되어 있으며, 문헌에서 완전하게 설명된다. 예를 들어, 문헌[Maniatis T *et al.*, (1982) *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press; Sambrook J *et al.*, (1989), *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, Second Edition, Cold Spring Harbor Laboratory Press; Sambrook J *et al.*, (2001) *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY; Ausubel FM *et al.*, *Current Protocols in Molecular Biology*, John Wiley & Sons (1987 및 매년의 업데이트); *Current Protocols in Immunology*, John Wiley & Sons (1987 및 매년의 업데이트) Gait (ed.) (1984) *Oligonucleotide Synthesis: A Practical Approach*, IRL Press; Eckstein (ed.) (1991) *Oligonucleotides and Analogues: A Practical Approach*, IRL Press; Birren B *et al.*, (eds.) (1999) *Genome Analysis: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press]을 참조한다.
- [0208] 구체적 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 항체는 생성을 수반하는 임의의 수단에 의해, 예를 들어, DNA 서열의 합성, 유전자 조작을 통해 제조되거나, 발현되거나, 생성되거나 또는 단리된 항체(예를 들어, 재조합 항체)이다. 소정의 실시형태에서, 이러한 항체는 생체내 동물 또는 포유류(예를 들어, 인간)의 항체 생체계열 레퍼토리 내에서 자연적으로 존재하지 않는 서열(예를 들어, DNA 서열 또는 아미노산 서열)을 포함한다.
- [0209] 일 양상에서, 본 명세서에서 본 명세서에 기재된 세포 또는 숙주 세포를 배양시키는 단계를 포함하는 ApoC3(예를 들어, 인간 ApoC3)에 특이적으로 결합하는 항체의 제조 방법이 제공된다. 소정의 양상에서, 본 명세서에서 본 명세서에 기재된 세포 또는 숙주 세포(예를 들어, 본 명세서에 기재된 항체를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드를 포함하는 세포 또는 숙주 세포)를 이용하여 항체를 발현시키는(예를 들어, 재조합적으로 발현시키는) 단계를 포함하는, ApoC3(예를 들어, 인간 ApoC3)에 특이적으로 결합하는 항체의 제조 방법이 제공된다. 특정 실시형태에서, 세포는 단리된 세포이다. 특정 실시형태에서, 외인성 폴리뉴클레오타이드는 세포 내로 도입되었다. 특정 실시형태에서, 상기 방법은 세포 또는 숙주 세포로부터 얻어진 항체를 정제하는 단계를 추가로 포함한다.
- [0210] 다클론성 항체를 생산하는 방법은 당업계에 공지되어 있다(예를 들어, 문헌[Chapter 11: Short Protocols in Molecular Biology, (2002) 5th Ed., Ausubel FM *et al.*, eds., John Wiley and Sons, New York]).
- [0211] 단클론성 항체는 하이브리도마, 재조합 및 파지 디스플레이 기법, 또는 이들의 조합의 사용을 포함하는, 매우 다양한 당업계에 공지된 기법을 이용하여 제조될 수 있다. 예를 들어, 단클론성 항체는 당업계에 공지되고, 예를 들어, 문헌[Harlow E & Lane D, *Antibodies: A Laboratory Manual*, (Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2nd ed. 1988); Hammerling GJ *et al.*, in: *Monoclonal Antibodies and T-Cell Hybridomas* 563 681 (Elsevier, N.Y., 1981)]에 교시된 것을 포함하는 하이브리도마 기법을 이용하여 생산될 수 있다. 본 명세서에 사용된 바와 같은 용어 "단클론성 항체"는 하이브리도마 기법을 통해 생산된 항체이지만, 이것으로 제한되지 않는다. 예를 들어, 단클론성 항체는 본 명세서에 개시된 항체, 예를 들어, 이러한 항체의 경쇄 또는 중쇄를 외인성으로 발현시키는 숙주 세포로부터 재조합적으로 생산될 수 있다.
- [0212] 구체적 실시형태에서, 본 명세서에 사용된 바와 같은 "단클론성 항체"는 단일 세포(예를 들어, 재조합 항체를 생산하는 하이브리도마 또는 숙주 세포)에 의해 생산된 항체이되, 항체는, 예를 들어, ELISA 또는 당업계에 공지된 다른 항원-결합 또는 경쟁적 결합 분석에 의해 또는 본 명세서에 제공된 예에서 결정된 바와 같은 ApoC3(예를 들어, 인간 ApoC3)에 특이적으로 결합한다. 특정 실시형태에서, 단클론성 항체는 키메라 항체 또는 인간화된 항체일 수 있다. 소정의 실시형태에서, 단클론성 항체는 1가 항체 또는 다가(예를 들어, 2가) 항체이다. 특정 실시형태에서, 단클론성 항체는 단일특이성 또는 다중특이성 항체(예를 들어, 이중특이성 항체)이다. 본 명세서에 기재된 단클론성 항체는, 예를 들어, 문헌[Kohler G & Milstein C (1975) *Nature* 256: 495]에 개시된 바와 같은 하이브리도마 방법에 의해 생성될 수 있거나, 또는, 예를 들어, 본 명세서에 개시된 바와 같은 기법을 이용하여 파지 라이브러리로부터 단리될 수 있다. 이에 의해 발현된 클론 세포주의 그리고 단클론성 항체의 제조를 위한 다른 방법은 당업계에 잘 공지되어 있다(예를 들어, 문헌[Chapter 11 in: *Short Protocols in Molecular Biology*, (2002) 5th Ed., Ausubel FM *et al.*, 상기 참조] 참조).

- [0213] 하이브리도마 기법을 이용하여 특정 항체에 대해 생산 및 선별하는 방법은 일상적이며, 당업계에 잘 공지되어 있다. 예를 들어, 하이브리도마 방법에서, 면역화를 위해 사용되는 단백질(예를 들어, ApoC3(예를 들어, 인간 ApoC3))에 특이적으로 결합하는 항체를 생산하거나 또는 생산할 수 있는 림프구를 유발하기 위해 마우스 또는 다른 적절한 숙주 동물, 예컨대, 양, 염소, 토끼, 래트, 햄스터 또는 마카크 원숭이가 면역화된다. 대안적으로, 림프구는 시험관내에서 면역화될 수 있다. 이어서, 림프구는 적합한 융합제, 예컨대 폴리에틸렌 글리콜을 이용하여 골수종 세포와 융합되어 하이브리도마 세포를 형성한다(문헌[Goding JW (Ed), *Monoclonal Antibodies: Principles and Practice*, pp. 59-103 (Academic Press, 1986)]). 추가적으로, RIMMS(반복 면역화 다중 부위) 기법은 동물을 면역화하기 위해 사용될 수 있다(전문이 참고로 편집된 문헌[Kilpatrick KE *et al.*, (1997) *Hybridoma* 16:381-9] 참조).
- [0214] 일부 실시형태에서, 마우스(또는 다른 동물, 예컨대 래트, 원숭이, 당나귀, 돼지, 양, 햄스터 또는 개)는 항원(예를 들어, ApoC3(예를 들어, 인간 ApoC3))으로 면역화될 수 있고, 일단 면역 반응이 검출되면, 예를 들어, 항원에 특이적인 항체는 마우스 혈청에서 검출되고, 마우스 비장이 채취되며, 비장세포는 단리된다. 이어서, 비장세포는 임의의 적합한 골수종 세포, 예를 들어, 미국 미생물 보존센터(American Type Culture Collection: ATCC(등록상표))(버지니아주 매너서스에 소재)로부터 입수 가능한 세포주 SP20으로부터의 세포에 잘 공지된 기법에 의해 융합되어 하이브리도마를 형성한다. 하이브리도마가 선택되며, 제한된 희석에 의해 클로닝된다. 소정의 실시형태에서, 면역화된 마우스의 림프절이 채취되고, NSO 골수종 세포와 융합된다.
- [0215] 이렇게 제조된 하이브리도마 세포는 파종되고, 비융합, 비경구 골수종 세포의 성장 또는 생존을 저해하는 하나 이상의 물질을 바람직하게 함유하는 적합한 배양 배지에서 성장된다. 예를 들어, 모 골수종 세포가 효소 하이포잔틴 구아닌 포스포리보실 트랜스퍼라제(HGPRT 또는 HPRT)를 결여한다면, 하이브리도마에 대한 배양 배지는 전형적으로 하이포잔틴, 아미노프테린 및 티미딘(HAT 배지)을 포함하며, 이들 물질은 HGPRT-결핍 세포의 성장을 방지한다.
- [0216] 구체적 실시형태는 효율적으로 융합하고, 선택된 항체-생산 세포에 의해 안정한 고수준의 항체 생산을 뒷받침하며, HAT 배지와 같은 배지에 대해 민감성인, 골수종 세포를 사용한다. 이들 골수종 세포주 중에 뮤린 골수종 계통, 예컨대 NSO 세포주 또는 미국 캘리포니아주 샌디에이고에 소재한 소크 인스티튜트 세포 배포 센터(Salk Institute Cell Distribution Center)로부터 입수 가능한 MOPC-21 및 MPC-11 마우스 종양으로부터 유래된 것, 및 미국 매릴랜드주 락빌에 소재한 미국 미생물 보존센터로부터 입수 가능한 SP-2 또는 X63-Ag8.653 세포가 있다. 인간 골수종 및 마우스-인간 이형골수종 세포주는 또한 인간 단클론성 항체의 생산에 대해 기재되었다(문헌 [Kozbor D (1984) *J Immunol* 133: 3001-5; Brodeur *et al.*, *Monoclonal Antibody Production Techniques and Applications*, pp. 51-63 (Marcel Dekker, Inc., New York, 1987)] 참조).
- [0217] 하이브리도마 세포가 성장하는 배양 배지는 단클론성 항체 지향 ApoC3(예를 들어, 인간 ApoC3)의 생산에 대해 분석된다. 하이브리도마 세포에 의해 생산된 단클론성 항체의 결합 특이성은 당업계에 공지된 방법, 예를 들어, 면역침전에 의해 또는 시험관내 결합 분석, 예컨대 방사면역측정법(radioimmunoassay: RIA) 또는 효소-결합 면역흡착 분석(ELISA)에 의해 결정된다.
- [0218] 목적하는 특이성, 친화도 또는 활성의 항체를 생산하는 하이브리도마 세포가 동정된 후에, 클론은 희석 절차를 제한함으로써 서브클로닝되고 표준 방법에 의해 성장될 수 있다(Goding JW (Ed), *Monoclonal Antibodies: Principles and Practice*, 상기 참조). 이 목적을 위한 적합한 배양 배지는, 예를 들어, D-MEM 또는 RPMI 1640 배지를 포함한다. 추가로, 하이브리도마 세포는 동물에서 복수종양으로서 생체내에서 성장될 수 있다.
- [0219] 서브클론에 의해 분비된 단클론성 항체는, 예를 들어, 단백질 A-세파로스, 수산화인회석 크로마토그래피, 겔 전 기영동, 투석 또는 친화도 크로마토그래피와 같은 통상적인 면역글로불린 정제 절차에 의해 배양 배지, 복수액 또는 혈청으로부터 적합하게 분리된다.
- [0220] 본 명세서에 개시된 항체는 특이적 ApoC3(예를 들어, 인간 ApoC3)을 인식하고, 당업자에게 공지된 임의의 기법에 의해 생성될 수 있는, 예를 들어, 항체 단편을 포함한다. 예를 들어, 효소, 예컨대 파파인(Fab 단편을 생성) 또는 펩신(F(ab')<sub>2</sub> 단편을 생성)을 이용하는 면역글로불린 분자의 단백질 분해 절단에 의해 본 명세서에 개시된 Fab 및 F(ab')<sub>2</sub> 단편이 생산될 수 있다. Fab 단편은 항체 분자의 두 동일한 아암(arm) 중 하나에 대응하고, 중쇄의 VH 및 CH1 도메인과 짝지어진 완전한 경쇄를 함유한다. F(ab')<sub>2</sub> 단편은 힌지 영역 내 이황화 결합에 의해 연결된 항체 분자의 두 항원-결합 아암을 함유한다.

- [0221] 추가로, 본 명세서에 개시된 항체는 또한 당업계에 공지된 다양한 파지 디스플레이 방법을 이용하여 생성될 수 있다. 파지 디스플레이 방법에서, 기능성 항체 도메인은 이를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드 서열을 운반하는 파지 입자의 표면 상에 나타난다. 특히, VH 및 VL 도메인을 암호화하는 DNA 서열은 동물 cDNA 라이브러리(예를 들어, 영향받은 조직의 인간 또는 뮤린 cDNA 라이브러리)로부터 증폭된다. VH 및 VL 도메인을 암호화하는 DNA는 PCR에 의해 scFv 링커와 함께 재조합되고, 파지미드 벡터 내로 클로닝된다. 벡터는 이콜라이에서 전기천공되고, 이콜라이는 헬퍼 파지로 감염된다. 이들 방법에서 사용되는 파지는 전형적으로 fd 및 M13을 포함하는 사상파지이고, VH 및 VL 도메인은 보통 파지 유전자 III 또는 유전자 VIII 중 하나에 재조합적으로 융합된다. 특정 항원에 결합하는 항원 결합 도메인을 발현시키는 파지는 항원으로, 예를 들어, 표지된 항원 또는 고체 표면 또는 비드에 결합 또는 포획된 항원을 이용하여 선택되거나 또는 동정될 수 있다. 본 명세서에 기재된 항체를 제조하기 위해 사용될 수 있는 파지 디스플레이 방법의 예는 문헌[Brinkman U *et al.*, (1995) *J Immunol Methods* 182: 41-50; Ames RS *et al.*, (1995) *J Immunol Methods* 184: 177-186; Kettleborough CA *et al.*, (1994) *Eur J Immunol* 24: 952-958; Persic L *et al.*, (1997) *Gene* 187: 9-18; Burton DR & Barbas CF (1994) *Advan Immunol* 57: 191-280; 국제 특허 출원 PCT/GB91/001134; 국제 특허 출원 공개 WO 90/02809, WO 91/10737, WO 92/01047, WO 92/18619, WO 93/1 1236, WO 95/15982, WO 95/20401, 및 WO 97/13844; 및 미국 특허 제 5,698,426호, 제5,223,409호, 제5,403,484호, 제5,580,717호, 제5,427,908호, 제5,750,753호, 제5,821,047호, 제5,571,698, 제5,427,908호, 제5,516,637호, 제5,780,225호, 제5,658,727호, 제5,733,743호 및 제 5,969,108호에 개시된 것을 포함한다.
- [0222] 상기 참고문헌에 기재된 바와 같이, 파지 선택 후에, 파지로부터의 항체 암호 영역은 단리되고, 인간 항체 또는 임의의 다른 목적하는 항원 결합 단편을 포함하는 전체 항체를 생성하는데 사용될 수 있으며, 예를 들어, 이하에 기재하는 바와 같이, 포유류 세포, 곤충 세포, 식물 세포, 효모 및 박테리아를 포함하는 임의의 목적하는 숙주에서 발현된다. 항체 단편, 예컨대 Fab, Fab' 및 F(ab')<sub>2</sub> 단편을 재조합적으로 생산하는 기법은 또한 당업계에 공지된 방법, 예컨대 국제 특허 출원 공개 WO 92/22324; 문헌[Mullinax RL *et al.*, (1992) *BioTechniques* 12(6): 864-9; Sawai H *et al.*, (1995) *Am J Reprod Immunol* 34: 26-34; 및 Better M *et al.*, (1988) *Science* 240: 1041-1043]에 개시된 것을 이용하여 사용될 수 있다.
- [0223] 소정의 실시형태에서, 전체 항체를 생성하기 위해, VH 또는 VL 뉴클레오타이드 서열, 제한 부위 및 제한 부위를 보호하기 위한 측접 서열을 포함하는 PCR 프라이머는 주형, 예를 들어, scFv 클론으로부터의 VH 또는 VL 서열을 증폭시키는 데 사용될 수 있다. 당업자에게 공지된 클로닝 기법을 이용하여, PCR 증폭된 VH 도메인은 VH 불변 영역을 발현시키는 벡터 내로 클로닝될 수 있고, PCR 증폭된 VL 도메인은 VL 불변 영역, 예를 들어, 인간 카파 또는 람다 불변 영역을 발현시키는 벡터 내로 클로닝될 수 있다. VH 및 VL 도메인은 또한 필수 불변 영역을 발현시키는 하나의 벡터 내로 클로닝될 수 있다. 이어서, 중쇄 전환 벡터 및 경쇄 전환 벡터는 당업자에게 공지된 기법을 이용하여 전장 항체, 예를 들어, IgG를 발현시키는 안정한 또는 일시적 세포주를 생성하기 위해 세포주 내로 공동 형질감염된다.
- [0224] 키메라 항체는 항체의 상이한 부분이 상이한 면역글로불린 분자로부터 유래된 분자이다. 예를 들어, 키메라 항체는 인간 항체의 불변 영역에 융합된 마우스 또는 래트 단클론성 항체의 가변 영역을 함유할 수 있다. 키메라 항체를 생산하는 방법은 당업계에 공지되어 있다. 예를 들어, 문헌[Morrison SL (1985) *Science* 229: 1202-7; Oi VT & Morrison SL (1986) *BioTechniques* 4: 214-221; Gillies SD *et al.*, (1989) *J Immunol Methods* 125: 191-202]; 및 미국 특허 제5,807,715호, 제4,816,567호, 제4,816,397호 및 제6,331,415호를 참조한다.
- [0225] 인간화된 항체는 인간 면역글로불린의 아미노산 서열을 실질적으로 갖는 프레임워크 영역 및 비-인간 면역글로불린(예를 들어, 뮤린 면역글로불린)의 아미노산 서열을 실질적으로 갖는 CDR을 포함하는 사전결정된 항원에 결합할 수 있다. 특정 실시형태에서, 인간화된 항체는 또한 면역글로불린 불변 영역(Fc), 전형적으로 인간 면역글로불린 불변 영역의 적어도 일부를 포함한다. 항체는 또한 중쇄의 CH1, 힌지, CH2, CH3, 및 CH4 영역을 포함할 수 있다. 인간화된 항체는 IgM, IgG, IgD, IgA 및 IgE, 및 IgG<sub>1</sub>, IgG<sub>2</sub>, IgG<sub>3</sub> 및 IgG<sub>4</sub>를 비롯한 임의의 아이소타입을 포함하는, 면역글로불린의 임의의 부류로부터 선택될 수 있다. 인간화된 항체는 CDR-접합(유럽 특허 제 239400호; 국제 특허 출원 공개 WO 91/09967; 및 미국 특허 제5,225,539호, 제5,530,101호 및 제5,585,089호), 베니어링(veneering) 또는 리서페이싱(resurfacing)(유럽 특허 제592106호 및 제519596호; 문헌[Padlan EA (1991) *Mol Immunol* 28(4/5): 489-498; Studnicka GM *et al.*, (1994) *Prot Engineering* 7(6): 805-814; 및 Roguska MA *et al.*, (1994) *PNAS* 91: 969-973]), 쇠 셔플링(chain shuffling)(미국 특허 제5,565,332호), 및, 예를 들어, 미국 특허 제6,407,213호, 미국 특허 제5,766,886호, 국제 특허 출원 공개 WO 93/17105; 문헌[Tan

P *et al.*, (2002) *J Immunol* 169: 1119-25; Caldas C *et al.*, (2000) *Protein Eng.* 13(5): 353-60; Morea V *et al.*, (2000) *Methods* 20(3): 267-79; Baca M *et al.*, (1997) *J Biol Chem* 272(16): 10678-84; Roguska MA *et al.*, (1996) *Protein Eng* 9(10): 895-904; Couto JR *et al.*, (1995) *Cancer Res.* 55 (23 Supp): 5973s-5977s; Couto JR *et al.*, (1995) *Cancer Res* 55(8): 1717-22; Sandhu JS (1994) *Gene* 150(2): 409-10 및 Pedersen JT *et al.*, (1994) *J Mol Biol* 235(3): 959-73]에 개시된 기법을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는 당업계에서 공지된 다양한 기법을 이용하여 생산될 수 있다. 또한 전문이 참고로 편입된 미국 특허 출원 공개 제 2005/0042664 A1호(2005년 2월 24일)를 참조한다.

[0226] 다중특이성(예를 들어, 이중특이성 항체)을 제조하는 방법은 기재되어 있으며, 예를 들어, 미국 특허 제 7,951,917호; 제7,183,076호; 제8,227,577호; 제5,837,242호; 제5,989,830호; 제5,869,620호; 제6,132,992호 및 제8,586,713호를 참조한다.

[0227] 단일 도메인 항체, 예를 들어, 경쇄가 결여된 항체는 당업계에 잘 공지된 방법에 의해 생산될 수 있다. 문헌 [Riechmann L & Muyldermans S (1999) *J Immunol* 231: 25-38; Nuttall SD *et al.*, (2000) *Curr Pharm Biotechnol* 1(3): 253-263; Muyldermans S, (2001) *J Biotechnol* 74(4): 277-302]; 미국 특허 제6,005,079호; 및 국제 특허 출원 공개 WO 94/04678, WO 94/25591 및 WO 01/44301을 참조한다.

[0228] 추가로, ApoC3(예를 들어, 인간 ApoC3) 항원에 특이적으로 결합된 항체는 결국 당업자에게 잘 공지된 기법을 이용하여 항원을 "모방하는" 항-이디오타입(anti-idiotypic) 항체를 생성하는 데 이용될 수 있다(예를 들어, 문헌 [Greenspan NS & Bona CA (1989) *FASEB J* 7(5): 437-444; 및 Nissinoff A (1991) *J Immunol* 147(8): 2429-2438]을 참조한다).

[0229] 특정 실시형태에서, 본 명세서에 개시된 ApoC3 항체와 동일한 ApoC3(예를 들어, 인간 ApoC3)의 에피토프에 결합하는 본 명세서에 개시된 항체는 인간 항체이다. 특정 실시형태에서, 본 명세서에 개시된 항체 중 임의의 하나를 ApoC3(예를 들어, 인간 ApoC3)에 대한 결합으로부터 경쟁적으로 차단시키는(예를 들어, 용량 의존적 방식으로) 본 명세서에 기재된 항체는 인간 항체이다. 인간 항체는 당업계에 공지된 임의의 방법을 이용하여 생산될 수 있다. 예를 들어, 기능성 내인성 면역글로불린을 발현시킬 수 없지만, 인간 면역글로불린 유전자를 발현시킬 수 있는 유전자이식 마우스가 사용될 수 있다. 특히, 인간 중쇄 및 경쇄 면역글로불린 유전자 복합체는 무작위로 또는 상동성 재조합에 의해 마우스 배아 줄기 세포 내로 도입될 수 있다. 대안적으로, 인간 가변 영역, 불변 영역, 및 다양성 영역은 인간 중쇄 및 경쇄 유전자에 추가로 마우스 배아 줄기 세포 내로 도입될 수 있다. 마우스 중쇄 및 경쇄 면역글로불린 유전자는 상동성 재조합에 의해 인간 면역글로불린 좌위의 도입과 별개로 또는 동시에 비기능성으로 제공될 수 있다. 특히, J<sub>H</sub> 영역의 동형접합적 결실은 내인성 항체 생산을 방지한다. 변형된 배아 줄기 세포는 확장되고, 키메라 마우스를 생산하기 위해 배반포 내로 마이크로주사된다. 이어서, 키메라 마우스는 인간 항체를 발현시키는 동형접합 자손을 생산하도록 사육된다. 유전자이식 마우스는 선택된 항원, 예를 들어, 항원(예를 들어, ApoC3(예를 들어, 인간 ApoC3))의 모두 또는 일부로 정상적 방식으로 면역화된다. 항원으로 향하는 단클론성 항체는 통상적인 하이브리도마 기법을 이용하여 면역화된, 유전자이식 마우스로부터 얻을 수 있다. 유전자이식 마우스에 의해 보유된 인간 면역글로불린 이식유전자는 B 세포 분화 동안 재배열하며, 후속적으로 종류 변환(class switching) 및 체세포 돌연변이를 겪는다. 따라서, 이러한 기법을 이용하여, 치료적으로 유용한 IgG, IgA, IgM 및 IgE 항체를 생성할 수 있다. 인간 항체를 생산하기 위한 기법의 검토를 위해, 문헌[Lonberg N & Huszar D (1995) *Int Rev Immunol* 13:65-93]을 참조한다. 인간 항체 및 인간 단클론성 항체를 생산하기 위한 이러한 기법 및 이러한 항체를 생산하기 위한 프로토콜의 상세한 논의를 위해, 예를 들어, 국제 특허 출원 공개 WO 98/24893, WO 96/34096 및 WO 96/33735; 및 미국 특허 제5,413,923호, 5,625,126호, 5,633,425호, 제5,569,825호, 5,661,016호, 제5,545,806호, 5,814,318호 및 5,939,598호를 참조한다. 인간 항체를 생산할 수 있는 마우스의 예는 제노마우스(Xenomouse)(상표명)(압지닉스 인코포레이티드; 미국 특허 제 6,075,181호 및 제6,150,184호), HuAb-마우스(상표명)(메데렉스 인코포레이티드(Mederex, Inc.)/젠 팜(Gen Pharm); 미국 특허 제5,545,806호 및 제5,569, 825호), 트랜스 크로모 마우스(Trans Chromo Mouse)(상표명)(기린(Kirin)) 및 KM 마우스(상표명)(메다렉스/기린)를 포함한다.

[0230] ApoC3(예를 들어, 인간 ApoC3)에 특이적으로 결합하는 인간 항체는 인간 면역글로불린 서열로부터 유래된 항체 라이브러리를 이용하여 상기 기재한 파지 디스플레이 방법을 포함하는 다양한 당업계에 공지된 방법에 의해 생성될 수 있다. 또한 미국 특허 제4,444,887호, 제4,716,111호 및 제5,885,793호; 및 국제 특허 출원 공개 WO 98/46645, WO 98/50433, WO 98/24893, WO 98/16654, WO 96/34096, WO 96/33735 및 WO 91/10741을 참조한다.

[0231] 일부 실시형태에서, 인간 항체는 마우스-인간 하이브리도마를 이용하여 생산될 수 있다. 예를 들어, 엡스타인-

바 바이러스(EBV)로 형질전환된 인간 말초 혈액 림프구는 인간 단클론성 항체를 분비하는 마우스-인간 하이브리도마를 생산하기 위해 마우스 골수종 세포와 융합될 수 있고, 이들 마우스-인간 하이브리도마는 표적 항원(예를 들어, ApoC3(예를 들어, 인간 ApoC3))에 특이적으로 결합하는 인간 단클론성 항체를 분비하는 것을 결정하도록 선별될 수 있다. 이러한 방법은 공지되어 있으며, 당업계에 기재되어 있고, 예를 들어, 문헌[Shimoto H *et al.*, (2004) *Cytotechnology* 46: 19-23; Naganawa Y *et al.*, (2005) *Human Antibodies* 14: 27-31]을 참조한다.

[0232] **6. 키트**

[0233] 또한 본 명세서에 개시된 하나 이상의 항체 또는 이의 약제학적 조성물 또는 접합물을 포함하는 키트가 제공된다. 구체적 실시형태에서, 본 명세서에서 본 명세서에 개시된 약제학적 조성물의 성분 중 하나 이상, 예컨대 본 명세서에 제공된 하나 이상의 항체로 채워진 하나 이상의 용기를 포함하는 약제학적 팩 또는 키트가 제공된다. 일부 실시형태에서, 상기 키트는 본 명세서에 개시된 약제학적 조성물 및 임의의 예방적 또는 치료적 제제, 예컨대 본 명세서에 개시된 것을 함유한다. 선택적으로 약제 또는 생물학적 제품의 제조, 사용 또는 판매를 규제하는 정부 기관에 의해 지지된 형태의 주의사항이 이러한 용기(들)에 부착될 수 있으며, 이러한 주의사항은 인간 투여를 위한 제조, 사용 또는 판매의 기관에 의한 승인을 반영한다.

[0234] 또한 상기 방법에서 사용될 수 있는 키트가 제공된다. 일 실시형태에서, 키트는 하나 이상의 용기에서 본 명세서에 개시된 항체, 바람직하게는 정제된 항체를 포함한다. 구체적 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 키트는 대조군으로서 실질적으로 단리된 ApoC3(예를 들어, 인간 ApoC3) 항원을 함유한다. 다른 구체적 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 키트는 ApoC3(예를 들어, 인간 ApoC3) 항원과 반응하지 않는 대조군 항체를 추가로 포함한다. 다른 구체적 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 키트는 ApoC3(예를 들어, 인간 ApoC3) 항원에 대한 항체의 결합을 검출하기 위해 하나 이상의 요소를 함유한다(예를 들어, 항체는 검출 가능한 기질, 예컨대 형광 화합물, 효소 기질, 방사성 화합물 또는 발광 화합물에 접합될 수 있거나 또는 제1 항체를 인식하는 제2 항체는 검출 가능한 기질에 접합될 수 있다). 구체적 실시형태에서, 본 명세서에 제공된 키트는 재조합적으로 생산되거나 또는 화학적으로 합성된 ApoC3(예를 들어, 인간 ApoC3) 항원을 포함할 수 있다. 키트에 제공된 ApoC3(예를 들어, 인간 ApoC3) 항원은 또한 고체 지지체에 부착될 수 있다. 더 구체적인 실시형태에서, 상기 기재된 키트의 검출 수단은 ApoC3(예를 들어, 인간 ApoC3) 항원이 부착되는 고체 지지체를 포함한다. 이러한 키트는 또한 비부착 리포터-표지 항-인간 항체 또는 항-마우스/랫 항체를 포함할 수 있다. 이 실시형태에서, ApoC3(예를 들어, 인간 ApoC3) 항원에 대한 항체의 결합은 상기 리포터-표지된 항체의 결합에 의해 검출될 수 있다.

[0235] **실시예**

[0236] 앞서 동정한 항체 클론인 5E5는 pH 7.4에서 고친화도로 그리고 pH 5.5에서 약간 감소된 친화도로 ApoC3에 결합한다(미국 가출원 특허 제62/360,084호 참조). 본 개시내용은 pH 7.4에서 ApoC3에 대해 고친화도 결합을 나타내지만, 5E5에 대해 pH 5.5에서 ApoC3에 대해 훨씬 감소된 친화도를 나타내는 클론 5E5의 신규한 유도체를 제공한다. 다음의 실시예는 신규한 5E5 유도체의 특성규명을 기재한다. 5E5의 아미노산 서열은 미국 가출원 특허 제 62/360,084호에 제시되어 있고, 신규한 5E5 유도체의 아미노산 서열은 본 명세서의 표 1 내지 7에 제시되어 있다.

[0237] 본 부문의 실시예는 본 출원의 이점 및 특징을 추가로 설명하기 위해 제공되지만, 본 출원의 범주를 제한하는 것으로 의도되지 않는다. 실시예는 단지 예시적 목적을 위한 것이다.

[0238] **실시예 1: 항-ApoC3 scFv-Fc 항체의 시험관내 특성규명.**

[0239] 본 실시예는 pH 7.4와 pH 5.5 둘 다에서 항-ApoC3 scFv-Fc 항체의 항원-결합 동역학을 결정하기 위한 표면 플라즈몬 공명(surface plasmon resonance: SPR)-기반 실험을 기재한다.

[0240] 5E5의 VH 및/또는 VL에서 하나 이상의 CDR 아미노산의 히스티딘으로의 치환에 의해 항체 클론 5E5의 신규한 유도체 패널을 생성하였다. 추가적인 특성규명을 위해, 이하에 제시한 SPR-기반 방법을 이용하여 pH 7.4와 pH 5.5 둘 다에서 각각의 5E5 유도체의 항원-결합 동역학을 평가하였고, pH 7.4에서 ApoC3에 대해 고친화도 결합을 나타내지만, 5E5에 대해 pH 5.5에서 ApoC3에 대해 훨씬 감소된 친화도를 선택하였다. 예시적인 5E5 유도체 5E5VH5\_VLWT, 5E5VH12\_VLWT 및 5E5VHWT\_VL8의 결합 동역학을 표 8에 제시한다.

[0241] 50ml 소규모 배양물에서 형질감염된 HEK293 세포로부터 시험 항체를 생성하였고, ÄKTA 순수 크로마토그래피 시스템을 이용하는 단백질 A 크로마토그래피에 의해 정제하였다. 정제된 항체 단편의 품질 및 수율을 분광측정법

에 의해 그리고 SDS-PAGE에 의해 결정하였다.

[0242] 바이오틴일화된 인간 ApoC3을 스트렙타비딘(streptavidin: SA) 코팅된 칩 상에서 포획하는 SPR-기반 방법을 사용하였고, 코팅된 칩에 대한 시험 항체의 결합 동역학을 pH 7.4와 pH 5.5 둘 다에서 측정하였다. 간략하게, 대략 500 RU의 표면 밀도에 도달하도록 20 $\mu$ l의 바이오틴일화된 인간 ApoC3을 10 $\mu$ g/ml의 농도로 주사하였다. 60 $\mu$ l의 각각의 시험 항체를 HBS-EP 완충제(GE, 카탈로그 번호 BR-1008-26; 0.010M HEPES, 0.150M NaCl, 3mM EDTA, 0.05%(v/v) 계면활성제 P20, pH 7.4) 중에서 희석시켰고, 1 내지 100nM의 농도로 주사하였다. 시험 항체를 30 $\mu$ l/분의 유속으로 유세포를 통과시킨 후, 7.4 또는 pH 5.5에서 5분 동안 세척하였다. 결합 동역학을 유도하기 위해 랑그뮐어(Langmuir) 1:1 결합 모델을 적용하는 BIAevaluation 4.1 소프트웨어를 이용하여 얻어진 센소그램을 분석하였다. 데이터를 0으로 조절하고 나서, 기준 세포 센소그램을 차감하였다.

**표 8**

pH 7.4 및 pH 5.5 에서 항-ApoC3 scFv-Fc 항체의 결합 동역학

항체	결합속도		해리속도		친화도		
	ka (1/Ms) pH 7.4	ka (1/Ms) pH 5.5	kd (1/s) pH 7.4	kd (1/s) pH 5.5	K <sub>D</sub> (nM) pH 7.4	K <sub>D</sub> (nM) pH 5.5	K <sub>D</sub> pH 5.5/ K <sub>D</sub> pH 7.4
5E5WT	8.23E+05	3.93E+05	1.75E-05	2.53E-05	0.02	0.06	3.0
5E5VH5_VLWT	1.78E+05	1.47E+05	1.05E-04	1.60E-03	0.59	10.90	18.5
5E5VH12_VLWT	3.08E+05	1.29E+05	1.57E-04	2.06E-03	0.51	16.00	31.4
5E5VHW_T_VL8	3.81E+05	2.69E+05	2.21E-04	1.16E-03	0.58	4.29	7.4

[0243]

[0244] 모든 scFv-Fc 항체는 pH 5.5에서보다 pH 7.4에서 ApoC3에 대해 더 높은 친화도를 나타내었고, 항체 5E5VH12\_VLWT는 가장 확연한 pH-의존적 결합을 나타내었다(표 8 참조). pH-의존적 결합의 규모는 산성 조건하에 해리도와 양의 상관관계가 있었다.

[0245] **실시예 2: 항-ApoC3 인간 IgG<sub>1</sub> 항체의 시험관내 특성규명.**

[0246] 실시예 1의 결과에 기반하여, 시험 scFv-Fc 항체를 인간 IgG<sub>1</sub> 항체로서 생성하였다. 인간 ApoC3 단백질을 CM5 칩 상에 고정시킨 SPR-기반 검정을 사용하였고, 코팅된 칩에 대한 시험 항체의 결합 동역학을 pH 7.4와 pH 5.5 둘 다에서 측정하였다. 간략하게, pH 4.5에서 10mM 아세트산염 완충제 중의 천연 인간 ApoC3의 50 $\mu$ g/ml 용액을 제조하고 나서, 표면 밀도가 대략 500 RU에 도달될 때까지 주사하였다. 각각의 시험 항체 60 $\mu$ l를 HBS-EP 완충제(GE, 카탈로그 번호 BR-1008-26; 0.010 M HEPES, 0.150M NaCl, 3mM EDTA, 0.05%(v/v) 계면활성제 P20, pH 7.4)에서 희석시키고 나서, 표 9에 기재한 농도로 주사하였다. 시험 항체를 30  $\mu$ l/분의 유속으로 유세포를 통과시킨 후에, pH 7.4 또는 pH 5.5에서 5분 동안 세척하였다. 결합 동역학을 유도하기 위해 랑그뮐어 1:1 결합 모델을 적용하는 BIAevaluation 4.1 소프트웨어를 이용하여 얻어진 센소그램을 분석하였다. 데이터를 0으로 조절하고 나서, 기준 세포 센소그램을 차감하였다.

표 9

pH 7.4 및 pH 5.5 에서 항 ApoC3 인간 IgG<sub>1</sub> 항체의 결합 동역학

항체	pH	ka (1/Ms)	kd (1/s)	Rmax (RU)	농도	K <sub>D</sub> (M)
5E5WT	7.4	3.50E+05	1.79E-05	475	50-0.8nM	5.12E-11
	5.5	3.40E+05	1.70E-05	519	50-0.8nM	4.99E-11
5E5VH5_VLWT	7.4	1.78E+05	3.77E-05	347	50-0.8nM	2.11E-10
	5.5	1.55E+05	2.03E-04	313	50-0.8nM	1.31E-09
5E5VH12_VLWT	7.4	3.93E+05	1.38E-05	420	50-0.8nM	3.51E-11
	5.5	3.66E+05	3.74E-04	413	50-0.8nM	1.02E-09
5E5VHWT_VL8	7.4	7.82E+05	2.84E-05	479	25-0.8nM	3.63E-11
	5.5	7.31E+05	4.06E-05	463	25-0.8nM	5.56E-11
5E5VH5_VL8	7.4	1.77E+05	1.73E-04	309	50-0.8nM	9.75E-10
	5.5	2.11E+05	2.42E-03	183	50-0.8nM	1.14E-08
5E5VH12_VL8	7.4	2.67E+05	1.63E-04	291	50-0.8nM	6.09E-10
	5.5	1.88E+05	1.65E-03	523	50-0.8nM	8.79E-09
5E5VH5VH12_VLWT	7.4	6.16E+04	3.05E-04	220	50-0.8nM	4.96E-09
	5.5	1.56E+05	3.16E-03	381	50-0.8nM	2.02E-08
5E5VH5VH12_VL8	7.4	1.25E+05	2.80E-03	702	50-0.8nM	2.24E-08
	5.5	검출된 결합 없음				

[0247]

[0248]

시험한 모든 scFv-Fc 항체는 pH 7.4에서 인간 ApoC3에 결합시켰고, pH 5.5에서 ApoC3에 대해 친화도가 감소되었다(표 9 참조). 5E5VH5\_VLWT, 5E5VH12\_VLWT, 5E5VH5\_VL8 및 5E5VH12\_VL8은 특히 확연한 pH-의존도를 나타낸다.

[0249]

**실시예 3: 간세포에 의한 VLDL 흡수에 대한 항-ApoC3 항체의 효과.**

[0250]

본 실시예에서, 간세포에 의해 VLDL 흡수를 약화시키는 항-ApoC3 항체의 능력을 결정하였다.

[0251]

간략하게, 24시간 동안 10% FCS로 보충한 완전 최소 필수 배지(Minimum Essential Medium: MEM)에서, 그리고 다른 24시간 동안 0.0125% 소 혈청 알부민(MEM-BSA 배지)을 보충한 완전한 MEM 배지 내 폴리-d-라이신 코팅면 상에서 HepG2 세포(ATCC HB-8065)를 배양시켰다. 신선한 MEM-BSA 배지에서 15분 동안 IgG<sub>1</sub> 형식으로 3 μM 인간 ApoC3 단백질(아테스 리서치 앤드 테크놀로지(Athens Research and Technology)) 및 3 μM의 시험 항체와 함께 세포를 사전 인큐베이션시키고, 그리고 30 μg/ml ApoC3-고갈 DiI-표지된 VLDL(칼렌 바이오메디컬 엘엘씨(Kalen Biomedical, LLC) # 770130-9)를 배지에 첨가하였다. 4주 인큐베이션 후에, 세포를 20분 동안 1% 인트라피드 로 보충한 신선한 완전 MEM과 함께 추가로 인큐베이션시켰다. 15분 동안 실온에서 아이소프로판올로 세포를 용해시키고, 용해물 중의 DiI 표지의 형광을 측정하고(ex=520nm; em=580), 표준 곡선을 이용하여 DiI-표지된 VLDL의 양을 계산하고, 그리고 용해물 중의 총 단백질 양에 기반하여 데이터를 정규화시킴으로써 세포에 의해 취한 DiI-표지 VLDL의 양을 결정하였다. 그래프패드 6(GraphPad Prism 6)을 이용하여 데이터를 그래프로 나타내고, 평균 +/- SEM으로서 보고한다. 그래프패드 프리즘 6을 이용하여 다중 비교로 일원 ANOVA를 계산하였다.

[0252]

도 1a, 도 1b 및 도 1c에 나타난 바와 같이, 5E5WT, 5E5VHWT\_VL8, 5E5VH5\_VLWT, 5E5VH12\_VLWT 및 5E5VH5\_VL8 항체는 HepG2 세포에 의해 VLDL 흡수를 증가시켰다. 특히, 5E5VHWT\_VL8, 5E5VH5\_VLWT, 5E5VH12\_VLWT 및 5E5VH5\_VL8 항체는 모두 ApoC3의 존재하에 VLDL 흡수를 완전히 회복하였다.

[0253]

**실시예 4: 항-ApoC3 항체의 약물동태학 및 약력학.**

[0254]

본 실시예는 인간 ApoC3의 유전자이식 발현에 기인하여 손상된 트라이글리세라이드 청소율을 갖는 마우스 모델을 이용하는 5E5VH5\_VL8 항체의 생체내 특성규명을 기재한다.

[0255]

**4.1 마우스 모델의 생성**

[0256] 표준 음식 식이요법으로 유지한 60 내지 63일령의 야생형 C57BL/6 수컷 마우스를 복강내 투여에 의해 티록신 결합 글로불린(thyroxine binding globulin: TBG) 프로모터(RegenXBio)에 작동 가능하게 연결된 인간 ApoC3 유전자를 보유하는 AAV8 벡터의  $3 \times 10^{11}$  개의 바이러스 입자로 감염시켰다. 투여 12일 후에, 혈액 샘플을 안구 뒤 굴(retro-orbital sinus)로부터 수집하고 나서, 혈액 샘플 중의 인간 ApoC3 수준을 1차 항-ApoC3 항체(에이비캠(Abcam) 토끼 다클론성 항-인간 ApoC3 #ab21032) 및 2차 ApoC3 항체(에이비캠 염소 다클론성 바이오틴-접합체 ApoC3 # ab21024)를 이용하여 ELISA에 의해 측정하였다. 감염 마우스에서, 인간 ApoC3의 평균 혈청 수준은 9.9  $\mu$ M이었다. 4시간 금식 후 평균 순환 트라이글리세라이드 수준은 이들 마우스에서 163mg/dL인 반면, 대조군 마우스에서 평균 순환 트라이글리세라이드 수준은 109mg/dL였다(p=0.0065).

[0257] 이어서, 모든 그룹이 제12일에 유사한 평균 ApoC3 수준을 갖도록 마우스를 그룹화하였다. AAV 감염의 14일 후에, 기준(T=0) ApoC3 수준을 확립하기 위해 안구 뒤 굴로부터 혈액 샘플을 수집하였다. 등쪽 피하 공간에 주사에 의해 각각의 마우스에 시험 항-ApoC3 인간 IgG<sub>1</sub> 항체의 25mg/kg을 투여하였다. 항-암탉 달걀 라이소솜 인간 IgG<sub>1</sub> 항체(HyHEL5)를 아이소타입 대조군으로서 사용하였다. 시험 항체의 투여 후 0, 2, 4, 8 및 24시간에 그리고 그 뒤에 30일 동안 대략 2주마다 안구 뒤 굴로부터 혈액 샘플을 수집하였다. 국립보건원의 실험동물의 관리와 사용에 관한 지침(Guide for the Care and Use of Laboratory Animals of the National Institutes of Health)의 권장사항에 따라 모든 동물 연구를 수행하였다. 바스쿠맵 엘엘씨(Vascumab, LLC)의 실험동물운영위원회에 의해 모든 절차를 승인받았다.

[0258] **4.2 항-ApoC3 항체의 약물동태학**

[0259] 인간 ApoC3을 발현시키는 마우스를 생성하였고, 부문 4.1에 기재한 바와 같이 처리하였다. ELISA 검정으로 인간 IgG<sub>1</sub> 항체의 혈장 수준을 결정하였다. 구체적으로는, PBS 중에서 희석시킨 50 $\mu$ l 1차 IgG 항체(피츠제럴드(Fitzgerald) 41-XG57 염소 항-인간 IgG Fc 다클론성)와 함께 96-웰 플레이트(그레이너(Griener) # 655061)를 4°C에서 밤새 코팅시켰다. 플레이트를 200 $\mu$ l TBS-T로 4회 세척하였고, 30°C에서 90분 동안 PBS 중에서 3% BSA(로슈(Roche) BSA 분획 V 무 프로테아제 # 03 117 332 001) + 맑은 우유(피어스 클리어 밀크 블로커(Pierce Clear Milk Blocker) # 37587)로 이루어진 200 $\mu$ l의 차단 완충제로 차단하였다. 차단 완충제를 제거하고 나서, 차단 완충제 중에서 희석시킨 시험 샘플의 50 $\mu$ l를 첨가하고, 300rpm에서 회전시키면서 실온에서 2시간 동안 인큐베이션시켰다. 플레이트를 200 $\mu$ l TBS-T로 4회 세척하고 나서, 차단 완충제 중에 희석시킨 50 $\mu$ l의 2차 항체(에이비캠 염소 항-인간 IgG-Fc(바이오틴) 다클론성 # ab97223)를 첨가하고, 300rpm에서 회전시키면서 실온에서 1시간 동안 인큐베이션시켰다. 플레이트를 TBS-T로 1회 세척하고, PBS 중에서 100배로 희석시킨 50 $\mu$ l의 SA-HRP(에이비캠 # 64269)를 첨가하고 나서, 300rpm에서 회전시키면서 실온에서 30분 동안 인큐베이션시켰다. 이어서, 플레이트를 200 $\mu$ l의 TBS-T로 4회 세척하고 나서, 80 $\mu$ l의 TMB로 전개시켰다. 50 $\mu$ l의 0.5N HCL에 의해 색원체 반응을 종결시켰다. 흡광도를 450nm의 파장에서 판독하였다. 시험 웰에서 인간 IgG의 양을 정제된 시험 항체를 이용하여 구성된 표준 곡선의 4-모수 적합도(몰레큘러 디바이스즈(Molecular Devices))로부터 계산하였다. 이 방법은 인간 ApoC3을 특이적으로 검출하며, 마우스 ApoC3와 교차반응하지 않는다.

[0260] 도 2a에 나타낸 바와 같이, 5E5 항체는 인간 ApoC3을 발현시키는 마우스에서 빠르게 분해되었다. 이는 ApoC3-함유 지질 입자의 흡수를 통한 ApoC3의 빠른 전환에 의해 설명될 수 있다. 더 낮은 pH에서 ApoC3에 대해 감소된 친화도를 갖는 5E5VH5\_VL8 항체는 산성 세포소기관에서 ApoC3으로부터 해리될 수 있고, 엔도솜 재순환을 통해 혈류로 복귀된다. 5E5VH5\_VL8의 반감기는 약 1주인데, 이는 아이소타입 대조군 항체 HyHel5(마우스에서 특정 항원에 결합하지 않는 항체)의 반감기와 유사하다. 5E5VH5\_VL8의 혈장 수준은 주사 후 약 1개월에 기준으로 복귀되었다. 5E5VH5\_VL8의 연장된 반감기는 혈청 중에서 항체의 치료 수준을 유지하는 데 필요한 낮은 투여 빈도 때문에, 이 항체를 임상 적용분야를 위한 우수한 후보로 만들었다.

[0261] **4.3 항-ApoC3 항체의 약력학**

[0262] 인간 ApoC3을 발현시키는 마우스를 생성하고 나서, 부문 4.1에서 기재한 바와 같이 처리하였다. 인간 ApoC3 및 ApoB의 혈장 수준을 ELISA 검정으로 결정하였다. 구체적으로, 96-웰 플레이트(그레이너 # 655061)를 PBS 중에서 희석시킨 50 $\mu$ l의 1차 ApoC3 항체(에이비캠 토끼 다클론성 항-인간 ApoC3 #ab21032) 또는 50 $\mu$ l의 1차 ApoB 항체(머리디안 라이프 사이언스즈(Meridian Life Sciences) 염소 다클론성 항-인간 ApoB #K45253G)로 4°C에서 밤새 코팅시켰다. 플레이트를 200 $\mu$ l의 TBS-T로 4회 세척하고 나서, 30°C에서 90분 동안 200 $\mu$ l의 차단 완충제(PBS 중의 피어스 클리어 밀크 블로커 # 37587)로 차단하였다. 차단 완충제를 제거하고 나서, 차단 완충제 중에서 희석시킨 시험 샘플의 50 $\mu$ l를 첨가하고, 300rpm에서 회전시키면서 실온에서 2시간 동안 인큐베이션시켰다. 플레이트

를 200 $\mu$ l TBS-T로 4회 세척하고, 차단 완충제 중의 50 $\mu$ l 2차 ApoC3 항체(에이비캠 염소 다클론성 바이오틴-접합체 ApoC3 # ab21024) 또는 2차 ApoB 항체(머리디안 라이프 사이언스 염소 다클론성 바이오틴-접합체 ApoB48/100 # 34003G)를 첨가하고 나서, 300rpm에서 회전시키면서 실온에서 30분 동안 인큐베이션시켰다. 플레이트를 TBS-T로 1회 세척하고, PBS 중에서 100배 희석시킨 50 $\mu$ l의 SA-HRP(에이비캠 # 64269)을 첨가하고 나서, 300rpm에서 회전시키면서 실온에서 1시간 동안 인큐베이션시켰다. 플레이트를 200 $\mu$ l의 TBS-T로 4회 세척하고, 80 $\mu$ l의 TMB(써모 울트라(Thermo Ultra)-TMB ELISA #34028) 다음에 50 $\mu$ l의 0.5N HCL로 전개시켰다. 흡광도를 450nm에서 관독하였다. 정제된 ApoC3(아텐스 리서치 앤드 테크놀로지(Athens Research and Technology))을 이용하여 구성된 표준 곡선의 4-모수 적합도(몰레큘러 디바이시스)로부터 시험 웰에서 ApoC3의 양을 계산하였다. 원심분리에 의해 분리한 마우스 VLDL을 이용하여 구성된 표준 곡선의 4-모수 적합도(몰레큘러 디바이시스)로부터 시험 웰에서 시험 웰에서 ApoB의 양을 계산하였다(ApoB 함량은 총 단백질 함량의 20%인 것으로 추정된다). 데이터를 계산하였고, HyHe15 대조군 항체로 처리한 마우스에서 대응하는 수준에 대한 백분율 값으로서 플롯팅 하였다.

[0263] 도 2b 및 도 2c에 나타난 바와 같이, 5E5 항체는 초기에 인간 ApoC3 및 ApoB의 혈장 수준을 감소시켰지만, 수준은 약 2일 후에 정상으로 복귀되었다. 대조적으로, 5E5VH5\_VL8은 약 1개월 동안 인간 ApoC3 및 ApoB의 혈장 수준을 감소시켰다. 효능의 이런 긴 지속기간은 5E5VH5\_VL8의 긴 반감기와 일치되었는데, 이는 5E5VH5\_VL8이 우수한 임상 후보라는 것을 확인하였다.

[0264] **실시예 5: 항-ApoC3 항체에 의한 공복 트라이글리세라이드 수준 및 순환 식후 트라이글리세라이드 수준의 감소.**

[0265] 본 실시예는 인간 ApoC3의 유전자이식 발현에 기인하여 손상된 트라이글리세라이드 청소율을 갖는 마우스 모델을 이용하여 5E5VH5\_VL8에 의한 공복 트라이글리세라이드 수준 및 순환 식후 트라이글리세라이드 수준의 감소를 기재한다.

[0266] 표준 음식 식이요법으로 유지한 60 내지 63일령의 야생형 C57BL/6 수컷 마우스를 복강내 투여에 의해 티록신 결합 글로불린(TBG) 프로모터(RegenXBio)에 작동 가능하게 연결된 인간 ApoC3 유전자를 보유하는 AAV8 벡터의  $3 \times 10^{11}$ 개의 바이러스 입자로 감염시켰다. 투여 14일 후에, 혈액 샘플을 안구 뒤 굴로부터 수집하고 나서, 혈액 샘플 중의 인간 ApoC3 수준을 1차 항-ApoC3 항체(에이비캠 토끼 다클론성 항-인간 ApoC3 #ab21032) 및 2차 ApoC3 항체(에이비캠 염소 다클론성 바이오틴-접합체 ApoC3 # ab21024)를 이용하여 ELISA에 의해 측정하였다. 이어서, 모든 그룹이 제14일에 유사한 평균 ApoC3 수준을 갖도록 그룹화하였다.

[0267] 제17일에, 혈액 샘플을 안구 뒤 굴로부터 수집하였고, 마우스를 섭식 상태에서 5E5VH5\_VL8 또는 HyHe15 대조군 항체의 30mg/kg로 피하로 주사하였다(t=-24 시간). 다른 6시간 동안 음식 식이요법을 제공한 후에, 마우스를 18시간 동안 금식시키고, t=0에서 혈액 샘플을 안구 뒤 굴로부터 수집하였다. 이어서, 마우스를 올리브유의 10ml/kg 경구 볼루스로 시험감염시켰다. 안구 뒤 굴 혈액 샘플을 올리브유 시험감염 후 1, 2, 3 및 4시간에 얻었다.

[0268] 써모 사이언티픽(Thermo Scientific)(상표명) 트라이글리세라이드 시약(TR22421)을 이용하는 비색 검정에 의해 혈장 트라이글리세라이드 수준을 결정하였다. 간략하게, 10 $\mu$ l의 희석 혈장 샘플을 37 $^{\circ}$ C에서 10분 동안 맑은 96 웰 플레이트(코닝 코스타(Corning Costar) 9017)에서 180 $\mu$ l의 트라이글리세라이드 시약과 함께 인큐베이션시켰다. 540nm에서 흡광도를 스펙트럼맥스 M2(Spectramax M2)(몰레큘러 디바이시스) 상에서 관독하고 나서, 글리세롤 표준 곡선의 선형 적합도(소프트맥스 프로(Softmax Pro), 몰레큘러 디바이시스)로부터 트라이글리세라이드 농도를 계산하였다. 그래프패드 프리즘 6를 이용하여 혈장 트라이글리세라이드에 대한 곡선하면적(area under the curve: AUC) 값을 계산하였다. 상기 부분 4.2에 기재한 방법에 의해 ApoC3 수준을 결정하였다.

[0269] 도 3A에 나타난 바와 같이, 24시간 동안 5E5VH5\_VL8로 처리한 마우스에서 공복 트라이글리세라이드 수준은 HyHe15 대조군 항체로 처리한 마우스에서의 수준보다 상당히 더 낮았다(22%만큼, p=0.004). 올리브유 시험감염 후, 5E5VH5\_VL8로 처리한 마우스는 혈장 트라이글리세라이드 수준(도 3B)에서 더 낮은 증가를 나타내었고, 평균 AUC 값은 HyHe15 대조군 항체로 처리한 마우스에 비해 47%만큼 감소되었다(p=0.04)(도 3C). 인간 ApoC3의 순환 수준은 또한 HyHe15 대조군 항체로 처리한 마우스에 비해 5E5VH5\_VL8로 처리한 마우스에서 상당히 감소되었다(올리브유 투약 후 t=0, 1, 2, 3 및 4에서의 p 값 <0.001)(도 3D).

[0270] \* \* \*

[0271] 본 발명은 본 명세서에 기재된 특정 실시형태에 의해 범주가 제한되어서는 안 된다. 사실, 기재된 것에 추가로 본 발명의 다양한 변형은 앞서 언급한 설명 및 수반하는 도면으로부터 당업자에게 명백할 것이다. 이러한 변형

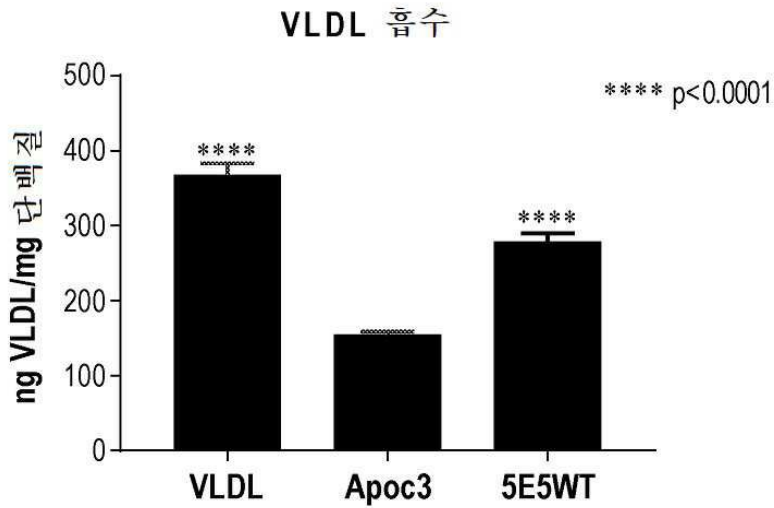
은 첨부하는 청구범위의 범주 내에 속하는 것으로 의도된다.

[0272] 본 명세서에 인용된 모든 참고문헌(예를 들어, 간행물 또는 특허 또는 특허 출원)은 본 명세서에 그들의 전문이 참고로 그리고 각각의 개개 참고문헌(예를 들어, 간행물 또는 특허 또는 특허 출원)이 모든 목적을 위해 그의 전문이 참고로 편입되는 것으로 구체적이고 개별적으로 표시되는 것과 동일한 정도로 편입된다.

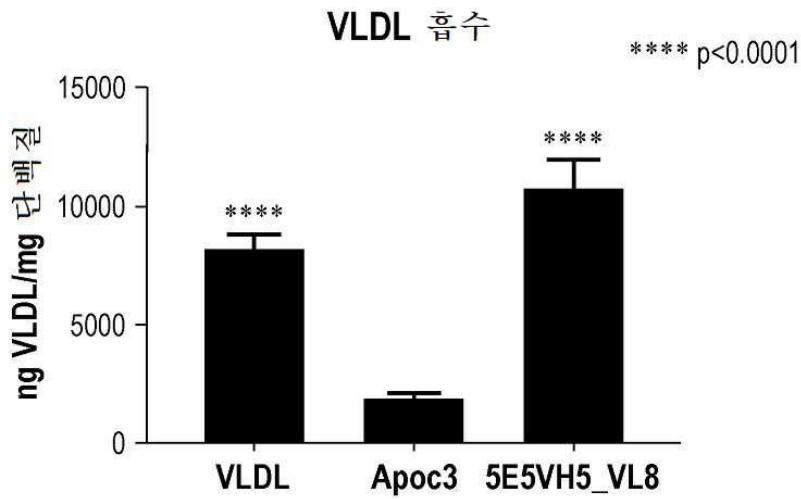
[0273] 다른 실시형태는 다음의 청구범위 내이다.

**도면**

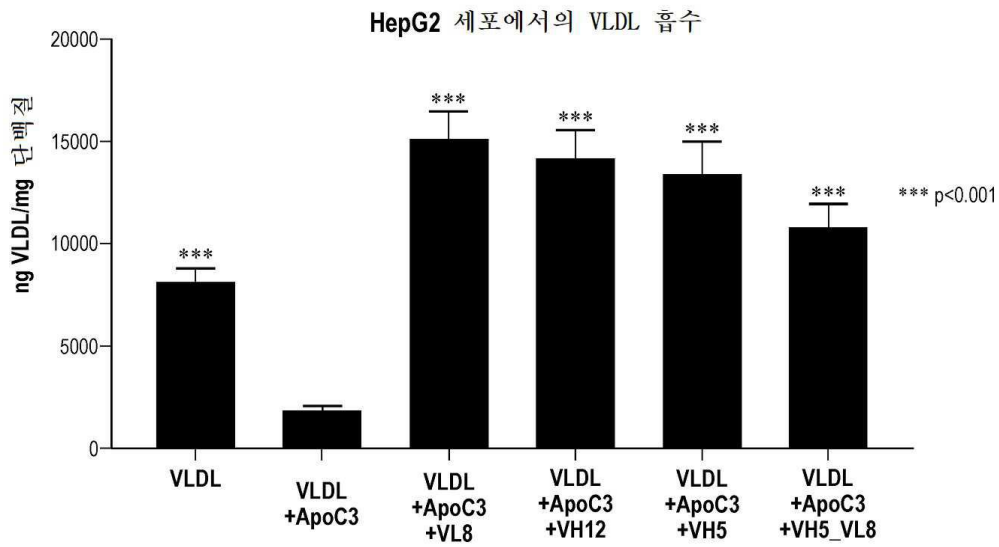
**도면1a**



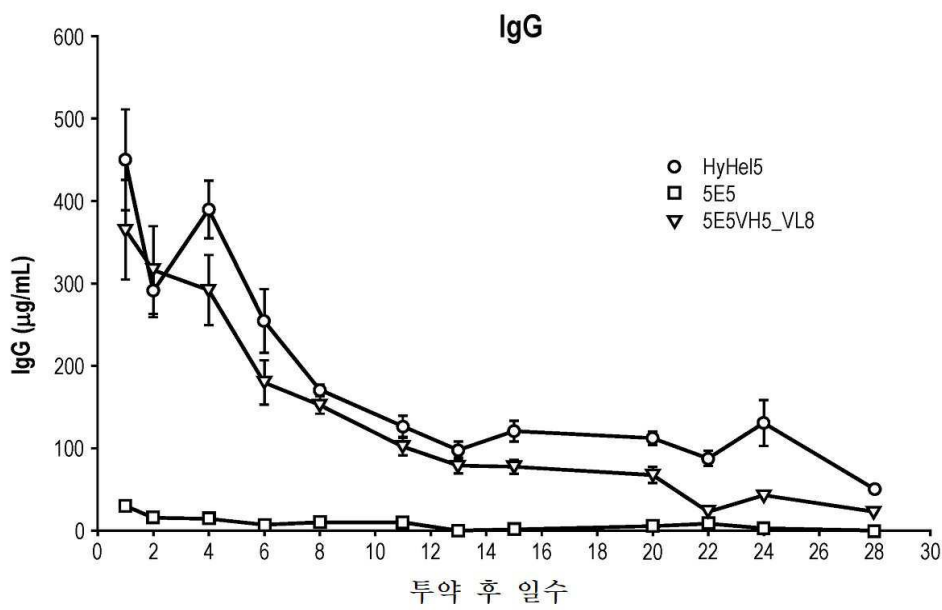
**도면1b**



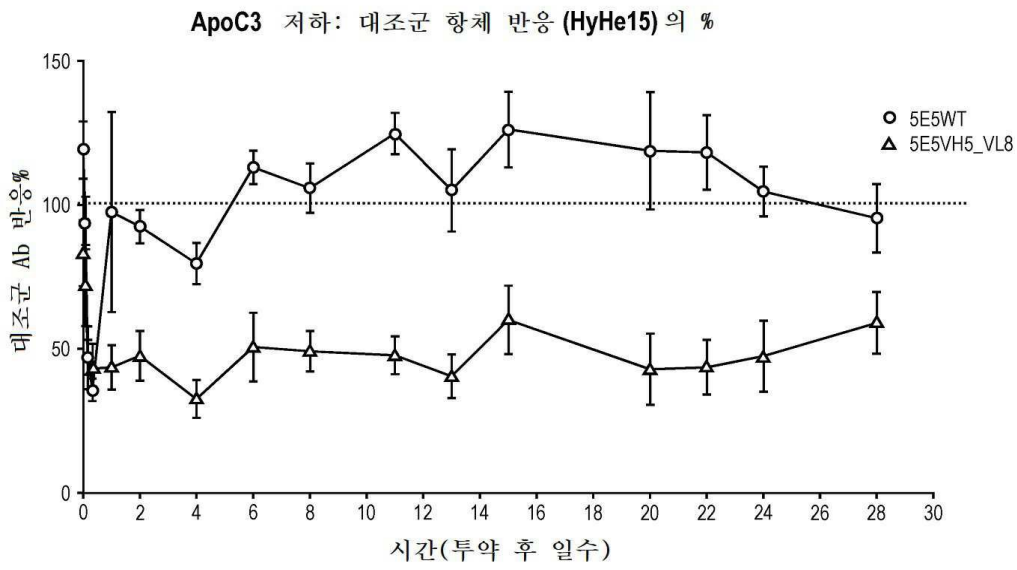
도면1c



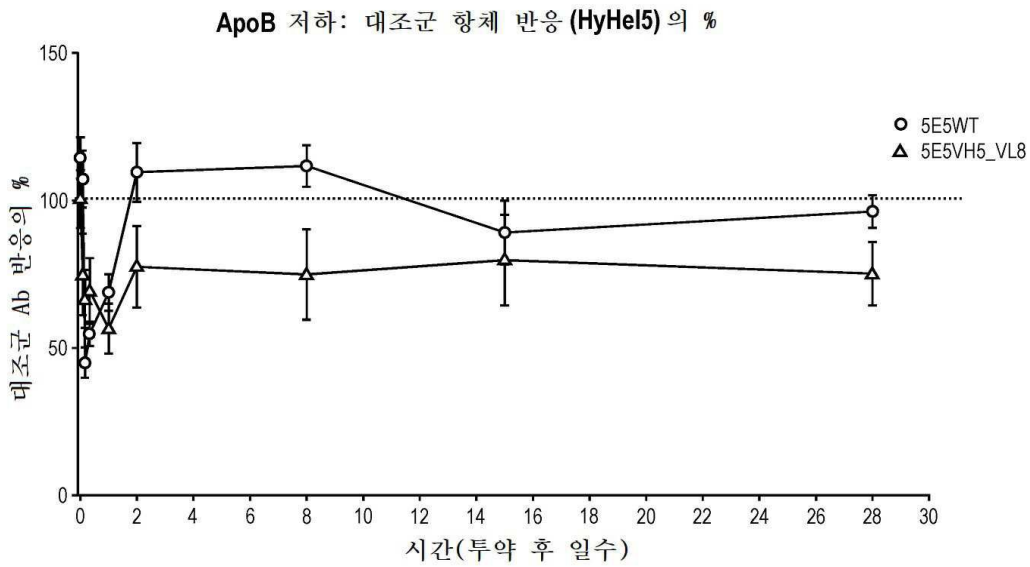
도면2a



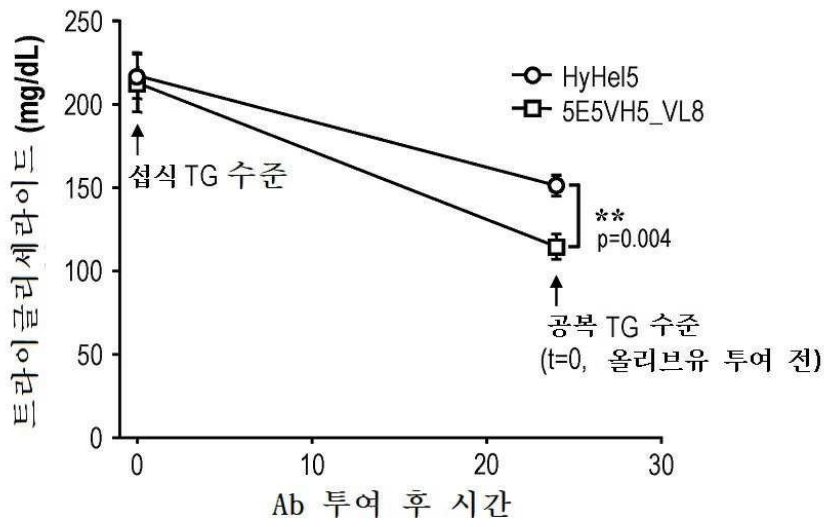
도면2b



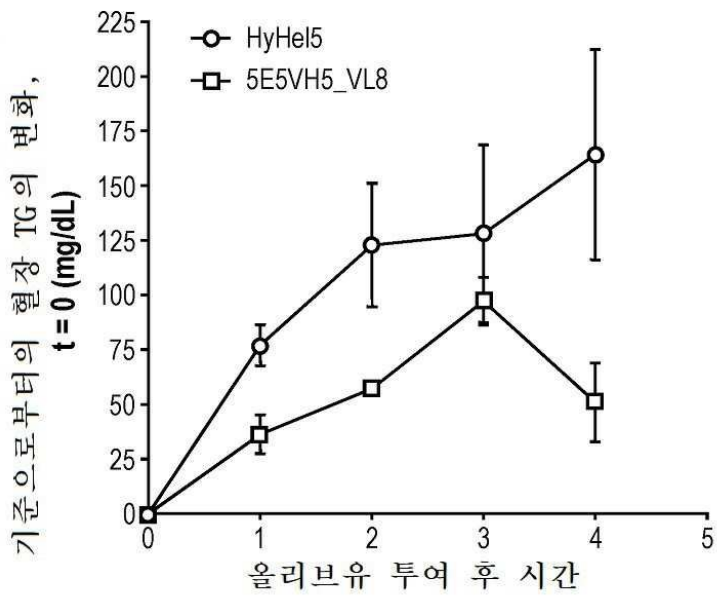
도면2c



도면3ab



**A**



**B**

도면3cd

