



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 111315775 A

(43)申请公布日 2020.06.19

(21)申请号 201880070810.0

(74)专利代理机构 北京市柳沈律师事务所

(22)申请日 2018.11.08

11105

(30)优先权数据

62/584,637 2017.11.10 US

代理人 张文辉

(85)PCT国际申请进入国家阶段日

(51)Int.Cl.

2020.04.29

C07K 16/26(2006.01)

A61K 39/395(2006.01)

(86)PCT国际申请的申请数据

PCT/US2018/059734 2018.11.08

(87)PCT国际申请的公布数据

W02019/094533 EN 2019.05.16

(71)申请人 恩格姆生物制药公司

地址 美国加利福尼亚州

(72)发明人 储淳 丁训山 刘中豪 王雁

尹轶苑 翟文武

权利要求书6页 说明书47页

序列表26页 附图8页

(54)发明名称

ANGPTL8-结合剂及其使用方法

(57)摘要

本公开提供了特异性地结合血管生成素样蛋白8(ANGPTL8),包括人类ANGPTL8的结合剂,如抗体,以及所述结合剂的使用方法。

重链可变区序列比对

	1	10	22	31-35	40	50-a-----60-----65
Kabat	1	10	22	26-----35	40	50-a-----58 65
AbM	1	10	22	26-----32	40	a-55 65
Chothia	1	10	22	26-----30	40	47-----a-----58 65
Contact	1	10	22	30-35	40	56-----65 74
IMGT	1		23	27-----38	41	56-----65 74
Alon	1		23	27	42	57 76

1E5 QVQLQQSGAELVKPFGTSVRLCKAS GYTFTTDYTHI WVKLRSQGLEWIG WYPPGSINIKYNAKFRD
 1E9 QVQLQQSGTSLVKPFGASVVLCKAS GYTFTTDYTHI WVKQRSGQGLEWIG WYPPGSINIKFHAKFRD
 1A8 QVQLQQSGAELVKPFGASVVLCKAS GYTFTTDYTHI WVKQRSGQGLEWIG WYPPGSINIKYHEKFRD
 共有序列 GYTFTTDYTHI WVKQRSGQGLEWIG WYPPGSINIKXQKXKFRD
 (SEQ ID NO:11) (SEQ ID NO:58)

	70	80	abc	90	95-----102	110
Kabat	70	80	abc	90	95-----102	110
AbM	70	80	abc	90	95-----102	110
Chothia	70	80	abc	90	95-----102	110
Contact	70	80	abc	90	93-----101	110
IMGT	75			89	105-----117	
Alon					109	138

1E5 KATLTADKSSTVYMDLGRLTSEDSAVYFCAR HEAFSYYDVANWFAY WGQGTLTVVSA (SEQ ID NO:35)
 1E9 KATLTADKSSTVYMDLGRLTSEDSAVYFCAR HEAFYVYDVANFAH WGQGTLTVVST (SEQ ID NO:44)
 1A8 KATLTADKSSTVYMDLGRLTSEDSAVYFCAR HEAFYVYDVANFAH WGQGTLTVVSA (SEQ ID NO:56)
 共有序列 HEAOXXYDVANFAH
 (SEQ ID NO:59)

1. 一种抗体或其抗原结合片段,所述抗体或其抗原结合片段与参照抗体竞争结合至血管生成素样蛋白8(ANGPTL8),其中所述参照抗体包含:

(a) 重链CDR1,所述重链CDR1包含GYTFTDYTIH (SEQ ID N0:11);重链CDR2,所述重链CDR2包含WFYPGSDNIKX₁NX₂KFX₃D,其中X₁为Y或F,X₂为A或E并且X₃为K或R (SEQ ID N 0:58);和重链CDR3,所述重链CDR3包含HEAX₁X₂X₃YDVAWFAX₄,其中X₁为F或Y,X₂为S或Y,X₃为Y或V并且X₄为Y或N (SEQ ID N0:59);和/或

(b) 轻链CDR1,所述轻链CDR1包含X₁SSQSLVHSNGNTX₂LH,其中X₁为R或S并且X₂为Y或F (SEQ ID N0:60);轻链CDR2,所述轻链CDR2包含TVSNRFS (SEQ ID N0:29);和轻链CDR3,所述轻链CDR3包含SQX₁THFPYT,其中X₁为T或S (SEQ ID N0:61)。

2. 一种抗体或其抗原结合片段,所述抗体或其抗原结合片段结合ANGPTL8上由参照抗体识别的表位,其中所述参照抗体包含:

(a) 重链CDR1,所述重链CDR1包含GYTFTDYTIH (SEQ ID N0:11);重链CDR2,所述重链CDR2包含WFYPGSDNIKX₁NX₂KFX₃D,其中X₁为Y或F,X₂为A或E并且X₃为K或R (SEQ ID N 0:58);和重链CDR3,所述重链CDR3包含HEAX₁X₂X₃YDVAWFAX₄,其中X₁为F或Y,X₂为S或Y,X₃为Y或V并且X₄为Y或N (SEQ ID N0:59);和/或

(b) 轻链CDR1,所述轻链CDR1包含X₁SSQSLVHSNGNTX₂LH,其中X₁为R或S并且X₂为Y或F (SEQ ID N0:60);轻链CDR2,所述轻链CDR2包含TVSNRFS (SEQ ID N0:29);和轻链CDR3,所述轻链CDR3包含SQX₁THFPYT,其中X₁为T或S (SEQ ID N0:61)。

3. 如权利要求1或权利要求2所述的抗体或其抗原结合片段,其中所述参照抗体包含:

(a) 包含SEQ ID N0:11、12、13、14或15的重链CDR1;包含SEQ ID N0:16、17、18、19或20的重链CDR2;和包含SEQ ID N0:21、22、23或24的重链CDR3;以及

(b) 包含SEQ ID N0:25、26、27或28的轻链CDR1;包含SEQ ID N0:29、30或31的轻链CDR2;和包含SEQ ID N0:32、33或34的轻链CDR3。

4. 如权利要求1或权利要求2所述的抗体或其抗原结合片段,其中所述参照抗体包含:

(a) 包含SEQ ID N0:11、12、13、14或15的重链CDR1;包含SEQ ID N0:37、17、18、19或20的重链CDR2;和包含SEQ ID N0:38、39、68或69的重链CDR3;以及

(b) 包含SEQ ID N0:25、26、27或40的轻链CDR1;包含SEQ ID N0:29、30或31的轻链CDR2;和包含SEQ ID N0:41、42或43的轻链CDR3。

5. 如权利要求1或权利要求2所述的抗体或其抗原结合片段,其中所述参照抗体包含:

(a) 包含SEQ ID N0:11、12、13、14或15的重链CDR1;包含SEQ ID N0:46、17、18、47或20的重链CDR2;和包含SEQ ID N0:48、49、50或51的重链CDR3;以及

(b) 包含SEQ ID N0:52、53、54或55的轻链CDR1;包含SEQ ID N0:29、30或31的轻链CDR2;和包含SEQ ID N0:41、42或43的轻链CDR3。

6. 如权利要求1至5中任一项所述的抗体或其抗原结合片段,其中所述参照抗体还包含:(a) 重链可变区FR1、重链可变区FR2、重链可变区FR3和重链可变区FR4;以及 (b) 轻链可变区FR1、轻链可变区FR2、轻链可变区FR3和轻链可变区FR4。

7. 如权利要求1至6中任一项所述的抗体或其抗原结合片段,其中所述参照抗体包含:包含SEQ ID N0:25、44、56或62的重链可变区和包含SEQ ID N0:26、45、57或63的轻链可变区。

8. 如权利要求7所述的抗体或其抗原结合片段,其中所述参照抗体包含:包含SEQ ID NO:25的重链可变区和包含SEQ ID NO:26的轻链可变区。

9. 如权利要求7所述的抗体或其抗原结合片段,其中所述参照抗体包含:包含SEQ ID NO:44的重链可变区和包含SEQ ID NO:45的轻链可变区。

10. 如权利要求7所述的抗体或其抗原结合片段,其中所述参照抗体包含:包含SEQ ID NO:56的重链可变区和包含SEQ ID NO:57的轻链可变区。

11. 如权利要求7所述的抗体或其抗原结合片段,其中所述参照抗体包含:包含SEQ ID NO:62的重链可变区和包含SEQ ID NO:63的轻链可变区。

12. 如权利要求1至11中任一项所述的抗体或其抗原结合片段,其中所述参照抗体结合ANGPTL8的N端区,其中所述N端区包含SEQ ID NO:3。

13. 如权利要求1至11中任一项所述的抗体或其抗原结合片段,其中所述参照抗体结合ANGPTL8的N端区,其中所述N端区包含SEQ ID NO:6。

14. 如权利要求1至11中任一项所述的抗体或其抗原结合片段,其中所述参照抗体结合ANGPTL8的N端区,其中所述N端区包含SEQ ID NO:7。

15. 如权利要求1至11中任一项所述的抗体或其抗原结合片段,其中所述参照抗体结合ANGPTL8的N端区,其中所述N端区包含SEQ ID NO:8。

16. 一种特异性地结合人类ANGPTL8的N端区的抗体或其抗原结合片段,其中所述N端区包含SEQ ID NO:1的氨基酸25-60,并且其中所述抗体在受试者中(i)降低甘油三酯水平,(ii)减少LDL胆固醇,和/或(iii)增加HDL胆固醇。

17. 一种特异性地结合人类ANGPTL8的抗体或其抗原结合片段,所述抗体或其抗原结合片段包含:

(a) 重链CDR1,所述重链CDR1包含GYTFTDVTIH (SEQ ID NO:11);重链CDR2,所述重链CDR2包含WFYPGSDNIKX1NX2K FX3D,其中X1为Y或F,X2为A或E并且X3为K或R (SEQ ID NO:58);和重链CDR3,所述重链CDR3包含HEAX1X2X3YDVA WFAX4,其中X1为F或Y,X2为S或Y,X3为Y或V并且X4为Y或N (SEQ ID NO:59);和/或

(b) 轻链CDR1,所述轻链CDR1包含X1SSQSLVHSNGNTX2L H,其中X1为R或S并且X2为Y或F (SEQ ID NO:60);轻链CDR2,所述轻链CDR2包含TVSNRFS (SEQ ID NO:29);和轻链CDR3,所述轻链CDR3包含SQX1THFPYT,其中X1为T或S (SEQ ID NO:61)。

18. 如权利要求16或权利要求17所述的抗体或其抗原结合片段,所述抗体或其抗原结合片段包含:

(a) 包含SEQ ID NO:11、12、13、14或15的重链CDR1;包含SEQ ID NO:16、17、18、19或20的重链CDR2;和包含SEQ ID NO:21、22、23或24的重链CDR3;以及

(b) 包含SEQ ID NO:25、26、27或28的轻链CDR1;包含SEQ ID NO:29、30或31的轻链CDR2;和包含SEQ ID NO:32、33或34的轻链CDR3。

19. 如权利要求16或权利要求17所述的抗体或其抗原结合片段,所述抗体或其抗原结合片段包含:

(a) 包含SEQ ID NO:11、12、13、14或15的重链CDR1;包含SEQ ID NO:37、17、18、19或20的重链CDR2;和包含SEQ ID NO:38、39、68或69的重链CDR3;以及

(b) 包含SEQ ID NO:25、26、27或40的轻链CDR1;包含SEQ ID NO:29、30或31的轻链

CDR2;和包含SEQ ID NO:41、42或43的轻链CDR3。

20. 如权利要求16或权利要求17所述的抗体或其抗原结合片段,所述抗体或其抗原结合片段包含:

(a) 包含SEQ ID NO:11、12、13、14或15的重链CDR1;包含SEQ ID NO:46、17、18、47或20的重链CDR2;和包含SEQ ID NO:48、49、50或51的重链CDR3;以及

(b) 包含SEQ ID NO:52、53、54或55的轻链CDR1;包含SEQ ID NO:29、30或31的轻链CDR2;和包含SEQ ID NO:41、42或43的轻链CDR3。

21. 如权利要求17至20中任一项所述的抗体或其抗原结合片段,所述抗体或其抗原结合片段还包含:(a) 重链FR1、重链FR2、重链FR3和重链FR4;和/或(b) 轻链FR1、轻链FR2、轻链FR3和轻链FR4。

22. 如权利要求16或权利要求17所述的抗体或其抗原结合片段,所述抗体或其抗原结合片段包含:

(a) 与SEQ ID NO:35、44、56或62具有至少90%序列同一性的重链可变区;和/或

(b) 与SEQ ID NO:36、45、57或63具有至少90%序列同一性的轻链可变区。

23. 如权利要求22所述的抗体或其抗原结合片段,所述抗体或其抗原结合片段包含与SEQ ID NO:35具有至少95%序列同一性的重链可变区和与SEQ ID NO:36具有至少95%序列同一性的轻链可变区。

24. 如权利要求22所述的抗体或其抗原结合片段,所述抗体或其抗原结合片段包含与SEQ ID NO:44具有至少95%序列同一性的重链可变区和与SEQ ID NO:45具有至少95%序列同一性的轻链可变区。

25. 如权利要求22所述的抗体或其抗原结合片段,所述抗体或其抗原结合片段包含与SEQ ID NO:56具有至少95%序列同一性的重链可变区和与SEQ ID NO:57具有至少95%序列同一性的轻链可变区。

26. 如权利要求22所述的抗体或其抗原结合片段,所述抗体或其抗原结合片段包含与SEQ ID NO:62具有至少95%序列同一性的重链可变区和与SEQ ID NO:63具有至少95%序列同一性的轻链可变区。

27. 如权利要求22所述的抗体或其抗原结合片段,所述抗体或其抗原结合片段包含:包含SEQ ID NO:35的重链可变区和包含SEQ ID NO:36的轻链可变区。

28. 如权利要求22所述的抗体或其抗原结合片段,所述抗体或其抗原结合片段包含:包含SEQ ID NO:44的重链可变区和包含SEQ ID NO:45的轻链可变区。

29. 如权利要求22所述的抗体或其抗原结合片段,所述抗体或其抗原结合片段包含:包含SEQ ID NO:56的重链可变区和包含SEQ ID NO:57的轻链可变区。

30. 如权利要求22所述的抗体或其抗原结合片段,所述抗体或其抗原结合片段包含:包含SEQ ID NO:62的重链可变区和包含SEQ ID NO:63的轻链可变区。

31. 一种特异性地结合ANGPTL8的抗体或其抗原结合片段,所述抗体或其抗原结合片段包含来自以下抗体的重链CDR1、CDR2和CDR3和/或轻链CDR1、CDR2和CDR3:

(a) 命名为1E5的抗体,所述抗体包含:包含SEQ ID NO:35的重链可变区和包含SEQ ID NO:36的轻链可变区;

(b) 命名为1E9的抗体,所述抗体包含:包含SEQ ID NO:44的重链可变区和包含SEQ ID

NO:45的轻链可变区;或

(c) 命名为1A8的抗体,所述抗体包含:包含SEQ ID NO:56的重链可变区和包含SEQ ID NO:57的轻链可变区。

32. 如权利要求31所述的抗体或其抗原结合片段,所述抗体或其抗原结合片段包含来自包含SEQ ID NO:35的重链可变区的CDR1、CDR2和CDR3和来自包含SEQ ID NO:36的轻链可变区的CDR1、CDR2和CDR3。

33. 如权利要求31所述的抗体或其抗原结合片段,所述抗体或其抗原结合片段包含来自包含SEQ ID NO:44的重链可变区的CDR1、CDR2和CDR3和来自包含SEQ ID NO:45的轻链可变区的CDR1、CDR2和CDR3。

34. 如权利要求31所述的抗体或其抗原结合片段,所述抗体或其抗原结合片段包含来自包含SEQ ID NO:56的重链可变区的CDR1、CDR2和CDR3和来自包含SEQ ID NO:57的轻链可变区的CDR1、CDR2和CDR3。

35. 一种特异性地结合ANGPTL8的抗体或其抗原结合片段,其中所述抗体包含:

- (a) 包含表1-表3中所示的CDR1、CDR2和CDR3氨基酸序列的重链可变区;和/或
- (b) 包含表1-表3中所示的CDR1、CDR2和CDR3氨基酸序列的轻链可变区。

36. 一种特异性地结合ANGPTL8的抗体,所述抗体包含SEQ ID NO:64的重链和SEQ ID NO:65的轻链。

37. 如权利要求1至36中任一项所述的抗体或其抗原结合片段,其中所述抗体是单克隆抗体。

38. 如权利要求1至37中任一项所述的抗体或其抗原结合片段,其中所述抗体是人源化抗体、人类抗体或嵌合抗体。

39. 如权利要求1至38中任一项所述的抗体或其抗原结合片段,所述抗体或其抗原结合片段是Fab、Fab'、F(ab')₂、Fv、scFv、(scFv)₂、单链抗体、双可变区抗体、单可变区抗体、线性抗体、V区、双特异性抗体或多特异性抗体。

40. 如权利要求1至39中任一项所述的抗体或其抗原结合片段,所述抗体或其抗原结合片段缀合至可检测标记物。

41. 如权利要求40所述的抗体或其抗原结合片段,其中所述可检测标记物选自放射性同位素、金属螯合剂、酶、荧光化合物、生物发光化合物和化学发光化合物。

42. 如权利要求1至39中任一项所述的抗体或其抗原结合片段,所述抗体或其抗原结合片段缀合至细胞毒性剂。

43. 如权利要求1至39中任一项所述的抗体或其抗原结合片段,所述抗体或其抗原结合片段是ANGPTL8的拮抗剂。

44. 如权利要求1至39中任一项所述的抗体或其抗原结合片段,所述抗体或其抗原结合片段抑制ANGPTL8活性。

45. 如权利要求1至39中任一项所述的抗体或其抗原结合片段,所述抗体或其抗原结合片段降低甘油三酯水平。

46. 如权利要求1至39中任一项所述的抗体或其抗原结合片段,所述抗体或其抗原结合片段降低LDL胆固醇水平。

47. 如权利要求1至39中任一项所述的抗体或其抗原结合片段,所述抗体或其抗原结合

片段提高HDL胆固醇水平。

48. 一种药物组合物,所述药物组合物包含如权利要求1至42中任一项所述的抗体或其抗原结合片段和药学上可接受的载体。

49. 一种分离的多核苷酸分子,所述分离的多核苷酸分子编码如权利要求1至39中任一项所述的抗体。

50. 一种载体,所述载体包含如权利要求49所述的多核苷酸。

51. 一种分离的细胞,所述分离的细胞包含如权利要求49所述的多核苷酸或如权利要求50所述的载体。

52. 一种宿主细胞,所述宿主细胞产生如权利要求1至39中任一项所述的抗体。

53. 一种杂交瘤,所述杂交瘤产生如权利要求37所述的单克隆抗体。

54. 一种转基因动物,所述转基因动物产生如权利要求1至39中任一项所述的抗体。

55. 一种结合剂,所述结合剂与如权利要求1至39中任一项所述的抗体结合ANGPTL8上基本上相同的表位。

56. 一种特异性地结合ANGPTL8的结合剂,所述结合剂包括支架蛋白并且包含如表1-表3中所示的一个或多个CDR。

57. 一种结合剂,所述结合剂与如权利要求1至39中任一项所述的抗体竞争结合至ANGPTL8。

58. 一种降低具有升高的甘油三酯水平的受试者中的甘油三酯水平的方法,所述方法包括向所述受试者施用治疗有效量的如权利要求1至39中任一项所述的抗体或其抗原结合片段。

59. 一种治疗受试者的与升高的甘油三酯水平相关联的疾病或病症的方法,所述方法包括向所述受试者施用治疗有效量的如权利要求1至39中任一项所述的抗体或其抗原结合片段。

60. 如权利要求59所述的方法,其中所述疾病或病症是代谢综合征、肥胖症、糖尿病、心血管疾病、高脂血症、高甘油三酯血症、胰腺炎、肾脏疾病或甲状腺功能减退。

61. 如权利要求58至60中任一项所述的方法,其中所述升高的甘油三酯水平是升高的血浆甘油三酯水平。

62. 如权利要求61所述的方法,其中所述升高的血浆甘油三酯水平为150mg/dL或更高。

63. 如权利要求61所述的方法,其中所述升高的血浆甘油三酯水平为约150至约200mg/dL。

64. 如权利要求61所述的方法,其中所述升高的血浆甘油三酯水平为约200至约500mg/dL。

65. 如权利要求61所述的方法,其中所述升高的血浆甘油三酯水平为约500或更高。

66. 如权利要求58至65中任一项所述的方法,其中与所述施用抗体之前所述受试者中的甘油三酯水平相比,所述升高的甘油三酯水平降低了至少5%。

67. 如权利要求58至65中任一项所述的方法,其中与所述施用抗体之前所述受试者中的甘油三酯水平相比,所述升高的甘油三酯水平降低了至少10%。

68. 如权利要求58至65中任一项所述的方法,其中与所述施用抗体之前所述受试者中的甘油三酯水平相比,所述升高的甘油三酯水平降低了约10%-15%。

69. 如权利要求58至65中任一项所述的方法,其中与所述施用抗体之前所述受试者中的甘油三酯水平相比,所述升高的甘油三酯水平降低了约10%-20%。

70. 如权利要求58至65中任一项所述的方法,其中与所述施用抗体之前所述受试者中的甘油三酯水平相比,所述升高的甘油三酯水平降低了约20%-30%。

71. 如权利要求58至65中任一项所述的方法,其中与所述施用抗体之前所述受试者中的甘油三酯水平相比,所述升高的甘油三酯水平降低了超过25%。

72. 一种提高受试者中的HDL胆固醇水平的方法,所述方法包括向所述受试者施用治疗有效量的如权利要求1至39中任一项所述的抗体或其抗原结合片段。

73. 一种降低受试者中的LDL胆固醇水平的方法,所述方法包括向所述受试者施用治疗有效量的如权利要求1至39中任一项所述的抗体或其抗原结合片段。

74. 如权利要求58至73中任一项所述的方法,其中所述受试者是超重或肥胖的。

75. 如权利要求58至74中任一项所述的方法,其中向所述受试者施用一种或多种另外的治疗剂。

76. 如权利要求75所述的方法,其中所述治疗剂选自由以下组成的组:贝特类药物、他汀类药物、 ω -3脂肪酸和烟酸。

77. 如权利要求1至39中任一项所述的抗体或其抗原结合片段在制造用于降低甘油三酯水平的药剂中的用途。

78. 如权利要求1至39中任一项所述的抗体或其抗原结合片段在制造用于治疗与升高的甘油三酯水平相关联的疾病或病症的药剂中的用途。

79. 如权利要求1至39中任一项所述的抗体或其抗原结合片段在制造用于提高HDL胆固醇水平的药剂中的用途。

80. 如权利要求1至39中任一项所述的抗体或其抗原结合片段在制造用于降低LDL胆固醇水平的药剂中的用途。

ANGPTL8-结合剂及其使用方法

[0001] 相关申请的交叉引用

[0002] 本申请要求2017年11月10日提交的美国序列号62/584,637的优先权的权益,所述文献以引用方式整体并入本文。

发明领域

[0003] 本公开总体上涉及结合血管生成素样蛋白8 (ANGPTL8) 的剂,特别地是结合人类 ANGPTL8的抗体,以及使用所述剂的治疗方法。

背景技术

[0004] 血管生成素样蛋白8 (ANGPTL8) 是ANGPTL家族成员,与甘油三酯和葡萄糖代谢有关。ANGPTL8在文献中也称为betatrophin、lipasin、TD26、RIFL (再喂养诱导型脂肪和肝脏蛋白) 和C19orf80。ANGPTL8由肝脏产生并产生于白色脂肪组织,并且在血液中循环。ANGPTL8被视为餐后脂肪酸向脂肪组织运输的介体和餐后葡萄糖代谢的调节剂,但其作用机制仍不清楚。ANGPTL8的过表达与升高的甘油三酯水平相关联。(参见例如Santulli G, 2014, *Frontiers in Endocrinology*, 5:1-6; Zhang R和Abou-Samra AB, 2014, *Cardiovascular Diabetology*, 13:133)。

[0005] 血液甘油三酯水平升高和高甘油三酯血症是导致心血管疾病的重要因素。甘油三酯水平升高也可能是增加个人总体心脏病风险的疾患的征象和促成因素,这些疾患可包括肥胖症、代谢综合征、体脂过多、高血压、高血糖和胆固醇水平异常。此外,高甘油三酯水平还导致患2型糖尿病控制不佳、甲状腺功能减退、肝脏疾病、肾脏疾病和遗传性代谢障碍的受试者的健康状况下降。甘油三酯水平升高是常规处方药剂(如β阻滞剂、节育剂、利尿剂、类固醇)和某些癌症治疗(如他莫昔芬)的常见副作用,这使相关疾患治疗进一步复杂化。

[0006] 尽管存在可降低受试者中升高甘油三酯水平的可用治疗剂,但是需要有效降低升高甘油三酯水平的新剂。此外,需要可用于与升高甘油三酯水平、高LDL胆固醇水平和/或低HDL胆固醇水平相关联的多种疾病和病症的治疗方法中的剂。

发明内容

[0007] 本公开提供了结合至ANGPTL8和/或与ANGPTL8相互作用的剂。所述剂可包括但不限于特异性地结合ANGPTL8的多肽,如抗体。此类剂可结合ANGPTL8、ANGPTL8片段、ANGPTL8肽和/或ANGPTL8表位。这些试剂在本文中可称为“ANGPTL8结合试剂”。在一些实施方案中,所述剂是ANGPTL8拮抗剂。在一些实施方案中,所述剂是ANGPTL8激动剂。本公开提供了使用所述剂的方法。在一些实施方案中,所述剂用于降低甘油三酯水平。在一些实施方案中,所述剂用于治疗与升高的甘油三酯水平相关联的疾病或病症。在一些实施方案中,所述疾病或病症包括但不限于高甘油三酯血症、代谢综合征、动脉粥样硬化、肥胖症、糖尿病、甲状腺功能减退症、急性胰腺炎、肝脏疾病或肾脏疾病。在一些实施方案中,所述剂用于提高HDL胆固醇水平。在一些实施方案中,所述剂用于降低LDL胆固醇水平。在一些实施方案中,所述剂

与至少一种另外的治疗剂组合使用。

[0008] 本公开还提供了包含本文所述剂的组合物,如药物组合物。还提供了编码所述剂的多核苷酸和/或载体以及制备所述剂的方法。提供了包含或产生本文所述剂的细胞以及包含本文所述多核苷酸和/或载体的细胞。

[0009] 在一方面,本公开提供了结合ANGPTL8的剂。在一些实施方案中,所述剂结合人类ANGPTL8。在一些实施方案中,所述剂结合食蟹猴(“cyno”)ANGPTL8。在一些实施方案中,所述剂结合人类ANGPTL8和食蟹猴ANGPTL8。在一些实施方案中,所述剂是抗体。在一些实施方案中,所述剂是结合人类ANGPTL8的抗体。在一些实施方案中,所述剂是结合食蟹猴ANGPTL8的抗体。在一些实施方案中,所述剂是结合人类ANGPTL8和食蟹猴ANGPTL8的抗体。在一些实施方案中,所述剂是结合人类ANGPTL8且不结合食蟹猴ANGPTL8的抗体。

[0010] 在一些实施方案中,提供了一种特异性地结合人类ANGPTL8的N端区的抗体或其抗原结合片段,其中所述N端区包含SEQ ID NO:1的氨基酸25-60,并且其中所述抗体在受试者中(i)降低甘油三酯水平,(ii)减少LDL胆固醇,和/或(iii)增加HDL胆固醇。在一些实施方案中,抗体或其抗原结合片段特异性地结合人类ANGPTL8并且包含:(a)重链CDR1,所述重链CDR1包含GYTFTDYTIH(SEQ ID NO:11);重链CDR2,所述重链CDR2包含WFYPGSDNIKX₁NX₂KFX₃D,其中X₁为Y或F,X₂为A或E并且X₃为K或R(SEQ ID NO:58);重链CDR3,所述重链CDR3包含HEAX₁X₂X₃YDVAWFAX₄,其中X₁为F或Y,X₂为S或Y,X₃为Y或V,X₄为Y或N(SEQ ID NO:59);和/或(b)轻链CDR1,所述轻链CDR1包含X₁SSQSLVHSNGNTX₂LH,其中X₁为R或S,X₂为Y或F(SEQ ID NO:60);轻链CDR2,所述轻链CDR2包含TVSNRFS(SEQ ID NO:29);和轻链CDR3,所述轻链CDR3包含SQX₁THFPYT,其中X₁为T或S(SEQ ID NO:61)。在一些实施方案中,所述抗体或其抗原结合片段包含:(a)包含SEQ ID NO:11、12、13、14或15的重链CDR1;包含SEQ ID NO:16、17、18、19或20的重链CDR2;和包含SEQ ID NO:21、22、23或24的重链CDR3;以及(b)包含SEQ ID NO:25、26、27或28的轻链CDR1;包含SEQ ID NO:29、30或31的轻链CDR2;和包含SEQ ID NO:32、33或34的轻链CDR3。在一些实施方案中,所述抗体或其抗原结合片段包含:(a)包含SEQ ID NO:11、12、13、14或15的重链CDR1;包含SEQ ID NO:37、17、18、19或20的重链CDR2;和包含SEQ ID NO:38、39、68或69的重链CDR3;以及(b)包含SEQ ID NO:25、26、27或40的轻链CDR1;包含SEQ ID NO:29、30或31的轻链CDR2;和包含SEQ ID NO:41、42或43的轻链CDR3。在一些实施方案中,所述抗体或其抗原结合片段包含:(a)包含SEQ ID NO:11、12、13、14或15的重链CDR1;包含SEQ ID NO:46、17、18、47或20的重链CDR2;和包含SEQ ID NO:48、49、50或51的重链CDR3;以及(b)包含SEQ ID NO:52、53、54或55的轻链CDR1;包含SEQ ID NO:29、30或31的轻链CDR2;和包含SEQ ID NO:41、42或43的轻链CDR3。在一些实施方案中,所述抗体或其抗原结合片段还包含:(a)重链FR1、重链FR2、重链FR3和重链FR4;和/或(b)轻链FR1、轻链FR2、轻链FR3和轻链FR4。

[0011] 在一些实施方案中,抗体或其抗原结合片段包含:(a)与SEQ ID NO:35、44、56或62具有至少90%序列同一性的重链可变区;和/或(b)与SEQ ID NO:36、45、57或63具有至少90%序列同一性的轻链可变区。在一些实施方案中,抗体或其抗原结合片段包含:与SEQ ID NO:35具有至少95%序列同一性的重链可变区和与SEQ ID NO:36具有至少95%序列同一性的轻链可变区。在一些实施方案中,抗体或其抗原结合片段包含:与SEQ ID NO:44具有至少95%序列同一性的重链可变区和与SEQ ID NO:45具有至少95%序列同一性的轻链可变区。

在一些实施方案中,抗体或其抗原结合片段包含:与SEQ ID N0:56具有至少95%序列同一性的重链可变区和与SEQ ID N0:57具有至少95%序列同一性的轻链可变区。在一些实施方案中,抗体或其抗原结合片段包含:与SEQ ID N0:62具有至少95%序列同一性的重链可变区和与SEQ ID N0:63具有至少95%序列同一性的轻链可变区。在一些实施方案中,抗体或其抗原结合片段包含:包含SEQ ID N0:35的重链可变区和包含SEQ ID N0:36的轻链可变区。在一些实施方案中,抗体或其抗原结合片段包含:包含SEQ ID N0:44的重链可变区和包含SEQ ID N0:45的轻链可变区。在一些实施方案中,抗体或其抗原结合片段包含:包含SEQ ID N0:56的重链可变区和包含SEQ ID N0:57的轻链可变区。在一些实施方案中,抗体或其抗原结合片段包含:包含SEQ ID N0:62的重链可变区和包含SEQ ID N0:63的轻链可变区。

[0012] 在一些实施方案中,特异性地结合ANGPTL8的抗体或其抗原结合片段包含来自以下抗体的重链CDR1、CDR2和CDR3和/或轻链CDR1、CDR2和CDR3: (a) 命名为1E5的抗体,所述抗体包含:包含SEQ ID N0:35的重链可变区和包含SEQ ID N0:36的轻链可变区; (b) 命名为Hz1E5的抗体,所述抗体包含:包含SEQ ID N0:62的重链可变区和包含SEQ ID N0:63的轻链可变区; (c) 命名为1E9的抗体,所述抗体包含:包含SEQ ID N0:44的重链可变区和包含SEQ ID N0:45的轻链可变区; 或 (d) 命名为1A8的抗体,所述抗体包含:包含SEQ ID N0:56的重链可变区和包含SEQ ID N0:57的轻链可变区。在一些实施方案中,所述抗体或其抗原结合片段包含来自包含SEQ ID N0:35的重链可变区的CDR1、CDR2和CDR3和来自包含SEQ ID N0:36的轻链可变区的CDR1、CDR2和CDR3。在一些实施方案中,所述抗体或其抗原结合片段包含来自包含SEQ ID N0:62的重链可变区的CDR1、CDR2和CDR3和来自包含SEQ ID N0:63的轻链可变区的CDR1、CDR2和CDR3。在一些实施方案中,所述抗体或其抗原结合片段包含来自包含SEQ ID N0:44的重链可变区的CDR1、CDR2和CDR3和来自包含SEQ ID N0:45的轻链可变区的CDR1、CDR2和CDR3。在一些实施方案中,所述抗体或其抗原结合片段包含来自包含SEQ ID N0:56的重链可变区的CDR1、CDR2和CDR3和来自包含SEQ ID N0:57的轻链可变区的CDR1、CDR2和CDR3。

[0013] 在一些实施方案中,特异性地结合ANGPTL8的抗体或其抗原结合片段包含: (a) 包含表1-表3中所示的CDR1、CDR2和CDR3氨基酸序列的重链可变区; 和/或 (b) 包含表1-表3中所示的CDR1、CDR2和CDR3氨基酸序列的轻链可变区。

[0014] 在一些实施方案中,特异性地结合ANGPTL8的抗体包含SEQ ID N0:64的重链和/或SEQ ID N0:65的轻链。

[0015] 在本公开的另一方面,抗体或其抗原结合片段与参照抗体竞争结合至ANGPTL8,其中所述参照抗体包含: (a) 重链CDR1,所述重链CDR1包含GYTFTDVTIH (SEQ ID N0:11); 重链CDR2,所述重链CDR2包含WFYPGSDNIKX₁NX₂KFX₃D,其中X₁为Y或F, X₂为A或E并且X₃为K或R (SEQ ID N0:58); 重链CDR3,所述重链CDR3包含HEAX₁X₂X₃YDVAWFAX₄,其中X₁为F或Y, X₂为S或Y, X₃为Y或V, X₄为Y或N (SEQ ID N0:59); 和/或 (b) 轻链CDR1,所述轻链CDR1包含X₁SSQSLVHSNGNTX₂LH,其中X₁为R或S, X₂为Y或F (SEQ ID N0:60); 轻链CDR2,所述轻链CDR2包含TVSNRFS (SEQ ID N0:29); 和轻链CDR3,所述轻链CDR3包含SQX₁THFPYT,其中X₁为T或S (SEQ ID N0:61)。在一些实施方案中,抗体或其抗原结合片段结合ANGPTL8上由参照抗体识别的表位,其中所述参照抗体包含: (a) 重链CDR1,所述重链CDR1包含GYTFTDVTIH (SEQ ID N0:11); 重链CDR2,所述重链CDR2包含WFYPGSDNIKX₁NX₂KFX₃D,其中X₁为Y或F, X₂为A或E并且X₃为

K或R (SEQ ID NO:58)；重链CDR3,所述重链CDR3包含HEAX₁X₂X₃YDVAWFAX₄,其中X₁为F或Y,X₂为S或Y,X₃为Y或V,X₄为Y或N (SEQ ID NO:59)；和/或 (b) 轻链CDR1,所述轻链CDR1包含X₁SSQSLVHSNGNTX₂LH,其中X₁为R或S,X₂为Y或F (SEQ ID NO:60)；轻链CDR2,所述轻链CDR2包含TVSNRFS (SEQ ID NO:29)；和轻链CDR3,所述轻链CDR3包含SQX₁THFPYT,其中X₁为T或S (SEQ ID NO:61)。在一些实施方案中,所述参照抗体还包含: (a) 重链可变区FR1、重链可变区FR2、重链可变区FR3和重链可变区FR4；以及 (b) 轻链可变区FR1、轻链可变区FR2、轻链可变区FR3和轻链可变区FR4。

[0016] 在一些实施方案中,所述参照抗体包含: (a) 包含SEQ ID NO:11、12、13、14或15的重链CDR1；包含SEQ ID NO:16、17、18、19或20的重链CDR2；和包含SEQ ID NO:21、22、23或24的重链CDR3；以及 (b) 包含SEQ ID NO:25、26、27或28的轻链CDR1；包含SEQ ID NO:29、30或31的轻链CDR2；和包含SEQ ID NO:32、33或34的轻链CDR3。在一些实施方案中,所述参照抗体包含: (a) 包含SEQ ID NO:11、12、13、14或15的重链CDR1；包含SEQ ID NO:37、17、18、19或20的重链CDR2；和包含SEQ ID NO:38、39、68或69的重链CDR3；以及 (b) 包含SEQ ID NO:25、26、27或40的轻链CDR1；包含SEQ ID NO:29、30或31的轻链CDR2；和包含SEQ ID NO:41、42或43的轻链CDR3。在一些实施方案中,所述参照抗体包含: (a) 包含SEQ ID NO:11、12、13、14或15的重链CDR1；包含SEQ ID NO:46、17、18、47或20的重链CDR2；和包含SEQ ID NO:48、49、50或51的重链CDR3；以及 (b) 包含SEQ ID NO:52、53、54或55的轻链CDR1；包含SEQ ID NO:29、30或31的轻链CDR2；和包含SEQ ID NO:41、42或43的轻链CDR3。在一些实施方案中,所述参照抗体还包含: (a) 重链可变区FR1、重链可变区FR2、重链可变区FR3和重链可变区FR4；以及 (b) 轻链可变区FR1、轻链可变区FR2、轻链可变区FR3和轻链可变区FR4。

[0017] 在一些实施方案中,所述参照抗体包含:包含SEQ ID NO:25、44、56或62的重链可变区；和包含SEQ ID NO:26、45、57或63的轻链可变区。在一些实施方案中,所述参照抗体包含:包含SEQ ID NO:25的重链可变区和包含SEQ ID NO:26的轻链可变区。在一些实施方案中,所述参照抗体包含:包含SEQ ID NO:44的重链可变区和包含SEQ ID NO:45的轻链可变区。在一些实施方案中,所述参照抗体包含:包含SEQ ID NO:56的重链可变区和包含SEQ ID NO:57的轻链可变区。在一些实施方案中,所述参照抗体包含:包含SEQ ID NO:62的重链可变区和包含SEQ ID NO:63的轻链可变区。

[0018] 在一些实施方案中,所述参照抗体结合ANGPTL8的N端区,其中所述N端区包含SEQ ID NO:3。在一些实施方案中,所述参照抗体结合ANGPTL8的N端区,其中所述N端区包含SEQ ID NO:6。在一些实施方案中,所述参照抗体结合ANGPTL8的N端区,其中所述N端区包含SEQ ID NO:7。在一些实施方案中,所述参照抗体结合ANGPTL8的N端区,其中所述N端区包含SEQ ID NO:8。

[0019] 在前述各个方面和实施方案以及本文所述的其他方面和实施方案的一些实施方案中,所述抗体是单克隆抗体。在一些实施方案中,所述抗体是人源化抗体。在一些实施方案中,所述抗体是人类抗体。在一些实施方案中,所述抗体是人类嵌合抗体。在一些实施方案中,所述抗体或其抗体片段是Fab、Fab'、F(ab')₂、Fv、scFv、(scFv)₂、单链抗体、双可变区抗体、单可变区抗体、线性抗体、V区、双特异性抗体或多特异性抗体。

[0020] 在前述各个方面和实施方案以及本文所述的其他方面和实施方案的一些实施方案中,本文所述的抗体或其抗原结合片段缀合至可检测标记物。在一些实施方案中,所述可

检测标记物选自放射性同位素、金属螯合剂、酶、荧光化合物、生物发光化合物和化学发光化合物。

[0021] 在一些实施方案中,本文所述的抗体或其抗原结合片段缀合至细胞毒性剂。

[0022] 在前述每个方面和实施方案以及本文所述的其他方面和实施方案的一些实施方案中,本文所述的抗体或其抗原结合片段是ANGPTL8的拮抗剂。在一些实施方案中,所述抗体或其抗原结合片段减小或降低ANGPTL8水平。在一些实施方案中,所述抗体或其抗原结合片段抑制ANGPTL8活性。在一些实施方案中,所述抗体或其抗原结合片段调节脂蛋白脂肪酶(LPL)活性。在一些实施方案中,所述抗体或其抗原结合片段增加或增强LPL活性。在一些实施方案中,所述抗体或其抗原结合片段减小或降低甘油三酯水平。在一些实施方案中,所述抗体或其抗原结合片段减小或降低LDL胆固醇水平。在一些实施方案中,所述抗体或其抗原结合片段提高HDL胆固醇水平。在一些实施方案中,所述抗体或其抗原结合片段降低甘油三酯水平并提高HDL胆固醇水平。

[0023] 在每个前述方面和实施方案以及本文所述的其他方面和实施方案的一些实施方案中,本文所述的剂特异性地结合ANGPTL8,并且(i)降低受试者中的甘油三酯水平;(ii)提高受试者中的HDL胆固醇水平;和/或(iii)降低受试者中的LDL胆固醇水平。

[0024] 在另一方面,本公开提供了包含本文所述的ANGPTL8结合剂(例如抗体或其抗原结合片段)的组合物。还提供了使用包含本文所述的ANGPTL8结合剂(例如抗体或其抗原结合片段)的组合物的方法。

[0025] 在另一方面,本公开提供了药物组合物,所述药物组合物包含本文所述的ANGPTL8结合剂(例如抗体或其抗原结合片段)和药学上可接受的载体。

[0026] 在前述每个方面以及本文其他地方描述的其他方面和/或实施方案的一些实施方案中,所述ANGPTL8结合剂(例如抗体或其抗原结合片段)是分离的。在一些实施方案中,所述ANGPTL8结合剂(例如抗体或其抗原结合片段)是基本上纯的。

[0027] 在另一方面,本发明提供了包含编码本文所述的ANGPTL8结合剂的多核苷酸的多核苷酸。在一些实施方案中,所述多核苷酸是分离的。在一些实施方案中,载体包含编码本文所述的ANGPTL8结合剂的多核苷酸。在一些实施方案中,分离的细胞包含编码本文所述的ANGPTL8结合剂的多核苷酸。在一些实施方案中,分离的细胞包含载体,所述载体包含编码本文所述的ANGPTL8结合剂的多核苷酸。在一些实施方案中,本公开还提供了包含或产生本文所述的ANGPTL8结合剂的细胞。在一些实施方案中,所述细胞是单克隆细胞系。在一些实施方案中,所述细胞是杂交瘤。在一些实施方案中,所述细胞产生本文所述的抗ANGPTL8抗体。在一些实施方案中,转基因动物产生本文所述的ANGPTL8结合剂。

[0028] 在另一方面,本公开提供了一种结合剂,所述结合剂与本文所述的抗体结合ANGPTL8上基本上相同的表位。在一些实施方案中,所述结合剂是包含本文所述的抗ANGPTL8抗体或其抗原结合片段的异二聚体分子。在一些实施方案中,所述结合剂包括支架蛋白,所述支架蛋白包含表1-表3中所示的一个或多个CDR。在一些实施方案中,所述结合剂在竞争性结合测定中与本文所述的一种或多种抗ANGPTL8抗体竞争结合ANGPTL8。

[0029] 在另一方面,本公开提供了使用本文所述的ANGPTL8结合剂(例如抗体或其抗原结合片段)的方法。在一些实施方案中,降低具有升高的甘油三酯水平的受试者中的甘油三酯水平的方法包括向所述受试者施用治疗有效量的本文所述的ANGPTL8结合剂(例如抗体或

其抗原结合片段)。在一些实施方案中,治疗受试者的与升高的甘油三酯水平相关联的疾病或病症的方法包括向所述受试者施用治疗有效量的本文所述的ANGPTL8结合剂(例如抗体或其抗原结合片段)。在一些实施方案中,所述疾病或病症是代谢综合征、肥胖症、糖尿病、动脉粥样硬化、心血管疾病、高脂血症、高甘油三酯血症、胰腺炎、肾脏疾病、肝脏疾病或甲状腺功能减退。在一些实施方案中,所述升高的甘油三酯水平是升高的血浆甘油三酯水平。本领域技术人员通常认为“正常”的血浆甘油三酯水平小于150mg/dL。在一些实施方案中,所述升高的血浆甘油三酯水平为150mg/dL或更高。在一些实施方案中,升高的血浆甘油三酯水平为约150至200mg/dL。在一些实施方案中,升高的血浆甘油三酯水平为约200至500mg/dL。在一些实施方案中,所述升高的血浆甘油三酯水平为约500mg/dL或更高。在一些实施方案中,在向受试者施用ANGPTL8结合剂之后,与施用所述剂之前受试者中的甘油三酯水平相比,升高的甘油三酯水平降低了至少5%、至少10%、约10%-15%、约10%-20%、约20%-30%,或超过25%。

[0030] 在一些实施方案中,提高受试者中的HDL胆固醇水平的方法包括向所述受试者施用治疗有效量的本文所述的ANGPTL8结合剂(例如抗体或其抗原结合片段)。在一些实施方案中,降低受试者中LDL胆固醇水平的方法包括向所述受试者施用治疗有效量的本文所述的ANGPTL8结合剂(例如抗体或其抗原结合片段)。

[0031] 在本文所述方法的一些实施方案中,所述受试者患有代谢综合征,已被诊断为患有代谢综合征,具有代谢综合征的症状,或有发展代谢综合征的风险。在一些实施方案中,所述受试者患有高脂血症或血脂异常,已被诊断为患有高脂血症或血脂异常,具有高脂血症或血脂异常的症状,或有发展高脂血症或血脂异常的风险。在一些实施方案中,所述受试者患有心血管疾病,已被诊断为患有心血管疾病,具有心血管疾病的症状,或有发展心血管疾病的风险。在一些实施方案中,所述受试者患有糖尿病(例如2型糖尿病),已被诊断为患有糖尿病(例如2型糖尿病),具有糖尿病(例如2型糖尿病)的症状,或有发展糖尿病(例如2型糖尿病)的风险。在一些实施方案中,所述受试者是超重或肥胖的,或有变为超重或肥胖的风险。

[0032] 在本文所述方法的一些实施方案中,向所述受试者施用一种或多种另外的治疗剂。在一些实施方案中,所述一种或多种另外的治疗剂选自由以下组成的组:贝特类药物(fibrate)、他汀类药物(statin)、 ω -3脂肪酸和烟酸。

[0033] 本文还公开了本文所述的ANGPTL8结合剂(例如抗体或其抗原结合片段)在制造用于降低甘油三酯水平的药剂中的用途。公开了本文所述的ANGPTL8结合剂(例如抗体或其抗原结合片段)在制造用于治疗与升高的甘油三酯水平相关联的疾病或病症的药剂中的用途。公开了本文所述的ANGPTL8结合剂(例如抗体或其抗原结合片段)在制造用于提高HDL胆固醇水平的药剂中的用途。公开了本文所述的ANGPTL8结合剂(例如抗体或其抗原结合片段)在制造用于降低LDL胆固醇水平的药剂中的用途。

[0034] 在前述各个方面和实施方案以及本文所述的其他各个方面和实施方案的一些实施方案中,所述受试者是人类。

[0035] 当根据马库什组或其他替代组合描述本公开的方面或实施方案时,本公开不仅涵盖作为整体列出的整个组,而且还涵盖该组的每个单独成员和主组的所有可能的子组,还有缺少一个或多个组成员的主组。本公开还设想在要求保护的公开内容中明确排除任何一

个或多个组成员。

附图说明

[0036] 图1A-图1B.示例性抗ANGPTL8抗体的氨基酸序列比对。图1A.重链可变区序列与共有CDR序列的比对。图1B.轻链可变区序列与共有CDR序列的比对。

[0037] 图2A-图2B.图2A.人类ANGPTL8缺失变体V2-V5的代表性图。图2B.注射表达人类ANGPTL8或变体V2、V3、V4和V5中的一者的rAAV的小鼠中的血浆甘油三酯水平。向对照动物注射对照rAAV。

[0038] 图3.注射表达人类ANGPTL8的rAAV并用抗hANGPTL8抗体治疗的小鼠中的血浆甘油三酯水平。向对照动物进行以下操作: (i)注射表达hANGPTL8的rAAV,不进行抗体治疗; (ii)注射表达hANGPTL8的rAAV,并用对照抗KLH抗体治疗;或 (iii)注射表达GFP的rAAV。

[0039] 图4.1E5抗体与NusA-hANGPTL8融合蛋白的结合亲和力测量结果。

[0040] 图5A-图5B.图5A.嵌合1E5抗体和人源化抗体Hz1E5与人类SE1肽的结合亲和力测量结果。图5B.注射表达人类ANGPTL8的rAAV并用以下抗hANGPTL8抗体治疗的小鼠中的血浆甘油三酯水平: (i)来自杂交瘤的亲本1E5; (ii)嵌合抗体1E5或 (iii)人源化抗体Hz1E5。向对照动物进行以下操作: (i)注射表达hANGPTL8的rAAV,并用对照抗KLH抗体治疗;或 (ii)注射表达GFP的rAAV。

[0041] 图6A-图6B.图6A.用抗hANGPTL8抗体Hz1E5或载体对照物治疗的食蟹猴中的血浆甘油三酯水平。图6B.用抗hANGPTL8抗体Hz1E5或载体对照物治疗的食蟹猴中的血浆HDL胆固醇水平。

具体实施方式

[0042] 本公开提供了新型剂,包括但不限于结合ANGPTL8的多肽,如抗体。ANGPTL8结合剂包括但不限于多肽、抗体、支架蛋白和异二聚体分子。ANGPTL8结合剂包括但不限于ANGPTL8活性的拮抗剂和/或调节ANGPTL8活性的剂。还提供了相关的多肽、多核苷酸、包含所述剂的组合物以及制备所述剂的方法。提供了使用所述新型剂的方法,如治疗ANGPTL8相关病症或疾病的方法。还提供了降低升高的甘油三酯水平、提高HDL胆固醇水平和/或降低LDL胆固醇水平的方法。

[0043] I. 定义

[0044] 除非本文另外定义,否则本说明书中所使用的技术和科学术语具有本领域普通技术人员通常所理解的含义。出于解释本说明书的目的,将应用以下术语描述,并且在适当时候,以单数形式使用的术语还将包括复数,反之亦然。如果所阐述的术语的任何描述与以引用方式并入本文的任何文档相冲突,则以下文所阐述的术语描述为准。

[0045] 如本文所用,术语“结合剂”是指结合特定抗原或靶标(例如ANGPTL8)的分子。结合剂可包含蛋白质、肽、核酸、碳水化合物、脂质或小分子量化合物。在一些实施方案中,结合剂包含抗体或其抗原结合片段。在一些实施方案中,结合剂是抗体或其抗原结合片段。在一些实施方案中,结合蛋白包含替代蛋白质支架或人工支架,以及包含CDR或CDR衍生物的抗原结合位点。在一些实施方案中,结合蛋白是包含抗原结合位点的融合蛋白。在一些实施方案中,结合蛋白是包含至少一个抗原结合位点的双特异性或多特异性分子。

[0046] 如本文所用,术语“抗体”是指通过至少一个抗原结合位点识别并结合靶标的免疫球蛋白分子。“抗体”在本文中以最广义使用并且涵盖各种抗体结构,包括但不限于多克隆抗体、重组抗体、单克隆抗体、嵌合抗体、人源化抗体、人类抗体、双特异性抗体、多特异性抗体、双抗体、三抗体、四抗体、单链Fv (scFv) 抗体和抗体片段,只要它们表现出所需的抗原结合活性即可。

[0047] 术语“完整抗体”或“全长抗体”是指具有与天然抗体结构基本相似的结构的抗体。这包括包含两条轻链和两条重链的抗体,所述轻链各自包含可变区和轻链恒定区 (CL),并且所述重链各自包含可变区和至少重链恒定区CH1、CH2和CH3。

[0048] 如本文所用,术语“抗体片段”是指非完整抗体的,包含抗体的一部分且通常是抗原结合位点的分子。抗体片段的实例包括但不限于Fab、Fab'、F(ab')2、Fv、二硫键连接的Fv (sdFv)、Fd、线性抗体、单链抗体分子(例如scFv)、双抗体、三抗体、四抗体、微抗体、双可变结构域抗体 (DVD)、单可变域抗体和由抗体片段形成的多特异性抗体。

[0049] 如本文所用,术语“可变区”是指参与抗体与抗原结合的抗体轻链的区域或抗体重链的区域。抗体重链和抗体轻链的可变区具有相似的结构,并且通常包括四个框架区和三个互补决定区 (CDR) (也称为高变区)。

[0050] 术语“框架区”是指可变区内除CDR残基以外的氨基酸残基。构架区 (FR) 通常包括四个结构域,即FR1、FR2、FR3和FR4。

[0051] 如本文所用,术语“单克隆抗体”是指参与单个抗原决定簇或表位的高度特异性识别和结合的基本上同质的抗体群体。构成所述群体的个别抗体是相同的,除了可能少量存在的可能天然存在的突变。术语“单克隆抗体”涵盖完整和全长单克隆抗体以及抗体片段(例如Fab、Fab'、F(ab')2、Fv)、单链(scFv)抗体、包含抗体片段的融合蛋白,以及任何其他包含抗原结合位点的修饰的免疫球蛋白分子。此外,“单克隆抗体”是指通过包括但不限于杂交瘤产生、噬菌体文库展示、重组表达和转基因动物的多种技术制得的那些抗体。

[0052] 术语“嵌合抗体”是指其中重链和/或轻链的一部分来源于特定来源或物种,而重链和/或轻链的其余部分来源于不同来源或物种的抗体。

[0053] 如本文所用,术语人源化抗体是指这样的嵌合抗体:其包含人类免疫球蛋白(例如受体抗体),其中天然CDR残基被来自非人类物种(例如供体抗体)如小鼠、大鼠、兔或非人类灵长类动物的相应CDR的残基替代,其中供体抗体具有所需的特异性、亲和力和/或活性。在一些情况下,人类免疫球蛋白的一个或多个框架区残基被相应的非人类残基替代。此外,人源化抗体可包含在受体抗体或供体抗体中未发现的残基。可进行这些修饰以进一步改善和/或优化抗体特征。人源化抗体可包含可变区,所述可变区含有对应于非人类免疫球蛋白的CDR的所有或基本上所有的CDR以及对应于人类免疫球蛋白的框架区的所有或基本上所有的框架区。在一些实施方案中,人源化抗体将包含免疫球蛋白恒定区 (Fc) 的至少一部分,通常是人类免疫球蛋白的恒定区的至少一部分。

[0054] 如本文所用,术语“人类抗体”是指具有对应于由人类产生的抗体的氨基酸序列的抗体,和/或已经使用本领域技术人员已知的用于制备人类抗体的技术制备的抗体。这些技术包括但不限于噬菌体展示文库、酵母展示文库、转基因动物和B细胞杂交瘤技术。

[0055] 术语“表位”和“抗原决定簇”在本文中可互换使用,并且是指抗原或靶标的能够被特定抗体识别并结合的那部分。当抗原或靶标是多肽时,表位可由连续氨基酸形成以及由

通过蛋白质的三级折叠而并置的不连续氨基酸形成。由连续氨基酸形成的表位(也称为线性表位)通常在蛋白质变性时保留,而由三级折叠形成的表位(也称为构象性表位)通常在蛋白质变性时丧失。表位通常包括至少3个,且更通常至少5个、6个、7个或8-10个呈单独空间构象的氨基酸。在一些情况下,使用X射线晶体学来预测靶蛋白上的潜在表位。在一些情况下,使用X射线晶体学,通过分析抗原/抗体复合物的氨基酸残基相互作用来表征靶蛋白上的表位。

[0056] 如本文所用,术语“特异性地结合”是指剂(例如抗体)与特定抗原、表位、蛋白质或靶分子的相互作用比与替代物质的相互作用更频繁、更迅速、持续时间更长、亲和力更大或上述情况的某些组合。在一些实施方案中,特异性地结合抗原(例如人类ANGPTL8)的剂(例如抗体)可结合相关抗原(例如食蟹猴ANGPTL8)。可例如通过免疫测定、ELISA、BIACORE测定或本领域技术人员已知的其他技术来鉴定特异性地结合抗原的抗体。

[0057] 术语“多肽”和“肽”和“蛋白质”在本文中可互换使用,并且是指任何长度的氨基酸的聚合物。聚合物可为线性的或分支的,它可包含修饰的氨基酸,并且可由非氨基酸间断。这些术语还涵盖已被天然修饰或通过介入修饰的氨基酸聚合物;例如,二硫键形成、糖基化、脂质化、乙酰化、磷酸化或任何其他操作或修饰。该定义还包括例如含有氨基酸的一种或多种类似物(包括但不限于非天然氨基酸),以及本领域已知的其他修饰的多肽。应当理解,由于本公开的多肽可能是基于抗体的,所以术语“多肽”涵盖单链形式的多肽和具有两个或更多个缔合链的多肽。

[0058] 术语“多核苷酸”和“核酸”和“核酸分子”在本文中可互换使用,并且是指任何长度的核苷酸的聚合物,并且包括DNA和RNA。核苷酸可以是脱氧核糖核苷酸、核糖核苷酸、修饰的核苷酸或碱基和/或它们的类似物,或可通过DNA或RNA聚合酶并入至聚合物中的任何底物。

[0059] 在两种或更多种核酸或多肽的上下文中,术语“相同”或“同一性”百分比是指为了获得最大对应性比较和比对(如果需要则引入缺口)时,相同或具有指定百分比的相同核苷酸或氨基酸残基的两个或更多个序列或亚序列,不考虑任何保守性氨基酸取代作为序列同一性的部分。同一性百分比可使用序列比较软件或算法或通过目视检查来测量。可用来获得氨基酸或核苷酸序列的比对的各种算法和软件在本领域中是众所周知的。这些包括但不限于BLAST、ALIGN、Megalign、BestFit、GCG Wisconsin软件包以及它们的变型。在一些实施方案中,本公开的两种核酸或多肽是基本上相同的,表示为了获得最大对应性进行比较和比对时它们具有至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%,和在一些实施方案中至少95%、96%、97%、98%、99%的核苷酸或氨基酸残基同一性,如使用序列比较软件或通过目视检查测量的。在一些实施方案中,跨至少约10个、至少约20个、至少约40-60个核苷酸或氨基酸残基、至少约60-80个核苷酸或氨基酸残基长度或其间的任何整数值的序列区域存在同一性。在一些实施方案中,跨多于60-80个核苷酸或氨基酸残基(如至少约80-100个核苷酸或氨基酸残基)的较长区域存在同一性,并且在一些实施方案中,序列跨被比较的序列(例如(i)核苷酸序列的编码区或(ii)氨基酸序列)全长是基本上相同的。

[0060] 如本文所用,短语“保守性氨基酸取代”是指其中一个氨基酸残基被具有相似侧链的另一个氨基酸残基替代的取代。具有相似侧链的氨基酸残基家族在本领域中已被普遍定义,包括碱性侧链(例如赖氨酸、精氨酸、组氨酸)、酸性侧链(例如天冬氨酸、谷氨酸)、不带

电荷的极性侧链(例如甘氨酸、天冬酰胺、谷氨酰胺、丝氨酸、苏氨酸、酪氨酸、半胱氨酸)、非极性侧链(例如丙氨酸、缬氨酸、亮氨酸、异亮氨酸、脯氨酸、苯丙氨酸、甲硫氨酸、色氨酸)、 β -分支侧链(例如苏氨酸、缬氨酸、异亮氨酸)和芳香族侧链(例如酪氨酸、苯丙氨酸、色氨酸、组氨酸)。例如,苯丙氨酸对酪氨酸的取代被认为是保守性取代。一般来讲,多肽和/或抗体地序列中的保守性取代不会消除多肽或抗体与靶结合位点的结合。鉴定不消除结合的核苷酸和氨基酸保守性取代的方法在本领域中是众所周知的。

[0061] 如本文所用,术语“载体”是指能够在宿主细胞中递送和通常表达一个或多个目标基因或序列的构建体。载体的实例包括但不限于病毒载体、裸DNA或RNA表达载体、质粒、粘粒或噬菌体载体、阳离子缩合剂缔合的DNA或RNA表达载体,以及脂质体中包封的DNA或RNA表达载体。

[0062] 如本文所用,术语“分离的”是指呈非天然存在的形式的多肽、可溶性蛋白、抗体、多核苷酸、载体、细胞或组合物。“分离的”抗体基本上不含来自衍生其的细胞来源的物质。在一些实施方案中,分离的多肽、可溶性蛋白、抗体、多核苷酸、载体、细胞或组合物是已被纯化到不再呈其天然存在的形式的程度的那些。在一些实施方案中,分离的多肽、可溶性蛋白、抗体、多核苷酸、载体、细胞或组合物是基本上纯的。多肽、可溶性蛋白、抗体、多核苷酸、载体、细胞或组合物可从天然来源或如工程化细胞系的来源分离。

[0063] 如本文所用,术语“基本上纯的”是指至少50%纯(即,不含污染物)、至少90%纯、至少95%纯、至少98%纯、或至少99%纯的材料。

[0064] 术语“受治疗者”是指任何动物(例如哺乳动物),包括但不限于人类、非人类灵长类动物、犬科动物、猫科动物、兔、啮齿类动物等,它们是治疗或疗法的接受者。一般来讲,术语“受试者”和“患者”在本文中提及人类受试者时可互换使用。

[0065] 如本文所用,术语“药学上可接受的”是指经监管机构批准或可批准的,或在美国药典、欧洲药典或其他普遍认可的药典中列出的用于动物(包括人类)的物质。

[0066] 如本文所用,术语“药学上可接受的赋形剂、载体或佐剂”或“可接受的药物载体”是指可以与至少一种治疗剂(例如抗体)一起施用给受试者,并且不会破坏治疗剂的药理活性的赋性剂、载体或佐剂。一般来讲,本领域技术人员和美国FDA将药学上可接受的赋形剂、载体或佐剂视为任何制剂的非活性成分。

[0067] 如本文所用,术语“药物制剂”是指形式为允许剂(例如抗体)的生物活性有效的制剂。药物制剂通常包含其他成分,如药学上可接受的赋形剂、载体、佐剂、缓冲液等。

[0068] 如本文所用,术语“有效量”或“治疗有效量”是指足以减少和/或改善受试者的疾病、病症或疾患和/或症状的严重性和/或持续时间的剂(例如抗体)的量。该术语还涵盖对于实现以下目的所必需的剂的量: (i) 减少或改善给定疾病、病症或疾患的进级或进展; (ii) 减少或改善给定疾病、病症或疾患的复发、发展或发作; 和/或 (iii) 改善或增强另一种剂或疗法(例如,除本文提供的结合剂以外的剂)的预防或治疗效果。

[0069] 如本文所用,术语“治疗效果”是指剂(例如抗体)减少和/或改善受试者的疾病、病症或疾患和/或症状的严重性和/或持续时间的效果和/或能力。该术语还涵盖剂实现以下效果的能力: (i) 减少或改善给定疾病、病症或疾患的进级或进展; (ii) 减少或改善给定疾病、病症或疾患的复发、发展或发作; 和/或 (iii) 改善或增强另一种剂或疗法(例如,除本文提供的结合剂以外的剂)的预防或治疗效果。

[0070] 如本文所用,术语“治疗”或“要治疗”或“缓解”或“要缓解”是指(1)旨在治愈、减慢、减轻病理性疾患或病症的症状、和/或使病理性疾患或病症的进展停止的治疗性措施;和(2)旨在防止或减缓所靶向的病理性疾患或病症的发展的预防性或防备性措施。因此,需要治疗的那些包括已经患有该病症的那些,有患/发展该病症的风险的那些以及要预防该病症的那些。

[0071] 如本文所用,术语“防止”是指部分或完全地抑制受试者的疾病、病症或疾患或其症状的发展、复发、发作或扩散。

[0072] 如本文所用,术语“预防性剂”是指可部分或完全地抑制受试者的疾病、病症或疾患或其症状的发展、复发、发作或扩散的剂。

[0073] 如本文所用,提及“约”或“近似”值或参数包括(并描述)涉及该值或参数的实施方案。例如,提及“约X”的描述包括对“X”的描述。

[0074] 如本文所用,短语“基本上所有”是指至少约60%、至少约65%、至少约70%、至少约75%、至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%、至少约99%或约100%。

[0075] 如本公开和权利要求书中所用,除非上下文另外明确指示,否则单数形式“一个”、“一种”和“所述”包括复数形式。

[0076] 应当理解,每当在本文用术语“包含”来描述实施方案时,还提供以“由……组成”和/或“基本上由……组成”描述的其他类似实施方案。还应当理解,每当在本文用短语“基本上由……组成”来描述实施方案时,还提供以“由……组成”描述的其他类似实施方案。

[0077] 本文在短语中使用的术语“和/或”如“A和/或B”意为包括:A和B二者;A或B;A(单独);和B(单独)。同样,如在如“A、B和/或C”的短语中使用的术语“和/或”意为涵盖以下各实施方案:A、B和C;A、B或C;A或C;A或B;B或C;A和C;A和B;B和C;A(单独);B(单独);和C(单独)。

[0078] II. ANGPTL8结合剂

[0079] 血管生成素样蛋白8(ANGPTL8)属于结构上类似于血管生成素的蛋白家族,并且被称为血管生成素样蛋白或ANGPTL。迄今为止,ANGPTL家族包括八种蛋白,即ANGPTL1至ANGPTL8。ANGPTL蛋白具有相似的生物学结构,并且通常包含氨基末端卷曲螺旋结构域、接头区域和羧基末端纤维蛋白原样结构域。与该家族的其他成员相比,ANGPTL8没有纤维蛋白原样结构域。人类ANGPTL8(UniProtKB号Q6UXH0)、食蟹猴(“cyno”)ANGPTL8(NCBI参考号XP_005588064.1)和小鼠ANGPTL8(UniProtKB号Q8R1L8)的氨基酸(aa)在本文中分别以SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:9和SEQ ID NO:10形式提供。如本文所用,提及ANGPTL8的氨基酸位置是指包括信号序列的氨基酸序列的编号。

[0080] 本公开提供了结合ANGPTL8的剂。在一些实施方案中,ANGPTL8结合剂结合ANGPTL8的片段。在一些实施方案中,ANGPTL8结合剂在ANGPTL8的特定区域内结合。在一些实施方案中,ANGPTL8结合剂结合ANGPTL8上的表位。在一些实施方案中,ANGPTL8结合剂结合小鼠ANGPTL8。在一些实施方案中,ANGPTL8结合剂结合人类ANGPTL8。在一些实施方案中,ANGPTL8结合剂结合食蟹猴ANGPTL8。在一些实施方案中,ANGPTL8结合剂结合人类ANGPTL8和食蟹猴ANGPTL8。

[0081] 在一些实施方案中,ANGPTL8结合剂在人类ANGPTL8的氨基酸22-83和/或食蟹猴ANGPTL8的氨基酸22-83内结合。在一些实施方案中,ANGPTL8结合剂在人类ANGPTL8的氨基

酸84-138和/或食蟹猴ANGPTL8的氨基酸84-138内结合。在一些实施方案中,ANGPTL8结合剂在人类ANGPTL8的氨基酸139-198和/或食蟹猴ANGPTL8的氨基酸139-198内结合。在一些实施方案中,ANGPTL8结合剂在人类ANGPTL8的氨基酸25-60和/或食蟹猴ANGPTL8的氨基酸25-60内结合。在一些实施方案中,ANGPTL8结合剂在人类ANGPTL8的氨基酸22-46和/或食蟹猴ANGPTL8的氨基酸22-46内结合。在一些实施方案中,ANGPTL8结合剂在人类ANGPTL8的氨基酸32-46和/或食蟹猴ANGPTL8的氨基酸32-46内结合。

[0082] 在一些实施方案中,ANGPTL8结合剂在SEQ ID N0:1的氨基酸22-83内结合。在一些实施方案中,ANGPTL8结合剂在SEQ ID N0:1的氨基酸84-138内结合。在一些实施方案中,ANGPTL8结合剂在SEQ ID N0:1的氨基酸139-198内结合。在一些实施方案中,ANGPTL8结合剂在SEQ ID N0:1的氨基酸25-60内结合。在一些实施方案中,ANGPTL8结合剂在SEQ ID N0:1的氨基酸22-46内结合。在一些实施方案中,ANGPTL8结合剂在SEQ ID N0:1的氨基酸32-46内结合。

[0083] 在一些实施方案中,ANGPTL8结合剂与包含SEQ ID N0:2内的氨基酸的表位结合。在一些实施方案中,ANGPTL8结合剂与包含SEQ ID N0:3内的氨基酸的表位结合。在一些实施方案中,ANGPTL8结合剂与包含SEQ ID N0:4内的氨基酸的表位结合。在一些实施方案中,ANGPTL8结合剂与包含SEQ ID N0:5内的氨基酸的表位结合。在一些实施方案中,ANGPTL8结合剂与包含SEQ ID N0:6内的氨基酸的表位结合。在一些实施方案中,ANGPTL8结合剂与包含SEQ ID N0:7内的氨基酸的表位结合。在一些实施方案中,ANGPTL8结合剂与包含SEQ ID N0:8内的氨基酸的表位结合。在一些实施方案中,ANGPTL8结合剂结合SEQ ID N0:3内的至少一个氨基酸。在一些实施方案中,ANGPTL8结合剂结合SEQ ID N0:4内的至少一个氨基酸。在一些实施方案中,ANGPTL8结合剂结合SEQ ID N0:5内的至少一个氨基酸。在一些实施方案中,ANGPTL8结合剂结合SEQ ID N0:6内的至少一个氨基酸。在一些实施方案中,ANGPTL8结合剂结合SEQ ID N0:7内的至少一个氨基酸。在一些实施方案中,ANGPTL8结合剂结合SEQ ID N0:8内的至少一个氨基酸。

[0084] 在一些实施方案中,ANGPTL8结合剂是抗体。在一些实施方案中,抗体是重组抗体。在一些实施方案中,抗体是单克隆抗体。在一些实施方案中,抗体是嵌合抗体。在一些实施方案中,抗体是人源化抗体。在一些实施方案中,抗体是人类抗体。在一些实施方案中,抗体是IgA、IgD、IgE、IgG或IgM抗体。在一些实施方案中,抗体是IgG1抗体。在一些实施方案中,抗体是IgG2抗体。在一些实施方案中,抗体是IgG4抗体。在一些实施方案中,抗体是包含抗原结合位点的抗体片段。在一些实施方案中,抗体是双特异性抗体或多特异性抗体。在一些实施方案中,抗体是单价抗体。在一些实施方案中,抗体是单特异性抗体。在一些实施方案中,抗体是二价抗体。

[0085] 在一些实施方案中,抗体是分离的。在一些实施方案中,抗体是基本上纯的。

[0086] 在一些实施方案中,ANGPTL8结合剂是多克隆抗体。可通过任何已知方法来制备多克隆抗体。在一些实施方案中,通过使用多种皮下或腹膜内注射方法用目标抗原(例如纯化的肽片段、重组蛋白或融合蛋白)使动物(例如兔、大鼠、小鼠、山羊、驴)免疫来产生多克隆抗体。在一些实施方案中,将抗原缀合至如钥孔虫戚血蓝蛋白(KLH)、血清白蛋白、牛甲状腺球蛋白或大豆胰蛋白酶抑制剂的载体。将抗原(具有或不具有载体蛋白)稀释在无菌盐水中,并且通常与佐剂(例如完全或不完全弗氏佐剂)合并以形成稳定的乳液。在足够的时间

段后,从免疫动物,通常是从血液或腹水中回收多克隆抗体。可根据本领域的标准方法从血清或腹水中纯化多克隆抗体,这些方法包括但不限于亲和色谱法、离子交换色谱法、凝胶电泳和渗析。

[0087] 在一些实施方案中,ANGPTL8结合剂是单克隆抗体。在一些实施方案中,使用本领域技术人员已知的杂交瘤方法来制备单克隆抗体。例如,使用杂交瘤方法,如上所述的那样对使小鼠、大鼠、兔、仓鼠或其他适当宿主动物免疫,以诱导产生特异性地结合免疫抗原的抗体。在一些实施方案中,在体外使淋巴细胞免疫。在一些实施方案中,免疫抗原是人类蛋白或其片段。在一些实施方案中,免疫抗原是小鼠蛋白或其片段。

[0088] 在免疫后,分离淋巴细胞,并使用例如聚乙二醇将淋巴细胞与合适的骨髓瘤细胞系融合。使用如本领域已知的专门培养基选择杂交瘤细胞,未融合的淋巴细胞和骨髓瘤细胞无法在选择过程中存活。可通过多种方法鉴定产生特异性针对选定抗原的单克隆抗体的杂交瘤,这些方法包括但不限于免疫沉淀、免疫印迹和体外结合测定(例如流式细胞术、FACS、ELISA和放射免疫测定)。一旦鉴定出产生具有所需特异性、亲和力和/或活性的抗体的杂交瘤细胞,就可通过有限稀释技术对克隆进行亚克隆。杂交瘤可使用标准方法在体外培养物中繁殖,也可在动物体内以体内腹水肿瘤繁殖。可根据本领域的标准方法从培养基或腹水中纯化单克隆抗体,这些方法包括但不限于亲和色谱法、离子交换色谱法、凝胶电泳和渗析。

[0089] 在一些实施方案中,使用本领域技术人员已知的重组DNA技术来制备单克隆抗体。例如,如通过使用特异性地扩增编码抗体重链和轻链的基因的寡核苷酸引物进行RT-PCR从成熟的B细胞或杂交瘤细胞中分离编码单克隆抗体的多核苷酸,并且使用标准技术测定它们的序列。随后将编码所述重链和轻链的分离的多核苷酸克隆成合适的表达载体中,所述表达载体在转染到诸如大肠杆菌、猿COS细胞、中国仓鼠卵巢(CHO)细胞或不以其他方式产生免疫球蛋白的骨髓瘤细胞的宿主细胞中时,产生单克隆抗体。

[0090] 在一些实施方案中,从表达所需物种的可变结构域或CDR的噬菌体展示文库中分离重组单克隆抗体或其片段。可通过本领域已知的多种技术来完成噬菌体文库的筛选。

[0091] 在一些实施方案中,例如通过使用重组DNA技术对单克隆抗体进行修饰以产生替代抗体。在一些实施方案中,用例如小鼠单克隆抗体的轻链和重链的恒定结构域取代例如人类抗体的恒定区以产生嵌合抗体,或取代非免疫球蛋白多肽的恒定区以产生融合抗体。在一些实施方案中,将恒定区截短或去除以产生单克隆抗体的所需抗体片段。对一个或多个可变区的定点或高密度诱变可用于优化例如单克隆抗体的特异性和亲和力。

[0092] 在一些实施方案中,ANGPTL8结合剂是人源化抗体。用于产生人源化抗体的各种方法在本领域中是已知的。在一些实施方案中,人类抗体包含已从非人类来源引入至所述人类抗体中的一个或多个氨基酸残基。这些非人类氨基酸残基通常被称为“输入”残基,它们通常取自“输入”可变结构域。在一些实施方案中,通过用一个或多个非人类CDR序列取代人类抗体的相应CDR序列来进行人源化。在一些实施方案中,通过CDR移植构建人源化抗体,在CDR移植中将亲本非人类抗体(例如啮齿动物)的所有六个CDR的氨基酸序列移植到人类抗体框架上。

[0093] 可基于多种因素并通过多种方法来选择待用于产生人源化抗体的人类重链可变区和/或轻链可变区。在一些实施方案中,使用“最佳拟合”方法,其中针对已知的人类可变

区序列的整个文库筛选非人类(例如啮齿动物)抗体的可变区的序列。选择与啮齿动物序列最相似的人类序列作为人源化抗体的人类可变区框架。在一些实施方案中,使用这样的方法:其中选择了来源于轻链或重链特定亚组的所有人类抗体的共有序列的特定可变区框架。在一些实施方案中,框架来源于最丰富的人类亚类的共有序列。在一些实施方案中,使用人类种系基因作为可变区框架序列的来源。

[0094] 其他人源化方法包括但不限于描述为将CDR直接转移至人种系框架的称为“超人源化(superhumanization)”的方法、基于“抗体人性”量度的称作“人类串内容物(Human String Content,HSC)”的方法、基于大型人源化变体文库(包括噬菌体、核糖体和酵母菌展示文库)生成的方法,以及基于框架区改组的方法。

[0095] 在一些实施方案中,ANGPTL8结合剂是人类抗体。可使用本领域已知的各种技术直接制备人类抗体。在一些实施方案中,从体外免疫的永生化人类B淋巴细胞产生人类抗体。在一些实施方案中,从自免疫个体分离的淋巴细胞产生人类抗体。在任何情况下,可产生和分离产生针对靶抗原的抗体的细胞。在一些实施方案中,人类抗体选自噬菌体文库,其中该噬菌体文库表达人类抗体。或者,可使用噬菌体展示技术从来自未免疫供体的免疫球蛋白可变区基因库在体外产生人类抗体和抗体片段。产生和使用抗体噬菌体文库的技术在本领域中是众所周知的。一旦鉴定出抗体,就可采用本领域已知的亲和力成熟策略(包括但不限于链改组和定点诱变)来产生更高亲和力的人类抗体。

[0096] 在一些实施方案中,在含有人类免疫球蛋白基因座的转基因小鼠中产生人类抗体。在免疫后,这些小鼠能够在没有内源性免疫球蛋白产生的情况下产生完整的人类抗体库。

[0097] 在一些实施方案中,ANGPTL8结合剂是双特异性抗体。双特异性抗体能够识别并结合至少两个不同的抗原或表位。不同的表位可在同一分子内(例如,ANGPTL8上的两个表位),也可在不同的分子上(例如,ANGPTL8上的一个表位和不同靶标上的一个表位)。在一些实施方案中,与单个抗体或超过一个抗体的组合相比,双特异性抗体具有增强的效价。在一些实施方案中,与单个抗体或超过一个抗体的组合相比,双特异性抗体具有降低的效价。本领域技术人员已知任何治疗剂可具有独特的药代动力学(PK)(例如循环半衰期)。在一些实施方案中,双特异性抗体具有使两种活性结合剂的PK同步的能力,其中所述两种单独的结合剂具有不同的PK型态。在一些实施方案中,双特异性抗体具有将两种剂的作用集中在受试者的共同区域(例如组织)中的能力。在一些实施方案中,双特异性抗体具有将两种剂的作用集中至共同靶标(例如特定细胞类型)的能力。在一些实施方案中,双特异性抗体具有将两种剂的作用靶向多于一种生物途径或功能的能力。在一些实施方案中,双特异性抗体具有靶向两个不同细胞并使它们靠近的能力。

[0098] 在一些实施方案中,双特异性抗体具有降低的毒性和/或副作用。在一些实施方案中,与两种单独抗体的混合物或作为单一剂的抗体相比,双特异性抗体具有降低的毒性和/或副作用。在一些实施方案中,双特异性抗体具有增大的治疗指数。在一些实施方案中,与两种单独抗体的混合物或作为单一剂的抗体相比,双特异性抗体具有增大的治疗指数。

[0099] 制备双特异性抗体的若干技术是本领域技术人员已知的。在一些实施方案中,双特异性抗体包含重链恒定区,其中在两个重链之间的界面的一部分氨基酸中有修饰。在一些实施方案中,使用旋钮入孔洞(knob-in-hole,KIH)策略产生双特异性抗体。在一些实施

方案中，双特异性抗体包含无法在重链之间形成二硫键的变异铰链区。在一些实施方案中，双特异性抗体包含重链，其中存在的氨基酸变化导致静电相互作用改变。在一些实施方案中，双特异性抗体包含重链，其中存在的氨基酸变化导致疏水/亲水相互作用改变。

[0100] 双特异性抗体可为完整抗体或包含抗原结合位点的抗体片段。

[0101] 还考虑了具有多于两个效价的抗体。例如，可制备三特异性或四特异性抗体。因此，在一些实施方案中，ANGPTL8的抗体是多特异性的。

[0102] 在一些实施方案中，ANGPTL8结合剂是结合ANGPTL8的抗体。在一些实施方案中，ANGPTL8结合剂是结合人类ANGPTL8的抗体。在一些实施方案中，ANGPTL8结合剂是结合食蟹猴ANGPTL8的抗体。在一些实施方案中，ANGPTL8结合剂是结合人类和食蟹猴ANGPTL8的抗体。在一些实施方案中，ANGPTL8结合剂是结合小鼠ANGPTL8的抗体。在一些实施方案中，ANGPTL8结合剂是结合ANGPTL8的一部分或片段的抗体。在一些实施方案中，ANGPTL8结合剂是结合ANGPTL8肽的抗体。在一些实施方案中，ANGPTL8结合剂是结合SE1肽的抗体。在一些实施方案中，ANGPTL8结合剂是结合ANGPTL8表位的抗体。

[0103] 在一些实施方案中，结合剂是抗ANGPTL8抗体或其抗原结合片段，它们包含本文所述的抗体中的任一者的一个、两个、三个、四个、五个和/或六个CDR。在一些实施方案中，抗ANGPTL8抗体或其抗原结合片段包含 (i) 表1-表3中的一个、两个和/或三个重链CDR；和/或 (ii) 表1-表3中的一个、两个和/或三个轻链CDR。

[0104] 在一些实施方案中，特异性地结合ANGPTL8的抗体或其抗原结合片段包含表1中的重链CDR1、CDR2和CDR3以及轻链CDR1、CDR2、CDR3。在一些实施方案中，特异性地结合ANGPTL8的抗体或其抗原结合片段包含表2中的重链CDR1、CDR2和CDR3以及轻链CDR1、CDR2、CDR3。在一些实施方案中，特异性地结合ANGPTL8的抗体或其抗原结合片段包含表3中的重链CDR1、CDR2和CDR3以及轻链CDR1、CDR2、CDR3。

说 明 书

[0105]

表 1. 抗体 1E5 CDR 和可变区序列

	示例性	IMGT	Kabat	Chothia	Contact	AbM
重链 CDR1	GYTFTDYTH (SEQ ID NO:11)	GYTFTDYT (SEQ ID NO:12)	DYTH (SEQ ID NO:13)	GYTFTDY (SEQ ID NO:14)	TDYTH (SEQ ID NO:15)	GYTFTDYTH (SEQ ID NO:11)
重链 CDR2	WFYPGSDNIKYNA KFKD (SEQ ID NO:16)	FYPGSDNI A (SEQ ID NO:17)	WFYPGSDNIKYNA KFKD (SEQ ID NO:16)	PGSD (SEQ ID NO:18)	WIGWFYPGSDNIK (SEQ ID NO:19)	WFYPGSDNIK (SEQ ID NO:20)
重链 CDR3	HEAFSYYDVAWF Y (SEQ ID NO:21)	ARHEAFSYYDV AW FAY (SEQ ID NO:22)	HEAFSYYDVAWF AY (SEQ ID NO:21)	EAFSYYDVAW FA (SEQ ID NO:23)	ARHEAFSYYDVAW FA (SEQ ID NO:24)	HEAFSYYDVAW FA (SEQ ID NO:21)
轻链 CDR1	RSSQLVHSNGNT YLH (SEQ ID NO:25)	QSLVHSNGNT (SEQ ID NO:26)	RSSQLVHSNGN T YLH (SEQ ID NO:25)	SQSQLVHSNGNT Y (SEQ ID NO:27)	VHSNGNTYLHWY (SEQ ID NO:28)	RSSQLVHSNG NT YLH (SEQ ID NO:25)
轻链 CDR2	TVSNRFS (SEQ ID NO:29)	TVS (SEQ ID NO:30)	TVSNRFS (SEQ ID NO:29)	TVS (SEQ ID NO:30)	LLIYTNSNRF (SEQ ID NO:31)	TVSNRFS (SEQ ID NO:29)
轻链 CDR3	SQTTTHFPYT (SEQ ID NO:32)	SQTTTHFPYT (SEQ ID NO:32)	SQTTTHFPYT (SEQ ID NO:32)	TTHFPY (SEQ ID NO:33)	SQTTTHFPY (SEQ ID NO:34)	SQTTTHFPYT (SEQ ID NO:32)
1E5 重链可变区 QVQLQQSGAELVKPGTTSVRLSCKASGYTFTDYTHWVKLRSQGLEWIGWFYPGSDNIKYNAKFKD GRL						

[0106]

TSEDSA VYFCARHEAFSYYDVAAWFAYWGQGTLVTVSA (SEQ ID NO:35)				
1E5 轻链 可变区				DVVMQTPLSLPVSLGDQASISCRSSQLVHSNGNTYLHWYLQKPGQSPKLLIYTVDNSRFSGSGSDFTLNFSRVEAE
DLGVYFCSQTHFPYTFGGGTKEIK (SEQ ID NO:36)				
Hz1E5.A1 重链 可变区				EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTDVTIHWVVRQAPGQGLEWMGWFYPGSDNIKYNAKEFKDRATLTDKSTSTAYME
LSSL				RSEDTAVYYCARHEAFSYYDVAAWFAYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO:62)
Hz1E5.A1 轻链 可变区				DVVMQTPLSLPVTPGEPASISCRSSQLVHSNGNTYLHWYLQKPGQSPQLIYTVDNSRFSGSGSDFTLNFSRVEAF
DVGVYFCSQTHFPYTFGGTKEIK (SEQ ID NO:63)				

表 2. 抗体 1E9 CDR 和可变区序列

	示例性	IMGT	Kabat	Chothia	Contact	AbM
重链 CDR1	GYTFTDYTEH (SEQ ID NO:11)	GYTFTDYTE (SEQ ID NO:12)	DYTEH (SEQ ID NO:13)	GYTFTDYE (SEQ ID NO:14)	TDYTH (SEQ ID NO:15)	GYTFTDYTEH (SEQ ID NO:11)
重链 CDR2	WFYPGSDNIK FNA KFRD (SEQ ID NO:37)	FYPGSDNI FNA (SEQ ID NO:17)	WFYPGSDNIK FNA KFRD (SEQ ID NO:37)	PGSD (SEQ ID NO:18)	WIGWFYPGSD NIK (SEQ ID NO:19)	WFYPGSDNIK (SEQ ID NO:20)
重链 CDR3	HEAFYVYDVA WFAN (SEQ ID NO:38)	ARHEAFYVYDVA FAN (SEQ ID NO:39)	HEAFYVYDVA N (SEQ ID NO:38)	EAFYVYDVAW FA (SEQ ID NO:68)	ARHEAFYVYDV AWFA (SEQ ID NO:69)	HEAFYVYDVAWF AN (SEQ ID NO:38)

[0107]

轻链 CDR1	RSSQLVHSNG NT YLH (SEQ ID NO:25)	QSLVHSNGNT (SEQ ID NO:26)	RSSQLVHSNGNT YLH (SEQ ID NO:25)	SQSLVHSNGNT Y (SEQ ID NO:27)	VHSNGNTYLH WF (SEQ ID NO:40)	RSSQLVHSNGNT YLH (SEQ ID NO:25)
轻链 CDR2	TVSNRFS (SEQ ID NO:29)	TVS (SEQ ID NO:30)	TVSNRFS (SEQ ID NO:29)	TVS (SEQ ID NO:30)	LLIYTVSNRF (SEQ ID NO:31)	TVSNRFS (SEQ ID NO:29)
轻链 CDR3	SQSTHFPYT (SEQ ID NO:41)	SQSTHFPYT (SEQ ID NO:41)	SQSTHFPYT (SEQ ID NO:41)	STHFPY (SEQ ID NO:42)	SQSTHFPY (SEQ ID NO:43)	SQSTHFPYT (SEQ ID NO:41)
1E9 重链可变区						
QVQLQQSGTTELVKPGAVKLSCKASGYTFTDYLHWVKQRSGQGLEWIGWFYPGSDNIKFNAKFRDKATLTADKSSTVYMELSL RL						
TSEDSAVYFCARHEAFYVYDVAVWFANWGGQGTLVTVST (SEQ ID NO:44)						
1E9 轻链可变区						
DVVMQTPLSLPVSLGDQASISCRSSQLVHSNGNTYLHWFLQKPGQSPNLLIYTVSNRFSGVPDFSGSGSGTDFTLKISRVEAG DLGVYFCSQSTHFPYTFGGGTLEIK (SEQ ID NO:45)						

表 3. 抗体 1A8 CDR 和可变区序列

	示例性	IMGT	Kabat	Chothia	Contact	AbM
重链 CDR1	GYTFTDYTH (SEQ ID NO:11)	GYTFTDYT (SEQ ID NO:12)	DYTH (SEQ ID NO:13)	GYTFTDY (SEQ ID NO:14)	TDYTH (SEQ ID NO:15)	GYTFTDYTH (SEQ ID NO:11)
重链 CDR2	WFYPGSDNIKY NE KFKD (SEQ ID NO:17)	FYPGSDNI KYNE (SEQ ID NO:17)	WFYPGSDNI KFKD (SEQ ID NO:46)	PGSD (SEQ ID NO:18)	WIGWFYPGSDNI K YNEKFKD (SEQ ID NO:47)	WFYPGSDNIK (SEQ ID NO:20)

[0108]

	(SEQ ID NO:46)			
重链 CDR3	HEAYYYVYDVA WFAY (SEQ ID NO:48)	ARHEAYYYVYDV AW FAY (SEQ ID NO:49)	HEAYYYVYDVAWF AY (SEQ ID NO:48)	EAYYYVYDVAWF FA (SEQ ID NO:50)
轻链 CDR1	SSSQLVHSNGNT T FLH (SEQ ID NO:52)	QSLVHSNGNTF (SEQ ID NO:53)	SSSQLVHSNGNT FLH (SEQ ID NO:52)	SQSLVHSNGNT F (SEQ ID NO:54)
轻链 CDR2	TVSNRFS (SEQ ID NO:29)	TVS (SEQ ID NO:30)	TVSNRFS (SEQ ID NO:29)	TVS (SEQ ID NO:30)
轻链 CDR3	SQSTHFPYT (SEQ ID NO:41)	SQSTHFPYT (SEQ ID NO:41)	SQSTHFPYT (SEQ ID NO:41)	SQSTHFPYT (SEQ ID NO:43)
1A8 重链可变区 QVQLQQSGAELVKPGASVKLSCKASGYTFTDYTIHWVKQRSGQGLEWIGWFYPGSDNIKYNEKFKD L TSEDSAVYFCARHEAYYYVYDVAWFAYW/GQGTLTVSA (SEQ ID NO:56)				
1A8 轻链可变区 DVVMTQTPLSILPVSLGDQASISCSSSQSLVHSNGNTFLHWFLQRPQQSPKLLIYT DLGVYFCQSOSTHFPYTTHGGTTLEIK (SEQ ID NO:57)				

[0109] CDR由本领域技术人员通过多种方法/系统定义。这些系统和/或定义已经开发并完善了许多年，并且包括Kabat、Chothia、IMGT、AbM和“contact”。Kabat定义是基于序列变

异性,通常是最常用的定义。Chothia定义是基于结构环区的位置。IMGT系统是基于序列可变性和可变结构域结构内的位置。AbM定义是Kabat与Chothia之间的折衷方案。“Contact”定义是基于对可用抗体晶体结构的分析。如表1-表3中包括的示例性系统是Kabat和Chothia的组合。对这些不同的定义和编号系统的比较如下所示。这些还描绘于图1中,图1显示了示例性抗体的可变区序列比对。

[0110]

	示例性	IMGT	Kabat	AbM	Chothia	Contact
HC CDR1	26-35	27-38	31-35	26-35	26-32	30-35
HC CDR2	50-65	56-65	50-65	50-58	53-55	47-58
HC CDR3	95-102	105-117	95-102	95-102	96-101	93-101
LC CDR1	24-34	27-38	24-34	24-34	26-32	30-36
LC CDR2	50-56	56-65	50-56	50-56	50-52	46-55
LC CDR3	89-97	105-117	89-97	89-97	91-96	89-96

[0111] 在一些实施方案中,特异性地结合ANGPTL8的抗体包含(a)表1中的重链CDR1、表1中的重链CDR2和表1中的重链CDR3;和/或(b)表1中的轻链CDR1、表1中的轻链CDR2和表1中的轻链CDR3。

[0112] 在一些实施方案中,特异性地结合ANGPTL8的抗体包含:包含SEQ ID NO:11、12、13、14或15的重链CDR1;包含SEQ ID NO:16、17、18、19或20的重链CDR2;和包含SEQ ID NO:21、22、23或24的重链CDR3。在一些实施方案中,抗ANGPTL8抗体还包含:包含SEQ ID NO:25、26、27或28的轻链CDR1;包含SEQ ID NO:29、30或31的轻链CDR2;和包含SEQ ID NO:32、33或34的轻链CDR3。在一些实施方案中,抗ANGPTL8抗体包含:包含SEQ ID NO:25、26、27或28的轻链CDR1;包含SEQ ID NO:29、30或31的轻链CDR2;和包含SEQ ID NO:32、33或34的轻链CDR3。在一些实施方案中,抗ANGPTL8抗体包含:包含SEQ ID NO:11、12、13、14或15的重链CDR1;包含SEQ ID NO:16、17、18、19或20的重链CDR2;包含SEQ ID NO:21、22、23或24的重链CDR3;包含SEQ ID NO:25、26、27或28的轻链CDR1;包含SEQ ID NO:29、30或31的轻链CDR2;和包含SEQ ID NO:32、33或34的轻链CDR3。在一些实施方案中,抗ANGPTL8抗体包含:包含SEQ ID NO:11的重链CDR1;包含SEQ ID NO:16的重链CDR2;包含SEQ ID NO:21的重链CDR3;包含SEQ ID NO:25的轻链CDR1;包含SEQ ID NO:29的轻链CDR2;和包含SEQ ID NO:32的轻链CDR3。在一些实施方案中,抗ANGPTL8抗体包含:包含SEQ ID NO:13的重链CDR1;包含SEQ ID NO:16的重链CDR2;包含SEQ ID NO:21的重链CDR3;包含SEQ ID NO:25的轻链CDR1;包含SEQ ID NO:29的轻链CDR2;和包含SEQ ID NO:32的轻链CDR3。

[0113] 在一些实施方案中,特异性地结合ANGPTL8的抗体包含:(a)包含SEQ ID NO:11、12、13、14、15的重链CDR1,或其包含1、2、3或4个氨基酸取代的变体;包含SEQ ID NO:16、17、18、19、20的重链CDR2,或其包含1、2、3或4个氨基酸取代的变体;包含SEQ ID NO:21、22、23、24的重链CDR3,或其包含1、2、3或4个氨基酸取代的变体;包含SEQ ID NO:25、26、27、28的轻链CDR1,或其包含1、2、3或4个氨基酸取代的变体;包含SEQ ID NO:29、30、31的轻链CDR2,或其包含1、2、3或4个氨基酸取代的变体;和包含SEQ ID NO:32、33、34的轻链CDR3,或其包含1、2、3或4个氨基酸取代的变体。在一些实施方案中,氨基酸取代是保守性取代。在一些实施方案中,作为人源化过程的一部分进行取代。在一些实施方案中,作为种系人源化过程的一部分进行取代。在一些实施方案中,作为亲和力成熟过程的一部分进行取代。在一些实施方案中,作为亲和力成熟过程的一部分进行取代。

案中,作为优化过程的一部分进行取代。

[0114] 在一些实施方案中,特异性地结合ANGPTL8的抗体包含(a)表2中的重链CDR1、表2中的重链CDR2和表2中的重链CDR3;和/或(b)表2中的轻链CDR1、表2中的轻链CDR2和表2中的轻链CDR3。

[0115] 在一些实施方案中,特异性地结合ANGPTL8的抗体包含:包含SEQ ID NO:11、12、13、14或15的重链CDR1;包含SEQ ID NO:37、17、18、19或20的重链CDR2;和包含SEQ ID NO:38、39、68或69的重链CDR3。在一些实施方案中,抗ANGPTL8抗体还包含:包含SEQ ID NO:25、26、27或40的轻链CDR1;包含SEQ ID NO:29、30或31的轻链CDR2;和包含SEQ ID NO:41、42或43的轻链CDR3。在一些实施方案中,抗ANGPTL8抗体包含:包含SEQ ID NO:25、26、27或40的轻链CDR1;包含SEQ ID NO:29、30或31的轻链CDR2;和包含SEQ ID NO:41、42或43的轻链CDR3。在一些实施方案中,抗ANGPTL8抗体包含:包含SEQ ID NO:11、12、13、14或15的重链CDR1;包含SEQ ID NO:37、17、18、19或20的重链CDR2;包含SEQ ID NO:38、39、68或69的重链CDR3;包含SEQ ID NO:25、26、27或40的轻链CDR1;包含SEQ ID NO:29、30或31的轻链CDR2;和包含SEQ ID NO:41、42或43的轻链CDR3。在一些实施方案中,抗ANGPTL8抗体包含:包含SEQ ID NO:11的重链CDR1;包含SEQ ID NO:37的重链CDR2;包含SEQ ID NO:38的重链CDR3;包含SEQ ID NO:25的轻链CDR1;包含SEQ ID NO:29的轻链CDR2;和包含SEQ ID NO:41的轻链CDR3。在一些实施方案中,抗ANGPTL8抗体包含:包含SEQ ID NO:13的重链CDR1;包含SEQ ID NO:37的重链CDR2;包含SEQ ID NO:38的重链CDR3;包含SEQ ID NO:25的轻链CDR1;包含SEQ ID NO:29的轻链CDR2;和包含SEQ ID NO:41的轻链CDR3。

[0116] 在一些实施方案中,特异性地结合ANGPTL8的抗体包含:(a)包含SEQ ID NO:11、12、13、14、15的重链CDR1,或其包含1、2、3或4个氨基酸取代的变体;包含SEQ ID NO:37、17、18、19、20的重链CDR2,或其包含1、2、3或4个氨基酸取代的变体;包含SEQ ID NO:38、39、68、69的重链CDR3,或其包含1、2、3或4个氨基酸取代的变体;包含SEQ ID NO:25、26、27、40的轻链CDR1,或其包含1、2、3或4个氨基酸取代的变体;包含SEQ ID NO:29、30、31的轻链CDR2,或其包含1、2、3或4个氨基酸取代的变体;和包含SEQ ID NO:41、42、43的轻链CDR3,或其包含1、2、3或4个氨基酸取代的变体。在一些实施方案中,氨基酸取代是保守性取代。在一些实施方案中,作为人源化过程的一部分进行取代。在一些实施方案中,作为种系人源化过程的一部分进行取代。在一些实施方案中,作为亲和力成熟过程的一部分进行取代。在一些实施方案中,作为优化过程的一部分进行取代。

[0117] 在一些实施方案中,特异性地结合ANGPTL8的抗体包含(a)表3中的重链CDR1、表3中的重链CDR2和表3中的重链CDR3;和/或(b)表3中的轻链CDR1、表3中的轻链CDR2和表3中的轻链CDR3。

[0118] 在一些实施方案中,特异性地结合ANGPTL8的抗体包含:包含SEQ ID NO:11、12、13、14或15的重链CDR1;包含SEQ ID NO:46、17、18、47或20的重链CDR2;和包含SEQ ID NO:48、49、50、51的重链CDR3。在一些实施方案中,抗ANGPTL8抗体还包含:包含SEQ ID NO:52、53、54或55的轻链CDR1;包含SEQ ID NO:29、30或31的轻链CDR2;和包含SEQ ID NO:41、42或43的轻链CDR3。在一些实施方案中,抗ANGPTL8抗体包含:包含SEQ ID NO:52、53、54或55的轻链CDR1;包含SEQ ID NO:29、30或31的轻链CDR2;和包含SEQ ID NO:41、42或43的轻链CDR3。在一些实施方案中,抗ANGPTL8抗体包含:包含SEQ ID NO:11、12、13、14或15的重链

CDR1;包含SEQ ID NO:46、17、18、47或20的重链CDR2;包含SEQ ID NO:48、49、50或51的重链CDR3;包含SEQ ID NO:52、53、54或55的轻链CDR1;包含SEQ ID NO:29、30或31的轻链CDR2;和包含SEQ ID NO:41、42或43的轻链CDR3。在一些实施方案中,抗ANGPTL8抗体包含:包含SEQ ID NO:11的重链CDR1;包含SEQ ID NO:46的重链CDR2;包含SEQ ID NO:48的重链CDR3;包含SEQ ID NO:52的轻链CDR1;包含SEQ ID NO:29的轻链CDR2;和包含SEQ ID NO:41的轻链CDR3。在一些实施方案中,抗ANGPTL8抗体包含:包含SEQ ID NO:13的重链CDR1;包含SEQ ID NO:46的重链CDR2;包含SEQ ID NO:48的重链CDR3;包含SEQ ID NO:52的轻链CDR1;包含SEQ ID NO:29的轻链CDR2;和包含SEQ ID NO:41的轻链CDR3。

[0119] 在一些实施方案中,特异性地结合ANGPTL8的抗体包含:(a)包含SEQ ID NO:11、12、13、14、15的重链CDR1,或其包含1、2、3或4个氨基酸取代的变体;包含SEQ ID NO:46、17、18、47、20的重链CDR2,或其包含1、2、3或4个氨基酸取代的变体;包含SEQ ID NO:48、49、50、51的重链CDR3,或其包含1、2、3或4个氨基酸取代的变体;包含SEQ ID NO:52、53、54、55的轻链CDR1,或其包含1、2、3或4个氨基酸取代的变体;包含SEQ ID NO:29、30、31的轻链CDR2,或其包含1、2、3或4个氨基酸取代的变体;和包含SEQ ID NO:41、42、43的轻链CDR3,或其包含1、2、3或4个氨基酸取代的变体。在一些实施方案中,氨基酸取代是保守性取代。在一些实施方案中,作为人源化过程的一部分进行取代。在一些实施方案中,作为种系人源化过程的一部分进行取代。在一些实施方案中,作为亲和力成熟过程的一部分进行取代。在一些实施方案中,作为优化过程的一部分进行取代。

[0120] 在一些实施方案中,包含本文所述的CDR的抗体或其抗原结合片段还包含(a)重链FR1、重链FR2、重链FR3和重链FR4;和/或(b)轻链FR1、轻链FR2、轻链FR3和轻链FR4。

[0121] 制备了本文所述的示例性抗体的重链可变区和轻链可变区的序列比对,并显示在图1中。在一些实施方案中,抗ANGPTL8抗体包含:重链CDR1,所述重链CDR1包含GYTFTDYTEH(SEQ ID NO:11);重链CDR2,所述重链CDR2包含WFYPGSDNIKX₁NX₂KFX₃D,其中X₁为Y或F,X₂为A或E并且X₃为K或R(SEQ ID NO:58);重链CDR3,所述重链CDR3包含HEAX₁X₂X₃YDVAWFAX₄,其中X₁为F或Y,X₂为S或Y,X₃为Y或V,X₄为Y或N(SEQ ID NO:59);轻链CDR1,所述轻链CDR1包含X₁SSQSLVHSNGNTX₂LH,其中X₁为R或S,X₂为Y或F(SEQ ID NO:60);轻链CDR2,所述轻链CDR2包含TVSNRFS(SEQ ID NO:29);和轻链CDR3,所述轻链CDR3包含SQX₁THFPYT,其中X₁为T或S(SEQ ID NO:61)。

[0122] 在一些实施方案中,特异性地结合ANGPTL8的抗体包含与SEQ ID NO:35、SEQ ID NO:44或SEQ ID NO:56具有至少约80%序列同一性的重链可变区和/或与SEQ ID NO:36、SEQ ID NO:45或SEQ ID NO:57具有至少80%序列同一性的轻链可变区。在一些实施方案中,抗ANGPTL8抗体包含与SEQ ID NO:35具有至少约85%、至少约90%、至少约95%、至少约97%或至少约99%序列同一性的重链可变区。在一些实施方案中,抗ANGPTL8抗体包含与SEQ ID NO:44具有至少约85%、至少约90%、至少约95%、至少约97%或至少约99%序列同一性的重链可变区。在一些实施方案中,抗ANGPTL8抗体包含与SEQ ID NO:56具有至少约85%、至少约90%、至少约95%、至少约97%或至少约99%序列同一性的重链可变区。在一些实施方案中,抗ANGPTL8抗体包含与SEQ ID NO:36具有至少约85%、至少约90%、至少约95%、至少约97%或至少约99%序列同一性的轻链可变区。在一些实施方案中,抗ANGPTL8抗体包含与SEQ ID NO:45具有至少约85%、至少约90%、至少约95%、至少约97%或至少约99%序列同一性的轻链可变区。

99%序列同一性的轻链可变区。在一些实施方案中,抗ANGPTL8抗体包含与SEQ ID NO:57具有至少约85%、至少约90%、至少约95%、至少约97%或至少约99%序列同一性的轻链可变区。在一些实施方案中,抗ANGPTL8抗体包含与SEQ ID NO:35、SEQ ID NO:44或SEQ ID NO:56具有至少约95%序列同一性的重链可变区和/或与SEQ ID NO:36、SEQ ID NO:45或SEQ ID NO:57具有至少约95%序列同一性的轻链可变区。在一些实施方案中,抗ANGPTL8抗体包含含有SEQ ID NO:35、SEQ ID NO:44或SEQ ID NO:56的重链可变区和/或含有SEQ ID NO:36、SEQ ID NO:45或SEQ ID NO:57的轻链可变区。在一些实施方案中,抗ANGPTL8抗体包含含有SEQ ID NO:35、SEQ ID NO:44或SEQ ID NO:56的重链可变区和含有SEQ ID NO:36、SEQ ID NO:45或SEQ ID NO:57的轻链可变区。在一些实施方案中,抗ANGPTL8抗体包含基本上由SEQ ID NO:35、SEQ ID NO:44或SEQ ID NO:56组成的重链可变区和基本上由SEQ ID NO:36、SEQ ID NO:45或SEQ ID NO:57组成的轻链可变区。在一些实施方案中,抗ANGPTL8抗体包含由SEQ ID NO:35、SEQ ID NO:44或SEQ ID NO:56组成的重链可变区和由SEQ ID NO:36、SEQ ID NO:45或SEQ ID NO:57组成的轻链可变区。在一些实施方案中,抗ANGPTL8抗体包含含有SEQ ID NO:35的重链可变区和含有SEQ ID NO:36的轻链可变区。在一些实施方案中,抗ANGPTL8抗体包含含有SEQ ID NO:44的重链可变区和含有SEQ ID NO:45的轻链可变区。在一些实施方案中,抗ANGPTL8抗体包含含有SEQ ID NO:56的重链可变区和含有SEQ ID NO:57的轻链可变区。

[0123] 在一些实施方案中,特异性地结合ANGPTL8的抗体包含本文所述的任一种抗体的人源化型式或人源化变体。在一些实施方案中,抗体是人源化抗体,所述人源化抗体包含(a)表1中的重链CDR1、表1中的重链CDR2和表1中的重链CDR3;和/或(b)表1中的轻链CDR1、表1中的轻链CDR2和表1中的轻链CDR3。在一些实施方案中,抗体是人源化抗体,所述人源化抗体包含(a)表2中的重链CDR1、表2中的重链CDR2和表2中的重链CDR3;和/或(b)表2中的轻链CDR1、表2中的轻链CDR2和表2中的轻链CDR3。在一些实施方案中,抗体是人源化抗体,所述人源化抗体包含(a)表3中的重链CDR1、表3中的重链CDR2和表3中的重链CDR3;和/或(b)表3中的轻链CDR1、表3中的轻链CDR2和表3中的轻链CDR3。

[0124] 在一些实施方案中,抗ANGPTL8抗体包含与SEQ ID NO:62具有至少约80%序列同一性的重链可变区和与SEQ ID NO:63具有至少约80%序列同一性的轻链可变区。在一些实施方案中,抗ANGPTL8抗体包含与SEQ ID NO:62具有至少约85%、至少约90%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%,至少约99%序列同一性的重链可变区和与SEQ ID NO:63具有至少约85%、至少约90%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%,至少约99%序列同一性的轻链可变区。在一些实施方案中,抗ANGPTL8抗体包含含有SEQ ID NO:62的重链可变区和含有SEQ ID NO:63的轻链可变区。在一些实施方案中,抗ANGPTL8抗体包含含有SEQ ID NO:64的重链和含有SEQ ID NO:65的轻链。

[0125] 本文提供了与本文所述的一种或多种抗体或其抗原结合片段竞争结合至人类ANGPTL8的抗体。在一些实施方案中,抗体与本文所述的抗体中的一者结合相同表位。在一些实施方案中,抗体所结合的表位与本文所述的抗体中的一者所结合的表位重叠。与本文所述的抗体竞争或结合至相同表位的抗体和抗原结合片段预期显示相似的功能特性。

[0126] 本文所述的抗体及其抗原结合片段包括包含表1-表3中提供的CDR中的一个、两个、三个、四个、五个和/或六个的那些。本文所述的抗体和抗原结合片段包括包含表1-表3

中提供的重链可变区和/或轻链可变区的那些抗体。作为特定但非限制性实例,本文提供的抗体包括与包含以下的抗体竞争的那些:(a)表1-表3中提供的CDR中的一个、两个、三个、四个、五个或全部六个;(b)选自表1-表3中提供的那些的重链可变区和轻链可变区;(c)包含如表1-表3中提供的重链可变区和轻链可变区的两条轻链和两条重链。

[0127] 在一些实施方案中,抗体或其抗原结合片段与本文所述的抗ANGPTL8抗体竞争结合至ANGPTL8。在一些实施方案中,抗体或其抗原结合片段与参照抗体竞争结合至ANGPTL8,其中所述参照抗体包含:(a)重链CDR1,所述重链CDR1包含GYTFTDVTIH(SEQ ID NO:11);重链CDR2,所述重链CDR2包含WFYPGSDNIKX₁NX₂KFX₃D,其中X₁为Y或F,X₂为A或E并且X₃为K或R(SEQ ID NO:58);重链CDR3,所述重链CDR3包含HEAX₁X₂X₃YDVAWFAX₄,其中X₁为F或Y,X₂为S或Y,X₃为Y或V,X₄为Y或N(SEQ ID NO:59);和/或(b)轻链CDR1,所述轻链CDR1包含X₁SSQSLVHSNGNTX₂LH,其中X₁为R或S,X₂为Y或F(SEQ ID NO:60);轻链CDR2,所述轻链CDR2包含TVSNRFS(SEQ ID NO:29);和轻链CDR3,所述轻链CDR3包含SQX₁THFPYT,其中X₁为T或S(SEQ ID NO:61)。在一些实施方案中,抗体或其抗原结合片段与参照抗体竞争结合至ANGPTL8,其中所述参照抗体包含:包含SEQ ID NO:11、12、13、14或15的重链CDR1;包含SEQ ID NO:16、17、18、19或20的重链CDR2;包含SEQ ID NO:21、22、23或24的重链CDR3;包含SEQ ID NO:25、26、27或28的轻链CDR1;包含SEQ ID NO:29、30或31的轻链CDR2;和包含SEQ ID NO:32、33或34的轻链CDR3。在一些实施方案中,抗体或其抗原结合片段与参照抗体竞争结合至ANGPTL8,其中所述参照抗体包含:包含SEQ ID NO:11、12、13、14或15的重链CDR1;包含SEQ ID NO:37、17、18、19或20的重链CDR2;包含SEQ ID NO:38、39、68或69的重链CDR3;包含SEQ ID NO:25、26、27或40的轻链CDR1;包含SEQ ID NO:29、30或31的轻链CDR2;和包含SEQ ID NO:41、42或43的轻链CDR3。在一些实施方案中,抗体或其抗原结合片段与参照抗体竞争结合至ANGPTL8,其中所述参照抗体包含:包含SEQ ID NO:11、12、13、14或15的重链CDR1;包含SEQ ID NO:46、17、18、47或20的重链CDR2;包含SEQ ID NO:48、49、50或51的重链CDR3;包含SEQ ID NO:52、53、54或55的轻链CDR1;包含SEQ ID NO:29、30或31的轻链CDR2;和包含SEQ ID NO:41、42或43的轻链CDR3。

[0128] 在一些实施方案中,抗体或其抗原结合片段与参照抗体竞争结合至ANGPTL8,其中所述参照抗体包含:(a)包含SEQ ID NO:35、44、56或62的重链可变区;和(b)包含SEQ ID NO:36、45、57或63的轻链可变区。在一些实施方案中,抗体与参照抗体竞争特异性地结合至ANGPTL8,其中所述参照抗体包含含有SEQ ID NO:35的重链可变区和含有SEQ ID NO:36的轻链可变区。在一些实施方案中,抗体与参照抗体竞争特异性地结合至ANGPTL8,其中所述参照抗体包含含有SEQ ID NO:44的重链可变区和含有SEQ ID NO:45的轻链可变区。在一些实施方案中,抗体与参照抗体竞争特异性地结合至ANGPTL8,其中所述参照抗体包含含有SEQ ID NO:56的重链可变区和含有SEQ ID NO:57的轻链可变区。在一些实施方案中,抗体与参照抗体竞争特异性地结合至ANGPTL8,其中所述参照抗体包含含有SEQ ID NO:62的重链可变区和含有SEQ ID NO:63的轻链可变区。

[0129] 在一些实施方案中,本文所述的ANGPTL8结合剂包含抗体(例如,全长抗体或其抗原结合片段),其中至少一个或多个恒定区已被修饰或缺失。在一些实施方案中,抗体可包含对三个重链恒定区(CH1、CH2或CH3)中的一者或者者和/或对轻链恒定区(CL)的修饰。在一些实施方案中,修饰的抗体的重链恒定区包含至少一个人类恒定区。在一些实施方案中,

修饰的抗体的重链恒定区包含超过一个人类恒定区。在一些实施方案中,对恒定区的修饰包括在一个或多个区域中一个或多个氨基酸的添加、缺失或取代。在一些实施方案中,从修饰抗体的恒定区部分地或完全地缺失一个或多个区域。在一些实施方案中,已从抗体中去除整个CH2结构域(Δ CH2构建体)。在一些实施方案中,缺失的恒定区被短的氨基酸间隔子所替代,所述氨基酸间隔子提供了通常由缺失的恒定区赋予的某些分子柔性。在一些实施方案中,修饰的抗体包含直接融合至抗体铰链区的CH3结构域。在一些实施方案中,修饰的抗体包含插入铰链区与修饰的CH2和/或CH3结构域之间的肽间隔子。

[0130] 在本领域中已知的是抗体的一个或多个恒定区介导若干效应子功能。例如,补体的C1组分与IgG或IgM抗体的Fc区结合(结合至抗原)激活了补体系统。补体的激活在细胞病原体的调理作用和溶解中很重要。补体的激活还刺激炎症反应,并可能参与自身免疫超敏反应。此外,抗体的Fc区可结合表达Fc受体(FcR)的细胞。存在许多对不同类别的抗体具有特异性的Fc受体,包括IgG(γ 受体)、IgE(ϵ 受体)、IgA(α 受体)和IgM(μ 受体)。抗体与细胞表面Fc受体的结合会触发许多重要且多样化的生物学反应,包括抗体包被粒子的吞噬和破坏、免疫复合物的清除、杀伤细胞对抗体包被靶细胞的溶解(称为抗体依赖性细胞细胞毒性或ADCC)、炎性介质的释放、胎盘转移以及免疫球蛋白产生控制。

[0131] 在一些实施方案中,修饰的抗体提供改变的效应子功能,这些效应子功能继而影响所施用的抗体的生物型态。例如,在一些实施方案中,恒定区的缺失或失活(通过点突变或其他手段)可减少循环修饰抗体的Fc受体结合。在一些实施方案中,恒定区修饰延长抗体的血清半衰期。在一些实施方案中,恒定区修饰减小抗体的血清半衰期。在一些实施方案中,恒定区修饰减少或去除抗体的ADCC和/或补体依赖性细胞毒性(CDC)。例如,人类IgG1 Fc区中的特定氨基酸被相应的IgG2或IgG4残基取代可能会减少修饰抗体中的效应子功能(例如ADCC和CDC)。因此,在一些实施方案中抗体不具有一种或多种效应子功能。在一些实施方案中,抗体不具有ADCC活性和/或CDC活性。在一些实施方案中,抗体不结合Fc受体和/或补体因子。在一些实施方案中,抗体不具有一种或多种效应子功能。在一些实施方案中,对恒定区进行修饰以消除二硫键或寡糖部分。在一些实施方案中,对恒定区进行修饰以添加/取代一个或多个氨基酸,从而提供例如一个或多个细胞毒素或碳水化合物附接位点。

[0132] 可使用众所周知的生物化学或分子工程技术对本文所述的抗体的恒定区进行修饰。在一些实施方案中,可通过将适当的核苷酸变化引入编码DNA中和/或通过合成所需的抗体或多肽来制备抗体变体。在这方面,有可能破坏由特定序列或区域提供的活性或效应子功能,同时基本上维持修饰的抗体的结构、结合活性和其他所需特征。

[0133] 本公开还涵盖与本文所述的重组抗体、单克隆抗体、嵌合抗体、人源化抗体和人类抗体或它们的抗体片段基本同源的其他变体和等效物。在一些实施方案中,可能期望提高抗体的结合亲和力。在一些实施方案中,可能期望调节抗体的其他生物学特性,包括但不限于特异性、热稳定性、表达水平、效应子功能、糖基化、免疫原性或溶解性。本领域技术人员将理解,氨基酸变化可改变抗体的翻译后过程,如改变糖基化位点的数目或位置或者改变膜锚定特征。

[0134] 变异可以是编码抗体或多肽的一个或多个核苷酸的取代、缺失或插入,这些变异导致与天然抗体或多肽序列相比氨基酸序列的变化。氨基酸替代可以是用具有相似结构和/或化学特性的另一个氨基酸替代一个氨基酸的结果,如用丝氨酸替代亮氨酸,例如保守

性氨基酸替代。插入或缺失可任选地在约1至5个氨基酸的范围内。在一些实施方案中,取代、缺失或插入包括相对于亲体分子,少于25个氨基酸取代、少于20个氨基酸取代、少于15个氨基酸取代、少于10个氨基酸取代、少于5个氨基酸取代、少于4个氨基酸、少于3个氨基酸取代或少于2个氨基酸取代。可通过系统地在序列中进行插入、缺失或取代并测试所得变体蛋白与亲本蛋白的活性来确定在生物学上有用和/或相关的氨基酸序列变异。

[0135] 在一些实施方案中,变体可包含在抗体或多肽的氨基末端和/或羧基末端添加的氨基酸残基。另外的氨基酸残基的长度可在一个残基至一百个或更多个残基的范围内。在一些实施方案中,变体包含N端甲硫氨酸残基。在一些实施方案中,变体包含另外的多肽/蛋白质,即融合蛋白。在一些实施方案中,变体被工程化可检测的,并且可包含可检测的标记和/或蛋白质(例如酶)。

[0136] 在一些实施方案中,可将不参与维持抗体的正确构象的半胱氨酸残基取代或缺失以调节抗体的特征,例如提高氧化稳定性和/或防止异常二硫键交联。相反地,在一些实施方案中,可添加一个或多个半胱氨酸残基以形成一个或多个二硫键,从而提高稳定性。

[0137] 在一些实施方案中,对本公开的抗体进行“去免疫”。抗体的去免疫通常由引入特定氨基酸突变(例如取代、缺失、添加)组成,从而除去T细胞表位而不显著降低抗体的结合亲和力或其他所需活性。

[0138] 可使用本领域已知的方法产生本文所述的变体抗体或多肽,这些方法包括但不限于定点诱变、丙氨酸扫描诱变和PCR诱变。

[0139] 在一些实施方案中,对本文所述的结合剂进行化学修饰。在一些实施方案中,结合剂是已通过糖基化、乙酰化、聚乙二醇化、磷酸化、酰胺化、由已知保护/封闭基团衍生化、蛋白水解裂解和/或与细胞配体或其他蛋白质连接进行化学修饰的抗体。可通过已知技术进行多种化学修饰中的任一种。

[0140] 本公开涵盖在非免疫球蛋白骨架上构建的结合剂,其中所述结合剂与本文所公开的抗ANGPTL8抗体结合至相同的表位或基本上相同的表位。在一些实施方案中,基于非免疫球蛋白的结合剂是在竞争性结合测定中与本文所述的抗ANGPTL8抗体竞争的剂。在一些实施方案中,替代结合剂包括支架蛋白。一般来讲,可根据支架蛋白骨架的结构将支架蛋白质分配给三组之一:(1)由 α 螺旋组成的支架;(2)具有较少二级结构或不规则 α 螺旋和 β 折叠架构的小型支架;和(3)主要由 β 折叠组成的支架。支架蛋白包括但不限于:基于脂质运载蛋白支架的anticalin;基于人类纤连蛋白3型的第10个结构域的adnectin;基于金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)蛋白A的Ig结合区中的B结构域的亲和体(affibody);基于锚蛋白重复结构域蛋白的darpin;基于人类Fyn蛋白激酶的SH3结构域的菲诺体(fynomer);基于嗜酸热硫化叶菌(*Sulfolobus acidocaldarius*)的Sac7d的affitin;基于人类 γ -B-晶状体蛋白或人类遍在蛋白的affitin;基于膜受体蛋白的A结构域的高亲合性多聚体(avimer);基于稳定的30个氨基酸的反平行 β 链蛋白折叠的结蛋白(半胱氨酸结小蛋白);以及基于含有三个二硫键和三个环的结构的库尼茨型结构域(Kunitz domain)抑制剂支架。在一些实施方案中,ANGPTL8结合剂包括工程化的支架蛋白,所述工程化的支架蛋白包含如表1-表3中所示的一个或多个CDR。

[0141] 一般来讲,抗原-抗体相互作用是非共价的且可逆的,是由氢键、疏水相互作用、静电力和范德华力共同形成的。当描述抗原-抗体复合物的强度时,通常提及亲和力和/或亲

合力。抗体与其抗原的结合是可逆过程，并且结合的亲和力通常被报告为平衡解离常数(K_D)。 K_D 是抗体解离速率(k_{off}) (从抗原解离的速度)与抗体缔合速率(k_{on}) (结合抗原的速度)的比。在一些实施方案中，如下确定 K_D 值：测量特定抗体/抗原相互作用的 k_{on} 和 k_{off} 速率，然后使用这些值的比来计算 K_D 值。 K_D 值可用于评估个别抗体/抗原相互作用的强度并进行等级排序。抗体的 K_D 越低，抗体对其靶标的亲和力越高。亲和力给出了抗体-抗原复合物的整体强度的量度。它取决于三个主要参数：(i) 抗体对表位的亲和力；(ii) 抗体和抗原两者的效价；以及(iii) 相互作用部分的结构排列。

[0142] 在一些实施方案中，ANGPTL8结合剂(例如抗体)以约1 μ M或更小、约100nM或更小、约40nM或更小、约20nM或更小、约10nM或更小、约1nM或更小、约0.1nM或更小、50pM或更小、10pM或更小、或1pM或更小的解离常数(K_D)结合ANGPTL8。在一些实施方案中，ANGPTL8结合剂以约20nM或更小的 K_D 结合ANGPTL8。在一些实施方案中，ANGPTL8结合剂以约10nM或更小的 K_D 结合ANGPTL8。在一些实施方案中，ANGPTL8结合剂以约1nM或更小的 K_D 结合ANGPTL8。在一些实施方案中，ANGPTL8结合剂以约0.5nM或更小的 K_D 结合ANGPTL8。在一些实施方案中，ANGPTL8结合剂以约0.1nM或更小的 K_D 结合ANGPTL8。在一些实施方案中，ANGPTL8结合剂以约50pM或更小的 K_D 结合ANGPTL8。在一些实施方案中，ANGPTL8结合剂以约25pM或更小的 K_D 结合ANGPTL8。在一些实施方案中，ANGPTL8结合剂以约10pM或更小的 K_D 结合ANGPTL8。在一些实施方案中，结合剂(例如抗体)与ANGPTL8的解离常数是使用包含固定在BIACORE芯片上的ANGPTL8的至少一部分或抗原结合片段的ANGPTL8融合蛋白测定的解离常数。在一些实施方案中，结合剂(例如抗体)与ANGPTL8的解离常数是使用固定在BIACORE芯片上的ANGPTL8肽(例如SE1肽)测定的解离常数。在一些实施方案中，结合剂(例如抗体)与ANGPTL8的解离常数是使用由抗BIACORE芯片上的抗人类IgG抗体捕获的结合剂和可溶性ANGPTL8或其片段测定的解离常数。

[0143] 在一些实施方案中，ANGPTL8结合剂(例如抗体)以约1 μ M或更小、约100nM或更小、约40nM或更小、约20nM或更小、约10nM或更小、约1nM或更小、或约0.1nM或更小的半最大有效浓度(EC50)结合ANGPTL8。在一些实施方案中，ANGPTL8结合剂以约1 μ M或更小、约100nM或更小、约40nM或更小、约20nM或更小、约10nM或更小、约1nM或更小、或约0.1nM或更小的EC50结合至人类ANGPTL8。在一些实施方案中，ANGPTL8结合剂以约40nM或更小、约20nM或更小、约10nM或更小、约1nM或更小、或约0.1nM或更小的EC50结合小鼠ANGPTL8和/或人类ANGPTL8。

[0144] 本文所述的结合剂(例如抗体或其抗原结合片段)可通过本领域已知的任何合适方法来产生。此类方法的范围从直接蛋白质合成方法到构建编码多肽序列的DNA序列并在合适的宿主中表达那些序列。在一些实施方案中，通过分离或合成编码目标野生型蛋白的DNA序列使用重组技术构建DNA序列。任选地，可通过位点特异性诱变对该序列进行诱变处理以提供其功能变体。在一些实施方案中，通过使用寡核苷酸合成仪进行化学合成来构建编码目标多肽的DNA序列。可基于所需多肽的氨基酸序列并选择将在其中产生目标重组多肽的宿主细胞中所偏爱的那些密码子来设计寡核苷酸。可应用标准方法来合成编码分离的目标多肽的多核苷酸序列。例如，可使用完整氨基酸序列来构建回译基因。此外，可合成包含编码特定分离多肽的核苷酸序列的DNA低聚物。例如，可合成几种编码所需多肽的部分的

小寡核苷酸,然后将它们连接。各个寡核苷酸通常含有5'或3'突出端以用于互补组装。

[0145] 一旦组装(通过合成、定点诱变或另一种方法),就可将编码特定目标多肽的多核苷酸序列插入表达载体中,并可操作地连接至适合在所需宿主中表达蛋白质的表达控制序列。可通过核苷酸测序、限制性酶切图谱分析和/或生物活性多肽在合适宿主中的表达来确认正确组装。如本领域众所周知的,为了获得转染基因在宿主中的高表达水平,必须将所述基因可操作地连接至在所选表达宿主中起作用的转录和翻译表达控制序列。

[0146] 在一些实施方案中,使用重组表达载体来扩增和表达编码针对人类ANGPTL8的抗体或其片段的DNA。例如,重组表达载体可以是可复制的DNA构建体,所述DNA构建体具有编码ANGPTL8结合剂,如抗ANGPTL8抗体或其抗原结合片段的多肽链的合成的或cDNA衍生的DNA片段,所述DNA片段可操作地连接至来源于哺乳动物、微生物、病毒或昆虫基因的合适转录和/或翻译调控元件。转录单位通常包含以下各项的组件:(1)在基因表达中具有调控作用的一个或多个遗传元件,例如转录启动子或增强子;(2)被转录成mRNA并翻译成蛋白质的结构或编码序列;和(3)适当的转录和翻译起始和终止序列。调控元件可包括操纵子序列以控制转录。可另外并入通常由复制起点赋予的在宿主中复制的能力以及促进转化子识别的选择基因。当DNA区域在功能上相互关联时,它们就是“可操作地连接的”。例如,如果信号肽的DNA(分泌性前导序列)表达为参与多肽分泌的前体,则所述信号肽的DNA与所述多肽的DNA可操作地连接;如果启动子控制编码序列的转录,则所述启动子与所述序列可操作地连接;或者如果核糖体结合位点被定位成使得容许翻译,则所述核糖体结合位点与编码序列可操作地连接。在一些实施方案中,旨在用于酵母表达系统的结构元件包括使得翻译的蛋白质能够被宿主细胞分泌至细胞外的前导序列。在一些实施方案中,在重组蛋白在无前导序列或转运序列时表达的情况下,多肽可能包含N端甲硫氨酸残基。随后可任选地从表达的重组蛋白中切除此残基以提供最终产物。

[0147] 表达控制序列和表达载体的选择通常取决于宿主的选择。可使用多种多样的表达宿主/载体组合。可用于真核宿主的表达载体包括例如包含来自SV40、牛乳头瘤病毒、腺病毒和巨细胞病毒的表达控制序列的载体。可用于细菌宿主的表达载体包括已知的细菌质粒,如来自大肠杆菌的质粒,包括pCR1、pBR322、pMB9以及它们的衍生物;以及更广泛的宿主范围质粒,如M13和其他丝状单链DNA噬菌体。

[0148] 本公开的ANGPTL8结合剂(例如抗体)可从一种或多种载体表达。例如,在一些实施方案中,重链多肽由一种载体表达,而轻链多肽由第二载体表达。在一些实施方案中,重链多肽和轻链多肽由一种载体表达。

[0149] 适用于表达ANGPTL8结合剂(例如抗体)或ANGPTL8蛋白或其片段以用作抗原或免疫原的宿主细胞包括原核生物、酵母细胞、昆虫细胞或在适当启动子控制下的高等真核细胞。原核生物包括革兰氏阴性或革兰氏阳性生物体,例如大肠杆菌或芽孢杆菌。高等真核细胞包括如本文所述的哺乳动物来源的已确立的细胞系。还可采用无细胞翻译系统。适用于细菌、真菌、酵母和哺乳动物细胞宿主的克隆和表达载体,以及蛋白质生产(包括抗体生产)方法在本领域中是众所周知的。

[0150] 可使用各种哺乳动物培养系统来表达重组多肽。重组蛋白在哺乳动物细胞中的表达可能是理想的,因为这些蛋白通常正确地折叠,适当地修饰且具有生物学功能。合适的哺乳动物宿主细胞系的实例包括但不限于COS-7(猴肾来源的)、L-929(鼠成纤维细胞来源

的)、C127(鼠乳腺肿瘤来源的)、3T3(鼠成纤维细胞来源的)、CHO(中国仓鼠卵巢来源的)、HeLa(人类宫颈癌来源的)、BHK(仓鼠肾成纤维细胞来源的)、HEK-293(人类胚肾来源的)细胞系以及它们的变体。哺乳动物表达载体可包含:非转录元件,如复制起点、与待表达基因连锁的合适启动子和增强子和其他5'或3'侧翼非转录序列;和5'或3'非翻译序列,如必需的核糖体结合位点、聚腺苷酸化位点、剪接供体和受体位点;以及转录终止序列。

[0151] 重组蛋白在昆虫细胞培养系统(例如杆状病毒)中的表达也提供了产生正确折叠的且具有生物学功能的蛋白质的稳健方法。用于在昆虫细胞中产生异源蛋白质的杆状病毒系统是本领域技术人员熟知的。

[0152] 因此,本公开提供了包含本文所述的ANGPTL8结合剂的细胞。在一些实施方案中,细胞产生本文所述的ANGPTL8结合剂。在一些实施方案中,细胞产生抗体。在一些实施方案中,细胞产生结合人类ANGPTL8的抗体。在一些实施方案中,细胞产生结合食蟹猴ANGPTL8的抗体。在一些实施方案中,细胞产生结合人类ANGPTL8和食蟹猴ANGPTL8的抗体。在一些实施方案中,细胞产生称为1E5的抗体。在一些实施方案中,细胞产生抗体1E5的人源化型式,称为Hz1E5或Hz1E5.A1。在一些实施方案中,细胞产生称为1E9的抗体。在一些实施方案中,细胞产生称为1A8的抗体。在一些实施方案中,细胞是杂交瘤细胞。在一些实施方案中,细胞是哺乳动物细胞。在一些实施方案中,细胞是原核细胞。在一些实施方案中,细胞是真核细胞。

[0153] 可根据任何合适的方法纯化由宿主细胞产生的蛋白质。标准方法包括色谱法(例如离子交换色谱法、亲和色谱法和尺寸柱色谱法(sizing column chromatography))、离心、差异溶解度,或利用用于蛋白质纯化的任何其他标准技术。可将亲和标签(如六组氨酸、麦芽糖结合结构域、流感病毒外壳蛋白序列(influenza coat sequence)和谷胱甘肽-S-转移酶)附接至蛋白质,从而使蛋白质在经过适当的亲和柱时容易得到纯化。用于纯化免疫球蛋白的亲和色谱法可包括蛋白A、蛋白G和蛋白L色谱法。可使用如蛋白质水解、尺寸排阻色谱法(SEC)、质谱法(MS)、核磁共振(NMR)、等电聚焦(IEF)、高效液相色谱法(HPLC)和x射线晶体学等技术在物理上表征分离的蛋白质。可使用本领域技术人员已知的技术来确定分离的蛋白质的纯度,这些技术包括但不限于SDS-PAGE、SEC、毛细管凝胶电泳、IEF和毛细管等电聚焦(cIEF)。

[0154] 在一些实施方案中,可首先使用可商购的蛋白质浓缩滤器(例如Amicon或Millipore Pellicon超滤单元)对将重组蛋白分泌至培养基中的表达系统的上清液进行浓缩。在浓缩步骤后,可将浓缩物施加至合适的纯化基质中。在一些实施方案中,采用阴离子交换树脂,例如具有悬突的二乙氨基乙基(DEAE)的基质或底物。基质可以是丙烯酰胺、琼脂糖、葡聚糖、纤维素或通常用于蛋白质纯化的其他类型。在一些实施方案中,采用阳离子交换步骤。合适的阳离子交换剂包括包含磺丙基或羧甲基的各种不溶性基质。在一些实施方案中,采用羟基磷灰石介质,包括但不限于陶瓷羟基磷灰石(HT)。在一些实施方案中,采用利用疏水RP-HPLC介质(例如具有悬突的甲基或其他脂族基团的硅胶)的一个或多个反相HPLC步骤来进一步纯化重组蛋白(例如ANGPTL结合剂)。可将一些或所有上述纯化步骤以不同的组合用于提供均一的重组蛋白。

[0155] 可通过本领域已知的各种测定分析本公开的抗ANGPTL8抗体的物理/化学特性和/或生物学活性。在一些实施方案中,测试了抗ANGPTL8抗体结合ANGPTL8的能力。结合测定包括但不限于BIACORE、ELISA和FACS。在一些实施方案中,测试了抗ANGPTL8抗体抑制、降低或

阻断ANGPTL8活性的能力。

[0156] 在一些实施方案中,对针对ANGPTL8产生的单克隆抗体基于各单个抗体所识别的表位进行分组,这一过程称为“表位框并(epitope binning)”。一般来讲,在表位框并中,以成对组合的方式测试抗体,并且将彼此竞争的抗体一起分组到框中。例如,在预混合框并测定中,将第一抗体固定在表面上,并且使第二抗体和抗原的预混合溶液流过固定的第一抗体。一前一后地将靶蛋白固定在表面上,并使两种抗体流过固定的抗原并竞争结合。在这些技术的每一种中,都可鉴定出相互阻断的抗体。为各抗体创建相对于其他抗体的竞争性阻断型态。阻断结果决定了将各抗体置于哪个框中。高通量表位框并方法在本领域中是已知的,并且使得能够在短时间内筛选和表征大量抗体。结合相似表位的抗体通常具有相似的功能。相反地,结合不同表位的抗体可能具有不同的功能活性。

[0157] 表位作图是鉴定靶蛋白上抗体(或其他结合剂)结合所处的结合位点或表位的过程。本领域已知多种用于定位靶蛋白上的表位的方法。这些方法包括诱变,包括但不限于鸟枪诱变、定点诱变和丙氨酸扫描;结构域或片段扫描、肽扫描(例如pepscan);展示方法(例如噬菌体展示、微生物展示和核糖体/mRNA展示);涉及蛋白水解的方法和质谱法;以及结构测定(例如x射线晶体学和NMR)。

[0158] 在一些实施方案中,通过包括但不限于N端测序、氨基酸分析、高压液相色谱法(HPLC)、质谱法、离子交换色谱法和木瓜蛋白酶消化的测定来表征纯化的抗ANGPTL8抗体。

[0159] 在一些实施方案中,提供了测定以鉴定影响ANGPTL8活性的抗ANGPTL8抗体或其抗原结合片段。例如,已显示ANGPTL8的过表达使体内模型中的甘油三酯水平升高。因此,在一些实施方案中,就候选ANGPTL8结合剂减低、降低或阻断ANGPTL8诱导的甘油三酯水平升高的能力进行筛选。血浆甘油三酯的清除主要由脂蛋白脂肪酶(LPL)的活性介导。研究表明ANGPTL8直接或间接参与LPL活性的调节。因此,在一些实施方案中,就候选ANGPTL8结合剂(例如抗体)影响LPL活性(例如,增强或增加LPL活性)的能力进行筛选。

[0160] 本公开还提供了包含本文所述的任一种抗ANGPTL8抗体的缀合物。在一些实施方案中,抗体附接至第二个分子。在一些实施方案中,抗体缀合至细胞毒性剂或部分。在一些实施方案中,抗体与细胞毒性剂缀合而形成ADC(抗体-药物缀合物)。在一些实施方案中,细胞毒性部分是化学治疗剂,包括但不限于甲氨蝶呤、阿霉素/多柔比星、美法仑、丝裂霉素C、苯丁酸氮芥、倍癌霉素、柔红霉素、吡咯并苯并二氮杂卓(PBD)或其他插入剂。在一些实施方案中,细胞毒性部分是微管抑制剂,包括但不限于奥里斯他汀、美登木素生物碱(例如DMI和DM4)和微管溶素(tubulysin)。在一些实施方案中,细胞毒性部分是细菌、真菌、植物或动物来源的酶活性毒素或其片段,包括但不限于白喉A链、白喉毒素的非结合活性片段、外毒素A链、蓖麻毒素A链、相思豆毒素A链、蓖麻根毒素A链、 α -帚曲霉素、油桐(Aleurites fordii)蛋白、香石竹(dianthin)蛋白、美洲商陆(Phytolaca americana)蛋白(PAPI、PAPII和PAP-S)、苦瓜(Momordica charantia)抑制剂、泻果素、巴豆毒素、肥皂草(Sapaponaria officinalis)抑制剂、白树毒素(gelonin)、丝林霉素(mitogellin)、局限曲菌素(restrictocin)、酚霉素(phenoxyycin)、依诺霉素(enomycin)和单端孢霉烯(trichothecenes)。在一些实施方案中,抗体缀合至一种或多种小分子毒素(如卡利奇霉素、美登木素生物碱、单端孢菌素(trichothecene)和CC1065)。也可使用这些毒素的保留细胞毒性活性的衍生物。

[0161] 在一些实施方案中,抗体与放射性同位素缀合以产生放射性缀合物或放射性抗体。多种放射性核素可用于产生放射性缀合抗体,这些放射性核素包括但不限于⁹⁰Y、¹²⁵I、¹³¹I、¹²³I、¹¹¹In、¹³¹In、¹⁰⁵Rh、¹⁵³Sm、⁶⁷Cu、⁶⁷Ga、¹⁶⁶Ho、¹⁷⁷Lu、¹⁸⁶Re、¹⁸⁸Re和²¹²Bi。

[0162] 可使用本领域已知的任何合适方法来制备包含抗体的缀合物。在一些实施方案中,可使用多种双官能蛋白质偶联剂来制备缀合物,这些双官能蛋白质偶联剂有如N-琥珀酰亚胺基-3-(2-吡啶基二疏基)丙酸酯(SPDP)、亚氨基硫烷(IT)、亚氨酸酯的双官能衍生物(如盐酸己二酰亚氨酸二甲酯)、活性酯(如辛二酸二琥珀酰亚胺基酯)、醛(如戊二醛)、双叠氮化合物(如双(对叠氮苯甲酰基)己二胺)、双重氮衍生物(如双(对重氮苯甲酰基)-乙二胺)、二异氰酸酯(如甲苯2,6-二异氰酸酯)和双活性氟化合物(如1,5-二氟-2,4-二硝基苯)。

[0163] 在一些实施方案中,抗体与可检测的物质或分子缀合,从而使抗体可用于诊断和/或检测。可检测物质可包括但不限于:酶,如辣根过氧化物酶、碱性磷酸酶、β-半乳糖苷酶和乙酰胆碱酯酶;辅基,如链霉亲和素/生物素和抗生物素蛋白/生物素;荧光材料,如伞形酮、荧光素、异硫氰酸荧光素、若丹明、二氯三嗪基胺荧光素、丹磺酰氯和藻红蛋白;生物发光材料,如荧光素酶、萤光素和水母发光蛋白;化学发光材料,如鲁米诺和吖啶;放射性材料,如¹³¹I、¹²⁵I、¹²³I和¹²¹I、¹⁴C、³⁵S、³H、¹¹⁵In、¹¹³In、¹¹²In和¹¹¹In、⁹⁹T)、铊²⁰¹Tl、⁶⁸Ga、⁶⁷Ga、¹⁰³Pd、⁹⁹Mo、¹³³Xe、¹⁸F、¹⁵³Sm、¹⁷⁷Lu、¹⁵⁹Gd、¹⁴⁹Pm、¹⁴⁰La、¹⁷⁵Yb、¹⁶⁶Ho、⁹⁰Y、⁴⁷Sc、¹⁸⁶Re、¹⁸⁸Re、¹⁴²Pr、¹⁰⁵Rh、⁹⁷Ru、⁶⁸Ge、⁵⁷Co、⁶⁵Zn、⁸⁵Sr、³²P、¹⁵³Gd、¹⁶⁹Yb、⁵¹Cr、⁵⁴Mn、⁷⁵Se、¹¹³Sn和¹¹⁷Sn;正电子发射金属;以及非放射性顺磁性金属离子。

[0164] 本文提供的抗体还可与第二抗体缀合以形成抗体异源缀合物。

[0165] 还可使如本文所述的结合ANGPTL8的抗体附接至固体支持物,所述固体支持物尤其可用于对靶抗原的免疫测定或纯化。此类固体支持物包括但不限于玻璃、纤维素、聚丙烯酰胺、尼龙、聚苯乙烯、聚氯乙烯或聚丙烯。

[0166] III. 多核苷酸

[0167] 在一些实施方案中,本公开涵盖包含编码本文所述的ANGPTL8结合剂的多核苷酸的多核苷酸。术语“编码多肽的多核苷酸”涵盖仅包括该多肽的编码序列的多核苷酸以及包括另外的编码和/或非编码序列的多核苷酸。本公开的多核苷酸可呈RNA形式或DNA形式。DNA包括cDNA、基因组DNA和合成DNA;并且可以是双链的或单链的,并且如果是单链,则可以是编码链或非编码(反义)链。

[0168] 在一些实施方案中,多核苷酸包含编码多肽的多核苷酸(例如核苷酸序列),所述多肽包含选自选自由以下组成的组的氨基酸序列:SEQ ID NO:35、36、44、45、56、57、62、63、64和65。在一些实施方案中,多核苷酸包含编码多肽的多核苷酸(例如核苷酸序列),所述多肽包含选自选自由以下组成的组的多于一个氨基酸序列:SEQ ID NO:35、36、44、45、56、57、62、63、64和65。

[0169] 在一些实施方案中,多核苷酸包含下述多核苷酸:所述多核苷酸具有与编码选自由SEQ ID NO:35、36、44、45、56、57、62、63、64和65组成的组的氨基酸序列的多核苷酸具有至少约80%同一性、至少约85%同一性、至少约90%同一性、至少约95%同一性,以及在一些实施方案中至少约96%、97%、98%或99%同一性的核苷酸序列。还提供了一种多核苷酸,所述多核苷酸包含与编码选自由以下组成的组的氨基酸序列的多核苷酸杂交的多核苷

酸:SEQ ID NO:35、36、44、45、56、57、62、63、64和65。在一些实施方案中,杂交是在如本领域技术人员所知的高严格条件下进行的。

[0170] 在一些实施方案中,多核苷酸包含多肽(例如抗体)的编码序列,所述编码序列于相同读框中融合至对例如宿主细胞表达和分泌多肽进行辅助的多核苷酸(例如,作为用于控制多肽转运的分泌序列而起作用的前导序列)。多肽的前导序列可由宿主细胞切除,以形成多肽的“成熟”形式。

[0171] 在一些实施方案中,多核苷酸包含多肽(例如抗体)的编码序列,所述编码序列于相同读框中融合至标记或标签序列。例如,在一些实施方案中,就细菌宿主而言,标记序列是由载体提供的六组氨酸标签,其允许有效纯化与标记物融合的多肽。在一些实施方案中,当使用哺乳动物宿主(例如COS-7细胞)时,标记序列是来源于流感血凝素蛋白的血凝素(HA)标签。在一些实施方案中,标记序列是FLAG标签,是序列DYKDDDDK (SEQ ID NO:66)的肽。在一些实施方案中,标记物可与其他亲和标签结合使用。

[0172] 本公开还涉及本文所述的多核苷酸的变体,其中所述变体编码例如多肽的片段、类似物和/或衍生物。在一些实施方案中,本公开提供了多核苷酸,所述多核苷酸包含与编码包含本文所述的ANGPTL8结合剂的多肽的多核苷酸具有至少约80%同一性、至少约85%同一性、至少约90%同一性、至少约95%同一性,以及在一些实施方案中至少约96%、97%、98%或99%同一性的核苷酸序列。

[0173] 如本文所用,短语“具有与参照核苷酸序列具有至少例如95%的“同一性”的核苷酸序列的多核苷酸”意指除多核苷酸序列可包括最多每参照核苷酸序列的每100个核苷酸五个点突变外,所述多核苷酸的核苷酸序列与参照序列相同。换句话说,为了获得具有与参照核苷酸序列具有至少95%同一性的核苷酸序列的多核苷酸,可将参照序列中最多5%的核苷酸缺失或用另一个核苷酸取代,或可将在数量上占参照序列总核苷酸数最多5%的核苷酸插入参照序列中。参照序列的这些突变可出现在参照核苷酸序列的5'端或3'端位置上或这些末端位置之间的任何地方,单独地分散在参照序列的核苷酸之间或者以一个或多个连续组的形式分散在参照序列内。

[0174] 多核苷酸变体可在编码区、非编码区或两者中包含改变。在一些实施方案中,多核苷酸变体包含产生沉默取代、添加或缺失但不改变编码的多肽的特性或活性的改变。在一些实施方案中,多核苷酸变体包含不导致多肽的氨基酸序列发生变化的沉默取代(由于遗传密码的简并性)。可出于多种原因产生多核苷酸变体,例如以优化用于特定宿主的密码子表达(即,将人类mRNA中的密码子改变成由细菌宿主如大肠杆菌偏爱的密码子)。在一些实施方案中,多核苷酸变体在序列的非编码区或编码区中包含至少一个沉默突变。

[0175] 在一些实施方案中,产生多核苷酸变体以调节或改变编码的多肽的表达(或表达水平)。在一些实施方案中,产生多核苷酸变体以增加编码的多肽的表达。在一些实施方案中,产生多核苷酸变体以减少编码的多肽的表达。在一些实施方案中,与亲本多核苷酸序列相比,多核苷酸变体具有增加的编码多肽的表达。在一些实施方案中,与亲本多核苷酸序列相比,多核苷酸变体具有减少的编码多肽的表达。

[0176] 在一些实施方案中,多核苷酸是分离的。在一些实施方案中,多核苷酸是基本上纯的。

[0177] 还提供了包含本文所述的多核苷酸的载体和细胞。在一些实施方案中,表达载体

包含多核苷酸分子。在一些实施方案中,宿主细胞包含含有核苷酸分子的表达载体。在一些实施方案中,宿主细胞包含多核苷酸分子。

[0178] IV. 使用方法和药物组合物

[0179] 本公开的ANGPTL8结合剂(例如抗体或其抗原结合片段)可用于多种应用中,所述应用包括但不限于治疗性治疗方法,如对与甘油三酯升高相关联的疾病或病症的治疗。在一些实施方案中,本文所述的ANGPTL8结合剂可用于减小或降低甘油三酯水平的方法中。在一些实施方案中,本文所述的ANGPTL8结合剂可用于减小或降低LDL胆固醇的方法中。在一些实施方案中,本文所述的ANGPTL8结合剂可用于增加HDL胆固醇水平的方法中。在一些实施方案中,本文所述的ANGPTL8结合剂可用于降低甘油三酯水平且增加HDL胆固醇水平的方法中。在一些实施方案中,本文所述的ANGPTL8结合剂可用于减小或降低ANGPTL8水平(例如血液中的ANGPTL8水平)的方法中。在一些实施方案中,本文所述的ANGPTL8结合剂可用于抑制ANGPTL8活性的方法中。

[0180] 在一些实施方案中,降低受试者中的甘油三酯水平的方法包括向所述受试者施用本文所述的ANGPTL8结合剂。在一些实施方案中,降低受试者中的甘油三酯水平的方法包括向所述受试者施用治疗有效量的本文所述的抗ANGPTL8抗体。在一些实施方案中,降低受试者中的甘油三酯水平的方法包括向所述受试者施用治疗有效量的特异性地结合ANGPTL8的抗体。在一些实施方案中,降低受试者中的甘油三酯水平的方法包括向所述受试者施用治疗有效量的特异性地结合ANGPTL8的抗体,其中所述抗体包含表1-表3中提供的一个、两个、三个、四个、五个和/或六个CDR。在一些实施方案中,降低受试者中的甘油三酯水平的方法包括向所述受试者施用治疗有效量的特异性地结合ANGPTL8的抗体,其中所述抗体包含抗体1E5的一个、两个、三个、四个、五个和/或六个CDR。在一些实施方案中,降低受试者中的甘油三酯水平的方法包括向所述受试者施用治疗有效量的特异性地结合ANGPTL8的抗体,其中所述抗体是抗体Hz1E5。

[0181] 在一些实施方案中,治疗受试者的与升高的甘油三酯水平相关联的疾病或病症的方法包括向所述受试者施用本文所述的ANGPTL8结合剂。在一些实施方案中,治疗受试者的与升高的甘油三酯水平相关联的疾病或病症的方法包括向所述受试者施用治疗有效量的本文所述的抗ANGPTL8抗体。在一些实施方案中,治疗受试者的与升高的甘油三酯水平相关联的疾病或病症的方法包括向所述受试者施用治疗有效量的特异性地结合ANGPTL8的抗体。在一些实施方案中,治疗受试者的与升高的甘油三酯水平相关联的疾病或病症的方法包括向所述受试者施用治疗有效量的特异性地结合ANGPTL8的抗体,其中所述抗体包含表1-表3中提供的一个、两个、三个、四个、五个和/或六个CDR。在一些实施方案中,治疗受试者的与升高的甘油三酯水平相关联的疾病或病症的方法包括向所述受试者施用治疗有效量的特异性地结合ANGPTL8的抗体,其中所述抗体包含抗体1E5的一个、两个、三个、四个、五个和/或六个CDR。在一些实施方案中,治疗受试者的与升高的甘油三酯水平相关联的疾病或病症的方法包括向所述受试者施用治疗有效量的特异性地结合ANGPTL8的抗体,其中所述抗体是抗体Hz1E5。

[0182] 在一些实施方案中,治疗被诊断患有与升高的甘油三酯水平相关联的疾病或病症的受试者的方法包括向所述受试者施用本文所述的ANGPTL8结合剂。在一些实施方案中,治疗被诊断患有与升高的甘油三酯水平相关联的疾病或病症的受试者的方法包括向所述受

试者施用治疗有效量的本文所述的抗ANGPTL8抗体。在一些实施方案中,治疗被诊断患有与升高的甘油三酯水平相关联的疾病或病症的受试者的方法包括向所述受试者施用治疗有效量的特异性地结合ANGPTL8的抗体。在一些实施方案中,治疗被诊断患有与升高的甘油三酯水平相关联的疾病或病症的受试者的方法包括向所述受试者施用治疗有效量的特异性地结合ANGPTL8的抗体,其中所述抗体包含表1-表3中提供的一个、两个、三个、四个、五个和/或六个CDR。在一些实施方案中,治疗被诊断患有与升高的甘油三酯水平相关联的疾病或病症的受试者的方法包括向所述受试者施用治疗有效量的特异性地结合ANGPTL8的抗体,其中所述抗体包含抗体1E5的一个、两个、三个、四个、五个和/或六个CDR。在一些实施方案中,治疗被诊断患有与升高的甘油三酯水平相关联的疾病或病症的受试者的方法包括向所述受试者施用治疗有效量的特异性地结合ANGPTL8的抗体,其中所述抗体是抗体Hz1E5。

[0183] 在一些实施方案中,治疗具有与升高的甘油三酯水平相关联的疾病或病症的症状的受试者的方法包括向所述受试者施用本文所述的ANGPTL8结合剂。在一些实施方案中,治疗具有与升高的甘油三酯水平相关联的疾病或病症的症状的受试者的方法包括向所述受试者施用治疗有效量的本文所述的抗ANGPTL8抗体。在一些实施方案中,治疗具有与升高的甘油三酯水平相关联的疾病或病症的症状的受试者的方法包括向所述受试者施用治疗有效量的特异性地结合ANGPTL8的抗体。在一些实施方案中,治疗具有与升高的甘油三酯水平相关联的疾病或病症的症状的受试者的方法包括向所述受试者施用治疗有效量的特异性地结合ANGPTL8的抗体,其中所述抗体包含表1-表3中提供的一个、两个、三个、四个、五个和/或六个CDR。在一些实施方案中,治疗具有与升高的甘油三酯水平相关联的疾病或病症的症状的受试者的方法包括向所述受试者施用治疗有效量的特异性地结合ANGPTL8的抗体,其中所述抗体包含抗体1E5的一个、两个、三个、四个、五个和/或六个CDR。在一些实施方案中,治疗具有与升高的甘油三酯水平相关联的疾病或病症的症状的受试者的方法包括向所述受试者施用治疗有效量的特异性地结合ANGPTL8的抗体,其中所述抗体是抗体Hz1E5。

[0184] 在一些实施方案中,预防受试者中甘油三酯水平升高的方法包括向所述受试者施用本文所述的ANGPTL8结合剂。在一些实施方案中,预防受试者中甘油三酯水平升高的方法包括向所述受试者施用治疗有效量的本文所述的抗ANGPTL8抗体。在一些实施方案中,预防受试者中甘油三酯水平升高的方法包括向所述受试者施用治疗有效量的特异性地结合人类ANGPTL8的抗体。在一些实施方案中,预防受试者中甘油三酯水平升高的方法包括向所述受试者施用治疗有效量的特异性地结合人类ANGPTL8的抗体,其中所述抗体包含表1-表3中提供的一个、两个、三个、四个、五个和/或六个CDR。在一些实施方案中,预防受试者中甘油三酯水平升高的方法包括向所述受试者施用治疗有效量的特异性地结合人类ANGPTL8的抗体,其中所述抗体包含抗体1E5的一个、两个、三个、四个、五个和/或六个CDR。在一些实施方案中,预防受试者中甘油三酯水平升高的方法包括向所述受试者施用治疗有效量的特异性地结合人类ANGPTL8的抗体,其中所述抗体是抗体Hz1E5。

[0185] 在一些实施方案中,预防受试者的与升高的甘油三酯水平相关联的疾病或病症的方法包括向所述受试者施用本文所述的ANGPTL8结合剂。在一些实施方案中,预防受试者的与升高的甘油三酯水平相关联的疾病或病症的方法包括向所述受试者施用治疗有效量的本文所述的抗ANGPTL8抗体。在一些实施方案中,预防受试者的与升高的甘油三酯水平相关联的疾病或病症的方法包括向所述受试者施用治疗有效量的特异性地结合人类ANGPTL8的

抗体。在一些实施方案中,预防受试者的与升高的甘油三酯水平相关联的疾病或病症的方法包括向所述受试者施用治疗有效量的特异性地结合人类ANGPTL8的抗体,其中所述抗体包含表1-表3中提供的一个、两个、三个、四个、五个和/或六个CDR。在一些实施方案中,预防受试者的与升高的甘油三酯水平相关联的疾病或病症的方法包括向所述受试者施用治疗有效量的特异性地结合人类ANGPTL8的抗体,其中所述抗体包含抗体1E5的一个、两个、三个、四个、五个和/或六个CDR。在一些实施方案中,预防受试者的与升高的甘油三酯水平相关联的疾病或病症的方法包括向所述受试者施用治疗有效量的特异性地结合人类ANGPTL8的抗体,其中所述抗体是抗体Hz1E5。

[0186] 在一些实施方案中,治疗有甘油三酯水平升高的风险的受试者的方法包括向所述受试者施用本文所述的ANGPTL8结合剂。在一些实施方案中,治疗有甘油三酯水平升高的风险的受试者的方法包括向所述受试者施用治疗有效量的本文所述的抗ANGPTL8抗体。在一些实施方案中,治疗有甘油三酯水平升高的风险的受试者的方法包括向所述受试者施用治疗有效量的特异性地结合人类ANGPTL8的抗体。在一些实施方案中,治疗有甘油三酯水平升高的风险的受试者的方法包括向所述受试者施用治疗有效量的特异性地结合人类ANGPTL8的抗体,其中所述抗体包含表1-表3中提供的一个、两个、三个、四个、五个和/或六个CDR。在一些实施方案中,治疗有甘油三酯水平升高的风险的受试者的方法包括向所述受试者施用治疗有效量的特异性地结合人类ANGPTL8的抗体,其中所述抗体包含抗体1E5的一个、两个、三个、四个、五个和/或六个CDR。在一些实施方案中,治疗有甘油三酯水平升高的风险的受试者的方法包括向所述受试者施用治疗有效量的特异性地结合人类ANGPTL8的抗体,其中所述抗体是抗体Hz1E5。

[0187] 在一些实施方案中,治疗有患与升高的甘油三酯水平相关联的疾病或病症的风险的受试者的方法包括向所述受试者施用本文所述的ANGPTL8结合剂。在一些实施方案中,治疗有患与升高的甘油三酯水平相关联的疾病或病症的风险的受试者的方法包括向所述受试者施用治疗有效量的本文所述的抗ANGPTL8抗体。在一些实施方案中,治疗有患与升高的甘油三酯水平相关联的疾病或病症的风险的受试者的方法包括向所述受试者施用治疗有效量的特异性地结合人类ANGPTL8的抗体。在一些实施方案中,治疗有患与升高的甘油三酯水平相关联的疾病或病症的风险的受试者的方法包括向所述受试者施用治疗有效量的特异性地结合人类ANGPTL8的抗体,其中所述抗体包含表1-表3中提供的一个、两个、三个、四个、五个和/或六个CDR。在一些实施方案中,治疗有患与升高的甘油三酯水平相关联的疾病或病症的风险的受试者的方法包括向所述受试者施用治疗有效量的特异性地结合人类ANGPTL8的抗体,其中所述抗体包含抗体1E5的一个、两个、三个、四个、五个和/或六个CDR。在一些实施方案中,治疗有患与升高的甘油三酯水平相关联的疾病或病症的风险的受试者的方法包括向所述受试者施用治疗有效量的特异性地结合人类ANGPTL8的抗体,其中所述抗体是抗体Hz1E5。

[0188] 在一些实施方案中,一种降低其中ANGPTL8水平升高的受试者中的ANGPTL8水平的方法,所述方法包括向所述受试者施用本文所述的ANGPTL8结合剂。在一些实施方案中,一种降低其中ANGPTL8水平升高的受试者中的ANGPTL8水平的方法,所述方法包括向所述受试者施用治疗有效量的本文所述的抗ANGPTL8抗体。在一些实施方案中,一种降低其中ANGPTL8水平升高的受试者中的ANGPTL8水平的方法,所述方法包括向所述受试者施用治疗

有效量的特异性地结合人类ANGPTL8的抗体。在一些实施方案中,一种降低其中ANGPTL8水平升高的受试者中的ANGPTL8水平的方法,所述方法包括向所述受试者施用治疗有效量的特异性地结合人类ANGPTL8的抗体,其中所述抗体包含表1-表3中提供的一个、两个、三个、四个、五个和/或六个CDR。在一些实施方案中,一种降低其中ANGPTL8水平升高的受试者中的ANGPTL8水平的方法,所述方法包括向所述受试者施用治疗有效量的特异性地结合人类ANGPTL8的抗体,其中所述抗体包含抗体1E5的一个、两个、三个、四个、五个和/或六个CDR。在一些实施方案中,一种降低其中ANGPTL8水平升高的受试者中的ANGPTL8水平的方法,所述方法包括向所述受试者施用治疗有效量的特异性地结合人类ANGPTL8的抗体,其中所述抗体是抗体Hz1E5。在一些实施方案中,所述降低ANGPTL8水平的方法可减少受试者中的甘油三酯。在一些实施方案中,所述降低ANGPTL8水平的方法可预防受试者中甘油三酯升高。

[0189] 在一些实施方案中,抑制受试者中的ANGPTL8活性的方法包括向所述受试者施用本文所述的ANGPTL8结合剂。在一些实施方案中,抑制受试者中的ANGPTL8活性的方法包括向所述受试者施用治疗有效量的本文所述的抗ANGPTL8抗体。在一些实施方案中,抑制受试者中的ANGPTL8活性的方法包括向所述受试者施用治疗有效量的特异性地结合人类ANGPTL8的抗体。在一些实施方案中,抑制受试者中的ANGPTL8活性的方法包括向所述受试者施用治疗有效量的特异性地结合人类ANGPTL8的抗体,其中所述抗体包含表1-表3中提供的一个、两个、三个、四个、五个和/或六个CDR。在一些实施方案中,抑制受试者中的ANGPTL8活性的方法包括向所述受试者施用治疗有效量的特异性地结合人类ANGPTL8的抗体,其中所述抗体包含抗体1E5的一个、两个、三个、四个、五个和/或六个CDR。在一些实施方案中,抑制受试者中的ANGPTL8活性的方法包括向所述受试者施用治疗有效量的特异性地结合人类ANGPTL8的抗体,其中所述抗体是抗体Hz1E5。在一些实施方案中,所述抑制ANGPTL8活性的方法可减少受试者中的甘油三酯。在一些实施方案中,所述抑制ANGPTL8活性的方法可预防受试者中甘油三酯升高。

[0190] 在本文所述方法的一些实施方案中,与升高的甘油三酯水平相关联的疾病或病症是代谢综合征、动脉粥样硬化、肥胖症、糖尿病、心血管疾病、高脂血症、高甘油三酯血症、胰腺炎、肾脏疾病、肝脏疾病或甲状腺功能减退。

[0191] 在本文所述方法的一些实施方案中,与升高的甘油三酯水平相关联的疾病或病症是心血管疾病。心血管疾病可包括但不限于动脉粥样硬化、动脉瘤、高血压、心绞痛、中风、脑血管疾病、充血性心力衰竭、冠状动脉疾病、心肌梗塞和周围血管疾病。在一些实施方案中,与升高的甘油三酯水平相关联的疾病或病症是动脉粥样硬化。

[0192] 在一些实施方案中,与升高的甘油三酯水平相关联的疾病或病症是血脂异常、致动脉粥样硬化性血脂异常、糖尿病性血脂异常、高胆固醇血症、乳糜微粒血症、混合性血脂异常、脂肪营养不良或脂肪萎缩。

[0193] 在一些实施方案中,与升高的甘油三酯水平相关联的疾病或病症是高脂蛋白血症。高脂蛋白血症有几种类型,包括原发性高脂蛋白血症和继发性高脂蛋白血症。原发性高脂蛋白血症通常是由一种或多种家族性或遗传性疾患引起的。持续性高甘油三酯血症,包括尽管治疗了基础疾患仍持续存在的高甘油三酯血症,可能与高脂蛋白血症的主要形式(如家族性高甘油三酯血症)相关联或由其引起。与升高的甘油三酯水平相关联的其他家族性疾病包括家族性复合脂血症和家族性异常β脂蛋白血(III型高脂蛋白血症)。继发性高脂

蛋白血症与若干种疾患(如肥胖症、糖尿病、肾脏疾病、肝脏疾病、胰腺炎、甲状腺功能减退和酒精中毒)相关联,并且是这些疾病的复合因素。

[0194] 在本文所述方法的一些实施方案中,甘油三酯水平升高可能是由于极低密度脂蛋白(VLDL)的产量增加和/或消除减少引起的。在一些实施方案中,甘油三酯水平升高可能是由于某些药物治疗引起的,这些药物治疗包括但不限于 β 受体阻滞剂、节育药、雌激素、利尿剂、类固醇、他莫昔芬、咪康唑、螺内酯、异维甲酸(ACUTANE)、喹那普利或米氮平。在本文所述方法的一些实施方案中,甘油三酯水平升高可能是由于遗传易感性引起的。在本文所述方法的一些实施方案中,甘油三酯水平升高可能是由于饮食和/或生活方式引起的。在一些实施方案中,甘油三酯水平升高可能是由于急性应激相关疾患引起的。急性应激相关状态包括但不限于烧伤、创伤、心肌梗塞和败血症。

[0195] 在本文所述方法的一些实施方案中,升高的甘油三酯水平是升高的血液或血浆甘油三酯水平。通常认为,正常的甘油三酯水平小于150mg/dL(或小于1.7mmol/L)。在本文所述方法的一些实施方案中,升高的血浆甘油三酯水平为150mg/dL或更高。在一些实施方案中,升高的血浆甘油三酯水平为约150至200mg/dL。在一些实施方案中,升高的血浆甘油三酯水平为约200至500mg/dL。在一些实施方案中,升高的血浆甘油三酯水平为约500或更高。

[0196] 在本文所述方法的一些实施方案中,在施用抗ANGPTL8抗体之后,与施用抗体之前受试者中的甘油三酯水平相比,升高的甘油三酯水平降低了至少5%。在一些实施方案中,与施用抗体之前受试者中的甘油三酯水平相比,升高的甘油三酯水平降低了至少10%。在一些实施方案中,与施用抗体之前受试者中的甘油三酯水平相比,升高的甘油三酯水平降低了约10%-15%。在一些实施方案中,与施用抗体之前受试者中的甘油三酯水平相比,升高的甘油三酯水平降低了约10%-20%。在一些实施方案中,与施用抗体之前受试者中的甘油三酯水平相比,升高的甘油三酯水平降低了约20%-30%。在一些实施方案中,与施用抗体之前受试者中的甘油三酯水平相比,升高的甘油三酯水平降低了超多25%。

[0197] 在一些实施方案中,提供了一种增加受试者中的HDL胆固醇水平的方法。在一些实施方案中,增加受试者中的HDL胆固醇水平的方法包括向所述受试者施用本文所述的ANGPTL8结合剂。在一些实施方案中,增加受试者中的HDL胆固醇水平的方法包括向所述受试者施用治疗有效量的本文所述的抗ANGPTL8抗体。在一些实施方案中,增加受试者中的HDL胆固醇水平的方法包括向所述受试者施用治疗有效量的特异性地结合人类ANGPTL8的抗体。在一些实施方案中,增加受试者中的HDL胆固醇水平的方法包括向所述受试者施用治疗有效量的特异性地结合ANGPTL8的抗体,其中所述抗体包含表1-表3中提供的一个、两个、三个、四个、五个和/或六个CDR。在一些实施方案中,增加受试者中的HDL胆固醇水平的方法包括向所述受试者施用治疗有效量的特异性地结合ANGPTL8的抗体,其中所述抗体包含抗体1E5的一个、两个、三个、四个、五个和/或六个CDR。在一些实施方案中,增加受试者中的HDL胆固醇水平的方法包括向所述受试者施用治疗有效量的特异性地结合ANGPTL8的抗体,其中所述抗体是抗体Hz1E5。

[0198] 通常认为,低于40mg/dL的HDL胆固醇水平被认为有患心脏病的风险,40-59mg/dL的水平被认为是良好的,并且60mg/dL或更高的水平被认为可防御心脏病。在本文所述方法的一些实施方案中,HDL胆固醇水平被提高到40mg/dL或更高。

[0199] 在本公开的一些实施方案中,提供了一种降低受试者中的LDL胆固醇水平的方法。

在一些实施方案中,降低受试者中的LDL胆固醇水平的方法包括向所述受试者施用本文所述的ANGPTL8结合剂。在一些实施方案中,降低受试者中的LDL胆固醇水平的方法包括向所述受试者施用治疗有效量的本文所述的抗ANGPTL8抗体。在一些实施方案中,降低受试者中的LDL胆固醇水平的方法包括向所述受试者施用治疗有效量的特异性地结合人类ANGPTL8的抗体。在一些实施方案中,降低受试者中的LDL胆固醇水平的方法包括向所述受试者施用治疗有效量的特异性地结合ANGPTL8的抗体,其中所述抗体包含表1-表3中提供的一个、两个、三个、四个、五个和/或六个CDR。在一些实施方案中,降低受试者中的LDL胆固醇水平的方法包括向所述受试者施用治疗有效量的特异性地结合ANGPTL8的抗体,其中所述抗体包含抗体1E5的一个、两个、三个、四个、五个和/或六个CDR。在一些实施方案中,降低受试者中的LDL胆固醇水平的方法包括向所述受试者施用治疗有效量的特异性地结合ANGPTL8的抗体,其中所述抗体是抗体Hz1E5。

[0200] 通常认为,低于100mg/dL的LDL胆固醇水平是最佳的,100-129mg/dL的水平被认为是接近最佳的,130-159mg/dL的水平被认为是临界高的,160-189mg/dL的水平被认为是高的,并且190mg/dL或更高的水平被认为是极高的。在本文所述方法的一些实施方案中,LDL胆固醇水平被降低至低于约190mg/dL、低于约160mg/dL、低于约130mg/dL或低于约100mg/dL。

[0201] 在本文所述方法的一些实施方案中,受试者是超重的。在一些实施方案中,受试者是肥胖的。在一些实施方案中,受试者患有糖尿病。在一些实施方案中,受试者患有2型糖尿病。在一些实施方案中,受试者患有心血管疾病。

[0202] 至少有一份报告指出,患有肝脏疾病(如非酒精性脂肪性肝疾病(NAFLD))的患者的ANGPTL8水平升高(参见例如Lee等人,2016,Nature Scientific Reports,DOI:10.1038/srep24013)。因此,在一些实施方案中,治疗受试者的肝脏疾病的方法包括向所述受试者施用治疗有效量的特异性地结合人类ANGPTL8的抗体。在一些实施方案中,治疗受试者的肝脏疾病的方法包括向所述受试者施用治疗有效量的特异性地结合ANGPTL8的抗体,其中所述抗体包含表1-表3中提供的一个、两个、三个、四个、五个和/或六个CDR。在一些实施方案中,治疗受试者的肝脏疾病的方法包括向所述受试者施用治疗有效量的特异性地结合ANGPTL8的抗体,其中所述抗体包含抗体1E5的一个、两个、三个、四个、五个和/或六个CDR。在一些实施方案中,治疗受试者的肝脏疾病的方法包括向所述受试者施用治疗有效量的特异性地结合ANGPTL8的抗体,其中所述抗体是抗体Hz1E5。在一些实施方案中,肝脏疾病是NAFLD。在一些实施方案中,肝脏疾病是非酒精性脂肪性肝炎(NASH)。

[0203] 在本文所述方法的一些实施方案中,一种方法包括与至少一种另外的治疗剂或治疗疗法组合施用本文所述的ANGPTL8结合剂。利用两种或更多种治疗剂的治疗通常使用通过不同作用机制起作用的剂,但这不是必需的。使用具有不同作用机制的剂的组合疗法可能会产生累加或协同作用。与单一疗法相比,组合疗法可允许使用更低剂量的各剂,由此减少毒性副作用和/或增加剂的治疗指数。组合疗法可能会降低对剂产生抗药性的可能性。

[0204] 在一些实施方案中,本文所述的ANGPTL8结合剂与至少一种另外的治疗剂的组合产生累加或协同作用。在一些实施方案中,组合疗法导致ANGPTL8结合剂的治疗指数增加。在一些实施方案中,组合疗法导致一种或多种另外的治疗剂的治疗指数增加。在一些实施方案中,组合疗法导致ANGPTL8结合剂的毒性和/或副作用减少。在一些实施方案中,组合疗

法导致一种或多种另外的治疗剂的毒性和/或副作用减少。

[0205] 在一些实施方案中,可在施用ANGPTL8结合剂之前、同时和/或之后施用另外的治疗剂。在一些实施方案中,至少一种另外的治疗剂包括1、2、3或更多种另外的治疗剂。

[0206] 组合治疗可包括一种另外的治疗剂或两种或更多种另外的治疗剂。利用ANGPTL8结合剂的治疗可在施用另外的治疗剂之前、同时或之后进行。组合施用可包括以单一药物制剂形式或使用分开的制剂共同施用,或以任何顺序但通常在一定时间段内连续施用,以使得所有活性剂都能发挥其生物活性。可根据制造商的说明书或由熟练的从业人员凭经验确定使用另外的治疗剂的制备和给药方案。

[0207] 可与本文所述的ANGPTL8结合剂组合施用的另外的治疗剂包括但不限于贝特类药物、他汀类药物、 ω -3脂肪酸和烟酸。在一些实施方案中,另外的治疗剂是贝特类药物。贝特类药物是两亲性羧酸的一类,包括但不限于氯贝酸铝、苯扎贝特、环丙贝特、非诺贝特胆碱、克利贝特、氯贝特(例如ATROMID-S)、氯贝胺、非诺贝特(例如FIBRICOR、LOFIBRA、TRICOR)、吉非贝齐(例如LOPID)、罗尼贝特、双贝特和非诺贝特酸。在一些实施方案中,另外的治疗剂是他汀类药物。他汀类药物是HMG-CoA还原酶抑制剂,包括但不限于阿托伐他汀(LIPITOR)、氟伐他汀(LESCOL)、洛伐他汀(MEVACOR)、普伐他汀(PRAVACHOL)、罗苏伐他汀(ZOCOR)和匹伐他汀(LIVALO)。在一些实施方案中,另外的治疗剂是烟酸(维生素B3)。在一些实施方案中,另外的治疗剂是 ω -3脂肪酸。

[0208] 在一些实施方案中,另外的治疗剂是肥胖症药物。肥胖症药物包括但不限于奥利司他(XENICAL)、苯丁胺/托吡酯(QSYMIA)、氯卡色林(BELVIQ)、纳曲酮/安非他酮(CONTRAVE)和利拉鲁肽(SAXENDA)。

[0209] 在一些实施方案中,另外的治疗剂是糖尿病药物。抗糖尿病药物包括但不限于胰岛素;PPAR(过氧化物酶体增殖物激活受体) γ -激动剂,如吡格列酮、曲格列酮、西格列酮、来格列酮、罗格列酮和其他2,4-噻唑烷二酮衍生物;DPP-4抑制剂,如西他列汀(JANUVIA)、维达列汀、沙格列汀、利拉列汀(TRADJENTA)、杜拓格列汀(dutogliptin)、吉格列汀(gemigliptin)和阿格列汀(NESINA);GLP-1类似物,如艾塞那肽、利拉鲁肽、他司鲁肽、阿比鲁肽和利西拉来;双胍衍生物,如二甲双胍(GLUMETZA、GLUCOPHAGE)、丁双胍和苯乙双胍;ATP敏感性钾通道调节剂,如米格列奈、瑞格列奈和那格列奈;磺酰脲衍生物,如甲苯磺丁脲、氯磺丙脲、甲磺氮草脲、乙酰苯磺酰环己脲、格列吡嗪、格列齐特、格列美脲、格列喹酮、格列波脲、格列派特、格列苯脲、格列生脲、格列索脲、格列丁唑和格列吡脲; α -葡萄糖苷酶抑制剂,如米格列醇(GLYSET)、阿卡波糖(PRECOSE)和伏格列波糖;SGLT2抑制剂,如坎格列净(canagliflozin)(INVOKANA)、达格列净(dapagliflozin)(FARXIGA)和依帕列净(empagliflozin)(JARDIANCE)。

[0210] 对于疾病的治疗,本公开的ANGPTL8结合剂的适当剂量取决于待治疗的病症或疾病、病症或疾病的严重程度和病程、病症或疾病的响应性、是为了治疗目的还是预防目的施用剂、先前疗法、患者的临床病史等等。ANGPTL8结合剂可一次或连续数天至数月经一系列治疗来施用,或者直至治愈或疾病状态减轻为止。

[0211] 应当理解,本文所述的ANGPTL8结合剂和至少一种另外的治疗剂的组合可以任何顺序或同时施用。在一些实施方案中,向先前已接受过治疗剂治疗的受试者施用ANGPTL8结合剂。在一些实施方案中,同时或基本上同时施用ANGPTL8结合剂和第二治疗剂。例如,可在

用第二治疗剂(例如他汀类药物)进行治疗的过程中,向受试者给予ANGPTL8结合剂。在一些实施方案中,在用第二治疗剂进行治疗后的1年内,施用ANGPTL8结合剂。在一些实施方案中,在用第二治疗剂进行任何治疗后的10、8、6、4或2个月内,施用ANGPTL8结合剂。在一些实施方案中,在用第二治疗剂进行任何治疗后的4、3、2或1周内,施用ANGPTL8结合剂。在一些实施方案中,在用第二治疗剂进行任何治疗后的5、4、3、2或1天内,施用ANGPTL8结合剂。还应当理解,可在数小时或数分钟内(即,基本上同时)向受试者施用两种(或更多种)剂或治疗。

[0212] 本文所述的ANGPTL8结合剂的剂量可根据疾病或病症的性质和/或严重程度以及受试者的状况而变化。在一些实施方案中,剂的剂量为0.01 μ g至100mg/kg体重、0.1 μ g至100mg/kg体重、1 μ g至100mg/kg体重、1mg至100mg/kg体重、1mg至80mg/kg体重、10mg至100mg/kg体重、10mg至75mg/kg体重、或10mg至50mg/kg体重。在一些实施方案中,剂的剂量为约0.1mg至约20mg/kg体重。在一些实施方案中,剂的剂量为约0.5mg/kg体重。在一些实施方案中,剂的剂量为约1mg/kg体重。在一些实施方案中,剂的剂量为约1.5mg/kg体重。在一些实施方案中,剂的剂量为约2mg/kg体重。在一些实施方案中,剂的剂量为约2.5mg/kg体重。在一些实施方案中,剂的剂量为约5mg/kg体重。在一些实施方案中,剂的剂量为约7.5mg/kg体重。在一些实施方案中,剂的剂量为约10mg/kg体重。在一些实施方案中,剂的剂量为约12.5mg/kg体重。在一些实施方案中,剂的剂量为约15mg/kg体重。在一些实施方案中,每天、每周、每月或每年一次或多次给予剂。在一些实施方案中,每周一次、每两周一次、每三周一次或每四周一次给予剂。

[0213] 本公开提供了包含本文所述的ANGPTL8结合剂的组合物。本公开还提供了包含本文所述的ANGPTL8结合剂和药学上可接受的媒介物的药物组合物。

[0214] 通过将纯化的本公开抗体或剂与药学上可接受的媒介物(例如载体或赋形剂)混合来制备制剂以供储存和使用。本领域技术人员通常将药学上可接受的载体、赋形剂和/或稳定剂视为制剂或药物组合物的非活性成分。

[0215] 合适的药学上可接受的媒介物包括但不限于:无毒缓冲剂,如磷酸盐、柠檬酸盐和其他有机酸;盐,如氯化钠;抗氧化剂,包括抗坏血酸和甲硫氨酸;防腐剂,如十八烷基二甲基苄基氯化铵、氯化六烃季铵(hexamethonium chloride)、氯化苯二甲羟铵(benzalkonium chloride)、氯化苄甲乙氧铵(benzethonium chloride)、苯酚、丁醇或苄醇、对羟苯甲酸烷酯(如对羟苯甲酸甲酯或对羟苯甲酸丙酯)、儿茶酚、间苯二酚、环己醇、3-戊醇和间甲酚;低分子量多肽(例如,小于约10个氨基酸残基);蛋白质,如血清白蛋白、凝胶或免疫球蛋白;亲水性聚合物,如聚乙烯吡咯烷酮;氨基酸,如甘氨酸、谷酰氨酸、天冬酰氨酸、组氨酸、精氨酸或赖氨酸;碳水化合物,如单糖、双糖、葡萄糖、甘露糖或糊精;螯合剂,如EDTA;糖,如蔗糖、甘露醇、海藻糖或山梨醇;成盐反离子,如钠离子;金属络合物,如Zn-蛋白质络合物;以及非离子表面活性剂,如TWEEN或聚乙二醇(PEG)。(Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 第22版, 2012, Pharmaceutical Press, London.)。在一些实施方案中,制剂呈水溶液形式。在一些实施方案中,制剂为冻干的或呈替代干燥形式。

[0216] 治疗性制剂可呈单位剂型形式。此类制剂包括片剂、丸剂、胶囊剂、粉剂、颗粒剂、在水或非水性介质中的溶液或悬浮液,或栓剂。在固体组合物如片剂中,主要活性成分与药物载体相混合。常规的制片成分包括玉米淀粉、乳糖、蔗糖、山梨糖醇、滑石、硬脂酸、硬脂酸

镁、磷酸二钙或树胶以及稀释剂(例如水)。这些可用于形成固体预制剂组合物,所述固体预制剂组合物包含本公开的化合物或其药学上可接受的无毒盐的均质混合物。随后将所述固体预制剂组合物再分为上述类型的单位剂型。可以对制剂或组合物的片剂、丸剂等进行包被或以其他方式混配,从而提供具有长期作用的优点的剂型。例如,片剂或丸剂可包含由外部组分包覆的内部组合物。可以通过肠溶层将这两种组分隔开,所述肠溶层用来抵抗崩解并允许内部组分完整地通过胃或延迟释放。多种材料可以用于此类肠溶层或包衣,此类材料包括多种聚合酸及聚合酸与如虫胶、鲸蜡醇和乙酸纤维等材料的混合物。

[0217] 本公开的结合剂可以任何合适的形式配制,以递送至靶细胞/组织。在一些实施方案中,ANGPTL8结合剂可配制成脂质体、微粒、微囊、白蛋白微球、微乳液、纳米粒子、纳米囊或粗乳液。在一些实施方案中,药物制剂包含与脂质体复合的本公开剂。产生脂质体的方法是本领域技术人员已知的。例如,一些脂质体可用包含磷脂酰胆碱、胆固醇和PEG衍生的磷脂酰乙醇胺(PEG-PE)的脂质组合物通过反相蒸发来产生。

[0218] 在一些实施方案中,ANGPTL8结合剂被配制成缓释制剂。缓释制剂的合适实例包括含剂的固体疏水性聚合物的半透性基质,其中基质呈定型制品(例如膜或微囊)形式。缓释基质包括但不限于聚酯、水凝胶(如聚(2-羟乙基-甲基丙烯酸酯)或聚(乙烯醇))、聚乳酸、L-谷氨酸与7乙基-L-谷氨酸酯的共聚物、不可降解乙烯-乙酸乙烯酯、可降解乳酸-乙醇酸共聚物(如LUPRON DEPOTTM(由乳酸-乙醇酸共聚物和醋酸亮丙瑞林(leuprolide acetate)组成的可注射微球))、乙酸异丁酸蔗糖酯和聚-D-(-)-3-羟基丁酸。

[0219] 本公开的药物组合物或制剂能够以任意种用于局部治疗或全身治疗的方式来施用。施用可以是:局部,通过表皮或透皮贴剂、软膏、洗剂、乳霜、凝胶剂、滴剂、栓剂、喷雾剂、液体和粉剂;经肺部,通过吸入或吹入粉末或气雾剂,包括通过喷雾器、气管内和鼻内;口服;或肠胃外,包括静脉内、动脉内、瘤内、皮下、腹膜内或肌肉内(例如注射或输注);或颅内(例如鞘内或脑室内)。

[0220] 各种递送系统是已知的,并且可用于施用本文所述的ANGPTL8结合剂。在一些实施方案中,本文所述的ANGPTL8结合剂或组合物可在控释或缓释系统中递送。在一些实施方案中,可使用泵来实现控释或缓释。在一些实施方案中,可使用聚合物材料来实现本文所述的ANGPTL8结合剂的控释或缓释。用于缓释制剂的聚合物的实例包括但不限于:聚甲基丙烯酸2-羟乙酯、聚甲基丙烯酸甲酯、聚丙烯酸、聚乙烯-乙酸乙烯酯共聚物、聚甲基丙烯酸、聚乙交酯(PLG)、聚酸酐、聚N-乙烯基吡咯烷酮、聚乙烯醇(PVA)、聚丙烯酰胺、聚乙二醇(PEG)、聚丙交酯(PLA)、聚丙交酯-乙交酯共聚物(PLGA)和聚原酸酯。缓释制剂中使用的任何聚合物应为惰性的,不含可浸出杂质,储存稳定,无菌且可生物降解。

[0221] 可使用另外的递送系统来施用本文所述的ANGPTL8结合剂,这些递送系统包括但不限于可注射药物递送装置和渗透泵。可注射药物递送装置包括例如手持装置(例如自动注射器)或可穿戴装置。不同类型的渗透泵系统可包括单室系统、双室系统和多室系统。

[0222] V. 包含ANGPTL8结合剂的测定和/或试剂盒

[0223] 本文所述的在一些实施方案中,抗ANGPTL8抗体及其片段可用于检测生物样品中ANGPTL8的存在。此类抗ANGPTL8抗体可包括与人和/或食蟹猴ANGPTL8结合但不抑制ANGPTL8活性的抗体。如本文所用,术语“检测”涵盖定量或定性检测。在一些实施方案中,生物样品包括细胞、组织、血液或其他体液。

[0224] 在一些实施方案中,检测生物样品中ANGPTL8的存在的方法包括使生物样品与抗ANGPTL8抗体在允许抗ANGPTL8抗体与ANGPTL8结合的条件下接触,并检测在抗ANGPTL8抗体与ANGPTL8之间是否形成复合物。所述方法可包括本领域技术人员已知的测定,如蛋白质印迹分析、放射免疫测定、ELISA(酶联免疫吸附测定)、“夹心”免疫测定、免疫沉淀测定、荧光免疫测定、蛋白A免疫测定和免疫组织化学(IHC)。

[0225] 在一些实施方案中,抗ANGPTL8抗体用可检测标记加以标记。可检测标记可为荧光分子、化学发光分子、生物发光分子、酶或放射性同位素。

[0226] 本公开提供了试剂盒,所述试剂盒包含本文所述的ANGPTL8结合剂并且可用于执行本文所述的方法。在一些实施方案中,试剂盒在一个或多个容器中包含至少一种纯化的ANGPTL8结合剂。在一些实施方案中,试剂盒包含执行检测测定所必需的和/或足够的所有组件,包括所有对照物、执行测定的指导以及用于分析和显示结果的任何必要软件。本领域技术人员将容易认识到,可容易地将所公开的本公开ANGPTL8结合剂并入本领域中众所周知的已确立的试剂盒形式之一。

[0227] 还提供了包含ANGPTL8结合剂以及至少一种另外的治疗剂的药盒。在一些实施方案中,第二种(或更多种)治疗剂是贝特类药物、他汀类药物、烟酸和/或3-ω脂肪酸。在一些实施方案中,第二种(或更多种)治疗剂是第二种抗体。

[0228] 实施例

[0229] 实施例1

[0230] ANGPTL8和ANGPTL8变体在小鼠中的过表达

[0231] 先前已经表明,mANGPTL8和hANGPTL8在小鼠中的过表达显著增加了血浆甘油三酯水平(参见例如国际公布号WO 2016/054494)。为了进一步确定造成甘油三酯增加的人类ANGPTL8的区域,产生了在N端处具有缺失的人类ANGPTL8的变体(图2A)。通过标准方法产生了表达人类ANGPTL8或缺失变体的重组腺相关病毒(rAAV)载体。本领域技术人员将了解信号肽是在体内加工的,并且人类ANGPTL8将对应于SEQ ID NO:2。通过尾静脉注射以单次剂量向C57BL/6小鼠(每组5-6只小鼠)施用3x10¹¹ IU rAAV。将表达绿色荧光蛋白(AAV-GFP)的AAV载体用作对照物。注射后十二天,从尾静脉获得血液样品,并且测量血浆甘油三酯水平。按照制造商的说明,使用L型甘油三酯M试剂盒(Wako Diagnostics)测定甘油三酯。

[0232] 如图2B所示,野生型hANGPTL8和变体V3的表达使血浆甘油三酯水平增加为大约三倍。变体V3具有hANGPTL8(SEQ ID NO:1)的氨基酸22-31的缺失。相比之下,变体V2、V4和V5的表达没有增加血浆甘油三酯水平,而似乎实际上使甘油三酯水平降低至低于对照物。变体V2具有hANGPTL8的氨基酸22-80的缺失,变体V4具有hANGPTL8的氨基酸22-45的缺失,并且变体V5具有hANGPTL8的氨基酸22-52的缺失。这些结果表明,氨基酸32-46是人类ANGPTL8增加甘油三酯水平所必需的。

[0233] 实施例2

[0234] 抗体的产生

[0235] 使用若干种不同的免疫原产生抗ANGPTL8抗体。用以下使小鼠免疫:(i)编码人类ANGPTL8的DNA,(ii)包含人类ANGPTL8的氨基酸25-60的肽(hSE1肽;SEQ ID NO:6),或(iii)包含连接至人类血清白蛋白(HSA)和FLAG标签的人类ANGPTL8(SEQ ID NO:2)的纯化融合蛋白(Flag-HSA-hANGPTL8)。在已确定免疫动物具有合适的抗体滴度后,从动物的脾脏和引流

淋巴结中获得淋巴细胞的单细胞悬液。通过电融合将淋巴细胞与SP2/0骨髓瘤细胞融合。在存在HAT选择的情况下,将融合细胞平铺到半固体培养基中。培养7-10天后,如本文中实施例3所述地选择杂交瘤克隆并筛选。

[0236] 实施例3

[0237] 抗体筛选

[0238] 通过ELISA筛选来自实施例2中描述的免疫和融合活动的杂交瘤上清液,以结合至(i)人类ANGPTL8, (ii)人类SE1肽, (iii)包含hANGPTL8 (SEQ ID NO:1) 的氨基酸22-46的肽, (iii)包含hANGPTL8的氨基酸61-80的肽, (iv)包含hANGPTL8氨基酸80-138的肽,以及(iv)包含hANGPTL8的氨基酸139-198的肽。数百种抗体被鉴定为人类ANGPTL8和/或其片段的结合物。

[0239] 在体内测试通过ELISA鉴定的抗体亚群在表达hANGPTL8的小鼠中降低血浆甘油三酯水平的能力。通过皮下注射(第-1天)向C57BL/6J小鼠(每组6只小鼠)施用一种抗hANGPTL8抗体或对照抗体(抗KLH)。以10mg/kg的单次剂量给予抗体。第二天(第0天),给小鼠注射 1×10^{11} IU的表达hANGPTL8的rAAV (AAV-hANGPTL8) 或表达绿色荧光蛋白的对照rAAV (AAV-GFP)。施用AAVhANGPTL8或AAV-GFP后一天,从个别小鼠的尾静脉中抽血,并如本文所述测定甘油三酯水平。

[0240] 如图3所示,与无抗体治疗相比,在测试的抗体中有四种不同的抗体降低了甘油三酯水平或者使由hANGPTL8的表达诱导的甘油三酯水平升高被抑制了大约三倍。确定了这些抗体中的三个抗体1E5、1A8和1E9结合在ANGPTL8的N端区 (SE1肽;氨基酸25-60) 内。

[0241] 实施例4

[0242] 抗体结合亲和力

[0243] 使用BIACORE系统 (GE Healthcare LifeSciences) 测量抗体1E5、1A8和1E9与人类ANGPTL8的结合亲和力。简而言之,使用胺偶联试剂 (GE Healthcare LifeSciences) 将抗小鼠Fc抗体 (Sigma-Aldrich) 固定在CM5芯片的所有四个流通池上。使用流通池1作为参照,将杂交瘤上清液中的抗体捕获在流通池2、3和4上。在25°C下以50μL/min的流速注入人类ANGPTL8的SE1肽 (hSE1; SEQ ID NO:6)、食蟹猴ANGPTL8的相应SE1肽 (cSE1; SEQ ID NO:67) 或人类ANGPTL8。随时间推移收集动力学数据,并使用同步全局拟合方程 (simultaneous global fit equation) 对数据进行拟合以产生各抗体的亲和常数 (K_D 值)。

[0244] 产生了作为与细菌NusA蛋白的融合体 (NusA-hANGPTL8) 的人类ANGPTL8 (SEQ ID NO:2)。在37°C下用1mM IPTG诱导含有表达NusA-hANGPTL8的构建体的大肠杆菌BL21转化体,持续4小时。通过离心收集细胞,并使用BugBuster™蛋白质提取试剂 (Novagen, Inc) 将细胞沉淀物溶解。使用螯合的Sephadex FF柱捕获NusA-hANGPTL8,并使用含250mM咪唑的PBS洗脱。通过超滤浓缩NusA-hANGPTL8融合蛋白,并通过柱色谱法进一步纯化。

[0245] 测定结果示于表4,1E5与hANGPTL8结合 (NusA-hANGPTL8融合蛋白) 的BIACORE结果示于图4。

[0246] 表4

	抗 ANGPTL8 抗体	hSE1	cSE1	NusA-hANGPTL8
[0247]	Kd (nM)			
	1E5	0.41	0.67	0.44
[0248]	1A8	0.80	1.04	2.5
	1E9	0.92	1.80	2.1

[0249] 实施例5

[0250] 人源化抗体

[0251] 表1-表3中示出了1E5、1E9和1A8的重链和轻链可变区序列以及CDR序列。抗体1E5通过本领域技术人员已知的方法加以人源化,并且在本文中称为Hz1E5。Hz1E5的重链可变序列为SEQ ID NO:62,并且Hz1E5的轻链可变序列为SEQ ID NO:63。

[0252] 使用如本文所述的BIACORE系统确定Hz1E5的结合亲和力,并将其与含有1E5的鼠可变区和人Fc区的嵌合1E5抗体的结合亲和力进行比较。人源化抗体Hz1E5与人SE1肽的结合亲和力为0.9nM,相比之下嵌合抗体的结合亲和力为0.35nM(图5A)。

[0253] 在体内测试人源化抗体Hz1E5降低表达hANGPTL8的小鼠体内的血浆甘油三酯水平的能力。通过皮下注射(第-1天)向C57BL/6J小鼠(每组6-8只小鼠)施用来自杂交瘤1E5的亲本抗体、嵌合抗体1E5、人源化抗体Hz1E5或对照抗体(抗KLH)。以30mg/kg的单次剂量施用抗体。第二天(第0天),给小鼠注射 1×10^{11} IU AAV-hANGPTL8或对照AAV-GFP。注射AAV后一天,从个别小鼠的尾静脉获取血液,并测定甘油三酯水平。

[0254] 如图5B所示,抗hANGPTL8抗体Hz1E5降低或抑制了由hANGPTL8的表达所诱导的血浆甘油三酯增加,其程度与亲本抗体相似。这些结果表明,抗体1E5的人源化对抗体的活性没有影响。

[0255] 实施例6

[0256] 猴研究

[0257] 在食蟹猴中研究了抗ANGPTL8抗体Hz1E5降低体内血浆甘油三酯水平的能力。选择高甘油三酯血症雄性食蟹猴,并在治疗前(第-3天)测量血清甘油三酯和血清HDL胆固醇的基线值。在第0天,一组动物($n=10$)通过皮下注射接受了单次剂量的抗hANGPTL8抗体Hz1E5(10mg/kg)。一组对照动物($n=10$)接受了单次剂量的媒介物。在第-2天、第.25天(6小时)、第1天、第3天、第5天、第8天、第15天、第22天和第29天采集血液样品,以测定血清甘油三酯和HDL胆固醇。在研究过程中,所有动物的健康状态均受到密切监测。

[0258] 如图6A所示,与用对照媒介物治疗的动物相比,用抗ANGPTL8抗体Hz1E5单次治疗后高甘油三酯血症食蟹猴中的血清甘油三酯早在6小时的时候显著降低(相对于媒介物, $p<0.05$)。到第29天,治疗动物中的甘油三酯水平逐渐恢复到治疗前水平,但仍低于在对照动物中观测到的水平。另外,抗ANGPTL8抗体可有效增加HDL胆固醇水平。与用对照物治疗的动物相比,用抗ANGPTL8抗体治疗的动物在接受单次剂量抗体后HDL胆固醇水平在第1天显著更高(相对于媒介物, $p<0.01$) (图6B)。与甘油三酯水平一样,到第29天,HDL胆固醇水平逐渐恢复到治疗前水平。这些结果证明,在非人灵长类动物高甘油三酯血症模型中,示例性的抗ANGPTL8抗体可有效降低甘油三酯水平并增加HDL胆固醇水平。

[0259] 虽然出于清楚理解的目的已通过说明和实施例相当详细地描述了上述本公开,但

这些描述和实施例不应当被解释为限制本公开的范围。本文所述的本公开的实施方案意欲仅是示例性的，并且本领域技术人员将认识到本文所述的特定程序的许多等效方案。所有这些等效方案都被认为处于本公开的范围内并且由所述实施方案覆盖。

[0260] 出于所有目的，本文引用的所有出版物、专利、专利申请、互联网站和登录号/数据库序列（包括多核苷酸和多肽序列）均以引用方式整体并入本文，其程度如同每个单独的出版物、专利、专利申请、互联网站点或登录号/数据库序列被确切地且单独地指明为以引用方式并入。

[0261] 除表1-表3中定义的重链和轻链CDR序列外，以下是本申请中公开的序列。

[0262] 具有预测信号序列的人类ANGPTL8氨基酸序列标有下划线 (SEQ ID NO:1)

MPVPALCLLWALAMVTRPASAAPMGGPELAQHEELTLLFHGTLQLGQALNGVYRTTEGRL
TKARNSLGLYGRTIELLGQEVSRGRDAAQELRASLLETQMEEDILQLQAEATAEVLGEVA
QAQKVLRDSVQRLEVQLRSAWLGPAYREFEVLKAHADKQSHILWALTGHVQRQRREMVQAQ
QHRLRQIQLERLHTAALPA

[0264] 无预测信号序列的人类ANGPTL8氨基酸序列 (SEQ ID NO:2)

APMGGPELAQHEELTLLFHGTLQLGQALNGVYRTTEGRLTKARNSLGLYGRTIELLGQEV
SRGRDAAQELRASLLETQMEEDILQLQAEATAEVLGEVAQAQAKVLRDSVQRLEVQLRSAW
LGPAYREFEVLKAHADKQSHILWALTGHVQRQRREMVQAQHRLRQIQLERLHTAALPA

[0266] 人类ANGPTL8氨基酸22-83 (SEQ ID NO:3)

APMGGPELAQHEELTLLFHGTLQLGQALNGVYRTTEGRLTKARNSLGLYGRTIELLGQEV
SR

[0268] 人类ANGPTL8氨基酸84-138 (SEQ ID NO:4)

GRDAAQELRASLLETQMEEDILQLQAEATAEVLGEVAQAQAKVLRDSVQRLEVQLR

[0270] 人类ANGPTL8氨基酸139-198 (SEQ ID NO:5)

SAWLGPAYREFEVLKAHADKQSHILWALTGHVQRQRREMVQAQHRLRQIQLERLHTAALPA

[0272] 人类ANGPTL8氨基酸25-60 (hSE1肽) (SEQ ID NO:6)

GGPELAQHEELTLLFHGTLQLGQALNGVYRTTEGRL

[0274] 人类ANGPTL8氨基酸22-46 (Sumo肽) (SEQ ID NO:7)

APMGGPELAQHEELTLLFHGTLQLG

[0276] 人类ANGPTL8氨基酸32-46 (SEQ ID NO:8)

HEELTLLFHGTLQLG

[0278] 具有信号序列的食蟹猴ANGPTL8氨基酸序列 (SEQ ID NO:9)

MLVPALCLLWALAMVTPASAAPVGSPELAEHEELTLLFHGTLQLGQALNGVYRTTEGRL
TKARNSLGLYGRTVELLGQEVSRGRDAAQELRASLLETQMEEDILQLKAEAIAEVLEEVQA
QAQKVLQDSVRRLEVQLRSAWLGPAYQEFEVLKAHADKQSHILWALTGHVQRQRREMVQAQ
QHRLRQIQLERIHKAAALPA

[0280] 具有信号序列的小鼠ANGPTL8氨基酸序列 (SEQ ID NO:10)

MAVLALCLLWTLASAVRPAPVAPLGGPEPAQYEELTLLFHGALQLGQALNGVYRATEARL
TEAGHSLGLYDRALEFLGTEVRQGQDATQELRTSLSIEIQVEEDALHLRAEATARSLGEVA
RAQQALRDTVRRLLQVQLRGAWLGQAHQEFTLKARADKQSHLLWALTGHVQRQQREMAEQ
QQWLRQIQLQRLHTAALPA

[0282] 1E5重链可变区氨基酸序列 (SEQ ID NO:35)

- [0283] QVQLQQSGAELVKPGTSVRLSCKASGYFTDYTIHWVKLRSQGLEWIGWFYPGSDNIKY
NAFKFDKATLTADKSSSTVYMDLGRLTSEDSAVYFCARHEAFSYYDVAWFAYWGQGTIVT
VSA
- [0284] 1E5轻链可变区氨基酸序列 (SEQ ID NO:36)
- [0285] DVVMTQTPLSLPVSLGDQASISCRSSQSLVHSNGNTYLHWYLQKPGQSPKLLIYTIVSNRF
SGVPDRFSGSGSGSDFTLNFSRVEAEDLGVYFCSQTHFPYTFGGGTKEIK
- [0286] 1E9重链可变区氨基酸序列 (SEQ ID NO:44)
- [0287] QVQLQQSGTELVKPGASVLSCKASGYFTDYTIHWVKQRSGQGLEWIGWFYPGSDNIKF
NAKFRDKATLTADKSSSTVYMELSRLTSEDSAVYFCARHEAFYVYDVAWFANWGQGTIVT
VST
- [0288] 1E9轻链可变区氨基酸序列 (SEQ ID NO:45)
- [0289] DVVMTQTPLSLPVSLGDQASISCRSSQSLVHSNGNTYLHWFLQKPGQSPNLLIYTIVSNRF
SGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAGDLGVYFCSQTHFPYTFGGGTKEIK
- [0290] 1A8重链可变区氨基酸序列 (SEQ ID NO:56)
- [0291] QVQLQQSGAELVKPGASVLSCKASGYFTDYTIHWVKQRSGQGLEWIGWFYPGSDNIKY
NEFKFDKATLTADKSSSIVYMELSRLTSEDSAVYFCARHEAYYVYDVAWFAYWGQGTIVT
VSA
- [0292] 1A8轻链可变区氨基酸序列 (SEQ ID NO:57)
- [0293] DVVMTQTPLSLPVSLGDQASISCSSQSLVHSNGNTFLHWFLQPGQSPKLLIYTIVSNRF
SGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGVYFCSQTHFPYTFGGGTLEIK
- [0294] 重链CDR2共有序列 (SEQ ID NO:58)
- [0295] WFYPGSDNIKX₁NX₂KFX₃D X₁=Y或F; X₂=A或E; X₃=K或R
- [0296] 重链CDR3共有序列 (SEQ ID NO:59)
- [0297] HEAX₁X₂X₃YDVAWFAX₄
- [0298] X₁=F或Y; X₂=S或Y; X₃=Y或V; X₄=Y或N轻链CDR1共有序列 (SEQ ID NO:60)
- [0299] X₁SSQSLVHSNGNTX₂LH X₁=R或S X₂=Y或F
- [0300] 轻链CDR3共有序列 (SEQ ID NO:61)
- [0301] SQX₁THFPYTX₁=T或S
- [0302] Hz1E5.A1重链可变区氨基酸序列 (SEQ ID NO:62)
- [0303] EVQLVQSGAEVKPGSSVKVSKASGYFTDYTIHWVRQAPGQGLEWMGFYPGSDNIKY
NAKFKDRATLTADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARHEAFSYYDVAWFAYWGQGTIVT
VSS
- [0304] Hz1E5.A1轻链可变区氨基酸序列 (SEQ ID NO:63)
- [0305] DVVMTQTPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLVHSNGNTYLHWYLQKPGQSPQLLIYTIVSNRF
SGVPDRFSGSGSGDFTLKISRVEAEDVGVYFCSQTHFPYTFGQGTKEIK
- [0306] 无信号序列的Hz1E5.A1重链氨基酸序列 (SEQ ID NO:64)
- [0307] EVQLVQSGAEVKPGSSVKVSKASGYFTDYTIHWVRQAPGQGLEWMGFYPGSDNIKY
NAKFKDRATLTADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARHEAFSYYDVAWFAYWGQGTIVT
VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVWSNSGALTSGVHTFPAVL
QSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHCPCPAPEL
LGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVFKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE
QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPS
REEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPVLDSDGSFFLYSKLTVDK
SRWQQGNVFCSVNHEALHNHYTQKSLISLSPGK
- [0308] 无信号序列的Hz1E5.A1轻链氨基酸序列 (SEQ ID NO:65)

[0309] DVVMTQTPPLSPVTPGEPASISCRSSQSLVHSNGNTYLHWYLQKPGQSPQLLIYTVSNRF
SGVPDRFSGSGSDFTLKISRVEAEDVGVYFCSQTHFPYTFGQGTKVEIKRTVAAPSV
FIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSL

SSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

[0310] FLAG标签 (SEQ ID NO:66)

[0311] DYKDDDDK

[0312] 食蟹猴ANGPLT8氨基酸25-60 (cSE1肽) (SEQ ID NO:67)

[0313] GSPELAEHEELTLLFHGTLQLGQALNGVYKTTEGRL

[0314] 序列表

[0315] 本说明书与序列表的计算机可读形式 (CRF) 副本一起提交。于2018年10月27日创建且大小为37,767字节的标题为13370-057-228_ST25.txt的CRF以引用方式整体并入本文。

序列表

<110> 恩格姆生物制药公司 (NGM BIOPHARMACEUTICALS, INC.)

<120> ANGPTL8-结合剂及其使用方法

<130> 13370-0057-228

<140>

<141>

<150> 62/584,637

<151> 2017-11-10

<160> 69

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 198

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<220>

<223> 具有预测信号序列的人类ANGPTL8序列

<400> 1

Met Pro Val Pro Ala Leu Cys Leu Leu Trp Ala Leu Ala Met Val Thr

1 5 10 15

Arg Pro Ala Ser Ala Ala Pro Met Gly Gly Pro Glu Leu Ala Gln His

20 25 30

Glu Glu Leu Thr Leu Leu Phe His Gly Thr Leu Gln Leu Gly Gln Ala

35 40 45

Leu Asn Gly Val Tyr Arg Thr Thr Glu Gly Arg Leu Thr Lys Ala Arg

50 55 60

Asn Ser Leu Gly Leu Tyr Gly Arg Thr Ile Glu Leu Leu Gly Gln Glu

65 70 75 80

Val Ser Arg Gly Arg Asp Ala Ala Gln Glu Leu Arg Ala Ser Leu Leu

85 90 95

Glu Thr Gln Met Glu Glu Asp Ile Leu Gln Leu Gln Ala Glu Ala Thr

100 105 110

Ala Glu Val Leu Gly Glu Val Ala Gln Ala Gln Lys Val Leu Arg Asp

115 120 125

Ser Val Gln Arg Leu Glu Val Gln Leu Arg Ser Ala Trp Leu Gly Pro

130 135 140

Ala Tyr Arg Glu Phe Glu Val Leu Lys Ala His Ala Asp Lys Gln Ser

145 150 155 160

His Ile Leu Trp Ala Leu Thr Gly His Val Gln Arg Gln Arg Arg Glu

165	170	175
Met Val Ala Gln Gln His Arg Leu Arg Gln Ile Gln Glu Arg Leu His		
180	185	190
Thr Ala Ala Leu Pro Ala		
195		
<210> 2		
<211> 177		
<212> PRT		
<213> 智人 (Homo sapiens)		
<220>		
<223> 无预测信号序列的人类ANGPTL8序列		
<400> 2		
Ala Pro Met Gly Gly Pro Glu Leu Ala Gln His Glu Glu Leu Thr Leu		
1 5 10 15		
Leu Phe His Gly Thr Leu Gln Leu Gly Gln Ala Leu Asn Gly Val Tyr		
20 25 30		
Arg Thr Thr Glu Gly Arg Leu Thr Lys Ala Arg Asn Ser Leu Gly Leu		
35 40 45		
Tyr Gly Arg Thr Ile Glu Leu Leu Gly Gln Glu Val Ser Arg Gly Arg		
50 55 60		
Asp Ala Ala Gln Glu Leu Arg Ala Ser Leu Leu Glu Thr Gln Met Glu		
65 70 75 80		
Glu Asp Ile Leu Gln Leu Gln Ala Glu Ala Thr Ala Glu Val Leu Gly		
85 90 95		
Glu Val Ala Gln Ala Gln Lys Val Leu Arg Asp Ser Val Gln Arg Leu		
100 105 110		
Glu Val Gln Leu Arg Ser Ala Trp Leu Gly Pro Ala Tyr Arg Glu Phe		
115 120 125		
Glu Val Leu Lys Ala His Ala Asp Lys Gln Ser His Ile Leu Trp Ala		
130 135 140		
Leu Thr Gly His Val Gln Arg Gln Arg Arg Glu Met Val Ala Gln Gln		
145 150 155 160		
His Arg Leu Arg Gln Ile Gln Glu Arg Leu His Thr Ala Ala Leu Pro		
165 170 175		
Ala		
<210> 3		
<211> 62		
<212> PRT		
<213> 智人 (Homo sapiens)		

<220>

<223> 人类ANGPTL8氨基酸22-83

<400> 3

Ala Pro Met Gly Gly Pro Glu Leu Ala Gln His Glu Glu Leu Thr Leu
 1 5 10 15
 Leu Phe His Gly Thr Leu Gln Leu Gly Gln Ala Leu Asn Gly Val Tyr
 20 25 30
 Arg Thr Thr Glu Gly Arg Leu Thr Lys Ala Arg Asn Ser Leu Gly Leu
 35 40 45
 Tyr Gly Arg Thr Ile Glu Leu Leu Gly Gln Glu Val Ser Arg
 50 55 60

<210> 4

<211> 55

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<220>

<223> 人类ANGPTL8氨基酸84-138

<400> 4

Gly Arg Asp Ala Ala Gln Glu Leu Arg Ala Ser Leu Leu Glu Thr Gln
 1 5 10 15
 Met Glu Glu Asp Ile Leu Gln Leu Gln Ala Glu Ala Thr Ala Glu Val
 20 25 30
 Leu Gly Glu Val Ala Gln Ala Gln Lys Val Leu Arg Asp Ser Val Gln
 35 40 45
 Arg Leu Glu Val Gln Leu Arg
 50 55

<210> 5

<211> 60

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<220>

<223> 人类ANGPTL8氨基酸139-198

<400> 5

Ser Ala Trp Leu Gly Pro Ala Tyr Arg Glu Phe Glu Val Leu Lys Ala
 1 5 10 15
 His Ala Asp Lys Gln Ser His Ile Leu Trp Ala Leu Thr Gly His Val
 20 25 30
 Gln Arg Gln Arg Arg Glu Met Val Ala Gln Gln His Arg Leu Arg Gln
 35 40 45

Ile Gln Glu Arg Leu His Thr Ala Ala Leu Pro Ala
 50 55 60

<210> 6
 <211> 36
 <212> PRT
 <213> 智人 (Homo sapiens)
 <220>
 <223> 人类ANGPTL8氨基酸25-60 (hSE1肽)
 <400> 6
 Gly Gly Pro Glu Leu Ala Gln His Glu Glu Leu Thr Leu Leu Phe His
 1 5 10 15
 Gly Thr Leu Gln Leu Gly Gln Ala Leu Asn Gly Val Tyr Arg Thr Thr
 20 25 30
 Glu Gly Arg Leu
 35
 <210> 7
 <211> 25
 <212> PRT
 <213> 智人 (Homo sapiens)
 <220>
 <223> 人类ANGPTL8氨基酸22-46 (Sumo肽)
 <400> 7
 Ala Pro Met Gly Gly Pro Glu Leu Ala Gln His Glu Glu Leu Thr Leu
 1 5 10 15
 Leu Phe His Gly Thr Leu Gln Leu Gly
 20 25
 <210> 8
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> 智人 (Homo sapiens)
 <220>
 <223> 人类ANGPTL8氨基酸32-46
 <400> 8
 His Glu Glu Leu Thr Leu Leu Phe His Gly Thr Leu Gln Leu Gly
 1 5 10 15
 <210> 9
 <211> 198
 <212> PRT
 <213> 食蟹猴 (Cynomolgus monkey)

<220>

<223> 具有信号序列的ANGPTL8

<400> 9

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

<210> 10

<211> 198

<212> PRT

<213> 小鼠(Mouse)

<220>

<223> 具有信号序列的ANGPTL8

<400> 10

Met	Ala	Val	Leu	Ala	Leu	Cys	Leu	Leu	Trp	Thr	Leu	Ala	Ser	Ala	Val
1					5				10				15		
Arg	Pro	Ala	Pro	Val	Ala	Pro	Leu	Gly	Gly	Pro	Glu	Pro	Ala	Gln	Tyr

20	25	30													
Glu	Glu	Leu	Thr	Leu	Leu	Phe	His	Gly	Ala	Leu	Gln	Leu	Gly	Gln	Ala
35															
Leu	Asn	Gly	Val	Tyr	Arg	Ala	Thr	Glu	Ala	Arg	Leu	Thr	Glu	Ala	Gly
50															
His	Ser	Leu	Gly	Leu	Tyr	Asp	Arg	Ala	Leu	Glu	Phe	Leu	Gly	Thr	Glu
65															
Val	Arg	Gln	Gly	Gln	Asp	Ala	Thr	Gln	Glu	Leu	Arg	Thr	Ser	Leu	Ser
85															
Glu	Ile	Gln	Val	Glu	Glu	Asp	Ala	Leu	His	Leu	Arg	Ala	Glu	Ala	Thr
100															
Ala	Arg	Ser	Leu	Gly	Glu	Val	Ala	Arg	Ala	Gln	Gln	Ala	Leu	Arg	Asp
115															
Thr	Val	Arg	Arg	Leu	Gln	Val	Gln	Leu	Arg	Gly	Ala	Trp	Leu	Gly	Gln
130															
Ala	His	Gln	Glu	Phe	Glu	Thr	Leu	Lys	Ala	Arg	Ala	Asp	Lys	Gln	Ser
145															
His	Leu	Leu	Trp	Ala	Leu	Thr	Gly	His	Val	Gln	Arg	Gln	Gln	Arg	Glu
165															
Met	Ala	Glu	Gln	Gln	Gln	Trp	Leu	Arg	Gln	Ile	Gln	Gln	Arg	Leu	His
180															
Thr	Ala	Ala	Leu	Pro	Ala										
195															
<210> 11															
<211> 10															
<212> PRT															
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)															
<220>															
<223> 抗体1E5、1E9和1A8 VH CDR1 (示例性和AbM)															
<400> 11															
Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr Thr Ile His															
1		5													10
<210> 12															
<211> 8															
<212> PRT															
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)															
<220>															
<223> 抗体1E5、1E9和1A8 VH CDR1 (IMGT)															
<400> 12															

Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr Thr

1 5

<210> 13

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 抗体1E5、1E9和1A8 VH CDR1 (Kabat)

<400> 13

Asp Tyr Thr Ile His

1 5

<210> 14

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 抗体1E5、1E9和1A8 VH CDR1 (Chothia)

<400> 14

Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr

1 5

<210> 15

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 抗体1E5、1E9和1A8 VH CDR1 (Contact)

<400> 15

Thr Asp Tyr Thr Ile His

1 5

<210> 16

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 抗体1E5 VH CDR2 (示例性和Kabat)

<400> 16

Trp Phe Tyr Pro Gly Ser Asp Asn Ile Lys Tyr Asn Ala Lys Phe Lys

1 5 10 15

Asp

<210> 17
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 抗体1E5、1E9和1A8 VH CDR2 (IMGT)
<400> 17
Phe Tyr Pro Gly Ser Asp Asn Ile
1 5
<210> 18
<211> 4
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 抗体1E5、1E9和1A8 VH CDR2 (Chothia)
<400> 18
Pro Gly Ser Asp
1
<210> 19
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 抗体1E5和1E9 VH CDR2 (Contact)
<400> 19
Trp Ile Gly Trp Phe Tyr Pro Gly Ser Asp Asn Ile Lys
1 5 10
<210> 20
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 抗体1E5、1E9和1A8 VH CDR2 (AbM)
<400> 20
Trp Phe Tyr Pro Gly Ser Asp Asn Ile Lys
1 5 10
<210> 21
<211> 14
<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 抗体1E5 VH CDR3 (示例性、Kabat和AbM)

<400> 21

His Glu Ala Phe Ser Tyr Tyr Asp Val Ala Trp Phe Ala Tyr

1 5 10

<210> 22

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 抗体1E5 VH CDR3 (IMGT)

<400> 22

Ala Arg His Glu Ala Phe Ser Tyr Tyr Asp Val Ala Trp Phe Ala Tyr

1 5 10 15

<210> 23

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 抗体1E5 VH CDR3 (Chothia)

<400> 23

Glu Ala Phe Ser Tyr Tyr Asp Val Ala Trp Phe Ala

1 5 10

<210> 24

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 抗体1E5 VH CDR3 (Contact)

<400> 24

Ala Arg His Glu Ala Phe Ser Tyr Tyr Asp Val Ala Trp Phe Ala

1 5 10 15

<210> 25

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 抗体1E5和1E9 VL CDR1 (示例性、Kabat和AbM)

<400> 25

Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu His
1 5 10 15

<210> 26

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 抗体1E5和1E9 VL CDR1 (IMGT)

<400> 26

Gln Ser Leu Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr

1 5 10

<210> 27

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 抗体1E5和1E9 VL CDR1 (Chothia)

<400> 27

Ser Gln Ser Leu Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr

1 5 10

<210> 28

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 抗体1E5 VL CDR1 (Contact)

<400> 28

Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr

1 5 10

<210> 29

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 抗体1E5、1E9和1A8 VL CDR2(示例性、Kabat和AbM)

<400> 29

Thr Val Ser Asn Arg Phe Ser

1 5

<210> 30
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 抗体1E5、1E9和1A8 VL CDR2 (IMGT和Chothia)
<400> 30
Thr Val Ser
1
<210> 31
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 抗体1E5、1E9和1A8 VL CDR2 (Contact)
<400> 31
Leu Leu Ile Tyr Thr Val Ser Asn Arg Phe
1 5 10
<210> 32
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 抗体1E5 VL CDR3 (示例性、IMGT、Kbat和AbM)
<400> 32
Ser Gln Thr Thr His Phe Pro Tyr Thr
1 5
<210> 33
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 抗体1E5 VL CDR3 (Chothia)
<400> 33
Thr Thr His Phe Pro Tyr
1 5
<210> 34
<211> 8
<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 抗体1E5 VL CDR3 (Contact)

<400> 34

Ser Gln Thr Thr His Phe Pro Tyr

1 5

<210> 35

<211> 123

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 1E5重链可变区

<400> 35

Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Val Lys Pro Gly Thr

1 5 10 15

Ser Val Arg Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr

20 25 30

Thr Ile His Trp Val Lys Leu Arg Ser Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile

35 40 45

Gly Trp Phe Tyr Pro Gly Ser Asp Asn Ile Lys Tyr Asn Ala Lys Phe

50 55 60

Lys Asp Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Ser Thr Val Tyr

65 70 75 80

Met Asp Leu Gly Arg Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys

85 90 95

Ala Arg His Glu Ala Phe Ser Tyr Tyr Asp Val Ala Trp Phe Ala Tyr

100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ala

115 120

<210> 36

<211> 112

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 1E5轻链可变区

<400> 36

Asp Val Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Pro Val Ser Leu Gly

1 5 10 15

Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser

20	25	30													
Asn	Gly	Asn	Thr	Tyr	Leu	His	Trp	Tyr	Leu	Gln	Lys	Pro	Gly	Gln	Ser
35															45
Pro	Lys	Leu	Leu	Ile	Tyr	Thr	Val	Ser	Asn	Arg	Phe	Ser	Gly	Val	Pro
50															60
Asp	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser	Asp	Phe	Thr	Leu	Asn	Phe		
65					70					75					80
Ser	Arg	Val	Glu	Ala	Glu	Asp	Leu	Gly	Val	Tyr	Phe	Cys	Ser	Gln	Thr
															85
Thr	His	Phe	Pro	Tyr	Thr	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Leu	Glu	Ile	Lys
															90
100															95
<210>	37														
<211>	17														
<212>	PRT														
<213>	人工序列 (Artificial Sequence)														
<220>															
<223>	抗体1E9 VH CDR2 (示例性和Kabat)														
<400>	37														
Trp	Phe	Tyr	Pro	Gly	Ser	Asp	Asn	Ile	Lys	Phe	Asn	Ala	Lys	Phe	Arg
1				5						10					15
Asp															
<210>	38														
<211>	14														
<212>	PRT														
<213>	人工序列 (Artificial Sequence)														
<220>															
<223>	抗体1E9 VH CDR3 (示例性、Kabat和AbM)														
<400>	38														
His	Glu	Ala	Phe	Tyr	Val	Tyr	Asp	Val	Ala	Trp	Phe	Ala	Asn		
1					5						10				
<210>	39														
<211>	16														
<212>	PRT														
<213>	人工序列 (Artificial Sequence)														
<220>															
<223>	抗体1E9 VH CDR3 (IMGT)														
<400>	39														
Ala	Arg	His	Glu	Ala	Phe	Tyr	Val	Tyr	Asp	Val	Ala	Trp	Phe	Ala	Asn
1					5						10				15

<210> 40
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 抗体1E9 VL CDR1 (Contact)
<400> 40
Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu His Trp Phe
1 5 10
<210> 41
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 抗体1E9和1A8 VL CDR3 (示例性、IMGT、Kabat和AbM)
<400> 41
Ser Gln Ser Thr His Phe Pro Tyr Thr
1 5
<210> 42
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 抗体1E9和1A8 VL CDR3 (Chothia)
<400> 42
Ser Thr His Phe Pro Tyr
1 5
<210> 43
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 抗体1E9和1A8 VL CDR3 (Contact)
<400> 43
Ser Gln Ser Thr His Phe Pro Tyr
1 5
<210> 44
<211> 123
<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 1E9重链可变区

<400> 44

Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Thr Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
 20 25 30
 Thr Ile His Trp Val Lys Gln Arg Ser Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
 35 40 45
 Gly Trp Phe Tyr Pro Gly Ser Asp Asn Ile Lys Phe Asn Ala Lys Phe
 50 55 60
 Arg Asp Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Ser Thr Val Tyr
 65 70 75 80
 Met Glu Leu Ser Arg Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys
 85 90 95
 Ala Arg His Glu Ala Phe Tyr Val Tyr Asp Val Ala Trp Phe Ala Asn
 100 105 110
 Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Thr
 115 120

<210> 45

<211> 112

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 1E9轻链可变区

<400> 45

Asp Val Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Pro Val Ser Leu Gly
 1 5 10 15
 Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser
 20 25 30
 Asn Gly Asn Thr Tyr Leu His Trp Phe Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
 35 40 45
 Pro Asn Leu Leu Ile Tyr Thr Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
 50 55 60
 Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
 65 70 75 80
 Ser Arg Val Glu Ala Gly Asp Leu Gly Val Tyr Phe Cys Ser Gln Ser
 85 90 95

Thr His Phe Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105 110

<210> 46
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> 人工序列 (Artificial Sequence)
 <220>
 <223> 抗体1A8 VH CDR2 (示例性和Kabat)
 <400> 46

Trp Phe Tyr Pro Gly Ser Asp Asn Ile Lys Tyr Asn Glu Lys Phe Lys
 1 5 10 15

Asp
 <210> 47
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> 人工序列 (Artificial Sequence)
 <220>
 <223> 抗体1A8 VH CDR2 (Contact)
 <400> 47

Trp Ile Gly Trp Phe Tyr Pro Gly Ser Asp Asn Ile Lys Tyr Asn Glu
 1 5 10 15

Lys Phe Lys Asp
 20
 <210> 48
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> 人工序列 (Artificial Sequence)
 <220>
 <223> 抗体1A8 VH CDR3 (示例性、Kabat和AbM)
 <400> 48

His Glu Ala Tyr Tyr Val Tyr Asp Val Ala Trp Phe Ala Tyr
 1 5 10

<210> 49
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> 人工序列 (Artificial Sequence)
 <220>
 <223> 抗体1A8 VH CDR3 (IMGT)
 <400> 49

Ala Arg His Glu Ala Tyr Tyr Val Tyr Asp Val Ala Trp Phe Ala Tyr
 1 5 10 15
 <210> 50
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> 人工序列(Artificial Sequence)
 <220>
 <223> 抗体1A8 VH CDR3 (Chothia)
 <400> 50
 Glu Ala Tyr Tyr Val Tyr Asp Val Ala Trp Phe Ala
 1 5 10
 <210> 51
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> 人工序列(Artificial Sequence)
 <220>
 <223> 抗体1A8 VH CDR3 (Contact)
 <400> 51
 Ala Arg His Glu Ala Tyr Tyr Val Tyr Asp Val Ala Trp Phe Ala
 1 5 10 15
 <210> 52
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> 人工序列(Artificial Sequence)
 <220>
 <223> 抗体1A8 VL CDR1 (示例性、Kabat和AbM)
 <400> 52
 Ser Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser Asn Gly Asn Thr Phe Leu His
 1 5 10 15
 <210> 53
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> 人工序列(Artificial Sequence)
 <220>
 <223> 抗体1A8 VL CDR1 (IMGT)
 <400> 53
 Gln Ser Leu Val His Ser Asn Gly Asn Thr Phe
 1 5 10
 <210> 54

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 抗体1A8 VL CDR1 (Chothia)

<400> 54

Ser Gln Ser Leu Val His Ser Asn Gly Asn Thr Phe

1 5 10

<210> 55

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 抗体1A8 VL CDR1 (Contact)

<400> 55

Val His Ser Asn Gly Asn Thr Phe Leu His Trp Phe

1 5 10

<210> 56

<211> 123

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 1A8重链可变区

<400> 56

Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala

1 5 10 15

Ser Val Lys Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr

20 25 30

Thr Ile His Trp Val Lys Gln Arg Ser Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile

35 40 45

Gly Trp Phe Tyr Pro Gly Ser Asp Asn Ile Lys Tyr Asn Glu Lys Phe

50 55 60

Lys Asp Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Ser Ile Val Tyr

65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Arg Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys

85 90 95

Ala Arg His Glu Ala Tyr Tyr Val Tyr Asp Val Ala Trp Phe Ala Tyr

100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ala

115	120		
<210> 57			
<211> 112			
<212> PRT			
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)			
<220>			
<223> 1A8轻链可变区			
<400> 57			
Asp Val Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Pro Val Ser Leu Gly			
1	5	10	15
Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Ser Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser			
20	25	30	
Asn Gly Asn Thr Phe Leu His Trp Phe Leu Gln Arg Pro Gly Gln Ser			
35	40	45	
Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Thr Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro			
50	55	60	
Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile			
65	70	75	80
Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Phe Cys Ser Gln Ser			
85	90	95	
Thr His Phe Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Thr Thr Leu Glu Ile Lys			
100	105	110	
<210> 58			
<211> 17			
<212> PRT			
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)			
<220>			
<223> 重链CDR2共有序列			
<220>			
<221> misc_feature			
<222> (11) .. (11)			
<223> Xaa = Tyr或Phe			
<220>			
<221> misc_feature			
<222> (13) .. (13)			
<223> Xaa = Ala或Glu			
<220>			
<221> misc_feature			
<222> (16) .. (16)			

<223> Xaa = Lys或Arg

<400> 58

Trp Phe Tyr Pro Gly Ser Asp Asn Ile Lys Xaa Asn Xaa Lys Phe Xaa

1 5 10 15

Asp

<210> 59

<211> 14

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 重链CDR3共有序列

<220>

<221> misc_feature

<222> (4) .. (4)

<223> Xaa = Tyr或Phe

<220>

<221> misc_feature

<222> (5) .. (5)

<223> Xaa = Ser或Tyr

<220>

<221> misc_feature

<222> (6) .. (6)

<223> Xaa = Tyr或Val

<220>

<221> misc_feature

<222> (14) .. (14)

<223> Xaa = Tyr或Asn

<400> 59

His Glu Ala Xaa Xaa Xaa Tyr Asp Val Ala Trp Phe Ala Xaa

1 5 10

<210> 60

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 轻链CDR1共有序列

<220>

<221> misc_feature

<222> (1) .. (1)

<223> Xaa = Arg或Ser

<220>

<221> misc_feature

<222> (14) .. (14)

<223> Xaa = Tyr或Phe

<400> 60

Xaa Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser Asn Gly Asn Thr Xaa Leu His

1 5 10 15

<210> 61

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 轻链CDR3共有序列

<220>

<221> misc_feature

<222> (3) .. (3)

<223> Xaa = Thr或Ser

<400> 61

Ser Gln Xaa Thr His Phe Pro Tyr Thr

1 5

<210> 62

<211> 123

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> Hz1E5.A1重链可变区

<400> 62

Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr

20 25 30

Thr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

35 40 45

Gly Trp Phe Tyr Pro Gly Ser Asp Asn Ile Lys Tyr Asn Ala Lys Phe

50 55 60

Lys Asp Arg Ala Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85	90	95
Ala Arg His Glu Ala Phe Ser Tyr Tyr Asp Val Ala Trp Phe Ala Tyr		
100	105	110
Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser		
115	120	
<210> 63		
<211> 112		
<212> PRT		
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)		
<220>		
<223> Hz1E5.A1轻链可变区		
<400> 63		
Asp Val Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly		
1	5	10
Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser		
20	25	30
Asn Gly Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser		
35	40	45
Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Thr Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro		
50	55	60
Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Asp Phe Thr Leu Lys Ile		
65	70	75
Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Phe Cys Ser Gln Thr		
85	90	95
Thr His Phe Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys		
100	105	110
<210> 64		
<211> 453		
<212> PRT		
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)		
<220>		
<223> 无信号序列的Hz1E5.A1重链		
<400> 64		
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser		
1	5	10
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr		
20	25	30
Thr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met		
35	40	45

Gly Trp Phe Tyr Pro Gly Ser Asp Asn Ile Lys Tyr Asn Ala Lys Phe
 50 55 60
 Lys Asp Arg Ala Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg His Glu Ala Phe Ser Tyr Tyr Asp Val Ala Trp Phe Ala Tyr
 100 105 110
 Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly
 115 120 125
 Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly
 130 135 140
 Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val
 145 150 155 160
 Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe
 165 170 175
 Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val
 180 185 190
 Thr Val Pro Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val
 195 200 205
 Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys
 210 215 220
 Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu
 225 230 235 240
 Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr
 245 250 255
 Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Asp Val
 260 265 270
 Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val
 275 280 285
 Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser
 290 295 300
 Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu
 305 310 315 320
 Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala
 325 330 335
 Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro
 340 345 350
 Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln

355	360	365
Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala		
370	375	380
Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr		
385	390	395
Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu		
405	410	415
Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser		
420	425	430
Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser		
435	440	445
Leu Ser Pro Gly Lys		
450		
<210> 65		
<211> 219		
<212> PRT		
<213> 人工序列(Artificial Sequence)		
<220>		
<223> 无信号序列的Hz1E5.A1轻链		
<400> 65		
Asp Val Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly		
1	5	10
15		
Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser		
20	25	30
Asn Gly Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser		
35	40	45
Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Thr Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro		
50	55	60
Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Asp Phe Thr Leu Lys Ile		
65	70	75
80		
Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Phe Cys Ser Gln Thr		
85	90	95
Thr His Phe Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys		
100	105	110
Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu		
115	120	125
Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe		
130	135	140
Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln		

145	150	155	160
Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser			
165	170	175	
Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu			
180	185	190	
Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser			
195	200	205	
Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys			
210	215		
<210> 66			
<211> 8			
<212> PRT			
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)			
<220>			
<223> FLAG标签			
<400> 66			
Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys			
1	5		
<210> 67			
<211> 36			
<212> PRT			
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)			
<220>			
<223> 食蟹猴ANGPLT8氨基酸25-60 (cSE1肽)			
<400> 67			
Gly Ser Pro Glu Leu Ala Glu His Glu Glu Leu Thr Leu Leu Phe His			
1	5	10	15
Gly Thr Leu Gln Leu Gly Gln Ala Leu Asn Gly Val Tyr Lys Thr Thr			
20	25	30	
Glu Gly Arg Leu			
35			
<210> 68			
<211> 12			
<212> PRT			
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)			
<220>			
<223> 抗体1E9 VH CDR3 (Chothia)			
<400> 68			
Glu Ala Phe Tyr Val Tyr Asp Val Ala Trp Phe Ala			

1	5	10												
<210> 69														
<211> 15														
<212> PRT														
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)														
<220>														
<223> 抗体1E9 VH CDR3 (Contact)														
<400> 69														
Ala	Arg	His	Glu	Ala	Phe	Tyr	Val	Tyr	Asp	Val	Ala	Trp	Phe	Ala
1				5				10					15	

重链可变区序列比对

Kabat	1	10	22	31---35	40	50---a-----60---65
AbM	1	10	22	26-----35	40	50---a-----58
Chothia	1	10	22	26---32	40	a-55
Contact	1	10	22	30---35	40	47---a-----58
IMGT	1		23	27---38	41	56-----65
AHon	1		23	27	42	74
				57		76
1E5						
QVQLQQSGAELVKPGTSVRLSCKAS						
QVQLQQSGTELLVKPGASVKSCKAS						
QVQLQQSGAELVKPGASVKSCKAS						
GYTFDYTEH						
GYTFDYTEH						
GYTFDYTEH						
GYTFDYTEH						
(SEQ ID NO:11)						

共有序列

图1A

Kabat	70	80	abc	90	95-----102	110
AbM	70	80	abc	90	95-----102	110
Chothia	70	80	abc	90	96-----101	110
Contact	70	80	abc	90	93-----101	110
IMGT	75			89	105-----117	
AHon				109		138

1E5	KATLTADKSSSTVYMDLGRLTSEDSAVYFCAR	HEAFSYYDVAWFAY	WGQGTLVTVSA	(SEQ ID NO:35)
1E9	KATLTADKSSSTVYMEILSRLTSEDSAVYFCAR	HEAFYVYDVAWFAN	WGQGTLVTVST	(SEQ ID NO:44)
1A8	KATLTADKSSSSIVYMEILSRLTSEDSAVYFCAR	HEAYYVYDVAWFAY	WGQGTLVTVSA	(SEQ ID NO:56)
共有序列		HEAXXXYDVAWFAX		
		(SEQ ID NO:59)		

轻链可变区序列比对

		轻链可变区序列比对					
Kabat	1	10	20	24-27-----34	40	50-----56	
AbM	1	10	20	24-----30-----34	40	50-----56	
Chothia	1	10	20	26-----32	40	50--	
Contact	1	10	20	30-----36	40	46-----55	
IMGT	1			27-----38 41		56-65 69	
AHon	1	23	42			58 72	
1E5		DVVMQTPLSLPVSLGQASISC	RSSQSLVHSNGNTYIH	WYLQKPGQSPKLLIY	TVSNRFS		
1E9		DVVMQTPLSLPVSLGQASISC	RSSQSLVHSNGNTYIH	WELQKPGQSPNLLIY	TVSNRFS		
1A8		DVVMQTPLSLPVSLGQASISC	SQQSLVHSNGNTFLH	WELQRPGQSPKLLIY	TVSNRFS		
共有序列		XSSQSLVHSNGNTXLH					
		(SEQ ID NO: 60)	(SEQ ID NO: 29)				
Kabat	60	70	80	89-----97			
AbM	60	70	80	89-----97			
Chothia	60	70	80	91----96			
Contact	60	70	80	89----96			
IMGT	70	89		105-----117			
AHon	73	91	138	107			
1E5		GVPDRFSGSGSGSDFTLNFSRVEAEDLGYYFC	SQTHFPYT	FGGGTKLEIK	(SEQ ID NO: 36)		
1E9		GVPDRFSGSGSGGTDFTLKISRVEAGDLGYYFC	SQSTHFPT	FGGGTKLEIK	(SEQ ID NO: 45)		
1A8		GVPDRFSGSGSGGTDFTLKISRVEAEDLGYYFC	SQSTHFPT	FGGGTITLEIK	(SEQ ID NO: 57)		
共有序列		SQXTHFPT					
		(SEQ ID NO: 61)					

图1B

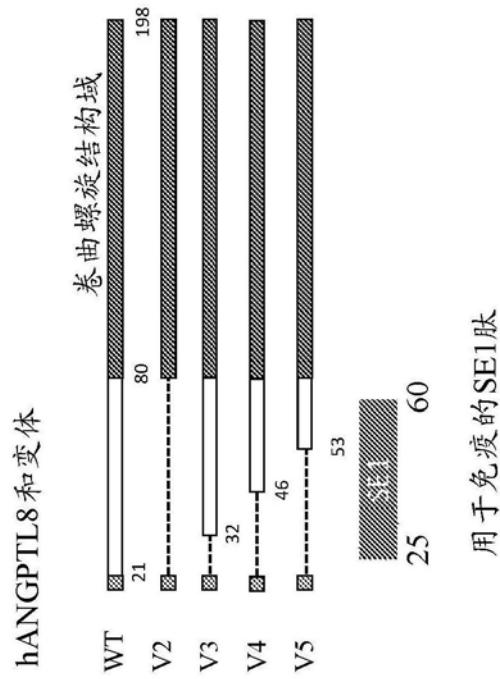


图2A

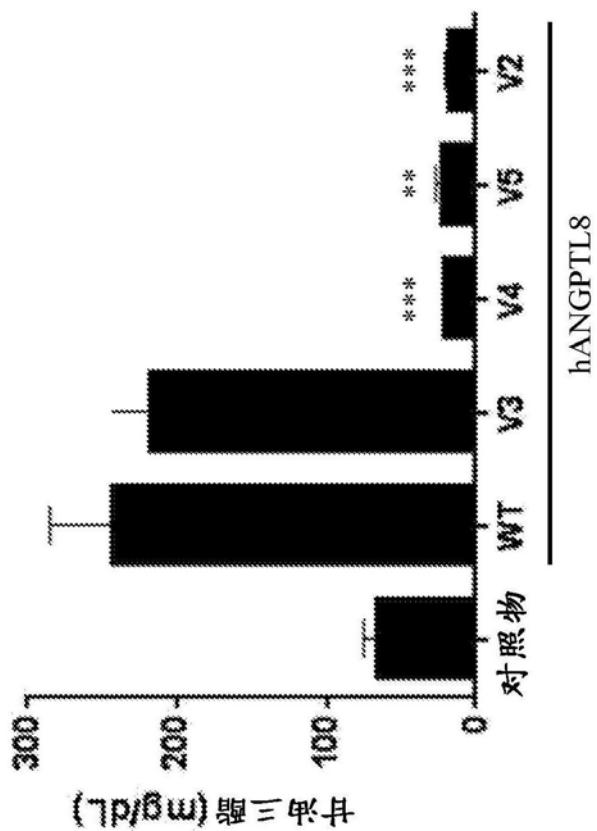


图2B

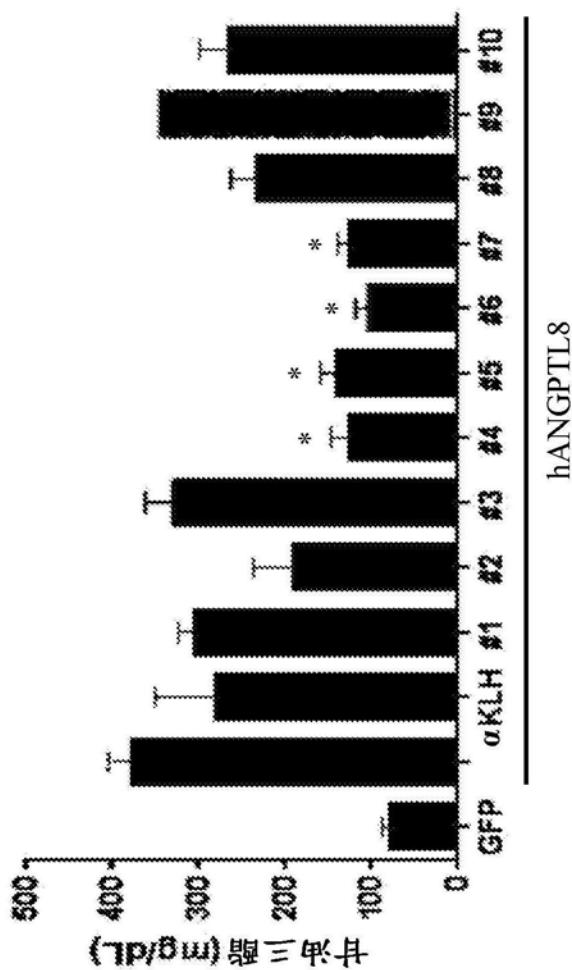


图3

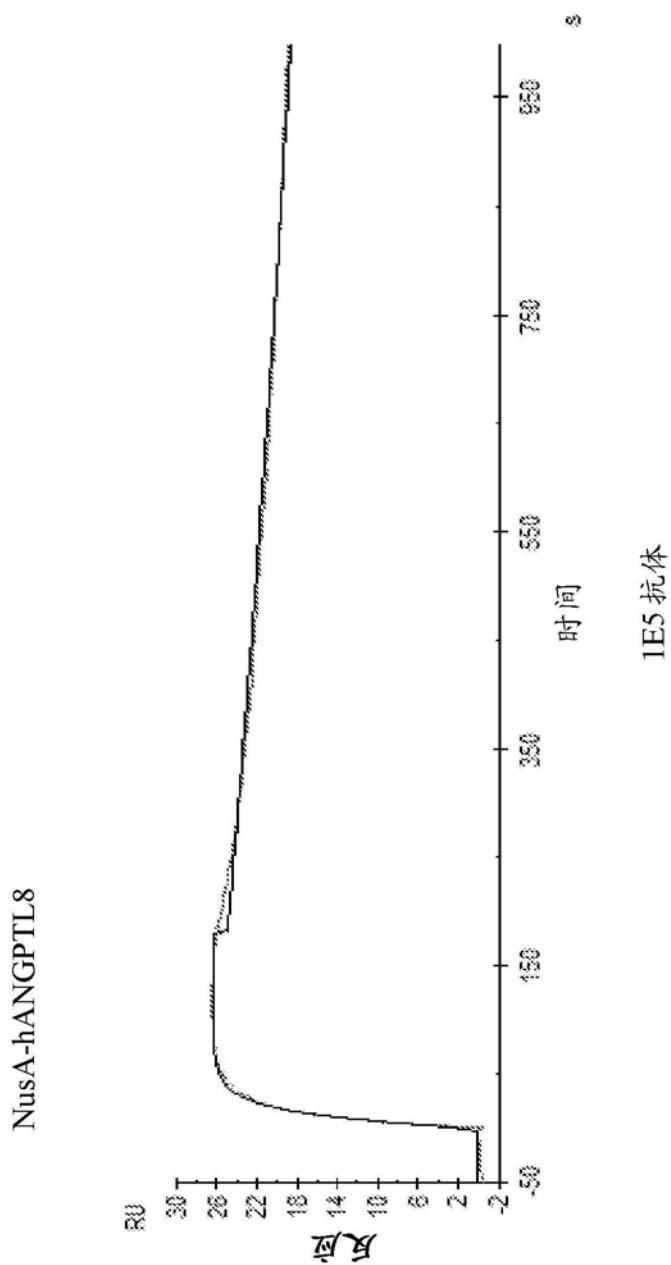


图4

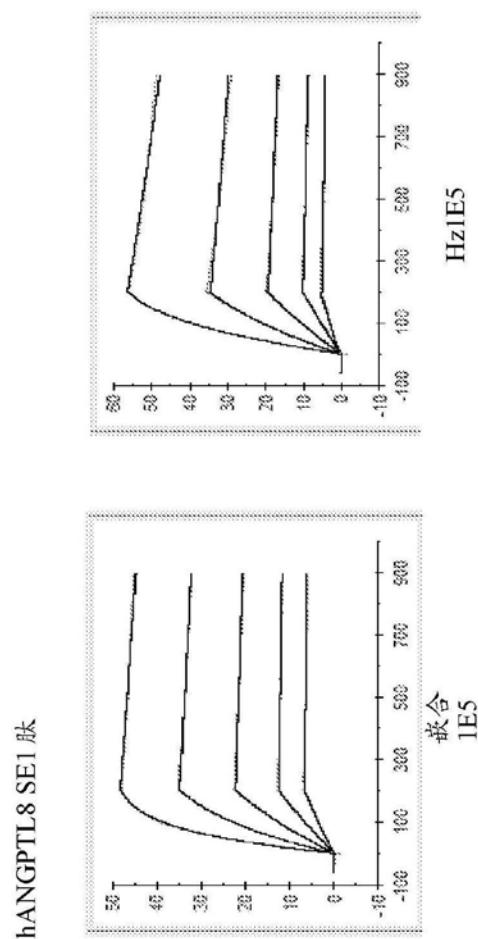


图5A

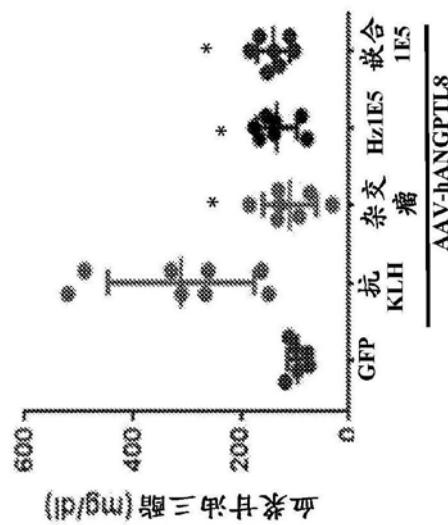


图5B

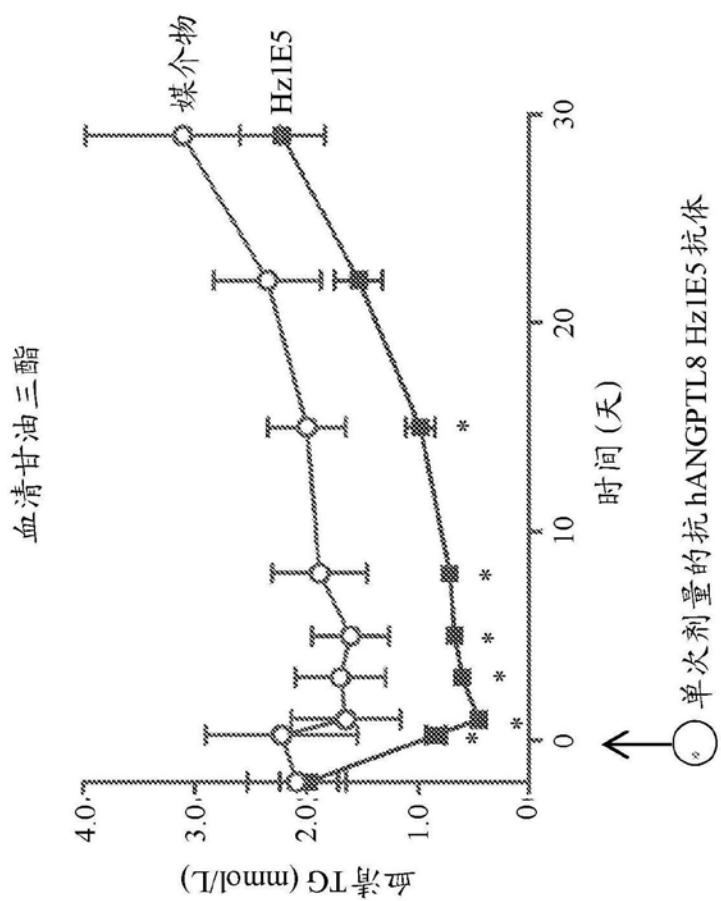


图6A

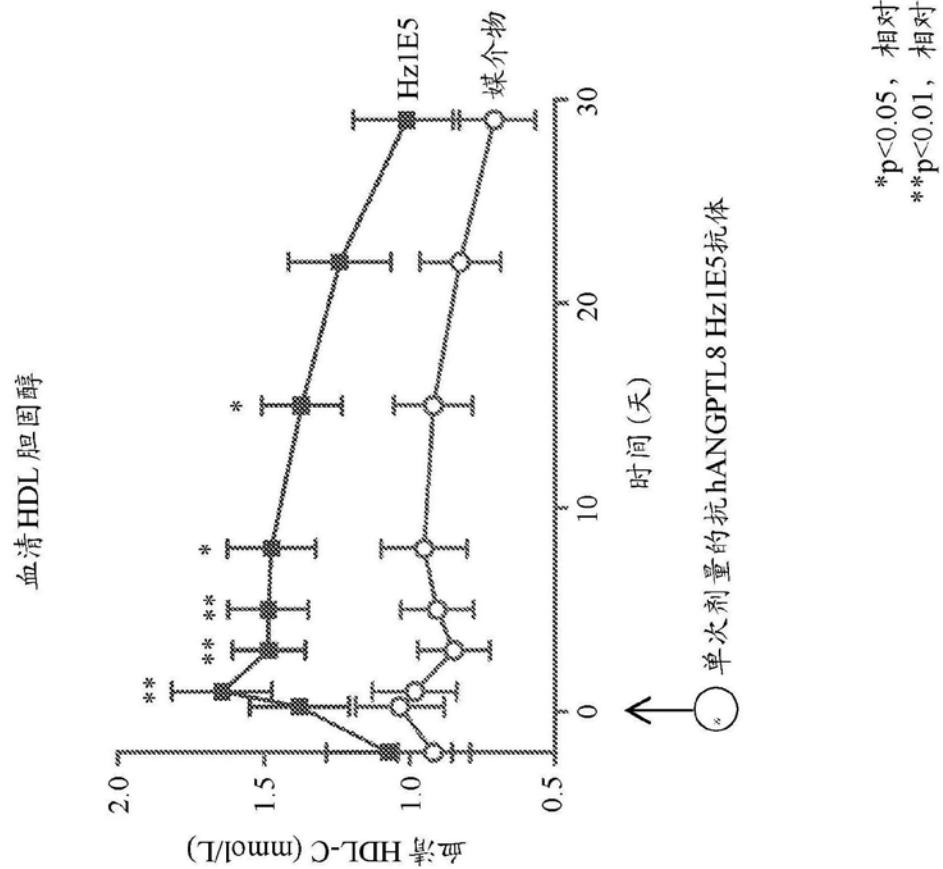


图6B