



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2019-0078650
(43) 공개일자 2019년07월04일

- | | |
|---|--|
| <p>(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07K 16/22 (2006.01) A61K 39/00 (2006.01)
A61K 39/395 (2006.01) A61K 45/06 (2006.01)
A61P 3/04 (2006.01)</p> <p>(52) CPC특허분류
C07K 16/22 (2013.01)
A61K 39/3955 (2013.01)</p> <p>(21) 출원번호 10-2019-7017245</p> <p>(22) 출원일자(국제) 2017년11월16일
심사청구일자 없음</p> <p>(85) 번역문제출일자 2018년06월14일</p> <p>(86) 국제출원번호 PCT/US2017/062103</p> <p>(87) 국제공개번호 WO 2018/094112
국제공개일자 2018년05월24일</p> <p>(30) 우선권주장
62/423,639 2016년11월17일 미국(US)</p> | <p>(71) 출원인
리제너론 파아마슈티컬스, 인크.
미국 뉴욕 10591-6707 테리타운 올드 소우 밀 리버 로드 777</p> <p>(72) 발명자
구사로바 빅토리아
미국 뉴욕주 10591 테리타운 올드 소우 밀 리버 로드 777 리제너론 파마슈티칼스 인코포레이티드
그로마다 제스퍼
미국 뉴욕주 10591 테리타운 올드 소우 밀 리버 로드 777 리제너론 파마슈티칼스 인코포레이티드
머피 앤드류 제이.
미국 뉴욕주 10591 테리타운 올드 소우 밀 리버 로드 777 리제너론 파마슈티칼스 인코포레이티드</p> <p>(74) 대리인
장훈</p> |
|---|--|

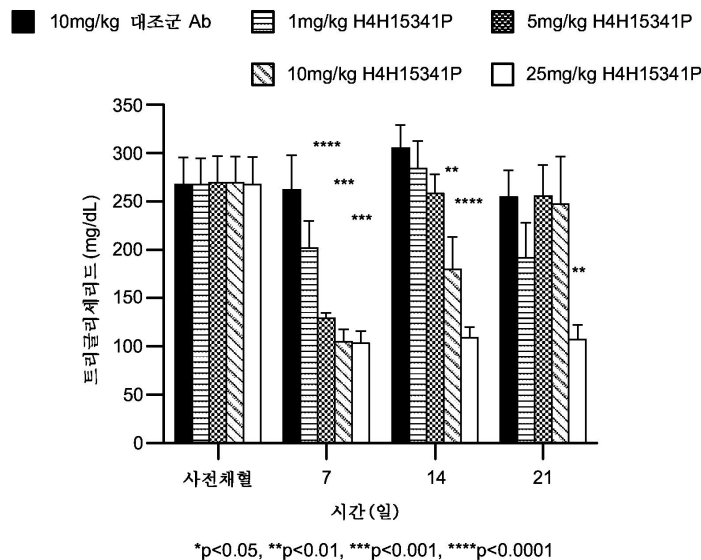
전체 청구항 수 : 총 13 항

(54) 발명의 명칭 **항-ANGPTL8 항체를 사용하는 비만의 치료 방법**

(57) 요약

본 발명은 ANGPTL8에 결합하는 항체 및 이의 사용 방법을 제공한다. 특정한 실시형태에 따라서, 본 발명은, 대상 체에서 비만을 치료하고, 체지방을 감소시키고, 체중을 감소시키고, 에너지 소비를 증가시키고, HDL-C를 증가시키는, 높은 친화도로 사람 ANGPTL8에 결합하는 항-ANGPTL8 항체를 사용하는 방법을 포함한다.

대표도 - 도1a



(52) CPC특허분류

A61K 45/06 (2013.01)

A61P 3/04 (2018.01)

C07K 2317/21 (2013.01)

C07K 2317/33 (2013.01)

C07K 2317/34 (2013.01)

C07K 2317/56 (2013.01)

C07K 2317/565 (2013.01)

C07K 2317/76 (2013.01)

C07K 2317/92 (2013.01)

명세서

청구범위

청구항 1

대상체에서 체중 감소를 성취하는 방법으로서, 상기 방법은, ANGPTL8 특이적 항체 또는 이의 항원-결합 단편인 ANGPTL8 억제제, 또는 상기 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 포함하는 약제학적 조성물을 상기 대상체에게 투여함을 포함하고, ANGPTL8의 적어도 하나의 활성이 감소되거나 약화되는, 대상체에서 체중 감소를 성취하는 방법.

청구항 2

대상체에서 체지방량(fat mass) 감소를 성취하는 방법으로서, 상기 방법은, ANGPTL8 특이적 항체 또는 이의 항원-결합 단편인 ANGPTL8 억제제, 또는 상기 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 포함하는 약제학적 조성물을 상기 대상체에게 투여함을 포함하고, ANGPTL8의 적어도 하나의 활성이 감소되거나 약화되는, 대상체에서 체지방량 감소를 성취하는 방법.

청구항 3

대상체에서 에너지 소비를 증가시키는 방법으로서, 상기 방법은, ANGPTL8 특이적 항체 또는 이의 항원-결합 단편인 ANGPTL8 억제제, 또는 상기 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 포함하는 약제학적 조성물을 상기 대상체에게 투여함을 포함하고, ANGPTL8의 적어도 하나의 활성이 감소되거나 약화되는, 대상체에서 에너지 소비를 증가시키는 방법.

청구항 4

대상체에서 HDL-C를 증가시키는 방법으로서, 상기 방법은, ANGPTL8 특이적 항체 또는 이의 항원-결합 단편인 ANGPTL8 억제제, 또는 상기 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 포함하는 약제학적 조성물을 상기 대상체에게 투여함을 포함하고, ANGPTL8의 적어도 하나의 활성이 감소되거나 약화되는, 대상체에서 HDL-C를 증가시키는 방법.

청구항 5

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 ANGPTL8 특이적 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 서열 번호:162/170 또는 314/322에 열거된 중쇄 가변 영역/경쇄 가변 영역 (HCVR/LCVR) 서열 쌍을 포함하는, 방법.

청구항 6

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 ANGPTL8 특이적 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 각각 서열 번호: 164 / 166 / 168 / 172 / 174 / 176 또는 316 / 318 / 320 / 324 / 326 / 328의 아미노산 서열을 갖는 HCDR1 / HCDR2 / HCDR3 / LCDR1 / LCDR2 / LCDR3 도메인을 포함하는, 방법.

[청구항 6]

제4항에 있어서, 상기 대상체에서 순환하는 트리글리세리드 (TGs)가 상기 ANGPTL8 억제제 투여 1일 후 적어도 50%까지 감소되는, 방법.

청구항 7

비만 관련 상태 또는 질환, 또는 상기 상태 또는 질환에 관련된 적어도 하나의 징후 또는 합병증을 치료하는 방법으로서, ANGPTL8 특이적 항체 또는 이의 항원-결합 단편인 ANGPTL8 억제제, 또는 상기 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 포함하는 약제학적 조성물을 이를 필요로 하는 환자에게 투여하여 상기 상태 또는 질환이 중재되거나, 상기 상태 또는 질환에 관련된 적어도 하나의 징후 또는 합병증의 빈도 또는 중증도가 완화되거나 감소되는, 비만 관련 상태 또는 질환, 또는 상기 상태 또는 질환에 관련된 적어도 하나의 징후 또는 합병증을 치료하는 방법.

청구항 8

제7항에 있어서, 이차적(secondary) 치료학적 제제의 투여를 추가로 포함하는, 방법.

청구항 9

제8항에 있어서, 상기 두번째(second) 치료학적 제제가, 안지오프이에틴-유사 단백질 3 (ANGPTL3), 안지오프이에틴-유사 단백질 4 (ANGPTL4), 안지오프이에틴-유사 단백질 5 (ANGPTL5), 안지오프이에틴-유사 단백질 6 (ANGPTL6) 및 사람 전구단백질 컨버타제 서브틸리신/켁신 타입 9 (PCSK9)에 특이적으로 결합하는 단리된 항체, 또는 이의 항원-결합 단편으로 이루어진 그룹으로부터 선택되는, 방법.

청구항 10

제8항에 있어서, 상기 두번째 치료학적 제제가 인슐린, 인슐린 유사체, 비구아나이드 (메트포르민), 설포닐우레아 (예: 글리부라이드, 글리피지드), PPAR 감마 작용제 (예: 피오글리타존, 로시글리타존), 알파 글루코시다제 억제제 (예: 아카르보스, 보글리보스), 글루카곤-유사 펩타이드 1 (GLP-1) 작용제 (예: BYETTA® (엑세나타이드), TRULICITY™ (둘라글루타이드), VICTOZA® (리라글루타이드), LYXUMIA® (릭시세나타이드), TANZEUM™ (알비글루타이드), 또는 상기한 것들 중 어느 것의 유사체, 디펩티딜 펩티다제 IV (DPP-4) 억제제 (예: 삭사글립틴 (ONGLYZA®), 시탈립틴 (JANUVIA®), 및 빌다글립틴 (GALVUS®), 나트륨-글루코스 공동-운반자 2 (SGLT2) 억제제 (예: INVOKANA™ (카나글리플로진), FORXIGA® (다파글리플로진), 앰파글리플로진, 이프라글리플로진, 토포글리플로진), SYMLIN® (프람린타이드), 글루카곤 수용체 길항제, 비-설포닐우레아 분비촉진제, 인슐린 유사체 (예: 속효성(fast acting) 리스프로, 아스파르트, 글루리신 및 지속성(long acting) 테테미르 인슐린, 데글루데크 인슐린, 또는 글라르긴 인슐린), 액센딘-4 폴리펩타이드, 베타 3 아드레날린수용체 작용제, 콜레스테롤 흡수 및/또는 담즙산 재-흡수의 억제제, LDL-콜레스테롤 길항제, 콜레스테릴 에스테르 전달 단백질 길항제 (예: 토르세트라피브, 아나세트라피브, 달세트라피브, 또는 에바세트라피브), 엔도텔린 수용체 길항제, 성장 호르몬 길항제, 인슐린 감작제, 아밀린 미메틱 또는 작용제, 칸나비노이드 수용체 길항제, 멜라노코르틴, 멜라닌-농축 호르몬 수용체 작용제, SNRIs, 섬유아세포 성장 인자 21 (FGF21) 미메틱, 섬유아세포 성장 인자 수용체 1c (FGFR1c) 작용제, 최종 당화산물(advanced glycation endproduct) 형성 억제제(예: 아미노구아니딘), 및 단백질 티로신 포스파타제 억제제로 이루어진 그룹으로부터 선택되는, 방법.

청구항 11

대상체에서 체중 감소를 성취하거나, 대상체에서 체지방량 감소를 성취하거나, 대상체에서 에너지 소비를 증가시키거나, 대상체에서 HDL-C를 증가시키거나, 비만 관련 상태 또는 질환을 치료함에 있어서, ANGPTL8 특이적 항체 또는 이의 항원-결합 단편인 ANGPTL8 억제제, 또는 상기 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 포함하는 억제학적 조성물의 용도.

청구항 12

대상체에서 체중 감소를 성취하거나, 대상체에서 체지방량 감소를 성취하거나, 대상체에서 에너지 소비를 증가시키거나, 대상체에서 HDL-C를 증가시키거나, 비만 관련 상태 또는 질환을 치료하기 위한 의약의 제조에서, ANGPTL8 특이적 항체 또는 이의 항원-결합 단편인 ANGPTL8 억제제, 또는 상기 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 포함하는 억제학적 조성물의 용도.

청구항 13

대상체에서 체중 감소를 성취하거나, 대상체에서 체지방량 감소를 성취하거나, 대상체에서 에너지 소비를 증가시키거나, 대상체에서 HDL-C를 증가시키거나, 비만 관련 상태 또는 질환을 치료하기 위한 억제학적 조성물로서, 상기 조성물은 ANGPTL8 억제제를 포함하고, 상기 ANGPTL8 억제제는 ANGPTL8 특이적 항체 또는 이의 항원-결합 단편인, 억제학적 조성물.

발명의 설명

기술 분야

서열 기재

[0001]

[0002] 본 출원은 ASCII 포맷으로 전자 제출되고 이의 전문이 본원에 참조로서 포함되는 서열 목록을 포함한다. 상기 ASCII 카피는 2017년 11월 10일에 제작되고, SequenceList_30PCT.TXT로 명명되고, 158 킬로바이트의 크기이다.

[0003] 발명의 분야

[0004] 본 발명은 안지오펜이에틴-유사 단백질 (angiotensin-like protein; ANGPTL) 8에 특이적으로 결합하는 항체, 및 이의 항원-결합 단편, 이들 항체를 포함하는 조성물 및 이의 사용 방법에 관한 것이다.

배경 기술

[0005] ANGPTL8 (대안적으로 TD26, RIFL, 리파신(Lipasin), C19orf80 및 베타트로핀(Betatrophin)으로 언급됨)은 새로 인정된 ANGPTL 패밀리 구성원이고, 이는 트리글리세리드 (TG) 및 글루코스 대사 둘 다에 연루된다. 이는 주로 간 및 지방 조직에서 발현되는 순환하는 단백질이다. ANGPTL3 및 ANGPTL4와 달리, ANGPTL8은 C-말단에서 피브리노젠 유사 도메인이 결핍되지만, 다른 ANGPTL 패밀리 구성원과 마찬가지로 N-말단 코일형-코일 도메인을 포함한다. 계통발생론적 분석은 ANGPTL8이 ANGPTL3 및 ANGPTL4와 공통 조상을 공유함을 나타낸다(참조: Fu, Z. et. al., (2013), Biochem. Biophys. Res. Commun. 430:1126-1131).

[0006] ANGPTL8의 간 과발현은 고중성지질혈증과 관련되는 반면, Angpt18의 불활성화는 혈장 TG 수준의 감소를 야기한다 (참조: Quagliarini, F. et. al. (2012), Proc. Natl. Acad. Sci. USA 109(48):19751-19756; Wang, Y. et. al. (2013), Proc. Natl. Acad. Sci. USA 110:16109-16114). ANGPTL8이 지질 조절에 연관된다는 일치에서 불구하고, 이러한 프로세스에 원인이 되는 메카니즘은 여전히 논쟁 중이다. 하나의 제안된 메카니즘은 ANGPTL8이 지질단백질 리파아제 (LPL) 활성을 억제하고, 이로서 감소된 트리글리세리드 가수분해 및 청소를 야기한다는 것이다 (참조: Zhang, R. et.al., (2012), Biochem. Biophys. Res. Commun. 424:786-792).

[0007] ANGPTL8은 또한 마우스에서 베타 세포 증식 및 베타 세포량에서 역할을 하는 것으로 보고되고, 여기서, 인슐린 내성은 인슐린 수용체 길항제, S961에 의해 유래된다 (참조: Yi, P. et. al. (2013), Cell 153:747-758). 그러나, 후속적인 연구는 ANGPTL8이 인슐린 내성에 대한 베타 세포 기능, 또는 베타 세포 성장 반응을 요구하지 않음을 나타내었다. 또한, ANGPTL8의 과발현은 베타 세포 면적을 증가시키지 않거나, 혈당 조절을 개선시키지 않았다 (참조: Gusarova, V. et. al. (2014) Cell 159:691-696).

[0008] ANGPTL8의 간 과발현이 고중성지질혈증과 관련되기 때문에 그리고 Angpt18의 불활성화가 혈장 트리글리세리드 수준의 감소는 야기하기 때문에, ANGPTL8의 억제제 또는 길항제는 트리글리세리드의 상승된 수준을 부분적으로 특징으로 하는 질환, 예를 들면, 이에 제한되는 것은 아니지만, 고중성지질혈증을 치료하는데 효과적인 것으로 입증될 수 있다.

[0009] 장(Zhang)은 야생형 마우스에게 복막내 주사된 경우 리파신에 대해 단클론 항체가, 혈청 트리글리세리드 수준을 감소시켰음을 보고하였다(참조: Zhang, R. (2015), Endocrine Society's 97th Annual Meeting, Presentation No. OR13-6, March 5-8, San Diego, CA). 그러나, 고중성지질혈증을 포함하는 트리글리세리드의 상승된 수준을 특징으로 하는 질환, 또는 상태를 치료하기 위해 임상 환경에서 사용될 수 있는 ANGPTL8에 특이적인 어떠한 완전 사람 항체도 지금까지 기술되지 않았다.

[0010] 따라서, 당해 기술 분야에서 고중성지질혈증 및 상승된 트리글리세리드 및 지질 수준에 관련된 다른 장애 또는 상태를 앓고 있는 환자를 치료하기 위해 ANGPTL8의 신규한 길항제, 예를 들면, 본원에 기재된 항체가 필요하다.

발명의 내용

[0011] 발명의 간단한 요지

[0012] 본 발명은 안지오펜이에틴-유사 단백질 8 (ANGPTL8)에 결합하는 항체 및 이의 항원-결합 단편을 제공한다. 본 발명의 하나의 측면은, ANGPTL8에 결합하거나/이와 상호작용하여, 이러한 결합 및/또는 상호작용이 포유동물에서 트리글리세리드 수준의 저하를 야기하는 사람 항체 및 이의 항원-결합 단편을 제공한다.

[0013] 따라서, 첫번째 측면에서, 본 발명은 ANGPTL8, 특히, 사람 ANGPTL8 (진뱅크 등록 번호 NP_061157.3의 아미노산 22-198 = 서열 번호:340의 아미노산 1-177)에 특이적으로 결합하거나, 이의 적어도 하나의 활성을 중화, 억제, 차단, 폐지, 감소, 또는 간섭하는 완전 사람 단클론 항체 (mAbs) 및 이의 항원-결합 단편을 제공한다. 본 발명의 항체 또는 이의 항원-결합 단편에 의해 중화, 억제, 차단, 폐지, 감소 또는 간섭될 수 있는 ANGPTL8의 활성은, 이에 제한되는 것은 아니지만, ANGPTL8에 의한 LPL 활성의 억제를 포함한다.

- [0014] 하나의 실시형태에서, 본 발명은 ANGPTL8에 특이적으로 결합하고 ANGPTL8에 관련된 적어도 하나의 활성을 증화, 또는 억제하는 단클론 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 제공하고, 여기서, 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 하기 특징 중 하나 이상을 나타낸다:
- [0015] a) 완전 사람 단클론 항체이다;
- [0016] b) 서열 번호: 337로 한정된 사람 ANGPTL8의 N-말단 영역에서 선형 에피토프에 특이적으로 결합한다;
- [0017] c) 서열 번호: 337로 한정된 사람 ANGPTL8의 N-말단 영역에서 선형 에피토프에 결합하지 않는다;
- [0018] d) 서열 번호: 338의 사람 ANGPTL3 펩타이드의 N-말단 코일형-코일 영역(coiled-coil region)에, 또는 서열 번호: 339의 사람 ANGPTL4 펩타이드의 N-말단 코일형-코일 영역에 결합하지 않는다;
- [0019] e) 표면 플라즈몬 공명으로 측정하여, 사람 ANGPTL8에 25℃에서 약 150pM 미만의 K_D 로 결합하고, 원숭이 ANGPTL8에 25℃에서 약 90pM 미만의 K_D 로 결합한다;
- [0020] f) 약 10 mg/kg의 용량으로 피하 투여되는 경우, 포유동물에서 트리글리세리드 수준을 약 68% (최대)까지 낮춘다;
- [0021] g) 약 5 mg/kg 내지 약 25 mg/kg 범위의 용량으로 피하 투여되는 경우, 포유동물에서 약 7 일 내지 21 일 범위의 기간 동안 트리글리세리드 수준을 저하시킨다;
- [0022] h) 서열 번호: 2, 18, 34, 50, 66, 82, 98, 114, 130, 146, 162, 178, 194, 210, 226, 242, 258, 266, 274, 282, 290, 298, 306, 314 및 330으로 이루어진 그룹으로부터 선택된 아미노산 서열을 갖는 중쇄 가변 영역(HCVR)을 포함한다;
- [0023] i) 서열 번호: 10, 26, 42, 58, 74, 90, 106, 122, 138, 154, 170, 186, 202, 218, 234, 250, 및 322로 이루어진 그룹으로부터 선택된 아미노산 서열을 갖는 경쇄 가변 영역(LCVR)을 포함한다; 또는
- [0024] j) 기준(reference) 항체와 교차-경쟁하고, 여기서, 기준 항체는 표 1의 중쇄 가변 영역(HCVR) 및 경쇄 가변 영역(LCVR) 아미노산 서열 중 어느 것으로 이루어진 그룹으로부터 선택된 HCVR 및 LCVR 아미노산 서열을 포함한다.
- [0025] 하나의 실시형태에서, 본 발명의 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 hANGPTL8의 표적화된 활성 (예: ANGPTL8의 LPL 억제 활성)에 직접적으로 연관된 hANGPTL8의 에피토프에 결합하여 hANGPTL8의 활성을 증화, 억제, 차단, 폐지, 감소 또는 간섭할 수 있다. 또다른 실시형태에서, 본 발명의 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 트리글리세리드 청소를 개선한다.
- [0026] 또다른 실시형태에서, 본 발명의 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 hANGPTL8의 표적화된 활성에 직접적으로 연관되지 않는 hANGPTL8의 에피토프에 결합되어 hANGPTL8의 활성을 증화, 억제, 차단, 폐지, 감소 또는 간섭할 수 있지만, 이에 결합하는 항체 또는 단편은 항체-항원 접촉 표면과 상이한 위치에서 입체적 중첩(steric overlap)에 의해 또는 알로스테릭(allosteric) 효과에 의해 hANGPTL8의 표적화된 활성을 억제, 차단, 폐지, 감소 또는 간섭할 수 있다.
- [0027] 또다른 실시형태에서, 본 발명의 항체 또는 이의 단편은 hANGPTL8 (즉, 비-차단 항체)의 표적화된 활성 (예: LPL 활성 억제, 등)에 직접적으로 연관되지 않은 hANGPTL8의 에피토프에 결합되지만, 항체 또는 이의 단편은, 항체 또는 이의 단편의 부재하에 트리글리세리드 수준의 저하와 비교하여, 생체내 트리글리세리드 수준의 저하를 야기한다.
- [0028] 하나의 실시형태에서, 본 발명은 서열 번호: 340의 잔기 1-39(또한 서열 번호: 337로서 나타냄)에서 N-말단 영역 내에 위치한 에피토프에 결합하는 단리된 항-hANGPTL8 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 특징으로 한다.
- [0029] 또다른 실시형태에서, 본 발명은 서열 번호: 340의 잔기 1-39(또한 서열 번호: 337로서 나타냄)에서 사람 ANGPTL8의 N-말단 영역 내에 위치한 에피토프에 결합하지만, hANGPTL3 (서열 번호:338)의 N-말단 코일형-코일 영역에, 또는 hANGPTL4 (서열 번호:339)의 N-말단 코일형-코일 영역에 결합하지 않는 단리된 항체 또는 항체의 항원-결합 단편을 제공한다.
- [0030] 하나의 실시형태에서, 본 발명은 서열 번호: 340의 아미노산 잔기 1-39 (또한 서열 번호: 337로서 나타냄, 즉, 서열 번호: 340의 아미노산 잔기 40-177)로 한정된 사람 ANGPTL8의 영역 밖에 위치한 에피토프에 결합하는 단리

된 항-hANGPTL8 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 특징으로 하고, hANGPTL8의 적어도 하나의 활성을 중화, 억제, 폐지, 감소 또는 간섭한다.

- [0031] 하나의 실시형태에서, 본 발명은 사람 ANGPTL8 (서열 번호: 340의 아미노산 잔기 1-177; 또한 진뱅크 등록 번호 NP_061157.3의 아미노산 잔기 22-198를 참조함)에 결합하지만, 관련된 단백질, 예를 들면, 사람 ANGPTL3 (서열 번호: 342의 아미노산 서열, 서열 번호: 343에 나타난 핵산 서열에 의해 암호화됨), 또는 사람 ANGPTL4 (서열 번호: 344의 아미노산 서열, 서열 번호: 345에 나타난 핵산 서열에 의해 암호화됨)과 교차 반응하지 않는 단리된 항-hANGPTL8 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 특징으로 한다.
- [0032] 본 발명의 항체는 전체-길이 (예를 들면, IgG1 또는 IgG4 항체)일 수 있거나 항원-결합 부분 (예를 들면, Fab, F(ab')₂ 또는 scFv 단편) 만을 포함할 수 있고, 예를 들면, 숙주에서 지속성을 증가시키거나 잔기 효과기 (effector) 기능을 제거하는 기능에 영향을 주도록 변형될 수 있다(참조: Reddy et al., 2000, J. Immunol. 164:1925-1933). 특정한 실시형태에서, 항체는 이중특이적일 수 있다.
- [0033] 본 발명의 예시적인 항-ANGPTL8 항체는 본원의 표 1 및 2에 열거된다. 표 1은 예시적인 항-ANGPTL8 항체의 중쇄 가변 영역 (HCVRs), 경쇄 가변 영역 (LCVRs), 중쇄 상보성 결정 영역 (HCDR1, HCDR2 및 HCDR3), 및 경쇄 상보성 결정 영역 (LCDR1, LCDR2 및 LCDR3)의 아미노산 서열 식별자를 제시한다. 표 2는 예시적인 항-ANGPTL8 항체의 HCVRs, LCVRs, HCDR1, HCDR2 HCDR3, LCDR1, LCDR2 및 LCDR3의 핵산 서열 식별자를 제시한다.
- [0034] 본 발명은 표 1에 열거된 HCVR 아미노산 서열 중 어느 것으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 HCVR, 또는 이와 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 서열 동일성(sequence identity)을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열을 포함하는 항체, 또는 이의 항원-결합 단편을 제공한다.
- [0035] 본 발명은 또한 표 1에 열거된 LCVR 아미노산 서열 중 어느 것으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 LCVR, 또는 이와 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열을 포함하는 항체, 또는 이의 항원-결합 단편을 제공한다.
- [0036] 본 발명은 또한 표 1에 열거된 LCVR 아미노산 서열 중 어느 것과 짝을 이룬 표 1에 열거된 HCVR 아미노산 서열 중 어느 것을 포함하는 HCVR 및 LCVR 아미노산 서열 쌍 (HCVR/LCVR)을 포함하는 항체, 또는 이의 항원-결합 단편을 제공한다.
- [0037] 하나의 실시형태에서, 본 발명은 ANGPTL8에 특이적으로 결합하고/하거나 ANGPTL8에 관련된 적어도 하나의 활성을 억제하는 단리된 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 제공하고, 여기서, 항체 또는 항원-결합 단편은 서열 번호: 2/10, 18/26, 34/42, 50/58, 66/74, 82/90, 98/106, 114/122, 130/138, 146/154, 162/170, 178/186, 194/202, 210/218, 226/234, 242/250, 258/250, 266/250, 274/250, 282/250, 290/250, 306/250, 314/322, 및 330/322로 이루어진 그룹으로부터 선택된 HCVR/LCVR 아미노산 서열 쌍을 포함한다.
- [0038] 하나의 실시형태에서, 본 발명은 ANGPTL8에 특이적으로 결합하고/하거나 ANGPTL8에 관련된 적어도 하나의 활성을 억제하는 단리된 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 제공하고, 여기서, 항체 또는 항원-결합 단편은 서열 번호: 66/74, 162/170, 194/202 및 314/322로 이루어진 그룹으로부터 선택된 HCVR/LCVR 아미노산 서열 쌍을 포함한다.
- [0039] 하나의 실시형태에서, 본 발명은 ANGPTL8에 특이적으로 결합하고/하거나 ANGPTL8에 관련된 적어도 하나의 활성을 억제하는 단리된 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 제공하고, 여기서, 항체 또는 항원-결합 단편은 서열 번호: 162/170의 HCVR/LCVR 아미노산 서열 쌍을 포함한다.
- [0040] 하나의 실시형태에서, 본 발명은 ANGPTL8에 결합하고/하거나 ANGPTL8에 관련된 적어도 하나의 활성을 억제하는 단리된 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 제공하고, 여기서, 항체 또는 항원-결합 단편은 다음을 포함한다: (a) 표 1에 나열된 중쇄 가변 영역 (HCVR) 서열 중 어느 하나에 포함된 3개의 중쇄 상보성 결정 영역 (CDRs) (HCDR1, HCDR2 및 HCDR3); 및 (b) 표 1에 나열된 경쇄 가변 영역 (LCVR) 서열 중 어느 하나에 포함된 3개의 경쇄 CDRs (LCDR1, LCDR2 및 LCDR3).
- [0041] 하나의 실시형태에서, 본 발명은 ANGPTL8에 특이적으로 결합하고/하거나 ANGPTL8에 관련된 적어도 하나의 활성을 억제하는 단리된 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 제공하고, 여기서, 항체 또는 항원-결합 단편은 다음을 포함한다:
- [0042] (a) 서열 번호: 4, 20, 36, 52, 68, 84, 100, 116, 132, 148, 164, 180, 196, 212, 228, 244, 260, 268,

276, 284, 292, 300, 308, 316 및 332로 이루어진 그룹으로부터 선택된 아미노산 서열을 갖는 HCDR1 도메인;

[0043] (b) 서열 번호: 6, 22, 38, 54, 70, 86, 102, 118, 134, 150, 166, 182, 198, 214, 230, 246, 262, 270, 278, 286, 294, 302, 310, 318, 및 334로 이루어진 그룹으로부터 선택된 아미노산 서열을 갖는 HCDR2 도메인;

[0044] (c) 서열 번호: 8, 24, 40, 56, 72, 88, 104, 120, 136, 152, 168, 184, 200, 216, 232, 248, 264, 272, 280, 288, 296, 304, 312, 320 및 336으로 이루어진 그룹으로부터 선택된 아미노산 서열을 갖는 HCDR3 도메인;

[0045] (d) 서열 번호: 12, 28, 44, 60, 76, 92, 108, 124, 140, 156, 172, 188, 204, 220, 236, 252 및 324로 이루어진 그룹으로부터 선택된 아미노산 서열을 갖는 LCDR1 도메인;

[0046] (e) 서열 번호: 14, 30, 46, 62, 78, 94, 110, 126, 142, 158, 174, 190, 206, 222, 238, 254, 및 326으로 이루어진 그룹으로부터 선택된 아미노산 서열을 갖는 LCDR2 도메인; 및

[0047] (f) 서열 번호: 16, 32, 48, 64, 80, 96, 112, 128, 144, 160, 176, 192, 208, 224, 240, 256 및 328로 이루어진 그룹으로부터 선택된 아미노산 서열을 갖는 LCDR3 도메인.

[0048] 본 발명은 또한 표 1에 열거된 HCDR1 아미노산 서열 또는 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열 중 어느 것으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 CDR1 (HCDR1)을 포함하는 항체, 또는 이의 항원-결합 단편을 제공한다.

[0049] 본 발명은 또한 표 1에 열거된 HCDR2 아미노산 서열 또는 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열 중 어느 것으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 CDR2 (HCDR2)를 포함하는 항체, 또는 이의 항원-결합 단편을 제공한다.

[0050] 본 발명은 또한 표 1에 열거된 HCDR3 아미노산 서열 또는 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열 중 어느 것으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 CDR3 (HCDR3)을 포함하는 항체, 또는 이의 항원-결합 단편을 제공한다.

[0051] 본 발명은 또한 표 1에 열거된 LCDR1 아미노산 서열 또는 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열 중 어느 것으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 CDR1 (LCDR1)을 포함하는 항체, 또는 이의 항원-결합 단편을 제공한다.

[0052] 본 발명은 또한 표 1에 열거된 LCDR2 아미노산 서열 또는 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열 중 어느 것으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 CDR2 (LCDR2)를 포함하는 항체, 또는 이의 항원-결합 단편을 제공한다.

[0053] 본 발명은 또한 표 1에 열거된 LCDR3 아미노산 서열 또는 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열 중 어느 것으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 CDR3 (LCDR3)을 포함하는 항체, 또는 이의 항원-결합 단편을 제공한다.

[0054] 본 발명은 또한, 표 1에 열거된 LCDR3 아미노산 서열 중 어느 것과 짝을 이룬 표 1에 열거된 HCDR3 아미노산 서열 중 어느 것을 포함하는 HCDR3 및 LCDR3 아미노산 서열 쌍 (HCDR3/LCDR3)을 포함하는 항체, 또는 이의 항원-결합 단편을 제공한다. 특정한 실시형태에 따라서, 본 발명은 표 1에 열거된 예시적인 항-ANGPTL8 항체 중 어느 것 내에 포함된 HCDR3/LCDR3 아미노산 서열 쌍을 포함하는 항체, 또는 이의 항원-결합 단편을 제공한다. 특정한 실시형태에서, HCDR3/LCDR3 아미노산 서열 쌍은 서열 번호: 72/80 (예: H4H15321P), 168/176 (예: H4H15341P), 200/208 (예: H4H15345P), 및 320/328 (예: H4H15367P2)로 이루어진 그룹으로부터 선택된다. 하나의 실시형태에서, HCDR3/LCDR3 아미노산 서열 쌍은 서열 번호: 168/176 (예: H4H15341P)이다.

[0055] 본 발명은 또한 표 1에 열거된 예시적인 항-ANGPTL8 항체 중 어느 것 내에 포함된 6개의 CDRs의 세트 (즉, HCDR1-HCDR2-HCDR3-LCDR1-LCDR2-LCDR3)을 포함하는 항체, 또는 이의 항원-결합 단편을 제공한다. 특정한 실시형태에서, HCDR1-HCDR2-HCDR3-LCDR1-LCDR2-LCDR3 아미노산 서열 세트는 서열 번호: 68-70-72-76-78-80 (예: H4H15321P); 164-166-168-172-174-176 (예: H4H15341P); 196-198-200-204-206-208 (예: H4H15345P); 316-318-320-324-326-328 (예: H4H15367P2)로 이루어진 그룹으로부터 선택된다. 하나의 실시형태에서, HCDR1-HCDR2-HCDR3-LCDR1-LCDR2-LCDR3 아미노산 서열 세트는 서열 번호: 164-166-168-172-174-176 (예: H4H15341P)이다.

[0056] 관련 실시형태에서, 본 발명은 표 1에 열거된 예시적인 항-ANGPTL8 항체 중 어느 것으로 한정된 HCVR/LCVR 아미노산 서열 쌍 내에 포함된 6개의 CDRs의 세트 (즉, HCDR1-HCDR2-HCDR3-LCDR1-LCDR2-LCDR3)를 포함하는 항체,

또는 이의 항원-결합 단편을 제공한다. 예를 들면, 본 발명은 서열 번호: 66/74 (예: H4H15321P), 162/170 (예: H4H15341P); 194/202 (예: H4H15345P); 314/322 (예: H415367P2)로 이루어진 그룹으로부터 선택된 HCVR/LCVR 아미노산 서열 쌍 내에 포함된 HCDR1-HCDR2-HCDR3-LCDR1-LCDR2-LCDR3 아미노산 서열 세트를 포함하는 항체, 또는 이의 항원-결합 단편을 포함한다. HCVR 및 LCVR 아미노산 서열 내에 CDRs를 식별하기 위한 방법 및 기술은 당해 기술분야에 잘 공지되어 있고, 본원에 개시된 지정된 HCVR 및/또는 LCVR 아미노산 서열 내에 CDRs를 식별하기 위해 사용될 수 있다. CDRs의 경계를 식별하기 위해 사용될 수 있는 예시적인 관례는, 예를 들면, Kabat 정의, Chothia 정의, 및 AbM 정의를 포함한다. 일반적인 용어에서, Kabat 정의는 서열 변동성을 기초로 하고, Chothia 정의는 구조적 루프 영역의 위치를 기초로 하고, AbM 정의는 Kabat 및 Chothia 접근 사이의 절충이다. 예를 들면, 다음 문헌을 참조한다: Kabat, "Sequences of Proteins of Immunological Interest," National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1991); Al-Lazikani et al., J. Mol. Biol. 273:927-948 (1997); 및 Martin et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86:9268-9272 (1989). 공개 데이터베이스는 또한 항체 내 CDR 서열을 식별하기 위해 이용가능하다.

- [0057] 본 발명은 변형된 글리코실화 패턴을 갖는 항-ANGPTL8 항체를 포함한다. 일부 실시형태에서, 목적하지 않은 글리코실화 위치를 제거하기 위한 변형이 유용할 수 있거나, 예를 들면, 항체 의존성 세포의 세포독성 (ADCC) 기능을 증가시키기 위한 올리고사카라이드 쇄에 존재하는 푸코오스 모이어티가 결핍된 항체가 유용할 수 있다(참조: Shield et al. (2002) JBC 277:26733). 다른 적용에서, 갈락토실화의 변형은 보체 의존성 세포독성 (CDC)을 변형시키기 위해 이루어질 수 있다.
- [0058] 본 발명은 또한 ANGPTL8에 특이적으로 결합하기 위해, HCVR의 CDRs 및 LCVR의 CDRs를 포함하는 기준 항체 또는 이의 항원-결합 단편과 경쟁하는 항체 및 이의 항원-결합 단편을 제공하고, 여기서, HCVR 및 LCVR 각각은 표 1에 열거된 HCVR 및 LCVR 서열로부터 선택된 아미노산 서열을 갖는다.
- [0059] 하나의 실시형태에서, 본 발명은 ANGPTL8로의 결합을 위해, 서열 번호: 2/10, 18/26, 34/42, 50/58, 66/74, 82/90, 98/106, 114/122, 130/138, 146/154, 162/170, 178/186, 194/202, 210/218, 226/234, 242/250, 258/250, 266/250, 274/250, 282/250, 290/250, 306/250, 314/322, 및 330/322로 이루어진 그룹으로부터 선택된 HCVR/LCVR 아미노산 서열 쌍을 포함하는 기준 항체와 경쟁하는 단리된 단클론 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 제공한다.
- [0060] 본 발명은 또한 HCVR의 CDRs 및 LCVR의 CDRs를 포함하는 기준 항체 또는 이의 항원-결합 단편과 ANGPTL8 상 동일한 에피토프에 결합하는 항체 및 이의 항원-결합 단편을 제공하고, 여기서, HCVR 및 LCVR 각각은 표 1에 열거된 HCVR 및 LCVR 서열로부터 선택된 아미노산 서열을 갖는다.
- [0061] 하나의 실시형태에서, 본 발명은 서열 번호: 2/10, 18/26, 34/42, 50/58, 66/74, 82/90, 98/106, 114/122, 130/138, 146/154, 162/170, 178/186, 194/202, 210/218, 226/234, 242/250, 258/250, 266/250, 274/250, 282/250, 290/250, 306/250, 314/322, 및 330/322로 이루어진 그룹으로부터 선택된 HCVR/LCVR 아미노산 서열 쌍을 포함하는 기준 항체와 ANGPTL8 상 동일한 에피토프에 결합하는 단리된 단클론 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 제공한다.
- [0062] 하나의 실시형태에서, ANGPTL8에 특이적으로 결합하고/하거나 ANGPTL8에 관련된 적어도 하나의 활성을 억제하는 단리된 항체는, 제조함으로써 생산된 사람 단클론 항체이다.
- [0063] 하나의 실시형태에서, ANGPTL8에 특이적으로 결합하고/하거나 ANGPTL8에 관련된 적어도 하나의 활성을 억제하는 단리된 항체는, 표 1에서 발견된 아미노산 서열로부터 선택된 HCVR 및/또는 LCVR 서열을 갖는 제조함으로써 생산된 사람 단클론 항체이다.
- [0064] 하나의 실시형태에서, ANGPTL8에 특이적으로 결합하고/하거나 ANGPTL8에 관련된 적어도 하나의 활성을 억제하는 단리된 항체는, 서열 번호: 2/10, 18/26, 34/42, 50/58, 66/74, 82/90, 98/106, 114/122, 130/138, 146/154, 162/170, 178/186, 194/202, 210/218, 226/234, 242/250, 258/250, 266/250, 274/250, 282/250, 290/250, 306/250, 314/322, 및 330/322로 이루어진 그룹으로부터 선택된 HCVR /LCVR 아미노산 서열 쌍을 갖는 제조함으로써 생산된 사람 단클론 항체이다.
- [0065] 하나의 실시형태에서, 본 발명은 ANGPTL8 활성을 중화시키는 완전 사람 단클론 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 제공하고, 여기서, 항체 또는 이의 단편은 다음 특징 중 하나 이상을 나타낸다: (i) 서열 번호: 2, 18, 34, 50, 66, 82, 98, 114, 130, 146, 162, 178, 194, 210, 226, 242, 258, 266, 274, 282, 290, 298, 306, 314 및 330으로 이루어진 그룹으로부터 선택된 아미노산 서열을 갖는 HCVR을 포함한다; (ii) 서열 번호: 10, 26, 42,

58, 74, 90, 106, 122, 138, 154, 170, 186, 202, 218, 234, 250, 및 322로 이루어진 그룹으로부터 선택된 아미노산 서열을 갖는 LCVR을 포함한다; (iii) 서열 번호: 8, 24, 40, 56, 72, 88, 104, 120, 136, 152, 168, 184, 200, 216, 232, 248, 264, 272, 280, 288, 296, 304, 312, 320 및 336으로 이루어진 그룹으로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열을 갖는 HCDR3 도메인; 및 서열 번호: 16, 32, 48, 64, 80, 96, 112, 128, 144, 160, 176, 192, 208, 224, 240, 256 및 328로 이루어진 그룹으로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열을 갖는 LCDR3 도메인을 포함한다; (iv) 서열 번호: 4, 20, 36, 52, 68, 84, 100, 116, 132, 148, 164, 180, 196, 212, 228, 244, 260, 268, 276, 284, 292, 300, 308, 316 및 332로 이루어진 그룹으로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열을 갖는 HCDR1 도메인; 서열 번호: 6, 22, 38, 54, 70, 86, 102, 118, 134, 150, 166, 182, 198, 214, 230, 246, 262, 270, 278, 286, 294, 302, 310, 318, 및 334로 이루어진 그룹으로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열을 갖는 HCDR2 도메인; 서열 번호: 12, 28, 44, 60, 76, 92, 108, 124, 140, 156, 172, 188, 204, 220, 236, 252 및 324로 이루어진 그룹으로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열을 갖는 LCDR1 도메인; 및 서열 번호: 14, 30, 46, 62, 78, 94, 110, 126, 142, 158, 174, 190, 206, 222, 238, 254, 및 326으로 이루어진 그룹으로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열을 갖는 LCDR2 도메인을 포함한다; (v) 서열 번호: 337로 한정된 사람 ANGPTL8의 N-말단 영역에 특이적으로 결합한다; vi) 서열 번호: 337로 한정된 사람 ANGPTL8의 N-말단 영역에 특이적으로 결합하지 않는다; vii) 서열 번호: 338의 사람 ANGPTL3 펩타이드의 N-말단 코일형-코일 영역에, 또는 서열 번호: 339의 사람 ANGPTL4 펩타이드의 N-말단 코일형-코일 영역에 결합하지 않는다; viii) 표면 플라즈몬 공명으로 측정하여, 사람 ANGPTL8에 25°C에서 약 150pM 미만의 K_D 로 결합하고, 원숭이 ANGPTL8에 25°C에서 약 90pM 미만의 K_D 로 결합한다; ix) 약 10 mg/kg의 용량으로 피하 투여되는 경우 포유동물에서 트리글리세리드 수준을 약 68% (최대)까지 저하시킨다; x) 약 5 mg/kg 내지 약 25 mg/kg 범위의 용량으로 피하 투여되는 경우 포유동물에서 트리글리세리드 수준을 약 7 일 내지 21 일 범위의 기간 동안 저하시킨다; xi) 기준 항체와 교차-경쟁하고, 여기서, 기준 항체는 표 1의 중쇄 가변 영역 (HCVR) 및 경쇄 가변 영역 (LCVR) 아미노산 서열 중 어느 것으로 이루어진 그룹으로부터 선택된 HCVR 및 LCVR 아미노산 서열을 포함한다.

[0066] 두번째 측면에서, 본 발명은 또한 항-ANGPTL8 항체 또는 이의 부분을 암호화하는 핵산 분자를 제공한다. 예를 들면, 본 발명은 표 1에 열거된 HCVR 아미노산 서열 중 어느 것을 암호화하는 핵산 분자를 제공하고; 특정한 실시형태에서, 핵산 분자는 표 2에 열거된 HCVR 핵산 서열, 또는 이와 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열 중 어느 것으로부터 선택된 폴리뉴클레오타이드 서열을 포함한다.

[0067] 본 발명은 또한 표 1에 열거된 LCVR 아미노산 서열 중 어느 것을 암호화하는 핵산 분자를 제공한다. 특정한 실시형태에서, 핵산 분자는 표 2에 열거된 LCVR 핵산 서열, 또는 이와 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열 중 어느 것으로부터 선택된 폴리뉴클레오타이드 서열을 포함한다.

[0068] 본 발명은 또한 표 1에 열거된 HCDR1 아미노산 서열 중 어느 것을 암호화하는 핵산 분자를 제공한다. 특정한 실시형태에서, 핵산 분자는 표 2에 열거된 HCDR1 핵산 서열, 또는 이와 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열 중 어느 것으로부터 선택된 폴리뉴클레오타이드 서열을 포함한다.

[0069] 본 발명은 또한 표 1에 열거된 HCDR2 아미노산 서열 중 어느 것을 암호화하는 핵산 분자를 제공한다. 특정한 실시형태에서, 핵산 분자는 표 2에 열거된 HCDR2 핵산 서열, 또는 이와 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열 중 어느 것으로부터 선택된 폴리뉴클레오타이드 서열을 포함한다.

[0070] 본 발명은 또한 표 1에 열거된 HCDR3 아미노산 서열 중 어느 것을 암호화하는 핵산 분자를 제공한다. 특정한 실시형태에서, 핵산 분자는 표 2에 열거된 HCDR3 핵산 서열, 또는 이와 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열 중 어느 것으로부터 선택된 폴리뉴클레오타이드

서열을 포함한다.

- [0071] 본 발명은 또한 표 1에 열거된 LCDR1 아미노산 서열 중 어느 것을 암호화하는 핵산 분자를 제공한다. 특정한 실시형태에서, 핵산 분자는 표 2에 열거된 LCDR1 핵산 서열, 또는 이와 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열 중 어느 것으로부터 선택된 폴리뉴클레오타이드 서열을 포함한다.
- [0072] 본 발명은 또한 표 1에 열거된 LCDR2 아미노산 서열 중 어느 것을 암호화하는 핵산 분자를 제공한다. 특정한 실시형태에서, 핵산 분자는 표 2에 열거된 LCDR2 핵산 서열, 또는 이와 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열 중 어느 것으로부터 선택된 폴리뉴클레오타이드 서열을 포함한다.
- [0073] 본 발명은 또한 표 1에 열거된 LCDR3 아미노산 서열 중 어느 것을 암호화하는 핵산 분자를 제공한다. 특정한 실시형태에서, 핵산 분자는 표 2에 열거된 LCDR3 핵산 서열, 또는 이와 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열 중 어느 것으로부터 선택된 폴리뉴클레오타이드 서열을 포함한다.
- [0074] 본 발명은 또한 HCVR을 암호화하는 핵산 분자를 제공하고, 여기서, HCVR은 3개의 CDRs의 세트 (즉, HCDR1-HCDR2-HCDR3)을 포함하고, HCDR1-HCDR2-HCDR3 아미노산 서열 세트는 표 1에 열거된 예시적인 항-ANGPTL8 항체 중 어느 것으로 한정된다.
- [0075] 본 발명은 또한 LCVR을 암호화하는 핵산 분자를 제공하고, 여기서, LCVR은 3개 CDRs의 세트 (즉, LCDR1-LCDR2-LCDR3)을 포함하고, LCDR1-LCDR2-LCDR3 아미노산 서열 세트는 표 1에 열거된 예시적인 항-ANGPTL8 항체 중 어느 것으로 한정된다.
- [0076] 본 발명은 또한 HCVR 및 LCVR 둘 다를 암호화하는 핵산 분자를 제공하고, 여기서, HCVR은 표 1에 열거된 HCVR 아미노산 서열 중 어느 것의 아미노산 서열을 포함하고, LCVR은 표 1에 열거된 LCVR 아미노산 서열 중 어느 것의 아미노산 서열을 포함한다. 특정한 실시형태에서, 핵산 분자는 표 2에 열거된 HCVR 핵산 서열, 또는 이와 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열 중 어느 것으로부터 선택된 폴리뉴클레오타이드 서열, 및 표 2에 열거된 LCVR 핵산 서열, 또는 이와 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열 중 어느 것으로부터 선택된 폴리뉴클레오타이드 서열을 포함한다. 본 발명의 이러한 측면에 따른 특정한 실시형태에서, 핵산 분자는 HCVR 및 LCVR을 암호화하고, 여기서, HCVR 및 LCVR 둘 다는 표 1에 열거된 동일한 항-ANGPTL8 항체로부터 유래된다.
- [0077] 본 발명은 또한 항-ANGPTL8 항체의 중쇄 또는 경쇄 가변 영역을 포함하는 폴리펩타이드를 발현할 수 있는 재조합 발현 벡터를 제공한다. 예를 들면, 본 발명은 상기 언급된 핵산 분자 중 어느 것, 즉, 표 1에 나열된 HCVR, LCVR, 및/또는 CDR 서열 중 어느 것을 암호화하는 핵산 분자를 포함하는 재조합 발현 벡터를 포함한다. 이러한 벡터가 도입되는 숙주 세포, 뿐만 아니라 항체 또는 항체 단편의 생성 및 생성된 항체 및 항체 단편의 회수를 가능하게 하는 조건하에 숙주 세포를 배양하여 항체 또는 이의 부분을 생성하는 방법이 또한 본 발명의 범위 내에 포함된다.
- [0078] 하나의 실시형태에서, ANGPTL8에 특이적으로 결합하고 및/또는 ANGPTL8에 관련된 적어도 하나의 활성을 억제하는 단리된 항체는, 표 2에서 발견되는 핵산 서열로부터 선택되는 핵산 서열에 의해 암호화된 HCVR 및/또는 LCVR을 갖는 재조합으로 생산된 사람 단클론 항체이다.
- [0079] 하나의 실시형태에서, 본 발명은 사람 ANGPTL8에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 단편을 암호화하는 단리된 핵산 분자를 제공하고, 여기서, 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 (a) 표 1에 나열된 아미노산 서열을 갖는 중쇄 가변 영역 (HCVR)의 상보성 결정 영역 (CDRs); 및 (b) 표 1에 나열된 아미노산 서열을 갖는 경쇄 가변 영역 (LCVR)의 CDRs를 포함한다.
- [0080] 하나의 실시형태에서, 본 발명은 사람 ANGPTL8에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 암호화하는 단리된 핵산 분자를 제공하고, 여기서, 항체 또는 항원-결합 단편은 표 1에 나열된 아미노산 서열로 이루어진 그룹으로부터 선택된 HCVR 및 표 1에 나열된 아미노산 서열로 이루어진 그룹으로부터 선택된 LCVR을 포함한다.
- [0081] 세번째 측면에서, 본 발명은 ANGPTL8에 특이적으로 결합하는 재조합 사람 단클론 항체 또는 이의 항원-결합 단

편 및 약제학적으로 허용되는 담체를 포함하는 약제학적 조성물을 제공한다.

- [0082] 하나의 실시형태에서, 본 발명은 표 1에 발견된 항-ANGPTL8 항체 중 어느 것의 항체 또는 이의 항원-결합 단편 으로부터 선택된 사람 ANGPTL8에 특이적인 적어도 하나의 항체 및 약제학적으로 허용되는 담체 또는 희석제를 포함하는 약제학적 조성물을 제공한다.
- [0083] 관련된 측면에서, 본 발명은 항-ANGPTL8 항체 및 두번째 치료학적 제제의 병용물인 조성물을 특징으로 한다. 하나의 실시형태에서, 두번째 치료학적 제제는, 유리하게는 항-ANGPTL8 항체와 병용되는 임의의 제제이다.
- [0084] 하나의 실시형태에서, 두번째 치료학적 제제는 고중성지질혈증과 같은 높은 트리글리세리드 수준을 특징으로 하는 질환 또는 상태를 앓고 있는 환자에서 트리글리세리드를 저하시키거나 적어도 하나의 징후를 감소시킬 수 있는 제제일 수 있다.
- [0085] 특정한 실시형태에서, 두번째 치료학적 제제는, 이러한 부작용(들)이 발생하는 경우, 본 발명의 항체 또는 항체의 항원-결합 단편에 관련된 임의의 가능한 부작용(들)에 대항하거나 이를 감소시키기는 것을 돕는 제제일 수 있다.
- [0086] 두번째 치료학적 제제는 소분자 약물, 단백질/폴리펩타이드, 항체, 핵산 분자, 예를 들면, 안티-센스 분자, 또는 siRNA일 수 있다. 두번째 치료학적 제제는 합성 또는 자연 유래일 수 있다.
- [0087] 본 발명의 항체 및 약제학적으로 허용되는 조성물이 다른 병용 요법에서 사용할 수 있고, 즉, 항체 및 약제학적으로 허용되는 조성물이 하나 이상의 다른 목적하는 치료제 또는 의료 절차와 동시에, 이전에 또는 후속하여 투여될 수 있다는 것을 또한 인지할 것이다. 병용물 용법에서 사용하는 요법 (치료제 또는 절차)의 특정 병용은 목적하는 치료제 및/또는 절차 및 성취될 목적하는 치료학적 효과의 적합성(compatibility)을 고려할 것이다. 사용되는 요법은 동일한 장애를 위한 목적하는 효과를 성취할 수 있거나 (예를 들면, 항체는 동일한 장애를 치료하기 위해 사용되는 또다른 제제와 동시에 투여될 수 있다), 상이한 효과를 성취할 수 있다 (예: 임의의 유해 효과의 제어)는 것을 또한 인지할 것이다. 특정 질환, 또는 상태를 치료 또는 예방하기 위해 정상적으로 투여되는 본원에 사용된 추가 치료학적 제제는, 치료되는 질환, 또는 상태를 위해 적합하다.
- [0088] 관련 실시형태에서, 본 발명은 본 발명의 항체 또는 이의 항원-결합 단편, 및 두번째 치료학적 제제, 예를 들면, (1) 3-하이드록시-3-메틸글루타릴-코엔자임 A (HMG-CoA) 리덕타제 억제제, 예를 들면, 세리바스타틴, 아토르바스타틴, 심바스타틴, 피타바스타틴, 로수바스타틴, 플루바스타틴, 로바스타틴, 프라바스타틴, 등; (2) 콜레스테롤 흡수 및/또는 담즙산 재-흡수 억제제; (3) 지질단백질 이화를 증가시키는 니아신; (4) TG 수준, 저-밀도 지질단백질 (LDL) 수준을 감소시키고 고-밀도 지질단백질 (HDL) 수준을 개선시키는 피브레이트 또는 양쪽성 (amphipathic) 카복실산; 및 (5) 콜레스테롤 제거에서 역할을 하는 LXR 전사 인자의 활성제, 예를 들면, 22-하이드록시콜레스테롤, 또는 고정 병용물, 예를 들면, 에제티미브 플러스 심바스타틴; 담즙 수지와와 스타틴(예: 콜레스타민, 콜레스티폴, 콜레세벨람), 니아신 플러스 스타틴의 고정 병용물 (예: 로바스타틴을 갖는 니아신); 또는 다른 지질 저하제, 예를 들면, 오메가-3-지방산 에틸 에스테르 (예를 들면, 오마코르)와의 병용물인 조성물을 특징으로 한다.
- [0089] 또한, 두번째 치료학적 제제는 하나 이상의 다른 ANGPTL8의 억제제 뿐만 아니라 다른 분자, 예를 들면, ANGPTL3, ANGPTL4, ANGPTL5, ANGPTL6, 아포지질단백질 C-III (APOC3) 및 전구단백질 컨버타제 서브틸리신/켁신 타입 9 (PCSK9)의 억제제일 수 있고, 이는 지질 대사, 특히, 콜레스테롤 및/또는 트리글리세리드 항상성에 관련된다. 이들 분자의 억제제는 이들 분자에 특이적으로 결합하고 이들의 활성을 차단하는 소분자, 안티센스 분자 및 항체를 포함한다.
- [0090] 하나의 실시형태에서, 본 발명의 항-ANGPTL8 항체가 질환, 예를 들면, 당뇨병 (예: 2형 당뇨병)을 치료하기 위해 사용되는 경우, 이들 항체는 현재 사용가능한 하기 당뇨병 치료제 중 하나 이상과 병용하여 사용할 수 있다. 이들은 다음을 포함한다: 인슐린, 인슐린 유사체 (하기 참조), 비구아나이드 (메트포르민), 설포닐우레아 (예: 글리부라이드, 글리피지드), PPAR 감마 작용제 (예: 피오글리타존, 로시글리타존), 알파 글루코시다제 억제제 (예: 아카르보스, 보글리보스), 글루카곤-유사 펩타이드 1 (GLP-1) 작용제 (예: BYETTA® (엑세나타이드), TRULICITY™(둘라글루타이드), VICTOZA® (리라글루타이드), Lyxumia® (릭시세나타이드), Tanzeum™ (알비글루타이드)), 디펩티드 펩티다제 IV (DPP-4) 억제제 (예: 삭사글립틴 (ONGLYZA®), 시탈립틴 (JANUVIA®), 및 빌다글립틴 (GALVUS®), 나트륨-글루코스 공동-운반자 2 (SGLT2) 억제제 (예: INVOKANA™ (카나글리플로진), FORXIGA® (다파글리플로진), 엠파글리플로진, 이프라글리플로진, 토포글리플로진), SYMLIN® (프람린타이드), 글루카곤 수용체 길항제 (예를 들면, US8545847에 기재됨), 및 글루카곤 길항제.

- [0091] 특정한 관련 실시형태에서, 조성물은 비-실포닐우레아 분비촉진제, 속효성 (예: 리스프로, 아스파르트, 글루리신) 및 지속성 (예: 데테미르 인슐린, 데글루테크 인슐린, 또는 글라르긴 인슐린을 포함하는 인슐린 유사체, 엑센딘-4 폴리펩타이드, 베타 3 아드레날린수용체 작용제, 콜레스테롤 흡수 및/또는 담즙산 재-흡수 억제제, LDL-콜레스테롤 길항제, 콜레스테릴 에스테르 전달 단백질 길항제 (예: 토르세트라피브, 아나세트라피브, 달세트라피브, 또는 에바세트라피브), 엔도텔린 수용체 길항제, 성장 호르몬 길항제, 인슐린 감작제, 아밀린 미메틱 또는 작용제, 칸나비노이드 수용체 길항제, 글루카곤-유사 펩타이드-1 수용체 작용제, 멜라노코르틴, 멜라닌-농축 호르몬 수용체 작용제, SNRIs, 설파아세포 성장 인자 21 (FGF21) 미메틱 (참조: 예를 들면, US20110002845 및 US20080261236), 설파아세포 성장 인자 수용체 1c (FGFR1c) 작용제 (참조: 예를 들면, US20110150901), 최종 당화산물(advanced glycation endproduct) 형성 억제제, 예를 들면, 이에 제한되는 것은 아니지만, 아미노구아니딘, 및 단백질 티로신 포스포타제 억제제로 이루어진 그룹으로부터 선택된 두번째 제제를 포함할 수 있다.
- [0092] 관련 실시형태에서, 두번째 치료학적 제제는, 필요한 경우 기저 상태를 동반하는 징후를 개선 및/또는 감소시키기 위한, 하나 이상의 다른 치료학적 제제, 예를 들면, 진통제, 비-스테로이드성 소염성 약물 (NSAIDs)을 포함하는 소염제, 예를 들면, Cox-2 억제제 등일 수 있다.
- [0093] 4번째 측면에서, 본 발명은 이를 필요로 하는 환자에서 ANGPTL8에 관련된 적어도 하나의 활성을 증화, 억제, 차단, 폐지, 감소 또는 간섭하는 방법을 제공하고, 상기 방법은 표 1에서 발견되는 본 발명의 항체 중 어느 하나 이상 또는 이들 항체 중 어느 하나 이상을 포함하는 약제학적 조성물을 이를 필요로 하는 환자에서 투여함을 포함하고, 여기서, ANGPTL8에 관련된 적어도 하나의 활성은 감소되거나 약화된다.
- [0094] 하나의 실시형태에서, 본 발명은, 이를 필요로 하는 대상체에게 본 발명의 하나 이상의 항-hANGPTL8 항체 또는 이의 항원-결합 단편 및, 상기한 임의의 하나 이상의 추가 치료학적 제제를 포함하는 약제학적 조성물의 치료학적 유효량을 투여함을 포함하는 치료학적 방법을 제공한다.
- [0095] 다섯번째 측면에서, 본 발명은 ANGPTL8의 상승된 발현 및/또는 활성에 부분적으로 관련된 질환 또는 상태의 치료 방법을 제공하고, 상기 방법은 ANGPTL8 억제제/길항제를 투여함을 포함하고, 여기서, ANGPTL8 억제제/길항제는 ANGPTL8에 특이적인 항체 또는 이의 항원-결합 단편이다. 하나의 실시형태에서, ANGPTL8에 특이적인 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 표 1로부터의 아미노산 서열로 이루어진 그룹으로부터 선택된 HCVR 및 표 1로부터의 아미노산 서열로 이루어진 그룹으로부터 선택된 LCVR을 포함한다.
- [0096] 하나의 실시형태에서, 본 발명의 방법에 의해 치료할 수 있는 질환 또는 장애는, 항-hANGPTL8 항체 치료 (예: ANGPTL8-매개된 질환 또는 장애) 부재와 비교하여, ANGPTL8 활성을 제거, 억제, 감소, 또는 그렇지 않으면 간섭함에 의해, 향상, 개선, 억제 또는 예방되거나, 질환에 관련된 적어도 하나의 징후의 증정도 또는 발생 빈도가 감소되는, 임의의 질환 또는 상태이다. 본 발명의 방법으로 치료할 수 있는 질환 또는 장애의 예는, 이에 제한되는 것은 아니지만, 지질 대사에 연관된 것들, 예를 들면, 고지질혈증, 고지방단백혈증 및 죽종형성 이상지질혈증, 당뇨병성 이상지질혈증을 포함하는 이상지질혈증, TG > 1000 mg/dL인 중증 고중성지질혈증을 포함하는 고중성지질혈증 및 관련 급성 췌장염, 고콜레스테롤혈증, 킬로미크론혈증, 혼합 이상지질혈증 (비만, 대사 증후군, 당뇨병 등), 지방디스트로피, 지방위축증 등, 예를 들면, 감소된 LPL 활성 및/또는 LPL 결핍, 변경된 ApoC2, ApoE 결핍, 증가된 ApoB, 초저-밀도 지질단백질 (VLDL)의 증가된 생성 및/또는 감소된 제거, 특정 약물 치료 (예: 글루코코르티코이드 치료-유도된 이상지질혈증), 임의의 유전적 소인, 식이, 생활방식 등으로 야기되는 것들을 포함한다.
- [0097] 본 발명의 방법은 또한, 이에 제한되는 것은 아니지만, 심혈관 질환 또는 장애, 예를 들면, 죽상동맥경화증, 동맥류, 고혈압, 협심증, 뇌졸중, 뇌혈관 질환, 울혈성심부전, 관상 동맥 질환, 심근 경색증, 말초 혈관 질환, 등; 급성 췌장염; 비알코올성지방간염 (NASH); 혈당 장애, 예를 들면, 당뇨병; 비만, 등을 포함하는, 중성지방혈증(triglyceridemia), 고중성지질혈증, 고지질혈증, 고지방단백혈증, 및/또는 이상지질혈증과 관련되거나 이로부터 야기되는 질환 또는 장애를 예방 또는 치료할 수 있다.
- [0098] 하나의 실시형태에서, 본 발명의 적어도 하나의 항체, 또는 이의 항원-결합 단편은, 대사 증후군 관련 이상지질혈증, 비만을 치료하기 위해, 또는 체중 증가를 예방하기 위해, 또는 정상 체중을 유지하기 위해 사용할 수 있다.
- [0099] 하나의 실시형태에서, 본 발명은 혈중 트리글리세리드 수준을 저하시키거나, 높은 혈중 트리글리세리드 수준에 관련된 또는 높은 혈중 트리글리세리드 수준을 부분적으로 특징으로 하는 상태 또는 질환, 또는 상기 상태 또는 질환에 관련된 적어도 하나의 징후 또는 합병증을 치료하는 방법을 제공하고, 상기 방법은 표 1로부터의 사람

ANGPTL8에 특이적인 하나 이상의 항체를 포함하는 약제학적 조성물을 이를 필요로 하는 환자에게 투여함을 포함하고, 이로써 혈중 트리글리세리드 수준을 저하시키거나, 상태 또는 질환이 중재되거나, 상기 상태 또는 질환에 관련된 적어도 하나의 징후 또는 합병증의 중증도가 완화되거나 감소된다.

- [0100] 하나의 실시형태에서, 본 발명의 적어도 하나의 항체, 또는 이의 항원-결합 단편은, 단독으로 또는 고중성지질혈증, 또는 고중성지질혈증과 관련된 적어도 하나의 징후를 치료하기 위한 두번째 또는 세번째 치료학적 제제와 병용하여 사용할 수 있거나, 예를 들면, 고중성지질혈증, 예를 들면, 가족성 고중성지질혈증 또는 가족성 이상 베타지질단백혈증이 발병할 유전적 소인을 갖는 환자에서 고중성지질혈증을 획득할 위험이 있는 환자를 치료하기 위해 사용할 수 있다.
- [0101] 다른 상태는 환자를 높은 수준의 트리글리세리드에 취약하게 할 수 있다. 예를 들면, 베타 차단제, 산아제한 알약, 이뇨제, 스테로이드, 또는 타목시펜의 사용과 같은 특정 의약품은 상승된 수준의 트리글리세리드를 야기할 수 있고, 이로써 환자의 발병 가능성, 또는 높은 수준의 트리글리세리드와 관련된 합병증, 예를 들면, 죽상동맥경화증, 뇌졸중, 심장 마비, 및 다른 심장 상태를 증가시킬 수 있다.
- [0102] 추가로, 특정한 다른 상태는 높은 수준의 트리글리세리드를 야기할 수 있고, 이에겐 비만, 제어되지 않은 당뇨병, 갑상샘기능저하증, 신장 질환, 또는 알코올 소비가 포함된다.
- [0103] 하나의 실시형태에서, 항체는 상승된 혈중 트리글리세리드 수준을 부분적으로 특징으로 하는 질환 또는 장애의 개시를 예방하거나, 이러한 질환 또는 장애의 발병 가능성을 예방하거나, 질환 또는 장애의 중증도, 또는 질환 또는 장애에 관련된 적어도 하나의 징후를 완화하기 위해 사용될 수 있다. 본 발명의 항체는 단독으로 사용되거나, 상승된 혈중 트리글리세리드 수준을 부분적으로 특징으로 하는 질환 또는 상태, 예를 들면, 이에 제한되는 것은 아니지만, 고중성지질혈증을 앓고 있는 환자를 치료하기 위한 표준 치료인 것으로 공지된 다른 제제 또는 방법을 사용한 부가 요법으로서 사용될 수 있다는 것이 구상된다. 이러한 표준 요법은 수액 투여, 또는 혈중 트리글리세리드, 또는 지질을 저하시키거나, 체중 감소를 위해 유용한 임의의 다른 약제학적 제제 투여를 포함할 수 있다.
- [0104] 하나의 실시형태에서, 본원에 기재된 항체의 사용은, 트리글리세리드의 정상 수준을 성취하여, 이에 의해 높은 트리글리세리드 수준을 특징으로 하는 하나 이상의 징후, 또는 질환과 관련된 장기간 합병증을 개선, 또는 예방하는데 효과적인 수단일 수 있다.
- [0105] 하나의 실시형태에서, 본 발명의 항체는 상승된 수준의 트리글리세리드를 부분적으로 특징으로 하는 임의의 질환 또는 장애를 치료하는데 사용하기 위한 의약의 제조에서 사용할 수 있다.
- [0106] 본 발명의 항체는 급성 환경에서 단기 요법으로서 사용될 수 있거나, 만성 요법으로서 장기 사용을 위해 구상될 수 있다.
- [0107] 하나의 측면에서, 본 발명은 대상체에서 체중 감소를 성취하는 방법을 제공하고, 상기 방법은 ANGPTL8 억제제 (여기서, ANGPTL8 억제제/길항제는 ANGPTL8 특이적 항체 또는 이의 항원-결합 단편이다), 또는 상기 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 포함하는 약제학적 조성물을 대상체에게 투여함을 포함하고, 여기서, ANGPTL8의 적어도 하나의 활성이 감소되거나 약화된다.
- [0108] 용어 억제제 및 길항제는 본원에서 상호교환되어 사용된다.
- [0109] 또다른 측면에서, 본 발명은 대상체에서 체지방량 감소를 성취하는 방법을 제공하고, 상기 방법은 ANGPTL8 특이적 항체 또는 이의 항원-결합 단편인 ANGPTL8 억제제/길항제, 또는 상기 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 포함하는 약제학적 조성물을 대상체에게 투여함을 포함하고, 여기서, ANGPTL8의 적어도 하나의 활성이 감소되거나 약화된다.
- [0110] 또한 또다른 측면에서, 본 발명은 대상체에서 에너지 소비를 증가시키는 방법을 제공하고, 상기 방법은 ANGPTL8 특이적 항체 또는 이의 항원-결합 단편인 ANGPTL8 억제제/길항제, 또는 상기 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 포함하는 약제학적 조성물을 대상체에게 투여함을 포함하고, 여기서, ANGPTL8의 적어도 하나의 활성이 감소되거나 약화된다.
- [0111] 또한 또다른 측면에서, 본 발명은 대상체에서 HDL-C를 증가시키는 방법을 제공하고, 상기 방법은 ANGPTL8 특이적 항체 또는 이의 항원-결합 단편인 ANGPTL8 억제제/길항제, 또는 상기 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 포함하는 약제학적 조성물을 대상체에게 투여함을 포함하고, ANGPTL8의 적어도 하나의 활성이 감소되거나 약화된다. 하나의 실시형태에서, 상기 대상체에서 순환하는 트리글리세리드 (TGs)는 상기 ANGPTL8 억제제/길항제 투여 1일

후 적어도 50%까지 감소된다.

- [0112] 본 발명에 따른 방법의 추가 실시형태에서, ANGPTL8 특이적 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 서열 번호:162/170 또는 314/322에 나열된 중쇄 가변 영역/경쇄 가변 영역 (HCVR/LCVR) 서열 쌍을 포함한다.
- [0113] 본 발명에 따른 방법의 추가 실시형태에서, ANGPTL8 특이적 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 각각 서열 번호: 164 / 166 / 168 / 172 / 174 / 176 또는 316 / 318 / 320 / 324 / 326 / 328의 아미노산 서열을 갖는 HCDR1 / HCDR2 / HCDR3 / LCDR1 / LCDR2 / LCDR3 도메인을 포함한다.
- [0114] 하나의 측면에서, 본 발명은 ANGPTL8 억제제/길항제 (여기서, ANGPTL8 억제제/길항제는 ANGPTL8 특이적 항체 또는 이의 항원-결합 단편이다), 또는 상기 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 포함하는 약제학적 조성물을 이를 필요로 하는 환자에게 투여하여, 상기 상태 또는 질환이 중재되거나, 상기 상태 또는 질환에 관련된 적어도 하나의 징후 또는 합병증의 빈도 또는 중증도가 완화되거나 감소되도록 하는 비만 관련 상태 또는 질환, 또는 상기 상태 또는 질환에 관련된 적어도 하나의 징후 또는 합병증의 치료 방법을 제공한다.
- [0115] 추가 실시형태에서, 본 발명에 따른 방법은 추가로 이차적 치료학적 제제의 투여를 포함한다. 여전히 추가 실시형태에서, 두번째 치료학적 제제는 안지오프이오티딘-유사 단백질 3 (ANGPTL3), 안지오프이오티딘-유사 단백질 4 (ANGPTL4), 안지오프이오티딘-유사 단백질 5 (ANGPTL5), 안지오프이오티딘-유사 단백질 6 (ANGPTL6) 및 사람 전구단백질 컨버타제 서브틸리신/켄신 타입 9 (PCSK9)에 특이적으로 결합하는 단리된 항체, 또는 이의 항원-결합 단편으로 이루어진 그룹으로부터 선택된다. 두번째 치료학적 제제는, 제한 없이, 인슐린, 인슐린 유사체, 비구아나이드 (메트포르민), 설포닐우레아 (예: 글리부라이드, 글리피지드), PPAR 감마 작용제 (예: 피오글리타존, 로시글리타존), 알파 글루코시다제 억제제 (예: 아카르보스, 보글리보스), 글루카곤-유사 펩타이드 1 (GLP-1) 작용제 (예: BYETTA® (엑세나타이드), TRULICITY™ (둘라글루타이드), VICTOZA® (리라글루타이드), LYXUMIA® (릭시세나타이드), TANZEUM™ (알비글루타이드), 또는 상기한 것들 중 어느 것의 유사체, 디펩티딜 펩티다제 IV (DPP-4) 억제제 (예: 삭사글립틴 (ONGLYZA®), 시탈립틴 (JANUVIA®), 및 빌다글립틴 (GALVUS®), 나트륨-글루코스 공동-운반자 2 (SGLT2) 억제제 (예: INVOKANA™ (카나글리플로진), FORXIGA® (다파글리플로진), 엠파글리플로진, 이프라글리플로진, 토포글리플로진), SYMLIN® (프람린타이드), 글루카곤 수용체 길항제, 비-설포닐우레아 분비촉진제, 인슐린 유사체 (예: 속효성 리스프로, 아스파르트, 글루리신 및 지속성 데테미르 인슐린, 데글루데크 인슐린, 또는 글라르긴 인슐린), 액센딘-4 폴리펩타이드, 베타 3 아드레날린수용체 작용제, 콜레스테롤 흡수 및/또는 담즙산 재-흡수 억제제, LDL-콜레스테롤 길항제, 콜레스테릴 에스테르 전달 단백질 길항제 (예: 토르세트라피브, 아나세트라피브, 달세트라피브, 또는 에바세트라피브), 엔도텔린 수용체 길항제, 성장 호르몬 길항제, 인슐린 감작제, 아밀린 미메틱 또는 작용제, 칸나비노이드 수용체 길항제, 멜라노코르틴, 멜라닌-농축 호르몬 수용체 작용제, SNRIs, 섬유아세포 성장 인자 21 (FGF21) 미메틱, 섬유아세포 성장 인자 수용체 1c (FGFR1c) 작용제, 최종 당화산물 형성 억제제 (예: 아미노구아니딘), 및 단백질 티로신 포스파타제 억제제로 이루어진 그룹으로부터 선택될 수 있다.
- [0116] 하나의 측면에서, 본 발명은 대상체에서 체중 감소를 성취하기 위한, 대상체에서 체지방량 감소를 성취하기 위한, 대상체에서 에너지 소비를 증가시키기 위한, 대상체에서 HDL-C를 증가시키기 위한, 또는 비만 관련 상태 또는 질환을 치료하기 위한 ANGPTL8 특이적 항체 또는 이의 항원-결합 단편인 ANGPTL8 억제제/길항제, 또는 상기 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 포함하는 약제학적 조성물의 용도를 제공한다.
- [0117] 또다른 측면에서, 본 발명은 대상체에서 체중 감소를 성취하기 위한, 대상체에서 체지방량 감소를 성취하기 위한, 대상체에서 에너지 소비를 증가시키기 위한, 대상체에서 HDL-C를 증가시키기 위한, 또는 비만 관련 상태 또는 질환을 치료하기 위한 의약의 제조에서 ANGPTL8 특이적 항체 또는 이의 항원-결합 단편인 ANGPTL8 억제제/길항제, 또는 상기 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 포함하는 약제학적 조성물의 용도를 제공한다.
- [0118] 또한 또다른 측면에서, 본 발명은 대상체에서 체중 감소를 성취하기 위한, 대상체에서 체지방량 감소를 성취하기 위한, 대상체에서 에너지 소비를 증가시키기 위한, 대상체에서 HDL-C를 증가시키기 위한, 또는 비만 관련 상태 또는 질환을 치료하기 위한 약제학적 조성물을 제공하고, 여기서, 조성물은 ANGPTL8 억제제/길항제를 포함하고, ANGPTL8 억제제/길항제는 ANGPTL8 특이적 항체 또는 이의 항원-결합 단편이다.
- [0119] 다른 실시형태는 뒤따르는 상세한 설명을 검토하여 명백해질 것이다.

도면의 간단한 설명

- [0120] 도 1a 및 1b는 H4H15341P의 단일 피하 용량이 투여된 사람화된 ANGPTL8 마우스에서 혈청 트리글리세리드 (1a)

및 총 콜레스테롤 (1b) 농도의 평균 +/- SEM을 나타낸다. 연구 0일째에 1, 5, 10, 또는 25 mg/kg의 용량이 투여되었다. 통계학적 비교를 대조군 Ab, *p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001, ****p<0.0001과의 차이에 대해 2-원 ANOVA에 의해 수행하였다.

도 2는 1, 5, 10, 또는 25 mg/kg의 용량으로 H4H15341P의 1회의 피하 용량을 투여한 후 순환하는 항-사람 항체의 수준을 나타낸다.

도 3a 및 3b는 ANGPTL8 마우스에서 대조군 항체와 비교하여 혈청 지질단백질 리파아제 (LPL) (3a) 및 간 리파아제 (3b)에 미치는 H4H15341P mAb의 효과를 나타낸다. 통계학을 비대응표본(unpaired) 스튜던트 t-테스트로 수행하였다; **p<0.01

도 4는 ANGPTL8 마우스의 지질 내성 검사에서 mAb H4H15341P의 효과를 나타낸다. H4H15341P mAb의 투여는 대조군 항체와 비교하여 급성 지방 부하 후 트리글리세리드 수준을 저하시키는 것에 대해 평가하였다. 통계학을 2-원 ANOVA에 의해 본페로니 사후-테스트(Bonferroni post-test)로 수행하였다; ****p<0.0001

도 5a, 5b, 5c, 5d, 5e, 및 5f는 mAb H4H15341P가 ANGPTL8^{hum/hum} 마우스에서 혈청 트리글리세리드를 감소시킴을 나타낸다. 혈청 샘플을 비-금식(non-fasted) 수컷 ANGPTL8^{hum/hum} 마우스 (n=5/그룹)로부터 (기준선) 7일 전에 및 H4H15341P 또는 대조군 항체 (10 mg/kg)의 단일 피하 주사 후 지시된 날에 수집하였다. 혈청 트리글리세리드 (5a) 및 콜레스테롤 (5b)을 효소적으로 측정하였다. H4H15341P 또는 대조군 항체로 치료한지 7일 후 각 마우스로부터 수집된 혈청 (20 µl)을 HPLC에 의해 크기-분획화하였다. 트리글리세리드 (5c) 및 콜레스테롤 (5d)을 각 분획에서 측정하였다. (5e) 사람 ANGPTL8의 총 (프리 플러스(free plus) 항체-결합된) 혈청 수준을 ELISA에 의해 측정하였다. (5f) 음식-공급된(chow-fed) ANGPTL8^{hum/hum} 마우스에서 H4H15341P에 의한 혈청 트리글리세리드의 용량-의존성 감소를 항체를 투여한지 7 및 14일 후 측정하였다. 값은, 평균 값만 나타내는 크로마토그램을 제외하고는, 평균 ± SEM이다. 통계학적 분석을 2-원 ANOVA에 의해 시닥(Sidak) 보정 사후-테스트로 수행하였다. **P<0.01; ***P<0.001; ****P<0.0001.

도 6a, 6b, 및 6c. H4H15341P는 ANGPTL8^{hum/hum} 마우스에서 LPL 활성을 증가시키고, 트리글리세리드 청소를 개선시킨다. (6a) 음식-공급된 ANGPTL8^{hum/hum} 마우스의 포스트(post)-헤파린 혈장 LPL 및 HL 활성을 H4H15341P 또는 대조군 항체 (10 mg/kg, n=5/그룹)로 처리하였다. 포스트-헤파린 혈장을 폴링하고, 헤파린 컬럼에서 분획화하여 HL 및 LPL을 분리하고, 트리글리세리드 가수분해효소 활성을 측정하였다. (6b) 지질 내성 검사 후 H4H15341P 처리의 혈장 트리글리세리드 수준에 미치는 효과. 수컷 ANGPTL8^{hum/hum} 마우스를 인트라리피드(Intralipid) (2.5 µl/g의 20% 인트라리피드)의 정맥내 투여 4일 전에 H4H15341P 또는 대조군 항체 (10 mg/kg, n=5/그룹)로 처리하였다. 값은 평균 ± SEM이다. 통계학적 분석을 웰치(Welch) t-테스트로 수행하고 (a), 2-원 ANOVA을 본페로니 사후-테스트 (b)로 반복 측정하였다. **P<0.01, ****P<0.0001. HL=간 리파아제, LPL=지질단백질 리파아제.

도 7a, 7b, 7c, 7d, 7e, 7f, 및 7g. H4H15341P의 다중 용량 투여는 ANGPTL8^{hum/hum} 마우스에서 혈청 트리글리세리드, 체중 및 지방 함량을 감소시키고, 에너지 소비를 증가시킨다. 혈청 샘플을 비-금식 상태에서 수컷 ANGPTL8^{hum/hum} 마우스 (n=8/그룹, 7 주령)로부터 수집하였다. 이후에, 마우스를 고-지방, 고-콜레스테롤 식이(HFHC)에 배치하였다. 7일 후, 마우스는 H4H15341P 또는 대조군 항체 (10 mg/kg)의 피하 주사를 매주 투여받았다. 혈청 샘플을 각 주사 후 6일에 비-금식으로 수집하였다. TG의 변화를 연구의 과정 동안 측정하였다(7a). 체중을 매주 모니터링하였다(7b). 신체 조성을 15주에 측정하였다(7c). 호흡 교환율(respiratory exchange ratio; RER) (7d) 에너지 소비 (7e), 식품 섭취량(7f) 및 운동 활성(locomotor activity) (7g)을 암흑 및 밝음 주기 동안 H4H15341P 및 대조군 항체 처리된 마우스에서 측정하였다. 모든 값은 평균 ± SEM이다. 통계학적 분석을 본페로니 보정 사후-테스트를 사용한 반복된 측정 2-원 ANOVA(7a 및 7b) 또는 웰치 t-테스트 (7c 내지 7g)에 의해 수행하였다. *P<0.05; **P<0.01; ***P<0.001; ****P<0.0001.

도 8a, 8b, 8c, 8d, 8e, 및 8f. 자발적 고중성지질혈증 사이노몰거스 원숭이(spontaneous hypertriglyceridemic cynomolgus monkeys)에게 H4H15341P의 단일 용량 투여는 혈장 트리글리세리드의 감소 및 HDL-C의 증가를 야기한다. 기준선 혈청 샘플을 비-금식 동물로부터 -15, -7 및 0일째에 수집하였다. 18마리 원숭이를 3 그룹으로 나누고, H4H15341P (3, 7 또는 10 mg/kg)를 투여하였다. 식염수를 6마리 원숭이에게 투여

하였다. 혈청 샘플을 다수 일에 수집하고, 트리글리세리드 (8a), HDL-C (8b) 및 LDL-C (c)에 대해 분석하고, 또한 기준선으로부터의 변화 백분율로서 나타내었다: 트리글리세리드 (8d), HDL-C (8e) 및 LDL-C (8f). 모든 값은 평균 ± SEM이다. 통계학을 시닥의 사후-테스트를 사용하는 반복된 측정 2-원 ANOVA로 수행하였다. *P<0.05; **P<0.01, ***P<0.001; ****P<0.0001.

도 9a 및 9b. hANGPTL8-mFc 및 mfANGPTL8-mFc로의 H4H15341P 결합을 위한 센서그램. 대략 30RU의 hANGPTL8-mFc (9a) 또는 mfANGPTL8-mFc (9b)를 첫번째로 고정된 염소 항-마우스 IgG2a 폴리클로날 항체 HCA 표면 상에서 포획하였다. HBS-ET 작동 완충액 중 3-배로 일련의 희석된 H4H15341P의 상이한 농도를, 4 분 동안 이후에 주사하고, 이어서, 10 분의 해리 단계가 이어진다. 결합 센서그램을 흑색으로 나타내는 반면, 운동학적 값을 계산하기 위해 생성된 전세계적 피팅(global fits)을 회색으로 나타낸다. 결합 데이터를 피팅하는데 사용되는 가장 높은 항원 농도를 또한 제공하고, 운동학적 분석의 결과를 표 20에 표로 나타낸다.

도 10a, 10b, 10c, 및 10d. H4H15341P 및 대조군 항체 처리된 HFHC-공급 ANGPTL8^{hum/hum} 마우스의 대사 파라미터. 순환하는 지질 수준을 수컷 ANGPTL8^{hum/hum} 마우스 및 이들의 야생형 한배새끼(littermates)로부터 수집된 혈청으로부터 평가하였다. (10a) 총 콜레스테롤, (10b) 트리글리세리드, (10c) LDL-C, 및 (10d) HDL-C를 나타낸다. 모든 값은 평균 ± SEM이다. 통계학적 분석을 웰치 t-테스트로 수행하였다. *P<0.01

도 11a, 11b, 11c, 및 11d. H4H15341P의 다중 용량 투여는 HFHC-공급 ANGPTL8^{hum/hum} 마우스에서 에너지 소비, O₂ 소비, 및 CO₂ 생성을 증가시킨다. O₂ 소비 (11a) 및 CO₂ 생성 (11b)의 변화를 밝음 및 암흑 주기 동안 도 7a 내지 7g에 기재된 연구에서 H4H15341P 및 대조군 항체 처리된 마우스에서 평가하였다. 간접 열량측정을 도 11c에 기재된 연구에서 H4H15341P 및 대조군 항체 처리된 마우스에 대한 에너지 소비와 체중 사이의 상호관련성을 나타내는 밝음 및 암흑 주기 동안 산포도로서 표현하였고, 0.03688 kg의 조정된 평균 체중에 대한 밝음 및 암흑 주기 동안 조정된 평균 에너지 소비 (11d)로서 공분산 분석을 사용하여 표현하였다. 모든 값은 평균 ± SEM이다. 통계학적 분석을 웰치 t-테스트에 의해 수행하였다. *P<0.05; **P<0.01; ***P<0.001; ****P<0.0001.

도 12a, 12b, 12c, 12d, 12e, 및 12f. H4H15341P 및 대조군 Ab 처리된 HFHC-공급 ANGPTL8^{hum/hum} 마우스의 대사 파라미터. 데이터를 VO₂ (12a), VCO₂ (12b), 호흡 지수 (RER) (12c), 식품 섭취량 (12e), 에너지 소비 (12d) 및 운동 활성 (12f)에 대한 밝음 및 암흑 주기 동안 72 h에 걸친 연속 측정으로서 나타낸다. 모든 그룹은 8마리 동물을 가졌다. 값은 평균 ± SEM이다.

도 13a, 13b, 13c, 13d, 13e, 13f, 및 13g. HFHC 식이로 유지된 ANGPTL8^{hum/hum} 마우스에게 H4H15341P의 매주 투여는 체온 또는 조직 TG 저장에 영향을 미치지 않았다. 체온을 HFHC-공급 ANGPTL8^{hum/hum} 마우스에게 H4H15341P의 다중 용량 주사 10 주 후 직장 프로브를 사용하여 평가하였다 (13a). 간 (13b), 심장 (13c), 비복근 근육 (GA 근육) (13d), 부고환 백색 지방 조직 (epiWAT) (13e), 피하 백색 지방 조직 (scWAT) (13f), 및 갈색 지방 조직 (BAT) (13g)의 TG 함량을 연구 말기에 측정하였다. 모든 값은 평균 ± SEM이다. 통계학적 분석을 웰치 t-테스트로 수행하였다.

도 14a, 14b, 및 14c. HFHC 식이로 유지된 ANGPTL8^{hum/hum} 마우스에게 H4H15341P의 매주 투여는 혈당 조절에 영향을 미치지 않았다. 비-음식 글루코스 (14a)의 변화를 도 7a 내지 7g에 기재된 연구에서 다수 시점에서 평가하였다. 글루코스 내성 (14b) 및 인슐린 내성 (14c) 테스트를 항체의 9 및 10회 다중 용량 후 각각 수행하였다. 모든 값은 평균 ± SEM이다. 통계학적 분석을 본페로니 사후-테스트를 사용하는 반복된 측정 2-원 ANOVA에 의해 수행하였다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0121] 상세한 설명

[0122] 본 발명을 기술하기 전에, 본 발명은 기술된 구체적인 방법 및 실험 조건에 제한되지 않고, 이러한 방법 및 조건은 변할 수 있음을 이해하여야 한다. 본원에 사용된 용어가 본 발명의 범위가 첨부된 청구범위에만 제한되기 때문에 특정 실시형태만을 기술하기 위한 목적이요, 제한하는 것을 의도하지 않는다는 것을 또한 이해하여야 한다.

- [0123] 달리 정의되지 않은 한, 본원에 사용된 모든 기술적 및 과학적 용어는 본 발명의 속하는 기술 분야의 숙련가에게 통상 이해되는 것과 동일한 의미를 갖는다. 본원에 사용된 용어 "약"은, 특정한 열거된 숫자 값을 언급하여 사용되는 경우, 상기 값이 열거된 값으로부터 1% 이하까지 가변적일 수 있음을 의미한다. 예를 들면, 본원에 사용된 표현 "약 100"은 99 및 101 및, 사이의 모든 값 (예: 99.1, 99.2, 99.3, 99.4 등)을 포함한다.
- [0124] 본원에 기재된 것과 유사하거나 동등한 임의의 방법 및 물질이 본 발명의 실행 또는 시험에서 사용될 수 있지만, 바람직한 방법 및 물질이 본원에 기재된다. 본 명세서에 언급된 모든 특허, 출원 및 비-특허 공보는 이들의 전문이 본원에 참조로서 포함된다.
- [0125] 정의
- [0126] "안지오포이에틴-유사 단백질 8" 또는, "ANGPTL8"은, 단백질의 안지오포이에틴 패밀리의 구성원이고, 때때로 TD26, RIFL, 리파신, C19orf80 및 베타트로핀으로 언급된다. 본원에 사용된 "ANGPTL8"은, 서열 번호: 340의 아미노산 잔기 1-177에 나열된 아미노산 서열을 포함하는 사람 ANGPTL8을 언급한다. 신호 서열을 포함하는 전체-길이 사람 ANGPTL8 아미노산 서열은, 또한 진뱅크 등록 번호 NP_061157.3에서 발견될 수 있는 반면, 사람 ANGPTL8을 암호화하는 전체-길이 핵산 서열은 공지되어 있다(참조: Ejarque, et al. 2017 Transl Res 184:35-44). 사람 ANGPTL8의 N-말단 코일형-코일 도메인은 서열 번호: 340의 아미노산 잔기 1-39 범위(span)이고, 또한 서열 번호: 337로서 도시된다. 본원의 단백질, 폴리펩타이드 및 단백질 단편에 대한 모든 참조는, 비-사람 종인 것으로 명시적으로 기재되지 않는 한, 각각의 단백질, 폴리펩타이드 또는 단백질 단편의 사람 버전을 언급하는 것을 의도한다. 따라서, 표현 "ANGPTL8"은 비-사람 종, 예를 들면, "마우스 ANGPTL8", "원숭이 ANGPTL8" 등인 것으로 기재되지 않는 한, 사람 ANGPTL8을 의미한다.
- [0127] 본원에 사용된 용어 "사람 안지오포이에틴-유사 단백질 3" 또는 "hANGPTL3"은, 서열 번호:343으로 나타낸 핵산 서열을 갖는 ANGPTL3 및 서열 번호:342의 아미노산 서열, 또는 이의 생물학적 활성 단편을 언급한다. 사람 ANGPTL3의 N-말단 코일형-코일 도메인은 서열 번호: 338로서 도시된다.
- [0128] 본원에 사용된 용어 "사람 안지오포이에틴-유사 단백질 4" 또는 "hANGPTL4"는, 서열 번호:345로 나타낸 핵산 서열을 갖는 ANGPTL4 및 서열 번호:344의 아미노산 서열, 또는 생물학적 활성 이의 단편을 언급한다. 사람 ANGPTL4의 N-말단 코일형-코일 도메인은 서열 번호: 339로서 도시된다.
- [0129] 본 발명의 특정 실시형태에서, 항체 또는 항체 단편은 치료학적 모이어티 ("면역접합체(immunoconjugate)"), 예를 들면, 두번째 ANGPTL8 길항제, 또는 상승된 트리글리세리드 수준에 의해 부분적으로 야기되는 질환 또는 상태를 치료하는데 유용한 임의의 다른 치료학적 모이어티에 결합될 수 있다.
- [0130] 본원에 사용된 표현 "항-ANGPTL8 항체"는 단일 특이성을 갖는 1가 항체, 뿐만 아니라 ANGPTL8에 결합된 첫번째 암(arm) 및 두번째 (표적) 항원에 결합된 두번째 암(arm)을 포함하는 이중특이적 항체 둘 다를 포함하고, 여기서, 항-ANGPTL8 암(arm)은 본원의 표 1에 나열된 HCVR/LCVR 또는 CDR 서열 중 어느 것을 포함한다.
- [0131] 본원에 사용된 용어 "항체"는, 특정 항원 (예: ANGPTL8)에 특이적으로 결합하거나 이와 상호작용하는 적어도 하나의 상보성 결정 영역 (CDR)을 포함하는 임의의 항원-결합 분자 또는 분자 복합체를 의미한다. 용어 "항체"는 디설파이드 결합에 의해 상호-연결된 4개의 폴리펩타이드 쇠, 2개의 중(H) 쇠 및 2개의 경(L) 쇠를 포함하는 면역글로불린 분자, 뿐만 아니라 이의 다량체(예: IgM)를 포함한다. 각각의 중쇄는 중쇄 가변 영역 (본원에서 HCVR 또는 V_H 로 축약됨) 및 중쇄 불변 영역을 포함한다. 중쇄 불변 영역은 3개의 도메인, C_{H1} , C_{H2} 및 C_{H3} 을 포함한다. 각각의 경쇄는 경쇄 가변 영역 (본원에서 LCVR 또는 V_L 로 축약됨) 및 경쇄 불변 영역을 포함한다. 경쇄 불변 영역은 하나의 도메인 (C_L1)를 포함한다. V_H 및 V_L 영역은 상보성 결정 영역 (CDRs)으로 불려지는 초변동성의 영역으로 추가로 세분될 수 있고, 프레임워크 영역 (FR)으로 불려지는 더 보존된 영역으로 산재될 수 있다. 각각의 V_H 및 V_L 은 3개의 CDRs 및 4개의 FRs로 구성되고, 하기 순서로 아미노-말단에서 카복시-말단으로 배열된다: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4. 본 발명의 상이한 실시형태에서, 항-ANGPTL8 항체 (또는 이의 항원-결합 부분)의 FRs는 사람 생식선 서열과 동일할 수 있거나, 천연으로 또는 인위적으로 변형될 수 있다. 아미노산 일치 서열은 2개 이상의 CDRs의 병행(side-by-side) 분석을 기반으로 하여 정의될 수 있다.
- [0132] 본원에 사용된 용어 "항체"는, 또한 완전 항체 분자의 항원-결합 단편을 포함한다. 본원에 사용된 용어 항체의 "항원-결합 부분", 항체의 "항원-결합 단편" 등은, 항원에 특이적으로 결합하여 복합체를 형성하는 임의의 천연 발생, 효소적으로 수득가능한, 합성, 또는 유전자 조작된 폴리펩타이드 또는 당단백질을 포함한다. 항체의 항원-결합 단편은, 예를 들면, 임의의 적합한 표준 기술, 예를 들면, 단백질분해 소화 또는 항체 가변 및 임의의

불변 도메인을 암호화하는 DNA의 조작 및 발현에 관한 재조합 유전 공학 기술을 사용하여 완전 항체 분자로부터 유래될 수 있다. 이러한 DNA는 공지되고/되거나, 예를 들면, 시판공급원, DNA 라이브러리 (예를 들면, 과지-항체 라이브러리를 포함함)로부터 용이하게 이용가능하거나, 합성될 수 있다. DNA는 예를 들면, 하나 이상의 가변 및/또는 불변 도메인을 적합한 배치로 배열하기 위한, 또는 코돈을 도입하고, 시스테인 잔기를 만들고, 아미노산 등을 수정, 추가 또는 삭제하기 위한 분자 생물학 기술을 사용하여, 서열화되고 화학적으로 조작될 수 있다.

[0133] 항원-결합 단편의 비-제한적 예는 다음을 포함한다: (i) Fab 단편; (ii) F(ab')₂ 단편; (iii) Fd 단편; (iv) Fv 단편; (v) 단일-쇄 Fv (scFv) 분자; (vi) dAb 단편; 및 (vii) 항체의 추가 변 영역을 모방하는 아미노산 잔기로 이루어진 최소 인식 단위 (예: 단리된 상보성 결정 영역 (CDR) 예를 들면, CDR3 펩타이드), 또는 제한된 FR3-CDR3-FR4 펩타이드. 다른 조작된 분자, 예를 들면, 도메인-특이적 항체, 단일 도메인 항체, 도메인-삭제된 항체, 키메라 항체, CDR-그래프트 항체, 다이아바디, 트리아바디, 테트라바디, 미니바디, 나노바디 (예: 1가 나노바디, 이가 나노바디 등), 소형 모듈형 면역제제(modular immunopharmaceuticals; SMIPs), 및 상어 가변 IgNAR 도메인이, 또한 본원에 사용된 표현 "항원-결합 단편" 내에 포함된다.

[0134] 항체의 항원-결합 단편은 전형적으로 적어도 하나의 가변 도메인을 포함할 것이다. 가변 도메인은 임의의 크기일 수 있거나, 아미노산 조성물은 일반적으로 적어도 하나의 CDR를 포함하고, 이는 하나 이상의 프레임워크 서열에 인접하거나 이의 프레임 내에 있다. V_L 도메인과 관련된 V_H 도메인을 갖는 항원-결합 단편에서, V_H 및 V_L 도메인은 임의의 적합한 배열로 서로에 대해 위치할 수 있다. 예를 들면, 가변 영역은 이량체성일 수 있고, V_H-V_H, V_H-V_L 또는 V_L-V_L 이량체를 포함한다. 대안적으로, 항체의 항원-결합 단편은 단량체성 V_H 또는 V_L 도메인을 포함할 수 있다.

[0135] 특정한 실시형태에서, 항체의 항원-결합 단편은 적어도 하나의 불변 도메인에 공유결합으로 링크된 적어도 하나의 가변 도메인을 포함할 수 있다. 본 발명의 항체의 항원-결합 단편 내에서 발견될 수 있는 가변 및 불변 도메인의 비-제한적인, 예시적인 배치는 다음을 포함한다: (i) V_H-C_H1; (ii) V_H-C_H2; (iii) V_H-C_H3; (iv) V_H-C_H1-C_H2; (v) V_H-C_H1-C_H2-C_H3; (vi) V_H-C_H2-C_H3; (vii) V_H-C_L; (viii) V_L-C_H1; (ix) V_L-C_H2; (x) V_L-C_H3; (xi) V_L-C_H1-C_H2; (xii) V_L-C_H1-C_H2-C_H3; (xiii) V_L-C_H2-C_H3; 및 (xiv) V_L-C_L. 상기 열거된 예시적인 배치 중 어느 것을 포함하는 가변 및 불변 도메인의 임의의 배치에서, 가변 및 불변 도메인은 직접적으로 서로 링크될 수 있거나, 완전 또는 부분 힌지 또는 링커 영역에 의해 링크될 수 있다. 힌지 영역은 단일 폴리펩타이드 분자 내 인접한 가변 및/또는 불변 도메인 사이에 유연성 또는 반-유연성 링크를 야기하는 적어도 2 (예: 5, 10, 15, 20, 40, 60 또는 그 초과)개의 아미노산으로 이루어질 수 있다. 또한, 본 발명의 항체의 항원-결합 단편은 서로에 대한 및/또는 하나 이상의 단량체성 V_H 또는 V_L 도메인 (예: 디설파이드 결합(들)에 의한)과의 비-공유결합 회합(association)에서 상기 열거된 가변 및 불변 도메인 배치 중 어느 것의 호모-이량체 또는 헤테로-이량체 (또는 다른 다량체)를 포함할 수 있다.

[0136] 완전 항체 분자로서, 항원-결합 단편은 단일특이적 또는 다중특이적 (예: 이중특이적)일 수 있다. 항체의 다중특이적 항원-결합 단편은 전형적으로 적어도 2개의 상이한 가변 도메인을 포함할 것이고, 여기서, 각각의 가변 도메인은 개별적인 항원에 또는 동일한 항원 상 상이한 에피토프에 특이적으로 결합할 수 있다. 본원에 개시된 예시적인 이중특이적 항체 포맷을 포함하는 임의의 다중특이적 항체 포맷은, 당해 기술에서 이용가능한 통상의 기술을 사용하여 본 발명의 항체의 항원-결합 단편의 맥락에서 사용을 위해 개조될 수 있다.

[0137] 본원에 사용된 용어 "사람 항체"는, 비-천연 발생 사람 항체를 포함하는 것을 의도한다. 상기 용어는 비-사람 포유동물에서, 또는 비-사람 포유동물의 세포에서 재조합으로 생산된 항체를 포함한다. 상기 용어는 사람 대상체로부터 단리되거나 사람 대상체에서 생성된 항체를 포함하는 것을 의도하지 않는다.

[0138] 본 발명의 항체는, 일부 실시형태에서, 재조합 사람 항체일 수 있다. 본원에 사용된 용어 "재조합 사람 항체"는, 숙주 세포 내로 형질감염된 재조합 발현 벡터를 사용하여 발현되는 항체(하기에 추가로 기술됨), 재조합, 조합 사람 항체 라이브러리로부터 단리된 항체 (하기에 추가로 기술됨), 사람 면역글로불린 유전자에 대해 형질 전환된 동물 (예: 마우스)로부터 단리된 항체(예를 들면, 참조: Taylor et al. (1992) Nucl. Acids Res. 20:6287-6295), 또는 사람 면역글로불린 유전자 서열의 다른 DNA 서열로의 스플라이싱을 수반하는 임의의 다른 방식으로 제조되거나, 발현되거나, 만들어지거나 단리된 항체와 같은 재조합 방식으로 제조되거나, 발현되거나, 만들어지거나 단리된 모든 사람 항체를 포함하는 것을 의도한다. 특정한 실시형태에서, 이러한 재조합 사람 항체에 시험관내 돌연변이생성 (또는, 사람 Ig 서열에 대한 동물 형질전환이 사용되는 경우, 생체내 신체

(somatic) 돌연변이생성)이 수행되고, 이에 따라, 재조합 항체의 V_H 및 V_L 영역의 아미노산 서열은 사람 생식선 V_H 및 V_L 서열에 관련되는 경우, 사람 항체 생식선 레퍼토리(repertoire) 내에 생체내 천연으로 존재하지 않을 수 있는 서열이다.

- [0139] 사람 항체는 힌지 이종(heterogeneity)과 회합된 2개 형태로 존재할 수 있다. 하나의 형태에서, 면역글로불린 분자는 대략 150-160 kDa의 안정한 4개의쇄 작제물을 포함하고, 여기서, 이량체는 쇄간 중쇄 디설파이드 결합에 의해 함께 유지된다. 두번째 형태에서, 이량체는 쇄-간 디설파이드 결합을 통해 링크되지 않고, 공유결합으로 커플링된 경쇄 및 중쇄 (하프-항체)로 구성된 약 75-80 kDa의 분자가 형성된다. 이들 형태는 친화도 정제 후조차도 분리하기가 극도로 어렵다.
- [0140] 다양한 비손상(intact) IgG 이소타입 중 두번째 형태의 출현 빈도는, 이에 제한되는 것은 아니지만, 항체의 힌지 영역 이소타입과 관련된 구조적 차이 때문이다. 사람 IgG4 힌지의 힌지 영역에서 단일 아미노산 치환은 사람 IgG1 힌지를 사용하여 전형적으로 관찰되는 수준까지 두번째 형태의 출현을 유의하게 감소시킬 수 있다(참조: Angal et al. (1993) Molecular Immunology 30:105). 본 발명은, 예를 들면, 제조시 목적하는 항체 형태의 수율을 개선시키는데 바람직할 수 있는, 힌지, C_H2 또는 C_H3 영역에서 하나 이상의 돌연변이를 갖는 항체를 포함한다.
- [0141] 본 발명의 항체는 단리된 항체일 수 있다. 본원에 사용된 "단리된 항체"는, 이의 천연 환경의 적어도 하나의 구성요소로부터 식별되고 분리된 및/또는 회수된 항체를 의미한다. 예를 들면, 유기체의 적어도 하나의 구성요소로부터, 또는 조직 또는 세포로부터 분리 또는 제거된 항체(여기서, 항체는 천연으로 존재하거나 천연으로 생산된다)는, 본 발명의 목적을 위해 "단리된 항체"이다. 단리된 항체는 또한 재조합 세포 내에서 동일계내 항체를 포함한다. 단리된 항체는 적어도 하나의 정제 또는 단리 단계가 수행된 항체이다. 특정한 실시형태에 따라서, 단리된 항체에는 다른 세포 물질 및/또는 화학물질이 실질적으로 없을 수 있다.
- [0142] 본원에 개시된 항-ANGPTL8 항체는 중쇄 및 경쇄 가변 도메인의 프레임워크 및/또는 CDR 영역에서 하나 이상의 아미노산 치환, 삽입 및/또는 결실을 포함할 수 있다. 이러한 돌연변이는 예를 들면, 공공 항체 서열 데이터베이스로부터 이용가능한 서열과 본원에 개시된 아미노산 서열을 비교하여 용이하게 확인될 수 있다. 수득되는 경우, 하나 이상의 돌연변이를 포함하는 항체 및 항원-결합 단편은 개선된 결합 특이성, 증가된 결합 친화도, 개선되거나 향상된 길항성 또는 작용성 생물학적 성질 (경우에 따라), 감소된 면역원성 등과 같은 하나 이상의 목적하는 성질에 대해 용이하게 시험할 수 있다. 이러한 일반적인 방식으로 수득된 항체 및 항원-결합 단편은 본 발명 내에 포함된다.
- [0143] 본 발명은 또한 하나 이상의 보조적 치환을 갖는 본원에 개시된 HCVR, LCVR, 및/또는 CDR 아미노산 서열 중 어느 것의 변종을 포함하는 항-ANGPTL8 항체를 포함한다. 예를 들면, 본 발명은, 본원의 표 1에 나열된 HCVR, LCVR, 및/또는 CDR 아미노산 서열 세트 중 어느 것에 대해, 예를 들면, 10 이하, 8 이하, 6 이하, 4 이하 등 보조적 아미노산 치환을 갖는 HCVR, LCVR, 및/또는 CDR 아미노산 서열을 갖는 항-ANGPTL8 항체를 포함한다.
- [0144] 본원에 사용된 "차단 항체" 또는 "중화 항체", (또는 "ANGPTL8 활성을 중화하는 항체")는, ANGPTL8의 적어도 하나의 생물학적 활성을 억제하거나 약화시키는 ANGPTL8로 결합하고/하거나 이와 상호작용하는 항체를 언급하기 위한 것이다. 예를 들면, 본 발명의 항체는 ANGPTL8의 지질단백질 리파아제 억제 활성을 억제할 수 있거나, ANGPTL8의 LPL 억제 활성의 억제를 통하는 것 이외의 메커니즘을 통해 혈장 트리글리세리드를 저하시킬 수 있다. 이러한 ANGPTL8의 생물학적 활성의 억제는 당해 기술분야에 공지된 수개의 표준 시험관내 또는 생체내 검정 중 하나 이상에 의해 ANGPTL8 생물학적 활성의 하나 이상의 지시자를 측정하여 평가할 수 있다. 대체(alternate) 활성은 본 발명의 항체에 관련된 트리글리세리드 저하 활성이다.
- [0145] 본원에 사용된 용어 "표면 플라즈몬 공명", 또는 "SPR"은, 예를 들면 BIACORE™ 시스템 (Pharmacia Biosensor AB, Uppsala, Sweden and Piscataway, N.J.), 또는 MASS-1 시스템 (Sierra Sensors, Hamburg, Germany and Greenville, RI)을 사용하여, 바이오센서 매트릭스 내 단백질 농도 변경의 검출에 의해 실시간 생물분자 상호작용의 분석을 가능하게 하는 광학 현상을 언급한다.
- [0146] 본원에 사용된 용어 " K_D "는, 특정 항체-항원 상호작용의 평형 해리 상수를 언급하는 것을 의도한다.
- [0147] 용어 "에피토프"는 파라토프로서 공지된 항체 분자의 가변 영역에서 특이적 항원 결합 위치와 상호작용하는 항원 결정자를 언급한다. 단일 항원은 하나 초과에 에피토프를 가질 수 있다. 따라서, 상이한 항체는 항원 상에 상이한 영역에 결합할 수 있고, 상이한 생물학적 효과를 가질 수 있다. 에피토프는 입체형태(conformational)

또는 선형 중 어느 하나일 수 있다. 입체형태 에피토프는 선형 폴리펩타이드 쇠의 상이한 세그먼트로부터 공간적으로 병치된(juxtaposed) 아미노산에 의해 생산된다. 선형 에피토프는 폴리펩타이드 쇠에서 인접한 아미노산 잔기에 의해 생산되는 것이다. 특정 상황에서, 에피토프는 삭카라이드, 포스포릴 그룹, 또는 설포닐 그룹의 모이어티를 항원 상에 포함할 수 있다.

[0148] 용어 "실질적인 동일성(substantial identity)" 또는 "실질적으로 동일한"은, 핵산 또는 이의 단편을 언급하는 경우, 또다른 핵산 (또는 이의 상보적 가닥)으로 적합한 뉴클레오타이드 삽입 또는 결실로 최적으로 정렬되는 경우, 널리 공지된 서열 동일성의 알고리즘, 예를 들면, 하기 논의된 FASTA, BLAST 또는 Gap에 의해 측정하여, 뉴클레오타이드 서열 동일성이 적어도 약 95%, 및 보다 바람직하게는 적어도 약 96%, 97%, 98% 또는 99%의 뉴클레오타이드 염기로 존재함을 지시한다. 기준 핵산 분자에 대해 실질적인 동일성을 갖는 핵산 분자는, 특정 경우에, 기준 핵산 분자에 의해 암호화된 폴리펩타이드와 동일하거나 실질적으로 유사한 아미노산 서열을 갖는 폴리펩타이드를 암호화할 수 있다.

[0149] 폴리펩타이드에 적용되는 용어 "실질적 유사성" 또는 "실질적으로 유사한"은, 예를 들면, 디폴트 갭 중량을 사용하여 프로그램 GAP 또는 BESTFIT에 의해 최적으로 정렬되는 경우 2개의 펩타이드 서열이 적어도 95% 서열 동일성, 보다 특히 바람직하게는 적어도 98% 또는 99% 서열 동일성을 공유함을 의미한다. 바람직하게는, 동일하지 않은 잔기 위치는 보존적 아미노산 치환과 상이하다. "보존적 아미노산 치환"은 아미노산 잔기가 유사한 화학적 성질 (예: 전하 또는 소수성)을 갖는 측쇄 (R 그룹)를 갖는 또다른 아미노산 잔기에 의해 치환되는 것이다. 일반적으로, 보존적 아미노산 치환은 단백질의 기능적 성질을 실질적으로 변화시키지 않을 것이다. 2개 이상의 아미노산 서열이 보존적 치환에 의해 서로 상이한 경우에, 서열 동일성의 퍼센트 또는 유사성 정도는 치환의 보존적 성질을 수정하기 위해 상향 조절될 수 있다. 이러한 조절을 실행하는 수단은 당해 기술 분야의 숙련자에게 잘 공지되어 있다. 예를 들면, 문헌을 참조하고[참조: Pearson (1994) Methods Mol. Biol. 24: 307-331], 이는 본원에 참조로서 도입된다. 유사한 화학적 성질을 갖는 측쇄를 갖는 아미노산 그룹의 예는 (1) 지방족 측쇄: 글리신, 알라닌, 발린, 류신 및 이소류신; (2) 지방족-하이드록실 측쇄: 세린 및 트레오닌; (3) 아미드-함유 측쇄: 아스파라긴 및 글루타민; (4) 방향족 측쇄: 페닐알라닌, 티로신, 및 트립토판; (5) 염기성 측쇄: 리신, 아르기닌, 및 히스티딘; (6) 산성 측쇄: 아스파르테이트 및 글루타메이트, 및 (7) 황-함유 측쇄인 시스테인 및 메티오닌을 포함한다. 바람직한 보존적 아미노산 치환 그룹은 다음과 같다: 발린-류신-이소류신, 페닐알라닌-티로신, 리신-아르기닌, 알라닌-발린, 글루타메이트-아스파르테이트, 및 아스파라긴-글루타민. 대안적으로, 보존적 교체는 문헌[참조: Gonnet et al. (1992) Science 256: 1443-1445, 본원에 참조로서 도입된다]에 기재된 PAM250 로그-가능성 매트릭스에서 양성 값을 갖는 임의의 변화이다. "중간정도(moderately) 보존적" 교체는 PAM250 로그-가능성 매트릭스에서 비-음성 값을 갖는 임의의 변화이다.

[0150] 폴리펩타이드에 대한 서열 유사성은 전형적으로 서열 분석 소프트웨어를 사용하여 측정한다. 단백질 분석 소프트웨어는 보존적 아미노산 치환을 포함하는 다양한 치환, 결실 및 다른 변형에 할당된 유사성의 측정을 사용하여 유사한 서열을 매칭한다. 예를 들면, GCG 소프트웨어는 GAP 및 BESTFIT와 같은 프로그램을 포함하고, 이는 유기체의 상이한 종으로부터의 동종 폴리펩타이드와 같은 밀접하게 관련된 폴리펩타이드들 사이에, 또는 야생형 단백질 및 이의 뮤테인 사이에 서열 상동성 또는 서열 동일성을 측정하기 위해 디폴트 파라미터로 사용될 수 있다. 예를 들면, GCG Version 6.1을 참조한다. 폴리펩타이드 서열은 또한 디폴트 또는 권고된 파라미터로 FASTA를 사용하여 비교할 수 있다; GCG 버전 6.1에서 프로그램. FASTA (예: FASTA2 및 FASTA3)는 쿼리(query) 및 검색 서열 사이의 최상 오버랩 영역의 정렬 및 퍼센트 서열 동일성을 제공한다(참조: Pearson (2000) 상기됨). 또다른 바람직한 알고리즘은, 본 발명의 서열을 상이한 유기체로부터의 많은 수의 서열을 포함하는 데이터베이스와 비교하는 경우, 디폴트 파라미터를 사용하는 컴퓨터 프로그램 BLAST, 특히 BLASTP 또는 TBLASTN이다. 예를 들면, 문헌을 참조하고[참조: Altschul et al. (1990) J. Mol. Biol. 215: 403 410 and (1997) Nucleic Acids Res. 25:3389 402], 이들 각각은 본원에 참조로서 포함된다.

[0151] 구절 "치료학적 유효량"은 목적하는 효과를 생성하기 위해 투여되는 양을 의미한다. 정확한 양은 치료 목적에 좌우될 것이고, 공지된 기술을 사용하여 당해 기술분야의 숙련자에게 확인가능할 것이다 (참조: 예를 들면, Lloyd (1999) The Art, Science and Technology of Pharmaceutical Compounding).

[0152] 본원에 사용된 용어 "치료하는" 또는 "치료"는, 유리한 또는 목적하는 임상적 결과를 수득하기 위한 접근법을 언급한다. 본 발명의 하나의 실시형태에서, 유리한 또는 목적하는 임상적 결과는, 이에 제한되는 것은 아니지만, 혈중 트리글리세리드 수준의 개선, 또는 이에 제한되는 것은 아니지만 고중성지방혈증을 포함하는, 트리글리세리드의 상승된 수준과 관련되거나 이로부터 야기되는 임의의 하나 이상의 상태, 질환, 또는 징후의

개선 등을 포함한다.

- [0153] pH-의존성 결합
- [0154] 본 발명은 pH-의존성 결합 특성을 갖는 항-ANGPTL8 항체를 포함한다. 예를 들면, 본 발명의 항-ANGPTL8 항체는 중성 pH에서와 비교하여 산성 pH에서 ANGPTL8로의 감소된 결합을 나타낼 수 있다. 대안적으로, 본 발명의 항-ANGPTL8 항체는 중성 pH에서와 비교하여 산성 pH에서 ANGPTL8로의 향상된 결합을 나타낼 수 있다. 표현 "산성 pH"는 pH 값 약 6.2 미만, 예를 들면, 약 6.0, 5.95, 5.9, 5.85, 5.8, 5.75, 5.7, 5.65, 5.6, 5.55, 5.5, 5.45, 5.4, 5.35, 5.3, 5.25, 5.2, 5.15, 5.1, 5.05, 5.0, 또는 그 미만을 포함한다. 본원에 사용된 표현 "중성 pH"는 약 7.0 내지 약 7.4의 pH를 의미한다. 표현 "중성 pH"는 약 7.0, 7.05, 7.1, 7.15, 7.2, 7.25, 7.3, 7.35, 및 7.4의 pH 값을 포함한다.
- [0155] 특정 경우에, "중성 pH와 비교하여 산성 pH에서 ANGPTL8로의 감소된 결합"은 산성 pH에서 ANGPTL8에 결합하는 항체의 K_D 값 대 중성 pH에서 ANGPTL8에 결합하는 항체의 K_D 값의 비 (또는 그 반대)의 관점에서 표현된다. 예를 들면, 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 본 발명의 목적을 위해, 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 약 3.0 또는 그 초과인 산성/중성 K_D 비를 나타내는 경우, "중성 pH와 비교하여 산성 pH에서 ANGPTL8로의 감소된 결합"을 나타내는 것으로 간주될 수 있다. 특정 예시적인 실시형태에서, 본 발명의 항체 또는 항원-결합 단편에 대한 산성/중성 K_D 비는 약 3.0, 3.5, 4.0, 4.5, 5.0, 5.5, 6.0, 6.5, 7.0, 7.5, 8.0, 8.5, 9.0, 9.5, 10.0, 10.5, 11.0, 11.5, 12.0, 12.5, 13.0, 13.5, 14.0, 14.5, 15.0, 20.0, 25.0, 30.0, 40.0, 50.0, 60.0, 70.0, 100.0 또는 그 초과일 수 있다.
- [0156] pH-의존성 결합 특성을 갖는 항체를, 예를 들면, 중성 pH에서와 비교하여 산성 pH에서 특정 항원에 감소된 (또는 향상된) 결합을 하는 항체 집단을 선별하여 획득할 수 있다. 추가로, 아미노산 수준에서 항원-결합 도메인의 변형은 pH-의존성 특징을 갖는 항체를 획득할 수 있다. 예를 들면, 항원-결합 도메인 (예: CDR 내)의 하나 이상의 아미노산을 히스티딘 잔기로 치환함에 의해, 중성 pH에 비해 산성 pH에서 감소된 항원-결합을 갖는 항체를 획득할 수 있다.
- [0157] Fc 변종을 포함하는 항-ANGPTL8 항체
- [0158] 본 발명의 특정한 실시형태에 따라서, 하나 이상의 돌연변이를 포함하는 Fc 도메인을 포함하는 항-ANGPTL8 항체가 제공되고, 이는 FcRn 수용체로의 항체 결합을, 예를 들면, 중성 pH에서와 비교하여 산성 pH에서 향상 또는 감소시킨다. 예를 들면, 본 발명은 Fc 도메인의 C_{H2} 또는 C_{H3} 영역에서 돌연변이를 포함하는 항-ANGPTL8 항체를 포함하고, 여기서, 돌연변이(들)는 산성 환경에서 (예: pH가 약 5.5 내지 약 6.0 범위인 엔도솜에서) FcRn에 대한 Fc 도메인의 친화도를 증가시킨다. 이러한 돌연변이는 동물에게 투여되는 경우 항체의 혈청 반감기 증가를 야기할 수 있다. 이러한 Fc 변형의 비-제한적 예는, 예를 들면, 위치 250 (예: E 또는 Q); 250 및 428 (예: L 또는 F); 252 (예: L/Y/F/W 또는 T), 254 (예: S 또는 T), 및 256 (예: S/R/Q/E/D 또는 T)에서 변형; 또는 위치 428 및/또는 433 (예: H/L/R/S/P/Q 또는 K) 및/또는 434 (예: A, W, H, F 또는 Y에서 변형 [N434A, N434W, N434H, N434F 또는 N434Y]); 또는 위치 250 및/또는 428에서 변형; 또는 위치 307 또는 308 (예: 308F, V308F), 및 434에서 변형을 포함한다. 하나의 실시형태에서, 변형은 428L (예: M428L) 및 434S (예: N434S) 변형; 428L, 259I (예: V259I), 및 308F (예: V308F) 변형; 433K (예: H433K) 및 434 (예: 434Y) 변형; 252, 254, 및 256 (예: 252Y, 254T, 및 256E) 변형; 250Q 및 428L 변형 (예: T250Q 및 M428L); 및 307 및/또는 308 변형 (예: 308F 또는 308P)을 포함한다. 또한 또다른 실시형태에서, 변형은 265A (예: D265A) 및/또는 297A (예: N297A) 변형을 포함한다.
- [0159] 예를 들면, 본 발명은 하기로 이루어진 그룹으로부터 선택된 돌연변이의 하나 이상의 쌍 또는 그룹을 포함하는 Fc 도메인을 포함하는 항-ANGPTL8 항체를 포함한다: 250Q 및 248L (예: T250Q 및 M248L); 252Y, 254T 및 256E (예: M252Y, S254T 및 T256E); 428L 및 434S (예: M428L 및 N434S); 257I 및 311I (예: P257I 및 Q311I); 257I 및 434H (예: P257I 및 N434H); 376V 및 434H (예: D376V 및 N434H); 307A, 380A 및 434A (예: T307A, E380A 및 N434A); 및 433K 및 434F (예: H433K 및 N434F). 상기한 Fc 도메인 돌연변이, 및 본원에 개시된 항체 가변 도메인 내에 다른 돌연변이의 모든 가능한 조합은, 본 발명의 범위 내인 것으로 고려된다.
- [0160] 본 발명은 또한 키메라 중쇄 불변 (C_H) 영역을 포함하는 항-ANGPTL8 항체를 포함하고, 여기서, 키메라 C_H 영역은 하나 초과인 면역글로불린 이소타입의 C_H 영역으로부터 유래되는 세그먼트를 포함한다. 예를 들면, 본 발명의 항체는 사람 IgG1, 사람 IgG2 또는 사람 IgG4 분자로부터 유래된 C_{H3} 도메인 중 일부 또는 전부와 조합된, 사람

IgG1, 사람 IgG2 또는 사람 IgG4 분자로부터 유래된 C_H2 도메인 중 일부 또는 전부를 포함하는 키메라 C_H 영역을 포함할 수 있다. 특정한 실시형태에 따라서, 본 발명의 항체는 키메라 힌지 영역을 갖는 키메라 C_H 영역을 포함한다. 예를 들면, 키메라 힌지는 사람 IgG1, 사람 IgG2 또는 사람 IgG4 힌지 영역으로부터 유래된 "하부 힌지" 서열 (EU 번호매김에 따라서 아미노산 잔기 위치 228 내지 236)과 조합된, 사람 IgG1, 사람 IgG2 또는 사람 IgG4 힌지 영역으로부터 유래된 "상부 힌지" 아미노산 서열 (EU 번호매김에 따라 아미노산 잔기 위치 216 내지 227)을 포함할 수 있다. 특정한 실시형태에 따라서, 키메라 힌지 영역은 사람 IgG1 또는 사람 IgG4 상부 힌지로부터 유래된 아미노산 잔기 및 사람 IgG2 하부 힌지로부터 유래된 아미노산 잔기를 포함한다. 본원에 기재된 키메라 C_H 영역을 포함하는 항체는, 특정한 실시형태에서, 항체의 치료학적 또는 약동학적 성질에 유해한 영향을 미치지 않고 변형된 Fc 효과기 기능을 나타낼 수 있다(참조: 예를 들면, 미국 가출원 번호 61/759,578, 2013년 2월 1일에 출원, 이의 개시내용은 이의 전문이 본원에 참조로서 포함된다).

[0161] 항체의 생물학적 특징

[0162] 본 발명은 ANGPTL8에 높은 친화도로 결합하는 항체 및 이의 항원-결합 단편을 포함한다. 예를 들면, 본 발명은, 본원 실시예 3 및 4에 정의된 검정 포맷, 또는 실질적으로 유사한 검정에서 예를 들면, 마우스 IgG2a Fc C-말단 융합을 갖는 재조합 ANGPTL8 단백질을 사용하여 25°C에서, 또는 37°C에서 표면 플라즈몬 공명(SPR)으로 측정하여, 사람 또는 원숭이 ANGPTL8에 약 150 nM 미만의 K_D로 결합하는 항-ANGPTL8 항체를 포함한다. 특정한 실시형태에 따라서, 예를 들면, 본원 실시예 3 및 4에 정의된 검정 포맷, 또는 실질적으로 유사한 검정을 사용하여 표면 플라즈몬 공명으로 측정하여, 25°C 또는 37°C에서 약 90 nM 미만, 또는 약 50 nM 미만, 약 3 nM 미만, 약 2 nM 미만, 약 1 nM 미만, 약 900 pM 미만, 약 500 pM 미만, 약 300 pM 미만, 약 150 pM 미만, 또는 약 90 pM 미만의 K_D로 사람 또는 원숭이 ANGPTL8에 결합하는 항-ANGPTL8 항체가 제공된다.

[0163] 본 발명은 또한, 예를 들면, 본원 실시예 3에 정의된 검정 포맷, 또는 실질적으로 유사한 검정을 사용하여 25°C 또는 37°C에서, 표면 플라즈몬 공명으로 측정하여 약 100 분 초과, 또는 약 120 분 초과, 약 130 분 초과, 약 200 분 초과, 약 300 분 초과, 약 400 분 초과, 약 500 분 초과, 또는 보다 장시간의 t_{1/2}를 갖는 사람 ANGPTL8의 N-말단 영역으로부터 유래된 서열 번호: 337의 펩타이드에 결합하는 항체 및 이의 항원-결합 단편을 포함한다. 특정한 실시형태에 따라서, 예를 들면, 본원 실시예 3에 정의된 검정 포맷, 또는 실질적으로 유사한 검정을 사용하여 표면 플라즈몬 공명으로 측정하여 25°C에서 약 110 분 이상, 약 120 분 초과, 약 130 분 초과, 약 200 분 초과, 약 300 분 초과, 약 400 분 초과, 약 500 분 초과, 또는 보다 장시간의 t_{1/2}를 갖는 사람 ANGPTL8의 N-말단 영역으로부터 유래된 펩타이드에 결합된 항-ANGPTL8 항체가 제공된다.

[0164] 본 발명은 또한 약 0.1mg/kg, 또는 약 1mg/kg, 또는 약 10mg/kg, 또는 약 25mg/kg, 또는 약 50mg/kg, 또는 약 100mg/kg의 용량으로 피하 투여되는 경우, 포유동물에서 트리글리세리드를 약 20%, 또는 약 30%, 또는 약 40%, 또는 약 50%, 또는 약 60%, 또는 그 초과까지 저하시키는 항체 및 이의 항원-결합 단편을 포함한다. 본 발명의 항체가 혈장 트리글리세리드를 저하시키는데 미치는 효과는 투여 후 적어도 7 일 내지 투여 후 약 3 주, 또는 4 주, 또는 보다 장시간 지속될 수 있다.

[0165] 본 발명의 항체는 서열 번호: 2, 18, 34, 50, 66, 82, 98, 114, 130, 146, 162, 178, 194, 210, 226, 242, 258, 266, 274, 282, 290, 298, 306, 314 및 330으로 이루어진 그룹으로부터 선택된 아미노산 서열을 갖는 중쇄 가변 영역 (HCVR); 및

[0166] 서열 번호: 10, 26, 42, 58, 74, 90, 106, 122, 138, 154, 170, 186, 202, 218, 234, 250, 및 322로 이루어진 그룹으로부터 선택된 아미노산 서열을 갖는 경쇄 가변 영역 (LCVR)을 포함하거나; 기준 항체와 교차-경쟁할 수 있고, 여기서, 기준 항체는 표 1의 중쇄 가변 영역 (HCVR) 및 경쇄 가변 영역 (LCVR) 아미노산 서열 중 어느 것으로 이루어진 그룹으로부터 선택된 HCVR 및 LCVR 아미노산 서열을 포함한다.

[0167] 본 발명의 항체는 서열 번호: 2/10, 18/26, 34/42, 50/58, 66/74, 82/90, 98/106, 114/122, 130/138, 146/154, 162/170, 178/186, 194/202, 210/218, 226/234, 242/250, 258/250, 266/250, 274/250, 282/250, 290/250, 306/250, 314/322, 및 330/322로 이루어진 그룹으로부터 선택된 HCVR/LCVR 아미노산 서열 쌍을 포함할 수 있다.

[0168] 본 발명의 항체는 다음을 포함할 수 있다:

[0169] (a) 서열 번호: 4, 20, 36, 52, 68, 84, 100, 116, 132, 148, 164, 180, 196, 212, 228, 244, 260, 268, 276, 284, 292, 300, 308, 316 및 332로 이루어진 그룹으로부터 선택된 아미노산 서열을 갖는 HCDR1 도메인;

- [0170] (b) 서열 번호: 6, 22, 38, 54, 70, 86, 102, 118, 134, 150, 166, 182, 198, 214, 230, 246, 262, 270, 278, 286, 294, 302, 310, 318, 및 334로 이루어진 그룹으로부터 선택된 아미노산 서열을 갖는 HCDR2 도메인;
- [0171] (c) 서열 번호: 8, 24, 40, 56, 72, 88, 104, 120, 136, 152, 168, 184, 200, 216, 232, 248, 264, 272, 280, 288, 296, 304, 312, 320 및 336으로 이루어진 그룹으로부터 선택된 아미노산 서열을 갖는 HCDR3 도메인;
- [0172] (d) 서열 번호: 12, 28, 44, 60, 76, 92, 108, 124, 140, 156, 172, 188, 204, 220, 236, 252 및 324로 이루어진 그룹으로부터 선택된 아미노산 서열을 갖는 LCDR1 도메인;
- [0173] (e) 서열 번호: 14, 30, 46, 62, 78, 94, 110, 126, 142, 158, 174, 190, 206, 222, 238, 254, 및 326으로 이루어진 그룹으로부터 선택된 아미노산 서열을 갖는 LCDR2 도메인; 및
- [0174] (f) 서열 번호: 16, 32, 48, 64, 80, 96, 112, 128, 144, 160, 176, 192, 208, 224, 240, 256 및 328로 이루어진 그룹으로부터 선택된 아미노산 서열을 갖는 LCDR3 도메인.
- [0175] 본 발명의 항체는 상기 언급된 생물학적 특징 중 하나 이상, 또는 임의의 이의 조합을 가질 수 있다. 상기한 열거된 본 발명의 항체의 생물학적 특징은 완전한 것으로 의도되지 않는다. 본 발명의 항체의 다른 생물학적 특징이 본원에 실행 실시예를 포함하는 본원의 개시내용을 검토하면서 당해 기술 분야의 숙련자에게 명백해질 것이다.
- [0176] 에피토프 맵핑 및 관련 기술
- [0177] 본 발명의 항체가 결합하는 에피토프는 3 이상의 (예: 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 또는 그 초과) ANGPTL8 단백질의 아미노산의 단일 인접 서열로 이루어질 수 있다. 대안적으로, 에피토프는 ANGPTL8의 복수의 비-인접 아미노산 (또는 아미노산 서열)으로 이루어질 수 있다.
- [0178] 당해 기술 분야의 숙련자에게 공지된 다양한 기술을 사용하여 항체가 폴리펩타이드 또는 단백질 내에서 "하나 이상의 아미노산과 상호작용"하는지 여부를 측정할 수 있다. 예시적인 기술은, 예를 들면, (참조: *Antibodies*, Harlow and Lane (Cold Spring Harbor Press, Cold Spring Harb., NY))에서 기술한 것과 같은 통상의 교차-차단 검정, 알라닌 스캐닝 돌연변이 분석, 펩타이드 블롯 분석 (참조: Reineke, 2004, *Methods Mol Biol* 248:443-463), 및 펩타이드 절단 분석을 포함한다. 추가로, 에피토프 절제, 에피토프 추출 및 항원의 화학적 변형과 같은 방법을 사용할 수 있다(참조: Tomer, 2000, *Protein Science* 9:487-496). 폴리펩타이드 내에서 항체와 상호작용하는 아미노산을 식별하기 위해 사용할 수 있는 또다른 방법은 질량 분석에 의해 검출되는 수소/중수소 교환이다. 일반적 조건에서, 수소/중수소 교환 방법은 관심 대상 단백질의 중수소-표지화, 이어서, 항체의 중수소-표지된 단백질로의 결합을 포함한다. 다음에, 단백질/항체 복합체를 물로 이동시켜 항체로 보호된 잔기(중수소-표지되어 유지됨)를 제외하고는 수소-중수소 교환이 모든 잔기에서 발생한다. 항체의 해리 후, 표적 단백질에 프로테아제 절단 및 질량 분광 분석을 수행하고, 이에 의해 항체가 상호작용하는 특정 아미노산에 상응하는 중수소-표지된 잔기를 나타낸다. 예를 들면, 문헌을 참조한다[참조: Ehring (1999) *Analytical Biochemistry* 267(2):252-259; Engen and Smith (2001) *Anal. Chem.* 73:256A-265A].
- [0179] 본 발명은 추가로 본원에 기재된 예시적인 특이적 항체 중 어느 것(예: 본원의 표 1에 나열된 아미노산 서열 중 어느 것을 포함하는 항체)과 동일한 에피토프에 결합하는 항-ANGPTL8 항체를 추가로 포함한다. 마찬가지로, 본 발명은 또한 ANGPTL8에 결합하기 위해 본원에 기재된 예시적인 특이적 항체 중 어느 것(예: 본원의 표 1에 나열된 아미노산 서열 중 어느 것을 포함하는 항체)과 경쟁하는 항-ANGPTL8 항체를 포함한다.
- [0180] 이는 항체가 기준 항-ANGPTL8 항체와 동일한 에피토프에 결합하는지 여부를 또는 당해 기술분야에 공지되고 본원에 예시된 통상의 방법을 사용하여 기준 항-ANGPTL8 항체와 결합을 위해 경쟁하는지 여부를 용이하게 측정할 수 있다. 예를 들면, 시험 항체가 본 발명의 기준 항-ANGPTL8 항체와 동일한 에피토프에 결합하는 경우를 측정하기 위해, 기준 항체를 ANGPTL8 단백질에 결합되게 한다. 다음에, 시험 항체가 ANGPTL8 분자에 결합하는 능력을 평가한다. 기준 항-ANGPTL8 항체와의 포화 결합 이후 시험 항체가 ANGPTL8에 결합할 수 있는 경우, 시험 항체가 기준 항-ANGPTL8 항체와 상이한 에피토프에 결합한다는 결론을 지을 수 있다. 다른 한편으로, 시험 항체가 기준 항-ANGPTL8 항체와의 포화 결합 후 ANGPTL8 분자에 결합할 수 없는 경우, 시험 항체는 본 발명의 기준 항-ANGPTL8 항체에 의해 결합된 에피토프와 동일한 에피토프에 결합할 수 있다. 이에, 추가의 통상의 실험 (예: 펩타이드 돌연변이 및 결합 분석)을 수행하여 시험 항체의 관찰된 결합의 결핍이 사실상 기준 항체와 동일한 에피토프에 결합 때문에 존재하는지 여부 또는 입체 차단 (또는 또다른 현상)이 관찰된 결합의 결핍에 원인이 있는지를 확인할 수 있다. 이러한 분류의 실험은 ELISA, RIA, Biacore, 유동 세포계측법 또는 당해 기술에서 이용

가능한 임의의 다른 정량적 또는 정성적 항체-결합 검정을 사용하여 수행할 수 있다. 본 발명의 특정한 실시형태에 따라서, 예를 들면, 1-, 5-, 10-, 20- 또는 100-배 과량의 하나의 항체가 다른 것의 결합을, 경쟁적 결합 검정으로 측정하여 적어도 50%까지, 그러나 바람직하게는 75%, 90% 또는 심지어 99%까지 억제하는 경우, 2개의 항체는 동일한 (또는 중첩) 에피토프에 결합한다(참조: 예를 들면, Junghans et al., Cancer Res. 1990:50:1495-1502). 대안적으로, 2개의 항체는 하나의 항체의 결합을 감소 또는 제거하는 항원에서 본질적으로 모든 아미노산 돌연변이가 다른 것의 결합을 감소 또는 제거하는 경우, 동일한 에피토프에 결합되는 것으로 간주된다. 2개의 항체는, 하나의 항체를 감소 또는 제거하는 아미노산 돌연변이의 단지 하나의 서브세트가 다른 것의 결합을 감소 또는 제거하는 경우, "중첩 에피토프"를 갖는 것으로 간주된다.

[0181] 항체가 기준 항-ANGPTL8 항체와 결합을 위해 경쟁(또는 결합을 위해 교차-경쟁)하는지를 측정하기 위해, 상기한 결합 방법론은 두개의 방향으로 수행한다: 첫번째 방향에서, 기준 항체를 포화 조건하에 ANGPTL8 단백질에 결합되게 하고, 이어서, 시험 항체의 ANGPTL8 분자로의 결합을 평가한다. 두번째 방향에서, 시험 항체를 포화 조건하에 ANGPTL8 분자에 결합되게 하고, 이어서, 기준 항체의 ANGPTL8 분자로의 결합을 평가한다. 둘 다의 방향에서, 단지 첫번째 (포화) 항체가 ANGPTL8 분자에 결합할 수 있는 경우, 시험 항체 및 기준 항체는 ANGPTL8에 결합하기 위해 경쟁한다고 결론지어진다. 당해 기술 분야의 숙련가에 의해 인지될 수 있는 바와 같이, 기준 항체와 결합을 위해 경쟁하는 항체는 기준 항체와 동일한 에피토프에 반드시 결합되지 않을 수 있지만, 그러나, 중첩 또는 인접한 에피토프를 결합시켜 기준 항체의 결합을 입체적으로 차단할 수 있다.

[0182] 사람 항체의 제조

[0183] 본 발명의 항-ANGPTL8 항체는 완전 사람 (비-천연 발생) 항체일 수 있다. 완전 사람 단클론 항체를 포함하는 단클론 항체의 생성 방법은, 당해 기술분야에 공지되어 있다. 임의의 이러한 공지된 방법은 본 발명의 맥락에서 사람 ANGPTL8에 특이적으로 결합하는 사람 항체를 제조하기 위해 사용될 수 있다.

[0184] VELOCIMMUNE® 기술(참조: 예를 들면, US 6,596,541, Regeneron Pharmaceuticals, VELOCIMMUNE®) 또는 단클론 항체를 생성하기 위한 임의의 다른 공지된 방법을 사용하여, 사람 가변 영역 및 마우스 불변 영역을 갖는 알레르겐에 대한 높은 친화도 키메라 항체를 초기에 단리한다. VELOCIMMUNE® 기술은 내인성 마우스 불변 영역 부위에 작동가능하게 링크된 사람 중쇄 및 경쇄 가변 영역을 포함하는 게놈을 갖는 형질전환 마우스의 생성을 수반하고, 이에 따라, 마우스는 항원 자극에 반응하는 사람 가변 영역 및 마우스 불변 영역을 포함하는 항체를 생산한다. 항체의 중쇄 및 경쇄의 가변 영역을 암호화하는 DNA는 단리되고, 사람 중쇄 및 경쇄 불변 영역을 암호화하는 DNA에 작동가능하게 링크된다. 이어서, DNA는 완전 사람 항체를 발현할 수 있는 세포에서 발현된다.

[0185] 일반적으로, VELOCIMMUNE® 마우스는 관심 대상 항원으로 시험감염(challenge)되고, 림프 세포(예를 들면, B-세포)를 항체를 발현한 마우스로부터 회수한다. 림프 세포를 골수종 세포주와 융합하여 죽지않는(immortal) 하이브리도마 세포주를 제조할 수 있고, 이러한 하이브리도마 세포주를 선별하여 관심 대상 항원에 특이적인 항체를 생산하는 하이브리도마 세포주를 식별하기 위해 선택한다. 중쇄 및 경쇄의 가변 영역을 암호화하는 DNA는 단리되고 바람직한 중쇄 및 경쇄의 이소형 불변 영역에 링크될 수 있다. 이러한 항체 단백질은 세포에서, 예를 들면, CHO 세포에서 생산될 수 있다. 대안적으로, 항원-특이적 키메라 항체 또는 경쇄 및 중쇄의 가변 도메인을 암호화하는 DNA는 항원-특이적 림프구로부터 직접적으로 단리될 수 있다.

[0186] 하기 실험에 기재된 바와 같이, 사람 가변 영역 및 마우스 불변 영역을 갖는 단리된 높은 친화도 키메라 항체는, 친화도, 선택도, 에피토프 등을 포함하는 목적하는 특징으로 특성규명되고 선택된다. 이어서, 마우스 불변 영역을 목적하는 사람 불변 영역으로 대체하여 본 발명의 완전 사람 항체, 예를 들면 야생형 또는 변형된 IgG1 또는 IgG4를 생성한다. 선택된 불변 영역이 특정 사용에 따라 가변적일 수 있지만, 높은 친화도 항원-결합 및 표적 특이성 특징이 가변 영역에 존재한다.

[0187] 일반적으로, 본 발명의 항체는 매우 높은 친화도를 갖고, 전형적으로 고체 상에 또는 용액 상에 고정된 항원에 결합하여 측정되는 경우 약 10^{-12} 내지 약 10^{-9} M의 K_D 를 갖는다.

[0188] 생물학적 등가

[0189] 본 발명의 항-ANGPTL8 항체 및 항체 단편은 기재된 항체와 다르지만 사람 ANGPTL8에 결합하는 능력을 유지하는 아미노산 서열을 갖는 단백질을 포함한다. 이러한 변종 항체 및 항체 단편은 모 서열과 비교하여 아미노산의 하나 이상의 부가, 결실, 또는 치환을 포함하지만, 기재된 항체와 본질적으로 등가인 생물학적 활성을 나타낸다. 마찬가지로, 본 발명의 항-ANGPTL8 항체-암호화 DNA 서열은, 개시된 서열과 비교하여 뉴클레오타이드의 하나 이

상의 부가, 결실, 또는 치환을 포함하지만, 본 발명의 항-ANGPTL8 항체 또는 항체 단편과 본질적으로 생물학적 등가인 항-ANGPTL8 항체 또는 항체 단편을 암호화하는, 서열을 포함한다. 이러한 변종 아미노산 및 DNA 서열의 예가 상기 논의된다.

- [0190] 2개의 항원-결합 단백질, 또는 항체는, 예를 들면, 이들이 유지한 실험 조건하에 단일 용량 또는 다중 용량 중 어느 하나로 동일한 물 용량으로 투여되는 경우 이의 흡수 속도 및 범위가 유의한 차이를 나타내지 않는 약제학적 등가물 또는 약제학적 대안인 경우, 생물학적 등가인 것으로 고려된다. 일부 항체는, 이들의 흡수 범위가 등가이지만 이들의 흡수 속도가 그렇지 않은 경우, 등가 또는 약제학적 대안인 것으로 고려되고, 이러한 흡수 속도의 차이가 의도적이고 표지화에 반영되기 때문에 생물학적 등가인 것으로 여전히 고려되고, 예를 들면, 만성 사용에서 유효 체내 약물 농도 달성에 본질적이지 않고, 연구되는 특정 약물 제품에 대해 의학적으로 의미가 없는 것으로 고려된다.
- [0191] 하나의 실시형태에서, 2개의 항원-결합 단백질은 이들의 안전성, 순도, 및 잠재성에서 임상적으로 유의한 차이가 없는 경우 생물학적 등가이다.
- [0192] 하나의 실시형태에서, 2개의 항원-결합 단백질은 환자가 기준 제품 및 생물학적 제품 사이에서 예상되는 유해 효과 위험의 증가 없이 1회 이상 스위칭될 수 있는 경우 생물학적 등가이고, 유해 효과에는 이러한 스위칭 없이 지속되는 요법과 비교하여 면역원성의 임상적으로 유의한 변화, 또는 감소된 효과가 포함된다.
- [0193] 하나의 실시형태에서, 2개의 항원-결합 단백질은, 이들 둘 다가 사용 조건 또는 조건들에 대한 공통의 작용 메카니즘 또는 메카니즘들에 의해 이러한 메카니즘이 공지된 범위까지 작용되는 경우, 생물학적 등가이다.
- [0194] 생물학적등가성은 생체내 및 시험관내 방법으로 입증될 수 있다. 생물학적등가성 측정법은, 예를 들면, (a) 사람 또는 다른 포유동물에서 생체내 시험, 여기서, 항체 또는 이의 대사물질의 농도는 시간 함수로서 혈액, 혈장, 혈청, 또는 다른 생물학적 유체에서 측정됨; (b) 상호관련되고 사람 생체내 생체이용률 데이터의 합리적으로 예측되는 시험관내 시험; (c) 사람 또는 다른 포유동물에서 생체내 시험, 여기서, 항체 (또는 이의 표적)의 적합한 급성 약리학적 효과가 시간의 함수로서 측정됨; 및 (d) 항체의 안전성, 효능, 또는 생체이용률 또는 생물학적등가성을 확립하는 양호하게-제어된 임상적 시도를 포함한다.
- [0195] 본 발명의 항-ANGPTL8 항체의 생물학적 등가 변종은, 예를 들면, 잔기 또는 서열의 다양한 치환을 수행하거나 생물학적 활성에 필요하지 않은 말단 또는 내부 잔기 또는 서열을 삭제하여 삭제될 수 있다. 예를 들면, 생물학적 활성에 본질적이지 않은 시스테인 잔기는 삭제 또는 다른 아미노산과 대체되어 복원시 불필요한 또는 부정확한 분자내 디설파이드 브릿지의 형성을 방지할 수 있다. 다른 맥락에서, 생물학적 등가 항체는 항체의 글리코실화 특징을 변형시키는 아미노산 변화를 포함하는 항-ANGPTL8 항체 변종을 포함할 수 있고, 예를 들면, 글리코실화를 제거하거나 없애는 돌연변이이다.
- [0196] 다중특이적 항체
- [0197] 본 발명의 항체는 단일특이적 또는 다중특이적 (예: 이중특이적)일 수 있다. 다중특이적 항체는 하나의 표적 폴리펩타이드의 상이한 에피토프에 대해 특이적일 수 있거나, 하나 초과 표적 폴리펩타이드에 특이적인 항원-결합 도메인을 포함할 수 있다. 예를 들면, 문헌을 참조한다[참조: Tutt et al., 1991, J. Immunol. 147:60-69; Kufer et al., 2004, Trends Biotechnol. 22:238-244]. 본 발명의 항-ANGPTL8 항체는 또다른 기능성 분자, 예를 들면, 또다른 펩타이드 또는 단백질에 링크되거나 공-발현될 수 있다. 예를 들면, 항체 또는 이의 단편은 하나 이상의 다른 분자 실체, 예를 들면, 또다른 항체 또는 항체 단편에 (예: 화학적 커플링, 유전 융합, 비공유결합 회합에 의해 또는 그외) 기능적으로 링크되어 두번째 결합 특이성을 갖는 이중-특이적 또는 다중특이적 항체를 생산할 수 있다.
- [0198] 본 발명은 이중특이적 항체를 포함하고, 여기서, 면역글로불린의 하나의 암(arm)은 사람 ANGPTL8에 결합하고, 면역글로불린의 다른 암(arm)은 두번째 항원에 특이적이다. ANGPTL8-결합 암(arm)은 본원의 표 1에 나열된 HCVR/LCVR 또는 CDR 아미노산 서열 중 어느 것을 포함할 수 있다.
- [0199] 본 발명의 맥락에서 사용될 수 있는 예시적인 이중특이적 항체 포맷은 첫번째 면역글로불린 (Ig) C_H3 도메인 및 두번째 Ig C_H3 도메인의 사용을 수반하고, 여기서, 첫번째 및 두번째 Ig C_H3 도메인은 적어도 하나의 아미노산과 서로 상이하고, 여기서, 적어도 하나의 아미노산 상이함은, 아미노산 상이함이 결핍된 이중-특이적 항체과 비교하여, 이중특이적 항체의 단백질 A로의 결합을 감소시킨다. 하나의 실시형태에서, 첫번째 Ig C_H3 도메인은 단백질 A에 결합하고, 두번째 Ig C_H3 도메인은 H95R 변형과 같은 단백질 A 결합을 감소 또는 폐지하는 돌연변이를

포함한다(IMGT 엑손 번호매김에 의해; EU 번호매김에 의해 H435R). 두번째 C_H3은 추가로 Y96F 변형을 포함할 수 있다(IMGT에 의해; EU에 의해 Y436F). 두번째 C_H3 내에 발견될 수 있는 추가의 변형은 다음을 포함한다: IgG1 항체의 경우에 D16E, L18M, N44S, K52N, V57M, 및 V82I (IMGT에 의한; EU에 의해 D356E, L358M, N384S, K392N, V397M, 및 V422I); IgG2 항체의 경우에 N44S, K52N, 및 V82I (IMGT; EU에 의해 N384S, K392N, 및 V422I); 및 IgG4 항체의 경우에 Q15R, N44S, K52N, V57M, R69K, E79Q, 및 V82I (IMGT에 의해; EU에 의해 Q355R, N384S, K392N, V397M, R409K, E419Q, 및 V422I). 상기한 이종특이적 항체 포맷에 대한 변형은 본 발명의 범위 내인 것으로 고려된다.

[0200] 본 발명의 맥락에서 사용될 수 있는 다른 예시적인 이종특이적 포맷은, 제한 없이, 예를 들면, scFv-기반 또는 디아바디 이종특이적 포맷, IgG-scFv 융합, 이중 가변 도메인 (DVD)-Ig, Quadroma, 노브-인투-홀(knobs-into-holes), 공통의 경쇄 (예: 노브-인투-홀을 갖는 공통의 경쇄 등), CrossMab, CrossFab, (SEED)body, 류신 지퍼, 듀오바디(Duobody), IgG1/IgG2, 이중 작용 Fab (DAF)-IgG, 및 Mab² 이종특이적 포맷을 포함한다 (참조: 예를 들면, Klein et al. 2012, mAbs 4:6, 1-11, 및 상기 포맷을 평가하기 위한 본원에 인용된 참조문헌). 이종특이적 항체는 또한 펩타이드/핵산 집합을 사용하여 작제될 수 있고, 예를 들면, 여기서, 직교 화학적 반응을 갖는 비천연 아미노산이 사용되어 위치-특이적 항체-올리고뉴클레오타이드 집합체를 생성하고, 이어서, 한정된 조성, 원자가 및 기하학을 갖는 다량체성 복합체로 자가-어셈블리된다. (참조: 예를 들면, Kazane et al., J. Am. Chem. Soc. [Epub: Dec. 4, 2012]).

[0201] 치료학적 제형 및 투여

[0202] 본 발명은 본 발명의 항-ANGPTL8 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 포함하는 약제학적 조성물을 제공한다. 본 발명의 약제학적 조성물은 개선된 이동, 전달, 내성 등을 제공하는 적합한 담체, 부형제, 및 다른 제제와 함께 제형화된다. 다수의 적합한 제형이 모든 약제 화학자에게 공지된 의약품집에서 발견될 수 있다: 참조: Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Company, Easton, PA. 이들 제형은, 예를 들면, 분말, 페이스트, 연고, 젤리, 왁스, 오일, 지질, 지질 (양이온성 또는 음이온성) 함유 소포 (예를 들면, LIPOFECTIN™, Life Technologies, Carlsbad, CA), DNA 집합체, 무수 흡수 페이스트, 수중유 및 유중수에 멸전, 에멸전 카보왁스(다양한 분자량의 폴리에틸렌 글리콜), 반고체 겔, 및 카보왁스를 포함하는 반고체 혼합물을 포함한다. 또한 문헌을 참조한다[참조: Powell et al. "Compendium of excipients for parenteral formulations" PDA (1998) J Pharm Sci Technol 52:238-311].

[0203] 환자에게 투여되는 항체의 용량은 환자의 연령 및 사이즈, 표적 질환, 상태, 투여 경로 등에 좌우되어 변할 수 있다. 바람직한 용량은 전형적으로 체중 또는 체표면적에 따라 계산된다. 성인 환자에서, 본 발명의 항체를 약 0.01 내지 약 20 mg/kg 체중, 보다 바람직하게는 약 0.02 내지 약 7, 약 0.03 내지 약 5, 또는 약 0.05 내지 약 3 mg/kg 체중의 단일 용량으로 정맥내 정상적으로 투여하는 것이 유리할 수 있다. 상태의 중증도에 좌우되어, 치료 빈도 및 기간이 조절될 수 있다. 항-ANGPTL8 항체를 투여하기 위한 효과적인 용량 및 스케줄은 경험적으로 측정될 수 있고; 예를 들면, 환자 경과를 주기적 평가, 및 이에 따라 조절되는 용량에 의해 모니터링될 수 있다. 또한, 용량의 종간 비례 조정(interspecies scaling)은 당해 기술 분야에 잘 공지된 방법을 사용하여 수행될 수 있다(참조: Mordenti et al., 1991, Pharmaceut. Res. 8:1351).

[0204] 본 발명의 약제학적 조성물을 투여하기 위해 사용될 수 있는 다양한 전달 시스템이 공지되어 있고, 예를 들면, 리포솜 내 캡슐화, 마이크로입자, 마이크로캡슐, 돌연변이 바이러스, 수용체 매개된 엔도시토시스 발현 가능 재조합 세포이다(참조: 예를 들면, Wu, et al., 1987, J. Biol. Chem. 262:4429-4432). 도입 방법은, 이에 제한되는 것은 아니지만, 피내, 근육내, 복막내, 정맥내, 피하, 비내, 경막외, 및 경구 경로를 포함한다. 조성물은 임의의 용이한 경로로, 예를 들면 주입 또는 볼루스 주사에 의해, 상피 또는 점막 피부 내층(예: 경구 점막, 직장 및 장 점막 등)을 통한 흡수에 의해 투여될 수 있고, 다른 생물학적 활성 제제와 함께 투여될 수 있다. 투여는 전신 또는 국소일 수 있다.

[0205] 본 발명의 약제학적 조성물은 피하 또는 정맥내로 표준 바늘 및 주사기로 전달될 수 있다. 추가로, 피하 전달에 대해, 펜 전달 디바이스가 본 발명의 약제학적 조성물의 전달에서 용이하게 적용된다. 이러한 펜 전달 디바이스는 재사용가능하거나 일회용일 수 있다. 재사용가능한 펜 전달 디바이스는 일반적으로 약제학적 조성물을 포함하는 교체가능한 카트리지를 이용한다. 카트리지 내의 약제학적 조성물 전부가 투여되어 카트리지가 비는 경우, 빈 카트리지는 용이하게 폐기되고, 약제학적 조성물을 포함하는 새로운 카트리지로 교체될 수 있다. 이어서, 펜 전달 디바이스는 재사용될 수 있다. 일회용 펜 전달 디바이스에서, 교체가능한 카트리지가 없다. 오

히려, 일회용 펜 전달 디바이스는 디바이스 내 저장소에 보유된 약제학적 조성물로 미리 채워진다. 약제학적 조성물의 저장소가 비워지면, 전체 디바이스는 폐기된다.

[0206] 다수의 재사용가능한 펜 및 자동주사 전달 디바이스는 본 발명의 약제학적 조성물의 피하 전달에서 적용된다. 이의 예는, 이에 제한되는 것은 아니지만 AUTOPEN™ (Owen Mumford, Inc., Woodstock, UK), DISETRONIC™ 펜 (Disetronic Medical Systems, Bergdorf, Switzerland), HUMALOG MIX 75/25™ 펜, HUMALOG™ 펜, HUMALIN 70/30™ 펜 (Eli Lilly and Co., Indianapolis, IN), NOVOPEN™ I, II 및 III (Novo Nordisk, Copenhagen, Denmark), NOVOPEN JUNIOR™ (Novo Nordisk, Copenhagen, Denmark), BD™ 펜 (Becton Dickinson, Franklin Lakes, NJ), OPTIPEN™, OPTIPEN PRO™, OPTIPEN STARLET™, 및 OPTICLIK™ (Sanofi-Aventis, Frankfurt, Germany)을 포함하고, 이들은 단지 소수만 지칭한다. 본 발명의 약제학적 조성물을 피하 전달로 적용하는 일회용 펜 전달 디바이스의 예는, 이에 제한되는 것은 아니지만 SOLOSTAR™ 펜 (Sanofi-Aventis), FLEXPEN™ (Novo Nordisk), 및 KWIKPEN™ (Eli Lilly), SURECLICK™ 자동주사 (Amgen, Thousand Oaks, CA), PENLET™ (Haselmeier, Stuttgart, Germany), EPIPEN (Dey, L.P.), 및 HUMIRA™ 펜 (Abbott Labs, Abbott Park IL)을 포함하고, 이들은 단지 소수만 지칭한다.

[0207] 특정 상황에서, 약제학적 조성물은 제어 방출 시스템으로 전달될 수 있다. 하나의 실시형태에서, 펌프가 사용될 수 있다(참조: Langer, 상기됨; Sefton, 1987, CRC Crit. Ref. Biomed. Eng. 14:201). 또다른 실시형태에서, 중합체성 물질이 사용될 수 있고 다음 문헌을 참고한다; Medical Applications of Controlled Release, Langer and Wise (eds.), 1974, CRC Pres., Boca Raton, Florida. 또한 또다른 실시형태에서, 제어 방출 시스템은 조성물의 표적에 근접하여 위치할 수 있고, 이에 따라, 전신 용량의 일부를 요구한다(참조: 예를 들면, Goodson, 1984, in Medical Applications of Controlled Release, 상기됨, vol. 2, pp. 115-138). 다른 제어 방출 시스템은 문헌에 의해 평가가 논의된다[참조: Langer, 1990, Science 249:1527-1533].

[0208] 주사가능한 제제는 정맥내, 피하, 피내 및 근육내 주사, 점적 주입 등을 위한 용량 형태(dosage form)를 포함할 수 있다. 이들 주사가능한 제제는 공공으로 공지된 방법으로 제조될 수 있다. 예를 들면, 주사가능한 제제는, 예를 들면, 상기한 항체 또는 이의 염을 주사를 위해 통상 사용되는 멸균된 수성 매질 또는 유성 매질에 용해, 현탁 또는 유화시켜 제조할 수 있다. 주사를 위한 수성 매질로서, 예를 들면, 생리 식염수, 글루코스를 포함하는 등장성 용액 및 다른 보조제 등이 있고, 이는 알코올 (예: 에탄올), 폴리알코올 (예: 프로필렌 글리콜, 폴리 에틸렌 글리콜), 비이온성 계면활성제 [예를 들면, 폴리소르베이트 80, 수소화 피자마 오일의 HCO-50 (폴리옥시 에틸렌 (50 mol) 부가물)] 등과 같은 적합한 가용화제와 함께 사용할 수 있다. 유성 매질로서, 예를 들면, 참기름, 대두유 등이 사용되고, 이는 벤질 벤조에이트, 벤질 알코올 등과 같은 가용화제와 함께 사용할 수 있다. 따라서, 제조된 주사는 바람직하게는 적합한 앰플에 채운다.

[0209] 유리하게는, 상기한 경구 또는 비경구 사용을 위한 약제학적 조성물은 활성 성분의 용량을 맞추는데 적합한 단위 용량으로 용량 형태로 제조된다. 단위 용량의 이러한 용량 형태는, 예를 들면, 정제, 알약, 캡슐, 주사 (앰플), 좌제 등을 포함한다. 포함되는 상기 항체의 양은 일반적으로 단위 용량의 용량 형태당 약 5 내지 약 500 mg이고; 특히 주사 형태로, 상기한 항체는 약 5 내지 약 100 mg로 포함되고 다른 용량 형태의 경우에는 약 10 내지 약 250 mg로 포함되는 것이 바람직하다.

[0210] 면역접합체

[0211] 본 발명은 치료학적 모이어티 ("면역접합체"), 예를 들면, 혈중 트리글리세리드 또는 지질 수준을 감소시킬 수 있는 제제에 접합된 사람 항-ANGPTL8 단클론 항체를 포함한다. 항-ANGPTL8 항체에 접합될 수 있는 치료학적 모이어티의 유형은 치료될 상태 및 성취되는 목적하는 치료학적 효과를 고려할 것이다. 예를 들면, 고중성지질혈증, 또는 임의의 다른 상태를 치료하기 위해, 이에 의해 혈중 트리글리세리드를 저하시키고, 및/또는 정상 혈중 트리글리세리드 수준을 유지하는 것이 바람직할 수 있고, 제제는 ANGPTL8 항체에 접합될 수 있다. 대안적으로, 목적하는 치료학적 효과가 고중성지질혈증과 관련된 후유증 또는 징후, 또는 높은, 또는 제어되지 않는 혈중 트리글리세리드 수준으로부터 초래되는 임의의 다른 상태를 치료하기 위한 경우, 상태의 후유증 또는 징후를 치료하기 위해 적합한 제제를 접합하는 것이 유리할 수 있다. 면역접합체를 형성하기 위한 적합한 제제의 예는 당해 기술분야에 공지되어 있고, 예를 들면, WO 05/103081을 참조한다.

[0212] 항체의 치료학적 용도

[0213] 본 발명의 항체는 예를 들면, 고중성지질혈증을 앓고 있는 환자에서 혈중 트리글리세리드 수준을 저하시키기 위해, 및 또한 ANGPTL8 활성의 억제에 유리한 광범위한 상태 및 장애를 치료를 위해 유용하다. 따라서, 항체는,

예를 들면, 내분비계, 중추 신경계, 말초 신경계, 심혈관계, 폐기관계, 및 위장관계의 질환 또는 상태 또는 관련 징후 또는 후유증을 예방, 치료, 또는 완화하면서 동시에 현재 치료와 관련된 원치 않는 하나 이상의 부작용을 감소 및/또는 제거하기 위한 용도를 발견할 수 있다.

- [0214] 예를 들면, 본 발명의 항체는, 이에 제한되는 것은 아니지만, 지질 대사에 연관된 것들, 예를 들면, 고지질혈증, 고지방단백혈증 및 죽종형성 이상지질혈증, 당뇨병성 이상지질혈증을 포함하는 이상지질혈증, TG > 1000 mg/dL의 중증 고중성지질혈증을 포함하는 고중성지질혈증 및 관련 급성 췌장염, 고콜레스테롤혈증, 킬로미크론혈증, 혼합 이상지질혈증 (비만, 대사 증후군, 당뇨병 등), 지방디스트로피, 지방위축증 등, 예를 들면, 감소된 LPL 활성 및/또는 LPL 결핍, 변경된 ApoC2, ApoE 결핍, 증가된 ApoB, 초저-밀도 지질단백질 (VLDL)의 증가된 생성 및/또는 감소된 제거, 특정 약물 치료 (예: 글루코코르티코이드 치료-유도된 이상지질혈증), 임의의 유전적 소인, 식이, 생활방식에 의해 야기되는 것들 등을 포함하는 질환 또는 장애를 치료하기 위해 사용될 수 있다.
- [0215] 본 발명의 방법은 또한, 이에 제한되는 것은 아니지만, 심혈관 질환 또는 장애, 예를 들면, 죽상동맥경화증, 동맥류, 고혈압, 협심증, 뇌졸중, 뇌혈관 질환, 울혈성심부전, 관상 동맥 질환, 심근 경색증, 말초 혈관 질환, 등; 급성 췌장염; 비알코올성지방간염 (NASH); 혈당 장애, 예를 들면, 당뇨병 (예: II형 당뇨병); 비만 등을 포함하는 중성지방혈증, 고중성지질혈증, 고지질혈증, 고지방단백혈증, 및/또는 이상지질혈증에 관련되거나 이로부터 야기되는 질환 또는 장애를 예방 또는 치료할 수 있다.
- [0216] 본 발명의 방법은 또한 비만과 관련된 질환 또는 장애를 예방 또는 치료할 수 있다. 특정한 실시형태에서, 본 발명의 방법은 ANGPTL8 억제제/길항제를 투여하여, 대상체에서 체중 감소를 성취하고, 체지방량 감소를 성취하고, 에너지 소비를 증가시키고, 갈색 지방 특이적 유전자의 발현을 유도하고, 및/또는 HDL-C를 증가시키는데 사용될 수 있다.
- [0217] 하나의 실시형태에서, 본 발명의 적어도 하나의 항체, 또는 이의 항원-결합 단편은, 대사 증후군 관련 이상지질혈증, 비만을 치료하기 위해, 또는 체중 증가를 예방하기 위해, 또는 정상 체중을 유지하기 위해 사용할 수 있다.
- [0218] 하나의 실시형태에서, 본 발명은 혈중 트리글리세리드 수준을 저하시키기 위한, 또는 높은 혈중 트리글리세리드 수준과 관련되거나 이를 부분적으로 특징으로 하는 상태 또는 질환, 또는 상기 상태 또는 질환에 관련된 적어도 하나의 징후 또는 합병증을 치료하기 위한 방법을 제공하고, 상기 방법은 표 1로부터의 사람 ANGPTL8에 특이적인 하나 이상의 항체를 포함하는 약제학적 조성물을 이를 필요로 하는 환자에게 투여함을 포함하고, 이로서 혈중 트리글리세리드 수준을 저하시키거나 상태 또는 질환이 중재되거나, 상기 상태 또는 질환에 관련된 적어도 하나의 징후 또는 합병증의 중증도가 완화되거나 감소된다.
- [0219] 하나의 실시형태에서, 본 발명의 적어도 하나의 항체, 또는 이의 항원-결합 단편은, 단독으로 사용될 수 있거나 고중성지질혈증, 또는 고중성지질혈증과 관련된 적어도 하나의 징후를 치료하기 위한 두번째 또는 세번째 치료학적 체제를 병용하여 사용될 수 있거나, 예를 들면, 고중성지질혈증, 예를 들면, 가족성 고중성지질혈증 또는 가족성 이상베타지질단백혈증이 발병할 유전적 소인을 갖는 환자에서 고중성지질혈증을 획득할 위험이 있는 환자를 치료하는데 사용할 수 있다.
- [0220] 다른 상태는 환자를 높은 수준의 트리글리세리드에 취약하게 할 수 있다. 예를 들면, 특정 의약품, 예를 들면, 베타 차단제, 산아제한 약약, 이뇨제, 스테로이드, 또는 타목시펜의 사용은 트리글리세리드의 상승된 수준을 야기할 수 있고, 이로서 환자의 발병 가능성, 또는 높은 수준의 트리글리세리드와 관련된 합병증, 예를 들면, 죽상동맥경화증, 뇌졸중, 심장 마비, 및 다른 심장 상태를 증가시킬 수 있다.
- [0221] 추가로, 특정한 다른 상태는 높은 수준의 트리글리세리드를 야기할 수 있고, 여기에는 비만, 제어되지 않은 당뇨병, 갑상샘기능저하증, 신장 질환, 또는 알코올 소비가 포함된다.
- [0222] 하나의 실시형태에서, 항체는 상승된 혈중 트리글리세리드 수준을 부분적으로 특징으로 하는 질환 또는 장애의 개시를 예방하기 위해, 또는 이러한 질환 또는 장애의 발병 가능성을 예방하기 위해, 또는 질환 또는 장애의 중증도, 또는 질환 또는 장애에 관련된 적어도 하나의 징후를 완화하기 위해 사용될 수 있다. 본 발명의 항체가 단독으로 사용될 수 있거나, 상승된 혈중 트리글리세리드 수준을 부분적으로 특징으로 하는 질환 또는 상태, 예를 들면, 이에 제한되는 것은 아니지만, 고중성지질혈증을 앓고 있는 환자를 치료하기 위한 표준 치료제로서 공지된 다른 제제 또는 방법과 함께 부가 요법으로서 사용될 수 있다는 것이 구상된다. 이러한 표준 요법은 혈중 트리글리세리드, 또는 지질의 저하, 또는 체중 감소에 유용한 수액 투여, 또는 임의의 다른 약제학적 체제의 투

여를 포함할 수 있다.

- [0223] 하나의 실시형태에서, 본원에 기재된 항체의 용도는, 트리글리세리드의 정상 수준을 성취하여, 이에 의해 하나 이상의 징후 또는 높은 트리글리세리드 수준을 특징으로 하는 질환과 관련된 장기간 합병증을 개선, 또는 예방 하는데 효과적인 수단일 수 있다.
- [0224] 본 발명의 항체가 급성 환경 (단기간 용도를 위해)에서, 또는 장기간 (만성) 용도를 위해 사용될 수 있다는 것이 구상된다.
- [0225] 병용 요법
- [0226] 병용 요법은 본 발명의 항-ANGPTL8 항체 및, 본 발명의 항체, 또는 본 발명의 항체의 생물학적 활성 단편과 유리하게 병용될 수 있는 임의의 추가 치료학적 제제를 포함할 수 있다.
- [0227] 예를 들면, 본 발명의 항체가 상승된 트리글리세리드 수준을 부분적으로 특징으로 하는 질환 또는 상태, 예를 들면, 고중성지질혈증의 치료에서 사용하기 위해 고려되는 경우, 두번째 치료학적 제제는 높은 혈중 트리글리세리드 수준을 특징으로 하는 질환 또는 상태를 앓고 있는 환자에서 트리글리세리드 수준을 추가로 저하시키는 것을 돕기 위해, 또는, 적어도 하나의 징후를 감소시키기 위해 이용할 수 있다. 이러한 두번째 제제는, 예를 들면, 또다른 ANGPTL8 길항제 (예: 또다른 상이한 항-ANGPTL8 항체 또는 ANGPTL8의 소분자 억제제)로부터 선택할 수 있거나, 중성지방혈증, 또는 상승된 혈중 트리글리세리드 수준과 관련되거나 이로부터 야기된 다른 질환 또는 상태를 치료하는데 유용한 다른 치료학적 모이어터 또는 상승된 및/또는 제어되지 않는 혈중 트리글리세리드 수준과 관련된 임의의 장기간 합병증을 치료하는데 유용한 제제를 포함할 수 있다.
- [0228] 관련 실시형태에서, 본 발명은, 본 발명의 항체 또는 이의 항원-결합 단편, 및 두번째 치료학적 제제, 예를 들면, (1) 3-하이드록시-3-메틸글루타릴-코엔자임 A (HMG-CoA) 리덕타제 억제제, 예를 들면, 세리바스타틴, 아토르바스타틴, 심바스타틴, 피타바스타틴, 로수바스타틴, 플루바스타틴, 로바스타틴, 프라바스타틴, 등; (2) 콜레스테롤 흡수 및/또는 담즙산 재-흡수 억제제; (3) 지질단백질 이화를 증가시키는 니아신; (4) 저-밀도 지질단백질 (LDL) 수준을 감소시키고, 고-밀도 지질단백질 (HDL) 및 TG 수준을 개선시키고, 비-치명적 심장 마비의 수를 감소시키는 피브레이트 또는 양쪽성 카복실산; 및 (5) 콜레스테롤 제거에서 역할을 하는 LXR 전사 인자의 활성제, 예를 들면, 22-하이드록시콜레스테롤, 또는 고정 병용물, 예를 들면, 에제티미브 플러스 심바스타틴; 담즙 수지를 갖는 스타틴 (예: 콜레스티라민, 콜레스티폴, 콜레세벨람), 니아신 플러스 스타틴의 고정 병용물 (예: 로바스타틴을 갖는 니아신); 또는 다른 지질 저하제, 예를 들면, 오메가-3-지방산 에틸 에스테르 (예를 들면, 오마코르)와의 병용물인 조성물을 특징으로 한다.
- [0229] 또한, 두번째 치료학적 제제는 하나 이상의 다른 글루카곤의 억제제/길항제 또는 글루카곤 수용체의 억제제/길항제, 뿐만 아니라 다른 분자의 억제제, 예를 들면, ANGPTL8의 다른 억제제, 뿐만 아니라 다른 분자, 예를 들면, ANGPTL3, ANGPTL4, ANGPTL5, ANGPTL6, 아포지질단백질 C-III (또한 APOC3으로 언급됨; 예를 들면, US8530439, US7750141, US7598227에 언급된 APOC3의 억제제를 참조함 및 볼라네소르센, 또한 ISIS-APOCIIIIRx로 언급됨) 및 전구단백질 컨버타제 서브틸리신/켁신 타입 9 (PCSK9)(이는 지질 대사, 특히, 콜레스테롤 및/또는 트리글리세리드 항상성과 연관됨)의 억제제일 수 있다. 이들 분자의 억제제는 이들 분자에 특이적으로 결합하고 이들의 활성을 차단하는 소분자, 안티센스 분자 및 항체를 포함한다.
- [0230] 하나의 실시형태에서, 본 발명의 항-ANGPTL3 항체가 질환, 예를 들면, 당뇨병 (예: 2형 당뇨병)을 치료하기 위해 사용되는 경우, 이들 항체는 현재 사용가능한 하기 당뇨병 치료제 중 하나 이상과 병용하여 사용할 수 있다. 이들은 다음을 포함한다: 인슐린, 인슐린 유사체 (하기 참조), 비구아나이드 (메트포르민), 설포닐우레아 (예: 글리부라이드, 글리피지드), PPAR 감마 작용제 (예: 피오글리타존, 로시글리타존), 알파 글루코시다제 억제제 (예: 아카르보스, 보글리보스), 글루카곤-유사 펩타이드 1 (GLP-1) 수용체 작용제 (예: BYETTA® (엑세나타이드), TRULICITY™ (둘라글루타이드), VICTOZA® (리라글루타이드), LYXUMIA® (릭시세나타이드), TANZEUM™ (알비글루타이드), 또는 상기한 것들 중 어느 것의 유사체), 디펩티딜 펩티다제 IV (DPP-4) 억제제 (예: 삭사글립틴 (ONGLYZA®), 시탈립틴 (JANUVIA®), 및 빌다글립틴 (GALVUS®), 나트륨-글루코스 공동-운반자 2 (SGLT2) 억제제 (예: INVOKANA™ (카나글리플로진), FORXIGA® (다파글리플로진), 엠파글리플로진, 이프라글리플로진, 토포글리플로진), (SYMLIN® (프람린타이드), 글루카곤 수용체 길항제 (예를 들면, US8545847에 기재됨), 및 글루카곤 길항제.
- [0231] 특정한 관련 실시형태에서, 조성물은 비-설포닐우레아 분비촉진제, 속효성 (예: 리스프로, 아스파르트, 글루리신) 및 지속성 (예: 데테미르 인슐린, 데글루테크 인슐린, 또는 글라르긴 인슐린을 포함하는 인슐린 유사체, 액

센딘-4 폴리펩타이드, 베타 3 아드레날린수용체 작용제, 콜레스테롤 흡수 및/또는 담즙산 재-흡수 억제제, LDL-콜레스테롤 길항제, 콜레스테롤 에스테르 전달 단백질 길항제 (예: 토르세트라피브, 아나세트라피브, 달세트라피브, 또는 에바세트라피브), 엔도텔린 수용체 길항제, 성장 호르몬 길항제, 인슐린 감작제, 아밀린 미메틱 또는 작용제, 칸나비노이드 수용체 길항제, 글루카곤-유사 펩타이드-1 수용체 작용제, 멜라노코르틴, 멜라닌-농축 호르몬 수용체 작용제, SNRIs, 설파아세포 성장 인자 21 (FGF21) 미메틱 (참조: 예를 들면, US20110002845 및 US20080261236), 설파아세포 성장 인자 수용체 1c (FGFR1c) 작용제 (참조: 예를 들면, US20110150901), 최종 당화산물 형성 억제제, 예를 들면, 이에 제한되는 것은 아니지만, 아미노구아니딘, 및 단백질 티로신 포스파타제 억제제로 이루어진 그룹으로부터 선택된 두번째 제제를 포함할 수 있다.

[0232] 관련 실시형태에서, 두번째 치료학적 제제는, 필요한 경우 기저 상태에 동반되는 징후를 개선 및/또는 감소시키기 위한, 하나 이상의 다른 치료학적 제제, 예를 들면, 진통제, 비-스테로이드성 소염성 약물 (NSAIDs)을 포함하는 소염제, 예를 들면, Cox-2 억제제 동일 수 있다.

[0233] 추가의 치료학적 활성 성분(들)은 본 발명의 항-ANGPTL8 항체의 투여 전에, 이와 동시에, 이 후에 투여될 수 있다. 본원 개시의 목적을 위해, 이러한 투여 용법은 두번째 치료학적 활성 성분과 "병용한" 항-ANGPTL8 항체의 투여를 고려한다.

[0234] 투여 용법

[0235] 본 발명의 특정한 실시형태에 따라서, 항-ANGPTL8 항체 (또는 항-ANGPTL8 항체 및 본원에 언급된 추가의 치료학적 활성 제제 중 어느 것의 병용물을 포함하는 약제학적 조성물)의 다중 용량을 대상체에게 한정된 시간 과정에 걸쳐서 투여할 수 있다. 본 발명의 이러한 측면에 따른 방법은 본 발명의 항-ANGPTL8 항체의 다중 용량을 대상체에게 순차적으로 투여함을 포함한다. 본원에 사용된 "순차적으로 투여함"은 항-ANGPTL8 항체의 각 용량이 대상체에게 상이한 시점에서, 예를 들면, 미리결정된 간격 (예: 시간, 일, 주 또는 개월)으로 분리된 상이한 날에 투여됨을 의미한다. 본 발명은 환자에게 항-ANGPTL8 항체의 단일 초기 용량, 이어서, 항-ANGPTL8 항체의 하나 이상의 이차 용량, 및 임의로 이어서, 항-ANGPTL8 항체의 하나 이상의 삼차 용량을 순차적으로 투여함을 포함하는 방법을 포함한다.

[0236] 용어 "초기 용량", "이차 용량", 및 "삼차 용량"은, 본 발명의 항-ANGPTL8 항체의 일시적 투여 순서를 언급한다. 따라서, "초기 용량"은 치료 용법의 시작에서 투여되는 용량이고(또한 "기준선 용량"으로서 언급됨); "이차 용량"은 초기 용량 후 투여되는 용량이고; "삼차 용량"은 이차 용량 후 투여되는 용량이다. 초기, 이차, 및 삼차 용량은 모두 동일한 양의 항-ANGPTL8 항체를 포함할 수 있지만, 일반적으로 투여 빈도의 관점에서 서로 상이할 수 있다. 특정한 실시형태에서, 그러나, 초기, 이차 및/또는 삼차 용량에 포함된 항-ANGPTL8 항체의 양은 치료 과정 동안 서로 가변적이다(예: 적합하게 상향 또는 하향 조절됨). 특정한 실시형태에서, 2개 이상의 (예: 2, 3, 4, 또는 5) 용량을 치료 용법의 시작에 "부하 용량"으로서 투여하고, 이어서, 덜 빈번한 기준으로 투여되는 후속적인 용량을 투여한다(예: "유지 용량").

[0237] 본 발명의 특정 예시적인 실시형태에서, 이차 및/또는 삼차 용량 각각은 이전 용량 직후 1 내지 26 (예: 1, 1½, 2, 2½, 3, 3½, 4, 4½, 5, 5½, 6, 6½, 7, 7½, 8, 8½, 9, 9½, 10, 10½, 11, 11½, 12, 12½, 13, 13½, 14, 14½, 15, 15½, 16, 16½, 17, 17½, 18, 18½, 19, 19½, 20, 20½, 21, 21½, 22, 22½, 23, 23½, 24, 24½, 25, 25½, 26, 26½, 또는 그 초과) 주에 투여된다. 본원에 사용된 구절 "직전 용량"는, 다중 투여의 순서에서, 개입 용량 없이 순서대로 바로 다음 용량의 투여 전에 환자에게 투여되는 항-ANGPTL8 항체의 용량을 의미한다.

[0238] 본 발명의 이러한 측면에 따른 방법은 환자에게 항-ANGPTL8 항체의 임의의 횟수의 이차 및/또는 삼차 용량을 투여함을 포함할 수 있다. 예를 들면, 특정한 실시형태에서, 단일 이차 용량 단독은 환자에게 투여된다. 다른 실시형태에서, 2개 이상의 (예: 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 또는 그 초과) 이차 용량은 환자에게 투여된다. 마찬가지로, 특정한 실시형태에서, 단일 삼차 용량 단독은 환자에게 투여된다. 다른 실시형태에서, 2개 이상의 (예: 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 또는 그 초과) 삼차 용량은 환자에게 투여된다. 투여 용법은 이러한 치료가 더 이상 치료학적으로 필요 없거나 유의하지 않을 때까지 특정한 대상체의 수명 동안 무기한으로 수행될 수 있다.

[0239] 다중 이차 용량을 수반하는 실시형태에서, 이차 용량 각각은 다른 이차 용량과 동일한 빈도로 투여될 수 있다. 예를 들면, 이차 용량 각각은 환자에게 직전 용량 후 1 내지 2 주 또는 1 내지 2 개월에 투여될 수 있다. 유사하게는, 다중 삼차 용량을 수반하는 실시형태에서, 삼차 용량 각각은 다른 삼차 용량과 동일한 빈도로 투여될 수 있다. 예를 들면, 삼차 용량 각각은 환자에게 직전 용량 후 2 내지 12 주에 투여될 수 있다. 본 발명의 특정

한 실시형태에서, 이차 및/또는 삼차 용량이 환자에게 투여되는 빈도는 치료 용법의 과정 동안 가변적일 수 있다. 투여 빈도는 또한 임상 시험 후 환자 개인의 필요에 좌우되어 의사에 의해 치료 과정 동안 조절될 수 있다.

[0240] 항체의 진단적 용도

[0241] 본 발명의 항-ANGPTL8 항체는 또한, 예를 들면, 진단적 목적을 위해 샘플에서 ANGPTL8을 검출 및/또는 측정하는데 사용될 수 있다. 예를 들면, 항-ANGPTL8 항체, 또는 이의 단편은, ANGPTL8의 일탈적 발현 (예: 과-발현, 하위-발현, 발현의 결핍 등)을 특징으로 하는 상태 또는 질환을 진단하기 위해 사용될 수 있다. ANGPTL8에 대한 예시적인 진단적 검정은, 예를 들면, 환자로부터 수득되는 샘플을, 본 발명의 항-ANGPTL8 항체와 접촉시킴을 포함할 수 있고, 여기서, 항-ANGPTL8 항체는 검출가능한 표지 또는 리포터 분자로 표지되거나 환자 샘플로부터 ANGPTL8 단백질을 선택적으로 단리하기 위한 포획 리간드로서 사용된다. 대안적으로, 비표지된 항-ANGPTL8 항체는 자체 검출가능하게 표지된 이차적인 항체와 함께 진단적 적용에서 사용될 수 있다. 검출가능한 표지 또는 리포터 분자는 방사성 동위 원소, 예를 들면, ³H, ¹⁴C, ³²P, ³⁵S, 또는 ¹²⁵I; 형광성 또는 화학 발광 모이어티, 예를 들면, 플루오레세인 이소티오시아네이트, 또는 로다민; 또는 효소, 예를 들면, 알칼리성 포스파타제, β-갈락토시다제, 서양고추냉이 퍼옥시다아제, 또는 루시페라제일 수 있다.

[0242] 샘플에서 ANGPTL8을 검출 또는 측정하는데 사용될 수 있는 특정한 예시적인 검정은 효소-링크된 면역흡착제 검정 (ELISA), 방사면역분석 (RIA), 및 형광-활성화된 세포 분류 (FACS)를 포함한다.

[0243] 본 발명에 따른 ANGPTL8 진단적 검정에서 사용될 수 있는 샘플은, 정상 또는 병리학적 상태하에 ANGPTL8 단백질, 또는 이의 단편의 검출가능한 수량을 포함하는 환자로부터 수득할 수 있는 임의의 조직 또는 유체 샘플을 포함한다. 일반적으로, 건강한 환자 (예: 비정상 ANGPTL8 수준 또는 활성과 관련된 질환 또는 상태로 고통을 받지 않는 환자)로부터 수득한 특정한 샘플에서 ANGPTL8의 수준은 ANGPTL8의 기준선, 또는 표준, 수준을 초기에 확립하기 위해 측정할 것이다. 이어서, ANGPTL8의 이러한 기준선 수준은 ANGPTL8 관련 질환 또는 상태, 또는 이러한 질환 또는 상태와 관련된 징후를 갖는 것으로 의심되는 개인으로부터 수득된 샘플에서 측정된 ANGPTL8의 수준에 대하여 비교될 수 있다.

[0244] 실시예

[0245] 본 발명의 방법을 기술하기 전에, 이러한 방법 및 조건이 가변적일 수 있기 때문에 특정한 방법, 및 기술된 실험 조건에 제한되지 않음을 이해하여야 한다. 본 발명의 범위가 첨부된 청구범위에 의해서만 제한될 것이기 때문에, 본원에 사용된 용어는 특정한 실시형태만을 기술하기 위한 목적이고, 제한하는 것을 의도하지 않는다는 것을 또한 이해하여야 한다. 사용된 수치(예: 양, 온도 등)에 대한 정확성을 보장하기 위해 노력을 기울였지만, 일부 실험 오차 및 편차를 감안하여야 한다. 달리 지시하지 않는 한, 부는 중량부이고, 분자량은 평균 분자량이고, 온도는 섭씨이고, 압력은 대기압이거나 거의 대기압이다.

[0246] 달리 정의되지 않은 한, 본원에 사용된 모든 기술적 및 과학적 용어는 본 발명의 속하는 기술 분야의 숙련자에게 통상 이해되는 것과 동일한 의미를 갖는다. 본원에 사용된 용어 "약"은, 특정한 열거된 숫자 값을 언급하여 사용되는 경우, 상기 값이 열거된 값으로부터 1% 이하까지 가변적일 수 있음을 의미한다. 예를 들면, 본원에 사용된 표현 "약 100"은 99 및 101 및, 사이의 모든 값 (예: 99.1, 99.2, 99.3, 99.4 등)을 포함한다.

[0247] 본원에 기재된 것과 유사하거나 동등한 임의의 방법 및 물질이 본 발명의 실행 또는 시험에서 사용될 수 있지만, 바람직한 방법 및 물질이 본원에 기재된다. 본원에 언급된 모든 공보는 이들의 전문가가 본원에 참조로서 포함된다.

[0248] 실시예 1. 항-ANGPTL8 항체의 생성

[0249] 항-ANGPTL8 항체를 VELOCIMMUNE® 마우스 (즉, 사람 면역글로불린 중쇄 및 카파 경쇄 가변 영역을 암호화하는 DNA를 포함하는 조작된 마우스)를 C-말단 마우스 IgG2a 태그로 표현된 재조합 사람 ANGPTL8을 포함하는 면역원으로 면역화시켜 수득하였다(참조: 서열 번호: 340). 항체 면역 반응을 ANGPTL8-특이적 면역분석으로 모니터링하였다. 목적하는 면역 반응이 성취되는 경우, 수개의 완전 사람 항-ANGPTL8 항체를 US 2007/0280945A1에 기재된 바와 같이 항원-양성 B 세포로부터 생성하고, 이의 전문가가 본원에 참조로서 포함된다.

[0250] 이러한 실시예의 방법에 따라 생성된 예시적인 항-ANGPTL8 항체의 특정 생물학적 성질을 하기 설명된 실시예에 상세하게 기재한다.

[0251] 실시예 2. 중쇄 및 경쇄 가변 영역 아미노산 및 핵산 서열

[0252] 표 1은 본 발명의 선택된 항-ANGPTL8 항체의 중쇄 및 경쇄 가변 영역의 아미노산 서열 식별자 및 CDRs를 제시한다. 상응하는 핵산 서열 식별자가 표 2에 나열된다.

[0253] 표 1: 아미노산 서열 식별자

서열 번호:								
항체 지정	HCVR	HCDR1	HCDR2	HCDR3	LCVR	LCDR1	LCDR2	LCDR3
H4H15314P2	2	4	6	8	10	12	14	16
H4H15316P	18	20	22	24	26	28	30	32
H4H15318P	34	36	38	40	42	44	46	48
H4H15319P	50	52	54	56	58	60	62	64
H4H15321P	66	68	70	72	74	76	78	80
H4H15323P	82	84	86	88	90	92	94	96
H4H15330P	98	100	102	104	106	108	110	112
H4H15331P	114	116	118	120	122	124	126	128
H4H15334P	130	132	134	136	138	140	142	144
H4H15335P	146	148	150	152	154	156	158	160
H4H15341P	162	164	166	168	170	172	174	176
H4H15343P	178	180	182	184	186	188	190	192
H4H15345P	194	196	198	200	202	204	206	208
H4H15346P	210	212	214	216	218	220	222	224
H4H15347P	226	228	230	232	234	236	238	240
H4H15350P2	242	244	246	248	250	252	254	256
H4H15353P2	258	260	262	264	250	252	254	256
H4H15354P2	266	268	270	272	250	252	254	256
H4H15355P2	274	276	278	280	250	252	254	256
H4H15357P2	282	284	286	288	250	252	254	256
H4H15361P2	290	292	294	296	250	252	254	256
H4H15362P2	298	300	302	304	250	252	254	256
H4H15363P2	306	308	310	312	250	252	254	256
H4H15367P2	314	316	318	320	322	324	326	328
H4H15369P2	330	332	334	336	322	324	326	328

[0254]

[0255] 표 2: 핵산 서열 식별자

서열 번호:								
항체 지정	HCVR	HCDR1	HCDR2	HCDR3	LCVR	LCDR1	LCDR2	LCDR3
H4H15314P2	1	3	5	7	9	11	13	15
H4H15316P	17	19	21	23	25	27	29	31
H4H15318P	33	35	37	39	41	43	45	47
H4H15319P	49	51	53	55	57	59	61	63
H4H15321P	65	67	69	71	73	75	77	79
H4H15323P	81	83	85	87	89	91	93	95
H4H15330P	97	99	101	103	105	107	109	111
H4H15331P	113	115	117	119	121	123	125	127
H4H15334P	129	131	133	135	137	139	141	143
H4H15335P	145	147	149	151	153	155	157	159
H4H15341P	161	163	165	167	169	171	173	175
H4H15343P	177	179	181	183	185	187	189	191
H4H15345P	193	195	197	199	201	203	205	207
H4H15346P	209	211	213	215	217	219	221	223
H4H15347P	225	227	229	231	233	235	237	239
H4H15350P2	241	243	245	247	249	251	253	255
H4H15353P2	257	259	261	263	249	251	253	255
H4H15354P2	265	267	269	271	249	251	253	255
H4H15355P2	273	275	277	279	249	251	253	255
H4H15357P2	281	283	285	287	249	251	253	255
H4H15361P2	289	291	293	295	249	251	253	255
H4H15362P2	297	299	301	303	249	251	253	255
H4H15363P2	305	307	309	311	249	251	253	255
H4H15367P2	313	315	317	319	321	323	325	327
H4H15369P2	329	331	333	335	321	323	325	327

[0256]

[0257]

항체는 전형적으로 본원에서 하기 명명법에 따라서 언급된다: Fc 접두사 (예: "H1H", "H1M", "H2M", "H4H" 등), 이어서, 숫자 식별자 (예: "15321", "15341", "15350" 등), 이어서, "P" 또는 "N" 접미사, 이는 표 1 및 2에 나타내었다. 따라서, 상기 명명법에 따라서, 항체는 본원에, 예를 들면, "H4H15321P" 등으로 언급될 수 있다. 본원에 사용된 항체 지정에서 H4H 접두사는 항체의 특정 Fc 영역 이소타입을 나타낸다. 예를 들면, "H4H" 항체는 사람 IgG4 Fc를 갖고, "H1M" 항체는 마우스 IgG1 Fc를 갖고, "H2M" 항체는 마우스 IgG2 Fc를 갖는다 (모든 가변 영역은 항체 지정에서 첫번째 'H'에 표시된 완전 사람이다). 당해 기술 분야의 숙련가에 의해 인지할 수 있는 바와 같이, 특정한 Fc 이소타입을 갖는 항체는 상이한 Fc 이소타입을 갖는 항체로 전환될 수 있지만 (예: 마우스 IgG1 Fc를 갖는 항체는 사람 IgG4 등을 갖는 항체로 전환될 수 있다), 그러나, 어떤 경우에, (CDRs을 포함하는) 가변 도메인 - 표 1 및 2에 나타낸 숫자 식별자로 나타냄 - 은 동일하게 유지될 것이고, 결합 성질은 Fc 도메인의 성질에 상관없이 동일하거나 실질적으로 유사한 것으로 예상된다.

[0258]

실시예 3: ANGPTL8, ANGPTL3, 및 ANGPTL4 펩타이드로의 ANGPTL8 항체 결합에 대한 해리 속도 상수 (k_d)의 표면 플라즈몬 공명 (SPR) 측정

[0259]

ANGPTL3 [참조: WO 2012/174178 A1; Lee et al. (2009) JBC, 284:13735-13745] 및 ANGPTL4 [참조: Desai et al. (2007) PNAS, 104:11766-11771]의 N-말단 코일형-코일 영역으로의 항체 결합은 ANGPTL 단백질의 LPL 억제 활성을 차단하였음을 이전에 입증하였다. 이러한 실험에서, ANGPTL8에 대항하는 항체를 ANGPTL8의 N-말단 영역으로부터 펩타이드로의 결합에 대해 시험하였다.

[0260]

사람 ANGPTL8 펩타이드 (hANGPTL8 펩타이드, 서열 번호: 337)로의 ANGPTL8 항체 결합을 위한 해리 속도 상수를 MASS-1 바이오센서 플랫폼을 기반으로 하는 실시간 표면 플라즈몬 공명을 사용하여 측정하였다. 검정은 포맷을 이용하고, 여기서, ANGPTL8 항체는 센서 표면 상에 포획되었고, 펩타이드는 항체 표면 상에 주사되었다. 사람 ANGPTL3 (hANGPTL3 펩타이드, 서열 번호: 338) 및 사람 ANGPTL4 (hANGPTL4 펩타이드, 서열 번호: 339)의 N-말단 코일형-코일 영역으로부터의 펩타이드는 또한 대조군으로서 포함되었다. ANGPTL4 펩타이드에 결합하는 대조군 항체 (US2011/0159015A1로부터의 H4H268P) 및 음성 이소타입 대조군 항체가 또한 포함되었다. 모든 결합 연구는 10mM HEPES pH 7.4, 150mM NaCl, 3mM EDTA, 및 0.05% v/v 계면활성제 Tween-20 (HBS-ET 작동 완충액)에서 25°C에서 수행되었다. HCA 센서 표면을 단클론 마우스 항-사람 Fc 항체 (GE, # BR-1008-39)에 대해 아민 커플링 하여 유도체화하고, 이의 표면에 대략 1000RU의 각각의 ANGPTL8 항체 또는 대조군 항체를 포획하였다. 펩타이드

스톡 용액을 HBS-ET 작동 완충액 중에 500nM로 희석하고, 항체-포획된 표면 상에 4 분 동안 30 μ L/분의 유속으로 주사하고, 이어서, 결합된 펩타이드를 HBS-ET 작동 완충액 중에서 10 분 동안 해리하였다.

[0261] 포획된 ANGPTL8 항체로의 펩타이드 결합의 회합 기는 1:1 결합 모델에 피팅될 수 없고; 따라서, 단지 해리 속도 상수 (k_d) 값을 Scrubber 2.0c 곡선-피팅 소프트웨어를 사용하는 실시간 결합 센서그램을 피팅하여 계산하였다. 해리 반감기 ($t_{1/2}$)를 다음과 같이 k_d 로부터 계산하였다:

[0262]
$$t_{1/2}(\text{min}) = \frac{\ln(2)}{60 \times k_d}$$

[0263] 포획된 ANGPTL8 항체, 대조군 ANGPTL4 항체, 및 이소타입 대조군 항체에 대한, ANGPTL8, ANGPTL3, 및 ANGPTL4 N-말단 영역 펩타이드 결합에 대한 결합 파라미터를 표 3 내지 5에 나타낸다.

[0264] 결과:

[0265] 이들 실험 조건하에, 500nM의 hANGPTL8, hANGPTL3, 또는 hANGPTL4 펩타이드에 의해 블랭크 항-hFc 표면에 나타난 최대 비-특이적 결합 신호는 3 RUs였다. 이로서, 3 RU 비-특이적 배경 보다 3-배 높은 신호를 갖는 결합 상호작용(즉, ≥ 9 RU)을 특이 결합 상호작용으로 고려하였다. 이러한 기준에 기초하여, 9 RUs 미만의 항체-펩타이드 결합 신호를 비-결합으로 고려하였다 (표 1에서 NB).

[0266] 이 결합 연구로부터 ANGPTL8 항체 H4H15321P, H4H15367P2, 및 H4H15345P가 N-말단 영역 ANGPTL8 펩타이드 (서열 번호: 337)에 특이적으로 결합하는 것을 나타내었다. ANGPTL8 항체 중 어느 것도 hANGPTL3 (서열 번호: 338) 또는 hANGPTL4 (서열 번호: 339) N-말단 영역 펩타이드에 결합하지 않았다.

[0267] 표 3: 25°C에서 hANGPTL8 펩타이드로의 항-ANGPTL8 단클론 항체의 결합

포획된 mAb	mAb 포획 수준 (RU)*	결합된 500nM hANGPTL8 펩타이드 (RU)	kd (1/s)	t½ (min)
H4H15321P	1101 ± 6.1	61	8.29E-05	139
H4H15367P2	1116 ± 17.4	43	9.82E-05	118
H4H15345P	1096 ± 3.6	37	2.03E-05	570
H4H15361P2	1394 ± 12.3	4	NB	NB
H4H15347P	1554 ± 54.6	0	NB	NB
H4H15318P	1087 ± 31.5	0	NB	NB
H4H15350P2	1298 ± 30.7	0	NB	NB
H4H15363P2	1281 ± 13.7	0	NB	NB
H4H15346P	1277 ± 26.3	0	NB	NB
H4H15334P	1256 ± 5.3	0	NB	NB
H4H15335P	1625 ± 31	0	NB	NB
H4H15343P	1129 ± 19.8	0	NB	NB
H4H15357P2	1159 ± 13.1	0	NB	NB
H4H15353P2	1296 ± 8.5	0	NB	NB
H4H15341P	1023 ± 30.1	0	NB	NB
H4H15369P2	1196 ± 54.2	0	NB	NB
H4H15330P	1168 ± 20.1	0	NB	NB
H4H15362P2	1131 ± 15.5	0	NB	NB
H4H15319P	974 ± 3.5	0	NB	NB
H4H15316P	1107 ± 24.7	0	NB	NB
H4H15323P	1068 ± 16.4	0	NB	NB
H4H15354P2	1297 ± 8.5	0	NB	NB
H4H15355P2	1323 ± 25.4	0	NB	NB
H4H15314P2	1011 ± 3.4	0	NB	NB
H4H15331P	1264 ± 16.8	-1	NB	NB
(α-AngPTL4 Ab)	1281 ± 50.2	0	NB	NB
음성 이소타입 대조군 Ab	1092 ± 41.5	0	NB	NB
블랭크 α-hFc 표면	5 ± 0.3	3	NB	NB

* 이 컬럼은 ANGPTL8 로의 결합을 위해 사용되는 항체 표면 밀도의 평균 및 표준 편차를 나타낸다.

[0268]

[0269] 표 4: 25°C에서 hANGPTL3 시프트 펩타이드로의 항-ANGPTL8 단클론 항체의 결합

포획된 mAb	mAb 포획 수준 (RU)*	결합된 500nM hANGPTL3 펩타이드 (RU)	kd (1/s)	t½ (min)
H4H15321P	1101 ± 6.1	0	NB	NB
H4H15367P2	1116 ± 17.4	0	NB	NB
H4H15345P	1096 ± 3.6	0	NB	NB
H4H15361P2	1394 ± 12.3	0	NB	NB
H4H15347P	1554 ± 54.6	-1	NB	NB
H4H15318P	1087 ± 31.5	0	NB	NB
H4H15350P2	1298 ± 30.7	0	NB	NB
H4H15363P2	1281 ± 13.7	0	NB	NB
H4H15346P	1277 ± 26.3	0	NB	NB
H4H15334P	1256 ± 5.3	0	NB	NB
H4H15335P	1625 ± 31	-1	NB	NB
H4H15343P	1129 ± 19.8	0	NB	NB
H4H15357P2	1159 ± 13.1	0	NB	NB
H4H15353P2	1296 ± 8.5	0	NB	NB
H4H15341P	1023 ± 30.1	0	NB	NB
H4H15369P2	1196 ± 54.2	0	NB	NB
H4H15330P	1168 ± 20.1	-1	NB	NB
H4H15362P2	1131 ± 15.5	0	NB	NB
H4H15319P	974 ± 3.5	0	NB	NB
H4H15316P	1107 ± 24.7	0	NB	NB
H4H15323P	1068 ± 16.4	0	NB	NB
H4H15354P2	1297 ± 8.5	0	NB	NB
H4H15355P2	1323 ± 25.4	0	NB	NB
H4H15314P2	1011 ± 3.4	0	NB	NB
H4H15331P	1264 ± 16.8	0	NB	NB
(α-AngPTL4 Ab)	1281 ± 50.2	0	NB	NB
음성 이소타입 대조군 Ab	1092 ± 41.5	0	NB	NB
블랭크 α-hFc 표면	5 ± 0.3	0	NB	NB

* 이 컬럼은 ANGPTL3 펩타이드로의 결합을 위해 사용되는 항체 표면 밀도의 평균 및 표준 편차를 나타낸다.

[0270]

[0271] 표 5: 25°C에서 hAngPTL4 펩타이드로의 항-ANGPTL8 단클론 항체의 결합

포획된 mAb	mAb 포획 수준 (RU)*	결합된 500nM hAngPTL4 펩타이드 (RU)	kd (1/s)	t½ (min)
H4H15321P	1101 ± 6.1	0	NB	NB
H4H15367P2	1116 ± 17.4	0	NB	NB
H4H15345P	1096 ± 3.6	0	NB	NB
H4H15361P2	1394 ± 12.3	0	NB	NB
H4H15347P	1554 ± 54.6	0	NB	NB
H4H15318P	1087 ± 31.5	0	NB	NB
H4H15350P2	1298 ± 30.7	0	NB	NB
H4H15363P2	1281 ± 13.7	0	NB	NB
H4H15346P	1277 ± 26.3	0	NB	NB
H4H15334P	1256 ± 5.3	1	NB	NB
H4H15335P	1625 ± 31	1	NB	NB
H4H15343P	1129 ± 19.8	0	NB	NB
H4H15357P2	1159 ± 13.1	0	NB	NB
H4H15353P2	1296 ± 8.5	0	NB	NB
H4H15341P	1023 ± 30.1	0	NB	NB
H4H15369P2	1196 ± 54.2	0	NB	NB
H4H15330P	1168 ± 20.1	0	NB	NB
H4H15362P2	1131 ± 15.5	0	NB	NB
H4H15319P	974 ± 3.5	0	NB	NB
H4H15316P	1107 ± 24.7	0	NB	NB
H4H15323P	1068 ± 16.4	0	NB	NB
H4H15354P2	1297 ± 8.5	0	NB	NB
H4H15355P2	1323 ± 25.4	0	NB	NB
H4H15314P2	1011 ± 3.4	1	NB	NB
H4H15331P	1264 ± 16.8	0	NB	NB
(α-AngPTL4 Ab)	1281 ± 50.2	23	1.02E-03	11
음성 이소타입 대조군 Ab	1092 ± 41.5	0	NB	NB
블랭크 α-hFc 표면	5 ± 0.3	0	NB	NB

* 이 컬럼은 ANGPTL4 펩타이드로의 결합을 위해 사용되는 항체 표면 밀도의 평균 및 표준 편차를 나타낸다.

[0272]

[0273]

실시예 4: 표면 플라즈몬 공명 (SPR)에 의해 전체-길이 사람 및 원숭이 ANGPTL8 단백질로의 H4H15341P 결합에 대한 운동학적 결합 파라미터의 측정

[0274]

전체-길이 사람 및 사이노몰거스 원숭이 ANGPTL8 단백질로의 ANGPTL8 항체 H4H15341P 결합을 위한 평형 해리 상수 (K_D)를 실시간 표면 플라즈몬 공명-기반 MASS-1 바이오센서 플랫폼을 사용하여 측정하였다. 검정을 위해 H4H15341P를 사람 또는 원숭이 ANGPTL8 단백질이 고정된 센서 표면 상에 주사하였다. 모든 결합 연구를 10mM HEPES pH 7.4, 150mM NaCl, 3mM EDTA, 및 0.05% v/v 계면활성제 Tween-20 (HBS-ET 작동 완충액)에서 25°C에서 수행하였다. HCA 센서 표면을 첫번째로 염소 항-마우스 IgG2a 폴리클로날 항체 (Southern Biotech, # 1080-01)를 아민 커플링하여 유도체화하고, 이어서, 대략 30 RU (결합 단위)의 C-말단 마우스 IgG2a Fc 태그로 표현된 사람 ANGPTL8 (hANGPTL8-mFc; 서열 번호: 340) 또는 C-말단 마우스 IgG2a Fc 태그로 표현된 원숭이 ANGPTL8 (MfANGPTL8-mFc; 서열 번호: 341)을 포획하였다. 상이한 농도의 ANGPTL8 mAb를 첫번째로 HBS-ET 작동 완충액 (300nM - 1.23nM; 3-배 일련의 희석) 중에 제조하고, 이어서, ANGPTL8-mFc 포획된 표면 상에 4 분 동안 30 µL/분의 유속으로 주사하고, 이어서, HBS-ET 작동 완충액 중 결합된 mAb를 10 분 동안 해리하였다.

[0275] 운동학적 회합 (k_a) 및 해리 (k_d) 속도 상수를 Scrubber 2.0c 곡선-피팅 소프트웨어를 사용하여 질량수송한계 (mass transport limitation)를 갖는 1:1 결합 모델로 실시간 결합 센서그램을 피팅하여 측정하였다. 결합 해리 평형 상수 (K_D) 및 해리 반감기 ($t_{1/2}$)를 하기 운동학적 속도 상수로부터 계산하였다:

[0276]
$$K_D (M) = \frac{k_d}{k_a}, \quad \text{및} \quad t_{1/2} (\text{min}) = \frac{\ln(2)}{60 \times k_d}$$

[0277] 25°C에서 hANGPTL8-mFc 및 MfANGPTL8-mFc에 결합하는 항-ANGPTL8 mAb에 대한 결합 운동학적 파라미터는 표 6에 나타낸다.

[0278] 결과:

[0279] 사람 및 원숭이 ANGPTL8 단백질 둘 다에 결합된 항체 H4H15341을 센서 표면 상에 고정하고, 기록된 해리 기 동안 측정가능한 해리를 나타내지 않았다. 결합 친화도의 추정치를 획득하기 위해, 해리 속도 상수, k_d 를, 실험 조건, $1.0E-05$ 1/s하에 검출 상한에 고정하였다. hANGPTL8-mFc 및 MfANGPTL8-mFc로의 H4H15341P 결합의 평형 해리 상수 (K_D) 값을 각각 117pM 및 86pM 또는 더 낮은 것으로 추정하였다.

[0280] 표 6: 25°C에서 hANGPTL8-mFc 및 MfANGPTL8-mFc에 결합하는 H4H15341P의 결합 운동학적 파라미터

포획 표면	k_a (1/Ms)	k_d (1/s)	K_D (M)	$t_{1/2}$ (min)
hANGPTL8-mFc	8.50E+04	1.00E-05*	$\leq 1.17E-10$	≥ 1155
MfANGPTL8-mFc	1.16E+05	1.00E-05*	$\leq 8.60E-11$	≥ 1155

* 항-ANGPTL8 mAb 의 해리가 없음을 실험 조건하에 관찰하였고; 따라서, k_d 의 값을 $1.00E-05s^{-1}$ 의 검출 상한에 고정하였다.

[0281]

[0282] 실시예 5: 바이오-층 간섭계 (BLI)에 의한 사람 및 원숭이 ANGPTL8 결합 특이성의 측정

[0283]

ANGPTL8 항체의 사람 및 원숭이 ANGPTL8 단백질로의 결합을 Octet HTX 바이오센서 플랫폼을 갖는 바이오-층 간섭계(ForteBio, A Division of Pall Life Sciences)를 사용하여 조사하였다. 모든 실험을 25°C에서 10mM HEPES pH 7.4, 150mM NaCl, 0.05% v/v 계면활성제 Tween-20, 및 1mg/ml BSA에서 수행하고, 반응 다중웰 플레이트를 1000rpm에서 교반하였다. 대략 1.6nm의 C-말단 마우스 IgG2a Fc 태그로 제조된 사람 ANGPTL8 (hANGPTL8-mFc; 서열 번호: 340) 또는 C-말단 마우스 IgG2a Fc 태그로 제조된 사이노몰거스 원숭이 ANGPTL8 (MfANGPTL8-mFc; 서열 번호: 341)을 센서를 10 µg/mL의 각 단백질을 포함하는 웰에 4 분 동안 침지시켜 항-mFc (AMC) Octet 바이오센서 상에서 포획하였다. 동일한 조건하에 동일한 mFc 태그를 갖는 음성 대조군 단백질(hLDLR-mFc)을 또한 AMC 센서에 커플링하였다. 모든 4개의 센서, 3개의 단백질-커플링된 및 하나의 블랭크를, 이어서, 100nM의 상이한 ANGPTL8 단클론 항체 또는 이소타입 대조군을 포함하는 웰에 4 분 동안 침지하였다. 4-분 결합 단계 후 관찰된 결합 신호를 표 7에 표로 만든다.

[0284]

결과:

[0285]

이 연구에서 시험된 25 ANGPTL8 mAbs 중에서, 24 항체는 무관한 대조군 센서 팁 상에서 최대 결합 신호보다 더 높은 결합 신호를 나타내었다 (0.03 nm; 이 값을 사용하여 배경의 배수로 결합 신호를 계산하였다). 24 사람 ANGPTL8 바인더 중에서, 20은 원숭이 ANGPTL8 단백질에 대한 양성 결합을 나타내었다. 원숭이 ANGPTL8 단백질에 결합되지 않은 4 항체는 또한 배경 결합 신호 보다 1 내지 2-배 높은 값을 갖는 사람 ANGPTL8 단백질에 대한 낮은 결합 신호를 나타내었다. 사람 ANGPTL8 단백질로의 24 항체 결합에 대해, 4 항체 (H4H15362P2, H4H15321P, H4H15330P, H4H15367P2)는 배경보다 10-배 높은 결합 신호를 나타내었다. 12 항체의 또다른 그룹은 배경보다 5 내지 10-배 높은 결합 신호를 나타내었다. 나머지 항체는 배경 수준보다 1 내지 5-배 높은 결합 신호로 사람 ANGPTL8 단백질에 결합하였다.

[0286]

표 7: Octet 바이오센서 상에서 포획된 사람 및 원숭이 ANGPTL8-mFc에 대한 100 nM ANGPTL8 단클론 항체의 결

합 특이성

mAb PID#	mAb 결합 반응 (nm)			
	hANGPTL8.mFc 포획된 표면	MfANGPTL8.mFc 포획된 표면	무관한 대조군 (hLDLR.mFc) 포획된 표면	블랭크 AMC 센서
H4H15362P2	0.39	0.36	0.03	0.01
H4H15321P	0.36	0.51	0.01	0.00
H4H15330P	0.34	0.39	0.02	0.01
H4H15367P2	0.32	0.33	0.01	0.00
H4H15363P2	0.25	0.26	0.01	0.02
H4H15347P	0.25	0.29	0.01	0.03
H4H15345P	0.25	0.31	0.00	0.01
H4H15319P	0.22	0.26	-0.01	0.00
H4H15361P2	0.20	0.21	0.01	0.02
H4H15318P	0.19	0.20	0.01	0.01
H4H15323P	0.18	0.15	0.00	0.00
H4H15350P2	0.17	0.20	0.00	-0.01
H4H15343P	0.17	0.20	-0.01	0.01
H4H15331P	0.16	0.21	0.01	0.01
H4H15355P2	0.15	0.13	0.02	0.03
H4H15353P2	0.15	0.11	0.02	0.02
H4H15369P2	0.14	0.17	0.00	0.01
H4H15357P2	0.13	0.08	0.01	0.02
H4H15341P	0.12	0.10	0.02	0.03
H4H15346P	0.07	0.01	0.00	-0.01
H4H15335P	0.06	0.04	0.01	0.01
H4H15354P2	0.05	0.03	0.01	0.02
H4H15334P	0.05	0.01	0.00	0.03
H4H15314P2	0.04	0.01	0.01	0.00
H4H15316P	0.03	0.02	0.02	0.02
음성 이소타입 대조군 Ab	0.01	0.00	0.01	0.01

[0287]

[0288]

실시예 6: 사람화된 ANGPTL8 마우스에서 순환하는 트리글리세리드 수준에 미치는 IgG4 항-hANGPTL8 항체의 생체 내 효과

[0289]

혈청 트리글리세리드 (TG) 수준에 미치는 항-hANGPTL8 항체의 효과를 사람화된 ANGPTL8 마우스에서 측정하였다. 마우스를 실험 7 일 전에 사전-채혈하고, 시험된 각 항체에 대해 각각 5마리 마우스의 그룹으로 넣었다. 항체를 10mg/kg 용량 (항-hANGPTL8 및 무관한 특이성을 갖는 이소타입-일치 (hIgG4) 대조군)으로 피하 주사로 연구 0일째에 투여하였다. 마우스를 항체 주사 후 연속일로 채혈하고(비-절식), TG 수준을 혈청 중에서 ADVIA® 1800 혈청 화학 분석기 (Siemens)로 측정하였다. 평균을 모든 시험된 항체에 대해 각 시점에서 계산하였다. 혈청 TG 농도의 (평균 ± SEM)으로 표현된 결과를, 표 8 내지 13에 나타낸다.

[0290]

순환하는 항-hANGPTL8 (혈청 Ab)의 수준을 또한 표준 ELISA 검정을 사용하여 측정하였다. 간단히, 플레이트를 염소 항-사람 Fc 항체 (Sigma-Aldrich)를 사용하여 코팅하고 혈청 Ab를 포획하였다. 이어서, 혈청을 플레이트에 첨가하고, 포획된 항체를 서양고추냉이 퍼옥시다아제 (HRP) 접합된 염소 항-사람 IgG 항체 (Sigma-Aldrich)를

사용하는 화학발광에 의해 검출하였다. (평균 ± SEM)으로 표현된 결과를 표 14 내지 19에 나타낸다.

[0291]

대조군: 이소타입-일치 대조군 Ab를 받은 마우스

[0292]

결과:

[0293]

순환하는 TG 수준에 미치는 hANGPTL8에 대한 25 mAbs의 효과를 사람화된 ANGPTL8 마우스에서 시험하였다. 항체 H4H15341P는 투여 후(대조군 mAb와 비교하여) 순환하는 TG의 유의한 감소(평균 68% 이하)를 야기하였다.

[0294]

표 8. 연구 1, 혈청 트리글리세리드 (mg/dL)

주사후 일수	항체									
	대조군		H4H15321P		H4H15331P		H4H15343P		H4H15367P2	
	평균	SEM	평균	SEM	평균	SEM	평균	SEM	평균	SEM
- 7	205.4	14.20	203.8	19.68	206.6	16.20	205.2	12.13	203.6	14.21
1	233.6	16.93	239.4	28.61	259.8	35.52	196.8	16.05	222.0	27.41
4	210.4	12.79	233.2	26.19	244.4	33.83	175.2	10.32	234.8	27.28
7	261.0	19.66	235.6	33.82	241.8	55.74	201.8	23.50	203.2	27.79

[0295]

[0296]

표 9. 연구 2, 혈청 트리글리세리드 (mg/dL)

주사후 일수	항체							
	대조군		H4H15341P		H4H15319P		H4H15318P	
	평균	SEM	평균	SEM	평균	SEM	평균	SEM
- 7	214.8	20.08	211.4	21.67	213.6	20.50	212.8	20.00
1	255.4	25.18	82.0	3.35	217.4	26.92	235.2	24.62
4	228.6	33.43	93.6	7.69	195.0	29.93	270.6	34.28
7	197.0	21.22	90.8	7.68	235.4	35.70	209.6	31.88
14	223.0	14.98	126.4	21.75	185.2	29.94	166.0	24.58

[0297]

[0298]

표 9 (연속)

주사후 일수	항체			
	H4H15355P2		H4H15345P	
	평균	SEM	평균	SEM
- 7	214.4	19.18	213.0	20.34
1	248.2	45.93	228.8	37.97
4	221.2	30.30	195.80	23.87
7	254.2	37.93	252.60	25.24
14	219.4	36.69	190.60	13.13

[0299]

[0300]

표 10. 연구 3, 혈청 트리글리세리드 (mg/dL)

주사 후 일수	항체									
	대조군		H4H15350P2		H4H15314P2		H4H15330P		H4H15361P2	
	평균	SEM	평균	SEM	평균	SEM	평균	SEM	평균	SEM
- 7	247.8	23.88	242.8	21.60	244.0	26.34	243.2	22.29	242.4	25.29
1	214.6	20.37	206.6	21.60	228.2	35.33	206.6	25.44	215.4	20.20
4	222.4	13.78	198.2	22.61	192.4	17.25	216.6	15.84	200.0	15.89
7	288.8	35.41	274.6	45.48	238.6	21.21	244.4	14.61	247.4	37.93

[0301]

[0302] 표 11. 연구 4, 혈청 트리글리세리드 (mg/dL)

주사 후 일수	항체									
	대조군		H4H15357P2		H4H15363P2		H4H15347P		H4H15369P	
	평균	SEM	평균	SEM	평균	SEM	평균	SEM	평균	SEM
- 7	197.0	18.29	201.6	25.18	201.6	26.15	200.4	24.71	198.8	22.43
1	227.6	46.41	221.6	37.35	189.4	5.963	194.6	28.33	217.0	39.68
6	194.0	18.06	211.2	35.96	190.6	20.21	248.2	16.12	223.0	25.61

[0303]

[0304] 표 12. 연구 5, 혈청 트리글리세리드 (mg/dL)

주사 후 일수	항체							
	대조군		H4H15353P2		H4H15323P		H4H15362P2	
	평균	SEM	평균	SEM	평균	SEM	평균	SEM
- 7	199.2	26.68	197.4	27.02	199.8	30.33	200.8	27.55
2	217.2	16.09	184.4	28.67	179.8	35.99	166.6	26.76
8	161.8	18.58	185.4	24.78	187.0	38.76	180.2	18.22
14	227.2	33.70	216.4	11.74	212.4	31.29	173.2	17.75

[0305]

[0306] 표 12 (연속)

주사 후 일수	항체			
	H4H15334P		H4H15354P2	
	평균	SEM	평균	SEM
- 7	199.8	26.25	200.0	26.33
2	183.0	16.93	169.8	23.14
8	160.0	16.56	162.6	20.50
14	167.6	18.73	197.4	34.20

[0307]

[0308] 표 13. 연구 6, 혈청 트리글리세리드 (mg/dL)

주사 후 일수	항체							
	대조군		H4H15316P		H4H15335P		H4H15346P	
	평균	SEM	평균	SEM	평균	SEM	평균	SEM
- 7	232.0	24.94	232.0	28.26	232.4	23.88	232.8	30.30
2	211.0	23.19	248.2	35.35	203.2	6.785	197.2	20.42
7	256.8	32.02	249.6	35.72	248.0	17.28	234.8	66.74

[0309]

[0310] 표 14. 연구 1, 혈청 Ab (µg/mL)

주사 후 일수	항체									
	대조군		H4H15321P		H4H15331P		H4H15343P		H4H15367P2	
	평균	SEM	평균	SEM	평균	SEM	평균	SEM	평균	SEM
1	64.1	9.0	76.4	8.6	9.8	2.0	74.4	8.5	113.0	9.6
4	55.8	6.3	66.5	4.6	3.3	0.7	68.3	4.4	101.4	11.3

[0311]

[0312] 표 15. 연구 2, 혈청 Ab ($\mu\text{g/mL}$)

주사후 일수	항체							
	대조군		H4H15341P		H4H15319P		H4H15318P	
	평균	SEM	평균	SEM	평균	SEM	평균	SEM
1	50.8	3.9	104.0	18.7	81.8	8.2	74.4	8.5
4	51.2	9.5	70.6	23.6	59.1	9.6	68.3	4.4
7	40.9	5.4	50.7	13.3	46.8	8.9	68.3	4.4
14	32.2	3.1	8.2	4.6	24.1	8.7	68.3	4.4

[0313]

[0314] 표 15 (연속)

주사후 일수	항체			
	H4H15355P2		H4H15345P	
	평균	SEM	평균	SEM
1	68.4	3.8	59.3	3.6
4	58.4	3.0	46.3	16.2
7	35.7	6.6	50.1	3.9
14	3.1	0.8	35.9	4.6

[0315]

[0316] 표 16. 연구 3, 혈청 Ab ($\mu\text{g/mL}$)

주사 후 일수	항체									
	대조군		H4H15350P2		H4H15314P2		H4H15330P		H4H15361P2	
	평균	SEM	평균	SEM	평균	SEM	평균	SEM	평균	SEM
1	47.3	7.0	57.2	23.4	89.9	13.0	38.3	14.7	50.0	13.6
4	50.6	13.4	66.1	22.6	69.9	12.9	35.4	0.9	57.4	10.1
7	38.8	9.2	39.9	14.7	48.6	17.3	30.0	5.1	38.7	11.1

[0317]

[0318] 표 17. 연구 4, 혈청 Ab ($\mu\text{g/mL}$)

주사 후 일수	항체									
	대조군		H4H15357P2		H4H15363P2		H4H15347P		H4H15369P	
	평균	SEM	평균	SEM	평균	SEM	평균	SEM	평균	SEM
1	100.9	100.9	78.4	26.7	93.2	10.1	53.6	7.5	99.7	15.6
6	84.0	84.0	56.9	14.8	62.0	7.6	9.5	2.9	68.0	12.0

[0319]

[0320] 표 18. 연구 5, 혈청 Ab ($\mu\text{g/mL}$)

주사후 일수	항체							
	대조군		H4H15353P2		H4H15323P		H4H15362P2	
	평균	SEM	평균	SEM	평균	SEM	평균	SEM
2	93.7	14.4	63.5	17.6	99.9	34.5	91.0	24.6
8	79.8	8.7	42.8	11.1	50.3	9.7	50.8	10.3
14	55.1	11.4	18.2	14.0	32.3	10.0	29.5	20.9

[0321]

[0322] 표 18 (연속)

주사후 일수	항체			
	H4H15334P		H4H15354P2	
	평균	SEM	평균	SEM
2	64.4	15.0	71.3	7.2
8	38.7	7.1	46.0	15.4
14	8.6	4.6	30.1	26.6

[0323]

[0324] 표 19. 연구 6, 혈청 Ab (µg/mL)

주사후 일수	항체							
	대조군		H4H15316P		H4H15335P		H4H15346P	
	평균	SEM	평균	SEM	평균	SEM	평균	SEM
2	87.4	9.2	79.3	18.5	66.9	17.5	61.1	22.8
7	97.4	23.0	77.9	12.8	78.6	16.2	56.7	23.7

[0325]

[0326] 실시예 7: 사람화된 ANGPTL8 마우스에서 hANGPTL8 항체 H4H15341P의 용량 반응

[0327] 상이한 용량의 hANGPTL8 mAb, H4H15341P의, 혈청 트리글리세리드 (TG)에 미치는 효과를 사람화된 ANGPTL8 마우스에서 평가하였다. 마우스를 실험 7 일 전에 사전-채혈하고, 시험된 각 용량에 대해 각각 5마리 마우스의 그룹으로 넣었다. H4H15341P를 1, 5, 10 및 25 mg/kg으로 투여하고, 무관한 특이성을 갖는 이소타입-일치 (hIgG4) 대조군을 10mg/kg로 단일-용량 피하 주사로 연구 0일째에 투여하였다. 마우스를 항체 주사 후 2, 7, 14 및 21일에 채혈하였고(비-절식), TG 수준을 혈청에서 ADVIA® 1800 Chemistry System (Siemens)으로 측정하였다. 평균을 각 시점에서 계산하였다. 혈청 TG 농도의 (평균 ± SEM)으로 표현된 결과를, 도 1a에 나타낸다.

[0328] 순환하는 항-사람 항체 (혈청 Ab)의 수준을 표준 ELISA 검정을 사용하여 측정하였다. 간단히, 플레이트를 염소 항-사람 Fc 항체 (Sigma-Aldrich)를 사용하여 코팅하고 혈청 Ab를 포획하였다. 이어서, 혈청을 플레이트에 첨가하고, 포획된 항체를 서양고추냉이 퍼옥시다아제 (HRP) 접합된 염소 항-사람 IgG 항체 (Sigma-Aldrich)를 사용하는 화학발광을 사용하여 검출하였다. (평균 ± SEM)로 표현된 결과를 도 2에 나타낸다. 대조군 Ab는 이소타입-일치 대조군 Ab를 받은 마우스를 언급한다.

[0329] 결과:

[0330] 4개의 상이한 용량의 H4H15341P (항-hANGPTL8)의 순환하는 TG 및 콜레스테롤 수준에 미치는 효과를 사람화된 ANGPTL8 마우스에서 시험하였다. H4H15341P는 혈청 TG의 용량-의존성 지속된 유의한 감소를 야기하였고(평균 66% 이하, 대조군 mAb와 비교하여), 5mg/kg은 최저의 효력이 있는 용량이다. 총 콜레스테롤 수준에 미치는 어떠한 효과도 관찰되지 않았다.

[0331] 실시예 8. 사람화된 ANGPTL8 마우스에서 hANGPTL8 mAb 치료 후 지질단백질 리파아제 (LPL) 활성의 평가

[0332] LPL 활성에 미치는 hANGPTL8 mAb (H4H15341P) 투여의 효과를 사람화된 ANGPTL8 마우스에서 평가하였다. 마우스를 실험 7 일 전에 사전-채혈하고, 시험된 각 mAb에 대해 각각 5마리 마우스의 그룹으로 넣었다. H4H15341P 및 대조군 Ab를 10 mg/kg으로 단일-용량 피하 주사로 연구 0일째에 투여하였다. 연구 4일째에, 마우스를 헤파린으로 정맥내 주사로 꼬리 정맥을 통해 250U/kg으로 투약하였고, 혈관 내피 표면으로부터 LPL를 방출하였다. 5분후 마우스를 안와후방 굴(retro-orbital sinus)로부터 채혈하고, 포스트-헤파린 혈장을 수집하고 분획화하여 간 리파아제로부터 LPL을 1.0-ml 헤파린-세파로스 크로마토그래피를 사용하여 분리하였다. 포스트-헤파린 혈장을, 0.25 M NaCl, 20% 글리세롤, 1% BSA, 10 mM 인산나트륨, pH 6.5로 평형을 이룬 GE Akta Prime으로 제어되는 1.0-ml 헤파린-세파로스 HiTrap 컬럼 (GE Healthcare) 상에 부하하였다. 컬럼을 10 ml의 평형 완충액으로 세척하고, 30 ml NaCl 구배 (20% 글리세롤 중 0.25-1.5 M, 1% BSA, 10 mM 인산나트륨, pH 6.5)로 용리하였다. 수득한 분획을 간 리파아제로 풀링하고(pooled), LPL 피크 및 리파아제 활성을 Invitrogen Enzchek 리파아제 기질 (cat#E33955)를 사용하여 검정하였다. 운동학적 반응을 Molecular Devices SpectraMax i3 플레이트 판독기에서 482nm 여기 / 518nm 방출에서 판독하였다. 상대적 형광 단위 (RFU) (평균 ± SEM)로 표현된 결과를 도 3a 및 3b

에 나타낸다. 대조군 Ab는 이소타입-일치 음성 대조군 Ab를 받은 마우스를 언급한다.

[0333]

결과

[0334]

결과는 H4H15341P (항-hANGPTL8)의 사람화된 ANGPTL8 마우스에게 투여가 LPL 활성의 유의한 증가를 야기하고, 간 리파아제 활성에 어떠한 영향도 미치지 않았음을 나타낸다.

[0335]

실시예 9. hANGPTL8 mAb H4H15341P로 처리된 사람화된 ANGPTL8 마우스에서 지질 내성 검사

[0336]

트리글리세리드 청소에 미치는 mAb H4H15341P를 사용한 ANGPTL8 억제제의 효과를 급성 지방 부하로 평가하였다. 사람화된 ANGPTL8 마우스를 실험 8 일 전에 미리-채혈하고, 시험되는 각 mAb에 대해 각각 6마리 마우스의 그룹으로 넣었다. H4H15341P 및 이소타입-일치 대조군 Ab를 10 mg/kg로 단일-용량 피하 주사로 연구 0일째에 투여하였다. 연구 4일째에 마우스를 4 시간 동안 절식시키고, 이어서, 20% 인트라피드 (Baxter Healthcare, IL)의 2.5 μ l/g 체중으로 정맥내 투여하였다. TG 수준을 꼬리 정맥으로부터 수집된 혈액으로 후속적인 시점에 평가하였다. TG 농도의 (평균 \pm SEM)으로서 표현된 결과들도 4에 나타낸다. 대조군 Ab는 이소타입-일치 음성 대조군 Ab를 받은 마우스를 언급한다.

[0337]

결과

[0338]

사람화된 ANGPTL8 마우스에게 H4H15341P (항-hANGPTL8)의 투여는 대조군 항체와 비교하여 급성 지방 부하 후 의하게 더 낮은 TG 수준을 야기한다. 이들 데이터는 H4H15341P가, ANGPTL8을 차단함에 의해, 순환으로부터 가속화된 TG 청소를 촉진함을 제시한다.

[0339]

실시예 10. 안지오포이에틴-유사 단백질 8에 대한 HiSense 선형 에피토프 맵핑

[0340]

HiSense 선형 펩타이드를 사용하는 PepsScan 분석을 이용하여 항체 H4H15341P 및 H4H15367P2에 대한 선형 에피토프를 확립하였다. 연구를 PepsScan Presto BV, (Zuidersluisweg 2, 8243RC Lelystad, The Netherlands)에서 수행하였다. 모든 PepsScan 데이터를 소프트웨어 패키지 PepLab™에 저장하는데, 이는 사내 개발되고 PostgreSQL 저장 백-엔드(back-end)를 기반으로 한 독점적 데이터베이스 어플리케이션이다.

[0341]

펩타이드의 합성

[0342]

표적 분자의 에피토프를 재구성하기 위해, 펩타이드의 라이브러리를 합성하였다. 아미노 기능화된 폴리프로필렌 지지체를 독점적 친수성 중합체 제형을 그래프팅하고, 이어서, 디사이클로헥실카르보디이미드 (DCC)를 N하이드록시벤조트리아졸 (HOBt)과 함께 사용하여 t-부틸옥시타보닐-핵사메틸렌디아민 (BocHMDA)과 반응시켰다. Boc-그룹을 트리플루오로아세트산 (TFA)을 사용하여 후속적인 절단하여 수득하였다. 표준 Fmocpeptide 합성이 맞춤 변형된 JANUS 액체 취급 스테이션 (Perkin Elmer)에 의해 아미노-기능화된 고체 지지체 상 합성 펩타이드에 사용되었다.

[0343]

어레이 위로 안지오포이에틴-유사 단백질 8의 커플링

[0344]

표적 단백질을 양성 대조군으로서 미니-카드 상에 커플링하였다. 안지오포이에틴-유사 단백질 8 (hANGPTL8-mFc)을 어레이 상에 커플링하기 위해, 2개의 가교-링크(cross-linking) 체제 - m-말레이미도벤조일-N하이드록시석신이미드 에스테르 (MBS) 및 글루타르알데히드 (GDA)를 사용하였다. MBS에 대해 40 μ l의 hANGPTL8-mFc를 1 μ l의 MBS (2 mg/ml)와 혼합하고, 45 min 동안 실온에서 인큐베이팅하고, 이어서, 어레이 상에 링커 모프 CGGCGG (서열 번호:346)를 포함하는 위치에서 적용하였다. GDA 링크를 위한, 포스페이트 완충액 (pH 5.0) 중 0.05% GDA를 어레이 상에 적용하고, 실온에서 4 시간 동안 인큐베이팅하고, 이어서, 포스페이트 완충액 pH 8.0 중 hANGPTL8-mFc를 5 또는 20 μ g/ml의 농도에서 어레이 상에 Gly 단독을 포함하는 위치에 첨가하여 유리 N 말단에 커플링되게 하였다.

[0345]

ELISA 선별

[0346]

항체의 합성된 펩타이드 각각으로의 결합을 PEPSCAN-기반 ELISA에서 시험하였다. 펩타이드 어레이를 일차 항체 용액 (밤새 4°C에서)으로 인큐베이팅하였다. 세척 후, 펩타이드 어레이를 1/1000 희석물의 적합한 항체 피옥시다제 접합체 (염소 항-사람 HRP 접합체, Southern Biotech, 카탈로그 번호 2010-05)로 1시간 동안 25°C에서 인큐베이팅하였다. 세척 후, 피옥시다제 기질 2,2'-아지노-디-3-에틸벤즈티아졸린 설포네이트 (ABTS) 및 20 μ l/ml의 3 퍼센트 H₂O₂를 첨가하였다. 한 시간 후, 발색 현상을 측정하였다. 발색 현상을 전하 커플링 디바이스 (CCD) - 카메라 및 이미지 프로세싱 시스템으로 정량화하였다.

- [0347] 선별 세부사항
- [0348] 항체 결합은 ELISA 완충액 중 항체의 농도 및 경쟁하는 단백질의 양 및 특성을 포함하는 인자의 조합에 좌우된다. 또한, 사전-코트(pre-coat) 조건 (실험 샘플로 인큐베이션하기 전 펩타이드 어레이의 특이적 처리)은 결합에 영향을 미친다. 이들 세부사항을 하기와 같이 요약한다:
- | [0349] | 표지 | 희석 | 샘플 완충액 | 예비컨디셔닝 |
|--------|-------------|--------------|---------|---------|
| [0350] | H4H15341P | 1 μ g/ml | 100% SQ | 100% SQ |
| [0351] | H4H15367P2 | 1 μ g/ml | 100% SQ | 100% SQ |
| [0352] | 음성 이소타입 대조군 | 1 μ g/ml | 100% SQ | 100% SQ |
- [0353] Pepscan 완충액 및 예비컨디셔닝 (SQ)에 대해, 수치는 경쟁하는 단백질 (말 혈청 및 난백알부민의 병용물)의 상대적 양을 지시한다.
- [0354] 데이터 프로세싱
- [0355] CCD 카메라로부터 수득된 값은 0 내지 3000 mAU의 범위이고, 표준 96-웰 플레이트 ELISA-판독기와 유사하다. 결과를 정량화하고 Peplab 데이터베이스 내로 저장한다. 때때로, 웰은 거짓-양성 값을 초래하는 공기-거품을 포함하고, 카드를 수동으로 검사하고, 공기-거품에 의해 야기되는 임의의 값은 0으로서 스코어된다.
- [0356] 합성 품질 관리
- [0357] 합성된 펩타이드의 품질을 입증하기 위해, 양성 및 음성 대조군 펩타이드의 개별적인 세트를 병행하여 합성하였다. 이들을 항체 57.9 (Posthumus, et al. 1990 J Virol 64:3304-3309)로 선별하였다.
- [0358] 결과
- [0359] 펩타이드의 설계
- [0360] 하기 펩타이드 세트를 하기 표적 서열로 합성하였다:
- [0361] 사람 ANGPTL8, 성숙 서열, NP_061157.3으로부터의 아미노산 22-198
- [0362] 1 APMGGPELAQ HEELTLFHG TLQLGQALNG VYRTTEGRLLT KARNSLGLYG 50
- [0363] 51 RTIELLQGEV SRGRDAAQEL RASLLETQME EDILQLQAEA TAEVLGEVAQ 100
- [0364] 101 AQKVLRSVQ RLEVQLRSAW LGPAYREFEV LKAHADKQSH ILWALTGHVQ 150
- [0365] 151 RQRREMVAQQ HRLRQIQERL HTAALPA 177 (서열 번호:347)
- [0366] 항체를 ANGPTL8의 전체 서열을 포함하는 일련의 15-량체 펩타이드의 결합에 대해 시험하고, 각 펩타이드는 다음으로부터 하나의 아미노산에 의해 오프셋된다. 또한 더 세밀한 에피토프 분석을 위해 일련의 시험된 펩타이드 내에 이중 알라닌 ("AA") 치환을 포함하였다.
- [0367] 세트 1. 미믹: 선형. 유형: LIN
- [0368] 하나의 잔기의 오프셋을 갖는 안지오포이에틴-유사 단백질 8의 표적 서열로부터 유래된 길이 15의 펩타이드 기술.
- [0369] 서열 (첫번째 10)
- [0370] APMGGPELAQHEELT (서열 번호: 348)
- [0371] PMGGPELAQHEELTL (서열 번호: 349)
- [0372] MGGPELAQHEELTLL (서열 번호: 350)
- [0373] GGPELAQHEELTLLF (서열 번호: 351)
- [0374] GPELAQHEELTLLFH (서열 번호: 352)
- [0375] PELAQHEELTLLFHG (서열 번호: 353)

- [0376] ELAQHEELTLFFHGT (서열 번호: 354)
- [0377] LAQHEELTLFFHGT (서열 번호: 355)
- [0378] AQHEELTLFFHGT (서열 번호: 356)
- [0379] QHEELTLFFHGT (서열 번호: 357)
- [0380] 세트 2. 미믹: 선형. 유형: LIN.AA
- [0381] 위치 10 및 11에 잔기를 갖지만 Ala로 대체된 잔기를 갖는 세트 1의 펩타이드 기술. 나티브(native) Ala가 어느 하나의 위치에서 발생하는 경우, Gly로 대체된다. 이러한 세트에서 펩타이드의 순서는 무작위화되었다. 어레이에 대한 실제 순서를 나타낸다.
- [0382] 서열 (첫번째 10)
- [0383] TAEVLGEVAAGQKVL (서열 번호: 358)
- [0384] VVRTTEGRLAAARNS (서열 번호: 359)
- [0385] GVYRTTEGRAAKARN (서열 번호: 360)
- [0386] VQRLEVQLRAGWLG (서열 번호: 361)
- [0387] LTGHVQRQRAAMVAQ (서열 번호: 362)
- [0388] VLKAHADKQAAILWA (서열 번호: 363)
- [0389] LRDSVQRLEAALRSA (서열 번호: 364)
- [0390] RREMVAQQHAARQIQ (서열 번호: 365)
- [0391] VSRGRDAAQAARASL (서열 번호: 366)
- [0392] AYREFEVLKGAADKQ (서열 번호: 367)
- [0393] 선별의 미가공(raw) ELISA 결과를 제공하고, 플롯팅하여(박스 플롯, 데이터는 나타내지 않음) 각각의 데이터 세트를 도시하고 각 데이터 세트 내에 평균 ELISA 신호, 분포 및 이상치를 나타내었다. 실험 조건 (항체의 양, 차단 강도 등)에 좌우되어, ELISA 데이터의 상이한 분포를 획득하였다.
- [0394] 항체 H4H15367P2
- [0395] 고도의 엄격한 조건하에 시험되는 경우, 항체 H4H15367P2는 서열 1APMGGPELAQHEELT15 (서열 번호: 348)로 구성된 단지 하나의 선형 펩타이드에 열렬하게(avidly) 결합하였다. 이러한 샘플을 동일한 조건하에 2번 시험하고, 반복적으로 동일한 결과를 획득하였다. 항체 H4H15367P2는 또한 강하게 안지오포이에틴-유사 단백질 8에 결합하고, 이는 양성 대조군으로서 어레이 상에 커플링된다. 흥미롭게도, 다소 더 약한 결합을 GDA 커플링과 비교한 경우 MBS를 사용하여 커플링된 표적 단백질로 획득하였다.
- [0396] 항체 H4H15341P
- [0397] 고도의 엄격한 조건하에 시험되는 경우, 항체 H4H15341P는 일련의 선형 펩타이드에 열렬하게(avidly) 결합하고, 이는 공통 서열 ₁₅₀QRQRREMVAQ₁₅₉ (서열 번호: 368)을 포함한다. 세트 1 (나티브 선형 에피토프 미믹) 및 세트 2 (이중 Ala 돌연변이)에 기록된 강도 프로파일의 비교는 잔기 R154, E155, 및 Q159가 항체 결합에 본질적임을 지시한다. 항체 H4H15341P는 또한 강하게 안지오포이에틴-유사 단백질 8에 결합하고, 이는 고정화에도 불구하고 어레이 상에 양성 대조군으로서 커플링되었다.
- [0398] 음성 이소타입 대조군
- [0399] 음성 이소타입 대조군은 어레이에 존재하는 임의의 펩타이드에 결합하지 않았다. 또한, 검출가능한 결합이 없음을 안지오포이에틴-유사 단백질 8과 함께 기록하고, 이는 양성 대조군으로서 어레이 상에 커플링하였다. 음성 이소타입 대조군을 추가로 Pepscan ELISA에서 사용되는 염소 항-사람 이차적인 접합체로 시험하였다. 항체는 이러한 이차적인 접합에 의해 인지될 수 있다.
- [0400] 결론

[0401] 이러한 연구를 위해 제공된 3개의 항체를 HiSense 펩타이드 어레이에서 시험하였다. 2개의 항체에 대한 잠정적인 선형 에피토프를 확립할 수 있었다. 반복된 인큐베이션에도 불구하고, 항체 음성 이소타입 대조군은 어레이에 결합하지 않았다. 이러한 연구에서 식별된 코어 잠정적인 에피토프는 하기와 같이 열거된다:

<u>항체</u>	<u>코어 에피토프</u>
H4H15341P	¹⁵⁰ QRQRREMQ ¹⁵⁹ (서열 번호: 368)
H4H15367P2	¹ APMGGPELAQHEELT ₁₅ (서열 번호: 348)

[0402] 음성 이소타입 대조군 -.

[0403] 따라서, 항체 H4H15341P 및 H4H15367P2는 별개의 선형 서열을 각각 C- 및 N-말단 내에 인지한다. MBS 커플링으로 항체 H4H15367P2에서 얻은 신호가 GDA 커플링에서보다 더 적다는 사실은, 극단 N 말단에 이의 국소화와 함께, N 말단 아민 자체가 에피토프의 부분일 수 있다는 것을 지시한다. 추가로, 항체 H4H15341P 이중 알라닌 돌연변이는 결합에 중요한 핀포인트(pinpoint) 잔기에 제공되었다 (상기 밝은 회색 음영의 잔기).

[0404] 항체 H4H15341P는 안지오프이에틴-유사 단백질 8의 C-말단 영역을 표적화하는 반면, H4H15367P2는 가장 N-말단을 표적화한다. 항체 음성 이소타입 대조군은 어레이에 결합되지 않았다.

[0405] 실시예 11: 마우스에서 단클론 항체를 사용한 ANGPTL8 차단은 혈장 트리글리세리드 청소, 에너지 소비 및 체중 감량을 촉진한다

[0406] 하기 실시예에서, 완전 사람 단클론 항체를 사용한 ANGPTL8 차단은 마우스에서 혈장 TGs를 감소시키고, LPL 활성을 증가시키고, 체중 및 지방 함량을 감소시키는 것으로 나타난다. 상기 데이터에 추가로, 이들 데이터는 ANGPTL8 억제제가 고중성지방질혈증의 치료에 대한 표적이고, 지방 함량 및 체중에 대한 이점을 부가한다는 것을 지시한다.

[0407] 물질 및 방법

[0408] 항체 및 단백질 시약

[0409] 상기 언급된 바와 같이, H4H15341P는 Regeneron의 Velocimmune® 기술 플랫폼 (참조: Macdonald, L. E., et al. 2014. PNAS USA 111: 5147-5152; Murphy, A. J et al. 2014. PNAS U S A 111: 5153-5158)을 사용하여 유도되었고, 원숭이 및 사람으로부터의 ANGPTL8에 높은 친화도를 갖는 완전 사람 단클론 항체이다. H4H15341P는 사람 IgG4 불변 영역을 힌지 영역 내에 안정화 돌연변이와 함께 가져서 (위치 108에서 세린 내지 프롤린) (참조: Schreier, P.H., et al. 1981 PNAS USA 78(7):4495-4499) 반-항체 형성을 최소화한다 (참조: Labrijn, A. F., et al. 2009. Nature biotechnology 27: 767-771). 무관한 특이성을 갖는 이소타입-일치 항체는 대조군으로서 사용되었다.

[0410] 결합 연구

[0411] H4H15341P의 사람 및 원숭이 ANGPTL8로의 결합은 표면 플라즈몬 공명 이미징 (SPRi) 기반 MASS-1 바이오센서를 10 mM HEPES pH 7.4, 150 mM NaCl, 3 mM EDTA, 및 0.05% v/v 계면활성제 Tween-20 (HBS-ET) 작동 완충액에서 25°C에서 사용하여 연구하였다. HCA 센서 표면은 첫번째로 염소 항-마우스 IgG2a 폴리클로날 항체 (Southern Biotech, # 1080-01)와 커플링된 아민이었고, 대략 30RU의 C-말단 마우스 IgG2a Fc 태그로 나타낸 ANGPTL8 (hANGPTL8 -mFc) 또는 C-말단 마우스 IgG2a Fc 태그로 나타낸 원숭이 ANGPTL8 (mfANGPTL8 -mFc)을 포획하였다. HBS-ET 작동 완충액 중에 제조된 상이한 농도의 H4H15341P를, hANGPTL8-mFc 또는 mfANGPTL8-mFc 포획된 표면에 4 분 동안 30 µL/분의 유속으로 이후에 주사하고, 이어서, HBS-ET 작동 완충액 중에서 10 분 동안 결합된 mAb가 해리되었다. 분석물 부재하에 작동 완충액 주사를 수행하여 커플링된 염소 항-마우스 IgG2a 폴리클로날 항체 표면으로부터 포획된 mAb의 자연 해리로 수득된 기준선 드리프트(baseline drift)를 뺐셈하였다. 미가공 결합 데이터를 분석물 주사 시작에 맞춰 정렬하고, 이어서, 기준 플로우 셀에서 뺐셈하였다. 프로세싱된 데이터를 이후에 Scrubber (v. 2.0c, BioLogic Software)를 사용하여 분석하고, 여기서, 제어 완충액 주입을 사용하는 두 번

제 기준 뺄셈을 수행하였다. 회합 속도 (k_a), 해리 속도 (k_d) 및 해리 상수 (K_D)를 Scrubber 2.0c 소프트웨어를 사용하여 이중 기준 뺄셈된 결합 데이터를 질량수송한계를 갖는 1:1 Langmuir 결합 모델에 전세계적으로 (globally) 피팅하여 계산하였다.

- [0412] 마우스에서 연구
- [0413] 사람화된 ANGPTL8 마우스 (ANGPTL8^{hum/hum} 마우스)를 75% C57B1/6 및 25% 129S6/SvEv 배경 상에서 VelociGene 기술 (참조: Valenzuela, D. M., et al. 2003. Nature biotechnology 21: 652-659)를 사용하여 생성하였다. VelociGene 대립유전자 식별 번호는 VG7182이다. 모든 절차를 르제네론 파마슈티컬스 기관 동물 보호 및 사용 위원회 (Regeneron Pharmaceuticals Institutional Animal Care and Use Committee)에 의해 승인된 프로토콜을 준수하여 수행하였다. H4H15341P 및 대조군 항체를 마우스로의 피하 (S.C.) 주사용 멸균된 PBS로 희석시켰다.
- [0414] 단일 투여 연구: 수컷 ANGPTL8^{hum/hum} 마우스를 일반 식이(chow diet) (5001, LabDiet)로 유지하고, 자유롭게(ad libitum) 급식하였다. 혈청 화학 파라미터를 위한 기준선을 확립하기 위해, 혈청 샘플을 비-금식 상태에서 항체 투여 7 일 전에 수집하였다. 연구 0일째에, 마우스를 이들의 혈청 TG 수준을 기준으로 하여 치료 그룹으로 분류하였다. 마우스 (n=5/그룹) (자유롭게)는 H4H15341P 또는 대조군 항체의 단일 S.C. 주사를 지시된 용량으로 투여받았다. 후속적인 혈청 샘플을 연구 기간 동안 비-금식 마우스로부터 수집하고, 혈청 화학 파라미터 및 사람 ANGPTL8 수준을 분석하였다. 포스트-헤파린 혈장 LPL 활성을 H4H15341P (10 mg/kg)의 단일 투여 4일 후 측정하였다. 포스트-헤파린 혈장을 헤파린 컬럼 상에서 분류하여 상기한 바와 같이 간 리파아제 및 LPL을 분리하였다 (참조: Wang, Y., F. et al. 2013. PNAS U S A 110: 16109-16114). TG 가수분해효소 활성을 다른 문헌(참조: Basu, D., J. Manjur, and W. Jin. 2011. The Journal of Lipid Research 52: 826-832)에서 기재된 바와 같이 EnzCheck 기질 (Thermo Fisher Scientific)을 사용하여 측정하였다. 지질 내성 검사를 H4H15341P (10 mg/kg)의 단일 용량 4 일 후 수행하였다. 마우스를 20% 인트라리피드 (Baxter Healthcare)의 2.5 μ l/g 체중으로 정맥내 투여 전에 2 hr 동안 절식시켰다. TGs는 후속적인 시점에 꼬리로부터 수집된 혈액에서 평가하였다.
- [0415] 다중 투여 연구: 항체 투여 전 7일 (-7일째), 기준선 혈청 화학을 비-금식 동물에서 측정하였다. 6일째, 수컷 ANGPTL8^{hum/hum} 마우스를 고 지방 고 콜레스테롤 (HFHC) 식이 (21% 지방, 0.21% 콜레스테롤, Research Diets)에 배치하였다. 연구 0일째에, 마우스를 이들의 혈청 TGs 및 체중을 기초로 하여 치료 그룹으로 분류하였다 (n=8/그룹). 마우스에게 H4H15341P 또는 대조군 항체로 주 1회 (S.C., 10 mg/kg) 16 주 동안 주사하였다. 체중을 매주 측정하였다. 신체 조성 및 대사 분석을 각각 15 및 14 주에 평가하였다. 마우스를 마지막 항체 주사 1주 후에 희생시키고, 간, 심장, 근육, 부고환 및 피하 백색 및 갈색 지방 조직을 수집하였다.
- [0416] 혈청 화학 분석
- [0417] 혈청 TG, 총 콜레스테롤 (TC), LDL-C 및 HDL-C 수준을 혈청 중에서 ADVIA® 1800 혈액 화학 분석기 (Bayer, Leverkusen, Germany)를 사용하여 측정하였다. HPLC에 의한 지질단백질 분리는 이전에 기재된 바와 같이 수행하였다(참조: Gusarova, V., et al. 2015. J Lipid Res 56: 1308-1317).
- [0418] 신체 조성, 대사율 및 식품 섭취량 측정
- [0419] 신체 조성을 다른 곳에서 기재된 바와 같이 Quantum FX micro CT 전임상 생체내 이미징 시스템 (Caliper Life Sciences)을 사용하는 μ CT를 사용하여 측정하였다(참조: Mastaitis, J., et al. 2015. PNAS U S A 112: 1845-1849). 대사 케이지 데이터를 Oxymax Lab Animal Monitoring System: CLAMS (Columbus Instruments)을 사용하여 생성하였다. 마우스를 개별적으로 96 hr 동안 센터 피드(center feeds)를 갖는 케이지에서 모니터링하였다. 첫번째 24 hr에 생성된 데이터를 분석으로부터 생략하였다. 식품 섭취량을 지속적으로 측정하고, 밝음 주기의 밝음 및 암흑 기마다 소모된 칼로리로 나누었다. VO₂ 및 VCO₂를 17-min 간격 4-d 범위 동안 측정하고, 시간으로 경시적으로 플롯팅하였다. 에너지 소비를 호흡 지수 및 산소 소비의 함수로서 계산하고, 체중에 대해 표준화하였다. 추가로, 그룹이 분석 시점에서 다른(divergent) 체중을 갖기 때문에, 에너지 소비는 합친 2 그룹의 조정된 평균 체중을 사용하여 마우스당 Kcal/hr로서 표현하였다. 이는 문헌에 기재된 바와 같이 공분산으로서 체중을 사용하여 공분산 분석 (ANCOVA)을 사용하여 수행하였다(참조: Arch JR, et al. 2006. Int J Obes (Lond) 30(9):1322-1331; Whittle AJ, et al. 2015. Nat Commun 6:8951). 간단히, 각 동물에 대해 조정된 에너지 소비를 $Y=y-b(x-X)$ 로서 계산하고, 각 그룹에 대해 평균 \pm SEM로서 플롯팅하고, 여기서, Y는 단일 동물 조절된 에너지 소비 (Kcal/hr)이고, y - 단일 동물 에너지 소비 (Kcal/hr), x - 단일 동물 체중 (kg), X - 2 치료 그룹을 합친 조정된 평균 체중 (kg), b - 선형 회귀 분석으로 계산된 플롯팅된 에너지 소비의 선 대 각각의 동물 및 각

각의 치료 그룹에 대한 체중의 기울기.

- [0420] 글루코스 측정, 글루코스 및 인슐린 내성 검사
- [0421] 혈중 글루코스를 Accu-Chek 혈당측정기 (Roche, Basel, Switzerland)를 사용하여 꼬리 끝으로부터 측정하였다. 경구 글루코스 내성 검사를 위해 마우스를 밤새 (16 hr) 절식시키고, 이어서, 2 g/kg 체중으로 글루코스의 경구 영양하였다. 혈중 글루코스 수준을 주사-후 0, 15, 30, 60 및 120 min에 평가하였다. 인슐린 내성 검사를 위해 마우스를 4 hr 동안 절식시키고, 이어서, 2 U/Kg의 사람 인슐린 (Eli Lilly)을 복막내 주사하였다. 혈중 글루코스 수준을 주사-후 0, 15, 30, 60 및 120 min에 평가하였다.
- [0422] TG 조직 함량
- [0423] 간, 심장, 비복근 근육, 부고환 및 피하 백색 지방 조직, 및 갈색 지방 조직을 H4H15341P의 ANGPTL8^{hum/hum} 마우스로의 다중 투여 말기에 수집하고, 지질을 문헌에 기재된 바와 같이 추출하였다(참조: Folch J. et al. 1957. J Biol Chem. 226(1):497-509). 지질을 앞에서 개요된 대로 용해시켰다(참조: Carr TP Andresen CJ, Rudel LL. 1993. Clinical biochemistry. 26(1):39-42). TG의 수준을 효소 검정 (Infinity, Thermo Fisher Scientific)을 사용하여 측정하고, 젖은 조직 중량으로 표준화하였다.
- [0424] 사이노물거스 원숭이에서 연구
- [0425] 연구를 Crown Bioscience (Taicang, Jiangsu, China)에서 수행하였다. 18마리 자발적 고중성지질혈증 원숭이를 이들의 비-금식 혈청 TG 수준을 기준으로 하여 선택하고, 3 그룹으로 나누었다. 원숭이는 개별적으로 수용되었고, 물에 자유롭게 접근하였고, 제철 과일과 채소가 풍부한 완전하게 영양 균형이 잡힌 식이 (Shanghai Shilin Biotechnology)로 매일 2회 공급하였다. 모든 동물 절차를 크라운 생명과학 기관 동물 관리 및 사용 위원회(the Crown Bioscience Institutional Animal Care and Use Committee)에 의해 승인받았고, 실험 동물 관리의 평가 및 인증 협회(the Association for Assessment and Accreditation of Laboratory Animal Care)에 의해 승인된 가이드라인에 따라 수행하였다. 0일째에 원숭이는 H4H15341P를 3, 7 또는 10 mg/kg로 투여받았다. 혈액(4 ml)을 비-금식 동물로부터 1- 내지 5-일 간격으로 45일까지 BD 멸균된 정맥혈 수집관 (ACCU-CHEK Active, Roche) 내로 수집하였다. 모든 동물에 대한 TG 수준이 기준선으로 돌아온 후, 동물을 적어도 2 주 동안 약효세척 (washout)하고, 이어서, 5마리 동물을 식염수로 처리하기 위해 선택하였다. 혈액을 H4H15341P-주사된 그룹으로서 동일한 스케줄로 식염수 투여 후 연속일에 수집하였다. 혈청 TG, TC, LDL-C 및 HDL-C를 ADVIA®2400 (Siemens)에 의해 측정하였다.
- [0426] 데이터 분석
- [0427] 모든 데이터를 평균 ± SEM로 나타낸다. 통계학적 분석을 GraphPad Prism 6.0 소프트웨어를 사용하여 수행하였다. H4H15341P 및 대조군 항체-처리된 마우스에서 LPL 및 HL 활성을 웰치 t-테스트에 의해 비교하였다. 모든 다른 파라미터를 2원 ANOVA에 의해 반복된 측정으로 분석하였다. 유의한 F 비가 2-원 ANOVA으로 수득되는 경우, 사후분석(post-hoc) 분석을 본페로니 또는 시닥의 사후-테스트를 사용한 그룹간에 수행하였다. 원숭이 연구에서, -15, -7, 및 0일째에 각 파라미터의 평균을 기준선 값으로 사용하였다.
- [0428] 결과
- [0429] ANGPTL8 차단 항체의 시험관내 특성화
- [0430] 사람, 마우스 및 원숭이 ANGPTL8에 대한 ANGPTL8 차단 항체 H4H15341P의 상대적 친화도를 표면 플라즈몬 공명을 사용하여 비교하였다. H4H15341P는 유사한 친화도로 사람 및 원숭이 ANGPTL8에 결합한다(표 20 및 도 9a 및 9b). H4H15341P는 마우스 ANGPTL8 또는 사람 또는 마우스 ANGPTL3 또는 ANGPTL4에 결합하지 않는다(데이터를 나타내지 않음).

[0431] 표 20: hANGPTL8-mFc 또는 mfANGPTL8-mFc와 H4H15341P의 상호작용에 대한 결합 운동학적 파라미터의 요약

포획 표면	운동학적 결합 파라미터			
	$k_a (M^{-1}s^{-1})$	$k_d (s^{-1})$	$K_D (M)$	$t_{1/2} (min)$
hANGPTL8-mFc	8.5×10^4	$1 \times 10^{-5} *$	$\leq 1.17 \times 10^{-10}$	≥ 1155
mfANGPTL8-mFc	1.16×10^5	$1 \times 10^{-5} *$	$\leq 8.6 \times 10^{-11}$	≥ 1155

[0432] * 는 H4H15341P의 해리 없음이 hANGPTL8-mFc 또는 mfANGPTL8-mFc 포획된 표면으로부터 관찰되고, k_d 값이 결합 곡선을 피팅하면서 $1 \times 10^5 s^{-1}$ 에 수동으로 고정하였음을 나타낸다.

[0433] ANGPTL8 항체 차단은 지질단백질 리파아제 활성의 상향조절을 통해 혈청 트리글리세리드를 저하시킨다

[0434] 혈청 지질 수준에 미치는 사람 ANGPTL8 항체의 효과를 평가하기 위해, 사람화된 ANGPTL8 마우스 (ANGPTL8^{hum/hu})를 생성시켰다. 이들 마우스는 야생형 마우스와 유사한 다른 지질로 기준선 TGs를 약간 증가시켰다(도 10a 내지 10d). 음식-공급된 ANGPTL8^{hum/hum} 마우스에게 H4H15341P (10 mg/kg)의 단일 투여는 대조군 항체 처리와 비교하여 순환하는 TGs를 유의하게 감소시키지만(도 5a), 총 콜레스테롤 수준에 영향을 주지 않았다(도 5b). 혈청 지질의 HPLC 분리는 ANGPTL8 억제제가 VLDL-TG를 감소시켰음을 확인하였다(도 5c). TG의 감소는 14 일 동안 지속되었고, ANGPTL8의 혈장 수준의 두드러진 증가와 관련되었다(도 5e). 음식-공급된 ANGPTL8^{hum/hum} 마우스에서 순환하는 TGs에 미치는 H4H15341P의 용량 증가의 효과를 평가하였다. 5, 10 및 25 mg/kg에서 H4H15341P의 단일 투여는 대조군 수준의 60%까지 TGs의 점진적인 감소를 야기하였다(도 5f).

[0435] Angpt18-/- 마우스는 포스트-헤파린 혈장 LPL 활성의 상향조절을 통해 TG 청소를 증가시켰음이 이전에 보고되었다(참조: Wang, Y., et al. 2013. PNAS U S A 110: 16109-16114). 이와 일치되게, H4H15341P로의 ANGPTL8 차단은 간 리파아제 활성의 변화 없이 포스트-헤파린 혈장 LPL 활성을 증가시켰다(도 6a). LPL 혈장 활성의 증가는 H4H15341P를 받은 ANGPTL8^{hum/hum} 마우스에서 지질 내성을 개선시켰다(도 6b). 이들 데이터는 단클론 항체로의 ANGPTL8 차단이 LPL 활성의 상향조절을 통해 혈장 TGs를 저하시켰음을 나타낸다.

[0436] ANGPTL8 항체 억제제는 ANGPTL8^{hum/hum} 마우스에서 에너지 소비를 증가시키고, 지방 함량 및 체중을 감소시킨다

[0437] 에너지 소비, 신체 조성 및 체중에 미치는 ANGPTL8의 연장된 억제의 효과를 고 지방, 고 콜레스테롤 (HFHC) 식이 중인 ANGPTL8^{hum/hum} 마우스에서 평가하였다. 16 주 동안 H4H15341P (10 mg/kg)의 매주 투여는 대조군 항체와 비교하여 식후 순환하는 TG 수준의 두드러지고 지속되는 감소를 야기하였다(도 7a). ANGPTL8 항체는 또한 점진적 체중 감소를 야기하였고, 12주에 통계학적 유의성에 도달하였다(도 7b). 체중의 감소는 μ CT에 의해 측정된 감소된 체지방 용적과 상호관련되었다(도 7c). 체지방(lean) 조직의 용적의 변화가 검출되지 않았다.

[0438] 14주에 대사 케이지 분석은 H4H15341P로 처리된 마우스가 증가된 O₂ 소비 및 CO₂ 생성을 가짐을 나타내었다(도 11a 및 11b). H4H15341P 치료는 또한 체중으로 표준화되거나(도 7e) 또는 체중 표준화 없이 공분산 분석 (ANCOVA)으로 공분산으로서의 체중으로 계산되는 에너지 소비의 증가를 야기하였다(도 11c 및 11d). 항체 처리는 호흡 교환율 또는 식품 섭취량에 영향을 주지 않지만, 운동 활성을 증가시키는 경향이 있었다(도 7d, 7f, 및 7g). 모든 대사 케이지 데이터에 대한 미가공 트레이스(traces)를 도 12a 내지 12f에 나타낸다. 코어(core) 체온을 H4H15341P 처리에 의해 변하지 않고 유지되었다(도 13a). Angpt18-/- 마우스에서의 데이터(참조: Wang, Y., et al. 2013. PNAS U S A 110: 16109-16114; Gusarova V et al. 2014. Cell 159(3):691-696)와 일치하여, H4H15341P의 글루코스 항상성에 미치는 효과가 없음을 관찰하였다(도 14a 내지 14c). 이들 데이터는 ANGPTL8 억제제가 증가된 에너지 소비에 부차적으로 체지방 함량 및 체중을 감소시켰음을 나타낸다.

[0439] H4H15341P는 이상지질혈증 사이노물거스 원숭이에서 혈청 TG 및 HDL-C를 조절한다

[0440] 최종적으로, 혈청 지질에 미치는 H4H15341P의 효과를 자발적 이상지질혈증 사이노물거스 원숭이에서 평가하였다. 6마리 원숭이의 그룹에게 H4H15341P의 단일 용량을 3, 7 또는 10 mg/kg로 제공하였다. 원숭이의 한 그룹을 비히클을 받은 약효세척 기간의 말기에 선택하였다. H4H15341P는 순환하는 TGs의 강건하고 지속적인 용량-의존성 감소를 생성하고, 항체 투여 후 1 일 내에 최대 -65% (323±20 mg/dl 내지 114±21 mg/dl; P<0.0001; n=6)에 도달하였다 (도 8a 및 8d). 흥미롭게도, 모든 용량은 TGs의 동일한 최대 감소를 야기하고, 그

러나 효과의 기간은 용량-의존성이었다 (도 8a). ANGPTL8의 억제제는 또한 모든 용량에서 30%까지 HDL-C의 증가를 야기하였다 (도 8b 및 8e). LDL-C의 변화가 없음이 관찰되었다 (도 8c 및 8f).

[0441]

토론

[0442]

이러한 연구에서, ANGPTL8 차단은 단클론 항체 H4H15341P가 순환하는 TGs를 LPL 활성의 상향조절을 통해 효율적으로 감소시켰음을 나타내고, 이는 *Angpt18*^{-/-} 동물에서 보고된 표현형과 일치한다(참조: Wang, Y., F. et al. 2013. PNAS U S A 110: 16109-16114; Gusarova, V., et al. 2014. Cell 159: 691-696). 추가로, H4H15341P는 HFHC 식이에 배치하는 경우 마우스에서 지방 축적 및 체중 증가를 감소시켰다. 체중의 감소는 증가된 에너지 소비에 부차적이었다. 또한, 자발적 고중성지질혈증 사이노물거스 원숭이에서 ANGPTL8 차단은 혈청 TGs를 두드러지게 감소시키고, HDL-C를 증가시켰다. 이들 데이터는 단클론 항체를 사용하는 ANGPTL8의 억제제가 고중성지질혈증 및 비만을 갖는 환자를 위해 유리할 수 있음을 제시한다.

[0443]

ANGPTL8의 항체 억제제는 최근에 정상지질혈증(normolipidemic) C57Bl/6 마우스에서 TGs를 30%까지 감소시키는 것으로 보고되었지만, 30 mg/kg으로 3회 매일 투여가 요구되었다 (참조: Fu, Z., et al. 2015. Scientific Reports 5: 18502). 현재 연구는 마우스 및 원숭이에서 순환하는 TGs를 ≤5 mg/kg의 단일 용량으로 65%까지 효과적으로 감소시키는 ANGPTL8에 대한 완전 사람 단클론 항체의 개발을 기술한다. ANGPTL8 억제제는 LPL 활성의 탈-억제를 통해 혈장 TGs를 감소시켰다. 사이노물거스 이상지질혈증 원숭이에서 ANGPTL8 항체 억제제는 또한 HDL-C를 30%까지 증가시켰고, 이는 ANGPTL8에서 기능 돌연변이의 사람 손실에서 보고된 관찰과 일치한다 (참조: Peloso, Gina M., et al. 2014. The American Journal of Human Genetics 94: 223-232.)

[0444]

제급식 동안, LPL 활성은 WAT에서 상향조절되고, 심장 및 골격근에서 감소된다(참조: Goldberg, I. J., R. H. Eckel, and N. A. Abumrad. 2008. The Journal of Lipid Research 50: S86-S90). 마우스에서 *Angpt18*의 결실은 이들 LPL 활성의 변화를 붕괴시키고; LPL 활성의 식후 감소가 이들 마우스에서 제급식을 하는 산화 조직에서 일어나지 않는다. 결과적으로, TG는 지방 조직보다는 산화 조직에 전달된다. 이들 데이터는 ANGPTL8이 식품 섭취 후 산화 조직으로부터 백색 지방 조직으로 지방산을 다시 보내는 대사 스위치로서 작용함을 제시하였다 (참조: Wang, Y., F. et al. 2013. PNAS U S A 110: 16109-16114).

[0445]

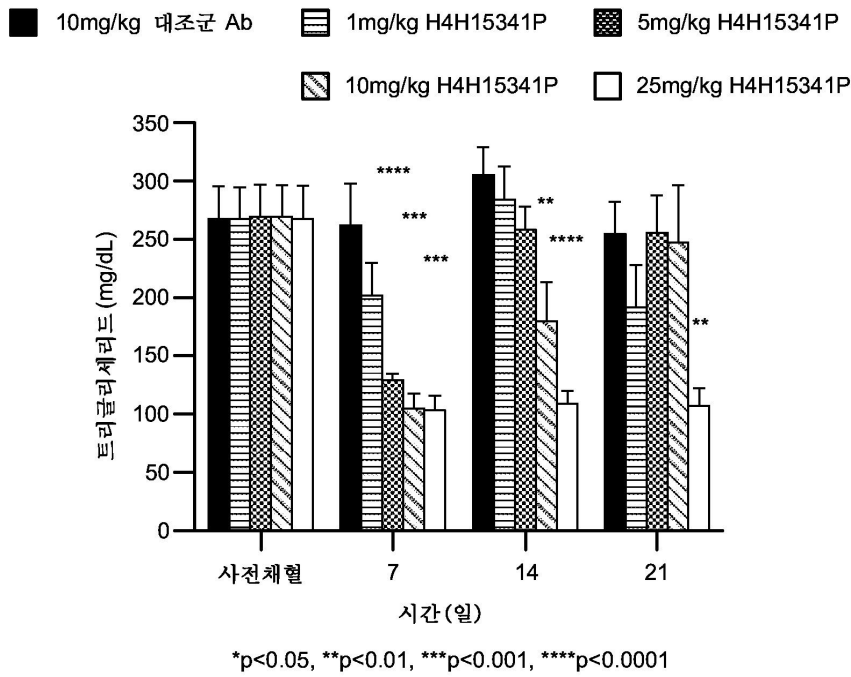
H4H15341P의 다중 용량을 사용한 ANGPTL8의 만성 억제제는 HFHC 식이 중인 ANGPTL8^{hum/hum} 마우스에서 체중 증가 및 지방 축적을 감소시켰다. H4H15341P 처리된 마우스에서 체중 감소는 증가된 에너지 소비를 야기하는 경향이 있다. H4H15341P 치료는 호흡 교환율을 변화시키지 않았고, 이는 연료 이용을 변화시키지 않음을 지시한다. 체중 및 지방 조직 질량의 감소는 음식-공급된 *Angpt18*^{-/-} 마우스에서 더 조기에 보고되었다(참조: Wang, Y., F. et al. 2013. PNAS U S A 110: 16109-16114). 따라서, ANGPTL8은 백색 지방 조직에서 TG 저장의 중요한 조절자이다.

[0446]

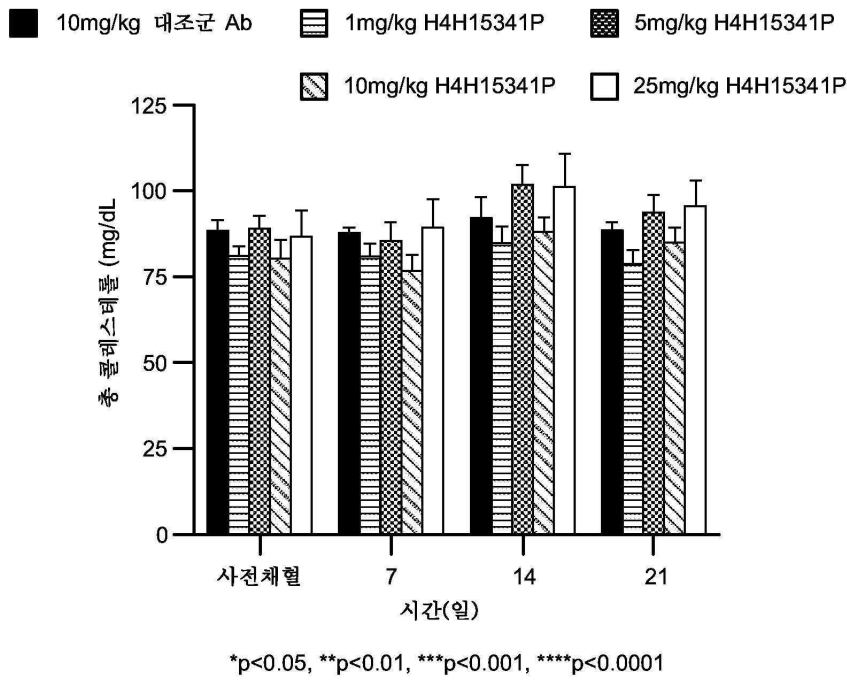
결론적으로, 단클론 항체 H4H15341P를 사용한 ANGPTL8 억제제는 마우스 및 원숭이에서 LPL 활성의 상향조절을 통해 순환하는 TGs를 감소시켰다. ANGPTL8 항체의 HFHC 식이 중인 ANGPTL8^{hum/hum} 마우스로의 다중 용량 투여는 체중 및 지방 함량을 감소시켰다. 데이터는 단클론 항체를 사용한 ANGPTL8 억제제가 고중성지질혈증 및 비만을 갖는 환자에서 유리할 수 있음을 지시한다.

도면

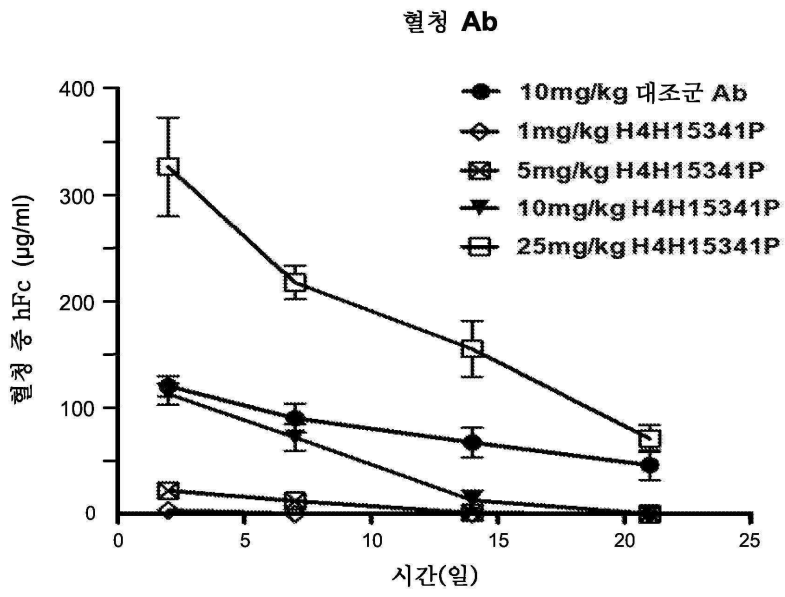
도면1a



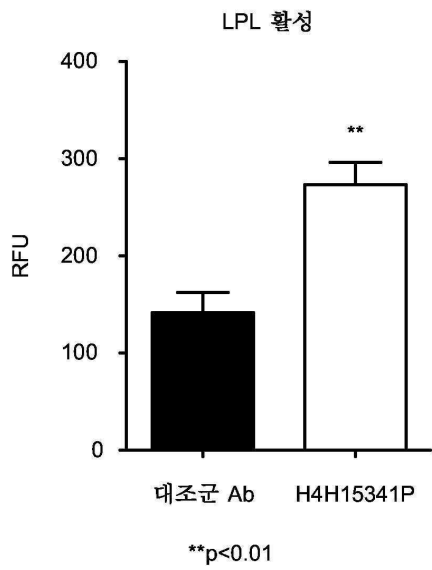
도면1b



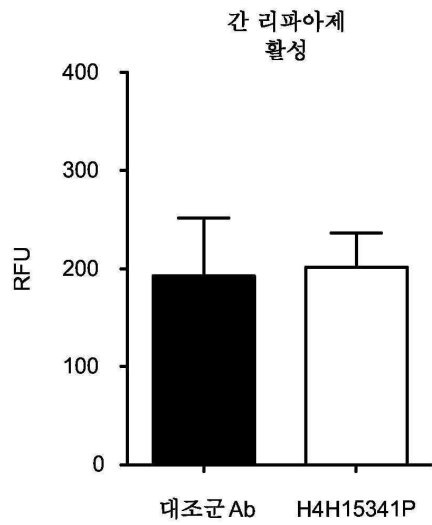
도면2



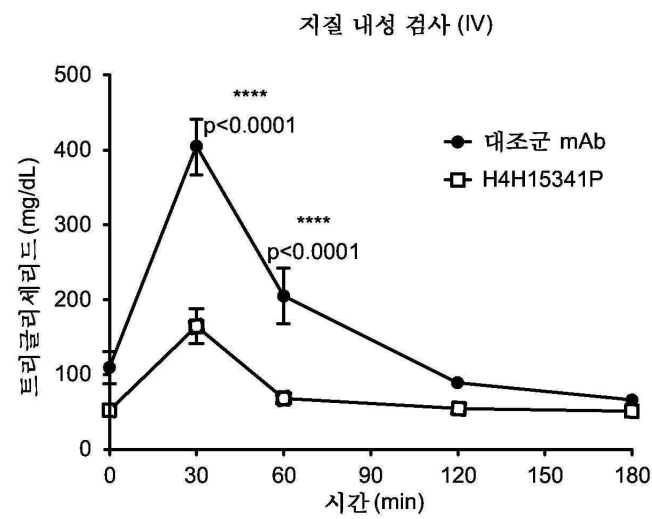
도면3a



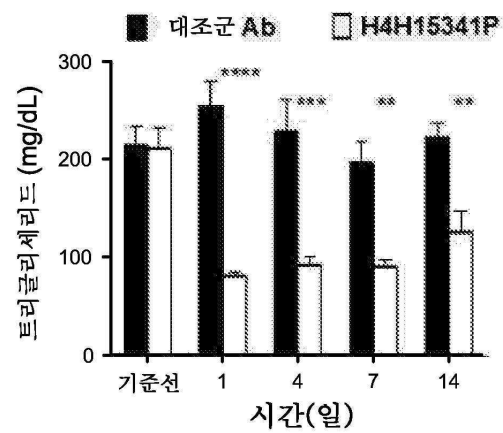
도면3b



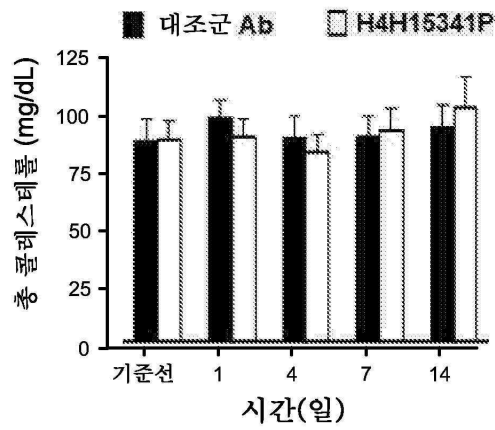
도면4



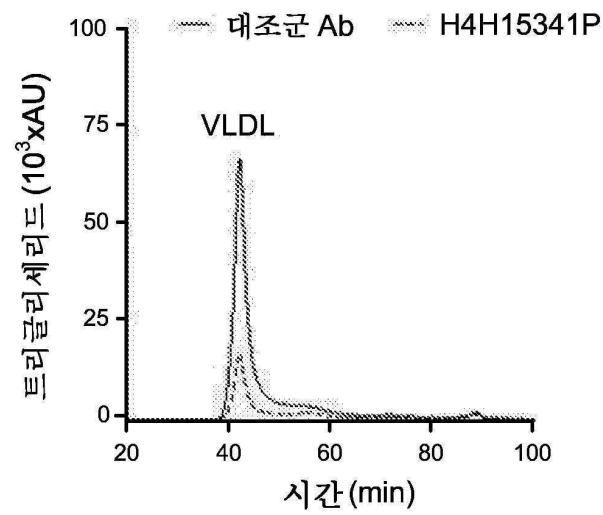
도면5a



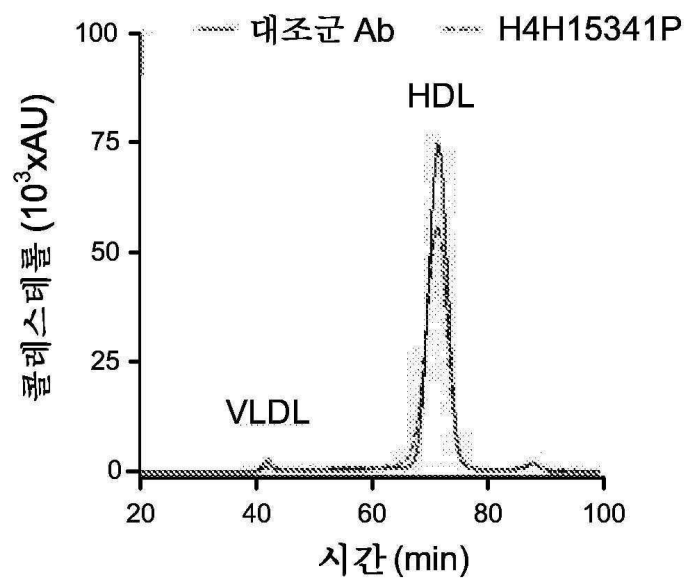
도면5b



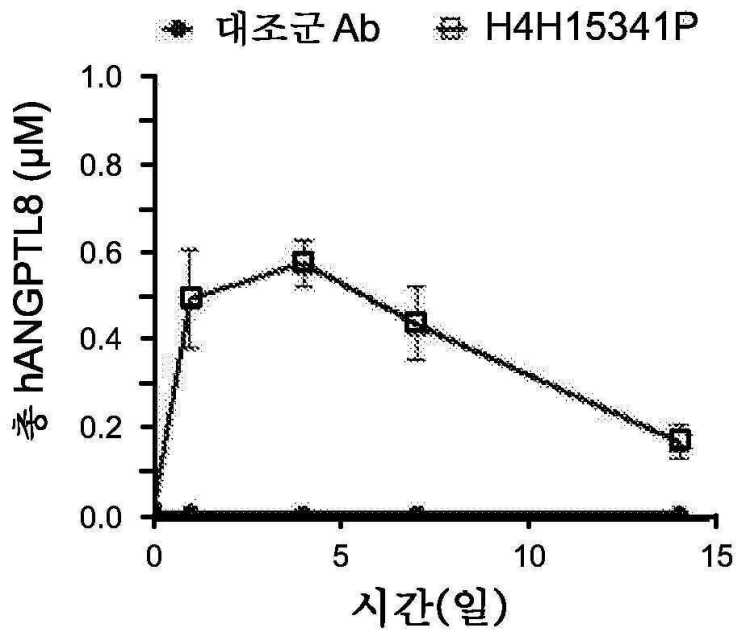
도면5c



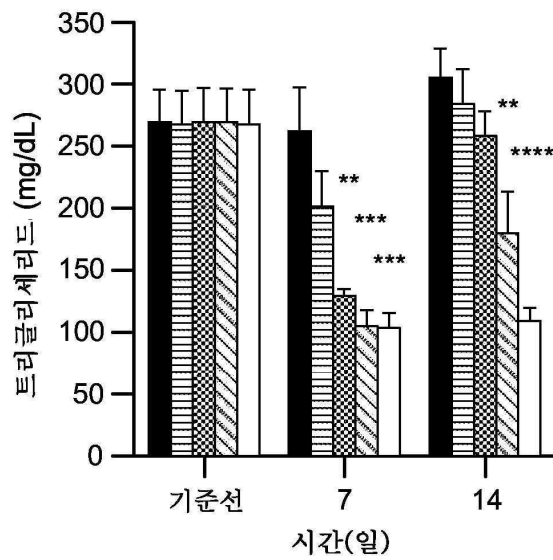
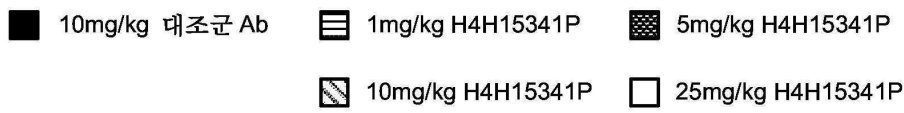
도면5d



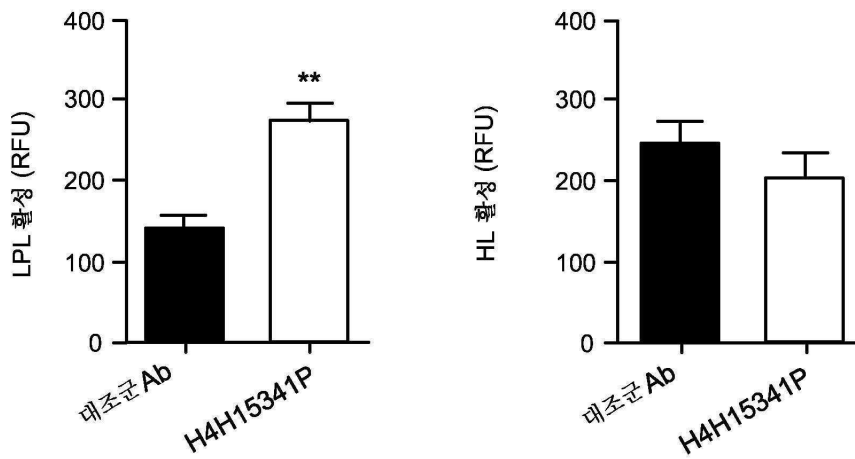
도면5e



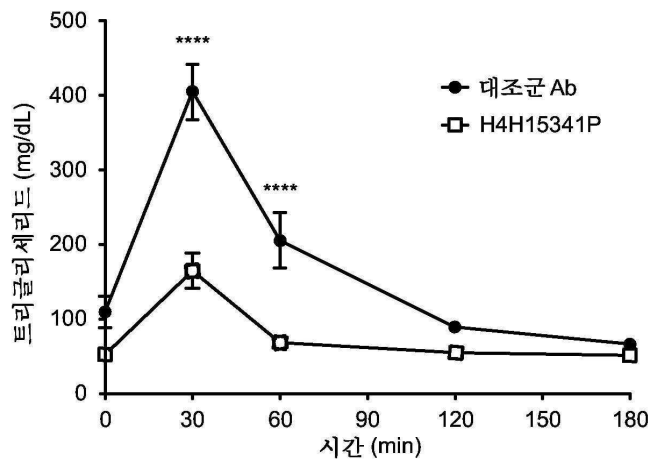
도면5f



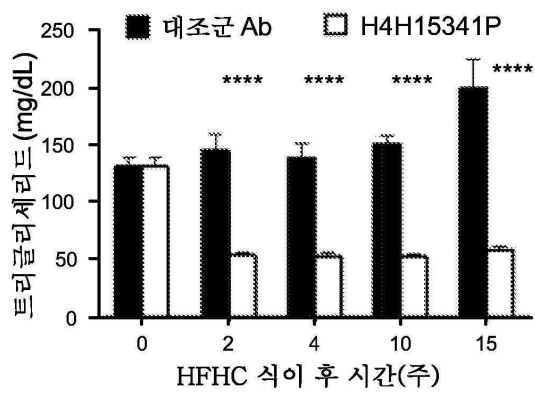
도면6a



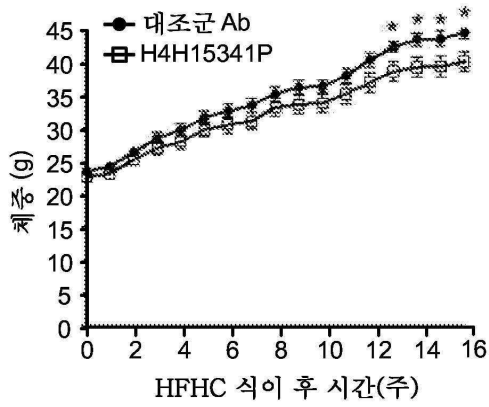
도면6b



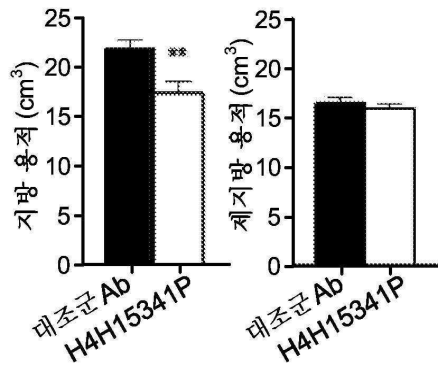
도면7a



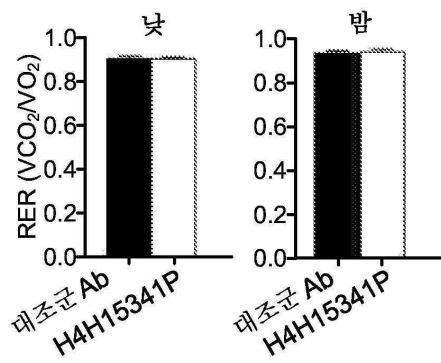
도면7b



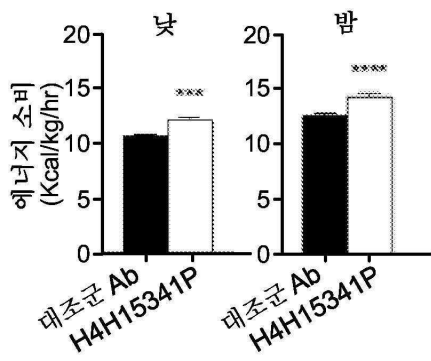
도면7c



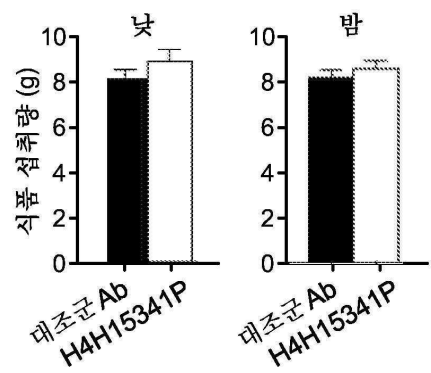
도면7d



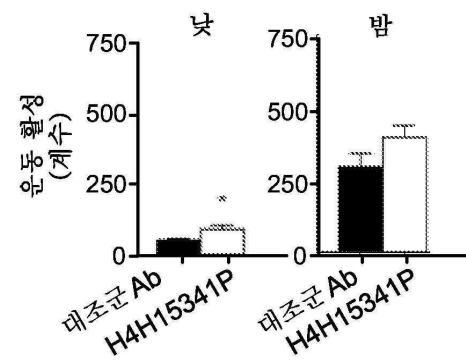
도면7e



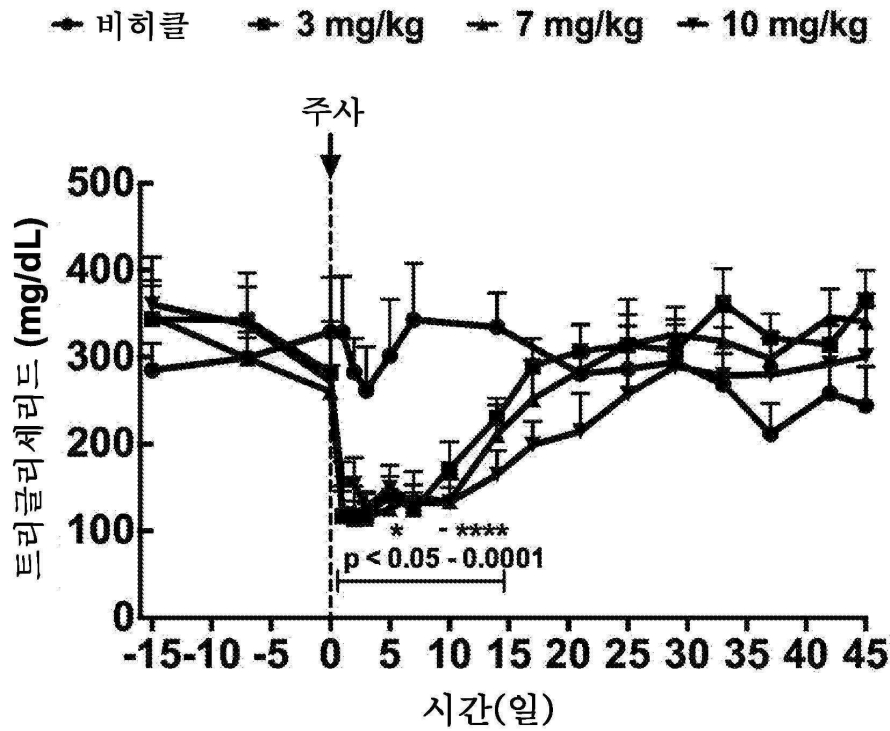
도면7f



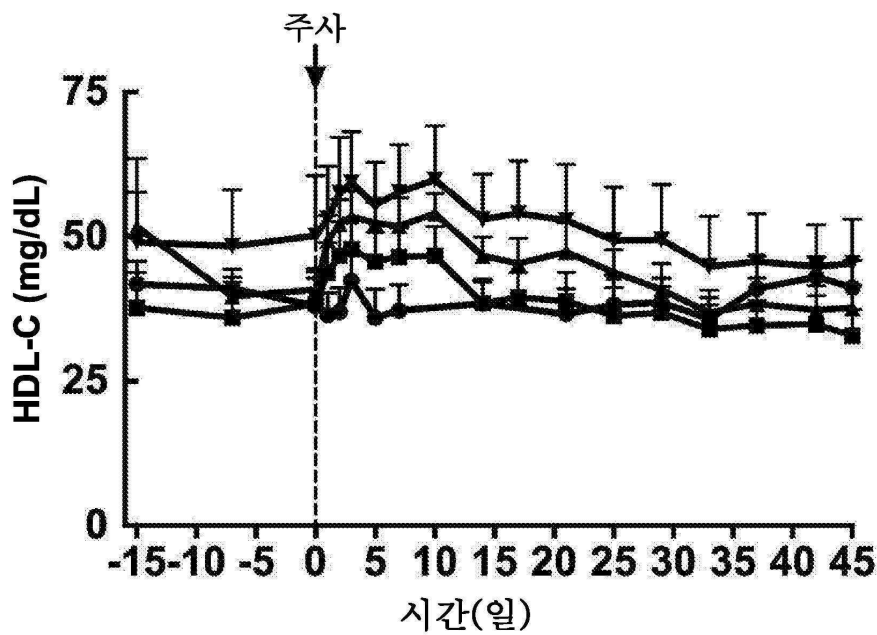
도면7g



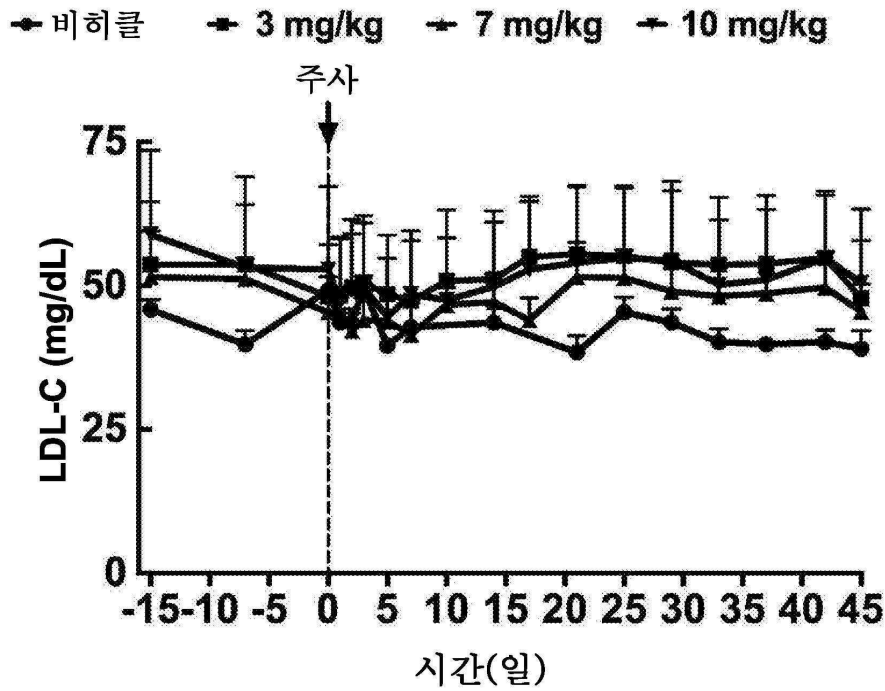
도면8a



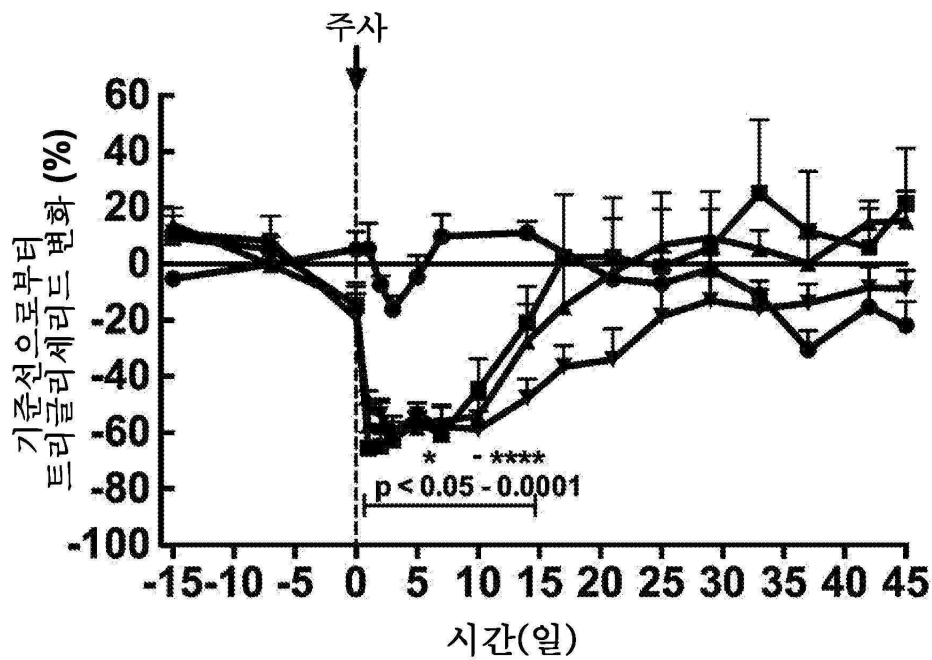
도면8b



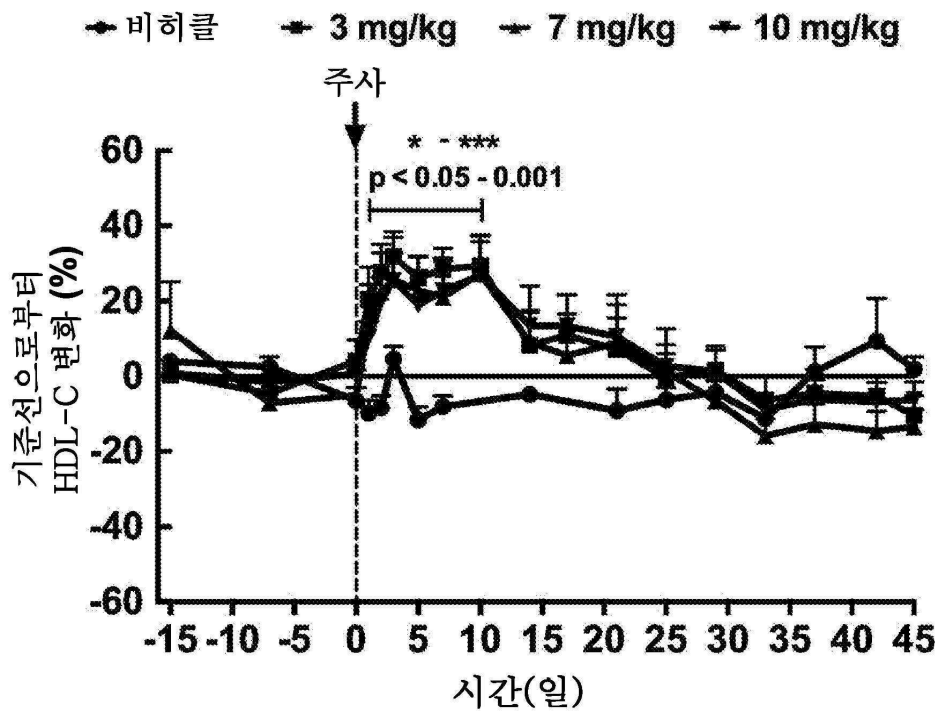
도면8c



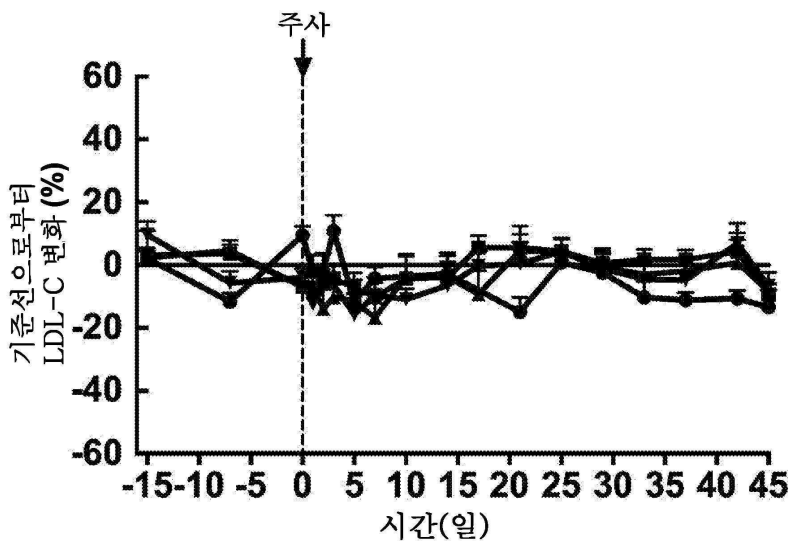
도면8d



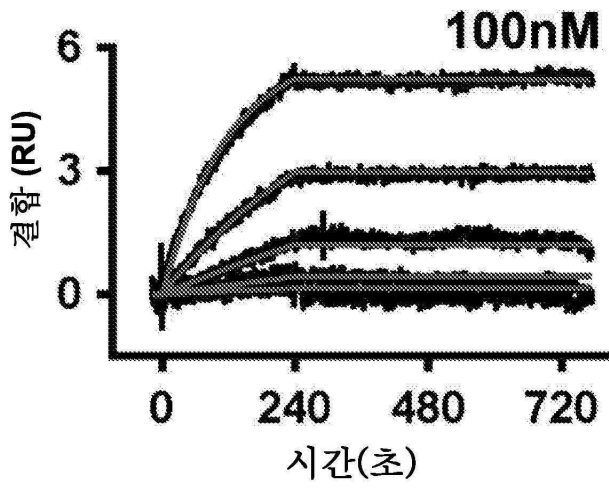
도면8e



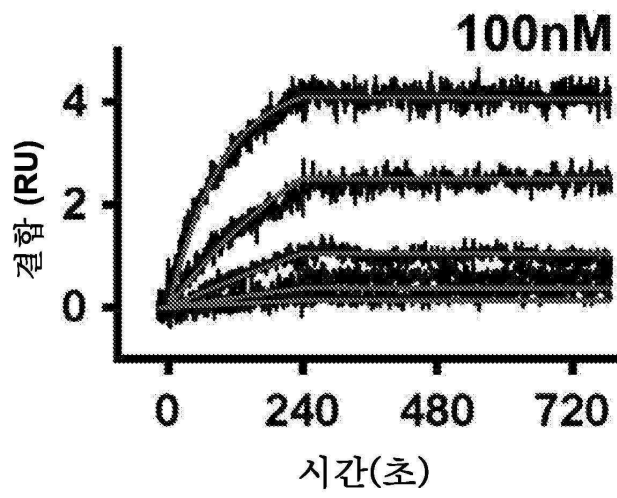
도면8f



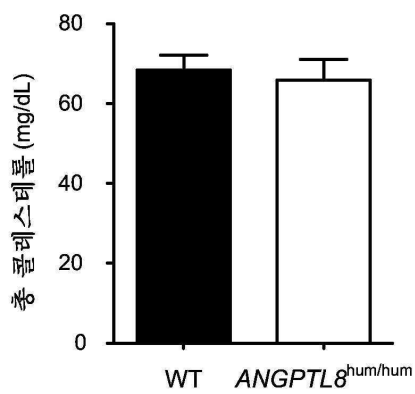
도면9a



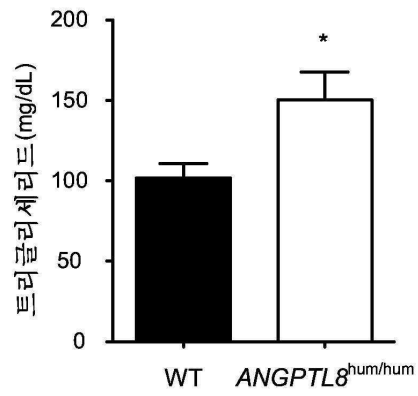
도면9b



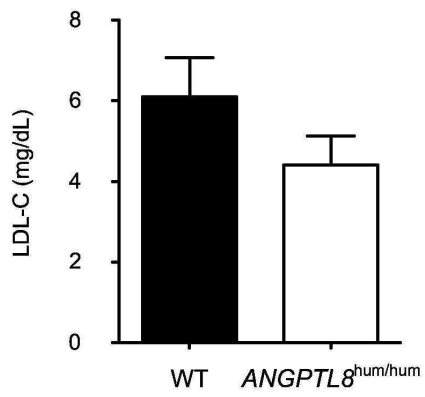
도면10a



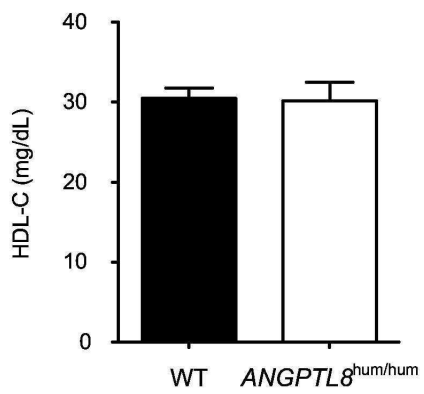
도면10b



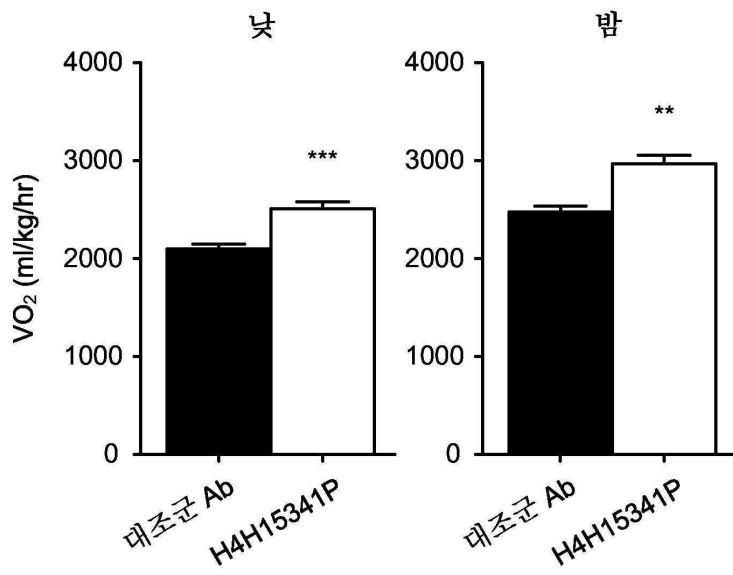
도면10c



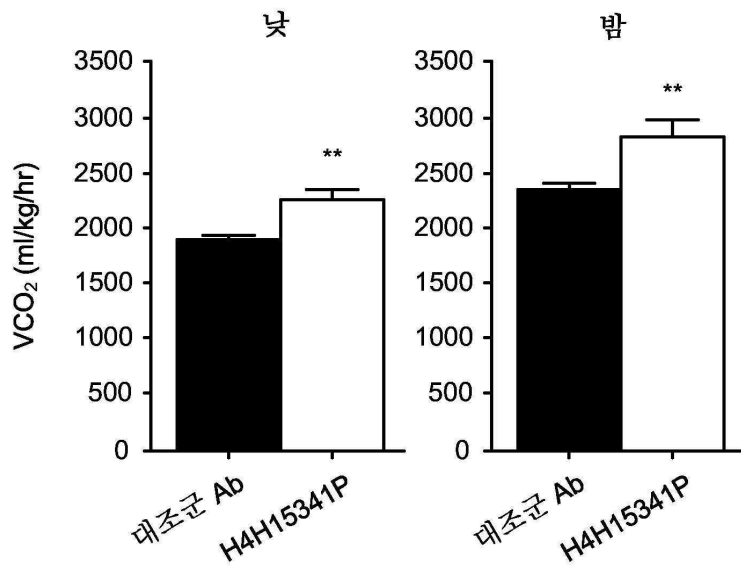
도면10d



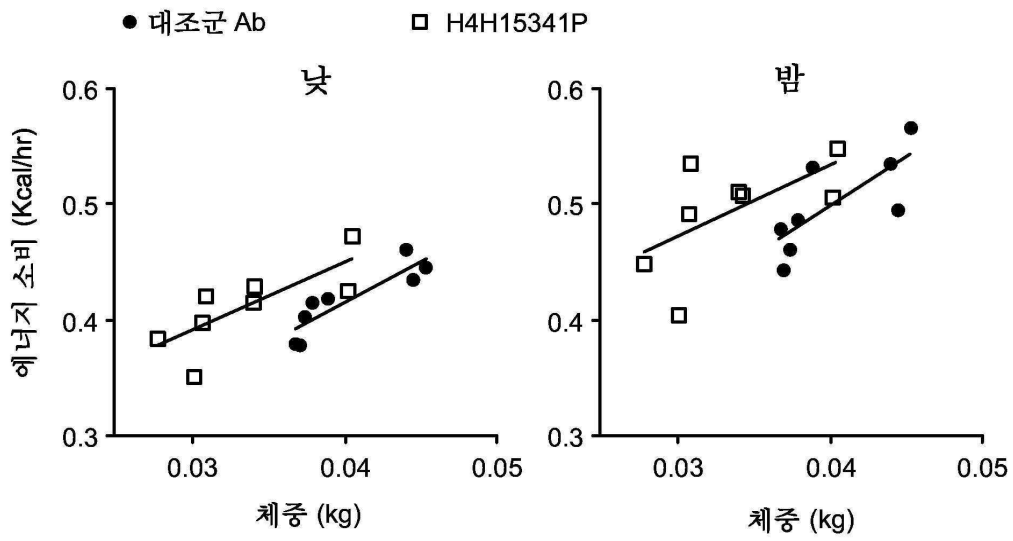
도면11a



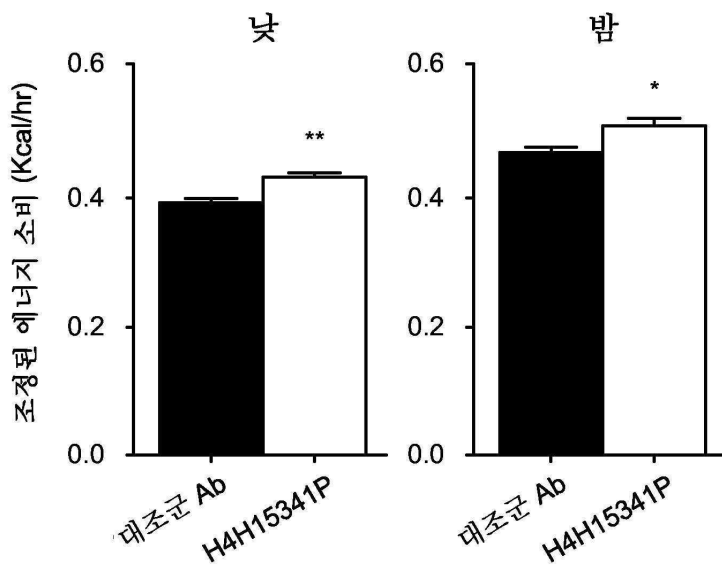
도면11b



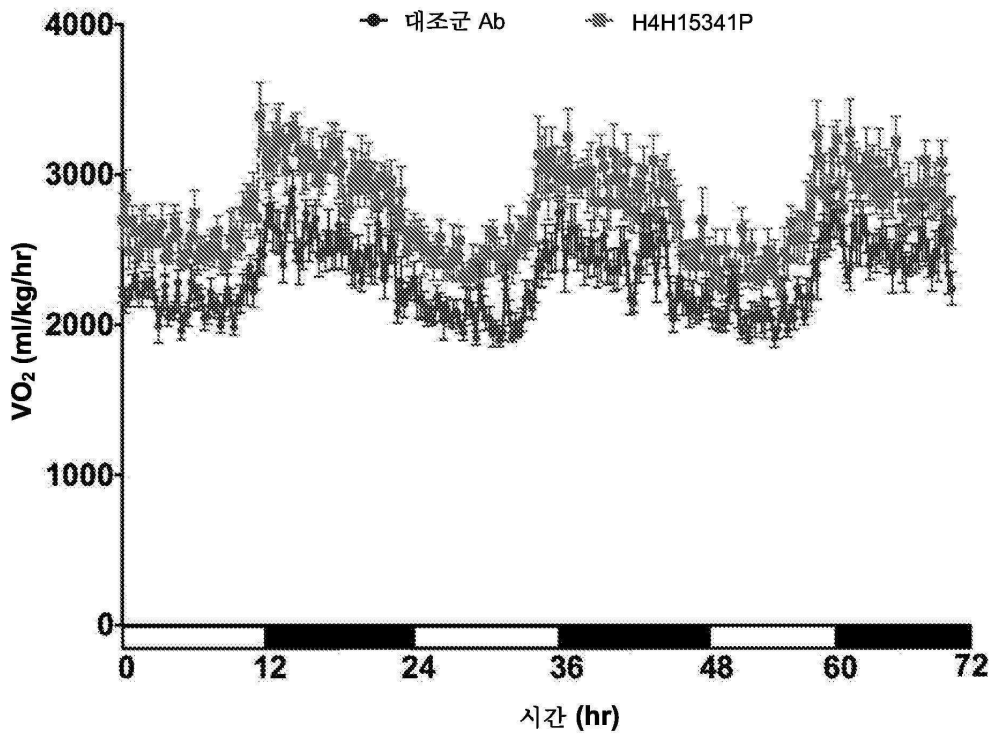
도면11c



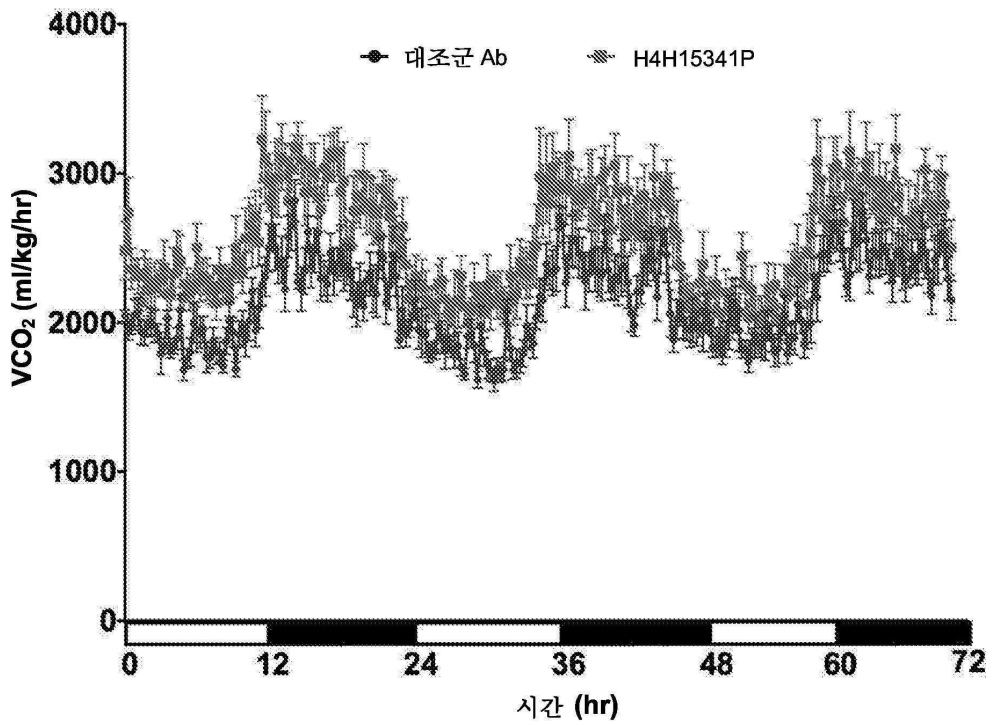
도면11d



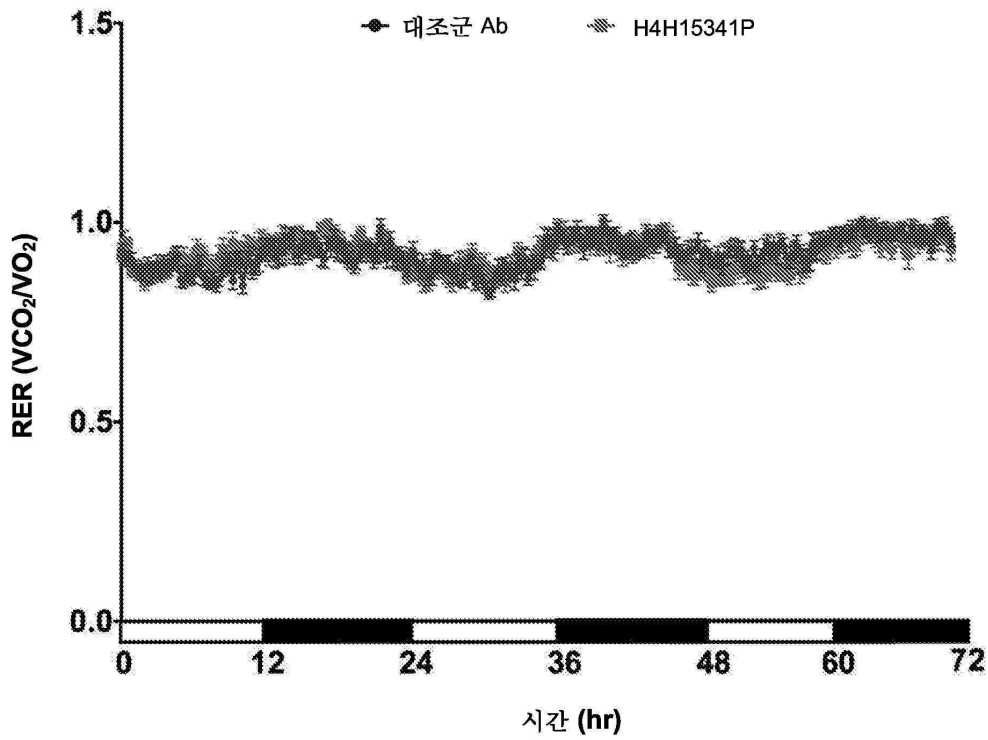
도면12a



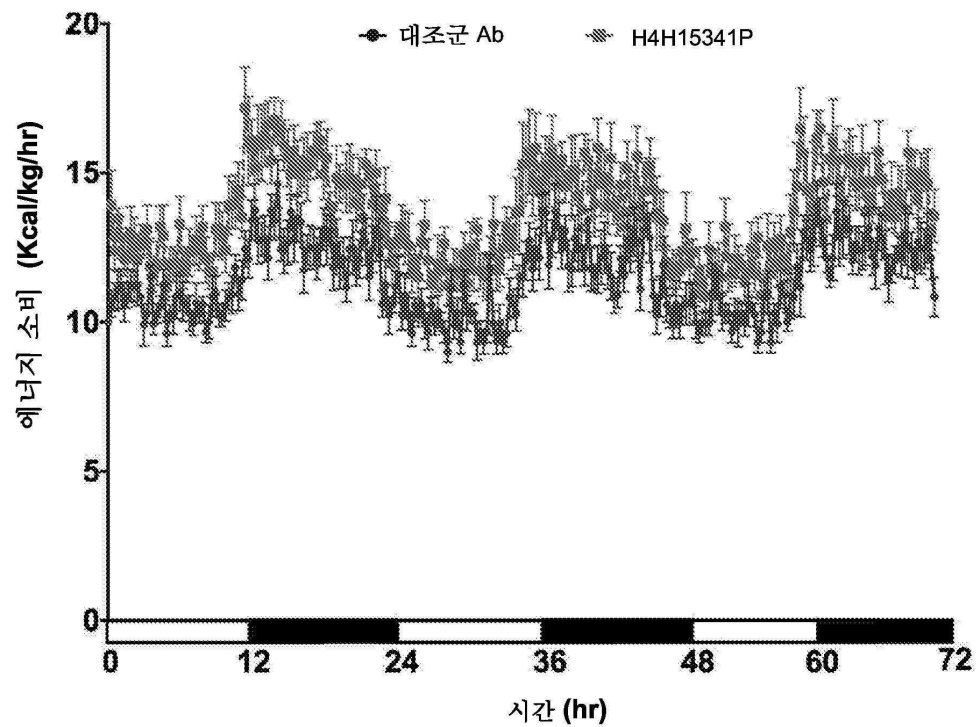
도면12b



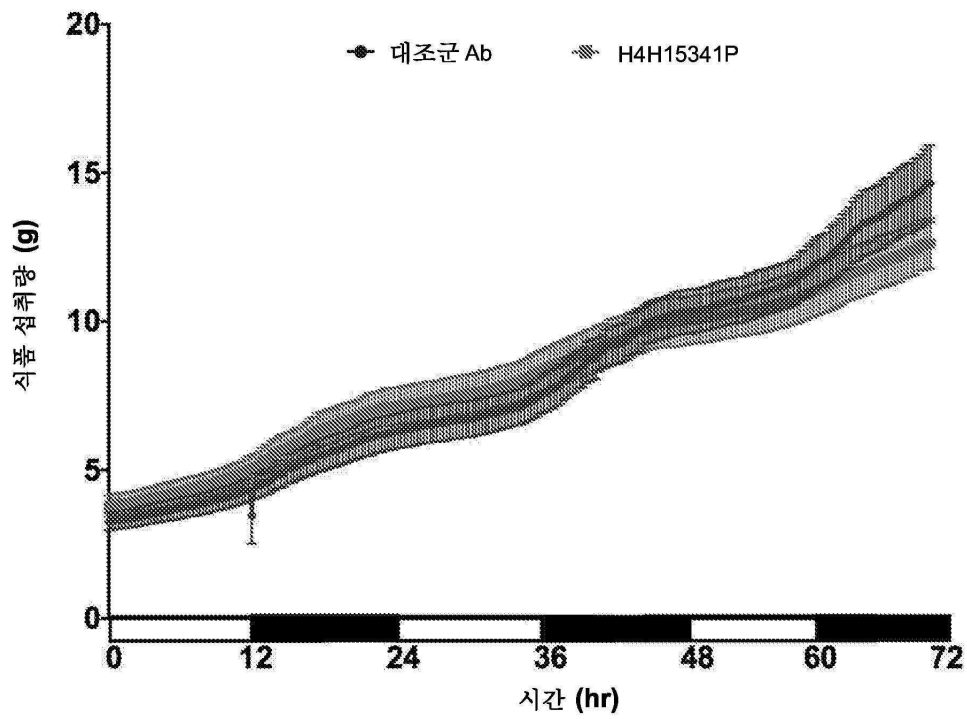
도면12c



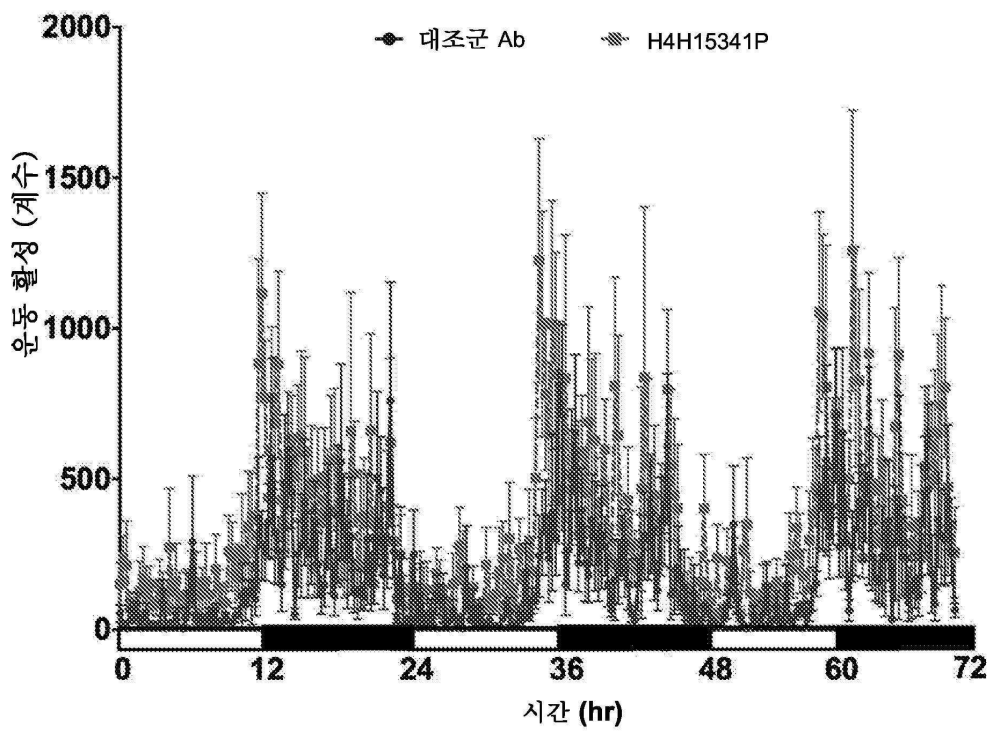
도면12d



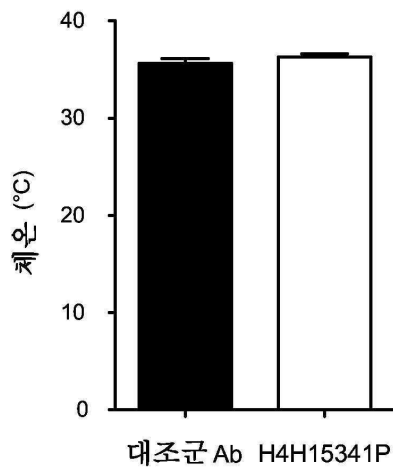
도면12e



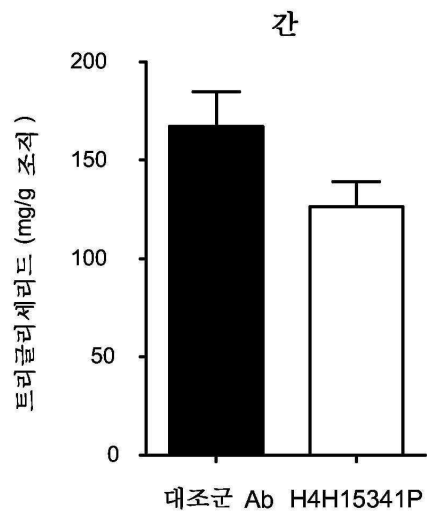
도면12f



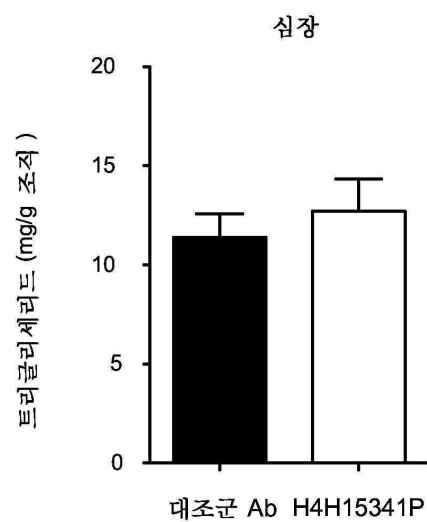
도면13a



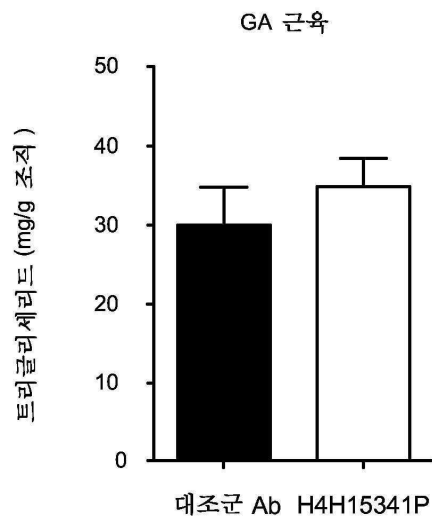
도면13b



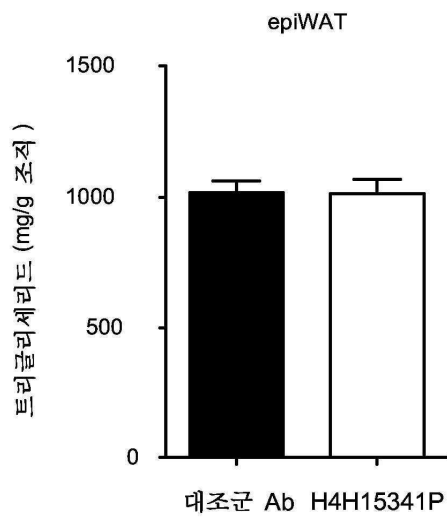
도면13c



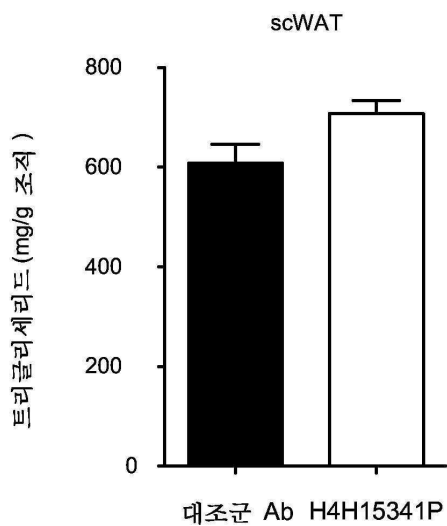
도면13d



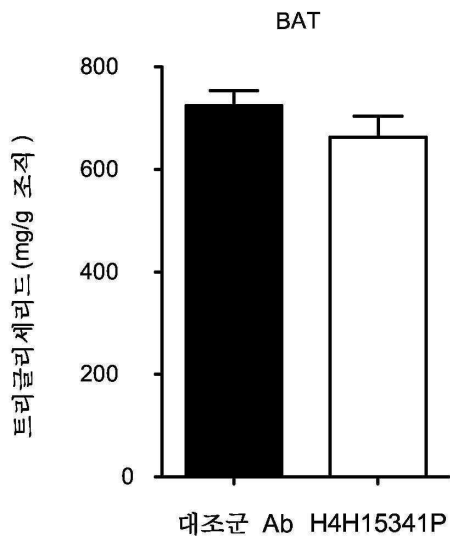
도면13e



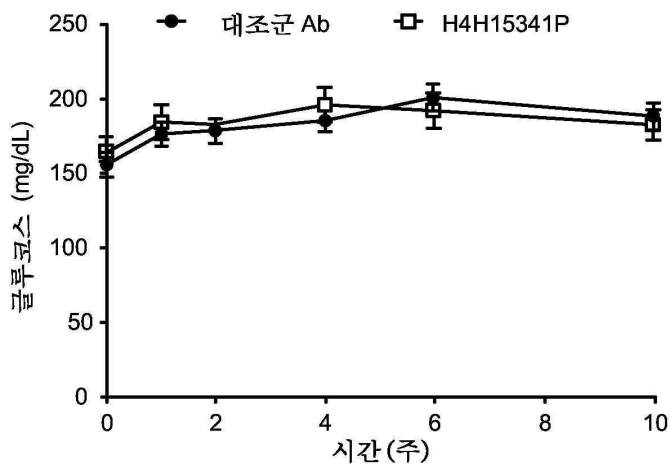
도면13f



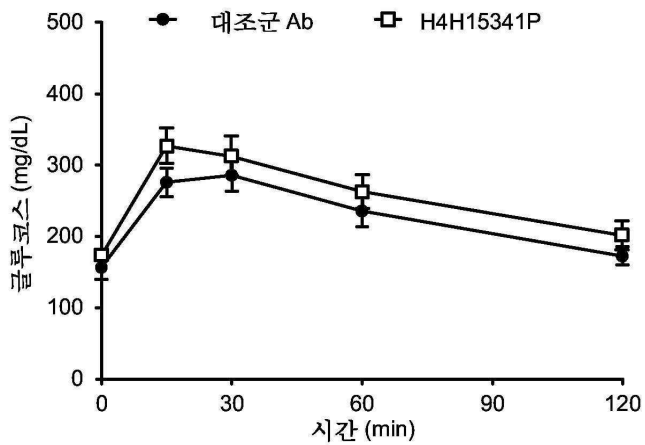
도면13g



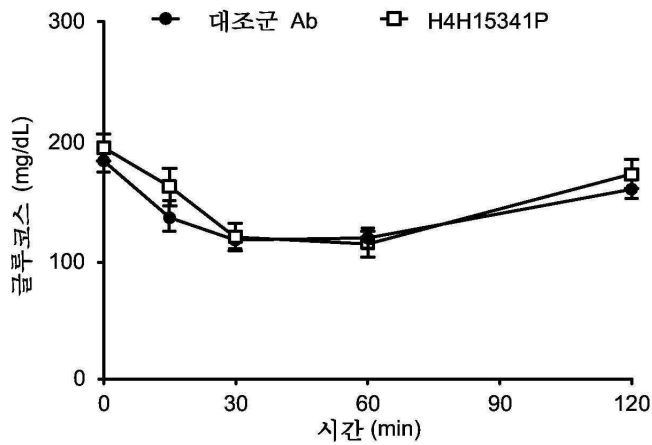
도면14a



도면14b



도면14c



서열 목록

SEQUENCE LISTING

<110> REGENERON PHARMACEUTICALS, INC.

<120> METHODS OF TREATING OBESITY WITH ANTI-ANGPTL8 ANTIBODIES

<130> 0431.30PCT

<150> US 62/423,639

<151> 2016-11-17

<160> 368

<170> KoPatentIn 3.0

<210> 1

<211> 351

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<400> 1

caggtgcagc tgggtcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaagtc 60

tcttgcagg ctcttgata caccctcacc agttatgata tcaattgggt gcgacaggcc 120

actggacaag ggcttgagtg gatgggggtgg atgaacccta acggtgataa cacagctat 180

gcacagaagt tccagggcag agtcaccatg accggggaca cctccataag cacagcctac 240

atggagctga gcagcctgag atctgaggac acggccgtgt attactgtgc gagagagga 300

atctgggggt tcgaccctg gggccaggga accctgttca ccgtctctc a 351

<210> 2

<211> 117

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
polypeptide

<400> 2

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

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

<210> 3

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<400> 3

ggatacacct tcaccagtta tgat

24

<210> 4

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 4

Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr Asp

1 5

<210> 5

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide

<400> 5

atgaacccta acggtgataa caca

24

<210> 6

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 6

Met Asn Pro Asn Gly Asp Asn Thr

1 5

<210> 7

<211> 30

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide

<400> 7

gcgagagagg gaatttgggg gttcgacccc

30

<210> 8

<211> 10

35 40 45
Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Phe Tyr Cys Leu Gln His Asn Thr Phe Pro Arg
85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 11

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<400> 11

caggacatta gaaatgat

18

<210> 12

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<400> 12

Gln Asp Ile Arg Asn Asp

1 5

<210> 13

<211> 9

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<400> 13

gctgcatcc 9
 <210> 14
 <211> 3
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 peptide
 <400> 14

Ala Ala Ser
 1
 <210> 15
 <211> 27
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 15

ctacagcata atactttccc tcggacg 27
 <210> 16
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 peptide
 <400> 16

Leu Gln His Asn Thr Phe Pro Arg Thr
 1 5
 <210> 17
 <211> 351
 <212>
 > DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polynucleotide

<400> 17
 gaagtcagc tggtagc tggggaggc ttgtacagc ctggcaggc cctgagactc 60
 tcctgtcag cctctggatt catctttgat gattatgaca tgcactgggt cggcaagct 120
 ccaggaagg gcctggagtg ggtctcaggt attagttgga atagtggtag taaaggctat 180
 gcggactctg tgaaggccg attcaccatc tccagagaca acgccaagaa ctccctgtat 240
 ctgcaaatga acagtctgag agctgaggac acggccttgt attactgtac aaaaggccc 300

tgggactact ttgactactg gggccagga acctgtgca ccgtctctc a 351

<210> 18

<211> 117

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polypeptide

<400> 18

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

115

<210> 19

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide

<400> 19

ggattcatct ttgatgatta tgac

24

<210> 20

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 20

Gly Phe Ile Phe Asp Asp Tyr Asp

1

5

<210> 21

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide

<400> 21

attagttgga atagtgtag taaa

24

<210> 22

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 22

Ile Ser Trp Asn Ser Gly Ser Lys

1

5

<210> 23

<211> 30

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<400> 23

acaaaagggc cctgggacta ctttgactac 30

<210> 24

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<400> 24

Thr Lys Gly Pro Trp Asp Tyr Phe Asp Tyr

1 5 10

<210> 25

<211> 321

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<400> 25

gacatccaga tgaccagtc tccttcacc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60

atcacttgcc gggccagtc agtattagt agctggttg cctggtatca gcagaaacca 120

gggaaagccc ctaagctcct gatctataag gcgtctagtt tagaaaatgg ggtcccatca 180

aggttcagcg gcagtggatc tgggacagaa ttcactctca ccatcagcag cctgcagcct 240

gatgattttg caacttatta ctgccaacag tataatagtt attcgtacac ttttgccag 300

gggaccaagc tggagatcaa a 321

<210> 26

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 26

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

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Trp

 20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

 35 40 45

Tyr Lys Ala Ser Ser Leu Glu Asn Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

 50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

Asp Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Ser Tyr

 85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

 100 105

<210> 27

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide

<400> 27

cagagtatta gtagctgg

18

<210> 28

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 28

Gln Ser Ile Ser Ser Trp

1 5

<210> 29

<211> 9

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide

<400> 29

aaggcgtct

9

<210> 30

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 30

Lys Ala Ser

1

<210> 31

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide

<400> 31

caacagtata atagttattc gtacact

27

<210> 32

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 32

Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Ser Tyr Thr

1 5

<210> 33

<211> 378

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<400> 33

caggtgcagc tggaggagtc tggggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60

tcctgtacag cctccggatt caccttcgga aactttggca tacactgggt cgccaggct 120

ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcggtc atatcatatg atggaactga taaattctat 180

gcagaccccc tgaagggccg attcattatc tccagagaca attctatgaa cattctgtat 240

ctgcaaatga acagcctgag agctgaagac acggctgtat actattgtgc gaaagatggg 300

gaaatggaac tacggggata ctattactac tacggaatgg acgtctgggg ccaagggacc 360

acggtcaccg tctcctca 378

<210> 34

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 34

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

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Thr Ala Ser Gly Phe Thr Phe Gly Asn Phe

20 25 30

Gly Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

Ala Val Ile Ser Tyr Asp Gly Thr Asp Lys Phe Tyr Ala Asp Pro Val

50 55 60

Lys Gly Arg Phe Ile Ile Ser Arg Asp Asn Ser Met Asn Ile Leu Tyr

65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Lys Asp Gly Glu Met Glu Leu Arg Gly Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr Gly
 100 105 110
 Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
 115 120 125

<210> 35

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide

<400> 35

ggattcacct tcggaactt tggc

24

<210> 36

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 peptide

<400> 36

Gly Phe Thr Phe Gly Asn Phe Gly

1

5

<210> 37

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220

><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide

<400> 37

atatcatatg atggaactga taaa

24

<210> 38

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<400> 38

Ile Ser Tyr Asp Gly Thr Asp Lys

1 5

<210> 39

<211> 57

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<400> 39

gcgaaagatg gggaaatgga actacgggga tactattact actacggaat ggacgtc 57

<210> 40

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<400> 40

Ala Lys Asp Gly Glu Met Glu Leu Arg Gly Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr Gly

1 5 10 15

Met Asp Val

<210> 41

<211> 321

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<400> 41
gacatccaga tgaccagtc tccatcttcc gtgtctgcat ctgttgaga cagagtcacc 60
attacttgtc gggcgagtca gggattaac acctggtag cctggatca gcagaaacca 120
gggacagccc caaagctcct gatctttgct gcatccagtt tggagagcgg agtccatca 180
aggttcagcg gcagtggatt tggtagatc ttactctca ccatcagcag cctacagtct 240
gaggatcttg caacttactt ttgtcaacag gttcacagtc cccgtacac ttttgccag 300
gggaccaagc tggagatcaa a 321

<210> 42

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
polypeptide

<400> 42

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

<210> 43

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<400> 43

caggtatta acacctgg

18

<210> 44

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<400> 44

Gln Gly Ile Asn Thr Trp

1 5

<210> 45

<211> 9

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide

<400> 45

gctgcatcc

9

<210> 46

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<400> 46

Ala Ala Ser

1

<210> 47

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<400> 47

caacaggttc acagtccccc gtacact

27

<210> 48

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<400> 48

Gln Gln Val His Ser Pro Pro Tyr Thr

1 5

<210> 49

<211> 348

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
polynucleotide

<400> 49

gaggtgcagc tggtaggagtc tggaggaggt gtggtacggc cggggggggtc actgagactc 60

tcctgtgctg cctctggatt caccgttgat gattatgaca tgagttaggt ccgccaact 120

ccaggaagg ggctggagtg gatctctggc attaattgga atggaggtaa cacaggttat 180

gcagactctg tgaagggccg attcatcatc tccagagaca gcgccaagaa ctccctgttt 240

ctgcaaatga acagtctgag agccgaggac acggccttgt atcactgttg gggagcgatt 300

ggtgcttttg atatttgggg ccaagggaca atggtcaccg tctcttca 348

<210> 50

<211> 116

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
polypeptide

<400> 50

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Asp Met Ser Trp Val Arg Gln Thr Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile

35 40 45

Ser Gly Ile Asn Trp Asn Gly Gly Asn Thr Gly Tyr Ala Asp Ser Val

50 55 60

Lys Gly Arg Phe Ile Ile Ser Arg Asp Ser Ala Lys Asn Ser Leu Phe

65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Leu Tyr His Cys

85 90 95

Trp Gly Ala Ile Gly Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met Val

100 105 110

Thr Val Ser Ser

115

<210> 51

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<400> 51

ggattcaccg ttgatgatta tgac

24

<210> 52

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<400> 52

Gly Phe Thr Val Asp Asp Tyr Asp

1 5

<210> 53

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<400> 53

attaattgga atggaggtaa caca

24

<210> 54

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<400> 54

Ile Asn Trp Asn Gly Gly Asn Thr

1 5

<210> 55

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<400> 55

tggggagcga ttggtgcttt tgatatt

27

<210> 56

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220

><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 56

Trp Gly Ala Ile Gly Ala Phe Asp Ile

1 5

<210> 57

<211> 336

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<400> 57

gatattgtga tgaccagtc tccactctcc tcacctgtca cccttgaca gccggcctcc 60

atctctgca ggtctagta aagcctcgta cacagtgatg gcggcaccta cttgagttgg 120

cttcagcaga ggccaggcca gcctccaaga ctctaattt ataagattt taaccggttc 180

tctgggtcc cagacagatt cagtggcagt gggcagga cagattcac actgagaatc 240

agtaggtgg aagctgagga tgtcgggtt tattactgca tgcaaacaac acaatttcg 300

ctcactttcg gcggaggac caagtgagg atcaaa 336

<210> 58

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 58

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Asp Gly Gly Thr Tyr Leu Ser Trp Leu Gln Gln Arg Pro Gly Gln Pro

35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Ile Phe Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro

50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ala Gly Thr Asp Phe Thr Leu Arg Ile

65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Thr
 85 90 95
 Thr Gln Phe Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105 110

<210> 59

<211> 33

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide

<400> 59

caaagcctcg tacacagtga tggcggcacc tac 33

<210> 60

<211>

> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 peptide

<400> 60

Gln Ser Leu Val His Ser Asp Gly Gly Thr Tyr
 1 5 10

<210> 61

<211> 9

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide

<400> 61

aagattttt 9

<210> 62

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<400> 62

Lys Ile Phe

1

<210> 63

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<400> 63

atgcaaaca cacaatttcc gctcact

27

<210> 64

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<400> 64

Met Gln Thr Thr Gln Phe Pro Leu Thr

1

5

<210> 65

<211> 345

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
polynucleotide

<400> 65

gaggtgcagc tggtagagtc tggggaggc ttggtacagc ctggggggtc cctgagactc 60

tctgtgcag cctctggatt cacctttage agctatgcca tgagctgggt cgcaggct 120

ccaggaagg ggctggagtg ggtctcagct attactggta gtggtgtag aacatactac 180

gcagactccg tgaaggccg gttcaccatc tccagagaca atgccaagaa cagctgtat 240

ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaaaacttt 300

ccctttgact actggggcca gggaaccctg gtcaccgtct cctca 345

<210> 66

<211> 115

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 66

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr

20 25 30

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

35 40 45

Ser Ala Ile Thr Gly Ser Gly Gly Arg Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val

50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu Tyr

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Lys Asn Phe Pro Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr

100 105 110

Val Ser Ser

115

<210> 67

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide

<400> 67

ggattcacct ttagcagcta tgcc 24

<210> 68

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<400> 68

Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Ala

1 5

<210> 69

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<400> 69

attactggta gtggtgtag aaca 24

<210> 70

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<400> 70

Ile Thr Gly Ser Gly Gly Arg Thr

1 5

<210> 71

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<400> 71
gcgaaaaact ttcctttga ctac 24

<210> 72

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide

<400> 72
Ala Lys Asn Phe Pro Phe Asp Tyr
1 5

<210> 73

<211> 339

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polynucleotide

<400> 73
gacatcgtga tgaccagtc tccagactcc ctggctgtgt ctctgggcga gagggccacc 60
atcaactcgg agtcagcca gagtgtttta tacagctcca acaataagaa ctacttagct 120
tggtaccagc agaaaccagg acagctcct aagctgctca tttactgggc atctaccgg 180
gaatccgggg tcctgaccg attcagtggc agcgggtctg ggacagattt cactctcacc 240
atcagcacc tgcaggctga ggatgtggca gtttattact gtcagcaata ttatagtact 300
ccgtacactt ttggccaggg gaccaagctg gagatcaaa 339

<210> 74

<211> 113

<212> PRT

<213>
Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 74
Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Glu Ser Ser Gln Ser Val Leu Tyr Ser
 20 25 30

Ser Asn Asn Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
 35 40 45

Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
 50 55 60

Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
 65 70 75 80

Ile Ser Thr Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln
 85 90 95

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

Lys

<210> 75

<211> 36

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide

<400> 75

cagagtgttt tatacagctc caacaataag aactac 36

<210> 76

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 peptide

<400> 76

Gln Ser Val Leu Tyr Ser Ser Asn Asn Lys Asn Tyr

1 5 10

<210> 77

<211> 9

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220

><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide

<400> 77

tgggcatct

9

<210> 78

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 78

Trp Ala Ser

1

<210> 79

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide

<400> 79

cagcaatatt atagtactcc gtacct

27

<210> 80

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 80

Gln Gln Tyr Tyr Ser Thr Pro Tyr Thr

1

5

<210> 81

<211> 372

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
polynucleotide

<400> 81

```

gaggtgcagc tggtagtc tggggaggc ttggtacagc ctggggggtc cctgagactc      60
tcctgtgcag cctctgatt caccttttcc agctatgcca tgacctgggt cgccaggct      120

ccaggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggtg gtggtgtag cacatactac      180
acagactccg tgaaggccg gttcacctc tccagagaca attccaaga cagctgtat      240
ctgcaaatga acagctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaatctgac      300
tacagtaaca ccatctactg gtactacggt atggacgtct ggggccaagg gaccacggtc      360
accgtctcct ca                                                              372
    
```

<210> 82

<211> 124

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
polypeptide

<400> 82

```

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

Lys Gly Arg Phe Thr Leu Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65           70           75           80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
           85           90           95
    
```

Ala Lys Ser Asp Tyr Ser Asn Thr Ile Tyr Trp Tyr Tyr Gly Met Asp
100 105 110

Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 83

<211

> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<400> 83

ggattcacct tttccageta tgcc

24

<210> 84

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<400> 84

Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Ala

1 5

<210> 85

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<400> 85

attagtggta gtggtgtag caca

24

<210> 86

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<400> 86

Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr

1 5

<210> 87

<211> 51

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<400> 87

gcgaaatctg actacagtaa caccatctac tggactacg gtatggacgt c 51

<210> 88

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<400> 88

Ala Lys Ser Asp Tyr Ser Asn Thr Ile Tyr Trp Tyr Tyr Gly Met Asp

1 5 10 15

Val

<210> 89

<211> 321

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
polynucleotide

<400> 89

gacatccaga tgaccagtc tccatctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60

atcacttgcc gggcaagtca gagcattagc agctatttaa attggtatca gcagaaacca 120

gggaaagccc ctaagctcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180
 aggttcagtg gcagtgggtc tgggacagat ttactctca ccatcagcag tctgcaacct 240
 gaagattttg caacttacta ctgtcaacag agttacagta cccctcggac gttcggccaa 300
 gggaccaagg tggaaatcaa a 321

<210> 90

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polypeptide

<400> 90

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

 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80
 Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Arg
 85 90 95
 Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105

<210> 91

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide

<400> 91

cagagcatta gcagctat 18

<210> 92

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<400> 92

Gln Ser Ile Ser Ser Tyr

1 5

<210> 93

<211> 9

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<400> 93

gctgcatcc 9

<210>

> 94

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<400> 94

Ala Ala Ser

1

<210> 95

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<400> 95

caacagagtt acagtacccc tcggacg

27

<210> 96

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 96

Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Arg Thr

1 5

<210> 97

<211> 369

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<400> 97

caggtgcagc tggtaggagtc tgggggaggc ttggtcaagc ctggagggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctctggatt caccttcagt gactactata tgagctggat ccgccaggct 120

ccagggaagg gactggagtg gatttcacac attagtggtg gtggtagaac cacacactac 180

gcagactcta tgaagggccg attcaccatt tccagggaca acgccaagaa ctcaactgtat 240

ttgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggccgtgt attactgtgt gagagaggga 300

ggttttaact ggaactacga ggggtactttt gatatctggg gccaggggac aatggtcacc 360

gtctcttca 369

<210> 98

<211> 123

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 98

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

1 5 10 15

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

 20 25 30

Tyr Met Ser Trp Ile Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile

 35 40 45

Ser His Ile Ser Gly Ser Gly Arg Thr Thr His Tyr Ala Asp Ser Met

 50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr

65 70 75 80

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

 85 90 95

Val Arg Glu Gly Gly Phe Asn Trp Asn Tyr Glu Gly Thr Phe Asp Ile

 100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser

 115 120

<210> 99

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide

<400> 99

ggattcacct ttagtgacta ctat 24

<210> 100

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 peptide

<400> 100

Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr Tyr

1 5

<210> 101
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 101
 attagtggta gtgtagaac caca 24

<210> 102
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 peptide
 <400> 102
 Ile Ser Gly Ser Gly Arg Thr Thr
 1 5

<210> 103
 <211> 48
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 103
 gtgagagagg gaggttttaa ctggaactac gaggtactt ttgatatc 48

<210> 104
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 peptide
 <400> 104
 Val Arg Glu Gly Gly Phe Asn Trp Asn Tyr Glu Gly Thr Phe Asp Ile

1 5 10 15

<210> 105

<211> 336

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polynucleotide

<400> 105

gatattgtga tgaccagac tccactctct tcacctgtca cccttggaca gccggcctcc 60

atctcctgca ggctagtc aagcctctta cacagtgatc aaaacaccta cttgagttgg 120

cttcaccaga ggccaggcca gcctccaaga ctcttaattt ataagatttc taaccggttc 180

tctgggtcc cagacagatt cagtggcagt ggggcagga cagatttcac actgaaaatc 240

agcagggtgg aagctgagga tgtcgggatt tattactgca tgcaaggtac acaatttccg 300

ctcactttcg gcggaggac caagtgagg atcaaa 336

<210> 106

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polypeptide

<400> 106

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

1 5 10 15

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser

 20 25 30

Asp Gln Asn Thr Tyr Leu Ser Trp Leu His Gln Arg Pro Gly Gln Pro

 35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Ile Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro

 50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ala Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile

65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Ile Tyr Tyr Cys Met Gln Gly

85 90 95
 Thr Gln Phe Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105 110

<210> 107

<211> 33

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide

<400> 107

caaagcctct tacacagtga tcaaacacc tac

33

<210> 108

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 108

Gln Ser Leu Leu His Ser Asp Gln Asn Thr Tyr

1 5 10

<210> 109

<211> 9

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide

<400> 109

aagatttct

9

<210> 110

<211> 3

<212> PRT

<213>

> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 110

Lys Ile Ser

1

<210> 111

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide

<400> 111

atgcaaggta cacaatttcc gctcact 27

<210> 112

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<

400> 112

Met Gln Gly Thr Gln Phe Pro Leu Thr

1 5

<210> 113

<211> 363

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<400> 113

gaggtgcagc tggtagtgc tggggggagg cttggtacag ggggggggtc cctgagactc 60

tcctgtgaag cctctggatt cacatttagc agctttgcc tgaactgggt cgccaggct 120

ccaggaagg ggctggagtg ggtctcaggt cttagtggta gtggtagaag tacatactac 180

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca actccaagaa tagactctat 240

ttgcaaatgg acagcctgag agccgaggac tcggccgtat attattgtgc ggcttacgtg 300

ttacgaattt tggatcgggtg gttcgacccc tggggccagg gaaccctggt caccgtctcc 360

tca 363

<210> 114

<211> 121

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 114

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Arg Leu Gly Thr Gly Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Glu Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Phe

20 25 30

Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

Ser Gly Leu Ser Gly Ser Gly Arg Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val

50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Arg Leu Tyr

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Ala Tyr Val Leu Arg Ile Leu Asp Arg Trp Phe Asp Pro Trp Gly

100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 115

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide

<400> 115

ggattcacat ttagcagctt tgcc

24

<210> 116

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<400> 116

Gly Phe Thr Phe Ser Ser Phe Ala

1 5

<210> 117

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<400> 117

cttagtggtgta gtggtagaag taca

24

<210> 118

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<400> 118

Leu Ser Gly Ser Gly Arg Ser Thr

1 5

<210> 119

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<400> 119

gcggcctacg tgttacgaat tttggatcgg tggttcgacc cc 42

<210> 120

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 120

Ala Ala Tyr Val Leu Arg Ile Leu Asp Arg Trp Phe Asp Pro

1 5 10

<210> 121

<211> 336

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<400> 121

gatattgtga tgactcagtc tccactctcc ctgcccgta cccctggaga gccggcctcc 60

atctctgca ggtctagta gagctcctt cataggactg gatacaacta tttggactgg 120

tacctgcaga agccaggga gtctccacag atctgatct atttgggttc ttatcgggcc 180

tccgggtcc ctgacaggtt cagtggcagt ggatcaggca cagatcttac actgaagatc 240

agcagagtgg aggctgaaga tgttggggtt tattactgca tgcaagctct acaaactccg 300

tggacgttcg gccaaaggac caagtgga atcaaa 336

<210> 122

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 122

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser 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 Leu His Arg

 20 25 30

Thr Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser

 35 40 45

Pro Gln Ile Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Tyr Arg Ala 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 Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ala

 85 90 95

Leu Gln Thr Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

 100 105 110

<210> 123

<211> 33

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<400> 123

cagagcctcc ttcataggac tggatacaac tat

33

<210> 124

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<400> 124

Gln Ser Leu Leu His Arg Thr Gly Tyr Asn Tyr

1 5 10

<210> 125

<211> 9

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide

<400> 125

ttgggttct

9

<210> 126

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 126

Leu Gly Ser

1

<210> 127

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide

<400> 127

atgcaagctc tacaaactcc gtggacg

27

<210> 128

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 128

Met Gln Ala Leu Gln Thr Pro Trp Thr

1

5

<210> 129

<211> 354

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
polynucleotide

<400> 129

```

caggtgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctggtgaagc cttcacagac cctgtccctc      60
acctgcactg tctctggttg ctccatcaac agtggtggtt actactggaa ctggatccgc      120
cagcaccagc ggaagggcct ggagtggtt gggtacatct attacagtgg gagcacctac      180
ttcaaccctg ccctcaagag tcgagttacc atatcaatag acacgtctaa gaaccagttc      240
tcctgaagc tgagctctgt gactgccgcg gacacggccg tgtattactg tgcgagagag      300

gggatttatg cttttgacta ctggggccag ggaacctgg tcaccgtctc ctca      354
    
```

<210> 130

<211> 118

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
polypeptide

<400> 130

```

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gln
1           5           10           15
Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Asn Ser Gly
           20           25           30
Gly Tyr Tyr Trp Asn Trp Ile Arg Gln His Pro Gly Lys Gly Leu Glu

           35           40           45
Trp Ile Gly Tyr Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr Tyr Phe Asn Pro Ser
           50           55           60
Leu Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Ile Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe
65           70           75           80
Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
           85           90           95
Cys Ala Arg Glu Gly Ile Tyr Ala Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
    
```

100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 131

<211> 30

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<400> 131

ggtggctcca tcaacagtgg tggttactac 30

<210> 132

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<400> 132

Gly Gly Ser Ile Asn Ser Gly Gly Tyr Tyr

1 5 10

<210> 133

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<400> 133

atctattaca gtgggagcac c 21

<210> 134

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

gggaccaagg tggaaatcaa a

321

<210> 138

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
polypeptide

<400> 138

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

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn Asp

20 25 30

Leu Gly Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Arg Leu Ile

35 40 45

Tyr Ser Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Gly Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln His Asn Ser Tyr Pro Trp

85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 139

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<400> 139

cagggcatta gaaatgat

18

<210> 140

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 140

Gln Gly Ile Arg Asn Asp

1 5

<210> 141

<211> 9

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide

<400> 141

tctgcatcc

9

<210> 142

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 142

Ser Ala Ser

1

<210> 143

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide

<400> 143

ctacaacata atagttaccc gtggacg

27

<210> 144

Gly Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ala Val Ile Ser Tyr Asp Glu Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60

 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Lys Asp Ile Arg Ile Ala Ala Arg Arg His Tyr Tyr Tyr Tyr Gly
 100 105 110
 Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
 115 120 125

<210> 147

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide

<400> 147

ggattcacct tcaataacta tggc

24

<210> 148

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 peptide

<400> 148

Gly Phe Thr Phe Asn Asn Tyr Gly

1 5

<210> 149

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide

<400> 149

atatcatatg atgaaagtaa taaa

24

<210> 150

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 150

Ile Ser Tyr Asp Glu Ser Asn Lys

1 5

<210> 151

<211> 57

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide

<400> 151

gcgaaagaca tacggatagc agctcgtcgg cactactact actacggtat ggacgtc

57

<210> 152

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 152

Ala Lys Asp Ile Arg Ile Ala Ala Arg Arg His Tyr Tyr Tyr Tyr Gly

1 5 10 15

Met Asp Val

<210> 153

<211> 321

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<400> 153

```

gacatccaga tgaccagtc tccatcttcc gtgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc      60
atcacttgtc gggcgagtc gggatttagc aggtggtag cctggatca gcagaaacca      120
gggaaagccc caagctcct gatctatgct gcatccagtt tggaaagtgg ggtcccagca      180
aggttcagcg gcagtggatc tgggacagat ttactctca ccatcagcag cctgcagcct      240
gaagattttg caacttacta ttgtcaacag gctaacagtt tccaatcac ttcggccct      300
gggaccaaag tggatatcaa a                                             321
    
```

<210> 154

<211>

> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 154

```

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

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Glu Ser Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser Gly
           50           55           60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65           70           75           80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ala Asn Ser Phe Pro Ile
           85           90           95
    
```

Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys

100

105

<210> 155

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<400> 155

cagggtatta gcaggtgg

18

<210> 156

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<400> 156

Gln Gly Ile Ser Arg Trp

1

5

<210> 157

<211> 9

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide

<400> 157

gctgcatcc

9

<210> 158

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<400> 158

Ala Ala Ser

1

<210> 159

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide

<400> 159

caacaggcta acagtttccc aatcact

27

<210> 160

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 160

Gln Gln Ala Asn Ser Phe Pro Ile Thr

1

5

<210> 161

<211> 360

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<400> 161

gaggtgcagc tggtaggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctggagggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag ccctcggatt caccttcaat aatcatgaaa tgaattgggt cgccaggct 120

ccaggaagg gtctggagtg ggtttcatac attagtagta gtgtaatac cgtaacctac 180

gcagactttc tgaagggccg attcaccatc tccagagaca acgccaagaa ctgcgtgttt 240

ctgcaaatga acagcctgagc agacaggac acggctgttt attactgtgc gcgagatcat 300

ttaagtggaa cctccccact ttcttattgg ggccaggga ccttggtcac cgtctcctca 360

<210> 162

<211> 120

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 162

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Asn His

 20 25 30
 Glu Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

 35 40 45
 Ser Tyr Ile Ser Ser Ser Gly Asn Thr Val Thr Tyr Ala Asp Phe Leu

 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Phe

65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Asp Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

 85 90 95
 Ala Arg Asp His Leu Ser Gly Thr Ser Pro Leu Ser Tyr Trp Gly Gln

 100 105 110
 Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

 115 120

<210> 163

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide

<400> 163

ggattcacct tcaataatca tgaa

<210> 164

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<400> 164

Gly Phe Thr Phe Asn Asn His Glu

1 5

<210> 165

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<400> 165

attagtagta gtgtaatac cgta

24

<210> 166

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<400> 166

Ile Ser Ser Ser Gly Asn Thr Val

1 5

<210> 167

<211> 39

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<400> 167

gcgcgagatc atttaagtgg aacctcccca ctttcttat

39

<210> 168

Leu Asn Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45
 Phe Asp Ala Ser Asn Leu Glu Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Tyr Glu Asn Leu Pro Tyr
 85 90 95
 Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105

<210> 171

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide

<400> 171

caggacatta acaactac

18

<210> 172

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 peptide

<400> 172

Gln Asp Ile Asn Asn Tyr

1 5

<210> 173

<211> 9

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide

<400> 173
gatgcatcc 9
<210> 174
<211> 3
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide
<400>
> 174
Asp Ala Ser
1
<210> 175
<211> 27
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide
<400> 175
caacagtatg aaaatctccc ttacact 27
<210> 176
<211> 9
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide
<400> 176
Gln Gln Tyr Glu Asn Leu Pro Tyr Thr
1 5
<210> 177
<211>
> 363
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<400> 177

caggtgcagc tggtaggagtc tgggggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60
 tcctgtgcag ccctctggatt caccttcagt agctatggca tgcactgggt cgccaggct 120
 ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcagtt atatcatatg ctggaagtaa taaatactat 180
 gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240
 ctgcaaatga acggcctgag agctgaggac acggctgtgt attactgtgc gaaagatccc 300

 tacggtgact acgagggggt tcttgactac tggggccagg gaacctggt caccgtctcc 360
 tca 363

<210> 178

<211> 121

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 178

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30

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

 Ala Lys Asp Pro Tyr Gly Asp Tyr Glu Gly Val Leu Asp Tyr Trp Gly
 100 105 110
 Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 179

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide

<400> 179

ggattcacct tcagtagcta tggc

24

<210> 180

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><

223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 180

Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Gly

1 5

<210> 181

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide

<400> 181

atatcatatg ctggaagtaa taaa

24

<210> 182

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 182

Ile Ser Tyr Ala Gly Ser Asn Lys

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 186

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

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr

 20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

 35 40 45

Tyr Asp Ala Ser Asn Leu Glu Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

 50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asp His Leu Pro Ile

 85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys

 100 105

<210> 187

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide

<400> 187

caggacatta gcaactat

18

<210> 188

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 188

Gln Asp Ile Ser Asn Tyr

1 5

<210> 189

<211> 9

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<400> 189

gatgcttcc

9

<210> 190

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<400> 190

Asp Ala Ser

1

<210> 191

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide

<400> 191

cagcagtatg atcatctccc gatcacc

27

<210> 192

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 192

Gln Gln Tyr Asp His Leu Pro Ile Thr

1 5

<210> 193

<211> 345

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<400> 193

gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggttcagc ctggggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctctggatt cacctttagc acctatgcca tgagctgggt cgccaggct 120

ccaggggaagg ggctggagtg ggtctcagtt attagtggta gttttattag cacatactac 180

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcaaatga ccagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaaaactcc 300

ccctttgact actggggcca gggaaccctg gtcaccgtct cctca 345

<210> 194

<211> 115

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 194

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Thr Tyr

20 25 30

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

35 40 45

Ser Val Ile Ser Gly Ser Phe Ile Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val

50 55 60

<210> 198

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 198

Ile Ser Gly Ser Phe Ile Ser Thr

1 5

<210> 199

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide

<400> 199

gcgaaaaact cccctttga ctac 24

<210> 200

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 200

Ala Lys Asn Ser Pro Phe Asp Tyr

1 5

<210> 201

<211> 339

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<400> 201

gacatcgtga tgaccagtc tccagactcc ctgactgtat ctctgggcga gagggccacc 60

atcaactgca agtccagcca gagtgtttta tacagctcca acaataagaa ctacttagct 120
 tggtagcagc agaaccagg acagctcct aacctgctca ttactgggc atctaccgg 180

 gaatccgggg tcctgaccg attcagtggc agcgggtctg ggacagattt cactctcacc 240
 atcagcagcc tgcaggctga agatgtggca gtttattact gtcagcaata ttatactact 300
 ccgtggacgt tcggccgagg gaccaaggtg gagatcaaa 339

<210> 202

<211> 113

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 202

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

1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser Val Leu Tyr Ser

20 25 30

Ser Asn Asn Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln

35 40 45

Pro Pro Asn Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val

50 55 60

Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr

65 70 75 80

Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln

85 90 95

Tyr Tyr Thr Thr Pro Trp Thr Phe Gly Arg Gly Thr Lys Val Glu Ile

100 105 110

Lys

<210> 203

<211> 36

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<400> 203

cagagtgttt tatacagctc caacaataag aactac

36

<210> 204

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<400> 204

Gln Ser Val Leu Tyr Ser Ser Asn Asn Lys Asn Tyr

1 5 10

<210> 205

<211> 9

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<400> 205

tgggcatct

9

<210> 206

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<400> 206

Trp Ala Ser

1

<210> 207

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<400> 207

cagcaatatt atactactcc gtggacg

27

<210> 208

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<400> 208

Gln Gln Tyr Tyr Thr Thr Pro Trp Thr

1 5

<210> 209

<211> 345

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
polynucleotide

<400> 209

gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggtacagc cgggggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctctggatt cacctttagc aactatgcca tgagctgggt cgcgccagct 120

ccaggaagg gactggagtg ggtctcaact attagtata ctggtggttag cacatactac 180

gcagactccg tgaagggccg gttcgccctc tccagagaca attccaggaa cacgctgtat 240

ctacaaatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaagagggg 300

ccccggact actggggaca gggcaccctg gtcaccgtct cctca 345

<210> 210

<211> 115

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
polypeptide

<400> 210

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr

 20 25 30

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

 35 40 45

Ser Thr Ile Ser Asp Thr Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val

 50 55 60

Lys Gly Arg Phe Ala Leu Ser Arg Asp Asn Ser Arg Asn Thr Leu Tyr

65 70 75 80

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

 85 90 95

Ala Lys Glu Gly Pro Pro Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr

 100 105 110

Val Ser Ser

 115

<210> 211

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

 oligonucleotide

<400> 211

ggattcacct ttagcaacta tgcc

24

<210> 212

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

 peptide

<400> 212

Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr Ala

1 5

<210> 213

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<400> 213

attagtgata ctggtgtag caca

24

<210> 214

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<400> 214

Ile Ser Asp Thr Gly Gly Ser Thr

1 5

<210> 215

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<400> 215

gcgaaagagg ggccccgga ctac

24

<210> 216

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<400> 216

Ala Lys Glu Gly Pro Pro Asp Tyr

1 5

<210> 217

<211> 321

<

212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<400> 217

gaaattgtgt tgacacagtc tccagccacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60
 ctctcctgca ggaccagtca gagtgtcagc atctacttag cctggtacca acagaaacct 120
 ggccaggctc ccaggctcct catctatgat gcatccaaga gggccactgg catcccagcc 180
 aggttcagtg gcagagggtc tgggacagac ttactctca ccatcagcag cctagagcct 240
 gaagattttg cagtttatta ctgtcagcag cgtagcaact ggctctcac cttcggccaa 300

gggacacgac tggagattaa a 321

<210> 218

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 218

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

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<400> 222

Asp Ala Ser

1

<210> 223

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<400> 223

cagcagcgta gcaactggcc tctcacc

27

<210> 224

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<400> 224

Gln Gln Arg Ser Asn Trp Pro Leu Thr

1

5

<210> 225

<211> 363

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
polynucleotide

<400> 225

gaggtgcagc tggtagtg tggggaggc ttggtgcagc cgggggggtc cctgagactc 60

tctgtgcag cctctggatt caccttcaga aactatgcca tgaactgggc cggccaggct 120

ccaggaagg gactggagtg ggtctcaggc attactggta gtggtggtgc cacatactac 180

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaaa attccaagaa cacgctgttt 240

ctgcaaatgg acaccctgag agccgaggac acggccgttt attattgtgc gaaagatcgg 300
 aggtatttcc ctacttcggg gggtcctcag tggggccagg gaaccctggt caccgtctcc 360
 tca 363

<210> 226

<211> 121

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 226

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Arg Asn Tyr

20 25 30

Ala Met Asn Trp Ala Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

Ser Gly Ile Thr Gly Ser Gly Gly Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val

50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Glu Asn Ser Lys Asn Thr Leu Phe

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Lys Asp Arg Arg Tyr Phe Pro Thr Ser Gly Gly Pro Gln Trp Gly

100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 227

<211> 24

<212> DNA

<213>

> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide

<400> 227
 ggattcacct tcagaaacta tgcc 24

<210> 228
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 peptide

<400> 228
 Gly Phe Thr Phe Arg Asn Tyr Ala
 1 5

<210> 229
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide

<400> 229
 attactggta gtggtggtgc caca 24

<210> 230
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 peptide

<400> 230
 Ile Thr Gly Ser Gly Gly Ala Thr
 1 5

<210> 231
 <211> 42
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide

<400> 231

gcgaaagatc ggaggtatctt ccctacttcg gggggtcctc ag

42

<210> 232

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<400> 232

Ala Lys Asp Arg Arg Tyr Phe Pro Thr Ser Gly Gly Pro Gln

1 5 10

<210> 233

<211> 336

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
polynucleotide

<400> 233

gatattgtga tgactcagtc tccactctcc ctgcccgta cccctggaga gccggcctcc 60

atctctctgca ggtcttctcg gagcctctg catagtcttg gatacaacta ttggattgg 120

tacctgcaga agccagggca gtctccacag ctctgtctt atttgggttc taatcgggcc 180

tccgggtcc ctgacaggtt cagtggcagt ggatcaggca catatcttac actgaaaatc 240

agcagagtgg acgctgaaga tgttgggggtt tattactgca tgcaagctct acaaactccg 300

tggacgttcg gccaaaggac caagtgtaa atcaaa 336

<210> 234

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
polypeptide

<400> 234

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

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

65 70 75 80
 Ser Arg Val Asp Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ala
 85 90 95
 Leu Gln Thr Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105 110

<210> 235

<211> 33

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide

<400> 235

cggagcctcc tgcatagttc tggatacaac tat

33

<210> 236

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 peptide

<400> 236

Arg Ser Leu Leu His Ser Ser Gly Tyr Asn Tyr

1 5 10

<210> 237

<211> 9

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<400> 237

ttgggttct

9

<210> 238

<211> 3

<212> PRT

<213

> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<400> 238

Leu Gly Ser

1

<210> 239

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<400> 239

atgcaagctc tacaactcc gtggacg

27

<210> 240

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<

<400> 240

Met Gln Ala Leu Gln Thr Pro Trp Thr

1

5

<210> 241

<211> 348

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<400> 241

gaggtgcagc tggtaggagtc tgggggaggc ttggtccagc cggggggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctctggatt cacctttagt agctttagga tgacctgggt cgcaggct 120

ccaggaagg ggctggagt ggtggccaac ataaagcaag atggaagtga gaaatactat 180

gtggactctg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca acgccaagaa ctactgtat 240

ctgcaatga acagcctgag agccgaggac acggctgtgt attactgtgc gagagggggg 300

ggtatagcag cttactgggg ccaggaacc ctggtcaccg tctcctca 348

<210> 242

<211> 116

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 242

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Phe

20 25 30

Arg Met Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

Ala Asn Ile Lys Gln Asp Gly Ser Glu Lys Tyr Tyr Val Asp Ser Val

50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Gly Gly Gly Ile Ala Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val

100 105 110

Thr Val Ser Ser

115

<210> 243

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<400> 243

ggattcacct ttagtagctt tagg

24

<210> 244

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 244

Gly Phe Thr Phe Ser Ser Phe Arg

1

5

<210> 245

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<400> 245

ataaagcaag atggaagtga gaaa

24

<210> 246

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<400> 246

Ile Lys Gln Asp Gly Ser Glu Lys

1 5

<210> 247

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<400> 247

gcgagagggg ggggtatagc agcttac

27

<210> 248

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<400> 248

Ala Arg Gly Gly Gly Ile Ala Ala Tyr

1 5

<210> 249

<211>

324

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
polynucleotide

<400> 249

gacatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60

atcacttgcc gggcaagtca gagcattage agctatttaa attggtatca gcagaaacca 120

gggaaagccc ctaagctcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccgtca 180

aggttcagtg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag tctgcaacct 240

gaagattttg caacttacta ctgtcaacag agttacagta cccctccgat caccttcggc 300

caaggacac gactggagat taaa 324

<210> 250

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 250

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

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr

20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Pro

85 90 95

Ile Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys

100 105

<210> 251

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide

<400> 251

cagagcatta gcagctat

18

<210> 252

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<400> 252

Gln Ser Ile Ser Ser Tyr

1 5

<210> 253

<211> 9

<212

> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<400> 253

gctgcatcc

9

<210> 254

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<400> 254

Ala Ala Ser

1

<210> 255

<211> 30

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<400> 255

caacagagtt acagtacccc tccgatcacc

30

<210> 256

<211> 10

<212> PRT

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val

50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Lys Asp Arg Gly Glu Asn Arg Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr Gly Met

100 105 110

Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser

115 120 125

<210> 259

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide

<400> 259

ggattcacct ttagcagcta tgcc

24

<210> 260

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 260

Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Ala

1 5

<210> 261

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide

<400> 261
attagtggtgta gtggtggtag caca 24

<210> 262

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 262
Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr
1 5

<210> 263

<211> 54

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223>
> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide

<400> 263
gcgaaagatc ggggggaaaa ccggtattac tactactact acggtatgga cgtc 54

<210> 264

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 264
Ala Lys Asp Arg Gly Glu Asn Arg Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr Gly Met
1 5 10 15
Asp Val

<210> 265

<211> 396

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<400> 265

caggtgcagc tggtaggagtc tgggggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60
 tcctgtacag cctctggatt caccttcaat aactatggca tccactgggt cgcagcagct 120
 ccaggcaagg ggctggaatg ggtggcagtt atatcatatg atggaagtaa taaattctat 180
 gcagagtccg tgaggggccc attcaccatc tccagagaca attccaggaa cacactgttt 240
 ctgcagatga tcagcctcgc aggtgaggac tggctgtttt attactgtgc gaaagatcga 300
 ccctattacg atattttgac tgctcattat ccctctgact actacttcta cgctatggac 360

gtctggggcc atgggaccac ggteaccgtc tectca 396

<210> 266

<211> 132

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 266

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

100 105 110
 Asp Tyr Tyr Phe Tyr Ala Met Asp Val Trp Gly His Gly Thr Thr Val

115 120 125
 Thr Val Ser Ser
 130

<210> 267

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide

<400> 267

ggattcacct tcaataacta tggc

24

<210> 268

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 peptide

<400> 268

Gly Phe Thr Phe Asn Asn Tyr Gly

1 5

<210> 269

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide

<400> 269

atatcatatg atggaagtaa taaa

24

<210> 270

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

tcctgtgcag ccctctggctt caccttcaact aactatgccca tgcactgggt cgcaggct 120
 ccaggcaagg gactggagtg ggtggcagtt atatcatatg atggaagtca cacatacttt 180
 gcagactccg tgaagggccg attcaccatg tccagagaca attccaagaa cacgatatct 240
 ctacaaatga acagtctgag acctgaggac acggctgttt atttttgtgc gggaggagga 300
 gctactactg gtttctactt ttacggtttg gacgtctggg gccaaaggac cacggtcacc 360
 gtctctca 369

<210> 274

<211> 123

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polypeptide

<400> 274

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

 Lys Gly Arg Phe Thr Met Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Ile Ser
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys
 85 90 95
 Ala Gly Gly Gly Ala Thr Thr Trp Phe Tyr Phe Tyr Gly Leu Asp Val
 100 105 110
 Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 275

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide

<400> 275

ggcttcacct tcactaacta tgcc

24

<210> 276

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 276

Gly Phe Thr Phe Thr Asn Tyr Ala

1 5

<210> 277

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide

<400> 277

atatcatatg atggaagtca caca

24

<210> 278

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 278

Ile Ser Tyr Asp Gly Ser His Thr

1 5

<210> 279

<211> 48

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide

<400> 279

gcgggaggag gagctactac gtggttctac ttttacggtt tggacgtc 48

<210> 280

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 280

Ala Gly Gly Gly Ala Thr Thr Trp Phe Tyr Phe Tyr Gly Leu Asp Val

1 5 10 15

<210> 281

<211> 378

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<400> 281

gaggtgcagc tggtaggagtc tgggggaggc ttggtaaaac cggggggggtc ccttagactc 60

tcctgtacag cctctggatt cactttcggc aatgcctgga tgagctgggt cggcaggct 120

ccagggaagg gcctggagtg ggttggcctt attaaaggta aaactgatgg tgggacaaca 180

aactacgctg caccctgaa aggcagattc accatctcaa gagatgattc aaaaaacacg 240

ctgtatctgc atttgaacag cctgagaacc gaggacacag ccttgatta ctgtaccaca 300

gatcaggtgg aactacgaca atactactac tacggtttgg acgtctgggg ccaggggacc 360

acggtcaccg tctcctca 378

<210> 282

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 282

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

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Thr Ala Ser Gly Phe Thr Phe Gly Asn Ala

 20 25 30

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

 35 40 45

Gly Leu Ile Lys Gly Lys Thr Asp Gly Gly Thr Thr Asn Tyr Ala Ala

 50 55 60

Pro Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr

65 70 75 80

Leu Tyr Leu His Leu Asn Ser Leu Arg Thr Glu Asp Thr Ala Leu Tyr

 85 90 95

Tyr Cys Thr Thr Asp Gln Val Glu Leu Arg Gln Tyr Tyr Tyr Tyr Gly

 100 105 110

Leu Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser

 115 120 125

<210> 283

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide

<400> 283

ggattcactt tcgtaatgc ctgg

24

<210> 284

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<400> 284

Gly Phe Thr Phe Gly Asn Ala Trp

1 5

<

<210> 285

<211> 30

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<400> 285

attaaaggta aaactgatgg tgggacaaca 30

<210> 286

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<400> 286

Ile Lys Gly Lys Thr Asp Gly Gly Thr Thr

1 5 10

<210> 287

<211> 51

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<400> 287

accacagatc aggtggaact acgacaatac tactactacg gtttggacgt c 51

<210> 288

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide

<400> 288

Thr Thr Asp Gln Val Glu Leu Arg Gln Tyr Tyr Tyr Tyr Gly Leu Asp
 1 5 10 15
 Val

<210> 289

<211> 354

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polynucleotide

<400> 289

gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggtacagc cagggcggtc cctgagactc 60
 tcctgtacag ctcttgatt cagctttggt gataatgcta tgggctgggt ccgccaggct 120
 ccaggggaagg ggctggagtg ggtaagtffc attagaagga aagcttctgg tgggacaaca 180
 gaatacggcg cgtctgtgaa aggcagattc accatctcaa gagatgattc caaaagcatc 240
 gcctatctgc aaatgaacag tctgaaaacc gaggacacag gcgtttatta ttgtactaga 300
 ggaggagcag tgtacggcta ctggggccag ggaaccctgg tcaccgtctc ctca 354

<210> 290

<211> 118

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 290

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Thr Ala Ser Gly Phe Ser Phe Gly Asp Asn
 20 25 30
 Ala Met Gly Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<400> 293

attagaagga aagcttctgg tgggacaaca

30

<210> 294

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<400> 294

Ile Arg Arg Lys Ala Ser Gly Gly Thr Thr

1 5 10

<210> 295

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<400> 295

actagaggag gagcagtgta cggctac

27

<210> 296

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<400> 296

Thr Arg Gly Gly Ala Val Tyr Gly Tyr

1 5

<210> 297

<211> 369

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<400> 297

```

caggtgcagc tggtaggagtc tgggggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc      60
tcctgtgcag cgtctggatt caccttcagt agctatggca tgcactgggt ccgccaggct      120
ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcagtt atatggtatg atggaagtaa taaatactat      180
gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat      240
ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggctgttt attactgtgc gagagattgg      300
gtacgatttt tggagtggtt tccccacttt gactactggg gccaggaac cctggtcacc      360
gtctcctca

```

<210> 298

<211> 123

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 298

```

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

Ala Val Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
           50           55           60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65           70           75           80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
           85           90           95
Ala Arg Asp Trp Val Arg Phe Leu Glu Trp Phe Pro His Phe Asp Tyr
           100          105          110

```

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115

120

<210> 299

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<400> 299

ggattcacct tcagtagcta tggc

24

<210> 300

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<400> 300

Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Gly

1

5

<210> 301

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<400> 301

atatggtatg atggaagtaa taaa

24

<210> 302

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<400> 302

Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asn Lys

1 5

<210> 303

<211> 48

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<400> 303

gcgagagatt ggttacgatt ttggagtgg tttcccact ttgactac 48

<210> 304

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<400> 304

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

1 5 10 15

<210> 305

<211> 360

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
polynucleotide

<400> 305

gaggtgcagc tggtagtc tgggggagc ttgtacagc ctggggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctctggatt caccttttagc aactatgcca tgagctgggt cggccaggtt 120

ccaggaagg ggctggagtg ggtctcaact attagtggtg gtggtgtag cacatactac 180

gcagactccg tgaaggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa ctgctgtat 240

ctgcaaatga acagcctgag agccaggac acggccgtat attattgtgc gaaattggtt 300

cggggagtta ttggctggtt cgaccctgg ggccaggaa ccctggtcac cgtctctca 360

<210> 306

<211> 120

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 306

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr

20 25 30

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

35 40 45

Ser Thr Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val

50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Ser Leu Tyr

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Lys Leu Val Arg Gly Val Ile Gly Trp Phe Asp Pro Trp Gly Gln

100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 307

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide

<400> 307

ggattcacct ttagcaacta tgcc

24

<210> 308

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<400> 308

Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr Ala

1 5

<210> 309

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<400> 309

attagtggta gtggtgtag caca

24

<210> 310

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<400> 310

Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr

1 5

<210> 311

<211> 39

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<400> 311

gcgaaattgg ttcggggagt tattggctgg ttcgacccc

39

<210> 312

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<400> 312

Ala Lys Leu Val Arg Gly Val Ile Gly Trp Phe Asp Pro

1 5 10

<210> 313

<211> 363

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<400> 313

caggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cgtgagactc	60
tcctgtggag cgtctggatt cactttcaaa tactatggca tgcactgggt ccgccaggct	120
ccaggcaagg ggctggaatg ggtggcagtc atttggtatg atggaagaaa taaattttat	180
gcagactctg tgaagggccg cttcactatc tccagagaca attccaagaa cacggtgaat	240
ctggaaatga acaacctgag agccgaggac acggctatat attactgtgc gagagatgga	300
ggaacagcgg atggcgacta ttttgactac tggggccagg gaacctggt caccgtctcc	360
tca	363

<210> 314

<211> 121

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
polypeptide

<400> 314

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45

Ala Val Ile Trp Tyr Asp Gly Arg Asn Lys Phe Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Val Asn
 65 70 75 80

Leu Glu Met Asn Asn Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Ala Arg Asp Gly Gly Thr Ala Asp Gly Asp Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly
 100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 315

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide

<400> 315

ggattcactt tcaaatacta tggc

24

<210> 316

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 peptide

<400> 316

Gly Phe Thr Phe Lys Tyr Tyr Gly

1

5

<210> 317

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<400> 317

atttggatg atggaagaaa taaa 24

<210> 318

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<400> 318

Ile Trp Tyr Asp Gly Arg Asn Lys

1 5

<210> 319

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<400> 319

gcgagatg gaggaacagc ggatggcgac tattttgact ac 42

<210> 320

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<400> 320

Ala Arg Asp Gly Gly Thr Ala Asp Gly Asp Tyr Phe Asp Tyr

1 5 10

<210> 321

<211> 324

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223>

Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<400> 321

```

gaaatagttt tgacacagag tcccggcaca ctgtcactct ctcccgggga aagagccacc      60
ttgtcatgta gagcaagtca gtcagtctct agctcttata tcgcctggta ccagcagaag      120
ccgggacagg ccctagact gctgatctac ggggcaagtt ccagggccac cggaatcccc      180
gaccggttca gtggaagcgg aagcggaacc gattttactt tgacgatttc tagactggag      240
ccagaggatt tcgccgttta ctattgtcaa cagtacggaa gcagcccgtg gacgtttggc      300
cagggcacga aggtagaat caag                                             324
    
```

<210> 322

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 322

```

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

Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
           50          55          60
Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu
65          70          75          80
Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Pro
           85          90          95

Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
           100         105
    
```

<210> 323

<

211> 36

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<400> 323

agagcaagtc agtcagtctc tagctcttat ctcgcc 36

<210> 324

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<400> 324

Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser Tyr Leu Ala

1 5 10

<210> 325

<211> 21

<212> DNA

<213>

Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<400> 325

ggggcaagtt ccagggccac c 21

<210> 326

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<400> 326

Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr

1 5

<210> 327

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide

<400> 327

caacagtacg gaagcagccc gtggacg 27

<210> 328

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 328

Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Pro Trp Thr

1 5

<210> 329

<211> 366

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<400> 329

gaggtgcagc tggtaggagtc tgggggaggt ttggtacagc ctggggggtc cctgagactc 60

tctctgttag gcaactggatt cacctttagc aactatgcca tgagctgggt cgccaggct 120

ccaggaagg ggctggagtg ggtctcaggt attagtgga gaagtagtgg cacattctac 180

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attcccagaa tacgctgtat 240

ctgcaaatga acagcctggg agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaagtttcc 300

cgttataact gggactacgt cccctttgac ttctggggcc agggaaccct ggtcaccgtc 360

tctca 366

<210> 330

<211> 122

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 330

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Val Gly Thr Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr

 20 25 30

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

 35 40 45

Ser Gly Ile Ser Gly Arg Ser Ser Gly Thr Phe Tyr Ala Asp Ser Val

 50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Gln Asn Thr Leu Tyr

65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Gly Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

 85 90 95

Ala Lys Val Ser Arg Tyr Asn Trp Asp Tyr Val Pro Phe Asp Phe Trp

 100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

 115 120

<210> 331

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide

<400> 331

ggattcacct ttagcaacta tgcc

24

<210> 332

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<400> 332

Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr Ala

1 5

<210> 333

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<400> 333

attagtggtga gaagtagtgg caca 24

<210> 334

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<400> 334

Ile Ser Gly Arg Ser Ser Gly Thr

1 5

<210> 335

<211> 45

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<400> 335

gcgaaagttt cccgttataa ctgggactac gtcccctttg acttc 45

<210> 336

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 336

Ala Lys Val Ser Arg Tyr Asn Trp Asp Tyr Val Pro Phe Asp Phe
 1 5 10 15

<210> 337

<211> 39

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Human AngPTL8 Naked Peptide: amino acids 22-60

<300>

<308> GenBank Database: NP_061157.3

<400> 337

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
 35

<210> 338

<211> 26

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Human ANGPTL3 Shift Naked Peptide: amino acids

32-57

<300>

<308> GenBank Database: NP_055310.1

<400> 338

Glu Pro Lys Ser Arg Phe Ala Met Leu Asp Asp Val Lys Ile Leu Ala
 1 5 10 15
 Asn Gly Leu Leu Gln Leu Gly His Gly Leu

20 25

<210> 339

<211> 34

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Human ANGPTL4 Naked Peptide: amino acids 34-67

<300>

<308> GenBank Database: NP_001034756.1

<400> 339

Arg Phe Ala Ser Trp Asp Glu Met Asn Val Leu Ala His Gly Leu Leu

1 5 10 15

Gln Leu Gly Gln Gly Leu Arg Glu His Ala Glu Arg Thr Arg Ser Gln

20 25 30

Leu Cys

<210> 340

<211> 413

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic hANGPTL8-mFc

aa 1-177: amino acids 22-198 of NP_061157.3 aa 178-413: GPG

linker and mouse IgG2a Fc tag polypeptide

<300><308> GenBank Database: NP_061157.3 (part of full length sequence)

<400> 340

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

305 310 315 320
 Glu Glu Glu Met Thr Lys Lys Gln Val Thr Leu Thr Cys Met Val Thr

 325 330 335
 Asp Phe Met Pro Glu Asp Ile Tyr Val Glu Trp Thr Asn Asn Gly Lys

 340 345 350
 Thr Glu Leu Asn Tyr Lys Asn Thr Glu Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly

 355 360 365
 Ser Tyr Phe Met Tyr Ser Lys Leu Arg Val Glu Lys Lys Asn Trp Val

 370 375 380
 Glu Arg Asn Ser Tyr Ser Cys Ser Val Val His Glu Gly Leu His Asn

385 390 395 400
 His His Thr Thr Lys Ser Phe Ser Arg Thr Pro Gly Lys

 405 410

<210> 341

<211> 410

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic MfAngPTL8-mFc

aa 1-177: amino acids 78-254 of XP_005588064.1aa 178-410:

mouse IgG2a Fc tag polypeptide

<300><308> GenBank Database: XP_005588064.1 (part of full length sequence)

<400> 341

Ala Pro Val Gly Ser Pro Glu Leu Ala Glu 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
 Lys Thr Thr Glu Gly Arg Leu Thr Lys Ala Arg Asn Ser Leu Gly Leu

 35 40 45
 Tyr Gly Arg Thr Val 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

Met Thr Lys Lys Gln Val Thr Leu Thr Cys Met Val Thr Asp Phe Met

325 330 335

Pro Glu Asp Ile Tyr Val Glu Trp Thr Asn Asn Gly Lys Thr Glu Leu

340 345 350

Asn Tyr Lys Asn Thr Glu Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Tyr Phe

355 360 365

Met Tyr Ser Lys Leu Arg Val Glu Lys Lys Asn Trp Val Glu Arg Asn

370 375 380

Ser Tyr Ser Cys Ser Val Val His Glu Gly Leu His Asn His His Thr

385 390 395 400

Thr Lys Ser Phe Ser Arg Thr Pro Gly Lys

405 410

<210> 342

<211> 460

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic hANGPTL3 polypeptide

<400> 342

Met Phe Thr Ile Lys Leu Leu Leu Phe Ile Val Pro Leu Val Ile Ser

1 5 10 15

Ser Arg Ile Asp Gln Asp Asn Ser Ser Phe Asp Ser Leu Ser Pro Glu

20 25 30

Pro Lys Ser Arg Phe Ala Met Leu Asp Asp Val Lys Ile Leu Ala Asn

35 40 45

Gly Leu Leu Gln Leu Gly His Gly Leu Lys Asp Phe Val His Lys Thr

50 55 60

Lys Gly Gln Ile Asn Asp Ile Phe Gln Lys Leu Asn Ile Phe Asp Gln

65 70 75 80

Ser Phe Tyr Asp Leu Ser Leu Gln Thr Ser Glu Ile Lys Glu Glu Glu

85 90 95

Lys Glu Leu Arg Arg Thr Thr Tyr Lys Leu Gln Val Lys Asn Glu Glu
 100 105 110
 Val Lys Asn Met Ser Leu Glu Leu Asn Ser Lys Leu Glu Ser Leu Leu
 115 120 125
 Glu Glu Lys Ile Leu Leu Gln Gln Lys Val Lys Tyr Leu Glu Glu Gln
 130 135 140
 Leu Thr Asn Leu Ile Gln Asn Gln Pro Glu Thr Pro Glu His Pro Glu

 145 150 155 160
 Val Thr Ser Leu Lys Thr Phe Val Glu Lys Gln Asp Asn Ser Ile Lys
 165 170 175
 Asp Leu Leu Gln Thr Val Glu Asp Gln Tyr Lys Gln Leu Asn Gln Gln
 180 185 190
 His Ser Gln Ile Lys Glu Ile Glu Asn Gln Leu Arg Arg Thr Ser Ile
 195 200 205
 Gln Glu Pro Thr Glu Ile Ser Leu Ser Ser Lys Pro Arg Ala Pro Arg

 210 215 220
 Thr Thr Pro Phe Leu Gln Leu Asn Glu Ile Arg Asn Val Lys His Asp
 225 230 235 240
 Gly Ile Pro Ala Glu Cys Thr Thr Ile Tyr Asn Arg Gly Glu His Thr
 245 250 255
 Ser Gly Met Tyr Ala Ile Arg Pro Ser Asn Ser Gln Val Phe His Val
 260 265 270
 Tyr Cys Asp Val Ile Ser Gly Ser Pro Trp Thr Leu Ile Gln His Arg

 275 280 285
 Ile Asp Gly Ser Gln Asn Phe Asn Glu Thr Trp Glu Asn Tyr Lys Tyr
 290 295 300
 Gly Phe Gly Arg Leu Asp Gly Glu Phe Trp Leu Gly Leu Glu Lys Ile
 305 310 315 320
 Tyr Ser Ile Val Lys Gln Ser Asn Tyr Val Leu Arg Ile Glu Leu Glu
 325 330 335
 Asp Trp Lys Asp Asn Lys His Tyr Ile Glu Tyr Ser Phe Tyr Leu Gly

340 345 350
 Asn His Glu Thr Asn Tyr Thr Leu His Leu Val Ala Ile Thr Gly Asn
 355 360 365
 Val Pro Asn Ala Ile Pro Glu Asn Lys Asp Leu Val Phe Ser Thr Trp
 370 375 380
 Asp His Lys Ala Lys Gly His Phe Asn Cys Pro Glu Gly Tyr Ser Gly
 385 390 395 400
 Gly Trp Trp Trp His Asp Glu Cys Gly Glu Asn Asn Leu Asn Gly Lys

405 410 415
 Tyr Asn Lys Pro Arg Ala Lys Ser Lys Pro Glu Arg Arg Arg Gly Leu
 420 425 430
 Ser Trp Lys Ser Gln Asn Gly Arg Leu Tyr Ser Ile Lys Ser Thr Lys
 435 440 445
 Met Leu Ile His Pro Thr Asp Ser Glu Ser Phe Glu
 450 455 460

<210> 343

<211> 1383

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic hANGPTL3

polynucleotide

<400> 343

atgttcacaa ttaagctcct tctttttatt gttcctctag ttatttcctc cagaattgat 60
 caagacaatt catcatttga ttctctatct ccagagccaa aatcaagatt tgctatgta 120
 gacgatgtaa aaattttagc caatggcctc cttcagttgg gacatggtct taaagacttt 180
 gtccataaga cgaagggcca aattaatgac atatttcaaa aactcaacat atttgatcag 240
 tctttttatg atctatcgct gcaaaccagt gaaatcaaag aagaagaaaa ggaactgaga 300
 agaactacat ataaactaca agtcaaaaat gaagaggtaa agaatatgic acttgaactc 360
 aactcaaac ttgaaagcct cctagaagaa aaaattctac ttcaacaaaa agtgaatat 420

 ttagaagagc aactaactaa cttaattcaa aatcaacctg aaactccaga acaccagaa 480
 gtaacttcac ttaaaacttt tgtagaaaaa caagataata gcatcaaaga ctttctccag 540
 accgtggaag accaatataa acaattaaac caacagcata gtcaataaa agaaatagaa 600

aatcagctca gaaggactag tattcaagaa cccacagaaa tttctctatc ttccaagcca 660
 agagcaccaa gaactactcc ctttcttcag ttgaatgaaa taagaaatgt aaaacatgat 720
 ggcatctctg ctgaatgtac caccatttat aacagaggtg aacatacaag tggcatgtat 780
 gccatcagac ccagcaactc tcaagttttt catgtctact gtgatgttat atcaggtagt 840

ccatggacat taattcaaca tcgaatagat ggatcacaaa acttcaatga aacgtgggag 900
 aactacaaat atggttttgg gaggettgat ggagaatfff ggttgggcct agagaagata 960
 tactccatag tgaagcaatc taattatggt ttacgaattg agttggaaga ctggaaagac 1020
 aacaaacatt atattgaata ttctttttac ttgggaaatc acgaaaccaa ctatacgcta 1080
 catctagtgg cgattactgg caatgtcccc aatgcaatcc cggaaaacaa agatttgggtg 1140
 ttttctactt gggatcacaa agcaaaagga cacttcaact gtccagaggg ttattcagga 1200
 ggctgggtgt ggcatgatga gtgtggagaa aacaacctaa atggtaaata taacaaacca 1260

agagcaaaat ctaagccaga gaggagaaga ggattatctt ggaagtctca aaatggaagg 1320
 ttatactcta taaaatcaac caaaatgttg atccatccaa cagattcaga aagctttgaa 1380
 tga 1383

<210> 344

<211> 406

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic hANGPTL4 polypeptide

<400> 344

Met Ser Gly Ala Pro Thr Ala Gly Ala Ala Leu Met Leu Cys Ala Ala
 1 5 10 15

Thr Ala Val Leu Leu Ser Ala Gln Gly Gly Pro Val Gln Ser Lys Ser
 20 25 30

Pro Arg Phe Ala Ser Trp Asp Glu Met Asn Val Leu Ala His Gly Leu
 35 40 45

Leu Gln Leu Gly Gln Gly Leu Arg Glu His Ala Glu Arg Thr Arg Ser
 50 55 60

Gln Leu Ser Ala Leu Glu Arg Arg Leu Ser Ala Cys Gly Ser Ala Cys
 65 70 75 80

Gln Gly Thr Glu Gly Ser Thr Asp Leu Pro Leu Ala Pro Glu Ser Arg
85 90 95

Val Asp Pro Glu Val Leu His Ser Leu Gln Thr Gln Leu Lys Ala Gln
100 105 110

Asn Ser Arg Ile Gln Gln Leu Phe His Lys Val Ala Gln Gln Gln Arg
115 120 125

His Leu Glu Lys Gln His Leu Arg Ile Gln His Leu Gln Ser Gln Phe
130 135 140

Gly Leu Leu Asp His Lys His Leu Asp His Glu Val Ala Lys Pro Ala
145 150 155 160

Arg Arg Lys Arg Leu Pro Glu Met Ala Gln Pro Val Asp Pro Ala His
165 170 175

Asn Val Ser Arg Leu His Arg Leu Pro Arg Asp Cys Gln Glu Leu Phe
180 185 190

Gln Val Gly Glu Arg Gln Ser Gly Leu Phe Glu Ile Gln Pro Gln Gly
195 200 205

Ser Pro Pro Phe Leu Val Asn Cys Lys Met Thr Ser Asp Gly Gly Trp
210 215 220

Thr Val Ile Gln Arg Arg His Asp Gly Ser Val Asp Phe Asn Arg Pro
225 230 235 240

Trp Glu Ala Tyr Lys Ala Gly Phe Gly Asp Pro His Gly Glu Phe Trp
245 250 255

Leu Gly Leu Glu Lys Val His Ser Ile Thr Gly Asp Arg Asn Ser Arg
260 265 270

Leu Ala Val Gln Leu Arg Asp Trp Asp Gly Asn Ala Glu Leu Leu Gln
275 280 285

Phe Ser Val His Leu Gly Gly Glu Asp Thr Ala Tyr Ser Leu Gln Leu
290 295 300

Thr Ala Pro Val Ala Gly Gln Leu Gly Ala Thr Thr Val Pro Pro Ser
305 310 315 320

Gly Leu Ser Val Pro Phe Ser Thr Trp Asp Gln Asp His Asp Leu Arg

aaggtgcata gcatcacggg ggaccgcaac agccgcctgg ccgtgcagct gcgggactgg 840
 gatggcaacg ccgagttgct gcagttctcc gtgcacctgg gtggcgagga cacggcctat 900
 agcctgcagc tcaactgcacc cgtggccggc cagctggggc ccaccaccgt cccaccaccg 960
 ggctctccg tacccttctc cacttggggac caggatcacg acctccgcag ggacaagaac 1020
 tgcgccaaga gcctctctgg aggtggtgg tttggcacct gcagccattc caacctcaac 1080

ggccagtact tccgtccat cccacagcag cggcagaagc ttaagaagg aatcttctgg 1140
 aagacctggc ggggccgcta ctaccgcgtg caggccacca ccatgttgat ccagcccatg 1200
 gcagcagagg cagcctccta g 1221

<210> 346

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 346

Cys Gly Gly Cys Gly Gly

1 5

<210> 347

<211> 177

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 347

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

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<400> 350

Met Gly Gly Pro Glu Leu Ala Gln His Glu Glu Leu Thr Leu Leu

1 5 10 15

<210> 351

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<400> 351

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

1 5 10 15

<210> 352

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<400> 352

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

1 5 10 15

<210> 353

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<400> 353

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

1 5 10 15

<210> 354

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<400> 354

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

1 5 10 15

<210> 355

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<400> 355

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

1 5 10 15

<210> 356

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<400> 356

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

1 5 10 15

<210> 357

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<400> 357

Gln His Glu Glu Leu Thr Leu Leu Phe His Gly Thr Leu Gln Leu
1 5 10 15

<210> 358

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<400> 358

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

1 5 10 15

<210> 359

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<400> 359

Val Tyr Arg Thr Thr Glu Gly Arg Leu Ala Ala Ala Arg Asn Ser
1 5 10 15

<210> 360

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<400> 360

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

1 5 10 15

<210> 361

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<400> 361

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

1 5 10 15

<210> 362

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<400> 362

Leu Thr Gly His Val Gln Arg Gln Arg Ala Ala Met Val Ala Gln

1 5 10 15

<210> 363

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<400> 363

Val Leu Lys Ala His Ala Asp Lys Gln Ala Ala Ile Leu Trp Ala

1 5 10 15

<210> 364

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<400> 364

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

1 5 10 15

<210> 365

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<400> 365

Arg Arg Glu Met Val Ala Gln Gln His Ala Ala Arg Gln Ile Gln

1 5 10 15

<210> 366

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<400> 366

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

1 5 10 15

<210> 367

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<400> 367

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

1 5 10 15

<210> 368

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<400> 368

Gln Arg Gln Arg Arg Glu Met Val Ala Gln

1 5 10