



(19) 대한민국특허청(KR)  
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2019년11월08일  
(11) 등록번호 10-2031007  
(24) 등록일자 2019년10월04일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)  
C07K 16/22 (2006.01) A61K 39/395 (2006.01)  
A61P 3/06 (2006.01)
- (21) 출원번호 10-2014-7000902
- (22) 출원일자(국제) 2012년06월14일  
심사청구일자 2017년05월30일
- (85) 번역문제출일자 2014년01월13일
- (65) 공개번호 10-2014-0037218
- (43) 공개일자 2014년03월26일
- (86) 국제출원번호 PCT/US2012/042338
- (87) 국제공개번호 WO 2012/174178  
국제공개일자 2012년12월20일
- (30) 우선권주장  
61/498,518 2011년06월17일 미국(US)  
61/578,309 2011년12월21일 미국(US)
- (56) 선행기술조사문헌  
W02008073300 A2\*  
\*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

- (73) 특허권자  
리제너론 파아마슈티컬스, 인크.  
미국 뉴욕 10591-6707 테리타운 올드 소오 밀 리버 로드 777
- (72) 발명자  
슬리먼 마크 더블유.  
오스트레일리아 빅토리아주 3121 리치몬드 엘버트 플레이스 2  
구사로바 빅토리아  
미국 뉴욕주 10570 플레전트빌 스카이 탑 드라이브 131  
머피 앤드류 제이.  
미국 뉴욕주 10520 크로톤-온-허드슨 뉴턴 코트 10
- (74) 대리인  
장훈

전체 청구항 수 : 총 18 항

심사관 : 이현지

(54) 발명의 명칭 항-ANGPTL3 항체 및 이의 용도

(57) 요약

사람 안지오펜에틴-유사 단백질 3(hANGPTL3)을 특이적으로 결합하고 억제하거나 적어도 이의 하나의 활성화에 간섭을 일으키는 완전한 사람 항체 또는 사람 항체의 항원-결합 단편을 소개한다. 사람 항-hANGPTL3 항체는 고중성 지방혈증, 고콜레스테롤혈증, 키로미크론혈증(암죽미립혈증), 등을 포함한 고지혈증, 고지방단백혈증 및 이상 지질혈증 등과 같은 ANGPTL3 관련 질환이나 장애의 치료에 유용하다. 더욱이, 항-hANGPTL3 항체는 비정상적인 지질 대사가 위험 인자인 질환이나 장애를 예방하거나 치료하기 위해 이를 필요로 하는 대상자에게 투여될 수 있다. 이러한 질환이나 장애에는 죽상동맥경화증 및 관상동맥 질환과 같은 심혈관계 질환; 급성 췌장염; 비알코올성 지방간염 (NASH); 당뇨; 비만 등등이 포함된다.

대표도

NP_055310#	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60	61	62	63	64	65	66	67	68	69	70		
ANGPTL3	S	P	E	P	K	S	R	F	A	M	L	D	D	V	K	I	L	A	N	G	L	L	Q	L	G	H	G	L	K	D	F	V	H	K	T	K	G	Q	I	N	D		
펩티드 1							R	F	A	M	L	D	D	V	K	I	L	A	N	G	L	L	Q	L	G	H	G	L	K	D	F	V	H	K	T	K	G	Q	I	N	D		
펩티드 2							R	F	A	M	L	D	D	V	K	I	L	A	N	G	L	L	Q	L	G	H	G	L	K	D	F	V	H	K	T	K	G	Q	I	N	D		
펩티드 3			E	P	K	S	R	F	A	M	L	D	D	V	K	I	L	A	N	G	L	L	Q	L	G	H	G	L															

**명세서**

**청구범위**

**청구항 1**

SEQ ID NO: 161의 사람 안지오포이에틴-유사 단백질 3(hANGPTL3)에 특이적으로 결합하고, hANGPTL3의 적어도 하나의 활성을 증화, 감소 또는 간섭하는, 분리된 사람 항체 또는 이의 항원-결합 단편으로서, 상기 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 중쇄 상보성 결정 영역(CDR) 서열인 HCDR1, HCDR2 및 HCDR3과 경쇄 CDR 서열인 LCDR1, LCDR2 및 LCDR3을 포함하고, 상기 HCDR1/HCDR2/HCDR3 서열 조합이 SEQ ID NO: 68/70/72로 이루어지고; 상기 LCDR1/LCDR2/LCDR3 서열 조합이 SEQ ID NO: 76/78/80으로 이루어진, 분리된 사람 항체 또는 이의 항원-결합 단편.

**청구항 2**

제1항에 있어서, 상기 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 SEQ ID NO: 161의 잔기 17 내지 209에서 N-말단 코일드 코일(coiled-coil) 부위 내에 위치한 에피톱에 결합하는, 항체 또는 이의 항원-결합 단편.

**청구항 3**

제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 SEQ ID NO: 170의 ANGPTL3 펩티드에 결합하지 않는, 항체 또는 이의 항원-결합 단편.

**청구항 4**

제2항에 있어서, 상기 에피톱이 SEQ ID NO: 161의 잔기 17-200, 17-100, 또는 17-70 내에 위치하는, 항체 또는 이의 항원-결합 단편.

**청구항 5**

제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 키메라 또는 완전 인간 항체 또는 항체 단편인, 항체 또는 이의 항원-결합 단편.

**청구항 6**

제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 SEQ ID NO: 66/74로 이루어진 HCVR 및 LCVR 서열 쌍(HCVR/LCVR)을 포함하는, 항체 또는 이의 항원-결합 단편.

**청구항 7**

제1항, 제2항 및 제4항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 사이노몰구스 원숭이(cynomolgus monkey) ANGPTL3와 교차 반응하는, 항체 또는 이의 항원-결합 단편.

**청구항 8**

제1항, 제2항 및 제4항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 마우스(mouse) 또는 래트(rat) ANGPTL3와 교차 반응하는, 항체 또는 이의 항원-결합 단편.

**청구항 9**

제1항, 제2항 및 제4항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 사이노몰구스 원숭이(cynomolgus monkey) ANGPTL3, 마우스 ANGPTL3, 및 래트 ANGPTL3 중 어느 하나와 교차 반응하는, 항체 또는 이의 항원-결합 단편.

**청구항 10**

제1항, 제2항 및 제4항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항체의 항원-결합 단편이 단쇄 항체, Fab 또는 F(ab')<sub>2</sub>인, 항체 또는 이의 항원-결합 단편.

**청구항 11**

제1항, 제2항 및 제4항 중 어느 한 항에 따른 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 암호화하는, 분리된 핵산 분자.

**청구항 12**

제11항의 핵산 분자를 포함하는, 발현 벡터.

**청구항 13**

제12항의 발현 벡터를 포함하는, 분리된 숙주 세포.

**청구항 14**

항-hANGPTL3 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 생산하는 방법으로서, 상기 항체 또는 이의 항원-결합 단편의 생산을 허용하는 조건에서 제13항의 숙주 세포를 증식시키는 단계 및 이렇게 생산된 항체 또는 이의 단편을 회수하는 단계를 포함하는, 항-hANGPTL3 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 생산하는 방법.

**청구항 15**

제1항, 제2항 및 제4항 중 어느 한 항의 하나 이상의 항체 또는 이의 항원-결합 단편 및 약학적으로 허용 가능한 담체를 포함하는, ANGPTL3 활성의 감소 또는 억제에 의해 예방, 향상, 개선 또는 억제되는 질환 또는 장애를 예방하거나 치료하는데 사용하기 위한 약학적 조성물로서, 상기 질환 또는 장애가 고중성지방혈증, 고콜레스테롤혈증, 킬로미크론혈증(chylomicronemia), 죽상경화성 이상지질혈증, 혼합 이상지질혈증(mixed dyslipidemia), 심혈관계 질환이나 장애, 급성 췌장염, 비알코올성 지방간염(NASH), 당뇨 및 비만으로 이루어진 질환군에서 선택되는, 약학적 조성물.

**청구항 16**

제15항에 있어서, HMG-CoA 환원효소의 억제제; 콜레스테롤 흡수(uptake) 또는 담즙산 재흡수 또는 둘 모두의 억제제; 지질단백질 대사를 증가시키는 제제; 비-치명적 심장마비의 횡수를 감소시키는 제제; 및 LXR 전사 인자의 활성제로 이루어진 그룹으로부터 선택된 하나 이상의 추가의 치료제를 추가로 포함하는, 약학적 조성물.

**청구항 17**

제15항에 있어서, 스타틴, 니아신, 피브레이트, 항-hANGPTL4 항체 및 항-PCSK9 항체로 이루어진 그룹으로부터 선택된 하나 이상의 추가의 치료제를 추가로 포함하는, 약학적 조성물.

**청구항 18**

제16항에 있어서, 하나 이상의 항체 또는 이의 항원-결합 단편 및 하나 이상의 추가의 치료제가 동시에 또는 순차적으로 투여되는, 약학적 조성물.

**청구항 19**

삭제

**청구항 20**

삭제

**청구항 21**

삭제

**청구항 22**

삭제

**청구항 23**

삭제

청구항 24

삭제

청구항 25

삭제

청구항 26

삭제

청구항 27

삭제

청구항 28

삭제

청구항 29

삭제

청구항 30

삭제

청구항 31

삭제

청구항 32

삭제

청구항 33

삭제

청구항 34

삭제

청구항 35

삭제

**발명의 설명**

**기술 분야**

[0001] 본 발명은 사람 안지오포이에틴-유사 단백질 3(hANGPTL3)을 특이적으로 결합하는 사람의 항체 및 사람 항체의 항원 결합 단편과 이러한 항체를 사용하는 치료방법에 관련된다.

**배경 기술**

[0002] 안지오포이에틴-유사 단백질 3(ANGPTL3) 유전자는 신호 서열 및 양친매성 나선구조에 근거하여 EST 데이터베이스로부터 동정되었으며, 이후 전장 ANGPTL3 cDNA가 사람 태아 간/비장 cDNA 라이브러리로부터 분리되었다 (Conklin et al., 1999, Genomics 62: 477-482). 추론된(deduced) 460-아미노산 hANGPTL3 단백질은 마우스 ANGPTL3과 76%의 아미노산 서열 동일성(identity)을 공유하며 안지오포이에틴의 특징적 구조, 즉 신호 펩티드,

2량체 또는 3량체의 코일드 코일(coiled-coil)을 형성할 것으로 예측되는 확장 나선형 도메인, 짧은 연결기(linker) 펩티드, 그리고 구상의 피브리노겐 상동 도메인(FD)을 Let 갖는다(Conklin et al., 1999, supra). ANGPTL3은 FD 내에서 분자 내 이황화물 결합과 관련된 것으로 생각되는 4개의 보존된 시스테인 잔기를 포함한다; 그러나 ANGPTL3에는 혈관신생을 촉진하는 단백질 성장 인자인 안지오프이에틴의 FD에서 발견된 두 개의 추가 시스테인이나 특징적 칼슘 결합 모티프(ANG들; 즉, ANG1, ANG2, ANG4)(Conklin et al., 1999, supra)는 들어있지 않다. 또한 ANG들과는 달리, ANGPTL3은 Tie2에 결합하지 않는다; 그러나 C-말단 FD를 통해 인테그린  $\alpha_v\beta_3$  에 결합함으로써 혈관신생을 유도할 수도 있다(Camenisch et al., 2002, J Biol Chem 277: 17281-17290).

[0003] 종합적인 생체내(in vivo) 데이터를 사람의 제2형 당뇨병과 유사하게 혈장 인슐린, 글루코스 및 지질이 비정상적으로 높아 중등도 비만을 보인 외교배 KK 마우스 모델에서 획득하였다(Koishi et al., 2002, Nature Genetics 30: 151-157). 그러나 마우스의 한 아주인 KK/San은 멘델의 열성으로 물려받은 비정상적으로 낮은 혈장 지질 수준(저지혈증)을 보이는 것으로 나타났다. 좌위들(loci)이 4번 염색체에 맵핑되었고, 엑손 6에 4-bp 뉴클레오티드 서열이 삽입된 ANGPTL3을 부호화하는 유전자인 것으로 동정되었다(Koishi et al., 2002, supra). 이와는 반대로, 혈장지질 수준은 ANGPTL3 유전자의 아테노바이러스 매개 전송 후, 또는 KK/San 마우스의 재조합 사람 ANGPTL3 투여 후 증가한다. 이러한 효과는 콜레스테롤 합성, 지방단백질 청소 또는 NEFA 산화에 관여하는 유전자의 변화에 의해 매개되지 않았다(Koishi et al., 2002, supra). 더욱이, 재조합 단백질을 체외 분석한 결과, ANGPTL3이 직접 지방단백질 분해효소(LPL) 활성을 억제하는 것으로 나타나, LPL 활성의 억제를 통해 초저밀도 지방단백질(VLDL) 트리글리세리드 수준을 조절하는 지질 대사 조절자임을 보여주었다(Shimizu-gawa et al., 2002, J Biol Chem 277(37): 33742-33748). ANGPTL3의 N-말단 코일드 코일(coiled-coil) 도메인, 특히 C-말단 FD가 아니라 N-말단 부위 잔기 17-165가 마우스의 혈장 트리글리세리드 수준을 증가시키는 활동에 필요한 것으로 나타났다(Ono et al., 2003, J Biol Chem 278: 41804-41809).

[0004] 사람 ANGPTL3의 아미노산 및 뉴클레오티드 서열은 각각 SEQ ID 번호: 161 및 162에서 나타난다. 예를 들면 ANGPTL3에 대한 항체는 WO2008/073300 및 US 7,935,796에서 공개되어 있다.

**발명의 내용**

[0005] **발명의 간단한 요약**

[0006] 첫 번째 양상으로, 본 발명은 ANGPTL3, 특히 사람 ANGPTL3(SEQ ID NO: 161)에 특이적으로 결합하여 적어도 하나의 활동을 중화시키고, 억제, 차단, 폐기, 감소 또는 간섭하는 완전한 사람 단클론 항체(mAbs) 및 이의 항원-결합 단편을 제공한다. 본 발명의 항체 또는 이의 단편에 의해 중성화, 억제, 차단, 폐기, 감소 또는 간섭될 수 있는 ANGPTL3의 활동은 LPL 활성, 혈관신생의 유도 등을 포함하나 이에 국한되지는 않는다. 한 구현의 예로, 본 발명의 항체 또는 이의 단편은 표적으로 하는 hANGPTL3의 활동에 직접 관련되는 hANGPTL3의 에피토프와의 결합에 의해 hANGPTL3의 활동을 중화, 억제, 차단, 폐기, 감소 또는 간섭할 수 있다. 또 다른 구현의 예로, 본 발명의 항체 또는 이의 단편은 표적으로 하는 hANGPTL3의 활동에 직접 관련되지 않는 hANGPTL3의 에피토프에 대한 결합에 의해 hANGPTL3의 활동을 중화, 억제, 차단, 폐기, 감소 또는 간섭할 수 있지만, 여기에 결합하는 항체 또는 단편은 표적으로 하는 hANGPTL3의 활동을 입체적으로 또는 구조적으로 억제, 차단, 폐기, 감소 또는 간섭할 수 있다. 또 다른 구현의 예로, 본 발명의 항체 또는 이의 단편은 표적으로 하는 hANGPTL3의 활동(예를 들면, LPL 활성 차단, 혈관신생 유도 등)에 직접 관련되지 않은 hANGPTL3의 에피토프에 결합하지만(즉, 비-차단 항체), 이에 결합하는 항체 또는 단편은 항체 또는 이의 단편이 없을 때의 hANGPTL3의 청소율에 비해 혈중 hANGPTL3의 청소율을 증가시켜, hANGPTL3의 활동을 간접적으로 억제, 차단, 폐기, 감소 또는 간섭하게 된다. 혈중 hANGPTL3의 청소율은 특히 hANGPTL3에 특이적으로 결합하기 위해 서로 경쟁하지 않는 두 가지 이상의 서로 다른 비-차단 항체를 병용함으로써 높아질 수 있다.

[0007] 항체(Abs)는 전장(예를 들면, IgG1 또는 IgG4 항체)이거나 또는 항원 결합 부위(예를 들면, Fab, F(ab')<sub>2</sub> 또는 scFv 단편)로만 이루어질 수 있으며, 잔여 효과기 기능을 제거하는 등 기능성에 영향을 주기 위해 변형될 수도 있다(Reddy et al., 2000, J. Immunol. 164: 1925-1933).

[0008] 일 구현의 예로, 본 발명은 SEQ ID NO: 2, 18, 34, 50, 66, 82, 98, 114, 130, 146 및 180, 또는 이와 서열 상동성이 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99%인 실질적으로 유사한 서열로 이루어진 서열군에서 선택된 중쇄 가변 영역(HCVR)을 포함하는 항체 또는 항체의 항원 결합 단편을 포함한다. 또 다른 구현의 예로, 본 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 SEQ ID NO: 2, 18, 34, 66, 82, 114 및 180으로 이루어진 서열군에서 선

택된 아미노산 서열을 갖는 HCVR을 포함한다. 또 다른 구현의 예로, 본 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 SEQ ID NO: 66의 아미노산 서열을 갖는 HCVR을 포함한다.

[0009] 일 구현의 예로, 항체 또는 항체의 항원 결합 단편은 SEQ ID NO: 10, 26, 42, 58, 74, 90, 106, 122, 138, 154 및 188, 또는 이와 서열 상동성이 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99%인 실질적으로 유사한 서열로 이루어진 서열군에서 선택된 경쇄 가변 영역(LCVR)을 포함한다. 또 다른 구현의 예로, 본 항체 또는 이의 항원 결합 부분은 SEQ ID NO: 10, 26, 42, 74, 90, 122 및 188로 이루어진 서열군에서 선택된 아미노산 서열을 갖는 LCVR을 포함한다. 또 다른 구현의 예로, 본 항체 또는 항체의 항원 결합 부분은 SEQ ID NO: 74의 아미노산 서열을 갖는 LCVR을 포함한다. 74.

[0010] 또 다른 구현의 예로, 본 항체 또는 이의 단편은 SEQ ID NO: 2/10, 18/26, 34/42, 50/58, 66/74, 82/90, 98/106, 114/122, 130/138, 146/154 및 180/188로 이루어진 서열군에서 선택된 HCVR 및 LCVR 서열 쌍(HCVR/LCVR)을 포함한다. 일 구현의 예로, 본 항체 또는 이의 단편은 SEQ ID NO: 2/10, 18/26, 34/42, 66/74, 82/90, 114/122 및 180/188로 이루어진 서열군에서 선택된 HCVR 및 LCVR 서열 쌍을 포함한다. 또 다른 구현의 예로, 본 항체 또는 이의 단편은 SEQ ID NO: 66/74의 HCVR 및 LCVR 서열 쌍을 포함한다.

[0011] 두 번째 양상으로, 본 발명은 SEQ ID NO: 8, 24, 40, 56, 72, 88, 104, 120, 136, 152 및 186, 또는 이와 서열 상동성이 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99%인 실질적으로 유사한 서열로 이루어진 서열군에서 선택된 중쇄 상보성 결정 영역 3(HCDR3) 아미노산 서열; 그리고 SEQ ID NO: 16, 32, 48, 64, 80, 96, 112, 128, 144, 160 및 194, 또는 이와 서열 상동성이 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99%인 실질적으로 유사한 서열로 이루어진 서열군에서 선택된 경쇄 CDR3(LCDR3) 아미노산 서열을 포함하는 항체 또는 항체의 항원 결합 단편을 특징으로 한다. 한 구현의 예로, 본 항체 또는 이의 단편은 SEQ ID NO: 8/16, 24/32, 40/48, 56/64, 72/80, 88/96, 104/112, 120/128, 136/144, 152/160 또는 186/194를 포함하는 HCDR3/LCDR3 아미노산 서열 쌍을 포함한다. 또 다른 구현의 예로, 본 항체 또는 이의 단편은 SEQ ID NO: 8/16, 24/32, 40/48, 72/80, 88/96, 120/128 또는 186/194를 포함하는 HCDR3/LCDR3 아미노산 서열 쌍을 포함한다. 또 다른 구현의 예로, 본 항체 또는 이의 단편은 SEQ ID NO: 72/80을 포함하는 HCDR3/LCDR3 아미노산 서열 쌍을 포함한다.

[0012] 더 자세한 구현의 예로, 본 항체 또는 이의 단편은 SEQ ID NO: 4, 20, 36, 52, 68, 84, 100, 116, 132, 148 및 182, 또는 이와 서열 상동성이 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99%인 실질적으로 유사한 서열로 이루어진 서열군에서 선택된 중쇄 CDR1(HCDR1) 아미노산 서열; 그리고 SEQ ID NO: 6, 22, 38, 54, 70, 86, 102, 118, 134, 150 및 184, 또는 이와 서열 상동성이 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99%인 실질적으로 유사한 서열로 이루어진 서열군에서 선택된 중쇄 CDR2(HCDR2) 아미노산 서열을 포함한다; 선택적으로 SEQ ID NO: 12, 28, 44, 60, 76, 92, 108, 124, 140, 156 및 190, 또는 이와 서열 상동성이 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99%인 실질적으로 유사한 서열로 이루어진 서열군에서 선택된 경쇄 CDR1(LCDR1) 아미노산 서열; 그리고/또는 SEQ ID NO: 14, 30, 46, 62, 78, 94, 110, 126, 142, 158 및 192, 또는 이와 서열 상동성이 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99%인 실질적으로 유사한 서열로 이루어진 서열군에서 선택된 경쇄 CDR2(LCDR2) 아미노산 서열을 포함한다.

[0013] 혹은, 본 발명은 SEQ ID NO: 4/6/8, 20/22/24, 36/38/40, 52/54/56, 68/70/72, 84/86/88, 100/102/104, 116/118/120, 132/134/136, 148/150/152 및 182/184/186으로 이루어진 서열군에서 선택된 HCDR1/HCDR2/HCDR3 조합; 그리고/또는 SEQ ID NO: 12/14/16, 28/30/32, 44/46/48, 60/62/64, 76/78/80, 92/94/96, 108/110/112, 124/126/128, 140/142/144, 156/158/160 및 190/192/194로 이루어진 서열군에서 선택된 LCDR1/LCDR2/LCDR3 조합을 포함하는 항체 또는 항체의 항원 결합 단편을 특징으로 한다. 한 구현의 예로, 중쇄 및 경쇄 CDR 아미노산 서열은 SEQ ID NO: 4/6/8/12/14/16, 20/22/24/28/30/32, 36/38/40/44/46/48, 52/54/56/60/62/64, 68/70/72/76/78/80, 84/86/88/92/94/96, 100/102/104/108/110/112, 116/118/120/124/126/128, 132/134/136/140/142/144, 148/150/152/156/158/160 및 182/184/186/190/192/194로 이루어진 서열군에서 선택된 CDR 서열 조합을 포함한다. 한 구현의 예로, 중쇄 및 경쇄 CDR 아미노산 서열은 SEQ ID NO: 4/6/8/12/14/16, 20/22/24/28/30/32, 36/38/40/44/46/48, 68/70/72/76/78/80, 84/86/88/92/94/96, 116/118/120/124/126/128 또는 182/184/186/190/192/194의 CDR 서열 조합을 포함한다. 또 다른 구현의 예로, 중쇄 및 경쇄 CDR 아미노산 서열은 SEQ ID NO: 68/70/72/76/78/80의 CDR 서열 조합을 포함한다.

[0014] 연관된 구현의 한 예로, 본 발명은 hANGPTL3을 특이적으로 결합하는 항체 또는 항체의 항원 결합 단편을 포함하면, 이 경우 항체 또는 그 단편은 SEQ ID NO: 2/10, 18/26, 34/42, 50/58, 66/74, 82/90, 98/106, 114/122, 130/138, 146/154 및 180/188로 이루어진 서열군에서 선택된 HCVR/LCVR 쌍들 내에 포함된 중쇄 및 경쇄 CDR 도

메인을 포함한다. HCVR 및 LCVR 아미노산 서열 내에서 CDR을 동정하는 방법과 기술은 당 업계에 알려져 있으며, 본 명세서에서 공개된 특정 HCVR 및/또는 LCVR 아미노산 서열 내에서 CDR을 동정하는데 적용할 수 있다. CDR의 경계를 파악하는데 사용될 수 있는 기존의 정의로는 Kabat 정의, Chothia 정의, 그리고 AbM 정의가 있다. 일상적인 용어로는, Kabat 정의는 서열 가변성에 근거하며, Chothia 정의는 구조 루프 영역의 위치에 근거하며, AbM 정의는 Kabat 접근법과 Chothia 접근법을 혼용한 것이다. *참고 문헌의 예*: 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); and Martin et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86: 9268-9272 (1989). 항체 내의 CDR 서열 동정용 공개 데이터베이스도 존재한다. 한 구현 예로, 본 항체 또는 그 단편은 SEQ ID NO: 2/10, 18/26, 34/42, 66/74, 82/90, 114/122 또는 180/188의 HCVR 및 LCVR 쌍 내에 포함된 CDR 서열을 포함한다. 또 다른 구현의 예로, 본 항체 또는 그 단편은 SEQ ID NO: 66/74의 HCVR 및 LCVR 쌍 내에 포함된 CDR 서열을 포함한다. 2/10, 18/26, 34/42, 66/74, 82/90, 114/122 또는 180/188. 또 다른 구현의 예로, 본 항체 또는 그 단편은 SEQ ID NO: 66/74의 HCVR 및 LCVR 쌍 내에 포함된 CDR 서열을 포함한다.

[0015] 연관된 또 다른 구현의 예로, 본 발명은 hANGPTL3에 결합하는 특정 부위를 놓고 SEQ ID NO: 2/10, 18/26, 34/42, 50/58, 66/74, 82/90, 98/106, 114/122, 130/138, 146/154 또는 180/188의 HCVR/LCVR 서열 쌍에 포함된 중쇄 및 경쇄 CDR 서열을 포함하는 항체 또는 항원 결합 단편과 경쟁하는 항체 또는 항체의 항원 결합 단편을 제공한다. 한 구현의 예로, 본 발명의 항체 또는 항원 결합 단편은 hANGPTL3에 결합하는 특정 부위를 놓고 SEQ ID NO: 66/74의 HCVR/LCVR 서열 쌍을 포함하는 항체 또는 이의 단편과 경쟁한다. 또 다른 구현의 예로, 본 발명의 항체 또는 항원 결합 단편은 hANGPTL3에 결합하는 특정 부위를 놓고 4/6/8/12/14/16, 20/22/24/28/30/32, 36/38/40/44/46/48, 52/54/56/60/62/64, 68/70/72/76/78/80, 84/86/88/92/94/96, 100/102/104/108/110/112, 116/118/120/124/126/128, 132/134/136/140/142/144, 148/150/152/156/158/160 및 182/184/186/190/192/194로 이루어진 서열군에서 선택된 중쇄 및 경쇄 CDR 서열 조합을 포함하는 항체 또는 이의 단편과 경쟁한다. 한 구현의 예로, 본 발명의 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 hANGPTL3에 결합하는 특정 부위를 놓고 SEQ ID NOS: 68/70/72/76/78/80의 중쇄 및 경쇄 CDR 서열 조합을 포함하는 항체 또는 이의 단편과 경쟁한다.

[0016] 연관된 또 다른 구현의 예로, 본 발명은 SEQ ID NO: 2/10, 18/26, 34/42, 50/58, 66/74, 82/90, 98/106, 114/122, 130/138, 146/154 또는 180/188의 HCVR/LCVR 서열 쌍으로부터 중쇄 및 경쇄 CDR 서열을 포함하는 항체 또는 이의 단편에 의해 인식되는 hANGPTL3 상의 동일한 에피톱을 결합하는 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 제공한다. 한 구현의 예로, 본 발명의 항체 또는 항원 결합 단편은 SEQ ID NO: 66/74의 HCVR/LCVR 서열 쌍을 포함하는 항체 또는 이의 단편에 의해 인식되는 것과 동일한 hANGPTL3 상의 에피톱을 결합한다. 한 구현의 예로, 본 발명의 항체 또는 이의 단편은 4/6/8/12/14/16, 20/22/24/28/30/32, 36/38/40/44/46/48, 52/54/56/60/62/64, 68/70/72/76/78/80, 84/86/88/92/94/96, 100/102/104/108/110/112, 116/118/120/124/126/128, 132/134/136/140/142/144, 148/150/152/156/158/160 and 182/184/186/190/192/194로 이루어진 서열군에서 선택된 중쇄 및 경쇄 CDR 서열 조합을 포함하는 항체 또는 이의 단편에 의해 인식되는 hANGPTL3 상의 에피톱을 결합한다. 한 구현의 예로, 이러한 에피톱은 SEQ ID NO: 68/70/72/76/78/80의 중쇄 및 경쇄 CDR 서열 조합을 포함하는 항체 또는 이의 단편에 의해 인식된다.

[0017] 세 번째 양상으로, 본 발명은 SEQ ID NO: 161의 17-209 번 잔기에서 N-말단 코일드 코일(coiled-coil) 영역 내에 위치한 에피톱과 결합하여 hANGPTL3의 적어도 한 가지 활동을 중화, 억제, 폐기, 감소 또는 간섭하는 분리된 항-hANGPTL3 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 특징으로 한다. 또 다른 구현의 예로, 본 발명은 hANGPTL3(SEQ ID NO: 161)의 N-말단 코일드 코일(coiled-coil) 구역 내에 위치한 에피톱과 특이적으로 결합하여 hANGPTL3의 적어도 한 가지 활동을 중화, 억제, 폐기, 감소 또는 간섭하는 분리된 항체 또는 항체의 항원-결합 단편을 제공한다; 이때 항체 또는 이의 단편이 SEQ ID NO: 170의 ANGPTL3 펩티드(SEQ ID NO: 161의 hANGPTL3의 Glu32 내지 Leu57 잔기에 해당)와 결합하지 않아야 한다. 한 구현의 예로, 본 발명의 항체 또는 이의 단편은 선택적으로 본 항체 또는 이의 단편이 SEQ ID NO: 170의 ANGPTL3 펩티드와 결합하지 않는다는 조건에서 hANGPTL3(SEQ ID NO: 161)의 잔기 17-200, 17-100, 17-70, 17-65, 17-60, 17-57, 또는 17-50 내의 에피톱과 특이적으로 결합한다. 또 다른 구현의 예로, 본 항체 또는 이의 단편은 선택적으로 본 항체 또는 이의 단편이 SEQ ID NO: 170의 ANGPTL3 펩티드에 결합하지 않는다는 조건에서 hANGPTL3(SEQ ID NO: 161)의 잔기 40-200, 40-100, 40-70, 50-200, 50-100, 50-70, 58-200, 58-100, 58-70, 58-68, 또는 61-66 내의 에피톱과 특이적으로 결합한다. 몇몇 구현의 예로, 본 항체 또는 항체 단편은 선택적으로 본 항체 또는 이의 단편이 SEQ ID NO: 170의 ANGPTL3 펩티드와 결합하지 않는다는 조건에서 hANGPTL3의 N-말단 코일드 코일(coiled-coil) 영역 내에서 열거된 에피톱이나 잔기의 하나 혹은 그 이상을 포함할 수 있는 에피톱을 결합한다.

- [0018] 네 번째 양상으로, 본 발명은 항-ANGPTL3 항체 또는 이의 단편, 특히 상기에 기술된 것 중 하나를 부호화하는 핵산 분자를 제공한다. 본 발명의 핵산을 운반하는 재조합 발현 벡터, 그리고 숙주 세포, 예를 들면 E. coli와 같은 박테리아 세포, 또는 이러한 벡터가 도입된 CHO 세포와 같은 포유류 세포 역시 항체의 생산을 허용하는 조건 하에서 숙주 세포를 배양하고 생산된 항체를 회수함으로써 항체를 생산하는 방법인 본 발명의 범주에 속한다.
- [0019] 한 구현의 예로, 본 발명은 SEQ ID NO: 1, 17, 33, 49, 65, 81, 97, 113, 129, 145 및 179로 이루어진 서열군에서 선택된 핵산 서열, 또는 이와 서열 상동성이 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%인 실질적으로 유사한 서열에 의해 부호화된 HCVR을 포함하는 항체 또는 이의 단편을 제공한다. 또 다른 구현의 예로, 본 항체 또는 이의 단편은 SEQ ID NO: 1, 17, 33, 65, 81, 113 또는 179의 핵산 서열에 의해 부호화된 HCVR을 포함한다. 또 다른 구현의 예로, 본 항체 또는 이의 단편은 SEQ ID NO: 65의 핵산 서열에 의해 부호화된 HCVR을 포함한다.
- [0020] 한 구현의 예로, 항체 또는 이의 항체-결합 단편은 SEQ ID NO: 9, 25, 41, 57, 73, 89, 105, 121, 137, 153 및 187, 또는 이와 서열 상동성이 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%인 실질적으로 유사한 서열로 이루어진 서열군에서 선택된 핵산 서열에 의해 부호화된 LCVR을 포함한다. 또 다른 구현의 예로, 본 항체 또는 이의 단편은 핵산 서열 SEQ ID NO: 9, 25, 41, 73, 89, 121 또는 187에 의해 부호화된 LCVR을 포함한다. 또 다른 구현의 예로, 본 항체 또는 이의 단편은 핵산 서열 SEQ ID NO: 73에 의해 부호화된 LCVR을 포함한다.
- [0021] 더 자세한 구현의 예로, 본 항체 또는 이의 단편은 SEQ ID NO: 1/9, 17/25, 33/41, 49/57, 65/73, 81/89, 97/105, 113/121, 129/137, 145/153 및 179/187로 이루어진 서열군에서 선택된 핵산 서열 쌍에 의해 부호화된 HCVR 및 LCVR (HCVR/LCVR) 서열 쌍을 포함한다. 한 구현의 예로, 본 항체 또는 이의 단편은 SEQ ID NO: 1/9, 17/25, 33/41, 65/73, 81/89, 113/121 또는 179/187의 핵산 서열 쌍에 의해 부호화된 HCVR/LCVR 서열 쌍을 포함한다. 또 다른 구현의 예로, 본 항체 또는 이의 단편은 SEQ ID NO: 65/73의 핵산 서열 쌍에 의해 부호화된 HCVR/LCVR 서열 쌍을 포함한다.
- [0022] 한 구현의 예로, 본 발명은 SEQ ID NO: 7, 23, 39, 55, 71, 87, 103, 119, 135, 151 및 185, 또는 이와 서열 상동성이 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%인 실질적으로 유사한 서열로 이루어진 서열군에서 선택된 뉴클레오티드 서열에 의해 부호화된 HCDR3 도메인; 그리고 SEQ ID NO: 15, 31, 47, 63, 79, 95, 111, 127, 143, 159 및 193, 또는 이와 서열 상동성이 90%, 적어도 95%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%인 실질적으로 유사한 서열로 이루어진 서열군에서 선택된 뉴클레오티드 서열에 의해 부호화된 LCDR3 도메인을 포함하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 포함한다. 한 구현의 예로, 본 항체 또는 이의 단편은 SEQ ID NO: 7/15, 23/31, 39/47, 55/63, 71/79, 87/95, 103/111, 119/127, 135/143, 151/159 및 185/193으로 이루어진 서열군에서 선택된 핵산 서열 쌍에 의해 부호화된 HCDR3 및 LCDR3 서열 쌍을 포함한다. 또 다른 구현의 예로, 본 항체 및 이의 단편은 SEQ ID NO: 7/15, 23/31, 39/47, 71/79, 87/95, 119/127 또는 185/193의 핵산 서열 쌍에 의해 부호화된 HCDR3 and LCDR3 서열 쌍을 포함한다. 또 다른 구현의 예로, 본 항체 및 이의 단편은 SEQ ID NO: 71/79의 핵산 서열 쌍에 의해 부호화된 HCDR3 및 LCDR3 서열 쌍을 포함한다.
- [0023] 더 상세한 구현의 예로, 본 항체 또는 이의 단편은 SEQ ID NO: 3, 19, 35, 51, 67, 83, 99, 115, 131, 147 및 181, 또는 이와 서열 상동성이 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%인 실질적으로 유사한 서열로 이루어진 서열군에서 선택된 뉴클레오티드 서열에 의해 부호화된 HCDR1 도메인; 그리고 SEQ ID NO: 5, 21, 37, 53, 69, 85, 101, 117, 133, 149 및 183, 또는 이와 서열 상동성이 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%인 실질적으로 동일한 서열로 이루어진 서열군에서 선택된 뉴클레오티드 서열에 의해 부호화된 HCDR2 도메인을 포함하며; 그리고 선택적으로 더 나아가 SEQ ID NO: 11, 27, 43, 59, 75, 91, 107, 123, 139, 155 및 189, 또는 이와 서열 상동성이 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%인 실질적으로 동일한 서열로 이루어진 서열군에서 선택된 뉴클레오티드 서열에 의해 부호화된 LCDR1 도메인; 및/또는 SEQ ID NO: 13, 29, 45, 61, 77, 93, 109, 125, 141, 157 및 191, 또는 이와 서열 상동성이 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%인 실질적으로 동일한 서열로 이루어진 서열군에서 선택된 뉴클레오티드 서열에 의해 부호화된 LCDR2 도메인을 포함한다.
- [0024] 아니면, 본 발명은 SEQ ID NO: 3/5/7, 19/21/23, 35/37/39, 51/53/55, 67/69/71, 83/85/87, 99/101/103, 115/117/119, 131/133/135, 147/149/151 및 181/183/185로 이루어진 서열군에서 선택된 뉴클레오티드 서열 조합에 의해 부호화된 HCDR1/HCDR2/HCDR3 조합; 그리고/또는 SEQ ID NO: 11/13/15, 27/29/31, 43/45/47, 59/61/63, 75/77/79, 91/93/95, 107/109/111, 123/125/127, 139/141/143, 155/157/159 및 189/191/193으로 이

루어진 서열군에서 선택된 뉴클레오티드 서열 조합에 의해 부호화된 LCDR1/LCDR2/LCDR3 조합을 포함하는 항체 또는 항체-결합 단편을 특징으로 한다. 한 구현의 예로, 본 항체 또는 이의 단편은 SEQ ID NO: 67/69/71/75/77/79의 뉴클레오티드 서열 조합에 의해 부호화된 중쇄 및 경쇄 CDR 서열을 포함한다.

[0025] 다섯 번째 양상으로, 본 발명은  $V_H$ ,  $D_H$  and  $J_H$  생식선(germline) 서열에서 유래한 뉴클레오티드 서열 분절(segment)에 의해 부호화된 중쇄 가변 부위(HCVR), 그리고  $V_K$  및  $J_K$  생식선 서열에서 유래한 뉴클레오티드 서열 분절에 의해 부호화된 경쇄 가변 부위(LCVR)를 포함하는 사람 항-ANGPTL3 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 특징으로 하며, 이 경우 HCVR 및 LCVR은 (i)  $V_H3-43$ ,  $D_H3-3$ ,  $J_H3$ ,  $V_K1-5$  및  $J_K2$ ; (ii)  $V_H3-11$ ,  $D_H1-1$ ,  $J_H4$ ,  $V_K1-39$  및  $J_K4$ ; (iii)  $V_H3-30$ ,  $D_H1-7$ ,  $J_H6$ ,  $V_K1-5$  및  $J_K1$ ; (iv)  $V_H3-30$ ,  $D_H1-26$ ,  $J_H6$ ,  $V_K1-12$  및  $J_K3$ ; (v)  $V_H3-30$ ,  $D_H3-10$ ,  $J_H6$ ,  $V_K1-12$  및  $J_K3$ ; 그리고 (vi)  $V_H3-23$ ,  $D_H3-10$ ,  $J_H4$ ,  $V_K1-5$  및  $J_K1$ 의 서열군에서 선택된 생식선 유전자 조합에서 유래한 뉴클레오티드 서열 분절에 의해 부호화되어야 한다.

[0026] 여섯 번째 양상으로, 본 발명은 표면 플라즈몬 공명 분석(예를 들면, BIACORE™)에 의해 측정했을 때 평형 해리 상수( $K_D$ )가 약 7 nM 이하, 약 6 nM 이하, 약 5 nM 이하, 약 4 nM 이하, 약 3 nM 이하, 약 2 nM 이하, 또는 약 1 nM 이하로 hANGPTL3에 특이적으로 결합하는 항원 또는 이의 항원-결합 단편을 특징으로 한다. 특정 구현의 예로, 본 발명의 항체는 약 800 pM 이하, 약 700 pM 이하; 약 600 pM 이하; 약 500 pM 이하; 약 400 pM 이하; 약 300 pM 이하; 약 200 pM 이하; 약 100 pM 이하; 또는 약 50 pM 이하의  $K_D$ 를 보인다.

[0027] 일곱 번째 양상으로, 본 발명은 예를 들면 본 명세서에 기술된 ELISA, 표면 플라즈몬 공명 분석, 또는 LUMINEX® XMAP® Technology로 판정했을 때 SEQ ID NO: 161의 hANGPTL3 단백질에는 결합하지만, 사람 안지오프이에틴-유사 단백질 4(hANGPTL4; SEQ ID NO: 164)와는 교차 반응하지 않는 항-hANGPTL3 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 제공한다. ANGPTL4는 LPL 활성을 감소시키는 것으로 알려진 또 다른 분비 단백질로, N-말단 코일드 코일(coiled-coil) 부위와 C-말단 피브리노겐 유사 도메인을 갖는다 (Ge et al., 2004, J Biol Chem 279: 2038-2045; Yau et al., 2009, J Biol Chem 284: 11942-11952). 연관된 구현의 예로, 본 발명은 hANGPTL3 단백질을 결합하고 hANGPTL4 단백질과 교차 반응하는 항-hANGPTL3 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 제공한다. 특정 구현의 예로, hANGPTL4 단백질에 대한 hANGPTL3 항체 또는 이의 단편의 결합 친화도는 hANGPTL3 단백질에 대한 상기 항체 또는 단편의 결합 친화도의 약 75% 이하, 또는 약 50% 이하이다.

[0028] 또 다른 연관된 구현의 예로, 본 발명은 마우스(mouse) ANGPTL3(mANGPTL3; SEQ ID NO: 163), 또는 래트(rat) ANGPTL3(rANGPTL3; SEQ ID NO: 175)와는 교차 반응하지 않지만, 사이노몰구스 원숭이(cynomolgus monkey)(Macaca fascicularis) ANGPTL3 (MfANGPTL3), 예를 들면, SEQ ID NO: 177의 N-말단 17-170 잔기 (MfANGPTL3의 부분 아미노산 서열)와는 교차 반응하는 항-hANGPTL3 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 제공한다. 또 다른 연관된 구현의 예로, 본 발명은 MfANGPTL3, mANGPTL3 및 rANGPTL3과 교차 반응하는 항-hANGPTL3 항체 또는 그 단편을 제공한다.

[0029] 본 발명은 변형된 당화 패턴을 갖는 항-hANGPTL3 항체를 포함한다. 몇몇 응용의 예로, 바람직하지 않은 당화 부위를 제거하기 위한 변형, 즉 예를 들면, 항체 의존 세포포식 세포독성(ADCC)의 기능을 증가시키기 위한 푸코오스 반쪽(moiety)의 제거 등이 유용할 수 있다 (참고: Shield et al. (2002) JBC 277: 26733). 기타 응용의 예로, N-당화 부위의 제거는 치료용 항체에 대한 바람직하지 않은 면역 반응을 감소시키거나 항체의 친화도를 증가시킬 수 있다. 또 다른 응용의 예로, 보체 의존 세포독성(CDC)을 조절하기 위해 갈락토실화(galactosylation)의 조절이 이루어질 수 있다.

[0030] 여덟 번째 양상으로, 본 발명은 hANGPTL3을 특이적으로 결합하는 재조합 사람 항체 또는 이의 단편과 약학적으로 허용 가능한 담체를 포함하는 약학적 조성물을 특징으로 한다. 한 구현의 예로, 본 발명은 서로 교차 경쟁하지 않는 본 발명의 하나 혹은 그 이상의 항-ANGPTL3 항체 또는 이의 단편과 약학적으로 허용 가능한 담체를 포함하는 약학적 조성물을 제공한다. 한 구현의 예로, 본 발명의 약학적 조성물은 hANGPTL3에 결합하는 특정 부위를 놓고 서로 경쟁하지 않으며 혈중 hANGPTL3 제거에 효과적인 둘 이상의 비-차단 항체를 포함할 수 있다. 비-차단 항체의 적절한 조합은 HCVR 및 LCVR 서열 쌍 (HCVR/LCVR)이: (i) 각각 SEQ ID NO: 82/90 및 180/188; (ii) 각각 SEQ ID NO: 114/122 및 180/188; (iii) 각각 SEQ ID NO: 82/90 및 18/26; 또는 (iv) 각각 SEQ ID NO: 114/122 및 18/26으로 이루어진 항체의 조합을 포함하지만 이에 국한되지는 않는다.

[0031] 연관된 구현의 예로, 본 발명은 본 발명의 항체 또는 이의 항원-결합 단편과 두 번째 치료제의 조합인 조성물을 특징으로 한다. 두 번째 치료제는 (1) 세리바스타틴, 아토르바스타틴, 심바스타틴, 피타바스타틴,

로수바스타틴, 플루바스타틴, 로바스타틴, 프라바스타틴 등과 같은 3-히드록시-3-메틸글루타릴-조효소 A (HMG-CoA) 환원효소 억제제; (2) 콜레스테롤 흡수 및/또는 담즙산 재흡수의 억제제; (3) 지방단백질 대사를 증가시키는 니아신; (4) 저밀도 지방단백질(LDL) 수준을 낮추고, 고밀도 지방단백질(HDL) 및 TG 수준은 증가시키며, 비치명적 심장마비의 횡수를 줄이는 피브르산 또는 양친매성 카르복실산; 그리고 (5) 22-히드록시콜레스테롤과 같은 콜레스테롤 제거에서 역할을 하는 LXR 전사 인자 활성화제, 또는 에제티미브 + 심바스타틴과 같은 고정된 조합; 담즙 레진을 포함한 스타틴(예를 들면, 콜레스티라민, 콜레스티폴, 콜레세브이람), 니아신 + 스타틴의 고정된 조합(예를 들면, 로바스타틴을 포함한 니아신); 또는 오메가-3-지방산 에틸 에스테르와 같은 기타 지방 저하제(예를 들면, 오마코) 등과 같은 하나 혹은 그 이상의 제제가 될 수 있다. 더욱이, 두 번째 치료제는 지질 대사, 특히 콜레스테롤 및/또는 트리글리세리드 항상성에 관여하는 ANGPTL4, ANGPTL5, ANGPTL6 및 단백질 전환효소 서브틸리신/케신 타입 9(PCSK9)와 같은 기타 분자의 억제제 뿐만 아니라 하나 혹은 그 이상의 기타 ANGPTL3 억제제일 수 있다. 이들 분자의 억제제는 이러한 분자들에 특이적으로 결합하여 이들의 활성을 차단하는 작은 분자 및 항체를 포함한다.

[0032] 연관된 구현의 예로, 두 번째 치료제는 화학요법제, 혈관신생억제제, 증식억제제, 세포독성제, 세포사멸제 (apoptotic agent), 그리고 암이나 기타 증식성 질환 치료용으로 당 업계에 잘 알려진 기타 제제와 같은 하나 혹은 그 이상의 항암제뿐만 아니라, 잠재적인 암/종양에 수반되는 증상을 개선 및/또는 감소시키기 위한 Cox-2 억제제 등과 같은 비스테로이드성 소염제(NSAIDS)를 포함하는 진통제, 소염제 등의 기타 치료제일 수 있다.

[0033] 아홉 번째 양상으로, 본 발명은 본 발명의 하나 혹은 그 이상의 항-hANGPTL3 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 이용하여 hANGPTL3 활성을 중화, 억제, 차단, 폐지, 감소 또는 간섭하는 방법들을 특징으로 한다. 한 구현의 예로, 본 발명은 치료를 필요로 하는 대상자에게 본 발명의 하나 혹은 그 이상의 항-hANGPTL3 항체 또는 이의 항원-결합 단편과, 선택적으로는 상기의 하나 혹은 그 이상의 추가 치료제를 포함하는 약학적 조성물의 치료적으로 유효한 양을 투여하는 것을 포함한 치료 방법을 제공한다. 본 발명의 항-ANGPTL3 항체 또는 이의 단편은 ANGPTL3에 대한 중화 항체 또는 비-차단 항체, 또는 이의 조합일 수 있다.

[0034] 연관된 구현의 예로, 본 발명은 hANGPTL3에 결합하는 부위를 놓고 서로 경쟁하지 않고, 바람직하게는 hANGPTL3의 활동을 적어도 하나 이상 차단하지 않는(즉, 비차단 항체) 본 발명의 적어도 두 가지 항-hANGPTL3 항체 또는 이의 단편을 대상자에게 투여하는 것을 포함하며, 이를 필요로 하는 대상자의 혈중에서 hANGPTL3의 제거율을 증가시키는 방법을 제공한다. 언급된 hANGPTL3의 적어도 하나 이상의 활동은 혈관신생 등을 유도하는 LPL 활동을 억제하는 것을 포함하지만 이에 국한되는 것은 아니다. 한 구현의 예로, 적어도 두 가지 비차단 항-hANGPTL3 항체 또는 이의 단편을 조합하면, 항체 또는 단편을 투여하지 않은 경우에 비해 혈중에서 hANGPTL3의 제거율을 적어도 약 20%, 약 30%, 약 40%, 약 50%, 약 60%, 약 70%, 또는 약 80% 이상 증가시킨다. 혈중 hANGPTL3의 수준은 당 업계에 잘 알려져 있는 *체외(in vitro)* 분석법과 본 명세서에 기술된 방법들로 측정할 수 있다. 또 다른 구현의 예로, 적어도 둘 이상의 비차단 항-hANGPTL3 항체는 다음과 같은 HCVR 및 LCVR 서열 쌍(HCVR/LCVR)을 포함한다: (i) 각각 SEQ ID NO: 82/90 및 180/188; (ii) 각각 SEQ ID NO: 114/122 및 180/188; (iii) 각각 SEQ ID NO: 82/90 및 18/26; 또는 (iv) 각각 SEQ ID NO: 114/122 및 18/26.

[0035] 본 발명의 방법에 의해 치료될 수 있는 질병 또는 상태는 ANGPTL3 활성을 제거, 억제, 감소 또는 간섭함으로써 항-hANGPTL3 항체 치료를 하지 않는 질환이나 상태(예를 들면, ANGPTL3-매개 질병 또는 질환)에 비해 향상, 개선, 억제 또는 예방되거나, 또는 그 발생률이 감소되는 모든 질병 또는 상태이다. 본 발명의 방법에 의해 치료될 수 있는 질병이나 장애의 예로는, 예를 들면 감소된 LPL 활성 및/또는 LPL 결핍, 감소된 LDL 수용체(LDLR) 활성 및/또는 LDL 수용체 결핍(예를 들면, LDLR을 포함한 동형 가족성 고콜레스테롤혈증<sup>-/-</sup>), ApoC2 변화, ApoE 결핍, ApoB 증가, 초저밀도 지방단백질(VLDL)의 생산 증가 및/또는 제거 감소, 특정 약물 치료(예를 들면, 글루코코르티코이드 치료로 인한 이상지질혈증), 모든 유전적 소인, 음식, 생활 양식, 등이 원인이 되는 고지혈증, 고지방단백혈증 및 이상 지질혈증(즉상 경화성 이상 지질혈증 포함), 당뇨병 이상지질혈증, 고중성지방혈증(TG > 1000 mg/dL인 중증 고중성지방혈증 포함), 고콜레스테롤혈증, 킬로미크론혈증(암죽미립혈증), 혼합 이상 지질혈증(비만, 대사 증후군, 당뇨 등), 지방이상증, 지방위축증, 등과 같은 지질 대사를 포함하는 질환을 포함하지만 이에 국한되지는 않는다. 또한 본 발명의 방법은 즉상동맥경화증, 동맥류, 고혈압, 협심증, 뇌졸중, 뇌혈관계 질환, 울혈성 심부전, 관상동맥질환, 심근경색, 말혈관질환 등과 같은 심혈관계 질환이나 장애; 급성 췌장염; 비알코올성 지방간염(NASH); 당뇨병과 같은 혈당 질환; 비만 등을 포함하지만 이에 국한되지 않는 고지혈증, 고지단백혈증, 및/또는 이상지질혈증과 연관되거나 이에서 유래하는 질병이나 장애를 예방 또는 치료할 수 있다.

[0036] 본 발명의 방법에 의해 치료될 수 있는 다른 질병이나 장애의 다른 예로는 노년성 황반 변성, 망막중심정맥 폐쇄 또는 망막 분지정맥 폐쇄, 당뇨병망막병증, 미숙아 망막병증 등과 같은 혈관신생성 안과 질환이나 장애, 관절염, 류마티스 관절염(RA)과 같은 염증성 질환이나 장애, 건선 등을 포함하여 비신생물성 혈관신생-관련 질병이나 장애뿐만 아니라 암/종양도 포함한다.

[0037] 기타 구현의 예들은 다음의 상세 설명을 통해 분명해질 것이다.

**도면의 간단한 설명**

[0038] 도 1은 hANGPTL3 서열의 해당 부위(즉, SEQ ID NO: 161 또는 GenBank #NP\_055310의 30-70 잔기 내에서)에 대한 항-hANGPTL3 항체 결합 실험(실시 예 5)에서 사용된 펩티드 1-3의 서열 정렬을 보여준다. 펩티드 1 (컨트롤: ANGPTL4 펩티드; SEQ ID NO: 168); 펩티드 2 (ANGPTL3 펩티드; SEQ ID NO: 169); 그리고 펩티드 3 (ANGPTL3 펩티드; SEQ ID NO: 170).

도 2는 hANGPTL3 (펩티드 2 및 3) 또는 hANGPTL4 (펩티드 1)의 N-말단 코일드 코일(coiled-coil) 펩티드에 결합하는 항-hANGPTL3 항체의 결과를 보여준다 (펩티드 □: 동형 대조군; 그리고 ■: H4H1276S 항체).

**발명을 실시하기 위한 구체적인 내용**

[0039] 본 발명을 상세히 설명하기 전에, 본 발명의 방법 및 조건은 다양할 수 있기 때문에 본 발명은 기술된 특정 방법 및 실험 조건에 국한되지 않는다는 것을 이해할 필요가 있다. 또한 본 명세서에서 사용된 용어는 본 발명의 범위가 부록의 청구범위에 의해서만 한정될 것이기 때문에 특정 구현의 예만 설명하기 위한 목적이며 제한적인 용도가 아님을 이해해야 한다.

[0040] 달리 정의되지 않는 한, 본 명세서에서 사용된 모든 기술적 및 과학적 용어는 본 발명이 속하는 당 업계의 일반적인 수준의 전문가가 통상적으로 이해하는 의미와 동일하다. 본 명세서에 설명된 방법 및 물질과 유사하거나 동일한 모든 방법 및 물질이 본 발명의 실시 또는 시험에서 사용될 수 있지만, 보다 선호되는 방법 및 물질을 여기에 설명하도록 한다.

**정의**

[0042] 본 명세서에서 사용된 용어 "사람 안지오포이에틴-유사 단백질 3" 또는 "hANGPTL3"은 SEQ ID NO: 162에서 보이는 핵산 서열과 SEQ ID NO: 161의 핵산 서열을 갖는 ANGPTL3, 또는 이의 생물학적 활성 단편을 의미한다.

[0043] 본 명세서에 사용된 용어 "항체"는 이황화물 결합에 의해 상호 연결된 두 개의 무거운(H) 사슬과 두 개의 가벼운(L) 사슬인 네 개의 폴리펩티드 사슬을 의미한다. 각각의 무거운 사슬(중쇄)은 중쇄 가변부(HCVR)와 중쇄 불변부(C<sub>H</sub>; C<sub>H</sub>1, C<sub>H</sub>2 및 C<sub>H</sub>3의 도메인으로 구성)로 구성된다. 각각의 경쇄는 경쇄 가변부(LCVR)와 경쇄 불변부(C<sub>L</sub>)로 구성된다. HCVR 및 LCVR은 상보성 결정 영역(CDR)으로 불리는 과변이 부위로 다시 나누어지며 골격 부위(FR)로 불리는 좀더 보존적인 부위와 교차 배치될 수 있다. 각각의 HCVR과 LCVR은 다음과 같은 FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4의 순서로 아미노 말단에서 카복시 말단으로 배열된 세 개의 CDR과 네 개의 FR로 구성된다.

[0044] 하나 혹은 그 이상의 CDR 잔기가 교체되거나 하나 혹은 그 이상의 CDR이 생략되는 것도 가능할 수 있다. 과학 문헌에서는 항체는 한 두 개의 CDR이 없어도 결합을 할 수 있는 것으로 설명되어 왔다. Padlan 등 (1995 FASEB J. 9: 133-139)은 알려진 결정 구조에 근거하여 항체와 이들의 항원간의 접촉 부위를 분석하여 CDR 잔기의 약 1/5 내지 1/3만이 실제로 항원과 접촉한다는 결론을 내렸다. 또한 Padlan은 하나 또는 두 개의 CDR이 항원과 접촉하는 아미노산이 없는 많은 항체를 발견하였다(추가 참고 자료: Vajdos et al. 2002 J Mol Biol 320: 415-428).

[0045] 항원과 접촉하지 않는 CDR 잔기는 이전의 여러 연구(예를 들면, CDRH2의 H60-H65 잔기는 대부분 필요하지 않다)에 근거하여 분자 모델링 및/또는 경험적으로 Chothia CDR 바깥에 놓여있는 Kabat CDR의 영역으로부터 동정될 수 있다. CDR 또는 이의 잔기(들)가(이) 빠져있는 경우, 보통 또 다른 사람 항체 서열이나 이러한 서열의 공통 서열에서 해당 위치를 차지하는 아미노산으로 치환된다. 치환할 CDR 및 아미노산 내의 치환 위치 역시 경험적으로 선택될 수 있다. 경험적 치환은 보존적(conservative)이거나 비보존적(non-conservative) 치환일 수 있다.

[0046] 본 명세서에서 사용된 용어 "사람 항체"란 사람 생식선(germline) 면역글로불린 서열에서 유래한 가변 부위 및

불변 부위를 갖는 항체를 포함하기 위해 사용된다. 본 발명의 사람 mAbs는, 예를 들면 CDR 및 특정 CDR3에서의 사람 생식선(germline) 면역글로불린 서열(예를 들면, 무작위 또는 체외에서 부위-특이 돌연변이에 의하거나 체내에서 체세포 돌연변이에 의해 유도된 돌연변이)에 의해 부호화 되지 않은 아미노산 잔기를 포함할 수 있다. 그러나 본 명세서에서 사용된 용어 "사람 항체"는 또 다른 포유 동물(예를 들면, 마우스)의 생식선(germline)에서 유래한 CDR 서열이 사람 FR 서열에 이식된 mAbs를 포함하기 위한 용도가 아니다.

[0047] 본 명세서에서 공개된 완전한 사람 항-hANGPTL3 항체는 해당 생식선(germline) 서열에 비해 골격부 및/또는 중쇄 및 경쇄 가변 도메인의 CDR 부위에서 하나 혹은 그 이상의 아미노산 치환, 삽입 및/또는 제거를 포함할 수 있다. 이러한 돌연변이는 본 명세서에서 공개된 아미노산을, 예를 들면 공개 항체 서열 데이터베이스에서 얻을 수 있는 생식선(germline) 서열에 비교함으로써 쉽게 확인될 수 있다. 본 발명은 본 명세서에서 공개된 모든 아미노산 서열에서 유래한 항체 및 이의 항원-결합 단편을 포함하며, 이 때 하나 혹은 그 이상의 골격부 및/또는 CDR 부위 내의 하나 혹은 그 이상의 아미노산이 항체가 유래한 생식선(germline) 서열의 해당 잔기(들)로, 또는 또 다른 사람 생식선 서열의 해당 잔기(들)로, 또는 해당 생식선 잔기(들)의 보존적 아미노산 치환으로 돌연변이 된다(이러한 서열 변경은 본 명세서에서 집합적으로 "생식선 돌연변이(germline mutations)"로 지칭한다). 당 업계의 통상의 기술자는, 본 명세서에 공개된 중쇄 및 경쇄 가변부 서열에서 출발하여, 하나 혹은 그 이상의 개별 생식선 복귀 돌연변이 또는 이들의 조합을 포함하는 다양한 항체 및 항원-결합 단편을 쉽게 생산할 수 있다. 특정 구현의 예로,  $V_H$  및/또는  $V_L$  도메인 내의 모든 골격 및/또는 CDR 잔기는 항체가 유래한 원래의 생식선 서열에서 발견된 잔기로 복귀 돌연변이 된다. 기타 구현의 예로, 특정 잔기들만, 예를 들면, FR1의 첫 번째 8개의 아미노산이나 FR4의 마지막 8개 아미노산 내에서 발견된 돌연변이 잔기들만, 또는 CDR1, CDR2 또는 CDR3 내에서 발견된 돌연변이 잔기들만 원래의 생식선 서열로 복귀 돌연변이 된다. 기타 구현의 예로, 하나 혹은 그 이상의 골격 및/또는 CDR 잔기(들)은 다른 생식선 서열(즉, 항체가 원래 유래한 생식선 서열과는 다른 생식선 서열)의 해당 잔기(들)로 돌연변이 된다. 더욱이, 본 발명의 항체는 골격부 및/또는 CDR 부위 내에 둘 이상의 생식선 돌연변이의 모든 조합을 포함할 수 있는데, 예를 들면 이때 원래의 생식선 서열과는 다른 특정 기타 잔기들은 유지되거나 다른 생식선 서열의 해당 잔기로 돌연변이 되는 동안 특정 개별 잔기들은 특정 생식선 서열의 해당 잔기로 돌연변이된다. 일단 획득이 되면, 하나 혹은 그 이상의 생식선 돌연변이를 포함하는 항체 및 항원-결합 단편은 개선된 결합 특이도, 증가된 결합 친화도, 개선되거나 증강된 길항적 또는 작용적 생물학적 특성(경우에 따라), 감소된 면역원성 등 하나 혹은 그 이상의 원하는 특성에 대해 쉽게 검사될 수 있다. 이러한 일반적인 방법으로 획득된 항원 및 항원-결합 단편은 본 발명 내에 포함된다.

[0048] 또한 본 발명은 본 명세서에서 공개된 하나 혹은 그 이상의 보존적 치환을 갖는 HCVR, LCVR 및/또는 CDR 아미노산 서열의 변이물을 포함하는 항-ANGPTL3 항체를 포함한다. 예를 들면, 본 발명은 예를 들면, 본 명세서에 공개된 모든 HCVR, LCVR 및/또는 CDR 아미노산 서열에 비해 보존적 아미노산 치환이 10개 이하, 8개 이하, 6개 이하, 4개 이하, 2개 또는 1개인 HCVR, LCVR 및/또는 CDR 아미노산 서열을 갖는 항-ANGPTL3 항체를 포함한다. 한 구현의 예로, HCVR은 보존적 아미노산 치환 10개 이하인 SEQ ID NO: 487의 아미노산 서열을 포함한다. 또 다른 구현의 예로, HCVR은 보존적 아미노산 치환이 8개 이하인 SEQ ID NO: 487의 아미노산 서열을 포함한다. 또 다른 구현의 예로, HCVR은 보존적 아미노산 치환이 6개 이하인 SEQ ID NO: 487의 아미노산 서열을 포함한다. 또 다른 구현의 예로, HCVR은 보존적 아미노산 치환이 4개 이하인 SEQ ID NO: 487의 아미노산 서열을 포함한다. 또 다른 구현의 예로, HCVR은 보존적 아미노산 치환이 2 또는 1개인 SEQ ID NO: 487의 아미노산 서열을 포함한다. 한 구현의 예로, LCVR은 보존적 아미노산 치환이 10개 이하인 SEQ ID NO: 44의 아미노산 서열을 포함한다. 또 다른 구현의 예로, LCVR은 보존적 아미노산 치환이 8개 이하인 SEQ ID NO: 44의 아미노산 서열을 포함한다. 또 다른 구현의 예로, LCVR은 보존적 아미노산 치환이 6개 이하인 SEQ ID NO: 44의 아미노산 서열을 포함한다. 또 다른 구현의 예로, LCVR은 보존적 아미노산 치환이 4개 이하인 SEQ ID NO: 44의 아미노산 서열을 포함한다. 또 다른 구현의 예로, LCVR은 보존적 아미노산 치환이 2 또는 1개인 SEQ ID NO: 44의 아미노산 서열을 포함한다.

[0049] 달리 언급되지 않는 한, 본 명세서에 사용된 용어 "항체"는 두 개의 면역글로불린 중쇄 및 두 개의 면역글로불린 경쇄(즉, "전체 항체 분자") 및 이의 항원-결합 단편을 포함하는 항체 분자를 포함하는 것으로 이해되어야 한다. 본 명세서에서 사용된 용어 항체의 "항원-결합 부위", 항체의 "항원-결합 단편" 등은 항원을 특이적으로 결합하여 복합체를 형성하는, 모든 자연적으로 발생하는, 효소를 통해 획득 가능한, 합성, 또는 유전자 조작 폴리펩티드 또는 당단백질을 포함한다. 항체의 항원-결합 단편은, 예를 들면 DNA 부호화 항체 가변 및 (선택적으로) 불변 도메인의 조작과 발현을 포함하는 단백질 가수분해 소화 또는 재조합 유전자 조작 기법과 같은 모든 적절한 표준 기법을 사용하여 전체 항체 분자에서 얻을 수 있다. 이러한 DNA는 알려져 있으며 그리고/또는 예를 들면, 상용 공급원, DNA 라이브러리(예를 들면, 파지-디스플레이 항체 라이브러리)로부터 쉽게 구할 수 있거나,

또는 합성할 수 있다. DNA는, 예를 들면 하나 혹은 그 이상의 가변 및/또는 불변 도메인을 적절한 모양으로 배열하거나, 또는 코돈을 도입하거나, 시스테인 잔기를 생성하거나, 아미노산을 변형, 추가 또는 제거하는 등등의 화학적 방법 또는 분자 생물학 기법을 사용하여 서열을 파악하고 조작할 수 있다.

[0050] 항원-결합 단편의 무제한적인 예로는: (i) Fab 단편; (ii) F(ab')<sub>2</sub> 단편; (iii) Fd 단편; (iv) Fv 단편; (v) 단쇄 Fv (scFv) 분자; (vi) dAb 단편; 그리고 (vii) 항체의 극가변부위(hypervariable region)를 모방하는 아미노산 잔기로 이루어지는 최소 인식 단위(예를 들면, CDR3 펩티드와 같은 분리된 상보성 결정 영역(CDR)), 또는 억제된 FR3-CDR3-FR4 펩티드가 있다. 도메인 특이 항체, 단일 도메인 항체, 도메인 결실 항체, 키메라 항체, CDR-이식 항체, diabodies, triabodies, tetrabodies, minibodies, nanobodies (예: 1가 nanobodies, 2가 nanobodies, 등), 소형 규격 면역 약제(small modular immunopharmaceutical, SMIP), 그리고 상어 가변 IgNAR 도메인 역시 본 명세서에서 사용된 "항원-결합 단편"이라는 표현 내에 포함된다.

[0051] 항체의 항원-결합 단편은 일반적으로 적어도 하나의 가변 도메인을 포함한다. 가변 도메인은 어떠한 크기의 아미노산 조성물일 수 있으며, 일반적으로 하나 혹은 그 이상의 골격 서열에 인접하거나 틀을 이루는 적어도 하나의 CDR을 포함한다. V<sub>L</sub> 도메인, V<sub>H</sub> 및 V<sub>L</sub> 도메인과 연관된 V<sub>H</sub> 도메인을 갖는 항원-결합 단편은 어떠한 적절한 배열 내에서도 서로 상대적으로 위치할 수 있다. 예를 들면, 가변 영역은 이합체이며 V<sub>H</sub>-V<sub>H</sub>, V<sub>H</sub>-V<sub>L</sub> 또는 V<sub>L</sub>-V<sub>L</sub> 2분자체를 포함할 수 있다. 아니면, 항체의 항원-결합 단편은 단량체 V<sub>H</sub> 또는 V<sub>L</sub> 도메인을 포함할 수 있다.

[0052] 특정 구현의 예로, 항체의 항원-결합 단편은 적어도 하나의 불변 도메인에 공유 결합된 적어도 하나의 가변 도메인을 포함할 수 있다. 본 발명의 항체의 항원-결합 단편 내에서 발견될 수 있는 가변 및 불변 도메인의 무제한적인 예시적 구성 예로는 다음을 포함할 수 있다: (i) V<sub>H</sub>-C<sub>H</sub>1; (ii) V<sub>H</sub>-C<sub>H</sub>2; (iii) V<sub>H</sub>-C<sub>H</sub>3; (iv) V<sub>H</sub>-C<sub>H</sub>1-C<sub>H</sub>2; (v) V<sub>H</sub>-C<sub>H</sub>1-C<sub>H</sub>2-C<sub>H</sub>3; (vi) V<sub>H</sub>-C<sub>H</sub>2-C<sub>H</sub>3; (vii) V<sub>H</sub>-C<sub>L</sub>; (viii) V<sub>L</sub>-C<sub>H</sub>1; (ix) V<sub>L</sub>-C<sub>H</sub>2; (x) V<sub>L</sub>-C<sub>H</sub>3; (xi) V<sub>L</sub>-C<sub>H</sub>1-C<sub>H</sub>2; (xii) V<sub>L</sub>-C<sub>H</sub>1-C<sub>H</sub>2-C<sub>H</sub>3; (xiii) V<sub>L</sub>-C<sub>H</sub>2-C<sub>H</sub>3; (xiv) V<sub>L</sub>-C<sub>L</sub>. 상기에 열거된 모든 예시적 구성을 포함하여 가변 및 불변 도메인의 어떠한 구성으로도, 가변 및 불변 도메인은 서로에게 직접 연결될 수도 있고 전체 또는 부분 경첩(hinge) 또는 연결기(linker) 영역에 연결될 수도 있다. 경첩 영역(hinge region)은 단일 폴리펩티드 분자로 인접 가변 및/또는 불변 도메인 간에 연성(flexible) 또는 반연성(semi-flexible) 연결을 이루는 적어도 2개(예를 들면 5, 10, 15, 20, 40, 60 또는 그 이상)의 아미노산으로 구성될 수 있다. 더욱이, 본 발명의 항체의 항원-결합 단편은 서로 공유 연합 및/또는 하나 혹은 그 이상의 단량체 V<sub>H</sub> 또는 V<sub>L</sub> 도메인과의 공유 연합(예를 들면, 이황화 결합(들))으로 위에 나열된 모든 가변 및 불변 도메인 구성의 동중-2량체 또는 이중-2량체(또는 기타 다량체)를 포함할 수 있다.

[0053] 전체 항체 분자의 경우와 마찬가지로, 항원-결합 단편은 단일 특이적이거나 다중 특이적(예를 들면, 이중 특이적)일 수 있다. 항체의 다중 특이적 항원-결합 단편은 일반적으로 각 가변 도메인이 별도의 항원이나 동일한 항원의 다른 에피토프에 특이적으로 결합할 수 있는, 적어도 두 개의 가변 도메인을 포함한다. 본 명세서에서 공개된 예시적 이중 특이적 항체 포맷을 포함하여 모든 다중 특이적 항체 포맷은 당 업계에서 알려진 일상적인 기술을 사용하여 본 발명의 항체의 항원-결합 단편의 맥락에서의 사용을 위해 변형될 수 있다.

[0054] 특정 구현의 예로, 본 발명의 항체 또는 항체 단편은 세포독소, 화학치료 약물, 면역억제제 또는 방사성동위원소 등과 같은 치료 반쪽(moiety)(“면역접합체”)에 접합될 수 있다.

[0055] 용어 "특이적으로 결합한다" 또는 이와 유사한 표현은 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 생리적 상태가 비교적 안정적인 항원 복합체를 형성한다는 의미이다. 특이적 결합은 약 1x10<sup>-6</sup> M 이하의 평형 해리 상수(K<sub>d</sub>)로 특징될 수 있다 (즉, K<sub>d</sub> 가 작을수록 결합능이 강함을 나타낸다). 두 개의 분자가 특이적으로 결합하는지를 판정하는 방법은 당 업계에 잘 알려져 있으며, 예를 들면, 평형 투석, 표면 플라즈몬 공명 등을 포함한다. 그러나 hANGPTL3을 특이적으로 결합하는 분리된 항체는 다른 종의 ANGPTL3 분자, 예를 들면 사이노몰구스 원숭이(cynomolgus monkey) ANGPTL3, 마우스 ANGPTL3, 래트(rat) ANGPTL3 및/또는 SEQ ID NO: 164의 아미노산 서열을 갖는 hANGPTL4 등과 같은 기타 항원에 교차 반응성을 보일 수 있다. 더욱이, hANGPTL3 및 하나 혹은 그 이상의 추가 항원에 결합하는 다중 특이적 항체(예를 들면, 이중 특이적 항체)는 그럼에도 불구하고 본 명세서에서 사용된 hANGPTL3을 “특이적으로 결합하는” 항체로 간주된다.

[0056] 용어 “높은 친화도” 항체란 hANGPTL3에 대한 결합 친화도가 BIACORE™같은 표면 플라즈몬 공명법, 또는 용액 친화도(solution-affinity) ELISA 법으로 측정했을 때 약 2x10<sup>-9</sup> M 이하, 약 1.5x10<sup>-9</sup> M 이하, 약 1x10<sup>-9</sup> M

이하, 약  $0.5 \times 10^{-9}$  M 이하, 약  $0.25 \times 10^{-9}$  M 이하, 약  $1 \times 10^{-10}$  M 이하, 또는 약  $0.5 \times 10^{-10}$  M 이하의  $K_D$ 로 발현된 항체를 지칭한다.

- [0057] 본 명세서에서 사용된 기호 " $K_D$ "는 특정 항체-항원 상호작용의 평형 해리 상수를 의미하기 위한 것이다.
- [0058] 용어 "낮은 율(slow off rate)", " $K_{off}$ " 또는 " $k_d$ "는 표면 플라즈몬 공명법, 예를 들면 BIACORE™으로 측정했을 때  $4 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$  이하,  $3 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$  이하,  $2 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$  이하,  $1 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$  이하,  $1 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$  이하의 속도로 hANGPTL3에서 해리되는 항체를 뜻한다.
- [0059] 용어 "고유의 친화도 상수" 또는 " $k_a$ "는 표면 플라즈몬 공명법, 예를 들면 BIACORE™로 측정했을 때, 약  $1 \times 10^3 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$  이상의 일정 비율로 hANGPTL3과 연관된 항체를 뜻한다.
- [0060] 본 명세서에서 사용된 "분리된 항체"란 다른 항원 특이성을 갖는 기타 mAbs가 실질적으로 없는 항체를 지칭하기 위한 것이다(예를 들면, hANGPTL3을 특이적으로 결합하는 분리된 항체는 hANGPTL3 외의 항원을 특이적으로 결합하는 mAbs가 실질적으로 없다). 그러나 hANGPTL3을 특이적으로 결합하는 분리된 항체는 사이노몰구스 원숭이(cynomolgus monkey), 마우스(mouse), 래트(rat)와 같은 다른 종의 ANGPTL3 분자 및/또는 사람 ANGPTL4와 같은 기타 관련 단백질과 같은 기타 항원에 교차 반응성을 가질 수 있다.
- [0061] 본 명세서에서 사용된 "중화시키는", "차단하는" 또는 "폐기하는" 항체(또는 ANGPTL3 활성을 "중화시키거나", "차단하거나" 또는 "폐기하는" 항체)는 ANGPTL3에 결합하면 당 업계에서 알려진 표준 *체외* 분석법(예를 들면, 아래의 실시 예를 참고)으로 측정했을 때 ANGPTL3의 적어도 하나의 생물학적 활동을 직접적으로 억제하는 항체를 지칭하기 위한 것이다. 용어 "중화시키다", "억제하다", "차단하다" 및 "폐기하다"는 본 명세서에서 혼용하여 사용된다. 용어 "비차단" 항체는 표준 *체외* 분석법으로 평가했을 때 ANGPTL3와의 결합이 ANGPTL3의 목표 활동을 직접 차단하지 않는 항체를 지칭하지만, ANGPTL3와의 결합이, 예를 들면 순환 혈액에서 ANGPTL3의 청소율을 높임으로써 *체내* ANGPTL3의 생물학적 활동 중 적어도 하나를 간접적으로 억제, 감소, 약화 또는 다른 간섭을 일으키는 "간섭하는" 항체일 수 있다. 혈중 ANGPTL3의 제거는 특히 적어도 두 개의 비-차단 항체를 병용함으로써 고양될 수 있다. ANGPTL3의 생물학적 활성의 중화, 억제, 폐기, 감소, 약화 또는 간섭은 당 업계에서 알려진 몇몇 표준 *체외* 또는 *체내* 분석법 중 하나 혹은 그 이상에 의해 하나 혹은 그 이상의 ANGPTL3 생물학적 활동의 표지자를 측정함으로써 평가될 수 있다(역시 아래의 실시 예 참고).
- [0062] 본 명세서에서 사용된 용어 "표면 플라즈몬 공명법"이란, 예를 들면 BIACORE™ 시스템(Pharmacia Biosensor AB, Uppsala, Sweden and Piscataway, N.J.)을 사용하여 바이오센서 기질 내의 단백질 농도의 변화를 탐지함으로써 실시간 생물 특정 상호작용의 분석을 가능하게 하는 광학적 현상을 지칭한다.
- [0063] 용어 "에피통"이란 항체에 의해 결합되는 항원의 부위이다. 에피통은 구조적으로 또는 기능적으로 정의될 수 있다. 기능적 에피통은 일반적으로 구조적 에피통의 부분 집합이며 상호작용의 친화도에 직접 기여하는 잔기들을 갖는다. 또한 에피통은 입체적, 즉 비-선형적 아미노산으로 구성될 수 있다. 특정 구현의 예로, 에피통은 아미노산, 당 결사슬, 포스포릴기, 또는 설포닐기와 같은 화학적으로 활성인 분자 표면 집단인 결정부를 포함할 수 있고, 특정 구현의 예로 특정 3차원의 구조적 특징 및/또는 특정 전하 특징을 포함할 수 있다.
- [0064] 핵산 또는 이의 단편을 지칭할 때 "상당한 상동성" 또는 "상당히 동등한"이라는 용어는, 적절한 뉴클레오티드 삽입 또는 결실을 통해 또 다른 핵산(또는 이의 상보적 가닥)과 최적으로 정렬될 때, 뉴클레오티드 서열 동일성이 아래에서 논의된 FASTA, BLAST 또는 GAP과 같은 잘 알려진 모든 서열 알고리즘에 의해 측정했을 때 뉴클레오티드 염기의 적어도 약 90%, 그리고 더 바람직하게는 적어도 약 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 이상임을 나타낸다.
- [0065] 폴리펩티드에 사용될 때, "실질적인 유사성" 또는 "실질적으로 유사한"이라는 용어는 두 개의 펩티드 서열이, 기본 갭 무게(default gap weight)를 사용하는 GAP 또는 BESTFIT 프로그램에 의한 경우와 같이 최적으로 정렬된 경우, 적어도 90%의 서열 동일성, 더욱 바람직하게는 적어도 95%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 공유한다는 의미이다. 바람직하게는, 동일하지 않은 잔기의 위치는 보존적 아미노산 치환별로 차이가 있다. 용어 "보존적 아미노산 치환"이란 아미노산 잔기가 비슷한 화학적 성질(예를 들면, 전하 또는 소수성)의 결가지(R 그룹)를 갖는 또 다른 아미노산 잔기로 치환되는 치환이다. 일반적으로, 보존적 아미노산 치환은 단백질의 기능적 특성을 크게 바꾸지 않는다. 보존적 치환에 의해 둘 이상의 아미노산 서열이 서로 다른 경우, 유사도의 백분율은 치환의 보존적 성질을 보정하기 위해 상향 조정될 수 있다. 이러한 조정을 수행하는 수단은 당 업계의 기술자에게 잘

알려져 있다. 참고자료 예: Pearson (1994) *Methods Mol. Biol.* 24: 307-331. 비슷한 화학적 성질의 결가지를 가지는 아미노산 그룹의 예로는 1) 지방족 측쇄: 글리신, 알라닌, 발린, 류신 및 이소류신; 2) 지방족-하이드록실 측쇄: 세린 및 트레오닌; 3) 아미노기 함유 결가지: 아스파라긴 및 글루타민; 4) 방향족 측쇄: 페닐알라닌, 티로신 및 트립토판; 5) 염기성 측쇄: 라이신, 아르기닌 및 히스티딘; 6) 산성 측쇄: 아스파르트산 및 글루탐산, 그리고 7) 황 함유 결사슬: 시스테인 및 메티오닌이 있다. 바람직한 보존적 아미노산 치환 그룹은: 발린-류신-이소류신, 페닐알라닌-티로신, 리신-아르기닌, 알라닌-발린, 글루탐산-아스파르트산, 그리고 아스파라긴-글루타민이 있다. 혹은, 보존적 대체는 문서 Gonnet et al. (1992) *Science* 256: 1443 45에서 공개된 PAM250 로그 우도 행렬에서 양의 값을 가지는 모든 변화이다.

[0066] 폴리펩티드의 서열 유사성은 일반적으로 서열 분석 소프트웨어를 사용하여 측정된다. 단백질 분석 소프트웨어는 보존적 아미노산 치환을 포함하여 다양한 치환, 결실 및 기타 변형에 할당된 유사도의 측정치를 사용하여 유사한 서열들을 짝짓는다. 예를 들면, GCG 소프트웨어에는 기본 매개변수를 사용하여 다른 생물종의 동종 폴리펩티드와 같은 밀접하게 관련된 폴리펩티드 간의 또는 천연 단백질과 이의 돌연변이 단백질 간의 서열 상동성 또는 서열 동일성을 판정하기 위해 사용될 수 있는 GAP 및 BESTFIT과 같은 프로그램이 들어있다. 참고 자료예: GCG Version 6.1. 폴리펩티드 서열 또한 기본 또는 권장 파라미터를 통한 FASTA를 사용하여 비교될 수 있다; GCG Version 6.1의 프로그램. FASTA (예를 들면, FASTA2 및 FASTA3)는 질의와 찾기 간의 최상의 중복 영역의 정렬 및 퍼센트 서열 동일성을 제공한다 (Pearson (2000) *supra*). 다른 생물체로부터의 많은 수의 서열을 포함하는 데이터베이스와 본 발명의 서열을 비교할 때 선호되는 또 다른 알고리즘은 기본 매개변수를 사용하는 컴퓨터 프로그램 BLAST, 특히 BLASTP 또는 TBLASTN이다. 참고자료 예: Altschul et al. (1990) *J. Mol. Biol.* 215: 403 410 and (1997) *Nucleic Acids Res.* 25: 3389 402.

[0067] 용어 구 “치료적으로 유효한 양” 이란 약물을 투여하였을 때 원하는 효과를 보이는 양을 뜻한다. 정확한 양은 치료 목적, 치료 대상자의 연령과 신체 크기, 투여 경로 등에 따라 결정되며 당 업계의 기술자가 알려진 기법을 사용하여 확인하게 된다(참고자료 예: Lloyd (1999) *The Art, Science and Technology of Pharmaceutical Compounding*).

[0068] **사람 항체의 조제**

[0069] 형질전환 마우스에서 사람 항체를 만드는 방법은 당 업계에 알려져 있다. 이러한 알려진 모든 방법은 ANGPTL3에 특이적으로 결합하는 사람 항체를 만들기 위한 본 발명의 맥락에서 사용될 수 있다.

[0070] VELOCIMMUNE™ 기술 또는 단클론 항체를 생산하는 다른 모든 알려진 방법을 사용하여, 먼저 ANGPTL3에 대한 고 친화도 키메라 항체가 사람 가변 영역 및 마우스 불변 영역을 이용하여 분리된다. 아래의 실험 섹션에서처럼, 항체는 친화도, 선택성, 에피톱 등을 포함한 바람직한 특징을 바탕으로 특징되고 선택된다.

[0071] 일반적으로 본 청구 발명의 항체는 고친화도를 가지며, 고체상으로 동원되거나 또는 액체상으로 동원된 항원에 대한 결합능으로 측정되었을 때 일반적으로 약  $10^{-12}$  M 내지 약  $10^{-9}$  M의  $K_D$ 를 갖는다. 마우스 불변 영역을 원하는 사람 불변 영역, 예를 들면 표준형(wild-type) IgG1이나 IgG4, 또는 변형된 IgG1이나 IgG4로 치환하여 본 발명의 완전한 사람 항체를 생산한다. 선택된 불변 영역은 특정 용도에 따라 다를 수 있는 반면, 항체의 고친화도 항원-결합 및 표적 특이도 특징은 가변 영역에 있다.

[0072] **에피톱 맵핑 및 관련 기술**

[0073] 특정 에피톱에 결합하는 항체를 선별하기 위해, 참고문헌 *Antibodies*, Harlow and Lane (Cold Spring Harbor Press, Cold Spring Harb., NY)에서 설명된 것과 같은 일상적인 교차-차단 분석법이 수행될 수 있다. 기타 방법으로는 알라닌 스캐닝 돌연변이, 펩티드 블롯(Reineke (2004) *Methods Mol Biol* 248: 443-63), 또는 펩티드 절단 분석이 있다. 또한, 에피톱 자르기(excision), 에피톱 추출(extraction) 및 항원의 화학적 변형을 사용할 수 있다 (Tomer (2000) *Protein Science* 9: 487-496).

[0074] 용어 "에피톱"은 B 및/또는 T 세포가 반응하는 항원의 부위를 지칭한다. B세포 에피톱은 단백질의 3차 접힘에 의해 병치된 연속(contiguous) 아미노산 또는 비연속(noncontiguous) 아미노산으로부터 형성될 수 있다. 연속 아미노산으로부터 형성된 에피톱은 일반적으로 변성 용제에 노출되어도 유지되는 반면, 3차 접힘에 의해 형성된 에피톱은 일반적으로 변성 용제로 처리 시 소실된다. 에피톱은 독특한 공간 구조 속에 일반적으로 적어도 3개, 보다 일반적으로는, 적어도 5개 또는 8-10개의 아미노산을 포함한다.

[0075] 항원 구조 기반 항체 프로파일링(Antigen Structure-based Antibody Profiling, ASAP)으로도 알려진 변형 지원

프로파일링(Modification-Assisted Profiling, MAP)은 화학적 또는 효소적으로 변형된 항원 표면에 대한 각 항체의 결합 프로파일의 유사도에 따라 동일한 항원을 표적으로 한 많은 수의 단클론 항체(mAbs)를 범주화하는 방법이다 (US 2004/0101920). 각 카테고리는 다른 카테고리에 의해 대표되는 에피토포는 완전히 다르거나 부분적으로 중복되는 고유의 에피토포를 반영한다. 특징화가 유전적으로 분명한 mAbs에 초점을 맞추어지도록 이 기술을 통해 유전적으로 동일한 mAbs를 신속히 필터링 할 수 있다. 하이브리도마(hybridoma) 선별검사에 응용하는 경우, MAP은 원하는 특성을 갖는 mAbs를 생산하는 회귀 하이브리도마 클론의 동정을 신속히 할 수 있다. MAP은 본 발명의 항-ANGPTL3 mAbs를 다른 여러 에피토포를 결합하는 mAbs 군으로 분류하는데 사용될 수 있다.

[0076] ANGPTL3은 아미노 말단 코일드 코일(coiled-coil) 도메인과 카르복실 말단 피브리노겐 유사 도메인(FD)을 함유하며, ANGPTL3 단백질은 분자간 이황화결합 없이 올리고머(oligomer)를 형성한다 (Ge et al., 2005, J Lipid Res 46: 1484-1490). N-말단 코일드 코일(coiled-coil) 도메인은 LPL 활성 억제에 중요한 것으로 보고된 바 있다 (Ono et al., 2003, J Biol Chem 278: 41804-41809). 따라서, 특정 구현의 예로 항-hANGPTL3 항체 또는 항체의 항원-결합 단편은 hANGPTL3(SEQ ID NO: 161)의 N-말단 코일드 코일 도메인(잔기 17-209) 내의 에피토포를 결합하고 hANGPTL3 활성의 적어도 하나를 중화시킨다 (예를 들면, LPL 활성의 억제). 또 다른 구현의 예로, 항-hANGPTL3 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 항체 또는 이의 단편이 SEQ ID NO: 170의 ANGPTL3 펩티드에 결합하지 않는다는 조건에서 hANGPTL3의 N-말단 코일드 코일(coiled-coil) 도메인 내의 에피토포를 결합하고 hANGPTL3 활성 중 적어도 하나를 중화시킨다. 한 구현의 예로, 본 항체 또는 이의 단편은, 선택적으로 본 항체 또는 이의 단편이 SEQ ID NO: 170의 ANGPTL3 펩티드에 결합하지 않는다는 조건에서 hANGPTL3 (SEQ ID NO: 161)의 잔기 17-200, 17-100, 17-70, 17-65, 17-60, 17-57, 17-55, 17-50, 17-45, 17-40, 또는 17-35 내의 에피토포를 특이적으로 결합한다. 또 다른 구현의 예로, 본 항체 또는 이의 단편은 선택적으로 본 항체 또는 이의 단편이 SEQ ID NO: 170의 ANGPTL3 펩티드에 결합하지 않는다는 조건에서 hANGPTL3 (SEQ ID NO: 161)의 잔기 40-200, 40-100, 40-70, 50-200, 50-100, 50-70, 58-200, 58-100, 58-70, 58-68, 또는 61-66 (“헤파린-결합 모티프”로 알려짐) 내의 에피토포를 특이적으로 결합한다. 일부 구현의 예로, 본 항체 또는 항체 단편은 선택적으로 본 항체 또는 이의 단편이 SEQ ID NO: 170의 ANGPTL3 펩티드에 결합하지 않는다는 조건에서 hANGPTL3의 N-말단 코일드 코일(coiled-coil) 영역 내에 열거된 에피토포나 잔기의 하나 혹은 그 이상을 포함할 수 있는 에피토포에 결합한다.

[0077] 다른 구현의 예로, hANGPTL3 항체 또는 이의 단편은, 선택적으로 본 항체 또는 이의 단편이 SEQ ID NO: 170의 ANGPTL3 펩티드에 결합하지 않는다는 조건에서, hANGPTL3의 하나 혹은 그 이상의 단편, 예를 들면, hANGPTL3 (SEQ ID NO: 161)의 적어도 5개 잔기, 적어도 7개 잔기, 적어도 10개 잔기, 적어도 20개 잔기, 적어도 30개 잔기, 적어도 50개 잔기, 적어도 70개 잔기, 적어도 100개 잔기, 적어도 150개 잔기, 또는 적어도 200개 잔기의 단편을 결합한다.

[0078] 본 발명은 본 명세서에서 설명된 특정 예시 항체의 모든 것과 동일한 에피토포에 결합하는 hANGPTL3 항체를 포함한다. 마찬가지로, 본 발명은 또한 본 명세서에서 기술된 모든 특정 예시 항체와 hANGPTL3 또는 hANGPTL3 단편에 대한 결합을 놓고 경쟁하는 항-hANGPTL3 항체를 포함한다.

[0079] 항체가 기준 항-hANGPTL3 항체와 동일한 에피토포에 결합하는지, 또는 이와 결합을 놓고 경쟁하는지는 당 업계에 알려진 통상적인 방법을 사용하여 쉽게 판정할 수 있다. 예를 들면, 시험 항체가 본 발명의 기준 항-hANGPTL3 항체에 결합하는지를 판정하기 위해, 기준 항체는 포화 상태의 hANGPTL3 단백질 또는 펩티드에 결합하도록 허용된다. 그 다음, 시험 항체의 hANGPTL3 분자에 대한 결합능이 평가된다. 시험 항체가 기준 항-hANGPTL3 항체와 포화 결합 후 hANGPTL3에 결합할 수 있는 경우, 시험 항체는 기준 항-hANGPTL3 항체 외의 에피토포에 결합한다고 결론지을 수 있다. 반면에, 시험 항체가 기준 항-hANGPTL3 항체와 포화 결합 후 hANGPTL3 분자에 결합할 수 없는 경우, 시험 항체는 본 발명의 기준 항-hANGPTL3 항체에 의해 결합된 에피토포와 동일한 에피토포에 결합할 수도 있다.

[0080] 항체가 기준 항-hANGPTL3 항체와 결합을 놓고 경쟁하는지를 판정하기 위해, 위에 기술된 결합 방법을 다음의 두 가지 방향으로 수행한다: 첫 번째 방향의 예로, 기준 항체가 포화 상태에서 hANGPTL3 분자에 결합하도록 된 후 hANGPTL3 분자에 대한 시험 항체의 결합능이 평가된다. 두 번째 방향의 예로, 시험 항체는 포화 상태에서 hANGPTL3 분자에 결합되도록 한 후 ANGPTL3 분자에 대한 기준 항체의 결합능이 평가된다. 두 방향의 예에서, 첫 번째(포화) 항체가 ANGPTL3 분자에 결합할 수 있는 경우, 시험 항체와 기준 항체는 hANGPTL3에 대한 결합 부위를 놓고 경쟁한다고 결론지어진다. 당 업계의 일반적인 수준의 기술자라면 알 수 있겠지만, 기준 항체와 결합 부위를 놓고 경쟁하는 항체는 반드시 기준 항체와 동일한 에피토포에 결합할 필요가 없으나, 중복 또는 인접 에피토포

을 결합함으로써 기준 항체의 결합을 공간적으로 차단할 수도 있다.

[0081] 두 개의 항체는 각 항체가 다른 항체의 항원에 대한 결합을 경쟁적으로 억제(차단)하는 경우 동일한 또는 중복 에피톱에 결합한다. 즉, 경쟁적 결합 분석법에서 측정하였을 때 1-, 5-, 10-, 20- 또는 100-배 과다인 항체가 다른 항체의 결합능을 적어도 50%, 그러나 바람직하게는 75%, 90% 또는 99%까지 억제하는 것이다(참고자료 예: Junghans et al., Cancer Res, 1990: 50: 1495-1502). 아니면, 본질적으로 한 항체의 결합능을 감소시키거나 제거하는 항원 내의 모든 아미노산 돌연변이가 다른 항체의 결합능을 감소시키거나 제거하는 경우 두 항체는 동일한 에피톱을 갖는다. 한 항체의 결합능을 감소시키거나 제거하는 몇몇 아미노산 돌연변이가 다른 항체의 결합능을 감소시키거나 제거하는 경우 두 항체는 중복되는 에피톱을 갖는다.

[0082] 관찰된 시험 항체의 결합능의 결여가 실제 기준 항체와 동일한 에피톱에 결합하기 때문인지 또는 구조 차단(또는 또 다른 현상)이 관찰된 결합의 결여의 원인인지를 확인하기 위해 추가적인 일상적 실험(예를 들면, 펩티드 돌연변이 및 결합능 분석)을 수행할 수 있다. 이러한 종류의 실험들은 ELISA, RIA, 표면 플라즈몬 공명법, 유세포 분석 또는 당 업계에서 알려진 모든 다른 정량적 또는 정성적 항체-결합 분석을 사용하여 수행될 수 있다.

[0083] **면역접합체**

[0084] 본 발명은 세포독소, 화학치료 약물, 면역억제제 또는 방사성동위원소와 같은 치료 반쪽(moiety)에 접합된 사람 항-ANGPTL3 단클론 항체(“면역접합체”)를 포함한다. 세포독성 제제는 세포에 유해한 모든 제제를 포함한다. 면역접합체 형성을 위한 적절한 세포독성 제제 및 화학치료 제제의 예는 당 업계에 알려져 있다. 참고자료 예: WO 05/103081.

[0085] **이중 특이적 항체**

[0086] 본 발명의 항체는 단일 특이적, 이중 특이적, 또는 다중 특이적일 수 있다. 다중 특이적 mAbs는 하나의 표적 폴리펩티드의 다양한 에피톱에 특이적일 수 있거나, 또는 하나 혹은 그 이상의 표적 폴리펩티드에 특이적인 항원-결합 도메인을 포함할 수도 있다. 참고자료 예: Tutt et al. (1991) J. Immunol. 147: 60-69. 사람 항-hANGPTL3 mAb는 또 다른 기능 분자, 예를 들면 또 다른 펩티드나 단백질에 결합되거나 함께 발현될 수 있다. 예를 들면, 항체 또는 이의 단편은 또 다른 항체 또는 항체 단편과 같은 하나 혹은 그 이상의 다른 분자 물질에 기능적으로 연결(예를 들면, 화학적 결합, 유전적 융합, 비공유 연합 또는 기타 방법으로)되어 두 번째 결합 특이도를 갖는 이중 특이 또는 다중 특이 항체를 생산할 수 있다.

[0087] 본 발명의 맥락에서 사용될 수 있는 예시적 이중 특이적(결합) 항체 포맷은 첫 번째 면역글로불린(Ig) C<sub>H</sub>3 도메인과 두 번째 Ig C<sub>H</sub>3 도메인의 사용을 포함하며, 이때 첫 번째 및 두 번째 Ig C<sub>H</sub>3 도메인은 적어도 하나의 아미노산이 서로 다르며, 적어도 하나의 아미노산 차이는 아미노산 차이가 없는 이중 결합 항체에 비해 Protein A에 대한 이중 결합 항체의 결합능을 감소시킨다. 한 구현의 예로, 첫 번째 Ig C<sub>H</sub>3 도메인은 Protein A를 결합하고, 두 번째 Ig C<sub>H</sub>3 도메인은 H95R 변형(IMGT 엑손 numbering 기준; EU numbering 기준으로는 H435R)과 같은 Protein A 결합을 감소시키거나 폐지하는 돌연변이를 포함한다. 두 번째 C<sub>H</sub>3는 또한 Y96F 변형(IMGT 기준; EU 기준으로는 Y436F)을 포함할 수 있다. 두 번째 C<sub>H</sub>3 내에서 발견될 수 있는 추가적인 변형은 다음과 같다: IgG1 항체의 경우: D16E, L18M, N44S, K52N, V57M 및 V82I (IMGT 기준; EU 기준으로는 D356E, L358M, N384S, K392N, V397M 및 V422I); IgG2 항체의 경우: N44S, K52N 및 V82I (IMGT 기준; EU 기준으로는 N384S, K392N 및 V422I); 그리고 IgG4 항체의 경우 Q15R, N44S, K52N, V57M, R69K, E79Q 및 V82I (IMGT 기준; EU 기준으로는 Q355R, N384S, K392N, V397M, R409K, E419Q 및 V422I). 상기의 이중 결합 항체 포맷의 변동은 본 발명의 범위 내에서 고려된다.

[0088] **생물학적 등가물**

[0089] 본 발명의 항-hANGPTL3 항체 및 항체 단편은 위에 기술된 mAbs의 아미노산 서열과는 다른 서열을 갖지만 사람 ANGPTL3을 결합하는 능력이 있는 단백질을 포함한다. 이러한 변종 mAb 및 항체 단편은 모 서열(parent sequence)과 비교했을 때 하나 혹은 그 이상의 아미노산의 추가, 제거 또는 치환을 포함하지만, 상기 mAb와 본질적으로 동등한 생물학적 활성을 보인다. 이와 마찬가지로, 본 발명의 항-hANGPTL3 항체-부호화 DNA 서열은 상기의 공개된 서열과 비교했을 때 하나 혹은 그 이상의 뉴클레오티드의 추가, 제거 또는 치환을 포함하지만, 본질적으로는 본 발명의 항-hANGPTL3 항체 또는 항체 단편과 **생물학적으로 동등한** 항-hANGPTL3 항체 또는 항체 단편을 부호화하는 서열을 포함한다. 이러한 변종 아미노산 및 DNA 서열의 예는 위에서 논의된다.

- [0090] 두 가지 항원-결합 단백질, 또는 항체는 예를 들면, 이들이 비슷한 실험 조건에서 동일한 몰 용량에서 단일 용량이나 다중 용량으로 투여되었을 때 이들의 흡수율 및 흡수 정도가 유의한 차이를 보이지 않는 제약학적 동등물 또는 제약학적 대체제인 경우 생물학적으로 동등한 것으로 간주된다. 흡수 정도에서는 동등하고 흡수율에서는 그렇지 않은 몇몇 항체는 동등물 또는 제약학적 대체제로 간주되며, 이 항체의 흡수율의 차이가 의도적이며 허가사항에 반영되어 있고, 장기 사용 등의 경우에도 효과적인 신체 약물 농도의 달성에 필수적이지 않고, 그리고 연구되는 특정 약 제품에 의학적으로 유의하지 않기 때문에 생물학적으로 동등한 것으로 간주되기도 한다. 한 구현의 예로, 두 가지 항원-결합 단백질의 안전성, 순도 및 역가에 있어서 임상적으로 유의한 차이가 없는 경우 이 둘은 생물학적으로 동등하다.
- [0091] 한 구현의 예로, 두 가지 항원-결합 단백질은 환자가 기준 제품과 생물학적 제품 간에 한 번 이상 바꾸어 사용해도 그러한 변경 없는 꾸준한 치료에 비해 면역원성에 있어서의 임상적으로 유의한 변화, 또는 효능의 감소를 포함하여 부작용 위험의 증가가 예상되지 않는 경우 생물학적으로 동등하다.
- [0092] 한 구현의 예로, 두 가지 항원-결합 단백질은 사용 조건(들)에 대해 작용 기전(들)이 알려진 정도까지 공통 기전에 의해 작용하는 경우 생물학적으로 동등하다.
- [0093] 생물학적 동등성은 체내 및 체외 방법에 의해 증명될 수 있다. 생물학적 동등성 척도에는, 예를 들면, (a) 항체 또는 이의 대사물의 농도가 혈액, 혈장, 혈청, 또는 기타 생체액 내에서 시간 함수로 측정되는 사람 또는 기타 포유류에서의 체내 시험; (b) 사람 체내 생체이용률 데이터와 상관관계가 있어 왔고 합리적으로 이를 예측하는 체외 시험; (c) 항체(또는 그 표적)의 신속한 해당 약리학적 효과가 시간 함수로 측정되는 사람 또는 기타 포유류에서의 체내 시험; 그리고 (d) 항체의 안전성, 효능, 또는 생체이용률이나 생물학적 동등성을 확립하는 잘 통제된 임상시험이 포함된다.
- [0094] 본 발명의 항-hANGPTL3 항체의 생물학적으로 동등한 변이물은, 예를 들면 잔기나 서열을 다양하게 치환하거나, 생물학적 활성에 필요하지 않은 말단 또는 내부 잔기나 서열을 제거함으로써 구축될 수 있다. 예를 들면, 생물학적 활성에 필수 요소가 아닌 시스테인 잔기는 단백질 복원 시 불필요하거나 올바르지 않은 분자 내 이황화 연결의 형성을 방지하기 위해 제거되거나 다른 아미노산으로 치환될 수 있다.
- [0095] **치료적 투여 및 제형**
- [0096] 본 발명은 본 발명의 항-hANGPTL3 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 포함하는 치료용 조성물과 이 조성물을 이용하는 치료적 방법을 제공한다. 본 발명에 따른 치료용 조성물의 투여는 운송, 전달, 내성 등을 향상시키기 위해 적절한 담체, 부원료 및 기타 제제가 제형에 어우러져 이루어진다. 모든 제약 화학자에게 알려진 다음의 제형집에서 많은 적절한 제형을 찾아볼 수 있다: Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Company, Easton, PA. 이러한 제형에는, 예를 들면, 분말, 페이스트, 연고, 젤리, 왁스, 유제, 지질, 지질(양이온 또는 음이온) 함유 소구체(예: LIPOFECTIN™), DNA 접합체, 무수 흡수 페이스트, 수중 유형(oil-in-water) 및 유중 수형(water-in-oil) 유제, 유제 카보왁스(다양한 분자량의 폴리에틸렌 글리콜), 반고형 젤, 그리고 카보왁스를 함유하는 반고형 혼합물이 포함된다. 다음 내용도 참고할 수 있다: Powell et al. "Compendium of excipients for parenteral formulations" PDA (1998) J Pharm Sci Technol 52: 238-311.
- [0097] 용량은 투여 대상자의 나이와 신체 크기, 목표 질환, 치료 목적, 제반 조건, 투여 경로 등에 따라 다양할 수 있다. 본 발명의 항체가 성인을 대상으로 고콜레스테롤혈증, LDL 및 아포지방단백 B와 관련된 질환, 그리고 지방 대사 장애 등을 포함하여 ANGPTL3과 직/간접적으로 관련된 다양한 상태 및 질환의 치료용으로 사용되는 경우, 본 발명의 항체를 체중(kg) 당 약 0.01 내지 약 20 mg, 더 바람직하게는 체중(kg) 당 약 0.02 내지 약 7, 약 0.03 내지 약 5, 또는 약 0.05 내지 약 3 mg을 단일 용량으로 정맥 투여 또는 피하 투여하는 것이 유익하다. 상태의 중증도에 따라서, 치료 횟수 및 기간이 조정될 수 있다. 특정 구현의 예로, 본 발명의 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 초기 용량을 적어도 약 0.1 mg 내지 약 800 mg, 약 1 내지 약 500 mg, 약 5 내지 약 300 mg, 또는 약 10 내지 약 200 mg, 약 100 mg, 또는 약 50 mg으로 하여 투여될 수 있다. 특정 구현의 예로, 초기 용량 후 본 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 초기 용량과 거의 동일하거나 줄여서 2차 또는 그 이상으로 투여할 수 있다. 이때 후속 용량의 투여는 적어도 1일 내지 3일; 적어도 1주간, 적어도 2주간; 적어도 3주간; 적어도 4주간; 적어도 5주간; 적어도 6주간; 적어도 7주간; 적어도 8주간; 적어도 9주간; 적어도 10주간; 적어도 12주간; 또는 적어도 14주간의 간격을 둔다.
- [0098] 다양한 전달 시스템, 예를 들면, 리포솜 캡슐화, 극미립자, 마이크로캡슐, 변종 바이러스를 발현할 수 있는 재조합 세포, 수용체 매개 세포내 섭취 등이 알려져 있으며 본 발명의 약학적 조성물을 투여하는데 사용될 수 있

다 (참고자료 예: Wu et al. (1987) J. Biol. Chem. 262: 4429-4432). 주입 방법은 피내, 근내, 복강내, 정맥, 피하, 비강내, 경막의 및 경구 경로를 포함하지만 이에 국한되는 것은 아니다. 본 조성물은 모든 편리한 경로 - 예를 들면 점적 주사 및 일시 주사, 상피 또는 점막 벽(예를 들면, 구강 점막, 직장 및 장 점막 등)을 통한 흡수 - 를 통해 투여될 수 있고 다른 생물학적 활성 제제와 병용하여 투여될 수 있다. 투약은 전신적으로 또는 국부적으로 시행될 수 있다.

[0099] 또한 본 약학적 조성물은 소낭(vesicle), 특히 리포솜에 넣어 전달할 수 있다 (참고자료: Langer (1990) Science 249: 1527-1533; Treat et al. (1989) in Liposomes in the Therapy of Infectious Disease and Cancer, Lopez Berestein and Fidler (eds.), Liss, New York, pp. 353-365; Lopez-Berestein, ibid., pp. 317-327; 앞의 내용을 전반적으로 참고.).

[0100] 특정 상황에서 본 약학적 조성물은 조절(서방형) 방출 시스템으로 전달될 수 있다. 한 구현의 예로 펌프가 사용될 수도 있다 (참고자료: Langer, supra; Sefton (1987) CRC Crit. Ref. Biomed. Eng. 14: 201). 또 다른 구현의 예로, 고분자 물질이 사용될 수 있다; 참고자료: Medical Applications of Controlled Release, Langer and Wise (eds.), CRC Pres., Boca Raton, Florida (1974). 계속해서 또 다른 구현의 예로, 서방형 방출 시스템을 조성물의 표적 근처에 두어 전신 용량의 일부만 사용되도록 할 수도 있다 (참고자료 예: Goodson, in Medical Applications of Controlled Release, supra, vol. 2, pp. 115-138, 1984).

[0101] 주사용 제제는 정맥, 피하, 피내 및 근내 주사, 점적 주사 등의 제형을 포함할 수 있다. 이러한 주사용 제제는 공개된 방법에 의해 조제될 수 있다. 예를 들면, 주사용 제제는, 예를 들면 위에서 설명한 본 항체 또는 이의 염을 통상적인 주사용 무균 수성 용매 또는 유성 용매에 용해, 현탁 또는 유화시킴으로써 조제될 수 있다. 주사용 수성 용매의 예로는 생리식염수, 글루코스 및 알코올(예를 들면, 에탄올), 다가 알코올(예를 들면, 프로필렌 글리콜, 폴리에틸렌 글리콜), 비이온 계면활성제[예를 들면, 폴리소르베이트 80, HCO-50(수소 첨가 피마자유 폴리옥시에틸렌(50 mol) 부가 생성물)] 등과 같은 적절한 용해제와 조합하여 사용할 수 있는 기타 보조제 등이 들어있는 등장용액이 있다. 유성 용매의 예로는 벤질 벤조산, 벤질 알코올 등과 같은 용해제와 조합하여 사용할 수 있는 참깨 오일, 대두 오일 등이 있다. 이렇게 조제된 주사용제는 적절한 앰플에 충전하는 것이 바람직하다. 본 발명의 약학적 조성물은 표준 주사기를 사용하여 피하 또는 정맥 경로로 전달될 수 있다. 또한 피하 경로의 전달과 관련하여, 펜 전달 장치를 본 발명의 약학적 조성물을 전달하는 데 쉽게 적용할 수 있다. 이러한 펜 전달 장치는 재사용하거나 일회용일 수 있다. 재사용 펜 전달 장치는 일반적으로 약학적 조성물이 담긴 교체 가능한 카트리지를 이용한다. 카트리지 내의 약학적 조성물이 모두 투여되고 카트리지가 비게 되면, 빈 카트리지는 쉽게 폐기하고 본 약학적 조성물이 담긴 새로운 카트리지로 교체할 수 있다. 그런 다음 펜 전달 장치를 재사용할 수 있다. 일회용 펜 전달 장치에는 교환용 카트리지가 없다. 대신 일회용 펜 전달 장치는 장치 내 저장통에 본 약학적 조성물이 충전되어 공급된다. 저장통에서 본 약학적 조성물이 비워지게 되면 전체 장치가 폐기된다.

[0102] 다양한 재사용 펜 및 자동 주입 전달 장치가 본 발명의 약학적 조성물의 피하 전달에 적용된다. 몇 개만 예를 든다면 AUTOPEN™ (Owen Mumford, Inc., Woodstock, UK), DISETRONIC™ pen (Disetronic Medical Systems, Burghdorf, Switzerland), HUMALOG MIX 75/25™ pen, HUMALOG™ pen, HUMALIN 70/30™ pen (Eli Lilly and Co., Indianapolis, IN), NOVOPEN™ I, II and III (Novo Nordisk, Copenhagen, Denmark), NOVOPEN JUNIOR™ (Novo Nordisk, Copenhagen, Denmark), BD™ pen (Becton Dickinson, Franklin Lakes, NJ), OPTIPEN™, OPTIPEN PRO™, OPTIPEN STARLET™, 그리고 OPTICLIK™ (sanofi-aventis, Frankfurt, Germany)이 포함되나 이에 한정되지는 않는다. 본 발명의 약학적 조성물의 피하 경로 전달에 사용되는 일회용 펜 전달 장치의 예로는 SOLOSTAR™ pen (sanofi-aventis), FLEXPEN™ (Novo Nordisk), 그리고 KWIKPEN™ (Eli Lilly)이 포함되나 이에 한정되지는 않는다.

[0103] 유익한 점으로, 위에 기술된 경구 또는 비경구용 약학적 조성물은 유효 성분 용량에 맞춘 단위 용량으로 조제된다. 이러한 단위 용량 제형에는, 예를 들면 정제, 환제, 캡슐제, 주사제(앰플), 좌제 등이 포함된다. 상기 항체의 내용량은 일반적으로 단위 용량의 제형 당 약 0.1 내 약 800 mg이다; 특히 주사형의 경우, 상기 항체는 약 1 내지 약 500 mg, 약 5 내지 300 mg, 약 8 내지 200 mg, 그리고 기타 제형의 경우 약 10 내 약 100 mg이 담긴다.

[0104] **병용 요법**

[0105] 본 발명은 더욱이 본 발명의 hANGPTL3 항체 또는 이의 단편을 하나 혹은 그 이상의 추가 치료제와 병용하여 투여함으로써 hANGPTL3과 직/간접으로 연관된 질환이나 장애를 치료하는 치료법을 제공한다. 추가적인 치료제는 세로바스타틴, 아토르바스타틴, 심바스타틴, 피타바스타틴, 로수바스타틴, 플루바스타틴, 로바스타틴, 프라바스타

틴 등과 같은 HMG-CoA 환원효소 억제제; 니아신; 페노피브레이트(fenofibrate), 베자피브레이트(bezafibrate), 시프로피브레이트(ciprofibrate), 클로피브레이트(clofibrate), 겐피프로질(gemfibrozil) 등과 같은 다양한 피브르산; LXR 전사 인자 활성화제 등을 포함하여 본 발명의 하나 혹은 그 이상의 항체와 이의 단편과 유익하게 조합되는 하나 혹은 그 이상의 모든 제제가 될 수 있다. 더욱이, 본 발명의 hANGPTL3 항체 또는 이의 단편은 지질 대사, 특히 콜레스테롤 및/또는 트리글리세리드 항상성에 관여하는 ANGPTL4, ANGPTL5, ANGPTL6 및 단백질 전환 효소 서브틸리신/케신 유형 9(PCSK9)와 같은 기타 분자의 억제제뿐만 아니라 기타 ANGPTL3 억제제와 함께 병용 투여될 수 있다. 이들 분자의 억제제에는 이들 분자에 특이적으로 결합하여 이들의 활동을 차단하는 작은 분자 및 항체가 포함된다(참고 예: U.S. 2010/0166768 A1에서 공개된 항-PCSK9 항체).

[0106] 더욱이, 추가 치료제는 화학요법제, 혈관신생억제제, 증식억제제, 세포독성제, 세포사멸제(apoptotic agent), 그리고 암이나 기타 증식성 질환이나 장애 치료용으로 당 업계에 잘 알려진 기타 제제와 같은 하나 혹은 그 이상의 항암제일 수 있다. 항암제의 예로는 도세탁셀, 파클리탁셀 등과 같은 세포분열 저지제; 시스플라틴, 카보플라틴, 이프로플라틴, 옥살리플라틴 등과 같은 백금 기반 화학요법 화합물; 또는 5-플루오로우라실, 카페시타빈, 이리노테칸, 류코보린, 겐시타빈 등과 같은 기타 전통적인 세포독성제, 그리고 베바시주맙(AVASTIN®, Genentech)과 같은 항-VEGF 항체 및 US Patent No. 7,070,959에 기술된 “VEGF trap”과 같은 VEGF의 수용체 기반 차단제 등의 혈관내피세포 성장인자(VEGF) 길항제, U.S. Patent Application Publication No. 2008/0181899에 기술된 항-D114 항체와 같은 델타 유사 리간드 4 (D114) 길항제, 그리고 D114(예를 들면, U.S. Patent Application Publication No. 2008/0107648에 기술된 D114-Fc)의 세포의 도메인을 포함하는 융합 단백질을 포함하는 혈관신생억제제; 수용체 티로신 키나제 및/또는 소라페닙(NEXAVAR® - Bayer Pharmaceuticals Corp. 제품), 수니티닙 (SUTENT® - Pfizer 제품), 파조파닙 (VOTRIENT™ - GlaxoSmithKline 제품), 토세라닙 (PALLADIA™ - Pfizer 제품), 반테타닙 (ZACTIMA™ - AstraZeneca 제품), 세디라닙 (RECENTIN® - AstraZeneca 제품), 레고라페닙 (BAY 73-4506 - Bayer 제품), 악시티닙 (AG013736 - Pfizer 제품), 레스타우티닙 (CEP-701 - Cephalon 제품), 에를로티닙 (TARCEVA® - Genentech 제품), 제피티닙 (IRESSA™ - AstraZeneca 제품), BIBW 2992 (TOVOK™ - Boehringer Ingelheim 제품), 라파티닙 (TYKERB® - GlaxoSmithKline 제품), 네라티닙 (HKI-272 - Wyeth/Pfizer 제품), 그리고 약학적으로 허용 가능한 염, 산 또는 이들의 유도체 등을 포함하는 혈관신생 억제제가 포함되지만 이에 국한되지는 않는다. 또한, Cox-2 억제제 등의 비스테로이드성 소염제(NSAIDS)를 포함한 진통제, 소염제와 같은 기타 치료제는 잠재적인 암/종양에 수반되는 증상을 개선 및/또는 감소시키기 위해 본 발명의 hANGPTL3 항체 또는 이의 단편과 함께 병용 투여할 수 있다.

[0107] 본 발명의 hANGPTL3 항체 또는 이의 단편과 추가 치료제(들)은 함께 병용하거나 또는 별도로 투여될 수 있다. 별도의 투약 제제가 사용되는 경우, 본 발명의 항체 또는 이의 단편과 추가 제제는 동시에 또는 시차를 두고 별도로, 즉 순차적으로 적절한 순서로 투여될 수 있다.

[0108] **항체의 진단적 사용**

[0109] 본 발명의 항-ANGPTL3 항체는, 예를 들면 진단 목적으로 검체 중의 ANGPTL3을 검출 및/또는 측정하는데도 사용될 수 있다. 예를 들면, 항-ANGPTL3 Ab 또는 이의 단편은 ANGPTL3의 이상 발현(예를 들면, 과발현, 저발현, 발현 부재, 등)이 특징인 상태나 질환을 진단하는데 사용될 수 있다. ANGPTL3의 예시적 진단 검사에는, 예를 들면 환자로부터 채취한 검체를 본 발명의 항-ANGPTL3 Ab와 접촉시키는 것을 포함할 수 있으며, 이때 항-ANGPTL3 항체 검출 가능한 표지 또는 보고 분자로 표지되거나 환자의 검체로부터 ANGPTL3 단백질을 선택적으로 포획하여 분리하는데 사용된다. 혹은, 비-표지 항-ANGPTL3 Ab는 검출 가능하게 표지된 2차 항체와 병용하여 진단 용도로 사용될 수 있다. 검출 가능한 표지 또는 보고 분자는 <sup>3</sup>H, <sup>14</sup>C, <sup>32</sup>P, <sup>35</sup>S, <sup>131</sup>I 또는 <sup>125</sup>I와 같은 방사성 동위원소; 플루오레세인 이소티오시안산염이나 로다민과 같은 형광 또는 화학발광성 모이어티(moiety); 또는 알칼리성 인산분해효소, β-갈락토시다아제, 양고추냉이 과산화효소, 또는 발광효소와 같은 효소일 수 있다. 검체 내의 ANGPTL3을 검출 또는 측정하는데 사용될 수 있는 분석법에는 효소 결합 면역흡착 분석법(ELISA), 방사면역분석법(RIA), 형광 활성 세포 분리 분석(FACS) 등이 포함된다.

[0110] **실시 예**

[0111] 다음의 실시 예는 당 업계의 일반적인 기술자에게 본 발명의 방법과 조성물의 제조법과 사용 방법에 대한 완전한 공개와 설명을 제공하기 위해 제안된 것으로, 본 발명자가 자신의 발명의 범위를 제한하는 용도가 아니다. 사용된 수치와 관련하여 정확성을 기하려고 하였지만 약간의 실험적 오류와 편차를 고려해야 한다. 달리 표시되

지 않는 한 분자량은 평균 분자량이며, 온도는 섭씨, 그리고 압력은 대기압 또는 대기압 근방이다.

[0112] 실시 예 1: 사람 ANGPTL3에 대한 사람 항체의 생산

[0113] VELOCIMMUNE™ 마우스에게 사람 ANGPTL3을 면역접종하였고, 항체 면역 반응이 이들 마우스에서 얻은 혈청을 사용하는 항원-특이 면역분석법에 의해 모니터링되었다. B세포를 발현하는 항-hANGPTL3을 상승된 항-hANGPTL3 항체 역가를 보이는 면역된 마우스의 비장에서 채집하여 하이브리도마를 형성하기 위해 마우스 골수종 세포와 융합하였다. 아래에 설명된 분석법을 사용하여 hANGPTL3-특이 항체를 발현하는 세포주를 동정하기 위해 상기 하이브리도마를 선별 검사하여 선택하였다. 상기 분석법을 통해 키메라 항-hANGPTL3 항체, 예를 들면 H1M896N을 생산하는 몇 가지 세포주를 동정하였다.

[0114] 사람 ANGPTL3-특이 항체는 또한 U.S. 2007/0280945 A1에서 설명된 대로 골수종 세포와의 융합 없이 항원-면역된 B 세포로부터 직접 분리되기도 하였다. 중쇄 및 경쇄 가변 영역을 클론화 하여 H4H1248P, H4H1250P, H4H1263S, H4H1268S, H4H1276S, H4H1279P, H4H1282P, H4H1292P, H4H1295P 및 H4H1296P로 명명된 IgG4 동형(isotype)의 완전한 사람 항-hANGPTL3 항체를 생산하였다. 안정적인 재조합 항체-발현 CHO 세포주가 확립되었다.

[0115] 실시 예 2. 가변 유전자 활용 분석

[0116] 생산된 항체의 구조를 분석하기 위해, 항체 가변 영역을 부호화하는 핵산이 복제되고 서열이 밝혀졌다. 핵산 서열과 항체의 예측된 아미노산 서열로부터, 각각의 중쇄 가변부(HCVR) 및 경쇄 가변부(LCVR)에 대한 유전자 유용성이 동정되었다. 표 1은 본 발명에 따른 특정 항체에 대한 유전자 유용성을 보여준다.

표 1

항체	HCVR			LCVR	
	V <sub>H</sub>	D <sub>H</sub>	J <sub>H</sub>	V <sub>K</sub>	J <sub>K</sub>
H4H1248P	3-30	1-26	6	1-12	3
H4H1250P	3-30	1-7	6	1-5	1
H4H1263S	3-30	3-10	6	1-12	3
H4H1268S	6-1	6-6	4	1-5	1
H4H1276S	3-43	3-3	3	1-5	2
H4H1279P	3-11	1-1	4	1-39	4
H4H1282P	1-18	3-10	4	1-9	4
H4H1292P	3-11	1-1	4	1-39	4
H4H1295P	1-18	6-25	4	2-30	2
H4H1296P	3-11	1-1	4	1-39	4
H1M896N	3-23	3-10	4	1-5	1

[0117]

[0118] 표 2는 특정 항-hANGPTL3 항체 및 이들의 해당 항체 식별자(antibody identifier)의 중쇄 및 경쇄 가변부 아미노산 서열 쌍을 보여준다. N, P 및 S 명칭은 CDR 서열은 동일하지만 CDR 서열 밖의 영역(즉, 골격 영역)에서는 서열이 다른 중쇄 및 경쇄를 갖는 항체를 지칭한다. 따라서, 특정 항체의 N, P 및 S 변이물은 중쇄 및 경쇄 가변부 내에서는 CDR 서열이 같지만 골격 영역에서는 서열이 다르다.

표 2

명칭	HCVR/LCVR SEQ ID NOs	명칭	HCVR/LCVR SEQ ID NOs
H4H1248P	2/10	H4H1279P	82/90
H4H1250P	18/26	H4H1282P	98/106
H4H1263S	34/42	H4H1292P	114/122
H4H1268S	50/58	H4H1295P	130/138
H4H1276S	66/74	H4H1296P	146/154
H1M896N	180/188	-	-

[0119]

[0120] 실시 예 3. ANGPTL3에 결합하는 항-hANGPTL3 항체의 동역학 파라미터

- [0121] 모든 동력학적 결합 실험은 CM5 센서 칩을 사용하는 BIACORE™ T200 비표지식 분자간 상호작용(label-free molecular interaction) 기기(GE Healthcare) 상에서 25℃ 또는 37℃에서 수행되었다. 간략히 설명하면, 항원 포획 표면은 항-마우스 IgG-특이 항체(항-mFc; GE Healthcare; 카탈로그 #BR-1008-38) 또는 항-히스티딘 특이 항체(Qiagen; 카탈로그 #34660)를 표준 아민 커플링법을 사용하여 CM5 센서 칩의 표면에 공유 결합시킴으로써 생산되었다. HBS-EP (10 mM HEPES, 150 mM NaCl, 3 mM EDTA, 0.05% 계면활성제 P20, pH 7.4) 또는 PBSP (10 mM 인산나트륨, 2.7 mM KCl, 137 mM NaCl, 0.025% 계면활성제 P20, pH 7.2 또는 5.75)를 작용 완충액(running buffer)으로 사용하여, 올리고히스티딘 태그를 포함하는 ANGPTL3의 사람 및 여러 종의 변이물이 4.4- 46.5 RU의 결합 반응이 이루어질 때까지 항-펜타-히스티딘 결합 표면 상에서 포획되었다. 포획된 재조합 단백질은 다음과 같았다: C-말단 데카히스티딘(decahistidine) 태그 [hANGPTL3(17-460)-His; R&D Systems, MN; catalog #3829-AN]를 갖는 전장 성숙 사람 ANGPTL3 (즉, SEQ ID NO: 161의 아미노산 잔기 17-460), C-말단 헥사히스티딘(hexahistidine) 태그 [hANGPTL3(17-170)-His]를 포함한 hANGPTL3의 N-말단 코일드 코일(coiled-coil) 도메인 (즉, SEQ ID NO: 161 아미노산 잔기 17-170), myc-myc-hexahistidine 태그 [MfANGPTL3(17-170)-mmH; SEQ ID NO: 167]를 포함하는 *Macaca fascicularis*로부터 얻은 ANGPTL3의 N-말단 코일드 코일(coiled-coil) 도메인 [즉, SEQ ID NO: 177의 아미노산 잔기 17-170 (*Macaca fascicularis* ANGPTL3의 부분 서열)], C-말단 데카히스티딘(decahistidine) 태그 [mANGPTL3(17-455)-His; R&D Systems, MN; catalog #136-AN]를 갖는 *Mus musculus*의 전장 성숙 ANGPTL3 (즉, SEQ ID NO: 163의 아미노산 잔기 17-455), 헥사히스티딘(hexahistidine) 태그 [mANGPTL3(17-240)-His; SEQ ID NO: 166]를 포함하는 *Mus musculus*의 ANGPTL3의 N-말단 코일드 코일(coiled-coil) 도메인 (즉, SEQ ID NO: 163의 아미노산 잔기 17-240), 그리고 myc-myc-hexahistidine 태그 [rANGPTL3(17-240)-mmH; SEQ ID NO: 176]를 포함하는 *Rattus norvegicus*의 ANGPTL3의 N-말단 코일드 코일(coiled-coil) 도메인 (즉, SEQ ID NO: 175의 아미노산 잔기 17-240). 또한, C-말단 마우스 Fc 융합 [hANGPTL3(17-169)-mFc; SEQ ID NO: 165]을 포함하는 hANGPTL3의 N-말단 코일드 코일(coiled-coil) 도메인(즉, SEQ ID NO: 161의 아미노산 잔기 17-169)이 24.8 ± 1.5 RU의 결합 반응이 이루어질 때까지 항-mFc 결합 표면 상에서 포획되었다. 항체/항원 복합체의 형성을 위한 결합률 및 해리율을 측정하기 위해, 항체의 단일(표 3 및 7) 또는 다중(표 4-6) 농도가 포획된 단백질의 표면에 50 μl/분의 속도로 3분간 주사되었고, 복합체의 해리가 20분간 모니터링 되었다. 결합 데이터는 Scrubber 버전 2.0a (BioLogic Software)를 사용하여 가공하여 대량 운송을 통한 1: 1 결합 모델에 맞추어졌다. 동태(kinetic) 반감기( $t_{1/2}$ )는 해리율 상수(kd)로부터 계산되었다.
- [0122] 표 3은 25℃, pH 7.4의 HBS-EP 완충액에서 hANGPTL3에 대한 다양한 항-ANGPTL3 항체의 결합능을 보여준다.

표 3

Ab 클론	단백질	ka (M <sup>-1</sup> s <sup>-1</sup> )	kd (s <sup>-1</sup> )	K <sub>D</sub> (nM)	t <sub>1/2</sub> (min)
H4H1248P	hANGPTL3(17-169)-mFc	4.57E+05	2.72E-03	5.95	4
	hANGPTL3(17-460)-His	4.40E+05	2.47E-03	5.62	5
H4H1250P	hANGPTL3(17-169)-mFc	1.25E+06	6.51E-04	0.519	18
	hANGPTL3(17-460)-His	9.04E+05	6.57E-04	0.726	18
H4H1263S	hANGPTL3(17-169)-mFc	6.77E+05	4.22E-03	6.23	3
	hANGPTL3(17-460)-His	5.08E+05	1.26E-03	2.47	9
H4H1268S	hANGPTL3(17-169)-mFc	1.16E+06	8.35E-04	0.721	14
	hANGPTL3(17-460)-His	1.29E+06	1.89E-03	1.47	6
H4H1276S	hANGPTL3(17-169)-mFc	5.82E+05	3.83E-04	0.659	30
	hANGPTL3(17-460)-His	3.44E+05	4.64E-04	1.35	25
H4H1279P	hANGPTL3(17-169)-mFc	6.58E+05	5.53E-06	0.00841	2088
	hANGPTL3(17-460)-His	2.88E+05	1.14E-04	0.394	102
H4H1282P	hANGPTL3(17-169)-mFc	1.28E+06	5.92E-05	0.0463	195
	hANGPTL3(17-460)-His	9.57E+05	9.26E-05	0.0968	125
H4H1292P	hANGPTL3(17-169)-mFc	6.86E+05	1.77E-04	0.257	65
	hANGPTL3(17-460)-His	3.41E+05	2.48E-04	0.727	47
H4H1295P	hANGPTL3(17-169)-mFc	3.52E+05	7.95E-05	0.226	145
	hANGPTL3(17-460)-His	3.73E+05	7.35E-05	0.197	157
H4H1296P	hANGPTL3(17-169)-mFc	6.41E+05	3.92E-05	0.0611	295
	hANGPTL3(17-460)-His	3.01E+05	4.12E-05	0.137	280

[0123]

[0124]

표 3에서 보이듯이, 항-hANGPTL3 항체는 C-말단 데카히스티딘 태그를 갖는 전장 단백질[hANGPTL3(17-460)-His]에 96.8 pM 내지 5.62 nM 범위로 계산된 평형 해리 상수(K<sub>D</sub> = kd/ka)로 결합하였고, C-말단 Fc 융합을 갖는 N-말단 코일드 코일 도메인[hANGPTL3(17-169)-mFc]에 대해서는 8.41 pM 내지 6.23 nM 범위의 K<sub>D</sub>로 결합하였다.

[0125]

표 4와 5는 각각 25°C 및 37°C의 pH 7.4의 HBS-EP 완충액에서 ANGPTL3에 대한 H4H1276S의 교차 결합능을 보여 준다. 표 6은 25°C 또는 37°C의 pH 5.75 또는 pH 7.2의 PBSP 완충액에서 사람 및 사이노몰구스(cynomolgus) ANGPTL3에 대한 H4H1276S의 결합능을 보여준다.

표 4

Ab 클론	단백질	25°C			
		ka (M <sup>-1</sup> s <sup>-1</sup> )	kd (s <sup>-1</sup> )	K <sub>D</sub> (nM)	t <sub>1/2</sub> (min)
H4H1276S	hANGPTL3(17-170)-His	9.73E+05	9.12E-04	0.938	12.7
	hANGPTL3(17-460)-His	5.88E+05	2.89E-04	0.491	40.0
	MfANGPTL3(17-170)-mmH	1.35E+06	5.35E-04	0.396	21.6
	mANGPTL3(17-240)-His	6.70E+05	3.07E-04	0.458	37.6
	mANGPTL3(17-455)-His	1.29E+06	3.46E-04	0.268	33.4
	rANGPTL3(17-240)-mmH	1.35E+06	7.18E-04	0.530	16.1

[0126]

표 5

Ab 클론	단백질	37°C			
		ka (M <sup>-1</sup> s <sup>-1</sup> )	kd (s <sup>-1</sup> )	K <sub>D</sub> (nM)	t <sub>1/2</sub> (min)
H4H1276S	hANGPTL3(17-170)-His	1.59E+06	2.41E-03	1.52	4.8
	hANGPTL3(17-460)-His	6.32E+05	8.12E-04	1.29	14.2
	MfANGPTL3(17-170)-mmH	1.87E+06	1.17E-03	0.625	9.9
	mANGPTL3(17-240)-His	8.19E+05	9.64E-04	1.18	12.0
	mANGPTL3(17-455)-His	1.94E+06	7.91E-04	0.408	14.6
	rANGPTL3(17-240)-mmH	2.05E+06	1.93E-03	0.940	6.0

[0127]

표 6

Ab 클론	단백질	ka (M <sup>-1</sup> s <sup>-1</sup> )	kd (s <sup>-1</sup> )	K <sub>D</sub> (nM)	t <sub>1/2</sub> (min)
H4H1276S pH 7.2 25°C	hANGPTL3(17-170)-His	1.00E+06	1.10E-03	1.09	10.5
	hANGPTL3(17-460)-His	5.99E+05	4.02E-04	0.670	28.8
	MfANGPTL3(17-170)-mmH	1.45E+06	5.38E-04	0.370	21.5
H4H1276S pH 5.75 25°C	hANGPTL3(17-170)-His	2.80E+05	6.72E-03	24.0	1.7
	hANGPTL3(17-460)-His	7.32E+04	4.94E-03	67.5	2.3
	MfANGPTL3(17-170)-mmH	2.06E+05	4.32E-03	21.0	2.7
H4H1276S pH 7.2 37°C	hANGPTL3(17-170)-His	1.57E+06	2.73E-03	1.74	4.2
	hANGPTL3(17-460)-His	6.67E+05	1.18E-03	1.76	9.8
	MfANGPTL3(17-170)-mmH	1.94E+06	1.36E-03	0.700	8.5
H4H1276S pH 5.75 37°C	hANGPTL3(17-170)-His	1.22E+06	3.24E-02	26.7	0.4
	hANGPTL3(17-460)-His	4.71E+04	1.07E-02	227	1.1
	MfANGPTL3(17-170)-mmH	2.78E+05	5.21E-03	18.8	2.2

[0128]

[0129] 표 4-6에서 보이듯이, 항체 H4H1276S는 원숭이, 마우스 및 래트(rat)의 ANGPTL3에 대한 결합능이 사람 ANGPTL3에 대한 결합능의 그것과 비슷한 결합 친화도 및 동력학적 상수를 보였다.

[0130] 표 7은 37°C, pH 7.4의 HBS-EP 완충액에서 hANGPTL3 및 mANGPTL3에 대한 특정 항-ANGPTL3 항체의 결합능을 보여준다. NB: 무결합.

표 7

Ab 클론	단백질	ka (M <sup>-1</sup> s <sup>-1</sup> )	kd (s <sup>-1</sup> )	K <sub>D</sub> (nM)	t <sub>1/2</sub> (min)
H1M896N	hANGPTL3(17-460)-His	3.36E+06	5.30E-04	1.58E-10	22
	mANGPTL3(17-455)-His	3.62E+06	2.47E-03	6.82E-10	5
H4H1248P	hANGPTL3(17-460)-His	1.96E+06	1.93E-03	9.86E-10	6
	mANGPTL3(17-455)-His	NB	NB	NB	NB
H4H1250P	hANGPTL3(17-460)-His	3.50E+06	1.13E-03	3.24E-10	10
	mANGPTL3(17-455)-His	3.18E+06	1.55E-03	4.86E-10	7
H4H1263S	hANGPTL3(17-460)-His	4.74E+06	1.81E-03	3.81E-10	6
	mANGPTL3(17-455)-His	NB	NB	NB	NB
H4H1279P	hANGPTL3(17-460)-His	4.74E+06	1.81E-03	3.81E-10	6
	mANGPTL3(17-455)-His	2.15E+06	3.59E-04	1.67E-10	32
H4H1292P	hANGPTL3(17-460)-His	1.89E+06	1.94E-03	1.02E-09	6
	mANGPTL3(17-455)-His	3.92E+06	1.49E-03	3.80E-10	8

[0131]

[0132] 표 7에 보이듯이, 항-hANGPTL3 항체는 pH 7.4 및 37°C 조건에서 C-말단 데카히스티딘 태그를 갖는 전장 단백질

[hANGPTL3(17-460)-His]에는 158 pM 내지 1.02 nM 범위로 계산된 평형 해리 상수( $K_D = kd/ka$ )로 결합하였고, 마우스 ANGPTL3 [mANGPTL3(17-455)-His]에는 167 pM-682 pM 범위의  $K_D$ s로 결합하였다; 단, H4H1248P 및 H4H1263S는 예외로 mANGPTL3에 대해 검출 가능한 결합능을 보이지 않았다. 위의 표에 동력학적 반감기( $t_{1/2}$ )도 보인다.

**[0133] 실시 예 4. Anti-ANGPTL3 항체에 대한 Biacore 교차 경쟁**

**[0134]** 위의 실시 예 3에서 설명된 그대로 25°C의 Biacore 상에서 교차 경쟁 실험이 수행되었다. 간략히 설명하면, HBS-EP를 작동 완충액(running buffer)으로 사용하여 C-말단 테카히스티딘 태그[hANGPTL3(17-460)-His; R&D Systems, MN; catalog #3829-AN]를 갖는 전장 hANGPTL3 (즉, SEQ ID NO: 161의 아미노산 잔기 17-460)이 64 RU의 결합 반응이 이루어질 때까지 항-펜타-히스티딘 결합 표면 상에서 포획되었다. 두 항체가 포획된 ANGPTL3에 동시에 결합할 수 있는지를 판정하기 위해, 항체 쌍을 순차적으로 각각 167 nM을 4 µl/분의 유속으로 15분간 표면에 주사하였고, 최대 결합 반응 신호(RU)가 각각의 반응 사례에 대해 측정되었다. 첫 번째 항체(mAb1)에 대한 결합 반응 결과에 이어서 첫 번째 항체로 사전 탑재된 ANGPTL3 표면에서 두 번째 항체(mAb2)의 결합 반응 결과값이 표 8에 나와있다. 굵은 글씨의 숫자는 항체 쌍이 hANGPTL3에 동시에 결합할 수 있음을 나타냈다. 이탤릭체 숫자는 항체 쌍이 한 방향으로 연속적으로 첨가되는 경우에는 hANGPTL3에 동시에 결합할 수 있지만 그렇지 않은 경우에는 동시 결합할 수 없음을 나타낸다. 중괄호는 자기 자신과의 경쟁을 나타낸다.

**표 8**

Ab 클론	포획된 hANGPTL3(17-460)-His (RU)	25 µg/ml mAb1 결합 반응 (RU)	25 µg/ml mAb2 결합 반응 (RU)			
			H1M896N	H4H1250P	H4H1279P	H4H1292P
H1M896N	64 ± 4	171 ± 1.8	<i>[-4]</i>	<i>-4</i>	<b>47</b>	<b>50</b>
H4H1250P		210 ± 8.3	<i>-4</i>	<i>[13]</i>	9	8
H4H1279P		45 ± 1.8	<b>186</b>	213	<i>[-3]</i>	<i>-1</i>
H4H1292P		48 ± 0.7	<b>182</b>	220	<i>-3</i>	<i>[-2]</i>
음성 컨트롤		81 ± 1.8	149	187	47	48

**[0135]** 표 8에서 보이듯이, 항체 쌍 H1M896N/H4H1279P 및 H1M896N/H4H1292P는 항체의 추가 순서에 상관 없이 고정된 ANGPTL3에 동시에 결합할 수 있었다. H4H1250P는 H4H1279P에 미리 결합된 ANGPTL3에 결합하였다; 그러나 항체 추가의 순서가 뒤바뀌었을 때, H4H1279P는 ANGPTL3이 H4H1250P에 미리 결합된 후 예상된 최대 반응의 약 24%의 결합 신호를 보였다. 이와 유사하게, H4H1250P도 H4H1292P에 미리 결합된 ANGPTL3에 결합하였다; 그러나 항체 추가의 순서가 뒤바뀌었을 때, H4H1292P는 ANGPTL3이 H4H1250P에 미리 결합된 후 예상된 최대 반응의 약 20%의 결합 신호를 보였다.

**[0137] 실시 예 5. ANGPTL3 N-말단 코일드 코일(Coiled-Coil) 펩티드에 결합하는 항-hANGPTL3 항체**

**[0138]** ANGPTL3의 N-말단 코일드 코일(coiled-coil) 부위에서 유래한 펩티드에 대한 항-ANGPTL3 항체 H4H1276S의 결합능을 산정하기 위해 OCTET<sup>®</sup> RED 시스템(ForteBio, Inc.)을 사용하여 비표지식 바이오센서 결합 분석법(label-free biosensor binding assay)을 수행하였다. 센서에 대한 고정을 위해, 펩티드들은 N-말단 비오틴 태그 [펩티드 1 및 펩티드 2의 경우 연성(flexible) 링커인, 아미노산 “AGSSPPGG” (SEQ ID NO: 171)에 의해 분리; 그리고 펩티드 3의 경우 아미노산 “GGGGS” (SEQ ID NO: 172)에 의해 분리]로 표지되거나, 또는 C-말단 비오틴 태그 [펩티드 1 및 펩티드 2의 경우 연성(flexible) 링커인 아미노산 “GPSSGAPPPK” (SEQ ID NO: 173)에 의해 분리; 그리고 펩티드 3의 경우 아미노산 “GGGGSK” (SEQ ID NO: 174)에 의해 분리]로 표지되었다. 검사된 펩티드 서열은 다음과 같다: 음성 대조 펩티드인 N-말단 비오틴 태그 부착 펩티드1 (SEQ ID NO: 168; SEQ ID NO: 164의 사람 ANTGPL4의 잔기 Arg34 - Leu66); 그리고 ANGPTL3 N-말단 코일드 코일(coiled-coil) 부위, 즉, N-말단 비오틴 태그 부착 펩티드 2 (SEQ ID NO: 169; SEQ ID NO: 161의 hANGPTL3의 Leu68에 대한 잔기 Arg36); C-말단 비오틴 태그 부착 펩티드 2; N-말단 비오틴 태그 부착 펩티드 3 (SEQ ID NO: 170; SEQ ID NO: 161의 hANGPTL3의 Leu57에 대한 잔기 Glu32에 해당함); 그리고 C-말단 비오틴 태그 부착 펩티드 3. 펩티드 서열은 도 1에도 나와있다. 스트렙타비딘이 코팅된 바이오센서 팁이 비오틴화 펩티드로 코팅되었고 결합 반응은 펩티드에 따라 1.22-2.26 nm의 범위를 보였다. 그 다음 펩티드로 코팅된 바이오센서 팁을 항-ANGPTL3 항체 H4H1276S 또는

동형 대응(isotype-matched) 음성 대조 항체 1  $\mu\text{M}$ 가 담긴 웰에 적셨다. 펩티드 각각에 대한 H4H1276S 및 동형 대조 항체의 결합 반응은 도 2에 요약되어 있다. H4H1276S는 펩티드 2에 의해 정의된 ANGPTL3 선형 서열에 결합 하지만, 펩티드 3에 의해 정의된 중복되지만 별개인 서열에는 결합하지 않는 것으로 관찰되었다 (도 1도 참고). 동형 대조 항체 또한 이러한 동형 대조 항체는 hANGPTL4를 특이적으로 인식하기 때문에, 펩티드 1(즉, hANGPTL4 펩티드)을 바이오센서에 탑재하기 위한 양성 대조군으로 사용되었다. 도 2에 보이는 바와 같이, 펩티드 1에 대한 대조 항체의 결합능은 펩티드 1이 센서 표면에 존재하며 다른 펩티드 상에도 그러하다는 것을 확인하였다.

[0139] 실시 예 6. LPL 생물검정에서 항-hANGPTL3 항체에 의한 hANGPTL3의 억제

[0140] 지질단백 지질분해효소(LPL)는 인체의 지질 대사에서 중대한 역할을 한다. LPL은 트리글리세리드의 가수분해에 촉매 작용을 하며 지방산을 방출하여 대사시킨다. ANGPTL3은 LPL 활성을 억제하여 지질의 수치가 증가하게 된다 (Oike et al., 2005, Trends in Molecular Medicine 11(10): 473-479). ANGPTL3의 N-말단 코일드 코일(coiled-coil) 영역은 C-말단 피브리노겐 영역 없이 발현될 때 LPL을 억제하므로 억제 작용을 일으키는 것처럼 보인다. ANGPTL3에 의한 LPL 활성의 감소를 억제하는 항-ANGPTL3 항체의 능력을 판정하는 무세포 생물학적 분석법(bioassay)이 개발되었다.

[0141] 항-ANGPTL3 항체에 의한 hANGPTL3 활성의 억제는 다음과 같은 세 가지 hANGPTL3 단백질을 사용하는 CONFLUOLIP™ Continuous Fluorometric Lipase Test (Progen, Germany)를 사용하여 측정되었다: C-말단 데카히스티딘 태그 [hANGPTL3(17-460)-His; R&D Systems, MN; catalog #3829-AN]를 갖는 전장 성숙 hANGPTL3 (즉, SEQ ID NO: 161 아미노산 잔기 17-460), C-말단 마우스 Fc 융합 [hANGPTL3(17-169)-mFc; SEQ ID NO: 165]을 갖는 N-말단 코일드 코일(coiled-coil) 부위(즉, SEQ ID NO: 161의 아미노산 잔기 17-169), 그리고 C-말단 헥사히스티딘 태그 [hANGPTL3(17-170)-His]를 포함하는 hANGPTL3의 N-말단 코일드 코일(coiled-coil) 도메인 (즉, SEQ ID NO: 161의 아미노산 잔기 17-170).

[0142] 간략히 설명하면, 소 LPL(최종 농도 2 nM), 사람 ApoCII(LPL의 보조인자, 최종 농도 0.23  $\mu\text{M}$ ), 그리고 BSA(최종 농도 2 mg/mL)가 PBS에 사전 혼합되었다. hANGPTL3 재조합 단백질이 Apo/LPL 혼합물에 첨가되었다 (최종 농도 80 -100 nM). 그 다음 Apo/LPL/ANGPTL3 단백질 혼합물에 단계적으로 희석된 항-hANGPTL3 항체를 함께 첨가하여 실온에서 30분간 배양하였다. 배양 후, 재구성된 지질분해효소 기질인 1-trinitrophenyl-amino-dodecanoyl-2-pyrenedecanoyl-3-0-hexadecyl-sn-glycerol (LS-A, Progen) 100  $\mu\text{l}$ 를 항체 혼합물 25  $\mu\text{l}$ 에 첨가하여 96-웰 분석 플레이트에 담아 37° C에서 2시간 동안 배양하였다. 그 다음 FLEXSTATION® 3 Microplate Reader (Molecular Devices, CA)를 사용하여 형광 파장을 342 nm/400 nm (여기/방출)에서 측정하였다. 형광은 LPL 활성에 정비례 한다.

[0143] 항체 H4H1276S는 LPL에 대한 hANGPTL3의 억제 활성도의 억제를 보였다. 먼저 LPL 분석에 hANGPTL3 단백질을 사용하는 전 용량 반응을 수행하여 각 실험에 대한 ANGPTL3 EC<sub>50</sub>을 측정하였고, 그 다음 항체의 IC<sub>50</sub> 측정을 표 8에 보이는 바와 같이 ANGPTL3 단백질의 일정 농도를 사용하여 수행하였다. 50% 최대 억제(IC<sub>50</sub>)에 필요한 항체 농도는 각각 80 nM hANGPTL3(17-460)-His에 대해서는 9.6 nM, 100 nM hANGPTL3(17-170)-His에 대해서는 2.9 nM, 그리고 80 nM hANGPTL3(17-169)-mFc에 대해서는 21 nM였다. 사람 ANGPTL3 단백질을 검사하기 위한 항체 농도의 범위는 0-300 nM였다.

[0144] 이와 유사하게, H4H1276S가 LPL 생물학적 분석법(bioassay)에서 다음과 같은 중간 오솔로그(ortholog)를 억제하는 능력에 대해 검사되었다: C-말단 myc-myc-hexa-histidine 태그 [MfANGPTL3(17-170)-mmH; SEQ ID NO: 167]를 통해 발현된 사이노몰구스 원숭이(cynomolgus monkey) N-말단 영역 (SEQ ID NO: 177의 아미노산 잔기 17-170), C-말단 헥사-히스티딘 태그 [mANGPTL3(17-240)-His; SEQ ID NO: 166]를 갖는 SEQ ID NO: 163의 마우스 오솔로그 N-말단 영역 아미노산 잔기 17-240, 그리고 C-말단 데카히스티딘 태그 [mANGPTL3(17-455)-His; R&D Systems, MN; 카탈로그 #136-AN]를 갖는 *Mus musculus*의 전장 성숙 ANGPTL3 (즉, SEQ ID NO: 163의 아미노산 잔기 17-455). IC<sub>50</sub>을 측정한 결과 500 nM 일정(constant) MfANGPTL3(17-170)-mmH의 경우 10 nM, 80 nM 일정(constant) mANGPTL3(17-455)-His의 경우 14 nM, 그리고 500 nM 일정(constant) mANGPTL3(17-240)-His의 경우 31 nM였다. 원숭이 및 마우스 ANGPTL3 단백질을 검사하기 위한 항체 농도의 범위는 0-600 nM였다. 결과는 표 9에 요약되어 있다.

[0145] 동종 단백질 ANGPTL4의 N-말단 영역에 대한 항체 또한 ANGPTL4의 LPL에 대한 억제 기능을 차단하는 것으로 나타났다 (Lee et al., 2009, J. Biol. Chem. 284: 13735-13745). 그러므로, ANGPTL4에 대한 가능한 교차 반응성을 평가하기 위해, 억제 항-ANGPTL3 항체 H4H1276S 또한 ANGPTL3 단백질에 대해 위의 설명대로 수행된 LPL 지질분

해효소 분석으로 사람 ANGPTL4에 대해 검사하였다. C-말단 마우스 IgG2a Fc 융합 [hANGPTL4(26-148)-mFc, SEQ ID NO: 178]을 포함하는 사람 ANGPTL4 (SEQ ID NO: 164 잔기 26-148)의 코일드 코일(coiled-coil) 영역의 재조합 형태는 0.2 nM의 LPL 분석에서 EC50을 보였다 (표 9). H4H1276S는 0 - 600 nM의 농도 범위에서 검사되었을 때, 이러한 억제력을 차단하지 않았다 (NB: 무결합; 표 9에서).

표 9

	사람 ANGPTL 3(17-460)-His	사람 ANGPTL 3(17-170)-His	사람 ANGPTL 3 (17-169)-mFc	원숭이 ANGPTL 3 (17-170)-mmH	마우스 ANGPTL 3(17-455)-His	마우스 ANGPTL 3(17-240)-His	사람 ANGPTL 4(26-148)-mFc
EC <sub>50</sub> (nM)	50	91	16	625	33	199	0.2
일정 ANGPTL3 또는 4 (nM)	80	100	80	500	80	500	2
IC <sub>50</sub> (nM)	H4H 1276S	9.6	2.9	21	10	14	NB
	IgG4 cont.	NB	NB	NB	NB	NB	NB

[0146]

[0147]

[0148]

[0149]

[0150]

[0151]

위에서 보이는 바와 같이, H4H1276S는 약 3-31 nM 범위의 IC<sub>50</sub>을 보여 비슷한 정도로 사람 ANGPTL3 (전장 및 N-말단), 원숭이ANGPTL3 (N-말단) 단백질 및 마우스 ANGPTL3 (전장 및 N-말단) 활성을 억제하였다.

동시에 추가된 두 가지 ANGPTL3 비-차단 항체의 조합이 ANGPTL3의 LPL 억제 활동을 차단할 수 있는지를 판정하기 위해 또한 항체의 일부가 검사되었다. 사람 및 마우스 ANGPTL3, 즉, 각각 hANGPTL3(17-169)-mFc 및 mANGPTL3(17-240)-His의 N-말단 도메인을 억제하는지에 대해 항체 쌍들이 검사되었다. 이 분석에 대해, ANGPTL3 단백질은 47 nM [hANGPTL3(17-169)-mFc의 경우] 및 341 nM [mANGPTL3(17-240)-His의 경우]의 LPL 차단 IC<sub>50</sub> 값을 보였다. 다음의 쌍들은, 각 항체의 최종 농도가 적어도 200nM에서 첨가되었을 때, 80nM의 hANGPTL3(17-169)-mFc에서나 500 nM의 mANGPTL3(17-240)-His에서도 LPL의 억제력을 차단하지 않았다: H1M896N + H4H1279P; H4H1250P + H4H1279P; H4H1248P + H4H1292P; 그리고 H4H1263S + H4H1292P. 상기의 동일한 분석에서, H4H1276S 단독 사용은 사람 및 마우스 ANGPTL3의 IC<sub>50</sub>이 각각 33 nM 및 64 nM에서 동일한 일정 농도를 차단했다.

실시 예 7.1. 항-ANGPTL3 항체가 혈청 지질 수준에 미치는 체내 효과

항-hANGPTL3 항체 H4H1276S가 혈청 지질 수준에 미치는 효과가 C57B1/6 마우스에서 측정되었다. 마우스를 실험 7일 전에 피를 뽑아 검사된 각 항체 용량에 대해 6개 마우스군으로 나누었다. 항체가 본 연구의 제0일에 피하 주사로 5mg/kg (H4H1276S) 및 10 mg/kg [H4H1276S 및 무관한 특이도를 갖는 동형 대응 hIgG4(S108P) 대조군]의 용량 수준으로 투여되었다. 마우스에게 항체 주사 후 제1, 4, 7 및 12일에 4시간 굶긴 후 채혈을 하고 ADVIA<sup>®</sup> 1800 Chemistry System (Siemens)을 사용하여 혈청 내의 지질 수준(트리글리세리드, 총 콜레스테롤, 비-HDL 콜레스테롤, LDL 콜레스테롤 및 HDL 콜레스테롤)을 측정하였다. 각 항체의 시점 각각에 대한 평균값이 계산되었다. 혈청 지질 농도로 표시된 결과값(평균 ± SEM)이 표 10-14에 나타나 있다.

표 10

주사 후 일수	혈청 트리글리세리드 (mg/dL)					
	대조 Ab (10 mg/kg)		H4H1276S (5 mg/kg)		H4H1276S (10 mg/kg)	
	평균	SEM	평균	SEM	평균	SEM
- 7	87.83	6.18	89.83	3.65	87.17	5.062
1	123.16	7.02	68.00	2.84	53.83	2.52
4	99.66	10.15	62.16	5.82	50.67	3.51
7	99.83	4.57	55.83	4.95	39.67	2.55
12	82.00	5.75	76.83	10.56	53.00	6.51

표 11

주사 후 일 수	총 콜레스테롤 (mg/dL)					
	대조 Ab (10 mg/kg)		H4H1276S (5 mg/kg)		H4H1276S (10 mg/kg)	
	평균	SEM	평균	SEM	평균	SEM
- 7	82.50	2.11	80.33	1.15	81.33	2.14
1	87.83	1.87	71.50	5.48	63.67	3.38
4	75.00	2.58	59.50	3.51	51.00	2.98
7	83.50	1.77	67.00	1.79	61.33	2.33
12	87.83	1.82	83.00	4.30	69.33	3.22

[0152]

표 12

주사 후 일 수	비-HDL 콜레스테롤 (mg/dL)					
	대조 Ab (10 mg/kg)		H4H1276S (5 mg/kg)		H4H1276S (10 mg/kg)	
	평균	SEM	평균	SEM	평균	SEM
- 7	41.18	0.75	38.78	0.81	40.23	1.18
1	42.18	0.55	35.75	3.05	32.70	1.94
4	36.40	1.04	29.63	2.16	27.55	1.78
7	40.82	0.75	34.67	1.83	32.02	1.68
12	41.72	0.87	39.85	2.21	35.13	1.47

[0153]

표 13

주사 후 일 수	LDL 콜레스테롤 (mg/dL)					
	대조 Ab (10 mg/kg)		H4H1276S (5 mg/kg)		H4H1276S (10 mg/kg)	
	평균	SEM	평균	SEM	평균	SEM
- 7	4.68	0.35	4.40	0.34	4.47	0.21
1	5.40	0.41	5.20	0.79	5.33	0.71
4	4.80	0.45	4.88	0.67	5.33	0.73
7	5.38	0.46	5.83	0.48	6.40	0.67
12	5.67	0.59	6.12	0.65	5.35	0.48

[0154]

표 14

주사 후 일 수	HDL 콜레스테롤 (mg/dL)					
	대조 Ab (10 mg/kg)		H4H1276S (5 mg/kg)		H4H1276S (10 mg/kg)	
	평균	SEM	평균	SEM	평균	SEM
- 7	41.32	1.57	41.55	0.90	41.10	1.37
1	45.65	1.85	35.75	2.54	30.97	2.13
4	38.60	2.26	29.87	1.62	23.45	1.66
7	42.68	1.81	32.33	1.25	29.32	1.72
12	46.12	1.94	43.15	2.52	34.20	1.99

[0155]

[0156]

혈중 H4H1276S (혈청 Ab)의 수준 또한 표준 ELISA 분석법을 사용하여 측정하였다. 간략히 설명하면, 혈청 Ab를 포획하기 위해 플레이트를 염소 항-사람 Fc 항체(Sigma-Aldrich)로 코팅하였다. 그 다음 혈청을 플레이트에 첨가하고 포획된 사람 항체를 양고추냉이 과산화효소(HRP) 접합 염소 항-사람 IgG 항체(Sigma-Aldrich)를 사용하여 화학발광검사법으로 검출하였다. 결과값은 표 15에 (평균 ± SEM)로 나와 있다. 대조군: 동형-대응 대조 Ab를 투여 받은 마우스.

표 15

주사 후 일 수	혈청 Ab (µg/mL)					
	대조 Ab (10 mg/kg)		H4H1276S (5 mg/kg)		H4H1276S (10 mg/kg)	
	평균	SEM	평균	SEM	평균	SEM
1	65.00	8.05	36.38	7.57	126.23	9.96
4	59.16	4.94	29.91	4.32	86.28	6.77
7	58.23	6.02	30.86	5.11	54.24	8.96
12	41.35	9.76	5.48	1.79	39.04	7.08

[0157]

[0158]

C57B1/6 마우스에 10 mg/kg의 H4H1276S를 단독 투여한 결과 항체 투여 후 7일에 혈중 트리글리세리드가 ~60%까지 감소하였다 (동형 대조군에 비해1). 또한 H4H1276S의 투여는 총 콜레스테롤, 비-HDL 콜레스테롤 및 HDL 콜레스테롤도 유의하게 감소시켰으며 LDL 콜레스테롤에는 영향을 미치지 않았다. 지질 수준의 감소도 관찰되었지만 10 mg/kg 용량 수준에 비해 5 mg/kg으로 두드러지지 않았다; 예를 들면, 혈청 트리글리세리드는 항체 투여 후 7일에 44%(동형 대조군에 비해)가 감소하였다.

[0159]

실시 예 7.2. 여러 항-ANGPTL3 항체가 혈청 지질 수준에 미치는 체내 효과

[0160]

항-hANGPTL3 항체 H4H1276S 및 비교기(comparator) 항체 4.9.1이 혈청 지질 수준에 미치는 체내 영향의 평가가 C57B1/6 마우스에서 수행되었다. 항체 4.9.1은 US Patent Application Publication No. 2008/0177045에서 설명된 대로 마우스 IgG1 동형으로 SEQ ID No: 24 (VH) 및 SEQID No: 32 (VL)의 아미노산 서열을 기반으로 조제되었다. 마우스를 실험 7일 전에 채혈하였고 그룹 당 6마리로 된 마우스군으로 나누었다. 무관한 특이도를 갖는 항체 H4H1276S, 4.9.1 및 동형 대응(isotype-matched) 음성 대조항체(각각 사람 IgG4 및 마우스 IgG1)가 본 연구의 제0일에 10 mg/kg 용량의 피하 주사로 투여되었다. 마우스에게 항체 주사 후 제 1, 7, 11 및 20일에 4시간 굶긴 후 채혈을 하고, ADVIA® 1800 Chemistry System (Siemens)을 사용하여 혈청에서 혈청 지질 수준(트리글리세리드, 총 콜레스테롤, 비-HDL 콜레스테롤, LDL 콜레스테롤 및 HDL 콜레스테롤)을 측정하였다. 각 항체의 시점 각각에 대한 평균 지질 농도가 계산되었다. 혈청 지질 농도의 (평균 ± SEM)로 표시된 결과값이 표 16-20에 나타나 있다.

표 16

주사 후 일 수	혈청 트리글리세리드 (mg/dL)							
	대조 (IgG4)		H4H1276S		대조 (IgG1)		4.9.1	
	평균	SEM	평균	SEM	평균	SEM	평균	SEM
- 7	109.16	9.05	109.16	6.44	112.80	6.87	109.17	7.24
1	81.67	6.76	46.00	3.59	95.20	8.92	41.83	2.42
7	95.67	5.42	49.67	3.86	101.80	7.55	96.00	3.70
11	100.83	6.20	51.00	5.89	117.00	6.00	92.00	4.50
20	82.17	4.36	72.67	3.47	79.40	6.59	73.83	5.03

[0161]

표 17

주사 후 일 수	총 콜레스테롤 (mg/dL)							
	대조 (IgG4)		H4H1276S		대조 (IgG1)		4.9.1	
	평균	SEM	평균	SEM	평균	SEM	평균	SEM
- 7	80.81	0.95	80.92	3.05	80.32	2.84	79.37	2.76
1	82.82	2.11	67.33	3.60	82.98	2.17	71.35	1.82
7	79.20	1.81	63.58	3.98	85.02	7.27	82.07	4.36
11	89.97	3.18	69.02	2.11	83.92	2.49	84.58	1.08
20	92.43	1.10	80.17	3.20	87.47	2.58	88.40	2.84

[0162]

표 18

주사 후 일 수	비-HDL 콜레스테롤 (mg/dL)							
	대조 (IgG4)		H4H1276S		대조 (IgG1)		4.9.1	
	평균	SEM	평균	SEM	평균	SEM	평균	SEM
- 7	42.44	1.18	42.87	1.03	43.20	2.44	41.73	1.40
1	40.85	1.48	35.33	1.79	40.68	0.87	36.97	1.49
7	39.03	1.04	33.72	2.86	43.30	4.35	40.47	2.35
11	44.68	1.93	35.18	1.64	40.28	0.95	41.38	1.05
20	47.40	0.67	42.10	1.51	44.72	1.66	44.40	1.57

[0163]

표 19

주사 후 일 수	LDL 콜레스테롤 (mg/dL)							
	대조 (IgG4)		H4H1276S		대조 (IgG1)		4.9.1	
	평균	SEM	평균	SEM	평균	SEM	평균	SEM
- 7	3.93	0.07	4.20	0.26	4.38	0.26	4.20	0.18
1	3.95	0.28	4.25	0.37	3.92	0.17	4.62	0.37
7	3.75	0.14	5.25	1.08	5.76	1.61	4.57	0.73
11	5.05	0.26	5.47	0.23	4.88	0.27	4.78	0.23
20	5.72	0.34	4.95	0.32	4.97	0.28	5.65	0.46

[0164]

표 20

주사 후 일 수	HDL 콜레스테롤 (mg/dL)							
	대조 (IgG4)		H4H1276S		대조 (IgG1)		4.9.1	
	평균	SEM	평균	SEM	평균	SEM	평균	SEM
- 7	38.37	0.95	38.00	2.27	37.12	1.88	37.63	1.52
1	41.97	1.32	32.00	1.89	42.30	2.09	34.38	0.85
7	40.17	0.93	29.87	1.23	41.72	2.97	41.60	2.47
11	45.28	1.80	33.83	1.15	43.64	1.70	43.20	1.57
20	45.03	0.75	38.07	1.79	42.75	1.69	44.00	1.83

[0165]

[0166] C57B1/6 마우스에서 단일 10 mg/kg 용량의 H4H1276S는 항체 주사 후 제1, 7, 11 및 20일에 동형 대조 항체에 비해 혈장 트리글리세리드 수준을 감소시켰다; 그리고 이러한 효과는 비교기(comparator) 4.9.1을 통한 동일한 용량 수준에서의 단일 치료에 비해 더욱 유지성이 있었다 (표 16). 또한 H4H1276S의 투여는 C57B1/6 마우스에서 총 (표 17) 및 HDL (표 20)을 감소시켰다.

[0167] 실시 예 8. H4H1276S가 고지혈증 ApoE<sup>-/-</sup> 마우스의 혈청 지질 수준에 미치는 체내 효과

[0168] 항-hANGPTL3 항체 H4H1276S가 혈청 지질 수준에 미치는 효과가 apoE<sup>-/-</sup> 마우스에서 측정되었다. 이들 마우스는 혈중 VLDL 및 LDL 형태로 발견되는 고지혈증을 보인다. 마우스를 실험 7일 전에 채혈하였고 그룹 당 6마리로 된 마우스군으로 나누었다. 항체인 H4H1276S 및 무관한 특이도를 갖는 동형 대응(hIgG4) 컨트롤이 본 연구의 제 0일에 피하 주사로 10 mg/kg의 용량으로 투여되었다. 마우스를 항체 주사 후 제 1, 4, 7 및 11일에 4시간 굶긴 후 채혈을 하고, ADVIA® 1800 Chemistry System (Siemens)을 사용하여 혈청 내 혈청 지질 수준(트리글리세리드, 총 콜레스테롤, 비-HDL 콜레스테롤, LDL 콜레스테롤 및 HDL 콜레스테롤)을 측정하였다. 각 항체 처리군의 시점 각각에 대한 평균 지질 농도가 계산되었다. 혈청 지질 농도의 (평균 ± SEM)로 표시된 결과값이 표 21-25에 나와 있다.

표 21

주사 후 일 수	혈청 트리글리세리드 (mg/dL)			
	대조 (hlgG4)		H4H1276S	
	평균	SEM	평균	SEM
- 7	134.17	11.81	141.67	17.14
1	156.33	19.06	61.33	3.66
4	181.00	7.70	70.50	4.46
7	190.67	27.65	52.50	6.22
11	170.00	28.85	133.00	13.56

[0169]

표 22

주사 후 일 수	총 (mg/dL)			
	대조 (hlgG4)		H4H1276S	
	평균	SEM	평균	SEM
- 7	450.67	25.68	479.33	13.76
1	497.50	37.77	386.33	28.59
4	395.00	14.37	281.20	20.83
7	447.33	22.18	295.50	12.86
11	463.80	36.01	398.03	23.13

[0170]

표 23

주사 후 일 수	비-HDL (mg/dL)			
	대조 (hlgG4)		H4H1276S	
	평균	SEM	평균	SEM
- 7	435.87	25.59	464.53	13.97
1	476.30	37.29	371.25	28.65
4	375.61	14.51	266.26	21.19
7	427.66	21.45	280.75	12.55
11	442.27	34.19	379.55	22.31

[0171]

표 24

주사 후 일 수	LDL (mg/dL)			
	대조 (hlgG4)		H4H1276S	
	평균	SEM	평균	SEM
- 7	14.27	1.63	14.87	0.90
1	17.42	2.94	11.23	1.81
4	10.28	1.52	6.62	0.83
7	11.82	1.40	6.32	0.45
11	13.90	2.54	10.21	1.14

[0172]

표 25

주사 후 일 수	HDL (mg/dL)			
	대조 (hlgG4)		H4H1276S	
	평균	SEM	평균	SEM
- 7	14.80	0.37	14.80	0.54
1	21.20	1.00	15.08	0.53
4	19.33	0.94	14.53	0.75
7	19.77	0.78	14.58	0.72
11	21.53	1.89	18.48	1.00

[0173]

[0174] H4H1276S 10 mg/kg을 apoE<sup>-/-</sup> 마우스에게 단일 투여한 결과 항체 투여 후 7일이 경과했을 때, (동형 대응 대조

Ab, 즉 hIgG4에 비해) 혈중 트리글리세리드는 ~72% (평균) 감소 (표 21), LDL ~46% (평균) 감소(표 24)하였다. 또한 H4H1276S의 투여는 총 (표 22) 및 비-HDL (표 23)을 감소시켰다.

[0175] 혈중 H4H1276S(혈청 Ab)의 수준 또한 표준 ELISA 분석법을 사용하여 측정하였다. 간략히 설명하면, 혈청 Ab를 포획하기 위해 플레이트를 염소 항-사람 Fc 항체(Sigma-Aldrich)로 코팅하였다. 그 다음 혈청을 플레이트에 첨가하고 포획된 항체를 양고추냉이 과산화효소(HRP) 접합 염소 항-사람 IgG 항체(Sigma-Aldrich)를 사용하여 화학발광검방법으로 검출하였다. (평균 ± SEM)로 표시된 결과값이 표 26에 나와있다 (대조군: 동형 대응 대조 Ab, 즉 hIgG4를 투여 받은 마우스).

표 26

주사 후 일 수	혈청 Ab (µg/mL)			
	대조 (hIgG4) (10 mg/kg)		H4H1276S (10 mg/kg)	
	평균	SEM	평균	SEM
1	89.98	16.70	115.29	19.75
4	67.18	2.38	86.61	5.32
7	58.52	2.00	39.85	6.91
12	43.26	1.76	3.18	2.64

[0176]

[0177] 실시 예 9. H4H1276S가 고지혈증 *Ldlr*<sup>-/-</sup> 마우스의 혈청 지질 수준에 미치는 체내 효과

[0178] 항-hANGPTL3 항체 H4H1276S가 혈청 지질 수준에 미치는 효과가 *Ldlr*<sup>-/-</sup> 마우스에서 측정되었다. 이들 마우스는 LDL 흡수의 주요 수용체인 LDLR의 결여로 인하여 혈중 LDL 형태로 발견되는 고지혈증을 보인다

[0179] 마우스를 실험 7일 전에 채혈하였고 6마리의 마우스군으로 나누었다. 항체인 H4H1276S 및 동형 대응(hIgG4) 음성 컨트롤이 본 연구의 제0일에 피하 주사로 10 mg/kg의 용량으로 투여되었다. 마우스를 항체 주사 후 제 1, 4, 7 및 11일에 4시간 굶긴 후 채혈을 하고, ADVIA® 1800 Chemistry System (Siemens) 임상화학 분석기를 사용하여 혈청 내 혈청 지질 수준(트리글리세리드, 총 콜레스테롤, 비-HDL 콜레스테롤, LDL 콜레스테롤 및 HDL 콜레스테롤)을 측정하였다. 각 항체의 각 시점에 대한 평균값이 계산되었다. 혈청 지질 농도(트리글리세리드, 총, 비-HDL, LDL 및 HDL)의 (평균 ± SEM)으로 표현된 결과값이 각각 표 27-31에 나와 있다. (대조군 = 동형-대응 대조 항체를 투여 받은 마우스).

표 27

혈청 트리글리세리드 (mg/dL)

주사 후 일 수	항체			
	대조군 (10mg/kg)		H4H1276S (10mg/kg)	
	평균	SEM	평균	SEM
- 7	114.50	11.08	110.83	6.89
1	131.50	6.18	74.17	3.30
4	112.67	8.94	68.00	3.91
7	136.67	11.55	92.67	12.16
11	142.33	7.10	95.83	8.67

[0180]

표 28

총 (mg/dL)

주사 후 일 수	항체			
	대조군 (10mg/kg)		H4H1726S (10mg/kg)	
	평균	SEM	평균	SEM
- 7	237.95	7.33	236.99	5.68
1	241.97	10.58	206.98	9.68
4	229.88	7.61	172.96	4.49
7	234.74	10.49	176.28	7.47
11	251.87	18.82	201.73	10.12

[0181]

표 29

비-HDL (mg/dL)

주사 후 일 수	항체			
	대조군 (10mg/kg)		H4H1726S (10mg/kg)	
	평균	SEM	평균	SEM
- 7	180.81	7.47	182.79	5.93
1	184.35	10.22	155.93	8.74
4	175.13	7.26	130.79	4.66
7	174.84	9.26	126.56	6.63
11	190.00	17.07	145.43	7.34

[0182]

표 30

LDL (mg/dL)

주사 후 일 수	항체			
	대조군 (10mg/kg)		H4H1726S (10mg/kg)	
	평균	SEM	평균	SEM
- 7	62.75	2.18	62.75	1.81
1	63.25	2.40	53.82	4.09
4	60.97	3.14	49.65	2.72
7	59.52	2.99	46.05	2.13
11	63.23	3.07	54.28	1.67

[0183]

표 31

HDL (mg/dL)

주사 후 일 수	항체			
	대조군 (10mg/kg)		H4H1726S (10mg/kg)	
	평균	SEM	평균	SEM
- 7	57.13	1.56	54.20	1.89
1	57.62	0.88	51.05	0.98
4	54.75	2.23	42.17	1.89
7	59.90	2.51	49.72	2.35
11	61.87	2.48	56.30	3.43

[0184]

[0185] 표 27-31에 보이는 바와 같이, *Ldlr*<sup>-/-</sup> 마우스에 H4H1726S를 투여한 결과 혈장 트리글리세리드가 유의하게 감소하여 관찰된 최대 감소율이 44%(평균값에 근거하여)였다. 총, 비-HDL 및 HDL LDL (최대 23%)가 H4H1726S-처리 피험체에서 관찰되었다. LDL 흡수(LDLR)를 위한 주요 수용체가 결핍된 마우스에서 LDL ANGPTL3 억제에 의한 LDL 감소에 대한 LDLR-무관 기작을 시사한다.

[0186] 혈중 H4H1726S (혈청 Ab)의 수준 또한 표준 ELISA 분석법을 사용하여 측정하였다. 간략히 설명하면, 혈청 Ab를 포획하기 위해 플레이트를 염소 항-사람 Fc 항체(Sigma-Aldrich)로 코팅하였다. 그 다음 혈청을 플레이트에 첨가하고 포획된 항체를 양고추냉이 과산화효소(HRP) 접합 염소 항-사람 IgG 항체(Sigma-Aldrich)를 사용하여 화학발광검사로 검출하였다. (평균 ± SEM)로 표시된 결과값이 표 32에 나와있다 (대조군: 동형 대응 대조 항체를 투여 받은 마우스).

표 32

혈청 Ab (µg/mL)

주사 후 일	항체			
	대조 (10mg/kg)		H4H1726S (10mg/kg)	
	평균	SEM	평균	SEM
1	44.59	1.95	58.79	5.95
4	42.28	6.12	47.21	10.24
7	41.76	3.87	28.88	5.97
11	37.25	6.85	21.02	4.86

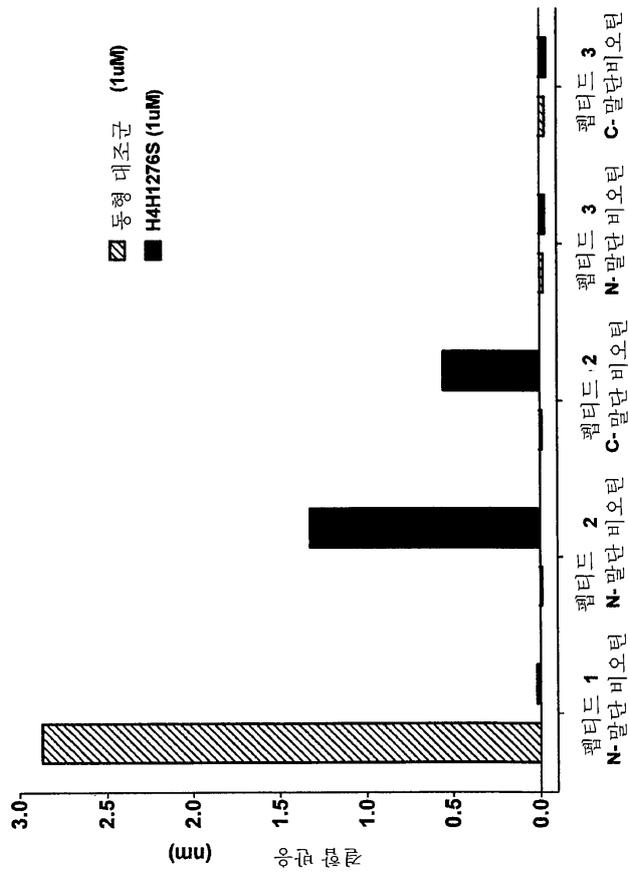
[0187]

[0188] 표 32에 보이는 바와 같이, 10 mg/kg의 항체를 마우스에게 주사한 후 제11일에 H4H1726S의 혈청 수준은 약 21 µg/mL로 감소하였다.

[0189] 본 발명의 범위는 본 명세서에 설명된 특정 구현의 예에 한정되지 않는다. 실로, 당 업계의 전문가라면 상기의 설명 및 첨부 도면으로부터 본 명세서에 설명된 실시 예에 이외에도 본 발명의 다양한 변형이 가능함을 알 수 있을 것이다. 이러한 발명의 변형은 부속 청구항의 범위 내에 속하게 된다.



도면2



서열 목록

SEQUENCE LISTING

<110> REGENERON PHARMACEUTICALS, INC

<120> ANTI-ANGPTL3 ANTIBODIES AND USES THEREOF

<130> 6500A-WO

<150> US 61/498,518

<151> 2011-06-17

<150> US 61/578,309

<151> 2011-12-21

<160> 194

<170> Kopatent In 1.71

<210> 1

<211> 369

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 1

caggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60  
 tcctgtgcag ccctctggatt caccttcagt agttatggca tgcactgggt cgccaggct 120  
  
 ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcagtt atatcatatg atggaagtaa taaatactat 180  
 gcagactccg tgaagggccg attcaccatt tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240  
 ctgcaaatga acagcctgag agctgaggac acggctgtgt attactgtgc gaaagtggga 300  
 gctactactt tctactacta ctacggtatg gacgtctggg gccaaaggac cacggtcacc 360  
 gtctcctca 369

<210> 2

<211> 123

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 2

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	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	Lys	Val	Gly
Ala	Thr	Thr	Phe
Tyr	Tyr	Tyr	Tyr
Tyr	Gly	Met	Asp
Val	100	105	110
Trp	Gly	Gln	Gly
Thr	Thr	Val	Thr
Val	Ser	Ser	
115	120		

<210> 3

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 3

ggattcacct tcagtagtta tggc

24

<210> 4

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 4

Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Gly

1

5

<210> 5

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 5

atatcatatg atggaagtaa taaa

24

<210> 6

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 6

Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys

1 5

<210> 7

<211> 48

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 7

gcgaaagtgg gagctactac tttctactac tactacggta tggacgtc 48

<210> 8

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 8

Ala Lys Val Gly Ala Thr Thr Phe Tyr Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp Val

1 5 10 15

<210> 9

<211> 321

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 9

gacatccaga tgaccacgtc tccatcttcc gtgtctgcat ttgtaggaga cagagtcacc 60

atcacttgtc gggcgagtca ggggtattagc agctggtttag cctggtatca gcagaaacca 120

gggaaagccc ctaagctcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180

aggttcagcg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag cctgcagcct 240

gaagattttg caacttacta ttgtcaaaag gctaacagtt tccattcac tttcggcct 300

gggaccaaag tggatatcaa a 321

<210> 10

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 10

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

1                    5                    10                    15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly 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 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 Lys Ala Asn Ser Phe Pro Phe

85                    90                    95

Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100                    105

<210> 11

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 11

cagggtatta gcagctgg

18

<210> 12

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 12

Gln Gly Ile Ser Ser Trp

1 5

<210> 13

<211> 9

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 13

gctgcatcc

9

<210> 14

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 14

Ala Ala Ser

1

<210> 15

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

>

<223> Synthetic

<400> 15

caaaaggcta acagtttccc attcact

27

<210> 16

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 16

Gln Lys Ala Asn Ser Phe Pro Phe Thr

1 5

<210> 17

<211> 369

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 17

caggtgcagc tggctggagtc tgggggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60  
tcctgtgcag cctctggatt caccttcagt agctatggca tgcaactgggt ccgccaggt 120

ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcagtt atatcaatg atggaagtaa taaatactat 180  
gtagattccg tgaagggccg attcaccatg ggcagagaca attccaagaa cacgctgtat 240  
ctccaaatga acagcctgag agttgaggac acggctgtgt attactgtgc gaaagggct 300  
ggaactcttt actactacta ctacggtatg gacgtctggg gccaaaggac cacggtcacc 360  
gtctctctca 369

<210> 18

<211> 123

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 18

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 Asn Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Val Asp Ser Val

50 55 60



<210> 22

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400>

> 22

Ile Ser Asn Asp Gly Ser Asn Lys

1                    5

<210> 23

<211> 48

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 23

gcgaaagggg ctggaactct ttactactac tactacggta tggacgtc                    48

<210> 24

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 24

Ala Lys Gly Ala Gly Thr Leu Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp Val

1                    5                    10                    15

<210> 25

<211> 321

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 25

gacatccaga tgaccagtc tccttcacc ctgtctgcat ctgtaggaaa cagagtcacc 60  
 atcacttgcc gggccagtc aagtattagt agctggttg cctggtatca acaaaaacca 120  
 gggaaagccc ctaagttcct gatctataag gcgtctagtt tagaaagtgg ggtcccatca 180  
 aggttcagcg gcagtggatc tgggacagaa ttactctca ccatcaccag cctgcagcct 240  
 gatgatattg caacttatta ctgccaacag tacaatattt attcgtggac gttcggccaa 300  
 gggaccaagg tggaaatcaa a 321

<210> 26

<211>

107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 26

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly  
 1 5 10 15

Asn 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 Phe Leu Ile  
 35 40 45

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

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Thr Ser Leu Gln Pro  
 65 70 75 80

Asp Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Ile Tyr Ser Trp  
 85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 27

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 27

caaagtatta gtagctgg

18

<210> 28

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 28

Gln Ser Ile Ser Ser Trp

1                    5

<210> 29

<211> 9

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 29

aaggcgtct

9

<210> 30

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 30

Lys Ala Ser

1

<210> 31

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 31

caacagtaca atatttattc gtggacg

27

<210> 32

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 32

Gln Gln Tyr Asn Ile Tyr Ser Trp Thr

1                    5

<210> 33

<211> 372

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 33

caggtgcagc tggtaggagtc tgggggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctctggatt caccttcagt acctatggca tgcactgggt ccgccaggct 120

ccaggcaagg ggctggagtg gatggcagtt atatcatttg atagaggtaa taaatactat 180

gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cagcgtgat 240

ctgcaaatga acagcctgag agctgaggac acggctgtgt attactgtgc gaaagggggg 300

ggttcgggga ctttctacta ctactacggt atggacgtct ggggccaagg gaccacggtc 360

accgtctcct ca 372

<210> 34

<211> 124

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 34

Gln Val Gln Leu Val Gln 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 Thr Tyr  
                   20                    25                    30  
 Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met  
                   35                    40                    45  
 Ala Val Ile Ser Phe Asp Arg Gly 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 Gly Gly Gly Ser Gly Thr Phe Tyr Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp  
                   100                    105                    110  
 Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser  
                   115                    120

<210> 35

<211

> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 35

ggattcacct tcagtaccta tggc

24

<210> 36

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 36

Gly Phe Thr Phe Ser Thr Tyr Gly



1 5 10 15

Val

<210> 41

<211> 324

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 41

gacatccaga tgaccagtc tccatcttcc gtgtctgcat ctgtaggaaa cagagtcacc 60  
 atcacttgtc gggcgagtca gggatttagc agctggtag cctggtatca ccagaaacca 120  
 gggaaagtcc ctaaggtcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180  
 agtttcagcg gcagtggatc tgggacagat ttactctca ccatcagcag cctgcagcct 240  
 gaagattttg caacttacta ttgtcaacag gctaacagtt tcccattcac ttcggccct 300  
 gggaccaaag tggatatcaa acga 324

<210> 42

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 42

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



<220>

<223> Synthetic

<400> 46

Ala Ala Ser

1

<210> 47

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 47

caacaggcta acagtttccc attcact

27

<210> 48

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 48

Gln Gln Ala Asn Ser Phe Pro Phe Thr

1

5

<210> 49

<211> 375

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 49

caggtacagc tgcagcagtc aggtccagga ctggtgaaac cctcgcagac cctctcactc 60

acctgtgcc a tctccgggga cagtgtctct agcaacagtc ctgcttgaa ctggatcagg 120

cagtcccat cgagaggcct tgagtggctg ggaaggacat actacagtc caagtgtat 180

aatgattatg cagtgtctgt gagaggtcga ataaccatca acccagacac atccaataac 240

cagttctccc tacatctgaa ctctgtgact cccgaggaca cggcgatgta ttactgtgca 300  
 agagacaagg gtctaacagc tcgtccgacc tactttgact actggggcca gggaaccctg 360  
 gtcaccgtct cctca 375

<210> 50

<211> 125

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 50

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

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

<210> 51

<211> 30

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 51  
 ggggacagtg tctctagcaa cagtcctgct 30  
 <210> 52  
 <211> 10  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence  
 <220>  
 <223> Synthetic  
 <400> 52  
 Gly Asp Ser Val Ser Ser Asn Ser Pro Ala  
 1 5 10  
 <210> 53  
 <211> 27  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220>  
 <223> Synthetic  
 <400> 53  
 acatactaca ggtccaagtg gtataat 27  
 <210> 54  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence  
 <220>  
 <223> Synthetic  
 <400> 54  
 Thr Tyr Tyr Arg Ser Lys Trp Tyr Asn  
 1 5  
 <210> 55  
 <211> 45  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220>  
 <223> Synthetic

<400> 55

gcaagagaca aggttctaac agctcgtccg acctactttg actac 45

<210> 56

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 56

Ala Arg Asp Lys Gly Leu Thr Ala Arg Pro Thr Tyr Phe Asp Tyr

1 5 10 15

<210> 57

<211> 326

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 57

gacatccaga tgaccagtc tccttcacc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60  
 atcacttgcc gggccagtc agtattaat tactggttgg cctggtatca gcagaaacca 120  
 gggaaagccc ctaagccct tatctataag gcgtctagtt tagaaagtgg ggtcccatca 180  
 aggttcagcg gcagtggatc tgggacagag ttcactctca ccatcagcag cctgcagcct 240  
 gacgatttta caacttatta ctgccaacag tataatagtt attctccgac gttcggccaa 300  
 gggaccaagg tggaaatcaa acgaac 326

<210> 58

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 58

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 Asn Tyr Trp  
 20 25 30  
 Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Pro Leu Ile  
 35 40 45  
 Tyr Lys Ala Ser Ser Leu Glu 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  
 Asp Asp Phe Thr Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Ser Pro  
 85 90 95  
 Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg  
 100 105

<210> 59

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 59

cagagtatta attactgg

18

<210> 60

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 60

Gln Ser Ile Asn Tyr Trp

1 5

<210> 61

<211> 9

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 61

aaggcgtct

9

<210> 62

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 62

Lys Ala Ser

1

<210> 63

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 63

caacagtata atagttattc tccgacg

27

<210> 64

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 64

Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Ser Pro Thr

1

5

<210> 65

<211> 378

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 65

gaggtgcagc tggtagtc tggggaggc gtgatacagc ctgggggtc cctgagactc 60

tctgtgcag cctctggatt caccttcgat gattatgcca tgaactgggt cgtcaaggt 120

ccaggaagg gtctggagt ggtctctgcc ataagtgggt atggcggtag cacatactat 180

gcagactcgg tgaaggccg attcaccatc tccagagaca acagcaaaaa ctccctgtat 240

ctgcaaatga acagtctgag agctgaggac accgcctttt tttactgtgc aaaagatctc 300

cgtaatacga tttttggagt ggttattccc gatgcttttg atatctgggg ccaagggaca 360

atggtcaccg tctcttca 378

<210> 66

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 66

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Ser Ala Ile Ser Gly Asp 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 Phe Phe Tyr Cys

85 90 95

Ala Lys Asp Leu Arg Asn Thr Ile Phe Gly Val Val Ile Pro Asp Ala

100 105 110

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

115	120	125	
<210> 67			
<211> 24			
<212> DNA			
<213> Artificial Sequence			
<220>			
<223> Synthetic			
<400> 67			
ggattcacct tcgatgatta tgcc			24
<210> 68			
<211> 8			
<212> PRT			
<213> Artificial Sequence			
<220>			
<223> Synthetic			
<400> 68			
Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr Ala			
1                    5			
<210> 69			
<211> 24			
<212> DNA			
<213> Artificial Sequence			
<220>			
<223> Synthetic			
<400> 69			
ataagtggatg atggcggtag caca			24
<210>			
> 70			
<211> 8			
<212> PRT			
<213> Artificial Sequence			
<220>			
<223> Synthetic			
<400> 70			

Ile Ser Gly Asp Gly Gly Ser Thr

1 5

<210> 71

<211> 57

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 71

gcaaaagatc tccgtaatac gatttttggg gtggttattc ccgatgcttt tgatatac 57

<210> 72

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 72

Ala Lys Asp Leu Arg Asn Thr Ile Phe Gly Val Val Ile Pro Asp Ala

1 5 10 15

Phe Asp Ile

<210> 73

<211> 324

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 73

gacatccaga tgaccagtc tccttccacc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60

atcacttgcc gggccagtc gagcattagg agctggttgg cctggtatca gcagaaacca 120

gggaaagccc ctaaactcct gatctataag gcgtctagtt tagaaagtgg ggtcccatca 180

aggttcagcg gcagtggatc tgggacagaa ttactctca ccatcagcag cctgcagcct 240

gatgattttg caacttatta ctgccaacaa tataatagtt attcgtacac ttttgccag 300

gggaccaagc tggagatcaa acga

324

<210> 74

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 74

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 Arg 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 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

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 Arg

100                    105

<210> 75

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 75

cagagcatta ggagctgg

18

<210> 76

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 76

Gln Ser Ile Arg Ser Trp

1                    5

<210> 77

<211> 9

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 77

aaggcgtct

9

<210> 78

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 78

Lys Ala Ser

1

<210> 79

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 79

caacaatata atagttattc gtacact

27

<210> 80

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 80

Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Ser Tyr Thr

1                    5

<210> 81

<211> 354

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 81

caggtgcagc tggtagagtc ggggggaggc ttggtcaagc ctggagggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctctggatt cactttcagt gactactaca tgagctggat ccgtcaggct 120

ccagggaagg ggctggagtg ggtttcatac attggtagta gtggtgtcaa catgtactac 180

gcagactctg tgaagggccg attcaccatc tccagggaca acgccaagaa tcattatat 240

ctggaaatga acagcctgag agccgaggac acggctgttt attactgtgc gagagactct 300

tcccaactgg gttttgacta ctggggccag ggaacctgg tcaccgtctc ctca        354

<210> 82

<211> 118

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 82

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 Val

35                    40                    45

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

85 90 95

Ala Arg Asp Ser Ser Gln Leu Gly Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr

100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 83

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 83

ggattcactt tcagtgacta ctac

24

<210> 84

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 84

Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr Tyr

1 5

<210> 85

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 85  
attgtagta gtggtgtcaa catg 24  
<210> 86  
<211> 8  
<212> PRT  
<213> Artificial Sequence  
<220>  
<223> Synthetic  
<400> 86  
Ile Gly Ser Ser Gly Val Asn Met  
1 5  
<210> 87  
<211> 33  
<212> DNA  
<213> Artificial Sequence  
<220>  
<223> Synthetic  
<400> 87  
gcgagagact cttcccaact gggttttgac tac 33  
<210> 88  
<211> 11  
<212> PRT  
<213> Artificial Sequence  
<220>  
<223> Synthetic  
<400> 88  
Ala Arg Asp Ser Ser Gln Leu Gly Phe Asp Tyr  
1 5 10  
<210> 89  
<211> 324  
<212> DNA  
<213> Artificial Sequence  
<220>  
<223> Synthetic

<400> 89

gacatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60

atcacttgcc ggacaagtca gaatattatc aactttttaa attggtatca acagaaacct 120

gggaaggccc ctaaactcct gatctatact acttccactt taaaaagg ggtcccatca 180

aggttcagtg gcagtggatc tgggacagat ttcactctct ccatcaatag tctacaacct 240

gaagattttg caacttactt ctgtcaacag acttacagta atccactcac tttcggcgga 300

gggaccaagg tggagatcaa acga 324

<210> 90

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<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 Thr Ser Gln Asn Ile Ile Asn Phe

20 25 30  
Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45  
Tyr Thr Thr Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60  
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Ser Ile Asn Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80  
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Thr Tyr Ser Asn Pro Leu

85 90 95  
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg

100 105

<210> 91

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>  
 <223> Synthetic  
 <400> 91  
 cagaatatta tcaacttt 18  
 <210> 92  
 <211> 6  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence

<220>  
 <223> Synthetic  
 <400> 92  
 Gln Asn Ile Ile Asn Phe  
 1 5  
 <210> 93  
 <211> 9  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence

<220>  
 <223> Synthetic  
 <400> 93  
 actacttcc 9  
 <210> 94  
 <211> 3  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence

<220>  
 <223> Synthetic  
 <400> 94  
 Thr Thr Ser  
 1  
 <210> 95  
 <211> 27  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 95

caacagactt acagtaatcc actcact

27

<210> 96

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 96

Gln Gln Thr Tyr Ser Asn Pro Leu Thr

1 5

<210> 97

<211> 360

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 97

gaggatgcagc tggatgcagtc tgggggaggc gtggatccagc ctgggaggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cgtctggatt caccttcagt aattatggca tgcactgggt ccgccaggct 120

ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcagtt gtttggatg atggagataa taaatactat 180

gcagactccg tgaagggccg attcacatc tccagagaca attccaagaa cagcgtgtat 240

ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggctgtgt attactgtgc gagagatatt 300

atcacatctc gcccgacttt ggactactgg ggccagggaa ccctgggtcac tgtctcctca 360

<210> 98

<211> 120

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 98

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

                  100                    105                    110  
 Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser  
                   115                    120

<210> 99  
 <211> 24  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence

<220>  
 <223> Synthetic

<400> 99  
 ggattcacct tcagtaatta tggc 24

<210> 100  
 <211> 8  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence

<220>  
 <223> Synthetic

<400> 100  
 Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr Gly

1                    5

<210> 101

<211> 24

<212> DNA

<213>

> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 101

gtttggtatg atggagataa taaa 24

<210> 102

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 102

Val Trp Tyr Asp Gly Asp Asn Lys

1 5

<210> 103

<211> 39

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 103

gcgagagata ttatcacatc tcgcccgaact ttggactac 39

<210> 104

<211> 13

<212> PRT

<

> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 104

Ala Arg Asp Ile Ile Thr Ser Arg Pro Thr Leu Asp Tyr



85

90

95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg

100

105

<210> 107

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 107

cagggcatta acagttat

18

<210> 108

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 108

Gln Gly Ile Asn Ser Tyr

1

5

<210> 109

<211> 9

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 109

cctgcatcc

9

<210> 110

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 110

Pro Ala Ser

1

<210> 111

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 111

caacagctta atagttacc gctcact

27

<210> 112

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 112

Gln Gln Leu Asn Ser Tyr Pro Leu Thr

1

5

<210> 113

<211> 354

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 113

caggtgcagc tggtaggagtc ggggggagc ttggtcaagc ctggagggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctctggatt caccttcagt gactactaca tgagctggat cgccaggct 120

ccaggaagg ggctggagtg ggtttcatac attagtagta gtggtagtac catatactac 180

gcagactctg tgaagggccg attcaccata tccagggaca acgccaagaa ctcactgtat 240

ctgcaaatga acagcctgag agccaggac acggccgtgt attactgtgc gagagattct 300

tccaactgg gttttgacta ctggggccag ggaaccctgg tcaccgtctc ctca 354

<210> 114

<211> 118

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 114

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 Val

35 40 45

Ser Tyr Ile Ser Ser Ser Gly Ser Thr Ile Tyr 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 Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Asp Ser Ser Gln Leu Gly Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr

100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 115

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 115

ggattcacct tcagtgacta ctac

24

<210> 116

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 116

Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr Tyr

1                    5

<210> 117

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 117

attagtagta gtgtagtac cata

24

<210> 118

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 118

Ile Ser Ser Ser Gly Ser Thr Ile

1                    5

<210> 119

<211> 33

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 119

gcgagagatt cttccaact gggttttgac tac

33

<210> 120

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 120

Ala Arg Asp Ser Ser Gln Leu Gly Phe Asp Tyr

1 5 10

<210> 121

<211> 324

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 121

gacatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60  
 atcacttgcc gggcaagtc gagcattatc agctttttaa attggtatca gcagaaacca 120  
 gggaaggccc ctaagctcct gatctatact gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180  
 aggttcagtg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag tetacaacct 240  
 gaagattttg caacttacta ctgtcaacag acttacagta atccgctcac tttcggcgga 300  
 gggaccaagg tggaaatcaa acga 324

<210> 122

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 122

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 Ile Ser Phe

20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile  
 35 40 45  
 Tyr Thr 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 Thr Tyr Ser Asn Pro Leu  
 85 90 95  
 Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg  
 100 105

<210> 123  
 <211> 18  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220>  
 <223> Synthetic

<400> 123  
 cagagcatta tcagcttt 18

<210> 124  
 <211> 6  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence  
 <220>  
 <223> Synthetic

<400> 124  
 Gln Ser Ile Ile Ser Phe  
 1 5

<210> 125  
 <211> 9  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220>  
 <223> Synthetic

<400> 125

actgcatcc

9

<210> 126

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 126

Thr Ala Ser

1

<210> 127

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 127

caacagactt acagtaatcc gctcact

27

<210> 128

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 128

Gln Gln Thr Tyr Ser Asn Pro Leu Thr

1

5

<210> 129

<211> 342

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 129

caggtgcagc tggtagctc tggacctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgagggtc 60

tcctgtaagg ctctcgggta ccttagtgac ttattatca cctgggtgcg acagggccct 120

ggacaagggc ttgagtggat gggatggatc agcacttaca gtggtgacac agactctgca 180

ccgaagtcc agggcagagt caccatgacc acagacacat ccacgactac agtcttcttg 240

gaactgagga gcctgagatc tgacgacacg gccgtgtatt attgtgagag agggcggtg 300

tttgactact ggggccaggg aaccctggtc accgtctcct ca 342

<210> 130

<211> 114

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 130

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

1 5 10 15  
Ser Val Arg Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Leu Ser Asp Phe Ile

20 25 30  
Ile Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met Gly

35 40 45  
Trp Ile Ser Thr Tyr Ser Gly Asp Thr Asp Ser Ala Pro Lys Phe Gln

50 55 60  
Gly Arg Val Thr Met Thr Thr Asp Thr Ser Thr Thr Thr Val Phe Leu

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

85 90 95  
Arg Gly Arg Leu Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val

100 105 110  
Ser Ser

<210> 131

<211> 21

<212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220>  
 <223> Synthetic  
 <400> 131  
 ggttacctta gtgactttat t 21

<210> 132  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence  
 <220>  
 <223> Synthetic  
 <400> 132  
 Gly Tyr Leu Ser Asp Phe Ile  
 1 5  
 <210> 133  
 <211> 24  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220>  
 <223> Synthetic  
 <400> 133  
 atcagcactt acagtggatga caca 24

<210> 134  
 <211> 8  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence  
 <220>  
 <223> Synthetic  
 <400> 134  
 Ile Ser Thr Tyr Ser Gly Asp Thr  
 1 5  
 <210> 135

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 135

gcgagagggc ggctgttga ctac

24

<210> 136

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 136

Ala Arg Gly Arg Leu Phe Asp Tyr

1                    5

<210> 137

<211> 339

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 137

gatgttgtga tgactcagtc tccactctcc ctgccgtca cccttggaca gccggcctcc 60

atctcctgca ggtctagtc aagcctcgta tacagtgatg gaaacaccta ctgaattgg 120

tttcaacaga ggccaggcca atctccaagg cgctaattt ataaggttc taaccgggac 180

tctgggtcc cagacagatt cagcggcagt gggtcaggca ctgatttcac actgaaaac 240

agcagggtgg aggctgagga tgttgggtt tattactgca tgcaaggtag aactggccg 300

tacacttttg gccaggggac caagctggag atcaaacga 339

<210> 138

<211> 113

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 138

Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Leu Gly  
 1                    5                    10                    15

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val Tyr Ser  
                   20                    25                    30

Asp Gly Asn Thr Tyr Leu Asn Trp Phe Gln Gln Arg Pro Gly Gln Ser  
                   35                    40                    45

Pro Arg Arg Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Asp 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 Gly  
                   85                    90                    95

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

Arg

<210> 139

<211> 33

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 139

caaagcctcg tatacagtga tggaaacacc tac 33

<210> 140

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 140

Gln Ser Leu Val Tyr Ser Asp Gly Asn Thr Tyr

1                    5                    10

<210> 141

<211> 9

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 141

aaggtttct

9

<210> 142

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 142

Lys Val Ser

1

<210> 143

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 143

atgcaaggta cacactggcc gtacact

27

<210> 144

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 144

Met Gln Gly Thr His Trp Pro Tyr Thr

1 5

<210> 145

<211> 354

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 145

caggtgcagc tggtaggagtc tgggggagtc tgggtcaagc ctggagggtc cctgcgactc 60  
 tcctgtgcag cctctggatt caccttcagt gactactaca tgagctggat cgcgccaggcg 120  
 ccaggaagg gactggagtg ggtttcgtac attggtagta gtggtactaa tgactactac 180

gcagactctg tgaagggccg attcaccatc tccagggaca acgccaagaa ctcaactgtat 240  
 ctccaatgg acagcctgag agccgaggac acggccgtct attactgtgc gagagattct 300  
 tcccaatgg gttttgacta ctggggccag ggaaccctgg tcactgtctc ctca 354

<210> 146

<211> 118

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 146

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

35 40 45

Ser Tyr Ile Gly Ser Ser Gly Thr Asn Asp Tyr 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 Asp Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85

90

95

Ala Arg Asp Ser Ser Gln Met Gly Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr

100

105

110

Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 147

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 147

ggattcacct tcagtgacta ctac

24

<210> 148

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 148

Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr Tyr

1

5

<210> 149

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 149

attgtagta gtggtactaa tgac

24

<210> 150

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 150

Ile Gly Ser Ser Gly Thr Asn Asp

1                      5

<210> 151

<211> 33

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 151

gcgagagatt cttcccaaat gggttttgac tac 33

<210> 152

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 152

Ala Arg Asp Ser Ser Gln Met Gly Phe Asp Tyr

1                      5                      10

<210> 153

<211> 324

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 153

gacatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgctt ctgtgggaga cagagtcacc 60

atcaactgcc gggcaagtc gaacattatc aactttttaa attggtatca gcagagacca 120

gggaaagccc ctcagctcct gatctatggt gcagccagct tgcagagtgg ggtcccatca 180  
 aggttcaactg gcagtggata tgggacagat ttactctca ccatcagcag tctgcaacct 240  
 gaggatttcg caacttacta ctgtcaacag acttacacta acccgctcac tttcggcgga 300  
 gggaccaagg tggagatcaa acga 324

<210> 154

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 154

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 Asn Ile Ile Asn Phe  
 20 25 30

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

Tyr Val Ala Ala Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Thr Gly  
 50 55 60

Ser Gly Tyr 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 Thr Tyr Thr Asn Pro Leu  
 85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg  
 100 105

<210> 155

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 155

cagaacatta tcaacttt

18

<210> 156

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 156

Gln Asn Ile Ile Asn Phe

1

5

<210> 157

<211> 9

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 157

gttgcagcc

9

<210> 158

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 158

Val Ala Ala

1

<210> 159

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 159

caacagactt acactaaccc gctcact

27

<210> 160

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 160

Gln Gln Thr Tyr Thr Asn Pro Leu Thr

1 5

<210> 161

<211> 460

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 161

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



aacaaacatt atattgaata ttctttttac ttgggaaatc acgaaaccaa ctatagccta 1080  
 catctagttg cgattactgg caatgtcccc aatgcaatcc cgaaaacaa agatttggtg 1140  
 ttttctactt gggatcacia agcaaaagga cacttcaact gtccagaggg ttattcagga 1200  
 ggctggtggt ggcgatgaga gtgtggagaa aacaacctaa atggtaaata taacaaacca 1260  
 agagcaaaat ctaagccaga gaggagaaga ggattatctt ggaagtctca aaatggaagg 1320  
 ttatactcta taaaatcaac caaaatggtg atccatccaa cagattcaga aagctttgaa 1380  
 tga 1383

<210> 163

<211> 455

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 163

Met His Thr Ile Lys Leu Phe Leu Phe Val Val Pro Leu Val Ile Ala

1 5 10 15  
 Ser Arg Val Asp Pro Asp Leu Ser Ser Phe Asp Ser Ala Pro Ser 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 Arg Thr Asn Glu Ile Lys Glu Glu Glu  
 85 90 95  
 Lys Glu Leu Arg Arg Thr Thr Ser Thr Leu Gln Val Lys Asn Glu Glu  
 100 105 110  
 Val Lys Asn Met Ser Val Glu Leu Asn Ser Lys Leu Glu Ser Leu Leu  
 115 120 125  
 Glu Glu Lys Thr Ala Leu Gln His Lys Val Arg Ala Leu Glu Glu Gln

130 135 140  
 Leu Thr Asn Leu Ile Leu Ser Pro Ala Gly Ala Gln Glu His Pro Glu

145                    150                    155                    160  
 Val Thr Ser Leu Lys Ser Phe Val Glu Gln Gln Asp Asn Ser Ile Arg  
    165                    170                    175  
 Glu Leu Leu Gln Ser Val Glu Glu Gln Tyr Lys Gln Leu Ser Gln Gln  
    180                    185                    190  
 His Met Gln Ile Lys Glu Ile Glu Lys Gln Leu Arg Lys Thr Gly Ile  
  
    195                    200                    205  
 Gln Glu Pro Ser Glu Asn Ser Leu Ser Ser Lys Ser Arg Ala Pro Arg  
    210                    215                    220  
 Thr Thr Pro Pro Leu Gln Leu Asn Glu Thr Glu Asn Thr Glu Gln Asp  
 225                    230                    235                    240  
 Asp Leu Pro Ala Asp Cys Ser Ala Val Tyr Asn Arg Gly Glu His Thr  
    245                    250                    255  
 Ser Gly Val Tyr Thr Ile Lys Pro Arg Asn Ser Gln Gly Phe Asn Val  
  
    260                    265                    270  
 Tyr Cys Asp Thr Gln Ser Gly Ser Pro Trp Thr Leu Ile Gln His Arg  
    275                    280                    285  
 Lys Asp Gly Ser Gln Asp Phe Asn Glu Thr Trp Glu Asn Tyr Glu Lys  
    290                    295                    300  
 Gly Phe Gly Arg Leu Asp Gly Glu Phe Trp Leu Gly Leu Glu Lys Ile  
 305                    310                    315                    320  
 Tyr Ala Ile Val Gln Gln Ser Asn Tyr Ile Leu Arg Leu Glu Leu Gln  
  
    325                    330                    335  
 Asp Trp Lys Asp Ser Lys His Tyr Val Glu Tyr Ser Phe His Leu Gly  
    340                    345                    350  
 Ser His Glu Thr Asn Tyr Thr Leu His Val Ala Glu Ile Ala Gly Asn  
    355                    360                    365  
 Ile Pro Gly Ala Leu Pro Glu His Thr Asp Leu Met Phe Ser Thr Trp  
    370                    375                    380  
 Asn His Arg Ala Lys Gly Gln Leu Tyr Cys Pro Glu Ser Tyr Ser Gly  
  
 385                    390                    395                    400

Gly Trp Trp Trp Asn Asp Ile Cys Gly Glu Asn Asn Leu Asn Gly Lys  
 405 410 415  
 Tyr Asn Lys Pro Arg Thr Lys Ser Arg Pro Glu Arg Arg Arg Gly Ile  
 420 425 430  
 Tyr Trp Arg Pro Gln Ser Arg Lys Leu Tyr Ala Ile Lys Ser Ser Lys  
 435 440 445  
 Met Met Leu Gln Pro Thr Thr  
 450 455

<210> 164

<211> 406

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 164

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  
    325                    330                    335  
 Arg Asp Lys Asn Cys Ala Lys Ser Leu Ser Gly Gly Trp Trp Phe Gly  
    340                    345                    350  
 Thr Cys Ser His Ser Asn Leu Asn Gly Gln Tyr Phe Arg Ser Ile Pro  
    355                    360                    365  
 Gln Gln Arg Gln Lys Leu Lys Lys Gly Ile Phe Trp Lys Thr Trp Arg  
  
    370                    375                    380  
 Gly Arg Tyr Tyr Pro Leu Gln Ala Thr Thr Met Leu Ile Gln Pro Met  
 385                    390                    395                    400

Ala Ala Glu Ala Ala Ser

405

<210> 165

<211> 386

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 165

Ser Arg Ile Asp Gln Asp Asn Ser Ser Phe Asp Ser Leu Ser Pro Glu

1                    5                    10                    15

Pro Lys Ser Arg Phe Ala Met Leu Asp Asp Val Lys Ile Leu Ala Asn

20                    25                    30

Gly Leu Leu Gln Leu Gly His Gly Leu Lys Asp Phe Val His Lys Thr

35                    40                    45

Lys Gly Gln Ile Asn Asp Ile Phe Gln Lys Leu Asn Ile Phe Asp Gln

50                    55                    60

Ser Phe Tyr Asp Leu Ser Leu Gln Thr Ser Glu Ile Lys Glu Glu Glu

65                    70                    75                    80

Lys Glu Leu Arg Arg Thr Thr Tyr Lys Leu Gln Val Lys Asn Glu Glu

85                    90                    95

Val Lys Asn Met Ser Leu Glu Leu Asn Ser Lys Leu Glu Ser Leu Leu

100                    105                    110

Glu Glu Lys Ile Leu Leu Gln Gln Lys Val Lys Tyr Leu Glu Glu Gln

115                    120                    125

Leu Thr Asn Leu Ile Gln Asn Gln Pro Glu Thr Pro Glu His Pro Glu

130                    135                    140

Val Thr Ser Leu Lys Thr Phe Val Glu Glu Pro Arg Gly Pro Thr Ile

145                    150                    155                    160

Lys Pro Cys Pro Pro Cys Lys Cys Pro Ala Pro Asn Leu Leu Gly Gly

165                    170                    175

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Lys Ile Lys Asp Val Leu Met Ile

180 185 190  
 Ser Leu Ser Pro Ile Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Glu Asp  
 195 200 205

Asp Pro Asp Val Gln Ile Ser Trp Phe Val Asn Asn Val Glu Val His

210 215 220  
 Thr Ala Gln Thr Gln Thr His Arg Glu Asp Tyr Asn Ser Thr Leu Arg  
 225 230 235 240

Val Val Ser Ala Leu Pro Ile Gln His Gln Asp Trp Met Ser Gly Lys  
 245 250 255

Glu Phe Lys Cys Lys Val Asn Asn Lys Asp Leu Pro Ala Pro Ile Glu  
 260 265 270

Arg Thr Ile Ser Lys Pro Lys Gly Ser Val Arg Ala Pro Gln Val Tyr

275 280 285  
 Val Leu Pro Pro Pro Glu Glu Glu Met Thr Lys Lys Gln Val Thr Leu  
 290 295 300

Thr Cys Met Val Thr Asp Phe Met Pro Glu Asp Ile Tyr Val Glu Trp  
 305 310 315 320

Thr Asn Asn Gly Lys Thr Glu Leu Asn Tyr Lys Asn Thr Glu Pro Val  
 325 330 335

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Tyr Phe Met Tyr Ser Lys Leu Arg Val Glu

340 345 350  
 Lys Lys Asn Trp Val Glu Arg Asn Ser Tyr Ser Cys Ser Val Val His  
 355 360 365

Glu Gly Leu His Asn His His Thr Thr Lys Ser Phe Ser Arg Thr Pro  
 370 375 380

Gly Lys

385

<210> 166

<211> 235

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 166

Gly Ala Pro Ser Arg Val Asp Pro Asp Leu Ser Ser Phe Asp Ser Ala

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

                  20                    25                    30  
Leu Ala Asn Gly Leu Leu Gln Leu Gly His Gly Leu Lys Asp Phe Val

                  35                    40                    45  
His Lys Thr Lys Gly Gln Ile Asn Asp Ile Phe Gln Lys Leu Asn Ile

                  50                    55                    60  
Phe Asp Gln Ser Phe Tyr Asp Leu Ser Leu Arg Thr Asn Glu Ile Lys

65                    70                    75                    80  
Glu Glu Glu Lys Glu Leu Arg Arg Thr Thr Ser Thr Leu Gln Val Lys

                  85                    90                    95  
Asn Glu Glu Val Lys Asn Met Ser Val Glu Leu Asn Ser Lys Leu Glu

                  100                    105                    110  
Ser Leu Leu Glu Glu Lys Thr Ala Leu Gln His Lys Val Arg Ala Leu

                  115                    120                    125  
Glu Glu Gln Leu Thr Asn Leu Ile Leu Ser Pro Ala Gly Ala Gln Glu

                  130                    135                    140  
His Pro Glu Val Thr Ser Leu Lys Ser Phe Val Glu Gln Gln Asp Asn

145                    150                    155                    160  
Ser Ile Arg Glu Leu Leu Gln Ser Val Glu Glu Gln Tyr Lys Gln Leu

                  165                    170                    175  
Ser Gln Gln His Met Gln Ile Lys Glu Ile Glu Lys Gln Leu Arg Lys

                  180                    185                    190  
Thr Gly Ile Gln Glu Pro Ser Glu Asn Ser Leu Ser Ser Lys Ser Arg

                  195                    200                    205  
Ala Pro Arg Thr Thr Pro Pro Leu Gln Leu Asn Glu Thr Glu Asn Thr

                  210                    215                    220  
Glu Gln Asp Ala Ser His His His His His His



<210> 168

<211> 33

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 168

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

<210> 169

<211> 33

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 169

Arg Phe Ala Met Leu Asp Asp Val Lys Ile Leu Ala Asn Gly Leu Leu

1 5 10 15

Gln Leu Gly His Gly Leu Lys Asp Phe Val His Lys Thr Lys Gly Gln

20 25 30

Ile

<210> 170

<211> 26

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 170

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> 171

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 171

Ala Gly Ser Ser Pro Gly Gly

1 5

<210> 172

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 172

Gly Gly Gly Gly Ser

1 5

<210> 173

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 173

Gly Pro Ser Ser Gly Ala Pro Pro Pro Lys

1 5 10

<210> 174

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 174

Gly Gly Gly Gly Ser Lys

1 5

<210> 175

<211> 455

<212> PRT

<213> Rattus norvegicus

<400> 175

Met His Thr Ile Lys Leu Leu Leu Phe Val Val Pro Leu Val Ile Ser

1 5 10 15

Ser Arg Val Asp Pro Asp Leu Ser Pro Phe Asp Ser Val Pro Ser 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

Cys Phe Tyr Asp Leu Ser Leu Gln Thr Asn Glu Ile Lys Glu Glu Glu

85 90 95

Lys Glu Leu Arg Arg Thr Thr Ser 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 Met Ala Leu Gln His Arg Val Arg Ala Leu Glu Glu Gln

130 135 140

Leu Thr Ser Leu Val Gln Asn Pro Pro Gly Ala Arg Glu His Pro Glu

145 150 155 160

Val Thr Ser Leu Lys Ser Phe Val Glu Gln Gln Asp Asn Ser Ile Arg

165 170 175  
 Glu Leu Leu Gln Ser Val Glu Glu Gln Tyr Lys Gln Leu Ser Gln Gln  
 180 185 190

His Ile Gln Ile Lys Glu Ile Glu Asn Gln Leu Arg Lys Thr Gly Ile  
 195 200 205

Gln Glu Pro Thr Glu Asn Ser Leu Tyr Ser Lys Pro Arg Ala Pro Arg  
 210 215 220

Thr Thr Pro Pro Leu His Leu Lys Glu Ala Lys Asn Ile Glu Gln Asp  
 225 230 235 240

Asp Leu Pro Ala Asp Cys Ser Ala Ile Tyr Asn Arg Gly Glu His Thr  
 245 250 255

Ser Gly Val Tyr Thr Ile Arg Pro Ser Ser Ser Gln Val Phe Asn Val  
 260 265 270

Tyr Cys Asp Thr Gln Ser Gly Thr Pro Arg Thr Leu Ile Gln His Arg  
 275 280 285

Lys Asp Gly Ser Gln Asn Phe Asn Gln Thr Trp Glu Asn Tyr Glu Lys  
 290 295 300

Gly Phe Gly Arg Leu Asp Gly Glu Phe Trp Leu Gly Leu Glu Lys Ile  
 305 310 315 320

Tyr Ala Ile Val Lys Gln Ser Asn Tyr Ile Leu Arg Leu Glu Leu Gln  
 325 330 335

Asp Trp Lys Asp Ser Lys His Tyr Ala Glu Tyr Ser Phe His Leu Gly  
 340 345 350

Asn His Glu Thr Asn Tyr Thr Leu His Val Ala Glu Ile Ala Ala Asn  
 355 360 365

Ile Pro Glu Ala Leu Pro Glu His Arg Asp Leu Met Phe Ser Thr Trp  
 370 375 380

Asp His Arg Ala Lys Gly Gln Leu Tyr Cys Pro Glu Ser Tyr Ser Gly  
 385 390 395 400

Gly Trp Trp Phe Ser Asp Met 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 Ile  
                   420                          425                          430  
 Ser Trp Arg Pro Arg Gly Gly Lys Leu Tyr Ser Ile Lys Ser Ser Lys  
                   435                          440                          445  
  
 Met Met Leu Gln Pro Thr Thr  
           450                          455  
 <210> 176  
 <211> 252  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence  
 <220>  
 <223> Synthetic  
 <400> 176  
 Ser Arg Val Asp Pro Asp Leu Ser Pro Phe Asp Ser Val Pro Ser Glu  
   1                  5                          10                          15  
 Pro Lys Ser Arg Phe Ala Met Leu Asp Asp Val Lys Ile Leu Ala Asn  
                   20                          25                          30  
 Gly Leu Leu Gln Leu Gly His Gly Leu Lys Asp Phe Val His Lys Thr  
                   35                          40                          45  
  
 Lys Gly Gln Ile Asn Asp Ile Phe Gln Lys Leu Asn Ile Phe Asp Gln  
           50                          55                          60  
 Cys Phe Tyr Asp Leu Ser Leu Gln Thr Asn Glu Ile Lys Glu Glu Glu  
   65                  70                          75                          80  
 Lys Glu Leu Arg Arg Thr Thr Ser Lys Leu Gln Val Lys Asn Glu Glu  
                   85                          90                          95  
 Val Lys Asn Met Ser Leu Glu Leu Asn Ser Lys Leu Glu Ser Leu Leu  
                   100                          105                          110  
  
 Glu Glu Lys Met Ala Leu Gln His Arg Val Arg Ala Leu Glu Glu Gln  
           115                          120                          125  
 Leu Thr Ser Leu Val Gln Asn Pro Pro Gly Ala Arg Glu His Pro Glu  
           130                          135                          140  
 Val Thr Ser Leu Lys Ser Phe Val Glu Gln Gln Asp Asn Ser Ile Arg

145                    150                    155                    160  
 Glu Leu Leu Gln Ser Val Glu Glu Gln Tyr Lys Gln Leu Ser Gln Gln  
                                  165                    170                    175

His Ile Gln Ile Lys Glu Ile Glu Asn Gln Leu Arg Lys Thr Gly Ile  
                                  180                    185                    190

Gln Glu Pro Thr Glu Asn Ser Leu Tyr Ser Lys Pro Arg Ala Pro Arg  
                                  195                    200                    205

Thr Thr Pro Pro Leu His Leu Lys Glu Ala Lys Asn Ile Glu Gln Asp  
                                  210                    215                    220

Glu Gln Lys Leu Ile Ser Glu Glu Asp Leu Gly Gly Glu Gln Lys Leu  
 225                    230                    235                    240

Ile Ser Glu Glu Asp Leu His His His His His His  
                                  245                    250

<210> 177

<211> 210

<212> PRT

<213> *Macaca fascicularis*

<400> 177

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 Val 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





Val Glu Lys Lys Asn Trp Val Glu Arg Asn Ser Tyr Ser Cys Ser Val  
 325 330 335

Val His Glu Gly Leu His Asn His His Thr Thr Lys Ser Phe Ser Arg  
 340 345 350

Thr Pro Gly Lys  
 355

<210> 179

<211> 363

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 179

gaggtgcagc ttttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctggggggtc cctgagactc 60  
 tcctgtgcag cctctggatt cacctttagc acctatgcca tgagctgggt cgccaggct 120  
 ccaggaagg ggctggaggg ggtctcaggt attagtggta ctggttatag aacatactac 180  
 gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa ctgctgtat 240

ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaagatcgg 300  
 ggcttactat ggttcgggga attaacctac tggggccagg gaaccctggt caccgtctcc 360  
 tca 363

<210> 180

<211> 121

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 180

Glu Val Gln Leu Leu 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 Gly Val

35 40 45  
 Ser Gly Ile Ser Gly Thr Gly Tyr Arg 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 Asp Arg Gly Leu Leu Trp Phe Gly Glu Leu Thr Tyr Trp Gly  
 100 105 110  
 Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser  
 115 120

<210> 181

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 181

ggattcacct ttagcaccta tgcc

24

<210> 182

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<

220>

<223> Synthetic

<400> 182

Gly Phe Thr Phe Ser Thr Tyr Ala

1

5

<210> 183

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic  
 <400> 183  
 attagtggta ctggttatag aaca 24  
 <210> 184  
 <211> 8  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence  
 <220>  
 <223> Synthetic  
 <400> 184  
 Ile Ser Gly Thr Gly Tyr Arg Thr  
 1 5  
 <210> 185  
 <211> 42  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220>  
 <223> Synthetic  
 <400> 185  
 gcgaaagatc ggggcttact atggttcggg gaattaaacct ac 42  
 <210> 186  
 <211> 14  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence  
 <220>  
 <223> Synthetic  
 <400> 186  
 Ala Lys Asp Arg Gly Leu Leu Trp Phe Gly Glu Leu Thr Tyr  
 1 5 10  
 <210> 187  
 <211> 318  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220>

<223> Synthetic

<400> 187

gacatccaga tgaccagtc tccttcacc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60  
 atcacttgcc gggccagtc gagtattaat aactggttg cctggtatca acagaaacca 120  
  
 gggaaggccc ctaacctcct gatctataag gcgtctagtt tagaaagtg ggtcccatca 180  
 aggttcagcg gcagtggatc tgggacagaa ttcactetca ccatcagcag cctgcagcct 240  
 gatgattttg caacttatta ctgccaacaa tataatgatt attggacgtt cggccaaggg 300  
 accaagtggtg aaatcaaa 318

<210> 188

<211> 106

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 188

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 Asn Asn Trp  
 20 25 30  
 Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Asn Leu Leu Ile  
 35 40 45  
 Tyr Lys Ala Ser Ser Leu Glu 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

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

<210> 189

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 189

cagagtatta ataactgg

18

<210> 190

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 190

Gln Ser Ile Asn Asn Trp

1

5

<210> 191

<211> 9

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 191

aaggcgtct

9

<210> 192

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 192

Lys Ala Ser

1

<210> 193

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 193

caacaatata atgattattg gacg

24

<210> 194

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 194

Gln Gln Tyr Asn Asp Tyr Trp Thr

1

5

**【심사관 직권보정사항】**

**【직권보정 1】**

**【보정항목】** 청구범위

**【보정세부항목】** 청구항 10

**【변경전】**

항체 단편

**【변경후】**

항체의 항원-결합 단편