



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公告本

(11)證書號數：TW I747098 B

(45)公告日：中華民國 110 (2021) 年 11 月 21 日

(21)申請案號：108145167 (22)申請日：中華民國 108 (2019) 年 12 月 10 日

(51)Int. Cl. : C07K16/22 (2006.01) A61P3/00 (2006.01)

(30)優先權：2018/12/21 美國 62/783,260
2018/12/21 美國 62/783,265

(71)申請人：美商美國禮來大藥廠(美國) ELI LILLY AND COMPANY (US)
美國

(72)發明人：柴清 CHAI, QING (CN)；戴 強納森 魏斯雷 DAY, JONATHAN WESLEY (US)；寇納德 羅伯 約翰 KONRAD, ROBERT JOHN (US)；錢 岳偉 QIAN, YUEWEI (US)；施羅德 奧利弗 SCHROEDER, OLIVER (DE)；希格爾 羅伯 威廉 SIEGEL, ROBERT WILLIAM (US)

(74)代理人：陳長文

(56)參考文獻：
US 7935796B2 US 20170291937A1

審查人員：王顥棟

申請專利範圍項數：項 圖式數： 共頁

(54)名稱

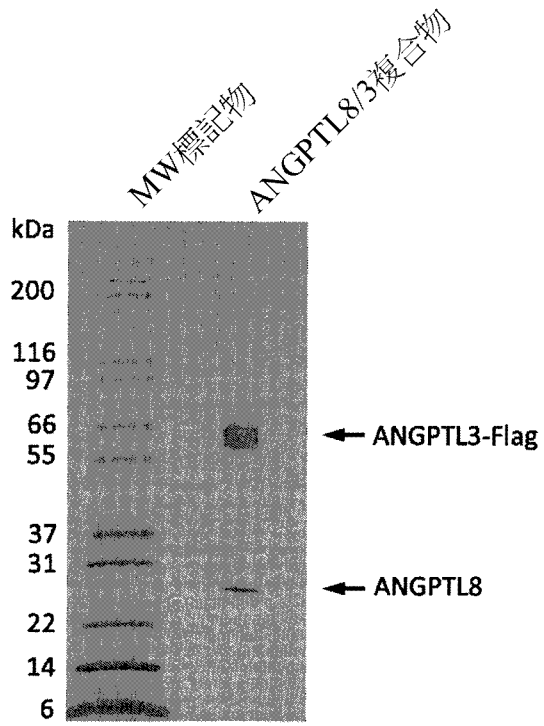
抗 ANGPTL3/8 複合物抗體及其使用方法

(57)摘要

本發明揭示血管生成素樣蛋白(ANGPTL) 3/8 複合物及抗體，其中該等抗體會與 ANGPTL3/8 複合物結合至且中和。亦揭示在醫藥學上可接受之載劑中包括一或多種本文抗 ANGPTL3/8 複合物抗體的醫藥組合物。亦揭示其製備及使用方法，尤其用於增強脂蛋白脂肪酶活性及降低三酸甘油酯。以此方式，化合物及組合物可用於治療脂質代謝相關及葡萄糖代謝相關的疾病及病症。

Angiopoietin-like protein (ANGPTL)3/8 complexes and antibodies are disclosed, where the antibodies bind to and thereby neutralize ANGPTL3/8 complexes. Pharmaceutical compositions also are disclosed that include one or more anti-ANGPTL3/8 complex antibodies herein in a pharmaceutically acceptable carrier. Methods of making and using the same also are disclosed, especially for increase lipoprotein lipase activity and lowering triglycerides. In this manner, the compounds and compositions may be used in treating lipid metabolism-related and glucose metabolism-related diseases and disorders.

指定代表圖：



4-20% TG TGX庫馬斯染色凝膠

【圖1】



I747098

【發明摘要】

【中文發明名稱】

抗ANGPTL3/8複合物抗體及其使用方法

【英文發明名稱】

ANTI-ANGPTL3/8 COMPLEX ANTIBODIES AND METHODS OF
USING THE SAME

【中文】

本發明揭示血管生成素樣蛋白(ANGPTL) 3/8複合物及抗體，其中該等抗體會與ANGPTL3/8複合物結合至且中和。亦揭示在醫藥學上可接受之載劑中包括一或多種本文抗ANGPTL3/8複合物抗體的醫藥組合物。亦揭示其製備及使用方法，尤其用於增強脂蛋白脂肪酶活性及降低三酸甘油酯。以此方式，化合物及組合物可用於治療脂質代謝相關及葡萄糖代謝相關的疾病及病症。

【英文】

Angiotensin-like protein (ANGPTL)3/8 complexes and antibodies are disclosed, where the antibodies bind to and thereby neutralize ANGPTL3/8 complexes. Pharmaceutical compositions also are disclosed that include one or more anti-ANGPTL3/8 complex antibodies herein in a pharmaceutically acceptable carrier. Methods of making and using the same also are disclosed, especially for increase lipoprotein lipase activity and lowering triglycerides. In this manner, the compounds and compositions may be used in treating lipid metabolism-related and glucose metabolism-related diseases and disorders.

【指定代表圖】

圖1

【代表圖之符號簡單說明】

無

【發明說明書】

【中文發明名稱】

抗ANGPTL3/8複合物抗體及其使用方法

【英文發明名稱】

ANTI-ANGPTL3/8 COMPLEX ANTIBODIES AND METHODS OF USING THE SAME

【技術領域】

【0001】 本發明大體上關於生物學及醫學，及更特定言之，其係關於結合至且從而中和人類血管生成素樣蛋白(ANGPTL) 3/8複合物之抗體(Ab)。此類Ab可增強脂蛋白脂肪酶(LPL)活性且從而降低血清三酸甘油酯(TG)，使得其可用於治療脂質代謝相關及葡萄糖代謝相關的疾病及病症。

【先前技術】

【0002】 ANGPTL為一種調節多種生理及病理生理過程之蛋白家族。本文尤其關注的為ANGPTL3及ANGPTL8在脂質及葡萄糖代謝中之作用。

【0003】 有證據支持ANGPTL3作為脂蛋白代謝之主要調節因子的作用，且其可藉由抑制LPL及抑制內皮脂肪酶(EL)來調節TG清除率。參見Chi等人(2017) *Mol. Metab.* 6:1137-1149。ANGPTL3缺乏、不活化或損失可導致低密度脂蛋白膽固醇(LDL-C)、高密度脂蛋白膽固醇(HDL-C)及TG含量較低。ANGPTL3亦可影響胰島素敏感性，從而起到不僅調變脂質代謝亦調變葡萄糖代謝的作用。參見Robciuc等人(2013) *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 33:1706-1713。已知人類ANGPTL3之核酸及胺基酸

序列。舉例而言，一個核酸序列可見於NCBI參考序列第NM_014495號 (SEQ ID NO: 1)及一個胺基酸序列可見於NCBI參考序列第NP_055310號 (SEQ ID NO: 2)。

【0004】 ANGPTL8高度表現於肝臟及脂肪組織中，及已報導其藉由與ANGPTL3複合且從而活化ANGPTL3來抑制LPL。參見Chi，見上文。人類ANGPTL8似乎藉由進食誘導。已知人類ANGPTL8之核酸及胺基酸序列。舉例而言，一個核酸序列可見於NCBI參考序列第NM_018687號(SEQ ID NO:3)及一個胺基酸序列可見於NCBI參考序列第NP_061157號(SEQ ID NO:4)。

【0005】 存在 ANGPTL3/8 複合物，其具有結合至一或多個 ANGPTL8 的一或多個 ANGPTL3。證據表明當與單獨的 ANGPTL3 或 ANGPTL8 相比時，此等複合物更有效地介導 LPL 之抑制。此外，ANGPTL3/8 複合物可藉由在哺乳動物表現系統中共表現 ANGPTL8 及 ANGPTL3 而在活體外製備。參見Chi，見上文。

【0006】 已知Ab結合至ANGPTL3或ANGPTL8且可單獨或彼此組合使用，以治療脂質代謝相關及葡萄糖代謝相關的疾病及病症。舉例而言，國際專利申請公開案第WO 2012/174178號揭示了一種結合至ANGPTL3且干擾其活性的全人類單株Ab及其抗原結合片段。亦已知其他治療性抗ANGPTL3 Ab。參見例如國際專利申請公開案第WO 2008/073300號及美國專利第7,935,796號。同樣，國際專利申請公開案第WO 2017/027316號揭示了一種結合至ANGPTL8且干擾其活性的全人類單株Ab或其抗原結合片段。此外，國際專利申請公開案第WO 2017/177181號揭示了一種抗ANGPTL3 Ab與抗ANGPTL8 Ab組合療法。

【0007】 令人遺憾的是，僅結合至ANGPTL3或ANGPTL8之現有Ab未完全消除此等ANGPTL及/或ANGPTL3/8複合物對脂質及/或葡萄糖代謝之影響。參見例如Dewey等人(2017) *N. Engl. J. Med.* 377:211-221；及Gusarova等人(2017) *Endocrinology* 158:1252-1259。鑒於其，需要用於治療脂質代謝相關及葡萄糖代謝相關之疾病及病症的額外Ab（尤其抗ANGPTL3/8複合物Ab），其中此類Ab改善了藥理學抑制及/或調節特性，以調變脂質及/或葡萄糖代謝。

【發明內容】

【0008】 為解決此需求，提供經修飾ANGPTL3/8複合物之核酸及胺基酸序列。因此，本文描述了編碼經修飾ANGPTL3及經修飾ANGPTL8（亦即融合蛋白）中之一或多者的核酸序列。在一些情況下，核酸序列包括編碼具有SEQ ID NO: 17之胺基酸序列的ANGPTL3融合蛋白之聚核苷酸序列。在其他情況下，核酸序列包括編碼具有SEQ ID NO: 18之胺基酸序列的ANGPTL8融合蛋白之聚核苷酸序列。在其他情況下，核酸序列包括編碼SEQ ID NO: 17及18之聚核苷酸序列。

【0009】 另外，提供包括編碼本文所述之ANGPTL3融合蛋白、本文所述之ANGPTL8融合蛋白或兩者之聚核苷酸序列的核酸構築體，其中此類構築體可為表現盒或載體。

【0010】 鑒於上文，提供包括本文所述之一或多種表現盒或載體的宿主細胞。在一些情況下，宿主細胞為真核細胞。在一些情況下，ANGPTL3及ANGPTL8融合蛋白之聚核苷酸序列在不同表現盒或載體上，而在其他情況下，其可在相同表現盒或載體上。

【0011】 另外，提供包括SEQ ID NO: 17或19之胺基酸序列以及其

活性變異體或片段的ANGPTL3融合蛋白。同樣，提供包括SEQ ID NO: 18或20之胺基酸序列以及其活性變異體或片段的ANGPTL8融合蛋白。

【0012】 此外，提供功能性ANGPTL3/8複合物，尤其為人類ANGPTL3/8複合物，其中該複合物之ANGPTL3部分為本文所述之原生(全長或截短)ANGPTL3或ANGPTL3融合蛋白，且其中該複合物之ANGPTL8部分為本文所述之ANGPTL8融合蛋白。在一些情況下，ANGPTL3融合蛋白包括SEQ ID NO: 19之胺基酸序列。同樣，及在一些情況下，ANGPTL8融合蛋白包括SEQ ID NO: 20之胺基酸序列。此外，及在一些情況下，複合物之ANGPTL3部分與ANGPTL8部分的比率可為1:1。在其他情況下，複合物之ANGPTL3部分與ANGPTL8部分的比率可分別為諸如1:2、1:3、2:1或3:1 (除1:1以外)。

【0013】 亦提供用於製備重組ANGPTL3/8複合物之方法。該等方法可包括在宿主細胞中，諸如在哺乳動物表現系統中，表現本文所述之ANGPTL3部分及ANGPTL8部分的一或多個聚核苷酸序列以自其得到ANGPTL3/8複合物的至少一步驟。在一些情況下，ANGPTL3及ANGPTL8部分提供於不同表現構築體或載體上。在其他情況下，ANGPTL3及ANGPTL8提供於一種表現構築體或載體上。該等方法亦可包括純化所得ANGPTL3/8複合物之步驟，該步驟不僅可包括濃縮ANGPTL3/8複合物，而且可將標籤、連接子及血清白蛋白中之一或多者自ANGPTL3部分及/或ANGPTL8部分移除。該等方法亦可包括在純化步驟之前及/或之後濃縮ANGPTL3/8複合物的步驟。

【0014】 第二，提供一種用於ANGPTL3/8複合物之Ab以及其用途，其包括藉由結合至且從而抑制ANGPTL3/8複合物活性來治療脂質代

謝相關及葡萄糖代謝相關的疾病及病症。

【0015】 有效量之本文所述抗ANGPTL3/8複合物Ab或其醫藥學上可接受之鹽可用於增強LPL活性、降低TG及治療有需要之個體的脂質代謝及/或葡萄糖代謝相關的疾病或病症。

【0016】 本文所述之抗ANGPTL3/8複合物Ab結合可溶性ANGPTL3/8複合物，從而增強LPL活性及降低血清TG含量。TG含量較低之個體的心血管疾病風險較低。有利地，本文所述之抗ANGPTL3/8複合物Ab以相關濃度結合僅結合至ANGPTL3/8複合物及不結合至單獨的ANGPTL3或單獨的ANGPTL8。咸信，抗ANGPTL3/8複合物Ab增加了富含TG之脂蛋白(TRL)的分解代謝，其降低TG及/或非HDL-C，從而改善未由當前療法解決之動脈粥樣硬化心血管疾病(ASCVD)的血脂異常風險因素。此外，及因為本文所述之抗ANGPTL3/8複合物Ab不結合單獨的ANGPTL3或ANGPTL8，所以不抑制此等ANGPTL之其他作用，其可使得活體內作用較少，諸如降低EL之去抑制作用。

【0017】 特定而言，抗ANGPTL3/8複合物Ab為人類抗ANGPTL3/8複合物Ab。在一些情況下，抗ANGPTL3/8複合物Ab可廢除、阻斷、抑制、干擾、中和或降低活體內ANGPTL3/8複合物之活性，尤其其LPL抑制活性。在一些情況下，抗ANGPTL3/8複合物Ab可為全長或可僅為抗原結合片段(例如Fab、F(ab')₂或scFv片段)。抗ANGPTL3/8複合物Ab之所需特性包括在低劑量之Ab下的TG降低，其持續至少21天。

【0018】 在一些情況下，抗ANGPTL3/8複合物Ab結合人類ANGPTL3/8複合物，及包括輕鏈決定區LCDR1、LCDR2及LCDR3及重鏈決定區HCDR1、HCDR2及HCDR3，其中LCDR1具有胺基酸序列

RSSQSLLDSDDGNTYLD (SEQ ID NO:11) , LCDR2具有胺基酸序列 YMLSYRAS (SEQ ID NO:12) , LCDR3具有胺基酸序列MQRIEFPLT (SEQ ID NO:13) , HCDR1具有胺基酸序列TFSGFSLISISGVGVG (SEQ ID NO:14) , HCDR2具有胺基酸序列LIYRNDDKRYSPSLKS (SEQ ID NO:15) 及 HCDR3 具有胺基酸序列 ARTYSSGWYGNWFDP (SEQ ID NO:16) 。

【0019】 另外提供一種包括輕鏈可變區(LCVR)之Ab，其中LCVR具有SEQ ID NO: 9之胺基酸序列；或包括重鏈可變區(HCVR)之Ab，其中HCVR具有SEQ ID NO: 10之胺基酸序列。在一些情況下，Ab包括具有SEQ ID NO：9之胺基酸序列的LCVR及具有SEQ ID NO：10之胺基酸序列的HCVR。在一些情況下，Ab包括輕鏈(LC)及重鏈(HC)，其中LC具有SEQ ID NO: 5之胺基酸序列或HC具有SEQ ID NO: 6之胺基酸序列。或者，Ab包括輕鏈(LC)及重鏈(HC)，其中LC具有SEQ ID NO: 5之胺基酸序列及HC具有SEQ ID NO: 6之胺基酸序列。在某些情況下，Ab為IgG4同型。

【0020】 在一些情況下，抗ANGPTL3/8複合物Ab可為上文所述之Ab的變異體，尤其具有D31S突變(SEQ ID NO: 21)、D33A突變(SEQ ID NO: 22)、D33T突變(SEQ ID NO: 23)、M56T突變(SEQ ID NO: 24)、E99Q突變(SEQ ID NO: 25)或其組合(例如D33T及M56T突變或D33A及M56T突變)之LC變異體，相對於具有SEQ ID NO: 5之胺基酸序列的LC。

【0021】 此外，提供藉由在表現多肽之條件下培養包括cDNA分子之哺乳動物細胞產生的Ab，其中cDNA分子編碼具有SEQ ID NO: 5及6之胺基酸序列的多肽，及回收Ab。或者，提供一種藉由在表現多肽之條件

下培養包括兩個cDNA分子之哺乳動物細胞產生的Ab，其中第一cDNA分子編碼具有SEQ ID NO: 5之胺基酸序列的多肽，及第二cDNA分子編碼具有SEQ ID NO: 6之胺基酸序列的多肽，及回收Ab。在一些情況下，抗ANGPTL3/8複合物Ab可為上文所述之Ab的變異體，尤其具有D31S突變(SEQ ID NO: 21)、D33A突變(SEQ ID NO: 22)、D33T突變(SEQ ID NO: 23)、M56T突變(SEQ ID NO: 24)、E99Q突變(SEQ ID NO: 25)或其組合之LC變異體，相對於具有SEQ ID NO: 5之胺基酸序列的LC。

【0022】 此外，提供一種在標準LPL活性分析中以0.5 nM或更低之 EC_{50} 結合至及中和人類ANGPTL3/8複合物的Ab。此外，提供一種以低於或等於 1×10^{-6} M之解離常數結合至人類ANGPTL3/8複合物的Ab。此外，提供一種以大於 1×10^{-6} M之解離常數結合至人類ANGPTL3及人類ANGPTL8的Ab。此外，提供一種以大於非結合背景信號3倍的信號結合至人類ANGPTL3/8複合物(如藉由單點ELISA分析量測)，但不以大於非結合背景信號3倍的信號結合至單獨的人類ANGPTL3或單獨的人類ANGPTL8(如藉由單點ELISA分析量測)的Ab。同樣，提供一種在給藥14天之後的時間點，相較於IgG對照，在10 mg/kg之劑量下活體內三酸甘油酯降低至少50%的抗體。

【0023】 第三，提供一種包括本文Ab或本文Ab群體及可接受之載劑、稀釋劑或賦形劑的醫藥組合物。亦提供一種包括DNA分子的哺乳動物細胞，該DNA分子包括編碼具有SEQ ID NO: 5及SEQ ID NO: 6之胺基酸序列之多肽的聚核苷酸序列，其中該細胞能夠表現本文Ab。進一步提供一種包括第一DNA分子及第二DNA分子的哺乳動物細胞，其中該第一DNA分子包括編碼具有SEQ ID NO: 5之胺基酸序列之多肽的聚核苷酸序

列，及其中該第二DNA分子包括編碼具有SEQ ID NO: 6之胺基酸序列之多肽的聚核苷酸序列，且其中該細胞能夠表現本文Ab。在一些情況下，抗ANGPTL3/8複合物Ab可為上文所述之Ab的變異體，尤其具有D31S突變(SEQ ID NO: 21)、D33A突變(SEQ ID NO: 22)、D33T突變(SEQ ID NO: 23)、M56T突變(SEQ ID NO: 24)、E99Q突變(SEQ ID NO: 25)或其組合之LC變異體，相對於具有SEQ ID NO: 5之胺基酸序列的LC。

【0024】 第四，提供一種用於產生Ab之方法，其中該方法包括用DNA分子培育哺乳動物細胞，該DNA分子具有編碼具有SEQ ID NO: 5及SEQ ID NO: 6之胺基酸序列之多肽的聚核苷酸序列，其中該細胞能夠在表現Ab之條件下表現本文Ab，及回收經表現Ab。在一些情況下，編碼具有SEQ ID NO: 5之胺基酸序列之多肽的聚核苷酸序列可編碼D31S突變、D33A突變、D33T突變、M56T突變、E99Q突變或其組合。本文亦提供一種治療ASCVD、慢性腎病(CKD)、糖尿病、高三酸甘油酯血症、非酒精性脂肪變性肝炎(NASH)、肥胖症或其組合之方法，其中該方法包括向有需要之個體投與有效量之本文Ab。進一步提供一種降低TG之方法，該方法包括向有需要之個體投與有效量之本文Ab。

【0025】 第五，提供一種用於療法之Ab。特定言之，Ab用於治療ASCVD、CKD、糖尿病、高三酸甘油酯血症、NASH、肥胖症或其組合。亦提供一種用於治療ASCVD、CKD、糖尿病、高三酸甘油酯血症、NASH、肥胖症或其組合之醫藥組合物，其包括有效量之本文Ab。

【0026】 當考慮下文之詳細描述時，除上文所闡述之優勢、效應、特徵及物件以外的優勢、效應、特徵及物件將變得更易於顯而易見。此類實施方式參考以下圖式，其中：

【圖式簡單說明】

【0027】 圖1展示了SDS頁面凝膠影像，其展示了在還原及非還原條件下操作的ANGPTL3/8複合物。

【實施方式】

本申請案根據35 U.S.C. §119(e)主張2018年12月21日申請之美國臨時申請案第62/783,260號及第62/783,265號之權益；其揭示內容以引用之方式併入本文中。

【0028】 除非上下文明確要求存在一個且僅存在一個元件，否則藉由不定冠詞「一(a或an)」提及一元件並不排除存在超過一個元件的可能性。因此，不定冠詞「一(a或an)」通常意謂「至少一個」。

【0029】 定義

【0030】 如本文所用，「約」意謂在統計學上有意義的值範圍內或值，諸如所述濃度、長度、分子量、pH值、序列相似性、時間範圍、溫度、體積等。此類值或範圍可在既定值或範圍之一數量級內，通常在20%內，更通常在10%內，且甚至更通常在5%內。藉由「約」涵蓋之允許變化形式將取決於研究下之特定系統，且可由熟習此項技術者容易地理解。

【0031】 如本文所用，「親和力」意謂Ab與ANGPTL3/8複合物上之抗原決定基的結合強度。

【0032】 如本文所用，「血管生成素樣蛋白3」或「ANGPTL3」意謂具有包括SEQ ID NO: 2之胺基酸序列的蛋白。

【0033】 如本文所用，「血管生成素樣蛋白8」或「ANGPTL8」意謂具有包括SEQ ID NO: 4之胺基酸序列的蛋白。

【0034】 如本文所用，「ANGPTL3/8複合物」意謂結合至一或多個

ANGPTL8複合物之一或多個ANGPTL3複合物的多蛋白複合物。

【0035】如本文所用，「抗 ANGPTL3/8 複合物 Ab (anti-ANGPTL3/8 complex Ab)」或「抗 ANGPTL3/8 複合物 Ab (anti-ANGPTL3/8 complex Ab)」意謂同時識別及結合至 ANGPTL3 及 ANGPTL8 上之區域的 Ab，尤其當為 ANGPTL3/8 複合物形式時。通常，抗 ANGPTL3/8 複合物 Ab 將通常不結合至其他 ANGPTL 家族成員(例如 ANGPTL1、ANGPTL2、ANGPTL4、ANGPTL5、ANGPTL6 或 ANGPTL7)。此外，且如其他地方指出，抗 ANGPTL3/8 複合物 Ab 亦不將以指定濃度結合至單獨的 ANGPTL3 或 ANGPTL8，如以下單點 ELISA 分析所述。

【0036】如本文所用，「結合(bind)」或「結合(binds)」意謂蛋白與另一種蛋白或分子形成一類化學鍵或吸引力的能力，如藉由此項技術中已知之常見方法測定。結合可表徵為平衡解離常數(K_D)為約 1×10^{-6} M 或更低(亦即， K_D 愈低表示結合愈緊密)。確定兩個分子是否結合之方法為此項技術中熟知的，及包括例如平衡透析、表面電漿子共振及類似者。此處，抗 ANGPTL3/8 複合物 Ab 僅結合 ANGPTL3/8 複合物及不結合單獨的 ANGPTL3 或單獨的 ANGPTL8。可在標準 ELISA 分析中，以如下文所述之單點形式確定 Ab 是否僅結合至 ANGPTL3/8 複合物且不結合至單獨的 ANGPTL3 或 ANGPTL8，且可採用下文所述之 Biacore 測定結合性特徵。雖然本文之 Ab 為人類，但其可展現出與來自其他物種之其他 ANGPTL3/8 複合物(例如食蟹獼猴 ANGPTL3/8 複合物、小鼠 ANGPTL3/8 複合物或大鼠 ANGPTL3/8 複合物)的交叉反應性。

【0037】如本文所用，「有效量」意謂化合物或含有其之醫藥組合

物的量或劑量，在以單劑量或多劑量向個體投與時將引發研究人員、獸醫、醫生或其他臨床醫師所尋求的組織、系統、動物、哺乳動物或人類之生物或醫學反應或所需療效。在一些情況下，向有需要之個體的有效量之本文化合物或包括其組合物將增強LPL活性。劑量可包含較高的起始劑量，接著劑量降低。劑量可以任何治療有效時間間隔投與，諸如一天多次、每天一次、每隔一天一次、一週三次、一週兩次、一週一次、每兩週一次、每月一次、每兩月一次等。構成有效量之劑量可在0.01 mg/kg與100 mg/kg之間。

【0038】 如本文所用，「平衡解離常數」或「 K_D 」意謂與特定抗原相互作用之Ab親和力的定量量測，諸如Ab與ANGPTL3/8複合物之親和力，尤其以可逆方式分離成其組分部分之Ab/ANGPTL3/8複合物共軛物的傾向性量測。同樣，且如本文所用，「平衡締合常數」或「 K_a 」意謂 K_D 之倒數。

【0039】 如本文所用，「功能性」意謂及ANGPTL3融合蛋白、ANGPTL8融合蛋白或ANGPTL3/8複合物具有類似於原生ANGPTL3、原生ANGPTL8或原生ANGPTL3/8複合物的生物活性，包括例如抑制LPL或充當可製備及引導Ab之抗原。

【0040】 如本文所用，「葡萄糖代謝相關的疾病或病症」意謂糖尿病及其類似者。

【0041】 如本文所用，「脂質代謝相關的疾病或病症」意謂與脂質代謝異常(諸如血脂異常、高脂質血症及高脂蛋白血症)相關之病狀，包括高三酸甘油酯血症、高膽固醇血症、乳糜微粒血症、混合型血脂異常(肥胖症、代謝症候群、糖尿病等)、脂質營養不良及脂質萎縮症。術語亦涵

蓋某些心血管疾病，諸如動脈粥樣硬化及冠狀動脈疾病、急性胰臟炎、NASH、肥胖症及其類似者。

【0042】 如本文所用，「一半最大有效濃度」或「EC₅₀」意謂在預定時間期之後誘導達基線與最大值之間一半反應時的Ab濃度(通常以莫耳濃度單位(M)表示)。本文所述之EC₅₀理想地為3.0 nM或更低。

【0043】 如本文所用，「核酸構築體」或「表現盒」意謂具有以可操作方式連接至編碼序列之至少一個控制序列的核酸分子。以此方式，諸如啟動子之控制序列與編碼至少一種所關注多肽(諸如本文所述之ANGPTL3融合蛋白及/或本文所述之ANGPTL8融合蛋白)之核酸序列以可操作方式相互作用。此類核酸構築體可呈表現盒或轉移盒形式。核酸構築體可包括由納入一或多種所關注多肽之核苷酸序列的去氧核糖核苷酸、核糖核苷酸或其組合構成之寡核苷酸或聚核苷酸。

【0044】 如本文所用，「以可操作方式連接」意謂核酸構築體之元件經組態以執行其常見功能。因此，以可操作方式連接至編碼序列的控制序列(亦即啟動子)能夠進行編碼序列之表現。控制序列不必與編碼序列相鄰，只要其功能可以引導其表現(亦即維持適當的讀碼框)即可。因此，舉例而言，可在啟動子序列與編碼序列之間存在介入的未轉譯但經轉錄序列，且啟動子序列仍可視為「以可操作方式連接」至編碼序列。

【0045】 如本文所用，「控制序列(control sequence)」或「控制序列群(control sequences)」意謂為接受者宿主細胞中編碼序列之複製、轉錄及轉譯共同提供的啟動子、聚腺苷酸化信號、轉錄及轉譯終止序列、上游調控域、複製起點、內部核糖體進入位點(「IRES」)、增強子及其類似物。此等對照元件並非全部都要始終存在，只要所選編碼序列能夠在適當

的宿主細胞中進行複製、轉錄及轉譯即可。

【0046】 如本文所用，「編碼序列(coding sequence)」或「編碼序列群(coding sequences)」意謂編碼一或多種所關注多肽的核酸序列，且為當置於適當調節序列控制下時，可在活體外或活體內轉錄(在DNA之情況下)及轉譯(在RNA之情況下)成多肽的核酸序列。編碼序列之邊界藉由5'(胺基)端處之起始密碼子及3'(羧基)端處之轉譯終止密碼子來決定。編碼序列可包括(但不限於)病毒核酸序列、來自原核或真核mRNA之cDNA、來自原核或真核DNA之基因組DNA序列，或甚至合成性DNA序列。

【0047】 關於對照及編碼序列，其可為原生的/類似於宿主細胞或彼此。或者，對照及編碼序列對於宿主細胞或彼此可為異源的。

【0048】 如本文所用，「啟動子」意謂由核酸調節序列構成之核苷酸區，其中調節序列由基因衍生或以合成方式產生，且能夠結合RNA聚合酶及起始下游(3'方向)編碼序列之轉錄。多種啟動子可用於核酸構築體中，包括一或多種所關注多肽之原生啟動子。或者，啟動子可基於所需結果選擇。此類啟動子可包括(但不限於)誘導型啟動子、阻抑型啟動子及組成型啟動子。

【0049】 如本文所用，「變異體」意謂當與參考核酸或胺基酸序列相比時，具有一或多個修飾(諸如一或多個特定核酸或胺基酸殘基之添加、缺失、插入及/或取代)的聚核苷酸或多肽。因此，當與參考核酸或胺基酸序列相比時，變異體包括一或多種變化。此處，抗ANGPTL3/8複合物Ab可具有LC或HC變異。特定言之，Ab可為具有D31S突變(SEQ ID NO: 21)、D33A突變(SEQ ID NO: 22)、D33T突變(SEQ ID NO: 23)、M56T突變(SEQ ID NO: 24)、E99Q突變(SEQ ID NO: 25)之LC變異體，

相對於具有SEQ ID NO: 5之胺基酸序列的LC。同樣，LC變異體可為以上任兩者之組合，諸如D31S與D33A突變、D31S與D33T突變、D31S與M56T突變、D31S與E99Q突變、D33A與M56T突變、D33A與E99Q突變、D33T與M56T突變、D33T與E99Q突變以及M56T與E99Q，同樣相對於具有SEQ ID NO: 5之胺基酸序列的LC。此外，LC變異體可為以上任三者之組合，諸如D31S、D33A及M56T突變、D31S、D33A及E99Q突變、D31S、D33T及M56T突變、D31S、D33T及E99Q突變、D33A、M56T及E99Q突變及D33T、M56T及E99Q突變，同樣相對於具有SEQ ID NO: 5之胺基酸序列的LC。此外，LC變異體可為以上任四者之組合，諸如D31S、D33A、M56T及E99Q突變；及D31S、D33T、M56T及E99Q突變，同樣相對於具有SEQ ID NO: 5之胺基酸序列的LC。

【0050】如本文所用，「載體」意謂可將另一核酸序列(諸如表現盒)附接至其上，以便複製經附接序列的複製子(諸如質體、噬菌體或黏質體)。載體能夠將核酸分子轉移至宿主細胞。載體通常包括一個或少量限制性核酸內切酶識別位點，其中所關注核苷酸序列可以可確定方式插入而不損失載體之必需生物功能，以及可用於鑑別及選擇經載體轉換之宿主細胞的可選標記物。因此，載體可能夠將核酸序列轉移至目標細胞。

【0051】如本文所用，「治療(treatment)」及「治療(treating)」意謂處理及護理患有病狀之個體，其中抗ANGPTL3/8複合物Ab投與經指示用於防治或緩解彼等病狀之症狀及併發症。治療包括向此類個體投與本文之化合物或含有化合物之組合物，以預防症狀或併發症之發作、緩解症狀或併發症或消除疾病、病狀或病症。治療包括向有需要之個體投與本文之化合物或含有化合物之組合物，以增強LPL活性及降低TG。待治療之患

者為動物，尤其人類。

【0052】 如本文所用，「患者」、「個體」及「個體」可互換使用及意謂動物，尤其人類。在某些情況下，個體為人類，及進一步特徵在於罹患可因投與抗ANGPTL3/8複合物Ab而受益之疾病、病症或病狀。

【0053】 如本文所用，「抗體」或「Ab」及其類似物意謂包括具有鏈間或鏈內二硫鍵之兩條重鏈及兩條輕鏈的全長Ab。四條多肽鏈中之每一者的胺基端部分包括主要負責抗原識別的可變區。每條HC包括N端HCVR及HC恆定區(HCCR)。每條輕鏈包括輕鏈(LC)可變區(LCVR)及LC恆定區(LCCR)。此處，Ab為免疫球蛋白G (IgG)型Ab，及IgG同型可進一步分成亞類(例如IgG1、IgG2、IgG3及IgG4)。HCVR及LCVR區可進一步細分成高變區(稱為互補性決定區(CDR))，穿插有更保守區(稱為構架區(FR))。每個HCVR及LCVR包括三個CDR及四個FR，其自N端至C端按以下順序排列：FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3、FR4。此處，HC之三個CDR稱為HCDR1、HCDR2及HCDR3，及LC之三個CDR稱為LCDR1、LCDR2及LCDR3。CDR含有與抗原(諸如ANGPTL3/8複合物)形成特異性相互作用之大部分殘基。可藉由諸如Chothia、Kabat或North之演算法將殘基分配至各種CDR。North CDR定義係基於利用大量晶體結構之近鄰傳播聚類演算法(affinity propagation clustering)(North等人，(2011) J. Mol. Bio. 406:228-256)。在本文中，CDR最佳由序列表中列出之序列定義，該等序列基於多個定義之組合(包括North)。

【0054】 編碼HCVR區之經分離DNA可藉由將編碼HCVR之DNA以可操作方式連接至編碼重鏈恆定區之另一DNA分子轉化成全長重鏈基因。人類以及其他哺乳動物重鏈恆定區基因之序列為此項技術中已知。可

藉由例如標準PCR擴增得到包含此等區之DNA片段。

【0055】 編碼LCVR區之經分離DNA可藉由將編碼LCVR之DNA以可操作方式連接至編碼輕鏈恆定區之另一DNA分子轉化成全長輕鏈基因。人類以及其他哺乳動物輕鏈恆定區基因之序列為此項技術中已知。可藉由標準PCR擴增得到包含此等區之DNA片段。輕鏈恆定區可為 κ 或 λ 恆定區。

【0056】 本文Ab可能含有IgG4-PAA Fc部分。IgG4-PAA Fc部分具有位置231處之Ser至Pro突變(S231P)，位置237處之Phe至Ala突變(F237A)，及位置238處之Leu至Ala突變(L238A)，藉由SEQ ID NO: 6中絕對位置編號。S231P突變為預防半Ab形成之鉸鏈突變(IgG4 Ab之半分子的動態交換現象)。F237A及L238A突變進一步降低了已較低之人類IgG4同型的效應功能。然而，預期本文Ab可替代地包括不同Fc部分。

【0057】 為了降低給藥時人類之免疫反應的潛在誘導，某些胺基酸可能需要回復突變，以匹配Ab生殖系序列。

【0058】 包括本文之化合物的醫藥組合物可非經腸投與至需要此類治療之個體。此類個體可患有ASCVD或處於ASCVD之高風險下。此等個體可能患有急性冠狀動脈症候群、心肌梗塞(MI)病史、穩定或不穩定心絞痛、冠狀動脈或其他動脈血管再形成、中風、暫時局部缺血發作(TIA)、胸或腹部主動脈動脈瘤或源於動脈粥樣硬化的周邊動脈疾病。處於ASCVD之高風險個體可進一步患有2型糖尿病(T2D)、CKD或家族性高膽固醇血症(FH)。

【0059】 非經腸投藥可藉助於注射器，視情況藉助於筆樣注射器或機械驅動之注射器經皮下、肌肉內、腹膜內或靜脈內注射進行。或者，非

經腸投與可藉助於輸注泵進行。在一些情況下，適合於向個體投與具有治療有效量之本文化合物及一或多種醫藥學上可接受之賦形劑的醫藥組合物。此類醫藥組合物可藉由多種技術中之任一種，使用此項技術熟知的用於醫藥產品之習知賦形劑製備。參見例如Remington, 「The Science and Practice of Pharmacy」 (D.B. Troy編, 第21版, Lippincott, Williams & Wilkins, 2006)。

【0060】 本文之化合物可與一或多種適用於調節LPL活性、治療脂質代謝相關的疾病或病症，或治療葡萄糖代謝相關的疾病或病症(包括上文所列之病症中的任一者)的其他治療劑同時、分開或依序組合使用。可與所主張之化合物組合的額外治療劑之非限制性實例包括(但不限於)：抗糖尿病劑，諸如胰島素或胰島素類似物、雙胍、磺醯脲、噻唑啉二酮、二肽基肽酶-4 (「DPP -4」)抑制劑或鈉依賴性葡萄糖轉運子(SGLT2)抑制劑；促胰島素化合物，諸如類升糖素-肽1(GLP-1)或GLP-1類似物、胃抑制多肽(GIP)或GIP類似物、調酸素(OXM)或OXM類似物；阿司匹林；抗血小板劑；H2受體阻斷劑；質子泵抑制劑；抗高血壓劑；脂質修飾療法，諸如HMG-CoA還原酶抑制劑、PCSK9抑制劑、膽固醇吸收抑制劑、纖維酸酯、菸酸、LXR促效劑、RXR促效劑、ROR促效劑或反向膽固醇傳輸調節劑；心臟衰竭療法，諸如ACE、血管緊張素受體腦啡肽酶抑制劑、ARB或B腎上腺素拮抗劑；消炎劑療法；高血壓療法、心房微顫療法；神經退化療法；腫瘤學療法；用於糖尿病性心肌症、糖尿病性視網膜病變、糖尿病神經病變、糖尿病性腎病變、體重下降、傷口癒合之療法；腎病變療法；PAD療法或前述任一者之組合。抗ANGPTL3/8複合物Ab及一或多種額外治療劑可經由相同的遞送途徑及裝置(諸如，單丸劑、膠

囊、錠劑或可注射調配物)一起投與；或在不同遞送裝置或途徑中同時分開投與；或依序投與。

【0061】 製備及純化ANGPTL3/8複合物

【0062】 本發明之一個態樣為ANGPTL3/8複合物，其可用於製備僅結合至複合物及不結合至單獨的ANGPTL3或單獨的ANGPTL8之Ab。儘管已知抗ANGPTL3 Ab及抗ANGPTL8 Ab，但在合成足量的功能性ANGPTL3/8複合物(尤其人類ANGPTL3/8複合物)以製備抗ANGPTL3/8複合物Ab方面存在挑戰。另外或或者，可在分析中使用此類ANGPTL3/8複合物來評估針對ANGPTL3、ANGPTL8及/或ANGPTL3/8複合物之Ab的特性。

【0063】 以此方式，本發明亦描述藉由將ANGPTL8製成N端或C端血清白蛋白(例如人類、小鼠或兔)融合蛋白來產生ANGPTL8的方法。隨後可藉由在哺乳動物表現系統中共表現ANGPTL8融合蛋白與原生ANGPTL3或ANGPTL3融合蛋白來製備功能性ANGPTL3/8複合物。

【0064】 如上指出，原生人類ANGPTL3及原生人類ANGPTL8之核酸及胺基酸序列為已知的(分別參見例如SEQ ID NO: 1至2及3至4)。然而，本文所述之ANGPTL3或ANGPTL8經修飾(亦即重組/合成)及藉由包括額外胺基酸序列來改善產生、分泌及/或ANGTPL3與ANGTPL8複合而因此不同於原生序列。

【0065】 舉例而言，ANGPTL3可經修飾以包括一或多個此項技術中已知的連接子及標籤。此處，人類ANGPTL3 (SEQ ID NO: 2)經修飾以包括連接子及FLAG標籤，使得ANGPTL3融合蛋白具有SEQ ID NO: 17之胺基酸序列。在一些情況下，連接子可為約1至約10個胺基酸，諸如3

個胺基酸，尤其3個Ala殘基。如在SEQ ID NO: 17中，連接子及FLAG標籤可位於ANGPTL3序列之N端或C端，尤其C端，其中殘基1至460對應於ANGPTL3，及殘基461至471對應於3-Ala連接子及FLAG標籤。

【0066】 同樣，除血清白蛋白，尤其人類血清白蛋白之序列之外，ANGPTL8可經修飾以包括一或多個連接子及標籤。此處，人類ANGPTL8 (SEQ ID NO: 4)經修飾以包括連接子、IgG κ 信號肽、聚組胺酸(His)標籤、成熟人類血清白蛋白、連接子及PreScission®裂解位點，使得ANGPTL8融合蛋白具有SEQ ID NO: 18之胺基酸序列。在一些情況下，連接子可為約1至約10個胺基酸，諸如韌性聚脯胺酸重複，尤其Ala-Pro (AP)-10連接子。如在SEQ ID NO: 18中，信號肽、His標籤、成熟HSA、連接子及PreScission®裂解位點可位於ANGPTL8序列之N端或C端，尤其N端，其中殘基1至20對應於IgG κ 信號肽，殘基21至27對應於His標籤，殘基28至612對應於HSA，殘基613至632對應於AP-10連接子，及殘基633至643對應於PreScission®裂解位點，及殘基644至820對應於ANGPTL8。

【0067】 構築核酸構築體以表現本文所述之ANGPTL3融合蛋白及/或ANGPTL8融合蛋白的方法為此項技術中熟知的且可見於例如Balbás及Lorence, 「Recombinant Gene Expression: Reviews and Protocols」(第2版Humana Press 2004)；Davis等人, 「*Basic Methods in Molecular Biology*」(Elsevier Press 1986)；Sambrook及Russell, 「Molecular Cloning: A Laboratory Manual」(第3版Cold Spring Harbor Laboratory Press 2001)；Tijssen, 「Laboratory Techniques in Biochemistry and Molecular Biology - Hybridization with Nucleic Acid Probes」(Elsevier

1993)；及「Current Protocols in Molecular Biology」(Ausubel等人編, Greene Publishing and Wiley-Interscience 1995)以及美國專利第6,664,387號、第7,060,491號、第7,345,216號及第7,494,805號。因為ANGPTL8不含任何二硫鍵，所以可使用哺乳動物表現系統。此處，HEK293表現系統或CHO表現系統可用於產生ANGPTL3及/或ANGPTL8融合蛋白，尤其藉由共表現。

【0068】 除表現ANGPTL3融合蛋白及/或ANGPTL8融合蛋白之外，該等方法亦可包括基於用於每種融合蛋白之特定標籤來純化所得融合蛋白，其為此項技術中熟知的。相對於本文所述之ANGPTL3及ANGPTL8融合蛋白，純化可在移除標籤之後產生多個截斷，使得ANGPTL3融合蛋白具有SEQ ID NO: 19之胺基酸序列(其中殘基1至444對應於ANGPTL3，及殘基445至455對應於3-Ala連接子及FLAG標籤)及ANGPTL8融合蛋白具有SEQ ID NO: 20之胺基酸序列(其中殘基1至4對應於來自PreScission®裂解位點之裂解殘基，及殘基5至182對應於ANGPTL8之片段)，其易於彼此結合形成功能性ANGPTL3/8複合物。

【0069】 製備及純化抗體

【0070】 可使用CHO GSKO細胞株在哺乳動物細胞表現系統中產生抗ANGPTL3/8複合物Ab。麩醯胺酸合成酶(GS)基因剔除藉由消除內源性GS背景活性來加強選擇嚴格度，其可允許低產生性或非產生性細胞在選擇條件下存活。用於編碼本文之Ab HC及LC的基因可次選殖至用於共轉染之個別含GS表現質體中，或兩鏈可次選殖至單個含GS表現質體中。編碼HC或LC之cDNA序列與信號肽之編碼序列(其可為鼠類κ前導序列)同框融合，以增大所需產物分泌至細胞培養基中。表現由病毒性細胞巨大病毒

(CMV)啟動子驅動。

【0071】 使用電穿孔及適當的重組HC及LC表現質體穩定地轉染CHO GSKO細胞，及將經轉染細胞以足夠的細胞密度維持於懸浮培養物中。選擇經轉染細胞，其藉由在無麩醯胺酸、含有25 μ M甲硫胺酸磺醯亞胺(MSX)之無血清培養基中生長及在32°C至37°C下及約5%至7% CO₂下培養實現。Ab分泌至來自CHO細胞之培養基中。Ab可藉由蛋白A親和層析，接著陰離子交換或疏水性相互作用層析(或其他適合之方法)來純化，且可利用尺寸排阻層析進一步純化。

【0072】 將來自所收集培養基之Ab捕獲至MabSelect SuRe蛋白A樹脂(GE Healthcare)上。隨後用諸如磷酸鹽緩衝鹽水(PBS) (pH 7.4)之操作緩衝液或含有Tris之操作緩衝液簡單洗滌樹脂，以移除非特異性結合材料。隨後用低pH溶液(諸如20 mM乙酸/5 mM檸檬酸)自樹脂溶離Ab。收集含有ANGPTL3/8 Ab之溶出份及可保持在低pH下，以使潛在病毒不活化。可視需要藉由添加鹼來增大pH，諸如0.1 M Tris (pH 8.0)。可使用諸如苯基HP (GE Healthcare)之樹脂藉由疏水相互作用層析(HIC)進一步純化ANGPTL3/8 Ab。可在20 mM Tris (pH 8.0)中使用硫酸鈉梯度自HIC管柱溶離抗ANGPTL3/8 Ab。可使用Superdex 200管柱(GE Healthcare)藉由尺寸排阻層析在PBS (pH 7.4)中等度溶離進一步純化抗ANGPTL3/8 Ab。

【0073】 以此方式或以熟習此項技術者易於確定之類似方式製備本文之化合物。

【0074】 用上文所述之ANGPTL3/8複合物對攜帶人類可變輕鏈及重鏈結構域的小鼠進行免疫，及使用ANGPTL3/8 (陽性)及ANGPTL3 (陰性)作為標記物藉由FACS分離單抗原特異性B細胞。藉由PCR自單個B細

胞回收重鏈及輕鏈可變區DNA及選殖至IgG表現瓶中。在轉染後測試CHO細胞上清液之結合活性。

實例

【0075】 以下非限制性實例出於說明而非限制之目的提供。

【0076】 實例1：製備ANGPTL3/8複合物

【0077】 ANGPTL3及ANGPTL8表現：將編碼人類ANGPTL3之胺基酸序列、連接子及FLAG標籤(SEQ ID NO: 17)的核苷酸序列插入至含有CMV啟動子之哺乳動物表現載體中。同樣，將編碼人類ANGPTL8、小鼠IgG κ 信號肽、HIS標籤、成熟人類血清白蛋白(HSA)-PreScission®裂解位點(SEQ ID NO: 18)之胺基酸序列的核苷酸序列插入含有CMV啟動子之哺乳動物表現載體中。透過上述兩種表現載體在培養於無血清培養基中之HEK293F細胞中進行暫時共同轉染，來表現蛋白質。在轉染後5天收集培養基及將其儲存在4°C下用於後續蛋白質純化。

【0078】 蛋白質純化：在4°C下進行蛋白質純化，其中用1 M Tris-HCl (pH 8.0)及5 M NaCl補充4 L培養基，至最終濃度分別為25 mM及150 mM。隨後將培養基與150 ml Ni-NTA樹脂(Qiagen)培育隔夜。將樹脂填充至管柱中及用緩衝液A (50 mM Tris-HCl, pH 8.0, 0.3 M NaCl)洗滌。使用含在緩衝液A中之0至300 mM咪唑梯度溶離蛋白質。合併含有HIS-HSA-ANGPTL8/ANGPTL3-Flag之溶出份，濃縮及裝載至HiLoad® Superdex® 200管柱(GE Healthcare Biosciences)，及用緩衝液A溶離。再次合併含有HIS-HSA-ANGPTL8/ANGPTL3-Flag之溶出份，濃縮及用PreScission® Protease (GE Healthcare Biosciences)消解，移除HIS-HSA-ANGPTL8融合蛋白中之HSA。將經PreScission®消解之蛋白質樣本

裝載至HiLoad® Superdex® 200管柱及用儲存緩衝液(20 mM HEPES , pH 8.0 , 150 mM NaCl)溶離。合併及濃縮含有ANGPTL3/8複合物之溶出份，使用Bradford方法測定蛋白質濃度。將ANGTPL3/8複合物等分分裝及儲存在-80°C下直至進一步使用。

【0079】 LPL活性分析：根據製造商指示(ThermoFisher Scientific)進行EnzCheck® LPL分析。簡言之，將ANGPTL3及ANGPLT3/8複合物在生長培養基中連續稀釋及置換LPL細胞培養基培育1小時。隨後將EnzCheck®脂肪酶受質(ELS)添加至表現LPL細胞中及培育30分鐘。在482 nm/515 nm(分別為激發光/發射光)下量測螢光。計算ANGPTL3及3/8對LPL之抑制%。

【0080】 結果：

【0081】 表1展示了純化/濃縮之不同階段時ANGTPL3/8複合物蛋白之產量。

【0082】 表1：ANGPTL3/8複合物蛋白產量

起始(L)	Ni-NTA樹脂 產量(mg)	第一Superdex® 200管柱 產量(mg)	第二Superdex® 200管柱 產量(mg)
4	105	47	12

【0083】 同樣，圖1展示了由管柱得到之經純化及濃縮ANGPTL3/8複合物的4-20% TG TGX庫馬斯染色凝膠，證實了複合物形成/組裝。在純化及濃縮後，ANGTL3具有SEQ ID NO: 19之胺基酸序列及ANGPTL8具有SEQ ID NO: 20之胺基酸序列。

【0084】 在LPL分析中，ANGPTL3之EC₅₀為21.5 nM，而ANGTPL3/8複合物之EC₅₀為0.54 nM，證實了複合物為功能性的。

【0085】 實例2：分析

【0086】 單點ELISA (SPE)分析：使用標準ELISA分析以單點形式

對Ab與ANGPTL3/8複合物、游離ANGPTL3或游離ANGPTL8之結合選擇性進行最初檢驗。簡言之，將分析盤用濃度為2 $\mu\text{g/ml}$ 之抗人類Fc Ab塗佈及隨後用酪蛋白阻斷。隨後將CHO細胞中表現後分泌於上清液中的IgG捕獲至分析盤。以25 nM之濃度添加經生物素標記之抗原，以允許Ab/抗原結合。在添加共軛有鹼性磷酸酶之中性抗生物素蛋白及鹼性磷酸酶受質後，偵測到Ab/抗原複合物，及隨後在560 nm之光學密度下量測。陽性結合確定為信號比非結合背景信號大3倍。

【0087】 ELISA分析：使用標準ELISA分析對Ab與ANGPTL3/8複合物、游離ANGPTL3或游離ANGPTL8之結合選擇性進行檢驗。簡言之，將分析盤用濃度為2 $\mu\text{g/ml}$ 之抗人類Fc Ab塗佈及隨後用酪蛋白阻斷。隨後將CHO細胞中表現後來自CHO上清液的Ab捕獲至分析盤及得到Ab濃度為2 $\mu\text{g/mL}$ 。藉由連續稀釋以不同濃度添加經生物素標記之抗原(ANGPTL3、ANGPTL8或ANGPTL3/8複合物)，以允許Ab/抗原結合。在添加共軛有鹼性磷酸酶之中性抗生物素蛋白及鹼性磷酸酶受質後，偵測到Ab/抗原複合物，及隨後在560 nm之光學密度下量測。

【0088】 表2：SPE分析中Ab與ANGPTL3/8複合物、ANGPTL8及ANGPTL3之結合選擇性

	ANGPTL3/8複合物結合	ANGPTL8結合	ANGPTL3結合
Ab	2.302 (陽性)	0.087 (陰性)	0.074 (陰性)
D31S	0.928	0.072	0.058
D33A	0.898	0.118	0.076
D33T	0.661	0.070	0.060
M56T	0.775	0.085	0.060
E99Q	1.538	0.100	0.083
平均非結合背景信號	0.09	0.07	0.08
3 x背景	0.27	0.21	0.24

值為560 nm之光學密度(OD)下，及所有測試盤的平均非結合背景信號均反映在「背景信號」列中。此陰性對照展示了不存在Ab下的背景信

號。

【0089】 在SPE分析中，具有SEQ ID NO: 5之LC及SEQ ID NO: 6之HC的Ab展現出與人類ANGPTL3/8複合物陽性結合及與人類ANGPTL8及人類ANGPTL3陰性結合。同樣，具有D31S突變(SEQ ID NO: 21)、D33A突變(SEQ ID NO: 22)、D33T突變(SEQ ID NO: 24)、M56T突變(SEQ ID NO: 24)或E99Q突變(SEQ ID NO: 25)之LC變異體及SEQ ID NO: 6之HC的Ab展現出與人類ANGPTL3/8複合物結合及與人類ANGPTL8及人類ANGPTL3陰性結合。

【0090】 表3：Ab與各種濃度的ANGPTL3、ANGPTL8及ANGPTL3/8複合物結合之ELISA分析

抗原濃度[nM]	hANGPTL8		hANGPTL3		hANGPTL3/8複合物	
	Ab	對照	Ab	對照	Ab	對照
100	0.072	0.076	0.081	0.091	2.705	0.063
33.3	0.050	0.060	0.052	0.063	2.411	0.056
11.1	0.045	0.051	0.046	0.052	1.708	0.047
3.70	0.051	0.048	0.046	0.052	1.042	0.046
1.23	0.043	0.048	0.043	0.052	0.510	0.046
0.412	0.046	0.050	0.043	0.067	0.231	0.046
0.137	0.047	0.053	0.048	0.055	0.110	0.044
0.046	0.051	0.054	0.060	0.069	0.078	0.053

對照為緩衝液及無Ab。

【0091】 在此分析中，具有SEQ ID NO: 5之LC及SEQ ID NO: 6之HC的Ab展現出以濃度依賴性方式與人類ANGPTL3/8複合物陽性結合及以至多100 nM之抗原濃度與人類ANGPTL8及人類ANGPTL3可偵測結合(表3)。

【0092】 除具有SEQ ID NO: 5之LC及SEQ ID NO: 6之HC的上述抗ANGPTL3/8複合物Ab之外，對具有D31S突變(SEQ ID NO: 21)、D33A突變(SEQ ID NO: 22)或E99Q突變(SEQ ID NO: 25)之LC變異體及SEQ

ID NO:6之HC的Ab進行分析及同樣展現出以濃度依賴性方式與人類ANGPTL3/8複合物陽性結合及以至多100 nM之抗原濃度與人類ANGPTL8及人類ANGPTL3可偵測結合(表4至6)。

【0093】表4：D31S變異體Ab與各種濃度的ANGPTL3、ANGPTL8及ANGPTL3/8複合物結合之ELISA分析

抗原濃度[nM]	hANGPTL8		hANGPTL3		hANGPTL3/8複合物	
	Ab	對照	Ab	對照	Ab	對照
100	0.098	0.076	0.084	0.081	2.471	0.092
33.3	0.063	0.065	0.069	0.064	2.226	0.068
11.1	0.062	0.059	0.062	0.062	1.735	0.053
3.70	0.056	0.055	0.060	0.057	1.134	0.049
1.23	0.058	0.049	0.059	0.058	0.575	0.048
0.412	0.062	0.049	0.058	0.057	0.234	0.047
0.137	0.080	0.077	0.057	0.076	0.137	0.068
0.046	0.096	0.085	0.060	0.064	0.149	0.075

【0094】表5：D33A變異體Ab與各種濃度的ANGPTL3、ANGPTL8及ANGPTL3/8複合物結合之ELISA分析

抗原濃度[nM]	hANGPTL8		hANGPTL3		hANGPTL3/8複合物	
	Ab	對照	Ab	對照	Ab	對照
100	0.078	0.076	0.082	0.081	2.388	0.092
33.3	0.049	0.065	0.067	0.064	2.179	0.068
11.1	0.048	0.059	0.060	0.062	1.635	0.053
3.70	0.048	0.055	0.056	0.057	1.040	0.049
1.23	0.049	0.049	0.057	0.058	0.491	0.048
0.412	0.047	0.049	0.056	0.057	0.196	0.047
0.137	0.053	0.077	0.062	0.076	0.101	0.068
0.046	0.074	0.085	0.062	0.064	0.111	0.075

【0095】表6：E99Q變異體Ab與各種濃度的ANGPTL3、ANGPTL8及ANGPTL3/8複合物結合之ELISA分析

抗原濃度[nM]	hANGPTL8		hANGPTL3		hANGPTL3/8複合物	
	Ab	對照	Ab	對照	Ab	對照
100	0.098	0.076	0.084	0.081	2.471	0.092
33.3	0.063	0.065	0.069	0.064	2.226	0.068
11.1	0.062	0.059	0.062	0.062	1.735	0.053
3.70	0.056	0.055	0.060	0.057	1.134	0.049
1.23	0.058	0.049	0.059	0.058	0.575	0.048
0.412	0.062	0.049	0.058	0.057	0.234	0.047
0.137	0.080	0.077	0.057	0.076	0.137	0.068
0.046	0.096	0.085	0.060	0.064	0.149	0.075

【0096】 實例3：活體外受體親和力

【0097】 使用 Biacore® T200 儀錶 (GE Healthcare Bio-Sciences Corp.; Piscataway, NJ) 測定結合動力學。CM4 感測器晶片表面可藉由共價偶合人類 Fab 結合劑 (GE Healthcare Bio-Sciences Corp.) 來製備。動力學實驗可在約 25°C 下在 HBSEP+, 0.01% BSA (pH 7.4) 之操作緩衝液中進行。可捕獲 Ab, 及可將一系列濃度之小鼠、犬或人類 ANGPTL3/8 複合物以約 50 µL/min 注射於晶片表面持續約 240 秒, 解離時間為約 800 秒。為了測定動力學參數 (例如 k_a 、 k_d 、 K_D), 使用 Biacore T200 評估軟體 (GE Healthcare Bio-Sciences Corp.) 對資料進行雙參考及擬合成 1:1 結合模型。以下表 7 展示了具有 SEQ ID NO: 5 之 LC 及 SEQ ID NO: 6 之 HC 的抗 ANGPTL3/8 複合物 Ab 在 pH 7.4 及 25°C 溫度下與來自不同物種之各種 ANGPTL3/8 複合物的結合。

【0098】 表 7：在 pH 7.4 及 25°C 溫度下 Ab 與交叉物種 ANGPTL3/8 複合物之結合。

物種 ANGPTL3/8 複合物與 Ab 之結合	k_a (1/Ms)	k_d (1/s)	K_D (M)	s.d.	N
小鼠	4.75×10^5	1.72×10^{-4}	3.66×10^{-10}	6.19×10^{-11}	3
犬	4.91×10^5	9.91×10^{-5}	2.13×10^{-10}	6.30×10^{-11}	3
人類	4.77×10^5	6.31×10^{-5}	1.35×10^{-10}	2.69×10^{-11}	2

【0099】 除具有 SEQ ID NO: 5 之 LC 及 SEQ ID NO: 6 之 HC 的上述抗 ANGPTL3/8 複合物 Ab 之外, 對具有 D31S 突變 (SEQ ID NO: 21)、D33A 突變 (SEQ ID NO: 22) 或 E99Q 突變 (SEQ ID NO: 25) 之 LC 變異體及 SEQ ID NO: 6 之 HC 的 Ab 與來自不同物種之各種 ANGPTL3/8 複合物在 pH 7.4 及 25°C 溫度下的結合進行分析 (表 8-10)。

【0100】 表 8：在 pH 7.4 及 25°C 溫度下 D31S 變異體 Ab 與交叉物種 ANGPTL3/8 複合物之結合

物種ANGPTL3/8 複合物與D31S Ab之結合	k_a (1/Ms)	k_d (1/s)	K_D (M)	s.d.	N
小鼠	4.96×10^5	1.08×10^{-4}	2.18×10^{-10}	1.88×10^{-11}	3
犬	4.62×10^5	1.68×10^{-4}	3.65×10^{-10}	1.50×10^{-11}	3
人類	4.97×10^5	5.75×10^{-5}	1.16×10^{-10}	1.91×10^{-11}	3

【0101】 表9：在pH 7.4及25°C溫度下D33A變異體Ab與交叉物種ANGPTL3/8複合物之結合

物種ANGPTL3/8 複合物與D33A Ab之結合	k_a (1/Ms)	k_d (1/s)	K_D (M)	s.d.	N
小鼠	5.15×10^5	3.47×10^{-4}	6.80×10^{-10}	7.07×10^{-11}	3
犬	4.35×10^5	2.65×10^{-4}	6.09×10^{-10}	1.21×10^{-11}	3
人類	4.57×10^5	9.19×10^{-5}	2.01×10^{-10}	1.75×10^{-11}	3

【0102】 表10：在pH 7.4及25°C溫度下E99Q變異體Ab與交叉物種ANGPTL3/8複合物之結合

物種ANGPTL3/8 複合物與E99Q Ab之結合	k_a (1/Ms)	k_d (1/s)	K_D (M)	s.d.	N
小鼠	5.96×10^5	1.51×10^{-4}	2.54×10^{-10}	1.79×10^{-11}	3
犬	6.20×10^5	7.23×10^{-5}	1.16×10^{-10}	8.58×10^{-12}	3
人類	6.74×10^5	3.26×10^{-5}	4.84×10^{-11}	6.50×10^{-12}	3

【0103】 實例4：活體外功能性活性LPL分析

【0104】 使用基於細胞之生物分析來評估具有SEQ ID NO: 5之LC及SEQ ID NO: 6之HC的抗ANGPTL3/8複合物Ab對經ANGPTL3/8純化蛋白之LPL活性抑制的去抑制。Ab之ANGPTL3/8抑制活性使用EnzChek™脂肪酶受質(ThermoFisher)測定。表現人類、食蟹獼猴、小鼠或大鼠LPL之HEK293細胞株，及經純化人類、食蟹獼猴、小鼠或大鼠ANGPTL3/8蛋白。HEK293-LPL產生包括穩定表現人類LPL之人類胚胎細胞株，其利用標準方法產生(HEK293-huLPL)。簡言之，將人類LPL選殖至具有CMV啟動子及殺稻瘟菌素抗性之慢病毒質體中。使用ViraPower Packaging Mix (Invitrogen)，使用質體產生人類LPL慢病毒。將HEK293細胞與LPL

慢病毒一起培育且選擇對殺稻瘟菌素具有抗性之純系。利用EnzChek™受質在藉由qPCR及LPL活性證實人類LPL mRNA表現後，選擇純系。對食蟹獼猴、小鼠及大鼠LPL重複此過程。

【0105】 修改Basu等人(Basu等人(2011) *J. Lipid Res.* 52:826-832)所述之方法：(a)將HEK293-LPL細胞以25000個細胞/孔之密度添加至96孔經聚-D-離胺酸塗佈之盤A(人類)、B(獼猴)、C(小鼠)或D(大鼠)之一半區域中，及在37°C、5% CO₂下培育隔夜。將Ab自起始原料濃度連續稀釋九次產生十個點CRC，及隨後添加至96孔盤E(人類)、F(獼猴)、G(小鼠)或H(大鼠)(對人類為0.42 nM之IC₈₀濃度、對食蟹獼猴0.38 nM、對小鼠0.13 nM或對大鼠0.81 nM)中之經純化ANGPTL3/8蛋白。

【0106】 將盤A、B、C及D中之HEK293-LPL細胞上的培養基分別改用來自盤E、F、G及H之ANGPTL3/8及Ab混合物置換，及在37°C、5% CO₂下培育1小時。將10 μl EnzChek™脂肪酶受質(於0.05% Zwittergent (3-(N,N-二甲基十八碳烷基銨基)丙磺酸酯)中製成5 μM濃度)(Sigma)添加至盤A、B、C及D中之細胞、ANGPTL3/8及Ab混合物中。使用盤式分析儀，採用495 nm截斷濾光片，在482 nm激發光及515 nm發射光下量測螢光。在各時間點之間，將盤在37°C、5% CO₂下培育。由31 min時之信號減去1 min時之信號，計算相對螢光(與LPL活性成正比)。利用Excel Fit計算Ab使LPL活性回復50%(EC₅₀)時的功效濃度。EC₅₀濃度示於表11中。

【0107】 去抑制作用%計算如下：

$$= (\text{RFU} - \text{RFU}(\text{MIN})) / (\text{RFU}(\text{MAX}) - \text{RFU}(\text{MIN})) \times 100,$$

其中MAX=單獨的細胞(LPL)及MIN=細胞(LPL)+ANGPTL3/8 CM(條件培養基)。

【0108】 Ab之EC₅₀一般較低且因此在去抑制LPL方面為強效性。Ab亦具有有利的LPL之最大去抑制%。

【0109】 表11：人類、獼猴、小鼠及大鼠LPL及人類、獼猴、小鼠及大鼠ANGPTL3/8複合物的Ab EC₅₀及LPL之最大去抑制%

LPL及ANGPTL3/8物種	Ab EC ₅₀ (nM)	LPL之最大去抑制%
人類LPL及人類ANGPTL3/8	0.28	102%
獼猴LPL及獼猴ANGPTL3/8	1.31	96%
小鼠LPL及小鼠ANGPTL3/8	1.38	103%
大鼠LPL及大鼠ANGPTL3/8	2.77	105%

【0110】 除具有SEQ ID NO: 5之LC及SEQ ID NO: 6之HC的上述抗ANGPTL3/8複合物Ab之外，對具有D31S突變(SEQ ID NO: 21)、D33A突變(SEQ ID NO: 22)、D33T突變(SEQ ID NO: 23)或E99Q突變(SEQ ID NO: 25)之LC變異體及SEQ ID NO: 6之HC的Ab對經ANGPTL3/8純化蛋白之LPL活性抑制的去抑制進行分析(表12)。

【0111】 表12：人類及小鼠LPL及人類與小鼠ANGPTL3/8複合物的變異體Ab EC₅₀及LPL之最大去抑制%

LPL及ANGPTL3/8物種	D31S Ab EC ₅₀ (nM)， LPL之最大去 抑制%	D33A Ab EC ₅₀ (nM)， LPL之最大去 抑制%	D33T Ab EC ₅₀ (nM)， LPL之最大去 抑制%	E99Q Ab EC ₅₀ (nM)， LPL之最大去 抑制%
人類LPL及人類ANGPTL3/8	0.86，106%	1.14，103%	1.56，105%	0.49，106%
小鼠LPL及小鼠ANGPTL3/8	1.79，110%	4.07，106%	4.55，114%	1.65，110%

【0112】 實例5：活體內三酸甘油酯反應

【0113】 在huCETP及huApo脂蛋白A1之小鼠轉殖基因中評估具有SEQ ID NO: 5之LC及SEQ ID NO: 6之HC的抗ANGPTL3/8複合物Ab對血清TG之影響(a)。自小鼠收集血液，及在實驗開始之前分離血清。使用Cobas®臨床化學分析儀(Roche)量測血清樣品之TG。將動物分為5組，每

組20隻，得到具有類似血清TG平均值之組。然後將每組20隻進一步細分成4組，每組5隻，具有類似血清三酸甘油酯平均值。藉由向4組不同動物以1 mg/kg(n=20)、3 mg/kg(n=20)、10 mg/kg(n=20)或30 mg/kg(n=20)單次皮下注射，將Ab投與至小鼠。藉由以30 mg/kg (n=20)單次皮下注射向第五組動物投與對照抗原結合無效同型匹配mAb。

【0114】 在Ab投與之後1小時(n=5)、8小時(n=5)、1天(n=5)、2天(n=5)、3天(n=5)、7天(n=5)、14天(n=5)及21天(n=5)，由動物收集血液。在1小時及3天時，由亞組A動物收集血液。在8小時及7天時，由亞組B動物收集血液。在1天及14天時，由亞組C動物收集血液。在2天及21天時，由亞組D動物收集血液。由血液製備血清及使用Cobas®臨床化學分析儀(Roche)量測血清TG含量。針對各時間點時每種Ab劑量，計算來自時間匹配同型對照之TG變化百分比。變化百分比之計算為 $[(Rx \text{ 血清三酸甘油酯} - \text{時間匹配同型對照血清三酸甘油酯}) / (\text{時間匹配同型對照血清三酸甘油酯})] \times 100$ 。資料展示於表13中。

【0115】 表13：與不同時間點時不同劑量Ab之IgG對照相比，Ab之TG下降百分比

給藥後時間	1小時	8小時	1天	2天	3天	7天	14天	21天
1 mg/kg	-22	-33	-76*	-66*	-61*	41	6.4	-20
3 mg/kg	-26	-71*	-84*	-77*	-86*	-25	19.7	-19
10 mg/kg	-27	-62*	-87*	-89*	-88*	-88*	-64.4*	-28
30 mg/kg	-23	-74*	-92*	-87*	-93*	-93*	-89.1*	-75*

針對各資料集使用Dunnett測試對各處理組與時間匹配對照進行比較，及p值<0.05視為統計顯著的。表中以(*)表示時間匹配對照之具有統計顯著性的組。

【0116】 具有SEQ ID NO: 5之LC及SEQ ID NO: 6之HC的Ab在降低TG方面之效能自第1天開始為有利的，及有利作用持續至第21天。

【0117】 除具有SEQ ID NO: 5之LC及SEQ ID NO: 6之HC的上述抗ANGPTL3/8複合物Ab之外，對具有D31S突變(SEQ ID NO: 21)、D33A突變(SEQ ID NO: 22)或E99Q突變(SEQ ID NO: 25)之LC變異體及SEQ ID NO: 6之HC的Ab進行分析，以評估相對於小鼠之IgG對照的TG變化(表14)。

【0118】 表14：與不同時間點時不同劑量變異體Ab的IgG對照相比，TG下降百分比。

給藥後時間	1天	7天	15天	21天
D31S 3mg/kg	-83*	-38*	-25	-12
D31S 10mg/kg	-90*	-91*	-37*	-21
D33A 3mg/kg	-74*	-77*	-34*	-10
D33A 10mg/kg	-78*	-86*	-76*	-60*
E99Q 3mg/kg	-82*	-49*	-5	15
E99Q 10mg/kg	-86*	-91*	-61*	6

針對各資料集使用Dunnett測試對各處理組與時間匹配對照進行比較，及p值<0.05視為統計顯著的。表中以(*)表示時間匹配對照之具有統計顯著性的組。

序列表

【0119】 以下核酸及胺基酸序列在以上揭示內容中提及且在下文提供以供參考。

【0120】 SEQ ID NO:1

atatatagagftaagaagtctaggtctgctccagaagaaaacagttccacgttgctgaaattgaaatcaagataaaaatgttcac
aattaagctcctctttttattgttcctctagttatttctccagaattgatcaagacaattcatcattgattctctatctccagagccaaa
tcaagattgctatgtagacgatgtaaaaatttagccaatggcctcctcagttgggacatggctctaaagactttgtccataagac
gaagggccaaattaatgacataattcaaaaactcaacatattgatcagctctttttatgatctatcgctgcaaaccagtgaaatcaaag
aagaagaaaaggaactgagaagaactacatataaactacaagtcaaaaatgaagaggtaaagaatatgtcacttgaactcaactc
aaaacttgaaagcctcctagaagaaaaaattctacttcaaaaaagtgaaatattagaagagcaactaactaacttaattcaaaat
caacctgaaactccagaacaccagaagtaacttcaacttaaaactttgtagaaaaacaagataatagcatcaaaccttctcca
gaccgtggaagaccaatataaacaattaaccaacagcatagcaaaataaagaaatagaaatcagctcagaaggactagtatt
caagaaccacagaaattctctatctccaagccaagagcaccagaactactccttctcagttgaatgaaataagaaatgta
aaacatgatggcattcctgctgaatgtaccaccattatacagaggtgaacatacaagtggcatgatgccatcagaccagcaa
ctctcaagttttcatgctactgtgatgttatcaggtagtcattgaactcaacatcgaatagatggatcacaaaacttcaat
gaaacgtgggagaactacaaatattggtttgggaggctgatggagaatttgggtggcctagagaagatatactccatagtga
gcaatctaattatgtttacgaattgagttggaagactggaagacaacaacattatattgaatattctttacttgggaaatcacga
aaccaactatacgtacatctagttgctgattactggcaatgtcccaatgcaatccggaaaacaagatttgggttttctacttgg
gatcacaaagcaaaaggacacttcaactgtccagaggggtattcaggaggctgggtggcatgatgatgtggagaaaacaac
ctaaatggtaaatatacaaaccaagagcaaaaatctaagccagagaggagaagaggattatcttggaggtcctcaaaaaggagg
ttatactctataaatcaacaaaatggtgatccatccaacagattcagaaagcfttgaatgaactgaggcaaaatataaaggcaata
atftaaacattaacctcattccaagttaatgtggtctaataatctggtattaaatccttaagagaagcfttgagaaatagattttttatct
taaagtcactgtctatttaagattaaacatacaatcacataaccttaagaataaccgtttacatttctcaatcaaaatcttataatactatt
tgttttaattttgtgatgtgggaatcaattttagatggtcacaatctagattataatcaatagggtgaacttattaaataactttctaata
aaaaattagagactttattttaaaggcatcatatgagctaatcacacttccagtttaaaaaactagtactctgtttaaactct
aaacttgactaaatacagaggactggttaattgtacagttctaaatgtttagtattaaatcactaaactaaatcgtcagcacagagt
atgtgtaaaaatctgtaatacaaaattttaactgatgcttcaatttctcaaaaataattggagtaaatgttggatattatgaa
acctaataagcagaattaaactgtattaaataagttcgtgctttaaacaatggagatgactactaagtcacattgactttaa
catgaggatcactataacctatttgttaaaatatactgtatacattttatatttttaacacttaatactatgaaacaaataattgtaa
ggaatctgtcagattacagtaagaatgaacatatttggcatcgagttaaagttatattcccctaaatgctgtgattctaataca
ttcgtgtaggtttcaagtagaaataaacctcgrtaacaagttactgaacgtttaaacagcctgacaagcatgtatatagtttaaatc
aataaacaagaccagctccctaaattatagaattfaaattatcttgcattgttatcgaatcacaacagatccctaaatccctaaat
ccctaaagattagatacaaaattttaccacagtatcacttgcagaatttatttttaaatatgatttttaaaactgccagtaagaaatfta
aattaaaccctttgtfaaaggatagtgcccaagttataggtgacctacttgtcaatacttagcattatgtatttcaaatatccaa
tatacatgtcatatattttatgtcacatataaaagatatgtatgatctatgtgaatcctaaagtaaatatttgtccagaaaagta
caaaataataaaggtaaaaataatctataatfttcaggaccacagactaaagctgtcgaatcaacgctgatttttttagggccagaat
accaaaatggctcctctcttccccaaaattggacaattcaaatgcaaaaataattcattttaaataatgatgtgcttctctatt

【0121】 SEQ ID NO:2

MFTIKLLLFIVPLVISSRIDQDNSSFDSLSPEPKSRFAMLDDVKILANGLLQLGHGL
 KDFVHKTKGQINDIFQKLNIFDQSFYDLSLQTSEIKEEEKELRRTTYKLQVKNEEV
 KNMSLELNSKLESLLLEEKILLQKVKYLEEQLTNLIQNQPETPEHPEVTSLKTFVE
 KQDNSIKDLLQTVEDQYKQLNQHSQIKEIENQLRRTSIQEPTEISLSSKPRAPRTT
 PFLQLNEIRNVKHDGIPAECTTIYNRGEHTSGMYAIRPSNSQVFHVYCDVISGSPW
 TLIQHRIDGSQNFNETWENYKYGFGRLDGEFWLGLEKIYSIVKQSNYVLRIELED
 WKDNKHIEYSFYLGNHETNYTLHLVAITGNVPAIPENKDLVFSTWDHKAKGH
 FNCPEGYSGGWWWHDECGENNLNGKYNKPRAKSKPERRRGLSWKSQNGRLYSI
 KSTKMLIHPTDSESEFE

【0122】 SEQ ID NO:3

ataccttagacctcagctcatgccagtgctctgtgctctctggccctggcaatggtagccggcctgcctcagcggcc
 cccatgggcggccagaactggcacagcatgaggagctgacctgctctccatgggacctgcagctgggcccaggccctca
 acgggtgtgtacaggaccacggaggacggctgacaaaaggccaggaacagcctgggtctctatggccgcacaatagaactcct
 ggggcaggaggtcagccggggccgggatgcagcccaggaactcgggcaagcctgttgagactcagatggaggaggat
 tctgcagctgcaggcagaggccacagctgaggtgctgggggaggtggcccaggcacagaaggtgctacgggacagegtgc
 agcggctagaagtccagctgaggagcgcctggctggccctgcctaccgagaattgaggtctaaaggctcacgctgacaag
 cagagccacatcctatgggcccctcacaggccacgtgcagcggcagaggcgggagatggtggcacagcagcatcggctgcga
 cagatccaggagagactccacacagcggcgtcccagcctgaatctgctggatggaactgaggaccaatcatgctgcaagg
 aacacttccacgcccgtgaggcccctgtgcaggaggagctgctgttactgggatcagccagggcggccggcccccactt
 ctgagcacagagcagagacagacgcaggcggggacaaaaggcagaggatgtagccccattggggaggggtggaggaagga
 catgtaccctttcatgctacacaccctcattaaagcagagctgtggcatctcaaaaaaaaaaaaaaaaaa

【0123】 SEQ ID NO:4

MPVPALCLLWALAMVTRPASAAPMGGPELAQHEELTLLFHGTLQLGQALNGVY
 RTTEGRLTKARNSLGLYGRTELLGQEVSRGRDAAQELRASLLETQMEEDILQLQ
 AEATAEVLGEVAQAQKVL RDSVQRLEVQLRSAWLGPA YREFEVLKAHADKQSH
 ILWALTGHVQRQRREMVAQQHRLRQIQERLHTAALPA

【0124】 SEQ ID NO:5

DIVMTQTPLSLPVTGEPASISCRSSQSLLDSDDGNTYLDWYLQKPGQSPQLLIYM
 LSYRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGIYYCMQRIEFPLTFGGGTKVEI
 KRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQ
 ESVTEQDSKSTYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

【0125】 SEQ ID NO:6

QVTLKESGPTLVKPTQTLTLTCTFSGFSLSSISGVGVGWIRQPPGKALEWLALIYRN
 DDKRYSPSLKSRLTITKDTSKNQVVLTLTNMDPVDTATYYCARTYSSGWYGNW
 FDPWGQGLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSW
 NSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGKTYTCNVDPHKPSNTKVDK
 RVESKYGPPCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSDQEDPE
 VQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV
 NKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE
 WESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHN
 HYTQKSLSLSLG

【0126】 SEQ ID NO:7

gataftgtgatgaccagacccccctgtctctgcctgtcactccgggggaaccggcctcgatctcatgcccgtcagccagtccc
 tgctggactccgatgacgggaacacttafttgattggtactccaaaagcctggacagagcccgcagctcctgatctacatgctg
 tcctaccgggctccggagtccagaccgcttctcgggaagcggctccggtagcactcacactgaagatctcccgcgtgga
 agctgaggacgtgggcatctactactgtatgcaaagaatcgagttccccctcacctcggcggcgggactaaggctcgagattaa
 gagaaccgtggccgaccatccgtgtcattttccccctccgatgaacagctgaagtccggaaccgctccgctcgtgtgcctg
 ctcaacaacttctacccgaggggaagcgaagtgagtggaagtggacaatgcgctgcagtcggaaactccaagagtcctg
 gaccgaacaggactccaaggactcaacctactcgtgagctcaacgctgacctgagcaaggccgactacgagaagcacaag
 gtctacgcctcgaaagtgacctatcagggttgagctcgccgtgaccaagtcctcaaccggggagagtgc

【0127】 SEQ ID NO:8

caagtcacattgaaggagagcgggtccgaccctgggtcaagccgactcagaccctgaccctgacgtgcactttctcgggcttctcat
 tgtccatttctggagtgggcgtgggatggatcagacagccccggggaaggccctcgaaggctcgcgctgatctaccgcaac
 gacgacaaacgctactccccctcactgaaatccccggctgaccatcactaaggatacgtccaagaaccaggtcgtgtgaccctc
 accaacaatggatcccgtggatactgccacactacttgtgtcacggacctatagcagcggttggtagcgaactgggtcgaaccgt
 ggggccagggaactctgtgacgggtgtctccgcaagcaccagggtctctgtgttccccctggcgccgtgctcgcggagca
 cctcagagtcaccgccgccctcggtgccttfgaaggactactccccggagccagtcaccgtgtcctggaacagcggggcc
 ctgactccggcgtgcacacctccctcggtgctgcagagctcaggcctctattcgtgtcatccgctgtagccgtgccttctcctg
 tcctgggactaaagacctacacttgaacgtggaccataagcccagcaacaccaaagtggaacaagagagtggaatccaata
 cggaccgccatgtccgccctgccccgccccggaagctgccgggggaccagcgtgtcctgttcccacctaagccgaaggac
 actctgatgatctcaaggactcccgaagtcacttgcgtggtcgtggagctgtcccaggaggacccccgaagtcagtttaattgga
 cgtggatggtgtcaggtccacaacgccaaagaccaagcctcgcgaggaacagttcaattccacctaccgggtcgtgtccgtcct
 gaccgtgctgcatcaggactggctgaacggaaaggagtacaagtcaaagtgccaacaaggactcccttctccatcgaaa
 agaccatcagcaaggccaaggccagcctcgcgaaccacaagctctacacctgcccccatcgcaagaggaaatgaccaaga
 accaagtgtcgtgacatgcctcgtcaagggttctaccctcggatattgcgggtggaatgggagtccaacggacagcccgaga
 acaactacaagaccaccccgccggtgttgactccgacggctccttttctgtactccccggctcactgtggacaagtcgcggtg
 gcaggaggggaacgtgttctcctgttccgtgatgcacgaagctctgcacaaccactacaccagaagtcgctgagcctctcact
 ggga

【0128】 SEQ ID NO:9

DIVMTQTPLSLPVTGPASISCRSSQSLLDSDDGNTYLDWYLQKPGQSPQLLIYM
 LSYRASGVPDRFSGSGGTDFTLKISRVEADVGIYYCMQRIEFPLTFGGGTKVEI
 K

【0129】 SEQ ID NO:10

QVTLKESGPTLVKPTQTLTLTCTFSGFSLISISGVGVGWIRQPPGKALEWLALIYRN
 DDKRYSPSLKSRLTITKDTSKNQVVLTLNMDPVDTATYYCARTYSSGWYGNW
 FDPWGQGLVTVSS

【0130】 SEQ ID NO:11

RSSQSLLDSDDGNTYLD

【0131】 SEQ ID NO:12

YMLSYRAS

【0132】 SEQ ID NO:13

MQRIEFPLT

【0133】 SEQ ID NO:14

TFSGFSLSIGVGVG

【0134】 SEQ ID NO:15

LIYRNDDKRYSPSLKS

【0135】 SEQ ID NO:16

ARTYSSGWYGNWFDP

【0136】 SEQ ID NO:17

MFTIKLLLFIVPLVISSRIDQDNSSFDSLSPKSRFAMLDDVKILANGLLQLGHGL
KDFVHKTGQINDIFQKLNIFDQSFYDLSLQTSEIKEEEKELRRTTYKLQVKNEEV
KNMSLELNSKLESLLLEEKILLQQKVKYLEEQLTNLIQNQPETPEHPEVTSKTFVE
KQDNSIKDLLQTVEDQYKQLNQQHSQIKEIENQLRRTSIQEPTEISLSSKPRAPRTT
PFLQLNEIRNVKHDGIPAECTTIYNRGEHTSGMYAIRPSNSQVFHVYCDVISGSPW
TLIQHRIDGSQNFNETWENYKYGFGRLDGEFWLGLEKIYSIVKQSNYVLRIELED
WKDNKHIEYSFYLGNHETNYTLHLVAITGNVPAIPENKDLVFSTWDHKAKGH
FNCPEGYSGGWWWHDECGENNLNGKYNKPRAKSKPERRRGLSWKSQNGRLYSI
KSTKMLIHPTDSESFEAAADYKDDDDK

【0137】 SEQ ID NO:18

METDTLLLWVLLLWVPGSTGDHHHHHHDAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLIA
FAQYLQQSPFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADESAENCCKSLHTLFGDKLCTVATL
RETYGEMADCCAQQEPERNECFLQHKDDNPPLRPLVRPEVDVMCTAFHDNEET
FLKKYLYEIAARRHPYFYAPELLFFAKRYKAAFTECCQAADKAAACLLPKLDEL RDE
GKASSAKQRLKCASLQKFGERAFKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDLTKV

HTECCHGDLLECADDRADLAKYICENQDSISSKLLKECCEKPLLEKSHCIAEVEND
 EMPADLPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVLLRL
 AKTYETTLEKCCAAADPHECYAKVFDEFKPLVEEPQNLIKQNCSELFELGGEYKFQ
 NALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCKKHPEAKRMPCAEDYLSVVL
 NQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAETFTFHAD
 ICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCKKADDKET
 CFAEEGKLVAAASQAALGLAPAPAPAPAPAPAPAPAPAPLEVLVFGPGRAPMG
 GPELAQHEELTLLFHGTLQLGQALNGVYRTTEGRLTKARNSLGLYGRTIELLGQE
 VSRGRDAAQELRASLLETQMEEDILQLQAEATAEVLGEVAQAQKVLRDSVQRLE
 VQLRSAWLGPAYREFEVLKAHADKQSHILWALTGHVQRQRREMVAQQHRLRQI
 QERLHTAALPA

【0138】 SEQ ID NO:19

SRIDQDNSSFDSLSPEPKSRFAMLLDDVKILANGLLQLGHGLKDFVHKTKGQINDIF
 QKLNIFDQSFYDLSLQTSSEIKKEEKELRRTTYKLQVKNEEVKNMSLELNSKLESLL
 EEKILLQQKVYLEEQLTNLIQNQPETPEHPEVTSKTFVEKQDNSIKDLLQTVED
 QYKQLNQHSQIKEIENQLRRTSIQEPTEISLSSKPRAPRTTPFLQLNEIRNVKHDGI
 PAECTTIYNRGEHTSGMYAIRPSNSQVFHVYCDVISGSPWTLIQHRIDGSQNFNET
 WENYKYGFGRLDGEFWLGLLEKIYSIVKQSNYVLRIELEDWKNKHYIEYSFYLG
 NHETNYTLHLVAITGNVPNAIPENKDLVFSTWDHKAKGHFNCPEGYSGGWWWH
 DECGENNLNGKYNKPRAKSKPERRRGLSWKSQNGRLYSIKSTKMLIHPTDSESEFE
 AAADYKDDDDK

【0139】 SEQ ID NO:20

GPGAAPMGGPELAQHEELTLLFHGTLQLGQALNGVYRTTEGRLTKARNSLGLY
 GRTIELLGQEVSRGRDAAQELRASLLETQMEEDILQLQAEATAEVLGEVAQAQK
 VLRDSVQRLEVQLRSAWLGPAYREFEVLKAHADKQSHILWALTGHVQRQRREM
 VAQQHRLRQIQERLHTAALPA

【0140】 SEQ ID NO:21

DIVMTQTPLSLPVTGPGEPAISCRSSQSLLSSDDGNTYLDWYLQKPGQSPQLLIYM
 LSYRASGVPDRFSGSGGTDFTLKISRVEAEDVGIYYCMQRIEFPLTFGGGTKVEI
 KRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQ
 ESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

【0141】 SEQ ID NO:22

DIVMTQTPLSLPVTGPGEPAISCRSSQSLLDSADGNTYLDWYLQKPGQSPQLLIYM
LSYRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGIYYCMQRIEFPLTFGGGKTKVEI
KRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQ
ESVTEQDSKDYSLSSSTLTLSKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

【0142】 SEQ ID NO:23

DIVMTQTPLSLPVTGPGEPAISCRSSQSLLDSTDGNTYLDWYLQKPGQSPQLLIYM
LSYRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGIYYCMQRIEFPLTFGGGKTKVEI
KRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQ
ESVTEQDSKDYSLSSSTLTLSKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

【0143】 SEQ ID NO:24

DIVMTQTPLSLPVTGPGEPAISCRSSQSLLDSDDGNTYLDWYLQKPGQSPQLLIYT
LSYRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGIYYCMQRIEFPLTFGGGKTKVEI
KRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQ
ESVTEQDSKDYSLSSSTLTLSKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

【0144】 SEQ ID NO:25

DIVMTQTPLSLPVTGPGEPAISCRSSQSLLDSDDGNTYLDWYLQKPGQSPQLLIYM
LSYRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGIYYCMQRIQFPLTFGGGKTKVEI
KRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQ
ESVTEQDSKDYSLSSSTLTLSKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

【序列表】

<110> 美商美國禮來大藥廠(Eli Lilly and Company)

<120> 抗ANGPTL3/8複合物抗體及其使用方法

<130> X22621

<150> US 62/783,260

<151> 2018-12-21

<150> US 62/783,265

<151> 2018-12-21

<160> 25

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 2951

<212> DNA

<213> 智人

<400> 1

atatatagag ttaagaagtc taggtctgct tccagaagaa aacagttcca cgttgcttga	60
aattgaaaat caagataaaa atgttcacaa ttaagctcct tctttttatt gttcctctag	120
ttatttcctc cagaattgat caagacaatt catcatttga ttctctatct ccagagccaa	180
aatcaagatt tgctatgtta gacgatgtaa aaattttagc caatggcctc cttcagttgg	240
gacatggtct taaagacttt gtccataaga cgaaggcca aattaatgac atatttcaa	300
aactcaacat atttgatcag tctttttatg atctatcgt gcaaaccagt gaaatcaaag	360
aagaagaaaa ggaactgaga agaactacat ataaactaca agtcaaaaat gaagaggtaa	420
agaatatgtc acttgaactc aactcaaac ttgaaagcct cctagaagaa aaaattctac	480
ttcaacaaaa agtgaatat ttagaagagc aactaactaa ctttaattcaa aatcaacctg	540
aaactccaga acaccagaa gtaacttcac ttaaaacttt ttagaagaaa caagataata	600
gcatcaaaga cttctccag accgtggaag accaatataa acaattaac caacagcata	660
gtcaaataaa agaaatagaa aatcagctca gaaggactag tattcaagaa cccacagaaa	720
ttctctatc ttccaagcca agagcaccaa gaactactcc ctttcttcag ttgaatgaaa	780

taagaaatgt aaaacatgat ggcattcctg ctgaatgtac caccatttat aacagagggtg	840
aacatacaag tggcatgtat gccatcagac ccagcaacte tcaagttttt catgtctact	900
gtgatgttat atcaggtagt ccatggacat taattcaaca tcgaatagat ggatcacaaa	960
acttcaatga aacgtgggag aactacaaat atggtttttg gaggcttgat ggagaatfff	1020
ggttgggcct agagaagata tactccatag tgaagcaate taattatggt ttacgaattg	1080
agttggaaga ctggaaagac aacaacatt atattgaata ttctttttac ttgggaaate	1140
acgaaaccaa ctatacgcta catctagttg cgattactgg caatgtcccc aatgcaatcc	1200
cggaaaacaa agatttgggtg ttttctactt gggatcacia agcaaaaagga cacttcaact	1260
gtccagaggg ttaticagga ggctggfggg ggcattgatga gtgtggagaa aacaacctaa	1320
atggtaata taacaaacca agagcaaaat ctaagccaga gaggagaaga ggattatctt	1380
ggaagtctca aaatggaagg ttatactcta taaaatcaac caaatgttg atccatccaa	1440
cagattcaga aagctttgaa tgaactgagg caaatftaaa aggcaataat ttaaacatta	1500
acctattcc aagttaatgt ggtctaataa tctggtatta aatccttaag agaaaagcttg	1560
agaaatagat tttttttatc ttaaagtcac tgtctattta agattaacaa tacaatcaca	1620
taaccttaaa gaataccggt tacatttctc aatcaaaatt cttataatac tatttgtttt	1680
aaatfttggt atgtgggaat caatftftaga tggtcacaat ctagattata atcaataggt	1740
gaacttatta aataactftt ctaaataaaa aatfttagaga cftttatftt aaaaggcatc	1800
atatgagcta atatacaaac ftftccagtt taaaaaacta gtactcttgt taaaactcta	1860
aacttgacta aatacagagg actggtaatt gtacagttct taaatgttgt agtattaatt	1920
tcaaaaactaa aaatcgtcag cacagagtat gtgtaaaaat ctgtaataca aatftfttaa	1980
ctgatgcttc atfttgctac aaaataatft ggagtaaatg fttgatatga ftftatftatg	2040
aaacctaatg aagcagaatt aaatactgta ttaaaataag ftcgtgtct ttaaacaaat	2100
ggagatgact actaagtcac attgactfta acatgaggta tcaactatacc ftatftgtta	2160
aaatatatac tgtatacatt ftatataftt taacactfta tactatgaaa acaaaataatt	2220
gtaaaggaat cftgtcagat tacagtaaga atgaacafat ftgtggcatc gagftaaagt	2280

ttatatttcc cctaaatag ctgtgattct aatacattcg thtaggtttt caagtagaaa 2340
 taaacctcgt aacaagttac tgaacgttta aacagcctga caagcatgta tatatgttta 2400
 aaattcaata aacaagacc cagtccttaa attatagaaa tttaaattat tcttgcattg 2460
 ttatcgacat cacaacagat ccctaaatcc ctaaatccct aaagattaga tacaattttt 2520
 ttaccacagt atcacttgtc agaatttatt tttaaataag attttttaa actgccagta 2580
 agaaatttta aattaaacc atttgttaaa ggatatagtg cccaagtat atggtagacct 2640
 acctttgtca atacttagca ttatgtattt caaattatcc aatatacatg tcatatata 2700
 ttttatatgt cacatatata aaagatatgt atgatctatg tgaatcctaa gtaaattttt 2760
 tgttccagaa aagtacaaaa taataaagggt aaaaataatc tataattttc aggaccacag 2820
 actaagctgt cgaaattaac gctgattttt ttagggccag aatacaaaa tggctcctct 2880
 cttccccaa aattggacaa ttcaaatgc aaaataatc attatttaat atatgagttg 2940
 cttcctctat t 2951

<210> 2

<211> 460

<212> PRT

<213> 智人

<400> 2

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

I747098

65 70 75 80
 Ser Phe Tyr Asp Leu Ser Leu Gln Thr Ser Glu Ile Lys Glu Glu Glu
 85 90 95

 Lys Glu Leu Arg Arg Thr Thr Tyr Lys Leu Gln Val Lys Asn Glu Glu
 100 105 110

 Val Lys Asn Met Ser Leu Glu Leu Asn Ser Lys Leu Glu Ser Leu Leu
 115 120 125

 Glu Glu Lys Ile Leu Leu Gln Gln Lys Val Lys Tyr Leu Glu Glu Gln
 130 135 140

 Leu Thr Asn Leu Ile Gln Asn Gln Pro Glu Thr Pro Glu His Pro Glu
 145 150 155 160

 Val Thr Ser Leu Lys Thr Phe Val Glu Lys Gln Asp Asn Ser Ile Lys
 165 170 175

 Asp Leu Leu Gln Thr Val Glu Asp Gln Tyr Lys Gln Leu Asn Gln Gln
 180 185 190

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

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

 Thr Thr Pro Phe Leu Gln Leu Asn Glu Ile Arg Asn Val Lys His Asp
 225 230 235 240

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

 Ser Gly Met Tyr Ala Ile Arg Pro Ser Asn Ser Gln Val Phe His Val
 260 265 270

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

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

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

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

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

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

Val Pro Asn Ala Ile Pro Glu Asn Lys Asp Leu Val Phe Ser Thr Trp
 370 375 380

Asp His Lys Ala Lys Gly His Phe Asn Cys Pro Glu Gly Tyr Ser Gly
 385 390 395 400

Gly Trp Trp Trp His Asp Glu Cys Gly Glu Asn Asn Leu Asn Gly Lys
 405 410 415

Tyr Asn Lys Pro Arg Ala Lys Ser Lys Pro Glu Arg Arg Arg Gly Leu
 420 425 430

Ser Trp Lys Ser Gln Asn Gly Arg Leu Tyr Ser Ile Lys Ser Thr Lys
 435 440 445

Met Leu Ile His Pro Thr Asp Ser Glu Ser Phe Glu
 450 455 460

<210> 3

I747098

<211> 888
<212> DNA
<213> 智人

<400> 3

```
ataccttaga ccctcagtca tgccagtgcc tgcctctgtc ctgctctggg ccctggcaat      60
ggtgaccggg cctgcctcag cggcccccat gggcggccca gaactggcac agcatgagga      120
gctgaccctg ctcttccatg ggaccctgca gctgggccag gccctcaacg gtgtgtacag      180
gaccacggag ggacggctga caaaggccag gaacagcctg ggtctctatg gccgcacaat      240
agaactcctg gggcaggagg tcagccgggg ccgggatgca gcccaggaac ttcgggcaag      300
cctgttgagg actcagatgg aggaggatat tctgcagctg caggcagagg ccacagctga      360
ggtgctgggg gaggtggccc aggcacagaa ggtgctacgg gacagcgtgc agcggctaga      420
agtccagctg aggagcgcct ggctgggccc tcctaccga gaatttgagg tcttaaaggc      480
tcacgtgac aagcagagcc acatcctatg ggccctcaca ggccacgtgc agcggcagag      540
gcgggagatg gtggcacagc agcatcggct gcgacagatc caggagagac tccacacagc      600
ggcgtcicca gcctgaatct gcctggatgg aactgaggac caatcatgct gcaaggaaca      660
cttccacgcc ccgtgaggcc cctgtgcagg gaggagctgc ctgttactg ggatcagcca      720
ggcgcgccgg ccccaattct gagcacagag cagagacaga cgcaggcggg gacaaaggca      780
gaggatgtag ccccatggg gaggggtgga ggaaggacat gtaccctttc atgcctacac      840
accctcatt aaagcagagt cgtggcatct caaaaaaaaa aaaaaaaaa      888
```

<210> 4
<211> 198
<212> PRT
<213> 智人

<400> 4

```
Met Pro Val Pro Ala Leu Cys Leu Leu Trp Ala Leu Ala Met Val Thr
1           5           10          15
```

```
Arg Pro Ala Ser Ala Ala Pro Met Gly Gly Pro Glu Leu Ala Gln His
          20          25          30
```

Glu Glu Leu Thr Leu Leu Phe His Gly Thr Leu Gln Leu Gly Gln Ala
 35 40 45

Leu Asn Gly Val Tyr Arg Thr Thr Glu Gly Arg Leu Thr Lys Ala Arg
 50 55 60

Asn Ser Leu Gly Leu Tyr Gly Arg Thr Ile Glu Leu Leu Gly Gln Glu
 65 70 75 80

Val Ser Arg Gly Arg Asp Ala Ala Gln Glu Leu Arg Ala Ser Leu Leu
 85 90 95

Glu Thr Gln Met Glu Glu Asp Ile Leu Gln Leu Gln Ala Glu Ala Thr
 100 105 110

Ala Glu Val Leu Gly Glu Val Ala Gln Ala Gln Lys Val Leu Arg Asp
 115 120 125

Ser Val Gln Arg Leu Glu Val Gln Leu Arg Ser Ala Trp Leu Gly Pro
 130 135 140

Ala Tyr Arg Glu Phe Glu Val Leu Lys Ala His Ala Asp Lys Gln Ser
 145 150 155 160

His Ile Leu Trp Ala Leu Thr Gly His Val Gln Arg Gln Arg Arg Glu
 165 170 175

Met Val Ala Gln Gln His Arg Leu Arg Gln Ile Gln Glu Arg Leu His
 180 185 190

Thr Ala Ala Leu Pro Ala
 195

<210> 5
 <211> 220
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>

<223> 合成構築體

<400> 5

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

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser
 20 25 30

Asp Asp Gly Asn Thr Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln
 35 40 45

Ser Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Met Leu Ser Tyr Arg Ala Ser Gly Val
 50 55 60

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

Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Ile Tyr Tyr Cys Met Gln
 85 90 95

Arg Ile Glu Phe Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile
 100 105 110

Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp
 115 120 125

Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn
 130 135 140

Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu
 145 150 155 160

Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp
 165 170 175

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

I747098

180

185

190

Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser
195 200 205

Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215 220

<210> 6

<211> 449

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成構築體

<400> 6

Gln Val Thr Leu Lys Glu Ser Gly Pro Thr Leu Val Lys Pro Thr Gln
1 5 10 15

Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Ile Ser
20 25 30

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

Trp Leu Ala Leu Ile Tyr Arg Asn Asp Asp Lys Arg Tyr Ser Pro Ser
50 55 60

Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Thr Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val
65 70 75 80

Val Leu Thr Leu Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
85 90 95

Cys Ala Arg Thr Tyr Ser Ser Gly Trp Tyr Gly Asn Trp Phe Asp Pro
100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly

115

120

125

Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser
 130 135 140

Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val
 145 150 155 160

Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe
 165 170 175

Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val
 180 185 190

Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val
 195 200 205

Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys
 210 215 220

Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly
 225 230 235 240

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
 245 250 255

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu
 260 265 270

Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
 275 280 285

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg
 290 295 300

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
 305 310 315 320

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu
 325 330 335

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
 340 345 350

Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
 355 360 365

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
 370 375 380

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
 385 390 395 400

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp
 405 410 415

Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
 420 425 430

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu
 435 440 445

Gly

<210> 7

<211> 660

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成構築體

<400> 7

gatattgtga tgaccagac cccctgtct ctgcctgtca ctccggggga accgcctcg 60

atctcatgcc ggtcgagcca gtcctgctg gactccgatg acgggaacac ttatttgat 120

tggtaacctcc aaaagcctgg acagagcccg cagctcctga tctacatgct gtcctaccgg 180
 gcctccggag tgccagaccg cttctcggga agcggctccg gtaccgactt cacactgaag 240
 atctcccgcg tggaaagtga ggacgtgggc atctactact gtatgcaaag aatcgagttc 300
 cccctcacct tcggcggcgg gactaaggtc gagattaaga gaaccgtggc cgcaccatcc 360
 gtgttcattt ttccccctc cgatgaacag ctgaagtccg gaaccgcctc cgtcgtgtgc 420
 ctgctcaaca acttctaccc gaggggaagcg aaagtgcagt ggaaagtgga caatgcgctg 480
 cagtcggaa actcccaaga gtccgtgacc gaacaggact ccaaggactc aacctactcg 540
 ctgagctcaa cgctgacct gagcaaggcc gactacgaga agcacaaggt ctacgcctgc 600
 gaagtgacc atcagggttt gagctcggcc gtgaccaagt ccttcaaccg gggagagtgc 660

<210> 8

<211> 1347

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成構築體

<400> 8

caagtcacat tgaaggagag cggctccgacc ctggtcaagc cgactcagac cctgaccctg 60
 acgtgcactt tctcgggctt ctctattgccc atttctggag tgggcgtggg atggatcaga 120
 cagcccccg ggaaggccct cgagtggctc gcgctgatct accgcaacga cgacaaacgc 180
 tactccccct cactgaaatc ccggctgacc atcactaagg atacttcaa gaaccaggtc 240
 gtgttgacc tcaccaacat ggatcccgtg gatactgcca cctactattg tgcacggacc 300
 tatagcagcg gttggtacgg aaactggttc gaccctggg gccagggaac tcttltgacg 360
 gtgtcctccg caagcaccaa gggtccttct gtgttcccc tggcgcctg ctcgcggagc 420
 acctcagagt ccaccgccgc cctcggctgc ctgtgaagg actacttccc ggagccagtc 480
 accgtgtcct ggaacagcgg ggcctgact tccggcgtgc acacttccc tgcggtgctg 540
 cagagctcag gcctctattc gctgtcatcc gtcgtgaccg tgccttctc gtcctgggc 600
 actaagacct acacttgcaa cgtggaccat aagcccagca acaccaaagt ggacaagaga 660

gtggaatcca aatacggacc gccatgtccg cctgccccg ccccggaagc tgccggggga 720
 cccagcgtgt tctgttccc acctaagccg aaggacactc tgatgatctc aaggactccc 780
 gaagtcaact gcgtggtcgt ggacgtgtcc caggaggacc ccgaagtcca gtttaattgg 840
 tacgtggatg gtgtcgaggt ccacaacgcc aagaccaagc ctcccgagga acagtcaat 900
 tccacctacc gggtcgtgtc cgtcctgacc gtgctgcatc aggactggct gaacggaaag 960
 gagtacaagt gcaaagtgtc caacaaggga ctcccttctt ccatcgaaaa gaccatcagc 1020
 aaggccaagg gccagcctcg cgaaccacaa gcttacacc tgccccatc gcaagaggaa 1080
 atgaccaaga accaagtgtc gctgacatgc ctctcaagg gattctacc gtcggatatt 1140
 gcggtggaat gggagtccaa cggacagccc gagaacaact acaagaccac cccgccggtg 1200
 ttggactccg acggctcctt tttcctgtac tcccggctca ctgtggacaa gtcgcggtgg 1260
 caggagggga acgtgttctc ctgttccgtg atgcacgaag ctctgcacaa ccactacacc 1320
 cagaagtcgc tgagcctctc actggga 1347

<210> 9

<211> 113

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成構築體

<400> 9

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

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser
 20 25 30

Asp Asp Gly Asn Thr Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln
 35 40 45

Ser Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Met Leu Ser Tyr Arg Ala Ser Gly Val
 50 55 60

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

Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Ile Tyr Tyr Cys Met Gln
85 90 95

Arg Ile Glu Phe Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile
100 105 110

Lys

<210> 10

<211> 123

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成構築體

<400> 10

Gln Val Thr Leu Lys Glu Ser Gly Pro Thr Leu Val Lys Pro Thr Gln
1 5 10 15

Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Ile Ser
20 25 30

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

Trp Leu Ala Leu Ile Tyr Arg Asn Asp Asp Lys Arg Tyr Ser Pro Ser
50 55 60

Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Thr Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val
65 70 75 80

Val Leu Thr Leu Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
85 90 95

Cys Ala Arg Thr Tyr Ser Ser Gly Trp Tyr Gly Asn Trp Phe Asp Pro
 100 105 110

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

<210> 11
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成構築體

<400> 11

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

Asp

<210> 12
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成構築體

<400> 12

Tyr Met Leu Ser Tyr Arg Ala Ser
 1 5

<210> 13
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成構築體

<400> 13

I747098

Met Gln Arg Ile Glu Phe Pro Leu Thr

1 5

<210> 14

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成構築體

<400> 14

Thr Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Ile Ser Gly Val Gly Val Gly

1 5 10 15

<210> 15

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成構築體

<400> 15

Leu Ile Tyr Arg Asn Asp Asp Lys Arg Tyr Ser Pro Ser Leu Lys Ser

1 5 10 15

<210> 16

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成構築體

<400> 16

Ala Arg Thr Tyr Ser Ser Gly Trp Tyr Gly Asn Trp Phe Asp Pro

1 5 10 15

<210> 17

<211> 471

<212> PRT

I747098

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成構築體

<400> 17

Met Phe Thr Ile Lys Leu Leu Leu Phe Ile Val Pro Leu Val Ile Ser
1 5 10 15

Ser Arg Ile Asp Gln Asp Asn Ser Ser Phe Asp Ser Leu Ser Pro Glu
20 25 30

Pro Lys Ser Arg Phe Ala Met Leu Asp Asp Val Lys Ile Leu Ala Asn
35 40 45

Gly Leu Leu Gln Leu Gly His Gly Leu Lys Asp Phe Val His Lys Thr
50 55 60

Lys Gly Gln Ile Asn Asp Ile Phe Gln Lys Leu Asn Ile Phe Asp Gln
65 70 75 80

Ser Phe Tyr Asp Leu Ser Leu Gln Thr Ser Glu Ile Lys Glu Glu Glu
85 90 95

Lys Glu Leu Arg Arg Thr Thr Tyr Lys Leu Gln Val Lys Asn Glu Glu
100 105 110

Val Lys Asn Met Ser Leu Glu Leu Asn Ser Lys Leu Glu Ser Leu Leu
115 120 125

Glu Glu Lys Ile Leu Leu Gln Gln Lys Val Lys Tyr Leu Glu Glu Gln
130 135 140

Leu Thr Asn Leu Ile Gln Asn Gln Pro Glu Thr Pro Glu His Pro Glu
145 150 155 160

Val Thr Ser Leu Lys Thr Phe Val Glu Lys Gln Asp Asn Ser Ile Lys
165 170 175

Asp Leu Leu Gln Thr Val Glu Asp Gln Tyr Lys Gln Leu Asn Gln Gln
 180 185 190

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

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

Thr Thr Pro Phe Leu Gln Leu Asn Glu Ile Arg Asn Val Lys His Asp
 225 230 235 240

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

Ser Gly Met Tyr Ala Ile Arg Pro Ser Asn Ser Gln Val Phe His Val
 260 265 270

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

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

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

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

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

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

Val Pro Asn Ala Ile Pro Glu Asn Lys Asp Leu Val Phe Ser Thr Trp

370

375

380

Asp His Lys Ala Lys Gly His Phe Asn Cys Pro Glu Gly Tyr Ser Gly
 385 390 395 400

Gly Trp Trp Trp His Asp Glu Cys Gly Glu Asn Asn Leu Asn Gly Lys
 405 410 415

Tyr Asn Lys Pro Arg Ala Lys Ser Lys Pro Glu Arg Arg Arg Gly Leu
 420 425 430

Ser Trp Lys Ser Gln Asn Gly Arg Leu Tyr Ser Ile Lys Ser Thr Lys
 435 440 445

Met Leu Ile His Pro Thr Asp Ser Glu Ser Phe Glu Ala Ala Ala Asp
 450 455 460

Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys
 465 470

<210> 18

<211> 820

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成構築體

<400> 18

Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro
 1 5 10 15

Gly Ser Thr Gly Asp His His His His His His Asp Ala His Lys Ser
 20 25 30

Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu Glu Asn Phe Lys Ala
 35 40 45

Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln Gln Ser Pro Phe Glu

50

55

60

Asp His Val Lys Leu Val Asn Glu Val Thr Glu Phe Ala Lys Thr Cys
65 70 75 80

Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys Ser Leu His Thr Leu
85 90 95

Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu Arg Glu Thr Tyr Gly
100 105 110

Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro Glu Arg Asn Glu Cys
115 120 125

Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu Pro Arg Leu Val Arg
130 135 140

Pro Glu Val Asp Val Met Cys Thr Ala Phe His Asp Asn Glu Glu Thr
145 150 155 160

Phe Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg Arg His Pro Tyr Phe
165 170 175

Tyr Ala Pro Glu Leu Leu Phe Phe Ala Lys Arg Tyr Lys Ala Ala Phe
180 185 190

Thr Glu Cys Cys Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala Cys Leu Leu Pro Lys
195 200 205

Leu Asp Glu Leu Arg Asp Glu Gly Lys Ala Ser Ser Ala Lys Gln Arg
210 215 220

Leu Lys Cys Ala Ser Leu Gln Lys Phe Gly Glu Arg Ala Phe Lys Ala
225 230 235 240

Trp Ala Val Ala Arg Leu Ser Gln Arg Phe Pro Lys Ala Glu Phe Ala
245 250 255

Glu Val Ser Lys Leu Val Thr Asp Leu Thr Lys Val His Thr Glu Cys
 260 265 270

Cys His Gly Asp Leu Leu Glu Cys Ala Asp Asp Arg Ala Asp Leu Ala
 275 280 285

Lys Tyr Ile Cys Glu Asn Gln Asp Ser Ile Ser Ser Lys Leu Lys Glu
 290 295 300

Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser His Cys Ile Ala Glu Val
 305 310 315 320

Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser Leu Ala Ala Asp Phe
 325 330 335

Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala Glu Ala Lys Asp Val
 340 345 350

Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg Arg His Pro Asp Tyr
 355 360 365

Ser Val Val Leu Leu Leu Arg Leu Ala Lys Thr Tyr Glu Thr Thr Leu
 370 375 380

Glu Lys Cys Cys Ala Ala Ala Asp Pro His Glu Cys Tyr Ala Lys Val
 385 390 395 400

Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro Gln Asn Leu Ile Lys
 405 410 415

Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu Tyr Lys Phe Gln Asn
 420 425 430

Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro Gln Val Ser Thr Pro
 435 440 445

Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys Val Gly Ser Lys Cys

450

455

460

Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys Ala Glu Asp Tyr Leu
 465 470 475 480

Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His Glu Lys Thr Pro Val
 485 490 495

Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser Leu Val Asn Arg Arg
 500 505 510

Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr Tyr Val Pro Lys Glu
 515 520 525

Phe Asn Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp Ile Cys Thr Leu Ser
 530 535 540

Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala Leu Val Glu Leu Val
 545 550 555 560

Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu Lys Ala Val Met Asp
 565 570 575

Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys Ala Asp Asp Lys Glu
 580 585 590

Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val Ala Ala Ser Gln Ala
 595 600 605

Ala Leu Gly Leu Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro
 610 615 620

Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Leu Glu Val Leu Phe Gln Gly Pro
 625 630 635 640

Gly Arg Ala Ala Pro Met Gly Gly Pro Glu Leu Ala Gln His Glu Glu
 645 650 655

Leu Thr Leu Leu Phe His Gly Thr Leu Gln Leu Gly Gln Ala Leu Asn
 660 665 670

Gly Val Tyr Arg Thr Thr Glu Gly Arg Leu Thr Lys Ala Arg Asn Ser
 675 680 685

Leu Gly Leu Tyr Gly Arg Thr Ile Glu Leu Leu Gly Gln Glu Val Ser
 690 695 700

Arg Gly Arg Asp Ala Ala Gln Glu Leu Arg Ala Ser Leu Leu Glu Thr
 705 710 715 720

Gln Met Glu Glu Asp Ile Leu Gln Leu Gln Ala Glu Ala Thr Ala Glu
 725 730 735

Val Leu Gly Glu Val Ala Gln Ala Gln Lys Val Leu Arg Asp Ser Val
 740 745 750

Gln Arg Leu Glu Val Gln Leu Arg Ser Ala Trp Leu Gly Pro Ala Tyr
 755 760 765

Arg Glu Phe Glu Val Leu Lys Ala His Ala Asp Lys Gln Ser His Ile
 770 775 780

Leu Trp Ala Leu Thr Gly His Val Gln Arg Gln Arg Arg Glu Met Val
 785 790 795 800

Ala Gln Gln His Arg Leu Arg Gln Ile Gln Glu Arg Leu His Thr Ala
 805 810 815

Ala Leu Pro Ala
 820

<210> 19
 <211> 455
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>

<223> 合成構築體

<400> 19

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 Lys Gln Asp Asn Ser Ile Lys
 145 150 155 160

Asp Leu Leu Gln Thr Val Glu Asp Gln Tyr Lys Gln Leu Asn Gln Gln
 165 170 175

His Ser Gln Ile Lys Glu Ile Glu Asn Gln Leu Arg Arg Thr Ser Ile

180

185

190

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

Thr Thr Pro Phe Leu Gln Leu Asn Glu Ile Arg Asn Val Lys His Asp
 210 215 220

Gly Ile Pro Ala Glu Cys Thr Thr Ile Tyr Asn Arg Gly Glu His Thr
 225 230 235 240

Ser Gly Met Tyr Ala Ile Arg Pro Ser Asn Ser Gln Val Phe His Val
 245 250 255

Tyr Cys Asp Val Ile Ser Gly Ser Pro Trp Thr Leu Ile Gln His Arg
 260 265 270

Ile Asp Gly Ser Gln Asn Phe Asn Glu Thr Trp Glu Asn Tyr Lys Tyr
 275 280 285

Gly Phe Gly Arg Leu Asp Gly Glu Phe Trp Leu Gly Leu Glu Lys Ile
 290 295 300

Tyr Ser Ile Val Lys Gln Ser Asn Tyr Val Leu Arg Ile Glu Leu Glu
 305 310 315 320

Asp Trp Lys Asp Asn Lys His Tyr Ile Glu Tyr Ser Phe Tyr Leu Gly
 325 330 335

Asn His Glu Thr Asn Tyr Thr Leu His Leu Val Ala Ile Thr Gly Asn
 340 345 350

Val Pro Asn Ala Ile Pro Glu Asn Lys Asp Leu Val Phe Ser Thr Trp
 355 360 365

Asp His Lys Ala Lys Gly His Phe Asn Cys Pro Glu Gly Tyr Ser Gly
 370 375 380

Gly Trp Trp Trp His Asp Glu Cys Gly Glu Asn Asn Leu Asn Gly Lys
 385 390 395 400

Tyr Asn Lys Pro Arg Ala Lys Ser Lys Pro Glu Arg Arg Arg Gly Leu
 405 410 415

Ser Trp Lys Ser Gln Asn Gly Arg Leu Tyr Ser Ile Lys Ser Thr Lys
 420 425 430

Met Leu Ile His Pro Thr Asp Ser Glu Ser Phe Glu Ala Ala Ala Asp
 435 440 445

Tyr Lys Asp Asp Asp Lys
 450 455

<210> 20
 <211> 182
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成構築體

<400> 20

Gly Pro Gly Arg Ala Ala Pro Met Gly Gly Pro Glu Leu Ala Gln His
 1 5 10 15

Glu Glu Leu Thr Leu Leu Phe His Gly Thr Leu Gln Leu Gly Gln Ala
 20 25 30

Leu Asn Gly Val Tyr Arg Thr Thr Glu Gly Arg Leu Thr Lys Ala Arg
 35 40 45

Asn Ser Leu Gly Leu Tyr Gly Arg Thr Ile Glu Leu Leu Gly Gln Glu
 50 55 60

Val Ser Arg Gly Arg Asp Ala Ala Gln Glu Leu Arg Ala Ser Leu Leu
 65 70 75 80

Glu Thr Gln Met Glu Glu Asp Ile Leu Gln Leu Gln Ala Glu Ala Thr
 85 90 95

Ala Glu Val Leu Gly Glu Val Ala Gln Ala Gln Lys Val Leu Arg Asp
 100 105 110

Ser Val Gln Arg Leu Glu Val Gln Leu Arg Ser Ala Trp Leu Gly Pro
 115 120 125

Ala Tyr Arg Glu Phe Glu Val Leu Lys Ala His Ala Asp Lys Gln Ser
 130 135 140

His Ile Leu Trp Ala Leu Thr Gly His Val Gln Arg Gln Arg Arg Glu
 145 150 155 160

Met Val Ala Gln Gln His Arg Leu Arg Gln Ile Gln Glu Arg Leu His
 165 170 175

Thr Ala Ala Leu Pro Ala
 180

<210> 21
 <211> 220
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成構築體

<400> 21

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

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu Ser Ser
 20 25 30

Asp Asp Gly Asn Thr Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln
 35 40 45

Ser Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Met Leu Ser Tyr Arg Ala Ser Gly Val
50 55 60

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

Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Ile Tyr Tyr Cys Met Gln
85 90 95

Arg Ile Glu Phe Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile
100 105 110

Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp
115 120 125

Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn
130 135 140

Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu
145 150 155 160

Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp
165 170 175

Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr
180 185 190

Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser
195 200 205

Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215 220

<210> 22
<211> 220
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 合成構築體

<400> 22

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

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser
 20 25 30

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

Ser Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Met Leu Ser Tyr Arg Ala Ser Gly Val
 50 55 60

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

Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Ile Tyr Tyr Cys Met Gln
 85 90 95

Arg Ile Glu Phe Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile
 100 105 110

Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp
 115 120 125

Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn
 130 135 140

Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu
 145 150 155 160

Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp
 165 170 175

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

180

185

190

Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser
 195 200 205

Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210 215 220

<210> 23

<211> 220

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成構築體

<400> 23

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

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser
 20 25 30

Thr Asp Gly Asn Thr Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln
 35 40 45

Ser Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Met Leu Ser Tyr Arg Ala Ser Gly Val
 50 55 60

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

Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Ile Tyr Tyr Cys Met Gln
 85 90 95

Arg Ile Glu Phe Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile
 100 105 110

Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp

115

120

125

Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn
 130 135 140

Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu
 145 150 155 160

Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp
 165 170 175

Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr
 180 185 190

Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser
 195 200 205

Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210 215 220

<210> 24

<211> 220

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成構築體

<400> 24

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

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser
 20 25 30

Asp Asp Gly Asn Thr Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln
 35 40 45

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

50

55

60

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

Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Ile Tyr Tyr Cys Met Gln
 85 90 95

Arg Ile Glu Phe Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile
 100 105 110

Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp
 115 120 125

Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn
 130 135 140

Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu
 145 150 155 160

Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp
 165 170 175

Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr
 180 185 190

Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser
 195 200 205

Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210 215 220

<210> 25

<211> 220

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成構築體

<400> 25

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

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser
 20 25 30

Asp Asp Gly Asn Thr Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln
 35 40 45

Ser Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Met Leu Ser Tyr Arg Ala Ser Gly Val
 50 55 60

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

Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Ile Tyr Tyr Cys Met Gln
 85 90 95

Arg Ile Gln Phe Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile
 100 105 110

Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp
 115 120 125

Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn
 130 135 140

Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu
 145 150 155 160

Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp
 165 170 175

Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr
 180 185 190

I747098

Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser
195 200 205

Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215 220

【發明申請專利範圍】

【請求項1】

一種聚核苷酸，其包含編碼SEQ ID NO:17之多肽及SEQ ID NO:18之多肽的核酸序列。

【請求項2】

一種表現盒，其包含如請求項1之聚核苷酸。

【請求項3】

一種載體，其包含如請求項1之聚核苷酸。

【請求項4】

一種宿主細胞，其包含如請求項2之表現盒或如請求項3之載體。

【請求項5】

如請求項4之宿主細胞，其中該宿主細胞係哺乳動物細胞。

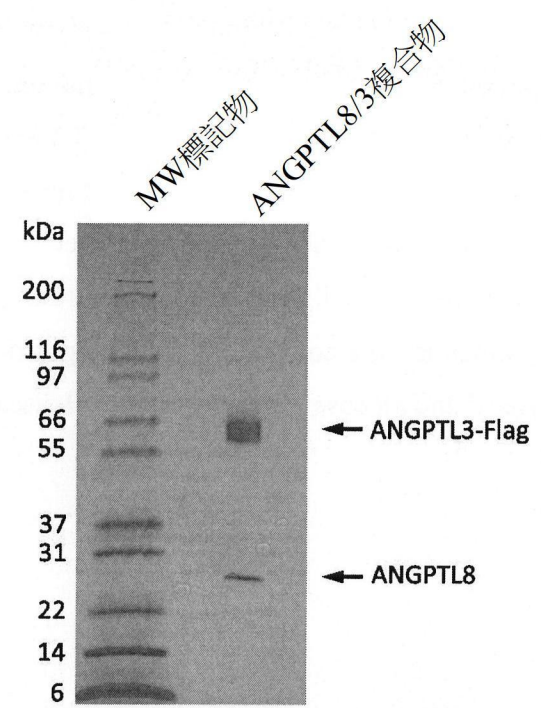
【請求項6】

一種血管生成素樣肽(ANGPTL) 3/8複合物，其包含含有SEQ ID NO:17或19之胺基酸序列的多肽及含有SEQ ID NO:18或20之胺基酸序列的多肽。

【請求項7】

一種血管生成素樣肽(ANGPTL) 3/8複合物，其包含含有SEQ ID NO:19之胺基酸序列的多肽及含有SEQ ID NO:20之胺基酸序列的多肽。

【發明圖式】



4-20% TG TGX庫馬斯染色凝膠

【圖1】