

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(21) 201890453 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2018.07.31

(51) Int. Cl. C07K 16/00 (2006.01)
C07K 16/18 (2006.01)
C07K 16/22 (2006.01)

(22) Дата подачи заявки
2016.08.04

(54) АНТИ-ANGPTL8 АНТИТЕЛА И ИХ ПРИМЕНЕНИЕ

(31) 62/202,366

(32) 2015.08.07

(33) US

(86) PCT/US2016/045535

(87) WO 2017/027316 2017.02.16

(71) Заявитель:
РИДЖЕНЕРОН
ФАРМАСЬЮТИКАЛЗ, ИНК. (US)

(72) Изобретатель:
Гусарова Виктория, Громада Джеспер,
Мерфи Эндрю Дж., Баклер Дэвид Р.
(US)

(74) Представитель:
Медведев В.Н. (RU)

(57) Настоящее изобретение относится к антителам, которые связывают ANGPTL8, и способам их применения. В некоторых вариантах осуществления антитела по изобретению связывают человеческий ANGPTL8 с высокой аффинностью. Антитела по изобретению могут быть полностью человеческими антителами. Антитела по изобретению полезны для лечения различных заболеваний или нарушений, частично характеризующихся повышенными уровнями триглицеридов в крови.

A1

201890453

201890453

A1

АНТИ-ANGPTL8 АНТИТЕЛА И ИХ ПРИМЕНЕНИЕ

ОБЛАСТЬ ТЕХНИКИ, К КОТОРОЙ ОТНОСИТСЯ ИЗОБРЕТЕНИЕ

Настоящее изобретение относится к антителам и их антигенсвязывающим фрагментам, которые специфически связывают ангиопозтин-подобный белок (ANGPTL) 8, композициям, содержащим эти антитела, и способам их применения.

ПРЕДПОСЫЛКИ СОЗДАНИЯ ИЗОБРЕТЕНИЯ

ANGPTL8 (альтернативно называемый TD26, R1FL, липазин, C19orf80 и бетатрофин) является вновь признанным членом семейства ANGPTL, который вовлечен в метаболизм как триглицеридов (ТГ), так и глюкозы. Он представляет собой циркулирующий белок, экспрессируемый преимущественно в печени и адипозной ткани. В отличие от ANGPTL3 и ANGPTL4, ANGPTL8 лишен фибриноген-подобного домена на С-конце, однако содержит N-концевой биспиральный домен, подобно другим представителям семейства ANGPTL. Филогенетический анализ показывает, что ANGPTL8 имеет общих предков с ANGPTL3 и ANGPTL4 (Fu, Z. *et. al.*, (2013), *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 430:1126-1131).

Избыточная экспрессия в печени ANGPTL8 связана с гипертриглицеридемией, в то время как инактивация *Angptl8* приводит к снижению уровней ТГ в плазме (Quagliarini, F. *et. al.* (2012), *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 109(48):19751-19756; Wang, Y. *et. al.* (2013), *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 110:16109-16114). Несмотря на общее мнение о том, что ANGPTL8 вовлечен в регуляцию уровней липидов, механизм, ответственный за этот процесс, все еще окончательно не установлен. Один из предполагаемых механизмов заключается в том, что ANGPTL8 ингибирует активность липопротеинлипазы (ЛПЛ), приводя к уменьшению гидролиза и клиренса триглицеридов (Zhang, R. *et.al.*, (2012), *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 424:786-792).

Также сообщалось, что ANGPTL8 играл определенную роль в пролиферации бета-клеток и влиял на массу бета-клеток у мышей, когда устойчивость к инсулину была индуцирована антагонистом инсулинового рецептора, S961 (Yi, P. *et. al.* (2013), *Cell*

153:747–758). Однако дальнейшие исследования показали, что ANGPTL8 не нужен для функции бета-клеток или ответа на устойчивость к инсулину в виде роста бета-клеток. Кроме того, избыточная экспрессия ANGPTL8 не приводит к увеличению площади бета-клеток или улучшению гликемического контроля (Gusarova, V. *et. al.* (2014) *Cell* 159:691–696).

Поскольку избыточная экспрессия в печени ANGPTL8 связана с гипертриглицеридемией и поскольку инактивация *Angptl8* приводит к снижению уровней триглицеридов в плазме, ингибитор или антагонист ANGPTL8 может оказаться эффективным для лечения заболевания, частично характеризующегося повышенными уровнями триглицеридов, такого как, но без ограничения, гипертриглицеридемия.

В публикации Zhang сообщалось, что моноклональное антитело к липазину при введении внутрибрюшинной инъекцией мышам дикого типа вызывает снижение сывороточных уровней триглицеридов (Zhang, R. (2015), *Endocrine Society's 97th Annual Meeting*, Presentation No. OR13-6, March 5–8, San Diego, CA). Однако до настоящего времени не были описаны никакие полностью человеческие антитела, специфичные для ANGPTL8, которые могли бы быть использованы в клинической практике для лечения заболеваний или состояний, характеризующихся повышенными уровнями триглицеридов, включая гипертриглицеридемию.

Соответственно, в данной области существует потребность в новых антагонистах ANGPTL8, таких как антитела, описанные в настоящем документе, для лечения пациентов, страдающих гипертриглицеридемией и другими заболеваниями или состояниями, связанными с повышенными уровнями триглицеридов и уровнями липидов.

СУЩНОСТЬ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Настоящее изобретение относится к антителам и их антигенсвязывающим фрагментам, которые связывают ангиопоэтин-подобный белок 8 (ANGPTL8). Один аспект изобретения относится к человеческим антителам и их антигенсвязывающим фрагментам, которые связывают/взаимодействуют с ANGPTL8, при этом такое связывание и/или взаимодействие приводит к снижению уровней

триглицеридов у млекопитающего.

Соответственно, в первом аспекте изобретение относится к полностью человеческим моноклональным антителам (мАт) и их антигенсвязывающим фрагментам, которые специфически связывают, нейтрализуют, ингибируют, блокируют, аннулируют, снижают или отрицательно воздействует на, по меньшей мере одну активность ANGPTL8, в частности, человеческого ANGPTL8 (смотри аминокислоты 22-198 последовательности с регистрационным номером GenBank NP_061157.3 и аминокислоты 1-177 в SEQ ID NO: 340). Активность ANGPTL8, которая может быть нейтрализована, ингибирована, блокирована, аннулирована, снижена или подвергнута отрицательному воздействию за счет антитела, или его антигенсвязывающего фрагмента, по изобретению, включает, но без ограничения, ингибирование активности ЛПЛ или снижение уровней триглицеридов *in vivo* и тому подобное.

В одном варианте осуществления изобретение относится к моноклональному антителу, или его антигенсвязывающему фрагменту, которое специфически связывает ANGPTL8 и нейтрализует или ингибирует по меньшей мере одну активность, связанную с ANGPTL8, при этом антитело, или его антигенсвязывающий фрагмент, обладает одной или более из следующих характеристик:

а) представляет собой полностью человеческое моноклональное антитело;

б) связывает специфически линейный эпитоп в N-концевой области человеческого ANGPTL8 с последовательностью SEQ ID NO: 337;

с) не связывает линейный эпитоп в N-концевой области человеческого ANGPTL8 с последовательностью SEQ ID NO: 337;

д) не связывает N-концевую биспиральную область человеческого пептида ANGPTL3 с последовательностью SEQ ID NO: 338 или N-концевую биспиральную область человеческого пептида ANGPTL4 с последовательностью SEQ ID NO: 339;

е) связывает человеческий ANGPTL8 при 25°C с величиной K_D менее примерно 150 пМ и связывает обезьяний ANGPTL8 при 25°C с величиной K_D менее примерно 90 пМ при измерении методом

поверхностного плазмонного резонанса;

f) вызывает снижение уровней триглицеридов у млекопитающего на примерно 68% (максимум) при подкожном введении в дозе примерно 10 мг/кг;

g) вызывает снижение уровней триглицеридов у млекопитающего на период времени примерно от 7 дней до 21 дня при подкожном введении в диапазоне доз от примерно 5 мг/кг до примерно 25 мг/кг;

h) содержит вариабельную область тяжелой цепи (HCVR), имеющую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 2, 18, 34, 50, 66, 82, 98, 114, 130, 146, 162, 178, 194, 210, 226, 242, 258, 266, 274, 282, 290, 298, 306, 314 и 330;

i) содержит вариабельную область легкой цепи (LCVR), имеющую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 10, 26, 42, 58, 74, 90, 106, 122, 138, 154, 170, 186, 202, 218, 234, 250 и 322; или

j) перекрестно конкурирует с эталонным антителом, при этом эталонное антитело содержит аминокислотную последовательность вариабельной области тяжелой цепи (HCVR) и вариабельной области легкой цепи (LCVR), выбранную из группы, состоящей из любых аминокислотных последовательностей HCVR и LCVR в Таблице 1.

В одном варианте осуществления антитело, или его антигенсвязывающий фрагмент, по настоящему изобретению может нейтрализовать, ингибировать, блокировать, аннулировать, снижать или отрицательно воздействовать на, активность чANGPTL8 путем связывания эпитопа чANGPTL8, который непосредственно вовлечен в целевую активность чANGPTL8 (например, ЛПЛ-ингибирующую активность ANGPTL8).

В другом варианте осуществления антитело, или его антигенсвязывающий фрагмент, по изобретению может нейтрализовать, ингибировать, блокировать, аннулировать, снижать или отрицательно воздействовать на, активность чANGPTL8 путем связывания эпитопа чANGPTL8, который непосредственно не вовлечен в целевую активность чANGPTL8, однако связывание антитела, или фрагмента, с ним либо за счет стерического перекрывания, либо за

счет аллостерических эффектов в сайтах, отличных от поверхности контакта антитело-антиген, может ингибировать, блокировать, аннулировать, снижать или отрицательно воздействовать на, целевую активность чANGPTL8.

В другом варианте осуществления антитело, или его фрагмент, по изобретению связывает эпитоп чANGPTL8, который непосредственно не вовлечен в целевую активность (например, ЛПЛ-ингибирующую активность, и тому подобное) чANGPTL8 (то есть, не блокирующее антитело), однако антитело, или его фрагмент, приводит к снижению уровней триглицеридов *in vivo* в сравнении со снижением уровней триглицеридов в отсутствие антитела, или его фрагмента.

В одном варианте осуществления изобретение относится к выделенному анти-чANGPTL8 антителу, или его антигенсвязывающему фрагменту, которое связывает эпитоп, расположенный в N-концевой области на остатках 1-39 в SEQ ID NO: 340 (также представлена как SEQ ID NO: 337).

В другом варианте осуществления изобретение относится к выделенному антителу, или антигенсвязывающему фрагменту антитела, которое связывает эпитоп, расположенный в N-концевой области человеческого ANGPTL8 на остатках 1-39 в SEQ ID NO: 340 (также представлена как SEQ ID NO: 337), но не связывает N-концевую биспиральную область чANGPTL3 (SEQ ID NO: 338) или N-концевую биспиральную область чANGPTL4 (SEQ ID NO: 339).

В одном варианте осуществления изобретение относится к выделенному анти-чANGPTL8 антителу, или его антигенсвязывающему фрагменту, которое связывает эпитоп, расположенный за пределами области человеческого ANGPTL8, состоящей из аминокислотных остатков 1-39 в SEQ ID NO: 340 (также представлена как SEQ ID NO: 337), то есть, аминокислотные остатки 40-177 в SEQ ID NO: 340), и нейтрализует, ингибирует, аннулирует, снижает или отрицательно воздействует на, по меньшей мере одну активность чANGPTL8.

В одном варианте осуществления изобретение относится к выделенному анти-чANGPTL8 антителу, или его антигенсвязывающему фрагменту, которое связывает человеческий ANGPTL8

(аминокислотные остатки 1-177 в SEQ ID NO: 340; смотри также аминокислотные остатки 22-198 в последовательности с регистрационным номером GenBank NP_061157.3), но не реагирует перекрестно с родственным белком, таким как человеческий ANGPTL3 (аминокислотная последовательность SEQ ID NO: 342, кодируемая нуклеотидной последовательностью, приведенной в SEQ ID NO: 343), или человеческий ANGPTL4 (аминокислотная последовательность SEQ ID NO: 344, кодируемая нуклеотидной последовательностью, приведенной в SEQ ID NO: 345).

Антитела по изобретению могут быть полноразмерными (например, антитело IgG1 или IgG4) или могут содержать только антигенсвязывающую часть (например, Fab, F(ab')₂ или scFv фрагмент), и могут быть модифицированы для изменения функциональных характеристик, например, для увеличения персистенции в организме хозяина или для устранения остаточных эффекторных функций (Reddy *et al.*, 2000, J. Immunol. 164:1925-1933). В конкретных вариантах осуществления антитела могут быть биспецифическими.

Иллюстративные анти-ANGPTL8 антитела по настоящему изобретению приведены в настоящем документе в Таблицах 1 и 2. В Таблице 1 приведены идентификаторы аминокислотных последовательностей переменных областей тяжелой цепи (HCVR), переменных областей легкой цепи (LCVR), определяющих комплементарность областей тяжелой цепи (HCDR1, HCDR2 и HCDR3) и определяющих комплементарность областей легкой цепи (LCDR1, LCDR2 и LCDR3) иллюстративных анти-ANGPTL8 антител. В Таблице 2 приведены идентификаторы нуклеотидных последовательностей областей HCVR, LCVR, HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3 иллюстративных анти-ANGPTL8 антител.

Настоящее изобретение относится к антителам, или их антигенсвязывающим фрагментам, содержащим HCVR, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из любых аминокислотных последовательностей HCVR, приведенных в Таблице 1, или по существу аналогичную ей последовательность, имеющую по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или

по меньшей мере 99% идентичности последовательности с ней.

Настоящее изобретение также относится к антителам, или их антигенсвязывающим фрагментам, содержащим LCVR, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из любых аминокислотных последовательностей LCVR, приведенных в Таблице 1, или по существу аналогичную ей последовательность, имеющую по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% идентичности последовательности с ней.

Настоящее изобретение также относится к антителам, или их антигенсвязывающим фрагментам, содержащим пару аминокислотных последовательностей HCVR и LCVR (HCVR/LCVR), включающую любую из аминокислотных последовательностей HCVR, приведенных в Таблице 1, в сочетании с любой из аминокислотных последовательностей LCVR, приведенных в Таблице 1.

В одном варианте осуществления изобретение относится к выделенному антителу, или его антигенсвязывающему фрагменту, которое специфически связывает и/или ингибирует по меньшей мере одну активность, связанную с ANGPTL8, при этом антитело, или антигенсвязывающий фрагмент, содержит пару аминокислотных последовательностей HCVR/LCVR, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NOs: 2/10, 18/26, 34/42, 50/58, 66/74, 82/90, 98/106, 114/122, 130/138, 146/154, 162/170, 178/186, 194/202, 210/218, 226/234, 242/250, 258/250, 266/250, 274/250, 282/250, 290/250, 306/250, 314/322 и 330/322.

В одном варианте осуществления изобретение относится к выделенному антителу, или его антигенсвязывающему фрагменту, которое специфически связывает и/или ингибирует по меньшей мере одну активность, связанную с ANGPTL8, при этом антитело, или антигенсвязывающий фрагмент, содержит пару аминокислотных последовательностей HCVR/LCVR, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NOs: 66/74, 162/170, 194/202 и 314/322.

В одном варианте осуществления изобретение относится к выделенному антителу, или его антигенсвязывающему фрагменту, которое специфически связывает и/или ингибирует по меньшей мере одну активность, связанную с ANGPTL8, при этом антитело, или антигенсвязывающий фрагмент, содержит пару аминокислотных

последовательностей HCVR/LCVR, соответствующих SEQ ID NOs: 162/170.

В одном варианте осуществления изобретение относится к выделенному антителу, или его антигенсвязывающему фрагменту, которое связывает и/или ингибирует по меньшей мере одну активность, связанную с ANGPTL8, при этом антитело, или антигенсвязывающий фрагмент, содержит: (а) три определяющие комплементарность области (CDR) тяжелой цепи (HCDR1, HCDR2 и HCDR3), содержащиеся в любой из последовательностей вариабельной области тяжелой цепи (HCVR), приведенных в Таблице 1; и (b) три CDR легкой цепи (LCDR1, LCDR2 и LCDR3), содержащиеся в любой из последовательностей вариабельной области легкой цепи (LCVR), приведенных в Таблице 1.

В одном варианте осуществления изобретение относится к выделенному антителу, или его антигенсвязывающему фрагменту, которое специфически связывает и/или ингибирует по меньшей мере одну активность, связанную с ANGPTL8, при этом антитело, или антигенсвязывающий фрагмент, содержит:

(а) домен HCDR1, имеющий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NOs: 4, 20, 36, 52, 68, 84, 100, 116, 132, 148, 164, 180, 196, 212, 228, 244, 260, 268, 276, 284, 292, 300, 308, 316 и 332;

(b) домен HCDR2, имеющий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NOs: 6, 22, 38, 54, 70, 86, 102, 118, 134, 150, 166, 182, 198, 214, 230, 246, 262, 270, 278, 286, 294, 302, 310, 318 и 334;

(с) домен HCDR3, имеющий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NOs: 8, 24, 40, 56, 72, 88, 104, 120, 136, 152, 168, 184, 200, 216, 232, 248, 264, 272, 280, 288, 296, 304, 312, 320 и 336;

(d) домен LCDR1, имеющий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NOs: 12, 28, 44, 60, 76, 92, 108, 124, 140, 156, 172, 188, 204, 220, 236, 252 и 324;

(е) домен LCDR2, имеющий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NOs: 14, 30, 46, 62, 78, 94, 110, 126, 142, 158, 174, 190, 206, 222, 238, 254 и 326;

и

(f) домен LCDR3, имеющий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NOs: 16, 32, 48, 64, 80, 96, 112, 128, 144, 160, 176, 192, 208, 224, 240, 256 и 328.

Настоящее изобретение также относится к антителам, или их антигенсвязывающим фрагментам, содержащим CDR1 тяжелой цепи (HCDR1), содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из любых аминокислотных последовательностей HCDR1, приведенных в Таблице 1, или по существу аналогичную ей последовательность, имеющую по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% идентичности последовательности.

Настоящее изобретение также относится к антителам, или их антигенсвязывающим фрагментам, содержащим CDR2 тяжелой цепи (HCDR2), содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из любых аминокислотных последовательностей HCDR2, приведенных в Таблице 1, или по существу аналогичную ей последовательность, имеющую по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% идентичности последовательности.

Настоящее изобретение также относится к антителам, или их антигенсвязывающим фрагментам, содержащим CDR3 тяжелой цепи (HCDR3), содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из любых аминокислотных последовательностей HCDR3, приведенных в Таблице 1, или по существу аналогичную ей последовательность, имеющую по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% идентичности последовательности.

Настоящее изобретение также относится к антителам, или их антигенсвязывающим фрагментам, содержащим CDR1 легкой цепи (LCDR1), содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из любых аминокислотных последовательностей LCDR1, приведенных в Таблице 1, или по существу аналогичную ей последовательность, имеющую по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% идентичности последовательности.

Настоящее изобретение также относится к антителам, или их антигенсвязывающим фрагментам, содержащим CDR2 легкой цепи (LCDR2), содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из любых аминокислотных последовательностей LCDR2, приведенных в Таблице 1, или по существу аналогичную ей последовательность, имеющую по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% идентичности последовательности.

Настоящее изобретение также относится к антителам, или их антигенсвязывающим фрагментам, содержащим CDR3 легкой цепи (LCDR3), содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из любых аминокислотных последовательностей LCDR3, приведенных в Таблице 1, или по существу аналогичную ей последовательность, имеющую по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% идентичности последовательности.

Настоящее изобретение также относится к антителам, или их антигенсвязывающим фрагментам, содержащим пару аминокислотных последовательностей HCDR3 и LCDR3 (HCDR3/LCDR3), включающую любую из аминокислотных последовательностей HCDR3, приведенных в Таблице 1, в сочетании с любой из аминокислотных последовательностей LCDR3, приведенных в Таблице 1. В конкретных вариантах осуществления настоящее изобретение относится к антителам, или их антигенсвязывающим фрагментам, содержащим пару аминокислотных последовательностей HCDR3 и LCDR3, содержащуюся в любом из иллюстративных анти-ANGPTL8 антител, приведенных в Таблице 1. В конкретных вариантах осуществления пару аминокислотных последовательностей HCDR3/LCDR3 выбирают из группы, состоящей из SEQ ID NOs: 72/80 (например, H4N15321P), 168/176 (например, H4N15341P), 200/208 (например, H4N15345P) и 320/328 (например, H4N15367P2). В одном варианте осуществления пара аминокислотных последовательностей HCDR3/LCDR3 представляет собой SEQ ID NO: 168/176 (например, H4N15341P).

Настоящее изобретение также относится к антителам, или их антигенсвязывающим фрагментам, содержащим набор из шести CDR (то есть, HCDR1-HCDR2-HCDR3-LCDR1-LCDR2-LCDR3), содержащийся в любом

из иллюстративных анти-ANGPTL8 антител, приведенных в Таблице 1. В конкретных вариантах осуществления набор аминокислотных последовательностей HCDR1-HCDR2-HCDR3-LCDR1-LCDR2-LCDR3 выбирают из группы, состоящей из SEQ ID NOs: 68-70-72-76-78-80 (например, H4N15321P); 164-166-168-172-174-176 (например, H4N15341P); 196-198-200-204-206-208 (например, H4N15345P); 316-318-320-324-326-328 (например, H4N15367P2). В одном варианте осуществления набор аминокислотных последовательностей HCDR1-HCDR2-HCDR3-LCDR1-LCDR2-LCDR3 представляет собой SEQ ID NOs: 164-166-168-172-174-176 (например, H4N15341P).

В связанном варианте осуществления настоящее изобретение относится к антителам, или их антигенсвязывающим фрагментам, содержащим набор из шести CDR (то есть, HCDR1-HCDR2-HCDR3-LCDR1-LCDR2-LCDR3), содержащийся в паре аминокислотных последовательностей HCVR/LCVR любого из иллюстративных анти-ANGPTL8 антител, приведенных в Таблице 1. Например, настоящее изобретение включает антитела, или их антигенсвязывающие фрагменты, содержащие набор аминокислотных последовательностей HCDR1-HCDR2-HCDR3-LCDR1-LCDR2-LCDR3, содержащийся в паре аминокислотных последовательностей HCVR/LCVR, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NOs: 66/74 (например, H4N15321P), 162/170 (например, H4N15341P); 194/202 (например, H4N15345P); 314/322 (например, H4N15367P2). Способы и методы идентификации CDR в аминокислотных последовательностях HCVR и LCVR хорошо известны в данной области и могут быть использованы для идентификации CDR в конкретных аминокислотных последовательностях HCVR и/или LCVR, раскрытых в настоящем документе. Иллюстративные системы, которые могут быть использованы для определения границ областей CDR, включают, например, систему Kabat, систему Chothia и систему AbM. В общих чертах, система Kabat основана на вариабельности последовательностей, система Chothia основана на расположении структурных петлевых областей и система AbM представляет собой компромисс между подходами Kabat и Chothia. Смотри, например, 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); и *Martin et al.*, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86:9268-9272 (1989). Для идентификации последовательностей CDR в антителе также можно использовать общедоступные базы данных.

Настоящее изобретение включает анти-ANGPTL8 антитела, имеющие модифицированную схему гликозилирования. В некоторых вариантах осуществления может быть полезной модификация для удаления нежелательных сайтов гликозилирования, или антитело, лишенное фукозного фрагмента, находящегося на олигосахаридной цепи, например, для усиления функции антителозависимой клеточной цитотоксичности (ADCC) (смотри *Shield et al.* (2002) JBC 277:26733). В других случаях можно использовать модификацию галактозилирования для изменения комплементзависимой цитотоксичности (CDC).

Настоящее изобретение также относится к антителам и их антигенсвязывающим фрагментам, которые конкурируют за специфическое связывание ANGPTL8 с эталонным антителом, или его антигенсвязывающим фрагментом, содержащим области CDR из HCVR и области CDR из LCVR, при этом каждая из HCVR и LCVR имеет аминокислотную последовательность, выбранную из последовательностей HCVR и LCVR, приведенных в Таблице 1.

В одном варианте осуществления изобретение относится к выделенному моноклональному антителу, или его антигенсвязывающему фрагменту, которое конкурирует за связывание ANGPTL8 с эталонным антителом, содержащим пару аминокислотных последовательностей HCVR/LCVR, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NOs: 2/10, 18/26, 34/42, 50/58, 66/74, 82/90, 98/106, 114/122, 130/138, 146/154, 162/170, 178/186, 194/202, 210/218, 226/234, 242/250, 258/250, 266/250, 274/250, 282/250, 290/250, 306/250, 314/322 и 330/322.

Настоящее изобретение также относится к антителам и их антигенсвязывающим фрагментам, которые связывают тот же эпитоп на ANGPTL8, что и эталонное антитело, или его антигенсвязывающий фрагмент, содержащее области CDR из HCVR и области CDR из LCVR, при этом каждая из HCVR и LCVR имеет аминокислотную последовательность, выбранную из последовательностей HCVR и

LCVR, приведенных в Таблице 1.

В одном варианте осуществления изобретение относится к выделенному моноклональному антителу, или его антигенсвязывающему фрагменту, которое связывает тот же эпитоп на ANGPTL8, что и эталонное антитело, содержащее пару аминокислотных последовательностей HCVR/LCVR, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NOs: 2/10, 18/26, 34/42, 50/58, 66/74, 82/90, 98/106, 114/122, 130/138, 146/154, 162/170, 178/186, 194/202, 210/218, 226/234, 242/250, 258/250, 266/250, 274/250, 282/250, 290/250, 306/250, 314/322 и 330/322.

В одном варианте осуществления выделенное антитело, которое специфически связывает и/или ингибирует по меньшей мере одну активность, связанную с ANGPTL8, представляет собой полученное методами рекомбинантной ДНК человеческое моноклональное антитело.

В одном варианте осуществления выделенное антитело, которое специфически связывает и/или ингибирует по меньшей мере одну активность, связанную с ANGPTL8, представляет собой полученное методами рекомбинантной ДНК человеческое моноклональное антитело, содержащее последовательность HCVR и/или LCVR, выбранную из аминокислотных последовательностей в Таблице 1.

В одном варианте осуществления выделенное антитело, которое специфически связывает и/или ингибирует по меньшей мере одну активность, связанную с ANGPTL8, представляет собой полученное методами рекомбинантной ДНК человеческое моноклональное антитело, содержащее пару аминокислотных последовательностей HCVR/LCVR, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NOs: 2/10, 18/26, 34/42, 50/58, 66/74, 82/90, 98/106, 114/122, 130/138, 146/154, 162/170, 178/186, 194/202, 210/218, 226/234, 242/250, 258/250, 266/250, 274/250, 282/250, 290/250, 306/250, 314/322 и 330/322.

В одном варианте осуществления изобретение относится к полностью человеческому моноклональному антителу, или его антигенсвязывающему фрагменту, которое нейтрализует активность ANGPTL8, при этом антитело, или его фрагмент, обладает одной или более из следующих характеристик: (i) содержит HCVR, имеющую

аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 2, 18, 34, 50, 66, 82, 98, 114, 130, 146, 162, 178, 194, 210, 226, 242, 258, 266, 274, 282, 290, 298, 306, 314 и 330; (ii) содержит LCVR, имеющую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 10, 26, 42, 58, 74, 90, 106, 122, 138, 154, 170, 186, 202, 218, 234, 250 и 322; (iii) содержит домен HCDR3, имеющий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NOs: 8, 24, 40, 56, 72, 88, 104, 120, 136, 152, 168, 184, 200, 216, 232, 248, 264, 272, 280, 288, 296, 304, 312, 320 и 336, или по существу аналогичную ей последовательность, имеющую по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% идентичности последовательности; и домен LCDR3, имеющий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NOs: 16, 32, 48, 64, 80, 96, 112, 128, 144, 160, 176, 192, 208, 224, 240, 256 и 328, или по существу аналогичную ей последовательность, имеющую по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% идентичности последовательности; (iv) содержит домен HCDR1, имеющий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NOs: 4, 20, 36, 52, 68, 84, 100, 116, 132, 148, 164, 180, 196, 212, 228, 244, 260, 268, 276, 284, 292, 300, 308, 316 и 332, или по существу аналогичную ей последовательность, имеющую по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% идентичности последовательности; домен HCDR2, имеющий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NOs: 6, 22, 38, 54, 70, 86, 102, 118, 134, 150, 166, 182, 198, 214, 230, 246, 262, 270, 278, 286, 294, 302, 310, 318 и 334, или по существу аналогичную ей последовательность, имеющую по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% идентичности последовательности; домен LCDR1, имеющий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NOs: 12, 28, 44, 60, 76, 92, 108, 124, 140, 156, 172, 188, 204, 220, 236, 252 и 324, или по

существо аналогичную ей последовательность, имеющую по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% идентичности последовательности; и домен LCDR2, имеющий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NOs: 14, 30, 46, 62, 78, 94, 110, 126, 142, 158, 174, 190, 206, 222, 238, 254 и 326, или по существо аналогичную ей последовательность, имеющую по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% идентичности последовательности; (v) связывает специфически N-концевую область человеческого ANGPTL8 с SEQ ID NO: 337; vi) не связывает специфически N-концевую область человеческого ANGPTL8 с SEQ ID NO: 337; vii) не связывает N-концевую биспиральную область человеческого пептида ANGPTL3 с SEQ ID NO: 338 или N-концевую биспиральную область человеческого пептида ANGPTL4 с SEQ ID NO: 339; viii) связывает человеческий ANGPTL8 при 25°C с величиной K_D менее примерно 150 пМ и связывает обезьяний ANGPTL8 при 25°C с величиной K_D менее примерно 90 пМ при измерении методом поверхностного плазмонного резонанса; ix) вызывает снижение уровней триглицеридов у млекопитающего на примерно 68% (максимум) при подкожном введении в дозе примерно 10 мг/кг; x) вызывает снижение уровней триглицеридов у млекопитающего на период времени примерно от 7 дней до 21 дня при подкожном введении в диапазоне доз от примерно 5 мг/кг до примерно 25 мг/кг; xi) перекрестно конкурирует с эталонным антителом, при этом эталонное антитело содержит аминокислотную последовательность вариабельной области тяжелой цепи (HCVR) и вариабельной области легкой цепи (LCVR), выбранную из группы, состоящей из любых аминокислотных последовательностей HCVR и LCVR в Таблице 1.

Во втором аспекте настоящее изобретение также относится к молекулам нуклеиновой кислоты, кодирующим анти-ANGPTL8 антитела или их фрагменты. Например, настоящее изобретение относится к молекулам нуклеиновой кислоты, кодирующим любую из аминокислотных последовательностей HCVR, приведенных в Таблице 1; в конкретных вариантах осуществления молекула нуклеиновой

кислоты содержит полинуклеотидную последовательность, выбранную из любых нуклеотидных последовательностей HCVR, приведенных в Таблице 2, или по существу аналогичную ей последовательность, имеющую по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% идентичности последовательности с ней.

Настоящее изобретение также относится к молекулам нуклеиновой кислоты, кодирующим любую из аминокислотных последовательностей LCVR, приведенных в Таблице 1. В конкретных вариантах осуществления молекула нуклеиновой кислоты содержит полинуклеотидную последовательность, выбранную из любых нуклеотидных последовательностей LCVR, приведенных в Таблице 2, или по существу аналогичную ей последовательность, имеющую по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% идентичности последовательности с ней.

Настоящее изобретение также относится к молекулам нуклеиновой кислоты, кодирующим любую из аминокислотных последовательностей HCDR1, приведенных в Таблице 1. В конкретных вариантах осуществления молекула нуклеиновой кислоты содержит полинуклеотидную последовательность, выбранную из любых нуклеотидных последовательностей HCDR1, приведенных в Таблице 2, или по существу аналогичную ей последовательность, имеющую по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% идентичности последовательности с ней.

Настоящее изобретение также относится к молекулам нуклеиновой кислоты, кодирующим любую из аминокислотных последовательностей HCDR2, приведенных в Таблице 1. В конкретных вариантах осуществления молекула нуклеиновой кислоты содержит полинуклеотидную последовательность, выбранную из любых нуклеотидных последовательностей HCDR2, приведенных в Таблице 2, или по существу аналогичную ей последовательность, имеющую по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% идентичности последовательности с ней.

Настоящее изобретение также относится к молекулам нуклеиновой кислоты, кодирующим любую из аминокислотных последовательностей HCDR3, приведенных в Таблице 1. В конкретных

вариантах осуществления молекула нуклеиновой кислоты содержит полинуклеотидную последовательность, выбранную из любых нуклеотидных последовательностей HCDR3, приведенных в Таблице 2, или по существу аналогичную ей последовательность, имеющую по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% идентичности последовательности с ней.

Настоящее изобретение также относится к молекулам нуклеиновой кислоты, кодирующим любую из аминокислотных последовательностей LCDR1, приведенных в Таблице 1. В конкретных вариантах осуществления молекула нуклеиновой кислоты содержит полинуклеотидную последовательность, выбранную из любых нуклеотидных последовательностей LCDR1, приведенных в Таблице 2, или по существу аналогичную ей последовательность, имеющую по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% идентичности последовательности с ней.

Настоящее изобретение также относится к молекулам нуклеиновой кислоты, кодирующим любую из аминокислотных последовательностей LCDR2, приведенных в Таблице 1. В конкретных вариантах осуществления молекула нуклеиновой кислоты содержит полинуклеотидную последовательность, выбранную из любых нуклеотидных последовательностей LCDR2, приведенных в Таблице 2, или по существу аналогичную ей последовательность, имеющую по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% идентичности последовательности с ней.

Настоящее изобретение также относится к молекулам нуклеиновой кислоты, кодирующим любую из аминокислотных последовательностей LCDR3, приведенных в Таблице 1. В конкретных вариантах осуществления молекула нуклеиновой кислоты содержит полинуклеотидную последовательность, выбранную из любых нуклеотидных последовательностей LCDR3, приведенных в Таблице 2, или по существу аналогичную ей последовательность, имеющую по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% идентичности последовательности с ней.

Настоящее изобретение также относится к молекулам нуклеиновой кислоты, кодирующим HCVR, при этом HCVR содержит набор из трех CDR (то есть, HCDR1-HCDR2-HCDR3), причем набор

аминокислотных последовательностей HCDR1-HCDR2-HCDR3 является таким, как в любом из иллюстративных анти-ANGPTL8 антител, приведенных в Таблице 1.

Настоящее изобретение также относится к молекулам нуклеиновой кислоты, кодирующим LCVR, при этом LCVR содержит набор из трех CDR (то есть, LCDR1-LCDR2-LCDR3), причем набор аминокислотных последовательностей LCDR1-LCDR2-LCDR3 является таким, как в любом из иллюстративных анти-ANGPTL8 антител, приведенных в Таблице 1.

Настоящее изобретение также относится к молекулам нуклеиновой кислоты, кодирующим как HCVR, так и LCVR, при этом HCVR содержит любую аминокислотную последовательность из аминокислотных последовательностей HCVR, приведенных в Таблице 1, и при этом LCVR содержит любую аминокислотную последовательность из аминокислотных последовательностей LCVR, приведенных в Таблице 1. В конкретных вариантах осуществления молекула нуклеиновой кислоты содержит полинуклеотидную последовательность, выбранную из любых нуклеотидных последовательностей HCVR, приведенных в Таблице 2, или по существу аналогичную ей последовательность, имеющую по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% идентичности последовательности с ней, и полинуклеотидную последовательность, выбранную из любых нуклеотидных последовательностей LCVR, приведенных в Таблице 2, или по существу аналогичную ей последовательность, имеющую по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% идентичности последовательности с ней. В конкретных вариантах осуществления данного аспекта изобретения молекула нуклеиновой кислоты кодирует HCVR и LCVR, при этом как HCVR, так и LCVR, происходят из одного и того же анти-ANGPTL8 антитела, приведенного в Таблице 1.

Настоящее изобретение также относится к рекомбинантным экспрессионным векторам, способным экспрессировать полипептид, содержащий переменную область тяжелой или легкой цепи анти-ANGPTL8 антитела. Например, настоящее изобретение охватывает рекомбинантные экспрессионные векторы, содержащие любую из

молекул нуклеиновой кислоты, упомянутых выше, то есть, молекул нуклеиновой кислоты, кодирующих любую из последовательностей HCVR, LCVR и/или CDR, приведенных в Таблице 1. В объем настоящего изобретения также входят клетки-хозяева, в которые введены такие векторы, и способы получения антител, или их фрагментов, путем культивирования клеток-хозяев в условиях, допускающих продуцирование антител, или фрагментов антител, и извлечения полученных таким образом антител и фрагментов антител.

В одном варианте осуществления выделенное антитело, которое специфически связывает и/или ингибирует по меньшей мере одну активность, связанную с ANGPTL8, представляет собой полученное методами рекомбинантной ДНК человеческое моноклональное антитело, содержащее HCVR и/или LCVR, кодируемые нуклеотидной последовательностью, выбранной из нуклеотидных последовательностей в Таблице 2.

В одном варианте осуществления изобретение относится к выделенной молекуле нуклеиновой кислоты, кодирующей антитело, или его фрагмент, которое специфически связывает человеческий ANGPTL8, при этом антитело, или его антигенсвязывающий фрагмент, содержит (a) определяющие комплементарность области (CDR) переменной области тяжелой цепи (HCVR), имеющие аминокислотные последовательности, приведенные в Таблице 1; и (b) области CDR переменной области легкой цепи (LCVR), имеющие аминокислотные последовательности, приведенные в Таблице 1.

В одном варианте осуществления изобретение относится к выделенной молекуле нуклеиновой кислоты, кодирующей антитело, или его фрагмент, которое специфически связывает человеческий ANGPTL8, при этом антитело, или его антигенсвязывающий фрагмент, содержит HCVR, выбранную из группы, состоящей из аминокислотных последовательностей, приведенных в Таблице 1, и LCVR, выбранную из группы, состоящей из аминокислотных последовательностей, приведенных в Таблице 1.

В третьем аспекте изобретение относится к фармацевтической композиции, содержащей рекомбинантное человеческое моноклональное антитело, или его антигенсвязывающий фрагмент,

которое специфически связывает ANGPTL8, и фармацевтически приемлемый носитель.

В одном варианте осуществления изобретение относится к фармацевтической композиции, содержащей по меньшей мере одно антитело, специфичное для человеческого ANGPTL8, выбранное из любых анти-ANGPTL8 антител, или их антигенсвязывающих фрагментов, приведенных в Таблице 1, и фармацевтически приемлемый носитель или разбавитель.

В связанном аспекте изобретение относится к композиции, содержащей сочетание анти-ANGPTL8 антитела и второго терапевтического средства. В одном варианте осуществления второе терапевтическое средство представляет собой любое средство, которое полезно комбинировать с анти-ANGPTL8 антителом.

В одном варианте осуществления второе терапевтическое средство может представлять собой средство, способное вызывать снижение уровней триглицеридов или ослабление по меньшей мере одного симптома у пациента, страдающего заболеванием или состоянием, характеризующимся высокими уровнями триглицеридов, таким как гипертриглицеридемия.

В конкретных вариантах осуществления второе терапевтическое средство может представлять собой средство, которое помогает нейтрализовать или уменьшать любой возможный побочный эффект(ы), связанный с применением антитела, или антигенсвязывающего фрагмента антитела, по изобретению, в случае наличия такого побочного эффекта(ов).

Второе терапевтическое средство может представлять собой низкомолекулярное лекарственное средство, белок/полипептид, антитело, молекулу нуклеиновой кислоты, такую как антисмысловая молекула или киРНК. Второе терапевтическое средство может быть синтетическим или существующим в природе.

Следует также понимать, что антитела и фармацевтически приемлемые композиции по настоящему изобретению можно использовать в других видах комбинированной терапии, например, антитела и фармацевтически приемлемые композиции могут быть использованы одновременно, до, либо после, одного или более других желательных терапевтических средств или медицинских

процедур. При выборе конкретного сочетания видов терапии (терапевтических средств или процедур) для использования в комбинированном режиме лечения следует учитывать совместимость желательных терапевтических средств и/или процедур и желательный терапевтический эффект, которого предстоит добиться. Следует также понимать, что с используемыми видами терапии может быть достигнут желаемый эффект для того же самого заболевания (например, антитело можно вводить одновременно с другим средством, используемым для лечения того же самого заболевания), или с их помощью могут быть достигнуты другие эффекты (например, контроль каких-либо неблагоприятных эффектов). При описании в настоящем документе подходящими для заболевания или состояния, подвергаемого лечению, являются дополнительные терапевтические средства, которые обычно вводят для лечения или предотвращения конкретного заболевания или состояния.

В связанном варианте осуществления изобретение относится к композиции, которая представляет собой сочетание антитела, или его антигенсвязывающего фрагмента, по изобретению и второго терапевтического средства, такого как (1) ингибиторы 3-гидрокси-3-метилглутарил-кофермент А (HMG-CoA) редуктазы, такие как церивастатин, аторвастатин, симвастатин, питаваастатин, розувастатин, флувастатин, ловастатин, правастатин, и тому подобное; (2) ингибиторы поглощения холестерина и/или повторного поглощения желчных кислот; (3) ниацин, способствующий усилению катаболизма липопротеинов; (4) фибраты или амфипатические карбоновые кислоты, вызывающие снижение уровня ТГ, уровня липопротеинов низкой плотности (ЛНП) и повышение уровней липопротеинов высокой плотности (ЛВП); и (5) активаторы фактора транскрипции LXR, который участвует в элиминации холестерина, такие как 22-гидроксихолестерин, или фиксированные комбинации, такие как эзетимиб плюс симвастатин; статин с секвестрантом желчных кислот (например, холестирамин, колестипол, колесевилам), фиксированная комбинация ниацин плюс статин (например, ниацин с ловастатином); или другие снижающие уровень липидов средства, такие как этиловые эфиры омега-3-жирных кислот (например, омакор).

Кроме того, второе терапевтическое средство может представлять собой один или более других ингибиторов ANGPTL8, а также ингибиторы других молекул, таких как ANGPTL3, ANGPTL4, ANGPTL5, ANGPTL6, аполипопротеин С-III (APOC3) и пробелок конвертазы субтилизин/кексин типа 9 (PCSK9), которые вовлечены в метаболизм липидов, в частности, гомеостаз холестерина и/или триглицеридов. Ингибиторы этих молекул включают малые молекулы, антисмысловые молекулы и антитела, которые специфически связывают эти молекулы и блокируют их активность.

В одном варианте осуществления, если анти-ANGPTL8 антитела по изобретению используют для лечения такого заболевания, как диабет (например, диабет 2 типа), то эти антитела можно использовать в сочетании с одним или более из следующих антидиабетических терапевтических средств, которые доступны в настоящее время. К ним относятся: инсулин, аналог инсулина (смотри ниже), бигуанид (метформин), сульфонилмочевина (например, глибурид, глипизид), агонист рецепторов PPAR-гамма (например, пиоглитазон, розиглитазон), ингибитор альфа-глюкозидазы (например, акарбоза, воглибоз), агонист рецепторов глюкагонподобного пептида 1 (GLP-1) (например, баета® (эксенатид), трулисити™ (дулаглутид), виктоза® (лираглутид), ликсумия® (ликсисенатид), танзеум™ (албиглутид), ингибитор дипептидилпептидазы IV (DPP-4) (например, саксаглиптин (онглиза®), ситалиптин (янувия®) и вилдаглиптин (галвус®)), ингибитор натрий-глюкозного котранспортера 2 (SGLT2) (например, инвокана™ (канаглифлозин), форксига® (дапаглифлозин), эмпаглифлозин, ипраглифлозин, тофоглифлозин), симлин® (прамлинтид), антагонист рецепторов глюкагона (описанный, например, в US8545847) и антагонист глюкагона.

В некоторых связанных вариантах осуществления композиция может содержать второе средство, выбранное из группы, состоящей из несульфонилмочевинных секретогогов, аналогов инсулина, включая аналоги быстрого действия (например, лиспро, аспарт, глулизин) и длительного действия (например, инсулин детемир, инсулин деглудек или инсулин гларгин), полипептидов эксендина-4,

агонистов бета-3 адренорецепторов, ингибиторов поглощения холестерина и/или повторного поглощения желчных кислот, антагонистов ЛНП-холестерина, антагонистов белка-переносчика холестеринных эфиров (например, торцетрапиб, анацетрапиб, далцетрапиб или эвацетрапиб), антагонистов рецепторов эндотелина, антагонистов гормона роста, сенсibilизаторов инсулина, миметиков или агонистов амилина, антагонистов каннабиноидных рецепторов, агонистов рецепторов глюкагонподобного пептида 1, меланокортинов, агонистов рецепторов меланинконцентрирующего гормона, СИОЗСН, миметика фактора роста фибробластов 21 (FGF21) (смотри, например, US20110002845 и US20080261236), агониста рецепторов 1с фактора роста фибробластов (FGFR1с) (смотри, например, US20110150901), ингибитора образования конечного продукта усиленного гликозилирования, такого как, но без ограничения, аминугуанидин, и ингибиторов протеин-тирозин фосфатазы.

В связанных вариантах осуществления второе терапевтическое средство может представлять собой одно или более других терапевтических средств, таких как анальгетики, противовоспалительные средства, включая нестероидные противовоспалительные лекарственные средства (НПВС), такие как ингибиторы Cox-2 и тому подобное, для облегчения и/или уменьшения симптомов, сопутствующих основному состоянию, при необходимости.

В четвертом аспекте изобретение относится к способу нейтрализации, ингибирования, блокирования, аннулирования, снижения или отрицательного воздействия на по меньшей мере одну активность, связанную с ANGPTL8, у пациента, который нуждается в этом, включающему введение любого одного или более антител по изобретению, приведенных в Таблице 1, или фармацевтической композиции, содержащей любое одно или более из этих антител, пациенту, который нуждается в этом, при этом по меньшей мере одна активность, связанная с ANGPTL8, снижается или уменьшается.

В одном варианте осуществления изобретение относится к терапевтическому способу, включающему введение субъекту, который нуждается в этом, терапевтически эффективного количества

фармацевтической композиции, содержащей одно или более анти-чANGPTL8 антител, или их антигенсвязывающих фрагментов, по изобретению и, необязательно, одно или более дополнительных терапевтических средств, описанных выше.

В пятом аспекте изобретение относится к способу лечения заболевания или состояния, частично связанного с повышенной экспрессией и/или активностью ANGPTL8, включающему введение ингибитора/антагониста ANGPTL8, при этом ингибитор/антагонист ANGPTL8 представляет собой антитело, или его антигенсвязывающий фрагмент, специфичное для ANGPTL8. В одном варианте осуществления антитело, или его антигенсвязывающий фрагмент, специфичное для ANGPTL8, содержит HCVR, выбранную из группы, состоящей из аминокислотных последовательностей в Таблице 1, и LCVR, выбранную из группы, состоящей из аминокислотных последовательностей в Таблице 1.

В одном варианте осуществления заболевание или нарушение, которое можно лечить способами по изобретению, представляет собой любое заболевание или состояние, которое облегчается, ослабляется, ингибируется или предотвращается, либо уменьшается тяжесть или частота проявления по меньшей мере одного симптома, ассоциированного с заболеванием, в сравнении с ситуацией в отсутствие лечения анти-чANGPTL8 антителом (например, ANGPTL8-опосредуемые заболевания или нарушения), за счет устранения, ингибирования, снижения или иного отрицательного воздействия на активность ANGPTL8. Примеры заболеваний или нарушений, которые можно лечить способами по изобретению, включают, но не ограничиваются ими, те, которые связаны с метаболизмом липидов, такие как гиперлипидемия, гиперлипопротеинемия и дислипидемия, включая атерогенную дислипидемию, диабетическую дислипидемию, гипертриглицеридемия, включая тяжелую гипертриглицеридемию с уровнем ТГ >1000 мг/дл и сопутствующим острым панкреатитом, гиперхолестеринемия, хиломикронемия, смешанная дислипидемия (ожирение, метаболический синдром, диабет и так далее), липодистрофия, липоатрофия и тому подобное, которые вызываются, например, снижением активности ЛПЛ и/или дефицитом ЛПЛ, изменением ApoC2, дефицитом ApoE, увеличением уровней ApoB,

увеличением продуцирования и/или уменьшением элиминации липопротеинов очень низкой плотности (ЛОНП), лечением некоторыми лекарственными средствами (например, вызываемая лечением глюкокортикоидами дислипидемия), любой генетической предрасположенностью, диетой, образом жизни и тому подобным.

Способы по изобретению также позволяют предотвращать или лечить заболевания или нарушения, связанные с, или вызываемые, триглицеридемией, гипертриглицеридемией, гиперлипидемией, гиперлипопротеинемией и/или дислипидемией, включая, но без ограничения, сердечно-сосудистые заболевания или нарушения, такие как атеросклероз, аневризма, гипертензия, стенокардия, инсульт, цереброваскулярные заболевания, застойная сердечная недостаточность, болезни коронарных артерий, инфаркт миокарда, болезни периферических сосудов и тому подобное; острый панкреатит; неалкогольный стеатогепатит (НАСГ); нарушение содержания сахара в крови, такое как диабет; ожирение и тому подобное.

В одном варианте осуществления по меньшей мере одно антитело по изобретению, или его антигенсвязывающий фрагмент, можно использовать для лечения ассоциированных с метаболическим синдромом дислипидемии, ожирения, или для предотвращения увеличения массы тела, или для поддержания нормальной массы тела.

В одном варианте осуществления изобретение относится к способу снижения уровней триглицеридов в крови, либо лечения состояния или заболевания, связанного с, или частично характеризующегося, повышенными уровнями триглицеридов в крови, или по меньшей мере одного симптома или осложнения, ассоциированного с состоянием или заболеванием, который включает введение фармацевтической композиции, содержащей одно или более антител, специфичных для человеческого ANGPTL8, из Таблицы 1, пациенту, который нуждается в этом, в результате чего уровни триглицеридов снижаются, либо состояние или заболевание ослабляется, либо по меньшей мере один симптом или осложнение, ассоциированное с состоянием или заболеванием, облегчается или степень его тяжести уменьшается.

В одном варианте осуществления по меньшей мере одно антитело, или его антигенсвязывающий фрагмент, по изобретению можно использовать отдельно или в сочетании с вторым или третьим терапевтическим средством для лечения гипертриглицеридемии, либо по меньшей мере одного симптома, ассоциированного с гипертриглицеридемией, или можно использовать для лечения пациента, имеющего риск развития гипертриглицеридемии, например, пациента, имеющего генетическую предрасположенность к развитию гипертриглицеридемии, например, семейной гипертриглицеридемии, или семейной дисбеталипопротеинемии.

Другие состояния могут предрасполагать пациента к повышению уровней триглицеридов. Например, некоторые лекарственные препараты, такие как бета-блокаторы, пилюли для контрацепции, диуретики, стероиды, либо использование тамоксифена, могут приводить к повышению уровней триглицеридов и, следовательно, могут повышать вероятность того, что у пациента разовьются состояния или осложнения, связанные с высокими уровнями триглицеридов, такие как атеросклероз, инсульт, сердечный приступ и другие кардиологические состояния.

Кроме того, некоторые другие состояния могут приводить к повышению уровней триглицеридов, включая ожирение, плохо контролируемый диабет, гипотиреоз, заболевание почек или употребление спиртных напитков.

В одном варианте осуществления антитела могут быть использованы для предотвращения начала заболевания или нарушения, частично характеризующегося повышенными уровнями триглицеридов в крови, или для предотвращения вероятности развития такого заболевания или нарушения, или для снижения степени тяжести заболевания или нарушения, либо по меньшей мере одного симптома, ассоциированного с заболеванием или нарушением. Предполагается, что антитела по изобретению могут быть использованы отдельно, либо в качестве вспомогательной терапии с другими средствами или способами, известными в качестве стандарта оказания медицинской помощи пациентам, страдающим заболеваниями или состояниями, частично характеризующимися повышенными уровнями триглицеридов в крови, такими как, но без

ограничения, гипертриглицеридемия. Такая стандартная терапия может включать введение жидкости или введение любых других фармацевтических средств, полезных для снижения в крови уровней триглицеридов или липидов, или для снижения массы тела.

В одном варианте осуществления применение антител, описанных в настоящем документе, может быть эффективным средством для достижения нормальных уровней триглицеридов и, как следствие, ослабления, или предотвращения, одного или более симптомов, либо долгосрочных осложнений, ассоциированных с заболеванием, характеризующимся высокими уровнями триглицеридов.

В одном варианте осуществления антитела по изобретению могут быть использованы для производства лекарственного средства, предназначенного для лечения любого заболевания или нарушения, частично характеризующегося повышенными уровнями триглицеридов.

Антитела по изобретению могут быть использованы в качестве краткосрочной терапии в экстренных случаях или они могут быть предусмотрены для долгосрочного использования в качестве постоянной терапии.

Другие варианты осуществления станут очевидными при изучении подробного описания.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ФИГУР

На **фигуре 1** представлены средние значения $\pm$ SEM для сывороточных концентраций триглицеридов и общего холестерина у мышей, гуманизированных в отношении ANGPTL8, которым вводили подкожно одну дозу H4N15341P. Введенные дозы составляли 1, 5, 10 или 25 мг/кг в день 0 исследования. Статистические сравнения проводили методом 2-факторного дисперсионного анализа различий с контрольными Ат, * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$, **** $p < 0,0001$.

На **фигуре 2** показаны уровни циркулирующего человеческого антитела после подкожного введения одной дозы H4N15341P, составляющей 1, 5, 10 или 25 мг/кг.

На **фигуре 3** показан эффект мАт H4N15341P на сывороточные уровни липопротеинлипазы (ЛПЛ) и печеночной липазы у мышей с ANGPTL8, в сравнении с контрольным антителом. Для статистической обработки использовали непарный критерий Стьюдента; ** $p < 0,01$.

На **фигуре 4** показан эффект мАт Н4Н15341Р в тесте на толерантность к липидам у мышей с ANGPTL8. Оценивали эффект введения мАт Н4Н15341Р на снижение уровней триглицеридов после острой жировой нагрузки в сравнении с контрольным антителом. Для статистической обработки использовали 2-факторный дисперсионный анализ с поправкой Бонферрони; **** $p < 0,0001$.

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Прежде, чем перейти к описанию настоящего изобретения, следует понимать, что данное изобретение не ограничено конкретными описанными способами и экспериментальными условиями, следовательно, способы и условия могут варьироваться. Также следует понимать, что терминология, используемая в настоящем документе, предназначена лишь для описания конкретных вариантов осуществления и не должна быть ограничивающей, поскольку объем настоящего изобретения будет ограничен только прилагаемой формулой изобретения.

Если нет иных указаний, все технические и научные термины, используемые в настоящем документе, имеют то значение, которое им обычно придают специалисты в области, к которой относится данное изобретение. В настоящем документе термин «примерно» при использовании применительно к конкретной приведенной числовой величине означает, что величина может отличаться от приведенной величины не более чем на 1%. Например, используемое в настоящем документе выражение «примерно 100» включает 99 и 101, а также все значения между ними (например, 99,1, 99,2, 99,3, 99,4 и так далее).

Хотя любые методы и материалы, аналогичные или эквивалентные тем, которые описаны в настоящем документе, могут быть использованы на практике или при тестировании настоящего изобретения, предпочтительные методы и материалы описаны далее. Все патенты, патентные заявки и не патентные публикации, упомянутые в данном описании, включены в настоящий документ посредством ссылки в полном объеме.

Определения

«Ангиопоэтин-подобный белок 8», или «ANGPTL8», является представителем семейства белков ангиопоэтинов, и иногда его

называют TD26, RIFL, липазином, C19orf80 и бетатрофином. Используемый в настоящем документе термин «ANGPTL8» относится к человеческому ANGPTL8, содержащему аминокислотную последовательность, соответствующую аминокислотным остаткам 1-177 в SEQ ID NO: 340. Полноразмерная аминокислотная последовательность человеческого ANGPTL8, включая сигнальную последовательность, также имеет регистрационный номер GenBank NP_061157.3, в то время как полноразмерная нуклеотидная последовательность, кодирующая человеческий ANGPTL8, имеет регистрационный номер GenBank NM_018687.6. N-концевой биспиральный домен человеческого ANGPTL8 охватывает аминокислотные остатки 1-39 в SEQ ID NO: 340 и также соответствует SEQ ID NO: 337. В настоящем документе все ссылки на белки, полипептиды и белковые фрагменты должны относиться к человеческому варианту соответствующего белка, полипептида или белкового фрагмента, если только четко не указано, что они получены из другого биологического вида. Таким образом, термин «ANGPTL8» означает человеческий ANGPTL8, если только специально не указано, что он является белком другого биологического вида, например, «мышинный ANGPTL8», «обезьяний ANGPTL8» и так далее.

Используемый в настоящем документе термин «человеческий ангиопозэтин-подобный белок 3», или «чANGPTL3», относится к ANGPTL3, имеющему нуклеотидную последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 343, и аминокислотную последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 342, либо его биологически активному фрагменту. N-концевой биспиральный домен человеческого ANGPTL3 соответствует SEQ ID NO: 338.

Используемый в настоящем документе термин «человеческий ангиопозэтин-подобный белок 4», или «чANGPTL4», относится к ANGPTL4, имеющему нуклеотидную последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 345, и аминокислотную последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 344, либо его биологически активному фрагменту. N-концевой биспиральный домен человеческого ANGPTL4 соответствует SEQ ID NO: 339.

В конкретных вариантах осуществления антитело, или фрагменты антитела, по изобретению могут быть конъюгированы с

терапевтическим фрагментом («иммуноконъюгат»), таким как второй антагонист ANGPTL8 или любой другой терапевтический фрагмент, используемый для лечения заболевания или состояния, частично вызванного повышенными уровнями триглицеридов.

Используемый в настоящем документе термин «анти-ANGPTL8 антитело» охватывает как одновалентные антитела с одной специфичностью, так и биспецифические антитела, содержащие первое плечо, связывающее ANGPTL8, и второе плечо, связывающее второй (целевой) антиген, при этом анти-ANGPTL8 плечо содержит любую из последовательностей HCVR/LCVR или CDR, приведенных в Таблице 1 настоящего документа.

Используемый в настоящем документе термин «антитело» означает любую антигенсвязывающую молекулу, или молекулярный комплекс, содержащую по меньшей мере одну определяющую комплементарность область (CDR), которая специфически связывается или взаимодействует с конкретным антигеном (например, ANGPTL8). Термин «антитело» включает молекулы иммуноглобулинов, содержащие четыре полипептидные цепи, две тяжелые (H) цепи и две легкие (L) цепи, связанные между собой дисульфидными связями, а также их мультимеры (например, IgM). Каждая тяжелая цепь содержит переменную область тяжелой цепи (сокращенно обозначаемую в настоящем документе HCVR или V_H) и константную область тяжелой цепи. Константная область тяжелой цепи содержит три домена, C_{H1} , C_{H2} и C_{H3} . Каждая легкая цепь содержит переменную область легкой цепи (сокращенно обозначаемую в настоящем документе LCVR или V_L) и константную область легкой цепи. Константная область легкой цепи содержит один домен (C_{L1}). Области V_H и V_L можно дополнительно подразделять на области гипервариабельности, называемые определяющими комплементарность областями (CDR), которые перемежаются с более консервативными областями, называемыми каркасными областями (FR). Каждая V_H и V_L состоит из трех CDR и четырех FR, расположенных от amino-конца к карбоксильному концу в следующем порядке: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4. В разных вариантах осуществления изобретения области FR анти-ANGPTL8 антитела (или его антигенсвязывающего фрагмента) могут

быть идентичны человеческим последовательностям иммуноглобулинов зародышевой линии, или могут быть модифицированы естественным или искусственным образом. Консенсусную аминокислотную последовательность можно определять на основании параллельного анализа двух или более областей CDR.

Используемый в настоящем документе термин «антитело» также охватывает антигенсвязывающие фрагменты полноразмерных молекул антител. Используемые в настоящем документе термины «антигенсвязывающая часть» антитела, «антигенсвязывающий фрагмент» антитела, и тому подобные, включают любой природный, получаемый с помощью ферментов, синтетический или генетически модифицированный полипептид или гликопротеин, который специфически связывает антиген, образуя комплекс. Антигенсвязывающие фрагменты антитела могут быть получены, например, из полноразмерных молекул антител с использованием любых подходящих стандартных методов, таких как протеолитическое расщепление, или генно-инженерных методов рекомбинантной ДНК, включающих манипуляции и экспрессию ДНК, кодирующей переменные и, необязательно, константные домены антитела. Такие ДНК известны и/или легко доступны, например, из коммерческих источников, библиотек ДНК (включая, например, фаговые библиотеки антител), либо могут быть синтезированы. ДНК можно секвенировать и изменять химическими или молекулярно-биологическими методами, например, для сборки одного или более переменных и/или константных доменов в соответствующую конфигурацию, либо для введения кодонов, включения остатков цистеина, модификации, добавления или делеции аминокислот, и так далее.

Неограничивающие примеры антигенсвязывающих фрагментов включают: (i) Fab-фрагменты; (ii) $F(ab')_2$ -фрагменты; (iii) Fd-фрагменты; (iv) Fv-фрагменты; (v) одноцепочечные молекулы Fv (scFv); (vi) dAb-фрагменты; и (vii) минимальные узнающие компоненты, состоящие из аминокислотных остатков, которые имитируют гипервариабельную область антитела (например, выделенная определяющая комплементарность область (CDR), такая как пептид CDR3), или ограниченный пептид FR3-CDR3-FR4. Другие сконструированные молекулы, такие как антитела со специфическим

доменом, однодоменные антитела, антитела с удаленным доменом, химерные антитела, CDR-привитые антитела, диатела, триатела, тетратела, минитела, нанотела (например, одновалентные нанотела, двухвалентные нанотела и так далее), малые модульные иммунофармацевтические средства (SMIP) и переменные домены IgNAR акулы, также охвачены используемым в настоящем документе термином «антигенсвязывающий фрагмент».

Антигенсвязывающий фрагмент антитела, как правило, содержит по меньшей мере один переменный домен. Переменный домен может иметь любой размер или аминокислотный состав и, как правило, содержит по меньшей мере одну CDR, которая находится рядом или в рамке считывания с одной или более каркасными последовательностями. В антигенсвязывающих фрагментах, имеющих домен V_H , связанный с доменом V_L , домены V_H и V_L могут быть расположены по отношению друг к другу в любой подходящей конфигурации. Например, переменная область может быть димерной и содержать димеры V_H - V_H , V_H - V_L или V_L - V_L . Альтернативно, антигенсвязывающий фрагмент антитела может содержать мономерный домен V_H или V_L .

В конкретных вариантах осуществления антигенсвязывающий фрагмент антитела может содержать по меньшей мере один переменный домен, ковалентно связанный с по меньшей мере одним константным доменом. Неограничивающие иллюстративные конфигурации переменных и константных доменов, которые могут иметь место в антигенсвязывающем фрагменте антитела по настоящему изобретению, включают: (i) V_H - C_H1 ; (ii) V_H - C_H2 ; (iii) V_H - C_H3 ; (iv) V_H - C_H1 - C_H2 ; (v) V_H - C_H1 - C_H2 - C_H3 ; (vi) V_H - C_H2 - C_H3 ; (vii) V_H - C_L ; (viii) V_L - C_H1 ; (ix) V_L - C_H2 ; (x) V_L - C_H3 ; (xi) V_L - C_H1 - C_H2 ; (xii) V_L - C_H1 - C_H2 - C_H3 ; (xiii) V_L - C_H2 - C_H3 и (xiv) V_L - C_L . В любой конфигурации переменных и константных доменов, включая любую из иллюстративных конфигураций, приведенных выше, переменные и константные домены либо могут быть связаны непосредственно друг с другом, либо могут быть связаны полной или частичной областью шарнира или линкера. Шарнирная область может состоять из по меньшей мере 2 (например, 5, 10, 15, 20, 40, 60 или более) аминокислот, результатом чего является гибкая или полугибкая

связь между соседними переменными и/или постоянными доменами в одной полипептидной молекуле. Кроме того, антигенсвязывающий фрагмент антитела по настоящему изобретению может содержать гомодимер или гетеродимер (или другой мультимер) любой из конфигураций переменных и постоянных доменов, приведенных выше, в нековалентной ассоциации друг с другом и/или с одним или более мономерными доменами V_H или V_L (например, за счет дисульфидной связи(ей)).

Как и в случае полноразмерных молекул антител, антигенсвязывающие фрагменты могут быть моноспецифическими или мультиспецифическими (например, биспецифическими). Мультиспецифический антигенсвязывающий фрагмент антитела, как правило, содержит по меньшей мере два разных переменных домена, при этом каждый переменный домен способен к специфическому связыванию отдельного антигена или другого эпитопа на том же антигене. Любой формат мультиспецифического антитела, включая иллюстративные форматы биспецифического антитела, раскрытые в настоящем документе, может быть приспособлен для использования в контексте антигенсвязывающего фрагмента антитела по настоящему изобретению с использованием рутинных методов, известных в данной области.

Используемый в настоящем документе термин «человеческое антитело» должен включать не существующие в природе человеческие антитела. Термин охватывает антитела, полученные методами рекомбинантной ДНК в организме млекопитающего, отличного от человека, или в клетках млекопитающего, отличного от человека. Термин не должен относиться к антителам, выделенным из, или образованным в организме человека.

В некоторых вариантах осуществления антитела по изобретению могут представлять собой рекомбинантные человеческие антитела. Используемый в настоящем документе термин «рекомбинантное человеческое антитело» должен охватывать все человеческие антитела, которые были получены, экспрессированы, созданы или выделены рекомбинантными методами, например, антитела, экспрессированные с использованием рекомбинантного экспрессионного вектора, трансфицированного в клетку-хозяина

(подробно описано ниже), антитела, выделенные из комбинаторной библиотеки рекомбинантных человеческих антител (подробно описано ниже), антитела, полученные от животного (например, мыши), которое является трансгенным по генам человеческих иммуноглобулинов (смотри, например, Taylor et al. (1992) Nucl. Acids Res. 20:6287-6295), или антитела, полученные, экспрессированные, созданные или выделенные любыми другими способами, включающими сплайсинг последовательностей генов человеческих иммуноглобулинов с другими последовательностями ДНК. В конкретных вариантах осуществления такие рекомбинантные человеческие антитела подвергают *in vitro* мутагенезу (или, в случае использования животных, трансгенных в отношении последовательностей человеческих Ig, *in vivo* соматическому мутагенезу) и, таким образом, аминокислотные последовательности областей V_H и V_L рекомбинантных антител представляют собой последовательности, которые, хотя и являются родственными последовательностям V_H и V_L зародышевой линии человека, могут не существовать естественным образом в репертуаре последовательностей антител зародышевой линии человека *in vivo*.

Человеческие антитела могут существовать в двух формах, которые связаны с гетерогенностью шарнира. В одной форме молекула иммуноглобулина содержит стабильный четырехцепочечный конструктор массой примерно 150-160 кДа, в котором димеры удерживаются вместе дисульфидными связями между тяжелыми цепями. Во второй форме димеры не связаны межцепочечными дисульфидными связями, и образуется молекула массой примерно 75-80 кДа, состоящая из ковалентно связанных легкой и тяжелой цепей (полуантитело). Такие формы очень сложно разделять, даже после аффинной очистки.

Частота появления второй формы в различных изотипах интактных IgG зависит от, но без ограничения, структурных различий, связанных с изотипом шарнирной области антитела. Одна аминокислотная замена в шарнирной области человеческого IgG4 может приводить к существенному уменьшению появления второй формы (Angal et al. (1993) Molecular Immunology 30:105) до уровней, обычно имеющих место в случае шарнирной области

человеческого IgG1. Настоящее изобретение охватывает антитела, имеющие одну или более мутаций шарнире, области C_H2 или C_H3, что может быть желательным, например, в производстве, для повышения выхода желательной формы антитела.

Антитела по изобретению могут представлять собой выделенные антитела. Используемый в настоящем документе термин «выделенное антитело» означает антитело, которое было идентифицировано и отделено от, и/или извлечено из, по меньшей мере одного компонента его естественного окружения. Например, для целей настоящего изобретения антитело, которое было отделено от, или извлечено из, по меньшей мере одного компонента организма, или из ткани или клетки, в которой антитело естественным образом существует или естественным образом продуцируется, представляет собой «выделенное антитело». Выделенное антитело также включает антитело *in situ* в рекомбинантной клетке. Выделенные антитела представляют собой антитела, которые были подвергнуты по меньшей мере одному этапу очистки или выделения. В конкретных вариантах осуществления выделенное антитело может быть по существу свободным от другого клеточного материала и/или химических веществ.

Анти-ANGPTL8 антитела, раскрытые в настоящем документе, могут иметь одну или более аминокислотных замен, вставок и/или делеций в областях каркаса и/или CDR переменных доменов тяжелой и легкой цепей. Такие мутации могут быть с легкостью установлены при сравнении аминокислотных последовательностей, раскрытых в настоящем документе, с последовательностями, полученными, например, из общедоступных баз данных последовательностей антител. После получения антитела и антигенсвязывающие фрагменты, имеющие одну или более мутаций, можно тестировать на наличие одного или более желательных свойств, таких как улучшенная специфичность связывания, повышенная аффинность связывания, усовершенствованные или усиленные антагонистические или агонистические биологические свойства (в зависимости от ситуации), сниженная иммуногенность и так далее. Антитела и антигенсвязывающий фрагменты, полученные таким общепринятым способом, входят в объем настоящего

изобретения.

Настоящее изобретение также включает анти-ANGPTL8 антитела, содержащие варианты любой из аминокислотных последовательностей HCVR, LCVR и/или CDR, раскрытых в настоящем документе, имеющие одну или более консервативных замен. Например, настоящее изобретение включает анти-ANGPTL8 антитела, имеющие аминокислотные последовательности HCVR, LCVR и/или CDR с, например, 10 или менее, 8 или менее, 6 или менее, 4 или менее, и так далее, консервативными аминокислотными заменами относительно любой из аминокислотных последовательностей HCVR, LCVR, и/или CDR в Таблице 1 настоящего документа.

Используемые в настоящем документе термины «блокирующее антитело» или «нейтрализующее антитело» (или «антитело, которое нейтрализует активность ANGPTL8») относятся к антителу, связывание и/или взаимодействие которого с ANGPTL8 приводит к ингибированию по меньшей мере одной биологической активности ANGPTL8. Например, антитело по изобретению может ингибировать ингибирующую липопротеинлипазу активность ANGPTL8, или оно может приводить к снижению уровней триглицеридов в плазме за счет механизма, иного, чем посредством ингибирования ЛПЛ-ингибирующей активности ANGPTL8. Такое ингибирование биологической активности ANGPTL8 можно оценивать путем измерения одного или более показателей биологической активности ANGPTL8 в одном или более из нескольких стандартных *in vitro* или *in vivo* анализов, известных в данной области. Изменяемой активностью является снижающая уровень триглицеридов активность, связанная с антителом по изобретению.

Используемый в настоящем документе термин «поверхностный плазмонный резонанс», или «ППР», означает оптическое явление, позволяющее анализировать в реальном времени взаимодействие биологических молекул путем обнаружения изменений концентраций белка в биосенсорной матрице, например, с использованием системы BIACORE™ (Pharmacia Biosensor AB, Uppsala, Sweden и Piscataway, N.J.) или системы MASS-1 (Sierra Sensors, Hamburg, Germany и Greenville, RI).

Используемый в настоящем документе термин « K_D » означает равновесную константу диссоциации конкретного взаимодействия антитело-антиген.

Термин «эпитоп» означает антигенную детерминанту, которая взаимодействует со специфическим антигенсвязывающим сайтом в вариабельной области молекулы антитела, известным как паратоп. Один антиген может иметь более одного эпитопа. Таким образом, разные антитела могут связываться с разными областями на антигене и могут оказывать разные биологические эффекты. Эпитопы могут быть либо конформационными, либо линейными. Конформационный эпитоп образуется за счет пространственного сближения аминокислот из разных сегментов линейной полипептидной цепи. Линейный эпитоп представляет собой эпитоп, образованный соседними аминокислотными остатками в полипептидной цепи. В некоторых случаях эпитоп может включать фрагменты сахаридов, фосфорильных групп или сульфонильных групп на антигене.

Выражения «существенная идентичность» или «по существу идентичные» применительно к нуклеиновым кислотам или их фрагментам указывают на то, что при оптимальном выравнивании, с соответствующими нуклеотидными вставками или делециями, с другой нуклеиновой кислотой (или ее комплементарной цепью) идентичность нуклеотидных последовательностей составляет по меньшей мере примерно 95%, и более предпочтительно, по меньшей мере примерно 96%, 97%, 98% или 99% нуклеотидных оснований, при измерении с использованием любого хорошо известного алгоритма определения идентичности последовательностей, такого как FASTA, BLAST или Gap, как описано ниже. Молекула нуклеиновой кислоты, имеющая существенную идентичность с эталонной молекулой нуклеиновой кислоты, может, в некоторых случаях, кодировать полипептид, имеющий ту же, или по существу сходную аминокислотную последовательность, что и у полипептида, кодируемого эталонной молекулой нуклеиновой кислоты.

Применительно к полипептидам выражения «существенная идентичность» или «по существу идентичные» означают, что две пептидные последовательности при оптимальном выравнивании, например, при помощи программ GAP или BESTFIT с использованием

штрафа за делеции по умолчанию, имеют по меньшей мере 95% идентичности последовательностей, еще более предпочтительно, по меньшей мере 98% или 99% идентичности последовательностей. Предпочтительно, остатки, которые не являются идентичными, являются следствием консервативных аминокислотных замен. «Консервативная аминокислотная замена» представляет собой замену, при которой аминокислотный остаток заменен другим аминокислотным остатком, имеющим боковую цепь (R-группу) с аналогичными химическими свойствами (например, зарядом или гидрофобностью). Как правило, консервативная аминокислотная замена не приводит к существенному изменению функциональных свойств белка. В случаях, когда две или более аминокислотных последовательностей отличаются друг от друга консервативными заменами, процентная идентичность последовательностей или степень сходства может быть скорректирована в сторону повышения для внесения поправки на консервативный характер замен. Способы такой корректировки хорошо известны специалистам в данной области. Смотри, например, публикацию Pearson (1994) *Methods Mol. Biol.* 24: 307-331, включенную в настоящий документ посредством ссылки. Примеры групп аминокислот, имеющих боковые цепи со аналогичными химическими свойствами, включают аминокислоты с (1) алифатическими боковыми цепями: глицин, аланин, валин, лейцин и изолейцин; (2) алифатическими гидроксильными боковыми цепями: серин и треонин; (3) амид-содержащими боковыми цепями: аспарагин и глутамин; (4) ароматическими боковыми цепями: фенилаланин, тирозин и триптофан; (5) основными боковыми цепями: лизин, аргинин и гистидин; (6) кислыми боковыми цепями: аспартат и глутамат, и (7) сера-содержащими боковыми цепями: цистеин и метионин. Предпочтительными группами для консервативных аминокислотных замен являются: валин-лейцин-изолейцин, фенилаланин-тирозин, лизин-аргинин, аланин-валин, глутамат-аспартат и аспарагин-глутамин. Альтернативно, консервативной заменой является любое изменение, имеющее положительное значение в логарифмической матрице вероятности PAM250, описанной в публикации Gonnet *et al.* (1992) *Science* 256:1443-1445, включенной в настоящий документ

посредством ссылки. «Умеренно консервативная» замена представляет собой любое изменение, имеющее неотрицательное значение в логарифмической матрице вероятности PAM250.

Сходство последовательностей в случае полипептидов, как правило, измеряют с использованием программ анализа последовательностей. Программа анализа белков сопоставляет сходные последовательности с использованием меры сходства, присвоенной различным заменам, делециям и другим модификациям, включая консервативные аминокислотные замены. Например, программы GCG включают такие программы, как GAP и BESTFIT, которые можно использовать с параметрами по умолчанию для определения гомологии последовательностей или идентичности последовательностей между близкородственными полипептидами, такими как гомологичные полипептиды из разных видов организмов, или между белком дикого типа и его мутантом. См. также, например, GCG версии 6.1. Полипептидные последовательности также можно сравнивать с использованием программы FASTA с параметрами по умолчанию или рекомендуемыми параметрами; программа в GCG версии 6.1. FASTA (например, FASTA2 и FASTA3) обеспечивает выравнивание и определение процентной идентичности последовательностей областей наилучшего совпадения между искомой последовательностью и последовательностью-находкой (Pearson (2000), выше). Другим предпочтительным алгоритмом при сравнении последовательности по изобретению с базой данных, содержащей большое число последовательностей из разных организмов, является компьютерная программа BLAST, в частности, BLASTP или TBLASTN, с использованием параметров по умолчанию. См. также, например, публикации Altschul *et al.* (1990) *J. Mol. Biol.* 215: 403-410 и (1997) *Nucleic Acids Res.* 25:3389-402, каждая из которых включена в настоящий документ посредством ссылки.

Выражение «терапевтически эффективное количество» означает количество, которое обеспечивает желаемый эффект, ради которого его вводят. Точное количество будет зависеть от цели лечения, и может быть определено специалистом в данной области известными методами (смотри, например, Lloyd (1999) *The Art, Science and Technology of Pharmaceutical Compounding*).

Используемые в настоящем документе термины «лечение» или «терапия» означают подход для получения полезных или желательных клинических результатов. В одном варианте осуществления изобретения полезный или желательный клинический результат включает, но без ограничения, снижение уровней триглицеридов в крови, либо облегчение одного или более состояний, заболеваний, либо симптомов, ассоциированных с, или вызванных, повышенными уровнями триглицеридов, включая, но без ограничения, гипертриглицеридемию и так далее.

pH-зависимое связывание

Настоящее изобретение охватывает анти-ANGPTL8 антитела с pH-зависимыми характеристиками связывания. Например, анти-ANGPTL8 антитело по настоящему изобретению может демонстрировать ослабление связывания с ANGPTL8 при кислом pH по сравнению с нейтральным pH. Альтернативно, анти-ANGPTL8 антитела по изобретению могут демонстрировать усиление связывания с ANGPTL8 при кислом pH по сравнению с нейтральным pH. Выражение «кислый pH» включает значения pH менее примерно 6,2, например, примерно 6,0, 5,95, 5,9, 5,85, 5,8, 5,75, 5,7, 5,65, 5,6, 5,55, 5,5, 5,45, 5,4, 5,35, 5,3, 5,25, 5,2, 5,15, 5,1, 5,05, 5,0 или менее. Используемое в настоящем документе выражение «нейтральный pH» означает значение pH от примерно 7,0 до примерно 7,4. Выражение «нейтральный pH» включает значения pH примерно 7,0, 7,05, 7,1, 7,15, 7,2, 7,25, 7,3, 7,35 и 7,4.

В некоторых случаях «ослабление связывание с ANGPTL8 при кислом pH по сравнению с нейтральным pH» выражают в виде отношения значения K_D связывания антитела с ANGPTL8 при кислом pH к значению K_D связывания антитела с ANGPTL8 при нейтральном pH (или наоборот). Например, для целей настоящего изобретения можно считать, что антитело, или его антигенсвязывающий фрагмент, демонстрирует «ослабление связывания с ANGPTL8 при кислом pH по сравнению с нейтральным pH», если антитело, или его антигенсвязывающий фрагмент, характеризуется отношением K_D в кислой/нейтральной среде, составляющем примерно 3,0 или более. В некоторых иллюстративных вариантах осуществления отношение K_D в кислой/нейтральной среде для антитела, или антигенсвязывающего

фрагмента, по настоящему изобретению может составлять примерно 3,0, 3,5, 4,0, 4,5, 5,0, 5,5, 6,0, 6,5, 7,0, 7,5, 8,0, 8,5, 9,0, 9,5, 10,0, 10,5, 11,0, 11,5, 12,0, 12,5, 13,0, 13,5, 14,0, 14,5, 15,0, 20,0, 25,0, 30,0, 40,0, 50,0, 60,0, 70,0, 100,0 или более.

Антитела с pH-зависимыми характеристиками связывания могут быть получены, например, путем скрининга популяции антител на ослабленное (или усиленное) связывание с конкретным антигеном при кислом pH по сравнению с нейтральным pH. Кроме того, модификации антигенсвязывающего домена на аминокислотном уровне могут приводить к получению антител с pH-зависимыми характеристиками. Например, путем замены одной или более аминокислот антигенсвязывающего домена (например, в CDR) остатком гистидина может быть получено антитело, отличающееся ослабленным связыванием антигена при кислом pH по сравнению с нейтральным pH.

Анти-ANGPTL8 антитела, содержащие варианты Fc

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения предложены анти-ANGPTL8 антитела, содержащие Fc-домен, имеющий одну или более мутаций, которые приводят к усилению или ослаблению связывания антитела с рецептором FcRn, например, при кислом pH по сравнению с нейтральным pH. Например, настоящее изобретение включает анти-ANGPTL8 антитела, имеющие мутацию в области C_H2 или C_H3 Fc-домена, при этом мутация(и) приводит к увеличению аффинности Fc-домена в отношении FcRn в кислой среде (например, в эндосоме, где значение pH находится в диапазоне от примерно 5,5 до примерно 6,0). Такие мутации могут приводить к увеличению периода полужизни антитела в сыворотке при введении его животному. Неограничивающие примеры таких модификаций Fc включают, например, модификацию в положении 250 (например, E или Q); 250 и 428 (например, L или F); 252 (например, L/Y/F/W или T), 254 (например, S или T) и 256 (например, S/R/Q/E/D или T); или модификацию в положении 428 и/или 433 (например, H/L/R/S/P/Q или K) и/или 434 (например, A, W, H, F или Y [N434A, N434W, N434H, N434F или N434Y]); или модификацию в положении 250 и/или 428; или модификацию в положении 307 или 308 (например, 308F, V308F) и 434. В одном варианте осуществления модификация

представляет собой модификацию 428L (например, M428L) и 434S (например, N434S); модификацию 428L, 259I (например, V259I) и 308F (например, V308F); модификацию 433K (например, H433K) и 434 (например, 434Y); модификацию в положении 252, 254 и 256 (например, 252Y, 254T и 256E); модификацию 250Q и 428L (например, T250Q и M428L) и модификацию в положении 307 и/или 308 (например, 308F или 308P). В другом варианте осуществления модификация представляет собой модификацию 265A (например, D265A) и/или 297A (например, N297A).

Например, настоящее изобретение включает анти-ANGPTL8 антитела, содержащие Fc-домен, имеющий одну или более пар или групп мутаций, выбранных из группы, состоящей из: 250Q и 248L (например, T250Q и M248L); 252Y, 254T и 256E (например, M252Y, S254T и T256E); 428L и 434S (например, M428L и N434S); 257I и 311I (например, P257I и Q311I); 257I и 434N (например, P257I и N434N); 376V и 434N (например, D376V и N434N); 307A, 380A и 434A (например, T307A, E380A и N434A), а также 433K и 434F (например, H433K и N434F). Все возможные сочетания вышеперечисленных мутаций в Fc-домене, а также другие мутации в переменных доменах антител, раскрытых в настоящем документе, входят в объем настоящего изобретения.

Настоящее изобретение также включает анти-ANGPTL8 антитела, содержащие химерную константную область тяжелой цепи (C_H), при этом химерная область C_H содержит сегменты из областей C_H более чем одного изотипа иммуноглобулинов. Например, антитела по изобретению могут содержать химерную область C_H , содержащую часть или весь домен C_{H2} из молекулы человеческого IgG1, человеческого IgG2 или человеческого IgG4 в сочетании с частью или всем доменом C_{H3} из молекулы человеческого IgG1, человеческого IgG2 или человеческого IgG4. В некоторых вариантах осуществления антитела по изобретению содержат химерную область C_H , имеющую химерную шарнирную область. Например, химерный шарнир может содержать «верхнюю шарнирную» аминокислотную последовательность (аминокислотные остатки в положениях от 216 до 227 в соответствии с нумерацией ЕС) из шарнирной области человеческого IgG1, человеческого IgG2 или человеческого IgG4 в сочетании с

«нижней шарнирной» последовательностью (аминокислотные остатки в положениях от 228 до 236 в соответствии с нумерацией ЕС) из шарнирной области человеческого IgG1, человеческого IgG2 или человеческого IgG4. В некоторых вариантах осуществления химерная шарнирная область содержит аминокислотные остатки из верхней шарнирной области человеческого IgG1 или человеческого IgG4 и аминокислотные остатки из нижней шарнирной области человеческого IgG2. В конкретных вариантах осуществления антитело, содержащее химерную область C_H, описанную в настоящем документе, может проявлять модифицированные эффекторные функции Fc без отрицательного влияния на терапевтические или фармакокинетические свойства антитела. (Смотри, например, предварительную патентную заявку США 61/759578, поданную 1 февраля 2013 г., полное содержание которой включено в настоящий документ посредством ссылки).

Биологические характеристики антител

Настоящее изобретение относится к антителам и их антигенсвязывающим фрагментам, которые связывают ANGPTL8 с высокой аффинностью. Например, настоящее изобретение относится к анти-ANGPTL8 антителам, которые связывают человеческий или обезьяний ANGPTL8 с величиной K_D менее примерно 150 нМ при измерении методом поверхностного плазмонного резонанса (ППР) при 25°C, или при 37°C, например, с использованием рекомбинантного продукта слияния белка ANGPTL8 с C-концевой областью Fc IgG2a мЫши в формате анализа, описанного в примерах 3 и 4 настоящего документа, или в по существу аналогичном анализе. В некоторых вариантах осуществления предложены анти-ANGPTL8 антитела, которые связывают человеческий или обезьяний ANGPTL8 при 25°C или 37°C с величиной K_D менее примерно 90 нМ или менее примерно 50 нМ, менее примерно 3 нМ, менее примерно 2 нМ, менее примерно 1 нМ, менее примерно 900 пМ, менее примерно 500 пМ, менее примерно 300 пМ, менее примерно 150 пМ или менее примерно 90 пМ при измерении методом поверхностного плазмонного резонанса, например, в формате анализа, описанного в примерах 3 и 4 настоящего документа, или в по существу аналогичном анализе.

Настоящее изобретение также относится к антителам и их антигенсвязывающим фрагментам, которые связывают пептид с SEQ ID NO: 337 из N-концевой области человеческого ANGPTL8 с полупериодом диссоциации ($t_{1/2}$), превышающим примерно 100 минут при измерении методом поверхностного плазмонного резонанса при 25°C или 37°C, например, с использованием формата анализа, описанного в примере 3 настоящего документа, или по существу аналогичного анализа. В конкретных вариантах осуществления предложены анти-ANGPTL8 антитела, которые связывают пептиды из N-концевой области человеческого ANGPTL8 при 25°C с $t_{1/2}$, превышающим или равным примерно 110 минут, превышающим примерно 120 минут, превышающим примерно 130 минут, превышающим примерно 200 минут, превышающим примерно 300 минут, превышающим примерно 400 минут, превышающим примерно 500 минут, или более длительным, при измерении методом поверхностного плазмонного резонанса, например, с использованием формата анализа, описанного в примере 3 настоящего документа, или по существу аналогичного анализа.

Настоящее изобретение также включает антитела и их антигенсвязывающие фрагменты, которые вызывают снижение уровней триглицеридов у млекопитающего на примерно 20% или на примерно 30%, или на примерно 40%, или на примерно 50%, или на примерно 60%, или более, при подкожном введении в дозе примерно 0,1 мг/кг или примерно 1 мг/кг, или примерно 10 мг/кг, или примерно 25 мг/кг, или примерно 50 мг/кг, или примерно 100 мг/кг. Эффект антитела по изобретению на снижение уровней триглицеридов в плазме может продолжаться от по меньшей мере 7 дней после введения до примерно 3 недель или 4 недель после введения, или дольше.

Антитело по изобретению содержит переменную область тяжелой цепи (HCVR), имеющую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 2, 18, 34, 50, 66, 82, 98, 114, 130, 146, 162, 178, 194, 210, 226, 242, 258, 266, 274, 282, 290, 298, 306, 314 и 330; и

переменную область легкой цепи (LCVR), имеющую аминокислотную последовательность, выбранную из группы,

состоящей из SEQ ID NO: 10, 26, 42, 58, 74, 90, 106, 122, 138, 154, 170, 186, 202, 218, 234, 250 и 322; или может перекрестно конкурировать с эталонным антителом, при этом эталонное антитело содержит аминокислотную последовательность вариабельной области тяжелой цепи (HCVR) и вариабельной области легкой цепи (LCVR), выбранную из группы, состоящей из аминокислотных последовательностей HCVR и LCVR в Таблице 1.

Антитело по изобретению может содержать пару аминокислотных последовательностей HCVR/LCVR, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NOs: 2/10, 18/26, 34/42, 50/58, 66/74, 82/90, 98/106, 114/122, 130/138, 146/154, 162/170, 178/186, 194/202, 210/218, 226/234, 242/250, 258/250, 266/250, 274/250, 282/250, 290/250, 306/250, 314/322 и 330/322.

Антитело по изобретению может содержать:

(a) домен HCDR1, имеющий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NOs: 4, 20, 36, 52, 68, 84, 100, 116, 132, 148, 164, 180, 196, 212, 228, 244, 260, 268, 276, 284, 292, 300, 308, 316 и 332;

(b) домен HCDR2, имеющий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NOs: 6, 22, 38, 54, 70, 86, 102, 118, 134, 150, 166, 182, 198, 214, 230, 246, 262, 270, 278, 286, 294, 302, 310, 318 и 334;

(c) домен HCDR3, имеющий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NOs: 8, 24, 40, 56, 72, 88, 104, 120, 136, 152, 168, 184, 200, 216, 232, 248, 264, 272, 280, 288, 296, 304, 312, 320 и 336;

(d) домен LCDR1, имеющий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NOs: 12, 28, 44, 60, 76, 92, 108, 124, 140, 156, 172, 188, 204, 220, 236, 252 и 324;

(e) домен LCDR2, имеющий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NOs: 14, 30, 46, 62, 78, 94, 110, 126, 142, 158, 174, 190, 206, 222, 238, 254 и 326;
и

(f) домен LCDR3, имеющий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NOs: 16, 32, 48, 64, 80, 96, 112, 128, 144, 160, 176, 192, 208, 224, 240, 256 и 328.

Антитела по настоящему изобретению могут обладать одной или более из вышеуказанных биологических характеристик, или любым их сочетанием. Вышеприведенный список биологических характеристик антител по изобретению не должен быть исчерпывающим. Другие биологические характеристики антител по настоящему изобретению будут очевидны для специалиста в данной области из описания настоящего изобретения, включая рабочие примеры, приведенные в настоящем документе.

Картирование эпитопов и соответствующие технологии

Эпитоп, с которым связываются антитела по настоящему изобретению, может состоять из одной непрерывной последовательности из 3 или более (например, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 или более) аминокислот белка ANGPTL8. Альтернативно, эпитоп может состоять из нескольких несмежных аминокислот (или аминокислотных последовательностей) в ANGPTL8.

Можно использовать различные методы, известные специалистам в данной области, для определения того, «взаимодействует ли антитело с одной или более аминокислотами» в полипептиде или белке. Иллюстративные методы включают, например, рутинный анализ перекрестного блокирования, такой, как описан в сборнике *Antibodies*, Harlow and Lane (Cold Spring Harbor Press, Cold Spring Harb., NY), анализ методом аланин-сканирующего мутагенеза, анализ методом пептидного блоттинга (Reineke, 2004, *Methods Mol Biol* 248:443-463) и анализ методом пептидного расщепления. Кроме того, можно использовать такие методы, как вырезание эпитопов, экстракция эпитопов и химическая модификация антигенов (Tomer, 2000, *Protein Science* 9:487-496). Другой метод, который можно использовать для идентификации аминокислот в полипептиде, с которыми взаимодействует антитело, представляет собой метод водородно-дейтериевого обмена, обнаруживаемого с помощью масс-спектрометрии. В общих чертах, метод водородно-дейтериевого обмена включает мечение дейтерием интересующего белка, с последующим связыванием антитела с меченым дейтерием белком. Затем комплекс белок/антитело переносят в воду, давая возможность происходить водородно-дейтериевому обмену на всех

остатках, за исключением остатков, защищенных антителом (которые остаются мечеными дейтерием). После диссоциации антитела целевой белок подвергают расщеплению протеазой и масс-спектрометрическому анализу, что позволяет обнаруживать меченые дейтерием остатки, соответствующие конкретным аминокислотам, с которыми взаимодействует антитело. Смотри, например, Ehring (1999) *Analytical Biochemistry* 267(2):252-259; Engen and Smith (2001) *Anal. Chem.* 73:256A-265A.

Настоящее изобретение также включает анти-ANGPTL8 антитела, которые связывают тот же эпитоп, что и любое из конкретных иллюстративных антител, описанных в настоящем документе (например, антител, содержащих любую из аминокислотных последовательностей, приведенных в Таблице 1 настоящего документа). Аналогично, настоящее изобретение также включает анти-ANGPTL8 антитела, которые конкурируют за связывание ANGPTL8 с любым из конкретных иллюстративных антител, описанных в настоящем документе (например, антител, содержащих любую из аминокислотных последовательностей, приведенных в Таблице 1 настоящего документа).

Можно с легкостью определять, связывает ли антитело тот же эпитоп, что и эталонное анти-ANGPTL8 антитело, или конкурирует ли за связывание с эталонным анти-ANGPTL8 антителом, используя рутинные методы, известные в данной области и приведенные в качестве примеров в настоящем документе. Например, для определения того, связывает ли тестируемое антитело тот же эпитоп, что и эталонное анти-ANGPTL8 антитело по изобретению, эталонному антителу дают возможность связывать белок ANGPTL8. Затем оценивают способность тестируемого антитела связывать молекулу ANGPTL8. Если тестируемое антитело способно связывать ANGPTL8 после насыщающего связывания с эталонным анти-ANGPTL8 антителом, то можно сделать вывод о том, что тестируемое антитело связывает иной эпитоп, нежели эталонное анти-ANGPTL8 антитело. С другой стороны, если тестируемое антитело не способно связывать молекулу ANGPTL8 после насыщающего связывания с эталонным анти-ANGPTL8 антителом, значит тестируемое антитело может связывать тот же эпитоп, что и эпитоп, связываемый

эталонным анти-ANGPTL8 антителом по изобретению. Затем можно проводить дополнительное рутинное экспериментирование (например, мутацию пептидов и анализы связывания) для подтверждения того, действительно ли наблюдаемое отсутствие связывание тестируемого антитела объясняется связыванием того же эпитопа, что что и эпитоп эталонного антитела, или за наблюдаемое отсутствие связывания несет ответственность стерическое блокирование (или другое явление). Эксперименты такого рода можно проводить с использованием методов ELISA, RIA, Biacore, проточной цитометрии или любых других количественных или качественных анализов связывания антител, доступных в данной области. В конкретных вариантах осуществления настоящего изобретения два антитела связывают один и тот же (или перекрывающийся) эпитоп, если, например, одно антитело в 1-, 5-, 10-, 20- или 100-кратном избытке ингибирует связывание другого антитела на по меньшей мере 50%, но предпочтительно на 75%, 90% или даже 99% при измерении в конкурентном анализе связывания (смотри, например, Junghans *et al.*, Cancer Res. 1990:50:1495-1502). Альтернативно, считают, что два антитела связывают один и тот же эпитоп, если практически все аминокислотные мутации в антигене, которые приводят к ослаблению или исчезновению связывания одного антитела, приводят к ослаблению или исчезновению связывания другого антитела. Считают, что два антитела имеют «перекрывающиеся эпитопы», если только некоторая часть аминокислотных мутаций, которые приводят к ослаблению или исчезновению связывания одного антитела, приводит к ослаблению или исчезновению связывания другого антитела.

Для определения того, конкурирует ли антитело за связывание (или перекрестно конкурирует за связывание) с эталонным анти-ANGPTL8 антителом, вышеописанную методологию определения связывания применяют в двух ориентациях: в первой ориентации эталонному антителу дают возможность связывать белок ANGPTL8 в условиях насыщения, с последующей оценкой связывания тестируемого антитела с молекулой ANGPTL8. Во второй ориентации тестируемому антителу дают возможность связывать молекулу ANGPTL8 в условиях насыщения, с последующей оценкой связывания

эталонного антитела с молекулой ANGPTL8. Если в обеих ориентациях только первое (насыщающее) антитело способно связывать молекулу ANGPTL8, делают вывод о том, что тестируемое антитело и эталонное антитело конкурируют за связывание ANGPTL8. Как понимают специалисты в данной области, антитело, которое конкурирует за связывание с эталонным антителом, может не обязательно связывать тот же эпитоп, что и эталонное антитело, но может стерически блокировать связывание эталонного антитела за счет связывания перекрывающегося или соседнего эпитопа.

Получение человеческих антител

Анти-ANGPTL8 антитела по настоящему изобретению могут представлять собой полностью человеческие (не существующие в природе) антитела. Методы получения моноклональных антител, включая полностью человеческие моноклональные антитела, известны в данной области. Любой из таких известных методов можно использовать в контексте настоящего изобретения для получения человеческих антител, которые специфически связывают человеческий ANGPTL8.

С использованием технологии VELOCIMMUNE® (смотри, например, US 6596541, Regeneron Pharmaceuticals, VELOCIMMUNE®) или любого другого известного метода получения моноклональных антител сначала выделяют высокоаффинные химерные антитела к аллергену, имеющие переменную область человеческого антитела и константную область мышиного антитела. Технология VELOCIMMUNE® включает получение трансгенной мыши, имеющей геном, содержащий гены переменных областей тяжелой и легкой цепей антитела человека, функционально связанные с эндогенными локусами константной области мышиного антитела так, что в организме мыши в ответ на стимуляцию антигеном продуцируется антитело, содержащее переменную область человеческого антитела и константную область мышиного антитела. ДНК, кодирующую переменные области тяжелой и легкой цепей антитела, выделяют и функционально связывают с ДНК, кодирующей константные области тяжелой и легкой цепей человеческого антитела. Затем ДНК экспрессируют в клетке, способной экспрессировать полностью

человеческое антитело.

Как правило, мышь VELOCIMMUNE® иммунизируют интересующим антигеном и лимфатические клетки (такие как В-клетки) извлекают из мыши, в организме которой экспрессируются антитела. Можно проводить слияние лимфатических клеток с клетками миеломы, получая линии immortalized клеток гибридом, и проводить скрининг и отбор таких линий клеток гибридом для идентификации линий клеток гибридом, продуцирующих антитела, специфичные для интересующего антигена. ДНК, кодирующую переменные области тяжелой цепи и легкой цепи, можно выделять и связывать с константными областями нужного изотипа тяжелой цепи и легкой цепи. Такой белок антитела может быть получен в клетке, такой как клетка CHO. Альтернативно, ДНК, кодирующую антиген-специфические химерные антитела или переменные домены легкой и тяжелой цепей, можно выделять непосредственно из антиген-специфических лимфоцитов.

Как описано в «Экспериментальной части» настоящего документа, выделенные высокоаффинные химерные антитела, имеющие переменную область человеческого антитела и константную область мышиного антитела, характеризуют и проводят отбор на наличие желательных характеристик, включая аффинность, избирательность, эпитоп и так далее. Константные области мышиного антитела затем заменяют нужной константной областью человеческого антитела, получая полностью человеческое антитело по изобретению, например, дикого типа, или модифицированное, IgG1 или IgG4. Хотя выбранная константная область может варьироваться в зависимости от конкретного применения, характеристики высокой аффинности связывания антигена и специфичности в отношении мишени определяются переменной областью.

В целом, антитела по настоящему изобретению обладают очень высокой аффинностью, как правило, имея величину K_D от примерно 10^{-12} М до примерно 10^{-9} М при измерении характеристик связывания с антигеном, либо иммобилизованным на твердой фазе, либо находящимся в растворе.

Биоэквиваленты

Анти-ANGPTL8 антитела, и фрагменты антител, по настоящему изобретению включают белки, которые имеют аминокислотные последовательности, отличающиеся от последовательностей описанных антител, однако сохраняют способность связывать человеческий ANGPTL8. Такие вариантные антитела, и фрагменты антител, имеют одно или более добавлений, делеций или замен аминокислот в сравнении с исходной последовательностью, однако обладают биологической активностью, которая практически эквивалентна активности описанных антител. Аналогично, кодирующие анти-ANGPTL8 антитело последовательности ДНК по настоящему изобретению включают последовательности, которые имеют одно или более добавлений, делеций или замен нуклеотидов в сравнении с раскрытой последовательностью, но кодируют анти-ANGPTL8 антитело, или фрагмент антитела, которое практически биоэквивалентно анти-ANGPTL8 антителу, или фрагменту антитела, по изобретению. Примеры таких вариантных аминокислотных и нуклеотидных последовательностей обсуждаются выше.

Два антигенсвязывающих белка, или антитела, считают биоэквивалентными, если, например, они являются фармацевтическими эквивалентами или фармацевтическими альтернативами, скорость и степень абсорбции которых существенно не отличаются при введении в той же молярной дозе в аналогичных экспериментальных условиях, в виде либо однократной дозы, либо нескольких доз. Некоторые антитела будут считаться эквивалентами или фармацевтическими альтернативами, если они эквивалентны по степени их абсорбции, но не по скорости их абсорбции, и все же могут считаться биоэквивалентами, поскольку такие различия в скорости абсорбции являются намеренными, и это отражено в маркировке, не являются существенными для достижения эффективной концентрации лекарственного средства в организме, например, при хроническом применении, и с медицинской точки зрения считаются несущественными для конкретного изучаемого лекарственного продукта.

В одном варианте осуществления два антигенсвязывающих белка являются биоэквивалентными, если отсутствуют клинически значимые

отличия в их безопасности, чистоте и эффективности.

В одном варианте осуществления два антигенсвязывающих белка являются биологически эквивалентными, если пациент может переключаться один или более раз с использования эталонного продукта на использование биологического продукта без ожидаемого возрастания риска неблагоприятных эффектов, включая клинически значимое изменение в иммуногенности или снижение эффективности, по сравнению с продолжающимся лечением без такого переключения.

В одном варианте осуществления два антигенсвязывающих белка являются биоэквивалентными, если они оба действуют по общему механизму или механизмам действия для конкретного состояния или состояний, в той степени, насколько эти механизмы известны.

Биоэквивалентность может быть продемонстрирована *in vivo* и *in vitro* методами. Определение биоэквивалентности включает, например, (a) *in vivo* тест для человека или других млекопитающих, в котором измеряют концентрацию антитела или его метаболитов в крови, плазме, сыворотке или другой биологической жидкости с течением времени; (b) *in vitro* тест, который коррелирует, и в разумной степени способен прогнозировать данные по биодоступности у человека *in vivo*; (c) *in vivo* тест для человека или других млекопитающих, в котором соответствующий острый фармакологический эффект антитела (или его мишени) измеряют с течением времени; и (d) надлежащим образом контролируемое клиническое испытание, позволяющее устанавливать безопасность, эффективность, биодоступность или биоэквивалентность антитела.

Биоэквивалентные варианты анти-ANGPTL8 антител по изобретению могут быть сконструированы, например, путем осуществления различных замен остатков или последовательностей, либо делеций концевых, или внутренних, остатков или последовательностей, не являющихся необходимыми для биологической активности. Например, остатки цистеина, не важные для биологической активности, могут быть делетированы или заменены другими аминокислотами для предотвращения образования ненужных или неправильных внутримолекулярных дисульфидных мостов при ренатурации. В других контекстах биоэквивалентные антитела

могут включать варианты анти-ANGPTL8 антител, имеющие аминокислотные изменения, которые приводят к изменению характеристик гликозилирования антител, например, мутации, которые приводят к элиминации или устранению гликозилирования.

Мультиспецифические антитела

Антитела по настоящему изобретению могут быть моноспецифическими или мультиспецифическими (например, биспецифическими). Мультиспецифические антитела могут быть специфичными для разных эпитопов одного целевого полипептида или могут содержать антигенсвязывающие домены, специфичные для более чем одного целевого полипептида. См. например, Tutt *et al.*, 1991, J. Immunol. 147:60-69; Kufer *et al.*, 2004, Trends Biotechnol. 22:238-244. Анти-ANGPTL8 антитела по настоящему изобретению могут быть связаны или совместно экспрессированы с другой функциональной молекулой, например, другим пептидом или белком. Например, антитело, или его фрагмент, может быть функционально связано (например, путем химического связывания, генетического слияния, нековалентной ассоциации или иным образом) с одним или более другими молекулярными фрагментами, такими как другое антитело, или фрагмент антитела, с получением биспецифического или мультиспецифического антитела со второй специфичностью связывания.

Настоящее изобретение включает биспецифические антитела, в которых одно плечо иммуноглобулина связывает человеческий ANGPTL8, а другое плечо иммуноглобулина специфично для второго антигена. ANGPTL8-связывающее плечо может содержать любую из аминокислотных последовательностей HCVR/LCVR или CDR, приведенных в Таблице 1 настоящего документа.

Иллюстративный формат биспецифического антитела, который можно использовать в контексте настоящего изобретения, включает использование первого C_H3-домена иммуноглобулина (Ig) и второго C_H3-домена Ig, при этом первый и второй C_H3-домены Ig отличаются друг от друга по меньшей мере одной аминокислотой, и при этом по меньшей мере одно аминокислотное отличие приводит к ослаблению связывания биспецифического антитела с белком А по сравнению с биспецифическим антителом, у которого отсутствует аминокислотное

отличие. В одном варианте осуществления первый C_H3-домен Ig связывает белок А и второй C_H3-домен Ig содержит мутацию, которая приводит к ослаблению или ликвидации связывания белка А, например, модификацию Н95R (согласно нумерации экзонов IMGT; Н435R согласно нумерации ЕС). Второй C_H3-домен может дополнительно иметь модификацию Y96F (согласно IMGT; Y436F согласно ЕС). Дополнительные модификации, которые могут иметь место во втором C_H3-домене, включают: D16E, L18M, N44S, K52N, V57M и V82I (согласно IMGT; D356E, L358M, N384S, K392N, V397M и V422I согласно ЕС) в случае IgG1 антител; N44S, K52N и V82I (согласно IMGT; N384S, K392N и V422I согласно ЕС) в случае IgG2 антител; и Q15R, N44S, K52N, V57M, R69K, E79Q и V82I (согласно IMGT; Q355R, N384S, K392N, V397M, R409K, E419Q и V422I согласно ЕС) в случае IgG4 антител. Подразумевается, что вариации формата биспецифического антитела, описанные выше, входят в объем настоящего изобретения.

Другие иллюстративные биспецифические форматы, которые можно использовать в контексте настоящего изобретения, включают, без ограничения, например, биспецифические форматы на основе scFv или диатела, слитые продукты IgG-scFv, Ig с двойным переменным доменом (DVD), квадromы, структуры типа «выступ-во-впадину», общие легкие цепи (например, общие легкие цепи со структурой типа «выступ-во-впадину», и так далее), CrossMab, CrossFab, (SEED)body, «лейциновые застёжки», DuoBody®, IgG1/IgG2, Fab (DAF)-IgG двойного действия и Mab² биспецифические форматы (смотри, например, Klein et al. 2012, mAbs 4:6, 1-11, и приведенные в этой публикации ссылки для получения информации о вышеуказанных форматах). Биспецифические антитела также могут быть сконструированы с использованием конъюгации пептид/нуклеиновая кислота, например, когда неприродные аминокислоты с независимой химической реакционной способностью используют для получения сайт-специфических конъюгатов антитело-олигонуклеотид, которые затем самособираются в мультимерные комплексы с определенным составом, валентностью и геометрической формой. (Смотри, например, Kazane et al., J. Am. Chem. Soc.

[Epub: Dec. 4, 2012]).

Терапевтический препарат и введение

Изобретение относится к фармацевтическим композициям, содержащим анти-ANGPTL8 антитела, или их антигенсвязывающие фрагменты, по настоящему изобретению. Фармацевтические композиции по изобретению формулируют с соответствующими носителями, эксципиентами и другими средствами, которые обеспечивают улучшенный перенос, доставку, толерантность и тому подобное. Множество соответствующих препаратов можно найти в справочнике, известном всем химикам-фармацевтам: Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Company, Easton, PA. Эти препараты включают, например, порошки, пасты, мази, желе, воски, масла, липиды, содержащие липиды (катионные или анионные) везикулы (такие как липофектинTM, Life Technologies, Carlsbad, CA), ДНК-конъюгаты, безводные абсорбционные пасты, эмульсии типа масло-в-воде и вода-в-масле, эмульсии карбовакс (полиэтиленгликоли с разными молекулярными массами), полутвердые гели и полутвердые смеси, содержащие карбовакс. Смотри также Powell et al. «Compendium of excipients for parenteral formulations» PDA (1998) J Pharm Sci Technol 52:238-311.

Доза антитела, вводимая пациенту, может варьироваться в зависимости от возраста и массы тела пациента, подвергаемого лечению заболевания, условий, пути введения и тому подобного. Предпочтительную дозу, как правило, рассчитывают, исходя из массы тела или площади поверхности тела. Для взрослых пациентов может быть предпочтительным внутривенное введение антитела по настоящему изобретению, как правило, в одной дозе, составляющей от примерно 0,01 до примерно 20 мг/кг массы тела, более предпочтительно от примерно 0,02 до примерно 7, от примерно 0,03 до примерно 5 или от примерно 0,05 до примерно 3 мг/кг массы тела. В зависимости от степени тяжести состояния частоту и продолжительность лечения можно корректировать. Эффективные дозы и схемы введения анти-ANGPTL8 антител можно определять эмпирически; например, достигнутый пациентом прогресс можно контролировать путем периодической оценки, и соответственно

корректировать дозы. Кроме того, можно выполнять межвидовое масштабирование доз методами, хорошо известными в данной области (например, Mordenti *et al.*, 1991, *Pharmaceut. Res.* 8:1351).

Различные системы доставки известны и могут быть использованы для введения фармацевтической композиции по изобретению, например, инкапсуляция в липосомы, микрочастицы, микрокапсулы, рекомбинантные клетки, способные экспрессировать мутантные вирусы, опосредуемый рецепторами эндоцитоз (смотри, например, Wu *et al.*, 1987, *J. Biol. Chem.* 262:4429-4432). Способы введения включают, но не ограничиваются ими, внутрикожный, внутримышечный, внутрибрюшинный, внутривенный, подкожный, интраназальный, эпидуральный и пероральный способы введения. Композицию можно вводить любым удобным путем введения, например, инфузией или болюсной инъекцией, абсорбцией через эпителиальную или слизисто-кожную выстилку (например, через слизистую оболочку ротовой полости, слизистую оболочку прямой кишки и кишечника, и так далее) и можно вводить совместно с другими биологически активными средствами. Введение может быть системным или локальным.

Фармацевтическую композицию по настоящему изобретению можно доставлять подкожно или внутривенно при помощи стандартной иглы и шприца. Кроме того, что касается подкожной доставки, для доставки фармацевтической композиции по настоящему изобретению можно использовать шприц-ручку. Такая шприц-ручка может быть устройством многоразового или одноразового использования. В шприц-ручке многоразового использования, как правило, имеется сменный картридж, содержащий фармацевтическую композицию. После того, как находящаяся в картридже фармацевтическая композиция полностью использована и картридж становится пустым, пустой картридж можно выбрасывать и заменять новым картриджем, содержащим фармацевтическую композицию. После этого шприц-ручку можно повторно использовать. В шприц-ручке одноразового использования нет сменного картриджа. Шприц-ручка одноразового использования бывает предварительно заполнена фармацевтической композицией, находящейся в резервуаре внутри устройства. После использования всей находящейся в резервуаре фармацевтической

композиции все устройство выбрасывают.

Для подкожной доставки фармацевтической композиции по настоящему изобретению могут быть использованы различные шприц-ручки многоразового использования и автоинжекторные устройства доставки. Примеры включают, но не ограничиваются ими, шприц-ручку AUTOPEN™ (Owen Mumford, Inc., Woodstock, UK), шприц-ручку DISETRONIC™ (Disetronic Medical Systems, Bergdorf, Switzerland), шприц-ручку HUMALOG MIX 75/25™, шприц-ручку HUMALOG™, шприц-ручку HUMALIN 70/30™ (Eli Lilly and Co., Indianapolis, IN), NOVOPEN™ I, II и III (Novo Nordisk, Copenhagen, Denmark), NOVOPEN JUNIOR™ (Novo Nordisk, Copenhagen, Denmark), шприц-ручку BD™ (Becton Dickinson, Franklin Lakes, NJ), OPTIPEN™, OPTIPEN PRO™, OPTIPEN STARLET™ и OPTICLIK™ (Sanofi-Aventis, Frankfurt, Germany) и многие другие. Примеры шприц-ручек одноразового использования, подходящих для подкожной доставки фармацевтической композиции по настоящему изобретению, включают, но не ограничиваются ими, шприц-ручку SOLOSTAR™ (Sanofi-Aventis), FLEXPEN™ (Novo Nordisk) и KWIKPEN™ (Eli Lilly), автоинжектор SURECLICK™ (Amgen, Thousand Oaks, CA), PENLET™ (Haselmeier, Stuttgart, Germany), EPIPEN (Dey, L.P.) и шприц-ручку HUMIRA™ (Abbott Labs, Abbott Park IL), а также многие другие.

В некоторых ситуациях фармацевтическую композицию можно доставлять в системе с контролируемым высвобождением. В одном варианте осуществления можно использовать насос (смотри Langer, выше; Sefton, 1987, CRC Crit. Ref. Biomed. Eng. 14:201). В другом варианте осуществления можно использовать полимерные материалы; смотри: Medical Applications of Controlled Release, Langer and Wise (eds.), 1974, CRC Pres., Boca Raton, Florida. В другом варианте осуществления систему с контролируемым высвобождением можно помещать в непосредственной близости от мишени для действия композиции, таким образом, потребуется лишь часть системной дозы (смотри, например, Goodson, 1984, в: Medical Applications of Controlled Release, выше, vol. 2, pp.

115-138). Другие системы с контролируемым высвобождением обсуждаются в обзоре Langer, 1990, Science 249:1527-1533.

Инъекционные препараты могут включать лекарственные формы для внутривенных, подкожных, внутрикожных и внутримышечных инъекций, капельных инфузий и так далее. Такие инъекционные препараты можно получать общеизвестными методами. В качестве примера, инъекционные препараты можно получать, например, путем растворения, суспендирования или эмульгирования антитела, или его соли, описанного выше, в стерильной водной среде или масляной среде, обычно используемой для инъекций. В качестве водной среды для инъекций используют, например, физиологический солевой раствор, изотонический раствор, содержащий глюкозу и другие вспомогательные средства, и так далее, которые можно использовать в сочетании с соответствующим солюбилизующим средством, таким как спирт (например, этанол), многоатомный спирт (например, пропиленгликоль, полиэтиленгликоль), неионный сурфактант [например, полисорбат 80, HCO-50 (полиоксиэтилен (50 мол) аддукт гидрогенизированного касторового масла)] и так далее. В качестве масляной среды используют, например, кунжутное масло, соевое масло и так далее, которые можно использовать в сочетании с солюбилизующим средством, таким как бензилбензоат, бензиловый спирт и так далее. Полученный таким образом инъекционный препарат предпочтительно разливают в соответствующие ампулы.

Предпочтительно, фармацевтические композиции для перорального или парентерального введения, описанные выше, готовят в стандартных лекарственных формах, содержащих дозу активных ингредиентов. Такие стандартные лекарственные формы включают, например, таблетки, пилюли, капсулы, инъекции (ампулы), суппозитории и так далее. Количество вышеуказанного антитела, заключающееся в стандартной лекарственной форме, как правило, составляет от примерно 5 до примерно 500 мг на стандартную лекарственную форму; в частности, предпочтительно, если в форме инъекции вышеуказанное антитело содержится в дозе от примерно 5 до примерно 100 мг, и в дозе от примерно 10 до примерно 250 мг в других лекарственных формах.

Иммуноконъюгаты

Изобретение также относится к человеческому анти-ANGPTL8 моноклональному антителу, конъюгированному с терапевтическим фрагментом («иммуноконъюгат»), таким как средство, способное вызывать снижение уровней триглицеридов или уровней липидов в крови. При выборе вида терапевтического фрагмента, который может быть конъюгирован с анти-ANGPTL8 антителом, следует учитывать состояние, подлежащее лечению, и терапевтический эффект, который желательно достичь. Например, для лечения гипертриглицеридемии или любого другого состояния, при котором желательно снижать уровни триглицеридов в крови и/или поддерживать нормальные уровни триглицеридов в крови, соответствующее средство можно конъюгировать с анти-ANGPTL8 антителом. Альтернативно, если желательный терапевтический эффект заключается в лечении осложнений или симптомов, ассоциированных с гипертриглицеридемией, или любым другим состоянием, возникающим вследствие высоких или неконтролируемых уровней триглицеридов в крови, может быть предпочтительной конъюгация средства, подходящего для лечения осложнений или симптомов состояния. Примеры соответствующих средств для получения иммуноконъюгатов известны в данной области, смотри, например, WO 05/103081.

Терапевтическое применение антител

Настоящие антитела полезны для снижения уровней триглицеридов в крови, например, у пациента, страдающего гипертриглицеридемией, а также для лечения широкого спектра состояний и заболеваний, при которых полезно ингибирование активности ANGPTL8. Таким образом, антитела можно использовать, например, для предотвращения, лечения или ослабления заболеваний или состояний, либо ассоциированных симптомов или осложнений, эндокринной системы, центральной нервной системы, периферической нервной системы, сердечно-сосудистой системы, легочной системы и пищеварительной системы, в то же время уменьшая или устраняя один или более из нежелательных побочных эффектов, связанных с современными методами лечения.

Например, антитела по изобретению можно использовать для лечения заболевания или нарушения, включая, но без ограничения,

те, которые связаны с метаболизмом липидов, такие как гиперлипидемия, гиперлипопротеинемия и дислипидемия, включая атерогенную дислипидемию, диабетическую дислипидемию, гипертриглицеридемию, включая тяжелую гипертриглицеридемию с уровнем ТГ >1000 мг/дл и сопутствующим острым панкреатитом, гиперхолестеринемия, хиломикронемия, смешанная дислипидемия (ожирение, метаболический синдром, диабет и так далее), липодистрофия, липоатрофия и тому подобное, которые вызываются, например, снижением активности ЛПЛ и/или дефицитом ЛПЛ, изменением ApoC2, дефицитом ApoE, увеличением уровней ApoB, увеличением продуцирования и/или уменьшением элиминации липопротеинов очень низкой плотности (ЛОНП), лечением некоторыми лекарственными средствами (например, вызываемая лечением глюкокортикоидами дислипидемия), любой генетической предрасположенностью, диетой, образом жизни и тому подобным.

Способы по изобретению также позволяют предотвращать или лечить заболевания или нарушения, связанные с, или вызываемые, триглицеридемией, гипертриглицеридемией, гиперлипидемией, гиперлипопротеинемией и/или дислипидемией, включая, но без ограничения, сердечно-сосудистые заболевания или нарушения, такие как атеросклероз, аневризма, гипертензия, стенокардия, инсульт, цереброваскулярные заболевания, застойная сердечная недостаточность, болезни коронарных артерий, инфаркт миокарда, болезни периферических сосудов и тому подобное; острый панкреатит; неалкогольный стеатогепатит (НАСГ); нарушение содержания сахара в крови, такое как диабет (например, диабет II типа); ожирение и тому подобное.

В одном варианте осуществления по меньшей мере одно антитело по изобретению, или его антигенсвязывающий фрагмент, можно использовать для лечения ассоциированных с метаболическим синдромом дислипидемии, ожирения, или для предотвращения увеличения массы тела, или для поддержания нормальной массы тела.

В одном варианте осуществления изобретение относится к способу снижения уровней триглицеридов в крови, либо лечения состояния или заболевания, связанного с, или частично

характеризующегося, повышенными уровнями триглицеридов в крови, или по меньшей мере одного симптома или осложнения, ассоциированного с состоянием или заболеванием, который включает введение фармацевтической композиции, содержащей одно или более антител, специфичных для человеческого ANGPTL8, из Таблицы 1, пациенту, который нуждается в этом, в результате чего уровни триглицеридов снижаются, либо состояние или заболевание ослабляется, либо по меньшей мере один симптом или осложнение, ассоциированное с состоянием или заболеванием, облегчается или степень его тяжести уменьшается.

В одном варианте осуществления по меньшей мере одно антитело, или его антигенсвязывающий фрагмент, по изобретению можно использовать отдельно или в сочетании с вторым или третьим терапевтическим средством для лечения гипертриглицеридемии, либо по меньшей мере одного симптома, ассоциированного с гипертриглицеридемией, или можно использовать для лечения пациента, имеющего риск развития гипертриглицеридемии, например, пациента, имеющего генетическую предрасположенность к развитию гипертриглицеридемии, например, семейной гипертриглицеридемии, или семейной дисбеталипопротеинемии.

Другие состояния могут предрасполагать пациента к повышению уровней триглицеридов. Например, некоторые лекарственные препараты, такие как бета-блокаторы, пилюли для контрацепции, диуретики, стероиды, либо использование тамоксифена, могут приводить к повышению уровней триглицеридов и, следовательно, могут повышать вероятность того, что у пациента разовьются состояния или осложнения, связанные с высокими уровнями триглицеридов, такие как атеросклероз, инсульт, сердечный приступ и другие кардиологические состояния.

Кроме того, некоторые другие состояния могут приводить к повышению уровней триглицеридов, включая ожирение, плохо контролируемый диабет, гипотиреоз, заболевание почек или употребление спиртных напитков.

В одном варианте осуществления антитела могут быть использованы для предотвращения начала заболевания или нарушения, частично характеризующегося повышенными уровнями

триглицеридов в крови, или для предотвращения вероятности развития такого заболевания или нарушения, или для снижения степени тяжести заболевания или нарушения, либо по меньшей мере одного симптома, ассоциированного с заболеванием или нарушением. Предполагается, что антитела по изобретению могут быть использованы отдельно, либо в качестве вспомогательной терапии с другими средствами или способами, известными в качестве стандарта оказания медицинской помощи пациентам, страдающим заболеваниями или состояниями, частично характеризующимися повышенными уровнями триглицеридов в крови, такими как, но без ограничения, гипертриглицеридемия. Такая стандартная терапия может включать введение жидкости или введение любых других фармацевтических средств, полезных для снижения в крови уровней триглицеридов или липидов, или для снижения массы тела.

В одном варианте осуществления применение антител, описанных в настоящем документе, может быть эффективным средством для достижения нормальных уровней триглицеридов и, как следствие, ослабления, или предотвращения, одного или более симптомов, либо долгосрочных осложнений, ассоциированных с заболеванием, характеризующимся высокими уровнями триглицеридов.

Предусмотрено, что антитела по изобретению могут быть использованы в экстренных случаях (для краткосрочного использования) или для долгосрочного использования (в качестве постоянной терапии).

Комбинированная терапия

Комбинированная терапия может включать использование анти-ANGPTL8 антитела по изобретению и любого дополнительного терапевтического средства, которое может быть полезно сочетать с антителом по изобретению, или с биологически активным фрагментом антитела по изобретению.

Например, когда антитела по изобретению предполагается использовать для лечения заболевания или состояния, частично характеризующегося повышенными уровнями триглицеридов, такого как гипертриглицеридемия, может быть использовано второе терапевтическое средство, способствующее дополнительному снижению уровней триглицеридов или ослаблению по меньшей мере

одного симптома у пациента, страдающего заболеванием или состоянием, характеризующимся высокими уровнями триглицеридов в крови. Такое второе средство можно выбирать, например, из другого антагониста ANGPTL8 (например, другого анти-ANGPTL8 антитела или низкомолекулярного ингибитора ANGPTL8) или можно использовать другие терапевтические средства, полезные для лечения триглицеридемии, либо других заболеваний или состояний, связанных с, или вызываемых повышенными уровнями триглицеридов в крови, или средства, полезные для лечения любых долгосрочных осложнений, связанных с повышенными и/или неконтролируемыми уровнями триглицеридов в крови.

В связанных вариантах осуществления изобретение относится к композиции, которая представляет собой сочетание антитела, или его антигенсвязывающего фрагмента, по изобретению и второго терапевтического средства, такого как (1) ингибиторы 3-гидрокси-3-метилглутарил-кофермент А (HMG-CoA) редуктазы, такие как церивастатин, аторвастатин, симвастатин, питаваастатин, розувастатин, флувастатин, ловастатин, правастатин и тому подобное; (2) ингибиторы поглощения холестерина и/или повторного поглощения желчных кислот; (3) ниацин, способствующий усилению катаболизма липопротеинов; (4) фибраты или амфипатические карбоновые кислоты, вызывающие снижение уровней липопротеинов низкой плотности (ЛНП), оптимизацию уровней липопротеинов высокой плотности (ЛВП) и уровней ТГ, и приводящие к сокращению числа не смертельных сердечных приступов; и (5) активаторы фактора транскрипции LXR, который участвует в элиминации холестерина, такого как 22-гидроксихолестерин, или фиксированные комбинации, такие как эзетимиб плюс симвастатин; статин с секвестрантом желчных кислот (например, холестирамин, колестипол, колесевилам), фиксированная комбинация ниацин плюс статин (например, ниацин с ловастатином); или другие снижающие уровень липидов средства, такие как этиловые эфиры омега-3-жирных кислот (например, омакор).

Кроме того, второе терапевтическое средство может представлять собой один или более других ингибиторов/антагонистов глюкагона или ингибиторов/антагонистов

рецепторов глюкагона, а также ингибиторы других молекул, такие как другие ингибиторы ANGPTL8, а также ингибиторы других молекул, таких как ANGPTL3, ANGPTL4, ANGPTL5, ANGPTL6, аполипопротеин С-III (также называемые APOC3; смотри, например, ингибиторы APOC3, описанные в US8530439, US7750141, US7598227, и воланесорсен, также называемый ISIS-APOCIIIIRx) и пробелок конвертаза субтилизин/кексин типа 9 (PCSK9), которые вовлечены в метаболизм липидов, в частности, гомеостаз холестерина и/или триглицеридов. Ингибиторы этих молекул включают малые молекулы, антисмысловые молекулы и антитела, которые специфически связывают эти молекулы и блокируют их активность.

В одном варианте осуществления, если анти-ANGPTL8 антитела по изобретению используют для лечения такого заболевания, как диабет (например, диабет 2 типа), то эти антитела можно использовать в сочетании с одним или более из следующих антидиабетических терапевтических средств, которые доступны в настоящее время. К ним относятся: инсулин, аналог инсулина (смотри ниже), бигуанид (метформин), сульфонилмочевина (например, глибурид, глипизид), агонист рецепторов PPAR-гамма (например, пиоглитазон, розиглитазон), ингибитор альфа-глюкозидазы (например, акарбоза, воглибоз), агонист рецепторов глюкагонподобного пептида 1 (GLP-1) (например, баета® (эксенатид), трулисити™ (дулаглутид), виктоза® (лираглутид), ликсумия® (ликсисенатид), танзеум™ (албиглутид), или аналог любого из вышеперечисленных), ингибитор дипептидилпептидазы IV (DPP-4) (например, саксаглиптин (онглиза®), ситалиптин (янувия®) и вилдаглиптин (галвус®), ингибитор натрий-глюкозного котранспортера 2 (SGLT2) (например, инвокана™ (канаглифлозин), форксига® (дапаглифлозин), эмпаглифлозин, ипраглифлозин, тофоглифлозин), симлин® (прамлинтид), антагонист рецепторов глюкагона (описанный, например, в US8545847) и антагонист глюкагона.

В некоторых связанных вариантах осуществления композиция может содержать второе средство, выбранное из группы, состоящей из несульфонилмочевинных секретогогов, аналогов инсулина,

включая аналоги быстрого действия (например, лиспро, аспарт, глулизин) и длительного действия (например, инсулин детемир, инсулин деглудек или инсулин гларгин), полипептидов эксендина-4, агонистов бета-3 адренорецепторов, ингибиторов поглощения холестерина и/или повторного поглощения желчных кислот, антагонистов ЛНП-холестерина, антагонистов белка-переносчика холестеринových эфиров (например, торцетрапиб, анацетрапиб, далцетрапиб или эвацетрапиб), антагонистов рецепторов эндотелина, антагонистов гормона роста, сенсibilизаторов инсулина, миметиков или агонистов амилина, антагонистов каннабиноидных рецепторов, агонистов рецепторов глюкагонподобного пептида 1, меланокортинов, агонистов рецепторов меланинконцентрирующего гормона, СИОЗСН, миметика фактора роста фибробластов 21 (FGF21) (смотри, например, US20110002845 и US20080261236), агониста рецепторов 1с фактора роста фибробластов (FGFR1с) (смотри, например, US20110150901), ингибитора образования конечного продукта усиленного гликозилирования, такого как, но без ограничения, аминугуанидин, и ингибиторов протеин-тирозин фосфатазы.

В связанных вариантах осуществления второе терапевтическое средство может представлять собой одно или более других терапевтических средств, таких как анальгетики, противовоспалительные средства, включая нестероидные противовоспалительные лекарственные средства (НПВС), такие как ингибиторы Cox-2 и тому подобное, для облегчения и/или уменьшения симптомов, сопутствующих основному состоянию, при необходимости.

Дополнительный терапевтически активный компонент(ы) можно вводить до, одновременно с, или после введения анти-ANGPTL8 антитела по настоящему изобретению. Для целей настоящего изобретения такие схемы введения рассматривают, как введение анти-ANGPTL8 антитела «в сочетании с» вторым терапевтически активным компонентом.

Схемы введения

В конкретных вариантах осуществления настоящего изобретения несколько доз анти-ANGPTL8 антитела (или фармацевтической

композиции, содержащей сочетание анти-ANGPTL8 антитела и любого из дополнительных терапевтически активных средств, упомянутых в настоящем документе) можно вводить субъекту в течение определенного периода времени. Способы в соответствии с данным аспектом изобретения включают последовательное введение субъекту нескольких доз анти-ANGPTL8 антитела по изобретению. При использовании в настоящем документе «последовательное введение» означает, что каждую дозу анти-ANGPTL8 антитела вводят субъекту в отдельный момент времени, например, в разные дни, разделенные заранее определенным интервалом (например, несколько часов, дней, недель или месяцев). По настоящему изобретению предусмотрены способы, включающие последовательное введение пациенту одной начальной дозы анти-ANGPTL8 антитела, с последующими одной или более вторичными дозами анти-ANGPTL8 антитела и, необязательно, с последующими одной или более третичными дозами анти-ANGPTL8 антитела.

Термины «начальная доза» «вторичные дозы» и «третичные дозы» относятся к временной последовательности введения анти-ANGPTL8 антитела по изобретению. Так, «начальная доза» представляет собой дозу, которую вводят в начале режима лечения (ее также называют «исходной дозой»); «вторичные дозы» представляют собой дозы, которые вводят после начальной дозы; и «третичные дозы» представляют собой дозы, которые вводят после вторичных доз. Начальная, вторичные и третичные дозы могут содержать одно и то же количество анти-ANGPTL8 антитела, но, как правило, могут отличаться друг от друга частотой введения. Однако в конкретных вариантах осуществления количество анти-ANGPTL8 антитела, содержащееся в начальной, вторичных и/или третичных дозах, отличается (например, скорректировано в сторону увеличения или уменьшения, в зависимости от ситуации) в течение курса лечения. В конкретных вариантах осуществления две или более (например, 2, 3, 4 или 5) доз вводят в начале режима лечения в качестве «нагрузочных доз», за которыми следуют дозы, вводимые менее часто (например, «поддерживающие дозы»).

В некоторых иллюстративных вариантах осуществления настоящего изобретения каждую вторичную и/или третичную дозу

вводят через 1-26 (например, 1, 1½, 2, 2½, 3, 3½, 4, 4½, 5, 5½, 6, 6½, 7, 7½, 8, 8½, 9, 9½, 10, 10½, 11, 11½, 12, 12½, 13, 13½, 14, 14½, 15, 15½, 16, 16½, 17, 17½, 18, 18½, 19, 19½, 20, 20½, 21, 21½, 22, 22½, 23, 23½, 24, 24½, 25, 25½, 26, 26½ или более) недель после непосредственно предшествующей дозы. Используемое в настоящем документе выражение «непосредственно предшествующая доза» означает, в последовательности из нескольких введений, дозу анти-ANGPTL8 антитела, которую вводят пациенту перед введением следующей дозы в последовательности без промежуточных доз.

Способы по данному аспекту изобретения могут включать введение пациенту любого количества вторичных и/или третичных доз анти-ANGPTL8 антитела. Например, в конкретных вариантах осуществления пациенту вводят только одну вторичную дозу. В других вариантах осуществления пациенту вводят две или более (например, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 или более) вторичных доз. Аналогично, в конкретных вариантах осуществления пациенту вводят только одну третичную дозу. В других вариантах осуществления пациенту вводят две или более (например, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 или более) третичных доз. Режим введения можно соблюдать бесконечно на всем протяжении жизни конкретного субъекта или до тех пор, пока такое лечение не перестанет быть терапевтически необходимым или полезным.

В вариантах осуществления, включающих использование нескольких вторичных доз, каждую вторичную дозу можно вводить с такой же частотой, что и другие вторичные дозы. Например, каждую вторичную дозу можно вводить пациенту через 1-2 недели или 1-2 месяца после непосредственно предшествующей дозы. Аналогично, в вариантах осуществления, включающих использование нескольких третичных доз, каждую третичную дозу можно вводить с такой же частотой, что и другие третичные дозы. Например, каждую третичную дозу можно вводить пациенту через 2-12 недель после непосредственно предшествующей дозы. В конкретных вариантах осуществления изобретения частота, с которой вторичные и/или третичные дозы вводят пациенту, может варьироваться на протяжении курса лечения. Частоту введения на протяжении курса

лечения также может корректировать врач в зависимости от потребностей конкретного пациента после клинического обследования.

Диагностическое применение антител

Анти-ANGPTL8 антитела по настоящему изобретению также можно использовать для обнаружения и/или измерения количества ANGPTL8 в образце, например, для диагностических целей. Например, анти-ANGPTL8 антитело, или его фрагмент, можно использовать для диагностирования состояния или заболевания, характеризующегося aberrантной экспрессией (например, избыточной экспрессией, недостаточной экспрессией, отсутствием экспрессии и так далее) ANGPTL8. Иллюстративные диагностические анализы для ANGPTL8 могут включать, например, создание контакта образца, полученного от пациента, с анти-ANGPTL8 антителом по изобретению, при этом анти-ANGPTL8 антитело метят детектируемой меткой или репортерной молекулой, либо используют в качестве улавливающего лиганда для избирательного выделения белка ANGPTL8 из образцов пациентов. Альтернативно, немеченое анти-ANGPTL8 антитело можно использовать в диагностических вариантах применения в сочетании с вторичным антителом, которое мечено детектируемой меткой. Детектируемая метка или репортерная молекула может представлять собой радиоактивный изотоп, такой как ^3H , ^{14}C , ^{32}P , ^{35}S или ^{125}I ; флуоресцентную или хемилюминесцентную молекулу, такую как флуоресцеин изотиоцианат или родамин; или фермент, такой как щелочная фосфатаза, β -галактозидаза, пероксидаза хрена или люцифераза.

Конкретные иллюстративные анализы, которые можно использовать для обнаружения или измерения ANGPTL8 в образце, включают твердофазный иммуноферментный анализ (ELISA), радиоиммунный анализ (RIA) и активированную флуоресценцией сортировку клеток (FACS).

Образцы, которые могут быть использованы в диагностических анализах ANGPTL8 в соответствии с настоящим изобретением, включают любую ткань или жидкий образец, получаемый от пациента, содержащий поддающиеся обнаружению количества белка ANGPTL8, или

его фрагментов, в норме или при патологии. Как правило, уровни ANGPTL8 в конкретном образце, полученном от здорового пациента (например, пациента, не страдающего заболеванием или состоянием, связанным с аномальными уровнями или активностью ANGPTL8), будут измерены для начального установления базового, или стандартного, уровня ANGPTL8. Этот базовый уровень ANGPTL8 затем можно сравнивать с уровнями ANGPTL8, измеренными в образцах, полученных от индивидуумов, предположительно имеющих связанное с ANGPTL8 заболевание или состояние, либо симптомы, ассоциированные с таким заболеванием или состоянием.

ПРИМЕРЫ

Прежде, чем перейти к описанию настоящих методов, следует понимать, что данное изобретение не ограничено конкретными описанными методами и экспериментальными условиями, поскольку такие методы и условия могут варьироваться. Также следует понимать, что терминология, используемая в настоящем документе, служит исключительно для описания конкретных вариантов осуществления и не должна быть ограничивающей, поскольку объем настоящего изобретения будет ограничен лишь прилагаемой формулой изобретения. Были предприняты усилия для обеспечения точности используемых значений (например, количеств, температуры и так далее), но следует учитывать некоторые экспериментальные ошибки и отклонения. Если нет иных указаний, все части являются частями по массе, молекулярная масса представляет собой среднюю молекулярную массу, температура выражена в градусах Цельсия и давление соответствует, или примерно соответствует, атмосферному.

Если нет иных указаний, все технические и научные термины, используемые в настоящем документе, имеют то значение, которое им обычно придают специалисты в области, к которой относится данное изобретение. В настоящем документе термин «примерно» при использовании применительно к конкретной приведенной числовой величине означает, что величина может отличаться от приведенной величины не более чем на 1%. Например, используемое в настоящем документе выражение «примерно 100» включает 99 и 101, а также все значения между ними (например, 99,1, 99,2, 99,3, 99,4 и так

далее).

Хотя любые методы и материалы, аналогичные или эквивалентные тем, которые описаны в настоящем документе, могут быть использованы на практике или при тестировании настоящего изобретения, предпочтительные методы и материалы описаны далее. Все публикации, упомянутые в настоящем документе, включены в настоящий документ посредством ссылки в полном объеме.

Пример 1. Получение анти-ANGPTL8 антител

Анти-ANGPTL8 антитела получали путем иммунизации мыши VELOCIMMUNE® (то есть, генетически модифицированной мыши, содержащей ДНК, кодирующую вариabельные области тяжелой цепи и легкой цепи kappa человеческого иммуноглобулина) иммуногеном, представляющим собой рекомбинантный человеческий ANGPTL8, экспрессированный с С-концевым маркером IgG2a мыши (смотри SEQ ID NO: 340). Иммунный ответ в виде продуцирования антител контролировали с помощью ANGPTL8-специфического иммуноанализа. После достижения желательного иммунного ответа несколько полностью человеческих анти-ANGPTL8 антител были получены из антиген-положительных В-клеток, как описано в патенте US 2007/0280945A1, полное содержание которого включено в настоящий документ посредством ссылки.

Некоторые биологические свойства иллюстративных анти-ANGPTL8 антител, полученных способами, описанными в данном примере, описаны подробно в приведенных далее примерах.

Пример 2. Аминокислотные и нуклеотидные последовательности вариabельных областей тяжелых и легких цепей

В Таблице 1 приведены идентификаторы аминокислотных последовательностей вариabельных областей, а также CDR, тяжелых и легких цепей отдельных анти-ANGPTL8 антител по изобретению. Идентификаторы соответствующих нуклеотидных последовательностей приведены в Таблице 2.

Таблица 1: Идентификаторы аминокислотных последовательностей

SEQ ID Nos:								
Обозначение антитела	HCVR	HCDR1	HCDR2	HCDR3	LCVR	LCDR1	LCDR2	LCDR3

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

Таблица 2: Идентификаторы нуклеотидных последовательностей

SEQ ID NOs:								
Обозначение антитела	HCVR	HCDR1	HCDR2	HCDR3	LCVR	LCDR1	LCDR2	LCDR3
H4H15314P2	1	3	5	7	9	11	13	15
H4H15316P	17	19	21	23	25	27	29	31
H4H15318P	33	35	37	39	41	43	45	47
H4H15319P	49	51	53	55	57	59	61	63
H4H15321P	65	67	69	71	73	75	77	79
H4H15323P	81	83	85	87	89	91	93	95
H4H15330P	97	99	101	103	105	107	109	111
H4H15331P	113	115	117	119	121	123	125	127
H4H15334P	129	131	133	135	137	139	141	143
H4H15335P	145	147	149	151	153	155	157	159
H4H15341P	161	163	165	167	169	171	173	175
H4H15343P	177	179	181	183	185	187	189	191

H4H15345P	193	195	197	199	201	203	205	207
H4H15346P	209	211	213	215	217	219	221	223
H4H15347P	225	227	229	231	233	235	237	239
H4H15350P2	241	243	245	247	249	251	253	255
H4H15353P2	257	259	261	263	249	251	253	255
H4H15354P2	265	267	269	271	249	251	253	255
H4H15355P2	273	275	277	279	249	251	253	255
H4H15357P2	281	283	285	287	249	251	253	255
H4H15361P2	289	291	293	295	249	251	253	255
H4H15362P2	297	299	301	303	249	251	253	255
H4H15363P2	305	307	309	311	249	251	253	255
H4H15367P2	313	315	317	319	321	323	325	327
H4H15369P2	329	331	333	335	321	323	325	327

В настоящем документе антителя, как правило, обозначены в соответствии со следующим номенклатурой: префикс Fc (например, «H1H», «H1M», «H2M», «H4H» и так далее), затем следует числовой идентификатор (например, «15321», «15341», «15350» и так далее), затем следует суффикс «P» или «N», как показано в Таблицах 1 и 2. Таким образом, в соответствии с данной номенклатурой, антители в настоящем документе могут быть обозначены, например, «H4H15321P», и так далее. Префикс H4H в обозначениях антител, используемых в настоящем документе, указывает на конкретный изотип Fc-области антитела. Например, антитело «H4H» имеет Fc человеческого IgG4, антитело «H1M» имеет Fc мышинового IgG1 и антитело «H2M» имеет Fc мышинового IgG2 (все переменные области являются полностью человеческими, на что указывает первая буква «H» в обозначении антител). Специалист в данной области понимает, что антитело, имеющее Fc конкретного изотипа, может быть преобразовано в антитело с Fc другого изотипа (например, антитело с Fc мышинового IgG1 может быть преобразовано в антитело с Fc человеческого IgG4, и так далее), однако в любом случае переменные домены (включая области CDR) - на которые указывают числовые идентификаторы, приведенные в Таблицах 1 и 2 - будут оставаться теми же самыми, и ожидается, что связывающая способность будет идентичной, или по существу аналогичной, независимо от природы Fc-домена.

Пример 3: Определение методом поверхностного плазмонного

резонанса (ППР) констант скорости диссоциации (k_d) для связывания анти-ANGPTL8 антител с пептидами ANGPTL8, ANGPTL3 и ANGPTL4

Ранее было показано, что связывание антител с N-концевой биспиральной областью ANGPTL3 [WO 2012/174178 A1; Lee *et al.* (2009) JBC, 284:13735-13745] и ANGPTL4 [Desai *et al.* (2007) PNAS, 104:11766-11771] блокирует ЛПЛ-ингибирующую активность белков ANGPTL. В данном эксперименте антитела против ANGPTL8 тестировали на связывание с пептидом из N-концевой области ANGPTL8.

Константы скорости диссоциации для связывания анти-ANGPTL8 антител с пептидом человеческого ANGPTL8 (пептид чANGPTL8, SEQ ID NO: 337) определяли методом поверхностного плазмонного резонанса в реальном времени с использованием биосенсорной платформы MASS-1. В анализе использовали формат, в котором анти-ANGPTL8 антитела были захвачены на поверхности сенсора и пептиды инжектировали над поверхностью с антителами. Пептиды из N-концевой биспиральной области человеческого ANGPTL3 (пептид чANGPTL3, SEQ ID NO: 338) и человеческого ANGPTL4 (пептид чANGPTL4, SEQ ID NO: 339) также включали в качестве контролей. Также включали контрольное антитело (H4H268P из US2011/0159015A1), которое связывает пептид ANGPTL4, и контрольное по изотипу антитело в качестве отрицательного контроля. Все исследования связывания проводили в буфере 10 mM HEPES pH 7,4, 150 mM NaCl, 3 mM ЭДТА и 0,05% по объему сурфактанта Tween-20 (подвижный буфер HBS-ET) при 25°C. Поверхность HCA сенсора дериватизировали за счет связывания через аминокислотные группы моноклонального мышинового антитела против Fc человека (GE, # BR-1008-39), и на этой поверхности было захвачено примерно 1000 ЕО каждого анти-ANGPTL8 антитела или контрольного антитела. Маточные растворы пептидов разбавляли в подвижном буфере HBS-ET до 500 нМ и инжектировали над покрытыми антителами поверхностями в течение 4 минут при скорости потока 30 мкл/минуту, с последующей диссоциацией связанного пептида в подвижном буфере HBS-ET в течение 10 минут.

Фазу ассоциации связывания пептидов с иммобилизованными

анти-ANGPTL8 антителами не удалось подогнать к модели связывания 1:1; вследствие этого, только значения константы скорости диссоциации (k_d) были рассчитаны путем подгонки сенсограмм связывания в реальном времени с использованием программы для подбора кривых Scrubber 2.0с. Значения полупериода диссоциации ($t_{1/2}$) рассчитывали на основании k_d следующим образом:

$$t_{1/2} \text{ (мин)} = \frac{\ln(2)}{60 * k_d}$$

Параметры связывания пептидов N-концевой области ANGPTL8, ANGPTL3 и ANGPTL4 с иммобилизованными анти-ANGPTL8 антителами, контрольным анти-ANGPTL4 антителом и контрольным по изотипу антителом приведены в Таблицах 3-5.

Результаты:

В данных экспериментальных условиях максимальный сигнал неспецифического связывания, наблюдаемый при связывании 500 нМ пептидов чANGPTL8, чANGPTL3 или чANGPTL4 с пустой анти-чFc поверхностью составлял 3 ЕО. Вследствие этого, взаимодействия связывания с сигналами, в три раза превышающими 3 ЕО неспецифического фона (то есть, ≥ 9 ЕО), считали специфическими взаимодействиями связывания. На основании этого критерия сигналы связывания антитело-пептид менее 9 ЕО не считали сигналами связывания (н/с в Таблице 1).

Результаты этого изучения связывания показали, что анти-ANGPTL8 антитела H4N15321P, H4N15367P2 и H4N15345P специфически связывают N-концевую область пептида ANGPTL8 (SEQ ID NO: 337). Ни одно из этих анти-ANGPTL8 антител не связывало пептиды N-концевой области чANGPTL3 (SEQ ID NO: 338) или чANGPTL4 (SEQ ID NO: 339).

Таблица 3: Связывание анти-ANGPTL8 моноклональных антител с пептидом чANGPTL8 при 25°C

Захваченное мАт	Уровень захвата мАт (ЕО) *	Связанный 500 нМ пептид чANGPTL8 (ЕО)	k_d (1/с)	$t_{1/2}$ (мин)
H4N15321P	1101 $\pm$ 6,1	61	8,29E-05	139
H4N15367P2	1116 $\pm$ 17,4	43	9,82E-05	118
H4N15345P	1096 $\pm$ 3,6	37	2,03E-05	570

H4H15361P2	1394 ± 12,3	4	н/с	н/с
H4H15347P	1554 ± 54,6	0	н/с	н/с
H4H15318P	1087 ± 31,5	0	н/с	н/с
H4H15350P2	1298 ± 30,7	0	н/с	н/с
H4H15363P2	1281 ± 13,7	0	н/с	н/с
H4H15346P	1277 ± 26,3	0	н/с	н/с
H4H15334P	1256 ± 5,3	0	н/с	н/с
H4H15335P	1625 ± 31	0	н/с	н/с
H4H15343P	1129 ± 19,8	0	н/с	н/с
H4H15357P2	1159 ± 13,1	0	н/с	н/с
H4H15353P2	1296 ± 8,5	0	н/с	н/с
H4H15341P	1023 ± 30,1	0	н/с	н/с
H4H15369P2	1196 ± 54,2	0	н/с	н/с
H4H15330P	1168 ± 20,1	0	н/с	н/с
H4H15362P2	1131 ± 15,5	0	н/с	н/с
H4H15319P	974 ± 3,5	0	н/с	н/с
H4H15316P	1107 ± 24,7	0	н/с	н/с
H4H15323P	1068 ± 16,4	0	н/с	н/с
H4H15354P2	1297 ± 8,5	0	н/с	н/с
H4H15355P2	1323 ± 25,4	0	н/с	н/с
H4H15314P2	1011 ± 3,4	0	н/с	н/с
H4H15331P	1264 ± 16,8	-1	н/с	н/с
(α-ANGPTL4 Ат)	1281 ± 50,2	0	н/с	н/с
Ат - отрицательный контроль по изотипу	1092 ± 41,5	0	н/с	н/с
Пустая α-чFc поверхность	5 ± 0,3	3	н/с	н/с

* Данная колонка показывает среднее значение и стандартное отклонение плотности антитела на поверхности, используемого для связывания пептида ANGPTL8.

Таблица 4: Связывание анти-ANGPTL8 моноклональных антител с пептидом чANGPTL3 при 25°C

Захваченное мАт	Уровень захвата мАт (ЕО) *	Связанный 500 нМ пептид чANGPTL3 (ЕО)	kd (1/с)	t½ (мин)
--------------------	-------------------------------	---	----------	----------

H4H15321P	1101 ± 6,1	0	н/с	н/с
H4H15367P2	1116 ± 17,4	0	н/с	н/с
H4H15345P	1096 ± 3,6	0	н/с	н/с
H4H15361P2	1394 ± 12,3	0	н/с	н/с
H4H15347P	1554 ± 54,6	-1	н/с	н/с
H4H15318P	1087 ± 31,5	0	н/с	н/с
H4H15350P2	1298 ± 30,7	0	н/с	н/с
H4H15363P2	1281 ± 13,7	0	н/с	н/с
H4H15346P	1277 ± 26,3	0	н/с	н/с
H4H15334P	1256 ± 5,3	0	н/с	н/с
H4H15335P	1625 ± 31	-1	н/с	н/с
H4H15343P	1129 ± 19,8	0	н/с	н/с
H4H15357P2	1159 ± 13,1	0	н/с	н/с
H4H15353P2	1296 ± 8,5	0	н/с	н/с
H4H15341P	1023 ± 30,1	0	н/с	н/с
H4H15369P2	1196 ± 54,2	0	н/с	н/с
H4H15330P	1168 ± 20,1	-1	н/с	н/с
H4H15362P2	1131 ± 15,5	0	н/с	н/с
H4H15319P	974 ± 3,5	0	н/с	н/с
H4H15316P	1107 ± 24,7	0	н/с	н/с
H4H15323P	1068 ± 16,4	0	н/с	н/с
H4H15354P2	1297 ± 8,5	0	н/с	н/с
H4H15355P2	1323 ± 25,4	0	н/с	н/с
H4H15314P2	1011 ± 3,4	0	н/с	н/с
H4H15331P	1264 ± 16,8	0	н/с	н/с
(α-ANGPTL4 Ат)	1281 ± 50,2	0	н/с	н/с
Ат - отрицательный контроль по изотипу	1092 ± 41,5	0	н/с	н/с
Пустая α-чФс поверхность	5 ± 0,3	0	н/с	н/с

* Данная колонка показывает среднее значение и стандартное отклонение плотности антитела на поверхности, используемого для связывания пептида ANGPTL3.

Таблица 5: Связывание анти-ANGPTL8 моноклональных антител с

пептидом α ANGPTL4 при 25°C

Захваченное мАт	Уровень захвата мАт (ЕО) *	Связанный 500 нМ пептид α ANGPTL4 (ЕО)	kd (1/с)	t _{1/2} (мин)
H4H15321P	1101 ± 6,1	0	н/с	н/с
H4H15367P2	1116 ± 17,4	0	н/с	н/с
H4H15345P	1096 ± 3,6	0	н/с	н/с
H4H15361P2	1394 ± 12,3	0	н/с	н/с
H4H15347P	1554 ± 54,6	0	н/с	н/с
H4H15318P	1087 ± 31,5	0	н/с	н/с
H4H15350P2	1298 ± 30,7	0	н/с	н/с
H4H15363P2	1281 ± 13,7	0	н/с	н/с
H4H15346P	1277 ± 26,3	0	н/с	н/с
H4H15334P	1256 ± 5,3	1	н/с	н/с
H4H15335P	1625 ± 31	1	н/с	н/с
H4H15343P	1129 ± 19,8	0	н/с	н/с
H4H15357P2	1159 ± 13,1	0	н/с	н/с
H4H15353P2	1296 ± 8,5	0	н/с	н/с
H4H15341P	1023 ± 30,1	0	н/с	н/с
H4H15369P2	1196 ± 54,2	0	н/с	н/с
H4H15330P	1168 ± 20,1	0	н/с	н/с
H4H15362P2	1131 ± 15,5	0	н/с	н/с
H4H15319P	974 ± 3,5	0	н/с	н/с
H4H15316P	1107 ± 24,7	0	н/с	н/с
H4H15323P	1068 ± 16,4	0	н/с	н/с
H4H15354P2	1297 ± 8,5	0	н/с	н/с
H4H15355P2	1323 ± 25,4	0	н/с	н/с
H4H15314P2	1011 ± 3,4	1	н/с	н/с
H4H15331P	1264 ± 16,8	0	н/с	н/с
(α -ANGPTL4 Ат)	1281 ± 50,2	23	1,02E-03	11
Ат - отрицательный контроль по изотипу	1092 ± 41,5	0	н/с	н/с
Пустая α -чФс поверхность	5 ± 0,3	0	н/с	н/с

* Данная колонка показывает среднее значение и стандартное

отклонение плотности антитела на поверхности, используемого для связывания пептида ANGPTL4.

Пример 4: Определение кинетических параметров связывания для связывания H4N15341P с полноразмерными белками человеческого и обезьяньего ANGPTL8 методом поверхностного плазмонного резонанса (ППР)

Равновесную константу диссоциации (K_D) для связывания анти-ANGPTL8 антитела H4N15341P с полноразмерными белками человеческого ANGPTL8 и ANGPTL8 яванского макака определяли методом поверхностного плазмонного резонанса в реальном времени с использованием биосенсорной платформы MASS-1. Для анализа H4N15341P инжестировали над поверхностями сенсоров, на которых были иммобилизованы белки человеческого или обезьяньего ANGPTL8. Все исследования связывания проводили в буфере 10 мМ HEPES, pH 7,4, 150 мМ NaCl, 3 мМ ЭДТА и 0,05% по объему сурфактанта Tween-20 (подвижный буфер HBS-ET) при 25°C. Поверхность HCA сенсора дериватизировали за счет связывания через аминокгруппы поликлонального антитела козы против IgG2a мыши (Southern Biotech, № 1080-01), на котором затем было захвачено примерно 30 ЕО (единиц связывания) человеческого ANGPTL8, экспрессированного с С-концевым маркером Fc IgG2a мыши (чANGPTL8-мFc; SEQ ID NO: 340) или обезьяньего ANGPTL8, экспрессированного с С-концевым маркером Fc IgG2a мыши (MfANGPTL8-мFc; SEQ ID NO: 341). Сначала готовили анти-ANGPTL8 мАт в разных концентрациях в подвижном буфере HBS-ET (300 нМ – 1,23 нМ; 3-кратные серийные разведения), а затем инжестировали над поверхностями с иммобилизованным ANGPTL8-мFc в течение 4 минут при скорости потока 30 мкл/минуту, с последующей диссоциацией связанного мАт в подвижном буфере HBS-ET в течение 10 минут.

Кинетические константы скорости ассоциации (k_a) и диссоциации (k_d) определяли путем подгонки сенсограмм связывания в реальном времени к модели связывания 1:1 с ограничением массопереноса, используя программу для подбора кривых Scrubber 2.0с. Равновесные константы диссоциации (K_D) и значения полупериода диссоциации ($t_{1/2}$) связывания рассчитывали на

основании кинетических констант скоростей следующим образом:

$$K_D \text{ (М)} = \frac{k_d}{k_a} \quad \text{и} \quad t_{1/2} \text{ (мин)} = \frac{\ln(2)}{60 * k_d}$$

Кинетические параметры связывания для связывания анти-ANGPTL8 мАТ с чANGPTL8-мFc и MfANGPTL8-мFc при 25°C приведены в Таблице 6.

Результаты:

Антитело H4N15341 связывало белки как человеческого, так и обезьяньего ANGPTL8, иммобилизованные на поверхности сенсора, и во время регистрируемой фазы диссоциации поддающаяся измерению диссоциация отсутствовала. Для оценки аффинности связывания константу скорости диссоциации, k_d , фиксировали на верхнем пределе детекции в условиях эксперимента, $1,0E-05$ 1/с. Значения равновесной константы диссоциации (K_D) связывания H4N15341P с чANGPTL8-мFc и MfANGPTL8-мFc, по оценкам, составляли 117 пМ и 86 пМ или менее, соответственно.

Таблица 6: Кинетические параметры связывания для связывания H4N15341P с чANGPTL8-мFc и MfANGPTL8-мFc при 25°C.

Поверхность захвата	k_a (1/Мс)	k_d (1/с)	K_D (М)	$t_{1/2}$ (мин)
чANGPTL8-мFc	8,50E+04	1,00E-05*	$\leq 1,17E-10$	≥ 1155
MfANGPTL8-мFc	1,16E+05	1,00E-05*	$\leq 8,60E-11$	≥ 1155

*Никакой диссоциации анти-ANGPTL8 мАТ не наблюдали в условиях эксперимента; таким образом, значение k_d было фиксировано на верхнем пределе детекции $1,00E-05$ с⁻¹.

Пример 5: Определение специфичности связывания в отношении человеческого и обезьяньего ANGPTL8 методом интерферометрии биослоя (ИБС)

Связывание анти-ANGPTL8 антител с белками человеческого и обезьяньего ANGPTL8 изучали с использованием метода интерферометрии биослоя с биосенсорной платформой Octet HTX (ForteBio, A Division of Pall Life Sciences). Все эксперименты проводили при 25°C в буфере 10 мМ HEPES, pH 7,4, 150 мМ NaCl,

0,05% по объему сурфактанта Tween-20 и 1 мг/мл БСА в реакционном многолуночном планшете с перемешиванием при 1000 об/мин. Примерно 1,6 нмоль человеческого ANGPTL8, полученного с С-концевым маркером Fc IgG2a мыши (чANGPTL8-мFc; SEQ ID NO: 340) или ANGPTL8 яванского макака, полученного с С-концевым маркером Fc IgG2a мыши (MfANGPTL8-мFc; SEQ ID NO: 341) иммобилизовали на биосенсорах Octet с анти-мFc (AMC), погружая сенсоры в лунки, содержащие 10 мкг/мл каждого белка, на 4 минуты. В тех же условиях отрицательный контроль в виде белка с таким же маркером мFc (чLDLR-мFc) также связывали с AMC сенсором. Затем все четыре сенсора, три связанные с белками и один пустой, погружали в лунки, содержащие 100 нМ разных анти-ANGPTL8 моноклональных антител или контроля по изотипу, на 4 минуты. Сигналы связывания, наблюдаемые после 4-минутного этапа связывания, приведены в Таблице 7.

Результаты:

Из 25 анти-ANGPTL8 мАт, протестированных в данном исследовании, 24 антитела демонстрировали сигналы связывания, превышающие максимальные сигналы связывания на сенсорах с посторонним контролем (0,03 нмоль; это значение использовали для расчета сигналов связывания, кратно превышающих фон). Из 24 антител, связывающих человеческий ANGPTL8, 20 были положительны в отношении связывания белка обезьяньего ANGPTL8. 4 антитела, которые не связывали белок обезьяньего ANGPTL8, также демонстрировали низкий сигнал при связывании белка человеческого ANGPTL8, с величинами, в 1-2 превышающими фоновый сигнал связывания. Из 24 антител, связывающих белок человеческого ANGPTL8, 4 антитела (H4N15362P2, H4N15321P, H4N15330P, H4N15367P2) демонстрировали сигналы связывания в 10 раз выше фона. Другая группа из 12 антител демонстрировала сигналы связывания в 5-10 раз выше фона. Остальные антитела связывали белок человеческого ANGPTL8 с сигналами связывания в 1-5 раз выше уровня фона.

Таблица 7: Специфичность связывания 100 нМ анти-ANGPTL8 моноклональных антител с человеческим и обезьяньим ANGPTL8-мFc, иммобилизованными на биосенсорах Octet

	Ответ связывания мАт (нмоль)			
Обозначение мАт	Поверхность с иммобилизованным чANGPTL8-мFc	Поверхность с иммобилизованным MfANGPTL8-мFc	Поверхность с иммобилизованным посторонним контролем (чLDLR-мFc)	Пустой АМС сенсор
H4H15362P2	0,39	0,36	0,03	0,01
H4H15321P	0,36	0,51	0,01	0,00
H4H15330P	0,34	0,39	0,02	0,01
H4H15367P2	0,32	0,33	0,01	0,00
H4H15363P2	0,25	0,26	0,01	0,02
H4H15347P	0,25	0,29	0,01	0,03
H4H15345P	0,25	0,31	0,00	0,01
H4H15319P	0,22	0,26	-0,01	0,00
H4H15361P2	0,20	0,21	0,01	0,02
H4H15318P	0,19	0,20	0,01	0,01
H4H15323P	0,18	0,15	0,00	0,00
H4H15350P2	0,17	0,20	0,00	-0,01
H4H15343P	0,17	0,20	-0,01	0,01
H4H15331P	0,16	0,21	0,01	0,01
H4H15355P2	0,15	0,13	0,02	0,03
H4H15353P2	0,15	0,11	0,02	0,02
H4H15369P2	0,14	0,17	0,00	0,01
H4H15357P2	0,13	0,08	0,01	0,02
H4H15341P	0,12	0,10	0,02	0,03
H4H15346P	0,07	0,01	0,00	-0,01
H4H15335P	0,06	0,04	0,01	0,01
H4H15354P2	0,05	0,03	0,01	0,02
H4H15334P	0,05	0,01	0,00	0,03
H4H15314P2	0,04	0,01	0,01	0,00
H4H15316P	0,03	0,02	0,02	0,02
Ат - отрицательный контроль по изотипу	0,01	0,00	0,01	0,01

Пример 6: *In vivo* эффект анти-чANGPTL8 IgG4 антител на

уровни циркулирующих триглицеридов у мышей, гуманизированных по ANGPTL8

Эффект анти-чANGPTL8 антител на сывороточные уровни триглицеридов (ТГ) определяли у мышей, гуманизированных по ANGPTL8. У мышей предварительно собирали кровь за 7 дней до эксперимента, и разделяли их на группы, по 5 мышей каждая, для каждого тестируемого антитела. Антитела вводили в дозе 10 мг/кг (анти-чANGPTL8 и совпадающий по изотипу (чIgG4) контроль с посторонней специфичностью) подкожной инъекцией в день 0 исследования. У мышей (не голодающих) собирали кровь в последующие дни после инъекций антител, и уровни ТГ определяли в сыворотке при помощи биохимического анализатора сыворотки ADVIA® 1800 (Siemens). Средние значения рассчитывали для каждой временной точки для всех тестируемых антител. Результаты, выраженные в виде (среднего значения $\pm$ SEM) сывороточной концентрации ТГ, приведены в Таблицах 8-13.

Также определяли уровни циркулирующего анти-чANGPTL8 (сывороточные Ат) стандартным методом ELISA. Вкратце, планшеты покрывали антителом козы против Fc человеческого иммуноглобулина (Sigma-Aldrich) для захвата сывороточных Ат. Затем в планшеты добавляли сыворотку, и захваченные антитела обнаруживали по хемотропности с использованием конъюгированного с пероксидазой хрена (HRP) антитела козы против IgG человека (Sigma-Aldrich). Результаты, выраженные в виде среднего значения $\pm$ SEM, приведены в Таблицах 14-19. Контроль: мыши, получавшие совпадающее по изотипу контрольное Ат.

Результаты:

Был протестирован эффект 25 мАт к чANGPTL8 на уровни циркулирующих ТГ у мышей, гуманизированных по ANGPTL8. Антитело H4H15341P вызывало значительное снижение уровней циркулирующих ТГ (в среднем до 68%) после введения (в сравнении с контрольным мАт).

Таблица 8. Исследование 1, сывороточные триглицериды (мг/дл)

Дни	Антитело
-----	----------

после инъекции	Контроль		H4N15321P		H4N15331P		H4N15343P		H4N15367P2	
	Среднее	SEM	Среднее	SEM	Среднее	SEM	Среднее	SEM	Среднее	SEM
-7	205,4	14,20	203,8	19,68	206,6	16,20	205,2	12,13	203,6	14,21
1	233,6	16,93	239,4	28,61	259,8	35,52	196,8	16,05	222,0	27,41
4	210,4	12,79	233,2	26,19	244,4	33,83	175,2	10,32	234,8	27,28
7	261,0	19,66	235,6	33,82	241,8	55,74	201,8	23,50	203,2	27,79

Таблица 9. Исследование 2, сывороточные триглицериды (мг/дл)

Дни после инъекции	Антитело							
	Контроль		H4N15341P		H4N15319P		H4N15318P	
	Среднее	SEM	Среднее	SEM	Среднее	SEM	Среднее	SEM
-7	214,8	20,08	211,4	21,67	213,6	20,50	212,8	20,00
1	255,4	25,18	82,0	3,35	217,4	26,92	235,2	24,62
4	228,6	33,43	93,6	7,69	195,0	29,93	270,6	34,28
7	197,0	21,22	90,8	7,68	235,4	35,70	209,6	31,88
14	223,0	14,98	126,4	21,75	185,2	29,94	166,0	24,58

Таблица 9 (продолжение)

Дни после инъекции	Антитело			
	H4N15355P2		H4N15345P	
	Среднее	SEM	Среднее	SEM
-7	214,4	19,18	213,0	20,34
1	248,2	45,93	228,8	37,97
4	221,2	30,30	195,80	23,87
7	254,2	37,93	252,60	25,24
14	219,4	36,69	190,60	13,13

Таблица 10. Исследование 3, сывороточные триглицериды (мг/дл)

Дни после инъекции	Антитело									
	Контроль		H4N15350P2		H4N15314P2		H4N15330P		H4N15361P2	
	Среднее	SEM	Среднее	SEM	Среднее	SEM	Среднее	SEM	Среднее	SEM
-7	247,8	23,88	242,8	21,60	244,0	26,34	243,2	22,29	242,4	25,29

1	214,6	20,37	206,6	21,6 0	228,2	35,33	206,6	25,44	215,4	20,2 0
4	222,4	13,78	198,2	22,6 1	192,4	17,25	216,6	15,84	200,0	15,8 9
7	288,8	35,41	274,6	45,4 8	238,6	21,21	244,4	14,61	247,4	37,9 3

Таблица 11. Исследование 4, сывороточные триглицериды (мг/дл)

Дни после инъекции	Антитело									
	Контроль		H4N15357P 2		H4N15363P2		H4N15347P		H4N15369P	
	Среднее	SEM	Среднее	SEM	Среднее	SEM	Среднее	SEM	Среднее	SEM
-7	197,0	18,29	201,6	25,18	201,6	26,15	200,4	24,1	198,8	22,3
1	227,6	46,41	221,6	37,35	189,4	5,63	194,6	28,3	217,0	39,68
6	194,0	18,06	211,2	35,96	190,6	20,21	248,2	16,2	223,0	25,1

Таблица 12. Исследование 5, сывороточные триглицериды (мг/дл)

Дни после инъекции	Антитело							
	Контроль		H4N15353P2		H4N15323P		H4N15362P2	
	Среднее	SEM	Среднее	SEM	Среднее	SEM	Среднее	SEM
-7	199,2	26,68	197,4	27,02	199,8	30,33	200,8	27,55
2	217,2	16,09	184,4	28,67	179,8	35,99	166,6	26,76
8	161,8	18,58	185,4	24,78	187,0	38,76	180,2	18,22
14	227,2	33,70	216,4	11,74	212,4	31,29	173,2	17,75

Таблица 12 (продолжение)

Дни после инъекции	Антитело			
	H4N15334P		H4N15354P2	
	Среднее	SEM	Среднее	SEM
-7	199,8	26,25	200,0	26,33
2	183,0	16,93	169,8	23,14
8	160,0	16,56	162,6	20,50
14	167,6	18,73	197,4	34,20

Таблица 13. Исследование 6, сывороточные триглицериды (мг/дл)

Дни после инъекции	Антитело							
	Контроль		H4N15316P		H4N15335P		H4N15346P	
	Среднее	SEM	Среднее	SEM	Среднее	SEM	Среднее	SEM
-7	232,0	24,94	232,0	28,26	232,4	23,88	232,8	30,30
2	211,0	23,19	248,2	35,35	203,2	6,785	197,2	20,42
7	256,8	32,02	249,6	35,72	248,0	17,28	234,8	66,74

Таблица 14. Исследование 1, сывороточные Ат (мкг/мл)

Дни после инъекции	Антитело									
	Контроль		H4N15321P		H4N15331P		H4N15343P		H4N15367P2	
	Среднее	SEM	Среднее	SEM	Среднее	SEM	Среднее	SEM	Среднее	SEM
1	64,1	9,0	76,4	8,6	9,8	2,0	74,4	8,5	113,0	9,6
4	55,8	6,3	66,5	4,6	3,3	0,7	68,3	4,4	101,4	11,3

Таблица 15. Исследование 2, сывороточные Ат (мкг/мл)

Дни после инъекции	Антитело							
	Контроль		H4N15341P		H4N15319P		H4N15318P	
	Среднее	SEM	Среднее	SEM	Среднее	SEM	Среднее	SEM
1	50,8	3,9	104,0	18,7	81,8	8,2	74,4	8,5
4	51,2	9,5	70,6	23,6	59,1	9,6	68,3	4,4
7	40,9	5,4	50,7	13,3	46,8	8,9	68,3	4,4
14	32,2	3,1	8,2	4,6	24,1	8,7	68,3	4,4

Таблица 15 (продолжение)

Дни после инъекции	Антитело			
	H4N15355P2		H4N15345P	
	Среднее	SEM	Среднее	SEM
1	68,4	3,8	59,3	3,6
4	58,4	3,0	46,3	16,2
7	35,7	6,6	50,1	3,9
14	3,1	0,8	35,9	4,6

Таблица 16. Исследование 3, сывороточные Ат (мкг/мл)

Дни после	Антитело
-----------	----------

инъекции	Контроль		H4N15350P2		H4N15314P2		H4N15330P		H4N15361P2	
	Среднее	SEM	Среднее	SEM	Среднее	SEM	Среднее	SEM	Среднее	SEM
1	47,3	7,0	57,2	23,4	89,9	13,0	38,3	14,7	50,0	13,6
4	50,6	13,4	66,1	22,6	69,9	12,9	35,4	0,9	57,4	10,1
7	38,8	9,2	39,9	14,7	48,6	17,3	30,0	5,1	38,7	11,1

Таблица 17. Исследование 4, сывороточные Ат (мкг/мл)

Дни после инъекции	Антитело									
	Контроль		H4N15357P2		H4N15363P2		H4N15347P		H4N15369P	
	Среднее	SEM	Среднее	SEM	Среднее	SEM	Среднее	SEM	Среднее	SEM
1	100,9	100,9	78,4	26,7	93,2	10,1	53,6	7,5	99,7	15,6
6	84,0	84,0	56,9	14,8	62,0	7,6	9,5	2,9	68,0	12,0

Таблица 18. Исследование 5, сывороточные Ат (мкг/мл)

Дни после инъекции	Антитело							
	Контроль		H4N15353P2		H4N15323P		H4N15362P2	
	Среднее	SEM	Среднее	SEM	Среднее	SEM	Среднее	SEM
2	93,7	14,4	63,5	17,6	99,9	34,5	91,0	24,6
8	79,8	8,7	42,8	11,1	50,3	9,7	50,8	10,3
14	55,1	11,4	18,2	14,0	32,3	10,0	29,5	20,9

Таблица 18 (продолжение)

Дни после инъекции	Антитело			
	H4N15334P		H4N15354P2	
	Среднее	SEM	Среднее	SEM
2	64,4	15,0	71,3	7,2
8	38,7	7,1	46,0	15,4
14	8,6	4,6	30,1	26,6

Таблица 19. Исследование 6, сывороточные Ат (мкг/мл)

Дни после инъекции	Антитело							
	Контроль		H4N15316P		H4N15335P		H4N15346P	
	Среднее	SEM	Среднее	SEM	Среднее	SEM	Среднее	SEM
2	87,4	9,2	79,3	18,	66,9	17,	61,1	22,

				5		5		8
7	97,4	23,0	77,9	12,8	78,6	16,2	56,7	23,7

Пример 7: Зависимый от дозы ответ на анти-чANGPTL8 антитело H4H15341P у гуманизированных по ANGPTL8 мышей

Эффекты разных доз анти-чANGPTL8 мАт, H4H15341P, на сывороточный уровень триглицеридов (ТГ) оценивали у гуманизированных по ANGPTL8 мышей. У мышей предварительно собирали кровь за 7 дней до эксперимента, и разделяли их на группы, по пять мышей каждая, для каждой тестируемой дозы. Вводили H4H15341P в дозах 1, 5, 10 и 25 мг/кг и совпадающий по изотипу контроль (чIgG4) с посторонней специфичностью в дозе 10 мг/кг однократной подкожной инъекцией в день 0 исследования. У мышей (не голодающих) собирали кровь в дни 2, 7, 14 и 21 после инъекции антител и определяли уровни ТГ в сыворотке при помощи биохимического анализатора сыворотки ADVIA® 1800 (Siemens). Рассчитывали средние значения для каждой временной точки. Результаты, выраженные в виде (среднего значения $\pm$ SEM) сывороточных концентраций ТГ, приведены на Фигуре 1.

Уровни циркулирующих человеческих антител (сывороточные Ат) определяли стандартным методом ELISA. Вкратце, планшеты покрывали антителом козы против Fc человеческих иммуноглобулинов (Sigma-Aldrich) для захвата сывороточных Ат. Затем в планшеты добавляли сыворотку, и захваченные антитела обнаруживали по хемотропной флуоресценции с использованием конъюгированного с пероксидазой хрена (HRP) антитела козы против IgG человека (Sigma-Aldrich). Результаты, выраженные в виде среднего значения $\pm$ SEM, приведены на Фигуре 2.

Контроль по Ат: мыши, получавшие совпадающее по изотипу контрольное Ат.

Результаты:

Был протестирован эффект 4 разных доз H4H15341P (анти-чANGPTL8) на уровни циркулирующих ТГ и холестерина у гуманизированных по ANGPTL8 мышей. H4H15341P вызывало зависимое от дозы устойчивое значительное снижение сывороточных уровней ТГ (в среднем до 66%, в сравнении с контрольным мАт), при этом доза

5 мг/кг была наименьшей эффективной дозой. Эффект на уровне общего холестерина отсутствовал.

Пример 8. Оценка активности липопротеинлипазы (ЛПЛ) после введения анти- α ANGPTL8 мАт гуманизированным по ANGPTL8 мышам

Эффект введения анти- α ANGPTL8 мАт (H4N15341P) на активность ЛПЛ оценивали у гуманизированных по ANGPTL8 мышей. У мышей предварительно собирали кровь за 7 дней до эксперимента, и разделяли их на группы, по пять мышей каждая, для каждого тестируемого мАт. H4N15341P и контрольное Ат вводили в дозе 10 мг/кг однократной подкожной инъекцией в день 0 исследования. В день 4 исследования мышам вводили внутривенной инъекцией через хвостовую вену гепарин в дозе 250 Ед/кг, который вызывает высвобождение ЛПЛ из эндотелиальных поверхностей сосудов. Через пять минут у мышей собирали кровь из ретро-орбитального синуса, и обработанную гепарином плазму собирали и фракционировали для отделения ЛПЛ от печеночной липазы методом хроматографии на гепарин-сефарозе. Обработанную гепарином плазму наносили на 1,0-мл колонки HiTrap с гепарин-сефарозой (GE Healthcare) под контролем системы GE Akta Prime, уравновешенные буфером, содержащим 0,25 М NaCl, 20% глицерина, 1% БСА, 10 мМ фосфата натрия, pH 6,5. Колонку промывали 10 мл уравнивающего буфера и элюировали 30 мл градиента NaCl (0,25-1,5 М в буфере, содержащем 20% глицерина, 1% БСА, 10 мМ фосфата натрия, pH 6,5). Объединяли полученные фракции, соответствующие пикам печеночной липазы и ЛПЛ, и активность липазы анализировали с использованием субстрата липазы Enzchek от компании Invitrogen (каталожный № E33955). Данные по кинетике реакции получали на планшетном ридере Molecular Devices SpectraMax i3 при длине волны возбуждения 482 нм и длине волны эмиссии 518 нм. Результаты, выраженные в виде относительных единиц флуоресценции (ОЕФ) (среднее значение $\pm$ SEM), приведены на Фигуре 3. Контроль по Ат: мыши, получавшие совпадающее по изотипу контрольное Ат.

Результаты

Полученные результаты показали, что введение H4N15341P (анти- α ANGPTL8) гуманизированным по ANGPTL8 мышам приводит к

значительному возрастанию активности ЛПЛ и не оказывает влияние на активность печеночной липазы.

Пример 9. Тест на толерантность к липидам у гуманизированных по ANGPTL8 мышей, получавших анти-чANGPTL8 мАт Н4Н15341Р

Эффект ингибирования ANGPTL8 за счет мАт Н4Н15341Р на клиренс триглицеридов оценивали при острой жировой нагрузке. У гуманизированных по ANGPTL8 мышей собирали кровь за 8 дней до эксперимента, и разделяли их на группы, по 6 мышей в каждой, для каждого тестируемого мАт. Н4Н15341Р и совпадающее по изотипу контрольное Ат вводили в дозе 10 мг/кг однократной подкожной инъекцией в день 0 исследования. В день 4 исследования мышей лишали корма на 4 часа, с последующим внутривенным введением 20% интралипида (Baxter Healthcare, IL) в дозе 2,5 мкл/г массы тела. Уровень ТГ оценивали в крови, собранной из хвостовой вены, в соответствующие временные точки. Результаты, выраженные в виде (среднего значения $\pm$ SEM) концентраций ТГ, приведены на Фигуре 4. Контроль по Ат: мыши, получавшие совпадающее по изотипу контрольное Ат.

Результаты

Введение Н4Н15341Р (анти-чANGPTL8) гуманизированным по ANGPTL8 мышам приводит к значительному снижению уровней ТГ после острой жировой нагрузки, в сравнении с контрольным антителом. Эти данные свидетельствуют о том, что Н4Н15341Р за счет блокирования ANGPTL8 стимулирует ускорение клиренса ТГ из системы циркуляции.

Пример 10. Картирование линейных эпитопов ангиопоэтин-подобного белка 8 с помощью сверхчувствительной платформы HiSense

Pepscan анализ с использованием линейных пептидов HiSense проводили для установления линейных эпитопов для антител Н4Н15341Р и Н4Н15367Р2. Исследование проводили на Pepscan Presto BV, (Zuidersluisweg 2, 8243RC Lelystad, The Netherlands). Все Pepscan данные хранятся в пакете программ Replab™, патентованном приложении для баз данных, разработанном в собственной

организации и созданном на основе компилятора окончательной обработки для хранения баз данных PostgreSQL.

СИНТЕЗ ПЕПТИДОВ

Для реконструкции эпитопов на целевой молекуле синтезировали библиотеку пептидов. Подложку из функционализированного полипропилена с аминогруппами получали путем прививания с использованием патентованного гидрофильного полимерного состава, последующей реакции с т-бутилоксикарбонил-гексаметилендиамином (BocHMDA) с использованием дициклогексилкарбодиимида (DCC) с N-гидроксibenзотриазолом (HOBT) и последующего отщепления Boc-групп с помощью трифторуксусной кислоты (TFA). Выполняли стандартный пептидный синтез с Fmoc для синтеза пептидов на функционализированной твердой подложке с аминогруппами с использованием адаптированной рабочей станции для жидкостей JANUS (Perkin Elmer).

СВЯЗЫВАНИЕ АНГИОПОЭТИН-ПОДОБНОГО БЕЛКА 8 С МАТРИЦЕЙ

Целевой белок связывали с миникартой в качестве положительного контроля. Для связывания ангиопоэтин-подобного белка 8 (чANGPTL8-mFc) с матрицами использовали два сшивающих агента – м-малеимидобензоил-N-гидроксисукцинимидный эфир (MBS) и глутаральдегид (GDA). В случае MBS 40 мкл чANGPTL8-mFc смешивали с 1 мкл MBS (2 мг/мл), инкубировали в течение 45 мин при комнатной температуре, а затем связывали с матрицей в положениях, содержащих мотив линкера CGGCGG (SEQ ID NO: 346). В случае связывания при помощи GDA 0,05% GDA в фосфатном буфере (pH 5,0) наносили на матрицу, инкубировали при комнатной температуре в течение 4 часов, затем чANGPTL8-mFc в концентрации 5 или 20 мкг/мл в фосфатном буфере с pH 8,0 связывали с матрицей только в положениях, содержащих Gly, для обеспечения связывания со свободным N-концом.

СКРИНИНГ МЕТОДОМ ELISA

Связывание антитела с каждым из синтезированных пептидов тестировали методом ELISA на базе PEPSCAN. Пептидные матрицы инкубировали с раствором первичного антитела (в течение ночи при 4°C). После промывания пептидные матрицы инкубировали с

разведенным 1/1000 соответствующим конъюгатом антитела с пероксидазой (конъюгат антитела козы против человеческих иммуноглобулинов с HRP, Southern Biotech, каталожный № 2010-05) в течение одного часа при 25°C. После промывания добавляли субстрат пероксидазы 2,2'-азиноди-3-этилбензтиазолин сульфонат (ABTS) и 20 мкл/мл 3% H₂O₂. Через час измеряли степень развития окраски. Развитие окраски количественно определяли при помощи устройства с зарядовой связью (CCD) – камеры и системы обработки изображений.

ПОДРОБНОСТИ СКРИНИНГА

Связывание антитела зависит от сочетания факторов, включая концентрацию антитела, а также количества и природу конкурирующих белков в буфере для ELISA. Кроме того, на связывание влияют условия предварительного покрытия (специфической обработки пептидных матриц перед инкубацией с экспериментальным образцом). Эти данные представлены следующим образом:

<u>Название</u>	<u>Разведение</u>	<u>Буфер для</u> <u>образцов</u>	<u>Предварительна</u> <u>я обработка</u>
H4N15341P	1 мкг/мл	100% SQ	100% SQ
H4N15367P2	1 мкг/мл	100% SQ	100% SQ
Отрицательный контроль по изотипу	1 мкг/мл	100% SQ	100% SQ

В случае буфера Perscan и предварительной обработки (SQ) числа указывают относительные количества конкурирующего белка (сочетание лошадиной сыворотки и овальбумина).

ОБРАБОТКА ДАННЫХ

Значения, полученные с помощью CCD-камеры, находились в диапазоне 0–3000 МЕОП, как в случае стандартного ELISA-ридера для 96-луночных планшетов. Результаты количественно обрабатывали и хранили в базе данных Perlabs. Иногда в лунке находился воздушный пузырь, приводящий к получению ложноположительных результатов, карты инспектировали вручную и любые значения, вызванные присутствием воздушного пузыря, считали за 0.

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА СИНТЕЗА

Для подтверждения качества синтезированных пептидов

параллельно синтезировали отдельный набор пептидов положительного и отрицательного контроля. Их скрининг проводили с использованием антитела 57.9 (Posthumus, et al. 1990 *J Virol* 64:3304-3309).

Результаты

ДИЗАЙН ПЕПТИДЫ

Синтезировали следующие наборы пептидов на целевой последовательности:

Человеческий ANGPTL8, зрелая последовательность, аминокислоты 22-198 из NP_061157.3

1 APMGGPELAQ HEELTLFFHG TLQLGQALNG VYRTTEGRLT KARNSLGLYG 50
51 RTIELLGQEV SRGRDAAQEL RASLLETQME EDILQLQAEA TAEVLGEVAQ
100

101 AQKVL RDSVQ RLEVQLRSAW LGPAYREFEV LKAHADKQSH ILWALTGHVQ
150

151 RQRREMVAQQ HRLRQIQERL HTAALPA 177 (SEQ ID NO: 347)

Антитела тестировали на связывание серии 15-мерных пептидов, покрывающих полную последовательность ANGPTL8, каждый пептид со смещением на одну аминокислоту от соседнего. В серию тестируемых пептидов также были включены пептиды с заменами двойными остатками аланина («AA») для более тонкого анализа эпитопа.

НАБОР 1. Миметик: линейный. Тип: LIN

Описание. Пептиды длиной 15 аминокислот из целевой последовательности ангиопоэтин-подобного белка 8 со смещением на один остаток.

Последовательности (первые 10)

APMGGPELAQHEELT (SEQ ID NO: 348)

PMGGPELAQHEELTL (SEQ ID NO: 349)

MGGPELAQHEELTLL (SEQ ID NO: 350)

GGPELAQHEELTLLF (SEQ ID NO: 351)

GPELAQHEELTLLFH (SEQ ID NO: 352)

PELAQHEELTLLFHG (SEQ ID NO: 353)

ELAQHEELTLLFHGT (SEQ ID NO: 354)

LAQHEELTLLFHGTL (SEQ ID NO: 355)

AQHEELTLLFHGTLQ (SEQ ID NO: 356)

QHEELTLLFHGTLQL (SEQ ID NO: 357)

НАБОР 2. Миметик: линейный. Тип: LIN.AA

Описание. Пептиды набора 1, но с остатками в положениях 10 и 11, замененными на Ala. В случае присутствия естественного остатка Ala в каком-либо из этих положений, его заменяют Gly. Порядок пептидов в этом наборе рандомизирован. Показан фактический порядок на матрице.

Последовательности (первые 10)

TAEVLGEVAAGQKVL (SEQ ID NO: 358)

VYRTTEGRLAAARNS (SEQ ID NO: 359)

GVYRTTEGRAAKARN (SEQ ID NO: 360)

VQRLEVQLRAGWLGP (SEQ ID NO: 361)

LTGHVQRQRAAMVAQ (SEQ ID NO: 362)

VLKANADKQAAILWA (SEQ ID NO: 363)

LRDSVQRLEAALRSA (SEQ ID NO: 364)

RREMVAQQHAARQIQ (SEQ ID NO: 365)

VSRGRDAAQAARASL (SEQ ID NO: 366)

AYREFEVLKGAADKQ (SEQ ID NO: 367)

Необработанные результаты скрининга методом ELISA были получены и использованы для построения графика (коробчатая диаграмма, данные не представлены) для отображения каждого набора данных и указания среднего сигнала ELISA, распределения и выбросов в каждом наборе данных. В зависимости от условий эксперимента (количества антитела, силы блокирования и так далее), были получены разные распределения данных анализа ELISA.

АНТИТЕЛО H4H15367P2

При тестировании в условиях высокой строгости антитело H4H15367P2 сильно связывало только один линейный пептид, состоящий из последовательности 1APMGGPELAQHEELT15 (SEQ ID NO: 348). Этот образец тестировали дважды в одних и тех же условиях и повторно получали тот же самый результат. Антитело H4H15367P2 также сильно связывало ангиопоэтин-подобный белок 8, который был связан с матрицей в качестве положительного контроля. Интересно, что несколько более слабое связывание было получено с целевым белком, связанным при помощи MBS, чем с белком, связанным при помощи GDA.

АНТИТЕЛО Н4Н15341Р

При тестировании в условиях высокой строгости антитело Н4Н15341Р сильно связывало серию линейных пептидов, содержащих общую последовательность $_{150}\text{QRQRREMVAQ}_{159}$ (SEQ ID NO: 368). Сравнение профилей интенсивности, полученных для набора 1, (миметики природных линейных эпитопов) и набора 2 (мутанты с двойным Ala), указывает на то, что остатки R154, E155 и Q159 необходимы для связывания антитела. Антитело Н4Н15341Р также сильно связывало ангиопоэтин-подобный белок 8, который был связан с матрицей в качестве положительного контроля, независимо от метода иммобилизации.

ОТРИЦАТЕЛЬНЫЙ КОНТРОЛЬ ПО ИЗОТИПУ

Антитело - отрицательный контроль по изотипу не связывало ни один из пептидов, находящихся на матрице. Более того, не было обнаружено никакого заметного связывания с ангиопоэтин-подобным белком 8, который был связан с матрицей в качестве положительного контроля. Кроме того, антитело - отрицательный контроль по изотипу тестировали с конъюгатом вторичного антитела козы против человеческих иммуноглобулинов, используемым в Pepscan ELISA. Антитело могло быть узнано этим вторичным антителом.

Вывод

В данном исследовании были протестированы три антитела на пептидных матрицах HiSense. Удалось установить предположительные линейные эпитопы для двух антител. Несмотря на неоднократную инкубацию, антитело - отрицательный контроль по изотипу не связывалось с матрицей. Предположительные коровье эпитопы, идентифицированные в данном исследовании, были следующими:

Антитело

Н4Н15341Р

Н4Н15367Р2

Отрицательный контроль по -
изотипу

Коровый эпитоп

$_{150}\text{QRQRREMVAQ}_{159}$ (SEQ ID NO: 368)

$_{1}\text{APMGGP ELAQHEELT}_{15}$ (SEQ ID NO: 348)

Таким образом, антитела Н4Н15341Р и Н4Н15367Р2 узнают отличающиеся линейные последовательности на С- и N-концах, соответственно. Тот факт, что сигнал, полученный для антитела

H4N15367P2, при связывании с помощью MBS был слабее, чем при связывании с помощью GDA, наряду с его локализацией на крайней области N-конца, указывает на то, что N-концевой амин сам по себе может быть частью эпитопа. Кроме того, в случае антитела H4N15341P мутанты с двойными остатками аланина позволили точно установить остатки, являющиеся критическими для связывания (остатки, затененные светло-серым цветом, выше).

Антитело H4N15341P направлено на C-концевую область ангиопоэтин-подобного белка 8, в то время как H4N15367P2 направлено на крайний N-конец. Антитело - отрицательный контроль по изотипу не связывалось с матрицей.

СПИСОК ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ

<110> REGENERON PHARMACEUTICALS, INC.

<120> АНТИ-ANGPTL8 АНТИТЕЛА И ИХ ПРИМЕНЕНИЕ

<130> 0431.21PCT

<140>

<141>

<150> 62/202,366

<151> 2015-08-07

<160> 368

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 351

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<221> источник

<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический полинуклеотид"

<400> 1

caggtgcagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtc 60

tcctgcaagg cttctggata caccttcacc agttatgata tcaattgggt gcgacaggcc 120

actggacaag ggcttgagtg gatgggggtg atgaacccta acggtgataa cacaggctat 180

gcacagaagt tccagggcag agtcaccatg accggggaca cctccataag cacagcctac 240

atggagctga gcagcctgag atctgaggac acggccgtgt attactgtgc gagagagggg 300

atttgggggt tcgaccctg gggccaggga accctgggtca ccgtctcctc a 351

<210> 2

<211> 117

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<221> источник

<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический полипептид"

<400> 2

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

Gly Trp Met Asn Pro Asn Gly Asp Asn Thr Gly Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Gly Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Glu Gly Ile Trp Gly Phe Asp Pro Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 3
<211> 24
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 3
ggatacacct tcaccagtta tgat 24

<210> 4
<211> 8
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический пептид"

<400> 4
Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr Asp
1 5

<210> 5
<211> 24
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 5
atgaacccta acggtgataa caca 24

<210> 6
 <211> 8
 <212> БЕЛОК
 <213> Искусственная последовательность

 <220>
 <221> источник
 <223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический пептид"

 <400> 6
 Met Asn Pro Asn Gly Asp Asn Thr
 1 5

 <210> 7
 <211> 30
 <212> ДНК
 <213> Искусственная последовательность

 <220>
 <221> источник
 <223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

 <400> 7
 gcgagagagg gaatttgggg gttcgacccc 30

 <210> 8
 <211> 10
 <212> БЕЛОК
 <213> Искусственная последовательность

 <220>
 <221> источник
 <223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический пептид"

 <400> 8
 Ala Arg Glu Gly Ile Trp Gly Phe Asp Pro
 1 5 10

 <210> 9
 <211> 321
 <212> ДНК
 <213> Искусственная последовательность

 <220>
 <221> источник
 <223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический полинуклеотид"

 <400> 9
 gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
 atcacttgcc gggcaagtca ggacattaga aatgatttag gctggtatca gcagaaacca 120
 gggaaagccc ctaagcgcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180
 aggttcagcg gcagtggatc tgggacagaa ttactctca caatcagcag cctgcagcct 240
 gaagattttg caacttttta ctgtctacag cataatactt tccctcggac gttcggccaa 300

gggaccaagg tggaatcaa a

321

<210> 10

<211> 107

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<221> источник

<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический полипептид"

<400> 10

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 Asp Ile Arg Asn Asp
20 25 30

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

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

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

Glu Asp Phe Ala Thr Phe Tyr Cys Leu Gln His Asn Thr Phe Pro Arg
85 90 95

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

<210> 11

<211> 18

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<221> источник

<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 11

caggacatta gaaatgat

18

<210> 12

<211> 6

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<221> источник

<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический пептид"

<400> 12
Gln Asp Ile Arg Asn Asp
1 5

<210> 13
<211> 9
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 13
gctgcatcc 9

<210> 14
<211> 3
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический пептид"

<400> 14
Ala Ala Ser
1

<210> 15
<211> 27
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 15
ctacagcata atactttccc tcggacg 27

<210> 16
<211> 9
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический пептид"

<400> 16
Leu Gln His Asn Thr Phe Pro Arg Thr
1 5

<210> 17
 <211> 351
 <212> ДНК
 <213> Искусственная последовательность

 <220>
 <221> источник
 <223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический полинуклеотид"

<400> 17
 gaagtgcagc tgggtggagtc tgggggagggc ttggtacagc ctggcaggtc cctgagactc 60
 tcctgtgcag cctctggatt catctttgat gattatgaca tgcactgggt ccggcaagct 120
 ccaggggaagg gcctggagtg ggtctcaggt attagttgga atagtggtag taaaggctat 180
 gcggactctg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca acgccaagaa ctccctgtat 240
 ctgcaaatga acagtctgag agctgaggac acggccttgt attactgtac aaaagggccc 300
 tgggactact ttgactactg gggccagggg accctgggtca ccgtctcctc a 351

<210> 18
 <211> 117
 <212> БЕЛОК
 <213> Искусственная последовательность

 <220>
 <221> источник
 <223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический полипептид"

<400> 18
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg
 1 5 10 15

 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ile Phe Asp Asp Tyr
 20 25 30

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

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

 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
 65 70 75 80

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

 Thr Lys Gly Pro Trp Asp Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
 100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 19
<211> 24
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 19
ggattcatct ttgatgatta tgac 24

<210> 20
<211> 8
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический пептид"

<400> 20
Gly Phe Ile Phe Asp Asp Tyr Asp
1 5

<210> 21
<211> 24
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 21
attagttgga atagtggtag taaa 24

<210> 22
<211> 8
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический пептид"

<400> 22
Ile Ser Trp Asn Ser Gly Ser Lys
1 5

<210> 23

<211>	30
<212>	ДНК
<213>	Искусственная последовательность

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

<210> 27
 <211> 18
 <212> ДНК
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <221> источник
 <223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 27
 cagagtatta gtagctgg 18

<210> 28
 <211> 6
 <212> БЕЛОК
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <221> источник
 <223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический пептид"

<400> 28
 Gln Ser Ile Ser Ser Trp
 1 5

<210> 29
 <211> 9
 <212> ДНК
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <221> источник
 <223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический

олигонуклеотид"

<400> 29
aaggcgtct 9

<210> 30
<211> 3
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический пептид"

<400> 30
Lys Ala Ser
1

<210> 31
<211> 27
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 31
caacagtata atagttattc gtacact 27

<210> 32
<211> 9
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический пептид"

<400> 32
Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Ser Tyr Thr
1 5

<210> 33
<211> 378
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический полинуклеотид"

<400> 33
caggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc gtgggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60
tcctgtacag cctccggatt caccttcgga aactttggca tacactgggt cgcgcaggct 120

ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcggtc atatcatatg atggaactga taaattctat 180
gcagacccccg tgaagggccg attcattatc tccagagaca attctatgaa cattctgtat 240
ctgcaaatga acagcctgag agctgaagac acggctgtat actattgtgc gaaagatggg 300
gaaatggaac tacgggggata ctattactac tacggaatgg acgtctgggg ccaagggacc 360
acggtcaccg tctcctca 378

<210> 34

<211> 126

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<221> источник

<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический полипептид"

<400> 34

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Thr Ala Ser Gly Phe Thr Phe Gly Asn Phe
20 25 30

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

Ala Val Ile Ser Tyr Asp Gly Thr Asp Lys Phe Tyr Ala Asp Pro Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Ile Ile Ser Arg Asp Asn Ser Met Asn Ile Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Lys Asp Gly Glu Met Glu Leu Arg Gly Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr Gly
100 105 110

Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 35

<211> 24

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<221> источник

<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 35
ggattcacct tcggaactt tggc

24

<210> 36
<211> 8
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический пептид"

<400> 36
Gly Phe Thr Phe Gly Asn Phe Gly
1 5

<210> 37
<211> 24
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 37
atatcatatg atggaactga taaa

24

<210> 38
<211> 8
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический пептид"

<400> 38
Ile Ser Tyr Asp Gly Thr Asp Lys
1 5

<210> 39
<211> 57
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 39
gcgaaagatg gggaaatgga actacgggga tactattact actacggaat ggacgtc

57

<210> 40

<211> 19
 <212> БЕЛОК
 <213> Искусственная последовательность

 <220>
 <221> источник
 <223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический пептид"

<400> 40
 Ala Lys Asp Gly Glu Met Glu Leu Arg Gly Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr Gly
 1 5 10 15

Met Asp Val

<210> 41
 <211> 321
 <212> ДНК
 <213> Искусственная последовательность

 <220>
 <221> источник
 <223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический полинуклеотид"

<400> 41
 gacatccaga tgaccagtc tccatcttcc gtgtctgcat ctgttggaga cagagtcacc 60
 attacttgctc gggcgagtc gggatattaac acctggtag cctggtagc gcagaaacca 120
 gggacagccc caaagctcct gatctttgct gcatccagtt tggagagcgg agtcccatca 180
 aggttcagcg gcagtggatt tggtagacat ttactctca ccatcagcag cctacagtct 240
 gaggatcttg caacttactt ttgtcaacag gttcacagtc ccccgtagac ttttggccag 300
 gggaccaagc tggagatcaa a 321

<210> 42
 <211> 107
 <212> БЕЛОК
 <213> Искусственная последовательность

 <220>
 <221> источник
 <223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический полипептид"

<400> 42
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Asn Thr Trp
 20 25 30

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

Phe Ala Ala Ser Ser Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60

Ser Gly Phe Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ser
 65 70 75 80

Glu Asp Leu Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Val His Ser Pro Pro Tyr
 85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105

<210> 43
 <211> 18
 <212> ДНК
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <221> источник
 <223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 43
 cagggtatta acacctgg 18

<210> 44
 <211> 6
 <212> БЕЛОК
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <221> источник
 <223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический пептид"

<400> 44
 Gln Gly Ile Asn Thr Trp
 1 5

<210> 45
 <211> 9
 <212> ДНК
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <221> источник
 <223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 45
 gctgcatcc 9

<210> 46
 <211> 3
 <212> БЕЛОК
 <213> Искусственная последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический пептид"

<400> 46
Ala Ala Ser
1

<210> 47
<211> 27
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 47
caacaggttc acagtccccc gtacact 27

<210> 48
<211> 9
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический пептид"

<400> 48
Gln Gln Val His Ser Pro Pro Tyr Thr
1 5

<210> 49
<211> 348
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический полинуклеотид"

<400> 49
gaggtgcagc tgggtggagtc tggaggaggt gtggtacggc cggggggggtc actgagactc 60
tcctgtgctg cctctggatt caccgttgat gattatgaca tgagttgggt ccgccaaact 120
ccaggaaagg ggctggagtg gatctctggc attaattgga atggaggtaa cacaggttat 180
gcagactctg tgaagggccg attcatcatc tccagagaca gcgccaagaa ctccctgttt 240
ctgcaaatga acagtctgag agccgaggac acggccttgt atcactgttg gggagcgatt 300
ggtgctttttg atatttgggg ccaagggaca atggtcaccg tctcttca 348

<210> 50
 <211> 116
 <212> БЕЛОК
 <213> Искусственная последовательность

 <220>
 <221> источник
 <223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический полипептид"

<400> 50
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Arg Pro Gly Gly
 1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Val Asp Asp Tyr
 20 25 30

Asp Met Ser Trp Val Arg Gln Thr Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
 35 40 45

Ser Gly Ile Asn Trp Asn Gly Gly Asn Thr Gly Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60

Lys Gly Arg Phe Ile Ile Ser Arg Asp Ser Ala Lys Asn Ser Leu Phe
 65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Leu Tyr His Cys
 85 90 95

Trp Gly Ala Ile Gly Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met Val
 100 105 110

Thr Val Ser Ser
 115

<210> 51
 <211> 24
 <212> ДНК
 <213> Искусственная последовательность

 <220>
 <221> источник
 <223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 51
 ggattcacccg ttgatgatta tgac

24

<210> 52
 <211> 8
 <212> БЕЛОК
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <221> источник

<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический пептид"

<400> 52
 Gly Phe Thr Val Asp Asp Tyr Asp
 1 5

<210> 53
 <211> 24
 <212> ДНК
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <221> источник
 <223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 53
 attaattgga atggaggtaa caca 24

<210> 54
 <211> 8
 <212> БЕЛОК
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <221> источник
 <223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический пептид"

<400> 54
 Ile Asn Trp Asn Gly Gly Asn Thr
 1 5

<210> 55
 <211> 27
 <212> ДНК
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <221> источник
 <223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 55
 tggggagcga ttggtgcttt tgatatt 27

<210> 56
 <211> 9
 <212> БЕЛОК
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <221> источник
 <223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический пептид"

<400> 56
 Trp Gly Ala Ile Gly Ala Phe Asp Ile
 1 5

<210> 57
 <211> 336
 <212> ДНК
 <213> Искусственная последовательность

 <220>
 <221> источник
 <223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический полинуклеотид"

<400> 57
 gatattgtga tgacccagtc tccactctcc tcacctgtca cccttggaca gccggcctcc 60
 atctcctgca ggtctagtca aagcctcgta cacagtgatg gcggcaccta cttgagttgg 120
 cttcagcaga ggccaggcca gcctccaaga ctcctaattt ataagatttt taaccggttc 180
 tctgggggtcc cagacagatt cagtggcagt ggggcaggga cagatttcac actgagaatc 240
 agtaggggtgg aagctgagga tgtcgggggtt tattactgca tgcaaacaac acaatttccg 300
 ctcacttttcg gcggaggggac caaggtggag atcaaa 336

<210> 58
 <211> 112
 <212> БЕЛОК
 <213> Искусственная последовательность

 <220>
 <221> источник
 <223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический полипептид"

<400> 58
 Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Ser Pro Val Thr Leu Gly
 1 5 10 15

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

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

 Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Ile Phe Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
 50 55 60

 Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ala Gly Thr Asp Phe Thr Leu Arg Ile
 65 70 75 80

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

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

<210> 59
<211> 33
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 59
caaagcctcg tacacagtga tggcggcacc tac 33

<210> 60
<211> 11
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический пептид"

<400> 60
Gln Ser Leu Val His Ser Asp Gly Gly Thr Tyr
1 5 10

<210> 61
<211> 9
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 61
aagattttt 9

<210> 62
<211> 3
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический пептид"

<400> 62
Lys Ile Phe
1

<210> 63
<211> 27
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 63
atgcaaaca cacaatttcc gctcact

27

<210> 64
<211> 9
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический пептид"

<400> 64
Met Gln Thr Thr Gln Phe Pro Leu Thr
1 5

<210> 65
<211> 345
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический полинуклеотид"

<400> 65
gaggtgcagc tgggtggagtc tggggggaggc ttggtacagc ctgggggggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggatt cacctttagc agctatgcc a tgagctgggt ccgccaggct 120
ccaggggaagg ggctggagtg ggtctcagct attactggta gtggtggtag aacatactac 180
gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca atgccaagaa cacgctgtat 240
ctgcaaataga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaaaacttt 300
ccctttgact actgggggcca gggaaccctg gtcaccgtct cctca 345

<210> 66
<211> 115
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический полипептид"

<400> 66
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

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

20

25

30

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

Ser Ala Ile Thr Gly Ser Gly Gly Arg Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Ala Lys Asn Phe Pro Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
 100 105 110

Val Ser Ser
 115

<210> 67
 <211> 24
 <212> ДНК
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <221> источник
 <223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 67
 ggattcacct ttagcagcta tgcc

24

<210> 68
 <211> 8
 <212> БЕЛОК
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <221> источник
 <223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический пептид"

<400> 68
 Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Ala
 1 5

<210> 69
 <211> 24
 <212> ДНК
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <221> источник
 <223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический

олигонуклеотид"

<400> 69
attactggta gtggtggtag aaca 24

<210> 70
<211> 8
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический пептид"

<400> 70
Ile Thr Gly Ser Gly Arg Thr
1 5

<210> 71
<211> 24
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 71
gcgaaaaact ttccctttga ctac 24

<210> 72
<211> 8
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический пептид"

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

<210> 73
<211> 339
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический полинуклеотид"

<400> 73
gacatcgtga tgacccagtc tccagactcc ctggctgtgt ctctgggcga gagggccacc 60
atcaactgcg agtccagcca gagtgtttta tacagctcca acaataagaa ctacttagct 120

tggtaccagc agaaaccagg acagcctcct aagctgctca ttactggggc atctaccgg	180
gaatccgggg tccctgaccg attcagtggc agcgggtctg ggacagattt cactctcacc	240
atcagcaccc tgcaggctga ggatgtggca gtttattact gtcagcaata ttatagtact	300
ccgtacactt ttggccaggg gaccaagctg gagatcaaa	339

<210> 74

<211> 113

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<221> источник

<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический полипептид"

<400> 74

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

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

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

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

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

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

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

Lys

<210> 75

<211> 36

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<221> источник

<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 75

cagagtgttt tatacagctc caacaataag aactac

36

<210> 76

<211> 12

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<221> источник

<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический пептид"

<400> 76

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

1

5

10

<210> 77

<211> 9

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<221> источник

<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 77

tgggcatct

9

<210> 78

<211> 3

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<221> источник

<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический пептид"

<400> 78

Trp Ala Ser

1

<210> 79

<211> 27

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<221> источник

<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 79

cagcaatatt atagtactcc gtacact

27

<210> 80

<211> 9

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<221> источник

<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический пептид"

<400> 80

Gln Gln Tyr Tyr Ser Thr Pro Tyr Thr

1 5

<210> 81

<211> 372

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<221> источник

<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический полинуклеотид"

<400> 81

gaggtgcagc tgggtggagtc tggggggaggc ttggtacagc ctgggggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctctggatt caccttttcc agctatgcca tgacctgggt ccgccaggct 120

ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtgggtgtag cacatactac 180

acagactccg tgaagggccg gttcacccctc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcaaataga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaatctgac 300

tacagtaaca ccatctactg gtactacggc atggacgtct ggggccaagg gaccacggtc 360

accgtctcct ca 372

<210> 82

<211> 124

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<221> источник

<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический полипептид"

<400> 82

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

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

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

<210> 83

<211> 24

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<221> источник

<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 83

ggattcacct tttccagcta tgcc

24

<210> 84

<211> 8

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<221> источник

<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический пептид"

<400> 84

Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Ala

1

5

<210> 85

<211> 24

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<221> источник

<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 85

attagtggtgta gtggtggttag caca

24

<210> 86

<211> 8

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический пептид"

<400> 86
Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr
1 5

<210> 87
<211> 51
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 87
gcgaaatctg actacagtaa caccatctac tggtagtacg gtatggacgt c 51

<210> 88
<211> 17
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический пептид"

<400> 88
Ala Lys Ser Asp Tyr Ser Asn Thr Ile Tyr Trp Tyr Tyr Gly Met Asp
1 5 10 15

Val

<210> 89
<211> 321
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический полинуклеотид"

<400> 89
gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgcc gggcaagtca gagcattagc agctatttaa attggtatca gcagaaacca 120
gggaaagccc ctaagctcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180
aggttcagtg gcagtggggtc tgggacagat ttactctca ccatcagcag tctgcaacct 240
gaagattttg caacttacta ctgtcaacag agttacagta cccctcggac gttcggccaa 300

gggaccaagg tggaatcaa a

321

<210> 90

<211> 107

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<221> источник

<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический полипептид"

<400> 90

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr
20 25 30

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

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

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

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Arg
85 90 95

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

<210> 91

<211> 18

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<221> источник

<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 91

cagagcatta gcagctat

18

<210> 92

<211> 6

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<221> источник

<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический пептид"

<400> 92
Gln Ser Ile Ser Ser Tyr
1 5

<210> 93
<211> 9
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 93
gctgcatcc 9

<210> 94
<211> 3
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический пептид"

<400> 94
Ala Ala Ser
1

<210> 95
<211> 27
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 95
caacagagtt acagtacccc tcggacg 27

<210> 96
<211> 9
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический пептид"

<400> 96
Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Arg Thr
1 5

<210> 97
 <211> 369
 <212> ДНК
 <213> Искусственная последовательность

 <220>
 <221> источник
 <223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический полинуклеотид"

<400> 97
 cagggtgcagc tgggtggagtc tggggggaggc ttggtcaagc ctggagggtc cctgagactc 60
 tcctgtgcag cctctggatt caccttcagt gactactata tgagctggat ccgccaggct 120
 ccaggggaagg gactggagtg gatttcacac attagtggta gtggtagaac cacacactac 180
 gcagactcta tgaagggccg attcaccatt tccagggaca acgccaagaa ctactgtat 240
 ttgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggccgtgt attactgtgt gagagagggga 300
 ggttttaact ggaactacga ggggtactttt gatatctggg gccaggggac aatggtcacc 360
 gtctcttca 369

<210> 98
 <211> 123
 <212> БЕЛОК
 <213> Искусственная последовательность

 <220>
 <221> источник
 <223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический полипептид"

<400> 98
 Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
 1 5 10 15

 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr
 20 25 30

 Tyr Met Ser Trp Ile Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
 35 40 45

 Ser His Ile Ser Gly Ser Gly Arg Thr Thr His Tyr Ala Asp Ser Met
 50 55 60

 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
 65 70 75 80

 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95

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

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

<210> 99

<211> 24

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<221> источник

<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 99

ggattcacct tcagtgacta ctat

24

<210> 100

<211> 8

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<221> источник

<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический пептид"

<400> 100

Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr Tyr
 1 5

<210> 101

<211> 24

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<221> источник

<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 101

attagtggta gtggtagaac caca

24

<210> 102

<211> 8

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<221> источник

<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический пептид"

<400> 102

Ile Ser Gly Ser Gly Arg Thr Thr
 1 5

<210> 103
 <211> 48
 <212> ДНК
 <213> Искусственная последовательность

 <220>
 <221> источник
 <223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

 <400> 103
 gtgagagagg gaggttttaa ctggaactac gagggacttt ttgatatc 48

 <210> 104
 <211> 16
 <212> БЕЛОК
 <213> Искусственная последовательность

 <220>
 <221> источник
 <223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический пептид"

 <400> 104
 Val Arg Glu Gly Gly Phe Asn Trp Asn Tyr Glu Gly Thr Phe Asp Ile
 1 5 10 15

 <210> 105
 <211> 336
 <212> ДНК
 <213> Искусственная последовательность

 <220>
 <221> источник
 <223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический полинуклеотид"

 <400> 105
 gatattgtga tgacccagac tccactctct tcacctgtca cccttggaca gccggcctcc 60
 atctcctgca ggtctagtca aagcctctta cacagtgatc aaaacaccta cttgagttgg 120
 cttcaccaga ggccaggcca gcctccaaga ctctaattt ataagatttc taaccggttc 180
 tctgggggtcc cagacagatt cagtggcagt ggggcaggga cagatttcac actgaaaatc 240
 agcaggggtgg aagctgagga tgcgaggatt tattactgca tgcaaggtag acaatttccg 300
 ctcacttttcg gcggaggggac caaggtggag atcaaaa 336

 <210> 106
 <211> 112
 <212> БЕЛОК
 <213> Искусственная последовательность

 <220>
 <221> источник
 <223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический полипептид"

<400> 106
 Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Ser Pro Val Thr Leu Gly
 1 5 10 15
 Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser
 20 25 30
 Asp Gln Asn Thr Tyr Leu Ser Trp Leu His Gln Arg Pro Gly Gln Pro
 35 40 45
 Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Ile Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
 50 55 60
 Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ala Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
 65 70 75 80
 Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Ile Tyr Tyr Cys Met Gln Gly
 85 90 95
 Thr Gln Phe Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105 110

<210> 107
 <211> 33
 <212> ДНК
 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 <221> источник
 <223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 107
 caaagcctct tacacagtga tcaaaacacc tac 33

<210> 108
 <211> 11
 <212> БЕЛОК
 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 <221> источник
 <223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический пептид"

<400> 108
 Gln Ser Leu Leu His Ser Asp Gln Asn Thr Tyr
 1 5 10

<210> 109
 <211> 9
 <212> ДНК
 <213> Искусственная последовательность
 <220>

<221> источник
<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 109
aagatttct

9

<210> 110
<211> 3
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический пептид"

<400> 110
Lys Ile Ser
1

<210> 111
<211> 27
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 111
atgcaaggta cacaatttcc gctcact

27

<210> 112
<211> 9
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический пептид"

<400> 112
Met Gln Gly Thr Gln Phe Pro Leu Thr
1 5

<210> 113
<211> 363
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический полинуклеотид"

<400> 113
gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggggagg cttggtacag gggggggggtc cctgagactc

60

<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 115
ggattcacat ttagcagctt tgcc 24

<210> 116
<211> 8
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический пептид"

<400> 116
Gly Phe Thr Phe Ser Phe Ala
1 5

<210> 117
<211> 24
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 117
cttagtggtgta gtggtagaag taca 24

<210> 118
<211> 8
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический пептид"

<400> 118
Leu Ser Gly Ser Gly Arg Ser Thr
1 5

<210> 119
<211> 42
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 119
gcggcctacg tgttacgaat tttggatcgg tggttcgacc cc 42

<210> 120
 <211> 14
 <212> БЕЛОК
 <213> Искусственная последовательность

 <220>
 <221> источник
 <223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический пептид"

 <400> 120
 Ala Ala Tyr Val Leu Arg Ile Leu Asp Arg Trp Phe Asp Pro
 1 5 10

 <210> 121
 <211> 336
 <212> ДНК
 <213> Искусственная последовательность

 <220>
 <221> источник
 <223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический полинуклеотид"

 <400> 121
 gatattgtga tgactcagtc tccactctcc ctgcccgtca ccctggaga gccggcctcc 60
 atctcctgca ggtctagtca gagcctcctt cataggactg gatacaacta tttggactgg 120
 tacctgcaga agccagggca gtctccacag atcctgatct atttgggttc ttatcgggcc 180
 tccgggggtcc ctgacagggtt cagtggcagt ggatcaggca cagattttac actgaagatc 240
 agcagagtgg aggctgaaga tgttgggggtt tattactgca tgcaagctct acaaactccg 300
 tggacgttcg gccaaaggac caaggtggaa atcaaa 336

 <210> 122
 <211> 112
 <212> БЕЛОК
 <213> Искусственная последовательность

 <220>
 <221> источник
 <223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический полипептид"

 <400> 122
 Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
 1 5 10 15

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

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

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

50

55

60

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

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

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

<210> 123

<211> 33

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<221> источник

<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 123

cagagcctcc ttcataaggac tggatacaac tat

33

<210> 124

<211> 11

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<221> источник

<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический пептид"

<400> 124

Gln Ser Leu Leu His Arg Thr Gly Tyr Asn Tyr

1

5

10

<210> 125

<211> 9

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<221> источник

<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 125

ttgggttct

9

<210> 126

<211> 3

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<221> источник
<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический пептид"

<400> 126
Leu Gly Ser
1

<210> 127
<211> 27
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 127
atgcaagctc tacaaactcc gtggacg 27

<210> 128
<211> 9
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический пептид"

<400> 128
Met Gln Ala Leu Gln Thr Pro Trp Thr
1 5

<210> 129
<211> 354
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический полинуклеотид"

<400> 129
caggtgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctggtgaagc cttcacagac cctgtccctc 60
acctgcactg tctctggtgg ctccatcaac agtgggtggtt actactggaa ctggatccgc 120
cagcaccacag ggaagggcct ggagtggatt gggtagatctt attacagtgg gagcacctac 180
ttcaaccctg ccctcaagag tcgagttacc atatcaatag acacgtctaa gaaccagttc 240
tcctgaagc tgagctctgt gactgccgcg gacacggccg tgtattactg tgcgagagag 300
gggatttatg cttttgacta ctggggccag ggaaccctgg tcaccgtctc ctca 354

<210> 130
<211> 118

<212> БЕЛОК
 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 <221> источник
 <223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический полипептид"

<400> 130
 Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gln
 1 5 10 15
 Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Asn Ser Gly
 20 25 30
 Gly Tyr Tyr Trp Asn Trp Ile Arg Gln His Pro Gly Lys Gly Leu Glu
 35 40 45
 Trp Ile Gly Tyr Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr Tyr Phe Asn Pro Ser
 50 55 60
 Leu Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Ile Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe
 65 70 75 80
 Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
 85 90 95
 Cys Ala Arg Glu Gly Ile Tyr Ala Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
 100 105 110
 Leu Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 131
 <211> 30
 <212> ДНК
 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 <221> источник
 <223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 131
 ggtggctcca tcaacagtgg tggttactac 30

<210> 132
 <211> 10
 <212> БЕЛОК
 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 <221> источник
 <223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический пептид"

<400> 132
Gly Gly Ser Ile Asn Ser Gly Gly Tyr Tyr
1 5 10

<210> 133
<211> 21
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 133
atctattaca gtgggagcac c 21

<210> 134
<211> 7
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический пептид"

<400> 134
Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr
1 5

<210> 135
<211> 30
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 135
gcgagagagg ggatttatgc ttttgactac 30

<210> 136
<211> 10
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический пептид"

<400> 136
Ala Arg Glu Gly Ile Tyr Ala Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 137
 <211> 321
 <212> ДНК
 <213> Искусственная последовательность

 <220>
 <221> источник
 <223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический полинуклеотид"

<400> 137
 gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
 atcacttgcc gggcaagtca gggcattaga aatgatttag gctgggtatca gcagaaacca 120
 gggaaagccc ctaagcgcct gatctattct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180
 aggttcggcg gcagtggatc tgggacagaa ttcactctca caatcagcag cctgcagcct 240
 gaagattttg caacttatta ctgtctacaa cataatagtt acccgtggac gttcggccaa 300
 gggaccaagg tggaatatca a 321

<210> 138
 <211> 107
 <212> БЕЛОК
 <213> Искусственная последовательность

 <220>
 <221> источник
 <223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический полипептид"

<400> 138
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15

 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn Asp
 20 25 30

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

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

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

 Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln His Asn Ser Tyr Pro Trp
 85 90 95

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

<210> 139

<211> 18
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 139
cagggcatta gaaatgat 18

<210> 140
<211> 6
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический пептид"

<400> 140
Gln Gly Ile Arg Asn Asp
1 5

<210> 141
<211> 9
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 141
tctgcatcc 9

<210> 142
<211> 3
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический пептид"

<400> 142
Ser Ala Ser
1

<210> 143
<211> 27
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<221> источник

<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 143

ctacaacata atagttaccc gtggacg

27

<210> 144

<211> 9

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<221> источник

<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический пептид"

<400> 144

Leu Gln His Asn Ser Tyr Pro Trp Thr

1 5

<210> 145

<211> 378

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<221> источник

<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический полинуклеотид"

<400> 145

caggtgcagc tgggtggagtc tggggggaggc gtgggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctctggatt caccttcaat aactatggca tacactgggt ccgccaggct 120

ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcagtt atatcatatg atgaaagtaa taaatactat 180

gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcaaatga acagcctgag agctgaggac acggctgttt attactgtgc gaaagacata 300

cggatagcag ctctgtcggca ctactactac tacggtatgg acgtctgggg ccaagggacc 360

acggtcaccg tctcctca 378

<210> 146

<211> 126

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<221> источник

<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический полипептид"

<400> 146

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 Asn Asn Tyr

20

25

30

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

Ala Val Ile Ser Tyr Asp Glu Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60

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

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Ala Lys Asp Ile Arg Ile Ala Ala Arg Arg His Tyr Tyr Tyr Tyr Gly
 100 105 110

Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
 115 120 125

<210> 147

<211> 24

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<221> источник

<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический
 олигонуклеотид"

<400> 147

ggattcacct tcaataacta tggc

24

<210> 148

<211> 8

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<221> источник

<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический
 пептид"

<400> 148

Gly Phe Thr Phe Asn Asn Tyr Gly
 1 5

<210> 149

<211> 24

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<221> источник

<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический

олигонуклеотид"

<400> 149
atatcatatg atgaaagtaa taaa

24

<210> 150
<211> 8
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический пептид"

<400> 150
Ile Ser Tyr Asp Glu Ser Asn Lys
1 5

<210> 151
<211> 57
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 151
gcgaaagaca tacggatagc agctcgtcgg cactactact actacggtat ggacgtc

57

<210> 152
<211> 19
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический пептид"

<400> 152
Ala Lys Asp Ile Arg Ile Ala Ala Arg Arg His Tyr Tyr Tyr Tyr Gly
1 5 10 15

Met Asp Val

<210> 153
<211> 321
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический полинуклеотид"

<400> 153
gacatccaga tgacccagtc tccatcttcc gtgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgtc gggcgagtc ggggtattagc aggtgggttag cctgggtatca gcagaaacca 120
gggaaagccc caaagctcct gatctatgct gcatccagtt tggaaagtgg ggtcccagca 180
aggttcagcg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag cctgcagcct 240
gaagattttg caacttacta ttgtcaacag gctaacagtt tcccaatcac tttcggccct 300
gggaccaaaag tggatatcaa a 321

<210> 154
<211> 107
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность
<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический полипептид"

<400> 154
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Arg Trp
20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Glu Ser Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ala Asn Ser Phe Pro Ile
85 90 95
Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys
100 105

<210> 155
<211> 18
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность
<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический олигонуклеотид"
<400> 155

<210> 156
<211> 6
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический пептид"

<400> 156
Gln Gly Ile Ser Arg Trp
1 5

<210> 157
<211> 9
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 157
gctgcatcc

9

<210> 158
<211> 3
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический пептид"

<400> 158
Ala Ala Ser
1

<210> 159
<211> 27
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 159
caacaggcta acagtttccc aatcact

27

<210> 160
<211> 9
<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<221> источник

<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический пептид"

<400> 160

Gln Gln Ala Asn Ser Phe Pro Ile Thr

1 5

<210> 161

<211> 360

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<221> источник

<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический полинуклеотид"

<400> 161

gaggtgcagc tgggtggagtc tggggggaggc ttggtacagc ctggagggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctctggatt caccttcaat aatcatgaaa tgaattgggt ccgccaggct 120

ccagggaagg gtctggagtg ggtttcatatc attagtagta gtggtaatac cgtaacctac 180

gcagactttc tgaagggccg attcaccatc tccagagaca acgccaagaa ctcgctgttt 240

ctgcaaatga acagcctgcg agacgaggac acggctgttt attactgtgc gcgagatcat 300

ttaagtggaa cctccccact ttcttattgg ggccaggga ccttggtcac cgtctcctca 360

<210> 162

<211> 120

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<221> источник

<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический полипептид"

<400> 162

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

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

Ala	Arg	Asp	His	Leu	Ser	Gly	Thr	Ser	Pro	Leu	Ser	Tyr	Trp	Gly	Gln
			100					105					110		

Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser
		115				120	

<210> 163
 <211> 24
 <212> ДНК
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <221> источник
 <223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 163
 ggattcacct tcaataatca tgaa 24

<210> 164
 <211> 8
 <212> БЕЛОК
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <221> источник
 <223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический пептид"

<400> 164
 Gly Phe Thr Phe Asn Asn His Glu
 1 5

<210> 165
 <211> 24
 <212> ДНК
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <221> источник
 <223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 165
 attagtagta gtggtataac cgta 24

<210> 166
 <211> 8
 <212> БЕЛОК
 <213> Искусственная последовательность

<220>

<221> источник
<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический пептид"

<400> 166
Ile Ser Ser Ser Gly Asn Thr Val
1 5

<210> 167
<211> 39
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 167
gcgcgagatc atttaagtg aacctcccca ctttcttat 39

<210> 168
<211> 13
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический пептид"

<400> 168
Ala Arg Asp His Leu Ser Gly Thr Ser Pro Leu Ser Tyr
1 5 10

<210> 169
<211> 321
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический полинуклеотид"

<400> 169
gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtgggaga cagagtcacc 60
atcacttgcc aggcgagtca ggacattaac aactacttaa attggtttca gcagaaacca 120
gggaaagccc ctaaactcct gatcttcgat gcatccaatt tagaaacagg ggtcccatca 180
aggttcagtg gaagtggatc tgggacagat tttactttca ccatcagcag cctgcagcct 240
gaagatattg caacatattt ctgtcaacag tatgaaaatc tcccttacac ttttggccag 300
gggaccaagc tggagatcaa a 321

<210> 170
<211> 107

<212> БЕЛОК
 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 <221> источник
 <223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический полипептид"

<400> 170
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Asp Ile Asn Asn Tyr
 20 25 30
 Leu Asn Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45
 Phe Asp Ala Ser Asn Leu Glu Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80
 Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Tyr Glu Asn Leu Pro Tyr
 85 90 95
 Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105

<210> 171
 <211> 18
 <212> ДНК
 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 <221> источник
 <223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 171
 caggacatta acaactac 18

<210> 172
 <211> 6
 <212> БЕЛОК
 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 <221> источник
 <223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический пептид"

<400> 172
 Gln Asp Ile Asn Asn Tyr
 1 5

<210> 173
<211> 9
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 173
gatgcatcc 9

<210> 174
<211> 3
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический пептид"

<400> 174
Asp Ala Ser
1

<210> 175
<211> 27
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 175
caacagtatg aaaatctccc ttacact 27

<210> 176
<211> 9
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический пептид"

<400> 176
Gln Gln Tyr Glu Asn Leu Pro Tyr Thr
1 5

<210> 177
<211> 363
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
 <221> источник
 <223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический полинуклеотид"

<400> 177
 caggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60
 tcctgtgcag cctctggatt caccttcagt agctatggca tgcactgggt ccgccaggct 120
 ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcagtt atatcatatg ctggaagtaa taaatactat 180
 gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240
 ctgcaaatga acggcctgag agctgaggac acggctgtgt attactgtgc gaaagatccc 300
 tacggtgact acgaggggggt tcttgactac tggggccagg gaaccctggg caccgtctcc 360
 tca 363

<210> 178
 <211> 121
 <212> БЕЛОК
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <221> источник
 <223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический полипептид"

<400> 178
 Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ala Val Ile Ser Tyr Ala Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Gly Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Lys Asp Pro Tyr Gly Asp Tyr Glu Gly Val Leu Asp Tyr Trp Gly
 100 105 110
 Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 179
 <211> 24
 <212> ДНК
 <213> Искусственная последовательность

 <220>
 <221> источник
 <223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

 <400> 179
 ggattcacct tcagtagcta tggc 24

 <210> 180
 <211> 8
 <212> БЕЛОК
 <213> Искусственная последовательность

 <220>
 <221> источник
 <223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический пептид"

 <400> 180
 Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Gly
 1 5

 <210> 181
 <211> 24
 <212> ДНК
 <213> Искусственная последовательность

 <220>
 <221> источник
 <223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

 <400> 181
 atatcatatg ctggaagtaa taaa 24

 <210> 182
 <211> 8
 <212> БЕЛОК
 <213> Искусственная последовательность

 <220>
 <221> источник
 <223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический пептид"

 <400> 182
 Ile Ser Tyr Ala Gly Ser Asn Lys
 1 5

 <210> 183
 <211> 42
 <212> ДНК
 <213> Искусственная последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 183
gcgaaagatc cctacggtga ctacgagggg gttcttgact ac 42

<210> 184
<211> 14
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический пептид"

<400> 184
Ala Lys Asp Pro Tyr Gly Asp Tyr Glu Gly Val Leu Asp Tyr
1 5 10

<210> 185
<211> 321
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический полинуклеотид"

<400> 185
gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgcc aggcgagtca ggacattagc aactatttaa attggtatca gcagaaacca 120
gggaaagccc ctaagctcct gatctacgat gcttccaatt tggaaacagg ggtcccatca 180
aggttcagtg gaagtggatc tgggacagat ttactttca ccatcagcag cctgcagcct 240
gaagatatthg caacatatta ctgtcagcag tatgatcatc tcccgatcac cttcggccaa 300
gggacacgac tggagattaa a 321

<210> 186
<211> 107
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический полипептид"

<400> 186
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

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

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

<210> 190
 <211> 3
 <212> БЕЛОК
 <213> Искусственная последовательность

 <220>
 <221> источник
 <223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический пептид"

 <400> 190
 Asp Ala Ser
 1

 <210> 191
 <211> 27
 <212> ДНК
 <213> Искусственная последовательность

 <220>
 <221> источник
 <223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

 <400> 191
 cagcagtatg atcatctccc gatcacc 27

 <210> 192
 <211> 9
 <212> БЕЛОК
 <213> Искусственная последовательность

 <220>
 <221> источник
 <223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический пептид"

 <400> 192
 Gln Gln Tyr Asp His Leu Pro Ile Thr
 1 5

 <210> 193
 <211> 345
 <212> ДНК
 <213> Искусственная последовательность

 <220>
 <221> источник
 <223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический полинуклеотид"

 <400> 193
 gaggtgcagc tgggtggagtc tggggggaggc ttggttcagc ctgggggggtc cctgagactc 60
 tcctgtgcag cctctggatt cacctttagc acctatgcc a tgagctgggt ccgccaggct 120
 ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagtt attagtggta gttttattag cacatactac 180
 gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcaaatga ccagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaaaactcc 300

ccctttgact actggggcca gggaaccctg gtcaccgtct cctca 345

<210> 194

<211> 115

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<221> источник

<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический полипептид"

<400> 194

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Thr Tyr
20 25 30

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

Ser Val Ile Ser Gly Ser Phe Ile Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

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

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

Ala Lys Asn Ser Pro Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
100 105 110

Val Ser Ser
115

<210> 195

<211> 24

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<221> источник

<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 195

ggattcacct ttagcaccta tgcc

24

<210> 196

<211> 8
 <212> БЕЛОК
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <221> источник
 <223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический пептид"

<400> 196
 Gly Phe Thr Phe Ser Thr Tyr Ala
 1 5

<210> 197
 <211> 24
 <212> ДНК
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <221> источник
 <223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 197
 attagtggta gttttattag caca 24

<210> 198
 <211> 8
 <212> БЕЛОК
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <221> источник
 <223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический пептид"

<400> 198
 Ile Ser Gly Ser Phe Ile Ser Thr
 1 5

<210> 199
 <211> 24
 <212> ДНК
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <221> источник
 <223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 199
 gcgaaaaact ccccccttga ctac 24

<210> 200
 <211> 8
 <212> БЕЛОК
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <221> источник

<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический пептид"

<400> 200
Ala Lys Asn Ser Pro Phe Asp Tyr
1 5

<210> 201
<211> 339
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический полинуклеотид"

<400> 201
gacatcgatga tgacccagtc tccagactcc ctgactgtat ctctgggcca gagggccacc 60
atcaactgca agtccagcca gagtgtttta tacagctcca acaataagaa ctacttagct 120
tggtaccagc agaaaccagg acagcctcct aacctgctca ttactgggc atctaccgg 180
gaatccggggg tccctgaccg attcagtggc agcgggtctg ggacagattt cactctcacc 240
atcagcagcc tgcaggctga agatgtggca gtttattact gtcagcaata ttatactact 300
ccgtggacgt tcggccgagg gaccaaggtg gagatcaaa 339

<210> 202
<211> 113
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический полипептид"

<400> 202
Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Thr Val Ser Leu Gly
1 5 10 15
Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser Val Leu Tyr Ser
20 25 30
Ser Asn Asn Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
35 40 45
Pro Pro Asn Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
50 55 60
Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
65 70 75 80
Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln

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

Lys

<210> 203

<211> 36

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<221> источник

<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 203

cagagtgttt tatacagctc caacaataag aactac

36

<210> 204

<211> 12

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<221> источник

<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический пептид"

<400> 204

Gln Ser Val Leu Tyr Ser Ser Asn Asn Lys Asn Tyr
 1 5 10

<210> 205

<211> 9

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<221> источник

<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 205

tgggcatct

9

<210> 206

<211> 3

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<221> источник

<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический пептид"

<400> 206
Trp Ala Ser
1

<210> 207
<211> 27
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 207
cagcaatatt atactactcc gtggacg 27

<210> 208
<211> 9
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический пептид"

<400> 208
Gln Gln Tyr Tyr Thr Thr Pro Trp Thr
1 5

<210> 209
<211> 345
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический полинуклеотид"

<400> 209
gaggtgcagc tgggtggagtc tggggggaggc ttggtacagc cggggggggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggatt cacctttagc aactatgccca tgagctgggt ccgccaggct 120
ccaggggaagg gactggagtg ggtctcaact attagtata ctggtggtag cacatactac 180
gcagactccg tgaagggccg gttcgccctc tccagagaca attccaggaa cagctgtat 240
ctacaaatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaagagggg 300
cccccgact actgggggaca gggcaccctg gtcaccgtct cctca 345

<210> 210
<211> 115
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность

<220>

<221> источник
<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический полипептид"

<400> 210

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr
20 25 30

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

Ser Thr Ile Ser Asp Thr Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Ala Leu Ser Arg Asp Asn Ser Arg Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

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

Val Ser Ser
115

<210> 211

<211> 24

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<221> источник

<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 211

ggattcacct ttagcaacta tgcc

24

<210> 212

<211> 8

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<221> источник

<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический пептид"

<400> 212

Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr Ala
1 5

<210> 213
<211> 24
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 213
attagtgata ctggtggtag caca

24

<210> 214
<211> 8
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический пептид"

<400> 214
Ile Ser Asp Thr Gly Gly Ser Thr
1 5

<210> 215
<211> 24
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 215
gcgaaagagg ggcccccgga ctac

24

<210> 216
<211> 8
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический пептид"

<400> 216
Ala Lys Glu Gly Pro Pro Asp Tyr
1 5

<210> 217
<211> 321
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический полинуклеотид"

<400> 217
gaaatttgtg tgacacagtc tccagccacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60
ctctcctgca ggaccagtca gagtgtcagc atctacttag cctggtagca acagaaacct 120
ggccaggctc ccaggctcct catctatgat gcatccaaga gggccactgg catcccagcc 180
aggttcagtg gcagaggggtc tgggacagac ttactctca ccatcagcag cctagagcct 240
gaagattttg cagtttatta ctgtcagcag cgtagcaact ggcctctcac cttcggccaa 300
gggacacgac tggagattaa a 321

<210> 218
<211> 107
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический полипептид"

<400> 218
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

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

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

Tyr Asp Ala Ser Lys Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Ser Asn Trp Pro Leu
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 219
<211> 18
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 219
cagagtggtca gcatctac

18

<210> 220
<211> 6
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический пептид"

<400> 220
Gln Ser Val Ser Ile Tyr
1 5

<210> 221
<211> 9
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 221
gatgcatcc

9

<210> 222
<211> 3
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический пептид"

<400> 222
Asp Ala Ser
1

<210> 223
<211> 27
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 223

<210> 224

<211> 9

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<221> источник

<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический пептид"

<400> 224

Gln Gln Arg Ser Asn Trp Pro Leu Thr

1

5

<210> 225

<211> 363

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<221> источник

<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический полинуклеотид"

<400> 225

gaggtgcagc tgggtggagtc tggggggaggc ttggtgcagc cggggggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctctggatt caccttcaga aactatgccca tgaactgggc ccgccaggct 120

ccaggggaagg gactggagtg ggtctcaggt attactggta gtggtggtgc cacatactac 180

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaaa attccaagaa cacgctgttt 240

ctgcaaatgg acaccctgag agccgaggac acggccgttt attattgtgc gaaagatcgg 300

aggtatttcc ctacttcggg gggtcctcag tggggccagg gaaccctggt caccgtctcc 360

tca 363

<210> 226

<211> 121

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<221> источник

<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический полипептид"

<400> 226

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

1

5

10

15

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

20

25

30

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

35

40

45

Ser Gly Ile Thr Gly Ser Gly Gly Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Glu Asn Ser Lys Asn Thr Leu Phe
 65 70 75 80

Leu Gln Met Asp Thr Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Ala Lys Asp Arg Arg Tyr Phe Pro Thr Ser Gly Gly Pro Gln Trp Gly
 100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 227

<211> 24

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<221> источник

<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 227

ggattcacct tcagaaacta tgcc

24

<210> 228

<211> 8

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<221> источник

<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический пептид"

<400> 228

Gly Phe Thr Phe Arg Asn Tyr Ala

1

5

<210> 229

<211> 24

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<221> источник

<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 229

attactggta gtggtggtgc caca

24

<210> 230
 <211> 8
 <212> БЕЛОК
 <213> Искусственная последовательность

 <220>
 <221> источник
 <223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический пептид"

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

 <210> 231
 <211> 42
 <212> ДНК
 <213> Искусственная последовательность

 <220>
 <221> источник
 <223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

 <400> 231
 gcgaaagatc ggaggtatctt ccctacttcg gggggtcctc ag 42

 <210> 232
 <211> 14
 <212> БЕЛОК
 <213> Искусственная последовательность

 <220>
 <221> источник
 <223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический пептид"

 <400> 232
 Ala Lys Asp Arg Arg Tyr Phe Pro Thr Ser Gly Gly Pro Gln
 1 5 10

 <210> 233
 <211> 336
 <212> ДНК
 <213> Искусственная последовательность

 <220>
 <221> источник
 <223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический полинуклеотид"

 <400> 233
 gatattgtga tgactcagtc tccactctcc ctgcccgtca cccctggaga gccggcctcc 60
 atctcctgca ggtcttctcg gagcctcctg catagttctg gatacaacta tttggattgg 120
 tacctgcaga agccagggca gtctccacag ctctgtctct atttgggttc taatcggggc 180
 tccgggggtcc ctgacagggt cagtggcagt ggatcaggca catattttac actgaaaatc 240

agcagagtgg acgctgaaga tggtgggggtt tattactgca tgcaagctct acaaactccg 300

tggacgttcg gccaaagggac caaggtggaa atcaaaa 336

<210> 234

<211> 112

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<221> источник

<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический полипептид"

<400> 234

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

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

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

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

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

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

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

<210> 235

<211> 33

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<221> источник

<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 235

cggagcctcc tgcatagttc tggatacaac tat

33

<210> 236

<211> 11

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический пептид"

<400> 236
Arg Ser Leu Leu His Ser Ser Gly Tyr Asn Tyr
1 5 10

<210> 237
<211> 9
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 237
ttgggttct 9

<210> 238
<211> 3
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический пептид"

<400> 238
Leu Gly Ser
1

<210> 239
<211> 27
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 239
atgcaagctc tacaaactcc gtggacg 27

<210> 240
<211> 9
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический пептид"

<400> 240

Met Gln Ala Leu Gln Thr Pro Trp Thr
1 5

<210> 241
<211> 348
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический полинуклеотид"

<400> 241
gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggagggc ttggtccagc cggggggggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggatt caccttttagt agcttttagga tgacctgggt ccgccaggct 120
ccaggggaagg ggctggagtg ggtggccaac ataaagcaag atggaagtga gaaatactat 180
gtggactctg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca acgccaagaa ctcaactgtat 240
ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggctgtgt attactgtgc gagagggggg 300
ggtatagcag cttactgggg ccaggggaacc ctggtcaccg tctcctca 348

<210> 242
<211> 116
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический полипептид"

<400> 242
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Phe
20 25 30

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

Ala Asn Ile Lys Gln Asp Gly Ser Glu Lys Tyr Tyr Val Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

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

Thr Val Ser Ser
115

<210> 243
<211> 24
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 243
ggattcacct ttagtagctt tagg 24

<210> 244
<211> 8
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический пептид"

<400> 244
Gly Phe Thr Phe Ser Ser Phe Arg
1 5

<210> 245
<211> 24
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 245
ataaagcaag atggaagtga gaaa 24

<210> 246
<211> 8
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический пептид"

<400> 246
Ile Lys Gln Asp Gly Ser Glu Lys
1 5

<210> 247
 <211> 27
 <212> ДНК
 <213> Искусственная последовательность

 <220>
 <221> источник
 <223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

 <400> 247
 gcgagagggg ggggtatagc agcttac 27

 <210> 248
 <211> 9
 <212> БЕЛОК
 <213> Искусственная последовательность

 <220>
 <221> источник
 <223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический пептид"

 <400> 248
 Ala Arg Gly Gly Gly Ile Ala Ala Tyr
 1 5

 <210> 249
 <211> 324
 <212> ДНК
 <213> Искусственная последовательность

 <220>
 <221> источник
 <223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический полинуклеотид"

 <400> 249
 gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
 atcacttgcc gggcaagtca gagcattagc agctatttaa attggtatca gcagaaacca 120
 gggaaagccc ctaagctcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccgatca 180
 aggttcagtg gcagtggatc tgggacagat ttactctca ccatcagcag tctgcaacct 240
 gaagattttg caacttacta ctgtcaacag agttacagta cccctccgat caccttcggc 300
 caagggacac gactggagat taaa 324

 <210> 250
 <211> 108
 <212> БЕЛОК
 <213> Искусственная последовательность

 <220>
 <221> источник
 <223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический полипептид"

<400> 250
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45
 Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80
 Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Pro
 85 90 95
 Ile Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys
 100 105

<210> 251
 <211> 18
 <212> ДНК
 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 <221> источник
 <223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 251
 cagagcatta gcagctat 18

<210> 252
 <211> 6
 <212> БЕЛОК
 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 <221> источник
 <223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический пептид"

<400> 252
 Gln Ser Ile Ser Ser Tyr
 1 5

<210> 253
 <211> 9
 <212> ДНК
 <213> Искусственная последовательность
 <220>

<221> источник
<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 253
gctgcatcc

9

<210> 254
<211> 3
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический пептид"

<400> 254
Ala Ala Ser
1

<210> 255
<211> 30
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 255
caacagagtt acagtacccc tccgatacc

30

<210> 256
<211> 10
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический пептид"

<400> 256
Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Pro Ile Thr
1 5 10

<210> 257
<211> 375
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический полинуклеотид"

<400> 257
gaggtgcagc tgggtggagtc tggggggaggc ttggtacagc ctgggggggtc cctgagactc

60

<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 259
ggattcacct ttagcagcta tgcc 24

<210> 260
<211> 8
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический пептид"

<400> 260
Gly Phe Thr Phe Ser Tyr Ala
1 5

<210> 261
<211> 24
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 261
attagtggta gtggtggtag caca 24

<210> 262
<211> 8
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический пептид"

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

<210> 263
<211> 54
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 263
gcgaaagatc ggggggaaaa ccggtattac tactactact acggtatgga cgtc 54

<210> 264
 <211> 18
 <212> БЕЛОК
 <213> Искусственная последовательность

 <220>
 <221> источник
 <223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический пептид"

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

Asp Val

<210> 265
 <211> 396
 <212> ДНК
 <213> Искусственная последовательность

 <220>
 <221> источник
 <223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический полинуклеотид"

 <400> 265
 caggtgcagc tgggtggagtc tggggggaggc gtgggtccagc ctggggaggtc cctgagactc 60
 tcctgtacag cctctggatt caccttcaat aactatggca tccactgggt ccgccaggct 120
 ccaggcaagg ggctggaatg ggtggcagtt atatcatatg atggaagtaa taaattctat 180
 gcagagtccg tgagggggccg attcaccatc tccagagaca attccaggaa cacactgttt 240
 ctgcagatga tcagcctgcg aggtgaggac tcggctgttt attactgtgc gaaagatcga 300
 ccctattacg atattttgac tgctcattat ccctctgact actacttcta cgctatggac 360
 gtctgggggcc atggggaccac ggtcaccgtc tcctca 396

<210> 266
 <211> 132
 <212> БЕЛОК
 <213> Искусственная последовательность

 <220>
 <221> источник
 <223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический полипептид"

 <400> 266
 Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
 1 5 10 15

 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Thr Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Asn Tyr
 20 25 30

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

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

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

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

Ala Lys Asp Arg Pro Tyr Tyr Asp Ile Leu Thr Ala His Tyr Pro Ser
100 105 110

Asp Tyr Tyr Phe Tyr Ala Met Asp Val Trp Gly His Gly Thr Thr Val
115 120 125

Thr Val Ser Ser
130

<210> 267

<211> 24

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<221> источник

<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 267

ggattcacct tcaataacta tggc

24

<210> 268

<211> 8

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<221> источник

<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический пептид"

<400> 268

Gly Phe Thr Phe Asn Asn Tyr Gly
1 5

<210> 269

<211> 24

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<221> источник
<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 269
atatcatatg atggaagtaa taaa

24

<210> 270
<211> 8
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический пептид"

<400> 270
Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys
1 5

<210> 271
<211> 75
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 271
gcgaaagatc gaccctatta cgatattttg actgctcatt atccctctga ctactacttc 60
tacgctatgg acgtc 75

<210> 272
<211> 25
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический пептид"

<400> 272
Ala Lys Asp Arg Pro Tyr Tyr Asp Ile Leu Thr Ala His Tyr Pro Ser
1 5 10 15

Asp Tyr Tyr Phe Tyr Ala Met Asp Val
20 25

<210> 273
<211> 369
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>

<221> источник
 <223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический полинуклеотид"

<400> 273
 caggtgcagc tgggtggagtc tggggggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60
 tcctgtgcag cctctggcctt caccttcaact aactatgccca tgcactgggt cgcaccaggct 120
 ccaggcaagg gactggagtg ggtggcagtt atatcatatg atggaagtca cacatacttt 180
 gcagactccg tgaagggccg attcaccatg tccagagaca attccaagaa cacgatatct 240
 ctacaaatga acagtctgag acctgaggac acggctgttt atttttgtgc gggaggagga 300
 gctactacgt ggttctactt ttacggtttg gacgtctggg gccaaaggac cacggtcacc 360
 gtctcctca 369

<210> 274
 <211> 123
 <212> БЕЛОК
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <221> источник
 <223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический полипептид"

<400> 274
 Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Thr Asn Tyr
 20 25 30
 Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ala Val Ile Ser Tyr Asp Gly Ser His Thr Tyr Phe Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Met Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Ile Ser
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys
 85 90 95
 Ala Gly Gly Gly Ala Thr Thr Trp Phe Tyr Phe Tyr Gly Leu Asp Val
 100 105 110
 Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 275

<211> 24
 <212> ДНК
 <213> Искусственная последовательность

 <220>
 <221> источник
 <223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

 <400> 275
 ggcttcacct tcactaacta tgcc 24

 <210> 276
 <211> 8
 <212> БЕЛОК
 <213> Искусственная последовательность

 <220>
 <221> источник
 <223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический пептид"

 <400> 276
 Gly Phe Thr Phe Thr Asn Tyr Ala
 1 5

 <210> 277
 <211> 24
 <212> ДНК
 <213> Искусственная последовательность

 <220>
 <221> источник
 <223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

 <400> 277
 atatcatatg atggaagtca caca 24

 <210> 278
 <211> 8
 <212> БЕЛОК
 <213> Искусственная последовательность

 <220>
 <221> источник
 <223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический пептид"

 <400> 278
 Ile Ser Tyr Asp Gly Ser His Thr
 1 5

 <210> 279
 <211> 48
 <212> ДНК
 <213> Искусственная последовательность

 <220>
 <221> источник

<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 279

gcgggaggag gagctactac gtgggttctac ttttacgggt tggacgtc

48

<210> 280

<211> 16

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<221> источник

<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический пептид"

<400> 280

Ala	Gly	Gly	Gly	Ala	Thr	Thr	Trp	Phe	Tyr	Phe	Tyr	Gly	Leu	Asp	Val
1				5				10					15		

<210> 281

<211> 378

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<221> источник

<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический полинуклеотид"

<400> 281

gaggtgcagc tgggtggagtc tggggggaggc ttggtaaaac cggggggggtc ccttagactc 60

tcctgtacag cctctggatt cactttcgggt aatgcctgga tgagctgggt ccggcaggct 120

ccaggggaagg gcctggagtg gggtggcctt attaaaggta aaactgatgg tgggacaaca 180

aactacgctg caccctgtaa aggcagattc accatctcaa gagatgattc aaaaaacacg 240

ctgtatctgc atttgaacag cctgagaacc gaggacacag ccttgtatta ctgtaccaca 300

gatcagggtgg aactacgaca atactactac tacgggtttgg acgtctgggg ccagggggacc 360

acggtcaccg tctcctca 378

<210> 282

<211> 126

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<221> источник

<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический полипептид"

<400> 282

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

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

20

25

30

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

Gly Leu Ile Lys Gly Lys Thr Asp Gly Gly Thr Thr Asn Tyr Ala Ala
 50 55 60

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

Leu Tyr Leu His Leu Asn Ser Leu Arg Thr Glu Asp Thr Ala Leu Tyr
 85 90 95

Tyr Cys Thr Thr Asp Gln Val Glu Leu Arg Gln Tyr Tyr Tyr Tyr Gly
 100 105 110

Leu Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
 115 120 125

<210> 283

<211> 24

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<221> источник

<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 283

ggattcactt tcggtaatgc ctgg

24

<210> 284

<211> 8

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<221> источник

<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический пептид"

<400> 284

Gly Phe Thr Phe Gly Asn Ala Trp
 1 5

<210> 285

<211> 30

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<221> источник

<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический

олигонуклеотид"

<400> 285
attaaaggta aaactgatgg tgggacaaca

30

<210> 286
<211> 10
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический пептид"

<400> 286
Ile Lys Gly Lys Thr Asp Gly Gly Thr Thr
1 5 10

<210> 287
<211> 51
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 287
accacagatc aggtggaact acgacaatac tactactacg gtttggacgt c

51

<210> 288
<211> 17
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический пептид"

<400> 288
Thr Thr Asp Gln Val Glu Leu Arg Gln Tyr Tyr Tyr Tyr Gly Leu Asp
1 5 10 15

Val

<210> 289
<211> 354
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический полинуклеотид"

<400> 289
gaggtgcagc tgggtggagtc tggggggaggc ttggtacagc cagggcggtc cctgagactc 60
tcctgtacag cttctggatt cagcttttgt gataatgcta tgggctgggt ccgccaggct 120
ccaggggaagg ggctggagtg ggtaagtttc attagaagga aagcttctgg tgggacaaca 180
gaatacgccg cgtctgtgaa aggcagattc accatctcaa gagatgattc caaaagcatc 240
gcctatctgc aaatgaacag tctgaaaacc gaggacacag gcgtttatta ttgtactaga 300
ggaggagcag tgtacggcta ctggggccag ggaaccctgg tcaccgtctc ctca 354

<210> 290

<211> 118

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<221> источник

<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический полипептид"

<400> 290

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Thr Ala Ser Gly Phe Ser Phe Gly Asp Asn
20 25 30

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

Ser Phe Ile Arg Arg Lys Ala Ser Gly Gly Thr Thr Glu Tyr Ala Ala
50 55 60

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

Ala Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Gly Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Thr Arg Gly Gly Ala Val Tyr Gly Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 291

<211> 24

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<221> источник

<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 291
ggattcagct ttggtgataa tgct 24

<210> 292
<211> 8
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический пептид"

<400> 292
Gly Phe Ser Phe Gly Asp Asn Ala
1 5

<210> 293
<211> 30
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 293
attagaagga aagcttctgg tgggacaaca 30

<210> 294
<211> 10
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический пептид"

<400> 294
Ile Arg Arg Lys Ala Ser Gly Gly Thr Thr
1 5 10

<210> 295
<211> 27
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 295
actagaggag gagcagtgtac cggtac 27

<210> 296
 <211> 9
 <212> БЕЛОК
 <213> Искусственная последовательность

 <220>
 <221> источник
 <223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический пептид"

 <400> 296
 Thr Arg Gly Gly Ala Val Tyr Gly Tyr
 1 5

<210> 297
 <211> 369
 <212> ДНК
 <213> Искусственная последовательность

 <220>
 <221> источник
 <223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический полинуклеотид"

<400> 297
 cagggtgcagc tgggtggagtc tggggggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60
 tcctgtgcag cgtctggatt caccttcagt agctatggca tgcactgggt ccgccaggct 120
 ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcagtt atatggtatg atggaagtaa taaatactat 180
 gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240
 ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggctgttt attactgtgc gagagattgg 300
 gtacgatttt tggagtgggt tccccacttt gactactggg gccaggggaac cctgggtcacc 360
 gtctcctca 369

<210> 298
 <211> 123
 <212> БЕЛОК
 <213> Искусственная последовательность

 <220>
 <221> источник
 <223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический полипептид"

<400> 298
 Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
 1 5 10 15

 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30

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

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

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

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Asp Trp Val Arg Phe Leu Glu Trp Phe Pro His Phe Asp Tyr
100 105 110

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

<210> 299

<211> 24

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<221> источник

<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 299

ggattcacct tcagtagcta tggc

24

<210> 300

<211> 8

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<221> источник

<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический пептид"

<400> 300

Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Gly

1

5

<210> 301

<211> 24

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<221> источник

<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 301

atatggtatg atggaagtaa taaa

24

<210> 302
 <211> 8
 <212> БЕЛОК
 <213> Искусственная последовательность

 <220>
 <221> источник
 <223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический пептид"

 <400> 302
 Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asn Lys
 1 5

 <210> 303
 <211> 48
 <212> ДНК
 <213> Искусственная последовательность

 <220>
 <221> источник
 <223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

 <400> 303
 gcgagagatt gggtagcatt tttggagtgg tttccccact ttgactac 48

 <210> 304
 <211> 16
 <212> БЕЛОК
 <213> Искусственная последовательность

 <220>
 <221> источник
 <223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический пептид"

 <400> 304
 Ala Arg Asp Trp Val Arg Phe Leu Glu Trp Phe Pro His Phe Asp Tyr
 1 5 10 15

 <210> 305
 <211> 360
 <212> ДНК
 <213> Искусственная последовательность

 <220>
 <221> источник
 <223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический полинуклеотид"

 <400> 305
 gaggtgcagc tgggtggagtc tggggggaggc ttggtacagc ctgggggggtc cctgagactc 60
 tcctgtgcag cctctggatt cacctttagc aactatgcca tgagctgggt ccgccagggt 120
 ccaggggaagg ggctggagtg ggtctcaact attagtggta gtggtggtag cacatactac 180
 gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa ctcgctgtat 240
 ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attattgtgc gaaattgggtt 300

cgggggagtta ttggctgggtt cgacccttgg ggccagggaa ccttggtcac cgtctctca

360

<210> 306

<211> 120

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<221> источник

<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический полипептид"

<400> 306

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr
20 25 30

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

Ser Thr Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

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

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Lys Leu Val Arg Gly Val Ile Gly Trp Phe Asp Pro Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 307

<211> 24

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<221> источник

<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 307

ggattcacct ttagcaacta tgcc

24

<210> 308

<211> 8

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<221> источник

<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический пептид"

<400> 308

Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr Ala

1 5

<210> 309

<211> 24

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<221> источник

<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 309

attagtggta gtggtggttag caca

24

<210> 310

<211> 8

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<221> источник

<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический пептид"

<400> 310

Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr

1 5

<210> 311

<211> 39

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<221> источник

<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 311

gcgaaattgg ttcggggagt tattggctgg ttcgacccc

39

<210> 312

<211> 13

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<221> источник

<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический пептид"

<400> 312

Ala Lys Leu Val Arg Gly Val Ile Gly Trp Phe Asp Pro
1 5 10

<210> 313

<211> 363

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<221> источник

<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический полинуклеотид"

<400> 313

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

<210> 314

<211> 121

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<221> источник

<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический полипептид"

<400> 314

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15

Ser Val Arg Leu Ser Cys Gly Ala Ser Gly Phe Thr Phe Lys Tyr Tyr
20 25 30

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

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

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

Leu Glu Met Asn Asn Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys

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

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 315

<211> 24

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<221> источник

<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 315

ggattcactt tcaaatacta tggc

24

<210> 316

<211> 8

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<221> источник

<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический пептид"

<400> 316

Gly Phe Thr Phe Lys Tyr Tyr Gly
 1 5

<210> 317

<211> 24

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<221> источник

<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 317

atttggtatg atggaagaaa taaa

24

<210> 318

<211> 8

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<221> источник

<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический пептид"

<400> 318
Ile Trp Tyr Asp Gly Arg Asn Lys
1 5

<210> 319
<211> 42
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 319
gcgagagatg gaggaacagc ggatggcgac tattttgact ac 42

<210> 320
<211> 14
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический пептид"

<400> 320
Ala Arg Asp Gly Gly Thr Ala Asp Gly Asp Tyr Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 321
<211> 324
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический полинуклеотид"

<400> 321
gaaatagttt tgacacagag tcccggcaca ctgtcactct ctcccgggga aagagccacc 60
ttgtcatgta gagcaagtca gtcagtctct agctcttatc tcgcctggta ccagcagaag 120
ccgggacagg cccctagact gctgatctac ggggcaagtt ccagggccac cggaatcccc 180
gaccggttca gtggaagcgg aagcgggaacc gattttactt tgacgatttc tagactggag 240
ccagaggatt tcgccgttta ctattgtcaa cagtacggaa gcagcccgtg gacgtttggc 300
cagggcacga aggtagaaat caag 324

<210> 322
<211> 108
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность

<220>

<221> источник
<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический полипептид"

<400> 322

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

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

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

Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu
65 70 75 80

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Pro
85 90 95

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

<210> 323

<211> 36

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<221> источник

<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 323

agagcaagtc agtcagtc tagctcttat ctcgcc

36

<210> 324

<211> 12

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<221> источник

<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический пептид"

<400> 324

Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser Tyr Leu Ala
1 5 10

<210> 325

<211> 21

<212> ДНК
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <221> источник
 <223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 325
 ggggcaagtt ccagggccac c 21

<210> 326
 <211> 7
 <212> БЕЛОК
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <221> источник
 <223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический пептид"

<400> 326
 Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr
 1 5

<210> 327
 <211> 27
 <212> ДНК
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <221> источник
 <223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 327
 caacagtacg gaagcagccc gtggacg 27

<210> 328
 <211> 9
 <212> БЕЛОК
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <221> источник
 <223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический пептид"

<400> 328
 Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Pro Trp Thr
 1 5

<210> 329
 <211> 366
 <212> ДНК
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <221> источник
 <223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический

полинуклеотид"

<400> 329
gaggtgcagc tgggtggagtc tggggggaggt ttggtacagc ctgggggggtc cctgagactc 60
tcctgtgtag gcactggatt cacctttagc aactatgcca tgagctgggt ccgccaggct 120
ccaggggaagg ggctggagtg ggtctcaggt attagtggta gaagtagtgg cacattctac 180
gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attcccagaa tacgctgtat 240
ctgcaaatga acagcctggg agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaagtttcc 300
cgttataact gggactacgt cccctttgac ttctggggcc agggaaccct ggtcacccgc 360
tcctca 366

<210> 330

<211> 122

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<221> источник

<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический полипептид"

<400> 330

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Val Gly Thr Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr
20 25 30

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

Ser Gly Ile Ser Gly Arg Ser Ser Gly Thr Phe Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Gln Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Gly Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Lys Val Ser Arg Tyr Asn Trp Asp Tyr Val Pro Phe Asp Phe Trp
100 105 110

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

<210> 331

<211> 24

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<221> источник

<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 331

ggattcacct ttagcaacta tgcc

24

<210> 332

<211> 8

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<221> источник

<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический пептид"

<400> 332

Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr Ala

1

5

<210> 333

<211> 24

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<221> источник

<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 333

attagtggtga gaagtagtgg caca

24

<210> 334

<211> 8

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<221> источник

<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический пептид"

<400> 334

Ile Ser Gly Arg Ser Ser Gly Thr

1

5

<210> 335

<211> 45

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<221> источник

<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 335
gcgaaagttt cccgttataa ctgggactac gtcccctttg acttc

45

<210> 336
<211> 15
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический пептид"

<400> 336
Ala Lys Val Ser Arg Tyr Asn Trp Asp Tyr Val Pro Phe Asp Phe
1 5 10 15

<210> 337
<211> 39
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Голый пептид AngPTL8 человека: аминокислоты 22-60"

<300>
<308> /примечание="База данных GenBank: NP_061157.3"

<400> 337
Ala Pro Met Gly Gly Pro Glu Leu Ala Gln His Glu Glu Leu Thr Leu
1 5 10 15

Leu Phe His Gly Thr Leu Gln Leu Gly Gln Ala Leu Asn Gly Val Tyr
20 25 30

Arg Thr Thr Glu Gly Arg Leu
35

<210> 338
<211> 26
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Смещенный голый пептид ANGPTL3 человека: аминокислоты 32-57"

<300>
<308> /примечание="База данных GenBank: NP_055310.1"

<400> 338
Glu Pro Lys Ser Arg Phe Ala Met Leu Asp Asp Val Lys Ile Leu Ala
1 5 10 15

Asn Gly Leu Leu Gln Leu Gly His Gly Leu
20 25

<210> 339
<211> 34
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Голый пептид ANGPTL4 человека: аминокислоты 34-67"

<300>
<308> /примечание="База данных GenBank: NP_001034756.1"

<400> 339
Arg Phe Ala Ser Trp Asp Glu Met Asn Val Leu Ala His Gly Leu Leu
1 5 10 15

Gln Leu Gly Gln Gly Leu Arg Glu His Ala Glu Arg Thr Arg Ser Gln
20 25 30

Leu Cys

<210> 340
<211> 413
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический
чANGPTL8-мFc ак 1-177: аминокислоты 22-198 из NP_061157.3
ак 178-413: полипептид с линкером GPG и маркером Fc IgG2a мыши"

<300>
<308> /примечание="База данных GenBank: NP_061157.3 (часть полноразмерной
последовательности) "

<400> 340
Ala Pro Met Gly Gly Pro Glu Leu Ala Gln His Glu Glu Leu Thr Leu
1 5 10 15

Leu Phe His Gly Thr Leu Gln Leu Gly Gln Ala Leu Asn Gly Val Tyr
20 25 30

Arg Thr Thr Glu Gly Arg Leu Thr Lys Ala Arg Asn Ser Leu Gly Leu
35 40 45

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

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

Glu Glu Glu Met Thr Lys Lys Gln Val Thr Leu Thr Cys Met Val Thr
 325 330 335

Asp Phe Met Pro Glu Asp Ile Tyr Val Glu Trp Thr Asn Asn Gly Lys
 340 345 350

Thr Glu Leu Asn Tyr Lys Asn Thr Glu Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly
 355 360 365

Ser Tyr Phe Met Tyr Ser Lys Leu Arg Val Glu Lys Lys Asn Trp Val
 370 375 380

Glu Arg Asn Ser Tyr Ser Cys Ser Val Val His Glu Gly Leu His Asn
 385 390 395 400

His His Thr Thr Lys Ser Phe Ser Arg Thr Pro Gly Lys
 405 410

<210> 341
 <211> 410
 <212> БЕЛОК
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <221> источник
 <223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический
 MfAngPTL8-mFc ак 1-177: аминокислоты 78-254 из
 XP_005588064.1 ак 178-410: полипептид с маркером Fc IgG2a мыши"

<300>
 <308> /примечание="База данных GenBank: XP_005588064.1 (часть полноразмерной
 последовательности) "

<400> 341
 Ala Pro Val Gly Ser Pro Glu Leu Ala Glu His Glu Glu Leu Thr Leu
 1 5 10 15

Leu Phe His Gly Thr Leu Gln Leu Gly Gln Ala Leu Asn Gly Val Tyr
 20 25 30

Lys Thr Thr Glu Gly Arg Leu Thr Lys Ala Arg Asn Ser Leu Gly Leu
 35 40 45

Tyr Gly Arg Thr Val Glu Leu Leu Gly Gln Glu Val Ser Arg Gly Arg
 50 55 60

Asp Ala Ala Gln Glu Leu Arg Ala Ser Leu Leu Glu Thr Gln Met Glu
 65 70 75 80

Glu Asp Ile Leu Gln Leu Lys Ala Glu Ala Ile Ala Glu Val Leu Glu
 85 90 95

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

Asn Tyr Lys Asn Thr Glu Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Tyr Phe
355 360 365

Met Tyr Ser Lys Leu Arg Val Glu Lys Lys Asn Trp Val Glu Arg Asn
370 375 380

Ser Tyr Ser Cys Ser Val Val His Glu Gly Leu His Asn His His Thr
385 390 395 400

Thr Lys Ser Phe Ser Arg Thr Pro Gly Lys
405 410

<210> 342

<211> 460

<212> БЕЛЮК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<221> источник

<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический
полипептид чANGPTL3"

<400> 342

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

<210> 343

<211> 1383

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<221> источник

<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический полинуклеотид чANGPTL3"

<400> 343

atgttcacaa ttaagctcct tctttttatt gttcctctag ttatttcctc cagaattgat	60
caagacaatt catcatttga ttctctatct ccagagccaa aatcaagatt tgctatgtta	120
gacgatgtaa aaatttttagc caatggcctc cttcagttgg gacatgggtct taaagacttt	180
gtccataaga cgaagggcca aattaatgac atattttcaaa aactcaacat atttgatcag	240
tctttttatg atctatcgct gcaaaccagt gaaatcaaag aagaagaaaa ggaactgaga	300
agaactacat ataaactaca agtcaaaaaat gaagaggtaa agaatatgtc acttgaactc	360
aactcaaaac ttgaaagcct cctagaagaa aaaattctac ttcaacaaaa agtgaaatat	420
ttagaagagc aactaactaa cttaattcaa aatcaacctg aaactccaga acaccagaa	480
gtaacttcac ttaaaaacttt tgtagaaaaa caagataata gcatcaaaga ctttctccag	540
accgtggaag accaatataa acaattaaac caacagcata gtcaaataaa agaaatagaa	600
aatcagctca gaaggactag tattcaagaa cccacagaaa tttctctatc ttccaagcca	660
agagcaccaa gaactactcc ctttcttcag ttgaatgaaa taagaaatgt aaaacatgat	720
ggcattcctg ctgaatgtac caccatttat aacagagggtg aacatacaag tggcatgtat	780
gccatcagac ccagcaactc tcaagttttt catgtctact gtgatgttat atcaggtagt	840
ccatggacat taattcaaca tcgaatagat ggatcacaaa acttcaatga aacgtgggag	900
aactacaaat atggtttttg gaggcttgat ggagaatttt ggttgggcct agagaagata	960
tactccatag tgaagcaatc taattatgtt ttacgaattg agttggaaga ctggaaagac	1020
aacaaacatt atattgaata ttcttttttac ttgggaaatc acgaaaccaa ctatacgcta	1080
catctagttg cgattactgg caatgtcccc aatgcaatcc cggaacaaa agatttggtg	1140

ttttctactt gggatcacaa agcaaaaagga cacttcaact gtccagaggg ttattcagga	1200
ggctgggtggt ggcgatgatga gtgtggagaa aacaacctaa atggtaaata taacaaacca	1260
agagcaaaat ctaagccaga gaggagaaga ggattatctt ggaagtctca aaatggaagg	1320
ttatactcta taaaatcaac caaaatgttg atccatccaa cagattcaga aagctttgaa	1380
tga	1383

<210> 344

<211> 406

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<221> источник

<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический полипептид чANGPTL4"

<400> 344

Met Ser Gly Ala Pro Thr Ala Gly Ala Ala Leu Met Leu Cys Ala Ala
1 5 10 15

Thr Ala Val Leu Leu Ser Ala Gln Gly Gly Pro Val Gln Ser Lys Ser
20 25 30

Pro Arg Phe Ala Ser Trp Asp Glu Met Asn Val Leu Ala His Gly Leu
35 40 45

Leu Gln Leu Gly Gln Gly Leu Arg Glu His Ala Glu Arg Thr Arg Ser
50 55 60

Gln Leu Ser Ala Leu Glu Arg Arg Leu Ser Ala Cys Gly Ser Ala Cys
65 70 75 80

Gln Gly Thr Glu Gly Ser Thr Asp Leu Pro Leu Ala Pro Glu Ser Arg
85 90 95

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

Asn Ser Arg Ile Gln Gln Leu Phe His Lys Val Ala Gln Gln Gln Arg
115 120 125

His Leu Glu Lys Gln His Leu Arg Ile Gln His Leu Gln Ser Gln Phe
130 135 140

Gly Leu Leu Asp His Lys His Leu Asp His Glu Val Ala Lys Pro Ala
145 150 155 160

Arg Arg Lys Arg Leu Pro Glu Met Ala Gln Pro Val Asp Pro Ala His

165

170

175

Asn Val Ser Arg Leu His Arg Leu Pro Arg Asp Cys Gln Glu Leu Phe
 180 185 190

Gln Val Gly Glu Arg Gln Ser Gly Leu Phe Glu Ile Gln Pro Gln Gly
 195 200 205

Ser Pro Pro Phe Leu Val Asn Cys Lys Met Thr Ser Asp Gly Gly Trp
 210 215 220

Thr Val Ile Gln Arg Arg His Asp Gly Ser Val Asp Phe Asn Arg Pro
 225 230 235 240

Trp Glu Ala Tyr Lys Ala Gly Phe Gly Asp Pro His Gly Glu Phe Trp
 245 250 255

Leu Gly Leu Glu Lys Val His Ser Ile Thr Gly Asp Arg Asn Ser Arg
 260 265 270

Leu Ala Val Gln Leu Arg Asp Trp Asp Gly Asn Ala Glu Leu Leu Gln
 275 280 285

Phe Ser Val His Leu Gly Gly Glu Asp Thr Ala Tyr Ser Leu Gln Leu
 290 295 300

Thr Ala Pro Val Ala Gly Gln Leu Gly Ala Thr Thr Val Pro Pro Ser
 305 310 315 320

Gly Leu Ser Val Pro Phe Ser Thr Trp Asp Gln Asp His Asp Leu Arg
 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> 345

<211> 1221
 <212> ДНК
 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 <221> источник
 <223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический полинуклеотид чANGPTL4"

<400> 345
 atgagcgggtg ctccgacggc cggggcagcc ctgatgctct gcgccgccac cgccgtgcta 60
 ctgagcgctc agggcggaacc cgtgcagtcc aagtcgccgc gctttgcgtc ctgggacgag 120
 atgaatgtcc tggcgcacgg actcctgcag ctccggccagg ggctgcgcga acacgcggag 180
 cgcacccgca gtcagctgag cgcgctggag cggcgcctga gcgcgtgcgg gtccgcctgt 240
 cagggaaaccg aggggtccac cgacctcccg ttagcccctg agagccgggt ggacctgag 300
 gtccttcaca gcctgcagac acaactcaag gctcagaaca gcaggatcca gcaactcttc 360
 cacaaggtgg cccagcagca gcggcacctg gagaagcagc acctgcgaat tcagcatctg 420
 caaagccagt ttggcctcct ggaccacaag cacctagacc atgaggtggc caagcctgcc 480
 cgaagaaaga ggctgcccga gatggcccag ccagttgacc cggctcaca tgctagccgc 540
 ctgcaccggc tgccagggga ttgccaggag ctgttccagg ttggggagag gcagagtggg 600
 ctatttgaaa tccagcctca ggggtctccg ccatttttgg tgaactgcaa gatgacctca 660
 gatggaggct ggacagtaat tcagaggcgc cacgatggct cagtggactt caaccggccc 720
 tgggaagcct acaaggcggg gtttggggat cccacggcg agttctggct gggctctggag 780
 aaggtgcata gcatcacggg ggaccgcaac agccgcctgg ccgtgcagct gcgggactgg 840
 gatggcaacg ccgagttgct gcagttctcc gtgcacctgg gtggcgagga cacggcctat 900
 agcctgcagc tcaactgcacc cgtggccggc cagctgggcg ccaccaccgt cccaccagc 960
 ggctctctcg tacccttctc cacttgggac caggatcacg acctccgag ggacaagaac 1020
 tgcgccaaga gcctctctgg aggctggtgg tttggcacct gcagccattc caacctcaac 1080
 ggccagtact tccgtccat cccacagcag cggcagaagc ttaagaaggg aatcttctgg 1140
 aagacctggc ggggccgcta ctaccgctg caggccacca ccatgttgat ccagcccatg 1200
 gcagcagagg cagcctccta g 1221

<210> 346
 <211> 6
 <212> БЕЛОК
 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 <221> источник
 <223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический пептид"
 <400> 346

Cys Gly Gly Cys Gly Gly
1 5

<210> 347

<211> 177

<212> БЕЛОК

<213> Homo sapiens

<400> 347

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

Leu Phe His Gly Thr Leu Gln Leu Gly Gln Ala Leu Asn Gly Val Tyr
20 25 30

Arg Thr Thr Glu Gly Arg Leu Thr Lys Ala Arg Asn Ser Leu Gly Leu
35 40 45

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

Asp Ala Ala Gln Glu Leu Arg Ala Ser Leu Leu Glu Thr Gln Met Glu
65 70 75 80

Glu Asp Ile Leu Gln Leu Gln Ala Glu Ala Thr Ala Glu Val Leu Gly
85 90 95

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

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

Glu Val Leu Lys Ala His Ala Asp Lys Gln Ser His Ile Leu Trp Ala
130 135 140

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

His Arg Leu Arg Gln Ile Gln Glu Arg Leu His Thr Ala Ala Leu Pro
165 170 175

Ala

<210> 348

<211> 15

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<221> источник
<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический пептид"

<400> 348
Ala Pro Met Gly Gly Pro Glu Leu Ala Gln His Glu Glu Leu Thr
1 5 10 15

<210> 349
<211> 15
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический пептид"

<400> 349
Pro Met Gly Gly Pro Glu Leu Ala Gln His Glu Glu Leu Thr Leu
1 5 10 15

<210> 350
<211> 15
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический пептид"

<400> 350
Met Gly Gly Pro Glu Leu Ala Gln His Glu Glu Leu Thr Leu Leu
1 5 10 15

<210> 351
<211> 15
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический пептид"

<400> 351
Gly Gly Pro Glu Leu Ala Gln His Glu Glu Leu Thr Leu Leu Phe
1 5 10 15

<210> 352
<211> 15
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический пептид"

<400> 352
Gly Pro Glu Leu Ala Gln His Glu Glu Leu Thr Leu Leu Phe His
1 5 10 15

<210> 353
<211> 15
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический пептид"

<400> 353
Pro Glu Leu Ala Gln His Glu Glu Leu Thr Leu Leu Phe His Gly
1 5 10 15

<210> 354
<211> 15
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический пептид"

<400> 354
Glu Leu Ala Gln His Glu Glu Leu Thr Leu Leu Phe His Gly Thr
1 5 10 15

<210> 355
<211> 15
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический пептид"

<400> 355
Leu Ala Gln His Glu Glu Leu Thr Leu Leu Phe His Gly Thr Leu
1 5 10 15

<210> 356
<211> 15
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический пептид"

<400> 356
Ala Gln His Glu Glu Leu Thr Leu Leu Phe His Gly Thr Leu Gln
1 5 10 15

<210> 357
 <211> 15
 <212> БЕЛОК
 <213> Искусственная последовательность

 <220>
 <221> источник
 <223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический пептид"

 <400> 357
 Gln His Glu Glu Leu Thr Leu Leu Phe His Gly Thr Leu Gln Leu
 1 5 10 15

 <210> 358
 <211> 15
 <212> БЕЛОК
 <213> Искусственная последовательность

 <220>
 <221> источник
 <223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический пептид"

 <400> 358
 Thr Ala Glu Val Leu Gly Glu Val Ala Ala Gly Gln Lys Val Leu
 1 5 10 15

 <210> 359
 <211> 15
 <212> БЕЛОК
 <213> Искусственная последовательность

 <220>
 <221> источник
 <223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический пептид"

 <400> 359
 Val Tyr Arg Thr Thr Glu Gly Arg Leu Ala Ala Ala Arg Asn Ser
 1 5 10 15

 <210> 360
 <211> 15
 <212> БЕЛОК
 <213> Искусственная последовательность

 <220>
 <221> источник
 <223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический пептид"

 <400> 360
 Gly Val Tyr Arg Thr Thr Glu Gly Arg Ala Ala Lys Ala Arg Asn
 1 5 10 15

 <210> 361
 <211> 15
 <212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<221> источник

<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический пептид"

<400> 361

Val	Gln	Arg	Leu	Glu	Val	Gln	Leu	Arg	Ala	Gly	Trp	Leu	Gly	Pro
1				5					10					15

<210> 362

<211> 15

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<221> источник

<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический пептид"

<400> 362

Leu	Thr	Gly	His	Val	Gln	Arg	Gln	Arg	Ala	Ala	Met	Val	Ala	Gln
1				5					10					15

<210> 363

<211> 15

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<221> источник

<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический пептид"

<400> 363

Val	Leu	Lys	Ala	His	Ala	Asp	Lys	Gln	Ala	Ala	Ile	Leu	Trp	Ala
1				5					10					15

<210> 364

<211> 15

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<221> источник

<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический пептид"

<400> 364

Leu	Arg	Asp	Ser	Val	Gln	Arg	Leu	Glu	Ala	Ala	Leu	Arg	Ser	Ala
1				5					10					15

<210> 365

<211> 15

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<221> источник

<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический пептид"

<400> 365

Arg	Arg	Glu	Met	Val	Ala	Gln	Gln	His	Ala	Ala	Arg	Gln	Ile	Gln
1				5				10					15	

<210> 366

<211> 15

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<221> источник

<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический пептид"

<400> 366

Val	Ser	Arg	Gly	Arg	Asp	Ala	Ala	Gln	Ala	Ala	Arg	Ala	Ser	Leu
1				5				10					15	

<210> 367

<211> 15

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<221> источник

<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический пептид"

<400> 367

Ala	Tyr	Arg	Glu	Phe	Glu	Val	Leu	Lys	Gly	Ala	Ala	Asp	Lys	Gln
1				5				10					15	

<210> 368

<211> 10

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<221> источник

<223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический пептид"

<400> 368

Gln	Arg	Gln	Arg	Arg	Glu	Met	Val	Ala	Gln
1				5				10	

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое связывает тот же эпитоп на ANGPTL8, что и эталонное антитело, и/или конкурирует за связывание ANGPTL8 с эталонным антителом, при этом эталонное антитело содержит домены HCDR1/HCDR2/HCDR3/LCDR1/LCDR2/LCDR3, имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 164/166/168/172/174/176 или 316/318/320/324/326/328, соответственно.

2. Антитело по п. 1, которое:

a) содержит домены HCDR1/HCDR2/HCDR3/LCDR1/LCDR2/LCDR3, имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 164/166/168/172/174/176, и связывает специфически эпитоп, приведенный в SEQ ID NO: 368; или

b) содержит домены HCDR1/HCDR2/HCDR3/LCDR1/LCDR2/LCDR3, имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 316/318/320/324/326/328, и связывает специфически линейный эпитоп в N-концевой области человеческого ANGPTL8, приведенный в SEQ ID NO: 348.

3. Антитело по п. 1, при этом эталонное антитело:

a) представляет собой полностью человеческое моноклональное антитело;

b) не связывает N-концевую биспиральную область пептида человеческого ANGPTL3 с SEQ ID NO: 338 или N-концевую биспиральную область пептида человеческого ANGPTL4 с SEQ ID NO: 339;

c) связывает человеческий ANGPTL8 при 25°C с величиной K_D менее примерно 150 пМ и связывает обезьяний ANGPTL3 при 25°C с величиной K_D менее примерно 90 пМ при измерении методом поверхностного плазмонного резонанса;

d) вызывает снижение уровней триглицеридов у млекопитающего на примерно 68% при подкожном введении в дозе примерно 10 мг/кг;

e) вызывает снижение уровней триглицеридов у млекопитающего на период времени примерно от 7 дней до 21 дня при подкожном введении в диапазоне доз от примерно 5 мг/кг до примерно 25 мг/кг;

f) содержит переменную область тяжелой цепи (HCVR), имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 162 или 314;

g) содержит переменную область легкой цепи (LCVR), имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 170 или 322; или

h) перекрестно конкурирует с эталонным антителом, при этом эталонное антитело содержит аминокислотную последовательность переменной области тяжелой цепи (HCVR) и переменной области легкой цепи (LCVR), выбранную из группы, состоящей из любых аминокислотных последовательностей HCVR и LCVR в Таблице 1.

4. Антитело по любому из пунктов 1-3, которое представляет собой человеческое антитело, полученное методами рекомбинантной ДНК.

5. Выделенная молекула нуклеиновой кислоты, кодирующая антитело, или его антигенсвязывающий фрагмент, которое связывает специфически человеческий ANGPTL8, при этом антитело, или его антигенсвязывающий фрагмент, содержит (a) определяющие комплементарность области (CDR) переменной области тяжелой цепи (HCVR), имеющей аминокислотную последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 162 или 314; или (b) области CDR переменной области легкой цепи (LCVR), имеющей аминокислотную последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 170 или 322.

6. Фармацевтическая композиция, содержащая антитело, или его антигенсвязывающий фрагмент, по любому из пунктов 1-4 и фармацевтически приемлемый носитель или разбавитель.

7. Способ ингибирования активности ANGPTL8 у пациента, который нуждается в этом, включающий введение любого одного или более из антител, или их антигенсвязывающих фрагментов, по любому из пунктов 1-4, или фармацевтической композиции, содержащей любое одно или более из антител, или их антигенсвязывающих фрагментов, по любому из пунктов 1-4, пациенту, при этом по меньшей мере одна активность ANGPTL8 снижается или уменьшается.

8. Способ по п. 7, отличающийся тем, что введение приводит к снижению уровней триглицеридов в крови у пациента.

9. Способ лечения заболевания или состояния, частично связанного с повышенными уровнями активности ANGPTL8, включающий введение ингибитора/антагониста ANGPTL8, при этом ингибитор/антагонист ANGPTL8 представляет собой антитело, или его антигенсвязывающий фрагмент, специфичное для ANGPTL8.

10. Способ по п. 9, отличающийся тем, что антитело, или его антигенсвязывающий фрагмент, специфичное для ANGPTL8, содержит последовательности HCVR/LCVR, приведенные в SEQ ID NOs:162/170 или 314/322.

11. Способ лечения состояния или заболевания, частично связанного с, или характеризующегося, высокими уровнями триглицеридов в крови, либо по меньшей мере одного симптома или осложнения, ассоциированного с состоянием или заболеванием, включающий введение антитела, или его антигенсвязывающего фрагмента, по любому из пунктов 1-4 или фармацевтической композиции по п. 6 пациенту, который нуждается в этом, в результате чего уровни триглицеридов в крови снижаются, либо состояние или заболевание облегчается, либо уменьшается частота проявления или тяжесть по меньшей мере одного симптома или осложнения, ассоциированного с состоянием или заболеванием.

12. Способ по п. 11, отличающийся тем, что состояние или заболевание выбирают из группы, состоящей из гиперлипидемии, гиперлипопротеинемии, дислипидемии (атерогенной дислипидемии, диабетической дислипидемии, смешанной дислипидемии), гипертриглицеридемии, тяжелой гипертриглицеридемии с уровнем ТГ >1000 мг/дл и сопутствующим острым панкреатитом, гиперхолестеринемии, хиломикронемии, ожирения, метаболического синдрома, диабета, липодистрофии, липоатрофии, которые являются следствием, или вызваны, изменением ApoC2, дефицитом ApoE, повышением уровней ApoB, увеличением продуцирования и/или уменьшением элиминации липопротеинов очень низкой плотности (ЛОНП), неалкогольным стеатогепатитом (НАСГ), лечением некоторыми лекарственными средствами (например, вызываемая лечением глюкокортикоидами дислипидемия), а также любой генетической предрасположенностью, диетой или образом жизни, приводящими к повышению уровней триглицеридов или липидов.

13. Способ по п. 11, отличающийся тем, что состояние или заболевание представляет собой сердечно-сосудистое заболевание или нарушение, выбранное из группы, состоящей из атеросклероза, аневризмы, гипертензии, стенокардии, инсульта, цереброваскулярных заболеваний, застойной сердечной недостаточности, болезней коронарных артерий, инфаркта миокарда и болезней периферических сосудов.

14. Способ по п. 11, отличающийся тем, что фармацевтическую композицию вводят пациенту в сочетании с вторым терапевтическим средством.

15. Способ по п. 14, отличающийся тем, что второе терапевтическое средство выбирают из группы, состоящей из: ингибиторов 3-гидрокси-3-метилглутарил-кофермент А (HMG-CoA) редуктазы; ингибиторов аполипопротеина С-III; ингибиторов поглощения холестерина и/или повторного поглощения желчных кислот; ниацина; фибратов или амфипатических карбоновых кислот; активаторов фактора транскрипции LXR (например, 22-гидроксихолестерина); или фиксированных комбинаций (например, эзетимиб плюс симвастатин); статина с секвестрантом желчных кислот (например, холестирамин, колестипол, колесевилам), фиксированной комбинации ниацин плюс статин (например, ниацин с ловастатином) и других снижающих уровень липидов средств (например, этиловых эфиров омега-3-жирных кислот).

16. Способ по п. 15, отличающийся тем, что ингибитор HMG-CoA редуктазы выбирают из группы, состоящей из церивастатина, аторвастатина, симвастатина, питавастатина, розувастатина, флувастатина, ловастатина и правастатина.

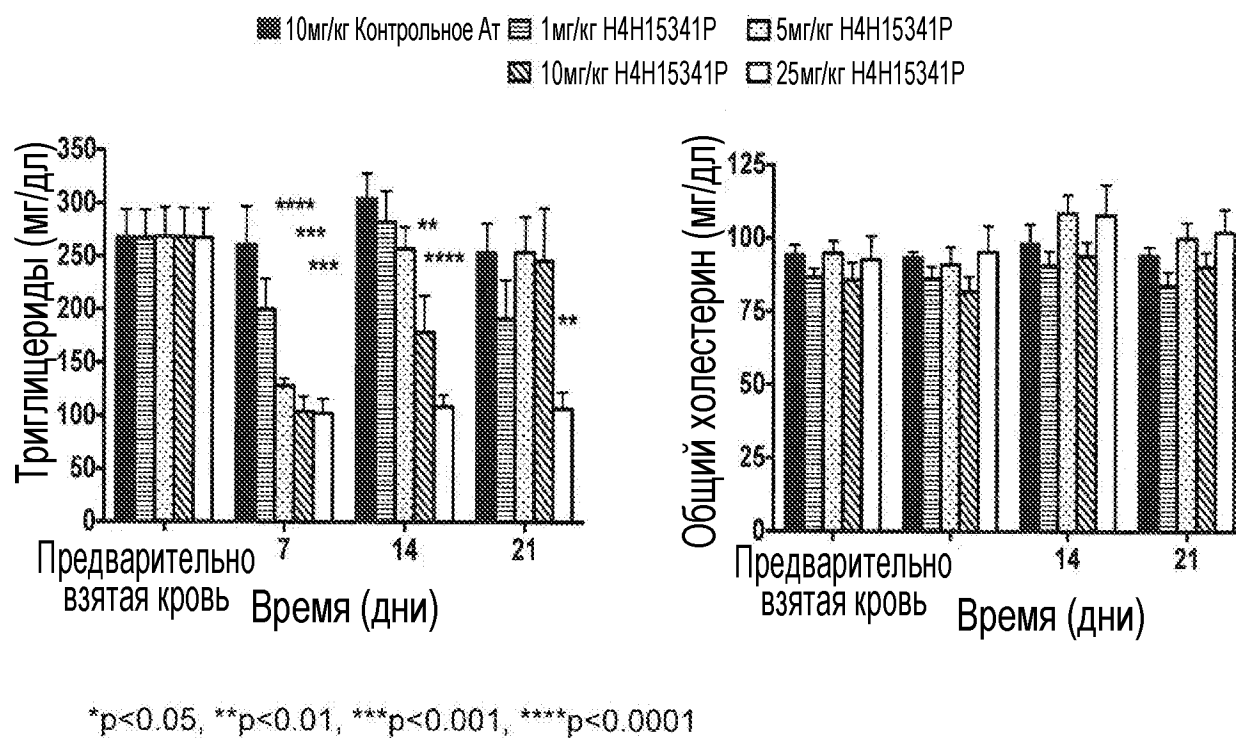
17. Способ по п. 14, отличающийся тем, что второе терапевтическое средство выбирают из группы, состоящей из выделенного антитела, или его антигенсвязывающего фрагмента, которое специфически связывает ангиопоэтин-подобный белок 3 (ANGPTL3), ангиопоэтин-подобный белок 4 (ANGPTL4), ангиопоэтин-подобный белок 5 (ANGPTL5), ангиопоэтин-подобный белок 6 (ANGPTL6) и человеческий пробелок конвертазы субтилизин/кексин типа 9 (PCSK9).

18. Способ по п. 14, отличающийся тем, что второе

терапевтическое средство выбирают из группы, состоящей из инсулина, аналога инсулина, бигуанида (метформин), сульфонилмочевины (например, глибурид, глипизид), агониста рецепторов PPAR-гамма (например, пиоглитазон, розиглитазон), ингибитора альфа-глюкозидазы (например, акарбоза, воглибоз), агониста рецепторов глюкагонподобного пептида 1 (GLP-1) (например, баета® (эксенатид), трулисити™ (дулаглутид), виктоза® (лираглутид), ликсумия® (ликсисенатид), танзеум™ (албиглутид), либо аналога любого из вышеперечисленных, ингибитора дипептидилпептидазы IV (DPP-4) (например, саксаглиптин (онглиза®), ситалиптин (янувия®) и вилдаглиптин (галвус®)), ингибитора натрий-глюкозного котранспортера 2 (SGLT2) (например, инвокана™ (канаглифлозин), форксига® (дапаглифлозин), эмпаглифлозин, ипраглифлозин, тофоглифлозин)), симлина® (прамлинтид), антагониста рецепторов глюкагона, несульфонилмочевинного секретатога, аналога инсулина (например, препараты быстрого действия лиспро, аспарт, глулизин и препараты длительного действия инсулин детемир, инсулин деглудек или инсулин гларгин), полипептидов эксендина-4, агонистов бета-3 адренорецепторов, ингибиторов поглощения холестерина и/или повторного поглощения желчных кислот, антагонистов ЛНП-холестерина, антагонистов белка-переносчика холестеринных эфиров (например, торцетрапиб, анацетрапиб, далцетрапиб или эвацетрапиб), антагонистов рецепторов эндотелина, антагонистов гормона роста, сенсibilизаторов инсулина, миметиков или агонистов амилина, антагонистов каннабиноидных рецепторов, меланокортинов, агонистов рецепторов меланинконцентрирующего гормона, СИОЗСН, миметика фактора роста фибробластов 21 (FGF21), агониста рецепторов 1с фактора роста фибробластов (FGFR1с), ингибитора образования конечного продукта усиленного гликозилирования (например, аминогуанидин) и ингибиторов протеин-тирозин фосфатазы.

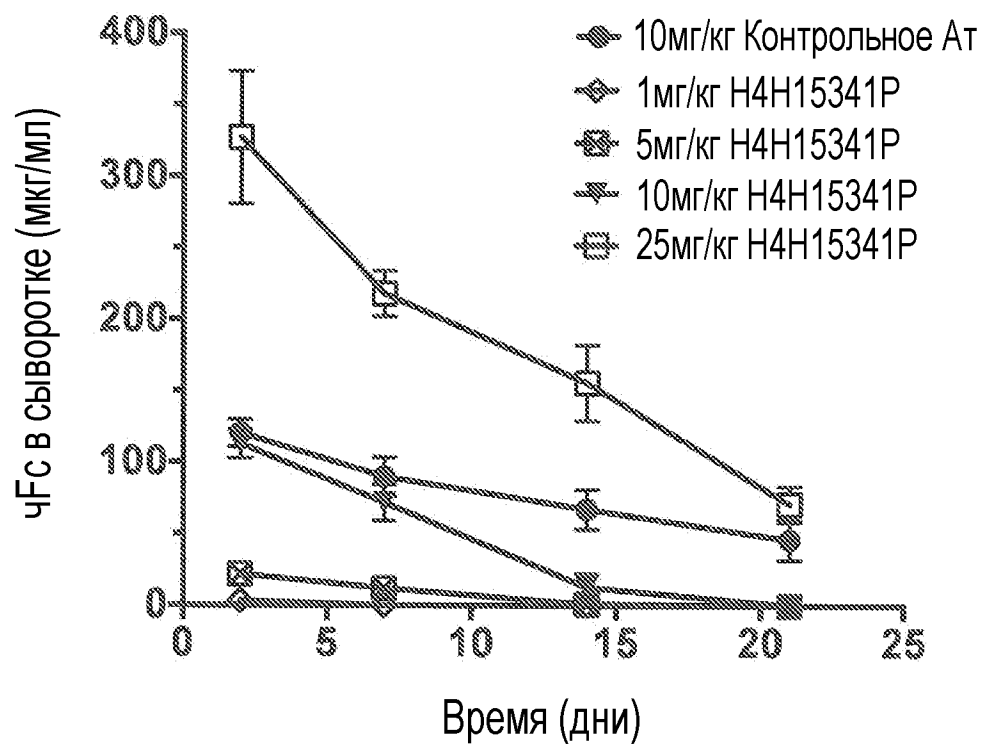
19. Способ по п. 14, отличающийся тем, что второе терапевтическое средство представляет собой анальгетическое или противовоспалительное средство.

По доверенности

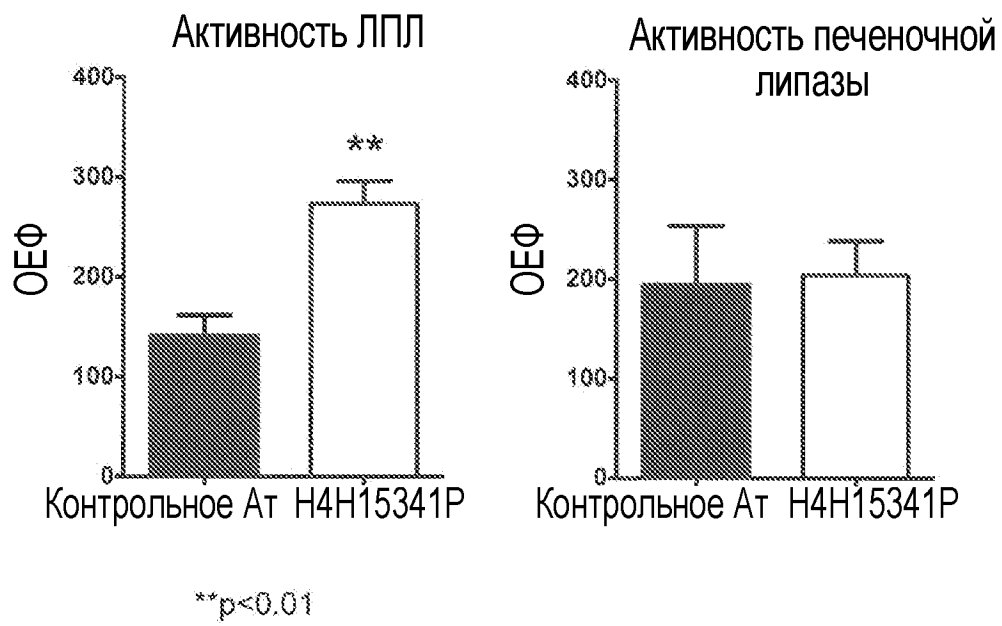


ФИГ. 1

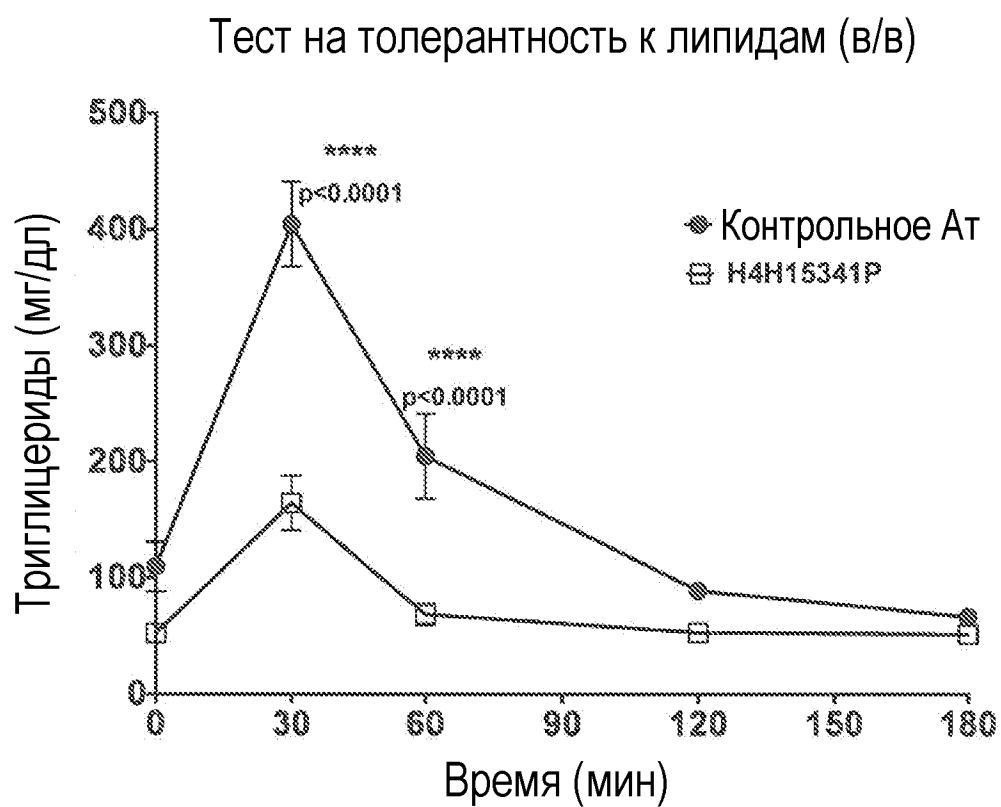
Сывороточные Ат



ФИГ. 2



ФИГ. 3



ФИГ. 4