(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2025-0075586
(43) 공개일자 2025년05월28일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07K 16/28 (2006.01) *A61K 38/00* (2006.01)
A61P 1/16 (2006.01) *A61P 3/04* (2006.01)
A61P 3/10 (2006.01) *C07K 14/50* (2024.01)
(52) CPC특허분류
C07K 16/2869 (2013.01)
A61K 38/00 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2025-7010514
(22) 출원일자(국제) 2023년09월08일
심사청구일자 없음
(85) 번역문제출일자 2025년03월31일
(86) 국제출원번호 PCT/CN2023/117637
(87) 국제공개번호 WO 2024/051802
국제공개일자 2024년03월14일
(30) 우선권주장
202211098122.X 2022년09월08일 중국(CN)

(71) 출원인
지맥스 바이오팜 엘엘씨
중국 저장 310052 항저우 빈장구 구의로드 288 빌딩 넘버 2 302호
(72) 발명자
왕 시아오펭
중국 310052 저장 항저우 빈장 디스트릭트 치우이로드 288 빌딩 2 플로어 3 룸 302
장 후아
중국 310052 저장 항저우 빈장 디스트릭트 치우이로드 288 빌딩 2 플로어 3 룸 302
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
김진희, 신윤숙, 이원천, 김태홍

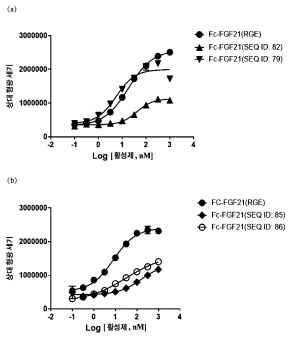
전체 청구항 수 : 총 47 항

(54) 발명의 명칭 **GIPR 항체, 이의 FGF21과의 융합 단백질, 이의 약학 조성물 및 이의 용도**

(57) 요 약

GIPR 항체, 이의 FGF21과의 융합 단백질, 이의 약학 조성물 및 이의 용도가 제공된다. 또한 GIPR 항체 및 이의 FGF21과의 융합 단백질을 비알코올성 지방간 질환, 비알코올성 지방간염, 비만 또는 2형 당뇨병의 하나 또는 복수의 증상을 치료, 예방 또는 개선하는 방법이 제공된다.

대 표 도



(52) CPC특허분류
A61P 1/16 (2018.01)
A61P 3/04 (2018.01)
A61P 3/10 (2018.01)
C07K 14/50 (2024.01)
C07K 2317/33 (2013.01)
C07K 2317/565 (2013.01)
C07K 2317/92 (2013.01)
C07K 2319/00 (2013.01)
(72) 발명자
장 쳉
중국 310052 저장 항저우 빈장 디스트릭트 치우이 로드 288 빌딩 2 플로어 3 룸 302

징 슈치안
중국 310052 저장 항저우 빈장 디스트릭트 치우이 로드 288 빌딩 2 플로어 3 룸 302

명 세 서

청구범위

청구항 1

인간 GIPR에 특이적으로 결합할 수 있는 항체로서, 여기서 항체는 1개, 2개, 3개, 4개, 5개 또는 6개의 아미노산 서열을 포함하고, 각 아미노산 서열은 하기 나열된 아미노산 서열로부터 독립적으로 선택되는 것인 항체:

a. 경쇄 CDR1 아미노산 서열: 서열 번호 1, 서열 번호 5, 서열 번호 6, 서열 번호 7, 서열 번호 8, 서열 번호 9, 서열 번호 10 및 서열 번호 11;

b. 경쇄 CDR2 아미노산 서열: YAS, 서열 번호 2;

c. 경쇄 CDR3 아미노산 서열: 서열 번호 3 및 서열 번호 4;

d. 중쇄 CDR1 아미노산 서열: 서열 번호 12;

e. 중쇄 CDR2 아미노산 서열: 서열 번호 13; 및

f. 중쇄 CDR3 아미노산 서열: 서열 번호 14.

청구항 2

제1항에 있어서, 항체는 1개 또는 2개의 아미노산 서열을 포함하고, 각 아미노산 서열은 하기 나열된 아미노산 서열로부터 독립적으로 선택되는 것인 항체:

a. 경쇄 CDR1 아미노산 서열: 서열 번호 1, 서열 번호 5, 서열 번호 6, 서열 번호 7, 서열 번호 8, 서열 번호 9, 서열 번호 10 및 서열 번호 11; 및

b. 중쇄 CDR1 아미노산 서열: 서열 번호 12.

청구항 3

제1항 또는 제2항에 있어서, 항체는 1개 또는 2개의 아미노산 서열을 포함하거나 또는 추가로 포함하고, 각 아미노산 서열은 하기 나열된 아미노산 서열로부터 독립적으로 선택되는 것인 항체:

a. 경쇄 CDR2 아미노산 서열: YAS, 서열 번호 2; 및

b. 중쇄 CDR2 아미노산 서열: 서열 번호 13.

청구항 4

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, 항체는 1개 또는 2개의 아미노산 서열을 포함하거나 또는 추가로 포함하고, 각 아미노산 서열은 하기 나열된 아미노산 서열로부터 독립적으로 선택되는 것인 항체:

a. 경쇄 CDR3 아미노산 서열: 서열 번호 3 및 서열 번호 4; 및

b. 중쇄 CDR3 아미노산 서열: 서열 번호 14.

청구항 5

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서, 항체는 1개 또는 2개의 아미노산 서열을 포함하거나 또는 추가로 포함하고, 각 아미노산 서열은 하기 나열된 아미노산 서열로부터 독립적으로 선택되는 것인 항체: 서열 번호 1, YAS, 서열 번호 2, 서열 번호 3, 서열 번호 4, 서열 번호 5, 서열 번호 6, 서열 번호 7, 서열 번호 8, 서열 번호 9, 서열 번호 10 및 서열 번호 11.

청구항 6

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 항체는 1개 또는 2개의 아미노산 서열을 포함하거나 또는 추가로 포함하고, 각 아미노산 서열은 하기 나열된 아미노산 서열로부터 독립적으로 선택되는 것인 항체: 서열 번호 12,

서열 번호 13 및 서열 번호 14.

청구항 7

제1항 내지 제6항 중 어느 한 항에 있어서, 항체는 하기 목록으로부터 독립적으로 선택되는 경쇄 및 중쇄 CDR1 아미노산 서열의 조합을 포함하거나 또는 추가로 포함하는 것인 항체: 서열 번호 1 및 서열 번호 12, 서열 번호 5 및 서열 번호 12, 서열 번호 6 및 서열 번호 12, 서열 번호 7 및 서열 번호 12, 서열 번호 8 및 서열 번호 12, 서열 번호 9 및 서열 번호 12, 서열 번호 10 및 서열 번호 12, 및 서열 번호 11 및 서열 번호 12.

청구항 8

제1항 내지 제7항 중 어느 한 항에 있어서, 항체는 하기 목록으로부터 독립적으로 선택되는 경쇄 및 중쇄 CDR2 아미노산 서열의 조합을 포함하거나 또는 추가로 포함하는 것인 항체: 서열 번호 2 및 서열 번호 13, 및 YAS 및 서열 번호 13.

청구항 9

제1항 내지 제8항 중 어느 한 항에 있어서, 항체는 하기 목록으로부터 독립적으로 선택되는 경쇄 및 중쇄 CDR3 아미노산 서열의 조합을 포함하거나 또는 추가로 포함하는 것인 항체: 서열 번호 3 및 서열 번호 14 및 서열 번호 4 및 서열 번호 14.

청구항 10

제1항 내지 제9항 중 어느 한 항에 있어서, 항체는 하기를 포함하는 것인 항체:

(a) 경쇄 CDR1 아미노산 서열: 서열 번호 1;

경쇄 CDR2 아미노산 서열: YAS, 서열 번호 2;

경쇄 CDR3 아미노산 서열: 서열 번호 3;

중쇄 CDR1 아미노산 서열: 서열 번호 12;

중쇄 CDR2 아미노산 서열: 서열 번호 13; 및

중쇄 CDR3 아미노산 서열: 서열 번호 14;

(b) 경쇄 CDR1 아미노산 서열: 서열 번호 5;

경쇄 CDR2 아미노산 서열: YAS, 서열 번호 2;

경쇄 CDR3 아미노산 서열: 서열 번호 3;

중쇄 CDR1 아미노산 서열: 서열 번호 12;

중쇄 CDR2 아미노산 서열: 서열 번호 13; 및

중쇄 CDR3 아미노산 서열: 서열 번호 14;

(c) 경쇄 CDR1 아미노산 서열: 서열 번호 6;

경쇄 CDR2 아미노산 서열: YAS, 서열 번호 2;

경쇄 CDR3 아미노산 서열: 서열 번호 3;

중쇄 CDR1 아미노산 서열: 서열 번호 12;

중쇄 CDR2 아미노산 서열: 서열 번호 13; 및

중쇄 CDR3 아미노산 서열: 서열 번호 14;

(d) 경쇄 CDR1 아미노산 서열: 서열 번호 1;

경쇄 CDR2 아미노산 서열: YAS, 서열 번호 2;

경쇄 CDR3 아미노산 서열: 서열 번호 4;

중쇄 CDR1 아미노산 서열: 서열 번호 12;

중쇄 CDR2 아미노산 서열: 서열 번호 13; 및

중쇄 CDR3 아미노산 서열: 서열 번호 14;

(e) 경쇄 CDR1 아미노산 서열: 서열 번호 7;

경쇄 CDR2 아미노산 서열: YAS, 서열 번호 2;

경쇄 CDR3 아미노산 서열: 서열 번호 3;

중쇄 CDR1 아미노산 서열: 서열 번호 12;

중쇄 CDR2 아미노산 서열: 서열 번호 13; 및

중쇄 CDR3 아미노산 서열: 서열 번호 14;

(f) 경쇄 CDR1 아미노산 서열: 서열 번호 8;

경쇄 CDR2 아미노산 서열: YAS, 서열 번호 2;

경쇄 CDR3 아미노산 서열: 서열 번호 3;

중쇄 CDR1 아미노산 서열: 서열 번호 12;

중쇄 CDR2 아미노산 서열: 서열 번호 13; 및

중쇄 CDR3 아미노산 서열: 서열 번호 14;

(g) 경쇄 CDR1 아미노산 서열: 서열 번호 9;

경쇄 CDR2 아미노산 서열: YAS, 서열 번호 2;

경쇄 CDR3 아미노산 서열: 서열 번호 3;

중쇄 CDR1 아미노산 서열: 서열 번호 12;

중쇄 CDR2 아미노산 서열: 서열 번호 13; 및

중쇄 CDR3 아미노산 서열: 서열 번호 14;

(h) 경쇄 CDR1 아미노산 서열: 서열 번호 10;

경쇄 CDR2 아미노산 서열: YAS, 서열 번호 2;

경쇄 CDR3 아미노산 서열: 서열 번호 3;

중쇄 CDR1 아미노산 서열: 서열 번호 12;

중쇄 CDR2 아미노산 서열: 서열 번호 13; 및

중쇄 CDR3 아미노산 서열: 서열 번호 14;

(i) 경쇄 CDR1 아미노산 서열: 서열 번호 11;

경쇄 CDR2 아미노산 서열: YAS, 서열 번호 2;

경쇄 CDR3 아미노산 서열: 서열 번호 3;

중쇄 CDR1 아미노산 서열: 서열 번호 12;

중쇄 CDR2 아미노산 서열: 서열 번호 13; 및

중쇄 CDR3 아미노산 서열: 서열 번호 14.

청구항 11

제1항 내지 제10항 중 어느 한 항에 있어서, 항체는 1개 또는 2개의 아미노산 서열을 포함하고, 각 아미노산 서열은 하기 나열된 아미노산 서열로부터 독립적으로 선택되는 것인 항체:

a. 경쇄 가변 도메인 아미노산 서열: 서열 번호 29, 서열 번호 30, 서열 번호 31, 서열 번호 32, 서열 번호 33, 서열 번호 34, 서열 번호 35, 서열 번호 36, 및 서열 번호 37; 및 임의의 상기 서열과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 또는 적어도 95% 동일한 아미노산 서열; 및

b. 중쇄 가변 도메인 아미노산 서열: 서열번호 38; 및 이와 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90% 또는 적어도 95% 동일한 아미노산 서열.

청구항 12

제1항 내지 제11항 중 어느 한 항에 있어서, 항체의 폴리뉴클레오티드 코딩 서열은 1개 또는 2개의 폴리뉴클레오티드 서열을 포함하고, 각 폴리뉴클레오티드 서열은 하기 나열된 폴리뉴클레오티드 서열로부터 독립적으로 선택되는 것인 항체:

a. 경쇄 가변 도메인 폴리뉴클레오티드 코딩 서열: 서열 번호 39, 서열 번호 40, 서열 번호 41, 서열 번호 42, 서열 번호 43, 서열 번호 44, 서열 번호 45, 서열 번호 46 및 서열 번호 47; 및 임의의 상기 서열과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 또는 적어도 95% 동일한 폴리뉴클레오티드 서열; 및

b. 중쇄 가변 도메인 폴리뉴클레오티드 코딩 서열: 서열번호 48; 및 이와 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90% 또는 적어도 95% 동일한 폴리뉴클레오티드 서열.

청구항 13

제1항 내지 제12항 중 어느 한 항에 있어서, 항체는 하기 목록으로부터 독립적으로 선택되는 아미노산 서열을 포함하거나 또는 추가로 포함하는 것인 항체: 서열 번호 29, 서열 번호 30, 서열 번호 31, 서열 번호 32, 서열 번호 33, 서열 번호 34, 서열 번호 35, 서열 번호 36 및 서열 번호 37.

청구항 14

제1항 내지 제13항 중 어느 한 항에 있어서, 항체는 하기 목록으로부터 독립적으로 선택되는 아미노산 서열을 포함하거나 또는 추가로 포함하는 것인 항체: 서열 번호 38.

청구항 15

제1항 내지 제14항 중 어느 한 항에 있어서, 항체는 하기 목록으로부터 독립적으로 선택되는 경쇄 및 중쇄 가변 영역 아미노산 서열의 조합을 포함하는 것인 항체: 서열 번호 29 및 서열 번호 38, 서열 번호 30 및 서열 번호 38, 서열 번호 31 및 서열 번호 38, 서열 번호 32 및 서열 번호 38, 서열 번호 33 및 서열 번호 38, 서열 번호 34 및 서열 번호 38, 서열 번호 35 및 서열 번호 38, 서열 번호 36 및 서열 번호 38, 및 서열 번호 37 및 서열 번호 38.

청구항 16

제15항에 있어서, 항체는 하기 목록으로부터 독립적으로 선택되는 아미노산 서열을 포함하거나 또는 추가로 포함하는 것인 항체: 서열 번호 29, 서열 번호 30, 서열 번호 31, 서열 번호 32, 서열 번호 33, 서열 번호 34, 서열 번호 35, 서열 번호 36, 서열 번호 37 및 서열 번호 38.

청구항 17

제16항에 있어서, 항체는 하기 목록으로부터 독립적으로 선택되는 경쇄 및 중쇄 가변 영역 아미노산 서열의 조합을 포함하는 것인 항체: 서열 번호 29 및 서열 번호 38, 서열 번호 30 및 서열 번호 38, 서열 번호 34 및 서열 번호 38, 서열 번호 35 및 서열 번호 38, 서열 번호 36 및 서열 번호 38, 및 서열 번호 37 및 서열 번호 38.

청구항 18

제16항에 있어서, 항체는 아미노산 서열 서열 번호 29 또는 서열 번호 38을 포함하는 것인 항체.

청구항 19

제16항에 있어서, 항체는 서열 번호 29 및 서열 번호 38의 아미노산 서열의 조합을 포함하는 것인 항체.

청구항 20

제1항 내지 제19항 중 어느 한 항에 있어서, 항체는 1개 또는 2개의 아미노산 서열을 추가로 포함하고, 각 아미노산 서열은 하기 나열된 아미노산 서열로부터 독립적으로 선택되는 것인 항체:

a. 경쇄 불변 영역 아미노산 서열: 서열 번호 49; 및

b. 중쇄 불변 영역 아미노산 서열: 서열 번호 50, 서열 번호 51.

청구항 21

제1항 내지 제20항 중 어느 한 항에 있어서, 항체는 뮤린 유래 GIPR 항체 또는 인간화 GIPR 항체인 항체.

청구항 22

제1항 내지 제21항 중 어느 한 항에 있어서, 항체는 GIPR 단일클론 항체인 항체.

청구항 23

제1항 내지 제22항 중 어느 한 항에 있어서, 항체는 하기 목록으로부터 선택되는 아미노산 서열의 조합을 포함하는 단일클론 항체인 항체: 서열 번호 29 및 서열 번호 38, 서열 번호 30 및 서열 번호 38, 서열 번호 31 및 서열 번호 38, 서열 번호 32 및 서열 번호 38, 서열 번호 33 및 서열 번호 38, 서열 번호 34 및 서열 번호 38, 서열 번호 35 및 서열 번호 38, 서열 번호 36 및 서열 번호 38, 및 서열 번호 37 및 서열 번호 38.

청구항 24

제1항 내지 제23항 중 어느 한 항에 있어서, 항체는 하기 나열된 특성 중 하나 이상을 갖는 것인 항체:

a. 인간 GIPR에 결합할 때 기준 GIPR 항체와 동일하거나 더 나은 Kd를 제공함;

b. 인간 GIPR의 GIP 활성화를 억제할 때 기준 GIPR 항체와 동일하거나 더 나은 IC50을 제공함; 및

c. GIPR 항체가 인간 GIPR에 결합하기 위해 기준 GIPR 항체와 교차 경쟁함.

청구항 25

제24항에 있어서, 항체는 인간 GIPR에 결합하기 위해 기준 GIPR 항체와 교차 경쟁하는 것인 항체.

청구항 26

제24항 또는 제25항에 있어서, 기준 GIPR 항체는 제1항 내지 제24항 중 어느 한 항의 항체를 포함하는 것인 항체.

청구항 27

제26항에 있어서, 기준 GIPR 항체는 경쇄 가변 도메인 아미노산 서열 서열 번호 29와 중쇄 가변 도메인 아미노산 서열 서열 번호 38의 조합을 포함하는 것인 항체.

청구항 28

제1항 내지 제27항 중 어느 한 항에 있어서, 항체는 뮤린 유래 항체, 인간 항체, 인간화 항체, 키메라 항체, 단일클론 항체, 다클론 항체, 재조합 항체, 항원 결합 항체 단편, 단일 사슬 항체, 디아바디, 트리아바디, 테트라바디, Fab 단편, F(ab')x 단편, 도메인 항체, IgD 항체, IgE 항체, IgM 항체, IgG1 항체, IgG2 항체, IgG3 항체 또는 IgG4 항체인 항체.

청구항 29

제1항 내지 제28항 중 어느 한 항에 있어서, 항체는 인간 GIP 신호전달 감소에 있어서 IC_{50} 값이 대략 1 nM 내지 200 nM 또는 1 nM 내지 100 nM인 항체.

청구항 30

FGF21 융합 단백질로서, 여기서 융합 단백질의 구조는, 융합 단백질이 GIPR 항체와 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 또는 8개의 FGF21 단편을 포함하고; 융합 단백질에서, FGF21 단편의 아미노 말단이 펩티드 링커 서열(링커)을 통해 GIPR 항체 경쇄 또는 중쇄의 카르복시 말단에 연결되고, 여기서 FGF21 단편은 하기 서열 중 하나에서 독립적으로 선택된 아미노산 서열을 포함하는 것을 특징으로 하는 것인 FGF21 융합 단백질: 서열 번호 77, 서열 번호 78, 서열 번호 79, 서열 번호 80, 서열 번호 81, 서열 번호 82, 서열 번호 83, 서열 번호 84, 서열 번호 85, 서열 번호 86, 서열 번호 87, 서열 번호 88, 서열 번호 89, 서열 번호 115, 서열 번호 116, 서열 번호 117, 서열 번호 118 및 서열 번호 122.

청구항 31

FGF21 융합 단백질로서, 여기서 융합 단백질의 구조는, 융합 단백질이 제1항 내지 제29항 중 어느 한 항의 GIPR 항체와 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 또는 8개의 FGF21 단편을 포함하고, 융합 단백질에서, FGF21 단편의 아미노 말단은 펩티드 링커 서열(링커)을 통해 GIPR 항체 경쇄 또는 중쇄의 카르복시 말단에 연결되는 것을 특징으로 하는 것인 FGF21 융합 단백질.

청구항 32

제30항 또는 제31항에 있어서, 융합 단백질은 GIPR 항체와, 1, 2, 3 또는 4개의 FGF21 단편을 포함하고; 융합 단백질에서, FGF21 단편의 아미노 말단은 펩티드 링커 서열(링커)을 통해 GIPR 항체 경쇄 또는 중쇄의 카르복시 말단에 연결되는 것인 융합 단백질.

청구항 33

제30항 내지 제32항 중 어느 한 항에 있어서, 융합 단백질은 GIPR 항체와, 1개 또는 2개의 FGF21 단편을 포함하고; 융합 단백질에서, FGF21 단편의 아미노 말단은 펩티드 링커 서열(링커)을 통해 GIPR 항체 경쇄 또는 중쇄의 카르복시 말단에 연결되는 것인 융합 단백질.

청구항 34

제30항 내지 제33항 중 어느 한 항에 있어서, GIPR 항체, FGF21 단편 및 펩티드 링커 서열(링커)이 다음 방식 중 하나로 융합되어 융합 단백질을 형성하는 것인 융합 단백질:

FGF21 단편의 아미노 말단을 펩티드 링커 서열(링커)을 통해 GIPR 항체 경쇄의 카르복시 말단에 연결: N'-R-링커-FGF21-C';

FGF21 단편의 아미노 말단을 펩티드 링커 서열(링커)을 통해 GIPR 항체 중쇄의 카르복시 말단에 연결: N'-R-링커-FGF21-C';

여기서, N'은 폴리펩티드 사슬의 아미노 말단을 나타내고, C'는 폴리펩티드 사슬의 카르복시 말단을 나타내고, FGF21은 FGF21 단편을 나타내고, R은 제1항 내지 제29항 중 어느 한 항의 GIPR 항체의 경쇄 또는 중쇄의 아미노산 서열이고, 링커는 펩티드 링커 서열을 나타낸다.

청구항 35

제30항 내지 제34항 중 어느 한 항에 있어서, 펩티드 링커 서열(링커)은 다음 서열 중 하나에서 독립적으로 선택된 전장, 부분 또는 반복 아미노산 서열을 포함하는 것인 FGF21 융합 단백질: 서열 번호 61, 서열 번호 62, 서열 번호 63, 서열 번호 64, 서열 번호 65, 서열 번호 66, 서열 번호 67 및 서열 번호 68.

청구항 36

제31항 내지 제34항 중 어느 한 항에 있어서, FGF21 단편은 하기 서열 중 하나에서 독립적으로 선택되는 아미노산 서열을 포함하는 것인 FGF21 융합 단백질: 서열 번호 77, 서열 번호 78, 서열 번호 79, 서열 번호 80, 서열 번호 81, 서열 번호 82, 서열 번호 83, 서열 번호 84, 서열 번호 85, 서열 번호 86, 서열 번호 87, 서열 번호 88, 서열 번호 89, 서열 번호 115, 서열 번호 116, 서열 번호 117, 서열 번호 118 및 서열 번호 122.

청구항 37

제30항 내지 제36항 중 어느 한 항에 있어서, FGF21 단편은 서열 번호 89 또는 서열 번호 118을 포함하는 것인

FGF21 융합 단백질.

청구항 38

제30항 내지 제37항 중 어느 한 항에 있어서, 융합 단백질은 GIPR 항체, 2개의 FGF21 단편 및 GIPR 항체와 FGF21 단편 사이의 펩티드 링커 서열을 포함하고, 여기서 융합 단백질의 서열은 다음 서열 중 하나에서 독립적으로 선택된 아미노산 서열을 포함하는 것인 융합 단백질:

a. 경쇄의 아미노산 서열: 서열 번호 103

b. 변형된 중쇄의 아미노산 서열(중쇄, 펩티드 링커 및 FGF21 유사체): 서열 번호 104, 서열 번호 105, 서열 번호 106, 서열 번호 119, 서열 번호 120, 서열 번호 121, 서열 번호 123, 서열 번호 124 및 서열 번호 125.

청구항 39

제1항 내지 제29항 중 어느 한 항의 GIPR 항체 또는 제30항 내지 제37항 중 어느 한 항의 FGF21 융합 단백질을 코딩하는 폴리뉴클레오티드.

청구항 40

제39항의 폴리뉴클레오티드를 포함하는 벡터.

청구항 41

제40항의 벡터를 포함하는 숙주 세포.

청구항 42

제1항 내지 제29항 중 어느 한 항의 GIPR 항체 또는 제30항 내지 제38항 중 어느 한 항의 FGF21 융합 단백질을, 약학적으로 허용하는 담체와 함께 혼합하여 포함하는 약학 조성물.

청구항 43

비알코올성 지방 간 관련 질환을 예방하거나 치료하기 위한 의약의 제조에서의 제30항 내지 제38항 중 어느 한 항의 GIPR 항체 또는 제30항 내지 제37항 중 어느 한 항의 FGF21 융합 단백질을 포함하는 약학 조성물의 용도.

청구항 44

비만 및 비만 관련 병태를 예방하거나 치료하기 위한 의약의 제조에서의 제30항 내지 제38항 중 어느 한 항의 GIPR 항체 또는 제30항 내지 제37항 중 어느 한 항의 FGF21 융합 단백질을 포함하는 약학 조성물의 용도.

청구항 45

2형 당뇨병을 예방하거나 치료하기 위한 의약의 제조에서의 제30항 내지 제38항 중 어느 한 항의 GIPR 항체 또는 제30항 내지 제37항 중 어느 한 항의 FGF21 융합 단백질을 포함하는 약학 조성물의 용도.

청구항 46

비알코올성 지방 간 관련 질환, 비만 또는 2형 당뇨병 중 둘 이상의 병태를 동시에 예방하거나 치료하기 위한 의약의 제조에서의 제30항 내지 제38항 중 어느 한 항의 GIPR 항체 또는 제30항 내지 제37항 중 어느 한 항의 FGF21 융합 단백질을 포함하는 약학 조성물의 용도.

청구항 47

제43항 내지 제46항 중 어느 한 항에 있어서, 약학 조성물은 정맥 주사 또는 피하 주사에 사용되는 것인 용도.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본원에는 GIPR 항체 및 이의 FGF21과의 융합 단백질, 그리고 이의 약학 조성물이 제공된다. 또한 본원에는 GIPR 항체 및 이의 FGF21과의 융합 단백질을 비알코올성 지방간 질환, 비알코올성 지방간염, 비만 또는 2형 당뇨병의

하나 또는 복수의 증상을 치료, 예방 또는 개선하는 방법이 제공된다.

배 경 기 술

[0002] 위 억제 폴리펩티드(GIP)는 42개의 아미노산 잔기를 포함하는 폴리펩티드 호르몬으로서, 인간의 장내 K 세포에서 식사 후 분비된다. GIP는 췌장 베타 세포 표면의 위 억제 폴리펩티드 수용체(GIPR)를 활성화시켜 인슐린 분비를 자극하는 생리학적 과정에 관여한다(Tseng et al., 1996, *J. Clin. Invest.* 98:2440-2445; Ravn et al., 2013, *J. Biol. Chem.* 288:19760-72). 췌장에 분포하는 것 외에, GIPR은 뼈, 심장, 위장, 장관 및 지방 조직 등을 비롯하여 널리 분포되어 있다(Peter et al., 2013, *J. Biol. Chem.* 288:19760-72). 다양한 분포는 GIP/GIPR 경로가 혈당 조절 이상의 생물학적 효과를 미친다는 것을 시사한다. 실험적 증거는 GIP/GIPR 신호 전달 경로가 이들 조직의 지방 대사와 적어도 밀접하게 관련되어 있음을 보여준다(Yip et al., 2000, *Life Sci* . 66: 91-103). 실험 데이터는 또한 비만이나 당뇨병 환자의 순환 혈액 내 GIP 농도가 상승한다는 것을 보여준다(Creutzfeldt et al., 1978, *Diabetologia* 14:15-24; Flatt et al., 1984, *J. Endocrinol.* 101:249-256; Salera et al., 1982, *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 55:329-336; Vilsbøll et al., 2003, *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 88:2706-2713).

[0003] 섬유아세포 성장 인자(FGF21)는 간에서 합성되는 내인성 단백질이며, FGF 패밀리의 구성원이고, 포도당과 지질 대사를 조절하는 중요한 기능을 한다(Schlein et al., 2016, *Cell Metabolism.* 23:441-453; Habegger et al., 2013, *Diabetes.* 62:1453-1463). FGF21은 간, 지방세포, 췌장 섬의 베타 세포, 근육 조직 및 뇌의 시상하부에 작용할 수 있으며, FGF21 특이적 수용체를 활성화시켜 이의 생리적 기능을 발휘한다(Kharitonenkov et al., 2005, *J. Clin. Invest.* 115:1627-1635; Dunshe et al., 2016, *J. Biol. Chem.*291:5986-5996). FGF21은 β-클로토와 FGF 수용체인 FGFR1c, FGFR2c 또는 FGFR3c 중 하나를 포함하는 세포막의 수용체 복합체를 활성화할 수 있다. 이들 수용체의 발현은 조직 특이적이며, 예를 들어, FGFR1c는 지방 조직에서 주로 발현되는 반면, FGFR2c와 FGFR3c는 간에서 주로 발현된다(Yie et al., 2012, *Chem. Biol. Drug Des.* 79:398-410). 지방 조직의 내인성 FGF21의 농도는 건강한 인간에서 약 100 pg/mL이며, 비만, 또는 비알코올성 지방간염 환자에서는 10배 증가할 수 있고, 이는 해당 환자에서 FGF21 내성이 있음을 예측할 수 있다. 식단의 변화는 또한 인간의 FGF21 순환 수준에도 영향을 미치며, 여기서 과당 또는 알코올을 많이 섭취하면 혈장 내 FGF21 수준이 극적으로 증가하고, 장기간 단백질 섭취를 제한하거나 탄수화물을 과도하게 섭취해도 마찬가지로 FGF21 수준이 증가한다.

[0004] 본원에서는 GIPR 항체의 지방 감소 효과와 FGF21의 간 염증, 섬유화를 감소시키고 지질단백질을 개선하는 효과를 결합하여, 이러한 다중적 효과를 통해 비알코올성 지방간 질환, 비알코올성 지방간염, 비만 및 2형 당뇨병을 치료한다. 본원에서는 비알코올성 지방간 질환, 비알코올성 지방간염, 비만 및 2형 당뇨병 중 하나 이상의 질환을 앓고 있는 환자를 치료하는 데 사용되는 융합 단백질 약물이 제공된다.

발명의 내용

[0005] 본원에서는 GIPR의 길항제인, GIPR에 특이적으로 결합할 수 있는 항체가 제공된다.

[0006] 또한, 본원에서는 GIPR에 특이적으로 결합할 수 있는 항체가 제공되며, 여기서 항체는 1개, 2개, 3개, 4개, 5개 또는 6개의 아미노산 서열을 포함하고, 각 아미노산 서열은 하기 나열된 아미노산 서열로부터 독립적으로 선택된다:

[0007] a. 경쇄 CDR1 아미노산 서열: 서열 번호(SEQ ID NO:) 1, 서열 번호 5, 서열 번호 6, 서열 번호 7, 서열 번호 8, 서열 번호 9, 서열 번호 10 및 서열 번호 11;

[0008] b. 경쇄 CDR2 아미노산 서열: YAS, 서열 번호 2;

[0009] c. 경쇄 CDR3 아미노산 서열: 서열 번호 3 및 서열 번호 4;

[0010] d. 중쇄 CDR1 아미노산 서열: 서열 번호 12;

[0011] e. 중쇄 CDR2 아미노산 서열: 서열 번호 13; 및

[0012] f. 중쇄 CDR3 아미노산 서열: 서열 번호 14.

[0013] 또한, 본원에서는 FGF21 융합 단백질이 제공되며, 여기서 융합 단백질은 GIPR에 특이적으로 결합할 수 있는 항체와, 1개, 2개, 3개, 4개, 5개, 6개, 7개 또는 8개의 FGF21 단편을 포함하고; 융합 단백질에서, FGF21 단편의 아미노 말단은 펩티드 링커 서열(링커)을 통해 GIPR 항체 경쇄 또는 중쇄의 카르복시 말단에 연결된다.

[0014] 본원에서는 FGF21 융합 단백질이 제공되며, 여기서 융합 단백질은 GIPR에 특이적으로 결합할 수 있는 항체와, 1개, 2개, 3개 또는 4개의 FGF21 단편을 포함하고; 융합 단백질에서, FGF21 단편의 아미노 말단은 펩티드 링커 서열(링커)을 통해 GIPR 항체 경쇄 또는 중쇄의 카르복시 말단에 연결된다.

[0015] 본원에서는 FGF21 융합 단백질이 제공되며, 여기서 융합 단백질은 GIPR에 특이적으로 결합할 수 있는 항체와, 1개 또는 2개의 FGF21 단편을 포함하고; 융합 단백질에서, FGF21 단편의 아미노 말단은 펩티드 링커 서열(링커)을 통해 GIPR 항체 경쇄 또는 중쇄의 카르복시 말단에 연결된다.

[0016] 본원에서는 FGF21 융합 단백질이 제공되며, 여기서 융합 단백질은 GIPR 항체와, 1개 또는 2개의 FGF21 단편을 포함하고; 융합 단백질에서, FGF21 단편의 아미노 말단이 펩티드 링커 서열(링커)을 통해 GIPR 항체 경쇄의 카르복시 말단에 연결되거나(N'-R-링커-FGF21-C'); 또는 FGF21 단편의 아미노 말단이 GIPR 항체 중쇄의 카르복시 말단에 연결되고(N'-R-링커-FGF21-C'); 여기서, N'은 융합 단백질의 폴리펩티드 사슬의 아미노 말단을 나타내고, C'는 융합 단백질의 폴리펩티드 사슬의 카르복시 말단을 나타내고, FGF21은 FGF21 단편을 나타내고, R은 GIPR 항체의 경쇄 또는 중쇄의 아미노산 서열이고, 링커는 펩티드 링커 서열을 나타낸다.

[0017] 본원에서는 본원에 기술된 GIPR 항체를 코딩하는 폴리뉴클레오티드가 제공된다.

[0018] 본원에서는 본원에 기술된 GIPR 항체와 FGF21의 융합 단백질을 코딩하는 폴리뉴클레오티드가 제공된다.

[0019] 본원에서는 본원에 기술된 GIPR 항체를 코딩하는 폴리뉴클레오티드를 포함하는 벡터가 제공된다.

[0020] 본원에서는 본원에 기술된 GIPR 항체와 FGF21의 융합 단백질을 코딩하는 폴리뉴클레오티드를 포함하는 벡터가 제공된다.

[0021] 본원에서는 본원에 기술된 벡터를 포함하는 숙주 세포가 제공된다.

[0022] 본원에서는 본원에 기술된 GIPR 항체와 약학적으로 허용되는 담체를 포함하는 약학 조성물이 제공된다.

[0023] 본원에서는 본원에 기술된 GIPR 항체와 FGF21의 융합 단백질 및 약학적으로 허용되는 담체를 포함하는 약학 조성물이 제공된다.

[0024] 본원에서는 비알코올성 지방간염 관련 질환을 치료, 예방 또는 개선하기 위한 의약의 제조에 있어서의 본원에 기술된 GIPR 항체의 용도가 제공된다.

[0025] 본원에서는 비알코올성 지방간염 관련 질환을 치료, 예방 또는 개선하기 위한 의약의 제조에 있어서의 본원에 기술된 GIPR 항체와 FGF21의 융합 단백질의 용도가 제공된다.

[0026] 본원에서는 2형 당뇨병을 치료, 예방 또는 개선하기 위한 의약의 제조에 있어서의 본원에 기술된 GIPR 항체의 용도가 제공된다.

[0027] 본원에서는 2형 당뇨병을 치료, 예방 또는 개선하기 위한 의약의 제조에 있어서의 본원에 기술된 GIPR 항체와 FGF21의 융합 단백질의 용도가 제공된다.

[0028] 본원에서는 체중 감량을 위한, 또는 비만 및 비만 관련 병태를 치료, 예방 또는 개선하기 위한 의약의 제조에 있어서의 본원에 기술된 GIPR 항체의 용도가 제공된다.

[0029] 본원에서는 체중 감량을 위한, 또는 비만 및 비만 관련 병태를 치료, 예방 또는 개선하기 위한 의약의 제조에 있어서의 본원에 기술된 GIPR 항체와 FGF21의 융합 단백질의 용도가 제공된다.

[0030] 본원에서는 비알코올성 지방간염 관련 질환, 비만 또는 2형 당뇨병 중 둘 이상의 병태를 동시에 치료, 예방 또는 개선하기 위한 의약의 제조에 있어서의 본원에 기술된 GIPR 항체의 용도가 제공된다.

[0031] 본원에서는 비알코올성 지방간염 관련 질환, 비만 또는 2형 당뇨병 중 둘 이상의 병태를 동시에 치료, 예방 또는 개선하기 위한 의약의 제조에 있어서의 본원에 기술된 GIPR 항체와 FGF21의 융합 단백질의 용도가 제공된다.

[0032] 본원에서는 비알코올성 지방간염 관련 질환의 하나 이상의 증상을 치료, 예방 또는 개선하는 방법이 제공되며, 본원에 기술된 GIPR 항체의 치료적 유효량을 피험자에게 투여하는 단계를 포함한다.

[0033] 본원에서는 비알코올성 지방간염 관련 질환의 하나 이상의 증상을 치료, 예방 또는 개선하는 방법이 제공되며, 본원에 기술된 GIPR 항체와 FGF21의 융합 단백질의 치료적 유효량을 피험자에게 투여하는 단계를 포함한다.

[0034] 본원에서는 비만의 하나 이상의 증상을 치료, 예방 또는 개선하는 방법이 제공되며, 본원에 기술된 GIPR 항체의

치료적 유효량을 피험자에게 투여하는 단계를 포함한다.

[0035] 본원에서는 비만의 하나 이상의 증상을 치료, 예방 또는 개선하는 방법이 제공되며, 본원에 기술된 GIPR 항체와 FGF21의 융합 단백질의 치료적 유효량을 피험자에게 투여하는 단계를 포함한다.

[0036] 본원에서는 2형 당뇨병의 하나 이상의 증상을 치료, 예방 또는 개선하는 방법이 제공되며, 본원에 기술된 GIPR 항체의 치료적 유효량을 피험자에게 투여하는 단계를 포함한다.

[0037] 본원에서는 2형 당뇨병의 하나 이상의 증상을 치료, 예방 또는 개선하는 방법이 제공되며, 본원에 기술된 GIPR 항체와 FGF21의 융합 단백질의 치료적 유효량을 피험자에게 투여하는 단계를 포함한다.

도면의 간단한 설명

[0038] 도 1은 리포터 유전자 실험에서 검출된, hFGFR1c/hKLB 신호전달 경로를 활성화하기 위한 Fc-FGF21 융합 단백질 Fc-링커-FGF21(서열 번호 79, 서열 번호 82, 서열 번호 85 및 서열 번호 86 포함)의 활성화 곡선을 도시하고, 여기서 도 1(a)는 EC_{50}이 각각 Fc-FGF21(RGE)의 경우 18.61 nM, Fc-FGF21(서열 번호 79)의 경우 5.57 nM, 및 Fc-FGF21(서열 번호 82)의 경우 41.40 nM임을 도시하고; 도 1(b)는 EC_{50}이 각각 Fc-FGF21(RGE)의 경우 8.13 nM, Fc-FGF21(서열 번호 85)의 경우 156.50 nM, FGF21(서열 번호 86)의 경우 31.44 nM임을 도시한다.

도 2는 리포터 유전자 실험에서 검출된, GIP에 의해 활성화된 hGIPR 신호전달 경로를 길항하기 위한 GIPR 항체/FGF21 융합 단백질 V1W1-링커-FGF21(서열 번호 89 포함), V1W2-링커-FGF21(서열 번호 89 포함)의 농도-억제 곡선이 도시되고, IC_{50}은 각각 LH의 경우 6.50 nM, V1W1-FGF21(서열 번호 89)의 경우 91.14 nM, 및 V1W2-FGF21(서열 번호 89)의 경우 15.30 nM이다.

도 3은 리포터 유전자 실험에서 검출된, hFGFR1C/hKLB 신호전달 경로를 활성화하기 위한 GIPR 항체/FGF21 융합 단백질 V1W1-링커-FGF21(서열 번호 89 포함), V1W2-링커-FGF21(서열 번호 89 포함)의 활성화 곡선을 도시하고, EC_{50}은 각각 Fc-FGF21(RGE)의 경우 11.65 nM, V1W1-FGF21(서열 번호 89)의 경우 16.44 nM, 및 V1W2-FGF21(서열 번호 89)의 경우 37.80 nM이다.

도 4는 약력학 실험에서 hGIPR 항체/FGF21 융합 단백질 V1W1-링커-FGF21(서열 번호 89 포함), V1W2-링커-FGF21(서열 번호 89 포함)을 고용량, 중간 용량 및 저용량으로 투여시 한 사이클 동안 고지방 식이로 유도된 C57BL/6 비만 마우스에서의 시간 경과에 따른 마우스 체중 곡선(a, c) 및 마우스 체중 변화율(b, d)을 도시한다.

도 5는 약력학 실험에서 hGIPR 항체/FGF21 융합 단백질 V1W1-링커-FGF21(서열 번호 89 포함), V1W2-링커-FGF21(서열 번호 89 포함)을 고용량, 중간 용량 및 저용량으로 투여시 한 사이클 동안 고지방 식이로 유도된 비만 마우스에서의 시간 경과에 따른 OGTT 곡선(a, c) 및 혈당 곡선하 면적의 값(b, d)을 도시한다.

도 6은 약력학 실험에서 한 사이클 동안 고지방 식이로 유도된 비만 마우스에서 hGIPR 항체/FGF21 융합 단백질 V1W1-링커-FGF21(서열 번호 89 포함)의 고용량, 중간 용량 및 저용량 투여시 마우스의 간 기능의 혈청 지표(a) 및 지질 대사의 혈청 지표(b)에 미치는 영향을 도시한다.

도 7은 약력학 실험에서 한 사이클 동안 고지방 식이로 유도된 비만 마우스에서 hGIPR 항체/FGF21 융합 단백질 V1W2-링커-FGF21(서열 번호 89 포함)의 고용량, 중간 용량 및 저용량 투여시 간 기능의 혈청 지표(a) 및 지질 대사의 혈청 지표(b)에 미치는 영향을 도시한다.

도 8은 리포터 유전자 실험에서 검출된, mFGFR1C/hKLB 신호전달 경로를 활성화하기 위한 GIPR 항체/FGF21 융합 단백질 V1W2-링커-FGF21(서열 번호 89 포함), V1W2-링커-FGF21(서열 번호 115 포함), V1W2-링커-FGF21(서열 번호 116 포함), V1W2-링커-FGF21(서열 번호 117 포함), V1W2-링커-FGF21(서열 번호 118 포함)의 활성화 곡선을 도시하며, 여기서 EC_{50}은 각각 V1W2-FGF21(서열 번호 89)의 경우 0.80 nM, V1W2-FGF21(서열 번호 115)의 경우 1.33 nM, V1W2-FGF21(서열 번호 116)의 경우 1.35 nM, V1W2-FGF21(서열 번호 117)의 경우 1.29 nM 및 V1W2-FGF21(서열 번호 118)의 경우 1.71 nM이다.

도 9는 약력학 실험에서 한 사이클 동안 고지방 식이로 유도된 비알코올성 지방간염 마우스에서 hGIPR 항체/FGF21 융합 단백질 V1W2-링커-FGF21(서열 번호 118 포함)의 고용량, 중간 용량 및 저용량 투여시 간 기능의 혈청 지표(a), 지질 대사의 혈청 지표(b) 및 NAS 점수와 섬유증 점수(c)에 미치는 영향을 도시한다.

도 10은 서열 번호 77 내지 서열 번호 89, 서열 번호 115 내지 서열 번호 118 및 서열 번호 122에 제시된 야생형 FGF21의 변형 서열을 도시한다.

도 11은 서열 번호 29 내지 서열 번호 51, 서열 번호 61 내지 서열 번호 68, 서열 번호 103 내지 서열 번호 106, 서열 번호 111 내지 서열 번호 114, 서열 번호 119 내지 서열 번호 121 및 서열 번호 123 내지 서열 번호 125에 제시된 아미노산 또는 뉴클레오티드 서열을 도시한다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0039] 정의

[0040] 본원에 달리 정의되지 않는 한, 과학 및 기술 용어는 관련 기술분야의 통상의 기술자가 이해하는 의미를 가질 것이다. 일반적으로, 본원에 기술된 약리학, 생물학, 생화학, 세포 및 조직 배양학, 생물학, 분자 생물학, 면역학, 미생물학, 유전학 및 단백질 핵산 화학 및 혼성화에 관련한 명명학 및 기술은 당업계에 널리 공지되고 흔히 사용되는 것이다.

[0041] 본원에서는 폴리뉴클레오티드와 폴리펩티드 서열을 나타내기 위해 표준 1글자 또는 3글자 약어가 사용된다. 폴리펩티드 서열은 가장 좌측 위치에 아미노기를 갖는 첫 번째 아미노산 잔기(N')와 가장 우측 위치에 카르복시기를 갖는 마지막 아미노산 잔기(C')로 작성되고, 예를 들어 본원에 포함된 FGF21 단편 서열이 이에 해당한다: 서열 번호 77, 서열 번호 78, 서열 번호 79, 서열 번호 80, 서열 번호 81, 서열 번호 82, 서열 번호 83, 서열 번호 84, 서열 번호 85, 서열 번호 86, 서열 번호 87, 서열 번호 88, 서열 번호 89, 서열 번호 115, 서열 번호 116, 서열 번호 117, 서열 번호 118 및 서열 번호 122. 단일 가닥 및 이중 가닥 핵산 서열의 상류 사슬의 5' 말단은 좌측에 있고, 이의 3' 말단은 우측에 있다. 폴리펩티드의 특정 부분은 아미노산 잔기 번호, 예컨대 아미노산 80 내지 아미노산 130으로 표시되거나, Lys80 내지 Lys130과 같이 해당 부위의 실제 잔기로 표시될 수 있다. 특정 폴리펩티드 또는 폴리뉴클레오티드 서열은 또한 참조 서열과의 차이점을 설명함으로써 기술될 수 있다.

[0042] "펩티드", "폴리펩티드" 및 "단백질"이라는 용어는 각각 펩티드 결합으로 연결된 2개 이상의 아미노산을 포함하는 분자를 지칭한다. 이러한 용어에는, 예를 들어, 천연 및 인공 단백질, 및 단백질 서열의 폴리펩티드 유사체(예, 돌연변이 단백질, 변이체 및 융합 단백질), 및 전사 후 또는 기타 공유 결합 또는 비공유 결합으로 변형된 단백질이 포함된다. 펩티드, 폴리펩티드 또는 단백질은 단량체 또는 중합체일 수 있다.

[0043] "폴리펩티드 단편"이라는 용어는 해당 전장 단백질과 비교하여 아미노 말단 및/또는 카르복실 말단이 결실된 폴리펩티드를 의미한다. 단편은, 예를 들어 적어도 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 20, 50, 70, 80, 90, 100, 150 또는 200개의 아미노산 길이일 수 있다. 단편은, 예를 들어 최대 1000, 750, 500, 250, 200, 175, 150, 125, 100, 90, 80, 70, 60, 50, 40, 30, 20, 15, 14, 13, 12, 11 또는 10개의 아미노산 길이일 수 있다. 단편은 이의 한쪽 말단 또는 양쪽 말단에 하나 이상의 부가적인 아미노산, 예를 들어, 상이한 천연 단백질의 아미노산 서열(예, Fc 또는 류신 지퍼 도메인) 또는 인공 아미노산 서열(예, 인공 링커 서열)을 추가로 포함할 수 있다.

[0044] 본원의 폴리펩티드는, 예를 들어, (1) 단백질 분해에 대한 민감성을 감소시키고, (2) 산화에 대한 민감성을 감소시키고, (3) 단백질 복합체 형성에 대한 친화력을 변경하고, (4) 결합 친화력을 변경하고, (5) 기타 물리화학적 또는 기능적 특성을 부여하거나 수정하는 것과 같은 임의의 이유로 인해 임의의 방식으로 변형된 폴리펩티드를 포함한다. 유사체는 폴리펩티드의 돌연변이 단백질을 포함한다. 예를 들어, 단일 또는 다중 아미노산 치환(예, 보존적 아미노산 치환)은 천연 서열(예, 분자 내 접촉을 형성하는 도메인 외부의 폴리펩티드 부분)에서 수행될 수 있다. "보존적 아미노산 치환"은 모 서열의 구조적 특성을 크게 변경하지 않는 치환이다(예를 들어, 아미노산 치환은 모 서열에 존재하는 나선을 파괴하지 않아야 하거나 또는 모 서열을 특징규명하거나 그 기능성에 필요한 다른 유형의 2차 구조를 방해해서는 안된다).

[0045] 폴리펩티드의 "변이체"는 하나 이상의 아미노산 잔기가 다른 폴리펩티드 서열에 비해 아미노산 서열에 삽입, 결실 및/또는 치환되는 아미노산 서열을 포함한다. 본원에서 변이체는 단백질 변이체, 항체 변이체, 및 항체 융합 단백질 변이체를 포함한다. 본원의 실시양태에서, 사용된 항체 융합 단백질에 포함된 FGF21 모이어티는 다양한 변이체를 갖고, 예를 들어 서열 번호 77 내지 서열 번호 89, 서열 번호 115 내지 서열 번호 118 및 서열 번호 122는 야생형 FGF21의 그러한 변이체 서열을 나타내며, 상기 변이체 서열은 야생형 FGF21과 비교하여 서열에서 하나 이상의 아미노산 잔기의 삽입, 결실, 및/또는 치환을 포함하면서 야생형 FGF21과 유사한 생물학적 활성 및 단백질 구조를 유지한다. 이러한 FGF21 변이체는 하기 본원에 기술된 항체에 융합되어, 야생형 FGF21 융합 단백질의 "변이체"를 형성하고, 예를 들어 서열 번호 104 내지 서열 번호 106, 서열 번호 119 내지 서열 번호 121,

서열 번호 123 내지 서열 번호 125는 FGF21 융합 단백질의 그러한 변이체의 중쇄 서열을 나타낸다.

[0046] 폴리펩티드의 "유도체"는, 예를 들어 폴리에틸렌 글리콜 및 알부민(예, 인간 혈청 알부민)과 같은 다른 화학적 모이어티에 대한 결합, 인산화 및 글리코실화를 통해 화학적으로 변형된 폴리펩티드이다.

[0047] 달리 명시되지 않는 한, 용어 "항체"는 2개의 전장 중쇄와 2개의 전장 경쇄를 포함한 항체와 이의 유도체, 변이체, 단편 및 돌연변이 단백질을 포함하며, 이의 예는 하기 나열된다.

[0048] "항체"라는 용어는 항원에 결합하는 모이어티와, 임의로, 항원 결합 모이어티가 항체와 항원의 결합을 촉진하는 형태를 채택할 수 있도록 하는 스캐폴드 또는 프레임워크 모이어티를 포함하는 단백질이다. 항체의 예로는 온전한 항체, 항체 단편(예, 항체의 항원 결합 모이어티), 항체 유도체, 항체 유사체, 및 항체 돌연변이체 및 이들의 융합 단백질을 포함한다. 항체는, 예를 들어, 대체 단백질 스캐폴드 또는 CDR 또는 CDR 유도체가 그래프트된 인공 스캐폴드를 포함할 수 있다. 스캐폴드에는, 도입된 항체 유래 스캐폴드, 예컨대 항체의 3차원 구조를 안정화하는 스캐폴드 및 예를 들어 생체적합성 중합체를 함유하는 완전 합성 스캐폴드가 포함되지만 이에 국한되지는 않는다. 예를 들어, 문헌[Korndorfer et al., 2003, *Proteins* 53:121-129; Roque et al., 2004, *Biotechnol. Prog.* 20:639-654] 참조. 또한, 항체는 펩티드 항체 모방체("PAM") 또는 피브로넥틴을 스캐폴드로 사용하는 항체 모방체를 포함하는 스캐폴드일 수 있다.

[0049] 항체는, 예를 들어, 천연 면역글로불린의 구조를 가질 수 있다. "면역글로불린"은 사량체 분자이다. 천연 면역글로불린에서, 각 사량체는 두 쌍의 동일한 폴리펩티드 사슬로 구성되며, 각 쌍은 하나의 "경"쇄(약 25 kDa)와 하나의 "중"쇄(약 50-70 kDa)를 갖는다. 각 사슬의 아미노 말단에는 약 100 내지 110개의 아미노산의 가변 도메인이 포함되고, 이는 주로 항원 인식을 담당한다. 각 사슬의 카르복실 말단 모이어티는 이펙터 기능을 주로 담당하는 불변 영역을 규정한다. 인간 항체 경쇄는 κ 및 λ 경쇄로 분류된다. 중쇄는 μ, δ, α 또는 ε 중쇄로 분류되며, 항원의 이소타입을 각각 IgM, IgD, IgG, IgA 및 IgE로 규정한다. 경쇄와 중쇄 내에서, 가변 영역과 불변 영역은 약 12개 이상의 아미노산의 "J" 영역에 의해 연결되며, 중쇄에는 또한 약 10개 이상의 아미노산의 "D" 영역도 포함된다. 문헌[Fundamental Immunology Ch.7 (Paul, ed., 2nd ed., Raven Press, 1989)] 참조. 각 경쇄/중쇄 쌍의 가변 영역은 항체 결합 부위를 형성하여, 온전한 면역글로불린에는 두 개의 결합 부위를 갖는다.

[0050] 천연 면역글로불린 사슬은 상대적으로 보존적 프레임워크 영역(FR)과, 상보적 결정 영역 또는 CDR이라고도 하는 세 개의 고가변 영역이 연결된 동일한 기본 구조를 나타낸다. N 말단에서 C 말단까지, 경쇄와 중쇄는 모두 FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3 및 FR4 도메인을 포함한다. 각 도메인에 대한 아미노산 할당은 문헌[Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th edition, U.S. Dept. of Health and Human Services, PHS, NIH, NIH Publication No. 91-3242, 1991]의 정의에 따른다.

[0051] 달리 명시되지 않는 한, "항체"란 특이적 결합을 위해 온전한 항체와 경쟁할 수 있는 온전한 면역글로불린 또는 이의 항원 결합 모이어티를 지칭한다. 항원 결합 모이어티는 재조합 DNA 기술에 의해 또는 온전한 항체의 효소적 또는 화학적 절단에 의해 생산될 수 있다. 항원 결합 모이어티는 특히 Fab, Fab', $F(ab')_2$, Fv, 도메인 항체(dAb), 상보성 결정 영역(CDR)을 포함하는 단편, 단일 사슬 항체(scFv), 키메라 항체, 디아바디, 트리아바디, 테트라바디, 및 폴리펩티드에 특이적 항원 결합을 부여하기에 충분한 면역글로불린의 적어도 일부를 포함하는 폴리펩티드를 포함한다.

[0052] Fab 단편은 V_L, V_H, C_L 및 C_{H1} 도메인을 갖는 1가 단편이고; $F(ab')_2$ 단편은 힌지 영역에서 디설피드 결합에 의해 연결된 2개의 Fab 단편을 갖는 2가 단편이고; Fv 단편은 V_H 및 V_L 도메인을 갖고; dAb 단편은 V_H 도메인, V_L 도메인, 또는 V_H 또는 V_L 도메인의 항원 결합 단편을 갖는다(미국 특허 번호 US 6,846,634 및 US 6,696,245; 미국 특허 출원 공개 번호 US 2005/0202512, US 2004/0202995, US 2004/0038291, US 2004/0009507 및 US 2003/0039958; Ward et al., 1989, *Nature* 341:544-546).

[0053] 단일 사슬 항체(scFv)는 V_L 및 V_H 영역이 링커(예를 들어, 아미노산 잔기의 합성 서열)에 의해 연결되어 연속 단백질을 형성하는 융합 단백질이고, 여기서 링커는 단백질 사슬이 그 자체로 되접히도록 하고 1가 항원 결합 부위를 형성하도록 하기에 충분히 길다(예, [Bird et al., 1988, *Science* 242:423-26]; 및 [Huston et al., 1988, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 85:5879-83] 참조).

[0054] 디아바디는 2개의 폴리펩티드 사슬을 포함하는 2가 항체이고, 여기서 각 폴리펩티드 사슬은 너무 짧아서 동일한

사슬 상의 2개의 도메인 사이의 쌍 형성을 허용할 수 없는 링커에 의해 연결되는 V_H 및 V_L 도메인을 포함하고, 이에 따라 각 도메인은 다른 폴리펩티드 사슬 상의 상보적 도메인과 함께 쌍을 이룰 수 있도록 한다(예, [Holliger et al., 1993, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 90:6444-48]; 및 [Poljak et al., 1994, *Structure* 2:1121-23] 참조). 디아바디의 2개의 폴리펩티드 사슬이 동일하다면, 이들의 쌍 형성으로 생성되는 디아바디는 동일한 항원 결합 부위를 갖는다. 상이한 서열을 갖는 폴리펩티드 사슬은 상이한 항원 결합 부위를 갖는 디아바디를 제조하는 데 사용될 수 있다. 유사하게, 트리아바디 및 테트라바디는, 각각 3개 및 4개의 폴리펩티드 사슬을 포함하고 각각 3개 및 4개의 항원 결합 부위를 형성하는 항체이며, 이는 동일하거나 상이할 수 있다.

[0055] 주어진 항체의 상보성 결정 영역(CDR)과 프레임워크 영역(FR)은 문헌[Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th edition, U.S. Dept. of Health and Human Services, PHS, NIH, NIH Publication No. 91-3242, 1991]에 설명된 방법을 사용하여 본원에서 확인할 수 있다. 하나 이상의 CDR이 공유 결합 또는 비공유 결합으로 분자 내에 혼입되어 항체가 될 수 있다. 항체는 더 큰 폴리펩티드 사슬의 일부로 CDR(들)을 혼입시킬 수 있거나, CDR(들)을 다른 폴리펩티드 사슬에 공유 결합으로 연결할 수 있거나, CDR(들)을 비공유 결합으로 혼입시킬 수 있다. CDR은 항체가 특정 관련 항원에 특이적 결합하도록 한다.

[0056] 항체는 하나 이상의 결합 부위를 가질 수 있다. 결합 부위가 하나 초과인 경우, 결합 부위는 서로 동일하거나 상이할 수 있다. 예를 들어, 천연 인간 면역글로불린은 일반적으로 2개의 동일한 결합 부위를 갖는 반면, "이중 특이적" 또는 "이중 작용성" 항체는 2개의 상이한 결합 부위를 갖는다.

[0057] "뮤린 유래 항체"라는 용어는 마우스 면역글로불린 서열에서 유래된 하나 이상의 가변 영역과 불변 영역을 갖는 항체를 포함한다.

[0058] "인간화 항체"라는 용어는 마우스 항체 분자의 상보성 결정 영역 서열을 인간 항체 가변 영역의 프레임워크에 그래프팅하여 만들어진 항체이다.

[0059] "항원 결합 도메인", "항원 결합 영역" 또는 "항원 결합 부위"라는 용어는 항원과 상호 작용하는 아미노산 잔기를 포함하고 항원에 대한 항체의 특이성 및 친화성에 기여하는 항체의 일부이다. 항원에 특이적으로 결합하는 항체의 경우, 여기에는 적어도 하나의 CDR 도메인의 적어도 일부가 포함된다.

[0060] "에피토프"라는 용어는 항체에 의해 결합된 분자(예를 들어, 항체)의 일부이다. 에피토프는 분자의 비인접한 부분을 포함할 수 있다(예를 들어, 폴리펩티드의 경우, 폴리펩티드의 1차 서열에서는 인접하지 않지만, 폴리펩티드의 3차 및 4차 구조에서는 항체가 결합할 수 있을 만큼 가까운 아미노산 잔기).

[0061] 2개의 폴리뉴클레오티드 또는 2개의 폴리펩티드 서열의 "동일성 백분율"은 GAP 컴퓨터 프로그램(GCG Wisconsin Package; version 10.3 (Accelrys, 미국 캘리포니아 샌디에고 소재)의 일부)을 사용하여 기본 매개변수를 사용하여 서열을 비교하여 결정된다.

[0062] 용어 "폴리뉴클레오티드", "올리고뉴클레오티드" 및 "핵산"은 전체 텍스트에서 상호 교환적으로 사용되고, DNA 분자(예, cDNA 또는 게놈 DNA), RNA 분자(예, mRNA), 뉴클레오티드 유사체(예, 펩티드 핵산 및 비자연적 뉴클레오티드 유사체)를 사용하여 생성된 DNA 또는 RNA 유사체 및 이들의 하이브리드를 포함한다. 핵산 분자는 단일 가닥 또는 이중 가닥일 수 있다. 일 실시양태에서, 본원의 핵산 분자는 본원에 제공된 항체 또는 이의 단편, 유도체, 돌연변이 단백질 또는 변이체를 코딩하는 연속 개방 판독 프레임을 포함한다.

[0063] 2개의 단일 가닥 폴리뉴클레오티드의 서열이 서로 "상보적"이면, 2개의 단일 가닥 폴리뉴클레오티드는 반평행 방향으로 정렬될 수 있으므로, 하나의 폴리뉴클레오티드의 모든 뉴클레오티드는 다른 폴리뉴클레오티드의 상보적 뉴클레오티드와 반대쪽에 위치하고, 이때 갭이 생성되지 않고, 어느 서열의 5' 또는 3' 말단에도 쌍을 이루지 않은 뉴클레오티드가 없게 된다. 2개의 폴리뉴클레오티드가 적당히 엄격한 조건 하에서 서로 하이브리드될 수 있으면, 하나의 폴리뉴클레오티드는 다른 폴리뉴클레오티드와 "상보적"이다. 따라서, 하나의 폴리뉴클레오티드는 다른 폴리뉴클레오티드와 상보적일 수 있지만, 그 폴리뉴클레오티드의 상보적 서열은 상보적이지 않을 수 있다.

[0064] "벡터"라는 용어는 이에 결찰된 다른 핵산을 세포 내로 도입하는 데 사용될 수 있는 핵산이다. 벡터의 한 유형은 "플라스미드"이고, 이는 추가 핵산 세그먼트를 결찰시킬 수 있는 선형 또는 원형 이중 가닥 DNA 분자를 지칭한다. 또 다른 유형의 벡터는 바이러스 벡터(예, 복제 결함 레트로바이러스, 아데노바이러스 및 아데노바이러스 관련 바이러스)이고, 바이러스 게놈에 추가 DNA 세그먼트가 도입될 수 있다. 특정 벡터는 도입된 숙주 세포에서 자율 복제가 가능하다(예, 박테리아 복제 기점을 포함하는 박테리아 벡터 및 에피솜 포유류 벡터). 다른 벡터

(예, 비에피솜 포유류 벡터)는 숙주 세포에 도입되면 숙주 세포의 게놈에 통합되므로, 숙주 게놈과 함께 복제된다. "발현 벡터"는 선택된 폴리뉴클레오티드의 발현을 지시할 수 있는 벡터 유형이다.

[0065] 조절 서열이 뉴클레오티드 서열의 발현(예, 발현 수준, 타이밍 또는 위치)에 영향을 미치는 경우, 해당 뉴클레오티드 서열은 조절 서열에 "작동적으로 연결"된다. "조절 서열"은 작동 가능하게 연결된 핵산의 발현(예, 발현 수준, 타이밍 또는 위치)에 영향을 미치는 핵산이다. 조절 유전자는, 예를 들어, 조절되는 핵산에 직접 작용하거나 하나 이상의 다른 분자(예, 조절 서열 및/또는 핵산에 결합하는 폴리뉴클레오티드)를 통해 작용한다. 조절 서열의 예로는 프로모터, 인핸서 및 기타 발현 제어 요소(예, 폴리아데닐화 신호)가 포함된다. 조절 서열의 추가적인 예는, 예를 들어, 문헌[Goeddel, 1990, Gene Expression Technology: Methods in Enzymology, Volume 185, Academic Press, San Diego, CA; and Baron et al., 1995, *Nucleic Acids Res.* 23:3605-06]에 기술되어 있다.

[0066] "숙주 세포"라는 용어는 본원에 제공된 핵산과 같은 핵산을 발현하는 데 사용될 수 있는 세포이다. 숙주 세포는 원핵생물, 예를 들어 이.콜라이(*E. coli*)일 수 있거나, 또는 진핵생물, 예를 들어 단세포 진핵생물(예, 효모 또는 기타 균류), 식물 세포(예, 담배 또는 토마토 식물 세포), 동물 세포(예, 인간 세포, 원숭이 세포, 햄스터 세포, 래트 세포, 마우스 세포 또는 곤충 세포) 또는 하이브리도마일 수 있다. 일반적으로, 숙주 세포는 폴리펩티드 코딩 핵산으로 형질전환 또는 형질감염될 수 있는 배양 세포이며, 이후 숙주 세포에서 발현될 수 있다. "재조합 숙주 세포"라는 문구는 발현될 핵산으로 형질전환 또는 형질감염된 숙주 세포를 나타내는 데 사용될 수 있다. 숙주 세포는 조절 서열이 숙주 세포 내로 도입되어 핵산과 작동가능하게 연결되어 있지 않는 한 핵산을 포함하지만 이를 원하는 수준으로 발현하지 않는 세포일 수 있다. "숙주 세포"라는 용어는 특정 대상 세포뿐만 아니라 그러한 세포의 자손 또는 가능한 자손도 지칭한다는 것을 이해해야 한다. 예를 들어, 돌연변이 또는 환경적 영향으로 인해, 특정한 변형이 다음 세대에 일어날 수 있으므로, 그러한 자손은, 실제로, 모 세포와 동일하지 않을 수 있지만, 여전히 본원에 사용되는 용어의 범위에 속한다.

[0067] 위 억제 폴리펩티드 수용체

[0068] 위 억제 폴리펩티드 수용체는 7개 막관통 G 단백질 결합 수용체 패밀리 중 B형에 속하며, 이종삼량체 구아닌 뉴클레오티드 결합 단백질(G 단백질)을 통해 하나 이상의 세포내 신호전달 경로에 결합된다(Drucker et al., 2006, *Cell Metab.* 3:153-65). 현재까지의 연구에 따르면, GIPR은 주로 췌장 섬 베타 세포와 지방세포의 표면에 발현되며(Ravn et al., 2013, *J. Biol* . Chem. 288:19760-72), 인간의 포도당과 지질 대사 과정에 모두 관여하므로 당뇨병, 비만 및 관련 병태와도 밀접하게 관련된다(Skaw et al., 2016, *Diabetes Obes. Metab.* 18:847-854). 본원에 사용되는 "인간 GIPR" 및 "hGIPR"은 모두 인간 유래의 위 억제 폴리펩티드 수용체를 의미하며 상호 교환적으로 사용될 수 있다. 본원에 사용되는 "뮤린 GIPR" 및 "mGIPR"은 모두 뮤린 유래의 위 억제 폴리펩티드 수용체를 의미하며 또한 상호 교환적으로 사용될 수 있다.

[0069] 일 실시양태에서, 본원에서 제공된 항체는 인간 GIPR에 특이적으로 결합하는 항체이다. 또 다른 실시양태에서, 본원에서 제공된 항체는 세포막 상의 GIPR에 특이적으로 결합하는 항체이며, 항체는 이들 세포 내에서 GIP 신호의 전달을 억제하거나 차단할 수 있다. 또 다른 실시양태에서, 본원에서 제공된 항체는 인간 GIPR에 특이적으로 결합하는 항체이며, 항체는 다른 종(예, 원숭이 또는 마우스)의 GIPR에 결합하고 이들 종에서 GIP 신호전달을 차단할 수 있다. 또 다른 실시양태에서, 본원에서 제공된 항체는 인간 GIPR에 결합하는 뮤린 유래 항체이며, 해당 항체는 다른 종(예, 원숭이)의 GIPR에 결합할 수 있다.

[0070] 일 실시양태에서, GIPR의 아미노산 및 폴리뉴클레오티드 서열은 하기 나열되며, 해당 서열의 데이터는 미국 국립 생명공학 정보 센터의 GeneBank 데이터베이스와 유럽 생물정보학 연구소의 Uniprot 데이터베이스에서 제공되었다: 호모 사피엔스 폴리뉴클레오티드, 수탁 번호: S79852; 호모 사피엔스 아미노산, 수탁 번호: AAB35419.2.

[0071] 위 억제 폴리펩티드 수용체 항체(GIPR 항체)

[0072] 일 실시양태에서, GIPR 항체가 본원에 제공된다. 또 다른 실시양태에서, 본원에서 제공된 GIPR 항체는 온전한 GIPR 항체이다. 또 다른 실시양태에서, 본원에서 제공된 GIPR 항체는 GIPR 항체 단편이다. 또 다른 실시양태에서, 본원에서 제공된 GIPR 항체는 GIPR 항체 유도체이다. 또 다른 실시양태에서, 본원에서 제공된 GIPR 항체는 GIPR 항체 뮤테인이다. 추가 실시양태에서, 본원에서 제공된 GIPR 항체는 GIPR 항체 변이체이다.

[0073] 일 실시양태에서, 본원에서 제공된 GIPR 항체는 1개, 2개, 3개, 4개, 5개 또는 6개의 아미노산 서열을 포함하고, 각 아미노산 서열은 하기 나열된 아미노산 서열로부터 독립적으로 선택된다:

[0074] a. 경쇄 CDR1 아미노산 서열: 서열 번호 1, 서열 번호 5, 서열 번호 6, 서열 번호 7, 서열 번호 8, 서열 번호

9, 서열 번호 10 및 서열 번호 11;

[0075] b. 경쇄 CDR2 아미노산 서열: YAS, 서열 번호 2;

[0076] c. 경쇄 CDR3 아미노산 서열: 서열 번호 3, 서열 번호 4;

[0077] d. 중쇄 CDR1 아미노산 서열: 서열 번호 12;

[0078] e. 중쇄 CDR2 아미노산 서열: 서열 번호 13; 및

[0079] f. 중쇄 CDR3 아미노산 서열: 서열 번호 14.

[0080] 표 1은 본원에서 제공된 GIPR 항체의 경쇄 CDR 아미노산 서열과 이에 상응하는 폴리뉴클레오티드 코딩 서열을 나열한다. 표 2은 본원에서 제공된 GIPR 항체의 중쇄 CDR 아미노산 서열과 이에 상응하는 폴리뉴클레오티드 코딩 서열을 나열한다.

표 1

표 1: 경쇄 CDR 아미노산 서열 및 이의 폴리뉴클레오티드 코딩 서열

	CDR1	CDR2	CDR3
A-1 뉴클레오티드	cagtccgtgaacacagatgtgaagtcttat SEQ ID NO:(서열 번호) 15	tatgccagc 또는 tatgccagcaac (SEQ ID NO: 16)	cagcacagcttcgatttcccctacacc (SEQ ID NO: 17)
A-1 아미노산	QSVNTDVKSY (SEQ ID NO: 1)	YAS 또는 YASN (SEQ ID NO: 2)	QHSFDFPYT (SEQ ID NO: 3)
A-2 뉴클레오티드	cagtccgtgaacacagacgtgtactcttat (SEQ ID NO: 19)	tatgccagc 또는 tatgccagcaac (SEQ ID NO: 16)	cagcacagcttcgatttcccctacacc (SEQ ID NO: 17)
A-2 아미노산	QSVNTDVYSY (SEQ ID NO: 5)	YAS 또는 YASN (SEQ ID NO: 2)	QHSFDFPYT (SEQ ID NO: 3)
A-3 뉴클레오티드	cagtccgtgaacacagccgactactcttat (SEQ ID NO: 20)	tatgccagc 또는 tatgccagcaac (SEQ ID NO: 16)	cagcacagcttcgatttcccctacacc (SEQ ID NO: 17)
A-3 아미노산	QSVNTADYSY (SEQ ID NO: 6)	YAS 또는 YASN (SEQ ID NO: 2)	QHSFDFPYT (SEQ ID NO: 3)
A-4 뉴클레오티드	cagtccgtgaacacaaaggactactcttat (SEQ ID NO: 21)	tatgccagc 또는 tatgccagcaac (SEQ ID NO: 16)	cagcacagcttcgatttcccctacacc (SEQ ID NO: 17)

[0081]

	CDR1	CDR2	CDR3
A-4 아미노산	QSVNTKDYSY (SEQ ID NO: 7)	YAS 또는 YASN (SEQ ID NO: 2)	QHSFDFPYT (SEQ ID NO: 3)
A-5 뉴클레오티드	cagtccgtgaacacagatgtgggctcttat (SEQ ID NO: 22)	tatgccagc 또는 tatgccagcaac (SEQ ID NO: 16)	cagcacagcttcgatttcccctacaccg (SEQ ID NO: 17)
A-5 아미노산	QSVNTDVGSY (SEQ ID NO: 8)	YAS 또는 YASN (SEQ ID NO: 2)	QHSFDFPYT (SEQ ID NO: 3)
A-6 뉴클레오티드	cagtccgtgaacacagacagctactcttat (SEQ ID NO: 23)	tatgccagc 또는 tatgccagcaac (SEQ ID NO: 16)	cagcacagcttcgatttcccctacacc (SEQ ID NO: 17)
A-6 아미노산	QSVNTDSYSY (SEQ ID NO: 9)	YAS 또는 YASN (SEQ ID NO: 2)	QHSFDFPYT (SEQ ID NO: 3)
A-7 뉴클레오티드	cagtccgtgaacacagatgtgaagtcttat (SEQ ID NO: 24)	tatgccagc 또는 tatgccagcaac (SEQ ID NO: 16)	cagcacagcttcgatttcccctacacc (SEQ ID NO: 17)
A-7 아미노산	QSVNTDVKSY (SEQ ID NO: 10)	YAS 또는 YASN (SEQ ID NO: 2)	QHSFDFPYT (SEQ ID NO: 3)
A-8 뉴클레오티드	cagtccgtgaacaaggatgtgtactctta (SEQ ID NO: 25)	tatgccagc 또는 tatgccagcaac (SEQ ID NO: 16)	cagcacagcttcgatttcccctacacc (SEQ ID NO: 17)
A-8 아미노산	QSVNKDVYSY (SEQ ID NO: 11)	YAS 또는 YASN (SEQ ID NO: 2)	QHSFDFPYT (SEQ ID NO: 3)
A-9 뉴클레오티드	cagtccgtgaacacagatgtgaagtcttat (SEQ ID NO: 15)	tatgccagc 또는 tatgccagcaac (SEQ ID NO: 16)	cagcacagcttcgatgacccctac (SEQ ID NO: 18)
A-9 아미노산	QSVNTDVKSY (SEQ ID NO: 1)	YAS 또는 YASN (SEQ ID NO: 2)	QHSFDDPYT (SEQ ID NO: 4)

[0082]

표 2

표 2: 중쇄 CDR 아미노산 서열 및 이의 폴리뉴클레오티드 코딩 서열

	CDR1	CDR2	CDR3
A-1 뉴클레오티드	ggctactctatcacaagcgattatgcc (SEQ ID NO: 26)	atctcctatcgcggcatcgcc (SEQ ID NO: 27)	gtgcggggcgagtatggccccgg caatttcgacttt (SEQ ID NO: 28)
A-1 아미노산	GYSITSDYA (SEQ ID NO: 12)	ISYRGIA (SEQ ID NO: 13)	VRGEYGPGNFDF (SEQ ID NO: 14)

[0083]

[0084] 일 실시양태에서, 본원에서 제공된 항체는 표 1 및 2에 나열된 CDR 아미노산 서열 중 하나와 5개, 4개, 3개, 2개 또는 1개의 단일 아미노산 첨가, 치환 및/또는 결실로 상이한 서열을 포함한다. 또 다른 실시양태에서, 본원에서 제공된 항체는 표 1 및 2에 나열된 CDR 아미노산 서열 중 하나와 4개, 3개, 2개 또는 1개의 단일 아미노산 첨가, 치환 및/또는 결실로 상이한 서열을 포함한다.

[0085] 또 다른 실시양태에서, 본원에서 제공된 항체는 표 1 및 2에 나열된 CDR 아미노산 서열 중 하나와 3개, 2개 또는 1개의 단일 아미노산 첨가, 치환 및/또는 결실로 상이한 서열을 포함한다.

[0086] 또 다른 실시양태에서, 본원에서 제공된 항체는 표 1 및 2에 나열된 CDR 아미노산 서열 중 하나와 2개 또는 1개의 단일 아미노산 첨가, 치환 및/또는 결실로 상이한 서열을 포함한다.

[0087] 또 다른 실시양태에서, 본원에서 제공된 항체는 표 1 및 2에 나열된 CDR 아미노산 서열 중 하나와 1개의 단일 아미노산 첨가, 치환 및/또는 결실로 상이한 서열을 포함한다.

[0088] 일 실시양태에서, 본원에서 제공된 GIPR 항체는 1개 또는 2개의 아미노산 서열을 포함하고, 각 아미노산 서열은 하기 나열된 아미노산 서열로부터 독립적으로 선택된다:

[0089] a. 경쇄 CDR1 아미노산 서열: 서열 번호 1, 서열 번호 5, 서열 번호 6, 서열 번호 7, 서열 번호 8, 서열 번호 9, 서열 번호 10 및 서열 번호 11; 및

[0090] b. 중쇄 CDR1 아미노산 서열: 서열 번호 12.

[0091] 또 다른 실시양태에서, 본원에서 제공된 GIPR 항체는 1개 또는 2개의 아미노산 서열을 포함하고, 각 아미노산 서열은 하기 나열된 아미노산 서열로부터 독립적으로 선택된다:

[0092] a. 경쇄 CDR2 아미노산 서열: YAS, 서열 번호 2; 및

[0093] b. 중쇄 CDR2 아미노산 서열: 서열 번호 13.

[0094] 또 다른 실시양태에서, 본원에서 제공되는 GIPR 항체는 1개 또는 2개의 아미노산 서열을 포함하고, 각 아미노산 서열은 하기 나열된 아미노산 서열로부터 독립적으로 선택된다:

[0095] a. 경쇄 CDR3 아미노산 서열: 서열 번호 3, 서열 번호 4; 및

[0096] b. 중쇄 CDR3 아미노산 서열: 서열 번호 14.

[0097] 또 다른 실시양태에서, 본원에서 제공된 GIPR 항체는 1개, 2개, 3개 또는 4개의 아미노산 서열을 포함하고, 각 아미노산 서열은 하기 나열된 아미노산 서열로부터 독립적으로 선택된다:

[0098] a. 경쇄 CDR1 아미노산 서열: 서열 번호 1, 서열 번호 5, 서열 번호 6, 서열 번호 7, 서열 번호 8, 서열 번호 9, 서열 번호 10 및 서열 번호 11;

[0099] b. 중쇄 CDR1 아미노산 서열: 서열 번호 12;

[0100] c. 경쇄 CDR2 아미노산 서열: YAS, 서열 번호 2; 및

[0101] d. 중쇄 CDR2 아미노산 서열: 서열 번호 13.

[0102] 또 다른 실시양태에서, 본원에서 제공되는 GIPR 항체는 1개, 2개, 3개 또는 4개의 아미노산 서열을 포함하고, 각 아미노산 서열은 하기 나열된 아미노산 서열로부터 독립적으로 선택된다:

[0103] a. 경쇄 CDR1 아미노산 서열: 서열 번호 1, 서열 번호 5, 서열 번호 6, 서열 번호 7, 서열 번호 8, 서열 번호 9, 서열 번호 10 및 서열 번호 11;

[0104] b. 중쇄 CDR1 아미노산 서열: 서열 번호 12;

[0105] c. 경쇄 CDR3 아미노산 서열: 서열 번호 3, 서열 번호 4; 및

[0106] d. 중쇄 CDR3 아미노산 서열: 서열 번호 14.

[0107] 추가 실시양태에서, 본원에서 제공된 GIPR 항체는 1개, 2개, 3개 또는 4개의 아미노산 서열을 포함하고, 각 아미노산 서열은 하기 나열된 아미노산 서열로부터 독립적으로 선택된다:

[0108] a. 경쇄 CDR2 아미노산 서열: YAS, 서열 번호 2;

[0109] b. 중쇄 CDR2 아미노산 서열: 서열 번호 13;

[0110] c. 경쇄 CDR3 아미노산 서열: 서열 번호 3, 서열 번호 4; 및

[0111] d. 중쇄 CDR3 아미노산 서열: 서열 번호 14.

[0112] 일 실시양태에서, 본원에서 제공된 GIPR 항체는 1개, 2개 또는 3개의 아미노산 서열을 포함하고, 각 아미노산 서열은 하기 나열된 아미노산 서열로부터 독립적으로 선택된다: 서열 번호 1, YAS, 서열 번호 2, 서열 번호 3, 서열 번호 4, 서열 번호 5, 서열 번호 6, 서열 번호 7, 서열 번호 8, 서열 번호 9, 서열 번호 10 및 서열 번호 11.

[0113] 또 다른 실시양태에서, 본원에서 제공된 GIPR 항체는 1개, 2개 또는 3개의 아미노산 서열을 포함하고, 각 아미

노산 서열은 하기 나열된 아미노산 서열로부터 독립적으로 선택된다: 서열 번호 12, 서열 번호 13, 서열 번호 14.

[0114] 일 실시양태에서, 본원에서 제공된 GIPR 항체는 하기 목록으로부터 독립적으로 선택된 경쇄 및 중쇄 CDR1 아미노산 서열의 조합을 포함한다: 서열 번호 1 및 서열 번호 12, 서열 번호 5 및 서열 번호 12, 서열 번호 6 및 서열 번호 12, 서열 번호 7 및 서열 번호 12, 서열 번호 8 및 서열 번호 12, 서열 번호 9 및 서열 번호 12, 서열 번호 10 및 서열 번호 12, 및 서열 번호 11 및 서열 번호 12.

[0115] 또 다른 실시양태에서, 본원에서 제공된 GIPR 항체는 하기 목록으로부터 독립적으로 선택된 경쇄 및 중쇄 CDR2 아미노산 서열의 조합을 포함한다: YAS 및 서열 번호 13, 및 서열 번호 2 및 서열 번호 13.

[0116] 추가 실시양태에서, 본원에서 제공된 GIPR 항체는 하기 목록으로부터 독립적으로 선택된 경쇄 및 중쇄 CDR3 아미노산 서열의 조합을 포함한다: 서열 번호 3 및 서열 번호 14, 서열 번호 4 및 서열 번호 14.

[0117] 일 실시양태에서, 본원에서 제공된 GIPR 항체는 다음을 포함한다:

[0118] a. 하기 목록으로부터 독립적으로 선택된 경쇄 및 중쇄 CDR1 아미노산 서열의 조합: 서열 번호 1 및 서열 번호 12, 서열 번호 5 및 서열 번호 12, 서열 번호 6 및 서열 번호 12, 서열 번호 7 및 서열 번호 12, 서열 번호 8 및 서열 번호 12, 서열 번호 9 및 서열 번호 12, 서열 번호 10 및 서열 번호 12, 및 서열 번호 11 및 서열 번호 12; 및

[0119] b. 하기 목록으로부터 독립적으로 선택된 경쇄 및 중쇄 CDR2 아미노산 서열의 조합: YAS 및 서열 번호 13, 및 서열 번호 2 및 서열 번호 13.

[0120] 또 다른 실시양태에서, 본원에서 제공된 GIPR 항체는 다음을 포함한다:

[0121] a. 하기 목록으로부터 독립적으로 선택된 경쇄 및 중쇄 CDR1 아미노산 서열의 조합: 서열 번호 1 및 서열 번호 12, 서열 번호 5 및 서열 번호 12, 서열 번호 6 및 서열 번호 12, 서열 번호 7 및 서열 번호 12, 서열 번호 8 및 서열 번호 12, 서열 번호 9 및 서열 번호 12, 서열 번호 10 및 서열 번호 12, 및 서열 번호 11 및 서열 번호 12; 및

[0122] b. 하기 목록으로부터 독립적으로 선택된 경쇄 및 중쇄 CDR3 아미노산 서열의 조합: 서열 번호 3 및 서열 번호 14, 서열 번호 4 및 서열 번호 14.

[0123] 또 다른 실시양태에서, 본원에서 제공된 GIPR 항체는 다음을 포함한다:

[0124] a. 하기 목록으로부터 독립적으로 선택된 경쇄 및 중쇄 CDR2 아미노산 서열의 조합: YAS 및 서열 번호 13, 및 서열 번호 2 및 서열 번호 13; 및

[0125] b. 하기 목록으로부터 독립적으로 선택된 경쇄 및 중쇄 CDR3 아미노산 서열의 조합: 서열 번호 3 및 서열 번호 14, 서열 번호 4 및 서열 번호 14.

[0126] 추가 실시양태에서, 본원에서 제공된 GIPR 항체는 다음을 포함한다:

[0127] a. 하기 목록으로부터 독립적으로 선택된 경쇄 및 중쇄 CDR1 아미노산 서열의 조합: 서열 번호 1 및 서열 번호 12, 서열 번호 5 및 서열 번호 12, 서열 번호 6 및 서열 번호 12, 서열 번호 7 및 서열 번호 12, 서열 번호 8 및 서열 번호 12, 서열 번호 9 및 서열 번호 12, 서열 번호 10 및 서열 번호 12, 및 서열 번호 11 및 서열 번호 12;

[0128] b. 하기 목록으로부터 독립적으로 선택된 경쇄 및 중쇄 CDR2 아미노산 서열의 조합: YAS 및 서열 번호 13, 및 서열 번호 2 및 서열 번호 13; 및

[0129] c. 하기 목록으로부터 독립적으로 선택된 경쇄 및 중쇄 CDR3 아미노산 서열의 조합: 서열 번호 3 및 서열 번호 14, 서열 번호 4 및 서열 번호 14.

[0130] 일 실시양태에서, 본원에서 제공된 GIPR 항체는 다음을 포함한다:

[0131] a. 경쇄 및 중쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3 아미노산 서열의 조합: 서열 번호 1, YAS 또는 서열 번호 2, 서열 번호 3, 서열 번호 12, 서열 번호 13, 및 서열 번호 14;

[0132] b. 경쇄 및 중쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3 아미노산 서열의 조합: 서열 번호 5, YAS 또는 서열 번호 2, 서열 번호 3, 서열 번호 12, 서열 번호 13, 및 서열 번호 14;

[0133] c. 경쇄 및 중쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3 아미노산 서열의 조합: 서열 번호 6, YAS 또는 서열 번호 2, 서열 번호 3, 서열 번호 12, 서열 번호 13, 및 서열 번호 14;

[0134] d. 경쇄 및 중쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3 아미노산 서열의 조합: 서열 번호 7, YAS 또는 서열 번호 2, 서열 번호 3, 서열 번호 12, 서열 번호 13, 및 서열 번호 14;

[0135] e. 경쇄 및 중쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3 아미노산 서열의 조합: 서열 번호 8, YAS 또는 서열 번호 2, 서열 번호 3, 서열 번호 12, 서열 번호 13, 및 서열 번호 14;

[0136] f. 경쇄 및 중쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3 아미노산 서열의 조합: 서열 번호 9, YAS 또는 서열 번호 2, 서열 번호 3, 서열 번호 12, 서열 번호 13, 및 서열 번호 14;

[0137] g. 경쇄 및 중쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3 아미노산 서열의 조합: 서열 번호 10, YAS 또는 서열 번호 2, 서열 번호 3, 서열 번호 12, 서열 번호 13, 및 서열 번호 14; 또는

[0138] h. 경쇄 및 중쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3 아미노산 서열의 조합: 서열 번호 11, YAS 또는 서열 번호 2, 서열 번호 3, 서열 번호 12, 서열 번호 13, 및 서열 번호 14.

[0139] i. 경쇄 및 중쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3 아미노산 서열의 조합: 서열 번호 1, YAS 또는 서열 번호 2, 서열 번호 4, 서열 번호 12, 서열 번호 13, 및 서열 번호 14.

[0140] 일 실시양태에서, 본원에서 제공된 GIPR 항체는 1개 또는 2개의 아미노산 서열을 포함하고, 각 아미노산 서열은 하기 나열된 아미노산 서열로부터 독립적으로 선택된다:

[0141] a. 경쇄 가변 도메인 아미노산 서열: 서열 번호 29, 서열 번호 30, 서열 번호 31, 서열 번호 32, 서열 번호 33, 서열 번호 34, 서열 번호 35, 서열 번호 36, 및 서열 번호 37; 및 임의의 상기 서열과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 또는 적어도 95% 동일한 아미노산 서열; 및

[0142] b. 중쇄 가변 도메인 아미노산 서열: 서열번호 38; 및 이와 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90% 또는 적어도 95% 동일한 아미노산 서열.

[0143] 또 다른 실시양태에서, 본원에서 제공된 GIPR 항체의 폴리뉴클레오티드 코딩 서열은 1개 또는 2개의 폴리뉴클레오티드 코딩 서열을 포함하고, 각 폴리뉴클레오티드 코딩 서열은 하기 나열된 폴리뉴클레오티드 서열로부터 독립적으로 선택된다:

[0144] a. 경쇄 가변 도메인 폴리뉴클레오티드 코딩 서열: 서열 번호 39, 서열 번호 40, 서열 번호 41, 서열 번호 42, 서열 번호 43, 서열 번호 44, 서열 번호 45, 서열 번호 46 및 서열 번호 47; 및 임의의 이러한 서열과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 또는 적어도 95% 동일한 폴리뉴클레오티드 코딩 서열; 및

[0145] b. 중쇄 가변 도메인 폴리뉴클레오티드 코딩 서열: 서열번호 48; 및 이와 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90% 또는 적어도 95% 동일한 폴리뉴클레오티드 코딩 서열.

[0146] 일 실시양태에서, 본원에서 제공된 GIPR 항체는 하기 목록으로부터 독립적으로 선택된 아미노산 서열을 포함한다: 서열 번호 29, 서열 번호 30, 서열 번호 31, 서열 번호 32, 서열 번호 33, 서열 번호 34, 서열 번호 35, 서열 번호 36, 및 서열 번호 37.

[0147] 또 다른 실시양태에서, 본원에서 제공된 GIPR 항체는 하기 목록으로부터 독립적으로 선택된 아미노산 서열을 포함한다: 서열 번호 38.

[0148] 일 실시양태에서, 본원에서 제공된 GIPR 항체는 하기 목록으로부터 독립적으로 선택된 경쇄 및 중쇄 가변 도메인 아미노산 서열의 조합을 포함한다: 서열 번호 29 및 서열 번호 38, 서열 번호 30 및 서열 번호 38, 서열 번호 31 및 서열 번호 38, 서열 번호 32 및 서열 번호 38, 서열 번호 33 및 서열 번호 38, 서열 번호 34 및 서열 번호 38, 서열 번호 35 및 서열 번호 38, 서열 번호 36 및 서열 번호 38, 및 서열 번호 37 및 서열 번호 38.

[0149] 일 실시양태에서, 본원에서 제공된 GIPR 항체는 하기 목록으로부터 독립적으로 선택된 아미노산 서열을 포함한다: 서열 번호 29, 서열 번호 30, 서열 번호 34, 서열 번호 35, 서열 번호 36 및 서열 번호 37.

[0150] 또 다른 실시양태에서, 본원에서 제공된 GIPR 항체는 하기 목록으로부터 독립적으로 선택된 경쇄 및 중쇄 가변 도메인 아미노산 서열의 조합을 포함한다: 서열 번호 29 및 서열 번호 38 (L1H1), 서열 번호 30 및 서열 번호 38 (L2H1), 서열 번호 31 및 서열 번호 38 (L3H1), 서열 번호 32 및 서열 번호 38 (L4H1), 서열 번호 33 및 서

열 번호 38 (L5H1), 서열 번호 34 및 서열 번호 38 (L6H1), 서열 번호 35 및 서열 번호 38 (L7H1), 서열 번호 36 및 서열 번호 38 (L8H1), 및 서열 번호 37 및 서열 번호 38 (L9H1).

[0151] 본원에서 제공된 GIPR 항체는 또한 "LxHy" 표기법으로 표시될 수 있으며, 여기서 "x"는 경쇄 가변 영역 서열의 코드 번호에 해당하고, "y"는 중쇄 가변 영역 서열의 코드 번호에 해당한다. 예를 들면, L2H2는 아미노산 서열 서열 번호 30(L2)을 포함하는 경쇄 가변 영역 및 아미노산 서열 서열 번호 38(H1)을 포함하는 중쇄 가변 영역을 갖는 온전한 항체를 나타낸다.

[0152] 일 실시양태에서, 본원에서 제공된 GIPR 항체는 1개 또는 2개의 아미노산 서열을 포함하고, 각 아미노산 서열은 하기 나열된 아미노산 서열로부터 독립적으로 선택된다:

[0153] a. 경쇄 불변 영역 아미노산 서열: 서열 번호 49; 및

[0154] b. 중쇄 불변 영역 아미노산 서열: 서열 번호 50, 서열 번호 51.

[0155] 일 실시양태에서, 본원에서 제공된 GIPR 항체는 1개 또는 2개의 아미노산 서열을 포함하고, 각 아미노산 서열은 하기 나열된 경쇄 및 중쇄 불변 영역 아미노산 서열의 조합으로부터 독립적으로 선택된다: 서열 번호 49 및 서열 번호 50, 서열 번호 49 및 서열 번호 51.

[0156] 일 실시양태에서, 본원에서 제공된 GIPR 항체는 본원에 나열된 경쇄 및 중쇄 CDR의 아미노산 서열과 FR(프레임워크)을 포함한다. FR의 아미노산 서열은 경쇄 또는 중쇄 가변 도메인 아미노산 서열에 포함되어 있으며 별도로 표시되지 않는다. 일 실시양태에서, 항체는 본원에 나열된 경쇄 CDR1 서열을 포함한다. 또 다른 실시양태에서, 항체는 본원에 나열된 경쇄 CDR2 서열을 포함한다. 또 다른 실시양태에서, 항체는 본원에 나열된 경쇄 CDR3 서열을 포함한다. 또 다른 실시양태에서, 항체는 본원에 나열된 중쇄 CDR1 서열을 포함한다. 또 다른 실시양태에서, 항체는 본원에 나열된 중쇄 CDR2 서열을 포함한다. 또 다른 실시양태에서, 항체는 본원에 나열된 중쇄 CDR3 서열을 포함한다. 또 다른 실시양태에서, 항체는 본원에서 경쇄 FR1 서열을 포함한다. 또 다른 실시양태에서, 항체는 본원에서 경쇄 FR2 서열을 포함한다. 또 다른 실시양태에서, 항체는 본원에서 경쇄 FR3 서열을 포함한다. 또 다른 실시양태에서, 항체는 본원에서 경쇄 FR4 서열을 포함한다. 또 다른 실시양태에서, 항체는 본원에서 중쇄 FR1 서열을 포함한다. 또 다른 실시양태에서, 항체는 본원에서 중쇄 FR2 서열을 포함한다. 또 다른 실시양태에서, 항체는 본원에서 중쇄 FR3 서열을 포함한다. 추가 실시양태에서, 항체는 본원에서 중쇄 FR4 서열을 포함한다.

[0157] 일 실시양태에서, 항체의 경쇄 CDR3 서열은 6, 5, 4, 3, 2 또는 1개 이하의 단일 아미노산 첨가, 치환 및/또는 결실에 의해 본원에 나열된 경쇄 CDR3 아미노산 서열 서열 번호 3 및 서열 번호 4 중 하나와 상이하다. 또 다른 실시양태에서, 항체는 본원에 나열된 경쇄 및 중쇄 CDR 서열의 1, 2, 3, 4, 5 또는 6개의 조합을 추가로 포함한다.

[0158] 일 실시양태에서, 본원에서 제공된 GIPR 항체는 본원에 나열된 L1(서열 번호 29), L2(서열 번호 30), L6(서열 번호 34), L7(서열 번호 35), L8(서열 번호 36), 및 L9(서열 번호 37) 경쇄 가변 도메인 서열로부터 선택된 경쇄 가변 도메인 아미노산 서열을 포함한다. 일 실시양태에서, GIPR 항체의 경쇄 가변 도메인 아미노산 서열은 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2, 또는 1개의 아미노산이 경쇄 가변 도메인 아미노산 서열 L1(서열 번호 29), L2(서열 번호 30), L6(서열 번호 34), L7(서열 번호 35), L8(서열 번호 36), 및 L9(서열 번호 37) 중 하나와 상이하고, 여기서 각 서열 간의 차이는 독립적으로 아미노산 잔기의 결실, 삽입 또는 치환이다. 또 다른 실시양태에서, GIPR 항체의 경쇄 가변 도메인 아미노산 서열은 경쇄 가변 도메인 아미노산 서열 L1 (서열 번호 29), L2 (서열 번호 30), L6 (서열 번호 34), L7 (서열 번호 35), L8 (서열 번호 36), 및 L9 (서열 번호 37) 중 하나와 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 또는 적어도 99% 동일하다. 또 다른 실시양태에서, GIPR 항체의 경쇄 가변 도메인 폴리뉴클레오티드 코딩 서열은 L1 (서열 번호 29), L2 (서열 번호 30), L6 (서열 번호 34), L7 (서열 번호 35), L8 (서열 번호 36), 및 L9 (서열 번호 37) 중 하나의 폴리뉴클레오티드 코딩 서열과 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 또는 적어도 99% 동일하다. 또 다른 실시양태에서, GIPR 항체의 경쇄 가변 도메인 폴리뉴클레오티드 코딩 서열은 중간 정도로 엄격한 조건 하에서 경쇄 가변 도메인 L1(서열 번호 29), L2(서열 번호 30), L6(서열 번호 34), L7(서열 번호 35), L8(서열 번호 36) 및 L9(서열 번호 37) 중 하나의 폴리뉴클레오티드 코딩 서열의 상보적 서열에 혼성화되는 폴리뉴클레오티드 서열을 포함한다. 추가 실시양태에서, GIPR 항체의 경쇄 가변 도메인 폴리뉴클레오티드 코딩 서열은 엄격한 조건 하에서 경쇄 가변 도메인 L1(서열 번호 29), L2(서열 번호 30), L6(서열 번호 34), L7(서열 번호 35), L8(서열 번호 36) 및 L9(서열 번호 37) 중

하나의 폴리뉴클레오티드 코딩 서열의 상보적 서열에 혼성화되는 폴리뉴클레오티드 서열을 포함한다.

[0159] 일 실시양태에서, 본원에서 제공된 GIPR 항체는 본원에서 나열된 중쇄 가변 도메인 서열 H1(서열 번호 38)에서 선택된 중쇄 가변 도메인 아미노산 서열을 포함한다.

[0160] 일 실시양태에서, 본원에서 제공된 항체는 서열 번호 29 및 서열 번호 38(L1H1), 서열 번호 30 및 서열 번호 38(L2H1), 서열 번호 31 및 서열 번호 38(L3H1), 서열 번호 32 및 서열 번호 38(L4H1), 서열 번호 33 및 서열 번호 38(L5H1), 서열 번호 34 및 서열 번호 38(L6H1), 서열 번호 35 및 서열 번호 38(L7H1), 서열 번호 36 및 서열 번호 38(L8H1), 또는 서열 번호 37 및 서열 번호 38(L9H1)의 조합을 포함하는 항체이거나, 또는 이의 예상 표현형(예, IgA, IgG1, IgG2a, IgG2b, IgG3, IgM, IgE 또는 IgD)을 포함하는 항체, 또는 이의 Fab 또는 F(ab')2 단편이다.

[0161] 일 실시양태에서, 본원에서 제공된 항체는 L1H1(서열 번호 29 및 서열 번호 38), L2H1(서열 번호 30 및 서열 번호 38), L6H1(서열 번호 34 및 서열 번호 38), L7H1(서열 번호 35 및 서열 번호 38), L8H1(서열 번호 36 및 서열 번호 38) 또는 L9H1(서열 번호 37 및 서열 번호 38)의 조합을 포함하는 항체, 또는 이의 클래스 전환 항체(예, IgA, IgG1, IgG2a, IgG2b, IgG3, IgM, IgE 및 IgD), 또는 이의 Fab 또는 F(ab')2 단편이다.

[0162] 본원에 제공된 항체는 당업계에 알려진 임의의 불변 영역을 포함할 수 있다. 예를 들어, 경쇄 불변 영역은 마우스 κ 또는 λ 경쇄 불변 영역과 같은 κ 또는 λ 경쇄 불변 영역일 수 있다. 중쇄 불변 영역은, 예를 들어 α, δ, ε, γ 또는 μ 중쇄 불변 영역, 예를 들어 마우스 α, δ, ε, γ 또는 μ 중쇄 불변 영역일 수 있다. 일 실시양태에서, 경쇄 또는 중쇄 불변 영역은 천연 불변 영역의 단편, 유도체, 변이체 또는 돌연변이 단백질이다.

[0163] 일 실시양태에서, 본원에서 제공된 항체는 추가로 인간 불변 경쇄 카파 도메인 또는 이의 단편을 포함한다. 경쇄 불변 영역의 아미노산 서열은 다음과 같다:

[0164] 인간 불변 경쇄 카파 도메인 아미노산 서열: (서열 번호 49).

[0165] 일 실시양태에서, 본원에서 제공된 항체는 추가로 인간 중쇄 불변 도메인 또는 이의 단편을 포함한다.

[0166] 중쇄 불변 영역 아미노산 서열은 다음과 같다:

[0167] 인간 중쇄 불변 영역 아미노산 서열(hIgG2): (서열 번호 50); 및

[0168] 인간 중쇄 불변 영역 아미노산 서열(hIgG4): (서열 번호 51).

[0169] 일 실시양태에서, 본원에서 제공된 GIPR 항체는 본원에서 나열된 V1(서열 번호 103)에서 선택된 경쇄 도메인 아미노산 서열을 포함한다. 일 실시양태에서, GIPR 항체의 경쇄 도메인 아미노산 서열은 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2, 또는 1개의 아미노산이 V1의 경쇄 도메인 아미노산 서열과 상이하고, 여기서 각 서열 간의 차이는 독립적으로 아미노산 잔기의 결실, 삽입 또는 치환이다. 또 다른 실시양태에서, GIPR 항체의 경쇄 도메인 아미노산 서열은 V1의 경쇄 도메인 아미노산 서열과 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 또는 적어도 99% 동일하다. 또 다른 실시양태에서, GIPR 항체의 경쇄 도메인 폴리뉴클레오티드 코딩 서열은 V1 및 V2 중 하나의 폴리뉴클레오티드 코딩 서열과 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 또는 적어도 99% 동일하다. 또 다른 실시양태에서, GIPR 항체의 경쇄 도메인 폴리뉴클레오티드 코딩 서열은 중간 정도로 엄격한 조건 하에서 V1 경쇄 도메인의 폴리뉴클레오티드 코딩 서열의 상보적 서열에 혼성화되는 폴리뉴클레오티드 서열을 포함한다. 추가 실시양태에서, GIPR 항체의 경쇄 도메인 폴리뉴클레오티드 코딩 서열은 엄격한 조건 하에서 V1 경쇄 도메인의 폴리뉴클레오티드 코딩 서열의 상보적 서열에 혼성화되는 폴리뉴클레오티드 서열을 포함한다.

[0170] 일 실시양태에서, 본원에서 제공된 GIPR 항체는 본원에서 나열된 W1 (서열 번호 111), W2 (서열 번호 112)에서 선택된 중쇄 도메인 아미노산 서열을 포함한다. 또 다른 실시양태에서, GIPR 항체의 중쇄 도메인 아미노산 서열은 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2, 또는 1개의 아미노산이 W1 및 W2 중 하나의 중쇄 도메인 서열과 상이하고, 여기서 각 서열 간의 차이는 독립적으로 아미노산 잔기의 결실, 삽입 또는 치환이다. 또 다른 실시양태에서, GIPR 항체의 중쇄 도메인 아미노산 서열은 W1 및 W2 중 하나의 중쇄 도메인 서열과 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 또는 적어도 99% 동일하다. 또 다른 실시양태에서, GIPR 항체의 중쇄 도메인 폴리뉴클레오티드 코딩 서열은 W1 및 W2 중 하나의 폴리뉴클레오티드 코딩 서열과 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 또는 적어도 99% 동일하다. 또 다른 실시양태에서, GIPR 항체의 중쇄 도메인 폴리뉴클레오티드 코딩 서열은 중간 정도로 엄격한 조건 하에서 W1 및 W2 중쇄 도메인 중 하나의 폴리뉴클레오티드 코딩 서열의 상보적 서열에 혼성화

되는 폴리뉴클레오티드 서열을 포함한다. 일 실시양태에서, GIPR 항체의 중쇄 도메인 폴리뉴클레오티드 코딩 서열은 엄격한 조건 하에서 W1 및 W2 중쇄 도메인 중 하나의 폴리뉴클레오티드 코딩 서열의 상보적 서열에 혼성화되는 폴리뉴클레오티드 서열을 포함한다.

[0171] 또 다른 실시양태에서, 본원에서 제공된 항체는 조합 V1W1 (서열 번호 103 및 서열 번호 111), 또는 V1W2 (서열 번호 103 및 서열 번호 112)를 포함하는 항체이다.

[0172] 일 실시양태에서, 본원에서 제공된 GIPR 항체는 뮤린 유래 항체, 인간화 항체, 키메라 항체, 단일클론 항체, 다클론 항체, 재조합 항체, 항원 결합 항체 단편, 단일 사슬 항체, 디아바디, 트리아바디, 테트라바디, Fab 단편, F(ab')x 단편, 도메인 항체, IgD 항체, IgE 항체, IgM 항체, IgG1 항체, IgG2 항체, IgG3 항체 또는 IgG4 항체에서 선택된다.

[0173] 일 실시양태에서, 본원에서 제공된 GIPR 항체는 GIPR 단일클론 항체이다.

[0174] 또 다른 실시양태에서, 본원에서 제공된 GIPR 항체는 하기 목록으로부터 선택된 아미노산 서열의 조합을 포함하는 단일클론 항체이다: 서열 번호 29 및 서열 번호 38, 서열 번호 30 및 서열 번호 38, 서열 번호 31 및 서열 번호 38, 서열 번호 32 및 서열 번호 38, 서열 번호 33 및 서열 번호 38, 서열 번호 34 및 서열 번호 38, 서열 번호 35 및 서열 번호 38, 서열 번호 36 및 서열 번호 38, 및 서열 번호 37 및 서열 번호 38.

[0175] 일 실시양태에서, 본원에서 제공된 GIPR 항체는 뮤린 유래 GIPR이다. 또 다른 실시양태에서, 본원에서 제공된 GIPR 항체는 인간화 GIPR 항체이다.

[0176] 일 실시양태에서, 본원에서 제공된 GIPR 항체는 인간 GIP 신호전달을 억제하며 IC_{50} 값이 약 1 nM 내지 약 200 nM 또는 약 1 nM 내지 약 100 nM이다.

[0177] 항체 및 항체 단편

[0178] 일 실시양태에서, 본원에서 제공된 항체는 온전한 항체(전장 중쇄 및/또는 경쇄를 갖는 다클론, 단일클론, 키메라, 인간화 또는 인간 항체 포함)이다. 또 다른 실시양태에서, 본원에서 제공된 항체는 항체 단편, 예를 들어 $F(ab')_2$, Fab, Fab', Fv, Fc, 또는 Fd 단편, 단일 도메인 항체, 단일 사슬 항체, 맥시바디, 미니바디, 인트라바디, 디아바디, 트리아바디, 테트라바디, v-NAR 또는 비스-scFv이다(예, 문헌[Hollinger and Hudson, 2005, *Nature Biotechnology*, 23:1126-1136] 참조). 또 다른 실시양태에서, 본원에서 제공된 항체는 미국 특허 번호 6703199에 개시된 항체 폴리펩티드, 즉 피브로넥틴 폴리펩티드 단일클론 항체를 포함한다. 추가 실시양태에서, 본원에서 제공된 항체는 미국 특허 공개 2005/0238646에 개시된 단일 사슬 폴리펩티드를 포함한다.

[0179] 일 실시양태에서, 하이브리도마에서 발현되는 단일클론 항체 유전자의 가변 영역은 뉴클레오티드 프라이머를 사용하여 증폭된다. 이러한 프라이머는 당업자에 의해 합성되거나 또는 상업적 공급업체로부터 구입할 수 있다. V_{Ha}, V_{Hb}, V_{Hc}, V_{Hd}, C_{H1}, V_L, 및 C_L 영역에 대한 프라이머를 포함한 뮤린 및 인간 가변 영역의 프라이머는 상업적 공급업체로부터 구매할 수 있다. 이러한 프라이머는 중쇄 또는 경쇄 가변 영역을 증폭하는 데 사용될 수 있고, 이후 IMMUNOZAP™H 또는 IMMUNOZAP™L (Stratagene)과 같은 벡터에 삽입될 수 있다. 이러한 벡터는 이. 콜라이, 효모 또는 포유류 기반 발현 시스템에 도입될 수 있다. 이러한 방법은 V_H 및 V_L 도메인의 융합을 포함하는 대량의 단일 사슬 단백질을 생산하는 데 사용될 수 있다(문헌[Bird et al., 1988, *Science* 242:423-426] 참조).

[0180] 특정 단백질, 예컨대 항체는 다양한 전사 후 변형을 겪을 수 있다는 점을 당업자라면 이해하여야 한다. 이러한 변형의 유형과 범위는 단백질을 발현하는 데 사용된 숙주 세포주와 배양 조건에 따라 달라진다. 이러한 변형에는 글리코실화, 메티오닌 산화, 디케토피페라진 형성, 아스파르테이트 이성질화 및 아스파라진 탈아미드화의 변화가 포함된다. 항체의 카르복시 말단 염기성 잔기(예, 리신 또는 아르기닌)는 카르복시펩티다제의 빈번한 변형 작용으로 인해 손실될 수 있다(문헌[Harris, 1995, *Journal of Chromatography* 705:129-134] 참조).

[0181] 뮤린 단일클론 항체는 일반적인 하이브리도마 세포 방법을 사용하여 생산할 수 있다. 단일클론 항체는 다양한 기존 기술을 통해 단리 및 정제할 수 있다. 이러한 단리 기술에는 단백질 A-세파로스를 이용한 친화성 크로마토그래피, 크기 배제 크로마토그래피, 및 이온 교환 크로마토그래피가 포함된다(예, 문헌[Coligan, pages 2.7.1-2.7.12 and pages 2.9.1-2.9.3]; [Baines et al., "Purification of Immunoglobulin G (IgG)," Methods in Molecular Biology, vol. 10, pages 79-104 (The Humana Press, Inc., 1992)] 참조). 단일클론 항체는 항체의 특정한 특성(예, 중쇄 또는 경쇄 이소타입, 결합 특이성 등)을 기준으로 적절한 리간드를 스크리닝하는 데 사용하여 친화성 크로마토그래피를 통해 정제할 수 있다. 친화성 크로마토그래피의 적합한 리간드의 예로는 단백질

A, 단백질 G, 항-불변 영역(경쇄 또는 중쇄) 항체, 항-이디오타입 항체 및 FGF21 결합 단백질, 또는 이의 단편 또는 변이체가 포함된다.

[0182] 예를 들어, c-erbB-2에 대한 친화성이 증가된 항체와 같이 친화성이 증가된 항체는 항체 결합 부위 중앙에 있는 상보적 결정 영역(CDR)을 사용하여 친화성 성숙을 위해 분자를 변형하여 얻을 수 있다(Schier et al., 1996. *J. Mol. Biol.* 263:551-567). 따라서, 이러한 기술은 인간 GIPR에 대한 항체를 생산하는 데 유용하다.

[0183] 예를 들어, 인간 GIPR에 대한 항체는 인간 GIPR의 존재 또는 부재를 시험관 내 또는 생체 내에서 검출하는 어세이에 사용될 수 있다.

[0184] 항체는 또한 임의의 전통적인 기술을 통해서도 생산할 수 있다. 예를 들어, 이러한 항체는 이를 자연적으로 발현하는 세포(예, 항체는 이를 생산하는 하이브리도마에서 정제될 수 있음)에서 정제될 수 있거나, 또는 해당 기술 분야에 알려진 모든 기술을 사용하여 재조합 발현 시스템에서 생산될 수 있다. 예를 들어, 문헌[Monoclonal Antibodies, Hybridomas: A New Dimension in Biological Analyses, Kennet et al. (eds.), Plenum Press, (1980)]; 및 [Antibodies: A Laboratory Manual, Harlow and Land (eds.), Cold Spring Harbor Laboratory Press (1988)] 참조. 이에 대해서는 하기 핵산 섹션에서 논의된다.

[0185] 항체는 원하는 특성을 위해 임의의 공지된 기술을 사용하여 제조 및 스크리닝될 수 있다. 일부 기술은 관련 항체(예, 항-GIPR 항체)의 폴리펩티드 사슬(또는 이의 일부)을 코딩하는 핵산의 단리 및 재조합 DNA 기술을 통한 핵산의 조작과 관련이 있다. 핵산은 다른 관련 핵산과 융합되거나, 변형(예, 돌연변이 유발 또는 기타 전통적인 기술)되어 하나 이상의 아미노산 잔기를 추가, 결실 또는 치환할 수 있다.

[0186] 본원에서 상기 언급된 CDR 중 하나 이상을 포함하는 항체의 친화도를 향상시키고자 할 때, 다양한 친화도 성숙 프로토콜을 사용할 수 있고, 이는 CDR 보존(Yang et al., 1995, J. Mol. Biol. 254: 392-403), 사슬 셔플링(Marks et al., 1992, Bio/Technology 10:779-783), 이. 콜라이의 돌연변이 균주의 사용(Low et al., 1996, J. Mol. Biol. 250:350-368), DNA 재배열(Patten et al., 1997, Curr. Opin. Biotechnol. 8:724-733), 파지 디스플레이(Thompson et al., 1996, J. Mol. Biol. 256:7-88) 및 추가적인 PCR 기법(Crameri et al., 1998, Nature 391: 288-291)을 포함한다. 이러한 모든 친화도 성숙 방법은 문헌[Vaughan et al., 1998, Nature Biotechnology, 16:535-539]에서 논의된다.

[0187] 일 실시양태에서, 본원에서 제공된 항체는 항-GIPR 단편이다. 해당 단편은 항체 유래 서열로만 이루어질 수 있거나, 또는 추가 서열을 포함할 수 있다. 항원 결합 단편의 예로는 Fab, F(ab')2, 단일 사슬 항체, 디아바디, 트리아바디, 테트라바디 및 도메인 항체가 포함되며, 기타 예는 문헌[Lunde et al., 2002, Biochem. Soc. Trans. 30:500-06]에 제공된다.

[0188] 중쇄 및 경쇄 가변 도메인(Fv 영역)은 아미노산 브릿지(짧은 펩티드 링커)로 연결되어 단일 사슬 항체를 형성할 수 있으며, 그 결과 단일 폴리펩티드 사슬이 생성된다. 이러한 단일 사슬 Fv(scFv)는 2개의 가변 도메인 폴리펩티드(V_L 및 V_H)를 코딩하는 DNA 사이의 펩티드 링커를 코딩하는 DNA를 융합하여 제조되었다. 생성된 폴리펩티드는 그 자체로 되접혀 항원 결합 단량체를 형성할 수 있거나, 또는 2개의 가변 도메인 사이의 유연한 링커의 길이에 따라 중합체(예, 이량체, 삼량체 또는 사량체)를 형성할 수 있다(Kortt et al., 1997, Prot. Eng. 10:423; Kortt et al., 2001, Biomol. Eng. 18:95-108). 상이한 V_L 및 V_H-함유 폴리펩티드를 조합하여, 상이한 표현형에 결합한 중합체 scFv가 형성될 수 있다(Kriangkum et al., 2001, Biomol. Eng. 18:31-40). 단일 사슬 항체 생산을 위해 개발된 기술에는 미국 특허 번호 4946778, 문헌[Bird, 1988, Science 242:423]; [Huston et al., 1988, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85:5879-5883]; [Ward et al., 1989, Nature 334:544-546]; [de Graaf et al., 2002, Methods Mol Biol. 178:379-87]에 기술된 것이 포함된다. 본원에서 제공된 항체에서 유래된 단일 사슬 항체에는 비제한적으로 가변 도메인 조합 L1H1을 포함하는 scFv가 포함되며, 본원에 기술된 범위 내에 포함된다.

[0189] 항체에서 유래된 항원 결합 단편은 또한 항체의 단백질 분해에 의해, 예를 들어 전통적인 방법에 따라 온전한 항체의 펩신 또는 파파인 소화에 의해 얻을 수 있다. 예를 들어, 항체 단편은 펩신을 사용하여 항체를 효소적으로 절단하여 F(ab')2라고 하는 SS 단편을 제공함으로써 생산할 수 있다. 이 단편은 설프히드릴 환원제를 사용하여 추가로 절단되어 3.5S Fab' 일가 단편을 생성할 수 있다. 대안적인 방안은 설프히드릴 보호기로 절단 반응을 수행하여 디설피드 결합을 절단하는 것이고; 또한, 파파인을 이용한 효소적 절단으로 2개의 일가 Fab 단편 및 하나의 Fc 단편을 직접 생성한다. 이러한 방법은, 예를 들어, Goldenberg의 미국 특허 번호 4,331,647, 문헌[Nisonoff et al., 1960, Arch. Biochem. Biophys. 89:230]; [Porter, 1959, Biochem. J. 73:119]; [Edelman

et al., Methods in Enzymology 1:422, (Academic Press, 1967)]; 및 [Andrews and Titus, J.A. Current Protocols in Immunology (Coligan et al., (eds), John Wiley & Sons, 2003), 페이지 2.8,1-2.8.10 및 페이지 2.10A.1-2.10A.5.]에 기술되어 있다. 항체를 절단하는 다른 방법, 예를 들어 일가의 중쇄와 경쇄 단편(Fd)을 형성하기 위해 중쇄를 제조하거나, 단편을 추가로 절단하는 방법, 또는 기타 효소적, 화학적 또는 유전적 기술을 사용할 수도 있는데, 이 경우 단편은 온전한 항체에 의해 인식되는 항원에 결합해야 한다.

[0190] 항체 단편의 또 다른 형태는 항체의 하나 이상의 상보성 결정 영역(CDR)을 포함하는 펩티드이다. CDR은 관련 CDR을 코딩하는 폴리펩티드를 구축함으로써 얻을 수 있다. 이러한 폴리펩티드는, 예를 들어, 항체 생성 세포의 mRNA를 템플릿으로 사용하여 가변 영역을 합성하기 위해 중합효소 연쇄 반응을 사용함으로써 제조될 수 있고, 예를 들어, 문헌[Larrick et al., 1991, Methods: A Companion to Methods in Enzymology 2:106]; [Courtenay-Luck, "Genetic Manipulation of Monoclonal Antibodies," Monoclonal Antibodies: Production, Engineering and Clinical Application, Ritter et al., (eds.), page 166 (Cambridge University Press, 1995)]; 및 [Ward et al., "Genetic Manipulation and Expression of Antibodies," Monoclonal Antibodies: Principles and Applications, Birch et al., (eds.), page 137 (Wiley-Liss, Inc., 1995)]를 참조한다. 항체 단편은 추가로 본원에서 기술된 항체의 적어도 하나의 가변 도메인을 포함할 수 있다. 따라서, 예를 들어, V 영역 도메인은 단량체일 수 있으며, V_H 또는 V_L 도메인이 될 수 있고, 하기 기술된 바와 같이 적어도 1×10^{-7} M 이상의 친화도로 GIPR에 독립적으로 결합할 수 있다.

[0191] 가변 영역 도메인은 임의의 천연 가변 도메인이거나 이의 유전자 조작된 버전일 수 있다. 유전자 조작된 버전은 재조합 DNA 조작 기술을 통해 생산된 가변 영역 도메인을 지칭한다. 이러한 유전자 조작된 버전에는, 예를 들어, 특정 항체 가변 영역에서 특정 항체의 아미노산 서열을 삽입, 결실 또는 변경하여 생성된 버전이 포함된다. 특정 예로는, 하나의 항체에서 단 하나의 CDR과 임의로 하나 이상의 프레임워크 아미노산을 포함하는 가변 영역 도메인과, 다른 항체에서 유래하여 유전적 조작으로 조립된 나머지 가변 영역 도메인을 포함한다.

[0192] 가변 영역 도메인은 C 말단 아미노산에서 적어도 하나의 다른 항체 도메인 또는 이의 단편에 공유 결합될 수 있다. 따라서, 예를 들어, 가변 영역 도메인에 존재하는 V_H 도메인은 면역글로불린 C_{H1} 도메인 또는 이의 단편에 연결될 수 있다. 유사하게, V_L 도메인은 C_K 도메인 또는 이의 단편에 연결될 수 있다. 예를 들어, 이러한 방식으로, 항체는 Fab 단편일 수 있고, 여기서 항원 결합 도메인은 이의 C 말단에서 각각 C_{H1} 및 C_K 도메인에 공유 결합되는 조합된 V_H 및 V_L 도메인을 함유한다. C_{H1} 도메인은 추가 아미노산으로 확장될 수 있으며, 예를 들어 Fab' 단편에서 발견되는 힌지 영역 또는 힌지 영역 도메인의 일부를 제공하거나, 또는 항체 C_{H2} 및 C_{H3} 도메인과 같은 추가 도메인을 제공할 수 있다.

[0193] 항체의 유도체 및 변이체

[0194] 아미노산 서열 L1 및 H를 코딩하는 뉴클레오티드 서열은, 예를 들어, 무작위 돌연변이 유발에 의해 또는 부위 지향성 돌연변이 유발(예, 올리고뉴클레오티드 유도 부위 지향성 돌연변이 유발)에 의해 변경되어, 돌연변이가 발생하지 않은 폴리뉴클레오티드와 비교하여 하나 이상의 특정 뉴클레오티드 치환, 결실 또는 삽입을 포함하는 변경된 폴리뉴클레오티드를 생성할 수 있다. 이러한 변경을 만드는 기술의 예는 문헌[Walder et al., 1986, Gene 42:133]; [Bauer et al., 1985, Gene 37:73]; [Craik, 1985, BioTechniques, 3:12-19; Smith et al., 1981, Genetic Engineering: Principles and Methods, Plenum Press]; 및 미국 특허 번호 4518584 및 4737462에 기술되어 있다. 이러한 방법과 기타 방법을 사용하여 원하는 특성, 예컨대 유도체화되지 않은 항체에 비해 GIPR에 대한 향상된 친화성, 결합력 또는 특이성, 향상된 생체 내 또는 시험관 내 활성 또는 안정성, 또는 감소된 생체 내 부작용을 갖는 항-GIPR 항체 유도체를 생산할 수 있다.

[0195] 당업계에서 항-GIPR 항체의 다른 유도체로는 항-GIPR 항체 또는 이의 단편과 다른 단백질 또는 폴리펩티드의 공유 결합 또는 응집 접합체가 포함되며, 예를 들어 항-GIPR 항체 폴리펩티드의 N 말단 또는 C 말단에 융합된 이종 폴리펩티드를 포함하는 재조합 융합 단백질을 발현시키는 방법이 있다. 예를 들어, 결합 펩티드는 이종 신호(또는 리더) 폴리펩티드, 즉 효모 α 인자 리더 펩티드 또는 에피토프 태그가 붙은 펩티드일 수 있다. 융합 단백질을 포함하는 항체는 항체의 정제 또는 식별을 용이하게 하기 위해 추가된 펩티드(예, 폴리히스티딘)를 포함할 수 있다. 항체는 또한 문헌[Hopp et al., 1988, Bio/Technology 6:1204] 및 미국 특허 번호 5011912에 기술된 바와 같이 FLAG 펩티드에 연결될 수 있다. FLAG 펩티드는 항원성이 매우 강하고 특정 단일클론 항체(mAb)에 의해 가역적으로 결합된 에피토프를 제공하여, 발현된 재조합 단백질의 빠른 검출 및 손쉬운 정제를 가능하게

한다. FLAG 펩티드가 주어진 폴리펩티드에 융합된 융합 단백질을 제조하는 데 유용한 시약은 시중에서 구입할 수 있다(Sigma-Aldrich, 미국 미주리주 세인트 루이스 소재). 또 다른 실시양태에서, 하나 이상의 항체를 포함하는 올리고머는 GIPR 길항제 또는 고차 올리고머로 사용될 수 있다. 올리고머는 공유 결합된 또는 비공유 결합된 이량체, 삼량체 또는 고차 올리고머의 형태일 수 있다. 2개 이상의 항체를 포함하는 올리고머가 사용될 수 있으며, 그 중 한 가지 예가 동종이량체이다. 다른 올리고머에는 이종이량체, 동종삼량체, 이종삼량체, 동종사량체, 이종사량체 등이 포함된다.

[0196] 일 실시양태는 항체에 융합된 펩티드 모이어티 사이의 공유 결합 또는 비공유 결합 상호 작용을 통해 연결된 여러 항체를 포함하는 올리고머에 관한 것이다. 이러한 펩티드는 펩티드 링커(스페이서)이거나, 올리고머화를 촉진하는 특성을 갖는 펩티드일 수 있다. 류신 지퍼와 항체에서 유래된 특정 폴리펩티드는 하기 상세하게 설명되는 바와 같이 항체의 올리고머화를 촉진할 수 있는 펩티드이다.

[0197] 구체적인 실시양태에서, 올리고머는 2개 내지 4개의 항체를 포함한다. 올리고머의 항체는 임의의 형태, 예컨대 상기 기술된 임의의 형태, 예컨대 변이체 또는 단편일 수 있다. 바람직하게는, 올리고머는 GIPR 결합 활성을 갖는 항체를 포함한다.

[0198] 일 실시양태에서, 올리고머는 면역글로불린에서 유래된 폴리펩티드를 사용하여 제조된다. 항체 유래 폴리펩티드의 다양한 부분(Fc 도메인 포함)에 융합된 특정 이종 폴리펩티드를 포함하는 융합 단백질의 제조는, 예를 들어 문헌[Ashkenazi et al., 1991, PNAS USA 88:10535]; [Byrn et al., 1990, Nature 344:677]; 및 [Hollenbaugh et al., Construction of Immunoglobulin Fusion Proteins, Current Protocols in Immunology, Suppl. 4, pages 10.19.1-10.19.11]에 기술되어 있다. 본원에서 일 실시양태는 항-GIPR 항체의 GIP 결합 단편을 항체의 Fc 영역에 융합시켜 생성된 2개의 융합 단백질을 포함하는 이량체에 관한 것이다. 이량체는 다음과 같은 방식으로 제조할 수 있다: 예를 들어, 융합 단백질을 코딩하는 융합 유전자를 적합한 발현 벡터에 삽입하는 단계, 이어서 재조합 발현 벡터로 형질전환된 숙주 세포에서 융합 유전자를 발현시키는 단계, 및 발현된 융합 단백질을 항체 분자처럼 조립시키면 Fc 모이어티 사이의 사슬 간 디설피드 결합이 이량체를 형성하는 단계.

[0199] 본원에서 사용되는 용어 "Fc 폴리펩티드"에는 항체의 Fc 영역에서 유래된 천연 단백질 및 돌연변이 단백질 형태의 폴리펩티드가 포함된다. 또한, 이량체화를 촉진하는 힌지 영역을 포함하는 이러한 폴리펩티드의 절두 형태도 포함된다. Fc 모이어티(및 이로부터 형성된 올리고머)를 포함하는 융합 단백질은 단백질 A 또는 단백질 G 컬럼에 비해 친화성 크로마토그래피를 통해 쉽게 정제할 수 있다는 이점을 제공한다.

[0200] PCT 출원 WO 93/10151(본원에 참고로 포함됨)에 기술되어 있는 적합한 Fc 폴리펩티드는, 인간 IgG1 항체의 Fc 영역의 N 말단 힌지 영역에서 천연 C 말단까지 확장되는 단일 사슬 폴리펩티드이다. 또 다른 유용한 Fc 폴리펩티드는 미국 특허 번호 5457035 및 문헌[Baum et al., 1994, EMBO J. 13:3992-4001]에 기술된 바와 같은 Fc 돌연변이 단백질이다. 이 돌연변이 단백질의 아미노산 서열은 WO 93/10151에 제시된 천연 Fc 서열과 동일하나, 단, 아미노산 19가 류신에서 알라닌으로, 아미노산 20이 류신에서 글루타민으로, 아미노산 22가 글리신에서 알라닌으로 변경되었다. 돌연변이 단백질은 Fc 수용체에 대한 친화성이 감소한다. 다른 실시양태에서, 항-GIPR 항체의 중쇄 및/또는 경쇄는 이의 중쇄 및/또는 경쇄의 가변 부분으로 치환될 수 있다.

[0201] 대안적으로, 올리고머는 펩티드 링커(스페이서 펩티드)가 있거나 없는 여러 항체를 포함하는 융합 단백질이다. 이러한 적합한 펩티드 링커는 미국 특허 번호 4751180 및 4935233에 기술되어 있다.

[0202] 올리고머 항체를 제조하는 또 다른 방법은 류신 지퍼를 사용하는 것이다. 류신 지퍼 도메인은 자신이 존재하는 단백질의 올리고머화를 촉진하는 펩티드이다. 류신 지퍼는 원래 여러 DNA 결합 단백질에서 발견되었으며(Landschulz et al., 1988, Science 240:1759), 나중에 다양한 단백질에서 발견되었다. 공지된 류신 지퍼 중에는 이량체화 또는 삼량체화될 수 있는 천연 펩티드 또는 이의 유도체가 있다. 가용성 올리고머 단백질을 생산하는 데 적합한 류신 지퍼 도메인의 예는 PCT 출원 WO 94/10308에 기술되어 있으며, 폐 계면활성제 단백질 D(SPD)에서 유래된 류신 지퍼는 문헌[Hoppe et al., 1994, FEBS Letters 344:191]에 기술되어 있으며, 이는 본원에 참조로 포함되어 있다. 융합되어 있는 이종 단백질의 안정적인 삼량체화를 허용하는 변형된 류신 지퍼의 사용은 문헌[Fanslow et al., 1994, Semin. Immunol. 6:267-78]에 기술되어 있다. 한 가지 방법에서는, 류신 지퍼 펩티드와 융합된 항-GIPR 항체 단편 또는 이의 유도체를 포함하는 재조합 융합 단백질을 적절한 숙주 세포에서 발현시키고, 가용성 올리고머 항-GIPR 항체 단편 또는 이의 유도체를 배양 상층액으로부터 수집한다.

[0203] 또 다른 실시양태에서, 항체 유도체는 본원에 개시된 CDR 중 적어도 하나를 포함할 수 있다. 예를 들어, 하나 이상의 CDR을 알려진 항체 프레임워크 영역(IgG1, IgG2 등)에 통합하거나 적절한 벡터에 결합하여 반감기를 향

상시킬 수 있다. 적절한 벡터는, 비제한적으로 Fc, 알부민, 트랜스페린 등을 포함한다. 이러한 벡터 및 기타 적절한 벡터는 당업계에 공지되어 있다. 이러한 CDR 결합 펩티드는 단량체, 이량체, 사량체 또는 기타 형태일 수 있다. 일 실시양태에서, 하나 이상의 수용성 폴리머는 결합제의 하나 이상의 특정 부위, 예를 들어 아미노 말단에 결합한다. 일례에서, 항체 유도체는 폴리에틸렌 글리콜, 폴리옥시에틸렌 글리콜 또는 폴리프로필렌 글리콜을 포함하되 이에 국한되지 않는 하나 이상의 수용성 중합체 부착을 포함한다. 예컨대, 미국 특허 번호 4640835, 4496689, 4301144, 4670417, 4791192 및 4179337을 참조한다. 일부 실시양태에서, 유도체는 모노메톡시-폴리에틸렌 글리콜, 덱스트란, 셀룰로스 또는 기타 탄수화물 기반 중합체, 폴리(N-비닐 피롤리돈)-폴리에틸렌 글리콜, 폴리옥시에틸화 폴리올(예, 글리세롤) 및 폴리비닐 알코올 중 하나 이상과 이러한 중합체의 혼합물을 포함한다. 일부 실시양태에서, 하나 이상의 수용성 중합체는 하나 이상의 측쇄에 무작위로 부착된다. 일부 실시양태에서, PEG는 항체와 같은 결합제의 치료 효과를 향상시키는 역할을 할 수 있다. 이러한 특정 방법은, 예를 들어 미국 특허 번호 6133426에 설명되어 있으며, 이는 모든 경우에 본원에 참조로 포함된다.

[0204] 본원에서 제공된 항체는 항체가 결합 특이성을 유지하는 한 적어도 하나의 아미노산 치환을 가질 수 있다는 것을 이해해야 한다. 따라서, 항체 구조의 변형은 본원에 기술된 범위에 포함된다. 이러한 변형에는 항체의 GIPR 결합 능력을 파괴하지 않는 보존적이거나 비보존적일 수 있는 아미노산 치환이 포함될 수 있다. 보존적 아미노산 치환에는 비천연 아미노산 잔기가 포함될 수 있으며, 이는 일반적으로 생물학적 시스템에서의 합성보다는 화학적 펩티드 합성을 통해 통합된다. 이들 아미노산 잔기에는 펩티도모방체(peptidomimetic)와 기타 역전 또는 반전된 형태의 아미노산 모이어티가 포함된다. 보존적 아미노산 치환은 또한 천연 아미노산 잔기를 비천연 잔기로 치환하는 것을 포함할 수도 있는데, 이때 해당 부위의 아미노산 잔기의 극성이나 전하에 영향이 거의 없거나 전혀 없다. 비보존적 치환은 상이한 물리적 특성(예, 크기, 극성, 소수성 및 전하)을 가지는 아미노산 또는 아미노산 유사체의 한 부류의 구성원을 다른 부류의 구성원으로 교환하는 것을 포함할 수 있다.

[0205] 게다가, 당업자는 원하는 각 아미노산 잔기에 아미노산 치환을 포함하는 테스트하게 되는 변이체를 생성할 수 있다. 이러한 변이체는 당업자에게 알려진 활성 어세이를 사용하여 스크리닝할 수 있다. 이러한 변이체는 적절한 변이체에 대한 정보를 수집하는 데 사용될 수 있다. 예를 들어, 특정 아미노산 잔기의 변화로 인해 활성이 파괴되거나, 바람직하지 않게 감소되거나, 적합하지 않게 되는 경우를 발견하면, 그러한 변화가 있는 변이체는 피할 수 있다. 다시 말해, 이러한 일상적인 실험에서 수집한 정보를 바탕으로, 당업자는 단독으로 또는 다른 돌연변이와 함께 추가 치환을 피해야 할 아미노산을 쉽게 결정할 수 있다.

[0206] 당업자는 알려진 기술을 사용하여 본원에 나열된 폴리펩티드의 적절한 변이체를 결정할 수 있을 것이다. 일부 실시양태에서, 당업자는 활성에 중요하지 않은 영역을 표적으로 삼아 활성을 파괴하지 않고도 변경될 수 있는 분자의 적절한 영역을 식별할 수 있다. 일부 실시양태에서, 유사한 폴리펩티드 사이에서 보존되는 분자의 잔기 또는 일부를 식별할 수 있다. 일부 실시양태에서, 생물학적 활성 또는 구조에 중요한 영역에 대한 보존적 치환조차도 생물학적 활성을 파괴하지 않거나 폴리펩티드 구조에 부정적인 영향을 미치지 않는다. 또한, 당업자는 구조-기능 연구를 검토하여 활성 또는 구조에 중요한 유사한 폴리펩티드의 잔기를 식별할 수 있다. 이러한 비교를 통해, 유사한 단백질의 활성 또는 구조에 중요한 아미노산 잔기에 상응하는 단백질의 아미노산 잔기의 중요성을 예측할 수 있다. 당업자는 예측되는 중요한 아미노산 잔기에 대해 화학적으로 유사한 아미노산 치환을 선택할 수 있다.

[0207] 당업자는 유사한 폴리펩티드의 해당 구조와 관련하여 3차원 구조 및 아미노산 서열을 분석할 수도 있다. 이러한 정보를 고려하여, 당업자는 항체의 아미노산 잔기가 3차원 구조에 따라 어떻게 정렬될지 예측할 수 있다. 일부 실시양태에서, 당업자는 단백질 표면에 있을 것으로 예측되는 아미노산 잔기에 대해 상당한 변경을 가하지 않기로 선택할 수 있는데, 이는 이러한 잔기가 다른 분자와의 중요한 상호작용에 관여할 수 있기 때문이다. 다수의 과학 공보가 2차 구조의 예측에 관해 다루어졌다. 문헌[Moult, 1996, Curr. Op. Biotech. 7:422-427, Chou et al., 1974, Biochemistry 13:222-245]; [Chou et al., 1974, Biochemistry 113:211-222]; [Chou et al., 1978, Adv. Enzymol. Relat. Areas Mol. Biol. 47:45-148]; [Chou et al., 1979, Ann. Rev. Biochem. 47:251-276], 및 [Chou et al., Biophys. J. 26:367-384] 참조. 게다가, 현재 2차 구조를 예측하는 데 도움이 되는 컴퓨터 프로그램을 사용할 수 있다. 예를 들어, 서열 동일성이 30% 초과, 또는 서열 유사성이 40% 초과인 2개의 폴리펩티드 또는 단백질은 종종 유사한 고차 구조를 갖는다. 최근 단백질 데이터 뱅크(PDB)의 성장으로 폴리펩티드 또는 단백질의 구조 내의 잠재적인 폴드 횟수를 포함한 2차 구조의 예측 가능성이 더욱 향상되었다. 문헌[Holm et al., 1999, Nucl. Acid. Res. 27:244-247] 참조. (Brenner et al., 1997, Curr. Op. Struct. Biol. 7:369-376)에 따르면, 주어진 폴리펩티드 또는 단백질에는 제한된 수의 폴드가 있으며, 일단 임계수의 구조가 결정되면, 구조적 예측이 획기적으로 더 정확해질 것이라고 제안되었다.

[0208] 2차 구조를 예측하는 추가 방법으로는 "스레딩"(Jones, 1997, Curr. Opin. Struct. Biol., 7:377-87; Sippl et al., 1996, Structure 4:15-19); "프로파일 분석"(Bowie et al., 1991, Science 253:164-170; Gribskov et al., 1990, Meth. Enzym. 183:146-159; Gribskov et al., 1987, Proc. Nat. Acad. Sci. USA 84:4355-4358) 및 "진화적 연결"(문헌[Holm, supra (1999), and Brenner, supra (1997)] 참조)을 포함한다. 일부 실시양태에서, 항체 변이체에는 글리코실화 변이체가 포함되는데, 여기서 글리코실화 부위의 수 및/또는 유형은 모 폴리펩티드의 아미노산 서열과 비교하여 변경되었다. 일부 실시양태에서, 변이체는 천연 단백질보다 더 많거나 적은 수의 N-연결 글리코실화 부위를 포함한다. 대안적으로는, 이 서열을 제거하는 치환은 기존의 N-연결 탄수화물 사슬을 제거할 수도 있다. 또한, N-연결 탄수화물 사슬의 재배열이 제공되는데, 여기서 하나 이상의 N-연결 탄수화물 사슬 부위(일반적으로 자연 발생하는 부위)가 제거되고 하나 이상의 새로운 N-연결 부위가 생성된다. 추가적으로 바람직한 항체 변이체에는 시스테인 변이체가 포함되는데, 여기서 하나 이상의 시스테인 잔기가 모 아미노산 서열과 비교했을 때 결실되거나 다른 아미노산(예, 세린)으로 치환된다. 시스테인 변이체는 항체가 생물학적으로 활성화된 형태로 접혀야 할 때 유용할 수 있다(예, 가용성 봉입체를 단리한 후). 시스테인 변이체는 일반적으로 천연 단백질보다 시스테인 잔기가 적고, 일반적으로 짝을 이루지 않은 시스테인으로 인한 상호 작용을 최소화하기 위해 균일한 수의 시스테인을 갖는다.

[0209] 원하는 아미노산 치환(보존적이든 비보존적이든)은 그러한 치환이 필요할 당시에 당업자에 의해 결정될 수 있다. 일부 실시양태에서, 아미노산 치환은 인간 GIPR 항체의 중요한 잔기를 식별하거나, 본원에서 설명하는 인간 GIPR 항체의 친화력을 증가 또는 감소시키는 데 사용될 수 있다.

[0210] 일부 실시양태에 따르면, 바람직한 아미노산 치환은 다음과 같다: (1) 단백질 분해에 대한 감수성을 감소시킴, (2) 산화에 대한 감수성을 감소시킴, (3) 단백질 복합체 형성을 위한 결합 친화력을 변경시킴, (4) 결합 친화력을 변경시킴, 및/또는 (4) 이러한 폴리펩티드에 대한 다른 물리화학적 또는 기능적 특성을 부여하거나 변형함. 일부 실시양태에 따르면, 단일 또는 다중 아미노산 치환(일부 실시양태에서, 보존적 아미노산 치환)은 천연 발생 서열(일부 실시양태에서, 분자 내 접촉을 형성하는 도메인 외부의 폴리펩티드 부분)에서 수행될 수 있다. 일부 실시양태에서, 보존적 아미노산 치환은 일반적으로 모 서열의 구조적 특성을 실질적으로 변경할 수 없다(예를 들어, 아미노산 치환은 모 서열에 존재하는 나선을 파괴하지 않아야 하거나 또는 모 서열을 특징규명하는 다른 유형의 2차 구조를 방해해서는 안된다). 당업계 인정된 폴리펩티드의 2차 및 3차 구조의 예는 문헌[Proteins, Structures and Molecular Principles, Creighton (eds.), W.H. Freeman and Company (1984)]; [Introduction to Protein Structure, Branden and Tooze (eds.), Garland Publishing (1991)]; 및 [Thornton et al., 1991, Nature 354:105]에 기술되어 있고, 이들 각각은 본원에 참조로 포함된다.

[0211] 일부 실시양태에서, 본원에서 제공된 항체는 중합체, 지질 또는 다른 모이어티와 화학적으로 결합될 수 있다.

[0212] 항원 결합제는 본원에서 기술한 CDR 중 적어도 하나를 생체적합성 프레임워크 구조에 통합하여 포함할 수 있다. 일례에서, 생체적합성 프레임워크 구조는 항원에 결합하는 국소적 표면 영역 내 하나 이상의 아미노산 서열(예, CDR, 가변 영역 등)을 제시할 수 있는, 형태적으로 안정적인 구조적 지지체 또는 프레임워크 또는 스캐폴드를 형성하기에 충분한 폴리펩티드 또는 그 일부를 포함한다. 이러한 구조는 천연 발생하는 폴리펩티드 또는 폴리펩티드 "폴드"(구조적 모티프)일 수 있거나, 천연 발생하는 폴리펩티드 또는 폴드에 비해 아미노산의 추가, 결실 또는 치환과 같은 하나 이상의 변형을 가질 수 있다. 이러한 스캐폴드는 인간, 다른 포유류, 다른 척추동물, 무척추동물, 박테리아 또는 바이러스와 같은 임의의 종(또는 하나 초과의 종)의 폴리펩티드에서 유래될 수 있다.

[0213] 일반적으로, 생체적합성 프레임워크 구조는 면역글로불린 도메인보다는 단백질 스캐폴드나 프레임워크를 기반으로 한다. 예를 들어, 피브로넥틴, 앵커린, 리포칼린, 네오카르지노스타틴, 시토크롬 b, CP1 아연 핑거 단백질, PST1, 코일드 코일 단백질, LACI-D1, Z 도메인 및 텐다미스타트 도메인을 기반으로 하는 단백질 스캐폴드를 사용할 수 있다(예, [Nygren and Uhlen, 1997, Current Opinion in Structural Biology 7:463-469] 참조).

[0214] 또한, 당업자라면 적절한 결합제에는 이들 항체의 일부, 예를 들어 본원에 구체적으로 개시된 중쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3, 및 경쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3 중 하나 이상이 포함된다는 것을 알 수 있을 것이다. 중쇄 CDR1, CDR2, CDR3, 경쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3 영역 중 적어도 하나는 적어도 하나의 아미노산 치환을 갖고, 단, 항체는 비치환된 CDR의 결합 특이성을 유지한다. 항체의 비 CDR 부분은 비단백질 분자일 수 있으며, 여기서 결합제는 본원에서 개시된 항체가 인간 GIPR에 결합하는 것을 교차 차단하고/하거나 수용체를 통한 GIP 신호전달을 억제한다. 항체의 비 CDR 부분은 비단백질 분자일 수 있으며, 여기서 항체는 인간 GIP 펩티드에 대한 항체 L1H1/L8H1 중 적어도 하나와 유사한 결합 유형을 나타내고/내거나 경쟁적 결합 어세이에서 GIP의 활성을 중화시킨다. 항체의 비 CDR 부분은 아미노산으로 구성될 수 있으며, 여기서 항체는 재조합 결합 단백질 또는 합성 펩티드이고, 재조

합 결합 단백질은 본원에서 개시된 항체와 인간 GIPR의 결합을 교차 차단하고/하거나 생체 내 또는 시험관 내에서 GIP 활성을 중화시킨다. 항체의 비 CDR 부분은 아미노산으로 구성될 수 있으며, 여기서 항체는 재조합 항체이고, 재조합 항체는 인간 GIPR 펩티드에 대한 항체 L1H1/L8H1 중 적어도 하나와 유사한 결합 유형을 나타내고/내거나 경쟁적 결합 어세이에서 GIP 신호전달을 중화시킨다.

[0215] GIPR 항체와 FGF21의 융합 단백질

[0216] 일 실시양태에서, 본원에서는 GIPR 항체 및 FGF21의 융합 단백질이 제공되며, 여기서 융합 단백질은 GIPR에 특이적으로 결합할 수 있는 항체와, 1개, 2개, 3개, 4개, 5개, 6개, 7개 또는 8개의 FGF21 단편을 포함하고; 융합 단백질에서, FGF21 단편의 아미노 말단은 펩티드 링커 서열(링커)을 통해 GIPR 항체 경쇄 또는 중쇄의 카르복시 말단에 연결된다.

[0217] 일 실시양태에서, 본원에서는 GIPR 항체 및 FGF21의 융합 단백질이 제공되며, 여기서 융합 단백질은 GIPR에 특이적으로 결합할 수 있는 항체와, 1개, 2개, 3개, 또는 4개의 FGF21 단편을 포함하고; 융합 단백질에서, FGF21 단편의 아미노 말단은 펩티드 링커 서열(링커)을 통해 GIPR 항체 경쇄 또는 중쇄의 카르복시 말단에 연결된다.

[0218] 일 실시양태에서, 본원에서는 GIPR 항체 및 FGF21의 융합 단백질이 제공되며, 여기서 융합 단백질은 GIPR에 특이적으로 결합할 수 있는 항체와, 1개, 또는 2개의 FGF21 단편을 포함하고; 융합 단백질에서, FGF21 단편의 아미노 말단은 펩티드 링커 서열(링커)을 통해 GIPR 항체 경쇄 또는 중쇄의 카르복시 말단에 연결된다.

[0219] 또 다른 실시양태에서, 본원에서는 FGF21 융합 단백질이 제공되며, 여기서 융합 단백질은 GIPR 항체와, 1개 또는 2개의 FGF21 단편을 포함하고; 융합 단백질에서, FGF21 단편의 아미노 말단이 펩티드 링커 서열(링커)을 통해 GIPR 항체 경쇄의 카르복시 말단에 연결되거나(N'-R-링커-FGF21-C'); 또는 FGF21 단편의 아미노 말단이 GIPR 항체 중쇄의 카르복시 말단에 연결되고(N'-R-링커-FGF21-C'); 여기서, N'은 융합 단백질의 폴리펩티드 사슬의 아미노 말단을 나타내고, C'는 융합 단백질의 폴리펩티드 사슬의 카르복시 말단을 나타내고, FGF21은 FGF21 단편을 나타내고, R은 GIPR 항체의 경쇄 또는 중쇄의 아미노산 서열이고, 링커는 펩티드 링커 서열을 나타낸다.

[0220] 일 실시양태에서, 본원에서 제공된 FGF21 융합 단백질에서, FGF21 단편은 각각 독립적으로 하기 아미노산 서열 중 하나에서 선택된다: 서열 번호 77, 서열 번호 78, 서열 번호 79, 서열 번호 80, 및 서열 번호 81, 서열 번호 82, 서열 번호 83, 서열 번호 84, 서열 번호 85, 서열 번호 86, 서열 번호 87, 서열 번호 88, 서열 번호 89, 서열 번호 115, 서열 번호 116, 서열 번호 117, 서열 번호 118 및 서열 번호 122.

[0221] 일 실시양태에서, 본원에서 제공된 FGF21 융합 단백질에서, 펩티드 링커(링커)의 각 서열은 독립적으로 1 내지 200개의 아미노산 아민, 2 내지 100개의 아미노산 아민, 5 내지 50개의 아미노산 아민, 6 내지 25개의 아미노산 아민, 또는 10 내지 20개의 아미노산 아민을 포함한다.

[0222] 또 다른 실시양태에서, 본원에서 제공된 FGF21 융합 단백질에서, 펩티드 링커(링커)의 서열은 각각 독립적으로 하기 아미노산 서열에서 선택된다: 서열 번호 61, 서열 번호 62, 및 서열 번호 63, 서열 번호 64, 서열 번호 65, 서열 번호 66, 서열 번호 67 및 서열 번호 68.

[0223] 핵산

[0224] 일 측면에서, 본원에는 단리된 핵산 분자가 제공된다. 핵산 분자는, 예를 들어, 항체의 전부 또는 일부를 코딩하는 폴리뉴클레오티드, 예를 들어 본원에 있는 항체 또는 FGF21 융합 단백질 중 하나 또는 두 사슬, 또는 이의 단편, 유도체, 돌연변이 단백질 또는 변이체; 혼성화 프로브로 사용하기에 충분한 폴리뉴클레오티드; 폴리펩티드를 코딩하는 폴리뉴클레오티드를 식별, 분석, 돌연변이 또는 증폭하기 위한 PCR 프라이머 또는 시퀀싱 프라이머; 폴리뉴클레오티드의 발현을 억제하기 위한 안티센스 핵산 및 이의 상보적 서열을 포함한다. 핵산은 임의의 길이일 수 있다. 예를 들어, 핵산은 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 75, 100, 125, 150, 175, 200, 250, 300, 350, 400, 450, 500, 750, 1000, 1500, 3000, 5000개 이상의 길이의 뉴클레오티드일 수 있고/있거나, 하나 이상의 추가 서열, 예컨대 조절 서열을 포함할 수 있고/있거나, 더 큰 핵산, 예컨대 벡터의 일부일 수 있다. 핵산은 단일 가닥 또는 이중 가닥일 수 있으며 RNA 및/또는 DNA 뉴클레오티드, 그리고 이의 인공 변이체(예, 펩티드 핵산)를 포함할 수 있다.

[0225] 항체 폴리펩티드(예, 중쇄 또는 경쇄, 가변 도메인만, 또는 전체 길이)를 코딩하는 핵산은 GIPR 항원으로 면역화된 마우스의 B 세포에서 단리될 수 있다. 항체 또는 FGF21 융합 단백질의 핵산은 중합효소 연쇄 반응(PCR)과 같은 기존 방법을 통해 단리할 수 있다.

[0226] 중쇄 및 경쇄 가변 영역을 코딩하는 핵산 서열은 상기 제시되어 있다. 당업자는 유전 코드의 변성으로 인해 본

원에 개시된 각 폴리펩티드 서열이 다수의 다른 핵산 서열에 의해 코딩될 수 있다는 사실을 이해할 것이다. 본원에서는 본원에서 제공된 항체 또는 FGF21 융합 단백질을 코딩하는 각각의 변성 뉴클레오티드 서열을 제공한다.

[0227] 본원에는 특정 혼성화 조건 하에서 다른 핵산(예, L1H1/L8H1 중 어느 하나의 뉴클레오티드 서열을 포함하는 핵산)에 혼성화되는 핵산이 추가로 제공된다. 핵산을 혼성화하는 방법은 당업계에 잘 알려져 있다. 예를 들어, 문헌[Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Son (1989), 6.3.1-6.3.6] 참조. 본원에 정의된 바와 같이, 예를 들어, 중간 정도로 엄격한 조건은 5x 염화나트륨/구연산나트륨(SSC), 0.5% SDS, 1.0 mM EDTA(pH 8.0)를 포함하는 사전세척 용액, 약 50% 포름아미드, 6x SSC의 혼성화 완충제, 55℃의 혼성화 온도(또는 약 50% 포름아미드를 함유하고 혼성화 온도가 42℃인 용액과 같은 다른 유사한 혼성화 용액) 및 60℃, 0.5x SSC 및 0.1% SDS의 용출 조건을 사용한다. 엄격한 혼성화 조건은 45℃에서 6x SSC에서 혼성화 이후, 68℃에서 0.1x SSC와 0.2% SDS에서 1회 이상의 세척을 사용한다. 추가로, 당업자는 혼성화 및/또는 세척 조건을 조작하여 혼성화의 엄격성을 증가 또는 감소시킬 수 있으며, 이를 통해 서로 적어도 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99% 상동성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함하는 핵산은 일반적으로 서로 혼성화된 상태를 유지한다. 혼성화 조건 선택에 영향을 미치는 기본 매개변수와 적절한 조건을 설계하기 위한 지침은, 예를 들어 문헌[Sambrook, Fritsch and Maniatis, 1989, Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press, chapters 9 and 11], 및 [Current Protocols in Molecular Biology, 1995, Ausubel et al., eds., John Wiley & Sons, Inc., sections 2.10 and 6.3-6.4]에 나열되어 있으며, 예를 들어, DNA의 길이 및/또는 기본 조성을 기초로 당업자에 의해 쉽게 결정될 수 있다. 돌연변이를 통해 핵산에 변화가 도입될 수 있으며, 그로 인해 해당 핵산에 의해 코딩된 폴리펩티드(예, 항원 결합 단백질)의 아미노산 서열이 변경될 수 있다. 돌연변이는 해당 기술 분야에 알려진 모든 기술을 사용하여 도입될 수 있다. 일 실시양태에서, 하나 이상의 특정 아미노산 잔기는, 예를 들어, 부위 지향성 돌연변이 프로토콜을 사용하여 변경된다. 또 다른 실시양태에서, 무작위로 선택된 하나 이상의 잔기는, 예를 들어, 무작위 돌연변이 프로토콜을 사용하여 변경된다. 어떻게 만들어졌는지에 관계없이, 돌연변이 폴리펩티드는 발현될 수 있으며 원하는 특성에 대해 스크리닝될 수 있다.

[0228] 돌연변이는 해당 핵산에 코딩된 폴리펩티드의 생물학적 활성을 크게 변경시키지 않고도 핵산에 도입될 수 있다. 예를 들어, 비필수 아미노산 잔기에서 아미노산 치환을 초래하는 뉴클레오티드 치환이 이루어질 수 있다. 일 실시양태에서, 본원에서 L1 내지 L9 및 H1 또는 FGF21 융합 단백질, 또는 이의 단편, 변이체 또는 유도체에 대해 제공된 뉴클레오티드 서열은, 돌연변이되어, 이에 의해 코딩된 아미노산 서열은 본원에 표시된 L1 내지 L9 및 H에 의해 코딩된 서열과 비교하여 아미노산 잔기의 하나 이상의 결실 또는 치환을 포함하며, 그 결과 2개 이상의 상이한 잔기를 포함하는 서열이 생성된다. 또 다른 실시양태에서, 돌연변이 유발은 본원에서 나타낸 바와 같이 L1 내지 L9 및 H1 또는 FGF21 융합 단백질의 하나 이상의 아미노산 잔기에 인접한 아미노산의 삽입을 초래하며, 그 결과 2개 이상의 상이한 잔기를 포함하는 서열이 생성된다. 대안적으로, 하나 이상의 돌연변이를 핵산에 도입하여 해당 핵산에 코딩된 폴리펩티드의 생물학적 활성을 선택적으로 변경시킬 수 있다(예, GIPR에 대한 결합). 예를 들어, 돌연변이는 생물학적 활성을 양적으로 또는 질적으로 변화시킬 수 있다. 양적 변화의 예로는 활성의 증가, 감소, 또는 제거를 포함한다. 질적 변화의 예로는 항체 또는 FGF21 융합 단백질의 항원 특이성의 변경을 포함한다.

[0229] 다른 측면에서, 본원에는 본원의 핵산 서열의 검출을 위한 프라이머 또는 혼성화 프로브로 사용하기에 적합한 핵산 분자가 제공된다. 본원의 핵산 분자는 본원의 전장 폴리펩티드를 코딩하는 핵산 서열의 일부만을, 예를 들어, 프로브 또는 프라이머로 사용될 수 있는 단편 또는 본원의 폴리펩티드의 활성 부분(예, GIPR 결합 부분)을 코딩하는 단편을 포함할 수 있다.

[0230] 본원의 핵산 서열을 기반으로 하는 프로브는 핵산 또는 유사 핵산, 예를 들어 본원의 폴리펩티드를 코딩하는 전사체를 검출하는 데 사용될 수 있다. 프로브는 표지 그룹, 예를 들어 방사성 동위 원소, 형광 화합물, 효소 또는 효소 보조 인자를 포함할 수 있다. 이러한 프로브는 폴리펩티드를 발현하는 세포를 식별하는 데 사용될 수 있다.

[0231] 다른 측면에서, 본원에는 본원의 폴리펩티드 또는 이의 일부를 코딩하는 핵산을 포함하는 벡터가 제공된다. 벡터의 예는, 비제한적으로, 플라스미드, 바이러스 벡터, 비에피솜 포유류 벡터 및 발현 벡터, 예컨대 재조합 발현 벡터를 포함한다.

[0232] 본원의 재조합 발현 벡터는 숙주 세포에서 핵산을 발현하기에 적합한 형태로 본원의 핵산을 포함할 수 있다. 재

조합 발현 벡터는 발현에 사용된 숙주 세포를 기준으로 스크리닝된 하나 이상의 조절 서열을 포함하며, 미리 발현된 핵산 서열에 작동 가능하게 연결된다. 조절 서열은 많은 유형의 숙주 세포에서 뉴클레오티드 서열의 구성적 발현을 지시하는 서열(예, SV40 초기 유전자 인핸서, Rous 육종 바이러스 프로모터 및 거대세포바이러스 프로모터), 특정 숙주 세포에서만 뉴클레오티드 서열의 발현을 지시하는 서열(예, 조직 특이적 조절 서열, 문헌[Voss et al., 1986, Trends Biochem. Sci. 11:287, Maniatis et al., 1987, Science 236:1237] 참조, 각각의 개시 내용은 본원에 그 전문이 참고로 포함됨), 및 특정 처리 또는 조건에 대한 반응으로 뉴클레오티드 서열의 유도적 발현을 지시하는 서열(예, 포유류 세포의 메탈로티오닌 프로모터 및 원핵생물과 진핵생물 시스템 모두에서 tet-반응성 프로모터 및/또는 스트렙토마이신 반응성 프로모터(상기 참조))을 포함한다. 당업자라면 발현 벡터의 설계가 형질전환될 숙주 세포의 선택 및 원하는 단백질의 발현 수준과 같은 요인에 따라 달라질 수 있다는 점을 이해해야 한다. 본원의 발현 벡터는 숙주 세포에 도입되어, 본원에서 기술하는 핵산에 의해 코딩된 융합 단백질 또는 펩티드를 비롯한 단백질 또는 펩티드를 생산할 수 있다.

[0233] 또 다른 측면에서, 본원에는 본원의 발현 벡터가 도입될 수 있는 숙주 세포가 제공된다. 숙주 세포는 임의의 원핵 세포 또는 진핵 세포일 수 있다. 원핵생물 숙주 세포는 그람 음성 또는 그람 양성 유기체, 예를 들어 이.콜라이 또는 바실리(*bacilli*)를 포함한다. 더욱 진보된 진핵 세포는 곤충 세포, 효모 세포, 및 포유류 기원의 기존 세포주를 포함한다. 적합한 포유류 숙주 세포주의 예로는 중국 햄스터 난소(CHO) 세포 또는 이의 유도체, 예컨대 혈청이 없는 배지에서 자라는 Veggie CHO 및 관련 세포주(문헌[Rasmussen et al., 1998, Cytotechnology 28:31 참조) 또는 DHFR이 결핍된 CHO 균주 DXB-11(문헌[Urlaub et al., 1980, Proc. Natl. Acad, Sci. USA 77:4216-20] 참조)를 포함한다. 추가 CHO 세포주에는 CHO-K1(ATCC #CCL-61), EM9(ATCC #CRL-1861) 및 UV20(ATCC #CRL-1862)이 포함된다. 추가 숙주 세포에는 원숭이 신장 COS-7 세포주(ATCC #CRL-1651)(문헌[Gluzman et al., 1981, Cell 23:175] 참조), L 세포, C127 세포, 3T3 세포(ATCC CCL-163), AM-1/D 세포(미국 특허 일련 번호 6210924에 설명됨), HeLa 세포, BHK(ATCC CRL-10) 세포주, 아프리카 녹색 원숭이 신장 세포주 CV1(ATCC CCL-70)에서 유래한 CV1/EBNA 세포주(문헌[McMahan et al., 1991, EMBO J. 10:2821] 참조), 인간 배아 신장 세포, 예컨대 293, 293 EBNA 또는 MSR 293, 인간 상피 A431 세포, 인간 C010205 세포, 기타 형질전환된 영장류 세포주, 정상 이배체 세포, 1차 조직, 1차 이식편, HL-60, U937, HaK 또는 Jurkat 세포의 시험관 내 배양물에서 유래한 세포주가 포함된다. 박테리아, 진균, 효모 및 포유류 세포 숙주에 적합한 클로닝 및 발현 벡터는 문헌[Pouwels et al. (Cloning Vectors: A Laboratory Manual, Elsevier, 1985)]에 설명되어 있다.

[0234] 벡터 DNA는 전통적인 형질전환 또는 형질감염 기술을 통해 원핵생물이나 진핵생물 세포에 도입될 수 있다. 포유류 세포의 안정적인 형질감염의 경우, 사용된 발현 벡터와 형질감염 기술에 따라, 세포의 일부만이 외래 DNA를 유전체에 통합할 수 있는 것으로 알려져 있다. 이러한 통합체를 식별하고 스크리닝하기 위해, 일반적으로 선택 가능한 마커(예, 항생제 내성)를 코딩하는 유전자는 관심 유전자와 함께 숙주 세포에 도입된다. 바람직한 선택 가능한 마커로는 G418, 히그로마이신, 및 메토트렉세이트와 같은 약물에 대한 내성을 부여하는 마커가 포함된다. 다른 방법들 중, 도입된 핵산으로 안정적으로 형질감염된 세포는 약물 스크리닝을 통해 식별될 수 있다(예를 들어, 선택 가능한 유전자를 통합한 세포는 살아남지만 다른 세포는 죽는다).

[0235] 형질전환된 세포는 폴리펩티드의 발현을 촉진하는 조건 하에서 배양될 수 있으며, 폴리펩티드는 통상적인 단백질 정제 방법을 통해 회수될 수 있다. 그러한 정제 방법 중 하나가 하기 실시예에서 설명된다. 본원에 사용하기 위해 고려되는 폴리펩티드는 실질적으로 균일한 재조합 포유류 항-GIPR 항체 또는 FGF21 융합 단백질 폴리펩티드를 포함하고, 이는 오염된 내인성 물질이 실질적으로 없다.

[0236] GIPR 항체의 활성

[0237] GIPR 항체의 활성은 본원에서 제공된 항체가 GIPR에 특이적으로 결합한 후 GIP 신호전달을 억제하거나 차단하여 나타나는 치료적 생물학적 효과를 갖는 것을 의미하며, 예를 들어 비알코올성 지방간염, 비만 및/또는 2형 당뇨병을 치료하는 데 사용된다. "GIP 신호전달의 생물학적 활성을 감소시키는 것" 또는 "GIP 신호전달의 생물학적 활성을 억제 또는 차단하는 것"이란 용어는 GIPR 항체 또는 그 융합 단백질이 FGF21과 생체 내에서 GIPR에 결합하고, GIP에 의해 유발되는 수용체 하류의 세포 스트레스 반응을 억제 또는 차단하는 것을 말한다. 반응은, 비제한적으로, 인슐린 분비 증가, 지방 저장 촉진, 및 지방분해 억제를 포함한다. 일 실시양태에서, 본원에는 인간 GIPR에 특이적으로 결합할 수 있는 뮤린 유래 항체 또는 인간화 항체가 제공된다. 이러한 항체에는 GIP 신호전달을 감소시키거나 중화할 수 있는 길항적 항체나 중화 항체가 포함된다.

[0238] 일 실시양태에서, 본원에서 제공된 항체는 인간 GIP 신호전달을 억제하며 IC_{50} 값이 약 0.01 nM 내지 약 500 nM, 약 0.1 nM 내지 약 200 nM, 약 0.5 nM 내지 약 200 nM, 약 1 nM 내지 약 200 nM, 또는 약 10 nM 내지 약

100 nM이다. 또 다른 실시양태에서, 본원에서 제공된 항체는 인간 GIP 신호전달을 억제하며 IC_{50} 값이 약 1 nM 내지 약 200 nM이다. 또 다른 실시양태에서, 본원에서 제공된 항체는 인간 GIP 신호전달을 억제하며 IC_{50} 값이 약 10 nM 내지 약 100 nM이다. 또 다른 실시양태에서, 본원에서 제공된 항체는 인간 GIP 신호전달을 억제하며 IC_{50} 값이 약 1 nM, 약 2 nM, 약 5 nM, 약 10 nM, 약 20 nM, 약 30 nM, 약 40 nM, 약 50 nM, 약 60 nM, 약 70 nM, 약 80 nM, 약 90 nM, 또는 약 100 nM이다.

[0239] 일 실시양태에서, 본원에서 제공된 GIPR 항체는 인간 GIPR과 결합할 때 하기 나열된 특성 중 하나 이상을 갖는다:

[0240] a. 인간 GIPR에 결합할 때 기준 항체와 실질적으로 유사한 K_d를 제공함;

[0241] b. 인간 GIPR의 GIP 활성화를 억제할 때 기준 항체와 실질적으로 유사한 IC_{50}을 제공함; 및

[0242] c. 인간 GIPR에 결합하기 위해 기준 항체와 교차 경쟁함.

[0243] 또 다른 실시양태에서, 본원에서 제공된 GIPR 항체는 하기 나열된 특성 중 하나 이상을 갖는 항체이다:

[0244] a. 인간 GIPR의 GIP 활성화를 억제할 때 기준 GIPR 항체와 동일하거나 더 나은 IC50을 제공함; 및

[0245] b. 인간 GIPR에 결합하기 위해 기준 GIPR 항체와 교차 경쟁하는 GIPR 항체.

[0246] 본원에서, "실질적으로 유사하다"는 용어는 본원에 기술된 항체의 IC_{50} 또는 K_d 값은 기준 항체의 값과 유사하거나, 또는 기준 항체의 약 200%, 약 180%, 약 160%, 약 150%, 약 140%, 약 120%, 약 110%, 약 100%, 약 99%, 약 98%, 약 97%, 약 95%, 약 90%, 약 85%, 약 80%, 약 75%, 약 70%, 약 65%, 또는 약 50%이다. 일 실시양태에서, 기준 항체는, 예를 들어, 경쇄의 서열 번호 29와 중쇄의 서열 번호 38의 조합을 갖는 항체를 포함한다. 또 다른 실시양태에서, 기준 항체에는 GIPR 항체 L1H1 및 L9H1이 포함된다.

[0247] GIPR 항체와 FGF21의 융합 단백질의 생물학적 활성

[0248] GIPR 항체와 FGF21의 융합 단백질의 생물학적 활성은 FGF21의 생물학적 활성과 GIPR 항체의 활성을 모두 포함한다. GIPR 항체의 활성은 상기 설명한 바와 같다. "FGF21 생물학적 활성"이란 GIPR 항체와 FGF21의 융합 단백질이 생체 내에서 FGF21 수용체와 결합하고 이를 활성화하여, 세포 스트레스 반응을 일으킴으로써, 예를 들어 비알코올성 지방간염, 비만 또는 2형 당뇨병에 대한 치료 효과를 나타내는 생물학적 활성을 말한다. 상기 세포 스트레스 반응은, 비제한적으로, 인슐린 분비 증가, 글루카곤 분비 억제, 식욕 억제, 체중 감소, 포만감 유도, 아폽토시스 억제, 및 췌장 베타 세포 증식 및 췌장 베타 세포 분화의 유도를 포함한다. FGF21과 GIPR 항체의 생물학적 활성을 결합했기 때문에, 본원에 기술된 FGF21 융합 단백질은 FGFR 및 GIPR과 관련된 다양한 질환 및 병태를 치료하는 데 사용될 수 있다. 융합 단백질은 FGF21R 및/또는 GIPR에 작용하여 생물학적 효과를 발휘하므로, 본원에 기술된 FGF21 융합 단백질은 "FGF21R 자극 증가" 또는 "GIPR 자극 감소"에 유리하게 반응하는 질환 및 병태를 가진 피험자를 치료하는 데 사용될 수 있다. 이러한 피험자는 "FGF21R 자극 치료가 필요한 피험자" 또는 "GIPR 자극 감소가 필요한 피험자"로 지칭된다. 하기 피험자가 포함되고: 간 지방변성(GIPR, US 2017/0275370A1 참조), 비알코올성 지방간 질환(FGF21R, 문헌[Debra et al., 2016, Hepatobiliary Surg Nutr, 5:515-518] 참조; GIPR, US 2017/0275370 A1 참조), 비알코올성 지방간염(FGF21, 문헌[Armstrong et al., 2013, BMJ Open. 3:e003995; GIPR] 참조, US 2017/0275370 A1 참조), 비인슐린 의존성 당뇨병, 인슐린 의존성 당뇨병, 뇌졸중(FGF21R, WO 00/16797 참조), 심근경색(FGF21R, WO 98/08531 참조), 비만(FGF21R, WO 98/19698 참조; GIPR, 문헌[Furija et al., 2008, PLoS ONE 3:e3163]; US 2017/0275370 A1 참조), 수술 후 이화작용 변경(FGF21R, US 6,006,753 참조), 기능성 소화불량 및 과민성 대장 증후군(FGF21R, WO 99/64060 참조), 또한 비인슐린 의존성 당뇨병이 발병할 위험이 있는 피험자(WO 00/07617 참조), 포도당 내성이 손상되거나 또는 공복 혈당이 손상된 피험자, 신장에 대한 정상 체중보다 체중이 25% 더 높은 피험자, 및 부분 췌장 절제술을 받은 피험자가 포함된다.

[0249] 일 실시양태에서, GIPR 항체 또는 FGF21과 이의 융합 단백질의 생물학적 활성의 변화는 시험관 내에서 GIPR을 억제하는 GIPR 항체 또는 FGF21 융합 단백질의 기능을 정량화하는 리포터 유전자 어세이 법을 사용하여 검출한다.

[0250] 약학 조성물

[0251] 일 실시양태에서, 본원에는 본원에 제공된 GIPR 항체와 하나 이상의 약학적으로 허용되는 담체를 포함하는 약학

조성물이 제공된다.

[0252] 또 다른 실시양태에서, 본원에는 본원에 제공된 GIPR 항체와 FGF21의 융합 단백질 및 약학적으로 허용되는 담체를 포함하는 약학 조성물이 제공된다.

[0253] 본원에서 사용되는 용어 "담체"에는 사용된 투여량 및 농도에서 세포 또는 포유류에 노출될 때 무해한 비히클, 약학 부형제 또는 안정화제가 포함된다.

[0254] 치료 방법

[0255] 일 실시양태에서, 본원에는 비알코올성 지방간염을 치료, 예방 또는 개선하는 방법이 제공되며, 치료적 유효량의 본원에 제공된 GIPR 항체 또는 이의 약학 조성물을 피험자에게 투여하는 단계를 포함한다.

[0256] 또 다른 실시양태에서, 본원에는 비알코올성 지방간염을 치료, 예방 또는 개선하는 방법이 제공되며, 치료적 유효량의 본원에 제공된 GIPR 항체와 FGF21의 융합 단백질 또는 이의 약학 조성물을 피험자에게 투여하는 단계를 포함한다.

[0257] 또 다른 실시양태에서, 본원에는 비만을 치료, 예방 또는 개선하는 방법이 제공되며, 치료적 유효량의 본원에 제공된 GIPR 항체 또는 이의 약학 조성물을 피험자에게 투여하는 단계를 포함한다.

[0258] 또 다른 실시양태에서, 본원에는 비만을 치료, 예방 또는 개선하는 방법이 제공되며, 치료적 유효량의 본원에 제공된 GIPR 항체와 FGF21의 융합 단백질 또는 이의 약학 조성물을 피험자에게 투여하는 단계를 포함한다.

[0259] 또 다른 실시양태에서, 본원에는 2형 당뇨병을 치료, 예방 또는 개선하는 방법이 제공되며, 치료적 유효량의 본원에 제공된 GIPR 항체 또는 이의 약학 조성물을 피험자에게 투여하는 단계를 포함한다.

[0260] 추가 실시양태에서, 본원에는 2형 당뇨병을 치료, 예방 또는 개선하는 방법이 제공되며, 치료적 유효량의 본원에 제공된 GIPR 항체와 FGF21의 융합 단백질 또는 이의 약학 조성물을 피험자에게 투여하는 단계를 포함한다.

[0261] 본원에 제시된 어떠한 용도에서도, 약학 조성물은 정맥 주사 또는 피하 주사에 사용된다.

[0262] 본원에서 "피험자"라는 용어는 인간을 포함한 포유류를 지칭하며, "환자"라는 용어와 상호 교환적으로 사용된다.

[0263] "치료"라는 용어에는 병태의 적어도 하나의 증상이나 다른 측면을 완화하거나 예방하거나, 또는 질환의 심각성을 완화하는 것이 포함된다. 본원에서 제공된 GIPR 항체 또는 GIPR 항체와 FGF21의 융합 단백질은 완전한 치료 효과를 나타내거나 질환의 모든 증상이나 징후를 근절할 필요 없이 효과적인 치료제를 구성할 수 있다. 관련 기술 분야에서 인정된 바와 같이, 치료제로서의 약물은 주어진 질환 상태의 심각성을 줄이는 데 사용될 수 있지만, 효과적인 치료제로 간주되기 위해 질환의 모든 증상을 없앨 필요는 없다. 유사하게, 예방적 투여 치료는 효과적인 예방제가 되기 위해 증상의 출현을 막는 데 완전히 효과적일 필요는 없다. 이는 질환의 영향을 줄이는 것(예, 질환 증상의 수 또는 심각성을 줄임으로써, 또는 다른 치료 효과를 강화함으로써, 또는 다른 효과적인 효과를 생성함으로써) 또는 피험자에게 질환이 발생하거나 악화될 가능성을 줄이는 것으로 충분하다. 본원의 일 실시양태는 GIPR 항체 또는 GIPR 항체와 FGF21의 융합 단백질을 기준선 수준 이상의 특정 병태의 심각성을 반영하는 지표의 지속적인 개선을 유도하기에 충분한 양과 시간 동안 환자에게 투여하는 단계를 포함하는 방법에 관한 것이다.

[0264] GIPR 항체 또는 GIPR 항체와 FGF21의 융합 단백질의 약학 조성물은 비제한적으로 비경구, 국소 또는 흡입 투여를 포함하는 임의의 적절한 기술을 통해 투여될 수 있다. 주사의 경우, 약학 조성물은, 예를 들어, 관절내, 정맥내, 근육내, 병변내, 복강내 또는 피하 경로를 통해 급속 주사 또는 연속 주입으로 투여될 수 있다. 예를 들어, 질환 또는 부상 부위에 국소적으로 투여하는 방법, 예컨대 경피 투여 및 임플란트의 지속 방출 투여를 고려할 수 있다. 흡입 투여에는, 예를 들어, 비강 또는 경구 흡입, 스프레이, 에어로졸 형태의 항체 흡입 등이 포함된다. 다른 옵션으로는 정제, 시럽 또는 로젠즈를 포함한 경구 제제가 포함된다.

[0265] 본원에서 제공된 GIPR 항체 또는 FGF21 융합 단백질은 생리학적으로 허용되는 담체, 부형제 또는 희석제와 같은 하나 이상의 다른 성분을 포함하는 조성물의 형태로 투여하는 것이 유리하다. 본 조성물은 임의로 하기 설명된 하나 이상의 추가적인 생리학적 활성제를 포함할 수 있다. 다양한 구체적 실시양태에서, 본 조성물은 본원에서 제공된 하나 이상의 항체(예, 뮤린 유래 항체 또는 인간화 항체) 또는 FGF21 융합 단백질 이외에, 1, 2, 3, 4, 5 또는 6가지의 생리학적 활성제를 포함한다.

[0266] 일 실시양태에서, 약학 조성물은 본원에서 제공된 뮤린 유래 항체 또는 인간화 항체 또는 FGF21 융합 단백질의 융합 단백질과, 항체 또는 FGF21 융합 단백질에 적합한 pH를 갖는 완충액, 아스코르브산과 같은 항산화제, 저분자량 폴리펩티드(예, 10개 미만의 아미노산을 포함한 폴리펩티드), 단백질, 아미노산, 덱스트린과 같은 탄수화물, EDTA와 같은 복합체, 글루타치온, 안정화제 및 부형제로부터 선택된 하나 이상의 물질을 포함한다. 적합한 산업 표준에 따라, 방부제를 첨가할 수도 있다. 본 조성물은 적합한 부형제 용액을 희석제로 사용하여 동결 건조 분말로 제제화될 수 있다. 적합한 성분은 사용된 투여량 및 농도에서 수용자에게 독성이 없다. 의약 처방에 사용될 수 있는 성분의 추가 예는 문헌[Remington's Pharmaceutical Sciences, 16th edition (1980) and 20th edition (2000)]에 기술되어 있다. Mack Publishing Company는 의료 종사자가 사용할 수 있는 키트를 제공하며, 여기에는 본원에서 제공된 하나 이상의 항체 또는 FGF21 융합 단백질과 본원에서 논의된 임의의 질환을 치료하기 위한 태그 또는 기타 지침이 포함되어 있다. 일 실시양태에서, 키트는 상기 언급된 조성물의 형태로 하나 이상의 튜브형 병에 하나 이상의 항체 또는 FGF21 융합 단백질의 멸균 제제를 포함한다.

[0267] 투여량과 투여 빈도는 다음 요인에 따라 달라질 수 있다: 투여 경로, 사용된 특정 항체 또는 FGF21 융합 단백질, 치료할 질환의 성질과 심각도, 증상이 급성인지 만성인지 여부, 및 환자의 체격 및 전반적인 증상. 적절한 용량은, 당업계에 잘 공지된 방법, 예를 들어 임상 시험에서의 용량 조절 연구를 통해 결정할 수 있다.

[0268] 본원에서 제공된 항체 또는 FGF21 융합 단백질은, 예를 들어, 일정 기간 동안 일정한 간격으로 1회 또는 수회 투여될 수 있다. 특정 실시양태에서, 뮤린 유래 또는 인간화 항체 또는 FGF21 융합 단백질은 적어도 1개월 이상, 예를 들어 1개월, 2개월 또는 3개월 또는 심지어 무기한으로 1회 투여된다. 만성 증상을 치료하려면, 장기 치료가 일반적으로 가장 효과적이다. 그러나, 급성 증상을 치료하려면, 단기간 투여, 예를 들어 1주 내지 6주 정도가 충분하다. 일반적으로, 인간 항체는 환자가 선택된 징후나 기준선 수준 초과의 지표에서 의학적으로 의미 있는 개선을 보일 때까지 투여된다.

[0269] 본원에서 제공된 치료 요법의 일례로는 비알코올성 지방간염, 비만, 2형 당뇨병 등으로 인한 증상을 적절한 용량으로 주 1회 또는 그보다 덜 빈번하게 피하 주사로 치료하는 것을 포함한다. 항체 또는 FGF21 융합 단백질은, 예를 들어 환자 증상이 해결되는 등 원하는 결과가 달성될 때까지 매주 또는 매달 지속적으로 투여될 수 있다. 필요에 따라, 치료를 재개할 수 있거나, 대안적으로, 유지 용량을 투여할 수도 있다.

[0270] 항체 또는 FGF21 융합 단백질, 예를 들어, 인간 항체 또는 FGF21 융합 단백질로 치료를 시작하기 전, 치료를 받는 동안 및/또는 치료를 받은 후에 환자의 간 지방 분율(HFF), 간 손상 표지자인 알라닌 아미노트랜스퍼라제(ALT), 체중, 혈당 농도를 모니터링하여 이러한 매개변수의 변화를 검출할 수 있다. 특정 조건에서는, HFF, ALT 및 혈당의 변화가 질환 진행 등의 요인에 따라 달라질 수 있다. 이러한 수준의 변화는 알려진 기술을 사용하여 결정될 수 있다.

[0271] 본원의 방법 및 조성물의 구체적인 실시양태에는, 예를 들어, 항체 또는 FGF21 융합 단백질과 하나 이상의 GIP 길항제, 본원에서 제공된 2개 이상의 항체 또는 FGF21 융합 단백질, 또는 본 개시내용의 항체 또는 FGF21 융합 단백질과 하나 이상의 다른 GIP 길항제의 사용이 포함된다. 또 다른 실시양태에서, 항체 또는 FGF21 융합 단백질을 단독으로 또는 다른 작용제와 조합하여 환자의 고통스러운 증상을 치료하기 위해 투여한다. 이런 작용제의 예는 단백질과 비단백질 약물을 포함한다. 다수의 약물을 조합하여 투여하는 경우, 해당 기술 분야에서 잘 알려진 바와 같이 투여량을 적절히 조절해야 한다. "조합된 투여" 조합 요법은 동시 투여에만 국한되지 않으며, 또한 항원 및 단백질이 환자에게 적어도 하나의 다른 치료제를 투여하는 치료 과정 중에 적어도 한 번 투여되는 치료 요법도 포함한다.

[0272] 또 다른 측면에서, 본원에는 비알코올성 지방간염, 비만, 및 2형 당뇨병과 관련 병태를 치료하기 위한 의약을 제조하는 방법이 제공되며, 여기서 의약은 본원에서 제공된 항체 또는 FGF21 융합 단백질과 상기 질환과 관련된 병태를 치료하기 위한 약학적으로 허용되는 부형제의 혼합물을 포함한다. 의약을 제조하는 방법은 상기 기술된 바와 같다.

[0273] 또한, 본원에는 인간 GIPR에 특이적으로 결합할 수 있는 항체 또는 FGF21 융합 단백질과 관련된 조성물, 키트 및 방법이 제공된다. 또한, GIPR에 결합하는 폴리펩티드의 전부 또는 일부를 코딩하는 폴리뉴클레오티드를 포함하는 핵산 분자 및 이의 유도체 및 단편도 제공되며, 예를 들어 항-GIPR 항체, 항체 단편, 항체 유도체 또는 FGF21 융합 단백질의 전부 또는 일부를 코딩하는 핵산도 제공된다. 또한 본원에는 이러한 핵산을 포함하는 벡터 및 플라스미드, 및 이러한 핵산 및/또는 벡터 및 플라스미드를 포함하는 세포 및 세포주가 제공된다. 제공된 방법에는, 예를 들어, 인간 GIPR에 결합하는 항체 또는 FGF21 융합 단백질, 예를 들어 항-GIPR 항체 또는 FGF21 융합 단백질을 제조, 식별 또는 단리하는 방법, 항체 또는 FGF21 융합 단백질이 GIPR에 결합하는지 여부를 결정

하는 방법, 및 GIPR에 결합하는 항체 또는 FGF21 융합 단백질을 동물 모델에 투여하는 방법이 포함된다.

[0274] 다음의 구체적인 예는 본원의 기술적 솔루션을 더욱 자세히 설명하는 데 사용된다.

[0275] 본원에서, 달리 명시되지 않는 한, 사용되는 원료, 장비 등은 모두 시장에서 구입할 수 있거나 당해 기술 분야에서 통상적으로 사용되는 것들이다. 다음 실시예의 방법은, 달리 명시하지 않는 한, 해당 기술 분야의 통상적인 방법이다.

[0276] 1. 면역을 위한 항원의 제조

[0277] CHO-DHFR 세포를 6웰 플레이트에 접종했다. 24시간(hr) 배양 후, 6웰 플레이트의 세포에 hGIPR 유전자로 클로닝된 pTM15 플라스미드를 형질감염시켰다(뉴클레오티드 서열의 경우 서열 번호 114 및 아미노산 서열의 경우 서열 번호 113 참조). Lipofectamine 2000에 대해 Invitrogen이 권장하는 형질감염 조건에 따라 형질감염을 수행했다. 48 hr 후, 배양액을 300 μg/mL의 히그로마이신이 포함된 완전 배지로 교환했고, 매 3일(d) 간격으로 배지를 교환했다. 약 2주간의 배양 후, 안정적인 클론이 나타났다. 세포 콜로니를 소화에 의해 분산시키고, 세포를 통과시키고, 100% 융합에 도달할 때까지 계속 배양했다. 구축된 안정 세포주들은 V5-태그 항체(Life Technologies)를 사용하여 FACS로 별도로 검출했고, 압력 스크리닝 후 세포 집단은 FACS 검출 결과에 따라 확인했다. 스크리닝 후, 많은 양의 hGIPR이 CHO-DHFR-hGIPR 세포막에 발현되었다. 마지막으로, 서브클로닝과 추가 식별 후, GIPR 세포 균주 3종이 고도로 발현된 안정 세포주로 선택되었다. hGIPR을 고도로 발현하는 이러한 세포 균주는 항체를 제조하기 위한 면역원으로 사용될 수 있다(실시예 2 참조). 또한, 특정 실시양태에서, hGIPR 세포외 영역과 hIgG Fc의 융합 단백질도 항체를 제조하기 위한 면역원으로 사용될 수 있으며, 이의 제조 방법은 다음과 같았다: hGIPR 세포외 영역, hIgG2 Fc 및 펩티드 링커(링커)의 융합 단백질의 유전자 서열을 pTM5 플라스미드에 서브클로닝했다. 현탁 배양된 HEK293 세포를 이용하여 고수준의 일시적 발현을 수행하고, 세포 상층액을 얻은 다음, 친화성 크로마토그래피로 정제하여 hGIPR 세포외 영역 융합 단백질을 얻었다.

[0278] 2. 항체의 제조

[0279] hGIPR에 대한 항체는 임의의 다음 면역원을 사용하여 생산할 수 있다. 예를 들어, 특정 실시양태에서, hGIPR을 발현하는 전체 세포를 면역원으로 사용하여 hGIPR에 대한 항체를 생산했다. 또한, 특정 실시양태에서, hFc와 hGIPR의 N 말단 도메인의 아미노산 서열을 포함하는 융합 단백질을 면역원으로 사용하여 hGIPR에 대한 항체를 생산했다. 면역원과 수산화알루미늄 보조제를 균일하게 혼합한 다음, BALB/c 마우스(6-8주령)에 피하 주사하고, 그 후 매주 마우스에 추가 면역을 실시했다. 총 6회의 면역 후, 꼬리를 잘라 혈액을 채취했다. 혈청은 원심분리로 단리했고, 혈청 역가는 FACS로 측정했다. 적절한 항체 역가에 도달하면, 마우스를 경추 탈구로 희생시키고 무균적으로 비장 세포를 채취했다. 대수기 SP2/0 세포를 수집하고 원심분리했다. 세포 침전물을 혈청이 없는 배양 배지에 재부유시킨 다음, 원심분리하여 두 번째로 재부유시키고, 세포 수를 측정했다. 비장 세포와 SP2/0 세포를 혼합하여 SP2/0 세포의 수가 비장 세포 수와 비슷하도록 보장했다. 혼합 후, 세척-원심분리를 3회 실시했다. 마지막 원심분리에서 나온 세포 침전물을 분리한 후, 예열된 PEG-1500을 적하했다. 혼합물을 위아래로 피펫팅한 후, 예열된 혈청이 없는 배양 배지 30 mL를 천천히 첨가하여 PEG 융합을 종결시켰다. 다시 원심분리한 후, 세포 침전물을 분리하고, 융합 배양 배지를 첨가했다. 비장 세포와 영양세포 층을 96웰 플레이트에 플레이팅하고, 웰당 100 μL의 배양 배지를 첨가했다. 융합된 하이브리도마 세포와 피더층 세포를 96웰 플레이트에서 공동 배양하고, 융합되지 않은 세포를 제거하기 위해 HAT(히폭산틴, 메토트렉세이트 및 티미딘) 스크리닝을 실시했다. 10 d 후, 배양 플레이트의 하이브리도마 세포 상층액을 수확하여 ELISA 검출을 실시했다.

[0280] 3. ELISA에 의한 항체 스크리닝

[0281] hGIPR을 과발현하는 CHO-DHFR-hGIPR 세포와 hGIPR을 발현하지 않는 CHO-DHFR 세포를 96웰 플레이트에 따로 접종했다. 세포가 90% 융합으로 자란 후, 세포 배양 상층액을 제거했다. 세포를 PBS로 2회 세척하고, 100% 메탄올을 첨가하여 4℃에서 고정한 다음, 새롭게 준비한 0.6% H_2O_2-PBS 100 μL를 첨가하여 실온에서 20분 동안 처리하고, PBS로 2회 세척했다. 1% BSA(PBS에 용해)로 차단한 후, 하이브리도마 세포 상층액을 첨가하고, 혼합물을 4℃에서 90분간 인큐베이션했다. 수회 세척한 후, 희석된 염소 항-뮤린 Fc-HRP 2차 항체(Sigma-Aldrich) 100 μL를 각 웰에 첨가하고, 혼합물을 37℃에서 30분 동안 인큐베이션했다. 5회 세척 후, 각 웰에 TMB 발색 기질 100 μL를 첨가하고, 37℃에서 15분 동안 반응을 수행하고, 50 μL의 2 M H_2SO_4를 발색 종료를 위해 첨가하고, OD 450 값을 읽었다. 또한, 특정 실시양태에서, hFc와 hGIPR의 N 말단 도메인의 아미노산 서열을 포함하는 융합 단백질을 코팅 항원으로 사용하여 96웰 플레이트를 코팅했다. 1% BSA(PBS에 용해)로 차단한 후, 하이브리도마 세포 상층액을 첨가하고, 혼합물을 4℃에서 90분간 인큐베이션했다. 이후의 단계는 항-hGIPR 단일클론 항체를 스

크리닝하기 위한 상기 언급된 ELISA 방법과 동일하다. 양성 대조군은 면역화된 마우스의 혈청이었고, 음성 대조군은 세포 배양 배지 상층액이었다. ELISA에 의한 예비 검출 후, 항-hGIPR 항체를 분비하는 몇몇 양성 하이브리도마 세포 균주가 스크리닝되었다. 이러한 항-hGIPR 항체를 분비하는 하이브리도마 균주를 선택하고 클로닝하여 항-hGIPR 항체를 안정적으로 분비할 수 있는 세포 균주를 얻었다. 마지막으로, 양성 하이브리도마 세포 상층액을 선택하여 FACS로 검증했다(실시예 10 참조).

[0282] 4. 항체 유전자의 클로닝 및 서브클로닝

[0283] 항체를 분비하는 하이브리도마 세포를 수집하고, QIAGEN mRNA 추출 키트의 제조업체 프로토콜에 따라 하이브리도마 세포의 mRNA를 추출했다. 그런 다음, 추출된 mRNA를 역전사하여 cDNA를 만들었다. 역전사 프라이머는 마우스의 경쇄 및 중쇄 불변 영역에 대한 특정 프라이머였으며, 중쇄 역전사 프라이머는 (5'-TTTGGRGGGAAGATGAAGAC-3')이고, 경쇄 역전사 프라이머는 (5'-TTAACACTCTCCCCTGTTGAA-3') 및 (5'-TTAACACTCATTCCTGTTGAA-3')이다. RT-PCR의 반응 조건은 25℃에서 5분; 50℃에서 60분; 및 70℃에서 15분이었다. 역전사된 cDNA를 0.1 mM TE로 500 μL로 희석하고, 한외여과 원심분리 튜브(Amicon Ultra-0.5)에 넣고, 2000 g에서 10분 동안 원심분리하고; 여과액을 버리고, 0.1 mM TE 500 μL를 첨가하고 2000 g에서 10분 동안 원심분리하고; 여과액을 버리고, 제조용 튜브를 새로운 원심분리 튜브에 뒤집어 넣고 2000 g에서 10분 동안 원심분리하여 정제된 cDNA를 얻고; 정제된 cDNA 10 μL를 탬플릿으로 취하고, 5×테일링 완충제(Promega) 4 μL, dATP(1 mM) 4 μL와 10 U 말단 전이효소(Promega)를 첨가하고 균일하게 혼합시키고, 혼합물을 37℃에서 5분 동안 인큐베이션한 후, 65℃에서 5분 동안 인큐베이션하고, 이어서 PolyA 꼬리가 있는 cDNA를 탬플릿으로 사용하여 PCR에 의해 항체의 경쇄 및 중쇄 가변 영역 유전자를 증폭시켰다. 상류 프라이머는 모두 OligodT이고, 중쇄의 하류 프라이머는 (5'-TGGACAGGGATCCAGAGTTCC-3') 및 (5'-TGGACAGGGCTCCATAGTTCC-3')이고, 경쇄의 하류 프라이머는 (5'-ACTCGTCCTTGGTCAACGTG-3')이었다. PCR의 반응 조건은 95℃에서 5분; 95℃에서 30 s, 56℃에서 30 s, 72℃에서 1분, 40 사이클; 및 72℃에서 7분이었다. PCR 산물을 PMD 18-T 벡터(Takara Bio)에 결찰시킨 후 시퀀싱했다. PCR 프라이머는 항체의 시퀀싱된 DNA 서열을 기초로 설계되었으며, 이를 통해 완전한 경쇄 및 중쇄 신호 펩티드와 가변 도메인, 및 마우스 IgG1 불변 영역이 발현 벡터 pTM5에 결찰되었다.

[0284] 5. 항체 인간화 및 최적화

[0285] 먼저, 스크리닝을 통해 얻은 뮤린 유래 항체 경쇄, 중쇄 가변 영역 서열을 바탕으로, NCBI 데이터베이스를 이용하여 스크리닝을 통해 얻은 뮤린 유래 항체 가변 영역 서열과 상동성이 높은 인간 유래 항체 생식세포 유전자 서열(Ig Germline Gene Sequence)을 검색하고, CDR 서열을 제외하고 가장 상동성이 높은 인간 유래 유전자 서열을 CDR 이식을 위한 템플릿 서열로 사용하여 인간화 항체 가변 영역 서열을 얻었다. 인간화 항체의 경쇄 및 중쇄 유전자를 합성하고, 인간 IgG2 또는 IgG4 불변 영역 서열과 연결하여 완전한 재조합 인간화 항체 서열을 얻었다. 재조합 항체의 발현은 실시예 8에 따라 수행되었으며, 단계 12에서 FACS 기술을 통해 GIPR에 대한 친화성을 검증하여 가장 좋은 친화성을 나타내는 항체를 선택했다. 마지막으로, 인간화 항체의 가변 영역 서열은 GIPR에 대한 항체의 친화성을 더욱 높이기 위해 부위 지향성 돌연변이 유발을 통해 변형되었다.

[0286] 6. 인간화 hGIPR 항체의 유전자 클로닝 및 서브클로닝

[0287] 최적화된 인간화 항체 중쇄 및 경쇄 가변 영역 서열의 아웃소싱 합성이 수행되었다. 합성 시, 제한 효소 부위 Nhe1을 중쇄 가변 영역의 5' 말단에 도입하고, 제한 효소 부위 Sal1을 3' 말단에 도입하여, 중쇄 가변 영역 서열 전체를 중쇄 불변 영역이 삽입된 발현 벡터 pTM5에 결찰시켰다. 유사하게, 합성 시, 제한 효소 부위 Nhe1을 경쇄 가변 영역의 5' 말단에 도입하고, 제한 효소 부위 Bsiw1을 3' 말단에 도입하여, 경쇄 가변 영역 서열 전체를 경쇄 불변 영역이 삽입된 발현 벡터 pTM5에 결찰시켰다.

[0288] 7. 인간화 hGIPR 항체와 FGF21의 융합 단백질의 구축

[0289] 최적화된 인간화 항체는 중쇄의 C 말단에서 FGF21 및 이의 유도체 서열과 융합되어 FGF21 융합 단백질(예, 서열 번호 104-106, 서열 번호 119-121, 서열 번호 123 내지 서열 번호 125)을 형성했다. 두 서열은 펩티드 링커 서열(링커)에 의해 연결되었다. 링커-FGF21의 뉴클레오티드 서열은 GenScript Biotech Co., Ltd.에서 합성되었다. 합성 유전자를 템플릿으로 사용하여, "링커-FGF21" 부분의 서열을 PCR로 증폭시켰다. 또한, 인간화 항체의 뉴클레오티드 서열을 템플릿으로 사용하여, 융합 단백질 서열의 신호 펩티드-항체 부분의 서열을 증폭시켰다. 이후, 오버랩핑 PCR을 통해, 융합 단백질의 핵산 서열 중 "링커-FGF21" 부분을 항체 부분과 연결하고, 프라이머 양단에 제한 효소 부위 Nhe1과 Not1 2개를 도입하여, 완전한 융합 단백질 서열과 발현 벡터 pTM5를 서로 결찰시킨다.

[0290] 8. hGIPR 항체, FGF21 융합 단백질 및 FC-FGF21(RGE)의 일시적 발현

[0291] 5 × 10^5/mL에서 현탁 배양된 HEK293 또는 CHO 발현 세포주를 스피너 플라스크에 접종했다. 37℃ 및 5% CO_2에서 24 hr 회전 배양 후, 밀도가 1 × 10^6/mL에 도달했을 때, 세포는 형질감염에 사용되었다. 폴리에틸렌이민(PEI)은 형질감염 과정에서 형질감염 배지로 사용되었으며, DNA와 혼합되었다. 두 물질의 혼합물을 15분 동안 정지 인큐베이션한 후, 세포 배양액에 첨가했다. PEI와 DNA의 혼합물을 받은 후, 24 hr 동안 37℃ 및 5% CO_2에서 세포를 회전 하 배양하고, 이어서 발현에 필요한 첨가제로서 트립톤을 세포 배양물에 첨가했다. 마지막으로, 발현이 완료된 후(96 hr 초과), 세포 상층액을 수집하여 항체 정제 및 단리를 실시했다.

[0292] 9. hGIPR 항체, FGF21 융합 단백질 및 FC-FGF21(RGE)의 정제 및 단리

[0293] 실시예 8에서 수집한 세포 상층액을 고속(8000 rpm)으로 원심분리하여 세포 및 세포 잔해물을 제거한 후, 0.22 μm 필터 멤브레인으로 여과 및 정제했다. 정화된 상층액은 정제에 사용되었다. 정제 과정은 크로마토그래피를 통해 완료되었다. 상층액을 먼저 단백질 A/G 친화성 크로마토그래피 컬럼에 통과시켰다. 상층액에 포함된 항체는 이 시간 동안 단백질 A/G 친화성 크로마토그래피 컬럼의 리간드에 결합한 후 컬럼에 잔류한다. 그런 다음 크로마토그래피 컬럼을 낮은 pH(3.0 이하)의 용출 완충제로 헹구어 크로마토그래피 컬럼에 결합된 항체를 분리했다. 수집된 항체 용출액은 1 M Tris-HCl로 빠르게 중화되었다. 생성된 항체 용출액을 투석한 후 PBS 또는 다른 완충제 시스템으로 대체했다.

[0294] 10. β-Klotho/FGFR1c 수용체 복합체를 발현하는 안정한 세포 균주의 구축 검출

[0295] CHO-DHFR 세포(시중에서 판매)를 6웰 플레이트에 접종하고 24 h 동안 배양한 후, 6웰 플레이트의 세포를 V5-hKLB 유전자를 함유한 플라스미드와 Flag-FGFR1c를 함유한 플라스미드로 형질감염시키고, 여기서 형질감염 전에 배양 배지를 교체하였고, Invitrogen에서 Lipofectamine 2000에 권장하는 형질감염 조건에 따라 형질감염을 수행했다. 형질감염 48시간 후에, 배양 배지를 10 nM 메토트렉세이트(MTX)가 포함된 완전 배지로 교체했다. 안정적인 클론이 나타날 때까지, 약 2주 동안 매 3일 간격으로 배지를 교체했다. 세포 콜로니는 소화를 통해 분산되었다. 세포가 약 50%의 융합으로 성장한 후, 점차 증가하는 농도의 MTX(최대 10 μM MTX 농도)를 첨가하여 압력 스크리닝을 실시했다. 구축된 안정한 세포 균주는, 압력 스크리닝 후 세포 집단을 확인하기 위해, KLB 단백질 N'-말단 V5-태그(FITC-항-V5, Invitrogen; Flag-항-V5, Invitrogen)에 대한 항체를 사용하여 FACS로 각각 테스트되었다. 10 uM MTX로 스크리닝한 후, CHO-DHFR-V5-hKLB 세포막에서 높은 수준의 hKLB가 발현되었다. 마지막으로, 서브클로닝과 식별을 통해 KLB 발현이 높은 2종의 안정한 세포주를 얻었다.

[0296] 11. 시험관 내에서 hFGFR1c/hKLB 신호전달 경로를 활성화하는 것에 있어서의 hGIPR 항체/FGF21 융합 단백질의 생물학적 활성을 검출하는 리포터 유전자 실험

[0297] hFGFR1c-β-KLB-SRE-루시퍼라제를 공동 발현하는 CHO-DHFR 세포를 웰당 20,000개 세포로 96웰 세포 배양 플레이트에 접종하고, 37℃ 및 5% CO_2에서 밤새 배양했다. 다음 날, 배양 상층액을 제거했다. 세포 표면을 혈청이 없는 배지로 2회 세척하고, 잔류 액체를 제거한 다음, 혈청이 없는 배지로 희석한 100 μL의 정제된 항체 또는 FGF21을 첨가하고, 혼합물을 37℃에서 4시간 동안 인큐베이션했다. 자극 후, 100 μL의 Bright Glo 화학발광 기질(Promega)을 첨가하고, 마지막으로 세포 용해물을 백색 96웰 플레이트로 옮기고, SpectraMax L 마이크로플레이트 리더(Molecular Devices)에서 상대 형광 세기를 측정했다(결과는 도 1 참조).

[0298] 12. 시험관 내에서 GIPR 길항작용에 있어서의 hGIPR 항체/FGF21 융합 단백질 V1W1 및 V1W2의 생물학적 활성을 검출하는 리포터 유전자 실험

[0299] hGIPR-CRE-루시퍼라제를 공동 발현하는 CHO-DHFR 세포를 웰당 30000개 세포로 96웰 세포 배양 플레이트에 접종하고, 인큐베이터에서 37℃ 및 5% CO_2에서 밤새 배양했다. 다음 날, 세포 상층액을 제거했다. 세포 표면을 혈청이 없는 배지로 2회 세척하고, 잔류 액체를 제거한 다음, 혈청이 없는 배지로 희석한 50 μL의 GIP 및 혈청이 없는 배지로 구배 희석된 50 μL의 hGIPR 항체 또는 hGIPR 항체/FGF21 융합 단백질을 각 웰에 각각 첨가하고, 혼합물을 37℃에서 4시간 동안 인큐베이션했다. 자극 후, 100 μL의 Bright Glo 화학발광 기질(Promega)을 첨가하고, 마지막으로 세포 용해물을 백색 96웰 플레이트로 옮기고, SpectraMax L 마이크로플레이트 리더(Molecular Devices)에서 상대 형광 세기를 측정했다(결과는 도 2 참조).

[0300] 13. 시험관 내에서 hβ-Klotho/hFGF1Rc 활성화에 있어서의 hGIPR 항체/FGF21 융합 단백질 V1W1 및 V1W2의

생물학적 활성을 검출하는 리포터 유전자 실험

[0301] hFGFR1c-β-KLB-SRE-루시퍼라제 또는 mFGFR1c-β-KLB-SRE-루시퍼라제를 공동 발현하는 CHO-DHFR 세포를 웰당 20,000개 세포로 96웰 세포 배양 플레이트에 접종하고, 37℃에서 밤새 배양했다. 다음 날, 배양 상층액을 제거했다. 세포 표면을 혈청이 없는 배지로 2회 세척하고, 잔류 액체를 제거한 다음, 혈청이 없는 배지로 희석한 100 μL의 정제된 항체 또는 FGF21을 첨가하고, 혼합물을 37℃에서 4시간 동안 인큐베이션했다. 자극 후, 100 μL의 Bright Glo 화학발광 기질(Promega)을 첨가하고, 마지막으로 세포 용해물을 백색 96웰 플레이트로 옮기고, SpectraMax L 마이크로플레이트 리더(Molecular Devices)에서 상대 형광 세기를 측정했다(결과는 도 3 및 도 8 참조).

[0302] 14. 고지방 사료로 유도된 C57BL/6 비만 마우스의 약력학 실험에서의 생체 내 hGIPR 항체/FGF21 융합 단백질의 효능 평가

[0303] C57BL/6 마우스(DIO 마우스)에 60% 고지방 사료를 섭취시켜 비만 모델을 확립했다. 마우스를 구입한 후, 일주일 동안 정상적인 식단을 섭취하게 한 다음, 일정 수의 마우스를 무작위로 선정해 정상 대조군으로서 일반 마우스 사료를 섭취하게 하였고, 나머지 마우스에게는 고지방 사료를 섭취하게 했다. 마우스에게 8주(wk) 동안 지속적으로 먹이를 주었고, 체중과 먹이 섭취량을 일주일에 한 번씩 측정했다. 이어서, 고지방 사료군의 마우스를 체중에 따라 V1W1-FGF21(서열 번호 89) 군(1 mg/kg), V1W1-FGF21(서열 번호 89) 군(3 mg/kg), V1W1-FGF21(서열 번호 89) 군(10 mg/kg), V1W2-FGF21(서열 번호 89) 군(1 mg/kg), V1W2-FGF21(서열 번호 89) 군(3 mg/kg), 및 V1W2-FGF21(서열 번호 89) 군(10 mg/kg), 양성 약물 대조군 및 모델군으로 무작위로 나누었다. 약물의 피하 주사는 3일에 한 번씩, 총 4 wk 동안 이루어졌으며, 정상 대조군에는 약물을 투여하지 않았고, 모델군에는 동일한 양의 블랭크 제제를 투여했다. 실험 기간 동안 마우스의 체중, 음식 섭취량 및 행동 관찰에 관한 데이터를 수집했다. 실험의 0, 7, 14, 21 및 28일차에 공복 혈당 수치를 측정했다. 경구 포도당 내성 검사(OGTT)는 실험 14일차와 28일차에 실시되었다. 실험 마지막 날 전 12 hr 동안 마우스에게 금식(물은 자유 급여)시키고, 동물의 안와에서 혈액을 채취하여 혈청을 단리하고 안락사를 진행함으로써, 혈청 ALT, AST, HDL-C, LDL-C, TC 및 TG를 검출했다(결과는 도 4, 도 5, 도 6 및 도 7 참조).

[0304] 15. 콜린 결핍 L-아미노산 규정된 고지방 사료로 유발된 비알코올성 지방간염이 있는 C57BL/6 마우스의 약력학 실험에서의 생체 내 hGIPR 항체/FGF21 융합 단백질의 효능 평가

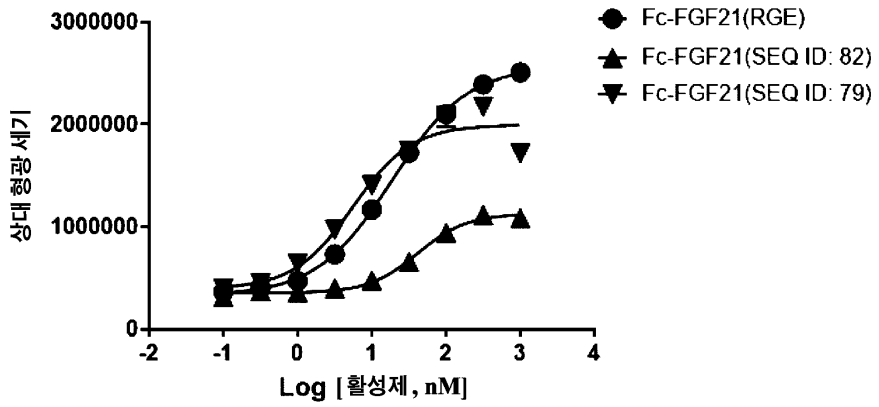
[0305] C57BL/6 마우스에 콜린 결핍 L-아미노산 규정된 고지방 사료를 섭취시켜 비알코올성 지방간염 모델을 확립했다. 마우스를 구입한 후, 일주일 동안 정상적인 식단을 섭취하게 한 다음, 일정 수의 마우스를 무작위로 선정해 정상 대조군으로서 일반 마우스 사료를 섭취하게 하였고, 나머지 마우스에게는 콜린 결핍 L-아미노산 규정된 고지방 사료를 섭취하게 했다. 6주 동안 마우스에게 지속적으로 사료를 공급하였고, 콜린 결핍 L-아미노산 규정된 고지방 사료 군의 마우스를 혈청 내 TC, TG 함량에 따라 V1W2-FGF21(서열 번호 118) 군(1 mg/kg), V1W2-FGF21(서열 번호 118) 군(3 mg/kg), 및 V1W2-FGF21(서열 번호 118) 군(10 mg/kg), 양성 약물 대조군 및 모델군으로 무작위로 나누었다. 약물의 피하 주사는 3일에 한 번씩, 총 8 wk 동안 이루어졌으며, 정상 대조군에는 약물을 투여하지 않았고, 모델군에는 동일한 양의 블랭크 제제를 투여했다. 실험 기간 동안 마우스의 체중, 음식 섭취량 및 행동 관찰에 관한 데이터를 수집했다. 실험 8주차에, 마우스로부터 혈액을 채취하고 혈청을 단리하여 ALT, AST, TG 및 TC를 검출했다. 마우스의 간을 채취하고 무게를 측정했다. TC와 TG를 검출하기 위해 간 조직 95-105 mg을 칭량하고, 같은 엽의 간을 채취하고 4% 파라포름알데히드에 고정하여 HE 및 Sirius Red 염색을 실시했다(결과는 도 9 참조).

[0306] 상기 실시예는 당업자에게 청구된 실시양태를 만들고 사용하는 방법에 대한 충분한 개시내용 및 설명을 제공하기 위해 제공된 것이며, 본원의 개시내용의 범위를 제한하려는 것은 아니다. 당업자라면, 자명한 변형 사항을 모두 본원의 청구범위에 포함시킬 수 있다. 본원의 설명에서 언급된 모든 공보, 특허 및 특허 출원은 각각의 공보, 특허 또는 특허 출원이 참고로 포함되는 것으로 구체적 및 개별적으로 표시된 것처럼 본원에 참고로 포함된다.

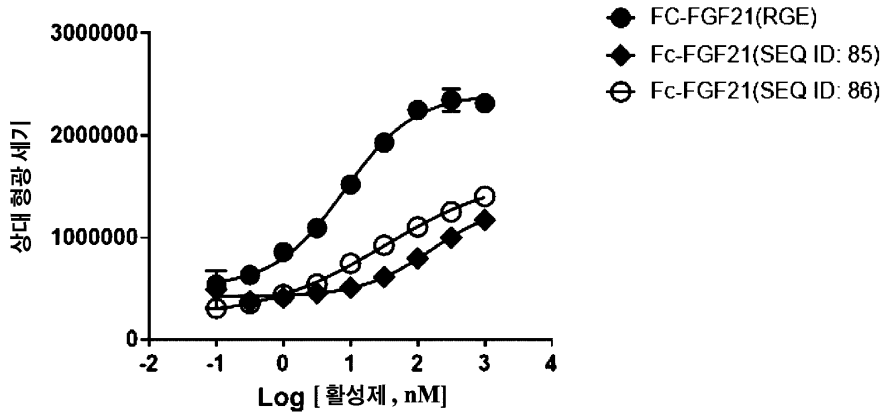
도면

도면1

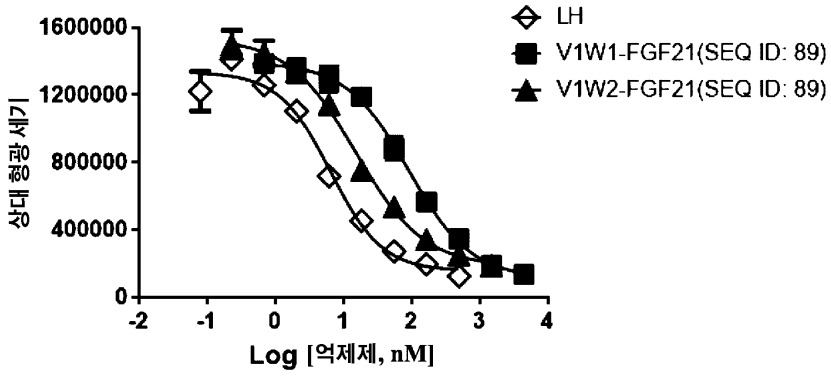
(a)


3000000
2000000
1000000
0
상대 형광 세기
-2
-1
0
1
2
3
4
Log [활성제, nM]
Fc-FGF21(RGE)
Fc-FGF21(SEQ ID: 82)
Fc-FGF21(SEQ ID: 79)

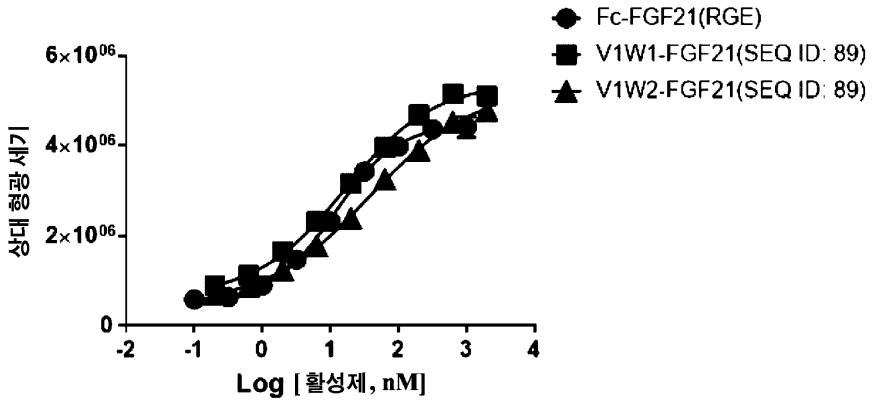
(b)


3000000
2000000
1000000
0
상대 형광 세기
-2
-1
0
1
2
3
4
Log [활성제, nM]
FC-FGF21(RGE)
Fc-FGF21(SEQ ID: 85)
Fc-FGF21(SEQ ID: 86)

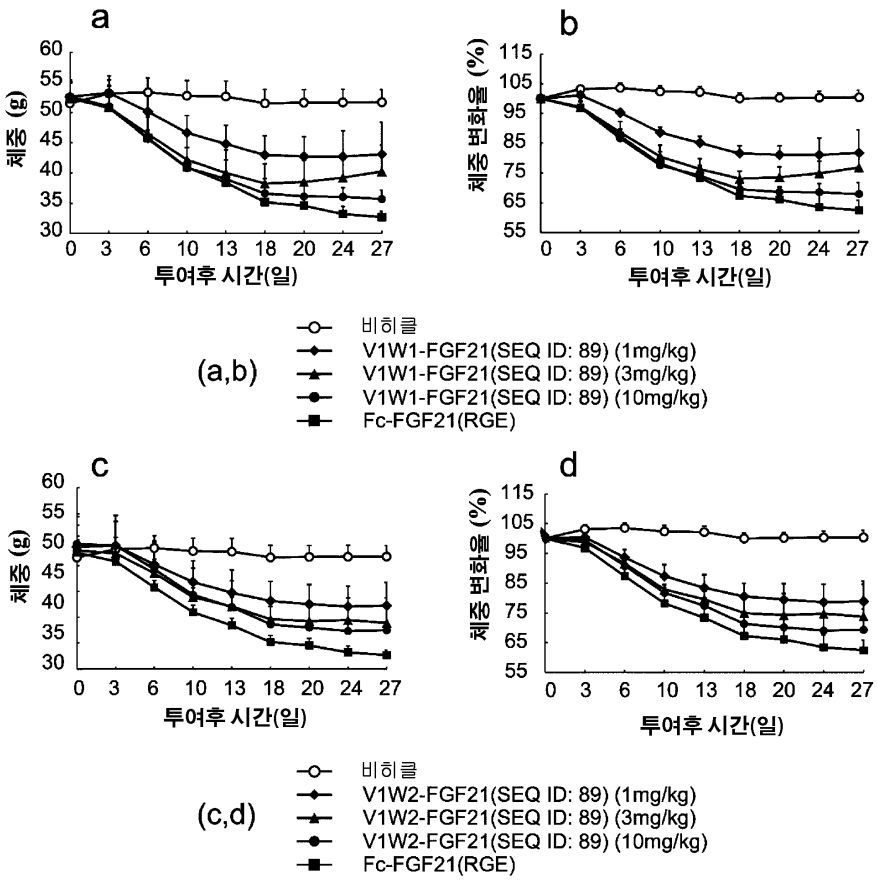
도면2


1600000
1200000
800000
400000
0
상대 형광 세기
-2
-1
0
1
2
3
4
Log [억제제, nM]
LH
V1W1-FGF21(SEQ ID: 89)
V1W2-FGF21(SEQ ID: 89)

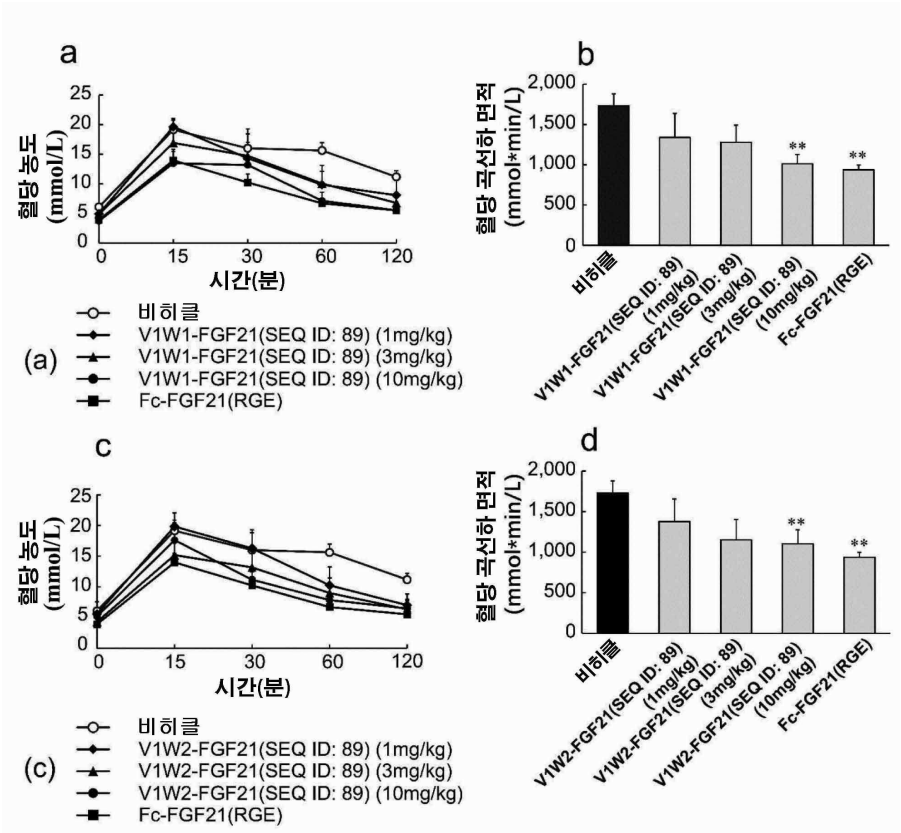
도면3


Fc-FGF21(RGE)
V1W1-FGF21(SEQ ID: 89)
V1W2-FGF21(SEQ ID: 89)
상대 형광 세기
6×10^06
4×10^06
2×10^06
0
-2
-1
0
1
2
3
4
Log [활성제, nM]

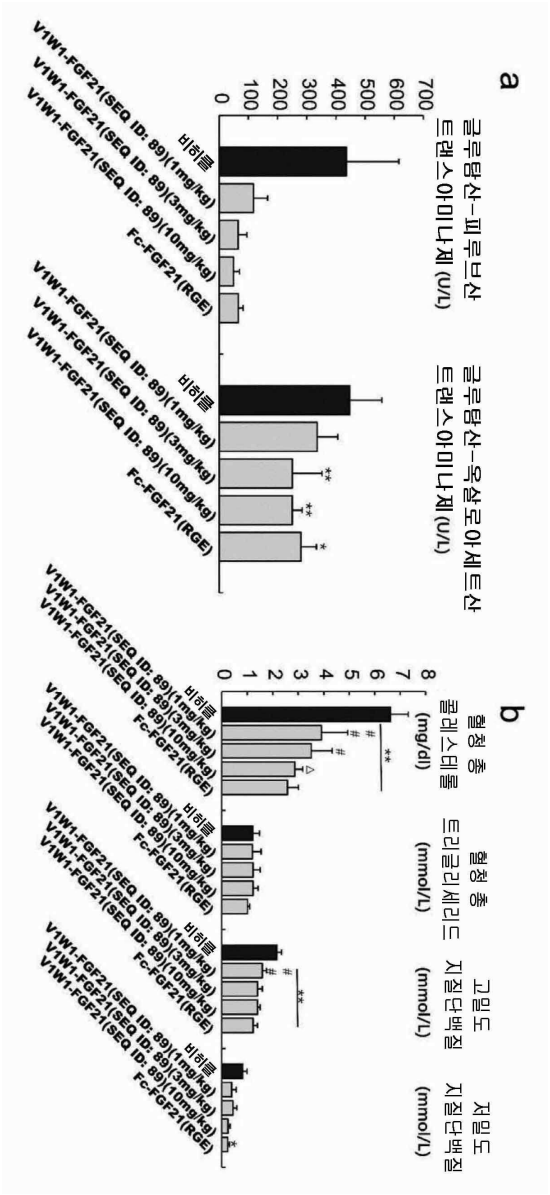
도면4


a
b
체중 (g)
체중 변화율 (%)
투여후 시간(일)
(a,b)
비히클
V1W1-FGF21(SEQ ID: 89) (1mg/kg)
V1W1-FGF21(SEQ ID: 89) (3mg/kg)
V1W1-FGF21(SEQ ID: 89) (10mg/kg)
Fc-FGF21(RGE)
c
d
(c,d)
비히클
V1W2-FGF21(SEQ ID: 89) (1mg/kg)
V1W2-FGF21(SEQ ID: 89) (3mg/kg)
V1W2-FGF21(SEQ ID: 89) (10mg/kg)
Fc-FGF21(RGE)

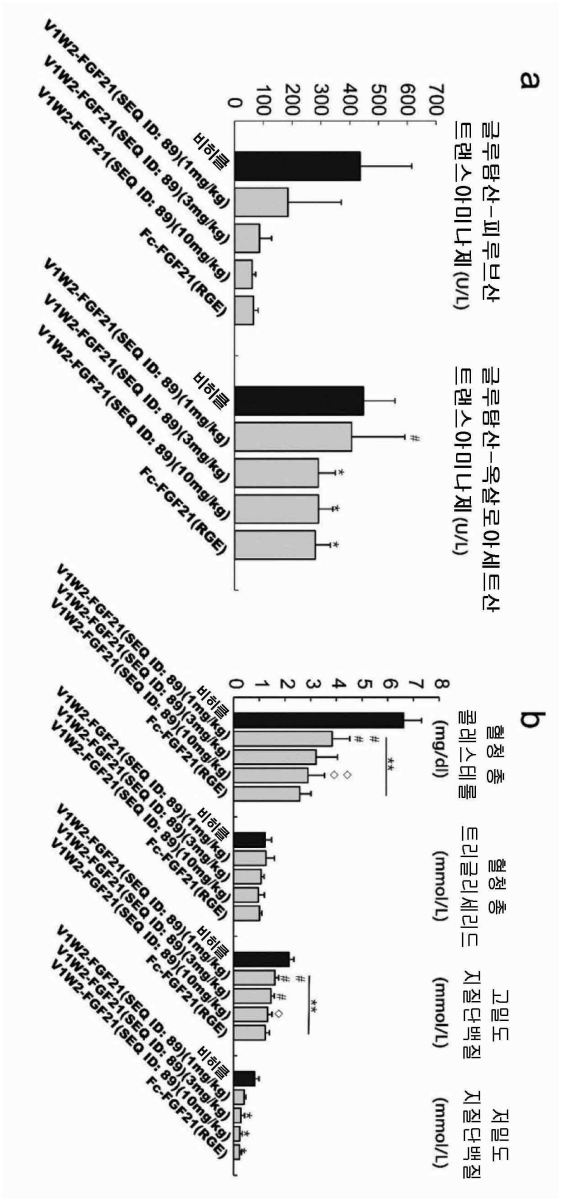
도면5


a
혈당 농도 (mmol/L)
25
20
15
10
5
0
0
15
30
60
120
시간(분)
비히클
V1W1-FGF21(SEQ ID: 89) (1mg/kg)
V1W1-FGF21(SEQ ID: 89) (3mg/kg)
V1W1-FGF21(SEQ ID: 89) (10mg/kg)
Fc-FGF21(RGE)
(a)
b
혈당 곡선하 면적 (mmol*min/L)
2,000
1,500
1,000
500
0
**
**
비히클
V1W1-FGF21(SEQ ID: 89) (1mg/kg)
V1W1-FGF21(SEQ ID: 89) (3mg/kg)
V1W1-FGF21(SEQ ID: 89) (10mg/kg)
Fc-FGF21(RGE)
c
혈당 농도 (mmol/L)
25
20
15
10
5
0
0
15
30
60
120
시간(분)
비히클
V1W2-FGF21(SEQ ID: 89) (1mg/kg)
V1W2-FGF21(SEQ ID: 89) (3mg/kg)
V1W2-FGF21(SEQ ID: 89) (10mg/kg)
Fc-FGF21(RGE)
(c)
d
혈당 곡선하 면적 (mmol*min/L)
2,000
1,500
1,000
500
0
**
**
비히클
V1W2-FGF21(SEQ ID: 89) (1mg/kg)
V1W2-FGF21(SEQ ID: 89) (3mg/kg)
V1W2-FGF21(SEQ ID: 89) (10mg/kg)
Fc-FGF21(RGE)

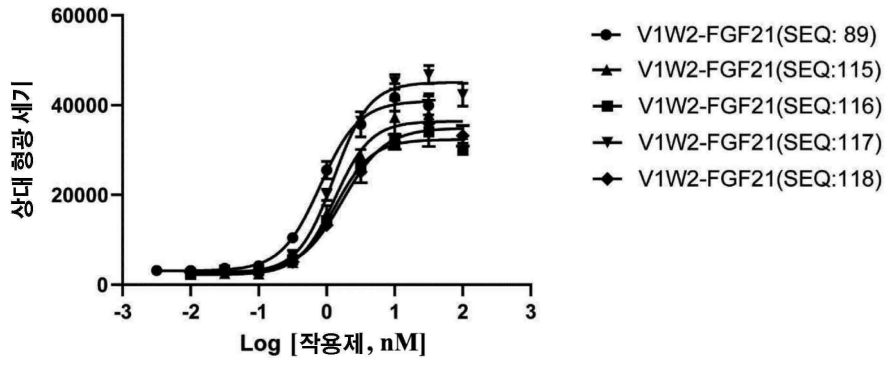
도면6


a
글루탐산-피루브산 트랜스아미나제 (U/L)
글루탐산-옥살로아세트산 트랜스아미나제 (U/L)
비히클
V1W1-FGF21(SEQ ID: 89)(1mg/kg)
V1W1-FGF21(SEQ ID: 89)(3mg/kg)
V1W1-FGF21(SEQ ID: 89)(10mg/kg)
Fc-FGF21(RGE)
b
혈청 총 콜레스테롤 (mg/dl)
혈청 총 트리글리세리드 (mmol/L)
고밀도 지질단백질 (mmol/L)
저밀도 지질단백질 (mmol/L)

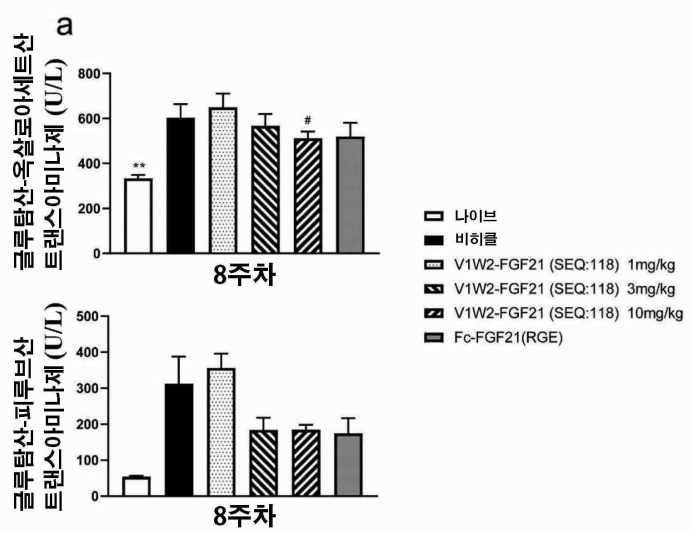
도면7


a
글루탐산-피루브산 트랜스아미나제 (U/L)
글루탐산-옥살로아세트산 트랜스아미나제 (U/L)
비히클
V1W2-FGF21(SEQ ID: 89)(1mg/kg)
V1W2-FGF21(SEQ ID: 89)(3mg/kg)
V1W2-FGF21(SEQ ID: 89)(10mg/kg)
Fc-FGF21(RGE)
b
혈청 총 콜레스테롤 (mg/dl)
혈청 총 트리글리세리드 (mmol/L)
고밀도 지질단백질 (mmol/L)
저밀도 지질단백질 (mmol/L)

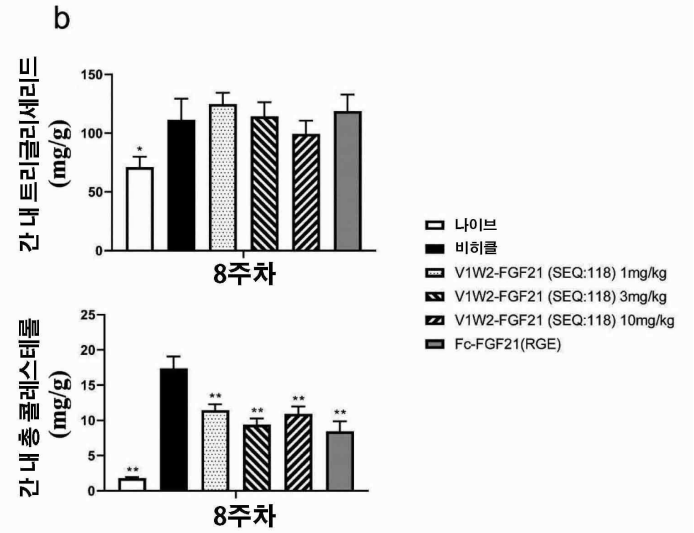
도면8


상대 형광 세기
Log [작용제, nM]
V1W2-FGF21(SEQ: 89)
V1W2-FGF21(SEQ:115)
V1W2-FGF21(SEQ:116)
V1W2-FGF21(SEQ:117)
V1W2-FGF21(SEQ:118)

도면9ab

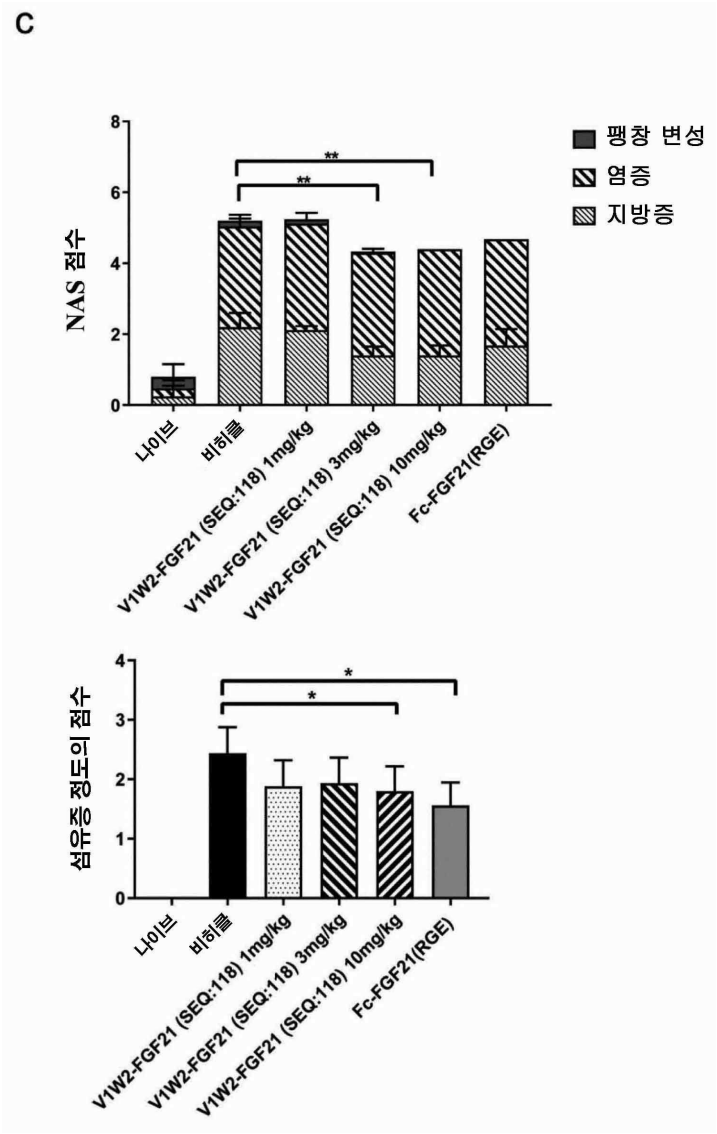


도 9a



도 9b

도면9c


C
NAS 점수
팽창 변성
염증
지방증
**
**
나이브
비히클
V1W2-FGF21 (SEQ:118) 1mg/kg
V1W2-FGF21 (SEQ:118) 3mg/kg
V1W2-FGF21 (SEQ:118) 10mg/kg
Fc-FGF21(RGE)
섬유증 정도의 점수
*
*
나이브
비히클
V1W2-FGF21 (SEQ:118) 1mg/kg
V1W2-FGF21 (SEQ:118) 3mg/kg
V1W2-FGF21 (SEQ:118) 10mg/kg
Fc-FGF21(RGE)

도면10a

서열 번호	아미노산 서열
SEQ ID NO: 77	HPIPDSSPLLQFGGQVRQRYLYTDDAQQTEAHLEIREDGTVGGAADQSPES LLQLKALKPGVIQILGVKTSRFLCQRPDGALYGSLHFDPEACSFRELLLED GYNVYQSEAHGLPLHCPGNKSPHRDPAPRGPCRFLPLPGLPPALPEPPGILA PQPPDVGSSDPLSMVGPSQGRSPSYAS
SEQ ID NO: 78	DSSPLLQFGGQVRQRYLYTDDAQQTEAHLEIREDGTVGGAADQSPESLLQ LKALKPGVIQILGVKTSRFLCQRPDGALYGSLHFDPEACSFRERLLEDGYN VYQSEAHGLPLHLPGNKSPHRDPAPRGPARFLPLPGLPPALPEPPGILAPQP PDVGSSDPLSMVTGLEAVRSPSFEK
SEQ ID NO: 79	DSSPLLQFGGQVRQAYLYTDDAQQTEAHLEIREDGTVGGAADQSPESLLQ LKALKPGVIQILGVKTSRFLCQRPDGALYGSLHFDPEACSFRERLLEDGYN VYQSEAHGLPLHLPGNKSPHRDPAPRGPARFLPLPGLPPALPEPPGILAPQP PDVGSSDPLSMVTGLEAVRSPSFEK
SEQ ID NO: 80	DSSPLLQFGGQVRQVYLYTDDAQQTEAHLEIREDGTVGGAADQSPESLLQ LKALKPGVIQILGVKTSRFLCQRPDGALYGSLHFDPEACSFRERLLEDGYN VYQSEAHGLPLHLPGNKSPHRDPAPRGPARFLPLPGLPPALPEPPGILAPQP PDVGSSDPLSMVTGLEAVRSPSFEK
SEQ ID NO: 81	DSSPLLQFGGQVRQRYLYTDDAQQTEAHLEIREDGTVGGAADQSPESLLQ LKALKPGVIQILGVKTSRFLCQRPDGALYGSLHFDPEACSFRERLLEDGYN VYQSEAHGLPLHLPGNKSPHRDPAPRGPAEFLPLPGLPPALPEPPGILAPQPP DVGSSDPLSMVTGLEAVRSPSFEK
SEQ ID NO: 82	DSSPLLQFGGQVRQRYLYTDDAQQTEAHLEIREDGTVGGAADQSPESLLQ LKALKPGVIQILGVKTSRFLCQRPDGALYGSLHFDPEACSFRERLLEDGYN VYQSEAHGLPLHLPGNKSPHRDPAPRGPAMFLPLPGLPPALPEPPGILAPQP PDVGSSDPLSMVTGLEAVRSPSFEK
SEQ ID NO: 83	DSSPLLQFGGQVRQRYLYTDDAQQTEAHLEIREDGTVGGAADQSPESLLQ LKALKPGVIQILGVKTSRFLCQRPDGALYGSLHFDPEACSFRERLLEDGYN VYQSEAHGLPLHLPGNKSPHRDPAPRGPARFLPLPGLPPALPEPPGILAPQP PDVGSSDPLSMVTGLEARSPSFEK
SEQ ID NO: 84	DSSPLLQFGGQVRQRYLYTDDAQQTEAHLEIREDGTVGGAADQSPESLLQ LKALKPGVIQILGVKTSRFLCQRPDGALYGSLHFDPEACSFRERLLEDGYN VYQSEAHGLPLHLPGNKSPHRDPAPRGPARFLPLPGLPPALPEPPGILAPQP PDVGSSDPLSMVTGLEARSPSFES
SEQ ID NO: 85	DSSPLLQFGGQVRQRYLYTDDAQQTEAHLEIREDGTVGGAADQSPESLLQ LKALKPGVIQILGVKTSRFLCQRPDGALYGSLHFDPEACSFRERLLEDGYN VYQSEAHGLPLHLPGNKSPHRDPAPRGPARFLPLPGLPPALPEPPGILAPQP PDVGSSDPLSMVTGLEAKSPSFQK
SEQ ID NO: 86	DSSPLLQFGGQVRQRYLYTDDAQQTEAHLEIREDGTVGGAADQSPESLLQ LKALKPGVIQILGVKTSRFLCQRPDGALYGSLHFDPEACSFRERLLEDGYN VYQSEAHGLPLHLPGNKSPHRDPAPRGPARFLPLPGLPPALPEPPGILAPQP PDVGSSDPLSMVTGLEARSPSFDK
SEQ ID NO: 87	DSSPLLQFGGQVRQRYLYTDDAQQTEAHLEIREDGTVGGAADQSPESLLQ LKALKPGVIQILGVKTSRFLCQRPDGALYGSLHFDPEACSFRERLLEDGYN VYQSEAHGLPLHLPGNKSPHRDPAPRGPARFLPLPGLPPALPEPPGILAPQP PDVGSSDPLSMVTGLEARSPSFQK
SEQ ID NO: 88	DSSPLLQFGGQVRQAYLYTDDAQQTEAHLEIREDGTVGGAADQSPESLLQ LKALKPGVIQILGVKTSRFLCQRPDGALYGSLHFDPEACSFRERLLEDGYN VYQSEAHGLPLHCPGNKSPHRDPAPRGPCRFLPLPGLPPALPEPPGILAPQP PDVGSSDPLSMVTGLEAVRSPSFEK

도면10b

서열 번호	아미노산 서열
SEQ ID NO: 89	HPIPDSSPLLQFGGQVRQAYLYTDDAQQTEAHLEIREDGTVGGAADQSPESL LQLKALKPGVIQILGVKTSRFLCQRPDGALYGSLHFDPEACSFRERLLEDGY NVYQSEAHGLPLHLPGNKSPHRDPAPRGPARFLPLPGLPPALPEPPGILAPQP PDVGSSDPLSMVTGLEAVRSPSFEK
SEQ ID NO: 115	DSSPLLQFGGQVRQAYLYTDDAQQTEAHLEIREDGTVGGAADQSPESLLQL KALKPGVIQILGVKTSRFLCQRPDGALYGSLHFDPEACSFRERLLEDGYNVY QSEAHGLPLHLPGNKSPHRDPAPRGPARFLPLPGLPPALPEPPGILAPQPPDV GSSDPLSMVTGLEAVRSPSFEK
SEQ ID NO: 116	HPIPDSSPLLQFGGQVRQAYLYTDDAQQTEAHLEIREDGTVGGAADQSPESL LQLKALKPGVIQILGVKTSRFLCQRPDGALYGSLHFDPEACSFRERLLEDGY NVYQSEAHGLPLHLPGNESPHRDPAPRGPARFLPLPGLPPALPEPPGILAPQPP DVGSSDPLSMVTGLEAVRSPSFEK
SEQ ID NO: 117	HPIPDSSPLLQFGGQVRQAYLYTDDAQQTEAHLEIREDGTVGGAADQSPESL LQLKALKPGVIQILGVKTSRFLCQRPDGALYGSLHFDPEACSFRERLLEDGY NVYQSEAHGLPLHLPGNKSPHRDPAPRGPNRFLPLPGLPPALPEPPGILAPQP PDVGSSDPLSMVTGLEAVRSPSFEK
SEQ ID NO: 118	DSSPLLQFGGQVRQAYLYTDDAQQTEAHLEIREDGTVGGAADQSPESLLQL KALKPGVIQILGVKTSRFLCQRPDGALYGSLHFDPEACSFRERLLEDGYNVY QSEAHGLPLHLPGNESPHRDPAPRGPNRFLPLPGLPPALPEPPGILAPQPPDV GSSDPLSMVTGLEAVRSPSFEK
SEQ ID NO: 122	$X_1X_2X_3X_4$DSSPLLQFGGQVRQX_5YLYTDDAQQTEAHLEIREDGTVGGAADQS PESLLQLKALKPGVIQILGVKTSRFLCQRPDGALYGSLHFDPEACSFREX$_6$LL EDGYNVYQSEAHGLPLHLPGNX_7SPHRDPAPRGPX_8RFLPLPGLPPALPEPPGI LAPQPPDVGSSDPLSMVTGLEAVRSPSFEK $X_1X_2X_3X_4$는 HPIP이거나 존재하지 않고; X_5 는 R 또는 A이고; X_6 은 L 또는 R이고; X_7 은 K 또는 E이고; X_8 은 A 또는 N이다.

도면11a

서열 번호	아미노산 서열
SEQ ID NO: 29	DIVLTQSPASLAVSPGQRATITCRASQSVNTDVKSYIHWYQQKPGQPPKLLIY YASNLESGVPARFSGSGSGTDFTLTINPVEANDAANYYCQHSFDFPYTFGGG TKVEIK
SEQ ID NO:30	DIVLTQSPASLAVSPGQRATITCRASQSVNTDVYSYIHWYQQKPGQPPKLLIK YASNLESGVPARFSGSGSGTDFTLTINPVEANDAANYYCQHSFDFPYTFGGG TKVEIK
SEQ ID NO: 31	DIVLTQSPASLAVSPGQRATITCRASQSVNTADYSYIHWYQQKPGQPPKLLIK YASNLESGVPARFSGSGSGTDFTLTINPVEANDAANYYCQHSFDFPYTFGGG TKVEIK
SEQ ID NO: 32	DIVLTQSPASLAVSPGQRATITCRASQSVNTAVYSYIHWYQQKPGQPPKLLIK YASNLESGVPARFSGSGSGTDFTLTINPVEANDAANYYCQHSFDDPYTFGGG TKVEIK
SEQ ID NO: 33	DIVLTQSPASLAVSPGQRATITCRASQSVNTKDYSYIHWYQQKPGQPPKLLIK YASNLESGVPARFSGSGSGTDFTLTINPVEANDAANYYCQHSFDFPYTFGGG TKVEIK
SEQ ID NO: 34	DIVLTQSPASLAVSPGQRATITCRASQSVNTDVGSYIHWYQQKPGQPPKLLIK YASNLESGVPARFSGSGSGTDFTLTINPVEANDAANYYCQHSFDFPYTFGGG TKVEIK
SEQ ID NO: 35	DIVLTQSPASLAVSPGQRATITCRASQSVNTDSYSYIHWYQQKPGQPPKLLIK YASNLESGVPARFSGSGSGTDFTLTINPVEANDAANYYCQHSFDFPYTFGGG TKVEIK
SEQ ID NO: 36	DIVLTQSPASLAVSPGQRATITCRASQSVNTDVKSYIHWYQQKPGQPPKLLIK YASNLESGVPARFSGSGSGTDFTLTINPVEANDAANYYCQHSFDFPYTFGGG TKVEIK
SEQ ID NO: 37	DIVLTQSPASLAVSPGQRATITCRASQSVNKDVYSYIHWYQQKPGQPPKLLIK YASNLESGVPARFSGSGSGTDFTLTINPVEANDAANYYCQHSFDFPYTFGGG TKVEIK
SEQ ID NO: 38	QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSGYSITSDYAWNWIRQPPGKGVEWMGY ISYRGIATYKPSLKSRITISRDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCVRGEYGPG NFDFWGQGTTVTVSS
SEQ ID NO: 39	gacatcgtgctgacccagtctccagccagcctggccgtgtctccaggacagagggccaccatcacatgcagagccag ccagtccgtgaacacagatgtgaagtcttatatccactggtaccagcagaagcctggccagccccctaagctgctgatct attatgccagcaacctggagtccggagtgcctgcacggttctctggaagcggatccggaaccgacttcaccctgacaat caatccagtggaggccaacgacgccgccaattactattgtcagcacagcttcgatttccctacacctttggcggcggca caaaggtggagatcaag
SEQ ID NO: 40	gacatcgtgctgacccagtctccagccagcctggccgtgtctccaggacagagggccaccatcacatgcagagccag ccagtccgtgaacacagacgtgtactcttatatccactggtaccagcagaagcctggccagcccctaagctgctgatca agtatgccagcaacctggagtccggagtgcctgcacggttctctggaagcggatccggaaccgacttcaccctgacaat caatccagtggaggccaacgacgccgccaattactattgtcagcacagcttcgatttccctacacctttggcggcggca caaaggtggagatcaag
SEQ ID NO: 41	gacatcgtgctgacccagtctccagccagcctggccgtgtctccaggacagagggccaccatcacatgcagagccag ccagtccgtgaacacagccgactactcttatatccactggtaccagcagaagcctggccagcccctaagctgctgatc aagtatgccagcaacctggagtccggagtgcctgcacggttctctggaagcggatccggaaccgacttcaccctgaca atcaatccagtggaggccaacgacgccgccaattactattgtcagcacagcttcgatttccctacacctttggcggcgg cacaaaggtggagatcaag

도면11b

서열 번호	아미노산 서열
SEQ ID NO: 42	gacatcgtgctgacccagtctccagccagcctggccgtgtctccaggacagagggccaccatcacatgcagagccag ccagtccgtgaacacagccgtgtactcttatatccactggtaccagcagaagcctggccagcccccctaagctgctgatca agtatgccagcaacctggagtccggagtgcctgcacggttctctggaagcggatccggaaccgacttcaccctgacaat caatccagtggaggccaacgacgccgccaattactattgtcagcacagcttcgatgacccctacaccttttggcggcggc acaaaggtggagatcaag
SEQ ID NO: 43	gacatcgtgctgacccagtctccagccagcctggccgtgtctccaggacagagggccaccatcacatgcagagccag ccagtccgtgaacacaaaggactactcttatatccactggtaccagcagaagcctggccagcccccctaagctgctgatc aagtatgccagcaacctggagtccggagtgcctgcacggttctctggaagcggatccggaaccgacttcaccctgaca atcaatccagtggaggccaacgacgccgccaattactattgtcagcacagcttcgatttcccctacacctttggcggcgg cacaaaggtggagatcaag
SEQ ID NO: 44	gacatcgtgctgacccagtctccagccagcctggccgtgtctccaggacagagggccaccatcacatgcagagccag ccagtccgtgaacacagatgtgggctcttatatccactggtaccagcagaagcctggccagcccccctaagctgctgatc aagtatgccagcaacctggagtccggagtgcctgcacggttctctggaagcggatccggaaccgacttcaccctgaca atcaatccagtggaggccaacgacgccgccaattactattgtcagcacagcttcgatttcccctacacctttggcggcgg cacaaaggtggagatcaagcgtacggtggctgcaccatctgtcttcatcttcccgccatctgatgagcagttgaaatctgg aactgcctctgttgtgtgcctgctgaataacttctatcccagagaggccaaag
SEQ ID NO: 45	gacatcgtgctgacccagtctccagccagcctggccgtgtctccaggacagagggccaccatcacatgcagagccag ccagtccgtgaacacagacagctactcttatatccactggtaccagcagaagcctggccagcccccctaagctgctgatc aagtatgccagcaacctggagtccggagtgcctgcacggttctctggaagcggatccggaaccgacttcaccctgaca atcaatccagtggaggccaacgacgccgccaattactattgtcagcacagcttcgatttcccctacacctttggcggcgg cacaaaggtggagatcaag
SEQ ID NO: 46	gacatcgtgctgacccagtctccagccagcctggccgtgtctccaggacagagggccaccatcacatgcagagccag ccagtccgtgaacacagatgtgaagtcttatatccactggtaccagcagaagcctggccagcccccctaagctgctgatc aagtatgccagcaacctggagtccggagtgcctgcacggttctctggaagcggatccggaaccgacttcaccctgaca atcaatccagtggaggccaacgacgccgccaattactattgtcagcacagcttcgatttcccctacacctttggcggcgg cacaaaggtggagatcaag
SEQ ID NO: 47	gacatcgtgctgacccagtctccagccagcctggccgtgtctccaggacagagggccaccatcacatgcagagccag ccagtccgtgaacaaggatgtgtactcttatatccactggtaccagcagaagcctggccagcccccctaagctgctgatca agtatgccagcaacctggagtccggagtgcctgcacggttctctggaagcggatccggaaccgacttcaccctgacaat caatccagtggaggccaacgacgccgccaattactattgtcagcacagcttcgatttcccctacacctttggcggcggca caaaggtggagatcaag
SEQ ID NO: 48	caggtgcagctgcaggagtccggaccaggactggtgaagccaagccagaccctgtccctgacctgcacagtgtccgg ctactctatcacaagcgattatgcctggaactggatcaggcagccacctggcaagggagtggagtggatgggctacatc tcctatcgcggcatcgccacctacaagccttccctgaagtctcggatcaccatctctagagacacaagcaagaaccagtt ctctctgaagctgagctccgtgaccgccgccgatacagccgtgtactattgcgtgcggggcgagtatggccccggcaat ttcgacttttggggccagggcaccacagtgacagtgtctagc
SEQ ID NO: 49	RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGN SQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFN RGEC
SEQ ID NO: 50	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHT FPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVERKCCV ECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNW YVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNK GLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV EWESNGQPENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK

도면11c

서열 번호	아미노산 서열
SEQ ID NO: 51	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHT FPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGP PCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA VEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSLG
SEQ ID NO: 61	GGGGS
SEQ ID NO: 62	GGGGSGGGGS
SEQ ID NO: 63	GGGGSGGGGSGGGGS
SEQ ID NO: 64	GGGGSGGGGSGGGGSGGGGS
SEQ ID NO: 65	GGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGS
SEQ ID NO: 66	GGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGS
SEQ ID NO: 67	GGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGS
SEQ ID NO: 68	GSGSATGGSGSGASSGSGSATGS
SEQ ID NO: 103	DIVLTQSPASLAVSPGQRATITCRASQSVNTDVKSYIHWYQQKPGQPPKLLIY YASNLESGVPARFSGSGSGTDFTLTINPVEANDAANYYCQHSFDFPYTFGGG TKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNA LQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPV TKSFNRGEC
SEQ ID NO: 104	QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSGYSITSDYAWNWIRQPPGKGVEWMGY ISYRGIATYKPSLKSRITISRDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCVRGEYGPG NFDFWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPV TVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKP SNTKVDKTVERKCCVECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVSVLTVVHQD WLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGSGSATGGSGSGASSGSGS ATGSHPIPDSSPLLQFGGQVRQAYLYTDDAQQTEAHLEIREDGTVGGAADQS PESLLQLKALKPGVIQILGVKTSRFLCQRPDGALYGSLHFDPEACSFRERLLE DGYNVYQSEAHGLPLHLPGNKSPHRDPAPRGPARFLPLPGLPPALPEPPGILA PQPPDVGSSDPLSMVTGLEAVRSPSFEK
SEQ ID NO: 105	QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSGYSITSDYAWNWIRQPPGKGVEWMGY ISYRGIATYKPSLKSRITISRDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCVRGEYGPG NFDFWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPV TVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKP SNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQD WLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSR WQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGGSGSATGGSGSGASSGSGSAT GSHPIPDSSPLLQFGGQVRQAYLYTDDAQQTEAHLEIREDGTVGGAADQSPE SLLQLKALKPGVIQILGVKTSRFLCQRPDGALYGSLHFDPEACSFRERLLED GYNVYQSEAHGLPLHLPGNKSPHRDPAPRGPARFLPLPGLPPALPEPPGILAP QPPDVGSSDPLSMVTGLEAVRSPSFEK

도면11d

서열 번호	아미노산 서열
SEQ ID NO: 106	QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSGYSITSDYAWNWIRQPPGKGVEWMGY ISYRGIATYKPSLKSRITISRDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCVRGEYGPG NFDFWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPV TVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKP SNTKVDKTVERKCCVECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVSVLTVVHQD WLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGGSGGGGSHPI PDSSPLLQFGGQVRQAYLYTDDAQQTEAHLEIREDGTVGGAADQSPESLLQ LKALKPGVIQILGVKTSRFLCQRPDGALYGSLHFDPEACSFRERLLEDGYNV YQSEAHGLPLHLPGNKSPHRDPAPRGPARFLPLPGLPPALPEPPGILAPQPPD VGSSDPLSMVTGLEAVRSPSFEK
SEQ ID NO: 111	QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSGYSITSDYAWNWIRQPPGKGVEWMGY ISYRGIATYKPSLKSRITISRDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCVRGEYGPG NFDFWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPV TVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKP SNTKVDKTVERKCCVECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVSVLTVVHQD WLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
SEQ ID NO: 112	QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSGYSITSDYAWNWIRQPPGKGVEWMGY ISYRGIATYKPSLKSRITISRDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCVRGEYGPG NFDFWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPV TVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKP SNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQD WLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSR WQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLG
SEQ ID NO: 113	caggtgcagctgcaggagtccggaccaggactggtgaagccaagccagaccctgtccctgacctgcacagtgtccgg ctactctatcacaagcgattatgcctggaactggatcaggcagccacctggcaagggagtggagtggatgggctacatc tcctatcgcggcatcgccacctacaagccttccctgaagtctcggatcaccatctctagagacacaagcaagaaccagtt ctctctgaagctgagctccgtgaccgccgccgatacagccgtgtactattgcgtgcggggcgagtatggccccggcaat ttcgacttttggggccagggcaccacagtgacagtgtctagcgcgtcgaccaagggcccatcggtcttcccccctggcgc cctgctccaggagcacctccgagagcacagcggccctgggctgcctggtcaaggactacttccccgaaccggtgacg gtgtcgtggaactcaggcgctctgaccagcggcgtgcacaccttcccagctgtcctacagtcctcaggactctactccct cagcagcgtggtgaccgtgccctccagcaacttcggcacccagacctacacctgcaacgtagatcacaagcccagca acaccaaggtggacaagacagttgagcgcaaatgttgtgtcgagtgcccaccgtgcccagcaccacctgtggcagga ccgtcagtcttcctcttcccccaaaacccaaggacacccctcatgatctcccggaccccctgaggtcacgtgcgtggtggt ggacgtgagccacgaagaccccgaggtccagttcaactggtacgtggacggcgtggaggtgcataatgccaagacaa agccacgggaggagcagttcaacagcacgttccgtgtggtcagcgtcctcaccgttgtgcaccaggactggctgaacg gcaaggagtacaagtgcaaggtctccaacaaaggcctcccagccccatcgagaaaaccatctccaaaaccaaaggg cagccccgagaaccacaggtgtacaccctgcccccatcccgggaggagatgaccaagaaccaggtcagcctgacct gcctggtcaaaggcttctaccccagcgacatcgccgtggagtgggagagcaatgggcagccggagaacaactacaa gaccacacctcccatgctggactccgacggctccttcttcctctacagcaagctcaccgtggacaagagcaggtggcag caggggaacgtcttctcatgctccgtgatgcatgaggctctgcacaaccactacacgcagaagagcctctccctgtctcc gggtaaa

도면11e

서열 번호	아미노산 서열
SEQ ID NO: 114	caggtgcagctgcaggagtccggaccaggactggtgaagccaagccagaccctgtccctgacctgcacagtgtccgg ctactctatcacaagcgattatgcctggaactggatcaggcagccacctggcaagggagtggagtggatgggctacatc tcctatcgcggcatcgccacctacaagccttccctgaagtctcggatcaccatctctagagacacaagcaagaaccagtt ctctctgaagctgagctccgtgaccgccgccgatacagccgtgtactattgcgtgcggggcgagtatggccccggcaat ttcgacttttggggccagggcaccacagtgacagtgtctagcgcgtcgaccaagggcccatcggtcttccccctggcgc cctgctccaggagcacctccgagagcacagcggccctgggctgcctggtcaaggactacttccccgaaccggtgacg gtgtcgtggaactcaggcgctctgaccagcggcgtgcacaccttcccagctgtcctacagtcctcaggactctactccct cagcagcgtggtgaccgtgccctccagcagcctcggcaccaagacctacacctgcaacgtagatcacaagcccagca acaccaaggtggacaagcgggttgagtccaaatatggtccccatgcccacccctgcccagcacctgaggccgccggg ggaccatcagtcttcctgttcccccaaaacccaaggacactctcatgatctcccggacccctgaggtcacgtgcgtggt ggtggacgtgagccaggaagaccccgaggtccagttcaactggtacgtggatggcgtggaggtgcataatgccaaga caaagccgcgcgggaggagcagttcaacagcacgtaccgtgtggtcagcgtcctcaccgtcctgcaccaggactggctg aacggcaaggagtacaagtgcaaggtctccaacaaaggcctcccgtcctccatcgagaaaaccatctccaaagccaaa gggcagccccgagagccacaggtgtacaccctgccccatcccaggaggagatgaccaagaaccaggtcagcctga cctgcctggtcaaaggcttctaccccagcgacatcgccgtggagtgggaaagcaatgggcagccggagaacaactac aagaccacgcctcccgtgctggactccgacggctccttcttcctctacagcaggctaaccgtggacaagagcaggtgg caggaggggaatgtcttctcatgctccgtgatgcatgaggctctgcacaaccactacacacagaagagcctctccctgtc tctgggt
SEQ ID NO: 119	QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSGYSITSDYAWNWIRQPPGKGVEWMGY ISYRGIATYKPSLKSRITISRDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCVRGEYGPG NFDFWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPV TVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKP SNTKVDKTVERKCCVECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVSVLTVVHQD WLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGSGSATGGSGSGASSGSGS ATGSX$_1$X$_2$X$_3$X$_4$DSSPLLQFGGQVRQX$_5$YLYTDDAQQTEAHLEIREDGTVGGA ADQSPESLLQLKALKPGVIQILGVKTSRFLCQRPDGALYGSLHFDPEACSFRE X$_6$LLEDGYNVYQSEAHGLPLHLPGNX$_7$SPHRDPAPRGPX$_8$RFLPLPGLPPALPE PPGILAPQPPDVGSSDPLSMVTGLEAVRSPSFEK X$_1$X$_2$X$_3$X$_4$는 HPIP이거나 존재하지 않고; X$_5$는 R 또는 A이고; X$_6$은 L 또는 R이고; X$_7$은 K 또는 E이고; X$_8$은 A 또는 N이다.

도면11f

서열 번호	아미노산 서열
SEQ ID NO: 120	QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSGYSITSDYAWNWIRQPPGKGVEWMGY ISYRGIATYKPSLKSRITISRDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCVRGEYGPG NFDFWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPV TVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKP SNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQD WLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSR WQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGGSGSATGGSGSGASSGSGSAT GSX$_1$X$_2$X$_3$X$_4$DSSPLLQFGGQVRQX$_5$YLYTDDAQQTEAHLEIREDGTVGGAAD QSPESLLQLKALKPGVIQILGVKTSRFLCQRPDGALYGSLHFDPEACSFREX$_6$ LLEDGYNVYQSEAHGLPLHLPGNX$_7$SPHRDPAPRGPX$_8$RFLPLPGLPPALPEP PGILAPQPPDVGSSDPLSMVTGLEAVRSPSFEK X$_1$X$_2$X$_3$X$_4$는 HPIP이거나 존재하지 않고; X$_5$는 R 또는 A이고; X$_6$은 L 또는 R이고; X$_7$은 K 또는 E이고; X$_8$은 A 또는 N이다.
SEQ ID NO: 121	QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSGYSITSDYAWNWIRQPPGKGVEWMGY ISYRGIATYKPSLKSRITISRDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCVRGEYGPG NFDFWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPV TVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKP SNTKVDKTVERKCCVECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVSVLTVVHQD WLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGGSGGGGSX$_1$X $_2$X$_3$X$_4$DSSPLLQFGGQVRQX$_5$YLYTDDAQQTEAHLEIREDGTVGGAADQSPES LLQLKALKPGVIQILGVKTSRFLCQRPDGALYGSLHFDPEACSFREX$_6$LLEDG YNVYQSEAHGLPLHLPGNX$_7$SPHRDPAPRGPX$_8$RFLPLPGLPPALPEPPGILAP QPPDVGSSDPLSMVTGLEAVRSPSFEK X$_1$X$_2$X$_3$X$_4$는 HPIP이거나 존재하지 않고; X$_5$는 R 또는 A이고; X$_6$은 L 또는 R이고; X$_7$은 K 또는 E이고; X$_8$은 A 또는 N이다.

도면11g

서열 번호	아미노산 서열
SEQ ID NO: 123	QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSGYSITSDYAWNWIRQPPGKGVEWMGY ISYRGIATYKPSLKSRITISRDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCVRGEYGPG NFDFWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPV TVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKP SNTKVDKTVERKCCVECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVSVLTVVHQD WLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGSGSATGGSGSGASSGSGS ATGSDSSPLLQFGGQVRQAYLYTDDAQQTEAHLEIREDGTVGGAADQSPES LLQLKALKPGVIQILGVKTSRFLCQRPDGALYGSLHFDPEACSFRERLLEDG YNVYQSEAHGLPLHLPGNESPHRDPAPRGPNRFLPLPGLPPALPEPPGILAPQ PPDVGSSDPLSMVTGLEAVRSPSFEK
SEQ ID NO: 124	QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSGYSITSDYAWNWIRQPPGKGVEWMGY ISYRGIATYKPSLKSRITISRDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCVRGEYGPG NFDFWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPV TVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKP SNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQD WLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSR WQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGGSGSATGGSGSGASSGSGSAT GSDSSPLLQFGGQVRQAYLYTDDAQQTEAHLEIREDGTVGGAADQSPESLL QLKALKPGVIQILGVKTSRFLCQRPDGALYGSLHFDPEACSFRERLLEDGYN VYQSEAHGLPLHLPGNESPHRDPAPRGPNRFLPLPGLPPALPEPPGILAPQPP DVGSSDPLSMVTGLEAVRSPSFEK
SEQ ID NO: 125	QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSGYSITSDYAWNWIRQPPGKGVEWMGY ISYRGIATYKPSLKSRITISRDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCVRGEYGPG NFDFWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPV TVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKP SNTKVDKTVERKCCVECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVSVLTVVHQD WLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGGSGGGGSDSS PLLQFGGQVRQAYLYTDDAQQTEAHLEIREDGTVGGAADQSPESLLQLKAL KPGVIQILGVKTSRFLCQRPDGALYGSLHFDPEACSFRERLLEDGYNVYQSE AHGLPLHLPGNESPHRDPAPRGPNRFLPLPGLPPALPEPPGILAPQPPDVGSSD PLSMVTGLEAVRSPSFEK

서 열 목 록 (첨부)



아이콘을 클릭하시면 서열목록 파일이 열립니다.

본 공보 PDF는 첨부파일을 가지고 있습니다. Acrobat Reader PDF뷰어를 제공하지 않는 브라우저(크롬, 파이어폭스, 사파리 등)의 경우 첨부파일 열기가 제한되어 있으므로 Acrobat Reader PDF뷰어 설치 후 공보 PDF를 다운로드 받아 해당 뷰어에서 조회해주시기 바랍니다.