

(12) 按照专利合作条约所公布的国际申请

(19) 世界知识产权组织
国际局

(43) 国际公布日
2021年3月25日 (25.03.2021)



(10) 国际公布号
WO 2021/052349 A1

(51) 国际专利分类号:

C07K 16/28 (2006.01) *A61K 38/26* (2006.01)
C07K 19/00 (2006.01) *A61P 1/16* (2006.01)
C12N 15/13 (2006.01) *A61P 3/04* (2006.01)
C12N 15/62 (2006.01) *A61P 3/10* (2006.01)
A61K 39/395 (2006.01)

GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, IT, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, WS, ZA, ZM, ZW。

(21) 国际申请号: PCT/CN2020/115483

(22) 国际申请日: 2020年9月16日 (16.09.2020)

(25) 申请语言: 中文

(26) 公布语言: 中文

(30) 优先权:
201910882351.2 2019年9月18日 (18.09.2019) CN

(71) 申请人: 鸿运华宁(杭州)生物医药有限公司(GMAX BIOPHARM LLC) [CN/CN]; 中国浙江省杭州市滨江区秋溢路288号二号楼3层302室, Zhejiang 310052 (CN)。

(72) 发明人: 章华(ZHANG, Hua); 中国浙江省杭州市滨江区秋溢路288号二号楼3层302室, Zhejiang 310052 (CN)。汪笑峰(WANG, Xiaofeng); 中国浙江省杭州市滨江区秋溢路288号二号楼3层302室, Zhejiang 310052 (CN)。药晨江(YAO, Chenjiang); 中国浙江省杭州市滨江区秋溢路288号二号楼3层302室, Zhejiang 310052 (CN)。张成(ZHANG, Cheng); 中国浙江省杭州市滨江区秋溢路288号二号楼3层302室, Zhejiang 310052 (CN)。景书谦(JING, Shuqian); 中国浙江省杭州市滨江区秋溢路288号二号楼3层302室, Zhejiang 310052 (CN)。

(74) 代理人: 北京安信方达知识产权代理有限公司(AFD CHINA INTELLECTUAL PROPERTY LAW OFFICE); 中国北京市海淀区学清路8号B座1601A, Beijing 100192 (CN)。

(81) 指定国(除另有指明, 要求每一种可提供的国家保护): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB,

(84) 指定国(除另有指明, 要求每一种可提供的地区保护): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 欧亚 (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 欧洲 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG)。

根据细则4.17的声明:

- 关于申请人有权申请并被授予专利(细则4.17(ii))
- 发明人资格(细则4.17(iv))

本国际公布:

- 包括国际检索报告(条约第21条(3))。
- 包括说明书序列列表部分(细则5.2(a))。

(54) **Title:** GIPR ANTIBODY AND FUSION PROTEIN BETWEEN SAME AND GLP-1, AND PHARMACEUTICAL COMPOSITION AND APPLICATION THEREOF

(54) 发明名称: GIPR抗体及其与GLP-1的融合蛋白质, 以及其药物组合物和应用

(57) **Abstract:** Provided are a GIPR antibody and a fusion protein between same and GLP-1, and a pharmaceutical composition thereof. Further provided is a method for using a GIPR antibody and a fusion protein between same and GLP-1 to treat, prevent or improve the symptoms of one or more among non-alcoholic fatty liver disease, non-alcoholic steatohepatitis, type 2 diabetes, or obesity.

(57) 摘要: 本发明提供了GIPR抗体及其与GLP-1的融合蛋白质, 以及其药物组合物。还提供了GIPR抗体及其与GLP-1的融合蛋白质用于治疗、预防或改善非酒精性脂肪性肝病、非酒精性脂肪性肝炎、二型糖尿病、或肥胖症的一种或多种症状方法。



WO 2021/052349 A1

GIPR 抗体及其与 GLP-1 的融合蛋白质， 以及其药物组合物和应用

5 技术领域

本文提供了能与 GIPR 特异性结合的抗体及其与 GLP-1 的融合蛋白质， 以及其药物组合物。本文还提供了 GIPR 抗体及其与 GLP-1 的融合蛋白质用于治疗、预防或改善非酒精性脂肪性肝病、非酒精性脂肪性肝炎、二型糖尿病、或肥胖症的一种或多种症状方法。

10 发明背景

肠抑胃肽 (Gastric Inhibitory Polypeptide, GIP) 是人体在进食后，由肠道 K 细胞分泌的一种多肽荷尔蒙，其形式包括 42 肽和 30 肽两种。GIP 通过激活胰腺 β 细胞表面的肠抑胃肽受体 (Gastric Inhibitory Polypeptide Receptor, GIPR) 参与刺激胰岛素分泌的生理过程 (Tseng 等, 1996, *J. Clin. Invest.* 98:2440-2445; Ravn 等, 2013, *J. Biol. Chem.* 288:19760-72)。因此 GIP 的经典生物学功能与 GLP-1 类似，所以二者被统称为肠激肽。但是，GIPR 除了胰脏外具有广泛的分布，包括了骨骼、心脏、胃、肠道和脂肪组织等 (Peter 等, 2013, *J. Biol. Chem.* 288:19760-72)。多样化的分布表明了 GIP/GIPR 通路在血糖调节之外还有更多的生物学作用。实验证据显示 GIP/GIPR 信号通路至少与这些组织中的脂肪代谢密切相关 (Yip 和 Wolfe, 2000, *Life Sci.* 66:91-103)。实验数据还显示肥胖症或者糖尿病患者的血液循环 GIP 浓度会升高 (Creutzfeldt 等, 1978, *Diabetologia* 14:15-24; Flatt 等, 1984, *J. Endocrinol.* 101:249-256; Salera 等, 1982, *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 55:329-336; Vilsbøll 等, 2003, *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 88:2706-2713)。使用 GIPR 抑制剂阻断 GIPR 信号后，可以观察到高脂饲料诱导肥胖小鼠的体重大幅下降、胰岛素抵抗症状减轻，甚至逆转由高脂饲料引起的二型糖尿病 (Peter 等, 2013, *J. Biol. Chem.* 288:19760-72)。

长效胰高血糖素样肽-1 类似物 (Glucagon Like Peptide-1 analogue, GLP-1 analogue) 是新一代，也是目前疗效最佳的二型糖尿病药物 (Tomlinson 等, 2015, *Expert Opin. Investig. Drugs* 25:1744-7658; Gallwitz, 2015, *Eur. Endocr.* 11:21-25)。长效 GLP-1 类药物也正在临床试验上尝试用于非酒精性脂肪性肝病 (NAFLD) 的治疗。研究结果显示其对 NAFLD 患者的肝组织形态改善、谷丙转氨酶/谷草转氨酶比例下调、肝脂肪含量降低均具有显著作用 (Samson 等, 2013, *J. Diabetes Complications* 27:401-6; Portillo-Sanchez 和 Cusi, 2016, *Clin. Diabetes Endocrinol.* 2:9)。

如果能够把 GLP-1 类药物和 GIPR 抑制剂两者配合使用,包括二者联用,或者融合在一起使用,那就可能达到同时改善胰岛素抵抗和脂肪过度积累(即肥胖症)的效果。这样,在降低血糖的同时,还干涉脂肪代谢,即 GLP-1 部分改善糖代谢,降低食欲,降糖减重; GIPR 抗体部分降低脂肪的进一步蓄积,改善肝脏的功能。GIPR 抗体部分的减脂效果和 GLP-1 部分减重的效果叠加,通过双重作用来治疗非酒精性脂肪性肝病/非酒精性脂肪性肝炎。本文提供一种融合蛋白质药物,将有利于治疗那些同时患有非酒精性脂肪性肝病/非酒精性脂肪性肝炎、二型糖尿病、及肥胖症中一种或多种疾病的患者。

10 发明内容

本文提供了能与 GIPR 特异性结合的抗体,该抗体是 GIPR 的拮抗剂。

本文还提供了能与 GIPR 特异性结合的抗体,其抗体包含一个、两个、三个、四个、五个、或六个氨基酸序列,其中每个氨基酸序列独立地选自于以下所列的氨基酸序列:

- 15 a. 轻链 CDR1 氨基酸序列: SEQ ID NO: 1、SEQ ID NO: 4、SEQ ID NO: 7、SEQ ID NO: 10、SEQ ID NO: 13、及 SEQ ID NO: 15;
- b. 轻链 CDR2 氨基酸序列: SEQ ID NO: 2、SEQ ID NO: 5、SEQ ID NO: 8、SEQ ID NO: 11、及 SEQ ID NO: 16;
- c. 轻链 CDR3 氨基酸序列: SEQ ID NO: 3、SEQ ID NO: 6、SEQ ID NO: 9、20 SEQ ID NO: 12、SEQ ID NO: 14、及 SEQ ID NO: 17;
- d. 重链 CDR1 氨基酸序列: SEQ ID NO: 18、SEQ ID NO: 23、及 SEQ ID NO: 26;
- e. 重链 CDR2 氨基酸序列: SEQ ID NO: 19、SEQ ID NO: 21、SEQ ID NO: 24、SEQ ID NO: 27、及 SEQ ID NO: 29; 及
- 25 f. 重链 CDR3 氨基酸序列: SEQ ID NO: 20、SEQ ID NO: 22、SEQ ID NO: 25、SEQ ID NO: 28、及 SEQ ID NO: 30。

本文进一步提供了一个 GLP-1 融合蛋白质,其包含一个能与 GIPR 特异性结合的抗体,和一个,二个,三个,四个,五个,六个,七个,或八个 GLP-1 片段;该融合蛋白质通过一个肽接头序列(Linker)将一 GLP-1 片段的羧基端与一 GIPR 抗体轻链或重链的氨基端连接或者将一 GLP-1 片段的氨基端与一 GIPR 抗体轻链或重链的羧基端连接。

本文提供了一个 GLP-1 融合蛋白质,其包含一个 GIPR 抗体和二一个 GLP-1 片段;该融合蛋白质通过一个肽接头序列(Linker)将一 GLP-1 片段的羧基端与一 GIPR 抗体轻链的氨基端连接: N'-GLP-1-Linker-R-C'; 或者将一 GLP-1 片段的羧基端和一 GIPR 抗体重链的氨基端连接: N'-GLP-1-Linker-R-C';

其中: N' 代表融合蛋白质多肽链的氨基端, C' 代表融合蛋白质多肽链的羧基端, GLP-1 代表 GLP-1 片段, R 为 GIPR 抗体的轻链或者重链的氨基酸序列, 及 Linker 代表肽接头序列。

本文提供了一个多核苷酸, 其编码本文中所述的一个 GIPR 抗体。

5 本文提供了一个多核苷酸, 其编码本文中所述的一个 GIPR 抗体与 GLP-1 融合蛋白质。

本文提供了一个载体, 其包含编码本文中所述的一个 GIPR 抗体的多核苷酸。

10 本文提供了一个载体, 其包含编码本文中所述的一个 GIPR 抗体与 GLP-1 融合蛋白质的多核苷酸。

本文提供了一个宿主细胞, 其包含本文中所述的一个载体。

本文提供了一个药用组合物, 其包含本文所述的一个 GIPR 抗体和一个药用可接受载体。

15 本文提供了一个药用组合物, 其包含本文所述的一个 GIPR 抗体与 GLP-1 的融合蛋白质和一个药用可接受载体。本文提供了本文所述的一个 GIPR 抗体在制备用于治疗、预防或改善非酒精性脂肪性肝炎类疾病的药物中的用途。

本文提供了本文所述的一个 GIPR 抗体与 GLP-1 的融合蛋白质在制备用于治疗、预防或改善非酒精性脂肪性肝炎类疾病的药物中的用途。

20 本文提供了本文所述的一个 GIPR 抗体在制备用于治疗、预防或改善二型糖尿病的药物中的用途。

本文提供了本文所述的一个 GIPR 抗体与 GLP-1 的融合蛋白质在制备用于治疗、预防或改善二型糖尿病的药物中的用途。

25 本文提供了本文所述的一个 GIPR 抗体在制备用于减肥或者治疗、预防或改善肥胖症以及肥胖症相关病症的药物中的用途。

本文提供了本文所述的一个 GIPR 抗体与 GLP-1 的融合蛋白质在制备用于减肥或者治疗、预防或改善肥胖症以及肥胖症相关病症的药物中的用途。

30 本文提供了本文所述的一个 GIPR 抗体在制备用于同时治疗、预防或改善非酒精性脂肪性肝炎类疾病, 肥胖症或者二型糖尿病二种及二种以上病症的药物中的用途。

本文提供了本文所述的一个 GIPR 抗体与 GLP-1 的融合蛋白质在制备用于同时治疗、预防或改善非酒精性脂肪性肝炎类疾病, 二型糖尿病或者肥胖症二种及二种以上病症的药物中的用途。

35 本文提供了治疗、预防或改善非酒精性脂肪性肝炎类疾病的一种或多种症状方法, 其包括给予受试者治疗有效量的本文所述的一个 GIPR 抗体。

本文提供了治疗、预防或改善非酒精性脂肪性肝炎类疾病的一种或多种症状方法，其包括给予受试者治疗有效量的本文所述的一个 GIPR 抗体与 GLP-1 的融合蛋白质。

5 本文提供了治疗、预防或改善二型糖尿病的一种或多种症状方法，其包括给予受试者治疗有效量的本文所述的一个 GIPR 抗体。

本文提供了治疗、预防或改善二型糖尿病的一种或多种症状方法，其包括给予受试者治疗有效量的本文所述的一个 GIPR 抗体与 GLP-1 的融合蛋白质。

10 本文提供了治疗、预防或改善肥胖症的一种或多种症状方法，其包括给予受试者治疗有效量的本文所述的一个 GIPR 抗体。

本文提供了治疗、预防或改善肥胖症的一种或多种症状方法，其包括给予受试者治疗有效量的本文所述的一个 GIPR 抗体与 GLP-1 的融合蛋白质。

附图简述

15 图1: 显示了流式细胞术 (FACS) 检测重组表达的 hGIPR 抗体 L10H8 (其包含 SEQ ID NO: 70 与 SEQ ID NO: 79) 与 hGIPR 特异性结合的结果，其中灰色峰和虚线峰为阴性对照，灰色峰为空白细胞 CHO-DHFR- 的背景峰，虚线峰表示 L10H8 与空白细胞 CHO-DHFR- 的阴性结合峰，实线峰表示 L10H8 与 CHO-DHFR-hGIPR 的特异性结合峰。

20 图2: 显示了直接 cAMP 实验检测 hGIPR 抗体 L7H6 (其包含 SEQ ID NO: 67 与 SEQ ID NO: 77) 拮抗 GIP 激活 hGIPR 信号通路的浓度抑制曲线 ($IC_{50} = 7.6 \text{ nM}$, $R^2 = 0.99$)。

25 图3: 显示了直接 cAMP 实验检测 GIPR 抗体/GLP-1 融合蛋白质 GLP-1-Linker-L7H6 (其包含 SEQ ID NO: 67, SEQ ID NO: 77, SEQ ID NO: 106, SEQ ID NO: 111) 拮抗 GIP 激活 hGIPR 信号通路的抑制性曲线 ($IC_{50} = 14.9 \text{ nM}$, $R^2 = 0.99$)。

图4: 显示了报告基因实验检测 GIPR 抗体/GLP-1 融合蛋白质 GLP-1-Linker-L7H6 激活 hGLP-1R 信号通路的激活性曲线 ($EC_{50} = 0.04 \text{ nM}$, $R^2 = 0.99$)。

30 图5: 显示了高脂饲料诱导的 C57BL/6 肥胖小鼠药效实验周期内各组小鼠的体重变化率时间曲线。

图6: 显示了报告基因实验检测 GIPR 抗体/GLP-1 融合蛋白质 GLP-1-Linker-V1W5 (其包含 SEQ ID NO: 106, SEQ ID NO: 111, SEQ ID NO: 125 与 SEQ ID NO: 131) 激活人 GLP-1 受体 (hGLP-1R) 信号通路的激活性曲线 ($EC_{50} = 17.40 \text{ pM}$, $R^2 = 0.99$)。

35 图7: 显示了直接 cAMP 实验检测 hGIPR 抗体 GLP-1-Linker-V1W5 拮抗

GIP 激活 hGIPR 信号通路的浓度抑制曲线 ($IC_{50} = 7.03 \text{ nM}$, $R^2 = 0.99$)。

图8: 显示了直接 cAMP 实验检测人 GIP 受体 (hGIPR) 抗体/GLP-1 融合蛋白质 GLP-1-Linker-V1W5 拮抗 GIP 激活猴 GIP 受体 (maGIPR) 信号通路的抑制性曲线 ($IC_{50} = 4.30 \text{ nM}$, $R^2 = 0.99$)。

5 图9: 显示了恒河猴药代实验周期内 hGIPR 抗体/GLP-1 融合蛋白质的抗体部分的药代 (PK) 时间曲线。

图10: 显示了恒河猴药代实验周期内 hGIPR 抗体/GLP-1 融合蛋白质的GLP-1 部分的药代 (PK) 时间曲线。

10 图11: 显示了高脂饲料诱导的肥胖食蟹猴药效实验周期内 hGIPR 抗体/GLP-1 融合蛋白质对摄食量变化的影响的时间曲线。

图12: 显示了高脂饲料诱导的肥胖食蟹猴药效实验周期内 hGIPR 抗体/GLP-1 融合蛋白质对体重变化的影响的时间曲线。

15 图13: 显示了高脂饲料诱导的肥胖食蟹猴药效实验周期内 hGIPR 抗体/GLP-1 融合蛋白质对体重变化率的影响的时间曲线。第 28 天: 与制剂对照组相比, GLP-1-Linker-V1W5 和阳性对照组的统计学 P 值分别为 0.000 和 0.003; 第 56 天: 与 GLP-1-Linker-V1W5 组相比, 制剂对照和阳性对照组的统计学 P 值分别为 0.003 和 0.028。

图14: 显示了高脂饲料诱导的肥胖食蟹猴药效实验周期内 hGIPR 抗体/GLP-1 融合蛋白质对躯干脂肪变化的影响的时间曲线。

20 图15: 显示了高脂饲料诱导的肥胖食蟹猴药效实验周期内 hGIPR 抗体/GLP-1 融合蛋白质对总脂肪变化的影响的时间曲线。

图16: 显示了高脂饲料诱导的肥胖食蟹猴药效实验周期内 hGIPR 抗体/GLP-1 融合蛋对总脂肪变化率的影响的时间曲线。

25 图17: 显示了高脂饲料诱导的肥胖食蟹猴药效实验周期内 hGIPR 抗体/GLP-1 融合蛋对每 1 千克体重的总脂肪量变化的影响的时间曲线。

图18: 显示了高脂饲料诱导的肥胖食蟹猴药效实验周期内 hGIPR 抗体/GLP-1 融合蛋对每 1 千克体重的总瘦组织量变化的影响的时间曲线。

具体实施方式

30 定义

除非本文另外定义, 与本文相关的科学和技术术语应具有本领域普通技术人员所理解的含义。通常, 与本文所述药理学、生物学、生物化学、细胞和组织培养学、生物学、分子生物学、免疫学、微生物学、遗传学和蛋白质核酸化学以及杂交相关的命名法和技术为本领域熟知和经常使用的。

35 本文使用标准的单字母或三字母缩写表明多聚核苷酸和多肽序列。多肽

序列在书写时，带有氨基的首个氨基酸残基（N'）在最左而带有羧基的最末氨基酸残基（C'）在最右，例如本文所涉及的 GLP-1 片段序列：SEQ ID NO:105, SEQ ID NO:106, SEQ ID NO:107, SEQ ID NO:108, 及 SEQ ID NO:109。反向多肽序列指将多肽序列的氨基酸出现顺序逆向排列后形成的序列,例如上述 GLP-1 片段序列所形成的反向 GLP-1 片段序列：SEQ ID NO:119, SEQ ID NO: 120, SEQ ID NO: 121, SEQ ID NO: 122, 及 SEQ ID NO: 123。单链核酸序列和双链核酸序列的上游链的 5'端在左而它们的 3'端在右。多肽的具体部分可由氨基酸残基编号表示，例如氨基酸 80 至 130，或由该位点的实际残基表示例如 Lys80 至 Lys130。也可通过解释其与参比序列的差异描述具体的多肽或多聚核苷酸序列。

术语“肽”、“多肽”、和“蛋白”均指包含两个或多个通过肽键相互连接的氨基酸的分子。这些术语涵盖例如天然和人工蛋白和蛋白序列的多肽类似物（例如突变蛋白、变异体和融合蛋白）以及转录后或否则为共价或非共价修饰的蛋白。肽、多肽或蛋白可为单体或多聚体。

术语“多肽片段”指与对应的全长蛋白相比具有氨基端和/或羧基端缺失的多肽。片段长度可为，例如，至少 5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、20、50、70、80、90、100、150、或 200 个氨基酸。片段长度可为，例如，最多 1000、750、500、250、200、175、150、125、100、90、80、70、60、50、40、30、20、15、14、13、12、11、或 10 个氨基酸。片段可在其一端或两端进一步包含一个或多个附加氨基酸，例如，来自不同天然蛋白质的氨基酸序列（例如，Fc 或亮氨酸拉链结构域）或人工氨基酸序列（例如，人工接头序列）。

本文的多肽包括以任何原因和经任何方法修饰的多肽，例如，以：(1) 降低蛋白水解敏感性，(2) 降低氧化敏感性，(3) 改变形成蛋白复合物的亲和性，(4) 改变结合亲和性，以及 (5) 赋予或修饰其它物理化学或功能性质。类似物包含多肽的突变蛋白。例如，可在天然序列（例如在形成分子内接触的结构域之外的多肽部分）中进行单个或多个氨基酸替换（例如，保守氨基酸替换）。“保守氨基酸替换”为不显著改变母体序列结构特性者（例如，替换氨基酸不应破坏母体序列中出现的螺旋或干扰其它赋予母体序列特性或对其功能是必须的二级结构类型）。

多肽的“变异体”包含相对于另一多肽序列在氨基酸序列中插入、缺失和/或替换了一个或多个氨基酸残基的氨基酸序列。本文的变异体包括融合蛋白。

多肽的“衍生物”为经化学修饰的多肽，例如通过与其它化学部分例如聚乙二醇、白蛋白（例如人血清白蛋白）结合、磷酸化和糖基化。

除非另外说明，术语“抗体”包括两个全长重链和两个全长轻链的抗体，以及其衍生物，变形体、片段、和突变蛋白，其实例见下文。

术语“抗体”为包含与抗原结合部分并任选为允许抗原结合部分采取促进该抗体与该抗原结合的构象的支架或框架部分的蛋白。抗体的实例包括完整抗体、抗体片段（例如抗体的抗原结合部分）、抗体衍生物、和抗体类似物。该抗体可包含例如可选择的蛋白支架或具有移植 CDRs 或 CDRs 衍生物的人工支架。该支架包括但不限于包含被引入的例如以稳定化该抗体的三维结构的抗体衍生支架以及包含例如生物相容性多聚体的全合成支架。参见，例如，Korndorfer 等，2003，*Proteins* 53:121-129; Roque 等，2004，*Biotechnol. Prog.* 20:639-654。此外，该抗体可以是模拟肽抗体（“PAMs”）或包含模拟抗体的支架，其如支架一样利用纤维蛋白连接素。

抗体可具有例如天然免疫球蛋白的结构。“免疫球蛋白”为四聚体分子。在天然的免疫球蛋白中，各四聚体由两个相同的多肽链对组成，各对具有一个“轻”链（约 25 kDa）和一个“重”链（约 50-70kDa）。各链的氨基端包括约 100 至 110 氨基酸的可变结构域，主要与抗原识别相关。各链的羧基端部分确定了主要与效应器作用相关的恒定区。人的抗体轻链分为 κ 和 λ 轻链。重链分为 μ 、 δ 、 α 或 ϵ ，并确定了抗原的同种型，例如分别为 IgM、IgD、IgG、IgA、和 IgE。在轻链和重链中，可变和恒定区由约 12 或更多个氨基酸的“J”区连接，重链也包括约 10 多个氨基酸的“D”区。参见，*Fundamental Immunology* Ch.7 (Paul 编辑，第 2 版，Raven Press, 1989)。各轻/重链对的可变区形成抗体结合位点，这样一个完整的免疫球蛋白具有两个结合位点。

天然免疫球蛋白链显示出由三个高度可变区连接的相对保守骨架区 (FR) 的相同基本结构，也被称作互补决定区或 CDRs。从 N 端到 C 端，轻和重链均包含结构域 FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3、和 FR4。各结构域氨基酸的分配与 Kabat 等在 *Sequences of Proteins of Immunological Interest*，第 5 版，U.S. Dept. of Health and Human Services, PHS, NIH, NIH Publication No. 91-3242, 1991 中的定义一致。

除非另外指明，“抗体”指完整的免疫球蛋白或其可与完整抗体竞争特异性结合的抗原结合部分。可由重组 DNA 技术或通过酶或化学裂解完整抗体生产抗原结合部分。抗原结合部分包括，尤其是，Fab、Fab'、F(ab')₂、Fv、结构域抗体 (dAbs)，包括互补决定区 (CDRs) 的片段、单链抗体 (scFv)、嵌合抗体、双链抗体 (diabodies)、三链抗体 (triabodies)、四链抗体 (tetraabodies) 和至少包含足以赋予多肽特异抗原结合的免疫球蛋白的一部分的多肽。

Fab 片段为具有 V_L、V_H、C_L、和 C_{H1} 结构域的单价片段；F(ab')₂ 片段为具有两个在铰链区由二硫键连接的 Fab 片段的二价片段；Fv 片段具有 V_H 和 V_L 结构域；dAb 片段具有 V_H 结构域、V_L 结构域，或 V_H 或 V_L 结构域的抗原结合片段（美国专利号 US 6,846,634 及 US 6,696,245；美国专利申请公开号 US 2005/0202512、US 2004/0202995、US 2004/0038291、US 2004/0009507、及 US 2003/0039958；Ward 等，1989, *Nature* 341:544-546）。

单链抗体(scFv)为一融合蛋白，其中的 V_L 和 V_H 区由接头（例如，合成的氨基酸残基序列）连接以形成连续蛋白质的抗体，其中该接头足够长以允许该蛋白链折叠回自身并形成单价抗原结合位点（参见，例如，Bird 等，1988, *Science* 242:423-26；和 Huston 等，1988, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 85:5879-83）。

双链抗体为包含两个多肽链的二价抗体，其中各多肽链包含由接头连接的 V_H 和 V_L 结构域，该接头很短以致于不允许两个结构域在相同链上的配对，因此允许各结构域与另一多肽链上的互补结构域配对（参见，例如，Holliger 等，1993, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 90:6444-48；和 Poljak 等，1994, *Structure* 2:1121-23）。如果双链抗体的两个多肽链是相同的，那么由它们配对得到的双链抗体将具有相同的抗原结合位点。具有不同序列的多肽链可用于制备具有不同抗原结合位点的双链抗体。相似地，三链抗体和四链抗体分别为包含三个和四个多肽链的抗体并分别形成三个和四个抗原结合位点，其可相同或不同。

本文使用 Kabat 等在 *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 第 5 版, U.S. Dept. of Health and Human Services, PHS, NIH, NIH Publication No.91-3242, 1991 中描述的方法鉴定给定抗体的互补决定区 (CDRs) 和框架区 (FR)。可向分子中共价或非共价并入一个或多个 CDRs 使其成为抗体。抗体可以较大多肽链并入 CDR(s)。可将 CDR(s) 共价连接至另一多肽链，或非共价并入 CDR(s)。CDRs 允许抗体与具体的相关抗原特异性结合。

抗体可有一个或多个结合位点。如果多于一个结合位点，该结合位点可与另一个相同或不同。例如，天然人免疫球蛋白通常具有两个相同的结合位点，而“双特异性”或“双功能”抗体具有两个不同的结合位点。

术语“鼠源抗体”包括具有一个或多个来源于小鼠免疫球蛋白序列的可变区和恒定区的抗体。

术语“人源化抗体”是将小鼠抗体分子的互补决定区序列移植到人抗体可变区框架中而制成的抗体。

术语“抗原结合结构域”、“抗原结合区”或“抗原结合位点”为包含与抗原相互作用的氨基酸残基并有助于抗体对抗原的特异性和亲和力的抗体的部

分。对与其抗原特异性结合的抗体而言，这将包括至少部分的至少一个其 CDR 结构域。

术语“表位”为与抗体（例如，通过抗体）结合的分子部分。表位可包含分子的非连续部分（例如，在多肽中，在多肽的一级序列中不连续的氨基酸残基在该多肽的三级和四级结构中相互足够接近以致于被一个抗体结合）。

两个多聚核苷酸或两个多肽序列的“相同百分比”由使用 GAP 计算机程序（GCG Wisconsin Package; version 10.3 (Accelrys, San Diego, CA)的一部分）使用其默认参数比较序列测定。

术语“多聚核苷酸”、“寡聚核苷酸”和“核酸”可在全文中交替使用并包括 DNA 分子（例如，cDNA 或基因组 DNA）、RNA 分子（例如 mRNA）、使用核苷酸类似物（例如，肽核酸和非天然核苷酸类似物）生成的 DNA 或 RNA 类似物及其杂交体。核酸分子可为单链或双链。在一个实施方案中，本文的核酸分子包含编码本文提供抗体或其片段、衍生物、突变蛋白或变异性连续体的开放阅读框。

如果它们的序列可反向平行排列则两个单链多聚核苷酸是相互“互补的”，这样一个多聚核苷酸中的各核苷酸与另一多聚核苷酸中的互补核苷酸相反，不会引入空隙并且各序列的 5' 或 3' 端没有未配对的核苷酸。如果两个多聚核苷酸可在中等严格条件下相互杂交那么一个多聚核苷酸与另一多聚核苷酸“互补”。因此，一个多聚核苷酸可与另一多聚核苷酸互补，但并不是它的互补序列。

术语“载体”为可用于将与其相连的另一核酸引入细胞的核酸。载体的一种类型为“质粒”，其指可连接附加核酸区段的线性或环状双链 DNA 分子。载体的另一类型为病毒载体（例如，复制缺陷逆转录病毒、腺病毒和腺病毒伴随病毒），其中可将附加 DNA 区段引入病毒基因组。某些载体可在它们被引入的宿主细胞中自主复制（例如，包含细菌复制起点的细菌载体以及游离型哺乳动物载体）。其它载体（例如，非游离型哺乳动物载体）在引入宿主细胞时整合入宿主细胞的基因组中并因此与宿主基因组一起复制。“表达载体”为可引导所选多聚核苷酸表达的载体类型。

如果调控序列影响核苷酸序列的表达（例如，表达水平、时间或位点）那么核苷酸序列与调控序列“可操作地相连”。“调控序列”为可影响与其可操作相连的核酸的表达（例如，表达水平、时间或位点）的核酸。调控基因，例如，直接对受调控核酸发挥作用或通过一个或多个其它分子（例如，与调控序列和/或核酸结合的多聚核苷酸）的作用。调控序列的实例包括启动子、增强子和其它表达控制元件（例如，多腺苷酸化信号）。调控序列的进

一步实例描述于例如 Goeddel, 1990, *Gene Expression Technology: Methods in Enzymology*, Volume 185, Academic Press, San Diego, CA; and Baron 等, 1995, *Nucleic Acids Res.* 23:3605-06。

术语“宿主细胞”为用于表达核酸例如本文提供核酸的细胞。宿主细胞可为原核生物，例如大肠杆菌，或者其可为真核生物，例如单细胞真核生物（例如，酵母或其它真菌）、植物细胞（例如烟草或番茄植物细胞）、动物细胞（例如，人细胞、猴细胞、仓鼠细胞、大鼠细胞、小鼠细胞或昆虫细胞）或杂交瘤。通常，宿主细胞为可用多肽编码核酸转化或转染的培养细胞，其可接着在宿主细胞中表达。短语“重组宿主细胞”可用于表述用预期表达的核酸转化或转染的宿主细胞。宿主细胞也可为包含该核酸但是不以期望水平表达的细胞，除非向该宿主细胞引入了调控序列这样其与核酸可操作地相连。应理解的是术语宿主细胞不仅指具体的受试者细胞也指该细胞的子代或可能的子代。由于例如突变或环境影响后续世代会出现某些修饰，该子代事实上可能与母体细胞不同但是仍然属于本文使用的术语范围。

15 肠抑胃肽受体

肠抑胃肽受体属于七次跨膜的G蛋白偶联受体家族的B型，其通过异源三聚体鸟嘌呤核苷酸结合蛋白（G 蛋白）与一个或多个胞内信号传导途径偶联（Drucker等，2006，*Cell Metab.* 3:153-65）。截止目前的研究发现，GIPR主要表达于胰岛 β 细胞和脂肪细胞表面（Ravn等，2013，*J. Biol. Chem.* 288:19760-72），同时参与人体内的糖代谢和脂代谢过程，因此也与糖尿病、肥胖症及相关病症紧密关联（Skaw等，2016，*Diabetes Obes. Metab.* 18:847-854）。本文中所使用的“人GIPR”和“hGIPR”均指代来源的肠抑胃肽受体，可交替使用。本文中所使用的“鼠GIPR”和“mGIPR”均指代鼠源的肠抑胃肽受体，也可交替使用。

25 在一个实施方案中，本文提供的抗体是与人GIPR特异性结合的抗体。在另一个实施方案中，本文提供的抗体是与细胞膜上的GIPR特异性结合的抗体，并且该抗体能抑制或者阻断GIP信号在这些细胞内的传导。在另一个实施方案中，本文提供的抗体是与人GIPR特异性结合的抗体，并且该抗体能与其它物种的GIPR结合（例如猴子或小鼠），并阻断在这些物种中GIP的信号传导。在进一步的实施例中，本文提供的抗体是与人GIPR结合的鼠源抗体，并且该抗体能与其它物种的GIPR结合（例如猴子）。

在一个实施方案中，GIPR的氨基酸和多聚核苷酸序列如下所列，序列数据来源于美国国立生物技术信息中心的GeneBank数据库以及欧洲生物信息研究所的Uniprot数据库：

35 人（*Homo sapiens*）多聚核苷酸（SEQ ID NO: 114）；登录号：S79852；

人 (Homo sapiens) 氨基酸 (SEQ ID NO: 113); 登录号: AAB35419.2;
 猴子 (Rhesus macaque) 多聚核苷酸 (SEQ ID NO: 116); 登录号:
 XM_015124289.1;

5 猴子 (Rhesus macaque) 氨基酸 (SEQ ID NO: 115); 登录号: XP_014979775;
 鼠 (Mus musculus) 多聚核苷酸 (SEQ ID NO: 118); 登录号: CCDS39795;
 及鼠 (Mus musculus) 氨基酸 (SEQ ID NO: 117); 登录号: Q0P543。

肠抑胃肽受体抗体 (GIPR 抗体)

10 在一个实施方案中, 本文提供的是 GIPR 抗体。在另一个实施方案中,
 本文提供的 GIPR 抗体是完整 GIPR 抗体。在另一个实施方案中, 本文提供
 的 GIPR 抗体是 GIPR 抗体片段。在另一个实施方案中, 本文提供的 GIPR
 抗体是 GIPR 抗体衍生物。在另一个实施方案中, 本文提供的 GIPR 抗体是
 GIPR 抗体突变蛋白质。在进一步的实施方案中, 本文提供的 GIPR 抗体是
 GIPR 抗体变异性。

15 在一个实施方式中, 本文提供的 GIPR 抗体包含一个、两个、三个、四
 个、五个、或六个氨基酸序列, 其中每个氨基酸序列独立地选自于以下所
 列氨基酸序列:

- a. 轻链 CDR1 氨基酸序列: SEQ ID NO: 1、SEQ ID NO: 4、SEQ ID NO: 7、
 SEQ ID NO: 10、SEQ ID NO: 13、及 SEQ ID NO: 15;
- b. 轻链 CDR2 氨基酸序列: SEQ ID NO: 2、SEQ ID NO: 5、SEQ ID NO: 8、
 20 SEQ ID NO: 11、及 SEQ ID NO: 16;
- c. 轻链 CDR3 氨基酸序列: SEQ ID NO: 3、SEQ ID NO: 6、SEQ ID NO: 9、
 SEQ ID NO: 12、SEQ ID NO: 14、及 SEQ ID NO: 17;
- d. 重链 CDR1 氨基酸序列: SEQ ID NO: 18、SEQ ID NO: 23、及 SEQ ID NO:
 26;
- 25 e. 重链 CDR2 氨基酸序列: SEQ ID NO: 19、SEQ ID NO: 21、SEQ ID NO:
 24、SEQ ID NO: 27、及 SEQ ID NO: 29; 及
- f. 重链 CDR3 氨基酸序列: SEQ ID NO: 20、SEQ ID NO: 22、SEQ ID NO:
 25、SEQ ID NO: 28、及 SEQ ID NO: 30。

30 表 1 列出本文提供的 GIPR 抗体的轻链 CDRs 的氨基酸序列, 以及其相
 应的多聚核苷酸编码序列。表 2 列出本文提供的 GIPR 抗体的重链 CDRs
 的氨基酸序列, 以及其相应的多聚核苷酸编码序列。

表 1: 轻链 CDRs 的氨基酸序列及其多聚核苷酸编码序列

	CDR1	CDR2	CDR3
A-1 核苷酸	aaggccagtcaggatgtgggtactgctgta gcc (SEQ ID NO: 31)	tgggcatacatccggcacact (SEQ ID NO: 32)	cagcaatatagcagctatccgtg gacg (SEQ ID NO: 33)

	CDR1	CDR2	CDR3
A-1 氨基酸	KASQDVGTA (SEQ ID NO: 1)	WAYIRHT (SEQ ID NO: 2)	QQYSSYPWT (SEQ ID NO: 3)
A-2 核苷酸	agaccagtgaaagtgtgatagttatggc aatagttttatgcac (SEQ ID NO: 34)	cttgcatccaacctagaatct (SEQ ID NO: 35)	cagcaataatgaggatcctc ggacg (SEQ ID NO: 36)
A-2 氨基酸	RPSESVDSYGNSFMH (SEQ ID NO: 4)	LASNLES (SEQ ID NO: 5)	QQNNEDPRT (SEQ ID NO: 6)
A-3 核苷酸	aaggcaagtgaggacatatataatcggttc gcc (SEQ ID NO: 37)	gatgcaaccagtttgaaact (SEQ ID NO: 38)	caacagtattggagtattccgtg gacg (SEQ ID NO: 39)
A-3 氨基酸	KASEDIYNRFA (SEQ ID NO: 7)	DATSLET (SEQ ID NO: 8)	QQYWSIPWT (SEQ ID NO: 9)
A-4 核苷酸	agggccagccaaagtgtcaatacatctgtc tatagttatatacac (SEQ ID NO: 40)	tatgcatccaacctagaatct (SEQ ID NO: 41)	caacacagttgggatttccttac acg (SEQ ID NO: 42)
A-4 氨基酸	RASQSVNTSVYSYIH (SEQ ID NO: 10)	YASNLES (SEQ ID NO: 11)	QHSWDFPYT (SEQ ID NO: 12)
A-5 核苷酸	agagccagccagtcctgaacacagccg tgtactcttatccac (SEQ ID NO: 43)	tatgcatccaacctagaatct (SEQ ID NO: 41)	cagcacagcttcgattccccta cacc (SEQ ID NO: 44)
A-5 氨基酸	RASQSVNTAVYSYIH (SEQ ID NO: 13)	YASNLES (SEQ ID NO: 11)	QHSFDFPYT (SEQ ID NO: 14)
A-6 核苷酸	aaggcgagtcaggacattaatagctattta agc (SEQ ID NO: 45)	gcaaacagattggtagat (SEQ ID NO: 46)	ctacagtatgatgatttccattc acg (SEQ ID NO: 47)
A-6 氨基酸	KASQDINSYLS (SEQ ID NO: 15)	ANRLVD (SEQ ID NO: 16)	LQYDEFPT (SEQ ID NO: 17)

表 2: 重链 CDRs 的氨基酸序列及其多聚核苷酸编码序列

	CDR1	CDR2	CDR3
A-1 核苷酸	ggattcactttcagtagctatgc catgtct (SEQ ID NO: 48)	tccattagtagtggtggtgccacctact atccagacagtgtgaag (SEQ ID NO: 49)	ggcgagggcggtagtagctacc ggcctggttgccttc (SEQ ID NO: 50)
A-1 氨基酸	GFTFSSYAMS (SEQ ID NO: 18)	SISSGGATYYPDSVKG (SEQ ID NO: 19)	GEGGSSYPAWFAF (SEQ ID NO: 20)
A-2 核苷酸	ggattcactttcagtagctatgc catgtct (SEQ ID NO: 48)	gaaattagtagtggtggttagtacacct actatccagacactgtgacgggc (SEQ ID NO: 51)	gataaggcgactcgaactggcat gggattttttaccatactatggact ac (SEQ ID NO: 52)
A-2 氨基酸	GFTFSSYAMS (SEQ ID NO: 18)	EISSGGSYTYYPDTVTG (SEQ ID NO: 21)	DKATRTRGMGFFYHT MDY (SEQ ID NO: 22)
A-3 核苷酸	ggctacacattcagtaggtact ggatagag (SEQ ID NO: 53)	gagattttacctggaagtgatagctcta actacaatgagaagttcaagggc (SEQ ID NO: 54)	acggtagtagctacaaggttgcct ac (SEQ ID NO: 55)

	CDR1	CDR2	CDR3
A-3 氨基酸	GYTFSRYWIE (SEQ ID NO: 23)	EILPGSDSPNYNEKFK (SEQ ID NO: 24)	TVVATRFAY (SEQ ID NO: 25)
A-4 核苷酸	ggctactcaatcaccagtgatta tgcttgggaac (SEQ ID NO: 56)	tacataagctacagaggcatcgctacc tataaacctctctcaaaagt (SEQ ID NO: 57)	ggggaatacggccccggcaactt tgacttc (SEQ ID NO: 58)
A-4 氨基酸	GYSITSDYAWN (SEQ ID NO: 26)	YISYRGIATYKPSLKS (SEQ ID NO: 27)	GEYGPGNFDF (SEQ ID NO: 28)
A-5 核苷酸	ggctactcaatcaccagtgatta tgcttgggaac (SEQ ID NO: 56)	tacataagctacagaggcatcgctacc tataaacctctctcaaaagt (SEQ ID NO: 57)	ggggaatacggccccggcaactt tgacttc (SEQ ID NO: 58)
A-5 氨基酸	GYSITSDYAWN (SEQ ID NO: 26)	YISYRGIATYKPSLKS (SEQ ID NO: 27)	GEYGPGNFDF (SEQ ID NO: 28)
A-6 核苷酸	ggctactcaatcaccagtgatta tgcttgggaac (SEQ ID NO: 56)	tacatgagctaccgtgggtaccgcaacg tacaatccatttctcaaaagt (SEQ ID NO: 59)	tatgattacgacgttccccggttcc ttac (SEQ ID NO: 60)
A-6 氨基酸	GYSITSDYAWN (SEQ ID NO: 26)	YMSYRGTATYNPFLKS (SEQ ID NO: 29)	YDYDVPRFPY (SEQ ID NO: 30)

在一个实施方案中，本文提供的抗体包含与表 1 和表 2 中所列的 CDR 氨基酸序列中之一相差 5、4、3、2、或 1 个单氨基酸添加、替换和/或缺失的序列。在另一个实施方案中，本文提供的抗体包含与表 1 和表 2 中所列的 CDR 氨基酸序列中之一相差 4、3、2、或 1 个单氨基酸添加、替换和/或缺失的序列。

在另一个实施方案中，本文提供的抗体包含与表 1 和表 2 中所列的 CDR 氨基酸序列中之一相差 3、2、或 1 个单氨基酸添加、替换和/或缺失的序列。

在另一个实施方案中，本文提供的抗体包含与表 1 和表 2 中所列的 CDR 氨基酸序列中之一相差 2 或 1 个单氨基酸添加、替换和/或缺失的序列。

在进一步的实施方案中，本文提供的抗体包含与表 1 和表 2 中所列的 CDR 氨基酸序列中之一相差 1 个单氨基酸添加、替换和/或缺失的序列。

在一个实施方案中，本文提供的 GIPR 抗体包含一个或两个氨基酸序列，其中每个氨基酸序列独立地选自于以下所列氨基酸序列：

- a. 轻链 CDR1 氨基酸序列：SEQ ID NO: 1、SEQ ID NO: 4、SEQ ID NO: 7、SEQ ID NO: 10、SEQ ID NO: 13、及 SEQ ID NO: 15；及
- b. 重链 CDR1 氨基酸序列：SEQ ID NO: 18、SEQ ID NO: 23、及 SEQ ID NO: 26。

在另一个实施方案中，本文提供的 GIPR 抗体包含一个或两个氨基酸序列，其中每个氨基酸序列独立地选自于以下所列氨基酸序列：

- a. 轻链 CDR2 氨基酸序列: SEQ ID NO: 2、SEQ ID NO: 5、SEQ ID NO: 8、SEQ ID NO: 11、及 SEQ ID NO: 16; 及
- b. 重链 CDR2 氨基酸序列: SEQ ID NO: 19、SEQ ID NO: 21、SEQ ID NO: 24、SEQ ID NO: 27、及 SEQ ID NO: 29。

5 在另一个实施方案中, 本文提供的 GIPR 抗体包含一个或两个氨基酸序列, 其中每个氨基酸序列独立地选自于以下所列氨基酸序列:

- a. 轻链 CDR3 氨基酸序列: SEQ ID NO: 3、SEQ ID NO: 6、SEQ ID NO: 9、SEQ ID NO: 12、SEQ ID NO: 14、及 SEQ ID NO: 17; 及
- b. 重链 CDR3 氨基酸序列: SEQ ID NO: 20、SEQ ID NO: 22、SEQ ID NO: 25、SEQ ID NO: 28、及 SEQ ID NO: 30。

10

在另一个实施方案中, 本文提供的 GIPR 抗体包含一个, 两个, 三个, 或四个氨基酸序列, 其中每个氨基酸序列独立地选自于以下所列的氨基酸序列:

- a. 轻链 CDR1 氨基酸序列: SEQ ID NO: 1、SEQ ID NO: 4、SEQ ID NO: 7、SEQ ID NO: 10、SEQ ID NO: 13、及 SEQ ID NO: 15;
- b. 重链 CDR1 氨基酸序列: SEQ ID NO: 18、SEQ ID NO: 23、及 SEQ ID NO: 26;
- c. 轻链 CDR2 氨基酸序列: SEQ ID NO: 2、SEQ ID NO: 5、SEQ ID NO: 8、SEQ ID NO: 11、及 SEQ ID NO: 16; 及
- d. 重链 CDR2 氨基酸序列: SEQ ID NO: 19、SEQ ID NO: 21、SEQ ID NO: 24、SEQ ID NO: 27、及 SEQ ID NO: 29。

15

20

在另一个实施方案中, 本文提供的 GIPR 抗体包含一个, 两个, 三个, 或四个氨基酸序列, 其中每个氨基酸序列独立地选自于以下所列的氨基酸序列:

- a. 轻链 CDR1 氨基酸序列: SEQ ID NO: 1、SEQ ID NO: 4、SEQ ID NO: 7、SEQ ID NO: 10、SEQ ID NO: 13、及 SEQ ID NO: 15;
- b. 重链 CDR1 氨基酸序列: SEQ ID NO: 18、SEQ ID NO: 23、及 SEQ ID NO: 26;
- c. 轻链 CDR3 氨基酸序列: SEQ ID NO: 3、SEQ ID NO: 6、SEQ ID NO: 9、SEQ ID NO: 12、SEQ ID NO: 14、及 SEQ ID NO: 17; 及
- d. 重链 CDR3 氨基酸序列: SEQ ID NO: 20、SEQ ID NO: 22、SEQ ID NO: 25、SEQ ID NO: 28、及 SEQ ID NO: 30。

25

30

在进一步的实施方案中, 本文提供的 GIPR 抗体包含一个, 两个, 三个, 或四个氨基酸序列, 其中每个氨基酸序列独立地选自于以下所列的氨基酸序列:

35

- a. 轻链 CDR2 氨基酸序列: SEQ ID NO: 2、SEQ ID NO: 5、SEQ ID NO: 8、SEQ ID NO: 11、及 SEQ ID NO: 16;
- b. 重链 CDR2 氨基酸序列: SEQ ID NO: 19、SEQ ID NO: 21、SEQ ID NO: 24、SEQ ID NO: 27、及 SEQ ID NO: 29;
- 5 c. 轻链 CDR3 氨基酸序列: SEQ ID NO: 3、SEQ ID NO: 6、SEQ ID NO: 9、SEQ ID NO: 12、SEQ ID NO: 14、及 SEQ ID NO: 17; 及
- d. 重链 CDR3 氨基酸序列: SEQ ID NO: 20、SEQ ID NO: 22、SEQ ID NO: 25、SEQ ID NO: 28、及 SEQ ID NO: 30。

10 在一个实施方案中, 本文提供的 GIPR 抗体包含一个, 两个, 或三个氨基酸序列, 其中每个氨基酸序列独立地选自于以下所列的氨基酸序列: SEQ ID NO: 1、SEQ ID NO: 2、SEQ ID NO: 3、SEQ ID NO: 4、SEQ ID NO: 5、SEQ ID NO: 6、SEQ ID NO: 7、SEQ ID NO: 8、SEQ ID NO: 9、SEQ ID NO: 10、SEQ ID NO: 11、SEQ ID NO: 12、SEQ ID NO: 13、SEQ ID NO: 14、SEQ ID NO: 15、SEQ ID NO: 16、及 SEQ ID NO: 17。

15 在另一个实施方案中, 本文提供的 GIPR 抗体包含一个, 两个, 或三个氨基酸序列, 其中每个氨基酸序列独立地选自于以下所列的氨基酸序列: SEQ ID NO: 18、SEQ ID NO: 19、SEQ ID NO: 20、SEQ ID NO: 21、SEQ ID NO: 22、SEQ ID NO: 23、SEQ ID NO: 24、SEQ ID NO: 25、SEQ ID NO: 26、SEQ ID NO: 27、SEQ ID NO: 28、SEQ ID NO: 29、及 SEQ ID NO: 30。

20 在一个实施方案中, 本文提供的 GIPR 抗体包含一个独立地选自于以下所列的轻链和重链 CDR1 氨基酸序列的组合: SEQ ID NO: 1 与 SEQ ID NO: 18、SEQ ID NO: 4 与 SEQ ID NO: 18、SEQ ID NO: 7 与 SEQ ID NO: 23、SEQ ID NO: 10 与 SEQ ID NO: 26、SEQ ID NO: 13 与 SEQ ID NO: 26、及 SEQ ID NO: 15 与 SEQ ID NO: 26。

25 在另一个实施方案中, 本文提供的 GIPR 抗体包含一个独立地选自于以下所列的轻链和重链 CDR2 氨基酸序列的组合: SEQ ID NO: 2 与 SEQ ID NO: 19、SEQ ID NO: 5 与 SEQ ID NO: 21、SEQ ID NO: 8 与 SEQ ID NO: 24、SEQ ID NO: 11 与 SEQ ID NO: 27、及 SEQ ID NO: 16 与 SEQ ID NO: 29。

30 在进一步的实施方案中, 本文提供的 GIPR 抗体包含一个独立地选自于以下所列的轻链和重链 CDR3 氨基酸序列的组合: SEQ ID NO: 3 与 SEQ ID NO: 20、SEQ ID NO: 6 与 SEQ ID NO: 22、SEQ ID NO: 9 与 SEQ ID NO: 25、SEQ ID NO: 12 与 SEQ ID NO: 28、SEQ ID NO: 14 与 SEQ ID NO: 28、及 SEQ ID NO: 17 与 SEQ ID NO: 30。

在一个实施方案中, 本文提供的 GIPR 抗体包含:

- 35 a. 一个独立地选自于以下所列的轻链和重链 CDR1 氨基酸序列的组合:

SEQ ID NO: 1 与 SEQ ID NO: 18、SEQ ID NO: 4 与 SEQ ID NO: 18、SEQ ID NO: 7 与 SEQ ID NO: 23、SEQ ID NO: 10 与 SEQ ID NO: 26、SEQ ID NO: 13 与 SEQ ID NO: 26、及 SEQ ID NO: 15 与 SEQ ID NO: 26；和

b. 一个独立地选自于以下所列的轻链和重链 CDR2 氨基酸序列的组合：

5 SEQ ID NO: 2 与 SEQ ID NO: 19、SEQ ID NO: 5 与 SEQ ID NO: 21、SEQ ID NO: 8 与 SEQ ID NO: 24、SEQ ID NO: 11 与 SEQ ID NO: 27、及 SEQ ID NO: 16 与 SEQ ID NO: 29。

在另一个实施方案中，本文提供的 GIPR 抗体包含：

a. 一个独立地选自于以下所列的轻链和重链 CDR1 氨基酸序列的组合：

10 SEQ ID NO: 1 与 SEQ ID NO: 18、SEQ ID NO: 4 与 SEQ ID NO: 18、SEQ ID NO: 7 与 SEQ ID NO: 23、SEQ ID NO: 10 与 SEQ ID NO: 26、SEQ ID NO: 13 与 SEQ ID NO: 26、及 SEQ ID NO: 15 与 SEQ ID NO: 26；和

b. 一个独立地选自于以下所列的轻链和重链 CDR3 氨基酸序列的组合：

15 SEQ ID NO: 3 与 SEQ ID NO: 20、SEQ ID NO: 6 与 SEQ ID NO: 22、SEQ ID NO: 9 与 SEQ ID NO: 25、SEQ ID NO: 12 与 SEQ ID NO: 28、SEQ ID NO: 14 与 SEQ ID NO: 28、及 SEQ ID NO: 17 与 SEQ ID NO: 30。

在另一个实施方案中，本文提供的 GIPR 抗体包含：

a. 一个独立地选自于以下所列的轻链和重链 CDR2 氨基酸序列的组合：

20 SEQ ID NO: 2 与 SEQ ID NO: 19、SEQ ID NO: 5 与 SEQ ID NO: 21、SEQ ID NO: 8 与 SEQ ID NO: 24、SEQ ID NO: 11 与 SEQ ID NO: 27、及 SEQ ID NO: 16 与 SEQ ID NO: 29；和

b. 一个独立地选自于以下所列的轻链和重链 CDR3 氨基酸序列的组合：

25 SEQ ID NO: 3 与 SEQ ID NO: 20、SEQ ID NO: 6 与 SEQ ID NO: 22、SEQ ID NO: 9 与 SEQ ID NO: 25、SEQ ID NO: 12 与 SEQ ID NO: 28、SEQ ID NO: 14 与 SEQ ID NO: 28、及 SEQ ID NO: 17 与 SEQ ID NO: 30。

在进一步实施方案中，本文提供的 GIPR 抗体包含：

a. 一个独立地选自于以下所列的轻链和重链 CDR1 氨基酸序列的组合：

30 SEQ ID NO: 1 与 SEQ ID NO: 18、SEQ ID NO: 4 与 SEQ ID NO: 18、SEQ ID NO: 7 与 SEQ ID NO: 23、SEQ ID NO: 10 与 SEQ ID NO: 26、SEQ ID NO: 13 与 SEQ ID NO: 26、及 SEQ ID NO: 15 与 SEQ ID NO: 26；

b. 一个独立地选自于以下所列的轻链和重链 CDR2 氨基酸序列的组合：

SEQ ID NO: 2 与 SEQ ID NO: 19、SEQ ID NO: 5 与 SEQ ID NO: 21、SEQ ID NO: 8 与 SEQ ID NO: 24、SEQ ID NO: 11 与 SEQ ID NO: 27、及 SEQ ID NO: 16 与 SEQ ID NO: 29；和

35 c. 一个独立地选自于以下所列的轻链和重链 CDR3 氨基酸序列的组合：

SEQ ID NO: 3 与 SEQ ID NO:20、SEQ ID NO: 6 与 SEQ ID NO: 22、SEQ ID NO: 9 与 SEQ ID NO: 25、SEQ ID NO: 12 与 SEQ ID NO: 28、SEQ ID NO: 14 与 SEQ ID NO: 28、及 SEQ ID NO: 17 与 SEQ ID NO: 30。

在一个实施方案中，本文提供的 GIPR 抗体包含：

- 5 a. 轻链和重链 CDR1、CDR2、及 CDR3 氨基酸序列的组合：SEQ ID NO: 1、SEQ ID NO: 2、SEQ ID NO: 3、SEQ ID NO: 18、SEQ ID NO: 19、及 SEQ ID NO: 20；
- b. 轻链和重链 CDR1、CDR2、及 CDR3 氨基酸序列的组合：SEQ ID NO: 4、SEQ ID NO: 5、SEQ ID NO: 6、SEQ ID NO: 18、SEQ ID NO: 21、及 SEQ ID
10 NO: 22；
- c. 轻链和重链 CDR1、CDR2、及 CDR3 氨基酸序列的组合：SEQ ID NO: 7、SEQ ID NO: 8、SEQ ID NO: 9、SEQ ID NO: 23、SEQ ID NO: 24、及 SEQ ID NO: 25；
- d. 轻链和重链 CDR1、CDR2、及 CDR3 氨基酸序列的组合：SEQ ID NO: 10、
15 SEQ ID NO: 11、SEQ ID NO: 12、SEQ ID NO: 26、SEQ ID NO: 27、及 SEQ ID NO: 28；
- e. 轻链和重链 CDR1、CDR2、及 CDR3 氨基酸序列的组合：SEQ ID NO: 13、SEQ ID NO: 11、SEQ ID NO: 14、SEQ ID NO: 26、SEQ ID NO: 27、及 SEQ ID NO: 28； or
- 20 f. 轻链和重链 CDR1、CDR2、及 CDR3 氨基酸序列的组合：SEQ ID NO: 15、SEQ ID NO: 16、SEQ ID NO: 17、SEQ ID NO: 26、SEQ ID NO: 29、及 SEQ ID NO: 30。

在一个实施方案中，本文提供的 GIPR 抗体包含一个或两个氨基酸序列，其中每个氨基酸序列独立地选自于以下所列氨基酸序列：

- 25 a. 轻链可变结构域氨基酸序列：SEQ ID NO: 61、SEQ ID NO: 62、SEQ ID NO: 63、SEQ ID NO: 64、SEQ ID NO: 65、SEQ ID NO: 66、SEQ ID NO: 67、SEQ ID NO: 68、SEQ ID NO:69、SEQ ID NO: 70、及 SEQ ID NO: 71；及与其任一序列有至少 80%、至少 85%、至少 90%、或至少 95%相同的氨基酸序列；及
- 30 b. 重链可变结构域氨基酸序列：SEQ ID NO: 72、SEQ ID NO: 73、SEQ ID NO: 74、SEQ ID NO: 75、SEQ ID NO: 76、SEQ ID NO: 77、SEQ ID NO: 78、SEQ ID NO: 79、及 SEQ ID NO: 80；及与其任一序列有至少 80%、至少 85%、至少 90%、或至少 95%相同的氨基酸序列。

在另一个实施方案中，本文提供的 GIPR 抗体的多聚核苷酸编码序列包含一个或两个多聚核苷酸编码序列，其中每个多聚核苷酸编码序列独立地

35

选自于以下所列多聚核苷酸序列：

a. 轻链可变结构域多聚核苷酸编码序列：SEQ ID NO: 81、SEQ ID NO: 82、SEQ ID NO: 83、SEQ ID NO: 84、SEQ ID NO: 85、SEQ ID NO: 86、SEQ ID NO: 87、SEQ ID NO: 88、SEQ ID NO: 89、SEQ ID NO: 90、及 SEQ ID NO: 91；
5 及其任一序列有至少 80%、至少 85%、至少 90%、或至少 95% 相同的多聚核苷酸编码序列；及

b. 重链可变结构域多聚核苷酸编码序列：SEQ ID NO: 92、SEQ ID NO: 93、SEQ ID NO: 94、SEQ ID NO: 95、SEQ ID NO: 96、SEQ ID NO: 97、SEQ ID NO: 98、SEQ ID NO: 99、及 SEQ ID NO: 100；及其任一序列有至少
10 80%、至少 85%、至少 90%、或至少 95% 相同的多聚核苷酸编码序列。

在一个实施方案中，本文提供的 GIPR 抗体包含一个独立地选自于以下所列的氨基酸序列：SEQ ID NO: 61、SEQ ID NO: 62、SEQ ID NO: 63、SEQ ID NO: 64、SEQ ID NO: 65、SEQ ID NO: 66、SEQ ID NO: 67、SEQ ID NO: 68、SEQ ID NO: 69、SEQ ID NO: 70、及 SEQ ID NO: 71。

15 在另一个实施方案中，本文提供的 GIPR 抗体包含一个独立地选自于以下所列的氨基酸序列：SEQ ID NO: 72、SEQ ID NO: 73、SEQ ID NO: 74、SEQ ID NO: 75、SEQ ID NO: 76、SEQ ID NO: 77、SEQ ID NO: 78、SEQ ID NO: 79、及 SEQ ID NO: 80。

在一个实施方案中，本文提供的 GIPR 抗体包含一个独立地选自于以下所列的轻链与重链可变结构域氨基酸序列的组合：SEQ ID NO: 61 与 SEQ ID NO: 72、SEQ ID NO: 62 与 SEQ ID NO: 73、SEQ ID NO: 63 与 SEQ ID NO: 74、SEQ ID NO: 64 与 SEQ ID NO: 74、SEQ ID NO: 65 与 SEQ ID NO: 75、SEQ ID NO: 66 与 SEQ ID NO: 76、SEQ ID NO: 67 与 SEQ ID NO: 77、SEQ ID NO: 68 与 SEQ ID NO: 77、SEQ ID NO: 69 与 SEQ ID NO: 78、SEQ ID NO: 70 与 SEQ ID NO: 79、及 SEQ ID NO: 71 与 SEQ ID NO: 80。
20
25

在一个实施方案中，本文提供的 GIPR 抗体包含一个独立地选自于以下所列的氨基酸序列：SEQ ID NO: 62、SEQ ID NO: 63、SEQ ID NO: 64、SEQ ID NO: 66、SEQ ID NO: 67、SEQ ID NO: 68、SEQ ID NO: 73、SEQ ID NO: 74、SEQ ID NO: 76、及 SEQ ID NO: 77。

30 在另一个实施方案中，本文提供的 GIPR 抗体包含一个独立地选自于以下所列的轻链与重链可变结构域氨基酸序列的组合：SEQ ID NO: 61 与 SEQ ID NO: 72(L1H1)、SEQ ID NO: 62 与 SEQ ID NO: 73(L2H2)、SEQ ID NO: 63 与 SEQ ID NO: 74(L3H3)、SEQ ID NO: 64 与 SEQ ID NO: 74(L4H3)、SEQ ID NO: 65 与 SEQ ID NO: 75(L5H4)、SEQ ID NO: 66 与 SEQ ID NO: 76(L6H5)、
35 SEQ ID NO: 67 与 SEQ ID NO: 77(L7H6)、SEQ ID NO: 68 与 SEQ ID NO:

77(L8H6)、SEQ ID NO: 69 与 SEQ ID NO: 78(L9H7)、SEQ ID NO: 70 与 SEQ ID NO: 79(L10H8) 、及 SEQ ID NO: 71 与 SEQ ID NO: 80(L11H9)。

本文也可用“LxHy”符号来指代所提供的 GIPR 抗体,其中“x”对应于轻链可变区序列代号;“y”对应于重链可变区序列代号。例如, L2H2 指具有包含 SEQ ID NO: 62 (L2) 氨基酸序列的轻链可变区和包含 SEQ ID NO: 73 (H2) 氨基酸序列的重链可变区的完整抗体。

在一个实施方案中,本文提供的 GIPR 抗体包含一或两个氨基酸序列,其中每个氨基酸序列独立地选自于以下所列的氨基酸序列:

- a. 轻链恒定氨基酸序列: SEQ ID NO: 101 及 SEQ ID NO: 102; 及
- 10 b. 重链恒定氨基酸序列: SEQ ID NO: 103、SEQ ID NO: 104、及 SEQ ID NO: 124。

在一个实施方案中,本文提供的 GIPR 抗体包含一或两个氨基酸序列,其中每个氨基酸序列独立地选自于以下所列的轻链和重链恒定氨基酸序列的组合:SEQ ID NO: 101 和 SEQ ID NO: 103、SEQ ID NO: 101 和 SEQ ID NO: 104、SEQ ID NO: 102 和 SEQ ID NO: 103、及 SEQ ID NO: 102 和 SEQ ID NO: 104。在另一个实施方案中,本文提供的 GIPR 抗体包含一或两个氨基酸序列,其中每个氨基酸序列独立地选自于以下所列的轻链和重链恒定氨基酸序列的组合:SEQ ID NO: 101 和 SEQ ID NO: 124 及 SEQ ID NO: 102 和 SEQ ID NO: 124。

在一个实施方案中,本文提供的 GIPR 抗体包含本文所列轻链及重链 CDRs, 以及 FRs (框架) 的氨基酸序列。FRs 的氨基酸序列包含于轻链或者重链可变结构域氨基酸序列中,未单独陈列。在一个实施方案中,该抗体包含一个本文所列的轻链 CDR1 序列。在另一个实施方案中,该抗体包含一个本文所列的轻链 CDR2 序列。在另一个实施方案中,该抗体包含一个本文所列的轻链 CDR3 序列。在另一个实施方案中,该抗体包含一个本文所列的重链 CDR1 序列。在另一个实施方案中,该抗体包含一个本文所列的重链 CDR2 序列。在另一个实施方案中,该抗体包含一个本文所列的重链 CDR3 序列。在另一个实施方案中,该抗体包含一个本文的轻链 FR1 序列。在另一个实施方案中,该抗体包含一个本文的轻链 FR2 序列。在另一个实施方案中,该抗体包含一个本文的轻链 FR3 序列。在另一个实施方案中,该抗体包含一个本文的轻链 FR4 序列。在另一个实施方案中,该抗体包含一个本文的重链 FR1 序列。在另一个实施方案中,该抗体包含一个本文的重链 FR2 序列。在另一个实施方案中,该抗体包含一个本文的重链 FR3 序列。在进一步的实施方案中,该抗体包含一个本文的重链 FR4 序列。

35 在一个实施方案中,该抗体的轻链 CDR3 序列与本文所列轻链 CDR3 氨

5 氨基酸序列 SEQ ID NO: 6、SEQ ID NO: 12、及 SEQ ID NO: 14 之一相差不得超过 6、5、4、3、2、或 1 个单氨基酸添加、替换和/或缺失。在另一个实施方案中,该抗体的重链 CDR3 序列与本文所列重链 CDR3 氨基酸序列 SEQ ID NO: 22 或 SEQ ID NO: 28 相差最多不超过 6、5、4、3、2、或 1 个单氨基酸添加、替换和/或缺失。在进一步的实施方案中,该抗体的轻链 CDR3 序列与本文所列轻链 CDR3 氨基酸序列 SEQ ID NO: 6、SEQ ID NO: 12、及 SEQ ID NO: 14 之一相差不得超过 6、5、4、3、2、或 1 个单氨基酸添加、替换和/或缺失,并且该抗体的重链 CDR3 序列与本文所列重链 CDR3 氨基酸序列 SEQ ID NO: 22 或 SEQ ID NO: 28 相差最多不超过 6、5、4、3、2、或 1 个单氨基酸添加、替换和/或缺失。在另一个实施方案中,该抗体进一步包含 1、2、3、4、5、或 6 个本文所列轻重链 CDR 轻重链序列组合。

15 在一个实施方案中,本文提供的 GIPR 抗体包含一个轻链可变结构域氨基酸序列,该序列选择于本文所列的 L2 (SEQ ID NO:62)、L3 (SEQ ID NO:63)、L4 (SEQ ID NO:64)、L6 (SEQ ID NO:66)、L7 (SEQ ID NO:67)、及 L8 (SEQ ID NO:68)轻链可变结构域序列。在一个实施方案中,该 GIPR 抗体的轻链可变结构域氨基酸序列与 L2 (SEQ ID NO:62)、L3 (SEQ ID NO:63)、L4 (SEQ ID NO:64)、L6 (SEQ ID NO:66)、L7 (SEQ ID NO:67)、及 L8 (SEQ ID NO:68) 之一的轻链可变结构域氨基酸序列存在 15、14、13、12、11、10、9、8、7、6、5、4、3、2、或 1 个氨基酸的不同的,其中各序列的差异独立为一个氨基酸残基的缺失、插入或替换。在另一个实施方案中,该 GIPR 抗体的轻链可变结构域氨基酸序列与 L2 (SEQ ID NO:62)、L3 (SEQ ID NO:63)、L4 (SEQ ID NO:64)、L6 (SEQ ID NO:66)、L7 (SEQ ID NO:67)、及 L8 (SEQ ID NO:68) 之一的轻链可变结构域氨基酸序列有至少 70%、至少 75%、至少 80%、至少 85%、至少 90%、至少 95%、至少 97%、或至少 99%相同。在另一个实施方案中,该 GIPR 抗体的轻链可变结构域多聚核苷酸编码序列与 L2 (SEQ ID NO:62)、L3 (SEQ ID NO:63)、L4 (SEQ ID NO:64)、L6 (SEQ ID NO:66)、L7 (SEQ ID NO:67)、及 L8 (SEQ ID NO:68) 之一的多聚核苷酸编码序列有至少 70%、至少 75%、至少 80%、至少 85%、至少 90%、至少 95%、至少 97%、或至少 99%相同。在另一个实施方案中,该 GIPR 抗体的轻链可变结构域多聚核苷酸编码序列包含在中等条件下与 L2 (SEQ ID NO:62)、L3 (SEQ ID NO:63)、L4 (SEQ ID NO:64)、L6 (SEQ ID NO:66)、L7 (SEQ ID NO:67)、及 L8 (SEQ ID NO:68) 之一的轻链可变结构域的多聚核苷酸编码序列互补序列杂交的多聚核苷酸序列。在进一步的实施方案中,该 GIPR 抗体的轻链可变结构域多聚核苷酸编码序列包含在严格条件下与 L2 (SEQ ID NO:62)、L3 (SEQ ID NO:63)、L4 (SEQ ID NO:64)、

L6 (SEQ ID NO:66)、L7 (SEQ ID NO:67)、及 L8 (SEQ ID NO:68)之一的轻链可变结构域的多聚核苷酸编码序列互补序列杂交的多聚核苷酸序列。

在一个实施方案中，本文提供的 GIPR 抗体包含一个重链可变结构域氨基酸序列，该序列选择于本文所列 H2 (SEQ ID NO:73)、H3 (SEQ ID NO:74)、H5 (SEQ ID NO:76)、及 H6 (SEQ ID NO:77) 重链可变结构域序列。在另一个实施方案中，该 GIPR 抗体的重链可变结构域氨基酸序列与 H2 (SEQ ID NO:73)、H3 (SEQ ID NO:74)、H5 (SEQ ID NO:76)、及 H6 (SEQ ID NO:77) 之一的重链可变结构域序列存在 15、14、13、12、11、10、9、8、7、6、5、4、3、2、或 1 个氨基酸差异，其中各序列的差异独立为一个氨基酸残基的缺失、插入或替换。在另一个实施方案中，该 GIPR 抗体的重链可变结构域氨基酸序列与 H2 (SEQ ID NO:73)、H3 (SEQ ID NO:74)、H5 (SEQ ID NO:76)、及 H6 (SEQ ID NO:77) 之一的重链可变结构域序列有至少 70%、至少 75%、至少 80%、至少 85%、至少 90%、至少 95%、至少 97%、或至少 99% 相同。在另一个实施方案中，该 GIPR 抗体的重链可变结构域多聚核苷酸编码序列与 H2 (SEQ ID NO:73)、H3 (SEQ ID NO:74)、H5 (SEQ ID NO:76)、及 H6 (SEQ ID NO:77) 之一的重链可变结构域多聚核苷酸编码序列有至少 70%、至少 75%、至少 80%、至少 85%、至少 90%、至少 95%、至少 97%、或至少 99% 相同。在另一个实施方案中，该 GIPR 抗体的重链可变结构域多聚核苷酸编码序列包含在中等严格条件下与 H2 (SEQ ID NO:73)、H3 (SEQ ID NO:74)、H5 (SEQ ID NO:76)、及 H6 (SEQ ID NO:77) 之一的重链可变结构域的多聚核苷酸编码序列互补序列杂交的多聚核苷酸序列。在一个实施方案中，该 GIPR 抗体的重链可变结构域多聚核苷酸编码序列包含在严格条件下与 H2 (SEQ ID NO:73)、H3 (SEQ ID NO:74)、H5 (SEQ ID NO:76)、及 H6 (SEQ ID NO:77) 之一的重链可变结构域的多聚核苷酸编码序列互补序列杂交的多聚核苷酸序列。

在一个实施方案中，本文提供的抗体是一包含 L1H1 (SEQ ID NO:61 和 SEQ ID NO:72)、L2H2 (SEQ ID NO:62 和 SEQ ID NO:73)、L3H3 (SEQ ID NO:63 和 SEQ ID NO:74)、L4H3 (SEQ ID NO:64 和 SEQ ID NO:74)、L5H4 (SEQ ID NO:65 和 SEQ ID NO:75)、L6H5 (SEQ ID NO:66 和 SEQ ID NO:76)、L7H6 (SEQ ID NO:67 和 SEQ ID NO:77)、L8H6 (SEQ ID NO:68 和 SEQ ID NO:77)、L9H7 (SEQ ID NO:69 和 SEQ ID NO:78)、L10H8 (SEQ ID NO:70 和 SEQ ID NO:79)、或 L11H9 (SEQ ID NO:71 和 SEQ ID NO:80) 组合的抗体，或其一的期望表型（例如，IgA、IgG1、IgG2a、IgG2b、IgG3、IgM、IgE、或 IgD），或其一 Fab 或 F(ab')₂ 片段。

在一个实施方案中，本文提供的抗体是一包含 L2H2 (SEQ ID NO:62 和

SEQ ID NO:73)、L3H3(SEQ ID NO:63 和 SEQ ID NO:74)、L4H3(SEQ ID NO:64 和 SEQ ID NO:74)、L6H5(SEQ ID NO:66 和 SEQ ID NO:76)、L7H6(SEQ ID NO:67 和 SEQ ID NO:77)或 L8H6(SEQ ID NO:68 和 SEQ ID NO:77)组合的抗体, 或其一类转换的抗体(例如, IgA、IgG1、IgG2a、IgG2b、IgG3、IgM、IgE、和 IgD), 或其 Fab 或 F(ab')₂ 片段。

本文提供的抗体可包含本领域已知的恒定区中任何一个。轻链恒定区可为例如 κ 或 λ 型轻链恒定区, 例如小鼠 κ 或 λ 型轻链恒定区。重链恒定区可为例如 α 、 δ 、 ϵ 、 γ 、或 μ 型重链恒定区, 例如小鼠 α 、 δ 、 ϵ 、 γ 、或 μ 型重链恒定区。在一个实施方案中, 该轻链或重链恒定区为天然恒定区的片段、衍生物、变体、或突变蛋白。

在一个实施方案中, 本文提供的抗体进一步包含人恒定轻链 κ 或 λ 结构域或其片段。轻链恒定区的氨基酸序列如下:

人恒定轻链 κ 结构域氨基酸序列: (SEQ ID NO: 101); 及

人恒定轻链 λ 结构域氨基酸序列: (SEQ ID NO: 102)。

在一个实施方案中, 本文提供的抗体进一步包含人重链恒定结构域或其片段。

重链恒定区氨基酸序列如下:

人重链恒定区氨基酸序列 (hIgG2): (SEQ ID NO: 103);

人重链恒定区氨基酸序列 (hIgG4): (SEQ ID NO: 104); 及

人重链恒定区氨基酸序列 (hIgG4): (SEQ ID NO: 124)。

在一个实施方案中, 本文提供的 GIPR 抗体包含一个轻链结构域氨基酸序列, 该序列选择于本文所列的 V1 (SEQ ID NO: 125) 及 V2 (SEQ ID NO: 126)。在一个实施方案中, 该 GIPR 抗体的轻链结构域氨基酸序列与 V1 及 V2 之一的轻链结构域氨基酸序列存在 15、14、13、12、11、10、9、8、7、6、5、4、3、2、或 1 个氨基酸的差异, 其中各序列的差异独立为一个氨基酸残基的缺失、插入或替换。在另一个实施方案中, 该 GIPR 抗体的轻链结构域氨基酸序列与 V1 及 V2 之一的轻链结构域氨基酸序列有至少 70%、至少 75%、至少 80%、至少 85%、至少 90%、至少 95%、至少 97%、或至少 99% 相同。在另一个实施方案中, 该 GIPR 抗体的轻链结构域多聚核苷酸编码序列与 V1 及 V2 之一的多聚核苷酸编码序列有至少 70%、至少 75%、至少 80%、至少 85%、至少 90%、至少 95%、至少 97%、或至少 99% 相同。在另一个实施方案中, 该 GIPR 抗体的轻链结构域多聚核苷酸编码序列包含在中等条件下与 V1 及 V2 之一的轻链结构域的多聚核苷酸编码序列互补序列杂交的多聚核苷酸序列。在进一步的实施方案中, 该 GIPR 抗体的轻链结构域多聚核苷酸编码序列包含在严格条件下与 V1 及 V2 之一的轻链结构域

的多聚核苷酸编码序列互补序列杂交的多聚核苷酸序列。

在一个实施方案中, 本文提供的 GIPR 抗体包含一个重链结构域氨基酸序列, 该序列选择于本文所列 W1 (SEQ ID NO: 127)、W2 (SEQ ID NO: 128)、W3 (SEQ ID NO: 129)、W4 (SEQ ID NO: 130)、W5 (SEQ ID NO: 131)、
5 W6 (SEQ ID NO: 132)、W7 (SEQ ID NO: 133)、W8 (SEQ ID NO: 134)、及 W9 (SEQ ID NO: 135)。在另一个实施方案中, 该 GIPR 抗体的重链结构域氨基酸序列与 W1、W2、W3、W4、W5、W6、W7、W8、及 W9 之一的重链结构域序列存在 15、14、13、12、11、10、9、8、7、6、5、4、3、2、或 1 个氨基酸的差异, 其中各序列的差异独立为一个氨基酸残基的缺失、
10 插入或替换。在另一个实施方案中, 该 GIPR 抗体的重链结构域氨基酸序列与 W1、W2、W3、W4、W5、W6、W7、W8、及 W9 之一的重链结构域序列有至少 70%、至少 75%、至少 80%、至少 85%、至少 90%、至少 95%、至少 97%、或至少 99% 相同。在另一个实施方案中, 该 GIPR 抗体的重链结构域多聚核苷酸编码序列与 W1、W2、W3、W4、W5、W6、W7、W8、
15 及 W9 之一的多聚核苷酸编码序列有至少 70%、至少 75%、至少 80%、至少 85%、至少 90%、至少 95%、至少 97%、或至少 99% 相同。在另一个实施方案中, 该 GIPR 抗体的重链结构域多聚核苷酸编码序列包含在中等严格条件下与 W1、W2、W3、W4、W5、W6、W7、W8、及 W9 之一的重链结构域的多聚核苷酸编码序列互补序列杂交的多聚核苷酸序列。在一个实施
20 方案中, 该 GIPR 抗体的重链结构域多聚核苷酸编码序列包含在严格条件下与 W1、W2、W3、W4、W5、W6、W7、W8、及 W9 之一的重链结构域的多聚核苷酸编码序列互补序列杂交的多聚核苷酸序列。

在另一个实施方案中, 本文提供的抗体是一包含 V1W1 (SEQ ID NO: 125 和 SEQ ID NO: 127)、V1W2 (SEQ ID NO: 125 和 SEQ ID NO: 128)、V1W3
25 (SEQ ID NO: 125 和 SEQ ID NO: 129)、V1W4 (SEQ ID NO: 125 和 SEQ ID NO: 130)、V1W5 (SEQ ID NO: 125 和 SEQ ID NO: 131)、V1W6 (SEQ ID NO: 125 和 SEQ ID NO: 132)、V1W7 (SEQ ID NO: 125 和 SEQ ID NO: 133)、V1W8 (SEQ ID NO: 125 和 SEQ ID NO: 134)、V1W9 (SEQ ID NO: 125 和 SEQ ID NO: 135)、V2W1 (SEQ ID NO: 126 和 SEQ ID NO: 127)、V2W2 (SEQ
30 ID NO: 126 和 SEQ ID NO: 128)、V2W3 (SEQ ID NO: 126 和 SEQ ID NO: 129)、V2W4 (SEQ ID NO: 126 和 SEQ ID NO: 130)、V2W5 (SEQ ID NO: 126 和 SEQ ID NO: 131)、V2W6 (SEQ ID NO: 126 和 SEQ ID NO: 132)、V2W7 (SEQ ID NO: 126 和 SEQ ID NO: 133)、V2W8 (SEQ ID NO: 126 和 SEQ ID NO: 134)、或 V2W9 (SEQ ID NO: 12 和 SEQ ID NO: 135) 组合的抗体。

35 在一个实施方案中, 本文提供的抗体是一包含 V1W1 (SEQ ID NO: 125

和 SEQ ID NO: 127) 组合的抗体。在一个实施方案中, 本文提供的抗体是一包含 V1W2 (SEQ ID NO: 125 和 SEQ ID NO: 128) 组合的抗体。在一个实施方案中, 本文提供的抗体是一包含 V1W3 (SEQ ID NO: 125 和 SEQ ID NO: 129) 组合的抗体。在一个实施方案中, 本文提供的抗体是一包含 V1W4 (SEQ ID NO: 125 和 SEQ ID NO: 130) 组合的抗体。在一个实施方案中, 本文提供的抗体是一包含 V1W5 (SEQ ID NO: 125 和 SEQ ID NO: 131) 组合的抗体。在一个实施方案中, 本文提供的抗体是一包含 V1W6 (SEQ ID NO: 125 和 SEQ ID NO: 132) 组合的抗体。在一个实施方案中, 本文提供的抗体是一包含 V1W7 (SEQ ID NO: 125 和 SEQ ID NO: 133) 组合的抗体。在一个实施方案中, 本文提供的抗体是一包含 V1W8 (SEQ ID NO: 125 和 SEQ ID NO: 134) 组合的抗体。在一个实施方案中, 本文提供的抗体是一包含 V1W9 (SEQ ID NO: 125 和 SEQ ID NO: 135) 组合的抗体。在一个实施方案中, 本文提供的抗体是一包含 V2W1 (SEQ ID NO: 126 和 SEQ ID NO: 127) 组合的抗体。在一个实施方案中, 本文提供的抗体是一包含 V2W2 (SEQ ID NO: 126 和 SEQ ID NO: 128) 组合的抗体。在一个实施方案中, 本文提供的抗体是一包含 V2W3 (SEQ ID NO: 126 和 SEQ ID NO: 129) 组合的抗体。在一个实施方案中, 本文提供的抗体是一包含 V2W4 (SEQ ID NO: 126 和 SEQ ID NO: 130) 组合的抗体。在一个实施方案中, 本文提供的抗体是一包含 V2W5 (SEQ ID NO: 126 和 SEQ ID NO: 131) 组合的抗体。在一个实施方案中, 本文提供的抗体是一包含 V2W6 (SEQ ID NO: 126 和 SEQ ID NO: 132) 组合的抗体。在一个实施方案中, 本文提供的抗体是一包含 V2W7 (SEQ ID NO: 126 和 SEQ ID NO: 133) 组合的抗体。在一个实施方案中, 本文提供的抗体是一包含 V2W8 (SEQ ID NO: 126 和 SEQ ID NO: 134) 组合的抗体。在一个实施方案中, 本文提供的抗体是一包含 V2W9 (SEQ ID NO: 126 和 SEQ ID NO: 135) 组合的抗体。

在一个实施方式中, 本文所提供的 GIPR 抗体选自鼠源抗体、人源化抗体、嵌合抗体、单克隆抗体、多克隆抗体、重组抗体、抗原结合抗体片段、单链抗体、双链抗体、三链抗体、四链抗体、Fab 片段、F(ab')₂ 片段、结构域抗体、IgD 抗体、IgE 抗体、IgM 抗体、IgG1 抗体、IgG2 抗体、IgG3 抗体、或 IgG4 抗体。

在一个实施方式中, 本文提供的 GIPR 抗体为 GIPR 单克隆抗体。

在另一个实施方式中, 本文提供的 GIPR 抗体为一单克隆抗体, 该单克隆抗体包含一个选自于以下所列的氨基酸序列的组合: SEQ ID NO: 61 与 SEQ ID NO: 72、SEQ ID NO: 62 与 SEQ ID NO: 73、SEQ ID NO: 63 与 SEQ ID NO: 74、SEQ ID NO: 64 与 SEQ ID NO: 74、SEQ ID NO: 65 与 SEQ ID NO:

75、SEQ ID NO: 66 与 SEQ ID NO: 76、SEQ ID NO: 67 与 SEQ ID NO: 77、SEQ ID NO: 68 与 SEQ ID NO: 77、SEQ ID NO: 69 与 SEQ ID NO: 78、SEQ ID NO: 70 与 SEQ ID NO: 79、及 SEQ ID NO: 71 与 SEQ ID NO: 80。

5 在一个实施方式中，本文提供的 GIPR 抗体为鼠源 GIPR 抗体。在另一个实施方式中，本文提供的 GIPR 抗体为人源化 GIPR 抗体。

在一个实施方式中，本文提供的 GIPR 抗体降低人 GIP 信号传导的 IC₅₀ 值为 大约 1 nM 至 大约 200 nM 或大约 1 nM 至大约 100 nM。

抗体和抗体片段

10 在一个实施方案中，本文提供的抗体为完整抗体（包括具有全长重和/或轻链的多克隆、单克隆、嵌合、人源化、或人类抗体）。在另一个实施方案中，本文提供的抗体为抗体片段，列如 F(ab')₂、Fab、Fab'、Fv、Fc、或 Fd 片段，单结构域抗体、单链抗体、最大抗体（maxibodies）、微抗体（minibodies）、内抗体（intrabodies）、二链抗体、三链抗体、四链抗体、v-NAR、或 bis-scFv（参见，例如 Hollinger and Hudson, 2005, *Nature Biotechnology* 15 23:1126-1136）。在另一个实施方案中，本文提供的抗体包括如美国专利号 6703199 中所公开的抗体多肽，包括纤维结合素多肽单抗体。在进一步的实施方案中，本文提供的抗体包括如美国专利出版物 2005/0238646 中所公开的单链多肽。

20 在一个实施方案中，单克隆抗体的基因的可变区是使用核苷酸引物扩增在杂交瘤中表达。这些引物可由本领域普通技术人员合成或从商业来源购买。鼠和人可变区引物包括 V_{Ha}、V_{Hb}、V_{Hc}、V_{Hd}、C_{H1}、V_L、和 C_L 区的引物可从商业来源购买。这些引物可用于扩增重链或轻链可变区，然后将其分别插入载体例如 IMMUNOZAPTMH 或 IMMUNOZAPTML (Stratagene) 中。然后将这些载体引入大肠杆菌、酵母或哺乳动物为基础的表达式系统。这些 25 方法可使用于生产大量包含 V_H 和 V_L 结构域融合的单链蛋白（参见 Bird 等，1988, *Science* 242:423-426）。

本领域技术人员应理解的是一些蛋白质，例如抗体，可能进行可多种转录后修饰。这些修饰的类型和程度取决于用于表达该蛋白的宿主细胞系以及培养条件。该类修饰包括糖基化作用、甲硫氨酸氧化、二酮哌嗪形成、30 天冬氨酸异构化和天冬酰胺脱酰胺作用的变化。抗体的羧端碱性残基（例如赖氨酸或精氨酸）因羧肽酶的频繁修饰作用而可能丢失（参见，Harris, 1995, *Journal of Chromatography* 705:129-134）。

鼠单克隆抗体可使用常用的杂交瘤细胞方法来生产。该单克隆抗体可通过多种已确立的技术分离和纯化。该类分离技术包括蛋白 A-琼脂糖的亲和 35 色谱法、分子排阻色谱法、和离子交换色谱法（参见，例如，Coligan 第

2.7.1-2.7.12 页和第 2.9.1-2.9.3 页; Baines 等, “Purification of Immunoglobulin G(IgG),” *Methods in Molecular Biology*, 第 10 卷, 第 79-104 页 (The Humana Press, Inc., 1992))。该单克隆抗体可使用基于抗体的特殊性质 (例如, 重链或轻链同种型、结合特异性等) 筛选的适当配基通过亲和色谱法来纯化。
5 亲和色谱的适当配基的实例包括蛋白 A、蛋白 G、抗恒定区 (轻链或重链) 抗体、抗独特型抗体以及 TGF- 结合蛋白或其片段或变体。

可使用抗体结合位点中央的互补决定区 (CDRs) 对分子进行亲和力成熟化的改造, 来得到亲和性增加的抗体, 例如针对 c-erbB-2 的亲和性增加的抗体 (Schier 等, 1996, *J. Mol. Biol.* 263:551-567)。因此, 该类技术可用于制备人 GIPR 的抗体。
10

例如可在检测是否存在人 GIPR 的体外或体内测定法中使用针对人 GIPR 的抗体。

也可通过任何传统技术制备抗体。例如, 可从天然表达这些抗体的细胞将其纯化 (例如, 可从生产抗体的杂交瘤将其纯化) 或使用本领域任何已知的技术在重组表达系统中生产。参见, 例如, *Monoclonal Antibodies, Hybridomas: A New Dimension in Biological Analyses*, Kennet 等编辑, Plenum Press (1980); 和 *Antibodies: A Laboratory Manual*, Harlow and Land 编辑, Cold Spring Harbor Laboratory Press (1988)。这在下文的核酸部分讨论。
15

可通过任何已知技术制备抗体并筛选期望性质。一些技术涉及分离编码相关抗体 (例如, 抗 GIPR 抗体) 的多肽链 (或其部分) 的核酸, 并通过重组 DNA 技术操作核酸。该核酸可与另一相关核酸融合或经修饰 (例如通过诱变或其它传统技术) 以添加、缺失或替换一个或多个氨基酸残基。
20

当需要提高根据本文包含一个或多个上述 CDRs 的抗体的亲和性时, 可通过多种亲和成熟方案包括维持 CDRs (Yang 等, 1995, *J. Mol. Biol.* 254: 392-403)、链替换 (Marks 等, 1992, *Bio/Technology* 10:779-783)、使用大肠杆菌的突变株 (Low 等, 1996, *J. Mol. Biol.* 250:350-368) DNA 重排 (Patten 等, 1997, *Curr. Opin. Biotechnol.* 8:724-733)、噬菌体展示 (Thompson 等, 1996, *J. Mol. Biol.* 256:7-88) 以及其它 PCR 技术 (Cramer 等, 1998, *Nature* 391: 288-291)。所有这些亲和力成熟方法讨论于 Vaughan 等, 1998, *Nature Biotechnology* 16:535-539 中。
25
30

在一个实施方案中, 本文提供的抗体为抗 GIPR 片段。该片段可完全由抗体衍生序列组成或可包含附加序列。抗原结合片段的实例包括 Fab、F(ab')₂、单链抗体、双链抗体、三链抗体、四链抗体和结构域抗体, 其它实例提供于 Lunde 等, 2002, *Biochem. Soc. Trans.* 30:500-06。
35

可经氨基酸桥 (短肽接头) 连接重链和轻链可变结构域 (Fv 区) 形成单

链抗体，从而得到单多肽链。已通过将编码肽接头的 DNA 融合在编码两个可变结构域多肽(V_L 和 V_H)的 DNAs 之间制备该单链 Fvs (scFvs)。所得多肽可折叠回自身形成抗原结合单体，或它们可形成多聚体（例如，二聚体、三聚体或四聚体），取决于两个可变结构域之间的柔性接头的长度 (Kortt 等, 1997, *Prot. Eng.* 10:423; Kortt 等 2001, *Biomol. Eng.* 18:95-108)。通过组合包含多肽的不同 V_L 和 V_H ，可形成与不同表型结合的多体 scFvs (Kriangkum 等, 2001, *Biomol. Eng.* 18:31-40)。已研发的用于生产单链抗体的技术包括美国专利号 4946778; Bird, 1988, *Science* 242:423; Huston 等, 1988, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 85:5879-5883; Ward 等, 1989, *Nature* 334:544-546; de Graaf 等, 2002, *Methods Mol Biol.* 178:379-87 申描述的那些。来源于本文提供的抗体的单链抗体包括但不限于包含可变结构域组合 L1H1 的 scFvs，均涵盖于本文。

也可通过抗体的蛋白水解作用例如根据传统方法用胃蛋白酶或木瓜蛋白酶消化完整的抗体获得来源于抗体的抗原结合片段。举例而言，可用胃蛋白酶酶裂解抗体提供称作 $F(ab')_2$ 的 SS 片段生产抗体片段。可使用巯基还原剂进一步裂解这一片段产生 3.5S Fab' 单价片段。可选择的方案有，使用巯基保护基团进行该裂解反应得到二硫键的裂解；另外还可以使用木瓜蛋白酶的酶裂解直接产生两个单价 Fab 片段和一个 Fc 片段。这些方法描述于例如 Goldenberg, 美国专利号 4,331,647, Nisonoff 等, 1960, *Arch. Biochem. Biophys.* 89:230; Porter, 1959, *Biochem. J.* 73:119; Edelman 等, *Methods in Enzymology* 1:422 (Academic Press, 1967); 以及 Andrews 和 Titus, J.A. *Current Protocols in Immunology* (Coligan 等编辑, John Wiley & Sons, 2003), 第 2.8.1-2.8.10 页和第 2.10A.1-2.10A.5 页。其它裂解抗体的方法，例如制备重链以形成单价重、轻链片段(Fd)，进一步裂解片段或也可使用其它酶、化学或基因技术，只要片段与可被该完整抗体识别的抗原结合。

另一种形式的抗体片段为包含一个或多个抗体互补决定区(CDRs)的肽。可通过构建编码相关 CDR 的多肽获得 CDRs。例如可通过使用聚合酶链式反应用抗体生成细胞的 mRNA 作为模板合成可变区制备该类多肽，参见，例如，Larrick 等, 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 等编辑, 166 页 (Cambridge University Press, 1995); 和 Ward 等, "Genetic Manipulation and Expression of Antibodies," *Monoclonal Antibodies: Principles and Applications*, Birch 等编辑, 137 页 (Wiley-Liss, Inc., 1995)。该抗体片段可进一步包含本文所述抗体的至少一个可变结构域。因此，例如，V

区结构域可为单体并且是 V_H 或 V_L 结构域,其可以如下文所述的至少等于 $1 \times 10^{-7}M$ 或更高的亲和力独立与 GIPR 结合。

5 该可变区结构域可为任何天然可变结构域或其基因工程形式。基因工程形式指使用重组 DNA 工程技术生产的可变区结构域。该基因工程形式包括例如通过向特异抗体的氨基酸序列插入、缺失或改变从特异抗体可变区产生的。具体实例包括包含只含一个 CDR 以及任选来自一个抗体的一个或多个框架氨基酸和来自另一抗体的可变区结构域剩余部分,并由基因工程组装成的可变区结构域。

10 可变区结构域可与至少一个其它抗体结构域或其片段在 C 端氨基酸共价连接。因此,举例而言,存在于可变区结构域的 V_H 结构域可与免疫球蛋白 C_{H1} 结构域或其片段相连。相似地, V_L 结构域可与 C_K 结构域或其片段相连。以这种方式,例如,该抗体可为 Fab 片段,其中抗原结合结构域包含它们的 C 端分别与 C_{H1} 和 C_K 结构域共价连接的联合 V_H 和 V_L 结构域。可用其它氨基酸延长 C_{H1} 结构域,例如以提供铰链区或如 Fab' 片段中的部分铰链结构域或提供其它结构域,例如抗体 C_{H2} 和 C_{H3} 结构域。

抗体的衍生物和变体

20 例如可通过随机诱变或通过定点诱变(例如寡聚核苷酸诱导的定点诱变)改变编码对应于氨基酸序列 L1 和 H1 的核苷酸序列以产生与未突变多聚核苷酸相比包含一个或多个具体核苷酸替换、缺失或插入的经改变的多聚核苷酸。用于产生该类改变的技术实例描述于 Walder 等, 1986, Gene 42:133; Bauer 等, 1985, Gene 37:73; Craik, 1985, BioTechniques, 3:12-19; Smith 等, 1981, Genetic Engineering: Principles and Methods, Plenum Press; 以及美国专利号 4518584 和 4737462。这些和其它方法可用于产生例如与未衍生化抗体相比具有期望性质例如亲和性、亲和力或对 GIPR 的特异性增强、体内或体外活性或稳定性增强或体内副作用降低的抗 GIPR 抗体的衍生物。

30 本文领域的其它抗 GIPR 抗体衍生物包括抗 GIPR 抗体或其片段与它蛋白或多肽的共价或聚集结合物,例如通过表达包含与抗 GIPR 抗体多肽的 N 端或 C 端融合的异源多肽的重组融合蛋白。例如,该结合肽可为异源信号(或引导)多肽,例如酵母 α 因子前导肽或例如表位标签的肽。包含融合蛋白的抗体可包含被添加以辅助抗体的纯化或鉴定的肽(例如多聚组氨酸)。抗体也可与 FLAG 肽连接,如 Hopp 等, 1988, Bio/Technology 6:1204 和美国专利 5011912 所述。FLAG 肽具有高抗原性并提供被特异单克隆抗体(mAb)可逆结合的表位,允许已表达重组蛋白的快速检测和方便纯化。可商业购买(Sigma-Aldrich, St. Louis, MO)用于制备其中 FLAG 肽与给定多

肽融合的融合蛋白的试剂，在另一个实施方案中，包含一个或多个抗体的寡聚体可用作 GIPR 拮抗剂或用更高级的寡聚体。寡聚体可以是共价连接的或非共价连接的二聚体、三聚体或更高的寡聚体形式。可使用包含两个或更多个抗体的寡聚体，其中一个实例为同型二聚体。其它寡聚体包括异二聚体、同型三聚体、异三聚体、同型四聚体、杂四聚体等。

一个实施方案是针对包含多个抗体的寡聚体，它们通过与抗体融合的肽部分之间的共价或非共价相互作用连接。该类肽可为肽接头 (spacers) 或具有促进寡聚化作用性质的肽。亮氨酸拉链和某些来源于抗体的多肽为促进抗体寡聚化的肽，如下文详细描述。

在具体的实施方案中，寡聚体包含两个至四个抗体。寡聚体的抗体可为任何形式，如上文所述任何形式，例如变异体或片段。优选地，该寡聚体包含具有 GIPR 结合活性的抗体。

在一个实施方案中，使用来源于免疫球蛋白的多肽制备寡聚体。制备包含一些与抗体衍生多肽 (包括 Fc 结构域) 的不同部位融合的异源多肽已描述于例如 Ashkenazi 等, 1991, PNAS USA 88:10535; Byrn 等, 1990, Nature 344:677; 和 Hollenbaugh 等, Construction of Immunoglobulin Fusion Proteins, Current Protocols in Immunology, Suppl. 4, 第 10.19.1-10.19.11 页。本文的一个实施方案是针对包含两个由融合抗 GIPR 抗体的 GIP 结合片段与抗体的 Fc 区产生的融合蛋白的二聚体。可通过以下方式制备二聚体: 例如在适当的表达载体中插入编码融合蛋白的基因融合, 在用重组表达载体转化的宿主细胞中表达该融合基因并允许已表达融合蛋白像抗体分子一样组装, 其中 Fc 部分之间的链间二硫键形成二聚体。

如本文所使用术语“Fc 多肽”包括来源于抗体 Fc 区的天然和突变蛋白形式的多肽。也包括包含促进二聚体化的铰链区的该类多肽的截短形式。包含 Fc 部分 (以及由其形成的寡聚体) 的融合蛋白提供了在蛋白 A 或蛋白 G 柱子上进行亲和层析法方便纯化的优势。

PCT 申请 W0 93/10151 (以参考形式并于本文) 中一种适当的 Fc 多肽为从 N 端铰链区延伸至人 IgG1 抗体的 Fc 区的天然 C 端的单链多肽。另一种可用的 Fc 多肽为美国专利 5457035 和 Baum 等, 1994, EMBO J. 13:3992-4001 中描述的 Fc 突变蛋白。该突变蛋白的氨基酸序列与 W0 93/10151 中所示天然 Fc 序列的氨基酸序列相同, 除了氨基酸 19 从亮氨酸变为丙氨酸, 氨基酸 20 从亮氨酸变为谷氨酰胺以及氨基酸 22 从甘氨酸变为丙氨酸。该突变蛋白表现出对 Fc 受体的亲和力降低。在其它实施方案中, 抗 GIPR 抗体的重链和/或轻链可被取代为抗体重链和/或轻链的可变部分。

或者, 该寡聚体为包含多个抗体的融合蛋白, 包含或不包含接头肽

(spacer peptides)。这些适当的接头肽描述于美国专利 4751180 和 4935233。

制备寡聚抗体的另一种方法涉及使用亮氨酸拉链。亮氨酸拉链结构域为促进它们所存在的蛋白寡聚化作用的肽。最初发现亮氨酸拉链存在于数种 DNA 结合蛋白中 (Landschulz 等, 1988, Science 240:1759), 此后发现存在于各种不同蛋白中。在已知的亮氨酸拉链中为可二聚体化或三聚体化的天然肽或其衍生物。适用于生产可溶寡聚蛋白的亮氨酸拉链结构域的实例描述于 PCT 申请 W0 94/10308, 来源于肺表面活性蛋白 D (SPD) 的亮氨酸拉链描述于 Hoppe 等, 1994, FEBS Letters 344:191, 以参考形式并于本文。允许与其融合的异源蛋白稳定三聚体化的经修饰的亮氨酸拉链的使用描述于 Fanslow 等, 1994, Semin. Immunol. 6:267-78。在一种方法中, 在适当的宿主细胞中表达包含与亮氨酸拉链肽融合的抗 GIPR 抗体片段或衍生物的重组融合蛋白, 从培养物上清中收集可溶寡聚抗 GIPR 抗体片段或其衍生物。

在另一个实施方案中, 该抗体衍生物可包含至少本文公开的 CDRs 之一。举例而言, 可将一个或多个 CDR 整合入已知的抗体骨架区 (IgG1, IgG2 等) 或与适当的载体结合以增强其半衰期。适当载体包括但不限于 Fc、白蛋白、转铁蛋及类似物质。这些和其它适当的载体为本领域已知。该结合 CDR 肽可为单体、二聚体、四聚体或其它形式。在一个实施方案中, 一个或多个水溶性多聚体在结合剂的一个或多个特异位点结合, 例如在氨基端。在一个实例中, 抗体衍生物包含一个或多个水溶性多聚体附着物包括但不限于聚乙二醇、聚氧乙烯二醇或聚丙二醇。参见, 例如, 美国专利号 4640835、4496689、4301144、4670417、4791192 和 4179337, 在一些实施方案中, 衍生物包含一个或多个一甲氧基。聚乙二醇、葡聚糖、纤维素或其它基于碳水化合物的聚合物, 聚 (N-乙烯基吡咯酮)。聚乙二醇、聚氧乙烯多元醇 (例如甘油) 和聚乙烯醇, 以及该类聚合物的混合物。在一些实施方案中, 一个或多个水溶性聚合物与一个或多个侧链随机结合。在一些实施方案中。PEG 可提高结合剂例如抗体的治疗作用。一些该类方法描述于例如美国专利号 6133426, 其以参考形式以任何目的并于本文。

应当理解的是本文提供的抗体可具有至少一个氨基酸替换, 只要该抗体保留了结合特异性。因此, 抗体结构的修饰包含于本文范畴。这些可包括不破坏抗体 GIPR 结合能力的氨基酸替换, 其可为保守或非保守的。保守氨基酸替换可包括非天然氨基酸残基, 其通常经化学肽合成整合而不是生物系统合成。这些包括拟肽和其它反向或倒转形式的氨基酸部分。保守氨基酸替换也可涉及用非天然残基替换天然氨基酸残基这样对该位点氨基酸残基的极性 or 电荷作用很小或没有作用。非保守替换可涉及一类氨基酸或氨

氨基酸类似物的一个成员与具有不同物理性质（例如，体积、极性、疏水性、电荷）的另一类氨基酸的成员交换。

而且，本领域技术人员可生成在各期望氨基酸残基上包含氨基酸替换的待测变异体。可使用本领域技术人员已知的活性测定法筛选该类变异体。

5 该类变异体可用于收集关于适当变异体的信息。举例而言，如果发现某一氨基酸残基可引起活性破坏、非期望的降低或不当的活性，可避免具有该类变化的变异体。换言之，基于从这些常规试验收集的信息，本领域技术人员可轻松确定应避免进一步替换（单独或与其它突变组合）的氨基酸。

10 技术人员可使用已知技术确定如本文所列的多肽的适当变异体。在一些实施方案中，本领域技术人员可通过靶向对于活性不重要的区域鉴定经改变后不会破坏活性的分子适当区域。在一些实施方案中，可鉴定在相似多肽中保守的残基或分子部分。在一些实施方案中，甚至可保守替换对于生物活性或结构重要的区域而不破坏生物活性或不会有不利作用于多肽结构。此外，本领域技术人员可考察结构、功能研究鉴定对活性或结构重要的相似多肽中的残基。鉴于这一对比，可预测对应于在相似蛋白中对活性或结构重要的氨基酸残基的蛋白质中氨基酸残基的重要性。本领域技术人员可为这些经预测重要的氨基酸残基选择化学相似氨基酸替换。

本领域技术人员也可分析与相似多肽的结构相关的三维结构和氨基酸序列。鉴于该类信息，本领域技术人员可预测就三维结构而言抗体的氨基酸残基比对。在一些实施方案中，本领域技术人员可选择不对经预测在蛋白质表面的氨基酸残基进行显著改变，因为该类残基可能参与与其它分子的重要相互作用。许多科学出版物致力于二级结构的预测。参见，Moult, 1996, *Curr. Op. Biotech.* 7:422-427, Chou 等, 1974, *Biochemistry* 13:222-245; Chou 等, 1974, *Biochemistry* 113:211-222; Chou 等, 1978, *Adv. Enzymol. Relat. Areas Mol. Biol.* 47:45-148; Chou 等, 1979, *Ann. Rev. Biochem.* 47:251-276 和 Chou 等, *Biophys. J.* 26:367-384。此外，目前可使用计算机程序辅助预测二级结构。举例而言，序列同一性大于 30% 或相似性大于 40% 的两个多肽或蛋白质通常具有相似的高级结构。近期蛋白结构数据库(PDB)的增长增强了二级结构的可预测性，包括多肽或蛋白结构中潜在的折叠数量。参见，30 Holm 等, 1999, *Nucl. Acid. Res.* 27:244-247。已表明 (Brenner 等, 1997, *Curr. Op. Struct. Biol.* 7:369-376) 在给定多肽或蛋白质中存在有限数量的折叠并且一旦确定了临界数量的结构，结构预测将变得显著更加精确。

35 预测二级结构的其它方法包括“穿接 (threading)” (Jones, 1997, *Curr. Opin. Struct. Biol.*, 7:377-87; Sippl 等, 1996, *Structure* 4:15-19; “图谱分析 (profile analysis)” (Bowie 等, 1991, *Science* 253:164-170; Gribskov 等,

1990, Meth. Enzym. 183:146-159; Gribskov 等, 1987, Proc. Nat. Acad. Sci. USA 84:4355-4358 和“进化联系 (evolutionary linkage)” (参见 Holm, supra (1999), and Brenner, supra (1997))。在一些实施方案中, 抗体变体包括糖基化变体, 其中与母体多肽的氨基酸序列相比改变了糖基化位点的数量和/或类型。在一些实施方案中, 变体与天然蛋白质相比具有更多或更少数量的 N 连接糖基化位点。或者, 去除该序列的替换可移除现有的 N 连接糖链。也提供了 N 连接糖链的重排, 其中去除了一个或多个 N 连接糖链位点 (通常为天然存在的那些) 并创造了一个或多个新的 N 连接位点。其它优选抗体变体包括半胱氨酸变体, 与母体氨基酸序列相比其中缺失或由另一氨基酸 (例如丝氨酸) 替换一个或多个半胱氨酸残基。当抗体必须折叠成生物活性构象时 (例如在分离可溶包涵体之后) 可用半胱氨酸变体。半胱氨酸变体通常比天然蛋白质具有较少的半胱氨酸残基, 并通常具有偶数个半胱氨酸以最小化未配对半胱氨酸引起的相互作用。

本领域技术人员可在需要该类替换时确定期望的氨基酸替换 (保守或非保守)。在一些实施方案中, 氨基酸替换可用于鉴定人 GIPR 抗体的重要残基或者增加或降低本文所述人 GIPR 抗体的亲和力。

根据一些实施方案, 优选的氨基酸替换为以下: (1) 降低蛋白质水解敏感性, (2) 降低氧化敏感性, (3) 改变形成蛋白质复合物的结合亲和力, (4) 改变结合亲和力和/或 (4) 赋予或修饰该类多肽上的其它物理化学或功能性质。根据一些实施方案, 可在天然存在序列中 (在一些实施方案中, 在形成分子间接触的结构域之外的多肽部分) 进行单个或多个氨基酸替换 (在一些实施方案中为保守氨基酸替换)。在一些实施方案中, 保守氨基酸替换通常不会本质上改变母体序列的结构特性 (例如, 替换氨基酸不应破解存在于母体序列中的螺旋或干扰特征化母体序列的其它类型二级结构)。本领域认可的多肽二级和三级结构的实例描述于 Proteins, Structures and Molecular Principles, Creighton 编辑, W.H. Freeman and Company (1984); Introduction to Protein Structure, Branden and Tooze 编辑, Garland Publishing (1991); 以及 Thornton 等, 1991, Nature 354:105, 其以参考形式并于本文。

在一些实施方案中, 本文提供的抗体可与多聚体、脂类或其它部分 (moieties) 化学键合。

抗原结合试剂可包含至少一个本文描述的 CDRs, 其掺入生物相容性骨架结构中。在一个实例中, 该生物相容性骨架结构包含足以形成构象稳定结构支持或骨架或支架的多肽或其部分, 其可在局限的表面区域展示可与抗原结合的一个或多个氨基酸序列 (例如, CDRs、可变区等)。该类结构可为天然存在多肽或多肽“折叠” (结构基序), 或相对与天然多肽或折叠可

具有一个或多个修饰，例如氨基酸添加、缺失或替换。这些支架可来源于任何物种（或多于一个物种）的多肽，例如，人类、其它哺乳动物、其它脊椎动物、无脊椎动物、细菌或病毒。

5 生物可溶性骨架结构通常是基于蛋白质支架或骨架而不是免疫球蛋白结构域。举例而言，可使用基于纤维结合素、锚蛋白、脂质运载蛋白 (lipocalin)、新抑癌蛋白、细胞色素 b、CP1 锌指蛋白、PST1、卷曲螺旋、LACI-D1、Z 结构域和淀粉酶抑制肽结构域(参见,例如,Nygren 和 Uhlen, 1997, Current Opinion in Structural Biology 7:463-469)。

此外，本领域技术人员可认识到适当的结合剂包括这些抗体的部分，例如一个或多个重链 CDR1、CDR2、CDR3，轻链 CDR1、CDR2 和 CDR3，如本文所具体公开。至少一个重链 CDR1、CDR2、CDR3、CDR1，CDR2 和 CDR3 区具有至少一个氨基酸替换，只要该抗体保留了非替换 CDR 的结合特异性。该抗体的非 CDR 部分可为非蛋白分子，其中该结合剂交叉阻断本文公开的抗体与人 GIPR 的结合和/或抑制经该受体的 GIP 的信号传导。
15 该抗体的非 CDR 部分可为非蛋白质分子，其中该抗体在竞争结合测定法中显示出与至少抗体 L2H2/L6H5 之一所显示相似的与人 GIP 肽的结合类型，和/或中和 GIP 的活性。抗体的非 CDR 部分可由氨基酸组成，其中该抗体为重组结合蛋白或合成肽，并且该重组结合蛋白交叉阻断本文公开的抗体与人 GIPR 的结合和/或中和体内或体外 GIP 活性。抗体的非 CDR 部分可由氨基酸组成，其中该抗体为重组抗体，并且该重组抗体在竞争结合测定法中显示出与至少抗体 L2H2/L6H5 之一所显示相似的与人 GIPR 肽的结合类型，和/或中和 GIP 信号传导。

GIPR 抗体与 GLP-1 或反向 GLP-1 的融合蛋白质

在一个实施方案中，本文提供了一个 GIPR 抗体与 GLP-1 的融合蛋白质，其包含一个能与 GIPR 特异性结合的抗体，和一个，二个，三个，四个，五个，六个，七个，或八个 GLP-1 片段或反向 GLP-1 片段；该融合蛋白质通过一肽接头序列(Linker)将一 GLP-1 片段的羧基端与一 GIPR 抗体轻链或重链的氨基端连接，或者将一反向 GLP-1 片段的氨基端与一 GIPR 抗体轻链或重链的羧基端连接。

30 在另一个实施方案中，本文提供了一个 GIPR 抗体与 GLP-1 的融合蛋白质，其包含一个能与 GIPR 特异性结合的抗体，和一个，二个，三个，四个，五个，六个，七个，或八个 GLP-1 片段；该融合蛋白质通过一肽接头序列(Linker)将一 GLP-1 片段的羧基端与一 GIPR 抗体轻链或重链的氨基端连接。

35 在另一个实施方案中，本文提供了一个 GIPR 抗体与 GLP-1 的融合蛋白质，其包含一个能与 GIPR 特异性结合的抗体，和一个，二个，三个，四个，

五个, 六个, 七个, 或八个反向 GLP-1 片段; 该融合蛋白质通过一肽接头序列(Linker)将一反向 GLP-1 片段的氨基端与一 GIPR 抗体轻链或重链的羧基端连接。

5 在另一个实施方案中, 本文提供了一个 GIPR 抗体与 GLP-1 的融合蛋白质, 其包含一个与 GIPR 特异性结合的抗体, 和一个, 二个, 三个, 或四个 GLP-1 片段; 该融合蛋白质通过一个肽接头序列(Linker)将一反向 GLP-1 片段的羧基端与一 GIPR 抗体轻链或重链的氨基端连接。

10 在另一个实施方案中, 本文提供了一个 GIPR 抗体与 GLP-1 的融合蛋白质, 其包含一个能与 GIPR 特异性结合的抗体, 和一个, 二个, 三个, 或四个反向 GLP-1 片段; 该融合蛋白质通过一个肽接头序列(Linker)将一反向 GLP-1 片段的氨基端与一 GIPR 抗体轻链或重链的羧基端连接。

15 在另一个实施方案中, 本文提供了一个 GIPR 抗体与 GLP-1 的融合蛋白质, 其包含一个能与 GIPR 特异性结合的抗体, 和二一个 GLP-1 片段; 该融合蛋白质通过一个肽接头序列(Linker)将一反向 GLP-1 片段的羧基端与一 GIPR 抗体轻链或者重链的氨基端连接。

在另一个实施方案中, 本文提供了一个 GIPR 抗体与 GLP-1 的融合蛋白质, 其包含一个能与 GIPR 特异性结合的抗体, 和二一个反向 GLP-1 片段; 该融合蛋白质通过一个肽接头序列(Linker)将一反向 GLP-1 片段的氨基端与一 GIPR 抗体轻链或者重链的羧基端连接。

20 在另一个实施方案中, 本文提供了一个 GLP-1 融合蛋白质, 其包含一个 GIPR 抗体和二一个 GLP-1 片段; 该融合蛋白质通过一个肽接头序列(Linker)将一反向 GLP-1 片段的羧基端与一 GIPR 抗体轻链的氨基端连接: N'-GLP-1-Linker-R-C'; 或者将一反向 GLP-1 片段的羧基端和一 GIPR 抗体重链的氨基端连接: N'-GLP-1-Linker-R-C'; 其中: N' 代表融合蛋白质多肽链的氨基端, C' 代表融合蛋白质多肽链的羧基端, GLP-1 代表一反向 GLP-1 片段, R 为一 GIPR 抗体的轻链或者重链的氨基酸序列, 及 Linker 代表一肽接头序列。

30 另一个实施方案中, 本文提供了一个 GLP-1 融合蛋白质, 其包含一个 GIPR 抗体和二一个反向 GLP-1 片段; 该融合蛋白质通过一个肽接头序列(Linker)将一反向 GLP-1 片段的氨基端与一 GIPR 抗体轻链的羧基端连接: N'-R-Linker-反向 GLP-1-C'; 或者将一反向 GLP-1 片段的氨基端和一 GIPR 抗体重链的羧基端连接: N'-R-Linker-反向 GLP-1-C'; 其中: N' 代表融合蛋白质多肽链的氨基端, C' 代表融合蛋白质多肽链的羧基端, 反向 GLP-1 代表一反向 GLP-1 片段, R 为一 GIPR 抗体的轻链或者重链的氨基酸序列, 及
35 Linker 代表一肽接头序列。

在进一步的实施方案中，本文提供了一个 GLP-1 融合蛋白质，其包含一个 GIPR 抗体和二一个 GLP-1 片段；该融合蛋白质通过一个肽接头序列(Linker) 将一 GLP-1 片段的羧基端与 GIPR 抗体轻链的氨基端连接：N'-GLP-1-Linker-R-C'；其中：N' 代表融合蛋白质多肽链的氨基端，C' 代表融合蛋白质多肽链的羧基端，GLP-1 代表一 GLP-1 片段，R 为一 GIPR 抗体的轻链的氨基酸序列，及 Linker 代表一肽接头序列。

在一实施方案中，在本文提供的 GLP-1 融合蛋白质中，所述的 GLP-1 片段各自独立地选自于以下之一的氨基酸序列：SEQ ID NO: 105、SEQ ID NO: 106、SEQ ID NO: 107、SEQ ID NO: 108、及 SEQ ID NO: 109。在一实施方案中，在本文提供的 GLP-1 融合蛋白质中，所述的反向 GLP-1 片段各自独立地选自于以下之一的氨基酸序列：SEQ ID NO: 119、SEQ ID NO: 120、SEQ ID NO: 121、SEQ ID NO: 122、及 SEQ ID NO: 123。

在一实施方案中，在本文提供的 GLP-1 融合蛋白质中，所述的肽接头(Linker)的序列自独立包含从 1 个至 200 个氨基酸胺，从 2 个至 100 个氨基酸胺，从 5 个至 50 个氨基酸胺，从 6 个至 25 个氨基酸胺，或从 10 个至 20 个氨基酸胺。

在另一个实施方案中，在本文提供的 GLP-1 融合蛋白质中，所述的肽接头(Linker)的序列各自独立地选自于以下的氨基酸序列：SEQ ID NO: 110、SEQ ID NO: 111、及 SEQ ID NO: 112。

核酸

一方面，本文提供分离的核酸分子。该核酸分子包含例如编码全部或部分抗体的多聚核苷酸，例如本文抗体或 GLP-1 融合蛋白质的一条链或两条链，或其片段、衍生物、突变蛋白或变体；足以用作杂交探针的多聚核苷酸；PCR 引物或用于鉴定、分析、突变或扩增编码多肽的多聚核苷酸的测序引物；用于抑制多聚核苷酸表达的反义核酸以及其互补序列。该核酸可为任何长度。例如它们的长度可为 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、5000 或更多个核苷酸，和/或包含一个或多个附加序列，例如调控序列，和/或是较大核酸例如载体的一部分。该核酸可为单链或双链并包含 RNA 和/或 DNA 核苷酸以及其人工变体（例如，肽核酸）。

可从经 GIPR 抗原免疫的小鼠 B 细胞中分离编码抗体多肽（例如，重链或轻链、仅可变结构域或全长）的核酸。可通过常规方法例如聚合酶链式反应(PCR)分离抗体或 GLP-1 融合蛋白质的核酸。

编码重链和轻链可变区的核酸序列如上文所示。熟练的技术人员可理解由于遗传密码的简并性，本文公开的各多肽序列可由更多数量的其他核酸

序列编码。本文提供编码本文提供的抗体或 GLP-1 融合蛋白质的各简并核苷酸序列。

本文进一步提供在具体杂交条件下与其他核酸（例如，包含任何 L2H2/L6H5 的核苷酸序列的核酸）杂交的核酸。杂交核酸的方法为本领域熟知。参见，例如，*Current Protocols in Molecular Biology*, John Wiley & Son (1989), 6.3.1-6.3.6。如本文定义，例如，中等严格条件使用包含 5x 氯化钠/柠檬酸钠 (SSC) 的预洗溶液、0.5% SDS、1.0 mM EDTA (pH 8.0)、约 50% 甲酰胺的杂交缓冲液、6x SSC 和 55°C 的杂交温度（或其他相似的杂交溶液，例如包含约 50% 甲酰胺的，以 42°C 杂交），并且洗脱条件为 60°C，使用 0.5x SSC、0.1% SDS。严格杂交条件在 6x SSC 中于 45°C 杂交，然后于 68°C 在 0.1x SSC、0.2% SDS 中洗涤一次或多次。此外，本领域技术人员可操作杂交和/或洗涤条件以增加或降低杂交严格度这样包含相互之间至少 65、70、75、80、85、90、95、98 或 99% 同源的核苷酸序列的核酸通常仍可以相互杂交。影响杂交条件选择的基本参数和设计适当条件的指导列于例如 Sambrook, Fritsch 和 Maniatis, 1989, *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, 第 9 和 11 章; *Current Protocols in Molecular Biology*, 1995, Ausubel 等编辑, John Wiley & Sons, Inc., 第 2.10 和 6.3-6.4 节) 并可由具有本领域普通技术的人员基于例如 DNA 的长度和/或碱基组成轻松确定。可通过突变在核酸中引入变化，藉此导致其编码的多肽（例如，抗原结合蛋白）氨基酸序列的变化。可使用本领域已知的任何技术引入突变。在一个实施方案中，使用例如定点诱变方案改变一个或多个具体氨基酸残基。在另一个实施方案中，使用例如随机诱变方案改变一个或多个随机选择的残基。无论其如何生成，可表达突变多肽并筛选期望性质。

可将突变引入核酸而不显著改变其编码多肽的生物学活性。例如，可进行引起非必需氨基酸残基处氨基酸替换的核苷酸替换。在一个实施方案中，突变本文为 L1 至 L11 和 H1 至 H9 或 GLP-1 融合蛋白质提供的核苷酸序列或其片段、变体或衍生物这样其编码包含本文所示 L1 至 L11 和 H1 至 H9 的氨基酸残基的一个或多个缺失或替换，成为两个或多个序列相异的残基。在另一个实施方案中，诱变作用在本文所示 L1 至 L11 和 H1 至 H9 或 GLP-1 融合蛋白质的一个或多个氨基酸残基附近插入一个氨基酸成为两个或多个序列相异的残基。或者，可将一个或多个突变引入核酸以选择性改变其编码多肽的生物学活性（例如，与 GIPR 结合）。例如，该突变可在数量上或性质上改变生物学活性。量变的实例包括增加、降低或消除该活性。质变的实例包括改变抗体或 GLP-1 融合蛋白质的抗原特异性。

在另一方面，本文提供适于用做引物或检测本文核酸序列的杂交探针的核酸分子。本文的核酸分子可仅包含编码本文全长多肽的核酸序列的一部分，例如，可用作探针或引物或编码本文多肽活性部分的片段（例如，GIPR结合部分）的片段。

5 基于本文核酸序列的探针可用于检测该核酸或相似核酸，例如编码本文多肽的转录物。该探针可包含标记基团，例如放射性同位素、荧光化合物、酶或酶辅因子。该类探针可用于鉴定表达该多肽的细胞。

在另一方面本文提供包含编码本文多肽或其部分的核酸的载体。载体的实例包括但是不限于质粒、病毒载体、非游离基因哺乳动物载体和表达载体，
10 例如重组表达载体。

本文的重组表达载体可包含适于该核酸在宿主细胞中表达的形式本文核酸。该重组表达载体包括一个或多个调控序列，基于用于表达的宿主细胞进行筛选，其与该预表达的核酸序列可操作性相连。调控序列包括引导核苷酸序列在多个种类宿主细胞中组成型表达的（例如，SV40 早期基因
15 增强剂、劳斯氏肉瘤病毒启动子和细胞巨化病毒启动子），引导仅在某些宿主细胞中核苷酸序列的表达的（例如，组织特异调控序列，参见 Voss 等，1986，Trends Biochem. Sci. 11:287，Maniatis 等，1987，Science 236:1237，其完整内容以参考形式并于本文）以及引导核苷酸序列响应具体处理或条件的诱导型表达的（例如，哺乳动物细胞中的金属硫蛋白启动子和原核和真
20 核系统二者中的四环霉素反应（tet-responsive）启动子和/或链霉素反应启动子（同前）。本领域技术人员应理解表达载体的设计取决于例如用于转化的宿主细胞的选择、所需蛋白表达水平等因素。本文的表达载体可引入宿主细胞，藉此生产由本文所述核酸编码的蛋白或肽，包括融合蛋白或肽。

另一方面，本文提供可引入本文表达载体的宿主细胞。宿主细胞可为任
25 何原核或真核细胞。原核宿主细胞包括革兰氏阴性或革兰氏阳性生物体，例如大肠杆菌或杆菌。更高级的真核细胞包括昆虫细胞、酵母细胞以及哺乳动物源的确立细胞系。适当哺乳动物宿主细胞系的实例包括中国仓鼠卵巢
巢（CHO）细胞或它们的衍生物例如 Veggie CHO 和在无血清培养基中生长的
30 相关细胞系（参见 Rasmussen 等，1998，Cytotechnology 28:31）或 CHO 株 DXB-11，其缺失 DHFR（参见 Urlaub 等，1980，Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77:4216-20）。其它 CHO 细胞系包括 CHO-K1（ATCC #CCL-61）、EM9（ATCC #CRL-1861），和 UV20（ATCC# CRL-1862），其它宿主细胞包括猴肾细胞的 COS-7 系（ATCC #CRL-1651）（参见 Gluzman 等，1981，Cell 23:175）、
L 细胞、C127 细胞、3T3 细胞（ATCC CCL-163），AM-1/D 细胞（描述于
35 美国专利序列号 6210924）、HeLa 细胞、BHK（ATCC CRL-10）细胞系、

来源于非洲绿猴肾细胞系 CV1 的 CV1/EBNA 细胞系 (ATCC CCL-70) (参见 McMahan 等, 1991, EMBO J. 10:2821)、人胚肾细胞例如 293, 293 EBNA 或 MSR 293、人上皮 A431 细胞、人 C010205 细胞、其它经转化灵长动物细胞系、正常二倍体细胞、来源于初生组织体外培养物的细胞株、初移植体、HL-60、U937、HaK 或 Jurkat 细胞。用于细菌、真菌、酵母和哺乳细胞宿主的适当克隆和表达载体描述于 Pouwels 等 (Cloning Vectors: A Laboratory Manual, Elsevier, 1985)。

可通过传统转化或转染技术将载体 DNA 引入原核或真核细胞中。对于稳定的哺乳动物转染而言, 取决于使用的表达载体和转染技术, 已知只有一小部分细胞可将外源 DNA 整合入它们的基因组中。为了鉴定和筛选这些整合子, 通常将编码筛选标记 (例如抗生素抗性) 的基因与所关注基因一起引入宿主细胞。优选的筛选标记包括可赋予药物 (如 G418、潮霉素和甲氨喋呤) 抗性的那些。在其它方法中可通过药物筛选鉴别包含被引入核酸的稳定转染细胞 (例如, 整合了筛选基因的细胞可存活, 而其它细胞则死亡)。

可在提高多肽表达的条件下培养已转化细胞, 可通过常规蛋白纯化方法回收多肽。一种该纯化方法描述于下文实施例。预用于本文的多肽包括基本同源的重组哺乳动物抗 GIPR 抗体或 GLP-1 融合蛋白质多肽, 其基本不含污染性内源材料。

GIPR 抗体的活性

GIPR 抗体的活性是指本文提供的抗体具有与 GIPR 特异性结合, 抑制或者阻断 GIP 信号传导后显示出的治疗性生物作用, 例如治疗肥胖症、二型糖尿病、和/或非酒精性脂肪性肝炎。术语“降低 GIP 信号传导的生物学活性”或者“抑制或阻断 GIP 信号传导的生物学活性”指 GIPR 抗体或其与 GLP-1 融合蛋白质在体内与 GIPR 结合并抑制或者阻断 GIP 引起该受体下游的细胞应急反应。反应包括但是不限于提高胰岛素分泌、促进脂肪储存、及抑制脂肪分解。在一个实施方案中, 本文提供了能与 GIPR 特异性结合的鼠源抗体或人源化抗体。该类抗体包括可减少或中和 GIP 信号传导的拮抗或中和抗体。

在一个实施方案中, 本文提供的抗体与人 GIPR 结合时的 K_d 为大约 0.01 nM 至大约 1000 nM、大约 0.1 nM 至大约 500 nM、大约 0.5 nM 至大约 200 nM、大约 1 nM 至大约 200 nM、或大约 10 nM 至大约 100 nM。在另一个实施方案中, 本文提供的抗体与人 GIPR 结合时的 K_d 为大约 1 nM 至大约 200 nM。在另一个实施方案中, 本文提供的抗体与人 GIPR 结合时的 K_d 为大约 1 nM 至大约 100 nM。在另一个实施方案中, 本文提供的抗体与人 GIPR

结合时的 K_d 为大约 1 nM、大约 2 nM、大约 5 nM、大约 10 nM、大约 20 nM、大约 30 nM、大约 40 nM、大约 50 nM、大约 60 nM、大约 70 nM、大约 80 nM、大约 90 nM、或大约 100 nM。

5 在一个实施方案中，本文提供的抗体在降低人 GIP 信号传导的 IC_{50} 值为大约 0.01 nM 至大约 500 nM、大约 0.1 nM 至大约 200 nM、大约 0.5 nM 至大约 200 nM、大约 1 nM 至大约 200 nM、或大约 10 nM 至大约 100 nM。在另一个实施方案中，本文提供的抗体在降低人 GIP 信号传导的 IC_{50} 值为大约 1 nM 至大约 200 nM。在另一个实施方案中，本文提供的抗体在降低人 GIP 信号传导的 IC_{50} 值为大约 10 nM 至大约 100 nM。在另一个实施方案中，本文提供的抗体在降低人 GIP 信号传导的 IC_{50} 值为大约 1 nM、大约 2 nM、大约 5 nM、大约 10 nM、大约 20 nM、大约 30 nM、大约 40 nM、大约 50 nM、大约 60 nM、大约 70 nM、大约 80 nM、大约 90 nM、或大约 100 nM。

15 在一个实施方式中，本文提供的 GIPR 抗体与人 GIPR 结合时，具有一个或多个以下所列的性质：

- a. 当与人 GIPR 结合时以与所述参比抗体基本类似的 K_d ；
- b. 当抑制人 GIPR 的 GIP 激活时以与所述参比抗体基本类似的 IC_{50} ；和
- c. 在人 GIPR 上与所述参比抗体交叉竞争结合。

20 在另一个实施方式中，本文所述的 GIPR 抗体是一抗体具有一个或多个以下所列的性质：

- a. 当与人 GIPR 结合时，其 K_d 与一参比 GIPR 抗体相同或更优；
- b. 当抑制人 GIPR 的 GIP 激活时，其 IC_{50} 与一参比 GIPR 抗体相同或更优；和
- c. 该 GIPR 抗体在人 GIPR 上，与一参比 GIPR 抗体交叉竞争结合。

25 在一个实施方式中，所述参比抗体包含轻链可变结构域氨基酸序列 SEQ ID NO: 66 和重链可变结构域氨基酸序列 SEQ ID NO: 76 的组合。

在一个实施方式中，所述参比抗体包含轻链可变结构域氨基酸序列 SEQ ID NO: 68 和重链可变结构域氨基酸序列 SEQ ID NO: 77 的组合。

30 在另一实施方式中，所述参比抗体为单克隆抗体 L2H2、L6H5、或 L10H8。

35 在本文中，术语“基本相似”意为与参比抗体的 IC_{50} 或 K_d 可比或是参比抗体的 IC_{50} 或 K_d 值的大约 200%、大约 180%、大约 160%、大约 150%、大约 140%、大约 120%、大约 110%、大约 100%、大约 99%、大约 98%、大约 97%、大约 95%、大约 90%、大约 85%、大约 80%、大约 75%、大约 70%、大约 65%、或大约 50%。在一个实施方案中，参比抗体包括，例如，具有

轻链 SEQ ID NO: 66 和重链 SEQ ID NO: 76 组合的抗体。在另一个实施方案中，参比抗体包括 GIPR 抗体 L2H2、L6H5、或 L10H8。

GIPR 抗体与 GLP-1 的融合蛋白质的生物学活性

GIPR 抗体与 GLP-1 的融合蛋白质的生物学活性包含 GLP-1 的生物学活性和 GIPR 抗体活性两个方面。GIPR 抗体的活性如前文所述。“GLP-1 生物学活性”指 GIPR 抗体与 GLP-1 的融合蛋白质在体内结合并激活 GLP-1 受体并引起细胞应激反应，并显示出治疗作用的生物学活性，例如肥胖症、二型糖尿病、或非酒精性脂肪性肝炎。前述细胞应激反应包括但不限于提高胰岛素的分泌、胰高血糖素分泌的抑制，抑制食欲、体重减轻、诱导过饱、抑制凋亡、诱导胰腺 细胞增殖、及胰腺 细胞分化。综合了 GLP-1 和 GIPR 抗体的生物学活性，本文所述的 GLP-1 的融合蛋白质可以用于治疗多种与 GLP-1R 和 GIPR 相关联的疾病和病症。该融合蛋白质通过作用于 GLP-1R 和/或 GIPR 发挥其生物学作用，因此可以用本文所述的 GLP-1 融合蛋白质治疗对“增加 GLP-1R 刺激”或对“降低 GIPR 刺激”做出有利应答的疾病和病症的受试者。这些受试者称为“需要 GLP-1R 刺激治疗”或“需要降低 GIPR 刺激”的受试者。包括非胰岛素依赖性糖尿病、胰岛素依赖性糖尿病、中风(GLP-1R 参见 WO 00/16797)、心肌梗死(GLP-1R 参见 WO 98/08531)、肥胖(GLP-1R 参见 WO 98/19698; GIPR 参见 Furija 等, 2008, PLoS ONE 3:e3163; US 2017/0275370 A1)、手术后分解代谢改变(GLP-1R 参见 US 6,006,753)、功能性消化不良和肠易激综合征(GLP-1R 参见 WO99/64060)、肝脏脂肪变性(GIPR 参见 US 2017/0275370A1)、非酒精性脂肪性肝病 (GLP-1R 参见 Debra 等, 2016, Hepatobiliary Surg Nutr, 5:515–518; GIPR 参见 US 2017/0275370 A1)、非酒精性脂肪性肝炎 (GLP-1 参见 Armstrong 等, 2013, BMJ Open. 3:e003995; GIPR 参见 US 2017/0275370 A1), 也包括具有发展为非胰岛素依赖性糖尿病危险的受试者(参见 WO 00/07617), 糖耐量损伤或空腹葡萄糖损伤的受试者、体重对于受试者身高和体重高出正常体重约 25% 的受试者、部分胰脏切除的受试者。

在一个实施方案中，GIPR 抗体或其与 GLP-1 融合蛋白质的生物学活性变化是用直接 cAMP 检测方法检测的，量化 GIPR 抗体或 GLP-1 融合蛋白质在体外抑制 GIPR 的功能。

药物组合物

在一个实施方案中，本文提供了一药物组合物，其中包含本文提供的一个 GIPR 抗体及一种或多种可药用载体。

在另一个实施方案中，本文提供了一药物组合物，其包括本文提供的一个 GIPR 抗体与 GLP-1 的融合蛋白质，与一种或多种可药用载体。

本文所使用的术语“载体”包括载体、药用辅料或者在使用的剂量和浓度下将细胞或哺乳动物暴露于其中无害的稳定剂。

治疗方法

5 在一个实施方案中，本文提供了治疗、预防、或改善二型糖尿病的方法，其包括给予受试者治疗有效量的本文提供的 GIPR 抗体或其药用组合物。

在另一个实施方案中，本文提供了治疗、预防、或改善非酒精性脂肪性肝病的方法，其包括给予受试者治疗有效量的本文提供的 GIPR 抗体，或其药用组合物。

10 在另一个实施方案中，本文提供了治疗、预防、或改善非酒精性脂肪性肝病的方法，其包括给予受试者治疗有效量的本文提供的 GIPR 抗体与 GLP-1 的融合蛋白质，或其药用组合物。

在另一个实施方案中，本文提供了治疗、预防、或改善非酒精性脂肪性肝炎的方法，其包括给予受试者治疗有效量的本文提供的 GIPR 抗体，或其药用组合物。

15 在另一个实施方案中，本文提供了治疗、预防、或改善非酒精性脂肪性肝炎的方法，其包括给予受试者治疗有效量的本文提供的 GIPR 抗体与 GLP-1 的融合蛋白质，或其药用组合物。

20 在另一个实施方案中，本文提供了治疗、预防、或改善二型糖尿病的方法，其包括给予受试者治疗有效量的本文提供的 GIPR 抗体，或其药用组合物。

在另一个实施方案中，本文提供了治疗、预防、或改善二型糖尿病的方法，其包括给予受试者治疗有效量的本文提供的 GIPR 抗体与 GLP-1 的融合蛋白质，或其药用组合物。

25 在另一个实施方案中，本文提供了治疗、预防、或改善肥胖症的方法，其包括给予受试者治疗有效量的本文提供的 GIPR 抗体，或其药用组合物。

在进一步的实施方案中，本文提供了治疗、预防、或改善肥胖症的方法，其包括给予受试者治疗有效量的本文提供的 GIPR 抗体与 GLP-1 的融合蛋白质，或其药用组合物。

30 在本文提供的任意一项用途，其所述的药用组合物是用于静脉或皮下注射。

本文中，术语“受试者”指哺乳动物，包括人类，可与术语“患者”交替使用。

35 术语“治疗”包括减轻或预防至少一种症状或病症的其它方面，或者减轻疾病严重性。本文提供的 GIPR 抗体或 GIPR 抗体与 GLP-1 的融合蛋白质不需要产生完全治愈的效果，或根除疾病的所有症状或表现，即可构成有效

治疗剂。如相关领域所公认，作为治疗剂的药物可减少给定疾病状态的严重程度，但不需消除疾病的所有表现即可被认为是有效的治疗剂。相似地，预防给药治疗不需在预防症状出现上完全有效即可构成有效预防剂。只减少疾病的影响（例如，通过减少其症状的数量或严重程度，或通过提高另一治疗剂，或通过产生另一有效作用），或者减少受试者中疾病发生或加重的可能性就已经足够。本文的一个实施方案涉及包含以足以诱导反应具体病症严重性的指示剂高于基线水平的持续改善的量和时间给予患者 GIPR 抗体或 GIPR 抗体与 GLP-1 融合蛋白质的方法。

GIPR 抗体或 GIPR 抗体与 GLP-1 的融合蛋白质药物组合物可采用任意适当技术包括但不限于肠道外、局部或吸入给药。如果是注射，可通过例如关节内、静脉内、肌肉内、损伤区内、腹膜内或皮下途径，以快速注射或连续输注给予药用组合物。可考虑例如在疾病或损伤部位局部给药，如透皮给药和埋植剂持续释放给药。吸入给药包括例如鼻腔或口腔吸入、采用喷雾剂、以气雾剂形式吸入抗体等等。其它选择包括口腔制剂包括片剂、糖浆剂或锭剂。

以包含一个或更多其它组分例如生理学可接受载体、辅料或稀释剂的组合物形式给予本文提供的 GIPR 抗体或 GLP-1 融合蛋白质是有利的。组合物可任选额外包含一个或更多如下所述的生理学活性剂。在多个具体实施方案中，组合物包含除一个或更多本文提供的抗体（例如鼠源抗体或人源化抗体）或 GLP-1 融合蛋白质之外的一个、两个、三个、四个、五个或六个生理学活性剂。

在一个实施方案中，药物组合物包含本文提供的鼠源抗体或人源化抗体或 GLP-1 融合蛋白质以及一个或更多选自以下的物质：pH 适合于抗体或 GLP-1 融合蛋白质的缓冲液、抗氧化剂例如抗坏血酸、低分子量多肽（例如含少于 10 个氨基酸的多肽）、蛋白质、氨基酸、糖例如糊精、络合物例如 EDTA、谷胱甘肽、稳定剂和辅料。根据适当工业标准，也可加入防腐剂。可使用适当辅料溶液作为稀释剂将组合物配制成冻干粉末。适当组分在所用剂量和浓度下对受者无毒。可用于药物处方组分的进一步实例见 Remington's Pharmaceutical Sciences, 第 16 版 (1980) 和 20 版 (2000), Mack Publishing Company 提供医学从业者使用的试剂盒，其包括一种或更多本文提供的抗体或 GLP-1 融合蛋白质以及治疗本文讨论任何病症的标签或其它说明。在一个实施方案中，试剂盒包括以上述组合物形式装在一个或多个管型瓶中的一种或多种抗体或 GLP-1 融合蛋白质的无菌制剂。

给药剂量和频率可根据以下因素而改变：给药途径、所用具体抗体或 GLP-1 融合蛋白质、所治疾病的性质和严重程度、症状为急性还是慢性以及

患者的体积和总体症状。可通过本领域熟知的方法确定适当剂量，例如在临床试验中包括剂量放大研究。

5 本文提供的抗体或 GLP-1 融合蛋白质可在例如一段时间内按规律间隔给药一次或多次。在具体实施方案中，在至少一个月或更长时间给药一次给予鼠源抗体或人源化抗体或 GLP-1 融合蛋白质，例如一个、两个或三个月或者甚至不确定。对于治疗慢性症状，长期治疗通常最有效。但是，对于治疗急性症状，短期给药例如从一周至六周就已足够。通常，给予人类抗体直至患者表现出所选体征或指示剂高于基线水平的医学相关改善度为止。

10 本文提供的治疗方案的一个实例包括以适当剂量一周一次或者更长的皮下注射抗体或 GLP-1 融合蛋白质治疗二型糖尿病、肥胖症或者非酒精性脂肪性肝炎等引起的症状。可持续每周或每月给予抗体或 GLP-1 融合蛋白质直到达到所需结果例如病人症状消退。可按需要重新治疗，或者，可选择地，给予维持剂量。

15 可在使用抗体或 GLP-1 融合蛋白质例如人类抗体或 GLP-1 融合蛋白质治疗之前、进行中和/或之后监测病人的血糖浓度、体重，以检测其压力的任何变化。对于某些病症，血糖的变化可随例如疾病进程等因素而变化。可用已知技术测定其血糖浓度。

20 本文的方法和组合物的具体实施方案涉及使用例如抗体或 GLP-1 融合蛋白质和一个或多个 GIP 拮抗剂、两个或更多本文提供的抗体或 GLP-1 融合蛋白质，或者本发明抗体或 GLP-1 融合蛋白质和一个或更多其它 GIP 拮抗剂。在进一步的实施方案中，单独或与其它用于治疗使患者痛苦的症状的药剂组合给予抗体或 GLP-1 融合蛋白质。这些药剂的实例包括蛋白质以及非蛋白质药物。当联合给予多种药物时，如本领域所熟知其剂量应相应调整。“联合给药”组合疗法不限于同时给药，也包括在涉及给予患者至少一种其它治疗剂的疗程中至少给予一次抗原和蛋白的治疗方案。

30 另一方面，本文提供制备治疗二型糖尿病、肥胖症和非酒精性脂肪性肝炎及相关病症药剂的方法，其包含本文提供的抗体或 GLP-1 融合蛋白质与药学可接受辅料中的混合物，用于治疗上述疾病的相关病症。药剂制备方法如上所述。

35 本文进一步提供可特异性结合至人 GIPR 的抗体或 GLP-1 融合蛋白质相关的组合物、试剂盒和方法。也提供了核酸分子及其衍生物和片段，其包含编码与 GIPR 结合的多肽的全部或部分的多聚核苷酸，例如编码全部或部分抗 GIPR 抗体、抗体片段、抗体衍生物或 GLP-1 融合蛋白质的核酸。本文进一步提供包含该类核酸的载体和质粒以及包含该类核酸和/或载体和质

粒的细胞和细胞系。所提供方法包括，例如，制备、鉴定或分离与人 GIPR 结合的抗体或 GLP-1 融合蛋白质例如抗 GIPR 抗体或 GLP-1 融合蛋白质的方法，测定该抗体或 GLP-1 融合蛋白质是否与 GIPR 结合的方法、以及将与 GIPR 结合的抗体或 GLP-1 融合蛋白质给予动物模型的方法。

5 下面通过具体实例，对本文的技术方案作进一步的说明。

本文中，若非特指，所采用的原料和设备等均可从市场购得或是本领域常用的。下述实例中的方法，如无特别说明，均为本领域的常规方法。

1、免疫用抗原的制备

10 接种CHO-DHFR-细胞至6孔板中。培养24小时(hr)后，转染克隆有hGIPR 基因（核苷酸序列见SEQ ID NO: 114 及氨基酸序列见SEQ ID NO: 113）的 pTM15质粒入6孔板中的细胞。转染是按照Invitrogen 公司推荐 Lipofectamine 2000的转染条件进行。48 hr后，将培养液换为含有300 µg/mL hygromycin的完全培养基，并且每隔3天(d)换液。培养两周左右，稳定生长的克隆出现。消化分散细胞集落，将细胞传代，继续培养细胞，待传代细胞长至100%愈合度。利用V5标签的抗体（Life Technologies）对构建的稳定细胞株分别进行FACS检测，根据FACS检测结果鉴定加压后的细胞群体。15 筛选后的CHO-DHFR-hGIPR 细胞膜上有大量hGIPR表达。最后经过亚克隆和进一步鉴定后，选出3株GIPR细胞为高表达稳定细胞株。这些高表达 hGIPR的细胞株可被作为制备抗体的免疫原（参考实施例2）。此外，在某些实施方案中，hGIPR胞外区和hIgG Fc的融合蛋白也可以作为制备抗体的免疫原，其制备方法如下：亚克隆hGIPR胞外区，hIgG2 Fc和肽接头（Linker）的融合蛋白序列基因于pTM5质粒。通过悬浮HEK293细胞进行大量瞬时表达，获得细胞上清液，然后通过亲和层析纯化得到hGIPR胞外区融合蛋白。

2、抗体的制备

25 可使用包括以下任意之一的免疫原产生 hGIPR 的抗体。例如，在某些实施方案中，使用表达 hGIPR 的全细胞作为免疫原以产生 hGIPR 的抗体。此外，在某些实施方案中，使用包含 hGIPR 的 N 端结构域的氨基酸序列与 hFc 的融合蛋白作为免疫原以产生 hGIPR 的抗体。将免疫原和氢氧化铝佐剂混匀，皮下注射 BALB/c 小鼠（6-8 周龄），此后每周加强免疫小鼠一次。30 经过总共 6 次免疫后，通过剪尾的方式采血。离心分离血清，用 FACS 检测血清效价。达到适合抗体滴度时，断颈处死小鼠，无菌状态下获取脾脏细胞。另外收集生长状态处于对数生长期的 SP2/0 细胞，离心细胞，将沉淀细胞用无血清培养至重悬，再次离心-重悬，计数。混合脾脏细胞和 SP2/0 细胞，保证 SP2/0 和脾脏细胞数量接近，混合以后再“洗涤-离心”3 次。弹散35 最后一次离心后的细胞沉淀，逐滴加入预温的 PEG-1500，上下吹吸后，缓

慢加入 30 mL 预热的无血清培养基以终止 PEG 的融合作用。再次离心后弹
散细胞沉淀，加入融合培养基，将脾细胞和饲养层细胞铺于 96 孔板中，每
孔加入 100 μ L 培养基。融合后的杂交瘤细胞和饲养层细胞一起在 96 孔板
中进行培养，并进行 HAT（次黄嘌呤、氨基喋呤和胸苷）筛选，以除去非
5 融合的细胞。10 d 后收取培养板中的杂交瘤细胞上清进行 ELISA 检测。

3、ELISA 筛选抗体

将过表达 hGIPR 的 CHO-DHFR-hGIPR 细胞和不表达 hGIPR 的
CHO-DHFR- 细胞分别接种至 96 孔板。待细胞长至 90% 愈合度，除去细胞
培养上清，PBS 洗两遍，加入 100% 甲醇 4 $^{\circ}$ C 固定，然后加入 100 μ L 新鲜配
10 制的 0.6% H₂O₂-PBS，室温处理 20 min，PBS 洗两遍。经过 1% BSA（溶于
PBS 中）封闭后，加入杂交瘤细胞上清 4 $^{\circ}$ C 孵育 90 min。多次洗涤后，每
孔加入 100 μ L 稀释的羊抗鼠 Fc-*HRP* 二抗（Sigma-Aldrich），37 $^{\circ}$ C 孵育 30
min。洗涤 5 次后，每孔加入 100 μ L TMB 显色底物，37 $^{\circ}$ C 反应 15 min，加
入 50 μ L 2 M H₂SO₄ 终止显色，读取 OD 450 值。此外，在某些实施方案中，
15 使用包含 hGIPR 的 N 端结构域的氨基酸序列与 hFc 的融合蛋白作为包被抗
原，包被 96 孔板。经过 1% BSA（溶于 PBS 中）封闭后，加入杂交瘤细胞
上清 4 $^{\circ}$ C 孵育 90 min。之后步骤同上述 ELISA 方法筛选抗 hGIPR 单克隆抗
体。阳性对照为免疫小鼠的血清；阴性对照为细胞培养基上清。经过 ELISA
的初步检测，筛选到了数个分泌抗 hGIPR 抗体的阳性杂交瘤细胞株。选取
20 这些分泌抗 hGIPR 抗体的杂交瘤株，进行克隆化以获得能稳定分泌抗
hGIPR 抗体的细胞株。最后选取阳性杂交瘤细胞上清进行 FACS 验证（参
考实例 10）。

4、抗体基因的克隆及亚克隆

收集分泌抗体的杂交瘤细胞，按照 QIAGEN 的 mRNA 抽提试剂盒操作
25 规程，提取杂交瘤细胞的 mRNA。然后将提取后的 mRNA 反转录成 cDNA，
逆转录引物为小鼠轻、重链恒定区的特异性引物，重链逆转录引物为
（5'-TTTGGRGGGAAGATGAAGAC-3'），轻链逆转录引物为
（5'-TTAACACTCTCCCCTGTTGAA-3'）和（5'-
TTAACACTCATTCCCTGTTGAA-3'）。RT-PCR 的反应条件为：25 $^{\circ}$ C 5 min；
30 50 $^{\circ}$ C 60 min；70 $^{\circ}$ C 15 min。将反转录的 cDNA 用 0.1 mM 的 TE 稀释至 500
 μ L，加入到超滤离心管（Amicon Ultra-0.5）中，2000 g 离心 10 min；弃滤
液，再加 500 μ L 的 0.1 mM 的 TE，2000 g 离心 10 min；弃滤液，将制备管
倒置到新的离心管中，2000 g 离心 10 min，得到纯化后的 cDNA；取 10 μ L
35 的纯化后的 cDNA 作为模板，加入 4 μ L 的 5 x tailing buffer (Promega)，4 μ L
的 dATP (1 mM) 和 10 U 的末端转移酶 (Promega) 后混匀，37 $^{\circ}$ C 孵育 5 min

后再 65 °C 孵育 5 min; 然后以加上 PolyA 尾的 cDNA 为模板, PCR 扩增抗体的轻、重链可变区基因。上游引物均为 OligodT, 重链下游引物为 (5'-TGGACAGGGATCCAGAGTTCC-3') 和 (5'-TGGACAGGGCTCCATAGTTCC-3') , 轻链下游引物为 (5'-ACTCGTCCTTGGTCAACGTG-3') 。 PCR 反应条件: 95 °C 5 min; 95 °C 30 s, 56 °C 30 s, 72 °C 1 min 40 cycles; 72 °C 7 min; PCR 产物连接到 PMD 18-T 载体 (Takara Bio) 后进行测序。基于已测序得到的抗体的 DNA 序列设计 PCR 引物, 从而将完整轻链、重链信号肽和可变域以及小鼠 IgG1 恒定区与表达载体 pTM5 相连。

5、抗体的人源化及优化

首先, 根据筛选所得的鼠源抗体轻、重链可变区序列, 使用 NCBI 数据库搜索与筛选所得的鼠源的抗体可变区序列同源的人源抗体生殖细胞系基因序列 (Ig Germline Gene Sequence), 并将除 CDR 序列外, 同源性最高的人源基因序列做为模板序列进行 CDR 嫁接, 得到人源化的抗体可变区序列。合成人源化抗体轻、重链的基因, 与人 IgG2 或者 IgG4 恒定区序列拼接后得到完整的重组人源化抗体序列。重组抗体按照实例 8 进行表达, 并按照步骤 10 中的 FACS 技术验证其针对 GIPR 的亲和力, 遴选出亲和力表现最优秀的抗体。最后通过定点突变, 对人源化抗体的可变区序列进行改造, 进一步提高其对 GIPR 的亲和力。

6、人源化 hGIPR 抗体的基因克隆与亚克隆

优化后的人源化抗体重链及轻链可变区序列外包合成。合成时重链可变区 5' 端带入 NheI 酶切位点, 3' 端带入 SalI 酶切位点, 从而将完整的重链可变区序列与已装入重链恒定区的表达载体 pTM5 相连。同样, 合成时轻链可变区 5' 端带入 NheI 酶切位点, 3' 端带入 BsiwI 酶切位点, 从而将完整的轻链可变区序列与已装入轻链恒定区的表达载体 pTM5 相连。

7、人源化 hGIPR 抗体与 GLP-1 的融合蛋白质的构建

优化后的人源化抗体在轻链的 N 端或者 C 端与 GLP-1 及其衍生物序列进行融合组成 GLP-1 融合蛋白质。两者的序列由肽接头序列(Linker)做为桥梁进行连接。信号肽-GLP-1-Linker 的核苷酸序列由金斯瑞生物科技有限公司合成。以合成基因为模板, PCR 扩增“信号肽-GLP-1-Linker”部分的序列。另以人源化抗体的核苷酸序列为模板, 扩增融合蛋白质的抗体部分的序列。然后通过 overlapping PCR 将融合蛋白质核酸序列的“信号肽-GLP-1-Linker”部分与抗体部分连接, 引物两端添加 NheI 和 NotI 的酶切位点, 从而将完整的融合蛋白质序列与表达载体 pTM5 相连。

8、hGIPR 抗体和 GLP-1 融合蛋白质的瞬时表达

接种 5×10^5 /mL 的悬浮 HEK293 或者 CHO 表达细胞株至转瓶中。经过 37 °C, 5% CO₂ 旋转培养 24 hr 后, 密度达到 1×10^6 /mL 后被用于转染。转染过程中使用 polyethylenimine (PEI) 作为转染介质, 将其与的 DNA 混合。两者混合物在静置孵育 15 min 后被加入到细胞培养中。细胞在接受 PEI 与 DNA 混合物后继续 37 °C, 5% CO₂ 旋转培养 24 hr 后, 向细胞培养液中加入胰蛋白胨作为表达需要的添加物。最后在表达完成后 (96 hr 以上) 收集细胞上清用于抗体的纯化分离。

9、hGIPR 抗体和 GLP-1 融合蛋白质的纯化分离

收集的实例 8 中的细胞上清经过高速 (8000 rpm) 离心去除细胞以及细胞碎片后, 再用 0.22 μm 滤膜过滤澄清。澄清后的上清被用于纯化。纯化过程由层析仪完成。上清首先流过蛋白 A/G 亲和层析柱。上清中包含的抗体在此期间与蛋白 A/G 亲和层析柱的配基相结合后被滞留于柱内。然后用低 pH 值 (小于等于 3.0) 的洗脱缓冲液灌洗层析柱解离与层析柱结合的抗体。收集到的抗体洗脱液用 1 M 的 Tris-HCl 迅速中和。得到的抗体洗脱液经过透析后置换成 PBS 或者其他缓冲体系。

10、流式细胞仪验证功能性 hGIPR 抗体的结合活性

用含 10 mM EDTA 的 PBS 消化、收集 10^5 个 CHO-DHFR-hGIPR 细胞, 分别加入 1.5 mL EP 管, 离心后弃上清。阴性对照样本用流式上样缓冲液 (PBS, 2% FBS) 重悬。阳性处理组细胞每管加 200 μL 特定浓度的 hGIPR 抗体, 室温孵育; 孵育完成后 1500 rpm 离心, 弃上清, 用流式上样缓冲液洗一次细胞沉淀, 再离心, 将细胞重悬; 向细胞重悬液加入 1:50 稀释的 FITC 标记的羊抗鼠荧光二抗或者 PE 标记的羊抗人荧光二抗, 200 μL/孔, 室温避光孵育 30 min; 离心, 弃上清, 再用流式上样缓冲液洗一次, 离心, 最后用流式上样缓冲液将细胞沉淀重悬, 上机检测。重组抗 hGIPR 的功能性抗体和表达 GIPR 的 CHO-DHFR-GIPR 细胞有特异性结合。在图1显示的实验结果中, 灰色峰和虚线峰为阴性对照, 而 1 μM 的 L10H8 对应的实线峰有明显右移, 证明了 L10H8 和 CHO-DHFR-GIP 的特异性结合。

11、cAMP 实验检测 hGIPR 抗体或 hGIPR 抗体/GLP-1 融合蛋白质在体外拮抗 GIPR 的生物学活性

以每孔 30000 个接种表达 hGIPR 的 CHO-DHFR 细胞至 96 孔细胞培养板, 置于 37 °C, 5% CO₂ 培养箱中过夜。第二天除去细胞上清, 加入杂交瘤细胞培养上清或梯度稀释的抗体 45 μL/孔。室温放置 30 min, 再加入 GIP 多肽 (Phoenix Pharmaceuticals, 50 pM) 45 μL/孔。然后将 96 孔细胞培养板置于 37 °C, 5% CO₂ 培养箱中继续孵育 30 min 后, 加 10 μL/孔的 10% Triton X-100, 室温裂解, 用排枪混合均匀。采用 cAMP 试剂盒 (CisBio) 检测实

5 验中产生的 cAMP。取上述 10 μL /孔细胞裂解液于白色 384 孔板中，加入 5 μL /孔 1:20 稀释的 cAMP-d2，最后加 5 μL /孔 1:20 稀释的 Anti-cAMP-Eu3 \pm cryptate，室温孵育 1 hr。在 Envision 2103 酶标仪上读取时间分辨荧光 665 nm/620 nm 信号比值，然后采用 Prism5.0 计算 IC₅₀ 值。图 2 显示 L7H6 以 IC₅₀=7.6 nM 拮抗 GIPR。图 3 显示 GLP-1-Linker-L7H6 以 IC₅₀=14.9 nM 拮抗 GIPR。

12、报告基因实验检测 hGIPR 抗体/GLP-1 融合蛋白质在体外激活 GLP-1R

10 以每孔 20000 个接种共表达 hGLP-1R-CRE-Luciferase 的 CHO-DHFR-细胞至 96 孔细胞培养板，37 °C 培养过夜。第二天除去培养基上清，用无血清培养基清洗细胞表面两次，吸去残液，再加入 100 μL 用无血清培养基稀释纯化抗体或 GLP-1，37 °C 孵育 4 小时。刺激结束后，加入 100 μL Bright Glo 化学发光底物 (Promega)，最后将细胞裂解物转移至白色 96 孔板，在 SpectraMax L 酶标仪 (Molecular Devices) 上读取相对荧光强度。在图 4 显示 GLP-1-Linker-L7H6 以 EC₅₀=0.04 nM 激活 hGLP-1R。

15 13、高脂饲料诱导的 C57BL/6 肥胖小鼠药效实验评价 hGIPR 抗体的体内药效

20 60%高脂饲料诱导 C57BL/6 小鼠建立肥胖模型 (DIO mice)。小鼠购入后正常饮食饲养一周后，随机挑选一定数量的老鼠作为正常对照组给予普通小鼠饲料喂养，剩余动物给予高脂饲料。连续饲喂 8 周 (wk)，每周称量一次体重和进食量。随后将高脂饲料组老鼠按体重随机分为 L10H8 组 (10 mg/kg) 和模型组，每两天皮下注射药物 1 次，共持续 6 wk，正常对照组不给药，模型组给予等量的空白制剂。实验周期内采集小鼠体重、摄食量以及行为学观察数据。实验的最后一天前禁食 12 hr (自由饮水)，动物眼眶采血分离血清并行安乐死术，解剖称取肝脏，观察肝脏形态，检测肝脏 TC 和 TG，检测血清 ALT、AST、GLU、TC 和 TG (结果见图 5 和表三)。

表三：给药后各组的生化检测结果

生化指标	正常对照组	L10H8 组	模型组
ALT (IU/L)	37.88 \pm 5.08**	92.08 \pm 30.05**	158.37 \pm 40.50
AST (IU/L)	136.20 \pm 24.21**	157.20 \pm 27.09	184.82 \pm 35.49
GLU (mmol/L)	8.38 \pm 1.15**	11.67 \pm 2.04	10.91 \pm 1.87
TC (mmol/L)	3.29 \pm 0.25**	6.30 \pm 0.31	6.62 \pm 1.00
TG (mmol/L)	0.99 \pm 0.07**	1.41 \pm 0.13*	1.21 \pm 0.11
肝脏 TG (mmol/L)	26.83 \pm 16.96**	88.23 \pm 9.61*	159.08 \pm 67.87
肝脏指数 (g/100g)	3.65 \pm 0.23	3.76 \pm 0.44*	4.56 \pm 1.28

注：平均值 \pm 标准误差，与模型组比较，* P <0.05，** P <0.01；肝脏指数=肝

脏重量/动物体重*100。

给 L10H8 抗体 6 wk 后，L10H8 组体重增幅仅略低于模型组，但其肝脏重量显著性低于模型组，而与正常对照组接近。L10H8 组的肝脏 TG 显著低于模型组，其血清 TG 显著高于模型组。这些检测结果显示 L10H8 显著减缓了肝脏对脂类的吸收和积累。图5为各组小鼠的体重变化率。表三总结了各组小鼠在给 L10H8 抗体 6 wk 后的肝脏指标。

14、报告基因实验检测 hGIPR 抗体/GLP-1 融合蛋白质 GLP-1-Linker-V1W5 在体外激活 GLP-1R

以每孔 20000 个接种共表达 hGLP-1R-CRE-Luciferase 的 CHO-DHFR-细胞至 96 孔细胞培养板，37 °C 培养过夜。第二天除去培养基上清，用无血清培养基清洗细胞表面两次，吸去残液，再加入 100 μ L 用无血清培养基稀释纯化抗体或 GLP-1，37 °C 孵育 4 小时。刺激结束后，加入 100 μ L Bright Glo 化学发光底物 (Promega)，最后将细胞裂解物转移至白色 96 孔板，在 SpectraMax L 酶标仪 (Molecular Devices) 上读取相对荧光强度。在图6显示 GLP-1-Linker-V1W5 以 $EC_{50}=17.40$ pM 激活 hGLP-1R。

15、cAMP 实验检测 hGIPR 抗体或 hGIPR 抗体/GLP-1 融合蛋白质 GLP-1-Linker-V1W5 在体外拮抗 GIPR 的生物学活性

以每孔 30000 个接种表达 hGIPR 的 CHO-DHFR 细胞至 96 孔细胞培养板，置于 37 °C，5% CO₂ 培养箱中过夜。第二天除去细胞上清，加入杂交瘤细胞培养上清或梯度稀释的抗体 45 μ L/孔。室温放置 30 min，再加入 GIP 多肽 (Phoenix Pharmaceuticals, 50 pM) 45 μ L/孔。然后将 96 孔细胞培养板置于 37 °C，5% CO₂ 培养箱中继续孵育 30 min 后，加 10 μ L/孔的 10% Triton X-100，室温裂解，用排枪混合均匀。采用 cAMP 试剂盒 (CisBio) 检测实验中产生的 cAMP。取上述 10 μ L/孔细胞裂解液于白色 384 孔板中，加入 5 μ L/孔 1:20 稀释的 cAMP-d2，最后加 5 μ L/孔 1:20 稀释的 Anti-cAMP-Eu3 \pm cryptate，室温孵育 1 hr。在 Envision 2103 酶标仪上读取时间分辨荧光 665 nm/620 nm 信号比值，然后采用 Prism5.0 计算 IC₅₀ 值。图 7 显示 GLP-1-Linker-V1W5 以 IC₅₀=7.03 nM 拮抗人 GIP 受体 (hGIPR)。图 8 显示 GLP-1-Linker-V1W5 以 IC₅₀=4.30 nM 拮抗猴 GIP 受体 (maGIPR)。

16、hGIPR 抗体/GLP-1 融合蛋白质在食蟹猴上的药代动力学实验

给予雌雄各半共 6 只食蟹猴皮下单次 GLP-1/hGIPR 抗体融合蛋白注射，剂量为 2 mg/kg，并在给药前 (0 min)，给药后 2 hr，4 hr，8 hr，12 hr，24 hr，2 d，4 d，6 d，8 d，10 d，12 d，18 d，28 d 进行给药侧肢静脉取全血 0.6 mL 置于离心管中在冰上待其自然凝固后离心提取血清，超低温保存 (-80 °C) 至检测为止。血清样品中的 GLP-1/hGIPR 抗体融合蛋白的 GLP-1

部分以及 hGIPR 抗体部分是用 ELISA 方法对其进行分别定量，并通过软件分析确定两者在食蟹猴体内的半衰期。

17、hGIPR 抗体/GLP-1 融合蛋白质在恒河猴上的药代动力学实验

给予 9 只雄性健康恒河猴皮下单次 hGIPR 抗体/GLP-1 融合蛋白质 (GLP-1-Linker-V1W4、GLP-1-Linker-V1W5、或 GLP-1-Linker-V1W6) 注射，每组 3 只动物，剂量为 4 mg/kg，并在给药前 (0 min)，给药后 2 hr、4 hr、8 hr、12 hr、24 hr、2 天、4 天、6 天、8 天、10 天、12 天、16 天、20 天、24 天、30 天、36 天、42 天、50 天、60 天经前臂静脉取 0.6 mL 全血样置于已有 8 L DDP-IV 酶抑制剂的离心管中，放在冰上待其自然凝固后离心提取血清，超低温保存 (-80 °C) 至检测为止。血清样品中的 GLP-1/hGIPR 抗体融合蛋白的 hGIPR 抗体部分以及 GLP-1 部分是用 ELISA 方法对其进行分别定量，并通过软件分析确定两者在恒河猴体内的半衰期。

PK 结果显示，上述三个 GLP-1/hGIPR 抗体融合蛋白构建的抗体部分半衰期 $T_{1/2}$ 分别为 360，679，和 614 小时左右，而 GLP-1 部分的半衰期 $T_{1/2}$ 分别为 87，82，和 97 小时左右。各组猴子的 PK 曲线及参数见图9和10和表四。

表四：各组猴子的PK参数

			GLP-1-Linker-V1 W4	GLP-1-Linker-V1 W5	GLP-1-Linker-V1 W6
抗体部分	$T_{1/2}$	小时	360±65	679±87	614±83
	T_{max}	小时	12-48	24-96	24-48
	C_{max}	纳克/毫升	82416±11141	32270±1097	49615±8410
GLP-1 部分	$T_{1/2}$	小时	87±0	82±5	97±18
	T_{max}	小时	12-24	24	12-24
	C_{max}	纳克/毫升	47634±5853	41440±1071	42251±14729

18、高脂饲料诱导的肥胖食蟹猴药效实验评价 hGIPR 抗体/GLP-1 融合蛋白质在灵长类哺乳动物体内的药效

60%高脂饲料诱导食蟹猴建立肥胖食蟹猴模型 (DIO cynomolgus monkey)，用于评价皮下注射给予 GLP-1-Linker-L7H6 在该动物模型上的体内药效。将高脂饲料组猴子按体重随机分为 GLP-1-Linker-L7H6 (10 mg/kg) 给药组和模型组，每两天皮下注射药物 1 次，共持续 8 wk，模型组给予等量的空白制剂。实验周期内采集猴子体重、摄食量以及行为学观察数据。实验周期结束后对动物行安乐死术，解剖称取肝脏，观察肝脏形态，检测

肝脏 TC 和 TG；检测血清 ALT、AST、GLU、TC 和 TG。

用以上所述的同样方法，对 GLP-1-Linker-V1W5 予以测定。将 9 只肥胖食蟹猴按体重随机分为制剂对照组，GLP-1-Linker-V1W5 组，和阳性对照（用一 GLP-1R 抗体与 GLP-1 的融合蛋白质对照）组，每组 3 只猴子。每周皮下注射药物 2 次，第一周 1 mg/kg，第二周开始 2 mg/kg，共持续 8 wk，制剂对照组给予等量的空白制剂。实验周期内采集猴子摄食量（见图11）、采集体重并计算体重变化率（见图12和13）、行为学观察、血常规/血生化检测以及 DEXA 检测数据，其包括躯干脂肪变化和总脂肪变化时间曲线（见图14和15），以及总脂肪变化率时间曲线（见图16）；而图17显示了猴子的每 1 千克体重的总脂肪量变化的时间曲线及图18显示了猴子的每 1 千克体重的总瘦组织量变化的时间曲线。

药效研究显示，GLP-1-Linker-V1W5 与制剂对照和 GLP-1R 抗体与 GLP-1 的融合蛋白质比，动物摄食量降低，更显著地降低肥胖食蟹猴地体重，值得指出的是，GLP-1-Linker-V1W5 减少肥胖食蟹猴的总脂肪和躯干脂肪，而增加猴子的瘦组织。同时，行为学观察、血常规和血生化检测无异常发现。

实验周期结束后对动物肝脏进行活检，并检测肝脏 TP、TG 和 TC（结果见表五）。给药后各组肝脏的生化检测结果显示 GLP-1-Linker-V1W5 降低肝脏的 TC 含量。

表五：给药后各组肝脏的生化检测结果

生化指标	制剂对照	GLP-1-Linker-V1W5	GMA102
TP (g/L)	5.25 ± 0.55	3.95 ± 0.65	4.60 ± 0.20
TG (mmol/L)	2.44 ± 1.01	2.11 ± 0.47	2.82 ± 1.19
TC (mmol/L)	0.83 ± 0.18	0.33 ± 0.04	1.11 ± 0.50
TG (mmol/g protein)	0.45 ± 0.14	0.57 ± 0.21	0.60 ± 0.23
TC (mmol/g protein)	0.16 ± 0.02	0.08 ± 0.00	0.24 ± 0.10

注：平均值±标准误差

提供以上例用于向本领域普通技术人员充分公开和说明如何制造和使用要求保护的实施方式，而不意味着限制本文披露的范围。对本领域技术人员而言显而易见的修饰都在本文权利要求书的范围内。将本说明书中引用的所有出版物、专利和专利申请都通过参考并入本文，就如同每个出版物、专利或专利申请均被具体和单独地通过参考并入本文一样。

权 利 要 求 书

1. 一个能与人 GIPR 特异性结合的抗体，所述抗体包含一，两，三，四，
五，或六个氨基酸序列，其中每个氨基酸序列独立地选自以下所列的氨
5 基酸序列：
- a. 轻链 CDR1 氨基酸序列：SEQ ID NO: 1、SEQ ID NO: 4、SEQ ID NO: 7、
SEQ ID NO: 10、SEQ ID NO: 13、及 SEQ ID NO: 15；
 - b. 轻链 CDR2 氨基酸序列：SEQ ID NO: 2、SEQ ID NO: 5、SEQ ID NO: 8、
SEQ ID NO: 11、及 SEQ ID NO: 16；
 - 10 c. 轻链 CDR3 氨基酸序列：SEQ ID NO: 3、SEQ ID NO: 6、SEQ ID NO: 9、
SEQ ID NO: 12、SEQ ID NO: 14、及 SEQ ID NO: 17；
 - d. 重链 CDR1 氨基酸序列：SEQ ID NO: 18、SEQ ID NO: 23、及 SEQ ID NO:
26；
 - e. 重链 CDR2 氨基酸序列：SEQ ID NO: 19、SEQ ID NO: 21、SEQ ID NO:
15 24、SEQ ID NO: 27、及 SEQ ID NO: 29；及
 - f. 重链 CDR3 氨基酸序列：SEQ ID NO: 20、SEQ ID NO: 22、SEQ ID NO:
25、SEQ ID NO: 28、及 SEQ ID NO: 30。
2. 权利要求 1 所述的抗体，其中所述抗体包含一或两个氨基酸序列，其中
每个氨基酸序列独立地选自以下所列的氨基酸序列：
- 20 a. 轻链 CDR1 氨基酸序列：SEQ ID NO: 1、SEQ ID NO: 4、SEQ ID NO: 7、
SEQ ID NO: 10、SEQ ID NO: 13、及 SEQ ID NO: 15；及
 - b. 重链 CDR1 氨基酸序列：SEQ ID NO: 18、SEQ ID NO: 23、及 SEQ ID
NO: 26。
3. 权利要求 1 或 2 所述的抗体，其中所述抗体包含或还包含一或两个氨基
25 酸序列，其中每个氨基酸序列独立地选自以下所列的氨基酸序列：
- a. 轻链 CDR2 氨基酸序列：SEQ ID NO: 2、SEQ ID NO: 5、SEQ ID NO: 8、
SEQ ID NO: 11、及 SEQ ID NO: 16；及
 - b. 重链 CDR2 氨基酸序列：SEQ ID NO: 19、SEQ ID NO: 21、及 SEQ ID
NO: 24、SEQ ID NO: 27、及 SEQ ID NO: 29。
- 30 4. 权利要求 1 至 3 中任一项所述的抗体，其中所述抗体包含或还包含一或
两个氨基酸序列，其中每个氨基酸序列独立地选自以下所列的氨基酸序
列：
- a. 轻链 CDR3 氨基酸序列：SEQ ID NO: 3、SEQ ID NO: 6、SEQ ID NO: 9、
SEQ ID NO: 12、SEQ ID NO: 14、及 SEQ ID NO: 17；及

- b. 重链 CDR3 氨基酸序列: SEQ ID NO: 20、SEQ ID NO: 22、SEQ ID NO: 25、SEQ ID NO: 28、及 SEQ ID NO: 30。
5. 权利要求 1 至 4 中任一项所述的抗体, 其中所述抗体包含或还包含一或两个氨基酸序列, 其中每个氨基酸序列独立地选自以下所列的氨基酸序列: SEQ ID NO: 1、SEQ ID NO: 2、SEQ ID NO: 3、SEQ ID NO: 4、SEQ ID NO: 5、SEQ ID NO: 6、SEQ ID NO: 7、SEQ ID NO: 8、SEQ ID NO: 9、SEQ ID NO: 10、SEQ ID NO: 11、SEQ ID NO: 12、SEQ ID NO: 13、SEQ ID NO: 14、SEQ ID NO: 15、SEQ ID NO: 16、及 SEQ ID NO: 17。
6. 权利要求 1 至 5 中任一项所述的抗体, 其中所述抗体包含或还包含一或两个氨基酸序列, 其中每个氨基酸序列独立地选自以下所列的氨基酸序列: SEQ ID NO: 18、SEQ ID NO: 19、SEQ ID NO: 20、SEQ ID NO: 21、SEQ ID NO: 22、SEQ ID NO: 23、SEQ ID NO: 24、SEQ ID NO: 25、SEQ ID NO: 26、SEQ ID NO: 27、SEQ ID NO: 28、SEQ ID NO: 29、及 SEQ ID NO: 30。
7. 权利要求 1 至 6 中任一项所述的抗体, 其中所述抗体包含或还包含一个独立地选自以下所列的轻链和重链 CDR1 氨基酸序列的组合: SEQ ID NO: 1 与 SEQ ID NO: 18、SEQ ID NO: 4 与 SEQ ID NO: 18、SEQ ID NO: 7 与 SEQ ID NO: 23、SEQ ID NO: 10 与 SEQ ID NO: 26、SEQ ID NO: 13 与 SEQ ID NO: 26、及 SEQ ID NO: 15 与 SEQ ID NO: 26。
8. 权利要求 1 至 7 中任一项所述的抗体, 其中所述抗体包含或还包含一个独立地选自以下所列的轻链和重链 CDR2 氨基酸序列的组合: SEQ ID NO: 2 与 SEQ ID NO: 19、SEQ ID NO: 5 与 SEQ ID NO: 21、SEQ ID NO: 8 与 SEQ ID NO: 24、SEQ ID NO: 11 与 SEQ ID NO: 27、及 SEQ ID NO: 16 与 SEQ ID NO: 29。
9. 权利要求 1 至 8 中任一项所述的抗体, 其中所述抗体包含或还包含一个独立地选自以下所列的轻链和重链 CDR3 氨基酸序列的组合: SEQ ID NO: 3 与 SEQ ID NO: 20、SEQ ID NO: 6 与 SEQ ID NO: 22、SEQ ID NO: 9 与 SEQ ID NO: 25、SEQ ID NO: 12 与 SEQ ID NO: 28、SEQ ID NO: 14 与 SEQ ID NO: 28、及 SEQ ID NO: 17 与 SEQ ID NO: 30。
10. 权利要求 1 至 9 中任一项所述的抗体, 其中所述的抗体包含
- (a) 轻链 CDR1 氨基酸序列: SEQ ID NO: 1;
轻链 CDR2 氨基酸序列: SEQ ID NO: 2;
轻链 CDR3 氨基酸序列: SEQ ID NO: 3;
重链 CDR1 氨基酸序列: SEQ ID NO: 18;
重链 CDR2 氨基酸序列: SEQ ID NO: 19; 及

- 重链 CDR3 氨基酸序列: SEQ ID NO: 20;
- (b) 轻链 CDR1 氨基酸序列: SEQ ID NO: 4;
轻链 CDR2 氨基酸序列: SEQ ID NO: 5;
轻链 CDR3 氨基酸序列: SEQ ID NO: 6;
- 5 重链 CDR1 氨基酸序列: SEQ ID NO: 18;
重链 CDR2 氨基酸序列: SEQ ID NO: 21; 及
重链 CDR3 氨基酸序列: SEQ ID NO: 22;
- (c) 轻链 CDR1 氨基酸序列: SEQ ID NO: 7;
轻链 CDR2 氨基酸序列: SEQ ID NO: 8;
- 10 轻链 CDR3 氨基酸序列: SEQ ID NO: 9;
重链 CDR1 氨基酸序列: SEQ ID NO: 23;
重链 CDR2 氨基酸序列: SEQ ID NO: 24; 及
重链 CDR3 氨基酸序列: SEQ ID NO: 25;
- (d) 轻链 CDR1 氨基酸序列: SEQ ID NO: 10;
轻链 CDR2 氨基酸序列: SEQ ID NO: 11;
- 15 轻链 CDR3 氨基酸序列: SEQ ID NO: 12;
重链 CDR1 氨基酸序列: SEQ ID NO: 26;
重链 CDR2 氨基酸序列: SEQ ID NO: 27; 及
重链 CDR3 氨基酸序列: SEQ ID NO: 28;
- 20 (e) 轻链 CDR1 氨基酸序列: SEQ ID NO: 13;
轻链 CDR2 氨基酸序列: SEQ ID NO: 11;
轻链 CDR3 氨基酸序列: SEQ ID NO: 14;
重链 CDR1 氨基酸序列: SEQ ID NO: 26;
重链 CDR2 氨基酸序列: SEQ ID NO: 27; 及
- 25 重链 CDR3 氨基酸序列: SEQ ID NO: 28;
- (f) 轻链 CDR1 氨基酸序列: SEQ ID NO: 15;
轻链 CDR2 氨基酸序列: SEQ ID NO: 16;
轻链 CDR3 氨基酸序列: SEQ ID NO: 17;
- 30 重链 CDR1 氨基酸序列: SEQ ID NO: 26;
重链 CDR2 氨基酸序列: SEQ ID NO: 29; 及
重链 CDR3 氨基酸序列: SEQ ID NO: 30。
- 11. 权利要求 10 所述的抗体, 其中所述的抗体包含**
轻链 CDR1 氨基酸序列: SEQ ID NO: 15;
轻链 CDR2 氨基酸序列: SEQ ID NO: 16;
- 35 轻链 CDR3 氨基酸序列: SEQ ID NO: 17;

重链 CDR1 氨基酸序列: SEQ ID NO: 26;
重链 CDR2 氨基酸序列: SEQ ID NO: 29;及
重链 CDR3 氨基酸序列: SEQ ID NO: 30。

- 5 12. 权利要求 1 至 11 中任一项所述的抗体, 其中所述抗体包含一或两个氨基酸序列, 其中每个氨基酸序列独立地选自于以下所列的氨基酸序列:
- a. 轻链可变结构域氨基酸序列: SEQ ID NO: 61、SEQ ID NO: 62、SEQ ID NO: 63、SEQ ID NO: 64、SEQ ID NO: 65、SEQ ID NO: 66、SEQ ID NO: 67、SEQ ID NO: 68、SEQ ID NO: 69、SEQ ID NO: 70、及 SEQ ID NO: 71; 及与其任一序列有至少 80%、至少 85%、至少 90%、或至少 95% 相同的氨基酸序列; 及
- 10 b. 重链可变结构域氨基酸序列: SEQ ID NO: 72、SEQ ID NO: 73、SEQ ID NO: 74、SEQ ID NO: 75、SEQ ID NO: 76、SEQ ID NO: 77、SEQ ID NO: 78、SEQ ID NO: 79、及 SEQ ID NO: 80 及其任一序列有至少 80%、至少 85%、至少 90%、或至少 95% 相同的氨基酸序列。
- 15 13. 权利要求 1 至 12 中任一项所述的抗体, 其中所述抗体的多聚核苷酸编码序列包含一或两个多聚核苷酸序列, 其中每个多聚核苷酸序列独立地选自于以下所列多聚核苷酸序列:
- a. 轻链可变结构域多聚核苷酸编码序列: SEQ ID NO: 81、SEQ ID NO: 82、SEQ ID NO: 83、SEQ ID NO: 84、SEQ ID NO: 85、SEQ ID NO: 86、SEQ ID NO: 87、SEQ ID NO: 88、SEQ ID NO: 89、SEQ ID NO: 90、及 SEQ ID NO: 91; 及其任一序列有至少 80%、至少 85%、至少 90%、或至少 95% 相同的多聚核苷酸序列; 及
- 20 b. 重链可变结构域多聚核苷酸编码序列: SEQ ID NO: 92、SEQ ID NO: 93、SEQ ID NO: 94、SEQ ID NO: 95、SEQ ID NO: 96、SEQ ID NO: 97、SEQ ID NO: 98、SEQ ID NO: 99、及 SEQ ID NO: 100 及其任一序列有至少 80%、至少 85%、至少 90%、或至少 95% 相同的多聚核苷酸序列。
- 25 14. 权利要求 1 至 13 中任一项所述的抗体, 其中所述抗体包含或还包含一个独立地选自于以下所列的氨基酸序列: SEQ ID NO: 61、SEQ ID NO: 62、SEQ ID NO: 63、SEQ ID NO: 64、SEQ ID NO: 65、SEQ ID NO: 66、SEQ ID NO: 67、SEQ ID NO: 68、SEQ ID NO: 69、SEQ ID NO: 70、及 SEQ ID NO: 71。
- 30 15. 权利要求 1 至 14 中任一项所述的抗体, 其中所述抗体包含或还包含一个独立地选自于以下所列的氨基酸序列: SEQ ID NO: 72、SEQ ID NO: 73、SEQ ID NO: 74、SEQ ID NO: 75、SEQ ID NO: 76、SEQ ID NO: 77、SEQ ID NO: 78、SEQ ID NO: 79、及 SEQ ID NO: 80。
- 35

16. 权利要求 1 至 15 中任一项所述的抗体, 其中所述抗体包含一个独立地选自于以下所列的轻链与重链可变区氨基酸序列的组合: SEQ ID NO: 61 与 SEQ ID NO: 72、SEQ ID NO: 62 与 SEQ ID NO: 73、SEQ ID NO: 63 与 SEQ ID NO: 74、SEQ ID NO: 64 与 SEQ ID NO: 74、SEQ ID NO: 65 与 SEQ ID NO: 75、SEQ ID NO: 66 与 SEQ ID NO: 76、SEQ ID NO: 67 与 SEQ ID NO: 77、SEQ ID NO: 68 与 SEQ ID NO: 77、SEQ ID NO: 69 与 SEQ ID NO: 78、SEQ ID NO: 70 与 SEQ ID NO: 79、及 SEQ ID NO: 71 与 SEQ ID NO: 80。
17. 权利要求 16 中任一项所述的抗体, 其中所述抗体包含或还包含一个独立地选自于以下所列的氨基酸序列: SEQ ID NO: 62、SEQ ID NO: 63、SEQ ID NO: 64、SEQ ID NO: 66、SEQ ID NO: 67、SEQ ID NO: 68、SEQ ID NO: 73、SEQ ID NO: 74、SEQ ID NO: 76、及 SEQ ID NO: 77。
18. 权利要求 16 中任一项所述的抗体, 其中所述抗体包含一个独立地选自于以下所列的轻链与重链可变区氨基酸序列的组合: SEQ ID NO: 62 与 SEQ ID NO: 73、SEQ ID NO: 63 与 SEQ ID NO: 74、SEQ ID NO: 64 与 SEQ ID NO: 74、SEQ ID NO: 66 与 SEQ ID NO: 76、SEQ ID NO: 67 与 SEQ ID NO: 77、及 SEQ ID NO: 68 与 SEQ ID NO: 77。
19. 权利要求 16 所述的抗体, 其中所述的抗体包含氨基酸序列 SEQ ID NO: 67 或 SEQ ID NO: 77。
20. 权利要求 16 所述的抗体, 其中所述的抗体包含的 SEQ ID NO: 67 和 SEQ ID NO: 77 氨基酸序列的组合。
21. 权利要求 1 至 20 中任一项所述的抗体, 其中所述抗体还包含一或两个氨基酸序列, 其中每个氨基酸序列独立地选自于以下所列的氨基酸序列:
- 轻链恒定氨基酸序列: SEQ ID NO: 101 及 SEQ ID NO: 102; 及
 - 重链恒定氨基酸序列: SEQ ID NO: 103、SEQ ID NO: 104 及 SEQ ID NO: 124。
22. 权利要求 1 至 21 中任一项所述的抗体, 其中所述抗体为鼠源 GIPR 抗体或人源化 GIPR 抗体。
23. 权利要求 1 至 22 中任一项所述的抗体, 其中所述抗体为 GIPR 单克隆抗体。
24. 权利要求 1 至 23 中任一项所述的抗体, 其中所述抗体为一单克隆抗体, 该单克隆抗体包含一个选自于以下所列的氨基酸序列的组合: SEQ ID NO: 61 与 SEQ ID NO: 72、SEQ ID NO: 62 与 SEQ ID NO: 73、SEQ ID NO: 63 与 SEQ ID NO: 74、SEQ ID NO: 64 与 SEQ ID NO: 74、SEQ ID NO: 65 与 SEQ ID NO: 75、SEQ ID NO: 66 与 SEQ ID NO: 76、SEQ ID NO: 67

与 SEQ ID NO: 77、SEQ ID NO: 68 与 SEQ ID NO: 77、SEQ ID NO: 69
与 SEQ ID NO: 78、SEQ ID NO: 70 与 SEQ ID NO: 79、及 SEQ ID NO: 71
与 SEQ ID NO: 80。

- 5 **25.**权利要求 1 至 23 中任一项所述的抗体，其中所述抗体为一单克隆抗体，
该单克隆抗体包含一个选自于以下所列的氨基酸序列的组合：SEQ ID
NO: 61 与 SEQ ID NO: 72、SEQ ID NO: 62 与 SEQ ID NO: 73、SEQ ID NO:
63 与 SEQ ID NO: 74、SEQ ID NO: 64 与 SEQ ID NO: 74、SEQ ID NO: 65
与 SEQ ID NO: 75、SEQ ID NO: 66 与 SEQ ID NO: 76、SEQ ID NO: 67
与 SEQ ID NO: 77、SEQ ID NO: 68 与 SEQ ID NO: 77、SEQ ID NO: 69
10 与 SEQ ID NO: 78、SEQ ID NO: 70 与 SEQ ID NO: 79、及 SEQ ID NO: 71
与 SEQ ID NO: 80。
- 26.**权利要求 1 至 25 中任一项所述的抗体，其中所述抗体包含 V1W1 (SEQ
ID NO: 125 和 SEQ ID NO: 127)、V1W2 (SEQ ID NO: 125 和 SEQ ID NO:
128)、V1W3 (SEQ ID NO: 125 和 SEQ ID NO: 129)、V1W4 (SEQ ID NO:
15 125 和 SEQ ID NO: 130)、V1W5 (SEQ ID NO: 125 和 SEQ ID NO: 131)、
V1W6 (SEQ ID NO: 125 和 SEQ ID NO: 132)、V1W7 (SEQ ID NO: 125
和 SEQ ID NO: 133)、V1W8 (SEQ ID NO: 125 和 SEQ ID NO: 134)、V1W9
(SEQ ID NO: 125 和 SEQ ID NO: 135)、V2W1 (SEQ ID NO: 126 和 SEQ
ID NO: 127)、V2W2 (SEQ ID NO: 126 和 SEQ ID NO: 128)、V2W3 (SEQ
20 ID NO: 126 和 SEQ ID NO: 129)、V2W4 (SEQ ID NO: 126 和 SEQ ID NO:
130)、V2W5 (SEQ ID NO: 126 和 SEQ ID NO: 131)、V2W6 (SEQ ID NO:
126 和 SEQ ID NO: 132)、V2W7 (SEQ ID NO: 126 和 SEQ ID NO: 133)、
V2W8 (SEQ ID NO: 126 和 SEQ ID NO: 134)、或 V2W9 (SEQ ID NO: 12
和 SEQ ID NO: 135) 组合的抗体。
- 25 **27.**权利要求 1 至 25 中任一项所述的抗体，其中所述抗体包含 V1W4 (SEQ
ID NO: 125 和 SEQ ID NO: 130)、V1W5 (SEQ ID NO: 125 和 SEQ ID NO:
131)、或 V1W6 (SEQ ID NO: 125 和 SEQ ID NO: 132) 组合的抗体。
- 28.**权利要求 1 至 25 中任一项所述的抗体，其中所述抗体包含 VV1W5 (SEQ
ID NO: 125 和 SEQ ID NO: 131) 组合的抗体。
- 30 **29.**权利要求 1 至 28 中任一项所述的抗体，其中所述的抗体具有一个或多个
以下所列的性质：
a. 当与人 GIPR 结合时，其 K_d 与一参比 GIPR 抗体相同或更优；
b. 当抑制人 GIPR 的 GIP 激活时，其 IC_{50} 与一参比 GIPR 抗体相同或更
优；和
35 c. 该 GIPR 抗体在人 GIPR 上与一参比 GIPR 抗体交叉竞争结合。

30. 权利要求 29 所述的抗体，其中所述的抗体在人 GIPR 上与所述的参比 GIPR 抗体交叉竞争结合。
31. 权利要求 29 或 30 所述的抗体，其中所述的参比 GIPR 抗体包含权利要求 1 至 28 中任一项所述的抗体。
- 5 32. 权利要求 31 所述的抗体，其中所述的参比 GIPR 抗体包含轻链可变结构域氨基酸序列 SEQ ID NO: 67 和重链可变结构域氨基酸序列 SEQ ID NO: 77 的组合。
33. 权利要求 1 至 32 中任一项所述的抗体，其特征在于：所述抗体为鼠源抗体、人类抗体、人源化抗体、嵌合抗体、单克隆抗体、多克隆抗体、重组抗体、抗原结合抗体片段、单链抗体、双链抗体、三链抗体、四链抗体、Fab 片段、F(ab')_x 片段、结构域抗体、IgD 抗体、IgE 抗体、IgM 抗体、IgG1 抗体、IgG2 抗体、IgG3 抗体、或 IgG4 抗体。
- 10 34. 权利要求 1 至 33 中任一项所述的抗体，其中所述抗体的降低人 GIP 信号传导的 IC₅₀ 值大约为 1 nM 至 200 nM 或 1 nM 至 100 nM。
- 15 35. 一个 GLP-1 融合蛋白质，其结构特征在于：所述的融合蛋白质包含权利要求 1 至 34 中任一项所述的一个 GIPR 抗体、和一个，二个，三个，四个，五个，六个，七个，或八个 GLP-1 片段或反向 GLP-1 片段；该融合蛋白质通过一肽接头序列(Linker)将一 GLP-1 片段的羧基端与一 GIPR 抗体轻链或重链的氨基端连接，或者将一反向 GLP-1 片段的氨基端与一
- 20 GIPR 抗体轻链或重链的羧基端连接。
36. 权利要求 35 所述的融合蛋白质，其所述的融合蛋白质包含一个 GIPR 抗体，和一个，二个，三个，或四个 GLP-1 片段；该融合蛋白质通过一个肽接头序列(Linker)将一 GLP-1 片段的羧基端与一 GIPR 抗体轻链或重链的氨基端连接。
- 25 37. 权利要求 35 所述的融合蛋白质，其所述的融合蛋白质包含一个 GIPR 抗体，和一个，二个，三个，或四个反向 GLP-1 片段；该融合蛋白质通过一个肽接头序列(Linker)将一反向 GLP-1 片段的氨基端与一 GIPR 抗体轻链或重链的羧基端连接。
38. 权利要求 35 所述的融合蛋白质，其所述的融合蛋白质包含一个 GIPR 抗体，和二个 GLP-1 片段；该融合蛋白质通过一个肽接头序列(Linker)将一 GLP-1 片段的羧基端与一 GIPR 抗体轻链或者重链的氨基端连接。
- 30 39. 权利要求 35 所述的融合蛋白质，其所述的融合蛋白质包含一个 GIPR 抗体，和二个反向 GLP-1 片段；该融合蛋白质通过一个肽接头序列(Linker)将一反向 GLP-1 片段的氨基端与一 GIPR 抗体轻链或者重链的羧基端连接。
- 35

40. 权利要求 35 所述的融合蛋白质，其中所述的 GIPR 抗体、GLP-1 片段、和肽接头序列(Linker)通过以下所述中一方式融合形成所述的融合蛋白质：
通过肽接头序列(Linker)将一 GLP-1 片段的羧基端和一 GIPR 抗体轻链的氨基端连接：N'-GLP-1-Linker-R-C'；
5 通过肽接头序列(Linker)将一 GLP-1 片段的羧基端和一 GIPR 抗体重链的氨基端连接：N'-GLP-1-Linker-R-C'；
其中：N' 代表多肽链的氨基端，C' 代表多肽链的羧基端，GLP-1 代表一 GLP-1 片段，R 为权利要求 1 至 34 所述的一 GIPR 抗体的轻链或者重链的氨基酸序列，及 Linker 代表一肽接头。
10
41. 权力要求 35 至 40 中任一项所述的 GLP-1 融合蛋白质，所述的肽接头(Linker)的序列包含全长的、部分的、或者重复的独立选自以下之一的氨基酸序列：SEQ ID NO: 110、SEQ ID NO: 111、及 SEQ ID NO: 112。
42. 权力要求 35 至 40 中任一项所述的 GLP-1 融合蛋白质，其中所述的 GLP-1
15 片段包含独立选自以下之一的氨基酸序列：SEQ ID NO: 105、SEQ ID NO: 106、SEQ ID NO: 107、SEQ ID NO: 108、及 SEQ ID NO: 109；或者其中所述的反向 GLP-1 片段包含独立选自以下之一的氨基酸序列：SEQ ID NO: 119、SEQ ID NO: 120、SEQ ID NO: 121、SEQ ID NO: 122、及 SEQ ID NO: 123。
- 20 43. 一种多核苷酸，其编码权利要求 1 至 34 中任一项所述的 GIPR 抗体或权利要求 35 至 42 中任一项所述的 GLP-1 融合蛋白质。
44. 一种载体，其包含权利要求 43 中所述的多核苷酸。
45. 一种宿主细胞，其包含权利要求 44 中所述的载体。
46. 一种药用组合物，其包含与药用可接受载体混合的权利要求 1 至 34 中任
25 一项所述的 GIPR 抗体或者权利要求 35 至 42 中任一项所述的 GLP-1 融合蛋白质。
47. 一种包含权利要求 1 至 34 中任一项所述的 GIPR 抗体或者权利要求 35 至 42 中任一项所述的 GLP-1 融合蛋白质的药用组合物在制备用于预防或治疗非酒精性脂肪肝类疾病的药物中的用途。
- 30 48. 一种包含权利要求 1 至 34 中任一项所述的 GIPR 抗体或者权利要求 34 至 42 中任一项所述的 GLP-1 融合蛋白质的药用组合物在制备用于预防或治疗二型糖尿病的药物中的用途。
49. 一种包含权利要求 1 至 34 中任一项所述的 GIPR 抗体或者权利要求 35 至 42 中任一项所述的 GLP-1 融合蛋白质的药用组合物在制备用于减肥
35 或者治疗肥胖症以及肥胖症相关病症的药物中的用途。

- 50.**一种包含权利要求 1 至 34 中任一项所述的 GIPR 抗体或者权利要求 35 至 42 中任一项所述的 GLP-1 融合蛋白质的药用组合物在制备用于同时治疗非酒精性脂肪肝类疾病，肥胖症或者二型糖尿病二种及以上病症的药物中的用途。
- 5 **51.**权利要求 47 至 50 中任一项所述用途，其所述的药用组合物是用于静脉或皮下注射。

图 1

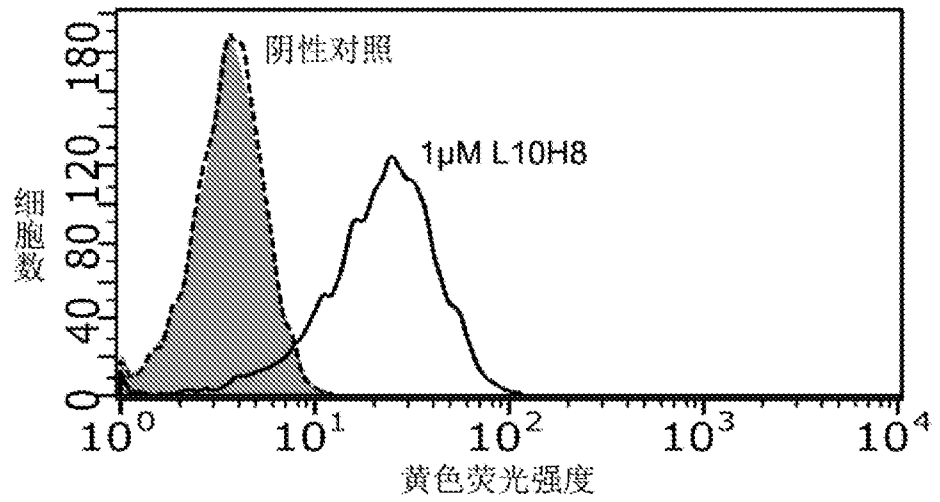


图 2

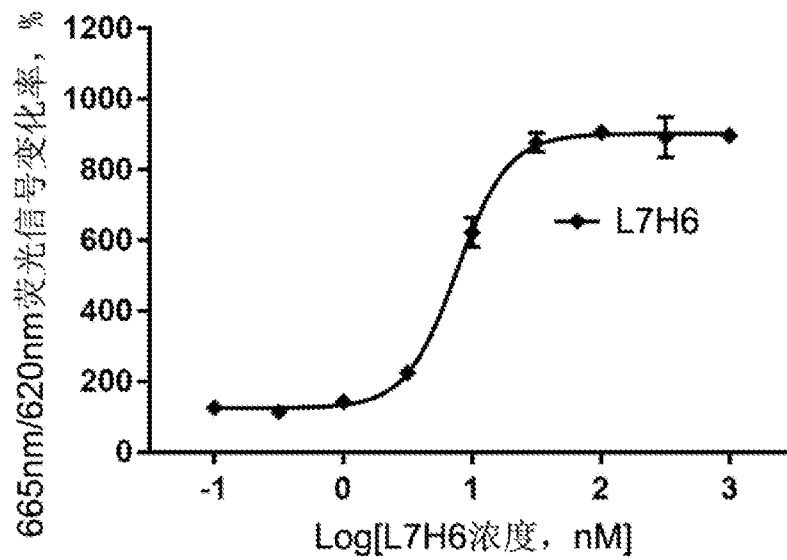


图 3

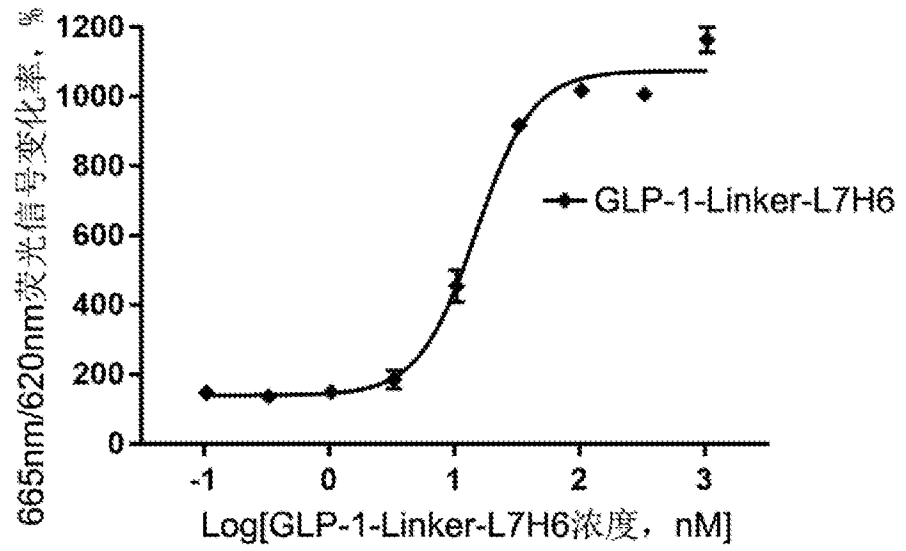


图 4

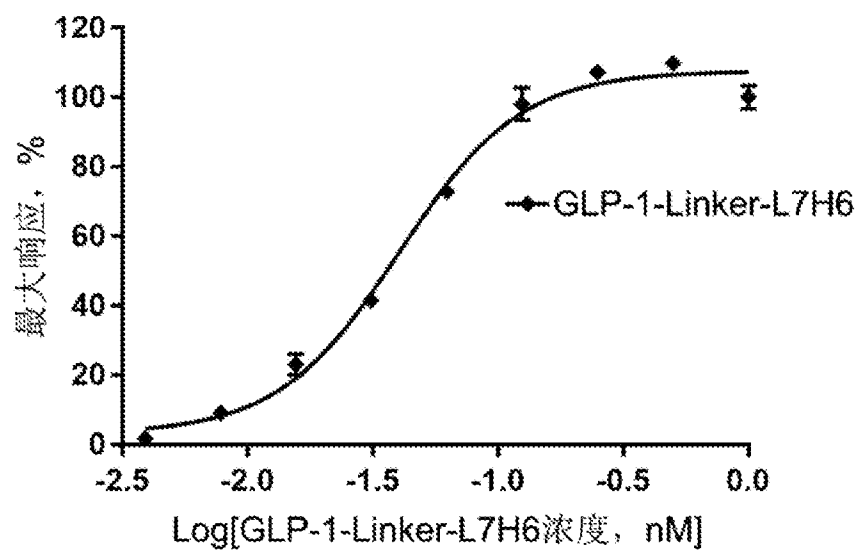


图 5

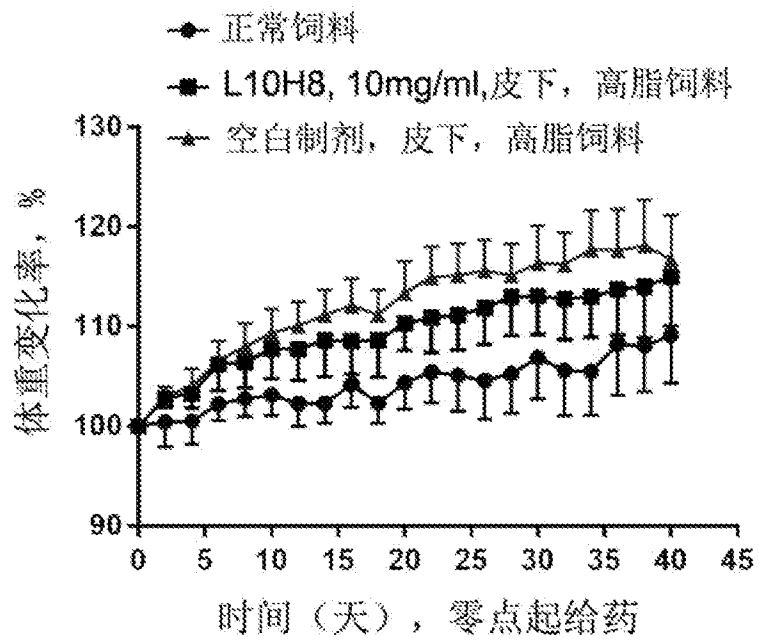


图 6

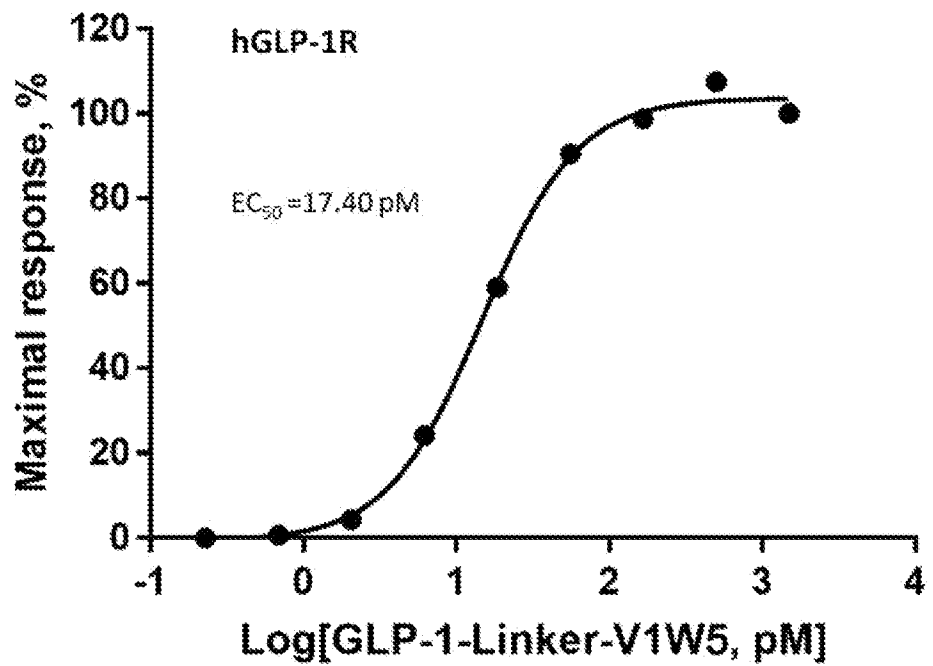


图 7

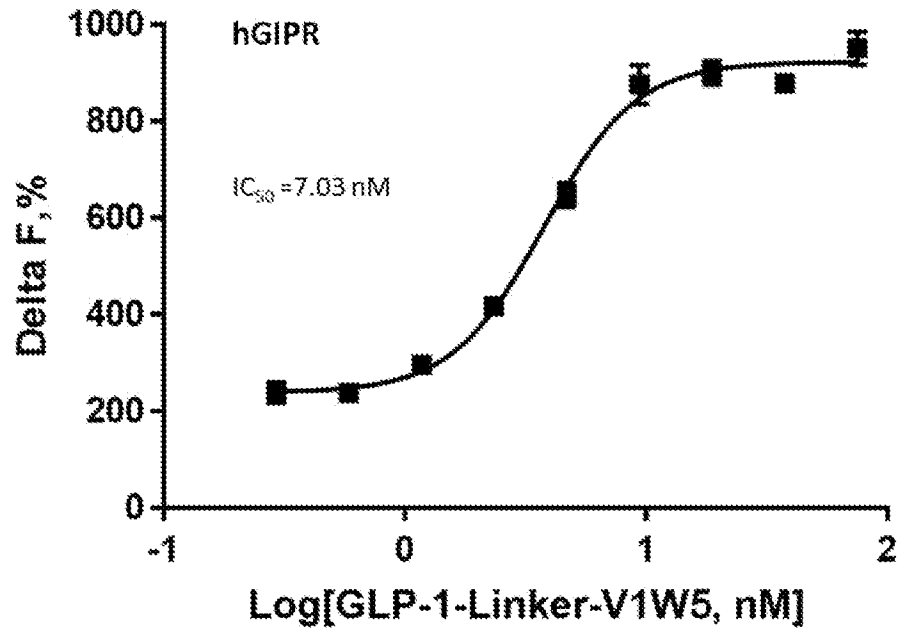


图 8

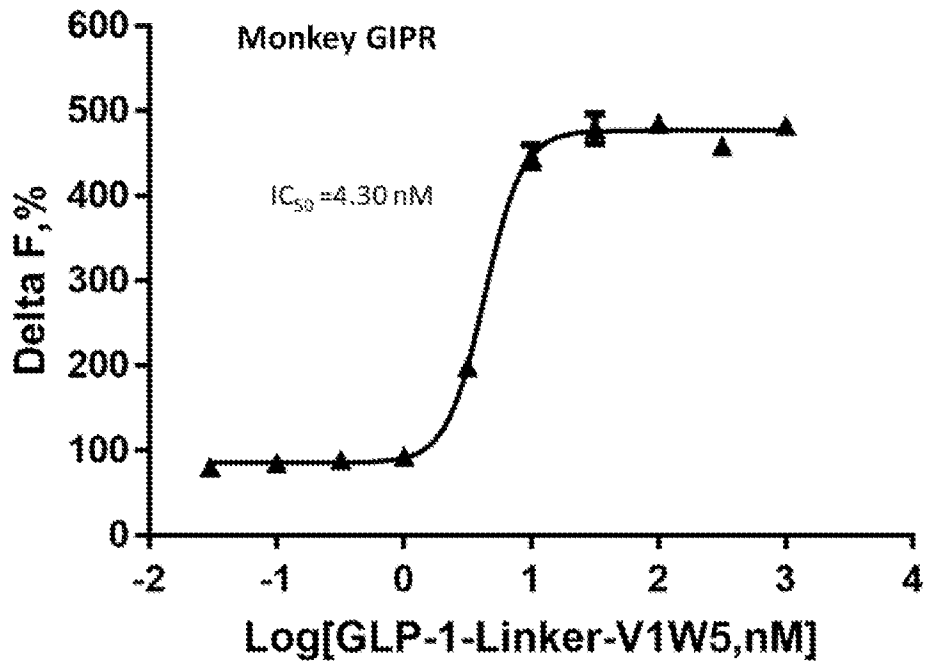


图 9

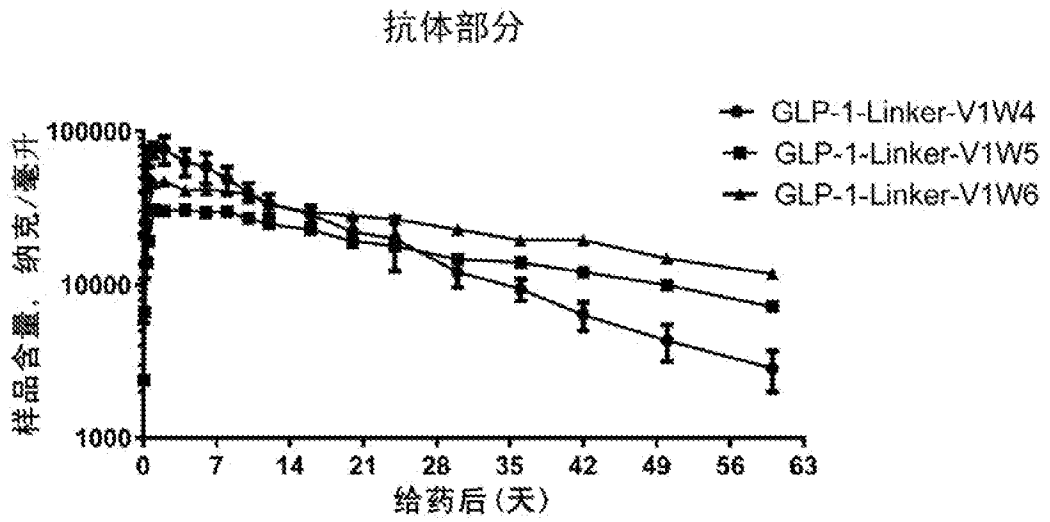


图 10

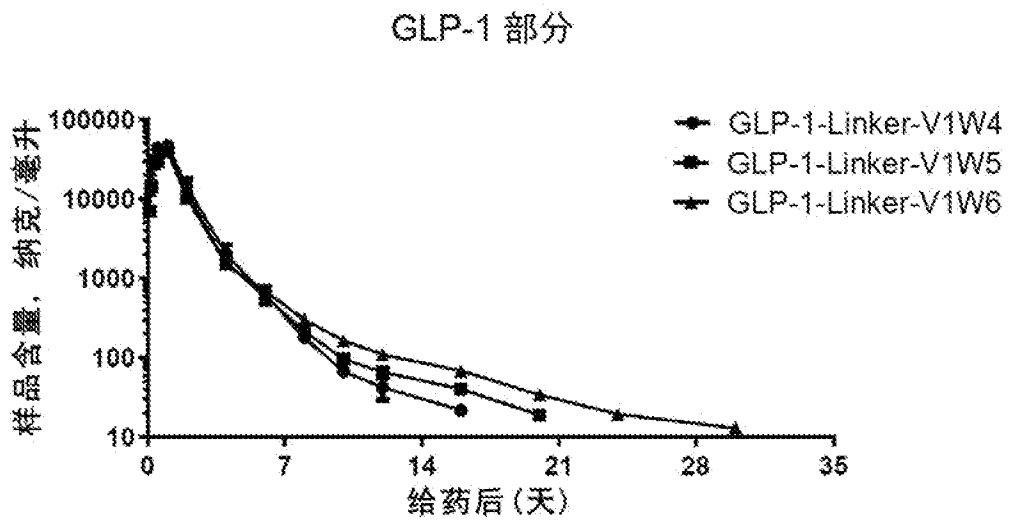


图 11

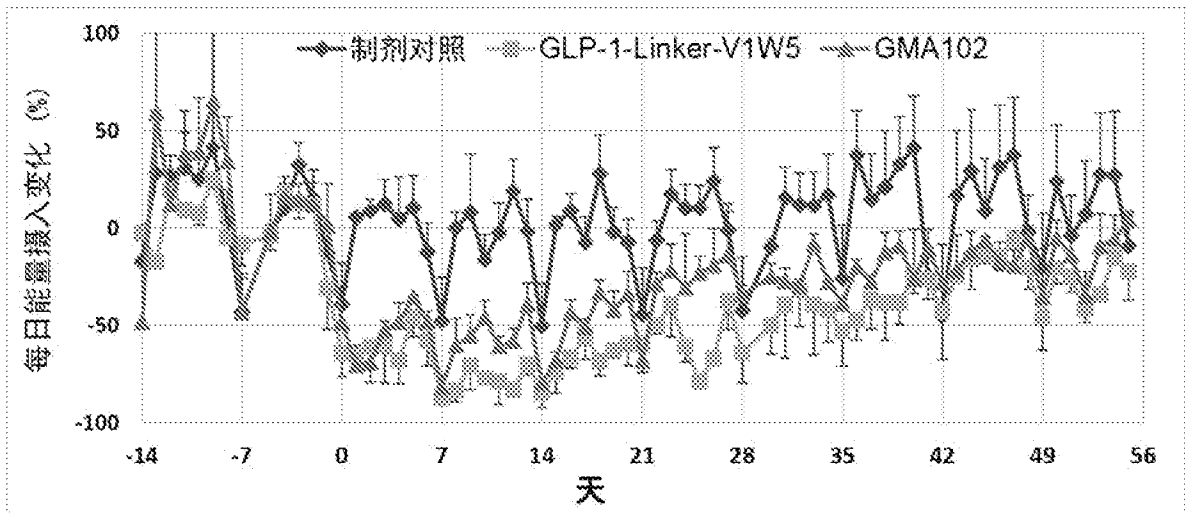


图 12

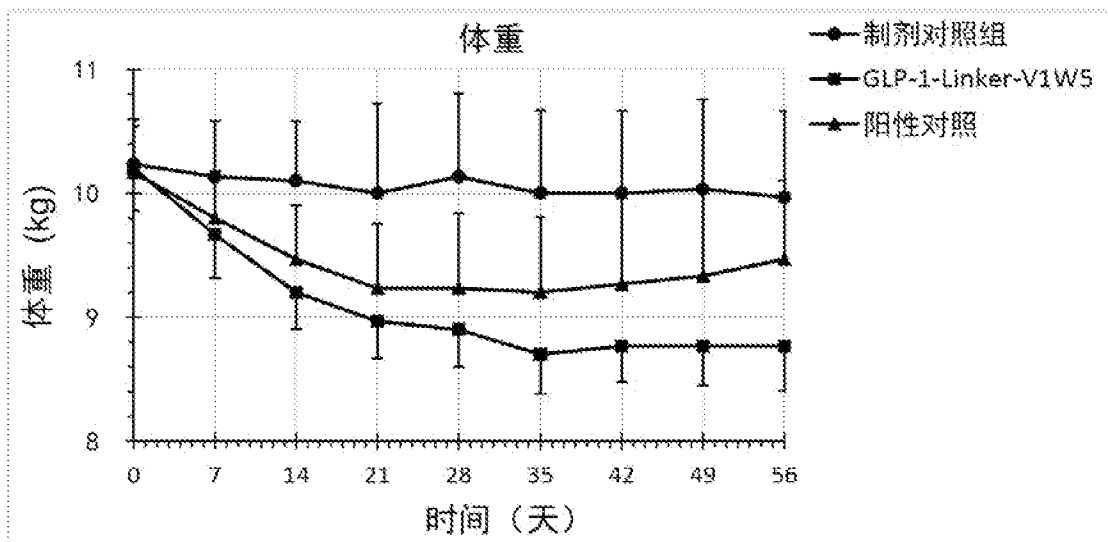


图 13

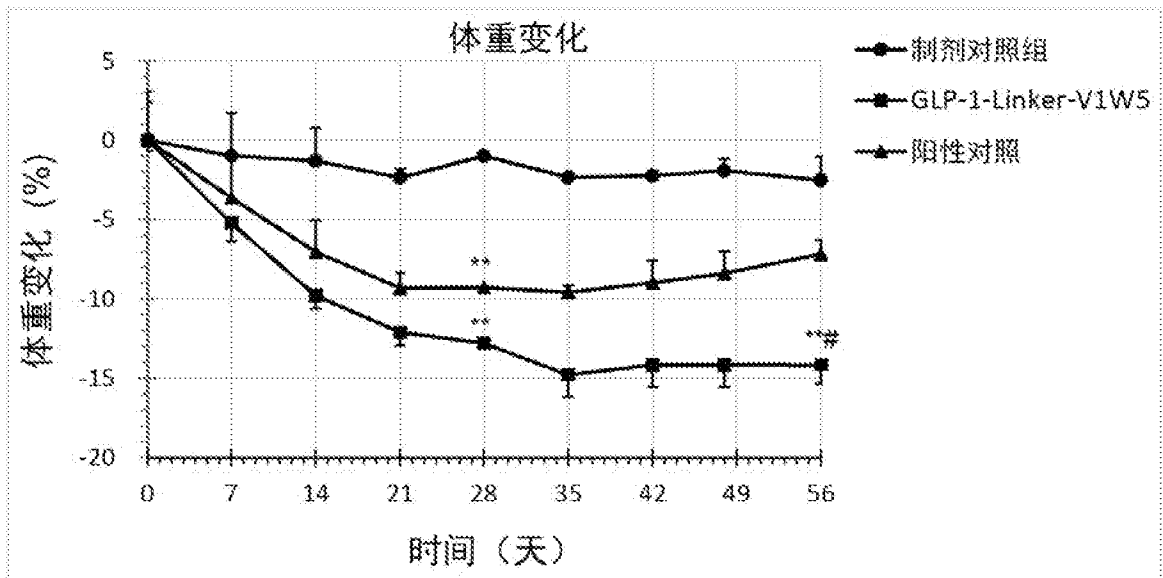


图 14

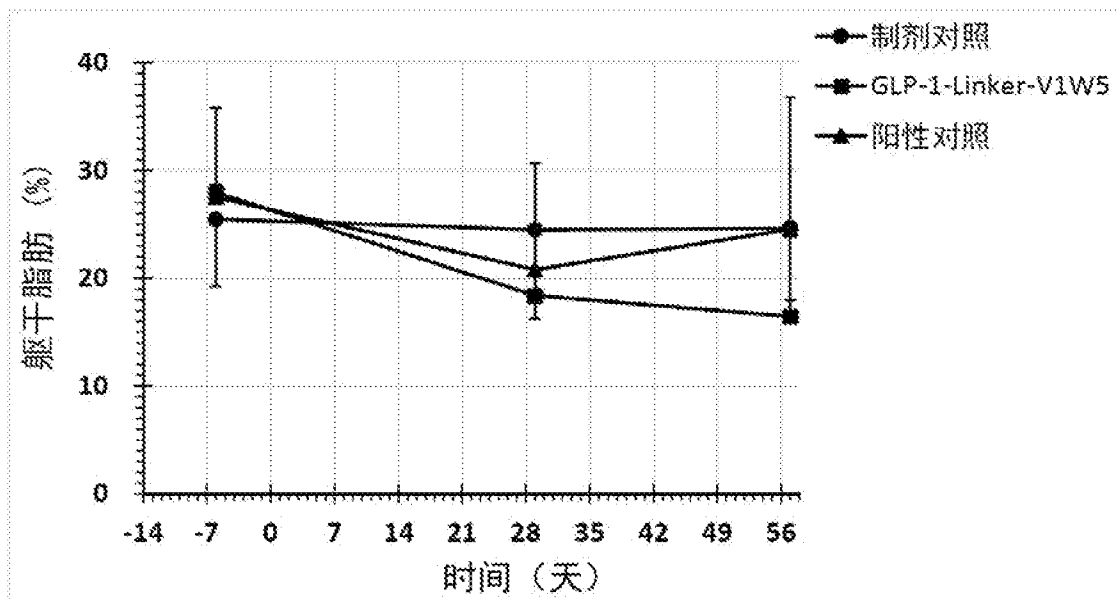


图 15

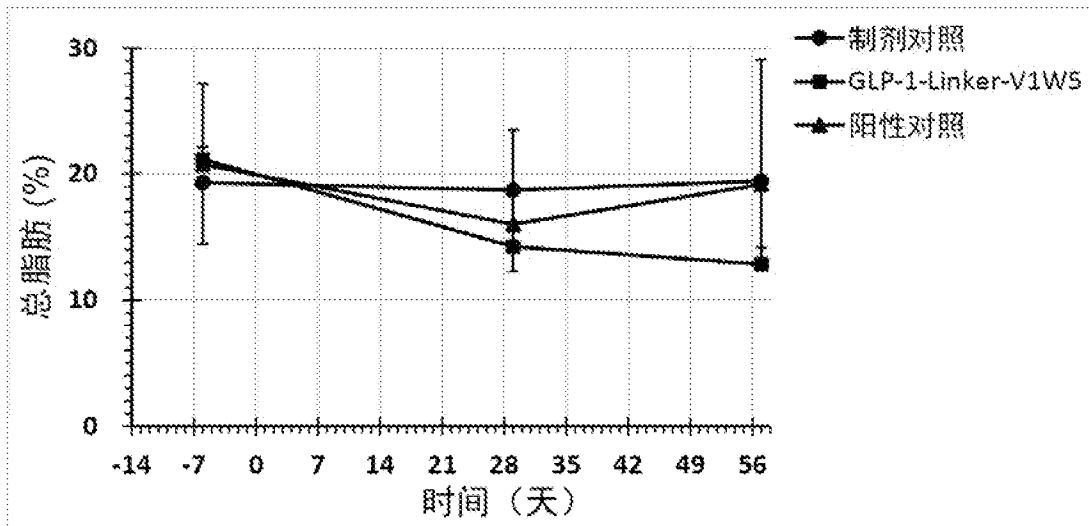


图 16

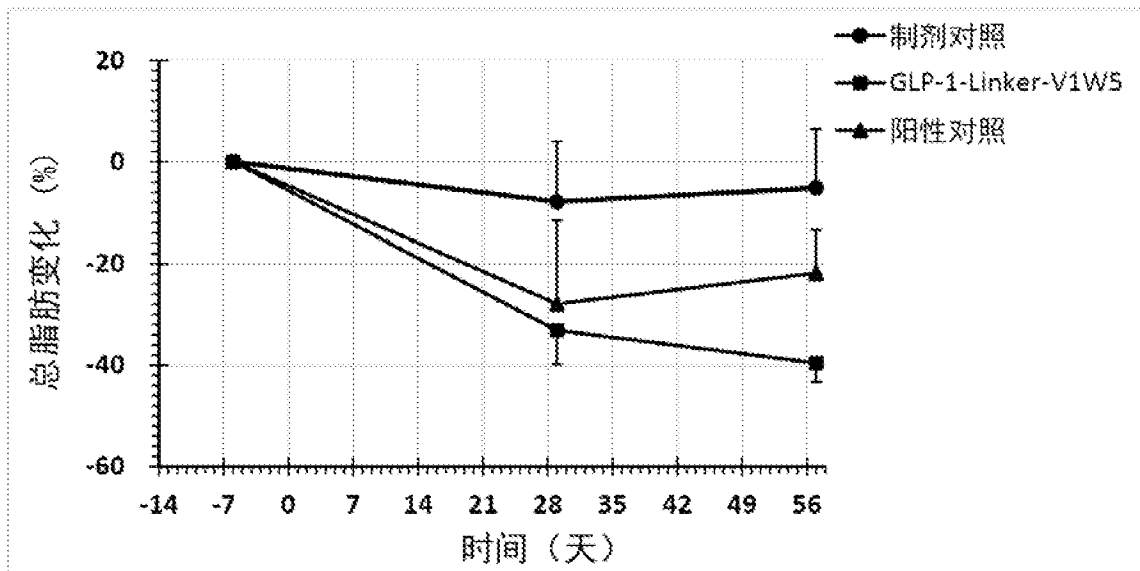


图 17

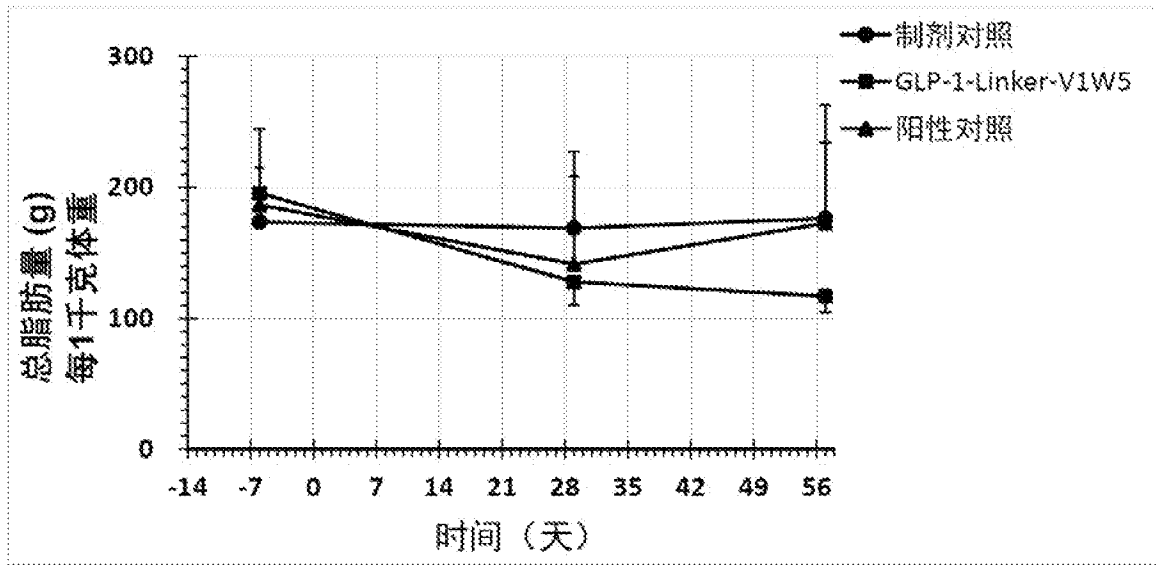
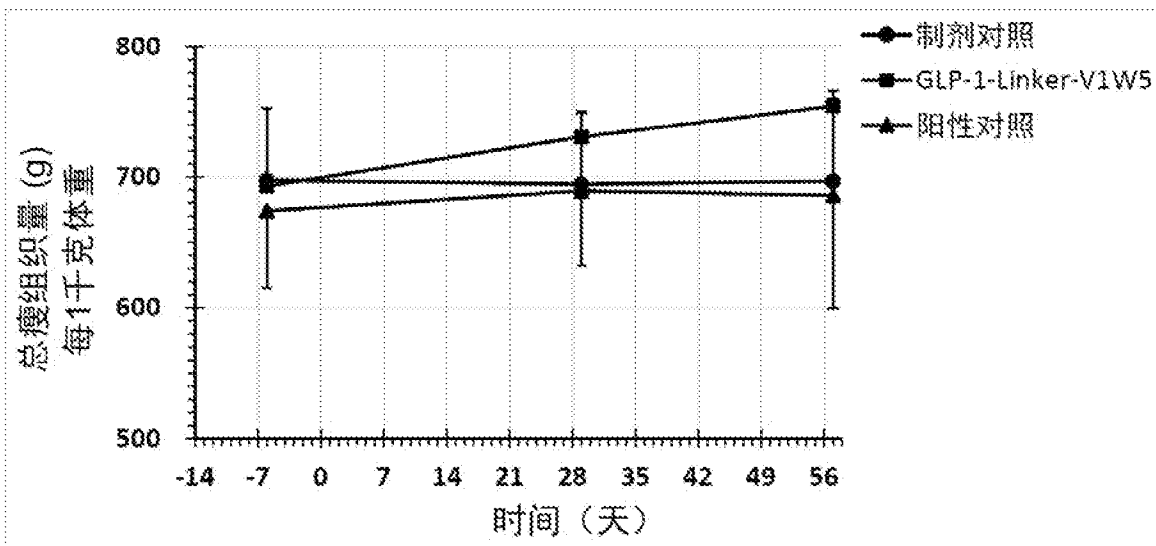


图 18



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2020/115483

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER		
C07K 16/28(2006.01)i; C07K 19/00(2006.01)i; C12N 15/13(2006.01)i; C12N 15/62(2006.01)i; A61K 39/395(2006.01)i; A61K 38/26(2006.01)i; A61P 1/16(2006.01)i; A61P 3/04(2006.01)i; A61P 3/10(2006.01)i		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED		
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) C07K, C12N, A61K, A61P		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) CNABS, DWPI, SIPOABS, CNKI, 万方, ISI Web of Science, BAIDU和检索词: GIPR, 抑胃肽受体, 抗体, 单克隆抗体, 结合蛋白, 结合片段, 融合, GLP-1, 胰高血糖素样肽-1, Gastric Inhibitory Polypeptide Receptor, anti-GIPR, antibody, monoclonal antibody, binding protein, binding fragment, fusion, Glucagon Like Peptide-1 等; Genbank, EMBL, 中国专利生物序列检索系统, STN and sequence searched: SEQ ID NOS: 1-100		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 2018237095 A1 (AMGEN INC.) 27 December 2018 (2018-12-27) entire document	1-51
A	WO 2018136440 A1 (AMGEN INC.) 26 July 2018 (2018-07-26) entire document	1-51
A	WO 2018237097 A1 (AMGEN INC.) 27 December 2018 (2018-12-27) entire document	1-51
A	CN 109715662 A (AMGEN INC.) 03 May 2019 (2019-05-03) entire document	1-51
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 13 November 2020		Date of mailing of the international search report 14 December 2020
Name and mailing address of the ISA/CN China National Intellectual Property Administration (ISA/CN) No. 6, Xitucheng Road, Jimenqiao, Haidian District, Beijing 100088 China		Authorized officer
Facsimile No. (86-10)62019451		Telephone No.

Box No. I Nucleotide and/or amino acid sequence(s) (Continuation of item 1.c of the first sheet)

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of a sequence listing:
 - a. forming part of the international application as filed:
 - in the form of an Annex C/ST.25 text file.
 - on paper or in the form of an image file.
 - b. furnished together with the international application under PCT Rule 13ter.1(a) for the purposes of international search only in the form of an Annex C/ST.25 text file.
 - c. furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search only:
 - in the form of an Annex C/ST.25 text file (Rule 13ter.1(a)).
 - on paper or in the form of an image file (Rule 13ter.1(b) and Administrative Instructions, Section 713).
2. In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that forming part of the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.
3. Additional comments:

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

- [1] Claims 1-51 in the present application comprise three inventions, as follows:
- [2] The first invention: claims 1-51 (in part): relating to an antibody capable of human GIPR-specific binding, containing: a light chain CDR1 amino acid sequence: SEQ ID NO: 1, a light chain CDR2 amino acid sequence: SEQ ID NO: 2, a light chain CDR3 amino acid sequence: SEQ ID NO: 3, a heavy chain CDR1 amino acid sequence: SEQ ID NO: 18, a heavy chain CDR2 amino acid sequence: SEQ ID NO: 19, and a heavy chain CDR3 amino acid sequence: SEQ ID NO: 20; or, a light chain CDR1 amino acid sequence: SEQ ID NO: 4, a light chain CDR2 amino acid sequence: SEQ ID NO: 5, a light chain CDR3 amino acid sequence: SEQ ID NO: 6, a heavy chain CDR1 amino acid sequence: SEQ ID NO: 18, a heavy chain CDR2 amino acid sequence: SEQ ID NO: 21, and a heavy chain CDR3 amino acid sequence: SEQ ID NO: 22; and relating to a fusion protein of the antibody and a GLP-1 fragment, coding nucleotides thereof, and a corresponding carrier, a host cell, a pharmaceutical composition and a use thereof in preparing a drug.
- [3] The second invention: claims 1-51 (in part): relating to an antibody capable of human GIPR-specific binding, containing: a light chain CDR1 amino acid sequence: SEQ ID NO: 7, a light chain CDR2 amino acid sequence: SEQ ID NO: 8, a light chain CDR3 amino acid sequence: SEQ ID NO: 9, a heavy chain CDR1 amino acid sequence: SEQ ID NO: 23, a heavy chain CDR2 amino acid sequence: SEQ ID NO: 24, and a heavy chain CDR3 amino acid sequence: SEQ ID NO: 25; and relating to a fusion protein of the antibody and a GLP-1 fragment, coding nucleotides thereof, and a corresponding carrier, a host cell, a pharmaceutical composition and a use thereof in preparing a drug.
- [4] The third invention: claims 1-51 (in part): relating to an antibody capable of human GIPR-specific binding, containing: a light chain CDR1 amino acid sequence: SEQ ID NO: 10, a light chain CDR2 amino acid sequence: SEQ ID NO: 11, a light chain CDR3 amino acid sequence: SEQ ID NO: 12, a heavy chain CDR1 amino acid sequence: SEQ ID NO: 26, a heavy chain CDR2 amino acid sequence: SEQ ID NO: 27, and a heavy chain CDR3 amino acid sequence: SEQ ID NO: 28; or, a light chain CDR1 amino acid sequence: SEQ ID NO: 13, a light chain CDR2 amino acid sequence: SEQ ID NO: 11, a light chain CDR3 amino acid sequence: SEQ ID NO: 14, a heavy chain CDR1 amino acid sequence: SEQ ID NO: 26, a heavy chain CDR2 amino acid sequence: SEQ ID NO: 27, and a heavy chain CDR3 amino acid sequence: SEQ ID NO: 28; or a light chain CDR1 amino acid sequence: SEQ ID NO: 15, a light chain CDR2 amino acid sequence: SEQ ID NO: 16, a light chain CDR3 amino acid sequence: SEQ ID NO: 17, a heavy chain CDR1 amino acid sequence: SEQ ID NO: 26, a heavy chain CDR2 amino acid sequence: SEQ ID NO: 29, and a heavy chain CDR3 amino acid sequence: SEQ ID NO: 30; and relating to a fusion protein of the antibody and a GLP-1 fragment, coding nucleotides thereof, and a corresponding carrier, a host cell, a pharmaceutical composition and a use thereof in preparing a drug.
- [5] The same or corresponding technical feature between these three inventions is “a GIPR antibody”. However, said feature is disclosed in the prior art (see for example, WO 2018/237095 A1, publication date 27 December 2018). Therefore, these three inventions do not share a same or corresponding special technical feature that represents a contribution by the inventions to the prior art, do not form a single general inventive concept, and therefore do not satisfy the criteria for unity of invention and do not comply with PCT Rule 13.1.

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

1. As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3. As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

- Remark on Protest**
- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
 - The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
 - No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/CN2020/115483

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)			Publication date (day/month/year)
WO	2018237095	A1	27 December 2018	EP	3642238	A1	29 April 2020
				AU	2018288852	A1	02 January 2020
				CA	3066251	A1	27 December 2018
WO	2018136440	A1	26 July 2018	IL	267660	D0	29 August 2019
				PH	12019501656	A1	28 October 2019
				CL	2019001963	A1	03 April 2020
				AR	110751	A1	02 May 2019
				CR	20190380	A	07 November 2019
				AU	2018210858	A1	18 July 2019
				CO	2019007685	A2	31 July 2019
				KR	20190104158	A	06 September 2019
				UY	37568	A	31 July 2018
				SG	11201906525 S	A	27 August 2019
				BR	112019014588	A2	18 February 2020
				EA	201991721	A1	08 April 2020
				MX	2019008462	A	21 November 2019
				TW	201838648	A	01 November 2018
				CA	3049023	A1	26 July 2018
				CN	110662558	A	07 January 2020
				US	2018311372	A1	01 November 2018
				EP	3570885	A1	27 November 2019
				PE	20191467	A1	16 October 2019
				JP	2020506900	A	05 March 2020
WO	2018237097	A1	27 December 2018	EA	201992502	A1	22 April 2020
				CR	20190532	A	10 January 2020
				BR	112019024410	A2	14 July 2020
				PE	20200013	A1	06 January 2020
				CL	2019003332	A1	20 March 2020
				CN	110831969	A	21 February 2020
				CO	2019013008	A2	17 January 2020
				EP	3642239	A1	29 April 2020
				PH	12019502603	A1	13 July 2020
				AU	2018288854	A1	21 November 2019
				CA	3062194	A1	27 December 2018
				KR	20200019122	A	21 February 2020
CN	109715662	A	03 May 2019	EP	3394104	A2	31 October 2018
				MX	2018007859	A	09 November 2018
				SG	11201805255 T	A	30 July 2018
				CR	20180378	A	06 December 2018
				TW	201731878	A	16 September 2017
				WO	2017112824	A3	10 August 2017
				US	2019276546	A1	12 September 2019
				WO	2017112824	A2	29 June 2017
				EA	201891323	A1	28 February 2019
				JP	2019504032	A	14 February 2019
				AU	2016378739	A1	05 July 2018
				CA	3009650	A1	29 June 2017
				PH	12018501322	A1	18 February 2019
				KR	20180108602	A	04 October 2018
				IL	259940	D0	31 July 2018

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/CN2020/115483

Patent document cited in search report	Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)	Publication date (day/month/year)
		PE 20181327 A1	20 August 2018
		UY 37049 A	30 June 2017
		WO 2017112824 A8	09 August 2018
		BR 112018012833 A2	04 December 2018
		CO 2018007582 A2	31 July 2018
		US 2017275370 A1	28 September 2017
		US 10294303 B2	21 May 2019
		CL 2018001695 A1	23 November 2018
<hr/>			

<p>A. 主题的分类</p> <p>C07K 16/28(2006.01)i; C07K 19/00(2006.01)i; C12N 15/13(2006.01)i; C12N 15/62(2006.01)i; A61K 39/395(2006.01)i; A61K 38/26(2006.01)i; A61P 1/16(2006.01)i; A61P 3/04(2006.01)i; A61P 3/10(2006.01)i</p> <p>按照国际专利分类(IPC)或者同时按照国家分类和IPC两种分类</p>																	
<p>B. 检索领域</p> <p>检索的最低限度文献(标明分类系统和分类号)</p> <p>C07K, C12N, A61K, A61P</p> <p>包含在检索领域中的除最低限度文献以外的检索文献</p> <p>在国际检索时查阅的电子数据库(数据库的名称, 和使用的检索词(如使用))</p> <p>CNABS, DWPI, SIPOABS, CNKI, 万方, ISI Web of Science, BAIDU和检索词: GIPR, 抑胃肽受体, 抗体, 单克隆抗体, 结合蛋白, 结合片段, 融合, GLP-1, 胰高血糖素样肽-1, Gastric Inhibitory Polypeptide Receptor, anti-GIPR, antibody, monoclonal antibody, binding protein, binding fragment, fusion, Glucagon Like Peptide-1 等; Genbank, EMBL, 中国专利生物序列检索系统, STN和检索的序列: SEQ ID NOs:1-100。</p>																	
<p>C. 相关文件</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>类型*</th> <th>引用文件, 必要时, 指明相关段落</th> <th>相关的权利要求</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>A</td> <td>WO 2018237095 A1 (AMGEN INC) 2018年 12月 27日 (2018 - 12 - 27) 全文</td> <td>1-51</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>WO 2018136440 A1 (AMGEN INC) 2018年 7月 26日 (2018 - 07 - 26) 全文</td> <td>1-51</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>WO 2018237097 A1 (AMGEN INC) 2018年 12月 27日 (2018 - 12 - 27) 全文</td> <td>1-51</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>CN 109715662 A (美国安进公司) 2019年 5月 3日 (2019 - 05 - 03) 全文</td> <td>1-51</td> </tr> </tbody> </table>			类型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求	A	WO 2018237095 A1 (AMGEN INC) 2018年 12月 27日 (2018 - 12 - 27) 全文	1-51	A	WO 2018136440 A1 (AMGEN INC) 2018年 7月 26日 (2018 - 07 - 26) 全文	1-51	A	WO 2018237097 A1 (AMGEN INC) 2018年 12月 27日 (2018 - 12 - 27) 全文	1-51	A	CN 109715662 A (美国安进公司) 2019年 5月 3日 (2019 - 05 - 03) 全文	1-51
类型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求															
A	WO 2018237095 A1 (AMGEN INC) 2018年 12月 27日 (2018 - 12 - 27) 全文	1-51															
A	WO 2018136440 A1 (AMGEN INC) 2018年 7月 26日 (2018 - 07 - 26) 全文	1-51															
A	WO 2018237097 A1 (AMGEN INC) 2018年 12月 27日 (2018 - 12 - 27) 全文	1-51															
A	CN 109715662 A (美国安进公司) 2019年 5月 3日 (2019 - 05 - 03) 全文	1-51															
<p><input type="checkbox"/> 其余文件在C栏的续页中列出。</p> <p><input checked="" type="checkbox"/> 见同族专利附件。</p>																	
<p>* 引用文件的具体类型:</p> <p>“A” 认为不特别相关的表示了现有技术一般状态的文件</p> <p>“E” 在国际申请日的当天或之后公布的在先申请或专利</p> <p>“L” 可能对优先权要求构成怀疑的文件, 或为确定另一篇引用文件的公布日而引用的或者因其他特殊理由而引用的文件(如具体说明的)</p> <p>“O” 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件</p> <p>“P” 公布日先于国际申请日但迟于所要求的优先权日的文件</p> <p>“T” 在申请日或优先权日之后公布, 与申请不相抵触, 但为了理解发明之理论或原理的在后文件</p> <p>“X” 特别相关的文件, 单独考虑该文件, 认定要求保护的发明不是新颖的或不具有创造性</p> <p>“Y” 特别相关的文件, 当该文件与另一篇或者多篇该类文件结合并且这种结合对于本领域技术人员为显而易见时, 要求保护的发明不具有创造性</p> <p>“&” 同族专利的文件</p>																	
<p>国际检索实际完成的日期</p> <p>2020年 11月 13日</p>		<p>国际检索报告邮寄日期</p> <p>2020年 12月 14日</p>															
<p>ISA/CN的名称和邮寄地址</p> <p>中国国家知识产权局(ISA/CN) 中国北京市海淀区蓟门桥西土城路6号 100088</p> <p>传真号 (86-10)62019451</p>		<p>授权官员</p> <p>马振莲</p> <p>电话号码 62412131</p>															

第1栏 核苷酸和/或氨基酸序列(续第1页第1. c项)

1. 关于国际申请中所公开的任何核苷酸和/或氨基酸序列, 国际检索是基于下列序列列表进行的:

a. 作为国际申请的一部分提交的:

附件C/ST. 25文本文件形式

纸件或图形文件形式

b. 根据细则13之三. 1(a) 仅为国际检索目的以附件C/ST. 25文本文件形式与国际申请同时提交的:

c. 仅为国际检索目的在国际申请日之后提交的:

附件C/ST. 25文本文件形式(细则13之三. 1(a))

纸件或图形文件形式(细则13之三. 1(b)和行政规程第713段)

2. 另外, 在提交/提供了多个版本或副本的序列列表的情况下, 提供了关于随后提交的或附加的副本中的信息与申请时提交的作为申请一部分的序列列表的信息相同或未超出申请时提交的申请中的信息范围(如适用)的所需声明。

3. 补充意见:

第III栏 缺乏发明单一性的意见(续第1页第3项)

本国际检索单位在该国际申请中发现多项发明，即：

[1] 本申请的权利要求1-51共包括3项发明，如下：

[2] 第1项：权利要求1-51（部分）：涉及能与人GIPR特异性结合的抗体，其包含：轻链CDR1氨基酸序列：SEQ ID NO:1，轻链CDR2氨基酸序列：SEQ ID NO:2，轻链CDR3氨基酸序列：SEQ ID NO:3，重链CDR1氨基酸序列：SEQ ID NO:18，重链CDR2氨基酸序列：SEQ ID NO:19，和重链CDR3氨基酸序列：SEQ ID NO:20；或者：轻链CDR1氨基酸序列：SEQ ID NO:4，轻链CDR2氨基酸序列：SEQ ID NO:5，轻链CDR3氨基酸序列：SEQ ID NO:6，重链CDR1氨基酸序列：SEQ ID NO:18，重链CDR2氨基酸序列：SEQ ID NO:21，和重链CDR3氨基酸序列：SEQ ID NO:22；包含所述抗体和GLP-1片段的融合蛋白，其编码核苷酸，相应的载体、宿主细胞、药物组合物及其在制备药物中的用途；

[3] 第2项：权利要求1-51（部分）：涉及能与人GIPR特异性结合的抗体，其包含：轻链CDR1氨基酸序列：SEQ ID NO:7，轻链CDR2氨基酸序列：SEQ ID NO:8，轻链CDR3氨基酸序列：SEQ ID NO:9，重链CDR1氨基酸序列：SEQ ID NO:23，重链CDR2氨基酸序列：SEQ ID NO:24，和重链CDR3氨基酸序列：SEQ ID NO:25；包含所述抗体和GLP-1片段的融合蛋白，其编码核苷酸，相应的载体、宿主细胞、药物组合物及其在制备药物中的用途；

[4] 第3项：权利要求1-51（部分）：涉及能与人GIPR特异性结合的抗体，其包含：轻链CDR1氨基酸序列：SEQ ID NO:10，轻链CDR2氨基酸序列：SEQ ID NO:11，轻链CDR3氨基酸序列：SEQ ID NO:12，重链CDR1氨基酸序列：SEQ ID NO:26，重链CDR2氨基酸序列：SEQ ID NO:27，和重链CDR3氨基酸序列：SEQ ID NO:28；或者：轻链CDR1氨基酸序列：SEQ ID NO:13，轻链CDR2氨基酸序列：SEQ ID NO:11，轻链CDR3氨基酸序列：SEQ ID NO:14，重链CDR1氨基酸序列：SEQ ID NO:26，重链CDR2氨基酸序列：SEQ ID NO:27，和重链CDR3氨基酸序列：SEQ ID NO:28；或者：轻链CDR1氨基酸序列：SEQ ID NO:15，轻链CDR2氨基酸序列：SEQ ID NO:16，轻链CDR3氨基酸序列：SEQ ID NO:17，重链CDR1氨基酸序列：SEQ ID NO:26，重链CDR2氨基酸序列：SEQ ID NO:29，和重链CDR3氨基酸序列：SEQ ID NO:30；包含所述抗体和GLP-1片段的融合蛋白，其编码核苷酸，相应的载体、宿主细胞、药物组合物及其在制备药物中的用途。

[5] 这三项发明之间相同或相应的技术特征为“GIPR抗体”，然而该特征已被现有技术公开（参见，例如WO 2018/237095 A1，公开日2018年12月27日）。因此，这三项发明之间不具有相同或相应的体现发明对现有技术作出贡献的特定技术特征，不属于一个总的发明构思，因而不满足发明单一性的要求，不符合《PCT实施细则》13.1的规定。

1. 由于申请人按时缴纳了被要求缴纳的全部附加检索费，本国际检索报告涉及全部可作检索的权利要求。
2. 由于无需付出有理由要求附加费的劳动即能对全部可检索的权利要求进行检索，本单位未通知缴纳任何加费。
3. 由于申请人仅按时缴纳了部分被要求缴纳的附加检索费，本国际检索报告仅涉及已缴费的那些权利要求，具体地说，是权利要求：
4. 申请人未按时缴纳被要求缴纳的附加检索费。因此，本国际检索报告仅涉及权利要求书中首先提及的发明；包含该发明的权利要求是：

对异议的意见

- 申请人缴纳了附加检索费，同时提交了异议书，适用时，缴纳了异议费。
- 申请人缴纳了附加检索费，同时提交了异议书，但未在通知书规定的时间期限内缴纳异议费。
- 缴纳附加检索费时未提交异议书。

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号

PCT/CN2020/115483

检索报告引用的专利文件			公布日 (年/月/日)	同族专利			公布日 (年/月/日)
WO	2018237095	A1	2018年 12月 27日	EP	3642238	A1	2020年 4月 29日
				AU	2018288852	A1	2020年 1月 2日
				CA	3066251	A1	2018年 12月 27日
WO	2018136440	A1	2018年 7月 26日	IL	267660	D0	2019年 8月 29日
				PH	12019501656	A1	2019年 10月 28日
				CL	2019001963	A1	2020年 4月 3日
				AR	110751	A1	2019年 5月 2日
				CR	20190380	A	2019年 11月 7日
				AU	2018210858	A1	2019年 7月 18日
				CO	2019007685	A2	2019年 7月 31日
				KR	20190104158	A	2019年 9月 6日
				UY	37568	A	2018年 7月 31日
				SG	11201906525S	A	2019年 8月 27日
				BR	112019014588	A2	2020年 2月 18日
				EA	201991721	A1	2020年 4月 8日
				MX	2019008462	A	2019年 11月 21日
				TW	201838648	A	2018年 11月 1日
				CA	3049023	A1	2018年 7月 26日
				CN	110662558	A	2020年 1月 7日
				US	2018311372	A1	2018年 11月 1日
				EP	3570885	A1	2019年 11月 27日
				PE	20191467	A1	2019年 10月 16日
				JP	2020506900	A	2020年 3月 5日
WO	2018237097	A1	2018年 12月 27日	EA	201992502	A1	2020年 4月 22日
				CR	20190532	A	2020年 1月 10日
				BR	112019024410	A2	2020年 7月 14日
				PE	20200013	A1	2020年 1月 6日
				CL	2019003332	A1	2020年 3月 20日
				CN	110831969	A	2020年 2月 21日
				CO	2019013008	A2	2020年 1月 17日
				EP	3642239	A1	2020年 4月 29日
				PH	12019502603	A1	2020年 7月 13日
				AU	2018288854	A1	2019年 11月 21日
				CA	3062194	A1	2018年 12月 27日
KR	20200019122	A	2020年 2月 21日				
CN	109715662	A	2019年 5月 3日	EP	3394104	A2	2018年 10月 31日
				MX	2018007859	A	2018年 11月 9日
				SG	11201805255T	A	2018年 7月 30日
				CR	20180378	A	2018年 12月 6日
				TW	201731878	A	2017年 9月 16日
				WO	2017112824	A3	2017年 8月 10日
				US	2019276546	A1	2019年 9月 12日
				WO	2017112824	A2	2017年 6月 29日
				EA	201891323	A1	2019年 2月 28日
				JP	2019504032	A	2019年 2月 14日
				AU	2016378739	A1	2018年 7月 5日
				CA	3009650	A1	2017年 6月 29日
				PH	12018501322	A1	2019年 2月 18日
				KR	20180108602	A	2018年 10月 4日
IL	259940	D0	2018年 7月 31日				

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号

PCT/CN2020/115483

检索报告引用的专利文件	公布日 (年/月/日)	同族专利	公布日 (年/月/日)
		PE 20181327 A1	2018年 8月 20日
		UY 37049 A	2017年 6月 30日
		WO 2017112824 A8	2018年 8月 9日
		BR 112018012833 A2	2018年 12月 4日
		CO 2018007582 A2	2018年 7月 31日
		US 2017275370 A1	2017年 9月 28日
		US 10294303 B2	2019年 5月 21日
		CL 2018001695 A1	2018年 11月 23日
