

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 特 許 公 報 (B2)

(11) 特許番号

特許第6429771号
(P6429771)

(45) 発行日 平成30年11月28日 (2018.11.28)

(24) 登録日 平成30年11月9日 (2018.11.9)

(51) Int. Cl.	F I
C O 7 K 16/30 (2006.01)	C O 7 K 16/30 Z N A
A 6 1 K 39/395 (2006.01)	A 6 1 K 39/395 T
A 6 1 P 35/00 (2006.01)	A 6 1 P 35/00
C 1 2 N 15/13 (2006.01)	C 1 2 N 15/13

請求項の数 6 (全 67 頁)

(21) 出願番号 特願2015-518628 (P2015-518628)
 (86) (22) 出願日 平成25年6月21日 (2013.6.21)
 (65) 公表番号 特表2015-521627 (P2015-521627A)
 (43) 公表日 平成27年7月30日 (2015.7.30)
 (86) 国際出願番号 PCT/US2013/047190
 (87) 国際公開番号 W02013/192594
 (87) 国際公開日 平成25年12月27日 (2013.12.27)
 審査請求日 平成28年6月17日 (2016.6.17)
 (31) 優先権主張番号 61/662, 910
 (32) 優先日 平成24年6月21日 (2012.6.21)
 (33) 優先権主張国 米国 (US)

(73) 特許権者 514291864
 ソレント・セラピューティクス・インコー
 ポレイテッド
 Sorrento Therapeuti
 cs, Inc.
 アメリカ合衆国92121カリフォルニア
 州サンディエゴ、ダイレクターズ・ブレイ
 ス4955番
 (74) 代理人 100145403
 弁理士 山尾 憲人
 (74) 代理人 100156144
 弁理士 落合 康

前置審査

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 c-Met に結合する抗原結合タンパク質

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

配列番号 19 の重鎖アミノ酸配列および配列番号 20 の軽鎖アミノ酸配列を含む、完全ヒト抗 c-Met 抗体またはその抗原結合フラグメント。

【請求項 2】

配列番号 19 の重鎖アミノ酸配列および配列番号 20 の軽鎖アミノ酸配列を含む、完全ヒト抗 c-Met 抗体 F a b フラグメント。

【請求項 3】

有効量の請求項 1 または 2 に記載の完全ヒト抗 c-Met 抗体またはその抗体フラグメントを含む、哺乳類の対象の癌を処置するための医薬組成物。

【請求項 4】

癌が HGF 依存性または HGF 非依存性である c-Met 活性化関連癌からなる群から選択される c-Met 活性化関連癌である、請求項 3 に記載の医薬組成物。

【請求項 5】

癌が前立腺癌、骨肉腫、肺癌、乳癌、子宮内膜癌、膠芽腫および結腸癌からなる群から選択される、請求項 3 に記載の医薬組成物。

【請求項 6】

有効量の請求項 1 または 2 に記載の完全ヒト抗 c-Met 抗体またはその抗原結合フラグメントを含む、哺乳類の対象の炎症性疾患または自己免疫疾患を処置するための医薬組成物。

10

20

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

技術分野

本発明は、抗 c - M e t 抗体に関係するまたは抗 c - M e t 抗体から誘導される組成物および方法を提供する。より具体的には、本発明は、c - M e t に結合するヒト抗体、当該抗体の c - M e t 結合フラグメントおよび誘導体、および当該フラグメントを含む C - M e t 結合ポリペプチドを提供する。さらには、本発明は、当該抗体、抗体フラグメントおよび誘導体ならびにポリペプチドをコードする核酸、当該ポリヌクレオチドを含む細胞、当該抗体、抗体フラグメントおよび誘導体ならびにポリペプチドを製造する方法、および、様々な炎症性障害および様々な癌を含む C - M e t 関連障害または状態を有する患者を処置または診断する方法を含む、当該抗体、抗体フラグメントおよび誘導体ならびにポリペプチドを使用する方法を提供する。

10

【背景技術】

【0002】

背景

H G F は、数種の細胞型に対して分裂促進性活性、運動源性活性および形態形成活性を有する間葉由来多指向性因子である。H G F 作用は、特異的なチロシンキナーゼである c - M e t によって媒介され、異常な H G F および c - M e t 発現は、様々な腫瘍でしばしば観察される (Maulik et al., Cytokine & Growth Factor Reviews (2002), 13:41-59; D anilkovitch-Miagkova & Zbar, J. Clin. Invest. (2002), 109(7):863-867)。H G F / c - M e t シグナル伝達経路の制御は、腫瘍の進行および転移に關与している (Trusolino & Comoglio, Nature Rev. (2002), 2:289-300)。

20

【0003】

H G F は、M e t 受容体チロシンキナーゼ (R T K) の細胞外ドメインに結合し、細胞散乱、増殖および生存などの多様な生物学的プロセスを制御する。H G F - M e t シグナル伝達は、正常な胚発育、特に筋前駆細胞の遊走においておよび肝臓や神経系の発育に必須である (Bladt et al., Nature 376, 768-771. 1995; Hamanoue et al. J. Neurosci. Res. 43, 554-564. 1996; Schmidt et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 94, 11445-11450, 1995; Uehara et al., Nature 373, 702-705, 1995)。M e t および H G F のノックアウトマウスの発育表現型は非常に類似しており、H G F が M e t 受容体と同族リガンドであることを示唆している (Schmidt et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 94, 11445-11450, 1995; Uehara et al., Nature 373, 702-705, 1995)。H G F - M e t はまた、肝再生、血管新生および創傷治癒に役割を果たす (Bussolino et al., J. Cell Biol. 119, 629-641 1992; Nusrat et al., J. Clin. Invest. 93, 2056-2065 1994)。前駆 M e t 受容体は、タンパク質切断を受けて、ジスルフィド結合によって結合した細胞外サブユニットおよび膜貫通サブユニットとなる (Tempest et al., Br. J. Cancer 58, 3-7 1988)。サブユニットは、細胞質キナーゼドメインを含み、複数アダプタータンパク質が結合してシグナル伝達を開始する C 末端で、1 個の多基質ドッキング部位を有する。H G F が結合すると、M e t の活性化は、それぞれ G a b 1 および G r b 2 / S o s 媒介 P I 3 - キナーゼおよび R a s / M A P K 活性化によるチロシンリン酸化および下流シグナル伝達を起こし、そのことが細胞運動性および増殖を推進する (Furge et al., Oncogene 19, 5582-5589 2000; Hartmann et al., J. Biol. Chem. 269, 21936-21939 1994; Ponzetto et al., Cell 87, 531-542 1996; および Royal and Park, J. Biol. Chem. 270, 27780-27787 1995)。

30

40

【0004】

M e t 過剰発現または遺伝子増幅は、様々なヒトの癌で観察されている。例えば、M e t タンパク質は、結腸直腸癌で少なくとも 5 倍過剰発現され、肝転移で遺伝子増幅があることが報告されている (Di Renzo et al., Clin. Cancer Res. 1, 147-154, 1995; Liu et al., Oncogene 7, 181-185 1992)。M e t タンパク質はまた、口腔扁平上皮細胞癌、肝細胞癌、腎細胞癌、乳癌および肺癌において、過剰発現されることが報告されている (Jin

50

et al., Cancer 79, 749-760 1997; Morello et al., J. Cell Physiol. 189, 285-290 2001; Natali et al., Int. J. Cancer 69, 212-217. 1996; Olivero et al., Br. J. Cancer 74, 1862-1868 1996; Suzuki et al., Hepatology 20, 1231-1236 1994)。さらに、m R N A の過剰発現は、肝細胞癌、胃癌および結腸直腸癌で観察されている(Boix et al., Hepatology 19, 88-91 1994; Kuniyasu et al., Int. J. Cancer 55, 72-75 1993; Liu et al., Oncogene 7, 181-185 1992)。

【 0 0 0 5 】

M e t のキナーゼドメインにおける幾つかの変異が乳頭状腎細胞癌で見られており、構成的受容体活性化に至る(Olivero et al., Int. J. Cancer 82, 640-643 1999; Schmidt et al., Nat. Genet. 16, 68-73 1997; Schmidt et al., Oncogene 18, 2343-2350 1999)。これらの活性化変異は、構成的M e t チロシンリン酸化をもたらし、結果的にM A P K 活性化、フォーカス形成および腫瘍発生を起こす(Jeffers et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 94, 11445-11450 1997)。さらに、これらの変異は、細胞運動性および浸潤を増進する(Giordano et al., 2000; Lorenzato et al., Cancer Res. 62, 7025-7030 2002)。形質転換細胞のH G F 依存性M e t 活性化は、運動性、散乱および遊走の増大を媒介し、そのことが、最終的に浸潤性腫瘍増殖および転移を起こす(Jeffers et al., Mol. Cell Biol. 16, 1115-1125 1996; Meiners et al., Oncogene 16, 9-20 1998)。

【 0 0 0 6 】

M e t は、R o n およびS e a を含むR T K のサブファミリーのメンバーである(Maulik et al., Cytokine Growth Factor Rev. 13, 41-59 2002)。M e t の細胞外ドメイン構造の予測は、セマフォリンおよびプレキシンと相同性を有することを示唆している。M e t のN末端は、全てのセマフォリンおよびプレキシンで保存されている約500個のアミノ酸のS e m a ドメインを含む。セマフォリンおよびプレキシンは、最初に神経発育における役割が記載された分泌型および膜結合型タンパク質の大きなファミリーに属する(Van Vactor and Lorenz, Curr. Biol. 9, R201-204 1999)。しかし、セマフォリン過剰発現は、腫瘍浸潤および転移と関連づけられている。プレキシン、セマフォリンおよびインテグリンで見られるシステインリッチP S I ドメイン(M e t 関連配列ドメインともいう)は、S e m a ドメインに隣接し、プレキシンおよび転写因子で見られる免疫グロブリン様領域である4個のI P T リピートが続く。近年の研究は、M e t のS e m a ドメインが、H G F およびヘパリン結合に十分であることを示唆している(Gherardi et al., (2003), “Functional map and domain structure of Met, the product of the c-Met protooncogene and receptor for hepatocyte growth factor/scatter factor”, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 2003)。さらに、Kong-Beltranら(Cancer Cell (2004), 6:61-73)は、M e t のS e m a ドメインが、受容体二量体化および活性化に必要であることを報告している。

【 0 0 0 7 】

H G F / c - M e t 経路を標的とした多数の分子が報告されている。これらの分子は、抗体、例えば米国特許第5,686,292号で記載された抗体を含む。また、c - M e t の細胞外ドメインの一部が、H G F / c - M e t 経路に拮抗作用し得ることが示されている。しかし、この経路が様々な病態の病因に果たす重要な役割を考慮すれば、治療薬として開発するのに最適な臨床特性を有する薬物についての必要性が継続して存在することは明らかである。

【 発明の概要 】

【 0 0 0 8 】

概要

本発明は、配列番号1、配列番号3、配列番号5、配列番号7、配列番号9、配列番号11、配列番号13、配列番号15、配列番号17、配列番号19、配列番号21、配列番号24、配列番号25、配列番号27、配列番号29、配列番号31、配列番号32、配列番号33、配列番号34、配列番号36、配列番号37、配列番号40、配列番号42、配列番号44、配列番号45、配列番号47、配列番号49、配列番号51、配列番号53、配列番号56、配列番号58、配列番号59、配列番号61、配列番号63、配

列番号 65、配列番号 69、配列番号 71、配列番号 74、配列番号 75、配列番号 76、配列番号 79、配列番号 80、配列番号 82、配列番号 84、配列番号 86、配列番号 88、配列番号 90、配列番号 92 およびそれらの組み合わせからなる群から選択されるアミノ酸配列と少なくとも 95% 同一である重鎖可変ドメイン配列を有し、かつ、配列番号 2、配列番号 4、配列番号 6、配列番号 8、配列番号 10、配列番号 12、配列番号 14、配列番号 16、配列番号 18、配列番号 20、配列番号 22、配列番号 23、配列番号 26、配列番号 28、配列番号 30、配列番号 35、配列番号 38、配列番号 39、配列番号 41、配列番号 43、配列番号 46、配列番号 48、配列番号 50、配列番号 52、配列番号 54、配列番号 55、配列番号 57、配列番号 60、配列番号 62、配列番号 64、配列番号 66、配列番号 67、配列番号 68、配列番号 70、配列番号 72、配列番号 73、配列番号 77、配列番号 78、配列番号 81、配列番号 83、配列番号 85、配列番号 87、配列番号 89、配列番号 91、配列番号 93 およびそれらの組み合わせからなる群から選択されるアミノ酸配列と少なくとも 95% 同一である軽鎖可変ドメイン配列を有する、少なくとも 10^{-6} M の結合親和性で c - M e t エピトープに結合する I g G クラスの完全ヒト抗体を提供する。

【0009】

好ましくは、該完全ヒト抗体は、重鎖および軽鎖の両方を有し、ここで、該抗体は、配列番号 1 / 配列番号 2 (本明細書で A 1 と呼ぶ)、配列番号 3 / 配列番号 4 (本明細書で A 2 と呼ぶ)、配列番号 5 / 配列番号 6 (本明細書で A 8 と呼ぶ)、配列番号 7 / 配列番号 8 (本明細書で B 1 2 と呼ぶ)、配列番号 9 / 配列番号 10 (本明細書で D 6 と呼ぶ)、配列番号 11 / 配列番号 12 (本明細書で E 1 と呼ぶ)、配列番号 13 / 配列番号 14 (本明細書で E 6 と呼ぶ)、配列番号 15 / 配列番号 16 (本明細書で F 3 と呼ぶ)、配列番号 17 / 配列番号 18 (本明細書で H 6 と呼ぶ)、配列番号 19 / 配列番号 20 (本明細書で H 8 と呼ぶ)、配列番号 21 / 配列番号 22 (本明細書で H 8 - 9 と呼ぶ)、配列番号 21 / 配列番号 23 (本明細書で H 8 - 9 E E 8 L 3 と呼ぶ)、配列番号 24 / 配列番号 22 (本明細書で H 8 - G 3 S と呼ぶ)、配列番号 25 / 配列番号 26 (本明細書で H 8 - A 2 と呼ぶ)、配列番号 27 / 配列番号 28 (本明細書で H 8 - B 6 と呼ぶ)、配列番号 29 / 配列番号 23 (本明細書で H 8 - C 1 と呼ぶ)、配列番号 24 / 配列番号 30 (本明細書で H 8 - D 4 と呼ぶ)、配列番号 31 / 配列番号 23 (本明細書で H 8 - D 5 と呼ぶ)、配列番号 24 / 配列番号 23 (本明細書で H 8 - D 6 と呼ぶ)、配列番号 32 / 配列番号 23 (本明細書で H 8 - D 1 0 と呼ぶ)、配列番号 33 / 配列番号 22 (本明細書で H 8 - E 5 と呼ぶ)、配列番号 34 / 配列番号 22 (本明細書で H 8 - G 7 と呼ぶ)、配列番号 24 / 配列番号 35 (本明細書で H 8 - G 9 と呼ぶ)、配列番号 36 / 配列番号 26 (本明細書で H 8 - H 6 と呼ぶ)、配列番号 29 / 配列番号 22 (本明細書で H 8 - 2 A 2 と呼ぶ)、配列番号 37 / 配列番号 38 (本明細書で H 8 - 2 B 1 と呼ぶ)、配列番号 34 / 配列番号 23 (本明細書で H 8 - 2 B 2 と呼ぶ)、配列番号 37 / 配列番号 23 (本明細書で H 8 - 2 B 4 と呼ぶ)、配列番号 32 / 配列番号 39 (本明細書で H 8 - 2 B 7 と呼ぶ)、配列番号 32 / 配列番号 22 (本明細書で H 8 - A 7 P と呼ぶ)、配列番号 40 / 配列番号 41 (本明細書で G C E - A 1 0 と呼ぶ)、配列番号 42 / 配列番号 43 (本明細書で G C E - A 1 1 と呼ぶ)、配列番号 44 / 配列番号 41 (本明細書で G C E - A 1 3 と呼ぶ)、配列番号 45 / 配列番号 46 (本明細書で G C E - A 1 4 と呼ぶ)、配列番号 47 / 配列番号 48 (本明細書で G C E - A 1 6 と呼ぶ)、配列番号 49 / 配列番号 50 (本明細書で G C E - A 1 8 と呼ぶ)、配列番号 51 / 配列番号 52 (本明細書で G C E - B 2 と呼ぶ)、配列番号 53 / 配列番号 54 (本明細書で G C E - B 9 と呼ぶ)、配列番号 45 / 配列番号 55 (本明細書で G C E - B 1 1 と呼ぶ)、配列番号 56 / 配列番号 57 (本明細書で G C E - B 1 3 と呼ぶ)、配列番号 58 / 配列番号 57 (本明細書で G C E - B 1 9 と呼ぶ)、配列番号 59 / 配列番号 60 (本明細書で G C E - B R 1 と呼ぶ)、配列番号 61 / 配列番号 62 (本明細書で G C E - B 2 0 と呼ぶ)、配列番号 63 / 配列番号 64 (本明細書で G C E - A 1 9 と呼ぶ)、配列番号 65 / 配列番号 66 (本明細書で G C E - B 1 0 と呼ぶ)、配列番号 58 / 配列番号 67 (本明細書で G C E - B 5 と呼ぶ)、配列番号 61 / 配列番号 68 (本明細書で

G C E - B 4 と呼ぶ)、配列番号 6 9 / 配列番号 7 0 (本明細書で G C E - A 2 6 と呼ぶ)、配列番号 7 1 / 配列番号 7 2 (本明細書で G C E - L 1 A - 9 と呼ぶ)、配列番号 4 9 / 配列番号 7 3 (本明細書で G C E - H 3 4 - 3 6 と呼ぶ)、配列番号 7 4 / 配列番号 7 3 (本明細書で G C E - H 1 3 - 1 と呼ぶ)、配列番号 6 1 / 配列番号 7 3 (本明細書で G C E - H 1 3 - 2 と呼ぶ)、配列番号 4 4 / 配列番号 7 3 (本明細書で G C E - H 1 3 - 3 と呼ぶ)、配列番号 4 0 / 配列番号 7 3 (本明細書で G C E - H 1 3 - 4 と呼ぶ)、配列番号 7 5 / 配列番号 7 3 (本明細書で G C E - H 1 3 - 5 と呼ぶ)、配列番号 6 9 / 配列番号 7 3 (本明細書で G C E - H 1 3 - 6 と呼ぶ)、配列番号 7 6 / 配列番号 7 3 (本明細書で G C E - H 1 3 - 8 と呼ぶ)、配列番号 2 1 / 配列番号 7 7 (本明細書で H 8 - 9 E H 1 1 L と呼ぶ)、配列番号 2 1 / 配列番号 7 8 (本明細書で H 8 - 9 E G 1 1 L と呼ぶ)、配列番号 7 9 / 配列番号 2 0 (本明細書で H 8 - 6 A G 2 H 3 と呼ぶ)、配列番号 8 0 / 配列番号 8 1 (本明細書で A 1 - 2 と呼ぶ)、配列番号 8 2 / 配列番号 8 3 (本明細書で A 1 - 4 と呼ぶ)、配列番号 8 4 / 配列番号 8 5 (本明細書で A 1 - 6 と呼ぶ)、配列番号 8 6 / 配列番号 8 7 (本明細書で A 1 - 8 と呼ぶ)、配列番号 8 8 / 配列番号 8 9 (本明細書で A 1 - 9 と呼ぶ)、配列番号 9 0 / 配列番号 9 1 (本明細書で A 1 - 2 4 と呼ぶ)、配列番号 9 2 / 配列番号 9 3 (本明細書で A 1 - 3 2 と呼ぶ) およびそれらの組み合わせからなる群から選択される重鎖 / 軽鎖可変ドメイン配列を有する。

【 0 0 1 0 】

本発明は、重鎖由来の可変ドメイン領域および軽鎖由来の可変ドメイン領域を有する完全ヒト抗体 F a b フラグメントであって、ここで、重鎖可変ドメイン配列が、配列番号 1、配列番号 3、配列番号 5、配列番号 7、配列番号 9、配列番号 11、配列番号 13、配列番号 15、配列番号 17、配列番号 19、配列番号 21、配列番号 24、配列番号 25、配列番号 27、配列番号 29、配列番号 31、配列番号 32、配列番号 33、配列番号 34、配列番号 36、配列番号 37、配列番号 40、配列番号 42、配列番号 44、配列番号 45、配列番号 47、配列番号 49、配列番号 51、配列番号 53、配列番号 56、配列番号 58、配列番号 59、配列番号 61、配列番号 63、配列番号 65、配列番号 69、配列番号 71、配列番号 74、配列番号 75、配列番号 76、配列番号 79、配列番号 80、配列番号 82、配列番号 84、配列番号 86、配列番号 88、配列番号 90、配列番号 92 およびそれらの組み合わせからなる群から選択されるアミノ酸配列と少なくとも 95 % 同一であり、軽鎖可変ドメイン配列が、配列番号 2、配列番号 4、配列番号 6、配列番号 8、配列番号 10、配列番号 12、配列番号 14、配列番号 16、配列番号 18、配列番号 20、配列番号 22、配列番号 23、配列番号 26、配列番号 28、配列番号 30、配列番号 35、配列番号 38、配列番号 39、配列番号 41、配列番号 43、配列番号 46、配列番号 48、配列番号 50、配列番号 52、配列番号 54、配列番号 55、配列番号 57、配列番号 60、配列番号 62、配列番号 64、配列番号 66、配列番号 67、配列番号 68、配列番号 70、配列番号 72、配列番号 73、配列番号 77、配列番号 78、配列番号 81、配列番号 83、配列番号 85、配列番号 87、配列番号 89、配列番号 91、配列番号 93 およびそれらの組み合わせからなる群から選択されるアミノ酸配列と少なくとも 95 % 同一である、完全ヒト抗体 F a b フラグメントを提供する。好ましくは、該完全ヒト抗体 F a b フラグメントは、重鎖可変ドメイン領域および軽鎖可変ドメイン領域の両方を有し、ここで、該抗体は、配列番号 1 / 配列番号 2、配列番号 3 / 配列番号 4、配列番号 5 / 配列番号 6、配列番号 7 / 配列番号 8、配列番号 9 / 配列番号 10、配列番号 11 / 配列番号 12、配列番号 13 / 配列番号 14、配列番号 15 / 配列番号 16、配列番号 17 / 配列番号 18、配列番号 19 / 配列番号 20、配列番号 21 / 配列番号 22、配列番号 21 / 配列番号 23、配列番号 24 / 配列番号 22、配列番号 25 / 配列番号 26、配列番号 27 / 配列番号 28、配列番号 29 / 配列番号 23、配列番号 24 / 配列番号 30、配列番号 31 / 配列番号 23、配列番号 24 / 配列番号 23、配列番号 32 / 配列番号 23、配列番号 33 / 配列番号 22、配列番号 34 / 配列番号 22、配列番号 24 / 配列番号 35、配列番号 36 / 配列番号 26、配列番号 29 / 配列番号 22、配列番号 37 / 配列番号 38、配列番号 34 / 配列番号 23、配列番号 37 / 配列番

10

20

30

40

50

号 2 3、配列番号 3 2 / 配列番号 3 9、配列番号 3 2 / 配列番号 2 2、配列番号 4 0 / 配列番号 4 1、配列番号 4 2 / 配列番号 4 3、配列番号 4 4 / 配列番号 4 1、配列番号 4 5 / 配列番号 4 6、配列番号 4 7 / 配列番号 4 8、配列番号 4 9 / 配列番号 5 0、配列番号 5 1 / 配列番号 5 2、配列番号 5 3 / 配列番号 5 4、配列番号 4 5 / 配列番号 5 5、配列番号 5 6 / 配列番号 5 7、配列番号 5 8 / 配列番号 5 7、配列番号 5 9 / 配列番号 6 0、配列番号 6 1 / 配列番号 6 2、配列番号 6 3 / 配列番号 6 4、配列番号 6 5 / 配列番号 6 6、配列番号 5 8 / 配列番号 6 7、配列番号 6 1 / 配列番号 6 8、配列番号 6 9 / 配列番号 7 0、配列番号 7 1 / 配列番号 7 2、配列番号 4 9 / 配列番号 7 3、配列番号 7 4 / 配列番号 7 3、配列番号 6 1 / 配列番号 7 3、配列番号 4 4 / 配列番号 7 3、配列番号 4 0 / 配列番号 7 3、配列番号 7 5 / 配列番号 7 3、配列番号 6 9 / 配列番号 7 3、配列番号 7 6 / 配列番号 7 3、配列番号 2 1 / 配列番号 7 7、配列番号 2 1 / 配列番号 7 8、配列番号 7 9 / 配列番号 2 0、配列番号 8 0 / 配列番号 8 1、配列番号 8 2 / 配列番号 8 3、配列番号 8 4 / 配列番号 8 5、配列番号 8 6 / 配列番号 8 7、配列番号 8 8 / 配列番号 8 9、配列番号 9 0 / 配列番号 9 1、配列番号 9 2 / 配列番号 9 3 およびそれらの組み合わせからなる群から選択される重鎖 / 軽鎖可変ドメイン配列を有する。

【 0 0 1 1 】

本発明は、重鎖由来の可変ドメイン領域および軽鎖由来の可変ドメイン領域および重鎖可変ドメイン領域と軽鎖可変ドメイン領域を連結するペプチドリンカーを有する一本鎖ヒト抗体であって、ここで、重鎖可変ドメイン配列が、配列番号 1、配列番号 3、配列番号 5、配列番号 7、配列番号 9、配列番号 1 1、配列番号 1 3、配列番号 1 5、配列番号 1 7、配列番号 1 9、配列番号 2 1、配列番号 2 4、配列番号 2 5、配列番号 2 7、配列番号 2 9、配列番号 3 1、配列番号 3 2、配列番号 3 3、配列番号 3 4、配列番号 3 6、配列番号 3 7、配列番号 4 0、配列番号 4 2、配列番号 4 4、配列番号 4 5、配列番号 4 7、配列番号 4 9、配列番号 5 1、配列番号 5 3、配列番号 5 6、配列番号 5 8、配列番号 5 9、配列番号 6 1、配列番号 6 3、配列番号 6 5、配列番号 6 9、配列番号 7 1、配列番号 7 4、配列番号 7 5、配列番号 7 6、配列番号 7 9、配列番号 8 0、配列番号 8 2、配列番号 8 4、配列番号 8 6、配列番号 8 8、配列番号 9 0、配列番号 9 2 およびそれらの組み合わせからなる群から選択されるアミノ酸配列と少なくとも 9 5 % 同一であり、軽鎖可変ドメイン配列が、配列番号 2、配列番号 4、配列番号 6、配列番号 8、配列番号 1 0、配列番号 1 2、配列番号 1 4、配列番号 1 6、配列番号 1 8、配列番号 2 0、配列番号 2 2、配列番号 2 3、配列番号 2 6、配列番号 2 8、配列番号 3 0、配列番号 3 5、配列番号 3 8、配列番号 3 9、配列番号 4 1、配列番号 4 3、配列番号 4 6、配列番号 4 8、配列番号 5 0、配列番号 5 2、配列番号 5 4、配列番号 5 5、配列番号 5 7、配列番号 6 0、配列番号 6 2、配列番号 6 4、配列番号 6 6、配列番号 6 7、配列番号 6 8、配列番号 7 0、配列番号 7 2、配列番号 7 3、配列番号 7 7、配列番号 7 8、配列番号 8 1、配列番号 8 3、配列番号 8 5、配列番号 8 7、配列番号 8 9、配列番号 9 1、配列番号 9 3 およびそれらの組み合わせからなる群から選択されるアミノ酸配列と少なくとも 9 5 % 同一である、一本鎖ヒト抗体を提供する。好ましくは、完全ヒト一本鎖ヒト抗体は、重鎖可変ドメイン領域および軽鎖可変ドメイン領域の両方を有し、ここで、一本鎖完全ヒト抗体は、配列番号 1 / 配列番号 2、配列番号 3 / 配列番号 4、配列番号 5 / 配列番号 6、配列番号 7 / 配列番号 8、配列番号 9 / 配列番号 1 0、配列番号 1 1 / 配列番号 1 2、配列番号 1 3 / 配列番号 1 4、配列番号 1 5 / 配列番号 1 6、配列番号 1 7 / 配列番号 1 8、配列番号 1 9 / 配列番号 2 0、配列番号 2 1 / 配列番号 2 2、配列番号 2 1 / 配列番号 2 3、配列番号 2 4 / 配列番号 2 2、配列番号 2 5 / 配列番号 2 6、配列番号 2 7 / 配列番号 2 8、配列番号 2 9 / 配列番号 2 3、配列番号 2 4 / 配列番号 3 0、配列番号 3 1 / 配列番号 2 3、配列番号 2 4 / 配列番号 2 3、配列番号 3 2 / 配列番号 2 3、配列番号 3 3 / 配列番号 2 2、配列番号 3 4 / 配列番号 2 2、配列番号 2 4 / 配列番号 3 5、配列番号 3 6 / 配列番号 2 6、配列番号 2 9 / 配列番号 2 2、配列番号 3 7 / 配列番号 3 8、配列番号 3 4 / 配列番号 2 3、配列番号 3 7 / 配列番号 2 3、配列番号 3 2 / 配列番号 3 9、配列番号 3 2 / 配列番号 2 2、配列番号 4 0 / 配列番号 4 1、配列番号 4 2 / 配列番号 4

10

20

30

40

50

3、配列番号44 / 配列番号41、配列番号45 / 配列番号46、配列番号47 / 配列番号48、配列番号49 / 配列番号50、配列番号51 / 配列番号52、配列番号53 / 配列番号54、配列番号45 / 配列番号55、配列番号56 / 配列番号57、配列番号58 / 配列番号57、配列番号59 / 配列番号60、配列番号61 / 配列番号62、配列番号63 / 配列番号64、配列番号65 / 配列番号66、配列番号58 / 配列番号67、配列番号61 / 配列番号68、配列番号69 / 配列番号70、配列番号71 / 配列番号72、配列番号49 / 配列番号73、配列番号74 / 配列番号73、配列番号61 / 配列番号73、配列番号44 / 配列番号73、配列番号40 / 配列番号73、配列番号75 / 配列番号73、配列番号69 / 配列番号73、配列番号76 / 配列番号73、配列番号21 / 配列番号77、配列番号21 / 配列番号78、配列番号79 / 配列番号20、配列番号80 / 配列番号81、配列番号82 / 配列番号83、配列番号84 / 配列番号85、配列番号86 / 配列番号87、配列番号88 / 配列番号89、配列番号90 / 配列番号91、配列番号92 / 配列番号93およびそれらの組み合わせからなる群から選択される重鎖 / 軽鎖可変ドメイン配列を有する。

【0012】

本発明は、さらに、有効量の抗c-Metポリペプチドを投与することを含む、広範囲の哺乳類の癌または広範囲の炎症性疾患および自己免疫疾患を処置する方法であって、抗c-Metポリペプチドが、少なくとも 10^{-6} Mの結合親和性でc-Metエピトープに結合するIgGクラスの完全ヒト抗体、重鎖由来の可変ドメイン領域および軽鎖由来の可変ドメイン領域を有する完全ヒト抗体Fabフラグメント、重鎖由来の可変ドメイン領域および軽鎖由来の可変ドメイン領域および重鎖可変ドメイン領域と軽鎖可変ドメイン領域を連結するペプチドリンカーを有する一本鎖ヒト抗体、および、それらの組み合わせからなる群から選択され；

ここで、該完全ヒト抗体は、配列番号1、配列番号3、配列番号5、配列番号7、配列番号9、配列番号11、配列番号13、配列番号15、配列番号17、配列番号19、配列番号21、配列番号24、配列番号25、配列番号27、配列番号29、配列番号31、配列番号32、配列番号33、配列番号34、配列番号36、配列番号37、配列番号40、配列番号42、配列番号44、配列番号45、配列番号47、配列番号49、配列番号51、配列番号53、配列番号56、配列番号58、配列番号59、配列番号61、配列番号63、配列番号65、配列番号69、配列番号71、配列番号74、配列番号75、配列番号76、配列番号79、配列番号80、配列番号82、配列番号84、配列番号86、配列番号88、配列番号90、配列番号92およびそれらの組み合わせからなる群から選択されるアミノ酸配列と少なくとも95%同一である重鎖可変ドメイン配列を有し、かつ、配列番号2、配列番号4、配列番号6、配列番号8、配列番号10、配列番号12、配列番号14、配列番号16、配列番号18、配列番号20、配列番号22、配列番号23、配列番号26、配列番号28、配列番号30、配列番号35、配列番号38、配列番号39、配列番号41、配列番号43、配列番号46、配列番号48、配列番号50、配列番号52、配列番号54、配列番号55、配列番号57、配列番号60、配列番号62、配列番号64、配列番号66、配列番号67、配列番号68、配列番号70、配列番号72、配列番号73、配列番号77、配列番号78、配列番号81、配列番号83、配列番号85、配列番号87、配列番号89、配列番号91、配列番号93およびそれらの組み合わせからなる群から選択されるアミノ酸配列と少なくとも95%同一である軽鎖可変ドメイン配列を有し；

ここで、該完全ヒト抗体Fabフラグメントは、配列番号1、配列番号3、配列番号5、配列番号7、配列番号9、配列番号11、配列番号13、配列番号15、配列番号17、配列番号19、配列番号21、配列番号24、配列番号25、配列番号27、配列番号29、配列番号31、配列番号32、配列番号33、配列番号34、配列番号36、配列番号37、配列番号40、配列番号42、配列番号44、配列番号45、配列番号47、配列番号49、配列番号51、配列番号53、配列番号56、配列番号58、配列番号59、配列番号61、配列番号63、配列番号65、配列番号69、配列番号71、配列番

10

20

30

40

50

号 7 4、配列番号 7 5、配列番号 7 6、配列番号 7 9、配列番号 8 0、配列番号 8 2、配列番号 8 4、配列番号 8 6、配列番号 8 8、配列番号 9 0、配列番号 9 2 およびそれらの組み合わせからなる群から選択されるアミノ酸配列と少なくとも 9 5 % 同一である重鎖可変ドメイン配列を有し、かつ、配列番号 2、配列番号 4、配列番号 6、配列番号 8、配列番号 1 0、配列番号 1 2、配列番号 1 4、配列番号 1 6、配列番号 1 8、配列番号 2 0、配列番号 2 2、配列番号 2 3、配列番号 2 6、配列番号 2 8、配列番号 3 0、配列番号 3 5、配列番号 3 8、配列番号 3 9、配列番号 4 1、配列番号 4 3、配列番号 4 6、配列番号 4 8、配列番号 5 0、配列番号 5 2、配列番号 5 4、配列番号 5 5、配列番号 5 7、配列番号 6 0、配列番号 6 2、配列番号 6 4、配列番号 6 6、配列番号 6 7、配列番号 6 8、配列番号 7 0、配列番号 7 2、配列番号 7 3、配列番号 7 7、配列番号 7 8、配列番号 8 1、配列番号 8 3、配列番号 8 5、配列番号 8 7、配列番号 8 9、配列番号 9 1、配列番号 9 3 およびそれらの組み合わせからなる群から選択されるアミノ酸配列と少なくとも 9 5 % 同一である軽鎖可変ドメイン配列を有し；

10

ここで、該一本鎖ヒト抗体は、配列番号 1、配列番号 3、配列番号 5、配列番号 7、配列番号 9、配列番号 1 1、配列番号 1 3、配列番号 1 5、配列番号 1 7、配列番号 1 9、配列番号 2 1、配列番号 2 4、配列番号 2 5、配列番号 2 7、配列番号 2 9、配列番号 3 1、配列番号 3 2、配列番号 3 3、配列番号 3 4、配列番号 3 6、配列番号 3 7、配列番号 4 0、配列番号 4 2、配列番号 4 4、配列番号 4 5、配列番号 4 7、配列番号 4 9、配列番号 5 1、配列番号 5 3、配列番号 5 6、配列番号 5 8、配列番号 5 9、配列番号 6 1、配列番号 6 3、配列番号 6 5、配列番号 6 9、配列番号 7 1、配列番号 7 4、配列番号 7 5、配列番号 7 6、配列番号 7 9、配列番号 8 0、配列番号 8 2、配列番号 8 4、配列番号 8 6、配列番号 8 8、配列番号 9 0、配列番号 9 2 およびそれらの組み合わせからなる群から選択されるアミノ酸配列と少なくとも 9 5 % 同一である重鎖可変ドメイン配列を有し、かつ、配列番号 2、配列番号 4、配列番号 6、配列番号 8、配列番号 1 0、配列番号 1 2、配列番号 1 4、配列番号 1 6、配列番号 1 8、配列番号 2 0、配列番号 2 2、配列番号 2 3、配列番号 2 6、配列番号 2 8、配列番号 3 0、配列番号 3 5、配列番号 3 8、配列番号 3 9、配列番号 4 1、配列番号 4 3、配列番号 4 6、配列番号 4 8、配列番号 5 0、配列番号 5 2、配列番号 5 4、配列番号 5 5、配列番号 5 7、配列番号 6 0、配列番号 6 2、配列番号 6 4、配列番号 6 6、配列番号 6 7、配列番号 6 8、配列番号 7 0、配列番号 7 2、配列番号 7 3、配列番号 7 7、配列番号 7 8、配列番号 8 1、配列番号 8 3、配列番号 8 5、配列番号 8 7、配列番号 8 9、配列番号 9 1、配列番号 9 3 およびそれらの組み合わせからなる群から選択されるアミノ酸配列と少なくとも 9 5 % 同一である軽鎖可変ドメイン配列を有する方法を提供する。

20

30

【 0 0 1 3 】

好ましくは、該完全ヒト抗体は、重鎖および軽鎖の両方を有し、ここで、該抗体は、配列番号 1 / 配列番号 2 (本明細書で A 1 と呼ぶ)、配列番号 3 / 配列番号 4 (本明細書で A 2 と呼ぶ)、配列番号 5 / 配列番号 6 (本明細書で A 8 と呼ぶ)、配列番号 7 / 配列番号 8 (本明細書で B 1 2 と呼ぶ)、配列番号 9 / 配列番号 1 0 (本明細書で D 6 と呼ぶ)、配列番号 1 1 / 配列番号 1 2 (本明細書で E 1 と呼ぶ)、配列番号 1 3 / 配列番号 1 4 (本明細書で E 6 と呼ぶ)、配列番号 1 5 / 配列番号 1 6 (本明細書で F 3 と呼ぶ)、配列番号 1 7 / 配列番号 1 8 (本明細書で H 6 と呼ぶ)、配列番号 1 9 / 配列番号 2 0 (本明細書で H 8 と呼ぶ)、配列番号 2 1 / 配列番号 2 2 (本明細書で H 8 - 9 と呼ぶ)、配列番号 2 1 / 配列番号 2 3 (本明細書で H 8 - 9 E E 8 L 3 と呼ぶ)、配列番号 2 4 / 配列番号 2 2 (本明細書で H 8 - G 3 S と呼ぶ)、配列番号 2 5 / 配列番号 2 6 (本明細書で H 8 - A 2 と呼ぶ)、配列番号 2 7 / 配列番号 2 8 (本明細書で H 8 - B 6 と呼ぶ)、配列番号 2 9 / 配列番号 2 3 (本明細書で H 8 - C 1 と呼ぶ)、配列番号 2 4 / 配列番号 3 0 (本明細書で H 8 - D 4 と呼ぶ)、配列番号 3 1 / 配列番号 2 3 (本明細書で H 8 - D 5 と呼ぶ)、配列番号 2 4 / 配列番号 2 3 (本明細書で H 8 - D 6 と呼ぶ)、配列番号 3 2 / 配列番号 2 3 (本明細書で H 8 - D 1 0 と呼ぶ)、配列番号 3 3 / 配列番号 2 2 (本明細書で H 8 - E 5 と呼ぶ)、配列番号 3 4 / 配列番号 2 2 (本明細書で H 8 - G 7 と呼ぶ)、配列番号 2 4 / 配列番号 3

40

50

5 (本明細書で H 8 - G 9 と呼ぶ)、配列番号 3 6 / 配列番号 2 6 (本明細書で H 8 - H 6 と呼ぶ)、配列番号 2 9 / 配列番号 2 2 (本明細書で H 8 - 2 A 2 と呼ぶ)、配列番号 3 7 / 配列番号 3 8 (本明細書で H 8 - 2 B 1 と呼ぶ)、配列番号 3 4 / 配列番号 2 3 (本明細書で H 8 - 2 B 2 と呼ぶ)、配列番号 3 7 / 配列番号 2 3 (本明細書で H 8 - 2 B 4 と呼ぶ)、配列番号 3 2 / 配列番号 3 9 (本明細書で H 8 - 2 B 7 と呼ぶ)、配列番号 3 2 / 配列番号 2 2 (本明細書で H 8 - A 7 P と呼ぶ)、配列番号 4 0 / 配列番号 4 1 (本明細書で G C E - A 1 0 と呼ぶ)、配列番号 4 2 / 配列番号 4 3 (本明細書で G C E - A 1 1 と呼ぶ)、配列番号 4 4 / 配列番号 4 1 (本明細書で G C E - A 1 3 と呼ぶ)、配列番号 4 5 / 配列番号 4 6 (本明細書で G C E - A 1 4 と呼ぶ)、配列番号 4 7 / 配列番号 4 8 (本明細書で G C E - A 1 6 と呼ぶ)、配列番号 4 9 / 配列番号 5 0 (本明細書で G C E - A 1 8 と呼ぶ)、配列番号 5 1 / 配列番号 5 2 (本明細書で G C E - B 2 と呼ぶ)、配列番号 5 3 / 配列番号 5 4 (本明細書で G C E - B 9 と呼ぶ)、配列番号 4 5 / 配列番号 5 5 (本明細書で G C E - B 1 1 と呼ぶ)、配列番号 5 6 / 配列番号 5 7 (本明細書で G C E - B 1 3 と呼ぶ)、配列番号 5 8 / 配列番号 5 7 (本明細書で G C E - B 1 9 と呼ぶ)、配列番号 5 9 / 配列番号 6 0 (本明細書で G C E - B R 1 と呼ぶ)、配列番号 6 1 / 配列番号 6 2 (本明細書で G C E - B 2 0 と呼ぶ)、配列番号 6 3 / 配列番号 6 4 (本明細書で G C E - A 1 9 と呼ぶ)、配列番号 6 5 / 配列番号 6 6 (本明細書で G C E - B 1 0 と呼ぶ)、配列番号 5 8 / 配列番号 6 7 (本明細書で G C E - B 5 と呼ぶ)、配列番号 6 1 / 配列番号 6 8 (本明細書で G C E - B 4 と呼ぶ)、配列番号 6 9 / 配列番号 7 0 (本明細書で G C E - A 2 6 と呼ぶ)、配列番号 7 1 / 配列番号 7 2 (本明細書で G C E - L 1 A - 9 と呼ぶ)、配列番号 4 9 / 配列番号 7 3 (本明細書で G C E - H 3 4 - 3 6 と呼ぶ)、配列番号 7 4 / 配列番号 7 3 (本明細書で G C E - H 1 3 - 1 と呼ぶ)、配列番号 6 1 / 配列番号 7 3 (本明細書で G C E - H 1 3 - 2 と呼ぶ)、配列番号 4 4 / 配列番号 7 3 (本明細書で G C E - H 1 3 - 3 と呼ぶ)、配列番号 4 0 / 配列番号 7 3 (本明細書で G C E - H 1 3 - 4 と呼ぶ)、配列番号 7 5 / 配列番号 7 3 (本明細書で G C E - H 1 3 - 5 と呼ぶ)、配列番号 6 9 / 配列番号 7 3 (本明細書で G C E - H 1 3 - 6 と呼ぶ)、配列番号 7 6 / 配列番号 7 3 (本明細書で G C E - H 1 3 - 8 と呼ぶ)、配列番号 2 1 / 配列番号 7 7 (本明細書で H 8 - 9 E H 1 1 L と呼ぶ)、配列番号 2 1 / 配列番号 7 8 (本明細書で H 8 - 9 E G 1 1 L と呼ぶ)、配列番号 7 9 / 配列番号 2 0 (本明細書で H 8 - 6 A G 2 H 3 と呼ぶ)、配列番号 8 0 / 配列番号 8 1 (本明細書で A 1 - 2 と呼ぶ)、配列番号 8 2 / 配列番号 8 3 (本明細書で A 1 - 4 と呼ぶ)、配列番号 8 4 / 配列番号 8 5 (本明細書で A 1 - 6 と呼ぶ)、配列番号 8 6 / 配列番号 8 7 (本明細書で A 1 - 8 と呼ぶ)、配列番号 8 8 / 配列番号 8 9 (本明細書で A 1 - 9 と呼ぶ)、配列番号 9 0 / 配列番号 9 1 (本明細書で A 1 - 2 4 と呼ぶ)、配列番号 9 2 / 配列番号 9 3 (本明細書で A 1 - 3 2 と呼ぶ)およびそれらの組み合わせからなる群から選択される重鎖 / 軽鎖可変ドメイン配列を有する。

【 0 0 1 4 】

好ましくは、完全ヒト抗体 F a b フラグメントは、重鎖可変ドメイン領域および軽鎖可変ドメイン領域の両方を有し、ここで、該抗体は、配列番号 1 / 配列番号 2 (本明細書で A 1 と呼ぶ)、配列番号 3 / 配列番号 4 (本明細書で A 2 と呼ぶ)、配列番号 5 / 配列番号 6 (本明細書で A 8 と呼ぶ)、配列番号 7 / 配列番号 8 (本明細書で B 1 2 と呼ぶ)、配列番号 9 / 配列番号 1 0 (本明細書で D 6 と呼ぶ)、配列番号 1 1 / 配列番号 1 2 (本明細書で E 1 と呼ぶ)、配列番号 1 3 / 配列番号 1 4 (本明細書で E 6 と呼ぶ)、配列番号 1 5 / 配列番号 1 6 (本明細書で F 3 と呼ぶ)、配列番号 1 7 / 配列番号 1 8 (本明細書で H 6 と呼ぶ)、配列番号 1 9 / 配列番号 2 0 (本明細書で H 8 と呼ぶ)、配列番号 2 1 / 配列番号 2 2 (本明細書で H 8 - 9 と呼ぶ)、配列番号 2 1 / 配列番号 2 3 (本明細書で H 8 - 9 E E 8 L 3 と呼ぶ)、配列番号 2 4 / 配列番号 2 2 (本明細書で H 8 - G 3 S と呼ぶ)、配列番号 2 5 / 配列番号 2 6 (本明細書で H 8 - A 2 と呼ぶ)、配列番号 2 7 / 配列番号 2 8 (本明細書で H 8 - B 6 と呼ぶ)、配列番号 2 9 / 配列番号 2 3 (本明細書で H 8 - C 1 と呼ぶ)、配列番号 2 4 / 配列番号 3 0 (本明細書で H 8 - D 4 と呼ぶ)、配列番号 3 1 / 配列番号 2 3 (本明細書で H 8 - D 5 と呼ぶ)、配列番号 2 4 / 配列番号 2 3 (本明細書で H 8 -

D 6 と呼ぶ)、配列番号 3 2 / 配列番号 2 3 (本明細書で H 8 - D 1 0 と呼ぶ)、配列番号 3 3 / 配列番号 2 2 (本明細書で H 8 - E 5 と呼ぶ)、配列番号 3 4 / 配列番号 2 2 (本明細書で H 8 - G 7 と呼ぶ)、配列番号 2 4 / 配列番号 3 5 (本明細書で H 8 - G 9 と呼ぶ)、配列番号 3 6 / 配列番号 2 6 (本明細書で H 8 - H 6 と呼ぶ)、配列番号 2 9 / 配列番号 2 2 (本明細書で H 8 - 2 A 2 と呼ぶ)、配列番号 3 7 / 配列番号 3 8 (本明細書で H 8 - 2 B 1 と呼ぶ)、配列番号 3 4 / 配列番号 2 3 (本明細書で H 8 - 2 B 2 と呼ぶ)、配列番号 3 7 / 配列番号 2 3 (本明細書で H 8 - 2 B 4 と呼ぶ)、配列番号 3 2 / 配列番号 3 9 (本明細書で H 8 - 2 B 7 と呼ぶ)、配列番号 3 2 / 配列番号 2 2 (本明細書で H 8 - A 7 P と呼ぶ)、配列番号 4 0 / 配列番号 4 1 (本明細書で G C E - A 1 0 と呼ぶ)、配列番号 4 2 / 配列番号 4 3 (本明細書で G C E - A 1 1 と呼ぶ)、配列番号 4 4 / 配列番号 4 1 (本明細書で G C E - A 1 3 と呼ぶ)、配列番号 4 5 / 配列番号 4 6 (本明細書で G C E - A 1 4 と呼ぶ)、配列番号 4 7 / 配列番号 4 8 (本明細書で G C E - A 1 6 と呼ぶ)、配列番号 4 9 / 配列番号 5 0 (本明細書で G C E - A 1 8 と呼ぶ)、配列番号 5 1 / 配列番号 5 2 (本明細書で G C E - B 2 と呼ぶ)、配列番号 5 3 / 配列番号 5 4 (本明細書で G C E - B 9 と呼ぶ)、配列番号 4 5 / 配列番号 5 5 (本明細書で G C E - B 1 1 と呼ぶ)、配列番号 5 6 / 配列番号 5 7 (本明細書で G C E - B 1 3 と呼ぶ)、配列番号 5 8 / 配列番号 5 7 (本明細書で G C E - B 1 9 と呼ぶ)、配列番号 5 9 / 配列番号 6 0 (本明細書で G C E - B R 1 と呼ぶ)、配列番号 6 1 / 配列番号 6 2 (本明細書で G C E - B 2 0 と呼ぶ)、配列番号 6 3 / 配列番号 6 4 (本明細書で G C E - A 1 9 と呼ぶ)、配列番号 6 5 / 配列番号 6 6 (本明細書で G C E - B 1 0 と呼ぶ)、配列番号 5 8 / 配列番号 6 7 (本明細書で G C E - B 5 と呼ぶ)、配列番号 6 1 / 配列番号 6 8 (本明細書で G C E - B 4 と呼ぶ)、配列番号 6 9 / 配列番号 7 0 (本明細書で G C E - A 2 6 と呼ぶ)、配列番号 7 1 / 配列番号 7 2 (本明細書で G C E - L 1 A - 9 と呼ぶ)、配列番号 4 9 / 配列番号 7 3 (本明細書で G C E - H 3 4 - 3 6 と呼ぶ)、配列番号 7 4 / 配列番号 7 3 (本明細書で G C E - H 1 3 - 1 と呼ぶ)、配列番号 6 1 / 配列番号 7 3 (本明細書で G C E - H 1 3 - 2 と呼ぶ)、配列番号 4 4 / 配列番号 7 3 (本明細書で G C E - H 1 3 - 3 と呼ぶ)、配列番号 4 0 / 配列番号 7 3 (本明細書で G C E - H 1 3 - 4 と呼ぶ)、配列番号 7 5 / 配列番号 7 3 (本明細書で G C E - H 1 3 - 5 と呼ぶ)、配列番号 6 9 / 配列番号 7 3 (本明細書で G C E - H 1 3 - 6 と呼ぶ)、配列番号 7 6 / 配列番号 7 3 (本明細書で G C E - H 1 3 - 8 と呼ぶ)、配列番号 2 1 / 配列番号 7 7 (本明細書で H 8 - 9 E H 1 1 L と呼ぶ)、配列番号 2 1 / 配列番号 7 8 (本明細書で H 8 - 9 E G 1 1 L と呼ぶ)、配列番号 7 9 / 配列番号 2 0 (本明細書で H 8 - 6 A G 2 H 3 と呼ぶ)、配列番号 8 0 / 配列番号 8 1 (本明細書で A 1 - 2 と呼ぶ)、配列番号 8 2 / 配列番号 8 3 (本明細書で A 1 - 4 と呼ぶ)、配列番号 8 4 / 配列番号 8 5 (本明細書で A 1 - 6 と呼ぶ)、配列番号 8 6 / 配列番号 8 7 (本明細書で A 1 - 8 と呼ぶ)、配列番号 8 8 / 配列番号 8 9 (本明細書で A 1 - 9 と呼ぶ)、配列番号 9 0 / 配列番号 9 1 (本明細書で A 1 - 2 4 と呼ぶ)、配列番号 9 2 / 配列番号 9 3 (本明細書で A 1 - 3 2 と呼ぶ)およびそれらの組み合わせからなる群から選択される重鎖 / 軽鎖可変ドメイン配列を有する。

【 0 0 1 5 】

好ましくは、完全ヒト一本鎖ヒト抗体は、重鎖可変ドメイン領域および軽鎖可変ドメイン領域の両方を有し、ここで、該一本鎖完全ヒト抗体は、配列番号 1 / 配列番号 2、配列番号 3 / 配列番号 4、配列番号 5 / 配列番号 6、配列番号 7 / 配列番号 8、配列番号 9 / 配列番号 1 0、配列番号 1 1 / 配列番号 1 2、配列番号 1 3 / 配列番号 1 4、配列番号 1 5 / 配列番号 1 6、配列番号 1 7 / 配列番号 1 8、配列番号 1 9 / 配列番号 2 0、配列番号 2 1 / 配列番号 2 2、配列番号 2 1 / 配列番号 2 3、配列番号 2 4 / 配列番号 2 2、配列番号 2 5 / 配列番号 2 6、配列番号 2 7 / 配列番号 2 8、配列番号 2 9 / 配列番号 2 3、配列番号 2 4 / 配列番号 3 0、配列番号 3 1 / 配列番号 2 3、配列番号 2 4 / 配列番号 2 3、配列番号 3 2 / 配列番号 2 3、配列番号 3 3 / 配列番号 2 2、配列番号 3 4 / 配列番号 2 2、配列番号 2 4 / 配列番号 3 5、配列番号 3 6 / 配列番号 2 6、配列番号 2 9 / 配列番号 2 2、配列番号 3 7 / 配列番号 3 8、配列番号 3 4 / 配列番号 2 3、配列番号 3

10

20

30

40

50

7 / 配列番号 23、配列番号 32 / 配列番号 39、配列番号 32 / 配列番号 22、配列番号 40 / 配列番号 41、配列番号 42 / 配列番号 43、配列番号 44 / 配列番号 41、配列番号 45 / 配列番号 46、配列番号 47 / 配列番号 48、配列番号 49 / 配列番号 50、配列番号 51 / 配列番号 52、配列番号 53 / 配列番号 54、配列番号 45 / 配列番号 55、配列番号 56 / 配列番号 57、配列番号 58 / 配列番号 57、配列番号 59 / 配列番号 60、配列番号 61 / 配列番号 62、配列番号 63 / 配列番号 64、配列番号 65 / 配列番号 66、配列番号 58 / 配列番号 67、配列番号 61 / 配列番号 68、配列番号 69 / 配列番号 70、配列番号 71 / 配列番号 72、配列番号 49 / 配列番号 73、配列番号 74 / 配列番号 73、配列番号 61 / 配列番号 73、配列番号 44 / 配列番号 73、配列番号 40 / 配列番号 73、配列番号 75 / 配列番号 73、配列番号 69 / 配列番号 73、配列番号 76 / 配列番号 73、配列番号 21 / 配列番号 77、配列番号 21 / 配列番号 78、配列番号 79 / 配列番号 20、配列番号 80 / 配列番号 81、配列番号 82 / 配列番号 83、配列番号 84 / 配列番号 85、配列番号 86 / 配列番号 87、配列番号 88 / 配列番号 89、配列番号 90 / 配列番号 91、配列番号 92 / 配列番号 93 およびそれらの組み合わせからなる群から選択される重鎖 / 軽鎖可変ドメイン配列を有する。

10

【0016】

好ましくは、処置される広範囲の哺乳類の癌は、HGF 依存性、HGF 非依存性またはその両方である c - M e t 活性化関連癌から選択される c - M e t 活性化関連癌である。好ましくは、処置される広範囲の哺乳類の癌は、前立腺癌、骨肉腫、肺癌、乳癌、子宮内膜癌、膠芽腫および結腸癌からなる群から選択される癌である。

20

【図面の簡単な説明】

【0017】

【図1a】図1aは、Octet Red 法(Forte Bio)によって得られる I g G 形式の抗 c - M e t 抗体の親和性ランキングを示す。

【図1b】図1bは、社内構築して発現させた Genentech 5D5 IgG と比較した、2種の好ましい I g G 形式の抗 c - M e t 抗体の親和性速度論を示す。

【図2】図2は、Genentech 5D5 IgG に関する I g G 形式の c - M e t 抗体の粗製エピトープマッピングを示す。Genentech 5D5 IgG は、標準 N H S / E D C カップリング法を用いて C M 5 チップに固定化した。次いで組換えヒト c - M e t を負荷した。次いで抗 c - M e t 抗体を加え、さらなる結合を検出した。Biacoreによって示されるさらなる結合は、この抗体が、5D5に占められていない c - M e t のエピトープに結合することを示す。

30

【図3a】図3aは、U87 膠芽腫細胞の増殖に対する I g G 形式の抗 c - M e t 抗体の拮抗作用を示す。

【図3b】図3bは、U87 膠芽腫細胞の増殖に対する F a b 形式の抗 c - M e t 抗体の拮抗作用を示す。

【図4a】図4aは、I g G 形式の抗 c - M e t 抗体による H G F 刺激 c - M e t 自己リン酸化の阻害を示す。

【図4b】図4bは、F a b 形式の抗 c - M e t 抗体による H G F 刺激 c - M e t 自己リン酸化の阻害を示す。

【図5】図5は、細胞創傷治癒アッセイにおける、抗 M e t 抗体 (I g G 形式および F a b 形式) による H G F 刺激 c - M e t 媒介細胞遊走の阻害を示す。

40

【図6】図6は、I g G 形式 (A 1、E 1 および H 8) および F a b 形式 (E 1 および A 8) の抗 c - M e t 抗体が、H G F 刺激 c - M e t 媒介細胞運動を阻害できることを示す、H G F / c - M e t 散乱アッセイの結果を示す。

【図7】図7は、抗 c - M e t 抗体 E 1 ()、A 1 () および H 8 () が、コントロールと比較して、ヌードマウスに移植した異種移植腫瘍細胞の増殖を減少させることを示す。

【図8】図8は、組換え H G F と、E 1 および E 1 の様々な最適化バージョンである様々な抗 c - M e t 抗体の間の相互作用のブロックを比較するグラフを示す。I C₅₀ 値は、リガンドのその受容体への結合の阻害の比較を示す。

【図9】図9は、抗 c - M e t 抗体 A 1 およびその最適化バージョンによる、組換え H G

50

Fと組換えc-Metの間の相互作用のブロッキングを示す。リガンドのその受容体への結合の阻害は、活性化を妨げる。

【図10】図10は、A549 NSCLC(非小細胞肺癌)細胞におけるc-MetのHGF刺激リン酸化のインビトロデータを示す。これらのデータは、癌細胞におけるc-Metの活性化をブロックし、その結果c-Metの機能をブロックする抗c-Met抗体A1最適化クローンの能力を証明する。

【図11】図11は、ADCC(抗体依存性細胞傷害)を誘発する抗c-Met抗体の能力を示す。標的細胞に結合する抗体のFc領域が、標的細胞の死を起こすエフェクター免疫細胞の表面上のFc受容体と相互作用するとき、ADCCが引き起こされる。図11は、細胞をベースとするレポーターアッセイ(Promega)を用いて抗c-Met抗体によって誘発されるADCCを示す。図11に示された通り、ADCC誘発についてのE1およびE1最適化クローンのEC₅₀値は、230 pM ~ 1.1 nMの範囲であった。

【図12】図12は、xCelligence system (ACEA)を利用する修飾Boyden Chamber setupを用いた抗c-Met mAbの細胞遊走に対する効果を示す。図12に示された通り、5 ng/mlのHGFは細胞遊走を誘発し、記載された抗c-Met mAbは、様々な程度でこの遊走を阻害した。データは、実験開始後8時間での非処置コントロールで標準化した細胞指数(±SD)として示す。

【図13】図13は、図7に示したインビトロデータの拡大図を示す。

【発明を実施するための形態】

【0018】

詳細な説明

本発明は、配列番号1、配列番号3、配列番号5、配列番号7、配列番号9、配列番号11、配列番号13、配列番号15、配列番号17、配列番号19、配列番号21、配列番号24、配列番号25、配列番号27、配列番号29、配列番号31、配列番号32、配列番号33、配列番号34、配列番号36、配列番号37、配列番号40、配列番号42、配列番号44、配列番号45、配列番号47、配列番号49、配列番号51、配列番号53、配列番号56、配列番号58、配列番号59、配列番号61、配列番号63、配列番号65、配列番号69、配列番号71、配列番号74、配列番号75、配列番号76、配列番号79、配列番号80、配列番号82、配列番号84、配列番号86、配列番号88、配列番号90、配列番号92およびそれらの組み合わせからなる群から選択されるアミノ酸配列と少なくとも95%同一である重鎖可変ドメイン配列を有し、かつ、配列番号2、配列番号4、配列番号6、配列番号8、配列番号10、配列番号12、配列番号14、配列番号16、配列番号18、配列番号20、配列番号22、配列番号23、配列番号26、配列番号28、配列番号30、配列番号35、配列番号38、配列番号39、配列番号41、配列番号43、配列番号46、配列番号48、配列番号50、配列番号52、配列番号54、配列番号55、配列番号57、配列番号60、配列番号62、配列番号64、配列番号66、配列番号67、配列番号68、配列番号70、配列番号72、配列番号73、配列番号77、配列番号78、配列番号81、配列番号83、配列番号85、配列番号87、配列番号89、配列番号91、配列番号93およびそれらの組み合わせからなる群から選択されるアミノ酸配列と少なくとも95%同一である軽鎖可変ドメイン配列を有する、 10^{-6} M以下の結合親和性でc-Metエピトープに結合するIgGクラスの完全ヒト抗体を提供する。

【0019】

好ましくは、該完全ヒト抗体は、重鎖および軽鎖の両方を有し、ここで、該抗体は、配列番号1 / 配列番号2 (本明細書でA1と呼ぶ)、配列番号3 / 配列番号4 (本明細書でA2と呼ぶ)、配列番号5 / 配列番号6 (本明細書でA8と呼ぶ)、配列番号7 / 配列番号8 (本明細書でB12と呼ぶ)、配列番号9 / 配列番号10 (本明細書でD6と呼ぶ)、配列番号11 / 配列番号12 (本明細書でE1と呼ぶ)、配列番号13 / 配列番号14 (本明細書でE6と呼ぶ)、配列番号15 / 配列番号16 (本明細書でF3と呼ぶ)、配列番号17 / 配列番号18 (本明細書でH6と呼ぶ)、配列番号19 / 配列番号20 (本明細書でH8と

呼ぶ)、配列番号 2 1 / 配列番号 2 2 (本明細書で H 8 - 9 と呼ぶ)、配列番号 2 1 / 配列番号 2 3 (本明細書で H 8 - 9 E E 8 L 3 と呼ぶ)、配列番号 2 4 / 配列番号 2 2 (本明細書で H 8 - G 3 S と呼ぶ)、配列番号 2 5 / 配列番号 2 6 (本明細書で H 8 - A 2 と呼ぶ)、配列番号 2 7 / 配列番号 2 8 (本明細書で H 8 - B 6 と呼ぶ)、配列番号 2 9 / 配列番号 2 3 (本明細書で H 8 - C 1 と呼ぶ)、配列番号 2 4 / 配列番号 3 0 (本明細書で H 8 - D 4 と呼ぶ)、配列番号 3 1 / 配列番号 2 3 (本明細書で H 8 - D 5 と呼ぶ)、配列番号 2 4 / 配列番号 2 3 (本明細書で H 8 - D 6 と呼ぶ)、配列番号 3 2 / 配列番号 2 3 (本明細書で H 8 - D 1 0 と呼ぶ)、配列番号 3 3 / 配列番号 2 2 (本明細書で H 8 - E 5 と呼ぶ)、配列番号 3 4 / 配列番号 2 2 (本明細書で H 8 - G 7 と呼ぶ)、配列番号 2 4 / 配列番号 3 5 (本明細書で H 8 - G 9 と呼ぶ)、配列番号 3 6 / 配列番号 2 6 (本明細書で H 8 - H 6 と呼ぶ)、配列番号 2 9 / 配列番号 2 2 (本明細書で H 8 - 2 A 2 と呼ぶ)、配列番号 3 7 / 配列番号 3 8 (本明細書で H 8 - 2 B 1 と呼ぶ)、配列番号 3 4 / 配列番号 2 3 (本明細書で H 8 - 2 B 2 と呼ぶ)、配列番号 3 7 / 配列番号 2 3 (本明細書で H 8 - 2 B 4 と呼ぶ)、配列番号 3 2 / 配列番号 3 9 (本明細書で H 8 - 2 B 7 と呼ぶ)、配列番号 3 2 / 配列番号 2 2 (本明細書で H 8 - A 7 P と呼ぶ)、配列番号 4 0 / 配列番号 4 1 (本明細書で G C E - A 1 0 と呼ぶ)、配列番号 4 2 / 配列番号 4 3 (本明細書で G C E - A 1 1 と呼ぶ)、配列番号 4 4 / 配列番号 4 1 (本明細書で G C E - A 1 3 と呼ぶ)、配列番号 4 5 / 配列番号 4 6 (本明細書で G C E - A 1 4 と呼ぶ)、配列番号 4 7 / 配列番号 4 8 (本明細書で G C E - A 1 6 と呼ぶ)、配列番号 4 9 / 配列番号 5 0 (本明細書で G C E - A 1 8 と呼ぶ)、配列番号 5 1 / 配列番号 5 2 (本明細書で G C E - B 2 と呼ぶ)、配列番号 5 3 / 配列番号 5 4 (本明細書で G C E - B 9 と呼ぶ)、配列番号 4 5 / 配列番号 5 5 (本明細書で G C E - B 1 1 と呼ぶ)、配列番号 5 6 / 配列番号 5 7 (本明細書で G C E - B 1 3 と呼ぶ)、配列番号 5 8 / 配列番号 5 7 (本明細書で G C E - B 1 9 と呼ぶ)、配列番号 5 9 / 配列番号 6 0 (本明細書で G C E - B R 1 と呼ぶ)、配列番号 6 1 / 配列番号 6 2 (本明細書で G C E - B 2 0 と呼ぶ)、配列番号 6 3 / 配列番号 6 4 (本明細書で G C E - A 1 9 と呼ぶ)、配列番号 6 5 / 配列番号 6 6 (本明細書で G C E - B 1 0 と呼ぶ)、配列番号 5 8 / 配列番号 6 7 (本明細書で G C E - B 5 と呼ぶ)、配列番号 6 1 / 配列番号 6 8 (本明細書で G C E - B 4 と呼ぶ)、配列番号 6 9 / 配列番号 7 0 (本明細書で G C E - A 2 6 と呼ぶ)、配列番号 7 1 / 配列番号 7 2 (本明細書で G C E - L 1 A - 9 と呼ぶ)、配列番号 4 9 / 配列番号 7 3 (本明細書で G C E - H 3 4 - 3 6 と呼ぶ)、配列番号 7 4 / 配列番号 7 3 (本明細書で G C E - H 1 3 - 1 と呼ぶ)、配列番号 6 1 / 配列番号 7 3 (本明細書で G C E - H 1 3 - 2 と呼ぶ)、配列番号 4 4 / 配列番号 7 3 (本明細書で G C E - H 1 3 - 3 と呼ぶ)、配列番号 4 0 / 配列番号 7 3 (本明細書で G C E - H 1 3 - 4 と呼ぶ)、配列番号 7 5 / 配列番号 7 3 (本明細書で G C E - H 1 3 - 5 と呼ぶ)、配列番号 6 9 / 配列番号 7 3 (本明細書で G C E - H 1 3 - 6 と呼ぶ)、配列番号 7 6 / 配列番号 7 3 (本明細書で G C E - H 1 3 - 8 と呼ぶ)、配列番号 2 1 / 配列番号 7 7 (本明細書で H 8 - 9 E H 1 1 L と呼ぶ)、配列番号 2 1 / 配列番号 7 8 (本明細書で H 8 - 9 E G 1 1 L と呼ぶ)、配列番号 7 9 / 配列番号 2 0 (本明細書で H 8 - 6 A G 2 H 3 と呼ぶ)、配列番号 8 0 / 配列番号 8 1 (本明細書で A 1 - 2 と呼ぶ)、配列番号 8 2 / 配列番号 8 3 (本明細書で A 1 - 4 と呼ぶ)、配列番号 8 4 / 配列番号 8 5 (本明細書で A 1 - 6 と呼ぶ)、配列番号 8 6 / 配列番号 8 7 (本明細書で A 1 - 8 と呼ぶ)、配列番号 8 8 / 配列番号 8 9 (本明細書で A 1 - 9 と呼ぶ)、配列番号 9 0 / 配列番号 9 1 (本明細書で A 1 - 2 4 と呼ぶ)、配列番号 9 2 / 配列番号 9 3 (本明細書で A 1 - 3 2 と呼ぶ)およびそれらの組み合わせからなる群から選択される重鎖 / 軽鎖可変ドメイン配列を有する。

【 0 0 2 0 】

本発明は、重鎖由来の可変ドメイン領域および軽鎖由来の可変ドメイン領域を有する完全ヒト抗体 F a b フラグメントであって、ここで、重鎖可変ドメイン配列は、配列番号 1、配列番号 3、配列番号 5、配列番号 7、配列番号 9、配列番号 1 1、配列番号 1 3、配列番号 1 5、配列番号 1 7、配列番号 1 9、配列番号 2 1、配列番号 2 4、配列番号 2 5、配列番号 2 7、配列番号 2 9、配列番号 3 1、配列番号 3 2、配列番号 3 3、配列番号

10

20

30

40

50

34、配列番号36、配列番号37、配列番号40、配列番号42、配列番号44、配列番号45、配列番号47、配列番号49、配列番号51、配列番号53、配列番号56、配列番号58、配列番号59、配列番号61、配列番号63、配列番号65、配列番号69、配列番号71、配列番号74、配列番号75、配列番号76、配列番号79、配列番号80、配列番号82、配列番号84、配列番号86、配列番号88、配列番号90、配列番号92およびそれらの組み合わせからなる群から選択されるアミノ酸配列と少なくとも95%同一であり、かつ、軽鎖可変ドメイン配列は、配列番号2、配列番号4、配列番号6、配列番号8、配列番号10、配列番号12、配列番号14、配列番号16、配列番号18、配列番号20、配列番号22、配列番号23、配列番号26、配列番号28、配列番号30、配列番号35、配列番号38、配列番号39、配列番号41、配列番号43、配列番号46、配列番号48、配列番号50、配列番号52、配列番号54、配列番号55、配列番号57、配列番号60、配列番号62、配列番号64、配列番号66、配列番号67、配列番号68、配列番号70、配列番号72、配列番号73、配列番号77、配列番号78、配列番号81、配列番号83、配列番号85、配列番号87、配列番号89、配列番号91、配列番号93およびそれらの組み合わせからなる群から選択されるアミノ酸配列と少なくとも95%同一である、完全ヒト抗体Fabフラグメントを提供する。好ましくは、完全ヒト抗体Fabフラグメントは、重鎖可変ドメイン領域および軽鎖可変ドメイン領域の両方を有し、ここで、該抗体は、配列番号1/配列番号2、配列番号3/配列番号4、配列番号5/配列番号6、配列番号7/配列番号8、配列番号9/配列番号10、配列番号11/配列番号12、配列番号13/配列番号14、配列番号15/配列番号16、配列番号17/配列番号18、配列番号19/配列番号20、配列番号21/配列番号22、配列番号21/配列番号23、配列番号24/配列番号22、配列番号25/配列番号26、配列番号27/配列番号28、配列番号29/配列番号23、配列番号24/配列番号30、配列番号31/配列番号23、配列番号24/配列番号23、配列番号32/配列番号23、配列番号33/配列番号22、配列番号34/配列番号22、配列番号24/配列番号35、配列番号36/配列番号26、配列番号29/配列番号22、配列番号37/配列番号38、配列番号34/配列番号23、配列番号37/配列番号23、配列番号32/配列番号39、配列番号32/配列番号22、配列番号40/配列番号41、配列番号42/配列番号43、配列番号44/配列番号41、配列番号45/配列番号46、配列番号47/配列番号48、配列番号49/配列番号50、配列番号51/配列番号52、配列番号53/配列番号54、配列番号45/配列番号55、配列番号56/配列番号57、配列番号58/配列番号57、配列番号59/配列番号60、配列番号61/配列番号62、配列番号63/配列番号64、配列番号65/配列番号66、配列番号58/配列番号67、配列番号61/配列番号68、配列番号69/配列番号70、配列番号71/配列番号72、配列番号49/配列番号73、配列番号74/配列番号73、配列番号61/配列番号73、配列番号44/配列番号73、配列番号40/配列番号73、配列番号75/配列番号73、配列番号69/配列番号73、配列番号76/配列番号73、配列番号21/配列番号77、配列番号21/配列番号78、配列番号79/配列番号20、配列番号80/配列番号81、配列番号82/配列番号83、配列番号84/配列番号85、配列番号86/配列番号87、配列番号88/配列番号89、配列番号90/配列番号91、配列番号92/配列番号93およびそれらの組み合わせからなる群から選択される重鎖/軽鎖可変ドメイン配列を有する。

【0021】

本発明は、重鎖由来の可変ドメイン領域および軽鎖由来の可変ドメイン領域および重鎖可変ドメイン領域と軽鎖可変ドメイン領域を連結するペプチドリンカーを有する一本鎖ヒト抗体であって、ここで、重鎖可変ドメイン配列は、配列番号1、配列番号3、配列番号5、配列番号7、配列番号9、配列番号11、配列番号13、配列番号15、配列番号17、配列番号19、配列番号21、配列番号24、配列番号25、配列番号27、配列番号29、配列番号31、配列番号32、配列番号33、配列番号34、配列番号36、配列番号37、配列番号40、配列番号42、配列番号44、配列番号45、配列番号47

10

20

30

40

50

、配列番号49、配列番号51、配列番号53、配列番号56、配列番号58、配列番号59、配列番号61、配列番号63、配列番号65、配列番号69、配列番号71、配列番号74、配列番号75、配列番号76、配列番号79、配列番号80、配列番号82、配列番号84、配列番号86、配列番号88、配列番号90、配列番号92およびそれらの組み合わせからなる群から選択されるアミノ酸配列と少なくとも95%同一であり、かつ、軽鎖可変ドメイン配列は、配列番号2、配列番号4、配列番号6、配列番号8、配列番号10、配列番号12、配列番号14、配列番号16、配列番号18、配列番号20、配列番号22、配列番号23、配列番号26、配列番号28、配列番号30、配列番号35、配列番号38、配列番号39、配列番号41、配列番号43、配列番号46、配列番号48、配列番号50、配列番号52、配列番号54、配列番号55、配列番号57、配列番号60、配列番号62、配列番号64、配列番号66、配列番号67、配列番号68、配列番号70、配列番号72、配列番号73、配列番号77、配列番号78、配列番号81、配列番号83、配列番号85、配列番号87、配列番号89、配列番号91、配列番号93およびそれらの組み合わせからなる群から選択されるアミノ酸配列と少なくとも95%同一である、一本鎖ヒト抗体を提供する。好ましくは、完全ヒト一本鎖ヒト抗体は、重鎖可変ドメイン領域および軽鎖可変ドメイン領域の両方を有し、ここで、該一本鎖完全ヒト抗体は、配列番号1 / 配列番号2、配列番号3 / 配列番号4、配列番号5 / 配列番号6、配列番号7 / 配列番号8、配列番号9 / 配列番号10、配列番号11 / 配列番号12、配列番号13 / 配列番号14、配列番号15 / 配列番号16、配列番号17 / 配列番号18、配列番号19 / 配列番号20、配列番号21 / 配列番号22、配列番号21 / 配列番号23、配列番号24 / 配列番号22、配列番号25 / 配列番号26、配列番号27 / 配列番号28、配列番号29 / 配列番号23、配列番号24 / 配列番号30、配列番号31 / 配列番号23、配列番号24 / 配列番号23、配列番号32 / 配列番号23、配列番号33 / 配列番号22、配列番号34 / 配列番号22、配列番号24 / 配列番号35、配列番号36 / 配列番号26、配列番号29 / 配列番号22、配列番号37 / 配列番号38、配列番号34 / 配列番号23、配列番号37 / 配列番号23、配列番号32 / 配列番号39、配列番号32 / 配列番号22、配列番号40 / 配列番号41、配列番号42 / 配列番号43、配列番号44 / 配列番号41、配列番号45 / 配列番号46、配列番号47 / 配列番号48、配列番号49 / 配列番号50、配列番号51 / 配列番号52、配列番号53 / 配列番号54、配列番号45 / 配列番号55、配列番号56 / 配列番号57、配列番号58 / 配列番号57、配列番号59 / 配列番号60、配列番号61 / 配列番号62、配列番号63 / 配列番号64、配列番号65 / 配列番号66、配列番号58 / 配列番号67、配列番号61 / 配列番号68、配列番号69 / 配列番号70、配列番号71 / 配列番号72、配列番号49 / 配列番号73、配列番号74 / 配列番号73、配列番号61 / 配列番号73、配列番号44 / 配列番号73、配列番号40 / 配列番号73、配列番号75 / 配列番号73、配列番号69 / 配列番号73、配列番号76 / 配列番号73、配列番号21 / 配列番号77、配列番号21 / 配列番号78、配列番号79 / 配列番号20、配列番号80 / 配列番号81、配列番号82 / 配列番号83、配列番号84 / 配列番号85、配列番号86 / 配列番号87、配列番号88 / 配列番号89、配列番号90 / 配列番号91、配列番号92 / 配列番号93およびそれらの組み合わせからなる群から選択される重鎖 / 軽鎖可変ドメイン配列を有する。

【0022】

本発明は、さらに、有効量の抗c-Metポリペプチドを投与することを含む、広範囲の哺乳類の癌または炎症性疾患または自己免疫疾患を処置する方法であって、該抗c-Metポリペプチドは、少なくとも 10^{-6} Mの結合親和性でc-Metエピトープに結合するIgGクラスの完全ヒト抗体、重鎖由来の可変ドメイン領域および軽鎖由来の可変ドメイン領域を有する完全ヒト抗体Fabフラグメント、重鎖由来の可変ドメイン領域および軽鎖由来の可変ドメイン領域および重鎖可変ドメイン領域と軽鎖可変ドメイン領域を連結するペプチドリンカーを有する一本鎖ヒト抗体、およびそれらの組み合わせからなる群から選択され；

10

20

30

40

50

20

40

50

有し、かつ、配列番号 2、配列番号 4、配列番号 6、配列番号 8、配列番号 10、配列番号 12、配列番号 14、配列番号 16、配列番号 18、配列番号 20、配列番号 22、配列番号 23、配列番号 26、配列番号 28、配列番号 30、配列番号 35、配列番号 38、配列番号 39、配列番号 41、配列番号 43、配列番号 46、配列番号 48、配列番号 50、配列番号 52、配列番号 54、配列番号 55、配列番号 57、配列番号 60、配列番号 62、配列番号 64、配列番号 66、配列番号 67、配列番号 68、配列番号 70、配列番号 72、配列番号 73、配列番号 77、配列番号 78、配列番号 81、配列番号 83、配列番号 85、配列番号 87、配列番号 89、配列番号 91、配列番号 93 およびそれらの組み合わせからなる群から選択されるアミノ酸配列と少なくとも 95 % 同一である軽鎖可変ドメイン配列を有する、方法を提供する。

10

【0023】

好ましくは、該完全ヒト抗体は、重鎖および軽鎖の両方を有し、ここで、該抗体は、配列番号 1 / 配列番号 2、配列番号 3 / 配列番号 4、配列番号 5 / 配列番号 6、配列番号 7 / 配列番号 8、配列番号 9 / 配列番号 10、配列番号 11 / 配列番号 12、配列番号 13 / 配列番号 14、配列番号 15 / 配列番号 16、配列番号 17 / 配列番号 18、配列番号 19 / 配列番号 20、配列番号 21 / 配列番号 22、配列番号 21 / 配列番号 23、配列番号 24 / 配列番号 22、配列番号 25 / 配列番号 26、配列番号 27 / 配列番号 28、配列番号 29 / 配列番号 23、配列番号 24 / 配列番号 30、配列番号 31 / 配列番号 23、配列番号 24 / 配列番号 23、配列番号 32 / 配列番号 23、配列番号 33 / 配列番号 22、配列番号 34 / 配列番号 22、配列番号 24 / 配列番号 35、配列番号 36 / 配列番号 26、配列番号 29 / 配列番号 22、配列番号 37 / 配列番号 38、配列番号 34 / 配列番号 23、配列番号 37 / 配列番号 23、配列番号 32 / 配列番号 39、配列番号 32 / 配列番号 22、配列番号 40 / 配列番号 41、配列番号 42 / 配列番号 43、配列番号 44 / 配列番号 41、配列番号 45 / 配列番号 46、配列番号 47 / 配列番号 48、配列番号 49 / 配列番号 50、配列番号 51 / 配列番号 52、配列番号 53 / 配列番号 54、配列番号 45 / 配列番号 55、配列番号 56 / 配列番号 57、配列番号 58 / 配列番号 57、配列番号 59 / 配列番号 60、配列番号 61 / 配列番号 62、配列番号 63 / 配列番号 64、配列番号 65 / 配列番号 66、配列番号 58 / 配列番号 67、配列番号 61 / 配列番号 68、配列番号 69 / 配列番号 70、配列番号 71 / 配列番号 72、配列番号 49 / 配列番号 73、配列番号 74 / 配列番号 73、配列番号 61 / 配列番号 73、配列番号 44 / 配列番号 73、配列番号 40 / 配列番号 73、配列番号 75 / 配列番号 73、配列番号 69 / 配列番号 73、配列番号 76 / 配列番号 73、配列番号 21 / 配列番号 77、配列番号 21 / 配列番号 78、配列番号 79 / 配列番号 20、配列番号 80 / 配列番号 81、配列番号 82 / 配列番号 83、配列番号 84 / 配列番号 85、配列番号 86 / 配列番号 87、配列番号 88 / 配列番号 89、配列番号 90 / 配列番号 91、配列番号 92 / 配列番号 93 およびそれらの組み合わせからなる群から選択される重鎖 / 軽鎖可変ドメイン配列を有する。好ましくは、該完全ヒト抗体 Fab フラグメントは、重鎖可変ドメイン領域および軽鎖可変ドメイン領域の両方を有し、ここで、該抗体は、配列番号 1 / 配列番号 2、配列番号 3 / 配列番号 4、配列番号 5 / 配列番号 6、配列番号 7 / 配列番号 8、配列番号 9 / 配列番号 10、配列番号 11 / 配列番号 12、配列番号 13 / 配列番号 14、配列番号 15 / 配列番号 16、配列番号 17 / 配列番号 18、配列番号 19 / 配列番号 20、配列番号 21 / 配列番号 22、配列番号 21 / 配列番号 23、配列番号 24 / 配列番号 22、配列番号 25 / 配列番号 26、配列番号 27 / 配列番号 28、配列番号 29 / 配列番号 23、配列番号 24 / 配列番号 30、配列番号 31 / 配列番号 23、配列番号 24 / 配列番号 23、配列番号 32 / 配列番号 23、配列番号 33 / 配列番号 22、配列番号 34 / 配列番号 22、配列番号 24 / 配列番号 35、配列番号 36 / 配列番号 26、配列番号 29 / 配列番号 22、配列番号 37 / 配列番号 38、配列番号 34 / 配列番号 23、配列番号 37 / 配列番号 23、配列番号 32 / 配列番号 39、配列番号 32 / 配列番号 22、配列番号 40 / 配列番号 41、配列番号 42 / 配列番号 43、配列番号 44 / 配列番号 41、配列番号 45 / 配列番号 46、配列番号 47 / 配列番号 48、配列番号 49 /

20

30

40

50

配列番号 5 0、配列番号 5 1 / 配列番号 5 2、配列番号 5 3 / 配列番号 5 4、配列番号 4 5 / 配列番号 5 5、配列番号 5 6 / 配列番号 5 7、配列番号 5 8 / 配列番号 5 7、配列番号 5 9 / 配列番号 6 0、配列番号 6 1 / 配列番号 6 2、配列番号 6 3 / 配列番号 6 4、配列番号 6 5 / 配列番号 6 6、配列番号 5 8 / 配列番号 6 7、配列番号 6 1 / 配列番号 6 8、配列番号 6 9 / 配列番号 7 0、配列番号 7 1 / 配列番号 7 2、配列番号 4 9 / 配列番号 7 3、配列番号 7 4 / 配列番号 7 3、配列番号 6 1 / 配列番号 7 3、配列番号 4 4 / 配列番号 7 3、配列番号 4 0 / 配列番号 7 3、配列番号 7 5 / 配列番号 7 3、配列番号 6 9 / 配列番号 7 3、配列番号 7 6 / 配列番号 7 3、配列番号 2 1 / 配列番号 7 7、配列番号 2 1 / 配列番号 7 8、配列番号 7 9 / 配列番号 2 0、配列番号 8 0 / 配列番号 8 1、配列番号 8 2 / 配列番号 8 3、配列番号 8 4 / 配列番号 8 5、配列番号 8 6 / 配列番号 8 7、配列番号 8 8 / 配列番号 8 9、配列番号 9 0 / 配列番号 9 1、配列番号 9 2 / 配列番号 9 3 およびそれらの組み合わせからなる群から選択される重鎖 / 軽鎖可変ドメイン配列を有する。好ましくは、完全ヒト一本鎖ヒト抗体は、重鎖可変ドメイン領域および軽鎖可変ドメイン領域の両方を有し、ここで、該一本鎖完全ヒト抗体は、配列番号 1 / 配列番号 2、配列番号 3 / 配列番号 4、配列番号 5 / 配列番号 6、配列番号 7 / 配列番号 8、配列番号 9 / 配列番号 1 0、配列番号 1 1 / 配列番号 1 2、配列番号 1 3 / 配列番号 1 4、配列番号 1 5 / 配列番号 1 6、配列番号 1 7 / 配列番号 1 8、配列番号 1 9 / 配列番号 2 0、配列番号 2 1 / 配列番号 2 2、配列番号 2 1 / 配列番号 2 3、配列番号 2 4 / 配列番号 2 2、配列番号 2 5 / 配列番号 2 6、配列番号 2 7 / 配列番号 2 8、配列番号 2 9 / 配列番号 2 3、配列番号 2 4 / 配列番号 3 0、配列番号 3 1 / 配列番号 2 3、配列番号 2 4 / 配列番号 2 3、配列番号 3 2 / 配列番号 2 3、配列番号 3 3 / 配列番号 2 2、配列番号 3 4 / 配列番号 2 2、配列番号 2 4 / 配列番号 3 5、配列番号 3 6 / 配列番号 2 6、配列番号 2 9 / 配列番号 2 2、配列番号 3 7 / 配列番号 3 8、配列番号 3 4 / 配列番号 2 3、配列番号 3 7 / 配列番号 2 3、配列番号 3 2 / 配列番号 3 9、配列番号 3 2 / 配列番号 2 2、配列番号 4 0 / 配列番号 4 1、配列番号 4 2 / 配列番号 4 3、配列番号 4 4 / 配列番号 4 1、配列番号 4 5 / 配列番号 4 6、配列番号 4 7 / 配列番号 4 8、配列番号 4 9 / 配列番号 5 0、配列番号 5 1 / 配列番号 5 2、配列番号 5 3 / 配列番号 5 4、配列番号 4 5 / 配列番号 5 5、配列番号 5 6 / 配列番号 5 7、配列番号 5 8 / 配列番号 5 7、配列番号 5 9 / 配列番号 6 0、配列番号 6 1 / 配列番号 6 2、配列番号 6 3 / 配列番号 6 4、配列番号 6 5 / 配列番号 6 6、配列番号 5 8 / 配列番号 6 7、配列番号 6 1 / 配列番号 6 8、配列番号 6 9 / 配列番号 7 0、配列番号 7 1 / 配列番号 7 2、配列番号 4 9 / 配列番号 7 3、配列番号 7 4 / 配列番号 7 3、配列番号 6 1 / 配列番号 7 3、配列番号 4 4 / 配列番号 7 3、配列番号 4 0 / 配列番号 7 3、配列番号 7 5 / 配列番号 7 3、配列番号 6 9 / 配列番号 7 3、配列番号 7 6 / 配列番号 7 3、配列番号 2 1 / 配列番号 7 7、配列番号 2 1 / 配列番号 7 8、配列番号 7 9 / 配列番号 2 0、配列番号 8 0 / 配列番号 8 1、配列番号 8 2 / 配列番号 8 3、配列番号 8 4 / 配列番号 8 5、配列番号 8 6 / 配列番号 8 7、配列番号 8 8 / 配列番号 8 9、配列番号 9 0 / 配列番号 9 1、配列番号 9 2 / 配列番号 9 3 およびそれらの組み合わせからなる群から選択される重鎖 / 軽鎖可変ドメイン配列を有する。

【 0 0 2 4 】

好ましくは、処置される広範囲の哺乳類の癌は、HGF 依存性、HGF 非依存性またはその両方である c - M e t 活性化関連癌から選択される c - M e t 活性化関連癌である。好ましくは、処置される広範囲の哺乳類の癌は、前立腺癌、骨肉腫、肺癌、乳癌、子宮内膜癌、膠芽腫および結腸癌からなる群から選択される癌である。

【 0 0 2 5 】

“ 抗原結合タンパク質 ” は、抗原に結合する部分、および、所望により抗原結合タンパク質の抗原への結合を助ける立体配座を抗原結合部分が採用することを可能する骨格またはフレームワーク部分を含むタンパク質である。抗原結合タンパク質の例は、抗体、抗体フラグメント (例えば抗体の抗原結合部分)、抗体誘導体および抗体アナログを含む。抗原結合タンパク質は、例えば、代替タンパク質骨格または結合させた C D R もしくは C D R 誘導体を含む人工骨格を含み得る。当該骨格は、例えば抗原結合タンパク質の 3 次元構造

10

20

30

40

50

を安定化させるために導入された変異を含む抗体由来の骨格、ならびに、例えば生体適合性ポリマーを含む全合成骨格を含むが、これらに限定されない。例えばKorndorfer et al., 2003, *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics*, Volume 53, Issue 1:121-129; Roque et al., 2004, *Biotechnol. Prog.* 20:639-654を参照のこと。さらに、ペプチド抗体模倣物(“PAM”)、ならびに骨格としてフィブロネクチン成分を利用する抗体模倣物をベースとする骨格を使用できる。

【0026】

抗原結合タンパク質は、例えば、天然由来の免疫グロブリンの構造を有し得る。“免疫グロブリン”は、四量体分子である。天然由来の免疫グロブリンでは、四量体はそれぞれ、2個の同一のポリペプチド鎖のペアからなり、ペアはそれぞれ1個の“軽”鎖(約25 kDa)および1個の“重”鎖(約50～70 kDa)を有する。各鎖のアミノ末端部分は、主に抗原認識に関与する約100～110以上のアミノ酸の可変領域を含む。各鎖のカルボキシ末端部分は、主にエフェクター機能に関与する定常領域を規定する。ヒト軽鎖は、または軽鎖と分類される。重鎖は、 μ 、 δ 、 γ 、または ϵ と分類され、抗体のアイソタイプをそれぞれIgM、IgD、IgG、IgAおよびIgEと規定する。軽鎖および重鎖では、可変領域および定常領域は、約12以上のアミノ酸の“J”領域によって結合しており、また、重鎖は、約10以上のアミノ酸の“D”領域を含む。一般的には、*Fundamental Immunology* Ch. 7 (Paul, W., ed., 2nd ed. Raven Press, N.Y. (1989)) (全ての目的について、引用によりその全体が組み込まれる)を参照のこと。各軽鎖/重鎖ペアの可変領域は、完全免疫グロブリンが2個の結合部位を有するように、抗体結合部位を形成する。

【0027】

天然由来の免疫グロブリン鎖の可変領域は、相補性決定領域またはCDRとも呼ばれる3つの超可変領域により連結した、同一の一般構造の比較的保存されたフレームワーク領域(FR)を示す。N末端からC末端方向で、軽鎖および重鎖の両方がドメインFR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3およびFR4を含む。各ドメインへのアミノ酸の割り当ては、Kabat et al. in *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 5th Ed., US Dept. of Health and Human Services, PHS, NIH, NIH Publication no. 91-3242, 1991の定義に従う。免疫グロブリン鎖の他のアミノ酸のナンバリングシステムは、IMGT.RTM. (international ImMunoGeneTics information system; Lefranc et al., *Dev. Comp. Immunol.* 29:185-203; 2005) および AHO (Honegger and Pluckthun, *J. Mol. Biol.* 309(3):657-670; 2001)を含む。

【0028】

抗体は、多様な抗原特異性を有する免疫グロブリンを含む血清または血漿などの源から得られる。当該抗体についてアフィニティー精製を行うならば、それらは、特定抗原特異性について富化され得る。当該抗体富化調製物は、通常約10%未満の特定の抗原について特異的結合活性を有する抗体で構成される。これらの調製物について数回のアフィニティー精製を行うことで、抗原への特異的結合活性を有する抗体の割合を高めることができる。この方法で調製された抗体は、しばしば、“単一特異性”といわれる。単一特異性抗体調製物は、約10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、97%、99%または99.9%の特定抗原に特異的結合活性を有する抗体で構成され得る。

【0029】

“抗体”は、特記しない限り、完全免疫グロブリン、または、特異的結合について完全な抗体と競合する免疫グロブリンの抗原結合部分をいう。抗原結合部分は、組換えDNA法によって、または、完全抗体の酵素切断または化学的切断によって製造され得る。抗原結合部分は、とりわけ、Fab、Fab'、(Fab')₂、Fvドメイン抗体(dAbs)、および、相補性決定領域(CDR)フラグメント、一重鎖抗体(scFv)、キメラ抗体、二重特異性抗体、三重特異性抗体、四重特異性抗体、および、ポリペプチドを特異的抗原結合させるのに十分である免疫グロブリンの少なくとも一部を含むポリペプチドを含む。

【 0 0 3 0 】

F a bフラグメントは、 V_L 、 V_H 、 C_L および C_{H1} ドメインを有する一価のフラグメントであり； $F(a b')_2$ フラグメントは、ヒンジ領域でジスルフィド架橋によって結合している2個のF a bフラグメントを有する二価のフラグメントであり；F dフラグメントは、 V_H および C_{H1} ドメインを有し；F vフラグメントは、抗体の一本のアームの V_L および V_H ドメインを有し；d A bフラグメントは V_H ドメイン、 V_L ドメイン、または V_H または V_L ドメインの抗原結合フラグメントを有する(米国特許第6,846,634号；第6,696,245号、米国特許出願第2002/02512号；第2004/0202995号；第2004/0038291号；第2004/0009507号；第2003/0039958号、および、Ward et al., Nature 341:544-546, 1989)。

10

【 0 0 3 1 】

一本鎖抗体(s c F v)は、 V_L 領域と V_H 領域がリンカー(例えばアミノ酸残基の合成配列)を介して結合して連続するタンパク質鎖を形成しており、該リンカーがタンパク質鎖がそれ自身で折りたたまれて一価抗原結合部位を形成するのに十分なほど長いものである、抗体である(Bird et al., 1988, Science 242:423-26 および Huston et al., 1988, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85:5879-83)。二重特異性抗体は、2本のポリペプチド鎖を含む二価の抗体であって、各ポリペプチド鎖が同じ鎖の2個のドメインの間でペアを作るには短すぎるリンカーによって結合している V_H ドメインと V_L ドメインを含み、そのため各ドメインが他方のポリペプチド鎖の相補性ドメインとペアを作る、抗体である(Hollier et al., 1993, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:6444-48, and Poljak et al., 1994, Structure 2:1121-23)。二重特異性抗体の2本のポリペプチド鎖が同一ならば、そのペアリングにより得られる二重特異性抗体は、2個の同一の抗原結合部位を有する。異なる配列を有するポリペプチド鎖は、2個の異なる抗原結合部位を有する二重特異性抗体を作るために用いられ得る。同様に、三重特異性抗体および四重特異性抗体は、それぞれ3本および4本のポリペプチド鎖を含む抗体であり、それぞれ、同一であっても異なってもよい3個および4個の抗原結合部位を形成する。

20

【 0 0 3 2 】

ある抗体の相補性決定領域(C D R)およびフレームワーク領域(F R)は、Kabat et al. 上掲；Lefranc et al., 上掲、および/またはHonegger and Pluckthun, 上掲によって記載されたシステムを用いて同定され得る。1個以上のC D Rを共有結合または非共有結合で分子に組み込み、抗原結合タンパク質とし得る。抗原結合タンパク質は、より大きなポリペプチド鎖の一部としてC D Rを組み込んでも、C D Rを他のポリペプチド鎖と共有結合させても、C D Rを非共有結合で組み込んでもよい。C D Rは、抗原結合タンパク質を、目的の特定抗原に特異的に結合することを可能にする。

30

【 0 0 3 3 】

抗原結合タンパク質は、1個以上の結合部位を有してよい。1個を超える結合部位があるならば、結合部位は、互いに同一であっても異なってもよい。例えば、天然由来のヒト免疫グロブリンは、典型的に、2個の同一の結合部位を有し、一方、“二重特異性”または“二機能性”抗体は、2個の異なる結合部位を有する。

【 0 0 3 4 】

用語“ヒト抗体”は、ヒト免疫グロブリン配列に由来する1個以上の可変領域および定常領域を有する全ての抗体を含む。一つの態様において、全ての可変ドメインおよび定常ドメインは、ヒト免疫グロブリン配列に由来する(完全ヒト抗体)。これらの抗体は、様々な方法で製造されてよく、その例は、下に記載された方法であり、ヒト重鎖および/または軽鎖をコードする遺伝子に由来する抗体を発現するよう遺伝的に修飾されたマウスの目的の抗原での免疫化による方法を含む。

40

【 0 0 3 5 】

ヒト化抗体は、ヒト対象に投与されたときに、非ヒト種抗体と比較して、ヒト化抗体が免疫応答を誘発する可能性が低いおよび/または誘発する免疫応答の重篤度が低いように、1個以上のアミノ酸の置換、欠失および/または付加によって非ヒト種に由来する抗体

50

の配列とは異なる配列を有するものである。一つの態様において、非ヒト種抗体の重鎖および/または軽鎖のフレームワークドメインおよび定常ドメインにおける特定のアミノ酸は、ヒト化抗体を製造するために変異させる。他の態様において、ヒト抗体由来の定常ドメインを、非ヒト種の可変ドメインと融合させる。他の態様において、非ヒト抗体の1個以上のCDR配列における1個以上のアミノ酸残基を、ヒト対象に投与した時に非ヒト抗体の可能性のある免疫原性を減らすよう変更し、ここで、変更されたアミノ酸残基は、抗体の抗原への免疫特異的結合に必須ではないか、または、ヒト化抗体の抗原への結合が、非ヒト抗体の抗原への結合よりも低くならないように為されたアミノ酸配列の変更が保存的変更である。ヒト化抗体の製造方法の例は、米国特許第6,054,297号、第5,886,152号および第5,877,293号で見出され得る。

10

【0036】

用語“キメラ抗体”は、1個の抗体由来の1個以上の領域と、他の1個以上の抗体由来の1個以上の領域を含む抗体をいう。一つの態様において、1個以上のCDRは、ヒト抗c-Met抗体に由来する。他の態様において、全てのCDRがヒト抗c-Met抗体に由来する。他の態様において、1個より多いヒト抗c-Met抗体由来のCDRが、キメラ抗体中で混合され適合される。例えば、キメラ抗体は、第1ヒト抗PAR-2抗体の軽鎖由来のCDR1、第2ヒト抗c-Met抗体の軽鎖由来のCDR2およびCDR3、および、第3抗c-Met抗体の重鎖由来のCDRを含み得る。他の組み合わせも可能である。

【0037】

20

さらに、フレームワーク領域は、1個の同一抗c-Met抗体に由来しても、1個以上の異なる抗体、例えばヒト抗体に由来しても、ヒト化抗体に由来してもよい。キメラ抗体の例において、重鎖および/または軽鎖の一部は、特定の種由来の抗体または特定の抗体クラスまたはサブクラスに属する抗体と同一であるか、それらと相同であるか、または、それらに由来するが、鎖の残部は、他の種由来の抗体または他の抗体のクラスまたはサブクラスに属する抗体と同一であるか、それらと相同であるか、またはそれらに由来する。また、望ましい生物学的活性(すなわちc-Metに特異的に結合する能力)を示す抗体のフラグメントも含まれる。

【0038】

“中和抗体”または“阻害抗体”は、過剰の抗c-Met抗体が、本明細書の実施例に記載されたアッセイなどのアッセイを用いて少なくとも約20%まで活性化の量を減少させるとき、c-Metのタンパク質分解活性を阻害する抗体である。様々な態様において、抗原結合タンパク質は、少なくとも30%、40%、50%、60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、97%、99%および99.9%までc-Metのタンパク質分解活性化の量を減少させる。

30

【0039】

抗体のフラグメントまたはアナログは、当業者によって、本明細書の記載に従って、当技術分野で知られている方法を用いて容易に製造できる。好ましいフラグメントまたはアナログのアミノ末端およびカルボキシ末端は、機能的ドメインの境界近くで生じる。構造的および機能的ドメインは、ヌクレオチドおよび/またはアミノ酸配列データの公的または私的配列データベースとの比較によって同定できる。コンピュータ化された比較方法は、既知の構造および/または機能の他のタンパク質を生じる配列モチーフまたは予測されるタンパク質立体配座ドメインを同定するために用いられる。既知の3次元構造に折りたたまれたタンパク質配列を同定する方法が知られている。Bowie et al., 1991, Science 253:164を参照のこと。

40

【0040】

“CDR結合抗体”は、特定の種またはアイソタイプの抗体に由来する1個以上のCDR、および、同一または異なる種またはアイソタイプの他の抗体のフレームワークを含む抗体である。

【0041】

50

“多重特異性抗体”は、1個以上の抗原上の1個より多いエピトープを認識する抗体を認識する抗体である。このタイプの抗体のサブクラスは、同一または異なる抗原上の2個の別個のエピトープを認識する“二重特異性抗体”である。

【0042】

1 nM以下の解離定数で抗原に結合するならば、抗原結合タンパク質は抗原(例えばヒト c - M e t)に“特異的に結合する”。

【0043】

“抗原結合ドメイン”、“抗原結合領域”または“抗原結合部位”は、抗原と相互作用して抗原結合タンパク質の特異性および抗原に対する親和性に寄与するアミノ酸残基(または他の部分)を含む、抗原結合タンパク質の一部である。抗原に特異的に結合する抗体において、これは、抗体のCDRドメインの少なくとも1個の少なくとも一部を含む。

10

【0044】

“エピトープ”は、抗原結合タンパク質(例えば抗体)によって結合される分子の一部である。エピトープは、分子の隣接しない部分(例えばポリペプチドにおいて、ポリペプチドの一次配列で隣接しないが、ポリペプチドの3次および4次構造の状況において抗原結合タンパク質が結合するのに十分なほど互いに近いアミノ酸残基)を含み得る。

【0045】

2個のポリヌクレオチド配列または2個のポリペプチド配列の“%同一性”は、GAP computer program (GCG Wisconsin Package, version 10.3 (Accelrys, San Diego, Calif.))の一部を用いて、そのデフォルトパラメーターを用いて配列を比較することによって決定される。

20

【0046】

用語“ポリヌクレオチド”、“オリゴヌクレオチド”および“核酸”は、全体をとおしで交換可能に用いられ、DNA分子(例えばcDNAまたはゲノムDNA)、RNA分子(例えばmRNA)、ヌクレオチドアナログを用いて作製されたDNAまたはRNAアナログ(例えばペプチド核酸および天然由来でないヌクレオチドアナログ)、およびそれらのハイブリッドを含む。核酸分子は、一本鎖であっても二本鎖であってもよい。一つの態様において、本発明の核酸分子は、抗体をコードする連続的翻訳領域またはそのフラグメント、誘導体、ムテインまたは変異体を含む。

【0047】

30

二本の一本鎖ポリヌクレオチドは、一方のポリヌクレオチドのヌクレオチドが全て他方のポリヌクレオチドの相補性ヌクレオチドと逆であり、ギャップの導入がなく、どちらかの5'末端または3'末端で不對ヌクレオチドがなく、配列が逆平行に配置されるならば、互いに“相補体”である。2つのポリヌクレオチドが中程度にストリンジェントな条件下でハイブリダイズできるとき、ポリヌクレオチドは、他のポリヌクレオチドと“相補的”である。そのため、ポリヌクレオチドは、その相補体でなくとも他のポリヌクレオチドと相補的であり得る。

【0048】

“ベクター”は、それに結合した他の核酸を細胞に導入するために使用できる核酸である。或るタイプのベクターは、“プラスミド”であり、これは、さらなる核酸セグメントをライゲートできる直線または円形の二本鎖DNA分子をいう。他のタイプのベクターは、ウイルス性ベクター(例えば複製欠損レトロウイルス、アデノウイルスおよびアデノ随伴ウイルス)であり、ここで、さらなるDNAセグメントをウイルスのゲノムに導入できる。特定のベクターは、導入された宿主細胞中で自己複製できる(例えば細菌の複製起点を含む細菌性ベクターおよびエピソーム哺乳動物ベクター)。他のベクター(例えば非エピソーム哺乳動物ベクター)は、宿主細胞への導入時に宿主細胞のゲノムに組み込まれ、それによって、宿主のゲノムと共に複製される。“発現ベクター”は、選択されたポリヌクレオチドの発現を指示できるタイプのベクターである。

40

【0049】

制御配列がヌクレオチド配列の発現に影響を及ぼす(例えば発現のレベル、タイミング

50

または位置)ならば、ヌクレオチド配列を制御配列に“作動可能に連結”している。“制御配列”は、作動可能に連結している核酸の発現に影響を及ぼす(例えば発現のレベル、タイミングまたは位置)核酸である。制御配列は、例えば、制御される核酸に直接、または、1つ以上の他の分子(例えば、制御配列および/または核酸に結合しているポリペプチド)の作用によって、その作用を奏し得る。制御配列の例は、プロモーター、エンハンサーおよび他の発現制御エレメント(例えばポリアデニル化シグナル)を含む。制御配列のさらなる例は、例えば Goeddel, 1990, Gene Expression Technology: Methods in Enzymology 185, Academic Press, San Diego, Calif. and Baron et al., 1995, Nucleic Acids Res. 23:3605-06に記載されている。

【0050】

“宿主細胞”は、核酸、例えば本発明の核酸を発現するために使用できる細胞である。宿主細胞は、原核生物、例えば大腸菌(*E. coli*)であり得るか、あるいは、真核生物、例えば単細胞真核生物(例えば酵母または他の真菌類)、植物細胞(例えばタバコまたはトマト植物細胞)、動物細胞(例えばヒト細胞、サル細胞、ハムスター細胞、ラット細胞、マウス細胞または昆虫細胞)またはハイブリドームであり得る。宿主細胞の例は、サル腎細胞のC O S - 7株(ATCC CRL 1651)(Gluzman et al., 1981, Cell 23:175を参照のこと)、L細胞、C 1 2 7細胞、3 T 3細胞(ATCC CCL 163)、チャイニーズハムスター卵巣(C H O)細胞またはその派生物、例えばVeggie CHOおよび無血清培地で増殖する関連の細胞株(Rasmussen et al., 1998, Cytotechnology 28:31を参照のこと)またはD H F R 欠損C H O株D X - B1 1(Urlaub et al., 1980, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77:4216-20を参照のこと)、H e L a細胞、B H K細胞株(ATCC CRL 10)、アフリカミドリザル腎細胞株C V 1に由来するC V 1 / E B N A細胞株(ATCC CCL 70)(McMahan et al., 1991, EMBO J. 10:2821を参照のこと)、ヒト胎児腎細胞、例えば2 9 3, 2 9 3 E B N AまたはM S R 2 9 3、ヒト上皮A 4 3 1細胞、ヒトC o l o 2 0 5細胞、他の形質転換された霊長類細胞株、正常二倍体細胞、一次組織のインビトロ培養物に由来する培養株、一次外植片、H L - 6 0細胞、U 9 3 7細胞、H a K細胞またはジャーカット細胞を含む。典型的に、宿主細胞は、ポリペプチドをコードする核酸で形質転換またはトランスフェクトできる培養細胞であり、次いで該核酸が宿主細胞で発現できる。用語“組換え宿主細胞”は、発現される核酸で形質転換されたまたはトランスフェクトされた宿主細胞を表すために使用できる。また、宿主細胞は、核酸を含むが、調節配列が該核酸と作動可能に連結するよう宿主細胞に導入されない限り、望ましいレベルで該核酸を発現しない細胞であり得る。用語宿主細胞は、特定の対象細胞のみをいうのではなく、このような細胞の後代または可能性のある後代もいうと理解される。変異または環境の影響などによりある修飾が後の世代に起こり得るため、このような後代は、実際、親細胞と同一ではないであろうが、本明細書で用いられる用語の範囲内に含まれる。

【0051】

好ましくは、処置される哺乳類の癌は、卵巣癌、結腸癌、乳癌または肝癌細胞株、骨髄腫、神経芽細胞由来C N S 腫瘍、単球性白血病、B細胞由来白血病、T細胞由来白血病、B細胞由来リンパ腫、T細胞由来リンパ腫、肥満細胞由来腫瘍およびこれらの組み合わせからなる群から選択される。

【0052】

本開示のポリペプチドは、当技術分野で知られているあらゆる標準的な方法を用いて製造できる。例として、本ポリペプチドは、ポリペプチドをコードする核酸配列(例えばc D N A)を組換え発現ベクターに挿入し、発現を促進する条件下で該D N A配列を発現させることによる、組換えD N A法によって製造される。

【0053】

本明細書に開示した様々なポリペプチドの何れかをコードする核酸は、化学的に合成され得る。コドン使用頻度は、細胞中の発現を改善するよう選択され得る。このようなコドン使用頻度は、選択された細胞型に依存する。特化したコドン使用頻度パターンが大腸菌および他の細菌のために、ならびに、哺乳動物細胞、植物細胞、酵母細胞および昆虫細胞

10

20

30

40

50

のために開発されている。

【 0 0 5 4 】

ポリペプチドをコードするDNAは、哺乳動物、ウイルスまたは昆虫の遺伝子に由来する適当な転写または翻訳調節エレメントに作動可能に連結している。当該調節エレメントは、転写プロモーター、転写を制御するための所望のオペレーター配列、適当なmRNAリボソーム結合部位をコードする配列、および、転写および翻訳の終止を制御する配列を含む。通常複製起点によりもたらされる宿主内で複製する能力および形質転換体の認識を容易にする選択遺伝子が、さらに組み込まれる。

【 0 0 5 5 】

組換えDNAはまた、タンパク質を精製するのに有用であり得る何らかのタイプのタンパク質タグ配列を含み得る。タンパク質タグの例は、ヒスチジンタグ、FLAGタグ、mycタグ、HAタグまたはGSTタグを含むが、これらに限定されない。

【 0 0 5 6 】

発現コンストラクトは、宿主細胞に適切な方法を用いて宿主細胞に導入される。核酸を宿主細胞に導入する様々な方法は、当技術分野で知られており、エレクトロポレーション；塩化カルシウム、塩化ルビジウム、リン酸カルシウム、DEAE-デキストランまたは他の物質を用いたトランスフェクション；微粒子銃；リポフェクション；および感染(ここで、ベクターは感染性病原体である)を含むが、これらに限定されない。適当な宿主細胞は、原核生物、酵母、哺乳動物細胞または細菌細胞を含む。

【 0 0 5 7 】

適当な細菌は、グラム陰性菌またはグラム陽性菌、例えば大腸菌またはバチルス種(*Bacillus*)を含む。酵母、好ましくはサッカロマイセス種(*Saccharomyces*)の酵母、例えばサッカロマイセス・セレビシエ(*S. cerevisiae*)もまた、ポリペプチドの生産に用いられ得る。様々な哺乳動物または昆虫細胞培養系もまた、組換えタンパク質を発現するのに用いられ得る。昆虫細胞における異種タンパク質の生産のためのバキュロウイルス系が、Luckow and Summers (*Bio/Technology*, 6:47, 1988)によってレビューされている。適当な哺乳動物宿主細胞株の例は、内皮細胞、COS-7サル腎細胞、CV-1細胞、L細胞、C127細胞、3T3細胞、チャイニーズハムスター卵巣(CHO)細胞、ヒト胎児腎細胞、Hela細胞株、293細胞株、293T細胞株およびBHK細胞株を含む。精製ポリペプチドは、適当な宿主/ベクター系を培養して組換えタンパク質を発現することによって生産される。多くの適用において、本明細書に開示された小さいサイズのポリペプチドの多くは発現に好ましい方法として、大腸菌で発現させる。次いで、タンパク質を培養培地または細胞抽出物から精製する。

【 0 0 5 8 】

本明細書で開示されるタンパク質はまた、細胞翻訳系を用いて生産され得る。当該目的のために、ポリペプチドをコードする核酸は、mRNAを産生するためのインビトロでの転写および用いる特定の無細胞系(真核生物、例えば哺乳動物または酵母無細胞翻訳系または原核生物、例えば細菌無細胞翻訳系)においてmRNAの無細胞翻訳を可能とするよう修飾されなければならない。

【 0 0 5 9 】

本発明のポリペプチドはタンパク質化学の分野で一般的に知られているタンパク質の単離/精製方法によって精製できる。非限定的な例は、抽出、再結晶、塩析(例えば硫酸アンモニウムまたは硫酸ナトリウムで)、遠心分離、透析、限外濾過、吸着クロマトグラフィー、イオン交換クロマトグラフィー、疎水性クロマトグラフィー、順相クロマトグラフィー、逆相クロマトグラフィー、ゲル濾過、ゲル浸透クロマトグラフィー、親和性クロマトグラフィー、電気泳動、向流分配、またはこれらの任意の組み合わせを含む。精製後、ポリペプチドは、濾過および透析を含むがこれらに限定されない当技術分野で知られている様々な方法の何れかによって、異なる緩衝液に交換されおよび/または濃縮され得る。

【 0 0 6 0 】

精製ポリペプチドは、好ましくは、少なくとも85%純粋であり、より好ましくは少な

10

20

30

40

50

くとも95%純粋であり、最も好ましくは少なくとも98%純粋である。正確な純度の数値にかかわらず、ポリペプチドは、医薬品として使用するのに十分な程純粋である。

【0061】

ポリペプチドの翻訳後修飾

或る態様において、本発明の結合ポリペプチドは、さらに、翻訳後修飾を含み得る。翻訳後タンパク質修飾の例は、リン酸化、アセチル化、メチル化、ADPリボース化、ユビキチン化、グリコシル化、カルボニル化、SUMO化、ビオチン化またはポリペプチド側鎖または疎水性基の付加を含む。結果として、修飾された可溶性ポリペプチドは、非アミノ酸要素、例えば脂質、多糖または単糖、およびホスフェートを含み得る。グリコシル化の好ましい形態は、1個以上のシアル酸部分をポリペプチドにコンジュゲートするシアル

10

【0062】

一つの具体的な態様において、対象の可溶性ポリペプチドの修飾された形態は、対象の可溶性ポリペプチドを非タンパク質性ポリマーに結合させたものを含む。一つの具体的な態様において、該ポリマーは、米国特許第4,640,835号；第4,496,689号；第4,301,144号；第4,670,417号；第4,791,192号または第4,179,337号に示された方法でのポリエチレングリコール(“PEG”)、ポリプロピレングリコールまたはポリオキシアルキレンである。

【0063】

PEGは市販されているか、または、当技術分野で周知の方法に従ってエチレングリコールの開環重合(Sandler and Karo, Polymer Synthesis, Academic Press, New York, Vol. 3, pages 138-161)によって製造できる水溶性ポリマーである。用語“PEG”は、サイズにかかわらず、または、PEG末端での修飾にかかわらず、あらゆるポリエチレングリコール分子を包含するよう広く用いられ、式： $X - O(CH_2CH_2O)_n - CH_2CH_2OH$ (1) (ここで、 n は20~2300であり、 X はHであるか、または末端修飾、例えば C_{1-4} アルキルである。)によって表され得る。一つの態様において、本発明のPEGは、一方の端で、ヒドロキシまたはメトキシで終止する、すなわち、 X がHまたは CH_3 である(“メトキシPEG”)。PEGは、さらに、結合反応に必要であるか；分子の化学合成によって生じるか；または分子の部分の最適な距離のためのスペーサーである化学的な基を含み得る。さらに、このようなPEGは、互いに結合している1個以上のPEG側鎖で構成され得る。1個より多いPEG鎖を有するPEGは、多腕または分岐PEGと呼ばれる。分岐PEGは、例えば、ポリエチレンオキシドをグリセロール、ペンタエリスリトールおよびソルビトールを含む様々なポリオールに付加することによって製造できる。例えば、四腕分岐PEGは、ペンタエリスリトールおよびエチレンオキシドから製造できる。分岐PEGは、例えば、EP-A 0 473 084および米国特許第5,932,462号に記載されている。PEGの形態は、リジンの第1級アミノ基を介して結合した2個のPEG側鎖(PEG2)を含む(Monfardini et al., Bioconjugate Chem. 6 (1995) 62-69)。

20

30

【0064】

好ましい態様において、PEG化 $^{10}F_{n3}$ ポリペプチドは、部位特異的PEG化によって、特にN末端またはC末端のシステイン部分へのPEGのコンジュゲーションによって製造される。それゆえに、本発明は、改善された薬物動態を有する標的結合 $^{10}F_{n3}$ ポリペプチドであって、該ポリペプチドが、約80~約150アミノ酸を有する $^{10}F_{n3}$ ドメイン(ここで、当該 $^{10}F_{n3}$ ドメインの少なくとも1個のループが標的結合に関与する。)；および共有結合PEG部分を含み、当該 $^{10}F_{n3}$ ポリペプチドが、100nM未満の K_D で標的に結合し、哺乳動物において30mL/時/kg未満のクリアランス速度を有する、ポリペプチドを提供する。該PEG部分は、部位特異的PEG化によって、例えばCys残基への結合によって、該 $^{10}F_{n3}$ ポリペプチドに結合し、該Cys残基は、 $^{10}F_{n3}$ ポリペプチドのN末端もしくはまたは $^{10}F_{n3}$ ポリペプチドのN末端と最もN末端の または 様鎖の間またはC末端もしくはC末端と最もC末端の または 様

40

50

鎖の間に位置し得る。また、Cys残基は、他の位置、特に標的結合に関与しないループのいずれにあってもよい。PEG部分はまた、アミンへのコンジュゲーションを含む他の化学によって結合され得る。

【0065】

c-Met結合ポリペプチドへのコンジュゲートのために多様な分子質量の形態のPEGが、例えば、約1,000ダルトン(Da)~100,000Da(nは20~2300である)から選択され得る。PEGの反復単位数“n”は、ダルトンで記載される分子質量で近似される。活性化リンカー上のPEGの合わせた分子質量は、薬学的使用に適していることが好ましい。従って、一つの態様において、PEG分子の分子質量は、100,000Daを超えない。例えば、3つのPEG分子が1つのリンカーに結合しており、PEG分子がそれぞれ、12,000Da(nはそれぞれ約270である)の同じ分子質量を有するならば、リンカー上のPEGの総分子質量は、約36,000Da(総nは約820である)である。リンカーに結合したPEGの分子質量は異なっていてよく、例えばリンカー上の3つの分子のうち、2個のPEG分子がそれぞれ5,000Da(nはそれぞれ約110である)であり、1個のPEG分子が12,000Da(nは約270である)であってよい。

10

【0066】

本発明の具体的な態様において、c-Met結合ポリペプチドは、式： $-(CH_2)_x-(OCH_2CH_2)_m-OR$ (ここで、ポリ(エチレングリコール)基の-CO(すなわちカルボニル)は、結合ポリペプチドのアミノ基の1個とアミド結合を形成し；Rは低級アルキルであり；xは2または3であり；mは約450~約950であり；nおよびmは結合ポリペプチドの分子量を減算したコンジュゲートの分子量が約10~40kDaであるよう選択される。)の1個のポリ(エチレングリコール)基に共有結合している。一つの態様において、結合ポリペプチドのリジンの6-アミノ基は、利用可能な(遊離の)アミノ基である。

20

【0067】

上記コンジュゲートは、より具体的には、式(II)： $P-NHCO-(CH_2)_x-(OCH_2CH_2)_m-OR$ (II)(ここで、Pは、本明細書に記載された結合ポリペプチドの基(すなわち、式(II)に示されたカルボニルとアミド結合を形成するアミノ基がない)であり；Rは、低級アルキルであり；xは、2または3であり；mは、約450~約950であり、結合ポリペプチドの分子量を減算したコンジュゲートの分子量が、約10kDa~約40kDaとなるよう選択される。)によって表され得る。本明細書で用いられるとき、示された範囲の“m”は、配向性の意味を有する。“m”は、あらゆる場合に、そして正確に、PEG基の分子量によって決定される。

30

【0068】

一つの態様において、PEG分子を活性化して、結合ポリペプチドの、例えばリジンのアミノ基と反応させ得る。

【0069】

一つの具体的な態様において、PEGのカーボネートエステルは、PEG結合ポリペプチドコンジュゲートを形成するために使用される。N,N'-ジスクシンイミジルカーボネート(DSC)は、PEGとの反応に使用され、活性混合PEG-スクシンイミジルカーボネートを形成し、これは、続いてリンカーの求核基または結合ポリペプチドのアミノ基と反応し得る(米国特許第5,281,698号および第5,932,462号)。同様のタイプの反応において、1,1'-(ジベンゾトリアゾリル)カーボネートおよびジ-(2-ピリジル)カーボネートをPEGと反応させ、それぞれPEG-ベンゾトリアゾリルおよびPEG-ピリジル混合カーボネートを形成し得る(米国特許第5,382,657号)。

40

【0070】

¹⁰F_n3ポリペプチドのPEG化は、最先端の方法に従って、例えば結合ポリペプチドの求電子活性PEG(供給者：Shearwater Corp., USA, www.shearwatercorp.com)との反応により行い得る。本発明の好ましいPEG反応剤は、例えば、N-ヒドロキシスクシンイミジル プロピオネート(PEG-SPA)、ブタノエート(PEG-SBA)、PEG

50

- スクシンイミジル プロピオネートまたは分枝 N - ヒドロキシスクシンイミド、例えば m P E G 2 - N H S (Monfardini et al., Bioconjugate Chem. 6 (1995) 62-69)である。このような方法は、結合ポリペプチドのリジンの f - アミノ基または結合ポリペプチドの N 末端アミノ基で P E G 化するのに使用され得る。

【 0 0 7 1 】

他の態様において、P E G 分子は、結合ポリペプチドのスルフヒドリル基とカップリングさせ得る (Sartore et al., Appl. Biochem. Biotechnol., 27, 45 (1991); Morpurgo et al., Biocon. Chem., 7, 363-368 (1996); Goodson et al., Bio/Technology (1990) 8, 343; 米国特許第5,766,897号)。米国特許第6,610,281号および第5,766,897号は、スルフヒドリル基とカップリングさせ得る反応性 P E G 種の例を記載している。

10

【 0 0 7 2 】

P E G 分子が結合ポリペプチドのシステイン残基にコンジュゲートする幾つかの態様において、システイン残基は結合ポリペプチドに元々あるが、他の態様において、1つ以上のシステイン残基が結合ポリペプチドに設計導入される。システイン残基を作るために、結合ポリペプチドをコードする配列に、変異を導入してよい。例えば、1個以上のアミノ酸残基をシステインに変異することによって、これを達成し得る。システイン残基に変異させるのに好ましいアミノ酸は、セリン、トレオニン、アラニンおよび他の疎水性残基を含む。好ましくは、システインに変異させる残基は、表面に露出した残基である。あるいは、結合ポリペプチドを設計して発展させる基礎となるフレームワークの結晶構造が解明しているならば、結合ポリペプチドのアミノ酸配列を比較することにより表面残基を予測し (Himanen et al., Nature. (2001) 20-27; 414(6866):933-8)、こうして、表面に露出した残基を同定し得る。一つの態様において、システイン残基は、N 末端および/または C 末端で、またはそれらの近くで、またはループ領域内で、結合ポリペプチドに導入される。

20

【 0 0 7 3 】

幾つかの態様において、P E G 化結合ポリペプチドは、N 末端アミノ酸の - アミノ基に共有結合している P E G 分子を含む。他の利用可能な求核性アミノ基を用いるタンパク質の還元的アミノ化における P E G - アルデヒドの使用は、米国特許第4,002,531号、Wieder et al., (1979) J. Biol. Chem. 254,12579 および Chamow et al., (1994) Bioconjugate Chem. 5, 133に記載されている。

30

【 0 0 7 4 】

他の態様において、P E G 化結合ポリペプチドは、結合ポリペプチドの N 末端アミノ酸残基の - アミノ基に結合しているリンカーに共有結合している1個以上の P E G 分子を含む。このようなアプローチは、米国特許公報第2002/0044921号およびWO94/01451に開示されている。

【 0 0 7 5 】

一つの態様において、結合ポリペプチドは、C 末端で P E G 化されている。具体的な態様において、タンパク質は、C 末端アジド - メチオニンの導入および続くシュタウディンガー反応によるメチル - P E G - トリアリールホスフィン化合物のコンジュゲーションによって、C 末端で P E G 化される。この C 末端コンジュゲーション方法は、Cazalis et al., Bioconjug. Chem. 2004; 15(5):1005-1009に記載されている。

40

【 0 0 7 6 】

また、結合ポリペプチドのモノ P E G 化は、WO 94/01451に記載された一般的な方法に従って行うことができる。WO 94/01451は、修飾された末端アミノ酸 - 炭素反応基を有する組換えポリペプチドを製造する方法を記載している。本方法の工程は、組換えポリペプチドを形成し、それを N 末端 - アミンおよび C 末端 - カルボキシルで、1個以上の生物学的に付加される保護基で保護することを含む。次いで、ポリペプチドを、選択的に反応性側鎖の基を保護するために、化学的保護基と反応させ、それによって、側鎖の基が修飾されるのを防ぐ。次いで、ポリペプチドを生物学的保護基に特異的な切断試薬で切断し、非保護末端アミノ酸 - 炭素反応基を形成する。非保護末端アミノ酸 - 炭素反応基

50

を、化学的修飾剤で修飾する。側鎖保護末端修飾 1 コピーポリペプチドを、側鎖の基について脱保護し、末端修飾組換え 1 コピーポリペプチドを形成する。本方法の工程数および順序は、ポリペプチドの N 末端および / または C 末端で選択的修飾を達成するように変更できる。

【0077】

コンジュゲーション反応における結合ポリペプチド：活性化 PEG の比は、約 1 : 0.5 ~ 1 : 50、約 1 : 1 ~ 1 : 30、または、約 1 : 5 ~ 1 : 15 であり得る。様々な水性緩衝液が、PEG を結合ポリペプチドに共有結合付加するのを触媒するために本発明の方法において使用できる。一つの態様において、使用される緩衝液の pH は、約 7.0 ~ 9.0 である。他の態様において、pH は、僅かに塩基性の範囲であり、例えば約 7.5 ~ 8.5 である。中性 pH 範囲近くに pKa を有する緩衝液、例えばリン酸緩衝液を使用し得る。

10

【0078】

当技術分野で知られている慣用の分離および精製方法、例えばサイズ排除クロマトグラフィー (例えばゲル濾過) およびイオン交換クロマトグラフィーは、PEG 化結合ポリペプチドを精製するために使用できる。SDS-PAGE を用いて、生成物を分離し得る。分離され得る生成物は、モノPEG 化、ジPEG 化、トリPEG 化、ポリPEG 化および非PEG 化結合ポリペプチド、ならびに遊離 PEG を含む。モノPEG コンジュゲートのパーセンテージは、溶出ピーク付近のより広いフラクションをプールすることによって、組成物中のモノPEG のパーセンテージを上げるよう制御され得る。約 90 % のモノPEG コンジュゲートは、収率と活性の良好なバランスを表す。例えば、少なくとも 92 % または少なくとも 96 % のコンジュゲートがモノPEG 種である組成物が、望まれ得る。本発明の一つの態様において、モノPEG コンジュゲートのパーセンテージは、90 % ~ 96 % である。

20

【0079】

他の態様において、PEG 化結合ポリペプチドは、好ましくは、非修飾タンパク質に対して生物学的活性の少なくとも 25 %、50 %、60 %、70 %、80 %、85 %、90 %、95 % または 100 % を保持する。一つの態様において、生物学的活性は、 K_D 、 k_{on} または k_{off} によって評価される、c-Met に結合する能力をいう。一つの具体的な態様において、PEG 化結合ポリペプチドタンパク質は、非PEG 化結合ポリペプチドと比べて c-Met への結合増加を示す。

30

【0080】

PEG 修飾ポリペプチドの血清クリアランス速度は、非修飾結合ポリペプチドのクリアランス速度と比べて約 10 %、20 %、30 %、40 %、50 %、60 %、70 %、80 %、または 90 % まで減少し得る。PEG 修飾ポリペプチドは、非修飾タンパク質の半減期と比べて延長した半減期 ($t_{1/2}$) を有し得る。PEG 結合ポリペプチドの半減期は、非修飾結合ポリペプチドの半減期と比べて少なくとも 10 %、20 %、30 %、40 %、50 %、60 %、70 %、80 %、90 %、100 %、125 %、150 %、175 %、200 %、250 %、300 %、400 % または 500 %、または、1000 % まで延長し得る。或る態様において、タンパク質の半減期は、インビトロで、例えば緩衝食塩溶液または血清中で決定される。他の態様において、タンパク質の半減期は、インビボ半減期であり、例えば動物の血清または他の体液中のタンパク質の半減期である。

40

【0081】

治療用製剤および投与方法

本発明は、c-Met 生物学的活性の阻害に応答する状態を処置するまたは前駆状態を予防する方法を特徴とする。好ましい例は、炎症または細胞過剰増殖によって特徴付けられる状態である。投与方法および投与量は、具体的なポリペプチドのタイプおよび処置される具体的な状態に依存して変化するが、当業者によって容易に決定できる。一般的に、規制当局は、治療剤として用いられるタンパク質剤が、許容されるほど低いレベルのピロジェンを有するように製剤化されることを要求する。それゆえ、治療用製剤は、一般的

50

に、実質的にパイロジェンを含まないか、または、適切な規制当局(例えばFDA)によって定められた許容レベル未満のパイロジェンしか含まない点で他の製剤と区別される。

【0082】

本開示の治療用組成物は、薬学的に許容される希釈剤、担体または賦形剤と共に、単位投与形で投与されてよい。投与は、非限定的な例として、非経腸(例えば静脈内、皮下)、経口または局所であってよい。さらに、本発明のポリペプチドをコードする核酸を用いたあらゆる遺伝子治療法、例えばネイキッドDNA送達、組換え遺伝子およびベクター、患者の細胞のエクスピボ操作を含む細胞をベースとする送達などを用いてよい。

【0083】

本ポリペプチドは、所望により薬学的に許容される塩、例えば医薬産業で一般的に用いられる非毒性酸付加塩または金属錯体として投与されてよい。酸付加塩の例は、有機酸、例えば酢酸、乳酸、パモ酸、マレイン酸、クエン酸、リンゴ酸、アスコルビン酸、コハク酸、安息香酸、パルミチン酸、スベリン酸、サリチル酸、酒石酸、メタンスルホン酸、トルエンスルホン酸またはトリフルオロ酢酸など；ポリマーの酸、例えばタンニン酸、カルボキシメチルセルロースなど；および無機酸、例えば塩酸、臭化水素酸、硫酸およびリン酸などの塩を含む。金属錯体は、亜鉛、鉄などを含む。例を挙げれば、本ポリペプチドは、熱安定性を上げるために酢酸ナトリウムの存在下で製剤化される。

【0084】

治療有効量は、投与の目的である治療効果を生じる投与量をいう。正確な投与量は、処置される障害に依存し、既知の方法を用いて当業者によって確認され得る。一般的に、本ポリペプチドは、約0.01 µg/kg/日～約50 mg/kg/日で、好ましくは0.01 mg/kg/日～約30 mg/kg/日で、最も好ましくは0.1 mg/kg/日～約20 mg/kg/日で投与される。本ポリペプチドを、毎日与えてよく(例えば1日1回、2回、3回または4回)、または、好ましくはより少ない頻度で与えてよい(例えば週1回、2週毎、3週毎、月1回または年4回)。さらに、当技術分野で知られているとおり、年齢および体重、一般的健康状態、性別、食事、投与時間、薬物相互作用および疾患の重症度のための調節が必要であることがあるが、これは、日常的な実験により当業者が確認できる。

【0085】

使用例

本明細書に記載されたc-Met結合タンパク質およびその関連変異体は、幾つかの治療適用および診断適用に有用である。これらは、c-Metへの結合に競合するまたはそれをブロックすることによるc-Metの生物学的活性の阻害、および、細胞、好ましくはc-Metを発現する細胞への細胞傷害性部分または造影部分の送達を含む。これらの分子の小さいサイズおよび安定な構造は、薬物の製造、急速な排出が望ましいある適用において身体からの迅速な排出、または、当該性質を有する分子を使用する適切なまたは改善された新規送達系への製剤化に関して、特に有益であり得る。

【0086】

c-Metの生物学的活性の阻害剤としての有効性に基づいて、本発明のポリペプチドは、幾つかの癌状態および癌に起因する合併症、例えば胸水貯留および腹水症に対して有効である。好ましくは、本開示のc-Met結合ポリペプチドは、過剰増殖性疾患または癌および癌の転移性拡散の処置または予防に使用できる。開示された抗c-Met抗体に好ましい適応症は、結腸直腸癌、頭頸部癌、小細胞肺癌、非小細胞肺癌(NSCLC)および膵臓癌を含む。癌の非限定的な例は、膀胱、血液、骨、脳、乳房、軟骨、結腸、腎臓、肝臓、肺、リンパ節、神経組織、卵巣、膵臓、前立腺、骨格筋、皮膚、脊髄、脾臓、胃、精巣、胸腺、甲状腺、気管、泌尿生殖器、尿管、尿道、子宮または膣の癌を含む。

【0087】

c-Met結合ポリペプチドは、単独でも、1種以上のさらなる治療、例えば化学療法、放射線治療、免疫治療、手術またはこれらの何れかの組み合わせと組み合わせても投与できる。長期間治療は、上記の治療方針の内容における補助治療と同様に可能である。

【0088】

10

20

30

40

50

当該方法の特定の態様において、1種以上のポリペプチド治療薬は、一緒に(同時に)または異なる時間で(連続して)、投与できる。さらに、ポリペプチド治療薬は、癌を処置するまたは血管新生を阻害する他のタイプの化合物と共に投与できる。

【0089】

特定の態様において、本発明の対象の薬剤である抗c-Met抗体は、単独で使用できる。あるいは、対象の薬剤は、増殖性障害(例えば腫瘍)の処置または予防を目的とする他の慣用の抗癌治療アプローチと組み合わせて用いられ得る。例えば、当該方法は、予防的癌予防、手術後の癌再発および転移の予防に使用でき、また他の慣用の癌治療の補助治療として使用できる。本発明は、対象のポリペプチド治療薬の使用によって、慣用の癌治療(例えば化学療法、放射線治療、光線治療、免疫療法および手術)の有効性を高めることができることを認識する。

10

【0090】

幅広い慣用の化合物が、抗新生物活性を有することが示されている。これらの化合物は、固形腫瘍を縮小させるか、転移およびさらなる増殖を予防するか、または、白血病または骨髄悪性腫瘍において悪性細胞の数を減少させるための化学療法の薬剤として使用される。化学療法は様々なタイプの悪性腫瘍の処置に有効であるが、多くの抗新生物化合物は望ましくない副作用を誘発する。2種以上の異なる処置を組み合わせたとき、これらの処置は相乗的に作用して、各処置の投与量の減少を可能にし、それによって高投与量の各化合物によって生じる有害な副作用を減少できることが示されている。他の例において、ある処置に抵抗性の悪性腫瘍が、2種以上の異なる処置の併用治療に応答し得る。

20

【0091】

本発明のポリペプチド治療薬を他の慣用の抗新生物剤と組み合わせて同時にまたは連続して投与するとき、当該治療薬は、抗新生物剤の治療効果を高めるか、または、当該抗新生物剤に対する細胞耐性を克服することが見られ得る。このことは、抗新生物剤の投与量を減らし、それによって、望ましくない副作用を減らすか、または、耐性細胞における抗新生物剤の有効性を復活させることを可能とする。

【0092】

抗腫瘍併用療法に用いられ得る医薬化合物は、単なる例として、アミノグルテチミド、アムサクリン、アナストロゾール、アルパラギナーゼ、bcg、ビカルタミド、ブレオマイシン、プセレリン、プスルファン、カンプトテシン、カペシタビン、カルボプラチン、カルムスチン、クロラムブシル、シスプラチン、クラドリピン、クロドロネート、コルヒチン、シクロホスファミド、シプロテロン、シタラビン、ダカルバジン、ダクチノマイシン、ダウノルビシン、ジエンエストロール、ジエチルスチルベストロール、ドセタキセル、ドキソルビシン、エピルビシン、エストラジオール、エストラムスチン、エトポシド、エキセメスタン、フィルグラスチム、フルダラビン、フルドロコルチゾン、フルオロウラシル、フルオキシメステロン、フルタミド、ゲムシタビン、ゲニステイン、ゴセレリン、ヒドロキシウレア、イダルビシン、イホスファミド、イマチニブ、インターフェロン、イリノテカン、イロノテカン(ironotecan)、レトロゾール、ロイコボリン、リユープロリド、レバミゾール、ロムスチン、メクロレタミン、メドロキシプロゲステロン、メゲストロール、メルファラン、メルカプトプリン、メスナ、メトトレキサート、マイトマイシン、ミトタン、ミトキサントロン、ニルタミド、ノコダゾール、オクトレオチド、オキサリプラチン、パクリタキセル、パミドロネート、ペントスタチン、プリカマイシン、ポルフィマー、プロカルバジン、ラルチトレキセド、リツキシマブ、ストレプトゾシン、スラミン、タモキシフェン、テモゾロミド、テニポシド、テストステロン、チオグアニン、チオテパ、チタノセン、ジクロリド、トボテカン、トラスツズマブ、トレチノイン、ビンブラスチン、ピンクリスチン、ピンデシンおよびビノレルピンを含む。

30

40

【0093】

或る化学療法抗腫瘍化合物は、その作用機序によって、例えば下記群に分類できる：代謝拮抗剤/抗癌剤、例えばピリミジンアナログ(5-フルオロウラシル、フロクスウリジン、カペシタビン、ゲムシタビンおよびシタラビン)、および、プリンアナログ、葉酸ア

50

ンタゴニストおよび関連阻害剤(メルカプトプリン、チオグアニン、ペントスタチンおよび2-クロロデオキシアデノシン(クラドリピン));天然産物、例えばピンカルカロイド(ピンブラスチン、ピンクリスチンおよびビノレルピン)、微小管破壊剤、例えばタキサン(パクリタキセル、ドセタキセル)、ピンクリスチン、ピンブラスチン、ノコダゾール、エポチロンおよびナベルピン、エピボドフィロトキシシン(エトボシド、テニボシド)、DNA傷害剤(アクチノマイシン、アムサクリン、アントラサイクリン、プレオマイシン、ブスルファン、カンプトテシン、カルボプラチン、クロラムブシル、シスプラチン、シクロホスファミド、シトキサン、ダクチノマイシン、ダウノルビシン、ドキソルビシン、エピルビシン、ヘキサメチルメラミン、オキサリプラチン、イホスファミド、メルファラン、メクロレタミン、マイトマイシン、ミトキサントロン、ニトロソウレア、プリカマイシン、プロカルバジン、タキソール、タキソテール、テニボシド、トリエチレンチオホスホラミドおよびエトボシド(VP16))を含む抗増殖剤/有糸分裂阻害剤;抗生物質、例えばダクチノマイシン(アクチノマイシンD)、ダウノルビシン、ドキソルビシン(アドリアマイシン)、イダルビシン、アントラサイクリン、ミトキサントロン、プレオマイシン、プリカマイシン(ミトラマイシン)およびマイトマイシン;酵素(L-アスパラギンを全身性に代謝し、それ自体のアスパラギンを合成する能力を有さない細胞を欠乏させるL-アルパラギナーゼ);抗血小板剤;抗増殖性/有糸分裂阻害アルキル化剤、例えばナイトロジェンマスタード(メクロレタミン、シクロホスファミドおよびアナログ、メルファラン、クロラムブシル)、エチレンイミンおよびメチルメラミン(ヘキサメチルメラミンおよびチオテパ)、アルキルスルホネート-ブスルファン、ニトロソウレア(カルムスチン(BCNU)およびアナログ、ストレプトゾシン)、トリアゼン類-ダカルバジン(DTIC);抗増殖性/有糸分裂阻害代謝拮抗剤、例えば葉酸アナログ(メトトレキサート);白金配位錯体(シスプラチン、カルボプラチン)、プロカルバジン、ヒドロキシウレア、ミトタン、アミノグルテチミド;ホルモン剤、ホルモンアナログ(エストロゲン、タモキシフェン、ゴセレリン、ピカルタミド、ニルタミド)およびアロマターゼ阻害剤(レトロゾール、アナストロゾール);抗凝固剤(ヘパリン、合成ヘパリン塩および他のトロンビン阻害剤);血栓溶解剤(例えば組織プラスミノゲン活性化因子、ストレプトキナーゼおよびウロキナーゼ)、アスピリン、ジピリダモール、チクロピジン、クロピドグレル、アブシキシマブ;抗遊走剤;抗分泌剤(ブレベルジン(breveldin));免疫抑制剤(シクロスポリン、タクロリムス(FK-506)、シロリムス(ラパマイシン)、アザチオプリン、ミコフェノール酸モフェチル);抗血管新生化合物(TNP-470、ゲニステイン)および増殖因子阻害剤(例えばVEGF阻害剤、線維芽細胞増殖因子(FGF)阻害剤);アンジオテンシン受容体ブロック;一酸化窒素ドナー;アンチセンスオリゴヌクレオチド;抗体(トラスツズマブ);細胞周期阻害剤および分化誘発剤(トレチノイン);mTOR阻害剤、トポイソメラーゼ阻害剤(ドキソルビシン(アドリアマイシン)、アムサクリン、カンプトテシン、ダウノルビシン、ダクチノマイシン、エニボシド(eniposide)、エピルビシン、エトボシド、イダルビシンおよびミトキサントロン、トポテカン、イリノテカン)、コルチコステロイド(コルチゾン、デキサメタゾン、ヒドロコルチゾン、メチルプレドニゾン、プレドニゾンおよびプレドニゾン);増殖因子シグナル伝達キナーゼ阻害剤;ミトコンドリア機能不全誘発剤およびカスパーゼアクチベーター;およびクロマチン破壊剤。

【0094】

組み合わせ治療の性質に応じて、ポリペプチド治療薬の投与は、他の治療を投与している間および/またはその後継続させ得る。ポリペプチド治療薬の投与は、1回投与で行っても多回投与で行ってもよい。幾つかの例では、ポリペプチド治療薬の投与を、慣用の治療の少なくとも数日前に開始し、一方、他の例では、慣用の治療の投与直前または投与時に、投与を始める。

【0095】

診断的適用の例において、不適切な血管新生によって特徴付けられる状態を有すると疑われる患者由来の生物学的サンプル、例えば血清または生検組織を、c-Metのレベルを検出するために、本開示の検出可能に標識されたポリペプチドと接触させる。検出され

10

20

30

40

50

た c - M e t のレベルを標識されたポリペプチドと接触させた正常サンプルで検出される c - M e t のレベルと比較する。c - M e t のレベルの少なくとも 10 %、20 %、30 %、40 %、50 %、60 %、70 %、80 % または 90 % の増大は、診断的指標と見なし得る。

【0096】

或る態様において、c - M e t 結合ポリペプチドを、さらに、検出できる標識に結合する(例えば標識は、放射性同位体、蛍光性化合物、酵素または酵素補因子であり得る)。活性部分は、放射活性剤、例えば放射活性重金属、例えば鉄キレート、ガドリニウムまたはマンガンの放射活性キレート、酸素、窒素、鉄、炭素またはガリウムの陽電子放出剤、⁴³K、⁵²Fe、⁵⁷Co、⁶⁷Cu、⁶⁷Ga、⁶⁸Ga、¹²³I、¹²⁵I、¹³¹I、¹³²I または ⁹⁹Tc であってよい。当該部分に結合した結合剤を造影剤として使用してよく、哺乳動物、例えばヒトの診断的使用に有効な量で投与し、次いで、該造影剤の局在化および蓄積を検出する。造影剤の局在化および蓄積は、放射性シンチグラフィ、核磁気共鳴、コンピュータ断層撮影または陽電子放出断層撮影によって検出され得る。c - M e t 指向性 c - M e t 結合ポリペプチドを用いる免疫シンチグラフィは、癌および脈管構造を検出および/または診断するために使用され得る。例えば、⁹⁹テクネチウム、¹¹¹インジウムまたは¹²⁵ヨウ素で標識された c - M e t マーカーに対する結合ポリペプチドは何れも、造影に有効に使用できる。当業者に明らかなように、投与される放射性同位体の量は、放射性同位体に依存する。当業者は、活性な部分として用いられるある放射性核種の比放射能およびエネルギーに基づいて、投与する造影剤の量を容易に製剤化できる。典型的には、造影剤の1投与量当たり0.1~100mCi、好ましくは1~10mCi、最も頻繁には2~5mCiを投与する。従って、放射活性部分にコンジュゲートしたターゲティング部分を含む造影剤として有用な本発明の組成物は、0.1~100mCi、幾つかの態様において、好ましくは1~10mCi、幾つかの態様において、好ましくは2~5mCi、幾つかの態様において、より好ましくは1~5mCiを含む。

【0097】

c - M e t 結合ポリペプチドはまた、さらなる治療薬(薬物、化学療法化合物および放射性治療用化合物を含むが、これらに限定されない)を、c - M e t を発現する細胞または組織に送達するために使用できる。例を挙げれば、c - M e t 結合ポリペプチドを、c - M e t を発現する腫瘍細胞または組織への化学療法剤の標的送達のために、化学療法剤に融合する。

【0098】

c - M e t 結合ポリペプチドは、研究、診断および治療適用を含む、様々な適用に有用である。例えば、それらは、受容体またはその一部を単離および/または精製するために、および、受容体構造(例えば立体配座)および機能を調べるために使用できる。

【0099】

特定の局面において、様々な結合ポリペプチドは、内皮細胞(例えば静脈内皮細胞)または c - M e t 遺伝子でトランスフェクトされた細胞での、c - M e t の発現を検出または測定するために使用できる。従って、それらはまた、診断目的または研究目的の細胞選別および造影(例えばフローサイトメトリーおよび蛍光活性化細胞選別)などの適用に有用性を有する。

【0100】

特定の態様において、結合ポリペプチドまたはそのフラグメントを診断目的のために、標識しても標識しなくてもよい。典型的には、診断アッセイは、c - M e t への結合ポリペプチドの結合によって生じる複合体の形成を検出することを伴う。結合ポリペプチドまたはフラグメントを、抗体と同様に、直接標識できる。放射性核種、蛍光色素、酵素、酵素基質、酵素補因子、酵素阻害剤およびリガンド(例えばピオチン、ハプテン)を含むがこれらに限定されない、様々な標識が用いられ得る。多くの適切なイムノアッセイが、当業者に知られている(例えば、米国特許第3,817,827号;第3,850,752号;第3,901,654号;および第4,098,876号)。非標識の場合、結合ポリペプチドは、凝集アッセイなどのアッセイ

で利用できる。また、非標識結合ポリペプチドは、結合ポリペプチドを検出するために使用できる他の(1種以上の)適当な試薬、例えば結合ポリペプチドと反応する標識抗体または他の適当な試薬(例えば標識タンパク質A)と組み合わせで使用できる。

【0101】

一つの態様において、本発明の結合ポリペプチドは、対象のポリペプチドを酵素とコンジュゲートさせる酵素イムノアッセイで利用できる。c-Metタンパク質を含む生物学的サンプルを対象の結合ポリペプチドと合わせたとき、結合ポリペプチドとc-Metタンパク質の間で結合が生じる。一つの態様において、c-Metタンパク質を発現する細胞(例えば内皮細胞)を含むサンプルを、対象の抗体と合わせ、結合ポリペプチドと、結合ポリペプチドによって認識されるc-Metタンパク質を生じる細胞の間で結合が生じる。これらの結合した細胞を非結合試薬から分離し、細胞に特異的に結合した結合ポリペプチド-酵素コンジュゲートの存在を、例えば、サンプルと、酵素が作用したとき色または他の検出可能な変化を生じる酵素の基質を接触させることによって決定できる。他の態様において、対象の結合ポリペプチドは、標識されていないくてよく、対象の結合ポリペプチドを認識する第2標識ポリペプチド(例えば抗体)を加え得る。

10

【0102】

特定の局面において、生物学的サンプル中のc-Metタンパク質の存在を検出するのに使用するためのキットもまた製造できる。当該キットは、c-Metタンパク質または当該受容体の一部に結合するc-Met結合ポリペプチド、および、結合ポリペプチドと受容体タンパク質またはその一部の間の複合体の存在を検出するのに適した1種以上の補助剤を含む。本発明のポリペプチド組成物は、単独でまたは他のエピトープに特異的なさらなる抗体と組み合わせ、凍結乾燥形態で提供できる。標識されていても標識されていなくてもよい結合ポリペプチドおよび/または抗体は、補助成分(例えば緩衝液、例えばTris緩衝液、リン酸緩衝液および炭酸緩衝液、安定剤、添加物、殺生物剤および/または不活性タンパク質、例えばウシ血清アルブミン)と共に、キットに含まれ得る。例えば、結合ポリペプチドおよび/または抗体を補助成分と共に凍結乾燥混合物として提供してよく、または、補助成分を使用者が組み合わせるために別に提供してよい。一般的に、これらの補助物質は、活性な結合ポリペプチドまたは抗体の量に基づいて約5重量%未満で存在し、通常、ポリペプチドまたは抗体濃度に基づいて少なくとも総量約0.001重量%で存在する。結合ポリペプチドに結合できる第2抗体を用いるとき、当該抗体は、キットにおいて、例えば別個のバイアルまたは容器で提供できる。第2抗体は、存在するならば、典型的に標識され、上記抗体製剤に準じた方法で製剤化され得る。

20

30

【0103】

同様に、本発明はまた、c-Metの発現を検出するおよび/または定量する方法であって、細胞またはそのフラクシオンを含む組成物(例えば膜フラクシオン)を、結合に適切な条件下で、c-Metまたはその受容体の一部に結合する結合ポリペプチドと接触させ、その結合をモニターする方法を提供する。結合ポリペプチドとc-Metまたはその一部の間の複合体の形成を示す結合ポリペプチドの検出は、その受容体の存在を示す。ポリペプチドの細胞への結合は、標準的な方法、例えば実施例に記載された方法によって決定できる。本方法は、個体からの細胞上のc-Metの発現を検出するために使用できる。所望により、内皮細胞表面でのc-Metの定量的発現を、例えばフローサイトメトリーによって評価でき、染色強度を疾患の罹患率、進行またはリスクと関連させ得る。

40

【0104】

本発明はまた、或る疾患に対する哺乳類の感受性を検出する方法を提供する。例として、本方法は、哺乳類における細胞に存在するc-Metの量および/またはc-Met陽性細胞数に基づいて進行する疾患に対する哺乳類の感受性を検出するために使用できる。

【0105】

ポリペプチド配列を、標準的な一文字または三文字略号を用いて示す。特に断りのない限り、各ポリペプチド配列は、左にアミノ末端を、右にカルボキシ末端を有する；一本鎖核酸配列および二本鎖核酸配列の上の鎖はそれぞれ、左に5'末端を、右に3'末端を有す

50

る。特定のポリペプチド配列はまた、それが参照配列とどのように異なるかを説明することによって記載され得る。

【0106】

用語“c-Met阻害剤”および“c-Metアンタゴニスト”は、交換可能に用いられる。それぞれは、c-Metの少なくとも1つの機能を検出可能に阻害する分子である。逆に、“c-Metアゴニスト”は、c-Metの少なくとも1つの機能を検出可能に増大させる分子である。c-Met阻害剤によって引き起こされる阻害は、それがアッセイを用いて検出できる限り、完全である必要はない。c-Metの機能のどんなアッセイも使用でき、その例は、本明細書で提供される。c-Met阻害剤によって阻害され得るかまたはc-Metアゴニストによって増加し得るc-Metの機能の例は、癌細胞増殖またはアポトーシス(プログラム細胞死)などを含む。c-Met阻害剤およびc-Metアゴニストのタイプの例は、c-Met結合ポリペプチド、例えば抗原結合タンパク質(例えばc-Met阻害抗原結合タンパク質)、抗体、抗体フラグメントおよび抗体誘導体を含むが、これらに限定されない。

10

【0107】

用語“ペプチド”、“ポリペプチド”および“タンパク質”はそれぞれ、互いにペプチド結合によって結合している2個以上のアミノ酸残基を含む分子をいう。これらの用語は、例えば、天然および人工タンパク質、タンパク質フラグメントおよびタンパク質配列のポリペプチドアナログ(例えばムテイン、変異体および融合タンパク質)、ならびに、翻訳後またはそれ以外の時点で共有結合または非共有結合により修飾されたタンパク質を包含する。ペプチド、ポリペプチドまたはタンパク質は、モノマーであってもポリマーであってもよい。

20

【0108】

ポリペプチド(例えば抗体)の“変異体”は、他のポリペプチド配列に対して、1個以上のアミノ酸残基がアミノ酸配列に挿入されているか、欠失しているかおよび/または置換されているアミノ酸配列を含む。開示された変異体は、例えば融合タンパク質を含む。

【0109】

ポリペプチドの“誘導体”は、例えば他の化学的部分(例えばポリエチレングリコールまたはアルブミン、例えばヒト血清アルブミン)とのコンジュゲーション、リン酸化およびグリコシル化により、化学的に修飾されているポリペプチド(例えば抗体)である。特に断りのないかぎり、用語“抗体”は、2個の完全長重鎖および2個の完全長軽鎖を含む抗体に加えて、その誘導体、変異体、フラグメントおよびムテインを含み、その例を下に記載する。

30

【0110】

“抗原結合タンパク質”は、抗原に結合する部分、および、所望により抗原結合タンパク質の抗原への結合を助ける立体配座を抗原結合部分が採用することを可能にする骨格またはフレームワーク部分を含むタンパク質である。抗原結合タンパク質の例は、抗体、抗体フラグメント(例えば抗体の抗原結合部分)、抗体誘導体および抗体アナログを含む。抗原結合タンパク質は、例えば、代替タンパク質骨格または結合させたCDRもしくはCDR誘導体を含む人工骨格を含み得る。当該骨格は、例えば抗原結合タンパク質の3次元構造を安定化させるために導入された変異を含む抗体由来の骨格、ならびに、例えば生体適合性ポリマーを含む全合成骨格を含むが、これらに限定されない。例えばKorndorfer et al., 2003, Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics, Volume 53, Issue 1:121-129; Roque et al., 2004, Biotechnol. Prog. 20:639-654を参照のこと。さらに、ペプチド抗体模倣物(“PAM”)、ならびに骨格としてフィブロネクチン成分を利用する抗体模倣物をベースとする骨格を使用できる。

40

【0111】

抗原結合タンパク質は、例えば、天然由来の免疫グロブリンの構造を有し得る。“免疫グロブリン”は、四量体分子である。天然由来の免疫グロブリンでは、四量体はそれぞれ、2個の同一のポリペプチド鎖のペアからなり、ペアはそれぞれ1個の“軽”鎖(約25k

50

Da)および1個の“重”鎖(約50～70kDa)を有する。各鎖のアミノ末端部分は、主に抗原認識に関与する約100～110以上のアミノ酸の可変領域を含む。各鎖のカルボキシ末端部分は、主にエフェクター機能に関与する定常領域を規定する。ヒト軽鎖は、または軽鎖と分類される。重鎖は、 μ 、 δ 、 ϵ 、または γ と分類され、抗体のアイソタイプをそれぞれIgM、IgD、IgG、IgAおよびIgEと規定する。好ましくは、本明細書に開示された抗c-Met抗体は、重鎖V_Hおよび軽鎖V_Lアミノ酸配列の可変ドメイン領域配列によって特徴付けられる。好ましい抗体は、IgG抗体であるA6である。軽鎖および重鎖内では、可変領域および定常領域は約12以上のアミノ酸の“J”領域によって結合しており、また、重鎖は約10以上のアミノ酸の“D”領域を含む。各軽鎖/重鎖ペアの可変領域は、完全免疫グロブリンが2個の結合部位を有するように、抗体結合部位を形成する。

10

【0112】

“多重特異性抗体”は、1個より多い抗体上の1個より多いエピトープを認識する抗体である。このタイプの抗体のサブクラスは、同一または異なる抗原上の2個の別個のエピトープを認識する“二重特異性抗体”である。

【0113】

1nM以下の解離定数で抗原に結合するならば、抗原結合タンパク質は抗原(例えばヒトc-Met)に“特異的に結合する”。

【0114】

“抗原結合ドメイン”、“抗原結合領域”または“抗原結合部位”は、抗原と相互作用して抗原結合タンパク質の特異性および抗原に対する親和性に寄与するアミノ酸残基(または他の部分)を含む、抗原結合タンパク質の一部である。抗原に特異的に結合する抗体において、これは、抗体のCDRドメインの少なくとも1個の少なくとも一部を含む。

20

【0115】

“エピトープ”は、抗原結合タンパク質(例えば抗体)によって結合される分子の一部である。エピトープは、分子の隣接しない部分(例えばポリペプチドにおいて、ポリペプチドの一次配列で隣接しないが、ポリペプチドの3次および4次構造の状況において抗原結合タンパク質が結合するのに十分なほど互いに近いアミノ酸残基)を含み得る。

【0116】

2個のポリヌクレオチド配列または2個のポリペプチド配列の“%相同性”は、GAP computer program (GCG Wisconsin Package, version 10.3 (Accelrys, San Diego, Calif.))の一部を用いて、そのデフォルトパラメーターを用いて配列を比較することによって決定される。

30

【0117】

“宿主細胞”は、核酸を発現するために使用できる細胞である。宿主細胞は、原核生物、例えば大腸菌であり得るか、あるいは、真核生物、例えば単細胞真核生物(例えば酵母または他の真菌類)、植物細胞(例えばタバコまたはトマト植物細胞)、動物細胞(例えばヒト細胞、サル細胞、ハムスター細胞、ラット細胞、マウス細胞または昆虫細胞)またはハイブリドームであり得る。宿主細胞の例は、サル腎細胞のCOS-7株(ATCC CRL 1651)(Gluzman et al., 1981, Cell 23:175)、L細胞、C127細胞、3T3細胞(ATCC CCL 163)、チャイニーズハムスター卵巣(CHO)細胞またはその派生物、例えばVeggie CHOおよび無血清培地で増殖する関連の細胞株(Rasmussen et al., 1998, Cytotechnology 28:31)またはDHF R欠損CHO株DX-B11(Urlaub et al., 1980, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77:4216-20)、HEL細胞、BHK細胞株(ATCC CRL 10)、アフリカミドリザル腎細胞株CV1に由来するCV1/EBNA細胞株(ATCC CCL 70)(McMahan et al., 1991, EMBO J. 10:2821)、ヒト胎児腎細胞、例えば293, 293 EBNAまたはMSR 293、ヒト上皮A431細胞、ヒトColo205細胞、他の形質転換された霊長類細胞株、正常二倍体細胞、一次組織のインビトロ培養物に由来する培養株、一次外植片、HL-60細胞、U937細胞、HaK細胞またはジャークット細胞を含む。典型的に、宿主細胞は、ポリペプチドをコードする核酸で形質転換またはトランスフェクトできる培養細胞

40

50

胞であり、次いで該核酸が宿主細胞で発現できる。用語“組換え宿主細胞”は、発現される核酸で形質転換されたまたはトランスフェクトされた宿主細胞を表すために使用できる。また、宿主細胞は、核酸を含むが、調節配列が該核酸と作動可能に連結するよう宿主細胞に導入されない限り、望ましいレベルで該核酸を発現しない細胞であり得る。用語宿主細胞は、特定の対象細胞のみをいうのではなく、このような細胞の後代または可能性のある後代もいうと理解される。変異または環境の影響などによりある修飾が後の世代に起こり得るため、このような後代は、実際、親細胞と同一ではないであろうが、本明細書で用いられる用語の範囲内に含まれる。

【0118】

抗原結合タンパク質

抗原結合タンパク質(例えば、抗体、抗体フラグメント、抗体誘導体、抗体ムテインおよび抗体変異体)は、c - M e t (好ましくはヒトc - M e t)に結合するポリペプチドである。抗原結合タンパク質は、c - M e tの生物学的活性を阻害する抗原結合タンパク質を含む。

【0119】

1個以上の抗原結合タンパク質を含むオリゴマーは、c - M e t アンタゴニストとして使用できる。オリゴマーは、共有結合または非共有結合している二量体、三量体またはより高次のオリゴマーの形態であってよい。2個以上の抗原結合タンパク質を含むオリゴマーを使用することが考慮され、その一例がホモ二量体である。他のオリゴマーは、ヘテロ二量体、ホモ三量体、ヘテロ三量体、ホモ四量体、ヘテロ四量体などを含む。

【0120】

一つの態様は、抗原結合タンパク質と融合したペプチド部分の間に共有結合性または非共有結合性相互作用を介して結合している多くの抗原結合タンパク質を含むオリゴマーを目的とする。当該ペプチドは、ペプチドリンカー(スペーサー)であっても、オリゴマー化を促進する性質を有するペプチドであってもよい。ロイシンジッパーおよび抗体に由来する特定のポリペプチドは、下に詳述する通り、それに結合した抗原結合タンパク質のオリゴマー化を促進し得るペプチドである。

【0121】

特定の態様において、オリゴマーは、2～4個の抗原結合タンパク質を含む。オリゴマーの抗原結合タンパク質は、どんな形態であってもよく、例えば上記形態の何れかであり、例えば変異体またはフラグメントである。好ましくは、オリゴマーは、c - M e t 結合活性を有する抗原結合タンパク質を含む。

【0122】

一つの態様は、抗c - M e t 抗体のc - M e t 結合フラグメントを抗体のF c 領域に融合することによって生じる2個の融合タンパク質を含む二量体を目的とする。本二量体は、例えば、融合タンパク質をコードする遺伝子融合物を適切な発現ベクターに挿入し、組換え発現ベクターで形質転換した宿主細胞で遺伝子融合物を発現し、発現された融合タンパク質が抗体分子のように集合させることを可能にし、それによりF c 部分の間に鎖間ジスルフィド結合を形成して二量体を得ることによって製造できる。

【0123】

用語“F c ポリペプチド”は、抗体のF c 領域に由来するポリペプチドの野生型およびムテイン型を含む。二量体化を促進するヒンジ領域を含む当該ポリペプチドの切断型も含まれる。F c 部分を含む融合タンパク質(およびそれから形成されるオリゴマー)は、プロテインAまたはプロテインGカラムでの親和性クロマトグラフィーによる精製が容易という利点を提供する。

【0124】

オリゴマー抗原結合タンパク質を製造する他の方法は、ロイシンジッパーの使用を含む。ロイシンジッパードメインは、それが見出されるタンパク質のオリゴマー化を促進するペプチドである。ロイシンジッパーは、最初は幾つかのDNA結合タンパク質で確認され(Landschulz et al., 1988, Science 240:1759)、それ以来、様々な異なるタンパク質で

10

20

30

40

50

見出されている。知られているロイシンジッパーは、二量体化または三量体化した天然由来のペプチドおよびその誘導体である。可溶性オリゴマータンパク質を製造するのに適したロイシンジッパードメインの例は、WO 94/10308に記載のものおよびHoppe et al., 1994, FEBS Letters 344:191に記載された肺サーファクタントタンパク質D (SPD)に由来するロイシンジッパーである。融合した異種タンパク質の安定な三量体化を可能とする修飾ロイシンジッパーの使用が、Fanslow et al., 1994, Semin. Immunol. 6:267-78に記載されている。或るアプローチでは、ロイシンジッパーペプチドと融合した抗c-Met抗体フラグメントまたは誘導体を含む組換え融合タンパク質を適当な宿主細胞で発現し、形成した可溶性オリゴマー抗c-Met抗体フラグメントまたは誘導体を培養物上清から回収する。

10

【0125】

本発明の抗原結合タンパク質の抗原結合フラグメントは、慣用の方法によって製造され得る。当該フラグメントの例は、FabフラグメントおよびF(ab')₂フラグメントを含むが、これらに限定されない。

【0126】

本発明は、c-Metに結合するモノクローナル抗体を提供する。モノクローナル抗体は、当技術分野で知られている方法の何れかを用いて、例えば免疫化スケジュールの完了後トランスジェニック動物から回収した脾細胞を不死化することによって製造され得る。脾細胞は、当技術分野で知られている方法の何れかを用いて、例えばそれらを骨髓腫細胞と融合してハイブリドーマを作ることによって不死化できる。ハイブリドーマ製造融合手順に使用するための骨髓腫細胞は、好ましくは、非抗体製造であり、高融合効率を有し、かつ、望ましい融合細胞(ハイブリドーマ)のみの増殖を支持する特定の選択的培地で増殖できない状態となる酵素欠損を有する。マウス融合物に使用するのに適した細胞株の例は、Sp-20、P3-X63/Ag8、P3-X63-Ag8.653、NS1/1.Ag 4 1、Sp210-Ag14、F0、NS0/U、MPC-11、MPC11-X45-GTG 1.7 および S194/5XX0 BuIを含み；ラット融合物に使用される細胞株の例は、R210.RCY3、Y3-Ag 1.2.3、IR983F および 48210を含む。細胞融合物に有用な他の細胞株は、U-266、GM1500-GRG2、LICR-LON-HMy2 および UC729-6である。

20

【0127】

c-Metに対する抗原結合タンパク質は、例えば、c-Metポリペプチドの存在をインビトロまたはインビボで検出するアッセイで使用できる。抗原結合タンパク質はまた、免疫親和性クロマトグラフィーによって、c-Metタンパク質を精製するのに使用してよい。抗原結合タンパク質をブロックするのに、本明細書に開示された方法を使用できる。c-Metアンタゴニストとして機能する抗原結合タンパク質を、様々な癌を含むがこれに限定されない何らかのc-Met誘発状態を処置するのに使用できる。

30

【0128】

抗原結合タンパク質は、c-Met誘発生物学的活性を阻害するためにインビトロ法で用いられても、インビボで投与されてもよい。c-Metのタンパク質分解活性化によって(直接または間接的に)引き起こされるまたは増悪する障害(その例は本明細書で提供される)を、それゆえに処置し得る。一つの態様において、本発明は、インビボで、c-Metブロック抗原結合タンパク質を、治療を必要とする哺乳動物に、c-Met誘発生物学的活性を減少させるのに有効な量で投与することを含む、治療的方法を提供する。

40

【0129】

抗原結合タンパク質は、c-Metの生物学的活性を阻害する完全ヒトモノクローナル抗体を含む。

【0130】

抗原結合タンパク質は、幾つかの慣用の方法の何れかによって製造され得る。例えば、それらは、それを天然に発現する細胞から精製しても(例えば抗体はそれを製造するハイブリドーマから精製できる)、当技術分野で知られている方法の何れかを用いて、組換え発現系で製造してもよい。例えば、Monoclonal Antibodies, Hybridomas: A New Dimension in Biological Analyses, Kennet et al. (eds.), Plenum Press, New York (1980);

50

および Antibodies: A Laboratory Manual, Harlow and Land (eds.), Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y., (1988)を参照のこと。

【 0 1 3 1 】

当技術分野で知られている発現系は何れも、本発明の組換えポリペプチドを作製するのに使用できる。一般的に、宿主細胞は、望ましいポリペプチドをコードするDNAを含む組換え発現ベクターで形質転換される。使用し得る宿主細胞は、原核生物、酵母または高次真核生物である。原核生物は、グラム陰性菌またはグラム陽性菌、例えば大腸菌またはバチルスを含む。高次真核生物細胞は、昆虫細胞および哺乳類由来の確立された細胞株を含む。適当な哺乳動物宿主細胞株の例は、サル腎細胞のCOS-7株(ATCC CRL 1651)(Gluzman et al., 1981, Cell 23:175)、L細胞、293細胞、C127細胞、3T3細胞(ATCC CCL 163)、チャイニーズハムスター卵巣(CHO)細胞、HeLa細胞、BHK(ATCC CRL 10)細胞株、および、アフリカミドリザル腎細胞株CV1に由来するCV1/EBNA細胞株(ATCC CCL 70)(McMahan et al., 1991, EMBO J. 10: 2821によって記載)を含む。細菌、真菌、酵母および哺乳動物の細胞宿主で使用するのに適切なクローニングおよび発現ベクターは、Pouwels et al. (Cloning Vectors: A Laboratory Manual, Elsevier, N.Y., 1985)によって記載される。

【 0 1 3 2 】

形質転換細胞を、ポリペプチドの発現を促進する条件下で培養し、該ポリペプチドを慣用のタンパク質精製手順によって回収できる。このような精製手順は、例えばそれに結合したc-Metの全てまたは一部(例えば細胞外ドメイン)を有するマトリックスによる親和性クロマトグラフィーの使用を含む。本明細書での使用が意図されるポリペプチドは、実質的に内因性物質の混入がない、実質的に均一な組換え哺乳動物抗c-Met抗体ポリペプチドを含む。

【 0 1 3 3 】

抗原結合タンパク質を、幾つかの知られている方法の何れかによって製造し、望ましい性質についてスクリーニングし得る。特定の方法は、目的の抗原結合タンパク質(例えば抗c-Met抗体)のポリペプチド鎖(またはその一部)をコードする核酸の単離および組換えDNA法による核酸の操作を含む。核酸は、他の目的核酸と融合させても、例えば、1個以上のアミノ酸残基を付加、欠失または置換するために(例えば変異誘発または他の慣用の方法によって)変化させてもよい。

【 0 1 3 4 】

一本鎖抗体は、重鎖および軽鎖可変ドメイン(Fv領域)フラグメントを、アミノ酸架橋(短いペプチドリinker)を介して結合し、単一ポリペプチド鎖を得ることによって形成し得る。当該一本鎖Fvs(scFvs)は、2個の可変性ドメインポリペプチド(V_LおよびV_H)をコードするDNAの間のペプチドリinkerをコードするDNAを融合することによって製造される。得られたポリペプチドは、2つの可変ドメインの間の可動性リンカーの長さ依存して、それ自身で折りたたまれて抗原結合単量体を形成できるか、または、多量体(例えば二量体、三量体、または四量体)を形成できる(Kortt et al., 1997, Prot. Eng. 10:423; Kortt et al., 2001, Biomol. Eng. 18:95-108)。異なるV_L含有およびV_H含有ポリペプチドを組み合わせることによって、異なるエピトープに結合した多量体のscFvsを形成できる(Kriangkum et al., 2001, Biomol. Eng. 18:31-40)。一本鎖抗体の製造のために開発された方法は、米国特許第4,946,778号; Bird, 1988, Science 242:423; Huston et al., 1988, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85:5879; Ward et al., 1989, Nature 334:544, de Graaf et al., 2002, Methods Mol. Biol. 178:379-87に記載されたものを含む。

【 0 1 3 5 】

目的の抗体から異なるサブクラスまたはアイソタイプの抗体を誘導する方法、すなわちサブクラススイッチングが知られている。従って、IgG抗体は、例えば、IgM抗体から誘導されても、その逆であってもよい。当該方法は、示された抗体(親抗体)の抗原結合性を有するが、親抗体と異なる抗体アイソタイプまたはサブクラスに関連する生物学的性

10

20

30

40

50

質も示す新しい抗体の製造を可能とする。組換えDNA法を用いてよい。特に抗体ポリペプチドをコードするクローン化DNA、例えば望むアイソタイプの抗体の定常ドメインをコードするDNAを当該手順に用いてもよい(Lantto et al., 2002, Methods Mol. Biol. 178:303-16)。さらに、IgG4が望ましいならば、IgG4抗体に不均一性を起こし得るH鎖内ジスルフィド結合を形成する傾向を緩和するために、ヒンジ領域に点変異(CPSCP CPPCP)を導入することも望ましい(Bloom et al., 1997, Protein Science 6:407)。

【0136】

特定の態様において、本発明の抗原結合タンパク質は、c-Metについて少なくとも 10^6 の結合親和性(K_a)を有する。他の態様において、抗原結合タンパク質は、少なくとも 10^7 、少なくとも 10^8 、少なくとも 10^9 または少なくとも 10^{10} の K_a を示す。他の態様において、抗原結合タンパク質は、本明細書の実施例に記載した抗体と実質的に同じ K_a を示す。

10

【0137】

他の態様において、本発明は、c-Metからの解離速度が低い抗原結合タンパク質を提供する。一つの態様において、抗原結合タンパク質は、 $1 \times 10^{-4} \sim 10^{-1}$ 以下の K_{off} を有する。他の態様において、 K_{off} は、 $5 \times 10^{-5} \sim 10^{-1}$ 以下である。他の態様において、 K_{off} は、本明細書に記載された抗体と実質的に同じである。他の態様において、抗原結合タンパク質は、本明細書に記載された抗体と実質的に同じ K_{off} でc-Metに結合する。

【0138】

20

他の局面において、本発明は、c-Metの活性を阻害する抗原結合タンパク質を提供する。一つの態様において、抗原結合タンパク質は、 1000 nM 以下の IC_{50} を有する。他の態様において、 IC_{50} は、 100 nM 以下であり；他の態様において、 IC_{50} は、 10 nM 以下である。他の態様において、 IC_{50} は、本明細書の実施例に記載された抗体の IC_{50} と実質的に同じである。他の態様において、抗原結合タンパク質は、本明細書に記載された抗体と実質的に同じ IC_{50} でc-Metの活性を阻害する。

【0139】

他の局面において、本発明は、細胞表面に発現されたヒトc-Metに結合し、このように結合する時に、細胞表面のc-Metの量を著しく減らすことなく、細胞でc-Metシグナル伝達活性を阻害する抗原結合タンパク質を提供する。細胞の表面および/または内部のc-Metの量を決定するまたは概算するあらゆる方法を使用できる。他の態様において、抗原結合タンパク質のc-Met発現細胞への結合は、約75%、50%、40%、30%、20%、15%、10%、5%、1%、または0.1%未満の細胞表面c-Metを内部移行させる。

30

【0140】

他の局面において、本発明は、インビトロまたはインビボで(例えばヒト対象に投与したとき)、少なくとも1日の半減期を有する抗原結合タンパク質を提供する。一つの態様において、抗原結合タンパク質は、少なくとも3日の半減期を有する。他の態様において、抗原結合タンパク質は、4日以上半減期を有する。他の態様において、抗原結合タンパク質は、8日以上半減期を有する。他の態様において、抗原結合タンパク質は、非誘導体化または非修飾抗原結合タンパク質と比較して、長い半減期を有するように、誘導体化または修飾される。他の態様において、抗原結合タンパク質は、血清半減期を延長させるために、例えばW000/09560(引用によって本明細書に組み込まれる)に記載されたように、1つ以上の点変異を含む。

40

【0141】

さらに、本発明は、多重特異性抗原結合タンパク質、例えば二重特異性抗原結合タンパク質、例えば2個の異なる抗原結合部位または領域を介してc-Metの2個の異なるエピトープにまたはc-Metの1個のエピトープおよび他の分子のエピトープに結合する抗原結合タンパク質を提供する。さらに、本明細書に開示された二重特異性抗原結合タンパク質は、本明細書に記載された1個の抗体由来のc-Met結合部位、および、他の文

50

献を引用することによって本明細書に記載されたものを含む、本明細書に記載された他の抗体由来の第2 c - M e t 結合領域を含み得る。あるいは、二重特異性抗原結合タンパク質は、本明細書に記載された1個の抗体由来の抗原結合部位、および、当技術分野で知られている他の c - M e t 抗体由来または既知の方法もしくは本明細書に記載された方法によって製造される抗体由来の第2抗原結合部位を含み得る。

【0142】

二重特異性抗体を製造する多くの方法が、当技術分野で知られている。当該方法は、Miststein et al., 1983, Nature 305:537に記載されたハイブリッド-ハイブリドーマの使用および抗体フラグメントの化学的カップリング(Brennan et al., 1985, Science 229:81; Glennie et al., 1987, J. Immunol. 139:2367; 米国特許第6,010,902号)を含む。さらに、二重特異性抗体は、組換え方法によって、例えばロイシン・ジッパー部分(すなわち、ヘテロ二量体を優先的に形成するF o sおよびJ u nタンパク質由来; Kostelny et al., 1992, J. Immunol. 148:1547)、または、米国特許第5,582,996号に記載された他の鍵穴と鍵相互作用ドメイン構造を使用することによって製造できる。さらなる有用な方法は、米国特許第5,959,083号; および第5,807,706号に記載された方法を含む。

【0143】

他の局面において、抗原結合タンパク質は、抗体の誘導体を含む。誘導体化した抗体は、望ましい性質、例えば特定の使用において延長した半減期を抗体に与える任意の分子または物質を含み得る。誘導体化した抗体は、例えば、検出可能部分(または標識部分)(例えば放射活性、発色性、抗原性または酵素的分子、検出可能なビーズ(例えば磁気または高電気密度の(例えば金)ビーズ)、または、他の分子に結合する分子(例えばビオチンまたはストレプトアビジン)、治療部分または診断部分(例えば放射活性、細胞傷害性または薬学的に活性な部分)、または、特定の使用(例えば対象、例えばヒト対象への投与、または他のインビボまたはインビトロの使用)のために抗体の適合性を増大させる分子を含み得る。抗体を誘導体化するのに使用できる分子の例は、アルブミン(例えばヒト血清アルブミン)およびポリエチレングリコール(P E G)を含む。抗体のアルブミン結合およびP E G化誘導体は、当技術分野で周知の方法を用いて製造できる。一つの態様において、抗体は、トランスサイレチン(T T R)またはT T R変異体にコンジュゲートしているか、または他の方法で結合している。T T RまたはT T R変異体は、例えば、デキストラン、ポリ(n - ビニルピロリドン)、ポリエチレングリコール、プロピレングリコールホモポリマー、ポリプロピレンオキシド/エチレンオキシドコポリマー、ポリオキシエチル化ポリオールおよびポリビニルアルコールからなる群から選択される化学物質で、化学的に修飾できる。

【0144】

適応

一つの局面において、本発明は、対象を処置する方法を提供する。本方法は、例えば、対象に対して、一般的に健康に良い効果を有し得る、例えば対象の余命を延長し得る。あるいは、本方法は、疾患、状態または病気(“状態”)を、例えば、処置、予防、治療、軽減または改善(“処置”)できる。処置される状態は、c - M e tの不適切な発現または活性によって特徴付けられる状態である。幾つかのこのような状態において、発現または活性レベルは高すぎ、その処置は、本明細書に記載されたc - M e tアンタゴニストを投与することを含む。該障害または状態は、癌関連である。特に、これらの癌は、肺癌、卵巣癌、結腸癌および様々な骨髄腫を含むが、これらに限定されない。

本開示の抗原結合タンパク質で処置または予防できる具体的な医学的状态および疾患は、様々な癌を含む。

【0145】

治療的方法および抗原結合タンパク質の投与

本明細書で提供される特定の方法は、c - M e t結合抗原結合タンパク質を対象に投与し、それによって、特定の状態に役割を果たすc - M e t誘発生物学的応答を低下させることを含む。特定の態様において、本発明の方法は、例えば対象への投与によって、また

はエキスピボ法で、内在性 c - M e t と c - M e t 結合抗原結合タンパク質を接触させることを含む。

【 0 1 4 6 】

用語“ 処置 ”は、障害の少なくとも 1 つの症状または他の側面の改善または予防、または、疾患の重症度の軽減などを包含する。抗原結合タンパク質は、実行可能な治療薬を構成するために、完全な治癒をもたらす必要はなく、疾患の症状または徴候を全て根絶する必要もない。関連分野で認識されている通り、治療薬として用いられる薬物は、示された疾病状態の重症度を減少し得るが、有用な治療薬と認められるために、疾患の症状を全て根絶する必要はない。同様に、予防的に投与される処置は、実行可能な予防薬を構成するために、状態の発症の予防に完全に有効である必要はない。単に、疾患の影響を減らすこと(例えばその症状の数または重症度を減少させることによって、または、他の処置の有効性を上げることによって、または、他の有益な効果を生じることによって)、あるいは、対象において疾患が発症するまたは悪化する可能性を減らすことで十分である。本発明の一つの態様は、特定の障害の重症度を反映する指標のベースラインからの持続的な改善を誘発するのに十分な量および時間で、c - M e t アンタゴニストを患者に投与することを含む方法を目的とする。

10

【 0 1 4 7 】

関連分野で理解される通り、本発明の抗体およびそのフラグメントを含む医薬組成物を適応症に対して適切な方法で対象に投与する。医薬組成物は、非経腸、局所または吸入を含むがこれらに限定されない、何れかの適当な方法によって投与され得る。注射されるならば、本医薬組成物は、例えば関節内、静脈内、筋肉内、病巣内、腹腔内または皮下経路で、ボラス注射または連続注入によって投与し得る。経皮送達およびインプラントからの持続性放出のような、疾患または傷害部位などでの局所投与が考えられる。吸入による送達は、例えば、鼻または口の吸入、ネブライザーの使用、エアゾール形態のアンタゴニストの吸入などを含む。他の選択肢は、点眼薬；丸薬、シロップ剤、ロゼンジ剤またはチューイングガムを含む経口製剤；および、局所製剤、例えばローション、ゲル、スプレーおよび軟膏を含む。

20

【 0 1 4 8 】

エキスピボ法での抗原結合タンパク質の使用も考えられる。例えば、患者の血液または他の体液を、エキスピボで、c - M e t と結合する抗原結合タンパク質と接触し得る。抗原結合タンパク質は、適当な可溶性マトリックスまたは固体支持物質に結合してよい。

30

【 0 1 4 9 】

好都合には、抗原結合タンパク質は、1 種以上のさらなる成分、例えば生理学的に許容される担体、賦形剤または希釈剤を含む組成物の形態で投与される。所望により、本組成物は、さらに、1 種以上の生理学的に活性な薬剤、非限定的な例を本明細書に提供する、例えば第 2 の炎症阻害物質または免疫阻害物質、抗血管新生物質、鎮痛物質などを含む。様々な特定の態様において、本組成物は、c - M e t 結合抗原結合タンパク質に加えて、1 種、2 種、3 種、4 種、5 種または 6 種の生理学的に活性な薬物を含む。

【 0 1 5 0 】

併用療法

40

他の局面において、本発明は、c - M e t 阻害抗原結合タンパク質および 1 種以上の他の処置を有する対象を処置する方法を提供する。一つの態様において、当該併用療法は、例えば腫瘍の複数部位または分子標的を攻撃することによって、相乗効果または相加効果を達成する。本発明と関連して使用できる併用療法のタイプは、1 つの疾患関連経路の複数節、標的細胞の多くの経路、および標的組織内の多くの細胞タイプの阻害または活性化(適するならば)を含む。

【 0 1 5 1 】

他の態様において、併用療法は、2 種、3 種、4 種、5 種、6 種以上の本明細書に記載された c - M e t アゴニストまたはアンタゴニストを対象に投与することを含む。他の態様において、本方法は、c - M e t 媒介シグナル伝達と一緒に(直接的または間接的に)阻

50

害または活性化する2種以上の処置を対象に投与することを含む。当該方法の例は、2種以上のc-Met阻害抗原結合タンパク質の組み合わせ、c-Met阻害抗原結合タンパク質と1種以上の他の抗癌性を有する治療部分(例えば細胞傷害性薬物および/または免疫調節剤)の組み合わせ、または、c-Met阻害抗原結合タンパク質と1種以上の他の処置(例えば手術または放射線)の組み合わせを用いることを含む。さらに、1種以上の抗c-Met抗体または抗体誘導体は1種以上の分子または他の処置と組み合わせることで、ここで、当該他の分子または処置はc-Metに直接結合または作用しないが、その組み合わせは処置される状態を処置または予防するのに有効である。一つの態様において、1種以上の分子および/または処置は、治療の過程で、1種以上の他の分子または処置によって生じる状態、例えば悪心、疲労、脱毛症、悪液質、不眠症などを処置または予防する。分子および/または他の処置の組み合わせを用いる全ての場合で、個々の分子および/または処置は、あらゆる順序で、有効である任意の長さの期間に渡って、例えば同時に、連続して、または交互に投与できる。一つの態様において、処置方法は、処置の第2の治療単位を開始する前に1種の分子または他の処置による処置の第1治療単位を完了することを含む。処置の第1治療単位の終了と処置の第2治療単位の間時間の長さは、治療の全治療過程を有効とする任意の長さの時間であってよく、例えば秒単位、分単位、時間単位、日単位、週単位、月単位または単位年ですらある。

10

【0152】

他の態様において、本方法は、1種以上の本明細書に記載されたc-Metアンタゴニストおよび1種以上の他の処置(例えば治療的処置または対症療法)を投与することを含む。方法が1つより多い処置を対象に投与することを含むとき、投与の順序、タイミング、回数、濃度および量は、医学的必要性および処置の制限によってのみ制限されると理解されるべきである。すなわち、2つの処置は、例えば、同時に、連続して、交互に、または任意の他のレジメに従って、対象に投与できる。

20

【実施例】

【0153】

実施例 1

この実施例は、Genentech 5D5(Met Mabに由来)のIgG形態およびFab形態と比較した、IgG形態(図3a)およびFab形態(図3b)の抗c-Met抗体によるMet媒介細胞増殖の阻害を示すインビトロデータを説明する。非制御細胞増殖は癌の顕著な特徴であり、抗c-Met抗体でc-Met陽性癌細胞の増殖を阻害する能力は、治療用化合物の必要条件である。この実施例では、5000個のU87膠芽腫細胞を、10% FBSを加えた100 μ lのDMEM培地で、96ウェル白色不透明細胞培養クラスターのウェルに、3組平板培養した。24時間後、培地を除き、細胞をPBSで1回洗浄し、次いで、100 μ lのFBS非含有培地(飢餓培地)で、18時間飢餓状態とした。抗体を、100 μ lの飢餓培地で、望む処置濃度(IgG = 10 ng/ μ l; Fab = 5 ng/ μ lまたは10 ng/ μ l)に希釈し、細胞に加えた。U87細胞は、c-MetリガンドであるHGFを発現し、そのため、これらの細胞をさらなるHGFで刺激する必要はない。細胞を48時間インキュベートし、その後、Promega Cell Titer Glo kitを用いて増殖を評価した。発光量は細胞数に正比例する。

30

40

【0154】

結果: IgG形態の抗c-Met抗体A1、E1およびH8(図3a)、および、Fab形態の抗c-Met抗体の全て(図3b)は、U87細胞増殖を阻害した。E1のIgGによる増殖阻害は、Genentech 5D5のIgGより大きく、A1のIgGおよびH8のIgGは、同じ投与量で同様の阻害を示した。全ての試験した抗c-Met抗体Fabは、両方の処置濃度で完全な増殖阻害を示した。示されたデータは、3組のサンプルの平均相対光単位 \pm 標準誤差である。

【0155】

実施例 2

この実施例は、PC3前立腺癌細胞におけるc-Met受容体のHGF刺激自己リン酸

50

化を示すインビトロデータを説明する。この実施例は、癌細胞中で、c-Metの活性化、それ故にc-Metの機能を遮断する抗体の能力を示す。プロトコル：10,000個のPC3前立腺癌細胞を、10% FBSを加えた100 μ lのDMEM培地で、ヒトホスホ-HGF-R/c-Met (Y1234/Y1235)イムノアッセイ細胞ベースELISAキット(R&D Systems カタログ番号KCB2480)に備え付けの96ウェル細胞培養クラスターのウェルで平板培養した。24時間後、培地を除き、細胞をPBSで1回洗浄し、次いで、100 μ lの飢餓培地(DMEM + 2% FBS)で18時間飢餓状態にした。細胞を、10 μ g/mlの血清非含有培地中のIgG形態(図4a)またはFab形態(図4b)の抗c-Met抗体で処置した。1時間インキュベーションした後、HGFを、最終濃度50 ng/mlとなるよう加えた。さらに細胞を7分間インキュベートした。次いで、細胞を製造者のプロトコルに従って処理した。刺激後、細胞をウェル中で固定化し、透過処理した。c-Metリン酸化を、二重免疫酵素標識法を用いて測定した。細胞を、2種の一次抗体：ホスホ特異的c-Met抗体およびリン酸化状態にかかわらず汎タンパク質(pan-protein)を認識する標準化抗体と共に、同時にインキュベートした。一次抗体は、異なる種に由来した。この異なる種を認識する2つの二次抗体を、西洋わさびペルオキシダーゼ(HRP)またはアルカリホスファターゼ(AP)の何れかで標識し、HRPまたはAPについての2つのスペクトルが異なる蛍光基質を検出のために用いた。リン酸化タンパク質の蛍光を、ウェル毎の偏差の補正のために、それぞれのウェルの汎タンパク質の蛍光で標準化した。

【0156】

結果：図4に示す通り、抗c-Met抗体での細胞の前処理は、自己リン酸化によるc-Metの活性化を種々にブロックした。具体的には、IgG形態のA1、E1、D6、F3およびH8は、c-Met自己リン酸化に対して強い阻害作用を有し(図4a)、一方、試験した全てのFab形態は、強い拮抗作用を示した(図4b)。示されたデータは、複数回の実験の代表例であり、汎タンパク質の蛍光強度測定値に対してリン酸化c-Metの蛍光強度測定値を標準化したものとして示される。

【0157】

実施例 3

この実施例は、HGF刺激c-Met媒介細胞遊走を示すインビトロデータを説明する。この実施例では、創傷治癒アッセイで、細胞培養物の剥皮領域への細胞の遊走を調べた。HGFによるc-Metの刺激は、剥皮領域への細胞の遊走を引き起こし、そのため、典型的抗c-Met抗体は、この遊走を阻害する。癌では、局所腫瘍環境外への細胞遊走が転移を可能にする。遊走の阻害は、転移の可能性を減らし得る。細胞遊走に対するIgG形態およびFab形態の抗c-Met抗体の効果を評価するために、PC3前立腺癌細胞をモデルとして用いた。この実施例では、細胞の密着した単層を作るコンフルエンスまで、6ウェルプレートで細胞を増殖させた。無血清培地で24時間飢餓状態とした後、細胞単層を、200 μ lのピペットチップで引っ掻いた。これにより、細胞が遊走していく剥皮領域を作った。細胞単層を壊した直後に、10 μ g/mlのIgG形態またはFab形態の抗体と共に細胞を1時間インキュベートした。HGFを最終濃度50 ng/mlで培養物に加え、剥皮領域への細胞遊走を24時間後に採点した。遊走について採点するために倍率40倍で視野5つを調べ、剥皮領域に遊走した細胞数を計数した。

【0158】

結果：図5に示す通り、IgG形式の抗c-Met抗体A1、B12、E1およびH8および試験したFab形式の抗体の全ては、HGFで刺激したときの剥皮領域へのPC3細胞遊走を阻害する。相対移動度の増加倍率として示すデータは、HGF処置サンプルで遊走した細胞数を、非処置コントロールの細胞数で割ることによって計算した。データは、複数回の実験の代表例である。

【0159】

実施例 4

この実施例は、HGF刺激c-Met媒介細胞運動を示すインビトロデータを説明する。HGFは、細胞の分散または散乱を誘発する能力を有するため、細胞散乱因子としても

知られている。この散乱は、c - M e t 依存性細胞運動性によって媒介される。このタイプの細胞運動性は、腫瘍細胞の転移に関連し得る。この実施例で、抗 c - M e t 抗体が c - M e t 依存性細胞運動性を阻害する能力を示すために、コロニー散乱アッセイを用いる。D U 1 4 5 前立腺癌細胞を、10 cm のプレートに、 2×10^3 細胞の密度で播種し、コロニーを形成するまで7日間培養した。細胞コロニーを、無血清培地で一夜インキュベートし、10 μ g/ml の I g G または F a b 形式の抗 c - M e t 抗体で1時間予め処置した後、H G F (25 ng/ml) で刺激した。細胞を、処置24時間後にクリスタルバイオレット (0.1%) で染色した。散乱するコロニーを倍率40倍で可視化し、撮影した。

【0160】

結果：図6に示す通り、H G F (+ H G F) は、コロニーの細胞の拡散または散乱として表される細胞運動を刺激する。I g G および F a b 形式の抗 C - M e t 抗体での細胞の前処置は、この散乱を種々の程度で阻止した。クローン E 1 (I g G および F a b 形式の両方)、A 1 (I g G 形式)、A 8 (F a b 形式)、および、H 8 (I g G 形式) は、H G F 刺激 c - M e t 媒介細胞運動性に、Genentech 5D5 (F a b 形式) と同程度で拮抗し、一方、D 6 (I g G 形式) および I g G 形式の Genentech 5D5 は、細胞運動性に対する拮抗作用を有しない。これらの写真は、複数回の実験の複数のコロニーの代表例である。幾つかのサンプルの複数の図は、同じ実験に由来する。

10

【0161】

実施例 5

この実施例は、インビボでの腫瘍増殖に対する c - M e t に反応性の抗体の作用を提供する。抗 c - M e t 抗体が腫瘍増殖を調節する能力を、胸腺欠損マウスモデルを用いて評価した。5匹のマウスの群に、側腹部に、 5×10^6 個の U 1 1 8 ヒト原発性膠芽腫細胞を皮下注射した。細胞移植10日後に、マウスを、100 ml の i) P B S、ii) 抗体 A 1 (0.15 mg)、iii) 抗体 E 1 (0.15 mg) または iv) 抗体 H 8 (0.15 mg) で腹腔内処置した。処置を実験終了まで週3回行った。図7および13に示す通り、抗体 E 1 ()、A 1 () および H 8 () は、P B S 単独と比較して、異種腫瘍細胞の増殖を減少させた。

20

【0162】

実施例 6

この実施例は、抗 c - M e t 抗体細胞結合 EC_{50} 測定についてのインビトロデータを説明する。この実施例は、最大細胞結合および50%結合飽和に至る濃度 (EC_{50}) の点から、これらの抗体の結合特性を示す。この実施例では、D U - 1 4 5 前立腺癌細胞、S K - O - V 3 卵巣癌細胞またはヒト臍帯静脈内皮細胞 (H U V E C) を、F A C S 緩衝液 (P B S + 2% F B S) 中で、96 ウェル v 字底プレートのウェルに等分した。F A C S 緩衝液で作った抗体の16点2倍連続希釈曲線を用いて、細胞を染色した。1時間インキュベーションした後、細胞を F A C S 緩衝液で2回洗浄し、P E 結合ヤギ抗ヒト I g G (鎖特異的) 二次抗体 (Southern Biotech カタログ番号2040-09) に再度懸濁した。さらに細胞を0.5時間インキュベートし、F A C S 緩衝液で1回洗浄した。細胞を F A C S 緩衝液に再度懸濁し、F L 2 - A チャネルの蛍光強度中央値を、Intellicyt HTFC flow cytometer を用いて測定した。D U - 1 4 5 細胞、S K - O - V 3 細胞および H U V E C 細胞に対するこれらの抗 c - M e t 抗体についての細胞結合 EC_{50} を表1に示す。Intellicyt HTFC flow cytometer で、ForeCyt software を用いてデータを集め、分析した。N D = 測定せず。

30

40

【0163】

表1は、D U - 1 4 5 前立腺癌細胞および S K - O - V 3 卵巣癌細胞に対する E 1 誘導抗 c - M e t 抗体の EC_{50} 値を示す。

【表 1】

クローン	DU-145細胞について のEC ₅₀ (nM)	SK-O-V3細胞について のEC ₅₀ (nM)	HUVEC細胞について のEC ₅₀ (nM)
E1-A10	0.2	0.153	0.148
E1-A11	0.26	0.2	ND
E1-A13	0.362	0.159	ND
E1-A14	0.212	0.12	0.132
E1-A18	ND	1.15	0.606
E1-B11	0.34	0.41	ND
E1-B13	0.251	0.191	0.190
E1-B19	3.35	0.852	ND
E1-BR1	3.36	0.467	0.376

10

【 0 1 6 4 】

実施例 7

この実施例は、抗 c - M e t 抗体細胞結合 E C ₅₀ 測定についてのインビトロデータを説明する。この実施例は、最大細胞結合および 5 0 % 結合飽和に至る濃度 (E C ₅₀) にの点から、これらの抗体の結合特性を示す。この実施例では、 D U - 1 4 5 前立腺癌細胞または S K - O - V 3 卵巣癌細胞を、 F A C S 緩衝液 (P B S + 2 % F B S) 中で、 9 6 ウェル v 字底プレートのウェルに等分した。 F A C S 緩衝液で作った抗体の 1 6 点 2 倍連続希釈を用いて、細胞を染色した。 1 時間インキュベーションした後、細胞を F A C S 緩衝液で 2 回洗浄し、 P E 結合ヤギ抗ヒト I g G (鎖特異的) 二次抗体 (Southern Biotech カタログ番号 2040-09) に再度懸濁した。さらに細胞を 0 . 5 時間インキュベートし、 F A C S 緩衝液で 1 回洗浄した。細胞を F A C S 緩衝液に再度懸濁し、 F L 2 - A チャンネルの蛍光強度中央値を、 Intellicyt HTFC flow cytometer を用いて測定した。 D U - 1 4 5 細胞および S K - O - V 3 細胞に対するこれらの抗 c - M e t 抗体の細胞結合 E C ₅₀ を表 2 に示す。 Intellicyt HTFC flow cytometer で、 ForeCyt software を用いてデータを集め、分析した。 N D = 測定せず。

20

30

【表 2】

表 2

クローン	DU-145細胞について のEC ₅₀ (nM)	SK-O-V3細胞について のEC ₅₀ (nM)
A1-2	ND	0.223
A1-4	0.017	0.054
A1-6	ND	0.053
A1-9	0.058	0.076
A1-24	0.003	0.135
A1-32	0.064	0.109

40

【 0 1 6 5 】

実施例 8

この実施例は、抗 c - M e t 抗体 E 1 およびその最適化されたバージョンによる組換え H G F と組換え c - M e t の間の相互作用のブロッキングを示す。リガンドのその受容体への結合の阻害は、活性化を阻止する。この実施例では、 E L I S A を用いて、抗体によりリガンド / 受容体結合が 5 0 % ブロックされた濃度 (I C ₅₀) を決定した。ここで、組換え c - M e t 細胞外ドメイン (R & D S y s t e m s カタログ番号 358-MT-100/CF) を E L I S A プレートに固定化し、続いて、 SuperBlock (Scyte k , カタログ番号 AAA500) でブロックした。

50

次いで、8点4倍連続希釈で抗体をプレートに加えた。1時間インキュベーションして洗浄した後、HGF (R&D Systems カタログ番号294-HG-005/CF)をプレートに最終濃度0.15 nMで加えた。c-MetへのHGF結合を、ビオチン化抗HGF抗体(R&D カタログ番号BAF294)と続くストレプトアビジン-HRP (Fitzgerald カタログ番号65R-510PHRP)の使用により検出した。OD₄₅₀を抗体濃度に対してプロットし、非線形回帰(GraphPad Prism)を用いて、各抗体のIC₅₀を決定した(図8)。データを平均OD₄₅₀ ± SEMとして示し、示されたIC₅₀値はnMである。

【0166】

実施例9

この実施例は、抗c-Met抗体A1およびその最適化されたバージョンによる組換えHGFと組換えc-Metの間の相互作用のブロックを示す。リガンドの受容体への結合阻害は、活性化を阻止する。この実施例では、ELISAを用いて、抗体によりリガンド/受容体結合が50%ブロックされた濃度(IC₅₀)を決定した。ここで、組換えc-Met細胞外ドメイン(R&D Systems カタログ番号358-MT-100/CF)をELISAプレートに固定化し、続いて、SuperBlock(Scytek, カタログ番号AAA500)でブロックした。次いで、8点4倍連続希釈で抗体をプレートに加えた。1時間インキュベーションして洗浄した後、HGF (R&D Systems カタログ番号294-HG-005/CF)をプレートに最終濃度0.15 nMで加えた。c-MetへのHGF結合を、ビオチン化抗HGF抗体(R&D カタログ番号BAF294)と続くストレプトアビジン-HRP (Fitzgerald カタログ番号65R-510PHRP)の使用により検出した。OD₄₅₀を抗体濃度に対してプロットし、非線形回帰(GraphPad Prism)を用いて、各抗体のIC₅₀を決定した(図9)。データを平均OD₄₅₀ ± SEMとして示し、示されたIC₅₀値はnMである。

【0167】

実施例10

この実施例は、A549 NSCLC(非小細胞肺癌)細胞におけるHGF刺激c-Metリン酸化を示すインビトロデータを説明する。この実施例は、抗c-Met抗体A1最適化クローンが癌細胞でのc-Metの活性化、それ故に機能をブロックする能力を示す。ここで、96ウェル細胞培養クラスターのウェル中で24時間増殖させたA549細胞を、示した抗体の8点5倍連続希釈を用いて処理した。4時間インキュベーションした後、40 ng/mlのHGF (R&D Systems カタログ番号294-HG-005/CF)を細胞に加えた。次いで、細胞を15分間インキュベートした。細胞をPBS + オルトバナジン酸ナトリウム(1:2000)で洗浄し、細胞溶解緩衝液 + 阻害剤中で溶解した。c-Metのリン酸化を、ELISA (R&D Systems カタログ番号DYC2480-2)によって、半分領域のELISAプレートに調節した製造者のプロトコルに従って検出した。OD₄₅₀をc-Metリン酸化の指標として測定し、抗体濃度に対してプロットし、図10に示す曲線を得た(データは平均OD₄₅₀ ± SEMとして示す)。これらの抗体クローンによるc-Metリン酸化の阻害についてIC₅₀値を非線形回帰を用いて決定し、図10に記載する(値はnMで示す)。

【0168】

実施例11

この実施例は、抗c-Met抗体のADCC(抗体依存性細胞傷害)を誘発する能力を説明する。ADCCは、標的細胞に結合している抗体のFc領域がエフェクター免疫細胞の表面上のFc受容体と相互作用するときに誘発され、標的細胞の死に至る。ここで、我々は、抗c-Met抗体によって誘発されるADCCを、細胞に基づくレポーターアッセイ(Promega)を用いて測定する。簡潔には、625個のA431細胞を、100 μlの培地で、白色384ウェル細胞培養プレートの中心部320ウェルに播種した。細胞を一夜結合させ、朝に、培地を除き、ウェル当たり7 μlのADCCアッセイ緩衝液(RPMI + 4%低IgGウシ胎児血清)と置き換えた(外側の未使用ウェルには21 μl入れた)。抗c-Met mAbの9点3倍連続希釈曲線を、ADCCアッセイ緩衝液中3×最終濃度で作成した。7 μlの抗体希釈液を、場所による影響を避けるためにウェルに列を横に

3組ずつ分配して加えた。A D C Cエフェクター細胞を製造者のプロトコルに従って解凍し、7 μ lを各ウェルに加えた。プレートを37℃で6時間インキュベートし、次いで実験台に移して室温にした。21 μ lのBio-Glo ルシフェラーゼアッセイ試薬を各ウェルに加え、30分間インキュベートした。次いで、プレートを、発光を検出する FlexStation III (Molecular Devices)を用いて読み取った。R L U (相対光単位; 3組の平均値 \pm S E M)を抗体濃度に対してプロットし、その効果のE C₅₀を決定した。図11に示す通り、A D C C誘発についてのE₁およびE₁最適化クローンのE C₅₀値は、230 pM ~ 1.1 nMの範囲であった。

【0169】

実施例12

この実施例は、xCelligence system (ACEA)を利用する修飾Boyden Chamberセットアップを用いた抗c - M e t m A bの細胞遊走に対する効果を説明する。ここで、CIM-16プレートの上側のチャンバーに含まれる8 μ mの膜の両側を、30 μ lの1 mg/ml フィブロネクチンで30分間コートした。化学遊走物質として役立つ50 ng/mlのH G F (R&D Systems カタログ番号294-HG-005/CF)の溶液を、遊走基本培地(M B M ; 無血清培地S F Mで1 : 125希釈した完全補充培地)で作製した。CIM-16プレートの下側のチャンバーを、170 μ lの化学遊走物質希釈液で満たした。次いで、上側のチャンバーを下側のチャンバーの上に取り付け、上側のチャンバーのウェルを40 μ lのS F Mで満たした。セットアップをR T C A - D Pユニットで1時間インキュベートし、次いでバックグラウンド測定を行った。次いで標的細胞を非酵素的に移し、S F Mに、800,000細胞/mlの濃度で再度懸濁した。50 μ lの細胞懸濁液を、50 μ lの10 μ g/ml 抗c - M e t m A b (40,000細胞および5 μ g/mlの最終m A b濃度; 3組)と共に10分間インキュベートし、次いでCIM-16プレートのウェルに移した。細胞を、フード内で、室温で30分間置いた。次いでプレートをR T C A - D P装置に入れ、測定を2分毎に24時間行った。細胞が化学遊走物質(H G F)に引きつけられるため、細胞は膜の孔を通して、膜の下面に付着し、その結果、電気インピーダンスの変化が起こり、それをR T C A装置によって細胞指数に変換する。細胞指数が大きい程、遊走した細胞の数が多い。図12に示す通り、5 ng/mlのH G Fは細胞遊走を誘発し、記載された抗c - M e t m A bは、様々な程度でこの遊走を阻害した。データは、実験開始後8時間での非処置コントロールで標準化した細胞指数(\pm S D)として示す。

【0170】

10

20

30

【表 3】

配列表

	重鎖可変ドメイン領域	軽鎖可変ドメイン領域	
A1	QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGGSISSGGYYW SWIRQHPGKGLEWIGEINHSGSTNYPNPSLKSRVTIS VDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARGRDGYDFDP WGQGTLVTVSS (配列番号 1)	LPVLTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGGY NYVSWYQQHPGKAPKLMYDVSDRPSGVS TRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCSSY RSSSALVVFGGGTKLTVL (配列番号 2)	10
A2	QVQLQESGPGLVKPSGTLSTCAVSGGSISSRSNWW SWVRQPPGKGLEWIGEYHSGSTNYPNPSLKSRVTIS VDKSKNQFSLKVNSTAAADTAVYYCARDSDGGYYF DYWGQGTLLTVSS (配列番号 3)	LPVLTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGGY KYVSWYQQHPGKAPKLLIYDVTDRPSGVS RFSGSQSGNTASLTISGLQTEDEADYYCSSYT DNGALVVFGGGTKLTVL (配列番号 4)	
A8	QITLKESGAEVKKPGSSVKVCKASGGTFSSYGISWV RQAPGQGLEWMGGIIPMFGTANYAQKFQGRVTIT ADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARDEVAPDYG SGPSYGMVWVGQGTMTVTVSS (配列番号 5)	SYELMQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGG YDHVSWYQQHPGKAPKLMYAVRNRPSGV PDRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCS SYTSSLTVVFGTGKTVL (配列番号 6)	
B12	QVQLVESGAEVKKPGASVKVCKASGYTFTGYMH WVRQAPGQGLEWMGWINPNSGNTGYAQKFQGR VTMTRNTSISTAYMELSSLRSEDTAVYYCARRGTTVS FDYWQGGTTTVTVSS (配列番号 7)	QAVLTQPPSVSGSPGQSITISCTGTSSDVGT FNLVSWYQQHPGKAPKLIYEVSKRPSDVSP RYSKSGSGTTASLTISVLQTEDEADYYCCSYT TSSSYVFGIGTKTVL (配列番号 8)	20
D6	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWS WIRQPPGKGLEWIGEINHSGSTNYPNPSLKSRVTISV DTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARGRDGYDFDP WGQGTLVTVSS (配列番号 9)	QSVLTQPPSASGSPGQSVTISCTGTSSDVGG YNYVSWYQQHPGKAPKLMYEVSKRPSGV PDRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCS SYAGSNNLVVFGGGTQLTVL (配列番号 10)	

【 0 1 7 1 】

【表 4】

E1	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVCKSTGYTFSGDYMH WVRQAPGQGLEWMGWINPNSGGTNYAQKFQGR VTMTRDTSISTAYMELSLRSDDTAVYYCAREPGRD YYYYDGMVWGQGTITVTVSS (配列番号 11)	QSVVTQPPSVSGAPGQRVTISCTGSSSNIGA GYDVHWYQQLPGTVPKLLIYGNSNRPSGVP DRFSGSKSGTSASLAITGLQAEDEADYYCQS YDSSLAYVFGTGKTVTL (配列番号 12)
E6	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCVYGGSFSGYYWS WVRQPPGKGLEWIGIHNHSGSTNYNPSLKSRTISV DTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARGGRVYSNYY MDVWGKGTTVTVSS (配列番号 13)	QAVLTQPASVSGSPGQSITISCTGTRSDVGG YNYVSWYQQHPGKAPKLLYDVSNRPSGV SNRFSGSQSGNTASLTISGLQTEDEADYYCS SYTDNSALVVFGGGTGKTVTL (配列番号 14)
F3	QVQLVESGPGLVKPSGTLSTCAVSGGSISSSNWWS WVRQPPGKGLEWIGIYHSGSTNYNPSLKSRTISV DKSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARSAYGDYFLDY WGQGTITVTVSS (配列番号 15)	QSVLTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGG YNYVSWYQQHPGKAPKLLYDVDSRPSGVS NRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCSS FTSSSTLVVFGGGTGKTVTL (配列番号 16)
H6	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTSSYEMN WVRQAPGKGLEWVSYISSSGSTIYADSVKGRFTISR DNAKNSLYLQMNSLRSEDVAVYYCARDGAATGDQI DYWGQGTITVTVSS (配列番号 17)	AIRMTQSPAFMSATPGDKVNISYKASQDQD DDMTWCQEKPGEAIFQEAATLVPGIPP RLSGSGNGTDFLTINNMESEDAAYYFCLQ QDNFPLTFGQGTGKVDIK (配列番号 18)
H8	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVCKASGYTFSSYYMH WVRQAPGQGLEWMGWINPNSGNTGYAQKFQGR VTMTRNTSISTAYMELSSLRSEDVAVYYCARRGTTVS FDYWGQGTITVTVSS (配列番号 19)	QLVLTQSPSVSVAPGQRVTISCSGNSNIGN NYVSWYHHLPGTAPKLLYDNNKRPSGIPD RFSGSKSGTSATLGITGLQPGDEAHYYCGT WDSTLSAGVFGGGTKLTVL (配列番号 20)
H8-9	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVCKASGYTFSSYYMH WVRQAPGQGLEWMGWINPNSGNTGYAQKFQGR VTMTRNTSISTAYMELSSLRSEDVAVYYCARRGTTVS FDTWGQGTITVTVSS (配列番号 21)	QLVLTQSPSVSVAPGQRVTISCSGNSNIGN NYVSWYHHLPGTAPKLLYDNNKRPSGIPD RFSGSKSGTSATLGITGLQPGDEAHYYCGT WDSTLSAWVFGGGTKLTVL (配列番号 22)
H8-9EE8L3	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVCKASGYTFSSYYMH WVRQAPGQGLEWMGWINPNSGNTGYAQKFQGR VTMTRNTSISTAYMELSSLRSEDVAVYYCARRGTTVS FDTWGQGTITVTVSS (配列番号 21)	QLVLTQSPSVSVAPGQRVTISCSGNSNIGN NYVSWYHHLPGTAPKLLYDNNKRPSGIPD RFSGSKSGTSATLGITGLQPGDEAHYYCGT WDSTLSAWLFGGGTKLTVL (配列番号 23)
H8-G35	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVCKASGYTFYSEYMH WVRQAPGQGLEWMGWINPNSGNTGYAQKFQGR VTMTRNTSISTAYMELSSLRSEDVAVYYCARRGTTVS FDTWGQGTITVTVSS (配列番号 24)	QLVLTQSPSVSVAPGQRVTISCSGNSNIGN NYVSWYHHLPGTAPKLLYDNNKRPSGIPD RFSGSKSGTSATLGITGLQPGDEAHYYCGT WDSTLSAWVFGGGTKLTVL (配列番号 22)
H8-A2	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVCKASGYTFYSEYMH WVRQAPGQGLEWMGWINPNSGNTGVAPKFQGR VTMTRNTSISTAYMELSSLRSEDVAVYYCARRGTTVS FDTWGQGTITVTVSS (配列番号 25)	QLVLTQSPSVSVAPGQRVTISCSGNSNIGN NYVSWYHHLPGTAPKLLYDNNKRPSGIPD RFSGSKSGTSATLGITGLQPGDEAHYYCGT WDSTLSAWAFGGGTGKTVL (配列番号 26)
H8-B6	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVCKASGYTFYSEYMH WVRQAPGQGLEWMGWINPNSGNTGYAQKFQGR VTMTRNTSISTAYMELSSLRSEDVAVYYCARRGTTVS FDTWGQGTITVTVSS (配列番号 27)	QLVLTQSPSVSVAPGQRVTISCSGNSFTDN TYVSWYHHLPGTAPKLLYDNNKRPSGIPDR FSGSKSGTSATLGITGLQPGDEAHYYCGTW DSTLSAWVFGGGTKLTVL (配列番号 28)

10

20

30

40

【表 5】

H8-C1	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFYSEYMH WVRQAPGQGLEWMGWINPNSGNTGLAPKFQGR VTMTRNTSISTAYMELSSLRSEDTAVYYCARRGTTVS FDTWGQGLTVTVSS (配列番号 29)	QLVLTQSPSVSVAPGQRVTISCSGSNSNIGN NYVSWYHHLPGTAPKLLIYDNNKRPSGIPD RFGSKSGTSATLGITGLQPGDEAHYYCGT WDSTLSAWLFGGGTKLTVL (配列番号 23)
H8-D4	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFYSEYMH WVRQAPGQGLEWMGWINPNSGNTGYAQKFQGR VTMTRNTSISTAYMELSSLRSEDTAVYYCARRGTTVS FDTWGQGLTVTVSS (配列番号 24)	QLVLTQSPSVSVAPGQRVTISCSGSNSNIGN NYVSWYHHLPGTAPKLLIYDNNKRQSGIPD RFGSKSGTSATLGITGLQPGDEAHYYCGT WDSTLSAWVFGGGTKLTVL (配列番号 30)
H8-D5	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFYSYMH WVRQAPGQGLEWMGWINPNSGNTGVAQKFQGR VTMTRNTSISTAYMELSSLRSEDTAVYYCARRGTTVS FDTWGQGLTVTVSS (配列番号 31)	QLVLTQSPSVSVAPGQRVTISCSGSNSNIGN NYVSWYHHLPGTAPKLLIYDNNKRPSGIPD RFGSKSGTSATLGITGLQPGDEAHYYCGT WDSTLSAWLFGGGTKLTVL (配列番号 23)
H8-D6	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFYSEYMH WVRQAPGQGLEWMGWINPNSGNTGYAQKFQGR VTMTRNTSISTAYMELSSLRSEDTAVYYCARRGTTVS FDTWGQGLTVTVSS (配列番号 24)	QLVLTQSPSVSVAPGQRVTISCSGSNSNIGN NYVSWYHHLPGTAPKLLIYDNNKRPSGIPD RFGSKSGTSATLGITGLQPGDEAHYYCGT WDSTLSAWLFGGGTKLTVL (配列番号 23)
H8-D10	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFYSEYMH WVRQAPGQGLEWMGWINPNSGNTGLAQKFQGR VTMTRNTSISTAYMELSSLRSEDTAVYYCARRGTTVS FDTWGQGLTVTVSS (配列番号 32)	QLVLTQSPSVSVAPGQRVTISCSGSNSNIGN NYVSWYHHLPGTAPKLLIYDNNKRPSGIPD RFGSKSGTSATLGITGLQPGDEAHYYCGT WDSTLSAWLFGGGTKLTVL (配列番号 23)
H8-E5	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFYSEYMH WVRQAPGQGLEWMGWINPNSGNTGYAPKFQGR VTMTRNTSISTAYMELSSLRSEDTAVYYCARRGTTVS FDTWGQGLTVTVSS (配列番号 33)	QLVLTQSPSVSVAPGQRVTISCSGSNSNIGN NYVSWYHHLPGTAPKLLIYDNNKRPSGIPD RFGSKSGTSATLGITGLQPGDEAHYYCGT WDSTLSAWVFGGGTKLTVL (配列番号 22)
H8-G7	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFYSEYMH WVRQAPGQGLEWMGWINPNSGNTGVAQKFQGR VTMTRNTSISTAYMELSSLRSEDTAVYYCARRGTTVS FDTWGQGLTVTVSS (配列番号 34)	QLVLTQSPSVSVAPGQRVTISCSGSNSNIGN NYVSWYHHLPGTAPKLLIYDNNKRPSGIPD RFGSKSGTSATLGITGLQPGDEAHYYCGT WDSTLSAWVFGGGTKLTVL (配列番号 22)
H8-G9	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFYSEYMH WVRQAPGQGLEWMGWINPNSGNTGYAQKFQGR VTMTRNTSISTAYMELSSLRSEDTAVYYCARRGTTVS FDTWGQGLTVTVSS (配列番号 24)	QLVLTQSPSVSVAPGQRVTISCSGSNSFSSN NYVSWYHHLPGTAPKLLIYDNNKRPSGIPD RFGSKSGTSATLGITGLQPGDEAHYYCGT WDSTLSAWVFGGGTKLTVL (配列番号 35)
H8-H6	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFYSYMH WVRQAPGQGLEWMGWINPNSGNTGLAQKFQGR VTMTRNTSISTAYMELSSLRSEDTAVYYCARRGTTVS FDTWGQGLTVTVSS (配列番号 36)	QLVLTQSPSVSVAPGQRVTISCSGSNSNIGN NYVSWYHHLPGTAPKLLIYDNNKRPSGIPD RFGSKSGTSATLGITGLQPGDEAHYYCGT WDSTLSAWAFGGGTKLTVL (配列番号 26)
H8-2A2	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFYSEYMH WVRQAPGQGLEWMGWINPNSGNTGLAPKFQGR VTMTRNTSISTAYMELSSLRSEDTAVYYCARRGTTVS FDTWGQGLTVTVSS (配列番号 29)	QLVLTQSPSVSVAPGQRVTISCSGSNSNIGN NYVSWYHHLPGTAPKLLIYDNNKRPSGIPD RFGSKSGTSATLGITGLQPGDEAHYYCGT WDSTLSAWVFGGGTKLTVL (配列番号 22)

10

20

30

40

【表 6】

H8-2B1	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFYSYMH WVRQAPGQGLEWMGWINPNSGNTGLAPKFQGR VTMTRNTSISTAYMELSSLRSEDTAVYYCARRGTTVS FDTWGQGTLLTVSS (配列番号 37)	QLVLTQSPSVSVAPGQRVTISCSGSNSNIGN NYVSWYHHLPGTAPKLLIYDNNKRPSGIPDR FSGSKSGTSATLGITGLQPGDEAHYYCGTW DSTLSAWAFGGGTKLTVL (配列番号 38)
H8-2B2	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFYSEYMH WVRQAPGQGLEWMGWINPNSGNTGVAQKFQGR VTMTRNTSISTAYMELSSLRSEDTAVYYCARRGTTVS FDTWGQGTLLTVSS (配列番号 34)	QLVLTQSPSVSVAPGQRVTISCSGSNSNIGN NYVSWYHHLPGTAPKLLIYDNNKRPSGIPDR RFSGSKSGTSATLGITGLQPGDEAHYYCGT WDSTLSAWLFGGGTKLTVL (配列番号 23)
H8-2B4	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFYSYMH WVRQAPGQGLEWMGWINPNSGNTGLAPKFQGR VTMTRNTSISTAYMELSSLRSEDTAVYYCARRGTTVS FDTWGQGTLLTVSS (配列番号 37)	QLVLTQSPSVSVAPGQRVTISCSGSNSNIGN NYVSWYHHLPGTAPKLLIYDNNKRPSGIPDR RFSGSKSGTSATLGITGLQPGDEAHYYCGT WDSTLSAWLFGGGTKLTVL (配列番号 23)
H8-2B7	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFYSEYMH WVRQAPGQGLEWMGWINPNSGNTGLAQKFQGR VTMTRNTSISTAYMELSSLRSEDTAVYYCARRGTTVS FDTWGQGTLLTVSS (配列番号 32)	QLVLTQSPSVSVAPGQRVTISCSASNSNIGN NYVSWYHHLPGTAPKLLIYDNNKRPSGIPDR RFSGSKSGTSATLGITGLQPGDEAHYYCGT WDSTLSAWVFGGGTKLTVL (配列番号 39)
H8-A7P	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFYSEYMH WVRQAPGQGLEWMGWINPNSGNTGLAQKFQGR VTMTRNTSISTAYMELSSLRSEDTAVYYCARRGTTVS FDTWGQGTLLTVSS (配列番号 32)	QLVLTQSPSVSVAPGQRVTISCSGSNSNIGN NYVSWYHHLPGTAPKLLIYDNNKRPSGIPDR RFSGSKSGTSATLGITGLQPGDEAHYYCGT WDSTLSAWVFGGGTKLTVL (配列番号 22)
GCE-A10	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFSGD YMHWVRQAPGQGLEWMGWINPNSGGTNYA QKFQGRVTMTRDTSISTAYMELSLRSDDTAVY YCAREPARDYYYYDGLDVWGQGTLLTVSS (配列番号 40)	QSVVTQPPSVSGAPGQRVTISCLGSASN IGAGHDVHWYQQLPGTAPKLLIYGNSN RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAITGLQAED EADYYCQSYSSSLAYVFGTGKVTVL (配列番号 41)
GCE-A11	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGFTFSGD YIHWVRQAPGQGLEWMGWINPNSGGTNYA QKFQGRVTMTRDTSISTAYMELSLRSDDTAVY YCAREPARDYYYYDGLDVWGQGTLLTVSS (配列番号 42)	QSVVTQPPSVSGAPGQRVTISCLGSSSNI GAGHDVHWYQQLPGTAPKLLIYGNSN RISGVPDRFSGSKSGTSASLAITGLQAED EADYYCQSYSSSLAYLFGTGKVTVL (配列番号 43)
GCE-A13	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFSGD YLHWVRQAPGQGLEWMGWINPNSGGTNYA QKFQGRVTMTRDTSISTAYMELSLRSDDTAVY YCAREPARDYYYYDGLDVWGQGTLLTVSS (配列番号 44)	QSVVTQPPSVSGAPGQRVTISCLGSASN IGAGHDVHWYQQLPGTAPKLLIYGNSN RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAITGLQAED EADYYCQSYSSSLAYVFGTGKVTVL (配列番号 41)
GCE-A14	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFSGD YIHWVRQAPGQGLEWMGWINPNSGGTNYA QKFQGRVTMTRDTSISTAYMELSLRSDDTAVY YCAREPARDYYYYDGLDVWGQGTLLTVSS (配列番号 45)	QSVVTQPPSVSGAPGQRVTISCISSSNI GAGHDVHWYQQLPGTAPKLLIYGNSN RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAITGLQAED EADYYCQSYSSSLAYVFGTGKVTVL (配列番号 46)
GCE-A16	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFSGD YLHWVRQAPGQGLEWMGWINPNTGGTNYA QKFQGRVTMTRDTSISTAYMELSLRSDDTAVY YCAREPARDYYYYDGLDVWGQGTLLTVSS (配列番号 47)	QSVVTQPPSVSGAPGQRVTISCISSSNI GAGYDVHWYQQLPGTAPKLLIYGNSNL PSGVPDRFSGSKSGTSASLAITGLQAED ADYYCQSYESSLAYVFGTGKVTVL (配列番号 48)

10

20

30

40

【表 7】

GCE-A18	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFSGD YMHVVRQAPGQGLEWMGWINPNSGGTNYA QKFQGRVTMTTRDTSISTAYMELSRSDDTAVY YCARPGRDYYYYDGLDVWGQGTITVTVSS (配列番号 49)	QSVVTQPPSVSGAPGQRVTISCIQSASNI GAGHDVHWYQQLPGTAPKLLIYGNNSN RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAITGLQAED EADYYCQSYSSSLAYVFGTGKVTVL (配列番号 50)
GCE-B2	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFSGD YMHVVRQAPGQGLEWMGWINPNTGGTNYA QKFQGRVTMTTRDTSISTAYMELSRSDDTAVY YCARPARDYYYYDGLDVWGQGTITVTVSS (配列番号 51)	QSVVTQPPSVSGAPGQRVTISCLGSASN IGAGYDVHWYQQLPGTAPKLLIYGNNSN RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAITGLQAED EADYYCQSYSSSLAYVFGTGKVTVL (配列番号 52)
GCE-B9	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFSGD YMHVVRQAPGQGLEWMGWINPNSGGTNYA QKFQGRVTMTTRDTSISTAYMELSRSDDTAVY YCARPARDYYYYDGLDVWGQGTITVTVSS (配列番号 53)	QSVVTQPPSVSGAPGQRVTISCLGSSSNI GAGHDVHWYQQLPGTAPKLLIYGNNSN PSGVPDRFSGSKSGTSASLAITGLQAED ADYYCQSYSSSLAVLFGTGKVTVL (配列番号 54)
GCE-B11	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFSGD YIHVVRQAPGQGLEWMGWINPNSGGTNYA QKFQGRVTMTTRDTSISTAYMELSRSDDTAVY YCARPARDYYYYDGLDVWGQGTITVTVSS (配列番号 45)	QSVVTQPPSVSGAPGQRVTISCIQSASNI GAGYDVHWYQQLPGTAPKLLIYGNNSN ISGVPDRFSGSKSGTSASLAITGLQAED ADYYCQSYSSSLAVLFGTGKVTVL (配列番号 55)
GCE-B13	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFSGD YIHVVRQAPGQGLEWMGWINPNSGGTNYA QKFQGRVTMTTRDTSISTAYMELSRSDDTAVY YCARPARDYYYYDGLDVWGQGTITVTVSS (配列番号 56)	QSVVTQPPSVSGAPGQRVTISCLGSASN IGAGHDVHWYQQLPGTAPKLLIYGNNSN RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAITGLQAED EADYYCQSYSSSLAVLFGTGKVTVL (配列番号 57)
GCE-B19	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFSGD YIHVVRQAPGQGLEWMGWINPNSGGTNYA QKFQGRVTMTTRDTSISTAYMELSRSDDTAVY YCARPGRDYYYYDGLDVWGQGTITVTVSS (配列番号 58)	QSVVTQPPSVSGAPGQRVTISCLGSASN IGAGHDVHWYQQLPGTAPKLLIYGNNSN RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAITGLQAED EADYYCQSYSSSLAVLFGTGKVTVL (配列番号 57)
GCE-BR1	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFSGD YLHWVRQAPGQGLEWMGWINPNSGGTNYA QKFQGRVTMTTRDTSISTAYMELSRSDDTAVY YCARPARDYYYYDGLDVWGQGTITVTVSS (配列番号 59)	QSVVTQPPSVSGAPGQRVTISCLGSASN IGAGYDVHWYQQLPGTAPKLLIYGNNSN RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAITGLQAED EADYYCQSYSSSLAVLFGTGKVTVL (配列番号 60)
GCE-B20	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFSGD YLHWVRQAPGQGLEWMGWINPNSGGTNYA QKFQGRVTMTTRDTSISTAYMELSRSDDTAVY YCARPARDYYYYDGMVWGQGTITVTVSS (配列番号 61)	QSVVTQPPSVSGAPGQRVTISCLGSASN IGAGHDVHWYQQLPGTAPKLLIYGNNSN RISGVPDRFSGSKSGTSASLAITGLQAED EADYYCQSYSSSLAVLFGTGKVTVL (配列番号 62)
GCE-A19	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFSGD YLHWVRQAPGQGLEWMGWINPNSGGTNYA QKFQGRVTMTTRDTSISTAYMELSRSDDTAVY YCARPARDYYYYDGLDVWGQGTITVTVSS (配列番号 63)	QSVVTQPPSVSGAPGQRVTISCLGSSSNI GAGHDVHWYQQLPGTAPKLLIYGNNSN RISGVPDRFSGSKSGTSASLAITGLQAED EADYYCQSYSSSLAYVFGTGKVTVL (配列番号 64)

10

20

30

40

【表 8】

GCE-B10	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGFTFSGD YLHWVRQAPGQGLEWMGWINPNTGGTNYA QKFQGRVTMTTRDTSISTAYMELSRLKSDDTAVY YCAREPARDYYYYDGLDVWGQGTTTVTVSS (配列番号 65)	QSVVTQPPSVSGAPGQRVTISCLGSSSNI GAGHDVHWYQQLPGTAPKLLIYGNSNL PSGVPDRFSGSKSGTSASLAITGLQAED ADYYCQSYSSSL SAYVFGTGKVTVL (配列番号 66)
GCE-B5	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGFTFSGD YIHWVRQAPGQGLEWMGWINPNSGGTNYA QKFQGRVTMTTRDTSISTAYMELSRLRSDDTAVY YCAREPGRDYYYYDGLDVWGQGTTTVTVSS (配列番号 58)	QSVVTQPPSVSGAPGQRVTISCLGSASN IGAGHDVHWYQQLPGTAPKLLIYGNSN RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAITGLQAED EADYYCQSYSSSL SAVVFGTGKVTVL (配列番号 67)
GCE-B4	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFSGD YLHWVRQAPGQGLEWMGWINPNSGGTNYA QKFQGRVTMTTRDTSISTAYMELSRLRSDDTAVY YCAREPARDYYYYDGMDVWGQGTTTVTVSS (配列番号 61)	QSVVTQPPSVSGAPGQRVTISCI GSASN GAGHDVHWYQQLPGTAPKLLIYGNSN RISGVPDRFSGSKSGTSASLAITGLQAED EADYYCQSYSSSL SAVLFGTGKVTVL (配列番号 68)
GCE-A26	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGFTFSGD YLHWVRQAPGQGLEWMGWINPNSGGTNYA QKFQGRVTMTTRDTSISTAYMELSRLRSDDTAVY YCAREPARDYYYYDGLDVWGQGTTTVTVSS (配列番号 69)	QSVVTQPPSVSGAPGQRVTISCLGSSSNI GAGHDVHWYQQLPGTAPKLLIYGNSN RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAITGLQAED EADYYCQSYSSSL SAYLFGTGKVTVL (配列番号 70)
GCE-L1A-9	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFSGD YMHVVRQAPGQGLEWMGWINPNSGGTNYA QKFQGRVTMTTRDTSISTAYMELSRLRSDDTAVY YCAREPGRDYYYYDGMDVWGQGTTTVTVSS (配列番号 71)	QSVVTQPPSVSGAPGQRVTISCLGSSSNI GAGYDVHWYQQLPGTAPKLLIYGNSNR PSGVPDRFSGSKSGTSASLAITGLQAED ADYYCQSYSSSL SAYVFGTGKVTVL (配列番号 72)
GCE-H3B-36	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFSGD YMHVVRQAPGQGLEWMGWINPNSGGTNYA QKFQGRVTMTTRDTSISTAYMELSRLRSDDTAVY YCAREPGRDYYYYDGLDVWGQGTTTVTVSS (配列番号 49)	QSVVTQPPSVSGAPGQRVTISCTGSSSN IGAGYDVHWYQQLPGTAPKLLIYGNSN RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAITGLQAED EADYYCQSYSSSL SAYVFGTGKVTVL (配列番号 73)
GCE-H13-1	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGTFSGD YLHWVRQAPGQGLEWMGWINPNSGGTNYA QKFQGRVTMTTRDTSISTAYMELSRLRSDDTAVY YCAREPGRDYYYYDGLDVWGQGTTTVTVSS (配列番号 74)	QSVVTQPPSVSGAPGQRVTISCTGSSSN IGAGYDVHWYQQLPGTAPKLLIYGNSN RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAITGLQAED EADYYCQSYSSSL SAYVFGTGKVTVL (配列番号 73)
GCE-H13-2	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFSGD YLHWVRQAPGQGLEWMGWINPNSGGTNYA QKFQGRVTMTTRDTSISTAYMELSRLRSDDTAVY YCAREPARDYYYYDGMDVWGQGTTTVTVSS (配列番号 61)	QSVVTQPPSVSGAPGQRVTISCTGSSSN IGAGYDVHWYQQLPGTAPKLLIYGNSN RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAITGLQAED EADYYCQSYSSSL SAYVFGTGKVTVL (配列番号 73)
GCE-H13-3	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFSGD YLHWVRQAPGQGLEWMGWINPNSGGTNYA QKFQGRVTMTTRDTSISTAYMELSRLRSDDTAVY YCAREPARDYYYYDGLDVWGQGTTTVTVSS (配列番号 44)	QSVVTQPPSVSGAPGQRVTISCTGSSSN IGAGYDVHWYQQLPGTAPKLLIYGNSN RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAITGLQAED EADYYCQSYSSSL SAYVFGTGKVTVL (配列番号 73)

10

20

30

40

【表 9】

GCE-H13-4	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFSGD YMHVVRQAPGQGLEWMGWINPNSGGTNYA QKFQGRVTMTRDTSISTAYMELSLRSDDTAVY YCARPARDYYYYDGLDVWGQGTITVTVSS (配列番号 40)	QSVVTQPPSVSGAPGQRVTISCTGSSSN IGAGYDVHWYQQLPGTAPKLLIYGNSN RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAITGLQAED EADYYCQSYSSSLAYVFGTGKTVTL (配列番号 73)
GCE-H13-5	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFSGD YLHWVRQAPGQGLEWMGWINPNSGGTNYA QKFQGRVTMTRDTSISTAYMELSLRSDDTAVY YCARPARDYYYYDGMVDVWGQGTITVTVSS (配列番号 75)	QSVVTQPPSVSGAPGQRVTISCTGSSSN IGAGYDVHWYQQLPGTAPKLLIYGNSN RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAITGLQAED EADYYCQSYSSSLAYVFGTGKTVTL (配列番号 73)
GCE-H13-6	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFSGD YLHWVRQAPGQGLEWMGWINPNSGGTNYA QKFQGRVTMTRDTSISTAYMELSLRSDDTAVY YCARPARDYYYYDGLDVWGQGTITVTVSS (配列番号 69)	QSVVTQPPSVSGAPGQRVTISCTGSSSN IGAGYDVHWYQQLPGTAPKLLIYGNSN RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAITGLQAED EADYYCQSYSSSLAYVFGTGKTVTL (配列番号 73)
GCE-H13-8	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFSGD YLHWVRQAPGQGLEWMGWINPNSGGTNYA QKFQGRVTMTRDTSISTAYMELSLRSDDTAVY YCARPGRDYYYYDGLDVWGQGTITVTVSS (配列番号 76)	QSVVTQPPSVSGAPGQRVTISCTGSSSN IGAGYDVHWYQQLPGTAPKLLIYGNSN RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAITGLQAED EADYYCQSYSSSLAYVFGTGKTVTL (配列番号 73)
H8-9EH11L	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFYSY MHVVRQAPGQGLEWMGWINPNSGNTGYA QKFQGRVTMTRNTSISTAYMELSLRSED TAVY YCARRGTTVSFDTWGQGTITVTVSS (配列番号 21)	QLVLTQSPSVSVAPGQRVTISCSGSNSFI GNVYVSWYHHLPGTAPKLLIYDNNKRP SGIPDRFSGSKSGTSATLGITGLQPGDEA HYYCGTWDSTLSAWVFGGGTKLTVL (配列番号 77)
H8-9EG11L	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFYSY MHVVRQAPGQGLEWMGWINPNSGNTGYA QKFQGRVTMTRNTSISTAYMELSLRSED TAVY YCARRGTTVSFDTWGQGTITVTVSS (配列番号 21)	QLVLTQSPSVSVAPGQRVTISCSGSNSNI GNTYVSWYHHLPGTAPKLLIYDNNKRPS GIPDRFSGSKSGTSATLGITGLQPGDEA HYYCGTWDSTLSAWVFGGGTKLTVL (配列番号 78)
H8-6AG2H3	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFSDYY MHVVRQAPGQGLEWMGWINPNSGNTGYA QKFQGRVTMTRNTSISTAYMELSLRSED TAVY YCARRATTVSFDYWGQGTITVTVSS (配列番号 79)	QLVLTQSPSVSVAPGQRVTISCSGSNSNI GNVYVSWYHHLPGTAPKLLIYDNNKRP SGIPDRFSGSKSGTSATLGITGLQPGDEA HYYCGTWDSTLSAGVFGGGTKLTVL (配列番号 20)
A1-2	QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGGSISGG YYWSWIRQHPGKGLEWIGESTHSGSTNYNPSL KSRVTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCAR GRDGYDFDAWGQGTITVTVSS (配列番号 80)	LPVLTQPASVSGSPGQSITISCTGTSTFDV GGYNYVSWYQHPGKAPKLMIVDVS RPSGVSTRFSGSKSGNTASLTISGLQAED EADYYCSSFRSSSALVFGGGTKLTVL (配列番号 81)
A1-4	QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGGSISGG YYWSWIRQHPGKGLEWIGESSHSGSTNYNPSL KSRVTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCAR GRDGYDFDAWGQGTITVTVSS (配列番号 82)	LPVLTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDV GGYPYVSWYQHPGKAPKLMIVVVS RPSGVSTRFSGSKSGNTASLTISGLQAED EADYYCSSYRSSSALVFGGGTQLTVL (配列番号 83)

10

20

30

40

【表 10】

A1-6	QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGGSISSGGY YWSWIRQHPGKGLEWIGEITHSGSTNYPNPSLKS RVTISVDTSKNQFSLKSSVTAADTAVYYCARGR DGYDIDAWGQGTLTVSS (配列番号 84)	LPVLTQPASVSGSPGQSIITISCTGTSWD VGGYPYVSWYQQHPGKAPKLMYDVSD DRPSGVSTRFSGSKSGNTASLTISGLQAE DEADYYCSSYRSVSALVVFGGGTKLTVL (配列番号 85)
A1-8	QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGGSISSGG YYWSWIRQHPGKGLEWIGEISHSGSTNYPNPSLE SRVTISVDTSKNQFSLKSSVTAADTAVYYCARG RDGYDLDRWGQGTLTVSS (配列番号 86)	LPVLTQPASVSGSPGQSIITISCTGTSSDV GGYPYVSWYQQHPGKAPKLMYRVSDR PSGVSTRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDE ADYYCSSYRSSAALVVFGGGTKLTVL (配列番号 87)
A1-9	QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGGSISSGG YYWSWIRQHPGKGLEWIGEISHSGSTNYPNPSLK SRVTISVDTSKNQFSLKSSVTAADTAVYYCARG RDGYLDQWGQGTLTVSS (配列番号 88)	LPVLTQPASVSGSPGQSIITISCTGTSSDV GGYNYVSWYQQHPGKAPKLMYINVS RPSGVSTRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDE EADYYCSSFRSSAALVVFGGGTKLTVL (配列番号 89)
A1-24	QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGGSISSGG YYWSWIRQHPGKGLEWIGESTHSGSTNYPNPSL ESRVTISVDTSKNQFSLKSSVTAADTAVYYCAR GRDSYDFDAWGQGTLTVSS (配列番号 90)	LPVLTQPASVSGSPGQSIITISCTGTSTFDV GGYNYVSWYQQHPGKAPKLMYIDVSD RPSGVSTRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDE EADYYCSSFRSSAALVVFGGGTKLTVL (配列番号 91)
A1-32	QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGGSISSGG YYWSWIRQHPGKGLEWIGESTHSGSTNYPNPSL DSRVTISVDTSKNQFSLKSSVTAADTAVYYCAR GRDGYLDQWGQGTLTVSS (配列番号 92)	LPVLTQPASVSGSPGQSIITISCTGTSTFDV GGYPYVSWYQQHPGKAPKLMYIDVSD RPSGVSTRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDE EADYYCSSFRSSAALVVFGGGTKLTVL (配列番号 93)

10

20

さらに、本願発明は次の態様を含む。

1. 配列番号 1、配列番号 3、配列番号 5、配列番号 7、配列番号 9、配列番号 11、配列番号 13、配列番号 15、配列番号 17、配列番号 19、配列番号 21、配列番号 24、配列番号 25、配列番号 27、配列番号 29、配列番号 31、配列番号 32、配列番号 33、配列番号 34、配列番号 36、配列番号 37、配列番号 40、配列番号 42、配列番号 44、配列番号 45、配列番号 47、配列番号 49、配列番号 51、配列番号 53、配列番号 56、配列番号 58、配列番号 59、配列番号 61、配列番号 63、配列番号 65、配列番号 69、配列番号 71、配列番号 74、配列番号 75、配列番号 76、配列番号 79、配列番号 80、配列番号 82、配列番号 84、配列番号 86、配列番号 88、配列番号 90 および配列番号 92 からなる群から選択されるアミノ酸配列と少なくとも 95 % 同一である重鎖可変ドメイン配列を有し、かつ、配列番号 2、配列番号 4、配列番号 6、配列番号 8、配列番号 10、配列番号 12、配列番号 14、配列番号 16、配列番号 18、配列番号 20、配列番号 22、配列番号 23、配列番号 26、配列番号 28、配列番号 30、配列番号 35、配列番号 38、配列番号 39、配列番号 41、配列番号 43、配列番号 46、配列番号 48、配列番号 50、配列番号 52、配列番号 54、配列番号 55、配列番号 57、配列番号 60、配列番号 62、配列番号 64、配列番号 66、配列番号 67、配列番号 68、配列番号 70、配列番号 72、配列番号 73、配列番号 77、配列番号 78、配列番号 81、配列番号 83、配列番号 85、配列番号 87、配列番号 89、配列番号 91 および配列番号 93 からなる群から選択されるアミノ酸配列と少なくとも 95 % 同一である軽鎖可変ドメイン配列を有する、少なくとも 10^{-6} M の結合親和性で c-Met エピトープに結合する IgG クラスの完全ヒト抗体。

30

40

2. 配列番号 1、配列番号 3、配列番号 5、配列番号 7、配列番号 9、配列番号 11、配列番号 13、配列番号 15、配列番号 17、配列番号 19、配列番号 21、配列番号 24、配列番号 25、配列番号 27、配列番号 29、配列番号 31、配列番号 32、配列番号 33、配列番号 34、配列番号 36、配列番号 37、配列番号 40、配列番号 42、配列

50

番号 4 4、配列番号 4 5、配列番号 4 7、配列番号 4 9、配列番号 5 1、配列番号 5 3、配列番号 5 6、配列番号 5 8、配列番号 5 9、配列番号 6 1、配列番号 6 3、配列番号 6 5、配列番号 6 9、配列番号 7 1、配列番号 7 4、配列番号 7 5、配列番号 7 6、配列番号 7 9、配列番号 8 0、配列番号 8 2、配列番号 8 4、配列番号 8 6、配列番号 8 8、配列番号 9 0 および配列番号 9 2 からなる群から選択される、重鎖可変領域アミノ酸配列に定められた相補性決定領域 (C D R) を含む重鎖可変ドメインを含み；配列番号 2、配列番号 4、配列番号 6、配列番号 8、配列番号 1 0、配列番号 1 2、配列番号 1 4、配列番号 1 6、配列番号 1 8、配列番号 2 0、配列番号 2 2、配列番号 2 3、配列番号 2 6、配列番号 2 8、配列番号 3 0、配列番号 3 5、配列番号 3 8、配列番号 3 9、配列番号 4 1、配列番号 4 3、配列番号 4 6、配列番号 4 8、配列番号 5 0、配列番号 5 2、配列番号 5 4、配列番号 5 5、配列番号 5 7、配列番号 6 0、配列番号 6 2、配列番号 6 4、配列番号 6 6、配列番号 6 7、配列番号 6 8、配列番号 7 0、配列番号 7 2、配列番号 7 3、配列番号 7 7、配列番号 7 8、配列番号 8 1、配列番号 8 3、配列番号 8 5、配列番号 8 7、配列番号 8 9、配列番号 9 1 および配列番号 9 3 からなる群から選択される、軽鎖可変領域アミノ酸配列に定められた C D R を含む軽鎖可変を含む、 I g G クラスの完全ヒト抗 c - M e t 抗体。

3. 配列番号 1 / 配列番号 2 (本明細書で A 1 と呼ぶ)、配列番号 3 / 配列番号 4 (本明細書で A 2 と呼ぶ)、配列番号 5 / 配列番号 6 (本明細書で A 8 と呼ぶ)、配列番号 7 / 配列番号 8 (本明細書で B 1 2 と呼ぶ)、配列番号 9 / 配列番号 1 0 (本明細書で D 6 と呼ぶ)、配列番号 1 1 / 配列番号 1 2 (本明細書で E 1 と呼ぶ)、配列番号 1 3 / 配列番号 1 4 (本明細書で E 6 と呼ぶ)、配列番号 1 5 / 配列番号 1 6 (本明細書で F 3 と呼ぶ)、配列番号 1 7 / 配列番号 1 8 (本明細書で H 6 と呼ぶ)、配列番号 1 9 / 配列番号 2 0 (本明細書で H 8 と呼ぶ)、配列番号 2 1 / 配列番号 2 2 (本明細書で H 8 - 9 と呼ぶ)、配列番号 2 1 / 配列番号 2 3 (本明細書で H 8 - 9 E E 8 L 3 と呼ぶ)、配列番号 2 4 / 配列番号 2 2 (本明細書で H 8 - G 3 S と呼ぶ)、配列番号 2 5 / 配列番号 2 6 (本明細書で H 8 - A 2 と呼ぶ)、配列番号 2 7 / 配列番号 2 8 (本明細書で H 8 - B 6 と呼ぶ)、配列番号 2 9 / 配列番号 2 3 (本明細書で H 8 - C 1 と呼ぶ)、配列番号 2 4 / 配列番号 3 0 (本明細書で H 8 - D 4 と呼ぶ)、配列番号 3 1 / 配列番号 2 3 (本明細書で H 8 - D 5 と呼ぶ)、配列番号 2 4 / 配列番号 2 3 (本明細書で H 8 - D 6 と呼ぶ)、配列番号 3 2 / 配列番号 2 3 (本明細書で H 8 - D 1 0 と呼ぶ)、配列番号 3 3 / 配列番号 2 2 (本明細書で H 8 - E 5 と呼ぶ)、配列番号 3 4 / 配列番号 2 2 (本明細書で H 8 - G 7 と呼ぶ)、配列番号 2 4 / 配列番号 3 5 (本明細書で H 8 - G 9 と呼ぶ)、配列番号 3 6 / 配列番号 2 6 (本明細書で H 8 - H 6 と呼ぶ)、配列番号 2 9 / 配列番号 2 2 (本明細書で H 8 - 2 A 2 と呼ぶ)、配列番号 3 7 / 配列番号 3 8 (本明細書で H 8 - 2 B 1 と呼ぶ)、配列番号 3 4 / 配列番号 2 3 (本明細書で H 8 - 2 B 2 と呼ぶ)、配列番号 3 7 / 配列番号 2 3 (本明細書で H 8 - 2 B 4 と呼ぶ)、配列番号 3 2 / 配列番号 3 9 (本明細書で H 8 - 2 B 7 と呼ぶ)、配列番号 3 2 / 配列番号 2 2 (本明細書で H 8 - A 7 P と呼ぶ)、配列番号 4 0 / 配列番号 4 1 (本明細書で G C E - A 1 0 と呼ぶ)、配列番号 4 2 / 配列番号 4 3 (本明細書で G C E - A 1 1 と呼ぶ)、配列番号 4 4 / 配列番号 4 1 (本明細書で G C E - A 1 3 と呼ぶ)、配列番号 4 5 / 配列番号 4 6 (本明細書で G C E - A 1 4 と呼ぶ)、配列番号 4 7 / 配列番号 4 8 (本明細書で G C E - A 1 6 と呼ぶ)、配列番号 4 9 / 配列番号 5 0 (本明細書で G C E - A 1 8 と呼ぶ)、配列番号 5 1 / 配列番号 5 2 (本明細書で G C E - B 2 と呼ぶ)、配列番号 5 3 / 配列番号 5 4 (本明細書で G C E - B 9 と呼ぶ)、配列番号 4 5 / 配列番号 5 5 (本明細書で G C E - B 1 1 と呼ぶ)、配列番号 5 6 / 配列番号 5 7 (本明細書で G C E - B 1 3 と呼ぶ)、配列番号 5 8 / 配列番号 5 7 (本明細書で G C E - B 1 9 と呼ぶ)、配列番号 5 9 / 配列番号 6 0 (本明細書で G C E - B R 1 と呼ぶ)、配列番号 6 1 / 配列番号 6 2 (本明細書で G C E - B 2 0 と呼ぶ)、配列番号 6 3 / 配列番号 6 4 (本明細書で G C E - A 1 9 と呼ぶ)、配列番号 6 5 / 配列番号 6 6 (本明細書で G C E - B 1 0 と呼ぶ)、配列番号 5 8 / 配列番号 6 7 (本明細書で G C E - B 5 と呼ぶ)、配列番号 6 1 / 配列番号 6 8 (本明細書で G C E - B 4 と呼ぶ)、配列番号 6 9 / 配列番号 7 0 (本明細書で G C E - A 2 6 と

10

20

30

40

50

呼ぶ)、配列番号 7 1 / 配列番号 7 2 (本明細書で G C E - L 1 A - 9 と呼ぶ)、配列番号 4 9 / 配列番号 7 3 (本明細書で G C E - H 3 4 - 3 6 と呼ぶ)、配列番号 7 4 / 配列番号 7 3 (本明細書で G C E - H 1 3 - 1 と呼ぶ)、配列番号 6 1 / 配列番号 7 3 (本明細書で G C E - H 1 3 - 2 と呼ぶ)、配列番号 4 4 / 配列番号 7 3 (本明細書で G C E - H 1 3 - 3 と呼ぶ)、配列番号 4 0 / 配列番号 7 3 (本明細書で G C E - H 1 3 - 4 と呼ぶ)、配列番号 7 5 / 配列番号 7 3 (本明細書で G C E - H 1 3 - 5 と呼ぶ)、配列番号 6 9 / 配列番号 7 3 (本明細書で G C E - H 1 3 - 6 と呼ぶ)、配列番号 7 6 / 配列番号 7 3 (本明細書で G C E - H 1 3 - 8 と呼ぶ)、配列番号 2 1 / 配列番号 7 7 (本明細書で H 8 - 9 E H 1 1 L と呼ぶ)、配列番号 2 1 / 配列番号 7 8 (本明細書で H 8 - 9 E G 1 1 L と呼ぶ)、配列番号 7 9 / 配列番号 2 0 (本明細書で H 8 - 6 A G 2 H 3 と呼ぶ)、配列番号 8 0 / 配列番号 8 1 (本明細書で A 1 - 2 と呼ぶ)、配列番号 8 2 / 配列番号 8 3 (本明細書で A 1 - 4 と呼ぶ)、配列番号 8 4 / 配列番号 8 5 (本明細書で A 1 - 6 と呼ぶ)、配列番号 8 6 / 配列番号 8 7 (本明細書で A 1 - 8 と呼ぶ)、配列番号 8 8 / 配列番号 8 9 (本明細書で A 1 - 9 と呼ぶ)、配列番号 9 0 / 配列番号 9 1 (本明細書で A 1 - 2 4 と呼ぶ) および配列番号 9 2 / 配列番号 9 3 (本明細書で A 1 - 3 2 と呼ぶ) からなる群から選択される重鎖 / 軽鎖可変ドメイン配列を有する、項 1 に記載の完全ヒト抗体。

4. 重鎖由来の可変ドメイン領域および軽鎖由来の可変ドメイン領域を有する完全ヒト抗 c - M e t 抗体 F a b フラグメントであって、ここで、重鎖可変ドメイン配列が、配列番号 1、配列番号 3、配列番号 5、配列番号 7、配列番号 9、配列番号 1 1、配列番号 1 3、配列番号 1 5、配列番号 1 7、配列番号 1 9、配列番号 2 1、配列番号 2 4、配列番号 2 5、配列番号 2 7、配列番号 2 9、配列番号 3 1、配列番号 3 2、配列番号 3 3、配列番号 3 4、配列番号 3 6、配列番号 3 7、配列番号 4 0、配列番号 4 2、配列番号 4 4、配列番号 4 5、配列番号 4 7、配列番号 4 9、配列番号 5 1、配列番号 5 3、配列番号 5 6、配列番号 5 8、配列番号 5 9、配列番号 6 1、配列番号 6 3、配列番号 6 5、配列番号 6 9、配列番号 7 1、配列番号 7 4、配列番号 7 5、配列番号 7 6、配列番号 7 9、配列番号 8 0、配列番号 8 2、配列番号 8 4、配列番号 8 6、配列番号 8 8、配列番号 9 0 および配列番号 9 2 からなる群から選択されるアミノ酸配列と少なくとも 9 5 % 同一であり、かつ、軽鎖可変ドメイン配列が、配列番号 2、配列番号 4、配列番号 6、配列番号 8、配列番号 1 0、配列番号 1 2、配列番号 1 4、配列番号 1 6、配列番号 1 8、配列番号 2 0、配列番号 2 2、配列番号 2 3、配列番号 2 6、配列番号 2 8、配列番号 3 0、配列番号 3 5、配列番号 3 8、配列番号 3 9、配列番号 4 1、配列番号 4 3、配列番号 4 6、配列番号 4 8、配列番号 5 0、配列番号 5 2、配列番号 5 4、配列番号 5 5、配列番号 5 7、配列番号 6 0、配列番号 6 2、配列番号 6 4、配列番号 6 6、配列番号 6 7、配列番号 6 8、配列番号 7 0、配列番号 7 2、配列番号 7 3、配列番号 7 7、配列番号 7 8、配列番号 8 1、配列番号 8 3、配列番号 8 5、配列番号 8 7、配列番号 8 9、配列番号 9 1 および配列番号 9 3 からなる群から選択されるアミノ酸配列と少なくとも 9 5 % 同一である、完全ヒト抗 c - M e t 抗体 F a b フラグメント。

5. 抗体が、配列番号 1 / 配列番号 2、配列番号 3 / 配列番号 4、配列番号 5 / 配列番号 6、配列番号 7 / 配列番号 8、配列番号 9 / 配列番号 1 0、配列番号 1 1 / 配列番号 1 2、配列番号 1 3 / 配列番号 1 4、配列番号 1 5 / 配列番号 1 6、配列番号 1 7 / 配列番号 1 8、配列番号 1 9 / 配列番号 2 0、配列番号 2 1 / 配列番号 2 2、配列番号 2 1 / 配列番号 2 3、配列番号 2 4 / 配列番号 2 2、配列番号 2 5 / 配列番号 2 6、配列番号 2 7 / 配列番号 2 8、配列番号 2 9 / 配列番号 2 3、配列番号 2 4 / 配列番号 3 0、配列番号 3 1 / 配列番号 2 3、配列番号 2 4 / 配列番号 2 3、配列番号 3 2 / 配列番号 2 3、配列番号 3 3 / 配列番号 2 2、配列番号 3 4 / 配列番号 2 2、配列番号 2 4 / 配列番号 3 5、配列番号 3 6 / 配列番号 2 6、配列番号 2 9 / 配列番号 2 2、配列番号 3 7 / 配列番号 3 8、配列番号 3 4 / 配列番号 2 3、配列番号 3 7 / 配列番号 2 3、配列番号 3 2 / 配列番号 3 9、配列番号 3 2 / 配列番号 2 2、配列番号 4 0 / 配列番号 4 1、配列番号 4 2 / 配列番号 4 3、配列番号 4 4 / 配列番号 4 1、配列番号 4 5 / 配列番号 4 6、配列番号 4 7 / 配列番号 4 8、配列番号 4 9 / 配列番号 5 0、配列番号 5 1 / 配列番号 5 2、配列番号 5

10

20

30

40

50

3 / 配列番号 5 4、配列番号 4 5 / 配列番号 5 5、配列番号 5 6 / 配列番号 5 7、配列番号 5 8 / 配列番号 5 7、配列番号 5 9 / 配列番号 6 0、配列番号 6 1 / 配列番号 6 2、配列番号 6 3 / 配列番号 6 4、配列番号 6 5 / 配列番号 6 6、配列番号 5 8 / 配列番号 6 7、配列番号 6 1 / 配列番号 6 8、配列番号 6 9 / 配列番号 7 0、配列番号 7 1 / 配列番号 7 2、配列番号 4 9 / 配列番号 7 3、配列番号 7 4 / 配列番号 7 3、配列番号 6 1 / 配列番号 7 3、配列番号 4 4 / 配列番号 7 3、配列番号 4 0 / 配列番号 7 3、配列番号 7 5 / 配列番号 7 3、配列番号 6 9 / 配列番号 7 3、配列番号 7 6 / 配列番号 7 3、配列番号 2 1 / 配列番号 7 7、配列番号 2 1 / 配列番号 7 8、配列番号 7 9 / 配列番号 2 0、配列番号 8 0 / 配列番号 8 1、配列番号 8 2 / 配列番号 8 3、配列番号 8 4 / 配列番号 8 5、配列番号 8 6 / 配列番号 8 7、配列番号 8 8 / 配列番号 8 9、配列番号 9 0 / 配列番号 9 1 および配列番号 9 2 / 配列番号 9 3 からなる群から選択される重鎖 / 軽鎖可変ドメイン配列を有する、項 4 に記載の F a b フラグメント。

6. 重鎖由来の可変ドメイン領域、および、軽鎖由来の可変ドメイン領域、および、重鎖可変ドメイン領域と軽鎖可変ドメイン領域を連結するペプチドリンカーを有する一本鎖ヒト抗 c - M e t 抗体であって、ここで、重鎖可変ドメインが、配列番号 1、配列番号 3、配列番号 5、配列番号 7、配列番号 9、配列番号 1 1、配列番号 1 3、配列番号 1 5、配列番号 1 7、配列番号 1 9、配列番号 2 1、配列番号 2 4、配列番号 2 5、配列番号 2 7、配列番号 2 9、配列番号 3 1、配列番号 3 2、配列番号 3 3、配列番号 3 4、配列番号 3 6、配列番号 3 7、配列番号 4 0、配列番号 4 2、配列番号 4 4、配列番号 4 5、配列番号 4 7、配列番号 4 9、配列番号 5 1、配列番号 5 3、配列番号 5 6、配列番号 5 8、配列番号 5 9、配列番号 6 1、配列番号 6 3、配列番号 6 5、配列番号 6 9、配列番号 7 1、配列番号 7 4、配列番号 7 5、配列番号 7 6、配列番号 7 9、配列番号 8 0、配列番号 8 2、配列番号 8 4、配列番号 8 6、配列番号 8 8、配列番号 9 0 および配列番号 9 2 からなる群から選択されるアミノ酸配列と少なくとも 9 5 % 同一であるアミノ酸配列を含み、かつ、軽鎖可変ドメインが、配列番号 2、配列番号 4、配列番号 6、配列番号 8、配列番号 1 0、配列番号 1 2、配列番号 1 4、配列番号 1 6、配列番号 1 8、配列番号 2 0、配列番号 2 2、配列番号 2 3、配列番号 2 6、配列番号 2 8、配列番号 3 0、配列番号 3 5、配列番号 3 8、配列番号 3 9、配列番号 4 1、配列番号 4 3、配列番号 4 6、配列番号 4 8、配列番号 5 0、配列番号 5 2、配列番号 5 4、配列番号 5 5、配列番号 5 7、配列番号 6 0、配列番号 6 2、配列番号 6 4、配列番号 6 6、配列番号 6 7、配列番号 6 8、配列番号 7 0、配列番号 7 2、配列番号 7 3、配列番号 7 7、配列番号 7 8、配列番号 8 1、配列番号 8 3、配列番号 8 5、配列番号 8 7、配列番号 8 9、配列番号 9 1 および配列番号 9 3 からなる群から選択されるアミノ酸配列と少なくとも 9 5 % 同一であるアミノ酸配列を含む、一本鎖ヒト抗 c - M e t 抗体。

7. 抗体が、配列番号 1 / 配列番号 2、配列番号 3 / 配列番号 4、配列番号 5 / 配列番号 6、配列番号 7 / 配列番号 8、配列番号 9 / 配列番号 1 0、配列番号 1 1 / 配列番号 1 2、配列番号 1 3 / 配列番号 1 4、配列番号 1 5 / 配列番号 1 6、配列番号 1 7 / 配列番号 1 8、配列番号 1 9 / 配列番号 2 0、配列番号 2 1 / 配列番号 2 2、配列番号 2 1 / 配列番号 2 3、配列番号 2 4 / 配列番号 2 2、配列番号 2 5 / 配列番号 2 6、配列番号 2 7 / 配列番号 2 8、配列番号 2 9 / 配列番号 2 3、配列番号 2 4 / 配列番号 3 0、配列番号 3 1 / 配列番号 2 3、配列番号 2 4 / 配列番号 2 3、配列番号 3 2 / 配列番号 2 3、配列番号 3 3 / 配列番号 2 2、配列番号 3 4 / 配列番号 2 2、配列番号 2 4 / 配列番号 3 5、配列番号 3 6 / 配列番号 2 6、配列番号 2 9 / 配列番号 2 2、配列番号 3 7 / 配列番号 3 8、配列番号 3 4 / 配列番号 2 3、配列番号 3 7 / 配列番号 2 3、配列番号 3 2 / 配列番号 3 9、配列番号 3 2 / 配列番号 2 2、配列番号 4 0 / 配列番号 4 1、配列番号 4 2 / 配列番号 4 3、配列番号 4 4 / 配列番号 4 1、配列番号 4 5 / 配列番号 4 6、配列番号 4 7 / 配列番号 4 8、配列番号 4 9 / 配列番号 5 0、配列番号 5 1 / 配列番号 5 2、配列番号 5 3 / 配列番号 5 4、配列番号 4 5 / 配列番号 5 5、配列番号 5 6 / 配列番号 5 7、配列番号 5 8 / 配列番号 5 7、配列番号 5 9 / 配列番号 6 0、配列番号 6 1 / 配列番号 6 2、配列番号 6 3 / 配列番号 6 4、配列番号 6 5 / 配列番号 6 6、配列番号 5 8 / 配列番号 6 7

10

20

30

40

50

、配列番号 6 1 / 配列番号 6 8、配列番号 6 9 / 配列番号 7 0、配列番号 7 1 / 配列番号 7 2、配列番号 4 9 / 配列番号 7 3、配列番号 7 4 / 配列番号 7 3、配列番号 6 1 / 配列番号 7 3、配列番号 4 4 / 配列番号 7 3、配列番号 4 0 / 配列番号 7 3、配列番号 7 5 / 配列番号 7 3、配列番号 6 9 / 配列番号 7 3、配列番号 7 6 / 配列番号 7 3、配列番号 2 1 / 配列番号 7 7、配列番号 2 1 / 配列番号 7 8、配列番号 7 9 / 配列番号 2 0、配列番号 8 0 / 配列番号 8 1、配列番号 8 2 / 配列番号 8 3、配列番号 8 4 / 配列番号 8 5、配列番号 8 6 / 配列番号 8 7、配列番号 8 8 / 配列番号 8 9、配列番号 9 0 / 配列番号 9 1 および配列番号 9 2 / 配列番号 9 3 からなる群から選択される重鎖 / 軽鎖可変ドメイン配列を有する、項 6 に記載の一本鎖ヒト抗 c - M e t 抗体。

8. 有効量の抗 c - M e t ポリペプチドを含む、哺乳類の対象の癌または炎症性疾患または自己免疫疾患を処置するための医薬組成物であって、該抗 c - M e t ポリペプチドは、少なくとも 10^{-6} M の結合親和性で c - M e t エピトープに結合する I g G クラスの完全ヒト抗体、完全ヒト抗 c - M e t 抗体 F a b フラグメントおよび一本鎖ヒト抗 c - M e t 抗体からなる群から選択され；

ここで、完全ヒト抗体は、配列番号 1、配列番号 3、配列番号 5、配列番号 7、配列番号 9、配列番号 1 1、配列番号 1 3、配列番号 1 5、配列番号 1 7、配列番号 1 9、配列番号 2 1、配列番号 2 4、配列番号 2 5、配列番号 2 7、配列番号 2 9、配列番号 3 1、配列番号 3 2、配列番号 3 3、配列番号 3 4、配列番号 3 6、配列番号 3 7、配列番号 4 0、配列番号 4 2、配列番号 4 4、配列番号 4 5、配列番号 4 7、配列番号 4 9、配列番号 5 1、配列番号 5 3、配列番号 5 6、配列番号 5 8、配列番号 5 9、配列番号 6 1、配列番号 6 3、配列番号 6 5、配列番号 6 9、配列番号 7 1、配列番号 7 4、配列番号 7 5、配列番号 7 6、配列番号 7 9、配列番号 8 0、配列番号 8 2、配列番号 8 4、配列番号 8 6、配列番号 8 8、配列番号 9 0 および配列番号 9 2 からなる群から選択されるアミノ酸配列と少なくとも 9 5 % 同一である重鎖可変ドメイン配列を有し、かつ、配列番号 2、配列番号 4、配列番号 6、配列番号 8、配列番号 1 0、配列番号 1 2、配列番号 1 4、配列番号 1 6、配列番号 1 8、配列番号 2 0、配列番号 2 2、配列番号 2 3、配列番号 2 6、配列番号 2 8、配列番号 3 0、配列番号 3 5、配列番号 3 8、配列番号 3 9、配列番号 4 1、配列番号 4 3、配列番号 4 6、配列番号 4 8、配列番号 5 0、配列番号 5 2、配列番号 5 4、配列番号 5 5、配列番号 5 7、配列番号 6 0、配列番号 6 2、配列番号 6 4、配列番号 6 6、配列番号 6 7、配列番号 6 8、配列番号 7 0、配列番号 7 2、配列番号 7 3、配列番号 7 7、配列番号 7 8、配列番号 8 1、配列番号 8 3、配列番号 8 5、配列番号 8 7、配列番号 8 9、配列番号 9 1 および配列番号 9 3 からなる群から選択されるアミノ酸配列と少なくとも 9 5 % 同一である軽鎖可変ドメイン配列を有し；

ここで、完全ヒト抗 c - M e t 抗体 F a b フラグメントは、配列番号 1、配列番号 3、配列番号 5、配列番号 7、配列番号 9、配列番号 1 1、配列番号 1 3、配列番号 1 5、配列番号 1 7、配列番号 1 9、配列番号 2 1、配列番号 2 4、配列番号 2 5、配列番号 2 7、配列番号 2 9、配列番号 3 1、配列番号 3 2、配列番号 3 3、配列番号 3 4、配列番号 3 6、配列番号 3 7、配列番号 4 0、配列番号 4 2、配列番号 4 4、配列番号 4 5、配列番号 4 7、配列番号 4 9、配列番号 5 1、配列番号 5 3、配列番号 5 6、配列番号 5 8、配列番号 5 9、配列番号 6 1、配列番号 6 3、配列番号 6 5、配列番号 6 9、配列番号 7 1、配列番号 7 4、配列番号 7 5、配列番号 7 6、配列番号 7 9、配列番号 8 0、配列番号 8 2、配列番号 8 4、配列番号 8 6、配列番号 8 8、配列番号 9 0 および配列番号 9 2 からなる群から選択されるアミノ酸配列と少なくとも 9 5 % 同一である重鎖可変ドメイン配列を有し、かつ、配列番号 2、配列番号 4、配列番号 6、配列番号 8、配列番号 1 0、配列番号 1 2、配列番号 1 4、配列番号 1 6、配列番号 1 8、配列番号 2 0、配列番号 2 2、配列番号 2 3、配列番号 2 6、配列番号 2 8、配列番号 3 0、配列番号 3 5、配列番号 3 8、配列番号 3 9、配列番号 4 1、配列番号 4 3、配列番号 4 6、配列番号 4 8、配列番号 5 0、配列番号 5 2、配列番号 5 4、配列番号 5 5、配列番号 5 7、配列番号 6 0、配列番号 6 2、配列番号 6 4、配列番号 6 6、配列番号 6 7、配列番号 6 8、配列番号 7 0、配列番号 7 2、配列番号 7 3、配列番号 7 7、配列番号 7 8、配列番号 8 1、配列

10

20

30

40

50

番号 8 3、配列番号 8 5、配列番号 8 7、配列番号 8 9、配列番号 9 1 および配列番号 9 3 からなる群から選択されるアミノ酸配列と少なくとも 9 5 % 同一である軽鎖可変ドメイン配列を有し；

ここで、一本鎖ヒト抗 c - M e t 抗体は、配列番号 1、配列番号 3、配列番号 5、配列番号 7、配列番号 9、配列番号 1 1、配列番号 1 3、配列番号 1 5、配列番号 1 7、配列番号 1 9、配列番号 2 1、配列番号 2 4、配列番号 2 5、配列番号 2 7、配列番号 2 9、配列番号 3 1、配列番号 3 2、配列番号 3 3、配列番号 3 4、配列番号 3 6、配列番号 3 7、配列番号 4 0、配列番号 4 2、配列番号 4 4、配列番号 4 5、配列番号 4 7、配列番号 4 9、配列番号 5 1、配列番号 5 3、配列番号 5 6、配列番号 5 8、配列番号 5 9、配列番号 6 1、配列番号 6 3、配列番号 6 5、配列番号 6 9、配列番号 7 1、配列番号 7 4、配列番号 7 5、配列番号 7 6、配列番号 7 9、配列番号 8 0、配列番号 8 2、配列番号 8 4、配列番号 8 6、配列番号 8 8、配列番号 9 0 および配列番号 9 2 からなる群から選択されるアミノ酸配列と少なくとも 9 5 % 同一である重鎖可変ドメイン配列を有し、かつ、配列番号 2、配列番号 4、配列番号 6、配列番号 8、配列番号 1 0、配列番号 1 2、配列番号 1 4、配列番号 1 6、配列番号 1 8、配列番号 2 0、配列番号 2 2、配列番号 2 3、配列番号 2 6、配列番号 2 8、配列番号 3 0、配列番号 3 5、配列番号 3 8、配列番号 3 9、配列番号 4 1、配列番号 4 3、配列番号 4 6、配列番号 4 8、配列番号 5 0、配列番号 5 2、配列番号 5 4、配列番号 5 5、配列番号 5 7、配列番号 6 0、配列番号 6 2、配列番号 6 4、配列番号 6 6、配列番号 6 7、配列番号 6 8、配列番号 7 0、配列番号 7 2、配列番号 7 3、配列番号 7 7、配列番号 7 8、配列番号 8 1、配列番号 8 3、配列番号 8 5、配列番号 8 7、配列番号 8 9、配列番号 9 1 および配列番号 9 3 からなる群から選択されるアミノ酸配列と少なくとも 9 5 % 同一である軽鎖可変ドメイン配列を有する、医薬組成物。

9. 完全ヒト抗体が、配列番号 1、配列番号 3、配列番号 5、配列番号 7、配列番号 9、配列番号 1 1、配列番号 1 3、配列番号 1 5、配列番号 1 7、配列番号 1 9、配列番号 2 1、配列番号 2 4、配列番号 2 5、配列番号 2 7、配列番号 2 9、配列番号 3 1、配列番号 3 2、配列番号 3 3、配列番号 3 4、配列番号 3 6、配列番号 3 7、配列番号 4 0、配列番号 4 2、配列番号 4 4、配列番号 4 5、配列番号 4 7、配列番号 4 9、配列番号 5 1、配列番号 5 3、配列番号 5 6、配列番号 5 8、配列番号 5 9、配列番号 6 1、配列番号 6 3、配列番号 6 5、配列番号 6 9、配列番号 7 1、配列番号 7 4、配列番号 7 5、配列番号 7 6、配列番号 7 9、配列番号 8 0、配列番号 8 2、配列番号 8 4、配列番号 8 6、配列番号 8 8、配列番号 9 0 および配列番号 9 2 からなる群から選択される、重鎖可変領域アミノ酸配列に定められた相補性決定領域 (C D R) を含む重鎖可変ドメインを含み；配列番号 2、配列番号 4、配列番号 6、配列番号 8、配列番号 1 0、配列番号 1 2、配列番号 1 4、配列番号 1 6、配列番号 1 8、配列番号 2 0、配列番号 2 2、配列番号 2 3、配列番号 2 6、配列番号 2 8、配列番号 3 0、配列番号 3 5、配列番号 3 8、配列番号 3 9、配列番号 4 1、配列番号 4 3、配列番号 4 6、配列番号 4 8、配列番号 5 0、配列番号 5 2、配列番号 5 4、配列番号 5 5、配列番号 5 7、配列番号 6 0、配列番号 6 2、配列番号 6 4、配列番号 6 6、配列番号 6 7、配列番号 6 8、配列番号 7 0、配列番号 7 2、配列番号 7 3、配列番号 7 7、配列番号 7 8、配列番号 8 1、配列番号 8 3、配列番号 8 5、配列番号 8 7、配列番号 8 9、配列番号 9 1 および配列番号 9 3 からなる群から選択される、軽鎖可変領域アミノ酸配列に定められた C D R を含む軽鎖可変ドメインを含む、項 8 に記載の医薬組成物。

1 0. 完全ヒト抗体が、配列番号 1 / 配列番号 2、配列番号 3 / 配列番号 4、配列番号 5 / 配列番号 6、配列番号 7 / 配列番号 8、配列番号 9 / 配列番号 1 0、配列番号 1 1 / 配列番号 1 2、配列番号 1 3 / 配列番号 1 4、配列番号 1 5 / 配列番号 1 6、配列番号 1 7 / 配列番号 1 8、配列番号 1 9 / 配列番号 2 0、配列番号 2 1 / 配列番号 2 2、配列番号 2 1 / 配列番号 2 3、配列番号 2 4 / 配列番号 2 2、配列番号 2 5 / 配列番号 2 6、配列番号 2 7 / 配列番号 2 8、配列番号 2 9 / 配列番号 2 3、配列番号 2 4 / 配列番号 3 0、配列番号 3 1 / 配列番号 2 3、配列番号 2 4 / 配列番号 2 3、配列番号 3 2 / 配列番号 2

10

20

30

40

50

3、配列番号33 / 配列番号22、配列番号34 / 配列番号22、配列番号24 / 配列番号35、配列番号36 / 配列番号26、配列番号29 / 配列番号22、配列番号37 / 配列番号38、配列番号34 / 配列番号23、配列番号37 / 配列番号23、配列番号32 / 配列番号39、配列番号32 / 配列番号22、配列番号40 / 配列番号41、配列番号42 / 配列番号43、配列番号44 / 配列番号41、配列番号45 / 配列番号46、配列番号47 / 配列番号48、配列番号49 / 配列番号50、配列番号51 / 配列番号52、配列番号53 / 配列番号54、配列番号45 / 配列番号55、配列番号56 / 配列番号57、配列番号58 / 配列番号57、配列番号59 / 配列番号60、配列番号61 / 配列番号62、配列番号63 / 配列番号64、配列番号65 / 配列番号66、配列番号58 / 配列番号67、配列番号61 / 配列番号68、配列番号69 / 配列番号70、配列番号71 / 配列番号72、配列番号49 / 配列番号73、配列番号74 / 配列番号73、配列番号61 / 配列番号73、配列番号44 / 配列番号73、配列番号40 / 配列番号73、配列番号75 / 配列番号73、配列番号69 / 配列番号73、配列番号76 / 配列番号73、配列番号21 / 配列番号77、配列番号21 / 配列番号78、配列番号79 / 配列番号20、配列番号80 / 配列番号81、配列番号82 / 配列番号83、配列番号84 / 配列番号85、配列番号86 / 配列番号87、配列番号88 / 配列番号89、配列番号90 / 配列番号91および配列番号92 / 配列番号93からなる群から選択される重鎖 / 軽鎖可変ドメイン配列を有する、項8に記載の医薬組成物。

10

11. 完全ヒト抗c-Met抗体Fabフラグメントが、配列番号1 / 配列番号2、配列番号3 / 配列番号4、配列番号5 / 配列番号6、配列番号7 / 配列番号8、配列番号9 / 配列番号10、配列番号11 / 配列番号12、配列番号13 / 配列番号14、配列番号15 / 配列番号16、配列番号17 / 配列番号18、配列番号19 / 配列番号20、配列番号21 / 配列番号22、配列番号21 / 配列番号23、配列番号24 / 配列番号22、配列番号25 / 配列番号26、配列番号27 / 配列番号28、配列番号29 / 配列番号23、配列番号24 / 配列番号30、配列番号31 / 配列番号23、配列番号24 / 配列番号23、配列番号32 / 配列番号23、配列番号33 / 配列番号22、配列番号34 / 配列番号22、配列番号24 / 配列番号35、配列番号36 / 配列番号26、配列番号29 / 配列番号22、配列番号37 / 配列番号38、配列番号34 / 配列番号23、配列番号37 / 配列番号23、配列番号32 / 配列番号39、配列番号32 / 配列番号22、配列番号40 / 配列番号41、配列番号42 / 配列番号43、配列番号44 / 配列番号41、配列番号45 / 配列番号46、配列番号47 / 配列番号48、配列番号49 / 配列番号50、配列番号51 / 配列番号52、配列番号53 / 配列番号54、配列番号45 / 配列番号55、配列番号56 / 配列番号57、配列番号58 / 配列番号57、配列番号59 / 配列番号60、配列番号61 / 配列番号62、配列番号63 / 配列番号64、配列番号65 / 配列番号66、配列番号58 / 配列番号67、配列番号61 / 配列番号68、配列番号69 / 配列番号70、配列番号71 / 配列番号72、配列番号49 / 配列番号73、配列番号74 / 配列番号73、配列番号61 / 配列番号73、配列番号44 / 配列番号73、配列番号40 / 配列番号73、配列番号75 / 配列番号73、配列番号69 / 配列番号73、配列番号76 / 配列番号73、配列番号21 / 配列番号77、配列番号21 / 配列番号78、配列番号79 / 配列番号20、配列番号80 / 配列番号81、配列番号82 / 配列番号83、配列番号84 / 配列番号85、配列番号86 / 配列番号87、配列番号88 / 配列番号89、配列番号90 / 配列番号91および配列番号92 / 配列番号93からなる群から選択される重鎖 / 軽鎖可変ドメイン配列を有する、項8に記載の医薬組成物。

20

30

40

12. 一本鎖ヒト抗c-Met抗体が、配列番号1 / 配列番号2、配列番号3 / 配列番号4、配列番号5 / 配列番号6、配列番号7 / 配列番号8、配列番号9 / 配列番号10、配列番号11 / 配列番号12、配列番号13 / 配列番号14、配列番号15 / 配列番号16、配列番号17 / 配列番号18、配列番号19 / 配列番号20、配列番号21 / 配列番号22、配列番号21 / 配列番号23、配列番号24 / 配列番号22、配列番号25 / 配列番号26、配列番号27 / 配列番号28、配列番号29 / 配列番号23、配列番号24 / 配列番号30、配列番号31 / 配列番号23、配列番号24 / 配列番号23、配列番号3

50

2 / 配列番号 2 3、配列番号 3 3 / 配列番号 2 2、配列番号 3 4 / 配列番号 2 2、配列番号 2 4 / 配列番号 3 5、配列番号 3 6 / 配列番号 2 6、配列番号 2 9 / 配列番号 2 2、配列番号 3 7 / 配列番号 3 8、配列番号 3 4 / 配列番号 2 3、配列番号 3 7 / 配列番号 2 3、配列番号 3 2 / 配列番号 3 9、配列番号 3 2 / 配列番号 2 2、配列番号 4 0 / 配列番号 4 1、配列番号 4 2 / 配列番号 4 3、配列番号 4 4 / 配列番号 4 1、配列番号 4 5 / 配列番号 4 6、配列番号 4 7 / 配列番号 4 8、配列番号 4 9 / 配列番号 5 0、配列番号 5 1 / 配列番号 5 2、配列番号 5 3 / 配列番号 5 4、配列番号 4 5 / 配列番号 5 5、配列番号 5 6 / 配列番号 5 7、配列番号 5 8 / 配列番号 5 7、配列番号 5 9 / 配列番号 6 0、配列番号 6 1 / 配列番号 6 2、配列番号 6 3 / 配列番号 6 4、配列番号 6 5 / 配列番号 6 6、配列番号 5 8 / 配列番号 6 7、配列番号 6 1 / 配列番号 6 8、配列番号 6 9 / 配列番号 7 0、配列番号 7 1 / 配列番号 7 2、配列番号 4 9 / 配列番号 7 3、配列番号 7 4 / 配列番号 7 3、配列番号 6 1 / 配列番号 7 3、配列番号 4 4 / 配列番号 7 3、配列番号 4 0 / 配列番号 7 3、配列番号 7 5 / 配列番号 7 3、配列番号 6 9 / 配列番号 7 3、配列番号 7 6 / 配列番号 7 3、配列番号 2 1 / 配列番号 7 7、配列番号 2 1 / 配列番号 7 8、配列番号 7 9 / 配列番号 2 0、配列番号 8 0 / 配列番号 8 1、配列番号 8 2 / 配列番号 8 3、配列番号 8 4 / 配列番号 8 5、配列番号 8 6 / 配列番号 8 7、配列番号 8 8 / 配列番号 8 9、配列番号 9 0 / 配列番号 9 1 および配列番号 9 2 / 配列番号 9 3 からなる群から選択される重鎖 / 軽鎖可変ドメイン配列を有する、項 8 に記載の医薬組成物。

10

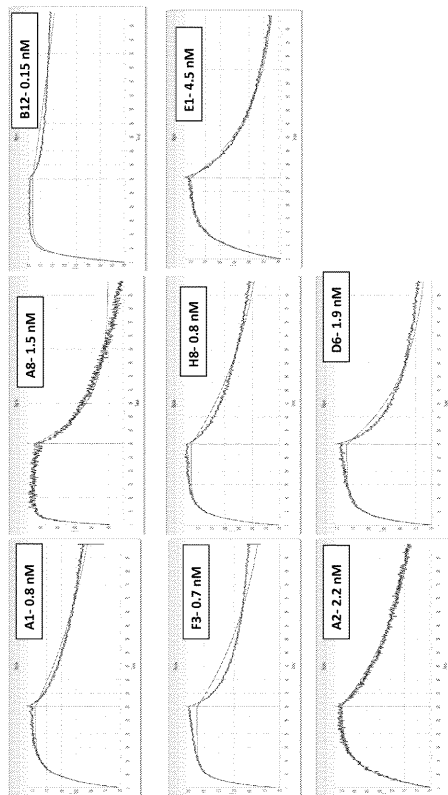
1 3. 癌が、HGF 依存性、HGF 非依存性またはその両方である c - M e t 活性化関連癌からなる群から選択される c - M e t 活性化関連癌である、項 8 ~ 1 2 のいずれか一項に記載の医薬組成物。

20

1 4. 癌が、前立腺癌、骨肉腫、肺癌、乳癌、子宮内膜癌、膠芽腫および結腸癌からなる群から選択される、項 8 ~ 1 2 のいずれか一項に記載の医薬組成物。

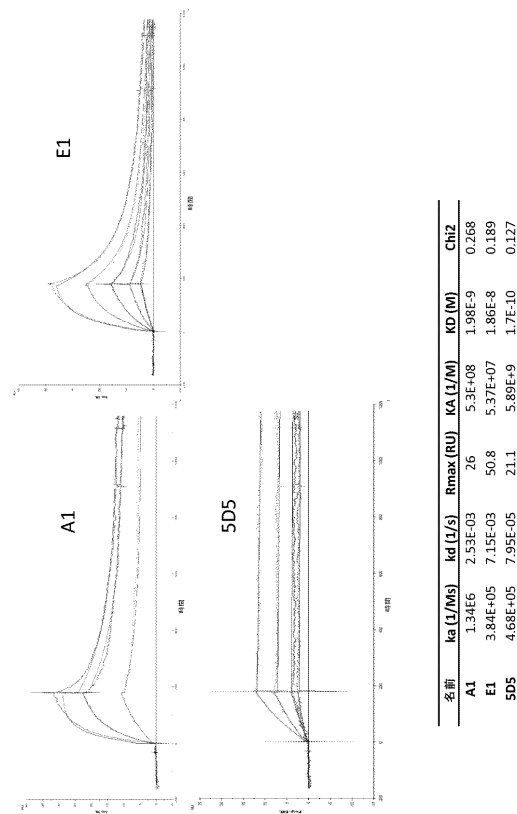
【図 1 a】

Figure 1a. 抗 c - M e t 抗体親和性ランギング



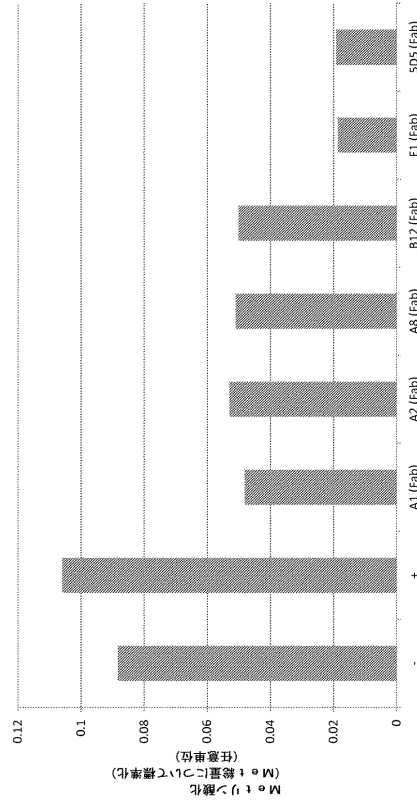
【図 1 b】

Figure 1b. Biacoreによる組換えヒト c - M e t に対する I g G 形式の 2 種の機能性 c - M e t 抗体の速度論分析



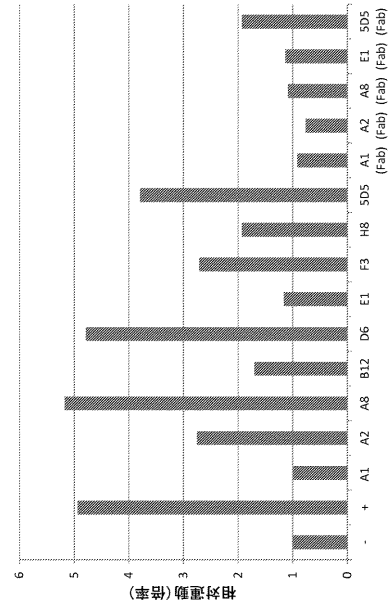
【図 4 b】

Figure 4b. Fab形式の抗c-Met抗体によるHGF刺激c-Met自己リン酸化の阻害



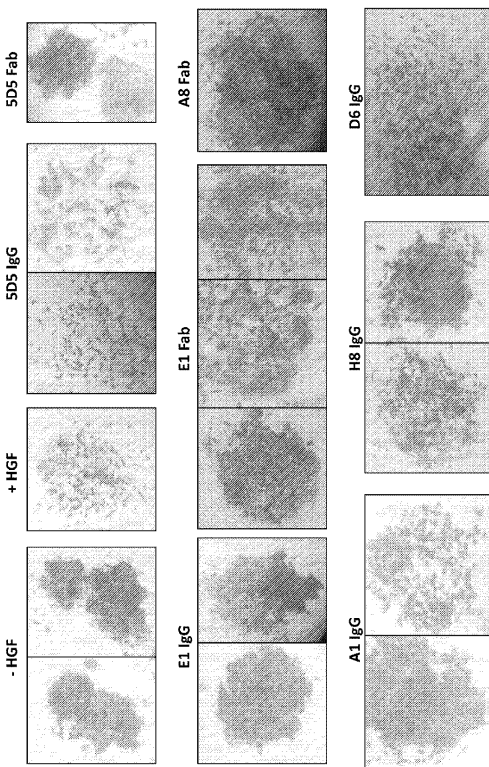
【図 5】

Figure 5. 細胞創傷治癒アッセイにおける抗c-Met抗体によるHGF刺激c-Met媒介細胞遊走の阻害



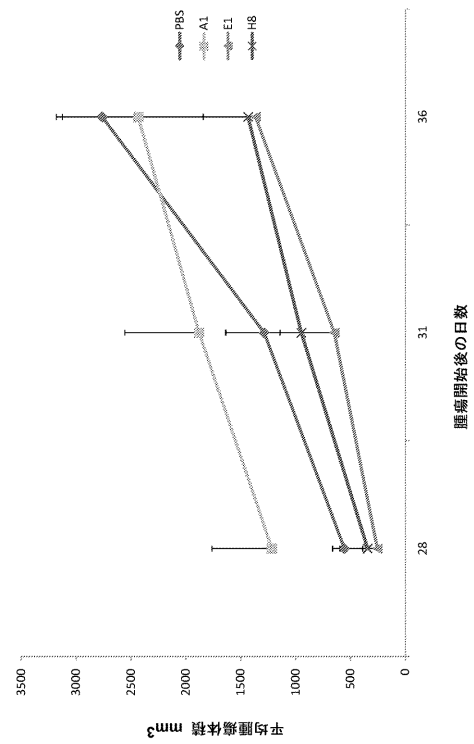
【図 6】

Figure 6. HGF/c-Met 散乱アッセイは、IgGおよびFab形式の抗c-Met抗体がHGF刺激c-Met媒介細胞運動を阻害できることを示す



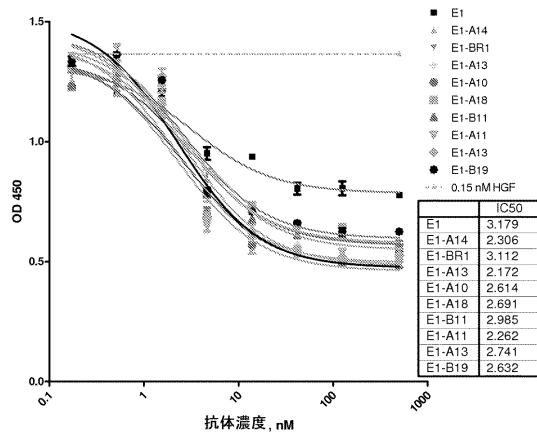
【図 7】

cMet Abs



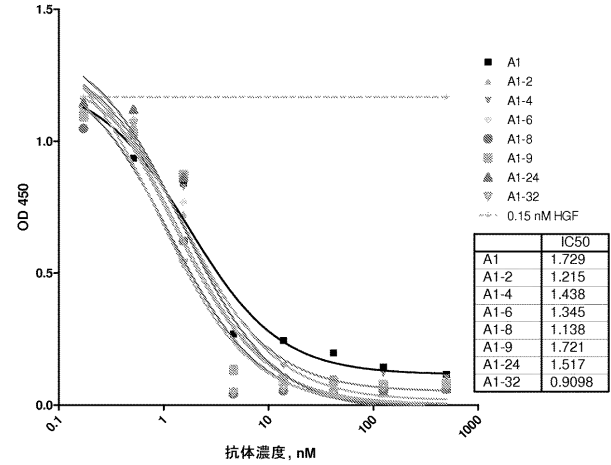
【図 8】

Figure 8



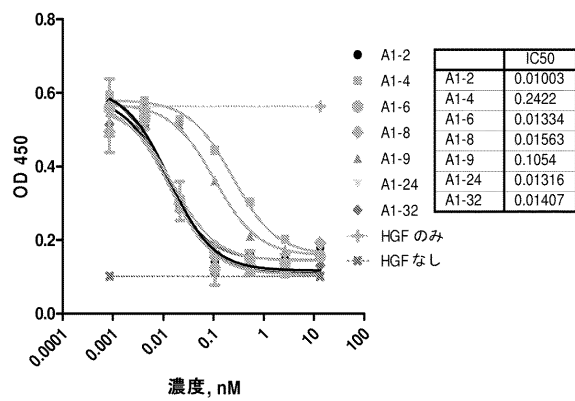
【図 9】

Figure 9



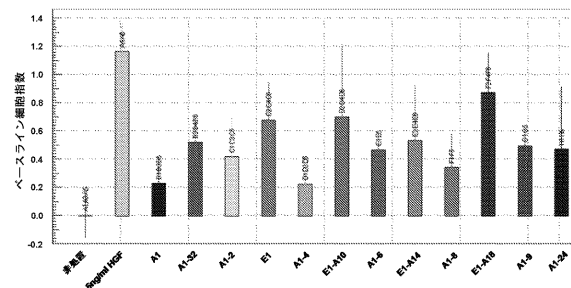
【図 10】

Figure 10



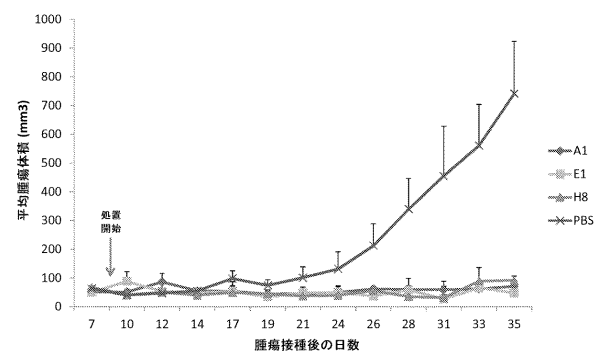
【図 12】

Figure 12



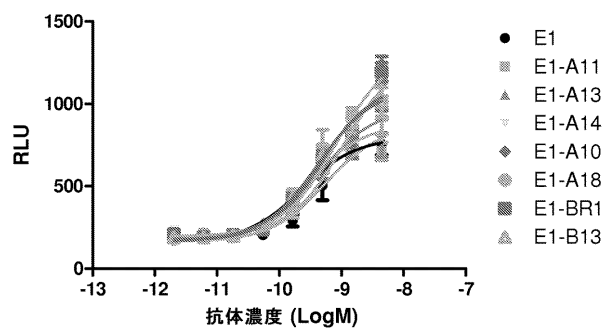
【図 13】

Figure 13



【図 11】

Figure 11



【配列表】

0006429771000001.app

フロントページの続き

- (72)発明者 バーバラ・エイ・スワンソン
アメリカ合衆国 9 2 0 2 4 カリフォルニア州エンシニータス、ウィロースプリング・ドライブ・ノース 1 4 0 2 番
- (72)発明者 ヘュー・ジョウ
アメリカ合衆国 9 2 1 2 6 カリフォルニア州サンディエゴ、ピア・バンコ 1 0 9 3 6 番
- (72)発明者 ヤン・リアン・ジャン
アメリカ合衆国 9 2 1 3 0 カリフォルニア州サンディエゴ、コルテ・メジローンズ 1 0 9 4 5 番
- (72)発明者 ランディ・ギャストワート
アメリカ合衆国 9 2 1 0 9 カリフォルニア州サンディエゴ、セコイア・ストリート 4 0 8 3 番

審査官 戸来 幸男

- (56)参考文献 国際公開第 2 0 1 2 / 0 3 0 8 4 2 (W O , A 2)
国際公開第 2 0 0 4 / 0 7 2 1 1 7 (W O , A 2)
特表 2 0 0 8 - 5 0 8 8 8 0 (J P , A)
特表 2 0 0 7 - 5 0 1 0 1 3 (J P , A)
特表 2 0 1 2 - 5 1 0 2 8 0 (J P , A)

(58)調査した分野(Int.Cl. , DB名)

C 0 7 K 1 6 / 0 0 - 1 6 / 4 6
C 1 2 N 1 5 / 0 0 - 1 5 / 9 0
C a p l u s / M E D L I N E / E M B A S E / B I O S I S (S T N)
J S T P l u s / J M E D P l u s / J S T 7 5 8 0 (J D r e a m I I I)
P u b M e d