



(19) 대한민국특허청(KR)  
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2018년01월04일  
(11) 등록번호 10-1814571  
(24) 등록일자 2017년12월27일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)  
C07K 16/30 (2006.01) A61K 39/395 (2006.01)  
A61P 35/00 (2006.01) C12N 15/13 (2006.01)  
(21) 출원번호 10-2012-7026370  
(22) 출원일자(국제) 2011년03월10일  
심사청구일자 2016년03월10일  
(85) 번역문제출일자 2012년10월09일  
(65) 공개번호 10-2013-0012128  
(43) 공개일자 2013년02월01일  
(86) 국제출원번호 PCT/EP2011/053646  
(87) 국제공개번호 WO 2011/110642  
국제공개일자 2011년09월15일  
(30) 우선권주장  
61/312,622 2010년03월10일 미국(US)  
(뒷면에 계속)  
(56) 선행기술조사문헌  
W02008145137 A2\*  
W02007126799 A2\*  
\*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자  
젠렘 에이/에스  
덴마크 1560 코펜하겐 브이 칼베보드 브뤼게 43  
(72) 발명자  
네이즈젠, 주스트, 제이.  
네덜란드 엔엘-3584 씨엠 우트레흐트 알레라안 60  
데 피이즈, 바트  
네덜란드 엔엘-3584 씨엠 우트레흐트 알레라안 60  
(뒷면에 계속)  
(74) 대리인  
양영준, 김영

전체 청구항 수 : 총 52 항

심사관 : 이현지

(54) 발명의 명칭 C-MET에 대한 모노클로날 항체

(57) 요약

인간 c-Met (간세포 성장 인자 수용체)에 결합하는 단리된 모노클로날 항체, 및 관련된 항체-기반 조성물 및 분자를 개시한다. 상기 항체를 포함하는 제약 조성물, 및 상기 항체를 사용하는 치료 및 진단 방법을 또한 개시한다.

(72) 발명자

**반 덴 브랑크, 에드워드**

네덜란드 엔엘-3584 씨엠 우트레흐트 알레라안 60

**라브리즌, 아란, 프랑크**

네덜란드 엔엘-3584 씨엠 우트레흐트 알레라안 60

**호에트, 레네, 엠., 에이.**

네덜란드 엔엘-3705 티비 자이스트 에겔링글라안 45

**슈우르만, 자닌**

네덜란드 엔엘-3584 씨엠 우트레흐트 알레라안 60

**파렌, 폴**

네덜란드 엔엘-3584 씨엠 우트레흐트 알레라안 60

**반 데 원켈, 잔**

네덜란드 엔엘-3584 씨엠 우트레흐트 알레라안 60

(30) 우선권주장

PA 2010 00191 2010년03월10일 덴마크(DK)

PA 2010 00862 2010년09월24일 덴마크(DK)

## 명세서

### 청구범위

#### 청구항 1

인간 c-Met에 결합하는 모노클로날 항체로서,

- a) 서열 34, 35 및 36의 CDR1, 2 및 3 서열을 포함하는 VH 영역 및 서열 38, 39 및 40의 CDR1, 2 및 3 서열을 포함하는 VL 영역을 포함하는 항체 (024),
- b) 서열 66, 67 및 68의 CDR1, 2 및 3 서열을 포함하는 VH 영역 및 서열 70, 71 및 72의 CDR1, 2 및 3 서열을 포함하는 VL 영역을 포함하는 항체 (061),
- c) 서열 74, 75 및 76의 CDR1, 2 및 3 서열을 포함하는 VH 영역 및 서열 78, 79 및 80의 CDR1, 2 및 3 서열을 포함하는 VL 영역을 포함하는 항체 (062),
- d) 서열 82, 83 및 84의 CDR1, 2 및 3 서열을 포함하는 VH 영역 및 서열 86, 87 및 88의 CDR1, 2 및 3 서열을 포함하는 VL 영역을 포함하는 항체 (064),
- e) 서열 90, 91 및 92의 CDR1, 2 및 3 서열을 포함하는 VH 영역 및 서열 94, 95 및 96의 CDR1, 2 및 3 서열을 포함하는 VL 영역을 포함하는 항체 (068),
- f) 서열 98, 99 및 100의 CDR1, 2 및 3 서열을 포함하는 VH 영역 및 서열 102, 103 및 104의 CDR1, 2 및 3 서열을 포함하는 VL 영역을 포함하는 항체 (069),
- g) 서열 130, 131 및 132의 CDR1, 2 및 3 서열을 포함하는 VH 영역 및 서열 134, 135 및 136의 CDR1, 2 및 3 서열을 포함하는 VL 영역을 포함하는 항체 (181),
- h) 서열 114, 115 및 116의 CDR1, 2 및 3 서열을 포함하는 VH 영역 및 서열 118, 119 및 120의 CDR1, 2 및 3 서열을 포함하는 VL 영역을 포함하는 항체 (098), 또는
- i) 서열 122, 123 및 124의 CDR1, 2 및 3 서열을 포함하는 VH 영역 및 서열 126, 127 및 128의 CDR1, 2 및 3 서열을 포함하는 VL 영역을 포함하는 항체 (101),

인 모노클로날 항체.

#### 청구항 2

제1항에 있어서,

- a) 서열 33의 서열을 포함하는 VH 영역 및 서열 37의 서열을 포함하는 VL 영역을 포함하는 항체 (024),
- b) 서열 65의 서열을 포함하는 VH 영역 및 서열 69의 서열을 포함하는 VL 영역을 포함하는 항체 (061),
- c) 서열 73의 서열을 포함하는 VH 영역 및 서열 77의 서열을 포함하는 VL 영역을 포함하는 항체 (062),
- d) 서열 81의 서열을 포함하는 VH 영역 및 서열 85의 서열을 포함하는 VL 영역을 포함하는 항체 (064),
- e) 서열 89의 서열을 포함하는 VH 영역 및 서열 93의 서열을 포함하는 VL 영역을 포함하는 항체 (068),
- f) 서열 97의 서열을 포함하는 VH 영역 및 서열 101의 서열을 포함하는 VL 영역을 포함하는 항체 (069),
- g) 서열 113의 서열을 포함하는 VH 영역 및 서열 117의 서열을 포함하는 VL 영역을 포함하는 항체 (098),
- h) 서열 121의 서열을 포함하는 VH 영역 및 서열 125의 서열을 포함하는 VL 영역을 포함하는 항체 (101),
- i) 서열 129의 서열을 포함하는 VH 영역 및 서열 133의 서열을 포함하는 VL 영역을 포함하는 항체 (181), 또는
- j) 상기 항체들의 변이체,

인 항체.

#### 청구항 3

제2항에 있어서, 상기 변이체가 최대 1, 2 또는 3개의 아미노산 변형을 갖는 것인 항체.

#### 청구항 4

제3항에 있어서, 상기 아미노산 변형이 아미노산 치환인 항체.

#### 청구항 5

제4항에 있어서, 상기 아미노산 치환이 보존적 아미노산 치환인 항체.

#### 청구항 6

제1항 또는 제2항에 있어서, c-Met의 SEMA 도메인에 결합하고, SEMA 도메인에 대한 HGF의 결합을 10  $\mu\text{g/mL}$  미만의  $\text{IC}_{50}$ 으로 억제하는 항체.

#### 청구항 7

제6항에 있어서, c-Met의 SEMA 도메인에 결합하고, SEMA 도메인에 대한 HGF의 결합을 2  $\mu\text{g/mL}$  미만의  $\text{IC}_{50}$ 으로 억제하는 항체.

#### 청구항 8

제1항 또는 제2항에 있어서, 10 nM 이하의  $\text{EC}_{50}$ 으로 A431 세포에 결합하는 항체.

#### 청구항 9

제8항에 있어서, 2 nM 이하의  $\text{EC}_{50}$ 으로 A431 세포에 결합하는 항체.

#### 청구항 10

제1항 또는 제2항에 있어서, 2가 항체인 항체.

#### 청구항 11

제1항 또는 제2항에 있어서, 20 nM 이하의 친화도 상수 ( $K_D$ )로 c-Met에 결합하는 항체.

#### 청구항 12

제11항에 있어서, 5 nM 이하의 친화도 상수 ( $K_D$ )로 c-Met에 결합하는 항체.

#### 청구항 13

제1항 또는 제2항에 있어서, c-Met의 세포외 도메인에 대한 HGF 결합의 40 % 초과를 억제하는 항체.

#### 청구항 14

제13항에 있어서, c-Met의 세포외 도메인에 대한 HGF 결합의 50 % 초과를 억제하는 항체.

#### 청구항 15

제13항에 있어서, c-Met의 세포외 도메인에 대한 HGF 결합의 60 % 초과를 억제하는 항체.

#### 청구항 16

제13항에 있어서, c-Met의 세포외 도메인에 대한 HGF 결합의 70 % 초과를 억제하는 항체.

#### 청구항 17

제13항에 있어서, c-Met의 세포외 도메인에 대한 HGF 결합의 80 % 초과를 억제하는 항체.

#### 청구항 18

제13항에 있어서, c-Met의 세포외 도메인에 대한 HGF 결합의 90 % 초과를 억제하는 항체.

**청구항 19**

제1항 또는 제2항에 있어서, KP4 세포의 생존력(viability)의 10 % 초과를 억제할 수 있는 항체.

**청구항 20**

제19항에 있어서, KP4 세포의 생존력의 25 % 초과를 억제할 수 있는 항체.

**청구항 21**

제19항에 있어서, KP4 세포의 생존력의 40 % 초과를 억제할 수 있는 항체.

**청구항 22**

제1항 또는 제2항에 있어서, 전장 항체인 항체.

**청구항 23**

제22항에 있어서, 전장 IgG1 항체인 항체.

**청구항 24**

제22항에 있어서, 전장 IgG1,  $\kappa$  항체인 항체.

**청구항 25**

제1항 또는 제2항에 있어서, 다른 모이어티에 접합된 항체.

**청구항 26**

제25항에 있어서, 상기 다른 모이어티가 세포독성 모이어티, 방사성동위원소 또는 약물인 항체.

**청구항 27**

제1항 또는 제2항에 있어서, 효과기(effector)-기능-결핍 항체인 항체.

**청구항 28**

제27항에 있어서, 안정화된 인간 IgG4 항체인 항체.

**청구항 29**

제28항에 있어서, 인간 IgG4의 중쇄 불변 영역 내의 위치 409의 아르기닌이 리신, 트레오닌, 메티오닌 또는 류신으로 치환되고/되거나 힌지 영역이 Cys-Pro-Pro-Cys 서열을 포함하는 항체인 항체.

**청구항 30**

제1항 또는 제2항에 있어서, 1가 항체인 항체.

**청구항 31**

제1항 또는 제2항에 있어서, 힌지 영역 돌연변이에 의해, 덜 가요성하도록 변형된 항체.

**청구항 32**

제31항에 있어서, IgG1 하위유형의 항체이고, 힌지 영역이

(i) 서열 EPKSCDKTHTCPPCP의 힌지 영역을 결실시키고 서열 ERKCCVECPPCP의 IgG2 힌지 영역으로 치환하는 것(IgG1 힌지-IgG2);

(ii) 위치 220을 결실시켜서 변형된 힌지 영역이 EPKSDKTHTCPPCP의 서열을 갖도록 하는 것(IgG1  $\Delta$ C220);

(iii) 위치 220의 시스테인을 임의의 다른 천연 아미노산(X)으로 치환시켜 변형된 힌지 영역이 EPKSDKTHTCPPCP의 서열을 갖도록 하는 것(IgG1 C220X);

(iv) 서열 EPKSCDKTHTCPPCP의 힌지 영역을 결실시키는 것(유니바디(UniBody) IgG1);

(v) 서열 EPKSCDKTHTCPPCP의 힌지 영역을 결실시키고 서열 ELKTPPLGDTHTCPRCPEPKSCDTPPPCPRCPEPKSCDTPPPCPRCPEPKSCDTPPPCPRC의 IgG3 힌지 영역으로 치환 시키는 것(IgG1 힌지-IgG3); 또는

(vi) 위치 223의 트레오닌을 시스테인으로 치환시키고 및 위치 222의 리신 및 위치 225의 트레오닌을 결실시켜서 변형된 힌지 영역이 EPKSCDCHCPPCP의 서열을 갖도록 하는 것(IgG1 TH7Δ6-9)

에 의해 변형된 것인 항체.

### 청구항 33

제32항에 있어서, 힌지 영역이 위치 220의 시스테인을 세린으로 치환함으로써 변형된 힌지 영역이 EPKSSDKTHTCPPCP의 서열 (IgG1 C220S)을 갖도록 변형된 것인 항체.

### 청구항 34

제1항 또는 제2항에 있어서, IgG2 하위유형인 항체.

### 청구항 35

제1항 또는 제2항에 있어서, 펄스 전류측정 검출과 결합된 고성능 음이온-교환 크로마토그래피(HPAEC-PAD)로 측정할 때 코어-푸코실화가 10% 미만으로 감소하도록 변형된 항체.

### 청구항 36

제35항에 있어서, 펄스 전류측정 검출과 결합된 고성능 음이온-교환 크로마토그래피(HPAEC-PAD)로 측정할 때 코어-푸코실화가 5% 미만으로 감소하도록 변형된 항체.

### 청구항 37

제1항 또는 제2항에 있어서, 제1항 또는 제2항에 정의된 c-Met 결합 부위, 및 상이한 결합 특이성을 갖는 제2 항원 결합 부위를 포함하는 이중특이적 항체인 항체.

### 청구항 38

제37항에 있어서, 상기 제2 항원 결합 부위가 인간 효과기 세포, 인간 Fc 수용체, B 세포 수용체 또는 c-Met의 비-중복 에피토프에 대한 결합 특이성을 갖는 것인 항체.

### 청구항 39

서열 33, 37, 65, 69, 73, 77, 81, 85, 89, 93, 97, 101, 113, 117, 121, 125, 129, 및 133으로 이루어진 군 중에서 선택된 하나 이상의 아미노산 서열을 코딩하는 폴리뉴클레오타이드 서열을 포함하는 핵산 분자.

### 청구항 40

제39항에 따른 폴리뉴클레오타이드 서열을 포함하고,

작동가능하게 연결된 항체의 경쇄의 불변 영역, 중쇄의 불변 영역 또는 경쇄 및 중쇄 둘 다의 불변 영역을 추가로 코딩하는 발현 벡터.

### 청구항 41

제1항 또는 제2항에 정의된 항체를 생산하는 재조합 진핵 또는 원핵 숙주 세포.

### 청구항 42

제1항 또는 제2항에 정의된 항체 및 제약상 허용되는 담체를 포함하는,

암 치료에 사용하기 위한 제약 조성물.

#### 청구항 43

제1항 또는 제2항에 따른 항체를 포함하는,  
암 치료를 위한 의약.

#### 청구항 44

제1항 또는 제2항에 따른 항체를 포함하는,  
HGF-의존성 암 또는 HGF-비의존성 암 치료에 사용하기 위한 의약.

#### 청구항 45

제1항 또는 제2항에 따른 항체를 포함하는,

방광암, 유방암, 자궁경부암, 담관암종, 결장직장암, 자궁내막암, 식도암, 위암, 두경부암, 신장암, 간암, 폐암, 비인두암, 난소암, 췌장암, 담낭암, 전립선암, 갑상선암, 골육종, 횡문근육종, 윤활막 육종, 카포시 (Kaposi) 육종, 평활근육종, 악성 섬유성 조직구종, 섬유육종, 급성 골수성 백혈병, 성인 T 세포 백혈병, 만성 골수성 백혈병, 림프종, 다발성 골수종, 교모세포종, 성상세포종, 흑색종, 중피종, 윌름 종양, 및 투명 세포 육종 (CCS), 포상 연부 육종 (ASPS) 및 전위-연관 신세포 암종을 포함하는 MiT 종양으로 이루어진 군 중에서 선택된 암의 치료에 사용하기 위한 의약.

#### 청구항 46

제43항에 있어서, 항체가 하나 이상의 추가의 치료제와 조합하여 암의 치료에 사용하기 위한 것인 의약.

#### 청구항 47

제46항에 있어서, 상기 추가의 치료제는 화학요법제인 의약.

#### 청구항 48

제1항 또는 제2항에 따른 항체를 포함하는, c-Met를 발현하는 종양 세포의 성장 및/또는 증식을 억제하기 위한 제약 조성물.

#### 청구항 49

a) 제41항에 따른 숙주 세포를 배양하는 단계, 및  
b) 배양 배지로부터 항체를 정제하는 단계  
를 포함하는, 제1항 또는 제2항에 따른 항체의 생산 방법.

#### 청구항 50

- 샘플을, 항체 및 c-Met 간의 복합체의 형성을 허용하는 조건 하에 제1항 또는 제2항에 따른 항체와 접촉시키고;  
- 복합체의 형성 여부를 분석하는 것  
을 포함하는, 샘플 중의 c-Met의 존재를 검출하는 방법.

#### 청구항 51

- 제1항 또는 제2항에 따른 항체; 및  
- 키트에 대한 사용 지침서  
를 포함하는, 샘플 중의 c-Met의 존재를 검출하기 위한 키트.

#### 청구항 52

제1항 또는 제2항에 따른 항체에 대한 항-이디오타입 항체.

### 청구항 53

삭제

### 청구항 54

삭제

### 청구항 55

삭제

### 청구항 56

삭제

### 청구항 57

삭제

## 발명의 설명

## 기술 분야

[0001] 본 발명은 인간 c-Met (간세포 성장 인자 수용체)에 대해 작용하는 모노클로날 항체, 및 상기 항체의 용도, 특히 암 치료에서의 그의 용도에 관한 것이다.

## 배경 기술

[0002] c-Met는 막-관통 수용체 티로신 키나제 단백질이다. 주로 단일쇄 전구체는 디설피드-연결되는 세포외  $\alpha$ -사슬 (50 kDa) 및 보다 긴 막횡단  $\beta$ -사슬 (145 kDa)로 이루어지는 c-Met 이종이량체의 성숙 형태를 생산하도록 번역 후에 절단된다 (Birchmeier et al. 2003. Nat Rev Mol Cell Biol 4:915). c-Met의 세포외 부분은 3개의 도메인 종류로 이루어진다. N-말단 SEMA 도메인은  $\alpha$ -하위단위 전부 및  $\beta$ -하위단위의 일부에 의해 형성되고, 세마 포린 단백질에 대한 상동성을 포함한다. SEMA 도메인 다음에 시스테인-풍부 도메인, 이어서 추가로 4개의 이뮤노글로불린-(Ig)-유사 도메인이 존재한다. 세포질 부분은 막근접 (juxtamembrane) 키나제 도메인 및 하류 신호 전달에 필수적인 카르복시-말단 테일 (tail)을 함유한다. c-Met에 대해 유일하게 알려진 고 친화도 리간드인 간세포 성장 인자 (HGF)는 정상 조건 하에 섬유모세포에 의해 (Li and Tseng 1995. J Cell Physiol 163:61) 및 종양 세포에 의해 (Ferracini et al. 1995. Oncogene 10:739)에 주로 발현된다. HGF (산란 인자 (SF)로도 칭함)는 단백질 분해에 의해 활성  $\alpha/\beta$  이종이량체로 전환되는 전구체로서 합성된다. 수용체-결합 단편의 결정 구조에 기초하여, HGF는 이량체로서 c-Met에 결합하는 것으로 생각된다 (Chirgadze et al. 1999. Nat Struct Biol 6:72). HGF- $\alpha$  사슬은 c-Met 내의 Ig-유사 도메인에 높은 친화도로 결합하지만, HGF- $\beta$  사슬은 c-Met SEMA 도메인에 낮은 친화도로 결합한다 (Basilico et al. 2008. J Biol Chem 283:21267). 후자의 상호작용은 활성 HGF 이종이량체의 결합시에 c-Met 이량체화 및 수용체 티로신 키나제 활성화를 책임진다. 수용체 자가인산화는, 그의 Gab1 (성장 인자 수용체-결합된 단백질 2 [Grb2]-회합 결합체 1) 결합이 주요 c-Met 하류 신호전달 경로에 필수적인 효과기의 동원을 위한 특유한 도킹 (docking) 부위를 생성한다 (Comoglio et al. 2008. Nat Rev Drug Discov 7:504):

[0003] - Ras-ERK1/2 경로: 증식.

[0004] - Ras-Rac 경로: 침습, 운동성, 상피-중배엽 세포 전이.

[0005] - PI3K-Akt 경로: 생존.

[0006] c-Met는 배아 발생 동안 및 성인기에서 간, 췌장, 전립선, 신장, 근육, 및 골수를 비롯하여 많은 장기의 상피 및 내피 세포의 표면 상에서 발현된다. c-Met 활성화는 증식, 운동성, 혈관신생 및 아포토시스로부터의 보호를 비롯한 일련의 과정으로 이루어지는 소위 "침습적 성장" 프로그램에서 필수적인 역할을 수행한다 (Boccaccio and Comoglio 2006. Nat Rev Cancer 6:637). 이들 c-Met-조절된 과정은 배발생, 간 및 심장 손상 복구 동안 정상 생리학적 조건 하에, 및 종양발생 동안 비정상적으로 발생한다 (Eder et al. 2009. Clin Cancer Res



15:2207).

- [0007] 부적절한 c-Met 신호전달은 실질적으로 모든 종류의 고형 종양, 예컨대 방광, 유방, 자궁경부, 결장직장, 위, 두경부, 간, 폐, 난소, 췌장, 전립선, 신장, 및 갑상선암에서, 및 다양한 육종, 조혈 악성종양, 및 흑색종에서 발생한다 ([Birchmeier et al. 2003. Nat Rev Mol Cell Biol 4:915]; [Comoglio et al. 2008. Nat Rev Drug Discov 7:504]; [Peruzzi and Bottaro 2006. Clin Cancer Res 12:3657]). c-Met의 종양원성의 기본적인 메카니즘은 일반적으로 다음과 같은 3가지 상이한 방식으로 달성된다:
- [0008] - 자가분비 HGF/c-Met 루프,
- [0009] - c-Met 또는 HGF 과다발현,
- [0010] - c-Met 수용체 코딩 서열의 키나제-활성화 돌연변이.
- [0011] 가장 특히, 유전성 유두상 신장암 환자에서 활성화 c-Met 돌연변이가 확인되었다 (Schmidt et al. 1997. Nat Genet 16:68). c-Met의 구성적 활성화는 증식성, 침습적, 생존률, 또는 혈관신생 암 표현형 중의 하나 또는 조합에 기여한다. 종양 세포에서 내인성으로 발현되는 c-Met의 유전자 침묵화는 증식 및 종양 성장 및 확립된 전이의 퇴행, 및 새로운 전이의 생성 감소를 유발하는 것으로 밝혀졌다 (Corso et al. 2008. Oncogene 27:684).
- [0012] c-Met는 개시로부터 진행을 통해 전이까지 암 발생의 여러 단계에 기여하기 때문에, c-Met 및 그의 리간드 HGF는 표적화 암 요법을 위한 선도적인 후보가 되어 왔다 ([Comoglio et al. 2008. Nat Rev Drug Discov 7:504]; [Knudsen and Vande Woude 2008. Curr Opin Genet Dev 18:87]). 몇몇 전략이 상기 목적에 도달하기 위해 연구되고 있다:
- [0013] - 디코이 (decoy) 수용체: HGF 또는 c-Met 또는 분자 유사체의 하위영역은 리간드 결합 또는 수용체 이량체화를 차단함으로써 화학양론적 경쟁자로서 길항 작용할 수 있다. HGF의 그러한 길항성 하위영역의 일례는 NK4 (크링글 파마 (Kringler Pharma))이다.
- [0014] - 소분자 티로신 키나제 억제제 (TKI): 임상 평가의 상이한 단계에서 3개의 c-Met-특이적 TKI는 ARQ197 (아르쿨 (ArQule)), JNJ 38877605 (존슨 & 존슨 (Johnson & Johnson)) 및 PF-04217903 (화이자 (Pfizer))이다.
- [0015] - 항-HGF 모노클로날 항체, 예컨대 AMG102, 킬로투무맙 (암젠 (Amgen)), HuL2G7 (다케다 (Takeda)), 및 AV-299 (쉐링 (Schering)).
- [0016] - 항-c-Met 모노클로날 항체는 W02005016382, W02006015371, W02007090807, W02007126799, W02009007427, W02009142738 및 문헌 [van der Horst et al. 2009. Neoplasia 11:355]에서 설명되었다. MetMab (제넨테크 (Genentech))은 c-Met의 세포외 도메인에 결합하여 HGF 결합 및 후속적인 수용체 활성화를 억제하는 인간화 1가 아암 (one-armed) OA-5D5 항체이다 (Jin et al. 2008. Cancer Res 68:4360). 마우스 이중이식편 모델에서, MetMab 처리는 HGF-유도 동소성 (orthotopic) 교모세포종 및 피하 췌장 종양의 종양 성장을 억제하는 것으로 밝혀졌다 ([Jin et al. 2008. Cancer Res 68:4360]; [Martens et al. 2006. Clin Cancer Res 12:6144]). h224G11 (피에르 바브르 (Pierre Fabre)) (Corvaia and Boute 2009. Abstract 835 AACR 100th Annual Meeting)은 인간화 2가 항-c-Met IgG1 항체이다. 상기 항체의 항-종양 효과는 마우스에서 관찰되었다 (Goetsch et al. 2009. Abstract 2792 AACR 100th Annual Meeting). CE-355621 (화이자)은 종양 이중이식편 모델에서 c-Met의 세포외 도메인에 결합함으로써 리간드 결합을 차단하고 HGF-의존 성장을 억제하는 인간 IgG2이다 (Tseng et al. 2008. J Nucl Med 49:129).
- [0017] 결론적으로, 몇몇 항-c-Met 생성물이 조사되고 있지만, 현재까지 항-c-Met 생성물은 치료 용도로 승인되지 않았다. 심각한 c-Met-관련 질환, 예컨대 암의 치료에 효과적이고 안전한 생성물에 대한 필요성이 계속 존재한다.

## 발명의 내용

### [0018] 발명의 개요

- [0019] 본 발명의 목적은 의료 용도를 위한, 신규한 고도로 특이적이고 효과적인 모노클로날 항-c-Met 항체를 제공하는 것이다. 본 발명의 항체는 당업계에 설명된 항체와 상이한 c-Met 결합 특징을 보인다. 바람직한 실시양태에서, 본 발명의 항체는 인간 c-Met를 향한 높은 친화도를 갖고, 길항성이고, 인간 환자에 사용하기 위한 유리한 약동학 프로파일을 갖는다.

## 도면의 간단한 설명

[0020]

도 1: HuMab 중쇄 가변 영역 서열의 정렬. 상기 서열을 기초로 하여, 컨센서스 서열이 일부의 CDR 서열에 대해 규정될 수 있다. 이들 컨센서스 서열은 표 4에 제시된다.

도 2: HuMab 경쇄 가변 영역 서열의 정렬. 상기 서열을 기초로 하여, 컨센서스 서열이 일부의 CDR 서열에 대해 규정될 수 있다. 이들 컨센서스 서열은 표 4에 제시된다.

도 3: c-Met 발현 A431 세포에 대한 항-c-Met 항체의 1가 및 2가 형태의 결합 곡선. 제시된 데이터는 한 대표적인 실험의 MFI이다. IgG1-024 및 d Uni-068은 A431 세포에 대해 포화 결합을 보이지 않기 때문에, EC<sub>50</sub> 값을 계산하는 것은 불가능하였다.

도 4: 붉은털원숭이 상피 세포 상에서 발현되는 c-Met에 대한 항체의 결합. 제시된 데이터는 하나의 실험의 MFI이다.

도 5: c-Met 수용체의 세포외 도메인에 대한 HGF 결합의 항-c-Met 항체-유도된 억제. 제시된 데이터는 한 대표적인 실험이다.

도 6: TR-FRET로 시험된 cMetSEMA\_567His8에 대한 결합에 대한 다양한 항-c-Met 항체의 HGF 결합 억제 곡선. 제시된 데이터는 3개의 독립 실험의 평균 MFI ± 표준 편차이다.

도 7: 비처리 세포 (0%)에 비해 항-c-Met 항체 처리 후에 생존가능 KP4 세포의 억제 백분율. 제시된 데이터는 2회의 독립 실험의 생존가능 세포의 억제 백분율 ± 표준 편차이다. IgG1-1016-022가 하나의 실험에서 유일하게 양성이었다.

도 8: SCID 마우스에서 KP4 이종이식편 모델에서 종양 성장을 억제하는 항-c-Met 항체의 효능. 마우스를 제9일에 400 µg 항체로, 이어서 매주 200 µg의 유지 용량으로 처리하였다. 처리군당 종양 크기의 중앙값이 제시된다.

도 9: SCID 마우스에서 KP4 이종이식편 모델에서 종양 성장을 억제하는 항-c-Met 항체의 효능. 마우스를 제9일에 400 µg 항체로, 이어서 매주 200 µg의 유지 용량으로 처리하였다. 종양 발생률에 대한 처리 시간의 효과. 종양 비함유 마우스의 백분율이 제시된다 (종양 크기 < 500 mm<sup>3</sup>). 종양 형성은 대조군 항체에 비해 길항작용 항체로 처리된 마우스에서 지연된다.

도 10: SCID 마우스에서 MKN45 이종이식편 모델에서 종양 성장을 억제하는 항-c-Met 항체의 효능. 마우스를 제7일에 40 mg/kg 항체로, 제14, 21 및 28일에 20 mg/kg 항체로 처리하였다. 처리군당 50%의 마우스가 700 mm<sup>3</sup> 종점에 도달할 때까지의 종양 크기의 중앙값을 제시한다.

도 11: SCID 마우스에서 MKN45 이종이식편 모델에서 종양 성장을 억제하는 항-c-Met 항체의 효능. 마우스를 제7일에 40 mg/kg 항체로, 제14, 21 및 28일에 20 mg/kg 항체로 처리하였다. 종양 크기가 700 mm<sup>3</sup>보다 작은 마우스 백분율을 카플란 마이어 (Kaplan Meier) 곡선으로 제시한다. 종양 형성은 이소형 대조군 항체에 비해 항-c-Met 항체로 처리된 마우스에서 지연된다.

도 12: 효능작용 활성화에 대한 항체 가요성의 효과를 측정하기 위한 KP4 생존력 검정. IgA2m(1) 포맷은 동일한 항체의 IgA1 및 IgG1 포맷과 대조적으로 증식을 유도하지 않았다. 5D5 항-c-Met 항체의 변이체 (US6468529 및 실시예 2 참조)를 본 실험에서 사용하였다.

도 13: (069)의 가요성 돌연변이체의 비-환원 SDS-PAGE 분석. 비정상적인 다량체 또는 분해 생성물은 관찰되지 않은 반면, 경쇄 페어링 (paring)은 C220S, △C220 및 IgG1-힌지 IgG3 돌연변이체에서 50 kD 밴드 ((LC)<sub>2</sub>)로서 볼 수 있었다.

도 14: c-Met 항체의 힌지 돌연변이체의 c-Met 결합을 측정하는 항원 결합 ELISA. 모든 돌연변이체는 ELISA에 제시된 바와 같이 c-Met에 비슷한 친화도로 결합한다.

도 15: c-Met에 대한 항체의 효능작용 활성화의 관독으로서의 c-Met 인산화. 도 15는 A549 용해물; 인산화된 c-met, 총 c-Met 또는 β-액틴에 대한 항체로 염색된 막의 웨스턴 블롯 결과를 보여준다.

도 16: NCI-H441 세포를 사용한 증식 검정. 세포 질량을 항체 또는 대조군의 존재 하에서 7일 인큐베이션한 후

에 측정하고, 비-처리된 샘플 (100%로 설정됨)의 백분율로서 그래프로 나타냈다.

도 17: KP4 생존력 검정. KP4 세포의 총 생존력에 대한 c-Met에 대한 항체의 효과를 시험하였다. KP4의 생존력을 감소시키는 IgG1-1016-069의 능력은 항체의 가요성을 감소시키는 돌연변이의 도입에 의해 보유 및/또는 개선되었다.

도 18: ELISA를 사용하여 A549 용해물 내의 총 c-Met 수준으로서 측정된 하향조정. 항체 (069)의 모든 변이체는 하향-조정능을 보유하였다.

도 19: 항체 IgG1-1016-069의 고 및 저 푸코스 형태를 비교하기 위한 ADCC 검정.

도 20: FACS 결합 검정에서 전혈 내의 세포에 대한 c-Met 항체의 결합의 결여. B 세포; 단핵구 및 과립구에 대한 결과를 제시한다.

## 발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

### [0021] 발명의 상세한 설명

#### [0022] 정의

[0023] 본원에서 사용되는 용어 "c-Met"는 간세포 성장 인자 수용체 (진뱅크(Genbank) 수탁번호 NM 000245)를 의미하고, 세포에 의해 천연적으로 발현되거나 c-Met 유전자로 형질감염된 세포에서 발현되는 인간 c-Met의 임의의 변이체, 이소형 및 중 상동체를 포함한다.

[0024] 용어 "이뮤노글로불린"은 4개 모두가 디설피드 결합에 의해 상호연결된 한 쌍의 저분자량 경쇄 (L) 및 한 쌍의 중쇄 (H)의 2쌍의 폴리펩티드 사슬로 이루어지는, 구조상 관련된 당단백질의 부류를 나타낸다. 이뮤노글로불린의 구조는 특징이 잘 결정되어 있다 (예컨대, 문헌 [Fundamental Immunology Ch. 7 (Paul, W., ed., 2nd ed. Raven Press, N. Y. (1989)) 참조]. 간단히 설명하면, 각각의 중쇄는 대개 중쇄 가변 영역 (본원에서  $V_H$  또는  $VH$ 로 약칭함) 및 중쇄 불변 영역으로 이루어진다. 중쇄 불변 영역은 대개 3개의 도메인, 즉  $C_H1$ ,  $C_H2$  및  $C_H3$ 로 이루어진다. 각각의 경쇄는 대개 경쇄 가변 영역 (본원에서  $V_L$  또는  $VL$ 로 약칭함) 및 경쇄 불변 영역으로 이루어진다. 경쇄 불변 영역은 대개 1개의 도메인  $C_L$ 로 이루어진다.  $V_H$  및  $V_L$  영역은 상보성 결정 영역 (CDR)으로도 불리는 추가변 영역 (또는 서열이 추가변성이고/이거나 구조적으로 규정된 루프를 형성할 수 있는 추가변 영역)으로 추가로 세분될 수 있고, 이들 영역에는 프레임워크 영역 (FR)으로 불리는 보다 보존된 영역이 산재되어 있다. 각각의  $V_H$  및  $V_L$ 은 대개 3개의 CDR 및 4개의 FR로 이루어지고, 이들은 아미노-말단에서 카르복시-말단으로 다음 순서로 배열되어 있다: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4 (또한, 문헌 [Chothia and Lesk J. Mol. Biol. 196, 901-917 (1987)) 참조]. 일반적으로, 상기 영역 내에서 아미노산 잔기의 넘버링은 문헌 [Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD. (1991)]에 기재된 방법에 따른다 (본원에서 카바트 (Kabat)에 서와 같은 또는 카바트에 따른 가변 도메인 잔기 넘버링과 같은 문구는 중쇄 가변 도메인 또는 경쇄 가변 도메인에 대한 상기 넘버링 시스템을 의미한다). 상기 넘버링 시스템을 사용하여, 펩티드의 실제 선형 아미노산 서열은 가변 도메인의 FR 또는 CDR의 단축, 또는 그 내부로의 삽입에 대응하는 보다 적은 아미노산 또는 추가의 아미노산을 함유할 수 있다. 예를 들어, 중쇄 가변 도메인은  $V_H$  CDR2의 잔기 52 다음의 단일 아미노산 삽입체 (카바트에 따른 잔기 52a) 및 중쇄 FR 잔기 82 다음의 삽입 잔기 (예컨대, 카바트에 따른 잔기 82a, 82b, 및 82c 등)를 포함할 수 있다. 잔기의 카바트 넘버링은 항체 서열을 "표준" 카바트 넘버링된 서열과 상동성 영역에서 정렬함으로써 제시된 항체에 대해 결정될 수 있다.

[0025] 본 발명의 문맥에서 용어 "항체" (Ab)는 이뮤노글로불린 분자, 이뮤노글로불린 분자의 단편, 또는 이들의 유도체를 지칭하고, 이는 전형적인 생리학적 조건 하에 적어도 약 30분, 적어도 약 45분, 적어도 약 1시간, 적어도 약 2시간, 적어도 약 4시간, 적어도 약 8시간, 적어도 약 12시간, 약 24시간 또는 그 초과, 약 48시간 또는 그 초과, 약 3, 4, 5, 6, 7일 또는 그 초과 등과 같은 유의한 기간의 시간, 또는 임의의 기타 관련된 기능적으로 정의된 기간 (예컨대, 항원에 대한 항체 결합과 관련된 생리학적 반응을 유도하고/하거나, 촉진하고/하거나, 증강시키고/시키거나 조정하는데 충분한 시간 및/또는 효과가 활성을 동원하는데 충분한 시간)의 반감기로 항원에 특이적으로 결합하는 능력을 갖는다. 이뮤노글로불린 분자의 중쇄 및 경쇄의 가변 영역은 항원과 상호작용하는 결합 도메인을 함유한다. 항체 (Ab)의 불변 영역은 면역계의 다양한 세포 (예컨대 효과기 세포) 및 보체계의 성분, 예를 들어 고전적인 보체 활성화 경로의 제1 성분인 C1q가 포함되는 숙주 조직 또는 인자에 대한 이뮤노

글로불린의 결합을 매개할 수 있다. 항-c-Met 항체는 이중특이적 항체, 디아바디 (diabody), 또는 유사 분자일 수 있다 (디아바디의 설명에 대해서는, 예를 들어 문헌 [PNAS USA 90(14), 6444-8 (1993)] 참조). 실제로, 본 발명에 의해 제공되는 이중특이적 항체, 디아바디 등은 c-Met의 일부에 더하여 임의의 적합한 표적에 결합할 수 있다. 상기 나타낸 바와 같이, 본원에서 용어 항체는 달리 언급되거나 문맥적으로 명백하게 모순되지 않는 한, 항원에 특이적으로 결합하는 능력이 유지된 항체의 단편을 포함한다. 항체의 항원-결합 기능이 전장 항체의 단편에 의해 수행될 수 있는 것으로 나타났다. 용어 "항체" 내에 포함되는 결합 단편의 예로는 하기의 것들이 포함된다: (i)  $V_L$ ,  $V_H$ ,  $C_L$  및  $C_H1$  도메인으로 이루어진 1가 단편인 Fab' 또는 Fab 단편, 또는 W02007059782 (젠맵 (Genmab))에 기재된 바와 같은 1가 항체; (ii) 힌지 영역에서 디설피드 가교에 의해 연결된 두 개의 Fab 단편을 포함하는 2가 단편인  $F(ab')_2$  단편; (iii)  $V_H$  및  $C_H1$  도메인으로 본질적으로 이루어진 Fd 단편; (iv) 항체의 단일 아암의  $V_L$  및  $V_H$  도메인으로 본질적으로 이루어진 Fv 단편; (v)  $V_H$  도메인으로 본질적으로 이루어지고 도메인 항체 (Holt et al., Trends Biotechnol. 2003 Nov;21(11):484-90)로도 불리는 dAb 단편 (Ward et al., Nature 341, 544-546 (1989)); (vi) 카멜리드 (camelid) 또는 나노바디 (nanobody) (Revets et al., Expert Opin Biol Ther. 2005 Jan;5(1):111-24) 및 (vii) 단리된 상보성 결정 영역 (CDR). 또한, Fv 단편의 두 도메인인  $V_L$  및  $V_H$ 가 별개의 유전자에 의해 코딩되더라도, 재조합 방법을 사용하여,  $V_L$  및  $V_H$  영역이 쌍을 이루어 1가 분자 (단일쇄 항체 또는 단일쇄 Fv (scFv)로 공지됨)를 형성하는 단일 단백질 사슬로 만들어지도록 할 수 있는 합성 링커에 의해 두 도메인을 연결할 수 있다 (예컨대, 문헌 [Bird et al., Science 242, 423-426 (1988)] 및 [Huston et al., PNAS USA 85, 5879-5883 (1988)] 참조). 이와 같은 단일쇄 항체는 달리 언급되거나 문맥적으로 명백하게 지시되지 않는 한, 용어 항체 내에 포함된다. 상기 단편이 항체의 의미 내에 일반적으로 포함되지만, 이는 총괄적으로, 그리고 각각 독립적으로, 상이한 생물학적 특성 및 용도를 나타내는 본 발명의 독특한 특징이다. 본 발명의 문맥 내의 상기 및 기타 유용한 항체 단편이 본원에서 추가로 논의된다. 달리 나타내지 않으면, 용어 항체에는 폴리클로날 항체, 모노클로날 항체 (mAb), 항체-유사 폴리펩티드, 예컨대 키메라 항체 및 인간화 항체, 및 임의의 공지의 기술, 예를 들어 효소 절단, 펩티드 합성, 및 재조합 기술에 의해 제공되는, 항원에 특이적으로 결합하는 능력이 유지된 항체 단편 (항원-결합 단편)이 일반적으로 포함된다는 것을 또한 이해하여야 한다. 생성된 항체는 임의의 이소형을 가질 수 있다.

[0026] 본원에서 사용되는 바와 같이, "이소형"은 중쇄 불변 영역 유전자에 의해 코딩되는 이뮤노글로불린 클래스 (예컨대 IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgD, IgA, IgE, 또는 IgM)를 의미한다.

[0027] 용어 "1가 항체"는 본 발명의 측면에서 항체 분자가 항원의 단일 분자에 결합할 수 있고, 따라서 항원에 가교결합할 수 없음을 의미한다.

[0028] "효과기 기능이 결핍된 항체" 또는 "효과기-기능-결핍 항체"는 하나 이상의 효과기 메카니즘, 예를 들어 보체 활성화 또는 Fc 수용체 결합을 활성화하는 능력이 유의하게 감소되거나 결여된 항체를 의미한다. 따라서, 효과기-기능 결여 항체는 항체-의존성 세포-매개 세포독성 (ADCC) 및/또는 보체-의존성 세포독성 (CDC)을 매개하는 능력이 유의하게 감소되거나 결여된다. 그러한 항체의 예는 IgG4이다.

[0029] "항-c-Met 항체"는 항원 c-Met에 특이적으로 결합하는 상기 설명된 항체이다.

[0030] 본원에 사용된 용어 "인간 항체"는 인간 배선 (germline) 이뮤노글로불린 서열로부터 유래된 가변 및 불변 영역을 갖는 항체를 포함하도록 의도된다. 본 발명의 인간 항체는 인간 배선 이뮤노글로불린 서열에 의해 코딩되지 않는 아미노산 잔기 (예컨대, 시험관 내에서 무작위 또는 부위-특이적 돌연변이 유발에 의해 또는 생체 내에서 체세포 돌연변이에 의해 도입된 돌연변이)를 포함할 수 있다. 그러나, 본원에 사용된 용어 "인간 항체"는 마우스와 같은 또 다른 포유동물 종의 배선으로부터 유래된 CDR 서열이 인간 프레임워크 서열 상에 그래프팅된 항체를 포함하도록 의도된 것은 아니다.

[0031] 본원에서 사용되는 바와 같이, 인간 항체는 예를 들어 인간 이뮤노글로불린 유전자를 갖는 트랜스제닉 (transgenic) 마우스를 면역화시킴으로써 또는 인간 이뮤노글로불린 유전자 라이브러리를 스크리닝함으로써, 인간 이뮤노글로불린 서열을 사용하는 시스템으로부터 항체가 수득된다면 특정 배선 서열"로부터 유래"된 것이고, 이때 선택된 인간 항체는 배선 이뮤노글로불린 유전자에 의해 코딩되는 아미노산 서열에 대해 아미노산 서열이 적어도 90%, 예컨대 적어도 95%, 예를 들어 적어도 96%, 예컨대 적어도 97%, 예를 들어 적어도 98%, 또는 예컨대 적어도 99% 동일하다. 일반적으로, 중쇄 CDR3 외부에서, 특정 인간 배선 서열로부터 유래된 인간 항체는 배선 이뮤노글로불린 유전자에 의해 코딩되는 아미노산 서열과 20개 이하의 아미노산 차이, 예컨대 10개 이하의 아미노산 차이, 예컨대 9, 8, 7, 6 또는 5개 이하, 예를 들어 4, 3, 2 또는 1개 이하의 아미노산 차이를 나타낼



것이다.

- [0032] 바람직한 실시양태에서, 본 발명의 항체는 단리된다. 본원에 사용된 용어 "단리된 항체"는 상이한 항원 특이성을 갖는 다른 항체가 실질적으로 없는 항체를 지칭하도록 의도된다 (예컨대, c-Met에 특이적으로 결합하는 단리된 항체에는 c-Met 이외의 다른 항원에 특이적으로 결합하는 항체가 실질적으로 없다). 그러나, 인간 c-Met의 에피토프, 이소형 또는 변이체에 특이적으로 결합하는 단리된 항체는 다른 관련 항원, 예를 들어, 다른 종으로부터의 항원 (예컨대 c-Met 종 상동체)에 대해 교차 반응성을 가질 수 있다. 또한, 단리된 항체에는 다른 세포 물질 및/또는 화합물이 실질적으로 없을 수 있다. 본 발명의 한 실시양태에서, 상이한 항원-결합 특이성을 갖는 2 이상의 "단리된" 모노클로날 항체가 잘 규정된 조성으로 조합된다.
- [0033] 2 이상의 항체의 문맥에서 본원에서 사용될 때, 용어 "와 경쟁하다" 또는 "와 교차 경쟁하다"는 2 이상의 항체가 c-Met에 대한 결합을 위해 경쟁, 예를 들어 본원의 실시예에서 설명되는 검정에서 c-Met 결합을 위해 경쟁함을 나타낸다. 몇몇 쌍의 항체에서, 실시예의 검정에서의 경쟁은 하나의 항체가 플레이트에 코팅되고 다른 항체는 경쟁을 위해 사용될 경우에만 관찰되고, 그 반대의 경우에는 관찰되지 않는다. 또한, 본원에서 사용될 때, 용어 "와 경쟁하다"는 상기 항체의 조합을 포함하는 것으로 의도된다.
- [0034] 용어 "에피토프"는 항체에 특이적으로 결합할 수 있는 단백질 결정인자를 의미한다. 에피토프는 대체로 아미노산 또는 당 측쇄와 같은 분자의 표면기로 이루어지고, 일반적으로 특이적인 3차원 구조 특성 및 특이적 전하 특성을 갖는다. 입체형태적 및 비-입체형태적 에피토프는 변성 용매의 존재 하에서 입체형태적 에피토프에 대한 결합은 손실되지만 비-입체형태적 에피토프에 대해서는 손실되지 않는다는 점에서 구별된다. 에피토프는 결합에 직접 관련되는 아미노산 잔기 (에피토프의 면역우성 성분으로도 칭해짐) 및 결합에 직접 관련되지 않는 기타 아미노산 잔기, 예컨대 특이적 항원 결합 펩티드에 의해 효과적으로 차단되는 아미노산 잔기 (즉, 아미노산 잔기가 특이적 항원 결합 펩티드의 풋프린트 (footprint) 내에 존재함)를 포함할 수 있다.
- [0035] 본원에 사용될 때, 용어 "모노클로날 항체"는 단일 분자 조성의 항체 분자의 제제를 지칭한다. 모노클로날 항체 조성물은 특정 에피토프에 대한 단일 결합 특이성 및 친화도를 보인다. 따라서, 용어 "인간 모노클로날 항체"는 인간 배선 이뮤노글로불린 서열로부터 유래된 가변 및 불변 영역을 갖는, 단일 결합 특이성을 나타내는 항체를 말한다. 인간 모노클로날 항체는 불멸화 세포에 융합된, 인간 중쇄 트랜스젠 (transgene) 및 경쇄 트랜스진을 포함하는 게놈을 갖는 트랜스제닉 또는 트랜스크로모조멀 (transchromosomal) 비-인간 동물, 예컨대 트랜스제닉 마우스로부터 획득된 B 세포를 포함하는 하이브리도마에 의해 생성될 수 있다.
- [0036] 본원에서 사용되는 바와 같이, 소정의 항원에 대한 항체의 결합이라는 맥락에서 용어 "결합"은 일반적으로 예를 들어 항원을 리간드로, 항체를 분석물로 사용하여 비아코어(BIAcore) 3000 기기에서 표면 플라즈몬 공명 (SPR) 기술에 의해 측정하는 경우, 약  $10^{-7}$  M 이하, 예컨대 약  $10^{-8}$  M 이하, 예컨대 약  $10^{-9}$  M 이하, 약  $10^{-10}$  M 이하, 또는 약  $10^{-11}$  M 또는 심지어 그 이하의  $K_D$ 에 상응하는 친화도의 결합이고, 소정의 항원 또는 밀접하게 관련된 항원 이외의 비-특이적 항원 (예컨대, BSA, 카제인)에 대한 결합을 위한 그의 결합 친화도보다 10배 이상 낮은, 예컨대 100배 이상 낮은, 예를 들어 1,000배 이상 낮은, 예컨대 10,000배 이상 낮은, 예를 들어 100,000배 이상 낮은  $K_D$ 에 상응하는 친화도로 소정의 항원에 결합한다. 친화도가 더 낮은 양은 항체의  $K_D$ 에 의존적이기 때문에, 항체의  $K_D$ 가 매우 낮으면 (즉, 항체가 고도로 특이적이면), 항원에 대한 친화도가 비-특이적 항원에 대한 친화도보다 더 낮은 양은 10,000배 이상일 수 있다.
- [0037] 본원에 사용된 용어 " $k_d$ " ( $\text{sec}^{-1}$ )는 특정 항체-항원 상호작용의 해리 속도 상수를 지칭한다. 상기 값은  $k_{\text{off}}$  값으로도 지칭된다.
- [0038] 본원에 사용된 용어 " $k_a$ " ( $\text{M}^{-1} \times \text{sec}^{-1}$ )는 특정 항체-항원 상호작용의 회합 속도 상수를 지칭한다.
- [0039] 본원에 사용된 용어 " $K_D$ " (M)는 특정 항체-항원 상호작용의 해리 평형 상수를 지칭한다.
- [0040] 본원에 사용된 용어 " $K_A$ " ( $\text{M}^{-1}$ )는 특정 항체-항원 상호작용의 회합 평형 상수를 지칭하고,  $k_d$ 를  $k_d$ 로 나누어 수득된다.
- [0041] 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "성장을 억제하다" (예컨대, 세포, 예컨대 종양 세포를 지칭하는 경우)는 항-c-Met 항체와 접촉되지 않은 동일한 세포의 성장과 비교하여 항-c-Met 항체와 접촉되었을 때 세포 성장의 임

의의 측정가능한 감소, 예를 들어 적어도 약 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 99%, 또는 100%의 세포 배양액의 성장 억제를 포함하도록 의도된다. 상기 세포 성장의 감소는 다양한 메카니즘, 예를 들어 효과 기 세포 포식작용, ADCC, CDC, 및/또는 아포토시스에 의해 발생할 수 있다.

[0042] 또한, 본 발명은 예시된 항체의  $V_L$  영역,  $V_H$  영역, 또는 하나 이상의 CDR의 기능적 변이체를 포함하는 항체를 제공한다. 항-c-Met 항체에 대해 사용되는  $V_L$ ,  $V_H$ , 또는 CDR의 기능적 변이체는 항체가 모 항체의 친화도/결합력 (avidity) 및/또는 특이성/선택성의 적어도 실질적인 비율 (적어도 약 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95% 또는 그 초과)을 계속 보유할 수 있도록 하고, 일부 경우에 상기 항-c-Met 항체는 모 항체보다 더 큰 친화도, 선택성 및/또는 특이성과 연관될 수 있다.

[0043] 상기 기능적 변이체는 일반적으로 모 항체에 대한 유의한 서열 동일성을 보유한다. 두 서열 간의 동일성 %는 두 서열의 최적 정렬을 위해 도입될 필요가 있는 갭 (gap)의 수 및 각각의 갭의 길이를 고려하여 서열에 의해 공유되는 동일한 위치의 수의 함수이다 (즉, % 상동성 = [동일한 위치의 #/위치의 총 #] x 100). 또한, 두 뉴클레오타이드 또는 아미노산 서열 간의 동일성 %는 PAM120 가중치 잔기표, 12의 갭 길이 페널티 및 4의 갭 페널티를 사용하여, ALIGN 프로그램 (버전 2.0)에 포함된 문헌 [E. Meyers and W. Miller, Comput. Appl. Biosci 4:11-17 (1988)]의 알고리즘을 이용하여 결정할 수도 있다. 또한, 두 아미노산 서열 간의 동일성 %는 문헌 [Needleman and Wunsch, J. Mol. Biol. 48:444-453 (1970)]의 알고리즘을 사용하여 결정할 수 있다.

[0044] CDR 변이체의 서열은 대부분 보존적 치환을 통해 모 항체 서열의 CDR 서열과 상이할 수 있고; 예를 들어 변이체 내의 적어도 10개, 예컨대 적어도 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 또는 1개의 치환이 보존적 아미노산 잔기 대체이다.

[0045] 본 발명의 맥락에서, 보존적 치환은 다음 표에 반영되는 아미노산의 클래스 내에서의 치환에 의해 규정될 수 있다:

[0046] 보존적 치환을 위한 아미노산 잔기 클래스

산성 잔기	Asp (D) 및 Glu (E)
염기성 잔기	Lys (K), Arg (R), 및 His (H)
친수성 비하전 잔기	Ser (S), Thr (T), Asn (N), 및 Gln (Q)
지방족 비하전 잔기	Gly (G), Ala (A), Val (V), Leu (L), 및 Ile (I)
비극성 비하전 잔기	Cys (C), Met (M), 및 Pro (P)
방향족 잔기	Phe (F), Tyr (Y), 및 Trp (W)

[0047]

[0048] 본원에서 사용되는 용어 "재조합 숙주 세포" (또는 단순히 "숙주 세포")는 발현 벡터, 예를 들어 본 발명의 항체를 코딩하는 발현 벡터가 도입된 세포를 지칭하도록 의도된다. 재조합 숙주 세포는 예를 들어, 트랜스펙토마 (transfectoma), 예컨대 CHO 세포, HEK293 세포, NS/O 세포, 및 림프구성 세포를 포함한다.

[0049] 용어 "트랜스제닉 비-인간 동물"은 1개 이상의 인간 중쇄 및/또는 경쇄 트랜스진 또는 트랜스크로모솜 (transchromosome) (동물의 천연 게놈 DNA 내로 통합되거나 통합되지 않음)을 포함하는 게놈을 갖고 완전한 인간 항체를 발현할 수 있는 비-인간 동물을 지칭한다. 예를 들어, 트랜스제닉 마우스는, c-Met 항원 및/또는 c-Met를 발현하는 세포로 면역화되는 경우 마우스가 인간 항-c-Met 항체를 생산하도록, 인간 경쇄 트랜스진, 및 인간 중쇄 트랜스진 또는 인간 중쇄 트랜스크로모솜을 가질 수 있다. 인간 중쇄 트랜스진은 트랜스제닉 마우스, 예를 들어 HuMAb 마우스, 예컨대 HCo7 또는 HCo12 마우스에서와 같이 마우스의 염색체 DNA 내로 통합될 수 있거나, 또는 인간 중쇄 트랜스진은 W002/43478에 기재된 바와 같은 트랜스크로모솜 KM 마우스에서와 같이 염색체 외부에 유지될 수 있다. 보다 큰 인간 Ab 유전자 레퍼토리를 갖는 유사한 마우스는 HCo7 및 HCo20을 포함한다 (예컨대 W02009097006 참조). 이같은 트랜스제닉 및 트랜스크로모솜 마우스 (본원에서 "트랜스제닉 마우스"로 총칭함)는 V-D-J 재조합 및 이소형 스위칭을 거침으로써 제시된 항원에 대한 인간 모노클로날 항체의 다수의 이소형 (예컨대 IgG, IgA, IgM, IgD 및/또는 IgE)를 생산할 수 있다. 또한, 트랜스제닉 비-인간 동물은 특정 항체를 코딩하는 유전자를 도입함으로써, 예를 들어, 유전자를 동물의 유즙에서 발현되는 유전자에 작동가능하게 연결시킴으로써, 특정 항원에 대한 항체를 생산하는데 사용될 수 있다.

[0050] "치료"는 증상 또는 질환 상태의 진정, 개선, 정지 또는 근절 (치유)을 목적으로 유효량의 본 발명의 치료 활성 화합물을 투여하는 것을 의미한다.

[0051] "유효량"은 목적하는 치료 결과의 달성에 필요한 투여량에서 및 필요한 시간 동안 효과적인 양을 의미한다. 항-c-Met 항체의 치료 유효량은 개체의 질환 상태, 연령, 성별, 및 체중, 및 개체에서 목적하는 반응을 유도하는 항-c-Met 항체의 능력과 같은 인자에 따라 상이할 수 있다. 또한, 치료 유효량은 항체 또는 항체 일부의 임의

의 독성 또는 유해한 효과가 치료상 유익한 효과보다 크지 않은 양이다.

[0052] "항-이디오타입" 항체는 일반적으로 항체의 항원-결합 부위와 관련되는 특유한 결정인자를 인식하는 항체이다.

[0053] 본 발명의 추가의 측면 및 실시양태

[0054] 상기한 바와 같이, 제1 측면에서, 본 발명은 인간 c-Met에 결합하는 모노클로날 항체에 관한 것이다.

[0055] 본 발명의 모노클로날 항체는 예를 들어 문헌 [Kohler et al., Nature 256, 495 (1975)]에서 처음 설명된 하이브리도마 방법에 의해 생산될 수 있거나, 재조합 DNA 방법에 의해 생산될 수 있다. 모노클로날 항체는 또한 예를 들어 문헌 [Clackson et al., Nature 352, 624-628 (1991)] 및 [Marks et al., J. Mol. Biol. 222, 581-597 (1991)]에 기재된 기술을 이용하여 파지 항체 라이브러리로부터 단리될 수 있다. 모노클로날 항체는 임의의 적합한 공급원으로부터 입수할 수 있다. 따라서, 예를 들어, 모노클로날 항체는 예를 들어 표면에 항원을 발현하는 세포 또는 관심있는 항원을 코딩하는 핵산 형태의 관심있는 항원으로 면역화시킨 마우스로부터 얻은 클론 비장 B 세포로부터 제조한 하이브리도마로부터 입수할 수 있다. 모노클로날 항체는 또한 면역화된 인간 또는 비-인간 포유동물, 예를 들어 래트, 개, 영장류 등의 항체-발현 세포로부터 유래된 하이브리도마로부터 입수할 수 있다.

[0056] 한 실시양태에서, 본 발명의 항체는 인간 항체이다. c-Met에 대해 작용하는 인간 모노클로날 항체는 마우스 면역계보다는 인간 면역계의 일부를 보유하는 트랜스제닉 또는 트랜스크로모솜 마우스를 사용하여 생성될 수 있다. 그러한 트랜스제닉 및 트랜스크로모솜 마우스는 본원에서 각각 HuMAb 마우스 및 KM 마우스로 언급되는 마우스를 포함하고, 본원에서 "트랜스제닉 마우스"로서 총칭한다.

[0057] HuMAb 마우스는 재배열되지 않은 인간 중쇄 ( $\mu$  및  $\gamma$ ) 및  $\kappa$  경쇄 이뮤노글로불린 서열을 코딩하는 인간 이뮤노글로불린 유전자 미니로커스 (minilocus)를 내인성  $\mu$  및  $\kappa$  사슬 로커스를 불활성화시키는 표적화된 돌연변이와 함께 함유한다 [Lonberg, N. et al., Nature 368, 856-859 (1994)]. 따라서, 마우스는 마우스 IgM 또는  $\kappa$ 의 발현이 감소되고, 면역화에 반응하여, 도입된 인간 중쇄 및 경쇄 트랜스진에서는 클래스 스위칭 및 체세포 돌연변이가 일어나 고친화도 인간 IgG,  $\kappa$  모노클로날 항체가 생성된다 (Lonberg, N. et al. (1994), 상기 문헌); [Lonberg, N. Handbook of Experimental Pharmacology 113, 49-101 (1994)]에서 검토됨, [Lonberg, N. and Huszar, D., Intern. Rev. Immunol. Vol. 13 65-93 (1995)] 및 [Harding, F. and Lonberg, N. Ann. N.Y. Acad. Sci 764 536-546 (1995)]. HuMAb 마우스의 제조는 문헌 [Taylor, L. et al., Nucleic Acids Research 20, 6287-6295 (1992)], [Chen, J. et al., International Immunology 5, 647-656 (1993)], [Tuailon et al., J. Immunol. 152, 2912-2920 (1994)], [Taylor, L. et al., International Immunology 6, 579-591 (1994)], [Fishwild, D. et al., Nature Biotechnology 14, 845-851 (1996)]에 상세하게 설명되어 있다. 또한, US 5,545,806, US 5,569,825, US 5,625,126, US 5,633,425, US 5,789,650, US 5,877,397, US 5,661,016, US 5,814,318, US 5,874,299, US 5,770,429, US 5,545,807, WO 98/24884, WO 94/25585, WO 93/1227, WO 92/22645, WO 92/03918 및 WO 01/09187을 참조한다.

[0058] HCo7 마우스는 그의 내인성 경쇄 (카파) 유전자 내의 JKD 파괴 (문헌 [Chen et al., EMBO J. 12, 821-830 (1993)]에 설명된 바와 같음), 그의 내인성 중쇄 유전자 내의 CMD 파괴 (WO 01/14424의 실시예 1에 설명된 바와 같음), KCo5 인간 카파 경쇄 트랜스진 (문헌 [Fishwild et al., Nature Biotechnology 14, 845-851 (1996)]에 설명된 바와 같음), 및 HCo7 인간 중쇄 트랜스진 (US 5,770,429에 설명된 바와 같음)을 갖는다.

[0059] HCo12 마우스는 그의 내인성 경쇄 (카파) 유전자 내의 JKD 파괴 (문헌 [Chen et al., EMBO J. 12, 821-830 (1993)]에 설명된 바와 같음), 그의 내인성 중쇄 유전자 내의 CMD 파괴 (WO 01/14424의 실시예 1에 설명된 바와 같음), KCo5 인간 카파 경쇄 트랜스진 (문헌 [Fishwild et al., Nature Biotechnology 14, 845-851 (1996)]에 설명된 바와 같음), 및 HCo12 인간 중쇄 트랜스진 (WO 01/14424의 실시예 2에 설명된 바와 같음)을 갖는다.

[0060] KM 마우스 계통에서, 내인성 마우스 카파 경쇄 유전자는 문헌 [Chen et al., EMBO J. 12, 811-820 (1993)]에 설명된 바와 같이 동종접합 방식으로 파괴되고, 내인성 마우스 중쇄 유전자는 WO 01/09187의 실시예 1에 설명된 바와 같이 동종접합 방식으로 파괴되었다. 상기 마우스 계통은 문헌 [Fishwild et al., Nature Biotechnology 14, 845-851 (1996)]에 설명된 바와 같이 인간 카파 경쇄 트랜스진 KCo5를 보유한다. 또한, 상기 마우스 계통은 WO 02/43478에 설명된 바와 같이 염색체 14 단편 hCF (SC20)으로 이루어진 인간 중쇄 트랜스크로모솜을 보유한다.

[0061] 이들 트랜스제닉 마우스로부터의 비장세포는 잘 공지된 기술에 따라 인간 모노클로날 항체를 분리하는 하이브리

도마를 생성하기 위해를 생성하기 위해 사용될 수 있다.

- [0062] 또한, 본 발명의 인간 항체 또는 다른 종으로부터의 본 발명의 항체는 당업계에 공지된 기술을 사용하여 파지 디스플레이, 레트로바이러스 디스플레이, 리보솜 디스플레이, 및 다른 기술을 포함하고 이로 제한되지 않는 디스플레이-유형의 기술을 통해 확인될 수 있고, 생성되는 분자는 추가의 성숙, 예를 들어 친화도 성숙에 적용될 수 있고, 그러한 기술은 당업계에 공지되어 있다 (예컨대, 문헌 [Hoogenboom et al., J. Mol. Biol. 227, 381 (1991)] (파지 디스플레이), [Vaughan et al., Nature Biotech 14, 309 (1996)] (파지 디스플레이), [Hanes and Plutchau, PNAS USA 94, 4937-4942 (1997)] (리보솜 디스플레이), [Parmley and Smith, Gene 73, 305-318 (1988)] (파지 디스플레이), [Scott TIBS 17, 241-245 (1992)], [Cwirla et al., PNAS USA 87, 6378-6382 (1990)], [Russel et al., Nucl. Acids Research 21, 1081-1085 (1993)], [Hogenboom et al., Immunol. Reviews 130, 43-68 (1992)], [Chiswell and McCafferty TIBTECH 10, 80-84 (1992)], 및 US 5,733,743 참조). 인간 항체가 아닌 항체를 생산하기 위해 디스플레이 기술이 이용될 경우, 상기 항체는 인간화될 수 있다.
- [0063] 한 실시양태에서, 본 발명의 항체는 IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgD, IgA, IgE, 또는 IgM의 것이다.
- [0064] 본 발명의 항체의 제1 주요 실시양태에서, 항체는 가용성 cMetECDHis에 결합하기 위해 고정된 항체와 경쟁하고, 상기 고정된 항체는 서열 33의 서열을 포함하는 VH 영역 및 서열 37의 서열을 포함하는 VL 영역을 포함하고 (024), 바람직하게는 항체는 실시예 17에 기재된 바와 같이 측정될 때 상기 고정된 항체와 50% 초과, 예컨대 75% 초과로 경쟁한다.
- [0065] 추가의 실시양태에서, 항체는
- [0066] a) 서열 1의 서열을 포함하는 VH 영역 및 서열 5의 서열을 포함하는 VL 영역을 포함하는 고정된 항체 (005),
- [0067] b) 서열 17의 서열을 포함하는 VH 영역 및 서열 21의 서열을 포함하는 VL 영역을 포함하는 고정된 항체 (008),
- [0068] c) 항체 5D5의 VH 영역 및 VL 영역을 포함하는 고정된 항체, 및
- [0069] d) 서열 49의 서열을 포함하는 VH 영역 및 서열 53의 서열을 포함하는 VL 영역을 포함하는 고정된 항체 (045)
- [0070] 로 이루어진 군 중에서 선택된 항체와는 가용성 cMetECDHis에 결합하기 위해 경쟁하지 않고, 바람직하게는 항체는 실시예 17에 기재된 바와 같이 측정될 때 상기 고정된 항체와 25% 미만, 예컨대 20% 미만으로 경쟁한다.
- [0071] 추가의 실시양태에서, 항체는
- [0072] a) 서열 33의 서열을 포함하는 VH 영역 및 서열 37의 서열을 포함하는 VL 영역을 포함하는 항체 (024),
- [0073] b) 서열 65의 서열을 포함하는 VH 영역 및 서열 69의 서열을 포함하는 VL 영역을 포함하는 항체 (061),
- [0074] c) 서열 73의 서열을 포함하는 VH 영역 및 서열 77의 서열을 포함하는 VL 영역을 포함하는 항체 (062),
- [0075] d) 서열 81의 서열을 포함하는 VH 영역 및 서열 85의 서열을 포함하는 VL 영역을 포함하는 항체 (064),
- [0076] e) 서열 89의 서열을 포함하는 VH 영역 및 서열 93의 서열을 포함하는 VL 영역을 포함하는 항체 (068),
- [0077] f) 서열 97의 서열을 포함하는 VH 영역 및 서열 101의 서열을 포함하는 VL 영역을 포함하는 항체 (069),
- [0078] g) 서열 113의 서열을 포함하는 VH 영역 및 서열 117의 서열을 포함하는 VL 영역을 포함하는 항체 (098),
- [0079] h) 서열 121의 서열을 포함하는 VH 영역 및 서열 125의 서열을 포함하는 VL 영역을 포함하는 항체 (101), 및
- [0080] i) 서열 129의 서열을 포함하는 VH 영역 및 서열 133의 서열을 포함하는 VL 영역을 포함하는 항체 (181)
- [0081] 로 이루어진 군 중에서 선택된 항체와 동일한 에피토프에 결합한다.
- [0082] 추가의 실시양태에서, 항체는 다음에 제시된 서열을 갖는 VH CDR3 영역을 포함한다:
- [0083] a) 서열 36 (024),
- [0084] b) 서열 193, 예컨대 서열 68, 76, 84 또는 92에 제시된 VH CDR3 영역 (061, 062, 064, 068),
- [0085] c) 서열 196, 예컨대 서열 100 또는 132에 제시된 VH CDR3 영역 (069, 181),
- [0086] d) 서열 116 (098), 또는
- [0087] e) 서열 201, 예컨대 서열 124에 제시된 VH CDR3 영역 (101).



- [0088] 추가의 실시양태에서, 항체는 다음을 포함한다:
- [0089] a) 서열 34, 185 및 36의 CDR1, 2 및 3 서열을 포함하는 VH 영역 및 서열 38, 39 및 206의 CDR1, 2 및 3 서열을 포함하는 VL 영역, 예컨대 서열 34, 35 및 36의 CDR1, 2 및 3 서열을 포함하는 VH 영역 및 서열 38, 39 및 40의 CDR1, 2 및 3 서열을 포함하는 VL 영역을 포함하는 항체 (024),
- [0090] b) 서열 191, 192 및 193의 CDR1, 2 및 3 서열을 포함하는 VH 영역 및 서열 78, 79 및 208의 CDR1, 2 및 3 서열을 포함하는 VL 영역, 예컨대 다음을 포함하는 항체:
- [0091] a. 서열 66, 67 및 68의 CDR1, 2 및 3 서열을 포함하는 VH 영역 및 서열 70, 71 및 72의 CDR1, 2 및 3 서열을 포함하는 VL 영역 (061),
- [0092] b. 서열 74, 75 및 76의 CDR1, 2 및 3 서열을 포함하는 VH 영역 및 서열 78, 79 및 80의 CDR1, 2 및 3 서열을 포함하는 VL 영역 (062),
- [0093] c. 서열 82, 83 및 84의 CDR1, 2 및 3 서열을 포함하는 VH 영역 및 서열 86, 87 및 88의 CDR1, 2 및 3 서열을 포함하는 VL 영역 (064), 또는
- [0094] d. 서열 90, 91 및 92의 CDR1, 2 및 3 서열을 포함하는 VH 영역 및 서열 94, 95 및 96의 CDR1, 2 및 3 서열을 포함하는 VL 영역 (068),
- [0095] c) 서열 194, 195 및 196의 CDR1, 2 및 3 서열을 포함하는 VH 영역 및 서열 209, 210 및 104의 CDR1, 2 및 3 서열을 포함하는 VL 영역, 예컨대 다음을 포함하는 항체:
- [0096] a. 서열 98, 99 및 100의 CDR1, 2 및 3 서열을 포함하는 VH 영역 및 서열 102, 103 및 104의 CDR1, 2 및 3 서열을 포함하는 VL 영역 (069), 또는
- [0097] b. 서열 130, 131 및 132의 CDR1, 2 및 3 서열을 포함하는 VH 영역 및 서열 134, 135 및 136의 CDR1, 2 및 3 서열을 포함하는 VL 영역 (181),
- [0098] d) 서열 197, 198 및 116의 CDR1, 2 및 3 서열을 포함하는 VH 영역 및 서열 118, 119 및 211의 CDR1, 2 및 3 서열을 포함하는 VL 영역, 예컨대 서열 114, 115 및 116의 CDR1, 2 및 3 서열을 포함하는 VH 영역 및 서열 118, 119 및 120의 CDR1, 2 및 3 서열을 포함하는 VL 영역을 포함하는 항체 (098), 또는
- [0099] e) 서열 199, 200 및 201의 CDR1, 2 및 3 서열을 포함하는 VH 영역 및 서열 126, 212 및 128의 CDR1, 2 및 3 서열을 포함하는 VL 영역, 예컨대 서열 122, 123 및 124의 CDR1, 2 및 3 서열을 포함하는 VH 영역 및 서열 126, 127 및 128의 CDR1, 2 및 3 서열을 포함하는 VL 영역을 포함하는 항체 (101).
- [0100] 추가의 실시양태에서, 항체는 다음을 포함한다:
- [0101] a) 서열 33의 서열을 포함하는 VH 영역 및, 바람직하게는, 서열 37의 서열을 포함하는 VL 영역 (024),
- [0102] b) 서열 61의 서열을 포함하는 VH 영역 및, 바람직하게는 서열 69의 서열을 포함하는 VL 영역 (061),
- [0103] c) 서열 73의 서열을 포함하는 VH 영역 및, 바람직하게는, 서열 77의 서열을 포함하는 VL 영역 (062),
- [0104] d) 서열 81의 서열을 포함하는 VH 영역 및, 바람직하게는, 서열 85의 서열을 포함하는 VL 영역 (064),
- [0105] e) 서열 89의 서열을 포함하는 VH 영역 및, 바람직하게는, 서열 93의 서열을 포함하는 VL 영역 (068),
- [0106] f) 서열 97의 서열을 포함하는 VH 영역 및, 바람직하게는, 서열 101의 서열을 포함하는 VL 영역 (069),
- [0107] g) 서열 113의 서열을 포함하는 VH 영역 및, 바람직하게는, 서열 117의 서열을 포함하는 VL 영역 (098),
- [0108] h) 서열 121의 서열을 포함하는 VH 영역 및, 바람직하게는, 서열 125의 서열을 포함하는 VL 영역 (101),
- [0109] i) 서열 129의 서열을 포함하는 VH 영역 및, 바람직하게는, 서열 133의 서열을 포함하는 VL 영역 (181),
- [0110] j) 서열 159의 서열을 포함하는 VH 영역 및, 바람직하게는, 서열 160의 서열을 포함하는 VL 영역 (078),
- [0111] k) 서열 161의 서열을 포함하는 VH 영역 및, 바람직하게는, 서열 162의 서열을 포함하는 VL 영역 (084),
- [0112] l) 서열 163의 서열을 포함하는 VH 영역 및, 바람직하게는, 서열 164의 서열을 포함하는 VL 영역 (063),
- [0113] m) 서열 165의 서열을 포함하는 VH 영역 및, 바람직하게는, 서열 166의 서열을 포함하는 VL 영역 (087),

- [0114] n) 서열 137의 서열을 포함하는 VH 영역 및, 바람직하게는, 서열 138의 서열을 포함하는 VL 영역 (066),
- [0115] o) 서열 139의 서열을 포함하는 VH 영역 및, 바람직하게는, 서열 140의 서열을 포함하는 VL 영역 (065),
- [0116] p) 서열 141의 서열을 포함하는 VH 영역 및, 바람직하게는, 서열 142의 서열을 포함하는 VL 영역 (082),
- [0117] q) 서열 143의 서열을 포함하는 VH 영역 및, 바람직하게는, 서열 144의 서열을 포함하는 VL 영역 (089), 또는
- [0118] r) 바람직하게는 상기 서열 내에 최대 1, 2 또는 3개의 아미노산 변형, 보다 바람직하게는 아미노산 치환, 예컨대 보존적 아미노산 치환을 갖는 임의의 상기 항체의 변이체.
- [0119] 한 실시양태에서, 항체는 서열 100의 CDR3 서열을 포함하는 VH 영역 및 서열 104의 CDR3 서열을 포함하는 VL 영역을 포함한다 (069).
- [0120] 한 실시양태에서, 항체는 서열 98, 99 및 100의 CDR1, 2 및 3 서열을 포함하는 VH 영역 및 서열 102, 103 및 104의 CDR1, 2 및 3 서열을 포함하는 VL 영역을 포함한다 (069).
- [0121] 한 실시양태에서, 항체는 서열 97의 서열을 포함하는 VH 영역 및 서열 101의 서열을 포함하는 VL 영역을 포함한다 (069).
- [0122] 본 발명의 항체의 또 다른 주요 실시양태에서:
- [0123] - 항체는 가용성 cMetECDHis에 결합하기 위해 고정된 항체와 경쟁하고, 상기 고정된 항체는 서열 9의 서열을 포함하는 VH 영역 및 서열 13의 서열을 포함하는 VL 영역을 포함하고 (006), 바람직하게는 항체는 실시예 17에 기재된 바와 같이 측정될 때 상기 고정된 항체와 50% 초과, 예컨대 75% 초과로 경쟁하고,
- [0124] - 항체는 서열 49의 서열을 포함하는 VH 영역 및 서열 53의 서열을 포함하는 VL 영역을 포함하는 고정된 항체 (045)와는 가용성 cMetECDHis에 결합하기 위해 경쟁하지 않고, 바람직하게는 항체는 실시예 17에 기재된 바와 같이 측정될 때 상기 고정된 항체와 50% 미만, 예를 들어 25% 미만, 예컨대 20% 미만으로 경쟁하고,
- [0125] - 항체는 c-Met의 SEMA 도메인에 결합하고, 바람직하게는 항체는 SEMA 도메인에 대한 HGF의 결합을 실시예 9에 기재된 바와 같이 10  $\mu\text{g/mL}$  미만, 예컨대 2  $\mu\text{g/mL}$  미만의 IC50으로 억제할 수 있다.
- [0126] 추가의 실시양태에서, 항체는 서열 33의 서열을 포함하는 VH 영역 및 서열 37의 서열을 포함하는 VL 영역을 포함하는 고정된 항체 (024)와는 가용성 cMetECDHis에 대한 결합을 위해 경쟁하지 않고, 바람직하게는 항체는 실시예 17에 기재된 바와 같이 측정될 때 상기 고정된 항체와 25% 미만, 예컨대 20% 미만으로 경쟁한다.
- [0127] 추가의 실시양태에서, 항체는 다음으로 이루어진 군 중에서 선택된 항체와 동일한 에피토프에 결합한다:
- [0128] a) 서열 1의 서열을 포함하는 VH 영역 및 서열 5의 서열을 포함하는 VL 영역을 포함하는 항체 (005)
- [0129] b) 서열 9의 서열을 포함하는 VH 영역 및 서열 13의 서열을 포함하는 VL 영역을 포함하는 항체 (006)
- [0130] c) 서열 25의 서열을 포함하는 VH 영역 및 서열 29의 서열을 포함하는 VL 영역을 포함하는 항체 (022), 및
- [0131] d) 서열 57의 서열을 포함하는 VH 영역 및 서열 61의 서열을 포함하는 VL 영역을 포함하는 항체 (058).
- [0132] 추가의 실시양태에서, 항체는 다음에 제시된 서열을 갖는 VH CDR3 영역을 포함한다:
- [0133] a) 서열 181, 예컨대 서열 4 또는 12에 제시된 VH CDR3 영역 (005, 006),
- [0134] b) 서열 28 (022), 또는
- [0135] c) 서열 60 (058).
- [0136] 추가의 실시양태에서, 항체는 다음을 포함한다:
- [0137] a) 서열 179, 180 및 181의 CDR1, 2 및 3 서열을 포함하는 VH 영역 및 서열 6, 7 및 202의 CDR1, 2 및 3 서열을 포함하는 VL 영역, 예컨대 다음을 포함하는 항체:
- [0138] a. 서열 2, 3 및 4의 CDR1, 2 및 3 서열을 포함하는 VH 영역 및 서열 6, 7 및 8의 CDR1, 2 및 3 서열을 포함하는 VL 영역 (005), 또는
- [0139] b. 서열 10, 11 및 12의 CDR1, 2 및 3 서열을 포함하는 VH 영역 및 서열 14, 15 및 16의 CDR1, 2 및 3 서열을 포함하는 VL 영역 (006),

- [0140] b) 서열 26, 184 및 28의 CDR1, 2 및 3 서열을 포함하는 VH 영역 및 서열 30, 31 및 205의 CDR1, 2 및 3 서열을 포함하는 VL 영역, 예컨대 서열 26, 27 및 28의 CDR1, 2 및 3 서열을 포함하는 VH 영역 및 서열 30, 31 및 32의 CDR1, 2 및 3 서열을 포함하는 VL 영역을 포함하는 항체 (022), 또는
- [0141] c) 서열 189, 190 및 60의 CDR1, 2 및 3 서열을 포함하는 VH 영역 및 서열 62, 63 및 207의 CDR1, 2 및 3 서열을 포함하는 VL 영역, 예컨대 서열 58, 59 및 60의 CDR1, 2 및 3 서열을 포함하는 VH 영역 및 서열 62, 63 및 64의 CDR1, 2 및 3 서열을 포함하는 VL 영역을 포함하는 항체 (058).
- [0142] 추가의 실시양태에서, 항체는 다음을 포함한다:
- [0143] a) 서열 1의 서열을 포함하는 VH 영역 및, 바람직하게는, 서열 5의 서열을 포함하는 VL 영역 (005),
- [0144] b) 서열 9의 서열을 포함하는 VH 영역 및, 바람직하게는, 서열 13의 서열을 포함하는 VL 영역 (006),
- [0145] c) 서열 25의 서열을 포함하는 VH 영역 및, 바람직하게는, 서열 29의 서열을 포함하는 VL 영역 (022),
- [0146] d) 서열 57의 서열을 포함하는 VH 영역 및, 바람직하게는, 서열 61의 서열을 포함하는 VL 영역 (058),
- [0147] e) 서열 145의 서열을 포함하는 VH 영역 및, 바람직하게는, 서열 146의 서열을 포함하는 VL 영역 (031),
- [0148] f) 서열 147의 서열을 포함하는 VH 영역 및, 바람직하게는, 서열 148의 서열을 포함하는 VL 영역 (007),
- [0149] g) 서열 149의 서열을 포함하는 VH 영역 및, 바람직하게는, 서열 150의 서열을 포함하는 VL 영역 (011),
- [0150] h) 서열 151의 서열을 포함하는 VH 영역 및, 바람직하게는, 서열 152의 서열을 포함하는 VL 영역 (017),
- [0151] i) 서열 153의 서열을 포함하는 VH 영역 및, 바람직하게는, 서열 154의 서열을 포함하는 VL 영역 (025), 또는
- [0152] j) 바람직하게는 상기 서열 내에 최대 1, 2 또는 3개의 아미노산 변형, 보다 바람직하게는 아미노산 치환, 예컨대 보존적 아미노산 치환을 갖는 임의의 상기 항체의 변이체.
- [0153] 본 발명의 항체의 또 다른 주요 실시양태에서:
- [0154] - 항체는 가용성 cMetECDHis에 결합하기 위해 고정된 항체와 경쟁하고, 상기 고정된 항체는 서열 49의 서열을 포함하는 VH 영역 및 서열 53의 서열을 포함하는 VL 영역을 포함하고 (045), 바람직하게는 항체는 실시예 17에 기재된 바와 같이 측정될 때 상기 고정된 항체와 50% 초과, 예컨대 75% 초과로 경쟁하고,
- [0155] - 항체는 서열 9의 서열을 포함하는 VH 영역 및 서열 13의 서열을 포함하는 VL 영역을 포함하는 고정된 항체 (006)와는 가용성 cMetECDHis에 결합하기 위해 경쟁하지 않고, 바람직하게는 항체는 실시예 17에 기재된 바와 같이 측정될 때 상기 고정된 항체와 25% 미만, 예컨대 20% 미만으로 경쟁한다.
- [0156] 추가의 실시양태에서, 항체는
- [0157] a) 서열 17의 서열을 포함하는 VH 영역 및 서열 21의 서열을 포함하는 VL 영역을 포함하는 고정된 항체 (008), 및
- [0158] b) 서열 33의 서열을 포함하는 VH 영역 및 서열 37의 서열을 포함하는 VL 영역을 포함하는 고정된 항체 (024)
- [0159] 로 이루어진 군 중에서 선택된 항체와는 가용성 cMetECDHis에 대한 결합을 위해 경쟁하지 않고, 바람직하게는 항체는 실시예 17에 기재된 바와 같이 측정될 때 상기 고정된 항체와 25% 미만, 예컨대 20% 미만으로 경쟁한다.
- [0160] 추가의 실시양태에서, 항체는 서열 49의 서열을 포함하는 VH 영역 및 서열 53의 서열을 포함하는 VL 영역을 포함하는 항체 (045)와 동일한 에피토프에 결합한다.
- [0161] 추가의 실시양태에서, 항체는 서열 188에 제시된 서열을 갖는 VH CDR3 영역, 예컨대 서열 52에 제시된 VH CDR3 영역을 포함한다 (045).
- [0162] 추가의 실시양태에서, 항체는 서열 186, 187 및 188의 CDR1, 2 및 3 서열을 포함하는 VH 영역 및 서열 54, 55 및 56의 CDR1, 2 및 3 서열을 포함하는 VL 영역을 포함하고, 예컨대 항체는 서열 50, 51 및 52의 CDR1, 2 및 3 서열을 포함하는 VH 영역 및 서열 54, 55 및 56의 CDR1, 2 및 3 서열을 포함하는 VL 영역을 포함한다 (045).
- [0163] 추가의 실시양태에서, 항체는 다음을 포함한다:
- [0164] a) 서열 49의 서열을 포함하는 VH 영역 및, 바람직하게는, 서열 53의 서열을 포함하는 VL 영역 (045),

- [0165] b) 서열 155의 서열을 포함하는 VH 영역 및, 바람직하게는, 서열 156의 서열을 포함하는 VL 영역 (040),
- [0166] c) 서열 157의 서열을 포함하는 VH 영역 및, 바람직하게는, 서열 158의 서열을 포함하는 VL 영역 (039), 또는
- [0167] d) 바람직하게는 상기 서열 내에 최대 1, 2 또는 3개의 아미노산 변형, 보다 바람직하게는 아미노산 치환, 예컨대 보존적 아미노산 치환을 갖는 임의의 상기 항체의 변이체.
- [0168] 추가의 실시양태에서, 항체는 c-Met의 SEMA 도메인에 결합하고, 바람직하게는 항체는 SEMA 도메인에 대한 HGF의 결합을 실시예 9에 기재된 바와 같이 10  $\mu\text{g/mL}$  미만, 예컨대 2  $\mu\text{g/mL}$  미만의 IC50으로 억제할 수 있다.
- [0169] 본 발명의 항체의 또 다른 주요 실시양태에서, 항체는 서열 17의 서열을 포함하는 VH 영역 및 서열 21의 서열을 포함하는 VL 영역을 포함하는 항체 (008)와 동일한 에피토프에 결합하거나 또는 서열 41의 서열을 포함하는 VH 영역 및 서열 45의 서열을 포함하는 VL 영역을 포함하는 항체 (035)와 동일한 에피토프에 결합하거나 또는 서열 105의 서열을 포함하는 VH 영역 및 서열 109의 서열을 포함하는 VL 영역을 포함하는 항체 (096)와 동일한 에피토프에 결합한다.
- [0170] 추가의 실시양태에서, 항체는 서열 183에 제시된 서열을 갖는 VH CDR3 영역, 예컨대 서열 20, 44 또는 108에 제시된 VH CDR3 영역을 포함한다 (008, 035, 096).
- [0171] 추가의 실시양태에서, 항체는 서열 18, 182 및 183의 CDR1, 2 및 3 서열을 포함하는 VH 영역 및 서열 22, 203 및 204의 CDR1, 2 및 3 서열을 포함하는 VL 영역을 포함하고, 예컨대 항체는
- [0172] a) 서열 18, 19 및 20의 CDR1, 2 및 3 서열을 포함하는 VH 영역 및 서열 22, 23 및 24의 CDR1, 2 및 3 서열을 포함하는 VL 영역 (008), 또는
- [0173] b) 서열 42, 43 및 44의 CDR1, 2 및 3 서열을 포함하는 VH 영역 및 서열 46, 47 및 48의 CDR1, 2 및 3 서열을 포함하는 VL 영역 (035), 또는
- [0174] c) 서열 106, 107 및 108의 CDR1, 2 및 3 서열을 포함하는 VH 영역 및 서열 110, 111 및 112의 CDR1, 2 및 3 서열을 포함하는 VL 영역 (096)
- [0175] 을 포함한다.
- [0176] 추가의 실시양태에서, 항체는 다음을 포함한다:
- [0177] a) 서열 17의 서열을 포함하는 VH 영역 및, 바람직하게는, 서열 21의 서열을 포함하는 VL 영역 (008),
- [0178] b) 서열 41의 서열을 포함하는 VH 영역 및, 바람직하게는, 서열 45의 서열을 포함하는 VL 영역 (035),
- [0179] c) 서열 105의 서열을 포함하는 VH 영역 및, 바람직하게는, 서열 109의 서열을 포함하는 VL 영역 (096), 또는
- [0180] d) 바람직하게는 상기 서열 내에 최대 1, 2 또는 3개의 아미노산 변형, 보다 바람직하게는 아미노산 치환, 예컨대 보존적 아미노산 치환을 갖는 임의의 상기 항체의 변이체.
- [0181] 추가의 실시양태에서, 항체는 바람직하게는 실시예 13에 따라 측정할 때 10 nM 이하의 EC50, 예컨대 2 nM 이하의 EC50으로 A431 세포에 결합한다.
- [0182] 또 다른 추가의 실시양태에서, 항체는 바람직하게는 실시예 14에 따라 측정할 때 20 nM 이하의 친화도 상수 ( $K_D$ ), 예컨대 5 nM 이하의 친화도로 c-Met에 결합한다.
- [0183] 또 다른 추가의 실시양태에서, 항체는 붉은털원숭이 c-Met에 결합하고, 바람직하게는 붉은털원숭이 c-Met에 대한 항체 결합의 신호는 실시예 15에 따라 측정할 때 음성 대조군 항체의 것의 적어도 5배이다.
- [0184] 또 다른 추가의 실시양태에서, 항체는 c-Met의 세포의 도메인에 대한 HGF의 결합을 억제하고, 바람직하게는 항체는 실시예 16에 따라 측정할 때 결합을 40% 초과, 예컨대 50% 초과, 예를 들어 60% 초과, 예를 들어 70% 초과, 예를 들어 80% 초과, 예를 들어 90% 초과로 억제한다.
- [0185] 또 다른 추가의 실시양태에서, 항체는 KP4 세포의 생존력을 억제할 수 있고, 바람직하게는 항체는 바람직하게는 실시예 19에 기재된 바와 같이 생존력을 10% 초과, 예컨대 25% 초과, 예를 들어 40% 초과로 억제할 수 있다.
- [0186] 항체 포맷
- [0187] 본 발명은 길항작용 및 비-길항작용 항-c-Met 항체를 제공한다. 몇몇의 항체는 1가 또는 2가 항체 여부와는 상

관없이 표적 세포에 대해 길항적으로 작용하는 반면, 다른 항체의 경우, 기능적 효과는 결합가 (valency)에 의해 결정된다. 본원의 실시예 19에 제시된 바와 같이, 항체 024, 062, 064, 068, 069, 098, 101, 181은 예를 들어 (모두 동일한 교차-차단군에 속함, 실시예 17 참조) 포맷과 상관없이 KP4 생존력 검정에서 길항 특성을 갖는다. 다른 한편으로, 항체 022 및 058은 1가 포맷에서는 상기 검정에서 길항적으로 작용하지만, 2가 포맷에서는 효능적으로 (또는 적어도 비-길항적으로) 작용한다. 따라서, 특정 용도에 대한 목적하는 기능적 특성에 따라, 특정 항체는 본 발명에서 제공되는 항체 세트로부터 선택될 수 있고/있거나 그의 포맷은 결합가를 변경하기 위해 조정될 수 있다.

[0188] 또한, 본 발명의 항체는 임의의 이소형의 것일 수 있다. 이소형의 선택은 일반적으로 목적하는 효과기 기능, 예를 들어 ADCC 유도에 의해 결정될 것이다. 예시적인 이소형은 IgG1, IgG2, IgG3, 및 IgG4이다. 인간 경쇄 불변 영역, 카파 또는 람다가 사용될 수 있다. 필요한 경우, 본 발명의 항-c-Met 항체의 클래스는 공지의 방법에 의해 스위칭될 수 있다. 예를 들어, 원래 IgM인 본 발명의 항체는 본 발명의 IgG 항체로 클래스 스위칭될 수 있다. 또한, 한 IgG 서브클래스를 또 다른 서브클래스로, 예를 들어 IgG1을 IgG2로 전환하기 위해 클래스 스위칭 기술이 사용될 수 있다. 따라서, 본 발명의 항체의 효과기 기능은 다양한 치료 용도를 위해, 예를 들어, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgD, IgA, IgE, 또는 IgM 항체로 이소형 스위칭에 의해 변경될 수 있다. 한 실시양태에서, 본 발명의 항체는 IgG1 항체, 예를 들어 IgG1,  $\kappa$  이다.

[0189] 길항작용 항체에 의해 유도되는 c-Met의 하향 조정은 치료 c-Met 항체의 작용 메커니즘을 나타낸다. 따라서, 본 발명의 한 측면에서, 감소된 효능제 특성을 갖지만 c-Met의 하향-조정을 유도하는 능력을 보유하고 있는 항체가 바람직하다.

[0190] 항체의 입체형태적 가요성을 감소시킴으로써 2가 IgG1 항체의 잠재적인 잔류 효능작용 활성이 최소화됨이 밝혀졌다.

[0191] 따라서, 추가의 실시양태에서, 본 발명의 항체는 예컨대 힌지 영역 돌연변이에 의해 가요성이 작도록 변형된다.

[0192] 최대 입체형태적 변화는 Fab-Fc 각도의 광범한 범위를 허용하는 힌지의 가요성에 의한 것이다 (Ollmann Saphire, E., R.L. Stanfield, M.D.M. Crispin, P.W.H.I. Parren, P.M. Rudd, R.A. Dwek, D.R. Burton and I.A. Wilson. 2002. Contrasting IgG structures reveal extreme asymmetry and flexibility. J. Mol. Biol. 319:9-18). 이뮤노글로불린에서 Fab-아암 가요성을 감소시키는 한가지 방법은 유전적 변형에 의해 경쇄와 중쇄 사이의 디설피드 결합의 형성을 방지하는 것이다. 천연 IgG1 항체에서, 경쇄는 경쇄의 C-말단 시스테인을 중쇄의 Fc의 힌지 내의 위치 220의 시스테인 (C220 EU 넘버링)에 연결하는 디설피드 결합을 통해 중쇄와 공유 연결된다. 아미노산 C220을 세린 또는 임의의 다른 천연 아미노산으로 돌연변이시킴으로써, C220을 제거함으로써, 완전한 힌지를 제거함으로써, 또는 IgG1 힌지를 IgG3 힌지로 교체함으로써, 인간 이소형 IgA2m(1)에서 발견되는 상황과 유사하게, 경쇄가 C-말단 시스테인을 통해 연결된 분자가 형성된다. 이것은 실시예에서 제시되는 바와 같이, Fc에 비해 Fab의 감소된 가요성 및 결과적으로 감소된 가교결합 능력을 야기한다.

[0193] IgG1 분자의 가요성을 감소시키는 다른 전략은 IgG1 힌지를 IgG2 힌지 또는 IgG2-유사 힌지로 교체하는 것이다 (Dangl et al. EMBO J. 1988;7:1989-94). 상기 힌지 영역은 분자의 가요성을 보다 작게 만드는 것으로 간주되는, IgG1의 것과 구분되는 2가지 특성을 갖는다. 먼저, IgG1 힌지에 비해, IgG2 힌지는 3개 아미노산이 더 짧다. 두 번째로, IgG2 힌지는 추가의 시스테인을 함유하고, 따라서 2개의 중쇄간 디설피드 가교 대신에 3개가 형성될 것이다. 별법으로, IgG2 힌지를 닮은 IgG1 힌지의 변이체가 도입될 수 있다. 상기 돌연변이체 (TH7  $\Delta$  6-9) (W02010063746)는 추가의 시스테인을 갖는 더 짧은 힌지를 생성하기 위해서 돌연변이 T223C 및 2개의 결실 (K222 및 T225)을 함유한다.

[0194] 추가의 실시양태에서, 본 발명의 항체는 힌지 영역이 다음에 의해 변형된 IgG1 하위유형의 항체이다:

[0195] (i) 서열 EPKSCDKTHTCPPCP의 힌지 영역의 결실 및 서열 ERKCCVECPPCP의 IgG2 힌지 영역으로의 치환 (IgG1 힌지-IgG2);

[0196] (ii) 변형된 힌지 영역이 EPKSDKTHTCPPCP의 서열을 갖도록 하는 위치 220의 결실 (IgG1  $\Delta$  C220);

[0197] (iii) 변형된 힌지 영역이 EPKSDKTHTCPPCP의 서열 (IgG1 C220X)을 갖도록 위치 220의 시스테인을 임의의 다른 천연 아미노산 (X)으로 치환함;

[0198] (iv) 서열 EPKSCDKTHTCPPCP의 힌지 영역의 결실 (유니바디 (UniBody) IgG1);

[0199] (v) 서열 EPKSCDKTHTCPPCP의 힌지 영역의 결실 및 서열



ELKTPGLGDTTHTCPRCPEPKSCDTPPPCPRCPEPKSCDTPPPCPRCPEPKSCDTPPPCPRC의 IgG3 힌지 영역으로의 치환 (IgG1 힌지-IgG3); 또는

- [0200] (vi) 변형된 힌지 영역은 EPKSCDCHCPPCP의 서열 (IgG1 TH7 Δ6-9)을 보유하도록 위치 223의 트레오닌을 시스테인으로 치환하고, 위치 222의 리신 및 위치 225의 트레오닌을 결실시킴.
- [0201] 본 발명의 한 실시양태에서, 본 발명의 항체는 위치 220을 결실시켜 변형된 힌지 영역이 EPKSDKTHTCPPCP의 서열 (IgG1 ΔC220)을 갖거나; 위치 220의 시스테인을 임의의 다른 천연 아미노산 (X)으로 치환하여 변형된 힌지 영역이 EPKSDKTHTCPPCP의 서열 (IgG1 C220X)을 갖는 것인, 힌지 영역이 변형된 IgG1 하위유형의 항체이다.
- [0202] 추가의 실시양태에서, 본 발명의 항체는 힌지 영역이 위치 220의 시스테인을 세린으로 치환함으로써 변형되어 변형된 힌지 영역이 EPKSSDKTHTCPPCP의 서열 (IgG1 C220S)을 갖는 것인, 힌지 영역이 변형된 IgG1 하위유형의 항체이다.
- [0203] 추가의 실시양태에서, 본 발명의 항체는 IgG2 하위유형의 항체이다.
- [0204] 추가의 실시양태에서, 본 발명의 항체는 예를 들어 US2009317869에 기재된 바와 같이 또는 문헌 [van Berkel et al. (2010) *Biotechnol. Bioeng.* 105:350]에 기재된 바와 같이 항체 생산 동안 배양 배지에 화합물을 첨가함으로써 또는 예를 들어 문헌 [Yamane-Ohnuki et al (2004) *Biotechnol. Bioeng.* 87:614]에 기재된 바와 같이 FUT8 녹아웃 (knockout) 세포를 사용하여 푸코스를 감소시키고 따라서 ADCC를 향상시키기 위해 당-조작된다. ADCC는 별법으로 문헌 [Umana et al. (1999) *Nature Biotech* 17:176]에 기재된 방법을 사용하여 최적화될 수 있다.
- [0205] 한 실시양태에서, 항체는 IgG1 하위유형의 서열 100의 CDR3 서열을 포함하는 VH 영역 및 서열 104의 CDR3 서열을 포함하는 VL 영역을 포함하고 (069), 여기서 힌지 영역은 위치 220의 시스테인을 세린으로 치환함으로써 변형되어, 변형된 힌지 영역은 EPKSSDKTHTCPPCP의 서열을 갖는다 (IgG1 C220S).
- [0206] 한 실시양태에서, 항체는 IgG1 하위유형의 서열 98, 99 및 100의 CDR1, 2 및 3 서열을 포함하는 VH 영역 및 서열 102, 103 및 104의 CDR1, 2 및 3 서열을 포함하는 VL 영역을 포함하고 (069), 여기서 힌지 영역은 위치 220의 시스테인을 세린으로 치환함으로써 변형되어, 변형된 힌지 영역은 EPKSSDKTHTCPPCP의 서열을 갖는다 (IgG1 C220S).
- [0207] 한 실시양태에서, 항체는 IgG1 하위유형의 서열 97의 서열을 포함하는 VH 영역 및 서열 101의 서열을 포함하는 VL 영역을 포함하고 (069), 여기서 힌지 영역은 위치 220의 시스테인을 세린으로 치환함으로써 변형되어, 변형된 힌지 영역은 EPKSSDKTHTCPPCP의 서열을 갖는다 (IgG1 C220S).
- [0208] 다양한 공개문헌이 감소된 코어-푸코실화와 향상된 시험관내 ADCC 활성 사이의 상호관련성을 입증하였다 (문헌 [Shields RL. 2002 *JBC*; 277:26733-26740], [Shinkawa T. 2003 *JBC*; 278(5):3466-3473], [Umana P. *Nat Biotechnol.* 1999 Feb; 17(2):176-80]).
- [0209] 추가의 실시양태에서, 본 발명의 항체는 펄스 전류측정 검출과 결합된 고성능 음이온-교환 크로마토그래피 (HPAEC-PAD)로 측정할 때 코어-푸코실화를 10% 미만, 예컨대 5% 미만으로 감소시키도록 변형된다. 이것은 선행 기술에 잘 공지된 방법, 예를 들어, 키푸넨신 (kifunensine) 처리 또는 FUT8 음성 세포에서의 생산에 의해 달성될 수 있다.
- [0210] 추가의 실시양태에서, 본 발명의 항체는 예를 들어 문헌 [Natsume et al. (2009) *Cancer Sci.* 100:2411]에 기재된 바와 같이 보체 활성화를 향상시키도록 조작되었다.
- [0211] 한 실시양태에서, 본 발명의 항체는 전장 항체, 바람직하게는 IgG1 항체, 특히 IgG1, κ 항체이다. 또 다른 실시양태에서, 본 발명의 항체는 항체 단편 또는 단일쇄 항체이다.
- [0212] 항체 단편은 예를 들어 통상적인 기술을 사용한 단편화에 의해 얻을 수 있고, 단편은 전체 항체에 대해 본원에서 설명되는 바와 동일한 방식으로 유용성에 대해 스크리닝될 수 있다. 예를 들어, F(ab')<sub>2</sub> 단편은 항체를 펩신으로 처리함으로써 생성될 수 있다. 생성되는 F(ab')<sub>2</sub> 단편은 Fab' 단편을 생성하기 위해 디설파이드 가교를 환원하도록 처리될 수 있다. Fab 단편은 IgG 항체를 파파인으로 처리함으로써 얻을 수 있고; Fab' 단편은 IgG 항체의 펩신 소화에 의해 얻을 수 있다. 또한, F(ab') 단편은 아래에서 설명되는 Fab'를 티오에테르 결합 또는 디설파이드 결합을 통해 결합시킴으로써 생성될 수 있다. Fab' 단편은 F(ab')<sub>2</sub>의 힌지 영역의 디설파이드 결합의 절단에 의해 얻은 항체 단편이다. Fab' 단편은 F(ab')<sub>2</sub> 단편을 환원제, 예를 들어 디티오프레이톨로 처리함으

로써 얻을 수 있다. 또한, 항체 단편은 제조할 세포에서 상기 단편을 코딩하는 핵산의 발현에 의해 생성될 수 있다 (예컨대, 문헌 [Evans et al., J. Immunol. Meth. 184, 123-38 (1995)] 참조). 예를 들어, F(ab')<sub>2</sub> 단편의 일부를 코딩하는 키메라 유전자는 C<sub>H</sub>1 도메인을 코딩하는 DNA 서열 및 H쇄의 힌지 영역, 이어서 상기 말단절단된 항체 단편 분자를 생성하기 위한 번역 정지 코돈을 포함할 수 있다.

- [0213] 상기 설명한 바와 같이, 한 실시양태에서, 본 발명의 항-c-Met 항체는 2가 항체이다.
- [0214] 또 다른 실시양태에서, 본 발명의 항-c-Met 항체는 1가 항체이다.
- [0215] 한 실시양태에서, 본 발명의 항체는 Fab 단편 또는 1 아암 항체, 예컨대 US20080063641 (제넨테크)에 기재된 것 또는 다른 1가 항체, 예를 들어 W02007048037 (암젠)에 기재된 것이다.
- [0216] 바람직한 실시양태에서, 1가 항체는 W02007059782 (젠맵) (본원에 참고로 포함됨)에 설명된 바와 같이 힌지 영역이 결실된 1가 항체이다. 따라서, 한 실시양태에서, 항체는 1가 항체이고, 상기 항-c-Met 항체는
- [0217] i) 상기 1가 항체의 경쇄를 코딩하는 핵산 구축물을 제공하고, 여기서 상기 구축물은 선택된 항원 특이적 항-c-Met 항체의 VL 영역을 코딩하는 뉴클레오티드 서열 및 Ig의 불변 CL 영역을 코딩하는 뉴클레오티드 서열을 포함하고, 선택된 항원 특이적 항체의 VL 영역을 코딩하는 상기 뉴클레오티드 서열 및 Ig의 CL 영역을 코딩하는 상기 뉴클레오티드 서열은 함께 작동가능하게 연결되고, IgG1 하위유형의 경우, CL 영역을 코딩하는 뉴클레오티드 서열은, CL 영역이, 폴리클로날 인간 IgG의 존재 하에 또는 동물 또는 인간에 투여될 때 CL 영역의 동일한 아미노산 서열을 포함하는 다른 펩티드와 디설피드 결합 또는 공유 결합을 형성할 수 있는 임의의 아미노산을 포함하지 않도록 변형된 것이고;
- [0218] ii) 상기 1가 항체의 중쇄를 코딩하는 핵산 구축물을 제공하고, 여기서 상기 구축물은 선택된 항원 특이적 항체의 VH 영역을 코딩하는 뉴클레오티드 서열 및 인간 Ig의 불변 CH 영역을 코딩하는 뉴클레오티드 서열을 포함하고, CH 영역을 코딩하는 뉴클레오티드 서열은, 힌지 영역에 상응하는 영역, 및 Ig 하위유형에 의해 필요한 경우, CH 영역의 다른 영역, 예컨대 CH3 영역이, 폴리클로날 인간 IgG의 존재 하에 또는 동물 또는 인간에 투여될 때 인간 Ig의 CH 영역의 동일한 아미노산 서열을 포함하는 다른 펩티드와 디설피드 결합을 또는 공유 또는 안정한 비-공유 중쇄간 결합의 형성에 참여하는 임의의 아미노산 잔기를 포함하지 않도록 변형된 것이고, 선택된 항원 특이적 항체의 VH 영역을 코딩하는 상기 뉴클레오티드 서열 및 상기 Ig의 CH 영역을 코딩하는 상기 뉴클레오티드 서열은 함께 작동가능하게 연결되고;
- [0219] iii) 상기 1가 항체를 생산하기 위한 세포 발현 시스템을 제공하고;
- [0220] iv) (i) 및 (ii)의 핵산 구축물을 (iii)의 세포 발현 시스템의 세포에서 동시 발현시킴으로써 상기 1가 항체를 생산하는 것
- [0221] 을 포함하는 방법에 의해 제조된다.
- [0222] 유사하게, 한 실시양태에서, 항-c-Met 항체는 1가 항체이고,
- [0223] (i) 본원에서 설명되는 바와 같은 본 발명의 항체의 가변 영역 또는 상기 영역의 항원 결합 부분, 및
- [0224] (ii) 이뮤노글로불린의 C<sub>H</sub> 영역 또는 C<sub>H</sub>2 및 C<sub>H</sub>3 영역을 포함하는 그의 단편
- [0225] 을 포함하고, 여기서 C<sub>H</sub> 영역 또는 그의 단편은, 힌지 영역에 상응하는 영역, 및 이뮤노글로불린이 IgG4 하위유형이 아닌 경우 C<sub>H</sub> 영역의 다른 영역, 예를 들어 C<sub>H</sub>3 영역이, 폴리클로날 인간 IgG의 존재 하에 동일한 C<sub>H</sub> 영역과 디설피드 결합 또는 동일한 C<sub>H</sub> 영역과 다른 공유 또는 안정한 비-공유 중쇄간 결합을 형성할 수 있는 임의의 아미노산 잔기를 포함하지 않도록 변형된다.
- [0226] 추가의 실시양태에서, 1가 항-c-Met 항체의 중쇄는 전체 힌지가 결실되도록 변형된 것이다.
- [0227] 또 다른 추가의 실시양태에서, 상기 1가 항체는 IgG4 하위유형의 항체이지만, C<sub>H</sub>3 영역은 다음 아미노산 치환 중의 하나 이상이 이루어지도록 변형되었다:

CH3 돌연변이의 넘버링

KABAT*	EU 인덱스 G4*	돌연변이
E378	E357	E357A 또는 E357T 또는 E357V 또는 E357I
S387	S364	S364R 또는 S364K
T389	T366	T366A 또는 T366R 또는 T366K 또는 T366N
L391	L368	L368A 또는 L368V 또는 L368E 또는 L368G 또는 L368S 또는 L368T
D427	D399	D399A 또는 D399T 또는 D399S
		F405A 또는 F405L 또는 F405T 또는 F405D 또는 F405R 또는 F405Q
F436	F405	또는 F405K 또는 F405Y
Y438	Y407	Y407A 또는 Y407E 또는 Y407Q 또는 Y407K 또는 Y407F
F436 및 Y438	F405 및 Y407	(F405T 및 Y407E) 또는 (F405D 및 Y407E)
		(D399S 및 Y407Q) 또는 (D399S 및 Y407K) 또는 (D399S
D427 및 Y438	D399 및 Y407	및 Y407E)

\* KABAT는 카바트 [Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD. (1991)]에 따른 아미노산 넘버링을 나타낸다. EU 인덱스는 문헌 [Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD. (1991)]에 개관된 바와 같은 EU 인덱스에 따른 아미노산 넘버링을 나타낸다.

[0228]

[0229]

또 다른 추가의 실시양태에서, 상기 1가 항체의 서열은 N-연결된 글리코실화를 위한 임의의 수용자 (acceptor) 부위를 포함하지 않도록 변형된다.

[0230]

본 발명의 항-c-Met 항체는 또한 단일쇄 항체를 포함한다. 단일쇄 항체는 중쇄 및 경쇄 Fv 영역이 연결된 펩티드이다. 한 실시양태에서, 본 발명은 본 발명의 항-c-Met 항체의 Fv 내의 중쇄 및 경쇄가 단일 펩티드 사슬에서 가요성 펩티드 링커 (일반적으로 약 10, 12, 15 또는 그 초과 아미노산 잔기의)로 연결된 단일쇄 Fv (scFv)를 제공한다. 상기 항체의 제조 방법은 예를 들어 US 4,946,778, 문헌 [Pluckthun in The Pharmacology of Monoclonal Antibodies, vol. 113, Rosenberg and Moore eds. Springer-Verlag, New York, pp. 269-315 (1994)], [Bird et al., Science 242, 423-426 (1988)], [Huston et al., PNAS USA 85, 5879-5883 (1988)] 및 [McCafferty et al., Nature 348, 552-554 (1990)]에 기재되어 있다. 단일쇄 항체는 단지 단일 V<sub>H</sub> 및 V<sub>L</sub>이 사용될 경우에는 1가, 2개의 V<sub>H</sub> 및 V<sub>L</sub>이 사용될 경우에는 2가, 또는 2 초과 V<sub>H</sub> 및 V<sub>L</sub>이 사용될 경우에는 다가일 수 있다.

[0231]

한 실시양태에서, 본 발명의 항-c-Met 항체는 효과기-기능-결핍 항체이다. 한 실시양태에서, 효과기 기능-결핍 항-c-Met 항체는 Fab-아암 교환을 억제하도록 변형된 안정화된 IgG4 항체이다 (van der Neut Kolfschoten et al. (2007) Science 317(5844):1554-7). 적합한 안정화된 IgG4 항체의 예는 카바트 등에서의와 같이 EU 인덱스에 표시된 인간 IgG4의 중쇄 불변 영역 내의 위치 409의 아르기닌이 리신, 트레오닌, 메티오닌, 또는 류신, 바람직하게는 리신으로 치환되고/되거나 (W02006033386 (기린 (Kirin))에 설명됨) 힌지 영역이 Cys-Pro-Pro-Cys 서열을 포함하도록 변형된 항체이다.

[0232]

추가 실시양태에서, 안정화된 IgG4 항-c-Met 항체는 중쇄 및 경쇄를 포함하는 IgG4 항체이고, 여기서 상기 중쇄는 409에 대응하는 위치에 Lys, Ala, Thr, Met 및 Leu으로 이루어진 군 중에서 선택된 잔기 및/또는 405에 대응하는 위치에 Ala, Val, Gly, Ile 및 Leu으로 이루어진 군 중에서 선택된 잔기를 갖는 인간 IgG4 불변 영역을 포함하고, 상기 항체는 임의로 하나 이상의 추가의 치환, 결실 및/또는 삽입을 포함하지만, 힌지 영역에 Cys-Pro-Pro-Cys 서열을 포함하지 않는다. 바람직하게는, 상기 항체는 409에 대응하는 위치에 Lys 또는 Ala 잔기를 포함하거나 또는 항체의 CH3 영역은 인간 IgG1, 인간 IgG2 또는 인간 IgG3의 CH3 영역으로 대체된 것이다. 또한, W02008145142 (젠맵)를 참조한다.

[0233]

또 다른 추가의 실시양태에서, 안정화된 IgG4 항-c-Met 항체는 중쇄 및 경쇄를 포함하는 IgG4 항체이고, 여기서 상기 중쇄는 409에 대응하는 위치에 Lys, Ala, Thr, Met 및 Leu으로 이루어진 군 중에서 선택된 잔기 및/또는 405에 대응하는 위치에 Ala, Val, Gly, Ile 및 Leu으로 이루어진 군 중에서 선택된 잔기를 갖는 인간 IgG4 불변 영역을 포함하고, 상기 항체는 임의로 하나 이상의 추가의 치환, 결실 및/또는 삽입을 포함하고, 상기 항체는 힌지 영역에 Cys-Pro-Pro-Cys 서열을 포함한다. 바람직하게는, 상기 항체는 409에 대응하는 위치에 Lys 또는 Ala 잔기를 포함하거나 또는 항체의 CH3 영역은 인간 IgG1, 인간 IgG2 또는 인간 IgG3의 CH3 영역으로 대체된 것이다.



- [0234] 추가의 실시양태에서, 효과기 기능-결핍 항-c-Met 항체는 효과기 기능, 예를 들어 ADCC를 매개하는 능력이 감소되거나 심지어 제거되도록 돌연변이된, 비-IgG4 유형, 예를 들어 IgG1, IgG2 또는 IgG3의 항체이다. 상기 돌연변이는 예를 들어 문헌 [Dall'Acqua WF et al., J Immunol. 177(2):1129-1138 (2006)] 및 [Hezareh M, J Virol.;75(24):12161-12168 (2001)]에 기재되어 있다.
- [0235] 접합체
- [0236] 추가의 실시양태에서, 본 발명은 치료 모이어티, 예를 들어 세포독소, 화학치료 약물, 면역억제제 또는 방사성 동위원소에 접합된 항-c-Met 항체를 제공한다. 상기 접합체는 본원에서 "면역접합체"로 언급된다. 하나 이상의 세포독소를 포함하는 면역접합체는 "면역독소"로 언급된다.
- [0237] 세포독소 또는 세포독성제는 세포에 유해한 (예컨대, 치사시키는) 임의의 물질을 포함한다. 본 발명의 면역접합체를 형성하기 위한 적합한 치료제는 탁솔, 시토크알린 B, 그라미시딘 D, 에티뎀 브로마이드, 에메틴, 미토마이신, 에토포시드, 테노포시드, 빈크리스틴, 빈블라스틴, 콜히친, 독소루비신, 다우노루비신, 디히드로시 안트라신 디온, 미톡산트론, 미트라마이신, 악티노마이신 D, 1-데히드로-테스토스테론, 글루코코르티코이드, 프로카인, 테트라카인, 리도카인, 프로프라놀롤 및 퓨로마이신, 항대사물질 (예컨대, 메토타렉세이트, 6-메르캅토피리딘, 6-티오구아닌, 시타라빈, 플루다라빈, 5-플루오로우라실, 데카르바진, 히드록시우레아, 아스파라기나제, 겐시타빈, 클라드리빈), 알킬화제 (예컨대, 메클로레타민, 티오에프, 클로람부실, 멜팔란, 카르무스틴 (BSNU), 로무스틴 (CCNU), 시클로포스파미드, 부술판, 디브로모만니톨, 스트렙토조토신, 다카르바진 (DTIC), 프로카르바진, 미토마이신 C, 시스플라틴 및 다른 백금 유도체, 예를 들어 카르보플라틴), 항생제 (예컨대, 닥티노마이신 (이전의 악티노마이신), 블레오마이신, 다우노루비신 (이전의 다우노마이신), 독소루비신, 이다루비신, 미트라마이신, 미토마이신, 미톡산트론, 플리카마이신, 안트라마이신 (AMC)), 디프테리아 독소 및 관련 분자 (예컨대, 디프테리아 A 사슬 및 그의 활성 단편 및 혼성체 분자), 리신 독소 (예컨대, 리신 A 또는 탈글리코실화 리신 A 사슬 독소), 콜레라 독소, 시가 (Shiga)-유사 독소 (SLT-I, SLT-II, SLT-IIV), LT 독소, C3 독소, 시가 독소, 백일해 독소, 파상풍 독소, 대두 보우만-버크 (Bowman-Birk) 프로테아제 억제제, 슈도모나스 (*Pseudomonas*) 외독소, 알로린, 사포린, 모데신, 겔라틴, 아브린 A 사슬, 모데신 A 사슬, 알파-사르신, 알류리테스 포르디이 (*Aleurites fordii*) 단백질, 디안틴 단백질, 피톨라카 아메리카나 (*Phytolacca americana*) 단백질 (PAPI, PAPII 및 PAP-S), 모모르디카 카란티아 (*momordica charantia*) 억제제, 쿠르신, 크로틴, 사포나리아 오퍼시날리스 (*saponaria officinalis*) 억제제, 겔로닌, 미토겔린, 레스트릭토신, 페노마이신 및 에노마이신 독소를 포함한다. 다른 적합한 접합된 분자는 리보뉴클레아제 (RNase), DNase I, 스태필로코커스 (*Staphylococcal*) 장독소-A, 역새폴 항바이러스 단백질, 디프테린 독소, 및 슈도모나스 내독소를 포함한다. 예를 들어, 문헌 [Pastan et al., Cell 47, 641 (1986)] 및 [Goldenberg, Calif. A Cancer Journal for Clinicians 44, 43 (1994)]을 참조한다. 또한, 본원 다른 곳에서 설명되는 본 발명의 항-c-Met 항체와 조합으로 투여될 수 있는 치료제가 본 발명의 항체에 접합하기 위해 유용한 치료 모이어티에 대한 후보일 수 있다.
- [0238] 또 다른 실시양태에서, 본 발명의 항-c-Met 항체는 접합된 핵산 또는 핵산-회합 분자를 포함한다. 상기 본 발명의 한 측면에서, 접합된 핵산은 세포독성 리보뉴클레아제, 안티센스 핵산, 억제성 RNA 분자 (예컨대, siRNA 분자) 또는 면역자극 핵산 (예컨대, 면역자극 CpG 모티프-함유 DNA 분자)이다. 또 다른 실시양태에서, 본 발명의 항-c-Met 항체는 aptamer 또는 리보자임에 접합된다.
- [0239] 한 실시양태에서, 항-c-Met 항체는 하나 이상의 방사성표지된 아미노산이 제공된다. 방사성표지된 항-c-Met 항체는 진단 및 치료 목적 모두를 위해 사용될 수 있다 (방사성표지된 분자에 대한 접합이 또 다른 가능한 특징이다). 폴리펩티드를 위한 표지의 비제한적인 예는 <sup>3</sup>H, <sup>14</sup>C, <sup>15</sup>N, <sup>35</sup>S, <sup>90</sup>Y, <sup>99</sup>Tc, 및 <sup>125</sup>I, <sup>131</sup>I, 및 <sup>186</sup>Re를 포함한다.
- [0240] 항-c-Met 항체는 또한 예를 들어 그의 순환 반감기를 증가시키기 위해 중합체에 대한 공유 접합에 의해 화학적으로 변형될 수 있다. 예시적인 중합체, 및 이를 펩티드에 부착시키는 방법은 예를 들어 US 4,766,106, US 4,179,337, US 4,495,285 및 US 4,609,546에 예시되어 있다. 추가의 중합체는 폴리옥시에틸화 폴리올 및 폴리 에틸렌 글리콜 (PEG) (예컨대, 분자량이 약 1,000 내지 약 40,000, 예컨대 약 2,000 내지 약 20,000인 PEG)을 포함한다.
- [0241] 항-c-Met 항체를 접합되는 분자(들), 예를 들어 상기 설명된 것에 접합하기 위해, 문헌 [Hunter et al., Nature 144, 945 (1962)], [David et al., Biochemistry 13, 1014 (1974)], [Pain et al., J. Immunol. Meth. 40, 219 (1981)] 및 [Nygren, J. Histochem. and Cytochem. 30, 407 (1982)]에 기재된 방법을 포함하는 당업계에 공지된 임의의 방법이 사용될 수 있다. 상기 항체는 다른 모이어티를 항-c-Met 항체 또는 그의 단편 (예컨대,

항-c-Met 항체 H쇄 또는 L쇄)의 N-말단측 또는 C-말단측에 화학적으로 접합시킴으로써 생산될 수 있다 (예컨대, 문헌 [Antibody Engineering Handbook, edited by Osamu Kanemitsu, published by Chijin Shokan (1994)] 참조). 또한, 상기 접합된 항체 유도체는 적절한 경우 내부 잔기 또는 당에 접합시킴으로써 생성될 수 있다. 이들 작용제는 본 발명의 항-c-Met 항체에 직접 또는 간접적으로 커플링될 수 있다. 제2 작용제의 간접적인 커플링의 하나의 예는 스페이서 모이어티에 의한 커플링이다. 한 실시양태에서, 본 발명의 항-c-Met 항체는 항체가 방사성동위원소에 접합될 수 있도록 하는 킬레이터 (chelator) 링커, 예를 들어 티옥세탄에 부착된다.

[0242] 이중특이적 항체

[0243] 추가의 측면에서, 본 발명은 상기 본원에서 설명되는 본 발명의 항-c-Met 항체로부터의 제1 항원 결합 부위 및 상이한 결합 특이성, 예를 들어 인간 효과기 세포, 인간 Fc 수용체, T 세포 수용체, B 세포 수용체에 대한 결합 특이성, 또는 c-Met의 비-중복 에피토프에 대한 결합 특이성을 갖는 제2 항원 결합 부위를 포함하는 이중특이적 분자, 즉 제1 및 제2 항원 결합 부위가 예를 들어 실시예 17에 기재된 바와 같이 시험할 때 c-Met에 대한 결합을 위해 경쟁하지 않는 이중특이적 항체에 관한 것이다.

[0244] 본 발명의 예시적인 이중특이적 항체 분자는 (i) 2개의 항체 (c-Met에 특이성을 갖는 하나 및 함께 접합되는 제2 표적에 특이성을 갖는 다른 것), (ii) c-Met에 특이적인 하나의 사슬 또는 아암 및 제2 분자에 특이적인 제2 사슬 또는 아암을 갖는 단일 항체, 및 (iii) c-Met 및 제2 분자에 특이성을 갖는 단일쇄 항체를 포함한다. 한 실시양태에서, 제2 분자는 암 항원/종양-연관 항원, 예를 들어 암배아 항원 (CEA), 전립선 특이적 항원 (PSA), RAGE (신장 항원),  $\alpha$ -태아단백질, CAMEL (흑색종 상의 CTL-인식 항원), CT 항원 (예컨대, MAGE-B5, -B6, -C2, -C3 및 D; Mage-12; CT10; NY-ESO-1, SSX-2, GAGE, BAGE, MAGE 및 SAGE), 뮤신 항원 (예컨대, MUC1, 뮤신-CA125 등), 강글리오시드 항원, 티로시나제, gp75, C-myc, Mart1, MelanA, MUM-1, MUM-2, MUM-3, HLA-B7, Ep-CAM 또는 암-연관 인테그린, 예를 들어  $\alpha 5 \beta 3$  인테그린이다. 또 다른 실시양태에서, 제2 분자는 혈관신생 인자 또는 다른 암-연관 성장 인자, 예를 들어 혈관 내피 성장 인자, 섬유모세포 성장 인자, 표피 성장 인자, 안지오텐신, 또는 이들의 임의의 것의 수용체, 특히 암 진행과 연관된 수용체 (예컨대, HER1-HER4 수용체 중 하나)이다. 한 실시양태에서, 본 발명의 이중특이적 항체는 디아바디이다.

[0245] 핵산 서열, 벡터 및 숙주 세포

[0246] 추가의 측면에서, 본 발명은 본 발명의 항체의 중쇄 및 경쇄를 코딩하는 핵산 서열, 예컨대 DNA 서열에 관한 것이다.

[0247] 한 실시양태에서, 핵산 서열은 서열 1, 5, 9, 13, 17, 21, 25, 29, 33, 37, 41, 45, 49, 53, 57, 61, 65, 69, 73, 77, 81, 85, 89, 93, 97, 101, 105, 109, 113, 117, 121, 125, 129, 133, 137, 138, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148, 149, 150, 151, 152, 153, 154, 155, 156, 157, 158, 159, 160, 161, 162, 163, 164, 165, 166, 167, 168, 169, 170, 171, 172, 173, 174, 175, 176, 177 및 178로 이루어진 군 중에서 선택된 아미노산 서열을 코딩한다.

[0248] 또 다른 특정 실시양태에서, 핵산 서열은 서열 1, 9, 17, 25, 33, 41, 49, 57, 65, 73, 81, 89, 97, 105, 113, 121, 129, 137, 139, 141, 143, 145, 147, 149, 151, 153, 155, 157, 159, 161, 163, 165, 167, 169, 171, 173, 175 및 177로 이루어진 군 중에서 선택된 VH 아미노산 서열을 코딩한다.

[0249] 또 다른 특정 실시양태에서, 핵산 서열은 서열 5, 13, 21, 29, 37, 45, 53, 61, 69, 77, 85, 93, 101, 109, 117, 125, 133, 138, 140, 142, 144, 146, 148, 150, 152, 154, 156, 158, 160, 162, 164, 166, 168, 170, 172, 174, 176 및 178로 이루어진 군 중에서 선택된 VL 아미노산 서열을 코딩한다.

[0250] 추가의 측면에서, 본 발명은 본 발명의 항체를 코딩하는 발현 벡터, 또는 발현 벡터의 세트에 관한 것이다. 항체의 중쇄 및 경쇄는 동일한 벡터 또는 상이한 벡터에 의해 코딩될 수 있다.

[0251] 그러한 발현 벡터는 본 발명의 항체의 재조합 생산을 위해 사용될 수 있다.

[0252] 한 실시양태에서, 본 발명의 발현 벡터는 서열 1, 5, 9, 13, 17, 21, 25, 29, 33, 37, 41, 45, 49, 53, 57, 61, 65, 69, 73, 77, 81, 85, 89, 93, 97, 101, 105, 109, 113, 117, 121, 125, 129, 133, 137, 138, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148, 149, 150, 151, 152, 153, 154, 155, 156, 157, 158, 159, 160, 161, 162, 163, 164, 165, 166, 167, 168, 169, 170, 171, 172, 173, 174, 175, 176, 177 및 178로 이루어진 군 중에서 선택된 하나 이상의 아미노산 서열을 코딩하는 뉴클레오타이드 서열을 포함한다.

[0253] 또 다른 특정 실시양태에서, 본 발명의 발현 벡터는 서열 1, 9, 17, 25, 33, 41, 49, 57, 65, 73, 81, 89, 97,

105, 113, 121, 129, 137, 139, 141, 143, 145, 147, 149, 151, 153, 155, 157, 159, 161, 163, 165, 167, 169, 171, 173, 175 및 177로 이루어진 군 중에서 선택된 하나 이상의 VH 아미노산 서열을 코딩하는 뉴클레오티드 서열을 포함한다.

[0254] 또 다른 특정 실시양태에서, 본 발명의 발현 벡터는 서열 5, 13, 21, 29, 37, 45, 53, 61, 69, 77, 85, 93, 101, 109, 117, 125, 133, 138, 140, 142, 144, 146, 148, 150, 152, 154, 156, 158, 160, 162, 164, 166, 168, 170, 172, 174, 176 및 178로 이루어진 군 중에서 선택된 하나 이상의 VL 아미노산 서열을 코딩하는 뉴클레오티드 서열을 포함한다.

[0255] 추가의 실시양태에서, 발현 벡터는 항체, 예를 들어 인간 항체의 경쇄 또는 중쇄 또는 경쇄 및 중쇄 둘 모두의 불변 영역을 코딩하는 뉴클레오티드 서열을 추가로 포함한다.

[0256] 본 발명의 문맥에서 발현 벡터는 임의의 적합한 벡터, 예를 들어 염색체, 비-염색체, 및 합성 핵산 벡터 (적합한 세트의 발현 제어 요소를 포함하는 핵산 서열)일 수 있다. 그러한 벡터의 예는 SV40의 유도체, 박테리아 플라스미드, 파지 DNA, 바칼로바이러스, 효모 플라스미드, 플라스미드와 파지 DNA의 조합물로부터 유래된 벡터, 및 바이러스 핵산 (RNA 또는 DNA) 벡터를 포함한다. 한 실시양태에서, 항-c-Met 항체-코딩 핵산은 네이키드 (naked) DNA 또는 RNA 벡터, 예를 들어, 선형 발현 요소 (예컨대, 문헌 [Sykes and Johnston, Nat Biotech 17, 355-59 (1997)]에 설명된 바와 같음), 압축형 (compacted) 핵산 벡터 (예컨대, US 6,077,835 및/또는 WO 00/70087에 설명된 바와 같음), 플라스미드 벡터, 예를 들어 pBR322, pUC 19/18, 또는 pUC 118/119, "미지 (midge)" 최소 크기의 핵산 벡터 내에 (예컨대 문헌 [Schakowski et al., Mol Ther 3, 793-800 (2001)]에 설명된 바와 같음), 또는 침전된 핵산 벡터 구축물, 예를 들어 CaP04-침전된 구축물로서 (예컨대 WO 00/46147, 문헌 [Benvenisty and Reshef, PNAS USA 83, 9551-55 (1986)], [Wigler et al., Cell 14, 725 (1978)] 및 [Coraro and Pearson, Somatic Cell Genetics 2, 603 (1981)]에 설명된 바와 같음) 포함된다. 그러한 핵산 벡터 및 그 용도는 당업계에 공지되어 있다 (예컨대 US 5,589,466 및 US 5,973,972 참조).

[0257] 한 실시양태에서, 벡터는 박테리아 세포 내에서 항-c-Met 항체의 발현을 위해 적합하다. 상기 벡터의 예는 발현 벡터, 예를 들어 블루스크립트(BlueScript) (스트라타젠 (Stratagene)), pIN 벡터 (Van Heeke & Schuster, J Biol Chem 264, 5503-5509 (1989)), pET 벡터 (노바젠 (Novagen, 미국 위스콘신주 매디슨) 등)을 포함한다.

[0258] 발현 벡터는 또한 또는 별법으로 효모 시스템 내의 발현을 위해 적합한 벡터일 수 있다. 효모 시스템 내의 발현을 위해 적합한 임의의 벡터가 사용될 수 있다. 적합한 벡터는 예를 들어, 알파 인자, 알콜 옥시다제 및 PGH와 같은 구성적 또는 유도가능 프로모터를 포함하는 벡터를 포함한다 (문헌 [F. Ausubel et al., ed. Current Protocols in Molecular Biology, Greene Publishing and Wiley InterScience New York (1987)], 및 [Grant et al., Methods in Enzymol 153, 516-544 (1987)]에서 검토됨).

[0259] 또한, 또는 별법으로, 발현 벡터는 포유동물 세포에서 발현을 위해 적합한 벡터, 예를 들어 글루타민 신테타제를 선택 마커로서 포함하는 벡터, 예컨대 문헌 [Bebbington (1992) Biotechnology (NY) 10:169-175]에 기재된 벡터일 수 있다.

[0260] 핵산 및/또는 벡터는 폴리펩티드, 예를 들어 신생 (nascent) 폴리펩티드 사슬을 주변세포질 공간에 또는 세포 배양 배지 내로 표적화할 수 있는 분비/국재화 (localization) 서열을 코딩하는 핵산 서열을 또한 포함할 수 있다. 그러한 서열은 당업계에 공지되어 있고, 분비 리더 (leader) 또는 신호 펩티드를 포함한다.

[0261] 본 발명의 발현 벡터에서, 항-c-Met 항체-코딩 핵산은 임의의 적합한 프로모터, 인핸서, 및 다른 발현-촉진 요소를 포함하거나 그와 회합될 수 있다. 그러한 요소의 예는 강한 발현 프로모터 (예컨대, 인간 CMV IE 프로모터/인핸서 및 RSV, SV40, SL3-3, MMTV 및 HIV LTR 프로모터), 효과적인 폴리(A) 종결 서열, 이. 콜라이 (*E. coli*) 내에서 플라스미드 생성물에 대한 복제 기점, 선택 마커로서 항생제 내성 유전자, 및/또는 편리한 클로닝 부위 (예컨대, 폴리링커)를 포함한다. 핵산은 또한 CMV IE와 같은 구성적 프로모터에 반대되는 유도가능 프로모터를 또한 포함할 수 있다.

[0262] 한 실시양태에서, 항-c-Met-항체-코딩 발현 벡터는 바이러스 벡터를 통해 숙주 세포 또는 숙주 동물 내에 배치되고/되거나 전달될 수 있다.

[0263] 또한 추가의 측면에서, 본 발명은 본원에서 정의되는 본 발명의 항체를 생산하는 재조합 진핵 또는 원핵 숙주 세포, 예를 들어 트랜스팩토마에 관한 것이다. 숙주 세포의 예는 효모, 박테리아 및 포유동물 세포, 예를 들어 CHO 또는 HEK 세포를 포함한다. 예를 들어, 한 실시양태에서, 본 발명은 본 발명의 항-c-Met 항체의 발현을 코딩하는 서열을 포함하는 세포 계능 내로 안정하게 통합된 핵산을 포함하는 세포를 제공한다. 또 다른 실시양태

에서, 본 발명은 본 발명의 항-c-Met 항체의 발현을 코딩하는 서열을 포함하는, 비-통합된 핵산, 예를 들어 플라스미드, 코스미드, 파지미드, 또는 선형 발현 요소를 포함하는 세포를 제공한다.

[0264] 추가의 측면에서, 본 발명은 본원에서 규정되는 본 발명의 항체를 생산하는 하이브리도마에 관한 것이다. 또한 추가의 측면에서, 본 발명은 인간 중쇄 및 인간 경쇄를 코딩하는 핵산을 포함하는 트랜스제닉 비-인간 동물 또는 식물에 관한 것이고, 여기서 동물 또는 식물은 본 발명의 항체를 생산한다.

[0265] 추가의 측면에서, 본 발명은

[0266] a) 상기 본원에서 설명된 본 발명의 하이브리도마 또는 숙주 세포를 배양하는 단계, 및

[0267] b) 배양 배지로부터 본 발명의 항체를 정제하는 단계

[0268] 를 포함하는, 본 발명의 항-c-Met 항체의 생산 방법에 관한 것이다.

[0269] 조성물

[0270] 추가의 주요 측면에서, 본 발명은

[0271] - 본원에서 정의된 항-c-Met 항체, 및

[0272] - 제약상 허용되는 담체

[0273] 를 포함하는 제약 조성물에 관한 것이다.

[0274] 본 발명의 제약 조성물은 본 발명의 하나의 항체 또는 본 발명의 상이한 항체들의 조합을 함유할 수 있다.

[0275] 제약 조성물은 문헌 [Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 19th Edition, Gennaro, Ed., Mack Publishing Co., Easton, PA, 1995]에 개시된 것과 같은 통상적인 기술에 따라 제제화될 수 있다. 본 발명의 제약 조성물은 예를 들어 희석제, 충전제, 염, 완충제, 디터전트 (예컨대, 비이온성 디터전트, 예를 들어 트윈 (Tween)-20 또는 트윈-80), 안정화제 (예컨대, 당 또는 단백질-비함유 아미노산), 보존제, 조직 고정제, 가용화제 및/또는 제약 조성물에 포함시키기 적합한 다른 물질을 포함할 수 있다.

[0276] 제약상 허용되는 담체는 본 발명의 화합물과 생리학상 상용성인 임의의 모든 적합한 용매, 분산 매질, 코팅제, 항박테리아 및 항진균제, 등장화제, 항산화제 및 흡수 지연제 등을 포함한다. 본 발명의 제약 조성물에 사용될 수 있는 적합한 수성 및 비수성 담체의 예는 물, 염수, 포스페이트 완충 염수, 에탄올, 텍스트로스, 폴리올 (예컨대, 글리세롤, 프로필렌 글리콜, 폴리에틸렌 글리콜 등) 및 그의 적합한 혼합물, 식물유, 카르복시메틸 셀룰로스 콜로이드 용액, 트라가칸트 겔 및 주사가능한 유기 에스테르, 예컨대 에틸 올레에이트, 및/또는 다양한 완충제를 포함한다. 제약상 허용되는 담체는 멸균 수용액 또는 분산액, 및 멸균 주사가능 용액 또는 분산액의 즉석 제조를 위한 멸균 분말을 포함한다. 적절한 유동성은 예를 들어, 레시틴과 같은 코팅 물질의 사용에 의해, 분산액의 경우에 요구되는 입자 크기의 유지에 의해, 및 계면활성제의 사용에 의해 유지될 수 있다.

[0277] 또한, 본 발명의 제약 조성물은 제약상 허용되는 항산화제, 예를 들어 (1) 수용성 항산화제, 예컨대 아스코르브산, 시스테인 히드로클로라이드, 중황산나트륨, 메타중아황산나트륨, 아황산나트륨 등; (2) 지용성 항산화제, 예컨대 아스코르빌 팔미테이트, 부틸화 히드록시아니솔, 부틸화 히드록시톨루엔, 레시틴, 프로필 갈레이트, 알파-토코페롤 등; 및 (3) 금속 킬레이팅제, 예를 들어 시트르산, 에틸렌디아민 테트라아세트산 (EDTA), 소르비톨, 타르타르산, 인산 등을 또한 포함할 수 있다.

[0278] 본 발명의 제약 조성물은 조성물 내에 등장화제, 예컨대 당, 폴리알콜, 예컨대 만니톨, 소르비톨, 글리세롤 또는 염화나트륨을 또한 포함할 수 있다.

[0279] 본 발명의 제약 조성물은 제약 조성물의 저장 수명 또는 유효성을 향상시킬 수 있는, 선택된 투여 경로에 적절한 하나 이상의 보조제, 예컨대 보존제, 습윤제, 유화제, 분산제, 보존제 또는 완충제를 또한 함유할 수 있다. 본 발명의 화합물은 임플란트, 경피 패치 및 미세캡슐화된 전달계를 포함한 제어 방출 제제와 같은, 신속한 방출에 대해 화합물을 보호할 담체를 사용하여 제조할 수 있다. 그러한 담체는 젤라틴, 글리세릴 모노스테아레이트, 글리세릴 디스테아레이트, 생분해성의 생체적합성 중합체, 예를 들어 에틸렌 비닐 아세테이트, 폴리안히드라이드 (polyanhydride), 폴리글리콜산, 콜라겐, 폴리오르토에스테르, 및 폴리락트산을 단독으로 또는 왁스와 함께, 또는 당업계에 공지된 다른 물질을 포함할 수 있다. 그러한 제제의 제조 방법은 당업자에게 일반적으로 공지되어 있다.

[0280] 멸균 주사가능 용액은 요구되는 양의 활성 화합물을 적절한 용매 내에, 요구되는 경우에 상기 열거된 성분 중



하나 또는 그의 조합물과 함께 혼입한 후 멸균 미세여과하여 제조할 수 있다. 일반적으로, 분산액은 활성 화합물을 기본 분산 매질 및 상기 열거된 것 중의 요구되는 다른 성분을 함유하는 멸균 비히클 내에 포함시켜 제조한다. 멸균 주사가능 용액의 제조를 위한 멸균 분말의 경우에, 제조 방법의 예는 미리 멸균-여과시킨 그의 용액으로부터 활성 성분 + 임의의 추가의 목적하는 성분의 분말을 생성시키는 진공 건조 및 냉동-건조 (동결건조 (lyophilization))이다.

[0281] 제약 조성물 내의 활성 성분의 실제 투여량 수준은 환자에게 독성이 없으면서 특정 환자, 조성물, 및 투여 방식에 대해 목적하는 치료 반응을 달성하기 위해 효과적인 활성 성분의 양을 얻을 수 있기 위해 변화될 수 있다. 선택된 투여량 수준은 사용되는 본 발명의 특정 조성물 또는 그의 아미드의 활성, 투여 경로, 투여 시간, 사용되는 특정 화합물의 배출 속도, 치료 지속 기간, 사용되는 특정 조성물과 조합 사용되는 다른 약물, 화합물 및/또는 물질, 치료받는 환자의 연령, 성별, 체중, 상태, 전반적인 건강 및 사전 의료력, 및 의학 분야에 잘 공지된 기타 인자와 같은 다양한 약동학 인자에 따라 결정될 것이다.

[0282] 제약 조성물은 임의의 적합한 경로 및 방식으로 투여될 수 있다. 한 실시양태에서, 본 발명의 제약 조성물은 비경구로 투여된다. "비경구로 투여되는"은 본원에서 사용될 때 장관 및 국소 투여 이외의 다른 투여 방식, 대체로 주사에 의한 것을 의미하고, 표피, 정맥내, 근육내, 동맥내, 경막내, 낭내, 안와내, 심장내, 피부내, 복강내, 건내, 경기관, 피하, 표피하, 관절내, 낭하, 거미막하, 척수내, 두개내, 흉곽내, 경막외 및 흉골내 주사 및 주입을 포함한다.

[0283] 한 실시양태에서, 제약 조성물은 정맥내 또는 피하 주사 또는 주입에 의해 투여된다.

[0284] 용도

[0285] 추가의 주요 측면에서, 본 발명은 의약으로서 사용하기 위한 본 발명의 항-c-Met 항체에 관한 것이다.

[0286] 본 발명의 항-c-Met 항체는 많은 목적을 위해 사용될 수 있다. 특히, 본 발명의 항체는 전이암 및 난치성 암을 비롯한 다양한 형태의 암의 치료에 사용될 수 있다. 상기 암은 HGF-의존성 또는 HGF-비의존성일 수 있다.

[0287] 한 실시양태에서, 본 발명의 항-c-Met 항체는 방광암, 유방암, 자궁경부암, 담관암종, 결장직장암, 자궁내막암, 식도암, 위암, 두경부암, 신장암, 간암, 폐암 (예컨대 비-소세포 폐암 (NSCLC)), 비인두암, 난소암, 췌장암, 담낭암, 전립선암 및 갑상선암으로 이루어진 군 중에서 선택된 암 형태의 치료를 위해 사용된다.

[0288] 또 다른 실시양태에서, 본 발명의 항-c-Met 항체는 골육종, 횡문근육종 및 윤활막 육종으로 이루어진 군 중에서 선택된 암 형태의 치료를 위해 사용된다.

[0289] 또 다른 실시양태에서, 본 발명의 항-c-Met 항체는 카포시 (Kaposi) 육종, 평활근육종, 악성 섬유성 조직구종 및 섬유육종으로 이루어진 군 중에서 선택된 암 형태의 치료를 위해 사용된다.

[0290] 또 다른 실시양태에서, 본 발명의 항-c-Met 항체는 조혈 악성종양, 예컨대 급성 골수성 백혈병, 성인 T 세포 백혈병, 만성 골수성 백혈병, 림프종 및 다발성 골수종으로 이루어진 군 중에서 선택된 악성종양의 치료를 위해 사용된다.

[0291] 추가의 실시양태에서, 본 발명의 항-c-Met 항체는 교모세포종, 성상세포종, 흑색종, 증피종 및 윌름 (Wilm) 종양으로 이루어진 군 중에서 선택된 신생물의 치료를 위해 사용된다.

[0292] 추가의 실시양태에서, 본 발명의 항-c-Met 항체는 투명 세포 육종 (CCS), 포상 연부 육종 (ASPS) 및 전위-연관 신세포 암종을 포함하는 MiT 종양의 치료를 위해 사용된다.

[0293] 또 다른 실시양태에서, 본 발명의 효능작용 항-c-Met 항체는 예를 들어 관상동맥 심장병 환자에서 시토카인 생산의 조절 및 내피 전구 세포 이동의 유도를 위해 사용된다 (Yang et al. (2009) Clin Exp Pharmacol Physiol. 36:790).

[0294] 또 다른 실시양태에서, 본 발명의 효능작용 항-c-Met 항체는 만성 신부전의 억제 또는 개선을 위해 사용된다 (Mizuno et al. (2008) Front Biosci. 13:7072).

[0295] 유사하게, 본 발명은 그를 필요로 하는 개체에게 유효량의 본 발명의 항체를 투여하는 것을 포함하는, c-Met를 발현하는 종양 세포의 성장 및/또는 증식을 억제하는 방법에 관한 것이다.

[0296] 한 실시양태에서, 상기 종양 세포는 방광암, 유방암, 자궁경부암, 담관암종, 결장직장암, 자궁내막암, 식도암, 위암, 두경부암, 신장암, 간암, 폐암, 비인두암, 난소암, 췌장암, 담낭암, 전립선암, 갑상선암, 골육종, 횡문근

육종, 윤활막 육종, 카포시 육종, 평활근육종, 악성 섬유성 조직구종, 섬유육종, 급성 골수성 백혈병, 성인 T 세포 백혈병, 만성 골수성 백혈병, 림프종, 다발성 골수종, 교모세포종, 성상세포종, 흑색종, 중피종 및 월름 종양으로 이루어진 군 중에서 선택된 암의 형태에 관련된다.

[0297] 또한, 본 발명은 암, 예컨대 상기 언급한 특이적 암 적응증 중의 하나의 치료를 위한 의약의 제조를 위한, 인간 c-Met에 결합하는 모노클로날 항체의 용도에 관한 것이다.

[0298] 한 실시양태에서, 항-c-Met 항체로 치료되는 환자의 선택은 상기 환자의 관련 종양 세포 상의 c-Met 및/또는 HGF의 (과다)발현의 수준을 기초로 한다.

[0299] 본 발명의 치료 방법의 추가의 실시양태에서, 치료 효능은 치료 동안, 예를 들어 소정의 시점에서 관련 종양 세포 상의 c-Met 발현 수준을 측정함으로써 모니터링된다.

[0300] 상기 치료 및 사용 방법에서 투여 요법은 최적의 목적하는 반응 (예컨대, 치료 반응)을 제공하기 위해 조정된다. 예를 들어, 단일 볼루스를 투여할 수 있거나, 몇몇 분할 용량을 일정 시간에 걸쳐 투여할 수 있거나, 치료 상황의 응급성에 따라 용량을 비례적으로 감소 또는 증가시킬 수 있다. 비경구 조성물은 투여 용이성과 투여량의 균일성을 위해 단위 투여 형태로 제제화할 수 있다.

[0301] 항-c-Met 항체에 대한 효율적인 투여량 및 투여 요법은 치료할 질환 또는 병태에 의존적이고 당업자가 결정할 수 있다. 본 발명의 화합물의 치료 유효량에 대한 예시적인 비-제한적 범위는 약 0.1-100 mg/kg, 예컨대 약 0.1-50 mg/kg, 예를 들어 약 0.1-20 mg/kg, 예컨대 약 0.1-10 mg/kg, 예를 들어 약 0.5, 예컨대 약 0.3, 약 1, 약 3, 약 5, 또는 약 8 mg/kg이다.

[0302] 당업계의 통상의 기술을 가진 의사 또는 수의사는 요구되는 제약 조성물의 유효량을 쉽게 결정하고 처방할 수 있다. 예를 들어, 의사 또는 수의사는 제약 조성물에서 사용되는 항-c-Met 항체의 용량을 목적하는 치료 효과를 달성하기 위해 요구되는 것보다 더 낮은 수준에서 시작하여 목적하는 효과가 달성될 때까지 투여량을 점차 증가시킬 수 있다. 일반적으로, 본 발명의 조성물의 적합한 일일 용량은 치료 효과를 생성하기 위해 효과적인 최저 용량인 화합물의 양일 것이다. 투여는 예를 들어 비경구, 예컨대 정맥내, 근육내 또는 피하 투여될 수 있다. 한 실시양태에서, 항-c-Met 항체는 10 내지 500 mg/m<sup>2</sup>, 예컨대 200 내지 400 mg/m<sup>2</sup>의 매주 투여량으로 주입에 의해 투여될 수 있다. 그러한 투여는 예를 들어, 1 내지 8회, 예를 들어 3 내지 5회 반복할 수 있다. 투여는 2 내지 24시간, 예를 들어 2 내지 12시간에 걸쳐 연속 주입에 의해 수행할 수 있다. 한 실시양태에서, 항-c-Met 항체는 독성 부작용을 감소시키기 위해 장기간, 예컨대 24시간 초과에 걸쳐 느린 연속 주입에 의해 투여될 수 있다.

[0303] 한 실시양태에서, 항-c-Met 항체는 250 mg 내지 2000 mg, 예를 들어 300 mg, 500 mg, 700 mg, 1000 mg, 1500 mg 또는 2000 mg의 매주 투여량으로 8회까지, 예컨대 4 내지 6회 투여될 수 있다. 그러한 요법은 필요한 경우에 예를 들어, 6개월 또는 12개월 후에 1회 이상 반복될 수 있다. 투여량은 예를 들어, 생물학적 샘플을 채취하고 본 발명의 항-c-Met 항체의 항원 결합 영역을 표적으로 하는 항-이디오타입 항체를 사용함으로써, 투여 시에 혈액 내의 본 발명의 화합물의 양을 측정함으로써 결정되거나 조정될 수 있다.

[0304] 한 실시양태에서, 항-c-Met 항체는 예를 들어, 6개월 이상의 기간 동안 매주 1회와 같은 유지 요법에 의해 투여될 수 있다.

[0305] 항-c-Met 항체는 또한 암 발병 위험을 감소시키고/시키거나, 암 진행에서 사건 발현의 발생을 지연시키고/시키거나 암이 관해 상태일 때 재발 위험을 감소시키기 위해 예방 목적으로 투여될 수 있다.

[0306] 항-c-Met 항체는 또한 조합 요법으로, 즉, 치료할 질환 또는 병태에 관련된 다른 치료제와 조합으로 투여될 수 있다. 따라서, 한 실시양태에서, 항체-함유 의약은 하나 이상의 추가의 치료제, 예컨대 세포독성제, 화학요법제 또는 항-혈관신생제와 조합하기 위한 것이다.

[0307] 그러한 조합 투여는 동시, 별개 또는 순차적일 수 있다. 동시 투여를 위해, 물질들은 하나의 조성물로서 또는 별개의 조성물로서 적절하게 투여될 수 있다. 따라서, 본 발명은 또한 아래 설명된 바와 같은 하나 이상의 추가의 치료제와 조합된 본 발명의 항-c-Met 항체를 투여하는 것을 포함하는, 상기 설명된 바와 같이 c-Met를 발현하는 세포에 연관된 장애의 치료 방법을 제공한다.

[0308] 한 실시양태에서, 본 발명은 치료 유효량의 본 발명의 항-c-Met 항체 및 적어도 하나의 추가의 치료제를 c-Met를 발현하는 세포에 연관된 장애의 치료를 필요로 하는 대상체에게 투여하는 것을 포함하는, 대상체에서 c-

Met를 발현하는 세포에 연관된 장애의 치료 방법을 제공한다.

- [0309] 한 실시양태에서, 본 발명은 치료 유효량의 본 발명의 항-c-Met 항체 및 적어도 하나의 추가의 치료제를 암의 치료 또는 예방을 필요로 하는 대상체에게 투여하는 것을 포함하는, 암의 치료 또는 예방 방법을 제공한다.
- [0310] 한 실시양태에서, 상기 추가의 치료제는 항대사물질, 예컨대 메토틱세이트, 6-메르캅토피리딘, 6-티오구아닌, 시타라빈, 플루다라빈, 5-플루오로우라실, 데카르바진, 히드록시우레아, 아스파라기나제, 겐시타빈, 및 클라드리빈 중에서 선택될 수 있다.
- [0311] 또 다른 실시양태에서, 상기 추가의 치료제는 알킬화제, 예컨대 메클로레타민, 티오에파, 클로람부실, 멜팔란, 카르무스틴 (BSNU), 로무스틴 (CCNU), 시클로포스파미드, 부술판, 디브로모만니톨, 스트렙토조토신, 다카르바진 (DTIC), 프로카르바진, 미토마이신 C, 시스플라틴 및 다른 백금 유도체, 예컨대 카르보플라틴 중에서 선택될 수 있다.
- [0312] 또 다른 실시양태에서, 상기 추가의 치료제는 항유사분열제, 예컨대 탁산, 예를 들어 도세탁셀 및 파클리탁셀, 및 빈카 알칼로이드, 예를 들어 빈데신, 빈크리스틴, 빈블라스틴 및 비노렐빈 중에서 선택될 수 있다.
- [0313] 또 다른 실시양태에서, 상기 추가의 치료제는 토포이소머라제 억제제, 예컨대 토포테칸 또는 이리노테칸, 또는 세포증식 억제성 약물, 예컨대 에토포시드 및 테니포시드 중에서 선택될 수 있다.
- [0314] 또 다른 실시양태에서, 상기 추가의 치료제는 성장 인자 억제제, 예컨대 ErbB1 (EGFR)의 억제제 (예컨대, 항-EGFR 항체, 예를 들어 잘루투무맙, 세툽시맙, 파니투무맙 또는 니모투주맙 또는 다른 EGFR 억제제, 예컨대 게피티닙 또는 에를로티닙), ErbB2 (Her2/neu)의 억제제 (예컨대 항-HER2 항체, 예를 들어 트라스투주맙, 트라스투주맙-DM1 또는 페르투주맙) 또는 EGFR과 HER2 둘 모두의 억제제, 예컨대 라파티닙) 중에서 선택될 수 있다.
- [0315] 한 실시양태에서, 상기 추가의 치료제는 티로신 키나제 억제제, 예컨대 이마티닙 (글리벡 (Glivec), 글리벡 STI571), 라파티닙, PTK787/ZK222584 중에서 선택될 수 있다.
- [0316] 한 실시양태에서, 본 발명은 치료 유효량의 본 발명의 항-c-Met 항체, 및 혈관신생, 신혈관형성, 및/또는 다른 혈관형성의 적어도 하나의 억제제를 c-Met를 발현하는 세포에 연관된 장애의 치료를 필요로 하는 대상체에게 투여하는 것을 포함하는, 대상체에서 c-Met를 발현하는 세포에 연관된 장애의 치료 방법을 제공한다.
- [0317] 상기 혈관신생 억제제의 예는 유로키나제 억제제, 매트릭스 메탈로프로테아제 억제제 (예컨대, 마리마스타트, 네오바스타트, BAY 12-9566, AG 3340, BMS-275291 및 유사한 작용제), 내피 세포 이동 및 증식의 억제제 (예컨대, TNF-470, 스쿠알라민, 2-메톡시에스트라디올, 콤프레타스타틴, 엔도스타틴, 안지오스타틴, 페니실라민, SCH66336 (쉐링-플로 코프, (Schering-Plough Corp, 미국 뉴저지주 매디슨)), R115777 (얀센 파마슈티칼스, 인크 (Janssen Pharmaceutica, Inc, 미국 뉴저지주 티터스빌)) 및 유사한 물질), 혈관신생 성장 인자의 길항제 (예컨대, ZD6474, SU6668); 혈관신생 및/또는 그들의 수용체 (예컨대, VEGF (예컨대, 베바시주맙), bFGF, 및 안지오포이에틴-1)에 대해 작용성인 항체, 탈리도마이드, 탈리도마이드 유사체 (예컨대, CC-5013), 수겐(Sugen) 5416, SU5402, 항혈관신생성 리보자임 (예컨대, 안지오자임), 인터페론  $\alpha$  (예컨대, 인터페론  $\alpha$ 2a), 수라민 및 유사한 물질), VEGF-R 키나제 억제제 및 다른 항-혈관신생성 티로신 키나제 억제제 (예컨대, SU011248), 내피-특이적 인테그린/생존 신호전달의 억제제 (예컨대, 비탁신 및 유사한 물질), 구리 길항제/길레이터 (예컨대, 테트라티오몰리브데이트, 캅토프릴 및 유사한 물질), 카르복시아미도-트리아졸 (CAI), ABT-627, CM101, 인터류킨-12 (IL-12), IM862, PNU145156E 및 혈관신생을 억제하는 뉴클레오티드 분자 (예컨대, 안티센스-VEGF-cDNA, 안지오스타틴을 코딩하는 cDNA, p53을 코딩하는 cDNA 및 결여 VEGF 수용체-2를 코딩하는 cDNA)이다.
- [0318] 상기 혈관신생, 신혈관형성, 및/또는 다른 혈관형성의 억제제의 다른 예는 항-혈관신생성 헤파린 유도체 (예컨대, 헤파리나제 III), 테모졸로미드, NK4, 대식세포 이동 억제 인자, 시클로옥시게나제-2 억제제, 저산소증-유도가능 인자 1의 억제제, 항-혈관신생성 대두 이소플라본, 올티프라즈, 푸마길린 및 그의 유사체, 소마토스타틴 유사체, 펜토산 폴리술페이트, 데코갈란 나트륨, 달테파린, 톨스타틴, 트롬보스폰딘, NM-3, 콤프레타스타틴, 칸스타틴, 아바스타틴, 다른 관련 표적에 대해 작용성인 항체, 예컨대 항-알파-v/베타-3 인테그린 및 항-키니노스타틴 항체이다.
- [0319] 한 실시양태에서, 상기 설명된 바와 같은 장애를 치료하기 위해 항-c-Met 항체와 조합하여 사용하기 위한 치료제는 항암 면역원, 예컨대 암 항원/종양-연관 항원 (예컨대, 상피 세포 부착 분자 (EpCAM/TACSTD1), 뮤신 1 (MUC1), 암배아 항원 (CEA), 종양-연관 당단백질 72 (TAG-72), gp100, Melan-A, MART-1, KDR, RCAS1, MDA7, 암-연관 바이러스 백신 (예컨대, 인간 유두종바이러스 백신), 종양-유래 열 충격 단백질일 수 있다.

- [0320] 한 실시양태에서, 상기 설명된 바와 같은 장애를 치료하기 위해 항-c-Met 항체와 조합하여 사용하기 위한 치료제는 항암 시토카인, 케모카인 또는 그의 조합물일 수 있다. 적합한 시토카인 및 성장 인자의 예는 IFN $\gamma$ , IL-2, IL-4, IL-6, IL-7, IL-10, IL-12, IL-13, IL-15, IL-18, IL-23, IL-24, IL-27, IL-28a, IL-28b, IL-29, KGF, IFN $\alpha$  (예컨대, INF $\alpha$ 2b), IFN $\beta$ , GM-CSF, CD40L, Flt3 리간드, 줄기 세포 인자, 안세스틴 및 TNF $\alpha$ 를 포함한다. 적합한 케모카인은 Glu-Leu-Arg (ELR)-음성 케모카인, 예컨대 IP-10, MCP-3, MIG, 및 SDF-1 $\alpha$  (인간 CXC 및 C-C 케모카인 패밀리로부터의)를 포함할 수 있다. 적합한 시토카인은 시토카인 유도체, 시토카인 변이체, 시토카인 단편 및 시토카인 융합 단백질을 포함한다.
- [0321] 한 실시양태에서, 상기 설명된 바와 같은 장애를 치료하기 위해 항-c-Met 항체와 조합하여 사용하기 위한 치료제는 세포 주기 제어/아포토시스 조절제 (또는 "조절 작용제")일 수 있다. 세포 주기 제어/아포토시스 조절제는 세포 주기 제어/아포토시스 조절제, 예컨대 (i) cdc-25 (예컨대, NSC 663284), (ii) 세포 주기를 과다자극하는 사이클린-의존성 키나제 (예컨대, 플라보피리돌 (L868275, HMR1275), 7-히드록시스타우로스포린 (UCN-01, KW-2401), 및 로스코비틴 (R-로스코비틴, CYC202)), 및 (iii) 텔로머라제 조절물질 (예컨대, BIBR1532, SOT-095, GRN163 및 예를 들어 US 6,440,735 및 US 6,713,055에 기재된 조성물)을 표적으로 하여 조정하는 분자를 포함할 수 있다. 아포토시스 경로를 저해하는 분자의 비제한적인 예는 TNF-관련 아포토시스-유도 리간드 (TRAIL)/아포토시스-2 리간드 (Apo-2L), TRAIL 수용체를 활성화하는 항체, IFN 및 안티센스 Bcl-2를 포함한다.
- [0322] 한 실시양태에서, 상기 설명된 바와 같은 장애를 치료하기 위해 항-c-Met 항체와 조합하여 사용하기 위한 치료제는 호르몬 조절 물질, 예컨대 항-안드로겐 및 항-에스트로겐 요법에 유용한 물질일 수 있다. 그러한 호르몬 조절물질의 예는 타목시펜, 이독시펜, 퓌베스트란트, 드롤록시펜, 토레미펜, 랄록시펜, 디에틸stil베스트롤, 에티닐 에스트라디올/에스티닐, 항안드로겐 (예컨대, 플루타민드/에우렉신), 프로게스틴 (예컨대, 히드록시프로게스테론 카프로에이트, 메드록시-프로게스테론/프로베라, 메게스트롤 아세테이트/메게이스), 아드레노코르티코스테로이드 (예컨대, 히드로코티손, 프레드니손), 황체형성 호르몬-방출 호르몬 (및 그의 유사체 및 다른 LHRH 효능제, 예컨대 부세렐린 및 고세렐린), 아로마타제 억제제 (예컨대, 아나스트라졸/아리미덱스, 아미노글루테티미드/사이트라텐, 엑세메스탄), 또는 호르몬 억제제 (예컨대, 옥트레오티드/산도스타틴)이다.
- [0323] 한 실시양태에서, 상기 설명된 바와 같은 장애를 치료하기 위해 항-c-Met 항체와 조합하여 사용하기 위한 치료제는 항-무력화제, 예컨대 CTLA-4의 활성을 차단하는 분자인 화합물, 예를 들어 이필리무맙이다.
- [0324] 한 실시양태에서, 상기한 바와 같은 장애를 치료하기 위해 항-c-Met 항체와 조합하여 사용하기 위한 치료제는 항암 핵산 또는 항암 억제성 RNA 분자일 수 있다.
- [0325] 상기 설명된 바와 같은 장애를 치료하기 위해 항-c-Met 항체와 조합하여 사용하기 위한 치료제로서 관련될 수 있는 다른 항암제의 예는 분화 유도제, 레티노산 유사체 (예컨대, 모든 트랜스 레티노산, 13-시스 레티노산 및 유사한 작용제), 비타민 D 유사체 (예컨대, 세오칼시톨 및 유사한 물질); ErbB3, ErbB4, IGF-IR, 인슐린 수용체, PDGFR $\alpha$ , PDGFR $\beta$ , Flk2, Flt4, FGFR1, FGFR2, FGFR3, FGFR4, TRKA, TRKC, RON (예컨대, 항-RON 항체), Sea, Tie, Tie2, Eph, Ret, Ros, Alk, LTK, PTK7의 억제제 및 유사한 작용제이다.
- [0326] 상기 설명된 바와 같은 장애를 치료하기 위해 항-c-Met 항체와 조합하여 사용하기 위한 치료제로서 관련될 수 있는 다른 항암제의 예는 에스트라무스틴 및 에피루비신이다.
- [0327] 상기 설명된 바와 같은 장애를 치료하기 위해 항-c-Met 항체와 조합하여 사용하기 위한 치료제로서 관련될 수 있는 다른 항암제의 예는 HSP90 억제제 유사 17-알릴 아미노 겔드-아나마이신, PSA, CA125, KSA 등과 같은 종양 항원에 대해 작용성인 항체, 인테그린, 예를 들어 인테그린  $\beta$ 1, VCAM의 억제제이다.
- [0328] 상기 설명된 바와 같은 장애를 치료하기 위해 항-c-Met 항체와 조합하여 사용하기 위한 치료제로서 관련될 수 있는 다른 항암제의 예는 칼시뉴린-억제제 (예컨대, 발스포다르, PSC 833 및 다른 MDR-1 또는 p-당단백질 억제제), TOR-억제제 (예컨대, 시롤리무스, 에베롤리무스 및 라파마이신) 및 "림프구 호밍 (homing)" 메커니즘의 억제제 (예컨대, FTY720), 및 세포 신호전달에 대해 효과가 있는 물질, 예를 들어 어드헤신 분자 억제제 (예컨대 항-LFA 등)이다.
- [0329] 한 실시양태에서, 본 발명의 항-c-Met 항체는 하나 이상의 다른 치료 항체, 예를 들어 오파투무맙, 자놀리무맙, 다라투무맙, 라니비주맙, 제나팍스 (Zenapax), 시물렉트 (Simulect), 레미케이드 (Remicade), 휴미라 (Humira), 타이사브리 (Tysabri), 솔레이 (Xolair), 랩티바 및/또는 리톡시맙과 조합하여 사용하기 위한 것이다.



- [0330] 본 발명의 항체와 조합하여 사용될 수 있는 다른 치료 항체는 c-Met의 다른 영역에 결합하는 항-c-Met 항체, 예컨대 W02005016382, W02006015371, W02007090807, W02007126799 또는 W02009007427 (모두 본원에 참고로 포함됨)에 기재된 것이다.
- [0331] 또 다른 실시양태에서, 본원에서 설명되는 본 발명의 2개 이상의 상이한 항체가 질환의 치료를 위해 조합으로 사용된다. 특히 흥미로운 조합물은 2개 이상의 비-경쟁 항체를 포함한다. 그러한 조합 치료는 세포당 증가된 수의 항체 분자의 결합을 일으킬 수 있고, 이는 예를 들어 보체-매개 용해의 활성화를 통해 효능을 증가시킬 수 있다.
- [0332] 상기한 것에 추가로, 본 발명의 조합 치료의 다른 실시양태는 다음을 포함한다:
- [0333] · 비-소세포 폐암의 치료를 위해, EGFR 억제제, 예컨대 항-EGFR 항체, 예를 들어 잘루투무맙, 세톡시맙, 파니투무맙 또는 니모투주맙 또는 다른 EGFR 억제제, 예컨대 게피티닙 또는 에를로티닙과 조합된, 또는 ErbB2 (Her2/neu)의 억제제 (예컨대 항-HER2 항체, 예를 들어 트라스투주맙, 트라스투주맙-DM1 또는 페르투주맙)와 조합된 또는 EGFR과 HER2 둘 모두의 억제제, 예컨대 라파티닙과 조합된, 또는 HER3 억제제와 조합된 항-c-Met 항체.
- [0334] · 신경아교종의 치료를 위해, 테모졸로미드 또는 혈관신생 억제제, 예컨대 베바시주맙과 조합된 항-c-Met 항체.
- [0335] · 결장직장암의 치료를 위해, 겐시타빈, 베바시주맙, FOLFOX, FOLFIRI, XELOX, IFL, 옥살리플라틴, 이리노테칸, 5-FU/LV, 카페시타빈, UFT, EGFR 표적화제, 예를 들어 세톡시맙, 파니투무맙, 잘루투무맙; VEGF 억제제, 또는 티로신 키나제 억제제, 예를 들어 수니티닙 중에서 선택된 하나 이상의 화합물과 조합된 항-c-Met 항체.
- [0336] · 전립선암의 치료를 위해, 호르몬/항호르몬 요법제; 예컨대 항안드로겐, 황체형성 호르몬 방출 호르몬 (LHRH) 효능제, 및 화학요법제, 예컨대 탁산, 미톡산트론, 에스트라무스틴, 5FU, 빈블라스틴, 익사베필론 중에서 선택된 하나 이상의 화합물과 조합된 항-c-Met 항체.
- [0337] 방사선요법 - 수술
- [0338] 한 실시양태에서, 본 발명은 c-Met를 발현하는 세포에 연관한 장애의 치료를 필요로 하는 대상체에게 치료 유효량의 항-c-Met 항체, 예컨대 본 발명의 항-c-Met 항체를 투여하고 방사선요법을 실시하는 것을 포함하는, 대상체에서 c-Met를 발현하는 세포에 연관한 장애의 치료 방법을 제공한다.
- [0339] 한 실시양태에서, 본 발명은 암의 치료 또는 예방을 필요로 하는 대상체에게 치료 유효량의 항-c-Met 항체, 예컨대 본 발명의 항-c-Met 항체를 투여하고 방사선요법을 실시하는 것을 포함하는, 암의 치료 또는 예방 방법을 제공한다.
- [0340] 한 실시양태에서, 본 발명은 방사선요법과 조합되어 투여되는, 암 치료를 위한 제약 조성물의 제조를 위한 항-c-Met 항체, 예컨대 본 발명의 항-c-Met 항체의 용도를 제공한다.
- [0341] 방사선요법은 방사선 조사를 포함할 수 있거나, 환자에 대한 방사선약품의 연관된 투여가 제공된다. 방사선 공급원은 치료받는 환자의 외부 또는 내부에 존재할 수 있다 (방사선 치료는 예를 들어, 체외 방사선 치료 (EBRT) 또는 근접치료 (BT) 형태일 수 있다). 그러한 방법을 실시하는데 사용될 수 있는 방사성 원소는 예를 들어, 라듐, 세슘-137, 이리듐-192, 아메리슘-241, 금-198, 코발트-57, 구리-67, 테크네튬-99, 아이오다이드-123, 아이오다이드-131, 및 인듐-111을 포함한다.
- [0342] 추가의 실시양태에서, 본 발명은 암의 치료 또는 예방을 필요로 하는 대상체에게 치료 유효량의 항-c-Met 항체, 예컨대 본 발명의 항-c-Met 항체를 수술과 조합하여 투여하는 것을 포함하는, 암의 치료 또는 예방 방법을 제공한다.
- [0343] 진단 용도
- [0344] 본 발명의 항-c-Met 항체는 또한 진단 목적을 위해 사용될 수 있다. 따라서, 추가의 측면에서, 본 발명은 본원에서 규정되는 항-c-Met 항체를 포함하는 진단 조성물에 관한 것이다.
- [0345] 한 실시양태에서, 본 발명의 항-c-Met 항체는 c-Met의 수준, 또는 그들의 막 표면 상에 c-Met를 함유하는 세포의 수준을 검출함으로써, c-Met를 발현하는 활성화된 세포가 발병기전에서 능동적인 역할을 하는 질환을 진단하

기 위해 생체 내에서 또는 시험관 내에서 사용될 수 있다. 이것은 예를 들어, 시험할 샘플을 임의로 대조군 샘플과 함께, 항체와 c-Met 사이에 복합체의 형성을 허용하는 조건 하에 항-c-Met 항체와 접촉시킴으로써 달성할 수 있다.

[0346] 따라서, 추가의 측면에서, 본 발명은

[0347] - 항체와 c-Met 사이의 복합체의 형성을 허용하는 조건 하에 샘플을 본 발명의 항-c-Met 항체와 접촉시키고;

[0348] - 복합체가 형성되었는지 분석하는 것

[0349] 을 포함하는, 샘플 내의 c-Met 항원, 또는 c-Met를 발현하는 세포의 존재를 검출하는 방법에 관한 것이다.

[0350] 한 실시양태에서, 방법은 시험관 내에서 수행한다.

[0351] 보다 구체적으로, 본 발명은 침습적인 세포 및 조직, 및 본 발명의 항-c-Met 항체에 의해 표적화된 다른 세포의 확인 및 진단 방법, 및 치료 처치의 진행, 치료 후의 상태, 암의 발병 위험, 암 진행 등의 모니터링 방법을 제공한다.

[0352] 상기 기술에 사용되는 항-c-Met 항체 및/또는 2차 항체에 대한 적합한 표지는 당업계에 잘 공지되어 있다.

[0353] 추가의 측면에서, 본 발명은

[0354] - 본 발명의 항-c-Met 항체 또는 본 발명의 이중특이적 분자; 및

[0355] - 키트에 대한 사용 지침서

[0356] 를 포함하는, 샘플 내의 c-Met 항원, 또는 c-Met를 발현하는 세포의 존재를 검출하기 위한 키트에 관한 것이다.

[0357] 한 실시양태에서, 본 발명은 항-c-Met 항체, 및 c-Met 펩티드에 대한 항-c-Met 항체의 결합을 검출하기 위한 하나 이상의 시약을 포함하는 용기를 포함하는, 암의 진단을 위한 키트를 제공한다. 시약은 예를 들어, 형광 태그, 효소 태그, 또는 다른 검출가능한 태그를 포함할 수 있다. 시약은 효소 반응을 위한 2차 또는 3차 항체 또는 시약을 또한 포함할 수 있고, 여기서 효소 반응은 시각화될 수 있는 생성물을 생산한다.

[0358] 항-이디오타입 항체

[0359] 추가의 측면에서, 본 발명은 본원에서 설명되는 본 발명의 항-c-Met 항체에 결합하는 항-이디오타입 항체에 관한 것이다.

[0360] 항-이디오타입 (Id) 항체는 일반적으로 항체의 항원-결합 부위와 회합된 특유한 결정인자를 인식하는 항체이다. Id 항체는 항-c-Met mAb의 공급원과 동일한 종 및 유전자형의 동물을 그에 대해 항-Id가 제조되는 mAb로 면역화 시킴으로써 제조할 수 있다. 면역화된 동물은 대개 이들 이디오타입 결정인자에 대한 항체 (항-Id 항체)를 생산함으로써 면역화 항체의 이디오타입 결정인자를 인식하고 반응할 수 있다.

[0361] 항-Id 항체는 소위 항-항-Id 항체를 생산하도록 또 다른 동물에서 면역 반응을 유도하기 위해 "면역원"으로서 또한 사용될 수 있다. 항-항-Id는 항-Id를 유도하는 원래의 mAb와 에피토프가 동일할 수 있다. 따라서, mAb의 이디오타입 결정인자에 대한 항체를 사용함으로써, 동일한 특이성의 항체를 발현하는 다른 클론을 확인하는 것이 가능하다.

[0362] 본 발명은 추가로 제한하는 것으로서 해석되어서는 안 되는 다음 실시예에 의해 추가로 예시된다.

[0363] **실시예**

[0364] **실시예 1: c-Met에 대한 발현 구축물**

[0365] HEK 또는 CHO 세포 내에서 c-Met, c-Met의 세포외 도메인 (ECD) (aa 1-932 및 C-말단 His6 태그 또는 SEMA 도메인 (aa 1-567 및 C-말단 His9 태그)의 발현을 위한 코돈 최적화된 구축물을 생성하였다. 이들 구축물에 의해 코딩되는 단백질은 c-Met에 대한 진뱅크 수탁번호 NM 000245와 동일하다. 이 구축물은 클로닝을 위한 적합한 제한 부위 및 최적 코작(Kozak) 서열 (Kozak et al. (1999) Gene 234:187-208)을 함유하였다. 구축물을 포유동물 발현 벡터 pEE13.4 (론자 바이올로지스 (Lonza Biologics)) (Bebington (1992) Biotechnology (NY) 10:169-175) 내에서 클로닝하여, pEE13.4cMet, pEE13.4cMetECDHis 및 pEE13.4cMetSEMA-567His8을 얻었다.

[0366] **실시예 2: 5D5v1, 5D5 및 G11-HZ에 대한 발현 구축물**

[0367] HEK 세포 내에서 IgG1 항체 5D5v1, 5D5 및 G11-HZ의 중쇄 (HC) 및 경쇄 (LC)의 발현을 위한 코돈 최적화된 구

축물을 생성하였다. 이들 구축물에 의해 코딩되는 단백질은 5D5v1 중쇄 및 경쇄에 대해 US 특허 6468529 (서열 번호 3 및 4), 5D5 중쇄 및 경쇄에 대해 WO 2006/015371 A2 (도 13), 및 224G11 중쇄 및 경쇄에 대해 WO 2009/007427 A2 (서열은 다수의 도면으로부터 추출되었다)에 기재된 것과 동일하다. 224G11은 또한 본원에서 G11-HZ로서 칭한다.

### [0368] 실시예 3: HEK-293F 세포 내에서 일시적인 발현

[0369] 프리스타일(Freestyle)<sup>TM</sup> 293-F (현탁 성장 및 화학적으로 규정된 프리스타일 배지에 적합하게 된 HEK-293 서브 클론, (HEK-293F)) 세포를 인비트로젠 (Invitrogen)으로부터 입수하고, 제조자의 지시에 따라 293펙틴 (293fectin) (인비트로젠)을 사용하여 적절한 플라스미드 DNA로 형질감염시켰다. c-Met의 발현을 아래 기재된 바와 같이 FACS 분석에 의해 시험하였다. 항체 발현의 경우에, 적절한 중쇄 및 경쇄 발현 벡터가 동시 발현되었다.

### [0370] 실시예 4: CHO 세포 내에서 일시적인 발현

[0371] pEE13.4cMet를 프리스타일 맥스(MAX) 형질감염 시약 (인비트로젠)을 사용하여 프리스타일<sup>TM</sup> CHO-S (인비트로젠) 세포주 내에 일시적으로 형질감염시켰다. c-Met의 발현을 아래 기재된 바와 같이 FACS 분석에 의해 시험하였다.

### [0372] 실시예 5: 1가 항체 (유니바디® 분자)의 클로닝 및 발현

[0373] 포유동물 세포 내에서 1가 항체의 발현을 위해, 힌지 영역 (Ch) (아미노산 E99-P110)이 없고 CH3 영역 내에 2개의 돌연변이 F405T 및 Y407E를 함유하는 IgG4의 HC 불변 영역을 포유동물 발현 벡터 pcDNA3.3 (인비트로젠) 내에서 코돈 최적화된 구축물로서 합성하고, pUniTE로 명명하였다. 별개의 벡터를 인간 카파 경쇄 영역의 코돈 최적화된 불변 영역을 pcDNA3.3 내에 삽입함으로써 제작하고, pKappa로 명명하였다.

[0374] 관련 VH 및 VL 영역을 각각 pUniTE 및 pKappa 내에 삽입하여, 특이적 항체의 중쇄 및 경쇄의 발현을 위한 벡터를 생성하였다. HEK-293F (인비트로젠) 세포 내에서 특이적 항체의 중쇄 및 경쇄 벡터의 동시 형질감염에 의해 목적하는 특이성을 가진 1가 항체를 일시적으로 생산하였다. 정제는 단백질 A 친화도 칼럼 크로마토그래피를 사용하여 수행하였다 (실시예 11에 기재된 바와 같음).

### [0375] 실시예 6: His-태깅된 c-Met의 정제

[0376] cMetECDHis 및 cMetSEMAHis를 HEK-293F 세포 내에서 발현시켰다. cMetECDHis 및 cMetSEMAHis 내의 His-태그는 고정된 금속 친화도 크로마토그래피를 이용한 정제를 가능하게 한다. 상기 공정에서, 크로마토그래피 수지 상에 고정된 킬레이터는  $\text{Co}^{2+}$  양이온으로 하전되었다. cMetECDHis 및 cMetSEMAHis 함유 상청액을 배치 (batch) 방식 (즉, 용액)으로 수지와 함께 인큐베이션하였다. His-태깅된 단백질은 수지 비드에 강하게 결합하는 반면, 배양 상청액 내에 존재하는 다른 단백질은 강하게 결합하지 않는다. 인큐베이션 후에, 비드를 상청액으로부터 회수하고, 칼럼 내로 채웠다. 약하게 결합된 단백질을 제거하기 위해 칼럼을 세척하였다. 이어서, 강하게 결합된 cMetECDHis 및 cMetSEMAHis 단백질을  $\text{Co}^{2+}$ 에 대한 His의 결합과 경쟁하는 이미다졸을 함유하는 완충제로 용리하였다. 탈염 칼럼 상에서 완충제 교환에 의해 단백질로부터 용리액을 제거하였다.

### [0377] 실시예 7: 트랜스제닉 마우스의 면역화 절차

[0378] 항체 005, 006, 007, 008, 011, 012, 016, 017, 022, 024, 025, 028, 031, 035, 039, 040, 045, 093, 095, 096, 101 및 104는 다음 면역화로부터 유래하였다: 1마리의 HCo20 마우스 (1마리의 암컷, 계통 GG2713), 1마리의 HCo17 마우스 (암컷, 계통 GG2714) 및 2마리의 HCo12-Balb/C 마우스 (2마리의 암컷, 계통 GG2811) (메다렉스 (Medarex, 미국 캘리포니아주 산호세); 참조를 위해 상기 HuMab 마우스, WO2009097006 및 US2005191293에 대한 문단을 참조한다)를  $5 \times 10^6$ 개의 NCI-H441 종양 세포 (복강내 (IP)), 및 합텐 키홀 림펫 (Keyhole Limpet) 헤모시아닌 (KLH)에 커플링된 cMetECDHis 단백질 20  $\mu\text{g}$  (피하 (SC))로 교대로 2주마다 면역화시켰다.

[0379] 항체 058, 061, 062, 063, 064, 065, 066, 068, 069, 078, 082, 084, 087, 089, 098 및 181은 다음 면역화로부터 유래하였다: 2마리의 HCo20 마우스 (1마리의 수컷 및 1마리의 암컷, 계통 GG2713) 및 1마리의 HCo12-Balb/C 마우스 (1마리의 수컷, 계통 GG2811) (메다렉스, 미국 캘리포니아주 산호세; 참조를 위해 상기 HuMab 마우스에 대한 문단을 참조한다)를 cMetECD로 일시적으로 형질감염시킨  $5 \times 10^6$ 개의 CHO-K1SV 세포 (복강내 (IP)), 및 합텐 키홀 림펫 헤모시아닌 (KLH)에 커플링된 cMetECDHis 단백질 20  $\mu\text{g}$  (피하 (SC))로 교대로 2주마다 면역화시켰다.

- [0380] 마우스마다 최대 8회의 면역화를 수행하였다 (4회의 IP 및 꼬리 기부에서 4회의 SC 면역화). 세포를 사용한 제 1 면역화는 완전 프로인트 (Freund) 아주반트 (CFA; 딥코 레보라토리스 (Difco Laboratories, 미국 미시건주 디트로이트)) 내에서 수행하였다. 다른 모든 면역화에 대해서는, 세포를 PBS 내에서 IP 주사하고, KLH-커플링된 cMetECD는 불완전 프로인트 아주반트 (IFA; 딥코 레보라토리스, 미국 미시건주 디트로이트)를 사용하여 SC 주사하였다. 실시예 8에 기재된 바와 같은 항원 특이적 스크리닝 FMAT 검정으로 검출된, 200 (1/200의 혈청 희석) 또는 그 이상의 적어도 2개의 순차적 c-Met 특이적 항체 역가를 가진 마우스를 융합시켰다.
- [0381] **실시예 8: 균질 항원 특이적 스크리닝 검정**
- [0382] 면역화시킨 마우스의 혈청 또는 HuMab (인간 모노클로날 항체) 하이브리도마 또는 트랜스펙토마 배양 상청액 내의 항-c-Met 항체의 존재는 형광 미세부피 검정 기술 (FMAT; 어플라이드 바이오시스템즈 (Applied Biosystems, 미국 캘리포니아주 포스터 시티))를 사용하는 균질 항원 특이적 스크리닝 검정 (4-사분위법 (four quadrant))에 의해 측정하였다. 이를 위해, 3개의 세포 기반 검정 및 1개의 비드 기반 검정의 조합을 이용하였다. 세포 기반 검정에서, TH1016-cMet (c-Met 수용체의 세포외 도메인을 일시적으로 발현하는 HEK-293F 세포; 상기한 바와 같이 생산됨) 및 HT29 (세포 표면에서 c-Met를 발현함) 및 HEK293 야생형 세포 (c-Met를 발현하지 않는 음성 대조군)에 대한 결합을 측정하였다. 비드 기반 검정을 위해, SB1016-cMet (상기한 바와 같이 일시적으로 형질감염된 HEK-293F 세포로부터 얻고, 비오틴화되고, 스트렙타비딘-코팅된 비드에 커플링된 cMetECDHis)에 대한 결합을 측정하였다. c-Met에 대한 결합을 허용하기 위해 샘플을 세포/비드에 첨가하였다. 후속적으로, 형광 접합체 (염소 항-인간 IgG-Cy5; 잭슨 이뮤노리써치 (Jackson ImmunoResearch))를 사용하여 HuMab의 결합을 검출하였다. 키메라 c-Met 특이적 항체 5D5v1 (HEK-293F 세포 내에서 생산됨)를 양성 대조군으로 사용하고, HuMab-마우스의 합한 혈청 및 HuMab-KLH를 음성 대조군으로서 사용하였다. 어플라이드 바이오시스템즈 8200 세포 검출 시스템 (8200 CDS)를 사용하여 샘플을 스캐닝하고, '계수 x 형광'을 판독치로서 사용하였다. 계수가 50을 초과하고 계수 x 형광이 음성 대조군 HuMab-KLH보다 적어도 3배 더 높으면, 샘플을 양성으로 진술하였다.
- [0383] **실시예 9: HuMab 하이브리도마 생성**
- [0384] 충분한 항원-특이적 역가 발달 (상기한 바와 같이 규정됨)이 있는 HuMab 마우스를 희생시키고, 비장, 및 복부대동맥 및 대정맥 측면에 접하는 림프절을 수집하였다. 비장세포 및 림프절 세포를 본질적으로 제조자의 지시에 따라 CEEF 50 전기융합 시스템 (사이트 펄스 사이언스즈 (Cyto Pulse Sciences), 미국 메릴랜드주 글렌 버니)를 사용하는 전기융합에 의해 마우스 골수종 세포주에 융합시켰다. 융합 플레이트를 상기한 바와 같은 항원 특이적 결합 검정으로 스크리닝하고, 상기 검정으로부터의 양성물을 아래 기재된 바와 같이 ERK-인산화 알파스크린 (Alphascreen)<sup>®</sup> 슈어파이어 (SureFire)<sup>®</sup> 검정 및 친화도 순위결정 옥텟 (Octet) 검정으로 시험하였다. 항체 031, 035, 087 및 089를 표준 프로토콜에 기반하여 증대시키고 배양하였다 (예컨대, 문헌 [Coligan J.E., Bierer, B.E., Margulies, D.H., Shevach, E.M. and Strober, W., eds. Current Protocols in Immunology, John Wiley & Sons, Inc., 2006]에 기재된 바와 같음).
- [0385] 병행 항체 005, 006, 007, 008, 011, 012, 016, 017, 022, 024, 025, 028, 035, 039, 040, 045, 058, 061, 062, 063, 064, 065, 066, 068, 069, 078, 082, 084, 093, 095, 096, 098, 101, 104 및 181을 클론픽스 (ClonePix) 시스템 (제네틱스 (Genetix, 영국 햄프셔))를 이용하여 클로닝하였다. 특이적 1차 웰 하이브리도마를 40% 클론미디어 (CloneMedia) (제네틱스 (영국 햄프셔)) 및 60% HyQ 2x 완전 배지 (하이클론 (Hyclone, 미국 윌담))로부터 제조된 반고체 배지에 시딩하고, 각각의 1차 웰의 약 100개의 서브클론 (subclone)을 선택하였다. 서브클론을 앞서 설명된 바와 같이 항원 특이적 결합 검정으로 재시험하고, 추가의 팽창을 위해 1차 웰마다 최상의 특이적인 생산 클론을 선택하기 위해 옥텟을 이용하여 IgG 수준을 측정하였다. 생성되는 HuMab 하이브리도마의 추가의 증대 및 배양은 표준 프로토콜에 기반하여 수행하였다 (예컨대, 문헌 [Coligan J.E., Bierer, B.E., Margulies, D.H., Shevach, E.M. and Strober, W., eds. Current Protocols in Immunology, John Wiley & Sons, Inc., 2006]에 기재된 바와 같음).
- [0386] **실시예 10: 정제된 항체의 질량 분광측정법**
- [0387] 6-웰 또는 하이퍼플라스크 (Hyperflask) 단으로부터의 항체 함유 하이브리도마 상청액의 적은 0.8 ml 분취액을 사이클론 (Sciclone) ALH 3000 워크스테이션 (캘리퍼 라이프사이언스즈 (Caliper Lifesciences, 미국 록턴)) 상에서 단백질 G 수지를 함유하는 파이팁 (PhyTip) 칼럼 (파이넥서스 인크. (PhyNexus Inc., 미국 산호세))을 사용하여 정제하였다. 파이팁 칼럼을 제조자의 지시에 따라 사용하였지만, 완충제를 결합 완충 PBS (비. 브라운, 메디칼 비.브이. (B. Braun, Medical B.V., 네덜란드 오스)) 및 용리 완충제 0.1M 글리신-HCl (pH 2.7) (플루



카 리텔-드 하엔 (Fluka Riedel-de Haen, 독일 부크스))로 교체하였다. 정제 후에, 샘플을 2M 트리스(Tris)-HCl (pH 9.0) (시그마-알드리치 (Sigma-Aldrich, 네덜란드 즈빈드레히트))로 중화하였다. 별법으로, 몇몇 경우에, 보다 큰 부피의 배양 상청액을 단백질 A 친화도 칼럼 크로마토그래피를 사용하여 정제하였다.

[0388] 정제 후에, 샘플을 384-웰 플레이트 (워터스 (Waters), 100  $\mu$ l 사각형 웰 플레이트, 파트# 186002631)에 넣었다. 샘플을 N-글루코시다제 F로 37°C에서 밤새 탈글리코실화하였다. DTT (15 mg/mL)을 첨가하고 (1  $\mu$ l/웰), 37°C에서 1 h 동안 인큐베이션하였다. 샘플 (5 또는 6  $\mu$ l)을 60°C에서 BEH300 C18, 1.7  $\mu$ m, 2.1x50 mm 칼럼으로 사용하여 액유티(Acquity) UPLC™ (워터스, 미국 밀포드) 상에서 탈염시켰다. MQ 물 및 LC-MS 등급 아세트오니트릴 (바이오솔브 (Biosolve), 카탈로그 번호 01204101, 네덜란드 발렌스바드)을 둘 모두 0.1% 포름산 (플루카, 카탈로그 번호 56302, 독일 부크스)과 함께, 각각 용리액 A 및 B로서 사용하였다. 비행시간 (time-of-flight) 전기분무 이온화 질량 스펙트럼을 양이온 모드로 작동하는 마이크로토프(microTOF)™ 질량 분광측정계 (브루커 (Bruker, 독일 브레멘)) 상에서 온라인으로 기록하였다. 분석 전에, 900-3000 m/z 스케일을 ES 튜닝 믹스 (tuning mix) (애질런트 테크놀로지스 (Agilent Technologies, 미국 산타클라라))로 보정하였다. 질량 스펙트럼을 5 내지 80 kDa의 분자량에 대해 최대 엔트로피 알고리즘 탐색을 사용하여 데이터어널리시스 (DataAnalysis)™ 소프트웨어 v. 3.4 (브루커)로 디컨벌루션 (deconvolution)하였다.

[0389] 디컨벌루션 후에, 중복 (duplicate) 항체를 발견하기 위해 모든 샘플에 대한 생성되는 중쇄 및 경쇄 질량을 비교하였다. 중쇄의 비교에서, C-말단 리신 변이체의 가능한 존재를 고려하였다. 이것은 특유한 항체의 목록을 생성시키고, 여기서 "특유한"은 중쇄 및 경쇄의 특유한 조합으로서 정의된다. 중복 항체가 발견된 경우에, 다른 시험으로부터의 결과를 사용하여 어떠한 항체가 실험을 계속하기 위한 최상의 물질인지 결정하였다.

[0390] **실시예 11: 항-c-Met 항체 가변 도메인의 서열 분석 및 발현 벡터 내의 클로닝**

[0391]  $5 \times 10^6$  개의 하이브리도마 세포로부터 항-c-Met HuMab의 총 RNA를 제조하고, 제조자의 지시에 따라 스마트 레이스 (SMART RACE) cDNA 증폭 키트 (클론테크 (Clontech))를 사용하여 100 ng 총 RNA로부터 5'-RACE-상보성 DNA (cDNA)를 제조하였다. VH (중쇄의 가변 영역) 및 VL (경쇄의 가변 영역) 코딩 영역을 PCR에 의해 증폭시키고, 결찰 비의존성 클로닝 전략 (Aslanidis et al. 1990 Nucleic Acids Res. 18:6069-6074)을 사용하여 포유동물 발현 벡터 pEE6.4 (론자 바이올로지스, 영국 슬라우 (Bebington et al. (1992) Biotechnology 10:169-175)) 내의 불변 영역 벡터 pG1f (인간 IgG1 (동종이형 (allotype) f)의 중쇄의 코돈 최적화된 완전 합성 불변 영역 함유) 및 포유동물 발현 벡터 pEE12.4 (론자 바이올로지스, 영국 슬라우 (Bebington et al. (1992) Biotechnology 10:169-175)) 내의 pKappa (인간 카파 경쇄 (동종이형 Km3)의 코돈 최적화된 완전 합성 불변 영역 함유) 내로 인 프레임 (in frame)으로 클로닝하였다. 각각의 HuMab에 대해, 12개의 VL 클론 및 8개의 VH 클론을 서열 결정하고, 이들의 이론적인 질량을 계산하고, 이용가능한 항체 질량 분광측정법 데이터와 비교하였다. 서열을 서열 목록 및 본원 하기 표 1에 제시한다. CDR 서열은 문헌 [Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD. (1991)]에 따라 규정한다. 표 2 및 표 3은 항체 서열 정보 및 가장 상동성인 배선 서열의 개요를 제공한다.

## 표 1

HuMab의 중쇄 가변 영역 (VH), 경쇄 가변 영역 (VL) 및 CDR 서열

서열 1	VH 005	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCASGGTFSSYGFG WVRQAPGQGLEWMGRISPILGIANYAQMFGGRVTIT ADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARDVGWDWPD FDIWGQGTMTIVSS
서열 2	VH 005, CDR1	SYGFG
서열 3	VH 005, CDR2	RISPILGIANYAQMFGG

[0392]

서열 4	VH 005, CDR3	DVG YDWPDTFDI
서열 5	VL 005	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASQGISSWLAWY QQKPEKAPKSLIYAASSLQSGVPSRFSGGSGTDFTL TISSLQPEDFATYYCQQYNFPPTFGQGTKVEIK
서열 6	VL 005, CDR1	RASQGISSWLA
서열 7	VL 005, CDR2	AASSLQS
서열 8	VL 005, CDR3	QQYNFPPT
서열 9	VH 006	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVCKASGGTFSSFGIG WVRQAPGQGLEWMGRIFPILGTANYAQMFGRTIT ADKSTSTAYMELTSRSED TAVYYCARDVGYDSADAF DIWGQGTMTVSS
서열 10	VH 006, CDR1	SFGIG
서열 11	VH 006, CDR2	RIFPILGTANYAQMFGG
서열 12	VH 006, CDR3	DVG YDSADAFDI
서열 13	VL 006	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASQGISSWLAWY QQKPEKAPKSLIYAASSLQSGVPSRFSGGSGTDFTL TISSLQPEDFATYYCQQYNSYPPTFGQGTKVEIK
서열 14	VL 006, CDR1	RASQGISSWLA
서열 15	VL 006, CDR2	AASSLQS
서열 16	VL 006, CDR3	QQYNSYPPT
서열 17	VH 008	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIGW VRQMPGKGLEWMGIIYPGDSETRYSPSFQGGVTISA DKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARQEITGEFDYW GQGT LVTSS
서열 18	VH 008, CDR1	SYWIG
서열 19	VH 008, CDR2	IIYPGDSETRYSPSFQG
서열 20	VH 008, CDR3	QEITGEFDY
서열 21	VL 008	AIQLTQSPSSLSASVGDRVITITCRASQGISSALAWYQ QKPGKAPKLLIYDASSLESGVPSRFSGGSGTDFTLTI SSLQPEDFATYYCQQFNYPRTFGQGTKVEIK
서열 22	VL 008, CDR1	RASQGISSALA
서열 23	VL 008, CDR2	DASSLES
서열 24	VL 008, CDR3	QQFNYPRT

[0393]

서열 25	VH 022	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYAMH WVRQAPGKGLEWVAVISYDGSNKYYADSVKGRFTIS RDNSKNTLYQMNSLRAEDTAVYYCARELLWFGELW GYFDLWGRGTLTVSS
서열 26	VH 022, CDR1	SYAMH
서열 27	VH 022, CDR2	VISYDGSNKYYADSVKG
서열 28	VH 022, CDR3	ELLWFGELWGYFDL
서열 29	VL 022	DIQMTQSPSSVSASVGDRVITICRASQGISSWLAWY QHKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTL TISSLQPEDFATYYCQEASSFTWTFGQGTKVEIK
서열 30	VL 022, CDR1	RASQGISSWLA
서열 31	VL 022, CDR2	AASSLQS
서열 32	VL 022, CDR3	QEASSFTWT
서열 33	VH 024	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCVASGFTFSSYAMSW VRQAPGKGLEWVSAISGSSGGSTYYVDSVKGRFTIS RANSKNTLYQMNSLRAEDTAVYYCAKDLDRGWMG YFGYWGQGTLTVSS
서열 34	VH 024, CDR1	SYAMS
서열 35	VH 024, CDR2	AISGSSGGSTYYVDSVKG
서열 36	VH 024, CDR3	DLDRGWMGYFGY
서열 37	VL 024	DIQMTQSPSSVSASVGDRVITICRASQGISSWLAWY QHKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTL TISSLQPEDFATYYCQQANSFPTFGQGTRLEIK
서열 38	VL 024, CDR1	RASQGISSWLA
서열 39	VL 024, CDR2	AASSLQS
서열 40	VL 024, CDR3	QQANSFPT
서열 41	VH 035	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIGW VRQMPGKGLEWMGIIYPGDS DTRYSPSFQGQVTISA DKSISTAYLQWNSLKASDTAMYYCARQEITGEFDYW GQGTLTVSS
서열 42	VH 035, CDR1	SYWIG
서열 43	VH 035, CDR2	IIYPGDS DTRYSPSFQG
서열 44	VH 035, CDR3	QEITGEFDY

[0394]

서열 45	VL 035	AIQLTQSPSSLSASVGDRVITICRASQGISSALAWYQ QKPGKAPKLLIYDASSLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTI SSLQPEDFATYYCQQFNSYPMYTFGQGTKLEIK
서열 46	VL 035, CDR1	RASQGISSALA
서열 47	VL 035, CDR2	DASSLES
서열 48	VL 035, CDR3	QQFNSYPMYT
서열 49	VH 045	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSW VRQAPGKGLEWVSVISGSGGITYYADSVKGRFTISR DNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDRGWGSDYW GQGTLLTVSS
서열 50	VH 045, CDR1	SYAMS
서열 51	VH 045, CDR2	VISGSGGITYYADSVKG
서열 52	VH 045, CDR3	DRGWGSDY
서열 53	VL 045	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQ QKPGQAPRLLIYDASNRTGIPARFSGSGSGTDFTLTI SSLEPEDFAVYYCQQRSNWPFTFGPGTKVDIK
서열 54	VL 045, CDR1	RASQSVSSYLA
서열 55	VL 045, CDR2	DASNRT
서열 56	VL 045, CDR3	QQRSNWPFT
서열 57	VH 058	EVQLVESGGGLVKPGGSLKLSAASGFTFSDYYMYW VRQTPEKRLEWVATISDDGSYTYYPDSVKGRFTISRD NAKNNLYLQMSSLKSEDTAMYYCAREGLYYYGSGSY YNQDYWGQGTLLTVSS
서열 58	VH 058, CDR1	DYYMY
서열 59	VH 058, CDR2	TISDDGSYTYYPDSVKG
서열 60	VH 058, CDR3	EGLYYYGSGSYYNQDY
서열 61	VL 058	AIQLTQSPSSLSASVGDRVITICRASQGLSSALAWYR QKPGKAPKLLIYDASSLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTI SSLQPEDFATYYCQQFTSYPQITFGQGTRLEIK
서열 62	VL 058, CDR1	RASQGLSSALA
서열 63	VL 058, CDR2	DASSLES
서열 64	VL 058, CDR3	QQFTSYPQIT

[0395]



서열 65	VH 061	QLQLQESGSGLVKPSQTLSLTCAVSGGSISSGGHWS SWIRQPPGKGLEWIGX1IYHSGNTYDNPSLKSRTIA VDRSKNQLSLKLSFLTAADTAVYYCARSSYDFLTDWG QGTLTVSS (여기서, X1은 임의의 아미노산, 바람직하게는 C, S, Y 또는 A이다)
서열 66	VH 061, CDR1	SGGHSWS
서열 67	VH 061, CDR2	X1IYHSGNTYDNPSLKS (여기서, X1은 임의의 아미노산, 바람직하게는 C, S, Y 또는 A이다)
서열 68	VH 061, CDR3	SSYDFLTD
서열 69	VL 061	DIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCRASQGISSWLAWY QHKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTL TISSLQPEDFATYYCQQANGFPITFGQGTREIK
서열 70	VL 061, CDR1	RASQGISSWLA
서열 71	VL 061, CDR2	AASSLQS
서열 72	VL 061, CDR3	QQANGFPIT
서열 73	VH 062	QLQLQESGSGLVKPSQTLSLTCAVSGGSISSGGHWS SWIRQPPGKGLEWIGX1IYHSGNTYDNPSLKSRTIA VDRSKNQLSLKLSFVTAADTAVYYCARSSYDILTDWG QGTLTVSS (여기서, X1은 임의의 아미노산, 바람직하게는 C, S, Y 또는 A이다)
서열 74	VH 062, CDR1	SGGHSWS
서열 75	VH 062, CDR2	X1IYHSGNTYDNPSLKS (여기서, X1은 임의의 아미노산, 바람직하게는 C, S, Y 또는 A이다)
서열 76	VH 062, CDR3	SSYDILTD
서열 77	VL 062	DIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCRASQGISSWLAWY QHKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTL TISSLQPEDFATYYCQQANGFPITFGQGTREIK
서열 78	VL 062, CDR1	RASQGISSWLA
서열 79	VL 062, CDR2	AASSLQS
서열 80	VL 062, CDR3	QQANGFPIT
서열 81	VH 064	QLQLQESGSGLVKPSQTLSLTCAVSGGSISSGGHWS SWIRQPPGKGLEWIGX1IYHSGNTYDNPSLKSRTIS VDRSKNQVSLKLSVTAADTAVYYCARSSYDILTDW GQGTLTVSS (여기서, X1은 임의의 아미노산, 바람직하게는 C, S, Y 또는 A이다)
서열 82	VH 064, CDR1	SGGHSWS

[0396]

서열 83	VH 064, CDR2	X1IYHSGNTYDNPSLKS (여기서, X1은 임의의 아미노산, 바람직하게는 C, S, Y 또는 A이다)
서열 84	VH 064, CDR3	SSYDILTD
서열 85	VL 064	DIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCRASQGISSWLAWY QHKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTL TISSLQPEDFATYYCQQANGFPITFGQGTRLEIK
서열 86	VL 064, CDR1	RASQGISSWLA
서열 87	VL 064, CDR2	AASSLQS
서열 88	VL 064, CDR3	QQANGFPIT
서열 89	VH 068	QLQLQESGSGLVKPSQTLSTCAVSGGSISSGGYSW SWIRQPPGKGLEWIGX1IYHSGSTYYNPSLKSRTIS VDRSKNQFSLKSSVTAADTAVYYCARSSYDILTDW GQGTLTVSS (여기서, X1은 임의의 아미노산, 바람직하게는 C, S, Y 또는 A이다)
서열 90	VH 068, CDR1	SGGYSWS
서열 91	VH 068, CDR2	X1IYHSGSTYYNPSLKS (여기서, X1은 임의의 아미노산, 바람직하게는 C, S, Y 또는 A이다)
서열 92	VH 068, CDR3	SSYDILTD
서열 93	VL 068	DIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCRASQGISSWLAWY QHKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTL TISSLQPEDFATYYCQQANSFPITFGQGTRLEIK
서열 94	VL 068, CDR1	RASQGISSWLA
서열 95	VL 068, CDR2	AASSLQS
서열 96	VL 068, CDR3	QQANSFPIT
서열 97	VH 069	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCETSGYTFTSYGISW VRQAPGHGLEWMGWISAYNGYTNYAQKLQGRVTMT TDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARDLRGTNYFDY WGQGTLLTVSS
서열 98	VH 069, CDR1	SYGIS
서열 99	VH 069, CDR2	WISAYNGYTNYAQKLQG
서열 100	VH 069, CDR3	DLRGTNYFDY
서열 101	VL 069	DIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCRASQGISNWLAWF QHKPGKAPKLLIYAASSLLSGVPSRFSGSGSGTDFTL TISSLQPEDFATYYCQQANSFPITFGQGTRLEIK
서열 102	VL 069, CDR1	RASQGISNWL

[0397]

서열 103	VL 069, CDR2	AASSLLS
서열 104	VL 069, CDR3	QQANSFPIT
서열 105	VH 096	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIGW VRQMPGKGLEWMGIIPGDS DTRYSPSFQGGQVTISA DKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARQEITGDFDYW GQGT LVT VSS
서열 106	VH 096, CDR1	SYWIG
서열 107	VH 096, CDR2	IIYPGDS DTRYSPSFQG
서열 108	VH 096, CDR3	QEITGDFDY
서열 109	VL 096	AIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISSALAWYQ QKPGKAPNLLIYAASSLES GVP SRFSGSGSGTDFTLTI SSLQPEDFATYYCQQFNSYPLTFGGG TKVEIK
서열 110	VL 096, CDR1	RASQGISSALA
서열 111	VL 096, CDR2	AASSLES
서열 112	VL 096, CDR3	QQFNSYPLT
서열 113	VH 098	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC KASGYTFTNFGISW VRQAPGQGLEWMGWISAFNGHTDYSQKVQGRVTM TTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVFYCARSHYYGSGSP FDYW GQGT LVT VSS
서열 114	VH 098, CDR1	NFGIS
서열 115	VH 098, CDR2	WISAFNGHTDYSQKVQG
서열 116	VH 098, CDR3	SHYYGSGSPFDY
서열 117	VL 098	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISNWLAWY QQKPEKAPKSLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTL TISSLQPEDFATYYCHQYKSYPTWFGG TKVEIK
서열 118	VL 098, CDR1	RASQGISNWL A
서열 119	VL 098, CDR2	AASSLQS
서열 120	VL 098, CDR3	HQYKSYPTW
서열 121	VH 101	QVQLVQSGGEVKKPGASVKVSC KASGYTFTRHGITW VRQAPGQGLEWMGWISADNGNTNYAQKFQDRVTM TTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYFCARVFRYFDWLL PYFDYWGQGT LVT VST
서열 122	VH 101, CDR1	RHGIT
서열 123	VH 101, CDR2	WISADNGNTNYAQKFQD
서열 124	VH 101, CDR3	VFRYFDWLLPYFDY

[0398]

서열 125	VL 101	EIVLTQSPGTLSSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWY QQKPGQAPRLLIYGVFSRATGIPDRFSGSGSGTDFTL TISRLEPEDFAVYYCQYGGSPYTFGGGTKLEIK
서열 126	VL 101, CDR1	RASQSVSSSYLA
서열 127	VL 101, CDR2	GVFSRAT
서열 128	VL 101, CDR3	QYGGSPYT
서열 129	VH 181	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYFTSYGISW VRQAPGGGLEWMGWISTYNGYTNYAQLQGRVTMT TDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARDLRGTAYFDY WGQGTLVTVSS
서열 130	VH 181, CDR1	SYGIS
서열 131	VH 181, CDR2	WISTYNGYTNYAQLQG
서열 132	VH 181, CDR3	DLRGTAYFDY
서열 133	VL 181	DIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCRASQGISNWLAWY QHKPGKAPKLLIYAASSLLSGVPSRFSGSGSGTDFTL TISSLQPEDFATYYCQQANSFPITFGQGTRLEIK
서열 134	VL 181, CDR1	RASQGISNWLA
서열 135	VL 181, CDR2	AASSLLS
서열 136	VL 181, CDR3	QQANSFPIT
서열 137	VH 066	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCEASGYFTSYGISW VRQAPGHGLEWMGWISAYNGYTNYAQLQGRVTMT ADTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARDLRGTNYFDY WGQGTLVTVSS
서열 138	VL 066	DIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCRASQGISNWLAWY QHKPGKAPKLLIYAASSLLSGVPSRFSGSGSGTDFTL TISSLQPEDFATYYCQQANSFPITFGQGTRLEIK
서열 139	VH 065	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCEASGYFTNYGISW VRQAPGHGLEWMGWISAYNGYTNYAQLQGRVTMT TDTSTTTAYMELRSLRSDDTAVYYCARDLRGTNYFDY WGQGTLVTVSS
서열 140	VL 065	DIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCRASQGISNWLAWY QHKPGKAPKLLIYAASSLLSGVPSRFSGSGSGTDFTL TISSLQPEDFATYYCQQANSFPITFGQGTRLEIK

[0399]

서열 141	VH 082	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCETSGYTFTSYGISW VRQAPGHGLEWMGWISAYNGYTNYAQLQGRVTMT TDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARDLRGTNYFDY WGQGTLVTVSS
서열 142	VL 082	DIQMTQSPSSVSASVGDRVITTCRASQGISNWLAWY QHKPGKAPKLLIYAASSLLSGVPSRFSGSGSGTDFTL TISSLQPEDFATYYCQQANSFPITFGQGRLEIK
서열 143	VH 089	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCETSGYTFTSYGISW VRQAPGHGLEWMGWISAYNGYTNYAQLQGRVTMT TDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARDLRGTNYFDY WGQGTLVTVSS
서열 144	VL 089	DIQMTQSPSSVSASVGDRVITTCRASQGISNWLAWF QHKPGKAPKLLIYAASSLLSGVPSRFSGSGSGTDFTL TISSLQPEDFATYYCQQANSFPITFGQGRLEIK
서열 145	VH 031	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCASGGTFSSYGFG WVRQAPGQGLEWMGRISPILGITNYAQMFGGRVTIT ADKSTSTAYMELSSLRSEDATVYYCARDVGWDWPD FDIWGQGTMTVIVSS
서열 146	VL 031	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITTCRASQGISSWLAWY QQKPEKAPKSLIYAASSLQSGVPSRFSGGSGSGTDFTL TISSLQPEDFATYYCQQYNSFPPTFGQGTKVEIK
서열 147	VH 007	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCASGGTFSSYGIG WVRQAPGQGLEWMGRIFPILGTANYAQMFGGRVTIT ADKSTSTAYIELTSLRSEDATVYYCARDVGYSADAF DIWGQGTMTVTVSS
서열 148	VL 007	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITTCRASQGISSWLAWY QQKPEKAPKSLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGSGTDFTL TISSLQPEDFATYYCQQYNSYPPTFGQGTKVEIK
서열 149	VH 011	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCASGGTFSSYGIG WVRQAPGQGLEWMGRVFPILGTANYAQMFGGRVTI TADKSTSTAYMELTSLRSEDATVYYCARDVGYSAD AFDIWGQGTMTVTVSS
서열 150	VL 011	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITTCRASQGISSWLAWY QQKPEKAPKSLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGSGTDFTL TISSLQPEDFATYYCQQYNSYPPTFGQGTKVEIK

[0400]



서열 151	VH 017	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYAMH WVRQAPGKGLEWVAFISYDGSNKYFADSVKGRFTIS RDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARELLWFGELW GYFDLWGRGTLTVSS
서열 152	VL 017	DIQMTQSPSSVSASVGDRVITITCRASQGISSWLAWY QHKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTL TISSLQPEDFATYYCQEANSFTWTFGQGTKVEIK
서열 153	VH 025	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYAMH WVRQAPGKGLEWVAFISYDGSNKDYADSVKGRFTIF RDNSKNTLYLQMSSLRAADTAVYYCARELLWFGELW GYFDLWGRGTLTVSS
서열 154	VL 025	DIQMTQSPSSVSASVGDRVITITCRASQGISSWLAWY QHKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTL TISSLQPEDFATYYCQQTNSFTWTFGQGTKVEIK
서열 155	VH 040	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMTW VRQAPGKGLEWVSVISGSGGITYADSVKGRFTISR DNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDRGWGSDYW GQGTTLTVSS
서열 156	VL 040	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQ QKPGQAPRLLIYDASNRAATGIPARFSGSGSGTDFTLTI SSLEPEDFAVYYCQQRSNWPFTFGPGTKVDIK
서열 157	VH 039	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNMYAMSW VRQAPGKGLEWVSAISGSGGITYADSEKGRFTISR NSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDRGWGSDCWG QGTTLTVSS
서열 158	VL 039	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQ QKPGQAPRLLIYDASNRAATGIPARFSGSGSGTDFTLTI SSLEPEDFAVYYCQQRSNWPFTFGPGTKVDIK
서열 159	VH 078	QLQLQESGSGLVKPSQTLSTCAVSGGSISGGHWS SWIRQPPGKLEWIGCLYHSGNTYYNPSLKSRTISV DRSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCARSSYDILTDWG QGILTVSS
서열 160	VL 078	DIQMTQSPSSVSASVGDRVITITCRASQGISSWLAWY QHKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTL TISSLQPEDFATYYCQANSFPITFGQGTRLEIK

[0401]

서열 161	VH 084	QLQLQESGSLVKPSQTLSLTCGVSGGSISSGGHWSWIRQPPGKGLEWIGCLYHSGNTYYNPSLKSRTISVDRSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARSSYDILTDWGGGTLTVSS
서열 162	VL 084	DIQMTQSPSSVSASVGDRVITITCRASQGISSWLAWYQHKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQANSFPITFGQGTRLEIK
서열 163	VH 063	QLQLQESGSLVKPSQTLSLTCAVSGGSISSGGHWSWIRQPPGKGLEWIGCIYHSGNTYDNPSLKSRTIAVDRSKNQSLKLSSFVTAADTAVYYCARSSYDILTDWGGGTLTVSS
서열 164	VL 063	DIQMTQSPSSVSASVGDRVITITCRASQGISSWLAWYQHKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQANGFPITFGQGTRLEIK
서열 165	VH 087	QLQLQESGSLVKPSQTLSLTCAVSGGSISSGGHWSWIRQPPGKGLEWIGCIYHSGNTYDNPSLKSRTISVDRSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARSSYDILTDWGGGTLTVSS
서열 166	VL 087	DIQMTQSPSSVSASVGDRVITITCRASQGISSWLAWYQHKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQANGFPITFGQGTRLEIK
서열 167	VH 016	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYIFTSYWIGWVRQMPGKGLEWMGIIYPGDS DTRYSPSFQGQVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARQEVTDGDFDYWGQGTLLTVSS
서열 168	VL 016	AIQLTQSPSSLSASVGDRVITITCRASQGISSALAWYQKPKGKAPKLLIYDASSLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQFNSYPLTFGGGKVEIK
서열 169	VH 028	EVQLVQSGGEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIGWVRQMPGKGLEWMGIIYPGDS DTRYSPSFQGQVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARQEVTDGDFDYWGQGTLLTVSS
서열 170	VL 028	AIQLTQSPSSLSASVGDRVITITCRASQGISSALAWYQKPKGKAPKLLIYDASSLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQFNSYPLTFGGGKVEIK

[0402]

서열 171	VH 012	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIGW VRQMPGKGLEWMGIIPGDS DTRYSPSFQGGVTISA DKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARQEITGEFDYW GQGT LTVSS
서열 172	VL 012	AIQLTQSPSSLSASVGDRVITTCRASQGISSALAWYQ QKPGKAPKLLIYDASSLESGVPSRFSGSGSGDFTLTI SSLQPEDFATYYCQQFNSYPRTFGQGTKVEIK
서열 173	VH 095	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIGW VRQMPGKGLEWMGIIPGDSNTRYSPSFQGGVTISA DKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARQEITGDFDYW GQGT LTVSS
서열 174	VL 095	AIQLTQSPSSLSASVGDRVITTCRASQGISSALAWYQ QKPGKAPKLLIYDASSLESGVPSRFSGSGSGDFTLTI SSLQPEDFATYYCQQFNSYPLTFGGGTKVEIK
서열 175	VH 093	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIGW VRQMPGKGLEWMGIIPGDS DTRYSPSFQGGVTISA DKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARQEITGDFDYW GQGT LTVSS
서열 176	VL 093	AIQLTQSPSSLSASVGDRVITTCRASQGISSALAWYQ QKPGKAPNLLIYAASSLESGVPSRFSGSGSGDFTLTI SSLQPEDFATYYCQQFNSYPLTFGGGTKVEIK
서열 177	VH 104	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFISYWIGW VRQMPGKGLEWMGIIPGDS DTRYSPSFQGGVTISA DKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARQEITGDFDYW GQGT LTVSS
서열 178	VL 104	AIQLTQSPSSLSASVGDRVITTCRASQGISSALAWYQ QKPGKAPKLLIYVASSLESGVPSRFSGSGSGDFTLTI TSLQPEDFATYYCQQFNSYPITFGQGTREIK

[0403]

표 2

마우스 기원 및 중쇄 서열 상동체

항체:	마우스 번호:	마우스 계통:	배선 VH:
TH1016-005	339732	HCo12B, C1	IgHV1-69-4
TH1016-006	339732	HCo12B, C1	IgHV1-69-4
TH1016-008	339732	HCo12B, C1	IgHV5-51-1
TH1016-022	339733	HCo12B, C1	IgHV3-30-3*1
TH1016-024	339733	HCo12B, C1	IgHV3-23-1
TH1016-035-D09	339732	HCo12B, C1	IgHV5-51-1
TH1016-045	339282	HCo17, C1	IgHV3-23-1
TH1016-058	343191	HCo12B, C2	IgHV3-11-3
TH1016-061	348072	HCo20, C2	IgHV4-30-2*1
TH1016-062	348072	HCo20, C2	IgHV4-30-2*1
TH1016-064	348072	HCo20, C2	IgHV4-30-2*1
TH1016-068	348072	HCo20, C2	IgHV4-30-2*1
TH1016-069	348072	HCo20, C2	IgHV1-18-1
TH1016-096	339732	HCo12B, C1	IgHV5-51-1
TH1016-098	347330	HCo20, C2	IgHV1-18-1
TH1016-101	340659	HCo20, C1	IgHV1-18-1
TH1016-181	348072	HCo20, C2	IgHV1-18-1

[0404]

표 3

마우스 기원 및 경쇄 서열 상동체

항제:	마우스 번호:	마우스 계통:	배선:
PC1016-005	339732	HCo12B, C1	IGKV1D-16*01
PC1016-006	339732	HCo12B, C1	IGKV1D-16*01
PC1016-008	339732	HCo12B, C1	IGKV1-13*02
PC1016-022	339733	HCo12B, C1	IGKV1-12*01
PC1016-024	339733	HCo12B, C1	IGKV1-12*01
P1016-035	339732	HCo12B, C1	IGKV1-13*02
PC1016-045	339282	HCo17, C1	IGKV3-11*01
PC1016-058	343191	HCo12B, C2	IGKV1-13*02
PC1016-061	348072	HCo20, C2	IGKV1-12*01
PC1016-062	348072	HCo20, C2	IGKV1-12*01
PC1016-064	348072	HCo20, C2	IGKV1-12*01
PC1016-068	348072	HCo20, C2	IGKV1-12*01
PC1016-069	348072	HCo20, C2	IGKV1-12*01
PC1016-096	339732	HCo12B, C1	IGKV1-13*02
PC1016-098	347330	HCo20, C2	IGKV1D-16*01
PC1016-101	340659	HCo20, C1	IGKV3-20*01
PC1016-181	348072	HCo20, C2	IGKV1-12*01

[0405]

[0406]

도 1 및 2는 HuMab 서열의 정렬을 제공한다. 이들 서열을 기초로 하여, 컨센서스 서열이 몇몇의 CDR 서열에 대해 규정될 수 있다. 이들 컨센서스 서열을 표 4에 제시한다.

표 4

컨센서스 서열

서열 179 005-006	IgHV1-69-4	CDR1	SX1X2X3X4	여기서, X1=Y 또는 F, X2=A 또는 G, X3=F 또는 I, X4=S 또는 G, 바람직하게는 여기서 X1=Y 또는 F, X2=G, X3=F 또는 I 및 X4=G.
서열 180 005-006	IgHV1-69-4	CDR2	RX1X2PILGX3X4NYAQX5FQG	여기서, X1=I 또는 V, X2=I, S 또는 F, X3=I 또는 T, X4=A 또는 T, X5=K 또는 M. 바람직하게는 여기서 X1=I 또는 V, X2=S 또는 F, X3=I 또는 T, X4=A 또는 T, 및 X5=M.
서열 181 005-006	IgHV1-69-4	CDR3	DVG YDX1X2DX3FDI	여기서, X1=W 또는 S, X2=P 또는 A, X3=T 또는 A
서열 182 008-035	IgHV5-51-1	CDR2	IIYPGDSX1TRYSPSFQG	여기서, X1=D, E 또는 N
서열 183 008-035-096	IgHV5-51-1	CDR3	QEX1TGX2FDY	여기서, X1=V 또는 I, X2=E 또는 D
서열 184 022	IgHV3-30-3*1	CDR2	X1ISYDGSX2KX3X4ADSVKG	여기서, X1=V 또는 F, X2=N 또는 S, X3=D 또는 Y, X4=Y 또는 F
서열 185 024	IgHV3-23-1	CDR2	AISGSX1GGSTYYX2DSVKG	여기서, X1=S 또는 아미노산 부재, X2=V 또는 A
서열 186 045	IgHV3-23-1	CDR1	X1YAMX2	여기서, X1=S 또는 N, X2=S 또는 T
서열 187 045	IgHV3-23-1	CDR2	X1ISGSGGX2TYADSX3KG	여기서, X1=A 또는 V, X2= S 또는 I, X3=V 또는 E. 바람직하게는 여기서 X1=A 또는 V, X2=I 및 X3=V 또는 E.
서열 188 045	IgHV3-23-1	CDR3	DRGWGSDX1	여기서, X1=Y 또는 C
서열 189 058	IgHV3-11-3	CDR1	DYYMX1	여기서, X1=Y 또는 S
서열 190 058	IgHV3-11-3	CDR2	X1ISX2X3X4SYTX5YX6DSVKG	여기서, X1=T 또는 Y, X2= D 또는 S, X3=D 또는 S, X4=G 또는 S, X5=Y 또는 N, X6=P 또는 A.
서열 191 062-064-068	IgHV4-30-2*1	CDR1	SGGX1SWS	여기서, X1=Y 또는 H
서열 192 062-064-068	IgHV4-30-2*1	CDR2	X1X2YHSGX3TYX4NP SLKS	여기서, X1=임의의 아미노산, 바람직하게는 C, Y, S 또는 A, X2= I 또는 L, X3=S 또는 N, X4=Y 또는 D
서열 193 062-064-068	IgHV4-30-2*1	CDR3	SSYDX1LTD	여기서, X1=F 또는 I
서열 194 069-181	IgHV1-18-1	CDR1	X1YGIS	여기서, X1=S 또는 N

[0407]



서열 195 069-181	IgHV1-18-1	CDR2	WISX1YNGX2TNYAQLQG	여기서, X1=A 또는 T, X2 = N 또는 Y. 바람직하게는 여기서 X1=A 또는 T 및 X2=Y
서열 196 069-181	IgHV1-18-1	CDR3	DLRGTX1YFDY	여기서, X1=A 또는 N
서열 197 098	IgHV1-18-1	CDR1	X1X2GIS	여기서, X1 = N 또는 S, X2 = F 또는 Y
서열 198 098	IgHV1-18-1	CDR2	WISAX1NGX2TX3YX4QKX5QG	여기서, X1 = F 또는 Y, X2 = H 또는 N, X3 = D 또는 N, X4=S 또는 A, X5=V 또는 L
서열 199 101	IgHV1-18-1	CDR1	X1X2GIX3	여기서, X1 = R 또는 S, X2 = H 또는 Y, X3=T 또는 S
서열 200 101	IgHV1-18-1	CDR2	WISAX1NGNTNYAQKX2QX3	여기서, X1 = D 또는 Y, X2 = F 또는 L, X3 = D 또는 G
서열 201 101	IgHV1-18-1	CDR3	VX1RYFDWLLX2YFDY	여기서, X1 = F 또는 L, X2 = P 또는 아미노산 없음
서열 202 005-006	IGKV1D-16*01	CDR3	QQYNSX1PX2T	여기서, X1=Y 또는 F, X2 = P 또는 W. 바람직하게는 여기서, X1=Y 또는 F 및 X2 = P
서열 203 008-035	IGKV1-13*02	CDR2	X1ASSLES	여기서, X1 = D, V 또는 A
서열 204 008-035	IGKV1-13*02	CDR3	QQFNSYPLX1T	여기서, X1 = R, I, L, W 또는 MY
서열 205 022	IGKV1-12*01	CDR3	QX1X2X3SFX4WT	여기서, X1 = Q 또는 E, X2=A 또는 T, X3 = N 또는 S; X4 = P 또는 T
서열 206 024	IGKV1-12*01	CDR3	QQANSFPX1T	여기서, X1 = I 또는 아미노산 없음
서열 207 058	IGKV1-13*02	CDR3	QQFX1SYPX2IT	여기서, X1=T 또는 N, X2 = Q 또는 아미노산 없음
서열 208 062-064-068	IGKV1-12*01	CDR3	QQANX1FPIT	여기서, X1 = G 또는 S
서열 209 069-181	IGKV1-12*01	CDR1	RASQGISX1WLA	여기서, X1=S 또는 N
서열 210 069-181	IGKV1-12*01	CDR2	AASSLX1S	여기서, X1=Q 또는 L
서열 211 098	IGKV1D-16*01	CDR3	X1QYX2SYPWT	여기서, X1 = H 또는 Q, X2 = K 또는 N
서열 212 101	IGKV3-20*01	CDR2	GX1X2SRAT	여기서, X1=V 또는 A, X2 = F 또는 S

[0408]

[0409]

## 실시예 12: 항체의 정제

[0410]

배양 상청액을 0.2  $\mu$ m 전량 (dead-end) 필터 위에서 여과하고, 5 ml 맵셀렉트 슈어(MabSelect SuRe) 칼럼 (지 이 헬스 케어 (GE Health Care)) 상에 로딩하고, 0.1 M 시트르산나트륨-NaOH (pH 3)로 용리하였다. 용리액을 2M 트리스-HCl (pH 9)로 즉시 중화시키고, 12.6 mM NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 140 mM NaCl (pH 7.4) (비. 브라운)로 밤새 투석하였다. 별법으로, 정제에 이어, 용리액을 하이프랩(HiPrep) 탈염 칼럼 상에 로딩하고, 항체를 12.6 mM NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 140 mM NaCl (pH 7.4) (비. 브라운) 완충제 내로 교환하였다. 투석 또는 완충제 교환 후에, 샘플을 0.2  $\mu$ m 전량 필터 위에서 멸균 여과하였다. 순도는 SDS-PAGE에 의해 측정하고, 농도는 비탁법 및 280 nm에서 흡광도에 의해 측정하였다. 정제된 항체를 4℃에서 저장하였다. 실시예 10에 설명된 바와 같이 하이브리도마에 의해 발현된 항체 중쇄 및 경쇄의 분자 질량을 확인하기 위해 질량 분광측정법을 수행하였다.

[0411]

## 실시예 13: FACS 분석에 의해 측정된 막-결합된 c-Met를 발현하는 종양 세포에 대한 항-c-Met 클론의 결합

[0412]

막-결합된 c-Met를 발현하는 A431 세포 (ATCC에서 구입함, CRL-1555)에 대한 항-c-Met 항체 및 그의 1가 형태 (또한 본원에서 "유니바디 분자"로서 칭함, 실시예 5 참조)의 결합을 유동 세포측정법 (FACS 칸토(Canto) II, 비디 바이오사이언시즈 (BD Biosciences))를 사용하여 시험하였다. 쿼피(Qifi) 분석 (다코 (Dako, 덴마크 글로 스트루))에 의해, A431 세포는 세포당 평균 30,000개 카피의 c-Met 단백질을 발현하는 것으로 밝혀졌다. 항-c-Met 항체 및 유니바디 분자의 결합은 피코에리트린-접합된 염소-항-인간 IgG 항체 (잭슨)을 사용하여 검출하였다. IgG1-5D5를 양성 대조군 항체로서 사용하고, HuMab-KLH를 이소형 대조군 항체로서 사용하였다. EC<sub>50</sub> 값은 그래프패드 프리즘(GraphPad Prism) V4.03 소프트웨어 (그래프패드 소프트웨어 (GraphPad Software, 미국 캘리

포니아주 샌디에고))를 사용하여 비-선형 회귀 (가변 기울기를 갖는 S자상 용량-반응)에 의해 측정하였다.

[0413] 도 3은 모든 시험된 항-c-Met 항체 및 유니바디 분자가 용량-의존 방식으로 A431 세포 상에서 발현된 c-Met에 결합하였음을 보여준다. 결합에 대한 EC<sub>50</sub> 값은 IgG에 대해 0.28-1.92 nM 및 유니바디 분자에 대해 0.52-13.89 nM로 변화하였다. 흥미롭게도, 항체 IgG1-024는 HT-29 세포 (ATCC에서 구입함, HTB-38™)에 대한 결합을 시험할 때 관찰되지 않은 (데이터를 제시하지 않음), A431 세포에 대한 높은 불포화 결합 수준을 보여주었다. 항체 022, 024, 062, 064, 069, 098, 101 및 181에 있어서, 동일한 클론의 IgG1과 유니바디 분자 사이에서 전혀 감소하지 않거나 2배 미만으로 감소된 EC<sub>50</sub> 값이 관찰되었다. 또한, 최대 결합 수준은 IgG1과 유니바디 분자 사이에서 변하지 않았다. 반면에, 항체 005, 006, 008, 035, 045 및 058에 있어서, IgG1을 그의 유니바디 대응물과 비교할 때 EC<sub>50</sub> 값의 2배 초과 감소 및 최대 결합 수준의 감소가 관찰되었다. 이것은 이들 항체의 보다 낮은 오프-레이트 (off-rate) ( $k_d$ )에 의한 것일 가능성이 가장 높았다 (실시에 14 참조).

[0414] 실시예 14: 친화도 순위결정 옥텟 검정

[0415] cMetECDHis에 대한 항체 결합을 옥텟 시스템 (포르테비오 (Fortebio, 미국 멘로 파크)) 상에서 바이오-레이어 인터페로메트리(Bio-Layer Interferometry, BLI) 기술에 의해 분석하였다. 항-인간 IgG 코팅된 바이오센서 (Fc-특이적)를 제조자의 권장 프로토콜에 따라 항-c-Met 항체를 포획하기 위해 사용하였다. 로딩된 바이오센서를 10배 희석된 동역학 완충제 (포르테비오) 내에 희석된 10 µg/mL cMetECDHis을 함유한 웰 내에 넣음으로써 HEK293 세포로부터 유래한 cMetECDHis를 고정된 항-c-Met 항체의 상부에 로딩하였다. cMetECDHis의 결합으로 인한 바이오센서 표면의 빛 반사의 차이 ( $\Delta \lambda$ , nm)를 대략 10분 동안 실시간으로 측정하고, 회합 상수 ( $k_a$  [1/M x s])를 계산하기 위해 옥텟 소프트웨어 (V4.0, 포르테비오)에 의해 사용하였다. 이어서, 해리 상수 ( $k_d$  [1/s])를 결정하기 위해 로딩된 바이오센서를 동역학 완충제 (PBS 내에 10배 희석됨)만을 함유한 웰 내에 넣었다. 모델 1:1 (랭뮤어 (langmuir))을 사용하여 친화도 ( $K_D$  [M])를 측정하기 위해 동역학적 분석을 수행하였다. 양성 대조군으로서, HEK293 세포 내에서 생산된 0.2 µg/mL 5D5 IgG1을 사용하였다.

[0416] 표 5는 모든 항-c-Met 항체가 0.6-13.9 nM 범위의 나노몰 친화도로 cMetECDHis에 결합함을 보여준다.

## 표 5

cMetECDHis에 대한 결합을 위한 항체의 동역학적 상수 ( $k_a$ ,  $k_d$  및  $K_D$ )

클론	$k_a$ [1/ Ms]	$k_d$ [1/ s]	$K_D$ [M]
5D5	2.14E+05	1.25E-03	5.86E-09
005	3.18E+05	2.52E-03	7.92E-09
006	4.25E+05	4.20E-03	9.89E-09
008	3.08E+05	1.57E-03	5.12E-09
022	2.36E+05	2.51E-04	1.06E-09
024	1.45E+05	2.28E-04	1.57E-09
035	2.64E+05	3.68E-03	1.39E-08
045	7.21E+05	2.07E-03	2.87E-09
058	4.64E+05	1.25E-03	2.70E-09
061	2.56E+05	1.53E-04	5.96E-10
062	2.73E+05	3.19E-04	1.17E-09
064	2.84E+05	3.24E-04	1.14E-09
068	3.21E+05	1.35E-03	4.21E-09
069	2.12E+05	2.67E-04	1.26E-09
096	1.96E+05	5.00E-04	2.55E-09
098	1.64E+05	2.97E-04	1.82E-09
101	1.69E+05	2.14E-04	1.27E-09
181	2.37E+05	5.31E-04	2.23E-09

5D5를 제외하고, 각각의 샘플을 1회 측정하였다.

[0417]

[0418] 실시예 15: FACS 분석에 의해 측정된, 붉은틸원숭이 상피 세포 상에서 발현된 막-결합된 c-Met에 대한 항-c-Met 항체의 결합

[0419] 붉은틸원숭이 c-Met와의 교차-반응성을 측정하기 위해, c-Met 양성 붉은틸원숭이 상피 세포 (ATCC에서 구입한 4MBr-5)에 대한 항-c-Met 항체의 결합을 유동 세포측정법 (FACS 칸토 II, 비디 바이오사이언시즈)을 사용하여 시험하였다. 피코에리트린-접합된 염소-항-인간 IgG 항체 (씩슨)를 2차 접합체로서 사용하였다. HuMab-KLH를

이소형 대조군 항체로서 사용하였다.

[0420] 도 4는 모든 시험된 항-c-Met 항체가 붉은틸원숭이 c-Met와 교차-반응성을 보여준다. 두 시험된 농도 (0.5  $\mu\text{g/mL}$  및 10  $\mu\text{g/mL}$ )에서, 항-c-Met 항체는 붉은틸원숭이 c-Met에 특이적으로 결합할 수 있었다. 모든 항체에 대해, 신호는 이소형 대조군 항체 HuMab-KLH에 대한 것보다 적어도 5배 더 높았다. 흥미롭게도, P1016-035는 다른 c-Met 특이적 항체에 비해 훨씬 더 높은 최고-형광 수준 (~200,000의 MFI)을 제시하였다. 상기 차이는 인간 c-Met 수용체를 발현하는 세포주에서 관찰되지 않았다.

[0421] **실시예 16: 효소-연결 면역흡착 검정 (ELISA)으로 측정된, c-Met의 세포의 도메인에 대한 HGF 결합의 차단**

[0422] 항-c-Met 항체가 c-Met 수용체에 대한 간세포 성장 인자 (HGF)의 결합을 차단할 수 있는지 분석하기 위해 ELISA를 수행하였다. 따라서, c-Met의 코팅된 세포의 도메인을 방사성 표지되지 않은 항-c-Met 항체 및 형광 표지된 HGF와 함께 인큐베이션하였다. 비-차단 항체는 c-Met 결합을 위해 표지된 HGF와 경쟁하지 않고, 따라서 최대 형광 신호를 생성한다. 차단 항체는 c-Met 결합을 위해 표지된 HGF와 경쟁하고, 따라서 감소된 형광 신호를 생성한다.

[0423] HGF (프로스펙 타니 (ProSpec Tany, 이스라엘 레호보트))를 유로폼<sup>3+</sup> (퍼킨엘머 (PerkinElmer, 핀란드 투르쿠))와의 접합에 의해 형광 표지하였다. ELISA 웰을 4°C에서 PBS 내에 희석한 0.5  $\mu\text{g/mL}$  재조합 인간 c-Met 세포의 도메인 (알앤디 시스템즈 (R&D systems, 미국 미네아폴리스))으로 밤새 코팅하였다. 이어서, ELISA 웰을 PBST (0.05% 트윈-20을 보충한 PBS [시그마-알드리치, 네덜란드 즈빈드레히트])로 세척하고, 1시간 동안 실온 (RT)에서 2% (v/v) 닭 혈청 (깁코 (Gibco, 스코틀랜드 파이스레이))을 보충한 PBST로 차단하였다. PBST로 세척한 후, ELISA 웰을 PBST 내의 50  $\mu\text{L}$  연속 희석한 항-c-Met 항체 (5배 희석으로 0.128-10,000 ng/mL)와 50  $\mu\text{L}$ 의 0.44  $\mu\text{g/mL}$  유로폼<sup>3+</sup>-접합된 HGF의 혼합물과 함께 차광한 RT에서 1시간 동안 인큐베이션하였다. 이어서, 비결합된 유로폼<sup>3+</sup>-접합된 HGF를 PBST로 세척 제거하고, 결합된 유로폼<sup>3+</sup>-접합된 HGF를 형광 신호를 증가시키기 위해 텔피아 증강 용액 (Delfia Enhancement Solution) (퍼킨엘머)과 함께 암소에서 30분 동안 RT에서 인큐베이션하였다. 615 nm에서의 평균 형광 강도는 다음 설정을 적용하여 엔비전(EnVision) 2101 멀티라벨 (Multilabel) 판독기 (퍼킨엘머)를 사용하여 측정하였다: 랜스(Lance)/텔피아 이중 거울, 방출 필터 615, 여기 필터 340 nm, 지연 시간 400  $\mu\text{s}$ , 윈도우 (window) 400  $\mu\text{s}$ , 100 플래쉬, 2000  $\mu\text{s}$ /사이클 및 양방향성 일렬 (row-by-row) 판독. IC<sub>50</sub> 값을 측정하기 위해, 결합 곡선을 그래프패드 프리즘 V4.03 소프트웨어 (그래프패드 소프트웨어, 미국 캘리포니아주 샌디에고)를 사용하여 비-선형 회귀 (가변 기울기를 갖는 S자상 용량-반응, 모든 데이터-세트에 대해 공유된 값으로 제한된 최대 값)로 분석하였다.

[0424] 도 5는 재조합 인간 c-Met의 세포의 도메인 결합에 대한, 항-c-Met 항체의 HGF 결합 억제 곡선의 대표적인 예를 도시한 것이다. 5D5를 양성 대조군 항체로서 사용하였다. 제시된 실험에서 모든 항-c-Met 항체는 재조합 c-Met에 대한 결합을 위해 유로폼<sup>3+</sup>-접합된 HGF와 경쟁할 수 있었다. IC<sub>50</sub> 값은 0.0011-0.0794  $\mu\text{g/mL}$ 로 상이하였다. 유로폼<sup>3+</sup>-접합된 HGF를 첨가하지 않으면, 대략 ~600 상대 형광 단위 (RFU)가 검출되었고, 이것은 최대 억제가 달성될 때의 신호를 나타낸다. 유로폼<sup>3+</sup>-접합된 HGF의 결합이 억제되지 않을 때, 약 ~66,000 RFU가 검출되었다. 항체 005, 006, 058, 101 및 양성 대조군 항체 5D5는 c-Met 수용체에 대한 HGF 결합을 84.5-92.1% 억제할 수 있었다. 모든 다른 항체는 c-Met에 대한 HGF 결합을 적어도 55% 억제할 수 있었다. HGF는 SEMA 도메인 및 Ig 영역 둘 모두에서 c-Met 수용체에 결합할 수 있으므로, 몇몇의 항체는 이들 상호작용의 하나만을 억제할 수 있다. 어떤 상호작용이 억제되는지 결정하기 위해, 시간분해 형광 공명 에너지 전달 (TR-FRET) 검정의 cMetSEMAHis-기반 억제를 수행하였다.

[0425] **실시예 17: 샌드위치-ELISA로 측정된, 가용성 cMetECDHis에 결합하기 위한 항-c-Met 항체의 경쟁**

[0426] 먼저, 시험된 항-c-Met 항체의 최적 코팅 농도 및 최적 cMetECDHis 농도를 측정하였다. 따라서, ELISA 플레이트 웰을 PBS 내에 연속 희석한 (2배 희석으로 8  $\mu\text{g/mL}$ ) 항-c-Met HuMab로 4°C에서 밤새 코팅하였다. 이어서, ELISA 웰을 PBST (0.05% 트윈-20을 보충한 PBS [시그마-알드리치, 네덜란드 즈빈드레히트])로 세척하고, 1시간 동안 실온 (RT)에서 PBSTC (2% [v/v] 닭 혈청을 보충한 PBST [깁코, 스코틀랜드 파이스레이])로 차단하였다. 후속적으로, ELISA 웰을 PBST로 세척하고, PBSTC 내에 연속 희석한 (2배 희석으로 1  $\mu\text{g/mL}$ ) 비오틴화 cMetECDHis과 함께 1시간 동안 RT에서 인큐베이션하였다. 비결합된 비오틴화 cMetECDHis를 PBST로 세척 제거하고, 결합된 비오틴화 cMetECDHis을 PBST 내에 희석한 0.1  $\mu\text{g/mL}$  스트렙타비딘-폴리-HRP (상킨 (Sanquin,

네덜란드 암스테르담))와 함께 1시간 동안 RT에서 인큐베이션하였다. 세척 후에, 반응을 차광한 RT에서 2,2'-아지노-비스(3-에틸벤조티아졸린-6-술폰산 (ABTS: 1개의 ABTS 정제를 50 mL ABTS 완충제 내에 희석시킴 [로슈 다이아그노스틱스 (Roche Diagnostics, 네덜란드 알메레)])와 함께 15분 인큐베이션을 통해 가시화하였다. 착색은 동일 부피의 옥살산 (시그마-알드리치, 네덜란드 즈빈드레히트)을 첨가하여 중지시켰다. 405 nm에서 형광을 마이크로타이터 플레이트 판독기 (비오테크 인스트루먼트즈 (Biotek Instruments, 미국 위노스키)) 상에서 측정하였다. 각각의 항체의 최적 미만 (약 80%) 결합을 야기하는 조건을 결정하고 다음 교차-차단 실험을 위해 사용하였다.

[0427] ELISA 웰을 상기한 바와 같은 최적 미만의 용량의 항-c-Met 항체로 코팅하였다. ELISA 웰의 차단 후에, 이를 과량의 항-c-Met 항체의 존재 하에 소정 농도의 비오티닐화 cMetECDHis와 함께 인큐베이션하였다. 상기한 바와 같이 반응이 발생하였다. 잔류 결합은 경쟁자 항체의 부재 하에 관찰된 결합에 대한 백분율로서 표현하였다.

[0428] 표 6: 경쟁자로서 첨가될 때, 모든 항-c-Met 항체는 그의 고정된 대응물과 결합을 위해 경쟁할 수 있었다. 022, 058 및 5D5는 경쟁자 항체로서 첨가될 때 항체 005 및 006과 경쟁하였다. 그러나, 역 반응은 항체 005 및 006에 의한 부분적 경쟁만을 보여주었다. 이러한 차이는 비오티닐화 cMetECDHis에 대한 항체 005 및 006의 보다 낮은 친화도에 의해 설명될 수 있다. 항체 5D5는 경쟁자 항체로서 첨가할 때, 또한 항체 008 및 045와 부분적 경쟁을 보인 반면에, 역반응에서는 경쟁이 관찰되지 않거나 또는 최소 경쟁이 관찰되었다. 추가로, 항체 024, 062, 064, 068 및 181은 경쟁자 항체로서 첨가될 때, 항체 101과 부분적 경쟁을 보인 반면, 역 반응은 cMetECDHis 결합의 완전 억제를 보여주었다. 100%보다 높은 값은 결합력 효과 및 2개의 비-경쟁 항체를 함유하는 항체-cMetECDHis 복합체의 형성에 의해 설명될 수 있다.

[0429] 항체 024, 062, 064, 068, 069, 098, 101 및 181은 cMetECDHis에 대한 결합을 위해 서로 경쟁한다. 항체 005, 006, 022 및 058은 005, 006, 022, 058 및 5D5와의 완전 경쟁을 특징으로 하는 군인 하나의 교차-차단군에 속하는 것으로 간주되었다. 그러나, 항체 5D5는 또한 항체 045와 결합을 위해 경쟁할 수 있는 유일한 항체이었다. cMetECDHis에 대한 결합을 위해 경쟁하는 항체의 또 다른 군은 008, 035 및 G11-HZ에 의해 형성된다.

표 6

비오틴화 cMetECDHis에 대한 결합을 위한 항-c-Met 항체의 경쟁  
경쟁 항체

고정된 항체	005	006	008	022	024	035	045	058
005	7.7 ±1.1	18.2 ±3.6	81.9 ±3.1	4.9 ±1.3	113.5 ±5.0	84.9 ±0.2	116.9 ±7.0	3.6 ±0.1
006	11.3 ±0.9	14.6 ±0.7	58.8 ±2.2	4.6 ±0.3	113.3 ±1.0	67.5 ±4.2	114.5 ±3.5	3.6 ±0.3
008	63.9 ±3.1	47.3 ±1.2	5.4 ±0.3	82.1 ±3.0	103.2 ±0.4	32.9 ±1.0	100.4 ±3.8	40.8 ±0.8
022	37.9 ±3.9	60.5 ±4.0	94.1 ±3.5	3.8 ±1.2	99.4 ±4.8	92.4 ±0.4	95.7 ±3.5	5.8 ±0.0
024	98.4 ±10.4	101.4* ±16.7	104.2* ±12.7	100.2* ±9.0	5.4 ±0.5	108.1* ±5.8	98.1* ±11.9	102.8* ±12.8
035	36.7 ±1.0	33.0 ±17.6	7.2 ±1.7	54.6 ±6.5	121.4 ±27.8	10.6 ±0.3	125.0 ±16.8	18.5 ±2.5
045	111.4 ±1.5	110.6 ±3.5	98.5 ±3.1	105.3 ±2.5	102.4 ±5.6	105.4 ±5.5	21.3 ±0.1	115.3* ±6.5
058	31.4 ±3.6	43.6 ±2.1	90.2 ±2.5	6.8 ±0.3	109.0 ±4.1	90.1 ±5.4	111.7 ±4.9	4.0 ±0.2
062	95.8 ±5.1	95.2 ±6.8	97.4 ±5.3	94.6 ±4.0	7.3 ±2.9	90.6 ±11.5	97.0 ±3.0	94.4 ±4.3
064	90.4 ±1.9	90.1* ±1.4	94.6* ±0.5	94.2 ±3.6	7.5 ±2.5	83.5 ±12.2	95.0 ±4.9	95.5 ±0.6
068	101.1 ±7.6	98.5 ±6.7	101.7 ±5.5	99.6 ±4.0	4.7 ±2.3	88.6 ±12.7	100.4 ±9.0	101.5 ±5.1
069	102.3 ±11.2	100.3 ±12.3	102.1 ±12.8	97.8 ±12.5	6.6 ±4.1	91.7 ±27.3	99.8 ±14.4	100.6 ±14.1
098	99.6 ±6.3	97.9 ±6.7	99.8 ±4.2	95.8 ±5.4	12.9 ±4.2	89.4 ±20.6	96.7 ±3.7	98.6 ±2.9
101	91.5 ±7.2	89.7 ±7.9	94.0 ±6.3	90.7 ±5.3	40.5 ±5.4	96.7 ±1.9	94.7 ±5.1	93.1 ±5.2
181	95.9 ±7.8	93.7 ±8.4	98.7 ±5.8	92.5 ±7.4	4.3 ±1.9	96.0 ±9.6	96.8 ±6.7	98.9 ±9.8
5D5	42.3 ±14.7	58.8 ±19.4	90.2 ±9.9	12.4 ±4.7	94.2 ±9.7	98.1	83.9 ±13.4	6.6 ±3.2
G11-HZ	50.5 ±7.6	47.7 ±2.9	33.3 ±0.2	54.3 ±3.7	98.8 ±5.6	32.8 ±4.0	72.0 ±9.9	27.6 ±4.3

75 - >100% 경쟁

25 - 74% 경쟁

[0430]



0 - 24% 경쟁

경쟁 항체

고정된 항체	062	064	068	069	098	101	181	5D5	G11-HZ
005	117.7 ±10.7	118.2 ±7.8	128.7 ±9.5	124.0 ±8.0	110.4 ±7.6	103.2 ±5.0	131.0 ±7.7	2.9 ±0.1	76.8 ±4.4
006	118.8 ±8.4	122.2 ±5.3	128.6 ±6.5	124.5 ±1.0	110.6 ±2.3	105.9 ±4.1	123.5 ±6.1	3.1 ±0.0	54.0 ±35.1
008	100.5 ±2.5	107.1 ±6.2	112.2 ±5.1	104.1 ±4.4	106.6 ±2.6	101.0 ±2.5	111.3 ±1.3	32.4 ±0.8	2.7 ±0.2
022	99.4 ±2.0	101.9 ±3.2	104.1 ±3.3	99.6 ±6.0	104.8 ±4.0	103.6 ±5.1	107.1 ±5.2	4.2 ±2.1	85.9 ±8.3
024	2.3 ±0.6	2.3 ±0.6	12.0 ±5.5	2.9 ±0.5	10.4 ±4.2	4.8 ±1.0	7.1 ±2.8	95.5* ±1.1	98.2* ±1.3
035	119.6 ±11.2	131.7 ±20.0	175.1 ±30.2	150.9 ±24.9	126.2 ±19.9	113.0 ±4.6	159.1 ±12.9	25.5 ±9.9	7.8 ±3.2
045	103.1 ±3.5	103.7 ±5.7	113.1 ±1.4	97.0 ±5.2	76.4 ±11.7	101.5 ±5.1	99.4 ±3.8	27.8 ±3.9	99.3 ±5.3
058	109.1 ±4.6	108.8 ±4.4	118.8 ±4.2	112.6 ±4.0	111.8 ±6.2	104.4 ±0.8	121.3 ±3.1	2.8 ±0.4	81.5 ±8.6
062	2.4 ±0.5	2.2 ±0.2	14.2 ±1.8	2.9 ±0.1	13.2 ±0.9	7.8 ±1.1	9.4 ±1.6	97.7 ±8.5	101.3 ±0.9
064	2.2 ±0.6	2.0 ±0.2	13.0 ±0.9	2.7 ±0.2	14.7 ±1.2	7.6 ±0.8	10.1 ±3.0	94.9* ±4.6	102.0 ±10.5
068	2.0 ±0.3	2.0 ±0.3	6.6 ±0.7	2.4 ±0.4	8.2 ±1.3	4.8 ±0.7	5.2 ±0.6	94.8 ±2.7	110.3 ±6.6
069	2.2 ±0.4	2.3 ±0.5	10.1 ±2.6	2.4 ±0.7	12.5 ±3.1	3.9 ±0.5	6.3 ±1.0	99.4 ±16.2	110.4 ±13.2
098	8.8 ±0.6	9.3 ±1.3	18.0 ±2.5	3.4 ±0.6	2.6 ±0.4	4.0 ±0.6	12.0 ±2.1	94.9 ±1.2	99.6 ±1.2
101	36.9 ±3.3	37.4 ±3.7	45.9 ±4.3	9.5 ±1.2	9.7 ±1.5	3.7 ±2.4	41.9 ±0.8	97.2 ±4.6	98.3 ±2.1
181	2.0 ±0.2	2.1 ±0.3	6.5 ±1.1	2.2 ±0.3	5.1 ±1.1	2.4 ±0.2	3.6 ±0.2	94.2 ±4.5	98.7 ±6.7
5D5	97.6 ±8.1	97.1 ±12.7	97.8 ±6.6	99.6 ±3.9	97.6 ±4.9	97.9 ±10.6	103.4 ±4.3	4.1 ±1.5	97.3
G11-HZ	95.3 ±3.1	99.2 ±0.6	102.6 ±1.3	95.0 ±8.4	96.2 ±11.8	90.1 ±6.8	101.1 ±5.2	29.1 ±9.2	2.6 ±0.4

[0431]

[0432]

제시된 데이터는 3회의 독립 실험의 결합 억제 백분율  $\pm$  표준편차이다. 항체 035, 5D5 및 G11-HZ에 대해, 교차-차단 ELISA를 단 2회 수행하였다. 추가로, 많은 경쟁 반응 (\*)은 5.0보다 높은 최적 밀도값을 생성하였고, 이것은 ELISA 판독기의 검출 한계를 초과하는 것이다. 이들 결과는 이중 측정을 생성하는 분석으로부터 배제하였다.

[0433]

**실시예 18: 시간분해-형광 공명 에너지 전달 (TR-FRET)에 의해 측정된, cMetSEMA-567His8에 대한 HGF 결합의 차단**

[0434]

HGF는 SEMA 도메인 및 IgG-영역 둘 모두에서 c-Met 수용체에 결합할 수 있다. 그러나, SEMA 도메인에 결합한 HGF만이 수용체 활성화에 중요한 것으로 밝혀졌다. 따라서, c-Met 수용체의 SEMA 도메인과 항-c-Met 항체의 상호작용을 TR-FRET 기술을 이용하여 연구하였다. 상기 균질 근접성-기반 검정을 수행하기 위해, 간세포 성장 인자 (HGF, 프로스펙 타니, 이스라엘 레호보트)를 형광 수용자 염료인 알렉사플루오르(AlexaFluor)-647 (인비트로젠, 네덜란드 브레다)와 접합시켰다. cMetSEMA-567His8을 히스티딘 태그에 대해 작용하는 형광 공여자 분자 (항-6xhis 유로퓸<sup>3+</sup>, 퍼킨엘머, 핀란드 투르쿠)로 표지하였다. 유로퓸<sup>3+</sup>-표지된 cMetSEMA-567His8에 대한 알렉사플루오르-647-접합된 HGF의 결합은 공여자 분자 (여기 340 nm)의 수용자 분자 (방출 665 nm)로의 에너지 전달을 가능하게 한다. 665 nm에서의 평균 형광 강도는 엔비전 2101 멀티라벨 판독기 (퍼킨엘머)로 측정하였다. 표지되지 않은 항-c-Met 항체와 알렉사플루오르-647-접합된 HGF의 경쟁은 665 nm에서의 TR-FRET 신호의 감소에 의해 측정되었고, 그 이유는 미결합 상태에서 공여자와 수용자 형광단 사이의 거리가 에너지 전달이 발생하기에는 너무 멀기 때문이다.

[0435] 모든 희석액을 2.67% 안정화제 용액 (퍼킨엘머) 및 0.03% (v/v) 트윈-20 (리텔-드 하엔, 독일 실제)로 보충된 0.5x 렌스 검출 완충제 (퍼킨엘머) 내에서 제조하였다. 25  $\mu$ L의 cMetSEMA-567His8을 96-웰 옵티-화이트 (opti-white) 플레이트 (퍼킨엘머) 내의 25  $\mu$ L 알렉사플루오르-647 접합된 HGF, 25  $\mu$ L의 항-6xhis 유로폼<sup>3+</sup> 및 25  $\mu$ L의 표지되지 않은 항-c-Met 항체에 첨가하였다. 2.93  $\mu$ g/mL cMetSEMA-567His8, 0.96  $\mu$ g/mL 알렉사플루오르-647-접합된 HGF 및 0.4  $\mu$ g/mL 항-6xhis 유로폼<sup>3+</sup>의 최종 농도를 얻었다. 0.49- 8000 ng/mL의 표지되지 않은 항-c-Met 항체의 4배 연속 희석액을 시험하였다. 4°C에서 암소에서 밤새 인큐베이션한 후, 665 nm에서의 평균 형광 강도는 다음 설정을 적용하여 엔비전 2101 멀티라벨 판독기를 사용하여 측정하였다: 렌스/텔피아 이중 거울, 방출 필터 615-665 nm, 여기 필터 320 nm, 지연 시간 60  $\mu$ s, 윈도우 100  $\mu$ s, 100 플래쉬, 2000  $\mu$ s/사이클 및 양방향성 일렬 판독. IC<sub>50</sub> 값을 측정하기 위해, 결합 곡선을 그래프패드 프리즘 V4.03 소프트웨어 (그래프패드 소프트웨어, 미국 캘리포니아주 샌디에고)를 사용하여 비-선형 회귀 (가변 기울기를 갖는 S자상 용량-반응)로 분석하였다.

[0436] 도 6은 TR-FRET로 시험된, cMetSEMA\_567His8 결합에 대한 다양한 항-c-Met 항체의 HGF 결합 억제 곡선을 보여준다. 항체 008, 035 및 096을 제외하고, 모든 항체는 cMetSEMA-567His8에 대한 결합을 위해 알렉사플루오르-647-접합된 HGF와 경쟁할 수 있었다. 항체 022는 HGF의 결합을 ~80% 억제할 수 있는 반면, 항체 005, 006, 024, 045, 058, 061, 062, 064, 068, 069, 098, 101, 181 및 양성 대조군 항체 5D5는 cMetSEMA-567His8에 대한 HGF 결합을 >90% 억제할 수 있었다. 0.082-0.623  $\mu$ g/mL 범위의 IC<sub>50</sub> 값이 측정되었다.

## 표 7

TR-FRET로 결정된, cMetSEMA-567His8에 대한 결합을 위한 항-c-Met 항체의 리간드 억제 IC<sub>50</sub> 값 ( $\mu$ g/mL) 및 백분율

mAb	IC <sub>50</sub>	억제 %
005	0.16	92
006	0.16	92
008	ND	4
022	0.37	77
024	0.39	95
035	ND	19
045	0.17	92
058	0.15	99
061	0.49	96
062	0.58	97
064	0.07	97
068	0.26	96
069	0.54	97
096	ND	16
098	0.55	98
101	0.53	96
181	0.34	93
5D5	0.2	95

[0437] 제시된 데이터는 3회의 독립된 실험의 평균 MFI이다.

## [0438] 실시예 19: KP4 생존력 검정

[0439] C-Met 항체를 KP4 세포의 생존력을 억제하는 그들의 능력에 대해 시험하였다 (Riken BioResource Center Cell Bank, RCB1005). 고수준의 c-Met 및 HGF를 자가분비 방식으로 모두 발현하는 KP4 세포를 96-웰 조직 배양 플레이트 (그라이너 바이오-원 (Greiner bio-one, 독일 프릭젠하우젠)) 내의 무혈청 배지 (1부의 HAM의 F12K [캄브렉스 (Cambrex, 미국 뉴저지주 이스트 루터포드)] 및 1부의 DMEM [캄브렉스])에 시딩하였다 (10,000개 세포/웰). 66.7 nM 항-c-Met 항체 희석액을 무혈청 배지 내에 제조하고, 세포에 첨가하였다. 3일 인큐베이션한 후, 생존가능 세포의 양을 제조자의 지시에 따라 알라마르블루(Alamarblue) (바이오소스 인터내셔널 (BioSource International, 미국 샌프란시스코))를 사용하여 정량하였다. 표준 알라마르블루 설정에서 엔비전 2101 멀티라벨 판독기 (퍼킨엘머, 핀란드 투르쿠)를 사용하여 형광을 모니터링하였다. 항체-처리 세포의 알라마르블루 신호를 비처리 세포에 대한 신호의 백분율로서 그래프로 그렸다.

[0440] 도 7은 비처리된 세포 (0%)에 비해 항-c-Met 항체 처리 후에 생존가능 KP4 세포의 억제 백분율을 도시한 것이다. 박스로 표시한 클론들은 실시예 17에 기재된 바와 같이 서로 교차 경쟁하는 항체이다. 흥미롭게도,

동일한 교차-차단군에 속하는 항체 024, 062, 064, 068, 069, 098, 101 및 181은 모두 IgG1 및 유니바디 분자들 모두로서 KP4 생존력을 억제할 수 있었다 (18-46%). 또한, 항체 008, 061 및 096의 IgG1 분자는 KP4 생존력을 억제할 수 있었다. 이와 대조적으로, 항체 045는 IgG1로서 및 유니바디 분자로서 KP4 생존력을 억제하지 않았다. Uni-1016-045-TE의 경우, 이것은 FACS 분석에 의해 측정된, 막 결합된 c-Met에 대한 그의 낮은 결합 친화도 때문일 수 있다 (실시예 13). 클론 005, 006, 022 및 058의 IgG1 항체는 KP4 생존력을 유의하게 억제하지 않은 반면, Uni-1016-022-TE, Uni-1016-058-TE 및 IgG1-1016-058-wtFab는 KP4 생존력을 각각 57, 38 및 44% 억제하였다. Uni-1016-005 및 Uni-1016-006은 또한 클론 022 및 058과 교차경쟁하지만, KP4 생존력을 유의하게 억제하지 않았다. 이것은 FACS 분석에 의해 측정된 그의 낮은 결합 친화도 때문일 수 있다 (실시예 13). 또한, 흥미롭게도 IgG4-1016-058은 KP4 생존력의 일부 억제를 보였다. 이것은 IgG4-5D5에서는 관찰되지 않았다.

[0441] 종합하면, 데이터는 일부 교차-차단군의 경우, KP4 생존력을 억제하기 위해 1가 결합이 필요하지만, 다른 교차-차단군에서는 1가 및 2가 결합 항체 둘 모두가 KP4 생존력을 억제할 수 있음을 나타낸다.

[0442] **실시예 20: SCID 마우스에서 KP4 이종이식편 종양 모델**

[0443] 생체 내에서 종양 성장을 억제하는 항-c-Met HuMab의 효능을 측정하기 위해 SCID 마우스에서 KP4 이종이식편 종양 모델을 수행하였다. 7 내지 11주령 암컷 SCID-마우스, 계통 C.B-17/IcrPrkdc-scid/CRL을 찰스 리버 래브로라토리스 네덜란드 (Charles River Laboratories Nederland) (네덜란드 마스트리히트)로부터 구입하고, 식품 및 물을 마음대로 섭취하도록 하면서 멸균 조건 하에 상부를 필터로 덮은 케이지에 유지시켰다. 마이크로칩 (플렉스 비브이 (PLEXX BV, 네덜란드 엘스트))을 마우스 확인을 위해 설치하였다. 모든 실험은 우트레히트 대학교 (Utrecht University) 동물 윤리 위원회에 의해 승인되었다.

[0444] 제0일에,  $10 \times 10^6$  개의 KP4 세포를 200  $\mu$ l PBS 중에서 우측 옆구리에 피하 접종하였다. 마우스를 질병의 임상 징후에 대해 적어도 매주 2회 조사하였다. 종양 크기를 적어도 매주 1회 측정하였다. 부피 ( $\text{mm}^3$ )는 제16일에 출발하여  $0.52 \times (\text{길이}) \times (\text{폭})^2$  으로서 캘리퍼스 (플렉스) 측정치로부터 계산하였다. 제9일에, 평균 종양 크기를 측정하고, 마우스를 각각 7마리 마우스의 8개의 군으로 나누었다. 항-c-Met 항체 (008, 058, 069 및 098)를 복강 내로 주사하였다. 항체 G11-HZ를 양성 대조군 항체로서 사용한 반면, 5D5 및 이소형-대조군 항체를 음성 대조군 항체로서 사용하였다. 마우스에게 400  $\mu$ g/마우스의 로딩 용량을 투여한 후, 7주 동안 매주 200  $\mu$ g/마우스의 유지 용량을 투여하였다.

[0445] 추가로, 제1, 제3 및 제5 유지 용량의 투여 전에 및 마우스가 죽었을 때 수집한 혈장 샘플에 대해, 인간 IgG의 존재를 BNII 비탁계 (테이드 베링 (Dade Behring, 영국 아터베리))에서 라텍스 비드를 사용하여 확인하였다.

[0446] 도 8 및 9는 KP4 세포의 종양 성장이 HuMab 008, 069, 098 및 양성 대조군 G11-HZ에 의해 억제되었음을 보여준다. 억제를 이소형-대조군 항체를 사용한 처리와 비교하였다. KP4 세포의 종양 성장은 대조군 항체 G11-HZ에 의해 지연되었지만 완전히 억제되지는 않았다. 클론 069 및 098은 클론 008 및 G11-HZ에 비해 보다 강력한 억제를 보였다. 항체 5D5 및 058은 종양 성장을 억제하지 않았다. 이것은 실시예 19에 기재된 바와 같은 시험관 내 데이터와 일치하였다. 함께 고려하면, 이들 데이터는 일부 교차-차단군의 경우 2가 결합 항체가 KP4 종양 성장을 억제할 수 있음을 나타낸다.

[0447] **실시예 21: MKN45 이종이식편 종양 모델**

[0448] 생체 내에서 종양 성장을 억제하는 항-c-Met HuMab의 효능을 측정하기 위해 누드 마우스에서 인간 위 선암종 MKN45 이종이식편 종양 모델을 사용하였다.

[0449] 인간 MKN45 위 선암종 세포를 37°C 및 5% CO<sub>2</sub>에서 100 단위/mL 페니실린 G 나트륨, 100  $\mu$ g/mL 스트렙토마이신 술페이트, 25  $\mu$ g/mL 겐타미신, 20% 소 태아 혈청, 및 2 mM 글루타민을 함유하는 RPMI-1640 배지 내에서 배양하였다. 7 내지 8주령 암컷 누드 마우스 (nu/nu, 할란 (Harlan)) (연구 개시시의 체중 17.0 내지 26.4 g)를 사용하였다. 동물에게 물 및 식품을 마음대로 섭취하도록 하였다. 마우스를 실험동물의 관리와 사용에 대한 지침 (Guide for Care and Use of Laboratory Animals)의 권고에 따른 조건 하에 수용하였다. 동물 관리 및 사용 프로그램은 AAALAC에 의해 승인되었다. 제0일에,  $1 \times 10^6$  개의 MKN45 세포를 각각의 마우스의 옆구리에 PBS 중의 200  $\mu$ l의 50% 매트릭셀 (Matrigel)로 피하 접종하였다. 제7일에, 동물을 평균 종양 부피가 80 내지 120  $\text{mm}^3$  인 5개의 군 (n = 10)으로 분류하고, 치료를 시작하였다. 항-c-Met 항체 (008, 058, 069)를 꼬리 정맥에 주

사하였다 (iv). 항체 G11-HZ를 양성 대조군 항체로서 사용하고, 이소형 대조군 항체를 음성 대조군 항체로서 사용하였다. 모든 마우스에게 제7일에 40 mg/kg 항체를, 제14, 21, 및 28일에 20 mg/kg 항체를 투여하였다.

700 mm<sup>3</sup>의 종점 종양 부피까지 또는 연구의 끝 (제62일)까지 종양을 캘리퍼스를 사용하여 매주 2회 측정하였다. 도 10 및 11은 MKN45 세포의 종양 성장이 이소형 대조군 항체를 사용한 처리에 비해 항체 008, 058, 069 및 대조군 항체 G11-HZ에 의해 유의하게 지연되었음을 보여준다.

## 실시예 22: 입체형태적 가요성 감소에 의한 IgG1 c-Met 항체의 잔류 효능작용 활성 감소

c-Met의 천연 리간드인 HGF는 2개의 c-Met 분자의 이량체화를 유도하는 기능적 이량체이다. c-Met의 세포내 도메인의 후속적인 세포내 인산화는 세포의 증식, 침입 및 생존에 관여하는 몇몇 신호전달 경로의 활성화를 유도한다. c-Met에 대해 생성된 대부분의 2가 항체는 특히 항체의 결합 에피토프가 c-Met의 SEMA 도메인 근처에 또는 상기 도메인 내에 위치할 때 세포 운명에 대해 HGF와 비슷한 효과를 보인다.

2가 IgG1 항체의 잠재적인 잔류 효능작용 활성을 최소화하기 위해, 입체형태적 가요성을 감소시키기 위한 전략을 사용하였다. IgG1에서, Fab 아암에는 Fc 도메인에 비해 보다 큰 이동 자유도가 존재한다. 최대 입체형태적 변화는 힌지의 가요성의 결과이고, 이것은 넓은 범위의 Fab-Fc 각도를 허용한다 (Ollmann Saphire, E., R.L. Stanfield, M.D.M. Crispin, P.W.H.I. Parren, P.M. Rudd, R.A. Dwek, D.R. Burton and I.A. Wilson. 2002. Contrasting IgG structures reveal extreme asymmetry and flexibility. J. Mol. Biol. 319:9-18). 이뮤노글로불린에서 Fab-아암 가요성을 감소시키는 하나의 방법은 유전적 변형에 의해 경쇄와 중쇄 사이에 디설피드 결합의 형성을 방지하는 것이다. 천연 IgG1 항체에서, 경쇄는 경쇄의 C-말단 시스테인을 중쇄의 Fc의 힌지 내의 위치 220의 시스테인 (C220 EU 넘버링)에 연결시키는 디설피드 결합을 통해 중쇄와 공유 연결된다. 아미노산 C220을 세린 또는 임의의 다른 천연 아미노산으로 돌연변이시켜 C220을 제거함으로써, 완전한 힌지를 제거함으로써, 또는 IgG1 힌지를 IgG3 힌지로 교체함으로써, 경쇄가 인간 이소형 IgA2m(1)에서 발견되는 상황과 유사한, 그들의 C-말단 시스테인을 통해 연결된 분자가 형성된다. 이것은 KP4 생존력 검정에서 효능작용 c-Met 항체 (5D5)의 IgA2m(1) 및 IgG1 포맷을 사용한 비교 연구에서 제시된 바와 같이 Fc에 비해 Fab의 감소된 가요성, 및 결과적으로 감소된 가교결합능을 야기한다 (도 12).

IgG1 분자의 가요성을 감소시키는 또 다른 전략은 IgG1 힌지를 IgG2 힌지 또는 IgG2-유사 힌지로 교체하는 것이다 (Dangl et al. EMBO J. 1988;7:1989-94). 상기 힌지 영역은 분자의 가요성을 보다 작게 만드는 것으로 간주되는, IgG1의 것과 구분되는 2가지 특성을 갖는다. 먼저, IgG1 힌지에 비해, IgG2 힌지는 3개 아미노산이 더 짧다. 두 번째로, IgG2 힌지는 추가의 시스테인을 함유하고, 따라서 2개의 중쇄간 디설피드 가교 대신에 3개가 형성될 것이다. 별법으로, IgG2 힌지와 유사한 IgG1 힌지의 변이체가 도입될 수 있다. 상기 돌연변이체 (TH7 Δ6-9) (W02010063746)은 추가의 시스테인을 갖는 더 짧은 힌지를 생성하기 위해서 돌연변이 T223C 및 2개의 결실 (K222 및 T225)을 함유한다.

## 실시예 23: 가요성이 감소된 IgG1 분자 (경직된 IgG1 분자)의 생성

### 클로닝 및 발현

표준 분자 생물학 기술을 사용하여 돌연변이체 IgG1 항체를 설계하고 클로닝하였다. 모든 생성된 힌지 영역 돌연변이 서열의 개요를 아래 표 8에 제시한다.

표 8

돌연변이 IgG1 항체의 힌지의 아미노산 서열. 결실은 '-'로 표시되어 있고, 돌연변이는 밑줄로 표시되어 있다.

IgG1 WT	EPKSCDKTHTCPPCP
IgG1 힌지-IgG2	ERKCCVE---CPPCP
IgG1 ΔC220	EPKS-DKTHTCPPCP
IgG1 C220S	EPKS <del>S</del> DKTHTCPPCP
IgG1 TH7Δ6-9	EPKSCD- <del>CH</del> -CPPCP
힌지 결실 IgG1 (Uni-IgG1)	-----
IgG1 힌지-IgG3	ELKTPPLGDTHTTCPRCPEPKSCDTPPPCPRCPEPKSCDTPPPCPRCPEPKSCDTPPPCPRCP

[0459] 포유동물 세포에서 생성되는 경직된 IgG1 항체의 발현을 위해, 힌지 영역에 돌연변이를 함유하는 IgG1의 HC 불변 영역 (상기 표 8 참조)을 포유동물 발현 벡터 pcDNA3.3 (인비트로젠) 내의 코돈 최적화된 구축물로서 합성하였다. 별개의 벡터는 인간 카파 경쇄 영역의 코돈 최적화된 불변 영역을 pcDNA3.3 내에 삽입함으로써 제작하였다. 클론 069 및 대조군 항체 5D5의 VH 및 VL 영역을 각각 HC 불변 플라스미드 및 카파 경쇄 플라스미드 내에 삽입하여, 특이적 항체의 (돌연변이된) 중쇄 및 경쇄의 발현을 위한 벡터를 생성하였다. HEK-293F (인비트로젠) 세포에서 특이적 항체의 중쇄 및 경쇄 벡터의 동시 형질감염은 돌연변이체 항체의 일시적인 생산을 야기하였다. 항체의 정제는 단백질 A 친화도 칼럼 크로마토그래피 (실시예 11에 기재된 바와 같음)를 사용하여 수행하였다.

[0460] **생화학적 특성 결정**

[0461] **일시적인 발현**

[0462] 모든 돌연변이체는 충분한 수준으로 발현되었고, MS (>99% 순도) 및 SDS-PAGE에 의해 측정할 때 다량체의 비정상적인 형성을 보이지 않았다.

[0463] SDS-PAGE 결과를 도 13에 제시한다. C220 돌연변이체 (C220S 및 ΔC220) 및 힌지-결실 IgG1 변이체에서 (힌지-결실된 IgG1 변이체는 또한 유니바다-IgG1 또는 Uni-IgG1로 명명하였다), 비-환원된 SDS-PAGE 분석에서 약 50 kD의 단백질 밴드로서 가시적인 경쇄 페어링이 관찰되었다. 또한, IgG3 힌지를 갖는 변이체는 경쇄 페어링을 보였지만, IgG2 힌지 및 IgG1 TH7Δ6-9 돌연변이체를 갖는 변이체는 정상적인 경쇄-중쇄 페어링을 보였다.

[0464] **실시예 24: 돌연변이체의 c-Met 결합 특성**

[0465] 돌연변이체의 c-Met 결합 특성을 ELISA로 시험하였다. ELISA 플레이트 웰을 4℃에서 PBS (1 μg/mL) 내의 rhHGF R/Fc 키메라 (알앤디 시스템즈; Cat. 358MT/CF)로 밤새 코팅하였다. 이어서, 웰을 PBST (0.05% 트윈-20을 보충한 PBS [시그마-알드리치, 네덜란드 즈빈드레히트])로 세척하고, 1시간 동안 실온 (RT)에서 PBSTC (2% [v/v] 닭 혈청을 보충한 PBST [김코, 스코틀랜드 파이스레이])로 차단하였다. 후속적으로, 웰을 PBST로 세척하고, PBSTC 내에 연속 희석한 (4배 희석으로 10 μg/mL) 항-cMet 항체 및 변이체와 함께 1시간 동안 RT에서 인큐베이션하였다. 비결합된 항체를 PBST로 세척 제거하고, 코트에 결합된 항체를 PBST 내에 희석한 염소-항-인간 IgG F(ab')<sub>2</sub>-HRP (잭슨 카탈로그 번호 109-035-097)와 함께 1시간 동안 RT에서 인큐베이션함으로써 검출하였다. 세척 후에, 반응을 차광한 RT에서 2,2'-아지노-비스(3-에틸벤조티아졸린-6-술폰산 (ABTS: 1개의 ABTS 정제를 50 mL ABTS 완충제 중에 희석함 [로슈 다이아그노스틱스 (네덜란드 알메레)])와 함께 15분 인큐베이션을 통해 가시화하였다. 착색은 동일 부피의 옥살산 (시그마-알드리치, 네덜란드 즈빈드레히트)을 첨가하여 중지시켰다. 405 nm에서의 형광을 마이크로타이터 플레이트 판독기 (비오테크 인스트루먼트 (미국 위노스키)) 상에서 측정하였다. 모든 돌연변이체는 비슷한 겉보기 친화도 (EC<sub>50</sub>)로 c-Met에 결합하였다 (도 14). 표 10은 본 실험에서 얻어진 돌연변이체의 EC<sub>50</sub> 값을 보여준다.

**표 9**

ELISA에 의해 측정된 EC<sub>50</sub> 값

	IgG1-1016-069	IgG1-1016-069-ΔC220	IgG1-1016-069-C220S	IgG1-1016-069-힌지 IgG2	IgG2-1016-069	IgG1-1016-069-TH7Δ6-9	Uni-1016-069-TE	IgG1-1016-069	IgG1-1016-069-힌지 IgG3	Uni-IgG1-1016-069
EC50 (ng/mL)	49.5	18.87	15.56	23.03	29.61	18.81	30.08	45.43	14.18	15.39

[0466]

[0467] **실시예 25: 경직된 IgG1 c-Met 항체의 감소된 효능작용 효과**

[0468] **수용체 인산화**

[0469] 경직된 항체의 효능작용 특성을 결정하기 위해, cMet 인산화에 대한 항체의 효과의 평가를 수행하였다. 천연 리간드 HGF 또는 대부분의 2가 항체에 의한 2개의 인접한 cMet 수용체의 이량체화 시에, c-Met의 세포내 도메인 내의 3개의 티로신 잔기 (위치 1230, 1234 및 1235)는 교차 인산화되고, 이어서 세포내 도메인 내의 몇몇의 다



른 아미노산의 후속 인산화 및 많은 신호전달 캐스케이드의 활성화가 이루어진다. 따라서, cMet의 이량체화 및 활성화는 이들 위치에서 인산화된 수용체에 대한 특이적인 항체를 사용함으로써 모니터링할 수 있고, 따라서 항-c-Met 항체의 잠재적인 효능작용에 대한 판독치로서 사용하였다.

[0470] ATCC로부터 입수한 CCL-185인 A549 세포를 70% 융합 (confluency)에 도달할 때까지 혈청 함유 DMEM 배지에서 성장시켰다. 세포의 트립신화 및 세척 후에, 세포를 6웰 배양 플레이트 내의 혈청 함유 배양 배지 내에  $1 \times 10^6$  개 세포/웰로 플레이팅하였다. 밤새 인큐베이션 후에, 세포를 HGF (알앤디 시스템즈; cat. 294-HG) (50 ng/mL) 또는 항체의 집단 (30  $\mu$ g/mL)으로 처리하고, 15분 동안 37°C에서 인큐베이션하였다. 이어서, 세포를 빙냉 PBS로 2회 세척하고, 프로테아제 억제제 콕테일 (로슈; cat. 11836170001)을 보충한 용해 완충제 (셀 시그널링 (Cell Signaling); cat. 9803)로 용해시키고, 샘플을 -80°C에서 저장하였다. 수용체 활성화는 포스포 c-Met 특이적 항체를 사용하는 웨스턴 블롯에 의해 인산화를 측정함으로써 측정하였다. 세포 용해물 내의 단백질을 4-12% SDS-PAGE 겔 상에서 분리하고, 니트로셀룰로스 막에 전달하고, 이를 후속적으로 인산화된 c-Met (Y1234/1235)에 대한 특이적인 항체 (셀 시그널링, cat: 3129)로 염색하였다. 겔 로딩을 제어하기 위해, 총 c-Met 및 베타-액틴에 대한 항체를 사용하였다. 웨스턴 블롯의 결과를 도 15에 도시한다.

[0471] 조직 배양 배지 대조군 및 항체 5D5의 1가 포맷 유니바디로 처리한 세포는 수용체의 인산화를 보이지 않았다. 이와 대조적으로, 양성 대조군 HGF 또는 효능제 항체 IgG1-1016-058로 처리한 세포의 웨스턴 블롯 분석은 예상된 높이에서 확실한 밴드를 보였다. 항체 IgG1-1016-069는 낮지만 검출가능한 수용체 인산화를 보였고, 이것은 수용체의 일부 가교 결합이 발생함을 나타낸다. 그러나, 항체 분자의 가요성을 감소시키도록 설계된 변이체는 1가 대조군 Uni-5D5-TE로 처리된 세포에서 검출되는 수준과 비슷한 수준으로 감소된 최소 수용체 활성화를 보여주었다 (도 15).

[0472] 시험관 내 NCI-H441 증식에 대한 c-Met 항체의 효과

[0473] cMet 항체의 잠재적인 증식 효능작용 활성화는 고수준의 c-Met를 발현하지만 그의 리간드 HGF를 생산하지 않는 폐선암종 세포주 NCI-H441 (ATCC, HTB-174™)을 사용하여 시험하였다. NCI-H441 세포를 96-웰 조직 배양 플레이트 (그라이너 바이오-원, 독일 프리켄하우젠)의 혈청이 없는 RPMI (론자) 내에 접종하였다 (5,000개 세포/웰). 항 c-Met 항체 희석액 (66.7 nM)을 혈청이 없는 RPMI 내에 제조하고, 세포에 첨가하였다. 37°C/5% CO<sub>2</sub>에서 7일 인큐베이션한 후, 생존가능 세포의 양을 제조자의 지시에 따라 알라마르블루 (바이오소스 인터내셔널, 미국 샌프란시스코)를 사용하여 정량하였다. 표준 알라마르블루 설정에서 엔비전 2101 멀티라벨 판독기 (피킨엘머, 핀란드 투르쿠)를 사용하여 형광을 모니터링하였다.

[0474] 도 17에 제시된 바와 같이, NCI-H441 세포의 증식은 효능작용 대조군 mAb IgG1-058 및 IgG1-5D5에 의해 강하게 유도되었다. 항체 IgG1-1016-069도 이소형 대조군으로 처리한 세포에 비해 일부의 효능작용 효과를 보였다. IgG1-1016-069의 효능작용 활성화는 C220 돌연변이체 C220S 및 -del을 도입함으로써 완전히, 및 IgG2 및 TH7Δ6-9 힌지 또는 IgG2 백본을 갖는 변이체에 의해 부분적으로 제거될 수 있었다. 이소형 대조군 및 5D5의 1가 버전 (Uni-5D5-TE)으로 처리된 대조 샘플은 세포의 성장을 유도하지 않았다.

[0475] KP4 생존력 검정

[0476] 또한, KP4 생존력 검정에서 항-c-Met 항체 돌연변이체에 대해 HGF 의존성 세포를 억제하는 능력을 측정하였다 (실험 절차에 대해서는 실시예 19 참조). 결과를 도 17에 제시한다. IgG1-1016-069 기반 돌연변이체의 효능은 C220 돌연변이체에서 완전히 유지되거나 약간 더 우수하였다. 놀랍게도, 효능작용 항체 5D5에서 C220의 돌연변이는 KP4 생존력을 현저하게 감소시켰다. IgG1 포맷에서 058 및 5D5 항체의 효능작용 효과는 KP4 (자가분비 HGF 루프)에 의한 HGF의 높은 발현 때문에 관찰되지 않았다.

[0477] 하향조정

[0478] 길항작용 항체에 의해 유도된 c-Met의 하향조정은 치료 c-Met 항체의 작용 메커니즘을 나타낸다. 따라서, 한 실시양태에서, 감소된 효능작용 특성을 갖지만 c-Met의 하향-조정을 유도하는 능력이 유지된 항체가 바람직하다. 항체의 하향-조정 가능성을 결정하기 위해, A549 세포 (ATCC로부터 입수한 CCL-185)를 6-웰 조직 배양 플레이트 내의 혈청 함유 세포 배양 배지 (500,000개 세포/웰)에 시딩하고, 37°C에서 밤새 배양하였다. 다음날 아침에, 항-c-Met 항체를 10  $\mu$ g/mL의 최종 농도로 첨가하고, 플레이트를 추가로 2일 동안 37°C에서 인큐베이션하였다. PBS로 세척한 후, 세포를 30 min 동안 실온에서 250  $\mu$ l 용해 완충제 (셀 시그널링, 미국 덴버)와 함께 인큐베이션함으로써 용해시켰다. 총 단백질 수준을 제조자의 지시에 따라 비신코닌산 (BCA) 단백질 검정 시약 (피어스 (Pierce))을 사용하여 정량하였다. 세포 용해물 내의 c-Met 단백질을 c-Met-특이

적 샌드위치 ELISA를 사용하여 정량하였다. 이를 위해, ELISA 플레이트의 웰을 PBS (1  $\mu\text{g/mL}$ ) 내에 희석된, c-Met의 세포외 도메인에 대해 작용하는 염소-항-인간 c-Met 항체 (알앤디 시스템즈)로 4°C에서 밤새 코팅하였다. 이어서, 웰을 PBST (0.05% 트윈-20을 보충한 PBS [시그마-알드리치, 네덜란드 즈빈드레히트])로 세척하고, 1시간 동안 RT에서 PBSTC (2% [v/v] 닭 혈청을 보충한 PBST [김코, 스코틀랜드 파이스레이])로 차단하였다. 비희석된 세포 용해물을 첨가하고 (100  $\mu\text{L}$ ), RT에서 1시간 인큐베이션하였다. PBST로 세척한 후, 웰을 PBSC 내에 1:1000으로 희석된 인간-c-Met의 세포내 티로신-1234 잔기에 대해 작용하는 마우스-항체 (셀 시그널링)와 함께 RT에서 1시간 인큐베이션하였다. 웰을 다시 PBST로 세척하고, PBSC 내에 1:5000으로 희석된 염소-항-마우스 Fc-HRP 항체 (잭슨)와 함께 RT에서 1시간 인큐베이션하였다. PBST로 세척한 후, 반응물을 차광한 RT에서 2,2'-아지노-비스(3-에틸벤조티아졸린-6-술폰산 (ABTS: 1개의 ABTS 정제를 50 mL ABTS 완충제 내에 희석시킴 [로슈 다이아그노스틱스 (네덜란드 알메레)])와 함께 30분 인큐베이션을 통해 가시화하였다. 착색은 동일 부피의 옥살산 (시그마-알드리치, 네덜란드 즈빈드레히트)을 첨가하여 중지시켰다. 405 nm에서의 형광을 마이크로타이터 플레이트 판독기 (비오테크 인스트루먼트 (미국 위노스키)) 상에서 측정하였다. 도 18에 제시된 바와 같이, 항체 069의 모든 돌연변이체는 하향-조정을 유도할 수 있었다.

[0479] **실시예 26: 항체-의존 세포 매개 세포독성 (ADCC)**

[0480] MKN45 세포 (리켄 바이오리소스 센터 (RIKEN BioResource Center, 일본 쓰쿠바)로부터 구입함, RCB1001)를 수거하고 ( $5 \times 10^6$  개 세포), 세척하고 (PBS 내에서 2회, 1500 rpm, 5 min), 200  $\mu\text{Ci}$   $^{51}\text{Cr}$  (크로뮴-51; 아머삼 바이오사이언시즈 유럽 게엠베하 (Amersham Biosciences Europe GmbH, 네덜란드 루젠달))을 첨가한 10% 코스믹 (cosmic) 송아지 혈청 (CCS)을 보충한 1 mL RPMI 1640 배지 (하이클론, 미국 유타주 로간)에서 수집하였다. 혼합물을 진탕 수조 내에서 1.5시간 동안 37°C에서 인큐베이션하였다. 세포의 세척 후에 (PBS 내에서 2회, 1500 rpm, 5 min), 세포를 10% CCS를 보충한 RPMI 1640 배지 내에 재현탁시키고, 트리판 블루 배제에 의해 계수하고,  $1 \times 10^5$  개 세포/mL의 농도로 희석하였다.

[0481] 한편, 제조자의 지시에 따라 표준 피콜 (Ficoll) 밀도 원심분리 (림프구 분리 배지; 룬자, 프랑스 베르비에)를 사용하여 새로운 연층 (buffy coat) (상킨, 네덜란드 암스테르담)으로부터 말초 혈액 단핵 세포 (PBMC)를 분리하였다. 10% CCS를 보충한 RPMI 1640 배지에 세포의 재현탁 후에, 세포를 트리판 블루 배제에 의해 계수하고  $1 \times 10^7$  개 세포/mL로 농축하였다.

[0482] 각각의 ADCC 실험에 대해, 96-웰 마이크로타이터 플레이트 내의 10% CCS를 보충한 총 부피 100  $\mu\text{L}$ 의 RPMI 배지 내에서 50  $\mu\text{L}$   $^{51}\text{Cr}$ -표지된 MKN45 세포 (5,000개 세포)를 15  $\mu\text{g/mL}$  cMet 항체와 함께 예비-인큐베이션하였다. RT에서 15 min 후에, 50  $\mu\text{L}$ 의 PBMC (500,000개 세포)를 첨가하여, 효과기 대 표적 세포의 비를 100:1로 만들었다. 최대량의 세포 용해는 50  $\mu\text{L}$   $^{51}\text{Cr}$ -표지된 MKN45 세포 (5,000개 세포)를 100  $\mu\text{L}$  5% 트리톤(Triton)-X100과 함께 인큐베이션함으로써 측정하였다. 자연발생적인 용해의 양은 5,000개의  $^{51}\text{Cr}$ -표지된 MKN45 세포를 항체 또는 효과기 세포 없이 150  $\mu\text{L}$  배지 내에서 인큐베이션함으로써 측정하였다. 항체-비의존성 세포 용해의 수준은 5,000개의 MKN45 세포를 항체 없이 500,000개의 PBMC와 함께 인큐베이션함으로써 측정하였다. 후속적으로, 세포를 37°C, 5%  $\text{CO}_2$ 에서 4시간 인큐베이션하였다. 세포를 원심분리하고 (1200 rpm, 3 min), 75  $\mu\text{L}$ 의 상청액을 마이크로닉 튜브 (micronic tube)로 옮긴 후, 방출된  $^{51}\text{Cr}$ 을 감마 계수기를 사용하여 계수하였다. 측정된 계수/분 (cpm)을 다음과 같이 항체-매개 용해의 백분율을 계산하기 위해 사용하였다:

[0483]  $(\text{cpm 샘플} - \text{cpm Ab-비의존성 용해}) / (\text{cpm 최대 용해} - \text{cpm 자연발생적인 용해}) \times 100\%$

[0484] 다양한 공개문헌에서 시험관 내에서 감소된 코어-푸코실화 및 향상된 ADCC 활성 사이의 상호관련성을 입증하였다 (문헌 [Shields RL. 2002 JBC; 277:26733-26740], [Shinkawa T. 2003 JBC; 278(5):3466-3473]). 도 19는 항체 069가 ADCC를 통해 MKN45 세포의 용해를 유도하지 않음을 입증한다. 그러나, HEK-세포 내에서 mAb 생산 동안 키푸넨신의 존재 때문에 코어-푸코실화가 감소될 때, 항체 069는 MKN45 세포의 30% 초과 용해를 유도할 수 있었다. 추가로, 용해는 0.01  $\mu\text{g/mL}$  미만의 항체 농도에서 이미 관찰되었다. 도시된 값은 MKN45 세포를 사용한 한 대표적인 시험관내 ADCC 실험으로부터의 평균 최대 백분율  $^{51}\text{Cr}$ -방출  $\pm$  표준편차이다. 069 저-푸코스는 키푸넨신의 존재 하에 HEK 293 세포에서 생산되어, ~99.5% 비-코어 푸코실화 (즉, 푸코스의 부재)를 야기하였다. 069 고-푸코스는 키푸넨신의 부재 하에 HEK 293 세포에서 생산되어, 펄스 전류측정 검출과 결합된 고정능 음이온-교환 크로마토그래피 (HPAEC-PAD)로 측정할 때 (데이터는 제시하지 않음) ~2.11% 비-코어 푸코실화를

야기하였다.

[0485] 실시예 27: 인간 말초 혈액 세포에 대한 c-Met 항체의 결합의 결여

[0486] 말초 혈액 내에 존재하는 3종류의 세포 (B-세포, 단핵구 및 과립구)에 대한 클론 069의 결합을 처리하기 위해, FACS 결합 검정을 수행하였다. 2차 검출 항체의 사용 없이 FACS 상에서 직접 측정을 가능하게 하기 위해 형광 표지된 클론 069를 사용하였다. 혈액 내의 세포 집단은 관심있는 세포 상의 특이적 마커에 대한 시판되는 형광 항체를 사용하여 검정에서 확인하였다.

[0487] 건강한 지원자로부터의 말초 혈액 (우트레히트대 의료 센터 (University Medical Center Utrecht))을 FACS 완충제 (PBS + 0.4% BSA + 0.02%  $\text{NaN}_3$ ) 내에 10배 희석하고, 100  $\mu\text{l}$ 의 최종 부피에서 세포 집단 (각각 B 세포, 과립구 및 단핵구)을 확인하기 위해 알렉사<sup>488</sup>-접합된 c-Met 항체 및 FITC-접합된 항-CD19, -CD16 및 -CD14 항체 (최종 농도 10  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) 및 피코에리트린 (PE)-표지된 항-CD19, -CD16 및 -CD14 항체 (비디 바이오사이언시즈, 미국 캘리포니아주 산호세)와 함께 인큐베이션하였다. 4°C에서 30분 후, 샘플을 원심분리하고 (300 g, 3 min), 상청액을 제거하고, 200  $\mu\text{l}$  Ery-용해 용액 (155 mM  $\text{NH}_4\text{Cl}$ , 10 mM  $\text{KHCO}_3$ , 0.1 Mm EDTA [pH 7.4])과 함께 인큐베이션 (10 min, 4°C)함으로써 적혈구를 용해시키고, 샘플을 FACS 완충제 내에서 2회 세척하였다. 샘플을 100  $\mu\text{l}$  FACS 완충제 내에 재현탁시키고, FACS 칸토 II (비디 바이오사이언시즈)을 사용하여 분석하였다.

[0488] 도 20은 알렉사<sup>488</sup>-접합된-069가 B 세포 집단 (림프구 게이트 내의  $\text{CD19-PE}^+$  세포)에 결합하지 않음을 보여주는 대표적인 FACS 플롯이다. 알렉사<sup>488</sup>-접합된-리툽시맙의 결합을 양성 대조군으로서 사용하였다. 다른 세포 집단에 대한 결합을 유사하게 분석하였고, 3명의 공여자 중 1명에 대한 대표적인 결과를 또한 도 21에 그래프로 그렸다. 항체 069-알렉사<sup>488</sup>은 B 세포, 단핵구 또는 과립구에 결합하지 않은 반면, 양성 대조군 항체는 특이적 결합을 나타냈다.

## 도면

### 도면1a

VH 비교 1:  
 IgHV1-18-1 QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFTSYGISWVRQAPGQGLEWMGWISAYNGYTNYAQ  
**VH1016-181** QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFTSYGISWVRQAPGQGLEWMGWISAYNGYTNYAQ  
 VH1016-066 QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFTSYGISWVRQAPGQGLEWMGWISAYNGYTNYAQ  
 VH1016-065 QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFTSYGISWVRQAPGQGLEWMGWISAYNGYTNYAQ  
**VH1016-069** QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFTSYGISWVRQAPGQGLEWMGWISAYNGYTNYAQ  
 VH1016-082 QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFTSYGISWVRQAPGQGLEWMGWISAYNGYTNYAQ  
 VH1016-089 QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFTSYGISWVRQAPGQGLEWMGWISAYNGYTNYAQ  
 컨센서스 QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFTSYGISWVRQAPGQGLEWMGWISAYNGYTNYAQ

IgHV1-18-1 KLQGRVIMTIDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCAR-----  
**VH1016-181** KLQGRVIMTIDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARDLRGTYFDYWGQGLTVTVSS  
 VH1016-066 KLQGRVIMTIDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARDLRGTYFDYWGQGLTVTVSS  
 VH1016-065 KLQGRVIMTIDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARDLRGTYFDYWGQGLTVTVSS  
**VH1016-069** KLQGRVIMTIDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARDLRGTYFDYWGQGLTVTVSS  
 VH1016-082 KLQGRVIMTIDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARDLRGTYFDYWGQGLTVTVSS  
 VH1016-089 KLQGRVIMTIDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARDLRGTYFDYWGQGLTVTVSS  
 컨센서스 KLQGRVIMTIDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARDLRGTYFDYWGQGLTVTVSS

VH 비교 2:  
 IgHV1-69-4 QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCASGGTFSSYGIGWVRQAPGQGLEWMGRIFPILGTANYAQ  
**VH1016-005** QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCASGGTFSSYGIGWVRQAPGQGLEWMGRIFPILGTANYAQ  
 VH1016-031 QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCASGGTFSSYGIGWVRQAPGQGLEWMGRIFPILGTANYAQ  
**VH1016-006** QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCASGGTFSSYGIGWVRQAPGQGLEWMGRIFPILGTANYAQ  
 VH1016-007 QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCASGGTFSSYGIGWVRQAPGQGLEWMGRIFPILGTANYAQ  
 VH1016-011 QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCASGGTFSSYGIGWVRQAPGQGLEWMGRIFPILGTANYAQ  
 컨센서스 QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCASGGTFSSYGIGWVRQAPGQGLEWMGRIFPILGTANYAQ

IgHV1-69-4 MFQGRVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCAR-----  
**VH1016-005** MFQGRVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCARDVGYDSDAFDIWGQGTMTVTVSS  
 VH1016-031 MFQGRVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCARDVGYDSDAFDIWGQGTMTVTVSS  
**VH1016-006** MFQGRVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCARDVGYDSDAFDIWGQGTMTVTVSS  
 VH1016-007 MFQGRVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCARDVGYDSDAFDIWGQGTMTVTVSS  
 VH1016-011 MFQGRVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCARDVGYDSDAFDIWGQGTMTVTVSS  
 컨센서스 MFQGRVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCARDVGYDSDAFDIWGQGTMTVTVSS

VH 비교 3:  
 IgHV3-30-3-1 QVQLVESGGGVQPGRSLRLSCAASGFTFSYAMHWVRQAPGKGLEWVAISYDGSNKKYYAD  
 VH1016-017 QVQLVESGGGVQPGRSLRLSCAASGFTFSYAMHWVRQAPGKGLEWVAISYDGSNKKYYAD  
 VH1016-025 QVQLVESGGGVQPGRSLRLSCAASGFTFSYAMHWVRQAPGKGLEWVAISYDGSNKKYYAD  
**VH1016-022** QVQLVESGGGVQPGRSLRLSCAASGFTFSYAMHWVRQAPGKGLEWVAISYDGSNKKYYAD  
 컨센서스 QVQLVESGGGVQPGRSLRLSCAASGFTFSYAMHWVRQAPGKGLEWVAISYDGSNKKYYAD

IgHV3-30-3-1 SVKGRFTISRDNKNTLYQMNSLRAEDTAVYYCAR-----  
 VH1016-017 SVKGRFTISRDNKNTLYQMNSLRAEDTAVYYCARELLWFGEIHWGFDLWGRGTLTVTVSS  
 VH1016-025 SVKGRFTISRDNKNTLYQMNSLRAEDTAVYYCARELLWFGEIHWGFDLWGRGTLTVTVSS  
**VH1016-022** SVKGRFTISRDNKNTLYQMNSLRAEDTAVYYCARELLWFGEIHWGFDLWGRGTLTVTVSS  
 컨센서스 SVKGRFTISRDNKNTLYQMNSLRAEDTAVYYCARELLWFGEIHWGFDLWGRGTLTVTVSS

VH 비교 4:  
 IgHV3-23-1 EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSYAMHWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGITYYAD  
 VH1016-040 EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSYAMHWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGITYYAD  
**VH1016-045** EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSYAMHWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGITYYAD  
 VH1016-039 EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSYAMHWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGITYYAD  
 컨센서스 EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSYAMHWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGITYYAD

도면1b

IgHV3-23-1 SVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAK-----  
VH1016-040 SVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDRGWGSDYWGQGLTVTVSS  
**VH1016-045** SVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDRGWGSDYWGQGLTVTVSS  
VH1016-039 SVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDRGWGSDYWGQGLTVTVSS  
컨센서스 SVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDRGWGSDYWGQGLTVTVSS

VH 비교 5:

IgHV4-30-2-1 QLQLQESGSLVKPSQTL SLTCAVSGGSISSGGHSWSWIRQPPGKGLEWIGCIYHSGNTY  
**VH1016-068** QLQLQESGSLVKPSQTL SLTCAVSGGSISSGGHSWSWIRQPPGKGLEWIGCIYHSGNTY  
VH1016-078 QLQLQESGSLVKPSQTL SLTCAVSGGSISSGGHSWSWIRQPPGKGLEWIGCIYHSGNTY  
VH1016-084 QLQLQESGSLVKPSQTL SLTCAVSGGSISSGGHSWSWIRQPPGKGLEWIGCIYHSGNTY  
**VH1016-061** QLQLQESGSLVKPSQTL SLTCAVSGGSISSGGHSWSWIRQPPGKGLEWIGCIYHSGNTY  
**VH1016-062** QLQLQESGSLVKPSQTL SLTCAVSGGSISSGGHSWSWIRQPPGKGLEWIGCIYHSGNTY  
VH1016-063 QLQLQESGSLVKPSQTL SLTCAVSGGSISSGGHSWSWIRQPPGKGLEWIGCIYHSGNTY  
**VH1016-064** QLQLQESGSLVKPSQTL SLTCAVSGGSISSGGHSWSWIRQPPGKGLEWIGCIYHSGNTY  
VH1016-087 QLQLQESGSLVKPSQTL SLTCAVSGGSISSGGHSWSWIRQPPGKGLEWIGCIYHSGNTY  
컨센서스 QLQLQESGSLVKPSQTL SLTCAVSGGSISSGGHSWSWIRQPPGKGLEWIGCIYHSGNTY

IgHV4-30-2-1 NPSLKSRTISVDRSKNQSLKLSVTAADTAVYYCAR-----  
**VH1016-068** NPSLKSRTISVDRSKNQSLKLSVTAADTAVYYCARSSYDILTDNGQGLTVTVSS  
VH1016-078 NPSLKSRTISVDRSKNQSLKLSVTAADTAVYYCARSSYDILTDNGQGLTVTVSS  
VH1016-084 NPSLKSRTISVDRSKNQSLKLSVTAADTAVYYCARSSYDILTDNGQGLTVTVSS  
**VH1016-061** NPSLKSRTISVDRSKNQSLKLSVTAADTAVYYCARSSYDILTDNGQGLTVTVSS  
**VH1016-062** NPSLKSRTISVDRSKNQSLKLSVTAADTAVYYCARSSYDILTDNGQGLTVTVSS  
VH1016-063 NPSLKSRTISVDRSKNQSLKLSVTAADTAVYYCARSSYDILTDNGQGLTVTVSS  
**VH1016-064** NPSLKSRTISVDRSKNQSLKLSVTAADTAVYYCARSSYDILTDNGQGLTVTVSS  
VH1016-087 NPSLKSRTISVDRSKNQSLKLSVTAADTAVYYCARSSYDILTDNGQGLTVTVSS  
컨센서스 NPSLKSRTISVDRSKNQSLKLSVTAADTAVYYCARSSYDILTDNGQGLTVTVSS

VH 비교 6:

IgHV5-51-1 EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYFTSYWIGWVRQMPGKGLEWMGI IYPGDS  
VH1016-016 EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYFTSYWIGWVRQMPGKGLEWMGI IYPGDS  
VH1016-028 EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYFTSYWIGWVRQMPGKGLEWMGI IYPGDS  
**VH1016-008** EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYFTSYWIGWVRQMPGKGLEWMGI IYPGDS  
VH1016-012 EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYFTSYWIGWVRQMPGKGLEWMGI IYPGDS  
**VH1016-035** EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYFTSYWIGWVRQMPGKGLEWMGI IYPGDS  
VH1016-095 EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYFTSYWIGWVRQMPGKGLEWMGI IYPGDS  
VH1016-093 EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYFTSYWIGWVRQMPGKGLEWMGI IYPGDS  
**VH1016-096** EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYFTSYWIGWVRQMPGKGLEWMGI IYPGDS  
VH1016-104 EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYFTSYWIGWVRQMPGKGLEWMGI IYPGDS  
컨센서스 EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYFTSYWIGWVRQMPGKGLEWMGI IYPGDS

IgHV5-51-1 TRYSPSFQGGVTTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCAR-----  
VH1016-016 TRYSPSFQGGVTTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARQETIGDFDYWGQGLTVTVSS  
VH1016-028 TRYSPSFQGGVTTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARQETIGDFDYWGQGLTVTVSS  
**VH1016-008** TRYSPSFQGGVTTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARQETIGDFDYWGQGLTVTVSS  
VH1016-012 TRYSPSFQGGVTTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARQETIGDFDYWGQGLTVTVSS  
**VH1016-035** TRYSPSFQGGVTTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARQETIGDFDYWGQGLTVTVSS  
VH1016-095 TRYSPSFQGGVTTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARQETIGDFDYWGQGLTVTVSS  
VH1016-093 TRYSPSFQGGVTTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARQETIGDFDYWGQGLTVTVSS  
**VH1016-096** TRYSPSFQGGVTTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARQETIGDFDYWGQGLTVTVSS  
VH1016-104 TRYSPSFQGGVTTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARQETIGDFDYWGQGLTVTVSS  
컨센서스 TRYSPSFQGGVTTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARQETIGDFDYWGQGLTVTVSS



도면2a

IGKV1-12\*01 DIQMTQSPSSVSASVGDRVITITCRASQGISSWLA~~WYQH~~KP  
 VL1016-065 MDMMPAQLLGLLLLWFPGSRCDIQMTQSPSSVSASVGDRVITITCRASQGISSWLA~~WYQH~~KP  
 VL1016-066 MDMMPAQLLGLLLLWFPGSRCDIQMTQSPSSVSASVGDRVITITCRASQGISSWLA~~WYQH~~KP  
**VL1016-069** MDMMPAQLLGLLLLWFPGSRCDIQMTQSPSSVSASVGDRVITITCRASQGISSWLA~~WYQH~~KP  
 VL1016-089 MDMMPAQLLGLLLLWFPGSRCDIQMTQSPSSVSASVGDRVITITCRASQGISSWLA~~WYQH~~KP  
 VL1016-082 MDMMPAQLLGLLLLWFPGSRCDIQMTQSPSSVSASVGDRVITITCRASQGISSWLA~~WYQH~~KP  
**VL1016-181** MDMMPAQLLGLLLLWFPGSRCDIQMTQSPSSVSASVGDRVITITCRASQGISSWLA~~WYQH~~KP  
 컨센서스 MDMMPAQLLGLLLLWFPGSRCDIQMTQSPSSVSASVGDRVITITCRASQGISSWLA~~WYQH~~KP

IGKV1-12\*01 GKAPKLLIYAASSLLSGVPSRFSGSGSGTDFTLTIS~~SLQ~~PE~~DFATYYCQ~~ANSFPIITFGQ~~TRLEIK~~  
 VL1016-065 GKAPKLLIYAASSLLSGVPSRFSGSGSGTDFTLTIS~~SLQ~~PE~~DFATYYCQ~~ANSFPIITFGQ~~TRLEIK~~  
 VL1016-066 GKAPKLLIYAASSLLSGVPSRFSGSGSGTDFTLTIS~~SLQ~~PE~~DFATYYCQ~~ANSFPIITFGQ~~TRLEIK~~  
**VL1016-069** GKAPKLLIYAASSLLSGVPSRFSGSGSGTDFTLTIS~~SLQ~~PE~~DFATYYCQ~~ANSFPIITFGQ~~TRLEIK~~  
 VL1016-089 GKAPKLLIYAASSLLSGVPSRFSGSGSGTDFTLTIS~~SLQ~~PE~~DFATYYCQ~~ANSFPIITFGQ~~TRLEIK~~  
 VL1016-082 GKAPKLLIYAASSLLSGVPSRFSGSGSGTDFTLTIS~~SLQ~~PE~~DFATYYCQ~~ANSFPIITFGQ~~TRLEIK~~  
**VL1016-181** GKAPKLLIYAASSLLSGVPSRFSGSGSGTDFTLTIS~~SLQ~~PE~~DFATYYCQ~~ANSFPIITFGQ~~TRLEIK~~  
 컨센서스 GKAPKLLIYAASSLLSGVPSRFSGSGSGTDFTLTIS~~SLQ~~PE~~DFATYYCQ~~ANSFPIITFGQ~~TRLEIK~~

IGKV1D-16\*01 DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASQGISSWLA~~WYQ~~KPE  
**VL1016-005** MDMRVLAQLLGLLLLCFPGARCDIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASQGISSWLA~~WYQ~~KPE  
 VL1016-031 MDMRVLAQLLGLLLLCFPGARCDIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASQGISSWLA~~WYQ~~KPE  
**VL1016-006** MDMRVLAQLLGLLLLCFPGARCDIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASQGISSWLA~~WYQ~~KPE  
 VL1016-007 MDMRVLAQLLGLLLLCFPGARCDIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASQGISSWLA~~WYQ~~KPE  
 VL1016-011 MDMRVLAQLLGLLLLCFPGARCDIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASQGISSWLA~~WYQ~~KPE  
 컨센서스 MDMRVLAQLLGLLLLCFPGARCDIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASQGISSWLA~~WYQ~~KPE

IGKV1D-16\*01 KAPKSLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTIS~~SLQ~~PE~~DFATYYCQ~~YNSYP~~TFGQ~~G~~TKVEIK~~  
**VL1016-005** KAPKSLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTIS~~SLQ~~PE~~DFATYYCQ~~YNSYP~~TFGQ~~G~~TKVEIK~~  
 VL1016-031 KAPKSLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTIS~~SLQ~~PE~~DFATYYCQ~~YNSYP~~TFGQ~~G~~TKVEIK~~  
**VL1016-006** KAPKSLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTIS~~SLQ~~PE~~DFATYYCQ~~YNSYP~~TFGQ~~G~~TKVEIK~~  
 VL1016-007 KAPKSLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTIS~~SLQ~~PE~~DFATYYCQ~~YNSYP~~TFGQ~~G~~TKVEIK~~  
 VL1016-011 KAPKSLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTIS~~SLQ~~PE~~DFATYYCQ~~YNSYP~~TFGQ~~G~~TKVEIK~~  
 컨센서스 KAPKSLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTIS~~SLQ~~PE~~DFATYYCQ~~YNSYP~~TFGQ~~G~~TKVEIK~~

IGKV1-12\*01 DIQMTQSPSSVSASVGDRVITITCRASQGISSWLA~~WYQ~~KPG  
 VL1016-017 MDMMPAQLLGLLLLWFPGSRCDIQMTQSPSSVSASVGDRVITITCRASQGISSWLA~~WYQ~~KPG  
**VL1016-022** MDMMPAQLLGLLLLWFPGSRCDIQMTQSPSSVSASVGDRVITITCRASQGISSWLA~~WYQ~~KPG  
 VL1016-025 MDMMPAQLLGLLLLWFPGSRCDIQMTQSPSSVSASVGDRVITITCRASQGISSWLA~~WYQ~~KPG  
 컨센서스 MDMMPAQLLGLLLLWFPGSRCDIQMTQSPSSVSASVGDRVITITCRASQGISSWLA~~WYQ~~KPG

IGKV1-12\*01 KAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTIS~~SLQ~~PE~~DFATYYCQ~~ANSF~~PTWTF~~GQ~~GTKVEIK~~  
 VL1016-017 KAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTIS~~SLQ~~PE~~DFATYYCQ~~ANSF~~PTWTF~~GQ~~GTKVEIK~~  
**VL1016-022** KAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTIS~~SLQ~~PE~~DFATYYCQ~~ANSF~~PTWTF~~GQ~~GTKVEIK~~  
 VL1016-025 KAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTIS~~SLQ~~PE~~DFATYYCQ~~ANSF~~PTWTF~~GQ~~GTKVEIK~~  
 컨센서스 KAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTIS~~SLQ~~PE~~DFATYYCQ~~ANSF~~PTWTF~~GQ~~GTKVEIK~~

IGKV3-11\*01 EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLA~~WYQ~~KPGQ  
 VL1016-039 MEAPAQLLFLLLLWLPD~~TTTGEIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLA~~WYQ~~Q~~KPGQ  
 VL1016-040 MEAPAQLLFLLLLWLPD~~TTTGEIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLA~~WYQ~~Q~~KPGQ  
**VL1016-045** MEAPAQLLFLLLLWLPD~~TTTGEIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLA~~WYQ~~Q~~KPGQ  
 컨센서스 MEAPAQLLFLLLLWLPD~~TTTGEIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLA~~WYQ~~Q~~KPGQ

IGKV3-11\*01 APRLLIYDASN~~RATGIPARFSGSGSGTDFTLTIS~~LE~~PE~~DFAVY~~CCQ~~RSN~~W~~P~~TF~~GP~~G~~TKVDIK  
 VL1016-039 APRLLIYDASN~~RATGIPARFSGSGSGTDFTLTIS~~LE~~PE~~DFAVY~~CCQ~~RSN~~W~~P~~TF~~GP~~G~~TKVDIK  
 VL1016-040 APRLLIYDASN~~RATGIPARFSGSGSGTDFTLTIS~~LE~~PE~~DFAVY~~CCQ~~RSN~~W~~P~~TF~~GP~~G~~TKVDIK  
**VL1016-045** APRLLIYDASN~~RATGIPARFSGSGSGTDFTLTIS~~LE~~PE~~DFAVY~~CCQ~~RSN~~W~~P~~TF~~GP~~G~~TKVDIK  
 컨센서스 APRLLIYDASN~~RATGIPARFSGSGSGTDFTLTIS~~LE~~PE~~DFAVY~~CCQ~~RSN~~W~~P~~TF~~GP~~G~~TKVDIK



도면2b

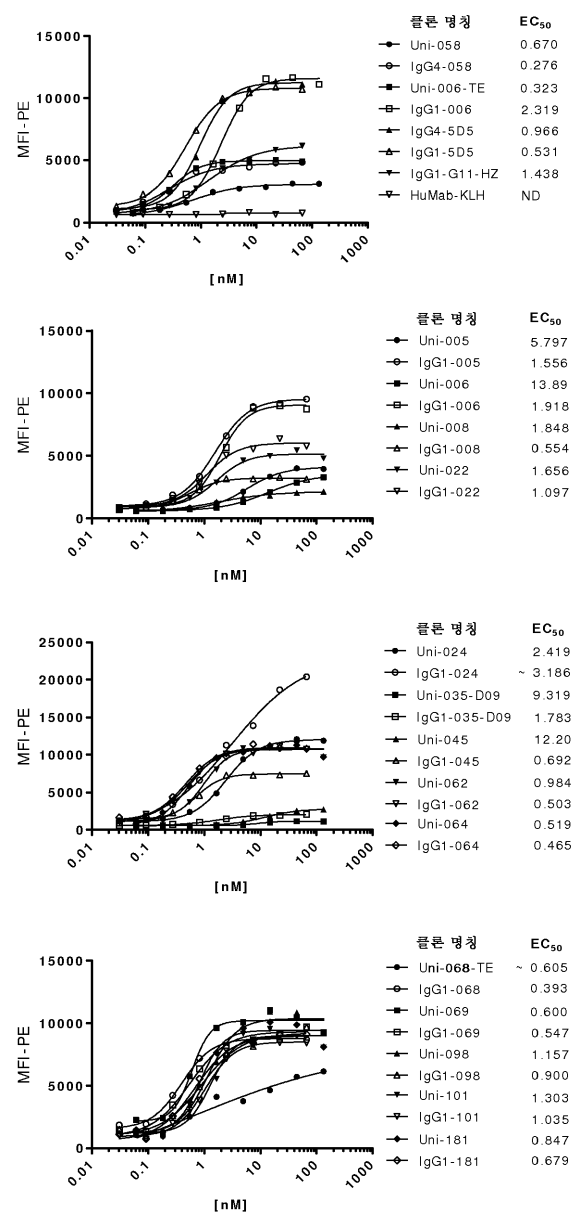
IGKV1-12\*01 DIQMTQSPSSVSASVGDRVITTCRASQGISSWLAWYQHKGKPG  
**VL1016-061** MDMMVPAQLLGLLLLWFPGSRCDIQMTQSPSSVSASVGDRVITTCRASQGISSWLAWYQHKGKPG  
**VL1016-062** MDMMVPAQLLGLLLLWFPGSRCDIQMTQSPSSVSASVGDRVITTCRASQGISSWLAWYQHKGKPG  
 VL1016-063 MDMMVPAQLLGLLLLWFPGSRCDIQMTQSPSSVSASVGDRVITTCRASQGISSWLAWYQHKGKPG  
**VL1016-064** MDMMVPAQLLGLLLLWFPGSRCDIQMTQSPSSVSASVGDRVITTCRASQGISSWLAWYQHKGKPG  
**VL1016-068** MDMMVPAQLLGLLLLWFPGSRCDIQMTQSPSSVSASVGDRVITTCRASQGISSWLAWYQHKGKPG  
 VL1016-084 MDMMVPAQLLGLLLLWFPGSRCDIQMTQSPSSVSASVGDRVITTCRASQGISSWLAWYQHKGKPG  
 컨센서스 MDMMVPAQLLGLLLLWFPGSRCDIQMTQSPSSVSASVGDRVITTCRASQGISSWLAWYQHKGKPG

IGKV1-12\*01 KAPKLLIYAASSLQSGVPSRFGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQANFPITFGQGRLEIK  
**VL1016-061** KAPKLLIYAASSLQSGVPSRFGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQANFPITFGQGRLEIK  
**VL1016-062** KAPKLLIYAASSLQSGVPSRFGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQANFPITFGQGRLEIK  
 VL1016-063 KAPKLLIYAASSLQSGVPSRFGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQANFPITFGQGRLEIK  
**VL1016-064** KAPKLLIYAASSLQSGVPSRFGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQANFPITFGQGRLEIK  
**VL1016-068** KAPKLLIYAASSLQSGVPSRFGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQANFPITFGQGRLEIK  
 VL1016-084 KAPKLLIYAASSLQSGVPSRFGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQANFPITFGQGRLEIK  
 컨센서스 KAPKLLIYAASSLQSGVPSRFGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQANFPITFGQGRLEIK

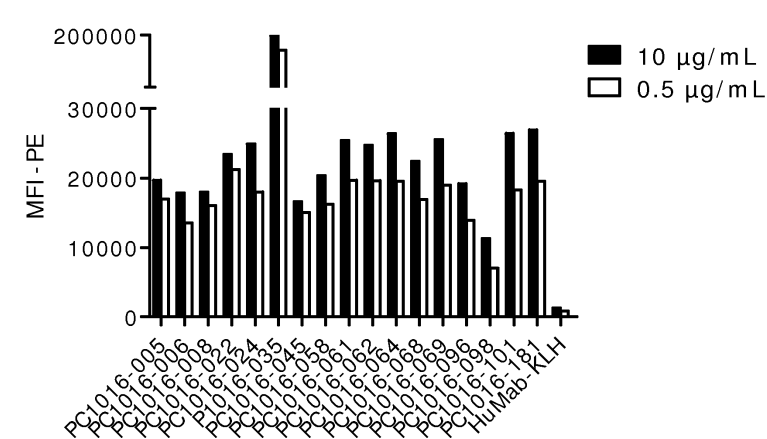
IGKV1-13\*02 AIQLTQSPSSLSASVGDRVITTCRASQGISSALAWYQQKPG  
**VL1016-008** MDMRVPQQLGLLLLWLPGARCAIQLTQSPSSLSASVGDRVITTCRASQGISSALAWYQQKPG  
 VL1016-012 MDMRVPQQLGLLLLWLPGARCAIQLTQSPSSLSASVGDRVITTCRASQGISSALAWYQQKPG  
**VL1016-035** MDMRVPQQLGLLLLWLPGARCAIQLTQSPSSLSASVGDRVITTCRASQGISSALAWYQQKPG  
 VL1016-104 MDMRVPQQLGLLLLWLPGARCAIQLTQSPSSLSASVGDRVITTCRASQGISSALAWYQQKPG  
 VL1016-093 MDMRVPQQLGLLLLWLPGARCAIQLTQSPSSLSASVGDRVITTCRASQGISSALAWYQQKPG  
**VL1016-096** MDMRVPQQLGLLLLWLPGARCAIQLTQSPSSLSASVGDRVITTCRASQGISSALAWYQQKPG  
 VL1016-016 MDMRVPQQLGLLLLWLPGARCAIQLTQSPSSLSASVGDRVITTCRASQGISSALAWYQQKPG  
 VL1016-028 MDMRVPQQLGLLLLWLPGARCAIQLTQSPSSLSASVGDRVITTCRASQGISSALAWYQQKPG  
 VL1016-095 MDMRVPQQLGLLLLWLPGARCAIQLTQSPSSLSASVGDRVITTCRASQGISSALAWYQQKPG  
 컨센서스 MDMRVPQQLGLLLLWLPGARCAIQLTQSPSSLSASVGDRVITTCRASQGISSALAWYQQKPG

IGKV1-13\*02 KAPKLLIYDASSLESQVPSRFGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQFNQSYPLTFGGGTVKVEIK  
**VL1016-008** KAPKLLIYDASSLESQVPSRFGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQFNQSYPLTFGGGTVKVEIK  
 VL1016-012 KAPKLLIYDASSLESQVPSRFGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQFNQSYPLTFGGGTVKVEIK  
**VL1016-035** KAPKLLIYDASSLESQVPSRFGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQFNQSYPLTFGGGTVKVEIK  
 VL1016-104 KAPKLLIYDASSLESQVPSRFGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQFNQSYPLTFGGGTVKVEIK  
 VL1016-093 KAPKLLIYDASSLESQVPSRFGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQFNQSYPLTFGGGTVKVEIK  
**VL1016-096** KAPKLLIYDASSLESQVPSRFGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQFNQSYPLTFGGGTVKVEIK  
 VL1016-016 KAPKLLIYDASSLESQVPSRFGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQFNQSYPLTFGGGTVKVEIK  
 VL1016-028 KAPKLLIYDASSLESQVPSRFGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQFNQSYPLTFGGGTVKVEIK  
 VL1016-095 KAPKLLIYDASSLESQVPSRFGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQFNQSYPLTFGGGTVKVEIK  
 컨센서스 KAPKLLIYDASSLESQVPSRFGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQFNQSYPLTFGGGTVKVEIK

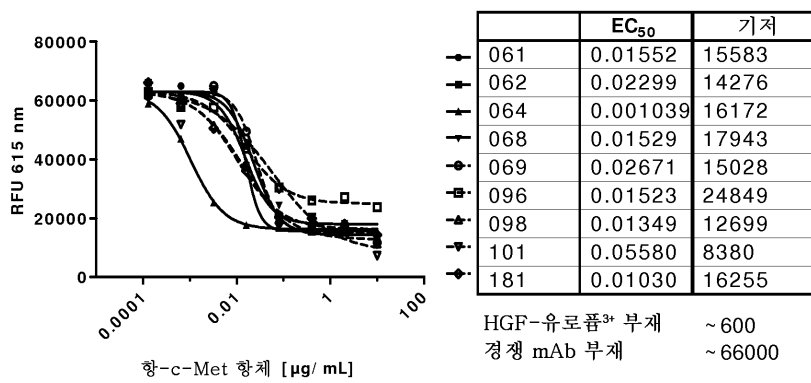
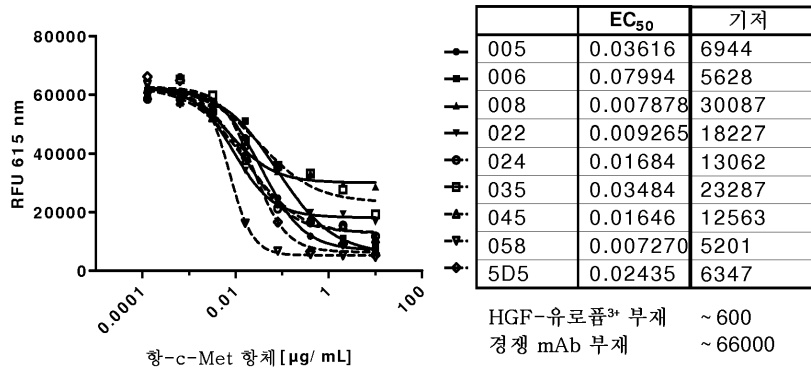
도면3



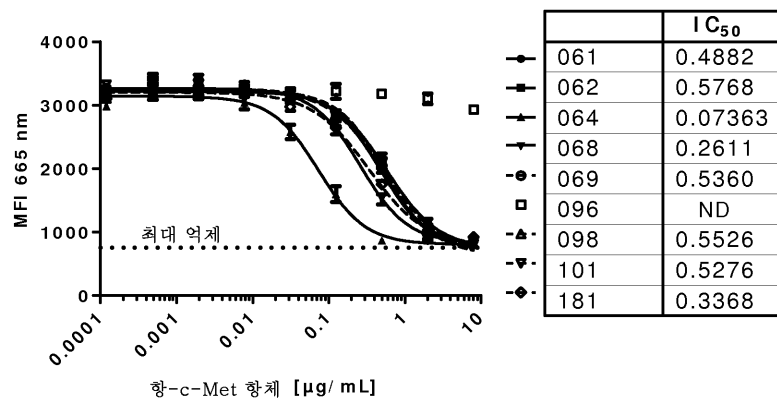
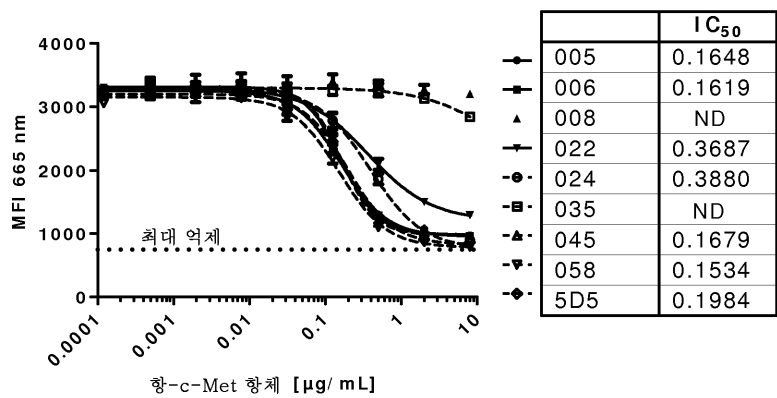
도면4



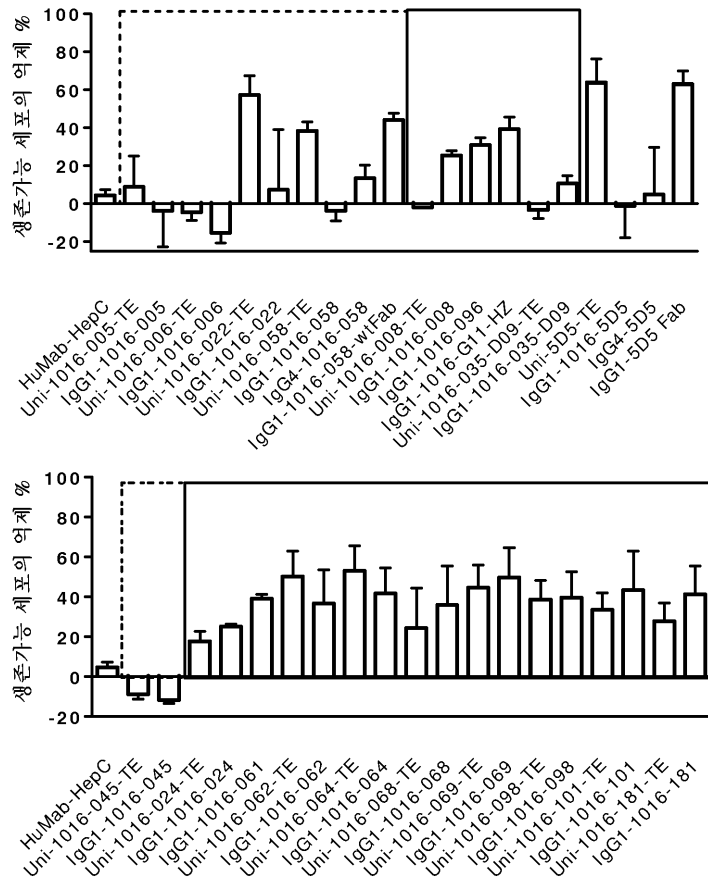
도면5



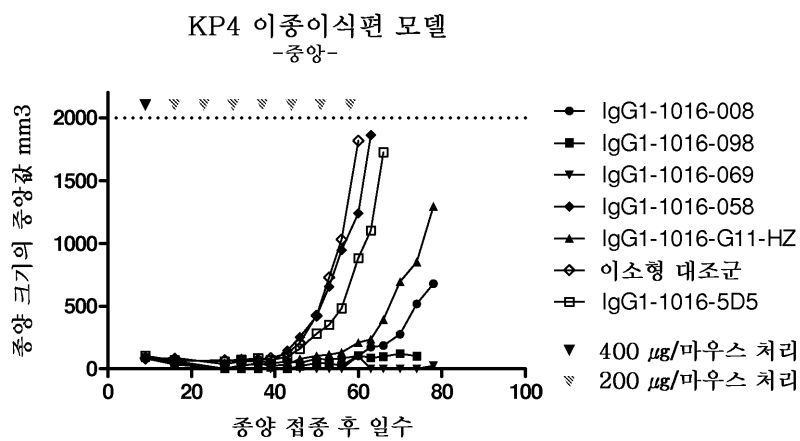
도면6



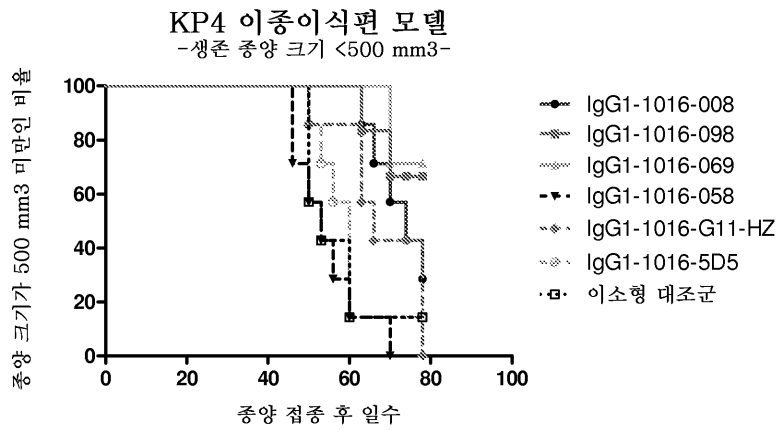
도면7



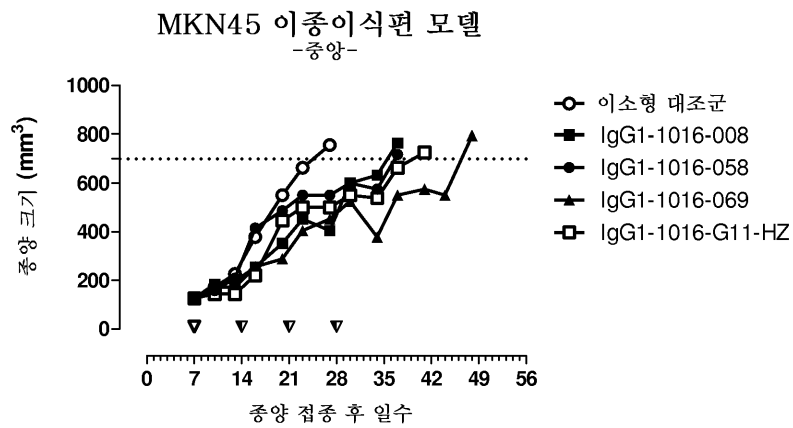
도면8



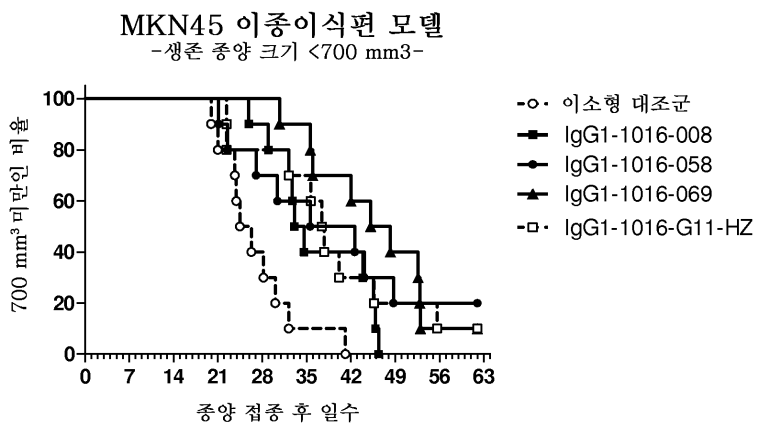
도면9



도면10

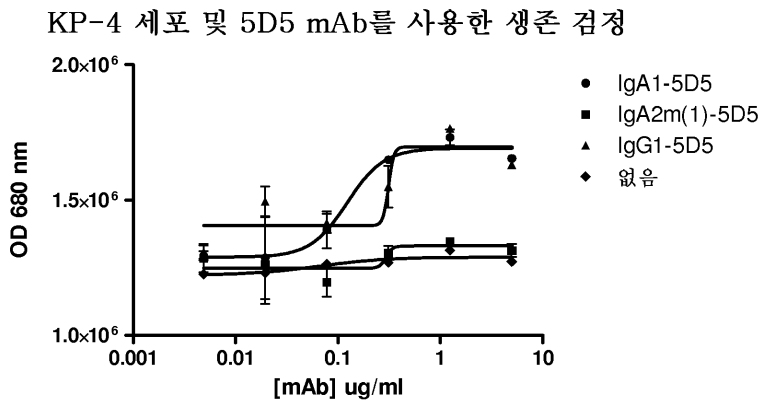


도면11

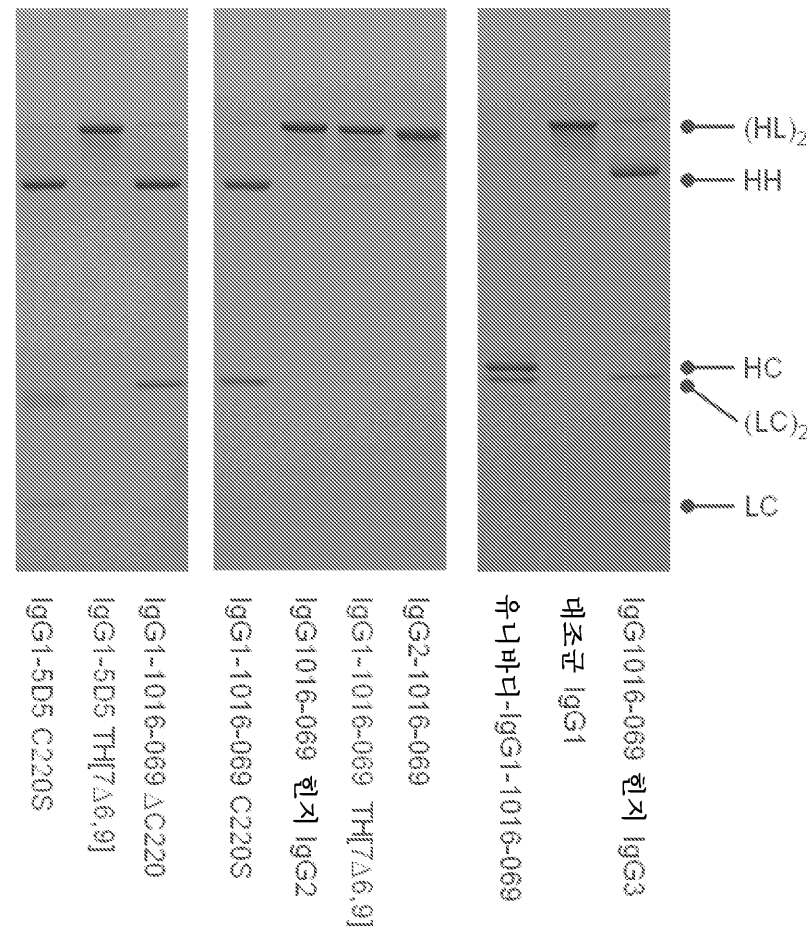




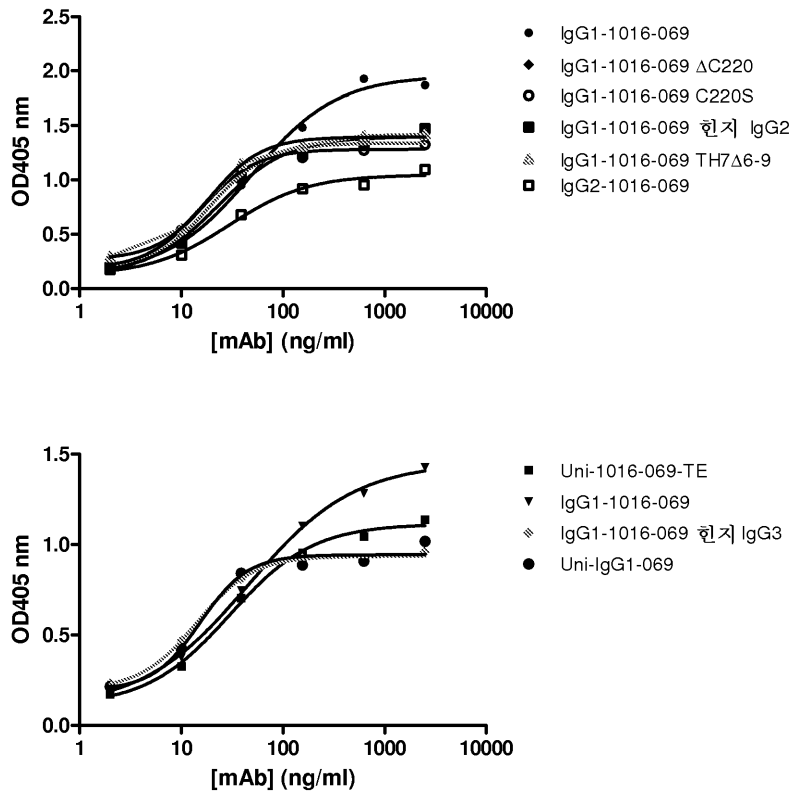
도면12



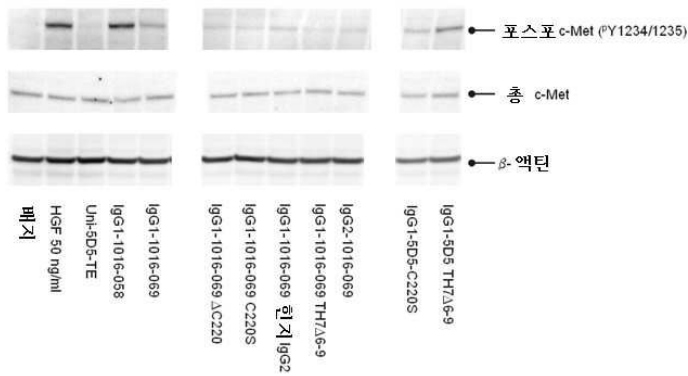
도면13



도면14

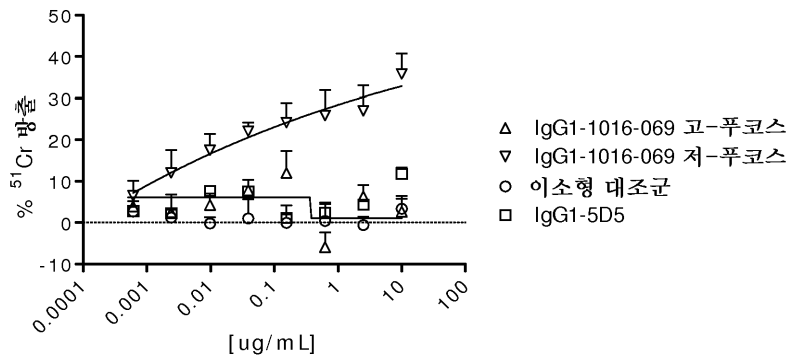


도면15

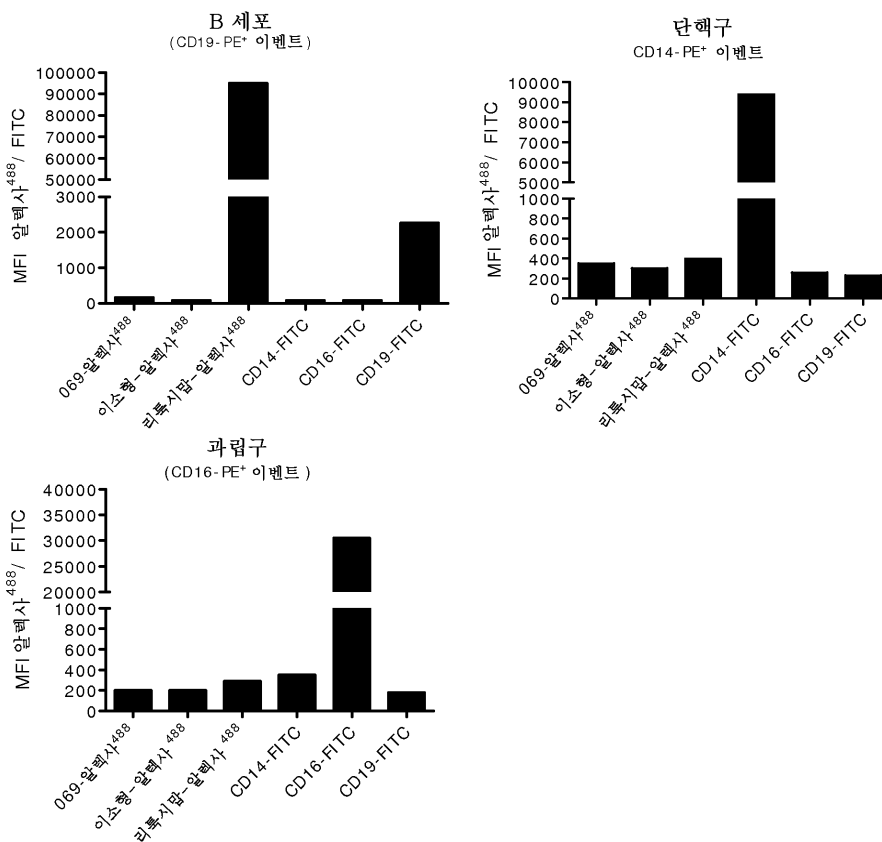




도면19



도면20



## 서열 목록

### SEQUENCE LISTING

- <110> Genmab A/S
- <120> Monoclonal antibodies against c-Met
- <130> P/59.WO
- <160> 212
- <170> PatentIn version 3.5
- <210> 1

<211> 121

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 1

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr

20 25 30

Gly Phe Gly Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

35 40 45

Gly Arg Ile Ser Pro Ile Leu Gly Ile Ala Asn Tyr Ala Gln Met Phe

50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Asp Val Gly Tyr Asp Trp Pro Asp Thr Phe Asp Ile Trp Gly

100 105 110

Gln Gly Thr Met Val Ile Val Ser Ser

115 120

<210> 2

<211> 5

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 2

Ser Tyr Gly Phe Gly

1 5

<210> 3

<211> 17

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 3

Arg Ile Ser Pro Ile Leu Gly Ile Ala Asn Tyr Ala Gln Met Phe Gln

1 5 10 15

Gly

<210> 4

<211> 12

<212> PRT

<213>

homo sapiens

<400> 4

Asp Val Gly Tyr Asp Trp Pro Asp Thr Phe Asp Ile

1 5 10

<210> 5

<211> 107

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 5

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Trp

20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Glu Lys Ala Pro Lys Ser Leu Ile

35 40 45

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

50 55 60

Gly Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Ser Phe Pro Pro

85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 6

<211> 11

<212> PRT



<213> homo sapiens

<400> 6

Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Trp Leu Ala

1 5 10

<210> 7

<211> 7

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 7

Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser

1 5

<210> 8

<211> 9

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 8

Gln Gln Tyr Asn Ser Phe Pro Pro Thr

1 5

<210> 9

<211> 121

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 9

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Phe

20 25 30

Gly Ile Gly Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

35 40 45

Gly Arg Ile Phe Pro Ile Leu Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Met Phe

50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80

Met Glu Leu Thr Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85

90

95

Ala Arg Asp Val Gly Tyr Asp Ser Ala Asp Ala Phe Asp Ile Trp Gly

100

105

110

Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser

115

120

<210> 10

<211> 5

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 10

Ser Phe Gly Ile Gly

1

5

<210> 11

<211> 17

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 11

Arg Ile Phe Pro Ile Leu Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Met Phe Gln

1

5

10

15

Gly

<210> 12

<211> 12

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 12

Asp Val Gly Tyr Asp Ser Ala Asp Ala Phe Asp Ile

1

5

10

<210> 13

<211> 107

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 13

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

1                    5                    10                    15  
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Trp  
                   20                    25                    30  
 Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Glu Lys Ala Pro Lys Ser Leu Ile  
                   35                    40                    45  
 Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly  
                   50                    55                    60  
 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65                    70                    75                    80  
 Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Pro  
                   85                    90                    95  
 Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys  
                   100                    105

<210> 14  
 <211> 11  
 <212> PRT  
 <213> homo sapiens  
 <400> 14

Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Trp Leu Ala

1                    5                    10  
 <210> 15  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 <213> homo sapiens

<400> 15  
 Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser

1                    5  
 <210> 16  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> homo sapiens

<400> 16

Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Pro Thr

1 5

<210> 17

<211> 118

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 17

Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Glu

1 5 10 15

Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Tyr

20 25 30

Trp Ile Gly Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met

35 40 45

Gly Ile Ile Tyr Pro Gly Asp Ser Glu Thr Arg Tyr Ser Pro Ser Phe

50 55 60

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

65 70 75 80

Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Gln Glu Ile Thr Gly Glu Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr

100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 18

<211> 5

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 18

Ser Tyr Trp Ile Gly

1 5

<210> 19

<211> 17

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 19

Ile Ile Tyr Pro Gly Asp Ser Glu Thr Arg Tyr Ser Pro Ser Phe Gln

1 5 10 15

Gly

<210> 20

<211> 9

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 20

Gln Glu Ile Thr Gly Glu Phe Asp Tyr

1 5

<210> 21

<211> 107

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 21

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

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Ala

20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

Tyr Asp Ala Ser Ser Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Phe Asn Ser Tyr Pro Arg

85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 22

<211> 11

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 22

Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Ala Leu Ala

1 5 10

<210> 23

<211> 7

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 23

Asp Ala Ser Ser Leu Glu Ser

1 5

<210> 24

<211> 9

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 24

Gln Gln Phe Asn Ser Tyr Pro Arg Thr

1 5

<210> 25

<211> 123

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 25

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45



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

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

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

Ala Arg Glu Leu Leu Trp Phe Gly Glu Leu Trp Gly Tyr Phe Asp Leu  
100 105 110

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

<210> 26

<211> 5

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 26

Ser Tyr Ala Met His

1 5

<210> 27

<211> 17

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 27

Val Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 28

<211> 14

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 28

Glu Leu Leu Trp Phe Gly Glu Leu Trp Gly Tyr Phe Asp Leu

1 5 10

<210> 29

<211

> 107

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 29

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Trp

20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln His Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

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

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Glu Ala Ser Ser Phe Thr Trp

85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 30

<211> 11

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 30

Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Trp Leu Ala

1 5 10

<210> 31

<211> 7

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 31

Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser

1 5

<210> 32

<211> 9

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 32

Gln Glu Ala Ser Ser Phe Thr Trp Thr

1 5

<210> 33

<211> 122

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 33

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Ala Asn Ser Lys Asn Thr Leu

65 70 75 80

Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr

85 90 95

Cys Ala Lys Asp Leu Asp Arg Gly Trp Met Gly Tyr Phe Gly Tyr Trp

100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 34

<211> 5

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 34

Ser Tyr Ala Met Ser

1 5

<210> 35

<211> 18

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 35

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

1 5 10 15

Lys Gly

<210> 36

<211> 12

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 36

Asp Leu Asp Arg Gly Trp Met Gly Tyr Phe Gly Tyr

1 5 10

<210> 37

<211> 106

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 37

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Trp

20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln His Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

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

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65                      70                      75                      80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ala Asn Ser Phe Pro Thr

85                      90                      95

Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys

100 105

<210> 38

<211> 11

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 38

Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Trp Leu Ala

1                      5                      10

<210> 39

<211> 7

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 39

Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser

1 5

<210> 40

&lt;211&gt; 8

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 40

Gln Gln Ala Asn Ser Phe Pro Thr

1 5

<210> 41

<211> 118

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 41

Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Glu

1                      5                      10                      15

Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Tyr

20

25

30

Trp Ile Gly Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met

35

40

45

Gly Ile Ile Tyr Pro Gly Asp Ser Asp Thr Arg Tyr Ser Pro Ser Phe

50

55

60

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

65

70

75

80

Leu Gln Trp Asn Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys

85

90

95

Ala Arg Gln Glu Ile Thr Gly Glu Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr

100

105

110

Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 42

<211> 5

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 42

Ser Tyr Trp Ile Gly

1

5

<210> 43

<211> 17

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 43

Ile Ile Tyr Pro Gly Asp Ser Asp Thr Arg Tyr Ser Pro Ser Phe Gln

1

5

10

15

Gly

<210> 44

<211> 9

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400

> 44

Gln Glu Ile Thr Gly Glu Phe Asp Tyr

1 5

<210> 45

<211> 108

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 45

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

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Ala

20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

Tyr Asp Ala Ser Ser Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Phe Asn Ser Tyr Pro Met

85 90 95

Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

100 105

<210> 46

<

211> 11

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 46

Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Ala Leu Ala

1 5 10

<210> 47

<211> 7



<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 47

Asp Ala Ser Ser Leu Glu Ser

1 5

<210> 48

<211> 10

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 48

Gln Gln Phe Asn Ser Tyr Pro Met Tyr Thr

1 5 10

<210> 49

<211> 117

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 49

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Asp Arg Gly Trp Gly Ser Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu

100 105 110

Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 50

<211> 5

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 50

Ser Tyr Ala Met Ser

1 5

<210> 51

<211> 17

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 51

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

1 5 10 15

Gly

<210> 52

<211> 8

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 52

Asp Arg Gly Trp Gly Ser Asp Tyr

1 5

<210> 53

<211> 107

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 53

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly

1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Tyr

20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile

35 40 45  
Tyr Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly  
50 55 60  
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro  
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Ser Asn Trp Pro Phe  
85 90 95  
Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys  
100 105

<210> 54  
<211> 11  
<212> PRT  
<213> homo sapiens  
<400> 54

Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Tyr Leu Ala  
1 5 10  
<210> 55  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> homo sapiens  
<400> 55

Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr  
1 5

<210> 56  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> homo sapiens  
<400> 56

Gln Gln Arg Ser Asn Trp Pro Phe Thr  
1 5  
<210> 57  
<211> 125  
<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 57

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

1 5 10 15

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr

20 25 30

Tyr Met Tyr Trp Val Arg Gln Thr Pro Glu Lys Arg Leu Glu Trp Val

35 40 45

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

50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Asn Leu Tyr

65 70 75 80

Leu Gln Met Ser Ser Leu Lys Ser Glu Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Glu Gly Leu Tyr Tyr Tyr Gly Ser Gly Ser Tyr Tyr Asn Gln

100 105 110

Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120 125

<210> 58

<211> 5

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 58

Asp Tyr Tyr Met Tyr

1 5

<210> 59

<211> 17

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 59

Thr Ile Ser Asp Asp Gly Ser Tyr Thr Tyr Tyr Pro Asp Ser Val Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 60

<211> 16

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 60

Glu Gly Leu Tyr Tyr Tyr Gly Ser Gly Ser Tyr Tyr Asn Gln Asp Tyr  
1 5 10 15

<210> 61

<211> 108

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 61

Ala Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly  
1 5 10 15  
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Leu Ser Ser Ala  
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Arg Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile  
35 40 45  
Tyr Asp Ala Ser Ser Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly  
50 55 60  
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro  
65 70 75 80  
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Phe Thr Ser Tyr Pro Gln  
85 90 95

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

<210> 62

<211> 11

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 62

Arg Ala Ser Gln Gly Leu Ser Ser Ala Leu Ala

1 5 10

<210> 63

<211> 7

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 63

Asp Ala Ser Ser Leu Glu Ser

1 5

<210> 64

<211> 10

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 64

Gln Gln Phe Thr Ser Tyr Pro Gln Ile Thr

1 5 10

<210> 65

<211> 118

<212> PRT

<213> homo sapiens

<220><221> misc\_feature

<222> (52)..(52)

<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<400> 65

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

1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Gly

20 25 30

Gly His Ser Trp Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu

35 40 45

Trp Ile Gly Xaa Ile Tyr His Ser Gly Asn Thr Tyr Asp Asn Pro Ser

50 55 60

Leu Lys Ser Arg Val Thr Ile Ala Val Asp Arg Ser Lys Asn Gln Leu

65                      70                      75                      80  
 Ser Leu Lys Leu Ser Phe Leu Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr  
                          85                      90                      95  
 Cys Ala Arg Ser Ser Tyr Asp Phe Leu Thr Asp Trp Gly Gln Gly Thr  
                          100                      105                      110

Leu Val Thr Val Ser Ser  
                          115

<210> 66

<211> 7

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 66

Ser Gly Gly His Ser Trp Ser

1                      5

<210> 67

<211> 16

<212> PRT

<213> homo sapiens

<220><221> misc\_feature

<222> (1)..(1)

<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<400> 67

Xaa Ile Tyr His Ser Gly Asn Thr Tyr Asp Asn Pro Ser Leu Lys Ser

1                      5                      10                      15

<210> 68

<211> 8

<212>

> PRT

<213> homo sapiens

<400> 68

Ser Ser Tyr Asp Phe Leu Thr Asp

1                      5

<210> 69

<211> 107



<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 69

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Trp

20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln His Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

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

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ala Asn Gly Phe Pro Ile

85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys

100 105

<210> 70

<211> 11

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 70

Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Trp Leu Ala

1 5 10

<210> 71

<211> 7

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 71

Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser

1 5

<210> 72

<211> 9

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 72

Gln Gln Ala Asn Gly Phe Pro Ile Thr

1 5

<210> 73

<211> 118

<212> PRT

<213> homo sapiens

<220><221> misc\_feature

<222> (52)..(52)

<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<400> 73

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

1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Gly

20 25 30

Gly His Ser Trp Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu

35 40 45

Trp Ile Gly Xaa Ile Tyr His Ser Gly Asn Thr Tyr Asp Asn Pro Ser

50 55 60

Leu Lys Ser Arg Val Thr Ile Ala Val Asp Arg Ser Lys Asn Gln Leu

65 70 75 80

Ser Leu Lys Leu Ser Phe Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr

85 90 95

Cys Ala Arg Ser Ser Tyr Asp Ile Leu Thr Asp Trp Gly Gln Gly Thr

100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 74

<211> 7

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 74

Ser Gly Gly His Ser Trp Ser

1 5

<210> 75

<211> 16

<212> PRT

<213> homo sapiens

<220><221> misc\_feature

<222> (1)..(1)

<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<400> 75

Xaa Ile Tyr His Ser Gly Asn Thr Tyr Asp Asn Pro Ser Leu Lys Ser

1 5 10 15

<210> 76

<211> 8

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 76

Ser Ser Tyr Asp Ile Leu Thr Asp

1 5

<210> 77

<211> 107

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 77

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Trp

20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln His Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

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

50 55 60  
 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro  
 65 70 75 80  
 Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ala Asn Gly Phe Pro Ile  
 85 90 95  
 Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys  
 100 105

<210> 78

<211> 11

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 78

Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Trp Leu Ala

1 5 10

<210> 79

<211> 7

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 79

Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser

1 5

<210> 80

<211> 9

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 80

Gln Gln Ala Asn Gly Phe Pro Ile Thr

1 5

<210> 81

<211> 118

<212> PRT

<213> homo sapiens

<220><221> misc\_feature

<222> (52)..(52)

<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<400> 81

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

1	5	10	15
Thr	Leu	Ser	Leu
Thr	Cys	Ala	Val
Ser	Gly	Gly	Ser
Ile	Ser	Ser	Gly
20	25	30	
Gly	His	Ser	Trp
Ser	Trp	Ile	Arg
Gln	Pro	Pro	Gly
Lys	Gly	Leu	Glu
35	40	45	
Trp	Ile	Gly	Xaa
Ile	Tyr	His	Ser
Gly	Asn	Thr	Tyr
Asp	Asn	Pro	Ser
50	55	60	
Leu	Lys	Ser	Arg
Val	Thr	Ile	Ser
Val	Asp	Arg	Ser
Lys	Asn	Gln	Val

65	70	75	80
Ser	Leu	Lys	Leu
Ser	Ser	Val	Thr
Ala	Ala	Asp	Thr
Ala	Val	Tyr	Tyr
85	90	95	
Cys	Ala	Arg	Ser
Ser	Tyr	Asp	Ile
Leu	Thr	Asp	Trp
Gly	Gln	Gly	Thr
100	105	110	
Leu	Val	Thr	Val
Ser	Ser		
115			

<210> 82

<211> 7

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 82

Ser Gly Gly His Ser Trp Ser

1	5
---	---

<210> 83

<211> 16

<212> PRT

<213> homo sapiens

<220><221> misc\_feature

<222> (1)..(1)

<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<400> 83

Xaa Ile Tyr His Ser Gly Asn Thr Tyr Asp Asn Pro Ser Leu Lys Ser

1 5 10 15

<210> 84

<211> 8

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 84

Ser Ser Tyr Asp Ile Leu Thr Asp

1 5

<210> 85

<211> 107

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 85

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Trp

20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln His Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

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

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ala Asn Gly Phe Pro Ile

85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys

100 105

<210> 86

<211> 11

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 86

Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Trp Leu Ala

1 5 10

<210> 87

<211> 7

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 87

Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser

1 5

<210> 88

<211> 9

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 88

Gln Gln Ala Asn Gly Phe Pro Ile Thr

1 5

<210> 89

<211> 118

<212> PRT

<213> homo sapiens

<220><221> misc\_feature

<222> (52)..(52)

<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<400> 89

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

1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Gly

20 25 30

Gly Tyr Ser Trp Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu

35 40 45

Trp Ile Gly Xaa Ile Tyr His Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser

50 55 60



Leu Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Arg Ser Lys Asn Gln Phe

65 70 75 80

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

85 90 95

Cys Ala Arg Ser Ser Tyr Asp Ile Leu Thr Asp Trp Gly Gln Gly Thr

100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 90

<211> 7

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 90

Ser Gly Gly Tyr Ser Trp Ser

1 5

<210> 91

<211> 16

<212> PRT

<213> homo sapiens

<220><221> misc\_feature

<222> (1)..(1)

<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<400> 91

Xaa Ile Tyr His Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Ser

1 5 10 15

<210> 92

<211> 8

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 92

Ser Ser Tyr Asp Ile Leu Thr Asp

1 5

<210> 93

<211> 107

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 93

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Trp

20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln His Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

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

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ala Asn Ser Phe Pro Ile

85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys

100 105

<210> 94

<211> 11

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 94

Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Trp Leu Ala

1 5 10

<210> 95

<211> 7

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 95

Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser

1 5

<210> 96

<211> 9

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 96

Gln Gln Ala Asn Ser Phe Pro Ile Thr

1 5

<210> 97

<211> 119

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 97

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Glu Thr Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr

20 25 30

Gly Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly His Gly Leu Glu Trp Met

35 40 45

Gly Trp Ile Ser Ala Tyr Asn Gly Tyr Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Leu

50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Thr Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80

Met Glu Leu Arg Ser Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Asp Leu Arg Gly Thr Asn Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly

100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 98

<211> 5

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 98

Ser Tyr Gly Ile Ser

1 5

<210> 99

<211> 17

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 99

Trp Ile Ser Ala Tyr Asn Gly Tyr Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Leu Gln

1 5 10 15

Gly

<210> 100

<211> 10

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 100

Asp Leu Arg Gly Thr Asn Tyr Phe Asp Tyr

1 5 10

<210> 101

<211> 107

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 101

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

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

20 25 30

Leu Ala Trp Phe Gln His Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Leu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

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

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

<210> 102

<211> 11

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 102

Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Asn Trp Leu Ala  
1 5 10

<210> 103

<211> 7

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 103

Ala Ala Ser Ser Leu Leu Ser  
1 5

<210> 104

<211> 9

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 104

Gln Gln Ala Asn Ser Phe Pro Ile Thr  
1 5

<210> 105

<211> 118

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 105

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

Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Tyr

20 25 30  
Trp Ile Gly Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met  
35 40 45  
Gly Ile Ile Tyr Pro Gly Asp Ser Asp Thr Arg Tyr Ser Pro Ser Phe

50 55 60  
Gln Gly Gln Val Thr Ile Ser Ala Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr  
65 70 75 80  
Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys  
85 90 95  
Ala Arg Gln Glu Ile Thr Gly Asp Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr  
100 105 110  
Leu Val Thr Val Ser Ser  
115

<210> 106  
<211> 5  
<212> PRT  
<213> homo sapiens  
<400> 106

Ser Tyr Trp Ile Gly  
1 5

<210> 107  
<211> 17  
<212> PRT  
<213> homo sapiens  
<400> 107

Ile Ile Tyr Pro Gly Asp Ser Asp Thr Arg Tyr Ser Pro Ser Phe Gln  
1 5 10 15  
Gly

<210> 108  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> homo sapiens

<400> 108

Gln Glu Ile Thr Gly Asp Phe Asp Tyr

1 5

<210> 109

<211> 107

<212

> PRT

<213> homo sapiens

<400> 109

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

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Ala

20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Asn Leu Leu Ile

35 40 45

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Phe Asn Ser Tyr Pro Leu

85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 110

<211> 11

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 110

Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Ala Leu Ala

1 5 10

<210> 111

<211> 7

<212> PRT



<213> homo sapiens

<400> 111

Ala Ala Ser Ser Leu Glu Ser

1 5

<210> 112

<211> 9

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 112

Gln Gln Phe Asn Ser Tyr Pro Leu Thr

1 5

<210> 113

<211> 121

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 113

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Phe

20 25 30

Gly Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

35 40 45

Gly Trp Ile Ser Ala Phe Asn Gly His Thr Asp Tyr Ser Gln Lys Val

50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Thr Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80

Met Glu Leu Arg Ser Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Phe Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Ser His Tyr Tyr Gly Ser Gly Ser Pro Phe Asp Tyr Trp Gly

100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 114

<211> 5  
 <212> PRT  
 <213> homo sapiens  
 <400> 114  
 Asn Phe Gly Ile Ser  
 1 5  
 <210> 115  
 <211> 17  
 <212> PRT  
 <213> homo sapiens  
 <400> 115  
 Trp Ile Ser Ala Phe Asn Gly His Thr Asp Tyr Ser Gln Lys Val Gln  
  
 1 5 10 15  
 Gly  
  
 <210> 116  
 <211> 12  
 <212> PRT  
 <213> homo sapiens  
 <400> 116  
 Ser His Tyr Tyr Gly Ser Gly Ser Pro Phe Asp Tyr  
 1 5 10  
 <210> 117  
 <211> 107  
 <212> PRT  
 <213> homo sapiens  
 <400> 117  
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly  
 1 5 10 15  
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Asn Trp  
  
 20 25 30  
 Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Glu Lys Ala Pro Lys Ser Leu Ile  
 35 40 45

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly  
 50 55 60  
 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro  
 65 70 75 80  
 Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys His Gln Tyr Lys Ser Tyr Pro Trp

85 90 95  
 Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys  
 100 105

<210> 118  
 <211> 11  
 <212> PRT  
 <213> homo sapiens  
 <400> 118

Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Asn Trp Leu Ala  
 1 5 10

<210> 119  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 <213> homo sapiens  
 <400> 119

Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser  
 1 5

<210> 120  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> homo sapiens

<400> 120  
 His Gln Tyr Lys Ser Tyr Pro Trp Thr  
 1 5

<210> 121  
 <211> 123  
 <212> PRT  
 <213> homo sapiens

<400> 121

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Arg His

20 25 30

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

35 40 45

Gly Trp Ile Ser Ala Asp Asn Gly Asn Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe

50 55 60

Gln Asp Arg Val Thr Met Thr Thr Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80

Met Glu Leu Arg Ser Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys

85 90 95

Ala Arg Val Phe Arg Tyr Phe Asp Trp Leu Leu Pro Tyr Phe Asp Tyr

100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Thr

115 120

<210> 122

<211> 5

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 122

Arg His Gly Ile Thr

1 5

<210> 123

<211> 17

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 123

Trp Ile Ser Ala Asp Asn Gly Asn Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe Gln

1 5 10 15

Asp

<210> 124

<211> 14

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 124

Val Phe Arg Tyr Phe Asp Trp Leu Leu Pro Tyr Phe Asp Tyr

1 5 10

<210> 125

<211> 108

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 125

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly

1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser

20 25 30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu

35 40 45

Ile Tyr Gly Val Phe Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser

50 55 60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu

65 70 75 80

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Pro

85 90 95

Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

100 105

<210> 126

<211> 12

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 126

Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser Tyr Leu Ala

1 5 10

<210> 127

<211> 7

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 127

Gly Val Phe Ser Arg Ala Thr

1 5

<210> 128

<211> 9

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 128

Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Pro Tyr Thr

1 5

<210> 129

<211> 119

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 129

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr

20 25 30

Gly Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

35 40 45

Gly Trp Ile Ser Thr Tyr Asn Gly Tyr Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Leu

50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Thr Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80

Met Glu Leu Arg Ser Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Asp Leu Arg Gly Thr Ala Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly

	100	105	110
Thr Leu Val Thr Val Ser Ser			
115			
<210> 130			
<211> 5			
<212> PRT			
<213> homo sapiens			
<400> 130			
Ser Tyr Gly Ile Ser			
1 5			
<210> 131			
<211> 17			
<212> PRT			
<213> homo sapiens			
<400> 131			
Trp Ile Ser Thr Tyr Asn Gly Tyr Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Leu Gln			
1 5 10 15			
Gly			
<210> 132			
<211> 10			
<212> PRT			
<213> homo sapiens			
<400> 132			
Asp Leu Arg Gly Thr Ala Tyr Phe Asp Tyr			
1 5 10			
<210> 133			
<211> 107			
<212> PRT			
<213> homo sapiens			
<400> 133			
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly			
1 5 10 15			

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Asn Trp  
 20 25 30  
 Leu Ala Trp Tyr Gln His Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile  
 35 40 45  
 Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Leu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly  
 50 55 60  
 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80  
 Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ala Asn Ser Phe Pro Ile  
 85 90 95  
 Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys  
 100 105

<210> 134  
 <211> 11  
 <212> PRT  
 <213> homo sapiens  
 <400> 134

Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Asn Trp Leu Ala  
 1 5 10  
 <210> 135  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 <213> homo sapiens

<400> 135  
 Ala Ala Ser Ser Leu Leu Ser  
 1 5  
 <210> 136  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> homo sapiens  
 <400> 136

Gln Gln Ala Asn Ser Phe Pro Ile Thr  
 1 5



<210> 137

<211> 119

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 137

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Glu Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr

20 25 30

Gly Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly His Gly Leu Glu Trp Met

35 40 45

Gly Trp Ile Ser Ala Tyr Asn Gly Tyr Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Leu

50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Ala Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80

Met Glu Leu Arg Ser Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Asp Leu Arg Gly Thr Asn Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly

100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 138

<211> 107

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 138

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

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

20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln His Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Leu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly  
50 55 60  
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro  
65 70 75 80  
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ala Asn Ser Phe Pro Ile  
85 90 95

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

<210> 139

<211> 119

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 139

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

Gly Trp Ile Ser Ala Tyr Asn Gly Tyr Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Leu  
50 55 60  
Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Thr Asp Thr Ser Thr Thr Thr Ala Tyr  
65 70 75 80  
Met Glu Leu Arg Ser Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
85 90 95  
Ala Arg Asp Leu Arg Gly Thr Asn Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly  
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser  
115

<210> 140

<211> 107

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 140

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

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

20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln His Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Leu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ala Asn Ser Phe Pro Ile

85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys

100 105

<210> 141

<211> 119

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 141

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Glu Thr Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr

20 25 30

Gly Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly His Gly Leu Glu Trp Met

35 40 45

Gly Trp Ile Ser Ala Tyr Asn Gly Tyr Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Leu

50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Thr Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80

Met Glu Leu Arg Ser Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95  
Ala Arg Asp Leu Arg Gly Thr Asn Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly  
100 105 110  
Thr Leu Val Thr Val Ser Ser  
115

<210> 142

<211> 107

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 142

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

50 55 60  
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro  
65 70 75 80  
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ala Asn Ser Phe Pro Ile  
85 90 95  
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys  
100 105

<210> 143

<211> 119

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 143

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala  
1 5 10 15  
Ser Val Lys Val Ser Cys Glu Thr Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr

20 25 30  
 Gly Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly His Gly Leu Glu Trp Met  
 35 40 45  
 Gly Trp Ile Ser Ala Tyr Asn Gly Tyr Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Leu  
 50 55 60  
 Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Thr Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr  
 65 70 75 80  
 Met Glu Leu Arg Ser Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
 85 90 95  
 Ala Arg Asp Leu Arg Gly Thr Asn Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly  
 100 105 110  
 Thr Leu Val Thr Val Ser Ser  
 115  
 <210> 144  
 <211> 107  
 <212> PRT  
 <213> homo sapiens  
 <400> 144  
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly

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

<210> 145

<211> 121

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 145

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr

20 25 30

Gly Phe Gly Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

35 40 45

Gly Arg Ile Ser Pro Ile Leu Gly Ile Thr Asn Tyr Ala Gln Met Phe

50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Asp Val Gly Tyr Asp Trp Pro Asp Thr Phe Asp Ile Trp Gly

100 105 110

Gln Gly Thr Met Val Ile Val Ser Ser

115 120

<210> 146

<211> 107

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 146

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Trp

20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Glu Lys Ala Pro Lys Ser Leu Ile

35 40 45

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

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

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Ser Phe Pro Pro

85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 147

<211> 121

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 147

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr

20 25 30

Gly Ile Gly Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

35 40 45

Gly Arg Ile Phe Pro Ile Leu Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Met Phe

50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80

Ile Glu Leu Thr Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Asp Val Gly Tyr Asp Ser Ala Asp Ala Phe Asp Ile Trp Gly

100 105 110

Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 148

<211> 107

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 148

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Trp

20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Glu Lys Ala Pro Lys Ser Leu Ile

35 40 45

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

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Pro

85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 149

<211> 121

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 149

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr

20 25 30

Gly Ile Gly Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

35 40 45

Gly Arg Val Phe Pro Ile Leu Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Met Phe

50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80

Met Glu Leu Thr Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys



85 90 95  
Ala Arg Asp Val Gly Tyr Asp Ser Ala Asp Ala Phe Asp Ile Trp Gly  
100 105 110  
Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser  
115 120

<210> 150

<211> 107

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 150

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

50 55 60  
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro  
65 70 75 80  
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Pro  
85 90 95  
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys  
100 105

<210> 151

<211> 123

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 151

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg  
1 5 10 15  
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr

20 25 30  
 Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
 35 40 45  
 Ala Phe Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Phe Ala Asp Ser Val  
 50 55 60  
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr  
  
 65 70 75 80  
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
 85 90 95  
 Ala Arg Glu Leu Leu Trp Phe Gly Glu Leu Trp Gly Tyr Phe Asp Leu  
 100 105 110  
 Trp Gly Arg Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser  
 115 120  
 <210> 152  
 <211> 107  
 <212> PRT  
 <213> homo sapiens  
 <400> 152  
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly  
  
 1 5 10 15  
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Trp  
 20 25 30  
 Leu Ala Trp Tyr Gln His Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile  
 35 40 45  
 Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly  
 50 55 60  
 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro  
  
 65 70 75 80  
 Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Glu Ala Asn Ser Phe Thr Trp  
 85 90 95  
 Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys  
 100 105

<210> 153

<211> 123

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 153

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Ala Phe Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Ser Lys Asp Tyr Ala Asp Ser Val

50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Phe Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr

65 70 75 80

Leu Gln Met Ser Ser Leu Arg Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Glu Leu Leu Trp Phe Gly Glu Leu Trp Gly Tyr Phe Asp Leu

100 105 110

Trp Gly Arg Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 154

<211> 107

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 154

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Trp

20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln His Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

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

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

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Thr Asn Ser Phe Thr Trp

85 90 95  
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 155

<211> 117

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 155

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

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

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

35 40 45  
Ser Val Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ile Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val

50 55 60  
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr

65 70 75 80  
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95  
Ala Arg Asp Arg Gly Trp Gly Ser Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu

100 105 110  
Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 156

<211> 107

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 156

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly

1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Tyr

20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile

35 40 45

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

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Ser Asn Trp Pro Phe

85 90 95

Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys

100 105

<210> 157

<211> 117

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 157

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ile Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Glu

50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr

65 70 75 80

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

85 90 95  
Ala Lys Asp Arg Gly Trp Gly Ser Asp Cys Trp Gly Gln Gly Thr Leu  
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser  
115

<210

> 158

<211> 107

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 158

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly

1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Tyr

20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile

35 40 45

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

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Ser Asn Trp Pro Phe

85 90 95

Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys

100 105

<210> 159

<211> 118

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 159

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

1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Gly

20 25 30  
 Gly His Ser Trp Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu  
 35 40 45  
 Trp Ile Gly Cys Leu Tyr His Ser Gly Asn Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser  
 50 55 60  
 Leu Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Arg Ser Lys Asn Gln Phe  
  
 65 70 75 80  
 Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr  
 85 90 95  
 Cys Ala Arg Ser Ser Tyr Asp Ile Leu Thr Asp Trp Gly Gln Gly Ile  
 100 105 110  
 Leu Val Thr Val Ser Ser  
 115  
 <210> 160  
 <211> 107  
 <212> PRT  
 <213> homo sapiens  
 <400> 160  
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly  
  
 1 5 10 15  
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Trp  
 20 25 30  
 Leu Ala Trp Tyr Gln His Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile  
 35 40 45  
 Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly  
 50 55 60  
 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro  
  
 65 70 75 80  
 Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ala Asn Ser Phe Pro Ile  
 85 90 95  
 Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys  
 100 105

<210> 161

<211> 118

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 161

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

1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Gly Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Gly

20 25 30

Gly His Ser Trp Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu

35 40 45

Trp Ile Gly Cys Leu Tyr His Ser Gly Asn Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser

50 55 60

Leu Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Arg Ser Lys Asn Gln Phe

65 70 75 80

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

85 90 95

Cys Ala Arg Ser Ser Tyr Asp Ile Leu Thr Asp Trp Gly Gln Gly Thr

100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 162

<211> 107

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 162

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Trp

20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln His Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45



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

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

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ala Asn Ser Phe Pro Ile

85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys

100 105

<210> 163

<211> 118

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 163

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

1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Gly

20 25 30

Gly His Ser Trp Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu

35 40 45

Trp Ile Gly Cys Ile Tyr His Ser Gly Asn Thr Tyr Asp Asn Pro Ser

50 55 60

Leu Lys Ser Arg Val Thr Ile Ala Val Asp Arg Ser Lys Asn Gln Leu

65 70 75 80

Ser Leu Lys Leu Ser Phe Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr

85 90 95

Cys Ala Arg Ser Ser Tyr Asp Ile Leu Thr Asp Trp Gly Gln Gly Thr

100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 164

<211> 107

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 164

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Trp

20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln His Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

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

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ala Asn Gly Phe Pro Ile

85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys

100 105

<210> 165

<211> 118

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 165

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

1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Gly

20 25 30

Gly His Ser Trp Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu

35 40 45

Trp Ile Gly Cys Ile Tyr His Ser Gly Asn Thr Tyr Asp Asn Pro Ser

50 55 60

Leu Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Arg Ser Lys Asn Gln Phe

65 70 75 80

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

85 90 95  
 Cys Ala Arg Ser Ser Tyr Asp Ile Leu Thr Asp Trp Gly Gln Gly Thr  
 100 105 110  
 Leu Val Thr Val Ser Ser  
 115

<210> 166

<211> 107

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 166

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

50 55 60  
 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro  
 65 70 75 80  
 Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ala Asn Gly Phe Pro Ile  
 85 90 95  
 Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys  
 100 105

<210> 167

<211> 118

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 167

Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Glu  
 1 5 10 15  
 Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Ile Phe Thr Ser Tyr

20 25 30  
 Trp Ile Gly Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met  
 35 40 45  
 Gly Ile Ile Tyr Pro Gly Asp Ser Asp Thr Arg Tyr Ser Pro Ser Phe  
 50 55 60  
 Gln Gly Gln Val Thr Ile Ser Ala Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr  
  
 65 70 75 80  
 Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys  
 85 90 95  
 Ala Arg Gln Glu Val Thr Gly Asp Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr  
 100 105 110  
 Leu Val Thr Val Ser Ser  
 115  
 <210> 168  
 <211> 107  
 <212> PRT  
 <213> homo sapiens  
 <400> 168  
 Ala Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly  
  
 1 5 10 15  
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Ala  
 20 25 30  
 Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile  
 35 40 45  
 Tyr Asp Ala Ser Ser Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly  
 50 55 60  
 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro  
  
 65 70 75 80  
 Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Phe Asn Ser Tyr Pro Leu  
 85 90 95  
 Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys  
 100 105

<210> 169

<211> 118

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 169

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

1 5 10 15

Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Tyr

20 25 30

Trp Ile Gly Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met

35 40 45

Gly Ile Ile Tyr Pro Gly Asp Ser Asp Thr Arg Tyr Ser Pro Ser Phe

50 55 60

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

65 70 75 80

Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Gln Glu Val Thr Gly Asp Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr

100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 170

<211> 107

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 170

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

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Ala

20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

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

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

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Phe Asn Ser Tyr Pro Leu

85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 171

<211> 118

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 171

Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Glu

1 5 10 15

Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Tyr

20 25 30

Trp Ile Gly Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met

35 40 45

Gly Ile Ile Tyr Pro Gly Asp Ser Asp Thr Arg Tyr Ser Pro Ser Phe

50 55 60

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

65 70 75 80

Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Gln Glu Ile Thr Gly Glu Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr

100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 172

<211> 107

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 172

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

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Ala

20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

Tyr Asp Ala Ser Ser Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Phe Asn Ser Tyr Pro Arg

85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 173

<211> 118

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 173

Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Glu

1 5 10 15

Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Tyr

20 25 30

Trp Ile Gly Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met

35 40 45

Gly Ile Ile Tyr Pro Gly Asp Ser Asn Thr Arg Tyr Ser Pro Ser Phe

50 55 60

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

65 70 75 80

Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys

85 90 95  
Ala Arg Gln Glu Ile Thr Gly Asp Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr  
100 105 110  
Leu Val Thr Val Ser Ser  
115

<210> 174

<211> 107

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 174

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

50 55 60  
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro  
65 70 75 80  
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Phe Asn Ser Tyr Pro Leu  
85 90 95  
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys  
100 105

<210> 175

<211> 118

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 175

Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Glu  
1 5 10 15  
Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Tyr



20 25 30  
 Trp Ile Gly Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met  
 35 40 45  
 Gly Ile Ile Tyr Pro Gly Asp Ser Asp Thr Arg Tyr Ser Pro Ser Phe  
 50 55 60  
 Gln Gly Gln Val Thr Ile Ser Ala Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr  
  
 65 70 75 80  
 Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys  
 85 90 95  
 Ala Arg Gln Glu Ile Thr Gly Asp Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr  
 100 105 110  
 Leu Val Thr Val Ser Ser  
 115  
 <210> 176  
 <211> 107  
 <212> PRT  
 <213> homo sapiens  
 <400> 176  
 Ala Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly  
  
 1 5 10 15  
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Ala  
 20 25 30  
 Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Asn Leu Leu Ile  
 35 40 45  
 Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly  
 50 55 60  
 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro  
  
 65 70 75 80  
 Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Phe Asn Ser Tyr Pro Leu  
 85 90 95  
 Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys  
 100 105

<210> 177

<211> 118

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 177

Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Glu

1 5 10 15

Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Ser Phe Ile Ser Tyr

20 25 30

Trp Ile Gly Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met

35 40 45

Gly Ile Ile Tyr Pro Gly Asp Ser Asp Thr Arg Tyr Ser Pro Ser Phe

50 55 60

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

65 70 75 80

Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Gln Glu Ile Thr Gly Asp Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr

100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 178

<211> 107

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 178

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

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Ala

20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

Tyr Val Ala Ser Ser Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly  
50 55 60  
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Thr Ser Leu Gln Pro  
65 70 75 80  
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Phe Asn Ser Tyr Pro Ile

85 90 95  
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys  
100 105

<210> 179

<211> 5

<212> PRT

<213> homo sapiens

<220><221> VARIANT

<222> (2)..(2)

<223> X1=Y or F

<220><221> VARIANT

<222> (3)..(3)

<223> X2=A or G

<220><221> VARIANT

<222> (4)..(4)

<223> X3=F or I

<220><221> VARIANT

<222> (5)..(5)

<223> X4=S or G

<400> 179

Ser Xaa Xaa Xaa Xaa

1 5

<210> 180

<211> 17

<212> PRT

<213> homo sapiens

<220><221> VARIANT

<222> (2)..(2)

<223> X1=I or V  
 <220><221> VARIANT  
 <222> (3)..(3)  
 <223> X2=I,S or F  
 <220><221> VARIANT  
 <222> (8)..(8)  
 <223> X3=I or T  
 <220><221> VARIANT  
 <222> (9)..(9)  
 <223> X4=A or T  
 <220><221> VARIANT  
 <222> (14)..(14)  
 <223> X5=K or M  
 <400> 180

Arg Xaa Xaa Pro Ile Leu Gly Xaa Xaa Asn Tyr Ala Gln Xaa Phe Gln

1 5 10 15

Gly

<210> 181  
 <211> 12  
 <212> PRT  
 <213> homo sapiens  
 <220><221> VARIANT  
 <222> (6)..(6)  
 <223> X1=W or S  
 <220><221> VARIANT  
 <222> (7)..(7)  
 <223> X2=P or A  
 <220><221> VARIANT  
 <222> (9)..(9)  
 <223> X3=T or A  
 <400> 181

Asp Val Gly Tyr Asp Xaa Xaa Asp Xaa Phe Asp Ile

1 5 10

<210> 182

<211> 17

<212> PRT

<213> homo sapiens

<220><221> VARIANT

<222> (8)..(8)

<223> X1=D, E or N

<400> 182

Ile Ile Tyr Pro Gly Asp Ser Xaa Thr Arg Tyr Ser Pro Ser Phe Gln

1 5 10 15

Gly

<210> 183

<211> 9

<212> PRT

<213> homo sapiens

<220><221> VARIANT

<222> (3)..(3)

<223> X1=V or I

<220><221> VARIANT

<222> (6)..(6)

<223> X2=E or D

<400> 183

Gln Glu Xaa Thr Gly Xaa Phe Asp Tyr

1 5

<210> 184

<211> 17

<212> PRT

<213> homo sapiens

<220><221> VARIANT

<222> (1)..(1)

<223> X1=V or F

<220><221> VARIANT

<222> (8)..(8)

<223> X2=N or S

<220><221> VARIANT

<222> (10)..(10)

<223> X3=D or Y

<220><221> VARIANT

<222> (11)..(11)

<223> X4=Y or F

<400> 184

Xaa Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Xaa Lys Xaa Xaa Ala Asp Ser Val Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 185

<211> 18

<212> PRT

<213> homo sapiens

<220><221> VARIANT

<222> (6)..(6)

<223> X1=S or no aa

<220><221> VARIANT

<222> (13)..(13)

<223> X2=V or A

<400> 185

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

1 5 10 15

Lys Gly

<210> 186

<211> 5

<212> PRT

<213> homo sapiens

<220><221> VARIANT

<222> (1)..(1)

<223> X1=S or N

<220><221> VARIANT

<222> (5)..(5)

<223> X2=S or T

<400> 186

Xaa Tyr Ala Met Xaa

1 5

<210> 187

<211> 17

<212> PRT

<213> homo sapiens

<220><221> VARIANT

<222> (1)..(1)

<223> X1=A or V

<220><221> VARIANT

<222> (8)..(8)

<223> X2=S or I

<220><221> VARIANT

<222> (15)..(15)

<223> X3=V or E

<400> 187

Xaa Ile Ser Gly Ser Gly Gly Xaa Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Xaa Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 188

<211> 8

<212> PRT

<213> homo sapiens

<220><221> VARIANT

<222> (8)..(8)

<223> X1=Y or C

<400> 188

Asp Arg Gly Trp Gly Ser Asp Xaa

1                      5

<210> 189

<211> 5

<212> PRT

<213> homo sapiens

<220><221> VARIANT

<222> (5)..(5)

<223> X1=Y or S

<400> 189

Asp Tyr Tyr Met Xaa

1                      5

<210> 190

<211> 17

<212> PRT

<213> homo sapiens

<220><221> VARIANT

<222> (1)..(1)

<223> X1=T or Y

<220><221> VARIANT

<222> (4)..(4)

<223> X2=D or S

<220><221> VARIANT

<222> (5)..(5)

<223> X3= D or S

<220><221> VARIANT

<222> (6)..(6)

<223> X4=G or S

<220><221> VARIANT

<222> (10)..(10)

<223> X5=Y or N

<220><221> VARIANT

<222> (12)..(12)

<223> X6=P or A

<400> 190



Xaa Ile Ser Xaa Xaa Xaa Ser Tyr Thr Xaa Tyr Xaa Asp Ser Val Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 191

<211> 7

<212> PRT

<213> homo sapiens

<220><221> VARIANT

<222> (4)..(4)

<223> X1=Y or H

<400> 191

Ser Gly Gly Xaa Ser Trp Ser

1 5

<210> 192

<211> 16

<212> PRT

<213> homo sapiens

<220><221> VARIANT

<222> (1)..(1)

<223> X1=any amino acid

<220><221> VARIANT

<222> (2)..(2)

<223> X2=I or L

<220><221> VARIANT

<222> (7)..(7)

<223> X3=S or N

<220><221> VARIANT

<222> (10)..(10)

<223> X4=Y or D

<400> 192

Xaa Xaa Tyr His Ser Gly Xaa Thr Tyr Xaa Asn Pro Ser Leu Lys Ser

1 5 10 15

<210> 193  
 <211> 8  
 <212> PRT  
 <213> homo sapiens  
 <220><221> VARIANT  
 <222> (5)..(5)  
 <223> X1=F or I  
 <400> 193

Ser Ser Tyr Asp Xaa Leu Thr Asp  
 1 5

<210> 194  
 <211> 5  
 <212> PRT  
 <213> homo sapiens  
 <220><221> VARIANT  
 <222> (1)..(1)  
 <223> X1=S or N

<400> 194  
 Xaa Tyr Gly Ile Ser  
 1 5

<210> 195  
 <211> 17  
 <212> PRT  
 <213> homo sapiens  
 <220><221> VARIANT  
 <222> (4)..(4)  
 <223> X1=A or T  
 <220><221> VARIANT  
 <222> (8)..(8)  
 <223> X2=N or Y  
 <400> 195

Trp Ile Ser Xaa Tyr Asn Gly Xaa Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Leu Gln  
 1 5 10 15  
 Gly

<210> 196

<211> 10

<212> PRT

<213> homo sapiens

<220><221> VARIANT

<222> (6)..(6)

<223> X1=A or N

<400> 196

Asp Leu Arg Gly Thr Xaa Tyr Phe Asp Tyr

1 5 10

<210> 197

<211> 5

<212> PRT

<213> homo sapiens

<220><221> VARIANT

<222> (1)..(1)

<223> X1=N or S

<220><221> VARIANT

<222> (2)..(2)

<223> X2=F or Y

<400> 197

Xaa Xaa Gly Ile Ser

1 5

<210> 198

<211> 17

<212> PRT

<213> homo sapiens

<220><221> VARIANT

<222> (5)..(5)

<223> X1=F or Y

<220><221> VARIANT

<222> (8)..(8)

<223> X2=H or N

<220

><221> VARIANT

<222> (10)..(10)

<223> X3=D or N

<220><221> VARIANT

<222> (12)..(12)

<223> X4=S or A

<220><221> VARIANT

<222> (15)..(15)

<223> X5=V or L

<400> 198

Trp Ile Ser Ala Xaa Asn Gly Xaa Thr Xaa Tyr Xaa Gln Lys Xaa Gln

1 5 10 15

Gly

<210> 199

<211> 5

<212> PRT

<213> homo sapiens

<220><221> VARIANT

<222> (1)..(1)

<223> X1=R or S

<220><221> VARIANT

<222> (2)..(2)

<223> X2=H or Y

<220><221> VARIANT

<222> (5)..(5)

<223> X3=T or S

<400> 199

Xaa Xaa Gly Ile Xaa

1 5

<210> 200

<211> 17

<212> PRT

<213> homo sapiens

<220><221> VARIANT

<222> (5)..(5)

<223> X1=D or Y

<220><221> VARIANT

<222> (15)..(15)

<223> X2=F or L

<220><221> VARIANT

<222> (17)..(17)

<223> X3=D or G

<400> 200

Trp Ile Ser Ala Xaa Asn Gly Asn Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Xaa Gln

1 5 10 15

Xaa

<210> 201

<211> 14

<212> PRT

<213> homo sapiens

<220><221> VARIANT

<222> (2)..(2)

<223> X1=F or L

<220><221> VARIANT

<222> (10)..(10)

<223> X2=P or no aa

<400> 201

Val Xaa Arg Tyr Phe Asp Trp Leu Leu Xaa Tyr Phe Asp Tyr

1 5 10

<210> 202

<211> 9

<212> PRT

<213> homo sapiens

<220><221> VARIANT

<222> (6)..(6)

<223> X1=Y or F

<220><221> VARIANT

<222> (8)..(8)

<223> X2=P or W

<400> 202

Gln Gln Tyr Asn Ser Xaa Pro Xaa Thr

1 5

<210> 203

<211> 7

<212> PRT

<213> homo sapiens

<220><221> VARIANT

<222> (1)..(1)

<223> X1=D, V or A

<400> 203

Xaa Ala Ser Ser Leu Glu Ser

1 5

<210> 204

<211> 10

<212> PRT

<213> homo sapiens

<220><221> VARIANT

<222> (9)..(9)

<223> X1=R, I, L, W or MY

<400> 204

Gln Gln Phe Asn Ser Tyr Pro Leu Xaa Thr

1 5 10

<210> 205

<211> 9

<212> PRT

<213> homo sapiens

<220><221> VARIANT

<222> (2)..(2)

<223> X1=Q or E

<220><221> VARIANT

<222> (3)..(3)

<223> X2=A or T

<220><221> VARIANT

<222> (4)..(4)

<223> X3=N or S

<220><221> VARIANT

<222> (7)..(7)

<223> X4=P or T

<400> 205

Gln Xaa Xaa Xaa Ser Phe Xaa Trp Thr

1 5

<210> 206

<211> 9

<212> PRT

<213> homo sapiens

<220><221> VARIANT

<222> (8)..(8)

<223> X1=I or no aa

<400> 206

Gln Gln Ala Asn Ser Phe Pro Xaa Thr

1 5

<210> 207

<211> 10

<212> PRT

<213> homo sapiens

<220><221> VARIANT

<222> (4)..(4)

<223> X1=T or N

<220><221> VARIANT

<222> (8)..(8)

<223> X2=Q or no aa

<400> 207

Gln Gln Phe Xaa Ser Tyr Pro Xaa Ile Thr

1 5 10

<210> 208

<211> 9

<212> PRT

<213> homo sapiens

<220><221> VARIANT

<222> (5)..(5)

<223> X1=G or S

<400> 208

Gln Gln Ala Asn Xaa Phe Pro Ile Thr

1 5

<210> 209

<211> 11

<212> PRT

<213> homo sapiens

<220><221> VARIANT

<222> (8)..(8)

<223> X1=S or N

<400> 209

Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Xaa Trp Leu Ala

1 5 10

<210> 210

<211> 7

<212> PRT

<213> homo sapiens

<220><221> VARIANT

<222> (6)..(6)

<223> X1=Q or L

<400> 210

Ala Ala Ser Ser Leu Xaa Ser

1 5

<210> 211

<211> 9



<212> PRT  
 <213> homo sapiens  
 <220><221> VARIANT  
 <222> (1)..(1)  
 <223> X1=H or Q  
 <220>  
 ><221> VARIANT  
 <222> (4)..(4)  
 <223> X2=K or N  
 <400> 211  
 Xaa Gln Tyr Xaa Ser Tyr Pro Trp Thr  
 1 5  
 <210> 212  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 <213> homo sapiens  
 <220><221> VARIANT  
 <222> (2)..(2)  
 <223> X1=V or A  
 <220><221> VARIANT  
 <222> (3)..(3)  
 <223> X2=F or S  
 <400> 212  
 Gly Xaa Xaa Ser Arg Ala Thr  
 1 5