



등록특허 10-2200274



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2021년01월08일
(11) 등록번호 10-2200274
(24) 등록일자 2021년01월04일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07K 16/28 (2006.01) *A61K 39/00* (2006.01)
(52) CPC특허분류
C07K 16/2863 (2013.01)
A61K 2039/505 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2017-7010306
(22) 출원일자(국제) 2015년09월15일
심사청구일자 2020년09월11일
(85) 번역문제출일자 2017년04월14일
(65) 공개번호 10-2017-0054517
(43) 공개일자 2017년05월17일
(86) 국제출원번호 PCT/IB2015/002110
(87) 국제공개번호 WO 2016/042412
국제공개일자 2016년03월24일
(30) 우선권주장
62/051,190 2014년09월16일 미국(US)
(56) 선행기술조사문헌
WO2012059562 A1
WO2009142738 A2
WO2010059654 A1
Neoplasia, 2009, 제11권, 제4호, 페이지 355-364

(73) 특허권자
심포젠 에이/에스
덴마크 발레루프 페데르스트루프베즈 93 (우:
2750)
(72) 발명자
보우퀸, 토마스
덴마크 디케이-3450 알러뢰드 키르켈트베즈 44
페데르센, 미켈, 웬달
덴마크 디케이-3450 알러뢰드 포렐베즈 17
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
특허법인 남엔남

전체 청구항 수 : 총 12 항

심사관 : 최승희

(54) 발명의 명칭 항-MET 항체 및 조성물

(57) 요약

본 발명은 인간 MET (c-MET)에 대한 신규한 재조합 항체, 뿐만 아니라, 상기 항체들 중 적어도 두 개의 혼합물을 포함하는 조성물, 및 암과 같은 MET-매개 장애의 치료를 위한 항체 및 항체 조성물의 용도에 관한 것이다.

(52) CPC특허분류

C07K 2317/24 (2013.01)

C07K 2317/30 (2013.01)

C07K 2317/73 (2013.01)

C07K 2317/76 (2013.01)

C07K 2317/92 (2013.01)

(72) 발명자

자콥센, 헬레, 제인

덴마크 디케이-2830 비름 프러그스넷 66

포울센, 토마스, 투센

덴마크 디케이-2870 다이쓰가르드 브뢰드리베즈 12

그란달, 마이클, 몬래드

덴마크 디케이-2750 발립 솔브린켄 26에이

쾨포이드, 클라우스

덴마크 디케이-1561 코펜하겐 더블유 1 티브이 해

븐홀멘 24

크라그, 마이클

덴마크 디케이-2200 코펜하겐 엔 5. 티브이 라에쓰
에스가드 1에이

에리크손, 카르스텐, 위셀

덴마크 디케이-3060 에스페괴르드 토프트베즈 7비

콘로토, 파올로

덴마크 디케이-2660 브론디 스탠드 뷔켈룬덴 139

명세서

청구범위

청구항 1

제1 항-MET 항체 또는 이의 항원-결합 부분 및 제2 항-MET 항체 또는 이의 항원-결합 부분을 포함하는 항체 혼합물로서,

- a) 상기 제1 항-MET 항체의 중쇄 (H) CDR1-3 및 경쇄 (L) CDR1-3의 SEQ ID NO: 21, 22, 23, 24, 25, 및 26의 아미노산 서열을 각각 포함하며; 그리고
- b) 상기 제2 항-MET 항체의 중쇄 (H) CDR1-3 및 경쇄 (L) CDR1-3의 SEQ ID NO: 27, 28, 29, 30, 31, 및 32의 아미노산 서열을 각각 포함하는, 항체 혼합물.

청구항 2

제1항에 있어서,

- a) 상기 제1 항-MET 항체의 중쇄 가변 도메인 (VH) 및 경쇄 가변 도메인 (VL)의 SEQ ID NO: 6 및 8의 아미노산 서열을 각각 포함하며, 그리고 상기 제2 항-MET 항체의 VH 및 VL의 SEQ ID NO: 10 및 12의 아미노산 서열을 각각 포함하거나;
- b) 상기 제1 항-MET 항체의 VH 및 VL의 SEQ ID NO: 14 및 16의 아미노산 서열을 각각 포함하며, 그리고 상기 제2 항-MET 항체의 VH 및 VL의 SEQ ID NO: 18 및 20의 아미노산 서열을 각각 포함하는 항체 혼합물.

청구항 3

제1항에 있어서,

상기 제1 항-MET 항체의 중쇄 (HC) 및 경쇄 (LC)가 SEQ ID NO: 34 및 33의 아미노산 서열을 각각 포함하며, 그리고

상기 제2 항-MET 항체의 HC 및 LC가 SEQ ID NO: 36 및 35의 아미노산 서열을 각각 포함하는 항체 혼합물.

청구항 4

제1항에 있어서, 상기 혼합물이

- a) MET의 분해를 유도하고;
- b) SNU5, EBC1, MKN45, KatoII, OE33, 및 Okajima로부터 선택된 하나 이상의 세포주의 시험관내의 성장을 억제하고;
- c) MET 인산화를 억제하고;
- d) MET 다운스트림 신호전달을 억제하고; 그리고
- e) HGF의 존재 또는 부재 하에서 1차 내피 세포 증식을 억제하는 것으로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 성질을 갖는 항체 혼합물.

청구항 5

항-MET 항체 또는 이의 항원-결합 부분으로서, 상기 항체는

- a) SEQ ID NO: 21, 22, 23, 24, 25, 및 26의 아미노산 서열을 각각 포함하는 H-CDR1-3 및 L-CDR1-3을 가지거나;
- b) SEQ ID NO: 6의 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 SEQ ID NO: 8의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 가지거나;
- c) SEQ ID NO: 14의 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 SEQ ID NO: 16의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 가지거나; 또는
- d) SEQ ID NO: 34의 아미노산 서열을 포함하는 HC 및 SEQ ID NO: 33의 아미노산 서열을 포함하는 LC를 가지는,

항-MET 항체 또는 이의 항원-결합 부분.

청구항 6

항-MET 항체 또는 이의 항원-결합 부분으로서, 상기 항체는

- a) SEQ ID NO: 27, 28, 29, 30, 31, 및 32의 아미노산 서열을 각각 포함하는 H-CDR1-3 및 L-CDR1-3을 가지거나;
- b) SEQ ID NO: 10의 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 SEQ ID NO: 12의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 가지거나;
- c) SEQ ID NO: 18의 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 SEQ ID NO: 20의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 가지거나; 또는
- d) SEQ ID NO: 36의 아미노산 서열을 포함하는 HC 및 SEQ ID NO: 35의 아미노산 서열을 포함하는 LC를 가지는, 항-MET 항체 또는 이의 항원-결합 부분.

청구항 7

제5항 또는 제6항의 항-MET 항체의, 중쇄 또는 이의 항원-결합 부분을 엔코딩하는 뉴클레오티드 서열, 및 경쇄 또는 이의 항원-결합 부분을 엔코딩하는 뉴클레오티드 서열을 포함하는 단리된 핵산 문자.

청구항 8

제5항 또는 제6항의 항-MET 항체의, 중쇄 또는 이의 항원-결합 부분을 엔코딩하는 뉴클레오티드 서열, 및 경쇄 또는 이의 항원-결합 부분을 엔코딩하는 뉴클레오티드 서열을 포함하는 숙주 세포.

청구항 9

제5항 또는 제6항의 항체 또는 항원-결합 부분을 제조하는 방법으로서,

제5항 또는 제6항의 항-MET 항체의, 중쇄 또는 이의 항원-결합 부분을 엔코딩하는 뉴클레오티드 서열, 및 경쇄 또는 이의 항원-결합 부분을 엔코딩하는 뉴클레오티드 서열을 포함하는 숙주 세포를 제공하고,

상기 숙주 세포를 항체 또는 부분의 발현을 위해 적합한 조건 하에서 배양시키고,

얻어진 항체 또는 부분을 단리시키는 것을 포함하는, 방법.

청구항 10

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항의 항체 혼합물을 제조하는 방법으로서,

제1 항-MET 항체 또는 항원-결합 부분을 발현시킬 수 있는 제1 숙주 세포 및 제2 항-MET 항체 또는 항원-결합 부분을 발현시킬 수 있는 제2 숙주 세포를 제공하고,

상기 제1 숙주 세포 및 상기 제2 숙주 세포를 항체 또는 부분의 발현을 위해 적합한 조건 하에서 배양시키고, 그리고

얻어진 항체 또는 부분을 단리시키는 것을 포함하며, 여기서 선택적으로 제1 숙주 세포 및 제2 숙주 세포가 단일 생물반응기에서 배양되는 방법.

청구항 11

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항의 항체 혼합물 또는 제5항 또는 제6항의 항-MET 항체 또는 항원-결합 부분, 및 약제학적으로 허용되는 부형제를 포함하는, 암에 걸린 인간 환자를 치료하는데 사용하기 위한 약제 조성물.

청구항 12

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항의 항체 혼합물의 제1 및 제2 항-MET 항체 또는 항원-결합 부분의 결합 특이성을 갖는 이중특이성 결합 분자로서, 상기 이중특이성 결합 분자가, 각각 SEQ ID NO: 21, 22, 23, 24, 25, 및 26의 아미노산 서열의 H-CDR1-3 및 L-CDR1-3을 포함하는 제1 항원-결합 사이트, 및 각각 SEQ ID NO: 27, 28, 29, 30, 31, 및 32의 아미노산 서열의 H-CDR1-3 및 L-CDR1-3을 포함하는 제2 항원-결합 사이트를 포함하는, 이

중특이성 결합 분자.

청구항 13

삭제

청구항 14

삭제

청구항 15

삭제

청구항 16

삭제

청구항 17

삭제

청구항 18

삭제

청구항 19

삭제

청구항 20

삭제

청구항 21

삭제

청구항 22

삭제

청구항 23

삭제

청구항 24

삭제

청구항 25

삭제

청구항 26

삭제

청구항 27

삭제

청구항 28

삭제

청구항 29

삭제

청구항 30

삭제

청구항 31

삭제

청구항 32

삭제

청구항 33

삭제

청구항 34

삭제

청구항 35

삭제

청구항 36

삭제

청구항 37

삭제

청구항 38

삭제

청구항 39

삭제

청구항 40

삭제

청구항 41

삭제

청구항 42

삭제

청구항 43

삭제

청구항 44

삭제

청구항 45

삭제

청구항 46

삭제

청구항 47

삭제

청구항 48

삭제

청구항 49

삭제

청구항 50

삭제

청구항 51

삭제

청구항 52

삭제

청구항 53

삭제

발명의 설명

기술 분야

[0001] 관련 출원

[0002] 본 출원은 2014년 9월 16일에 출원된 미국가출원번호 제62/051,190호의 이득을 청구하며, 이러한 문헌은 전문이 본원에 참고로 포함된다.

[0003] 서열 목록

[0004] 본 출원은 ASCII 포맷으로 전자적으로 제출된 서열 목록을 함유하며, 이는 전체가 본원에 참고로 포함된다. 2015년 9월 15일에 생성된 ASCII 카피(copy)는 110285-0051-W01_SL.txt로 명명되고, 크기에 있어서 78,490 바이트(byte)이다.

[0005] 본 발명의 분야

[0006] 본 발명은 항-MET 항체 및 항체 조성물, 및 MET와 관련된 질병 및 질환을 치료하는데 이를 사용하는 방법에 관한 것이다.

배경 기술

[0007] MET(또한 c-MET로서 알려짐)는 50 kDa α -서브유닛 및 145 kDa β -서브유닛을 포함하는 수용체 티로신 키나아제이다. MET에 대한 공지된 유일한 리간드는 간세포 성장 인자(HGF)로서, 이는 또한, 산란 인자(scatter factor)로서 알려져 있다. MET에 대한 HGF의 결합은 β -서브유닛 잔기 Y1349 및 Y1356의 수용체 다이머화 및 자동인산화를 야기시켜, 포스포이노시톨 3-키나아제(PI3K)-단백질 키나아제 B(Akt) 경로, 전사 인자(STAT) 경로의 신호 트랜스듀서(signal transducer) 및 활성제, 미토겐-활성화된 단백질 키나아제(MAPK) 경로, 및 활성화된 B 세포

(NF κB) 경로의 핵인자 카파-경쇄-인핸서를 포함하는 다운스트림 신호전달 경로를 활성화시킨다. 이는 궁극적으로, 증가된 증가된 유사 분열(mitogenesis), 세포 증식, 세포 생존, 및 세포 운동성을 야기시킨다. MET 또는 HGF 활성의 이상조절(dysregulation)은 예를 들어, MET의 과발현, 유전자 증폭, 돌연변이 또는 선택적 스플라이싱(alternative splicing)을 통해, 또는 HGF 리간드-유도 오토크라인/파라크린 루프 신호전달을 통해 일어날 수 있다. 이러한 이상조절은 암 침습성, 혈관신생, 전이, 및 종양 성장을 촉진시킴으로써 여러 암에서 역할을 하며, 이에 따라, 더욱 공격적인 암 표현형 및 보다 나쁜 예후를 야기시킨다.

[0008] MET는 또한, EGFR, TGF- β , 및 HER3과 같은 다른 수용체와 관련된 신호전달 경로와 상호작용하는 것으로 알려져 있고, 그러한 수용체를 타겟화하는 치료에 대한 내성에 역할을 할 수 있다. 이에 따라, MET 억제제, 예를 들어, 항-MET 항체는 내성 표현형을 극복하는데 다른 수용체 억제제와 조합하여 효과적일 수 있다.

[0009] 현재의 MET 억제제는 MET 또는 이의 리간드 중 어느 하나를 타겟화할 수 있는 모노클로날 항체, 및 소분자 키나아제 억제제 둘 모두를 포함한다. MET 경로를 타겟화하는 공지된 항체는 인간화된 항-MET 항체 오나르투주맙(onartuzumab)(OA-5D5, OAM4558g, MetMAb); 인간화된 항-HGF 항체 피클라투주맙(ficlatuzumab)(AV-299); 인간 항-HGF 항체 릴로투무맙(rilotumumab)(AMG102); 인간화된 항-HGF 항체 TAK701; 인간화된 IgG4 항-c-MET 항체 LY2875358/LA480; 인간화된 항-c-MET 항체 ABT-700(H224G11); 및 ARGX-111 항-c-MET 항체(36C4)를 포함한다. 공지된 항-MET 소분자 수용체 티로신 키나아제 억제제는 티반티닙(tivantinib), 카보잔티닙(cabozantinib), 포레티닙(foretinib), 골바티닙(golvatinib), 및 크리조티닙(crizotinib)을 포함한다. 그러나, 치료 용도를 위한 어떠한 항-MET 항체도 승인되지 못하였다.

[0010] 암 진행에서 MET의 중요한 역할을 고려하여, MET를 타겟화하는 신규하고 개선된 치료법이 요구되고 있다.

발명의 내용

[0011] 본 발명은 MET를 타겟화하는 신규한 재조합 항체, 뿐만 아니라, 이러한 항체들 중 둘 이상을 포함하는 조성물, 및 비-소세포 폐암, 위암, 간세포암종, 식도암, 대장암, 유두상 신세포암, 교모세포종, 부신피질 암종, 신세포암종, 전립선암, 및 MET를 발현시키거나 과발현시키거나 MET 경로 활성화에 의존적인 다른 암들을 포함하는 암들의 치료를 위한 항체 및 조성물의 용도에 관한 것이다. 항체 치료를 포함하는, 이러한 암들에 대한 현재 이용 가능한 치료와 비교하여, 본 발명의 항체가 단독으로 또는 둘 이상의 이러한 항체를 포함하는 조성물에서 우수한 임상적 반응을 제공하는 것이 고려된다.

[0012] 일부 구체예에서, 본 발명은 제1 항-MET 항체 또는 이의 항원-결합 부분 및 제2 항-MET 항체 또는 이의 항원-결합 부분을 포함하는 항체 조성물을 제공한다.

[0013] 일부 구체예에서, 제1 항-MET 항체는 SEQ ID NO: 21, 22, 23, 24, 25, 및 26의 아미노산 서열을 각각 포함하는 H-CDR1, H-CDR2, H-CDR3, L-CDR1, L-CDR2, 및 L-CDR3을 갖는 항체와 인간 MET에 대한 결합을 위해 경쟁적이며, 제2 항-MET 항체는 SEQ ID NO: 27, 28, 29, 30, 31, 및 32의 아미노산 서열을 각각 포함하는 H-CDR1, H-CDR2, H-CDR3, L-CDR1, L-CDR2, 및 L-CDR3을 갖는 항체와 인간 MET에 대한 결합을 위해 경쟁적이다.

[0014] 일부 구체예에서, 제1 항-MET 항체는 SEQ ID NO: 21, 22, 23, 24, 25, 및 26의 아미노산 서열을 각각 포함하는 H-CDR1, H-CDR2, H-CDR3, L-CDR1, L-CDR2, 및 L-CDR3을 갖는 항체와 동일한 인간 MET 에피토프에 결합하며, 제2 항-MET 항체는 SEQ ID NO: 27, 28, 29, 30, 31, 및 32의 아미노산 서열을 각각 포함하는 H-CDR1, H-CDR2, H-CDR3, L-CDR1, L-CDR2, 및 L-CDR3을 갖는 항체와 동일한 인간 MET 에피토프에 결합한다. 일부 구체예에서, 제1 MET 항체는 SEMA-α 블레이드 3을 결합시킬 수 있으며, 제2 MET 항체는 SEMA-α 블레이드 2를 결합시킬 수 있다. 이러한 항체들의 조합은 두 개의 에피토프 모두를 타겟화하고, MET 신호전달 경로에 대해 놀라운 상승적 억제 효과를 형성시킨다. 본 발명자들은, 이러한 에피토프의 조합된 타겟화가 MET 신호전달 경로에 대해 놀랍게도 높은 억제 활성을 형성시킨다는 것을 발견하였다.

[0015] 일부 구체예에서, 제1 항-MET 항체는 SEQ ID NO: 23의 아미노산 서열을 포함하는 H-CDR3을 포함한다. 일부 구체예에서, 제1 항-MET 항체는 SEQ ID NO: 21, 22, 및 23의 아미노산 서열을 각각 포함하는 H-CDR1, H-DR2, 및 H-CDR3을 포함한다. 일부 구체예에서, 제1 항-MET 항체는 SEQ ID NO: 6 또는 14의 아미노산 서열과 서열에 있어서 적어도 90% 일치하는 중쇄 가변 도메인(VH)을 포함한다. 일부 구체예에서, 제1 항-MET 항체는 SEQ ID NO: 6 또는 14의 아미노산 서열을 포함하는 VH를 포함한다. 일부 구체예에서, 제1 항-MET 항체는 SEQ ID NO: 34의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄(HC)를 포함한다.

[0016] 일부 구체예에서, 제1 항-MET 항체는 SEQ ID NO: 26의 아미노산 서열을 포함하는 L-CDR3을 포함한다. 일부 구체

예에서, 제1 항-MET 항체는 SEQ ID NO: 24, 25, 및 26의 아미노산 서열을 각각 포함하는 L-CDR1, L-CDR2, 및 L-CDR3을 포함한다. 일부 구체예에서, 제1 항-MET 항체는 SEQ ID NO: 8 또는 16의 아미노산 서열과 서열에 있어서 적어도 90% 일치하는 경쇄 가변 도메인(VL)을 포함한다. 일부 구체예에서, 제1 항-MET 항체는 SEQ ID NO: 8 또는 16의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다. 일부 구체예에서, 제1 항-MET 항체는 SEQ ID NO: 33의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄(LC)를 포함한다.

[0017] 일부 구체예에서, 제1 항-MET 항체는 SEQ ID NO: 23의 아미노산 서열을 포함하는 H-CDR3, 및 SEQ ID NO: 26의 아미노산 서열을 포함하는 L-CDR3을 포함한다. 일부 구체예에서, 제1 항-MET 항체는 SEQ ID NO: 21, 22, 23, 24, 25, 및 26의 아미노산 서열을 각각 포함하는 H-CDR1, H-CDR2, H-CDR3, L-CDR1, L-CDR2, 및 L-CDR3을 포함한다. 일부 구체예에서, 제1 항-MET 항체는 SEQ ID NO: 6 또는 14의 아미노산 서열과 서열에 있어서 적어도 90% 일치하는 VH, 및 SEQ ID NO: 8 또는 16의 아미노산 서열과 서열에 있어서 적어도 90% 일치하는 VL을 포함한다. 일부 구체예에서, 제1 항-MET 항체는 SEQ ID NO: 6 또는 14의 아미노산 서열을 포함하는 VH, 및 SEQ ID NO: 8 또는 16의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다. 일부 구체예에서, 제1 항-MET 항체는 SEQ ID NO: 6의 아미노산 서열을 포함하는 VH, 및 SEQ ID NO: 8의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다. 일부 구체예에서, 제1 항-MET 항체는 SEQ ID NO: 14의 아미노산 서열을 포함하는 VH, 및 SEQ ID NO: 16의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다. 일부 구체예에서, 제1 항-MET 항체는 SEQ ID NO: 34의 아미노산 서열을 포함하는 HC, 및 SEQ ID NO: 33의 아미노산 서열을 포함하는 LC를 포함한다.

[0018] 일부 구체예에서, 제2 항-MET 항체는 SEQ ID NO: 29의 아미노산 서열을 포함하는 H-CDR3을 포함한다. 일부 구체예에서, 제2 항-MET 항체는 SEQ ID NO: 27, 28, 및 29의 아미노산 서열을 각각 포함하는 H-CDR1, H-CDR2, 및 H-CDR3을 포함한다. 일부 구체예에서, 제2 항-MET 항체는 SEQ ID NO: 10 또는 18의 아미노산 서열과 서열에 있어서 적어도 90% 일치하는 VH를 포함한다. 일부 구체예에서, 제2 항-MET 항체는 SEQ ID NO: 10 또는 18의 아미노산 서열을 포함하는 VH를 포함한다. 일부 구체예에서, 제2 항-MET 항체는 SEQ ID NO: 36의 아미노산 서열을 포함하는 HC를 포함한다.

[0019] 일부 구체예에서, 제2 항-MET 항체는 SEQ ID NO: 32의 아미노산 서열을 포함하는 L-CDR3을 포함한다. 일부 구체예에서, 제2 항-MET 항체는 SEQ ID NO: 30, 31, 및 32의 아미노산 서열을 각각 포함하는 L-CDR1, L-CDR2, 및 L-CDR3을 포함한다. 일부 구체예에서, 제2 항-MET 항체는 SEQ ID NO: 12 또는 20의 아미노산 서열과 서열에 있어서 적어도 90% 일치하는 VL을 포함한다. 일부 구체예에서, 제2 항-MET 항체는 SEQ ID NO: 12 또는 20의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구체예에서, 제2 항-MET 항체는 SEQ ID NO: 35의 아미노산 서열을 포함하는 LC를 포함한다.

[0020] 일부 구체예에서, 제2 항-MET 항체는 SEQ ID NO: 29의 아미노산 서열을 포함하는 H-CDR3, 및 SEQ ID NO: 32의 아미노산 서열을 포함하는 L-CDR3을 포함한다. 일부 구체예에서, 제2 항-MET 항체는 SEQ ID NO: 27, 28, 29, 30, 31, 및 32의 아미노산 서열을 각각 포함하는 H-CDR1, H-CDR2, H-CDR3, L-CDR1, L-CDR2, 및 L-CDR3을 포함한다. 일부 구체예에서, 제2 항-MET 항체는 SEQ ID NO: 10 또는 18의 아미노산 서열과 서열에 있어서 적어도 90% 일치하는 VH, 및 SEQ ID NO: 12 또는 20의 아미노산 서열과 서열에 있어서 적어도 90% 일치하는 VL을 포함한다. 일부 구체예에서, 제2 항-MET 항체는 SEQ ID NO: 10 또는 18의 아미노산 서열을 포함하는 VH, 및 SEQ ID NO: 12 또는 20의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다. 일부 구체예에서, 제2 항-MET 항체는 SEQ ID NO: 10의 아미노산 서열을 포함하는 VH, 및 SEQ ID NO: 12의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다. 일부 구체예에서, 제2 항-MET 항체는 SEQ ID NO: 18의 아미노산 서열을 포함하는 VH, 및 SEQ ID NO: 20의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다. 일부 구체예에서, 제2 항-MET 항체는 SEQ ID NO: 36의 아미노산 서열을 포함하는 HC, 및 SEQ ID NO: 35의 아미노산 서열을 포함하는 LC를 포함한다.

[0021] 본 발명은 또한, 본원에 기술된 제1 항-MET 항체 및 제2 항-MET 항체의 임의 조합을 포함하는 항체 조성물을 제공한다.

[0022] 예를 들어, 일부 구체예에서, 제1 항-MET 항체는 SEQ ID NO: 23 및 26의 아미노산 서열을 각각 포함하는 H-CDR3 및 L-CDR3을 가지며, 제2 항-MET 항체는 SEQ ID NO: 29 및 32의 아미노산 서열을 각각 포함하는 H-CDR3 및 L-CDR3을 갖는다. 일부 구체예에서, 제1 항-MET 항체는 SEQ ID NO: 21, 22, 23, 24, 25, 및 26의 아미노산 서열을 각각 포함하는 H-CDR1, H-CDR2, H-CDR3 및 L-CDR1, L-CDR2, 및 L-CDR3을 가지며, 제2 항-MET 항체는 SEQ ID NO: 27, 28, 29, 30, 31, 및 32의 아미노산 서열을 각각 포함하는 H-CDR1, H-CDR2, H-CDR3 및 L-CDR1, L-CDR2, 및 L-CDR3을 갖는다.

[0023] 일부 구체예에서, 제1 항-MET 항체의 VH 및 VL은 SEQ ID NO: 6 및 8의 아미노산 서열 각각과 서열에 있어서 적

어도 90% 일치하며, 제2 항-MET 항체의 VH 및 VL은 SEQ ID NO: 10 및 12의 아미노산 서열 각각과 서열에 있어서 적어도 90% 일치한다. 일부 구체예에서, 제1 항-MET 항체의 VH 및 VL은 SEQ ID NO: 14 및 16의 아미노산 서열 각각과 서열에 있어서 적어도 90% 일치하며, 제2 항-MET 항체의 VH 및 VL은 SEQ ID NO: 18 및 20의 아미노산 서열 각각과 서열에 있어서 적어도 90% 일치한다. 일부 구체예에서, 제1 항-MET 항체의 VH 및 VL은 SEQ ID NO: 6 및 8의 아미노산 서열을 각각 포함하며, 제2 항-MET 항체의 VH 및 VL은 SEQ ID NO: 10 및 12의 아미노산 서열을 각각 포함한다. 일부 구체예에서, 제1 항-MET 항체의 VH 및 VL은 SEQ ID NO: 14 및 16의 아미노산 서열을 각각 포함하며, 제2 항-MET 항체의 VH 및 VL은 SEQ ID NO: 18 및 20의 아미노산 서열을 각각 포함한다. 일부 구체예에서, 제1 항-MET 항체의 HC 및 LC은 SEQ ID NO: 34 및 33의 아미노산 서열을 각각 포함하며, 제2 항-MET 항체의 HC 및 LC은 SEQ ID NO: 36 및 35의 아미노산 서열을 각각 포함한다.

[0024] 본원에 기술된 항-MET 항체 조성물의 일부 구체예에서, 제1 항-MET 항체, 제2 항-MET 항체, 또는 둘 모두는 아이소형 IgG이다. 특정 구체예에서, 제1 항-MET 항체, 제2 항-MET 항체, 또는 둘 모두는 아이소형 서브클래스 IgG1이다.

[0025] 일부 구체예에서, 본원에 기술된 조성물에서 항-MET 항체 중 적어도 하나, 적어도 둘, 또는 모두는 하기에 기술된 것으로 이루어진 군으로부터 선택된, 적어도 하나의 성질, 또는 이러한 성질들의 임의 조합을 갖는다:

[0026] ● 마우스 또는 닭 MET에 결합하지 않음;

[0027] ● SEMA 도메인 상에 존재하는 잔기를 포함하는 인간 MET의 에피토프에 결합함;

[0028] ● MET의 분해를 유도함;

[0029] ● 1×10^{-9} M 이하의 K_D 로 인간 MET에 결합함;

[0030] ● SNU5, EBC1, MKN45, KatoII, OE33, 및 Okajima로부터 선택된 적어도 하나의 세포주의 시험관내 성장을 억제함;

[0031] ● MET 인산화를 억제함;

[0032] ● MET 다운스트림 신호전달을 억제함;

[0033] ● HGF의 존재 또는 부재 하에서 1차 내피 세포 증식을 억제함; 및

[0034] ● 생체 내에서의 종양 성장을 억제함.

[0035] 일부 구체예에서, 본원에 기술된 임의 항-MET 항체 조성물은 하기 기술된 것들로 이루어진 군으로부터 선택된, 적어도 하나의 성질, 또는 이러한 성질들의 임의 조합을 갖는다:

[0036] ● MET의 분해를 유도함;

[0037] ● SNU5, EBC1, MKN45, KatoII, OE33, 및 Okajima로부터 선택된 적어도 하나의 세포주의 시험관내 성장을 억제함;

[0038] ● MET 인산화를 억제함;

[0039] ● MET 다운스트림 신호전달을 억제함;

[0040] ● HGF의 존재 또는 부재 하에서 1차 내피 세포 증식을 억제함; 및

[0041] ● 생체 내에서 종양 성장을 억제함.

[0042] 본 발명은 또한, 본원에 기술된 임의 항-MET 항체 조성물 및 약제학적으로 허용되는 부형제를 포함하는 약제 조성물을 제공한다.

[0043] 본 발명은 또한, 항-MET 항체 또는 항원-결합 부분을 제공한다. 일부 구체예에서, 항체 또는 부분은 H-CDR1, H-CDR2, H-CDR3, L-CDR1, L-CDR2, 및 L-CDR3이 SEQ ID NO: 21, 22, 23, 24, 25, 및 26의 아미노산 서열을 각각 포함하는 항체와 인간 MET에 대한 결합을 위해 경쟁적이다. 일부 구체예에서, 항체 또는 부분은 H-CDR1, H-CDR2, H-CDR3, L-CDR1, L-CDR2, 및 L-CDR3이 SEQ ID NO: 27, 28, 29, 30, 31, 및 32의 아미노산 서열을 각각 포함하는 항체와 인간 MET에 대한 결합을 위해 경쟁적이다.

[0044] 일부 구체예에서, 항체 또는 부분은 H-CDR1, H-CDR2, H-CDR3, L-CDR1, L-CDR2, 및 L-CDR3이 SEQ ID NO: 21,

22, 23, 24, 25, 및 26의 아미노산 서열을 각각 포함하는 항체와 동일한 인간 MET의 에피토프에 결합한다. 일부 구체예에서, 항체 또는 부분은 H-CDR1, H-CDR2, H-CDR3, L-CDR1, L-CDR2, 및 L-CDR3이 SEQ ID NO: 27, 28, 29, 30, 31, 및 32의 아미노산 서열을 각각 포함하는 항체와 동일한 인간 MET의 에피토프에 결합한다.

[0045] 일부 구체예에서, 항체는 SEQ ID NO: 23의 아미노산 서열을 포함하는 H-CDR3 및/또는 SEQ ID NO: 26의 아미노산 서열을 포함하는 L-CDR3, SEQ ID NO: 21, 22, 및 23의 아미노산 서열을 각각 포함하는 H-CDR1, H-CDR2, 및 H-CDR3 및/또는 SEQ ID NO: 24, 25, 및 26의 아미노산 서열을 각각 포함하는 L-CDR1, L-CDR2, 및 L-CDR3, SEQ ID NO: 6 또는 14의 아미노산 서열과 적어도 90% 서열 일치성을 갖는 VH 및/또는 SEQ ID NO: 8 또는 16의 아미노산 서열과 적어도 90% 서열 일치성을 갖는 VL; 또는 SEQ ID NO: 6 또는 14의 아미노산 서열을 포함하는 VL 및/또는 SEQ ID NO: 8 또는 16의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다. 특정 구체예에서, 항체는 SEQ ID NO: 6의 아미노산 서열을 포함하는 VH, 및 SEQ ID NO: 8의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다. 특정 구체예에서, 항체는 SEQ ID NO: 14의 아미노산 서열을 포함하는 VH, 및 SEQ ID NO: 16의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다. 특정 구체예에서, 항체는 SEQ ID NO: 34의 아미노산 서열을 포함하는 HC 및 SEQ ID NO: 33의 아미노산 서열을 포함하는 LC를 포함한다.

[0046] 일부 구체예에서, 항체는 SEQ ID NO: 23의 아미노산 서열을 포함하는 H-CDR3; SEQ ID NO: 21, 22, 및 23의 아미노산 서열을 각각 포함하는 H-CDR1, H-CDR2, 및 H-CDR3; SEQ ID NO: 6 또는 14의 아미노산 서열과 적어도 90% 서열 일치성을 갖는 VH; SEQ ID NO: 6 또는 14의 아미노산 서열을 포함하는 VH; 또는 SEQ ID NO: 34의 아미노산 서열을 포함하는 HC를 포함하는 중쇄를 포함하고; SEQ ID NO: 26의 아미노산 서열을 포함하는 L-CDR3; SEQ ID NO: 24, 25, 및 26의 아미노산 서열을 각각 포함하는 L-CDR1, L-CDR2, 및 L-CDR3; SEQ ID NO: 8 또는 16의 아미노산 서열과 적어도 90% 서열 일치성을 갖는 VL; SEQ ID NO: 8 또는 16의 아미노산 서열을 포함하는 VL; 또는 SEQ ID NO: 33의 아미노산 서열을 포함하는 LC를 포함하는 경쇄를 추가로 포함한다.

[0047] 일부 구체예에서, 항체는 SEQ ID NO: 29의 아미노산 서열을 포함하는 H-CDR3 및/또는 SEQ ID NO: 32의 아미노산 서열을 포함하는 L-CDR3; SEQ ID NO: 27, 28, 및 29의 아미노산 서열을 각각 포함하는 H-CDR1, H-CDR2, 및 H-CDR3 및/또는 SEQ ID NO: 30, 31, 및 32의 아미노산 서열을 각각 포함하는 L-CDR1, L-CDR2, 및 L-CDR3; SEQ ID NO: 10 또는 18의 아미노산 서열과 적어도 90% 서열 일치성을 갖는 VL; 및/또는 SEQ ID NO: 12 또는 20의 아미노산 서열과 적어도 90% 서열 일치성을 갖는 VL; 또는 SEQ ID NO: 10 또는 18의 아미노산 서열을 포함하는 VH 및/또는 SEQ ID NO: 12 또는 20의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다. 특정 구체예에서, 항체는 SEQ ID NO: 10의 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 SEQ ID NO: 12의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다. 특정 구체예에서, 항체는 SEQ ID NO: 18의 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 SEQ ID NO: 20의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다. 특정 구체예에서, 항체는 SEQ ID NO: 36의 아미노산 서열을 포함하는 HC 및 SEQ ID NO: 35의 아미노산 서열을 포함하는 LC를 포함한다.

[0048] 일부 구체예에서, 항체는 SEQ ID NO: 29의 아미노산 서열을 포함하는 H-CDR3; SEQ ID NO: 27, 28, 및 29의 아미노산 서열을 포함하는 H-CDR1, H-CDR2, 및 H-CDR3; SEQ ID NO: 10 또는 18의 아미노산 서열과 적어도 90% 서열 일치성을 갖는 VH; SEQ ID NO: 10 또는 18의 아미노산 서열을 포함하는 VH; 또는 SEQ ID NO: 36의 아미노산 서열을 포함하는 HC를 포함하는 중쇄를 포함하고; SEQ ID NO: 32의 아미노산 서열을 포함하는 L-CDR3; SEQ ID NO: 30, 31, 및 32의 아미노산 서열을 각각 포함하는 L-CDR1, L-CDR2, 및 L-CDR3; SEQ ID NO: 12 또는 20의 아미노산 서열과 적어도 90% 서열 일치성을 갖는 VL; SEQ ID NO: 12 또는 20의 아미노산 서열을 포함하는 VL; 또는 SEQ ID NO: 35의 아미노산 서열을 포함하는 LC를 포함하는 경쇄를 추가로 포함한다.

[0049] 일부 구체예에서, 항체는 SEQ ID NO: 21, 22, 23, 24, 25, 및 26의 아미노산 서열을 각각 포함하는 H-CDR1, H-CDR2, H-CDR3, L-CDR1, L-CDR2, 및 L-CDR3을 갖는다.

[0050] 일부 구체예에서, 항체는 SEQ ID NO: 27, 28, 29, 30, 31, 및 32의 아미노산 서열을 각각 포함하는 H-CDR1, H-CDR2, H-CDR3, L-CDR1, L-CDR2, 및 L-CDR3을 갖는다.

[0051] 일부 구체예에서, 항체는 SEQ ID NO: 6 또는 14의 아미노산 서열과 적어도 90% 서열 일치성을 갖는 중쇄 가변 도메인(VH), 및 SEQ ID NO: 8 또는 16의 아미노산 서열과 적어도 90% 서열 일치성을 갖는 경쇄 가변 도메인(VL)을 갖는다.

[0052] 일부 구체예에서, 항체는 SEQ ID NO: 10 또는 18의 아미노산 서열과 적어도 90% 서열 일치성을 갖는 중쇄 가변 도메인(VH), 및 SEQ ID NO: 12 또는 20의 아미노산 서열과 적어도 90% 서열 일치성을 갖는 경쇄 가변 도메인(VL)을 갖는다.

- [0053] 일부 구체예에서, 항체는 SEQ ID NO: 6의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 도메인(VH), 및 SEQ ID NO: 8의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 도메인(VL)을 갖는다.
- [0054] 일부 구체예에서, 항체는 SEQ ID NO: 10의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 도메인(VH) 및 SEQ ID NO: 12의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 도메인(VL)을 갖는다.
- [0055] 일부 구체예에서, 항체는 SEQ ID NO: 14의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 도메인(VH) 및 SEQ ID NO: 16의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 도메인(VL)을 갖는다.
- [0056] 일부 구체예에서, 항체는 SEQ ID NO: 18의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 도메인(VH) 및 SEQ ID NO: 20의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 도메인(VL)을 갖는다.
- [0057] 일부 구체예에서, 항체는 SEQ ID NO: 34의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄(HC) 및 SEQ ID NO: 33의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄(LC)을 갖는다.
- [0058] 일부 구체예에서, 항체는 SEQ ID NO: 36의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄(HC) 및 SEQ ID NO: 35의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄(LC)을 갖는다.
- [0059] 본 발명은 본원에 기술된 인간화된 버전의 키메라 항체 및 항원-결합 부분, 특히, 각각 SEQ ID NO: 6 및 8, 또는 각각 SEQ ID NO: 10 및 12와 관련된 중쇄 아미노산 서열 및 경쇄 아미노산 서열을 갖는 항체 및 항원-결합 부분을 제공한다.
- [0060] 본원에 기술된 항체 및 항원-결합 부분의 일부 구체예에서, 항체는 아이소형 IgG일 수 있다. 특정 구체예에서, 항체는 아이소형 서브클래스 IgG1이다.
- [0061] 일부 구체예에서, 항체는 하기 기술된 것들로 이루어진 군으로부터 선택된, 적어도 하나의 성질, 또는 이러한 성질들의 임의 조합을 갖는다:
- 마우스 또는 닭 MET에 결합하지 않음;
 - SEMA 도메인 상에 존재하는 잔기를 포함하는 인간 MET의 에피토프에 결합함;
 - MET의 분해를 유도함;
 - 1×10^{-9} M 이하의 K_D로 인간 MET에 결합함;
- [0066] ● SNU5, EBC1, MKN45, KatoII, OE33, 및 Okajima로부터 선택된 적어도 하나의 세포주의 시험관내 성장을 억제함;
- [0067] ● MET 인산화를 억제함;
- [0068] ● MET 다운스트림 신호전달을 억제함;
- [0069] ● HGF의 존재 또는 부재 하에서 1차 내피 세포 증식을 억제함; 및
- [0070] ● 생체내에서 종양 성장을 억제함.
- [0071] 본 발명은 또한, 본원에 기술된 임의 항-MET 항체 또는 이의 항원-결합 부분 및 약제학적으로 허용되는 부형제를 포함하는 약제 조성물을 제공한다.
- [0072] 본 발명은 본원에 기술된 항-MET 항체의, 중쇄 또는 이의 항원-결합 부분을 엔코딩하는 뉴클레오티드 서열, 경쇄 또는 이의 항원-결합 부분을 엔코딩하는 뉴클레오티드 서열, 또는 둘 모두를 포함하는 단리된 핵산 분자를 제공한다. 일부 구체예에서, 단리된 핵산 분자는 SEQ ID NO: 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 또는 19로 이루어진 군으로부터 선택된 뉴클레오티드 서열을 포함한다.
- [0073] 본 발명은 또한, 단리된 핵산 분자를 포함하는 벡터를 제공하며, 여기서, 상기 벡터는 발현 조절 서열을 추가로 포함한다.
- [0074] 본 발명은 또한, 본원에 기술된 항-MET 항체의, 중쇄 또는 이의 항원-결합 부분을 엔코딩하는 뉴클레오티드 서열, 경쇄 또는 이의 항원-결합 부분을 엔코딩하는 뉴클레오티드 서열, 또는 둘 모두를 포함하는 숙주 세포를 제공한다. 일부 구체예에서, 숙주 세포는 SEQ ID NO: 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 또는 19로 이루어진 군으로부터 선택된 뉴클레오티드 서열을 포함한다.

- [0075] 본 발명은 또한, 본원에 기술된 항-MET 항체의, 중쇄 또는 이의 항원-결합 부분을 엔코딩하는 뉴클레오티드 서열, 경쇄 또는 이의 항원-결합 부분을 엔코딩하는 뉴클레오티드 서열, 또는 둘 모두를 포함하는 비-인간 형질전환 동물 또는 식물을 제공하며, 여기서, 상기 동물 또는 식물은 뉴클레오티드 서열(들)을 포함한다. 일부 구체예에서, 동물 또는 식물은 SEQ ID NO: 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 또는 19로 이루어진 군으로부터 선택된 뉴클레오티드 서열을 포함한다.
- [0076] 본 발명은 또한, 상술된 숙주 세포를 제공하고, 상기 숙주 세포를 항체 또는 부분의 발현을 위해 적합한 조건 하에서 배양하고, 얻어진 항체 또는 부분을 단리시키는 것을 포함하는, 본원에 기술된 항-MET 항체 또는 이의 항원-결합 부분을 제조하는 방법을 제공한다.
- [0077] 본 발명은 또한, 본원에 기술된 바와 같은 제1 항-MET 항체 또는 항원-결합 부분을 발현시킬 수 있는 제1 숙주 세포, 및 본원에 기술된 바와 같은 제2 항-MET 항체 또는 항원-결합 부분을 발현시킬 수 있는 제2 숙주 세포를 제공하고, 상기 제1 숙주 세포 및 제2 숙주 세포를 항체 또는 부분의 발현을 위해 적합한 조건 하에서 배양시키고, 얻어진 항체 또는 부분을 단리시키는 것을 포함하는, 본원에 기술된 항-MET 항체 조성물을 제조하는 방법을 제공한다. 특정 구체예에서, 제1 숙주 세포 및 제2 숙주 세포는 단일 생물반응기에서 배양된다. 다른 구체예에서, 제1 숙주 세포 및 제2 숙주 세포는 별도의 생물반응기에서 배양된다.
- [0078] 본 발명은 또한, 항-MET 항체 조성물을 발현시킬 수 있는 폴리클로날 세포주로서, 상기 폴리클로날 세포주가 본원에 기술된 바와 같은 제1 항-MET 항체 또는 이의 항원-결합 부분을 발현시킬 수 있는 제1 숙주 세포, 및 본원에 기술된 바와 같은 제2 항-MET 항체 또는 이의 항원-결합 부분을 발현시킬 수 있는 제2 숙주 세포를 포함하는 폴리클로날 세포주를 제공한다.
- [0079] 본 발명은 본원에 기술된 항-MET 항체 조성물의 제1 항-MET 항체 및 제2 항-MET 항체 또는 이의 항원-결합 부분의 결합 특이성을 갖는 이중특이성 결합 분자를 제공한다. 특정 구체예에서, 이중특이성 결합 분자는 H-CDR1, H-CDR2, H-CDR3, L-CDR1, L-CDR2, 및 L-CDR3이 SEQ ID NO: 21, 22, 23, 24, 25, 및 26의 아미노산 서열을 각각 포함하는 항체의 항원-결합 부분; 및 H-CDR1, H-CDR2, H-CDR3, L-CDR1, L-CDR2, 및 L-CDR3이 SEQ ID NO: 27, 28, 29, 30, 31, 및 32의 아미노산 서열을 각각 포함하는 항체의 항원-결합 부분을 포함한다.
- [0080] 본 발명은 또한, MET-매개 장애를 갖는 환자를 치료하는 방법으로서, 상기 환자에게 본원에 기술된 바와 같은 항-MET 항체 조성물, 또는 항-MET 항체 조성물을 포함하는 약제 조성물을 투여하는 것을 포함하는 방법을 제공한다.
- [0081] 본 발명은 또한, MET-매개 장애를 갖는 환자를 치료하는 방법으로서, 상기 환자에게 본원에 기술된 바와 같은 항-MET 항체 또는 항원-결합 부분, 또는 항-MET 항체 또는 항원-결합 부분을 포함하는 약제 조성물을 투여하는 것을 포함하는 방법을 제공한다.
- [0082] 본 발명은 또한, 암에 걸린 환자를 치료하는 방법으로서, 상기 환자에게 본원에 기술된 바와 같은 항-MET 항체 조성물 또는 항-MET 항체 조성물을 포함하는 약제 조성물을 투여하는 것을 포함하는 방법을 제공한다. 일부 구체예에서, 암은 MET 활성에 의존적이다. 특정 구체예에서, 암은 비-소세포 폐암, 위암, 간세포 암종, 식도암, 대장암, 유두상 신세포암, 교모세포종, 신세포 암종, 전립선암, 또는 부신피질 암종이다.
- [0083] 본 발명은 또한, 암에 걸린 환자를 치료하는 방법으로서, 상기 환자에게 본원에 기술된 바와 같은 항-MET 항체 또는 항원-결합 부분 또는 항-MET 항체 또는 항원-결합 부분을 포함하는 약제 조성물을 투여하는 것을 포함하는 방법을 제공한다. 또한, 본 발명은 암을 치료하기 위한 약제의 제조에서, 본원에 기술된 바와 같은 항-MET 항체 또는 항원-결합 부분 또는 항-MET 항체 또는 항원-결합 부분을 포함하는 약제 조성물의 용도를 제공한다. 또한, 본 발명은 암을 치료하는데 사용하기 위한 본원에 기술된 바와 같은 항-MET 항체 또는 항원-결합 부분 또는 항-MET 항체 또는 항원-결합 부분을 포함하는 약제를 제공한다. 일부 구체예에서, 암은 MET 활성에 의존적이다. 특정 구체예에서, 암은 비-소세포 폐암, 위암, 간세포 암종, 식도암, 대장암, 유두상 신세포암, 교모세포종, 신세포 암종, 전립선암, 또는 부신피질 암종이다. 특정 구체예에서, 치료는 또한, 화학치료제, 항신생물제, 항신생혈관제, 티로신 키나아제 억제제, 또는 다른 MET 경로 억제제의 투여를 포함한다.
- [0084] 본원에 기술된 치료 방법의 일부 구체예에서, 환자는 포유동물이다. 특정 구체예에서, 환자는 영장류이다. 특정 구체예에서, 환자는 인간이다.

도면의 간단한 설명

- [0085] 도 1은 서로에 대해 시험되는 13개의 MET 항체에 대한 경쟁 매트릭스(competition matrix)를 도시한 것이다. 예

피토프 빙(epitope bin)을 분화시키기 위해 적어도 50%의 억제가 사용되었다(회색 사각형). 점 사각형(dotted square): 단방향 경쟁(Unidirectional competition). 검정색 프레임의 사각형: 동일한 항체와의 경쟁.

도 2는 HEK293 세포 상에서 발현된 상이한 인간, 마우스, 닭 및 키메랄 MET 작제물에 대한 MET 항체의 결합의 개요를 도시한 것이다. 아미노산 서열 번호(AA)는 닭 또는 마우스 중 어느 하나로 교환된 인간 MET 서열을 지칭한다. 상이한 작제물의 계략적 예시가 도시되어 있다. 개개 도메인 또는 서브도메인이 명시된다: SP: 신호 펩티드. SV5-GPI: SV5 펩티드 서열 이후 글리신-세린 링커 및 GPI 앵커(anchor). 돌연변이 위치의 예시는 대략적인 것임을 주지한다. 백색 사각형: 인간 MET 서열. 회색 사각형: 닭 서열. 해치드 사각형(hatched square): 마우스 서열. 트랜스펙션된 세포에 대한 양성 결합은 +로서 명시된다. 약한 결합은 (+)로서 명시된다. 결합되지 않는 것은 -로서 명시된다.

도 3은 24 또는 48시간 동안 음성 대조 항체, 9006, 9338, 또는 9006+9338로 처리된 세포주에서 MET 수용체 수준의 웨스턴 블롯 분석 결과를 도시한 것이다.

도 4는 24시간 동안 음성 대조 항체, 9006+9338, 또는 C8-H241 항체 중 어느 하나로 처리된 세포주에서 MET 수준의 단순 웨스턴 분석 결과를 도시한 것이다.

도 5A 및 도 5B는 키메라 항체 9006 또는 9338 또는 항체 혼합물 9006+9338로 처리된 세포주에서 MET 인산화 수준의 단순 웨스턴 분석을 도시한 것이다.

도 6A 및 도 6B는 키메라 항체 9006 또는 9338 또는 항체 혼합물 9006+9338로 처리된 세포주에서 ERK2 및 AKT 인산화 수준의 단순 웨스턴 분석을 도시한 것이다.

도 7A는 키메라 항체 9006 또는 9338, 항체 혼합물 9006+9338, 또는 대조 항체로의 처리 후 HUVEC의 수를 도시한 것이다. 25 μ g/ml의 전체 항체를 사용한다(단독으로 그리고 항체 혼합물 둘 모두). 도 7B는 최종 시점, 404시간의 인큐베이션에서 검정 결과를 도시한 것이다. 데이터는 미처리된 세포로 정규화된다(100%).

도 8A는 20 ng/ml에서 HGF의 존재 하에, 키메라 항체 9006 또는 9338, 항체 혼합물 9006+9338, 또는 대조 항체로의 처리 후 HUVEC의 수를 도시한 것이다. 25 μ g/ml의 전체 항체를 사용한다(단독으로 그리고 항체 혼합물 둘 모두). 도 8B는 최종 시점, 404시간의 인큐베이션/HGF 자극화에서 검정 결과를 도시한 것이다. 데이터는 미처리된 세포로 정규화된다(100%).

도 9A 및 도 9B는 다양한 양의 키메라 항체 9338 및 9006(각각 A 및 B)으로의 처리 후 HUVEC의 수의 적정 곡선을 도시한 것이다.

도 10은 다양한 양의 항체 혼합물 9006+9338로의 처리 후 HUVEC의 수의 적정 곡선을 도시한 것이다.

도 11은 도 9 및 도 10으로부터의 최종 시점에서의 결과를 도시한 것이다. 데이터는 미처리된 세포에 대해 정규화된다.

도 12 내지 도 12C는 세포주 HCC827R1_cet#3(도 12A), HCC827R1_cet#1(도 12B) 및 MKN45(도 12C)에 대한 키메라(왼쪽 패널) 또는 인간화된(오른쪽 패널) 9006, 9338, 또는 9006+9338의 항-증식 효과를 명시한 대사 활성 검정 결과를 도시한 것이다.

도 13A 내지 도 13C는 세포주 EBC-1(도 13A), KatoII(도 13B), 및 Okajima(도 13C)에 대한 키메라(왼쪽 패널) 또는 인간화된(오른쪽 패널) 9006, 9338, 또는 9006+9338의 항-증식 효과를 명시한 대사 활성 검정 결과를 도시한 것이다.

도 14는 세포주 EBC1, MKN45, SNU5 및 KatoII에 대한 Hu9338+Hu9006, 13-MET, 28-MET 및 13-MET+28-MET 항체의 적정으로부터의 생존력 결과를 도시한 것이다.

도 15는 마우스에서 인간 비-소세포 폐암 세포주 EBC-1의 이종이식의 종양 성장에 대한 키메라 9006, 9338, 9006+9338, 또는 비히를 처리의 효과를 도시한 것이다. 회색 영역은 처리 시간을 나타낸 것이다.

도 16은 마우스에서 인간 비-소세포 폐암 세포주 EBC-1의 이종이식의 종양 성장에 대한 비히를 처리와 비교된 4개의 상이한 농도에서의 키메라 9006+9338로의 처리 효과를 도시한 것이다. 회색 영역은 처리 시간을 나타낸 것이다.

도 17은 마우스에서 인간 위암 세포주 MKN-45의 이종이식의 종양 성장에 대한 키메라 9006, 9338, 9006+9338, 또는 비히를 처리 효과를 도시한 것이다. 회색 영역은 처리 시간을 나타낸 것이다.

도 18은 마우스에서 인간 위암 세포주 SNU5의 이종이식의 종양 성장에 대한 키메라 9006, 9338, 9006+9338, 또는 비히를 처리 효과를 도시한 것이다. 회색 영역은 처리 시간을 나타낸 것이다.

도 19는 마우스에서 인간 HCC 환자 유도된 이종이식 모델 LI1037의 이종이식의 종양 성장에 대한 키메라 항체 혼합물 9006+9338 또는 비히를 처리 효과를 도시한 것이다. 회색 영역은 처리 시간을 나타낸 것이다.

도 20은 인간 비소세포 폐암 세포주 EBC-1의 이종이식의 종양 성장에 대한 9006+9338, Hu9006+Hu9338 또는 비히를 처리 효과를 도시한 것이다. 회색 영역은 처리 시간을 나타낸 것이다.

도 21은 인간 식도위암 세포주 OE33의 이종이식의 종양 성장에 대한 키메라 9006+9338, 인간화된 9006+9338 (Hu9006+Hu9338), 또는 비히를 처리 효과를 도시한 것이다. 회색 영역은 처리 시간을 나타낸 것이다.

도 22는 인간 비-소세포 폐암 세포주 EBC-1(그룹 당 n=10 마우스)의 이종이식의 종양 성장에 대한 C8-H241, Hu9006+Hu9338 또는 비히를 처리 효과를 도시한 것이다. 회색 영역은 처리 시간을 나타낸 것이다. 점선은 Hu9006+Hu9338로의 C8-H241 처리군에서 나머지 마우스(n=4)의 재-처리의 개시를 나타낸 것이다.

도 23은 인간 위암 세포주 Hs746T(그룹 당 n=8 마우스)의 이종이식의 종양 성장에 대한 C8-H241, Hu9006, Hu9338, Hu9006+Hu9338 또는 비히를 처리 효과를 도시한 것이다. 회색 영역은 처리 시간을 나타낸 것이다. 점선은 C8-H241, Hu9006 및 Hu9338 그룹에서의 나머지 마우스의 Hu9006+Hu9338로의 단일 용량 재-처리를 나타낸 것이다.

도 24는 4마리의 환자 유도된 이종이식 모델(LU0858, L1901 및 LU2503에 대한 그룹 당 n=5 마우스; LXFA0526에 대한 그룹 당 n=8 마우스)에서의 종양 성장에 대한 C8-H241, Hu9006+Hu9338 또는 비히를 처리 효과를 도시한 것이다. 회색 영역은 처리 시간을 나타낸 것이다.

도 25는 인간 비-소세포 폐암 세포주 EBC-1(그룹 당 n=8 마우스)의 이종이식의 종양 성장에 대한 균형을 맞춘 또는 편향된 비율의 Hu9006+Hu9338 또는 비히를 처리 효과를 도시한 것이다. 회색 영역은 초기 처리 시간을 나타낸 것이다.

도 26은 키메라 9006 항체(SEQ ID NO: 5-8)의 중쇄 및 경쇄 가변 도메인 뉴클레오티드 및 아미노산 서열을 도시한 것이다. CDR(SEQ ID NO: 21-26)은 화살표에 의해 표시되어 있다.

도 27은 키메라 9338 항체(SEQ ID NO: 9-12)의 중쇄 및 경쇄 가변 도메인 뉴클레오티드 및 아미노산 서열을 도시한 것이다. CDR(SEQ ID NO: 27-32)은 화살표에 의해 표시되어 있다.

도 28은 인간화된 9006 항체(SEQ ID NO: 13-16)의 중쇄 및 경쇄 가변 도메인 뉴클레오티드 및 아미노산 서열을 도시한 것이다. CDR은 화살표에 의해 표시되어 있다(SEQ ID NO: 21-26).

도 29는 인간화된 9338 항체(SEQ ID NO: 17-20)의 중쇄 및 경쇄 가변 도메인 뉴클레오티드 및 아미노산 서열을 도시한 것이다. CDR(SEQ ID NO: 27-32)은 화살표에 의해 표시되어 있다.

도 30은 인간 항체 9006(각각 SEQ ID NO: 33 및 34) 및 인간화된 항체 9338(SEQ ID NO: 35 및 36)의 전장 경쇄 및 중쇄 아미노산 서열을 도시한 것이다. CDR은 화살표에 의해 표현되어 있다.

도 31은 MET의 구조를 도시한 것이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0086]

정의 및 일반적인 기술

[0087]

본원에서 달리 정의하지 않는 한, 본 발명과 관련하여 사용되는 과학용어 및 기술용어는 당업자에 의해 통상적으로 이해되는 의미를 가질 것이다. 예시적인 방법 및 물질이 하기에 기술되어 있으며, 본 발명의 실행 또는 시험에서 본원에 기술된 것과 유사하거나 균등한 방법 및 물질들이 또한 사용될 수 있다. 본원에서 언급된 모든 공개문 및 다른 참조문헌은 그 전문이 참고로 포함된다. 상충되는 경우에, 이러한 정의를 포함하는 본 명세서가 조정할 것이다. 다수의 문현들이 본원에 인용되어 있지만, 이러한 인용문은 임의 이러한 문현들이 당해 분야의 공통의 일반 지식의 일부를 인정하는 것으로 여겨지지 않는다.

[0088]

또한, 문맥에 의해 달리 요구되지 않는 한, 단수 용어는 복수를 포함할 것이며, 복수 용어는 단수를 포함할 것이다. 일반적으로, 본원에 기술되는 세포 및 조직 배양, 분자 생물학, 면역학, 미생물학, 유전자학, 분석 화학, 합성 유기 화학, 의료 및 의약 화학, 및 단백질 및 핵산 화학 및 하이브리다이제이션(hybridization)과 관련하

여 사용되는 명명법 및 이의 교시는 당해 분야에서 널리 공지되고 일반적으로 사용되는 것이다. 효소 반응 및 정제 기술은, 당해 분야에서 통상적으로 달성되거나 본원에 기술된 바와 같이, 제조업체 사양에 따라 수행된다.

[0089] 이러한 명세서 및 구체예 전반에 걸쳐, 단어 "가지다" 및 "포함하다", 또는 변형예, 예를 들어, "갖는" 또는 "포함하는"은 기술된 정수 또는 정수들의 그룹을 포함하지만, 임의 다른 정수 또는 정수들의 그룹을 배제하는 것을 시사하는 것으로 이해될 것이다.

[0090] 항체-관련 정의

[0091] 달리 기술하지 않는 한, 본원에서 사용되는 "MET"는 인간 MET를 지칭한다(달리 인간 c-MET로서 공지됨). 인간 MET 폴리펩티드 서열은 NCBI 등록 번호 NM_000245.2로 입수 가능하고, 본원에서 SEQ ID NO: 1로 나타낸다. 달리 기술하지 않는 한, "인간 MET"는 SEQ ID NO: 1의 아미노산 서열을 지칭한다. 인간 MET는 또한, 19개의 아미노산이 IPT 도메인 3에 삽입된 상이한 아이소형(isoform)으로 존재한다(755-755: S → STWWKEPLNIVSFLFCFAS (SEQ ID NO: 2)).

[0092] 본원에서 사용되는 용어 "항체"(Ab) 또는 "면역글로불린"(Ig)은 디설파이드 결합에 의해 상호 연결된 두 개의 중쇄(H)(약 50 내지 70 kDa) 및 두 개의 경쇄(L)(약 25 kDa)를 포함하는 테트라머를 지칭한다. 각 중쇄는 중쇄 가변 도메인(VH) 및 중쇄 불변 영역(CH)으로 이루어진다. 각 경쇄는 경쇄 가변 도메인(VL) 및 경쇄 불변 영역(CL)으로 이루어진다. VH 도메인 및 VL 도메인은 "프레임워크 영역"(FR)으로 지칭되는, 더욱 보존적인 영역에 배치된, "상보 결정 영역"(CDR)으로 지칭되는, 초가변성(hypervariability)의 영역으로 추가로 세분화될 수 있다. 각 VH 및 VL은 하기 순서로 아미노-말단에서 카복실-말단으로 배열된 3개의 CDR(본원에서 H-CDR은 중쇄로부터의 CDR을 명시하며, 본원에서 L-CDR은 경쇄로부터의 CDR을 명시함), 및 4개의 FR로 이루어진다: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4. 각 영역에 대한 아미노산의 배치는 IMGT® 정의[Lefranc et al., Dev Comp Immunol 27(1):55-77 (2003)]; 또는 코베트의 정의[Sequences of Proteins of Immunological Interest (National Institutes of Health, Bethesda, MD (1987 및 1991); Chothia & Lesk, J. Mol. Biol. 196:901-917 (1987); 또는 Chothia et al., Nature 342:878-883 (1989)]에 따를 수 있다.

[0093] 용어 "재조합 항체"는 항체를 엔코딩하는 뉴클레오티드 서열(들)을 포함하는 세포 또는 세포주로부터 발현되는 항체를 지칭하며, 여기서, 상기 뉴클레오티드 서열(들)은 자연적으로 세포와 관련되어 있지 않다.

[0094] 용어 "항체 조성물"은 둘 이상의 항체 또는 이의 항원-결합 부분의 조합을 지칭한다. 항체 조성물은 모노클로날(즉, 동일한 항체 또는 항원 결합 부분 분자로 이루어짐) 또는 폴리클로날(즉, 동일한 항원 상의 또는 심지어 별개의 상이한 항원 상의 동일하거나 상이한 에피토프와 반응하는 둘 이상의 상이한 항체 또는 항원-결합 부분으로 이루어짐)일 수 있다.

[0095] 용어 "단리된 단백질," "단리된 폴리펩티드" 또는 "단리된 항체"는 이의 기원 또는 유도 소스에 의해 (1) 이의 본래 상태에서 수반되는 본래 결합된 성분들과 결합되지 않거나, (2) 동일한 종으로부터의 다른 단백질이 존재하지 않거나, (3) 상이한 종으로부터의 세포에 의해 발현되거나, (4) 자연에서 발생하지 않는, 단백질, 폴리펩티드 또는 항체를 지칭한다. 이에 따라, 자연적으로 유래하는 세포와는 상이한 화학적으로 합성되거나 세포계에서 합성되는 폴리펩티드는 이의 본래 결합된 성분으로부터 "단리"될 것이다. 단백질은 또한, 당해 분야에 널리 공지된 단백질 정제 기술을 이용하여, 단리에 의해 본래 결합된 성분들이 실질적으로 존재하지 않게 제공될 수 있다.

[0096] 본원에서 사용되는 용어 "생식 계열"은 생식 세포를 통해 부모에서 자식으로 진행됨에 따라 항체 유전자 및 유전자 세그먼트의 뉴클레오티드 및 아미노산 서열을 지칭한다. 생식 계열 서열은 성숙한 B 세포에서 항체를 엔코딩하는 뉴클레오티드 서열과 구별되며, 이는 B 세포 성숙의 과정 동안 재조합 및 과돌연변이 사건에 의해 달라진 것이다. 특정 생식 계열 서열을 "사용"하는 항체는 그러한 생식 계열 뉴클레오티드 서열과 또는 임의 다른 생식 계열 뉴클레오티드 또는 아미노산 서열 보다 더욱 밀접하게 특정하는 아미노산 서열과 정렬하는 뉴클레오티드 또는 아미노산 서열을 갖는다.

[0097] 용어 "친화력"은 항원과 상체 간의 인력의 척도를 지칭한다. 항원에 대한 항체의 고유 친화성을 통상적으로, 특정 항체-항원 상호작용의 결합 친화력 평형 상수(K_D)로서 표현된다. 항체는 K_D 가 $\leq 1 \text{ mM}$, 바람직하게, $\leq 100 \text{ nM}$ 일 때, 항원에 특이적으로 결합한다고 한다. K_D 결합 친화력 상수는 예를 들어, 표면 플라스민 공명(BIAcore™) 또는 바이오-레이어 간섭콜질측정법(Bio-Layer Interferometry)에 의해, 예를 들어, Octet™ 시스템

을 이용하여 측정될 수 있다.

[0098] 용어 "k_{off}"는 특정 항체 항원 상호작용의 해리 속도 상수를 지칭한다. k_{off} 해리 속도 상수는 예를 들어, Octet™ 시스템을 이용한 바이오-레이어 간섭굴절법(Bio-Layer Interferometry)에 의해 또는 표면 플라스몬 공명(BIAcore™)에 의해 측정될 수 있다.

[0099] 본원에서 사용되는 용어 "에피토프"는 항체 또는 관련된 분자, 예를 들어, 이중특이성 결합 분자에 특이적으로 결합하는 부분(결정인자)을 지칭하는 것이다. 에피토프성 결정 인자는 일반적으로 분자의 화학적 활성 표면 그룹핑, 예를 들어, 아미노산 또는 탄수화물 또는 당 측쇄로 이루어지고, 일반적으로 특정 3차원 구조 특징, 뿐만 아니라 특정 전하 특징을 갖는다. 에피토프는 "선형"이거나 "구조적(conformational)"일 수 있다. 선형 에피토프에서, 단백질(예를 들어, 항원)과 상호작용하는 분자(예를 들어, 항체) 간의 모든 상호작용 포인트는 단백질의 1차 아미노산 서열을 따라 선형으로 일어난다. 구조적 에피토프에서, 상호작용 포인트는 1차 아미노산 서열에서 서로 분리되어 있는 단백질 상의 아미노산 잔기를 가로질러 일어난다. 항원 상의 요망되는 에피토프가 결정된 직후에, 당해 분야에 널리 공지된 기술을 이용하여 그러한 에피토프에 항체를 생성시키는 것이 가능하다. 또한, 항체의 생성 및 특징분석은 요망되는 에피토프에 대한 정보를 설명할 수 있다. 이러한 정보로부터, 예를 들어, 항원에 대한 결합을 위해 경쟁하는 항체를 발견하기 위한 경쟁 연구를 수행함으로써, 동일하거나 유사한 에피토프에 대한 결합을 위한 항체를 경쟁적으로 스크리닝하는 것이 가능하다.

[0100] 당해 분야에 공지된 방법을 이용함으로써 항체가 항-MET 항체와 동일한 에피토프에 결합하는지 또는 이러한 항체와 결합시키기 위해 경쟁하는지의 여부가 결정될 수 있다. 일 구체예에서, 당업자는 본 발명의 항-MET 항체를 포화 조건 하에서 MET에 결합시키고, 이후에, MET에 결합하는 시험 항체의 능력을 측정할 수 있다. 시험 항체가 참조 항-MET 항체와 동시에 MET에 결합할 수 있는 경우에, 시험 항체는 참조 항-MET 항체와는 상이한 에피토프에 결합한다. 그러나, 시험 항체가 동시에 MET에 결합하지 못하는 경우에, 시험 항체는 동일한 에피토프, 중첩하는 에피토프, 또는 본 발명의 항-MET 항체에 의해 결합된 에피토프에 매우 근접한 에피토프에 결합한다. 이러한 실험은 ELISA, RIA, BIACORETM, 바이오-레이어 간섭굴절측정법 또는 유동세포 분석법을 이용하여 수행될 수 있다. 항-MET 항체가 다른 항-MET 항체와 교차-경쟁적인지를 시험하기 위해, 당업자는 즉, 공지된 항체가 시험 항체를 블로킹하거나 그 반대로 블로킹하는지를 결정하는, 두 가지 방향으로 상술된 경쟁 방법을 사용할 수 있다. 바람직한 구체예에서, 실험은 Octet™를 이용하여 수행된다.

[0101] 용어 "키메라 항체"는 가장 넓은 의미에서, 하나의 항체로부터의 하나 이상의 영역, 및 하나 이상의 다른 항체로부터의 하나 이상의 영역을 함유하는 항체를 지칭하며, 통상적으로, 항체는 일부 인간 기원 및 일부 비-인간 기원이고, 즉 부분적으로 비-인간 동물, 예를 들어, 마우스, 랙트 또는 다른 설치류, 또는 조류, 예를 들어, 닭으로부터 유도된 것이다. 키메라 항체는 인간 항-항체 반응, 예를 들어, 뮤린 항체의 경우 인간 항-마우스 항체 반응의 위험을 감소시키기 위해 비-인간 항체에 비해 바람직하다. 통상적인 키메라 항체의 예는 가변 영역 서열이 뮤린이고 불변 영역 서열이 인간인 항체이다. 키메라 항체의 경우에, 비-인간 부분은 항체를 인간화하기 위해 추가 개조될 수 있다. 본원에 기술된 키메라 항체는 뮤린 가변 도메인 서열 및 인간 불변 도메인 서열을 갖는다.

[0102] 용어 "인간화하다(humanize)"는 항체가 전부 또는 일부 비-인간 기원, 예를 들어, 고려되는 항원을 갖는 마우스의 면역화로부터 얻어진 뮤린 항체 또는 이러한 뮤린 항체를 기초로 한 키메라 항체인 경우에, 인간에서 면역 반응을 방지하거나 최소화하기 위해, 특히, 중쇄 및 경쇄의 프레임워크 영역 및 불변 도메인에서 특정 아미노산을 대체하는 것이 가능하다는 사실을 지칭하는 것이다. 타겟 항원과의 항체의 상호작용의 특이성은 주로 중쇄 및 경쇄의 6개의 CDR에 위치된 아미노산 잔기에 존재한다. 이에 따라, CDR 내의 아미노산 서열은 CDR 외측의 서열 보다 개별 항체 간에 훨씬 더욱 가변적이다. CDR 서열이 대부분의 항체-항원 상호작용의 원인이 되기 때문에, 예를 들어, 상이한 항체로부터의 프레임워크 서열에 그라프팅된 특정 항체로부터의 CDR 서열을 발현시키는 발현 벡터를 작제화함으로써, 특정 자연 발생 항체, 또는 보다 일반적으로 제공된 아미노산 서열을 갖는 임의 특정 항체의 성질들을 모방하는 재조합 항체를 발현시키는 것이 가능하다. 결론적으로, 비-인간 항체를 "인간화"하고 또한 본래 항체의 결합 특이성 및 친화력을 실질적으로 유지하는 것이 가능하다. 특정 항체의 면역 원성 및 이에 의한 인간 항-항체 반응을 정확하게 예측하는 것이 가능하지 않지만, 비-인간 항체는 인간 항체에 비해 더욱 면역원성을 나타내는 경향이 있다. 외래(대개, 설치류) 불변 영역이 인간 기원의 서열로 대체된 키메라 항체는 완전 외래 기원의 항체에 비해 덜 면역원성인 것으로 나타나었으며, 치료 항체의 경향은 인간화된 또는 완전 인간 항체으로 향하고 있다. 이에 따라, 키메라 항체 또는 비-인간의 다른 항체는 인간 항-항체 반응의

위험을 감소시키기 위해 인간화될 수 있다.

[0103] 키메라 항체에 대하여, 인간화는 통상적으로, 가변 영역 서열의 프레임워크 영역의 개질을 포함한다. 보체 결정 인자(CDR)의 일부인 아미노산 잔기는 아주 종종 인간화와 관련하여 달라지지 않으며, 특정 경우에, 개개 CDR 아미노산 잔기를 변경시키고, 예를 들어, 글리코실화 사이트, 탈아미드화 사이트, 아스파르테이트 이성질화 사이트 또는 요망되지 않는 시스테인 또는 메티오닌 잔기를 제거하는 것이 요망될 수 있다. N-결합된 글리코실화는 트리펩타드 서열 Asn-X-Ser 또는 Asn-X-Thr에서 아스파라긴 잔기에 대한 올리고당 사슬의 결합에 의해 일어나며, 여기서, X는 Pro 이외의 임의 아미노산일 수 있다. N-글리코실화 사이트의 제거는 바람직하게, 보존적 치환에 의해, Asn 또는 Ser/Thr 잔기 중 어느 하나를 상이한 잔기로 돌연변이화시킴으로써 달성될 수 있다. 아스파라긴 및 글루타민 잔기의 탈아미드화는 pH 및 표면 노출과 같은 인자에 따라 일어날 수 있다. 아스파라긴 잔기는 주로, 서열 Asn-Gly에 보다 적은 정도로, 다른 디펩타드 서열, 예를 들어, Asn-Ala에 존재할 때 특히 탈아미드화되게 쉽다. 이러한 탈아미드화 사이트, 특히, Asn-Gly이 CDR 서열에 존재할 때, 이에 따라, 통상적으로 관련된 잔기들 중 하나를 제거하기 위해 보존적 치환에 의해, 사이트를 제거하는 것이 요망될 수 있다.

[0104] 항체 서열의 인간화시키는 여러 방법은 당해 분야에 공지되어 있다[예를 들어, 문헌[the review by Almagro & Fransson, *Front Biosci.* 13:1619-1633 (2008)] 참조]. 하나의 일반적으로 사용되는 방법은 CDR 그라프팅이 있는데, 이는 예를 들어, 뮤린-유도 키메라 항체가 뮤린 가변 영역 유전에 대한 인간 생식 계열 유전자 대응물의 동정 및 이러한 프레임워크에 뮤린 CDR 서열의 그라프팅을 포함한다. CDR 그라프팅은 Kabat CDR 정의를 기초로 할 수 있으며, 보다 최근의 공개문[Magdelaine-Beuzelin et al., *Crit Rev Oncol Hematol.* 64:210-225 (2007)]에는, IMGT[®] 정의(international ImMunoGeneTics information system[®], www.imgt.org)가 인간화의 결과를 개선시킬 수 있다는 것이 제시되어 있다[문헌[Lefranc et al., *Dev. Comp Immunol.* 27:55-77 (2003)] 참조]. 일부 경우에, CDR 그라프팅은 CDR이 수득된 모 항체와 비교하여 CDR-그라프팅된 비-인간 항체의 결합 특이성 및 친화력을 감소시킬 수 있고, 이에 따라, 이의 생물학적 활성을 감소시킬 수 있다. 역 돌연변이(때때로 "프레임워크 보수(framework repair)"로서 지칭됨)는 제시된 항체의 결합 특이성 및 친화력을 재확립시키기 위해, CDR-그라프팅된 항체의 선택된 위치에, 통상적으로 프레임워크 영역에 도입될 수 있다. 가능한 역 돌연변이를 위한 위치의 확인은 문헌 및 항체 데이터베이스에서 입수 가능한 정보를 사용하여 수행될 수 있다. 역 돌연변이를 위한 후보물질인 아미노산 잔기는 통상적으로, 항체 분자의 표면에 위치된 것이며, 매장되거나 낮은 정도의 표면 노출을 갖는 잔기는 일반적으로 변경되지 않을 것이다. CDR 그라프팅 및 역 돌연변이에 대한 대안적인 인간화 기술이 다시 표면처리되며, 여기서, 비-인간 기원의 비-표면 노출된 잔기가 보유되며, 표면 잔기는 인간 잔기로 변경된다.

[0105] 특정 경우에, 또한, 타겟 에피토프에 대한 결합 친화력을 개선시키기 위해 하나 이상의 CDR 아미노산 잔기를 개조시키는 것이 바람직할 수 있다. 이는 "친화력 성숙(affinity maturation)"으로서 알려져 있고, 임의적으로, 예를 들어, 항체의 인간화가 감소된 결합 특이성 또는 친화력을 야기시키고 단지 역 돌연변이에 의해 결합 특이성 또는 친화력을 충분히 개선시키는 것이 가능하지 않는 상황에서 인간화와 관련하여 수행될 수 있다. 다양한 친화력 성숙 방법, 예를 들어, 문헌[Burks et al., *Proc Natl Acad Sci USA*, 94:412?417 (1997)]에 의해 기술된 단계별 시험관내 스캐닝 포화 돌연변이 유발 방법(stepwise in vitro scanning saturation mutagenesis method) 및 문헌[Wu et al. *Proc Natl Acad Sci USA* 95:6037-6042 (1998)]의 시험관내 친화력 성숙 방법이 당해 분야에 공지되어 있다.

[0106] 본원에서 사용되는 항체(또는 단순하게 "항체 부분")의 용어 "항원-결합 부분"은 항원(예를 들어, 인간 MET, 또는 이의 부분)에 특이적으로 결합하는 능력을 보유한 항체의 하나 이상의 부분 또는 분절을 지칭한다. 이는 전장 항체의 특정 분절이 항체의 항원-결합 기능을 수행할 수 있다는 것을 나타낸다. 용어 "항원-결합 부분" 내에 포함되는 결합 분절의 예는 (i) Fab 분절: VL, VH, CL 및 CH1 도메인으로 이루어진 1가 분절; (ii) F(ab')₂ 분절: 한지 영역에서 디설파이드 브릿지에 의해 연결된 두 개의 Fab 분절들을 포함하는 2가 분절; (iii) VH 및 CH1 도메인으로 이루어진 Fd 분절; (iv) 항체의 단일 암의 VL 및 VH 도메인으로 이루어진 Fv 분절, (v) VH 도메인으로 이루어진 dAb 분절; 및 (vi) 항원에 특이적으로 결합할 수 있는 단리된 상보 결정 영역(CDR)을 포함한다. 또한, Fv 분절의 두 가지 도메인, VL 및 VH가 별개의 유전자에 의해 엔코딩되지만, 이러한 것은 1가 분자(단체 Fv(scFv)로서 공지됨)를 형성시키기 위해 VL 및 VH 영역이 쌍을 이루는 단일 단백질 사슬로서 이루어질 수 있는 합성 링커에 의해, 재조합 방법을 이용하여 결합될 수 있다. 또한, 본 발명 내에, VH 및/또는 VL을 포함하는 항원-결합 분자가 있다. VH의 경우에, 분자는 또한, CH1, 한지, CH2, 또는 CH3 영역 중 하나 이상을 포함할 수 있다. 이러한 단체 항체는 또한, 항체의 용어 "항원-결합 부분" 내에 포함되는 것으로 의도된다. 다른 형태의 단체 항체, 예를 들어, 이중체가 또한 포함된다. 이중체는 VH 도메인 및 VL 도메인이 단일 폴리펩티

드 사슬 상에서 그리고 너무 짧아서 동일한 사슬 상의 두 개의 도메인 사이에서 쌍을 이룰 수 있는 링커를 이용하여 발현되는 2가, 이중특이성 항체이며, 이에 의해, 도메인이 다른 사슬의 상보적 도메인과 쌍을 이루게 하고, 두 개의 항원-결합 사이트를 생성시킨다.

[0107] 항체 부분, 예를 들어, Fab 및 $F(ab')_2$ 분절은 전체 항체의 파파인(papain) 또는 펩신 소화와 같은 통상적인 기술을 이용하여 전체 항체로부터 제조될 수 있다. 또한, 항체, 항체 부분 및 면역접합 분자는 예를 들어, 본원에 기술된 표준 제조합 DNA 기술을 이용하여 수득될 수 있다.

[0108] 일 구체예에서, 본 발명의 항체는 모노클로날 항체이다. 본원에서 사용되는 두음문자(acronym) "mAb"는 모노클로날 항체, 즉, 세포의 개개 클론 집단(clonal population)에 의해 합성되고 분비된 항체를 지칭한다. 클론 집단은 불명성 세포(immortalized cell)의 클론 집단일 수 있다. 일부 구체예에서, 클론 집단에서 무한증식 세포는 통상적으로 림프구성 종양(lymphocytic tumour)으로부터의 개개 세포와 면역화된 동물로부터의 개개 B 림프구의 융합에 의해 형성되는, 하이브리드 세포(hybrid cell), 즉 하이브리도마(hybridoma)이다.

[0109] 항-MET 항체의 클래스(아이소형) 및 서브클래스는 당해 분야에 공지된 임의 방법에 의해 결정될 수 있다. 일반적으로, 항체의 클래스 및 서브클래스는 항체의 클래스 및 서브클래스에 대해 특이적인 항체를 사용하여 결정될 수 있다. 이러한 항체는 상업적으로 입수 가능하다. 클래스 및 서브클래스는 ELISA, 웨스턴 븍롯(Western Blot), 뿐만 아니라 다른 기술들에 의해 결정될 수 있다. 대안적으로, 클래스 및 서브클래스는 이의 아미노산 서열을 면역글로불린의 다양한 클래스 및 서브클래스의 공지된 아미노산 서열과 비교하고 항체의 클래스 및 서브클래스를 결정하여, 항체의 중쇄 및/또는 경쇄의 불변 도메인 모두 또는 이의 일부를 서열화시킴으로써 결정될 수 있다.

항-MET 항체

[0111] 본 발명은 인간 MET에 대한 항체 또는 상기 항체의 항원-결합 부분에 관한 것이다. 본 발명은 키메라 형태 및 인간화된 형태 둘 모두의 신규한 항-MET 항체 9006 및 9338을 제공한다. 도 26 내지 도 30은 이러한 항체의 전장(HC 및 LC) 및 가변 도메인 (VH 및 VL) 중쇄 및 경쇄 뉴클레오티드 및 아미노산 서열을 도시한 것이다. 하기 표 1은 이러한 서열의 SEQ ID NO를 제공한다. 하기 표 2는 (키메라 형태와 인간화된 형태 간에 동일한) 항체 9006 및 9338의 중쇄 및 경쇄 CDR 아미노산 서열에 대한 SEQ ID NO를 제공한다. CDR 서열은 IMGT® 정의에 따라 지정되었다.

표 1: 항체 9006 및 9338의 중쇄 가변 도메인 및 경쇄 가변 도메인의 뉴클레오티드 및 아미노산 서열에 대한 SEQ ID NO

	키메라				인간화된					
	VH		VL		VH		VL		HC	LC
	DNA	단백질	DNA	단백질	DNA	단백질	DNA	단백질	단백질	단백질
9006	5	6	7	8	13	14	15	16	34	33
9338	9	10	11	12	17	18	19	20	36	35

표 2: 항체 9006 및 9338의 CDR의 아미노산 서열에 대한 SEQ ID NO

	H-CDR1	H-CDR2	H-CDR3	L-CDR1	L-CDR2	L-CDR3
9006	21	22	23	24	25	26
9338	27	28	29	30	31	32

[0116] 특정 구체예에서, 본 발명은

[0117] - SEQ ID NO: 21, 22, 23, 24, 25, 및 26의 아미노산 서열을 각각 포함하는 H-CDR1, H-CDR2, H-CDR3, L-CDR1, L-CDR2, 및 L-CDR3을 갖는 항체와 인간 MET에 대한 결합을 위해 경쟁적인 항-MET 항체 또는 이의 항원-결합 부분;

[0118] - SEQ ID NO: 21, 22, 23, 24, 25, 및 26의 아미노산 서열을 각각 포함하는 H-CDR1, H-CDR2, H-CDR3, L-CDR1, L-CDR2, 및 L-CDR3을 갖는 항체와 인간 MET에 대한 결합을 위해 경쟁적인 항-MET 항체 또는 이의 항원-결합 부분;

[0119] - SEQ ID NO: 6의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 도메인 및 SEQ ID NO: 8의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 도메인을 갖는 항체와 인간 MET에 대한 결합을 위해 경쟁적인 항-MET 항체 또는 이의 항원-결합 부분;

- [0120] - SEQ ID NO: 14의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 도메인 및 SEQ ID NO: 16의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 도메인을 갖는 항체와 인간 MET에 대한 결합을 위해 경쟁적인 항-MET 항체 또는 이의 항원-결합 부분;
- [0121] - SEQ ID NO: 6의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 도메인 및 SEQ ID NO: 8의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 도메인을 갖는 항체와 동일한 인간 MET의 에피토프에 결합하는 항-MET 항체 또는 이의 항원-결합 부분;
- [0122] - SEQ ID NO: 14의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 도메인 및 SEQ ID NO: 16의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 도메인을 갖는 항체와 동일한 인간 MET의 에피토프에 결합하는 항-MET 항체 또는 이의 항원-결합 부분;
- [0123] - SEQ ID NO: 27, 28, 29, 30, 31, 및 32의 아미노산 서열을 각각 포함하는 H-CDR1, H-CDR2, H-CDR3, L-CDR1, L-CDR2, 및 L-CDR3을 갖는 항체와 인간 MET에 대한 결합을 위해 경쟁적인 항-MET 항체 또는 이의 항원-결합 부분;
- [0124] - SEQ ID NO: 27, 28, 29, 30, 31, 및 32의 아미노산 서열을 각각 포함하는 H-CDR1, H-CDR2, H-CDR3, L-CDR1, L-CDR2, 및 L-CDR3을 갖는 항체와 동일한 인간 MET의 에피토프에 결합하는 항-MET 항체 또는 이의 항원-결합 부분;
- [0125] - SEQ ID NO: 10의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 도메인 및 SEQ ID NO: 12의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 도메인을 갖는 항체와 인간 MET에 대한 결합을 위해 경쟁적인 항-MET 항체 또는 이의 항원-결합 부분;
- [0126] - SEQ ID NO: 18의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 도메인 및 SEQ ID NO: 20의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 도메인을 갖는 항체와 인간 MET에 대한 결합을 위해 경쟁적인 항-MET 항체 또는 이의 항원-결합 부분;
- [0127] - SEQ ID NO: 10의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 도메인 및 SEQ ID NO: 12의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 도메인을 갖는 항체와 동일한 인간 MET의 에피토프에 결합하는 항-MET 항체 또는 이의 항원-결합 부분;
- [0128] - SEQ ID NO: 18의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 도메인 및 SEQ ID NO: 20의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 도메인을 갖는 항체와 동일한 인간 MET의 에피토프에 결합하는 항-MET 항체 또는 이의 항원-결합 부분;
- [0129] - SEQ ID NO: 34의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 SEQ ID NO: 33의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 갖는 항체와 인간 MET에 대한 결합을 위해 경쟁적인 항-MET 항체 또는 이의 항원-결합 부분;
- [0130] - SEQ ID NO: 36의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 SEQ ID NO: 35의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 갖는 항체와 인간 MET에 대한 결합을 위해 경쟁적인 항-MET 항체 또는 이의 항원-결합 부분;
- [0131] - SEQ ID NO: 34의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 SEQ ID NO: 33의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 갖는 항체와 동일한 인간 MET의 에피토프에 결합하는 항-MET 항체 또는 이의 항원-결합 부분; 및
- [0132] - SEQ ID NO: 36의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 SEQ ID NO: 35의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 갖는 항체와 동일한 인간 MET의 에피토프에 결합하는 항-MET 항체 또는 항원-결합 부분을 제공한다.
- [0133] 일 구체예에서, 본 발명은 SEQ ID NO: 23 또는 29의 아미노산 서열을 포함하는 H-CDR3을 갖는 항-MET 항체 또는 이의 항원-결합 부분을 제공한다. 일 구체예에서, 본 발명은 SEQ ID NO: 26 또는 32의 아미노산 서열을 포함하는 L-CDR3을 갖는 항-MET 항체 또는 이의 항원-결합 부분을 제공한다. 일 구체예에서, 항-MET 항체 또는 이의 항원-결합 부분은 SEQ ID NO: 23 또는 29의 아미노산 서열을 포함하는 H-CDR3, 및 SEQ ID NO: 26 또는 32의 아미노산 서열을 포함하는 L-CDR3을 갖는다. 특정 구체예에서, 항-MET 항체 또는 이의 항원-결합 부분은
- [0134] - SEQ ID NO: 23의 H-CDR3 서열 및 SEQ ID NO: 26의 L-CDR3 서열; 또는
- [0135] - SEQ ID NO: 29의 H-CDR3 서열 및 SEQ ID NO: 32의 L-CDR3 서열을 포함한다.
- [0136] 일 구체예에서, 항-MET 항체 또는 이의 항원-결합 부분은
- [0137] - SEQ ID NO: 21, 22, 및 23의 아미노산 서열을 각각 포함하는 H-CDR1, H-CDR2, 및 H-CDR3; 또는

- [0138] - SEQ ID NO: 27, 28, 및 29의 아미노산 서열을 각각 포함하는 H-CDR1, H-CDR2, 및 H-CDR3을 포함한다.
- [0139] 일 구체예에서, 항-MET 항체 또는 이의 항원-결합 부분은
- [0140] - SEQ ID NO: 24, 25, 및 26의 아미노산 서열을 각각 포함하는 L-CDR1, L-CDR2, 및 L-CDR3; 또는
- [0141] - SEQ ID NO: 30, 31, 및 32의 아미노산 서열을 각각 포함하는 L-CDR1, L-CDR2, 및 L-CDR3을 포함한다.
- [0142] 일 구체예에서, 항-MET 항체 또는 이의 항원-결합 부분은
- [0143] - SEQ ID NO: 21, 22, 및 23의 아미노산 서열을 포함하는 H-CDR1, H-CDR2, 및 H-CDR3, 및 SEQ ID NO: 24, 25, 및 26의 아미노산 서열을 각각 포함하는 L-CDR1, L-CDR2, 및 L-CDR3; 또는
- [0144] - SEQ ID NO: 27, 28, 및 29의 아미노산 서열을 각각 포함하는 H-CDR1, H-CDR2, 및 H-CDR3, 및 SEQ ID NO: 30, 31, 및 32의 아미노산 서열을 각각 포함하는 L-CDR1, L-CDR2, 및 L-CDR3을 포함한다.
- [0145] 일 구체예에서, 항-MET 항체 또는 이의 항원-결합 부분은 SEQ ID NO: 6, 10, 14, 또는 18의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 도메인을 갖는다. 일 구체예에서, 항-MET 항체 또는 이의 항원-결합 부분은 SEQ ID NO: 8, 12, 16, 또는 20의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 도메인을 갖는다. 일 구체예에서, 항-MET 항체 또는 이의 항원-결합 부분은 SEQ ID NO: 6, 10, 14, 또는 18의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 도메인, 및 SEQ ID NO: 8, 12, 16, 또는 20의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 도메인을 갖는다. 특정 구체예에서, 항-MET 항체 또는 이의 항원-결합 부분은
- [0146] - SEQ ID NO: 6의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 도메인 및 SEQ ID NO: 8의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 도메인;
- [0147] - SEQ ID NO: 10의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 도메인 및 SEQ ID NO: 12의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 도메인;
- [0148] - SEQ ID NO: 14의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 도메인 및 SEQ ID NO: 16의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 도메인; 또는
- [0149] - SEQ ID NO: 18의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 도메인 및 SEQ ID NO: 20의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 도메인을 포함한다.
- [0150] 특정 구체예에서, 항-MET 항체 또는 이의 항원-결합 부분은 SEQ ID NO: 34의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄, 및 SEQ ID NO: 33의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다.
- [0151] 특정 구체예에서, 항-MET 항체 또는 이의 항원-결합 부분은 SEQ ID NO: 36의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄, 및 SEQ ID NO: 35의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다.
- [0152] 다른 양태에서, 본 발명은 상술된 바와 같은 항체의 변형체 또는 이의 부분을 제공하며, 여기서, 상기 변형체는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10개의 아미노산 치환에 의해 항체 또는 이의 부분과 상이하다.
- [0153] 일 구체예에서, 본 발명은 SEQ ID NO: 6, 10, 14, 또는 18과 아미노산 서열에 있어서 적어도 90% 일치하는 중쇄 가변 도메인을 포함하는 항-MET 항체, 또는 상기 항체의 항원-결합 부분을 제공한다. 특정 구체예에서, 중쇄 가변 도메인은 SEQ ID NO: 6, 10, 14, 또는 18과 아미노산 서열에 있어서 적어도 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 일치한다. 일 구체예에서, 본 발명은 SEQ ID NO: 8, 12, 16, 또는 20과 아미노산 서열에 있어서 90% 일치하는 경쇄 가변 도메인을 포함하는 항-MET 항체, 또는 상기 항체의 항원-결합 부분을 제공한다. 특정 구체예에서, 경쇄 가변 도메인은 SEQ ID NO: 8, 12, 16, 또는 20과 아미노산 서열에 있어서 적어도 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 일치한다. 항-MET 항체는 상기 언급된 중쇄 가변 도메인 및 경쇄 가변 도메인의 임의 조합을 포함할 수 있다.
- [0154] 일 구체예에서, 본 발명은 SEQ ID NO: 34 또는 36과 아미노산 서열에 있어서 적어도 90% 일치하는 중쇄를 포함하는 항-MET 항체, 또는 상기 항체의 항원-결합 부분을 제공한다. 특정 구체예에서, 중쇄는 SEQ ID NO: 34 또는 36과 아미노산 서열에 있어서 적어도 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 일치한다. 일 구체예에서, 본 발명은 SEQ ID NO: 33 또는 35과 아미노산 서열에 있어서, 적어도 90% 일치하는 경쇄를 포함하는 항-MET 항체, 또는 상기 항체의 항원-결합 부분을 제공한다. 특정 구체예에서, 경쇄는 SEQ ID NO: 33 또는 35과 아미노산 서열에 있어서 적어도 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 일치한다. 항-MET 항체는 또한, 상기 언급된 중쇄 가변 도메인 및 경쇄 가변 도메인의 임의 조합을 포함할 수 있다.

- [0155] 서열 일치성으로도 지칭되는, 폴리펩티드에 대한 서열 유사성은 통상적으로, 서열 분석 소프트웨어를 이용하여 측정된다. 단백질 분석 소프트웨어는 보존적 아미노산 치환을 포함하는, 다양한 치환, 결실, 및 다른 변형으로 지정된 유사성의 수단(measure)를 이용하여 유사한 서열을 매칭시킨다. 예를 들어, GCG는 상이한 유기체 종들로부터의 동족 폴리펩티드와 같은 밀접하게 관련된 폴리펩티드들 간에 또는 야생형 단백질과 이의 뮤테인 간에 서열 상동성 또는 서열 일치성을 결정하기 위해 기본 파라미터(기본 파라미터)와 함께 사용될 수 있는 "Gap" 및 "Bestfit"과 같은 프로그램을 포함한다[예를 들어, GCG Version 6.1 참조]. 폴리펩티드 서열은 또한, 기본 또는 제안된 파라미터를 이용하는 FASTA; GCG Version 6.1의 프로그램을 이용하여 비교될 수 있다. FASTA(예를 들어, FASTA2 및 FASTA3)는 검색을 원하는 서열(query sequence)과 조사 서열(search sequence) 간에 최고로 겹치는 영역의 정렬(alignment) 및 서열 일치율을 제공한다[Pearson, *Methods Enzymol.* 183:63-98 (1990); Pearson, *Methods Mol. Biol.* 132:185-219 (2000)]. 본 발명의 서열을 다른 유기체로부터의 다수의 서열을 함유한 데이터베이스와 비교할 때의 다른 바람직한 알고리즘은 기본 파라미터를 사용하는, 컴퓨터 프로그램 BLAST, 특히, blastp 또는 tblastn이다[예를 들어, 문헌[Altschul et al., *J. Mol. Biol.* 215:403-410 (1990); Altschul et al., *Nucleic Acids Res.* 25:3389-402 (1997)] 참조, 이러한 문헌은 본원에 참고로 포함됨].
- [0156] 동족체와 비교하여 폴리펩티드 서열의 길이는 일반적으로, 적어도 약 16개의 아미노산 잔기, 대개, 적어도 약 20개의 잔기, 더욱 일반적으로, 적어도 약 24개의 잔기, 통상적으로, 적어도 약 28개의 잔기, 및 바람직하게, 약 35개 초과의 잔기일 것이다.
- [0157] 본 발명에 따르면, 이루어질 수 있는 한 타입의 아미노산 치환은 화학적으로 반응성일 수 있는, 항체에서 하나 이상의 시스테인을 비제한적으로, 알라닌 또는 세린과 같은 다른 잔기로 변경시키기 위한 것이다. 일 구체예에서, 비-정식 시스테인의 치환이 존재한다. 이러한 치환은 가변 도메인의 CDR 또는 프레임워크 영역에서 또는 항체의 불변 도메인에서 이루어질 수 있다. 일부 구체예에서, 시스테인은 정식적인 것이다.
- [0158] 이루어질 수 있는 다른 타입의 아미노산 치환은 항체에서 잠재적인 단백질 분해 사이트를 제거하기 위한 것이다. 이러한 사이트는 가변 도메인의 CDR 또는 프레임워크 영역에서 또는 항체의 불변 도메인에서 발생할 수 있다. 시스템 잔기의 치환 및 단백질 분해 사이트의 제거는 항체 생성물에서 이종성(heterogeneity)의 위험을 감소시키고 이에 따라 이의 동종성(homogeneity)을 증가시킬 수 있다.
- [0159] 다른 타입의 아미노산 치환은 잔기들 중 하나 또는 둘 모두를 변경시킴으로써, 잠재적인 탈아미드화 사이트를 형성하는 아스파라긴-글리신 쌍을 제거하기 위한 것이다.
- [0160] 본 발명에 다른 변이체들 중 하나에서 이루어질 수 있는 다른 타입의 아미노산 치환은 보존적 아미노산 치환이다. "보존적 아미노산 치환"은 아미노산 잔기가 유사한 화학적 성질(예를 들어, 전하 또는 소수성)을 갖는 다른 아미노산(즉, R 기를 갖는 잔기)에 의해 치환되는 것이다. 일반적으로, 보존적 아미노산 치환은 단백질의 기능적 성질들을 실질적으로 변경시키지 않을 것이다. 두 개 이상의 아미노산 서열이 보존적 치환에 의해 서로 상이한 경우에, 서열 일치성의 백분율 또는 유사성의 정도는 치환의 보존적 특성을 보정하기 위해 상향으로 조정될 수 있다. 이러한 조절을 이루기 하기 위한 수단은 당업자에게 널리 공지되어 있다[예를 들어, 문헌[Pearson, *Methods Mol. Biol.* 243:307-31 (1994)] 참조].
- [0161] 유사한 화학적 성질을 갖는 측쇄를 갖는 아미노산들의 군의 예는 1) 지방족 측쇄: 글리신, 알라닌, 발린, 류신, 및 이소류신; 2) 지방족-하이드록실 측쇄: 세린 및 트레오닌; 3) 아미드-함유 측쇄: 아스파라긴 및 글루타민; 4) 방향족 측쇄: 페닐알라닌, 티로신, 및 트립토판; 5) 염기성 측쇄: 라이신, 아르기닌, 및 히스티딘; 6) 산성 측쇄: 아스파르트산 및 글루탐산; 및 7) 황-함유 측쇄: 시스테인 및 메티오닌을 포함한다. 바람직한 보존적 아미노산 치환기에는 발린-류신-이소류신, 페닐알라닌-티로신, 라이신-아르기닌, 알라닌-발린, 글루타메이트-아스파르테이트, 및 아스파라긴-글루타민이 있다.
- [0162] 대안적으로, 보존적 대체는 문헌[Gonnet et al., *Science* 256:1443-45 (1992)]에 기재된 PAM250 log-유사 매트릭스(log-likelihood matrix)에서 양의 값(positive value)을 갖는 임의 변화로서 정의될 수 있다. "중간 정도의 보존적(moderately conservative)" 대체는 PAM250 log-유사 매트릭스에서 비-음의 값을 갖는 임의 변화이다.
- [0163] 특정 구체예에서, 본 발명의 항체 또는 항원-결합 부분에 대한 아미노산 치환은 (1) 단백질 분해에 대한 민감성(susceptibility)을 감소시키고, (2) 산화에 대한 민감성을 감소시키고, (3) 단백질 착물을 형성시키기 위한 결합 친화력을 변경시키고, (4) 이러한 유사체의 다른 생리화학적 또는 기능성 성질을 부여하거나 개질시키지만 여전히 인간 MET에 대한 특이적 결합을 보유하는 것이다. 유사체는 일반적으로 발생하는 펩티드 서열에 대한 다

양한 치환을 포함할 수 있다. 예를 들어, 단일 또는 다중 아미노산 치환, 바람직하게, 보존적 아미노산 치환은 일반적으로 발생하는 서열에서, 예를 들어, 문자간 접촉을 형성시키는 도메인(들) 외측의 폴리펩티드의 부분에서 이루어질 수 있다. 아미노산 치환은 또한, 폴리펩티드의 활성을 개선시킬 수 있는 문자간 접촉을 형성시키는 도메인(들)에서 이루어질 수 있다. 보존적 아미노산 치환은 모 서열의 구조적 특징을 실질적으로 변경시키지 않을 것이며, 예를 들어, 대체 아미노산은 모 서열에서 발생하는 면역글로불린 결합 도메인을 구성하는 항-평형 β -시트를 변형시키지 않거나 모 서열을 특징으로 하는 다른 타입의 2차 구조를 파괴하지 않을 것이다. 일반적으로, 글리신 및 프롤린은 항-평형 β -시트에서 사용되지 않을 것이다. 당해 분야에 인식된 폴리펩티드 2차 및 3차 구조의 예는 문헌[*Proteins, Structures and Molecular Principles* (Creighton, Ed., W. H. Freeman and Company, New York (1984)); *Introduction to Protein Structure* (C. Branden and J. Tooze, eds., Garland Publishing, New York, N.Y. (1991)); 및 Thornton et al., *Nature* 354:105 (1991)]에 기술되어 있다.

[0164] 본 발명의 다른 양태에서, 항체는 예를 들어, PCT 공개문 WO 98/52976호 및 WO 00/34317호에 기술된 기술들을 이용하여 이의 면역원성(immunogenicity)을 감소시키기 위해 탈면역화될 수 있다.

[0165] 일부 구체예에서, 본원에 기술된 임의 항-MET 항체 또는 항원-결합 부분은 또한, 하기 기술된 것으로 이루어진 군으로부터 선택된 적어도 하나의 기능적 성질, 또는 이러한 기능적 성질들의 임의 조합을 가질 수 있다:

[0166] - 마우스 또는 닭 MET에 결합하지 않음;

[0167] - SEMA 도메인 상에 존재하는 잔기를 포함하는 인간 MET의 에피토프에 결합함;

[0168] - MET의 분해를 유도함;

[0169] - 1×10^{-9} M 이하의 K_D 로 인간 MET에 결합함;

[0170] - SNU5, EBC1, MKN45, KatoII, OE33, 및 Okajima로부터 선택된 적어도 하나의 세포주의 시험관내 성장을 억제함; 및

[0171] - 생체내에서 종양 성장을 억제함.

[0172] 일부 구체예에서, MET에 대한 본 발명의 하나 이상의 항체 또는 항원-결합 부분(및 특히, 본 발명의 항-MET 항체 조성물)의 결합은 수용체를 발현시키는 세포(즉, 종양 세포)의 성장 및 증식을 억제할 수 있다.

[0173] 일부 구체예에서, 본원에 기술된 임의 항-MET 항체 또는 항원-결합 부분은 MET에 HGF 알파 또는 HGF 베타의 결합을 억제할 수 있다. 일부 구체예에서, 항체 또는 부분은 MET에 대한 처리되지 않은 HGF의 결합을 억제할 수 있다.

[0174] 본원에서 사용되는 용어 "성장을 억제하다"(예를 들어, 세포에 대해 지칭함)는 항체 또는 조성물의 분자 하에 동일한 세포의 성장과 비교하여, 항-MET 항체 또는 항원-결합 부분 또는 항-MET 항체 조성물과 접촉할 때, 증식(세포 수의 증가) 또는 세포의 대사의 임의 측정 가능한 감소, 예를 들어, 적어도 약 10%, 및 더욱 바람직하게, 예를 들어, 적어도 약 20% 또는 30%, 더욱 바람직하게, 적어도 약 40% 또는 50%, 예를 들어, 적어도 약 60%, 70%, 80%, 90%, 95% 또는 99%, 또는 심지어 약 100%의 세포 배양물의 성장 억제를 포함하는 것으로 의도된다. 성장 억제는 예를 들어, 하기 실시예에 기술된 바와 같이, 관련 암 세포주에서 결정될 수 있다.

[0175] 본원에 기술된 방법에 의해 얻어진 항-MET 항체의 클래스(class)는 다른 클래스로 변경될 수 있다. 본 발명의 일 양태에서, VL 또는 VH를 엔코딩하는 핵산 분자는 CL 또는 CH를 엔코딩하는 핵산 서열을 포함하지 않도록 당해 분야에 널리 공지된 방법을 이용하여 단리된다. VL 또는 VH를 엔코딩하는 핵산 분자는 이후에, 상이한 클래스의 면역글로불린 분자로부터 CL 또는 CH를 각각 엔코딩하는 핵산 서열에 작동가능하게 결합된다. 이는 상술된 바와 같이, CL 또는 CH 사슬을 포함하는 백터 또는 핵산 분자를 사용하여 달성될 수 있다. 예를 들어, 본래 IgM 인 항-MET 항체는 IgG로 변경된 클래스일 수 있다. 또한, 클래스 변경(class switching)은 하나의 IgG 서브클래스를 다른 IgG 서브클래스로, 예를 들어, IgG1에서 IgG2로 전환시키기 위해 사용될 수 있다. 요망되는 아이소형을 갖는 본 발명의 항체를 형성시키기 위한 바람직한 방법은 항-MET 항체의 중쇄를 엔코딩하는 핵산 분자 및 항-MET 항체의 경쇄를 엔코딩하는 핵산 분자를 단리시키는 단계, 중쇄의 가변 도메인을 수득하는 단계, 중쇄의 가변 도메인을 요망되는 아이소형의 중쇄의 불변 도메인과 결찰시키는 단계, 경쇄 및 결찰된 중쇄를 세포에서 발현시키는 단계, 및 요망되는 아이소형을 갖는 항-MET 항체를 수집하는 단계를 포함한다.

[0176] 본 발명의 항-MET 항체는 IgG, IgM, IgE, IgA, 또는 IgD 분자일 수 있다. 일 구체예에서, 항-MET 항체는 IgG

분자이고, IgG1, IgG2, IgG3, 또는 IgG4 서브클래스이다. 특정 구체예에서, 항체는 서브클래스 IgG1이다.

[0177] 특정 구체예에서, 본 발명의 항체 또는 이의 항원-결합 부분은 항체 또는 항체 부분과 하나 이상의 다른 단백질 또는 웨პ티드의 공유 또는 비공유 회합에 의해 형성된, 보다 큰 면역접합 분자의 일부일 수 있다. 이러한 면역접합 분자의 예는 테트라머 scFv 분자를 제조하기 위해 스트렙타비딘 코어 영역의 사용[Kipriyanov et al., *Human antibody and Hybridomas* 6:93-101 (1995)] 및 이가 및 바이오티닐화된 scFv 분자를 제조하기 위해 시스테인 잔기, 마커 웨პ티드 및 C-말단 폴리히스티딘의 사용[[Kipriyanov et al., *Mol. Immunol.* 31:1047-1058 (1994)]을 포함한다. 다른 예는 항체로부터의 하나 이상의 CDR이 고려되는 항원에 특이적으로 결합하는 면역접합체를 제조하기 위해 분자에 공유적으로 또는 비공유적으로 도입되는 경우를 포함한다. 이러한 구체예에서, CDR(들)은 보다 큰 폴리웨პ티드 사슬의 일부로서 도입될 수 있거나, 다른 폴리웨პ티드 사슬에 공유 결합될 수 있거나, 비공유적으로 도입될 수 있다.

[0178] 다른 구체예에서, 다른 폴리웨პ티드에 결합된 본 발명의 항-MET 항체 모두 또는 일부를 포함하는 융합 항체 또는 면역접합체(immunoadhesin)가 제조될 수 있다. 특정 구체예에서, 단지 항-MET 항체의 가변 도메인이 폴리웨პ티드에 결합된다. 특정 구체예에서, 항-MET 항체의 VH 도메인은 제1 폴리웨პти드에 결합되며, 항-MET 항체의 VL 도메인은 항원-결합 사이트를 형성시키기 위해 VH 도메인 및 VL 도메인이 서로 상호작용할 수 있는 방식으로 제1 폴리웨პти드와 회합하는 제2 폴리웨პти드에 결합된다. 다른 바람직한 구체예에서, VH 도메인은 VH 도메인 및 VL 도메인이 서로 상호작용할 수 있도록 링커에 의해 VL 도메인으로부터 분리된다(예를 들어, 단쇄 항체). VH-링커-VL 항체는 이후에, 고려되는 폴리웨პти드에 결합된다. 또한, 두 개(또는 그 이상)의 단쇄 항체가 서로 결합된 융합 항체가 생성될 수 있다. 이는 단일 폴리웨პти드 사슬 상에 이가 또는 다가 항체를 형성시키고자 하는 경우에 또는 이중특이성 항체를 생성시키고자 하는 경우에 유용하다.

[0179] 단쇄 항체(scFv)를 형성시키기 위해, VH 및 VL-엔코딩 DNA 분절은 가요성 링커(flexible linker)에 의해 연결된 VL 도메인 및 VH 도메인과 함께, VH 서열 및 VL 서열이 인접한 단쇄 단백질로서 발현될 수 있도록, 가요성 링커를 엔코딩하는, 예를 들어, 아미노산 서열 (Gly4-Ser)3을 엔코딩하는 다른 분절에 작동 가능하게 연결된다 [예를 들어, 문헌[Bird et al., *Science* 242:423 426 (1988); Huston et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 85:5879 5883 (1988); and McCafferty et al., *Nature* 348:552 554 (1990)]을 참조]. 단쇄 항체는 단지 단일 VH 및 VL이 사용되는 경우에 일가, 두 개의 VH 및 VL이 사용되는 경우에 2가, 또는 둘 초과의 VH 및 VL이 사용되는 경우에 다가일 수 있다. 예를 들어, 인간 MET에 및 다른 분자에 특이적으로 결합하는 이중특이성 또는 다가 항체가 발생될 수 있다.

[0180] 다른 구체예에서, 다른 변형된 항체는 항-MET 항체-엔코딩 핵산 분자를 사용하여 제조될 수 있다. 예를 들어, "카파 바디(kappa body)"(Ill et al., *Protein Eng.* 10:949-57 (1997)), "미니바디(minibody)"(Martin et al., *EMBO J.* 13:5303-9 (1994)), "이중체"(Holliger et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90:6444-6448 (1993)), 또는 "자누신(Janusin)"(Traunecker et al., *EMBO J.* 10:3655-3659 (1991) 및 Traunecker et al., *Int. J. Cancer* (Suppl.) 7:51-52 (1992))은 명세서의 교시에 따라 표준 분자 생물학적 기술을 이용하여 제조될 수 있다.

[0181] 본 발명의 항-MET 항체 또는 항원-결합 부분은 다른 분자(예를 들어, 다른 웨პ티드 또는 단백질)로 유도체화되거나 여기에 결합될 수 있다. 일반적으로, 항체 또는 이의 부분은, MET 결합이 유도체화 또는 표지화에 의해 억영 향을 미치지 않도록 유도체화된다. 이에 따라, 본 발명의 항체 또는 항체 부분은 본원에 기술된 완전한 형태 및 변형된 형태의 인간 항-MET 항체 둘 모두를 포함하는 것으로 의도된다. 예를 들어, 본 발명의 항체 또는 항체 부분은 하나 이상의 다른 분자 본체, 예를 들어, 다른 항체(예를 들어, 이중특이성 항체 또는 이중체), 검출제, 약제학적 제제, 및/또는 다른 분자(예를 들어, 스트렙타비딘 코어 영역 또는 폴리히스티딘 태그)와 항체 또는 항체 부분의 회합을 매개할 수 있는 단백질 또는 웨პ티드에 (화학적 커플링, 유전학적 융합, 비공유 회합 또는 다른 방법에 의해) 기능적으로 결합될 수 있다.

[0182] 유도체화된 항체의 한 타입은 둘 이상의 항체(예를 들어, 이중특이성 항체를 생성시키기 위해 동일하거나 상이한 타입)를 가교시킴으로써 형성된다. 적합한 가교제는 적절한 스페이서(예를 들어, m-말레이미도벤조일-N-하이드록시숙신이미드 에스테르)에 의해 분리된 두 개의 별개의 반응성 기를 갖는 헤테로이작용성이거나 호모이작용성(예를 들어, 디숙신이미딜 수베레이트)인 것을 포함한다. 이러한 링커(linker)는 Pierce Chemical Company(Rockford, IL.)로부터 입수 가능하다.

[0183] 항-MET 항체는 또한, 폴리에틸렌 글리콜(PEG), 메틸 또는 에틸 기, 또는 탄수화물 기와 같은 화학적 기로 유도체화될 수 있다. 이러한 기들은 항체의 생물학적 특징을 개선시키기 위해, 예를 들어, 혈청 반감기를 증가시키

기 위해 유용할 수 있다.

[0184]

본 발명에 따른 항체는 또한 표지될 수 있다. 본원에서 사용되는 용어 "표지(label)" 또는 "표지된(labelled)"은 항체에 다른 문자의 도입을 지칭한다. 일 구체예에서, 표지는 검출 가능한 마커, 예를 들어, 방사선표지된 아미노산의 도입 또는 마킹된 아비딘(예를 들어, 광학적 방법 또는 비색법에 의해 검출될 수 있는 형광 마커 또는 효소적 활성을 함유한 스트렙타비딘)에 의해 검출될 수 있는 바이오티닐 모이어티의 폴리펩티드에 대한 부착이다. 다른 구체예에서, 표지 또는 마커는 치료제, 예를 들어, 약물 콘주게이트 또는 톡신일 수 있다. 폴리펩티드 및 당단백질을 표지하는 다양한 방법은 당해 분야에 공지되어 있고 사용될 수 있다. 폴리펩티드용 표지의 예는 방사성 동위원소 또는 방사성 핵종(예를 들어, ^{3}H , ^{14}C , ^{15}N , ^{35}S , ^{90}Y , ^{99}Tc , ^{111}In , ^{125}I , ^{131}I), 형광 표지(예를 들어, FITC, 로다민, 란타나이드 인광체), 효소 표지(예를 들어, 겨자무과 퍼옥시다아제(horseradish peroxidase), β -갈락토시다아제, 루시페라아제, 알칼린 포스파타아제), 화학발광 마커, 바이오티닐 기, 2차 리포터(secondary reporter)에 의해 인식된 사전결정된 폴리펩티드 에피토프(예를 들어, 류신 지퍼 쌍 서열(leucine zipper pair sequence), 2차 항체에 대한 결합 사이트, 금속 결합 도메인, 에피토프 태그), 자성 제제(magnetic agent), 예를 들어, 가돌리늄 킬레이트, 독소, 예를 들어, 백일해 독소, 턱솔, 시토칼라신 B, 그라미시딘 D, 에티듐 브로마이드, 에메틴, 미토마이신, 에토포사이드, 테노포사이드, 빙크리스틴, 빈블라스틴, 콜히친, 독소루비신, 다우노루비신, 디하이드록시 안트라신 디온, 미톡산트론, 미트라마이신, 악티노마이신 D, 1-데하이드로테스토스테론, 글루코코르티코이드, 프로카인, 테트라카인, 리도카인, 프로프라놀롤, 및 푸로마이신 및 이들의 유사체 또는 동족체(homolog)를 포함하지만, 이로 제한되지 않는다. 일부 구체예에서, 표지는 잠재적인 입체 장애를 감소시키기 위해 다양한 길이의 스페이서 암(spacer arm)에 의해 부착된다.

[0185]

특정 구체예에서, 본 발명의 항체는 중성 형태(쯔비터 이온 형태를 포함함)로 또는 양으로 또는 음으로 하전된 종으로서 존재할 수 있다. 일부 구체예에서, 항체는 약제학적으로 허용되는 염을 형성하기 위해 반대이온과 착물화될 수 있다.

[0186]

용어 "약제학적으로 허용되는 염"은 하나 이상의 항체 및 하나 이상의 반대이온을 포함하는 착물을 지칭하며, 여기서, 반대이온은 약제학적으로 허용되는 무기 및 유기 산 및 염기로부터 유도된다.

[0187]

약제학적으로 허용되는 무기 염기는 적절한 알칼리 금속 염, 알칼리 토금속 염 및 다른 생리학적으로 허용되는 금속 이온을 포함하지만, 이로 제한되지 않는 금속성 이온을 포함한다. 무기 염기로부터 유도된 염은 알루미늄, 암모늄, 칼슘, 코발트, 니켈, 몰리브덴, 바나듐, 망간, 크롬, 셀레늄, 주석, 구리, 제2철(ferric), 제1철(ferrous), 리튬, 마그네슘, 3가 망간(manganic) 또는 2가 망간(manganous) 염, 칼륨, 류비듐, 소듐, 및 아연을, 예를 들어, 이의 일반적인 원자가로 포함한다.

[0188]

본 발명의 항체의 약제학적으로 허용되는 산부가염은 포름산, 아세트산, 아세트아미도산, 벤조산, 아디프산, 아스코르브산, 봉산, 프로피온산, 벤조산, 캄포르산, 탄산, 시클람산, 테히드로콜산, 말론산, 에데트산, 에틸황산, 펜디조산, 메타인산, 숙신산, 글리콜산, 글루콘산, 락트산, 말산, 타르타르산, 타닌산, 시트르산, 질산, 아스코르브산, 글루쿠론산, 말레산, 폴산, 푸마르산, 프로피온산, 피루브산, 아스파르트산, 벤조산, 염산, 브롬화수소산, 요오드화수소산, 라이신, 이소시트르산, 트리플루오로아세트산, 파모산, 프로피온산, 안트라닐산, 메실산, 오로트산, 옥살산, 옥살아세트산, 스테아르산, 살리실산, 아미노살리실산, 실리케이트, p-하이드록시벤조산, 니코틴산, 페닐아세트산, 만델산, 엠본산, 셀폰산, 메탄설폰산, 인산, 포스폰산, 에탄설폰산, 에탄디설폰산, 암모늄, 벤젠설폰산, 판토텐산, 나프탈렌설폰산, 툴루엔설폰산, 2-하이드록시에탄설폰산, 셀파닐산, 황산, 질산, 아질산, 황산 모노메틸 에스테르, 사이클로헥실아미노설폰산, β -하이드록시부터르산, 글리신, 글리실글신, 글루탐산, 카코딜레이트, 디아미노헥산산, 캄포르설폰산, 글루콘산, 티오시안산, 옥소글루타르산, 피리독살 5-포스페이트, 클로로페녹시아세트산, 운데칸산, N-아세틸-L-아스파르트산, 갈락타르산 및 갈락투론산을 포함하지만, 이로 제한되지 않는 산들로부터 제조될 수 있다.

[0189]

약제학적으로 허용되는 유기 염기는 트리메틸아민, 디에틸아민, N,N'-디벤질에틸렌디아민, 클로로프로카인, 콜린, 디벤질아민, 디에탄올아민, 에틸렌디아민, 메글루민(N-메틸글루카민), 프로카인, 환형 아민, 4차 암모늄 양이온, 아르기닌, 베타인, 카페인, 클레미졸, 2-에틸아미노에탄올, 2-디에틸아미노에탄올, 2-디메틸아미노에탄올, 에탄디아민, 부틸아민, 에탄올아민, 에틸렌디아민, N-에틸모르폴린, N-에틸페페리딘, 에틸글루카민, 글루카민, 글루코사민, 히스티딘, 하이드라바민, 이미다졸, 이소프로필아민, 메틸글루카민, 모르폴린, 피페라진, 피리딘, 피리독신, 네오디뮴, 피페리딘, 폴리아민 수지, 프로카인, 푸린, 테오브로민, 트리에틸아민, 트리프로필아민, 트리에탄올아민, 트로메타민, 메틸아민, 타우린, 콜레이트, 6-아미노-2-메틸-2-헵탄올, 2-아미노-2-메틸-1,3-프로판디올, 2-아미노-2-메틸-1-프로판올, 지방족 모노- 및 디카복실산, 페닐-치환된 알칸산, 하이드록시

알칸산, 방향족산, 지방족 및 방향족 셀룰론, 스트론튬, 트리신, 하이드라진, 페닐사이클로헥실아민, 2-(N-모폴리노)에탄설폰산, 비스(2-하이드록시에틸)아미노-트리스(하이드록시메틸)메탄, N-(2-아세트아미도)-2-아미노에탄설폰산, 1,4-페페라진디에탄설폰산, 3-모폴리노-2-하이드록시프로판설폰산, 1,3-비스[트리스(하이드록시메틸)메틸아미노]프로판, 4-모르폴린프로판설폰산, 4-(2-하이드록시에틸)페페라진-1-에탄설폰산, 2-[2-(2-하이드록시-1,1-비스(하이드록시메틸)에틸)아미노]에탄설폰산, N,N-비스(2-하이드록시에틸)-2-아미노에탄설폰산, 4-(N-모폴리노)부탄설폰산, 3-(N,N-비스[2-하이드록시에틸]아미노)-2-하이드록시프로판설폰산, 2-하이드록시-3-[트리스(하이드록시메틸)메틸아미노]-1-프로판설폰산, 4-(2-하이드록시에틸)페페라진-1-(2-하이드록시프로판설폰산), 4-(2-하이드록시에틸)-1-페페라진프로판설폰산, 이수화물, 4-(2-하이드록시에틸)-1-페페라진프로판설폰산, N,N-비스(2-하이드록시에틸)글리신, N-(2-하이드록시에틸)페페라진-N'-(4-부탄설폰산), N-[트리스(하이드록시메틸)메틸]-3-아미노프로판설폰산, N-트리스(하이드록시메틸)-4-아미노부탄설폰산, N-(1,1-디메틸-2-하이드록시에틸)-3-아미노-2-하이드록시프로판설폰산, 2-(사이클로헥실아미노)에탄설폰산, 3-(사이클로헥실아미노)-2-하이드록시-1-프로판설폰산, 3-(사이클로헥실아미노)-1-프로판설폰산, N-(2-아세트아미도)아미노디아세트산, 4-(사이클로헥실아미노)-1-부탄설폰산, N-[트리스(하이드록시메틸)메틸]글리신, 2-아미노-2-(하이드록시메틸)-1,3-프로판디올, 및 트로메타몰을 포함한다.

[0190] 항-MET 항체 조성물

[0191] 일 양태에서, 본 발명은 본 발명의 적어도 두 개의 항체 또는 이의 항원-결합 부분을 포함하는 항체 조성물을 제공한다. 용어 "항-MET 항체 조성물"은 적어도 두 개의 항-MET 항체 또는 이의 항원-결합 부분을 포함하는 조성물을 지칭한다.

[0192] 일 구체예에서, 항체 조성물은 제1 항-MET 항체 또는 항원-결합 부분 및 제2 항-MET 항체 또는 항원-결합 부분을 포함하며, 여기서, 제1 항-MET 항체는

[0193] - SEQ ID NO: 21, 22, 23, 24, 25, 및 26의 아미노산 서열을 각각 포함하는 H-CDR1, H-CDR2, H-CDR3, L-CDR1, L-CDR2, 및 L-CDR3을 갖는 항체와 인간 MET에 대한 결합을 위해 경쟁적인 항-MET 항체 또는 이의 항원-결합 부분;

[0194] - SEQ ID NO: 21, 22, 23, 24, 25, 및 26의 아미노산 서열을 각각 포함하는 H-CDR1, H-CDR2, H-CDR3, L-CDR1, L-CDR2, 및 L-CDR3을 갖는 항체와 동일한 인간 MET의 에피토프에 결합하는 항-MET 항체 또는 이의 항원-결합 부분;

[0195] - SEQ ID NO: 6의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 도메인 및 SEQ ID NO: 8의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 도메인을 갖는 항체와 인간 MET에 대한 결합을 위해 경쟁적인 항-MET 항체 또는 이의 항원-결합 부분;

[0196] - SEQ ID NO: 14의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 도메인 및 SEQ ID NO: 16의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 도메인을 갖는 항체와 인간 MET에 대한 결합을 위해 경쟁적인 항-MET 항체 또는 이의 항원-결합 부분;

[0197] - SEQ ID NO: 6의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 도메인 및 SEQ ID NO: 8의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 도메인을 갖는 항체와 동일한 인간 MET의 에피토프에 결합하는 항-MET 항체 또는 이의 항원-결합 부분;

[0198] - SEQ ID NO: 14의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 도메인 및 SEQ ID NO: 16의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 도메인을 갖는 항체와 동일한 인간 MET의 에피토프에 결합하는 항-MET 항체 또는 이의 항원-결합 부분;

[0199] - SEQ ID NO: 23의 아미노산 서열을 포함하는 H-CDR3을 갖는 항-MET 항체 또는 이의 항원-결합 부분;

[0200] - SEQ ID NO: 26의 아미노산 서열을 포함하는 L-CDR3을 갖는 항-MET 항체 또는 이의 항원-결합 부분;

[0201] - SEQ ID NO: 23의 아미노산 서열을 포함하는 H-CDR3 및 SEQ ID NO: 26의 아미노산 서열을 포함하는 L-CDR3을 갖는 항-MET 항체 또는 이의 항원-결합 부분;

[0202] - SEQ ID NO: 21, 22, 및 23의 아미노산 서열을 각각 포함하는 H-CDR1, H-CDR2, 및 H-CDR3을 갖는 항-MET 항체 또는 이의 항원-결합 부분;

[0203] - SEQ ID NO: 24, 25, 및 26의 아미노산 서열을 포함하는 L-CDR1, L-CDR2, 및 L-CDR3을 갖는 항-MET 항체 또는 이의 항원-결합 부분;

- [0204] - SEQ ID NO: 21, 22, 및 23의 아미노산 서열을 각각 포함하는 H-CDR1, H-CDR2, 및 H-CDR3 및 SEQ ID NO: 24, 25, 및 26의 아미노산 서열을 각각 포함하는 L-CDR1, L-CDR2, 및 L-CDR3을 갖는 항-MET 항체 또는 이의 항원-결합 부분;
- [0205] - SEQ ID NO: 6 또는 14의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 도메인을 갖는 항-MET 항체 또는 이의 항원-결합 부분;
- [0206] - SEQ ID NO: 8 또는 16의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 도메인을 갖는 항-MET 항체 또는 이의 항원-결합 부분;
- [0207] - SEQ ID NO: 6의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 도메인 및 SEQ ID NO: 8의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 도메인을 갖는 항-MET 항체 또는 이의 항원-결합 부분;
- [0208] - SEQ ID NO: 14의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 도메인 및 SEQ ID NO: 16의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 도메인을 갖는 항-MET 항체 또는 이의 항원-결합 부분;
- [0209] - SEQ ID NO: 6의 아미노산 서열과 적어도 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 일치하는 중쇄 가변 도메인 및 SEQ ID NO: 8의 아미노산 서열과 적어도 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 일치하는 경쇄 가변 도메인을 갖는 항-MET 항체 또는 이의 항원-결합 부분;
- [0210] - SEQ ID NO: 14의 아미노산 서열과 적어도 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 일치하는 중쇄 가변 도메인 및 SEQ ID NO: 16의 아미노산 서열과 적어도 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 일치하는 경쇄 가변 도메인을 갖는 항-MET 항체 또는 이의 항원-결합 부분;
- [0211] - SEQ ID NO: 34의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 SEQ ID NO: 33의 아미노산 서열을 포함한느 경쇄를 갖는 항-MET 항체 또는 이의 항원-결합 부분; 및
- [0212] - SEQ ID NO: 34의 아미노산 서열과 적어도 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 일치하는 중쇄 및 SEQ ID NO: 33의 아미노산 서열과 적어도 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 일치하는 경쇄를 갖는 항-MET 항체 또는 항원-결합 부분으로 이루어진 군으로부터 선택되며,
- [0213] 제2 항-MET 항체는
- [0214] - SEQ ID NO: 27, 28, 29, 30, 31, 및 32의 아미노산 서열을 각각 포함하는 H-CDR1, H-CDR2, H-CDR3, L-CDR1, L-CDR2, 및 L-CDR3을 갖는 항체와 인간 MET에 대한 결합을 위해 경쟁적인 항-MET 항체 또는 이의 항원-결합 부분;
- [0215] - SEQ ID NO: 27, 28, 29, 30, 31, 및 32의 아미노산 서열을 각각 포함하는 H-CDR1, H-CDR2, H-CDR3, L-CDR1, L-CDR2, 및 L-CDR3을 갖는 항체와 동일한 인간 MET의 에피토프에 결합하는 항-MET 항체 또는 이의 항원-결합 부분;
- [0216] - SEQ ID NO: 10의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 도메인 및 SEQ ID NO: 12의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 도메인을 갖는 항체와 인간 MET에 대한 결합을 위해 경쟁적인 항-MET 항체 또는 이의 항원-결합 부분;
- [0217] - SEQ ID NO: 18의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 도메인 및 SEQ ID NO: 20의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 도메인을 갖는 항체와 인간 MET에 대한 결합을 위해 경쟁적인 항-MET 항체 또는 이의 항원-결합 부분;
- [0218] - SEQ ID NO: 10의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 도메인 및 SEQ ID NO: 12의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 도메인을 갖는 항체와 동일한 인간 MET의 에피토프에 결합하는 항-MET 항체 또는 이의 항원-결합 부분;
- [0219] - SEQ ID NO: 18의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 도메인 및 SEQ ID NO: 20의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 도메인을 갖는 항체와 동일한 인간 MET의 에피토프에 결합하는 항-MET 항체 또는 이의 항원-결합 부분;
- [0220] - SEQ ID NO: 29의 아미노산 서열을 포함하는 H-CDR3을 갖는 항-MET 항체 또는 이의 항원-결합 부분;
- [0221] - SEQ ID NO: 32의 아미노산 서열을 포함하는 L-CDR3을 갖는 항-MET 항체 또는 이의 항원-결합 부분;

- [0222] - SEQ ID NO: 29의 아미노산 서열을 포함하는 H-CDR3 및 SEQ ID NO: 32의 아미노산 서열을 포함하는 L-CDR3을 갖는 항-MET 항체 또는 이의 항원-결합 부분;
- [0223] - SEQ ID NO: 27, 28, 및 29의 아미노산 서열을 각각 포함하는 H-CDR1, H-CDR2, 및 H-CDR3을 갖는 항-MET 항체 또는 이의 항원-결합 부분;
- [0224] - SEQ ID NO: 30, 31, 및 32의 아미노산 서열을 포함하는 L-CDR1, L-CDR2, 및 L-CDR3을 갖는 항-MET 항체 또는 이의 항원-결합 부분;
- [0225] - SEQ ID NO: 27, 28, 및 29의 아미노산 서열을 포함하는 H-CDR1, H-CDR2, 및 H-CDR3 및 SEQ ID NO: 30, 31, 및 32의 아미노산 서열을 각각 포함하는 L-CDR1, L-CDR2, 및 L-CDR3을 갖는 항-MET 항체 또는 이의 항원-결합 부분;
- [0226] - SEQ ID NO: 10 또는 18의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 도메인을 갖는 항-MET 항체 또는 이의 항원-결합 부분;
- [0227] - SEQ ID NO: 12 또는 20의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 도메인을 갖는 항-MET 항체 또는 이의 항원-결합 부분;
- [0228] - SEQ ID NO: 10의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 도메인 및 SEQ ID NO: 12의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 도메인을 갖는 항-MET 항체 또는 이의 항원-결합 부분;
- [0229] - SEQ ID NO: 18의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 도메인 및 SEQ ID NO: 20의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 도메인을 갖는 항-MET 항체 또는 이의 항원-결합 부분;
- [0230] - SEQ ID NO: 10의 아미노산 서열과 적어도 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 일치하는 중쇄 가변 도메인 및 SEQ ID NO: 12의 아미노산 서열과 적어도 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 일치하는 경쇄 가변 도메인을 갖는 항-MET 항체 또는 이의 항원-결합 부분;
- [0231] - SEQ ID NO: 18의 아미노산 서열과 적어도 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 일치하는 중쇄 가변 도메인 및 SEQ ID NO: 20의 아미노산 서열과 적어도 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 일치하는 경쇄 가변 도메인을 갖는 항-MET 항체 또는 이의 항원-결합 부분;
- [0232] - SEQ ID NO: 36의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 SEQ ID NO: 35의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 갖는 항-MET 항체 또는 이의 항원-결합 부분; 및
- [0233] - SEQ ID NO: 36의 아미노산 서열과 적어도 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 일치하는 중쇄 및 SEQ ID NO: 35의 아미노산 서열과 적어도 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 일치하는 경쇄를 갖는 항-MET 항체 또는 항원-결합 부분으로 이루어진 군으로부터 선택된다.
- [0234] 상기 제1 항-MET 항체 및 제2 항-MET 항체의 임의 조합이 고려된다.
- [0235] 일 구체예에서, 항체 조성물은
- [0236] SEQ ID NO: 21, 22, 23, 24, 25, 및 26의 아미노산 서열을 각각 포함하는 H-CDR1, H-CDR2, H-CDR3, L-CDR1, L-CDR2, 및 L-CDR3을 갖는 항체와 인간 MET에 대한 결합을 위해 경쟁적인 항-MET 항체 또는 이의 항원-결합 부분; 및
- [0237] SEQ ID NO: 27, 28, 29, 30, 31, 및 32의 아미노산 서열을 각각 포함하는 H-CDR1, H-CDR2, H-CDR3, L-CDR1, L-CDR2, 및 L-CDR3을 갖는 항체로 인간 MET에 대한 결합을 위해 경쟁적인 항-MET 항체 또는 항원-결합 부분을 포함한다.
- [0238] 일 구체예에서, 항체 조성물은
- [0239] SEQ ID NO: 21, 22, 23, 24, 25, 및 26의 아미노산 서열을 각각 포함하는 H-CDR1, H-CDR2, H-CDR3, L-CDR1, L-CDR2, 및 L-CDR3을 갖는 항체와 동일한 인간 MET의 에피토프에 결합하는 항-MET 항체 또는 이의 항원-결합 부분; 및
- [0240] SEQ ID NO: 27, 28, 29, 30, 31, 및 32의 아미노산 서열을 각각 포함하는 H-CDR1, H-CDR2, H-CDR3, L-CDR1, L-CDR2, 및 L-CDR3을 갖는 항체와 동일한 인간 MET의 에피토프에 결합하는 항-MET 항체 또는 항원-결합 부분을 포함한다.

- [0241] 일 구체예에서, 항체 조성물은
- [0242] SEQ ID NO: 6의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 도메인 및 SEQ ID NO: 8의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 도메인을 갖는 항체와 인간 MET에 대한 결합을 위해 경쟁적인 항-MET 항체 또는 이의 항원-결합 부분; 및
- [0243] SEQ ID NO: 10의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 도메인 및 SEQ ID NO: 12의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 도메인을 갖는 항체와 인간 MET에 대한 결합을 위해 경쟁적인 항-MET 항체 또는 항원-결합 부분을 포함한다.
- [0244] 일 구체예에서, 항체 조성물은
- [0245] SEQ ID NO: 14의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 도메인 및 SEQ ID NO: 16의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 도메인을 갖는 항체와 인간 MET에 대한 결합을 위해 경쟁적인 항-MET 항체 또는 이의 항원-결합 부분; 및
- [0246] SEQ ID NO: 18의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 도메인 및 SEQ ID NO: 20의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 도메인을 갖는 항체와 인간 MET에 대한 결합을 위해 경쟁적인 항-MET 항체 또는 항원-결합 부분을 포함한다.
- [0247] 일 구체예에서, 항체 조성물은
- [0248] SEQ ID NO: 34의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 도메인 및 SEQ ID NO: 33의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 도메인을 갖는 항체와 인간 MET에 대한 결합을 위해 경쟁적인 항-MET 항체 또는 이의 항원-결합 부분; 및
- [0249] SEQ ID NO: 36의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 도메인 및 SEQ ID NO: 35의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 도메인을 갖는 항체와 인간 MET에 대한 결합을 위해 경쟁적인 항-MET 항체 또는 항원-결합 부분을 포함한다.
- [0250] 일 구체예에서, 항체 조성물은
- [0251] SEQ ID NO: 6의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 도메인 및 SEQ ID NO: 8의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 도메인을 갖는 항체와 동일한 인간 MET의 에피토프에 결합하는 항-MET 항체 또는 이의 항원-결합 부분; 및
- [0252] SEQ ID NO: 10의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 도메인 및 SEQ ID NO: 12의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 도메인을 갖는 항체와 동일한 인간 MET의 에피토프에 결합하는 항-MET 항체 또는 항원-결합 부분을 포함한다.
- [0253] 일 구체예에서, 항체 조성물은
- [0254] SEQ ID NO: 14의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 도메인 및 SEQ ID NO: 16의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 도메인을 갖는 항체와 동일한 인간 MET의 에피토프에 결합하는 항-MET 항체 또는 이의 항원-결합 부분; 및
- [0255] SEQ ID NO: 18의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 도메인 및 SEQ ID NO: 20의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 도메인을 갖는 항체와 동일한 인간 MET의 에피토프에 결합하는 항-MET 항체 또는 항원-결합 부분을 포함한다.
- [0256] 일 구체예에서, 항체 조성물은
- [0257] SEQ ID NO: 34의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 SEQ ID NO: 33의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 갖는 항체와 동일한 인간 MET의 에피토프에 결합하는 항-MET 항체 또는 이의 항원-결합 부분; 및
- [0258] SEQ ID NO: 36의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 SEQ ID NO: 35의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 갖는 항체와 동일한 인간 MET의 에피토프에 결합하는 항-MET 항체 또는 항원-결합 부분을 포함한다.
- [0259] 일 구체예에서, 항체 조성물은
- [0260] SEQ ID NO: 23의 아미노산 서열을 포함하는 H-CDR3을 갖는 항-MET 항체 또는 이의 항원-결합 부분; 및
- [0261] SEQ ID NO: 29의 아미노산 서열을 포함하는 H-CDR3을 갖는 항-MET 항체 또는 항원-결합 부분을 포함한다.
- [0262] 일 구체예에서, 항체 조성물은

- [0263] SEQ ID NO: 26의 아미노산 서열을 포함하는 L-CDR3을 갖는 항-MET 항체 또는 이의 항원-결합 부분; 및
- [0264] SEQ ID NO: 32의 아미노산 서열을 포함하는 L-CDR3을 갖는 항-MET 항체 또는 항원-결합 부분을 포함한다.
- [0265] 일 구체예에서, 항체 조성물은
- [0266] SEQ ID NO: 23의 아미노산 서열을 포함하는 H-CDR3 및 SEQ ID NO: 26의 아미노산 서열을 포함하는 L-CDR3을 갖는 항-MET 항체 또는 이의 항원-결합 부분; 및
- [0267] SEQ ID NO: 29의 아미노산 서열을 포함하는 H-CDR3 및 SEQ ID NO: 32의 아미노산 서열을 포함하는 L-CDR3을 갖는 항-MET 항체 또는 항원-결합 부분을 포함한다.
- [0268] 일 구체예에서, 항체 조성물은
- [0269] SEQ ID NO: 21, 22, 및 23의 아미노산 서열을 각각 포함하는 H-CDR1, H-CDR2, 및 H-CDR3을 갖는 항-MET 항체 또는 이의 항원-결합 부분; 및
- [0270] SEQ ID NO: 27, 28, 및 29의 아미노산 서열을 각각 포함하는 H-CDR1, H-CDR2, 및 H-CDR3을 갖는 항-MET 항체 또는 항원-결합 부분을 포함한다.
- [0271] 일 구체예에서, 항체 조성물은
- [0272] SEQ ID NO: 24, 25, 및 26의 아미노산 서열을 각각 포함하는 L-CDR1, L-CDR2, 및 L-CDR3을 갖는 항-MET 항체 또는 이의 항원-결합 부분; 및
- [0273] SEQ ID NO: 30, 31, 및 32의 아미노산 서열을 각각 포함하는 L-CDR1, L-CDR2, 및 L-CDR3을 갖는 항-MET 항체 또는 항원-결합 부분을 포함한다.
- [0274] 일 구체예에서, 항체 조성물은
- [0275] SEQ ID NO: 21, 22, 및 23의 아미노산 서열을 각각 포함하는 H-CDR1, H-CDR2, 및 H-CDR3, 및 SEQ ID NO: 24, 25, 및 26의 아미노산 서열을 각각 포함하는 L-CDR1, L-CDR2, 및 L-CDR3을 갖는 항-MET 항체 또는 이의 항원-결합 부분; 및
- [0276] SEQ ID NO: 27, 28, 및 29의 아미노산 서열을 각각 포함하는 H-CDR1, H-CDR2, 및 H-CDR3, 및 SEQ ID NO: 30, 31, 및 32의 아미노산 서열을 각각 포함하는 L-CDR1, L-CDR2, 및 L-CDR3을 갖는 항-MET 항체 또는 항원-결합 부분을 포함한다.
- [0277] 일 구체예에서, 항체 조성물은
- [0278] SEQ ID NO: 6의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 도메인 및 SEQ ID NO: 8의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 도메인을 갖는 항-MET 항체 또는 이의 항원-결합 부분; 및
- [0279] SEQ ID NO: 10의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 도메인 및 SEQ ID NO: 12의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 도메인을 갖는 항-MET 항체 또는 항원-결합 부분을 갖는 항-MET 항체 또는 항원-결합 부분을 포함한다.
- [0280] 일 구체예에서, 항체 조성물은
- [0281] SEQ ID NO: 14의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 도메인 및 SEQ ID NO: 16의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 도메인을 갖는 항-MET 항체 또는 이의 항원-결합 부분; 및
- [0282] SEQ ID NO: 18의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 도메인 및 SEQ ID NO: 20의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 도메인을 갖는 항-MET 항체 또는 항원-결합 부분을 포함한다.
- [0283] 일 구체예에서, 항체 조성물은
- [0284] SEQ ID NO: 34의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 SEQ ID NO: 33의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 갖는 항-MET 항체 또는 이의 항원-결합 부분; 및
- [0285] SEQ ID NO: 36의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 SEQ ID NO: 35의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 갖는 항-MET 항체 또는 항원-결합 부분을 포함한다.
- [0286] 일 구체예에서, 항체 조성물은
- [0287] SEQ ID NO: 6의 아미노산 서열과 적어도 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 일치하는 중쇄 가

변 도메인 및 SEQ ID NO: 8의 아미노산 서열과 적어도 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 일치하는 경쇄 가변 도메인을 갖는 항-MET 항체 또는 이의 항원-결합 부분; 및

[0288] SEQ ID NO: 10의 아미노산 서열과 적어도 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 일치하는 중쇄 가변 도메인 및 SEQ ID NO: 12의 아미노산 서열과 적어도 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 일치하는 경쇄 가변 도메인을 갖는 항-MET 항체 또는 항원-결합 부분을 포함한다.

[0289] 상기 일치율의 제1 항체 및 제2 항체의 임의 조합이 고려된다.

[0290] 일부 구체예에서, 항체 조성물은

[0291] SEQ ID NO: 14의 아미노산 서열과 적어도 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 일치하는 중쇄 가변 도메인 및 SEQ ID NO: 16의 아미노산 서열과 적어도 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 일치하는 경쇄 가변 도메인을 갖는 항-MET 항체 또는 이의 항원-결합 부분; 및

[0292] SEQ ID NO: 18의 아미노산 서열과 적어도 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 일치하는 중쇄 가변 도메인 및 SEQ ID NO: 20의 아미노산 서열과 적어도 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 일치하는 경쇄 가변 도메인을 갖는 항-MET 항체 또는 항원-결합 부분을 포함한다.

[0293] 상기 일치율의 제1 항체 및 제2 항체의 임의 조합이 고려된다.

[0294] 일부 구체예에서, 항체 조성물은

[0295] SEQ ID NO: 34의 아미노산 서열과 적어도 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 일치하는 중쇄 및 SEQ ID NO: 33의 아미노산 서열과 적어도 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 일치하는 경쇄를 갖는 항-MET 항체 또는 이의 항원-결합 부분; 및

[0296] SEQ ID NO: 36의 아미노산 서열과 적어도 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 일치하는 중쇄 및 SEQ ID NO: 35의 아미노산 서열과 적어도 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 일치하는 경쇄를 갖는 항-MET 항체 또는 항원-결합 부분을 포함한다.

[0297] 상기 일치율의 제1 항체 및 제2 항체의 임의 조합이 고려된다.

[0298] 이중특이성 결합 문자

[0299] 다른 양태에서, 본원에 기술된 임의 두 개의 개개 항체의 결합 특이성은 하나의 이중특이성 결합 문자에서 결합될 수 있다. 예를 들어, 이중특이성 결합 문자는 항-MET 항체 9006 및 9338의 결합 특이성을 가질 수 있다. 일부 구체예에서, the 이중특이성 결합 문자는 하기 항-MET 항체 또는 항원-결합 부분들의 결합 특이성을 가질 수 있다:

[0300] SEQ ID NO: 21, 22, 및 23의 아미노산 서열을 각각 포함하는 H-CDR1, H-CDR2, 및 H-CDR3 및 SEQ ID NO: 24, 25, 및 26의 아미노산 서열을 각각 포함하는 L-CDR1, L-CDR2, 및 L-CDR3을 갖는 항-MET 항체 또는 이의 항원-결합 부분; 및

[0301] SEQ ID NO: 27, 28, 및 29의 아미노산 서열을 각각 포함하는 H-CDR1, H-CDR2, 및 H-CDR3 및 SEQ ID NO: 30, 31, 및 32의 아미노산 서열을 각각 포함하는 L-CDR1, L-CDR2, 및 L-CDR3을 갖는 항-MET 항체 또는 항원-결합 부분.

[0302] 일부 구체예에서, 이중특이성 결합 문자는 하기 항-MET 항체 또는 항원-결합 부분들의 결합 특이성을 가질 수 있다:

[0303] SEQ ID NO: 6의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 도메인 및 SEQ ID NO: 8의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 도메인을 갖는 항-MET 항체 또는 이의 항원-결합 부분; 및

[0304] SEQ ID NO: 10의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 도메인 및 SEQ ID NO: 12의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 도메인을 갖는 항-MET 항체 또는 항원-결합 부분.

[0305] 일부 구체예에서, 이중특이성 결합 문자는 하기 항-MET 항체 또는 항원-결합 부분들의 결합 특이성을 가질 수 있다:

[0306] SEQ ID NO: 14의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 도메인 및 SEQ ID NO: 16의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 도메인을 갖는 항-MET 항체 또는 이의 항원-결합 부분; 및

- [0307] SEQ ID NO: 18의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 도메인 및 SEQ ID NO: 20의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 도메인을 갖는 항-MET 항체 또는 항원-결합 부분.
- [0308] 일부 구체예에서, 이중특이성 결합 분자는 하기 항-MET 항체 또는 항원-결합 부분들의 결합 특이성을 가질 수 있다:
- [0309] SEQ ID NO: 34의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 SEQ ID NO: 33의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 갖는 항-MET 항체 또는 이의 항원-결합 부분; 및
- [0310] SEQ ID NO: 36의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 SEQ ID NO: 35의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 갖는 항-MET 항체 또는 항원-결합 부분.
- [0311] 이중특이성 결합 분자는 이중 가변 도메인 항체일 수 있으며, 즉, 여기서, 항체의 두 개의 암(arm)은 두 개의 상이한 가변 도메인을 포함하거나, 이중특이적 Fab 분절 또는 이중특이적 scFv와 같은 항체 분절의 형태일 수 있다.
- [0312] **핵산 문자 및 벡터**
- [0313] 본 발명은 또한 본원에 기술된 항-MET 항체 또는 이의 항원-결합 부분을 엔코딩하는 핵산 문자 및 서열을 제공한다. 일부 구체예에서, 상이한 핵산 문자는 항-MET 항체 또는 항원-결합 부분의 중쇄 아미노산 서열 및 경쇄 아미노산 서열을 엔코딩한다. 다른 구체예에서, 동일한 핵산 문자는 항-MET 항체 또는 항원-결합 부분의 중쇄 아미노산 서열 및 경쇄 아미노산 서열을 엔코딩한다.
- [0314] 뉴클레오티드 서열에 대한 언급은 달리 기술하지 않는 한 이의 보체(complement)를 포함한다. 이에 따라, 특정 서열을 갖는 핵산에 대한 언급은 이의 보체 서열을 갖는 이의 보체 가닥을 포함하는 것으로 이해될 것이다. 본원에서 지칭되는 용어 "폴리뉴클레오티드"는 길이가 적어도 10개의 염기인 뉴클레오티드의 폴리머 형태, 리보뉴클레오티드 또는 데옥시뉴클레오티드 중 어느 하나, 또는 어느 하나의 타입의 뉴클레오티드의 개질된 형태를 의미한다. 이러한 용어는 단일 가닥 형태 및 이중 가닥 형태를 포함한다.
- [0315] 본 발명은 또한, 상술된 뉴클레오티드 서열들 중 하나 이상과 또는 SEQ ID NO: 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 및 33-36으로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 엔코딩하는 뉴클레오티드 서열과 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 97%, 98% 또는 99% 일치하는 뉴클레오티드 서열을 제공한다. 핵산 서열의 맥락에서 용어 "서열 일치율"은 최대 유사성(correspondence)을 위해 정렬될 때의 동일한 두 개의 서열에서의 잔기를 지칭한다. 서열 일치성 비교의 길이는 적어도 약 9개의 뉴클레오티드, 대개 적어도 약 18개의 뉴클레오티드, 보다 일반적으로, 적어도 약 24개의 뉴클레오티드, 통상적으로, 적어도 약 28개의 뉴클레오티드, 더욱 통상적으로, 적어도 약 32개의 뉴클레오티드, 및 바람직하게, 적어도 약 36, 48개 이상의 뉴클레오티드의 신장(stretch) 이상일 수 있다. 뉴클레오티드 서열 일치성을 측정하기 위해 사용될 수 있는 당해 분야에 공지된 여러 상이한 알고리즘이 존재한다. 예를 들어, 폴리뉴클레오티드 서열은 FASTA, Gap 또는 Bestfit를 이용하여 비교될 수 있으며, 이는 Wisconsin Package Version 10.0, Genetics Computer Group (GCG)(Madison, Wisconsin)에서의 프로그램이다. 예를 들어, 프로그램 FASTA2 및 FASTA3을 포함하는 FASTA는 조회 서열과 검색 서열 간의 최상의 중첩의 영역의 정렬 및 서열 일치율을 제공한다[Pearson, *Methods Enzymol.* 183:63-98 (1990); Pearson, *Methods Mol. Biol.* 132:185-219 (2000); Pearson, *Methods Enzymol.* 266:227-258 (1996); Pearson, *J. Mol. Biol.* 276:71-84 (1998); 본원에서 참고로 포함됨]. 달리 명시하지 않는 한, 특정 프로그램 또는 알고리즘에 대한 기본 파라미터들이 사용된다. 예를 들어, 핵산 서열들 간의 서열 일치율은 이의 기본 파라미터(6의 단어 크기 및 스코어링 매트릭스를 위한 NOPAM 인자)를 갖는 FASTA를 이용하거나 GCG Version 6.1에 제공된 바와 같은 이의 기본 파라미터를 갖는 Gap을 이용하여 결정될 수 있으며, 이는 본원에 참고로 포함된다.
- [0316] 일 양태에서, 본 발명은 SEQ ID NO: 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 및 19로 이루어진 군으로부터 선택된 뉴클레오티드 서열을 포함하는 핵산 문자를 제공한다. 일부 구체예에서, 핵산 문자는 SEQ ID NO: 5 및 7, 9 및 11, 13 및 15, 또는 17 및 19의 뉴클레오티드 서열을 포함할 수 있다.
- [0317] 임의 상기 구체예에서, 핵산 문자들이 단리될 수 있다.
- [0318] 다른 양태에서, 본 발명은 본원에 기술된 바와 같은 항체 또는 이의 항원-결합 부분의 사슬들 중 하나를 발현시키기에 적합한 벡터를 제공한다. 본원에서 사용되는 용어 "벡터"는 연결된 다른 핵산을 이동시킬 수 있는 핵산 문자를 의미한다. 일부 구체예에서, 벡터는 플라스미드, 즉, 추가적인 DNA 세그먼트가 결찰될 수 있는 DNA의 원형의 이중 가닥 피스이다. 일부 구체예에서, 벡터는 바이러스 벡터이며, 여기서, 추가적인 DNA 세그먼트가 바이

러스 게놈에 결찰될 수 있다. 일부 구체예에서, 백터는 이러한 것이 도입된 숙주 세포(예를 들어, 복제 및 에피솜 포유동물 백터의 박테리아 기원을 갖는 박테리아 백터)에서 자동 복제를 가능하게 한다. 다른 구체예에서, 백터(예를 들어, 비-에피솜 포유동물 백터)는 숙주 세포에 도입 시에 숙주 세포의 게놈에 통합될 수 있고, 이에 의해, 숙주 게놈과 함께 복제된다. 또한, 특정 백터는 이러한 것이 작동 가능하게 연결된 유전자의 발현을 유도할 수 있다. 이러한 백터는 본원에서 "제조합 발현 백터"(또는 단순하게, "발현 백터")로서 지칭된다.

[0319] 본 발명은 본 발명의 항-MET 항체 또는 항원-결합 부분의 중쇄, 본 발명의 항-MET 항체 또는 항원-결합 부분의 경쇄, 또는 본 발명의 항-MET 항체 또는 항원-결합 부분의 중쇄 및 경쇄 둘 모두를 엔코딩하는 핵산 분자를 포함하는 백터를 제공한다. 본 발명은 또한, 융합 단백질, 변형된 항체, 항체 분절, 및 이의 프로브를 엔코딩하는 핵산 분자를 포함하는 백터를 제공한다.

[0320] 항-MET 항체 또는 이의 부분의 중쇄 및/또는 경쇄를 엔코딩하는 핵산 분자는 이러한 항체 또는 부분을 형성하는 임의 소스(source)로부터 단리될 수 있다. 다양한 구체예에서, 핵산 분자는 인간 MET 항원으로 면역화된 동물로부터 단리된 항-MET 항체를 발현시키는 B 세포로부터, 또는 이러한 B 세포로부터 형성된 무한증식 세포로부터 단리된다. 항체를 엔코딩하는 핵산을 단리시키는 방법은 당해 분야에서 널리 공지되어 있다. mRNA는 항체 유전자의 폴리머라아제 연쇄 반응(PCR) 또는 cDNA 클로닝에서 사용하기 위한 cDNA를 형성시키기 위해 단리되고 사용될 수 있다. 특정 구체예에서, 본 발명의 핵산 분자는 단리되게 보다는 합성될 수 있다.

[0321] 일부 구체예에서, 본 발명의 핵산 분자는 임의 소스로부터의 중쇄 불변 도메인을 엔코딩하는 뉴클레오티드 서열에 프레임 중에(in-frame)에 결합된 본 발명의 항-MET 항체 또는 항원-결합 부분으로부터의 VH 도메인을 엔코딩하는 뉴클레오티드 서열을 포함할 수 있다. 유사하게, 본 발명의 핵산 분자는 임의 소스로부터의 경쇄 불변 도메인을 엔코딩하는 뉴클레오티드 서열에 프레임 중에 결합된 본 발명의 항-MET 항체 또는 항원-결합 부분으로부터의 VL 도메인을 엔코딩하는 뉴클레오티드 서열을 포함할 수 있다.

[0322] 본 발명의 다른 양태에서, 중쇄(VH) 및/또는 경쇄(VL)의 가변 도메인을 엔코딩하는 핵산 분자는 전장 항체 유전자로 "전환"될 수 있다. 일부 구체예에서, VH 도메인 또는 VL 도메인을 엔코딩하는 핵산 분자는, VH 세그먼트가 백터 내에서 CH 세그먼트(들)에 작동 가능하게 결합되고/거나 VL 세그먼트가 백터 내에서 CL 세그먼트에 작동 가능하게 결합되도록, 중쇄 불변(CH) 도메인 또는 경쇄 불변(CL) 도메인을 이미 엔코딩하는 발현 백터에 삽입에 의해 전장 항체 유전자로 전환된다. 다른 구체예에서, VH 도메인 및/또는 VL 도메인을 엔코딩하는 핵산 분자는 표준 분자 생물학적 기술을 이용하여 CH 도메인 및/또는 CL 도메인을 엔코딩하는 핵산 분자에 VH 도메인 및/또는 VL 도메인을 엔코딩하는 핵산 분자를 연결시킴으로써, 예를 들어, 결찰시킴으로써 전장 항체 유전체로 전환된다. 전장 중쇄 및/또는 경쇄를 엔코딩하는 핵산 분자는 이후에, 이러한 것이 도입된 세포 및 단리된 항-MET 항체로부터 발현될 수 있다.

[0323] 핵산 분자는 대량의 항-MET 항체를 재조합적으로 발현시키기 위해 사용될 수 있다. 핵산 분자는 또한, 본원에 기술된 바와 같은 키메라 항체, 이중특이성 항체, 단쇄 항체, 면역접합체, 이중체, 돌연변이된 항체 및 항체 유도체를 형성시키기 위해 사용될 수 있다.

[0324] 다른 구체예에서, 본 발명의 핵산 분자는 특이적 항체 서열을 위한 프로브 또는 PCR 프라이머로서 사용된다. 예를 들어, 핵산은 그 중에서도 항-MET 항체의 가변 도메인을 엔코딩하는 추가적인 핵산 분자를 단리시키기 위해 사용될 수 있는 DNA의 영역을 증폭시키기 위한 PCR 프라이머로서 또는 진단 방법에서의 프로브로서 사용될 수 있다. 일부 구체예에서, 핵산 분자는 올리고뉴클레오티드이다. 일부 구체예에서, 올리고뉴클레오티드는 고려되는 항체의 중쇄 및 경쇄의 고도의 가변 도메인으로부터 기인한 것이다. 일부 구체예에서, 올리고뉴클레오티드는 본원에 기술된 바와 같은 본 발명의 항-MET 항체 또는 이의 항원-결합 부분의 CDR를 중 하나 이상 모두 또는 일부를 엔코딩한다.

[0325] 다른 구체예에서, 핵산 분자 및 백터는 돌연변이된 항-MET 항체를 제조하기 위해 사용될 수 있다. 항체는 예를 들어, 항체의 결합 성질을 변경시키기 위해, 중쇄 및/또는 경쇄의 가변 도메인에서 돌연변이될 수 있다. 예를 들어, 돌연변이는 항-MET 항체의 K_D 를 증가시키거나 감소시키기 위해, k_{off} 를 증가시키거나 감소시키기 위해, 또는 항체의 결합 특이성을 변경시키기 위해 CDR 영역들 중 하나 이상에서 이루어질 수 있다. 다른 구체예에서, 하나 이상의 돌연변이는 본 발명의 모노클로날 항체에서의 생식 계열과 비교하여 변경되는 것으로 알려진 아미노산 잔기에서 이루어진다. 돌연변이는 가변 도메인의 CDR 영역 또는 프레임워크에서 또는 불변 도메인에서 이루어질 수 있다. 바람직한 구체예에서, 돌연변이는 가변 도메인에서 이루어진다. 일부 구체예에서, 하나 이상의 돌연변이는 본 발명의 항체 또는 이의 항원-결합 부분의 가변 도메인의 CD 영역 또는 프레임워크 영역에서의 생

식 계열과 비교하여 변경되는 것으로 알려진 아미노산 잔기에서 이루어진다.

[0326] 다른 구체예에서, 프레임워크 영역(들)은 얻어진 프레임워크 영역(들)이 상응하는 생식 계열 유전자의 아미노산 서열을 갖도록 돌연변이된다. 돌연변이는 항-MET 항체의 반감기를 증가시키기 위해 프레임워크 영역 또는 불변 도메인에서 이루어질 수 있다[예를 들어, PCT 공개 WO 00/09560호 참조]. 프레임워크 영역 또는 불변 도메인에서의 돌연변이는 또한, 항체의 면역원성을 변경시키기 위해 및/또는 다른 분자에 대한 공유 또는 비-공유 결합을 위한 사이트를 제공하기 위해 이루어질 수 있다. 본 발명에 따르면, 단일 항체는 가변 도메인의 CDR 또는 프레임워크 영역들 중 임의 하나 이상에 또는 불변 도메인에서 돌연변이를 가질 수 있다.

[0327] 일부 구체예에서, 본 발명의 항-MET 항체 또는 이의 항원-결합 부분은 전사 및 번역 조절 서열과 같은 필수적인 발현 조절 서열에 유전자가 작동 가능하게 결합되도록 발현 벡터에, 상술된 바와 같이 얻어진, 부분 또는 전장 경쇄 및 중쇄를 엔코딩하는 DNA를 삽입함으로써 발현된다. 발현 벡터는 플라스미드, 레트로바이러스, 아데노바이러스, 아데노-관련 바이러스(AAV), 식물 바이러스, 예를 들어, 꽃양배추 모자이크 바이러스, 담배 모자이크 바이러스, 코스미드, YAC, EBV 유도 에피솜, 등을 포함한다. 항체 유전자는 벡터 내의 전사 및 번역 조절 서열이 항체 유전자의 전사 및 번역을 조절하는 이의 의도된 기능을 제공하도록 벡터에 결찰될 수 있다. 발현 벡터 및 발현 조절 서열은 사용되는 발현 숙주 세포와 양립 가능하도록 선택될 수 있다. 항체 경쇄 유전자 및 항체 중쇄 유전자는 별도의 벡터에 삽입될 수 있다. 일 구체예에서, 두 개의 유전자 모두는 동일한 발현 벡터에 삽입된다. 항체 유전자는 표준 방법(예를 들어, 항체 유전자 분절 및 벡터 상의 상보적 제한 사이트의 결착, 또는 제한 사이트가 존재하지 않는 경우에 블런트 단부 결찰(blunt end ligation))에 의해 발현 벡터에 삽입될 수 있다.

[0328] 통상적인 벡터는 상술된 바와 같이, 임의 VH 서열 또는 VL 서열이 용이하게 삽입되고 발현되도록 공학처리된 적절한 제한 부위를 갖는, 기능적으로 완전 인간 CH 또는 CL 면역글로불린 서열을 엔코딩하는 것이다. 이러한 벡터에서, 분할은 대개, 삽입된 J 영역에서의 스플라이스 도너 사이트와 인간 C 도메인에 선행하는 스플라이스 수용체 사이트 사이에서 그리고 또한 인간 CH 엑손 내에서 일어나는 스플라이스 영역에서 일어난다. 폴리아데닐화 및 전사 종결화는 코딩 영역의 다운스트림의 고유 염색체 사이트에서 일어날 수 있다. 재조합 발현 벡터는 또한, 숙주 세포로부터 항체 사슬의 분비를 촉진시키는 신호 펩티드를 엔코딩할 수 있다. 항체 사슬 유전자는 신호 펩티드가 면역글로불린 사슬의 아미노 말단에 신호 펩티드가 프레임에 결합되도록 벡터에 클로닝될 수 있다. 신호 펩티드는 면역글로불린 신호 펩티드 또는 이종 신호 펩티드(즉, 비-면역글로불린 단백질로부터의 신호 펩티드)일 수 있다.

[0329] 항체 사슬 유전자에 추가하여, 본 발명의 재조합 발현 벡터는 숙주 세포에서 항체 사슬 유전자의 발현을 조절하는 조절 서열을 지닐 수 있다. 조절 서열의 선택을 포함하는, 발현 벡터의 디자인이 변형될 숙주 세포의 선택, 요망되는 단백질의 발현 수준, 등과 같은 인자에 따를 수 있다는 것은 당업자에 의해 인식될 것이다. 포유동물 숙주 세포 발현을 위한 바람직한 조절 서열은 포유동물 세포에서 높은 수준의 단백질 발현을 유도하는 바이러스 구성요소, 예를 들어, 레트로바이러스 LTR, 시토메갈로바이러스(CMV)(예를 들어, CMV 프로모터/인헨서(Simian Virus 40(SV40)(예를 들어, SV40 프로모터/인헨서), 아데노바이러스(예를 들어, 아데노바이러스 주요 레이트 프로모터(adenovirus major late promoter; AdMLP))로부터 유도된 프로모터 및/또는 인헨서, 폴리오마(polyoma) 및 강한 포유동물 프로모터, 예를 들어, 고유 면역글로불린 및 액틴 프로모터를 포함한다. 바이러스 조절 구성 요소 및 이의 서열의 추가 설명을 위하여, 미국특허 제5,168,062호, 제4,510,245호 및 제4,968,615호가 참조된다. 프로모터 및 벡터의 설명을 포함하는 식물에서 항체를 발현시키는 방법, 뿐만 아니라 식물의 변형이 당해 분야에 공지되어 있다[예를 들어, 미국특허 제6,517,529호 참조]. 박테리아 세포 또는 진균 세포, 예를 들어, 효모 세포에서 폴리펩티드를 발현시키는 방법이 또한 당해 분야에 널리 공지되어 있다.

[0330] 항체 사슬 유전자 및 조절 서열에 추가하여, 본 발명의 재조합 발현 벡터는 추가적인 서열, 예를 들어, 숙주 세포(예를 들어, 복제의 기원)에서 벡터 및 선택 가능한 마커 유전자의 복제를 조절하는 서열을 지닐 수 있다. 선택 가능한 마커 유전자는 벡터가 도입된 숙주 세포의 선택을 촉진시킨다[예를 들어, 미국특허 제4,399,216호, 제4,634,665호 및 제5,179,017호 참조]. 예를 들어, 통상적으로, 선택 가능한 마커 유전자는 벡터가 도입된 숙주 세포 상에 약물, 예를 들어, G418, 히그로마이신 또는 메토트렉세이트에 대한 내성을 부여한다. 예를 들어, 선택 가능한 마커 유전자는 디히드로폴레이트 환원효소(DHFR) 유전자(메토트렉세이트 선택/증폭을 갖는 dhfr-숙주 세포에서 사용하기 위한), 네오 유전자(G418 선택을 위한), 및 글루타메이트 합성효소 유전자를 포함한다.

[0331] 본원에서 사용되는 용어 "발현 조절 서열"은 결찰되는 코딩 서열의 발현 및 처리를 달성하는데 필수적인 폴리뉴클레오티드 서열을 의미한다. 발현 조절 서열은 적절한 전사 개시, 종결, 프로모터 및 인헨서 서열; 효율적은

RNA 처리 신호, 예를 들어, 분할 및 폴리아데닐화 신호; 세포질 mRNA를 안정화시키는 서열; 번역 효율을 향상시키는 서열(즉, Kozak 공통 서열); 단백질 안정성을 향상시키는 서열; 및 요망될 때, 단백질 분비를 향상시키는 서열을 포함한다. 이러한 조절 서열의 특성은 숙주 유기체에 따라 상이하며, 원생 생물에서, 이러한 조절 서열은 일반적으로 프로모터, 리보솜 결합 사이트, 및 전사 종결 서열을 포함하며, 진핵 생물에서, 일반적으로 이러한 조절 서열은 프로모터 및 전사 종결 서열을 포함한다. 용어 "조절 서열"은 최소로, 발현 및 처리를 위해 필수적으로 존재하는 모든 성분들을 포함하도록 의도되고, 또한, 존재하는 것이 유리한 추가적인 성분, 예를 들어, 리더 서열(leader sequence) 및 융합 파트너 서열을 포함할 수 있다.

[0332] 본 발명의 항체 및 항체 조성을 제조하는 하이브리도마 방법

[0333] 특정 구체예에서, 본 발명은 (a) 비-인간 형질전환 동물을 MET, MET의 일부 또는 MET를 발현시키는 세포 또는 조직을 면역화시키고; (b) 형질전환 동물에 MET에 대한 면역 반응을 마운팅시킬 수 있고; (c) 형질전환 동물로부터 항체-형성 세포를 단리시키고; (d) 항체-형성 세포를 불멸화하고; (e) 불멸화된 항체-형성 세포의 개개 모노클론 집단을 생성시키고; (f) MET에 대해 유도된 항체를 동정하기 위해 불멸화된 항체-형성 세포를 스크리닝하는 것을 포함하는, MET에 대해 유도된 인간 모노클로날 항체 또는 항원-결합 부분을 형성하는 세포주를 제조하는 방법을 제공한다.

[0334] 다른 양태에서, 본 발명은 인간 항-MET 항체를 형성시키는 세포주를 제공한다. 일부 구체예에서, 세포주는 하이브리도마 세포주이다. 일부 구체예에서, 하이브리도마는 상술된 바와 같은 마우스 하이브리도마이다. 다른 구체예에서, 하이브리도마는 랫트, 양, 돼지, 염소, 소 또는 말과 같은 비-인간, 비-마우스 종에서 형성된다. 다른 구체예에서, 하이브리도마는 인간 하이브리도마이다.

[0335] 다른 구체예에서, 형질전환 동물은 MET 항원, 1차 세포로 면역화되며, 예를 들어, 비장 또는 말초 혈액 B 세포는 면역화된 형질전환 동물로부터 단리되며, 요망되는 항원에 대해 특이적인 항체를 형성시키는 개개 세포가 동정된다. 각 개개 세포로부터의 폴리아데닐화된 mRNA는 단리되며, 역전사 폴리머라아제 연쇄 반응(RT-PCR)은 가변 도메인 서열로 어닐링시키는, 예를 들어, 인간 중쇄 및 경쇄 가변 도메인 유전자의 FR1 영역의 대부분 또는 모두를 인식하는 프라이머를 퇴화시키는 센스 프라이머, 및 불변 또는 결합 영역 서열로 어닐링하는 앤티-센스 프라이머를 사용하여 수행된다. 중쇄 및 경쇄 가변 도메인의 cDNA는 이후에 임의 적합한 숙주 세포, 예를 들어, 중쇄 및 κ 또는 λ 불변 도메인과 같은 개개 면역글로불린 불변 영역을 갖는 키메라 항체로서 골수종 세포에서 발현된다[문헌[Babcock et al., *Proc Natl Acad Sci USA* 93:7843-48 (1996)] 참조]. 항-MET 항체는 이후에, 본원에 기술된 바와 같이 동정되고 단리될 수 있다.

[0336] 파지 디스플레이 라이브러리(Phage Display Library)

[0337] 본 발명은 파지 상에 인간 항체의 라이브러리를 합성하는 단계, 라이브러리를 MET 또는 이의 항체-결합 부분으로 스크리닝하는 단계, MET에 결합하는 파지를 단리시키는 단계, 및 파지로부터 항체를 수득하는 단계를 포함하는 항-MET 항체 또는 이의 항원-결합 부분을 형성시키는 방법을 제공한다. 일 예로서, 파지 디스플레이 기술에서 사용하기 위한 항체의 라이브러리를 제조하는 하나의 방법은 비-인간 동물을 MET 또는 이의 항원 부분으로 면역화시켜 면역 반응을 생성시키는 단계, 면역화된 동물로부터 항체-형성 세포를 추출하는 단계; 추출된 세포로부터 본 발명의 항체의 중쇄 및 경쇄를 엔코딩하는 RNA를 단리시키는 단계, RNA를 역전사시켜 cDNA를 형성시키는 단계, 프라이머를 사용하여 cDNA를 증폭시키는 단계, 및 항체가 파지 상에서 발현되도록 cDNA를 파지 디스플레이 벡터에 삽입하는 단계를 포함한다. 본 발명의 재조합 항-MET 항체는 이러한 방식으로 얻어질 수 있다.

[0338] 본 발명의 재조합 인간 항-MET 항체는 재조합 조합 항체 라이브러리를 스크리닝함으로써 단리될 수 있다. 바람직하게, 라이브러리는 B 세포로부터 단리된 mRNA로부터 제조된 인간 VL 및 VH cDNA를 사용하여 발생된, scFv 파지 디스플레이 라이브러리이다. 이러한 라이브러리를 제조하고 스크리닝하는 방법은 당해 분야에 공지되어 있다. 파지 디스플레이 라이브러리를 발생시키기 위한 키트는 상업적으로 입수 가능하다[예를 들어, Pharmacia Recombinant Phage Antibody System, catalog no. 27 9400 01; 및 the Stratagene SurfZAP™ phage display kit, catalog no. 240612]. 또한, 항체 디스플레이 라이브러리를 발생시키고 스크리닝하는데 사용될 수 있는 다른 방법 및 시약이 존재한다[예를 들어, 미국특허 제5,223,409호; PCT 공개문 WO 92/18619, WO 91/17271, WO 92/20791, WO 92/15679, WO 93/01288, WO 92/01047, and WO 92/09690; 문헌[Fuchs et al., *Bio/Technology* 9:1370 1372 (1991); Hay et al., *Hum Antibod Hybridomas* 3:81 85 (1992); Huse et al., *Science* 246:1275 1281 (1989); McCafferty et al., *Nature* 348:552 554 (1990); Griffiths et al., *EMBO J* 12:725 734 (1993); Hawkins et al., *J Mol Biol* 226:889 896 (1992); Clackson et al., *Nature* 352:624 628 (1991); Gram et al., *Proc Natl Acad Sci USA* 89:3576 3580 (1992); Garrad et al., *Bio/Technology* 9:1373 1377 (1991);

Hoogenboom et al., *Nuc Acid Res* 19:4133 4137 (1991); 및 Barbas et al., *Proc Natl Acad Sci USA* 88:7978 7982 (1991) 참조, 이러한 모든 문헌은 본원에 참고됨].

[0339] 일 구체예에서, 요망되는 특징을 갖는 인간 항-MET 항체를 단리시키고 형성시키기 위해, 본원에 기술된 바와 같은 인간 항-MET 항체가 PCT 공개문 WO 93/06213호(본원에 참고로 포함됨)에 기술된 에피토프 전사 방법을 이용하여 MET에 대한 유사한 결합 활성을 갖는 인간 중쇄 및 경쇄 서열을 선택하기 위해 먼저 사용된다. 이러한 방법에서 사용되는 항체 라이브러리는 바람직하게, PCT 공개문 WO 92/01047호, 문헌[McCafferty et al., *Nature* 348:552 554 (1990); 및 Griffiths et al., *EMBO J* 12:725 734 (1993)]에 기술된 바와 같이 제조되고 스크리닝 된 scFv 라이브러리이며, 이러한 모든 문헌은 본원에 참고로 포함된다. scFv 항체 라이브러리는 바람직하게 항원으로서 인간 MET를 사용하여 스크리닝된다.

[0340] 초기 인간 VL 및 VH 도메인이 선택된 직후에, "혼합 및 매칭" 실험이 수행될 수 있는데, 여기서, 초기에 선택된 VL 및 VH 세그먼트의 상이한 쌍이 바람직한 VL/VH 쌍 조합을 선택하기 위해 MET 결합에 대해 스크리닝된다. 추가적으로, 항체의 품질을 추가로 개선시키기 위해, 바람직한 VL/VH 쌍(들)의 VL 및 VH 세그먼트는 자연 면역 반응 동안 항체의 친화력 돌연변이의 원인이 되는 생체내 체세포 돌연변이와 유사한 과정에서, 바람직하게, VH 및 /또는 VL의 CDR3 영역 내에서 무작위적으로 돌연변이될 수 있다. 이러한 시험관내 친화력 돌연변이는 VH CDR3 또는 VL CDR3에 대해 상보적인 OCR 프라이머를 사용하여 VH 도메인 및 VL 도메인을 증폭시킴으로써 달성될 수 있으며, 그러한 프라이머는, 얻어진 PCR 생성물이 VH 및 VL 세그먼트를 엔코딩하여 여기에 랜덤 돌연변이가 VH 및 /또는 VL CDR3 영역에 도입되도록 특정 위치에 4개의 뉴클레오티드 염기의 랜덤 혼합물과 "혼합(spike)"된다. 이러한 무작위적으로 돌연변이화된 VH 및 VL 세그먼트는 MET에 대한 결합을 위해 재-스크리닝될 수 있다.

[0341] 재조합 면역글로불린 디스플레이 라이브러리로부터 본 발명의 항-MET 항체의 스크리닝 및 단리 후에, 선택된 항체를 엔코딩하는 핵산은 디스플레이 파지로부터(예를 들어, 파지 계놈으로부터) 회수되고, 표준 재조합 DNA 기술에 의해 다른 발현 벡터에 서브클로닝될 수 있다. 요망되는 경우에, 핵산은 본원에 기술된 바와 같이, 본 발명의 다른 항체 형태를 생성시키기 위해 추가로 조작될 수 있다. 조합 라이브러리의 스크리닝에 의해 단리된 재조합 인간 항체를 발현시키기 위해, 항체를 엔코딩하는 DNA는 재조합 발현 벡터에 클로닝되고, 본원에 기술된 바와 같이, 포유동물 숙주 세포에 도입된다.

β-하이브리도마 숙주 세포 및 항체 및 항체 조성물의 형성 방법

[0343] 본 발명의 추가적인 양태는 본 발명의 항체 조성물 및 항체 및 이의 항원-결합 부분을 형성시키는 방법에 관한 것이다. 본 발명의 이러한 양태의 일 구체예는 항체를 발현시킬 수 있는 재조합 숙주 세포를 제공하고, 항체의 발현을 위해 적합한 조건 하에서 상기 숙주 세포를 배양시키고, 얻어진 항체를 단리시키는 것을 포함하는, 본원에서 규정된 바와 같은 항체를 형성시키는 방법에 관한 것이다. 이러한 재조합 숙주 세포에서 이러한 발현에 의해 형성된 항체는 본원에서 "재조합 항체"로서 지칭된다. 본 발명은 또한, 이러한 숙주 세포의 자손 세포, 및 이에 의해 형성된 항체를 제공한다.

[0344] 본원에서 사용되는 용어 "재조합 숙주 세포"(또는 간단하게 "숙주 세포")는 재조합 발현 벡터가 도입된 세포를 의미한다. 본 발명은 예를 들어, 상술된 본 발명에 따른 벡터를 포함할 수 있는 숙주 세포를 제공한다. 본 발명은 또한, 예를 들어, 본 발명의 항-MET 항체 또는 이의 항원-결합 부분의, 중쇄 또는 항원-결합 부분을 엔코딩하는 뉴클레오티드 서열, 경쇄 또는 항원-결합 부분을 엔코딩하는 뉴클레오티드 서열, 또는 둘 모두를 포함하는 숙주 세포를 제공한다. "재조합 숙주 세포" 및 "숙주 세포"가 특정 대상 세포 뿐만 아니라, 이러한 세포의 자손을 의미하는 것으로 이해될 것이다. 특정 개질이 돌연변이 또는 환경적 영향 중 어느 하나로 인해 잇다르는 세대에서 일어날 수 있기 때문에, 이러한 자손은 실제로, 모세포와 일치하지 않고, 본원에서 사용되는 바와 같은 용어 "숙주 세포"의 범위 내에 포함될 수 있다.

[0345] 항-MET 항체를 엔코딩하는 핵산 분자 및 이러한 핵산 분자를 포함하는 벡터는 적합한 포유동물, 식물, 박테리아 또는 효모 숙주 세포의 트랜스펙션(transfection)을 위해 사용될 수 있다. 변형은 폴리뉴클레오티드를 숙주 세포에 도입하기 위한 임의 공지된 방법에 의한 것일 수 있다. 이종 폴리뉴클레오티드를 포유동물 세포에 도입하는 방법은 당해 분야에 널리 공지되어 있고, 엑스트란-매개 트랜스펙션, 칼슘 포스페이트 침전, 폴리브렌-매개 트랜스펙션, 원형질 융합, 전기천공, 리포솜 중에 폴리뉴클레오티드(들)의 캡슐화, 및 핵에 DNA의 직접 미세주입을 포함한다. 또한, 핵산 분자는 바이러스 벡터에 의해 포유동물 세포에 도입될 수 있다. 세포를 변형시키는 방법은 당해 분야에 널리 공지되어 있다[예를 들어, 미국특허 제4,399,216호, 제4,912,040호, 제4,740,461호, 및 제4,959,455호 참조]. 식물 세포를 변형시키는 방법은 당해 분야에 널리 공지되어 있고, 예를 들어, 아그로박테리움-매개 변형, 유전자총법 변형, 직접 주입, 전기천공 및 바이러스 변형을 포함한다. 박테리아 및 효모

세포를 변형시키는 방법이 또한 당해 분야에 널리 공지되어 있다.

- [0346] 발현을 위한 숙주로서 입수 가능한 포유동물 세포주는 당해 분야에서 널리 공지되어 있고, 미국 표준 균주 배양 수집소(American Type Culture Collection; ATCC)로부터 입수 가능한 다수의 불멸화된 세포주를 포함한다. 이러한 것은 다른 것들 중에서, 중국 햄스터 난소(CHO) 세포, NSO 세포, SP2 세포, HEK-293T 세포, 293 Freestyle 세포(Invitrogen), NIH-3T3 세포, HeLa 세포, 새끼 햄스터 신장(BHK) 세포, 아프리카 그린 몽키 신장 세포(COS), 인간 간세포 암종 세포(예를 들어, Hep G2), A549 세포, 및 다수의 다른 세포주를 포함한다. 특히 바람직한 세포주는 세포주가 높은 발현 수준을 갖는 것을 결정하는 것을 통해 선택된다. 사용될 수 있는 다른 세포주에는 곤충 세포주, 예를 들어, Sf9 또는 Sf21 세포가 있다. 항체 유전자를 엔코딩하는 재조합 발현 벡터가 포유동물 숙주 세포에 도입될 때, 항체는 숙주 세포를, 숙주 세포에서 항체의 발현을 가능하게 하거나 더욱 바람직하게 숙주 세포가 성장되는 배양 배지에 항체의 분비를 가능하게 하는데 충분한 시간 동안 배양시킴으로써 형성된다. 항체는 표준 단백질 정제 방법을 이용하여 배양 배지로부터 회수될 수 있다. 식물 숙주 세포는 예를 들어, 니코티아나(Nicotiana), 아라비돕시스(Arabidopsis), 좀개구리밥(duckweed), 옥수수, 밀, 감자, 등을 포함한다. 박테리아 숙주 세포는 대장균 및 스트렙토마이세스 종을 포함한다. 효모 숙주 세포는 스키조사카로마이세스 폼베(*Schizosaccharomyces pombe*), 사카로마이세스 세레비시아에(*Saccharomyces cerevisiae*) 및 피치아 파스토리스(*Pichia pastoris*)를 포함한다.
- [0347] 또한, 생산 세포주로부터의 본 발명의 항체 또는 이의 항원-결합 부분의 발현은 다수의 공지된 기술을 이용하여 향상될 수 있다. 예를 들어, 글루타민 합성효소 유전자 발현 시스템(GS 시스템)은 특정 조건 하에서 발현을 향상시키기 위한 일반적인 방법이다. GS 시스템은 EP 특허 0 216 846, 0 256 055, 0 323 997 및 0 338 841와 관련하여 전부 또는 일부 논의되어 있다.
- [0348] 상이한 세포주에 의해 또는 형질전환 동물에서 발현된 항체가 서로 상이한 그리코실화 패턴을 가질 가능성이 있다. 그러나, 본원에 제공된 핵산 분자에 의해 코딩되거나 본원에 제공된 아미노산 서열을 포함하는 모든 항체는 항체의 글리코실화 상태와 무관하게, 그리고, 보다 일반적으로, 번역후 개질(들)의 존재 또는 부재와는 무관하게, 본 발명의 일부이다.
- [0349] 다른 구체예에서, 본 발명은 적어도 두 개의 항-MET 항체를 포함하는 항체 조성물을 제조하는 방법으로서,
- [0350] - 적어도 제1 숙주 세포 및 제2 숙주 세포를 제공하되, 제1 숙주 세포가 본 발명의 제1 항-MET 항체를 발현시킬 수 있으며, 제2 숙주 세포가 본 발명의 제2 항-MET 항체를 발현시킬 수 있고;
- [0351] - 항-MET 항체의 발현을 위해 적합한 조건 하에서 제1 숙주 세포 및 제2 숙주 세포를 배양시키고;
- [0352] - 얻어진 항체를 단리시키는 것을 포함하는 방법에 관한 것이다.
- [0353] 본 발명의 항체 또는 이의 항원-결합 부분 또는 항체 조성물은 재조합 모노클로날 항체 또는 폴리클로날 항체의 생산을 위한 당해 분야에 일반적으로 공지된 방법에 의해 형성될 수 있다. 이에 따라, 본 발명의 단일 항체의 생산의 경우에, 재조합 모노클로날 항체의 생산을 위한 당해 분야에 공지된 임의 방법이 사용될 수 있다. 항체의 혼합물을 포함하는 본 발명의 항체 조성물을 형성시키기 위해, 개개 항체는 별도로 형성시킬 수 있으며, 즉, 각 항체는 별개의 생물반응기에서 형성되거나, 개개 항체는 단일 생물반응기에서 함께 형성될 수 있다. 항체 조성물이 1개 초과의 생물반응기에서 형성되는 경우에, 정제된 항체 조성물은 각 생물반응기로부터 개별적으로 정제된 상청액으로부터 수득된 항체를 풀링함으로써 수득될 수 있다. 세포주 또는 항체 제조물을 후속 포인트 업스트림에서 또는 다운스트림 가공 이전 또는 동안에 조합하는 다수의 생물반응기에서 폴리클로날 항체 조성물의 생산을 위한 다양한 방법은 WO 2009/129814호에 기재되어 있다(이러한 문헌은 본원에 참고로 포함됨).
- [0354] 단일 생물반응기에서 개개 항체를 형성시키는 경우에, 이러한 것은 예를 들어, WO 2004/061104호 또는 WO 2008/145133호(둘 모두는 본원에 참고로 포함됨)에 기술된 바와 같이 수행될 수 있다. WO 2004/061104호에 기술된 방법은 개개 숙주 세포의 계놈에 항체 코딩 서열의 사이트-특이적 통합(site-specific integration)을 기초로 한 것이며, WO 2008/145133호의 방법은 단일 생물반응기에서 항체를 형성시키기 위한 랜덤 통합(random integration)을 이용한 대안적인 방법을 포함한다.
- [0355] 본 발명의 항체 및 조성물을 제조하기 위해 적합한 방법과 관련한 추가 정보는 WO 2012/059857호에서 확인될 수 있다(이러한 문헌은 본원에 참고로 포함됨).
- [0356] 형질전환 동물 및 식물
- [0357] 본 발명의 항-MET 항체 및 이의 항원-결합 부분은 또한, 고려되는 면역글로불린 중쇄 서열 및 경쇄 서열에 대해

형질전환된 포유동물 또는 식물의 발생 및 이로부터의 회수 가능한 형태의 항체의 생산을 통해 형질전환적으로 형성될 수 있다. 포유동물에서 형질전환 생산과 관련하여, 항-MET 항체 및 부분은 염소, 젖소, 또는 다른 포유동물의 우유에서 형성되고 이로부터 회수될 수 있다[예를 들어, 미국특허 제5,827,690호, 제5,756,687호, 제5,750,172호, 및 제5,741,957호 참조]. 일부 구체예에서, 인간 면역글로불린 유전자좌를 포함하는 비-인간 형질전환 동물은 상술된 바와 같이, 인간 MET 또는 이의 면역성 부분으로 면역화된다. 식물에서 항체를 제조하는 방법은 예를 들어, 미국특허 제6,046,037호 및 제5,959,177호에 기재되어 있다.

[0358] 일부 구체예에서, 비-인간 형질전환 동물 또는 식물은 본 발명의 항-MET 항체 또는 이의 항원-결합 부분을 엔코딩하는 하나 이상의 핵산 분자(예를 들어, 항-MET 항체 또는 이의 항원-결합 부분을 엔코딩하는 임의 상술된 핵산 분자)를 표준 형질전환 기술에 의해 동물 또는 식물에 도입함으로써 형성된다[예를 들어, 미국특허 제6,417,429호 참조]. 형질전환 동물을 만들기 위해 사용되는 형질전환 세포는 배아줄기 세포 또는 체세포 또는 수정란일 수 있다. 형질전환 비-인간 유기체는 키메라, 비키메라 이형 접합체 또는 비케마라 동형접합체일 수 있다[예를 들어, 문헌[Hogan et al., *Manipulating the Mouse Embryo: A Laboratory Manual* 2nd ed., Cold Spring Harbor Press (1999); Jackson et al., *Mouse Genetics and Transgenics: A Practical Approach*, Oxford University Press (2000); 및 Pinkert, *Transgenic Animal Technology: A Laboratory Handbook*, Academic Press (1999)] 참조]. 일부 구체예에서, 형질전환 비-인간 동물은 고려되는 종쇄 및/또는 경쇄를 엔코딩하는 타겟화 작제물에 의한 타겟화된 파괴 및 대체를 갖는다. 비-인간 형질전환 동물 또는 식물은 예를 들어, 본 발명의 항-MET 항체의, 종쇄 또는 항원-결합 부분을 엔코딩하는 뉴클레오티드 서열, 경쇄 또는 항원-결합 부분을 엔코딩하는 뉴클레오티드 서열, 또는 둘 모두를 포함할 수 있다. 바람직한 구체예에서, 형질전환 동물은 인간 MET에 특이적으로 결합하는, 종쇄 및 경쇄, 또는 이의 항원-결합 부분을 엔코딩하는 핵산을 포함하고 이를 발현시킨다. 항-MET 항체 또는 부분은 임의 형질전환 동물에서 제조될 수 있다. 바람직한 구체예에서, 비-인간 동물은 마우스, 랫트, 양, 돼지, 염소, 소 또는 말이다. 비-인간 형질전환 동물은 예를 들어, 혈액, 우유, 소변, 타액, 눈물, 점액 및 다른 신체 유체에서 상기 엔코딩된 폴리펩티드를 발현시킬 수 있다.

[0359] 약제 조성물

[0360] 본 발명의 다른 양태는 활성 성분으로서 (또는 단독 활성 성분으로서) 본 발명의 항-MET 항체 또는 이의 항원-결합 부분 또는 항-MET 항체 조성물을 포함하는 약제 조성물이다. 약제 조성물은 본원에 기술된 바와 같은 임의 항-MET 항체 조성물 또는 항체 또는 이의 항원-결합 부분을 포함할 수 있다. 일부 구체예에서, 조성물은 MET-매개 장애(예를 들어, MET의 과발현에 의해 특징되는 장애) 및/또는 암의 개선, 예방, 및/또는 치료를 위해 의도된 것이다. 특정 구체예에서, 조성물은 비-소세포 폐암, 위암, 간세포암종, 식도암, 대장암, 유두상 신세포암, 교모세포종, 신세포암종, 전립선암, 및/또는 부신피질 암종의 개선, 예방, 및/또는 치료를 위해 의도된 것이다.

[0361] 일반적으로, 본 발명의 항체 또는 이의 항원-결합 부분은 하나 이상의 약제학적으로 허용되는 부형제(들)과 공동으로 제형으로서 투여되기에 적합하다. 용어 "부형제"는 본 발명의 화합물(들) 이외의 임의 구성성분을 기술하기 위해 본원에서 사용된다. 부형제(들)의 선택은 특정 투여 모드, 용해도 및 안정성에 대한 부형제의 효과, 및 투약 형태의 특성과 같은 인자에 상당히 따를 것이다. 본원에서 사용되는 "약제학적으로 허용되는 부형제"는 생리학적으로 혼화 가능한, 임의 및 모든 용매, 분산 매질, 코팅, 항박테리아 및 항진균제, 등장제 및 흡수 지연제, 등을 포함한다. 약제학적으로 허용되는 부형제의 일부 예에는 물, 염수, 포스페이트 완충된 염수, 텍스트로오스, 글리세롤, 에탄올, 등, 뿐만 아니라 이들의 조합이 있다. 여러 경우에, 조성물에 등장제, 예를 들어, 당, 폴리알코올, 예를 들어, 만니톨, 소르비톨, 또는 소듐 클로라이드를 포함시키는 것이 바람직할 것이다. 약제학적으로 허용되는 물질의 추가적인 예에는 습윤제 또는 소량의 보조 물질, 예를 들어, 습윤 또는 에멀젼화제, 보존제 또는 완충제가 있으며, 이는 항체의 저장 수명 또는 효능을 향상시킨다.

[0362] 본 발명의 약제 조성물 및 이의 제조 방법은 당업자에게 자명할 것이다. 이러한 조성물 및 이의 제조 방법은 예를 들어, 문헌[Remington's Pharmaceutical Sciences, 19th Edition (Mack Publishing Company, 1995)]에서 확인될 수 있다. 약제 조성물은 바람직하게, GMP(우수 제조관리 기준(good manufacturing practices)) 조건 하에서 제조된다.

[0363] 본 발명의 약제 조성물은 벌크로, 단일 단위 용량으로서, 또는 복수의 단일 단위 용량으로서 제조되거나, 패킹되거나, 판매될 수 있다. 본원에서 사용되는 "단위 용량"은 사전 결정된 양의 활성 성분을 포함하는 약제 조성물의 개별 양이다. 활성 성분의 양은 일반적으로 피俭체에 투여되는 활성 성분의 투여량, 또는 이러한 투여량의 편리한 분율, 예를 들어, 이러한 투여량의 1/2 또는 1/3이다.

- [0364] 당해 분야에서 허용되는 웹티드, 단백질 또는 항체를 투여하기 위한 임의 방법은 본 발명의 항체 및 항원-결합 부분을 위해 적합하게 사용될 수 있다.
- [0365] 본 발명의 약제 조성물은 통상적으로, 비경구 투여를 위해 적합하다. 본원에서 사용되는 약제 조성물의 "비경구 투여"는 피검체의 조직의 물리적 블리칭(physical breaching) 및 조직에 브리치(breach)를 통한 약제 조성물의 투여에 의해 특징되는 임의 투여 경로를 포함하며, 이에 따라, 일반적으로 혈류에, 근육에 또는 내부 장기에 직접 투여를 야기시킨다. 이에 따라, 비경구 투여는 조성물의 주사에 의한, 외과적 절개를 통해 조성물의 적용에 의해, 조직-침투 비-외과적 상처를 통한 조성물의 적용, 등에 의한 약제 조성물의 투여를 포함하지만, 이로 제한되지 않는다. 특히, 비경구 투여는 피하, 복막내, 근육내, 흉골내, 정맥내, 동맥내, 척추강내, 심실내, 요도내, 두개내, 활막내 주사 또는 주입; 및 신장 투석 주입 기술을 포함하지만 이로 제한되지 않는 것이 고려된다. 국소 관류법이 또한 구려된다. 바람직한 구체예는 정맥내 및 피하 경로를 포함한다.
- [0366] 비경구 투여를 위해 적합한 약제 조성물의 제형은 통상적으로 약제학적으로 허용되는 담체, 예를 들어, 멸균수 또는 멸균 등장성 염수와 조합된 활성 성분을 포함한다. 이러한 제형은 볼루스 투여 또는 연속 투여에 적절한 형태로 제조, 패키징 또는 판매될 수 있다. 주사용 제형은 방부제를 함유하는 앰플 또는 다중-용량 용기와 같은 단위 투여 형태로 제조, 패키징 또는 판매될 수 있다. 비경구 투여용 제형에는 혼탁액, 용액, 유성 또는 수성 비히클 중의 에멀젼, 페이스트, 등을 포함하지만, 이로 제한되지 않는다. 이러한 제형은 혼탁화제, 안정화제 또는 분산제가 포함되지만 이에 한정되지 않는 1가지 이상의 추가적인 성분을 추가로 포함할 수 있다. 비경구 투여를 위한 제형의 일 구체예에서, 활성 성분은 건조 (즉, 분말 또는 과립형) 형태로 제공되고, 이는 재구성된 조성물을 비경구 투여하기 전에 적절한 비히클 (예를 들어, 발열원이 없는 멸균수)로 재구성된다. 비경구 제형은 부형제, 예를 들어, 염, 탄수화물 및 완충제(바람직하게, 3 내지 9의 pH까지)를 함유할 수 있는 수용액을 포함하지만, 일부 적용을 위하여, 이러한 것은 더욱 적합하게 멸균 비-수용액으로서 또는 적합한 비히클, 예를 들어, 멸균, 무발열원 수와 함께 사용되는 건조된 형태로서 제형화될 수 있다. 예시적인 비경구 투여 형태는 멸균 수용액, 예를 들어, 프로필렌 글리콜 또는 텍스트로오스 수용액 중의 용액 또는 혼탁액을 포함한다. 이러한 투약 형태는 요망되는 경우에, 적합하게 완충화될 수 있다. 유용할 수 있는 다른 비경구적으로 투여 가능한 제형은 미정질 형태 또는 리포솜 제조물의 활성 성분을 포함하는 것을 포함한다. 비경구 투여를 위한 제형은 속방출 및/또는 변형된 방출이도록 제형화될 수 있다. 변형된 방출 제형은 지연된-, 지속된-, 펄스화된-, 조절된-, 타겟화된 및 프로그래밍된 방출을 포함한다.
- [0367] 예를 들어, 일 양태에서, 멸균 주사 가능한 용액은 상기 나열된 구성성분들 중 하나 또는 이의 조합과 함께, 적절한 용매 중에 요망되는 양의 항-MET 항체 또는 이의 항원-결합 부분 또는 항-MET 항체 조성물을 도입하고, 필요한 경우에, 이후에 여과 멸균화함으로서 제조될 수 있다. 일반적으로, 분산액은 기본 분산 매질 및 상기에 나열된 것으로부터의 요망되는 다른 구성성분을 함유한 멸균 비히클에 활성 화합물을 도입함으로서 제조된다. 멸균 주사 가능한 용액의 제조를 위한 멸균 분말의 경우에, 바람직한 제조 방법은 활성 성분의 분말 및 이전의 이의 멸균-여과된 용액으로부터의 임의 추가적인 요망되는 구성성분을 수득하는 진공 건조 및 냉동-건조이다. 용액의 적절한 유동성은 예를 들어, 레시틴과 같은 코팅의 사용에 의해, 분산액의 경우 요망되는 입자 크기의 유지에 의해, 및 계면활성제의 사용에 의해 유지될 수 있다. 주사 가능한 조성물의 장기적인 흡수는 흡수를 지연시키는 제제, 모노스테아레이트 염 및 젤라틴을 조성물에 포함시킴으로써 및/또는 변형된-방출 코팅(예를 들어, 서방출 코팅)을 사용함으로써 초래될 수 있다.
- [0368] 본 발명의 항체는 또한, 비강내로 또는 흡입에 의해, 통상적으로 건조 분말 흡입기로부터의 건조 분말 형태로 (단독으로, 혼합물로서, 또는 혼합된 성분 입자로서, 예를 들어, 적합한 약제학적으로 허용되는 부형제와 혼합된 입자로서), 적합한 추진제의 사용과 함께, 또는 이의 없이, 가압된 용기, 펌프, 스프레이, 분무기(바람직하게, 미세한 미스트를 형성시키기 위한 전기유체역학을 이용한 분무기) 또는 네뷸라이저로부터의 에어로졸 스프레이로서, 또는 점비액으로서 투여될 수 있다.
- [0369] 가압된 용기, 펌프, 스프레이, 분무기, 또는 네뷸라이저는 일반적으로, 예를 들어, 활성물의 방출물을 분산, 가용화 또는 팽창시키기 위한 적합한 제제, 용매로서 추진제(들)를 포함하는 항체의 용액 또는 혼탁액을 함유한다.
- [0370] 건조 분말 또는 혼탁액 제형에서 사용하기 전에, 약물 제품은 일반적으로 흡입에 의한 전달을 위해 적합한 크기 (통상적으로, 5 마이크론 미만)로 미세화된다. 이는 임의 적절한 분쇄 방법, 예를 들어, 나선형 제트 밀링, 유체충 제트 밀링, 나노입자를 형성시키기 위한 초임계 유체 가공, 고압 균질화 또는 스프레이 건조에 의해 달성될 수 있다.

- [0371] 흡입기 또는 취입기에서 사용하기 위한 캡슐, 블리스터(blister), 및 카트리지는 본 발명의 화합물, 적합한 분말 베이스 및 성능 개질제의 분말 혼합물을 함유하도록 제형화될 수 있다.
- [0372] 미세 미스트(fine mist)를 형성시키기 위해 전기유체역학(electrohydrodynamics)을 이용하여 분무기에서 사용하기 위한 적합한 용액 제형은 1회 구동(actuation) 당 적합한 용량의 본 발명의 항체를 함유할 수 있으며, 구동부피는 예를 들어, 1 μl 내지 100 μl 로 다양할 수 있다.
- [0373] 적합한 풍미제, 예를 들어, 멘톨 및 레보멘톨, 또는 감미제, 예를 들어, 사카린 또는 사카린 소듐이 흡입/비강내 투여를 위해 의도된 본 발명의 그러한 제형에 첨가될 수 있다.
- [0374] 흡입/비강내 투여를 위한 제형은 즉시 및/또는 변형된 방출이도록 제형화될 수 있다. 변형된 방출 제형은 지연된-, 지속된-, 펄스화된-, 조절된-, 타겟화된 및 프로그래밍된 방출을 포함한다.
- [0375] 건조 분말 흡입제 및 에어로졸의 경우에, 투약 유닛은 계량된 양을 전달하는 밸브에 의해 결정된다. 본 발명에 따른 유닛은 통상적으로, 계량된 용량 또는 "퍼프(puff)"의 본 발명의 항체를 투여하도록 배열된다. 전체 일일 용량은 통상적으로, 단일 용량으로 또는 보다 일반적으로, 종일 나누어진 용량으로서 투여될 것이다.
- [0376] 본 발명의 항체 및 항체 부분은 또한, 경구 경로 투여를 위해 제형화될 수 있다. 경구 투여는, 화합물이 위장관으로 진입하도록, 연하(swallowing)를 포함할 수 있고/거나, 협측, 설측 또는 설하 투여는 화합물이 입으로부터 혈류로 직접적으로 진입하게 한다.
- [0377] 경구 투여를 위해 적합한 제형은 고체, 반-고체, 및 액체 시스템, 예를 들어, 정제; 다중- 또는 나노-미립자, 액체 또는 분말을 함유한 연질 캡슐 또는 경질 캡슐; 로젠지(액체 충전을 포함함); 쥬(chew); 젤; 속분산 투약 형태; 필름; 오불(ovule); 스프레이; 및 협측/점막접착 패치를 포함한다.
- [0378] 액체 제형은 혼탁액, 용액, 시럽 및 엘리시르를 포함한다. 이러한 제형은 (예를 들어, 젤라틴 또는 하이드록시프로필메틸셀룰로오스로부터 제조된) 연질 캡슐 또는 경질 캡슐 중의 충전제로서 사용될 수 있고, 통상적으로, 담체, 예를 들어, 물, 에탄올, 폴리에틸렌 글리콜, 프로필렌 글리콜, 메틸셀룰로오스, 또는 적합한 오일, 및 하나 이상의 에멀젼화제 및/또는 혼탁제를 포함한다. 액체 제형은 또한, 예를 들어, 사세(sachet)으로부터의 고체의 재구성에 의해 제조될 수 있다.
- [0379] 면역콘주게이트
- [0380] 본 발명의 항체 조성물 및 항체 및 이의 항원-결합 부분의 치료학적 사용을 위한 다른 옵션은 면역콘주게이트, 즉, 항암제와 같은 하나 이상의 제제에 콘주게이션된 항체 또는 항원-결합 부분의 형태이다. 둘 이상의 항-MET 항체를 포함하는 본 발명의 조성물은 면역콘주게이트 형태의 단일 항체를 함유할 수 있거나, 이러한 것은 면역콘주게이트 형태의 둘 이상의 항체를 함유할 수 있다.
- [0381] 다양한 타입의 항암제는 세포독성제(예를 들어, 통상적인 화학적 치료제 및 다른 소분자 항암 약물), 시토카인(이러한 경우, 콘주게이트는 "면역시토카인"으로 지칭될 수 있음), 독소(그러한 경우, 콘주게이트가 "면역독소"로 지칭될 수 있음), 및 방사성 핵종을 포함하는, 본 발명의 항체에 콘주게이션될 수 있다. 수 개의 면역콘주게이트는 임상적 사용을 위해 이미 승인된 것이다. 이러한 것들은 Zevalin[®](⁹⁰Y에 콘주게이션된 뮤린 항-CD20 항체), Bexxar[®](¹³¹I에 콘주게이션된 뮤린 항-CD20 항체), 및 Mylotarg[®](칼리케아마이신에 콘주게이션된 인간화된 항-CD33 항체)를 포함한다. 임상 시험에서 시험된 다른 면역콘주게이트는 예를 들어, 독소루비신 또는 마이탄시노이드 화합물에 콘주게이션된 항체를 포함한다. 임상 시험에서 시험된 면역독소는 절단된 슈도모나스 엑소독소 A에 콘주게이션된 여러 항체를 포함한다. IL-2에 콘주게이션된 인간화된 EpCAM 항체를 포함하는 면역시토카인이 또한 시험된다.
- [0382] 세포독성제에 콘주게이션된 본 발명의 항체의 경우에, 이러한 것들은 예를 들어, 임의 주요 클래스의 알킬화제(예를 들어, 카보플라틴, 시스플라틴, 옥살리플라틴), 항대사물(예를 들어, 메토트렉세이트, 카페시타빈, 켐시타빈), 안트라시클린(예를 들어, 블레오마이신, 독소루비신, 미오마이신-C) 및 식물 알칼로이드(예를 들어, 탁산, 예를 들어, 도세탁셀 및 파클리탁셀 및 빙카 알칼로이드, 예를 들어, 빙블라스틴, 빙크리스틴 및 비노렐빈)을 포함하는 화학치료 약물에 속할 수 있다. 면역콘주게이트(imunoconjugate)의 사용이 종양에 대한 항암제를 특이적으로 유도하기 때문에, 본 발명의 항체를 기초로 한 면역콘주게이트는 유리하게, 고도의 세포독성제, 예를 들어, 칼리케아마이신 또는 마이탄신 유도체, 또는 독소, 예를 들어, 박테리아 독소(예를 들어, 슈도모나스 엑소톡신 A, 디프테리아 독소) 또는 식물 독소(예를 들어, 리신)을 기초로 할 수 있다.

- [0383] 면역콘주게이트에서 콘주게이션된 항암제는 일반적으로, 혈청에서 비교적 적합하지만 면역콘주게이트가 타겟 세포에 내재화될 때 제제의 방출을 가능하게 하는 불안정한 링커에 의해 항체에 연결된다. 적합한 링커는 예를 들어, 혈청 중의 중성 pH에서 적합하지만 내재화 이후에 리소좀 내의 약산성 조건에서 산 가수분해로 처리되는 화학적 링커, 세포내 터울에 의해 분열되는 디설파이드 링커, 및 혈청 중에서 적합하지만 세포내 구획에서 효소적 분열로 처리되는 폐비드 링커를 포함한다.
- [0384] 다양한 콘주게이션 배열은 본 발명의 둘 이상의 항체를 함유한 조성물에서 구상될 수 있다. 예를 들어, 두 개의 항체와 관련하여, 항체를 둘 이상의 상이한 항암 약물에 콘주게이션시키거나 하나의 항체를, 다른 항체에 콘주게이션된 효소와 같은 제제에 의해 활성화된 프로드러그에 콘주게이션시키는 것이 가능할 것이다. 항체-유도 효소 프로드러그 치료법(ADEPT)의 일반적인 개념은 모노클로날 항체에 대해 기술되었으며, 여기서, 프로드러그는 mAB-효소 콘주게이트에 의해 종양에 대해 타겟화된 효소에 의해 활성화되지만, 본 발명은 특정 조건에 대한 이의 방법을 조정하기 위한 기회를 제공할 수 있다. 이에 따라, 정상 조직에 대한 손상을 피하거나 감소시키면서 종양 세포 사멸을 특이적으로 증가시키는 것이 가능할 수 있다.
- [0385] 항암 면역콘주게이트에 대한 추가 정보에 대하여 문헌[Wu et al., *Nature Biotechnology* 23(9):1137-1146 (2005); Schrama et al., *Nature Reviews/Drug Discovery* 5:147-159 (2006); 및 Rohrer, *Chimica Oggi/Chemistry Today* 27(5):56-60 (2009)]이 참조된다.
- [0386] 본 발명의 항체 및 조성물의 치료 용도
- [0387] 일 양태에서, 본 발명의 항-MET 항체 및 이의 항원-결합 부분 및 항-MET 조성물은 MET-매개 장애의 치료에서 사용된다. 일부 구체예에서, MET-매개 장애는 MET의 과발현에 의해 특징되는 질환이다. 특정 구체예에서, 약제 조성물은 암, 비-소세포 폐암, 위암, 간세포 암종, 식도암, 대장암, 유두상 신세포암, 교모세포종, 부신피질 암종, 신세포 암종, 전립선암, 및 MET를 발현시키거나 과발현시키거나 MET 경로 활성화에 따르는 다른 암의 치료에서 사용하기 위한 것이다.
- [0388] 일부 양태에서, 항체 또는 항체 조성물은 비정상 MET 과활성에 의해 특징되는 장애, 예를 들어, 암을 치료하기 위해 사용된다. 일부 구체예에서, 비정상 과활성은 유전자 증폭, 단백질 과발현, MET 활성화 유전자 돌연변이 (예를 들어, 포인트 돌연변이 또는 비정상 유전자 분할 사건), 또는 HGF 과발현으로부터 기인한 것이다.
- [0389] 특정 양태에서, 본 발명의 항-MET 항체 및 이의 항원-결합 부분 및 항-MET 조성물은 상이한 티로신 키나아제 수용체를 타겟화하는 제제로의 치료에 대한 내성을 갖는 환자를 치료하기 위해 사용될 수 있다. 일부 구체예에서, 환자는 ErbB 키나아제 억제제로의 치료에 대해 내성을 갖는다. 특정 구체예에서, ErbB 키나아제 억제제는 EGFR, ErbB2, ErbB3, 또는 ErbB4를 타겟화한다. 특정 구체예에서, ErbB 키나아제 억제제는 EGFR을 타겟화한다. 다른 구체예에서, ErbB 키나아제 억제제는 HER3을 타겟화한다. ErbB 키나아제 억제제는 예를 들어, 게피티닙, 애를로티닙, 세툭시맙, 판티누무맙, 트라스투주맙, 또는 이들의 임의 조합으로부터 선택될 수 있다.
- [0390] "치료하다," "치료하는" 및 "치료"는 생물학적 장애 및/또는 이의 수반되는 증상들 중 적어도 하나를 완화시키거나 제거하는 방법을 지칭한다. 본원에서 사용되는 질병, 장애 또는 질환을 "완화시키는" 것은 질병, 장애 또는 질환의 증상의 중증도 및/또는 발생 횟수를 감소시키는 것을 의미한다. 또한, 본원에서 "치료"에 대한 언급은 치료, 완화 및 예방 치료에 대한 언급을 포함한다.
- [0391] 일 양태에서, 치료 피검체 또는 환자는 포유동물, 바람직하게, 인간 피검체이다. 상기 피검체는 임의 연령의 남성 또는 여성 중 어느 하나일 수 있다.
- [0392] "치료학적 유효량"은 치료될 질환의 증상을 중 하나 이상을 어느 정도까지 완화시키는 투여될 치료제의 양을 지칭한다.
- [0393] 본 발명의 치료 조성물에서 또는 동시에, 순차적으로 또는 별도로 투여될 본 발명의 개개 항체의 경우에 개개 항체들 간의 비율은 종종 항체가 동일한 양으로 투여될 것이지만, 이러한 필요는 반드시 그러한 경우일 필요는 없다. 이에 따라, 두 개의 항-MET 항체 또는 이의 항원-결합 부분을 포함하는 본 발명의 조성물은 종종 대략 1:1 비로 이러한 것들을 함유할 것이지만, 개개 항체의 특징에 따라, 동일하지 않은 양의 항체 또는 부분을 사용하는 것이 요망될 수 있다. 예를 들어, 2-항체 조성물 중 다른 항체 또는 부분에 대한 하나의 항체 또는 부분의 비율은 예를 들어, 5 내지 95%, 10 내지 90%, 20 내지 80%, 30 내지 70%, 40 내지 60%, 또는 45 내지 55%일 수 있다.
- [0394] 본 발명의 항체 조성물 또는 항체 또는 이의 항원-결합 부분은 단독으로 또는 하나 이상의 다른 약물 또는 항체

와 조합하여 (또는 이들의 임의 조합으로서) 투여될 수 있다. 이에 따라, 약제 조성물, 방법 및 용도는 또한, 하기에 상세히 기술되는 바와 같이, 다른 활성제와의 조합(동시-투여)의 구체예를 포함한다.

[0395] 하나 이상의 다른 치료제와 함께 항체 조성물 및 항체 및 이의 항원-결합 부분을 지칭하는 본원에서 사용되는 용어 "동시-투여(co-administration)", "동시-투여된(co-administered)" 및 "~와 조합하여(in combination with)"는 하기 기술된 것을 의미하는 것으로 의도되고 이를 지칭하고 이를 포함한다:

[0396] - 성분들이 상기 환자에게 실질적으로 동시에 상기 성분들을 방출시키는 단일 투약 형태로 함께 제형화될 때, 치료를 필요로 하는 환자에게 본 발명의 항체 조성물/항체/항원-결합 부분 및 치료제(들)의 이러한 조합의 동시 투여,

[0397] - 성분들이 환자에 의해 실질적으로 동시에 취해진 별도의 투약 형태로 서로 분리되게 제형화될 때, 치료를 필요로 하는 환자에게 본 발명의 항체 조성물/항체/항원-결합 부분 및 치료제(들)의 이러한 조합의 실질적으로 동시에 투여, 여기서, 상기 성분들은 상기 환자에게 실질적으로 동시에 방출됨,

[0398] - 성분들이 상기 환자에 의해 각 투여 간에 상당한 시간 간격을 갖는 연속적 시간 시간에 취해진 별도의 투여량으로 서로 분리되게 제형화될 때, 치료를 필요로 하는 환자에게 본 발명의 항체 조성물/항체/항원-결합 부분 및 치료제(들)의 이러한 조합의 순차적 투여, 여기서, 상기 성분들은 상기 환자에게 실질적으로 상이한 시간에 방출됨; 및

[0399] - 성분이 조절된 방식으로 상기 성분들을 방출하는 단일 투약 형태로 함께 제형화될 때, 치료를 필요로 하는 환자에게 본 발명의 항체 조성물/항체/항원-결합 부분 및 치료제(들)의 이러한 조합의 순차적 투여, 여기서, 이러한 것은 상기 환자에게 동일한 시간에 및/또는 상이한 시간에 동시에, 순차적으로, 및/또는 중첩되게 방출되며, 여기서 각 부분은 동일한 경로 또는 상이한 경로에 의해 투여될 수 있음.

[0400] 본 발명의 항체 조성물 및 항체 및 이의 항원-결합 부분은 추가 치료학적 치료 없이, 즉, 독립 치료법으로서 투여될 수 있다. 대안적으로, 본 발명의 항체 조성물 및 항체 및 이의 항원-결합 부분으로의 치료는 적어도 하나의 추가적인 치료학적 치료(병용 요법)를 포함할 수 있다. 일부 구체예에서, 항체 조성물 또는 항체 또는 이의 항원-결합 부분은 암 치료를 위한 다른 약제/약물과 동시에 투여되거나 제형화될 수 있다. 추가적인 치료학적 치료는 예를 들어, 화학치료제, 항-신생물제, 또는 항신생혈관제, 상이한 항암 항체, 및/또는 방사선 요법을 포함할 수 있다.

[0401] 본 발명의 항체 조성물, 항체 또는 항원-결합 부분을 암세포의 말기 분화를 유도하는 것으로 알려진 제제와 조합함으로써, 효과가 추가로 개선될 수 있다. 이러한 화합물은 예를 들어, 레틴산, 트랜스-레티난, 시스-레틴산, 폐닐부티레이트, 신경 성장 인장, 디메틸 살포사이드, 활성 형태의 비타민 D3, 퍼옥시좀 증식체-활성화된 수용체 감마, 12-0-테트라데카노일포르볼 13-아세테이트, 헥사메틸렌-비스-아세트아미드, 변형 성장 인자-베타, 부티르산, 환형 AMP 및 베스나리논으로 이루어진 군으로부터 선택될 수 있다. 일부 구체예에서, 화합물은 레틴산, 폐닐부티레이트, 모든-트랜스-레틴산, 및 활성 형태의 비타민 D로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0402] 본 발명의 항-MET 항체 조성물 또는 항-MET 항체 또는 이의 항원-결합 부분 및 적어도 하나의 다른 제제(예를 들어, 화학치료제, 항-신생물제, 또는 항신생혈관제)는 암 치료에서 동시, 분리된 또는 연속적인 투여를 위한 병용 치료로서 사용될 수 있다. 다른 제제는 고려되는 특정 암의 치료를 위해 적합한 임의 제제, 예를 들어, 알킬화제, 예를 들어, 백금 유도체, 예를 들어, 시스플라틴, 카보플라틴 및/또는 옥살리플라틴; 식물 알칼로이드, 예를 들어, 파클리탁셀, 도세탁셀, 및/또는 이리노테칸; 항종양 항생제, 예를 들어, 독소루비신(아드리아마이신), 다우노루비신, 에피루비신, 이다루비신, 미톡산트론, 다크티노마이신, 블레오마이신, 악티노마아신, 루테오마이신, 및/또는 미토마이신; 토포이소마리아제 억제제, 예를 들어, 토포테칸; 및/또는 항대사물제, 예를 들어, 플루오로우라실 및/또는 다른 플루오로피리미딘으로 이루어진 군으로부터 선택된 제제일 수 있다.

[0403] 또한, 본 발명의 항-MET 항체 또는 이의 항원-결합 부분 또는 항-MET 항체 조성물이 티로신 키나아제 억제제와 함께 보조 치료법으로 사용될 수 있다는 것이 고려된다. 이러한 것들은 수용체의 세포내 티로신 키나아제 도메인과 상호작용하고 세포내 Mg-ATP 결합 사이트에 대해 경쟁함으로써 리간드-유도 수용체 인산화를 억제하는, 합성, 주로 쿼니졸론-유도, 저분자량 분자이다. 본 발명의 항체 조서울 및 적어도 하나의 TKI 타겟화 MET를 포함하는 약제 물품은 또한, 암치료에서 동시, 분리된 또는 연속적인 투여를 위한 병용 치료로서 사용될 수 있다.

[0404] 특정 양태에서, 본 발명의 항체 조성물 및 항체 및 이의 항원-결합 부분은 MET 경로의 다른 억제제와 조합하여 투여될 수 있으며, 이는 MET 또는 HGF를 타겟화할 수 있다. 일부 구체예에서, 억제제는 AMG 102, AMG 208, AMG

458, ARQ 197, AV299, BAY-853474, CGEN241, DN30, E7050, EMD 1204831, EMD 1214063, INCB28060, JNJ38877605, K252a, LY-2875358, MGCD265, MK-2461, MP-470, NK4, OA-5D5, PF-02341066, PF-04217903, PF-02341066, PHA-665752, SGX-523, SU5416, SU11274, TAK701, XL184, XL880, 카보자니닙, 크리조티닙, 피클라투주맙, 포레티닙, 골바티닙, 오나르투주맙, 리롤투무맙, 및 티반티닙으로 이루어지지만 이로 제한되지 않는 군으로부터 선택된다.

- [0405] 일부 구체예에서, 항체 조성물 및 항체 및 이의 항원-결합 부분은 ErbB 억제제(예를 들어, 계피티닙 또는 예를 로티닙) 또는 열 충격 단백질 90(hsp90) 억제제(예를 들어, 17-AAG)와 함께 투여될 수 있다.
- [0406] 다른 구체예에서, 항체 조성물 및 항체 및 이의 항원-결합 부분은 다른 항체 치료제, 예를 들어, VEGF에 대한 항체(예를 들어, Avastin[®])와 함께 사용될 수 있다. 또 다른 구체예에서, 본 발명의 항체 조성물은 면역계의 세포를 자극시키기 위해 공지된 제제와 조합하여 사용될 수 있으며, 이러한 병용 치료는 본 발명의 항체 조성물의 효능의 향상된 면역-매개된 향상을 야기시킨다. 이러한 면역-자극제의 예는 재조합 인터루킨(예를 들어, IL-21 및 IL-2)을 포함한다.
- [0407] 본 발명의 항체 조성물 및 항체 및 이의 항원-결합 부분이 상술된 바와 같은 치료 방법에서 사용될 수 있고/거나 상술된 바와 같은 치료에서 사용하기 위한 것일 수 있고/거나 상술된 바와 같은 치료를 위한 약제의 제조에서 사용하기 위한 것으로 이해된다.
- [0408] 투여 용량 및 경로
- [0409] 본 발명의 항체 조성물은 고려되는 질환의 치료를 위한 유효량으로, 즉, 요망되는 결과를 달성하기 위해 필요한 투여량으로 및 그러한 시간 동안 투여될 것이다. 치료학적 유효량은 치료될 특정 질환, 환자의 연령, 성별 및 체중, 및 항체가 독립 치료로서 또는 하나 이상의 추가적인 항암 치료와 함께 투여되는 지의 여부와 같은 인자에 따라 달라질 수 있다.
- [0410] 투여량 요법은 최적의 요망되는 반응을 제공하기 위해 조절될 수 있다. 예를 들어, 단일 볼루스가 투여될 수 있거나, 수 개의 나누어진 용량이 시간에 따라 투여될 수 있거나, 용량이 치료 상황의 긴급 사태(exigency)에 의해 지시된 바와 같이 비율적으로 감소되거나 증가될 수 있다. 투여 용이성 및 투여량의 균일성을 위한 투약 단위 형태의 비경구 조성물을 제형화하는 것이 특히 유리하다. 본원에서 사용되는 투약 단위 형태는 환자/치료될 피검체에 대한 단일 투여량으로서 적합한 물리적으로 별개의 단위를 지칭하는데, 각 단위는 요망되는 약리학적 단체와 함께 요망되는 치료 효과를 형성시키기 위해 계산된 활성 화합물의 사전결정된 양을 함유한다. 본 발명의 투약 단위 형태에 대한 사양은 일반적으로 (a) 화학치료제의 독특한 특징 및 달성될 특정 치료 효과 또는 예방 효과, 및 (b) 개체에서 민감성의 치료를 위해 이러한 활성 화합물을 배합하는 분야에서 고유의 한계에 의해 지시되고 이에 직접적으로 따른다.
- [0411] 이에 따라, 당업자는 본원에 제공된 설명을 기초로 하여, 용량 및 투약 요법이 치료 분야에서 널리 공지된 방법에 따라 조절된다는 것을 인식할 것이다. 즉, 최대 내약 용량이 용이하게 규명될 수 있으며, 환자에 대한 검출 가능한 치료 이득을 제공하는 유효량이 또한, 환자에 대한 검출 가능한 치료 이득을 제공하기 위해 각 제제를 투여하기 위한 일시적 요건일 수 있는 것으로서, 결정될 수 있다. 이에 따라, 특정 용량 및 투여 요법이 본원에 예시되어 있지만, 이러한 예는 어떠한 방식으로도 본 발명을 실행하는데 환자에게 제공될 수 있는 용량 및 투여 요법을 한정하지 않는다.
- [0412] 투여량 값이 개선될 질환의 타입 및 중증도에 따라 달라질 수 있고, 단일 용량 또는 다수 용량을 포함할 수 있다는 것이 주지된다. 임의 특정 피검체에 대하여, 특정 투여량 요법이 조성물을 투여하거나 조성물의 투여를 감독하는 사람의 전문적인 판단 및 개개 필요에 따라 시간에 따라 조절될 것이며, 본원에 기술된 투여량 범위가 단지 예시적이고 구현된 조성물의 범위 또는 실행을 제한하도록 의도되지 않는다는 것이 추가로 이해된다. 또한, 본 발명의 조성물로의 투여량 요법은 질병의 타입, 연령, 체중, 성별, 환자의 의학적 상태, 증상의 중증도, 투여 경로, 및 사용되는 특정 항체를 포함하는 다양한 인자를 기초로 할 수 있다. 이에 따라, 투여량 요법은 광범위하게 달라질 수 있지만, 관례대로 표준 방법을 이용하여 결정될 수 있다. 예를 들어, 용량은 약동력학 또는 약물역학적 파라미터를 기초로 하여 조절될 수 있으며, 이는 임상 효과, 예를 들어, 독성 효과 및/또는 실험실 수치를 포함할 수 있다. 이에 따라, 본 발명은 당업자에 의해 결정되는 바와 같은 환자내 용량-상승을 포함한다. 적절한 투여량 및 요법을 결정하는 것은 관련 분야에서 널리 공지되어 있고, 본원에 기술된 교시를 제공된 후 당업자에 의해 포함될 것으로 이해될 것이다.
- [0413] 본 발명의 항체 조성물의 적합한 용량이 0.1 내지 100 mg/kg, 예를 들어, 약 0.5 내지 50 mg/kg, 예를 들어, 약

1 내지 20 mg/kg 범위일 것으로 고려된다. 항체 조성물은 예를 들어, 적어도 0.25 mg/kg, 예를 들어, 적어도 0.5 mg/kg, 예를 들어, 적어도 1 mg/kg, 예를 들어, 적어도 1.5 mg/kg, 예를 들어, 적어도 2 mg/kg, 예를 들어, 적어도 3 mg/kg, 예를 들어, 적어도 4 mg/kg, 예를 들어, 적어도 5 mg/kg; 및 예를 들어, 최대 50 mg/kg, 예를 들어, 최대 30 mg/kg, 예를 들어, 최대 20 mg/kg, 예를 들어, 최대 15 mg/kg의 투여량으로 투여될 수 있다. 투여는 대개 적합한 간격으로, 예를 들어, 주 1회, 2주마다 1회, 3주마다 1회, 또는 4주마다 1회, 그리고 필요한 경우에 투여량을 임의적으로 증가시키거나 감소시킬 수 있는 담당의에 의해 적절한 것으로 여겨질 정도로 긴 간격으로 반복될 것이다.

[0414] 종양 치료법을 위한 유효량은 환자에서 질병 진행을 안정화시키고/거나 증상을 개선시키는 이의 능력, 및 바람직하게, 질병 진행을 역전시키는 능력에 의해, 예를 들어, 종양 크기가 감소하는 것에 의해 측정될 수 있다. 암을 억제하기 위한 본 발명의 항체 또는 조성물의 능력은 예를 들어, 실시예에 기술된 바와 같은 시험관내 검정, 뿐만 아니라, 인간 종양에서의 효능을 예측하는 적합한 동물 모델에 의해 평가될 수 있다. 적합한 투약 요법은 각 특정 상황, 예를 들어, 단일 볼루스로서 또는 연속 주입으로서, 및 각 경우의 경험에 의해 지시되는 바와 같은 투여량의 가능한 조절로 투여되는 상황에서 최적의 치료 반응을 제공하기 위해 선택될 것이다.

[0415] 진단 용도 및 조성물

[0416] 본 발명의 항체는 또한 진단 과정(예를 들어, 시험관내, 생체외)에서 유용하다. 예를 들어, 항체는 환자로부터의 샘플(예를 들어, 조직 샘플, 또는 신체 유체 샘플, 예를 들어, 염증 삼출물, 혈액, 혈청, 장 유체, 타액, 또는 소변)에서 MET의 수준을 검출하고/거나 측정하기 위해 사용될 수 있다. 적합한 검출 및 측정 방법은 면역학적 방법, 예를 들어, 유동세포 분석법, 효소-결합 면역흡착 검정(ELISA), 화학적발광 검정, 방사면역검정, 및 면역조직학을 포함한다. 본 발명은 본원에 기술된 항체를 포함하는 키트(예를 들어, 진단 키트)를 추가로 포함한다.

[0417] 본 발명을 보다 잘 이해할 수 있게 하기 위하여, 하기 실시예가 기술된다. 이러한 실시예는 단지 예시를 목적으로 하는 것으로서, 어떠한 방식으로도 본 발명의 범위를 한정하는 것으로 해석되지 않는다.

[0418] 본 명세서에 인용된 모든 공개문, 특히, 및 특허출원은 본원에 참고로 포함된다. 상기 발명이 이해를 명확성의 목적을 위해 예시 및 실시예에 의해 어느 정도 상세히 기술되었지만, 특정 변형에 및 개질예가 첨부된 구체예의 사상 또는 범위를 벗어나지 않으면서 이루어질 수 있다는 것이 본 발명의 교시를 고려하여 당업자에게 용이하게 명백하게 될 것이다.

[0419] 실시예

[0420] 실시예 1: 항-MET 항체의 클로닝

[0421] 항-MET 항체를 본질적으로 WO 2005/042774호에 기재된 바와 같은 Symplex™ 절차를 이용하여 획득하였다. 간단히, BALB/c, C57 및 C3H 마우스를 MET(HCT-116), 재조합 인간 MET 단백질(Sino Biologicals), 리간드(HGF)와 함께 사전 인큐베이션된 재조합 인간 MET 단백질, 또는 트립신-분해된 MET를 과발현하는 인간 암세포주로 격주로 면역화시켰다. 비장 및 살고랑 립프절로부터 획득된 뮤린 혈장 세포를 FACS 분류하고, 1-단계 멀티플렉스 중첩-신장 RT-PCR 후 네스티드(nested) PCR을 기초로 한 2-단계 PCR 절차를 이용하여 VH 및 VL 코딩 서열의 결합을 분류된 혈장 세포에 대해 수행하여 서열의 인지체 쌍형성을 촉진시켰다. 인지체 VH 및 VL 서열의 결합에 대한 원리는 WO 2005/042774호 및 문헌[Meijer et al., *J Mol Biol* 358(3):764-72 (2006)]에 상세히 기재되어 있다.

[0422] MET에 대한 결합 특이성을 갖는 항체를 확인하기 위해, 상기 획득된 VH 및 VL 코딩 서열을 전장 항체로 발현시켰다. 이는 WO 2012/059858호에 기재된 방법을 이용한 VH 및 VL 코딩쌍의 레퍼토리의 발현 벡터로의 삽입 및 숙주 세포로의 트랜스펙션을 수반하였다.

[0423] 생성된 항체의 특이성을 MET 단백질의 세포외 도메인 또는 인간 면역글로불린 Fc 도메인에 번역적으로 융합된 MET 단백질의 세포외 도메인을 항원으로 이용한 ELISA에 의해 결정하였다. Nunc MaxiSorp 플레이트(Cat. No. 464718)를 밤새 4°C에서 PBS 중에 희석된 1 µg/ml의 재조합 MET 단백질로 코팅시켰다. 플레이트를 50 µl 2% Milk-PBS-T 중에서의 블로킹 전에 PBS + 0.05% Tween 20(PBS-T)으로 1회 세척하였다. 플레이트를 PBS-T로 다시 한번 세척한 후, 20 µl의 2% milk-PBS-T로 세척하였다. FreeStyle293 트랜스펙턴트로부터의 10 µl의 상층액을 첨가하고, 실온에서 1시간 동안 인큐ベ이션시키고, 그 후 플레이트를 PBS-T로 1회 세척하였다. 2% milk-PBS-T 중에 1:25000 희석된 이차 항체(HRP-염소-항-인간 카파 경쇄, Serotec, Cat. No. STAR 100P)를 첨가하여 웰에 결합된 항체를 검출하고, 실온에서 1시간 동안 인큐ベ이션하였다. 플레이트를 PBS-T로 1회 세척한 후, 25 µl

기질(Kem-En-Tec Diagnostics, Cat. No. 4518)을 첨가하고, 5분 동안 인큐베이션하였다. 인큐베이션 후에 25 μl의 1M 황산을 첨가하여 반응을 중지시켰다. 450 nm에서 ELISA 판독기에서 특정 신호를 검출하였다. ELISA 데이터로부터, 양성 항체 클론을 확인하고, 서열 분석 및 MET로의 결합의 확인을 위해 선택하였다.

[0424] **실시예 2: 기능적 항-MET 항체 혼합물의 스크리닝**

[0425] 본 실시예는 선도 후보를 확인하기 위한 MET를 표적으로 하는 키메라 모노클로날 항체 및 이들 모노클로날 항체의 혼합물을 시험관내 시험을 기재한다. 모노클로날 항체 및 혼합물을 암세포주 EBC1, MKN45, OE33 및 SNU5의 성장을 억제하는 이들의 능력에 대해 평가하였다.

[0426] **방법**

[0427] 인간 MET를 표적으로 하는 마우스-유래 항체를 시험관 내에서 인간 암세포주의 성장을 억제하는 이들의 능력에 대해 검정하였다. 모노클로날 항체 및 2-항체 혼합물(2개의 모노클로날 항체의 1:1 혼합물)을 2% FBS 및 1% P/S 가 보충된 RPMI 1640 Glutamax 매질 중에 100 μg/ml의 최종 전체 항체 농도로 희석시켜, 5 μg/ml의 최종 농도를 발생시켰다. 이후, 적절한 수의 세포(EBC1: 1500 세포/웰, MKN45: 2000 세포/웰, OE33 4300 세포/웰 및 SNU5: 800 세포/웰)를 384 웰 플레이트 내의 실험 웰에 첨가하고, 37°C에서 가습 인큐베이터 중에서 4일 동안 항체와 함께 인큐베이션하였다. 이후, WST-1 시약을 플레이트에 첨가하고, 37°C에서 1시간 동안 인큐베이션하였다. 흡광도를 ELISA 판독기를 이용하여 450 nm 및 620 nm(참조 파장)에서 측정하였다. 620 nm에서의 흡광도를 450 nm에서의 흡광도로부터 공제하였다. 대사적으로 활성인 세포(MAC)의 양을 하기와 같이 미처리 대조군의 백분율로 계산하였다:

$$\% MAC = \left(\frac{OD_{\text{실험}} - OD_{\text{매질}}}{OD_{\text{미처리}} - OD_{\text{매질}}} \right) \times 100$$

[0428] [0429] 대사 활성은 생존 가능 세포의 수와 관련이 있는 것으로 추정되며, 이는 낮은 %MAC이 항체에 의한 세포 성장 억제의 높은 수준에 해당함을 의미한다.

[0430] **결과**

[0431] 항체 혼합물을 암세포주의 패널 중에서 세포 성장을 억제하는 이들의 능력을 기초로 하여 순위를 매겼다. 세포 주 EBC1, MKN45, OE33 및 SNU5의 대사 활성에 대한 모노클로날 항체 및 2개의 항체의 혼합물로부터의 생활력 결과가 표 3에 제시된다. 2개의 항체의 7개의 상이한 혼합물은 대사 활성을 평균 50% 미만으로 억제한다.

[0432] 가장 효과적인 혼합물 중에서, 2개의 항체 9006 및 9338의 조합은 광범위한 세포 성장 억제 활성을 나타내었다. 흥미롭게도, 각각의 항체 단독은 조합보다 낮은 효능을 나타내었고, 이는 2개의 항체가 상승작용적으로 작용할 수 있음을 시사한다. 9006+9338에 더하여, 다른 매우 효과적인 혼합물은 9206+9232, 8955+9338, 9206+9338, 9006+9232, 8955+9006, 8955+9096 및 8955+9232를 포함하는 것이 표 3으로부터 관찰될 수 있다. 추가로, 이들 상위 8개의 혼합물은 상대적으로 적은 개별적 모노클로날 항체, 특히, 8955, 9006, 9232, 9338 및 9206을 기초로 하는 것이 명백할 것이다.

[0433]

표 3. 모노클로날 항체 및 항체 혼합물의 항-증식 효과

		mAb 또는 mAb 혼합물로 처리된 세포의 대사 활성 (미처리 대조군의 %)					
mAb 또는 mAb 혼합물	서열 클러스터(들)	SNU5	OE33	MKN45	EBC1	평균	순위
9206 + 9232	008 + 007	32	70	32	37	43	1
9006 + 9338	018 + 004	33	54	31	54	43	2
8955 + 9338	029 + 004	33	60	24	63	45	3
9206 + 9338	008 + 004	39	52	34	55	45	4
9006 + 9232	018 + 007	36	72	24	59	48	5
8955 + 9006	029 + 018	46	62	25	61	48	6
8955 + 9096	029 + 018	55	41	40	59	49	7
8955 + 9232	029 + 007	46	66	25	69	51	8
9206 + 9217	008 + 012	35	60	54	99	62	9
8955 + 9206	029 + 008	39	71	57	82	62	10
9044 + 9111	011 + 009	47	77	37	91	63	11
9111 + 9217	009 + 012	40	101	24	93	64	12
9111 + 9232	009 + 007	67	83	53	63	66	13
9006 + 9111	018 + 009	31	101	36	98	66	14
9111 + 9206	009 + 008	39	79	53	96	67	15
9006 + 9154	018 + 009	34	91	49	98	68	16
9096 + 9232	018 + 007	50	79	54	94	69	17
9184 + 9217	009 + 012	45	103	30	101	70	18

[0434]

		mAb 또는 mAb 혼합물로 처리된 세포의 대사 활성 (미처리 대조군의 %)					
mAb 또는 mAb 혼합물	서열 클러스터(들)	SNU5	OE33	MKN45	EBC1	평균	순위
9184 + 9206	009 + 008	30	88	63	97	70	19
9173 + 9232	028 + 007	51	90	84	57	71	20
9006 + 9184	018 + 009	35	105	44	107	73	21
9154 + 9217	009 + 012	52	98	36	105	73	22
9212 + 9232	025 + 007	57	92	90	64	76	23
9154 + 9206	009 + 008	48	66	87	103	76	24
9096 + 9184	018 + 009	47	80	71	108	76	25
9096 + 9111	018 + 009	43	107	65	94	77	26
9173 + 9340	028 + 072	40	98	79	98	79	27
9044 + 9184	011 + 009	57	104	54	102	79	28
9184 + 9232	009 + 007	92	100	62	63	79	29
9111 + 9173	009 + 028	47	103	69	103	80	30
9111 + 9133	009 + 028	54	103	64	106	82	31
9006 + 9122	018 + 031	46	112	50	118	82	32
9096 + 9338	018 + 004	50	57	100	120	82	33
9173	028	38	99	83	108	82	34
9006 + 9146	018 + 036	61	75	79	118	83	35
9146 + 9173	036 + 028	48	115	66	105	83	36

[0435]

		mAb 또는 mAb 혼합물로 처리된 세포의 대사 활성 (미처리 대조군의 %)					
mAb 또는 mAb 혼합물	서열 클러스터(들)	SNU5	OE33	MKN45	EBC1	평균	순위
9173 + 9184	028 + 009	44	113	70	108	84	37
8820 + 9006	044 + 018	55	103	65	115	85	38
9044 + 9154	011 + 009	59	100	67	113	85	39
8908 + 9006	032 + 018	42	110	50	138	85	40
9173 + 9206	028 + 008	47	107	74	112	85	41
9173 + 9212	028 + 025	46	99	93	102	85	42
9133 + 9232	028 + 007	77	110	88	66	85	43
9044 + 9206	011 + 008	89	65	83	107	86	44
9146 + 9232	036 + 007	105	90	86	65	86	45
8955 + 9111	029 + 009	73	96	61	117	87	46
9006 + 9173	018 + 028	43	109	84	113	87	47
9154 + 9173	009 + 028	55	104	79	112	88	48
9154 + 9232	009 + 007	94	115	73	70	88	49
9006 + 9212	018 + 025	61	79	94	120	88	50
9096 + 9154	018 + 009	73	82	83	115	88	51
9006	018	68	73	90	122	88	52
9122 + 9206	031 + 008	67	110	56	125	89	53
8820 + 8955	044 + 029	87	87	80	106	90	54

[0436]

		mAb 또는 mAb 혼합물로 처리된 세포의 대사 활성 (미처리 대조군의 %)					
mAb 또는 mAb 혼합물	서열 클러스터(들)	SNU5	OE33	MKN45	EBC1	평균	순위
8908 + 9217	032 + 012	74	96	65	125	90	55
9006 + 9096	018 + 018	68	71	90	131	90	56
9133 + 9212	028 + 025	59	96	102	104	90	57
9122 + 9232	031 + 007	117	86	95	62	90	58
9006 + 9133	018 + 028	58	111	81	113	90	59
8955 + 9007	029 + 046	83	81	98	100	91	60
8908 + 8955	032 + 029	79	70	87	128	91	61
9096 + 9173	018 + 028	39	119	88	117	91	62
9133 + 9173	028 + 028	45	102	116	102	91	63
9217 + 9232	012 + 007	114	100	82	68	91	64
8955 + 9146	029 + 036	83	72	92	118	91	65
9122 + 9217	031 + 012	65	126	46	128	91	66
8955 + 9154	029 + 009	80	80	85	122	92	67
9133 + 9184	028 + 009	58	112	85	111	92	68
9006 + 9044	018 + 011	66	75	91	135	92	69
8955 + 8958	029 + 029	72	94	81	121	92	70
8820 + 9111	044 + 009	61	135	53	120	92	71
8955 + 9122	029 + 031	69	91	81	129	93	72

[0437]

		mAb 또는 mAb 혼합물로 처리된 세포의 대사 활성 (미처리 대조군의 %)					
mAb 또는 mAb 혼합물	서열 클러스터(들)	SNU5	OE33	MKN45	EBC1	평균	순위
9096 + 9133	018 + 028	57	99	95	120	93	73
9006 + 9217	018 + 012	67	93	92	120	93	74
9111 + 9122	009 + 031	98	106	50	118	93	75
9146 + 9184	036 + 009	89	93	81	110	93	76
9212 + 9340	025 + 072	69	117	86	99	93	77
8820 + 9232	044 + 007	88	103	75	108	93	78
9146 + 9206	036 + 008	79	75	101	119	94	79
9044 + 9122	011 + 031	80	109	63	124	94	80
9006 + 9340	018 + 072	70	78	101	127	94	81
9173 + 9338	028 + 004	61	102	92	120	94	82
8820 + 9184	044 + 009	67	121	60	128	94	83
9006 + 9206	018 + 008	81	78	101	117	94	84
9173 + 9217	028 + 012	58	124	72	123	94	85
9133 + 9206	028 + 008	67	102	95	112	94	86
9006 + 9007	018 + 046	61	92	81	142	94	87
9212	025	86	90	101	100	94	88
9232 + 9338	007 + 004	86	93	77	122	94	89
9133	028	68	102	99	109	95	90

[0438]

		mAb 또는 mAb 혼합물로 처리된 세포의 대사 활성 (미처리 대조군의 %)					
mAb 또는 mAb 혼합물	서열 클러스터(들)	SNU5	OE33	MKN45	EBC1	평균	순위
8820 + 9206	044 + 008	58	129	69	123	95	91
8955 + 9340	029 + 072	81	70	97	133	95	92
9111 + 9146	009 + 036	93	108	74	109	96	93
9096 + 9206	018 + 008	70	79	98	138	96	94
9133 + 9146	028 + 036	67	100	112	106	96	95
9096 + 9122	018 + 031	49	121	77	139	96	96
8906 + 9232	056 + 007	89	111	74	112	97	97
9133 + 9340	028 + 072	69	123	93	101	97	98
8908 + 9232	032 + 007	95	100	76	116	97	99
8955 + 9184	029 + 009	74	96	87	130	97	100
9044 + 9232	011 + 007	85	112	82	110	97	101
8955 + 9212	029 + 025	105	75	91	118	97	102
8899 + 8955	029 + 029	78	77	97	137	97	103
9111 + 9212	009 + 025	89	91	101	109	97	104
8820 + 9173	044 + 028	46	158	77	112	98	105
9096 + 9146	018 + 036	81	78	101	133	98	106
9096 + 9212	018 + 025	83	86	98	127	98	107
8955 + 9133	029 + 028	85	96	89	126	99	108

[0439]

		mAb 또는 mAb 혼합물로 처리된 세포의 대사 활성 (미처리 대조군의 %)					
mAb 또는 mAb 혼합물	서열 클러스터(들)	SNU5	OE33	MKN45	EBC1	평균	순위
9212 + 9338	025 + 004	66	118	93	119	99	109
8820 + 9338	044 + 004	90	96	91	119	99	110
8906 + 9217	056 + 012	82	106	81	128	99	111
9206	008	90	86	97	125	99	112
8955 + 9173	029 + 028	69	113	94	123	100	113
9007 + 9232	046 + 007	109	99	77	114	100	114
8908 + 9111	032 + 009	93	114	79	114	100	115
9111 + 9184	009 + 009	88	99	100	115	100	116
9007 + 9217	046 + 012	89	97	90	126	100	117
8955	029	100	68	101	132	100	118
9154 + 9184	009 + 009	90	102	91	119	101	119
9122 + 9173	031 + 028	75	131	80	116	101	120
8820 + 9096	044 + 018	82	95	86	140	101	121
9111 + 9154	009 + 009	93	103	91	117	101	122
9096 + 9340	018 + 072	80	81	105	139	101	123
8908 + 9206	032 + 008	90	108	80	127	101	124
9206 + 9212	008 + 025	91	77	114	124	101	125
8820 + 9122	044 + 031	63	158	61	125	102	126

[0440]

		mAb 또는 mAb 혼합물로 처리된 세포의 대사 활성 (미처리 대조군의 %)					
mAb 또는 mAb 혼합물	서열 클러스터(들)	SNU5	OE33	MKN45	EBC1	평균	순위
9146	036	119	92	100	100	103	127
9206 + 9340	008 + 072	103	94	94	120	103	128
8906 + 9006	056 + 018	66	142	52	152	103	129
8820 + 9133	044 + 028	63	152	80	116	103	130
8902 + 8955	029 + 029	72	87	105	149	103	131
9232 + 9340	007 + 072	115	93	85	120	103	132
8955 + 9026	029 + 029	91	75	101	146	104	133
9146 + 9212	036 + 025	110	93	106	106	104	134
9111	009	97	96	102	119	104	135
8955 + 9217	029 + 012	94	97	91	134	104	136
8820 + 9154	044 + 009	72	148	73	123	104	137
8906 + 9206	056 + 008	90	126	75	127	104	138
8820 + 9217	044 + 012	91	151	65	112	105	139
9044 + 9217	011 + 012	103	102	93	120	105	140
9232	007	115	100	84	121	105	141
9340	072	113	99	95	114	105	142
9217 + 9338	012 + 004	83	124	89	126	106	143
9096	018	90	86	103	144	106	144

[0441]

		mAb 또는 mAb 혼합물로 처리된 세포의 대사 활성 (미처리 대조군의 %)					
mAb 또는 mAb 혼합물	서열 클러스터(들)	SNU5	OE33	MKN45	EBC1	평균	순위
9184 + 9212	009 + 025	98	103	108	114	106	145
9007 + 9173	046 + 028	67	153	95	109	106	146
8908 + 9184	032 + 009	85	127	90	123	106	147
9111 + 9340	009 + 072	107	109	101	111	107	148
9044 + 9133	011 + 028	91	132	87	119	107	149
9133 + 9154	028 + 009	90	123	101	117	108	150
8820 + 9044	044 + 011	97	138	79	117	108	151
8820 + 9212	044 + 025	82	143	87	119	108	152
9122 + 9184	031 + 009	96	140	73	124	108	153
9007 + 9206	046 + 008	89	113	95	136	108	154
9184	009	101	110	101	123	109	155
9338	004	100	98	96	141	109	156
8906 + 9111	056 + 009	112	120	84	122	110	157
9111 + 9338	009 + 004	107	121	90	121	110	158
9146 + 9340	036 + 072	112	137	90	100	110	159
9133 + 9338	028 + 004	89	133	96	120	110	160
8820 + 8906	044 + 056	86	148	80	126	110	161
9217	012	96	108	100	135	110	162

[0442]

		mAb 또는 mAb 혼합물로 처리된 세포의 대사 활성 (미처리 대조군의 %)					
mAb 또는 mAb 혼합물	서열 클러스터(들)	SNU5	OE33	MKN45	EBC1	평균	순위
9044 + 9338	011 + 004	101	101	103	135	110	163
8908 + 9154	032 + 009	98	132	87	124	110	164
9007 + 9096	046 + 018	88	96	96	160	110	165
9212 + 9217	025 + 012	80	121	111	129	110	166
9044 + 9173	011 + 028	72	150	95	126	111	167
9007 + 9154	046 + 009	100	135	83	126	111	168
9154 + 9340	009 + 072	113	117	85	131	111	169
9338 + 9340	004 + 072	103	106	103	134	112	170
9096 + 9217	018 + 012	106	108	96	137	112	171
9007 + 9184	046 + 009	85	137	95	131	112	172
9007 + 9340	046 + 072	109	112	95	133	112	173
9044 + 9340	011 + 072	92	120	100	138	113	174
9184 + 9340	009 + 072	109	132	99	110	113	175
9122 + 9133	031 + 028	92	133	105	124	113	176
8955 + 9044	029 + 011	102	100	102	151	114	177
8906 + 9044	056 + 011	96	122	86	151	114	178
9007 + 9122	046 + 031	108	135	85	127	114	179
8820 + 9146	044 + 036	101	153	84	119	114	180

[0443]

		mAb 또는 mAb 혼합물로 처리된 세포의 대사 활성 (미처리 대조군의 %)					
mAb 또는 mAb 혼합물	서열 클러스터(들)	SNU5	OE33	MKN45	EBC1	평균	순위
8908 + 9122	032 + 031	131	132	76	117	114	181
8906 + 9133	056 + 028	92	155	92	118	114	182
8908 + 9133	032 + 028	95	158	96	110	115	183
8908 + 9096	032 + 018	85	117	88	169	115	184
9217 + 9340	012 + 072	106	137	87	129	115	185
9133 + 9217	028 + 012	99	135	98	127	115	186
8906 + 9173	056 + 028	72	185	79	122	115	187
9007 + 9146	046 + 036	108	146	79	127	115	188
8906 + 9184	056 + 009	105	147	81	128	115	189
9007 + 9111	046 + 009	108	138	86	129	115	190
8908 + 9173	032 + 028	85	170	90	118	116	191
8908 + 9044	032 + 011	87	135	81	159	116	192
9044 + 9146	011 + 036	119	129	93	122	116	193
8908 + 9212	032 + 025	120	125	95	123	116	194
9007 + 9212	046 + 025	115	127	93	128	116	195
9044 + 9212	011 + 025	133	117	96	118	116	196
8820 + 9007	044 + 046	96	152	84	134	117	197
9044	011	115	118	98	137	117	198

[0444]

		mAb 또는 mAb 혼합물로 처리된 세포의 대사 활성 (미처리 대조군의 %)					
mAb 또는 mAb 혼합물	서열 클러스터(들)	SNU5	OE33	MKN45	EBC1	평균	순위
8906 + 9122	056 + 031	122	148	78	120	117	199
8908 + 9340	032 + 072	106	128	94	141	117	200
9184 + 9338	009 + 004	124	129	92	126	118	201
8906 + 9154	056 + 009	119	144	79	128	118	202
9007 + 9044	046 + 011	112	129	87	145	118	203
8906 + 9212	056 + 025	133	136	86	120	119	204
9146 + 9338	036 + 004	135	126	91	123	119	205
8908 + 9338	032 + 004	106	129	101	139	119	206
9007 + 9338	046 + 004	96	136	101	144	119	207
9154	009	123	119	97	138	119	208
9122 + 9338	031 + 004	129	123	99	126	119	209
8820 + 8908	044 + 032	110	154	83	131	119	210
8820	044	111	157	88	121	119	211
9007 + 9133	046 + 028	92	166	101	119	120	212
9146 + 9217	036 + 012	123	128	104	126	120	213
9122 + 9154	031 + 009	112	151	88	129	120	214
8906 + 9096	056 + 018	93	127	86	176	120	215
8906 + 9146	056 + 036	102	176	83	121	121	216

[0445]

		mAb 또는 mAb 혼합물로 처리된 세포의 대사 활성 (미처리 대조군의 %)					
mAb 또는 mAb 혼합물	서열 클러스터(들)	SNU5	OE33	MKN45	EBC1	평균	순위
9154 + 9212	009 + 025	135	111	110	128	121	217
8908 + 9146	032 + 036	126	150	90	121	122	218
8906 + 9340	056 + 072	106	157	95	129	122	219
9146 + 9154	036 + 009	116	130	111	132	122	220
9154 + 9338	009 + 004	137	128	88	139	123	221
8820 + 9340	044 + 072	113	143	96	140	123	222
9007	046	122	141	94	139	124	223
8906 + 8908	056 + 032	93	147	98	157	124	224
9122 + 9212	031 + 025	130	138	110	123	125	225
8908	032	135	134	96	140	126	226
8906 + 9338	056 + 004	119	166	93	129	127	227
9122 + 9146	031 + 036	146	128	109	128	128	228
8906	056	127	153	95	136	128	229
8906 + 9007	056 + 046	84	157	100	172	128	230
9044 + 9096	011 + 018	124	138	98	155	129	231
9122	031	142	134	106	136	130	232
9122 + 9340	031 + 072	146	150	98	125	130	233
8908 + 9007	032 + 046	109	152	101	169	133	234

[0446]

		mAb 또는 mAb 혼합물로 처리된 세포의 대사 활성 (미처리 대조군의 %)					
mAb 또는 mAb 혼합물	서열 클러스터(들)	SNU5	OE33	MKN45	EBC1	평균	순위
8906 + 8955	056 + 029	136	167	99	150	138	235

[0447]

[0448] 실시예 3: 9006 및 9338 항체의 인간화

[0449]

본 실시예는 9006 및 9338 항체의 뮤린 항체 프레임워크 영역의 인간화를 기재한다. 항체 인간화는 모(parental) 비-인간 항체의 특이성 및 친화성을 보유하면서 인간에게 적용되는 경우 최소 면역원성을 갖는 분자를 생성시키도록 수행된다.

[0450]

방법

[0451]

9006 및 9338 항체의 인간화를 "CDR 이식" 접근법을 이용하여 수행하였다. 먼저, 마우스 점라인 V 및 J 유전자 데이터베이스에 대해 9006(도 26) 및 9338(도 27)의 V 유전자 서열을 블라스팅(blasting)시킴으로써 본래의 뮤린 점라인 유전자를 확인하였다. 이는 9006의 가변 중쇄 및 가변 경쇄 유전자에 대해 가장 가까운 마우스 점라인 유전자가 각각 IGHV9-1*02/IGHJ4*01 및 IGKV8-28*01/IGKJ2*01인 것을 나타내었다. 유사하게, 9338의 가변 중쇄 및 가변 경쇄 유전자에 대해 가장 가까운 마우스 점라인 유전자는 각각 IGHV1-4*01/IGHJ3*01 및 IGKV4-

79⁰¹/IGKJ4⁰¹이었다. 둘째로, 항체 VH 및 VL 유전자를 뮤린 점라인에 대해 정렬시켜 항체 기능 및/또는 구조에서 역할을 할 수 있는 프레임워크 영역 내의 체세포 돌연변이를 확인하였다. 이러한 잔기는 소위 "역 돌연변이" 잔기로서 최종 인간화 항체 유전자에 포함될 수 있다. 이후, 9006 및 9338 가변 항체 서열을 인간 면역글로불린 데이터베이스에 대해 블라스팅시켜 프레임워크 영역이 항체 인간화에 사용될 가장 가까운 인간 점라인을 확인하였다. 항체 9006에 대해, 보유된 인간 점라인은 가변 중쇄 및 가변 경쇄 유전자에 대해 각각 IGHV7-4-1⁰²/IGHJ6⁰¹ 및 IGKV4-1⁰¹/IGKJ2⁰¹이었다. 항체 9338에 대해, 보유된 인간 점라인은 가변 중쇄 및 가변 경쇄 유전자에 대해 각각 IGHV1-69⁰⁸/IGHJ1⁰¹ 및 IGKV3-11⁰¹/IGKJ2⁰¹이었다. 최종적으로, 각각의 항체에 대해, 키메라 항체로부터의 CDR 영역을 선택된 인간 프레임워크 및 J 유전자 세그먼트에 이식하였다. CDR 서열을 IMGT[®] 정의에 따라 할당하였다.

[0452] 결과

[0453] 최종 인간화 9006 및 9338 항체 서열은 각각 도 28 및 도 29에 제시된다.

[0454] 실시예 4: 항-MET 참조 항체 유사체의 클로닝

[0455] 본 실시예는 항-MET 참조 항체 유사체의 생성을 위해 사용된 아미노산 서열의 공급원 및 최종 항체 포맷을 나열한다. 나열된 항체의 일부는 광범위하게 특성규명되었으며, 잘 정의된 에피토프를 갖는다. 다수의 항체가 또한 임상 평가에 들어갔다.

[0456] 방법

[0457] 표 4의 항체 유사체의 가변 중쇄 및 경쇄 도메인을 인코딩하는 아미노산 서열을 나열된 특허 또는 특허 출원으로부터 획득하였다. 단백질 서열을 인간 코돈 사용을 갖는 DNA 서열로 역 번역시켰다. 상응하는 DNA 서열을 유전자 합성하고, 불변 인간 중쇄 또는 경쇄 도메인을 함유하는 발현 벡터로 클로닝하여, 전장 항체를 발현시켰다. Fab 단편으로 발현된 5D5 항체는 한 예외였다. 발현을 위해 선택된 인간 항체 아이소형은 적용 가능한 경우 Fc 영역에 도입된 추가 돌연변이와 함께 항체 포맷 컬럼에 나열되어 있다. CHO 세포를 표준 하이브리도마 배양 기술을 이용하여 성장된 하이브리도마 클론 HB-12093을 제외하고 표준 단백질 발현 시스템을 이용하여 상응하는 발현 플라스미드로 트랜스펙션시켰다. 상응하는 항체 상충액을 표준 단백질 A 형제 컬럼 크로마토그래피를 이용하여 정제하였다.

[0458] 표 4. 유전자-합성된 항체 유사체 및 상응하는 항체 포맷의 목록

항체 클론	연구 코드	항체 포맷	참고문헌
224G11	ABT-700, h224G11	재조합 IgG1	EP2014681A1
223C4	N.A.	재조합 IgG1	EP2014681A1
C8-H241	LY2875358, LA480, 에미 베투주맙 (emibetuzumab)	재조합 IgG4 (S228P, F234A, L235A)	WO2010059654A1
36C4	ARGX-111	재조합 IgG1	US2012/0148607A1
5D5	OA-5D5, MetMAb, 오나 르투주맙(onartuzumab)	재조합 IgG1 Fab	US 7476724 B2
13-MET	N.A.	재조합 IgG1	WO2009/142738 A2
28-MET	N.A.	재조합 IgG1	WO2009/142738 A2
HB-12093	N.A.	마우스 하이브리도마	EP 0922102

[0460] 실시예 5: MET 항체의 에피토프 빙(binning)

[0461] 본 실시예는 MET 항체를 쌍을 이룬 경쟁 패턴을 기초로 하여 에피토프 빙(bin)으로 그룹화시키는 방법을 예시한다. 상이한 에피토프 빙에 속하는 항체는 MET 세포의 도메인(ECD) 상의 상이한 에피토프를 인지한다.

방법

[0463] 쌍을 이룬 항체 경쟁의 연구를 Octet QK384 기계(Fortebio, USA)를 이용한 Bio-layer Interferometry(BLI) 분석에 의해 수행하였다. 상업적으로 이용 가능한 인간 MET Fc 융합 단백질(R&D Systems)을 항-인간 Fc 센서 칩(Fortebio, USA)에서 포획시키고, 잔여 항-Fc 부위를 허셉틴 음성 대조군 항체로 블로킹시켰다. 항원 코팅된 표면을 $80 \mu\text{g/ml}$ 의 항-MET 항체 농도로 포화시킨 후, 경쟁 결합 실험에서 쌍을 이룬 항-MET 항체 조합을 평가하였다. 센서 표면을 10 mM 글리신-HCl, pH 1.5와의 인큐베이션에 의해 재생시키고, 새로운 경쟁 주기에 재사용하였다.

결과

[0465] 13개의 시험된 MET 항체의 경쟁 패턴이 도 1에 제시된다. MET 항체는 12개의 별개의 에피토프 빈으로 그룹화되는 것으로 밝혀졌다. 항체 Hu9006은 C8-H241과 중첩된 별개의 에피토프에 결합하는 것으로 밝혀졌다. 그러나, 상기 에피토프는 C8-H241과 비교하여 상이한데, 이는 C8-H241이 또한 Hu9338 및 36C4에 의해 블로킹된 반면, Hu9006은 그렇지 않았기 때문이다. 결과로서, Hu9006 및 C8-H241은 상이한 에피토프 빈으로 할당되었다. Hu9338의 에피토프는 36C4와 중첩되었고, 둘 모두의 항체는 시험된 패널에서 다른 항체와 동일한 경쟁 패턴을 나타내었고, 이들은 결과로서 동일한 에피토프 빈에 할당되었다.

[0466] 항체 224G11, 28-MET, 5D5, 9206 & 13-MET는 일부 예에서 단방향성 억제를 나타내었다. 이러한 관찰된 현상은 알로스테리 효과에 의해 유발될 수 있으며, 반복적인 경쟁 실험에서 관찰되었다.

실시예 6: HGF 리간드 블로킹 활성에 대한 MET 항체의 분석

[0468] 본 실시예는 항-MET 항체의 패널이 Bio-Layer Interferometry 분석을 이용하여 경쟁 검정을 수행함으로써 HGF 리간드 블로킹 활성에 대해 분석되는 방법을 예시한다.

방법

[0470] HGF 리간드 블로킹 활성의 연구를 Octet QK384 기계(Fortebio, USA)를 이용한 Bio-layer Interferometry(BLI) 분석에 의해 수행하였다. 상업적으로 이용 가능한 인간 MET Fc 융합 단백질(R&D Systems)을 항-인간 Fc 센서 칩(Fortebio, USA)에서 포획시키고, 잔여 항-Fc 부위를 허셉틴 음성 대조군 항체로 블로킹시켰다. 다음으로, 항원 코팅된 표면을 $26.7 \mu\text{g/ml}$ (533nM)으로 회석된 5D5 Fab 단편을 제외하고 $80 \mu\text{g/ml}$ (533nM)의 항-MET 항체 농도로 포화시켰다. 항체 HGF를 이용한 MET 포화 후, 리간드 블로킹 활성을 $20 \mu\text{g/ml}$ (222nM)에서 시험된 인간 HGF 리간드(R&D Systems)와의 인큐베이션에 의해 평가하였다. 허셉틴 IgG1을 음성 대조군 항체로 사용하였다.

결과

[0472] 경쟁 분석의 결과가 하기 표 5에 제시된다. 항체 Hu9006 및 Hu9338 둘 모두는 HGF 리간드 결합을 약 80%까지 억제하는 것으로 밝혀진 반면, 5D5 Fab는 HGF 결합을 완전히 블로킹(100%)하는 것으로 밝혀졌다. Hu9006 및 Hu9338의 등물 농도($80 \mu\text{g/ml}$ 전체 농도, 533nM)를 혼합하는 경우, HGF 리간드 결합은 약 90%까지 억제되었다. 결과로서, 항체 Hu9006 및 Hu9338을 1:1로 혼합함으로써 더욱 효과적인 HGF 리간드 블로킹 활성이 획득되었다. 항체 C8-H241 및 36C4는 HGF 리간드 결합을 각각 약 80 및 75%까지 억제하는 것으로 밝혀진 반면, 항체 13-MET 및 28-MET는 HGF 결합을 각각 약 80 및 50%까지 블로킹하였다. 효능 항체 5882 및 음성 대조군 항체 허셉틴은 HGF 결합을 블로킹하지 않았다(3-7% HGF 결합 억제).

[0473]

표 5. MET 항체 포화 후의 HGF 결합 억제.

항체	% HGF 결합 억제
Hu9006	78
Hu9338	81
5882	3
Hu9006 + Hu9338	89
C8-H241	81
36C4	74
224G11	20
223C4	69
13-MET	81
28-MET	50
HB-12093	9
5D5 Fab	100
12398	84
9206	62
허셀틴	6

[0474]

실시예 7: 항-MET 항체의 애피토프 맵핑

[0475]

본 실시예는 세포 상에서 발현된 키메라 MET 작제물에 대한 결합을 분석함으로써 본 발명의 MET 항체의 결합 애피토프가 SEMA-α 도메인 내의 블레이드 2 또는 3으로 맵핑되는 방법을 예시한다. 본 실시예는 또한 본 발명의 항체의 애피토프가 시험된 참조 항체 유사체와 비교하여 구별되는 방법을 예시한다.

[0476]

방법

[0477]

인간 MET 수용체는 907개의 아미노산(잔기 25-932)의 세포외 도메인으로 구성된다. 세포외 도메인은 SEMA 도메인(잔기 27-515), 시스테인 풍부 플렉신(Plexin) 세마포린(Semaphorin) 인테그린 도메인(PSI 도메인, 잔기 520-561) 및 하기 아미노산 서열에 의해 정의되는 4개의 면역글로불린 유사 도메인으로 세분될 수 있다. IPT1: AA 563-655. IPT2: AA 657-739. IPT3: AA 742-836. IPT4: AA 837-932. 도메인 정의는 문헌[Gherardi et al., Proc Natl Acad Sci U S A. 100(21):12039-44 (2003) and Uniprot entry P08581]에 기재되어 있다. SEMA 도메인은 7개의 블레이드가 있는 프로펠러 구조로 폴딩되는 7개의 베타 시트(블레이드)로 구성된다(Stamos J. et al., EMBO J. 23:2325-2335. (2004)). 퓨린 분해 부위는 위치 307-308에 존재하며, SEMA 도메인을 α 및 β 사슬로 나눈다. SEMA-α 도메인은 블레이드 1-4를 구성하는 아미노산 잔기 27-307에 의해 인코딩되며, SEMA-β 도메인은 블레이드 5-7을 구성하는 아미노산 잔기 308-515에 의해 인코딩된다. SEMA-α 도메인은 HGF 리간드의 β-사슬에 대한 결합 부위를 함유하는 반면, HGF α-사슬의 MET 결합 부위는 파악하기 어려운 채로 남아 있다(Merchant et al., Proc Natl Acad Sci U S A. 110(32):E2987-96 (2013)). 한 보고서에는 MET ECD의 IPT3 및 IPT4 도메인이 또한 고 친화성 HGF 결합을 매개한다고 주장한다(Basilico et al., J Biol Chem. 283(30):21267-21277 (2008)).

[0478]

인간 MET 아이소형 1의 mRNA 서열을 NCBI로부터 다운로드하였다(ACCESSION NM_000245.2; 아미노산 서열은 SEQ ID NO:1에 제공된다). 인간 MET는 또한 IPT 도메인 3에서 19개의 아미노산(STWWKEPLNIVSFLFCFAS(SEQ ID NO: 2))이 S755를 대체하는 상이한 아이소형(아이소형 2)으로 존재한다. 아이소형 2의 아미노산 서열은 SEQ ID NO:2로 나열되어 있다. 선도 펩티드 서열을 포함하는 전장 닫 및 뮤린 MET 단백질 서열을 NCBI로부터 다운로드하였다(각각 ACCESSION NP_990543(SEQ ID NO:3) 및 NP_032617(SEQ ID NO: 4)). 각 도메인 또는 서브도메인이 닫 DNA 서열로 순차적으로 대체된 세포외 도메인(ECD)의 키메라 인간/닫 도메인 교환 변이체는 완전한 인간, 뮤린

또는 닫 MET ECD 유전자와 함께 합성된 유전자였다. SEMA 도메인 내의 7개의 블레이드 각각이 인간으로부터 마우스 서열로 순차적으로 교환된 키메라 작제물을 또한 합성하였다.

[0480] 블레이드 결합 특이성을 결정하기 위해 사용되는 작제물은 하기와 같았다(번호는 마우스 서열로 교환된 서열을 나타낸다): 마우스 블레이드 1: AA 25-83. 마우스 블레이드 1-2: AA 25-162. 마우스 블레이드 1-3: AA 25-233. 마우스 블레이드 1-4: AA 25-295. 마우스 블레이드 1-5: AA 25-430. 마우스 블레이드 1-6: AA 25-479. 마우스 블레이드 1-7: AA 25-513. 역 작제물을 또한 제조하였다. 마우스 PSI-IPT4: (AA 515-932). 마우스 블레이드 7-IPT4: (AA 480-932). 마우스 블레이드 6-IPT4: (AA 431-932). 마우스 블레이드 5b-IPT4: (AA 382-932). 마우스 블레이드 5a-IPT4: (AA 293-932). 마우스 블레이드 4-IPT4: (AA 234-932). 마우스 블레이드 3-IPT4: (AA 163-932). 마우스 블레이드 2-IPT4: (AA 84-932). 블레이드 1-4는 SEMA- α 서브도메인 내에 위치되고, 블레이드 5-7은 SEMA- β 서브도메인 내에 위치된다.

[0481] 최근에, 라마 서열이 MET SEMA 도메인에서 인간 서열로 교환된 다른 키메라 작제물이 기재되었다(Basilico C. et al. J. Clin Invest. 124:3172-3186 (2014)). 이들 작제물이 또한 합성되었으나, 라마 서열 대신에 마우스 서열이 삽입된 변형을 가졌는데, 이는 라마 MET 서열이 공개적으로 이용 가능하지 않았기 때문이다. 추가의 키메라 단백질에 대한 서열 정의는 다음과 같다(AA 번호는 마우스 서열로 교환된 서열을 나타낸다): LS1: AA25-122, LS2: AA25-224, LS3: AA25-312, LS4: AA25-371, LS5: AA25-473. LS1-3은 SEMA- α 서브도메인에 존재하고, LS4-6은 SEMA- β 서브도메인에 존재한다. 최종적으로, SEMA- α 서브도메인 내의 인간 MET ECD 서열의 15 AA가 마우스 서열로 순차적으로 교환된 작제물을 선형 에피토프의 더욱 상세한 맵핑을 위해 합성하였다. 작제물 109-120에 대해, 단지 11개의 아미노산이 마우스 서열로 교환되었다. 각 작제물을 2개의 아미노산과 중첩하도록 설계하였고, 블레이드 1(AA 89-313) 뒤의 인간 MET SEMA- α 서브도메인 서열을 포함하여 15개 이하의 AA 치환을 갖는 전체 22개의 작제물을 제조하였다.

[0482] 상기 기재된 모든 합성된 키메라 또는 야생형 작제물을 SV5 웨티드 태그, 글리신 세린 링커 및 관심 유전자로의 이러한 카세트의 C-말단 융합을 발생시키는 글리코실포스파티딜이노시톨(GPI) 앵커에 대한 코딩 서열을 함유하는 발현 벡터에 서브클로닝하였다(Bouquin T. et al., J. Biotechnol. 125:516-528 (2006)). 생성된 발현 작제물을 HEK293 세포의 일시적 FreeStyle™ 트랜스펙션에 사용하였고, 생성된 융합 단백질을 GPI 앵커를 통해 세포막에 표적화시켰다. MET 항체를 iQue® Screener(IntelliCyt corporation)를 이용한 흐름세포측정법에 의해 트랜스펙션된 세포로의 결합에 대해 분석하였다. 항체를 50 μ g/ml에서 시작하는 3배 희석을 이용한 8-포인트 적정 실험 및 항-인간 IgG(H+L) Alexa Fluor® 647 염료를 이용한 검출에서 시험하였다. MET 작제물의 발현 수준을 비오티닐화된 항-SV5 mAb MCA1360B 및 스트렙타비딘 APC Cy7을 이용한 검출에 의해 모니터하였다. 음성 대조군 닫 또는 마우스 MET 작제물 + 4개의 표준 편차에 대해 50 μ g/ml에서 시험된 모든 항체의 평균 형광 신호로 정의되는 컷-오프 값을 도메인 교환 또는 블레이드 교환 작제물에 대한 특이적 결합으로부터 백그라운드 결합을 구별하기 위해 이용하였다. 단일 아미노산 또는 15개의 아미노산이 마우스 서열로 교환된 작제물에 대한 항체 결합을 3 μ g/ml에서 시험된 5D5 결합으로 표준화시켰는데, 이는 돌연변이가 SEMA- α 서브도메인에 위치되어 있고, SEMA- β 서브도메인에 대해 특이적인 5D5의 결합에 영향을 미치지 않는 것으로 나타났기 때문이다.

결과

[0483] [0484] 야생형 및 키메라 인간, 닫 또는 마우스 MET ECD 작제물의 표면 발현 수준을 SV5 염색에 의해 평가하였다. 닫 SEMA- β 서브도메인을 함유하는 작제물을 제외하고, 모든 평가된 작제물은 잘 발현되었고 SV5 항체로 염색될 수 있었다. 작제물에 대한 각 MET 항체 결합의 역ガ를 평가하였다(데이터는 제시되지 않음). 시험된 여러 키메라 작제물에 대한 항체 결합의 개요는 도 2에 제시된다. SEMA- α 서브도메인의 15 AA 세그먼트가 순차적으로 마우스로 교환된 인간 MET ECD 작제물에 대한 차별적 항체 결합의 개요가 표 6에 제시되고, SEMA- α 서브도메인에서 표면 노출된 잔기가 마우스 서열로 돌연변이된 인간 MET ECD 작제물에 대한 차별적 항체 결합의 개요가 표 7에 제시된다. 마지막으로, 모든 에피토프 결과의 개요는 표 8에 제시된다.

[0485] 5D5 및 224G11을 제외한 모든 시험된 항체는 SEMA- α 서브도메인에 결합하는 것으로 밝혀졌다.

[0486] SEMA- α 도메인에 돌연변이를 도입시킨 키메라 작제물을 이용한 미세 에피토프 맵핑은 서열 세그먼트 AA 99-113이 마우스로 교환되었을 때, 상당한 결합 손실에 의해 예시된 대로 (5D5에 비해 36% 결합) 선형 에피토프에 결합된 Hu9338이 블레이드 2에 위치함을 예시하였다(표 6). Hu9338에 대한 에피토프는 뚜렷하였고 시험된 MET 패널에서 다른 항체에 대해 발견되지 않았다. Hu9006은 블레이드 3의 분절에 존재하는 에피토프에 결합하는 것으로 밝혀졌다(AA 163-224). 단일 아미노산 점 돌연변이된 MET 작제물 또는 15 AA 삽입된 마우스 MET 서열을 갖는 MET 작제물 중 어떤 것도 완전 인간 MET ECD에 비해 hu9006의 현저하게 상이한 결합을 나타내지 않았다. 결

과적으로, hu9006의 에피토프는 항-MET 항체 패널의 다른 구성원과 뚜렷이 비교되었다. 에피토프에 결합된 Hu9338 및 Hu9006이 블레이드 2 및 3에 각각 위치하였다는 발견은 이들 항체가 비경작적이고 상이한 에피토프 bins에 속하는 것과 일치하였다.

[0487] 효능성 항체 5882는 또한 블레이드 3 (AA 163-224)에 결합하지만, 하기 위치를 마우스 서열로 교환시, 5D5에 비해 적어도 50% 이하의 결합으로 드러난 바와 같이 위치 F206, D208, H209 & P210에 접촉 잔기를 갖는 것이 발견되었다. 중요하게는, 이렇게 밀접하게 위치한 돌연변이가 패널에서 다른 항체의 결합에 현저한 영향을 미치지 않았는데, 이는 5882의 강력한 효능 활성이 이러한 4개 치환에 의해 정의된 영역의 결합과 관련됨을 예시한다.

[0488] C8-H241 항체는 블레이드 2 및 3 둘 모두에 위치한 에피토프에 결합하는 것으로 밝혀졌다. 블레이드 교환 자체물은 이러한 항체가 블레이드 3의 중요한 에피토프에 결합하였음을 보여준 한편 (AA 163-224), 추가 에피토프 정제는 블레이드 2의 15 AA (AA 119-133) 또는 24 AA 블레이드 3 (AA 209-233)이 마우스 서열로 교환된 자체물에 대해 관찰된 결합 감소에 의해 수득될 수 있었다 (5D5에 비해 각각 68-30% 결합). 마지막으로, 블레이드 3에서 확인된 접촉 잔기 (K223)는 5D5에 비해 19% 결합만을 발생시켰는데, 이는 C8-H241 항체의 코어 에피토프가 블레이드 3에 위치함을 나타내었다. 이 결과는 C8-H241의 선형 에피토프가 HD 교환 질량 분광학에 의해 결정된 바와 같이 위치 123-128, 144-156, 192-195 및 220-227에 존재하였음을 보여준 종래 공개된 데이터(Liu L. et al., *Clin. Cancer. Res.* 20:6059-6070 (2014))와 잘 일치하였다.

[0489] 마지막으로, 본 발명자들은 36C4의 에피토프를 더욱 정밀하게 맵핑할 수 있었다. Basilico 등 (Basilico C. et al. *J. Clin. Invest.* 124:3172-3186 (2014))은 36C4의 에피토프가 블레이드 2 & 3 (AA 98-199)에 존재한다고 기술한 한편, 본 발명자들은 그 특이성이 블레이드 2의 위치 129-143에 있는 선형 에피토프 (5D5에 비해 58% 결합) 및 블레이드 3의 위치 H209에 있는 접촉 잔기 (5D5에 비해 43% 결합)로 나뉠 수 있음을 보여주었다. 위치 H209에 있는 접촉 잔기는 또한 효능성 5882 항체와 공유되었으나, 5882가 또한 3개의 다른 밀접하게 위치한 접촉 잔기와 결합하였으므로 결합 및 이에 따른 효능 특성은 분명히 상이하였다.

[0490] SEMA 도메인에 결합하는 5D5의 결정 구조는 이전에 공개되었고 (Merchant M. et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 110:E2987-E2996 (2013)), 이 연구는 5D5가 SEMA β 서브도메인의 블레이드 5 및 6을 주로 인지하였음을 보여주었다. 위치 Q328, R331, L337 및 N338에 있는 주요 아미노산 잔기는 블레이드 5에 존재하였고, 마우스 잔기로 돌연변이될 때, 이들은 결합 친화성을 현저히 감소시켰다. 이 결과는 5D5가 블레이드 5의 중요한 에피토프 (AA 313-371)를 인지하였음을 명백하게 보여준 본 발명자들의 결합 분석과 일치하였다.

[0491] 본 발명자들은 또한 항체 224G11이 Basilico 및 동료들(Basilico C. et al. *J. Clin. Invest.* 124:3172-3186 (2014))에 의해 제공된 정보와 일관되게 ITP1 도메인을 인지하였음을 발견하였다.

[0492] 표 6. SEMA- α 도메인의 15 AA 세그먼트가 순차적으로 마우스로 교환된 경우, HEK293 세포 상에서 발현된 인간 MET ECD 작제물에 대한 항체 결합.

작제물	Hu9338	Hu9006	C8-H241	36C4	5D5	세록시맙
MET 99-113	36	112	113	94	100	2
MET 119-133	131	88	68	107	100	2
MET 129-143	124	97	77	53	100	2
MET 209-223	133	114	57	96	100	2
MET 219-233	130	141	30	109	100	2
인간 MET	144	137	135	162	100	1

[0493]

[0494] 항체 결합은 5D5 결합의 백분율로서 표시된다. 회색 칸은 5D5에 비해 70% 미만의 항체 결합을 나타낸다.

[0495] 표 7. SEMA- α 도메인의 표면 노출된 잔기가 마우스로 교환된 경우, HEK293 세포 상에서 발현된 인간 MET ECD 작제물에 대한 항체 결합.

작제물	Hu9338	Hu9006	5882	C8-H241	36C4	5D5
F206P	127	96	31	103	104	100
D208G	75	69	39	95	71	100
H209Y	94	90	49	84	43	100
P210S	100	79	18	105	89	100
K223Q	198	112	96	19	127	100
인간 MET	149	134	96	77	115	100

[0496]

항체 결합은 5D5 결합의 백분율로서 표시된다. 회색 칸은 5D5에 비해 50% 미만의 항체 결합을 나타낸다.

[0498]

표 8. 세포 표면 발현된 돌연변이된 MET 작제물을 이용하여 시험된 MET 항체에 대해 확인된 결합 에피토프의 개요.

항체	도메인	SEMA 블레이드	키메라 분절 잔기 (AA)	선행 에피토프	접촉 잔기	에피토프 Bin	HGF 차단
Hu9338	SEMA-á	2	AA 84-122	BL 2 AA 99-113	N.D.	Bin 8	Yes
C8-H241	SEMA-á	2-3	AA 163-224	BL 2 AA 119-133 BL 3 AA 209-233	BL 3 K223	Bin 7	Yes
36C4	SEMA-á	2-3	AA 84 - 224	BL 2: 129-143	BL 3 H209	Bin 8	Yes
Hu9006	SEMA-á	3	AA 163-224	N.D.	N.D.	Bin 6	Yes
5882	SEMA-á	3	AA 163-224	N.D.	BL 3 F206, D208, H209, P210	Bin 9	No
5D5	SEMA-á	5	AA 313-371	N.D.	N.D.	Bin 4	Yes
224G11	IPT1	N.A.	AA 562-652	N.D.	N.D.	Bin 1	Yes

[0499]

약어: AA: 아미노산 서열. N.A: 이용불가능. N.D: 결정되지 않음. BL: 블레이드.

실시예 8: 키메라 및 인간화 항-MET 항체에 대한 친화성 측정

[0502]

본 실시예는 항-MET 항체 9006 및 9338의 인간화 변이체가 이들의 키메라 대응부와 유사한 친화성을 지님을 나타내며, 이는 인간화 항체가 키메라 항체의 모든 기능적 활성을 지님을 나타낸다. 더욱이, 인간화 항-MET 항체는 인간 및 시노몰구스 MET ECD 둘 모두에 대해 유사한 결합을 보여준다.

[0503]

방법

[0504]

정제된 인간화 및 키메라 9006 및 9338 변이체의 동력학적 결합 분석은 Octet QK384 Bio-Layer 간섭계 (BLI) 바이오센서(Fortebio, USA) 또는 XPR-36 표면 플라즈몬 공명(SPR) 바이오센서(Bio-Rad, USA) 상에서 수행되었다.

[0505]

His 태깅된 인간 또는 시노몰구스 MET ECD 항원을 Sinobiological(China)로부터 구입하였다. 종래 기재된 대로 항-MET 항체를 고정시키고 일가 시노몰구스 MET 항원을 용해된 상태로 유지함에 의해 결합 동력학을 일가 항원 조건 하에 측정하였다 (Canziani et al., Anal Biochem 325(2):301-307 (2004)). 가능한 가장 낮은 항-MET 항체 밀도를 적용하여 비특이적 결합 및 대량 수송 제한을 방지하였다. Octet 시스템 상에서 항체 동력학을 측정하기 위해, 1.5 μ g/ml 농도의 항체를 항-인간 Fc 센서 (Fortebio, USA) 상에 포집하고, 연속하여 2배로 7회 희석된 인간 MET ECD 항원 (100 nM)에 대한 결합을 시험하였다. 측정은 1000 rpm의 플레이트 회전 속도로 수행되었고 센서는 10 mM 글리신:HCl 완충제 (pH 1.5) 또는 1% BSA 및 0.001% Tween 20을 함유하는 PBS 완충제로의 3회 노출 사이에 짧은 5초 교대에 의해 재생되고 재사용되었다. Bio-Rad XPR-36 기계 상에서 수행된 표면 플라즈몬 공명 실험을 위해, 항-MET 항체를 0.25-0.5 μ g/ml의 농도로 조정하고, 모노클로날 항-인간 Fc 항체 (Biacore, Denmark)를 고정시킴에 의해 생성된 항-인간 IgG Fc 표면 상에 포집하였다. 항-MET 항체를 25 nM 내지 1.56 nM

의 2배 농도 범위에서 인간 또는 시노몰구스 MET ECD에 대한 결합에 대해 시험한 다음, 3 M MgCl₂ 재생 완충제 (Biacore, Denmark)로 표면을 재생시켰다. 기록된 결합 반응은 이중 참조를 사용하여 온-레이트(on-rate)(kon 또는 ka), 오프-레이트(off-rate)(koff 또는 kd) 및 친화성 (KD) 상수를 계산하기 위한 단순 Langmuir 1:1 결합 모델에 풋팅되었다.

[0506] 결과

[0507] Octet 바이오센서를 이용한 동력학 측정은 3개의 역 돌연변이를 갖는 9006의 인간화 변이체 (Hu9006) 및 역 돌연변이를 갖지 않는 9338의 인간화 변이체 (Hu9338)가 키메라 부모 항체에 비해 인간 MET 항원에 대한 친화성을 약간 개선시켰음을 보여주었다 (표 9).

표 9. Bio-Layer 간섭계 (BLI)에 의해 측정된 인간 MET ECD에 대한 키메라 및 인간화 MET 항체의 결합 동력학.

항체	MET ECD	kon (M-1 s-1)	kon 오차	koff (s-1)	koff 오차	KD (M)
9006	인간	5.4E+04	± 4.4E+02	1.2E-04	± 2.2E-06	2.2E-09
hu9006	인간	6.2E+04	± 6.8E+02	7.6E-05	± 3.1E-06	1.2E-09
9338	인간	1.9E+05	± 2.7E+03	1.1E-04	± 4.0E-06	6.0E-10
hu9338	인간	1.0E+05	± 2.0E+03	2.7E-05	± 3.6E-06	2.6E-10

[0509]

[0510] Bio-Rad XPR36 SPR 기계를 이용한 동력학 측정은 Hu9006 및 Hu9338이 pM 범위의 친화성으로 인간 및 시노몰구스 MET ECD 둘 모두를 인지함을 보여주었다 (표 10).

표 10. 표면 플라즈몬 공명 (SPR)에 의해 측정된 인간 또는 시노몰구스 MET ECD에 대한 인간화 MET 항체의 결합 동력학.

항체	MET ECD	kon (M-1 s-1)	kon 오차	koff (s-1)	koff 오차	KD (M)
hu9006	인간	1.9E+05	± 1.2E+03	1.1E-05	± 2.3E-07	5.5E-11
hu9006	시노몰구스	1.8E+05	± 1.5E+03	1.6E-05	± 2.9E-07	8.6E-11
hu9338	인간	4.7E+05	± 1.9E+02	6.3E-06	± 3.7E-07	1.4E-11
hu9338	시노몰구스	7.4E+05	± 2.2E+03	5.4E-05	± 3.6E-07	7.4E-11

[0512]

[0513] 실시예 9: 항-MET 항체에 의한 MET의 분해

[0514] 본 실시예는 항-MET 항체 9006 및 9338이 단독으로 및 조합하여 MET의 분해를 유도함을 나타낸다. 두 항체의 조합은 단독의 항체에 비해 MET 수용체의 보다 효율적인 분해를 유도한다.

[0515] 방법

[0516] 개별 항-MET 항체 9006 및 9338, 9006 및 9338의 혼합물, 및 C8-H241 유사체 (표 4를 참조하라)에 의해 유도된 MET 수용체 분해 수준을 조사하기 위해, 24 또는 48시간 동안 항체로 처리된 SNU5, EBC1 및 MKN45 세포의 전체 세포 용해물에 대해 웨스턴 블롯 또는 단순 웨스턴 분석을 수행하였다. 간단히 말해, 세포를 T-75 배양 플라스크에서 성장시키고, 50% 컨플루언트일 때, 배양 배지를 제거하고, 세포를 세척하고, 20 µg/ml의 총 항체 농도의 C8-H241, 9006, 9338, 9338+9006, 또는 음성 대조 항체 (비포유동물 표적에 대한 인간 IgG1)로 24 또는 48시간 동안 가습 인큐베이터에서 37°C로 처리하였다. 전체 세포 용해물은 표준 RIPA 완충제를 이용하여 제조되었다. 총 단백질 농도는 BCA 검정을 이용하여 결정되었고 1-10 µg의 단백질을 Sally 기계 (ProteinSimple) 상에서 단순 웨스턴 자동화 면역검정에 의해 또는 MET에 대한 일차 검출 항체를 이용한 웨스턴 블롯 분석에 의해 분석하였다. β-액틴에 대한 항체를 웨스턴 블롯 분석에 대한 로딩 대조군으로서 이용하였다.

[0517] 결과

[0518] 웨스턴 블로트 조사로부터의 결과 (도 3)는 개별 항체 (특히 9006)로의 처리가 시험된 모든 세포주에서 MET의 일부 분해를 유도함을 보여준다. 그러나, 항-MET 항체 혼합물 9338+9006은 시험된 모든 세포주에 걸쳐 개별 항체 (9006 또는 9338)에 비해 향상된 MET 수용체 분해를 유도한다. 24시간 후 또는 9006+9338 또는 C8-H241에 의한 처리 후 세포의 MET 수용체 수준을 3개의 세포주 SNU5, EBC 및 MKN45에서 단순 웨스턴 분석에 의해 비교하였다. 도 4에 도시된 결과는 3개 모두의 세포주에서 9006+9338에 의한 처리 후 향상된 MET 분해를 나타낸다.

실시예 10: 항-MET 항체에 의한 MET 인산화 및 다운스트림 신호전달의 억제

[0519] 본 실시예는 항-MET 항체 9006 및 9338이 MET 인산화 및 다운스트림 신호전달에 대해 차별적인 및 세포주-의존성 효과를 지님을 나타낸다 (pERK2 및 pAKT의 수준에 의해 결정됨). 항-MET 항체 혼합물 9006+9338은 MET 인산화 및 다운스트림 신호전달의 효율적인 억제를 유도한다.

[0521] 방법

[0522] 항-MET 항체 9006 및 9338 및 항-MET 항체 혼합물 9006+9338에 의해 유도된 MET 인산화 및 다운스트림 신호전달의 억제 수준을 조사하기 위해, 24시간 동안 항체로 처리된 MKN45 및 EBC-1 세포의 전체 세포 용해물에 대해 단순 웨스턴 분석을 수행하였다. 세포를 6-웰 플레이트에서 성장시켰다. 50% 컨플루언트일 때, 배양 배지를 제거하고, 세포를 1xPBS로 세척하고, 20 μ g/ml의 총 항체 농도 (9006, 9338, 9006+9338, 또는 음성 대조군 항체 (Synagis®))로 24시간 동안 가습 인큐베이터에서 37°C로 처리하였다. 전체 세포 용해물을 표준 RIPA 완충제를 이용하여 제조하였다. 총 단백질 농도를 BCA 검정을 이용하여 결정하였고, 약 1 mg/ml의 단백질을 Sally 기계 (자동화 크기-기반 면역검정 시스템, ProteinSimple)를 이용하고 인산화된 MET (Tyr1234/1235 및 Tyr1349), 인산화된 ERK2 (pERK2), 및 인산화된 AKT (pAKT)에 대한 일차 항체를 이용함에 의해 단순 웨스턴 블로트에 의해 분석하였다. β -액틴에 대한 항체를 로딩 대조군으로서 이용하였다 (데이터는 제시되지 않음).

[0523] 결과

[0524] MET (도 5) 및 ERK2 및 AKT (도 6)의 인산화 수준의 단순 웨스턴 분석으로부터의 결과는 9006 또는 9338 단독으로의 처리가 시험된 세포주에서 인산화에 대한 차별적인 및 세포주-의존성 효과를 유도함을 보여준다. 그러나, 항-MET 항체 혼합물 9006+9338은 MKN45 및 EBC-1 세포 둘 모두에서 모노클로날 항-MET 항체 9006 또는 9338에 의한 처리에 비해 MET 인산화 및 다운스트림 신호전달의 효율적인 억제를 유도한다.

실시예 11: 일차 내피 세포에서 키메라 항-MET 항체의 항-증식 효과

[0526] 인간 제정맥 내피 세포 (HUVEC)는 민감한 혈관 모델에서 생물학적 효과를 평가하기 적합한 일차 내피 세포이다. 항-MET 항체 9006 및 9338 및 항체 혼합물 9006+9338은 MET 리간드 HGF의 부재 및 존재 둘 모두에서, HUVEC의 성장을 억제할 수 있는 것으로 나타났다.

[0527] 재료 및 방법

[0528] 피부 섬유모세포를 해동시키고, 96-웰 플레이트의 시딩 배지에 시팅하였다. 실온에서 섬유모세포의 침강 후, GFP 표지된-HUVEC의 바이알을 해동시켰다. 시딩 배지에 재현탁된 HUVEC를 섬유모세포 현탁액의 상부에 첨가하고, Incucyte 기계 (Essen Bioscience)에서 37°C 및 5% CO₂로 밤새 인큐베이션시켰다. 밤새 인큐베이션 후에, 공-배양된 세포로부터 배지를 제거하고, 추가 24시간 동안 성장 배지로 대체하였다. 다음 날, 검정 배지를 제조하고, 상이한 리간드/항체 혼합물을 조합하여 검정 배지로 혼합시켰다. 성장 배지를 제거하고, 항체/리간드의 상이한 조합물을 함유하는 검정 배지로 대체하였다. 배지를 항체/리간드 혼합물을 함유하는 신선한 검정 배지로 2 내지 3일마다 교환하였다. GFP-HUVEC의 사진을 4시간마다 기록하였다. 세포 수, 세포 네트워크 길이, 및 네트워크 분기점 수를 포함하는 여러 세포 파라미터를 Incucyte 소프트웨어를 이용하여 분석하였다.

[0529] 결과

[0530] 도 7-11은 임의의 억제 효과를 나타내지 않는 비관련 항체 대조군과 대조적으로, 일차 내피 세포 증식을 특이적으로 억제하는 항체 9006 및 9338 항체의 효능을 나타낸다. 항체 혼합물 9006+9338은 특히 HGF가 배지에 존재할 때 HUVEC 증식의 양호한 억제를 나타낸다.

실시예 12: 키메라 및 인간화 항-MET 항체의 시험관내 비교

[0532] 본 실시예는 키메라 9006, 키메라 9338 및 키메라 9338+9006과 인간화 변이체, 즉, 인간화된 9006 (Hu9006), 인간화된 9338 (Hu9338) 및 인간화된 9338+9006 (Hu9338+Hu9006)의 시험관내 비교를 설명한다. 모노클로날 항

체 및 혼합물을 여러 암 세포주: Okajima, EBC1, MKN45, HCC827R1_cet#3, HCC827R1_cet#1 및 KatoII의 성장을 억제하는 이들의 능력에 대해 평가하였다.

[0533] 방법

[0534] 9006, 9338, 9338+9006 (두 구성요소의 1:1 혼합물), Hu9006, Hu9338 및 Hu9338+Hu9006 (두 구성요소의 1:1 혼합물)을 음성 대조군 항체(Synagis®)와 함께 2% FBS 및 1% P/S가 보충된 RPMI 1640 Glutamax 배지에서 100 μ g/ml의 최종 총 항체 농도로 희석시켜, 가장 높은 항체 농도를 함유하는 웰에서 25 μ g/ml의 최종 농도를 제공하였다. 그 후 항체의 2배 연속 희석을 수행하여, 17개 이하의 상이한 농도를 제공하였다. 적절한 수의 세포(Okajima: 1000개 세포/웰, EBC1: 750개 세포/웰, MKN45: 500개 세포/웰, HCC827R1_cet#3: 500개 세포/웰, HCC827R1_cet#1: 500개 세포/웰; KatoII: 750개 세포/웰)를 384 웰 플레이트의 실험용 웰에 첨가하고, 항체와 4일 동안 가습 인큐베이터에서 37°C로 인큐베이션시켰다. 후속하여 WST-1 시약을 플레이트에 첨가하고, 1시간 동안 37°C에서 인큐베이션시켰다. 450 nm 및 620 nm (참조 파장)에서 ELISA 리더를 이용하여 흡광도를 측정하였다. 620 nM에서의 흡광도를 450 nM에서의 흡광도에서 빼고, 대사적으로 활성인 세포 (MAC)의 양을 실시 예 2에 기재된 대로 미처리된 대조군의 백분율로서 계산하였다.

[0535] 결과

[0536] 도 12 및 13은 세포주 HCC827R1_cet#3 (12A), HCC827R1_cet#1 (12B), MKN45 (12C), EBC-1 (13A), KatoII (13B), 및 Okajima (13C)에 대한 키메라 및 인간화된 9006 및 9338 항체 및 키메라 및 인간화된 9006+9338 항체 혼합물의 적정으로부터 비롯된 생육성 결과를 도시한다. Hu9006, Hu9338, 및 Hu9338+Hu9006이 이들의 키메라 대응부와 유사한 항-증식 효과를 갖는다는 것이 그래프로부터 명백하다.

[0537] 실시예 13: 인간화된 9338+9006 및 13-MET+28-MET의 시험관내 비교

[0538] 본 실시예는 인간화된 9338+9006 (Hu9338+Hu9006), 13-MET, 28-MET 및 13-MET+28-MET의 시험관내 시험을 설명한다 (표 4를 참조하라). 모노클로날 항체 및 혼합물을 4개의 암 세포주: EBC1, MKN45, SNU5 및 KatoII의 성장을 억제하는 이들의 능력에 대해 평가하였다.

[0539] 방법

[0540] 항체 Hu9338+Hu9006 (두 구성요소의 1:1 혼합물), 13-MET, 28-MET 및 13-MET+28-MET (두 구성요소의 1:1 혼합물)를 음성 대조군 항체(Synagis®)와 함께 상기 기재된 대로 EBC1 (500개 세포/웰), MKN45 (750개 세포/웰), SNU5 (750개 세포/웰) 및 KatoII (750개 세포/웰)에서의 항-대사 효과에 대해 시험하였다.

[0541] 결과

[0542] 세포주 EBC1, MKN45, SNU5 및 KatoII에 대한 Hu9338+Hu9006, 13-MET, 28-MET 및 13-MET+28-MET 항체의 적정에서 비롯된 생육성 결과는 도 14에 도시된다. 항-MET 항체는 시험된 세포주에 따라 상이한 수준의 효능 및 역가를 지님이 분명하다. 그러나, Hu9338 및 Hu9006의 조합물은 시험된 모든 세포주에 걸쳐 13-MET, 28-MET 및 13-MET+28-MET에 비해 대사 활성의 탁월한 억제를 나타낸다.

[0543] 실시예 14: 인간 EBC-1 종양 이종이식 모델에서 키메라 9006+9338 항체 혼합물의 생체내 효능

[0544] 본 실시예는 인간 MET-종족된 비-소세포 폐암 세포주 EBC-1의 이종이식편에서 9006+9338 항체 혼합물의 생체내 효능을 나타낸다.

[0545] 방법

[0546] 5×10^6 개 EBC-1 세포를 8-9주령 암컷 무흉선 누드 마우스의 옆구리에 피하 접종하였다. 종양을 2차원으로 캘리퍼에 의해 매주 3회 측정하였고 종양 부피를 mm^3 로 다음 식에 따라 계산하였다: (너비)² x 길이 x 0.5. 120 mm^3 의 평균 종양 크기에서, 마우스를 무작위화하고 치료를 개시하였다. 마우스를 비히를 완충제 (10 mM 소듐 시트레이트, 150 mM 소듐 클로라이드, pH 6.0), 모노클로날 항체 9006, 모노클로날 항체 9338, 또는 모노클로날 항체 9006+9338의 1:1 혼합물의 복강내 주입에 의해 총 10회 치료를 위해 매주 3회 치료한 다음, 관찰 기간을 가졌다. 모든 항체 치료제는 50 mg/kg의 총 항체 농도로 투여되었다. 따라서, 9006- 및 9338-치료된 동물에 각각 50 mg/kg의 9006 또는 9338이 투여된 반면, 9006+9338로 치료된 동물에는 25 mg/kg의 각 항체를 함유하는 혼합물이 투여되었다.

[0547] 결과

[0548] 접종 후 10일째에, 120 mm³의 평균 종양 크기에서, 마우스를 8마리 동물의 4개 그룹으로 무작위화하고 치료를 개시하였다. 도 15에 도시된 대로, 모노클로날 항체 9338에 의한 치료는 비히를 대조군에 비해 동물에서의 종양 성장에 영향을 미치지 않았다. 반대로, 9006에 의한 치료는 종양 성장을 지연시킨 반면, 9006+9338에 의한 치료는 치료 동안 성장 안정화를 유도하였고, 이러한 모델에서의 모든 다른 치료제보다 양호하였다. 비히를 또는 9006 또는 9338 단독으로 치료된 그룹의 연구는 종양 증식 또는 종양 관련 궤양형성으로 인해 치료 중에 폐쇄되었지만, 9006+9338 그룹의 동물은 치료 및 치료가 끝난 후 2 내지 3주 동안의 관찰을 완료하였다.

[0549] 실시예 15: 인간 EBC-1 종양 이종이식 모델에서 증가 용량의 키메라 9006+9338 항체 혼합물의 생체내 효능

[0550] 본 실시예는 인간 MET-증폭된 비-소세포 폐암 세포주 EBC-1의 이종이식편에서 증가 용량의 9006+9338 항체 혼합물의 생체내 효능을 나타낸다.

[0551] 방법

[0552] 5 x 10⁶ 개 EBC-1 세포를 8-9주령 암컷 무흉선 누드 마우스의 옆구리에 피하 접종하였다. 종양을 2차원으로 캘리퍼에 의해 매주 3회 측정하였고 종양 부피를 mm³로 다음 식에 따라 계산하였다: (너비)² x 길이 x 0.5. 150 mm³의 평균 종양 크기에서, 마우스를 무작위화하고 치료를 개시하였다. 마우스를 비히를 완충제 (10 mM 소듐 시트레이트, 150 mM 소듐 클로라이드, pH 6.0) 또는 모노클로날 항체 9006+9338의 1:1 혼합물의 복강내 주입에 의해 총 10회 치료를 위해 매주 3회 치료한 다음, 관찰 기간을 가졌다. 9006+9338의 1:1 혼합물을 주입 용량 당 50, 25, 5 또는 1 mg/kg의 총 항체 농도로 투여하였다.

[0553] 결과

[0554] 접종 후 11일째에, 120 mm³의 평균 종양 크기에서, 마우스를 10마리 동물의 5개 그룹으로 무작위화하고 치료를 개시하였다. 도 16에 도시된 대로, 종양 성장은 비히를 대조군 처리된 동물에 비해 가장 낮은 농도의 9006+9338 (1 mg/kg)로 치료된 동물에서 아무런 영향도 받지 않았다. 5 mg/kg의 9006+9338에 의한 치료는 늦은 시점에 종양 성장을 지연시킨 반면, 25 또는 50 mg/kg의 9006+9338에 의한 치료는 성장 안정화와 함께 유사한 수준의 강력한 종양 억제를 유도하였다.

[0555] 실시예 16: 인간 MKN-45 종양 이종이식 모델에서 키메라 9006+9338 항체 혼합물의 생체내 효능

[0556] 본 실시예는 인간 MET-증폭된 위암 세포주 MKN-45의 이종이식편에서 9006+9338 항체 혼합물의 생체내 효능을 나타낸다.

[0557] 방법

[0558] 5 x 10⁶ 개 MKN-45 세포를 8-9주령 암컷 무흉선 누드 마우스의 옆구리에 피하 접종하였다. 종양을 2차원으로 캘리퍼에 의해 매주 3회 측정하였고 종양 부피를 mm³로 다음 식에 따라 계산하였다: (너비)² x 길이 x 0.5. 80 mm³의 평균 종양 크기에서, 마우스를 무작위화하고 치료를 개시하였다. 마우스를 비히를 완충제 (10 mM 소듐 시트레이트, 150 mM 소듐 클로라이드, pH 6.0), 모노클로날 항체 9006, 모노클로날 항체 9338, 또는 모노클로날 항체 9006+9338의 1:1 혼합물의 복강내 주입에 의해 총 10회 치료를 위해 매주 3회 치료한 다음, 관찰 기간을 가졌다. 모든 항체 치료제는 50 mg/kg의 총 항체 농도로 투여되었다. 따라서, 9006- 및 9338-치료된 동물에 각각 50 mg/kg의 9006 또는 9338이 투여된 반면, 9006+9338로 치료된 동물에는 25 mg/kg의 각 항체를 함유하는 혼합물이 투여되었다.

[0559] 결과

[0560] 접종 후 10일째에, 80 mm³의 평균 종양 크기에서, 마우스를 8마리 동물의 4개 그룹으로 무작위화하고 치료를 개시하였다. 도 17에 도시된 대로, 종양 성장은 비히를 대조군 처리된 동물에 비해 모노클로날 항체 9006 또는 9338 단독으로 치료된 동물에서 다소 억제되었다. 반대로, 9006+9338에 의한 치료는 치료 동안 성장 안정화를 유도하였고, 이러한 모델에서의 모든 다른 치료제에 비해 양호하였다. 비히를 또는 9006 단독으로 치료된 그룹의 연구는 종양 증식 또는 종양 관련 궤양형성으로 인해 치료 중에 폐쇄되었지만, 9338 및 9006+9338 그룹의 동물은 치료를 완료하였다. 9006+9338 그룹을 치료가 끝난 후 2주 동안 관찰하였고, 성장 안정화는 이 기간의 대

부분 동안 유지되었다.

[0561] 실시예 17: 인간 SNU5 종양 이종이식 모델에서 키메라 9006+9338 항체 혼합물의 생체내 효능

본 실시예는 인간 MET-증폭된 위암 세포주 SNU5의 이종이식편에서 9006+9338 항체 혼합물의 생체내 효능을 나타낸다.

[0563] 방법

1 x 10⁷개 SNU5 세포를 8-9주령 암컷 무흉선 누드 마우스의 옆구리에 피하 접종하였다. 종양을 2차원으로 캘리퍼에 의해 매주 3회 측정하였고 종양 부피를 mm³로 다음 식에 따라 계산하였다: (너비)² x 길이 x 0.5. 165 mm³의 평균 종양 크기에서, 마우스를 무작위화하고 치료를 개시하였다. 마우스를 비히를 완충제 (10 mM 소듐 시트레이트, 150 mM 소듐 클로라이드, pH 6.0), 모노클로날 항체 9006, 모노클로날 항체 9338, 또는 모노클로날 항체 9006+9338의 1:1 혼합물의 복강내 주입에 의해 총 10회 치료를 위해 매주 3회 치료한 다음, 관찰 기간을 가졌다. 모든 항체 치료제는 50 mg/kg의 총 항체 농도로 투여되었다. 따라서, 9006- 및 9338-치료된 동물에 각각 50 mg/kg의 9006 또는 9338이 투여된 반면, 9006+9338로 치료된 동물에는 25 mg/kg의 각 항체를 함유하는 혼합물이 투여되었다.

[0565] 결과

접종 후 15일째에, 165 mm³의 평균 종양 크기에서, 마우스를 8마리 동물의 4개 그룹으로 무작위화하고 치료를 개시하였다. 도 18에 도시된 대로, 종양 퇴행은 비히를 대조군 처리된 동물에 비해 모노클로날 항체 9006 또는 9338 또는 9006+9338 항체 혼합물로 치료된 동물에서 관찰되었다. 9006 또는 9006+9338에 의한 치료는 9338에 의한 치료보다 양호하였고, 종양 퇴행은 9006- 및 9006+9338-치료된 그룹에서 치료가 끝난 후 50일 넘게 유지되었다.

[0567] 실시예 18: 인간 간세포 암종 환자-유래된 이종이식 모델에서 키메라 9006+9338 항체 혼합물의 생체내 효능

본 실시예는 인간 간세포 암종 (HCC)의 환자-유래된 이종이식 모델 (LI1037)에서 9006+9338 항체 혼합물의 생체내 효능을 나타낸다.

[0569] 방법

모델 LI1037에 대한 종양 공급원을 간암 환자 종양으로부터 유래시킨 다음 누드 마우스에 피하 유지시켰다. 종양을 3 mm³ 분절로 갈고, 한 분절을 각 마우스의 한 앞쪽 옆구리에 피하 이식하였다. 종양이 220 mm³의 평균 부피에 도달했을 때 동물을 치료 그룹으로 무작위화하였다. 마우스를 비히를 완충제 (10 mM 소듐 시트레이트, 150 mM 소듐 클로라이드, pH 6.0) 또는 모노클로날 항체 9006+9338의 1:1 혼합물의 복강내 주입에 의해 총 10회 치료를 위해 매주 3회 치료한 다음, 관찰 기간을 가졌다. 모든 항체 치료제는 50 mg/kg의 총 항체 농도로 투여되었다. 이에 따라, 9006+9338로 치료된 동물에 25 mg/kg의 각 항체를 함유하는 혼합물이 투여되었다.

[0571] 결과

접종 후 21일째에, 220 mm³의 평균 종양 크기에서, 마우스를 4마리 동물의 2개 그룹으로 무작위화하고 치료를 개시하였다. 도 19에 도시된 대로, 종양 성장 억제는 비히를 대조군 처리된 동물에 비해 9006+9338 항체 혼합물로 치료된 동물에서 관찰되었다.

[0573] 실시예 19: 인간 EBC-1 종양 이종이식 모델에서 키메라 및 인간화 항체 혼합물의 생체내 비교

본 실시예에서, 키메라 9006+9338 및 인간화 Hu9006+Hu9338 항체 혼합물의 생체내 효능을 인간 MET 증폭된 비-소세포 폐암 세포주 EBC-1의 이종이식편에서 비교하였다.

[0575] 방법

5 x 10⁶개 EBC-1 세포를 8-9주령 암컷 무흉선 누드 마우스의 옆구리에 피하 접종하였다. 종양을 2차원으로 캘리퍼에 의해 매주 3회 측정하였고 종양 부피를 mm³로 다음 식에 따라 계산하였다: (너비)² x 길이 x 0.5. 평균 종양 크기가 약 130 mm³인 세포 접종 후 20일째에, 마우스를 10마리 동물의 3개 그룹으로 무작위화하고 치료를 개시하였다. 마우스를 비히를 완충제, 키메라 9006+9338의 1:1 혼합물 또는 인간화된 9006+9338 (Hu9006+Hu933

8)의 총 10회 복강내 주입으로 매주 3회 치료한 다음, 관찰 기간을 가졌다. 모든 항체 치료제는 50 mg/kg의 총 항체 농도로 투여되었다. 이에 따라, 9006+9338 및 Hu9006+Hu9338로 치료된 동물에 25 mg/kg의 각 항체를 함유하는 혼합물이 투여되었다.

[0577] 결과

도 20에 도시된 대로, 종양 퇴행은 비히를 대조군 처리된 동물에 비해 둘 모두의 9006+9338 및 Hu9006+Hu9338로 치료된 동물에서 관찰되었다. Hu9006+Hu9338 및 9006+9338의 종양 억제 효과는 매우 유사하게 보였다.

[0579] 실시예 20: 인간 OE33 종양 이종이식 모델에서 키메라 및 인간화 항체 혼합물의 생체내 비교

본 실시예에서, 키메라 9006+9338 및 인간화 Hu9006+Hu9338 항체 혼합물의 생체내 효능을 인간 MET 증폭된 식도 위암 세포주 OE33의 이종이식편에서 비교하였다.

[0581] 방법

OE33 종양을 이전에 확립된 종양으로부터 연속적으로 이식하였다. 종양은 연구 당시에 8회 계대되었다. 약 1 mm³로 측정된 종양 분절을 8-9주령 암컷 무흉선 누드 마우스의 옆구리에 피하 접종하였다. 종양을 2차원으로 캘리퍼에 의해 매주 3회 측정하였고 종양 부피를 mm³로 다음 식에 따라 계산하였다: (너비)² x 길이 x 0.5. 평균 종양 크기가 200 mm³인 세포 접종 후 30일째에, 마우스를 7마리 동물의 3개 그룹으로 무작위화하고 치료를 개시하였다. 마우스를 비히를 완충제, 키메라 9006+9338의 1:1 혼합물 또는 인간화된 9006+9338 (Hu9006+Hu9338)의 복강내 주입에 의한 총 10회의 치료로 매주 3회 치료한 다음, 관찰 기간을 가졌다. 모든 항체 치료제는 30 mg/kg의 총 항체 농도로 투여되었다. 이에 따라, 9006+9338 및 Hu9006+Hu9338로 치료된 동물에 15 mg/kg의 각 항체를 함유하는 혼합물이 투여되었다.

[0583] 결과

도 21에 도시된 대로, 종양 퇴행은 비히를 대조군 처리된 동물에 비해 둘 모두의 9006+9338 및 Hu9006+Hu9338로 치료된 동물에서 관찰되었고 성장 곡선은 매우 유사하다.

[0585] 실시예 21: 인간 종양 이종이식 모델에서 모노클로날 항체 C8-H241 및 Hu9006+Hu9338 항체 혼합물의 생체내 비교

본 실시예에서, Hu9006+Hu9338 항체 혼합물 및 비교기 모노클로날 항체 C8-H241 (표 4를 참조하라)의 생체내 효능을 인간 MET 증폭된 비-소세포 폐암 세포주 EBC-1 및 MET 액손 14개 결실을 또한 포함하는 인간 MET 증폭된 위암 세포주 Hs746T의 이종이식편에서 비교하였다.

[0587] 방법

5x10⁶개 EBC-1 세포 또는 3.7x10⁶개 Hs746T 세포를 암컷 무흉선 마우스의 옆구리에 피하 접종하였다. 종양을 2 차원으로 캘리퍼에 의해 매주 3회 측정하였고 종양 부피를 mm³로 다음 식에 따라 계산하였다: (너비)² x 길이 x 0.5. EBC-1의 경우 140 mm³ 및 Hs746T의 경우 120 mm³의 평균 종양 크기에서, 마우스를 무작위화하고 치료를 개시하였다.

EBC-1에 대한 치료 스케줄: 마우스를 비히를 완충제, 모노클로날 항체 C8-H241, 또는 모노클로날 항체 Hu9006+Hu9338의 1:1 혼합물의 총 10회 복강내 주입으로 매주 3회 치료한 다음, 관찰 기간을 가졌다. 21일의 관찰 후, C8-H241 그룹의 나머지 마우스를 종양 세포 접종 후 139일에 연구 종료시까지 Hu9006+Hu9338로 매주 3회 재치료하였다.

Hs746T에 대한 치료 스케줄: 마우스를 비히를 완충제, 모노클로날 항체 C8-H241, 모노클로날 항체 Hu9006, 모노클로날 항체 Hu9338 또는 Hu9006+Hu9338의 1:1 혼합물의 총 10회 복강내 주입으로 매주 3회 치료하였다. 1주일의 관찰 기간 후, Hu9006, Hu9338 및 C8-H241 그룹의 모든 나머지 마우스를 단일 용량의 Hu9006+Hu9338로 치료하고 9일 동안 관찰하였다.

모든 항체 치료제는 50 mg/kg의 총 항체 농도로 투여되었다. 이에 따라, C8-H241, Hu9006 및 Hu9338로 치료된 동물에 50 mg/kg의 항체가 투여된 반면, Hu9006+Hu9338로 치료된 동물에는 25 mg/kg의 각 항체를 함유하는 혼합물이 투여되었다.

[0592]

결과

[0593]

EBC-1: 접종 후 15일째에, 140 mm³의 평균 종양 크기에서, 마우스를 10마리 동물의 3개 그룹으로 무작위화하고 치료를 개시하였다. 도 22에 도시된 대로, C8-H241로 치료된 마우스에서 비히를 대조군 처리된 동물에 비해 제한된 반응이 관찰되었다. 반대로, Hu9006+Hu9338에 의한 치료는 종양 퇴행을 유도하였다. 마지막 투여 21일 후에, 500 mm³의 평균 종양 부피에서, C8-H241 치료된 그룹의 나머지 마우스를 Hu9006+Hu9338로 재치료하였다. 도 22는 또한 마우스가 이차 치료시 종양 퇴행으로 반응하였음을 보여준다.

[0594]

Hs746T: 접종 후 35일째에, 120 mm³의 평균 종양 크기에서, 마우스를 8마리 동물의 5개 그룹으로 무작위화하고 치료를 개시하였다. 도 23에 도시된 대로, C8-H241, Hu9006 또는 Hu9338로 치료된 마우스에서 비히를 대조군 처리된 동물에 비해 제한된 초기 억제 반응이 관찰되었으나, 치료 기간의 거의 절반부터 종양이 다시 성장하기 시작했다. 반대로, Hu9006+Hu9338에 의한 치료는 치료된 8마리 모두의 마우스에서 종양 퇴행 및 완전한 종양 근절을 유도하였다. 마지막 투여 9일 후에, C8-H241, Hu9006 및 Hu9338 치료된 그룹의 나머지 마우스를 단일 용량의 Hu9006+Hu9338로 재치료하였다. 도 23은 또한 마우스가 이차 치료시 종양 퇴행으로 반응하였음을 보여준다.

[0595]

실시예 22: 4명의 인간 환자 유래된 이종이식 모델에서 모노클로날 항체 C8-H241 및 Hu9006+Hu9338 항체 혼합물의 생체내 비교

[0596]

본 실시예에서, Hu9006+Hu9338 항체 혼합물 및 비교기 모노클로날 항체 C8-H241 (표 4를 참조하라)의 생체내 효능을 4명의 인간 MET 증폭된 비-소세포 폐암 (NSCLC) 환자 유래된 이종이식 모델에서 비교하였다.

[0597]

방법

[0598]

종양 발생을 위해 각 마우스의 옆구리에 모델 LXFA0526, LU0858, LU1901 또는 LU2503으로부터의 일차 NSCLC 조직 분절 (직경 2-3 mm)을 피하 접종하였다. 종양을 2차원으로 캘리퍼에 의해 매주 2회 측정하였고 종양 부피를 mm³로 다음 식에 따라 계산하였다: (너비)² x 길이 x 0.5.

[0599]

평균 종양 크기가 100-200 mm³에 도달했을 때, 마우스를 3개 그룹으로 무작위 할당하고 (그룹 당 n=5 내지 8마리 마우스) 치료를 개시하였다. 마우스를 C8-H241 모노클로날 항체, Hu9006+Hu9338 항체 혼합물 (동등한 비율로 혼합된 단일 모노클로날 항체) 또는 비히를 완충제 대조군으로의 총 10회 복강내 주입을 위해 매주 3회 치료한 다음, 최대 3주의 관찰 기간을 가졌다.

[0600]

모든 항체 치료제는 50 mg/kg의 총 항체 농도로 투여되었다. 이에 따라, C8-H241로 치료된 동물에 50 mg/kg의 항체가 투여된 반면, Hu9006+Hu9338로 치료된 동물에는 25 mg/kg의 각 항체를 함유하는 혼합물이 투여되었다.

[0601]

결과

[0602]

도 24에 도시된 대로, 다양한 반응이 C8-H241 치료시 4개의 모델에서 관찰되었다. 반대로, Hu9006+Hu9338에 의한 치료는 C8-H241에 비해 양호한 효능 및/또는 지연된 진행 시간과 함께 4개 모두의 모델에서 종양 퇴행을 유도하였다. C8-H241은 상이한 MET 증폭된 일차 MET 증폭된 이종이식 NSCLC 모델 (LXFA-1647)에서 매우 효과적이라고 이전에 보고되었다 (Liu et al. Clin Cancer Res. 20:6059-6070 (2014)).

[0603]

실시예 23: 인간 종양 이종이식 모델에서 Hu9006+Hu9338 항체 혼합물의 균형을 이룬 및 편중된 비율 조성물의 생체내 비교

[0604]

본 실시예에서, 상이한 비율의 2개 항체 Hu9006 및 Hu9338로 구성된 혼합물의 생체내 효능을 인간 MET 증폭된 비-소세포 폐암 세포주 EBC-1의 이종이식편에서 비교하였다.

[0605]

방법

[0606]

5x10⁶개 EBC-1 세포를 8-9주령 암컷 무흉선 누드 마우스의 옆구리에 피하 접종하였다. 종양을 2차원으로 캘리퍼에 의해 매주 3회 측정하였고 종양 부피를 mm³로 다음 식에 따라 계산하였다: (너비)² x 길이 x 0.5. 평균 종양 크기가 150 mm³인 세포 접종 후 13일째에, 마우스를 10마리 동물의 3개 그룹으로 무작위화하고 치료를 개시하였다. 마우스를 비히를 완충제, 모노클로날 항체 Hu9006+Hu9338의 1:1, 2:1 또는 1:2 편중된 항체 비율 혼합물의 총 10회의 복강내 주입으로 매주 3회 치료한 다음, 관찰 기간을 가졌다. 모든 항체 치료제는 50 mg/kg 또는, 편중된 항체 비율 혼합물의 경우, 10mg/kg의 총 항체 농도로 다음과 같이 투여되었다: 1:1 비율로 투여된 동물에

는 25 mg/kg의 각 항체를 함유하는 혼합물이 투여되었다. 1:2 비율로 투여된 동물에는 3 mg/kg의 Hu9006 및 7 mg/kg의 Hu9338을 함유하는 10 mg/kg의 총 투여량의 혼합물 또는 17 mg/kg의 Hu9006 및 33 mg/kg의 Hu9338을 함유하는 50 mg/kg의 총 투여량의 혼합물이 투여되었다. 유사하게, 2:1 비율로 투여된 동물에는 7 mg/kg의 Hu9006 및 3 mg/kg의 Hu9338을 함유하는 10 mg/kg의 총 투여량의 혼합물 또는 33 mg/kg의 Hu9006 및 17 mg/kg의 Hu9338을 함유하는 50 mg/kg의 총 투여량의 혼합물이 투여되었다.

[0607] 결과

[0608] 도 25에 도시된 대로, 균형을 이룬 및 편중된 비율 둘 모두에서 그리고 둘 모두의 용량으로 Hu9006+Hu9338에 의한 치료는 종양 퇴행을 유도하였다. 종양 퇴행 수준은 모든 시험된 항체 치료제에서 유사하게 나타났는데, 이는 Hu9006+Hu9338이 균형을 이룬 및 편중된 단일 항체 조성물 둘 모두에서 견고하고 일관된 종양 성장 억제를 제공함을 나타낸다.

표 11: SEQ ID NO 쳐트

SEQ ID NO	서열
1	인간 MET 아이소형 1 아미노산 서열
2	인간 MET 아이소형 2 아미노산 서열
3	닭 MET 아미노산 서열
4	뮤린 MET 아미노산 서열
5	키메라 9006 중쇄 가변 도메인 혼합 서열
6	키메라 9006 중쇄 가변 도메인 아미노산 서열
7	키메라 9006 경쇄 가변 도메인 혼합 서열
8	키메라 9006 경쇄 가변 도메인 아미노산 서열
9	키메라 9338 중쇄 가변 도메인 혼합 서열
10	키메라 9338 중쇄 가변 도메인 아미노산 서열
11	키메라 9338 경쇄 가변 도메인 혼합 서열
12	키메라 9338 경쇄 가변 도메인 아미노산 서열
13	인간화된 9006 중쇄 가변 도메인 혼합 서열
14	인간화된 9006 중쇄 가변 도메인 아미노산 서열
15	인간화된 9006 경쇄 가변 도메인 혼합 서열
16	인간화된 9006 경쇄 가변 도메인 아미노산 서열
17	인간화된 9338 중쇄 가변 도메인 혼합 서열
18	인간화된 9338 중쇄 가변 도메인 아미노산 서열
19	인간화된 9338 경쇄 가변 도메인 혼합 서열
20	인간화된 9338 경쇄 가변 도메인 아미노산 서열
21	9006 중쇄 CDR1 아미노산 서열
22	9006 중쇄 CDR2 아미노산 서열
23	9006 중쇄 CDR3 아미노산 서열
24	9006 경쇄 CDR1 아미노산 서열
25	9006 경쇄 CDR2 아미노산 서열
26	9006 경쇄 CDR3 아미노산 서열
27	9338 중쇄 CDR1 아미노산 서열
28	9338 중쇄 CDR2 아미노산 서열
29	9338 중쇄 CDR3 아미노산 서열
30	9338 경쇄 CDR1 아미노산 서열
31	9338 경쇄 CDR2 아미노산 서열
32	9338 경쇄 CDR3 아미노산 서열
33	인간화된 9006 경쇄 아미노산 서열
34	인간화된 9006 중쇄 아미노산 서열
35	인간화된 9338 경쇄 아미노산 서열
36	인간화된 9338 중쇄 아미노산 서열

[0610]

[0611] 서열 리스트

[0612] SEQ ID NO: 1 (인간 MET 아이소형 1 아미노산 서열):

YPLTDMSPILTSGDSDISSPLLQNTVHIDL SALNPELVQAVQHVVIGPSSLIVHFNEVIGRGHFGCVYHGTLNDGKKIHCAVKS LNRITD IGEVSQFLTE GIIMKDFSHPNVLSSLLGICLRSEGSPLVLPYMKHGDLRNFIRNETHNPTVKDLIGFGLQVAKGMKYLA SKKFVHRDLAARNCM LDEKFTVKVADFGLARDM YDKEYYSVHNKTGAKLPVKWMALESLTQKFTTKSDVWSFGVLLWELMTRGAPPYPDVNTFDITVYLLQGRRLQPEYCPDPLYEVMLKCWHPKAEMRPSFS ELVSRISAIFSTF1GEHYVHV NATYVN VNVKCVAPYPSLLSSEDNADDEV DTRPASFWETS

[0614] SEQ ID NO: 2 (인간 MET 아이소형 2 아미노산 서열):

PEDQFPNQQNGSCRQVQYPLTDMSPILTSGDSDISSPLLQNTVHIDL SALNPELVQAVQHVVIGPSSLIVHFNEVIGRGHFGCVYHGTLNDGKKIHCAV KSLNRITD IGEVSQFLTEGIIMKDFSHPNVLSSLLGICLRSEGSPLVLPYMKHGDLRNFIRNETHNPTVKDLIGFGLQVAKGMKYLA SKKFVHRDLAARNCM

LDEKFTVKVADFGLARDMYDKEYYSVHNKTGAKLPVKWMALESLTQKFTKSDVWSFGVLLWELMTRGAPPYDVTNFDITVYLLQGRRLQPEYCPDPLY
EVMLKCWHPKAEMRPSFSELVSRIASFSTFIGEHYVHNATYVNVCVAPYPSLLSSEDNADDEVTRPASFWETS

[0616] SEQ ID NO: 3 (닭 MET 아미노산 서열):

QYPHSDLSPILSSGDSLASPLQLTNVHIDISALNPDLVKEVQHVVIGADSLMVHFSEVIGRHFGCVSHGTLLNDGRKIHCCKSLNRITDLEEVAFQLK
EGIIMKDFTHPNVLSLLGICLPMNEGSPLVVLPMKHGDLRNFIRNEHTNPTVKDLIGFGLQVAKGMKYLASKKFVHRDLAARNCMLDEKFTVKVADFGLARD
VYDKEYYSVHNKTGAKLPVKWMALESLTQKFTKSDVWSFGVLLWELMTRGAPPYDVTNFDITVYLLQGRRLQPEYCPDPLYEVMLKCWHPKPEMRPAF
SELVSKISTIFSTFIGEHYVHNATYVNVCVAPYPSLLSQDNIDMDVDT

[0618] SEQ ID NO: 4 (뮤린 MET 아미노산 서열):

LTDLSPILTSGDSDISSPLLQNTVHIDLSALNPELVQAVQHVVIGPSSLIVHFNEVIGRHFGCVYHGTLNDGKKIHCCKSLNRITDIEEVSQLTEGI
IMKDFSHPNVLSLLGICLRSSEGSPVVLPMKHGDLRNFIRNEHTNPTVKDLIGFGLQVAKGMKYLASKKFVHRDLAARNCMLDEKFTVKVADFGLARDMYD
KEYYSVHNKTGAKLPVKWMALESLTQKFTKSDVWSFGVLLWELMTRGAPPYDVTNFDITIYLLQGRRLQPEYCPDALYEVMLKCWHPKAEMRPSFSEL
VSRRISSIFSTFIGEHYVHNATYVNVCVAPYPSLLPSQDNIDGEGNT

[0620] SEQ ID NO: 5 (키메라 9006 중쇄 가변 도메인 핵산 서열):

CAGATCCATTGGGGCAGTCTGGACCTGAGCTGAAGAACGCTGGAGAGACAGTCAGATCTCCTGCAAGGCTCTGGTATACCTCACAAACTTACAATG
AACTGGGTGAAGCAGGCTCCAGGAAAGGGTTAAAGTGGATGGCTGGATAAACACCTACACTGGAGAGCCAACATATGTTGATGACTTGAAGGGACGGTT
GCCTCTCTTGAAACCTCTGCCAGCACTGCCTATTGAGATCAACACCTCAAAATGAGGACATGGCTACATATTCTGTGCAAGGAAAGGGATTGCG
AGGGCTATGGACTACTGGGTCAAGGAACCTCAGTCACCGTCTCGAGT

[0622] SEQ ID NO: 6 (키메라 9006 중쇄 가변 도메인 아미노산 서열):

QIHLGQSGPELKPGETVKISCKASGYTFTNFRMNWVKQAPGKGLKWMGWINTYGEPTYVDDLKGRFAFSLETSASTAYLQINNLKNEDMATYFCARKGIA
RAMDYWGQGTSVTVSS

[0624] SEQ ID NO: 7 (키메라 9006 경쇄 가변 도메인 핵산 서열):

AACATTGTGATGACACAGTCTCCATCCTCCCTGAGTGTGTCAGCAGGAGAGATGGTCACTATGAGTTGTAAGTCCAGTCAGAGTCTGTTAGACAGTGGAAAT
CAAAGAAACTACTTGGCTGGTACAGCAGAAACCAGGGCAGCCTCTCAACTTTGATCTCGGGCATCCACTAGGGAATCTGGGTCCCTGATCGCTC
ACAGGCAGTGGATCTGAACCGATTCACTCTTACCGTCAGCAGTGTGCAAGGCTGAAGACCTGGCAGTTATTACTGTCAGAATGATCATAGTTATCCGTAC
ACGTCGGAGGGGGACCAAGCTGGAAATAAAA

[0626] SEQ ID NO: 8 (키메라 9006 경쇄 가변 도메인 아미노산 서열):

NIVMTQSPSSLVSAGEMVTMSCKSSQSLDSGNQNYLAWYQQKPGQPPQLLIFGASTRESGPDRFTGSGSTDFTLTVSSVQAEDLAVYYCQNDHSYPY
TFGGGTKLEIK

[0628] SEQ ID NO: 9 (키메라 9338 중쇄 가변 도메인 핵산 서열):

CAGGTCCAAC TGCAACAGCCTGGGCTGA ACTGGCAAACCTGGGCCTCAGTGAGGATGTCTGCAAGGCTCTGGTACACCTTACTAGTTACTGGATG
CACTGGTAAAACAGAGCCTGGACAGGGCTGGAATGGATTGGATACATTAACCTAGCAGTGGTCATATTGAGAACATCAGAAGTTCAAGGACAAGGCC
ACATTGACTGCAGAACATCCTCCAGCACAGCCTACATGCAACTGAGCAGCCTGACATTGAGGACTCTGCAGTCTATTACTGTGCAAGGAGCAGGTTGCT
TACTGGGCCAAGGGACTCTGGTACTGTCTCGAGT

[0630] SEQ ID NO: 10 (키메라 9338 중쇄 가변 도메인 아미노산 서열):

QVQLQPGAEELAKPGASVRMSCKASGYTFTSYWMHWVKQRPGQGLEWIGYINPSSGHIENNQFKDKATLTADKSSTAYMQLSSLTFEDSAVYYCARGRFA
YWGQGTLTVSS

[0632] SEQ ID NO: 11 (키메라 9338 경쇄 가변 도메인 핵산 서열):

GATATTGTGATGACCCAGTCTCCAGCAATCATGTCTGCATCTCCTGGGAGAAGGTACCTGACCTGCCAGCTCAAGTGTAAAGTTCCGGCTACTTG
TACTGGTACAGCAGAACGCCAGGATCTCTCCCCAAACTCTGGATTATAGCACATCCAACCTGGCTCTGGAGTCCCTGCTCGCTCAGTGGCAGTGGCT
GGGACCTCTTACTCTCACAGTCACAGCATGGAGGCTGAAGATGCTGCCCTTATTCTGCCATCAGTGGAGTAGTTACCCATTACGTTGGCTCGGG
ACCAAGCTGGAGCTGAAA

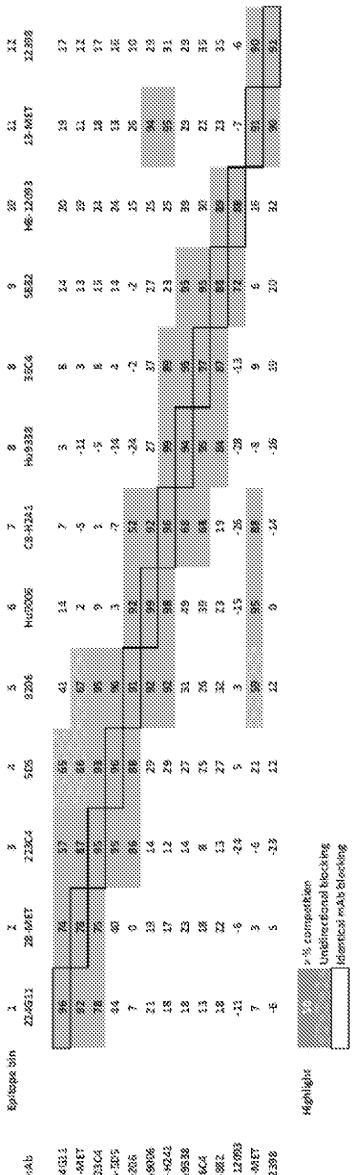
[0634] SEQ ID NO: 12 (키메라 9338 경쇄 가변 도메인 아미노산 서열):

- [0635] DIVMTQSPAIMSASPGEKVLTCASSSVSSGYLYWYQQKPGSSPKLWIYSTSNLASGVPARFSGSGSGTSYSLTVNSMEAEDAASYFCHQWSSYPFTFGSG
TKLELK
- [0636] SEQ ID NO: 13 (인간화된 9006 중쇄 가변 도메인 핵산 서열):
CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGATCCGAGCTGAAGAAACCTGGCGCTCCGTGAAGGTGTCTGCAAGGCTCCGGTACACCTTACCAACTCCGGATG
AACTGGGTCAAGCAGGCCAGGCCAGGGCTGAAATGGATGGGCTGGATCAACACCTACACCGCGAGGCCACCTACGTGGACGACCTGAAGGGCAGATT
GTGTTCTCCCTGGACACCTCCGTCCACCGCCTACCTGCAGATCTCAGCCTGAAGGCCGAGGATACCGCCGTGTACTACTGCGCCCGAAGGGATCGCC
AGAGCCATGGATTATTGGGCCAGGGCACCCGTGACAGTCTCGAGT
- [0638] SEQ ID NO: 14 (인간화된 9006 중쇄 가변 도메인 아미노산 서열):
QVQLVQSGSELKKPGASVKVSCKASGYTFTNFRMNWVKQAPGQGLKWMGWINTYTGEPTYVDDLKGRFVFSLDTSVSTAYLQISSLKAEDTAVYYCARKGIA
RAMDYWGQQGTTVTVSS
- [0640] SEQ ID NO: 15 (인간화된 9006 경쇄 가변 도메인 핵산 서열):
GACATCGTATGACCCAGTCCCCGACTCTCTGGCGTGTCTCTGGCGAGAGAGGCCACCATCAACTGCAAGTCCTCCAGTCCCTGCTGGACTCCGGCAAC
CAGAAGAACTACCTGGCTGGTATCAGCAGAACGCCAGCCTCCAGCTGCTGATCTTGCGCCTCCACCCGGGAATCTGGGTGCCCAGATAGATT
TCCGGCTCCGGCTGGCACCGACTTACCCGACCATCAGCTCCCTGCAGGCCGAGGATGTGGCGTGTACTACTGCCAGAACGACCAACTCCTACCCACT
ACCTCGGCCAGGGCACCAAGCTGGAAATCAAG
- [0642] SEQ ID NO: 16 (인간화된 9006 경쇄 가변 도메인 아미노산 서열):
DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSLLDSGNQKNYLAWYQQKPGQPPKLLIFGASTRESGPDRFSGSGSTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQNDHSYPY
TFGQGTKEIK
- [0644] SEQ ID NO: 17 (인간화된 9338 중쇄 가변 도메인 핵산 서열):
CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGCGCTGAAGTGAAGAAACCCGGCTCCTCCGTGAAGGTGTCTGCAAGGCCCTCCGGTACACCTTACCAAGCTACTGGATG
CACTGGGTGCGACAGGCCCTGGACAGGGCTGGAATGGATGGCTACATCAACCCCTCAGCGGCCACATCGAGAACACCAGAAATTCAAGGACCGCGTG
ACCATCACGCCGACAAGTCCACCTCCACCGCCTACATGGAACTGTCCCTCCGTGGAGCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGTGCCAGAGGCAGATTCGCC
TACTGGGCCAGGGCACCCCTCGTACAGTCTCGAGT
- [0646] SEQ ID NO: 18 (인간화된 9338 중쇄 가변 도메인 아미노산 서열):
QVQLVQSGAEVKPGSSVKVSCKASGYTFTSYWMHWVRQAPGQGLEWMGYINPSSGHIEENNQFKDRVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGRFA
YWGGQTLTVSS
- [0648] SEQ ID NO: 19 (인간화된 9338 경쇄 가변 도메인 핵산 서열):
GAGATCGTGTGACCCAGTCTCCGCCACCCGTCTGAGCCCTGGCGAGAGAGCTACCCCTGTCTGCTCCGCTCCCTCTGTGTCTCCGGTACACTG
TACTGGTATCAGCAGAACGCCGCCAGGCCCTCGGCTGCTGATCTACTCACCTCAACCTGGCTCCGGCATCCCTGCCAGATTCTCCGGCTCTGGCTCT
GGCACCGACTTACCCGACCATCTCAGCCTGGAACCCGAGGACTCGCCGTGTACTACTGCCACCAGTGGTCCAGCTACCCCTCACCTTGGCTCCGGC
ACCAAGCTGGAAATCAAG
- [0650] SEQ ID NO: 20 (인간화된 9338 경쇄 가변 도메인 아미노산 서열):
EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCSASSSVSSGYLYWYQQKPGQAPRLLIYSTSNLASGIPARFSGSGSGSTDFTLTISLEPEDFAVYYCHQWSSYPFTFGSG
TKLEIK
- [0652] SEQ ID NO: 21 (9006 중쇄 CDR1 아미노산 서열):
GYTFTNFR
- [0654] SEQ ID NO: 22 (9006 중쇄 CDR2 아미노산 서열):
INTYTGEPE
- [0656] SEQ ID NO: 23 (9006 중쇄 CDR3 아미노산 서열):
ARKGIARAMDY
- [0658] SEQ ID NO: 24 (9006 경쇄 CDR1 아미노산 서열):

- [0659] QSLLDGNQKNY
- [0660] SEQ ID NO: 25 (9006 경쇄 CDR2 아미노산 서열):
- [0661] GAS
- [0662] SEQ ID NO: 26 (9006 경쇄 CDR3 아미노산 서열):
- [0663] QNDHSYPYT
- [0664] SEQ ID NO: 27 (9338 중쇄 CDR1 아미노산 서열):
- [0665] GYTFTSYW
- [0666] SEQ ID NO: 28 (9338 중쇄 CDR2 아미노산 서열):
- [0667] INPSSGHI
- [0668] SEQ ID NO: 29 (9338 중쇄 CDR3 아미노산 서열):
- [0669] ARGRFAY
- [0670] SEQ ID NO: 30 (9338 경쇄 CDR1 아미노산 서열):
- [0671] SSVSSGY
- [0672] SEQ ID NO: 31 (9338 경쇄 CDR2 아미노산 서열):
- [0673] STS
- [0674] SEQ ID NO: 32 (9338 경쇄 CDR3 아미노산 서열):
- [0675] HQWSSYPFT
- [0676] SEQ ID NO: 33 (인간화된 9006 경쇄 아미노산 서열):
- [0677] DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSLLDGNQNYLAWYQQKPGQPKLLIFGASTRESGVPDFSGSGTDFLTISSSLQAEDVAVYYCQNDHSYPYTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTTLSKADYEHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
- [0678] SEQ ID NO: 34 (인간화된 9006 중쇄 아미노산 서열):
- [0679] QVQLVQSGSELKKPGASVKVSCKASGYTFTNFRMNWVKQAPGQGLKWMGWINTYGEPTYVDDLKGKRFVFSLDTSVSTAYLQISSLKAEDTAVYYCARKGIARAMDYWGQGTTVTVSSASTKGPSVPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVWSNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTPSSSLGTQTYICNVNHHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPETCVVVDVSHEDPEVFKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSLTVLTLVHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTQKSLSLSPG
- [0680] SEQ ID NO: 35 (인간화된 9338 경쇄 아미노산 서열):
- [0681] EIVLTQSPATLSPGERATLSCSASSSVSSGYLYWYQQKPGQAPRLLIYSTSNLASGIPARFSGSGSGTDFLTISSLPEDFAVYYCHQWSSYPFTFGSTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTTLSKADYEHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
- [0682] SEQ ID NO: 36 (인간화된 9338 중쇄 아미노산 서열):
- [0683] QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTSYWMHWVRQAPGQGLEWMGYINPSSGHIENNQKFDRVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGRFYWGQGTLVTVSSASTKGPSVPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVWSNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPETCVVVDVSHEDPEVFKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTQKSLSLSPG

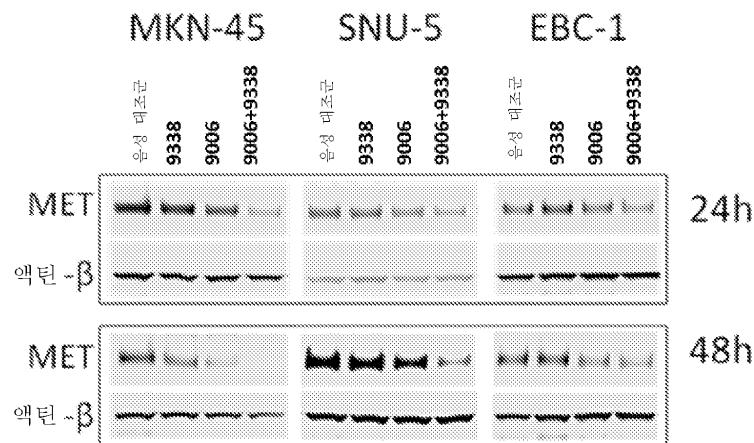
도면

도면1

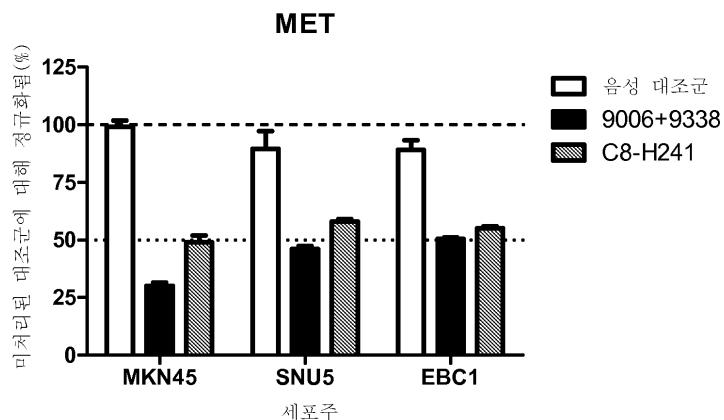


도면2

도면3

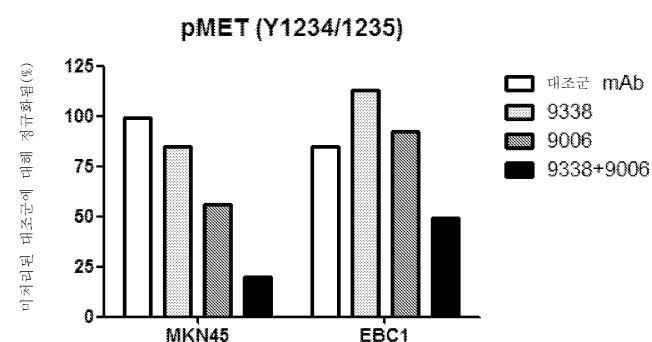


도면4

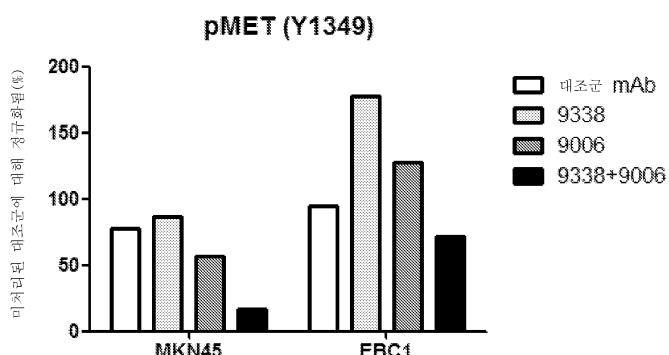


도면5

A

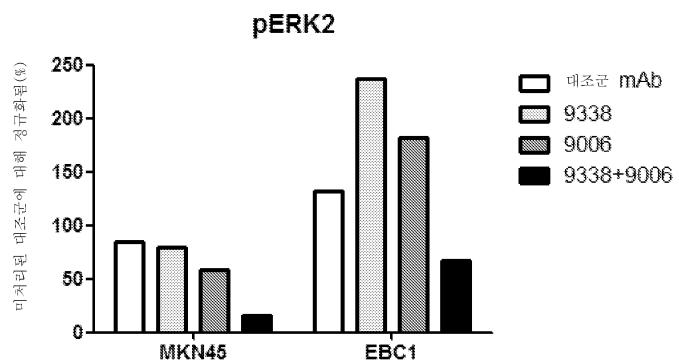


B

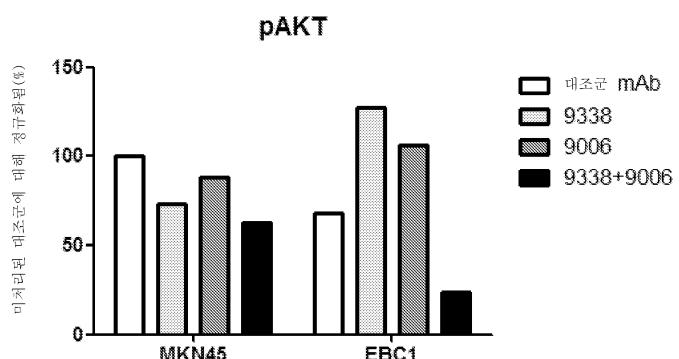


도면6

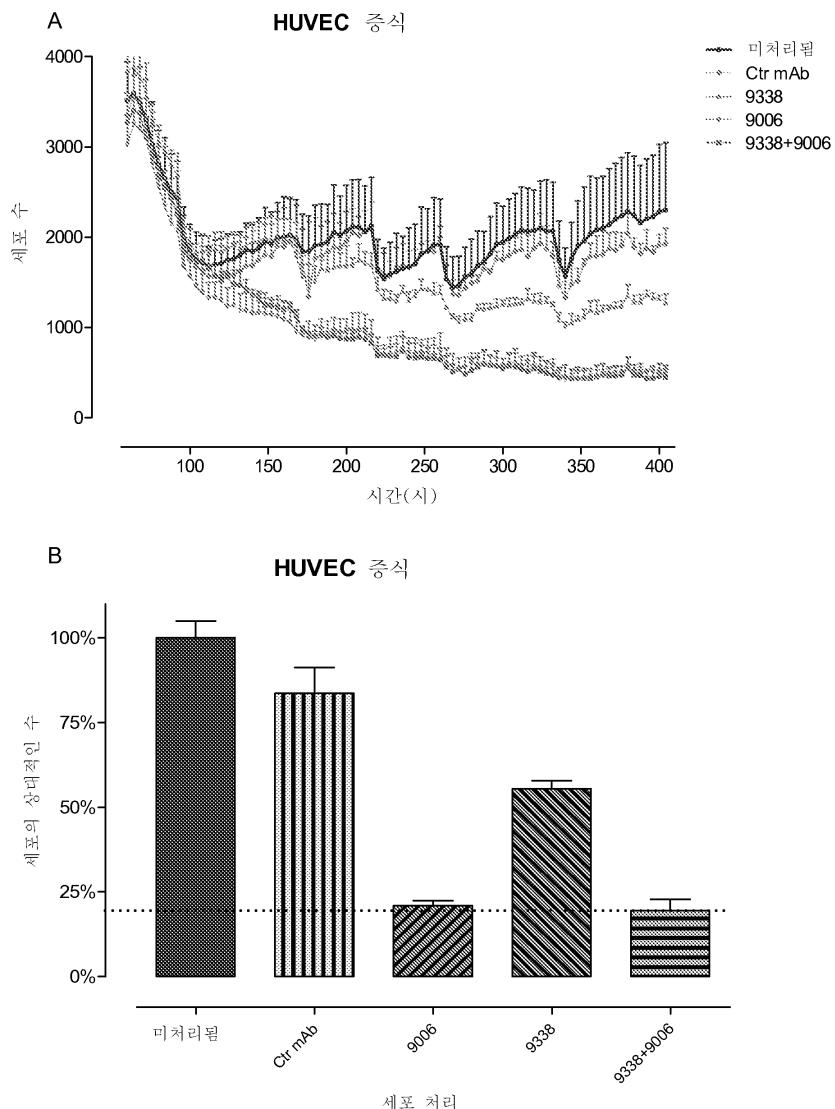
A



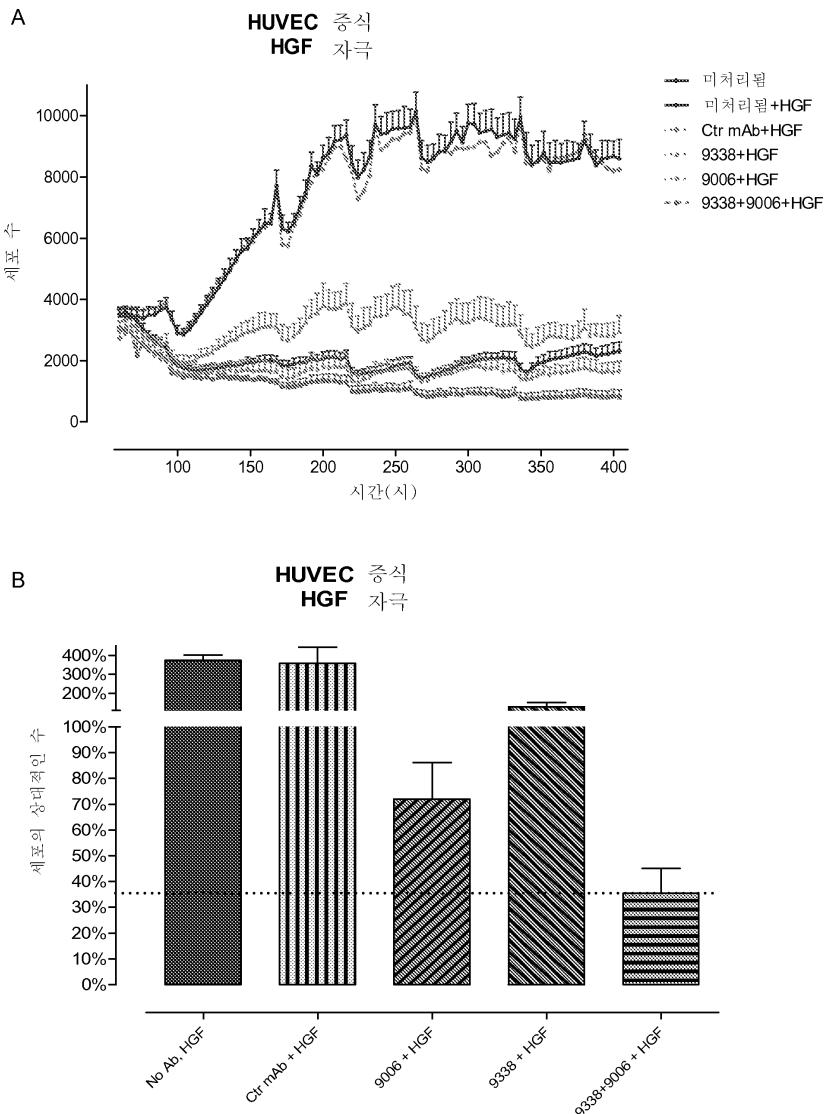
B



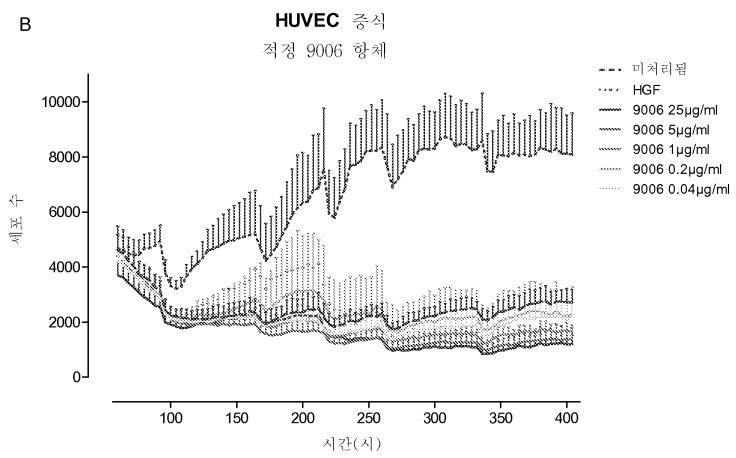
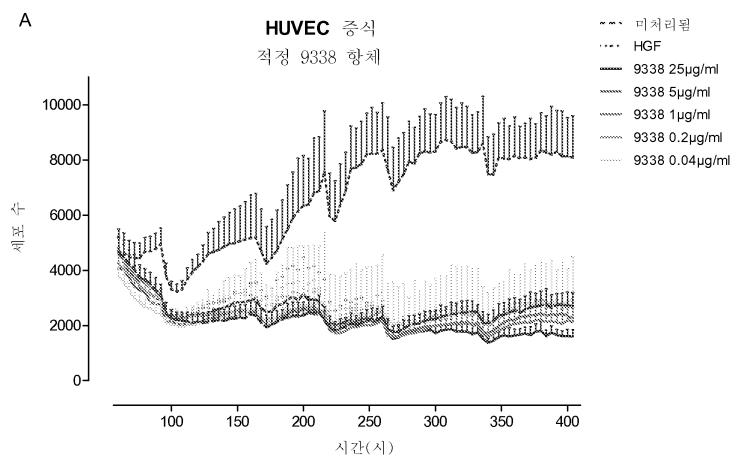
도면7



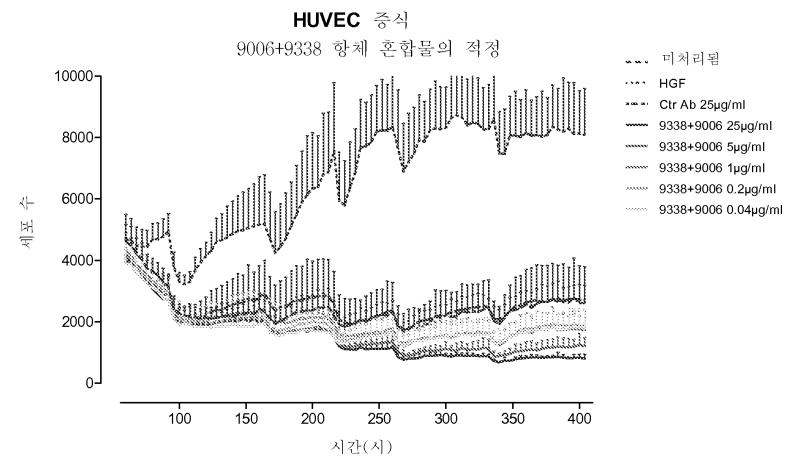
도면8



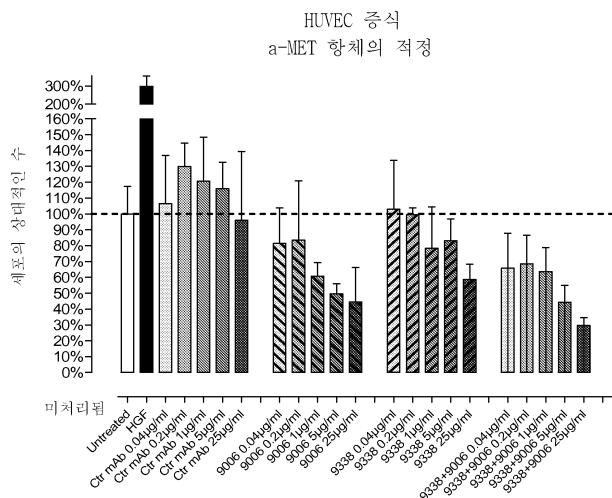
도면9



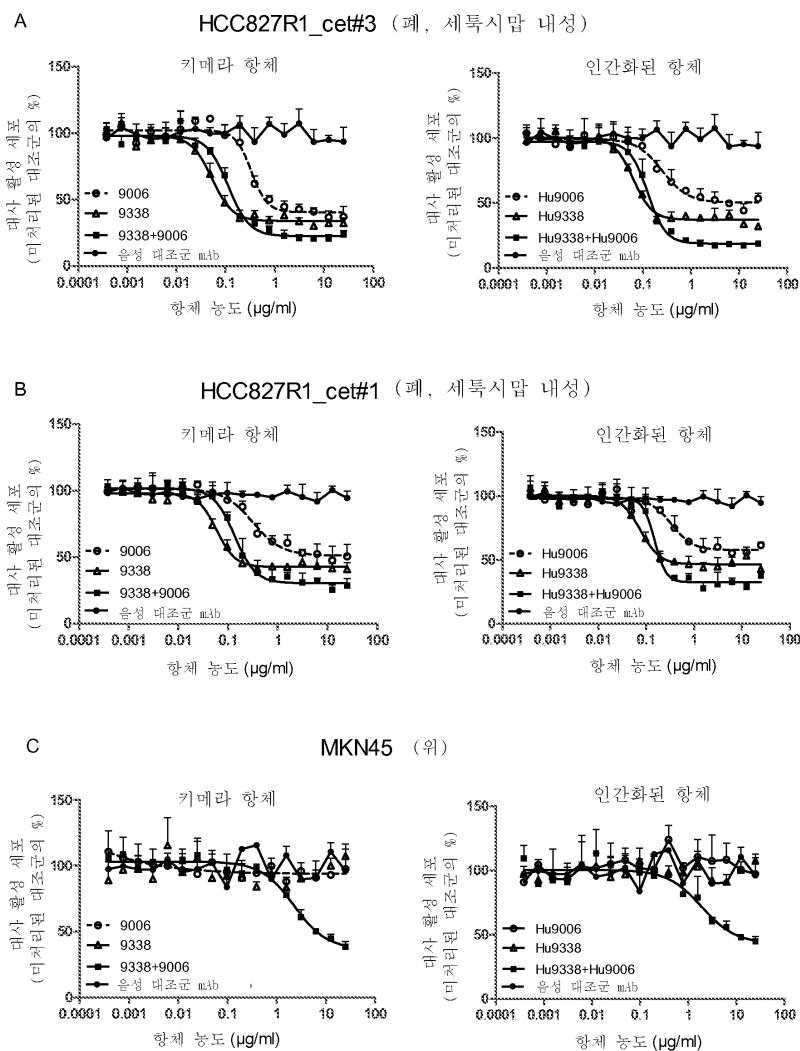
도면10



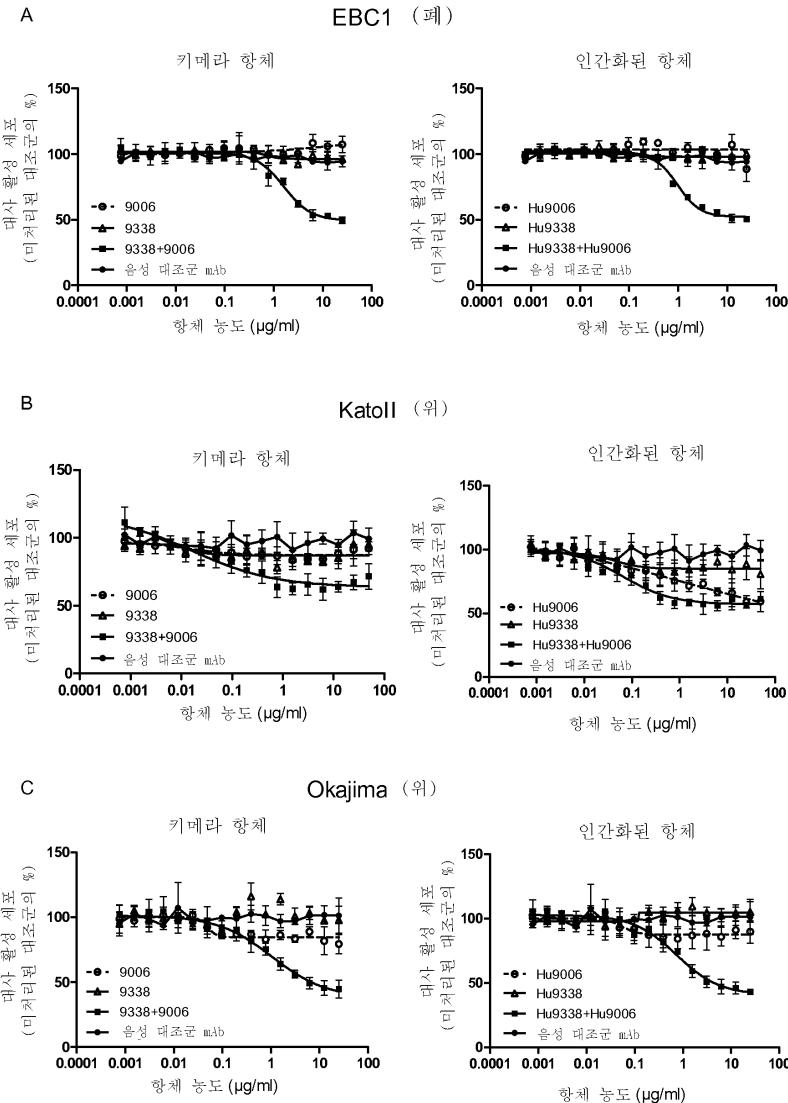
도면11



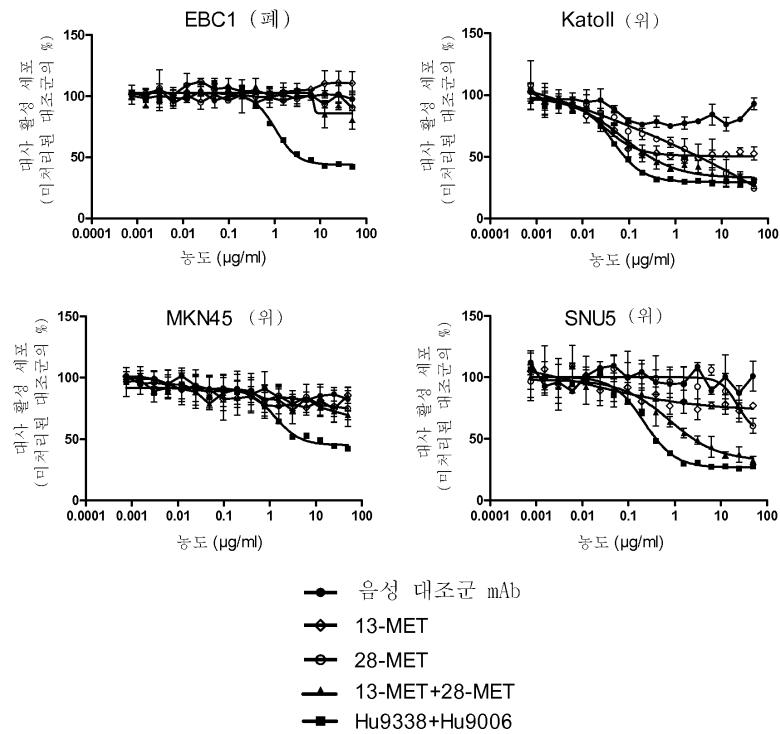
도면12



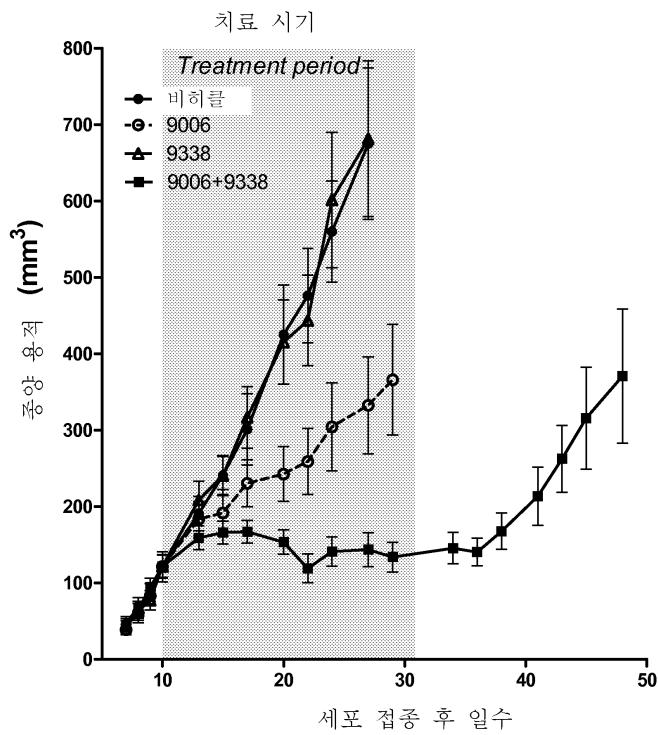
도면13



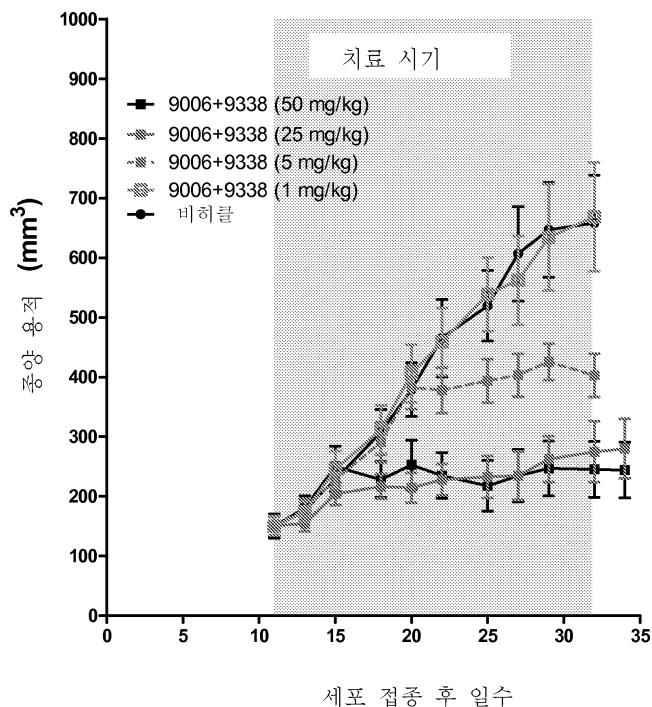
도면14



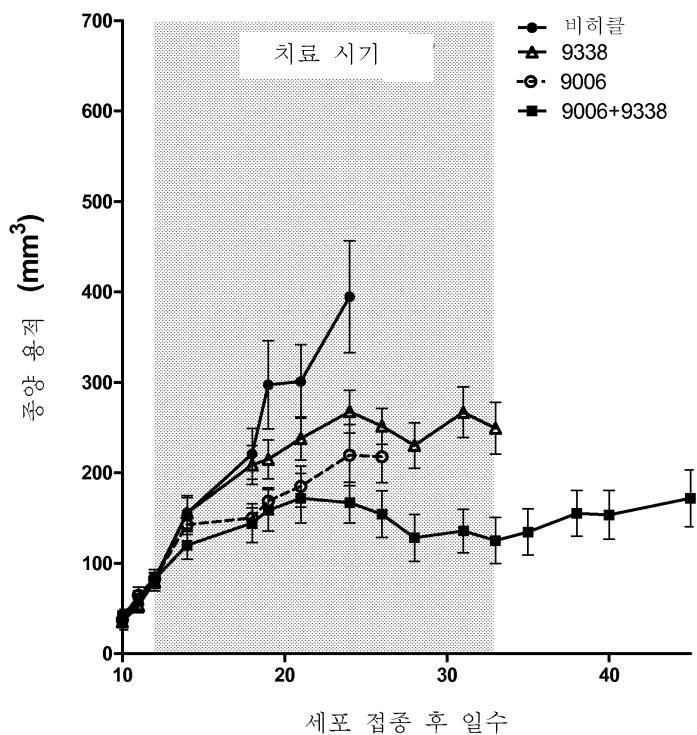
도면15



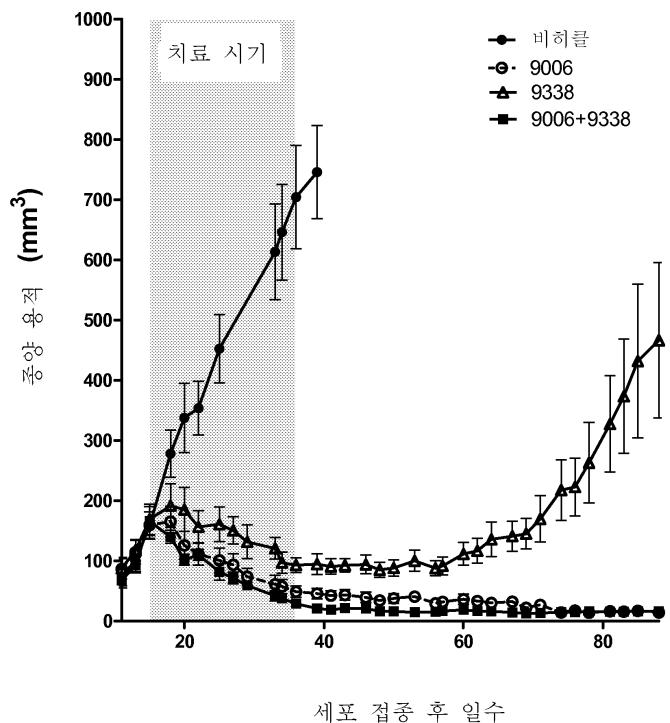
도면16



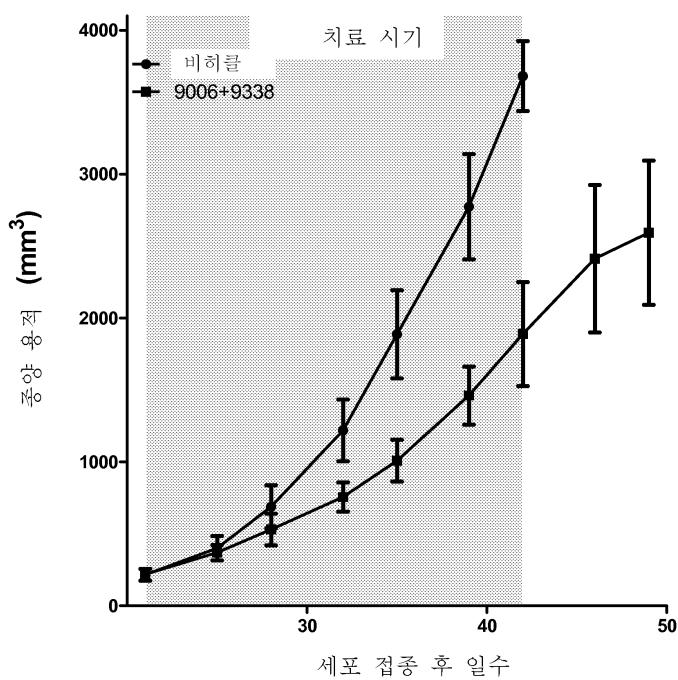
도면17



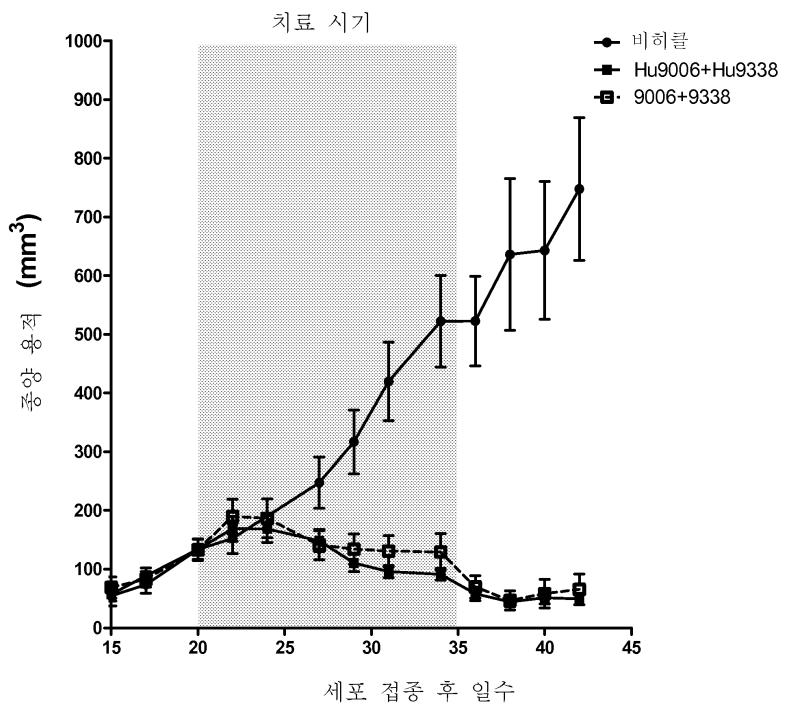
도면18



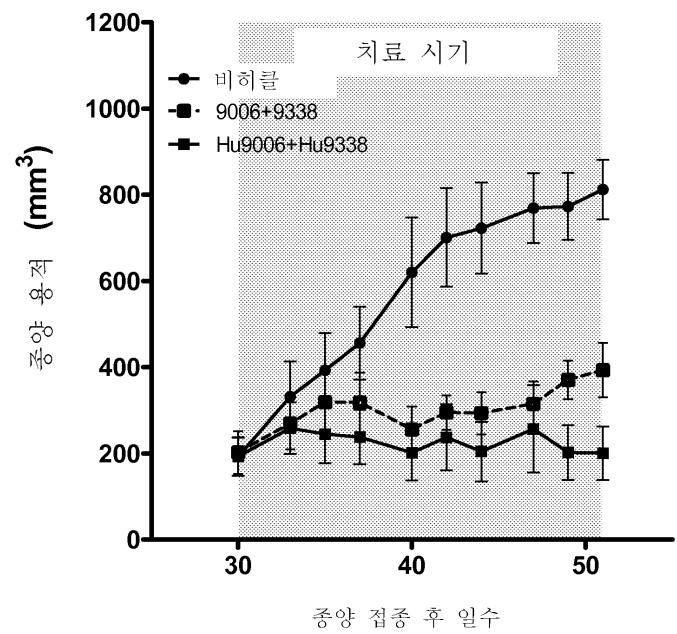
도면19



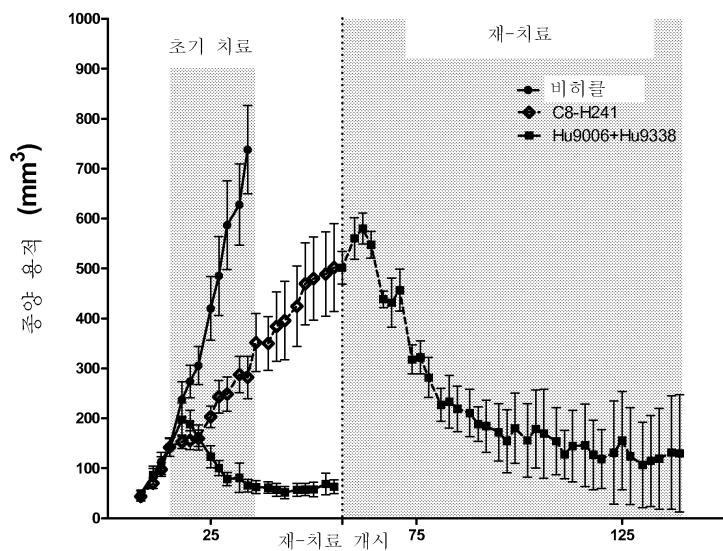
도면20



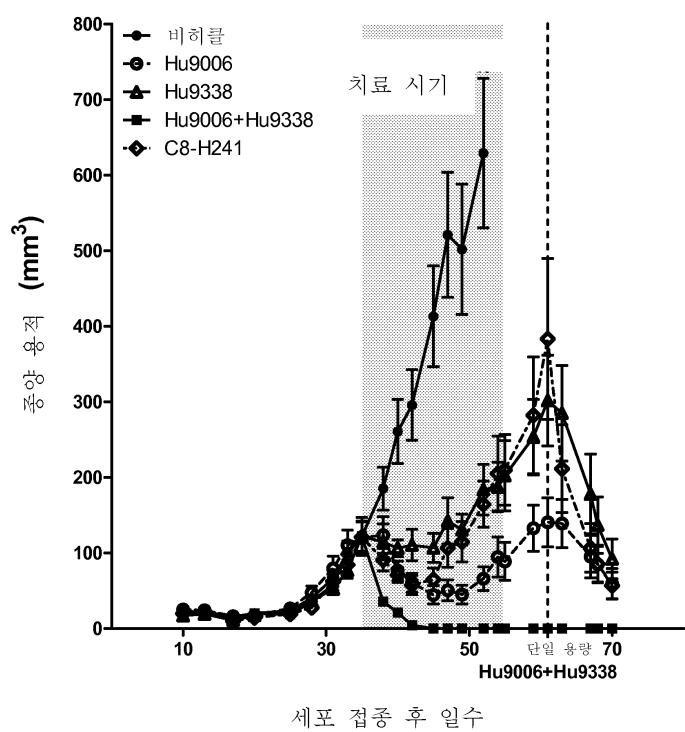
도면21



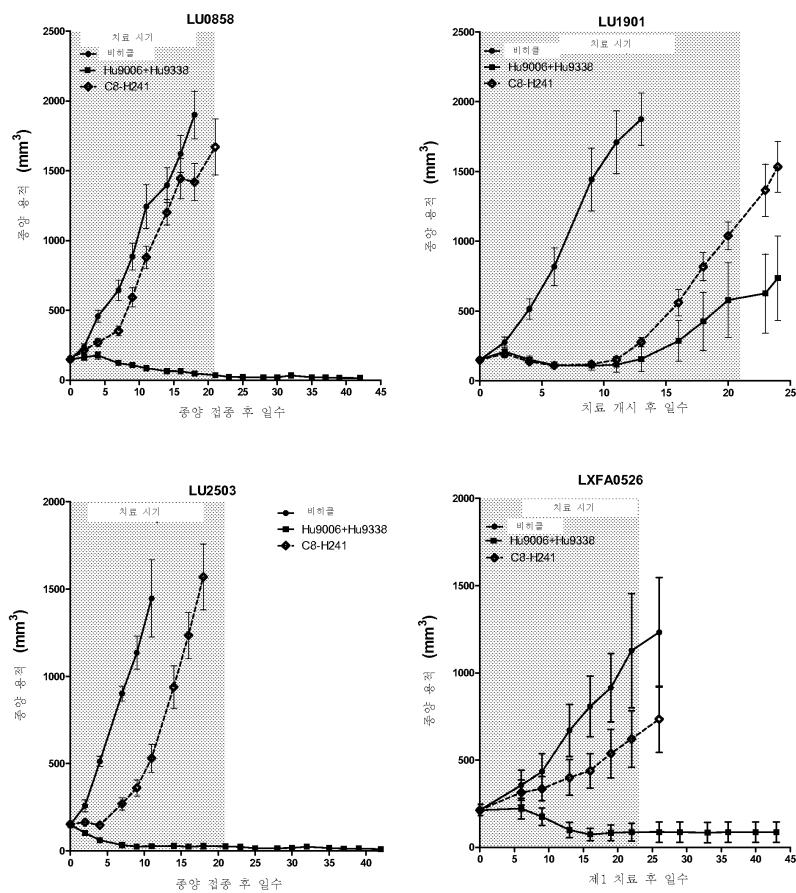
도면22



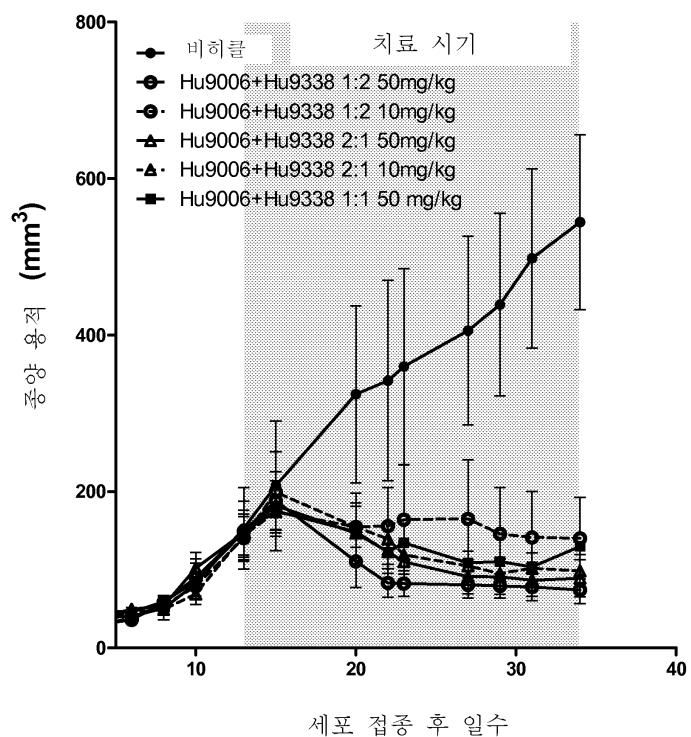
도면23



도면24



도면25



도면26

9006 VH + VL

9006 VH + VL

도면27

키메라 93338 VH + VL

도면28

인간화된 9006 VH + VL

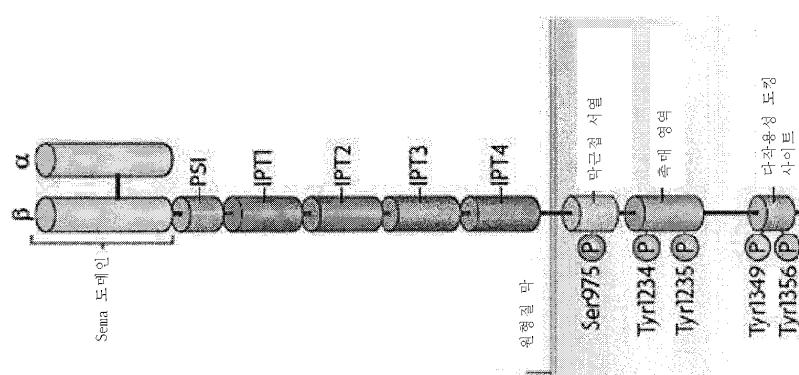
도면29

Detailed description of the figure: The figure shows the genomic organization of the Hu.03358.VH genome. It features three main clusters of genes representing different immunoglobulin isotypes. Cluster 1 (IgM) is on chromosome 1, Cluster 2 (IgA) is on chromosome 2, and Cluster 3 (IgG, IgD, IgE) is on chromosome 3. Each cluster contains multiple genes, each with its own unique exon-intron structure. The exons are represented by colored boxes (blue for IgM, red for IgA, green for IgG, yellow for IgD, purple for IgE) and the introns by lines connecting them. The CDR regions are highlighted with specific patterns: CDR1 has a diagonal striped pattern, CDR2 has a vertical striped pattern, and CDR3 has a horizontal striped pattern. The genes are also labeled with their respective isotype and some with their function (e.g., CTD, CH).

도면30

Hu 9006 LC	DIVMTQSPSLAVLGERATINCKSSDLSLLSGQKHNLYQQKPGOPPKLIFGASRESGVYDPRFSGSGSGLDTFLISSLAQEDAVYCNNDHSPPYFGGGTKEIKRTVAAPS VFI PPPSDEQLKSGTASVCLNNFYPREAKVQNKVDHALQSGNSQESVTEQDSKOSTTSSSTLTKADYKHKVACEVTHQGLSSPVTKSFRNGEC
Hu 9006 HC	QVQLVQSGSELKKPGASVVKVACKASYFTTFRNNWVKAQDGQLKWMGWVNYTCETYYDDLGKRFVFSLDTSYTLQISLKAEDTANYCANGKIAARANDYTGQGTTTVSSAS TKGPSPVFPLATSKNSITGGTALGCLVWDYPEPVITVSWNGALTSVYIICRNHNPNTKVDRYVEPKPSDKTHICPPCPAPELGGPS VFLFPKPKDLMISRTPVCLVWDYPEVSHEDPEVKIFNNYVQGVEVINAATKPKREEDYSTYRVVSVTLYLQDWLIGEYCKVKSNAALPAPIEKTSKAGQPREPQVYLPSREEMT KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVENEENGQOPENNYKTPVLDSDGSFLYSKLTVDKSRNQDQSKYTSKLTVQVFCSCVMEALHNHYTQKSLSLSPG
Hu 9338 LC	EIVLTQSPATLSPGERATLSCSASSVSSGGILWWYQQKPGDAPRLIYTENLASGIPARFSGSGSCTBFTLTISSLEPEDFAVYCHAWSYFPTFGCGTKEIKRTVAAPSVPFIFP PSDEQLKIGGTASVCLNNFYPREAKVQNKVDHALQSGNSQESVTEQDSKOSTTSSSTLTKADYKHKVACEVTHQGLSSPVTKSFRNGEC
Hu 9338 HC	QVQLVQSGAEVKKPGSSVVKVACKASYFTTSMHHWRRAFGGLEMWYINNSCHENIQKFKDRVITADKSTAYMELSSRSIEDATYVCAKGIAAWGGGTLVIVSSASTGKP SVPLAPSSKTSQGAGALGKDFPEPVITVSWNGALTSQWHFPAVQSGSLFQSSVTVSSSLGTTIICRNHNPNTKVDRYVEPKPSDKTHICPPCPAPELGGPSVLF PPKPKDLMISRTPVCLVWDYPEVSHEDPEVKIFNNYVQGVEVINAATKPKREEDYSTYRVVSVTLYLQDWLIGEYCKVKSNAALPAPIEKTSKAGQPREPQVYLPSREEMT SLTGLVYKGFYPSDIAVENEENGQOPENNYKTPVLDSDGSFLYSKLTVDKSRNQDQSKYTSKLTVQVFCSCVMEALHNHYTQKSLSLSPG

도면31



서열 목록

SEQUENCE LISTING

<110> SYMPHOGEN A/S

<120> ANTI-MET ANTIBODIES AND COMPOSITIONS

<130> 110285-0051-W01

<140><141><150> 62/051,190

<151> 2014-09-16

<160> 39

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 1390

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 1

Met Lys Ala Pro Ala Val Leu Ala Pro Gly Ile Leu Val Leu Leu Phe

1 5 10 15

Thr Leu Val Gln Arg Ser Asn Gly Glu Cys Lys Glu Ala Leu Ala Lys

20 25 30

Ser Glu Met Asn Val Asn Met Lys Tyr Gln Leu Pro Asn Phe Thr Ala

35 40 45

Glu Thr Pro Ile Gln Asn Val Ile Leu His Glu His His Ile Phe Leu

50 55 60

Gly Ala Thr Asn Tyr Ile Tyr Val Leu Asn Glu Glu Asp Leu Gln Lys

65 70 75 80

Val Ala Glu Tyr Lys Thr Gly Pro Val Leu Glu His Pro Asp Cys Phe

85 90 95

Pro Cys Gln Asp Cys Ser Ser Lys Ala Asn Leu Ser Gly Gly Val Trp

100 105 110

Lys Asp Asn Ile Asn Met Ala Leu Val Val Asp Thr Tyr Tyr Asp Asp

115 120 125

Gln Leu Ile Ser Cys Gly Ser Val Asn Arg Gly Thr Cys Gln Arg His

130 135 140

Val Phe Pro His Asn His Thr Ala Asp Ile Gln Ser Glu Val His Cys

145	150	155	160
-----	-----	-----	-----

Ile Phe Ser Pro Gln Ile Glu Glu Pro Ser Gln Cys Pro Asp Cys Val

165	170	175
-----	-----	-----

Val Ser Ala Leu Gly Ala Lys Val Leu Ser Ser Val Lys Asp Arg Phe

180	185	190
-----	-----	-----

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

195	200	205
-----	-----	-----

His Pro Leu His Ser Ile Ser Val Arg Arg Leu Lys Glu Thr Lys Asp

210	215	220
-----	-----	-----

Gly Phe Met Phe Leu Thr Asp Gln Ser Tyr Ile Asp Val Leu Pro Glu

225	230	235	240
-----	-----	-----	-----

Phe Arg Asp Ser Tyr Pro Ile Lys Tyr Val His Ala Phe Glu Ser Asn

245	250	255
-----	-----	-----

Asn Phe Ile Tyr Phe Leu Thr Val Gln Arg Glu Thr Leu Asp Ala Gln

260	265	270
-----	-----	-----

Thr Phe His Thr Arg Ile Ile Arg Phe Cys Ser Ile Asn Ser Gly Leu

275	280	285
-----	-----	-----

His Ser Tyr Met Glu Met Pro Leu Glu Cys Ile Leu Thr Glu Lys Arg

290	295	300
-----	-----	-----

Lys Lys Arg Ser Thr Lys Lys Glu Val Phe Asn Ile Leu Gln Ala Ala

305	310	315	320
-----	-----	-----	-----

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

325	330	335
-----	-----	-----

Leu Asn Asp Asp Ile Leu Phe Gly Val Phe Ala Gln Ser Lys Pro Asp

340	345	350
-----	-----	-----

Ser Ala Glu Pro Met Asp Arg Ser Ala Met Cys Ala Phe Pro Ile Lys

355	360	365
-----	-----	-----

Tyr Val Asn Asp Phe Phe Asn Lys Ile Val Asn Lys Asn Asn Val Arg

370	375	380
-----	-----	-----

Cys Leu Gln His Phe Tyr Gly Pro Asn His Glu His Cys Phe Asn Arg

385	390	395	400
-----	-----	-----	-----

Thr Leu Leu Arg Asn Ser Ser Gly Cys Glu Ala Arg Arg Asp Glu Tyr

405 410 415

Arg Thr Glu Phe Thr Thr Ala Leu Gln Arg Val Asp Leu Phe Met Gly

420 425 430

Gln Phe Ser Glu Val Leu Leu Thr Ser Ile Ser Thr Phe Ile Lys Gly

435 440 445

Asp Leu Thr Ile Ala Asn Leu Gly Thr Ser Glu Gly Arg Phe Met Gln

450 455 460

Val Val Val Ser Arg Ser Gly Pro Ser Thr Pro His Val Asn Phe Leu

465 470 475 480

Leu Asp Ser His Pro Val Ser Pro Glu Val Ile Val Glu His Thr Leu

485 490 495

Asn Gln Asn Gly Tyr Thr Leu Val Ile Thr Gly Lys Lys Ile Thr Lys

500 505 510

Ile Pro Leu Asn Gly Leu Gly Cys Arg His Phe Gln Ser Cys Ser Gln

515 520 525

Cys Leu Ser Ala Pro Pro Phe Val Gln Cys Gly Trp Cys His Asp Lys

530 535 540

Cys Val Arg Ser Glu Glu Cys Leu Ser Gly Thr Trp Thr Gln Gln Ile

545 550 555 560

Cys Leu Pro Ala Ile Tyr Lys Val Phe Pro Asn Ser Ala Pro Leu Glu

565 570 575

Gly Gly Thr Arg Leu Thr Ile Cys Gly Trp Asp Phe Gly Phe Arg Arg

580 585 590

Asn Asn Lys Phe Asp Leu Lys Lys Thr Arg Val Leu Leu Gly Asn Glu

595 600 605

Ser Cys Thr Leu Thr Leu Ser Glu Ser Thr Met Asn Thr Leu Lys Cys

610 615 620

Thr Val Gly Pro Ala Met Asn Lys His Phe Asn Met Ser Ile Ile Ile

625 630 635 640

Ser Asn Gly His Gly Thr Thr Gln Tyr Ser Thr Phe Ser Tyr Val Asp

645	650	655
Pro Val Ile Thr Ser Ile Ser Pro Lys Tyr Gly Pro Met Ala Gly Gly		
660	665	670
Thr Leu Leu Thr Leu Thr Gly Asn Tyr Leu Asn Ser Gly Asn Ser Arg		
675	680	685
His Ile Ser Ile Gly Gly Lys Thr Cys Thr Leu Lys Ser Val Ser Asn		
690	695	700
Ser Ile Leu Glu Cys Tyr Thr Pro Ala Gln Thr Ile Ser Thr Glu Phe		
705	710	715
720		
Ala Val Lys Leu Lys Ile Asp Leu Ala Asn Arg Glu Thr Ser Ile Phe		
725	730	735
Ser Tyr Arg Glu Asp Pro Ile Val Tyr Glu Ile His Pro Thr Lys Ser		
740	745	750
Phe Ile Ser Gly Gly Ser Thr Ile Thr Gly Val Gly Lys Asn Leu Asn		
755	760	765
Ser Val Ser Val Pro Arg Met Val Ile Asn Val His Glu Ala Gly Arg		
770	775	780
Asn Phe Thr Val Ala Cys Gln His Arg Ser Asn Ser Glu Ile Ile Cys		
785	790	795
800		
Cys Thr Thr Pro Ser Leu Gln Gln Leu Asn Leu Gln Leu Pro Leu Lys		
805	810	815
Thr Lys Ala Phe Phe Met Leu Asp Gly Ile Leu Ser Lys Tyr Phe Asp		
820	825	830
Leu Ile Tyr Val His Asn Pro Val Phe Lys Pro Phe Glu Lys Pro Val		
835	840	845
Met Ile Ser Met Gly Asn Glu Asn Val Leu Glu Ile Lys Gly Asn Asp		
850	855	860
Ile Asp Pro Glu Ala Val Lys Gly Glu Val Leu Lys Val Gly Asn Lys		
865	870	875
880		
Ser Cys Glu Asn Ile His Ser Glu Ala Val Leu Cys Thr Val		
885	890	895

Pro Asn Asp Leu Leu Lys Leu Asn Ser Glu Leu Asn Ile Glu Trp Lys

900 905 910

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

915 920 925

Gln Asn Phe Thr Gly Leu Ile Ala Gly Val Val Ser Ile Ser Thr Ala

930 935 940

Leu Leu Leu Leu Gly Phe Phe Leu Trp Leu Lys Lys Arg Lys Gln

945 950 955 960

Ile Lys Asp Leu Gly Ser Glu Leu Val Arg Tyr Asp Ala Arg Val His

965 970 975

Thr Pro His Leu Asp Arg Leu Val Ser Ala Arg Ser Val Ser Pro Thr

980 985 990

Thr Glu Met Val Ser Asn Glu Ser Val Asp Tyr Arg Ala Thr Phe Pro

995 1000 1005

Glu Asp Gln Phe Pro Asn Ser Ser Gln Asn Gly Ser Cys Arg Gln

1010 1015 1020

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

1025 1030 1035

Asp Ser Asp Ile Ser Ser Pro Leu Leu Gln Asn Thr Val His Ile

1040 1045 1050

Asp Leu Ser Ala Leu Asn Pro Glu Leu Val Gln Ala Val Gln His

1055 1060 1065

Val Val Ile Gly Pro Ser Ser Leu Ile Val His Phe Asn Glu Val

1070 1075 1080

Ile Gly Arg Gly His Phe Gly Cys Val Tyr His Gly Thr Leu Leu

1085 1090 1095

Asp Asn Asp Gly Lys Lys Ile His Cys Ala Val Lys Ser Leu Asn

1100 1105 1110

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

1115 1120 1125

Ile Ile Met Lys Asp Phe Ser His Pro Asn Val Leu Ser Leu Leu

1130	1135	1140
Gly Ile Cys Leu Arg Ser Glu	Gly Ser Pro Leu Val	Val Leu Pro
1145	1150	1155
Tyr Met Lys His Gly Asp Leu	Arg Asn Phe Ile Arg	Asn Glu Thr
1160	1165	1170
His Asn Pro Thr Val Lys Asp	Leu Ile Gly Phe Gly	Leu Gln Val
1175	1180	1185
Ala Lys Gly Met Lys Tyr Leu	Ala Ser Lys Lys Phe	Val His Arg
1190	1195	1200
Asp Leu Ala Ala Arg Asn Cys	Met Leu Asp Glu Lys	Phe Thr Val
1205	1210	1215
Lys Val Ala Asp Phe Gly Leu	Ala Arg Asp Met Tyr	Asp Lys Glu
1220	1225	1230
Tyr Tyr Ser Val His Asn Lys	Thr Gly Ala Lys Leu	Pro Val Lys
1235	1240	1245
Trp Met Ala Leu Glu Ser Leu	Gln Thr Gln Lys Phe	Thr Thr Lys
1250	1255	1260
Ser Asp Val Trp Ser Phe Gly	Val Leu Leu Trp Glu	Leu Met Thr
1265	1270	1275
Arg Gly Ala Pro Pro Tyr Pro	Asp Val Asn Thr Phe	Asp Ile Thr
1280	1285	1290
Val Tyr Leu Leu Gln Gly Arg	Arg Leu Leu Gln Pro	Glu Tyr Cys
1295	1300	1305
Pro Asp Pro Leu Tyr Glu Val	Met Leu Lys Cys Trp	His Pro Lys
1310	1315	1320
Ala Glu Met Arg Pro Ser Phe	Ser Glu Leu Val Ser	Arg Ile Ser
1325	1330	1335
Ala Ile Phe Ser Thr Phe Ile	Gly Glu His Tyr Val	His Val Asn
1340	1345	1350
Ala Thr Tyr Val Asn Val Lys	Cys Val Ala Pro Tyr	Pro Ser Leu
1355	1360	1365

Leu Ser Ser Glu Asp Asn Ala Asp Asp Glu Val Asp Thr Arg Pro

1370 1375 1380

Ala Ser Phe Trp Glu Thr Ser

1385 1390

<210> 2

<211> 1408

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 2

Met Lys Ala Pro Ala Val Leu Ala Pro Gly Ile Leu Val Leu Phe

1 5 10 15

Thr Leu Val Gln Arg Ser Asn Gly Glu Cys Lys Glu Ala Leu Ala Lys

20 25 30

Ser Glu Met Asn Val Asn Met Lys Tyr Gln Leu Pro Asn Phe Thr Ala

35 40 45

Glu Thr Pro Ile Gln Asn Val Ile Leu His Glu His His Ile Phe Leu

50 55 60

Gly Ala Thr Asn Tyr Ile Tyr Val Leu Asn Glu Glu Asp Leu Gln Lys

65 70 75 80

Val Ala Glu Tyr Lys Thr Gly Pro Val Leu Glu His Pro Asp Cys Phe

85 90 95

Pro Cys Gln Asp Cys Ser Ser Lys Ala Asn Leu Ser Gly Gly Val Trp

100 105 110

Lys Asp Asn Ile Asn Met Ala Leu Val Val Asp Thr Tyr Tyr Asp Asp

115 120 125

Gln Leu Ile Ser Cys Gly Ser Val Asn Arg Gly Thr Cys Gln Arg His

130 135 140

Val Phe Pro His Asn His Thr Ala Asp Ile Gln Ser Glu Val His Cys

145 150 155 160

Ile Phe Ser Pro Gln Ile Glu Glu Pro Ser Gln Cys Pro Asp Cys Val

165 170 175

Val Ser Ala Leu Gly Ala Lys Val Leu Ser Ser Val Lys Asp Arg Phe

180	185	190
Ile Asn Phe Phe Val Gly Asn Thr Ile Asn Ser Ser Tyr Phe Pro Asp		
195	200	205
His Pro Leu His Ser Ile Ser Val Arg Arg Leu Lys Glu Thr Lys Asp		
210	215	220
Gly Phe Met Phe Leu Thr Asp Gln Ser Tyr Ile Asp Val Leu Pro Glu		
225	230	235
Phe Arg Asp Ser Tyr Pro Ile Lys Tyr Val His Ala Phe Glu Ser Asn		
245	250	255
Asn Phe Ile Tyr Phe Leu Thr Val Gln Arg Glu Thr Leu Asp Ala Gln		
260	265	270
Thr Phe His Thr Arg Ile Ile Arg Phe Cys Ser Ile Asn Ser Gly Leu		
275	280	285
His Ser Tyr Met Glu Met Pro Leu Glu Cys Ile Leu Thr Glu Lys Arg		
290	295	300
Lys Lys Arg Ser Thr Lys Lys Glu Val Phe Asn Ile Leu Gln Ala Ala		
305	310	315
Tyr Val Ser Lys Pro Gly Ala Gln Leu Ala Arg Gln Ile Gly Ala Ser		
325	330	335
Leu Asn Asp Asp Ile Leu Phe Gly Val Phe Ala Gln Ser Lys Pro Asp		
340	345	350
Ser Ala Glu Pro Met Asp Arg Ser Ala Met Cys Ala Phe Pro Ile Lys		
355	360	365
Tyr Val Asn Asp Phe Phe Asn Lys Ile Val Asn Lys Asn Asn Val Arg		
370	375	380
Cys Leu Gln His Phe Tyr Gly Pro Asn His Glu His Cys Phe Asn Arg		
385	390	395
Thr Leu Leu Arg Asn Ser Ser Gly Cys Glu Ala Arg Arg Asp Glu Tyr		
405	410	415
Arg Thr Glu Phe Thr Thr Ala Leu Gln Arg Val Asp Leu Phe Met Gly		
420	425	430

Gln Phe Ser Glu Val Leu Leu Thr Ser Ile Ser Thr Phe Ile Lys Gly

435 440 445

Asp Leu Thr Ile Ala Asn Leu Gly Thr Ser Glu Gly Arg Phe Met Gln

450 455 460

Val Val Val Ser Arg Ser Gly Pro Ser Thr Pro His Val Asn Phe Leu

465 470 475 480

Leu Asp Ser His Pro Val Ser Pro Glu Val Ile Val Glu His Thr Leu

485 490 495

Asn Gln Asn Gly Tyr Thr Leu Val Ile Thr Gly Lys Lys Ile Thr Lys

500 505 510

Ile Pro Leu Asn Gly Leu Gly Cys Arg His Phe Gln Ser Cys Ser Gln

515 520 525

Cys Leu Ser Ala Pro Pro Phe Val Gln Cys Gly Trp Cys His Asp Lys

530 535 540

Cys Val Arg Ser Glu Glu Cys Leu Ser Gly Thr Trp Thr Gln Gln Ile

545 550 555 560

Cys Leu Pro Ala Ile Tyr Lys Val Phe Pro Asn Ser Ala Pro Leu Glu

565 570 575

Gly Gly Thr Arg Leu Thr Ile Cys Gly Trp Asp Phe Gly Phe Arg Arg

580 585 590

Asn Asn Lys Phe Asp Leu Lys Lys Thr Arg Val Leu Leu Gly Asn Glu

595 600 605

Ser Cys Thr Leu Thr Leu Ser Glu Ser Thr Met Asn Thr Leu Lys Cys

610 615 620

Thr Val Gly Pro Ala Met Asn Lys His Phe Asn Met Ser Ile Ile Ile

625 630 635 640

Ser Asn Gly His Gly Thr Thr Gln Tyr Ser Thr Phe Ser Tyr Val Asp

645 650 655

Pro Val Ile Thr Ser Ile Ser Pro Lys Tyr Gly Pro Met Ala Gly Gly

660 665 670

Thr Leu Leu Thr Leu Thr Gly Asn Tyr Leu Asn Ser Gly Asn Ser Arg

675	680	685
His Ile Ser Ile Gly Gly Lys Thr Cys Thr Leu Lys Ser Val Ser Asn		
690	695	700
Ser Ile Leu Glu Cys Tyr Thr Pro Ala Gln Thr Ile Ser Thr Glu Phe		
705	710	715
Ala Val Lys Leu Lys Ile Asp Leu Ala Asn Arg Glu Thr Ser Ile Phe		
725	730	735
Ser Tyr Arg Glu Asp Pro Ile Val Tyr Glu Ile His Pro Thr Lys Ser		
740	745	750
Phe Ile Ser Thr Trp Trp Lys Glu Pro Leu Asn Ile Val Ser Phe Leu		
755	760	765
Phe Cys Phe Ala Ser Gly Gly Ser Thr Ile Thr Gly Val Gly Lys Asn		
770	775	780
Leu Asn Ser Val Ser Val Pro Arg Met Val Ile Asn Val His Glu Ala		
785	790	795
Gly Arg Asn Phe Thr Val Ala Cys Gln His Arg Ser Asn Ser Glu Ile		
805	810	815
Ile Cys Cys Thr Thr Pro Ser Leu Gln Gln Leu Asn Leu Gln Leu Pro		
820	825	830
Leu Lys Thr Lys Ala Phe Phe Met Leu Asp Gly Ile Leu Ser Lys Tyr		
835	840	845
Phe Asp Leu Ile Tyr Val His Asn Pro Val Phe Lys Pro Phe Glu Lys		
850	855	860
Pro Val Met Ile Ser Met Gly Asn Glu Asn Val Leu Glu Ile Lys Gly		
865	870	875
Asn Asp Ile Asp Pro Glu Ala Val Lys Gly Glu Val Leu Lys Val Gly		
885	890	895
Asn Lys Ser Cys Glu Asn Ile His Leu His Ser Glu Ala Val Leu Cys		
900	905	910
Thr Val Pro Asn Asp Leu Leu Lys Leu Asn Ser Glu Leu Asn Ile Glu		
915	920	925

Trp Lys Gln Ala Ile Ser Ser Thr Val Leu Gly Lys Val Ile Val Gln
 930 935 940
 Pro Asp Gln Asn Phe Thr Gly Leu Ile Ala Gly Val Val Ser Ile Ser
 945 950 955 960
 Thr Ala Leu Leu Leu Leu Gly Phe Leu Trp Leu Lys Lys Arg
 965 970 975

 Lys Gln Ile Lys Asp Leu Gly Ser Glu Leu Val Arg Tyr Asp Ala Arg
 980 985 990
 Val His Thr Pro His Leu Asp Arg Leu Val Ser Ala Arg Ser Val Ser
 995 1000 1005
 Pro Thr Thr Glu Met Val Ser Asn Glu Ser Val Asp Tyr Arg Ala
 1010 1015 1020
 Thr Phe Pro Glu Asp Gln Phe Pro Asn Ser Ser Gln Asn Gly Ser
 1025 1030 1035

 Cys Arg Gln Val Gln Tyr Pro Leu Thr Asp Met Ser Pro Ile Leu
 1040 1045 1050
 Thr Ser Gly Asp Ser Asp Ile Ser Ser Pro Leu Leu Gln Asn Thr
 1055 1060 1065
 Val His Ile Asp Leu Ser Ala Leu Asn Pro Glu Leu Val Gln Ala
 1070 1075 1080
 Val Gln His Val Val Ile Gly Pro Ser Ser Leu Ile Val His Phe
 1085 1090 1095

 Asn Glu Val Ile Gly Arg Gly His Phe Gly Cys Val Tyr His Gly
 1100 1105 1110
 Thr Leu Leu Asp Asn Asp Gly Lys Lys Ile His Cys Ala Val Lys
 1115 1120 1125
 Ser Leu Asn Arg Ile Thr Asp Ile Gly Glu Val Ser Gln Phe Leu
 1130 1135 1140
 Thr Glu Gly Ile Ile Met Lys Asp Phe Ser His Pro Asn Val Leu
 1145 1150 1155

 Ser Leu Leu Gly Ile Cys Leu Arg Ser Glu Gly Ser Pro Leu Val

1160	1165	1170
Val Leu Pro Tyr Met Lys His	Gly Asp Leu Arg Asn	Phe Ile Arg
1175	1180	1185
Asn Glu Thr His Asn Pro Thr	Val Lys Asp Leu Ile	Gly Phe Gly
1190	1195	1200
Leu Gln Val Ala Lys Gly Met	Lys Tyr Leu Ala Ser	Lys Lys Phe
1205	1210	1215

Val His Arg Asp Leu Ala Ala	Arg Asn Cys Met Leu	Asp Glu Lys
1220	1225	1230
Phe Thr Val Lys Val Ala Asp	Phe Gly Leu Ala Arg	Asp Met Tyr
1235	1240	1245
Asp Lys Glu Tyr Tyr Ser Val	His Asn Lys Thr Gly	Ala Lys Leu
1250	1255	1260
Pro Val Lys Trp Met Ala Leu	Glu Ser Leu Gln Thr	Gln Lys Phe
1265	1270	1275

Thr Thr Lys Ser Asp Val Trp	Ser Phe Gly Val Leu	Leu Trp Glu
1280	1285	1290
Leu Met Thr Arg Gly Ala Pro	Pro Tyr Pro Asp Val	Asn Thr Phe
1295	1300	1305
Asp Ile Thr Val Tyr Leu Leu	Gln Gly Arg Arg Leu	Leu Gln Pro
1310	1315	1320
Glu Tyr Cys Pro Asp Pro Leu	Tyr Glu Val Met Leu	Lys Cys Trp
1325	1330	1335

His Pro Lys Ala Glu Met Arg	Pro Ser Phe Ser Glu	Leu Val Ser
1340	1345	1350
Arg Ile Ser Ala Ile Phe Ser	Thr Phe Ile Gly Glu	His Tyr Val
1355	1360	1365
His Val Asn Ala Thr Tyr Val	Asn Val Lys Cys Val	Ala Pro Tyr
1370	1375	1380
Pro Ser Leu Leu Ser Ser Glu	Asp Asn Ala Asp Asp	Glu Val Asp
1385	1390	1395

Thr Arg Pro Ala Ser Phe Trp Glu Thr Ser

1400 1405

<210> 3

<211> 1382

<212> PRT

<213> Gallus gallus

<400> 3

Met Lys Pro Val Thr Ala Tyr Pro Ser Gly Ile Ile Leu Phe Leu Phe

1 5 10 15

Ala Leu Leu Gln Arg Ser His Gly Gln Cys Lys Glu Ala Ala Lys Lys

20 25 30

Ser Glu Met Asn Leu Asn Val Lys Tyr Asp Leu Pro Asn Phe Ile Thr

35 40 45

Glu Thr Pro Ile Gln Asn Val Val Leu Tyr Lys His His Val Tyr Ile

50 55 60

Gly Ala Val Asn Lys Ile Tyr Val Leu Asn Glu Thr Leu Gln Asn Ile

65 70 75 80

Ser Val Tyr Lys Thr Gly Pro Ile Leu Glu Ser Pro Gly Cys Ala Pro

85 90 95

Cys Glu Asp Cys Lys Asp Lys Ala Asn Leu Ser Asn Ser Val Trp Lys

100 105 110

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

115 120 125

Leu Ile Ser Cys Gly Ser Val Ser Gly Gly Val Cys His Arg His Ile

130 135 140

Ile Pro Pro Asp Asn Pro Ala Asp Ile Glu Ser Glu Val His Cys Met

145 150 155 160

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

165 170 175

Val Ser Thr Leu Gly Thr Lys Val Leu Val Thr Glu Lys Asp Arg Phe

180 185 190

Val Asn Phe Phe Val Gly Asn Thr Met Thr Ser Ala Phe Gln Pro Pro

195	200	205
His Val Leu His Ser Ile Ser Val Arg Arg Leu Lys Glu Thr Gln Asp		
210	215	220
Gly Phe Glu Phe Leu Thr Asp Gln Ser Tyr Ile Asp Ile Leu Pro Gln		
225	230	235
Phe Arg Asp Ser Tyr Pro Ile Lys Tyr Val His Ala Phe Glu His Asp		
245	250	255
His Phe Val Tyr Phe Leu Thr Val Gln Arg Glu Ser Leu Asp Ser Gln		
260	265	270
Thr Phe His Thr Arg Ile Ile Arg Phe Cys Thr Leu Asp Ser Glu Met		
275	280	285
Arg Ser Tyr Met Glu Met Pro Leu Glu Cys Ile Phe Thr Glu Lys Arg		
290	295	300
Arg Lys Arg Ser Ile Arg Lys Glu Val Phe Asn Ile Leu Gln Ala Ala		
305	310	315
Tyr Val Ser Lys Pro Gly Ala Ala Leu Ala His Glu Met Gly Leu Gly		
325	330	335
Leu Ile Asp Asp Ile Leu Tyr Gly Val Phe Ala Gln Thr Asn Gln Ile		
340	345	350
Pro Gln Glu Pro Thr Asn Arg Ser Ala Val Cys Ala Val Ser Val Arg		
355	360	365
Thr Ile Asn Glu Phe Phe Asn Lys Ile Val Asp Lys Gln Asn Met Lys		
370	375	380
Cys Leu Gln His Phe Tyr Gly Lys Asp Ser Lys Tyr Cys Leu Asn Arg		
385	390	395
Ala Phe Ser Arg Asn Ala Ser Tyr Cys Arg Ala Gln Asp Asp Glu Tyr		
405	410	415
Arg Leu Glu Val Thr Thr Pro Leu Gln Arg Val Asp Leu Phe Met Gly		
420	425	430
Gln Phe Asn Asn Ile Leu Leu Thr Ser Ile Ser Val Phe Thr Lys Gly		
435	440	445

Asn Leu Thr Ile Ala Asn Leu Gly Thr Ser Glu Gly Arg Phe Met Gln
 450 455 460
 Ile Val Val Ser Arg Ser Glu Pro Thr Ala Pro His Val Ser Phe Gln
 465 470 475 480
 Leu Asp Ser His Ala Val Ser Pro Gln Val Val Glu Gln Ser Ala
 485 490 495

 Ala Ala Asp Gly Tyr Thr Leu Val Val Thr Gly Lys Lys Ile Thr Lys
 500 505 510
 Val Pro Leu Asn Gly Pro Gly Cys His His Phe Gln Ser Cys Ser Gln
 515 520 525
 Cys Leu Leu Ala Pro Ala Phe Met Arg Cys Gly Trp Cys Gly Gln Gln
 530 535 540
 Cys Leu Arg Ala Pro Glu Cys Asn Gly Gly Thr Trp Thr Gln Glu Thr
 545 550 555 560

 Cys Leu Pro Arg Val Tyr Glu Ile Leu Pro Ser Ser Ala Pro Leu Glu
 565 570 575
 Gly Gly Thr Lys Leu Thr Leu Cys Gly Trp Asp Phe Gly Phe Ser Lys
 580 585 590
 Asn Asn Arg Phe Glu Leu Arg Asn Thr Val Val His Ile Gly Gly Gln
 595 600 605
 Ile Cys Ala Leu Glu Ala Lys Ser Ser Asn Lys Asn Lys Leu Glu Cys
 610 615 620

 Thr Ala Pro Ala Ala Lys Asn Ala Ser Phe Asn Ile Ser Ser Ser Val
 625 630 635 640
 Ser Val Gly His Gly Lys Thr Leu Phe Asn Thr Phe Ser Tyr Val Asn
 645 650 655
 Pro Ile Ile Thr Ser Ile Ser Pro Thr Tyr Gly Pro Lys Ser Gly Gly
 660 665 670
 Thr Leu Leu Thr Ile Ala Gly Lys Tyr Leu Asn Ser Gly Lys Ser Arg
 675 680 685

 Arg Ile Phe Val Gly Glu Lys Pro Cys Ser Leu Lys Ser Thr Ser Glu

690	695	700
Ser Ser Val Glu Cys Tyr Thr Pro Ala Gln Arg Ile Pro Gln Glu Tyr		
705	710	715
Arg Val Arg Val Gly Ile Asp Gly Ala Ile Arg Asp Ala Lys Gly Tyr		
725	730	735
Phe Thr Tyr Arg Glu Asp Pro Val Val Leu Lys Ile His Pro Ala Lys		
740	745	750
Ser Phe Leu Ser Gly Gly Ser Thr Ile Thr Ala Gln Gly Ile Asn Leu		
755	760	765
Asn Ser Val Cys Phe Pro Arg Met Val Ile Thr Val Pro Lys Leu Gly		
770	775	780
Met Asn Phe Ser Val Ala Cys Ser His Arg Ser Ser Ser Glu Ile Ile		
785	790	795
Cys Cys Thr Thr Pro Ser Leu Lys Ala Phe Asn Leu Gln Pro Pro Phe		
805	810	815
Val Thr Lys Val Phe Phe Ile Phe Asp Gly Val Ser Ser Leu Tyr Phe		
820	825	830
Asp Phe Asp Tyr Val Asn Asn Pro Val Phe Lys His Phe Glu Lys Pro		
835	840	845
Val Leu Ile Ser Arg Ser Asn Pro Asn Val Leu Glu Ile Lys Gly Asn		
850	855	860
His Ile Asp Ser Glu Ala Val Lys Gly Glu Val Leu Lys Val Gly Asn		
865	870	875
Lys Ser Cys Glu Asn Leu Leu Leu Gln Ser Glu Thr Ile Leu Cys Thr		
885	890	895
Val Pro Ser Asp Leu Leu Lys Ser Asn Ser Glu Leu Asn Ile Glu Trp		
900	905	910
Lys Gln Glu Val Leu Ser Thr Val Ile Gly Lys Val Leu Ile Arg Gln		
915	920	925
Asp Gln Asn Phe Thr Gly Leu Ile Ala Gly Val Val Ser Thr Ser Val		
930	935	940

Leu Ile Tyr Ile Phe Leu Val Phe Phe Leu Trp Arg Arg Lys Lys Lys
 945 950 955 960

Gln Ile Lys Asp Leu Gly Ser Asp Leu Val Arg Tyr Asp Gly Arg Val
 965 970 975

His Thr Pro His Leu Asp Arg Leu Val Ser Ala Arg Ser Val Ser Pro
 980 985 990

Thr Thr Glu Met Val Ser Ser Glu Ser Val Asp Tyr Arg Ser Thr Phe
 995 1000 1005

Leu Glu Asp Gln Phe Pro Ser Met Ser Gln Asn Gly Ser Cys Arg
 1010 1015 1020

Pro Ala Gln Tyr Pro His Ser Asp Leu Ser Pro Ile Leu Ser Ser
 1025 1030 1035

Gly Asp Ser Asp Leu Ala Ser Pro Leu Leu Gln Thr Asn Val His
 1040 1045 1050

Ile Asp Ile Ser Ala Leu Asn Pro Asp Leu Val Lys Glu Val Gln
 1055 1060 1065

His Val Val Ile Gly Ala Asp Ser Leu Met Val His Phe Ser Glu
 1070 1075 1080

Val Ile Gly Arg Gly His Phe Gly Cys Val Ser His Gly Thr Leu
 1085 1090 1095

Leu Asp Asn Asp Gly Arg Lys Ile His Cys Ala Val Lys Ser Leu
 1100 1105 1110

Asn Arg Ile Thr Asp Leu Glu Glu Val Ala Gln Phe Leu Lys Glu
 1115 1120 1125

Gly Ile Ile Met Lys Asp Phe Thr His Pro Asn Val Leu Ser Leu
 1130 1135 1140

Leu Gly Ile Cys Leu Pro Asn Glu Gly Ser Pro Leu Val Val Leu
 1145 1150 1155

Pro Tyr Met Lys His Gly Asp Leu Arg Asn Phe Ile Arg Asn Glu
 1160 1165 1170

Thr His Asn Pro Thr Val Lys Asp Leu Ile Gly Phe Gly Leu Gln

1175	1180	1185
Val Ala Lys Gly Met Lys Tyr Leu Ala Ser Lys Lys Phe Val His		
1190	1195	1200
Arg Asp Leu Ala Ala Arg Asn Cys Met Leu Asp Glu Lys Phe Thr		
1205	1210	1215
Val Lys Val Ala Asp Phe Gly Leu Ala Arg Asp Val Tyr Asp Lys		
1220	1225	1230
Glu Tyr Tyr Ser Val His Asn Lys Thr Gly Ala Lys Leu Pro Val		
1235	1240	1245
Lys Trp Met Ala Leu Glu Ser Leu Gln Thr Gln Lys Phe Thr Thr		
1250	1255	1260
Lys Ser Asp Val Trp Ser Phe Gly Val Leu Leu Trp Glu Leu Met		
1265	1270	1275
Thr Arg Gly Ala Pro Pro Tyr Pro Asp Val Asn Ser Phe Asp Ile		
1280	1285	1290
Thr Val Tyr Leu Leu Gln Gly Arg Arg Leu Leu Gln Pro Glu Tyr		
1295	1300	1305
Cys Pro Asp Pro Leu Tyr Glu Val Met Leu Lys Cys Trp His Pro		
1310	1315	1320
Lys Pro Glu Met Arg Pro Ala Phe Ser Glu Leu Val Ser Lys Ile		
1325	1330	1335
Ser Thr Ile Phe Ser Thr Phe Ile Gly Glu His Tyr Val His Val		
1340	1345	1350
Asn Ala Thr Tyr Val Asn Val Lys Cys Val Ala Pro Tyr Pro Ser		
1355	1360	1365
Leu Leu Ser Ser Gln Asp Asn Thr Asp Met Asp Val Asp Thr		
1370	1375	1380
<210> 4		
<211> 1379		
<212> PRT		
<213> Mus musculus		

<400> 4

Met Lys Ala Pro Thr Val Leu Ala Pro Gly Ile Leu Val Leu Leu

1

5

10

15

Ser Leu Val Gln Arg Ser His Gly Glu Cys Lys Glu Ala Leu Val Lys

20

25

30

Ser Glu Met Asn Val Asn Met Lys Tyr Gln Leu Pro Asn Phe Thr Ala

35

40

45

Glu Thr Pro Ile Gln Asn Val Val Leu His Gly His His Ile Tyr Leu

50

55

60

Gly Ala Thr Asn Tyr Ile Tyr Val Leu Asn Asp Lys Asp Leu Gln Lys

65

70

75

80

Val Ser Glu Phe Lys Thr Gly Pro Val Leu Glu His Pro Asp Cys Leu

85

90

95

Pro Cys Arg Asp Cys Ser Ser Lys Ala Asn Ser Ser Gly Gly Val Trp

100

105

110

Lys Asp Asn Ile Asn Met Ala Leu Leu Val Asp Thr Tyr Tyr Asp Asp

115

120

125

Gln Leu Ile Ser Cys Gly Ser Val Asn Arg Gly Thr Cys Gln Arg His

130

135

140

Val Leu Pro Pro Asp Asn Ser Ala Asp Ile Gln Ser Glu Val His Cys

145

150

155

160

Met Phe Ser Pro Glu Glu Ser Gly Gln Cys Pro Asp Cys Val Val

165

170

175

Ser Ala Leu Gly Ala Lys Val Leu Leu Ser Glu Lys Asp Arg Phe Ile

180

185

190

Asn Phe Phe Val Gly Asn Thr Ile Asn Ser Ser Tyr Pro Pro Gly Tyr

195

200

205

Ser Leu His Ser Ile Ser Val Arg Arg Leu Lys Glu Thr Gln Asp Gly

210

215

220

Phe Lys Phe Leu Thr Asp Gln Ser Tyr Ile Asp Val Leu Pro Glu Phe

225

230

235

240

Gln Asp Ser Tyr Pro Ile Lys Tyr Ile His Ala Phe Glu Ser Asn His
 245 250 255
 Phe Ile Tyr Phe Leu Thr Val Gln Lys Glu Thr Leu Asp Ala Gln Thr
 260 265 270
 Phe His Thr Arg Ile Ile Arg Phe Cys Ser Val Asp Ser Gly Leu His
 275 280 285
 Ser Tyr Met Glu Met Pro Leu Glu Cys Ile Leu Thr Glu Lys Arg Arg
 290 295 300
 Lys Arg Ser Thr Arg Glu Glu Val Phe Asn Ile Leu Gln Ala Ala Tyr
 305 310 315 320
 Val Ser Lys Pro Gly Ala Asn Leu Ala Lys Gln Ile Gly Ala Ser Pro
 325 330 335
 Ser Asp Asp Ile Leu Phe Gly Val Phe Ala Gln Ser Lys Pro Asp Ser
 340 345 350
 Ala Glu Pro Val Asn Arg Ser Ala Val Cys Ala Phe Pro Ile Lys Tyr
 355 360 365
 Val Asn Asp Phe Phe Asn Lys Ile Val Asn Lys Asn Asn Val Arg Cys
 370 375 380
 Leu Gln His Phe Tyr Gly Pro Asn His Glu His Cys Phe Asn Arg Thr
 385 390 395 400
 Leu Leu Arg Asn Ser Ser Gly Cys Glu Ala Arg Ser Asp Glu Tyr Arg
 405 410 415
 Thr Glu Phe Thr Thr Ala Leu Gln Arg Val Asp Leu Phe Met Gly Arg
 420 425 430
 Leu Asn Gln Val Leu Leu Thr Ser Ile Ser Thr Phe Ile Lys Gly Asp
 435 440 445
 Leu Thr Ile Ala Asn Leu Gly Thr Ser Glu Gly Arg Phe Met Gln Val
 450 455 460
 Val Leu Ser Arg Thr Ala His Leu Thr Pro His Val Asn Phe Leu Leu
 465 470 475 480
 Asp Ser His Pro Val Ser Pro Glu Val Ile Val Glu His Pro Ser Asn

485	490	495
Gln Asn Gly Tyr Thr Leu Val Val Thr Gly Lys Lys Ile Thr Lys Ile		
500	505	510
Pro Leu Asn Gly Leu Gly Cys Gly His Phe Gln Ser Cys Ser Gln Cys		
515	520	525
Leu Ser Ala Pro Tyr Phe Ile Gln Cys Gly Trp Cys His Asn Gln Cys		
530	535	540
Val Arg Phe Asp Glu Cys Pro Ser Gly Thr Trp Thr Gln Glu Ile Cys		
545	550	555
Leu Pro Ala Val Tyr Lys Val Phe Pro Thr Ser Ala Pro Leu Glu Gly		
565	570	575
Gly Thr Val Leu Thr Ile Cys Gly Trp Asp Phe Gly Phe Arg Lys Asn		
580	585	590
Asn Lys Phe Asp Leu Arg Lys Thr Lys Val Leu Leu Gly Asn Glu Ser		
595	600	605
Cys Thr Leu Thr Leu Ser Glu Ser Thr Thr Asn Thr Leu Lys Cys Thr		
610	615	620
Val Gly Pro Ala Met Ser Glu His Phe Asn Val Ser Val Ile Ile Ser		
625	630	635
Asn Ser Arg Glu Thr Thr Gln Tyr Ser Ala Phe Ser Tyr Val Asp Pro		
645	650	655
Val Ile Thr Ser Ile Ser Pro Arg Tyr Gly Pro Gln Ala Gly Gly Thr		
660	665	670
Leu Leu Thr Leu Thr Gly Lys Tyr Leu Asn Ser Gly Asn Ser Arg His		
675	680	685
Ile Ser Ile Gly Gly Lys Thr Cys Thr Leu Lys Ser Val Ser Asp Ser		
690	695	700
Ile Leu Glu Cys Tyr Thr Pro Ala Gln Thr Thr Ser Asp Glu Phe Pro		
705	710	715
Val Lys Leu Lys Ile Asp Leu Ala Asn Arg Glu Thr Ser Ser Phe Ser		
725	730	735

Tyr Arg Glu Asp Pro Val Val Tyr Glu Ile His Pro Thr Lys Ser Phe

740 745 750

Ile Ser Gly Gly Ser Thr Ile Thr Gly Ile Gly Lys Thr Leu Asn Ser

755 760 765

Val Ser Leu Pro Lys Leu Val Ile Asp Val His Glu Val Gly Val Asn

770 775 780

Tyr Thr Val Ala Cys Gln His Arg Ser Asn Ser Glu Ile Ile Cys Cys

785 790 795 800

Thr Thr Pro Ser Leu Lys Gln Leu Gly Leu Gln Leu Pro Leu Lys Thr

805 810 815

Lys Ala Phe Phe Leu Leu Asp Gly Ile Leu Ser Lys His Phe Asp Leu

820 825 830

Thr Tyr Val His Asn Pro Val Phe Glu Pro Phe Glu Lys Pro Val Met

835 840 845

Ile Ser Ile Gly Asn Glu Asn Val Val Glu Ile Lys Gly Asn Asn Ile

850 855 860

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

865 870 875 880

Cys Glu Ser Leu His Trp His Ser Gly Ala Val Leu Cys Thr Val Pro

885 890 895

Ser Asp Leu Leu Lys Leu Asn Ser Glu Leu Asn Ile Glu Trp Lys Gln

900 905 910

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

915 920 925

Asn Phe Ala Gly Leu Ile Ile Gly Ala Val Ser Ile Ser Val Val Val

930 935 940

Leu Leu Leu Ser Gly Leu Phe Leu Trp Met Arg Lys Arg Lys His Lys

945 950 955 960

Asp Leu Gly Ser Glu Leu Val Arg Tyr Asp Ala Arg Val His Thr Pro

965 970 975

His Leu Asp Arg Leu Val Ser Ala Arg Ser Val Ser Pro Thr Thr Glu

980	985	990
Met Val Ser Asn Glu Ser Val Asp Tyr Arg Ala Thr Phe Pro Glu Asp		
995	1000	1005
Gln Phe Pro Asn Ser Ser Gln Asn Gly Ala Cys Arg Gln Val Gln		
1010	1015	1020
Tyr Pro Leu Thr Asp Leu Ser Pro Ile Leu Thr Ser Gly Asp Ser		
1025	1030	1035
Asp Ile Ser Ser Pro Leu Leu Gln Asn Thr Val His Ile Asp Leu		
1040	1045	1050
Ser Ala Leu Asn Pro Glu Leu Val Gln Ala Val Gln His Val Val		
1055	1060	1065
Ile Gly Pro Ser Ser Leu Ile Val His Phe Asn Glu Val Ile Gly		
1070	1075	1080
Arg Gly His Phe Gly Cys Val Tyr His Gly Thr Leu Leu Asp Asn		
1085	1090	1095
Asp Gly Lys Lys Ile His Cys Ala Val Lys Ser Leu Asn Arg Ile		
1100	1105	1110
Thr Asp Ile Glu Glu Val Ser Gln Phe Leu Thr Glu Gly Ile Ile		
1115	1120	1125
Met Lys Asp Phe Ser His Pro Asn Val Leu Ser Leu Leu Gly Ile		
1130	1135	1140
Cys Leu Arg Ser Glu Gly Ser Pro Leu Val Val Leu Pro Tyr Met		
1145	1150	1155
Lys His Gly Asp Leu Arg Asn Phe Ile Arg Asn Glu Thr His Asn		
1160	1165	1170
Pro Thr Val Lys Asp Leu Ile Gly Phe Gly Leu Gln Val Ala Lys		
1175	1180	1185
Gly Met Lys Tyr Leu Ala Ser Lys Lys Phe Val His Arg Asp Leu		
1190	1195	1200
Ala Ala Arg Asn Cys Met Leu Asp Glu Lys Phe Thr Val Lys Val		
1205	1210	1215

Ala Asp Phe Gly Leu Ala Arg Asp Met Tyr Asp Lys Glu Tyr Tyr

1220 1225 1230

Ser Val His Asn Lys Thr Gly Ala Lys Leu Pro Val Lys Trp Met

1235 1240 1245

Ala Leu Glu Ser Leu Gln Thr Gln Lys Phe Thr Thr Lys Ser Asp

1250 1255 1260

Val Trp Ser Phe Gly Val Leu Leu Trp Glu Leu Met Thr Arg Gly

1265 1270 1275

Ala Pro Pro Tyr Pro Asp Val Asn Thr Phe Asp Ile Thr Ile Tyr

1280 1285 1290

Leu Leu Gln Gly Arg Arg Leu Leu Gln Pro Glu Tyr Cys Pro Asp

1295 1300 1305

Ala Leu Tyr Glu Val Met Leu Lys Cys Trp His Pro Lys Ala Glu

1310 1315 1320

Met Arg Pro Ser Phe Ser Glu Leu Val Ser Arg Ile Ser Ser Ile

1325 1330 1335

Phe Ser Thr Phe Ile Gly Glu His Tyr Val His Val Asn Ala Thr

1340 1345 1350

Tyr Val Asn Val Lys Cys Val Ala Pro Tyr Pro Ser Leu Leu Pro

1355 1360 1365

Ser Gln Asp Asn Ile Asp Gly Glu Gly Asn Thr

1370 1375

<210> 5

<211> 354

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide"

<400> 5

cagatccatt tggggcagtc tggacctgag ctgaagaagc ctggagagac agtcaagatc 60

tcctgcaagg cttctggta tacttcaca aacttagaa tgaactgggt gaagcaggct 120

ccagggaaagg gtttaaagtg gatggctgg ataaacacct acactggaga gccaacatat 180

gttgatgact tgaaggacg gttgccttc tctttgaaa cctctgccag cactgcctat 240

ttgcagatca acaaacctaa aatgaggac atggctacat atttctgtgc aaggaaaggg 300

attgcgaggg ctatggacta ctgggtcaa ggaacctcag tcaccgtctc gagt 354

<210> 6

<211> 118

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
polypeptide"

<400> 6

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

1	5	10	15
---	---	----	----

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

20	25	30
----	----	----

Arg Met Asn Trp Val Lys Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Lys Trp Met

35	40	45
----	----	----

Gly Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Val Asp Asp Leu

50	55	60
----	----	----

Lys Gly Arg Phe Ala Phe Ser Leu Glu Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr

65	70	75	80
----	----	----	----

Leu Gln Ile Asn Asn Leu Lys Asn Glu Asp Met Ala Thr Tyr Phe Cys

85	90	95
----	----	----

Ala Arg Lys Gly Ile Ala Arg Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr

100	105	110
-----	-----	-----

Ser Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 7

<211> 339

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
polynucleotide"

<400> 7

aacattgtga tgacacagtc tccatctcc ctgagtgtgt cagcaggaga gatggtcact 60

atgagttgtta agtccagtca gagtctgtta gacagtggaa atcaaaagaa ctactggcc	120
tggtaaccagg agaaaaccagg gcagcctcct caactttga tcttcgggc atccactagg	180
gaatctgggg tccctgatcg cttcacaggc agtggatctg gaaccgattt cactcttacc	240
gtcagcagtg tgcaggctga agacctggca gtttattact gtcagaatga tcatagttat	300
ccgtacacgt tcggaggggg gaccaagctg gaaataaaa	339

<210> 8

<211> 113

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide"

<400> 8

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

1 5 10 15

Glu Met Val Thr Met Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr

65 70 75 80

Val Ser Ser Val Gln Ala Glu Asp Leu Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Asn

85 90 95

Asp His Ser Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile

100 105 110

Lys

<210> 9

<211> 342

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide"

<400> 9

caggatccaac	tgcaacagcc	tggggctgaa	ctggcaaaac	ctggggcctc	agtgaggatg	60
tcctgcaagg	cttctggcta	caccttact	agttactgga	tgcactgggt	aaaacagagg	120
cctggacagg	gtctggaatg	gattggatac	attaatccta	gcagtggta	tattgagaac	180
aatcagaagt	tcaaggacaa	ggccacattg	actgcagaca	aatcctccag	cacagcctac	240
atgcaactga	gcagcctgac	atttgaggac	tctgcagtc	attactgtgc	aagaggacgg	300
tttgcttact	ggggccaagg	gactctggtc	actgtctcga	gt		342

<210> 10

<211> 114

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide"

<400> 10

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Gly Tyr Ile Asn Pro Ser Ser Gly His Ile Glu Asn Asn Gln Lys Phe

50 55 60

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

Ser Ser

<210> 11
 <211> 324
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polynucleotide"

<400> 11
 gatattgtga tgacctagtc tccagcaatc atgtctgcat ctccctggga gaaggtaacc 60
 ttgacactgca gtgcctagtc aagtgttaat tccggctact tgtactggta ccagcagaag 120
 ccagggatct cccccaact ctggatttat agcacatcca acctggcttc tggagtcct 180
 gctcgcttca gtggcagtgg gtctgggacc tcttactctc tcacagtcaa cagcatggag 240
 gctgaagatg ctgccttta ttctgccat cagtggagta gttaccatt cacgttcggc 300

tcggggacca agctggagct gaaa 324

<210> 12
 <211> 108
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 12
 Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ala Ile Met Ser Ala Ser Pro Gly
 1 5 10 15
 Glu Lys Val Thr Leu Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser Ser Gly

20 25 30

Tyr Leu Tyr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Ser Ser Pro Lys Leu Trp

35 40 45

Ile Tyr Ser Thr Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser

50 55 60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Ser Tyr Ser Leu Thr Val Asn Ser Met Glu

65 70 75 80

Ala Glu Asp Ala Ala Ser Tyr Phe Cys His Gln Trp Ser Ser Tyr Pro

85 90 95

Phe Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys

100 105

<210> 13

<211> 354

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide"

<400> 13

caggtgcagc tggtcagtc tggatccgag ctgaagaaac ctggcgctc cgtgaaggta	60
tcctgcagg ctccggcta caccttacc aactccgga tgaactgggt caagcaggcc	120
ccagggcagg gcctgaaatg gatgggctgg atcaacacct acaccggcga gcccacctac	180
gtggacgacc tgaagggcag attcgtttc tccctggaca cctccgtgtc caccgcctac	240

ctgcagatct ccagcctgaa ggccgaggat accggcggt actactgcgc ccggaaggga	300
atcgccagag ccatggatta ttggggccag ggcaccaccc tgacagtctc gagt	354

<210> 14

<211> 118

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide"

<400> 14

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ser Glu Leu 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

Arg Met Asn Trp Val Lys Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Lys Trp Met

35 40 45

Gly Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Val Asp Asp Leu

50 55 60

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

65 70 75 80

Leu Gln Ile Ser Ser Leu Lys Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Lys Gly Ile Ala Arg Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr

100 105 110

Thr Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 15

<211> 339

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide"

<400> 15

gacatcgtga tgaccaggc ccccgactct ctggccgtgt ctctggcgaa gagagccacc 60

atcaactgca agtccctcca gtcctgctg gactccggca accagaagaa ctacctggcc 120

tggtatcagc agaagccccg ccagcctccc aagctgctga tctttggcgc ctccacccgg 180

gaatctggcg tggccgatag attctccggc tccggctctg gcaccgactt taccctgacc 240

atcagctccc tgcaggccga ggatgtggcc gtgtactact gccagaacga ccactctac 300

ccctacacct tcggccaggg caccaagctg gaaatcaag 339

<210> 16

<211> 113

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
polypeptide"

<400> 16

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

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

<210> 17

<211> 342

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
polynucleotide"

<400> 17

cagggtgcagtc tggcgctgaa gtgaagaaac ccggctccctc cgtgaaggtg 60

tcctgcaagg cctccggcta caccttacc agctactgga tgcactgggt gcgacaggcc 120
 cctggacagg gcctggaatg gatgggctac atcaaccct ccagcggcca catcgagaac 180
 aaccagaaat tcaaggaccg cgtgaccatc accgcccaca agtccacctc caccgcctac 240
 atgaaactgt cctccctgcg gagcgaggac accgcgtgt actactgtgc cagaggcaga 300
 ttgcctact gggccaggg caccctcgta acagtctcga gt 342

<210> 18

<211> 114

<212> PRT

<213>

Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
polypeptide"

<400> 18

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 Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr

20 25 30

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

35 40 45

Gly Tyr Ile Asn Pro Ser Ser Gly His Ile Glu Asn Asn Gln Lys Phe

50 55 60

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

100 105 110

Ser Ser

<210> 19

<211> 324

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
polynucleotide"

<400> 19

gagatcgtgc tgacccagtc tcctgccacc ctgtctctga gccctggcga gagagctacc	60
ctgtcctgct ccgcctcctc ctctgtgtcc tccggctacc tgtactggta tcagcagaag	120
cccgccagg cccctcggt gctgatctac tctacacctca acctggcctc eggcatccct	180
gccagattct ccggctctgg ctctggcacc gactttaccc tgaccatctc cagcctggaa	240
cccgaggact tcgcccgtgtta ctactgccac cagtggtcca gtatccccctt cacctttggc	300

tccggcacca agctggaaat caag	324
----------------------------	-----

<210> 20

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
polypeptide"

<400> 20

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 Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser Ser Gly

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys His Gln Trp Ser Ser Tyr Pro

85 90 95

Phe Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

100 105
<210> 21
<211> 8
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"
<400> 21

Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Phe Arg

1 5

<210> 22
<211> 8
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"
<400> 22

Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Pro

1 5

<210> 23
<211> 11
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"
<400> 23

Ala Arg Lys Gly Ile Ala Arg Ala Met Asp Tyr

1 5 10

<210> 24
<211> 12
<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 24

Gln Ser Leu Leu Asp Ser Gly Asn Gln Lys Asn Tyr

1 5 10

<210> 25

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 25

Gly Ala Ser

1

<210> 26

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 26

Gln Asn Asp His Ser Tyr Pro Tyr Thr

1 5

<210> 27

<211>

8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide"

<400> 27

Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr Trp

1 5

<210> 28

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide"

<400> 28

Ile Asn Pro Ser Ser Gly His Ile

1 5

<210> 29

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide"

<400> 29

Ala Arg Gly Arg Phe Ala Tyr

1 5

<210> 30

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide"

<400> 30

Ser Ser Val Ser Ser Gly Tyr

1 5

<210> 31

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide"

<400> 31

Ser Thr Ser

1

<210> 32

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide"

<400> 32

His Gln Trp Ser Ser Tyr Pro Phe Thr

1 5

<210> 33

<211> 220

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide"

<400> 33

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

1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser

20 25 30

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

35	40	45
Pro Pro Lys Leu Leu Ile Phe Gly Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val		
50	55	60
Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr		
65	70	75
Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Asn		
85	90	95
Asp His Ser Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile		
100	105	110
Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp		
115	120	125
Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn		
130	135	140
Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu		
145	150	155
Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp		
165	170	175
Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr		
180	185	190
Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser		
195	200	205
Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys		
210	215	220
<210> 34		
<211> 447		
<212> PRT		
<213> Artificial Sequence		
<220><221> source		
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"		
<400> 34		
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ser Glu Leu 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	
Arg Met Asn Trp Val Lys Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Lys Trp Met			
35	40	45	
Gly Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Val Asp Asp Leu			
50	55	60	
Lys Gly Arg Phe Val Phe Ser Leu Asp Thr Ser Val Ser Thr Ala Tyr			
65	70	75	80
Leu Gln Ile Ser Ser Leu Lys Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys			
85	90	95	
Ala Arg Lys Gly Ile Ala Arg Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr			
100	105	110	
Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro			
115	120	125	
Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly			
130	135	140	
Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn			
145	150	155	160
Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln			
165	170	175	
Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser			
180	185	190	
Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser			
195	200	205	
Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr			
210	215	220	
His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser			
225	230	235	240
Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg			
245	250	255	

Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro

260 265 270

Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala

275 280 285

Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val

290 295 300

Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr

305 310 315 320

Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr

325 330 335

Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu

340 345 350

Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys

355 360 365

Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser

370 375 380

Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp

385 390 395 400

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

405 410 415

Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala

420 425 430

Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly

435 440 445

<210> 35

<211> 215

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide"

<400> 35

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 Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser Ser Gly

20 25 30
Tyr Leu Tyr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu

35 40 45
Ile Tyr Ser Thr Ser Asn Leu Ala Ser Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser

50 55 60
Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu

65 70 75 80
Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys His Gln Trp Ser Ser Tyr Pro

85 90 95
Phe Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala

100 105 110
Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser

115 120 125
Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu

130 135 140
Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser

145 150 155 160
Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu

165 170 175
Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val

180 185 190
Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys

195 200 205
Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210 215
<210> 36

<211> 443

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
polypeptide"

<400> 36

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	Tyr	Thr	Phe	Thr	Ser	Tyr
	20							25						30	

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

Ala	Arg	Gly	Arg	Phe	Ala	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val
100				105									110		
Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Ser
115				120									125		
Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys
130				135									140		
Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu
145				150									155		160

Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu
165				170									175		
Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr
180				185									190		
Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val
195				200									205		
Asp	Lys	Arg	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro

210	215	220													
Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe
225															240
Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val
245															255
Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe
260															270
Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro
275															285
Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr
290															300
Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	
305															320
Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala
325															335
Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg
340															350
Glu	Glu	Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly
355															365
Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro
370															380
Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser
385															400
Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln
405															415
Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His
420															430
Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly					
435															440
<210>	37														
<211>	19														

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 37

Ser Thr Trp Trp Lys Pro Leu Asn Ile Val Ser Phe Leu Phe Cys

1	5	10	15
---	---	----	----

Phe Ala Ser

<210> 38

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 38

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser

1	5	10	15
---	---	----	----

<210> 39

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 39

Gly Lys Pro Ile Pro Asn Pro Leu Leu Gly Leu Asp Ser Thr

1	5	10	
---	---	----	--