



(19) 대한민국특허청(KR)  
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2020년01월20일  
(11) 등록번호 10-2067613  
(24) 등록일자 2020년01월13일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)  
A61K 39/395 (2006.01) A61P 35/00 (2006.01)  
(21) 출원번호 10-2013-0033874  
(22) 출원일자 2013년03월28일  
심사청구일자 2018년03월26일  
(65) 공개번호 10-2014-0118271  
(43) 공개일자 2014년10월08일  
(56) 선행기술조사문헌  
EP02316484 A1\*  
KR1020110124368 A\*  
\*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자  
삼성전자주식회사  
경기도 수원시 영통구 삼성로 129 (매탄동)  
(72) 발명자  
심선희  
대전 유성구 신성남로95번길 9, 301호 (신성동, 가람빌라)  
이정욱  
경기 용인시 기흥구 한보라1로43번길 22, 502동 705호 (보라동, 한보라마을휴먼시아5단지아파트)  
(74) 대리인  
팬코리아특허법인

전체 청구항 수 : 총 16 항

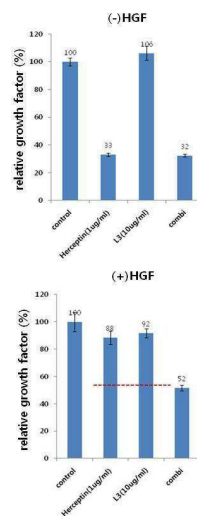
심사관 : 이수정

(54) 발명의 명칭 항 c-Met 항체 및 항 her2 항체를 포함하는 병용 투여용 조성물

(57) 요약

본 발명은 항 c-Met 항체 및 항 her2 항체를 유효성분으로 포함하는 병용 투여용 항암 조성물, 및 혈관 형성 억제용 약학 조성물에 관한 것이다.

대표도 - 도2



## 명세서

### 청구범위

#### 청구항 1

항 c-Met 항체 및 항 her2 항체를 유효성분으로 포함하고,

상기 항 c-Met 항체는,

서열번호 1의 아미노산 서열로 이루어진 폴리펩타이드(CDR-H1), 서열번호 2의 아미노산 서열로 이루어진 폴리펩타이드(CDR-H2), 및 서열번호 3의 아미노산 서열로 이루어진 폴리펩타이드(CDR-H3)를 포함하는 중쇄 가변 영역; 및 서열번호 10의 아미노산 서열로 이루어진 폴리펩타이드(CDR-L1), 서열번호 11의 아미노산 서열로 이루어진 폴리펩타이드(CDR-L2), 및 서열번호 13, 서열번호 14, 서열번호 15, 또는 서열번호 16의 아미노산 서열로 이루어진 폴리펩타이드(CDR-L3)를 포함하는 경쇄 가변 영역, 또는

서열번호 1의 아미노산 서열로 이루어진 폴리펩타이드(CDR-H1), 서열번호 2의 아미노산 서열로 이루어진 폴리펩타이드(CDR-H2), 및 서열번호 3의 아미노산 서열로 이루어진 폴리펩타이드(CDR-H3)를 포함하는 중쇄 가변 영역; 및 서열번호 106의 아미노산 서열로 이루어진 폴리펩타이드(CDR-L1), 서열번호 11의 아미노산 서열로 이루어진 폴리펩타이드(CDR-L2), 및 서열번호 13의 아미노산 서열로 이루어진 폴리펩타이드(CDR-L3)를 포함하는 경쇄 가변 영역

을 포함하는 항체 또는 항원 결합 단편인, 병용 투여용 항암 조성물.

#### 청구항 2

제1항에 있어서,

상기 병용 투여용 약학 조성물은 항 c-Met 항체 및 항 her2 항체가 혼합된 혼합제 형태이거나, 항 c-Met 항체 및 항 her2 항체가 각각 제제화되어 동시적 또는 순차적으로 투여되는 것인,

병용 투여용 항암 조성물.

#### 청구항 3

제1항에 있어서,

상기 항 Her2 항체는 트라스투추맙(Trastuzumab), 페르투추맙(Pertuzumab), 트라스투추맙 엠탄신(Trastuzumab emtansine), 및 이들의 조합으로 이루어진 군에서 선택된 것인,

병용 투여용 항암 조성물.

#### 청구항 4

제3항에 있어서,

상기 항 Her2 항체는 트라스투추맙(Trastuzumab)인,

병용 투여용 항암 조성물.

#### 청구항 5

제1항에 있어서,

상기 항 c-Met 항체는 서열번호 71의 아미노산 서열 내의 서열번호 73의 아미노산 서열(EEPSQ)을 포함하는 연속하는 5 내지 19개의 아미노산으로 이루어진 에피토프에 특이적으로 결합하는 항체 또는 항원 결합 단편인,

병용 투여용 항암 조성물.

#### 청구항 6

제5항에 있어서,

상기 항 c-Met 항체는 서열번호 71, 서열번호 72, 또는 서열번호 73의 아미노산 서열을 갖는 에피토프에 특이적으로 결합하는 항체 또는 항원 결합 단편인,

병용 투여용 항암 조성물.

**청구항 7**

제1항에 있어서, 상기 항 c-Met 항체는,

서열번호 1의 아미노산 서열로 이루어진 폴리펩타이드(CDR-H1), 서열번호 2의 아미노산 서열로 이루어진 폴리펩타이드(CDR-H2), 및 서열번호 3의 아미노산 서열로 이루어진 폴리펩타이드(CDR-H3)를 포함하는 중쇄 가변 영역; 및

서열번호 10의 아미노산 서열로 이루어진 폴리펩타이드(CDR-L1), 서열번호 11의 아미노산 서열로 이루어진 폴리펩타이드(CDR-L2), 및 서열번호 13의 아미노산 서열로 이루어진 폴리펩타이드(CDR-L3)를 포함하는 경쇄 가변 영역

을 포함하는 항체 또는 항원 결합 단편인, 병용 투여용 항암 조성물.

**청구항 8**

삭제

**청구항 9**

삭제

**청구항 10**

제7항에 있어서, 상기 항 c-Met 항체는,

서열번호 17의 아미노산 서열을 갖는 중쇄 가변 영역, 및

서열번호 18, 서열번호 19, 서열번호 20, 서열번호 21, 또는 서열번호 107의 아미노산 서열을 갖는 경쇄 가변 영역

을 포함하는 것인, 병용 투여용 항암 조성물.

**청구항 11**

제7항에 있어서,

상기 항 c-Met 항체는 서열번호 62의 아미노산 서열, 서열번호 62의 18번째부터 462번째까지의 아미노산 서열, 서열번호 64의 아미노산 서열, 서열번호 64의 18번째부터 461번째까지의 아미노산 서열, 서열번호 66의 아미노산 서열, 및 서열번호 66의 18번째부터 460번째까지의 아미노산 서열로 이루어진 군에서 선택된 아미노산 서열을 갖는 중쇄 및 서열번호 68의 아미노산 서열, 서열번호 68의 21번째부터 240번째까지의 아미노산 서열, 서열번호 70의 아미노산 서열, 서열번호 70의 21번째부터 240번째까지의 아미노산 서열, 및 서열번호 108의 아미노산 서열로 이루어진 군에서 선택된 아미노산 서열을 갖는 경쇄로 이루어진 항체인,

병용 투여용 항암 조성물.

**청구항 12**

삭제

**청구항 13**

제1항 내지 제7항, 제10항, 및 제11항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 항 c-Met 항체는 단일클론항체인,

병용 투여용 항암 조성물.

**청구항 14**

제1항 내지 제7항, 제10항, 및 제11항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 항 c-Met 항체는 마우스 유래 항체, 마우스-인간 키메라 항체 또는 인간화 항체인,

병용 투여용 항암 조성물.

**청구항 15**

제1항 내지 제7항, 제10항, 및 제11항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 항 c-Met 항체는 scFv, (scFv)<sub>2</sub>, Fab, Fab' 및 F(ab')<sub>2</sub>로 이루어진 군에서 선택되는 항원 결합 단편인,

병용 투여용 항암 조성물.

**청구항 16**

제1항 내지 제7항, 제10항, 및 제11항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 암은 편평상피세포암, 소세포폐암, 비소세포폐암, 폐의 선암, 폐의 편평상피암, 복막암, 피부암, 피부 또는 안구내 흑색종, 직장암, 항문부근암, 식도암, 소장암, 내분비선암, 부갑상선암, 부신암, 연조직 육종, 요도암, 만성 또는 급성 백혈병, 림프구 림프종, 간세포암, 위장암, 췌장암, 교아종, 경부암, 난소암, 방광암, 간종양, 유방암, 결장암, 대장암, 자궁내막암, 자궁암, 침샘암, 신장암, 간암, 전립선암, 음문암, 갑상선암, 및 두경부암으로 이루어진 군에서 선택된 것인,

병용 투여용 항암 조성물.

**청구항 17**

제1항 내지 제7항, 제10항, 및 제11항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 조성물은 암 세포의 성장 또는 전이를 억제하는 것인, 병용 투여용 항암 조성물.

**청구항 18**

항 c-Met 항체 및 항 her2 항체를 유효성분으로 포함하고,

상기 항 c-Met 항체는,

서열번호 1의 아미노산 서열로 이루어진 폴리펩타이드(CDR-H1), 서열번호 2의 아미노산 서열로 이루어진 폴리펩타이드(CDR-H2), 및 서열번호 3의 아미노산 서열로 이루어진 폴리펩타이드(CDR-H3)를 포함하는 중쇄 가변 영역; 및 서열번호 10의 아미노산 서열로 이루어진 폴리펩타이드(CDR-L1), 서열번호 11의 아미노산 서열로 이루어진 폴리펩타이드(CDR-L2), 및 서열번호 13, 서열번호 14, 서열번호 15, 또는 서열번호 16의 아미노산 서열로 이루어진 폴리펩타이드(CDR-L3)를 포함하는 경쇄 가변 영역, 또는

서열번호 1의 아미노산 서열로 이루어진 폴리펩타이드(CDR-H1), 서열번호 2의 아미노산 서열로 이루어진 폴리펩타이드(CDR-H2), 및 서열번호 3의 아미노산 서열로 이루어진 폴리펩타이드(CDR-H3)를 포함하는 중쇄 가변 영역; 및 서열번호 106의 아미노산 서열로 이루어진 폴리펩타이드(CDR-L1), 서열번호 11의 아미노산 서열로 이루어진 폴리펩타이드(CDR-L2), 및 서열번호 13의 아미노산 서열로 이루어진 폴리펩타이드(CDR-L3)를 포함하는 경쇄 가변 영역

을 포함하는 항체 또는 항원 결합 단편인, 혈관 형성 억제용 약학 조성물.

**청구항 19**

제18항에 있어서,

상기 병용 투여용 약학 조성물은 항 c-Met 항체 및 항 her2 항체가 혼합된 혼합제 형태이거나, 항 c-Met 항체 및 항 her2 항체가 각각 제제화되어 동시적 또는 순차적으로 투여되는 것인, 혈관 형성 억제용 약학 조성물.

**발명의 설명**

**기술 분야**

[0001] 항 c-Met 항체 및 항 her2 항체를 유효성분으로 포함하는 병용 투여용 항암 조성물, 및 혈관 형성 억제용 약학 조성물에 관한 것이다.

**배경 기술**

[0002] c-Met은 세포 표면에 존재하는 대표적인 수용체 타이로신 카이네이스로, 리간드인 간세포 성장인자(Hepatocyte Growth Factor; HGF)와 결합하여 세포 내 신호전달을 촉진시켜 세포의 성장을 촉진할 뿐 아니라 암세포에 과발현되어 암 발생, 암 전이, 암세포 이동, 암세포 침투, 신생 혈관 형성 등 여러 가지 기작에 광범위하게 관여한다. 특히 뇌암 등의 다양한 고형암에서 과발현 되어 암의 침윤과 전이에 직접적으로 관여하는 것으로 알려져 있으며, 최근 c-Met의 과발현으로 인해 기존 치료제에 저항성을 보인다는 연구가 활발히 보고 되고 있어 c-Met은 병용치료에 있어서 중요한 타겟으로 대두되고 있다.

[0003] HER2 (Human Epidermal growth factor Receptor 2 protein) 는 세포 증식 및 분화를 조절하는 데 필수적인 역할을 하는 것으로 알려져 있다. 구체적으로 세포 외 성장 인자가 결합하면 다른 HER 수용체와 함께 동형- 및/또는 이형이합체로 조립되는 강한 경향성을 갖고, 이는 다양한 형태의 신호 전달 경로 활성화를 초래하여, 세포자멸, 생존, 또는 세포 증식을 유도한다.

[0004] 항 HER2 항체 중 huMAb4D5-8, rhuMAb HER2, 트라스투주맙, 또는 HERCEPTIN® (US 5,821,337)로 칭해지는 재조합 인간화 버전은 광범위한 사전 항암 치료를 받은 ErbB2-과발현 전이성 유방암 환자에서 임상적으로 활성이며 (Baselga et al., J. Clin. Oncol. 14:737-744 (1996)), 허셉틴(HERCEPTIN®)은 ErbB2 단백질을 과발현하는 전이성 유방암 환자의 치료용으로 1998 년도에 판매 허가를 받았다. 이처럼 유방암중에서 허셉틴의 치료 효능이 증명되었음에도 불구하고, 이는 종양이 HER2를 과발현하는 30 % 의 유방암 환자에만 엄격히 한정되어 승인되었다. 그 외 70 % 의 유방암 환자가 트라스투주맙에 대해 반응하지 않거나 불충분하게 반응하는 이유는, 이들의 개별적 종양이 HER2 를 과발현하지 않거나, 발현함에도 불구하고 허셉틴에 resistance를 보이기 때문이다. 따라서 HER2를 저발현하거나 또는 과발현이 없어진 종양에서 항-HER2 mAb 가 비효율적이라는 한계가 있다.

[0005] 기존의 병용치료 전략은 화합물과 화합물 조합, 또는 화합물과 항체 약물(drug) 조합의 방식이 주를 이루는데 부작용을 최소화 하고, 암세포내의 특정 분자만을 억제(inhibition)하기 위해 항체 약물과의 병용이 시도되고 있다. 하지만 두 개 항체의 병용치료는 기대만큼 큰 항암효과를 보이지 못하고 있으며, 현재 임상에서 진행되고 있는 항체 조합은 대장암(colorectal cancer)에서의 Erbitux®와 Avastin®, 유방암(breast cancer)에서 Herceptin®과 Perjeta™등이 대표적 예이다. 유방암에서의 Herceptin®과 Perjeta™조합은 상당히 긍정적인 결과를 이끌어냈으나, Erbitux®와 Avastin®조합은 기대만큼 좋은 항암효과를 보이지 못했다. 또한 FDA에서 승인된 항체 약물은 그 종류가 적어 조합의 수도 적을뿐더러 조합을 하더라도 뚜렷한 COMBINATION EFFECT를 보이기 어렵다.

**발명의 내용**

**해결하려는 과제**

[0006] 일 예는 암세포내의 특정 분자만을 억제(inhibition)하기 위한 항체 약물간의 병용 요법에 있어서, 항암 시너지 효과, 구체적으로 암 세포의 성장 및 암의 전이 억제 효과가 뛰어난 항암 조성물을 제공한다.

[0007] 또 다른 예는 혈관 형성 인자의 감소를 통해 항암 효과를 더욱 높일 수 있는 혈관 형성 억제용 조성물을 제공한다.

[0008] 상기 항암 조성물 및 혈관 형성 억제용 약학 조성물은 각각의 항체를 단독으로 투여할 경우에 비해 HGF 저발현 상태는 물론이고 고발현 상태에서도 효과적으로 암 세포의 성장과 전이를 동시에 억제함으로써 현저한 항암 시너지 효과를 달성할 수 있으며, 나아가 혈관 형성 인자의 감소 측면에서도 우수한 효과를 달성할 수 있어 암 세포의 혈관 형성 억제를 통한 항암 효과를 한층 더 높일 수 있다.

**과제의 해결 수단**

- [0009] 항 c-Met 항체와 항 Her2 항체를 병용 투여함으로써 각각의 항체를 단독으로 투여할 경우에 비해 HGF 저발현 상태는 물론이고 고발현 상태에서도 효과적으로 암 세포의 성장과 전이를 동시에 억제함으로써 현저한 항암 시너지 효과를 달성할 수 있음을 확인하였다.
- [0010] 이에 따라 상술한 바와 같이 기존의 항 Her2 항체가 가지고 있던 한계인, 저수준의 또는 유의하지 않은 HGF 를 발현하는 암 및 종양 조직에만 효과가 있었던 문제점을 효과적으로 해결할 수 있을 뿐 아니라, 나아가 상기 병용 투여를 통한 항암 시너지 효과와 더불어 혈관신생 유발전구인자(pro-angiogenic factors)의 감소 측면에서도 우수한 효과를 달성할 수 있어 암 세포의 신생 혈관 형성 억제를 통한 항암 효과를 한층 더 높일 수 있음을 확인하여 본 발명을 완성하게 되었다.
- [0011] 따라서 본 발명은 HGF가 저발현되는 상태의 환자들은 물론이고, 나아가 기존의 항암제로는 치료가 어려웠던 HGF가 과발현되는 상태의 환자들에게 특히 유용한 항암 시너지 효과를 발휘할 수 있는 병용 치료법을 제시할 수 있다. 즉, 본 발명의 바람직한 일 구현예에 따른 약학 조성물은 항 Her2 항체에 민감한 세포라도 HGF에 의한 획득 저항성(acquired resistance)이 생긴 경우에 항 c-Met 항체와의 병용 치료를 통해 크게 증진된 항암 억제 효과를 얻을 수 있어 매우 유용하다.
- [0012] 또한 이와 같은 병용 요법은 각각의 항체를 단독으로 투여할 때보다 항암제의 투여량(Dose)을 감소시킬 수 있어 부작용을 최소화하고 환자의 편의를 높일 수 있다.
- [0013] 이에, 본 발명의 일 구체예는 항 c-Met 항체 및 항 Her2 항체를 유효성분으로 포함하는 병용 투여용 항암 조성물을 제공한다.
- [0014] 상기 항암 조성물은 바람직하게는 암 세포의 성장 및/또는 전이를 억제하는 것일 수 있다. 구체적으로 HGF가 존재하는 경우 암 세포의 이동(migration)이 증가하게 되는데, 상기 두 가지 항체의 병용 처리를 통해 상기 암세포 이동을 억제할 수 있으므로 암의 전이 억제 효과가 뛰어나다.
- [0015] 또한, 항 c-Met 항체 및 항 Her2 항체의 병용 처리에 의해 변화되는 유전자(gene)들이 확인되었으며(실시예 4 참조), 이들 유전자 중 일부는 단백질 수준에서도 동일하게 변화되는 것으로 확인되었다(실시예 5 참조). 이와 같은 유전자 및 단백질의 대표적인 예로서 IL-8를 들 수 있다. IL-8은 VEGF와 더불어 강력한 혈관신생 유발전구인자(pro-angiogenic factors)로서 종양 미세환경(tumor microenvironment)에서 신생 혈관 형성(angiogenesis) 억제에 영향을 줄 수 있다. 더욱이 상기 병용 투여용 조성물은 혈관신생 유발전구인자(pro-angiogenic factors)를 HGF 과발현 상태에서도 HGF 저발현 상태에서의 레벨과 동등한 수준으로 감소시킬 수 있어 신생혈관 형성 억제 효과가 매우 뛰어나다.
- [0016] 상기 혈관신생 유발전구인자는 IL-8, uPAR, VEGF, Angiopoietin, IL-6(Interleukin 6) 및 FGF로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상일 수 있으며, 바람직하게는 그 중에서도 특히 유전자 수준과 동일한 정도의 단백질 수준 변화를 나타내는 IL-8(Interleukin 8), 또는 uPAR(Urinary-type plasminogen activator receptor)일 수 있다. 따라서 상기 IL-8 또는 uPAR을 항 c-Met 항체 및 항 Her2 항체의 병용 처리 효과를 탐지(detection)할 수 있는 혈청 내 바이오마커로서 활용할 수 있다.
- [0017] 이에 다른 구체예는 항 c-Met 항체 및 항 Her2 항체를 유효성분으로 포함하는 혈관 형성 억제용 약학 조성물을 제공한다.
- [0018] 일 구체예에서, 상기 병용 투여용 항암 조성물 및 혈관형성 억제용 약학 조성물은 항 c-Met 항체의 유효량 및 항 Her2 항체의 유효량을 혼합하여 혼합제로 제제화하여 동시에 투여하기 위한 것일 수 있다.
- [0019] 다른 구체예에서, 상기 병용 투여용 항암 조성물 및 혈관형성 억제용 약학 조성물은 항 c-Met 항체 및 항 Her2 항체가 각각 제제화되어 동시적 또는 순차적으로 투여되는 것일 수 있다. 이 경우, 상기 병용 투여용 항암 조성물 및 혈관형성 억제용 약학 조성물은 유효 성분으로 항 c-Met 항체의 유효량을 포함하는 제1 약학 조성물 및 유효성분으로 항 Her2 항체의 유효량을 포함하는 제2 약학 조성물을 포함하는 동시적 또는 순차적 투여를 위한 약학 조성물일 수 있다. 순차적 투여의 경우 그 투여 순서는 서로 바뀌어도 무방하다.
- [0020] 다른 예는 유효 성분으로 항 c-Met 항체의 유효량을 포함하는 제1 약학 조성물, 유효성분으로 항 Her2 항체의 유효량을 포함하는 제2 약학 조성물, 및 포장 용기를 포함하는, 암의 예방 및/또는 치료용 키트를 제공한다.

- [0021] 또 다른 예는 유효 성분으로 항 c-Met 항체의 유효량을 포함하는 제1 약학 조성물, 유효성분으로 항 Her2 항체의 유효량을 포함하는 제2 약학 조성물, 및 포장 용기를 포함하는, 혈관 형성 억제용 키트를 제공한다.
- [0022] 상기 항암 조성물이 적용될 수 있는 암은, 이에 제한되지 않지만, 편평상피세포암, 소세포폐암, 비소세포폐암, 폐의 선암, 폐의 편평상피암 등의 폐암, 복막암, 피부암, 피부 또는 안구내 흑색종, 직장암, 항문부근암, 식도암, 소장암, 내분비선암, 부갑상선암, 부신암, 연조직 육종, 요도암, 만성 또는 급성 백혈병, 림프구 림프종, 간세포암, 위암, 췌장암, 교아종, 경부암, 난소암, 방광암, 간종양, 유방암, 결장암, 대장암, 자궁내막 또는 자궁암, 침샘암, 신장암, 간암, 전립선암, 음문암, 갑상선암, 두경부암 등으로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상일 수 있으며, 바람직하게는 위암, 폐암, 또는 유방암일 수 있다.
- [0023] 또한 바람직하게는 상기 혈관 형성 억제용 약학 조성물은 상술한 암의 세포의 혈관 형성을 억제하기 위한 것일 수 있다.
- [0024] 상기 약학적 유효량은 목적하는 효과, 예컨대 암 세포의 성장 및 전이 억제를 모두 포함하는 항암 효과, 또는 혈관 형성 인자의 감소 및 이를 통한 혈관 형성 억제 효과를 얻기 위하여 필요한 투여량을 의미하는 것으로, 목적하는 효과, 질병 또는 증상의 종류 및 경중, 환자의 상태, 투여 경로, 제형 형태 등에 따라서 적절하게 처방될 수 있다.
- [0025] 상기 병용 투여용 항암 조성물 및 상기 혈관 형성 억제용 약학 조성물에 사용되는 항 c-Met 항체는 별도의 언급이 없는 한, 항체 또는 항원 결합 단편을 의미하는 것으로 사용된다. 상기 항 c-Met 항체는 바람직하게는 c-Met의 특정 부위, 예컨대 SEMA 도메인 내의 특정 부위를 에피토프로 인식하는 것일 수 있으며, c-Met에 작용하여 세포내이동(internalization) 및 분해(degradation)를 유도하는 모든 항체 또는 그 항원 결합 단편일 수 있다.
- [0026] HGF(Hepatocyte growth factor)의 수용체인 c-Met은 세포의 부위, 막투과 부위, 세포내 부위의 세 부분으로 구분되며, 세포의 부위의 경우, 이황화 결합에 의해  $\alpha$ -소단위체와  $\beta$ -소단위체가 연결된 형태로 HGF 결합 도메인인 SEMA 도메인, PSI 도메인(plexin-semaphorins-integrin homology domain) 및 IPT 도메인(immunoglobulin-like fold shared by plexins and transcriptional factors domain)으로 이루어진다. c-Met 단백질의 SEMA 도메인은 서열번호 79의 아미노산 서열을 갖는 것일 수 있으며, c-Met의 세포의 부위에 존재하는 도메인으로서, HGF가 결합하는 부위에 해당한다. SEMA 도메인 중에서 특정 부위, 예컨대, 106번째부터 124번째까지에 해당하는 서열번호 71의 아미노산 서열을 갖는 영역은 c-Met 단백질의 SEMA 도메인 내의 에피토프 중 2번과 3번 프로펠러 도메인 사이의 루프(loop) 부위에 해당하며, 본 발명에서 제안되는 항 c-Met 항체의 에피토프로 작용할 수 있다.
- [0027] 용어, "에피토프(epitope)"는 항원 결정 부위(antigenic determinant)로서, 항체에 의해 인지되는 항원의 일부분을 의미하는 것으로 해석된다. 일 구체예에 따르면, 상기 에피토프는 c-Met 단백질의 SEMA 도메인(서열번호 79) 내의 연속하는 5개 이상의 아미노산을 포함하는 부위, 예컨대, c-Met 단백질의 SEMA 도메인(서열번호 79) 내의 106번째부터 124번째까지에 해당하는 서열번호 71 내에 위치하는 연속하는 5개 내지 19개의 아미노산을 포함하는 것일 수 있다. 예컨대, 상기 에피토프는 서열번호 71의 아미노산 서열 중 서열번호 73(EEPSQ)을 포함하여 연속하는 5 내지 19개의 아미노산으로 이루어진 것일 수 있으며, 예컨대, 서열번호 71, 서열번호 72 또는 서열번호 73의 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드일 수 있다.
- [0028] 상기 서열번호 72의 아미노산 서열을 갖는 에피토프는 c-Met 단백질의 SEMA 도메인 내의 2번과 3번 프로펠러 구조의 도메인 사이의 루프 부위 중 가장 바깥으로 위치한 부위에 해당하며, 상기 서열번호 73의 아미노산 서열을 갖는 에피토프는 일 구체예에 따른 항체 또는 항원 결합 단편이 가장 특이적으로 결합하는 부위이다.
- [0029] 따라서, 항 c-Met 항체는 서열번호 서열번호 71의 아미노산 서열 중 서열번호 73(EEPSQ)을 포함하는 연속하는 5 내지 19개의 아미노산을 포함하는 에피토프에 특이적으로 결합하는 것일 수 있으며, 예컨대, 서열번호 71, 서열번호 72, 또는 서열번호 73의 아미노산 서열을 갖는 에피토프에 특이적으로 결합하는 항체 또는 항원 결합 단편일 수 있다.
- [0030] 일 구체예에 따르면, 상기 항 c-Met 항체는,
- [0031] 서열번호 4의 아미노산 서열을 갖는 CDR-H1, 서열번호 5의 아미노산 서열, 서열번호 2의 아미노산 서열, 또는 서열번호 2의 아미노산 서열 내의 3번째부터 10번째까지의 아미노산을 포함하는 연속하는 8 내지 19개의 아미노산으로 이루어진 아미노산 서열을 갖는 CDR-H2, 및 서열번호 6의 아미노산 서열, 서열번호 85의 아미노산 서열

또는 서열번호 85의 아미노산 서열 내의 1번째부터 6번째까지의 아미노산을 포함하는 연속하는 6 내지 13개의 아미노산으로 이루어진 아미노산 서열을 갖는 CDR-H3으로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상의 중쇄 상보성 결정 영역(CDR)의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역; 및

- [0032] 서열번호 7의 아미노산 서열의 아미노산 서열을 갖는 CDR-L1, 서열번호 8의 아미노산 서열을 갖는 CDR-L2, 및 서열번호 9의 아미노산 서열, 또는 서열번호 86의 아미노산 서열, 또는 서열번호 89의 아미노산 서열 내의 1번째부터 9번째까지의 아미노산을 포함하는 9 내지 17개의 아미노산으로 이루어진 아미노산 서열을 갖는 CDR-L3으로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상의 경쇄 상보성 결정 영역의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역
- [0033] 을 포함하고,
- [0034] 상기 서열번호 4 내지 서열번호 9는 각각 하기 일반식 I 내지 일반식 VI으로 표시되는 아미노산 서열인 항체 또는 항원 결합 단편일 수 있다:
- [0035] 일반식 I
- [0036] Xaa<sub>1</sub>-Xaa<sub>2</sub>-Tyr-Tyr-Met-Ser (서열번호 4),
- [0037] 일반식 II
- [0038] Arg-Asn-Xaa<sub>3</sub>-Xaa<sub>4</sub>-Asn-Gly-Xaa<sub>5</sub>-Thr (서열번호 5),
- [0039] 일반식 III
- [0040] Asp-Asn-Trp-Leu-Xaa<sub>6</sub>-Tyr (서열번호 6),
- [0041] 일반식 IV
- [0042] Lys-Ser-Ser-Xaa<sub>7</sub>-Ser-Leu-Leu-Ala-Xaa<sub>8</sub>-Gly-Asn-Xaa<sub>9</sub>-Xaa<sub>10</sub>-Asn-Tyr-Leu-Ala (서열번호 7)
- [0043] 일반식 V
- [0044] Trp-Xaa<sub>11</sub>-Ser-Xaa<sub>12</sub>-Arg-Val-Xaa<sub>13</sub> (서열번호 8)
- [0045] 일반식 VI
- [0046] Xaa<sub>14</sub>-Gln-Ser-Tyr-Ser-Xaa<sub>15</sub>-Pro-Xaa<sub>16</sub>-Thr (서열번호 9)
- [0047] 상기 일반식 I에서, Xaa<sub>1</sub>은 존재하지 않거나 Pro 또는 Ser이고, Xaa<sub>2</sub>는 Glu 또는 Asp이며,
- [0048] 상기 일반식 II에서, Xaa<sub>3</sub>은 Asn 또는 Lys이며, Xaa<sub>4</sub>는 Ala 또는 Val이고, Xaa<sub>5</sub>는 Asn 또는 Thr이며,
- [0049] 상기 일반식 III에서, Xaa<sub>6</sub>은 Ser 또는 Thr이고,
- [0050] 상기 일반식 IV에서, Xaa<sub>7</sub>은 His, Arg, Gln 또는 Lys이고, Xaa<sub>8</sub>은 Ser 또는 Trp이고, Xaa<sub>9</sub>은 His 또는 Gln이며, Xaa<sub>10</sub>는 Lys 또는 Asn이고,
- [0051] 상기 일반식 V에서, Xaa<sub>11</sub>은 Ala 또는 Gly이며, Xaa<sub>12</sub>은 Thr 또는 Lys이고, Xaa<sub>13</sub>는 Ser 또는 Pro이며,
- [0052] 상기 일반식 VI에서, Xaa<sub>14</sub>은 Gly, Ala 또는 Gln이고, Xaa<sub>15</sub>는 Arg, His, Ser, Ala, Gly 또는 Lys이며, Xaa<sub>16</sub>는 Leu, Tyr, Phe 또는 Met이다.
- [0053] 일 구체예에서, 상기 CDR-H1은 서열번호 1, 서열번호 22, 서열번호 23 및 서열번호 24로 이루어진 군에서 선택된 아미노산 서열을 갖는 것일 수 있다. 상기 CDR-H2는 서열번호 2, 서열번호 25, 및 서열번호 26으로 이루어진 군에서 선택된 아미노산 서열을 갖는 것일 수 있다. 상기 CDR-H3는 서열번호 3, 서열번호 27, 서열번호 28, 및 서열번호 85로 이루어진 군에서 선택된 아미노산 서열을 갖는 것일 수 있다.
- [0054] 상기 CDR-L1은 서열번호 10, 서열번호 29, 서열번호 30, 서열번호 31, 서열번호 32, 서열번호 33 및 서열번호 106으로 이루어진 군에서 선택된 아미노산 서열을 갖는 것일 수 있다. 상기 CDR-L2는 서열번호 11, 서열번호 34, 서열번호 35, 및 서열번호 36으로 이루어진 군에서 선택된 아미노산 서열을 갖는 것일 수 있다. 상기 CDR-L3은 서열번호 12, 서열번호 13, 서열번호 14, 서열번호 15, 서열번호 16, 서열번호 37, 서열번호 86, 및 서열



번호 89로 이루어진 군에서 선택된 아미노산 서열을 갖는 것일 수 있다.

- [0055] 일 구체예에서, 상기 항체 또는 항원 결합 단편은 서열번호 1, 서열번호 22, 서열번호 23 및 서열번호 24로 이루어진 군에서 선택된 아미노산 서열을 갖는 폴리펩타이드(CDR-H1), 서열번호 2, 서열번호 25, 및 서열번호 26으로 이루어진 군에서 선택된 아미노산 서열을 갖는 폴리펩타이드(CDR-H2), 및 서열번호 3, 서열번호 27, 서열번호 28, 및 서열번호 85으로 이루어진 군에서 선택된 아미노산 서열을 갖는 폴리펩타이드(CDR-H3)를 포함하는 중쇄 가변 영역; 및 서열번호 10, 서열번호 29, 서열번호 30, 서열번호 31, 서열번호 32, 서열번호 33 및 서열번호 106으로 이루어진 군에서 선택된 아미노산 서열을 갖는 폴리펩타이드(CDR-L1), 서열번호 11, 서열번호 34, 서열번호 35, 및 서열번호 36으로 이루어진 군에서 선택된 아미노산 서열을 갖는 폴리펩타이드(CDR-L2), 및 서열번호 12, 서열번호 13, 서열번호 14, 서열번호 15, 서열번호 16, 서열번호 37, 서열번호 86, 및 서열번호 89로 이루어진 군에서 선택된 아미노산 서열을 갖는 폴리펩타이드(CDR-L3)를 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는 것일 수 있다.
- [0056] 일 구체예에 따르면, 항 c-Met 항체의 항원 결합 부위는 서열번호 17, 서열번호 74, 서열번호 87, 서열번호 90, 서열번호 91, 서열번호 92, 서열번호 93 또는 서열번호 94의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역과, 서열번호 18, 서열번호 19, 서열번호 20, 서열번호 21, 서열번호 75, 서열번호 88, 서열번호 95, 서열번호 96, 서열번호 97, 서열번호 98, 서열번호 99 또는 서열번호 107의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는 것일 수 있다.
- [0057] 앞서 설명한 바와 같이, "c-Met" 또는 "c-Met 단백질"은 간세포 성장 인자와 결합하는 수용체 티로신 키나제를 의미한다. 상기 c-Met은 인간, 원숭이, 마우스, 및 래트로 이루어진 군으로부터 선택되는 c-Met으로부터 유래된 것일 수 있다. 상기 단백질은 예컨대, GenBank Accession Number NM\_000245에 제공된 뉴클레오타이드 서열에 의해 암호화된 폴리펩타이드, 또는 GenBank Accession Number NP\_000236에 제공된 폴리펩타이드 서열에 의해 암호화된 단백질, 또는 그의 세포의 도메인을 포함한다. 수용체 티로신 키나제 c-Met은 예컨대, 암발생, 암전이, 암세포 이동, 암세포 침투, 신생혈관 생성 과정 등의 여러 가지 기작에 관여한다.
- [0058] 원하는 항원을 피면역 동물에게 면역시켜 생산하는 동물 유래 항체는 일반적으로 치료 목적으로 인간에 투여 시면역거부반응이 일어날 수 있으며, 이러한 면역거부반응을 억제하고자 키메라 항체(chimeric antibody)가 개발되었다. 키메라 항체는 유전공학적 방법을 이용하여 항-아이소타입(anti-isotype) 반응의 원인이 되는 동물 유래 항체의 불변 영역을 인간 항체의 불변 영역으로 치환한 것이다. 키메라 항체는 동물 유래 항체에 비하여 항-아이소타입 반응에 있어서 상당 부분 개선되었으나, 여전히 동물 유래 아미노산들이 가변 영역에 존재하고 있어 잠재적인 항-이디오타입(anti-idiotypic) 반응에 대한 부작용을 내포하고 있다. 이러한 부작용을 개선하고자 개발된 것이 인간화 항체(humanized antibody)이다. 이는 키메라 항체의 가변 영역 중 항원의 결합에 중요한 역할을 하는 CDR(complementarity determining regions) 부위를 인간 항체 골격(framework)에 이식하여 제작된다.
- [0059] 인간화 항체를 제작하기 위한 CDR 이식(grafting) 기술에 있어서 가장 중요한 것은 동물 유래 항체의 CDR 부위를 가장 잘 받아들일 수 있는 최적화된 인간 항체를 선정하는 것이며, 이를 위하여 항체 데이터베이스의 활용, 결정구조(crystal structure)의 분석, 분자모델링 기술 등이 활용된다. 그러나, 최적화된 인간 항체 골격에 동물 유래 항체의 CDR 부위를 이식할지라도 동물 유래 항체의 골격에 위치하면서 항원 결합에 영향을 미치는 아미노산이 존재하는 경우가 있기 때문에, 항원 결합력이 보존되지 못하는 경우가 상당수 존재하므로, 항원 결합력을 복원하기 위한 추가적인 항체 공학 기술의 적용은 필수적이라고 할 수 있다.
- [0060] 일 구체예에 따르면, 상기 항체는 마우스 유래 항체, 마우스-인간 키메라 항체 또는 인간화 항체일 수 있다.
- [0061] 일 구체예에 따르면, 상기 항체는 단일클론항체일 수 있다. 상기 단일클론항체는 수탁번호 KCLRF-BP-00220의 하이브리도마로부터 얻어진 것일 수 있다.
- [0062] 완전한 항체는 2개의 전장(full length) 경쇄 및 2개의 전장 중쇄를 가지는 구조이며 각각의 경쇄는 중쇄와 이황화 결합으로 연결되어 있다. 항체의 불변 영역은 중쇄 불변 영역과 경쇄 불변 영역으로 나뉘어지며, 중쇄 불변 영역은 감마( $\gamma$ ), 뮤( $\mu$ ), 알파( $\alpha$ ), 델타( $\delta$ ) 및 엡실론( $\epsilon$ ) 타입을 가지고, 서브클래스로 감마1( $\gamma$ 1), 감마2( $\gamma$ 2), 감마3( $\gamma$ 3), 감마4( $\gamma$ 4), 알파1( $\alpha$ 1) 및 알파2( $\alpha$ 2)를 가진다. 경쇄의 불변 영역은 카파( $\kappa$ ) 및 람다( $\lambda$ ) 타입을 가진다.
- [0063] 용어, "중쇄(heavy chain)"는 항원에 특이성을 부여하기 위해 충분한 가변 영역 서열을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 가변 영역 도메인  $V_H$  및 3개의 불변 영역 도메인  $C_{H1}$ ,  $C_{H2}$  및  $C_{H3}$ 과 힌지(hinge)를 포함하는 전장 중쇄

및 이의 단편을 모두 포함하는 의미로 해석된다. 또한, 용어 "경쇄(light chain)"는 항원에 특이성을 부여하기 위한 충분한 가변영역 서열을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 가변 영역 도메인  $V_L$  및 불변 영역 도메인  $C_L$ 을 포함하는 전장 경쇄 및 이의 단편을 모두 포함하는 의미로 해석된다.

- [0064] 용어, "CDR(complementarity determining region)"은 면역글로불린의 중쇄 및 경쇄의 고가변 영역(hypervariable region)의 아미노산 서열을 의미한다. 중쇄 및 경쇄는 각각 3개의 CDR을 포함할 수 있다(CDRH1, CDRH2, CDRH3 및 CDRL1, CDRL2, CDRL3). 상기 CDR은 항체가 항원 또는 에피토프에 결합하는 데 있어서 주요한 접촉 잔기를 제공할 수 있다. 한편, 본 명세서에 있어서, 용어, "특이적으로 결합" 또는 "특이적으로 인식"은 당업자에게 통상적으로 공지되어 있는 의미와 동일한 것으로서, 항원 및 항체가 특이적으로 상호작용하여 면역학적 반응을 하는 것을 의미한다.
- [0065] 일 구체예에 따르면, 상기 항체는 scFv, (scFv)<sub>2</sub>, Fab, Fab' 및 F(ab')<sub>2</sub>로 이루어진 군으로부터 선택되는 항원 결합 단편일 수 있다.
- [0066] 용어, "항원 결합 단편"은 면역글로불린 전체 구조에 대한 그의 단편으로, 항원이 결합할 수 있는 부분을 포함하는 폴리펩타이드의 일부를 의미한다. 예를 들어, scFv, (scFv)<sub>2</sub>, Fab, Fab' 또는 F(ab')<sub>2</sub>일 수 있으나, 이에 한정하지 않는다. 상기 항원 결합 단편 중 Fab는 경쇄 및 중쇄의 가변영역과 경쇄의 불변 영역 및 중쇄의 첫 번째 불변 영역( $C_{H1}$ )을 가지는 구조로 1개의 항원 결합 부위를 가진다.
- [0067] Fab'는 중쇄  $C_{H1}$  도메인의 C-말단에 하나 이상의 시스테인 잔기를 포함하는 힌지 영역(hinge region)을 가진다는 점에서 Fab와 차이가 있다.
- [0068] F(ab')<sub>2</sub> 항체는 Fab'의 힌지 영역의 시스테인 잔기가 디설파이드 결합을 이루면서 생성된다. Fv는 중쇄 가변부위 및 경쇄 가변부위만을 가지고 있는 최소의 항체조각으로 Fv 단편을 생성하는 재조합 기술은 당업계에 널리 공지되어 있다.
- [0069] 이중쇄 Fv(two-chain Fv)는 비공유 결합으로 중쇄 가변부위와 경쇄 가변부위가 연결되어 있고 단쇄 Fv(single-chain Fv)는 일반적으로 펩타이드 링커를 통하여 중쇄의 가변 영역과 단쇄의 가변 영역이 공유 결합으로 연결되거나 또는 C-말단에서 바로 연결되어 있어서 이중쇄 Fv와 같이 다이머와 같은 구조를 이룰 수 있다.
- [0070] 상기 항원 결합 단편은 단백질 가수분해 효소를 이용해서 얻을 수 있고(예를 들어, 전체 항체를 파파인으로 제한 절단하면 Fab를 얻을 수 있고 펩신으로 절단하면 F(ab')<sub>2</sub> 단편을 얻을 수 있다), 유전자 재조합 기술을 통하여 제작할 수 있다.
- [0071] 용어 "힌지 영역(hinge region)"은 항체의 중쇄에 포함되어 있는 영역으로서, CH1 및 CH2 영역 사이에 존재하며, 항체 내 항원 결합 부위의 유연성(flexibility)를 제공하는 기능을 하는 영역을 의미한다.
- [0072] 동물 유래 항체가 키메라화(chimerization) 과정을 거치게 되면, 동물 유래의 IgG1 힌지는 인간 IgG1 힌지로 치환되지만, 동물 유래 IgG1 힌지는 인간 IgG1 힌지에 비하여 그 길이가 짧고, 두 개의 중쇄 사이의 이황화결합(disulfide bond)이 3개에서 2개로 감소하여 힌지의 경직성(rigidity)이 서로 상이한 효과를 보이게 된다. 따라서, 힌지 영역의 변형(modification)은 인간화 항체의 항원 결합 효율성을 증가시킬 수 있다. 상기 힌지 영역의 아미노산 서열을 변형시키기 위한 아미노산의 결실, 부가 또는 치환 방법은 당업자에게 잘 알려져 있다.
- [0073] 이에, 본 발명의 일 구체예에서, 항원 결합 효율성을 증진시키기 위하여, 상기 항 c-Met 항체 또는 항원 결합 단편은 하나 이상의 아미노산이 결실, 부가 또는 치환되어 아미노산 서열이 변형된 힌지 영역을 포함하는 것일 수 있다. 예를 들어, 상기 항체는 서열번호 100, 서열번호 101, 서열번호 102, 서열번호 103 또는 서열번호 104의 아미노산 서열을 갖는 힌지 영역을 포함하는 것일 수 있다. 보다 구체적으로, 상기 힌지 영역은 서열번호 100 또는 서열번호 101의 아미노산 서열을 갖는 것일 수 있다.
- [0074] 일 구체예에 따르면, 항 c-Met 항체 또는 항원 결합 단편에서, 상기 중쇄 가변 영역은 서열번호 17, 서열번호 74, 서열번호 87, 서열번호 90, 서열번호 91, 서열번호 92, 서열번호 93 또는 서열번호 94의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 경쇄 가변 영역은 서열번호 18, 서열번호 19, 서열번호 20, 서열번호 21, 서열번호 75, 서열번호 88, 서열번호 95, 서열번호 96, 서열번호 97, 서열번호 98, 서열번호 99 또는 서열번호 107의 아미노산 서열을 포함하는 것일 수 있다.
- [0075] 일 구체예에서, 항 c-Met 항체는 수탁번호 KCLRF-BP-00220인 하이브리도마 세포에서 생산되는, c-Met 단백질의

세포의 부위(extracellular region)에 특이적으로 결합하는 단일클론 항체일 수 있다 (대한민국 공개특허 제 2011-0017698호 참조; 상기 문헌은 본 명세서에 참조로서 포함됨).

- [0076] 상기의 항 c-Met 항체는 대한민국 공개특허 제2011-0017698호에 정의된 항체를 모두 포함할 수 있다.
- [0077] 일 구체예에 따르면, 상기 항 c-Met 항체는 서열번호 62의 아미노산 서열 (이 중에서 1번째부터 17번째까지의 아미노산 서열은 시그널 펩타이드임) 또는 서열번호 62의 18번째부터 462번째까지의 아미노산 서열을 갖는 중쇄 및 서열번호 68의 아미노산 서열 (이 중에서 1번째부터 20번째까지의 아미노산 서열은 시그널 펩타이드임) 또는 서열번호 68의 21번째부터 240번째까지의 아미노산 서열을 갖는 경쇄로 이루어진 항체; 서열번호 64의 아미노산 서열 (이 중에서 1번째부터 17번째까지의 아미노산 서열은 시그널 펩타이드임) 또는 서열번호 64의 18번째부터 461번째까지의 아미노산 서열을 갖는 중쇄 및 서열번호 68의 아미노산 서열 또는 서열번호 68의 21번째부터 240번째까지의 아미노산 서열을 갖는 경쇄로 이루어진 항체; 또는 서열번호 66의 아미노산 서열 (이 중에서 1번째부터 17번째까지의 아미노산 서열은 시그널 펩타이드임) 또는 서열번호 66의 18번째부터 460번째까지의 아미노산 서열을 갖는 중쇄 및 서열번호 68의 아미노산 서열 또는 서열번호 68의 21번째부터 240번째까지의 아미노산 서열을 갖는 경쇄로 이루어진 항체인 것일 수 있다.
- [0078] 다른 구체예에 따르면, 상기 항 c-Met 항체는 서열번호 62의 아미노산 서열 또는 서열번호 62의 18번째부터 462번째까지의 아미노산 서열을 갖는 중쇄 및 서열번호 70의 아미노산 서열 (이 중에서 1번째부터 17번째까지의 아미노산 서열은 시그널 펩타이드임) 또는 서열번호 70의 21번째부터 240번째까지의 아미노산 서열을 갖는 경쇄로 이루어진 항체; 서열번호 64의 아미노산 서열 또는 서열번호 64의 18번째부터 461번째까지의 아미노산 서열을 갖는 중쇄 및 서열번호 70의 아미노산 서열 또는 서열번호 70의 21번째부터 240번째까지의 아미노산 서열을 갖는 경쇄로 이루어진 항체; 또는 서열번호 66의 아미노산 서열 또는 서열번호 66의 18번째부터 460번째까지의 아미노산 서열을 갖는 중쇄 및 서열번호 70 또는 서열번호 70의 21번째부터 240번째까지의 아미노산 서열의 아미노산 서열을 갖는 경쇄로 이루어진 항체인 것일 수 있다.
- [0079] 다른 구체예에 따르면, 상기 항 c-Met 항체는 서열번호 62의 아미노산 서열 또는 서열번호 62의 18번째부터 462번째까지의 아미노산 서열을 갖는 중쇄 및 서열번호 108의 아미노산 서열을 갖는 경쇄로 이루어진 항체; 서열번호 64의 아미노산 서열 또는 서열번호 64의 18번째부터 461번째까지의 아미노산 서열을 갖는 중쇄 및 서열번호 108의 아미노산 서열을 갖는 경쇄로 이루어진 항체; 또는 서열번호 66의 아미노산 서열 또는 서열번호 66의 18번째부터 460번째까지의 아미노산 서열을 갖는 중쇄 및 서열번호 108의 아미노산 서열을 갖는 경쇄로 이루어진 항체인 것일 수 있다.
- [0080] 한 구체예에서, 상기 항 c-Met 항체는 서열번호 66의 아미노산 서열 또는 서열번호 66의 18번째부터 460번째까지의 아미노산 서열을 갖는 중쇄 및 서열번호 68의 21번째부터 240번째까지의 아미노산 서열을 갖는 경쇄로 이루어진 항체 또는 서열번호 66의 아미노산 서열 또는 서열번호 66의 18번째부터 460번째까지의 아미노산 서열을 갖는 중쇄 및 서열번호 108의 아미노산 서열을 갖는 경쇄로 이루어진 항체일 수 있다.
- [0081] 한편, 상기 서열번호 70의 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드는 인간의 카파 불변영역으로 이루어진 경쇄이며, 서열번호 68의 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드는 상기 서열번호 70의 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드에서 36번 (kabat numbering에 따름, 서열번호 68 내의 62번째 아미노산 위치) 히스티딘 (histidine)이 티로신 (tyrosine)으로 치환된 형태의 폴리펩티드이다. 상기 치환으로 인하여, 일 구체예에 따른 항체의 생산량이 증가될 수 있다. 또한 상기 서열번호 108의 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드는 상기 서열번호 68의 아미노산 서열 중 1번째부터 20번째까지의 시그널 펩타이드를 제외한 21번째부터 240번째까지의 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드에서 kabat numbering에 의한 27e 위치(kabat numbering에 따름, 서열번호 108 내 32번째 위치; CDR-L1 내부)의 세린(Ser)이 트립토판(Trp)으로 치환된 것으로, 상기 치환으로 인하여, 일 구체예에 따른 항체의 활성(예컨대, c-Met에 대한 결합친화도, c-Met 분해 활성 및 Akt 인산화 억제 활성 등)이 보다 증진될 수 있다.
- [0082] 상기 항 c-Met 항체는 c-Met 단백질의 길항제(antagonist) 작용을 하는 것일 수 있다. 용어 "길항제(antagonist)"는 표적물 (예를 들어, c-Met)의 생물학적 활성 중 하나 이상을 부분적으로나 완전히 차단, 억제 또는 중화시키는 모든 분자를 포함하는 개념으로 해석된다. 예를 들어, "길항제" 항체는 항체가 결합하는 항원 (예를 들어, c-Met)의 생물학적 활성을 억제시키거나 감소시키는 항체를 의미한다. 길항제는 리간드에 대한 수용체의 결합에 의해, 수용체 인산화(phosphorylation)를 감소시키거나, 리간드에 의해 활성화되었던 세포를 무능력화시키거나, 또는 사멸시키는 작용을 할 수 있다. 또한, 길항제는 수용체-리간드 사이의 상호 작용을 완전히 단절시키거나, 수용체의 3차 구조의 변화, 또는 감소 조절(down regulation)에 의해 상기 상호 작용을 실질적으로 감소시킬 수 있다.

- [0083] 상기 병용 투여용 항암 조성물 및 혈관 형성 억제용 조성물에 사용되는 항 Her2 항체는 별도의 언급이 없는 한, 항체 또는 항원 결합 단편을 의미하는 것으로 사용된다.
- [0084] 항-HER2 항체는 항 Her2 항체는 트라스투주맙(Trastuzumab), 페르투주맙(Pertuzumab) 및 트라스투주맙 엠탄신(Trastuzumab emtansine: T-DM1) 및 이들의 조합으로 이루어진 군에서 선택된 것일 수 있으며, 바람직하게는 트라스투주맙(Trastuzumab, 상품명 Herceptin)일 수 있다.
- [0085] 상기 항 c-Met 항체 및 항 Her2 항체를 포함하는 항암 조성물 및 혈관형성 억제용 조성물은 당해 당업자가 용이하게 실시할 수 있는 방법에 따라, 약학적으로 허용되는 담체 및/또는 부형제를 이용하여 제제화함으로써 단위 용량 형태로 제조되거나 또는 다용량 용기 내에 내입시켜 제조될 수 있다. 이때 제형은 오일 또는 수성 매질중의 용액, 현탁액, 시럽제 또는 유화액 형태이거나 엑스제, 산제, 분말제, 과립제, 정제 또는 캡슐제 형태일 수도 있으며, 분산제 또는 안정화제를 추가적으로 포함할 수 있다.
- [0086] 또한, 항 c-Met 항체 및 항 Her2 항체를 포함하는 항암 조성물 및 혈관형성 억제용 약학 조성물은 개별 치료제로 투여하거나 다른 치료제와 병용하여 투여될 수 있고, 종래의 치료제와는 순차적 또는 동시에 투여될 수 있다.
- [0087] 한편, 상기 조성물은 항체 또는 항원 결합 단편을 포함하므로, 면역 리포솜으로 제형화될 수 있다. 항체를 포함하는 리포솜은 당업계에 널리 알려진 방법에 따라 제조될 수 있다. 상기 면역 리포솜은 포스파티딜콜린, 콜레스테롤 및 폴리에틸렌글리콜-유도체화된 포스파티딜에탄올아민을 포함하는 지질 조성물로서 역상 증발법에 의해 제조될 수 있다. 예를 들어, 항체의 Fab' 단편은 디설파이드-교체 반응을 통해 리포솜에 접합될 수 있다. 독소루비신과 같은 화학치료제가 추가로 리포솜 내에 포함될 수 있다.
- [0088] 상기 항 c-Met 항체의 유효량 및 항 Her2 항체의 유효량을 혼합하여 제조되는 혼합제, 유효 성분으로 항 c-Met 항체의 유효량을 포함하는 제1 약학 조성물, 또는 유효성분으로 항 Her2 항체의 유효량을 포함하는 제2 약학 조성물은 약학적으로 허용 가능한 담체, 희석제, 및/또는 부형제 등과 함께 제공될 수 있다.
- [0089] 상기 혼합제, 또는 약학 조성물에 포함되는 약학적으로 허용 가능한 담체는, 약물의 제제화에 통상적으로 이용되는 것으로서, 락토스, 텍스트로스, 수크로스, 솔비톨, 만니톨, 전분, 아카시아 고무, 인산 칼슘, 알기네이트, 젤라틴, 규산 칼슘, 미세결정성 셀룰로스, 폴리비닐피롤리돈, 셀룰로스, 물, 시럽, 메틸 셀룰로스, 메틸히드록시벤조에이트, 프로필히드록시벤조에이트, 활석, 스테아르산 마그네슘, 미네랄 오일 등으로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다. 상기 혼합제 또는 약학적 조성물은 상기 성분들 이외에 약학 조성물 제조에 통상적으로 사용되는 희석제, 부형제, 윤활제, 습윤제, 감미제, 향미제, 유화제, 현탁제, 보존제 등으로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상을 추가로 포함할 수 있다.
- [0090] 상기 혼합제 또는 약학적 조성물은 경구 또는 비경구로 투여할 수 있다. 비경구 투여인 경우에는 정맥내 주입, 피하 주입, 근육 주입, 복강 주입, 내피 투여, 국소 투여, 비내 투여, 폐내 투여 및 직장내 투여 등으로 투여할 수 있다. 경구 투여시, 단백질 또는 펩타이드는 소화가 되기 때문에 경구용 조성물은 활성 약제를 코팅하거나 위에서의 분해로부터 보호되도록 제형화 되어야 한다. 또한, 상기 조성물은 활성 물질이 표적 세포로 이동할 수 있는 임의의 장치에 의해 투여될 수 있다.
- [0091] 1회 투여를 위한 상기 항 c-Met 항체의 유효량 및 항 Her2 항체의 유효량은 제제화 방법, 투여 방식, 환자의 연령, 체중, 성, 병적 상태, 음식, 투여 시간, 투여 간격, 투여 경로, 배설 속도 및 반응 감응성과 같은 요인들에 의해 다양하게 처방될 수 있다. 예컨대, 1회 투여를 위한 상기 항 c-Met 항체의 유효량은 0.01 내지 100mg/kg, 구체적으로 0.2 내지 10mg/kg 범위일 수 있고, 1회 투여를 위한 상기 항 Her2 항체의 유효량은 0.01 내지 100mg/kg, 0.2 내지 10 mg/kg 범위일 수 있다. 상기 1회 투여를 위한 유효량은 단위 용량 형태로 하나의 제제로 제제화되거나, 적절하게 분량하여 제제화되거나, 다용량 용기 내에 내입시켜 제조될 수 있다. 상기 키트에 있어서, 1회 투여를 위한 항 c-Met 항체의 유효량 및 항 Her2 항체의 유효량이 기본단위로 포장용기에 포함되어 있는 것일 수 있다.
- [0092] 상기 병용 투여 후 다음 병용 투여까지의 기간으로 정의되는 병용 투여간 투여 간격은 24 시간 내지 30일, 구체적으로 7일 내지 14일일 수 있으나 이에 제한되는 것은 아니다. 상기 병용 투여가 유효 성분으로 항 c-Met 항체의 유효량을 포함하는 제1 약학 조성물 및 유효성분으로 항 Her2 항체의 유효량을 포함하는 제2 약학 조성물은 질병의 종류, 환자의 상태 등에 따라서 정해진 시간 간격 (예컨대, 수분, 수 시간, 또는 수일, 또는 수주일)으로 병용 투여될 수 있다. 예컨대, 상기 제1 약학 조성물과 제2 약학 조성물은 동시(투여 간격 1분 이내)에 투여되거나 순차적(투여 간격 1분 이상)으로 투여되는 것일 수 있으며, 순차적으로 투여되는 경우, 제1

약학 조성물과 제2 약학 조성물 간의 투여 간격은 1분 내지 30일, 구체적으로 1분 내지 7일, 1분 내지 24시간, 또는 1분 내지 60분, 보다 구체적으로 1분 내지 10분일 수 있으며, 그 투여 순서는 서로 바뀌어도 무방하다.

- [0093] 상기 혼합제 또는 약학적 조성물은 오일 또는 수성 매질중의 용액, 현탁액, 시럽제 또는 유화액 형태이거나 엑스제, 산제, 분말제, 과립제, 정제 또는 캡슐제 등의 형태로 제형화될 수 있으며, 제형화를 위하여 분산제 또는 안정화제를 추가적으로 포함할 수 있다.
- [0094] 특히, 상기 항 c-Met 항체 및 항 Her2 항체, 또는 각각의 유효량을 포함하는 약학 조성물은 항체 또는 항원 결합 단편을 포함하므로, 면역 리포솜으로 제형화될 수 있다. 항체를 포함하는 리포솜은 당업계에서 널리 알려진 방법에 따라 제조될 수 있다. 상기 면역 리포솜은 포스파티딜콜린, 콜레스테롤 및 폴리에틸렌글리콜-유도체화된 포스파티딜에탄올아민을 포함하는 지질 조성물로서 역상 증발법에 의해 제조될 수 있다. 예를 들어, 항체의 Fab' 단편은 디설파이드-교체 반응을 통해 리포솜에 접합될 수 있다. 독소루비신과 같은 화학치료제가 추가로 리포솜 내에 포함될 수 있다.
- [0095] 또 다른 예는 항 c-Met 항체의 유효량 및 항 Her2 항체의 유효량을 암의 예방 및/또는 치료를 필요로 하는 환자에게 병용 투여하는 단계를 포함하는 암의 예방 및/또는 치료 방법을 제공한다. 또 다른 예는, 항 c-Met 항체의 유효량 및 항 Her2 항체의 유효량을 혈관 형성 억제제를 필요로 하는 환자에게 병용 투여하는 단계를 포함하는 혈관 형성 억제 방법을 제공한다.
- [0096] 한 구체예에서, 상기 병용 투여는 항 c-Met 항체의 유효량 및 항 Her2 항체의 유효량을 혼합한 혼합제를 투여함으로써 수행될 수 있다. 다른 구체예에서, 상기 병용 투여는 유효 성분으로 항 c-Met 항체의 유효량을 투여하는 제1 단계 및 유효성분으로 항 Her2 항체의 유효량을 투여하는 제2 단계를 동시에 또는 순차적으로 수행하는 것일 수 있다. 순차적으로 투여하는 경우 그 순서는 바뀌어도 무방하다.
- [0097] 상기 환자는 인간, 원숭이 등을 포함하는 영장류, 마우스, 래트 등을 포함하는 설치류 등을 포함하는 포유류일 수 있다. 또한, 상기 환자는 암 환자일 수 있으며, 암세포 HGF 수준이 높은 환자일 수 있다. 구체예에서, 암 조직이 존재하는 경우, 상기 암조직에 존재하는 기질세포(STROMAL CELL)들에 의해 HGF가 분비되기 때문에 암세포 자체에서 분비하는 HGF뿐만 아니라, 주변 세포에서 분비하는 HGF에 의해 영향을 받을 수 있어 전체적인 HGF LEVEL이 상승하게 된다. 이와 같이 상승된 HGF 수준은 허셉틴과 같은 약물의 효과를 저하시킬 수 있는데, 본 발명의 일 구현예에 따른 병용 투여 항암 조성물은 이러한 HGF에 의한 획득 저항성(acquired resistance) 문제를 해결하여 현저한 시너지 효과를 발휘할 수 있다.
- [0098] 따라서, 상기 암의 예방 및/또는 치료 방법 또는 혈관 형성 억제 방법은 상기 투여 단계 이전에, 암의 예방 및/또는 치료, 또는 혈관 형성 억제가 필요한 환자를 확인하는 단계를 추가로 포함할 수 있다.
- [0099] 상기 환자를 확인하는 단계는, 투여 단계 이전에,
- [0100] (1) 환자로부터 분리된 세포 시료의 HGF 발현 수준을 정상인의 HGF 발현 수준과 비교하는 단계; 및
- [0101] (2) 상기 환자로부터 분리된 세포 시료의 HGF 발현수준이 정상인의 HGF 발현 수준에 비해 높은 경우, 상기 세포 또는 상기 세포가 유래된 환자를 상기 병용 투여용 약학 조성물 또는 상기 혈관형성 억제용 약학 조성물의 투여 대상으로 결정하는 단계를 포함하는 것일 수 있다.
- [0102] 상기 (1) 단계의 확인은 당분야에 널리 알려진 방법을 통하여 이루어질 수 있으며, 예컨대 혈액에서 혈청을 분리한 후 그 안에 존재하는 HGF 발현량을 ELISA 등의 방법을 사용하여 확인할 수 있다.
- [0103] 본 발명에서 제안되는 병용 투여용 항암 조성물 또는 혈관형성 억제용 약학 조성물은 암의 예방 및/또는 치료에 사용될 수 있다. 구체적 암의 종류는 앞서 언급한 바와 같으며, 상기 암의 예방 및/또는 치료 효과는 암세포의 성장을 억제하는 효과뿐 아니라, 이동(migration), 침습(invasion), 전이(metastasis) 등으로 인한 암의 악화, 및 암 세포의 혈관 형성을 억제하는 효과를 포함한다.

**발명의 효과**

- [0104] 본 발명에서 제공되는 항 c-Met 항체 및 항 Her2 항체의 병용 투여에 의하여 HGF가 과발현된 암세포에 대해서도 효과적인 항암 치료가 가능하게 되며, 이에 따라 기존 항체의 단독 투여로는 항암 효과를 볼 수 없거나 그 효과가 미미하였던 암세포에서의 우수한 항암 시너지 효과를 기대할 수 있다.

[0105] 상기 항암 효과는 암 세포의 성장을 억제하는 효과뿐만 아니라 동시에 암 세포의 전이 억제 효과 또한 포함하며, 나아가 상기 항 c-Met 항체 및 항 Her2 항체의 병용 투여에 의하여 신생 혈관 형성을 효과적으로 억제할 수 있어 항암 활성을 보다 높일 수 있다.

**도면의 간단한 설명**

[0106] 도 1은 다양한 암 세포주에서 cMET과 HER2의 발현 여부를 분석한 결과를 나타낸 것이다.  
 도 2는 wo/HGF(좌측 도면) 또는 w/HGF(우측 도면) 조건에서 항-cMet 항체 L3-1Y와 항 Her2 항체 허셉틴(Herceptin)을 단독 및 병용처리한 경우의 결과를 분석하여 나타낸 것이다.  
 도 3은 항-cMet 항체 L3-1Y와 항 Her2 항체 허셉틴(Herceptin)의 단독 및 병용 처리에 따른 이동 억제 여부를 확인하여 나타낸 것이다.  
 도 4는 항 c-Met 항체 및 항 Her2 항체의 병용 처리에 따라 저하되는 유전자를 관측한 결과를 나타낸 것이다.  
 도 5는 항 c-Met 항체 및 항 Her2 항체의 병용 처리시 IL-8의 protein level에 대한 영향을 분석하여 나타낸 것이다.

**발명을 실시하기 위한 구체적인 내용**

[0107] 이하, 본 발명을 실시예에 의해 상세히 설명한다.  
 [0108] 단, 하기 실시예는 본 발명을 예시하는 것일 뿐, 본 발명의 내용이 하기 실시예에 한정되는 것은 아니다.

**[0109] 참고예 1: 항 c-Met 항체의 제작**

**[0110] 1.1. c-Met에 대한 마우스 항체 'AbF46'의 생산**

**[0111] 1.1.1. 마우스의 면역화**

[0112] 하이브리도마 세포주의 개발에 필요한 면역화 된 마우스를 얻기 위하여, 5마리의 마우스에 한 마리당 100 µg의 인간의 c-Met/Fc 융합 단백질(R&D Systems)과 동량의 완전 프로인드 어주번트(Freund's adjuvant)를 혼합하여 4-6 주된 BALB/c 마우스(Japan SLC, Inc.)의 복강 내에 주사하였다. 2주 후에 상기와 동일한 방법으로 상기 항원으로 사용된 인간의 c-Met/Fc 융합 단백질을 앞서 주사한 양의 절반인 50 µg을 동량의 불완전 프로인드 어주번트(incomplete Freund's adjuvant)과 혼합하여 마우스의 복강 내에 주사하였다. 일주일 후 마지막 부스팅(boosting)이 수행되고 3일 후에 상기 마우스의 꼬리에서 채혈하여 혈청을 얻은 뒤 1/1000로 PBS에 희석하여 ELISA로 c-Met을 인지하는 항체의 역가가 증가됨을 확인하였다. 상기의 결과로 항체의 양이 충분하게 얻어지는 마우스를 선별하여 하기의 세포융합과정을 수행하였다.

[0113]

**[0114] 1.1.2. 세포 융합 및 하이브리도마의 제조**

[0115] 세포융합 실험 3일 전에 50 µg의 PBS에 인간의 c-Met/Fc 융합 단백질 혼합물을 BALB/c 마우스(Japan SLC, Inc.)의 복강 내에 주사하고, 면역화 된 마우스를 마취한 후 몸통의 좌측에 위치한 비장(spleen)을 적출하였다. 적출한 비장을 메쉬로 갈아서 세포를 분리하고, 배양 배지(DMEM, GIBCO, Invitrogen)와 혼합하여 비장세포 현탁액을 만들었다. 상기 현탁액을 원심분리하여 세포층을 회수하였다. 상기 얻어진 비장세포 1 x 10<sup>8</sup> 개와 골수종 세포(Sp2/0) 1 x 10<sup>8</sup> 개를 혼합한 다음, 원심분리하여 세포를 침전시켰다. 상기 원심분리된 침전물을 천천히 분산시키고, 배양 배지(DMEM)에 들어있는 45% 폴리에틸렌글리콜(PEG)(1 ml)을 처리하고, 37 °C에서 1분 동안 유지시킨 후, 배양 배지(DMEM) 1 ml을 첨가하였다. 이후 배양배지(DMEM) 10 ml을 1분 동안 첨가하고, 37°C의 물에서 5분 동안 방치한 후 50 ml로 맞추어 다시 원심분리하였다. 세포 침전물을 분리 배지(HAT 배지)에 1~2×10<sup>5</sup>/ml 정도로 재현탁시키고, 96-웰(well) 플레이트에 0.1 ml씩 분주한 후 37°C 이산화탄소 배양기에서 배양하여 하이브리도마 세포군을 제작하였다.

[0116] **1.1.3. c-Met 단백질에 대한 단일클론 항체를 생산하는 하이브리도마 세포의 선별**

[0117] 상기 참고예 1.1.2에서 제조된 하이브리도마 세포군 중에서 c-Met 단백질에만 특이적으로 반응하는 하이브리도마 세포를 선별하기 위하여 인간의 c-Met/Fc 융합 단백질과 인간의 Fc 단백질을 항원으로 이용한 ELISA 분석 방법을 통하여 스크리닝하였다.

[0118] 마이크로타이터 플레이트에 인간의 c-Met/Fc 융합 단백질을 한 웰당 각각 50  $\mu$ l (2 ug/ml)씩 가하여 플레이트 표면에 부착시키고, 반응하지 않은 항원은 세척하여 제거하였다. c-Met이 아닌 Fc에 결합되는 항체를 선별하여 제외시키기 위하여 인간의 Fc 단백질을 위와 동일한 방법으로 플레이트 표면에 부착시켰다.

[0119] 상기 참고예 1.1.2에서 얻어진 하이브리도마 세포의 배양액을 상기 준비된 각각 웰에 50  $\mu$ l씩을 가하여 1 시간 동안 반응시킨 후 인산 완충용액-트윈 20(TBST) 용액으로 충분히 세척하여 반응하지 않은 배양액을 제거하였다. 여기에 염소 항-마우스 IgG-호스래디쉬 퍼옥시다제(goat anti-mouse IgG-HRP)를 가하여 1 시간 동안 실온에서 반응시킨 다음, TBST 용액으로 충분히 세척하였다. 이어서 퍼옥시다제의 기질용액(OPD)을 가하여 반응시키고, 그 반응 정도는 ELISA Reader로 450 nm에서 흡광도를 측정하여 확인하였다.

[0120] 위와 같은 반응 정도 확인에 의하여, 인간의 Fc에는 결합되지 않고, 인간의 c-Met 단백질에만 특이적으로 높은 결합력을 갖는 항체를 분비하는 하이브리도마 세포주들을 반복하여 선별하였다. 반복 선별을 통해 얻은 하이브리도마 세포주를 제한 희석(limiting dilution)하여 단일클론 항체를 생성하는 하이브리도마 세포주 1개의 클론을 최종적으로 얻었다. 최종 선별된 단일클론 항체 생산 하이브리도마를 2009년 10월 6일자로 부다페스트 조약 하의 국제기탁기관인 대한민국 서울 종로구 연건동에 소재하는 한국 세포주연구재단에 기탁하여 수탁번호 KCLRF-BP-00220를 부여받았다 (한국 공개특허 제2011-0047698 참조).

[0121] **1.1.4. 단일클론 항체의 생산 및 정제**

[0122] 상기 참고예 1.1.3에서 얻은 하이브리도마 세포를 무혈청 배지에서 배양하고 배양액으로부터 단일클론 항체를 생산 정제하였다.

[0123] 먼저 10%(v/v) FBS가 포함된 배양 배지(DMEM) 배지 50 ml에서 배양된 상기 하이브리도마 세포를 원심분리하여 세포 침전물을 20 ml PBS로 2회 이상 세척하여 FBS가 제거된 상태에서, 상기 세포 침전물을 배양 배지(DMEM) 배지 50 ml에 재현탁시킨 후, 3일 동안 37°C 이산화탄소 배양기에서 배양하였다.

[0124] 이후, 원심분리하여, 항체를 생산하는 세포를 제거하고 항체들이 분비된 배양액을 분리하여, 4°C에 보관하거나 바로 모아서 항체의 분리 정제에 사용하였다. 친화성 칼럼(Protein G agarose column; Pharmacia, USA)을 장착한 AKTA 정제 기기(GE Healthcare)를 이용하여 상기 준비된 배양액 50 ml 내지 300 ml로부터 항체를 순수 정제한 후, 단백질 응집용 필터(Amicon)를 사용하여 PBS로 상층액을 치환하여 정제된 항체를 보관하고, 이후의 실시예에 사용하였다.

[0125] **1.2. c-Met에 대한 키메라 항체 chAbF46의 제작**

[0126] 일반적으로 마우스 항체는 치료 목적으로 인간에게 주입되었을 때 면역거부반응(immunogenicity)을 보일 가능성이 높으므로, 이를 해결하기 위하여, 상기 실시예 1에서 제작된 마우스 항체 AbF46으로부터, 항원 결합에 관련된 변이 영역(variable region)을 제외한 불변 영역(constant region)을 인간 IgG1 항체의 서열로 치환하는 키메라 항체 chAbF46을 제작하였다.

[0127] 중쇄에 해당하는 뉴클레오타이드 서열은 'EcoRI-signal sequence-VH-NheI-CH-TGA-XhoI'(서열번호 38)로, 경쇄에 해당하는 뉴클레오타이드 서열은 'EcoRI-signal sequence-VL- BsiWI-CL-TGA-XhoI'(서열번호 39)로 구성되도록 각각 디자인하여 유전자를 합성하였다. 이후, Invitrogen 사의 OptiCHO™ Antibody Express Kit (Cat no. 12762-019)에 포함되어 있는 pOptiVEC™-TOPO TA Cloning Kit에 상기 중쇄에 해당하는 뉴클레오타이드 서열을 갖는 DNA 절편(서열번호 38)을, pcDNA™3.3-TOPO TA Cloning Kit(Cat no. 8300-01)에 상기 경쇄에 해당하는 뉴클레오타이드 서열을 갖는 DNA 절편(서열번호 39)을 각각 EcoRI(NEB, R0101S)과 XhoI(NEB, R0146S) 제한 효소를 사용하여 클로닝함으로써, 키메라 항체의 발현을 위한 중쇄를 포함하는 벡터 및 경쇄를 포함하는 벡터를 각각 구축하였다.

[0128] 상기 구축된 벡터는 각각 Qiagen Maxiprep kit (Cat no. 12662)을 이용하여 증폭되었으며, 임시발현은 Freestyle™ MAX 293 Expression System (invitrogen)을 이용하여 진행 되었다. 사용된 세포주는 293 F cell 이며, FreeStyle™ 293 Expression Medium를 배지로 사용하여 부유배양방식으로 배양되었다. 임시발현 하루 전 세포를  $5 \times 10^5$  cells/ml의 농도로 준비한 후, 24시간이 지난 뒤 cell수가  $1 \times 10^6$  cells/ml이 되었을 때 임시발현을 진행하였다. Freestyle™ MAX reagent (invitrogen)을 사용한 liposomal reagent법으로 형질도입(transfection)을 진행 하였으며, 15ml tube에 중쇄 DNA: 경쇄 DNA=1:1 의 비율로 DNA를 준비하여 OptiPro™ SFM (invitrogen) 2ml과 mix하고(A), 또 다른 15ml tube에 Freestyle™ MAX reagent 100 $\mu$ l와 OptiPro™ SFM 2ml을 mix(B)한 후, (A)와 (B)을 mix하여 15분간 incubation 한 후, 하루 전에 준비한 세포에 혼합액을 천천히 섞어주었다. 형질도입 완료 후, 37 °C, 80% humidity, 8% CO<sub>2</sub>, 130 rpm incubator에서 5일간 배양하였다.

[0129] 상기 배양된 세포를 원심분리하여 상등액을 각각 100 ml 취하고, AKTA Prime (GE healthcare)를 이용하여 정제 하였다. AKTA Prime에 Protein A 컬럼(GE healthcare, 17-0405-03)을 설치하고 배양액을 5 ml/min의 유속으로 흘려준 후, IgG elution buffer(Thermo Scientific, 21004)로 용출시켰다. 얻어진 용출물을 PBS 버퍼로 교환 하여 최종적으로 키메라 항체 AbF46(이하, chAbF46로 명명함)을 정제하였다.

[0130]

[0131] **1.3. 키메라 항체 chAbF46으로부터 인간화 항체 huAbF46의 제작**

[0132] **1.3.1. 중쇄의 인간화(Heavy chain humanization)**

[0133] H1-heavy 및 H3-heavy 2종의 디자인을 위하여, 우선 Ig Blast (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/igblast/>)를 통하여 상기 참고예 1.2에서 정제된 마우스 항체 AbF46의 VH 유전자와 가장 상동성이 높은 인간의 생식선(germline) 유전자를 분석하였다. 그 결과, VH3-71이 아미노산 레벨에서 83%의 상동성을 가짐을 확인하였으며, 마우스 항체 AbF46의 CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3를 Kabat numbering으로 정의하고, 마우스 항체 AbF46의 CDR 부분이 VH3-71의 골격(framework)에 도입되도록 디자인하였다. 이때, 30번(S→T), 48번(V→L), 73번(D→N), 78번(T→L) 아미노산은 원래 마우스 AbF46 항체의 아미노산 서열로 back-mutation 하였다. 이후, H1은 추가로 83번(R→K)과 84번(A→T) 아미노산에 돌연변이를 주어 최종적으로 H1-heavy(서열번호 40)와 H3-heavy(서열번호 41)를 구축하였다.

[0134] H4-heavy의 디자인을 위하여 인간항체의 골격(framework) 서열을 찾아 본 결과, AbF46 항체의 마우스 골격 서열과 서열이 매우 유사함과 동시에, 기존의 가장 안정하다고 알려진 VH3 subtype을 사용하여 Kabat numbering으로 정의된 마우스 항체 AbF46의 CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3를 도입하였다. 이를 통하여 H4-heavy (서열번호 42)를 구축하였다.

[0135] **1.3.2. 경쇄의 인간화(Light chain humanization)**

[0136] H1-light(서열번호 43) 및 H2-light(서열번호 44) 2종의 디자인을 위하여, Ig Blast (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/igblast/>)를 통하여, 마우스 항체 AbF46의 VL 유전자와 가장 상동성이 높은 인간 생식선 유전자를 분석하였다. 그 결과, VK4-1이 아미노산 레벨에서 75%의 상동성을 가짐을 확인하였으며, 마우스 항체 AbF46의 CDR-L1, CDR-L2, CDR-L3를 Kabat numbering으로 정의하고, 마우스 항체 AbF46의 CDR 부분이 VK4-1의 골격에 도입되도록 디자인하였다. 이때, H1-light는 36번(Y→H), 46번(L→M), 49번(Y→I) 3개의 아미노산을 back-mutation 하였으며, H2-light는 49번 아미노산(Y→I) 1개만을 back-mutation 하여 구축하였다.

[0137] H3-light(서열번호 45)의 디자인을 위하여, Blast (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/igblast/>)를 통하여 마우스 항체 AbF46의 VL 유전자와 가장 상동성이 높은 인간 생식선 유전자를 분석한 결과 중, 상기 VK4-1 이외에 VK2-40을 선정하였다. 마우스 항체 AbF46 VL과 VK2-40은 아미노산 레벨에서 61%의 상동성을 가짐을 확인하였으며, 마우스 항체 AbF46의 CDR-L1, CDR-L2, CDR-L3를 Kabat numbering으로 정의하고, 마우스 항체 AbF46의 CDR 부분이 VK4-1의 골격에 도입되도록 디자인하였다. 이때, H3-light는 36번(Y→H), 46번(L→M), 49번(Y→I) 3개의 아미노산을 back-mutation 하여 구축하였다.

[0138] H4-light(서열번호 46)의 디자인을 위하여, 인간항체의 골격(framework) 서열을 찾아 본 결과, 기존의 가장 안



정하다고 알려진 Vk1 subtype을 사용하여 Kabat numbering으로 정의된 마우스 항체 AbF46의 CDR-L1, CDR-L2, CDR-L3를 도입하였다. 이때, H4-light는 36번(Y→H), 46번(L→M), 49번(Y→I) 3개의 아미노산을 추가로 back-mutation 하여 구축하였다.

[0139] 이후, Invitrogen 사의 OptiCHO™ Antibody Express Kit (Cat no. 12762-019)에 포함되어 있는 pOptiVEC™-TOPO TA Cloning Kit에 상기 중쇄에 해당하는 뉴클레오타이드 서열을 갖는 DNA 절편(H1-heavy; 서열번호 47, H3-heavy; 서열번호 48, H4-heavy; 서열번호 49)을 pcDNA™3.3-TOPO TA Cloning Kit에 상기 경쇄에 해당하는 뉴클레오타이드 서열을 갖는 DNA 절편(H1-light; 서열번호 50, H2-light; 서열번호 51, H3-light; 서열번호 52, H4-light; 서열번호 53)을 각각 EcoRI(NEB, R0101S)과 XhoI(NEB, R0146S) 제한 효소를 사용하여, 클로닝함으로써, 인간화 항체의 발현을 위한 벡터를 구축하였다.

[0140] 상기 구축된 벡터는 각각 Qiagen Maxiprep kit (Cat no. 12662)을 이용하여 증폭되었으며, 임시발현은 Freestyle™ MAX 293 Expression System (invitrogen)을 이용하여 진행 되었다. 사용된 세포주는 293 F cell 이며, FreeStyle™ 293 Expression Medium를 배지로 사용하여 부유배양방식으로 배양되었다. 임시발현 하루 전 세포를 5x10<sup>5</sup> cells/ml의 농도로 준비한 후, 24시간이 지난 뒤 cell수가 1x10<sup>6</sup> cells/ml이 되었을 때 임시발현을 진행하였다. Freestyle™ MAX reagent (invitrogen)을 사용한 liposomal reagent법으로 형질도입(transfection)을 진행 하였으며, 15ml tube에 중쇄 DNA: 경쇄 DNA=1:1 의 비율로 DNA를 준비하여 OptiPro™ SFM (invitrogen) 2ml과 mix하고(A), 또 다른 15ml tube에 Freestyle™ MAX reagent 100μl와 OptiPro™ SFM 2ml을 mix(B)한 후, (A)와 (B)을 mix하여 15분간 incubation 한 후, 하루 전에 준비한 세포에 혼합액을 천천히 섞어주었다. 형질도입 완료 후, 37 °C, 80% humidity, 8% CO<sub>2</sub>, 130 rpm incubator에서 5일간 배양하였다.

[0141] 상기 배양된 세포를 원심분리하여 상등액 각 100 ml을 취하고, AKTA Prime (GE healthcare)를 이용하여 정제하였다. AKTA Prime에 Protein A 컬럼(GE healthcare, 17-0405-03)을 설치하고 배양액을 5 ml/min의 유속으로 흘려준 후, IgG elution buffer(Thermo Scientific, 21004)로 용출하였다. 이를 PBS buffer로 교환하여 최종적으로 인간화 항체 AbF46(이하, huAbF46로 명명함)을 정제하였다. 한편, 이후 실시예에서 사용한 인간화 항체 huAbF46의 중쇄, 경쇄 조합은 H4-heavy (서열번호 42) 및 H4-light(서열번호 46)이다.

[0142] **1.4. huAbF46 항체의 scFv 라이브러리 제작**

[0143] huAbF46 항체의 중쇄 가변영역 및 경쇄 가변영역을 이용하여 huAbF46 항체의 scFv를 제작하기 위한 유전자를 디자인하였다. 각각의 중쇄 가변영역 및 경쇄 가변영역을 'VH-링커-VL'의 형태가 되도록 하고, 상기 링커는 'GLGGLGGGGSGGGSGGSSGVGS'(서열번호 54)의 아미노산 서열을 가지도록 디자인하였다. 이렇게 디자인된 huAbF46 항체의 scFv를 코딩하는 폴리뉴클레오타이드(서열번호 55)를 바이오니아에 의뢰하여 합성하였으며, 이를 발현시키기 위한 벡터를 서열번호 56에 나타내었다.

[0144] 이후, 상기 벡터로부터 발현된 결과물을 분석하여, c-Met에 특이적인 결합력을 보임을 확인하였다.

[0145] **1.5. 친화도 성숙(affinity maturation)을 위한 라이브러리 유전자의 제작**

[0147] **1.5.1. 표적 CDR의 선정 및 프라이머 제작**

[0148] huAbF46 항체의 친화도 성숙(affinity maturation)을 위하여 6개의 상보성 결정 부위(complementary determining region, CDR)를 상기 제작된 마우스 항체 AbF46으로부터 'Kabat numbering'에 의하여 정의하였으며, 각각의 CDR은 하기 표 1과 같다.

**표 1**

[0149]

CDR	아미노산 서열
CDR-H1	DYYMS(서열번호 1)
CDR-H2	FIRNKANGYTTTEYSASVKG(서열번호 2)
CDR-H3	DNWFAY(서열번호 3)
CDR-L1	KSSQSLLASGNQNNYLA(서열번호 10)

CDR-L2	WASTRVS(서열번호 11)
CDR-L3	QQSYSAPLT(서열번호 12)

[0150] 항체 CDR의 무작위 서열 도입을 위하여 다음과 같이 프라이머를 제작하였다. 기존의 무작위 서열 도입 방식은 돌연변이를 주고자 하는 부위에 동일한 비율의 염기 (25% A, 25% G, 25% C, 25% T)가 도입되도록 N 코돈을 이용하였으나, 본 실시예에서는 huAbF46 항체의 CDR에 무작위 염기를 도입하기 위하여, 각 CDR의 아미노산을 코딩하는 3개의 야생형(wild-type) 뉴클레오타이드 중 첫번째와 두번째 뉴클레오타이드의 85%는 그대로 보존하고, 나머지 3개의 염기를 각각 5%씩 도입하는 방식을 취하였다. 또한, 세 번째 뉴클레오타이드는 동일하게(33% G, 33% C, 33% T)가 도입되도록 프라이머를 디자인하였다.

[0151]

[0152] **1.5.2. huAbF46 항체의 라이브러리 제작 및 c-Met에 대한 결합력 확인**

[0153] CDR의 무작위 서열 도입을 통한 항체 라이브러리 유전자의 구축은 상기 참고예 1.5.1과 같은 방법으로 제작된 프라이머를 이용하여 수행하였다. 주형으로 huAbF46 항체의 scFv를 포함하는 폴리뉴클레오타이드를 이용하여, 2개의 PCR 절편을 제작하고, 이를 중복 확장 중합효소연쇄반응(overlap extension PCR) 방법을 통하여, 원하는 CDR만 각각 돌연변이된 huAbF46 항체의 scFv 라이브러리 유전자를 확보하여 제작된 6개의 CDR을 각각 표적으로 하는 라이브러리들을 구축하였다.

[0154] 이렇게 제작된 라이브러리는 야생형과 각 라이브러리의 c-Met에 대한 결합력을 확인하였으며, 각각의 라이브러리는 야생형에 비하여 c-Met에 대한 결합력이 대부분 낮아지는 경향을 보였으나, 일부 c-Met에 대한 결합력이 유지되는 돌연변이들을 확인하였다.

[0155]

[0156] **1.6. 제작된 라이브러리로부터 친화도가 개선된 항체의 선별**

[0157] 상기 구축된 라이브러리로부터 c-Met에 대한 라이브러리의 결합력을 향상시킨 후, 각각의 개별 클론으로부터 scFv의 유전자 서열을 분석하였다. 확보된 유전자 서열은 각각 하기 표 2와 같으며, 이를 IgG 형태로 변환하였다. 하기 클론 중에서, L3-1, L3-2, L3-3, L3-5으로부터 생산된 4종의 항체를 선별하여 후속 실험을 수행하였다.

**표 2**

[0158]

클론 이름	도출된 라이브러리	CDR 서열
H11-4	CDR-H1	PEYYMS(서열번호 22)
YC151	CDR-H1	PDYYMS(서열번호 23)
YC193	CDR-H1	SDYYMS(서열번호 24)
YC244	CDR-H2	RNNANGNT(서열번호 25)
YC321	CDR-H2	RNKVNGYT(서열번호 26)
YC354	CDR-H3	DNWLSY(서열번호 27)
YC374	CDR-H3	DNWLT(서열번호 28)
L1-1	CDR-L1	KSSHLLASGNQNNYLA(서열번호 29)
L1-3	CDR-L1	KSSRLLSSGNHKNYLA(서열번호 30)
L1-4	CDR-L1	KSSKLLASGNQNNYLA(서열번호 31)
L1-12	CDR-L1	KSSRLLASGNQNNYLA(서열번호 32)
L1-22	CDR-L1	KSSHLLASGNQNNYLA(서열번호 33)
L2-9	CDR-L2	WASKRVS(서열번호 34)
L2-12	CDR-L2	WGSTRVS(서열번호 35)
L2-16	CDR-L2	WGSTRVP(서열번호 36)
L3-1	CDR-L3	QQYSRPTY(서열번호 13)
L3-2	CDR-L3	QQYSRPLT(서열번호 14)
L3-3	CDR-L3	AQSYSHPF(서열번호 15)
L3-5	CDR-L3	QQYSRPFT(서열번호 16)
L3-32	CDR-L3	QQYSKPFT(서열번호 37)

[0159]

[0160]

**1.7. 선별된 항체의 IgG로의 변환**

[0161]

선별된 4종의 항체의 중쇄를 코딩하는 폴리뉴클레오타이드는 'EcoRI-signal sequence-VH-NheI-CH-XhoI'(서열번호 38)로 구성되며, 중쇄의 경우 친화도 성숙 후에 항체의 아미노산이 변경되지 않았으므로, huAbF46 항체의 중쇄를 그대로 사용하였다. 다만, 힌지 영역(hinge region)은 인간 IgG1의 힌지가 아닌 U6-HC7 힌지(서열번호 57)로 치환하였다. 경쇄는 'EcoRI-signal sequence-VL-BsiWI-CL-XhoI'로 구성되도록 각각 디자인하여 유전자를 합성하였으며, 친화도 성숙 후에 선별된 상기 4종 항체의 경쇄 가변영역을 포함하여 코딩하는 폴리뉴클레오타이드(서열번호 58 내지 서열번호 61)를 바이오니아에 의뢰하여 합성하였다. 이후, Invitrogen 사의 OptiCHO™ Antibody Express Kit (Cat no. 12762-019)에 포함되어 있는 pOptiVEC™-TOPO TA Cloning Kit에 상기 중쇄에 해당하는 뉴클레오타이드 서열을 갖는 DNA 절편(서열번호 38)을, pcDNA™3.3-TOPO TA Cloning Kit(Cat no. 8300-01)에 상기 경쇄에 해당하는 뉴클레오타이드 서열을 갖는 DNA 절편(L3-1 유래 CDR-L3를 포함하는 DNA 절편: 서열번호 58, L3-2 유래 CDR-L3를 포함하는 DNA 절편: 서열번호 59, L3-3 유래 CDR-L3를 포함하는 DNA 절편: 서열번호 60, L3-5 유래 CDR-L3를 포함하는 DNA 절편: 서열번호 61)을 각각 EcoRI(NEB, R0101S)과 XhoI(NEB, R0146S) 제한 효소를 사용하여 클로닝함으로써, 친화력 성숙된 항체의 발현을 위한 벡터를 구축하였다.

[0162]

상기 구축된 벡터는 각각 Qiagen Maxiprep kit (Cat no. 12662)을 이용하여 증폭되었으며, 임시발현은 Freestyle™ MAX 293 Expression System (invitrogen)을 이용하여 진행 되었다. 사용된 세포주는 293 F cell 이며, FreeStyle™ 293 Expression Medium를 배지로 사용하여 부유배양방식으로 배양되었다. 임시발현 하루 전 세포를  $5 \times 10^5$  cells/ml의 농도로 준비한 후, 24시간이 지난 뒤 cell수가  $1 \times 10^6$  cells/ml이 되었을 때 임시발현을 진행하였다. Freestyle™ MAX reagent (invitrogen)을 사용한 liposomal reagent법으로 형질도입(transfection)을 진행 하였으며, 15ml tube에 중쇄 DNA: 경쇄 DNA=1:1 의 비율로 DNA를 준비하여 OptiPro™ SFM (invitrogen) 2ml과 mix하고(A), 또 다른 15ml tube에 Freestyle™ MAX reagent 100 $\mu$ l와 OptiPro™ SFM 2ml을 mix(B)한 후, (A)와 (B)을 mix하여 15분간 incubation 한 후, 하루 전에 준비한 세포에 혼합액을 천천히 섞어주었다. 형질도입 완료 후, 37 °C, 80% humidity, 8% CO<sub>2</sub>, 130 rpm incubator에서 5일간 배양하였다.

[0163]

상기 배양된 세포를 원심분리하여 상등액 각 100 ml을 취하고, AKTA Prime (GE healthcare)를 이용하여 정제하였다. AKTA Prime에 Protein A 컬럼(GE healthcare, 17-0405-03)을 설치하고 배양액을 5 ml/min의 유속으로 흘려준 후, IgG elution buffer(Thermo Scientific, 21004)로 용출하였다. 이를 PBS buffer로 교환하여 최종적으로 친화력 성숙된 4종의 항체(이하, huAbF46-H4-A1(L3-1 유래), huAbF46-H4-A2 (L3-2 유래), huAbF46-H4-A3 (L3-3 유래), 및 huAbF46-H4-A5(L3-5 유래)로 명명함)를 정제하였다.

[0164]

**1.8. 불변영역 및/또는 힌지영역이 치환된 huAbF46-H4-A1의 제조**

[0165]

상기 참고예 1.7에서 선별된 4종의 항체 중에서, c-Met과의 결합친화도가 가장 높고, Akt 인산화 및 c-Met 분해 정도가 가장 낮은 것으로 측정된 huAbF46-H4-A1을 대상으로, 힌지영역 또는 불변영역 및 힌지영역이 치환된 항체를 제작하였다.

[0166]

huAbF46-H4-A1의 중쇄 가변영역, U6-HC7 힌지 및 인간의 IgG1 불변영역으로 이루어진 중쇄 및 huAbF46-H4-A1의 경쇄 가변영역 및 인간의 카파(kappa) 불변영역으로 이루어진 경쇄로 이루어진 항체를 huAbF46-H4-A1(U6-HC7)으로; huAbF46-H4-A1의 중쇄 가변영역, 인간의 IgG2 힌지 및 인간의 IgG1 불변영역으로 이루어진 중쇄 및 huAbF46-H4-A1의 경쇄 가변영역 및 인간의 카파 불변영역으로 이루어진 경쇄로 이루어진 항체를 huAbF46-H4-A1(IgG2 hinge)로; huAbF46-H4-A1의 중쇄 가변영역, 인간의 IgG2 힌지 및 인간의 IgG2 불변영역으로 이루어진 중쇄 및 huAbF46-H4-A1의 경쇄 가변영역 및 인간의 카파 불변영역으로 이루어진 경쇄로 이루어진 항체를 huAbF46-H4-A1(IgG2 Fc)로 각각 명명하였다. 또한, 한편, 상기 3종의 항체는 생산량 증대를 위하여 인간의 카파 불변영역으로 이루어진 경쇄의 36번 히스티딘(histidine)을 모두 티로신(tyrosine)으로 치환하였다.

[0167]

상기 3종 항체를 제작하기 위해, huAbF46-H4-A1의 중쇄 가변영역, U6-HC7힌지 및 인간의 IgG1 불변영역으로 이루어진 폴리펩티드(서열번호 62)를 코딩하는 폴리뉴클레오타이드(서열번호 63), huAbF46-H4-A1의 중쇄 가변영역,

인간의 IgG2 힌지 및 인간의 IgG1 불변영역으로 이루어진 폴리펩티드(서열번호 64)를 코딩하는 폴리뉴클레오티드(서열번호 65), huAbF46-H4-A1의 중쇄 가변영역, 인간의 IgG2 힌지 및 인간의 IgG2 불변영역으로 이루어진 폴리펩티드(서열번호 66)를 코딩하는 폴리뉴클레오티드(서열번호 67), 36번 히스티딘이 티로신으로 치환된 huAbF46-H4-A1의 경쇄 가변영역 및 인간의 카파 불변영역으로 이루어진 폴리펩티드(서열번호 68)를 코딩하는 폴리뉴클레오티드(서열번호 69)를 바이오니아에 의뢰하여 합성하였다. 이후, Invitrogen 사의 OptiCHO™ Antibody Express Kit (Cat no. 12762-019)에 포함되어 있는 pOptiVEC™-TOPO TA Cloning Kit에 상기 중쇄에 해당하는 염기서열을 갖는 DNA 절편을, pcDNA™3.3-TOPO TA Cloning Kit(Cat no. 8300-01)에 상기 경쇄에 해당하는 염기서열을 갖는 DNA 절편을 삽입하여, 상기 항체의 발현을 위한 벡터를 구축하였다.

[0168] 상기 구축된 벡터는 각각 Qiagen Maxiprep kit (Cat no. 12662)을 이용하여 증폭되었으며, 임시발현은 Freestyle™ MAX 293 Expression System (invitrogen)을 이용하여 진행 되었다. 사용된 세포주는 293 F cell 이며, FreeStyle™ 293 Expression Medium를 배지로 사용하여 부유배양방식으로 배양되었다. 임시발현 하루 전 세포를  $5 \times 10^5$  cells/ml의 농도로 준비한 후, 24시간이 지난 뒤 cell수가  $1 \times 10^6$  cells/ml이 되었을 때 임시발현을 진행하였다. Freestyle™ MAX reagent (invitrogen)을 사용한 liposomal reagent법으로 형질도입(transfection)을 진행 하였으며, 15ml tube에 중쇄 DNA: 경쇄 DNA=1:1 의 비율로 DNA를 준비하여 OptiPro™ SFM (invitrogen) 2ml과 mix하고(A), 또 다른 15ml tube에 Freestyle™ MAX reagent 100 $\mu$ l와 OptiPro™ SFM 2ml을 mix(B)한 후, (A)와 (B)을 mix하여 15분간 incubation 한 후, 하루 전에 준비한 세포에 혼합액을 천천히 섞어주었다. 형질도입 완료 후, 37 °C, 80% humidity, 8% CO<sub>2</sub>, 130 rpm incubator에서 5일간 배양하였다.

[0169] 상기 배양된 세포를 원심분리하여 상등액 각 100 ml을 취하고, AKTA Prime (GE healthcare)를 이용하여 정제하였다. AKTA Prime에 Protein A 컬럼(GE healthcare, 17-0405-03)을 설치하고 배양액을 5 ml/min의 유속으로 흘려준 후, IgG elution buffer(Thermo Scientific, 21004)로 용출하였다. 이를 PBS buffer로 교환하여 최종적으로 3종의 항체(huAbF46-H4-A1(U6-HC7), huAbF46-H4-A1(IgG2 hinge), huAbF46-H4-A1(IgG2 Fc))를 정제하였다. 이 중에서 본 발명에 따른 항 c-Met 항체를 대표하여 huAbF46-H4-A1(U6-HC7)을 선택하여 하기의 실시예에 사용하였으며, 편의상 상기 항체를 항 c-Met 항체 L3-1Y로 명명하였다.

[0170] **실시예 1: 수용체 발현 스크리닝**

[0171] ATCC에서 구입한 인간의 다양한 암 세포주(SKBR3(유방암세포주), MKN45(위암세포주), NCI-N87(위암세포주)) 각각에서 cMET과 HER2의 발현 여부를 조사하였다. 구체적으로 각각  $5 \times 10^5$ 개의 세포를 1 $\mu$ g/ml의 primary antibody(c-Met(L3-1Y), EGFR(Erbitux), Her2(Herceptin))로 4°C에서 1시간 FACS buffer에 incubation한 후, secondary antibody로서 anti-human-FITC(Jackson ImmunoResearch)로 4°C에서 30분 동안 incubation후 FACS(FACS Canto, BD)로 분석하여 도 1에 나타냈다.

[0172] 도 1에 나타난 바와 같이, 특히, NCI-N87(위암세포주)에서 HER2의 높은 발현이 관찰되어 해당 세포주를 하기 실시예에서 사용하였다.

[0173] **실시예 2: 항-cMet 항체 L3-1Y와 항 Her2 항체 허셉틴(Herceptin)의 병용 효과 확인**

[0174] 96well plate에  $5 \times 10^3$  cell/well로 NCI-N87 세포를 seeding한 후, 5%(v/v) FBS, wo/HGF 또는 w/HGF(100ng/ml) 조건에서 Herceptin과 L3-1Y를 각각의 농도에 맞추어 96well에 각각 단독 또는 병용 처리(37°C, 96시간)하고 96시간째에 Cell-Titer Glo(Promega)로 측정하여 그 결과를 도 2에 나타냈다. 본 실험에 사용된 HGF는 팬젠사(PANGEN)에서 구입하였다.

[0175] 도 2에 나타난 바와 같이, HGF가 없는 조건에서는 항 Her2 항체인 Herceptin 단독 처리시 우수한 세포주 성장 억제 효과를 나타낸 반면, HGF 가 있는 조건하에서는 획득 저항성(acquired resistance)을 보이며 Herceptin 단독 처리시 세포주의 성장이 88%에 달하는 것으로 나타나 암 세포 성장 억제 효과가 현저히 떨어짐을 확인할 수 있었다. 그러나 항-cMet 항체 L3-1Y와 항 Her2 항체 허셉틴(Herceptin)를 병용 처리한 경우, HGF가 있는 조건하에서 세포주의 성장이 52%로 매우 낮게 나타나 상기 두 가지 항체의 병용 처리에 의한 시너지 효과를 확인

할 수 있었으며, 허셉틴 단독 처리시의 한계를 효과적으로 극복할 수 있음을 확인할 수 있었다.

**[0176] 실시예 3: 항-cMet 항체 L3-1Y와 항 Her2 항체 허셉틴(Herceptin)의 병용 처리에 따른 이동 억제 효과 확인**

[0177] ORIS™\_CELL\_MIGRATION Assay Kit(PLATYPUS)를 사용하여 제조사의 방법에 따라 항-cMet 항체 L3-1Y와 항 Her2 항체 허셉틴(Herceptin)의 병용 처리에 따른 이동 억제 효과를 확인하였다. 구체적으로 상기 Kit에 포함된 96 well plate에 NCI-N87 세포를 HGF(100ng/ml)(PANGEN) 포함 조건에서  $1 \times 10^4$  cell/well로 seeding후, Herceptin과 L3-1Y를 각각의 농도(Herceptin 0.4 ug/ml, L3-1Y 20 ug/ml)에 맞추어 각각 단독 또는 병용 처리하여 72시간 incubation후 현미경으로 이미지를 얻어 도 3에 나타냈다.

[0178] 도 3에 나타난 바와 같이, HGF가 존재하는 경우 증가된 세포 이동(cell migration)들이 관찰되었고, Herceptin 단독 처리의 경우는 증가된 이동을 전혀 억제하지 못하는 것으로 나타났다. 반면, L3-1Y와 Herceptin을 병용 처리한 경우는 세포 이동이 현저히 감소된 것을 볼 수 있었다. 따라서 항 c-Met 항체 및 항 Her2 항체를 병용 처리함으로써 상기 실시예 2에서 확인된 바와 같이 세포의 성장을 떨어뜨림과 동시에 세포의 이동 또한 함께 억제시킬 수 있음을 확인할 수 있었다.

**[0179] 실시예 4: 항 c-Met 항체 및 항 Her2 항체의 병용 처리에 따라 저하되는 유전자 선별**

[0180] HGF가 있거나, 또는 없는 조건하에서 항 c-Met 항체 및 항 Her2 항체를 병용 처리함에 따라 변화할 수 있는 유전자(gene)를 마이크로어레이(microarray)를 통해 조사하여 도 4에 나타냈다.

[0181] 구체적으로 NCI-N87 세포를  $5 \times 10^5$  cell/well로 6well 내 seeding후 L3-1Y와 Herceptin을 병용 처리(HGF 100ng/ml조건으로 24시간 incubation)한 후 Quiagen사의 RNeasy Kit를 사용하여 제조사의 방법에 따라 RNA prep을 수행하였다. 이후 Cancer Pathway Finder™ PCR Array Kit 및 관련 시약들을 SABioscience사로부터 구입하여 제조사의 방법에 따라 Real-Time PCR을 수행하였다. PCR기기는 Roche사의 LC4801를 사용하였다.

[0182] 도 4에 나타난 바와 같이 HGF가 있는 조건하에서 여러 유전자들의 발현이 촉진되는 현상이 관찰되었으나, L3-1Y와 Herceptin을 병용 처리시 유의하게 저하되는 유전자들(CDKN1A, IFNB1, IL-8 등)이 관측되었다.

**[0183] 실시예 5: 항 c-Met 항체 및 항 Her2 항체의 병용 처리시 IL-8의 protein level에 대한 영향 확인**

[0184] 상기 변화가 관측된 유전자 중 gene level과 더불어 protein level에서도 병용 처리에 따른 저하를 나타내는 것이 있는지 확인하였다.

[0185] 구체적으로 NCI-N87 세포를  $5 \times 10^5$  cell/well로 6well 내 seeding후 L3-1Y와 Herceptin을 HGF 100ng/ml조건으로 72시간 단독 또는 병용 처리하고 그 Media soup을 걷어 ELISA(IL-8 Platinum ELISA, eBioscience)kit으로 측정하여 도 5에 나타냈다.

[0186] 도 5에 나타난 바와 같이, IL-8의 경우 상기 실시예 4에서 확인된 gene level 감소와 더불어 protein level에서도 L3-1Y와 Herceptin의 병용 처리에 의해 HGF가 없는 조건과 동등한 정도로 protein level이 확연히 감소함을 확인할 수 있었다. 상기 IL-8은 VEGF와 더불어 강력한 혈관신생 유발전구인자(pro-angiogenic factors)인바, 상기 항 c-Met 항체 및 항 Her2 항체의 병용 처리에 의해 신생혈관형성인자의 감소라는 추가적인 효과를 볼 수 있을 것으로 기대된다.

**수탁번호**

[0187]

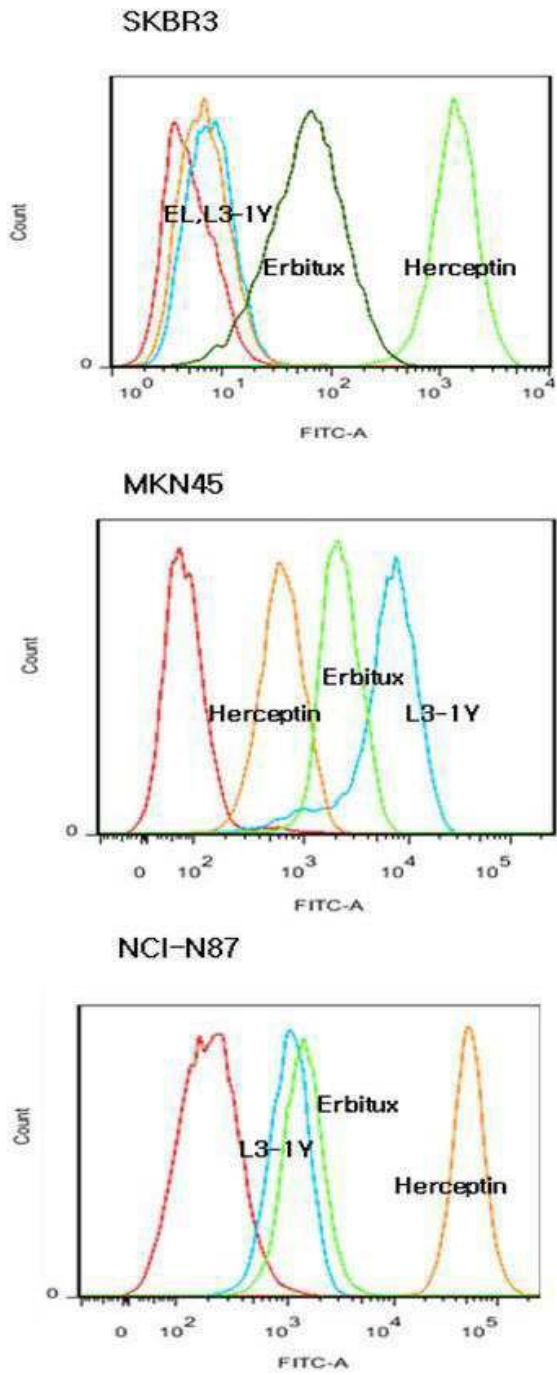
기탁기관명 : 한국세포주연구재단

수탁번호 : KCLRFBPO0220

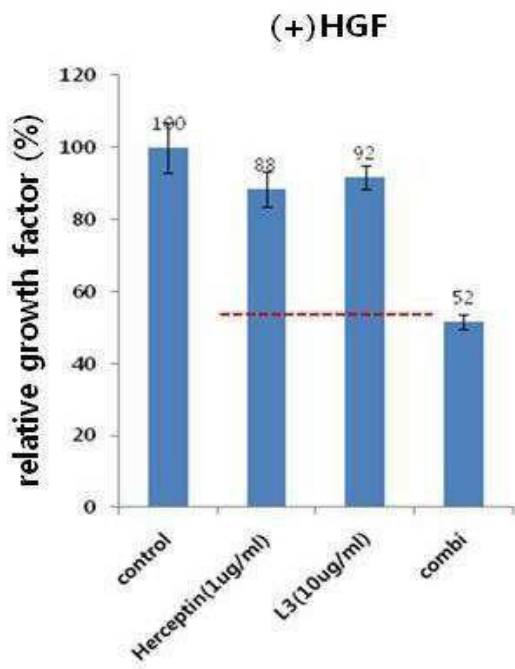
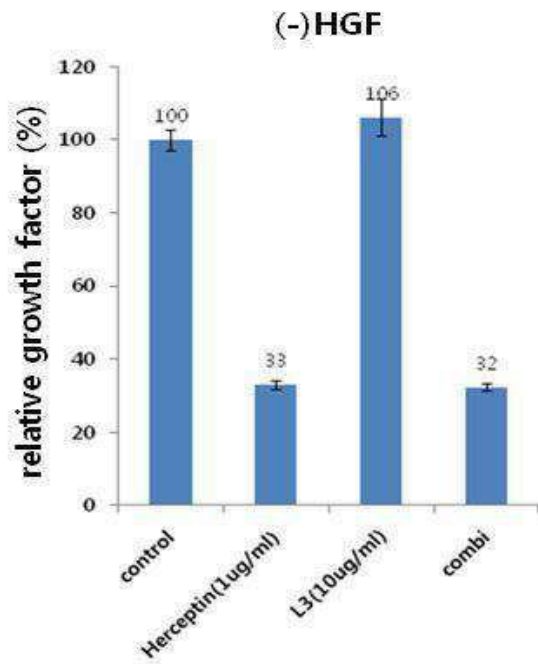
수탁일자 : 20091009

도면

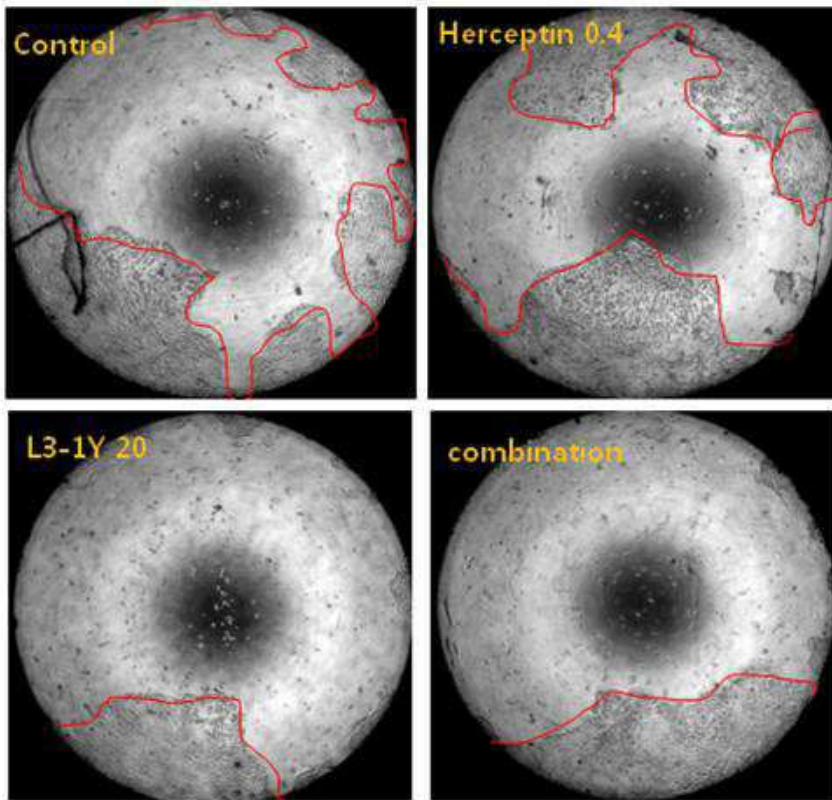
도면1



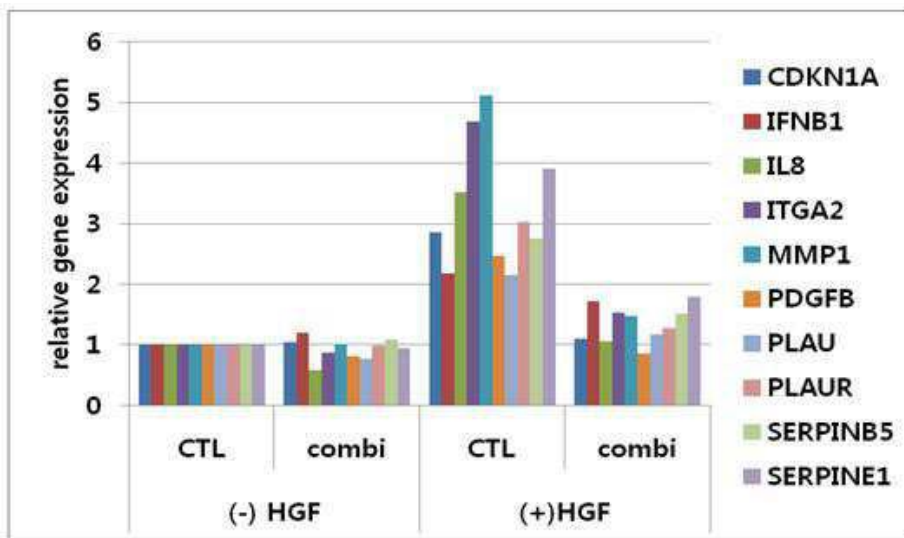
도면2



도면3

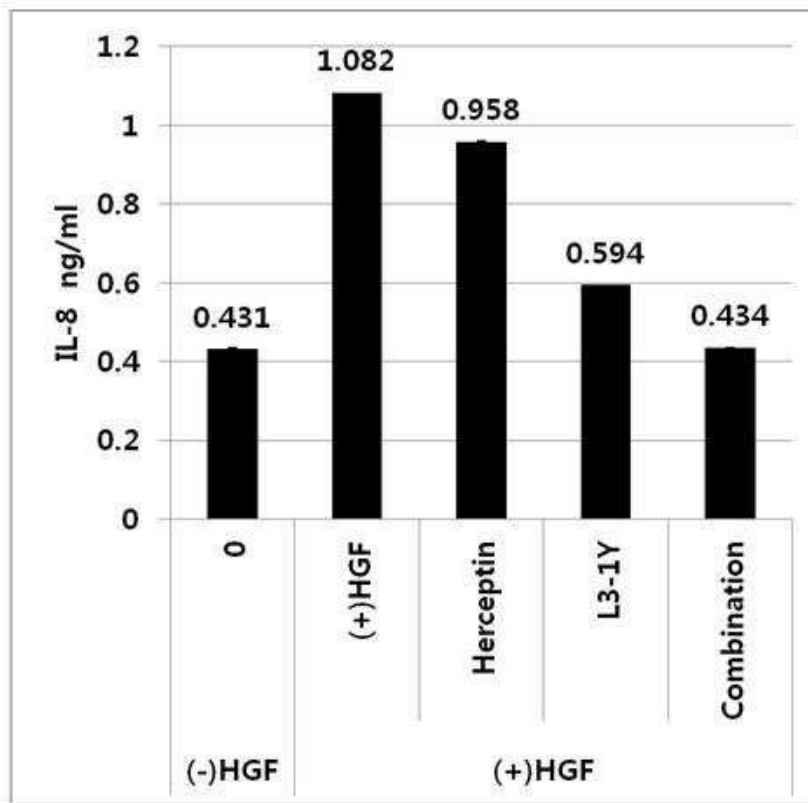


도면4





도면5



서열 목록

- <110> Samsung Electronics Co. Ltd
- <120> Composition for combination therapy containing anti-her2 antibody and anti-c-Met antibody
- <130> DPP20125839KR
- <160> 108
- <170> KopatentIn 1.71
- <210> 1
- <211> 5
- <212> PRT
- <213> Artificial Sequence
- <220><223> heavy chain CDR1 of AbF46
- <400> 1
- Asp Tyr Tyr Met Ser
- 1 5
- <210> 2
- <211> 19
- <212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> heavy chain CDR2 of AbF46

<400> 2

Phe Ile Arg Asn Lys Ala Asn Gly Tyr Thr Thr Glu Tyr Ser Ala Ser

1 5 10 15

Val Lys Gly

<210> 3

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> heavy chain CDR3 of AbF46

<400> 3

Asp Asn Trp Phe Ala Tyr

1 5

<210> 4

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> heavy chain CDR1 of c-Met antibody

<220><221> UNSURE

<222> (1)

<223> X is Pro or Ser or absent

<220><221> UNSURE

<222> (2)

<223> X is Glu or Asp

<400> 4

Xaa Xaa Tyr Tyr Met Ser

1 5

<210> 5

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> heavy chain CDR2 of c-Met antibody

<220><221> UNSURE

<222> (3)

<223> X is Asn or Lys

<220><221> UNSURE

<222> (4)

<223> X is Ala or Val

<220><221> UNSURE

<222> (7)

<223> X is Asn or Thr

<400> 5

Arg Asn Xaa Xaa Asn Gly Xaa Thr

1 5

<210> 6

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> heavy chain CDR3 of c-Met antibody

<220><221> UNSURE

<222> (5)

<223> X is Ser or Thr

<400> 6

Asp Asn Trp Leu Xaa Tyr

1 5

<210> 7

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> light chain CDR1 of c-Met antibody

<220><221> UNSURE

<222> (4)

<223> X is His, Arg, Gln or Lys

<220><221> UNSURE

<222> (12)

<223> X is His or Gln

<220><221> UNSURE

<222> (13)

<223> X is Lys or Asn

<220><221> UNSURE

<222> (9)

<223> X is Ser or Trp

<400> 7

Lys Ser Ser Xaa Ser Leu Leu Ala Xaa Gly Asn Xaa Xaa Asn Tyr Leu

1 5 10 15

Ala

<210> 8

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> light chain CDR2 of c-Met antibody

<220><221> UNSURE

<222> (2)

<223> X is Ala or Gly

<220><221> UNSURE

<222> (4)

<223>

> X is Thr or Lys

<220><221> UNSURE

<222> (7)

<223> X is Ser or Pro

<400> 8

Trp Xaa Ser Xaa Arg Val Xaa

1 5

<210> 9

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> light chain CDR3 of c-Met antibody

<220><221> UNSURE

<222> (1)

<223> X is Gly, Ala or Gln

<220><221> UNSURE

<222> (6)

<223> X is Arg, His, Ser, Ala, Gly or Lys

<220><221> UNSURE

<222> (8)

<223> X is Leu, Tyr, Phe or Met

<400> 9

Xaa Gln Ser Tyr Ser Xaa Pro Xaa Thr

1 5

<210> 10

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> light chain CDR1 of AbF46

<400> 10

Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Ala Ser Gly Asn Gln Asn Asn Tyr Leu

1 5 10 15

Ala

<210> 11

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> light chain CDR2 of AbF46

<400> 11

Trp Ala Ser Thr Arg Val Ser

1 5

<210> 12

<211> 9

<212> PRT  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> light chain CDR3 of AbF46  
 <400> 12  
 Gln Gln Ser Tyr Ser Ala Pro Leu Thr  
 1 5  
 <210> 13  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> CDR-L3 derived from L3-1 clone  
 <400> 13  
 Gln Gln Ser Tyr Ser Arg Pro Tyr Thr  
 1 5  
 <210> 14  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence  
  
 <220><223> CDR-L3 derived from L3-2 clone  
 <400> 14  
 Gly Gln Ser Tyr Ser Arg Pro Leu Thr  
 1 5  
 <210> 15  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> CDR-L3 derived from L3-3 clone  
 <400> 15  
 Ala Gln Ser Tyr Ser His Pro Phe Ser  
 1 5  
 <210> 16  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence

<220><223> CDR-L3 derived from L3-5 clone

<400> 16

Gln Gln Ser Tyr Ser Arg Pro Phe Thr

1 5

<210> 17

<211> 117

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> heavy chain variable region of anti c-Met humanized antibody(huAbF46-H4)

<400> 17

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Gly Phe Ile Arg Asn Lys Ala Asn Gly Tyr Thr Thr Glu Tyr Ser Ala

50 55 60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 18

<211> 114

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> light chain variable region of anti c-Met humanized

antibody(huAbF46-H4)

<400> 18

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Ala Pro Lys Met Leu Ile Ile Trp Ala Ser Thr Arg Val Ser Gly Val

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ser Tyr Ser Arg Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile

100 105 110

Lys Arg

<210> 19

<211> 114

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> light chain variable region of anti c-Met humanized

antibody(huAbF46-H4)

<400> 19

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Ala Pro Lys Met Leu Ile Ile Trp Ala Ser Thr Arg Val Ser Gly Val





<210> 21  
 <211> 114  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> light chain variable region of anti c-Met humanized antibody(huAbF46-H4)  
 <400> 21  
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly  
 1 5 10 15  
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Ala Ser  
 20 25 30  
 Gly Asn Gln Asn Asn Tyr Leu Ala Trp His Gln Gln Lys Pro Gly Lys  
 35 40 45  
 Ala Pro Lys Met Leu Ile Ile Trp Ala Ser Thr Arg Val Ser Gly Val  
 50 55 60  
 Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr  
 65 70 75 80  
 Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln  
 85 90 95  
 Ser Tyr Ser Arg Pro Phe Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile  
 100 105 110  
 Lys Arg

<210> 22  
 <211> 6  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> CDR-H1 derived from H11-4 clone  
 <400> 22  
 Pro Glu Tyr Tyr Met Ser  
 1 5  
 <210> 23  
 <211> 6

<212> PRT  
<213> Artificial Sequence  
<220><223> CDR-H1 derived from YC151 clone

<400> 23  
Pro Asp Tyr Tyr Met Ser

1 5  
<210> 24

<211> 6  
<212> PRT

<213> Artificial Sequence  
<220><223> CDR-H1 derived from YC193 clone

<400> 24  
Ser Asp Tyr Tyr Met Ser

1 5  
<210> 25

<211> 8  
<212> PRT

<213> Artificial Sequence  
<220><223> CDR-H2 derived from YC244 clone

<400> 25  
Arg Asn Asn Ala Asn Gly Asn Thr

1 5  
<210> 26

<211> 8  
<212> PRT

<213> Artificial Sequence  
<220><223> CDR-H2 derived from YC321 clone

<400> 26  
Arg Asn Lys Val Asn Gly Tyr Thr

1 5  
<210> 27

<211> 6  
<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDR-H3 derived from YC354 clone

<400> 27

Asp Asn Trp Leu Ser Tyr

1 5

<210> 28

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDR-H3 derived from YC374 clone

<400> 28

Asp Asn Trp Leu Thr Tyr

1 5

<210> 29

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDR-L1 derived from L1-1 clone

<400> 29

Lys Ser Ser His Ser Leu Leu Ala Ser Gly Asn Gln Asn Asn Tyr Leu

1 5 10 15

Ala

<210> 30

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDR-L1 derived from L1-3 clone

<400> 30

Lys Ser Ser Arg Ser Leu Leu Ser Ser Gly Asn His Lys Asn Tyr Leu

1 5 10 15

Ala

<210> 31

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDR-L1 derived from L1-4 clone

<400> 31

Lys Ser Ser Lys Ser Leu Leu Ala Ser Gly Asn Gln Asn Asn Tyr Leu

1                    5                    10                    15  
Ala

<210> 32

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDR-L1 derived from L1-12 clone

<400> 32

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

1                    5                    10                    15  
Ala

<210> 33

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDR-L1 derived from L1-22 clone

<400> 33

Lys Ser Ser His Ser Leu Leu Ala Ser Gly Asn Gln Asn Asn Tyr Leu

1                    5                    10                    15  
Ala

<210> 34

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDR-L2 derived from L2-9 clone

<400> 34

Trp Ala Ser Lys Arg Val Ser

1 5

<210> 35

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDR-L2 derived from L2-12 clone

<400> 35

Trp Gly Ser Thr Arg Val Ser

1 5

<210> 36

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDR-L2 derived from L2-16 clone

<400> 36

Trp Gly Ser Thr Arg Val Pro

1 5

<210> 37

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDR-L3 derived from L3-32 clone

<400> 37

Gln Gln Ser Tyr Ser Lys Pro Phe Thr

1 5

<210> 38

<211> 1416

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> nucleotide sequence of heavy chain of chAbF46

<220><221> misc\_feature

<222> (1)..(6)

<223> EcoRI restriction site

<220><221> misc\_feature

<222> (7)..(66)

<223> signal sequence

<220><221> misc\_feature

<222> (67)..(417)

<223> VH - heavy chain variable region

<220><221> misc\_feature

<222> (418)..(423)

<223> NdeI restriction site

<220><221> misc\_feature

<222> (418)..(1407)

<223> CH - heavy chain constant region

<220><221> misc\_feature

<222> (1408)..(1410)

<223> TGA - stop sodon

<220><221> misc\_feature

<222> (1411)..(1416)

<223> XhoI restriction site

<400> 38

```

gaattcgccg ccacatgga atggagctgg gtttttctcg taacactttt aaatggtatc      60
cagtgtgagg tgaagctggg ggagctctgga ggaggcttgg tacagcctgg gggttctctg    120
agactctcct gtgcaacttc tgggttcacc ttactgatt actacatgag ctgggtccgc      180
cagcctccag gaaaggcact tgagtgggtg ggttttatta gaaacaaagc taatggttac     240
acaacagagt acagtgcate tgtgaagggt cggttcacca tctccagaga taattcccaa     300
agcatcctct atcttcaat ggacaccctg agagctgagg acagtgccac ttattactgt     360

gcaagagata actggtttgc ttactggggc caagggactc tggctactgt ctctgcagct     420
agcaccaagg gcccatcggg cttccccctg gcaccctcct ccaagagcac ctctgggggc     480
acagcggccc tgggctgctt ggtcaaggac tacttccccg aaccggtgac ggtgtcgtgg     540
aactcaggcg cctgaccag cggcgtgcac accttcccgg ctgtcctaca gtcctcagga     600
ctctactccc tcagcagcgt ggtgaccgtg cctccagca gcttgggcac ccagacctac     660

```

atctgcaacg tgaatcacia gccccagcaac accaaggtgg acaagaaagt tgagcccaaa 720  
tcttgtgaca aaactcacac atgcccaccg tgcccagcac ctgaactcct ggggggaccg 780

tcagtettcc ttttcccccc aaaacccaag gacaccetca tgatctcccg gaccctgag 840  
gtcacatgcg tgggtggtgga cgtgagccac gaagaccctg aggtcaagtt caactggtac 900  
gtggacggcg tggaggtgca taatgccaag acaaagccgc gggaggagca gtacaacagc 960  
acgtaccgtg tggtcagcgt cctcaccgtc ctgcaccagg actggctgaa tggcaaggag 1020  
tacaagtgca aggtctccaa caaagccctc ccagcccca tcgagaaaac catctccaaa 1080  
gccaaagggc agccccgaga accacaggtg tacacctgc ccccatcccg ggaggagatg 1140  
accaagaacc aggtcagcct gacctgcctg gtcaaaggct tctatcccag cgacatcgcc 1200

gtggagtggg agagcaatgg gcagccggag aacaactaca agaccacgcc tcccgtgctg 1260  
gactccgacg gctccttctt cctctacagc aagctcaccg tggacaagag caggtggcag 1320  
caggggaacg tcttctcatg ctccgtgatg catgaggctc tgcacaacca ctacacgacg 1380  
aagagcctct cctgtctcc gggtaatga ctcgag 1416

<210> 39  
<211> 759  
<212> DNA  
<213> Artificial Sequence  
<220><223> nucleotide sequence of light chain of chAbF46  
<220><221> misc\_difference  
<222> (1)..(6)  
<223> EcoRI restriction site

<220><221> misc\_difference  
<222> (7)..(90)  
<223> signal sequence  
<220><221> misc\_difference  
<222> (91)..(432)  
<223> VL - light chain variable region  
<220><221> misc\_difference  
<222> (430)..(435)  
<223> BsiWI restriction site  
<220><221> misc\_difference  
<222> (433)..(750)



<223> CL - light chain constant region

<220><221> misc\_difference

<222> (751)..(753)

<223> stop codon

<220><221> misc\_difference

<222> (754)..(759)

<223> XhoI restriction site

<400> 39

gaattcacta gtgattaatt cgccgccacc atggattcac aggcccaggt cctcatgttg 60  
 ctgctgctat cggtatctgg tacctgtgga gacattttga tgaccagtc tccatcctcc 120  
 ctgactgtgt cagcaggaga gaaggctact atgagctgca agtccagtca gagtctttta 180  
 gctagtggca accaaaataa ctacttggcc tggcaccagc agaaaccagg acgatctcct 240  
 aaaatgctga taatttgggc atccactagg gtatctggag tccctgatcg cttcataggc 300  
 agtggatctg ggacggattt cactctgacc atcaacagtg tgcaggctga agatctggct 360  
 gtttattact gtcagcagtc ctacagcgct ccgctcacgt tgggtgctgg gaccaagctg 420

gagctgaaac gtacggtggc tgcaccatct gtcttcatct tcccgccatc tgatgagcag 480  
 ttgaaatctg gaactgcctc tgtttgtgtc ctgctgaata acttctatcc cagagaggcc 540  
 aaagtacagt ggaaggtgga taacgccctc caatcgggta actcccagga gagtgtcaca 600  
 gagcaggaca gcaaggacag cacctacagc ctcagcagca ccctgacgct gagcaaagca 660  
 gactacgaga aacacaaagt ctacgcctgc gaagtcaccc atcagggcct gagctcgccc 720  
 gtcacaaaga gttcaacag gggagagtgt tgactcgag 759

<210> 40

<211> 447

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> amino acid sequence of H1-heavy

<400> 40

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



Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser  
 290 295 300  
 Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys  
 305 310 315 320  
 Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile  
 325 330 335  
 Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro  
 340 345 350  
 Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu  
 355 360 365  
 Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn  
 370 375 380  
 Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser  
 385 390 395 400  
 Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg  
 405 410 415  
 Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu  
 420 425 430  
 His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
 435 440 445  
 <210> 41  
 <211> 447  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> amino acid sequence of H3-heavy  
 <400> 41  
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly  
 1 5 10 15  
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Thr Asp Tyr  
 20 25 30  
 Tyr Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu  
 35 40 45

Gly Phe Ile Arg Asn Lys Ala Asn Gly Tyr Thr Thr Glu Tyr Ser Ala  
 50 55 60  
 Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Ser  
 65 70 75 80  
 Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr  
 85 90 95  
  
 Tyr Cys Ala Arg Asp Asn Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu  
 100 105 110  
 Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu  
 115 120 125  
 Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys  
 130 135 140  
 Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser  
 145 150 155 160  
 Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser  
 165 170 175  
 Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser  
 180 185 190  
 Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn  
 195 200 205  
 Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His  
 210 215 220  
 Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val  
 225 230 235 240  
  
 Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr  
 245 250 255  
 Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu  
 260 265 270  
 Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys  
 275 280 285  
 Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser  
 290 295 300

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

305                    310                    315                    320

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

325                    330                    335

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

340                    345                    350

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

355                    360                    365

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

370                    375                    380

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

385                    390                    395                    400

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

405                    410                    415

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

420                    425                    430

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

435                    440                    445

<210> 42

<211> 447

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> amino acid sequence of H4-heavy

<400> 42

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

1                    5                    10                    15

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

20                    25                    30

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

35                    40                    45

Gly Phe Ile Arg Asn Lys Ala Asn Gly Tyr Thr Thr Glu Tyr Ser Ala



305                    310                    315                    320  
 Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile  
                           325                    330                    335  
 Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro  
                           340                    345                    350  
 Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu  
                           355                    360                    365  
 Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn  
                           370                    375                    380  
 Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser  
 385                    390                    395                    400  
 Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg  
                           405                    410                    415  
  
 Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu  
                           420                    425                    430  
 His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
                           435                    440                    445  
 <210>    43  
 <211>    220  
 <212>    PRT  
 <213>    Artificial Sequence  
 <220><223>    amino acid sequence of H1-light  
 <400>    43  
 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 Ala Ser  
                           20                    25                    30  
 Gly Asn Gln Asn Asn Tyr Leu Ala Trp His Gln Gln Lys Pro Gly Gln  
                           35                    40                    45  
 Pro Pro Lys Met Leu Ile Ile Trp Ala Ser Thr Arg Val Ser Gly Val  
                           50                    55                    60  
 Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr









Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Ala Ser  
                   20                  25                  30  
 Gly Asn Gln Asn Asn Tyr Leu Ala Trp His Gln Gln Lys Pro Gly Lys  
                   35                  40                  45  
 Ala Pro Lys Met Leu Ile Ile Trp Ala Ser Thr Arg Val Ser Gly Val  
                   50                  55                  60  
 Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr  
                   65                  70                  75                  80  
 Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln  
                   85                  90                  95  
  
 Ser Tyr Ser Ala Pro Leu Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val 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                  160  
 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  
                   210                  215  
 <210> 47  
 <211> 1350  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> nucleotide sequence of H1-heavy

<400> 47

gaggtgcagc tggtaggagtc tgggggaggc ttggtccagc ctggagggtc cctgagactc 60  
 tcctgtgcag cctctggatt caccttcaact gactactaca tgagctgggt ccgccaggct 120  
 ccaggggaagg ggctggagtg gttgggcttt attagaaaca aagctaacgg ttacaccaca 180  
 gaatacagtg cgtctgtgaa aggcagattc accatctcaa gagataattc aaagaactca 240  
 ctgtatctgc aaatgaacag cctgaaaacc gaggacacgg ccgtgtatta ctgtgctaga 300  
 gataactggt ttgcttactg gggtaagga accctggta ccgtctcctc ggctagcacc 360  
 aagggcccat cggctcttccc cctggcacc cctccaaga gcacctctgg gggcacagcg 420

gccctgggct gcctggtaaa ggactacttc cccgaaccgg tgacgggtgc gtggaactca 480  
 ggccgacctga ccagcggcgt gcacaccttc ccggctgtcc tacagtcctc aggactctac 540  
 tcctcagca gcgtggtagc cgtgcctcc agcagcttgg gcaccagac ctacatctgc 600  
 aacgtgaatc acaagcccag caacaccaag gtggacaaga aagttgagcc caaatcttgt 660  
 gacaaaactc acacatgccc accgtgcca gcacctgaac tcctgggggg accgtcagtc 720  
 ttctcttcc ccccaaaacc caaggacacc ctcatgatct cccggacccc tgaggtcaca 780  
 tgcgtggtagg tggacgtgag ccacgaagac cctgaggtca agttcaactg gtacgtggac 840

ggcgtggagg tgcataatgc caagacaaag ccgctggagg agcagtaca cagcacgtac 900  
 cgtgtggta gcgtctcac cgtctgcac caggactgga tgaatggcaa ggagtacaag 960  
 tgcaaggtct ccaacaaagc cctcccagcc cccatcgaga aaacctctc caaagccaaa 1020  
 gggcagcccc gagaaccaca ggtgtacacc ctcccccat cccgggagga gatgaccaag 1080  
 aaccaggtca gcctgacctg cctggtaaaa ggcttctatc ccagcgacat cgccgtggag 1140  
 tgggagagca atgggcagcc ggagaacaac tacaagacca cgcctcccgt gctggactcc 1200  
 gacggctcct tcttctcta cagcaagctc accgtggaca agagcaggtg gcagcagggg 1260

aacgtcttct catgctccgt gatgcatgag gctctgcaca accactacac gcagaagagc 1320  
 ctctcctgt ctccgggtaa atgactcgag 1350

<210> 48

<211> 1350

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> nucleotide sequence of H3-heavy

<400> 48

gaggtgcagc tggtaggagtc tgggggaggc ttggtccagc ctggagggtc cctgagactc 60  
 tcctgtgcag cctctggatt caccttcaact gactactaca tgagctgggt ccgccaggct 120

ccaggaagg ggctggagtg gttgggcttt attagaaaca aagctaacgg ttacaccaca	180
gaatacagtg cgtctgtgaa aggcagattc accatctcaa gagataattc aaagaactca	240
ctgtatctgc aaatgaacag cctgcgtgct gaggacacgg ccgtgtatta ctgtgctaga	300
gataactggt ttgcttactg gggtaagga accctggta cegtctctc ggctagcacc	360
aagggcccat cggctctccc cctggcacc tcctccaaga gcacctctgg gggcacagcg	420
gccctgggct gectggtaaa ggactacttc cccgaaccgg tgacgggtgc gtggaactca	480
ggcgccctga ccagcggcgt gcacaccttc ccggctgtcc tacagtcctc aggactctac	540
tcctcagca gcgtgggtgac cgtgcctcc agcagcttgg gcaccagac ctacatctgc	600
aacgtgaatc acaagcccag caacaccaag gtggacaaga aagttgagcc caaatcttgt	660
gacaaaactc acacatgccc accgtgcca gcacctgaac tcctgggggg accgtcagtc	720
ttctcttcc ccccaaaacc caaggacacc ctcatgatct cccggacccc tgaggtcaca	780
tgctgggtgg tggacgtgag ccacgaagac cctgaggtca agttcaactg gtacgtggac	840
ggcgtggagg tgataatgc caagacaaag ccgcgggagg agcagtaca cagcacgtac	900
cgtgtggta gcgtctcac cgtctgcac caggactggc tgaatggcaa ggagtacaag	960
tgcaaggtct ccaacaaagc cctcccagcc cccatcgaga aaacatctc caaagccaaa	1020
gggcagcccc gagaaccaca ggtgtacacc ctgccccat cccgggagga gatgaccaag	1080
aaccaggtca gcctgacctg cctggtaaaa ggcttctatc ccagcgacat cgccgtggag	1140
tgggagagca atgggcagcc ggagaacaac tacaagacca cgcctcccgt gctggactcc	1200
gacggctcct tcttctcta cagcaagctc accgtggaca agagcaggtg gcagcagggg	1260
aacgtcttct catgctccgt gatgcatgag gctctgcaca accactacac gcagaagagc	1320
ctctcctgt ctccgggtaa atgactcgag	1350
<210> 49	
<211> 1350	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> nucleotide sequence of H4-heavy	
<400> 49	
gaggttcagc tgggtgagtc tggcggtagc ctggtgcagc cagggggctc actccgtttg	60
tcctgtgcag ctcttggtt cacttcact gattactaca tgagctgggt gcgtcaggcc	120
ccgggtaagg gcttgaatg gttgggtttt attagaaaca aagtaatgg ttacacaaca	180
gagtacagt catctgtgaa gggctgtttc actataagca gagataattc caaaaacaca	240

ctgtacctgc agatgaacag cctgcgtgct gaggacactg ccgtctatta ttgtgctaga 300  
gataactggt ttgcttactg gggccaaggg actctgtgca ccgtctcctc ggctagcacc 360

aagggeccat cggtcttccc cctggcacc cctccaaga gcacctctgg gggcacageg 420  
gccttgggct gcctgggtcaa ggactacttc cccgaaccgg tgacgggtgc gtggaactca 480  
ggcgcctga ccagcggcgt gcacaccttc ccggctgtcc tacagtctc aggactctac 540  
tcctcagca gegtgggtgac cgtgcctcc agcagcttgg gcaccagac ctacatctgc 600  
aacgtgaatc acaagcccag caacaccaag gtggacaaga aagttgagcc caaatcttgt 660  
gacaaaactc acacatgcc accgtgcca gcacctgaac tcttgggggg accgtcagtc 720  
ttctcttcc ccccaaaacc caaggacacc ctcatgatct cccggacccc tgaggtcaca 780

tgcttgggtg tggacgtgag ccacgaagac cctgaggtca agttcaactg gtacgtggac 840  
ggcgtggagg tgcataatgc caagacaaag ccgctggagg agcagtacaa cagcacgtac 900  
cgttgggtca gcgtcctcac cgtcctgcac caggactggc tgaatggcaa ggagtacaag 960  
tgcaaggtct ccaacaaagc cctcccagcc cccatcgaga aaaccatctc caaagccaaa 1020  
gggcagcccc gagaaccaca ggtgtacacc ctgcccccat cccgggagga gatgaccaag 1080  
aaccaggtca gcctgacctg cctgggtcaa ggcttctatc ccagcgacat cgccgtggag 1140  
tgggagagca atgggcagcc ggagaacaac tacaagacca cgcctccctg gctggactcc 1200

gacggctcct tcttctcta cagcaagctc accgtggaca agagcaggtg gcagcagggg 1260  
aacgtcttct catgctcctg gatgcatgag gctctgcaca accactacac gcagaagagc 1320  
ctctcctgt ctccgggtaa atgactcgag 1350

<210> 50  
<211> 669  
<212> DNA  
<213> Artificial Sequence  
<220><223> nucleotide sequence of H1-light  
<400> 50

gacatcgtga tgaccagtc tccagactcc ctggctgtgt ctctgggcga gagggccacc 60  
atcaactgca agtccagcca gagtctttta gctagcggca accaaaataa ctacttagct 120

tggcaccagc agaaaccagg acagcctcct aagatgctca ttatttgggc atctaccgg 180  
glatccgggg tcctgaccg attcagtggc agcgggtctg ggacagattt cactctcacc 240  
atcagcagcc tgcaggtga agatgtggca gtttattact gtcagcaatc ctatagtgt 300  
cctctcacgt tcggaggcgg taccaaggtg gagatcaaac gtacgggtgc tgcacatct 360

gtcttcacatc tcccgccatc tgatgagcag ttgaaatctg gaactgcctc tgttgtgtgc 420  
 ctgctgaata acttctatcc cagagaggcc aaagtacagt ggaaggtgga taacgcctc 480  
 caatcgggta actcccagga gagtgtcaca gagcaggaca gcaaggacag cacctacagc 540

ctcagcagca cctgacgct gagcaaagca gactacgaga aacacaaagt ctacgcctgc 600  
 gaagtcaccc atcagggcct gagctcgccc gtcacaaaga gcttcaacag gggagagtgt 660  
 tgactcgag 669

<210> 51

<211> 669

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> nucleotide sequence of H2-light

<400> 51

gatattgtga tgaccagac tccactctcc ctgcccgtca cccctggaga gccgcctcc 60  
 atctctctgca agtcaggta gagtctttta gctagtggca accaaaataa ctacttgccc 120

tggcacctgc agaagccagg gcagtctcca cagatgtga tcatttgggc atccactagg 180  
 gtatctggag tcccagacag gttcagtggc agtgggtcag gcactgattt cacactgaaa 240  
 atcagcaggg tggaggctga ggatgttga gtttattact gccagcagtc ctacagcgt 300  
 ccgctcacgt tcggacaggg taccaagctg gagctcaaac gtacggtggc tgcacatct 360  
 gtcttcacatc tcccgccatc tgatgagcag ttgaaatctg gaactgcctc tgttgtgtgc 420  
 ctgctgaata acttctatcc cagagaggcc aaagtacagt ggaaggtgga taacgcctc 480  
 caatcgggta actcccagga gagtgtcaca gagcaggaca gcaaggacag cacctacagc 540

ctcagcagca cctgacgct gagcaaagca gactacgaga aacacaaagt ctacgcctgc 600  
 gaagtcaccc atcagggcct gagctcgccc gtcacaaaga gcttcaacag gggagagtgt 660  
 tgactcgag 669

<210> 52

<211> 669

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> nucleotide sequence of H3-light

<400> 52

gacatcgtga tgaccagtc tccagactcc ctggctgtgt ctctgggca gagggccacc 60

atcaactgca agtccagcca gagtctttta gctagcggca accaaaataa ctacttagct 120

tggtaccagc agaaaccagg acagcctcct aagctgctca ttatttgggc atctaccgg 180

gtatccgggg tcctgaccg attcagtggc agcgggtctg ggacagattt cactctcacc 240

atcagcagcc tgcaggctga agatgtggca gtttattact gtcagcaatc ctatagtgt 300

cctctcacgt tcggaggcgg taccaagtg gagatcaaac gtacggtggc tgcacatct 360

gtcttcactt tcccgccatc tgatgagcag ttgaaatctg gaactgcctc tgttgtgtgc 420

ctgctgaata acttctatcc cagagaggcc aaagtacagt ggaaggtgga taacgcctc 480

caatcgggta actcccagga gagtgtcaca gagcaggaca gcaaggacag cacctacagc 540

ctcagcagca cctgacgct gagcaaagca gactacgaga aacacaaagt ctacgcctgc 600

gaagtcacc atcagggct gagctcgccc gtcacaaaga gcttcaacag gggagagtgt 660

tgactcgag 669

<210> 53

<211> 669

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> nucleotide sequence of H4-light

<400> 53

gatatccaga tgaccagtc cccgagctcc ctgtccgct ctgtgggca tagggtcacc 60

atcacctgca agtccagtca gagtctttta gctagtggca accaaaataa ctacttgccc 120

tggcaccaac agaaaccagg aaaagctccg aaaatgctga ttatttgggc atccactagg 180

gtatctggag tccttctcg cttctctgga tccgggtctg ggacggattt cactctgacc 240

atcagcagtc tgcagccgga agacttcgca acttattact gtcagcagtc ctacagcgt 300

ccgctcacgt tcggacaggg taccaagtg gagatcaaac gtacggtggc tgcacatct 360

gtcttcactt tcccgccatc tgatgagcag ttgaaatctg gaactgcctc tgttgtgtgc 420

ctgctgaata acttctatcc cagagaggcc aaagtacagt ggaaggtgga taacgcctc 480

caatcgggta actcccagga gagtgtcaca gagcaggaca gcaaggacag cacctacagc 540

ctcagcagca cctgacgct gagcaaagca gactacgaga aacacaaagt ctacgcctgc 600

gaagtcacc atcagggct gagctcgccc gtcacaaaga gcttcaacag gggagagtgt 660

tgactcgag 669

<210> 54

<211> 23



<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> linker between VH and VL

<400> 54

Gly Leu Gly Gly Leu Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly

1 5 10 15

Gly Ser Ser Gly Val Gly Ser

20

<210> 55

<211> 1088

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> polynucleotide encoding scFv of huAbF46 antibody

<400> 55

gctagcgttt tagcagaagt tcaattgggt gaatctgggt gtggtttgggt tcaaccaggt 60  
 ggttctttga gattgtcttg tgctgcttct ggttttactt tcaccgatta ttacatgtcc 120  
 tgggttagac aagctccagg taaaggtttg gaatggttgg gtttcattag aaacaaggct 180  
 aacgggtaca ctaccgaata ttctgcttct gttaagggtta gattcacat ttctagagac 240  
 aactctaaga acaccttgta cttgcaaatg aactccttga gagctgaaga tactgctgtt 300  
  
 tattactcgc ctagagataa ttggtttgct tattggggtc aaggactttt ggttactgtt 360  
 tcttctggcc tcgggggctt cggaggagga ggtagtggcg gaggaggctc cgggtgatcc 420  
 agcgggtgtg gttccgatat tcaaatgacc caatctccat cttctttgtc tgcttcagtt 480  
 ggtgatagag ttaccattac ttgtaagtcc tccaatctt tgttggcttc tgtaatcag 540  
 aacaattact tgcttgcca tcaacaaaaa ccaggtaaag ctccaaagat gttgattatt 600  
 tgggcttcta ccagagttc tgggtttcca tctagatfff ctggttctgg ttccggtact 660  
 gattttactt tgaccatttc atccttgcaa ccagaagatt tcgctactta ctactgtcaa 720  
  
 caatcttact ctgctccatt gacttttgggt caaggtacaa aggtcgaat caagagagaa 780  
 ttcggtaage ctatccctaa ccctctctc ggctctgatt ctacgggtgg tgggtgatct 840  
 ggtgggtgtg gttctgggtg tgggtgttct caggaactga caactatatg cgagcaaatc 900  
 ccctcaccaa ctttagaatc gacgccgtac tctttgtcaa cgactactat tttggccaac 960  
 gggaaggcaa tgcaaggagt ttttgaatat tacaatcag taactttgt cagtaattgc 1020  
 ggttctcacc cctcaacaac tagcaaaggc agccccataa acacacagta tgttttttga 1080

gtttaaac

1088

- <210> 56
- <211> 5597
- <212> DNA
- <213> Artificial Sequence
- <220><223> expression vector including polynucleotide encoding scFv of  
huAbF46 antibody
- <220><221> misc\_difference
- <222> (573)..(578)
- <223> NheI restriction site
- <220><221> misc\_difference
- <222> (588)..(938)
- <223> huAbF46 VH
- <220><221> misc\_difference
- <222> (939)..(1007)
- <223> linker
- <220><221> misc\_difference
- <222> (1008)..(1349)
- <223> huAbF46 VL
- <220><221> misc\_difference
- <222> (1350)..(1355)
- <223> EcoRI restriction site
- <220><221> misc\_difference
- <222> (1356)..(1397)
- <223> V5 epitope
- <220><221> misc\_difference
- <222> (1398)..(1442)
- <223> (G4S)3 linker
- <220><221> misc\_difference
- <222> (1443)..(1649)
- <223> Aga2
- <220><221> misc\_difference
- <222> (1650)..(1652)

<223> TGA(stop codon)  
 <220><221> misc\_difference  
 <222> (1653)..(1660)  
 <223> PmeI restriction site  
 <400> 56

acggattaga agccgccgag cgggtgacag ccctccgaag gaagactctc ctccgtgcgt 60

cctcgtcttc accggtcgcg ttcctgaaac gcagatgtgc ctccgcccgc actgctccga 120

acaataaaga ttctacaata ctagctttta tggttatgaa gaggaaaaat tggcagtaac 180

ctggccccac aaaccttcaa atgaacgaat caaattaaca accataggat gataatgcga 240

ttagtttttt agccttattt ctggggtaat taatcagcga agcgatgatt ttgatctat 300

taacagatat ataatgcaa aaactgcata accactttaa ctaatacttt caacatttc 360

ggtttgtatt acttcttatt caaatgtaat aaaagtatca acaaaaaatt gttaatatac 420

ctctatactt taacgtcaag gagaaaaaac cccggatcgg actactagca gctgtaatac 480

gactcactat agggaatatt aagctaattc tacttcatac attttcaatt aagatgcagt 540

tacttcgctg tttttcaata ttttctgtta ttgctagcgt tttagcagaa gttcaattgg 600

ttgaatctgg tgggtggttg gttcaaccag gtggttcttt gagattgtct tgtgctgctt 660

ctggttttac tttcaccgat tattacatgt cctgggttag acaagctcca ggtaaagggt 720

tggaatggtt gggtttcatt agaaacaagg ctaacggtta cactaccgaa tattctgctt 780

ctgttaaggg tagattcacc atttctagag acaactctaa gaacaccttg tacttgcaaa 840

tgaactcctt gagagctgaa gatactgctg ttattactg cgctagagat aattggtttg 900

cttattgggg tcaaggtact ttggttactg tttcttctgg cctcgggggc ctccgaggag 960

gaggtagtgg cggaggaggc tccggtggat ccagcgggtg gggttccgat attcaaatga 1020

cccaatctcc atcttctttg tctgcttcag ttggtgatag agttaccatt acttctaagt 1080

cctccaate tttgttggtt tctggtaatc agaacaatta cttggcttgg catcaacaaa 1140

aaccaggtaa agctccaaag atgttgatta tttgggettc taccagagt tctgggttcc 1200

catctagatt ttctggttct ggttccggtg ctgattttac tttgaccatt tcatccttgc 1260

aaccagaaga tttcgtact tactactgtc aacaatctta ctctgctcca ttgacttttg 1320

gtcaaggtag aaaggtcgaa atcaagagag aattcggtaa gcctatccct aaccctctcc 1380

tcggtctcga ttctacgggt ggtggtggat ctggtggtgg tggttctggt ggtggtggtt 1440

ctcaggaact gacaactata tgcgagcaaa tcccctcacc aacttttagaa tcgacgccgt 1500

actctttgtc aacgactact attttggcca acgggaaggc aatgcaagga gtttttgaat 1560

attacaaatc agtaacgttt gtcagtaatt gcggttctca cccctcaaca actagcaaag 1620  
gcagcccat aaacacacag tatgtttttt gaggtttaac ccgctgatct gataacaaca 1680  
gtgtagatgt aacaaaatcg actttgttcc cactgtactt ttagctcgta caaaatacaa 1740

tatacttttc atttctccgt aaacaacatg ttttcccatg taatcctt tctattttt 1800  
cgttccgtta ccaactttac acatacttta tatagctatt cacttctata cactaaaaaa 1860  
ctaagacaat ttaattttg ctgectgcca tatttcaatt tgttataaat tectataatt 1920  
tatcctatta gtagctaaaa aaagatgaat gtgaatcgaa tcctaagaga attgggcaag 1980  
tgcacaaaca atacttaaat aaatactact cagtaataac ctatttctta gcatttttga 2040  
cgaaatttgc tattttgtta gaggctttta caccatttgt ctccacacct ccgcttacet 2100  
caacaccaat aacgccattt aatctaagcg catcaccaac attttctggc gtcagtccac 2160

cagctaacat aaaatgtaag ctctcggggc tctcttgctt tccaaccag tcagaaatcg 2220  
agttccaatc caaaagtcca cctgtcccac ctgcttctga atcaacaag ggaataaacg 2280  
aatgaggttt ctgtgaagct gcactgagta gtatgttgca gctttttgga aatacagatc 2340  
ttttaataac tggcaaaccg aggaactctt ggtattcttg ccacgactca tctccgtgca 2400  
gttgacgat atcaatgccg taatcattga ccagagccaa aacatcctcc ttaggtgat 2460  
tacgaaacac gccaaccaag tatttccggag tgcctgaact atttttatat gcttttacia 2520  
gacttgaaat tttccttgca ataaccgggt caattgttct ctttctattg ggcaacacata 2580

taataccag caagtcagca tcggaatcta gagcacattc tgcggcctct gtgctctgca 2640  
agccgcaaac tttaccaat ggaccagaac tacctgtgaa attaataaca gacatactcc 2700  
aagctgcctt tgggtgctta atcacgtata ctcacgtgct caatagtcac caatgcctc 2760  
cctcttggcc ctctctttt cttttttcga ccgaatttct tgaagacgaa agggcctcgt 2820  
gatacgccta tttttatagg ttaatgtcat gataataatg gtttcttagg acggatcgt 2880  
tgcctgtaac ttacacgccc ctctgtatctt ttaatgatgg aataatttgg gaatttactc 2940  
tgtgtttatt ttttttatg ttttgtattt ggattttaga aagtaataaa agaaggtaga 3000

agagttacgg aatgaagaaa aaaaaataaa caaaggttta aaaaatttca acaaaaagcg 3060  
tactttacat atatatttat tagacaagaa aagcagatta aatagatata cattcgatta 3120  
acgataagta aatgtaaaa tcacaggatt ttcgtgtgtg gcttcttaca cagacaagat 3180  
gaaacaattc ggcattaata cctgagagca ggaagagcaa gataaaaggt agtatttgtt 3240  
ggcgatcccc cttaggtctt ttacatcttc ggaaaacaaa aactattttt tctttaattt 3300  
ctttttttac tttctatttt taatttatat atttatatta aaaaatttaa attataatta 3360

tttttatagc acgtgatgaa aaggacccag gtggcacttt tccgggaaat gtgcgcggaa 3420  
  
 ccctatttg tttattttc taaatacatt caaatatgta tccgctcatg agacaataac 3480  
 cctgataaat gcttcaataa tattgaaaaa ggaagagtat gagtattcaa catttccgtg 3540  
 tgcgccttat tcctttttt gcggcatttt gccttcctgt ttttgctcac ccagaaacgc 3600  
 tggtgaaagt aaaagatgct gaagatcagt tgggtgcacg agtgggttac atcgaactgg 3660  
 atctcaacag cggtaaagatc cttgagagtt ttcgccccga agaacgtttt ccaatgatga 3720  
 gcacttttaa agttctgcta tgtggcgcgg tattatcccg tgttgacgcc gggcaagagc 3780  
 aactcggteg ccgcatacac tattctcaga atgacttggg tgagtactca ccagtcacag 3840  
  
 aaaagcatct tacggatggc atgacagtaa gagaattatg cagtgtgcc ataaccatga 3900  
 gtgataaac tgcggccaac ttacttctga caacgatcgg aggaccgaag gagctaaccg 3960  
 cttttttgca caacatgggg gatcatgtaa ctgccttga tcgttgggaa ccggagctga 4020  
 atgaagccat accaaacgac gagcgtgaca ccacgatgcc tgtagcaatg gcaacaacgt 4080  
 tgcgcaaact attaactggc gaactactta ctctagcttc ccgcaacaa ttaatagact 4140  
 ggatggagge ggataaagtt gcaggaccac tctgcgctc ggcccttccg getggctggt 4200  
 ttattgctga taaatctgga gccggtgagc gtgggtctcg cggatcatt gcagcactgg 4260  
  
 ggccagatgg taagccctcc cgtatcgtag ttatctacac gacgggcagt caggcaacta 4320  
 tggatgaacg aaatagacag atcgtgaga taggtgcctc actgattaag cattggtaac 4380  
 tgtcagacca agttactca tataacttt agattgattt aaaacttcat ttttaattta 4440  
 aaaggatcta ggtgaagatc ctttttgata atctcatgac caaaatccct taacgtgagt 4500  
 tttcgttcca ctgagcgtca gaccccgtag aaaagatcaa aggatcttct tgagatcctt 4560  
 tttttctgcg cgtaatctgc tgcttgcaaa caaaaaaac accgctacca gcggtggttt 4620  
 gtttgcgga tcaagagcta ccaactcttt ttccgaaggt aactggcttc agcagagcgc 4680  
  
 agataccaaa tactgtcctt ctagtgtagc cgtagttagg ccaccacttc aagaactctg 4740  
 tagcaccgcc tacatacctc gctctgctaa tcctgttacc agtggctgct gccagtggcg 4800  
 ataagtcgtg tcttaccggg ttggactcaa gacgatagtt accggataag gcgcagcggg 4860  
 cgggctgaac ggggggttgc tgcacacagc ccagcttga gcaaacgacc tacaccgaac 4920  
 tgagatacct acagcgtgag cattgagaaa gcgccacgct tcccgaaggg agaaaggcgg 4980  
 acaggtatcc ggtaaagcggc agggtcggaa caggagagcg cacgagggag cttccagggg 5040  
 ggaacgcctg gtatctttat agtctgtcgc ggtttcgcca cctctgactt gagcgtcgat 5100

tttttgatg ctctcaggg gggccgagcc tatggaaaaa cgccagcaac gcggcctttt 5160  
 tacggttcct ggccttttgc tggccttttg ctacatggt ctttctgcg ttatccctg 5220  
 attctgtgga taaccgtatt accgcctttg agtgagctga taccgctgc gcgagccgaa 5280  
 cgaccgagcg cagcgagtca gtgagcgagg aagcggaaga ggcccaata cgcaaaccgc 5340  
 ctctccccgc gcgttggccg attcattaat gcagctggca cgacaggttt cccgactgga 5400  
 aagcgggcag tgagcgcaac gcaattaatg tgagttacct cactcattag gcaccccagg 5460  
 ctttacactt tatgcttccg gctcctatgt tgtgtggaat tgtgagcgga taacaatttc 5520

acacaggaag cagctatgac catgattacg ccaagctcgg aattaaccct cactaaaggg 5580  
 aacaaaagct ggctagt 5597

<210> 57  
 <211> 13  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> U6-HC7 hinge  
 <400> 57

Glu Pro Lys Ser Cys Asp Cys His Cys Pro Pro Cys Pro

1 5 10

<210> 58  
 <211> 435  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> polynucleotide encoding CDR-L3 derived from L3-1 clone

<400> 58  
 gaattcacta gtgattaatt cgccgccacc atggattcac aggcccaggt cctcatgttg 60  
 ctgctgctat cggatcttgg tacctgtgga gatatccaga tgaccaggc cccgagctcc 120  
 ctgtccgct ctgtggcgca tagggtcacc atcacctgca agtccagtca gactctttta 180  
 gctagtggca accaaaataa ctacttggcc tggaccaac agaaaccagg aaaagctccg 240  
 aaaatgctga ttatttgggc atccactagg gtatctggag tcccttctcg ctctctgga 300  
 tccgggtctg ggacggattt cactctgacc atcagcagtc tgcagccgga agacttcgca 360  
 acttattact gtcagcagtc ctacagccgc ccgtacacgt tcggacaggg taccaaggtg 420

gagatcaaac gtacg 435  
 <210> 59

<211> 435  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> polynucleotide encoding CDR-L3 derived from L3-2 clone  
 <400> 59  
 gaattcacta gtgattaatt cgccgccacc atggattcac aggcccaggt cctcatgttg 60  
 ctgctgctat cggtatctgg tacctgtgga gatatccaga tgaccagtc cccgagctcc 120  
 ctgtccgct ctgtggcgca tagggtcacc atcacctgca agtccagtca gagtctttta 180  
 gctagtggca accaaaataa ctacttggcc tggcaccaac agaaaccagg aaaagctccg 240  
  
 aaaatgctga ttatttgggc atccactagg gtatctggag tcccttctcg cttctctgga 300  
 tccgggtctg ggacggattt cactctgacc atcagcagtc tgcagccgga agacttcgca 360  
 acttattact gtggcagtc ctacagccgt ccgctcacgt tcggacaggg taccaaggtg 420  
 gagatcaaac gtacg 435

<210> 60  
 <211> 435  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> polynucleotide encoding CDR-L3 derived from L3-3 clone  
 <400> 60  
 gaattcacta gtgattaatt cgccgccacc atggattcac aggcccaggt cctcatgttg 60  
  
 ctgctgctat cggtatctgg tacctgtgga gatatccaga tgaccagtc cccgagctcc 120  
 ctgtccgct ctgtggcgca tagggtcacc atcacctgca agtccagtca gagtctttta 180  
 gctagtggca accaaaataa ctacttggcc tggcaccaac agaaaccagg aaaagctccg 240  
 aaaatgctga ttatttgggc atccactagg gtatctggag tcccttctcg cttctctgga 300  
 tccgggtctg ggacggattt cactctgacc atcagcagtc tgcagccgga agacttcgca 360  
 acttattact gtgcacagtc ctacagccat ccgttctctt tcggacaggg taccaaggtg 420  
 gagatcaaac gtacg 435

<210> 61  
 <211> 435  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> polynucleotide encoding CDR-L3 derived from L3-5 clone

<400> 61  
 gaattcacta gtgattaatt cgccgccacc atggattcac aggcccaggt cctcatgttg 60  
 ctgctgctat cggatatctgg tacctgtgga gatatccaga tgaccaggc cccgagctcc 120  
 ctgtccgcct ctgtgggcga tagggtcacc atcacctgca agtccagtca gagtctttta 180  
 gctagtggca accaaaaataa ctacttggcc tggcaccaac agaaaccagg aaaagctccg 240  
 aaaatgctga ttatttgggc atccactagg gtatctggag tcccttctcg ctctctgga 300  
  
 tccgggtctg ggacggattt cactctgacc atcagcagtc tgcagccgga agacttcgca 360  
 acttattact gtcagcagtc ctacagccgc ccgtttacgt tcggacaggg taccaaggtg 420  
 gagatcaaac gtacg 435

<210> 62

<211> 462

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> polypeptide consisting of heavy chain of huAbF46-H4-A1, U6-HC7  
 hinge and constant region of human IgG1

<400> 62

Met Glu Trp Ser Trp Val Phe Leu Val Thr Leu Leu Asn Gly Ile Gln

1	5	10	15
Cys	Glu	Val	Gln
Leu	Val	Glu	Ser
Gly	Gly	Gly	Leu
Val	Gln	Pro	Gly
20	25	30	
Gly	Ser	Leu	Arg
Leu	Ser	Cys	Ala
Ala	Ser	Gly	Phe
Thr	Phe	Thr	Asp
35	40	45	
Tyr	Tyr	Met	Ser
Trp	Val	Arg	Gln
Ala	Pro	Gly	Lys
Gly	Leu	Glu	Trp
50	55	60	
Leu	Gly	Phe	Ile
Arg	Asn	Lys	Ala
Asn	Gly	Tyr	Thr
Thr	Glu	Tyr	Ser
65	70	75	80
Ala	Ser	Val	Lys
Gly	Arg	Phe	Thr
Ile	Ser	Arg	Asp
Asn	Ser	Lys	Asn
85	90	95	
Thr	Leu	Tyr	Leu
Gln	Met	Asn	Ser
Leu	Arg	Ala	Glu
Asp	Thr	Ala	Val
100	105	110	
Tyr	Tyr	Cys	Ala
Arg	Asp	Asn	Trp
Phe	Ala	Tyr	Trp
Gly	Gln	Gly	Thr
115	120	125	



Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro  
 130 135 140  
 Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly  
 145 150 155 160  
 Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn  
 165 170 175  
 Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln  
 180 185 190  
 Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser  
 195 200 205  
 Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser  
 210 215 220  
 Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Cys His  
 225 230 235 240  
 Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe  
 245 250 255  
 Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro  
 260 265 270  
 Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val  
 275 280 285  
 Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr  
 290 295 300  
 Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val  
 305 310 315 320  
 Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys  
 325 330 335  
 Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser  
 340 345 350  
 Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro  
 355 360 365  
 Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val



tgcgtggtgg tggacgtgag ccacgaagac cctgaggtca agttcaactg gtacgtggac 900  
 ggcgtaggagg tgcataatgc caagacaaag ccgctggagg agcagtacaa cagcacgtac 960

cgtgtggtca gcgtcctcac cgctcctcac caggactggc tgaatggcaa ggagtacaag 1020  
 tgcaaggtct ccaacaaagc cctcccagcc cccatcgaga aaaccatctc caaagccaaa 1080  
 gggcagcccc gagaaccaca ggtgtacacc ctgcccccat cccgggagga gatgaccaag 1140  
 aaccaggtca gcctgacctg cctggtcaaa ggctttctatc ccagcgacat cgccgtggag 1200  
 tgggagagca atgggcagcc ggagaacaac tacaagacca cgcctcccgt gctggactcc 1260  
 gacggctcct tcttctctta cagcaagctc accgtggaca agagcaggtg gcagcagggg 1320  
 aacgtcttct catgctcctg gatgcatgag gctctgcaca accactacac gcagaagagc 1380

ctctccctgt ctccgggtaa atgactcgag 1410

<210> 64  
 <211> 461  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> polypeptide consisting of heavy chain of huAbF46-H4-A1, human  
 IgG2 hinge and constant region of human IgG1

<400> 64  
 Met Glu Trp Ser Trp Val Phe Leu Val Thr Leu Leu Asn Gly Ile Gln  
 1 5 10 15  
 Cys Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly  
 20 25 30  
 Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Thr Asp  
 35 40 45  
 Tyr Tyr Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp  
 50 55 60  
 Leu Gly Phe Ile Arg Asn Lys Ala Asn Gly Tyr Thr Thr Glu Tyr Ser  
 65 70 75 80  
 Ala Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn  
 85 90 95  
 Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val  
 100 105 110

Tyr Tyr Cys Ala Arg Asp Asn Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr  
 115 120 125  
 Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro  
 130 135 140  
 Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly  
 145 150 155 160  
 Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn  
 165 170 175  
  
 Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln  
 180 185 190  
 Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser  
 195 200 205  
 Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser  
 210 215 220  
 Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys  
 225 230 235 240  
 Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu  
 245 250 255  
 Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu  
 260 265 270  
 Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys  
 275 280 285  
 Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys  
 290 295 300  
 Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu  
 305 310 315 320  
  
 Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys  
 325 330 335  
 Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys  
 340 345 350  
 Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser  
 355 360 365

Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys  
 370 375 380

Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln

385 390 395 400

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

405 410 415

Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln

420 425 430

Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn

435 440 445

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

450 455 460

<210> 65

<211> 1407

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> polynucleotide encoding polypeptide consisting of heavy chain of  
 huAbF46-H4-A1, human IgG2 hinge and constant region of human IgG1

<400> 65

gaattcgccg ccaccatgga atggagctgg gtttttctcg taacactttt aaatggtatc 60

cagtgtgagg ttcagctggt ggagtctggc ggtggcctgg tgcagccagg gggctcactc 120

cgtttgtcct gtgcagcttc tggcttcacc ttcactgatt actacatgag ctgggtgcgt 180

caggccccgg gtaagggcct ggaatggttg ggttttatta gaaacaaagc taatggttac 240

acaacagagt acagtgcatic tgtgaagggt cgtttcacta taagcagaga taattcctaaa 300

aacacactgt acctgcagat gaacagcctg cgtgctgagg aactgccgt ctattattgt 360

gctagagata actggtttgc ttactggggc caagggactc tggtcaccgt ctctcggct 420

agcaccaagg gcccatcggt ctccccctg gcaccctcct ccaagagcac ctctgggggc 480

acagcggccc tgggctgect ggtcaaggac tacttccccg aaccggtgac ggtgtcgtgg 540

aactcaggcg ccctgaccag cggcgtgcac accttcccgg ctgtcctaca gtctcagga 600

ctctactccc tcagcagcgt ggtgacctg ccctccagca gcttgggcac ccagacctac 660

atctgcaacg tgaatcacia gccagcaac accaaggtgg acaagaaagt tgagaggaag 720

tgctgtgtgg agtgcacccc ctgcccagca cctgaactcc tggggggacc gtcagtcctc 780  
 ctcttcccc caaaacccaa ggacaccctc atgatctccc ggaccctga ggtcacatgc 840  
 gtgggtgtgg acgtgagcca cgaagacct gaggtcaagt tcaactggta cgtggacggc 900  
 gtggaggctc ataatgccaa gacaaagccg cgggaggagc agtacaacag cacgtaccgt 960  
 gtggtcagcg tcctcaccgt cctgcaccag gactggctga atggcaagga gtacaagtgc 1020  
 aaggtctcca acaaagccct cccagccccc atcgagaaaa ccatctccaa agccaaaggg 1080

cagccccgag aaccacaggt gtacaccctg ccccatccc gggaggagat gaccaagaac 1140  
 caggtcagcc tgacctgct ggtcaaagc ttctatccca ggcacatcgc cgtggagtgg 1200  
 gagagcaatg ggcagccgga gaacaactac aagaccagc ctcccgtgct ggactccgac 1260  
 ggctccttct tcctctacag caagctcacc gtggacaaga gcaggtggca gcaggggaac 1320  
 gtcttctcat gctccgtgat gcatgaggct ctgcacaacc actacagca gaagagcctc 1380  
 tcctgtctc cgggtaaatg actcgag 1407

<210> 66

<211> 460

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> polypeptide consisting of heavy chain of huAbF46-H4-A1, human  
 IgG2 hinge and constant region of human IgG2

<400> 66

Met Glu Trp Ser Trp Val Phe Leu Val Thr Leu Leu Asn Gly Ile Gln

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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



Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg  
 355 360 365  
 Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly  
 370 375 380  
 Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro  
 385 390 395 400  
 Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser

405 410 415  
 Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln  
 420 425 430  
 Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His  
 435 440 445  
 Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
 450 455 460

<210> 67

<211> 1404

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> polynucleotide encoding polypeptide consisting of heavy chain of

huAbF46-H4-A1, human IgG2 hinge and constant region of human IgG2

<400> 67

gaattcgccg ccaccatgga atggagctgg gtttttctcg taacactttt aaatggtatc 60  
 cagtgtgagg ttcagctggg ggagictggc ggtggcctgg tgcagccagg gggctcactc 120  
 cgtttgtcct gtcagcttc tggttcacc ttactgatt actacatgag ctgggtcgt 180  
 caggccccgg gtaagggcct ggaatggttg ggttttatta gaaacaaagc taatggttac 240  
 acaacagagt acagtgcac tgtgaagggt cgtttcacta taagcagaga taattccaaa 300  
 aacacactgt acctgcagat gaacagcctg cgtgctgagg acactgccgt ctattattgt 360  
  
 gctagagata actggtttgc ttactggggc caagggactc tggtcaccgt ctctcggt 420  
 agcaccaagg gcccatcggg cttccccctg gcgccctgct ccaggagcac ctccgagagc 480  
 acagcggccc tgggctgct ggtcaaggac tacttccccg aaccggtgac ggtgtcgtgg 540  
 aactcaggcg ctctgaccag cggcgtgcac accttcccag ctgtcctaca gtctcagga 600  
 ctctactccc tcagcagcgt ggtgacctg cctccagca acttcggcac ccagacctac 660



acctgcaacg tagatcacia gccccagcaac accaaggtgg acaagacagt tgagcgcaaa 720  
 tgttgtgtcg agtgcaccacc gtgcccagca ccacctgtgg caggaccgtc agtcttcctc 780

ttcccccaa aaccaagga caccctcatg atctcccga cccctgaggt cacgtgcgtg 840  
 gtggaggacg tgagccacga agaccccag gtccagtca actggtacgt ggacggcgtg 900  
 gaggtgcata atgccaagc aaagccacgg gaggagcagt tcaacagcac gttccgtgtg 960  
 gtcagcgtcc tcaccgttgt gcaccaggac tggctgaacg gcaaggagta caagtcaag 1020  
 gtctccaaca aaggcctccc agccccatc gagaaaacca tctccaaaac caaagggcag 1080  
 ccccgagaac cacaggtgta caccctgcc ccatcccggg aggagatgac caagaaccag 1140  
 gtcagcctga cctgcctggt caaaggcttc taccccagcg acatcgccgt ggagtgggag 1200

agcaatgggc agccggagaa caactacaag accacgcctc ccatgctgga ctccgacggc 1260  
 tccttcttcc tctacagcaa gctcaccgtg gacaagagca ggtggcagca ggggaacgtc 1320  
 ttctcatgct ccgtgatgca tgaggctctg cacaaccact acacgcagaa gacgcctctcc 1380  
 ctgtctccgg gtaaatgact cgag 1404

<210> 68  
 <211> 240  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> polypeptide consisting of light chain of huAbF46-H4-A1(H36Y) and  
 human kappa constant region

<400  
 > 68  
 Met Asp Ser Gln Ala Gln Val Leu Met Leu Leu Leu Ser Val Ser  
 1 5 10 15  
 Gly Thr Cys Gly Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser  
 20 25 30  
 Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ser Ser Gln Ser  
 35 40 45  
 Leu Leu Ala Ser Gly Asn Gln Asn Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln  
 50 55 60  
 Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Met Leu Ile Ile Trp Ala Ser Thr Arg  
 65 70 75 80  
 Val Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp

85 90 95  
 Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr  
 100 105 110  
 Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Arg Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr  
 115 120 125  
 Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe  
 130 135 140

Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys  
 145 150 155 160  
 Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val  
 165 170 175  
 Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln  
 180 185 190  
 Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser  
 195 200 205  
 Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His

210 215 220  
 Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys  
 225 230 235 240

<210> 69

<211> 758

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> polynucleotide encoding polypeptide consisting of light chain of  
 huAbF46-H4-A1(H36Y) and human kappa constant region

<400> 69

aattcactag tgattaattc gccccacca tggattcaca ggcccaggtc ctcattgtgc 60

tgctgctatc ggtatctggt acctgtggag atatccagat gaccagctcc cegagctccc 120

tgtccgcctc tgtggcgcat agggtcacca tcacctgcaa gtccagtcag agtcttttag 180

ctagtggcaa ccaaataaac tacttggcct ggtaccaaca gaaaccagga aaagctccga 240

aaatgctgat tatttgggca tccactaggg tatctggagt ccttctcgc ttctctggat 300

ccgggtctgg gacggatttc actctgacca tcagcagtct gcagccggaa gacttcgcaa 360

cttattactg tcagcagtcc tacagccgcc cgtacacgtt cggacagggt accaaggtgg 420  
 agatcaaacg tacggtggct gcaccatctg tcttcatctt cccgccatct gatgagcagt 480  
 tgaatctgg aactgcctct gttgtgtgcc tgcgaataa cttctatccc agagaggcca 540

aagtacagtg gaaggtggat aacgcctcc aatcgggtaa ctcccaggag agtgtcacag 600  
 agcaggacag caaggacagc acctacagcc tcagcagcac cctgacgctg agcaaagcag 660  
 actacagaaa acacaaagtc tacgcctgcg aagtcacca tcagggcctg agctcgcccg 720  
 tcacaaagag cttcaacagg ggagagtgtt gactcgag 758

<210> 70

<211> 240

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> polypeptide consisting of light chain of huAbF46-H4-A1 and human  
 kappa constant region

<400> 70

Met Asp Ser Gln Ala Gln Val Leu Met Leu Leu Leu Ser Val Ser  
 1 5 10 15  
 Gly Thr Cys Gly Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser  
 20 25 30  
 Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ser Ser Gln Ser  
 35 40 45  
 Leu Leu Ala Ser Gly Asn Gln Asn Asn Tyr Leu Ala Trp His Gln Gln  
 50 55 60  
 Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Met Leu Ile Ile Trp Ala Ser Thr Arg  
 65 70 75 80  
 Val Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp  
 85 90 95  
 Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr  
 100 105 110  
 Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Arg Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr  
 115 120 125  
 Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe



<211> 5  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> epitope in SEMA domain of c-Met  
 <400> 73  
 Glu Glu Pro Ser Gln  
 1 5  
 <210> 74  
 <211> 117  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> heavy chain variable region of anti-c-Met antibody (AbF46 or huAbF46-H1)  
 <400> 74  
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly  
 1 5 10 15  
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Thr Asp Tyr  
 20 25 30  
 Tyr Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu  
 35 40 45  
 Gly Phe Ile Arg Asn Lys Ala Asn Gly Tyr Thr Thr Glu Tyr Ser Ala  
 50 55 60  
 Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Ser  
 65 70 75 80  
 Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr  
 85 90 95  
 Tyr Cys Ala Arg Asp Asn Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu  
 100 105 110  
 Val Thr Val Ser Ser  
 115  
 <210> 75  
 <211> 114  
 <212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> light chain variable region of anti-c-Met antibody (AbF46 or

huAbF46-H1)

<400> 75

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 Ala Ser

20 25 30

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

35 40 45

Pro Pro Lys Met Leu Ile Ile Trp Ala Ser Thr Arg Val Ser Gly Val

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Lys Arg

<210> 76

<211> 1416

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> nucleotide sequence of heavy chain of anti-c-Met antibody (AbF46

or huAbF46-H1)

<220><221> misc\_feature

<222> (1)..(6)

<223> EcoRI restriction site

<220><221> misc\_feature

<222> (7)..(66)

<223> signal sequence

<220><221> misc\_feature  
 <222> (67)..(417)  
 <223> VH - heavy chain variable region  
 <220><221> misc\_feature  
 <222> (418)..(423)  
 <223> NdeI restriction site  
 <220><221> misc\_feature  
 <222> (418)..(1407)  
 <223> CH - heavy chain constant region  
 <220><221> misc\_feature  
 <222> (1408)..(1410)

<223> TGA - stop sodon  
 <220><221> misc\_feature  
 <222> (1411)..(1416)  
 <223> XhoI restriction site

<400> 76  
 gaattcgccg ccaccatgga atggagctgg gtttttctcg taacactttt aaatggtatc 60  
 cagtgtgagg tgaagctggt ggagctctgga ggaggcttgg tacagcctgg gggttctctg 120  
 agactctcct gtgcaacttc tgggttcacc ttactgatt actacatgag ctgggtccgc 180  
 cagcctccag gaaaggcact tgagtggttg ggttttatta gaaacaaagc taatggttac 240  
 acaacagagt acagtgcac tgtgaagggt cggttcacca tctccagaga taattcccaa 300  
  
 agcatcctct atcttcaaat ggacacctg agagctgagg acagtgccac ttattactgt 360  
 gcaagagata actggtttgc ttactggggc caagggactc tggctactgt ctctgcagct 420  
 agcaccaagg gcccatcggt ctccccctg gcacctcct ccaagagcac ctctgggggc 480  
 acagcggccc tgggctgect ggtcaaggac tacttccccg aaccggtgac ggtgtcgtgg 540  
 aactcaggcg ccctgaccag cggcgtgcac accttccccg ctgtcctaca gtcctcagga 600  
 ctctactccc tcagcagcgt ggtgacctg ccctccagca gcttgggcac ccagacctac 660  
 atctgcaacg tgaatcaaa gccccagcaac accaaggtgg acaagaaagt tgagcccaaa 720  
  
 tcttgtgaca aaactcacac atgcccaccg tgcccagcac ctgaactcct ggggggaccg 780  
 tcagtcttcc tcttcccccc aaaaccaag gacacctca tgatctccc gacctctgag 840  
 gtcacatgcg tgggtgtgga cgtgagccac gaagacctg aggtcaagtt caactggtac 900  
 gtggacggcg tggaggtgca taatgccaag acaaagccgc gggaggagca gtacaacagc 960

acgtaccgtg tggtcagcgt cctcaccgtc ctgcaccagg actggctgaa tggcaaggag 1020  
 tacaagtga aggtctccaa caaagccctc ccagcccca tcgagaaaac catctccaaa 1080  
 gccaaagggc agccccgaga accacaggtg tacaccctgc ccccatcccg ggaggagatg 1140

accaagaacc aggtcagcct gacctgcctg gtcaaaggct tctatcccag cgacatcgcc 1200  
 gtggagtggg agagcaatgg gcagccggag aacaactaca agaccagcc tcccgtgctg 1260  
 gactccgacg gctccttctt cctctacagc aagctcaccg tggacaagag caggtggcag 1320  
 caggggaacg tcttctcatg ctccgtgatg catgaggctc tgcacaacca ctacacgcag 1380  
 aagagcctct cctgtctcc gggtaaatga ctcgag 1416

<210> 77

<211> 759

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> nucleotide sequence of light chain of anti-c-Met antibody (AbF46

or huAbF46-H1)

<220><221> misc\_difference

<222> (1)..(6)

<223> EcoRI restriction site

<220><221> misc\_difference

<222> (7)..(90)

<223> signal sequence

<220><221> misc\_difference

<222> (91)..(432)

<223> VL - light chain variable region

<220><221> misc\_difference

<222> (430)..(435)

<223> BsiWI restriction site

<220><221> misc\_difference

<222> (433)..(750)

<223> CL - light chain constant region

<220><221> misc\_difference

<222> (751)..(753)

<223> stop codon



<220><221> misc\_difference  
 <222> (754)..(759)  
 <223> XhoI restriction site  
 <400> 77

gaattcacta gtgattaatt cgccgccacc atggattcac aggccccaggt cctcatgttg 60  
 ctgctgctat cggatctcgg tacctgtgga gacattttga tgaccaccagtc tccatcctcc 120  
 ctgactgtgt cagcaggaga gaaggtcact atgagctgca agtccagtca gagtctttta 180  
 gctagtggca accaaaaataa ctacttggcc tggcaccagc agaaaccagg acgatctcct 240  
 aaaatgctga taatttgggc atccactagg gtatctggag tccctgatcg ctccataggc 300

agtggatctg ggacggattt cactctgacc atcaacagtg tgcaggctga agatctggct 360  
 gtttattact gtcagcagtc ctacagcgtc cgcctcacgt tcggtgctgg gaccaagctg 420  
 gagctgaaac gtacgggtggc tgcaccatct gtcttcatct tcccgccatc tgatgagcag 480  
 ttgaaatctg gaactgcctc tgttgtgtgc ctgctgaata acttctatcc cagagaggcc 540  
 aaagtacagt ggaaggtgga taacgccctc caatcgggta actcccagga gagtgtcaca 600  
 gagcaggaca gcaaggacag cacctacagc ctcagcagca ccctgacgct gagcaaagca 660  
 gactacgaga aacacaaagt ctacgcctgc gaagtcaccc atcagggcct gagctcgccc 720

gtcacaaaga gcttcaacag gggagagtgt tgactcgag 759

<210> 78  
 <211> 4170  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence

<220><223> polynucleotide encoding c-Met protein  
 <400> 78

atgaaggccc ccgctgtgct tgcacctggc atcctcgtgc tcctgtttac cttggtgcag 60  
 aggagcaatg gggagtgtaa agaggcacta gcaaagtcg agatgaatgt gaatatgaag 120  
 tatcagcttc ccaacttcac cgcgaaaca cccatccaga atgtcattct acatgagcat 180  
 cacattttcc ttggtgccac taactacatt taigtgttaa atgaggaaga ccttcagaag 240

gttgctgagt acaagactgg gcctgtgctg gaacaccag attgtttccc atgtcaggac 300  
 tgcagcagca aagccaattt atcaggaggt gtttgaaag ataatcaaa catggctcta 360  
 gttgtcgaca cctactatga tgatcaactc attagctgtg gcagcgtcaa cagagggacc 420  
 tgccagcgac atgtctttcc ccacaatcat actgctgaca tacagtcgga ggttactgc 480  
 atattctccc cacagataga agagcccagc cagtgtcctg actgtgtggt gagcgcctg 540

ggagccaaag tcctttcatc tgtaaaggac cggttcatca acttctttgt aggcaatacc 600  
 ataaattctt cttatttccc agatcatcca ttgcattcga tatcagttag aaggctaaag 660  
  
 gaaacgaaag atggttttat gtttttgacg gaccagtcc acattgatgt tttacctgag 720  
 ttcagagatt cttaccccat taagtatgtc catgcctttg aaagcaacaa ttttatttac 780  
 ttcttgacgg tccaaggga aactctagat gctcagactt ttcacacaag aataatcagg 840  
 ttctgttcca taaactctgg attgcattcc tacatggaaa tgcctctgga gtgtattctc 900  
 acagaaaaga gaaaaagag atccacaaag aaggaagtgt ttaatatact tcaggctgcg 960  
 tatgtcagca agcctggggc ccagcttgct agacaaatag gagccagcct gaatgatgac 1020  
 attcttttcg ggggtgttcg acaaagcaag ccagattctg ccgaaccaat ggatcgatct 1080  
  
 gccatgtgtg cattccctat caaatatgtc aacgacttct tcaacaagat cgtcaacaaa 1140  
 aacaatgtga gatgtctcca gcatttttac ggaccaatc atgagcaactg ctttaatagg 1200  
 acacttctga gaaattcatc aggctgtgaa gcgcccctg atgaatatcg aacagagttt 1260  
 accacagctt tgcagcgcgt tgacttattc atgggtcaat tcagcgaagt cctcttaaca 1320  
 tctatatcca cttcattaa aggagacctc accatagcta atcttgggac atcagagggt 1380  
 cgcttcatgc aggttgtgtt ttctcgatca ggaccatcaa cccctcatgt gaattttctc 1440  
 ctggactccc atccagtgtc tccagaagtg attgtggagc atacattaaa ccaaatggc 1500  
  
 tacacactgg ttatcactgg gaagaagatc acgaagatcc cattgaatgg cttgggctgc 1560  
 agacatttcc agtcctcagc tcaatgcctc tctgccccac cttttgttca gtgtggctgg 1620  
 tgccacgaca aatgtgtgcg atcggaggaa tgcctgagcg ggacatggac tcaacagatc 1680  
 tgtctgcctg caatctacaa ggttttccca aatagtgcac cccttgaagg agggacaagg 1740  
 ctgaccatat gtggctggga ctttggattt cggaggaata ataaattga tttaaagaaa 1800  
 actagagtte tecttgaaa tgagagctgc accttgactt taagtgagag cacgatgaat 1860  
 acattgaaat gcacagttag tectgcatg aataagcatt tcaatatgtc cataattatt 1920  
  
 tcaaatggcc acgggacaac acaatacagt acattctcct atgtggatcc tgtaataaca 1980  
 agtatttgcg cgaatacagg tcctatggct ggtggcactt tacttacttt aactggaaat 2040  
 tacttaaca gtgggaattc tagacacatt tcaattggtg gaaaaacatg tactttaaaa 2100  
 agtgtgtcaa acagtattct tgaatgttat aceccagccc aaaccatttc aactgagttt 2160  
 gctgttaaat tgaaaattga cttagccaac cgagagacaa gcactctcag ttaccgtgaa 2220  
 gatccattg tctatgaaat tcatccaacc aaatctttta ttagtggtag gagcacaata 2280

acagggtttg ggaaaaacct gaattcagtt agtgtcccga gaatggcat aaatgtgcat 2340

gaagcaggaa ggaactttac agtggcatgt caacatcgct ctaattcaga gataatctgt 2400

tgtaccactc ctccctgca acagetgaat ctgcaactcc cctgaaaac caaagccttt 2460

ttcatgttag atgggatcct ttccaaatac ttgatctca tttatgtaca taatcctgtg 2520

tttaagcctt ttgaaaagcc agtgatgac tcaatgggca atgaaaatgt actggaatt 2580

aagggaaatg atattgacc tgaagcagtt aaaggtgaag tgttaaaagt tggaaataag 2640

agctgtgaga atatacactt acattctgaa gccgttttat gcacggctcc caatgacctg 2700

ctgaaattga acagcgagct aaatatagag tggaaagcaag caatttcttc aaccgtcctt 2760

ggaaaagtaa tagttcaacc agatcagaat ttcacaggat tgattgctgg tgttgtctca 2820

atatcaacag cactgttatt actacttggg tttttcctgt ggctgaaaa gagaaagcaa 2880

attaaagatc tgggcagtga attagttcgc tacgatgcaa gagtacacac tctcatttg 2940

gataggcttg taagtgcccg aagtgtaac ccaactacag aaatggttc aaatgaatct 3000

gtagactacc gagctacttt tccagaagat cagtttctta attcatctca gaacggttca 3060

tgccgacaag tgcagtatcc tctgacagac atgtcccceca tcttaactag tggggactct 3120

gatatatcca gtccattact gcaaaatact gtccacattg acctcagtgc tctaaatcca 3180

gagctggctc aggcagtgca gcatgtagtg attgggceca gtagcctgat tgtgcatttc 3240

aatgaagtca taggaagagg gcattttggt tgtgtatata atgggacttt gttggacaat 3300

gatggcaaga aaattcactg tgcctgtaaa tcttgaaca gaatcactga cataggagaa 3360

gtttcccaat ttctgaccga gggaatcacc atgaaagatt ttagtcatcc caatgtctc 3420

tcgctcctgg gaatctgctt gcgaagtga gggtctccgc tgggtgctct accatacatg 3480

aaacatggag atcttcgaaa tttcattcga aatgagactc ataatccaac tgtaaaagat 3540

cttattggct ttggtcttca agtagccaaa ggcatgaaat atcttgcaag caaaaagttt 3600

gtccacagag acttggctgc aagaaactgt atgctggatg aaaaattcac agtcaaggtt 3660

gctgattttg gtcttgccag agacatgtat gataaagaat actatagtgt acacaacaaa 3720

acaggtgcaa agctgccagt gaagtgatg gctttggaaa gtctgcaaac tcaaaagttt 3780

accaccaagt cagatgtgtg gtctttggc gtgctcctct gggagctgat gacaagagga 3840

gccccactt atctgacgt aaacacctt gatataactg tttacttgtt gcaagggaga 3900

agactcctac aaccgaata ctgcccagac cccttatatg aagtaatgct aaaatgctgg 3960

caccctaaag ccgaaatgcg cccatccttt tctgaactgg tgtcccggat atcagcgatc 4020

ttctctactt tcattgggga gcactatgtc catgtgaacg ctacttatgt gaacgtaaaa 4080  
 tgtgtcgtc cgtatccttc tctgtgtca tcagaagata acgctgatga tgaggaggac 4140  
 acacgaccag cctccttctg ggagacatca 4170

<210> 79  
 <211> 444  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence

<220><223> SEMA domain of c-Met

<400> 79

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Val Leu Glu His Pro Asp Cys Phe Pro Cys Gln Asp Cys Ser Ser Lys

35 40 45

Ala Asn Leu Ser Gly Gly Val Trp Lys Asp Asn Ile Asn Met Ala Leu

50 55 60

Val Val Asp Thr Tyr Tyr Asp Asp Gln Leu Ile Ser Cys Gly Ser Val

65 70 75 80

Asn Arg Gly Thr Cys Gln Arg His Val Phe Pro His Asn His Thr Ala

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

Ile Asn Ser Ser Tyr Phe Pro Asp His Pro Leu His Ser Ile Ser Val

145 150 155 160

Arg Arg Leu Lys Glu Thr Lys Asp Gly Phe Met Phe Leu Thr Asp Gln

165 170 175

Ser Tyr Ile Asp Val Leu Pro Glu Phe Arg Asp Ser Tyr Pro Ile Lys



435 440

<210> 80

<211> 451

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> PSI-IPT domain of c-Met

<400> 80

Tyr Thr Leu Val Ile Thr Gly Lys Lys Ile Thr Lys Ile Pro Leu Asn  
 1 5 10 15  
 Gly Leu Gly Cys Arg His Phe Gln Ser Cys Ser Gln Cys Leu Ser Ala  
 20 25 30  
 Pro Pro Phe Val Gln Cys Gly Trp Cys His Asp Lys Cys Val Arg Ser  
 35 40 45  
 Glu Glu Cys Leu Ser Gly Thr Trp Thr Gln Gln Ile Cys Leu Pro Ala  
 50 55 60  
 Ile Tyr Lys Val Phe Pro Asn Ser Ala Pro Leu Glu Gly Gly Thr Arg  
 65 70 75 80  
 Leu Thr Ile Cys Gly Trp Asp Phe Gly Phe Arg Arg Asn Asn Lys Phe  
 85 90 95  
 Asp Leu Lys Lys Thr Arg Val Leu Leu Gly Asn Glu Ser Cys Thr Leu  
 100 105 110  
 Thr Leu Ser Glu Ser Thr Met Asn Thr Leu Lys Cys Thr Val Gly Pro  
 115 120 125  
 Ala Met Asn Lys His Phe Asn Met Ser Ile Ile Ile Ser Asn Gly His  
 130 135 140  
 Gly Thr Thr Gln Tyr Ser Thr Phe Ser Tyr Val Asp Pro Val Ile Thr  
 145 150 155 160  
 Ser Ile Ser Pro Lys Tyr Gly Pro Met Ala Gly Gly Thr Leu Leu Thr  
 165 170 175  
 Leu Thr Gly Asn Tyr Leu Asn Ser Gly Asn Ser Arg His Ile Ser Ile  
 180 185 190

Gly Gly Lys Thr Cys Thr Leu Lys Ser Val Ser Asn Ser Ile Leu Glu  
 195 200 205  
 Cys Tyr Thr Pro Ala Gln Thr Ile Ser Thr Glu Phe Ala Val Lys Leu  
 210 215 220  
 Lys Ile Asp Leu Ala Asn Arg Glu Thr Ser Ile Phe Ser Tyr Arg Glu  
 225 230 235 240  
 Asp Pro Ile Val Tyr Glu Ile His Pro Thr Lys Ser Phe Ile Ser Thr  
 245 250 255  
 Trp Trp Lys Glu Pro Leu Asn Ile Val Ser Phe Leu Phe Cys Phe Ala  
 260 265 270  
  
 Ser Gly Gly Ser Thr Ile Thr Gly Val Gly Lys Asn Leu Asn Ser Val  
 275 280 285  
 Ser Val Pro Arg Met Val Ile Asn Val His Glu Ala Gly Arg Asn Phe  
 290 295 300  
 Thr Val Ala Cys Gln His Arg Ser Asn Ser Glu Ile Ile Cys Cys Thr  
 305 310 315 320  
 Thr Pro Ser Leu Gln Gln Leu Asn Leu Gln Leu Pro Leu Lys Thr Lys  
 325 330 335  
 Ala Phe Phe Met Leu Asp Gly Ile Leu Ser Lys Tyr Phe Asp Leu Ile  
 340 345 350  
 Tyr Val His Asn Pro Val Phe Lys Pro Phe Glu Lys Pro Val Met Ile  
 355 360 365  
 Ser Met Gly Asn Glu Asn Val Leu Glu Ile Lys Gly Asn Asp Ile Asp  
 370 375 380  
 Pro Glu Ala Val Lys Gly Glu Val Leu Lys Val Gly Asn Lys Ser Cys  
 385 390 395 400  
 Glu Asn Ile His Leu His Ser Glu Ala Val Leu Cys Thr Val Pro Asn  
 405 410 415  
  
 Asp Leu Leu Lys Leu Asn Ser Glu Leu Asn Ile Glu Trp Lys Gln Ala  
 420 425 430  
 Ile Ser Ser Thr Val Leu Gly Lys Val Ile Val Gln Pro Asp Gln Asn







gttttacctg agttcagaga ttcttaccce attaagtatg tccatgcctt tgaagcaac 600  
aattttatctt acttcttgac ggtccaaagg gaaactctag atgctcagac ttttcacaca 660

agaataatca ggttctgttc cataaactct ggattgcatt cctacatgga aatgcctctg 720  
gagtgtattc tcacagaaaa gagaaaaaag agatccacaa agaaggaagt gtttaataa 780  
cttcaggctg cgtatgtcag caagcctggg gccagcttg ctagacaaat aggagccagc 840  
ctgaatgatg acattctttt cggggtgttc gcacaaagca agccagattc tgccgaacca 900  
atggatcgat ctgccatgtg tgcattccct atcaaatatg tcaacgactt cttcaacaag 960  
atcgtcaaca aaaacaatgt gagatgtctc cagcattttt acggacccaa tcatgagcac 1020  
tgctttaata ggacacttct gagaaattca tcaggctgtg aagcgcgccc tgatgaatat 1080

cgaacagagt ttaccacagc tttgcagcgc gttgacttat tcatgggtca attcagcгаа 1140  
gtcctcttaa catctatata caccttcatt aaaggagacc tcaccatagc taatcttggg 1200  
acatcagagg gtcgcttcat gcaggttgtg gtttctcgat caggaccatc aaccctcat 1260  
gtgaattttc tctggactc ccatccagtg tctccagaag tgattgtgga gcatacatta 1320  
aaccaaatg gc 1332

- <210> 83
- <211> 1299
- <212> DNA
- <213> Artificial Sequence
- <220><223> polynucleotide encoding PSI-IPT domain of c-Met

<400> 83  
tacacactgg ttatcactgg gaagaagatc acgaagatcc cattgaatgg cttgggctgc 60  
agacatttcc agtctctcag tcaatgcctc tctgcccac cctttgttca gtgtggctgg 120  
tgccacgaca aatgtgtgcg atcggaggaa tgctgagcgg ggacatggac tcaacagatc 180  
tgtctgctg caatctacaa ggttttccca aatagtgcac ccttgaagg agggacaagg 240  
ctgaccatat gtggctggga ctttggattt cggaggaata ataaattga tttaaagaaa 300  
actagagttc tccttgaaa tgagagctgc accttgactt taagtgagag cacgatgaat 360  
acattgaaat gcacagtgg tctgccatg aataagcatt tcaatatgtc cataattatt 420  
  
tcaaatggcc acgggacaac acaatacagt acattctcct atgtggatcc tgtaataaca 480  
agtatttgcg cgaatacgg tcctatggct ggtggcactt tacttacttt aactggaat 540  
tacctaaaca gtgggaattc tagacacatt tcaattggtg gaaaaacatg tactttaaaa 600  
agtgtgtcaa acagtattct tgaatgttat accccagccc aaaccatttc aactgagttt 660

gctgttaaat tgaaaattga cttagccaac cgagagacaa gcatcttcag ttaccgtgaa 720  
gatcccattg tctatgaaat tcatccaacc aaatctttta ttagtggtgg gagcacaata 780  
acaggtgttg ggaaaaacct gaattcagtt agtgtcccga gaatggtcat aaatgtgcat 840

gaagcaggaa ggaactttac agtggcatgt caacatcgct ctaattcaga gataatctgt 900  
tgtaccactc cttccctgca acagctgaat ctgcaactcc ccctgaaaac caaagccttt 960  
ttcatgttag atgggatcct ttccaatac tttgatctca tttatgtaca taatcctgtg 1020  
tttaagcctt ttgaaaagcc agtgatgatc tcaatgggca atgaaaatgt actggaatt 1080  
aagggaaatg atattgacc tgaagcagtt aaaggtgaag tgttaaaagt tggaaataag 1140  
agctgtgaga atatacactt acattctgaa gccgttttat gcacgggtccc caatgacctg 1200  
ctgaaattga acagcgagct aaatatagag tggaagcaag caatttcttc aaccgtcctt 1260

ggaaaagtaa tagttcaacc agatcagaat ttcacagga 1299

<210> 84  
<211> 939  
<212> DNA  
<213> Artificial Sequence  
<220><223> polynucleotide encoding TyrKc domain of c-Met  
<400> 84

gtgcatttca atgaagtcac aggaagaggg ctttttggtt gtgtatatca tgggactttg 60  
ttggacaatg atggcaagaa aattcactgt gctgtgaaat ccttgaacag aatcactgac 120  
ataggagaag tttcccaatt tctgaccgag ggaatcatca tgaaagattt tagtcatccc 180  
aatgtcctct cgctcctggg aatctgcctg cgaagtgaag ggtctccgct ggtggtccta 240

ccatacatga aacatggaga tcttcgaaat ttcattcgaa atgagactca taatccaact 300  
gtaaaagatc ttattggctt tggctttcaa gtagccaaag gcatgaaata tcttgcaagc 360  
aaaaagtttg tccacagaga cttggctgca agaactgta tgctggatga aaaattcaca 420  
gtcaaggttg ctgattttgg tcttgccaga gacatgtatg ataaagaata ctatagtga 480  
cacaacaaaa caggtgcaaa gctgccagtg aagtggatgg ctttggaaag tctgcaact 540  
caaaagttta ccaccaagtc agatgtgtgg tcctttggcg tgctcctctg ggagctgatg 600  
acaagaggag ccccacctta tctgacgta aacacctttg atataactgt ttacttgttg 660

caagggagaa gactcctaca acccgaatac tgcccagacc ctttatatga agtaatgcta 720  
aatgctgge accctaaagc cgaaatgcgc ccatcctttt ctgaaactgg gtcccggata 780  
tcagcgatct tctctacttt cattggggag cactatgtcc atgtgaacgc tacttatgtg 840

aacgtaaaat gtgtcgctcc gtatccttct ctgttgcat cagaagataa cgctgatgat 900  
gaggtggaca cagcaccagc ctccttctgg gagacatca 939

<210> 85  
<211> 13  
<212> PRT  
<213> Artificial Sequence  
<220><223> heavy chain CDR3 of anti-c-Met antibody

<400> 85  
Asp Asn Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val  
1 5 10

<210> 86  
<211> 10  
<212> PRT  
<213> Artificial Sequence  
<220><223> light chain CDR3 of anti-c-Met antibody

<400> 86  
Leu Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu  
1 5 10

<210> 87  
<211> 117  
<212> PRT  
<213> Artificial Sequence  
<220><223> heavy chain variable region of monoclonal antibody AbF46

<400> 87  
Glu Val Lys Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly  
1 5 10 15  
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Thr Ser Gly Phe Thr Phe Thr Asp Tyr  
20 25 30  
Tyr Met Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Ala Leu Glu Trp Leu  
35 40 45  
Gly Phe Ile Arg Asn Lys Ala Asn Gly Tyr Thr Thr Glu Tyr Ser Ala  
50 55 60  
Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Gln Ser Ile



<213> Artificial Sequence

<220><223> light chain CDR3 of anti-c-Met antibody

<400> 89

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

Glu

<210> 90

<211> 117

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> heavy chain variable region of AT-VH1

<400> 90

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

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

115

<210> 91

<211> 117

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> heavy chain variable region of AT-VH2

<400> 91

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Gly Phe Ile Arg Asn Lys Ala Asn Gly Tyr Thr Thr Glu Tyr Ser Ala

50 55 60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Ser Thr

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 92

<211> 117

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> heavy chain variable region of AT-VH3

<400> 92

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Gly Phe Ile Arg Asn Lys Ala Asn Gly Tyr Thr Thr Glu Tyr Ser Ala





<211> 117  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> heavy chain variable region of AT-VH5  
 <400> 94  
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly  
 1 5 10 15  
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Thr Ser Gly Phe Thr Phe Thr Asp Tyr  
 20 25 30  
 Tyr Met Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu  
 35 40 45  
  
 Gly Phe Ile Arg Asn Lys Ala Asn Gly Tyr Thr Thr Glu Tyr Ser Ala  
 50 55 60  
 Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr  
 65 70 75 80  
 Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr  
 85 90 95  
 Tyr Cys Ala Arg Asp Asn Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu  
 100 105 110  
 Val Thr Val Ser Ser

115  
 <210> 95  
 <211> 114  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> light chain variable region of anti c-Met humanized  
 antibody(huAbF46-H4)  
 <400> 95  
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly  
 1 5 10 15  
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Ala Ser  
 20 25 30

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

35 40 45

Ala Pro Lys Met Leu Ile Ile Trp Ala Ser Thr Arg Val Ser Gly Val

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Lys Arg

<210> 96

<211> 113

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> light chain variable region of AT-Vk1

<400> 96

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Ala Pro Lys Met Leu Ile Ile Trp Ala Ser Thr Arg Val Ser Gly Val

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ser Tyr Ser Ala Pro Leu Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile

100 105 110

Lys

<

210> 97

<211> 113

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> light chain variable region of AT-Vk2

<400> 97

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Ala Pro Lys Met Leu Ile Ile Trp Ala Ser Thr Arg Val Ser Gly Val

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ser Tyr Ser Ala Pro Leu Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile

100 105 110

Lys

<

210> 98

<211> 113

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> light chain variable region of AT-Vk3

<400> 98

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

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Ala Ser  
 20 25 30

Gly Asn Gln Asn Asn Tyr Leu Ala Trp His Gln Gln Lys Pro Gly Lys  
 35 40 45

Ala Pro Lys Met Leu Ile Ile Trp Ala Ser Thr Arg Val Ser Gly Val  
 50 55 60

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

Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln  
 85 90 95

Ser Tyr Ser Ala Pro Leu Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile  
 100 105 110

Lys

<

<210> 99

<211> 113

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> light chain variable region of AT-Vk4

<400> 99

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly  
 1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Ala Ser  
 20 25 30

Gly Asn Gln Asn Asn Tyr Leu Ala Trp His Gln Gln Lys Pro Gly Lys  
 35 40 45

Ala Pro Lys Met Leu Ile Ile Trp Ala Ser Thr Arg Val Ser Gly Val  
 50 55 60

Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr  
 65 70 75 80

Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln  
 85 90 95

Ser Tyr Ser Ala Pro Leu Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile  
 100 105 110

Lys

<

<210> 100

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> modified hinge region(U7-HC6)

<400> 100

Glu Pro Ser Cys Asp Lys His Cys Cys Pro Pro Cys Pro

1 5 10

<210> 101

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> modified hinge region(U6-HC7)

<400> 101

Glu Pro Lys Ser Cys Asp Cys His Cys Pro Pro Cys Pro

1 5 10

<210> 102

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> modified hinge region(U3-HC9)

<400> 102

Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro

1 5 10

<210> 103

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> modified hinge region(U6-HC8)

<400> 103  
 Glu Pro Arg Asp Cys Gly Cys Lys Pro Cys Pro Pro Cys Pro  
 1 5 10  
 <210> 104  
 <211> 13  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence

<220><223> modified hinge region(U8-HC5)  
 <400> 104  
 Glu Lys Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro  
 1 5 10  
 <210> 105  
 <211> 15  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence

<220><223> human hinge region  
 <400> 105  
 Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro  
 1 5 10 15  
 <210> 106  
 <211> 17  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence

<220><223> CDR-L1 of antibody L3-11Y  
 <400> 106  
 Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Ala Trp Gly Asn Gln Asn Asn Tyr Leu  
 1 5 10 15  
 Ala  
 <210> 107  
 <211> 114  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence

<220><223> amino acid sequence of light chain variable region of antibody

L3-11Y

<400> 107

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

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Ala Trp

20 25 30

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

35 40 45

Ala Pro Lys Met Leu Ile Ile Trp Ala Ser Thr Arg Val Ser Gly Val

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ser Tyr Ser Arg Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile

100 105 110

Lys Arg

<210> 108

<211> 220

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> amino acid sequence of light chain of antibody L3-11Y

<400> 108

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

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Ala Trp

20 25 30

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

35 40 45

Ala Pro Lys Met Leu Ile Ile Trp Ala Ser Thr Arg Val Ser Gly Val

