



등록특허 10-2309882



(19) 대한민국특허청(KR)

(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2021년10월06일

(11) 등록번호 10-2309882

(24) 등록일자 2021년09월30일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A61K 39/395 (2006.01) A61K 48/00 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

(21) 출원번호 10-2014-0163792

(22) 출원일자 2014년11월21일

심사청구일자 2019년10월21일

(65) 공개번호 10-2016-0061200

(43) 공개일자 2016년05월31일

(56) 선행기술조사문헌

KR1020130037153 A*

*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자

삼성전자주식회사

경기도 수원시 영통구 삼성로 129 (매탄동)

연세대학교 산학협력단

서울특별시 서대문구 연세로 50 (신촌동, 연세대학교)

(72) 발명자

심선희

대전광역시 유성구 신성남로95번길 9, 가람빌라 301호 (신성동)

이지민

서울특별시 금천구 시흥대로 165, 213동 1902호 (시흥동, 남서울힐스테이트아파트)

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

팬코리아특허법인

전체 청구항 수 : 총 11 항

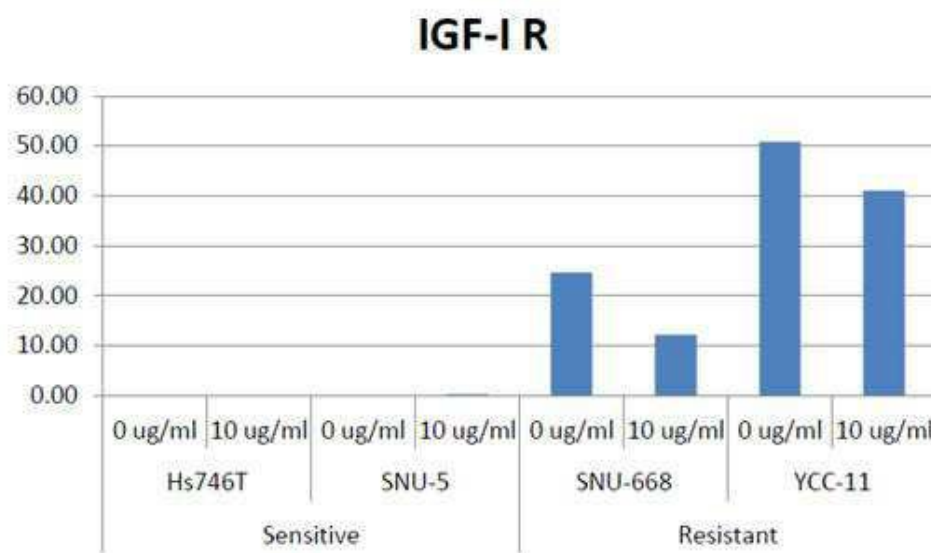
심사관 : 이수정

(54) 발명의 명칭 c-Met 저해제 및 IGF-1R 저해제를 포함하는 병용 투여용 약학 조성물

(57) 요약

c-Met 저해제 및 IGF-1R 저해제를 유효성분으로 포함하는 암의 예방 및/또는 치료를 위한 병용 투여용 약학 조성물, IGF-1R 저해제의 c-Met 저해제 효능 증진(저항성 극복) 용도, 및 c-Met 저해제에 대한 저항성 마커로서의 IGF-1R의 용도가 제공된다.

대표도 - 도4



(72) 발명자

정수연

경기도 성남시 분당구 궁내로7번길 2, 101동 201호
(궁내동, 동양파크타운)

권우선

서울특별시 서대문구 연세로 50-1

김경아

경기도 성남시 분당구 정자일로 100, C동 1705호
(정자동, 미켈란쉐르빌)

김정민

서울특별시 서대문구 연세로 50-1

라선영

서울특별시 서대문구 연세로 50-1

이원석

서울특별시 서대문구 연세로 50-1

명세서

청구범위

청구항 1

c-Met 저해제; 및

IGF-1R(insulin-like growth factor 1 receptor) 저해제

를 유효성분으로 포함하고,

상기 c-Met 저해제는 c-Met 유전자 또는 단백질에 대한 항 c-Met 항체 또는 이의 항원 결합 단편이며, 상기 항 c-Met 항체는 서열번호 1의 아미노산 서열로 이루어진 CDR-H1, 서열번호 2의 아미노산 서열로 이루어진 CDR-H2, 서열번호 3의 아미노산 서열로 이루어진 CDR-H3, 서열번호 10의 아미노산 서열로 이루어진 CDR-L1, 서열번호 11의 아미노산 서열로 이루어진 CDR-L2, 및 서열번호 13의 아미노산 서열로 이루어진 CDR-L3을 포함하거나,

서열번호 1의 아미노산 서열로 이루어진 CDR-H1, 서열번호 2의 아미노산 서열로 이루어진 CDR-H2, 서열번호 3의 아미노산 서열로 이루어진 CDR-H3, 서열번호 106의 아미노산 서열로 이루어진 CDR-L1, 서열번호 11의 아미노산 서열로 이루어진 CDR-L2, 및 서열번호 13의 아미노산 서열로 이루어진 CDR-L3을 포함하는 항체이고,

상기 IGF-1R 저해제는 린시티닙(Linsitinib), NVP-AEW541, GSK1904529A, NVP-ADW742, BMS-536924, 피지투무맵, 식수투무맵, 달로투주맵, R1507, XL-228, INSM-18, BMS-754807, AG-1024, GSK1838705A, PQ 401, 및 이들의 약학적으로 허용 가능한 염으로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상인,

암의 예방 또는 치료를 위한 병용 투여용 약학 조성물로서,

상기 암은 상기 c-Met 저해제에 대하여 저항성을 나타내는 암인, 암의 예방 또는 치료를 위한 병용 투여용 약학 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 병용 투여용 약학 조성물은 IGF-1R 저해제와 c-Met 저해제가 혼합된 혼합제 형태이거나, IGF-1R 저해제와 c-Met 저해제가 각각 제제화되어 동시적 또는 순차적으로 투여되는 형태인,

암의 예방 또는 치료를 위한 병용 투여용 약학 조성물.

청구항 3

삭제

청구항 4

제1항에 있어서,

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

암의 예방 또는 치료를 위한 병용 투여용 약학 조성물.

청구항 5

삭제

청구항 6

제1항에 있어서,

상기 항 c-Met 항체는 서열번호 1의 아미노산 서열로 이루어진 CDR-H1, 서열번호 2의 아미노산 서열로 이루어진

CDR-H2, 서열번호 3의 아미노산 서열로 이루어진 CDR-H3, 서열번호 10의 아미노산 서열로 이루어진 CDR-L1, 서열번호 11의 아미노산 서열로 이루어진 CDR-L2, 및 서열번호 13의 아미노산 서열로 이루어진 CDR-L3을 포함하는 것인,

암의 예방 또는 치료를 위한 병용 투여용 약학 조성물.

청구항 7

제1항에 있어서, 상기 항 c-Met 항체 또는 이의 항원 결합 단편은,

서열번호 17의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 및

서열번호 18 또는 서열번호 107의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역

을 포함하는 것인,

암의 예방 또는 치료를 위한 병용 투여용 약학 조성물.

청구항 8

제1항에 있어서, 상기 항 c-Met 항체는,

서열번호 62의 아미노산 서열 또는 서열번호 62의 18번째부터 462번째까지의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열번호 68의 아미노산 서열 또는 서열번호 68의 21번째부터 240번째까지의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함하는 항체;

서열번호 64의 아미노산 서열 또는 서열번호 64의 18번째부터 461번째까지의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열번호 68의 아미노산 서열 또는 서열번호 68의 21번째부터 240번째까지의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함하는 항체;

서열번호 66의 아미노산 서열 또는 서열번호 66의 18번째부터 460번째까지의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열번호 68의 아미노산 서열 또는 서열번호 68의 21번째부터 240번째까지의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함하는 항체;

서열번호 62의 아미노산 서열 또는 서열번호 62의 18번째부터 462번째까지의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열번호 70의 아미노산 서열 또는 서열번호 70의 21번째부터 240번째까지의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함하는 항체;

서열번호 64의 아미노산 서열 또는 서열번호 64의 18번째부터 461번째까지의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열번호 70의 아미노산 서열 또는 서열번호 70의 21번째부터 240번째까지의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함하는 항체; 또는

서열번호 66의 아미노산 서열 또는 서열번호 66의 18번째부터 460번째까지의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열번호 70 또는 서열번호 70의 21번째부터 240번째까지의 아미노산 서열의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함하는 항체

서열번호 62의 아미노산 서열 또는 서열번호 62의 18번째부터 462번째까지의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열번호 108의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함하는 항체;

서열번호 64의 아미노산 서열 또는 서열번호 64의 18번째부터 461번째까지의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열번호 108의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함하는 항체; 및

서열번호 66의 아미노산 서열 또는 서열번호 66의 18번째부터 460번째까지의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열번호 108의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함하는 항체

로 이루어진 군에서 선택된 것인,

암의 예방 또는 치료를 위한 병용 투여용 약학 조성물.

청구항 9

삭제

청구항 10

삭제

청구항 11

제1항에 있어서, 상기 IGF-1R 저해제는 린시티닙(Linsitinib)인, 암의 예방 또는 치료를 위한 병용 투여용 약학 조성물.

청구항 12

삭제

청구항 13

제1항 있어서, 상기 암은 항 c-Met 항체에 대하여 저항성을 갖는 위암, 또는 폐암인, 암의 예방 또는 치료를 위한 병용 투여용 약학 조성물.

청구항 14

IGF-1R 저해제를 포함하는, 암에서의 c-Met 저해제에 대한 저항성 치료를 위한 약학 조성물로서,

상기 c-Met 저해제는 c-Met 유전자 또는 단백질에 대한 항 c-Met 항체 또는 이의 항원 결합 단편이며, 상기 항 c-Met 항체는 서열번호 1의 아미노산 서열로 이루어진 CDR-H1, 서열번호 2의 아미노산 서열로 이루어진 CDR-H2, 서열번호 3의 아미노산 서열로 이루어진 CDR-H3, 서열번호 10의 아미노산 서열로 이루어진 CDR-L1, 서열번호 11의 아미노산 서열로 이루어진 CDR-L2, 및 서열번호 13의 아미노산 서열로 이루어진 CDR-L3을 포함하거나,

서열번호 1의 아미노산 서열로 이루어진 CDR-H1, 서열번호 2의 아미노산 서열로 이루어진 CDR-H2, 서열번호 3의 아미노산 서열로 이루어진 CDR-H3, 서열번호 106의 아미노산 서열로 이루어진 CDR-L1, 서열번호 11의 아미노산 서열로 이루어진 CDR-L2, 및 서열번호 13의 아미노산 서열로 이루어진 CDR-L3을 포함하는 항체이고,

상기 IGF-1R 저해제는 린시티닙(Linsitinib), NVP-AEW541, GSK1904529A, NVP-ADW742, BMS-536924, 피지투무맵, 식수투무맵, 달로투주맵, R1507, XL-228, INSM-18, BMS-754807, AG-1024, GSK1838705A, PQ 401, 및 이들의 약학적으로 허용 가능한 염으로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상인, 약학 조성물.

청구항 15

생물 시료 내의 IGF-1R 및 이를 암호화하는 유전자로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 수준을 측정하는 단계를 포함하는, 암에서의 c-Met 저해제에 대한 저항성 유도 여부의 모니터링을 위한 정보를 제공하는 방법로서,

상기 c-Met 저해제는 c-Met 유전자 또는 단백질에 대한 항 c-Met 항체 또는 이의 항원 결합 단편이며, 상기 항 c-Met 항체는 서열번호 1의 아미노산 서열로 이루어진 CDR-H1, 서열번호 2의 아미노산 서열로 이루어진 CDR-H2, 서열번호 3의 아미노산 서열로 이루어진 CDR-H3, 서열번호 10의 아미노산 서열로 이루어진 CDR-L1, 서열번호 11의 아미노산 서열로 이루어진 CDR-L2, 및 서열번호 13의 아미노산 서열로 이루어진 CDR-L3을 포함하거나,

서열번호 1의 아미노산 서열로 이루어진 CDR-H1, 서열번호 2의 아미노산 서열로 이루어진 CDR-H2, 서열번호 3의 아미노산 서열로 이루어진 CDR-H3, 서열번호 106의 아미노산 서열로 이루어진 CDR-L1, 서열번호 11의 아미노산 서열로 이루어진 CDR-L2, 및 서열번호 13의 아미노산 서열로 이루어진 CDR-L3을 포함하는 항체인, 방법.

청구항 16

생물 시료 내의 IGF-1R 및 이를 암호화하는 유전자로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 수준을 측정하는 단계를 포함하는, 암에서 c-Met 저해제 및 IGF-1R 저해제의 병용 투여 대상 선별을 위한 정보를 제공하는 방법으로서,

상기 c-Met 저해제는 c-Met 유전자 또는 단백질에 대한 항 c-Met 항체 또는 이의 항원 결합 단편이며, 상기 항 c-Met 항체는 서열번호 1의 아미노산 서열로 이루어진 CDR-H1, 서열번호 2의 아미노산 서열로 이루어진 CDR-H2, 서열번호 3의 아미노산 서열로 이루어진 CDR-H3, 서열번호 10의 아미노산 서열로 이루어진 CDR-L1, 서열번호 11의 아미노산 서열로 이루어진 CDR-L2, 및 서열번호 13의 아미노산 서열로 이루어진 CDR-L3을 포함하거나,

서열번호 1의 아미노산 서열로 이루어진 CDR-H1, 서열번호 2의 아미노산 서열로 이루어진 CDR-H2, 서열번호 3의 아미노산 서열로 이루어진 CDR-H3, 서열번호 106의 아미노산 서열로 이루어진 CDR-L1, 서열번호 11의 아미노산 서열로 이루어진 CDR-L2, 및 서열번호 13의 아미노산 서열로 이루어진 CDR-L3을 포함하는 항체이고,

상기 IGF-1R 저해제는 린시티닙(Linsitinib), NVP-AEW541, GSK1904529A, NVP-ADW742, BMS-536924, 피지투무맵, 식수투무맵, 달로투주맵, R1507, XL-228, INSM-18, BMS-754807, AG-1024, GSK1838705A, PQ 401, 및 이들의 약학적으로 허용 가능한 염으로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상인, 방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] c-Met 저해제 및 IGF-1R 저해제를 유효성분으로 포함하는 암의 예방 및/또는 치료를 위한 병용 투여용 약학 조성물, IGF-1R 저해제의 c-Met 저해제 효능 증진(저항성 극복) 용도, 및 c-Met 저해제에 대한 저항성 마커로서의 IGF-1R의 용도가 제공된다.

배경 기술

[0002] 특정 표적을 갖는 약물의 경우, 표적이 없는 약물과 비교하여, 약물에 대한 저항성이 쉽게 유발됨이 밝혀졌다. 또한, 표적 약물의 단독 처리 시 효과를 보이는 적응증에 한계가 있음이 알려져 왔다. 이러한 표적 약물을 다른 인자를 억제하는 약물과 함께 처리함으로써 상기 표적 약물 처리에 의해 발생하는 저항성을 극복하거나 상기 표적 약물이 효과를 보이지 못하던 적응증에도 효과를 나타내어, 약물의 효능을 극대화시키는 방안이 제안되고 있다. 이러한 방안에 의하여 표적 약물의 적용 범위가 보다 확장되고, 저항성이 극복될 수 있을 것으로 기대된다.

[0003] 따라서, 보다 효과적인 질병의 치료를 위하여 2 또는 그 이상을 표적으로 하는 효과적인 병용 치료법의 개발이 요구되고 있다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0004] 본 발명은 c-Met 및 IGF-1R을 표적으로 하는 병용 요법에 관한 것이다.

[0005] 일 예는 c-Met 저해제 및 IGF-1R 저해제를 유효성분으로 포함하는 암의 예방 및/또는 치료를 위한 병용 투여용 약학 조성물을 제공한다.

[0006] 다른 예는 유효성분으로 c-Met 저해제의 약학적 유효량을 포함하는 제1 약학 조성물 및 유효성분으로 IGF-1R 저해제의 약학적 유효량을 포함하는 제2 약학 조성물, 및 포장 용기를 포함하는, 암의 예방 및/또는 치료용 키트를 제공한다.

[0007] 다른 예는 c-Met 저해제의 약학적 유효량과 IGF-1R 저해제의 약학적 유효량을 암의 예방 및/또는 치료를 필요로 하는 환자에게 병용 투여하는 단계를 포함하는 암의 예방 및/또는 치료 방법을 제공한다.

[0008] 다른 예는 IGF-1R 저해제를 포함하는 c-Met 저해제의 저항성 극복을 약학 조성물을 제공한다.

[0009] 다른 예는 IGF-1R 저해제를 c-Met 저해제와 함께 투여하는 단계를 포함하는, c-Met 저해제의 저항성 극복 방법을 제공한다.

[0010] 다른 예는 IGF-1R 또는 이를 암호화하는 유전자를 포함하는 c-Met 저해제 효능 예측 및/또는 효능 검정용 마커를 제공한다. 상기 마커는 c-Met 저해제에 대한 저항성 여부를 판단하는데 사용될 수 있다.

[0011] 다른 예는 환자로 부터 얻어진 생물 시료에서의 IGF-1R 또는 이를 암호화하는 유전자 수준을 측정하는 단계를 포함하는, c-Met 저해제 효능 예측 및/또는 효능 검정 방법을 제공한다. 상기 방법은 c-Met 저해제에 대한 저항성 여부를 판단하는데 사용될 수 있다.

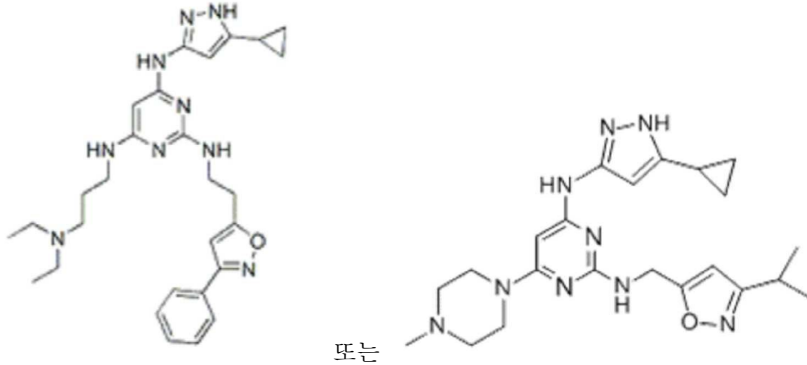
과제의 해결 수단

- [0012] 항 c-Met 항체를 포함한 c-Met 저해제는 일반적으로 c-Met의 발현량이 높은 암 종류 (예컨대, 위암, 폐암 등)에서 효능을 나타낸다. 그러나, c-Met의 발현이 높은 경우라도 c-Met 저해제에 대한 저항성이 내재적으로 존재하거나 반복적인 c-Met 저해제 투여에 의하여 획득된 경우, c-Met 저해제가 효능을 발휘할 수 없게 된다. c-Met의 수준이 높음에도 불구하고 c-Met 저해제가 효능을 발휘하지 못하는 세포주의 단백질 발현 양상을 확인한 결과, IGF-1R의 발현량이 c-Met 저해제가 효능을 나타내는 세포주와 비교하여 현저히 높음을 확인하여, IGF-1R의 c-Met 저해제에 대한 저항성 존재 여부 확인을 위한 마커 및 c-Met 저해제와의 병용 투여 타겟으로서의 용도를 제공한다.
- [0013] 이와 같은 c-Met 저해제와 IGF-1R 저해제와의 병용 치료를 통하여 c-Met 저해제가 단독으로 효과를 보이지 못하던 질병의 치료가 가능해져서 그 적용증을 확대시킬 수 있을 뿐 아니라, c-Met 저해제에 대한 저항성을 극복할 수 있다.
- [0014] "c-Met" 또는 "c-Met 단백질"은 간세포 성장 인자와 결합하는 수용체 티로신 키나제를 의미한다. 상기 c-Met 단백질은 모든 종에서 유래하는 것일 수 있으며, 예컨대, 인간 c-Met (예컨대, NP_000236), 원숭이 c-Met (예컨대, Macaca mulatta, NP_001162100) 등과 같은 영장류 유래의 것, 또는 마우스 c-Met (예컨대, NP_032617.2), 래트 c-Met (예컨대, NP_113705.1) 등과 같은 설치류 유래의 것 등일 수 있다. 상기 단백질은 예를 들면, GenBank Accession Number NM_000245에 제공된 뉴클레오티드 서열에 의해 암호화된 폴리펩티드, 또는 GenBank Accession Number NM_000236에 제공된 폴리펩티드 서열에 의해 암호화된 단백질, 또는 그의 세포외 도메인을 포함한다. 수용체 티로신 키나제 c-Met은 예를 들면, 암발생, 암전이, 암세포 이동, 암세포 침투, 신생혈관 생성 과정 등의 여러 가지 기작에 관여한다.
- [0015] IGF-1R(insulin-like growth factor 1 receptor)은 IGF1(insulin-like growth factor 1) 또는 IGF2(insulin-like growth factor 2)와 결합하고, 인슐린과는 낮은 친화도로 결합한다. IGF1과 IGF-1R과의 결합은 수용체 타이로신 카이네이즈 (receptor tyrosine kinase)의 활성을 증가시키고 수용체의 자가 인산화(auto-phosphorylation) 또는 내부 연관 물질의 인산화를 유도함으로써 신호를 전달한다. IGF-1R은 정상세포의 세포 분열을 촉진할 뿐 아니라 세포의 비정상적인 성장을 초래할 수 있다. IGF-1R의 과도한 발현은 네오플라즘(Neoplasm)의 생성을 유발할 수 있어 암연구에서 중요성이 커지고 있다. 상기 IGF-1R은 모든 종에서 유래하는 것일 수 있으며, 예컨대, 인간 IGF-1R (예컨대, AAI43722.1 (유전자: BC143721.1), NP_000866.1 (유전자: NM_000875.4), NP_001278787.1 (유전자: NM_001291858.1) 등), 마우스 IGF-1R (예컨대, AAI38870.1 (유전자: BC138869.1), AAI38869.1 (유전자: BC138868.1), NP_034643.2 (유전자: NM_010513.2), 등), 등으로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0016] IGF-1R 신호화는 세포독성 요법(cytotoxic therapy)에 대한 저항성을 유발시켜서, 암치료의 걸림돌이 되는 경우가 많으며, EGFR-표적화 치료의 저항성과 연관성이 높다고 알려져 있다. 특히 IGF-1R은 수술로 절제된 위암환자의 종양에 많이 발현하고 있으며, 낮은 치료 성과와 연관성이 높다. 86명의 수술을 받은 위암환자의 조직에서 IGF-1R과 EGFR의 발현이 낮은 환자는 상대적으로 생존 기간이 길었다. 따라서 IGF-1R은 다른 RTK와 cross talk등을 통해 암세포 성장에 기여하는 중요한 물질 중 하나로 생각된다.
- [0017] 본 명세서에서, 용어 "c-Met 저해제"는 c-Met을 표적으로 하는 c-Met 관련 질병의 예컨대 암의 예방, 개선, 경감, 및/또는 치료 효과를 갖는 화합물 또는 조성물을 의미한다. 상기 c-Met 저해제의 효능은 c-Met 저해제의 c-Met 관련 질병, 예컨대 암의 예방, 개선, 경감, 및/또는 치료 효과를 의미하는 것으로, 암의 경우, 암세포 또는 암조직의 감소, 암세포 또는 암조직의 사멸, 암전이와 관련된 암세포의 이동 및/또는 침투의 억제 등의 효과를 의미한다.
- [0018] 본 발명은 c-Met 저해제와 IGF-1R 저해제의 병용 투여를 통하여 c-Met 저해제 단독 투여로 효능을 볼 수 없던 질환에까지 적용증을 확대시킬 수 있고 c-Met 저해제 또는 IGF-1R 저해제에 대한 저항성을 극복할 수 있는 병용 치료법을 제안한다. 이와 같은 c-Met 저해제에 대한 저항성 극복 효과뿐 아니라, c-Met 저해제와 IGF-1R 저해제와의 병용 치료는 이들 두 저해제의 상승 효과에 의하여 c-Met 저해제 또는 IGF-1R 저해제 단독으로 치료 효과가 나타나는 질병 및/또는 c-Met 저해제 또는 IGF-1R 저해제에 대한 저항성이 없는 질병에서도 보다 효과적인 치료 효과를 얻을 수 있음은 물론이다. 이로 인하여, 각 저해제의 투여 농도를 감소시키거나 투여 간격을 증가시킬 수 있고, 이를 통해 환자에게 나타나는 부작용을 줄일 수 있다.

- [0019] 일 예는 c-Met 저해제 및 IGF-1R 저해제를 유효성분으로 포함하는 암의 예방 및/또는 치료를 위한 병용 투여용 약학 조성물을 제공한다.
- [0020] 일 구체예에서, 상기 병용 투여용 약학 조성물은 c-Met 저해제의 및 IGF-1R 저해제가 혼합된 혼합제를 포함하는, 두 약물의 동시 투여를 위한 형태일 수 있다.
- [0021] 다른 구체예에서, 상기 병용 투여용 약학 조성물은 c-Met 저해제 및 IGF-1R 저해제가 각각 제제화되어, 두 약물을 동시적 또는 순차적으로 투여하기 위한 형태일 수 있다. 이 경우, 상기 병용 투여용 약학 조성물은 유효 성분으로 c-Met 저해제를 포함하는 제1 약학 조성물 및 유효성분으로 IGF-1R 저해제를 포함하는 제2 약학 조성물을 포함하는, 동시적 또는 순차적 투여를 위한 병용 투여용 약학 조성물일 수 있다. 순차적 투여의 경우 그 순서는 서로 바뀌어도 무방하다.
- [0022] 다른 예는 c-Met 저해제를 포함하는 제1 약학 조성물, IGF-1R 저해제를 제2 약학 조성물, 및 포장 용기를 포함하는, 암의 예방 및/또는 치료용 키트를 제공한다.
- [0023] 상기 유효성분으로서의 c-Met 저해제와 IGF-1R 저해제는 각각 소망하는 약리학적 효과를 얻기 위한 약학적 유효량으로 포함될 수 있다.
- [0024] 또 다른 예는 c-Met 저해제 및 IGF-1R 저해제를 암의 예방 및/또는 치료를 필요로 하는 환자에게 병용 투여하는 단계를 포함하는 암의 예방 및/또는 치료 방법을 제공한다. 상기 c-Met 저해제 및 IGF-1R 저해제는 각각 약학적 유효량으로 투여될 수 있다. 상기 방법은 투여하는 단계 이전에 암의 예방 및/또는 치료를 필요로 하는 환자를 확인하는 단계를 추가로 포함할 수 있다.
- [0025] 한 구체예에서, 상기 병용 투여는 c-Met 저해제와 IGF-1R 저해제를 혼합한 혼합제를 투여함으로써 수행될 수 있다. 다른 구체예에서, 상기 병용 투여는 c-Met 저해제를 투여하는 제1 단계 및 IGF-1R 저해제를 투여하는 제2 단계를 동시에 또는 순차적으로 수행하는 것일 수 있다. 순차적으로 투여하는 경우 그 순서는 서로 바뀌어도 무방하다.
- [0026] 상기 환자는 인간, 원숭이 등을 포함하는 영장류, 마우스, 래트 등을 포함하는 설치류 등을 포함하는 포유류, 또는 이로부터 분리된 세포 또는 조직 또는 이의 배양물일 수 있다. 특히, 상기 환자는 c-Met 저해제에 대하여 선천적으로 저항성을 갖거나 c-Met 저해제의 반복 투여에 의하여 c-Met 저해제에 대한 저항성을 획득한, 인간, 원숭이 등을 포함하는 영장류, 마우스, 래트 등을 포함하는 설치류 등을 포함하는 포유류, 또는 이로부터 분리된 세포 또는 조직 또는 이의 배양물일 수 있다.
- [0027] 본 발명에 있어서, c-Met 저해제와 IGF-1R 저해제를 병용 투여함으로써, c-Met 또는 IGF-1R을 각각 저해하는 단일 약물 사용시와 비교하여 우수한 상승 효과를 거둘 수 있을 뿐 아니라, c-Met 또는 IGF-1R 각각의 저해제에 효과를 나타내지 못하는 질병 (예컨대, 암) 또는 c-Met 또는 IGF-1R 각각의 저해제에 대하여 저항성이 생긴 질병에서도 우수한 치료 효과를 얻을 수 있다.
- [0028] 상기 병용 투여의 유효 성분 중 하나인 IGF-1R 저해제는 IGF-1R 유전자 또는 단백질을 표적으로 하는 모든 약물일 수 있으며, 구체적으로, IGF-1R 유전자 또는 단백질에 대한 항체, 압타머, siRNA, shRNA, microRNA, 저해 화합물(예컨대, 소분자 화합물 및 이들의 약학적으로 허용 가능한 염) 등으로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상일 수 있다. 예컨대, 상기 IGF-1R 저해제는 린시티닙(Linsitinib; OSI-906; 3-[8-Amino-1-(2-phenyl-7-quinolyl)imidazo[1,5-a]pyrazin-3-yl]-1-methyl-cyclobutanol), 피지투무맙 (figitumumab; CP-751,871), 식수투무맙 (Cixutumumab; IMC-A12), 달로투주맙 (dalotuzumab; MK-0646), R1507 (fully human anti-IGF-1R antibody), XL-228 (CAS# 898280-07-4), INSM-18 (nordihydroguaiaretic acid; NDGA; 4,4'-((2R,3S)-2,3-dimethylbutane-1,4-diyl)bis(benzene-1,2-diol)), BMS-754807 ((S)-1-(4-((5-cyclopropyl-1H-pyrazol-3-yl)amino)pyrrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-2-yl)-N-(6-fluoropyridin-3-yl)-2-methylpyrrolidine-2-carboxamide), NVP-AEW541 (CAS# 475489-16-8; 7-(((1s,3s)-3-(azetidin-1-ylmethyl)cyclobutyl)-5-(3-(benzyloxy)phenyl)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-4-amine), GSK1904529A (CAS# 1089283-49-7; N-(2,6-difluorophenyl)-5-(3-(2-(5-ethyl-2-methoxy-4-(4-(4-(methylsulfonyl)piperazin-1-yl)piperidin-1-yl)phenylamino)pyrimidin-4-yl)H-imidazo[1,2-a]pyridin-2-yl)-2-methoxybenzamide), NVP-ADW742(CAS# 475488-23-4; 5-(3-(benzyloxy)phenyl)-7-(((1r,3r)-3-(pyrrolidin-1-ylmethyl)cyclobutyl)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-4-amine), BMS-536924(CAS# 468740-43-4; 4-(((2S)-2-(3-chlorophenyl)-2-hydroxyethyl)amino)-3-[4-methyl-6-(4-morpholinyl)-1H-benzimidazol-2-yl]-2(1H)-pyridinone), AG-1024 (Tyrphostin; CAS# 65678-07-1; 2-(3-bromo-5-tert-butyl-4-hydroxybenzylidene)malononitrile), GSK1838705A (CAS# 1116235-97-

2; 2-(2-(1-(2-(dimethylamino)acetyl)-5-methoxyindolin-6-ylamino)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-4-ylamino)-6-fluoro-N-methylbenzamide), PQ 401 (CAS# 196868-63-0; N-(5-Chloro-2-methoxyphenyl)-N'-(2-methyl-4-quinoliny)urea), 및 이들의 약학적으로 허용 가능한 염 등으로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0029] XL-228:



[0030]

[0031] 또 다른 유효성분 중 하나인 c-Met 저해제는 c-Met 유전자 또는 단백질을 표적으로 하는 모든 약물일 수 있으며, 구체적으로, c-Met 유전자 또는 단백질에 대한 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 압타머, siRNA, shRNA, microRNA, 저해 화합물(예컨대, 소분자 화합물 및 이들의 약학적으로 허용 가능한 염) 등으로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상일 수 있다. 예컨대, 상기 c-Met 저해제는 하기하는 항 c-Met 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 크리조티닙(crizotinib; PF-02341066; PF-02341066; 3-[(1R)-1-(2,6-dichloro-3-fluorophenyl)ethoxy]-5-(1-piperidin-4-ylpyrazol-4-yl)pyridin-2-amine), 카보잔티닙(cabozantinib; XL-184; N-(4-(6,7-dimethoxyquinolin-4-yloxy)phenyl)-N-(4-fluorophenyl)cyclopropane-1,1-dicarboxamide), 포레티닙(foretinib; N-(3-fluoro-4-(6-methoxy-7-(3-morpholinopropoxy)quinolin-4-yloxy)phenyl)-N-(4-fluorophenyl)cyclopropane-1,1-dicarboxamide), PHA-665752((R,Z)-5-(2,6-dichlorobenzylsulfonyl)-3-((3,5-dimethyl-4-(2-(pyrrolidin-1-ylmethyl)pyrrolidine-1-carbonyl)-1H-pyrrol-2-yl)methylene)indolin-2-one), SU11274((Z)-N-(3-chlorophenyl)-3-((3,5-dimethyl-4-(1-methylpiperazine-4-carbonyl)-1H-pyrrol-2-yl)methylene)-N-methyl-2-oxoindoline-5-sulfonamide), SGX-523(6-(6-(1-methyl-1H-pyrazol-4-yl)-[1,2,4]triazolo[4,3-b]pyridazin-3-ylthio)quinoline), PF-04217903(2-(4-(3-(quinolin-6-ylmethyl)-3H-[1,2,3]triazolo[4,5-b]pyrazin-5-yl)-1H-pyrazol-1-yl)ethanol), EMD 1214063(Benzonitrile, 3-[1,6-Dihydro-1-[[3-[5-[(1-Methyl-4-Piperidinyl)Methoxy]-2-Pyrimidinyl]Phenyl]Methyl]-6-Oxo-3-Pyridazinyl]), 골바티닙(Golvatinib; N-(2-fluoro-4-((2-(4-(4-methylpiperazin-1-yl)piperidine-1-carboxamido)pyridin-4-yl)oxy)phenyl)-N-(4-fluorophenyl)cyclopropane-1,1-dicarboxamide), INCB28060(2-fluoro-N-methyl-4-(7-(quinolin-6-ylmethyl)imidazo[1,2-b][1,2,4]triazin-2-yl)benzamide), MK-2461(N-((2R)-1,4-Dioxan-2-ylmethyl)-N-methyl-N'-[3-(1-methyl-1H-pyrazol-4-yl)-5-oxo-5H-benzo[4,5]cyclohepta[1,2-b]pyridin-7-yl]sulfamide), 티반티닙(tivantinib; ARQ 197; (3R,4R)-3-(5,6-Dihydro-4H-pyrrolo[3,2,1-ij]quinolin-1-yl)-4-(1H-indol-3-yl)pyrrolidine-2,5-dione), NVP-BVU972(6-[[6-(1-Methyl-1H-pyrazol-4-yl)imidazo[1,2-b]pyridazin-3-yl]methyl]quinoline), AMG458({1-(2-hydroxy-2-methylpropyl)-N-[5-(7-methoxyquinolin-4-yloxy)pyridin-2-yl]-5-methyl-3-oxo-2-phenyl-2,3-dihydro-1H-pyrazole-4-carboxamide}), BMS 794833(N-(4-((2-amino-3-chloropyridin-4-yl)oxy)-3-fluorophenyl)-5-(4-fluorophenyl)-4-oxo-1,4-dihydropyridine-3-carboxamide), BMS 777607(N-[4-[(2-Amino-3-chloropyridin-4-yl)oxy]-3-fluorophenyl]-4-ethoxy-1-(4-fluorophenyl)-2-oxo-1,2-dihydropyridine-3-carboxamide), MGCD-265(N-(3-Fluoro-4-(2-(1-methyl-1H-imidazol-4-yl)thieno[3,2-b]pyridin-7-yloxy)phenylcarbamoithioyl)-2-phenylacetamide), AMG-208(7-Methoxy-4-[(6-phenyl-1,2,4-triazolo[4,3-b]pyridazin-3-yl)methoxy]quinoline), BMS-754807((2S)-1-[4-[(5-Cyclopropyl-1H-pyrazol-3-yl)amino]pyrrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-2-yl]-N-(6-fluoro-3-pyridinyl)-2-methyl-2-pyrrolidinecarboxamide), JNJ-38877605(6-[Difluoro[6-(1-methyl-1H-pyrazol-4-yl)-1,2,4-triazolo[4,3-b]pyridazin-3-yl]methyl]quinoline), 또는 이들의 약학적으로 허용 가능한 염 등으로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상일 수 있다.

[0032] 상기 항 c-Met 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 c-Met을 특이적으로 인식 및/또는 결합하는 모든 타입의 항체 또는 이의 항원 결합 단편일 수 있다. 상기 항원 결합 단편은 scFv, (scFv)₂, scFv-Fc, Fab, Fab' 및 F(ab')₂

로 이루어진 군에서 선택되는 것일 수 있다.

- [0033] 일 구체예에서, 상기 항 c-Met 항체는 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 그의 항원 결합 단편일 수 있다.
- [0034] HGF(Hepatocyte growth factor)의 수용체인 c-Met은 세포외 부위, 막투과 부위, 세포내 부위의 세 부분으로 구분되며, 세포외 부위의 경우, 이황화 결합에 의해 α -소단위체와 β -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 세포외 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.
- [0035] 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.
- [0036] 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.
- [0037] 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.
- [0038] 일 구체예에 따르면, 상기 항 c-Met 항체는,
- [0039] 서열번호 4의 아미노산 서열을 포함하는 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 포함하는 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 포함하는 CDR-H3으로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상의 중쇄 상보성 결정 영역(CDR), 또는 상기 하나 이상의 중쇄 상보성 결정 영역을 포함하는 중쇄 가변 영역;
- [0040] 서열번호 7의 아미노산 서열의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, 서열번호 8의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2, 및 서열번호 9의 아미노산 서열, 서열번호 15의 아미노산 서열, 서열번호 86의 아미노산 서열, 또는 서열번호 89의 아미노산 서열 내의 1번째부터 9번째까지의 아미노산을 포함하는 9 내지 17개의 아미노산으로 이루어진 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3으로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상의 경쇄 상보성 결정 영역, 또는 상기 하나 이상의 경쇄 상보성 결정 영역을 포함하는 경쇄 가변 영역;
- [0041] 상기 하나 이상의 중쇄 상보성 결정 영역 및 상기 하나 이상의 경쇄 상보성 결정 영역의 조합; 또는
- [0042] 상기 중쇄 가변 영역 및 상기 경쇄 가변 영역의 조합
- [0043] 을 포함하고,
- [0044] 상기 서열번호 4 내지 서열번호 9는 각각 하기 일반식 I 내지 일반식 VI으로 표시되는 아미노산 서열인 항체 또는 항원 결합 단편일 수 있다:
- [0045] 일반식 I

- [0046] Xaa₁-Xaa₂-Tyr-Tyr-Met-Ser (서열번호 4),
- [0047] 일반식 II
- [0048] Arg-Asn-Xaa₃-Xaa₄-Asn-Gly-Xaa₅-Thr (서열번호 5),
- [0049] 일반식 III
- [0050] Asp-Asn-Trp-Leu-Xaa₆-Tyr (서열번호 6),
- [0051] 일반식 IV
- [0052] Lys-Ser-Ser-Xaa₇-Ser-Leu-Leu-Ala-Xaa₈-Gly-Asn-Xaa₉-Xaa₁₀-Asn-Tyr-Leu-Ala (서열번호 7)
- [0053] 일반식 V
- [0054] Trp-Xaa₁₁-Ser-Xaa₁₂-Arg-Val-Xaa₁₃ (서열번호 8)
- [0055] 일반식 VI
- [0056] Xaa₁₄-Gln-Ser-Tyr-Ser-Xaa₁₅-Pro-Xaa₁₆-Thr (서열번호 9)
- [0057] 상기 일반식 I에서, Xaa₁은 존재하지 않거나 Pro 또는 Ser이고, Xaa₂는 Glu 또는 Asp이며,
- [0058] 상기 일반식 II에서, Xaa₃은 Asn 또는 Lys이며, Xaa₄는 Ala 또는 Val이고, Xaa₅는 Asn 또는 Thr이며,
- [0059] 상기 일반식 III에서, Xaa₆은 Ser 또는 Thr이고,
- [0060] 상기 일반식 IV에서, Xaa₇은 His, Arg, Gln 또는 Lys이고, Xaa₈은 Ser 또는 Trp이고, Xaa₉은 His 또는 Gln이며, Xaa₁₀는 Lys 또는 Asn이고,
- [0061] 상기 일반식 V에서, Xaa₁₁은 Ala 또는 Gly이며, Xaa₁₂은 Thr 또는 Lys이고, Xaa₁₃는 Ser 또는 Pro이며,
- [0062] 상기 일반식 VI에서, Xaa₁₄은 Gly, Ala 또는 Gln이고, Xaa₁₅는 Arg, His, Ser, Ala, Gly 또는 Lys이며, Xaa₁₆는 Leu, Tyr, Phe 또는 Met이다.
- [0063] 일 구체예에서, 상기 CDR-H1은 서열번호 1, 서열번호 22, 서열번호 23 및 서열번호 24로 이루어진 군에서 선택된 아미노산 서열을 포함하는 것일 수 있다. 상기 CDR-H2는 서열번호 2, 서열번호 25, 및 서열번호 26으로 이루어진 군에서 선택된 아미노산 서열을 포함하는 것일 수 있다. 상기 CDR-H3는 서열번호 3, 서열번호 27, 서열번호 28, 및 서열번호 85로 이루어진 군에서 선택된 아미노산 서열을 포함하는 것일 수 있다.
- [0064] 상기 CDR-L1은 서열번호 10, 서열번호 29, 서열번호 30, 서열번호 31, 서열번호 32, 서열번호 33 및 서열번호 106으로 이루어진 군에서 선택된 아미노산 서열을 포함하는 것일 수 있다. 상기 CDR-L2는 서열번호 11, 서열번호 34, 서열번호 35, 및 서열번호 36으로 이루어진 군에서 선택된 아미노산 서열을 포함하는 것일 수 있다. 상기 CDR-L3은 서열번호 12, 서열번호 13, 서열번호 14, 서열번호 15, 서열번호 16, 서열번호 37, 서열번호 86, 및 서열번호 89로 이루어진 군에서 선택된 아미노산 서열을 포함하는 것일 수 있다.
- [0065] 일 구체예에서, 상기 항체 또는 항원 결합 단편은
- [0066] 서열번호 1, 서열번호 22, 서열번호 23 및 서열번호 24로 이루어진 군에서 선택된 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩타이드(CDR-H1), 서열번호 2, 서열번호 25, 및 서열번호 26으로 이루어진 군에서 선택된 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩타이드(CDR-H2), 및 서열번호 3, 서열번호 27, 서열번호 28, 및 서열번호 85으로 이루어진 군에서 선택된 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩타이드(CDR-H3)를 포함하는 중쇄 가변 영역;
- [0067] 서열번호 10, 서열번호 29, 서열번호 30, 서열번호 31, 서열번호 32, 서열번호 33 및 서열번호 106으로 이루어진 군에서 선택된 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩타이드(CDR-L1), 서열번호 11, 서열번호 34, 서열번호 35, 및 서열번호 36으로 이루어진 군에서 선택된 아미노산 서열을 포함하는 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 포함하는 폴리펩타이드(CDR-L3)를 포함하는 경쇄 가변 영역; 또는

- [0068] 상기 중쇄 가변 영역과 상기 경쇄 가변 영역의 조합
- [0069] 을 포함하는 것일 수 있다.
- [0070] 일 구체예에 따르면, 항 c-Met 항체 또는 항원 결합 단편은 서열번호 17, 서열번호 74, 서열번호 87, 서열번호 90, 서열번호 91, 서열번호 92, 서열번호 93 또는 서열번호 94의 아미노산 서열을 포함하는 상기 중쇄 가변 영역, 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 상기 경쇄 가변 영역, 또는 상기 중쇄 가변 영역 및 상기 경쇄 가변 영역의 조합을 포함하는 것일 수 있다.
- [0071] 일 구체예에서, 항 c-Met 항체는 수탁번호 KCLRF-BP-00220인 하이브리도마 세포에서 생산되는, c-Met 단백질의 세포외 부위(extracellular region)에 특이적으로 결합하는 단일클론 항체일 수 있다 (대한민국 공개특허 제 2011-0047698호 참조; 상기 문헌은 본 명세서에 참조로서 포함됨).
- [0072] 상기의 항 c-Met 항체는 대한민국 공개특허 제2011-0047698호에 정의된 항체를 모두 포함할 수 있다.
- [0073] 일 구체예에 따르면, 상기 항 c-Met 항체는,
- [0074] 서열번호 62의 아미노산 서열 (이 중에서 1번째부터 17번째까지의 아미노산 서열은 시그널 펩타이드임), 서열번호 62의 18번째부터 462번째까지의 아미노산 서열, 서열번호 64의 아미노산 서열 (이 중에서 1번째부터 17번째까지의 아미노산 서열은 시그널 펩타이드임) 또는 서열번호 64의 18번째부터 461번째까지의 아미노산 서열, 서열번호 66의 아미노산 서열 (이 중에서 1번째부터 17번째까지의 아미노산 서열은 시그널 펩타이드임), 및 서열번호 66의 18번째부터 460번째까지의 아미노산 서열로 이루어진 군에서 선택된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄; 및
- [0075] 서열번호 68의 아미노산 서열 (이 중에서 1번째부터 20번째까지의 아미노산 서열은 시그널 펩타이드임), 서열번호 68의 21번째부터 240번째까지의 아미노산 서열, 서열번호 70의 아미노산 서열 (이 중에서 1번째부터 20번째까지의 아미노산 서열은 시그널 펩타이드임), 서열번호 70의 21번째부터 240번째까지의 아미노산 서열, 및 서열번호 108의 아미노산 서열로 이루어진 군에서 선택된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄
- [0076] 를 포함하는 것일 수 있다.
- [0077] 예컨대, 상기 항-c-Met 항체는,
- [0078] 서열번호 62의 아미노산 서열 또는 서열번호 62의 18번째부터 462번째까지의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열번호 68의 아미노산 서열 또는 서열번호 68의 21번째부터 240번째까지의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함하는 항체;
- [0079] 서열번호 64의 아미노산 서열 또는 서열번호 64의 18번째부터 461번째까지의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열번호 68의 아미노산 서열 또는 서열번호 68의 21번째부터 240번째까지의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함하는 항체;
- [0080] 서열번호 66의 아미노산 서열 또는 서열번호 66의 18번째부터 460번째까지의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열번호 68의 아미노산 서열 또는 서열번호 68의 21번째부터 240번째까지의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함하는 항체;
- [0081] 서열번호 62의 아미노산 서열 또는 서열번호 62의 18번째부터 462번째까지의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열번호 70의 아미노산 서열 또는 서열번호 70의 21번째부터 240번째까지의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함하는 항체;
- [0082] 서열번호 64의 아미노산 서열 또는 서열번호 64의 18번째부터 461번째까지의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열번호 70의 아미노산 서열 또는 서열번호 70의 21번째부터 240번째까지의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함하는 항체; 또는
- [0083] 서열번호 66의 아미노산 서열 또는 서열번호 66의 18번째부터 460번째까지의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열번호 70 또는 서열번호 70의 21번째부터 240번째까지의 아미노산 서열의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함하는 항체
- [0084] 서열번호 62의 아미노산 서열 또는 서열번호 62의 18번째부터 462번째까지의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열번호 108의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함하는 항체;

- [0085] 서열번호 64의 아미노산 서열 또는 서열번호 64의 18번째부터 461번째까지의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열번호 108의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함하는 항체; 및
- [0086] 서열번호 66의 아미노산 서열 또는 서열번호 66의 18번째부터 460번째까지의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열번호 108의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함하는 항체
- [0087] 로 이루어진 군에서 선택된 것일 수 있다.
- [0088] 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.
- [0089] 다른 구체예에서, 상기 항 c-Met 항체는 서열번호 109 또는 서열번호 111의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열번호 110 또는 서열번호 112의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함하는 것일 수 있다.
- [0090] 원하는 항원을 피면역 동물에게 면역시켜 생산하는 동물 유래 항체는 일반적으로 치료 목적으로 인간에 투여 시 면역거부반응이 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.
- [0091] 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.
- [0092] 일 구체예에 따르면, 상기 항체는 마우스 유래 항체, 마우스-인간 키메라 항체, 인간화 항체 또는 인간 항체일 수 있다. 상기 항체 또는 항원 결합 단편은 생체에서 분리된 (생체에 존재하지 않는) 것 또는 비자연적으로 생성된 것일 수 있다. 상기 항체 또는 항원 결합 단편은 재조합적 또는 합성적으로 생성된 것일 수 있다. 상기 항체는 단클론항체일 수 있다.
- [0093] 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(γ), 뮤(μ), 알파(α), 델타(δ) 및 엡실론(ϵ) 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(κ) 및 람다(λ) 타입을 가진다.
- [0094] 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.
- [0095] 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.

[0096] 용어 "힌지 영역(hinge region)"은 항체의 중쇄에 포함되어 있는 영역으로서, CH1 및 CH2 영역 사이에 존재하며, 항체 내 항원 결합 부위의 유연성(flexibility)을 제공하는 기능을 하는 영역을 의미한다.

[0097] 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.

[0098] 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, 서열번호 104, 또는 서열번호 105의 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.

[0099] 상기 항 c-Met 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 앞서 정의된 CDR 부위 또는 경쇄 가변 영역과 중쇄 가변 영역을 제외한 부위, 예컨대 경쇄 불변 영역과 중쇄 불변 영역은 모든 서브타입의 면역글로불린(예컨대, IgA, IgD, IgE, IgG (IgG1, IgG2, IgG3, IgG4), IgM, 등)으로부터 유래하는 것일 수 있다.

[0100] 본 명세서에 사용된 용어 "항원 결합 단편"은 면역글로불린 전체 구조에 대한 그의 단편으로, 항원이 결합할 수 있는 부분을 포함하는 폴리펩타이드의 일부를 의미한다. 예를 들어, scFv, (scFv)₂, scFv-Fc, Fab, Fab' 또는 F(ab')₂일 수 있으나, 이에 한정하지 않는다. 본 발명에서의 항체의 항원 결합 단편은 상기한 상보성 결정 영역을 하나 이상 포함하는 항체 단편, 예컨대, scFv, (scFv)₂, scFv-Fc, Fab, Fab' 및 F(ab')₂로 이루어진 군에서 선택되는 것일 수 있다. 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. Fab'는 중쇄 C_{H1} 도메인의 C-말단에 하나 이상의 시스테인 잔기를 포함하는 힌지 영역(hinge region)을 가진다는 점에서 Fab와 차이가 있다. F(ab')₂ 항체는 Fab'의 힌지 영역의 시스테인 잔기가 디설파이드 결합을 이루면서 생성된다. Fv는 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역만을 가지고 있는 최소의 항체 조각으로 Fv 단편을 생성하는 재조합 기술은 당업계에 널리 공지되어 있다. 이중쇄 Fv(two-chain Fv)는 비공유 결합으로 중쇄 가변 영역과 경쇄 가변 영역이 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. 상기 펩타이드 링커는 앞서 설명한 바와 같을 수 있으며, 예컨대, 1 내지 100개, 예컨대 2 내지 50개 또는 5 내지 25개 아미노산 길이의 것일 수 있으며, 그 포함된 아미노산 종류는 제한이 없다. 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')₂ 단편을 얻을 수 있다), 유전자 재조합 기술을 통하여 제작할 수 있다.

[0101] 상기한 약학 조성물, 혼합제, 제1 약학 조성물, 및/또는 제2 약학 조성물은 유효성분 (c-Met 저해제 또는 IGF-1R 저해제) 이외에 약학적으로 허용 가능한 담체, 희석제, 및/또는 부형제 등과 함께 제공될 수 있다.

[0102] 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, 유효제, 현탁제, 보존제 등으로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상을 추가로 포함할 수 있다.

- [0103] 상기 혼합제 또는 약학 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.
- [0104] 본 명세서에 있어서 "약학적 유효량"은 약물이 약학적으로 의미있는 효과를 나타낼 수 있는 양을 의미한다. 1회 투여를 위한 c-Met 저해제의 약학적 유효량과 IGF-1R 저해제의 약학적 유효량은 각각의 약물의 제제화 방법, 투여 방식, 환자의 연령, 체중, 성, 병적 상태, 음식, 투여 시간, 투여 간격, 투여 경로, 배설 속도 및 반응 감응성과 같은 요인들에 따라서 다양하게 처방될 수 있다. 예컨대, 1회 투여를 위한 상기 IGF-1R 저해제의 약학적 유효량은 0.001 내지 100mg/kg, 또는 0.02 내지 10mg/kg 범위일 수 있고, 1회 투여를 위한 상기 c-Met 저해제의 약학적 유효량은 0.001 내지 100mg/kg, 또는 0.02 내지 10 mg/kg 범위일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0105] 상기 1회 투여를 위한 약학적 유효량은 단위 용량 형태로 하나의 제제로 제제화되거나, 적절하게 분량하여 제제화되거나, 다용량 용기 내에 내입시켜 제조될 수 있다. 상기 키트에 있어서, 1회 투여를 위한 c-Met 저해제의 약학적 유효량 및 IGF-1R 저해제의 약학적 유효량이 기본단위로 각각 포장용기에 포함되어 있는 것일 수 있다.
- [0106] 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 c-Met 저해제를 포함하는 제1 약학 조성물 및 유효성분으로 IGF-1R 저해제를 포함하는 제2 약학 조성물을 순차적으로 투여하는 것인 경우, 제1 약학 조성물과 제2 약학 조성물 간의 투여 간격은 동시, 1초 내지 24시간, 1초 내지 12시간, 또는 1 내지 60분 (예컨대, 1 내지 10분)일 수 있으며, 그 투여 순서는 서로 바뀌어도 무방하다.
- [0107] 상기 혼합제 또는 약학 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.
- [0108] 유효성분으로 항 c-Met 항체 (또는 그의 항원 결합 단편)을 포함하는 약학 조성물은 면역 리포솜으로 제형화될 수 있다. 항체를 포함하는 리포솜은 당업계에 널리 알려진 방법에 따라 제조될 수 있다. 상기 면역 리포솜은 포스포티딜콜린, 콜레스테롤 및 폴리에틸렌글리콜-유도체화된 포스포티딜에탄올아민을 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.
- [0109] 본 발명에서 제안되는 병용 투여용 약학 조성물 또는 방법은 암의 예방 및/또는 치료에 사용될 수 있다. 상기 암은 c-Met의 과발현 및/또는 비정상적인 활성화와 관련된 암일 수 있으며, 고형암 또는 혈액암일 수 있다. 일 구체예에서, 상기 암은 c-Met 저해제 단독으로 항암 효과가 나타나는 암 및/또는 c-Met 저해제에 대한 저항성이 없는 암뿐 아니라, c-Met 저해제 단독으로는 항암 효과가 나타나지 않거나, c-Met 저해제에 대하여 저항성이 생긴 암일 수 있다. 일 예에서, 상기 암은, 이에 제한되지 않지만, 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, 위암, 위장암, 췌장암, 교아종, 경부암, 난소암, 간암, 방광암, 간종양, 유방암, 결장암, 대장암, 자궁내막 또는 자궁암, 침샘암, 신장암, 전립선암, 음문암, 갑상선암, 두경부암, 뇌암, 골육종 등으로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상일 수 있다. 일 구체예에서, 상기 암은 c-Met 저해제에 대하여 내재적 또는 획득 저항성을 갖는 암일 수 있다. 또한, 상기 암은 IGF-1R의 발현이 많은 위암 또는 폐암 등으로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다. 상기 암은 원발성 암 또는 전이성 암일 수 있다.
- [0110] 상기 암의 예방 및/또는 치료 효과는 암세포의 성장을 억제하는 효과뿐 아니라, 이동(migration), 침습(invasion), 및/또는 전이(metastasis) 억제 효과를 포함한다.
- [0111] 또 다른 측면에서, 서로의 저항성을 극복시키고 효능을 증진시킬 수 있는 병용 치료 파트너를 제공한다. 구체적으로, c-Met 저해제가 단독으로 효능과 발휘하지 못하던 질병 또는 이에 대한 저항성이 생긴 질병에 대하여 효과를 발휘할 수 있도록 하는 병용 투여 파트너로서 IGF-1R 저해제를 제안한다.
- [0112] 따라서, 다른 예는 IGF-1R 저해제를 포함하는 c-Met 저해제의 효능 증진을 위한 약학 조성물을 제공한다. 다른

예는 IGF-1R 저해제를 c-Met 저해제와 함께 투여하는 단계를 포함하는, c-Met 저해제의 효능 증진 방법을 제공한다. 다른 예는 IGF-1R 저해제의 c-Met 저해제의 효능 증진을 위한 용도를 제공한다.

- [0113] 상기 c-Met 저해제의 효능 증진은 c-Met 저해제 단독 투여시 효과를 나타내지 못하거나 미미한 효과를 나타내던 질병 (예컨대, 암) 및/또는 c-Met 저해제에 대하여 저항성이 있는 질병 (예컨대, 암)에 대하여 유효한 효과를 나타내도록 하는 것을 의미한다. 따라서, c-Met 저해제의 효능 증진을 위한 약학 조성물, 방법, 또는 용도는 c-Met 저해제에 대한 저항성 극복(치료, 경감, 및/또는 개선)을 위한 약학 조성물, 방법, 또는 용도일 수 있다.
- [0114] 일 구체예는 IGF-1R 및 이를 암호화하는 유전자로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상을 포함하는 c-Met 저해제의 효능 예측 및/또는 효능 검정을 위한 바이오마커를 제공한다.
- [0115] 다른 예는 IGF-1R 및 이를 암호화하는 유전자로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상과 상호작용하는 물질을 포함하는 c-Met 저해제의 효능 예측 및/또는 효능 검정을 위한 조성물 및 키트를 제공한다.
- [0116] 다른 예는 생물 시료 내의 IGF-1R 및 이를 암호화하는 유전자로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 수준을 측정하는 단계를 포함하는, c-Met 저해제의 효능 예측 및/또는 효능 검정 방법, 또는 c-Met 저해제의 효능 예측 및/또는 효능 검정을 위한 정보를 제공하는 방법, 또는 c-Met 저해제의 효능 예측 및/또는 효능 검정을 위하여 생물 시료 내의 IGF-1R 및 이를 암호화하는 유전자로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 수준을 측정하는 방법을 제공한다.
- [0117] c-Met 저해제의 효능 예측은 개별적인 환자에 c-Met 저해제에 대한 저항성이 내재적(선천적)으로 존재하는지 여부 등과 같이 c-Met 저해제가 효능을 발휘하는데 영향을 미치는 요인을 확인하여, c-Met 저해제가 효능을 발휘할 수 있을지 여부를 예측하는 것을 의미할 수 있다. c-Met 저해제가 특정 개별 환자에서 효과를 발휘할 수 있을 것으로 판단되면, 상기 환자를 c-Met 저해제의 적용 대상으로 판단할 수 있다. 따라서 c-Met 저해제의 상기 효능 예측을 위한 바이오마커, 조성물, 키트 또는 방법은 c-Met 저해제의 적용 대상의 선별을 위한 바이오마커, 조성물, 키트 또는 방법일 수 있다.
- [0118] c-Met 저해제의 효능 검정은 c-Met 저해제가 효능을 잘 발휘하고 있는지 여부 및/또는 c-Met 저해제 투여에 의하여 저항성이 유도되었는지 여부를 모니터링하는 것을 의미한다. 따라서 c-Met 저해제의 상기 효능 검정을 위한 바이오마커, 조성물, 키트 또는 방법은 c-Met 저해제에 대한 저항성 유도(획득) 여부 모니터링을 위한 바이오마커, 조성물, 키트 또는 방법일 수 있다.
- [0119] 일 구체예에서, 생물 시료 내의 IGF-1R 및 이를 암호화하는 유전자로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 수준을 측정하는 단계를 포함하는 c-Met 저해제의 효능 예측 방법, c-Met 저해제의 효능 예측을 위한 정보를 제공하는 방법, c-Met 저해제의 적용 대상의 선별 방법, c-Met 저해제의 적용 대상의 선별을 위한 정보를 제공하는 방법, c-Met 저해제의 효능 검정 방법, c-Met 저해제의 효능 검정을 위한 정보를 제공하는 방법, c-Met 저해제에 대한 저항성 유도(획득) 여부의 모니터링 방법, 또는 c-Met 저해제에 대한 저항성 유도(획득) 여부의 모니터링을 위한 정보를 제공하는 방법, 또는 c-Met 저해제의 효능 예측, 효능 검정, c-Met 저해제의 적용 대상의 선별, 또는 c-Met 저해제에 대한 저항성 유도(획득) 여부의 모니터링을 위하여 생물 시료 내의 IGF-1R 및 이를 암호화하는 유전자로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 수준을 측정하는 방법이 제공된다.
- [0120] 앞서 설명한 바와 같이, 생물 시료 내의 IGF-1R 및 이를 암호화하는 유전자로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상이 존재하거나 수준이 높은 경우는 상기 생물 시료가 c-Met 저해제에 대하여 저항성을 갖는 것을 의미하는 것일 수 있다. 그러므로, 상기 c-Met 저해제의 효능 예측 또는 c-Met 저해제의 적용 대상 선별 방법에 있어서, 생물 시료 내의 IGF-1R 및 이를 암호화하는 유전자로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상이 존재하지 않거나 수준이 낮은 경우, 상기 생물 시료 또는 상기 생물 시료가 유래하는 환자에서 상기 c-Met 저해제가 효능을 발휘할 것으로 판단(예측)하거나, 상기 생물 시료 또는 상기 생물 시료가 유래하는 환자를 c-Met 저해제의 적용 대상으로 판단할 수 있다. 따라서, 상기 c-Met 저해제의 효능 예측, c-Met 저해제의 적용 대상의 선별, 또는 이를 위한 정보를 제공하는 방법은 상기 측정하는 단계 이후에 상기 생물 시료 내의 IGF-1R 및 이를 암호화하는 유전자로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상이 존재하지 않거나 수준이 낮은 경우, 상기 생물 시료 또는 상기 생물 시료가 유래하는 환자에서 상기 c-Met 저해제가 효능을 발휘할 것으로 판단(예측) 또는 상기 환자를 c-Met 저해제를 적용하기에 적절한 대상으로 판단하는 단계를 추가로 포함할 수 있다.
- [0121] IGF-1R 및 이를 암호화하는 유전자로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 수준이 낮다 함은, 예컨대, IGF-1R 및 이를 암호화하는 유전자가 존재하지 않거나, 적용하고자 하는 c-Met 저해제가 효능을 발휘하지 못하는 환자로부터 분리된 생물 시료(비교 기준 시료; 예컨대, 세포주 H1373 (ATCC, CRL-5866) 폐암 세포주, HCC1806 (ATCC,

CRL-2335) 유방암 세포주, Caki-1 (ATCC, HTB-46) 신장암 세포주, SKBR3 (ATCC, HTB-30) 유방암 세포주, BT474 (ATCC, HTB-20) 유방암 세포주, HT-29 (ATCC, HTB-38) 대장암 세포주, LoVo (ATCC, CCL-229) 대장암 세포주, HCT116 (ATCC, CCL-247) 대장암 세포주, SW620 (ATCC, CCL-227) 대장암 세포주, Ls174T (ATCC, CL-188) 대장암 세포주, 또는 c-Met 저해제의 반복적 또는 지속적 투여에 의하여 이에 대한 저항성이 발생한 세포주, 등)와 비교하여 IGF-1R 단백질 양 및/또는 이를 암호화하는 유전자 (DNA, cDNA 또는 mRNA)의 양이 적은 경우를 의미하는 것일 수 있다. 이 경우, 상기 c-Met 저해제의 효능 예측, c-Met 저해제의 적용 대상의 선별, 또는 이를 위한 정보를 제공하는 방법은 상기 측정하는 단계 이후에, 생물 시료 내의 IGF-1R 및 이를 암호화하는 유전자로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 수준을 상기 비교 기준 시료의 IGF-1R 및 이를 암호화하는 유전자로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 수준과 비교하는 단계를 추가로 포함할 수 있다. 이를 위하여, 상기 c-Met 저해제의 효능 예측, c-Met 저해제의 적용 대상의 선별, 또는 이를 위한 정보를 제공하는 방법은 상기 비교하는 단계 이전에 비교 기준 시료에서의 IGF-1R 및 이를 암호화하는 유전자(DNA, cDNA 또는 mRNA)로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 수준을 측정하는 단계를 추가로 포함할 수 있다. 상기 생물 시료 및 비교 기준 시료에서의 IGF-1R 및 이를 암호화하는 유전자로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 수준 측정 단계는 동시 또는 순차적으로 수행될 수 있으며, 그 순서는 서로 바뀌어도 무방하다. 또한, 상기 c-Met 저해제의 효능 예측, c-Met 저해제의 적용 대상의 선별, 또는 이를 위한 정보를 제공하는 방법은 상기 측정하는 단계 및 비교하는 단계 이후에, 상기 생물 시료 내의 IGF-1R 및 이를 암호화하는 유전자로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 수준이 비교 기준 시료보다 낮은 경우, 상기 생물 시료 또는 상기 생물 시료가 유래하는 환자에서 상기 c-Met 저해제가 효능을 발휘할 것으로 판단(예측) 또는 상기 환자를 c-Met 저해제를 적용하기에 적절한 대상으로 판단하는 단계를 추가로 포함할 수 있다.

[0122] 또는, IGF-1R 단백질에 대한 통상의 항체(예컨대, SAB4300359 (SIGMA), G11 (Ventana; Catalog Number: 790-4346) 등)를 사용하는 통상의 면역조직화학검사(IHC)로 측정하여 0 또는 +1의 값이 얻어지는 경우를 Negative로 판단하고 그 이상의 값이 얻어지는 경우를 Positive로 판단할 수 있는데, Negative (즉, 0 또는 +1)인 경우 생물 시료 내에 IGF-1R이 존재하지 않거나 또는 수준이 낮은 경우로 볼 수 있다.

[0123] 다른 구체예에서, 생물 시료 내의 IGF-1R 및 이를 암호화하는 유전자로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 수준을 측정하는 단계를 포함하는 c-Met 저해제의 효능 검정 방법 또는 c-Met 저해제의 효능 검정을 위한 정보를 제공하는 방법이 제공된다. 앞서 설명한 바와 같이, 상기 효능 검정 방법은 c-Met 저해제의 투여에 따른 저항성 획득(유도) 여부를 모니터링하는 것을 포함한다.

[0124] 일 구체예에서, 상기 c-Met 저해제의 효능 검정 방법 또는 c-Met 저해제의 효능 검정을 위한 정보를 제공하는 방법에 있어서, 상기 c-Met 저해제를 처리하기 전에 환자로부터 얻어진 생물 시료 내의 IGF-1R 및 이를 암호화하는 유전자로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 수준과 상기 c-Met 저해제를 처리한 후에 환자로부터 얻어진 생물 시료 내의 IGF-1R 및 이를 암호화하는 유전자로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 수준을 각각 측정하고 비교하여, 상기 c-Met 저해제를 처리한 후에 환자로부터 얻어진 생물 시료 내의 IGF-1R 및 이를 암호화하는 유전자로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 수준이 상기 c-Met 저해제를 처리하기 전 (또는 상기 c-Met 저해제를 처리하지 않은 무처리군)보다 감소하거나 처리전 수준을 유지하는 경우, 상기 생물 시료 또는 상기 생물 시료가 유래하는 환자에서 상기 c-Met 저해제가 효능을 발휘하는 것으로 판단할 수 있다. 또한, 상기 c-Met 저해제를 처리한 후에 환자로부터 얻어진 생물 시료 내의 IGF-1R 및 이를 암호화하는 유전자로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 수준이 상기 c-Met 저해제를 처리하기 전(또는 상기 c-Met 저해제를 처리하지 않은 무처리군)보다 증가한 경우, 상기 생물 시료 또는 상기 생물 시료가 유래하는 환자에서 상기 c-Met 저해제에 대한 저항성이 유발된 것으로 판단할 수 있다.

[0125] 따라서, 상기 c-Met 저해제의 효능 검정 방법 또는 c-Met 저해제의 효능 검정을 위한 정보를 제공하는 방법은, 상기 측정하는 단계 이후에, 상기 c-Met 저해제 처리전 (또는 무처리군) 및 처리군의 생물 시료 내의 IGF-1R 및 이를 암호화하는 유전자로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 수준을 비교하는 단계 및/또는 상기 c-Met 저해제 처리군의 생물 시료 내의 IGF-1R 및 이를 암호화하는 유전자로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 수준이 상기 c-Met 저해제 처리 전 (또는 무처리군)보다 감소한 경우, 상기 생물 시료가 유래하는 환자에서 상기 c-Met 저해제가 효능을 발휘하는 것으로 판단하는 단계를 추가로 포함할 수 있다. 상기 c-Met 저해제는 항 c-Met 항체일 수 있다.

[0126] 다른 구체예에서, 상기 c-Met 저해제의 효능 검정 방법 또는 c-Met 저해제의 효능 검정을 위한 정보를 제공하는 방법은, 상기 측정하는 단계 이후에, 상기 c-Met 저해제 처리 전 (또는 무처리군) 및 처리군의 생물 시료 내의 IGF-1R 및 이를 암호화하는 유전자로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 수준을 비교하는 단계 및/또는 상기

c-Met 저해제 처리군의 생물 시료 내의 IGF-1R 및 이를 암호화하는 유전자로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 수준이 상기 c-Met 저해제 처리 전 (또는 무처리군)보다 증가한 경우, 상기 생물 시료가 유래하는 환자에서 상기 c-Met 저해제에 대한 저항성이 유도된 것으로 판단하는 단계를 추가로 포함할 수 있다. 상기 c-Met 저해제는 항 c-Met 항체일 수 있다.

[0127] 상기 c-Met 저해제의 효능 검정 방법 또는 c-Met 저해제의 효능 검정을 위한 정보를 제공하는 방법에 있어서, 상기 c-Met 저해제 무처리군과 처리군은 각각 동일한 생물 시료에 전체에 대하여 c-Met 저해제를 처리하기 전과 처리한 후의 상태를 의미하거나, 동일한 생물 시료를 분량하여 c-Met 저해제를 처리하지 않은 군(예컨대 vehicle만 처리; 무처리군)과 c-Met 저해제를 처리한 군을 의미할 수 있다. 본 명세서에서, 별도의 언급이 없는 한, c-Met 저해제 무처리군과 c-Met 저해제 처리 전의 생물 시료, c-Met 저해제 처리군과 c-Met 저해제 처리 후의 생물 시료는 각각 서로 동일한 의미로 사용되는 것일 수 있다.

[0128] 상기 c-Met 저해제의 효능 검정 방법 또는 c-Met 저해제의 효능 검정을 위한 정보를 제공하는 방법은 상기 비교하는 단계 및/또는 판단하는 단계 이전에 상기 c-Met 저해제 처리 전 (또는 무처리군)의 IGF-1R 및 이를 암호화하는 유전자(DNA, cDNA 또는 mRNA)로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 수준을 측정하는 단계를 추가로 포함할 수 있다.

[0129] 또한, 앞서 설명한 바와 같이, IGF-1R을 c-Met 저해제와 함께 병용 투여하는 경우, c-Met 저해제의 효능 증진(예컨대, c-Met 저해제에 대한 저항성 극복)이 가능하므로, 생물 시료 내의 IGF-1R 및 이를 암호화하는 유전자로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상이 존재하는 경우라고 하여도, IGF-1R을 c-Met 저해제와 병용함으로써, 소망하는 효과를 얻을 수 있다. 따라서, 다른 예는 생물 시료 내의 IGF-1R 및 이를 암호화하는 유전자로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 수준을 측정하는 단계를 포함하는, c-Met 저해제와 IGF-1R 저해제의 병용 투여의 효능 예측 및/또는 c-Met 저해제와 IGF-1R 저해제의 병용 투여 적용 대상의 선별 및/또는 이를 위한 정보를 제공하는 방법을 제공한다. 앞서 설명한 바와 같이, 생물 시료 내의 IGF-1R 및 이를 암호화하는 유전자로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상이 존재하는 경우는 상기 생물 시료가 c-Met 저해제에 대하여 내재적 또는 획득 저항성을 갖는 것을 의미할 수 있으나, IGF-1R 저해제를 병용함으로써 저항성을 극복하고, 두 저해제의 상승 효과에 의하여 보다 우수한 치료 효과를 달성할 수 있다.

[0130] 그러므로, 상기 c-Met 저해제와 IGF-1R 저해제의 병용 투여의 효능 예측 및/또는 c-Met 저해제와 IGF-1R 저해제의 병용 투여 적용 대상의 선별 방법에 있어서, 생물 시료 내의 IGF-1R 및 이를 암호화하는 유전자로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상이 존재하는 경우, 상기 생물 시료 또는 상기 생물 시료가 유래하는 환자에서 c-Met 저해제 및 IGF-1R 저해제의 병용 투여가 효능을 발휘할 것으로 판단(예측)하거나, 상기 생물 시료 또는 상기 생물 시료가 유래하는 환자를 c-Met 저해제 및 IGF-1R 저해제의 병용 투여의 적용 대상으로 판단할 수 있다. 따라서, 상기 c-Met 저해제와 IGF-1R 저해제의 병용 투여의 효능 예측, c-Met 저해제와 IGF-1R 저해제의 병용 투여 적용 대상의 선별, 또는 이를 위한 정보를 제공하는 방법은, 상기 측정하는 단계 이후에, 상기 생물 시료 내의 IGF-1R 및 이를 암호화하는 유전자로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상이 존재하는 경우, 상기 생물 시료 또는 상기 생물 시료가 유래하는 환자에서 상기 c-Met 저해제와 IGF-1R 저해제의 병용 투여가 효능을 발휘할 것으로 판단(예측) 또는 상기 환자를 c-Met 저해제와 IGF-1R 저해제의 병용 투여를 적용하기에 적절한 대상으로 판단하는 단계를 추가로 포함할 수 있다. 일 구체예에서, 상기 생물 시료 또는 상기 생물 시료가 유래하는 환자는 내재적(선천적)으로 c-Met 저해제에 대하여 저항성을 갖거나, c-Met 저해제의 반복적인 투여에 의하여 c-Met 저해제에 대한 저항성을 획득한 것일 수 있다.

[0131] 상기 c-Met 저해제 및/또는 c-Met 저해제와 IGF-1R 저해제의 병용 투여의 효능 예측 방법, c-Met 저해제의 적용 대상의 선별 방법, 및/또는 c-Met 저해제의 효능 검정 방법에 있어서, 상기 생물 시료 내의 IGF-1R 및 이를 암호화하는 유전자로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 수준을 측정하는 단계는 i) 상기 생물 시료에 IGF-1R 및 이를 암호화하는 유전자로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상과 상호작용하는 물질을 처리(첨가)하여 반응시키는 단계; 및 ii) 상기 얻어진 반응물을 분석하여 IGF-1R 및 이를 암호화하는 유전자로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상을 정량하는 단계를 포함할 수 있다. 상기 단계 i) 이전에 생물 시료를 준비하는 단계를 추가로 포함할 수 있다. 상기 생물 시료를 준비하는 단계는 환자로부터 생물 시료를 얻는(분리하는) 단계 또는 환자로부터 분리된 생물 시료를 입수하는 단계를 포함하는 것일 수 있다. 상기 단계 i)에서 상기 상호작용하는 물질은 IGF-1R에 특이적으로 결합하는 화합물 (small molecule), 항체, 앵타머, 또는 IGF-1R을 암호화하는 유전자의 일부 또는 전부에 결합하는 폴리뉴클레오타이드 (예컨대, 프라이머, 프로브, 앵타머 등), 화합물 등일 수 있으며, 이들은 형광 물질, 발색 물질 등의 표지 물질로 표지되거나 표지되지 않은 것일 수 있다. 상기 단계 ii)에서, 상기 반응물은 단계 i)에서 얻어진 IGF-1R 및 이를 암호화하는 유전자로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상

및 이와 상호작용하는 물질이 상호작용(결합)하여 생성된 복합체(complex)일 수 있으며, 상기 정량하는 단계는 상기 생성된 복합체를 정량하거나, 상기 복합체에 표지된 표지 물질을 측정하거나, 상기 복합체를 시료로부터 분리한 후, 이로부터 IGF-1R 또는 이를 암호화하는 유전자를 다시 분리하여 분리된 IGF-1R 또는 이를 암호화하는 유전자를 정량하는 단계를 포함하는 것일 수 있다. 상기 IGF-1R의 정량은 ELISA, 면역조직화학검사법, 등의 통상적인 단백질 정량 방법에 의하여 수행될 수 있으며, IGF-1R 유전자의 정량은 qPCR 또는 mRNA 마이크로 어레이 등의 통상적인 유전자 (DNA 또는 RNA) 정량 방법에 의하여 수행될 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0132] 상기 IGF-1R 및 이들을 암호화하는 유전자의 수준은 상기 단백질 또는 유전자와 상호작용하는 물질을 이용하는 통상적인 모든 단백질 분석 방법에 의하여 측정될 수 있다. 상기 IGF-1R 또는 이들을 암호화하는 유전자와 상호작용하는 물질은 IGF-1R 단백질 및/또는 IGF-1R 유전자에 특이적으로 결합하는 화학 물질(chemical, small molecule), 단백질, 펩타이드, 핵산 분자(폴리뉴클레오타이드, 올리고뉴클레오타이드, 등) 등으로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상일 수 있다. 예컨대, 상기 IGF-1R 또는 이들을 암호화하는 유전자와 상호작용하는 물질은 IGF-1R 단백질에 특이적으로 결합하는 화합물, 항체, 압타머, 및 IGF-1R을 암호화하는 유전자의 전부 또는 일부에 결합하는 핵산 분자(예컨대, 프라이머, 프로브, 앵타머 등) 등으로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상일 수 있다.

[0133] 예컨대, 상기 IGF-1R 단백질의 수준은 상기 IGF-1R 단백질에 결합하는 화합물, 항체, 압타머 등을 이용하는 통상적인 효소 반응, 형광, 발광 및/또는 방사선 검출을 통하여 하여 측정될 수 있으며, 구체적으로, 면역크로마토그래피(Immunochromatography), 면역조직화학염색, 효소결합 면역흡착 분석(enzyme linked immunosorbent assay: ELISA), 방사선 면역측정법(radioimmunoassay: RIA), 효소 면역분석(enzyme immunoassay: EIA), 형광면역분석(Floresence immunoassay: FIA), 발광면역분석(luminescence immunoassay: LIA), 웨스턴블라팅(Western blotting), 마이크로어레이법, 등으로 이루어진 군으로부터 선택된 방법에 의하여 측정될 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0134] 또한 상기 IGF-1R를 암호화하는 유전자 (DNA, cDNA 또는 mRNA)의 수준은 통상의 유전자 분석 방법을 이용하여 측정할 수 있으며, 예컨대 상기 유전자와 혼성화 가능한 프라이머, 프로브, 또는 앵타머를 사용하는 통상적인 유전자 분석 방법, 예컨대, 폴리머레이즈 연쇄 반응법 (PCR, 예컨대 qPCR), FISH(fluorescent in situ hybridization), 마이크로어레이법, 등을 이용하여 측정할 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다. 일 구체예에서, 상기 프라이머는 IGF-1R을 암호화하는 유전자 (전장 DNA, cDNA, 또는 mRNA)의 염기서열 중 연속하는 5 내지 1000bp 예컨대 10 내지 500bp, 20 내지 200bp, 또는 50 내지 200bp의 유전자 단편을 검출할 수 있는 것으로, 상기 유전자 단편의 3'-말단 및 5'-말단 각각의 연속하는 5 내지 100bp, 예컨대, 5 내지 50bp, 5 내지 30bp, 또는 10 내지 25bp 부위와 혼성화 가능한 (예컨대, 상보적인) 염기서열을 포함하는 프라이머쌍일 수 있다. 상기 프로브 또는 앵타머는 총 길이가 5 내지 100 bp, 5 내지 50bp, 5 내지 30bp, 또는 5 내지 25bp인 것일 수 있으며, IGF-1R을 암호화하는 유전자 (전장 DNA, cDNA, 또는 mRNA)의 염기서열 중 연속하는 5 내지 100 bp, 5 내지 50bp, 5 내지 30bp, 또는 5 내지 25bp의 유전자 단편과 결합 가능 또는 혼성화 가능한 (예컨대, 상보적) 염기서열을 갖는 것일 수 있다. 상기 '결합 가능'하다 함은 상기 유전자 부위와 공유 결합 등의 화학적 및/또는 물리적 결합에 의하여 결합할 수 있음을 의미할 수 있고, 상기 '혼성화 가능'하다 함은 상기 유전자 부위의 염기서열과 80% 이상, 예컨대 90% 이상, 95% 이상, 98% 이상, 99% 이상, 또는 100%의 서열 상보성을 가짐으로써 상보적 결합이 가능함을 의미할 수 있다.

[0135] 한편, 항 c-Met 항체와 같은 c-Met 저해제를 사용하는 치료의 특성상, 적용되는 암세포의 c-Met 발현량이 일정 수준 이상인 것이 상기 c-Met 저해제가 효능을 발휘할 수 있는 전제될 수 있다. 그러므로, c-Met 또는 이를 암호화하는 유전자는 단독 또는 상기한 IGF-1R 또는 이를 암호화하는 유전자와 조합하여, c-Met 저해제의 효능 예측, 효능 검증, 또는 c-Met 저해제의 적용 대상 선별에 있어서 마커로 사용될 수 있다.

[0136] 따라서, 상기 c-Met 저해제 및/또는 c-Met 저해제와 IGF-1R 저해제의 병용 투여의 효능 예측, 적용 대상 선별, 및/또는 효능 검정용 조성물 및 키트는 IGF-1R 및 이를 암호화하는 유전자로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상과 상호작용하는 물질 이외에, c-Met 및 이를 암호화하는 유전자로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상과 상호작용하는 물질을 추가로 포함할 수 있다. 상기 "상호작용하는 물질"은 c-Met 및/또는 c-Met 유전자에 특이적으로 결합하는 화학 물질(chemical, small molecule), 단백질, 펩타이드, 핵산 분자 (폴리뉴클레오타이드, 올리고뉴클레오타이드, 등) 등으로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상일 수 있다. 예컨대, 상기 "상호작용하는 물질"은 c-Met에 특이적으로 결합하는 화합물, 항체, 앵타머, 또는 c-Met를 암호화하는 유전자의 일부 또는 전부에 결합하는 핵산 분자 (예컨대, 프라이머, 프로브, 앵타머 등), 화합물 등일 수 있으며, 이들은 형광 물질, 발색

물질 등의 표지 물질로 표지되거나 표지되지 않은 것일 수 있다.

- [0137] 또한, 상기 c-Met 저해제의 효능 예측 방법 (또는 효능 예측을 위한 정보를 제공하는 방법), 효능 검정 방법 (또는 효능 검정을 위한 정보를 제공하는 방법), 또는 적용 대상 선별 방법 (또는 적용 대상 선별을 위한 정보를 제공하는 방법)은, 환자로부터 얻어진 생물 시료의 c-Met 단백질 수준 또는 이를 암호화하는 유전자 (예컨대, 전장 DNA, cDNA, mRNA 등)의 수준을 측정하는 단계를 추가로 포함할 수 있다. 상기 시료의 c-Met 단백질 수준 또는 이를 암호화하는 유전자 (예컨대, 전장 DNA, cDNA, mRNA 등)의 수준을 측정하는 단계는 앞서 설명한 IGF-1R 및/또는 이를 암호화하는 유전자의 수준을 측정하는 단계와의 순서에 있어서 제한이 없으며, 상기 두 측정 단계는 동시에 또는 순서에 관계없이 순차적으로 수행될 수 있다. 그 구체적인 측정 단계는 앞서 기재한 바와 같다. 예컨대, 통상적인 웨스턴 블라팅 방법을 사용하여, 상기 생물시료 (예컨대, 암세포 또는 암조직)으로부터 얻어진 전체 세포내 단백질 일정량 (예컨대, 10ug(microgram))을 로딩하고, 멤브레인에 일정시간 (예컨대, 30초 정도) 노출시 band가 검출되는 경우, c-Met 저해제를 사용하는 치료가 효능을 나타낼 수 있는 전제 요건이 충족되었다고 판단할 수 있다. 또 다른 구체예에서, Affymetrix array를 사용하여 제조사 설명서에 따라서 mRNA 수준을 측정한 결과, 생물 시료 내 c-Met의 mRNA 수준이 약 13.5 이상, 약 13.6 이상 또는 약 13.78 이상인 경우, c-Met 저해제를 사용하는 치료가 효능을 나타낼 수 있는 전제 요건이 충족되었다고 판단할 수 있다. 이와 같은 c-Met의 고발현 특성을 갖는 암세포는 주로 폐암, 유방암, 뇌암, 위암, 간암, 신장암 등의 암세포일 수 있으나, 다른 종류의 암세포라도 하여도 환자 개개인의 특성에 따라서 c-Met 발현량의 수준이 높은 경우도 c-Met 저해제를 이용하는 치료 대상에 포함될 수 있다.
- [0138] 다른 구체예에서, 상기 c-Met 저해제 및/또는 c-Met 저해제와 IGF-1R 저해제의 병용 투여의 효능 예측 또는 검정 방법 (또는 효능 예측 또는 검정에 정보를 제공하는 방법) 또는 c-Met 저해제의 적용 대상 선별 방법 (또는 대상 선별에 정보를 제공하는 방법)에서 사용된 생물 시료는 c-Met 발현량이 높은, 예컨대, Affymetrix array를 이용한 측정 결과 c-Met 수준이 약 13.5 이상, 약 13.6 이상 또는 약 13.78 이상인 조직, 세포, 또는 체액 (혈액, 혈청, 소변, 타액 등)일 수 있다.
- [0139] 본 명세서에서, 상기 c-Met 저해제의 적용 대상은 c-Met 저해제를 사용하는 치료법을 적용하기에 적합한 환자를 의미하는 것으로, 모든 포유류, 예컨대 인간, 원숭이 등의 영장류, 마우스, 래트 등의 설치류일 수 있고, 예컨대 암환자일 수 있다. 상기 생물 시료는 환자(예컨대, 인간, 원숭이 등의 영장류, 마우스, 래트 등의 설치류 등을 포함하는 포유류), 또는 상기 환자로부터 분리되거나 인공적으로 배양된 세포, 조직, 체액 (예컨대, 혈액, 혈청, 소변, 타액 등) 등일 수 있으며, 예컨대 혈액 또는 혈청일 수 있다.
- [0140] 다른 예는 상기 선별된 c-Met 저해제의 적용 대상에게 c-Met 저해제를 투여하는 단계를 포함하는 암의 예방 및/또는 치료 방법을 제공한다.
- [0141] 다른 예는 상기 선별된 c-Met 저해제 및 IGF-1R 저해제의 병용 투여 대상에게 c-Met 저해제 및 IGF-1R 저해제를 병용 투여하는 단계를 포함하는 암의 예방 및/또는 치료 방법을 제공한다.
- [0142] 상기 암의 예방 및/또는 치료 방법은 상기 투여 단계 이전에 상기 항 c-Met 항체 적용 대상을 선별하는 단계를 추가로 포함할 수 있으며, 그 구체적 방법 및 단계를 앞서 설명한 바와 같다. 상기 c-Met 저해제는 항 c-Met 항체일 수 있다.
- [0143] 보다 구체적으로, 상기 암의 예방 및/또는 치료 방법은,
- [0144] c-Met 저해제의 적용 대상을 확인하는 단계; 및
- [0145] 상기 c-Met 저해제의 적용 대상에게 c-Met 저해제의 약학적 유효량을 투여하는 단계
- [0146] 를 포함할 수 있다.
- [0147] 다른 예에서, 상기 암의 예방 및/또는 치료 방법은,
- [0148] c-Met 저해제 및 IGF-1R 저해제 병용 투여의 적용 대상을 확인하는 단계; 및
- [0149] 상기 적용 대상에게 c-Met 저해제 및 IGF-1R 저해제를 병용 투여하는 단계
- [0150] 를 포함할 수 있다.
- [0151] 다른 구체예에서, 상기 암의 예방 및/또는 치료 방법은,
- [0152] 생물 시료 내의 IGF-1R 및/또는 이를 암호화하는 유전자의 수준을 측정하여 c-Met 저해제의 적용 대상을 선별하

는 단계;

[0153] 상기 선별된 c-Met 저해제의 적용 대상에게 c-Met 저해제의 약학적 유효량을 투여하는 단계

[0154] 를 포함할 수 있다.

[0155] 다른 구체예에서, 상기 암의 예방 및/또는 치료 방법은,

[0156] 생물 시료 내의 IGF-1R 및/또는 이를 암호화하는 유전자의 수준을 측정하여 c-Met 저해제 및 IGF-1R 저해제 병용 투여의 적용 대상을 선별하는 단계;

[0157] 상기 선별된 적용 대상에게 c-Met 저해제 및 IGF-1R 저해제를 병용 투여하는 단계

[0158] 를 포함할 수 있다.

발명의 효과

[0159] 본 발명은 c-Met를 표적으로 하는 요법에 저항성이 생긴 암의 경우, IGF-1R 저해제와의 병용치료로써 저항성을 극복하고 소망하는 항암 효과를 얻을 수 있음을 최초로 제안한다.

[0160] 1) c-Met 저해제에 저항성이 생겼을 경우 이를 극복하기 위해 IGF-1R 저해제와의 병용 투여를 시도할 수 있다.

[0161] 2) 상기 병용 투여는 IGF-1R의 발현이 많은 위암에서 유용하게 적용될 수 있다.

[0162] 3) 항 c-Met 항체가 더 이상 효능을 발휘하지 못하는 환자에게 IGF1R 저해제를 병용 투여함으로써 소망하는 효과를 얻을 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0163] 도 1은 항 c-Met 항체가 단독으로 효능을 보이는 세포주 Hs746T 및 SNU-5와 항 c-Met 항체가 단독으로 효능을 보이지 못하는 세포주 SNU-668 및 YCC-11에서의 수용체 타이로신 카이네이즈 단백질(RTKs)들의 발현 정도를 보여주는 면역블로팅 결과이다 (가장 아래 사진은 단백질을 위치를 표시하기 위한 reference임).

도 2는 도 1의 결과를 도식화한 것으로, 색이 진할수록 발현 정도가 높음을 보여준다.

도 3은 도 1에서 얻어진 결과 중 c-Met의 발현 정도를 수치화하여 보여주는 그래프로서, 도 1의 결과를 바탕으로, positive control dot(항체 투여량에 상관없이 모든 membrane에 존재하는 단백질로, RTK들의 발현을 normalization 하여 sample 및 membrane간의 차이를 비교하기 위한 것; loading control)으로 표준화(normalization)하여 해당 receptor가 차지하는 dot의 진하기와 크기를 상대적인 값(intensity)으로 측정한 결과(MEAN PIXEL DENSITY)를 보여준다 (HGFR: c-Met)

도 4는 도 1에서 얻어진 결과 중 IGF-1R의 발현 정도를 수치화하여 보여주는 그래프로서, 도 1의 결과를 바탕으로, positive control dot으로 표준화(normalization)하여 해당 receptor가 차지하는 dot의 진하기와 크기를 상대적인 값(intensity)으로 측정한 결과(MEAN PIXEL DENSITY)를 보여준다.

도 5는 도 1에서 얻어진 결과 중 EGFR의 발현 정도를 수치화하여 보여주는 그래프로서, 도 1의 결과를 바탕으로, positive control dot으로 표준화(normalization)하여 해당 receptor가 차지하는 dot의 진하기와 크기를 상대적인 값(intensity)으로 측정한 결과(MEAN PIXEL DENSITY)를 보여준다.

도 6에서 얻어진 결과 중 ErbB2의 발현 정도를 수치화하여 보여주는 그래프로서, 도 1의 결과를 바탕으로, positive control dot으로 표준화(normalization)하여 해당 receptor가 차지하는 dot의 진하기와 크기를 상대적인 값(intensity)으로 측정한 결과(MEAN PIXEL DENSITY)를 보여준다.

도 7 및 도 8은 항 c-Met 항체의 반복투여하여 저항성이 유도된 위암세포주 MKN45 (클론명: MKN45 re#1 (도 7) 및 MKN45 re#24 (도 8))에 대한 항 c-Met 항체와 IGF-1R 저해제 린시티닙과의 병용 투여 결과를 단독 투여시와 비교하여 보여주는 그래프이다.

도 9는 항 c-Met 항체에 대하여 저항성을 획득한 세포주(MKN45 re#1 및 MKN45 re#24)와 저항성이 유도되지 않은 세포주(MKN45)에서의 항 c-Met 항체 처리시의 세포 생존률 을보여주는 그래프이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0164] 이하, 본 발명을 실시예에 의해 상세히 설명한다.
- [0165] 단, 하기 실시예는 본 발명을 예시하는 것일 뿐, 본 발명의 내용이 하기 실시예에 한정되는 것은 아니다.
- [0166] **참고예: 항 c-Met 항체의 제작**
- [0167] **1.1. c-Met에 대한 마우스 항체 'AbF46'의 생산**
- [0168] **1.1.1. 마우스의 면역화**
- [0169] 하이브리도마 세포주의 개발에 필요한 면역화 된 마우스를 얻기 위하여, 5마리의 마우스에 한 마리당 100 μ g의 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 μ g을 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.
- [0170]
- [0171] **1.1.2. 세포 융합 및 하이브리도마의 제조**
- [0172] 세포융합 실험 3일 전에 50 μ g의 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 1×10^8 개와 골수종 세포(Sp2/0) 1×10^8 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 $1 \sim 2 \times 10^5$ / ml 정도로 재현탁시키고, 96-웰(well) 플레이트에 0.1 ml씩 분주한 후 37°C 이산화탄소 배양기에서 배양하여 하이브리도마 세포군을 제작하였다.
- [0173] **1.1.3. c-Met 단백질에 대한 단일클론 항체를 생산하는 하이브리도마 세포의 선별**
- [0174] 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.
- [0175] 마이크로타이터 플레이트에 인간의 c-Met/Fc 융합 단백질을 한 웰당 각각 50 μ l (2 ug(microgram)/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.
- [0176] 상기 참고예 1.1.2에서 얻어진 하이브리도마 세포의 배양액을 상기 준비된 각각 웰에 50 μ 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.
- [0177] 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 하이브

리도마 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 조약하의 국제기탁기관인 대한민국 서울 종로구 연건동에 소재하는 한국 세포주연구재단에 기탁하여 수탁번호 KCLRF-BP-00220를 부여받았다 (한국 공개특허 제2011-0047698 참조).

[0178] 1.1.4. 단일클론 항체의 생산 및 정제

[0179] 상기 참고예 1.1.3에서 얻은 하이브리도마 세포를 무혈청 배지에서 배양하고 배양액으로부터 단일클론 항체를 생산 정제하였다.

[0180] 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℃ 이산화탄소 배양기에서 배양하였다.

[0181] 이후, 원심분리하여, 항체를 생산하는 세포를 제거하고 항체들이 분비된 배양액을 분리하여, 4℃에 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, 단백질을 응집용 필터(Amicon)를 사용하여 PBS로 상층액을 치환하여 정제된 항체를 보관하고, 이후의 실시예에 사용하였다.

[0182] 1.2. c-Met에 대한 키메라 항체 chAbF46의 제작

[0183] 일반적으로 마우스 항체는 치료 목적으로 인간에게 주입되었을 때 면역거부반응(immunogenicity)을 보일 가능성이 높으므로, 이를 해결하기 위하여, 상기 참고예 1.1.4에서 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.

[0184] 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.

[0185] 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 5×10^5 cells/ml의 농도로 준비한 후, 24시간이 지난 뒤 cell수가 1×10^6 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 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% CO₂, 130 rpm incubator에서 5일간 배양하였다.

[0186] 상기 배양된 세포를 원심분리하여 상등액을 각각 100 ml 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 용출시켰다. 얻어진 용출물을 PBS 버퍼로 교환하여 최종적으로 키메라 항체 AbF46(이하, chAbF46로 명명함)을 정제하였다.

[0187]

[0188] 1.3. 키메라 항체 chAbF46으로부터 인간화 항체 huAbF46의 제작

[0189] 1.3.1. 중쇄의 인간화(Heavy chain humanization)

[0190] 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.

[0191] 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.

[0192] 1.3.2. 경쇄의 인간화(Light chain humanization)

[0193] 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.

[0194] 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.

[0195] H4-light(서열번호 46)의 디자인을 위하여, 인간항체의 골격(framework) 서열을 찾아 본 결과, 기존의 가장 안정하다고 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.

[0196] 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 Kit 에 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.

[0197] 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 5×10^5 cells/ml의 농도로 준비한 후, 24시간이 지난 뒤 cell수가 1×10^6 cells/ml이 되었을 때 임시발현을 진

행하였다. FreestyleTM MAX reagent (invitrogen)을 사용한 liposomal reagent법으로 형질도입(transfection)을 진행 하였으며, 15ml tube에 중쇄 DNA: 경쇄 DNA=1:1 의 비율로 DNA를 준비하여 OptiProTM SFM (invitrogen) 2ml과 mix하고(A), 또 다른 15ml tube에 FreestyleTM MAX reagent 100 μ l와 OptiProTM 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% CO₂, 130 rpm incubator에서 5일간 배양하였다.

[0198] 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.

[0199] 1.4. huAbF46 항체의 scFv 라이브러리 제작

[0200] 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 'GLGGLGGGSGGGSGGSSGVGS'(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.

[0201] 이후, 상기 벡터로부터 발현된 결과물을 분석하여, c-Met에 특이적인 결합력을 보임을 확인하였다.

[0202]

[0203] 1.5. 친화도 성숙(affinity maturation)을 위한 라이브러리 유전자의 제작

[0204] 1.5.1. 표적 CDR의 선정 및 프라이머 제작

[0205] 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

[0206]

CDR	아미노산 서열
CDR-H1	DYYMS(서열번호 1)
CDR-H2	FIRNKANGYTTEYSASVKG(서열번호 2)
CDR-H3	DNWFAY(서열번호 3)
CDR-L1	KSSQSLASGNQNNYLA(서열번호 10)
CDR-L2	WASTRVS(서열번호 11)
CDR-L3	QQSYSAPLT(서열번호 12)

[0207] 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.

[0208]

[0209] 1.5.2. huAbF46 항체의 라이브러리 제작 및 c-Met에 대한 결합력 확인

[0210] 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, 도 1에 나타난 방법과 같이 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.

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.

1.6. 제작된 라이브러리로부터 친화도가 개선된 항체의 선별

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

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	KSSHSLLASGNQNNYLA(서열번호 29)
L1-3	CDR-L1	KSSRSLLSSGNHKNYLA(서열번호 30)
L1-4	CDR-L1	KSSKSLLASGNQNNYLA(서열번호 31)
L1-12	CDR-L1	KSSRSLLASGNQNNYLA(서열번호 32)
L1-22	CDR-L1	KSSHSLLASGNQNNYLA(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	QQSYSRPYT(서열번호 13)
L3-2	CDR-L3	GQSYSRPLT(서열번호 14)
L3-3	CDR-L3	AQSYSHPF(서열번호 15)
L3-5	CDR-L3	QQSYSRPFT(서열번호 16)
L3-32	CDR-L3	QQSYSKPFT(서열번호 37)

1.7. 선별된 항체의 IgG로의 변환

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, Invitrogen사의 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.

[0219] 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 5×10^5 cells/ml의 농도로 준비한 후, 24시간이 지난 뒤 cell수가 1×10^6 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 μ 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% CO₂, 130 rpm incubator에서 5일간 배양하였다.

[0220] 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.

[0221] 1.8. 불변영역 및/또는 힌지영역이 치환된 huAbF46-H4-A1의 제조

[0222] 상기 참고예 1.7에서 선별된 4종의 항체 중에서, c-Met과의 결합친화도가 가장 높고, Akt 인산화 및 c-Met 분화 정도가 가장 낮은 것으로 측정된 huAbF46-H4-A1을 대상으로, 힌지영역 또는 불변영역 및 힌지영역이 치환된 항체를 제작하였다.

[0223] 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.

[0224] 상기 3종 항체를 제작하기 위해, huAbF46-H4-A1의 중쇄 가변영역, U6-HC7힌지 및 인간의 IgG1 불변영역으로 이루어진 폴리펩티드(서열번호 62)를 코딩하는 폴리뉴클레오티드(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.

[0225] 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 5×10^5 cells/ml의 농도로 준비한 후, 24시간이 지난 뒤 cell수가 1×10^6 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 μ 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% CO₂, 130 rpm incubator에서 5일간 배양하였다.

[0226] 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 c-Met 저해제를 대표하여 huAbF46-H4-A1(IgG2 Fc)을 선택하여 하기의 실시예에 사용하였으며, 편의상 상기 항체를 L3-1Y/IgG2 항체로 명명하였다.

[0227] **실시예 1: 항 c-Met 항체 효능군 (sensitive group)과 비효능군 (resistance group)의 선별을 위한 바이오마커 탐색**

[0228] 항 c-Met 항체 L3-1Y/IgG2가 단독으로 효능을 보이는 세포주 Hs746T(HTB-135, ATCC) 및 SNU-5(00005, KCLB)와 L3-1Y/IgG2가 단독으로 효능을 보이지 못하는 세포주 SNU-668(00668, KCLB) 및 YCC-11(연세대학교)에서의 수용체 타이로신 카이네이즈 단백질(RTKs)들의 발현 정도를 측정하였다.

[0229] 구체적으로, 각각의 세포주 (4x10⁶ cells)에 L3-1Y/IgG2를 10ug/ml의 양으로 각각 처리한 후, Lysis Buffer 17 (Cat. No. 895943; Human Phospho-RTK Array Kit에서 제공)로 용해시켜서 300UG의 단백질을 얻었다. 대조군으로서 항체를 처리하지 않은 세포를 사용하여 동일한 시험을 수행하였다. 상기 얻어진 단백질을 키트(R&D ARY001B)에 제공된 buffer에 dilution해서 24시간동안 4°C에서 incubation하고, 상기 키트에서 제공된 chemiluminescence buffer를 통해 reading했다.

[0230] 상기 얻어진 결과를 도 1에 나타내었다. 도 1에 나타난 바와 같이, 상기 4 종류의 세포주에서의 타이로신 카이네이즈 단백질들의 발현 양상이 서로 상이하였으며, 특히, L3-1Y/IgG2 효능군(sensitive group)과 비효능군(resistance group) 간의 단백질 발현 양상이 현저하게 다를 것을 확인하였다.

[0231] 도 1에서 얻어진 단백질 발현 양상을 보다 명확하게 확인하기 위하여, 도 1에서 얻어진 결과를 Densitometry(GenePix Pro 4.1 software)로 측정하여 아래를 기준으로 구분하였다.

0~5	
6~10	
11~20	
21~30	
31~40	
41<	

[0232]

[0233] (상기 수치는 receptor가 차지하는 dot의 진하기와 크기를 positive control dot으로 표준화(normalization)하여 나타낸 상대적인 값(intensity)을 나타냄)

[0234] 상기와 같이 진하기로 구분된 단백질 발현 정도를 도 2에 나타내었다. (즉, 도 2에서 진하게 표시될수록 해당 단백질의 발현 수준이 높음을 나타낸다).

[0235] 도 2에 나타난 단백질의 발현 정도를 보다 명확하게 확인하기 위하여, c-Met, IGF-1R, EGFR, 및 ErbB2의 발현량을 정량하였다. 구체적으로, densitometry(GenePix Pro 4.1 software)의 pixel을 측정해서 positive dot(표준화(normalization)를 하기 위해 각 membrane마다 존재하는 control; Loading control)을 100%로 하고, mean pixel density를 측정하였다. 상기 얻어진 정량 결과를 도 3 (c-Met), 도 4 (IGF-1R), 도 5 (EGFR), 및 도 6 (ErbB2)에 나타내었다.

[0236] 도 2 내지 6에 보여지는 바와 같이, IGF-1R이 항 c-Met 항체의 효능군에서는 전혀 발현되지 않는 반면, 비효능군에서는 비교적 높은 수준으로 발현하는 것이 확인되었다. 따라서, IGF-1R을 항 c-Met 항체의 효능 판단을 위

한 바이오마커로 선택하였다.

[0237]

[0238] 실시예 2: 항 c-Met 항체 저항성 세포에서의 항 c-Met 항체 및 IGF-1R 저해제와의 병용 투여에 의한 효능 확인

[0239]

항 c-Met 항체 L3-1Y/IgG2가 단독으로 효능을 나타내는 위암세포주 MKN45에 L3-1Y/IgG2를 반복투여하여 저항성을 유도시킨 세포주(MKN45 re#1 및 MKN45 re#24)에 L3-1Y/IgG2와 IGF-1R 저해제를 병용 투여하여 의한 세포 증식 변화를 시험하였다.

[0240]

상기 저항성 유도 과정은 다음과 같다: MKN45 (JCRB 0254) 세포에 L3-1Y/IgG2 항체를 처리량을 늘리면서 3개월 이상 처리하였다. L3-1Y/IgG2 항체의 처리량은 초기 처리 농도 1 ug/ml부터 시작하여 저항성이 나타날 때까지 10 ug/ml까지 증가시켰다. L3-1Y/IgG2 항체 저항성 획득을 확인하기 위하여, 저항성 획득 클론 (MKN45 re#1 및 MKN45 re#24로 명명) 및 저항성이 유도되지 않은 MKN45 세포에 각각 L3-1Y/IgG2 항체를 다양한 양(도 9 참조)으로 처리하고, 항체 처리 72시간 후에 CellTiter Glo assay(Promega, G7573)를 통해 세포수 변화를 측정하였다. 상기 얻어진 결과를 도 9에 나타내었다. 도 9에서 나타난 바와 같이, MKN45 re#1 및 MKN45 re#24는 L3-1Y/IgG2 항체의 처리 농도가 증가하여도 세포 증식이 저해되지 않아서, 저항성이 획득되었음을 확인할 수 있다. 이와 같이 저항성을 유도시킨 세포주(MKN45 re#1 및 MKN45 re#24)에 L3-1Y/IgG2와 IGF-1R 저해제를 병용 투여하여 의한 세포 증식 변화를 시험하였다. 구체적으로, 96well에 MKN45 re#1 및 MKN45 re#24를 각각 10000개/well의 양으로 seed하고, 다음날 각각의 L3-1Y/IgG2 항체 (2ug/ml)와 린시티닙 (10uM)을 처리한 뒤 72시간 후에 cell titer glo(PROMEGA)로 reading하여 생존 세포수를 구하였다. 비교를 위하여, 대조군 (무처리군), L3-1Y/IgG2 단독 처리군 (처리량: 2ug/ml) 및 린시티닙 단독 처리군 (처리량: 10uM)를 사용하였다.

[0241]

상기 얻어진 결과를 도 7 및 도 8에 나타내었다. 도 7 및 8에서 보여지는 바와 같이, 항 c-Met 항체에 대하여 저항성이 유도된 MKN45 세포에서 L3-1Y/IgG2 단독 및 린시티닙 단독 투여시 세포 증식 저해효과가 거의 관찰되지 않았으나, L3-1Y/IgG2와 린시티닙을 병용 투여하는 경우, 세포 증식 저해 효과가 뚜렷하게 나타났다 (30% 이상). 이는 항 c-Met 항체와 린시티닙의 병용 처리에 의하여 항 c-Met 항체가 암세포 성장 억제 효능을 나타내는 적응증이 항 c-Met 항체에 저항성을 보이는 세포주까지 확대될 수 있음을 제시하는 것이다.

수탁번호

[0242]

기탁기관명 : 한국세포주연구재단

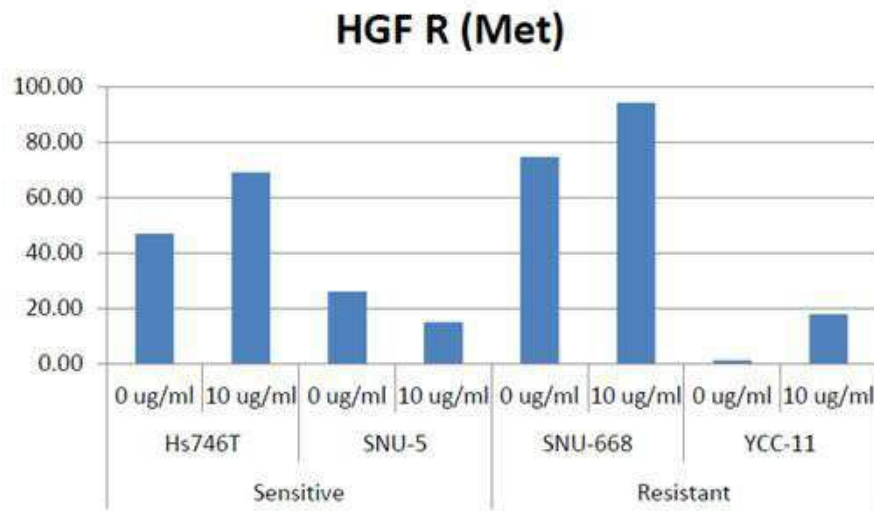
수탁번호 : KCLRFBP00220

수탁일자 : 20091006

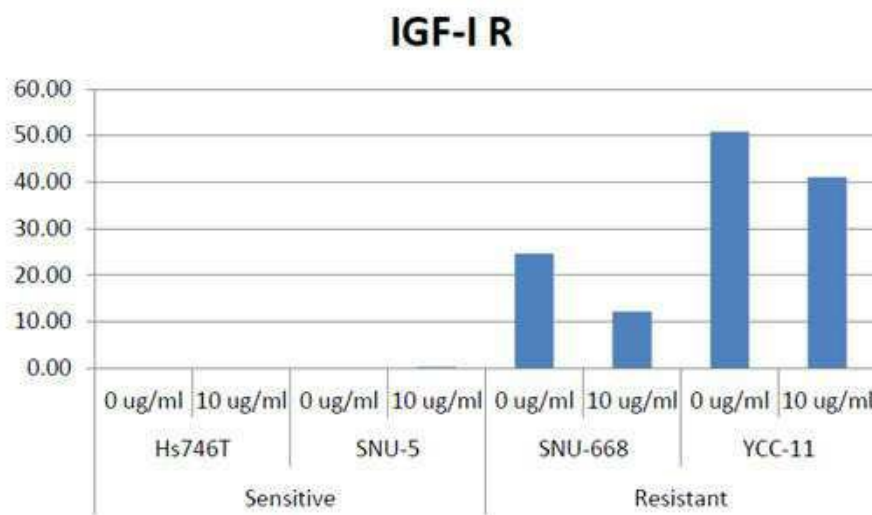
도면2

Sensitivity		Sensitive				Resistant			
Family	Cell line	Hs746T		SNU-5		SNU-668		YCC-11	
	L3-1YlgG2_24hr	0 ug/ml	10 ug/ml	0 ug/ml	10 ug/ml	0 ug/ml	10 ug/ml	0 ug/ml	10 ug/ml
EGFR	EGF R								
	ErbB2								
	ErbB4								
HGFR	HGF R								
FGFR	FGF R3								
Tie	Tie-2								
Insulin	Insulin R								
	IGF-I R								
	ALK								
Axl	Axl								
	Dtk								
	Mer								
NGFR	TrkA								
EphR	EphA6								
	EphA7								
	EphA10								
-	DDR1								
-	RYK								

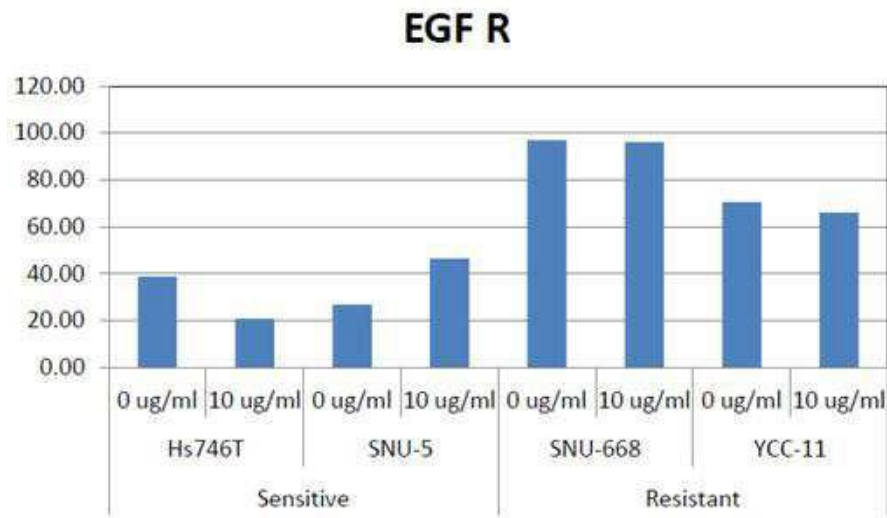
도면3



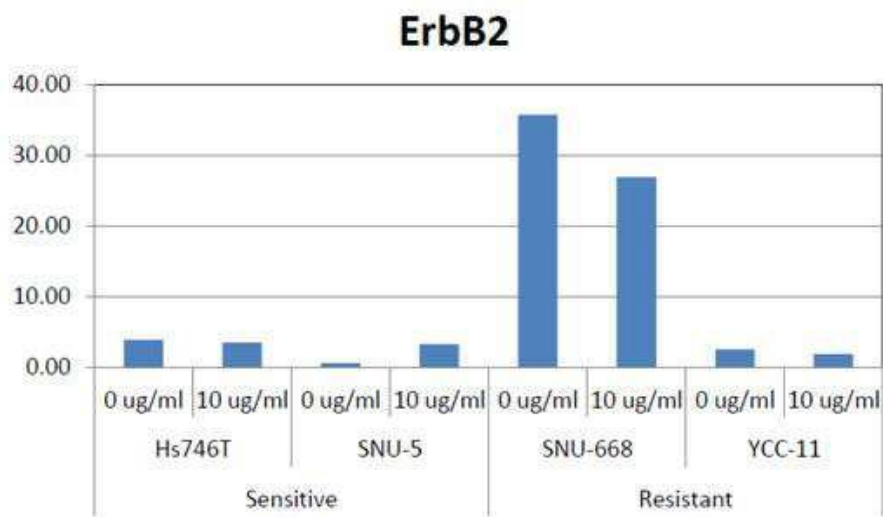
도면4



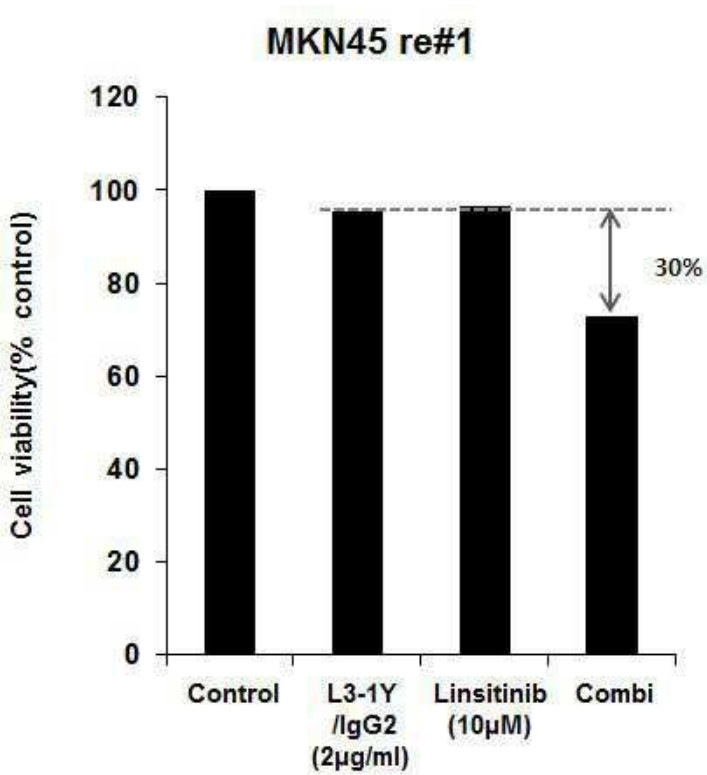
도면5



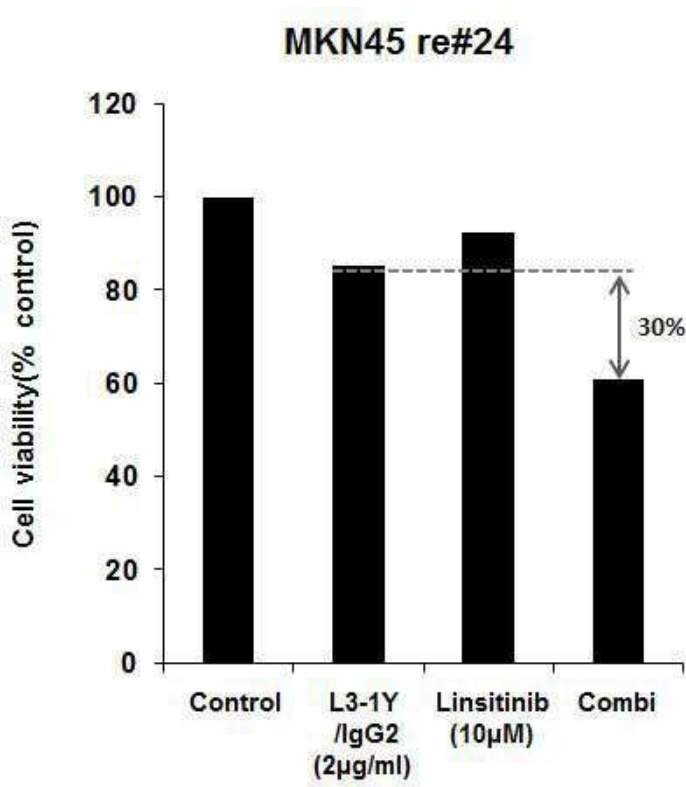
도면6



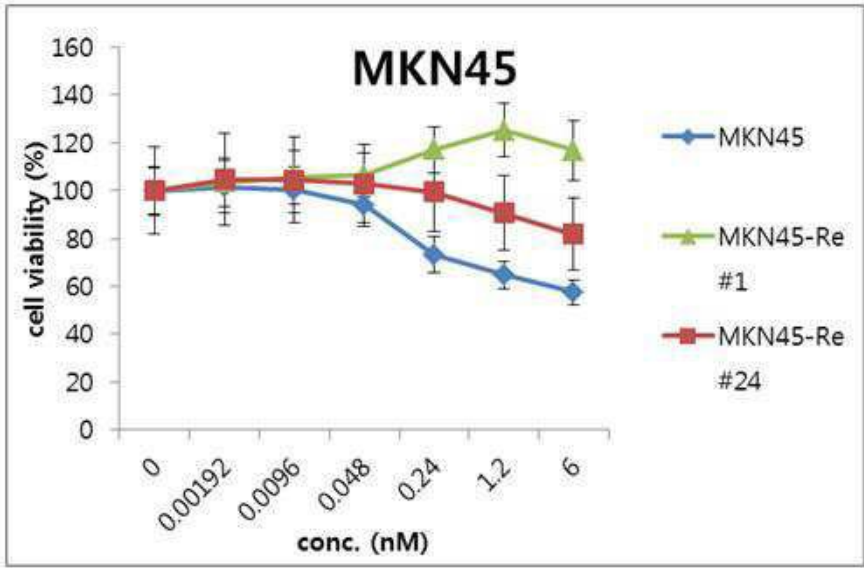
도면7



도면8



도면9



서열 목록

- <110> Samsung Electronics Co. Ltd
- <120> Pharmaceutical composition for combination therapy containing c-Met inhibitor and IGF-1R inhibitor
- <130> DPP20143574KR
- <160> 112
- <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> MOD_RES

<222> (1)

<223>

> X is Pro or Ser or absent

<220><221> MOD_RES

<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> MOD_RES

<222> (3)

<223> X is Asn or Lys

<220><221> MOD_RES

<222> (4)

<223> X is Ala or Val

<220><221> MOD_RES

<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> MOD_RES

<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> MOD_RES

<222> (4)

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

<220><221> MOD_RES

<

222> (12)

<223> X is His or Gln

<220><221> MOD_RES

<222> (13)

<223> X is Lys or Asn

<220><221> MOD_RES

<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> MOD_RES

<222> (2)

<223> X is Ala or Gly

<220><221> MOD_RES

<222> (4)

<223> X is Thr or Lys

<220><221> MOD_RES

<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> MOD_RES

<222> (1)

<223> X is Gly, Ala or Gln

<220><221> MOD_RES

<222> (6)

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

<220><221> MOD_RES

<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

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 Gly Gln

85 90 95

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

100 105 110

Lys Arg

<210> 20

<211> 114

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 20

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 Ala Gln

85 90 95

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

100 105 110

Lys Arg

<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 codon
 <220><221> misc_feature
 <222> (1411)..(1416)

<223> XhoI restriction site

<400> 38

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

gcaagagata actggtttgc ttactggggc caagggactc tggctactgt ctctgcagct	420
agcaccaagg gcccatcggt ctccccctg gcacctcct ccaagagcac ctctgggggc	480
acagcgggcc tgggctgcct ggtcaaggac tacttccccg aaccgggtgac ggtgtcgtgg	540
aactcaggcg cctgaccag cggcgtgcac accttccccg ctgtcctaca gtcctcagga	600
ctctactccc tcagcagcgt ggtgaccgtg cctccagca gcttgggcac ccagacctac	660
atctgcaacg tgaatcaca gccccagcaac accaaggtgg acaagaaagt tgagcccaaa	720
tcttgtgaca aaactcacac atgcccaccg tgcccagcac ctgaactcct ggggggaccg	780

tcagtcttcc tcttcccccc aaaacccaag gacacctca tgatctcccg gacctctgag	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 ccagcccccga tcgagaaaac catctccaaa 1080
gccaaagggc agccccgaga accacaggtg tacaccctgc 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 ctacacgcag 1380
aagagcctct ccctgtctcc gggtaaatga 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 gaaggtcact 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 tcggtgctgg gaccaagctg 420

gagctgaaac gtacggtggc tgcaccatct gtcttcatct tcccgcac tcgatgagcag 480
ttgaaatctg gaactgcctc tgttgtgtgc ctgctgaata acttctatcc cagagaggcc 540
aaagtacagt ggaaggtgga taacgccctc caatcgggta actcccagga gagtgtcaca 600
gagcaggaca gcaaggacag cacctacagc ctacagcagca cctgacgct gagcaaagca 660
gactacgaga aacacaaagt ctacgcctgc gaagtcaccc atcagggcct gagctcgccc 720
gtcacaaaga gcttcaacag 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
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	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> 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
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 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> 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
 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 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 Cys
 210 215 220

<210> 44

<211> 220

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> amino acid sequence of H2-light

<400> 44

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

85 90 95
 Ser Tyr Ser Ala Pro Leu Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Leu
 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 Cys

210 215 220
 <210> 45
 <211> 220
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> amino acid sequence of H3-light
 <400> 45

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 Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
 35 40 45

 Pro Pro Lys Leu 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

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 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 Cys
210 215 220

46

<211> 219

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 46

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 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 tgggtggagtc tgggggaggc ttggtccagc ctggagggtc cctgagactc	60
tcctgtgcag cctctggatt caccitcact gactactaca tgagctgggt ccgccaggct	120
ccaggaagg ggctggagtg gttgggcttt attagaaaca aagctaacgg ttacaccaca	180
gaatacagtg cgictgtgaa aggcagattc accatctcaa gagataattc aaagaactca	240
ctgtatctgc aaatgaacag cctgaaaacc gaggacacgg ccgtgtatta ctgtgctaga	300

gataactggt ttgcttactg gggtaagga accctgggtca cgtctctctc ggctagcacc	360
aagggcccat cggctcttccc cctggcaccc tcctccaaga gcacctctgg gggcacagcg	420
gcccctgggct gacctgggtcaa ggactacttc ccgaaccgg tgacgggtgtc gtggaactca	480
ggcgccctga ccagcggcgt gcacaccttc ccggctgtcc tacagtcttc aggactctac	540
tcctcagca gcgtgggtgac cgtgccctcc agcagcttgg gcaccagac ctacatctgc	600
aacgtgaatc acaagcccag caacaccaag gtggacaaga aagttgagcc caaatcttgt	660
gacaaaactc acacatgccc accgtgccc gcacctgaac tcctgggggg accgtcagtc	720
ttctcttcc ccccaaaacc caaggacacc ctcatgatct cccggacccc tgaggtcaca	780
tcgtgggtgg tggacgtgag ccacgaagac cctgaggtca agttcaactg gtacgtggac	840
ggcgtggagg tgcataatgc caagacaaag ccgcgggagg agcagtaca cagcacgtac	900
cgtgtgggtca gcgtctcac cgtctgtcac caggactggc tgaatggcaa ggagtacaag	960
tgcaaggtct ccaacaaagc cctcccagcc cccatcgaga aaaccatctc caaagccaaa	1020
gggcagcccc gagaaccaca ggtgtacacc ctgcccccat cccgggagga gatgaccaag	1080
aaccaggtca gctgacctg cctgggtcaaa ggtttctatc ccagcgacat cgccgtggag	1140
tgggagagca atgggcagcc ggagaacaac tacaagacca cgcctcccggt gctggactcc	1200
gacggctcct tcttctcta cagcaagctc accgtggaca agagcaggtg gcagcagggg	1260
aacgtcttct catgctccgt gatgcatgag gctctgcaca accactacac gcagaagagc	1320
ctctccctgt ctccgggtaa atgactcgag	1350
<210> 48	
<211> 1350	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> nucleotide sequence of H3-heavy	
<400> 48	
gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggtccagc ctggagggtc cctgagactc	60
tcctgtgcag cctctggatt caccitcact gactactaca tgagctgggt ccgccaggct	120
ccagggaagg ggcgtggagtg gttgggcttt attagaaaca aagctaacgg ttacaccaca	180
gaatacagtg cgctgtgaa aggcagattc accatctcaa gagataattc aaagaactca	240
ctgtatctgc aaatgaacag cctgcgtgct gaggacacgg ccgtgtatta ctgtgctaga	300
gataactggt ttgcttactg gggtaagga accctgggtca cgtctctctc ggctagcacc	360
aagggcccat cggctcttccc cctggcaccc tcctccaaga gcacctctgg gggcacagcg	420

gccctgggct gcctgggtcaa ggactacttc cccgaaccgg tgacgggtgtc gtggaactca 480
ggcgccctga ccagcggcgt gcacaccttc ccggtgttcc tacagtcttc aggactctac 540
tcctcagca gcgtgggtgac cgtgccctcc agcagcttgg gcacccagac ctacatctgc 600

aacgtgaatc acaagcccag caacaccaag gtggacaaga aagttgagcc caaatcttgt 660
gacaaaactc acacatgccc accgtgccca gcacctgaac tcctgggggg accgtcagtc 720
ttctcttcc ccccaaaacc caaggacacc ctcatgatct cccggacccc tgaggtcaca 780
tgctgtgtgg tggacgtgag ccacgaagac cctgaggtca agttcaactg gtacgtggac 840
ggcgtggagg tgataatgc caagacaaag ccgctggagg agcagtacaa cagcacgtac 900
cgtgtgttca gcgtcttcac cgtctgtcac caggactggc tgaatggcaa ggagtacaag 960
tgcaaggtct ccaacaaagc cctcccagcc cccatcgaga aaaccatctc caaagccaaa 1020

gggcagcccc gagaaccaca ggtgtacacc ctgccccat cccgggagga gatgaccaag 1080
aaccaggtca gcctgacctg cctgggtcaaa ggcttctatc ccagcgacat cgccgtggag 1140
tgggagagca atgggcagcc ggagaacaac tacaagacca cgcctcccggt gctggactcc 1200
gacggctcct ttctctcta cagcaagctc accgtggaca agagcagggtg gcagcagggg 1260
aacgtcttct catgctccgt gatgcatgag gctctgcaca accactacac gcagaagagc 1320
ctctccctgt ctccgggtaa atgactcgag 1350

<210> 49
<211> 1350
<212> DNA

<213> Artificial Sequence
<220><223> nucleotide sequence of H4-heavy

<400> 49
gaggttcagc tgggtggagtc tggcgggtggc ctggtgcagc cagggggctc actccgtttg 60
tcctgtgcag ctcttggtt cacttcact gattactaca tgagctgggt gcgtcaggcc 120
ccgggtaagg gcctggaatg gttgggtttt attagaaaca aagctaattg ttacacaaca 180
gagtacagtg catctgtgaa gggtcgtttc actataagca gagataattc caaaaacaca 240
ctgtacctgc agatgaacag cctgcgtgct gaggacactg ccgtctatta ttgtgctaga 300
gataactggt ttgcttactg gggccaaggg actctggtca ccgtctctc ggctagcacc 360

aagggcccat cggcttctcc cctggcacc cctccaaga gcacctctgg gggcacagcg 420
ggcctgggct gcctgggtcaa ggactacttc cccgaaccgg tgacgggtgtc gtggaactca 480
ggcgccctga ccagcggcgt gcacaccttc ccggtgttcc tacagtcttc aggactctac 540

tccctcagca gcgtggtgac cgtgccctcc agcagcttgg gcacccagac ctacatctgc	600
aacgtgaatc acaagcccag caacaccaag gtggacaaga aagttgagcc caaatcttgt	660
gacaaaactc acacatgccc accgtgccca gcacctgaac tcctgggggg accgtcagtc	720
ttctcttcc ccccaaaacc caaggacacc ctcatgatct cccggacccc tgaggtcaca	780
tgctggtgg tggacgtgag ccacgaagac cctgaggta agttcaactg gtacgtggac	840
ggcgtggagg tgcataatgc caagacaaag ccgcgaggagg agcagtacaa cagcacgtac	900
cgtgtggtca gcgtcctcac cgtcctgcac caggactggc tgaatggcaa ggagtacaag	960
tgcaaggtct ccaacaaagc cctcccagcc cccatcgaga aaaccatctc caaagccaaa	1020
gggcagcccc gagaaccaca ggtgtacacc ctgccccat cccgggagga gatgaccaag	1080
aaccaggtca gcctgacctg cctggtcaaa ggcttctatc ccagcgacat cgcctggag	1140
tgggagagca atgggcagcc ggagaacaac tacaagacca cgcctccctg gctggactcc	1200
gacggctcct tcttctcta cagcaagctc accgtggaca agagcaggtg gcagcagggg	1260
aacgtcttct catgctccgt gatgcatgag gctctgcaca accactacac gcagaagagc	1320
ctctccctgt 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
tgccaccagc agaaaccagg acagctcct aagatgctca ttatttgggc atctaccgg	180
gtatccgggg tccctgaccg attcagtggc agcgggtctg ggacagattt cactctcacc	240
atcagcagcc tgcaggtga agatgtggca gtttattact gtcagcaatc ctatagtgt	300
cctctcacgt tcggaggcgg taccaaggtg gagatcaaac gtacggtggc tgcacatct	360
gtcttcactt tcccgcacg tgatgagcag ttgaaatctg gaactgcctc tgttgtgtgc	420
ctgtgaata 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 gccggcctcc 60

atctcctgca agtccagtc gagtctttta gctagtggca accaaaataa ctacttgcc 120

tgccacctgc agaagccagg gcagtctcca cagatgtga tcatttgggc atccactagg 180

gtatctggag tccagacag gttcagtggc agtgggtcag gcactgattt cacactgaaa 240

atcagcaggg tggaggctga ggatgttga gtttattact gccagcagtc ctacagcgct 300

ccgctcacgt tcggacaggg taccaagctg gagctcaaac gtacggtggc tgcaccatct 360

gtcttcactt tcccgcctc 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 ctctgggcga gagggccacc 60

atcaactgca agtccagcca gagtctttta gctagcggca accaaaataa ctacttagct 120

tggtaccagc agaaaccagg acagcctcct aagctgtca ttatttgggc atctacccgg 180

gtatccgggg tccctgaccg attcagtggc agcgggtctg ggacagattt cactctcacc 240

atcagcagcc tgcaggctga agatgtggca gtttattact gtcagcaatc ctatagtgt 300

cctctcacgt tcggaggcgg taccaaggtg gagatcaaac gtacggtggc tgcaccatct 360

gtcttcactt tcccgcctc 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> 53
<211> 669
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> nucleotide sequence of H4-light
<400> 53

gatattcaga tgaccagtc cccgagctcc ctgtccgcct ctgtgggcca tagggtcacc 60
atcacctgca agtcaggta gagtctttta gctagtggca accaaaataa ctacttgccc 120

tggcaccaac agaaaccagg aaaagctccg aaaatgtga ttatttgggc atccactagg 180
glatctggag tcccttctcg cttctctgga tccgggtctg ggacggattt cactctgacc 240
atcagcagtc tgcagccgga agacttcgca acttattact gtcagcagtc ctacagcgt 300
ccgctcagct tcggacaggg taccaagggtg gagatcaaac gtacgggtggc tgcacatct 360
gtcttcatct 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> 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
aacggttaca ctaccgaata ttctgcttct gttaagggtg gattcacat ttctagagac	240
aactctaaga acaccttgta cttgcaaatg aactccttga gagctgaaga tactgctgtt	300
tattactgcg ctagagataa ttggtttgct tattgggggc aaggtacttt ggttactgtt	360
tcttctggcc tcgggggcct cggaggagga ggtagtggcg gaggaggctc cggatggatcc	420
agcgggtgtg gttccgatat tcaaatgacc caatctccat cttctttgtc tgcttcagtt	480
ggtgatagag ttaccattac ttgtaagtcc tccaatctt tgttggcttc tggtaatcag	540
aacaattact tggcttgcca tcaacaaaaa ccaggtaaag ctccaaagat gttgattatt	600
tgggcttcta ccagagtttc tgggtttcca tctagatttt ctggttctgg ttccggtact	660
gattttactt tgaccatttc atccttgcaa ccagaagatt tcgtactta ctactgtcaa	720
caatcttact ctgctccatt gacttttgggt caaggtaaaa aggtcgaaat caagagagaa	780
ttcggtgaagc ctatccctaa ccctctcttc ggtctcgatt ctacgggtgg tggatgatct	840
ggtgggtgggt gtcttgggtg tgggtggttct caggaaactga caactatatg cgagcaaate	900
ccctcaccaa ctttagaatc gacgccgtac tctttgtcaa cgactactat ttggccaac	960
gggaaggcaa tgcaaggagt ttttgaatat tacaatcag taacgtttgt 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 cctccgaag gaagactctc ctccgtgcgt	60
cctcgtcttc accggtcgcg ttctgaaac gcagatgtgc ctgcgccgc actgctccga	120
acaataaaga ttctacaata ctagctttta tggttatgaa gaggaaaaat tggcagtaac	180
ctggccccac aaaccttcaa atgaacgaat caaattaaca accataggat gataatgcga	240
ttagtttttt agccttattt ctggggtaat taatcagcga agcgaatgatt ttgatctat	300
taacagatat ataatgcaa aaactgcata accactttaa ctaatacttt caacattttc	360
ggtttgtatt acttcttatt caaatgtaat aaaagtatca acaaaaaatt gttaataatac	420
ctctatactt taacgtcaag gaaaaaaac cccggatcgg actactagca gctgtaatac	480
gactcactat agggaatatt aagctaattc tacttcatac attttcaatt aagatgcagt	540
tacttcgctg tttttcaata ttttctgtta ttgctagcgt tttagcagaa gttcaattgg	600
ttgaatctgg tgggtgtttg gttcaaccag gtggttcttt gagattgtct tgtgctgctt	660
ctggttttac ttaccatgatt tattacatgt cctgggttag acaagctcca ggtaaagggt	720
tggaatgggt gggtttcatt agaaacaagg ctaacggta cactaccgaa tattctgctt	780
ctgttaaggg tagattcacc atttctagag acaactctaa gaacaccttg tacttgcaaa	840
tgaactcctt gagagctgaa gatactgctg tttattactg cgctagagat aattggtttg	900
cttattgggg tcaaggtact ttggttactg tttcttctgg cctcgggggc ctcgaggag	960
gaggtagtgg cggaggaggc tccggtggat ccagcgggtg gggttccgat attcaaatga	1020
cccaatctcc atcttctttg tctgcttcag ttggtgatag agttaccatt acttgtaagt	1080
cctccaatc tttgttggct tctggtatc agaacaatta cttggcttgg catcaacaaa	1140
aaccaggtaa agctccaaag atgttgattt tttgggcttc taccagagtt tctgggttcc	1200
catctagatt tttcgttctt ggttccggtc 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 attttgcca acgggaaggc aatgcaagga gtttttgaat	1560
attacaaatc agtaacgttt gtcagtaatt gcggttctca cccctcaaca actagcaaag	1620
gcagcccat aaacacacag tatgtttttt gagtttaaac ccgctgatct gataacaaca	1680
gigtataggt aaaaaatcg actttgttcc cactgtactt ttagctcgta caaaatacaa	1740

tatacttttc atttctccgt aaacaacatg ttttcccatg taatatacctt ttctattttt	1800
cgttccgtta ccaactttac acatacttta tatagctatt cacttctata cactaaaaaa	1860
ctaagacaat tttaatTTTg ctgcctgccca tatttcaatt tgttataaat tcctataatt	1920
tatcctatta gtagctaaaa aaagatgaat gtgaatcgaa tcctaagaga attgggcaag	1980
tgcacaaaca atactttaat aaatactact cagtaataac ctatttctta gcatttttga	2040
cgaaatttgc tattttgtta gagtctttta caccatttgt ctccacacct ccgcttacat	2100
caacaccaat aacgccattt aatctaagcg catcaccaac attttctggc gtcagtcac	2160
cagctaacat aaaatgtaag ctctcggggc tctcttgccct tccaaccag tcagaaatcg	2220
agttccaatc caaaagtcca cctgtcccac ctgcttctga atcaacaag ggaataaacg	2280
aatgaggttt ctgtgaagct gcactgagta gtatgttgca gtcttttgga aatacgagtc	2340
ttttaataac tggcaaaccg aggaactctt ggtattcttg ccacgactca tctccgtgca	2400
gttggacgat atcaatgccg taatcattga ccagagccaa aacatcctcc ttaggttgat	2460
tacgaaacac gccaccaag tatttcggag tgctgaact attttatat gcttttacia	2520
gacttgaaat tttccttgca ataaccgggt caattgttct ctttctattg ggcacacata	2580
taataccag caagtcagca tcggaatcta gagcacattc tgcggcctct gtgctctgca	2640
agccgcaaac tttaccaat ggaccagaac tacctgtgaa attaataaca gacatactcc	2700
aagctgcctt tgtgtgctta atcacgtata ctacgtgct caatagtcac caatgcctc	2760
cctcttgccc ctctcctttt cttttttcga ccgaatttct tgaagacgaa agggcctcgt	2820
gatacgcta tttttatagg ttaatgtcat gataataatg gtttcttagg acggatcgct	2880
tgctgtaac ttacacgcgc ctctgtatctt ttaatgatgg aataatttgg gaatttactc	2940
tgtgtttatt tatttttatg ttttgtattt ggattttaga aagtaaataa agaaggtaga	3000
agagttacgg aatgaagaaa aaaaaataaa caaaggttta aaaaatttca acaaaaagcg	3060
tactttacat atatatttat tagacaagaa aagcagatta aatagatata cattcgatta	3120
acgataagta aaatgtaaaa tcacaggatt ttcgtgtgtg gtcttctaca cagacaagat	3180
gaaacaattc ggcattaata cctgagagca ggaagagcaa gataaaagggt agtatttgtt	3240
ggcgatcccc ctagagtctt ttacatcttc ggaaaacaaa aactattttt tctttaattt	3300
ctttttttac tttctatttt taatttataat atttatatta aaaaatttaa attataatta	3360
tttttatagc acgtgatgaa aaggacccag gtggcacttt tcggggaaat gtgcgcggaa	3420
ccccatttgg tttatttttc taaatacatt caaatatgta tccgtctatg agacaataac	3480
cctgataaat gcttcaataa tattgaaaaa ggaagagtat gagtattcaa catttccgtg	3540
tcgcccttat tccctttttt gcggcatttt gccttctgt ttttgctcac ccagaaacgc	3600

tggtgaaagt aaaagatgct gaagatcagt tgggtgcacg agtgggttac atcgaactgg	3660
atctcaacag cggtaaagatc cttgagagtt ttcgccccga agaacgtttt ccaatgatga	3720
gcacttttaa agttctgcta tgtggcgcgg tattatcccc tgttgacgcc gggcaagagc	3780
aactcggctc cgcatacac tattctcaga atgacttggg tgagtactca ccagtcacag	3840
aaaagcatct tacggatggc atgacagtaa gagaattatg cagtgtgcc ataaccatga	3900
gtgataacac tgcggccaac ttacttctga caacgatcgg aggaccgaag gagctaaccg	3960
cttttttgca caacatgggg gatcatgtaa ctgccttga tcgttgggaa ccggagctga	4020
atgaagccat accaaacgac gagcgtgaca ccacgatgcc tgtagcaatg gcaacaacgt	4080
tgcgcaaact attaaactggc gaactactta ctctagcttc ccggcaacaa ttaatagact	4140
ggatggaggc ggataaagtt gcaggaccac ttctgcgtc ggcccttccg gctggctggg	4200
ttattgctga taaatctgga gccggtgagc gtgggtctcg cggtatcatt gcagcactgg	4260
ggccagatgg taagccctcc cgtatcgtag ttatctacac gacgggcagt caggcaacta	4320
tggatgaacg aaatagacag atcgtgaga taggtgcctc actgattaag catttgtaac	4380
tgtcagacca agtttacta tatatacttt agattgattt aaaacttcat ttttaattta	4440
aaaggatcta ggtaagatc ctttttgata atctcatgac caaaatccct taacgtgagt	4500
tttcgttcca ctgagcgtca gacccgtag aaaagatcaa aggatcttct tgagatcctt	4560
ttttctcgcg cgtaatctgc tgcttgcaaa caaaaaaacc accgtacca gcggtggttt	4620
gtttgccgga tcaagagcta ccaactcttt ttccgaaggt aactggcttc agcagagcgc	4680
agataccaaa tactgtcctt ctagtgtagc cgtagttagg ccaccacttc aagaactctg	4740
tagcaccgcc tacatacttc gctctgctaa tctgtttacc agtggctgct gccagtggcg	4800
ataagtcgtg tcttaccggg ttggactcaa gacgatagtt accggataag gcgcagcggg	4860
cgggctgaac ggggggttcg tgcacacagc ccagcttggg gcgaacgacc tacaccgaac	4920
tgagatacct acagcgtgag cattgagaaa gcgccacgt tcccgaaggg agaaaggcgg	4980
acaggtatcc ggtaagcggc agggctcggaa caggagagcg cacgaggag cttccagggg	5040
ggaacgcctg gtatctttat agtctgtcg ggtttcgcca cctctgactt gagcgtcgat	5100
tttttgatg ctctcaggg gggccgagcc tatggaaaaa cgccagcaac gcggcctttt	5160
tacggttctt ggctttttg tggccttttg ctacatgtt ctttctgcg ttatccctg	5220
attctgtgga taaccgtatt accgcctttg agtgagctga taccgctcgc cgcagccgaa	5280
cgaccgagcg cagcgagtca gtgagcgagg aagcgggaaga gcgccaata cgcaaaccgc	5340
ctctccccgc gcgttggccg attcattaat gcagctggca cgacaggttt cccgactgga	5400
aagcgggcag tgagcgcaac gcaattaatg tgagttacct cactcattag gcacccagg	5460

ctttacactt tatgcttccg gctcctatgt tgtgtggaat tgtgagcgga taacaatttc 5520

acacaggaaa 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 cggtatctgg tacctgtgga gatatccaga tgaccagtc cccgagctcc 120

ctgtccgcct ctgtgggcga tagggtcacc atcacctgca agtccagtca gagtctttta 180

gctagtggca accaaaataa ctacttgcc tggcaccaac agaaaccagg aaaagctccg 240

aaaatgctga ttatttgggc atccactagg gtatctggag tcccttctcg cttctctgga 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 ctgtggcgga tagggtcacc atcacctgca agtcagtc gagtctttta 180
gctagtggca accaaaataa ctacttggcc tggcaccaac agaaaccagg aaaagctccg 240

aaaatgctga ttatttgggc atccactagg gtatctggag tcccttctcg cttctctgga 300
tccgggtctg ggacggattt cactctgacc atcagcagtc tgcagccgga agacttcgca 360
acttattact gtgggcagtc 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 aggccaggt cctcatgttg 60

ctgctgctat cggtatctgg tacctgtgga gatatccaga tgaccagtc cccgagctcc 120
ctgtccgct ctgtggcgga tagggtcacc atcacctgca agtcagtc 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 aggccaggt cctcatgttg 60
ctgctgctat cggtatctgg tacctgtgga gatatccaga tgaccagtc cccgagctcc 120
ctgtccgct ctgtggcgga tagggtcacc atcacctgca agtcagtc gagtctttta 180
gctagtggca accaaaataa ctacttggcc tggcaccaac agaaaccagg aaaagctccg 240

aaaatgctga ttatttgggc atccactagg gtatctggag tcccttctcg ctctcttgga 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
 370 375 380
 Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
 385 390 395 400
 Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
 405 410 415

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

420

425

430

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

435

440

445

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

450

455

460

<210> 63

<211> 1410

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

<400> 63

gaattcgccg ccaccatgga atggagctgg gtttttctcg taacactttt aaatggtatc 60

cagtgtgagg ttcagctggt ggagctctggc ggtggcctgg tgcagccagg gggctcactc 120

cgtttgctct gtgcagcttc tggcttcacc ttactgatt actacatgag ctgggtgcgt 180

caggccccgg gtaagggcct ggaatggttg ggttttatta gaaacaaagc taatggttac 240

acaacagagt acagtgcac tgtgaagggt cgtttacta taagcagaga taattccaaa 300

aacacactgt acctgcagat gaacagcctg cgtgctgagg aactgccgt ctattattgt 360

gctagagata actggtttgc ttactggggc caagggactc tggtcaccgt ctctcgggt 420

agcaccaagg gcccatcggt cttccccctg gcacctcct ccaagagcac ctctgggggc 480

acagcggccc tgggctgcct ggtcaaggac tacttccccg aaccggtgac ggtgtcgtgg 540

aactcaggcg cctgaccag cggcgtgcac accttcccgg ctgtcctaca gtctcagga 600

ctctactccc tcagcagcgt ggtgaccgtg cctccagca gcttgggcac ccagacctac 660

atctgcaacg tgaatcaca gccagcaac accaaggtgg acaagaaagt tgagcccaaa 720

agctgcgatt gccactgtcc tccatgtcca gcacctgaac tcctgggggg accgtcagtc 780

ttctcttcc ccccaaaacc caaggacacc ctcatgatct cccggacccc tgaggtcaca 840

tgcgtggtgg tggacgtgag ccacgaagac cctgaggtca agttcaactg gtacgtggac 900

ggcgtggagg tgcataatgc caagacaaag ccgcgggagg agcagtaca cagcacgtac 960

cggtgtgtca gcgtctcac cgctctgcac caggactggc tgaatggcaa ggagtacaag 1020

tgcaaggtct ccaacaaagc cctccagcc cccatcgaga aaaccatctc caaagccaaa 1080

gggcagcccc gagaaccaca ggtgtacacc ctgcccccat cccgggagga gatgaccaag 1140
aaccaggtca gcctgacctg cctgttcaaa ggctttctatc ccagcgacat cgccgtggag 1200
tgggagagca atgggcagcc ggagaacaac tacaagacca cgcctcccggt gctggactcc 1260
gacggctcct tcttcctcta cagcaagctc accgtggaca agagcaggtg gcagcagggg 1320
aacgtcttct catgctccgt 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 aaatggatc	60
cagtgtgagg ttcagctggt ggagctctgg ggtggcctgg tgcagccagg gggctcactc	120
cgtttgtcct gtgcagcttc tggcttcacc ttactgatt actacatgag ctgggtgcgt	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 ctctcggct	420
agcaccaagg gcccatcgggt cttccccctg gcaccctcct ccaagagcac ctctgggggc	480
acagcggccc tgggctgcct ggtcaaggac tacttccccg aaccggtgac ggtgtcgtgg	540
aactcaggcg cctgaccag cggcgtgcac accttccccg ctgtcctaca gtctcagga	600
ctctactccc tcagcagcgt ggtgaccgtg cctccagca gcttgggcac ccagacctac	660
atctgcaacg tgaatcaca gccagcaac accaaggtgg acaagaaagt tgagaggaag	720
tgctgtgtgg agtgccccct ctgccagca cctgaactcc tgggggggacc gtcagtcttc	780
ctcttcccc caaaacccaa ggacacctc atgatctccc ggaccctga ggtcacatgc	840
gtggtggtgg acgtgagcca cgaagacct gaggtcaagt tcaactggtc cgtggacggc	900
gtggaggtgc ataattccaa gacaaagccg cgggaggagc agtacaacag cacgtaccgt	960
gtggtcagcg tcctcaccgt cctgcaccag gactggctga atggcaagga gtacaagtgc	1020

aaggtctcca acaaagccct ccagccccc atcgagaaaa ccatctccaa agccaaaggg 1080

cagccccgag aaccacaggt gtacaccctg ccccatccc gggaggagat gaccaagaac 1140

caggtcagcc tgacctgctt ggtcaaaggc ttctatccca ggcacatcgc cgtggagtgg 1200

gagagcaatg ggcagccgga gaacaactac aagaccacgc ctcccgtgct ggactccgac 1260

ggctccttct tctctacag caagtcacc gtggacaaga gcaggtggca gcagggaac 1320

gtcttctcat gtcctgtgat gcatgaggt ctgcacaacc actacacgca gaagagcctc 1380

tccctgtctc 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

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 Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser 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
Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser			
	210	215	220
Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys			
225	230	235	240
Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe			
	245	250	255
Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val			
	260	265	270
Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe			
	275	280	285
Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro			
	290	295	300
Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr			
305	310	315	320
Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val			
	325	330	335
Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr			
	340	345	350
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 gttttctcgc taacactttt aaatggtatc 60
cagtgtgagg ttcagctggt ggagctcggc ggtggcctgg tgcagccagg gggtcactc 120
cgtttgcct gtgcagcttc tggcttcacc ttcactgatt actacatgag ctgggtgcgt 180
caggccccgg gtaagggcct ggaatggttg ggttttatta gaaacaaagc taatggttac 240
acaacagagt acagtgcac tgtgaagggt cgtttcacta taagcagaga taattccaaa 300
aacacactgt acctgcagat gaacagcctg cgtgctgagg aactgccgt ctattattgt 360

gctagagata actggtttgc ttactggggc caagggactc tggtcaccgt ctctcggct 420
agcaccaagg gcccatcggt ctccccctg gcgccctgct ccaggagcac ctccgagagc 480
acagcggccc tgggctgcct ggtcaaggac tacttccccg aaccggtgac ggtgtcgtgg 540
aactcaggcg ctctgaccag cggcgtgcac accttcccag ctgtcctaca gtctcagga 600
ctctactccc tcagcagcgt ggtgaccgtg ccttcagca acttcggcac ccagacctac 660
acctgcaacg tagatcaca gccagcaac accaaggtgg acaagacagt tgagcgcaaa 720
tgttgtgtcg agtgcaccac gtgcccagca ccacctgtgg caggaccgtc agtcttctc 780

ttcccccaa aaccaagga caccctcatg atctcccga ccctgaggt cacgtgcgtg 840
tggttgacg tgagccacga agacccgag gtccagttca actggtacgt ggacggcgtg 900

gaggtgcata atgccaagac aaagccacgg gaggagcagt tcaacagcac gttccgtgtg 960
gtcagcgtcc tcaccgttgt gcaccaggac tggctgaacg gcaaggagta caagtgcaag 1020
gtctccaaca aaggcctccc agcccccatc gagaaaacca tctccaaaac caaagggcag 1080
ccccgagaac cacaggtgta caccctgccc ccatcccggg aggagatgac caagaaccag 1140
gtcagcctga cctgcctggt caaaggttc taccacgagc acatcgccgt ggagtgggag 1200

agcaatgggc agccggagaa caactacaag accacgcctc ccatgctgga ctccgacggc 1260
tcctttcttc tctacagcaa gctcaccgtg gacaagagca ggtggcagca ggggaacgtc 1320
ttctcatgct ccgtgatgca tgaggtcttg cacaaccact acacgcagaa gacgctctcc 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 gccgccacca tggattcaca ggcccaggtc ctcatgttgc 60

tgctgctatc ggatctctgg acctgtggag atatccagat gaccagtc ccgagctccc 120

tgtccgcctc tgtggcgat agggtcacca tcacctgcaa gtccagtcag agtcttttag 180

ctagtggcaa ccaaaataac tacttggcct ggtaccaaca gaaaccagga aaagctccga 240

aaatgctgat tatttgggca tcactaggg tatctggagt ccttctcgc ttctctggat 300

ccgggtctgg gacggatttc actctgacca tcagcagtct gcagccggaa gacttcgcaa 360

cttattactg tcagcagtc tacagccgcc cgtacagtt cggacagggt accaaggtgg 420

agatcaaacg tacggtggct gcaccatctg tcttcatctt cccgccatct gatgagcagt 480

tgaaatctgg aactgcctct gttgtgtgcc tgetgaataa cttctatccc agagaggcca 540

aagtacagtg gaaggtggat aacgcctcc aatcgggtaa ctcccaggag agtgtcacag 600

agcaggacag caaggacagc acctacagcc tcagcagcac cctgacgctg agcaaagcag 660
actacgagaa acacaaagtc tacgcctgcg aagtcaccca 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 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

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> 71
<211> 19
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> epitope in SEMA domain of c-Met
<400> 71

Phe Ser Pro Gln Ile Glu Glu Pro Ser Gln Cys Pro Asp Cys Val Val
1 5 10 15
Ser Ala Leu

<210> 72
<211> 10
<212> PRT

<213> Artificial Sequence
<220><223> epitope in SEMA domain of c-Met
<400> 72

Pro Gln Ile Glu Glu Pro Ser Gln Cys Pro
1 5 10

<210> 73
<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 nti-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 codon

<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 ttcactgatt actacatgag ctgggtccgc 180
cagcctccag gaaaggcact tgagtgggtg ggttttatta gaaacaaagc taatggttac 240
acaacagagt acagtgcac tgtgaagggt cggttcacca tctccagaga taattcccaa 300

agcatcctct atcttcaaat ggacaccctg agagctgagg acagtgccac ttattactgt 360
gcaagagata actggtttgc ttactggggc caagggactc tggctactgt ctctgcagct 420
agcaccaagg gcccatcggt cttccccctg gcaccctcct ccaagagcac ctctgggggc 480
acagcggccc tgggctgcct ggtcaaggac tacttccccg aaccggtgac ggtgtcgtgg 540
aactcaggcg cctgaccag cggcgtgcac accttccccg ctgtcctaca gtcctcagga 600
ctctactccc tcagcagcgt ggtgaccgtg cctccagca gcttgggcac ccagacctac 660
atctgcaacg tgaatcaca gccccagcaac accaaggtgg acaagaaagt tgagcccaaa 720

tcttgtgaca aaactcacac atgccaccg tgcccagcac ctgaactcct ggggggaccg 780
tcagtcttcc tcttcccccc aaaacccaag gacacctca tgatctccg gacctctgag 840
gtcacatgcg tgggtgtgga cgtgagccac gaagaccctg aggtcaagtt caactggtac 900
gtggacggcg tggaggtgca taatgccaag acaaagccgc gggaggagca gtacaacagc 960
acgtaccgtg tggctagcgt cctcaccgtc ctgcaccagg actggctgaa tggcaaggag 1020
tacaagtgca aggtctccaa caaagccctc ccagcccca tcgagaaaac catctccaaa 1080
gccaaagggc agccccgaga accacaggtg tacaccctgc ccccatccg ggaggagatg 1140

accaagaacc aggtcagcct gacctgcctg gtcaaaggct tctatccag cgacatcgcc 1200
gtggagtggg agagcaatgg gcagccggag aacaactaca agaccacgcc tcccgtgctg 1260

gactccgacg gctccttctt cctctacagc aagctcaccg tggacaagag caggtggcag 1320

cagggaacg 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 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 tcggtgctgg gaccaagctg	420
gagctgaaac gtacggtggc tgcaccatct gtcttcatct tcccgccatc tgatgagcag	480
ttgaaatctg gaactgcctc tgttgtgtgc ctgctgaata acttctatcc cagagaggcc	540
aaagtacagt ggaaggtgga taacgccctc caatcgggta actcccagga gagtgtcaca	600
gagcaggaca gcaaggacag cacctacagc ctacagcagca cctgacgct gagcaaagca	660
gactacgaga aacacaaagt ctacgcctgc gaagtcaccc atcagggcct gagctcgccc	720
gtcacaaga 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 cttgggtcag	60
aggagcaatg gggagtgtaa agaggcacta gcaaagtccg agatgaatgt gaatatgaag	120
tatcagcttc ccaacttcac cgcggaacaa cccatccaga atgtcattct acatgagcat	180
cacattttcc ttggtgccac taactacatt tatgttttaa atgaggaaga cttcagaag	240
gttgcgtgagt acaagactgg gcctgtgctg gaacaccagc attgtttccc atgtcaggac	300
tgcagcagca aagccaattt atcaggaggt gtttggaaag ataacatcaa catggctcta	360
gttgtcgaca cctactatga tgatcaactc attagctgtg gcagcgtcaa cagagggacc	420
tgccagcgac atgtctttcc ccacaatcat actgtgaca tacagtcgga ggttcaactgc	480
atattctccc cacagataga agagcccagc cagtgtcctg actgtgtggt gagcgccctg	540
ggagccaaag tcctttcctc tgtaaaggac cggttcatca acttctttgt aggcaatacc	600
ataaattctt cttatttccc agatcatcca ttgcattcga tatcagttag aaggctaaag	660
gaaacgaaag atggttttat gtttttgacg gaccagtcct acattgatgt ttacctgag	720
ttcagagatt cttaccccat taagtatgtc catgcctttg aaagcaacaa ttttatttac	780
ttcttgacgg tccaaaggga aactctagat gctcagactt ttcacacaag aataatcagg	840

ttctgttcca taaactctgg attgcattcc tacatggaaa tgcctctgga gtgtattctc	900
acagaaaaga gaaaaaagag atccacaaag aaggaagtgt ttaatatact tcaggctgcg	960
tatgtcagca agcctggggc ccagcttgct agacaaatag gagccagcct gaatgatgac	1020
attcttttcg ggggtgttcgc acaaagcaag ccagattctg ccgaaccaat ggatcgatct	1080
gccatgtgtg cattccctat caaatatgtc aacgacttct tcaacaagat cgtcaacaaa	1140
aacaatgtga gatgtctcca gcatttttac ggaccaatc atgagcactg ctttaatagg	1200
acacttctga gaaattcatc aggctgtgaa gcgcgccgtg atgaatatcg aacagagttt	1260
accacagctt tgcagcgcgt tgacttattc atgggtcaat tcagcgaagt cctcttaaca	1320
tctatatcca ccttcattaa aggagacctc accatagcta atcttgggac atcagagggt	1380
cgcttcatgc aggttgttgt ttctcgatca ggaccatcaa cccctcatgt gaattttctc	1440
ctggactccc atccagtgtc tccagaagtg attgtggagc atacattaaa ccaaaatggc	1500
tacacactgg ttatcactgg gaagaagatc acgaagatcc cattgaatgg cttgggctgc	1560
agacatttcc agtcctgcag tcaatgcctc tctgccccac cttttgttca gtgtggctgg	1620
tgccacgaca aatgtgtgcg atcggaggaa tgcctgagcg ggacatggac tcaacagatc	1680
tgtctgcctg caatctacaa ggttttccca aatagtgcac cccttgaagg agggacaagg	1740
ctgaccatat gtggctggga ctttggattt cggaggaata ataaatttga tttaaagaaa	1800
actagagttc tecttggaaa tgagagctgc accttgactt taagtgagag cacgatgaat	1860
acattgaaat gcacagttag tctgccatg aataagcatt tcaatatgtc cataattatt	1920
tcaaattggc acgggacaac acaatacagt acatttctct atgtggatcc tgtaataaca	1980
agtatttctc cgaaatacgg tctatggct ggtggcactt tacttacttt aactggaaat	2040
tacctaaaca gtgggaattc tagacacatt tcaattggtg gaaaaacatg tactttaaaa	2100
agtgtgtcaa acagtattct tgaatgttat accccagccc aaaccatttc aactgagttt	2160
gctgttaaat tgaaaattga cttagccaac cgagagacaa gcattctcag ttaccgtgaa	2220
gatccattg tctatgaaat tcatccaacc aaatctttta ttagtgggtg gagcacaata	2280
acagggtgtg ggaaaaacct gaattcagtt agtgtccga gaatggtcat aaatgtgcat	2340
gaagcaggaa ggaactttac agtggcatgt caacatcgct ctaattcaga gataatctgt	2400
tgtaccactc ctccctgca acagctgaat ctgcaactcc cctgaaaac caaagccttt	2460
ttcatgttag atgggatcct ttccaaatac ttgatctca tttatgtaca taatcctgtg	2520
tttaagcctt ttgaaaagcc agtgatgatc tcaatgggca atgaaaatgt actggaaatt	2580
aagggaatg atattgacct tgaagcagtt aaaggtgaag tgttaaaagt tggaaataag	2640
agctgtgaga atatacactt acattctgaa gccgttttat gcacgggtccc caatgacctg	2700

ctgaaattga acagcgagct aaatatagag tggaagcaag caatttcttc aaccgtcctt 2760

ggaaaagtaa tagttcaacc agatcagaat ttcacaggat tgattgctgg tgttgctca 2820

atatcaacag cactgttatt actacttggg tttttcctgt ggctgaaaa gagaaagcaa 2880

attaaagatc tgggcagtga attagtctgc tacgatgcaa gactacacac tcctcatttg 2940

gataggcttg taagtgtccg aagtgtgagc ccaactacag aaatggtttc aaatgaatct 3000

gtagactacc gagctacttt tccagaagat cagtttccta attcatctca gaacggttca 3060

tgccgacaag tgcagtatcc tctgacagac atgtcccca tcctaactag tggggactct 3120

gatatatcca gtccattact gcaaaatact gtccacattg acctcagtgc tctaaatcca 3180

gagctggctc aggcagtgc gcatgtagt attgggcca gtagcctgat tgtgcatttc 3240

aatgaagtca taggaagagg gcattttggt tgtgtatct atgggacttt gttggacaat 3300

gatggcaaga aaattcactg tgctgtgaaa tcttgaaca gaatcactga cataggagaa 3360

gtttcccaat ttctgaccga gggaatcatc atgaaagatt ttagtcatcc caatgtctc 3420

tgcctcctgg gaatctgcct gcgaagtga gggtctccgc tgggtgtcct accatacatg 3480

aaacatggag atcttcgaaa ttctattcga 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 gaagtggatg gctttggaaa gtctgcaaac tcaaaagttt 3780

accaccaagt cagatgtgtg gtctttggc gtgctctct gggagctgat gacaagagga 3840

gccccacctt atcctgacgt aaacaccttt gatataactg ttactttgtt gcaagggaga 3900

agactcctac aaccgaata ctgccagac cccttatatg aagtaatgct aaaatgctgg 3960

caccetaaag ccgaaatgcg cccatccttt tctgaactgg tgtcccgat atcagcgatc 4020

ttctctactt tcattgggga gcactatgtc catgtgaacg ctacttatgt gaacgtaaaa 4080

tgtgtcgtc cgtatccttc tctgtgtca tcagaagata acgctgatga tgaggtggac 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
 180 185 190
 Tyr Val His Ala Phe Glu Ser Asn Asn Phe Ile Tyr Phe Leu Thr Val
 195 200 205
 Gln Arg Glu Thr Leu Asp Ala Gln Thr Phe His Thr Arg Ile Ile Arg
 210 215 220
 Phe Cys Ser Ile Asn Ser Gly Leu His Ser Tyr Met Glu Met Pro Leu
 225 230 235 240
 Glu Cys Ile Leu Thr Glu Lys Arg Lys Lys Arg Ser Thr Lys Lys Glu

245 250 255
 Val Phe Asn Ile Leu Gln Ala Ala Tyr Val Ser Lys Pro Gly Ala Gln
 260 265 270
 Leu Ala Arg Gln Ile Gly Ala Ser Leu Asn Asp Asp Ile Leu Phe Gly
 275 280 285
 Val Phe Ala Gln Ser Lys Pro Asp Ser Ala Glu Pro Met Asp Arg Ser
 290 295 300
 Ala Met Cys Ala Phe Pro Ile Lys Tyr Val Asn Asp Phe Phe Asn Lys

 305 310 315 320
 Ile Val Asn Lys Asn Asn Val Arg Cys Leu Gln His Phe Tyr Gly Pro
 325 330 335
 Asn His Glu His Cys Phe Asn Arg Thr Leu Leu Arg Asn Ser Ser Gly
 340 345 350
 Cys Glu Ala Arg Arg Asp Glu Tyr Arg Thr Glu Phe Thr Thr Ala Leu
 355 360 365
 Gln Arg Val Asp Leu Phe Met Gly Gln Phe Ser Glu Val Leu Leu Thr
 370 375 380

 Ser Ile Ser Thr Phe Ile Lys Gly Asp Leu Thr Ile Ala Asn Leu Gly
 385 390 395 400
 Thr Ser Glu Gly Arg Phe Met Gln Val Val Val Ser Arg Ser Gly Pro
 405 410 415
 Ser Thr Pro His Val Asn Phe Leu Leu Asp Ser His Pro Val Ser Pro
 420 425 430
 Glu Val Ile Val Glu His Thr Leu Asn Gln Asn Gly
 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
 435 440 445
 Phe Thr Gly
 450
 <210> 81
 <211> 313
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> TyrKc domain of c-Met
 <400> 81
 Val His Phe Asn Glu Val Ile Gly Arg Gly His Phe Gly Cys Val Tyr

1	5	10	15
His Gly Thr Leu Leu Asp Asn Asp Gly Lys Lys Ile His Cys Ala Val			
20	25	30	
Lys Ser Leu Asn Arg Ile Thr Asp Ile Gly Glu Val Ser Gln Phe Leu			
35	40	45	
Thr Glu Gly Ile Ile Met Lys Asp Phe Ser His Pro Asn Val Leu Ser			
50	55	60	
Leu Leu Gly Ile Cys Leu Arg Ser Glu Gly Ser Pro Leu Val Val Leu			
65	70	75	80
Pro Tyr Met Lys His Gly Asp Leu Arg Asn Phe Ile Arg Asn Glu Thr			
85	90	95	
His Asn Pro Thr Val Lys Asp Leu Ile Gly Phe Gly Leu Gln Val Ala			
100	105	110	
Lys Gly Met Lys Tyr Leu Ala Ser Lys Lys Phe Val His Arg Asp Leu			
115	120	125	
Ala Ala Arg Asn Cys Met Leu Asp Glu Lys Phe Thr Val Lys Val Ala			
130	135	140	
Asp Phe Gly Leu Ala Arg Asp Met Tyr Asp Lys Glu Tyr Tyr Ser Val			
145	150	155	160
His Asn Lys Thr Gly Ala Lys Leu Pro Val Lys Trp Met Ala Leu Glu			
165	170	175	
Ser Leu Gln Thr Gln Lys Phe Thr Thr Lys Ser Asp Val Trp Ser Phe			
180	185	190	
Gly Val Leu Leu Trp Glu Leu Met Thr Arg Gly Ala Pro Pro Tyr Pro			
195	200	205	
Asp Val Asn Thr Phe Asp Ile Thr Val Tyr Leu Leu Gln Gly Arg Arg			
210	215	220	
Leu Leu Gln Pro Glu Tyr Cys Pro Asp Pro Leu Tyr Glu Val Met Leu			
225	230	235	240
Lys Cys Trp His Pro Lys Ala Glu Met Arg Pro Ser Phe Ser Glu Leu			
245	250	255	

Val Ser Arg Ile Ser Ala Ile Phe Ser Thr Phe Ile Gly Glu His Tyr
 260 265 270
 Val His Val Asn Ala Thr Tyr Val Asn Val Lys Cys Val Ala Pro Tyr
 275 280 285
 Pro Ser Leu Leu Ser Ser Glu Asp Asn Ala Asp Asp Glu Val Asp Thr
 290 295 300

Arg Pro Ala Ser Phe Trp Glu Thr Ser
 305 310

<210> 82
 <211> 1332
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> polynucleotide encoding SEMA domain of c-Met
 <400> 82

ctacatgagc atcacatttt ccttggtgcc actaactaca tttatgtttt aaatgaggaa	60
gaccttcaga aggttgctga gtacaagact gggcctgtgc tggaacaccc agattgtttc	120
ccatgtcagg actgcagcag caaagccaat ttatcaggag gtgtttggaa agataacatc	180
aacatggctc tagttgtcga cacctactat gatgatcaac tcattagctg tggcagcgtc	240
aacagaggga cctgccagcg acatgtcttt cccacacaatc atactgctga catacagtcg	300
gaggttcact gcatattctc cccacagata gaagagccca gccagtgtcc tgactgtgtg	360
gtgagcgccc tgggagccaa agtcctttca tctgtaaagg accggttcac caacttcttt	420
gtaggcaata ccataaatc ttcttatttc ccagatcacc cattgcattc gatatcagtg	480
agaaggctaa aggaaacgaa agatggtttt atgtttttga cggaccagtc ctacattgat	540
gttttacctg agttcagaga ttcttacctt attaatgatg tccatgcctt tgaaagcaac	600
aattttatct acttcttgac ggtccaaagg gaaactctag atgctcagac ttttcacaca	660
agaataatca ggttctgttc cataaactct ggattgcatt cctacatgga aatgcctctg	720
gagtgtattc tcacagaaaa gagaaaaaag agatccacaa agaaggaagt gtttaataata	780
cttcaggctg cgtatgtcag caagcctggg gccagcttg ctagacaaat aggagccagc	840
ctgaatgatg acattctttt cggggtgttc gcacaaagca agccagattc tgccgaacca	900
atggatcgat ctgccatgtg tgcattccct atcaaataatg tcaacgactt cttcaacaag	960
atcgtcaaca aaaacaatgt gagatgtctc cagcattttt acggacccaa tcatgagcac	1020

tgctttaata ggacacttct gagaaattca tcaggctgtg aagcgcgccg tgatgaatat	1080
cgaacagagt ttaccacagc ttgacagcgc gttgacttat tcatgggtca attcagcgaa	1140
gtcctcttaa catctatata caccctcatt aaaggagacc tcaccatagc taatcttggg	1200
acatcagagg gtcgcttcat gcaggttgtg gtttctcgat caggaccatc aaccctcat	1260
gtgaattttc tcttggaact ccattccagt tctccagaag tgattgtgga gcatacatta	1320
aacaaaaatg 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 ctgggctgc	60
agacatttcc agtctgcag tcaatgcctc tctgccccac ctttgttca gtgtggctgg	120
tgccacgaca aatgtgtcgc atcggaggaa tgcctgagcg ggacatggac tcaacagatc	180
tgtctgcctg caatctacaa ggttttccca aatagtgcac cccttgaagg agggacaagg	240
ctgaccatat gtggctggga ctttggattt cggaggaata ataaatttga tttaaagaaa	300
actagagttc tcttggaaa tgagagctgc accttgactt taagtgagag cacgatgaat	360
acattgaaat gcacagtgg tctgccatg aataagcatt tcaatatgtc cataattatt	420
tcaaatggcc acgggacaac acaatacagt acattctcct atgtggatcc tgtaataaca	480
agtatttcgc cgaataacgg tctataggct ggtggcactt tacttacttt aactggaaat	540
tacctaaaca gtgggaattc tagacacatt tcaattgggtg gaaaaacatg tactttaaaa	600
agtgtgtcaa acagtattct tgaatgttat accccagccc aaaccatttc aactgagttt	660
gctgttaaat tgaaaattga cttagccaac cgagagacaa gcattctcag ttaccgtgaa	720
gateccattg tctatgaaat tcatccaacc aaatctttta ttagtggtgg gagcacaata	780
acagggtgtg ggaaaaacct gaattcagtt agtgtccga gaatggatcat aaatgtgcat	840
gaagcaggaa ggaactttac agtggcatgt caacatcgct ctaattcaga gataatctgt	900
tgtaccactc ctccctgca acagctgaat ctgcaactcc cctgaaaac caaagccttt	960
ttcatgttag atgggatcct ttcaaatac ttgatctca tttatgtaca taatcctgtg	1020
tttaagcctt ttgaaaagcc agtgaatgac tcaatgggca atgaaaatgt actggaaatt	1080
aagggaatg atattgacct tgaagcagtt aaaggtgaag tgttaaaagt tggaaataag	1140

agctgtgaga atatacactt acattctgaa gccgttttat gcacgggtccc caatgacctg 1200
ctgaaattga acagcgagct aaatatagag tggaagcaag caatttcttc aaccgtcctt 1260

ggaaaaagtaa 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 cattttggtt gtgtatatca tgggactttg 60
ttggacaatg atggcaagaa aattcactgt gctgtgaaat ccttgaacag aatcactgac 120
ataggagaag ttcccgaatt tctgaccgag ggaatcatca tgaaagattt tagtcatccc 180
aatgtcctct cgctcctggg aatctgcctg cgaagtgaag ggtctccgct ggtggtccta 240

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

caaggggagaa gactcctaca acccgaatac tgcccagacc ctttatatga agtaatgcta 720
aaatgctggc accctaaagc cgaaatgcgc ccatcctttt ctgaactggt gtcccggata 780
tcagcgatct tcctactttt cattggggag cactatgtcc atgtgaacgc tacttatgtg 840
aacgtaaaat gtgtcgtcc gtatccttct ctgttgcac 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

65 70 75 80

Leu Tyr Leu Gln Met Asp Thr 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 Ala

115

<210> 88

<211> 114
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> light chain variable region of anti-c-Met antibody
 <400> 88

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

1	5	10	15
Glu Lys Val Thr Met Ser 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 Arg			
	35	40	45
Ser 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 Asn Ser Val Gln Ala Glu Asp Leu Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln			
	85	90	95
Ser Tyr Ser Ala Pro Leu Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu			
	100	105	110
Lys Arg			

<210> 89
 <211> 17
 <212> PRT
 <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
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> 93

<211> 117

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> heavy chain variable region of AT-VH4

<400> 93

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 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> 94

<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

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

 \angle

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

 \angle

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
 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 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 Cys
210 215 220

<210> 109

<211> 442

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> heavy chain of anti-c-Met antibody 1

<400> 109

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

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

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

Ala Arg Ala Asn Trp Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr
100 105 110

Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro
115 120 125

Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val
130 135 140

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

145 150 155 160

Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly
165 170 175

Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly
180 185 190

Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys
195 200 205

Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys
210 215 220

Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
225 230 235 240

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
245 250 255

Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp
260 265 270

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
275 280 285

Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu

290 295 300

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
305 310 315 320

Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
325 330 335

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu
340 345 350

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
355 360 365

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
370 375 380

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
385 390 395 400

Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn
405 410 415

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
420 425 430

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys

435 440

<210> 110

<211> 215

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> light chain of anti-c-Met antibody 1

<400> 110

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 Ser Val Ser Ser Ser Val Ser Ser Ile
20 25 30

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

Ile Tyr Ser Thr Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser
50 55 60

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

Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Val Tyr Ser Gly Tyr Pro
85 90 95

Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala
100 105 110

Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser

115 120 125
Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu
130 135 140
Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser
145 150 155 160
Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu
165 170 175
Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val
180 185 190

Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys
195 200 205
Ser Phe Asn Arg Gly Asp Cys
210 215

<210> 111

<211> 446

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> heavy chain of anti-c-Met antibody 2

<400> 111

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

20 25 30
Thr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Asp Trp Met
35 40 45
Gly Gly Ile Lys Pro Asn Asn Gly Leu Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60
Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Val Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85	90	95
Ala Arg Ser Glu Ile Thr Thr Glu Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr		
100	105	110
Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro		
115	120	125
Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly		
130	135	140
Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn		
145	150	155
160		
Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln		
165	170	175
Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser		
180	185	190
Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser		
195	200	205
Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Cys His		
210	215	220
Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe		
225	230	235
240		
Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro		
245	250	255
Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val		
260	265	270
Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr		
275	280	285
Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val		
290	295	300
Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys		
305	310	315
320		
Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser		
325	330	335

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
 340 345 350
 Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val
 355 360 365
 Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
 370 375 380

 Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
 385 390 395 400
 Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
 405 410 415
 Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
 420 425 430
 Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 435 440 445
 <210> 112
 <211
 > 218
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> light chain of anti-c-Met antibody 2
 <400> 112
 Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
 1 5 10 15
 Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Arg Ser Ser Glu Ser Val Asp Ser Tyr
 20 25 30
 Ala Asn Ser Phe Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro
 35 40 45
 Lys Leu Leu Ile Tyr Arg Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val Pro Asp

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

Glu Asp Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
100 105 110
Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
115 120 125
Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
130 135 140
Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
145 150 155 160
Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
165 170 175
Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys
180 185 190
His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
195 200 205
Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

【심사관 직권보정사항】

【직권보정 1】

【보정항목】 청구범위

【보정세부항목】 청구항 14

【변경전】

IGF-1R 저해제를 포함하는, c-Met 저해제에 대한 저항성 치료를 위한 약학 조성물로서,

상기 c-Met 저해제는 c-Met 유전자 또는 단백질에 대한 항 c-Met 항체 또는 이의 항원 결합 단편이며, 상기 항 c-Met 항체는 서열번호 1의 아미노산 서열로 이루어진 CDR-H1, 서열번호 2의 아미노산 서열로 이루어진 CDR-H2, 서열번호 3의 아미노산 서열로 이루어진 CDR-H3, 서열번호 10의 아미노산 서열로 이루어진 CDR-L1, 서열번호 11의 아미노산 서열로 이루어진 CDR-L2, 및 서열번호 13의 아미노산 서열로 이루어진 CDR-L3을 포함하거나,

서열번호 1의 아미노산 서열로 이루어진 CDR-H1, 서열번호 2의 아미노산 서열로 이루어진 CDR-H2, 서열번호 3의 아미노산 서열로 이루어진 CDR-H3, 서열번호 106의 아미노산 서열로 이루어진 CDR-L1, 서열번호 11의 아미노산 서열로 이루어진 CDR-L2, 및 서열번호 13의 아미노산 서열로 이루어진 CDR-L3을 포함하는 항체이고,

상기 IGF-1R 저해제는 린시티닙(Linsitinib), NVP-AEW541, GSK1904529A, NVP-ADW742, BMS-536924, 피지투무맵, 식수투무맵, 달로투주맵, R1507, XL-228, INSM-18, BMS-754807, AG-1024, GSK1838705A, PQ 401, 및 이들의 약학적으로 허용 가능한 염으로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상인, 약학 조성물.

【변경후】

IGF-1R 저해제를 포함하는, 암에서의 c-Met 저해제에 대한 저항성 치료를 위한 약학 조성물로서,

상기 c-Met 저해제는 c-Met 유전자 또는 단백질에 대한 항 c-Met 항체 또는 이의 항원 결합 단편이며, 상기 항

c-Met 항체는 서열번호 1의 아미노산 서열로 이루어진 CDR-H1, 서열번호 2의 아미노산 서열로 이루어진 CDR-H2, 서열번호 3의 아미노산 서열로 이루어진 CDR-H3, 서열번호 10의 아미노산 서열로 이루어진 CDR-L1, 서열번호 11의 아미노산 서열로 이루어진 CDR-L2, 및 서열번호 13의 아미노산 서열로 이루어진 CDR-L3을 포함하거나,

서열번호 1의 아미노산 서열로 이루어진 CDR-H1, 서열번호 2의 아미노산 서열로 이루어진 CDR-H2, 서열번호 3의 아미노산 서열로 이루어진 CDR-H3, 서열번호 106의 아미노산 서열로 이루어진 CDR-L1, 서열번호 11의 아미노산 서열로 이루어진 CDR-L2, 및 서열번호 13의 아미노산 서열로 이루어진 CDR-L3을 포함하는 항체이고,

상기 IGF-1R 저해제는 린시티닙(Linsitinib), NVP-AEW541, GSK1904529A, NVP-ADW742, BMS-536924, 피지투무맙, 식수투무맙, 달로투주맙, R1507, XL-228, INSM-18, BMS-754807, AG-1024, GSK1838705A, PQ 401, 및 이들의 약학적으로 허용 가능한 염으로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상인, 약학 조성물.

【직권보정 2】

【보정항목】 청구범위

【보정세부항목】 청구항 15

【변경전】

생물 시료 내의 IGF-1R 및 이를 암호화하는 유전자로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 수준을 측정하는 단계를 포함하는, c-Met 저해제에 대한 저항성 유도 여부의 모니터링을 위한 정보를 제공하는 방법로서,

상기 c-Met 저해제는 c-Met 유전자 또는 단백질에 대한 항 c-Met 항체 또는 이의 항원 결합 단편이며, 상기 항 c-Met 항체는 서열번호 1의 아미노산 서열로 이루어진 CDR-H1, 서열번호 2의 아미노산 서열로 이루어진 CDR-H2, 서열번호 3의 아미노산 서열로 이루어진 CDR-H3, 서열번호 10의 아미노산 서열로 이루어진 CDR-L1, 서열번호 11의 아미노산 서열로 이루어진 CDR-L2, 및 서열번호 13의 아미노산 서열로 이루어진 CDR-L3을 포함하거나,

서열번호 1의 아미노산 서열로 이루어진 CDR-H1, 서열번호 2의 아미노산 서열로 이루어진 CDR-H2, 서열번호 3의 아미노산 서열로 이루어진 CDR-H3, 서열번호 106의 아미노산 서열로 이루어진 CDR-L1, 서열번호 11의 아미노산 서열로 이루어진 CDR-L2, 및 서열번호 13의 아미노산 서열로 이루어진 CDR-L3을 포함하는 항체인, 방법.

【변경후】

생물 시료 내의 IGF-1R 및 이를 암호화하는 유전자로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 수준을 측정하는 단계를 포함하는, 암에서의 c-Met 저해제에 대한 저항성 유도 여부의 모니터링을 위한 정보를 제공하는 방법로서,

상기 c-Met 저해제는 c-Met 유전자 또는 단백질에 대한 항 c-Met 항체 또는 이의 항원 결합 단편이며, 상기 항 c-Met 항체는 서열번호 1의 아미노산 서열로 이루어진 CDR-H1, 서열번호 2의 아미노산 서열로 이루어진 CDR-H2, 서열번호 3의 아미노산 서열로 이루어진 CDR-H3, 서열번호 10의 아미노산 서열로 이루어진 CDR-L1, 서열번호 11의 아미노산 서열로 이루어진 CDR-L2, 및 서열번호 13의 아미노산 서열로 이루어진 CDR-L3을 포함하거나,

서열번호 1의 아미노산 서열로 이루어진 CDR-H1, 서열번호 2의 아미노산 서열로 이루어진 CDR-H2, 서열번호 3의 아미노산 서열로 이루어진 CDR-H3, 서열번호 106의 아미노산 서열로 이루어진 CDR-L1, 서열번호 11의 아미노산 서열로 이루어진 CDR-L2, 및 서열번호 13의 아미노산 서열로 이루어진 CDR-L3을 포함하는 항체인, 방법.

【직권보정 3】

【보정항목】 청구범위

【보정세부항목】 청구항 16

【변경전】

생물 시료 내의 IGF-1R 및 이를 암호화하는 유전자로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 수준을 측정하는 단계를 포함하는, c-Met 저해제 및 IGF-1R 저해제의 병용 투여 대상 선별을 위한 정보를 제공하는 방법으로서,

상기 c-Met 저해제는 c-Met 유전자 또는 단백질에 대한 항 c-Met 항체 또는 이의 항원 결합 단편이며, 상기 항 c-Met 항체는 서열번호 1의 아미노산 서열로 이루어진 CDR-H1, 서열번호 2의 아미노산 서열로 이루어진 CDR-H2, 서열번호 3의 아미노산 서열로 이루어진 CDR-H3, 서열번호 10의 아미노산 서열로 이루어진 CDR-L1, 서열번호 11의 아미노산 서열로 이루어진 CDR-L2, 및 서열번호 13의 아미노산 서열로 이루어진 CDR-L3을 포함하거나,

서열번호 1의 아미노산 서열로 이루어진 CDR-H1, 서열번호 2의 아미노산 서열로 이루어진 CDR-H2, 서열번호 3의 아미노산 서열로 이루어진 CDR-H3, 서열번호 106의 아미노산 서열로 이루어진 CDR-L1, 서열번호 11의 아미노산

서열로 이루어진 CDR-L2, 및 서열번호 13의 아미노산 서열로 이루어진 CDR-L3을 포함하는 항체이고,

상기 IGF-1R 저해제는 린시티닙(Linsitinib), NVP-AEW541, GSK1904529A, NVP-ADW742, BMS-536924, 피지투무맙, 식수투무맙, 달로투주맙, R1507, XL-228, INSM-18, BMS-754807, AG-1024, GSK1838705A, PQ 401, 및 이들의 약학적으로 허용 가능한 염으로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상인, 방법.

【변경후】

생물 시료 내의 IGF-1R 및 이를 암호화하는 유전자로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 수준을 측정하는 단계를 포함하는, 암에서 c-Met 저해제 및 IGF-1R 저해제의 병용 투여 대상 선별을 위한 정보를 제공하는 방법으로 서,

상기 c-Met 저해제는 c-Met 유전자 또는 단백질에 대한 항 c-Met 항체 또는 이의 항원 결합 단편이며, 상기 항 c-Met 항체는 서열번호 1의 아미노산 서열로 이루어진 CDR-H1, 서열번호 2의 아미노산 서열로 이루어진 CDR-H2, 서열번호 3의 아미노산 서열로 이루어진 CDR-H3, 서열번호 10의 아미노산 서열로 이루어진 CDR-L1, 서열번호 11의 아미노산 서열로 이루어진 CDR-L2, 및 서열번호 13의 아미노산 서열로 이루어진 CDR-L3을 포함하거나,

서열번호 1의 아미노산 서열로 이루어진 CDR-H1, 서열번호 2의 아미노산 서열로 이루어진 CDR-H2, 서열번호 3의 아미노산 서열로 이루어진 CDR-H3, 서열번호 106의 아미노산 서열로 이루어진 CDR-L1, 서열번호 11의 아미노산 서열로 이루어진 CDR-L2, 및 서열번호 13의 아미노산 서열로 이루어진 CDR-L3을 포함하는 항체이고,

상기 IGF-1R 저해제는 린시티닙(Linsitinib), NVP-AEW541, GSK1904529A, NVP-ADW742, BMS-536924, 피지투무맙, 식수투무맙, 달로투주맙, R1507, XL-228, INSM-18, BMS-754807, AG-1024, GSK1838705A, PQ 401, 및 이들의 약학적으로 허용 가능한 염으로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상인, 방법.