



(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 105050618 B

(45)授权公告日 2018.11.16

(21)申请号 201380043630.0

(22)申请日 2013.06.21

(65)同一申请的已公布的文献号  
申请公布号 CN 105050618 A

(43)申请公布日 2015.11.11

(30)优先权数据  
61/662,910 2012.06.21 US

(85)PCT国际申请进入国家阶段日  
2015.02.15

(86)PCT国际申请的申请数据  
PCT/US2013/047190 2013.06.21

(87)PCT国际申请的公布数据  
W02013/192594 EN 2013.12.27

(73)专利权人 索伦托治疗有限公司

地址 美国加利福尼亚

(72)发明人 芭芭拉·A·斯旺森 周贺钺  
张延良 兰迪·加斯特沃特

(74)专利代理机构 广州华进联合专利商标代理  
有限公司 44224

代理人 黎艳 万志香

(51)Int.Cl.  
A61K 39/395(2006.01)

(56)对比文件  
WO 2012030842 A8,2013.04.18,  
CN 101300273 A,2008.11.05,

审查员 张蕊

权利要求书1页 说明书48页 附图13页

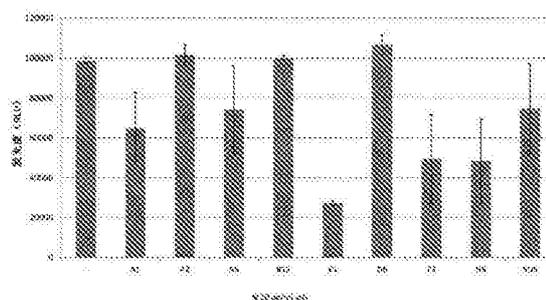
(54)发明名称

与c-Met结合的抗原结合蛋白

(57)摘要

本公开提供了涉及或源自抗c-Met抗体的组合物及方法。更具体地来说,本公开提供了与c-Met结合的全人抗体、能够结合c-Met的所述抗体片段及衍生物、包含所述片段的c-Met结合性多肽。进一步而言,本公开提供了编码所述抗体、抗体片段和衍生物及多肽的核酸,包含所述多肽的细胞,用于制备所述抗体、抗体的片段和衍生物及多肽的方法,以及使用所述抗体、所述抗体片段及其衍生物和多肽的方法,包括治疗或诊断患有c-Met相关疾病或症状的对象,包括各种炎性疾病和各种癌症。

抗Met IgGs抗体 vs. Genentech 5D5 IgG 对U87细胞增殖/存活的影响



1. 一种IgG类全人抗c-Met抗体,包括含有如SEQ ID NO.19所示氨基酸序列的互补决定区(CDRs)的重链可变域;并包括含有如SEQ ID NO.20所示氨基酸序列的互补决定区(CDRs)的轻链可变域。

2. 根据权利要求1所述的全人抗c-Met抗体,其特征在于,所述抗体与c-Met表位结合且结合亲和性至少为 $10^{-6}$ M,其中所述抗体包括含有SEQ ID NO.19的氨基酸序列的重链可变域,且所述抗体还包括含有SEQ ID NO.20的氨基酸序列的轻链可变域。

3. 一种全人抗体片段,其与c-Met结合,所述片段包括:含有SEQ ID NO.19的氨基酸序列的重链可变域;且包括含有SEQ ID NO.20的氨基酸序列的轻链可变域,或

含有如SEQ ID NO.19所示的氨基酸序列的互补决定区(CDRs)的重链可变域;和含有如SEQ ID NO.20所示的氨基酸序列的互补决定区(CDRs)的轻链可变域,

其中所述片段为Fab片段或单链抗体。

4. 根据权利要求1所述的抗体或根据权利要求3所述的抗体片段在制备用于治疗c-Met激活相关癌症或炎性疾病的药物中的用途。

5. 根据权利要求4所述的用途,其特征在于,所述癌症为前列腺癌、骨肉瘤、肺癌、乳腺癌、子宫内膜癌、成胶质细胞瘤和结肠癌。

6. 根据权利要求4所述的用途,其特征在于,所述c-Met激活相关癌症为HGF依赖性的、HGF非依赖性的或两者兼有。

7. 一种药物组合物,包括根据权利要求1所述的抗体或权利要求3所述的抗体片段,以及药学上可接受的载体。

## 与c-Met结合的抗原结合蛋白

### 技术领域

[0001] 本公开提供了涉及或源自抗c-Met抗体的组合物及方法。更具体地来说,本公开提供了与c-Met结合的人抗体、能够结合c-Met的所述抗体片段及衍生物、包含所述片段的c-Met结合性多肽。进一步而言,本公开提供了编码所述抗体、抗体片段和衍生物及多肽的核酸,包含所述多肽的细胞,用于制备所述抗体、抗体的片段和衍生物及多肽的方法,以及使用所述抗体、所述抗体片段及其衍生物和多肽的方法,包括治疗或诊断患有c-Met相关疾病或症状的对象,包括各种炎性疾病和各种癌症。

### 背景技术

[0002] HGF是间质衍生的多向性因子,在许多不同类型细胞上具有致有丝分裂、移动、形态形成的活性。HGF作用通过特异性酪氨酸激酶c-Met介导,且在各种肿瘤中频繁见到异常HGF和c-Met表达 (Maulik et al., Cytokine&Growth Factor Reviews (2002), 13:41-59; Danilkovitch-Miagkova&Zbar, J. Clin. Invest. (2002), 109 (7) :863-867)。HGF/c-Met信号通路调控参与了肿瘤进展和转移 (Trusolino&Comoglio, Nature Rev. (2002), 2:289-300)。

[0003] HGF与Met受体酪氨酸激酶 (RTK) 的胞外域结合,并调控多种生物过程,例如细胞分散、增殖和存活。HGF-Met信号传导对正常胚胎发育是必要的,尤其是对肌肉祖细胞迁移和肝脏和神经系统的发育而言 (Bladt et al., Nature 376, 768-771. 1995; Hamanoue et al. J. Neurosci. Res. 43, 554-564. 1996; Schmidt et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 94, 11445-11450, 1995; Uehara et al., Nature 373, 702-705, 1995)。Met和HGF敲除的小鼠的发育表型非常相似,暗示着HGF是Met受体的同源配体 (Schmidt et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 94, 11445-11450, 1995; Uehara et al., Nature 373, 702-705, 1995)。HGF-Met还在肝脏再生、血管生成和创面愈合方面起作用。Met受体前体经蛋白质水解切割,成为由二硫键连接的胞外亚单位和跨膜亚单位 (Tempest et al., Br. J. Cancer 58, 3-7 1988)。该亚单位包括细胞质激酶域,且其C端包括多底物对接点,供衔接蛋白结合并触发信号传导。HGF结合之时, Met的激活引起酪氨酸磷酸化和分别经由Gab1和Grb2/Sos介导的PI3激酶和Ras/MAPK激活的信号传导,从而驱动细胞移动和增殖 (Furge et al., Oncogene 19, 5582-5589 2000; Hartmann et al., J. Biol. Chem. 269, 21936-21939 1994; Ponzetto et al., Cell 87, 531-542 1996; and Royal and Park, J. Biol. Chem. 270, 27780-27787 1995)。

[0004] 各种人癌症中均观察到Met过度表达或基因扩增。例如结肠直肠癌中, Met蛋白至少过度表达了5倍,且据报告,还在肝癌转移中基因扩增 (Di Renzo et al., Clin. Cancer Res. 1, 147-154, 1995; Liu et al., Oncogene 7, 181-185 1992)。据报告, Met蛋白还在口腔鳞状细胞癌、肝细胞癌、肾细胞癌、乳腺癌和肺癌中过度表达 (Jin et al., Cancer 79, 749-760 1997; Morello et al., J. Cell Physiol. 189, 285-290 2001; Natali et al., Int. J. Cancer 69, 212-217. 1996; Olivero et al., Br. J. Cancer 74, 1862-1868 1996; Suzuki et al., Hepatology 20, 1231-1236 1994)。此外,还在肝细胞癌、胃癌和结肠直肠癌

中观察到mRNA过度表达(Boix et al.,Hepatology19,88-911994;Kuniyasu et al.,Int.J.Cancer 55,72-751993;Liu et al.,Oncogene 7,181-1851992)。

[0005] 肾乳头状癌中发现Met激酶域中的若干突变,引起了结构性受体激活(Olivero et al.,Int.J.Cancer 82,640-6431999;Schmidt et al.,Nat.Genet.16,68-731997;Schmidt et al.,Oncogene 18,2343-23501999)。所述激活性突变导致了结构性Met酪氨酸磷酸化,并导致MAPK激活、转化灶形成和肿瘤发生(Jeffers et al.,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 94,11445-114501997)。此外,所述突变提高了细胞移动性和入侵性(Giordano et al.,2000;Lorenzato et al.,Cancer Res.62,7025-70302002)。转化后细胞中的HGF依赖性Met激活介导了移动、分散和迁移的增加,最终导致了入侵性肿瘤生长和迁移(Jeffers et al.,Mol.Cell Biol.16,1115-11251996;Meiners et al.,Oncogene 16,9-201998)。

[0006] Met是包含Ron和Sea的RTKs子族成员(Maulik et al.,Cytokine Growth Factor Rev.13,41-592002)。对Met胞外域结构的预测暗示了与信号素和神经丛素(plexin)的同源性。Met的N端包含约500氨基酸长的Sema域,该域在所有信号素和神经丛素中均是保守的。所述信号素和神经丛素属于一个更大的分泌蛋白和膜结合蛋白家族,对该家族的首次记述是其在神经发育中的作用(Van Vactor and Lorenz,Curr.Biol.9,R201-2041999)。但是,信号素过度表达被认为与肿瘤入侵和迁移相关。在神经丛素、信号素和整合素中,存在与Sema域毗邻的富含半胱氨酸的PSI域(亦称为Met相关序列域),后接4个IPT重复单位(见于神经丛素和转录因子中的免疫球蛋白状区域)。近期研究暗示,该Met Sema域足以供HGF和肝素结合(Gherardi et al.,(2003).Functional map and domain structure of Met,the product of the c-Met protooncogene and receptor for hepatocyte growth factor/scatter factor.Proc.Natl.Acad.Sci.USA 2003)。此外,Kong-Beltran et al.(CancerCell(2004),6:61-73)报告,Met的Sema域对受体二聚化和激活是必要的。

[0007] 已知有众多以HGF/c-Met通路为目标的分子。这些分子包括例如美国专利5686292中所述的抗体。还发现c-Met胞外域的一部分具有对HGF/c-Met通路的拮抗作用。但是,鉴于该通路在各种病理学状态下的病因中的重要作用,显然,仍需要具有优化临床开发特性的药剂用作治疗剂。

## 发明内容

[0008] 本公开提供一种与c-Met表位结合且结合亲和性至少为 $10^{-6}$ M的IgG类全人抗体,其重链可变域序列与选自下列的氨基酸序列至少95%相同:SEQ ID NO.1、SEQ ID NO.3、SEQ ID NO.5、SEQ ID NO.7、SEQ ID NO.9、SEQ ID NO.11、SEQ ID NO.13、SEQ ID NO.15、SEQ ID NO.17、SEQ ID NO.19、SEQ ID NO.21、SEQ ID NO.24、SEQ ID NO.25、SEQ ID NO.27、SEQ ID NO.29、SEQ ID NO.31、SEQ ID NO.32、SEQ ID NO.33、SEQ ID NO.34、SEQ ID NO.36、SEQ ID NO.37、SEQ ID NO.40、SEQ ID NO.42、SEQ ID NO.44、SEQ ID NO.45、SEQ ID NO.47、SEQ ID NO.49、SEQ ID NO.51、SEQ ID NO.53、SEQ ID NO.56、SEQ ID NO.58、SEQ ID NO.59、SEQ ID NO.61、SEQ ID NO.63、SEQ ID NO.65、SEQ ID NO.69、SEQ ID NO.71、SEQ ID NO.74、SEQ ID NO.75、SEQ ID NO.76、SEQ ID NO.79、SEQ ID NO.80、SEQ ID NO.82、SEQ ID NO.84、SEQ ID NO.86、SEQ ID NO.88、SEQ ID NO.90、SEQ ID NO.92,及其组合;其轻链可变域序列与选自下列的氨基酸序列至少95%相同:SEQ ID NO.2、SEQ ID NO.4、SEQ ID NO.6、SEQ ID NO.8、

SEQ ID NO.10、SEQ ID NO.12、SEQ ID NO.14、SEQ ID NO.16、SEQ ID NO.18、SEQ ID NO.20、SEQ ID NO.22、SEQ ID NO.23、SEQ ID NO.26、SEQ ID NO.28、SEQ ID NO.30、SEQ ID NO.35、SEQ ID NO.38、SEQ ID NO.39、SEQ ID NO.41、SEQ ID NO.43、SEQ ID NO.46、SEQ ID NO.48、SEQ ID NO.50、SEQ ID NO.52、SEQ ID NO.54、SEQ ID NO.55、SEQ ID NO.57、SEQ ID NO.60、SEQ ID NO.62、SEQ ID NO.64、SEQ ID NO.66、SEQ ID NO.67、SEQ ID NO.68、SEQ ID NO.70、SEQ ID NO.72、SEQ ID NO.73、SEQ ID NO.77、SEQ ID NO.78、SEQ ID NO.81、SEQ ID NO.83、SEQ ID NO.85、SEQ ID NO.87、SEQ ID NO.89、SEQ ID NO.91、SEQ ID NO.93,及其组合。优选地,该全人抗体具有重链和轻链,其中该抗体的重链/轻链可变域序列选自下列序列:SEQ ID NO.1/SEQ ID NO.2(本文称为A1)、SEQ ID NO.3/SEQ ID NO.4(本文称为A2)、SEQ ID NO.5/SEQ ID NO.6(本文称为A8)、SEQ ID NO.7/SEQ ID NO.8(本文称为B12)、SEQ ID NO.9/SEQ ID NO.10(本文称为D6)、SEQ ID NO.11/SEQ ID NO.12(本文称为E1)、SEQ ID NO.13/SEQ ID NO.14(本文称为E6)、SEQ ID NO.15/SEQ ID NO.16(本文称为F3)、SEQ ID NO.17/SEQ ID NO.18(本文称为H6)、SEQ ID NO.19/SEQ ID NO.20(本文称为H8)、SEQ ID NO.21/SEQ ID NO.22(本文称为H8-9)、SEQ ID NO.21/SEQ ID NO.23(本文称为H8-9EE8L3)、SEQ ID NO.24/SEQ ID NO.22(本文称为H8-G3S)、SEQ ID NO.25/SEQ ID NO.26(本文称为H8-A2)、SEQ ID NO.27/SEQ ID NO.28(本文称为H8-B6)、SEQ ID NO.29/SEQ ID NO.23(本文称为H8-C1)、SEQ ID NO.24/SEQ ID NO.30(本文称为H8-D4)、SEQ ID NO.31/SEQ ID NO.23(本文称为H8-D5)、SEQ ID NO.24/SEQ ID NO.23(本文称为H8-D6)、SEQ ID NO.32/SEQ ID NO.23(本文称为H8-D10)、SEQ ID NO.33/SEQ ID NO.22(本文称为H8-E5)、SEQ ID NO.34/SEQ ID NO.22(本文称为H8-G7)、SEQ ID NO.24/SEQ ID NO.35(本文称为H8-G9)、SEQ ID NO.36/SEQ ID NO.26(本文称为H8-H6)、SEQ ID NO.29/SEQ ID NO.22(本文称为H8-2A2)、SEQ ID NO.37/SEQ ID NO.38(本文称为H8-2B1)、SEQ ID NO.34/SEQ ID NO.23(本文称为H8-2B2)、SEQ ID NO.37/SEQ ID NO.23(本文称为H8-2B4)、SEQ ID NO.32/SEQ ID NO.39(本文称为H8-2B7)、SEQ ID NO.32/SEQ ID NO.22(本文称为H8-A7P)、SEQ ID NO.40/SEQ ID NO.41(本文称为GCE-A10)、SEQ ID NO.42/SEQ ID NO.43(本文称为GCE-A11)、SEQ ID NO.44/SEQ ID NO.41(本文称为GCE-A13)、SEQ ID NO.45/SEQ ID NO.46(本文称为GCE-A14)、SEQ ID NO.47/SEQ ID NO.48(本文称为GCE-A16)、SEQ ID NO.49/SEQ ID NO.50(本文称为GCE-A18)、SEQ ID NO.51/SEQ ID NO.52(本文称为GCE-B2)、SEQ ID NO.53/SEQ ID NO.54(本文称为GCE-B9)、SEQ ID NO.45/SEQ ID NO.55(本文称为GCE-B11)、SEQ ID NO.56/SEQ ID NO.57(本文称为GCE-B13)、SEQ ID NO.58/SEQ ID NO.57(本文称为GCE-B19)、SEQ ID NO.59/SEQ ID NO.60(本文称为GCE-BR1)、SEQ ID NO.61/SEQ ID NO.62(本文称为GCE-B20)、SEQ ID NO.63/SEQ ID NO.64(本文称为GCE-A19)、SEQ ID NO.65/SEQ ID NO.66(本文称为GCE-B10)、SEQ ID NO.58/SEQ ID NO.67(本文称为GCE-B5)、SEQ ID NO.61/SEQ ID NO.68(本文称为GCE-B4)、SEQ ID NO.69/SEQ ID NO.70(本文称为GCE-A26)、SEQ ID NO.71/SEQ ID NO.72(本文称为GCE-L1A-9)、SEQ ID NO.49/SEQ ID NO.73(本文称为GCE-H34-36)、SEQ ID NO.74/SEQ ID NO.73(本文称为GCE-H13-1)、SEQ ID NO.61/SEQ ID NO.73(本文称为GCE-H13-2)、SEQ ID NO.44/SEQ ID NO.73(本文称为GCE-H13-3)、SEQ ID NO.40/SEQ ID NO.73(本文称为GCE-H13-4)、SEQ ID NO.75/SEQ ID NO.73(本文称为GCE-H13-5)、SEQ ID NO.69/SEQ ID NO.73(本文称为GCE-H13-6)、SEQ ID

NO.76/SEQ ID NO.73(本文称为GCE-H13-8)、SEQ ID NO.21/SEQ ID NO.77(本文称为H8-9EH11L)、SEQ ID NO.21/SEQ ID NO.78(本文称为H8-9EG11L)、SEQ ID NO.79/SEQ ID NO.20(本文称为H8-6AG2H3)、SEQ ID NO.80/SEQ ID NO.81(本文称为A1-2)、SEQ ID NO.82/SEQ ID NO.83(本文称为A1-4)、SEQ ID NO.84/SEQ ID NO.85(本文称为A1-6)、SEQ ID NO.86/SEQ ID NO.87(本文称为A1-8)、SEQ ID NO.88/SEQ ID NO.89(本文称为A1-9)、SEQ ID NO.90/SEQ ID NO.91(本文称为A1-24)、SEQ ID NO.92/SEQ ID NO.93(本文称为A1-32),及其组合。

[0009] 本公开提供一个全人抗体Fab片段,其具有来自重链的可变域和来自轻链的可变域,其中,重链可变域序列与选自下列的氨基酸序列及至少95%相同:SEQ ID NO.1、SEQ ID NO.3、SEQ ID NO.5、SEQ ID NO.7、SEQ ID NO.9、SEQ ID NO.11、SEQ ID NO.13、SEQ ID NO.15、SEQ ID NO.17、SEQ ID NO.19、SEQ ID NO.21、SEQ ID NO.24、SEQ ID NO.25、SEQ ID NO.27、SEQ ID NO.29、SEQ ID NO.31、SEQ ID NO.32、SEQ ID NO.33、SEQ ID NO.34、SEQ ID NO.36、SEQ ID NO.37、SEQ ID NO.40、SEQ ID NO.42、SEQ ID NO.44、SEQ ID NO.45、SEQ ID NO.47、SEQ ID NO.49、SEQ ID NO.51、SEQ ID NO.53、SEQ ID NO.56、SEQ ID NO.58、SEQ ID NO.59、SEQ ID NO.61、SEQ ID NO.63、SEQ ID NO.65、SEQ ID NO.69、SEQ ID NO.71、SEQ ID NO.74、SEQ ID NO.75、SEQ ID NO.76、SEQ ID NO.79、SEQ ID NO.80、SEQ ID NO.82、SEQ ID NO.84、SEQ ID NO.86、SEQ ID NO.88、SEQ ID NO.90、SEQ ID NO.92,及其组合;且其轻链可变域序列与选自下列的氨基酸序列至少95%相同:SEQ ID NO.2、SEQ ID NO.4、SEQ ID NO.6、SEQ ID NO.8、SEQ ID NO.10、SEQ ID NO.12、SEQ ID NO.14、SEQ ID NO.16、SEQ ID NO.18、SEQ ID NO.20、SEQ ID NO.22、SEQ ID NO.23、SEQ ID NO.26、SEQ ID NO.28、SEQ ID NO.30、SEQ ID NO.35、SEQ ID NO.38、SEQ ID NO.39、SEQ ID NO.41、SEQ ID NO.43、SEQ ID NO.46、SEQ ID NO.48、SEQ ID NO.50、SEQ ID NO.52、SEQ ID NO.54、SEQ ID NO.55、SEQ ID NO.57、SEQ ID NO.60、SEQ ID NO.62、SEQ ID NO.64、SEQ ID NO.66、SEQ ID NO.67、SEQ ID NO.68、SEQ ID NO.70、SEQ ID NO.72、SEQ ID NO.73、SEQ ID NO.77、SEQ ID NO.78、SEQ ID NO.81、SEQ ID NO.83、SEQ ID NO.85、SEQ ID NO.87、SEQ ID NO.89、SEQ ID NO.91、SEQ ID NO.93,及其组合;优选地,该全人抗体Fab片段具有重链可变域和轻链可变域,其中该抗体的重链/轻链可变域序列选自下列序列:SEQ ID NO.1/SEQ ID NO.2、SEQ ID NO.3/SEQ ID NO.4、SEQ ID NO.5/SEQ ID NO.6、SEQ ID NO.7/SEQ ID NO.8、SEQ ID NO.9/SEQ ID NO.10、SEQ ID NO.11/SEQ ID NO.12、SEQ ID NO.13/SEQ ID NO.14、SEQ ID NO.15/SEQ ID NO.16、SEQ ID NO.17/SEQ ID NO.18、SEQ ID NO.19/SEQ ID NO.20、SEQ ID NO.21/SEQ ID NO.22、SEQ ID NO.21/SEQ ID NO.23、SEQ ID NO.24/SEQ ID NO.22、SEQ ID NO.25/SEQ ID NO.26、SEQ ID NO.27/SEQ ID NO.28、SEQ ID NO.29/SEQ ID NO.23、SEQ ID NO.24/SEQ ID NO.30、SEQ ID NO.31/SEQ ID NO.23、SEQ ID NO.24/SEQ ID NO.23、SEQ ID NO.32/SEQ ID NO.23、SEQ ID NO.33/SEQ ID NO.22、SEQ ID NO.34/SEQ ID NO.22、SEQ ID NO.24/SEQ ID NO.35、SEQ ID NO.36/SEQ ID NO.26、SEQ ID NO.29/SEQ ID NO.22、SEQ ID NO.37/SEQ ID NO.38、SEQ ID NO.34/SEQ ID NO.23、SEQ ID NO.37/SEQ ID NO.23、SEQ ID NO.32/SEQ ID NO.39、SEQ ID NO.32/SEQ ID NO.22、SEQ ID NO.40/SEQ ID NO.41、SEQ ID NO.42/SEQ ID NO.43、SEQ ID NO.44/SEQ ID NO.41、SEQ ID NO.45/SEQ ID NO.46、SEQ ID NO.47/SEQ ID NO.48、SEQ ID NO.49/SEQ ID NO.50、SEQ ID NO.51/SEQ ID NO.52、SEQ ID NO.53/SEQ ID

NO.54、SEQ ID NO.45/SEQ ID NO.55、SEQ ID NO.56/SEQ ID NO.57、SEQ ID NO.58/SEQ ID NO.57、SEQ ID NO.59/SEQ ID NO.60、SEQ ID NO.61/SEQ ID NO.62、SEQ ID NO.63/SEQ ID NO.64、SEQ ID NO.65/SEQ ID NO.66、SEQ ID NO.58/SEQ ID NO.67、SEQ ID NO.61/SEQ ID NO.68、SEQ ID NO.69/SEQ ID NO.70、SEQ ID NO.71/SEQ ID NO.72、SEQ ID NO.49/SEQ ID NO.73、SEQ ID NO.74/SEQ ID NO.73、SEQ ID NO.61/SEQ ID NO.73、SEQ ID NO.44/SEQ ID NO.73、SEQ ID NO.40/SEQ ID NO.73、SEQ ID NO.75/SEQ ID NO.73、SEQ ID NO.69/SEQ ID NO.73、SEQ ID NO.76/SEQ ID NO.73、SEQ ID NO.21/SEQ ID NO.77、SEQ ID NO.21/SEQ ID NO.78、SEQ ID NO.79/SEQ ID NO.20、SEQ ID NO.80/SEQ ID NO.81、SEQ ID NO.82/SEQ ID NO.83、SEQ ID NO.84/SEQ ID NO.85、SEQ ID NO.86/SEQ ID NO.87、SEQ ID NO.88/SEQ ID NO.89、SEQ ID NO.90/SEQ ID NO.91、SEQ ID NO.92/SEQ ID NO.93,及其组合。本公开提供一个单链人抗体,其具有来自重链的可变域、来自轻链的可变域、连接重链和轻链可变域的连接肽,其中,重链可变域序列与选自下列的氨基酸序列至少95%相同:SEQ ID NO.1、SEQ ID NO.3、SEQ ID NO.5、SEQ ID NO.7、SEQ ID NO.9、SEQ ID NO.11、SEQ ID NO.13、SEQ ID NO.15、SEQ ID NO.17、SEQ ID NO.19、SEQ ID NO.21、SEQ ID NO.24、SEQ ID NO.25、SEQ ID NO.27、SEQ ID NO.29、SEQ ID NO.31、SEQ ID NO.32、SEQ ID NO.33、SEQ ID NO.34、SEQ ID NO.36、SEQ ID NO.37、SEQ ID NO.40、SEQ ID NO.42、SEQ ID NO.44、SEQ ID NO.45、SEQ ID NO.47、SEQ ID NO.49、SEQ ID NO.51、SEQ ID NO.53、SEQ ID NO.56、SEQ ID NO.58、SEQ ID NO.59、SEQ ID NO.61、SEQ ID NO.63、SEQ ID NO.65、SEQ ID NO.69、SEQ ID NO.71、SEQ ID NO.74、SEQ ID NO.75、SEQ ID NO.76、SEQ ID NO.79、SEQ ID NO.80、SEQ ID NO.82、SEQ ID NO.84、SEQ ID NO.86、SEQ ID NO.88、SEQ ID NO.90、SEQ ID NO.92,及其组合;其轻链可变域序列与选自下列的氨基酸序列至少95%相同:SEQ ID NO.2、SEQ ID NO.4、SEQ ID NO.6、SEQ ID NO.8、SEQ ID NO.10、SEQ ID NO.12、SEQ ID NO.14、SEQ ID NO.16、SEQ ID NO.18、SEQ ID NO.20、SEQ ID NO.22、SEQ ID NO.23、SEQ ID NO.26、SEQ ID NO.28、SEQ ID NO.30、SEQ ID NO.35、SEQ ID NO.38、SEQ ID NO.39、SEQ ID NO.41、SEQ ID NO.43、SEQ ID NO.46、SEQ ID NO.48、SEQ ID NO.50、SEQ ID NO.52、SEQ ID NO.54、SEQ ID NO.55、SEQ ID NO.57、SEQ ID NO.60、SEQ ID NO.62、SEQ ID NO.64、SEQ ID NO.66、SEQ ID NO.67、SEQ ID NO.68、SEQ ID NO.70、SEQ ID NO.72、SEQ ID NO.73、SEQ ID NO.77、SEQ ID NO.78、SEQ ID NO.81、SEQ ID NO.83、SEQ ID NO.85、SEQ ID NO.87、SEQ ID NO.89、SEQ ID NO.91、SEQ ID NO.93,及其组合。优选地,该全人单链抗体具有重链可变域和轻链可变域,其中该抗单链全人抗体的重链/轻链可变域序列选自下列序列:SEQ ID NO.1/SEQ ID NO.2、SEQ ID NO.3/SEQ ID NO.4、SEQ ID NO.5/SEQ ID NO.6、SEQ ID NO.7/SEQ ID NO.8、SEQ ID NO.9/SEQ ID NO.10、SEQ ID NO.11/SEQ ID NO.12、SEQ ID NO.13/SEQ ID NO.14、SEQ ID NO.15/SEQ ID NO.16、SEQ ID NO.17/SEQ ID NO.18、SEQ ID NO.19/SEQ ID NO.20、SEQ ID NO.21/SEQ ID NO.22、SEQ ID NO.21/SEQ ID NO.23、SEQ ID NO.24/SEQ ID NO.22、SEQ ID NO.25/SEQ ID NO.26、SEQ ID NO.27/SEQ ID NO.28、SEQ ID NO.29/SEQ ID NO.23、SEQ ID NO.24/SEQ ID NO.30、SEQ ID NO.31/SEQ ID NO.23、SEQ ID NO.24/SEQ ID NO.23、SEQ ID NO.32/SEQ ID NO.23、SEQ ID NO.33/SEQ ID NO.22、SEQ ID NO.34/SEQ ID NO.22、SEQ ID NO.24/SEQ ID NO.35、SEQ ID NO.36/SEQ ID NO.26、SEQ ID NO.29/SEQ ID NO.22、SEQ ID NO.37/SEQ ID NO.38、SEQ ID NO.34/SEQ ID NO.23、SEQ ID NO.37/SEQ ID NO.23、SEQ ID NO.32/SEQ

ID NO.39、SEQ ID NO.32/SEQ ID NO.22、SEQ ID NO.40/SEQ ID NO.41、SEQ ID NO.42/SEQ ID NO.43、SEQ ID NO.44/SEQ ID NO.41、SEQ ID NO.45/SEQ ID NO.46、SEQ ID NO.47/SEQ ID NO.48、SEQ ID NO.49/SEQ ID NO.50、SEQ ID NO.51/SEQ ID NO.52、SEQ ID NO.53/SEQ ID NO.54、SEQ ID NO.45/SEQ ID NO.55、SEQ ID NO.56/SEQ ID NO.57、SEQ ID NO.58/SEQ ID NO.57、SEQ ID NO.59/SEQ ID NO.60、SEQ ID NO.61/SEQ ID NO.62、SEQ ID NO.63/SEQ ID NO.64、SEQ ID NO.65/SEQ ID NO.66、SEQ ID NO.58/SEQ ID NO.67、SEQ ID NO.61/SEQ ID NO.68、SEQ ID NO.69/SEQ ID NO.70、SEQ ID NO.71/SEQ ID NO.72、SEQ ID NO.49/SEQ ID NO.73、SEQ ID NO.74/SEQ ID NO.73、SEQ ID NO.61/SEQ ID NO.73、SEQ ID NO.44/SEQ ID NO.73、SEQ ID NO.40/SEQ ID NO.73、SEQ ID NO.75/SEQ ID NO.73、SEQ ID NO.69/SEQ ID NO.73、SEQ ID NO.76/SEQ ID NO.73、SEQ ID NO.21/SEQ ID NO.77、SEQ ID NO.21/SEQ ID NO.78、SEQ ID NO.79/SEQ ID NO.20、SEQ ID NO.80/SEQ ID NO.81、SEQ ID NO.82/SEQ ID NO.83、SEQ ID NO.84/SEQ ID NO.85、SEQ ID NO.86/SEQ ID NO.87、SEQ ID NO.88/SEQ ID NO.89、SEQ ID NO.90/SEQ ID NO.91、SEQ ID NO.92/SEQ ID NO.93,及其组合。

[0010] 本公开进一步提供一种治疗广谱哺乳动物癌症或广谱炎性疾病和自体免疫疾病的方法,包括以抗c-Met多肽的有效剂量给药,其中所述抗c-Met多肽选自:一种与c-Met表位结合且结合亲和力为至少 $10^{-6}$ M的IgG类全人抗体、具有重链可变域和轻链可变域的全人抗体Fab片段、具有来自重链的可变域和来自轻链的可变域以及连接所述轻链和重链可变域的连接肽的单链人抗体,及其组合;

[0011] 其中,所述全人抗体的重链可变域序列与选自下列的氨基酸序列至少95%相同:SEQ ID NO.1、SEQ ID NO.3、SEQ ID NO.5、SEQ ID NO.7、SEQ ID NO.9、SEQ ID NO.11、SEQ ID NO.13、SEQ ID NO.15、SEQ ID NO.17、SEQ ID NO.19、SEQ ID NO.21、SEQ ID NO.24、SEQ ID NO.25、SEQ ID NO.27、SEQ ID NO.29、SEQ ID NO.31、SEQ ID NO.32、SEQ ID NO.33、SEQ ID NO.34、SEQ ID NO.36、SEQ ID NO.37、SEQ ID NO.40、SEQ ID NO.42、SEQ ID NO.44、SEQ ID NO.45、SEQ ID NO.47、SEQ ID NO.49、SEQ ID NO.51、SEQ ID NO.53、SEQ ID NO.56、SEQ ID NO.58、SEQ ID NO.59、SEQ ID NO.61、SEQ ID NO.63、SEQ ID NO.65、SEQ ID NO.69、SEQ ID NO.71、SEQ ID NO.74、SEQ ID NO.75、SEQ ID NO.76、SEQ ID NO.79、SEQ ID NO.80、SEQ ID NO.82、SEQ ID NO.84、SEQ ID NO.86、SEQ ID NO.88、SEQ ID NO.90、SEQ ID NO.92及其组合;且其轻链可变域序列与选自下列的氨基酸序列至少95%相同:SEQ ID NO.2、SEQ ID NO.4、SEQ ID NO.6、SEQ ID NO.8、SEQ ID NO.10、SEQ ID NO.12、SEQ ID NO.14、SEQ ID NO.16、SEQ ID NO.18、SEQ ID NO.20、SEQ ID NO.22、SEQ ID NO.23、SEQ ID NO.26、SEQ ID NO.28、SEQ ID NO.30、SEQ ID NO.35、SEQ ID NO.38、SEQ ID NO.39、SEQ ID NO.41、SEQ ID NO.43、SEQ ID NO.46、SEQ ID NO.48、SEQ ID NO.50、SEQ ID NO.52、SEQ ID NO.54、SEQ ID NO.55、SEQ ID NO.57、SEQ ID NO.60、SEQ ID NO.62、SEQ ID NO.64、SEQ ID NO.66、SEQ ID NO.67、SEQ ID NO.68、SEQ ID NO.70、SEQ ID NO.72、SEQ ID NO.73、SEQ ID NO.77、SEQ ID NO.78、SEQ ID NO.81、SEQ ID NO.83、SEQ ID NO.85、SEQ ID NO.87、SEQ ID NO.89、SEQ ID NO.91、SEQ ID NO.93,及其组合;

[0012] 其中,所述全人抗体Fab片段的重链可变域序列与选自下列的氨基酸序列至少95%相同:SEQ ID NO.1、SEQ ID NO.3、SEQ ID NO.5、SEQ ID NO.7、SEQ ID NO.9、SEQ ID NO.11、SEQ ID NO.13、SEQ ID NO.15、SEQ ID NO.17、SEQ ID NO.19、SEQ ID NO.21、SEQ ID

NO.24、SEQ ID NO.25、SEQ ID NO.27、SEQ ID NO.29、SEQ ID NO.31、SEQ ID NO.32、SEQ ID NO.33、SEQ ID NO.34、SEQ ID NO.36、SEQ ID NO.37、SEQ ID NO.40、SEQ ID NO.42、SEQ ID NO.44、SEQ ID NO.45、SEQ ID NO.47、SEQ ID NO.49、SEQ ID NO.51、SEQ ID NO.53、SEQ ID NO.56、SEQ ID NO.58、SEQ ID NO.59、SEQ ID NO.61、SEQ ID NO.63、SEQ ID NO.65、SEQ ID NO.69、SEQ ID NO.71、SEQ ID NO.74、SEQ ID NO.75、SEQ ID NO.76、SEQ ID NO.79、SEQ ID NO.80、SEQ ID NO.82、SEQ ID NO.84、SEQ ID NO.86、SEQ ID NO.88、SEQ ID NO.90、SEQ ID NO.92, 及其组合; 且其轻链可变域序列与选自下列的氨基酸序列至少95%相同: SEQ ID NO.2、SEQ ID NO.4、SEQ ID NO.6、SEQ ID NO.8、SEQ ID NO.10、SEQ ID NO.12、SEQ ID NO.14、SEQ ID NO.16、SEQ ID NO.18、SEQ ID NO.20、SEQ ID NO.22、SEQ ID NO.23、SEQ ID NO.26、SEQ ID NO.28、SEQ ID NO.30、SEQ ID NO.35、SEQ ID NO.38、SEQ ID NO.39、SEQ ID NO.41、SEQ ID NO.43、SEQ ID NO.46、SEQ ID NO.48、SEQ ID NO.50、SEQ ID NO.52、SEQ ID NO.54、SEQ ID NO.55、SEQ ID NO.57、SEQ ID NO.60、SEQ ID NO.62、SEQ ID NO.64、SEQ ID NO.66、SEQ ID NO.67、SEQ ID NO.68、SEQ ID NO.70、SEQ ID NO.72、SEQ ID NO.73、SEQ ID NO.77、SEQ ID NO.78、SEQ ID NO.81、SEQ ID NO.83、SEQ ID NO.85、SEQ ID NO.87、SEQ ID NO.89、SEQ ID NO.91、SEQ ID NO.93, 及其组合; 以及

[0013] 其中, 所述单链人抗体的重链可变域序列与选自下列的氨基酸序列至少95%相同: SEQ ID NO.1、SEQ ID NO.3、SEQ ID NO.5、SEQ ID NO.7、SEQ ID NO.9、SEQ ID NO.11、SEQ ID NO.13、SEQ ID NO.15、SEQ ID NO.17、SEQ ID NO.19、SEQ ID NO.21、SEQ ID NO.24、SEQ ID NO.25、SEQ ID NO.27、SEQ ID NO.29、SEQ ID NO.31、SEQ ID NO.32、SEQ ID NO.33、SEQ ID NO.34、SEQ ID NO.36、SEQ ID NO.37、SEQ ID NO.40、SEQ ID NO.42、SEQ ID NO.44、SEQ ID NO.45、SEQ ID NO.47、SEQ ID NO.49、SEQ ID NO.51、SEQ ID NO.53、SEQ ID NO.56、SEQ ID NO.58、SEQ ID NO.59、SEQ ID NO.61、SEQ ID NO.63、SEQ ID NO.65、SEQ ID NO.69、SEQ ID NO.71、SEQ ID NO.74、SEQ ID NO.75、SEQ ID NO.76、SEQ ID NO.79、SEQ ID NO.80、SEQ ID NO.82、SEQ ID NO.84、SEQ ID NO.86、SEQ ID NO.88、SEQ ID NO.90、SEQ ID NO.92, 及其组合; 且其轻链可变域序列与选自下列的氨基酸序列至少95%相同: SEQ ID NO.2、SEQ ID NO.4、SEQ ID NO.6、SEQ ID NO.8、SEQ ID NO.10、SEQ ID NO.12、SEQ ID NO.14、SEQ ID NO.16、SEQ ID NO.18、SEQ ID NO.20、SEQ ID NO.22、SEQ ID NO.23、SEQ ID NO.26、SEQ ID NO.28、SEQ ID NO.30、SEQ ID NO.35、SEQ ID NO.38、SEQ ID NO.39、SEQ ID NO.41、SEQ ID NO.43、SEQ ID NO.46、SEQ ID NO.48、SEQ ID NO.50、SEQ ID NO.52、SEQ ID NO.54、SEQ ID NO.55、SEQ ID NO.57、SEQ ID NO.60、SEQ ID NO.62、SEQ ID NO.64、SEQ ID NO.66、SEQ ID NO.67、SEQ ID NO.68、SEQ ID NO.70、SEQ ID NO.72、SEQ ID NO.73、SEQ ID NO.77、SEQ ID NO.78、SEQ ID NO.81、SEQ ID NO.83、SEQ ID NO.85、SEQ ID NO.87、SEQ ID NO.89、SEQ ID NO.91、SEQ ID NO.93, 及其组合。

[0014] 优选地, 所述全人抗体具有重链和轻链, 其中所述抗体的重链/轻链可变域序列选自以下序列: SEQ ID NO.1/SEQ ID NO.2 (A1)、SEQ ID NO.3/SEQ ID NO.4 (A2)、SEQ ID NO.5/SEQ ID NO.6 (A8)、SEQ ID NO.7/SEQ ID NO.8 (B12)、SEQ ID NO.9/SEQ ID NO.10 (D6)、SEQ ID NO.11/SEQ ID NO.12 (E1)、SEQ ID NO.13/SEQ ID NO.14 (E6)、SEQ ID NO.15/SEQ ID NO.16 (F3)、SEQ ID NO.17/SEQ ID NO.18 (H6)、SEQ ID NO.19/SEQ ID NO.20 (H8)、SEQ ID NO.21/SEQ ID NO.22 (H8-9)、SEQ ID NO.21/SEQ ID NO.23 (H8-

9EE8L3)、SEQ ID NO.24/SEQ ID NO.22 (H8-G3S)、SEQ ID NO.25/SEQ ID NO.26 (H8-A2)、SEQ ID NO.27/SEQ ID NO.28 (H8-B6)、SEQ ID NO.29/SEQ ID NO.23 (H8-C1)、SEQ ID NO.24/SEQ ID NO.30 (H8-D4)、SEQ ID NO.31/SEQ ID NO.23 (H8-D5)、SEQ ID NO.24/SEQ ID NO.23 (H8-D6)、SEQ ID NO.32/SEQ ID NO.23 (H8-D10)、SEQ ID NO.33/SEQ ID NO.22 (H8-E5)、SEQ ID NO.34/SEQ ID NO.22 (H8-G7)、SEQ ID NO.24/SEQ ID NO.35 (H8-G9)、SEQ ID NO.36/SEQ ID NO.26 (H8-H6)、SEQ ID NO.29/SEQ ID NO.22 (H8-2A2)、SEQ ID NO.37/SEQ ID NO.38 (H8-2B1)、SEQ ID NO.34/SEQ ID NO.23 (H8-2B2)、SEQ ID NO.37/SEQ ID NO.23 (H8-2B4)、SEQ ID NO.32/SEQ ID NO.39 (H8-2B7)、SEQ ID NO.32/SEQ ID NO.22 (H8-A7P)、SEQ ID NO.40/SEQ ID NO.41 (GCE-A10)、SEQ ID NO.42/SEQ ID NO.43 (GCE-A11)、SEQ ID NO.44/SEQ ID NO.41 (GCE-A13)、SEQ ID NO.45/SEQ ID NO.46 (GCE-A14)、SEQ ID NO.47/SEQ ID NO.48 (GCE-A16)、SEQ ID NO.49/SEQ ID NO.50 (GCE-A18)、SEQ ID NO.51/SEQ ID NO.52 (GCE-B2)、SEQ ID NO.53/SEQ ID NO.54 (GCE-B9)、SEQ ID NO.45/SEQ ID NO.55 (GCE-B11)、SEQ ID NO.56/SEQ ID NO.57 (GCE-B13)、SEQ ID NO.58/SEQ ID NO.57 (GCE-B19)、SEQ ID NO.59/SEQ ID NO.60 (GCE-BR1)、SEQ ID NO.61/SEQ ID NO.62 (GCE-B20)、SEQ ID NO.63/SEQ ID NO.64 (GCE-A19)、SEQ ID NO.65/SEQ ID NO.66 (GCE-B10)、SEQ ID NO.58/SEQ ID NO.67 (GCE-B5)、SEQ ID NO.61/SEQ ID NO.68 (GCE-B4)、SEQ ID NO.69/SEQ ID NO.70 (GCE-A26)、SEQ ID NO.71/SEQ ID NO.72 (GCE-L1A-9)、SEQ ID NO.49/SEQ ID NO.73 (GCE-H34-36)、SEQ ID NO.74/SEQ ID NO.73 (GCE-H13-1)、SEQ ID NO.61/SEQ ID NO.73 (GCE-H13-2)、SEQ ID NO.44/SEQ ID NO.73 (GCE-H13-3)、SEQ ID NO.40/SEQ ID NO.73 (GCE-H13-4)、SEQ ID NO.75/SEQ ID NO.73 (GCE-H13-5)、SEQ ID NO.69/SEQ ID NO.73 (GCE-H13-6)、SEQ ID NO.76/SEQ ID NO.73 (GCE-H13-8)、SEQ ID NO.21/SEQ ID NO.77 (H8-9EH11L)、SEQ ID NO.21/SEQ ID NO.78 (H8-9EG11L)、SEQ ID NO.79/SEQ ID NO.20 (H8-6AG2H3)、SEQ ID NO.80/SEQ ID NO.81 (A1-2)、SEQ ID NO.82/SEQ ID NO.83 (A1-4)、SEQ ID NO.84/SEQ ID NO.85 (A1-6)、SEQ ID NO.86/SEQ ID NO.87 (A1-8)、SEQ ID NO.88/SEQ ID NO.89 (A1-9)、SEQ ID NO.90/SEQ ID NO.91 (A1-24)、SEQ ID NO.92/SEQ ID NO.93 (A1-32),及其组合;优选地,所述全人抗体Fab片段具有重链可变域和轻链可变域,其中所述抗体的重链/轻链可变域序列选自下列序列:SEQ ID NO.1/SEQ ID NO.2 (A1)、SEQ ID NO.3/SEQ ID NO.4 (A2)、SEQ ID NO.5/SEQ ID NO.6 (A8)、SEQ ID NO.7/SEQ ID NO.8 (B12)、SEQ ID NO.9/SEQ ID NO.10 (D6)、SEQ ID NO.11/SEQ ID NO.12 (E1)、SEQ ID NO.13/SEQ ID NO.14 (E6)、SEQ ID NO.15/SEQ ID NO.16 (F3)、SEQ ID NO.17/SEQ ID NO.18 (H6)、SEQ ID NO.19/SEQ ID NO.20 (H8)、SEQ ID NO.21/SEQ ID NO.22 (H8-9)、SEQ ID NO.21/SEQ ID NO.23 (H8-9EE8L3)、SEQ ID NO.24/SEQ ID NO.22 (H8-G3S)、SEQ ID NO.25/SEQ ID NO.26 (H8-A2)、SEQ ID NO.27/SEQ ID NO.28 (H8-B6)、SEQ ID NO.29/SEQ ID NO.23 (H8-C1)、SEQ ID NO.24/SEQ ID NO.30 (H8-D4)、SEQ ID NO.31/SEQ ID NO.23 (H8-D5)、SEQ ID NO.24/SEQ ID NO.23 (H8-D6)、SEQ ID NO.32/SEQ ID NO.23 (H8-D10)、SEQ ID NO.33/SEQ ID NO.22 (H8-E5)、SEQ ID NO.34/SEQ ID NO.22 (H8-G7)、SEQ ID NO.24/SEQ ID NO.35 (H8-G9)、SEQ ID NO.36/SEQ ID NO.26 (H8-H6)、SEQ ID NO.29/SEQ ID NO.22 (H8-2A2)、SEQ ID NO.37/SEQ ID NO.38 (H8-2B1)、SEQ ID NO.34/SEQ ID NO.23 (H8-2B2)、SEQ ID NO.37/SEQ ID NO.23 (H8-2B4)、SEQ ID NO.32/SEQ ID

NO.39 (H8-2B7)、SEQ ID NO.32/SEQ ID NO.22 (H8-A7P)、SEQ ID NO.40/SEQ ID NO.41 (GCE-A10)、SEQ ID NO.42/SEQ ID NO.43 (GCE-A11)、SEQ ID NO.44/SEQ ID NO.41 (GCE-A13)、SEQ ID NO.45/SEQ ID NO.46 (GCE-A14)、SEQ ID NO.47/SEQ ID NO.48 (GCE-A16)、SEQ ID NO.49/SEQ ID NO.50 (GCE-A18)、SEQ ID NO.51/SEQ ID NO.52 (GCE-B2)、SEQ ID NO.53/SEQ ID NO.54 (GCE-B9)、SEQ ID NO.45/SEQ ID NO.55 (GCE-B11)、SEQ ID NO.56/SEQ ID NO.57 (GCE-B13)、SEQ ID NO.58/SEQ ID NO.57 (GCE-B19)、SEQ ID NO.59/SEQ ID NO.60 (GCE-BR1)、SEQ ID NO.61/SEQ ID NO.62 (GCE-B20)、SEQ ID NO.63/SEQ ID NO.64 (GCE-A19)、SEQ ID NO.65/SEQ ID NO.66 (GCE-B10)、SEQ ID NO.58/SEQ ID NO.67 (GCE-B5)、SEQ ID NO.61/SEQ ID NO.68 (GCE-B4)、SEQ ID NO.69/SEQ ID NO.70 (GCE-A26)、SEQ ID NO.71/SEQ ID NO.72 (GCE-L1A-9)、SEQ ID NO.49/SEQ ID NO.73 (GCE-H34-36)、SEQ ID NO.74/SEQ ID NO.73 (GCE-H13-1)、SEQ ID NO.61/SEQ ID NO.73 (GCE-H13-2)、SEQ ID NO.44/SEQ ID NO.73 (GCE-H13-3)、SEQ ID NO.40/SEQ ID NO.73 (GCE-H13-4)、SEQ ID NO.75/SEQ ID NO.73 (GCE-H13-5)、SEQ ID NO.69/SEQ ID NO.73 (GCE-H13-6)、SEQ ID NO.76/SEQ ID NO.73 (GCE-H13-8)、SEQ ID NO.21/SEQ ID NO.77 (H8-9EH11L)、SEQ ID NO.21/SEQ ID NO.78 (H8-9EG11L)、SEQ ID NO.79/SEQ ID NO.20 (H8-6AG2H3)、SEQ ID NO.80/SEQ ID NO.81 (A1-2)、SEQ ID NO.82/SEQ ID NO.83 (A1-4)、SEQ ID NO.84/SEQ ID NO.85 (A1-6)、SEQ ID NO.86/SEQ ID NO.87 (A1-8)、SEQ ID NO.88/SEQ ID NO.89 (A1-9)、SEQ ID NO.90/SEQ ID NO.91 (A1-24)、SEQ ID NO.92/SEQ ID NO.93 (A1-32), 及其组合; 优选地, 所述全人单链抗体具有重链可变域和轻链可变域, 其中所述单链全人抗体的重链/轻链可变域序列选自下列序列: SEQ ID NO.1/SEQ ID NO.2、SEQ ID NO.3/SEQ ID NO.4、SEQ ID NO.5/SEQ ID NO.6、SEQ ID NO.7/SEQ ID NO.8、SEQ ID NO.9/SEQ ID NO.10、SEQ ID NO.11/SEQ ID NO.12、SEQ ID NO.13/SEQ ID NO.14、SEQ ID NO.15/SEQ ID NO.16、SEQ ID NO.17/SEQ ID NO.18、SEQ ID NO.19/SEQ ID NO.20、SEQ ID NO.21/SEQ ID NO.22、SEQ ID NO.21/SEQ ID NO.23、SEQ ID NO.24/SEQ ID NO.22、SEQ ID NO.25/SEQ ID NO.26、SEQ ID NO.27/SEQ ID NO.28、SEQ ID NO.29/SEQ ID NO.23、SEQ ID NO.24/SEQ ID NO.30、SEQ ID NO.31/SEQ ID NO.23、SEQ ID NO.24/SEQ ID NO.23、SEQ ID NO.32/SEQ ID NO.23、SEQ ID NO.33/SEQ ID NO.22、SEQ ID NO.34/SEQ ID NO.22、SEQ ID NO.24/SEQ ID NO.35、SEQ ID NO.36/SEQ ID NO.26、SEQ ID NO.29/SEQ ID NO.22、SEQ ID NO.37/SEQ ID NO.38、SEQ ID NO.34/SEQ ID NO.23、SEQ ID NO.37/SEQ ID NO.23、SEQ ID NO.32/SEQ ID NO.39、SEQ ID NO.32/SEQ ID NO.22、SEQ ID NO.40/SEQ ID NO.41、SEQ ID NO.42/SEQ ID NO.43、SEQ ID NO.44/SEQ ID NO.41、SEQ ID NO.45/SEQ ID NO.46、SEQ ID NO.47/SEQ ID NO.48、SEQ ID NO.49/SEQ ID NO.50、SEQ ID NO.51/SEQ ID NO.52、SEQ ID NO.53/SEQ ID NO.54、SEQ ID NO.45/SEQ ID NO.55、SEQ ID NO.56/SEQ ID NO.57、SEQ ID NO.58/SEQ ID NO.57、SEQ ID NO.59/SEQ ID NO.60、SEQ ID NO.61/SEQ ID NO.62、SEQ ID NO.63/SEQ ID NO.64、SEQ ID NO.65/SEQ ID NO.66、SEQ ID NO.58/SEQ ID NO.67、SEQ ID NO.61/SEQ ID NO.68、SEQ ID NO.69/SEQ ID NO.70、SEQ ID NO.71/SEQ ID NO.72、SEQ ID NO.49/SEQ ID NO.73、SEQ ID NO.74/SEQ ID NO.73、SEQ ID NO.61/SEQ ID NO.73、SEQ ID NO.44/SEQ ID NO.73、SEQ ID NO.40/SEQ ID NO.73、SEQ ID NO.75/SEQ ID NO.73、SEQ ID NO.69/SEQ ID NO.73、SEQ ID NO.76/SEQ ID NO.73、SEQ ID NO.21/SEQ ID NO.77、SEQ ID NO.21/SEQ ID NO.78、SEQ ID

NO.79/SEQ ID NO.20、SEQ ID NO.80/SEQ ID NO.81、SEQ ID NO.82/SEQ ID NO.83、SEQ ID NO.84/SEQ ID NO.85、SEQ ID NO.86/SEQ ID NO.87、SEQ ID NO.88/SEQ ID NO.89、SEQ ID NO.90/SEQ ID NO.91、SEQ ID NO.92/SEQ ID NO.93,及其组合。

[0015] 优选地,所述以此治疗的广谱哺乳动物癌症是c-Met激活相关癌症,选自HGF依赖性的c-Met激活相关癌症、HGF非依赖性的c-Met激活相关癌症或两者兼有。优选地,所述此治疗的广谱哺乳动物癌症选自:前列腺癌、骨肉瘤、肺癌、胸腺癌、子宫内膜癌、成胶质细胞瘤和结肠癌。

## 附图说明

[0016] 图1a展示了以Octet Red法 (Forte Bio) 制备的IgG形式的抗c-Met抗体的亲和性排名。

[0017] 图1b展示了2种优选的IgG形式的抗c-Met抗体 (A1和E1) 的亲和性动力学,并与实验室自行构建和表达的基因泰克 (Genentech) 5D5IgG相比较。

[0018] 图2展示了IgG形式的抗c-Met抗体相对于Genentech 5D5IgG的粗表位作图。使用标准NHS/EDC偶联法将Genentech 5D5IgG固定在CM5芯片上,然后装载重组人c-Met。然后添加抗c-Met抗体并检测所有追加结合。Biacore所检测到的追加结合表明c-Met的一个表位与该抗体结合,而不再被5D5占据。

[0019] 图3a展示了IgG形式的抗c-Met抗体对U87成胶质细胞瘤细胞的增殖的拮抗作用。

[0020] 图3b展示了Fab形式的抗c-Met抗体对U87成胶质细胞瘤细胞的增殖的拮抗作用。

[0021] 图4a展示了IgG形式的抗c-Met抗体对HGF刺激的c-Met自磷酸化的抑制作用。

[0022] 图4b展示了Fab形式的抗c-Met抗体对HGF刺激的c-Met自磷酸化的抑制作用。

[0023] 图5展示了图4a展示了细胞创面愈合实验中,(IgG和Fab形式的)抗c-Met抗体对HGF刺激、c-Met介导的细胞迁移的抑制作用。

[0024] 图6展示了HGF/c-Met分散实验的结果,表明IgG (A1、E1和H8) 和Fab (E1和A8) 形式的抗c-Met抗体能够抑制HGF刺激、c-Met介导的细胞移动。

[0025] 图7展示了抗c-Met抗体E1 (◇)、A1 (□) 和H8 (Δ),与对照相比,降低了移植入裸小鼠中的异种肿瘤细胞的生长。

[0026] 图8展示了阻断重组HGF和各种抗c-Met抗体 (E1和E1的各种优化版本) 之间相互作用的对比图。IC50值用以比较与其受体结合的抑制性配体。

[0027] 图9展示了对重组HGF和抗c-Met抗体 (A1及其各种优化版本) 之间相互作用的阻断。

[0028] 图10展示了A549NSCLC (非小细胞肺癌) 细胞中HGF刺激的c-Met磷酸化的体外数据。数据显示了抗c-Met A1优化克隆阻断癌细胞中c-Met激活从而阻断其功能的能力。

[0029] 图11展示了抗c-Met抗体诱导ADCC (抗体依赖性细胞毒性) 的潜力。当抗体与靶细胞结合的Fc域与效应器免疫细胞表面的Fc受体相互作用,引发对靶细胞的杀灭时,即是触发ADCC。图11使用基于细胞的报告实验 (Promega) 展示了抗c-Met抗体诱导的ADCC。如图11所示,用于诱导ADCC的E1和E1优化克隆的EC<sub>50</sub>值的范围在230pM至1.1nM之间。

[0030] 图12展示了抗c-Met mAbs对细胞迁移的作用,使用了采用xCelligence系统 (ACEA) 的改良博伊登室 (Boyden Chamber)。如图12所示,5ng/ml HGF诱导了细胞迁移,且所

述抗c-Met mAbs不同程度地抑制了该迁移。图示数据为实验开始8小时后以未处理对照正常化(+/-SD)的细胞指数。

[0031] 图13展示了图7体内数据的放大图。

### 具体实施方式

[0032] 本公开提供一个与c-Met表位结合且结合亲和性为 $10^{-6}$ M或以下的IgG类全人抗体，其重链可变域序列与选自下列的氨基酸序列至少95%相同：SEQ ID NO.1、SEQ ID NO.3、SEQ ID NO.5、SEQ ID NO.7、SEQ ID NO.9、SEQ ID NO.11、SEQ ID NO.13、SEQ ID NO.15、SEQ ID NO.17、SEQ ID NO.19、SEQ ID NO.21、SEQ ID NO.24、SEQ ID NO.25、SEQ ID NO.27、SEQ ID NO.29、SEQ ID NO.31、SEQ ID NO.32、SEQ ID NO.33、SEQ ID NO.34、SEQ ID NO.36、SEQ ID NO.37、SEQ ID NO.40、SEQ ID NO.42、SEQ ID NO.44、SEQ ID NO.45、SEQ ID NO.47、SEQ ID NO.49、SEQ ID NO.51、SEQ ID NO.53、SEQ ID NO.56、SEQ ID NO.58、SEQ ID NO.59、SEQ ID NO.61、SEQ ID NO.63、SEQ ID NO.65、SEQ ID NO.69、SEQ ID NO.71、SEQ ID NO.74、SEQ ID NO.75、SEQ ID NO.76、SEQ ID NO.79、SEQ ID NO.80、SEQ ID NO.82、SEQ ID NO.84、SEQ ID NO.86、SEQ ID NO.88、SEQ ID NO.90、SEQ ID NO.92，及其组合；其轻链可变域序列与选自下列的氨基酸序列及其组合至少95%相同：SEQ ID NO.2、SEQ ID NO.4、SEQ ID NO.6、SEQ ID NO.8、SEQ ID NO.10、SEQ ID NO.12、SEQ ID NO.14、SEQ ID NO.16、SEQ ID NO.18、SEQ ID NO.20、SEQ ID NO.22、SEQ ID NO.23、SEQ ID NO.26、SEQ ID NO.28、SEQ ID NO.30、SEQ ID NO.35、SEQ ID NO.38、SEQ ID NO.39、SEQ ID NO.41、SEQ ID NO.43、SEQ ID NO.46、SEQ ID NO.48、SEQ ID NO.50、SEQ ID NO.52、SEQ ID NO.54、SEQ ID NO.55、SEQ ID NO.57、SEQ ID NO.60、SEQ ID NO.62、SEQ ID NO.64、SEQ ID NO.66、SEQ ID NO.67、SEQ ID NO.68、SEQ ID NO.70、SEQ ID NO.72、SEQ ID NO.73、SEQ ID NO.77、SEQ ID NO.78、SEQ ID NO.81、SEQ ID NO.83、SEQ ID NO.85、SEQ ID NO.87、SEQ ID NO.89、SEQ ID NO.91、SEQ ID NO.93，及其组合；优选地，该全人抗体具有重链和轻链，其中该抗体的重链/轻链可变域序列选自下列序列：SEQ ID NO.1/SEQ ID NO.2(本文称为A1)、SEQ ID NO.3/SEQ ID NO.4(本文称为A2)、SEQ ID NO.5/SEQ ID NO.6(本文称为A8)、SEQ ID NO.7/SEQ ID NO.8(本文称为B12)、SEQ ID NO.9/SEQ ID NO.10(本文称为D6)、SEQ ID NO.11/SEQ ID NO.12(本文称为E1)、SEQ ID NO.13/SEQ ID NO.14(本文称为E6)、SEQ ID NO.15/SEQ ID NO.16(本文称为F3)、SEQ ID NO.17/SEQ ID NO.18(本文称为H6)、SEQ ID NO.19/SEQ ID NO.20(本文称为H8)、SEQ ID NO.21/SEQ ID NO.22(本文称为H8-9)、SEQ ID NO.21/SEQ ID NO.23(本文称为H8-9EE8L3)、SEQ ID NO.24/SEQ ID NO.22(本文称为H8-G3S)、SEQ ID NO.25/SEQ ID NO.26(本文称为H8-A2)、SEQ ID NO.27/SEQ ID NO.28(本文称为H8-B6)、SEQ ID NO.29/SEQ ID NO.23(本文称为H8-C1)、SEQ ID NO.24/SEQ ID NO.30(本文称为H8-D4)、SEQ ID NO.31/SEQ ID NO.23(本文称为H8-D5)、SEQ ID NO.24/SEQ ID NO.23(本文称为H8-D6)、SEQ ID NO.32/SEQ ID NO.23(本文称为H8-D10)、SEQ ID NO.33/SEQ ID NO.22(本文称为H8-E5)、SEQ ID NO.34/SEQ ID NO.22(本文称为H8-G7)、SEQ ID NO.24/SEQ ID NO.35(本文称为H8-G9)、SEQ ID NO.36/SEQ ID NO.26(本文称为H8-H6)、SEQ ID NO.29/SEQ ID NO.22(本文称为H8-2A2)、SEQ ID NO.37/SEQ ID NO.38(本文称为H8-2B1)、SEQ ID NO.34/SEQ ID NO.23(本文称为H8-2B2)、SEQ ID NO.37/SEQ ID NO.23(本文称为H8-2B4)、

SEQ ID NO.32/SEQ ID NO.39(本文称为H8-2B7)、SEQ ID NO.32/SEQ ID NO.22(本文称为H8-A7P)、SEQ ID NO.40/SEQ ID NO.41(本文称为GCE-A10)、SEQ ID NO.42/SEQ ID NO.43(本文称为GCE-A11)、SEQ ID NO.44/SEQ ID NO.41(本文称为GCE-A13)、SEQ ID NO.45/SEQ ID NO.46(本文称为GCE-A14)、SEQ ID NO.47/SEQ ID NO.48(本文称为GCE-A16)、SEQ ID NO.49/SEQ ID NO.50(本文称为GCE-A18)、SEQ ID NO.51/SEQ ID NO.52(本文称为GCE-B2)、SEQ ID NO.53/SEQ ID NO.54(本文称为GCE-B9)、SEQ ID NO.45/SEQ ID NO.55(本文称为GCE-B11)、SEQ ID NO.56/SEQ ID NO.57(本文称为GCE-B13)、SEQ ID NO.58/SEQ ID NO.57(本文称为GCE-B19)、SEQ ID NO.59/SEQ ID NO.60(本文称为GCE-BR1)、SEQ ID NO.61/SEQ ID NO.62(本文称为GCE-B20)、SEQ ID NO.63/SEQ ID NO.64(本文称为GCE-A19)、SEQ ID NO.65/SEQ ID NO.66(本文称为GCE-B10)、SEQ ID NO.58/SEQ ID NO.67(本文称为GCE-B5)、SEQ ID NO.61/SEQ ID NO.68(本文称为GCE-B4)、SEQ ID NO.69/SEQ ID NO.70(本文称为GCE-A26)、SEQ ID NO.71/SEQ ID NO.72(本文称为GCE-L1A-9)、SEQ ID NO.49/SEQ ID NO.73(本文称为GCE-H34-36)、SEQ ID NO.74/SEQ ID NO.73(本文称为GCE-H13-1)、SEQ ID NO.61/SEQ ID NO.73(本文称为GCE-H13-2)、SEQ ID NO.44/SEQ ID NO.73(本文称为GCE-H13-3)、SEQ ID NO.40/SEQ ID NO.73(本文称为GCE-H13-4)、SEQ ID NO.75/SEQ ID NO.73(本文称为GCE-H13-5)、SEQ ID NO.69/SEQ ID NO.73(本文称为GCE-H13-6)、SEQ ID NO.76/SEQ ID NO.73(本文称为GCE-H13-8)、SEQ ID NO.21/SEQ ID NO.77(本文称为H8-9EH11L)、SEQ ID NO.21/SEQ ID NO.78(本文称为H8-9EG11L)、SEQ ID NO.79/SEQ ID NO.20(本文称为H8-6AG2H3)、SEQ ID NO.80/SEQ ID NO.81(本文称为A1-2)、SEQ ID NO.82/SEQ ID NO.83(本文称为A1-4)、SEQ ID NO.84/SEQ ID NO.85(本文称为A1-6)、SEQ ID NO.86/SEQ ID NO.87(本文称为A1-8)、SEQ ID NO.88/SEQ ID NO.89(本文称为A1-9)、SEQ ID NO.90/SEQ ID NO.91(本文称为A1-24)、SEQ ID NO.92/SEQ ID NO.93(本文称为A1-32),及其组合。

[0033] 本公开提供一个Fab全人抗体片段,其具有来自重链的可变域和来自轻链的可变域,其中,重链可变域序列与选自下列的氨基酸序列至少95%相同:SEQ ID NO.1、SEQ ID NO.3、SEQ ID NO.5、SEQ ID NO.7、SEQ ID NO.9、SEQ ID NO.11、SEQ ID NO.13、SEQ ID NO.15、SEQ ID NO.17、SEQ ID NO.19、SEQ ID NO.21、SEQ ID NO.24、SEQ ID NO.25、SEQ ID NO.27、SEQ ID NO.29、SEQ ID NO.31、SEQ ID NO.32、SEQ ID NO.33、SEQ ID NO.34、SEQ ID NO.36、SEQ ID NO.37、SEQ ID NO.40、SEQ ID NO.42、SEQ ID NO.44、SEQ ID NO.45、SEQ ID NO.47、SEQ ID NO.49、SEQ ID NO.51、SEQ ID NO.53、SEQ ID NO.56、SEQ ID NO.58、SEQ ID NO.59、SEQ ID NO.61、SEQ ID NO.63、SEQ ID NO.65、SEQ ID NO.69、SEQ ID NO.71、SEQ ID NO.74、SEQ ID NO.75、SEQ ID NO.76、SEQ ID NO.79、SEQ ID NO.80、SEQ ID NO.82、SEQ ID NO.84、SEQ ID NO.86、SEQ ID NO.88、SEQ ID NO.90、SEQ ID NO.92,及其组合;且其轻链可变域序列与选自下列的氨基酸序列至少95%相同:SEQ ID NO.2、SEQ ID NO.4、SEQ ID NO.6、SEQ ID NO.8、SEQ ID NO.10、SEQ ID NO.12、SEQ ID NO.14、SEQ ID NO.16、SEQ ID NO.18、SEQ ID NO.20、SEQ ID NO.22、SEQ ID NO.23、SEQ ID NO.26、SEQ ID NO.28、SEQ ID NO.30、SEQ ID NO.35、SEQ ID NO.38、SEQ ID NO.39、SEQ ID NO.41、SEQ ID NO.43、SEQ ID NO.46、SEQ ID NO.48、SEQ ID NO.50、SEQ ID NO.52、SEQ ID NO.54、SEQ ID NO.55、SEQ ID NO.57、SEQ ID NO.60、SEQ ID NO.62、SEQ ID NO.64、SEQ ID NO.66、SEQ ID NO.67、SEQ ID

NO.68、SEQ ID NO.70、SEQ ID NO.72、SEQ ID NO.73、SEQ ID NO.77、SEQ ID NO.78、SEQ ID NO.81、SEQ ID NO.83、SEQ ID NO.85、SEQ ID NO.87、SEQ ID NO.89、SEQ ID NO.91、SEQ ID NO.93,及其组合;优选地,该全人抗体Fab片段具有重链可变域和轻链可变域,其中该抗体的重链/轻链可变域序列选自下列序列:SEQ ID NO.1/SEQ ID NO.2、SEQ ID NO.3/SEQ ID NO.4、SEQ ID NO.5/SEQ ID NO.6、SEQ ID NO.7/SEQ ID NO.8、SEQ ID NO.9/SEQ ID NO.10、SEQ ID NO.11/SEQ ID NO.12、SEQ ID NO.13/SEQ ID NO.14、SEQ ID NO.15/SEQ ID NO.16、SEQ ID NO.17/SEQ ID NO.18、SEQ ID NO.19/SEQ ID NO.20、SEQ ID NO.21/SEQ ID NO.22、SEQ ID NO.21/SEQ ID NO.23、SEQ ID NO.24/SEQ ID NO.22、SEQ ID NO.25/SEQ ID NO.26、SEQ ID NO.27/SEQ ID NO.28、SEQ ID NO.29/SEQ ID NO.23、SEQ ID NO.24/SEQ ID NO.30、SEQ ID NO.31/SEQ ID NO.23、SEQ ID NO.24/SEQ ID NO.23、SEQ ID NO.32/SEQ ID NO.23、SEQ ID NO.33/SEQ ID NO.22、SEQ ID NO.34/SEQ ID NO.22、SEQ ID NO.24/SEQ ID NO.35、SEQ ID NO.36/SEQ ID NO.26、SEQ ID NO.29/SEQ ID NO.22、SEQ ID NO.37/SEQ ID NO.38、SEQ ID NO.34/SEQ ID NO.23、SEQ ID NO.37/SEQ ID NO.23、SEQ ID NO.32/SEQ ID NO.39、SEQ ID NO.32/SEQ ID NO.22、SEQ ID NO.40/SEQ ID NO.41、SEQ ID NO.42/SEQ ID NO.43,SEQ ID NO.44/SEQ ID NO.41、SEQ ID NO.45/SEQ ID NO.46、SEQ ID NO.47/SEQ ID NO.48、SEQ ID NO.49/SEQ ID NO.50、SEQ ID NO.51/SEQ ID NO.52、SEQ ID NO.53/SEQ ID NO.54、SEQ ID NO.45/SEQ ID NO.55、SEQ ID NO.56/SEQ ID NO.57、SEQ ID NO.58/SEQ ID NO.57、SEQ ID NO.59/SEQ ID NO.60、SEQ ID NO.61/SEQ ID NO.62、SEQ ID NO.63/SEQ ID NO.64、SEQ ID NO.65/SEQ ID NO.66、SEQ ID NO.58/SEQ ID NO.67、SEQ ID NO.61/SEQ ID NO.68、SEQ ID NO.69/SEQ ID NO.70、SEQ ID NO.71/SEQ ID NO.72、SEQ ID NO.49/SEQ ID NO.73、SEQ ID NO.74/SEQ ID NO.73、SEQ ID NO.61/SEQ ID NO.73、SEQ ID NO.44/SEQ ID NO.73、SEQ ID NO.40/SEQ ID NO.73、SEQ ID NO.75/SEQ ID NO.73、SEQ ID NO.69/SEQ ID NO.73、SEQ ID NO.76/SEQ ID NO.73、SEQ ID NO.21/SEQ ID NO.77、SEQ ID NO.21/SEQ ID NO.78、SEQ ID NO.79/SEQ ID NO.20、SEQ ID NO.80/SEQ ID NO.81、SEQ ID NO.82/SEQ ID NO.83、SEQ ID NO.84/SEQ ID NO.85、SEQ ID NO.86/SEQ ID NO.87、SEQ ID NO.88/SEQ ID NO.89、SEQ ID NO.90/SEQ ID NO.91、SEQ ID NO.92/SEQ ID NO.93,及其组合。本公开提供一个单链人抗体,其具有来自重链的可变域、来自轻链的可变域、连接重链和轻链可变域的连接肽,其中,重链可变域序列与选自下列的氨基酸序列至少95%相同:SEQ ID NO.1、SEQ ID NO.3、SEQ ID NO.5、SEQ ID NO.7、SEQ ID NO.9、SEQ ID NO.11、SEQ ID NO.13、SEQ ID NO.15、SEQ ID NO.17、SEQ ID NO.19、SEQ ID NO.21、SEQ ID NO.24、SEQ ID NO.25、SEQ ID NO.27、SEQ ID NO.29、SEQ ID NO.31、SEQ ID NO.32、SEQ ID NO.33、SEQ ID NO.34、SEQ ID NO.36、SEQ ID NO.37、SEQ ID NO.40、SEQ ID NO.42、SEQ ID NO.44、SEQ ID NO.45、SEQ ID NO.47、SEQ ID NO.49、SEQ ID NO.51、SEQ ID NO.53、SEQ ID NO.56、SEQ ID NO.58、SEQ ID NO.59、SEQ ID NO.61、SEQ ID NO.63、SEQ ID NO.65、SEQ ID NO.69、SEQ ID NO.71、SEQ ID NO.74、SEQ ID NO.75、SEQ ID NO.76、SEQ ID NO.79、SEQ ID NO.80、SEQ ID NO.82、SEQ ID NO.84、SEQ ID NO.86、SEQ ID NO.88、SEQ ID NO.90、SEQ ID NO.92,及其组合;其轻链可变域序列与选自下列的氨基酸序列至少95%相同:SEQ ID NO.2、SEQ ID NO.4、SEQ ID NO.6、SEQ ID NO.8、SEQ ID NO.10、SEQ ID NO.12、SEQ ID NO.14、SEQ ID NO.16、SEQ ID NO.18、SEQ ID NO.20、SEQ ID NO.22、SEQ ID NO.23、SEQ ID NO.26、SEQ ID NO.28、SEQ ID

NO.30、SEQ ID NO.35、SEQ ID NO.38、SEQ ID NO.39、SEQ ID NO.41、SEQ ID NO.43、SEQ ID NO.46、SEQ ID NO.48、SEQ ID NO.50、SEQ ID NO.52、SEQ ID NO.54、SEQ ID NO.55、SEQ ID NO.57、SEQ ID NO.60、SEQ ID NO.62、SEQ ID NO.64、SEQ ID NO.66、SEQ ID NO.67、SEQ ID NO.68、SEQ ID NO.70、SEQ ID NO.72、SEQ ID NO.73、SEQ ID NO.77、SEQ ID NO.78、SEQ ID NO.81、SEQ ID NO.83、SEQ ID NO.85、SEQ ID NO.87、SEQ ID NO.89、SEQ ID NO.91、SEQ ID NO.93,及其组合;优选地,该全人单链抗体具有重链可变域和轻链可变域,其中该抗单链全人抗体的重链/轻链可变域序列选自下列序列:SEQ ID NO.1/SEQ ID NO.2、SEQ ID NO.3/SEQ ID NO.4、SEQ ID NO.5/SEQ ID NO.6、SEQ ID NO.7/SEQ ID NO.8、SEQ ID NO.9/SEQ ID NO.10、SEQ ID NO.11/SEQ ID NO.12、SEQ ID NO.13/SEQ ID NO.14、SEQ ID NO.15/SEQ ID NO.16、SEQ ID NO.17/SEQ ID NO.18、SEQ ID NO.19/SEQ ID NO.20、SEQ ID NO.21/SEQ ID NO.22、SEQ ID NO.21/SEQ ID NO.23、SEQ ID NO.24/SEQ ID NO.22、SEQ ID NO.25/SEQ ID NO.26、SEQ ID NO.27/SEQ ID NO.28、SEQ ID NO.29/SEQ ID NO.23、SEQ ID NO.24/SEQ ID NO.30、SEQ ID NO.31/SEQ ID NO.23、SEQ ID NO.24/SEQ ID NO.23、SEQ ID NO.32/SEQ ID NO.23、SEQ ID NO.33/SEQ ID NO.22、SEQ ID NO.34/SEQ ID NO.22、SEQ ID NO.24/SEQ ID NO.35、SEQ ID NO.36/SEQ ID NO.26、SEQ ID NO.29/SEQ ID NO.22、SEQ ID NO.37/SEQ ID NO.38、SEQ ID NO.34/SEQ ID NO.23、SEQ ID NO.37/SEQ ID NO.23、SEQ ID NO.32/SEQ ID NO.39、SEQ ID NO.32/SEQ ID NO.22、SEQ ID NO.40/SEQ ID NO.41、SEQ ID NO.42/SEQ ID NO.43、SEQ ID NO.44/SEQ ID NO.41、SEQ ID NO.45/SEQ ID NO.46、SEQ ID NO.47/SEQ ID NO.48、SEQ ID NO.49/SEQ ID NO.50、SEQ ID NO.51/SEQ ID NO.52、SEQ ID NO.53/SEQ ID NO.54、SEQ ID NO.45/SEQ ID NO.55、SEQ ID NO.56/SEQ ID NO.57、SEQ ID NO.58/SEQ ID NO.57、SEQ ID NO.59/SEQ ID NO.60、SEQ ID NO.61/SEQ ID NO.62、SEQ ID NO.63/SEQ ID NO.64、SEQ ID NO.65/SEQ ID NO.66、SEQ ID NO.58/SEQ ID NO.67、SEQ ID NO.61/SEQ ID NO.68、SEQ ID NO.69/SEQ ID NO.70、SEQ ID NO.71/SEQ ID NO.72、SEQ ID NO.49/SEQ ID NO.73、SEQ ID NO.74/SEQ ID NO.73、SEQ ID NO.61/SEQ ID NO.73、SEQ ID NO.44/SEQ ID NO.73、SEQ ID NO.40/SEQ ID NO.73、SEQ ID NO.75/SEQ ID NO.73、SEQ ID NO.69/SEQ ID NO.73、SEQ ID NO.76/SEQ ID NO.73、SEQ ID NO.21/SEQ ID NO.77、SEQ ID NO.21/SEQ ID NO.78、SEQ ID NO.79/SEQ ID NO.20、SEQ ID NO.80/SEQ ID NO.81、SEQ ID NO.82/SEQ ID NO.83、SEQ ID NO.84/SEQ ID NO.85、SEQ ID NO.86/SEQ ID NO.87、SEQ ID NO.88/SEQ ID NO.89、SEQ ID NO.90/SEQ ID NO.91、SEQ ID NO.92/SEQ ID NO.93,及其组合。

[0034] 本公开进一步提供一种治疗广谱哺乳动物癌症或炎性疾病或自体免疫疾病的方法,包括以抗c-Met多肽的有效剂量给药,其中所述抗c-Met多肽选自:一种与c-Met表位结合且结合亲和力为至少 $10^{-6}$ M的IgG类全人抗体;具有重链可变域和轻链可变域的全人抗体Fab片段;具有来自重链的可变域、来自轻链的可变域、连接所述轻链和重链可变域的连接肽的单链人抗体;及其组合;

[0035] 其中,所述全人抗体的重链可变域序列与选自下列的氨基酸序列至少95%相同:SEQ ID NO.1、SEQ ID NO.3、SEQ ID NO.5、SEQ ID NO.7、SEQ ID NO.9、SEQ ID NO.11、SEQ ID NO.13、SEQ ID NO.15、SEQ ID NO.17、SEQ ID NO.19、SEQ ID NO.21、SEQ ID NO.24、SEQ ID NO.25、SEQ ID NO.27、SEQ ID NO.29、SEQ ID NO.31、SEQ ID NO.32、SEQ ID NO.33、SEQ ID NO.34、SEQ ID NO.36、SEQ ID NO.37、SEQ ID NO.40、SEQ ID NO.42、SEQ ID NO.44、SEQ

ID NO.45、SEQ ID NO.47、SEQ ID NO.49、SEQ ID NO.51、SEQ ID NO.53、SEQ ID NO.56、SEQ ID NO.58、SEQ ID NO.59、SEQ ID NO.61、SEQ ID NO.63、SEQ ID NO.65、SEQ ID NO.69、SEQ ID NO.71、SEQ ID NO.74、SEQ ID NO.75、SEQ ID NO.76、SEQ ID NO.79、SEQ ID NO.80、SEQ ID NO.82、SEQ ID NO.84、SEQ ID NO.86、SEQ ID NO.88、SEQ ID NO.90、SEQ ID NO.92,及其组合;且其轻链可变域序列与选自下列的氨基酸序列至少95%相同:SEQ ID NO.2、SEQ ID NO.4、SEQ ID NO.6、SEQ ID NO.8、SEQ ID NO.10、SEQ ID NO.12、SEQ ID NO.14、SEQ ID NO.16、SEQ ID NO.18、SEQ ID NO.20、SEQ ID NO.22、SEQ ID NO.23、SEQ ID NO.26、SEQ ID NO.28、SEQ ID NO.30、SEQ ID NO.35、SEQ ID NO.38、SEQ ID NO.39、SEQ ID NO.41、SEQ ID NO.43、SEQ ID NO.46、SEQ ID NO.48、SEQ ID NO.50、SEQ ID NO.52、SEQ ID NO.54、SEQ ID NO.55、SEQ ID NO.57、SEQ ID NO.60、SEQ ID NO.62、SEQ ID NO.64、SEQ ID NO.66、SEQ ID NO.67、SEQ ID NO.68、SEQ ID NO.70、SEQ ID NO.72、SEQ ID NO.73、SEQ ID NO.77、SEQ ID NO.78、SEQ ID NO.81、SEQ ID NO.83、SEQ ID NO.85、SEQ ID NO.87、SEQ ID NO.89、SEQ ID NO.91、SEQ ID NO.93,及其组合;

[0036] 其中,所述全人抗体Fab片段的轻链可变域序列与选自下列的氨基酸序列至少95%相同:SEQ ID NO.1、SEQ ID NO.3、SEQ ID NO.5、SEQ ID NO.7、SEQ ID NO.9、SEQ ID NO.11、SEQ ID NO.13、SEQ ID NO.15、SEQ ID NO.17、SEQ ID NO.19、SEQ ID NO.21、SEQ ID NO.24、SEQ ID NO.25、SEQ ID NO.27、SEQ ID NO.29、SEQ ID NO.31、SEQ ID NO.32、SEQ ID NO.33、SEQ ID NO.34、SEQ ID NO.36、SEQ ID NO.37、SEQ ID NO.40、SEQ ID NO.42、SEQ ID NO.44、SEQ ID NO.45、SEQ ID NO.47、SEQ ID NO.49、SEQ ID NO.51、SEQ ID NO.53、SEQ ID NO.56、SEQ ID NO.58、SEQ ID NO.59、SEQ ID NO.61、SEQ ID NO.63、SEQ ID NO.65、SEQ ID NO.69、SEQ ID NO.71、SEQ ID NO.74、SEQ ID NO.75、SEQ ID NO.76、SEQ ID NO.79、SEQ ID NO.80、SEQ ID NO.82、SEQ ID NO.84、SEQ ID NO.86、SEQ ID NO.88、SEQ ID NO.90、SEQ ID NO.92,及其组合;且其轻链可变域序列与选自下列的氨基酸序列至少95%相同:SEQ ID NO.2、SEQ ID NO.4、SEQ ID NO.6、SEQ ID NO.8、SEQ ID NO.10、SEQ ID NO.12、SEQ ID NO.14、SEQ ID NO.16、SEQ ID NO.18、SEQ ID NO.20、SEQ ID NO.22、SEQ ID NO.23、SEQ ID NO.26、SEQ ID NO.28、SEQ ID NO.30、SEQ ID NO.35、SEQ ID NO.38、SEQ ID NO.39、SEQ ID NO.41、SEQ ID NO.43、SEQ ID NO.46、SEQ ID NO.48、SEQ ID NO.50、SEQ ID NO.52、SEQ ID NO.54、SEQ ID NO.55、SEQ ID NO.57、SEQ ID NO.60、SEQ ID NO.62、SEQ ID NO.64、SEQ ID NO.66、SEQ ID NO.67、SEQ ID NO.68、SEQ ID NO.70、SEQ ID NO.72、SEQ ID NO.73、SEQ ID NO.77、SEQ ID NO.78、SEQ ID NO.81、SEQ ID NO.83、SEQ ID NO.85、SEQ ID NO.87、SEQ ID NO.89、SEQ ID NO.91、SEQ ID NO.93,及其组合;以及

[0037] 其中,所述单链人抗体的重链可变域序列与选自下列的氨基酸序列至少95%相同:SEQ ID NO.1、SEQ ID NO.3、SEQ ID NO.5、SEQ ID NO.7、SEQ ID NO.9、SEQ ID NO.11、SEQ ID NO.13、SEQ ID NO.15、SEQ ID NO.17、SEQ ID NO.19、SEQ ID NO.21、SEQ ID NO.24、SEQ ID NO.25、SEQ ID NO.27、SEQ ID NO.29、SEQ ID NO.31、SEQ ID NO.32、SEQ ID NO.33、SEQ ID NO.34、SEQ ID NO.36、SEQ ID NO.37、SEQ ID NO.40、SEQ ID NO.42、SEQ ID NO.44、SEQ ID NO.45、SEQ ID NO.47、SEQ ID NO.49、SEQ ID NO.51、SEQ ID NO.53、SEQ ID NO.56、SEQ ID NO.58、SEQ ID NO.59、SEQ ID NO.61、SEQ ID NO.63、SEQ ID NO.65、SEQ ID NO.69、SEQ ID NO.71、SEQ ID NO.74、SEQ ID NO.75、SEQ ID NO.76、SEQ ID NO.79、SEQ ID

NO.80、SEQ ID NO.82、SEQ ID NO.84、SEQ ID NO.86、SEQ ID NO.88、SEQ ID NO.90、SEQ ID NO.92,及其组合;且其轻链可变域序列与选自下列的氨基酸序列至少95%相同:SEQ ID NO.2、SEQ ID NO.4、SEQ ID NO.6、SEQ ID NO.8、SEQ ID NO.10、SEQ ID NO.12、SEQ ID NO.14、SEQ ID NO.16、SEQ ID NO.18、SEQ ID NO.20、SEQ ID NO.22、SEQ ID NO.23、SEQ ID NO.26、SEQ ID NO.28、SEQ ID NO.30、SEQ ID NO.35、SEQ ID NO.38、SEQ ID NO.39、SEQ ID NO.41、SEQ ID NO.43、SEQ ID NO.46、SEQ ID NO.48、SEQ ID NO.50、SEQ ID NO.52、SEQ ID NO.54、SEQ ID NO.55、SEQ ID NO.57、SEQ ID NO.60、SEQ ID NO.62、SEQ ID NO.64、SEQ ID NO.66、SEQ ID NO.67、SEQ ID NO.68、SEQ ID NO.70、SEQ ID NO.72、SEQ ID NO.73、SEQ ID NO.77、SEQ ID NO.78、SEQ ID NO.81、SEQ ID NO.83、SEQ ID NO.85、SEQ ID NO.87、SEQ ID NO.89、SEQ ID NO.91、SEQ ID NO.93,及其组合。

[0038] 优选地,所述全人抗体具有重链和轻链,其中所述抗体的重链/轻链可变域序列选自以下序列:SEQ ID NO.1/SEQ ID NO.2、SEQ ID NO.3/SEQ ID NO.4、SEQ ID NO.5/SEQ ID NO.6、SEQ ID NO.7/SEQ ID NO.8、SEQ ID NO.9/SEQ ID NO.10、SEQ ID NO.11/SEQ ID NO.12、SEQ ID NO.13/SEQ ID NO.14、SEQ ID NO.15/SEQ ID NO.16、SEQ ID NO.17/SEQ ID NO.18、SEQ ID NO.19/SEQ ID NO.20、SEQ ID NO.21/SEQ ID NO.22、SEQ ID NO.21/SEQ ID NO.23、SEQ ID NO.24/SEQ ID NO.22、SEQ ID NO.25/SEQ ID NO.26、SEQ ID NO.27/SEQ ID NO.28、SEQ ID NO.29/SEQ ID NO.23、SEQ ID NO.24/SEQ ID NO.30、SEQ ID NO.31/SEQ ID NO.23、SEQ ID NO.24/SEQ ID NO.23、SEQ ID NO.32/SEQ ID NO.23、SEQ ID NO.33/SEQ ID NO.22、SEQ ID NO.34/SEQ ID NO.22、SEQ ID NO.24/SEQ ID NO.35、SEQ ID NO.36/SEQ ID NO.26、SEQ ID NO.29/SEQ ID NO.22、SEQ ID NO.37/SEQ ID NO.38、SEQ ID NO.34/SEQ ID NO.23、SEQ ID NO.37/SEQ ID NO.23、SEQ ID NO.32/SEQ ID NO.39、SEQ ID NO.32/SEQ ID NO.22、SEQ ID NO.40/SEQ ID NO.41、SEQ ID NO.42/SEQ ID NO.43、SEQ ID NO.44/SEQ ID NO.41、SEQ ID NO.45/SEQ ID NO.46、SEQ ID NO.47/SEQ ID NO.48、SEQ ID NO.49/SEQ ID NO.50、SEQ ID NO.51/SEQ ID NO.52、SEQ ID NO.53/SEQ ID NO.54、SEQ ID NO.45/SEQ ID NO.55、SEQ ID NO.56/SEQ ID NO.57、SEQ ID NO.58/SEQ ID NO.57、SEQ ID NO.59/SEQ ID NO.60、SEQ ID NO.61/SEQ ID NO.62、SEQ ID NO.63/SEQ ID NO.64、SEQ ID NO.65/SEQ ID NO.66、SEQ ID NO.58/SEQ ID NO.67、SEQ ID NO.61/SEQ ID NO.68、SEQ ID NO.69/SEQ ID NO.70、SEQ ID NO.71/SEQ ID NO.72、SEQ ID NO.49/SEQ ID NO.73、SEQ ID NO.74/SEQ ID NO.73、SEQ ID NO.61/SEQ ID NO.73、SEQ ID NO.44/SEQ ID NO.73、SEQ ID NO.40/SEQ ID NO.73、SEQ ID NO.75/SEQ ID NO.73、SEQ ID NO.69/SEQ ID NO.73、SEQ ID NO.76/SEQ ID NO.73、SEQ ID NO.21/SEQ ID NO.77、SEQ ID NO.21/SEQ ID NO.78、SEQ ID NO.79/SEQ ID NO.20、SEQ ID NO.80/SEQ ID NO.81、SEQ ID NO.82/SEQ ID NO.83、SEQ ID NO.84/SEQ ID NO.85、SEQ ID NO.86/SEQ ID NO.87、SEQ ID NO.88/SEQ ID NO.89、SEQ ID NO.90/SEQ ID NO.91、SEQ ID NO.92/SEQ ID NO.93,及其组合;优选地,所述全人抗体Fab片段具有重链可变域和轻链可变域,其中所述抗体的重链/轻链可变域序列选自下列序列:SEQ ID NO.1/SEQ ID NO.2、SEQ ID NO.3/SEQ ID NO.4、SEQ ID NO.5/SEQ ID NO.6、SEQ ID NO.7/SEQ ID NO.8、SEQ ID NO.9/SEQ ID NO.10、SEQ ID NO.11/SEQ ID NO.12、SEQ ID NO.13/SEQ ID NO.14、SEQ ID NO.15/SEQ ID NO.16、SEQ ID NO.17/SEQ ID NO.18、SEQ ID NO.19/SEQ ID NO.20、SEQ ID NO.21/SEQ ID NO.22、SEQ ID NO.21/SEQ ID NO.23、SEQ ID NO.24/SEQ

ID NO.22、SEQ ID NO.25/SEQ ID NO.26、SEQ ID NO.27/SEQ ID NO.28、SEQ ID NO.29/SEQ ID NO.23、SEQ ID NO.24/SEQ ID NO.30、SEQ ID NO.31/SEQ ID NO.23、SEQ ID NO.24/SEQ ID NO.23、SEQ ID NO.32/SEQ ID NO.23、SEQ ID NO.33/SEQ ID NO.22、SEQ ID NO.34/SEQ ID NO.22、SEQ ID NO.24/SEQ ID NO.35、SEQ ID NO.36/SEQ ID NO.26、SEQ ID NO.29/SEQ ID NO.22、SEQ ID NO.37/SEQ ID NO.38、SEQ ID NO.34/SEQ ID NO.23、SEQ ID NO.37/SEQ ID NO.23、SEQ ID NO.32/SEQ ID NO.39、SEQ ID NO.32/SEQ ID NO.22、SEQ ID NO.40/SEQ ID NO.41、SEQ ID NO.42/SEQ ID NO.43、SEQ ID NO.44/SEQ ID NO.41、SEQ ID NO.45/SEQ ID NO.46、SEQ ID NO.47/SEQ ID NO.48、SEQ ID NO.49/SEQ ID NO.50、SEQ ID NO.51/SEQ ID NO.52、SEQ ID NO.53/SEQ ID NO.54、SEQ ID NO.45/SEQ ID NO.55、SEQ ID NO.56/SEQ ID NO.57、SEQ ID NO.58/SEQ ID NO.57、SEQ ID NO.59/SEQ ID NO.60、SEQ ID NO.61/SEQ ID NO.62、SEQ ID NO.63/SEQ ID NO.64、SEQ ID NO.65/SEQ ID NO.66、SEQ ID NO.58/SEQ ID NO.67、SEQ ID NO.61/SEQ ID NO.68、SEQ ID NO.69/SEQ ID NO.70、SEQ ID NO.71/SEQ ID NO.72、SEQ ID NO.49/SEQ ID NO.73、SEQ ID NO.74/SEQ ID NO.73、SEQ ID NO.61/SEQ ID NO.73、SEQ ID NO.44/SEQ ID NO.73、SEQ ID NO.40/SEQ ID NO.73、SEQ ID NO.75/SEQ ID NO.73、SEQ ID NO.69/SEQ ID NO.73、SEQ ID NO.76/SEQ ID NO.73、SEQ ID NO.21/SEQ ID NO.77、SEQ ID NO.21/SEQ ID NO.78、SEQ ID NO.79/SEQ ID NO.20、SEQ ID NO.80/SEQ ID NO.81、SEQ ID NO.82/SEQ ID NO.83、SEQ ID NO.84/SEQ ID NO.85、SEQ ID NO.86/SEQ ID NO.87、SEQ ID NO.88/SEQ ID NO.89、SEQ ID NO.90/SEQ ID NO.91、SEQ ID NO.92/SEQ ID NO.93, 及其组合; 优选地, 所述全人单链抗体具有重链可变域和轻链可变域, 其中所述单链全人抗体的重链/轻链可变域序列选自下列序列: SEQ ID NO.1/SEQ ID NO.2、SEQ ID NO.3/SEQ ID NO.4、SEQ ID NO.5/SEQ ID NO.6、SEQ ID NO.7/SEQ ID NO.8、SEQ ID NO.9/SEQ ID NO.10、SEQ ID NO.11/SEQ ID NO.12、SEQ ID NO.13/SEQ ID NO.14、SEQ ID NO.15/SEQ ID NO.16、SEQ ID NO.17/SEQ ID NO.18、SEQ ID NO.19/SEQ ID NO.20、SEQ ID NO.21/SEQ ID NO.22、SEQ ID NO.21/SEQ ID NO.23、SEQ ID NO.24/SEQ ID NO.22、SEQ ID NO.25/SEQ ID NO.26、SEQ ID NO.27/SEQ ID NO.28、SEQ ID NO.29/SEQ ID NO.23、SEQ ID NO.24/SEQ ID NO.30、SEQ ID NO.31/SEQ ID NO.23、SEQ ID NO.24/SEQ ID NO.23、SEQ ID NO.32/SEQ ID NO.23、SEQ ID NO.33/SEQ ID NO.22、SEQ ID NO.34/SEQ ID NO.22、SEQ ID NO.24/SEQ ID NO.35、SEQ ID NO.36/SEQ ID NO.26、SEQ ID NO.29/SEQ ID NO.22、SEQ ID NO.37/SEQ ID NO.38、SEQ ID NO.34/SEQ ID NO.23、SEQ ID NO.37/SEQ ID NO.23、SEQ ID NO.32/SEQ ID NO.39、SEQ ID NO.32/SEQ ID NO.22、SEQ ID NO.40/SEQ ID NO.41、SEQ ID NO.42/SEQ ID NO.43、SEQ ID NO.44/SEQ ID NO.41、SEQ ID NO.45/SEQ ID NO.46、SEQ ID NO.47/SEQ ID NO.48、SEQ ID NO.49/SEQ ID NO.50、SEQ ID NO.51/SEQ ID NO.52、SEQ ID NO.53/SEQ ID NO.54、SEQ ID NO.45/SEQ ID NO.55、SEQ ID NO.56/SEQ ID NO.57、SEQ ID NO.58/SEQ ID NO.57、SEQ ID NO.59/SEQ ID NO.60、SEQ ID NO.61/SEQ ID NO.62、SEQ ID NO.63/SEQ ID NO.64、SEQ ID NO.65/SEQ ID NO.66、SEQ ID NO.58/SEQ ID NO.67、SEQ ID NO.61/SEQ ID NO.68、SEQ ID NO.69/SEQ ID NO.70、SEQ ID NO.71/SEQ ID NO.72、SEQ ID NO.49/SEQ ID NO.73、SEQ ID NO.74/SEQ ID NO.73、SEQ ID NO.61/SEQ ID NO.73、SEQ ID NO.44/SEQ ID NO.73、SEQ ID NO.40/SEQ ID NO.73、SEQ ID NO.75/SEQ ID NO.73、SEQ ID NO.69/SEQ ID NO.73、SEQ ID NO.76/SEQ ID NO.73、SEQ ID NO.21/SEQ ID NO.77、SEQ ID

NO.21/SEQ ID NO.78、SEQ ID NO.79/SEQ ID NO.20、SEQ ID NO.80/SEQ ID NO.81、SEQ ID NO.82/SEQ ID NO.83、SEQ ID NO.84/SEQ ID NO.85、SEQ ID NO.86/SEQ ID NO.87、SEQ ID NO.88/SEQ ID NO.89、SEQ ID NO.90/SEQ ID NO.91、SEQ ID NO.92/SEQ ID NO.93,及其组合。

[0039] 优选地,所述以此治疗的广谱哺乳动物癌症是c-Met激活相关癌症,选自HGF依赖性的c-Met激活相关癌症、HGF非依赖性的c-Met激活相关癌症或两者兼有。优选地,所述此治疗的广谱哺乳动物癌症选自:前列腺癌、骨肉瘤、肺癌、胸腺癌、子宫内膜癌、成胶质细胞瘤和结肠癌。

[0040] “抗原结合蛋白”是包括以下部分的蛋白:与抗原结合的部分;以及可选地,允许抗原结合部分采取促进抗原结合蛋白与蛋白的结合的构型的支架或骨架部分。抗原结合蛋白的例子包括抗体、抗体片段(例如,抗体的抗原结合部分)、抗体衍生物和抗体类似物。该抗原结合蛋白可以包括,例如,具有接枝的CDRs或CDRs衍生物的替代蛋白支架或人工支架。所述支架包括但不限于,包含引入了突变(例如用于稳定该抗原结合蛋白的三维结构的突变)的抗体衍生支架,以及包括例如生物可相容聚合物的全合成支架。例如参见:Korndorfer et al.,2003,Proteins:Structure,Function,and Bioinformatics,Volume 53,Issue 1:121-129;Roque et al.,2004,Biotechnol.Prog.20:639-654。此外,可以使用多肽抗体模拟物(“PAMs”),以及基于以纤维蛋白连接素成分为支架的抗体模拟物的支架。

[0041] 抗原结合蛋白可以具有,例如,天然存在的免疫球蛋白的结构。“免疫球蛋白”是四聚物分子。在天然存在的球蛋白中,每个四聚物由2对相同的多肽链组成,每对中有一条“轻”链(约25kDa)和一条“重”链(约50-70kDa)。每条链的氨基末端部分包括约100-110或以上氨基酸的可变区,主要负责抗原识别。每条链的羧基末端部分具有恒定区,主要负责效应子功能。人轻链归类为 $\kappa$  (kappa) 或 $\lambda$  (lambda) 轻链;重链归类为 $\mu$  (mu)、 $\Delta$  (delta)、 $\gamma$  (gamma)、 $\alpha$  (alpha) 或 $\epsilon$  (epsilon),分别令抗体的种型定义为IgM、IgD、IgG、IgA和IgE。在轻链和重链中,可变区和恒定区由约12个或以上氨基酸的“J”区连接,其中重链还包括一个含约10个或以上氨基酸的“D”区。一般请参见Fundamental Immunology Ch.7 (Paul,W.,ed.,2nd ed.Raven Press,N.Y.(1989)) (在此为通用目的以引用方式全文引入)。每对轻/重链的可变域组成了抗体结合位点,因此一个完整的免疫球蛋白具有2个结合位点。

[0042] 天然存在的免疫球蛋白链具有的相同通用结构为相对保守骨架区(FR)连接3个高变区(也称为互补决定区或CDRs)。从N-端到C-端,轻链和重链均包含以下域:FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3和FR4。每个域中的氨基酸分配与Kabat et al.在Sequences of Proteins of Immunological Interest,5<sup>th</sup> Ed.,US Dept.of Health and Human Services,PHS,NIH,NIH Publication no.91-3242,1991中所述一致。其他的免疫球蛋白链氨基酸编号系统包括IMGT.RTM.(国际免疫遗传学信息系统(International ImmunoGenetics information system);Lefranc et al.,Dev.Comp.Immunol.29:185-203;2005)和AHo(Honegger and Pluckthun,J.Mol.Biol.309(3):657-670;2001)。

[0043] 抗体可以从含多样化抗原特异性免疫球蛋白的血清或血浆等来源制得。如果此类抗体进行亲和纯化,则能够针对特定抗原特异性进行富集强化。所述抗体富集制剂通常由低于约10%的针对特定抗原具有特定结合活性的抗体组成。将这些制剂经过几轮亲和纯化,能够增加针对抗原具有特定结合活性的抗体的比例。以此方式制备的抗体通常称为“单

特异性”。单特异性抗体制剂可以由约10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、97%、99%或99.9%的针对特定抗原具有特定结合活性的抗体组成。

[0044] “抗体”指的是完整免疫球蛋白或其能与完整抗体为特异结合而竞争的抗原结合部分,除非另有说明。抗原结合部分可以由重组DNA技术或完整抗体的酶切或化学裂解法制备。抗原结合部分包括但不限于:Fab、Fab'、F(ab')<sub>2</sub>、Fv、域抗体(dAbs),以及互补决定区(CDR)片段、单链抗体(scFv)、嵌合抗体、二聚体、三聚体、四聚体和至少包含足以令特定抗原与多肽结合的免疫球蛋白部分的多肽。

[0045] Fab片段是具有V<sub>L</sub>、V<sub>H</sub>、C<sub>L</sub>和C<sub>H1</sub>域的单价片段;F(ab')<sub>2</sub>片段是具有2个Fab片段的二价片段,其Fab片段在铰链区处由二硫键连接;Fv片段具有抗体单臂的V<sub>L</sub>和V<sub>H</sub>域;dAb片段具有V<sub>H</sub>域、V<sub>L</sub>域或具有V<sub>H</sub>域或V<sub>L</sub>域的抗原结合片段(美国专利6846634、6696245;美国申请2002/0202512;2004/0202995;2004/0038291;2004/0009507;2003/0039958;以及Ward et al.,Nature 341:544-546,1989)。

[0046] 单链抗体(scFv)是一种抗体,其中V<sub>L</sub>和V<sub>H</sub>域由连接子(例如,氨基酸残基合成序列)连接以形成连续蛋白链,且该连接子的长度足以允许该蛋白链自身折叠并形成单价抗原结合位点(Bird et al.,1988,Science 242:423-26 and Huston et al.,1988,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 85:5879-83)。二聚体是含有两条多肽链的二价抗体,其中每条多肽链包括由连接子连接的V<sub>L</sub>和V<sub>H</sub>域,且该连接子长度短,不允许同一条链上的两个域之间配对,由此每个域能够与另一条多肽链上的互补域配对(Holliger et al.,1993,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 90:6444-48, and Poljak et al.,1994,Structure 2:1121-23)。若二聚体的2条多肽链相同,则其配对所得的二聚体将具有2个相同的抗原决定位点。具有不同序列的多肽链可用于形成具有2个不同抗原结合位点的二聚体。类似地,三聚体和四聚体分别是含有3个或4个多肽链并分别形成3个或4个抗原结合位点(可以相同或不同)的抗体。

[0047] 可以使用Kabat et al.supra;Lefranc et al.,supra和/或Honegger and Pluckthun,supra所描述的体系,来识别特定抗体的互补决定区(CDRs)和骨架区(FR)。一个分子中可以共价或非共价地包含一个或多个CDRs,来使其成为抗原结合蛋白。抗原结合蛋白可以并入作为较大多肽链的一部分的CDR(s),可以将该CDR(s)共价连接另一个多肽链,或可以非共价地连接该CDR(s)。所述CDRs允许该抗原结合蛋白与所需的特定抗原进行特异结合。

[0048] 抗原结合蛋白可以具有一个或多个结合位点。若有超过一个结合位点,这些结合位点可以相同或不同。例如,天然存在的人免疫球蛋白典型地具有2个相同结合位点,而“双特异”或“双官能团”抗体则具有2个不同结合位点。

[0049] 术语“人抗体”包括具有源于人免疫球蛋白序列的一个或多个可变域和恒定域的所有抗体。在一个实施例中,所有的可变域和恒定域均源自人免疫球蛋白序列(全人抗体)。这些抗体可以从多种途径制备,下文对此进行了举例,包括通过与小鼠的目标抗原的免疫反应,其中小鼠经过基因改造以表达源自人重链和/或轻链编码基因的抗体。

[0050] 人源化抗体的序列不同于源自非人物种的抗体序列,其差别在于一个或多个氨基酸的取代、删除和/或添加,由此令该人源化抗体在对人类对象给药时,引起免疫反应的可能性低于非人物种抗体,和/或引起的免疫反应严重性降低。在一个实施例中,非人物种抗

体的重链和/或轻链的骨架和恒定区中的某些氨基酸突变,以产生人源化抗体。在又一个实施例中,人抗体的恒定区融合至非人物种的可变域。在又一个实施例中,非人抗体的一个或多个CDR序列中的一个或多个氨基酸残基改变,以降低该非人抗体向人类对象给药时的可能的免疫原性,其中改变的氨基酸残基要么对于该抗体与其抗原的免疫特异结合来说并不重要,或该氨基酸序列的改变是保守变化,由此该人源化抗体与抗原的结合并不显著差于该非人抗体与抗原的结合。如何制备人源化抗体的示例可以参见美国专利6054297; 5886152和5877293。

[0051] 术语“嵌合抗体”指的是含有来自一个抗体的一个或多个区和来自一个或多个其他抗体的一个或多个区的抗体。在一个实施例中,一个或多个CDRs源自人抗c-Met抗体。在另一个实施例中,所有CDRs都源自人抗c-Met抗体。在另一个实施例中,源自多个人抗c-Met抗体的CDRs混合搭配在嵌合抗体中。例如,嵌合抗体可以包括来自第一个人抗PAR-2抗体的轻链的CDR1、来自第二个人抗c-Met抗体的轻链的CDR2和CDR3,以及来自第三个抗c-Met抗体的重链的CDRs。其他组合也是可能的。

[0052] 此外,骨架区可以来自相同的抗c-Met抗体之一,一个或多个不同抗体(例如人抗体),或来自人源化抗体。在一个嵌合抗体的实施例中,其重链和/或轻链的局部等同于、同源于或来源于:特定物种的抗体,或类属于特定抗体类型或亚类的抗体;且所述链的剩余部分等同于、同源于或来源于:另一个特定物种的抗体,或类属于另一个特定抗体类型或亚类的抗体。还包括所述抗体具有所需生物活性的片段(即,能够特异性结合c-Met的能力)。

[0053] “中和抗体”或“抑制抗体”是当过量抗c-Met抗体令激活量降低至少约20%(使用如本文实施例中所述的化验)时,对c-Met的蛋白水解激活进行抑制的抗体。在各实施例中,抗原结合蛋白将c-Met的蛋白水解激活量降低至少30%、40%、50%、60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、97%、99%和99.9%。

[0054] 本领域技术人员根据本说明书的教导并使用本领域熟知的技术,能够容易地制备抗体片段或类似物。片段或类似物的氨基末端和羧基末端优选为靠近功能域的边界。可以通过将核苷酸和/或氨基酸序列数据与公共或私人序列数据库,来识别结构域和功能域。可以使用计算机化的比较方法来识别存在于已知结构和/或功能的其他蛋白中的序列基序或预期蛋白构造域。用于识别折叠为已知三维结构的蛋白质序列的方法是已知的,参见Bowie et al.,1991,Science 253:164。

[0055] “CDR接枝抗体”是含有来自特定物种或种型抗体的一个或多个CDRs和来自相同或不同物种或种型的另一抗体的骨架的抗体。

[0056] “多特异抗体”是识别一种或多种抗原上的多个表位的抗体。此类型抗体的一个子类为“双特异抗体”,其识别相同或不同抗体上的两个不同表位。

[0057] 若抗原结合蛋白在结合抗原(例如人c-Met)时的解离常数为1nM或以下,则称其与抗原“特异结合”。

[0058] “抗原结合域”、“抗原结合区”或“抗原结合位点”是指抗原结合蛋白上含有与抗原相互作用的氨基酸残基(或其他化学部分)并有利于该抗原结合蛋白对该抗原的特异性和亲和性的部分。对于与其抗原特异结合的抗体而言,这包括其至少一个CDR域的至少一部分。

[0059] “表位”是分子上连接抗原结合蛋白(例如,抗体)的部分。表位可以包括该分子的

非邻近部分(例如,在多肽中,在多肽一级序列中并不相邻但在该多肽的三级和四级结构中相互足够靠近以被抗原结合蛋白结合的氨基酸残基)。

[0060] 两个多核苷酸或两个多肽序列的“相同百分比”是用GAP电脑程序(GCG Wisconsin Package, version 10.3 (Accelrys, San Diego, Calif.)中的一部分)以其默认参数来比较序列而确定的。

[0061] 术语“多核苷酸”、“寡核苷酸”和“核酸”在全文中可交换地使用,其包括DNA分子(例如cDNA或基因组DNA)、RNA基因组(例如mRNA)、以核苷酸类似物生成的DNA或RNA类似物(例如,肽核酸和非天然存在核苷酸类似物)及其杂合体。核酸分子可以是单链或双链的。在一个实施例中,本发明的核酸分子包括编码抗体或其片段、衍生物、突变蛋白或变体的连续开放阅读框。

[0062] 若两条单链多核苷酸的序列能够反向平行对齐,使得一条多核苷酸中的每个核苷酸都与另一条多核苷酸上的互补核苷酸相对,而不存在间隙,且各序列的5'端或3'端也没有不配对的核苷酸,则称这两条多核苷酸互为“互补链”。若两条多核苷酸可在中等严格条件下相互杂交,则称其“互补”。因此,一条多核苷酸可以在并非对方互补链的情况下与另一条多核苷酸互补。

[0063] “载体”是一种可用于将另一条与之连接的核酸引入细胞的核酸。一种载体类型是“质粒”,即可供额外核酸片段连接的线形或环形双链DNA分子。另一种载体类型是病毒载体(例如复制缺陷反转录病毒、腺病毒和腺相关病毒),其中额外DNA片段可引入病毒基因组中。某些载体被引入宿主细胞后能够进行自主复制(例如,含有细菌复制起点的细菌载体和附加体哺乳类载体)。其他载体(例如,非附加体哺乳类载体)当引入宿主细胞时,整合入宿主细胞的基因组,由此随着宿主基因组进行复制。“表达载体”是一种能够进行指定多核苷酸表达的载体类型。

[0064] 当核苷酸序列所连接的调控序列影响该核苷酸序列的表达(例如表达水平、时机或位点)时,则称该核苷酸序列“可操作地”连接到该调控序列。“调控序列”是能够影响与之可操作地连接的核酸的表达(例如表达水平、时机或位点)的核酸。例如,调控序列可以直接对其所调控的核酸起作用,或通过一个或多个其他分子(例如与该调控序列和/或核酸结合的多肽)来起作用。调控序列的例子包括启动子、增强子和其他表达控制元件(例如,多腺苷酸化信号)。调控序列的其他例子记载在例如Goeddel, 1990, *Gene Expression Technology: Methods in Enzymology* 185, Academic Press, San Diego, Calif. 和 Baron et al., 1995, *Nucleic Acids Res.* 23:3605-06中。

[0065] “宿主细胞”是可用于表达核酸(例如本发明的核酸)的细胞。宿主细胞可以是原核细胞,例如E. coli;或真核细胞,例如真核单细胞(如酵母菌或其他真菌)、植物细胞(例如,烟草或番茄植物细胞)、动物细胞(如人细胞、猴细胞、仓鼠细胞、小鼠细胞、大鼠细胞或昆虫细胞)或杂种细胞。宿主细胞的例子包括猴肾细胞COS-7系(ATCC CRL 1651)(参见Gluzman et al., 1981, *Cell* 23:175)、L细胞、C127细胞、3T3细胞(ATCC CCL 163)、中国仓鼠卵巢(CHO)细胞或其衍生物(例如Veggie CHO)和在无血清培养基上生长的相关细胞系(参见Rasmussen et al., 1998, *Cytotechnology* 28:31),或CHO的DX-B11品系(缺少DHFR)(参见Urlaub et al., 1980, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 77:4216-20)、HeLa细胞、BHK(ATCC CRL 10)细胞系、源于非洲绿猴肾细胞系CV1的CV1/EBNA细胞系(ATCC CCL 70)(参见McMahan et

a1., 1991, EMBO J. 10:2821)、人胚肾细胞(例如293、293EBNA或MSR 293)、人表皮A431细胞、人Co1o205细胞、其他转化灵长类细胞系、正常二倍体细胞、源于初生组织和初生外植体的体外培养所得的细胞系、HL-60、U937、HaK或Jurkat细胞。典型地,宿主细胞是能够以编码多肽且能够在该宿主细胞中表达的核酸转化或转染得到的培养细胞。术语“重组宿主细胞”可用于表示已经用需表达的核酸来转化或转染的宿主细胞。宿主细胞还可以是指包含该核酸,但在调控序列被引入该宿主细胞并与该核酸可操作连接以前,并不以所需表达水平来表达该核酸的细胞。应当理解,术语“宿主细胞”并不单指特定的对象细胞,而是也指所述细胞的后代或潜在后代。因为由于例如突变或环境影响的存在,后代中可能发生某些修饰,使得这些后代事实上与其亲代细胞并不等同,但其仍应属于本文中的“宿主细胞”术语所涵盖的范围。

[0066] 优选地,所述以此治疗的广谱哺乳动物癌症选自:卵巢癌、结肠癌、乳腺癌、肺癌、骨髓瘤、原始神经母细胞性的CNS瘤、单核细胞性白血病、B细胞性白血病、T细胞性白血病、B细胞性淋巴瘤、T细胞性淋巴瘤、肥大细胞性肿瘤及其组合。

[0067] 本公开的多肽可使用本领域所知的任何标准方法制得。在一个实施例中,所述多肽是以DNA重组的方法,通过将编码该多肽的核酸序列(例如,cDNA)插入重组表达载体,并在促进表达的条件下表达该DNA序列来制得的。

[0068] 编码本文公开的各种多肽的核酸可以化学合成制得。可以选择密码子使用来提高细胞中的表达。所述密码子使用取决于所选择的的细胞类型。*E. coli*和其他细菌,以及哺乳类细胞、植物细胞、酵母菌细胞和昆虫细胞,都已经发展了专门的密码子使用模式。

[0069] 编码该多肽的DNA可操作地连接在源于哺乳类、病毒或昆虫基因的适当转录或翻译调节因子上。所述调节因子包括转录启动子、可选的用于控制转录的操纵子序列、编码适当mRNA核糖体结合位点的序列以及控制转录和翻译终止的序列。此外,还添加了在宿主中复制的能力,这一般是由复制起点和用于促进对转化体识别的选择基因来达成的。

[0070] 重组DNA还可以包括可能对纯化蛋白有用的任何蛋白标记序列种类。蛋白标记的例子包括但不限于组氨酸标记、FLAG标记、myc标记、HA标记或GST标记。

[0071] 采取适用于宿主细胞的方法将该表达结构引入宿主细胞。本领域已知有各种用于将核酸引入宿主细胞的方法,包括但不限于:电穿孔;以氯化钙、氯化铷、磷酸钙、DEAE-葡聚糖(DEAE-dextran)或其他物质进行的转染;微弹轰击法(microprojectile bombardment);脂质转染;以及,感染(其中载体充当感染原)。适当的宿主细胞包括原核细胞、酵母菌、哺乳类细胞或细菌细胞。

[0072] 适当的细菌包括革兰氏阴性或革兰氏阳性生物,例如,*E. coli*或*Bacillus spp.*酵母菌,优选为*Saccharomyces*菌种(例如*S. cerevisiae*),也可以用于多肽制备。各种哺乳类或昆虫细胞培养体系也可用于表达重组蛋白。用于在昆虫细胞中制备外源蛋白的Baculovirus体系可参见综述:Luckow and Summers, (*Bio/Technology*, 6:47, 1988)。适当的哺乳类宿主细胞系的例子包括内皮细胞、COS-7猴肾细胞、CV-1、L细胞、C127、3T3、中国仓鼠卵巢(CHO)、人胚肾细胞、HeLa、293、293T和BHK细胞系。通过培养适当的宿主/载体体系来表达重组蛋白,以制备纯化多肽。在许多应用中,本文公开的众多多肽的小尺寸使得在*E. coli*中表达成为优选表达方法。然后,从培养基或细胞提取物中纯化该蛋白。

[0073] 本文所公开的蛋白还可以使用细胞翻译体系来制备。为此,必须对编码该多肽的

核酸进行修饰,以允许体外转录以产生mRNA并允许该mRNA在所用的特定无细胞体系(真核(例如哺乳类或酵母菌)无细胞翻译体系或原核(例如细菌)无细胞翻译体系)中进行无细胞翻译。

[0074] 本公开中的所述多肽可以通过蛋白化学领域众所周知的蛋白分离/纯化方法进行纯化。非限制性的例子包括:提取、重结晶、盐析(例如,硫酸铵或硫酸钠)、离心、渗析、超滤、吸附层析、离子交换层析、疏水层析、正相层析、反相层析、凝胶过滤、凝胶渗透层析、亲和层析、电泳、逆流分布或其任意组合。纯化后,多肽可以交换入不同缓冲液,和/或以本领域所知各种方法中的任一种(包括但不限于过滤和渗析)浓缩。

[0075] 纯化多肽优选为具有至少85%纯度,更优选的纯度为至少95%,最优选纯度为至少98%。无论该纯度的确切数值是多少,该多肽的纯度足以用作医药产品。

#### [0076] 多肽的翻译后修饰

[0077] 在一些实施例中,本发明的结合性多肽还可以包括翻译后修饰。示范性翻译后蛋白修饰包括磷酸化、乙酰化、甲基化、在一些实施例中,本发明的结合性多肽还可以包括翻译后修饰。示范性翻译后蛋白修饰包括磷酸化、乙酰化、甲基化、ADP-核糖基化、泛素化、糖基化、羰基化、类泛素化、生物素酰化或添加多肽侧链或疏水基。由此一来,修饰后的可溶性多肽可能含有非氨基酸成分,例如脂类、多糖或单糖、磷酸。糖基化的一种优选形式为唾液酸化,其将一个或多个唾液酸部分链接至所属多肽。唾液酸部分提高蛋白的可溶性及血清半排出期,同时还降低其可能的免疫原性。参见Raju et al. *Biochemistry*. 200131; 40 (30): 8868-76。

[0078] 在一个特定实施例中,所述所述可溶性多肽的修饰形式包括将所述可溶性多肽链接至非蛋白质高分子。在一个特定实施例中,所述高分子为聚乙二醇(PEG)、聚丙醇或聚氧化烯烃,如美国专利4640835; 4496689; 4301144; 4670417; 4791192或4179337所述。

[0079] PEG是可溶于水的聚合物,其市面有售,或可以根据本领域所熟知的方法(Sandler and Karo, *Polymer Synthesis*, Academic Press, New York, Vol. 3, pages 138-161)通过乙二醇的开环聚合反应制备而成。术语“PEG”用于广泛涵盖任何聚乙二醇分子,无论其大小或PEG末端的修饰为何,且可以用以下公式代表: $X-(CH_2CH_2O)_n-1CH_2CH_2OH$  (1),其中 $n=20-2300$ 且 $X$ 为H或末端修饰(例如 $C_{1-4}$ 烷基)。在一个实施例中,本发明的PEG的一个末端以羟基或甲氧基结尾,即 $X$ 为H或 $CH_3$  (“甲氧基PEG”)。PEG还可以进一步包括:结合反应所必需的化学基团;源于该分子的化学合成的化学基团;或作为该分子的部分的最佳距离的间隔子的化学基团。此外,所述PEG可以由一个或多个连接在一起的PEG侧链组成。具有多个PEG链的PEGs称为多臂或分支PEGs。分支PEGs可以通过例如向各种多元醇(包括甘油、季戊四醇、山梨醇)添加聚氧化乙烯来制备。例如,可以从季戊四醇和环氧乙烷制备4臂分支PEG。分支PEG参见例如EP-A0473084和美国专利5932462所述。PEGs的一种形式包括两个通过赖氨酸的主要氨基链接的PEG侧链(PEG2) (Monfardini et al., *Bioconjugate Chem.* 6 (1995) 62-69)。

[0080] 在一个优选实施例中,所述聚乙二醇化 $^{10}F_n3$ 多肽是通过定点聚乙二醇化制备的,尤其是通过将PEG的N端或C端连接到半胱氨酸部分。相应地,本公开提供了一种具有改良的药代动力学性质的靶向结合性 $^{10}F_n3$ 多肽,所述多肽包括:具有约80至150个氨基酸的 $^{10}F_n3$ 域,其中所述 $^{10}F_n3$ 域的环中至少一个参与靶向结合;以及,共价结合的PEG部分,其中所述 $^{10}F_n3$ 多肽与目标结合的 $K_D$ 低于100nM并在哺乳动物中具有低于30mL/hr/kg的排出率。所述

PEG部分可以通过顶点执意抽华连接在所述<sup>10F</sup>n<sub>3</sub>多肽上,例如通过连接到Cys残基(该Cys残基可以定位在<sup>10F</sup>n<sub>3</sub>多肽的N端,或在N端和最N端β-或β类链上,或<sup>10F</sup>n<sub>3</sub>多肽的C端,或在C端和最C端β-或β类链上)上。Cys残基还可以定位在其他位点上,尤其是任何不参与靶向结合的环上。PEG部分还可以通过其他化学途径连接,包括与胺类连接。

[0081] 可以选择各种分子量形式的PEG(例如,约1000道尔顿(Da)-100000Da(n=20~2300))来连接至c-Met结合性多肽。PEG中得重复单元数“n”是根据以道尔顿为单位的分子量的近似值。优选地,一个激活的连接子上的PEG的总分子量适合于医药用途。因此,在一个实施例中,所述PEG分子的分子量不超过100000Da。例如,若3个PEG分子连接在链接子上,而每个PEG分子具有相同的分子量(12000Da,每个n约为270),那么连接子上的PEG总分子量为月36000Da(总n为约820)。连接在连接子上的PEG分子量也可以不同,例如,在连接子上的3个PEG分子中,其中可以有2个各5000Da(每个n为约110)和1个12000Da(n为约270)的PEG分子。

[0082] 本发明的一个具体实施例中,c-Met结合性多肽共价连接在通式--CO--(CH<sub>2</sub>)<sub>x</sub>--(OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>--OR的一个聚(乙二醇)基团上,其中所述聚(乙二醇)基团的一CO(即羰基)与所述结合性多肽的一个氨基形成酰胺键;R为低烷基;x为2或3;m为约450-约950;且n和m的选择使得所述结合物减去结合性多肽的分子量为约10-40kDa。在一个实施例中,结合性多肽的赖氨酸的6-氨基为可用(自由)氨基。

[0083] 上述结合物可以更具体地由通式(II)表示:P--NHCO--(CH<sub>2</sub>)<sub>x</sub>--(OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>--OR(II),其中P为如本文所述的结合性多肽的基团(即:不存在与通式(II)所示羰基形成酰胺的一个或多个氨基);且其中R为低级烷基;x为2或3;m为约450至约950,且其选择在于使得缀合物分子量减去结合性多肽分子量的差值为约10-40Da。本文中所称的“m”的指定范围具有定向含义。在任何情况下,“m”的确切范围由PEG基团的分子量决定。

[0084] 在一个实施例中,PEG分子可以激活与结合性多肽例如赖氨酸的氨基反应。

[0085] 在一个特定实施例中,使用PEG的碳酸酯来形成该聚乙二醇化结合性多肽缀合物。可以用N,N'-二琥珀酰亚胺碳酸酯(N,N'-disuccinimidylcarbonate,DSC)与PEG反应以形成活性混合PEG-琥珀酰亚胺碳酸酯,随后可用该产物与连接肽的亲核基团或结合多肽的氨基反应(参见美国专利5281698和5932462)。在一种相似反应类型中,可以用1,1'-(二苯并三唑)碳酸酯(1,1'-(dibenzotriazolyl)carbonate)和二-(2-吡啶)碳酸酯(di-(2-pyridyl)carbonate)分别与PEG反应以形成PEG-苯并三唑和PEG-吡啶混合碳酸酯(美国专利5382657)。

[0086] 可以根据本领域中的现有方法来进行<sup>10F</sup>n<sub>3</sub>多肽的聚乙二醇化,例如通过令结合性多肽与亲电子活性PEGs(供应商Shearwater Corp.,USA,[www.shearwatercorp.com](http://www.shearwatercorp.com))反应。本发明的优选PEG试剂为例如N-羟基琥珀酰亚胺丙酸酯(PEG-SPA)、丁酸酯(PEG-SBA)、PEG-琥珀酰亚胺丙酸酯或带支链的N-羟基琥珀酰亚胺(例如mPEG2-NHS)(Monfardini et al., Bioconjugate Chem.6(1995)62-69)。此类方法可用于在结合性多肽赖氨酸的f-氨基处或结合性多肽的N端氨基处进行聚乙二醇化。

[0087] 在又一个实施例中,PEG分子可以连接在结合性多肽的巯基上(Sartore et al., Appl.Biochem.Biotechnol.,27,45(1991);Morpurgo et al.,Biocon.Chem.,7,363-368(1996);Goodson et al.,Bio/Technology(1990)8,343;美国专利5766897)。美国专利

6610281和5766897描述了可连接至巯基的示例反应性PEG种类。

[0088] 在一些实施例中,PEG分子缀合在结合性多肽的半胱氨酸残基上,这些半胱氨酸残基是该结合性多肽上的原生残基;而在其他一些实施例中,一个或多个半胱氨酸残基被设计引入该结合性多肽。可以向结合性多肽编码序列引入突变,来产生半胱氨酸残基。这可以通过例如令一个或多个氨基酸残基突变成为半胱氨酸残基来达成。用于突变为半胱氨酸残基的优选氨基酸包括丝氨酸、苏氨酸、丙氨酸和其他亲水残基。优选地,用于突变为半胱氨酸的残基是暴露在表面的残基。用于根据基本序列或蛋白来预测残基的表面可接触性的算法在本领域中是众所周知的。可选地,若已经解出了结合性多肽的设计和演化的基础骨架的晶体结构,则可以对比结合性多肽的氨基酸残基来预测表面残基(Himanen et al., Nature. (2001) 20-27;414 (6866) :933-8),由此识别表面暴露的残基。在一个实施例中,半胱氨酸残基被引入结合性多肽的N端和/或C端或其附近,或引入环区中。

[0089] 在一些实施例中,该聚乙二醇化结合性多肽包括共价连接在N端氨基酸的 $\alpha$ -氨基上的PEG分子。PEG-醛在采用其他可用亲核氨基的蛋白的还原胺化反应中的用途,如美国专利4002531、Wieder et al., (1979) J. Biol. Chem. 254, 12579和Chamow et al., (1994) Bioconjugate Chem. 5, 133所述。

[0090] 在另一个实施例中,聚乙二醇化的结合性多肽包括一个或多个PEG分子,所述PEG分子与连接子共价连接,而连接子则与该结合性多肽N端氨基酸残基的 $\alpha$ 氨基相连接。所述途径公布于美国专利公开2002/0044921和W0094/01451中。

[0091] 在一个实施例中,结合性多肽的C端聚乙二醇化。在一个特定实施例中,通过引入C端叠氮蛋氨酸,随后通过斯陶丁格 (Staudinger) 反应连接甲基-PEG-三芳基磷化合物,来在蛋白质C端实现聚乙二醇化。Cazalis et al., Bioconjug. Chem. 2004; 15 (5) :1005-1009中叙述了该C端链接方法。

[0092] 还可以根据W0 94/01451中所述的一般方法来制备单聚乙二醇化的结合性多肽。W0 94/01451描述了一种用于制备带有修饰后的末端氨基酸 $\alpha$ -碳反应基团的重组多肽的方法。该方法的步骤包括生成该重组多肽,并以一个或多个生物性添加于N端 $\alpha$ -氨基和C端 $\alpha$ -羧基的保护基团来对其进行保护。该多肽可随后与化学保护剂反应,以选择性地保护反应侧链基团,从而防止侧链基团被修饰。然后,以该生物保护基团的特异性剪切试剂来对该多肽进行剪切,以形成无保护的末端氨基酸 $\alpha$ -碳反应基团。以化学试剂来修饰该无保护的末端氨基酸 $\alpha$ -碳反应基团。然后,对该侧链保护-末端修饰的单拷贝多肽的侧链基团解保护,以形成末端修饰的重组单拷贝多肽。该方法的步骤数量和顺序可以改变,以在该多肽的N端和/或C端氨基酸进行选择性修饰。

[0093] 缀合反应中,结合性多肽与激活PEG的比值可以约为1:0.5至1:50,约1:1至1:30,或约1:5至1:15。本发明中,可使用各种水性缓冲液来催化PEG至结合性多肽的共价加成。在一个实施例中,所用缓冲液的pH为约7.0至9.0。在又一个实施例中,pH在略微碱性的范围内,例如从约7.5至8.5。可以使用pKa接近中性pH的缓冲液,例如磷酸缓冲液。

[0094] 可以使用本领域的常规分离和纯化技术来纯化聚乙二醇化结合性多肽,例如尺寸排阻(例如凝胶过滤)和离子交换层析法。也可以使用SDS-PAGE来分离产物。可以被分离出来的产物包括单体、二聚、三聚、多聚和未聚乙二醇化结合性多肽,以及自由PEG。单PEG缀合物的百分比控制,可以通过在洗脱峰附近汇聚更广馏分来增加该组合物中的单PEG百分比。

单PEG缀合物百分比在约90%，代表着产量和活性的良好平衡。可能期望的组合中例如至少93%或至少96%的缀合物为单PEG种类。在本发明的另一个实施例中，该单PEG缀合物百分比为90%-96%。

[0095] 在又一个实施例中，本发明中的该聚乙二醇化结合性多肽优选为，相对于未修饰蛋白保持至少25%、50%、60%、70%、80%、85%、90%、95%或100%的生物活性。在一个实施例中，生物活性指的是其与c-Met结合的能力，以KD、 $k_{on}$ 或 $k_{off}$ 来评估。在一个特定实施例中，该聚乙二醇化结合性多肽蛋白相对于未聚乙二醇化的结合性多肽，表现出增强的Vc-Met结合能力。

[0096] 相对于未修饰结合性多肽的清除率，PEG修饰的多肽的血清清除率可以降低约10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%或甚至90%。该PEG修饰的多肽的半排出期( $t_{1/2}$ )也可能相对于未修饰蛋白得到改善。相对于未修饰结合性多肽的半排出期，该PEG修饰的多肽的半排出期可以被改善至少10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、100%、125%、150%、175%、200%、250%、300%、400%或500%，或甚至1000%。在一些实施例中，该蛋白半排出期是体外测定的，例如在盐水缓冲溶液或血清中。在其他实施例中，该蛋白半排出期是体内半排出期，例如该蛋白在血清或其他动物体液中的半排出期。

#### [0097] 治疗剂型和给药模式

[0098] 本公开中的特点之一在于，提供了用于治疗对抑制c

[0099] -Met生物活性有应答的病症或预防其前置症状。优选的实施例中，所述病症的特征在于炎性或细胞过度增殖。给要得技术的剂量取决于特定多肽类型及治疗中的特定症状，但能够被本领域技术人员容易地确定。一般来说，监管机构要求用作药物的蛋白试剂的制型能够使得致热源达到可接受的低水平。由此一来，药物制型通常会与其他制型非常不同，因为其几乎没有致热源，或至少仅含有由适当监管机构(例如，FDA)所确定的可接受致热源水平。

[0100] 本公开的治疗组合物可以与药学可接受稀释剂、载体或赋形剂以单位剂型一同给药。给药的非限定性示例可以是非肠道的(例如静脉注射，皮下注射)、口服或外用的。此外，可以使用任何基因治疗技术(使用编码本发明多肽的核酸)，例如裸DNA递送、重组基因和载体、基于细胞的递送，包括间接体内操作患者细胞等。

[0101] 可选地，所述多肽可以作为药学可接受的盐的形式给药，例如药物产业中常用的无毒酸加成盐或金属络合物。酸加成盐的例子包括有机酸，例如乙酸、乳酸、双羟萘酸、马来酸、柠檬酸、苹果酸、抗坏血酸、琥珀酸、苯甲酸、棕榈酸、辛二酸、水杨酸、酒石酸、甲磺酸、甲苯磺酸或三氟乙酸等；聚合酸如单宁酸、羧甲基纤维素等；以及，无机酸，如盐酸、氢溴酸、硫酸、磷酸等。金属络合物包括锌、铁等等。在一个实例中，所述多肽在乙酸钠的存在下配制，以增加热稳定性。

[0102] 治疗有效剂量指的是对给药对象产生疗效的剂量。确切剂量取决于需治疗的病症，且可以由本领域技术人员使用已知技术来确定查明。一般来说，该多肽的给药为每天约0.01 $\mu$ g/kg至约50mg/kg，优选为每日0.01mg/kg至约30mg/kg，最优选为每日0.1mg/kg至约20mg/kg。该多肽可以每天给药(例如每日一次、两次、三次或四次)或优选为较低频率给药(例如，每周、每两周、每三周、每月或每季度)。此外，本领域已知，可能需要根据年龄、体重、总体健康状况、性别、饮食、给药时间、药物相互作用和疾病严重程度来调节，且可以由本领域

域技术人员以常规试验方法来确定。

#### [0103] 用法示例

[0104] 此述的c-Met结合性蛋白及其相关变体可用于多种治疗和诊断应用中,包括通过竞争或阻断与c-Met的结合来抑制c-Met的生物活性,以及向细胞递送细胞毒性或成像部分,优选为表达c-Met的细胞。所述分子的小尺寸和稳定结构,对于药物的生产,在某些要求迅速清除的应用中从身体迅速清除,以及制备适当的或以所具有所述性质的分子进行改进的新型递送体系,尤其具有价值。

[0105] 基于其作为c-Met生物活性抑制剂的效力,本发明的多肽能够有效对抗多种癌症以及癌症并发症,例如胸膜积液和腹水。优选地,本公开的c-Met结合性多肽可用于治疗或预防过度增生性疾病或癌症以及癌转移扩散。本公开的抗c-Met抗体的优选适应症包括结肠直肠癌、头颈癌、小细胞肺癌、非小细胞肺癌(NSCLC)和胰腺癌。癌症的非限制性例子包括膀胱癌、血液癌、骨癌、脑癌、乳腺癌、软骨癌、结肠癌、肾癌、肝癌、肺癌、淋巴结癌、神经组织癌、卵巢癌、胰腺癌、前列腺癌、骨骼肌癌、皮肤癌、脊髓癌、脾癌、胃癌、睾丸癌、胸腺癌、甲状腺癌、气管癌、泌尿生殖道癌、输尿管癌、尿道癌、子宫癌或阴道癌。

[0106] c-Met结合多肽可单独给药或与一种或多种附加疗法共同给予,例如化疗、放疗、免疫疗法、手术治疗或其任意组合。如上所述,在其他治疗策略中,也可以使用长期疗法或辅助疗法。

[0107] 所述方法的某些实施例中,可以共同(同时)或不同时期(前后相继)地用一种或多种多肽治疗剂给药。此外,多肽治疗剂可以与另一种用于癌症治疗或抑制血管生成的化合物共同给药。

[0108] 在某些实施例中,本发明所述抗c-Met抗体剂可单独使用。可选地,所述药剂可以与针对增殖性紊乱(如肿瘤)的治疗或预防的其他常规抗癌治疗途径组合使用。例如,所述方法可用于癌症预防药,癌症术后复发和转移预防,以及作为其他常规癌症疗法的佐药。本公开认为,常规癌症疗法(例如化疗、放疗、光疗、免疫疗法和手术)的效力可以通过使用所述多肽治疗剂来增强。

[0109] 据发现,多种常规化合物都具有抗肿瘤活性。这些化合物被用作化疗中的治疗剂,以收缩实体瘤,预防转移瘤和预防进一步生长,或降低白血病或骨髓恶性肿瘤中的恶性细胞数量。虽然化疗对治疗多种恶性肿瘤有效,但许多抗肿瘤化合物会导致有害副作用。据发现,当结合两种或以上不同治疗时,治疗可能协同作用,允许降低每种治疗的剂量,由此降低每种化合物在较高剂量下产生的有害副作用。在其他实施例中,难于以一种疗法治疗的恶性肿瘤可能会响应两种或以上不同疗法的组合疗法。

[0110] 当本发明的多肽治疗剂附随或前后相继地与其他常规抗肿瘤剂组合给药时,所述治疗剂可能提高抗肿瘤剂的疗效,或克服所述抗肿瘤剂的细胞抗性。这能够减少抗肿瘤剂的剂量,由此降低有害副作用,或恢复抗肿瘤药在抵抗细胞中的效力。

[0111] 可用于组合抗肿瘤疗法的要学化合物包括但不限于:氨鲁米特、安吡啶、阿那曲唑、天冬酰胺酶、卡介苗、比卡鲁胺、博来霉素、布舍瑞林、白消安、喜树碱、卡培他滨、卡铂、卡莫司汀、苯丁酸氮芥、顺铂、克拉屈滨、氯膦酸盐、秋水仙碱、环磷酰胺、环丙孕酮、阿糖胞苷、达卡巴嗪、更生霉素、柔红霉素、己二烯雌酚、己烯雌酚、多西他赛、多柔比星、表柔比星、雌二醇、雌莫司汀、依托泊苷、依西美坦、非格司亭、氟达拉滨、氟氢可的松、氟尿嘧啶、氟甲

鞣酐、氟他胺、吉西他滨、染料木黄酮、戈舍瑞林、羟基脲、伊达比星、异环磷酰胺、伊马替尼、干扰素、伊立替康、依立替康、来曲唑、亚叶酸、亮丙瑞林、左旋咪唑、洛莫司汀、氮芥、甲羟孕酮、甲地孕酮、美法仑、巯嘌呤、美司钠、甲氨蝶呤、丝裂霉素、米托坦、米托蒽醌、尼鲁米特、诺考达唑、奥曲肽、奥沙利铂、紫杉醇、帕米膦酸、喷司他丁、普卡霉素、吡吩姆、丙卡巴肼、雷替曲塞、利妥昔单抗、链佐星、苏拉明、他莫昔芬、替莫唑胺、替尼泊苷、鞣酐、硫鸟嘌呤、塞替派、二氯二茂钛、拓扑替康、曲妥珠单抗、维甲酸、长春碱、长春新碱、长春地辛和长春瑞滨。

[0112] 某些化疗抗肿瘤化合物可以通过其进入例如下列基团的作用机理进行分类：代谢拮抗剂/抗癌剂，例如嘧啶类似物（5-氟尿嘧啶、氟尿苷、卡培他滨、吉西他滨和阿糖胞苷）和嘌呤类似物、叶酸拮抗剂和相关抑制剂（巯嘌呤、硫鸟嘌呤、喷司他丁和2-氯脱氧腺苷（克拉屈滨））；抗增殖/抗有丝分裂剂，包括天然产物如长春花生物碱（长春碱、长春新碱和长春瑞滨）、微管干扰物如紫杉烷（紫杉醇、多西他赛）、新长春碱、长春碱、诺考达唑、埃博霉素和诺维本、epidipodophyllotoxins（依托泊苷、替尼泊苷）、DNA损伤剂（放线菌素、安吡啶、葱环类药物、博来霉素、白消安、喜树碱、卡铂、苯丁酸氮芥、顺铂、环磷酰胺、环磷酰胺、更生霉素、柔红霉素、多柔比星、表柔比星、六甲密胺奥利沙伯、异环磷酰胺、美法仑、merchlorehtamine、丝裂霉素、米托蒽醌、亚硝基脲、普卡霉素、丙卡巴肼、泰素、泰索帝、替尼泊苷、三亚乙基硫代磷酰胺和依托泊苷（VP16））；抗生素如更生霉素（放线菌素D）、柔红霉素、多柔比星（阿霉素）、伊达比星、葱环类、米托蒽醌、博来霉素、普卡霉素（光神霉素）和丝裂霉素；酶（L-天冬酰胺酶，其系统性地代谢L-天冬酰胺并消除无法自身合成天冬酰胺的细胞）；抗血小板药物；抗增殖/抗有丝分裂烷化剂如氮芥类（氮芥、环磷酰胺和类似物、美法仑、苯丁酸氮芥）、乙烯亚胺和甲基三聚氰胺（六甲密胺和噻替派）、烷基磺酸盐-白消安、亚硝基脲（卡莫司汀（BCNU）及类似物、链佐星）、trazenes-达卡巴嗪（DTIC）；抗增殖/抗有丝分裂代谢拮抗剂，例如叶酸类似物（甲氨蝶呤）；铂配位络合物（顺铂、卡铂）、丙卡巴肼、羟基脲、米托坦、氟鲁米特；激素、激素类似物（雌激素、他莫昔芬、戈舍瑞林、比卡鲁胺、尼鲁米特）和芳香化酶抑制剂（来曲唑、阿那曲唑）；抗凝剂（肝素、合成肝素盐和其他凝血酶抑制剂）；纤维蛋白溶解剂（例如组织纤维溶酶原激活剂、链激酶和尿激酶）、阿司匹林、双嘧达莫、噻氯匹定、氯吡格雷、阿昔单抗；抗迁移剂；抗分泌剂（breveldin）；免疫抑制剂（环孢霉素、他克莫司（FK-506）、西罗莫司（雷帕霉素）、硫唑嘌呤、霉酚酸酯）；抗血管生成化合物（TNP-470、染料木黄酮）和生长因子抑制剂（例如、VEGF抑制剂、成纤维细胞生长因子（FGF）抑制剂）；血管紧张素受体阻断剂；一氧化氮供体；反义寡核苷酸；抗体（曲妥珠单抗）；细胞周期抑制剂和分化诱导剂（维甲酸）；mTOR抑制剂、拓扑异构酶抑制剂（多柔比星（阿霉素）、安吡啶、喜树碱、柔红霉素、更生霉素、eniposide、表柔比星、依托泊苷、伊达比星和米托蒽醌、拓扑替康、伊立替康）、皮质类固醇（可的松、地塞米松、氢化可的松、甲基强的松龙、泼尼松、和泼尼松龙）；生长因子信号转导激酶抑制剂；线粒体功能障碍诱导物和半胱天冬酶活化剂；和染色质干扰物。

[0113] 根据组合疗法的性质，可以在施加其他疗法的同时和/或之后以该多肽治疗剂给药。该多肽治疗剂的给药可以是单剂或多剂。在一些实施例中，该多肽治疗剂的给药开始于常规疗法之前的至少数天；而在其他实施例中，给药开始于紧接着该传统疗法之前或在施予传统疗法的同时。

[0114] 在一个诊断应用的实施例中，从疑似以不适当血管生成为特征的病症的病人取得

生物样本,例如血清或组织活体切片,与本公开的可检测标记多肽接触,以检测c-Met水平。然后,将该c-Met水平与正常样本与该标记多肽接触而测得的c-Met水平比较。c-Met水平的增量为至少10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%或90%,可看作是诊断指标。

[0115] 在一些实施例中,c-Met结合多肽进一步附着了能够被检测的标记(例如,该标记可以是放射同位素、荧光化合物、酶或辅酶因子)。活性部分可以是放射性试剂,例如放射性重金属如铁螯合物,钆或锰的放射性螯合物,氧、氮、铁、碳或钆的正电子发射体,<sup>43</sup>K、<sup>52</sup>Fe、<sup>57</sup>Co、<sup>67</sup>Cu、<sup>67</sup>Ga、<sup>68</sup>Ga、<sup>123</sup>I、<sup>125</sup>I、<sup>131</sup>I、<sup>132</sup>I或<sup>99</sup>Tc。可以使用连接有该部分的结合剂来作为成像剂,并以哺乳类(例如人类)诊断目的的有效剂量来给药,然后检测该成像剂的定位和累积。可以用放射性闪烁摄影术、核磁共振成像、计算机断层扫描或正电子成像术来检测该成像剂的定位和累积。可以使用指向c-Met的c-Met结合多肽的免疫闪烁成像,来检测和/或诊断癌症和脉管系统。例如,任何针对c-Met的结合性多肽,以<sup>99</sup>钼、<sup>111</sup>钼或<sup>125</sup>碘标记后均可以有效地用于所述成像。对于本领域技术人员来说,显而易见,给药的放射性同位素量取决于该放射性同位素。本领域技术人员可以容易地根据用作活性部分的指定放射性核素的比活性和能量来计算成像剂的给药量。典型地,在给药中使用每剂0.1-100毫居成像剂,优选为1-10毫居,更常用的是给药2-5毫居。因此,本发明中可用作成像剂的组合物包含缀合的放射性部分和靶向部分,其含0.1-100毫居,在一些实施例中优选为1-10毫居,在一些实施例中优选为2-5毫居,在一些实施例中更优选为1-5毫居。

[0116] 该c-Met结合多肽还可用于想表达c-Met的细胞或组织递送额外的治疗试剂(包括但不限于药物化合物、化疗化合物和放疗化合物)。在一个实施例中,该c-Met结合性多肽与化疗试剂融合,以将该化疗试剂靶向递送至表达c-Met的肿瘤细胞或组织。

[0117] 该c-Met结合多肽可用于各种应用中,包括研究、诊断和治疗应用。例如,其可用于分离和/或纯化受体或其部分,以及用于研究受体结构(例如构象)和功能。

[0118] 在一些方面中,可以使用所述多种结合性多肽来检测或测量c-Met表达,例如在内皮细胞(例如静脉内皮细胞)或被c-Met基因转染的细胞上的表达。因此,其还可以用于例如细胞分选和成像(例如流式细胞仪和荧光激活细胞分选),以用于诊断或研究目的。

[0119] 在一些实施例中,所述结合性多肽或其片段用于诊断目的时可以标记或不标记。典型地,诊断性分析需要检测结合性多肽与c-Met之间结合而形成的复合物。所述结合性多肽或其片段可以被直接标记,类似于抗体。可以使用各种标记,包括但不限于,放射性核素、荧光剂、酶、酶底物、辅酶因子、酶抑制剂和配体(例如生物素、半抗原)。本领域技术人员熟知多种适当的免疫分析法(例如参见美国专利3817827、3850752、3901654、4098876)。未标记的结合性多肽可用于分析中,例如凝集试验。未标记的结合性多肽还可以与另一种(一种或多种)可用于检测该结合性多肽的适当试剂(例如能与该结合性多肽反应的已标记抗体或其他适当试剂(如标记的蛋白A))组合使用。

[0120] 在一个实施例中,本发明的结合性多肽可用于酶免疫分析,其中所述多肽与酶缀合。当含有c-Met蛋白的生物样本与所述结合性多肽c-Met接触时,结合性多肽和c-Met蛋白之间发生结合。在一个实施例中,含有表达c-Met蛋白的细胞(例如内皮细胞)的样本与所述抗体接触,而在结合性多肽和载有能被该结合性多肽识别的c-Met蛋白的细胞之间发生结合。已结合细胞从未结合试剂中分离,且可以测定特异结合至细胞上的结合性多肽-酶复合体的存在,例如通过令该样本与能够在该酶作用下产生颜色或其他可检测变化的酶底

物相接触。在又一个实施例中,可以不标记所述结合性多肽,而添加第二种已标记多肽(例如一种抗体)来识别所述结合性多肽。

[0121] 在一些方面中,还可以制备用于检测生物样本中的c-Met蛋白的存在的试剂盒。所述试剂盒可包括与c-Met蛋白或所述受体的部分相结合的c-Met结合性多肽,以及一种或多种适用于检测结合性多肽与受体蛋白或其部分之间的复合物的存在的辅助试剂。本发明的多肽组合物可提供为单独或与其他表位特异性的额外抗体组合的冻干形式,所述标记或未标记的结合性多肽和/或抗体可以与辅料(例如,缓冲液,例如Tris、磷酸和碳酸盐缓冲液;稳定剂;赋形剂;杀菌剂和/或惰性蛋白例如牛血清白蛋白)一起包含在试剂盒中。例如,该结合性多肽和/或抗体可以与辅料共同提供为冻干形式,或辅料可以单独提供,由使用者来组合。一般来说,所述辅料的含量低于多肽或抗体浓度的约5%重量,且通常总量至少为多肽或抗体浓度的约0.001%重量。当使用了第二种能够与该结合性蛋白结合的抗体时,所述抗体在该试剂盒中可以例如提供在单独的试管或容器中。该第二抗体(若存在)一般已标记,且可以制型为与上述抗体制型的类似形式。相似地,本公开还提供了一种用于检测和/或定量c-Met表达的方法,其中,一种含有细胞或其碎片(例如,膜碎片)的组合物在适合结合的条件下与能结合c-Met的结合性多肽或其部分相接触,并监控其结合。若检测到结合性多肽,则表明该结合性多肽和c-Met或其部分之间形成了复合物,因此表明了受体的存在。多肽与细胞的结合可以用标准方法来测定,例如实施例中所述的方法。所述方法可用于检测个体中的c-Met在细胞上的表达。可选地,可以评估内皮细胞表面上的c-Met的数量表达,例如通过流体细胞仪,且染色强度可以与疾病易感性、进程或风险相关。

[0122] 本公开还提供了一种检测哺乳类对某些病症的易感性的方法。举例而言,该方法可用于检测哺乳类对于进程基于细胞上的c-Met量和/或哺乳类体内的c-Met-阳性细胞的数量病症的易感性。

[0123] 使用标准的单字母或三字母缩写来表示多肽序列。除非另有说明,否则每个多肽序列的氨基端在左侧,羧基端在右侧;每个单链核酸序列,以及每个双链核酸序列的顶链,其5'端在左侧,3'端在右侧。还可以通过说明特定多肽序列与参照序列的区别,来描述该序列。

[0124] 术语“c-Met抑制剂”和“c-Met拮抗剂”可交换使用,两者均指能可检测地抑制c-Met的至少一种功能的分子。相反地,“c-Met激动剂”是指能可检测地增强c-Met地至少一种功能的分子。由c-Met抑制剂引起的抑制无需是完全抑制,只要其能被化验检测到即可。可以使用c-Met功能的任何化验,本文提供了一些示例。能够被c-Met抑制剂所抑制或被c-Met激动剂所增加的c-Met功能的例子包括:癌细胞生长或凋亡(程序性细胞死亡)等等。c-Met抑制剂和c-Met激动剂类型的例子包括但不限于:c-Met结合多肽(例如抗原结合蛋白(如:c-Met抑制抗原结合蛋白))、抗体、抗体片段和抗体衍生物。

[0125] 术语“肽”、“多肽”和“蛋白”均指包括2个或以上相互以肽键连接的氨基酸残基的分子。这些术语涵盖,例如,天然和人工蛋白、蛋白片段、蛋白序列的多肽类似物(例如突变蛋白、变体蛋白或融合蛋白),以及翻译后修饰蛋白,或共价或非共价修饰蛋白。肽、多肽或蛋白可以是单体或聚合体。

[0126] 多肽(例如,抗体)的“变体”包括:相对于其他多肽序列而插入、删除和/或取代了一个或多个氨基酸残基的氨基酸序列。已公开的变体包括,例如,融合蛋白。

[0127] 多肽的“衍生物”是经过化学修饰的多肽(例如,抗体),如通过连接另一个化学部分(例如,聚乙二醇,或白蛋白,如人血清白蛋白)、磷酸化和糖基化。除非另有说明,否则术语“抗体”除了指含有两条全长的重链和两条全长的轻链的抗体之外,还包括其衍生物、变体、片段及突变蛋白,其示例如下所述。

[0128] “抗原结合蛋白”是包括以下部分的蛋白:与抗原结合的部分;以及可选地,允许抗原结合部分采取促进抗原结合蛋白与蛋白的结合的构型的支架或骨架部分。抗原结合蛋白的例子包括抗体、抗体片段(例如,抗体的抗原结合部分)、抗体衍生物和抗体类似物。该抗原结合蛋白可以包括,例如,具有接枝的CDRs或CDRs衍生物的替代蛋白支架或人工支架。所述支架包括但不限于,包含引入了突变(例如用于稳定该抗原结合蛋白的三维结构的突变)的抗体衍生支架,以及包括例如生物可相容聚合物的全合成支架。例如参见:Korndorfer et al.,2003,Proteins:Structure,Function,and Bioinformatics,Volume 53,Issue 1:121-129;Roque et al.,2004,Biotechnol.Prog.20:639-654。此外,可以使用多肽抗体模拟物(“PAMs”),以及基于以纤维蛋白连接素成分为支架的抗体模拟物的支架。

[0129] 抗原结合蛋白可以具有,例如,天然存在的免疫球蛋白的结构。“免疫球蛋白”是四聚物分子。在天然存在的球蛋白中,每个四聚物由2对相同的多肽链组成,每对中有一条“轻”(约25kDa)链和一条“重”链(约50-70kDa)。每条链的氨基末端部分包括约100-110或以上氨基酸的可变区,主要负责抗原识别。每条链的羧基末端部分具有恒定区,主要负责效应子功能。人轻链归类为 $\kappa$  (kappa) 或 $\lambda$  (lambda) 轻链;重链归类为 $\mu$  (mu)、 $\Delta$  (delta)、 $\gamma$  (gamma)、 $\alpha$  (alpha) 或 $\epsilon$  (epsilon),分别令抗体的种型定义为IgM、IgD、IgG、IgA和IgE。优选地,本申请公开的该抗c-Met抗体的特征在于其重链和轻链氨基酸序列中的可变域序列(V<sub>H</sub>和V<sub>L</sub>)。优选抗体为A6( $\kappa$ IgG抗体)。在轻链和重链中,可变域和恒定域由约12个或以上氨基酸的“J”区连接,其中重链还包括一个再含约10个或以上氨基酸的“D”区。每对轻/重链的可变域组成了抗体结合位点,因此一个完整的免疫球蛋白具有2个结合位点。

[0130] “多特异抗体”是识别一种或多种抗原上的多个表位的抗体。此类型抗体的一个子类为“双特异抗体”,其识别相同或不同抗体上的两个不同表位。

[0131] 若抗原结合蛋白在结合抗原(例如人c-Met)时的解离常数为1毫微摩尔或以下,则称其与抗原“特异结合”。

[0132] “抗原结合域”、“抗原结合区”或“抗原结合位点”是指抗原结合蛋白上含有与抗原相互作用的氨基酸残基(或其他化学部分)并有利于该抗原结合蛋白对该抗原的特异性和亲和性的部分。对于与其抗原特异结合的抗体而言,这包括其至少一个CDR域的至少一部分。

[0133] “表位”是分子上连接抗原结合蛋白(例如,抗体)的部分。表位可以包括该分子的非邻近部分(例如,在多肽中,在多肽一级序列中并不相邻但在该多肽的三级和四级结构中相互足够靠近以被抗原结合蛋白结合的氨基酸残基)。

[0134] 两个多核苷酸或两个多肽序列的“相同百分比”是用GAP电脑程序(GCG Wisconsin Package,version 10.3(Accelrys, San Diego, Calif.)中的一部分)以其默认参数来比较序列而确定的。

[0135] “宿主细胞”是可用于表达核酸的细胞。宿主细胞可以是原核细胞,例如E.coli;或真核细胞,例如真核单细胞(如酵母菌或其他真菌)、植物细胞(例如,烟草或番茄植物细

胞)、动物细胞(如人细胞、猴细胞、仓鼠细胞、小鼠细胞、大鼠细胞或昆虫细胞)或杂种细胞。宿主细胞的例子包括猴肾细胞COS-7系(ATCC CRL 1651)(Gluzman et al.,1981,Cell 23:175)、L细胞、C127细胞、3T3细胞(ATCC CCL 163)、中国仓鼠卵巢(CHO)细胞或其衍生物(例如Veggie CHO)和在无血清培养基上生长的相关细胞系(Rasmussen et al.,1998,Cytotechnology 28:31),或CHO的DX-B11品系(缺少DHFR)(Urlaub et al.,1980,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 77:4216-20)、HeLa细胞、BHK(ATCC CRL 10)细胞系、源于非洲绿猴肾细胞系CV1的CV1/EBNA细胞系(ATCC CCL 70)(McMahan et al.,1991,EMBO J.10:2821)、人胚肾细胞(例如293、293EBNA或MSR293)、人表皮A431细胞、人Co1o205细胞、其他转化灵长类细胞系、正常二倍体细胞、源于初生组织和初生外植体的体外培养所得的细胞系、HL-60、U937、HaK或Jurkat细胞。典型地,宿主细胞是能够以编码多肽且能够在该宿主细胞中表达的核酸转化或转染得到的培养细胞。术语“重组宿主细胞”可用于表示已经用需表达的核酸来转化或转染的宿主细胞。宿主细胞还可以是指包含该核酸,但在调控序列被引入该宿主细胞并与该核酸可操作连接以前,并不以所需表达水平来表达该核酸的细胞。应当理解,术语“宿主细胞”并不单指特定的对象细胞,而是也指所述细胞的后代或潜在后代。因为由于例如突变或环境影响的存在,后代中可能发生某些修饰,使得这些后代事实上与其亲代细胞并不等同,但其仍应属于本文中的“宿主细胞”术语所涵盖的范围。

#### [0136] 抗原结合蛋白

[0137] 抗原结合蛋白(例如抗体、抗体片段、抗体衍生物、抗体突变蛋白和抗体变体)是与c-Met(优选为人c-Met)结合的多肽。抗原结合蛋白包括抑制c-Met生物活性的抗原结合蛋白。

[0138] 含有一个或多个抗原结合蛋白的寡聚物可以用作c-Met的拮抗剂。寡聚物可以是共价连接或非共价连接的二聚体、三聚体或更高寡聚物的形式。也可以使用包括2个或更多抗原结合蛋白的寡聚物,其例子之一为同源二聚体。其他寡聚物包括异源二聚体、同源三聚体、异源三聚体、同源四聚体、异源四聚体等。

[0139] 其中一个实施例指向包含多个抗原结合蛋白的寡聚体,所述抗原结合蛋白通过共价或非共价作用连接在与所述抗原结合蛋白融合的多肽部分之间。所述多肽可以是连接肽(间隔子),或具有促进寡聚化性质的多肽。亮氨酸拉链和某些源自抗体的多肽也属于能够促进与之连接的抗原结合蛋白寡聚化的多肽,下文将详细描述。

[0140] 在特定实施例中,寡聚体包括2至4个抗原结合蛋白。寡聚体的抗原结合蛋白可以是任何形式,例如上述任何形式,例如变体或片段。优选地,寡聚体包括具有c-Met结合活性的抗原结合蛋白。

[0141] 一个实施例指向一种含有2个融合蛋白的二聚体,所述融合蛋白是通过将一种抗c-Met抗体的c-Met结合片段与一个抗体的Fc区域相融合来获得的。该二聚体可以例如如下所述地制备:将编码该融合蛋白的基因融合插入适当的表达载体中,在以该重组表达载体转化的宿主细胞中表达该基因融合,并允许所表达的融合蛋白大致如抗体分子般组装,由此在Fc部分之间形成链间二硫键,以获得该二聚体。

[0142] 术语“Fc多肽”包括源于抗体Fc区域的多肽的原生和突变形式。还包括含有促进二聚化的铰链区的所述多肽的截短形式。含有Fc部分的融合蛋白(及由此形成的寡聚物)提供的有益效果在于,易于通过蛋白质A或蛋白质G柱来以亲和层析法进行纯化。

[0143] 另一种用于制备寡聚抗原结合蛋白的方法包括使用亮氨酸拉链。亮氨酸拉链域是促进其所在的蛋白质的寡聚化的多肽。亮氨酸拉链最初是在若干DNA结合蛋白中识别出来的(Landschulz et al.,1988,Science240:1759),此后在各种不同蛋白中也发现过。在已知的亮氨酸拉链中,有天然存在的多肽及其衍生物,能够二聚化或三聚化。适用于制备可溶寡聚蛋白的亮氨酸拉链域的例子如WO 94/10308所述,以及如Hoppe et al.,1994,FEBS Letters 344:191中所述的源自肺表面活化蛋白D (SPD) 的亮氨酸拉链。Fanslow et al.,1994,Semin.Immunol.6:267-78描述了一种修饰亮氨酸拉链,其允许与其融合的外源蛋白稳定地三聚化。在一种途径中,在适当的宿主细胞中表达含有与亮氨酸拉链融合的抗c-Met抗体片段或衍生物的重组融合蛋白,并从培养基上清液中回收可溶寡聚抗c-Met抗体片段或衍生物。

[0144] 本发明的抗原结合蛋白的抗体结合片段可以用常规技术制备。所述片段的例子包括但不限于Fab和F(ab')<sub>2</sub>片段。

[0145] 本公开提供与c-Met结合的单克隆抗体。单克隆抗体可以使用本领域已知的任何方法来制备,例如从完成免疫接种程序的转基因动物中收获脾细胞并使其无限增殖化。所述脾细胞可以使用本领域任何技术来达成无限增殖化,例如将其与骨髓瘤细胞融合以形成杂交瘤。用于制备融合蛋白的杂交瘤技术的骨髓瘤细胞优选为不产生抗体、融合效率高,且缺乏某些酶从而无法在某些仅支持所需融合细胞(杂交瘤)生长的选择性培养基中生长的细胞。适用于小鼠融合的细胞系的例子包括Sp-20、P3-X63/Ag8、P3-X63-Ag8.653、NS1/1.Ag 41、Sp210-Ag14、FO、NS0/U、MPC-11、MPC11-X45-GTG 1.7和S194/5XX0Bu1;用于大鼠融合的细胞系的例子包括R210.RCY3、Y3-Ag 1.2.3、IR983F和48210。可用于细胞融合的其他细胞系有U-266、GM1500-GRG2、LICR-LON-HMy2和UC729-6。

[0146] 针对c-Met的抗原结合蛋白可用于例如检测c-Met多肽的存在的体外或体内化验。阻断性抗原结合蛋白可用于本申请所公开的方法中。具有c-Met拮抗剂功能的所述抗原结合蛋白可用于治疗任何c-Met引起的病症,包括但不限于各种癌症。

[0147] 抗原结合蛋白可用于体外过程或体内给药以抑制c-Met诱导的生物活性。由此可以治疗由c-Met的蛋白水解激活所导致或加重(直接或间接)的病症,所述病症的例子如本文所述。在一个实施例中,本发明提供了一种治疗方法,包括以降低c-Met诱导的生物活性的有效剂量,用c-Met阻断性抗原结合蛋白对哺乳动物进行体内给药。

[0148] 抗原结合蛋白包括抑制c-Met生物活性(例如血管生成)的全人单克隆抗体。

[0149] 抗原结合蛋白可以由多种常规技术中的任一种来制备。例如,可以使用任何本领域已知技术,从天然表达所述蛋白的细胞中纯化而得(例如,从产生一种抗体的杂交瘤中纯化该抗体),或在重组表达体系中制备。例如,参见:Monoclonal Antibodies,Hybridomas:A New Dimension in Biological Analyses,Kennet et al.(eds.),Plenum Press,New York(1980);and Antibodies:A Laboratory Manual,Harlow and Land(eds.),Cold Spring Harbor Laboratory Press,Cold Spring Harbor,N.Y.,(1988)。

[0150] 本领域已知的任何表达体系均可用于制备本发明的重组多肽。一般来说,以含有编码一种所需多肽的DNA的重组表达载体来转化宿主细胞。可以使用的宿主细胞包括原核细胞、酵母菌或更高等的真核细胞。原核细胞包括革兰氏阳性菌或革兰氏阴性菌,例如E.coli或bacilli。更高等的真核生物包括昆虫细胞扩已建立的源于哺乳类的细胞系。使用

的哺乳类宿主细胞系的例子包括猴肾细胞(ATCC CRL 1651)(Gluzman et al.,1981,Cell 23:175),L cells,293cells、C127细胞、3T3细胞(ATCC CCL 163)、中国仓鼠卵巢(CHO)细胞、HeLa细胞、BHK(ATCC CRL 10)细胞系、源于非洲绿猴肾细胞系CV1的CV1/EBNA细胞系(ATCC CCL 70)(McMahan et al.,1991,EMBO J.10:2821)。适用于细菌、真菌、酵母菌和哺乳类细胞宿主的克隆和表达载体如Pouwels et al.(Cloning Vectors:A Laboratory Manual,Elsevier,N.Y.,1985)所述。

[0151] 转化后的细胞可以在促进多肽表达的条件下培养,且以常规蛋白纯化程序来回收多肽。一种所述纯化过程包括使用亲和层析法,例如,通过能与c-Met的全部或部分(例如胞外域)结合的基质。本申请的思路中使用的多肽包括基本不含内源性污染杂质的基本同质的重组哺乳类抗c-Met抗体多肽。

[0152] 可以使用多种已知技术中的任一种来制备抗原结合蛋白并筛选所需性质。某些技术涉及分离编码有感兴趣的抗原结合蛋白(例如,抗c-Met抗体)的多肽链(或其部分)的核酸,并通过重组DNA技术操作该核酸。例如,该核酸可以融合到另一感兴趣的核酸,或通过添加、删除或取代一个或多个氨基酸残基来改变(例如,通过诱变或其他常规技术)。

[0153] 单链抗体可通过氨基酸桥接(短连接肽)来连接重链和轻链可变域(Fv区)片段,以形成单一多肽链。所述单链Fvs(scFvs)通过在编码两个可变域多肽(V<sub>L</sub>和V<sub>H</sub>)的DNAs之间融合编码连接肽的DNA来制备。所得多肽可以自身折叠来形成抗原结合单体,或能够形成多聚体(例如二聚体、三聚体或四聚体),取决于两个可变域之间的柔性连接子的长度(Kortt et al.,1997,Prot.Eng.10:423;Kortt et al.,2001,Biomol.Eng.18:95-108)。通过连接不同的含V<sub>L</sub>和V<sub>H</sub>的多肽,可以形成与不同表位结合的多价scFvs(Kriangkum et al.,2001,Biomol.Eng.18:31-40)。为制备单链抗体而开发的技术包括如美国专利4946778;Bird,1988,Science242:423;Huston et al.,1988,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 85:5879;Ward et al.,1989,Nature 334:544,de Graaf et al.,2002,Methods Mol.Biol.178:379-87所述的技术。

[0154] 用于从感兴趣的抗体获得不同子类或种型的抗体的方法是已知的,即子类转换(subclass switching)。因此,例如可以从IgM抗体得到IgG抗体,反之亦然。此类技术允许制备既具有特定抗体(亲代抗体)的抗原结合性质,也具有不同于亲代抗体种型或子类的抗体的相关生物性质的新抗体。可以使用重组DNA技术。所述过程中可以使用编码特定抗体多肽的克隆DNA,例如编码所需种型抗体的恒定域的DNA(Lantto et al.,2002,Methods Mol.Biol.178:303-16)。此外,若需要的是IgG4,还可能希望在铰链区中引入点突变(CPSCP→CPPCP)(Bloom et al.,1997,Protein Science 6:407),以减缓重链间形成二硫键从而可能导致IgG4抗体异质性的趋势。

[0155] 在一些特定实施例中,本发明的抗原结合蛋白对c-Met的结合亲和性(K<sub>a</sub>)为至少10<sup>6</sup>。在另外一些实施例中,抗原结合蛋白的K<sub>a</sub>为至少10<sup>7</sup>、至少10<sup>8</sup>、至少10<sup>9</sup>、或至少10<sup>10</sup>。在另一个实施例中,该抗原结合蛋白的K<sub>a</sub>与本申请实施例中所述的抗体实质相同。

[0156] 在又一个实施例中,本公开提供了一种与c-Met的解离常数低的抗原结合蛋白。在一个实施例中,该抗原结合蛋白的K<sub>off</sub>为1X 10<sup>-4</sup>至<sup>-1</sup>或更低。在又一个实施例中,该K<sub>off</sub>为5X 10<sup>-5</sup>至<sup>-1</sup>或更低。在又一个实施例中,K<sub>off</sub>与本申请中所述的抗体实质相同。在又一个实施例中,抗原结合蛋白与c-Met结合的K<sub>a</sub>与本申请中所述的抗体实质相同。

[0157] 本公开的另一个方面中,提供抑制c-Met活性的c-Met结合蛋白。在一个实施例中,该抗原结合蛋白的IC<sub>50</sub>为1000nM或以下。在又一个实施例中,该IC<sub>50</sub>为100nM或以下;在又一个实施例中,该IC<sub>50</sub>为10nM或以下。在又一个实施例中,该IC<sub>50</sub>与本申请实施例中所述的抗体实质相同。在又一个实施例中,该抗原结合蛋白抑制c-Met活性的IC<sub>50</sub>与本申请中所述的抗体实质相同。

[0158] 本公开的另一个方面中,提供与细胞表面表达的人c-Met结合的抗原结合蛋白,且当发生该结合时,抑制c-Met在该细胞中的信号活动,而不会对细胞表面的c-Met量造成显著减少。可以使用任何用于测定或估计细胞表面和/或细胞内部的c-Met量的方法。在其他实施例中,该抗原结合蛋白绑定至c-Met表达细胞,使得低于约75%、50%、40%、30%、20%、15%、10%、5%、1%或0.1%的细胞表面c-Met被内吞。

[0159] 本公开的另一个方面中,提供一种抗原结合蛋白,其体外或体内(例如,对人类对象给药时)的半排出期为至少1天。在一个实施例中,该抗原结合蛋白的半排出期为至少3天。在又一个实施例中,该抗原结合蛋白的半排出期为4天或以上。在又一个实施例中,该抗原结合蛋白的半排出期为8天或以上。在又一个实施例中,该抗原结合蛋白衍生化或改性,从而使其半排出期与未衍生化或未改性的抗原结合蛋白相比更为长久。在又一个实施例中,该抗原结合蛋白包括一个或多个点突变,以增加血清半排出期,例如W000/09560所述,在此以引用方式并入。

[0160] 本公开还提供了多特异性抗原结合蛋白,例如双特异抗原结合蛋白(例如通过两个不同的抗原结合位点或区域,与c-Met的两个不同表位结合或与c-Met的表位和另一分子的表位结合的抗原结合蛋白)。此外,本申请公开的双特异抗原结合蛋白可以包括:来自此述的一种抗体的c-Met结合位点,以及来自此述的另一种抗体的另一c-Met结合区,其中涵盖本文引用其他出版物所描述的抗体。可选地,一种双特异性抗原结合蛋白可以包括一个来自此述的一种抗体的抗原结合位点,以及来自本领域所知的另一种c-Met抗体或以已知方法或此述方法制备的抗体的又一抗原结合位点。

[0161] 本领域中已知多种制备双特异性抗体的方法。所述方法包括使用杂交-杂交瘤(hybrid-hybridomas),如Milstein et al.,1983,Nature 305:537所述,以及抗体片段的化学连接(Brennan et al.,1985,Science 229:81;Glennie et al.,1987,J.Immunol.139:2367;美国专利6,010,902)。此外,双特异性抗体可以通过重组途径来制备,例如使用亮氨酸拉链部分(即,来自优选地形成异源二聚体的Fos和Jun蛋白;Kostelny et al.,1992,J.Immunol.148:1547)或其他锁匙互动域结构,如美国专利5582996所述。额外的可用技术包括如美国专利5959083和5807706中所述的技术。

[0162] 在又一个方面中,抗原结合蛋白包括抗体的衍生物。该衍生化抗体可以包括能够赋予该抗体所需性质的任何分子或物质,例如在一种特定用途中增加其半排出期。所述衍生化抗体可以包括例如可检测的(或标签)部分(例如:放射性、比色的、抗原性或酶活性分子)、可检测珠(例如磁性或电子致密性的(如金)珠)、或结合另一分子(例如生物素或链霉亲和素)的分子、治疗性或诊断性部分(例如,放射性、细胞毒性或药理学活性部分)或能够增加该抗体对一种特定用途(例如向对象如人类对象给药,或其他体内或体外用途)的适用度的分子。可用于衍生抗体的分子的例子包括白蛋白(例如人血清白蛋白)和聚乙二醇(PEG)。连接白蛋白且聚乙二醇化的抗体衍生物可以使用本领域所熟知的技术来制备。在一个实施

例中,该抗体与甲状腺素运载蛋白(TTR)或TTR变体缀合或以其他方式结合。该TTR或TTR变体可以用选自以下种类的化学物质进行化学改性:葡聚糖、聚(N-乙烯基吡咯酮)、聚乙二醇、丙二醇均聚物、聚环氧丙烷/环氧乙烷共聚物、聚氧乙烯多元醇及聚乙烯醇。

[0163] 适应症

[0164] 本发明的一个方面中,提供了用于治疗对象的方法。该方法可以,例如,对对象产生一般而言有益健康的效果,例如,可以提高对象的期望寿命。可选地,该方法可以,例如,治疗、预防、治愈、缓解或改善(“治疗”)疾病、失调、病症或病状(“症状”)。可治疗的病症中,包括特征为c-Met不适当表达或不适当活性的病症。在一些所述病症中,表达或活性水平过高,则治疗中包括c-Met拮抗剂给药,如此所述。所述失调或病症是癌症相关的。特别是,所述癌症包括但不限于,肺癌、卵巢癌和结肠癌及各种骨髓瘤。

[0165] 本发明的抗原结合蛋白可治疗或可预防的特定病症和疾病包括各种癌症。

[0166] 抗原结合蛋白的治疗方法和给药

[0167] 本文所提供的一些方法包括用c-Met结合性抗原结合蛋白向对象给药,从而降低c-Met引起的参与特定病症的生物反应。在特定实施例中,本发明的方法涉及令内源性c-Met与c-Met结合性抗原结合蛋白相接触,例如,通过向对象给药或通过间接体内(ex vivo)疗法。

[0168] 术语“治疗”涵盖缓解或预防失调的至少一种症状或其他方面,或减轻疾病严重程度等。抗原结合蛋白并非必须产生完全治愈或根除疾病的每一症状或表现,才能构成可行的治疗剂。如本领域所知,用作治疗剂的药物可以减轻指定疾病状态的严重程度,而并非必须根除疾病的每一症状,即可被看作有用的治疗剂。类似地,预防性的给药治疗无需非要完全有效地预防病症的发生,才能被看作是构成了可行的预防剂。只要降低疾病的影响(例如,降低症状数量或严重程度,或提高另一治疗的有效性,或产生另一有益效果),或降低对象体内疾病发生或恶化的可能性,就足够了。本发明的一个实施例指向一种方法,包括用c-Met拮抗剂向患者给药,其给药量和给药时间足以使得反映特定病症严重程度的指标持续得到超过基线的改善。

[0169] 根据相关领域中的认识,含有本发明的抗体及其片段的药物组合物以适用于其适应症的方式向对象给药。可以用任何适当的技术对药物组合物进行给药,包括但不限于,非肠道给药、外敷或吸入。若注射,则该药物组合物可以通过例如关节内、静脉内、肌肉内、病灶内、腹膜内或皮下途径的大剂量注射或持续输注来给药。局部给药,例如可在疾病或损伤的部位,作为经皮递送和从植入物持续释放。吸入递送,包括例如经鼻或经口吸入,使用喷雾器,吸入气雾剂形式的拮抗剂,等等。其他可选形式包括:眼药水;口服制剂,包括丸剂、糖浆剂、锭剂或口香糖;和外用制剂,如洗剂、凝胶剂、喷雾剂和软膏剂。

[0170] 本发明还涵盖了抗原结合蛋白在间接体内疗法中的用途。例如,可以令患者的血液或其他体液与c-Met结合性抗原结合蛋白进行体外接触。该抗原结合蛋白可以与适当的不溶性基质或固体支持材料结合。

[0171] 优选地,抗原结合蛋白的给药形式为一种包含一种或多种附加成分(例如生理学可接受的载体、赋形剂或稀释剂)的组合物。可选地,该组合物还包括一种或多种生理活性药剂,例如,第二种炎症或免疫抑制物质、抗血管生成物质、镇痛物质等等,本发明中提供了一些非限制性示例。在多种特定实施例中,该组合物中除c-Met结合性抗原结合蛋白外,还

包括1、2、3、4、5或6种生理活性药剂。

#### [0172] 联合疗法

[0173] 在另一个方面中,本发明提供了一种用c-Met抑制性抗原结合蛋白和一种或多种其他疗法来治疗对象的方法。在一个实施例中,所述联合疗法通过例如攻击肿瘤中的多个位点或分子靶点,来获得协同效应或累加效应。可以与本发明共同使用的联合疗法的种类包括抑制或激活(酌情)单一疾病相关通路中的多个节点,靶细胞中的多个通路,或靶组织中的多个细胞类型。

[0174] 在又一个实施例中,一种联合治疗方法,包括向对象以此述的2、3、4、5、6或更多种c-Met激动剂或拮抗剂给药。在又一个实施例中,该方法包括给予对象两种或更多种共同抑制或激活(直接或间接)c-Met接到的信号传导的疗法。所述方法的例子包括使用两种或以上c-Met抑制性抗原结合蛋白的组合、c-Met抑制性抗原结合蛋白和一种或多种其他具有抗癌性质的治疗部分(例如,细胞毒素剂和/或免疫调节剂)的组合,或c-Met抑制性抗原结合蛋白和一种或多种其他治疗(例如,手术或辐射)的组合。此外,可以将一种或多种抗c-Met抗体或抗体衍生物与一种或多种分子或其他治疗联用,其中所述其他分子和/或治疗并不直接连接或影响c-Met,但该组合可有效治疗或预防所治疗的病症。在一个实施例中,一种或多种分子和/或疗法治疗或预防由一种或多种所述其他分子或治疗在治疗期间引起的症状,例如恶心、疲乏、脱发、恶病质、失眠等。在每种使用分子和/或其他治疗的组合的情况下,各分子和/或其他治疗均可以在任意时间长度上,以任意顺序给药,例如同时给药、相继给药或交替给药,只要有效即可。在一个实施例中,治疗方法包括完成以第一分子或其他疗法进行的第一疗程之后,再开始第二疗程。治疗的第一疗程末尾和第二疗程初始之间的时长可以是允许治疗全程有效的任意时长,例如数秒、数分钟、数小时、数天、数周、数月甚至数年。

[0175] 在又一个实施例中,该方法包括给予此述的一种或多种c-Met拮抗剂和一种或多种其他治疗(例如,治疗处理或姑息疗法)。若一种方法中包括向对象给予超过一种治疗,则应当理解,给予治疗的顺序、时机、数量、浓度和体积仅受到医疗要求和疗法局限的限制,即,向对象给予两种治疗时,可以是例如同时、相继、交替或根据其他模式给予治疗。

#### [0176] 实施例1

[0177] 本实施例展示了IgG(图3a)和Fab(图3b)形式的抗c-Met抗体对Met介导的细胞增殖的抑制作用的体外数据,并与Genetech 5D5的IgG和Fab形式抗体(衍生自Met Mab)作比较。不受控制的细胞增殖是癌症的标志之一,且抗c-Met抗体抑制c-Met阳性癌细胞增殖的能力则是治疗性化合物的必备条件之一。在本实施例中,将5000U87成胶质细胞瘤细胞移入含补充了10%FBS的100 $\mu$ l DMEM培养基的96孔白色不透明细胞培养板中,一式三份。24小时后,移除培养基,以PBS洗涤细胞一次,然后以无FBS的100 $\mu$ l培养基(饥饿培养基)饥饿细胞18小时。以100 $\mu$ l饥饿培养基将抗体稀释到期望处理浓度(IgG=10ng/ $\mu$ l;Fab=5or 10ng/ $\mu$ l)然后添加至细胞。培养细胞48小时,然后使用Promega Cell Titer Glo试剂盒来评估增殖。荧光输出直接与细胞数目成正比。

[0178] 实验结果: IgG形式的抗c-Met抗体A1、E1和H8(图3a)和所有Fab形式的抗c-Met抗体(图3b)抑制了U87细胞增殖。E1IgG对增殖的抑制大于Genentech 5D5IgG,且A1和H8IgGs在同等剂量下表现出相似的抑制性。所有受测试的抗c-Met抗体Fabs均在两种处理浓度下

均表现出对增殖的完全抑制。图示数据是三联样本的相对光强度 $\pm$ 标准误差。

#### [0179] 实施例2

[0180] 本实施例展示了HGF在PC3前列腺癌细胞中刺激c-Met自磷酸化的体外数据。本实施例展示了抗体阻断c-Met在癌细胞中的激活及其功能的能力。实验方案：将10000PC3前列腺癌细胞移入96孔细胞培养板孔中的含人Phospho-HGF-R/c-Met (Y1234/Y1235) 基于细胞的免疫实验ELISA试剂(R&D Systems cat#KCB2480)的含10%FBS的100 $\mu$ l DMEM培养基中。24小时后, 移除培养基, 并以PBS洗涤细胞1次, 然后以100 $\mu$ l饥饿培养基(DMEM+2%FBS)饥饿细胞18小时。以含10 $\mu$ g/ml IgG(图4a)或Fab(图4b)形式的抗c-Met抗体的无血清培养基处理细胞。培养1小时后, 添加HGF, 终浓度为50ng/ml。再培养细胞7分钟, 然后根据厂商说明处理细胞。刺激细胞后, 将孔内细胞固定并透性化。使用免疫酶双标记法测定c-Met磷酸化。将细胞与两种一抗同时培养: 磷酸特异性c-Met抗体和能识别无论是否磷酸化的广谱蛋白的标准化抗体。所述一抗来自不同物种。以辣根过氧化物酶(HRP)或碱性磷酸酶(AP)来标记能识别不同物种的两种次抗, 并使用了两种光谱各异的荧光底物来对HRP或AP进行检测。以每孔中的广谱蛋白来对磷酸化蛋白的荧光进行正态化, 以修正孔与孔之间的变异性。

[0181] 实验结果: 如图4所示, 以抗c-Met抗体对细胞进行预处理, 可不同程度地阻断c-Met的自磷酸化激活。特别地, IgG形式的A1、E1、D6、F3和H8对c-Met自磷酸化具有强烈的抑制作用(图4a), 而测试的所有Fab形式抗体均显示出强烈的拮抗作用(图4b)。所示数据代表了多次试验, 且便是为相对于光谱蛋白的荧光强度输出正态化的磷酸化c-Met荧光强度输出。

#### [0182] 实施例3

[0183] 本实施例展示了HGF刺激、c-Met介导的细胞迁移的体外数据。本实施例中, 以创面愈合试验来研究进入细胞培养物的剥蚀面积中的细胞迁移。HGF刺激c-Met可触发细胞向剥蚀面积中迁移, 由此, 示例抗c-Met抗体将抑制该迁移。癌症中, 局部癌症环境中迁离的细胞能够使癌症转移。抑制迁移可能降低癌症转移可能。为了评估IgG和Fab形式的抗c-Met抗体对细胞迁移的作用, 使用PC3前列腺癌细胞作为模型。本实施例中, 在6孔板中培养细胞至汇集, 形成紧密单层细胞。以无血清培养基饥饿细胞24小时后, 以200 $\mu$ l移液枪尖刮划单层细胞, 形成供细胞迁入的剥蚀面积。单层细胞受到干扰后, 紧接着以10 $\mu$ g/ml IgG和Fab形式的抗c-Met抗体培养细胞1小时。向培养物中加入HGF, 终浓度为50ng/ml, 并于24小时后对迁入剥蚀面积中的细胞进行评分。为了对迁移进行评分, 检查了5块40X放大的视野, 并对迁入剥蚀面积中的细胞数目进行计数。

[0184] 实验结果: 如图5所示, 在HGF的刺激下, IgG形式的抗c-Met抗体A1、B12、E1和H6和所有的Fab形式测试抗体均抑制了PC4细胞向剥蚀面积的迁移。图中数据显示为相对运动性的成倍增加, 其计算为: HGF处理样本中的迁移细胞数除以未处理对照中的细胞数。数据代表了多次试验。

#### [0185] 实施例4

[0186] 本实施例展示了HGF刺激、c-Met的细胞运动性的体外数据。HGF亦称为分散因子(Scatter Factor), 因其具有触发细胞散布或分散的能力。该分散是由c-Met依赖性细胞运动性介导的。此类细胞运动性可能与癌细胞转移有关。本实施例中, 使用菌落分散实验来演示抗c-Met抗体抑制c-Met依赖性细胞运动性的能力。将DU145前列腺癌细胞以 $2 \times 10^3$ 的细

胞密度接种至10cm板中,并培养7天,直至形成菌落。以无血清培养基对细胞菌落过夜培养,然后以10 $\mu$ g/ml的IgG或Fab形式的抗c-Met抗体预处理1小时,然后以HGF (25ng/mL) 刺激。处理24小时后,以结晶紫 (0.1%) 进行细胞染色。以40倍放大对分散后菌落进行可视化并拍照。

[0187] 实验结果:如图6所示,HGF (+HGF) 刺激的细胞运动性描述为菌落细胞的散布或分散。以IgG和Fab形式的抗c-Met抗体预处理细胞,不同程度上预防了所述分散。克隆E1 (IgG和Fab形式)、A1 (IgG形式)、A8 (Fab形式) 和H8 (IgG形式) 对HGF-刺激、c-Met介导的细胞运动性的拮抗作用与Genentech 5D5 (Fab形式) 程度相仿,而D6 (IgG形式) 和IgG形式的Genentech 5D5对细胞运动性无拮抗作用。所述附图代表多次试验中的多个菌落。某些样本的多视图来自同一实验。

#### [0188] 实施例5

[0189] 本实施例提供了c-Met反应性抗体对肿瘤生长的作用的体内数据。抗c-Met抗体调控肿瘤生长的能力用无胸腺鼠科模型进行评估。5只一组的小鼠,侧腹皮下注射5 $\times$ 10<sup>6</sup>U118人原代成胶质细胞瘤细胞。细胞植入10天后,以100ml i) PBS, ii) 抗体A1 (0.15mg), iii) 抗体E1 (0.15mg) 或 iv) 抗体H8 (0.15mg) 腹腔内处理小鼠。每周处理3次,直至实验结束。如图7和图13所示,E1 ( $\diamond$ ), A1 ( $\square$ ), 和H8 ( $\Delta$ ) 抗体降低了异源肿瘤细胞相对于仅PBS的生长。

#### [0190] 实施例6

[0191] 本实施例展示了抗c-Met抗体的细胞结合EC<sub>50</sub>测定的体外数据。本实施例展示了所述抗体在最大细胞结合度和达到50%结合饱和度 (EC<sub>50</sub>) 的浓度时的结合特性。在本例中,取DU-145前列腺癌细胞、SK-0-V3卵巢癌细胞或人脐静脉内皮细胞 (HUVEC), 加入96孔尖底板含FACS缓冲液 (PBS+2%FBS) 的板中。使用FACS缓冲液制备抗体的16点2倍系列稀释曲线,用于对细胞染色。培养1小时后,以FACS缓冲液洗涤细胞2次,然后以PE标记的羊抗人IgG二抗 ( $\gamma$ -链特异性) (Southern Biotech Cat#2040-09) 重悬浮。再培养细胞0.5小时,然后以FACS缓冲液洗涤1次。以FACS缓冲液重悬浮细胞,然后使用Intellicyt HTFC流式细胞仪测定FL2-A通道的荧光强度中位值。所述抗c-Met抗体对DU-145、SK-0-V3和HUVEC细胞的细胞结合度EC<sub>50</sub>值如表1所示。使用ForeCyt软件以Intellicyt HTFC流式细胞仪采集和分析数据。ND=未测定。

[0192] 表1: E1衍生抗c-Met抗体对DU-145前列腺癌细胞和SK-0-V3卵巢癌细胞的EC<sub>50</sub>值。

#### [0193]

克隆	对DU-145细胞的EC <sub>50</sub> nM	对SK-0-V3细胞的EC <sub>50</sub> nM	对HUVEC细胞的EC <sub>50</sub> nM
E1-A10	0.2	0.153	0.148
E1-A11	0.26	0.2	ND
E1-A13	0.362	0.159	ND
E1-A14	0.212	0.12	0.132
E1-A18	ND	1.15	0.606
E1-B11	0.34	0.41	ND
E1-B13	0.251	0.191	0.190
E1-B19	3.35	0.852	ND
E1-BR1	3.36	0.467	0.376

## [0194] 实施例7

[0195] 本实施例展示了抗c-Met抗体的细胞结合EC<sub>50</sub>测定的体外数据。本实施例展示了所述抗体在最大细胞结合度和达到50%结合饱和度 (EC<sub>50</sub>) 的浓度时的结合特性。在本例中,取DU-145前列腺癌细胞或SK-0-V3卵巢癌细胞或人脐静脉内皮细胞 (HUVEC),加入96孔尖底板含FACS缓冲液 (PBS+2%FBS) 的板中。使用FACS缓冲液制备抗体的16点2倍系列稀释曲线,用于对细胞染色。培养1小时后,以FACS缓冲液洗涤细胞2次,然后以PE标记的羊抗人IgG二抗 ( $\gamma$ -链特异性) (Southern Biotech Cat#2040-09) 重悬浮。再培养细胞0.5小时,然后以FACS缓冲液洗涤1次。以FACS缓冲液重悬浮细胞,然后使用Intellicyt HTFC流式细胞仪测定FL2-A通道的荧光强度中位值。所述抗c-Met抗体对DU-145、SK-0-V3和HUVEC细胞的细胞结合度EC<sub>50</sub>值如表1所示。使用ForeCyt软件以Intellicyt HTFC流式细胞仪采集和分析数据。ND=未测定。

## [0196] 表2

## [0197]

克隆	对DU-145细胞的EC <sub>50</sub> nM	对SK-0-V3细胞的EC <sub>50</sub> nM
A1-2	ND	0.223
A1-4	0.017	0.054
A1-6	ND	0.053
A1-9	0.058	0.076
A1-24	0.003	0.135
A1-32	0.064	0.109

## [0198] 实施例

[0199] 本实施例展示了抗c-Met抗体E1及其优化版本对重组HGF和重组c-Met之间相互作用的阻断。抑制配体与其受体结合以防止激活。在本实施例中,使用ELISA实验来测定50%的配体/受体结合被抗体阻断的浓度 (IC<sub>50</sub>)。在此,通过以with SuperBlock (Scytek, Cat# AAA500) 进行封闭,将重组c-Met胞外域 (R&D Systems cat#358-MT-100/CF) 固定在ELISA板上。然后向板上添加8点4倍系列稀释抗体。培养1小时并洗涤后,向板上添加,HGF (R&D Systems cat#294-HG-005/CF),终浓度为0.15nM。使用生物素化抗HGF抗体 (R&D cat# BAF294) 及链霉亲和素蛋白-HRP HRP (Fitzgerald cat#65R-510PHRP) 测定HGF与c-Met的结合度。OD450对抗体浓度作图,并使用非线性回归 (GraphPad Prism) 测定每种抗体的IC<sub>50</sub> (图8)。数据显示为OD450平均值 $\pm$ SEM且IC<sub>50</sub>值单位为nM。

## [0200] 实施例9

[0201] 本实施例展示了抗c-Met抗体A1及其优化版本对重组HGF和重组c-Met之间相互作用的阻断。抑制配体与其受体结合以防止激活。在本实施例中,使用ELISA实验来测定50%的配体/受体结合被抗体阻断的浓度 (IC<sub>50</sub>)。在此,通过以with SuperBlock (Scytek, Cat# AAA500) 进行封闭,将重组c-Met胞外域 (R&D Systems cat#358-MT-100/CF) 固定在ELISA板上。然后向板上添加8点4倍系列稀释抗体。培养1小时并洗涤后,向板上添加,HGF (R&D Systems cat#294-HG-005/CF),终浓度为0.15nM。使用生物素化抗HGF抗体 (R&D cat# BAF294) 及链霉亲和素蛋白-HRP HRP (Fitzgerald cat#65R-510PHRP) 测定HGF与c-Met的结合度。OD450对抗体浓度作图,并使用非线性回归 (GraphPad Prism) 测定每种抗体的IC<sub>50</sub> (图

9)。数据显示为OD450平均值±SEM且IC<sub>50</sub>值单位为nM。

#### [0202] 实施例10

[0203] 本实施例展示了A549NSCLC (非小细胞肺癌) 细胞中HGF刺激下的c-Met磷酸化体外数据。本例展示了抗c-Met抗体A1优化克隆阻断癌细胞中的c-Met的激活及功能的能力。在此,将A549细胞在96孔细胞培养板的孔中培养24小时,然后以8点5倍系列稀释的所述抗体处理。培养4小时后,向细胞加入,40ng/ml HGF (R&D Systems cat#294-HG-005/CF),然后培养细胞15分钟。以含原钒酸钠的PBS (1:2000) 洗涤细胞,然后以含抑制剂的细胞裂解液裂解。使用ELISA (R&D Systems cat#DYC2480-2) 根据按照半面积ELISA板调整的厂商方案测定c-Met的磷酸化。测定OD450作为c-Met磷酸化的指标,并将其对抗体浓度作图,以得到如图10所示曲线 (图示OD450平均值±SEM)。使用非线性回归确定所述抗体克隆对c-Met磷酸化的抑制IC<sub>50</sub>值,并列举在图10 (数值单位为nM)。

#### [0204] 实施例11

[0205] 本实施例展示了抗c-Met抗体诱导ADCC (抗体依赖性细胞毒性) 的潜力。当抗体与靶细胞结合的Fc域与效应器免疫细胞表面的Fc受体相互作用,引发对靶细胞的杀灭时,即是触发ADCC。在此,我们使用基于细胞的报告实验 (Promega) 来测定抗c-Met抗体诱导的ADCC。简而言之,取625A431细胞接种至白色384孔细胞培养板上含100μl培养基的内部320孔中,允许过夜细胞贴壁,然后于次晨移除培养基,并替换为每孔7μl ADCC实验缓冲液 (RPMI+4%低IgG牛胎血清) (未使用的外围孔则为21μl)。以ADCC食盐缓冲液制备3倍终浓度的9点3倍系列稀释曲线。向孔中加入7μl抗体稀释液,跨行一式三份以避免空间影响。根据厂商说明解冻ADCC效应器细胞,并向每孔添加7μl。37°C下培养该板6小时,然后移至实验台上,达到室温。向每孔中加入21μl Bio-Glo荧光素酶检测实验试剂,并培养30分钟。然后使用FlexStation III (Molecular Devices) 分析所述板,检测荧光。以RLU (相对光强度;三联试样平均值±SEM) 对抗体浓度作图,以测定该效果的EC<sub>50</sub>。如图11所示,用于诱导ADCC的E1和E1优化克隆的EC<sub>50</sub>值的范围在230pM至1.1nM之间。

#### [0206] 实施例12

[0207] 本实施例展示了抗c-Met mAbs对细胞迁移的作用,使用了采用xCelligence系统 (ACEA) 的改良博伊登室 (Boyden Chamber)。在此,将CIM-16板上室中的8μm膜两侧涂布30μl的1mg/ml纤连蛋白30分钟。使用以迁移基础培养基 (MBM;以无血清培养基SFM以1:125稀释的完全补充培养基) 的50ng/ml HGF (R&D Systems cat#294-HG-005/CF) 溶液。CIM-16板的下室充入170μl化学引诱物稀释液。然后,将上室和下室组装,并向上室孔中装入40μl SEM。将该组件在RTCA-DP装置中培养1小时,然后进行背景测试。然后,以无酶方式提出靶细胞,并以SFM重悬浮为浓度800000细胞/ml。取50μl细胞悬浮液与50μl 10μg/ml抗c-Met mAbs (40000细胞和5μg/ml终浓度的mAb;一式三份) 培养10分钟,然后转移入CIM-16板的孔中。在通风橱中允许细胞室温静置30分钟。然后,将该板放入RTCA-DP装置中,并每2分钟读数,持续24小时。随着细胞被化学引诱物 (HGF) 吸引,它们穿越膜孔而粘附到膜下侧,使得电阻抗改变,由RTCA装置将其转化为细胞指数。细胞指数越高,迁移细胞数越大。如图12所示,5ng/ml HGF诱导了细胞迁移,且所述抗c-Met mAbs不同程度地抑制了该迁移。图示数据为实验开始8小时后以未处理对照正态化 (+/-SD) 的细胞指数。

#### [0208] 序列表

[0209]

	重链可变区	轻链可变区
A1	QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGGSISSGGYYWS WIRQHPGKGLEWIGEINHSGSTNYPNPSLKSRVTISV DTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCARGRDGYDFDPW GQGTLVTVSS SEQ ID NO. 1	LPVLTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGGY NYVSWYQQHPGKAPKLMIIYDVSDRPSGVS TRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCSSY RSSSALVVFGGGKLTVL SEQ ID NO. 2
A2	QVQLQESGPGLVKPSGTLSTCAVSGGSISR\$NWWS WVRQPPGKGLEWIGEVYHSGSTNYPNPSLKSRVTISV DKSKNQFSLKVN\$VTAADTAVYYCARDSDGGYYFDY WGQGLTVTVSS SEQ ID NO. 3	LPVLTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGGY KYVSWYQQHPGKAPKLLIYDVTDPRPSGVSN RFGSQSGNTASLTISGLQTEDEADYYCSSYT DNGALVVFGGGKLTVL SEQ ID NO. 4
A8	QITLKESGAEVKKPGSSVKV\$CKASGGTFSSYGISWV RQAPGQGLEWMGGIIPMFGTANYAQKFQGRVTIT ADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARDEVAPDYGS GPSYGM\$VWVGQGTMTVTVSS SEQ ID NO. 5	SYELMQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGG YDHVSWYQQHPGKAPKLMIYAVRNRPSGV PDRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCSS YTSSLTYVFGTGKTVL SEQ ID NO. 6
B12	QVQLVESGAEVKKPGASVKV\$CKASGYFTGYMH WVRQAPGQGLEWMGWINPNSGNTGYAQKFQGR VTMTRNTSISTAYMELSSLRSEDTAVYYCARRGTTVS FDYWGQGT\$TVTVSS SEQ ID NO. 7	QAVLTQPPSVSGSPGQSITISCTGTSSDVGTF NLVSWYQQHPGKAPKLIIEVSKRPSDV\$PR YSGSKSGTTASLTISVLQTEDEADYYCCSYTTS SSYVFGIGTKTVL SEQ ID NO. 8
D6	QVQLQQW\$GAGLLKPSETLSLTC\$AVYGG\$FSGYYWS WIRQPPGKGLEWIGEINHSGSTNYPNPSLKSRVTISVD TSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCARGRDGYDFDPWG QGTLVTVSS SEQ ID NO. 9	QSVLTQPPSASGSPGQSVTISCTGTSSDVGG YNYVSWYQQHPGKAPKLMIYEVSKRPSGVP DRFSGSKSGNTASLTVSGLQAEDEADYYCSS YAGSNL\$VVFGGGQTLTVL SEQ ID NO. 10

[0210]

E1	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVCSCKTSGYTFSGDYMH WVRQAPGQGLEWMGWINPNSGGTNYAQKFQGR VTMTRDTSISTAYMELSRLSDDTAVYYCAREPGRDY YYYDGMDEVWGQGTTVTVSS SEQ ID NO. 11	QSVVTQPPSVSGAPGQRVTISCTGSSSNIGA GYDVHWYQQLPGTVPKLLIYGNSNRPSGVP DRFSGSKSGTSASLAITGLQAEDEADYYCQS YDSSLSAYVFGTGKTVL SEQ ID NO. 12
E6	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLCAVYGGFSGYYWS WIRQPPGKLEWIGEINHSGSTNYNPSLKSRTISVD TSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCARGGRVYSNYMD VWGKGTTVTVSS SEQ ID NO. 13	QAVLTQPASVSGSPGQSITISCTGTRSDVGG YNYVSWYQQHPGKAPKLLVDVSNRPSGVSN NRFSGSQSGNTASLTISGLQTEDEADYYCSSY TDNSALVVFVGGGKTVL SEQ ID NO. 14
F3	QVQLVESGPGVLKPSGTLSTCAVSGGSISSNWWS WVRQPPGKLEWIGEIYHSGSTNYNPSLKSRTISV DKSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCARSAYGDYFLDYW GQGTTLTVSS SEQ ID NO. 15	QSVLTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGGY NYVSWYQQHPGKAPKLLIYDVSRRPSGVSN RFGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCSSFT SSSTLVVFGGKTVL SEQ ID NO. 16
H6	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYEMN WVRQAPGKLEWVSYISSSGSTIYADSVKGRFTISR DNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDGAATGDQI DYWGQGTTLTVSS SEQ ID NO. 17	AIRMTQSPAFMSATPGDKVNISYKASQDVD DDMTWCQEKPGEAAIFIQEAATLVPGIPPR LSGSGNGTDFTLTINMESEDAAYFCLQQ DNFPLTFGQGTKVDIK SEQ ID NO. 18
H8	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVCSCKASGYTFSSYYMH WVRQAPGQGLEWMGWINPNSGNTGYAQKFQGR VTMTRNTSISTAYMELSSLRSEDVAVYYCARRGTTVS FDYWGQGTTLTVSS SEQ ID NO. 19	QLVLTQSPSVSVAPGQRVTISCSGSNSNIGN NYVSWYHHLPGTAPKLLIYDNNKRPSGIPDR FSGSKSGTSATLGITGLQPGDEAHYYCGTWD STLSAGVFGGKTVLSEQ ID NO. 20
H8-9	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVCSCKASGYTFSSYYMH WVRQAPGQGLEWMGWINPNSGNTGYAQKFQGR VTMTRNTSISTAYMELSSLRSEDVAVYYCARRGTTVS FDTWGQGTTLTVSS SEQ ID NO. 21	QLVLTQSPSVSVAPGQRVTISCSGSNSNIGN NYVSWYHHLPGTAPKLLIYDNNKRPSGIPDR FSGSKSGTSATLGITGLQPGDEAHYYCGTWD STLSAWVFGGKTVLSEQ ID NO. 22
H8-9EE8L3	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVCSCKASGYTFSSYYMH WVRQAPGQGLEWMGWINPNSGNTGYAQKFQGR VTMTRNTSISTAYMELSSLRSEDVAVYYCARRGTTVS FDTWGQGTTLTVSS SEQ ID NO. 21	QLVLTQSPSVSVAPGQRVTISCSGSNSNIGN NYVSWYHHLPGTAPKLLIYDNNKRPSGIPDR FSGSKSGTSATLGITGLQPGDEAHYYCGTWD STLSAWLFGGKTVLSEQ ID NO. 23
H8-G3S	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVCSCKASGYTFYSEYMH WVRQAPGQGLEWMGWINPNSGNTGYAQKFQGR VTMTRNTSISTAYMELSSLRSEDVAVYYCARRGTTVS FDTWGQGTTLTVSS SEQ ID NO. 24	QLVLTQSPSVSVAPGQRVTISCSGSNSNIGN NYVSWYHHLPGTAPKLLIYDNNKRPSGIPDR FSGSKSGTSATLGITGLQPGDEAHYYCGTWD STLSAWVFGGKTVLSEQ ID NO. 22
H8-A2	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVCSCKASGYTFYSEYMH WVRQAPGQGLEWMGWINPNSGNTGVAPKFQGR VTMTRNTSISTAYMELSSLRSEDVAVYYCARRGTTVS FDTWGQGTTLTVSS SEQ ID NO. 25	QLVLTQSPSVSVAPGQRVTISCSGSNSNIGN NYVSWYHHLPGTAPKLLIYDNNKRPSGIPDR FSGSKSGTSATLGITGLQPGDEAHYYCGTWD STLSAWAFGGKTVLSEQ ID NO. 26
H8-B6	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVCSCKASGYTFYSEYMH WVRQAPGQGLEWMGWINPNSGNTGYAQKFQGR VTMTRNTSISTAYMELSSLRSEDVAVYYCARRGTTVS FDTWGQGTTLTVSS SEQ ID NO. 27	QLVLTQSPSVSVAPGQRVTISCSGSNSFTDN TYVSWYHHLPGTAPKLLIYDNNKRPSGIPDR FSGSKSGTSATLGITGLQPGDEAHYYCGTWD STLSAWVFGGKTVLSEQ ID NO. 28
H8-C1	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVCSCKASGYTFYSEYMH WVRQAPGQGLEWMGWINPNSGNTGLAPKFQGR VTMTRNTSISTAYMELSSLRSEDVAVYYCARRGTTVS FDTWGQGTTLTVSS SEQ ID NO. 29	QLVLTQSPSVSVAPGQRVTISCSGSNSNIGN NYVSWYHHLPGTAPKLLIYDNNKRPSGIPDR FSGSKSGTSATLGITGLQPGDEAHYYCGTWD STLSAWLFGGKTVLSEQ ID NO. 23

[0211]

H8-D4	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFYSEYMH WVRQAPGQGLEWMGWINPNSGNTGYAQKFQGR VTMTRNTSISTAYMELSSLRSEDTAVYYCARRGTTVS FDTWGQGTTLTVSSSEQ ID NO. 24	QLVLTQSPSVSVAPGQRVTISCSGSNSNIGN NYVSWYHHLPGTAPKLLIYDNNKRQSGIPD RFGSKSGTSATLGITGLQPGDEAHYYCGTW DSTLSAWVFGGGTKLTVLSEQ ID NO. 30
H8-D5	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFYSYMH WVRQAPGQGLEWMGWINPNSGNTGVAQKFQGR VTMTRNTSISTAYMELSSLRSEDTAVYYCARRGTTVS FDTWGQGTTLTVSSSEQ ID NO. 31	QLVLTQSPSVSVAPGQRVTISCSGSNSNIGN NYVSWYHHLPGTAPKLLIYDNNKRPSGIPDR FSGSKSGTSATLGITGLQPGDEAHYYCGTWD STLSAWLFGGGTKLTVLSEQ ID NO. 23
H8-D6	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFYSEYMH WVRQAPGQGLEWMGWINPNSGNTGYAQKFQGR VTMTRNTSISTAYMELSSLRSEDTAVYYCARRGTTVS FDTWGQGTTLTVSSSEQ ID NO. 24	QLVLTQSPSVSVAPGQRVTISCSGSNSNIGN NYVSWYHHLPGTAPKLLIYDNNKRPSGIPDR FSGSKSGTSATLGITGLQPGDEAHYYCGTWD STLSAWLFGGGTKLTVLSEQ ID NO. 23
H8-D10	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFYSEYMH WVRQAPGQGLEWMGWINPNSGNTGLAQKFQGR VTMTRNTSISTAYMELSSLRSEDTAVYYCARRGTTVS FDTWGQGTTLTVSSSEQ ID NO. 32	QLVLTQSPSVSVAPGQRVTISCSGSNSNIGN NYVSWYHHLPGTAPKLLIYDNNKRPSGIPDR FSGSKSGTSATLGITGLQPGDEAHYYCGTWD STLSAWLFGGGTKLTVLSEQ ID NO. 23
H8-E5	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFYSEYMH WVRQAPGQGLEWMGWINPNSGNTGYAPKFQGR VTMTRNTSISTAYMELSSLRSEDTAVYYCARRGTTVS FDTWGQGTTLTVSSSEQ ID NO. 33	QLVLTQSPSVSVAPGQRVTISCSGSNSNIGN NYVSWYHHLPGTAPKLLIYDNNKRPSGIPDR FSGSKSGTSATLGITGLQPGDEAHYYCGTWD STLSAWVFGGGTKLTVLSEQ ID NO. 22
H8-G7	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFYSEYMH WVRQAPGQGLEWMGWINPNSGNTGVAQKFQGR VTMTRNTSISTAYMELSSLRSEDTAVYYCARRGTTVS FDTWGQGTTLTVSSSEQ ID NO. 34	QLVLTQSPSVSVAPGQRVTISCSGSNSNIGN NYVSWYHHLPGTAPKLLIYDNNKRPSGIPDR FSGSKSGTSATLGITGLQPGDEAHYYCGTWD STLSAWVFGGGTKLTVLSEQ ID NO. 22
H8-G9	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFYSEYMH WVRQAPGQGLEWMGWINPNSGNTGYAQKFQGR VTMTRNTSISTAYMELSSLRSEDTAVYYCARRGTTVS FDTWGQGTTLTVSSSEQ ID NO. 24	QLVLTQSPSVSVAPGQRVTISCSGSNSFSSN NYVSWYHHLPGTAPKLLIYDNNKRPSGIPDR FSGSKSGTSATLGITGLQPGDEAHYYCGTWD STLSAWVFGGGTKLTVLSEQ ID NO. 35
H8-H6	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFYSYMH WVRQAPGQGLEWMGWINPNSGNTGLAQKFQGR VTMTRNTSISTAYMELSSLRSEDTAVYYCARRGTTVS FDTWGQGTTLTVSSSEQ ID NO. 36	QLVLTQSPSVSVAPGQRVTISCSGSNSNIGN NYVSWYHHLPGTAPKLLIYDNNKRPSGIPDR FSGSKSGTSATLGITGLQPGDEAHYYCGTWD STLSAWAFGGGTKLTVLSEQ ID NO. 26
H8-2A2	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFYSEYMH WVRQAPGQGLEWMGWINPNSGNTGLAPKFQGR VTMTRNTSISTAYMELSSLRSEDTAVYYCARRGTTVS FDTWGQGTTLTVSSSEQ ID NO. 29	QLVLTQSPSVSVAPGQRVTISCSGSNSNIGN NYVSWYHHLPGTAPKLLIYDNNKRPSGIPDR FSGSKSGTSATLGITGLQPGDEAHYYCGTWD STLSAWVFGGGTKLTVLSEQ ID NO. 22
H8-2B1	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFYSYMH WVRQAPGQGLEWMGWINPNSGNTGLAPKFQGR VTMTRNTSISTAYMELSSLRSEDTAVYYCARRGTTVS FDTWGQGTTLTVSSSEQ ID NO. 37	QLVLTQSPSVSVAPGQRVTISCSGSNSNIGN NYVSWYHHLPGTAPKLLIYDNNKRPSGIPDR FSGSKSGTSATLGITGLQPGDEAHYYCGTWD STLSAWAFGGGTKLTVLSEQ ID NO. 38
H8-2B2	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFYSEYMH WVRQAPGQGLEWMGWINPNSGNTGVAQKFQGR VTMTRNTSISTAYMELSSLRSEDTAVYYCARRGTTVS FDTWGQGTTLTVSSSEQ ID NO. 34	QLVLTQSPSVSVAPGQRVTISCSGSNSNIGN NYVSWYHHLPGTAPKLLIYDNNKRPSGIPDR FSGSKSGTSATLGITGLQPGDEAHYYCGTWD STLSAWLFGGGTKLTVLSEQ ID NO. 23

[0212]

H8-2B4	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFYSYMH WVRQAPGQGLEWMGWINPNSGNTGLAPKFQGR VTMTRNTSISTAYMELSSLRSEDVAVYYCARRGTTVS FDTWGGQGLTVSSSEQ ID NO. 37	QLVLTQSPSVSVAPGQRVTISCSGSNSNIGN NYVSWYHHLPGTAPKLLIYDNNKRPSGIPDR FSGSKSGTSATLGITGLQPGDEAHYYCGTWD STLSAWLFGGGTKLTVLSEQ ID NO. 23
H8-2B7	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFYSEYMH WVRQAPGQGLEWMGWINPNSGNTGLAQKFQGR VTMTRNTSISTAYMELSSLRSEDVAVYYCARRGTTVS FDTWGGQGLTVSSSEQ ID NO. 32	QLVLTQSPSVSVAPGQRVTISCSASNSNIGN NYVSWYHHLPGTAPKLLIYDNNKRPSGIPDR FSGSKSGTSATLGITGLQPGDEAHYYCGTWD STLSAWVFGGGTKLTVLSEQ ID NO. 39
H8-A7P	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFYSEYMH WVRQAPGQGLEWMGWINPNSGNTGLAQKFQGR VTMTRNTSISTAYMELSSLRSEDVAVYYCARRGTTVS FDTWGGQGLTVSSSEQ ID NO. 32	QLVLTQSPSVSVAPGQRVTISCSGSNSNIGN NYVSWYHHLPGTAPKLLIYDNNKRPSGIPDR FSGSKSGTSATLGITGLQPGDEAHYYCGTWD STLSAWVFGGGTKLTVLSEQ ID NO. 22
GCE-A10	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFSGDYMHV VRQAPGQGLEWMGWINPNSGGTNYAQKFQGRVTM TRDTSISTAYMELSLRSDDTAVYYCAREPARDYYYYDG LDVWGGQGTTVSSSEQ ID NO. 40	QSVVTQPPSVSGAPGQRVTISCLGSASNIGAG HDVHWYQQLPGTAPKLLIYGNNSRPSGVPDR FSGSKSGTSASLAITGLQAEDEADYYCQSYSSSL SAYVFGTGKTVLSEQ ID NO. 41
GCE-A11	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGFTFSGDYIHVV RQAPGQGLEWMGWINPNSGGTNYAQKFQGRVTMT RDTISISTAYMELSLRSDDTAVYYCAREPARDYYYYDGL DVWGGQGTTVSSSEQ ID NO. 42	QSVVTQPPSVSGAPGQRVTISCLGSSSNIGAG HDVHWYQQLPGTAPKLLIYGNNSRISGVPDRF SGSKSGTSASLAITGLQAEDEADYYCQSYSSSL AYLFGTGKTVLSEQ ID NO. 43
GCE-A13	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFSGDYLHWV RQAPGQGLEWMGWINPNSGGTNYAQKFQGRVTMT RDTISISTAYMELSLRSDDTAVYYCAREPARDYYYYDGL DVWGGQGTTVSSSEQ ID NO. 44	QSVVTQPPSVSGAPGQRVTISCLGSASNIGAG HDVHWYQQLPGTAPKLLIYGNNSRPSGVPDR FSGSKSGTSASLAITGLQAEDEADYYCQSYSSSL SAYVFGTGKTVLSEQ ID NO. 41
GCE-A14	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFSGDYIHVV RQAPGQGLEWMGWINPNSGGTNYAQKFQGRVTMT RDTISISTAYMELSLRSDDTAVYYCAREPARDYYYYDGL DVWGGQGTTVSSSEQ ID NO. 45	QSVVTQPPSVSGAPGQRVTISCLGSSSNIGAG HDVHWYQQLPGTAPKLLIYGNNSRPSGVPDR FSGSKSGTSASLAITGLQAEDEADYYCQSYSSSL SAYVFGTGKTVLSEQ ID NO. 46
GCE-A16	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFSGDYLHWV RQAPGQGLEWMGWINPNTGGTNYAQKFQGRVTMT RDTISISTAYMELSLRSDDTAVYYCAREPARDYYYYDGL DVWGGQGTTVSSSEQ ID NO. 47	QSVVTQPPSVSGAPGQRVTISCLGSSSNIGAGY DVHWYQQLPGTAPKLLIYGNNSLPSGVPDRFS GSKSGTSASLAITGLQAEDEADYYCQSYESSLSA YVFGTGKTVLSEQ ID NO. 48
GCE-A18	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFSGDYMHV VRQAPGQGLEWMGWINPNSGGTNYAQKFQGRVTM TRDTSISTAYMELSLRSDDTAVYYCAREPARDYYYYDG LDVWGGQGTTVSSSEQ ID NO. 49	QSVVTQPPSVSGAPGQRVTISCLGSASNIGAG HDVHWYQQLPGTAPKLLIYGNNSRPSGVPDR FSGSKSGTSASLAITGLQAEDEADYYCQSYSSSL SAYVFGTGKTVLSEQ ID NO. 50
GCE-B2	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFSGDYMHV VRQAPGQGLEWMGWINPNTGGTNYAQKFQGRVTM TRDTSISTAYMELSLRSDDTAVYYCAREPARDYYYYDG LDVWGGQGTTVSSSEQ ID NO. 51	QSVVTQPPSVSGAPGQRVTISCLGSASNIGAG YDVHWYQQLPGTAPKLLIYGNNSRPSGVPDR FSGSKSGTSASLAITGLQAEDEADYYCQSYSSSL SAYVFGTGKTVLSEQ ID NO. 52
GCE-B9	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGFTFSGDYMHV VRQAPGQGLEWMGWINPNSGGTNYAQKFQGRVTM TRDTSISTAYMELSLRSDDTAVYYCAREPARDYYYYDG LDVWGGQGTTVSSSEQ ID NO. 53	QSVVTQPPSVSGAPGQRVTISCLGSSSNIGAG HDVHWYQQLPGTAPKLLIYGNNSLPSGVPDR FSGSKSGTSASLAITGLQAEDEADYYCQSYSSSL SAVFGTGKTVLSEQ ID NO. 54

[0213]

GCE-B11	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVCKASGYTFSGDYIHVV RQAPGQGLEWMGWINPNSGGTNYAQKFQGRVTMT RDTISITAYMELSRLLRSDDTAVYYCAREPARDYDDYDGL DVWGQGTITVTSSEQ ID NO. 45	QSVVTQPPSVSGAPGQRVTISCLGSSSNIGAGY DVHWHYQQLPGTAPKLLIYGNSNRISGVPDRFS GSKSGTSASLAITGLQAEDEADYYCQSYSSSL AVLFGTGTKVTVLEQ ID NO. 55
GCE-B13	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVCKASGTFSGDYIHVV RQAPGQGLEWMGWINPNSGGTNYAQKFQGRVTMT RDTISITAYMELSRLLRSDDTAVYYCAREPARDYDDYDGL DVWGQGTITVTSSEQ ID NO. 56	QSVVTQPPSVSGAPGQRVTISCLGSASNIGAG HDVHWHYQQLPGTAPKLLIYGNSNRPSGVPDR FSGSKSGTSASLAITGLQAEDEADYYCQSYSSSL SAVLFGTGTKVTVLEQ ID NO.57
GCE-B19	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVCKASGTFSGDYIHVV RQAPGQGLEWMGWINPNSGGTNYAQKFQGRVTMT RDTISITAYMELSRLLRSDDTAVYYCAREPGRDYDDYDGL DVWGQGTITVTSSEQ ID NO. 58	QSVVTQPPSVSGAPGQRVTISCLGSASNIGAG HDVHWHYQQLPGTAPKLLIYGNSNRPSGVPDR FSGSKSGTSASLAITGLQAEDEADYYCQSYSSSL SAVLFGTGTKVTVLEQ ID NO. 57
GCE-BR1	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVCKASGTFSGDYLHVV RQAPGQGLEWMGWINPNSGGTNYAQKFQGRVTMT RDTISITAYMELSRLLRSDDTAVYYCAREPARDYDDYDGL DVWGQGTITVTSSEQ ID NO. 59	QSVVTQPPSVSGAPGQRVTISCLGSASNIGAG YDVHWHYQQLPGTAPKLLIYGNSNRPSGVPDR FSGSKSGTSASLAITGLQAEDEADYYCQSYSSSL SAVLFGTGTKVTVLEQ ID NO. 60
GCE-B20	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVCKASGYTFSGDYLHVV RQAPGQGLEWMGWINPNSGGTNYAQKFQGRVTMT RDTISITAYMELSRLLRSDDTAVYYCAREPARDYDDYDGL MDVWGQGTITVTSSEQ ID NO. 61	QSVVTQPPSVSGAPGQRVTISCLGSASNIGAG HDVHWHYQQLPGTAPKLLIYGNSNRISGVPDRF SGSKSGTSASLAITGLQAEDEADYYCQSYSSSL AVLFGTGTKVTVLEQ ID NO. 62
GCE-A19	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVCKASGTFSGDYLHVV RQAPGQGLEWMGWINPNSGGTNYAQKFQGRVTMT RDTISITAYMELSRLLRSDDTAVYYCAREPARDYDDYDGL DVWGQGTITVTSSEQ ID NO. 63	QSVVTQPPSVSGAPGQRVTISCLGSSSNIGAG HDVHWHYQQLPGTAPKLLIYGNSNRISGVPDRF SGSKSGTSASLAITGLQAEDEADYYCQSYSSSL AYVFGTGTKVTVLEQ ID NO. 64
GCE-B10	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVCKASGTFSGDYLHVV RQAPGQGLEWMGWINPNTGGTNYAQKFQGRVTMT RDTISITAYMELSRLLKSDDTAVYYCAREPARDYDDYDGL DVWGQGTITVTSSEQ ID NO. 65	QSVVTQPPSVSGAPGQRVTISCLGSSSNIGAG HDVHWHYQQLPGTAPKLLIYGNSNLPSGVPDR FSGSKSGTSASLAITGLQAEDEADYYCQSYSSSL SAYVFGTGTKVTVLEQ ID NO. 66
GCE-B5	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVCKASGTFSGDYIHVV RQAPGQGLEWMGWINPNSGGTNYAQKFQGRVTMT RDTISITAYMELSRLLRSDDTAVYYCAREPGRDYDDYDGL DVWGQGTITVTSSEQ ID NO. 58	QSVVTQPPSVSGAPGQRVTISCLGSASNIGAG HDVHWHYQQLPGTAPKLLIYGNSNRPSGVPDR FSGSKSGTSASLAITGLQAEDEADYYCQSYSSSL SAVVFGTGTKVTVLEQ ID NO. 67
GCE-B4	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVCKASGYTFSGDYLHVV RQAPGQGLEWMGWINPNSGGTNYAQKFQGRVTMT RDTISITAYMELSRLLRSDDTAVYYCAREPARDYDDYDGL MDVWGQGTITVTSSEQ ID NO. 61	QSVVTQPPSVSGAPGQRVTISCLGSASNIGAG HDVHWHYQQLPGTAPKLLIYGNSNRISGVPDRF SGSKSGTSASLAITGLQAEDEADYYCQSYSSSL AVLFGTGTKVTVLEQ ID NO. 68
GCE-A26	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVCKASGTFSGDYLHVV RQAPGQGLEWMGWINPNSGGTNYAQKFQGRVTMT RDTISITAYMELSRLLRSDDTAVYYCAREPARDYDDYDGL DVWGQGTITVTSSEQ ID NO. 69	QSVVTQPPSVSGAPGQRVTISCLGSSSNIGAG HDVHWHYQQLPGTAPKLLIYGNSNRPSGVPDR FSGSKSGTSASLAITGLQAEDEADYYCQSYSSSL SAYLFGTGTKVTVLEQ ID NO. 70
GCE-L1A-9	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVCKASGYTFSGDYMHW VRQAPGQGLEWMGWINPNSGGTNYAQKFQGRVTM TRDTISITAYMELSRLLRSDDTAVYYCAREPGRDYDDYDGL MDVWGQGTITVTSSEQ ID NO. 71	QSVVTQPPSVSGAPGQRVTISCLGSSSNIGAG YDVHWHYQQLPGTAPKLLIYGNSNRPSGVPDR FSGSKSGTSASLAITGLQAEDEADYYCQSYSSSL SAYVFGTGTKVTVLEQ ID NO. 72

[0214]

GCE-H3B-36	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFSGDYMHW VRQAPGQGLEWMGWINPNSGGTNYAQKFQGRVTM TRDTSISTAYMELSLRSDDTAVYYCAREPGRDYDDYDGL LDVWGQGTITVTVSSSEQ ID NO. 49	QSVVTQPPSVSGAPGQRVTISCTGSSSNIGAG YDVHWHYQQLPGTAPKLLIYGNSNRPSGVPDR FSGSKSGTSASLAITGLQAEDEADYYCQSYSSSL SAYVFGTGTKVTVLSEQ ID NO. 73
GCE-H13-1	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFSGDYLHWV RQAPGQGLEWMGWINPNSGGTNYAQKFQGRVTMT RDTISISTAYMELSLRSDDTAVYYCAREPGRDYDDYDGL DVWGQGTITVTVSSSEQ ID NO. 74	QSVVTQPPSVSGAPGQRVTISCTGSSSNIGAG YDVHWHYQQLPGTAPKLLIYGNSNRPSGVPDR FSGSKSGTSASLAITGLQAEDEADYYCQSYSSSL SAYVFGTGTKVTVLSEQ ID NO. 73
GCE-H13-2	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFSGDYLHWV RQAPGQGLEWMGWINPNSGGTNYAQKFQGRVTMT RDTISISTAYMELSLRSDDTAVYYCAREPARDYDDYDGL MDVWGQGTITVTVSSSEQ ID NO. 61	QSVVTQPPSVSGAPGQRVTISCTGSSSNIGAG YDVHWHYQQLPGTAPKLLIYGNSNRPSGVPDR FSGSKSGTSASLAITGLQAEDEADYYCQSYSSSL SAYVFGTGTKVTVLSEQ ID NO. 73
GCE-H13-3	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFSGDYLHWV RQAPGQGLEWMGWINPNSGGTNYAQKFQGRVTMT RDTISISTAYMELSLRSDDTAVYYCAREPARDYDDYDGL DVWGQGTITVTVSSSEQ ID NO. 44	QSVVTQPPSVSGAPGQRVTISCTGSSSNIGAG YDVHWHYQQLPGTAPKLLIYGNSNRPSGVPDR FSGSKSGTSASLAITGLQAEDEADYYCQSYSSSL SAYVFGTGTKVTVLSEQ ID NO. 73
GCE-H13-4	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFSGDYMHW VRQAPGQGLEWMGWINPNSGGTNYAQKFQGRVTM TRDTSISTAYMELSLRSDDTAVYYCAREPARDYDDYDGL LDVWGQGTITVTVSSSEQ ID NO. 40	QSVVTQPPSVSGAPGQRVTISCTGSSSNIGAG YDVHWHYQQLPGTAPKLLIYGNSNRPSGVPDR FSGSKSGTSASLAITGLQAEDEADYYCQSYSSSL SAYVFGTGTKVTVLSEQ ID NO. 73
GCE-H13-5	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFSGDYLHWV RQAPGQGLEWMGWINPNSGGTNYAQKFQGRVTMT RDTISISTAYMELSLRSDDTAVYYCAREPARDYDDYDGL MDVWGQGTITVTVSSSEQ ID NO. 75	QSVVTQPPSVSGAPGQRVTISCTGSSSNIGAG YDVHWHYQQLPGTAPKLLIYGNSNRPSGVPDR FSGSKSGTSASLAITGLQAEDEADYYCQSYSSSL SAYVFGTGTKVTVLSEQ ID NO. 73
GCE-H13-6	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFSGDYLHWV RQAPGQGLEWMGWINPNSGGTNYAQKFQGRVTMT RDTISISTAYMELSLRSDDTAVYYCAREPARDYDDYDGL DVWGQGTITVTVSSSEQ ID NO. 69	QSVVTQPPSVSGAPGQRVTISCTGSSSNIGAG YDVHWHYQQLPGTAPKLLIYGNSNRPSGVPDR FSGSKSGTSASLAITGLQAEDEADYYCQSYSSSL SAYVFGTGTKVTVLSEQ ID NO. 73
GCE-H13-8	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFSGDYLHWV RQAPGQGLEWMGWINPNSGGTNYAQKFQGRVTMT RDTISISTAYMELSLRSDDTAVYYCAREPGRDYDDYDGL DVWGQGTITVTVSSSEQ ID NO. 76	QSVVTQPPSVSGAPGQRVTISCTGSSSNIGAG YDVHWHYQQLPGTAPKLLIYGNSNRPSGVPDR FSGSKSGTSASLAITGLQAEDEADYYCQSYSSSL SAYVFGTGTKVTVLSEQ ID NO. 73
H8-9EH11L	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFYSYMHVW RQAPGQGLEWMGWINPNSGNTGYAQKFQGRVTMT RNTSISTAYMELSLRSEDVAVYYCARRGTTVSFDTWG QGTLTVTVSS SEQ ID NO. 21	QLVLTQSPSVVAPGQRVTISCTSGSNSFIGNNTY VSWYHHLPGTAPKLLIYDNNKRPSGIPDRFSGS KSGTSATLGITGLQPGDEAHYYCGTWDSTLSA WVFGGGTKLTVL SEQ ID NO. 77
H8-9EG11L	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFYSYMHVW RQAPGQGLEWMGWINPNSGNTGYAQKFQGRVTMT RNTSISTAYMELSLRSEDVAVYYCARRGTTVSFDTWG QGTLTVTVSS SEQ ID NO. 21	QLVLTQSPSVVAPGQRVTISCTSGSNSNIGNTY VSWYHHLPGTAPKLLIYDNNKRPSGIPDRFSGS KSGTSATLGITGLQPGDEAHYYCGTWDSTLSA WVFGGGTKLTVL SEQ ID NO. 78
H8-6AG2H3	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFSDYMHVW VRQAPGQGLEWMGWINPNSGNTGYAQKFQGRVTM TRNTSISTAYMELSLRSEDVAVYYCARRATVTFDYWG QGTLTVTVSS SEQ ID NO. 79	QLVLTQSPSVVAPGQRVTISCTSGSNSNIGNNTY VSWYHHLPGTAPKLLIYDNNKRPSGIPDRFSGS KSGTSATLGITGLQPGDEAHYYCGTWDSTLSA GVFGGGTKLTVL SEQ ID NO. 20

[0215]

A1-2	QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGGSISSGGYYWSW IRQHPGKGLEWIGESTHSGSTNYNPSLKSRVTISVDTSK NQFSLKLSVTAADTAVYYCARGRDGYDFDAWGQGTL VTVSSSEQ ID NO. 80	LPVLTQPASVSGSPGQSITISCTGTSTFDVGGYN YVSWYQQHPGKAPKLMYDVSDRPSGVSTRF SGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCSSFRSSSA LVVFGGGTKLTVLSEQ ID NO. 81
A1-4	QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGGSISSGGYYWSW IRQHPGKGLEWIGESSHSGSTNYNPSLKSRVTISVDTSK NQFSLKLSVTAADTAVYYCARGRDGYDFDAWGQGTL VTVSSSEQ ID NO. 82	LPVLTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGGYPY VSWYQQHPGKAPKLMYVSDRPSGVSTRFS GSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCSSYRSSSAL VVFSGGTQLTVLSEQ ID NO. 83
A1-6	QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGGSISSGGYYWSW IRQHPGKGLEWIGEITHSGSTNYNPSLKSRVTISVDTSK NQFSLKLSVTAADTAVYYCARGRDGYDIDAWGQGTLV TVSSSEQ ID NO. 84	LPVLTQPASVSGSPGQSITISCTGTSDVGGYP YVSWYQQHPGKAPKLMYDVSDRPSGVSTRF SGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCSSYRSVSA LVVFGGGTKLTVLSEQ ID NO. 85
A1-8	QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGGSISSGGYYWSW IRQHPGKGLEWIGEISHSGSTNYNPSLESRVTISVDTSK NQFSLKLSVTAADTAVYYCARGRDGYDLDRWGQGTL VTVSSSEQ ID NO. 86	LPVLTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGGYPY VSWYQQHPGKAPKLMYRVSDRPSGVSTRFS GSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCSSYRSSAAL VVFSGGTQLTVLSEQ ID NO. 87
A1-9	QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGGSISSGGYYWSW IRQHPGKGLEWIGEISHSGSTNYNPSLKSRVTISVDTSK NQFSLKLSVTAADTAVYYCARGRDGYLDQWGQGTL VTVSSSEQ ID NO. 88	LPVLTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGGYN YVSWYQQHPGKAPKLMYVSDRPSGVSTRF SGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCSSFRSSSA LVVFGGGTKLTVLSEQ ID NO. 89
A1-24	QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGGSISSGGYYWSW IRQHPGKGLEWIGESTHSGSTNYNPSLESRVTISVDTSK NQFSLKLSVTAADTAVYYCARGRDSYDFDAWGQGTL VTVSSSEQ ID NO. 90	LPVLTQPASVSGSPGQSITISCTGTSTFDVGGYN YVSWYQQHPGKAPKLMYDVSDRPSGVSTRF SGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCSSFRSSAA LVVFGGGTKLTVLSEQ ID NO. 91
A1-32	QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGGSISSGGYYWSW IRQHPGKGLEWIGESTHSGSTNYNPSLDSRVTISVDTSK NQFSLKLSVTAADTAVYYCARGRDGYLDQWGQGTL VTVSSSEQ ID NO. 92	LPVLTQPASVSGSPGQSITISCTGTSTFDVGGYPY VSWYQQHPGKAPKLMYDVSDRPSGVSTRFS GSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCSSFRSSAAL VVFSGGTQLTVLSEQ ID NO. 93

抗c-Met抗体亲和度排名

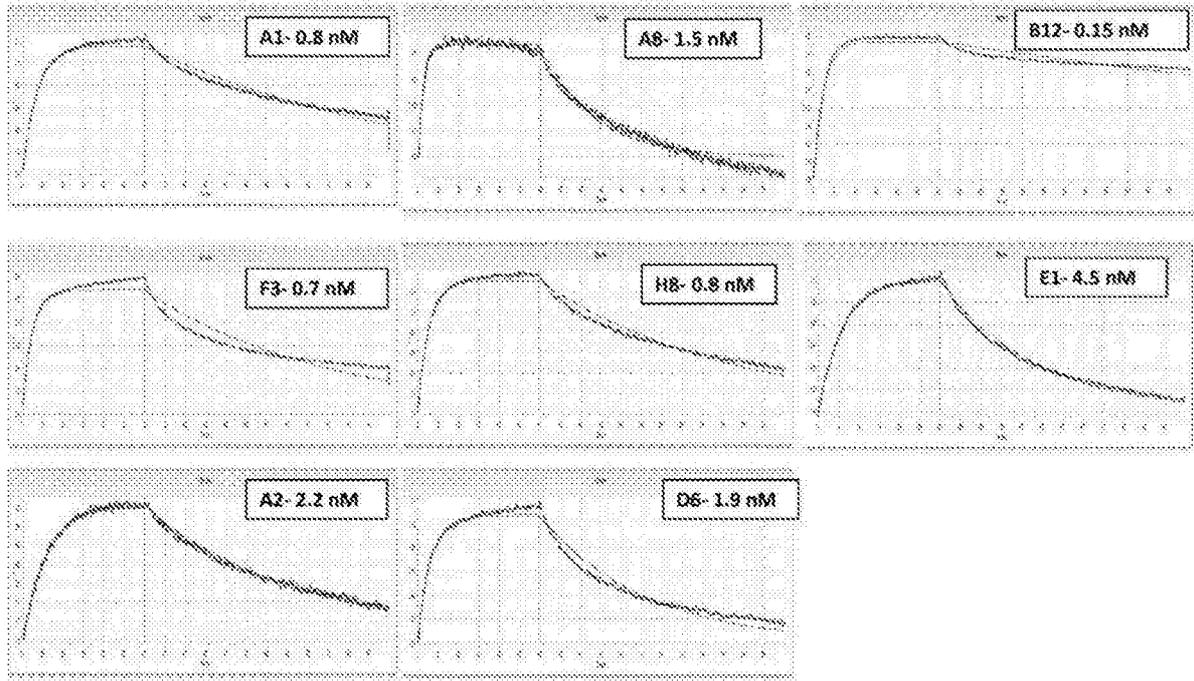
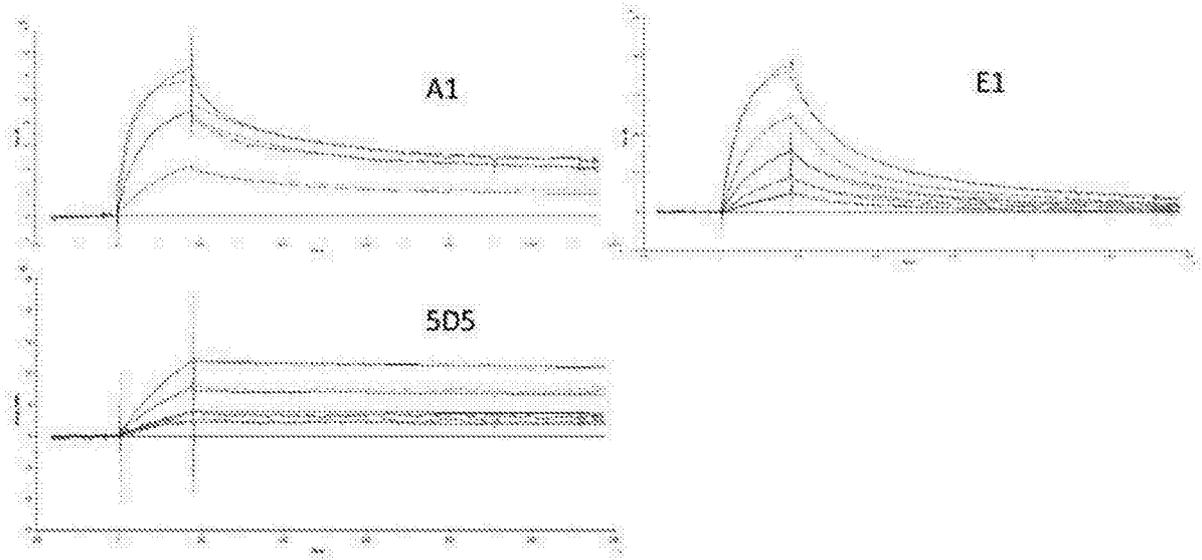


图1a

**IgG形式的双功能c-Met抗体抗重组人c-Met的Biacore动力学分析**



名称	ka [1/Ms]	kd [1/s]	Rmax [RU]	KA [1/M]	KD [M]	CHI2
A1	1.34E6	2.53E-03	26	5.3E+08	1.98E-9	0.268
E1	3.84E+05	7.15E-09	50.8	5.37E+07	1.86E-8	0.189
5D5	4.68E+05	7.95E-05	21.1	5.89E+9	1.7E-10	0.127

图1b

**c-Met结合剂 vs. Genetech 5D5的表位作图**

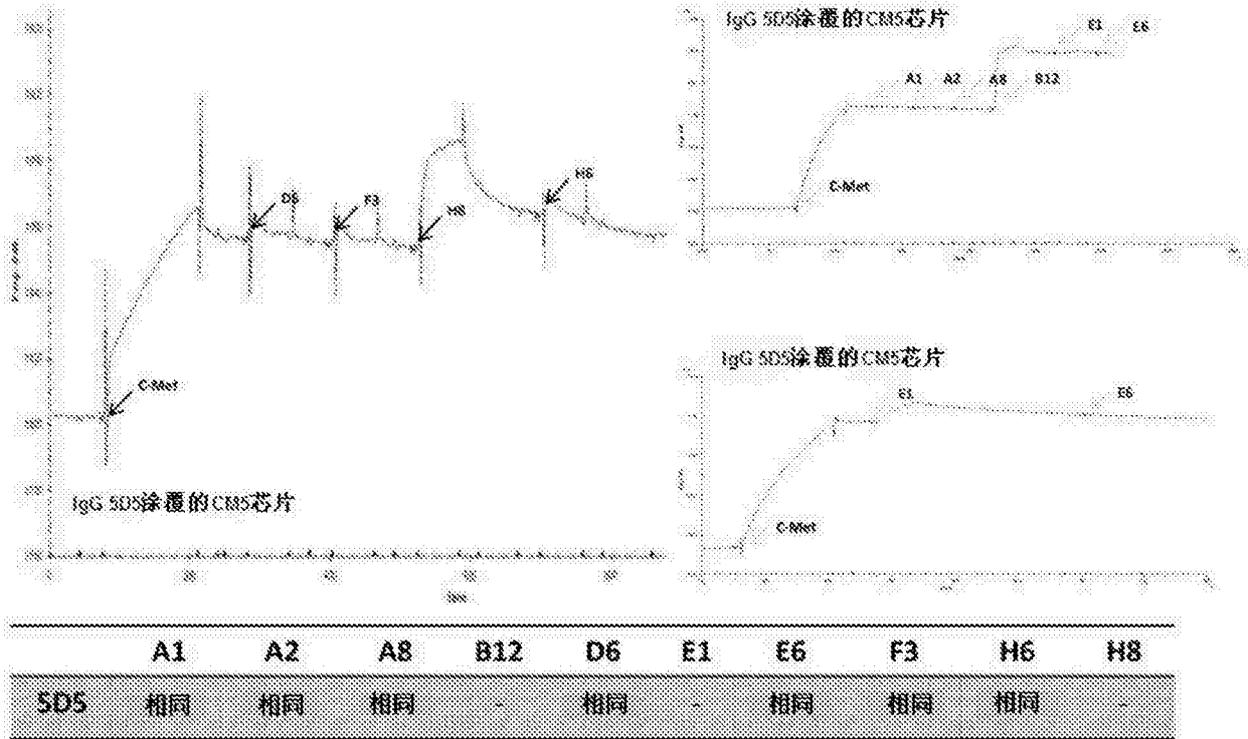


图2

### 抗Met IgGs抗体 vs. Genentech 5D5 IgG 对U87细胞增殖/存活的影响

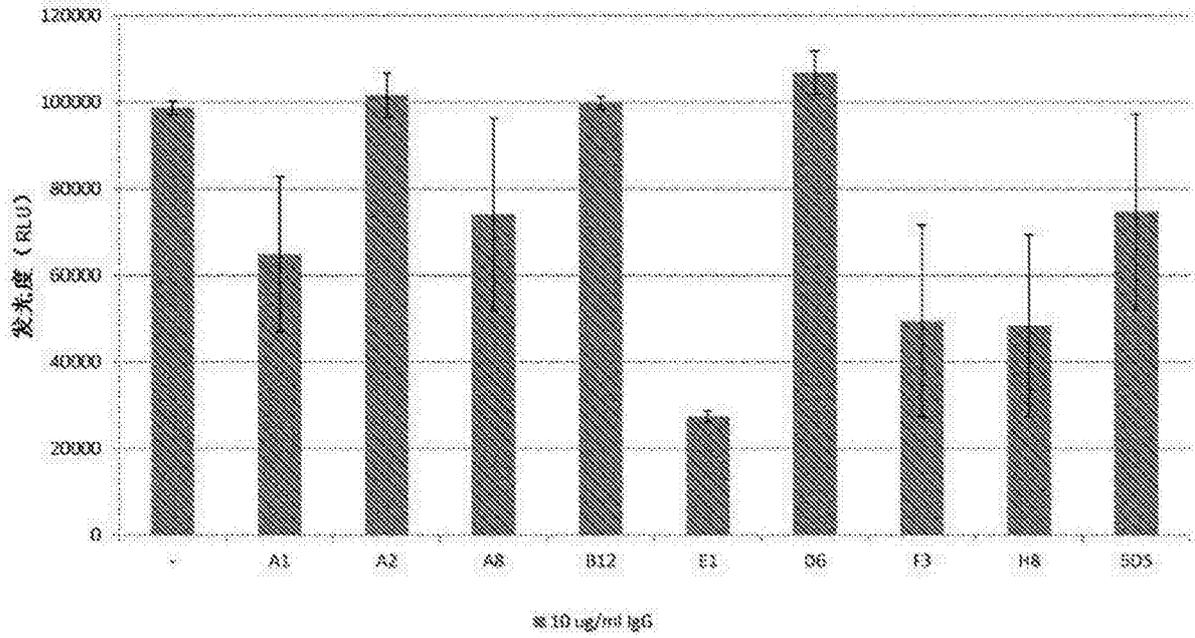


图3a

### 抗Met Fabs vs. Genentech 5D5 Fab 对U87细胞增殖/存活的影响

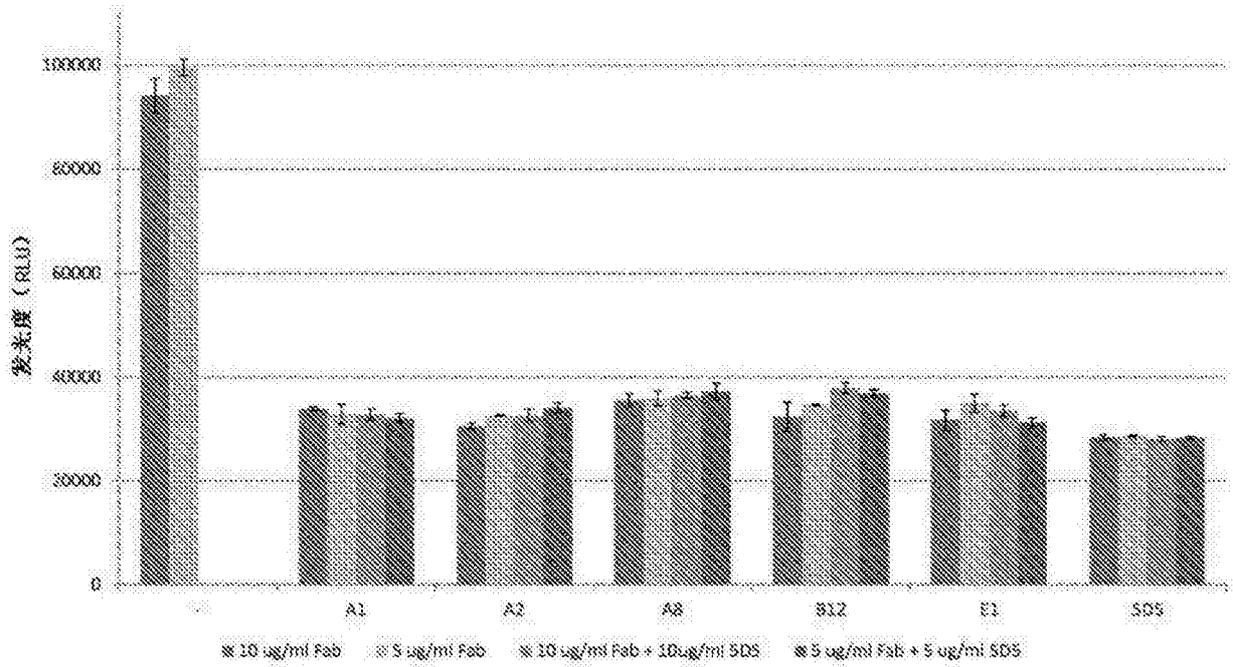


图3b

### IgG形式的抗cMet抗体对HGF刺激的cMet自磷酸化的抑制作用

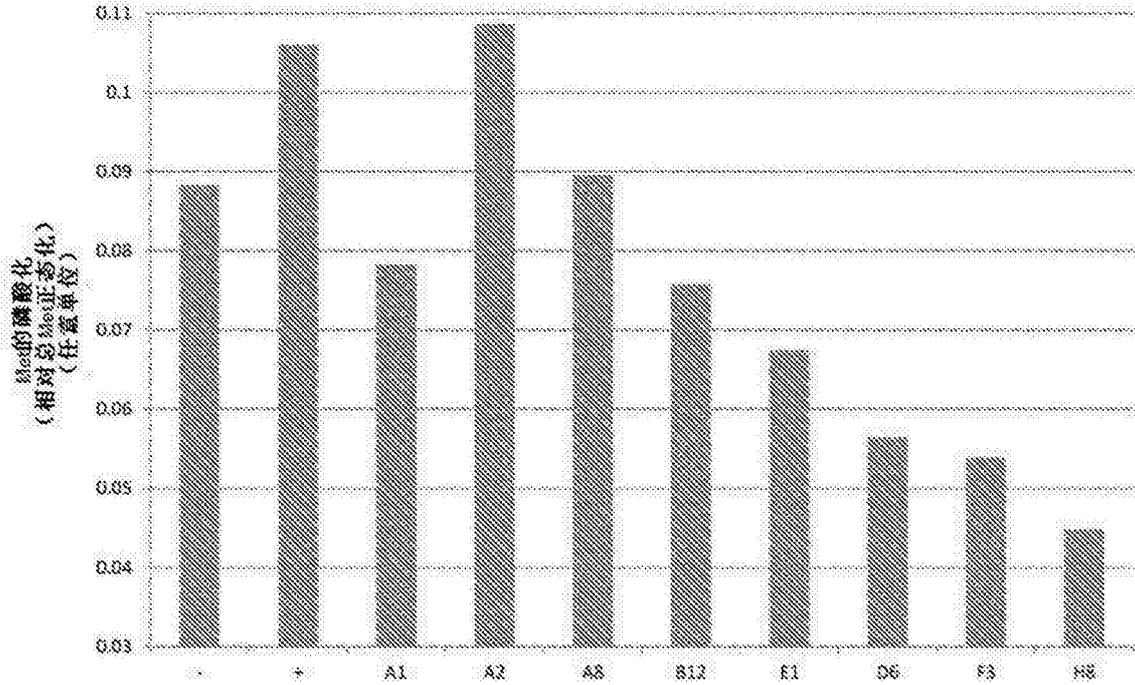


图4a

### Fab形式的抗cMet抗体对HGF刺激的cMet自磷酸化的抑制作用

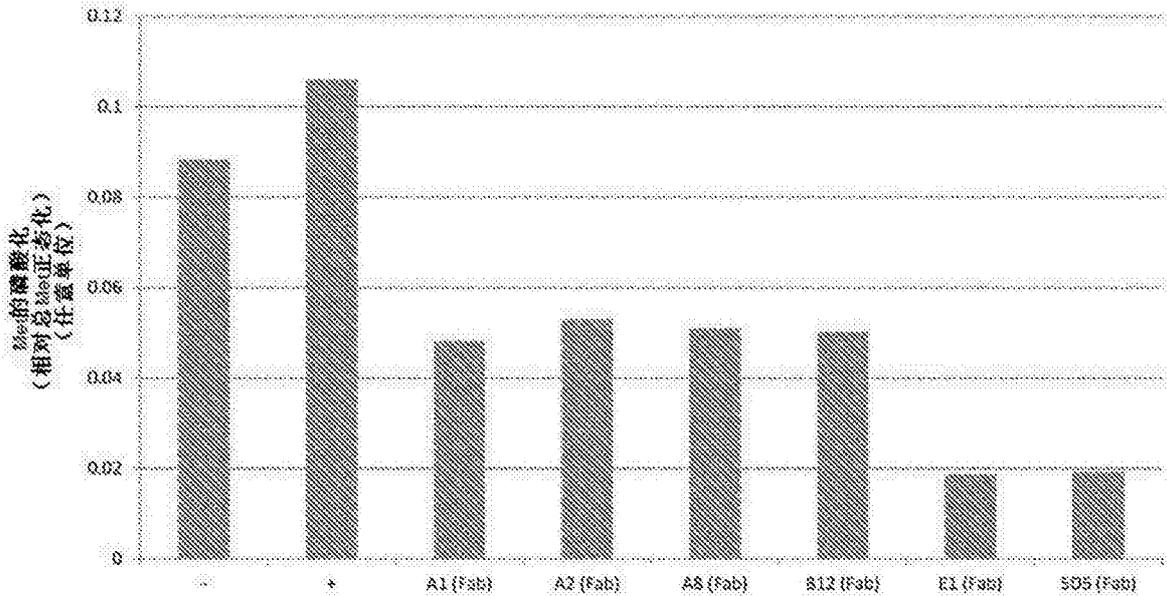


图4b

### 抗Met抗体对HGF刺激、c-Met介导的细胞迁移的抑制作用的细胞创面愈合实验

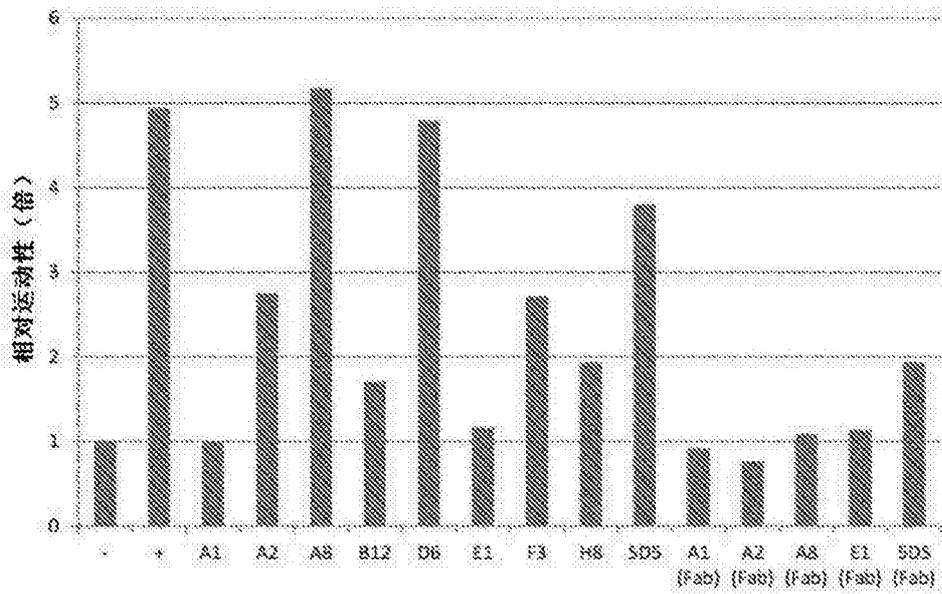


图5

HGF/c-Met分散实验展示，IgG和Fab形式的抗c-Met抗体可抑制HGF-刺激、c-Met介导的细胞运动性

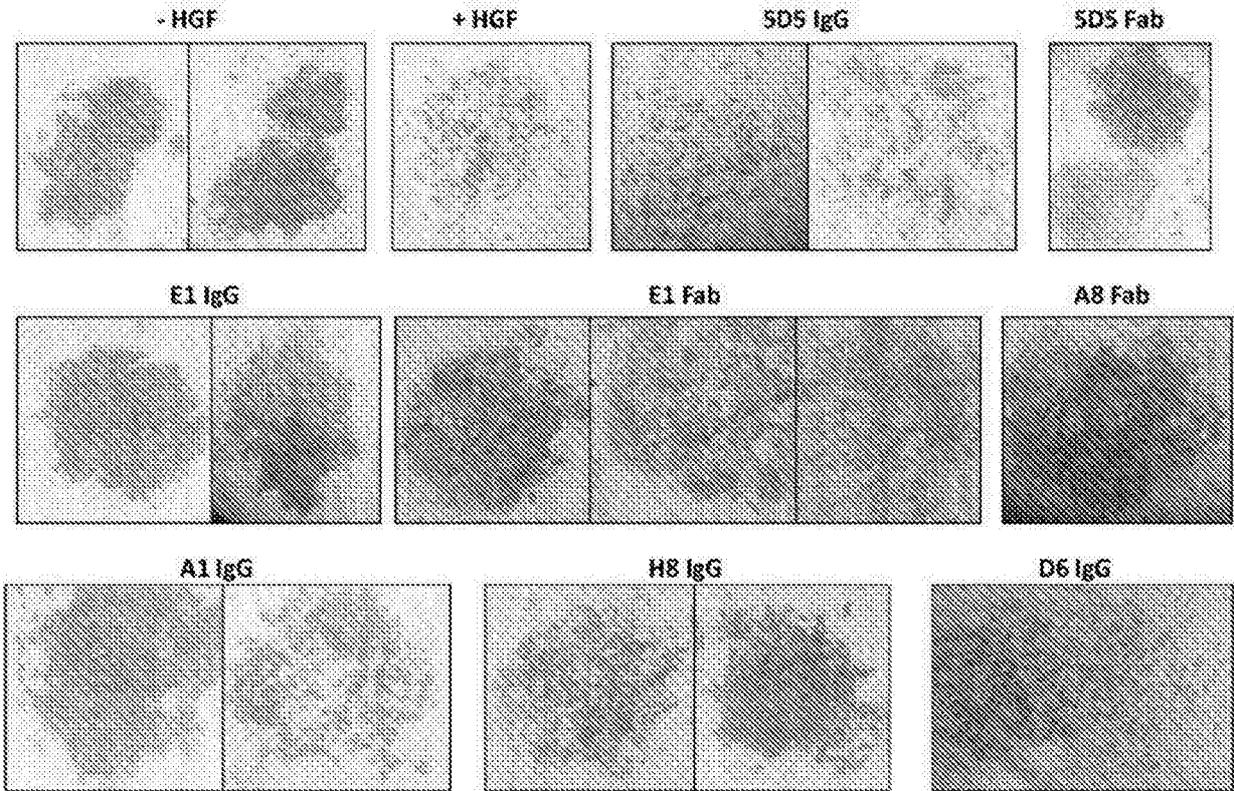


图6

# cMet Abs

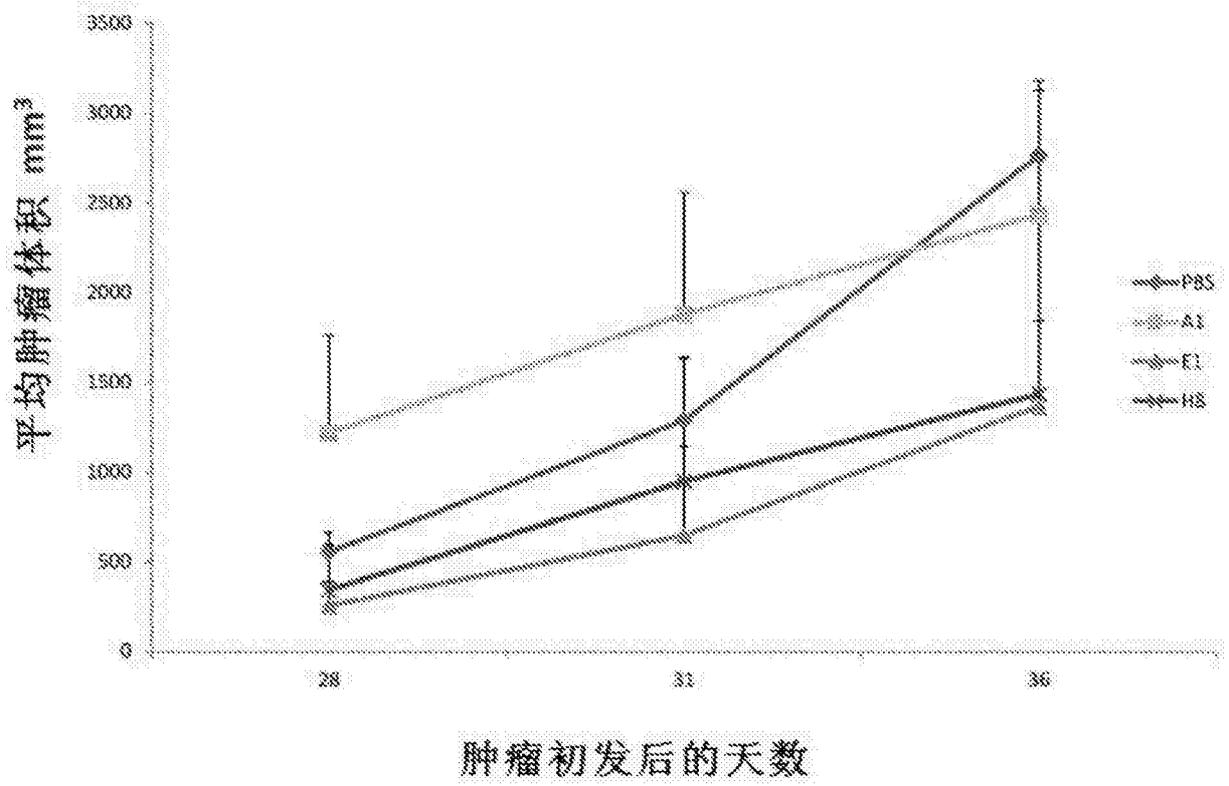


图7

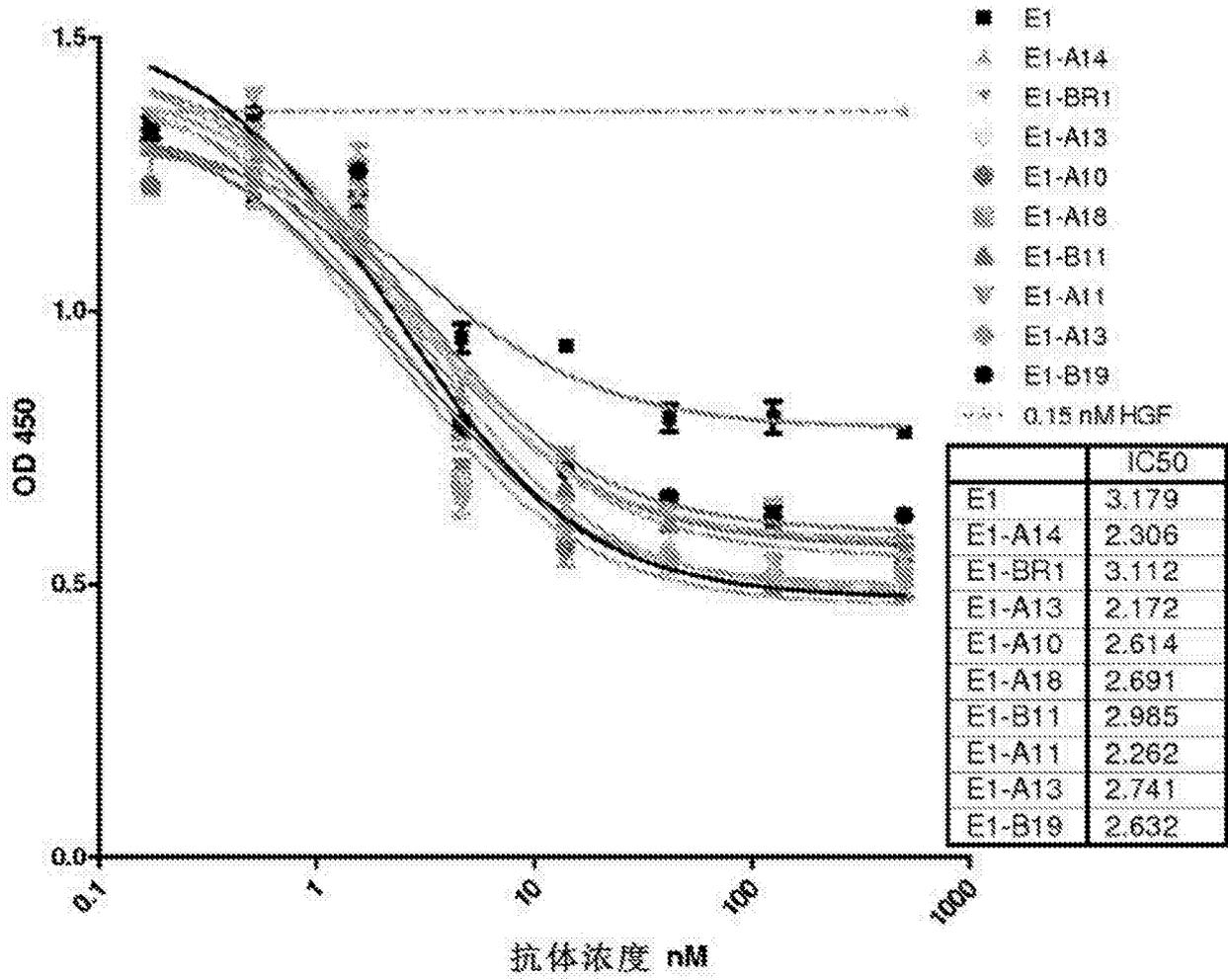


图8

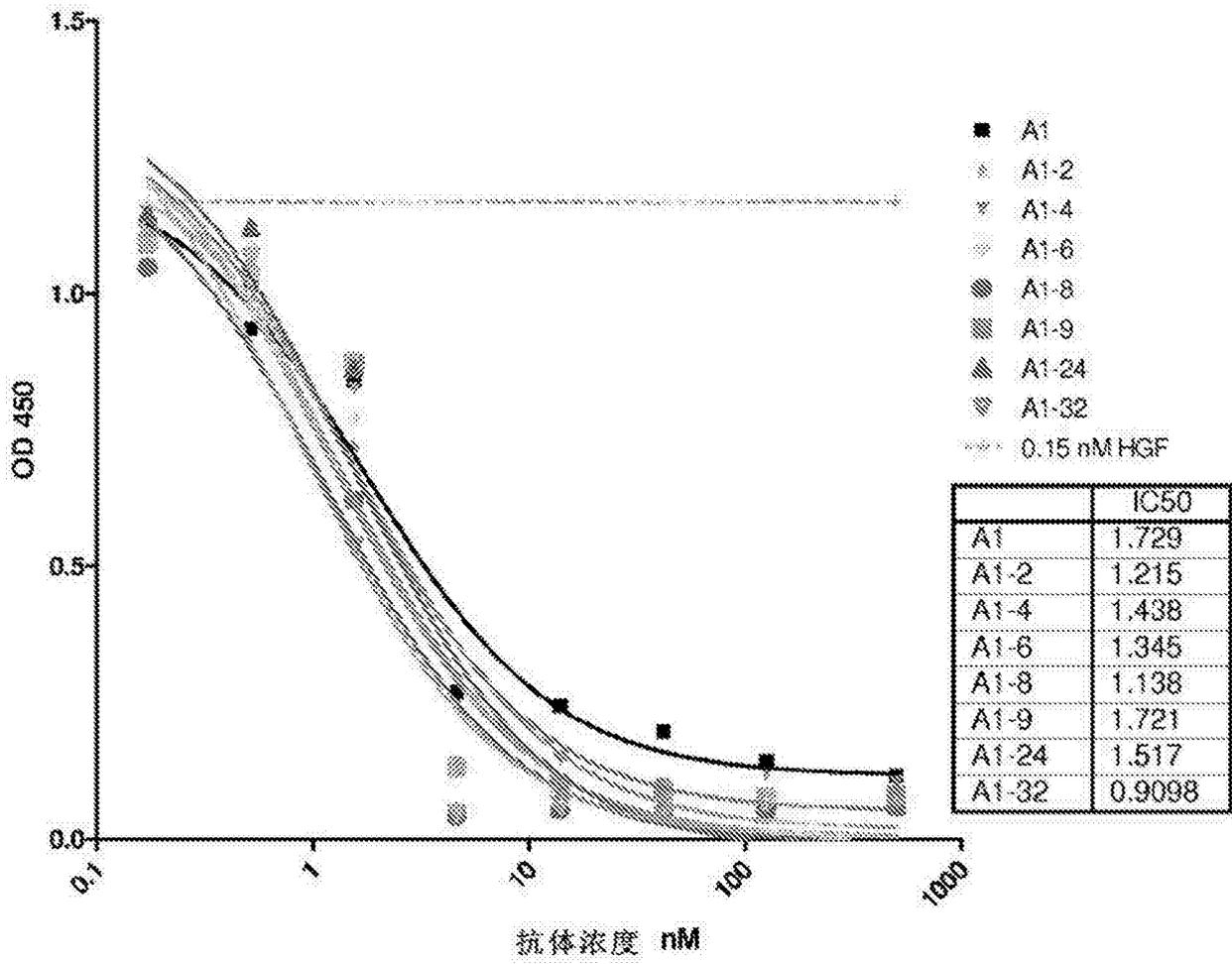


图9

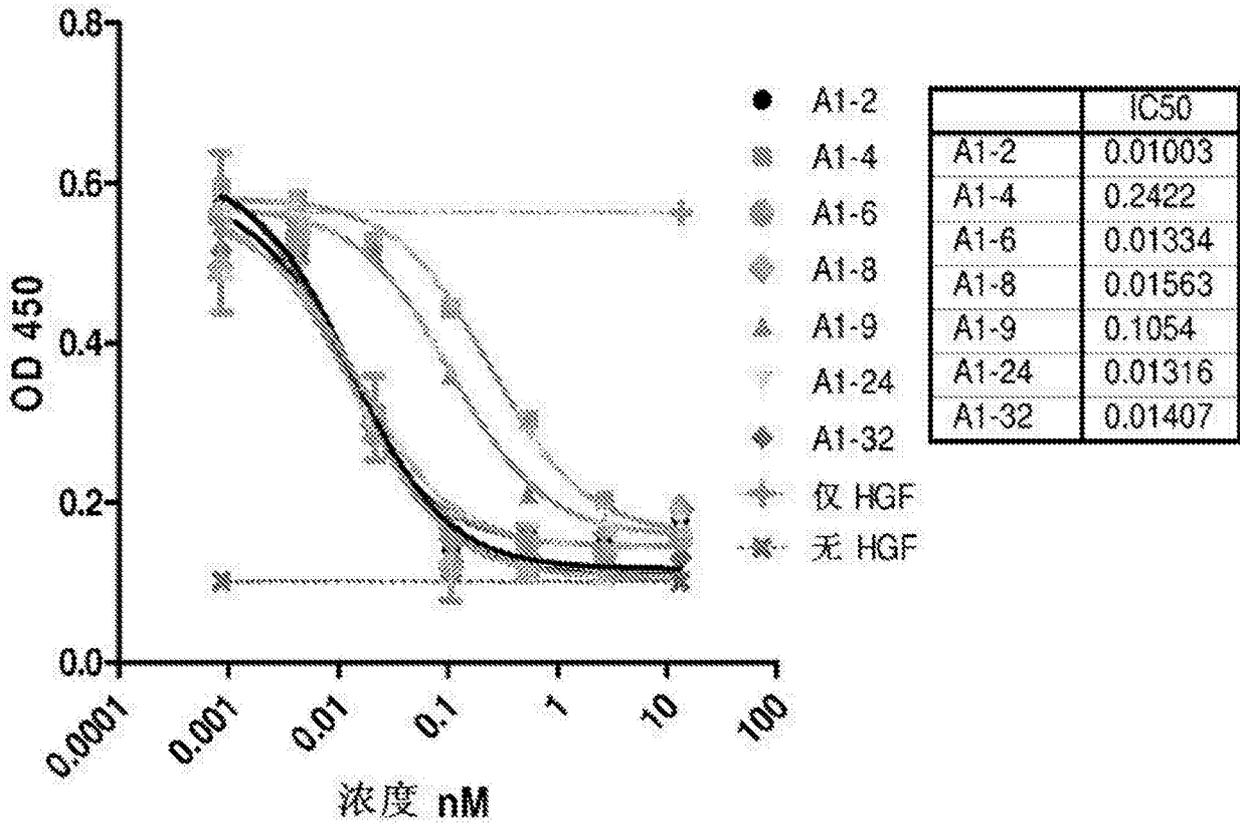


图10

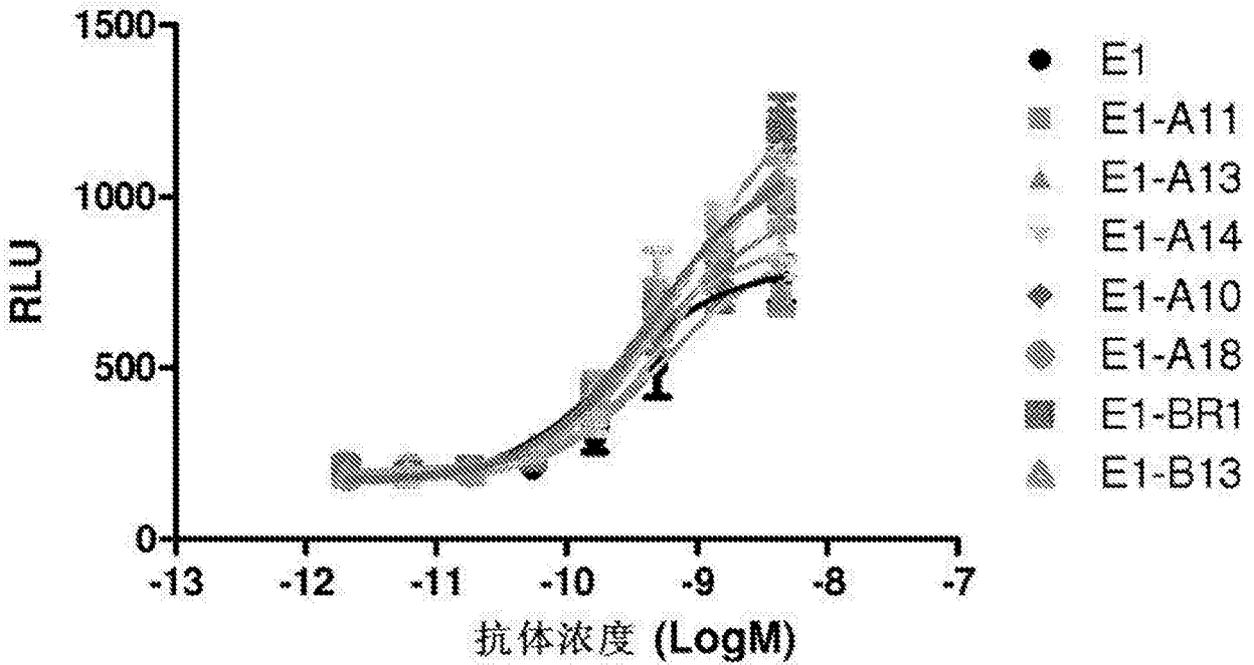


图11

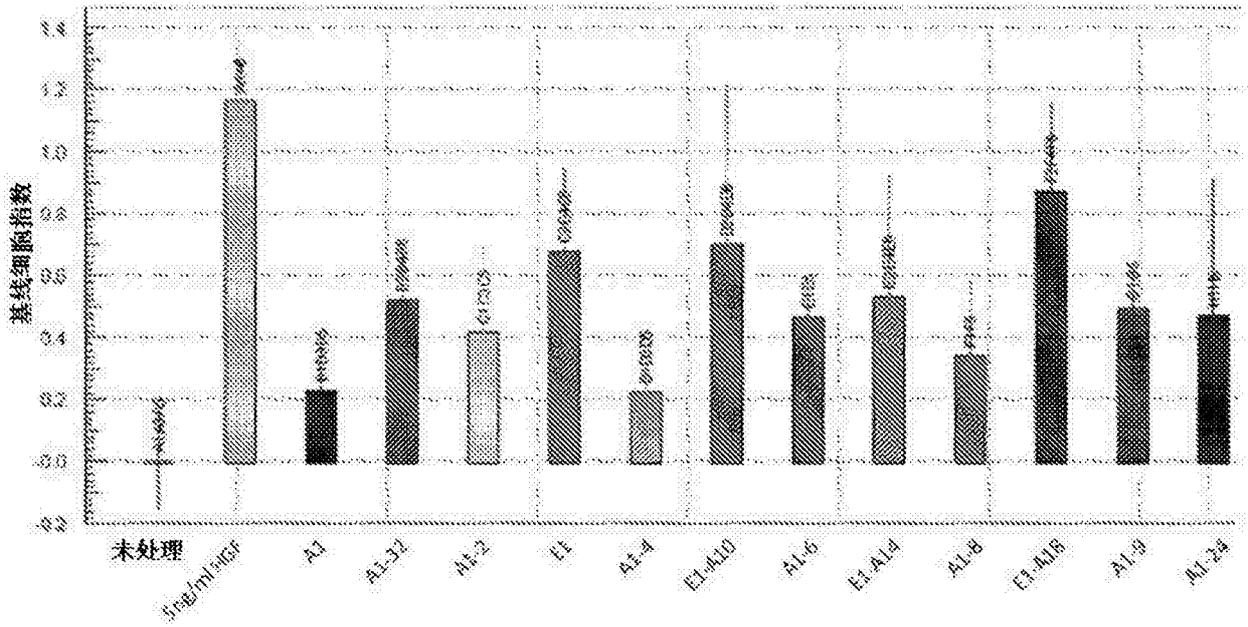


图12

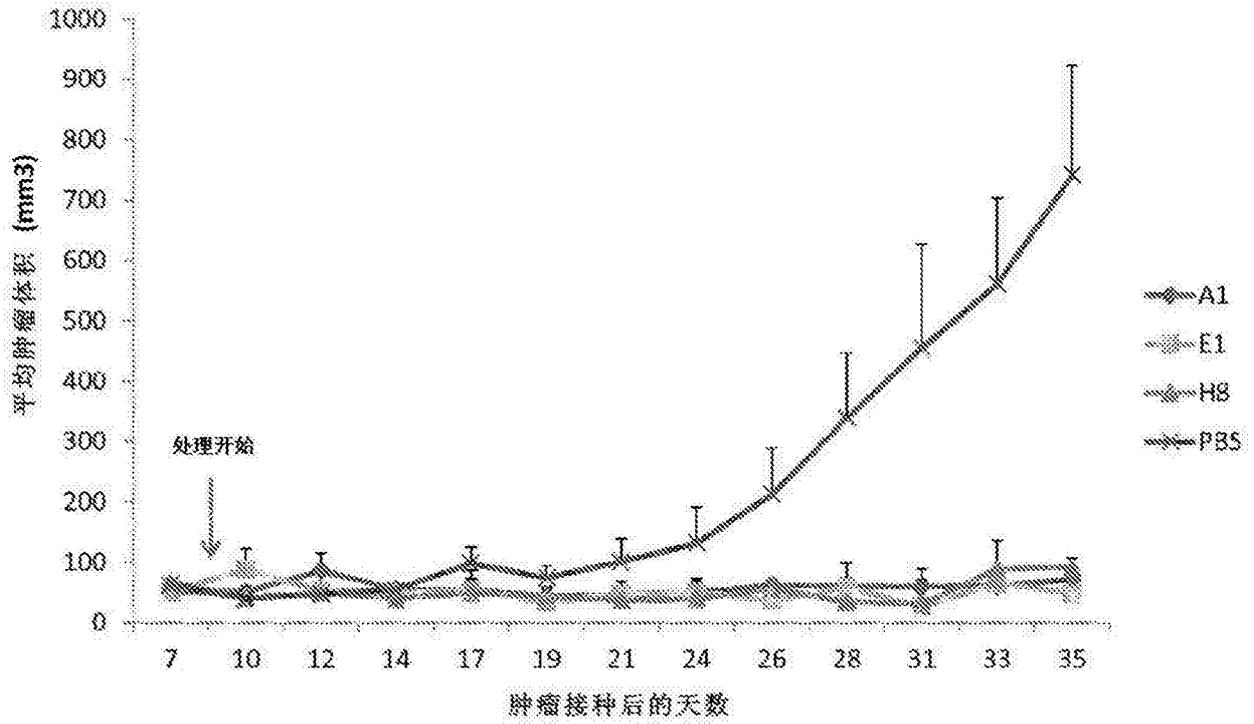


图13