



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公開本

(11)公開編號：TW 201319088 A1

(43)公開日：中華民國 102 (2013) 年 05 月 16 日

(21)申請案號：102101626

(22)申請日：中華民國 93 (2004) 年 07 月 16 日

(51)Int. Cl.：

C07K16/22 (2006.01)

C07K14/475 (2006.01)

C12N15/13 (2006.01)

C12N5/10 (2006.01)

A61K39/395 (2006.01)

A61P35/00 (2006.01)

(30)優先權：2003/07/18 美國

60/488,681

(71)申請人：艾恩傑股份有限公司 (美國) AMGEN INC. (US)

美國

艾恩傑夫利蒙股份有限公司 (美國) AMGEN FREMONT INC. (US)

美國

(72)發明人：柏蓋斯 泰瑞莎 BURGESS, TERESA L. (US)；寇克頌 安琪拉 COXON, ANGELA (US)；格林 賴瑞 GREEN, LARRY L. (US)；張克 ZHANG, KE (US)

(74)代理人：林志剛

申請實體審查：有 申請專利範圍項數：96 項 圖式數：16 共 284 頁

(54)名稱

對肝細胞生長因子具專一性之結合劑

SPECIFIC BINDING AGENTS TO HEPATOCYTE GROWTH FACTOR

(57)摘要

描述與肝細胞生長因子(HGF)交互作用之專一性結合劑。描述經由投服藥學上有效量之對 HGF 的專一性結合劑來治療癌症的方法。描述利用對 HGF 之專一性結合劑來偵測樣本中之 HGF 量的方法。

輕鏈可變區CDR1、CDR2，和CDR3胺基酸序列

Antibody	CDR1	CDR2	CDR3
1.24.1	RASQGISSWLA (SEQ ID NO. 60)	EASSLQS (SEQ ID NO. 70)	QQANGFPWT (SEQ ID NO. 80)
1.29.1	KSSQSIFYSSSTNKNYLA (SEQ ID NO. 61)	WASTRES (SEQ ID NO. 71)	QQYYSTPWT (SEQ ID NO. 81)
1.60.1	RASQGISSYLA (SEQ ID NO. 62)	VASTLQS (SEQ ID NO. 72)	QNYNSDPLT (SEQ ID NO. 82)
1.61.3	QASQDISNYLN (SEQ ID NO. 63)	GASDLET (SEQ ID NO. 73)	QQYDNLPPN (SEQ ID NO. 83)
1.74.3	RASQSINSDLN (SEQ ID NO. 64)	VASSLQN (SEQ ID NO. 74)	QRSYSTPPT (SEQ ID NO. 84)
1.75.1	RASQGIRNDLG (SEQ ID NO. 65)	AASSLQS (SEQ ID NO. 75)	LQHDSYPLT (SEQ ID NO. 85)
2.4.4	KSSQSVLFSSNNKNYLA (SEQ ID NO. 66)	WASTRES (SEQ ID NO. 76)	QQYFSPPT (SEQ ID NO. 86)
2.12.1	RASQSVDSNLA (SEQ ID NO. 67)	GASTRAT (SEQ ID NO. 77)	QQYINWPPIT (SEQ ID NO. 87)
2.40.1	RASQGIRNDLG (SEQ ID NO. 68)	VASSLQS (SEQ ID NO. 78)	LQHNSYPLT (SEQ ID NO. 88)
3.10.1	RASQSVSSNLA (SEQ ID NO. 69)	GASTRAT (SEQ ID NO. 79)	QQYNNWPPIT (SEQ ID NO. 89)



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公開本

(11)公開編號：TW 201319088 A1

(43)公開日：中華民國 102 (2013) 年 05 月 16 日

(21)申請案號：102101626

(22)申請日：中華民國 93 (2004) 年 07 月 16 日

(51)Int. Cl.：

C07K16/22 (2006.01)

C07K14/475 (2006.01)

C12N15/13 (2006.01)

C12N5/10 (2006.01)

A61K39/395 (2006.01)

A61P35/00 (2006.01)

(30)優先權：2003/07/18 美國

60/488,681

(71)申請人：艾恩傑股份有限公司 (美國) AMGEN INC. (US)

美國

艾恩傑夫利蒙股份有限公司 (美國) AMGEN FREMONT INC. (US)

美國

(72)發明人：柏蓋斯 泰瑞莎 BURGESS, TERESA L. (US)；寇克頌 安琪拉 COXON, ANGELA (US)；格林 賴瑞 GREEN, LARRY L. (US)；張克 ZHANG, KE (US)

(74)代理人：林志剛

申請實體審查：有 申請專利範圍項數：96 項 圖式數：16 共 284 頁

(54)名稱

對肝細胞生長因子具專一性之結合劑

SPECIFIC BINDING AGENTS TO HEPATOCYTE GROWTH FACTOR

(57)摘要

描述與肝細胞生長因子(HGF)交互作用之專一性結合劑。描述經由投服藥學上有效量之對 HGF 的專一性結合劑來治療癌症的方法。描述利用對 HGF 之專一性結合劑來偵測樣本中之 HGF 量的方法。

輕鏈可變區CDR1、CDR2，和CDR3胺基酸序列

Antibody	CDR1	CDR2	CDR3
1.24.1	RASQGISSWLA (SEQ ID NO. 60)	EASSLQS (SEQ ID NO. 70)	QQANGFPWT (SEQ ID NO. 80)
1.29.1	KSSQSIFYSSSTNKNYLA (SEQ ID NO. 61)	WASTRES (SEQ ID NO. 71)	QQYYSTPWT (SEQ ID NO. 81)
1.60.1	RASQGISSYLA (SEQ ID NO. 62)	VASTLQS (SEQ ID NO. 72)	QNYNSDPLT (SEQ ID NO. 82)
1.61.3	QASQDISNYLN (SEQ ID NO. 63)	GASDLET (SEQ ID NO. 73)	QQYDNLPPN (SEQ ID NO. 83)
1.74.3	RASQSINSDLN (SEQ ID NO. 64)	VASSLQN (SEQ ID NO. 74)	QRSYSTPPT (SEQ ID NO. 84)
1.75.1	RASQGIRNDLG (SEQ ID NO. 65)	AASSLQS (SEQ ID NO. 75)	LQHDSYPLT (SEQ ID NO. 85)
2.4.4	KSSQSVLFSSNNKNYLA (SEQ ID NO. 66)	WASTRES (SEQ ID NO. 76)	QQYFSPPT (SEQ ID NO. 86)
2.12.1	RASQSVDSNLA (SEQ ID NO. 67)	GASTRAT (SEQ ID NO. 77)	QQYINWPPIT (SEQ ID NO. 87)
2.40.1	RASQGIRNDLG (SEQ ID NO. 68)	VASSLQS (SEQ ID NO. 78)	LQHNSYPLT (SEQ ID NO. 88)
3.10.1	RASQSVSSNLA (SEQ ID NO. 69)	GASTRAT (SEQ ID NO. 79)	QQYNNWPPIT (SEQ ID NO. 89)

※申請案號：102101626 (由93121407分割)

※申請日期：93.7.16 ※IPC 分類：C07K 16/22 (2006.01)
C07K 14/475 (2006.01)

CO7K 14/475 (2006.01)

C12N 15/13 (2006.01)

C12N 5/10 (2006.01)

A61K 39/395 (2006.01)

A61P 35/00

對肝細胞生長因子具專一性之結合劑 A61P 35/00

SPECIFIC BINDING AGENTS TO HEPATOCYTE GROWTH FACTOR

72026.01)

描述與肝細胞生長因子（HGF）交互作用之專一性結合劑。描述經由投服藥學上有效量之對 HGF 的專一性結合劑來治療癌症的方法。描述利用對 HGF 之專一性結合劑來偵測樣本中之 HGF 量的方法。

Specific binding agents that interact with hepatocyte growth factor (HGF) are described. Methods of treating cancer by administering a pharmaceutically effective amount of a specific binding agent to HGF are described. Methods of detecting the amount of HGF in a sample using a specific binding agent to HGF are described.

【代表圖】

【本案指定代表圖】：第(5A)圖。

【本代表圖之符號簡單說明】：無

【本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式】：無

發明專利說明書

【發明名稱】(中文/英文)

對肝細胞生長因子具專一性之結合劑

SPECIFIC BINDING AGENTS TO HEPATOCYTE GROWTH FACTOR

本申請案主張於 2003 年 7 月 18 日提出之美國臨時專利申請案第 60/488,681 號之優先權，其併為本專利申請案中任何用途之參考資料。

【技術領域】

本發明關於結合至肝細胞生長因子（HGF）之專一性結合劑。本發明亦描述用於不同疾病（如：某些類型之癌症，包括，但不限於：實體腫瘤及血液惡性病）之組成物，製造該組成物之方法，及治療這些疾病的方法。

【先前技術】

肝細胞生長因子（HGF）已被視為有效之肝細胞有絲分裂因子。HGF 亦被視為可誘導表皮細胞之能動性的纖維母細胞和平滑肌的分泌蛋白質。在文獻中，HGF 亦被稱為散射因素（SF）。

HGF 為一種主要由間葉細胞產生之多功能性雜二聚體多肽，其可作為 Met 受體酪胺酸激酶（Met）的配合體。人類 Met 受體亦稱為 "c-met"。透過 Met 受體酪胺酸激酶-HGF（Met-HGF）途徑傳訊顯示出可導致一系列之細胞反

應，包括，但不限於：增殖（細胞有絲分裂）、散射（能動性）、刺激細胞通過間質移動（侵入），及分支成形。在活體內，該 Met-HGF 傳訊通路（Met-HGF）涉及，如：神經感應、肝臟再生、傷口癒合、血管生成、生長、侵入、形態分化，及正常之胚胎發育等作用。除了這些功能外，Met-HGF 對亦涉入人類癌症。異常之 Met-HGF 傳訊顯示出涉及腫瘤生成，尤其是涉及侵入性及轉移性表型之發展。某些病原，如：瘧疾亦已被發現可發出異常之 Met-HGF 傳訊。見，Carrolo et al., Nat Med. 2003 9 (11) : 1363-9 (Oct. 12, 2003)，其內容併為本專利申請案中任何用途之參考資料。

再者，某些團體已報告 HGF 可能涉入血管生成，及血管生成-傳介之疾病，如：增殖性糖尿病性腎病。見，Grant, D.S. et al., Proc. Nat. Acad. Sci. u.S.A. 90 (5) 1937-41 (1993) ; Bussolino et al., J. Cell Biol., 119 (3) : 629-641 (1992) ; Montesano et al., Cell, 67 : 901-908 (1991) ; Canon et al., Br. J. Ophthalmol. 84 (7) : 732-5 (2000)。HGF 亦涉入細胞凋亡或預定程序之細胞死亡。當正常之調整機制無法維持細胞增殖和凋亡間的平衡而細胞過量累積時，即產生腫瘤。根據生物學的字義，HGF 可同時影響細胞增殖和凋亡。

由於 HGF 涉及多種生理過程，在某些情況下，使用可調整其活性之分子可能有所幫助。例如：在某些情況下，這類分子可用來治療多種不同型態之癌症。

S

發明摘述

在某些實施態樣中，本發明提供一種分離出之多肽，其含有至少一種選自如下群體之互補決定區（CDR）：CDR1a、CDR2a，和 CDR3a

其中 CDR1a 含有胺基酸序列 a b c d e f g h i j k l m n o p q，其中胺基酸 a 係選自賴胺酸、精胺酸，或麩胺醯胺；胺基酸 b 係選自絲胺酸或丙胺酸；胺基酸 c 為絲胺酸，胺基酸 d 為麩胺醯胺，胺基酸 e 係選自絲胺酸、甘胺酸，或天門冬胺酸；胺基酸 f 係選自纈胺酸或異白胺酸，或不存在；胺基酸 g 係選自白胺酸或苯丙胺酸，或不存在；胺基酸 h 係選自苯丙胺酸或酪胺酸，或不存在；胺基酸 i 為絲胺酸，或不存在；胺基酸 j 為絲胺酸，或不存在；胺基酸 k 係選自天門冬醯胺、蘇胺酸，或不存在；胺基酸 l 係選自天門冬醯胺、異白胺酸，或纈胺酸；胺基酸 m 係選自賴胺酸、精胺酸、絲胺酸、天門冬醯胺，或天門冬胺酸；胺基酸 n 係選自天門冬醯胺，或絲胺酸；胺基酸 o 係選自酪胺酸、天門冬胺酸、色胺酸，或天門冬醯胺；胺基酸 p 為白胺酸；且胺基酸 q 係選自丙胺酸、甘胺酸，或天門冬醯胺；

其中 CDR2a 含有胺基酸序列 r s t u v w x，其中胺基酸 r 係選自色胺酸、丙胺酸、纈胺酸、麩胺酸，或甘胺酸；胺基酸 s 為丙胺酸，胺基酸 t 為絲胺酸，胺基酸 u 係選自蘇胺酸、絲胺酸，或天門冬胺酸；胺基酸 v 係選自精

胺酸或白胺酸；胺基酸 w 係選自麩胺酸、麩胺醯胺或丙胺酸；且胺基酸 x 係選自絲胺酸、天門冬醯胺，或蘇胺酸；

其中 CDR3a 含有胺基酸序列 y z a' b' c' d' e' f' g' h'，其中胺基酸 y 係選自麩胺醯胺，或白胺酸；胺基酸 z 係選自麩胺醯胺、天門冬醯胺或精胺酸；胺基酸 a' 係選自酪胺酸、組胺酸、丙胺酸，或絲胺酸；胺基酸 b' 係選自苯丙胺酸、酪胺酸、天門冬胺酸、天門冬醯胺，或異白胺酸；胺基酸 c' 係選自絲胺酸、甘胺酸或天門冬醯胺；胺基酸 d' 係選自脯胺酸、酪胺酸、蘇胺酸、苯丙胺酸、天門冬胺酸、白胺酸或色胺酸；胺基酸 e' 為脯胺酸；胺基酸 f' 為脯胺酸，或不存在；胺基酸 g' 為色胺酸、白胺酸、脯胺酸、酪胺酸，或異白胺酸；且胺基酸 h' 為蘇胺酸，或天門冬醯胺；且

其中該多肽（與一抗體重鏈聯結）可結合肝細胞生長因子（HGF）。

在某些實施態樣中，本發明提供一種分離出之多肽，其含有至少一種選自如下群體之互補決定區（CDR）：CDR1b、CDR2b，和 CDR3b

其中 CDR1b 含有胺基酸序列 a b c d e f g，其中胺基酸 a 為絲胺酸，或不存在；胺基酸 b 係選自天門冬胺酸或甘胺酸，或不存在；胺基酸 c 係選自天門冬胺酸、甘胺酸、絲胺酸、纈胺酸、蘇胺酸，或異白胺酸；胺基酸 d 為酪胺酸；胺基酸 e 係選自酪胺酸，或甘胺酸；胺基酸 f 係選自異白胺酸、甲硫胺酸或色胺酸；且胺基酸 g 係選自組

胺酸、天門冬醯胺，或絲胺酸；

其中 CDR2b 含有胺基酸序列 h i j k l m n o p q r s t u v w x，其中胺基酸 h 係選自色胺酸、酪胺酸、纈胺酸、天門冬醯胺，或麩胺酸；胺基酸 i 係選自異白胺酸、苯丙胺酸，或纈胺酸；胺基酸 j 係選自天門冬醯胺、絲胺酸、色胺酸，或酪胺酸；胺基酸 k 係選自脯胺酸、絲胺酸、酪胺酸，或組胺酸；胺基酸 l 係選自天門冬醯胺、絲胺酸，或天門冬胺酸；胺基酸 m 係選自絲胺酸，或甘胺酸；胺基酸 n 係選自甘胺酸，或絲胺酸，或不存在；胺基酸 o 係選自甘胺酸、蘇胺酸、天門冬胺酸、絲胺酸、異白胺酸，或天門冬醯胺；胺基酸 p 係選自蘇胺酸、異白胺酸，或賴胺酸；胺基酸 q 係選自天門冬醯胺，或酪胺酸；胺基酸 r 係選自酪胺酸，或組胺酸；胺基酸 s 係選自丙胺酸，或天門冬醯胺；胺基酸 t 係選自麩胺醯胺、天門冬胺酸，或脯胺酸；胺基酸 u 係選自賴胺酸，或絲胺酸；胺基酸 v 係選自苯丙胺酸、纈胺酸，或白胺酸；胺基酸 w 係選自麩胺醯胺，或賴胺酸；且胺基酸 x 係選自甘胺酸，或絲胺酸；

其中 CDR3b 含有胺基酸序列 y z a' b' c' d' e' f' g' h' i' j' k' l' m' n' o' p' q' r'，其中胺基酸 y 係選自麩胺酸，天門冬胺酸、絲胺酸，或甘胺酸，或不存在；胺基酸 z 係選自白胺酸、麩胺酸、天門冬胺酸、組胺酸、脯胺酸，或甘胺酸，或不存在；胺基酸 a' 係選自麩胺酸、酪胺酸，或白胺酸，或不存在；胺基酸 b' 係選自白胺酸、天門冬醯胺、甘胺酸、組胺酸、酪胺酸，或色胺酸，或不存在；胺

基酸 c'係選自精胺酸、絲胺酸、麩胺酸、酪胺酸、甘胺酸，或苯丙胺酸，或不存在；胺基酸 d'為甘胺酸，或不存在；胺基酸 e'係選自色胺酸，或酪胺酸；胺基酸 f'為天門冬胺酸，或不存在；胺基酸 g'係選自絲胺酸，或精胺酸，或不存在；胺基酸 h'為絲胺酸，或不存在；胺基酸 i'係選自甘胺酸，或酪胺酸，或不存在；胺基酸 j'係選自酪胺酸、麩胺酸，或天門冬胺酸，或不存在；胺基酸 k'係選自酪胺酸、苯丙胺酸，或天門冬胺酸，或不存在；胺基酸 l'係選自酪胺酸、天門冬胺酸、組胺酸，或色胺酸，或不存在；胺基酸 m'係選自酪胺酸、甘胺酸、天門冬胺酸、脯胺酸，或絲胺酸，或不存在；胺基酸 n'係選自甘胺酸、纈胺酸，酪胺酸，或天門冬胺酸，或不存在；胺基酸 o'係選自白胺酸、丙胺酸、甘胺酸，或酪胺酸，或不存在；胺基酸 p'係選自甲硫胺酸、苯丙胺酸，或酪胺酸；胺基酸 q'為天門冬胺酸；且胺基酸 r'係選自纈胺酸、酪胺酸、異白胺酸，或脯胺酸；且

其中該多肽（與一抗體輕鏈聯結）可結合 HGF。

在某些實施態樣中，本發明提供一種分離出之專一性結合劑，其中該專一性結合劑含有：

（i）第一種多肽，其含有至少一種選自如下群體之互補決定區（CDR）：CDR1a、CDR2a，和 CDR3a

其中 CDR1a 含有胺基酸序列 a b c d e f g h i j k l m n o p q，其中胺基酸 a 係選自賴胺酸、精胺酸，或麩胺酸；胺基酸 b 係選自絲胺酸或丙胺酸；胺基酸 c 為絲胺

酸，胺基酸 d 為麩胺醯胺，胺基酸 e 係選自絲胺酸、甘胺酸，或天門冬胺酸；胺基酸 f 係選自纈胺酸或異白胺酸，或不存在；胺基酸 g 係選自白胺酸或苯丙胺酸，或不存在；胺基酸 h 係選自苯丙胺酸或酪胺酸，或不存在；胺基酸 i 為絲胺酸，或不存在；胺基酸 j 為絲胺酸，或不存在；胺基酸 k 係選自天門冬醯胺、蘇胺酸，或不存在；胺基酸 l 係選自天門冬醯胺、異白胺酸，或纈胺酸；胺基酸 m 係選自賴胺酸、精胺酸、絲胺酸、天門冬醯胺，或天門冬胺酸；胺基酸 n 係選自天門冬醯胺，或絲胺酸；胺基酸 o 係選自酪胺酸、天門冬胺酸、色胺酸，或天門冬醯胺；胺基酸 p 為白胺酸；且胺基酸 q 係選自丙胺酸、甘胺酸，或天門冬醯胺；

其中 CDR2a 含有胺基酸序列 r s t u v w x，其中胺基酸 r 係選自色胺酸、丙胺酸、纈胺酸、麩胺酸，或甘胺酸；胺基酸 s 為丙胺酸，胺基酸 t 為絲胺酸，胺基酸 u 係選自蘇胺酸、絲胺酸，或天門冬胺酸；胺基酸 v 係選自精胺酸或白胺酸；胺基酸 w 係選自麩胺酸、麩胺醯胺或丙胺酸；且胺基酸 x 係選自絲胺酸、天門冬醯胺，或蘇胺酸；

其中 CDR3a 含有胺基酸序列 y z a' b' c' d' e' f' g' h'，其中胺基酸 y 係選自麩胺醯胺，或白胺酸；胺基酸 z 係選自麩胺醯胺、天門冬醯胺或精胺酸；胺基酸 a' 係選自酪胺酸、組胺酸、丙胺酸，或絲胺酸；胺基酸 b' 係選自苯丙胺酸、酪胺酸、天門冬胺酸、天門冬醯胺，或異白胺酸；胺基酸 c' 係選自絲胺酸、甘胺酸或天門冬醯胺；胺基

酸 d'係選自脯胺酸、酪胺酸、蘇胺酸、苯丙胺酸、天門冬胺酸、白胺酸或色胺酸；胺基酸 e'為脯胺酸；胺基酸 f'為脯胺酸，或不存在；胺基酸 g'為色胺酸、白胺酸、脯胺酸、酪胺酸，或異白胺酸；且胺基酸 h'為蘇胺酸，或天門冬醯胺；且

其中該第一種多肽（與一抗體重鏈聯結）可結合肝細胞生長因子（HGF）；及

（ii）第二種多肽，其含有至少一種選自如下群體之互補決定區（CDR）：CDR1b、CDR2b，或 CDR3b

其中 CDR1b 含有胺基酸序列 a b c d e f g，其中胺基酸 a 為絲胺酸，或不存在；胺基酸 b 係選自天門冬胺酸或甘胺酸，或不存在；胺基酸 c 係選自天門冬胺酸、甘胺酸、絲胺酸、纈胺酸、蘇胺酸，或異白胺酸；胺基酸 d 為酪胺酸；胺基酸 e 係選自酪胺酸，或甘胺酸；胺基酸 f 係選自異白胺酸、甲硫胺酸或色胺酸；且胺基酸 g 係選自組胺酸、天門冬醯胺，或絲胺酸；

其中 CDR2b 含有胺基酸序列 h i j k l m n o p q r s t u v w x，其中胺基酸 h 係選自色胺酸、酪胺酸、纈胺酸、天門冬醯胺，或麩胺酸；胺基酸 i 係選自異白胺酸、苯丙胺酸，或纈胺酸；胺基酸 j 係選自天門冬醯胺、絲胺酸、色胺酸，或酪胺酸；胺基酸 k 係選自脯胺酸、絲胺酸、酪胺酸，或組胺酸；胺基酸 l 係選自天門冬醯胺、絲胺酸，或天門冬胺酸；胺基酸 m 係選自絲胺酸，或甘胺酸；胺基酸 n 係選自甘胺酸，或絲胺酸，或不存在；胺基酸 o 係

選自甘胺酸、蘇胺酸、天門冬胺酸、絲胺酸、異白胺酸，或天門冬醯胺；胺基酸 p 係選自蘇胺酸、異白胺酸，或賴胺酸；胺基酸 q 係選自天門冬醯胺，或酪胺酸；胺基酸 r 係選自酪胺酸，或組胺酸；胺基酸 s 係選自丙胺酸，或天門冬醯胺；胺基酸 t 係選自麩胺醯胺、天門冬胺酸，或脯胺酸；胺基酸 u 係選自賴胺酸，或絲胺酸；胺基酸 v 係選自苯丙胺酸、纈胺酸，或白胺酸；胺基酸 w 係選自麩胺醯胺，或賴胺酸；且胺基酸 x 係選自甘胺酸，或絲胺酸；

其中 CDR3b 含有胺基酸序列 y z a' b' c' d' e' f' g' h' i' j' k' l' m' n' o' p' q' r'，其中胺基酸 y 係選自麩胺酸，天門冬胺酸、絲胺酸，或甘胺酸，或不存在；胺基酸 z 係選自白胺酸、麩胺酸、天門冬胺酸、組胺酸、脯胺酸，或甘胺酸，或不存在；胺基酸 a' 係選自麩胺酸、酪胺酸，或白胺酸，或不存在；胺基酸 b' 係選自白胺酸、天門冬醯胺、甘胺酸、組胺酸、酪胺酸，或色胺酸，或不存在；胺基酸 c' 係選自精胺酸、絲胺酸、麩胺酸、酪胺酸、甘胺酸，或苯丙胺酸，或不存在；胺基酸 d' 為甘胺酸，或不存在；胺基酸 e' 係選自色胺酸，或酪胺酸；胺基酸 f' 為天門冬胺酸，或不存在；胺基酸 g' 係選自絲胺酸，或精胺酸，或不存在；胺基酸 h' 為絲胺酸，或不存在；胺基酸 i' 係選自甘胺酸，或酪胺酸，或不存在；胺基酸 j' 係選自酪胺酸、麩胺酸，或天門冬胺酸，或不存在；胺基酸 k' 係選自酪胺酸、苯丙胺酸，或天門冬胺酸，或不存在；胺基酸 l' 係選自酪胺酸、天門冬胺酸、組胺酸，或色胺酸，或不存

在；胺基酸 m'係選自酪胺酸、甘胺酸、天門冬胺酸、脯胺酸，或絲胺酸，或不存在；胺基酸 n'係選自甘胺酸、纈胺酸，酪胺酸，或天門冬胺酸，或不存在；胺基酸 o'係選自白胺酸、丙胺酸、甘胺酸，或酪胺酸，或不存在；胺基酸 p'係選自甲硫胺酸、苯丙胺酸，或酪胺酸；胺基酸 q'爲天門冬胺酸；且胺基酸 r'係選自纈胺酸、酪胺酸、異白胺酸，或脯胺酸；且

其中該第二種多肽（與一抗體輕鏈聯結）可結合 HGF。

在某些實施態樣中，本發明提供一種分離出之多肽，其含有至少一種選自如下群體之胺基酸序列：SEQ ID NO：24、26、28、30、32、34、36、38、40 和 42。

在某些實施態樣中，本發明提供一種分離出之多肽，其含有至少一種選自如下群體之胺基酸序列：SEQ ID NO：25、27、29、31、33、35、37、39、41 和 43。

在某些實施態樣中，本發明提供一種分離出之核酸分子，其含有至少一種選自如下群體之核苷酸序列：SEQ ID NO：1、3、5、7、9、11、13、15、17 和 19。

在某些實施態樣中，本發明提供一種分離出之核酸分子，其含有至少一種選自如下群體之核苷酸序列：SEQ ID NO：2、4、6、8、10、12、14、16、18 和 20。

在某些實施態樣中，本發明提供一種分離出之核酸分子，其編碼含有至少一種選自 CDR1a、CDR2a，和 CDR3a 之互補決定區（CDR）的多肽

其中 CDR1a 含有胺基酸序列 a b c d e f g h i j k l m n o p q，其中胺基酸 a 係選自賴胺酸、精胺酸，或麩胺醯胺；胺基酸 b 係選自絲胺酸或丙胺酸；胺基酸 c 為絲胺酸，胺基酸 d 為麩胺醯胺，胺基酸 e 係選自絲胺酸、甘胺酸，或天門冬胺酸；胺基酸 f 係選自纈胺酸或異白胺酸，或不存在；胺基酸 g 係選自白胺酸或苯丙胺酸，或不存在；胺基酸 h 係選自苯丙胺酸或酪胺酸，或不存在；胺基酸 i 為絲胺酸，或不存在；胺基酸 j 為絲胺酸，或不存在；胺基酸 k 係選自天門冬醯胺、蘇胺酸，或不存在；胺基酸 l 係選自天門冬醯胺、異白胺酸，或纈胺酸；胺基酸 m 係選自賴胺酸、精胺酸、絲胺酸、天門冬醯胺，或天門冬胺酸；胺基酸 n 係選自天門冬醯胺，或絲胺酸；胺基酸 o 係選自酪胺酸、天門冬胺酸、色胺酸，或天門冬醯胺；胺基酸 p 為白胺酸；且胺基酸 q 係選自丙胺酸、甘胺酸，或天門冬醯胺；

其中 CDR2a 含有胺基酸序列 r s t u v w x，其中胺基酸 r 係選自色胺酸、丙胺酸、纈胺酸、麩胺酸，或甘胺酸；胺基酸 s 為丙胺酸，胺基酸 t 為絲胺酸，胺基酸 u 係選自蘇胺酸、絲胺酸，或天門冬胺酸；胺基酸 v 係選自精胺酸或白胺酸；胺基酸 w 係選自麩胺酸、麩胺醯胺或丙胺酸；且胺基酸 x 係選自絲胺酸、天門冬醯胺，或蘇胺酸；

其中 CDR3a 含有胺基酸序列 y z a' b' c' d' e' f' g' h'，其中胺基酸 y 係選自麩胺醯胺，或白胺酸；胺基酸 z 係選自麩胺醯胺、天門冬醯胺或精胺酸；胺基酸 a' 係選自

酪胺酸、組胺酸、丙胺酸，或絲胺酸；胺基酸 b' 係選自苯丙胺酸、酪胺酸、天門冬胺酸、天門冬醯胺，或異白胺酸；胺基酸 c' 係選自絲胺酸、甘胺酸或天門冬醯胺；胺基酸 d' 係選自脯胺酸、酪胺酸、蘇胺酸、苯丙胺酸、天門冬胺酸、白胺酸或色胺酸；胺基酸 e' 為脯胺酸；胺基酸 f' 為脯胺酸，或不存在；胺基酸 g' 為色胺酸、白胺酸、脯胺酸、酪胺酸，或異白胺酸；且胺基酸 h' 為蘇胺酸，或天門冬醯胺；且

其中該多肽（與一抗體重鏈聯結）可結合肝細胞生長因子（HGF）。

在某些實施態樣中，本發明提供一種分離出之核酸分子，其編碼含有至少一種選自 CDR1b、CDR2b，和 CDR3b 之互補決定區（CDR）的多肽

其中 CDR1b 含有胺基酸序列 a b c d e f g，其中胺基酸 a 為絲胺酸，或不存在；胺基酸 b 係選自天門冬胺酸或甘胺酸，或不存在；胺基酸 c 係選自天門冬胺酸、甘胺酸、絲胺酸、纈胺酸、蘇胺酸，或異白胺酸；胺基酸 d 為酪胺酸；胺基酸 e 係選自酪胺酸，或甘胺酸；胺基酸 f 係選自異白胺酸、甲硫胺酸或色胺酸；且胺基酸 g 係選自組胺酸、天門冬醯胺，或絲胺酸；

其中 CDR2b 含有胺基酸序列 h i j k l m n o p q r s t u v w x，其中胺基酸 h 係選自色胺酸、酪胺酸、纈胺酸、天門冬醯胺，或麩胺酸；胺基酸 i 係選自異白胺酸、苯丙胺酸，或纈胺酸；胺基酸 j 係選自天門冬醯胺、絲胺酸、

色胺酸，或酪胺酸；胺基酸 k 係選自脯胺酸、絲胺酸、酪胺酸，或組胺酸；胺基酸 l 係選自天門冬醯胺、絲胺酸，或天門冬胺酸；胺基酸 m 係選自絲胺酸，或甘胺酸；胺基酸 n 係選自甘胺酸，或絲胺酸，或不存在；胺基酸 o 係選自甘胺酸、蘇胺酸、天門冬胺酸、絲胺酸、異白胺酸，或天門冬醯胺；胺基酸 p 係選自蘇胺酸、異白胺酸，或賴胺酸；胺基酸 q 係選自天門冬醯胺，或酪胺酸；胺基酸 r 係選自酪胺酸，或組胺酸；胺基酸 s 係選自丙胺酸，或天門冬醯胺；胺基酸 t 係選自麩胺醯胺、天門冬胺酸，或脯胺酸；胺基酸 u 係選自賴胺酸，或絲胺酸；胺基酸 v 係選自苯丙胺酸、纈胺酸，或白胺酸；胺基酸 w 係選自麩胺醯胺，或賴胺酸；且胺基酸 x 係選自甘胺酸，或絲胺酸；

其中 CDR3b 含有胺基酸序列 y z a' b' c' d' e' f' g' h' i' j' k' l' m' n' o' p' q' r'，其中胺基酸 y 係選自麩胺酸，天門冬胺酸、絲胺酸，或甘胺酸，或不存在；胺基酸 z 係選自白胺酸、麩胺酸、天門冬胺酸、組胺酸、脯胺酸，或甘胺酸，或不存在；胺基酸 a' 係選自麩胺酸、酪胺酸，或白胺酸，或不存在；胺基酸 b' 係選自白胺酸、天門冬醯胺、甘胺酸、組胺酸、酪胺酸，或色胺酸，或不存在；胺基酸 c' 係選自精胺酸、絲胺酸、麩胺酸、酪胺酸、甘胺酸，或苯丙胺酸，或不存在；胺基酸 d' 為甘胺酸，或不存在；胺基酸 e' 係選自色胺酸，或酪胺酸；胺基酸 f' 為天門冬胺酸，或不存在；胺基酸 g' 係選自絲胺酸，或精胺酸，或不存在；胺基酸 h' 為絲胺酸，或不存在；胺基酸 i' 係選

自甘胺酸，或酪胺酸，或不存在；胺基酸 j' 係選自酪胺酸、麩胺酸，或天門冬胺酸，或不存在；胺基酸 k' 係選自酪胺酸、苯丙胺酸，或天門冬胺酸，或不存在；胺基酸 l' 係選自酪胺酸、天門冬胺酸、組胺酸，或色胺酸，或不存在；胺基酸 m' 係選自酪胺酸、甘胺酸、天門冬胺酸、脯胺酸，或絲胺酸，或不存在；胺基酸 n' 係選自甘胺酸、纈胺酸，酪胺酸，或天門冬胺酸，或不存在；胺基酸 o' 係選自白胺酸、丙胺酸、甘胺酸，或酪胺酸，或不存在；胺基酸 p' 係選自甲硫胺酸、苯丙胺酸，或酪胺酸；胺基酸 q' 為天門冬胺酸；且胺基酸 r' 係選自纈胺酸、酪胺酸、異白胺酸，或脯胺酸；且

其中該多肽（與一抗體輕鏈聯結）可結合 HGF。

在某些實施態樣中，本發明提供一種分離出之細胞株，其可產生選自如下群體之抗體：1.24.1、1.29.1、1.60.1、1.61.3、1.74.3、1.75.1、2.4.4、2.12.1、2.40.1 和 3.10.1。

在某些實施態樣中，本發明提供一種抑制 HGF 結合至 Met 的方法，其包含投服一種對 HGF 之專一性結合劑。

在某些實施態樣中，本發明提供一種多肽，其含有至少一種選自 SEQ ID NO：164 和 165 之胺基酸序列。

在某些實施態樣中，本發明提供一種多肽，其大體上係由至少一種選自 SEQ ID NO：164 和 165 之胺基酸序列所組成。

在某些實施態樣中，本發明提供一種專一性結合劑，其可結合至少一種選自 SEQ ID NO：164 和 165 之胺基酸序列。

在某些實施態樣中，本發明提供一種抗體或抗原結合功能區塊，其可結合至少一種選自 SEQ ID NO：164 和 165 之胺基酸序列。

在某些實施態樣中，本發明提供一種取得可結合肝細胞生長因子（HGF）之抗體的方法，其包含給予動物至少一種選自 SEQ ID NO：164 和 165 之多肽，並從動物取得可結合 HGF 之抗體。

在某些實施態樣中，本發明提供一種減少或防止專一性結合劑結合至肝細胞生長因子（HGF）的方法，此方法係藉由投服含有至少一種選自 SEQ ID NO：164 和 165 之胺基酸序列的多肽來進行。

在某些實施態樣中，本發明提供一種減少或防止專一性結合劑結合至肝細胞生長因子（HGF）的方法，此方法係藉由投服由至少一種選自 SEQ ID NO：164 和 165 之胺基酸序列所組成的多肽來進行。

本發明之其它實施態樣中可很容易地從此處所提供之揭示內容中明白察知。

【發明內容】

某些示範性實施態樣的詳細說明

吾人需了解先前之一般說明和下列詳細說明二者均只

用於示範及解說，而非如申請專利範圍般限制本發明。在本申請書中，除非具體指出，否則使用單數形亦包括複數形。在本申請書中，除非另外指出，否則使用"或"時意指"及/或"。再者，"包括（including）"一詞，以及其它形式之"包括"（如："includes"和"included"）的用途並無限制。還有，除非另外具體指出，否則"要素（element）"或"成分"等詞包括含有一個單位的元素和成分，以及含有超過一個次單位的要素和成分。再者，"部分（portion）"一詞的用途可能包括一部分（a moiety）或完全之部分（entire moiety）中的一份（part）。

此處所使用之章節標題係僅爲了條理化，而非用來限制所描述之主題。所有本申請書中所列之文件，或文件部分，包括，但不限於專利、專利申請書、文章、書籍和條約全文均明確併爲本申請書中用於任何目的的參考資料。

定義

標準技術可用於重組 DNA、寡核苷酸之合成，及組織培養和轉形反應（如：電穿孔、微脂粒感染）中。酶反應和純化技術可根據製造者之說明書進行，或依本技藝中之一般方法完成，或依此處之說明進行。一般而言，前述技術和程序可根據本技藝中所熟知的習知方法，或依本專利申請書全文中所列舉和討論之各種一般和特殊參考資料中的描述來進行。見，如：Sambrook et al. Molecular Cloning : A Laboratory Manual (2d ed., Cold Spring

Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y. (1989))，其併為本申請書中用於任何目的的參考資料。除非提供特殊定義，與此處所描述之分析化學、合成有機化學，及醫學和藥學相關的命名學，及實驗程序和技術均為本技藝中所熟知和常用的。標準技術可用在化學合成，化學分析，藥物之製備、調配，和遞送，以及治療患者中。

● 除非另外指出，根據本揭示內容所使用之下列名詞應具有下列意義：

"肝細胞生長因子"或"HGF"一詞係指 Nakamura et al., Nature 342: 440-443 (1989) 中所列之多肽或其片段，以及相關之多肽，其包括，但不限於：對偶基因變異體、DNA 剪接變異體、衍生之變異體、取代變異體、缺失變異體，及/或插入變異體，融合多肽，及種間同源體。在某些實施態樣中，HGF 多肽包括終端殘質，如，但不限於：領導序列殘質、瞄準殘質、胺基端甲硫胺酸殘質、賴胺酸殘質、tag 殘質，及/或融合蛋白質殘質。

"專一性結合劑"一詞係指特異結合至靶的之天然或非天然分子。專一性結合劑之實施例包括，但不限於：蛋白質、肽、核酸、碳水化合物、脂質，及小分子化合物。在某些實施態樣中，專一性結合劑為一種抗體。在某些實施態樣中，專一性結合劑為一抗原結合區。

"對 HGF 之專一性結合劑"一詞係指特異結合至 HGF 之任何部分的專一性結合劑。在某些實施態樣中，對 HGF

之專一性結合劑爲一種對 HGF 之抗體。在某些實施態樣中，專一性結合劑爲一抗原結合區。

"多株抗體"一詞係指結合至相同抗原之不同抗原決定部位的異源抗體混合物。

"單株抗體"一詞係指由相同核酸分子所編碼之抗體的集合。在某些實施態樣中，單株抗體係由單一雜交瘤或其它細胞株，或由導入外來基因之哺乳動物所製造。單株抗體通常係辨識相同之抗原決定部位。"單株"一詞不限於任何製造抗體的特殊方法。

"嵌合型抗體"一詞係指一種抗體，其中此抗體的一部分與一特殊物種或特殊抗體種類的序列同源，而此抗體的另一部分與一不同物種或抗體種類的序列同源。見，如：美國專利第 4,816,567 號，和 Morrison et al., Proc Natl Acad Sci (USA), 81: 6851-6855 (1985)。

"CDR-移植抗體"一詞係指一種抗體，其中將來自一種抗體的 CDR 插入另一抗體的框構中。在某些實施態樣中，衍生 CDR 之抗體與衍生框構之抗體爲不同物種。在某些實施態樣中，衍生 CDR 之抗體與衍生框構之抗體爲相異之同種型 (isotype)。

"多-專一性抗體"一詞係指一種抗體，其中有二或多種可變區結合至不同之抗原決定部位。抗原決定部位可在相同或相異的靶的上。在某些實施態樣中，多-專一性抗體爲一種"二-專一性抗體"，其可辨認二種在相同或相異之抗原上的抗原決定部位。

"催化性抗體"一詞係指一種抗體，其中有一或多個催化部分附著在其上。在某些實施態樣中，催化性抗體為一種細胞毒殺性抗體，其包含一細胞毒殺性部分。

"人類化抗體"一詞係指一種抗體，其中一抗體框構區的全部或部分係源自人類，但有一或多個 CDR 區之全部或部分係源自另一物種，如：老鼠。

"全人類抗體"一詞係指一種抗體，其中 CDR 和框構二者實質上含有人類序列。在某些實施態樣中，全人類抗體係在非-人類之哺乳動物（包括，但不限於：小老鼠、大鼠及兔子）中製造。在某些實施態樣中，全人類抗體係在雜交瘤細胞中製造。在某些實施態樣中，全人類抗體係以重組方式製造。

"抗-特應性抗體"一詞係指一種特異結合至另一抗體的一種抗體。

"特異性結合"一詞係指專一性結合劑可以較其結合至非-靶的來得高的親和力結合至靶的能力。在某些實施態樣中，特異結合係指以至少為結合至非-靶的之親和力的 10、50、100、250、500，或 1000 倍的親和力來結合至靶的。在某些實施態樣中，親和力係藉由親和力 ELISA 分析來測定。在某些實施態樣中，親和力係藉由 BIAcore 分析來測定。在某些實施態樣中，親和力係藉由動力學方法來測定。在某些實施態樣中，親和力係藉由平衡/溶液方法來測定。

"抗原決定部位"一詞係指能被專一性結合劑結合之一

分子部分。在某些實施態樣中，抗原決定部位通常含有分子之化學活性表面原子團，如：胺基酸或碳水化合物側鏈，且具有特殊之三-次元構造特性，和特殊之電荷特性。抗原決定部位可為連續，或不連續的。在某些實施態樣中，抗原決定部位可為擬態的，其中其含有類似於用來產生抗體之抗原決定部位的三-次元構造，但不含有或僅含有一些在該用來產生抗體之抗原決定部位中所發現的胺基酸殘質。

"抑制及/或中和之抗原決定部位"一詞係指一種抗原決定部位，當其在活體中、玻管中，及/或原位被專一性結合劑結合時可使生物活性降低。在某些實施態樣中，中和之抗原決定部位係位在靶的之生物活性區，或與其相聯結。

"活化之抗原決定部位"一詞係指一種抗原決定部位，當其在活體中、玻管中，及/或原位被專一性結合劑結合時可活化或維持生物活性。在某些實施態樣中，活化之抗原決定部位係位在靶的之生物活性區，或與其相聯結。

此處所使用之"分離出的多核苷酸"一詞係指基因組的、cDNA，或合成來源，或其一些組合的多核苷酸，由其起源來看，該"分離出之多核苷酸"：（1）並不與多核苷酸之全部或一部分相聯結，其中該"分離出的多核苷酸"可在天然中發現，（2）連接至一與其並非自然連接之多核苷酸上，或（3）不天然為一較大序列的一部分。

"分離出的蛋白質"一詞在此係指由 cDNA、重組之

RNA，或合成來源，或其一些組合所編碼的蛋白質，其
 (1) 至少不含一些在正常情況下可與其一同被發現的蛋白質，
 (2) 大體上不含其它來自相同來源的蛋白質，
 如：來自相同物種，(3) 由來自不同物種之細胞所表現，
 或(4) 不會自然產生。

此處所使用之"多肽"一詞為一總稱，其係指天然蛋白質，
 或缺少、加入，及/或取代天然序列之一或多個氨基酸的這類蛋白質的改良體。在某些實施態樣中，多肽缺少、
 加入，及/或取代至少一個，但不超過 50、30、20、15、10、8、5，
 或 3 個天然序列之氨基酸。

此處所使用之應用在物體上的"天然產生"一詞係指一物體可在自然中找到的事實。例如：存在有機體（包括病毒）中，
 可從自然來源中被分離出，且未曾被人們在實驗室中蓄意修改，
 或為天然產生之多肽或多核苷酸序列。

此處所使用之"可操作式地連接"一詞係指一些成分，其處於可令其以其預定之方式作用的關係中。例如：將控制序列
 "可操作式地連接"至編碼序列的連接方式為：編碼序列可在與控制序列相容之條件下表現出來。

此處所使用之"控制序列"一詞係指一多核苷酸序列，其可影響與其連接之編碼序列的表現和處理過程。根據宿主有機體，
 這類控制序列之性質可能有所不同。根據某些實施態樣，原核細胞之控制序列可能包括啓動因子，核糖體結合部位，
 及轉錄終止序列。根據某些實施態樣，真核細胞之控制序列可能包括啓動因子，一或多個增強子，及

轉錄終止序列。在某些實施態樣中，"控制序列"可包括領導序列，及/或融合搭檔序列。

此處所使用之"多核苷酸"一詞係指長度至少為 10 個鹼基之聚合型核苷酸。在某些實施態樣中，該鹼基可為核糖核苷酸，或去氧核糖核苷酸，或其中一型核苷酸之改良型。此名詞包括單股及雙股型式之 DNA。

此處所使用之"寡核苷酸"一詞係包括天然核苷酸，及藉由天然，及/或非-天然寡核苷酸鍵結連接在一起之修改的核苷酸。寡核苷酸為多核苷酸次組，通常含有 200 個或更少之鹼基長度。在某些實施態樣中，寡核苷酸之長度為 10 至 60 個鹼基。在某些實施態樣中，寡核苷酸之長度為 12、13、14、15、16、17、18、19，或 20 至 40 個鹼基。寡核苷酸可為單股或雙股，如：用來建構基因突變種。寡核苷酸可為意義或反義寡核苷酸。

"天然產生之核苷酸"一詞包括去氧核糖核苷酸和核糖核苷酸。"經修改之核苷酸"一詞包括帶有經修改或取代之糖基團，等的核苷酸。"寡核苷酸鍵結"一詞包括，如：磷酸硫代酸化物、磷酸二硫代酸化物、磷酸硒酸化物、磷酸二硒酸化物、磷酸二硫酸化物、phosphoroanilothioate、phosphroaniladate、磷酸醯胺化物，等。見，如：LaPlanche et al. Nucl. Acids Res. 14 : 9081 (1986) ; Stec et al. J. Am. Chem. Soc. 106-6077 (1984) ; Stein et al. Nucl. Acids Res. 16 : 3209 (1988) ; Zon et al. Anti-Cancer Drug Design 6 : 539

(1991) ; Zon et al. *Oligonucleotides and Analogues : A Practical Approach*, pp. 87-108 (F. Eckstein, Ed., Oxford University Press, Oxford England (1991)) ; Stec et al. U.S. Pat. No. 5,151,510 ; Uhlmann and Peyman *Chemical Reviews* 90 : 543 (1990) , 其揭示內容併為本專利申請案中任何目的之參考資料。在某些實施態樣中，寡核苷酸可包含一用於偵測之標示。

● 相關多肽之一致性和類似性可藉由已知方法很容易地計算出。這類方法包括，但不限於記述於下列文獻中者：
Computational Molecular Biology, Lesk, A.M., ed., Oxford University Press, New York (1988) ; *Biocomputing : Informatics and Genome Projects*, Smith, D.W., ed., Academic Press, New York (1993) ; *Computer Analysis of Sequence Data, Part 1*, Griffin, A.M., and Griffin, H.G., eds., Humana Press, New Jersey (1994) ; *Sequence Analysis in Molecular Biology*, von Heinje, G., Academic Press (1987) ; *Sequence Analysis Primer*, Gribskov, M. and Devereux, J., eds., M. Stockton Press, New York (1991) ; and Carillo et al., *SIAM J. Applied Math.*, 48 : 1073 (1988) 。

某些測定一致性之方法的設計係在測試序列之間產生最大配合。測定一致性之方法描述於可公開取得之電腦程式中。用於測定二種序列間之一致性的電腦程式法包括，但不限於：GCG 程式包，包括：GAP (Devereux et al.,

Nucl. Acid. Res., 12 : 387 (1984) ; Genetics Computer Group, University of Wisconsin, Madison, WI, BLASTP, BLASTN, and FASTA (Altschul et al., J. Mol. Biol., 215 : 403-410 (1990)) 。 BLASTX 程式可從生物技術資料國家中心 (NCBI) 和其它來源 (BLAST Manual, Altschul et al. NCB/NLM/NIH Bethesda, MD 20894 ; Altschul et al., supra (1990)) 公開取得。亦可使用吾人所熟知之史密斯瓦特曼計算程序來測定一致性。

某些用於比對二種胺基酸序列之相似性的相似性比對計劃可能僅配對出該二種序列的一小區，而即使該二種全長序列間並無明顯關係，此一小相似性比對區可能具有非常高之序列一致性。因此，在某些實施態樣中，所選擇之相似性比對的方法 (GAP 程式) 可產生標的多肽之至少 50 個連續胺基酸的相似性比對。

例如：利用電腦計算程式 GAP (威斯康辛州麥迪生市，威斯康辛大學，遺傳學電腦組) 可將二種欲測定序列一致性百分比之多肽進行比對，以將其各自之胺基酸做最理想的配對 (經由計算程序來測定出 "相配延展") 。在某些實施態樣中，將空隙開放懲罰 (其推算為平均對角線之 3X ; "平均對角線" 為所使用之比較矩陣 A 之對角線的平均值 ; "對角線" 為由特殊比較矩陣派定給各完美胺基酸配對之分數或數目) ，及空隙延伸懲罰 (其通常為空隙開放懲罰之 1/10 倍) ，和比較矩陣 (如：PAM 250 或 BLOSUM 62) 與計算程式一起使用。在某些實施態樣

中，計算程序亦使用標準之比較矩陣（PAM 250 比較矩陣參考 Dayhoff et al., Atlas of Protein Sequence and Structure, 5 (3) (1978)；BLOSUM 62 比較矩陣參考 Heniloff et al., Proc. Natl. Acad. Sci USA, 89 : 10915-10919 (1992)。

在某些實施態樣中，多肽序列比較之變數包括下列各項：

● 計算程序：Needleman et al., J. Mol. Biol., 48 : 443-453 (1970)；

比較矩陣：BLOSUM 62（來自 Henikoff 等人，如上述（1992））；

空隙懲罰：12

空隙長度懲罰：4

相似性門檻：0

● GAP 程式可以上述變數使用。在某些實施態樣中，上述變數為利用 GAP 計算程序之多肽比較的預設變數（終端空隙無懲罰）。

在某些實施態樣中，專一性結合劑含有一包含可變區的重鏈，該可變區含有一與選自如下群體之胺基酸序列具有至少 90%之一致性的胺基酸序列：SEQ ID NO：25、27、29、31、33、35、37、39、41 和 43。在某些實施態樣中，專一性結合劑含有一包含可變區的重鏈，該可變區含有一與選自如下群體之胺基酸序列具有至少 95%之一致性的胺基酸序列：SEQ ID NO：25、27、29、31、33、

35、37、39、41 和 43。在某些實施態樣中，專一性結合劑含有一包含可變區的重鏈，該可變區含有一與選自如下群體之胺基酸序列具有至少 99%之一致性的胺基酸序列：SEQ ID NO：25、27、29、31、33、35、37、39、41 和 43。

在某些實施態樣中，專一性結合劑含有一包含可變區的輕鏈，該可變區含有一與選自如下群體之胺基酸序列具有至少 90%之一致性的胺基酸序列：SEQ ID NO：24、26、28、30、32、34、36、38、40 和 42。在某些實施態樣中，專一性結合劑含有一包含可變區的重鏈，該可變區含有一與選自如下群體之胺基酸序列具有至少 95%之一致性的胺基酸序列：SEQ ID NO：24、26、28、30、32、34、36、38、40 和 42。在某些實施態樣中，專一性結合劑含有一包含可變區的輕鏈，該可變區含有一與選自如下群體之胺基酸序列具有至少 99%之一致性的胺基酸序列：SEQ ID NO：24、26、28、30、32、34、36、38、40 和 42。

此處所使用之 20 種習知胺基酸及其縮寫係依循傳統之用法。見：Immunology—A Synthesis (2nd Edition, E.S. Golub and D.R. Gren, Eds., Sinaure Associates, Sunderland, Mass (1991))，其併為本專利申請案中任何目的之參考資料。該 20 種習知胺基酸之立體異構物（如：D-胺基酸），非天然胺基酸，如： α -， α -二取代之胺基酸，N-烷基胺基酸，乳酸，及其它非習知胺基酸亦可

能為用於本發明之多肽的合適成分。非習知之胺基酸的實施例包括：4-羥基脯胺酸、 γ -羧基麩胺酸化物、 ϵ -N,N,N-三甲基賴胺酸、 ϵ -N-乙醯基賴胺酸、O-磷酸絲胺酸、N-乙醯基絲胺酸、N-甲醯基甲硫胺酸、3-甲基組胺酸、5-羥基賴胺酸、 σ -N-甲基精胺酸，及其它類似之胺基酸和亞胺基酸（如：4-羥基脯胺酸）。此處所使用之多肽標記法中，根據標準用法和傳統，左手方向為胺基端方向，右手方向為羧基端方向。

類似地，除非另外具體指定，單股多核苷酸序列之左手端為5'端；雙股多核苷酸序列之左手端係指5'方向。由5'往3'加入初發生之RNA轉錄子的方向稱為轉錄方向；DNA股上，具有與RNA相同之序列，且為5'，對著RNA轉錄子之5'端的序列區稱為"上游序列"；DNA股上，具有與RNA相同之序列，且為3'，對著RNA轉錄子之3'端的序列區稱為"下游序列"。

保留性胺基酸取代可包含非-天然發生之胺基酸殘質，其通常係經由化學的肽合成法併入，而非在生物系統中合成。這些包括肽模擬物，及其它反向或逆轉型之胺基酸部分。

天然發生之殘質亦可根據共同之側鏈性質區分成數類：

- 1) 疏水性：正白胺酸、Met、Ala、Val、Leu、Ile；
- 2) 中性親水性：Cys、Ser、Thr、Asn、Gln；
- 3) 酸性：Asp、Glu；

4) 鹼性：His、Lys、Arg；

5) 影響鏈之方位的殘質：Gly、Pro；和

6) 芳香族的：Trp、Tyr、Phe。

例如：非保留性取代可能涉及這些類別其中之一的一員與另一類別之一員交換。這類經取代之殘質可被引入人類抗體中，與非人類抗體同源的區域內，或被引入該分子之非同源區。

根據某些實施態樣，在製造這類改變時可考慮胺基酸之水療指數。根據各胺基酸之疏水性和帶電特性，各胺基酸被指定一水療指數。其為：異白胺酸（+4.5）；纈胺酸（+4.2）；白胺酸（+3.8）；苯丙胺酸（+2.8）；半胱胺酸 / 胱胺酸（+2.5）；甲硫胺酸（+1.9）；丙胺酸（+1.8）；甘胺酸（-0.4）；蘇胺酸（-0.7）；絲胺酸（-0.8）；色胺酸（-0.9）；酪胺酸（-1.3）；脯胺酸（-1.6）；組胺酸（-3.2）；麩胺酸化物（-3.5）；麩胺醯胺（-3.5）；天門冬胺酸化物（-3.5）；天門冬醯胺（-3.5）；賴胺酸（-3.9）；及精胺酸（-4.5）。

水療胺基酸指數於賦予蛋白質交互作用生物功能上的重要性已為本技藝所了解。Kyte et al., J. Mol. Biol., 157: 105-131 (1982)。已知：某些胺基酸可取代其它具有類似之水療指數或分數的胺基酸，但仍保留類似之生物活性。在某些實施態樣中，根據水療指數所製造的改變可包括其水療指數在 ± 2 內之胺基酸的取代作用。在某些實施態樣中，包括其水療指數在 ± 1 內者。在某些實施態樣

中，包括其水療指數在 ± 0.5 內者。

本技藝中亦已了解，類似胺基酸之取代作用，尤其是當由此創造之生物功能性蛋白質或肽欲用於免疫學實施態樣中時（如本案例的情況），可根據親水性來使反應生效。在某些實施態樣中，蛋白質之最大局部平均親水性（此由其相鄰胺基酸之親水性所控制）與其致免疫性和抗原性有關，也就是與該蛋白質之生物性質有關。

● 這些胺基酸殘質已被指定下列親水性數值：精胺酸（+3.0）；賴胺酸（+3.0）；天門冬胺酸化物（+3.0 $\pm$ 1）；麩胺酸化物（+3.0 $\pm$ 1）；絲胺酸（+0.3）；天門冬醯胺（+0.2）；麩胺醯胺（+0.2）；甘胺酸（0）；蘇胺酸（-0.4）；脯胺酸（-0.5 $\pm$ 1）；丙胺酸（-0.5）；組胺酸（-0.5）；半胱胺酸（-1.0）；甲硫胺酸（-1.3）；纈胺酸（-1.5）；白胺酸（-1.8）；異白胺酸（-1.8）；酪胺酸（-2.3）；苯丙胺酸（-2.5）；及色胺酸（-3.4）。在某些實施態樣中，根據類似之親水性數值所製造的改變可包括其親水性數值在 ± 2 內之胺基酸的取代作用。在某些實施態樣中，包括其水療指數在 ± 1 內者。在某些實施態樣中，包括其水療指數在 ± 0.5 內者。個人亦可根據親水性從一級胺基酸序列鑑定出抗原決定部位。這些區域亦稱為"抗原決定部位之核心區域"。

示範性之胺基酸取代作用列於表 1 中。

表 1

胺基酸取代作用

原始殘質	示範性取代	較佳之取代
Ala	Val,Leu,Ile	Val
Arg	Lys,Gln,Asn	Lys
Asn	Gln	Gln
Asp	Glu	Glu
Cys	Ser,Ala	Ser
Gln	Asn	Asn
Glu	Asp	Asp
Gly	Pro,Ala	Ala
His	Asn,Gln,Lys,Arg	Arg
Ile	Leu,Val,Met,Ala,Phe, 正白胺酸	Leu
Leu	正白胺酸,Ile,Val, Met,Ala,Phe	Ile
Lys	Arg, 1,4 二胺基- 丁酸,Gln,Asn	Arg
Met	Leu,Phe,Ile	Leu
Phe	Leu,Val,Ile,Ala,Tyr	Leu
Pro	Ala	Gly
Ser	Thr,Ala,Cys	Thr
Thr	Ser	Ser
Trp	Tyr,Phe	Tyr
Tyr	Trp,Phe,Thr,Ser	Phe
Val	Ile,Met,Leu,Phe,Ala, 正白胺酸	Leu

本技藝中之技術熟習人士能夠利用爲人熟知之技術決定如此處所列出之多肽的合適變異體。在某些實施態樣中，本技藝中之技術熟習人士可鑑定出適合改變之分子區域，以經由瞄準吾人相信對活性而言並不重要之區域進行改變，而不會破壞活性。在某些實施態樣中，個人可鑑定出保留在類似多肽間之分子殘質和部分。在某些實施態樣中，即使是對生物活性，或對構造而言重要的區域亦可進行保留性胺基酸取代，而不會破壞其生物活性，或不會對多肽構造有不良影響。

另外，本技藝中之技術熟習人士可回顧構造-功能研究，以鑑定在類似之多肽中，對活性，或對構造而言重要的殘質。鑑於這類比較，個人可預測出在蛋白質中與那些在類似之蛋白質中，對活性或構造很重要之胺基酸殘質相當的胺基酸殘質的重要性。本技藝中之技術熟習人士可選擇化學上類似之胺基酸來取代這類經預測爲重要之胺基酸殘質。

本技藝中之技術熟習人士亦可相關於類似多肽中之構造來分析該三次元構造和胺基酸序列。鑑於這類資料，本技藝中之技術熟習人士可參考抗體之三次元構造來預測抗體之胺基酸殘質的排列。在某些實施態樣中，本技藝中之技術熟習人士可選擇不對預期係在蛋白質表面上之胺基酸殘質進行基本改變，因爲這類殘質可能涉及與其它分子之重要交互作用。再者，本技藝中之技術熟習人士可在各所需之胺基酸殘質製造包含單一胺基酸取代之測試變異體。

然後，可利用本技藝中之技術熟習人士所已知的活性分析篩選變異體。這類變異體可用來收集關於適合變異體之資料。例如：若個人發現一特殊胺基酸殘質之變化會產生受到破壞，被不利地降低，或不合適的活性時，可避免具有這類改變的變異體。換言之，根據從這類例行實驗中收集的資料，本技藝中之技術熟習人士可很容易地測定該胺基酸是否需避免單獨被進一步取代，或加上其它突變。

有許多科學文獻已專門用來預測二級構造。見：Moult J., *Curr. Op. in Biotech.*, 7 (4) : 422-427 (1996) , Chou et al., *Biochemistry*, 13 (2) : 222-245 (1974) ; Chou et al., *Biochemistry*, 113 (2) : 211-222 (1974) ; Chou et al., *Adv. Enzymol. Relat. Areas Mol. Biol.*, 47 : 45-148 (1978) ; Chou et al., *Ann. Rev. Biochem.*, 47-251-276 and Chou et al., *Biophys. J.*, 26 : 367-384 (1979) 。再者，目前電腦程式可用來協助預測二級構造。一種用於預測二級構造的方法係根據同源造型。利如：二種具有超過 30%之序列一致性，或其類似性超過 40%的多肽或蛋白質通常具有類似之構造拓撲學。最近之蛋白質構造資料庫 (PDB) 的成長已增強二級構造 (包括在多肽或蛋白質構造中之可能的摺疊數) 之預測力。見：Holm et al., *Nucl. Acid. Res.*, 27 (1) : 224-247 (1999) 。 (Brenner et al., *Curr. Op. Struct. Biol.*, 7 (3) : 369-376 (1997)) 提出在指定之多肽或蛋白質中的摺疊數有限，一旦解析出關鍵數之構造後，構造之預測

將明顯變得更為正確。

預測二級構造之其它方法包括"穿針引線法 (Threading)" (Jones, D., Curr. Opin. Struct. Biol., 7 (3) : 377-87 (1997) ; Sippl et al., Structure, 4 (1) : 15-19 (1996)) , "略圖分析法" (Bowie et al., Science, 253 : 164-170 (1991) ; Gribskov et al., Meth. Enzym., 183 : 146-159 (1990) ; Gribskov et al., Proc. Nat. Acad. Sci., 84 (13) : 4355-4358 (1987)) , 及"進化連結法 (evolutionary linkage)" (見 Holm, supra (1999) , and Brenner, Supra (1997)) 。

在某些實施態樣中，專一性結合劑變異體包括其中醮化部位的數目及/或型態與母多肽之胺基酸序列相較下已被改變的醮化變異體。在某些實施態樣中，蛋白質變異體較天然蛋白質含有較多數或較少數的 N-連接醮化部位。N-連接醮化部位之特徵為下列序列：Asn-X-Ser 或 Asn-X-Thr，其中該命名為 X 之胺基酸殘質可為除了脯胺酸外之任何胺基酸殘質。用於創造此序列之胺基酸殘質取代作用可提供可能用來加入 N-連接之碳水化合物鏈的新部位。或者，用於排除此序列之取代作用可移除一已存在之 N-連接碳水化合物鏈。亦可提供重組之 N-連接碳水化合物鏈（其中排除一或多個 N-連接之醮化部位（通常為天然發生者），並創造一或多個新的 N-連接部位）。其它較佳之抗體變異體包括半胱胺酸變異體，與母胺基酸序列相較下，此變異體中有一或多個半胱胺酸殘質被刪除，或被

另一胺基酸（如：絲胺酸）所取代。當抗體必須再摺疊成生物活性構造時（如：在分離出不可溶之包涵體之後）可使用半胱胺酸變異體。一般而言，半胱胺酸變異體較天然蛋白質具有較少之半胱胺酸殘質，且通常具有偶數殘質，以讓由未配對之半胱胺酸產生的交互作用降至最少。

根據某些實施態樣，胺基酸取代具有如下述之作用：

（1）其降低對蛋白質水解之感受性，（2）其降低對氧化作用之感受性，（3）其改變對形成蛋白質複合物之結合親和力，（4）改變結合親和力，及/或（4）提供或修改這類多肽之其它物化或功能性質。根據某些實施態樣，在天然產生之序列（在某些實施態樣中係在形成分子間接觸之功能區塊外的多肽部分中）中可進行單一或多個胺基酸取代（在某些實施態樣中為保留性胺基酸取代）。在某些實施態樣中，保留性胺基酸取代通常不會實質改變母序列之構造特性（如：替代胺基酸不會傾向打斷母序列中之螺旋，或擾亂其它表現母序列之特徵的二級構造型式）。

本技藝所認可之多肽二級和三級構造的實施例描述於下列文獻中：Proteins, Structures and Molecular Principles (Creighton, Ed., W.H. Freeman and Company, New York (1984))；Introduction to Protein Structure (C. Branden and J. Tooze, eds., Garland Publishing, New York, N.Y. (1991))；and Thornton et al. Nature 354: 105 (1991)，其各併為本專利申請案之參考資料。

"衍生物"一詞係指包括除了插入、刪除，或取代胺基

酸外之化學修正的分子。在某些實施態樣中，衍生物含有共價修正，包括，但不限於：與聚合物、脂質，或其它有機或無機部分化學鍵結。在某些實施態樣中，經化學修正的專一性結合劑可能較未經化學修正之專一性結合劑具有較長之循環半生期。在某些實施態樣中，經化學修正的專一性結合劑對所需之細胞、組織，及/或器官可能具有改良之瞄準能力。在某些實施態樣中，衍生性專一性結合劑係經共價修正以包含一或多個水溶性聚合附著物，包括，但不限於：聚乙二醇，聚氧化乙二醇，或聚丙二醇。見，如：美國專利案第 4,640,835、4,496,689、4,301,144、4,670,417、4,791,192 和 4,179,337 號。在某些實施態樣中，衍生性專一性結合劑含有一或多種聚合物，包括，但不限於：一甲氧基-聚乙二醇、葡萄聚糖、纖維素，或其它以碳水化合物為基礎之聚合物、聚-(N-乙基吡咯酮)-聚乙二醇、丙二醇高聚合物、聚丙烯氧化物/乙烯氧化物共聚物、聚氧乙基化之多元醇（如：甘油）和聚乙醇，以及這類聚合物之混合物。

在某些實施態樣中，衍生物係以聚乙二醇（PEG）次單位進行共價修正。在某些實施態樣中係將一或多個水溶性聚合物結合在衍生物之一或多個特殊位置上，例如：在胺基端上。在某些實施態樣中係將一或多個水溶性聚合物任意連接至一或多個衍生物之側鏈上。在某些實施態樣中係使用 PEG 來改良專一性結合劑之治療能力。在某些實施態樣中係使用 PEG 來改良人類化抗體之治療能力。一

些這類方法之討論可在，如：美國專利案第 6,133,426 號（其併為本專利申請案中任何目的之參考資料）中找到。

此處所使用之"多肽片段"一詞係指帶有胺基-端及/或羧基-端缺失之多肽。在某些實施態樣中，片段長度至少為 5 至 478 個胺基酸。吾人可察知在某些實施態樣中，片段長度為至少 5、6、8、10、14、20、50、70、100、150、200、250、300、350、400，或 450 個胺基酸。

肽同系物在製藥工業中常作為非-肽藥物，其具有類似模板肽所具有之性質。這些類型之非-肽化合物稱為"肽模擬物"或"擬肽物"。Fauchere, J. Adv. Drug Res. 15: 29 (1986) ; Veber and Freidinger TINS p.392 (1985) ; and Evans et al. J. Med. Chem. 30: 1229 (1987)，其併為本專利申請案中任何目的之參考資料。這類化合物通常係藉由電腦化之分子造型的輔助發展出。構造上類似治療上有用之肽的肽模擬物可用來產生類似之療效或預防效果。一般而言，擬肽物在構造上類似於樣式多肽（也就是具有生化性質或藥學活性之多肽），如：人類抗體，但其有一或多個肽連結係經由本技藝所熟知的方法被選自如下群體之連結所隨意置換： $--CH_2NH--$ ， $--CH_2S--$ ， $--CH_2-CH_2--$ ， $--CH=CH-$ （順式和反式）， $--COCH_2--$ ， $--CH(OH)CH_2--$ ，及 $--CH_2SO--$ ，以相同類型之 D-胺基酸系統性取代一致序列之一或多個胺基酸（如：以 D-賴胺酸取代 L-賴胺酸）的作用可用於某些實施態樣中，以產生更穩定之肽。另外，含有一致序列或實質上相等之一致

序列變化的限制肽可藉由本技藝所已知的方法來產生（Rizo and Gierasch Ann. Rev. Biochem. 61 : 387 (1992)），其併為本專利申請案中任何目的之參考資料）；例如：經由加入可形成分子內二硫橋之內半胱胺酸殘質（其可將肽環化）來產生。

"抗體"或"抗體肽"一詞係指完整之抗體，或與完整抗體競爭特異性結合之結合片段。在某些實施態樣中，結合片段係經由重組 DNA 技術來製造。在某些實施態樣中結合片段係經由將完整抗體以酶或化學方法進行分裂來製造。結合片段包括，但不限於：Fab、Fab'、F(ab')₂，及單-鏈抗體。

"重鏈"一詞包括任何具有足夠可變區序列，以提供對靶的之專一性的多肽。"輕鏈"一詞包括任何具有足夠可變區序列，以提供對靶的之專一性的多肽。全長之重鏈包括一可變區功能區塊，V_H，及三個恆定區功能區塊，C_{H1}、C_{H2}，和 C_{H3}。V_H 功能區塊係在多肽之胺基端，而 C_{H3} 係在羧基端。此處所使用之"重鏈"一詞包含全長之重鏈及其片段。全長之輕鏈包括一可變區功能區塊，V_L，及一恆定區功能區塊，C_L。V_H。如同重鏈，輕鏈之可變區功能區塊係在多肽之胺基端。此處所使用之"輕鏈"一詞包含全長之輕鏈及其片段。Fab 片段係包含一輕鏈，及一重鏈之 C_{H1} 和可變區。Fab 分子之重鏈不能與另一重鏈分子形成二硫鍵。Fab'片段含有一輕鏈，及一含有介於 C_{H1} 和 C_{H2} 間之恆定區的重鏈，如此可在二個重鏈間形成鏈間之二硫鍵，

以形成 $F(ab')_2$ 分子。Fv 區包含來自重鏈和輕鏈二者之可變區，但缺乏恆定區。單-鏈抗體為 Fv 分子，其中該重鏈和輕鏈可變區由一彈性聯結子連接，以形成一單一多肽鏈，此多肽鏈可形成一抗原-結合區。單鏈抗體詳細討論於，如：WO 88/01649 和美國專利第 4,946,778 和 5,260,203 號中。

"可變區"或"可變功能區塊"一詞係指抗體之輕鏈和/或重鏈的一部分，通常約包括重鏈中胺基端 120 至 130 個胺基酸和輕鏈中 100 至 110 個胺基端胺基酸。在某些實施態樣中，不同抗體之可變區的胺基酸序列極不相同，即便是同物種之抗體間亦然。抗體之可變區通常會決定一特殊抗體對其靶的之專一性。

"免疫功能性免疫球蛋白片段"一詞係指含有至少一免疫球蛋白重鏈及一免疫球蛋白輕鏈之可變功能區塊的多肽片段。在某些實施態樣中，免疫功能性免疫球蛋白片段可結合至一配合體，阻止該配合體結合至其受體，以藉此中斷由配合體結合至受體所產生之生物反應。在某些實施態樣中，免疫功能性免疫球蛋白片段可結合至一受體，阻止該配合體結合至其受體，並藉此中斷由配合體結合至受體所產生之生物反應。在某些實施態樣中，免疫功能性免疫球蛋白片段可結合一受體，並將該受體活化或去活化。

在某些實施態樣中，除了"多專一性"或"多功能性"抗體外之二價抗體的各結合部位通常被認為完全相同。

當過量專一性結合劑減少結合至抗衡受體之受體的量

至少約 20%、40%、60%、80%、85%，或更多時（在玻管內競爭結合分析中測量），專一性結合劑可實質上抑制配合體黏附至受體。

"靶的"一詞係指能被專一性結合劑結合之分子，或分子的一部分。在某些實施態樣中，靶的可具有一或多個抗原決定部位。在某些實施態樣中，靶的為一抗原。

"抗原決定部位"一詞包括任何能特異結合至免疫球蛋白或 T-細胞受體的多肽決定簇。在某些實施態樣中，抗原決定部位決定簇包括分子之化學活性表面原子團，如：胺基酸、糖側鏈、磷基或磺基，且，在某些實施態樣中，其可具有特殊之三次元構造特性，及/或特殊電荷特性。抗原決定部位為一被抗體結合之抗原區域。在某些實施態樣中，當抗體優先辨識其在蛋白質，及/或巨分子之複合混合物中的靶的抗原時，該抗體被認為係特異結合一抗原。在某些實施態樣中，當分解常數 $\leq 1\mu\text{M}$ 時，該抗體被認為係特異結合一抗原，在某些實施態樣中，當分解常數 $\leq 100\text{nM}$ 時，該抗體被認為係特異結合一抗原，而在某些實施態樣中，當分解常數 $\leq 10\text{nM}$ 時，該抗體被認為係特異結合一抗原。

此處所使用之"作用劑"一詞係指一化學化合物、化學化合物之混合物、生物巨分子，或從生物物質製得之萃取物。

此處所使用之"標示"或"經標示的"一詞係指合併一可偵測之標記，如：合併一經放射標示的胺基酸，或連接至

一生物素部分之多肽上，而該生物素部分可藉標示之卵白素來偵測（如：含有螢光標記的抗生蛋白鏈菌素，或可藉光學或比色法偵測之酶活性）。在某些實施態樣中，該標示或標記亦可為治療性的。本技藝中已知且可使用多種用於標示多肽及醣蛋白質之方法。用於多肽之標示的實施例包括，但不限於下列各項：放射性同位素或放射性核素（如： ^3H 、 ^{14}C 、 ^{15}N 、 ^{35}S 、 ^{90}Y 、 ^{99}Tc 、 ^{111}In 、 ^{125}I 、 ^{131}I ），螢光標示（如：FITC、若丹明、鋁熾光體），酶性標示（如：辣根過氧化酶、 β -半乳糖苷酶、發光酶、鹼性磷酸酶），化學光、生物素基、可被二級報告子辨識之預定的多肽抗原決定部位（如：白胺酸拉鍊對序列、二級抗體之結合部位、金屬結合功能區塊、抗原決定部位標籤）。在某些實施態樣中，標示係藉由不同長度之間隔臂附著，以減少可能之立體遮蔽。

此處所使用之"生物樣本"一詞包括，但不限於：來自存活物，或先前存活物之任何量的物質。這類存活物包括，但不限於：人類、小鼠、猴子、大鼠、兔子，及其它動物。這類物質包括，但不限於：血液、血清、尿液、細胞、器官、組織、骨頭、骨髓、淋巴結，和皮膚。

"癌症"一詞包括，但不限於：實體腫瘤和血液惡性病。示範性之癌症包括，但不限於：乳癌、結腸直腸癌、胃癌、神經膠瘤、頭和頸鱗狀細胞癌、遺傳性和偶發性乳頭狀腎癌、白血病、淋巴瘤、李-弗洛曼尼（Li-Fraumeni）徵候群、惡性肋膜間皮瘤、黑色瘤、多發性骨

髓瘤、非-小細胞肺癌、骨肉瘤、卵巢癌、胰臟癌、攝護腺癌、小細胞肺癌、滑膜肉瘤、甲狀腺癌，及膀胱之移行細胞癌。

"HGF 活性"一詞包括任何 HGF 之生物效果。在某些實施態樣中，HGF 活性為 Met-HGF 活性。在某些實施態樣中，HGF 活性為與 Met 無關之 HGF 活性。

"Met-HGF 傳訊"一詞包括 HGF 與 Met 受體之交互作用。

"Met-HGF 活性"一詞包括任何從 Met-HGF 傳訊產生之生物活性。示範性活性包括，但不限於：神經誘導、肝臟再生、傷口癒合、生長、侵入、形態分化、胚胎發育、散射、增殖、細胞凋亡、細胞能動性、轉移、移動、細胞黏連、黏合素成串、黏蛋白（paxillin）之磷酸化、形成病灶黏連，和從異常 Met-HGF 傳訊產生癌症。

"異常之 Met-HGF 傳訊"一詞包括任何其中 Met-HGF 傳訊均無法刺激出任何當正常傳訊時可產生之 Met-HGF 活性的情況。異常 Met-HGF 傳訊亦包括任何其中 Met-HGF 傳訊所產生之 Met-HGF 活性較正常傳訊所產生者來得少的情況。異常活性亦包括任何其中 Met-HGF 傳訊所產生之 Met-HGF 活性較正常傳訊所產生者來得高的情況。異常 Met-HGF 傳訊可產生，如：某些癌症。

"與 Met 無關之 HGF 活性"一詞係指任何不倚賴 HGF 結合至 Met 受體，而受 HGF 影響的生物活性。這類活性包括，但不限於：受 HGF 與其它受體之交互作用影響的

生物活性，及透過其它途徑（如：Ron 或 Met/ron 異質二聚體）受 HGF 影響的生物活性。

"異常之 HGF 活性"一詞係指任何其中 HGF 活性較其所應有者來得高或低的情況。在某些情況中，異常之 HGF 活性係由異常之 HGF 傳訊所產生。在某些情況中，異常之 HGF 活性係由較其應有者來得高之 HGF 濃度所產生。在某些實施態樣中，異常 HGF 活性係由較其應有者來得低之 HGF 濃度所產生。

此處所使用之"藥學作用劑或藥物"一詞係指當正確地投給患者時能誘導出所需之治療效果的化學化合物或組成物。

此處所使用之"調節劑"一詞係指改變或轉變分子之活性或功能的化合物。例如：調節劑可使某些分子之活性或功能的強度較無該調節劑存在時所觀察到之活性或功能的強度增加或減低。在某些實施態樣中，調節劑為一種抑制劑，其可減低至少一種分子之活性或功能的強度。一些示範性之分子的活性或功能包括，但不限於：結合親和力、酶活性，和訊號轉導。一些示範性抑制劑包括，但不限於：蛋白質、肽、抗體、肽體、碳水化合物，或小有機分子。肽體描述於，如：美國專利第 6,660,843 號（相當於 PCT 申請案第 WO 01/83525 號）中。

此處所使用之"實質上純化"一詞係指一實物種類為最優勢之存在種類（也就是，以莫耳計，其較組成物中之任何其它個別物種更為多量）。在某些實施態樣中，實質上

純化之部分為一種其中該實物種類含有至少約 50%（以莫耳計）之所有存在的巨分子種類的組成物。在某些實施態樣中，實質上純化之組成物將含有超過約 80%、85%、90%、95%，或 99%之所有存在的巨分子種類。在某些實施態樣中，該實物種類係經純化至實質上同質（其無法藉習知之偵測方法測到組成物中的污染物），其中該組成物實質上係由單一巨分子物種所組成。

● "患者"一詞包括人類和動物個體。

一些示範性專一性結合劑

在某些情況中，HGF 結合 Met 受體以誘導 Met 磷酸化。在某些情況中，正常之由 HGF 誘導的 Met 磷酸化作用可調節多種細胞處理過程。在某些情況中，異常之 Met-HGF 活性與多種人類疾病狀態有關。例如：在某些情況中，過量之 HGF 活性與某些癌症有關。因此，在某些情況中，調節 HGF 活性可用於治療上。在某些實施態樣中，對 HGF 之專一性結合劑可用來將 HGF 活性的量從異常高之水準降低下來。在某些實施態樣中，將 HGF 活性之量從異常高之水準降低下來可降低致腫瘤活性，並可減低癌症之嚴重症。根據某些實施態樣，對 HGF 之專一性結合劑可用來治療癌症。在某些實施態樣中，對 HGF 之專一性結合劑可用來預防癌症。

在某些實施態樣中，對 HGF 之專一性結合劑可用來治療其中 HGF 活性為正常的癌症。例如：在這類癌症

中，將 HGF 活性降低至低於正常值可提供療效。

在某些實施態樣中，對 HGF 之專一性結合劑可用來調節至少一種 Met-HGF 活性。在某些實施態樣中，對 HGF 之專一性結合劑可用來調節至少一種與 Met 無關之 HGF 活性。在某些實施態樣中，使用超過一種對 HGF 之專一性結合劑來調節 HGF 活性。

在某些實施態樣中，對 HGF 之專一性結合劑為完整之人類單株抗體。在某些實施態樣中提供編碼重鏈和輕鏈免疫球蛋白分子之核苷酸序列，及包含重鏈和輕鏈免疫球蛋白分子之胺基酸序列，尤其是相當於可變區之序列。在某些實施態樣中提供相當於互補決定區（CDR's），尤其是 CDR1 至 CDR3 之序列。根據某些實施態樣，提供表現這類免疫球蛋白分子之雜交瘤細胞株。根據某些實施態樣，提供表現這類單株抗體之雜交瘤細胞株。在某些實施態樣中，雜交瘤細胞株係選自至少一種如下群體：1.24.1，1.29.1，1.60.1，1.61.3，1.74.3，1.75.1，2.4.4，2.12.1，2.40.1 和 3.10.1。在某些實施態樣中，提供純化之對人類 HGF 的人類單株抗體。

在酵母菌人造染色體（YACs）中選殖及重建百萬鹼基大小之人類基因座，並將其引入老鼠種系中的能力可提供用來說明非常大之功能性成分，或簡略繪出之基因座的方法，並可產生有用之人類疾病模型。再者，使用這類以老鼠之人類同等物來取代老鼠基因座的技術可在發育期間用來詳細了解人類基因產物之表現和規則，其與其它系統

之交流，及其所涉及之疾病誘發和進展。

這類策略的一種重要實際應用為將老鼠體液免疫系統"人類化"。將人類免疫球蛋白(Ig)基因座引入其內生性Ig基因已被去活化的老鼠體內可提供用來研究潛在之已制訂的表現，和抗體組合的機制，以及其在B細胞發展中之角色。再者，這類策略可提供用於製造完整人類單株抗體(Mabs)之來源。在某些實施態樣中，完整之人類抗體被預期可將對老鼠或老鼠衍生之Mabs的內在免疫和過敏反應減至最少，且因此，在某些實施態樣中可增加投服之抗體的效力和安全性。在某些實施態樣中，完整之人類抗體可用來治療慢性或再發之人類疾病，如：可能涉及重複投服抗體之癌症、瘧疾，或增殖性糖尿病腎病。

個人可以大片段之人類Ig基因座將缺乏製造老鼠抗體之老鼠品種進行遺傳工程處理，並預期這類老鼠可在無老鼠抗體之存在下製造人類抗體。大人類Ig片段可保量大可變基因之多樣性，並適當調節抗體之製造和表現。經由利用老鼠之抗體多樣性和選擇的機制，以及缺少對人類蛋白質之免疫耐受性，在這些老鼠品種中所複製的人類抗體集庫可產生對任何所關注之抗原(包括人類抗原)具高親和力的完整人類抗體。利用雜交瘤技術可製造並選擇具所需之專一性的抗原-專一性人類Mabs。一些示範性方法描述於WO 98/24893、美國專利案第5,545,807號、EP 546073B1，和EP 546073A1中。

在某些實施態樣中，個人可將來自除了人類外之物種

的恆定區，與人類可變區一起使用。

天然存在之抗體構造

天然存在之抗體構造單位通常含有一四聚體。典型上，這類四聚體各由二對相等之多肽鏈對所組成，每一對具有一完整長度之"輕"（在某些實施態樣中約為 25kDa），及一完整長度之"重"鏈（在某些實施態樣中約為 50-70kDa）。典型上，各鏈之胺基-端部分包括一具有約 100 至 110，或更多個胺基酸之可變區（其通常負責辨識抗原）。典型上，各鏈之羧基-端部分係定義可能負責效應子功能的恆定區。人類輕鏈通常被分類成 κ 和 λ 輕鏈。重鏈通常被歸類為 μ 、 Δ 、 γ 、 α ，或 ϵ ，並將抗體之同種型分別定義為 IgM、IgD、IgG、IgA，和 IgE。IgG 具有數種次類，包括，但不限於：IgG1、IgG2、IgG3，和 IgG4。IgM 之次類包括，但不限於：IgM1 和 IgM2。IgA 被同樣地次分為次類，包括，但不限於：IgA1 和 IgA2。典型上，在完整長度之輕鏈和重鏈內，可變和恆定區係藉由一具有約 12 或更多個胺基酸的"J"區連結，且該重鏈亦包括具有約 10 或更多個胺基酸的"D"區。見，如：Fundamental Immunology Ch. 7 (Paul, W., ed., 2nd ed. Raven Press, N.Y. (1989))（其併為本專利申請案中任何目的之參考資料）。各輕鏈和重鏈對之可變區通常形成抗原結合部位。

可變區通常會顯示出被高度保留之框構區（FR）的相

同大致構造，此框構區係由三個高可變區（亦稱為互補決定區或 CDRs）聯結。來自每一對之二種鏈的 CDRs 通常靠著框構區配置排列，其可賦予結合至特殊抗原決定部位的能力。從 N-端至 C-端，輕鏈和重鏈二者之可變區通常含有功能區塊 FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3，和 FR4。各功能區塊所派定之胺基酸典型上係根據 Kabat Sequences of Proteins of Immunological Interest (National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1987 及 1991))，或 Chothia & Lesk J. Mol. Biol. 196: 901-917 (1987)；Chothia et al. Nature 342-878-883 (1989) 之定義。

在某些實施態樣中，抗體重鏈在無抗體輕鏈之存在下結合至抗原上。在某些實施態樣中，抗體輕鏈在無抗體重鏈之存在下結合至抗原上。在某些實施態樣中，抗體結合區在無抗體輕鏈之存在下結合至抗原上。在某些實施態樣中，抗體結合區在無抗體重鏈之存在下結合至抗原上。在某些實施態樣中，個別之可變區在無其它可變區之存在下特異結合至抗原上。

在某些實施態樣中，CDR 之明確記述和含有抗體結合部位之殘質的確認可經由解析抗體之構造，及/或解析抗體-配合體複合物的構造來完成。在某些實施態樣中，其可藉由任何本技藝中之技術熟習人士所已知的多種技術，如：X-光晶體照相術來完成。在某些實施態樣中，可使用不同之分析方法來鑑定或模擬 CDR 區。這類方法之實例包括，但不限於：卡巴 (Kabat) 定義周西亞 (Chothia)

定義、AbM 定義和接觸定義。

卡巴定義為替抗體中之殘質編號的一種標準，典型上係用來鑑定 CDR 區。見，如：Johnson and Wu, *Nucleic Acids Res*, 28 : 214-8 (2000)。周西亞定義類似於卡巴定義，但周西亞定義將某些構造型環狀區的位置列入考慮。見，如：Chothia et al., *J Mol Biol*, 196 : 901-17 (1986) ; Chothia et al., *Nature*, 342 : 877-83 (1989)。

AbM 定義係利用由牛津分子團體所製造之塑造抗體構造的集成的電腦程式組。見，如：Martin et al., *Proc Natl Acad Sci (USA)* 86 : 9268-9272 (1989) ; AbMTM, a computer program for modeling variable regions of antibodies, Oxford, UK; Oxford Molecular, Ltd.。AbM 定義利用知識資料庫和從頭開始之方法（如，描述於下列文獻中者：Samudrala et al., *Ab Initio Protein Structure Prediction Using a Combined Hierarchical Approach*, *PROTEINS, Structure, Function and Genetics Suppl.* 3 : 194-198 (1999) 的組合，從一級序列塑造出抗體之三級構造的模型。接觸定義係根據可取得之複雜的結晶構造分析。見，如：MacCallum et al., *J Mol Biol*, 5 : 732-45 (1996)。

慣例上，重鏈中之 CDR 區通常稱為 H1、H2 和 H3，並以從胺基端至羧基端之方向依序編號。輕鏈中之 CDR 區通常稱為 L1、L2 和 L3，並以從胺基端至羧基端之方向依序編號。

雙特異性或雙功能性抗體

雙特異性或雙功能性抗體典型上為具有二種不同之重/輕鏈對和二種不同之結合部位的人工雜種抗體。雙特異性抗體可藉由多種方法製造，包括，但不限於：雜交瘤之融合，或連接 Fab' 片段。見，如：Songsivilai et al., Clin. Exp. Immunol. 79: 315-321 (1990)；Kostelny et al., J. Immunol. 148: 1547-1553 (1992)。

抗體之製備方法

根據某些實施態樣，本發明包含某些特異結合至 HGF 之抗體。在某些實施態樣中，可經由免疫接種抗原來製造抗體。"抗原"一詞係指用於在動物體內製造能結合至該抗原及/或其它靶的之抗體的分子。在某些實施態樣中，可經由免疫接種完整長度之 HGF、可溶型式之 HGF、DNA 剪接變異體型式之 HGF，或其片段來製造抗體。在某些實施態樣中，本發明之抗體可為多株或單株。在某些實施態樣中，本發明之抗體為經由，如：對可製造人類抗體之導入外來基因動物進行免疫接種後所製造之人類抗體（見，如：PCT 已出版之申請案第 WO 93/12227）。

在某些實施態樣中，可使用一些策略來處理抗體之固有性質，如：抗體對其靶的之親和力。這類策略包括，但不限於：使用編碼抗體之多核苷酸分子的定位或隨機突變來製造抗體之變異體。在某些實施態樣中，以這類方法製

造抗體之後再篩選那些顯示出所需變化（如：增加或減少親和力）的抗體變異體。

在某些實施態樣中，在致突變策略中所瞄準的胺基酸殘質為那些在 CDRs 中之胺基酸殘質。在某些實施態樣中，瞄準的為在可變功能區塊之框構區中的胺基酸。在某些實施態樣中，這類框構區顯示出可促成某些抗體之靶的結合性質。見，如：Hudson, Curr Opin Biotech, 9: 395-402 (1999)，及其中之參考資料。

在某些實施態樣中，可藉由限制 CDRs 中之高突變部位（其相當於在身體親和性成熟過程中易突變的部位）的隨機或定位突變來製造較小且被更有效地篩選過的抗體變異體集合庫。見，如：Chowdhury and Pastan, Nature Biotech, 17: 568-572 (1999)，及其中之參考資料。在某些實施態樣中，某些型式之 DNA 要素可用來鑑定高-突變部位，包括，但不限於：某些直接和反轉之重複段，某些一致性序列、某些二級構造，及某些迴文。例如：可用來鑑定高-突變部位之這類 DNA 要素包括，但不限於：含有嘌呤（A 或 G），其後為鳥嘌呤（G），接著為嘧啶（C 或 T），再接著為腺苷酸或酪胺酸（A 或 T）之四鹼基序列（也就是 A/G-G-C/T-A/T）。另一種可用來鑑定高-突變部位之 DNA 要素的實施例為絲胺酸密碼子；A-G-C/T。

在某些實施態樣中，抗體為人類化之抗體。在某些實施態樣中，人類化之抗體在人體中大體上為非-致免疫性的。在某些實施態樣中，人類化之抗體與來自衍生出該人

類化之抗體的另一物種的抗體大體上對靶的具有相同之親和力。見，如：美國專利案第 5,530,101 號；美國專利案第 5,693,761 號；美國專利案第 5,693,762 號；美國專利案第 5,585,089 號。

在某些實施態樣中係鑑定一抗體之可變功能區塊中，可被修改，但不會削減抗原結合功能區塊之天然親和力，而可降低其致免疫力的胺基酸。見，如：美國專利案第 5,766,886 和 5,869,619 號。

在某些實施態樣中，藉由本技藝所已知的方法修改抗體通常係爲了增加其對靶的的結合親和力，及/或降低抗體在接受者中之致免疫力。在某些實施態樣中係修改人類化抗體，將醮化部位排除，以增加抗體對其同源抗原的親和力。見，如：Co et al., Mol Immunol 30 : 1361-1367 (1993)。在某些實施態樣中，使用如："改造"、"高度嵌合化"，或"鑲飾/敷設新表面"等技術來製造人類化之抗體。見，如：Vaswami et al., Annals of Allergy, Asthma, & Immunol 81 : 105 (1998) ; Roguska et al., Prot Engineer 9 : 895-904 (1996) ; 和美國專利案第 6,072,035 號。在某些實施態樣中，這類技術典型上可經由減少外來殘質之數目來降低抗體之致免疫性，但不會在重複投服抗體後防礙抗-遺傳性型，和抗-同種異型之反應。一些其它用於降低致免疫性之方法描述於，如：Gilliland et al., J Immunol 62 (6) : 3663-71 (1999) 中。

在某些情況下，人類化之抗體可造成抗原結合能力之損失。在某些實施態樣中，人類化之抗體為"回復突變"。在某些這類實施態樣中，人類化之抗體經過突變以包括一或多個在捐贈者抗體中所發現的胺基酸殘質。見，如：Saldanha et al., Mol Immunol 36: 709-19 (1999)。

在某些實施態樣中，對 HGF 之抗體的輕鏈和重鏈可變區的互補決定區 (CDRs) 可被移植至來自相同，或另一物種的框構區 (FRs)。在某些實施態樣中，對 HGF 之抗體的輕鏈和重鏈可變區的互補決定區 (CDRs) 可被移植至一致之人類 FRs。在某些實施態樣中，為了創造一致之人類 FRs，將來自數種人類重鏈或輕鏈胺基酸序列之 FRs 做一致性比對，以鑑定出一致之胺基酸序列。在某些實施態樣中，對 HGF 之抗體的輕鏈和重鏈的 FRs 可以來自不同重鏈或輕鏈之 FRs 取代。在某些實施態樣中，對 HGF 之抗體的輕鏈和重鏈的 FRs 中的稀有胺基酸未被取代，而剩餘之 FR 胺基酸被取代。稀有胺基酸為位在不常在 FRs 中找到它們之位置中的特殊胺基酸。在某些實施態樣中，來自對 HGF 之抗體的移植可變區可與一和對 HGF 之抗體的恆定區不相同的恆定區一起使用。在某些實施態樣中，移植之可變區為單鏈 Fv 抗體的部分。CDR 移植描述於，如：美國專利案第 6,180,370、6,054,297、5,693,762、5,859,205、5,693,761、5,565,332、5,585,089，和 5,530,101 號，及 Jones et al., Nature 321: 522-525 (1986)；Riechmann et al., Nature, 332: 323-¹⁵

327 (1988) ; Verhoeyen et al., Science 239 : 1534-1536 (1988) , Winter, FEBS Letts 430 : 92-94 (1998) 中，其併為本專利申請案中任何目的之參考資料。

在某些實施態樣中，使用噬體顯示技術來產生單株抗體。在某些實施態樣中，這類技術可製造完整之人類單株抗體。在某些實施態樣中，編碼單一 Fab 或 Fv 抗體片段之多核苷酸係表現在噬體顆粒之表面上。見，如：

● Hoogenboom et al., J Mol Biol 227 : 381 (1991) ; Markste al., J Mol Biol 222 : 581 (1991) ; 美國專利案第 5,885,793 號。在某些實施態樣中，"篩選"噬體以鑑定那些對靶的具有親和力的抗體片段。因此，某些這類過程係透過將抗體片段集庫顯示在絲狀噬菌體之表面上來模擬免疫選擇，並接著藉由其對靶的之結合情況來選擇噬體。在某些這類程序中可分離出高親和力之功能性激動抗體片段。在某些這類實施態樣中，經由選殖來自周圍血液淋巴

● 球之自然重排的人類 V 基因來創造完整之人類抗體基因集合庫。見，如：Mullinax et al., Proc Natl Acad Sci (USA) 87 : 8095-8099 (1990) 。

根據某些實施態樣，本發明之抗體係透過使用導入外來基因小鼠來製備，此種小鼠具有一能產生人類抗體之實質部分的插入的基因組，但無法產生內生性之老鼠抗體。因此，這類小鼠可製造人類免疫球蛋白分子和抗體，且不會製造老鼠的免疫球蛋白分子和抗體。用於取得此結果之技術揭示於本專利申請書中所揭示之專利、申請案和參考

資料中。在某些實施態樣中，個人可使用揭示於 PCT 已出版之申請案第 WO 98/24893 號，或 Mendez et al, *Nature Genetics* 15 : 146-156 (1997) 中的方法，其併為本專利申請案中任何目的之參考資料。

根據某些實施態樣中，特異於 HGF 之完整的人類單株抗體係依下述方法製造。以所關注之抗原（如：HGF）免疫接種含有人類免疫球蛋白基因之導入外來基因小鼠，再從表現抗體的小鼠取得淋巴球（如：B-細胞）。將這類回收之細胞與骨髓-型細胞株融合，以製備永生化之雜交瘤細胞株，並將這類雜交瘤細胞株進行篩選和選擇，以鑑定可製造特異於所關注之抗原的抗體。在某些實施態樣中係提供可生產特異於 HGF 之雜交瘤細胞株的製備方法。

在某些實施態樣中，完整之人類抗體係經由在宿主細胞中由重組 DNA 之表現來製造，或經由在雜交瘤細胞中表現來製造。在某些實施態樣中，抗體係利用上述之噬體顯示技術來製造。

在某些實施態樣中，完整之人類抗體係經由在玻管中將人類脾細胞（B 或 T 細胞）暴露至抗原，然後在經過免疫減弱的小鼠（如：SCID 或 nod/SCID）中重建該暴露過之細胞來製造。見，如：Brams et al., *J Immunol*, 160 : 2051-2058 (1998) ; Carballido et al., *Nat Med*, 6 : 103-106 (2000) 。在某些實施態樣中，將人類胎兒組織移植入 SCID 小鼠（SCID-hu）中可造成長期造血，並發展人類 T-細胞。見，如：McCune et al., *Science* 241 : 1532-1535

1639 (1988) ; Ifversen et al., *Sem Immunol* 8 : 243-248 (1996) 。在某些情況中，這類嵌合小鼠體內之體液免疫反應係倚賴在動物體內共同-發展人類 T-細胞。見，如：See, e.g., Martensson et al., *Immunol* 83 : 1271-179 (1994) 。在某些方法中係將人類周圍血液淋巴球移植入 SCID 小鼠中。見，如：See, e.g., Mosier et al., *Nature* 335 : 256-259 (1988) 。在某些這類實施態樣中，當以初次作用劑（如：金黃葡萄球菌腸毒素 A (SEA) ），或以抗-人類 CD40 單株抗體處理這類移植細胞時，可偵測到高水準之 B 細胞產量。見，如：Martensson et al., *Immunol* 84 : 224-230 (1995) ; Murphy et al., *Blood* 86 : 1946-1953 (1995) 。

在某些實施態樣中，本發明之抗體係由至少一種下列雜交瘤製造：1.24.1，1.29.1，1.60.1，1.61.1，1.74.1，1.75.1，2.4.4，2.12.1，2.40.1，和 3.10.1。在某些實施態樣中，專一性結合劑以 K_D 為 10^{-8} 、 10^{-9} ，或 10^{-10} M 結合至 HCF。在某些實施態樣中，專一性結合劑以介於約 0.099 和 0.79nM（此係經由動力學方法測量）間之離解常數（ K_D ）結合至 HGF（第 6A 圖）。在某些實施態樣中，專一性結合劑以低於 10pM 至約 54pM 之 K_D 結合至 HGF（此係經由平衡/溶液方法測量）（第 6B 圖）。

在某些實施態樣中，專一性結合劑含有至少一種下列群體之免疫球蛋白分子：IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgE、IgA、IgD 和 IgM 同種型。在某些實施態樣中，專一

性結合劑含有人類 κ 輕鏈及/或人類重鏈。在某些實施態樣中，該重鏈為 IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgE、IgA、IgD 或 IgM 同種型之重鏈。在某些實施態樣中，專一性結合劑經過選殖，以表現在哺乳動物細胞中。在某些實施態樣中，專一性結合劑含有一除了下列任一種恆定區外的恆定區：IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgE、IgA、IgD 和 IgM 同種型。

在某些實施態樣中，專一性結合劑含有人類 κ 輕鏈及人類 IgG1 重鏈。在某些實施態樣中，專一性結合劑含有人類 κ 輕鏈及人類 IgG2 重鏈。在某些實施態樣中，專一性結合劑含有人類 κ 輕鏈及人類 IgG3、IgG4、IgE、IgA、IgD 或 IgM 重鏈。在某些實施態樣中，專一性結合劑含有連接至既不為 IgG1 同種型之恆定區，亦不為 IgG2 同種型之恆定區的恆定區上的抗體可變區。在某些實施態樣中，專一性結合劑經過選殖，以表現在哺乳動物細胞中。

在某些實施態樣中，對來自至少一種下列雜交瘤細胞株之抗體的重鏈和輕鏈進行保留性修改：1.24.1，1.29.1，1.60.1，1.61.1，1.74.1，1.75.1，2.4.4，2.12.1，2.40.1，和 3.10.1（及對編碼之核苷酸之相對性修改），可產生具有類似於來自下列雜交瘤株之抗體所具者的功能和化學特性的對 HGF 之抗體：1.24.1，1.29.1，1.60.1，1.61.1，1.74.1，1.75.1，2.4.4，2.12.1，2.40.1，和 3.10.1。相反地，在某些實施態樣中，對 HGF 之抗體的功

能和化學特性的實質修改可經由選擇性取代重鏈和輕鏈之胺基酸序列來完成，這些取代使其在維持下列各項之效果上顯著不同：（a）取代區中之分子主鏈的構造，如：長帶狀或螺旋狀構型，（b）靶的部位之分子的電荷或疏水性，（c）側鏈體積。

例如："保留性胺基酸取代"可能涉及以非天然殘質取代天然胺基酸殘質，如此，對在該位置之胺基酸殘質的極性或電荷僅有很小或沒有作用。再者，在多肽中之任何天然殘質亦可被丙胺酸所取代，如同之前關於"丙胺基酸掃描致突變性"的描述。

本技藝中之技術熟習人士可在需要進行胺基酸取代時決定所需之胺基酸取代（不論是保留或非保留性的）。在某些實施態樣中，胺基酸取代可用來鑑定對 HGF 之抗體的重要殘質，或用來增加，或降低對抗此處所描述之抗體對 HGF 的親和力。

在某些實施態樣中，本發明之抗體可表現在除了雜交瘤細胞株外之細胞株中。在某些實施態樣中，編碼特殊抗體之序列可用來將合適之哺乳動物宿主細胞轉形。根據某些實施態樣，轉形反應可經由任何已知之用來將多核苷酸引入宿主細胞的方法進行，包括，如：將多核苷酸包在病毒內（或包裝在病毒載體內），並以該病毒（或載體）將宿主細胞進行轉導，或可經由任何本技藝中已知之轉染程序，如：美國專利案第 4,399,216、4,912,040、4,740,461 和 4,959,455 號中所示範者（其併為本專利申請案中任何

目的之參考資料)來進行。在某些實施態樣中，所使用之轉形程序取決於欲轉形之宿主。用於將異源多核苷酸引入哺乳動物細胞的方法為本技藝所熟知，包括，但不限於：葡萄聚糖-傳介之轉染反應、磷酸鈣沈澱法、聚凝胺製劑傳介之轉染反應、原漿融合、電穿孔、將多核苷酸包囊在脂粒中，及直接將 DNA 顯微注射入細胞核內。

可作為用於表現之宿主的哺乳動物細胞株為本技藝所熟知，其包括，但不限於：可從美國型培養收集處(ATCC)取得之永生化細胞株，包括，但不限於：中國田鼠卵巢(CHO)細胞、HeLa 細胞、幼田鼠腎(BHK)細胞、猴腎細胞(COS)、人類肝細胞之癌細胞(如：Hep G2)，及多種其它細胞株。在某些實施態樣中，可透過測定何種細胞株具有高表現水準，且可製造具有組成性之 HGF 結合性質的抗體來選擇細胞株。用於哺乳動物宿主細胞的合適表現載體為本技藝所熟知。

在某些實施態樣中，專一性結合劑含有一或多種多肽。在某些實施態樣中，可使用多種表現載體/宿主系統中之任一種來表現編碼多肽之多核苷酸分子。這類系統包括，但不限於：微生物，如：以重組噬菌體、質體或黏接質體 DNA 表現載體轉形之細菌；以酵母菌表現載體轉形之酵母菌；以病毒表現載體(如：桿狀病毒)感染之昆蟲細胞系統；以病毒表現載體(如：花椰菜鑲嵌病毒、CaMV、煙草鑲嵌病毒、TMV)轉染之植物細胞系統，或以細菌表現載體轉形(如：Ti 或 pBR322 質體)轉形之植

物細胞系統；或動物細胞系統。

在某些實施態樣中，多肽係以重組方式表現在酵母醇中。一些這類實施態樣係依照製造者之指示使用市售之表現系統，如：畢赤酵母表現系統（因維特金（Invitrogen），加州聖地牙哥）。在某些實施態樣中，這類系統係倚賴 pre-pro- α 序列來指導分泌。在某些實施態樣中，插入子之轉錄係在藉甲醇誘導時，由醇氧化酶（AOX1）驅動。

在某些實施態樣中，分泌出之多肽係從酵母生長介質中純化出來。在某些實施態樣中，用來從酵母生長介質中純化多肽的方法與用來從細菌和哺乳動物細胞上清液中純化多肽的方法相同。

在某些實施態樣中，將編碼多肽之核酸選殖入桿狀病毒表現載體，如：pVL1393（PharMingen，加州聖地牙哥）中。在某些實施態樣中，這類載體可根據製造者（PharMingen）之指示用來感染在不含 sF9 蛋白質介質中的草地黏蟲細胞，並製造重組多肽。在某些實施態樣中，利用肝素-瓊脂糖管柱從這類介質（法馬西亞（Pharmacia））中純化並濃縮多肽。

在某些實施態樣中，多肽係表現在昆蟲細胞中。一些用於表現多肽之昆蟲系統為本技藝中之技術熟習人士所熟知。在一種這類系統中係使用苜蓿銀紋夜蛾核多角體病毒（AcNPV）作為載體，在草地黏蟲細胞或毛紋夜蛾幼蟲中表現外來基因。在某些實施態樣中，可將編碼多肽之核酸

分子插入病毒之非必須基因，如：在多角體基因內，並受該基因之啓動因子的控制。在某些實施態樣中，成功插入核酸分子可將該非-必須基因去活化。在某些實施態樣中，去活化反應可產生可偵測之特性。例如：將多面體基因去活化可製造缺乏外套蛋白質之病毒。

在某些實施態樣中，可使用重組病毒來感染草地黏蟲細胞或毛紋夜蛾幼蟲。見，如：Smith et al., J Virol 46 : 584 (1983) ; Engelhard et al., Proc Nat Acad Sci (USA) 91 : 3224-7 (1994) 。

在某些實施態樣中，在細菌細胞中所製造之多肽係以不可溶之包涵體型式在細菌中製造。在某些實施態樣中係經由過濾收集含有這類包涵體之宿主細胞；在 0.15M NaCl, 10mM Tris, pH8, 1 mM EDTA 中清洗；並在室溫中，以 0.1 毫克/毫升溶菌酶（史格馬公司，密蘇里卅聖路易市）處理 15 分鐘。在某些實施態樣中，藉超音波使溶解產物變清澈，並在 12,000 Xg 離心 10 分鐘，以使細胞碎片沈澱成小丸。在某些實施態樣中，將含多肽之小丸重新懸浮在 50mM Tris, pH8, 和 10mM EDTA 中；將其疊層在 50%甘油上；並在 6000 Xg 離心 30 分鐘。在某些實施態樣中，可將該小丸懸浮在不含 Mg^{++} 和 Ca^{++} 之標準的磷酸鹽緩衝的生理食鹽水溶液（PBS）中。在某些實施態樣中，經由將重新懸浮之小丸在變性 SDS 聚丙烯醯胺凝膠中分餾來將該多肽進一步純化（見，如：Sambrook et al., 如上述）。在某些實施態樣中，可將此凝膠浸泡在

0.4 M KCl 中，以讓蛋白質可被目視，並可將此蛋白質在缺少 SDS 之凝膠-移行緩衝液中切出及電洗提之。根據某些實施態樣中，可在細菌中製造可溶性蛋白質型式之麩胺基硫-S-轉移酶（GST）融合蛋白質。在某些實施態樣中，這類 GST 融合蛋白質係利用 GST 純化組件（GST Purification Module）（法馬西亞）進行純化。

在某些實施態樣中，最好將某些多肽"再摺疊"在某些實施態樣中，這類多肽係利用此處所討論的一些重組系統製造。在某些實施態樣中，將多肽"再摺疊"及/或氧化，以形成所需之三級構造，及/或產生二硫鍵。在某些實施態樣中，這類構造，及/或鍵結與某些多肽之生物活性有關。在某些實施態樣中，"再摺疊"可利用多種本技藝中已知之程序中的任一種來完成。示範之方法包括，但不限於：將可溶性多肽作用劑在高濃度促進劑（chaotropic agent）之存在下暴露於典型上高於 pH7 之環境中。胍為一種示範性高濃度促進劑。在某些實施態樣中，再摺疊/氧化溶液亦含有還原劑及該還原劑之氧化型式。在某些實施態樣中，該還原劑及其氧化型式以可產生一特殊氧化還原電位的比例存在，此電位能產生二硫化物重排（shuffling）。在某些實施態樣中，這類移動可形成半胱胺酸橋。示範性氧化還原對包括，但不限於：半胱胺酸/胱胺、谷胱甘肽/二硫代雙 GSH、氯化銅、二硫代蘇糖醇、DTT/狄森（（二噻烷）DTT，和 2-巰基乙醇（bME）/二硫代-bME。在某些實施態樣中，使用共溶劑來增加再

摺疊的效率。示範性之共溶劑包括，但不限於：甘油、不同分子量之聚乙二醇，及精胺酸。

在某些實施態樣中，個人可實質上純化多肽。本技藝中之技術熟習人士已知一些蛋白質純化技術。在某些實施態樣中，蛋白質純化牽涉到將多肽分液從非-多肽分液中粗略分離出來。在某些實施態樣中，多肽係利用色層分析及/或電泳技術進行純化。示範性純化方法包括，但不限於：以硫酸銨沈澱；以 PEG 沈澱；免疫沈澱法；熱變性後再離心；色層分析法，包括，但不限於：親和力色層分析法（如：蛋白質-A-瓊脂糖）、離子交換色層分析法、排除色層分析法，及逆相色層分析法；凝膠過濾法；羧基磷灰石色層分析法；等電點聚焦法；聚丙烯醯胺凝膠電泳法；及這類和其它技術之組合。在某些實施態樣中，多肽係經由快速蛋白質液態色層分析法，或高壓液態色層分析法（HPLC）進行純化。在某些實施態樣中，可改變純化步驟，或可忽略某些步驟，而仍為用於製備大體上純化之多肽的方法。

在某些實施態樣中，個人可定量多肽製品之純化程度。本技藝中之技術熟習人士知道一些定量純化程度之方法。一些示範性方法包括，但不限於：測定該製劑之專一結合活性，並藉由 SDS/PAGE 分析評估製劑內之多肽量。一些用於評估多肽製劑之純化量的示範方法包含計算製劑之結合活性，並將其與原始萃取物之結合活性加以比較。在某些實施態樣中，這類計算之結果係以"摺疊純化"之型

式表示。用來代表結合活性之量的單位係取決於所使用之特殊分析。

在某些實施態樣中，多肽係經部分純化。在某些實施態樣中，部分純化可利用較少之純化步驟，或利用不同型式之相同一般純化計劃的不同型式來完成。例如：在某些實施態樣中，利用 HPLC 裝置來進行陽離子-交換管柱色層分析法通常可產生較利用低-壓色層分析系統的相同技術來得高的"摺疊純化"。在某些實施態樣中，產生較低純化度之方法有利於多肽完全回收，或維持多肽之結合活性。

在某些實施態樣中，多肽之電泳移動可根據 SDS/PAGE 之不同條件而有不同，有時會顯著不同。見，如：Capaldi et al., Biochem Biophys Res Comm, 76: 425 (1977)。吾人可察知：在不同之電泳條件下，純化或部分純化之多肽的表面分子量可能不同。

一些示範性抗原決定部位

在某些實施態樣中，提供抗-HGF 抗體結合之抗原決定部位（見，如：實施例 8，第 10 和 11 圖，及 SEQ ID NO.164 和 165）。在某些實施態樣中，HGF 抗原決定部位可用來阻止抗-HGF 抗體或專一性結合劑結合至 HGF。在某些實施態樣中，HGF 抗原決定部位可用來減少抗-HGF 抗體或專一性結合劑結合至 HGF。在某些實施態樣中，HGF 抗原決定部位可用來實質上抑制抗-HGF 抗體或

專一性結合劑結合至 HGF。當過量之抗原決定部位減少結合至 HGF 之抗-HGF 抗體或專一性結合劑的量至少約 20%、40%、60%、80%、85%，或更多時，抗原決定部位可實質上抑制抗-HGF 抗體或專一性結合劑結合至 HGF。在某些實施態樣中，HGF 抗原決定部位可用來結合抗-HGF 抗體或專一性結合劑。在某些實施態樣中，HGF 抗原決定部位可用來鑑定結合 HGF 之抗體或專一性結合劑。在某些實施態樣中，HGF 抗原決定部位可用來分離結合 HGF 之抗體或專一性結合劑。在某些實施態樣中，HGF 抗原決定部位可用來產生結合 HGF 之抗體或專一性結合劑。在某些實施態樣中，HGF 抗原決定部位可作為免疫原，以產生結合 HGF 之抗體或專一性結合劑。在某些實施態樣中，可將 HGF 抗原決定部位投予動物，以接著從該動物取得結合 HGF 之抗體。在某些實施態樣中，HGF 抗原決定部位可用來干擾正常之 HGF-Met 傳訊。

一些治療用途

在某些實施態樣中，提供治療癌症之方法，其包含投服治療上有效量之一或多種對 HGF 的專一性結合劑。在某些實施態樣中，提供治療癌症之方法，其包含投服治療上有效量之一或多種對 HGF 的專一性結合劑，及另一種治療劑。

在某些實施態樣中，提供治療或預防瘡疾之方法，其包含投服治療上有效量之一或多種對 HGF 的專一性結合

劑。在某些實施態樣中，提供治療或預防瘡疾之方法，其包含投服治療上有效量之一或多種對 HGF 的專一性結合劑，及另一種治療劑。

在某些實施態樣中，提供治療或預防增殖性糖尿病性腎病之方法，其包含投服治療上有效量之一或多種對 HGF 的專一性結合劑。在某些實施態樣中，提供治療或預防增殖性糖尿病性腎病之方法，其包含投服治療上有效量之一或多種對 HGF 的專一性結合劑，及另一種治療劑。

在某些實施態樣中，單獨投服對 HGF 之專一性結合劑。在某些實施態樣中，對 HGF 之專一性結合劑係在投服至少一種其它治療劑之前投服。在某些實施態樣中，對 HGF 之專一性結合劑係與至少一種其它治療劑同時投服。在某些實施態樣中，對 HGF 之專一性結合劑係在投服至少一種其它治療劑之後投服。治療劑包括，但不限於：至少一種其它癌症治療劑。示範性之癌症治療劑包括，但不限於：放射治療和化療。

本發明之藥學組成物可以組合療法投服，也就是與其它作用劑組合。在某些實施態樣中，組合治療包含一能結合 HGF 之專一性結合劑，加上至少一種抗血管生成劑。作用劑包括，但不限於：玻管內合成製備之化學組成物、抗體、抗原結合區、放射性核素，及其組合物和結合物。在某些實施態樣中，作用劑可作為激動劑、拮抗劑、異位調節劑，或毒素。在某些實施態樣中，作用劑可抑制或刺激其靶的（如：受體或酶之活化或抑制），以藉此促進細

胞死亡，或遏止細胞生長。

化療處理包括，但不限於：抗-惡性作用劑，包括，但不限於：烷基化作用劑，包括：氮芥，如：二氯甲基二乙胺、環磷醯胺、伊氟醯胺（ifosfamide）、左旋溶肉瘤素和苯丁酸氮芥；亞硝基尿素，如：雙氯乙基亞硝基尿素（BCNU）、洛慕斯汀（lomustine）（CCNU），和沙慕斯汀（semustine）（甲基-CCNU）、鐵莫達（Temodal）TM（鐵莫柔醯胺（temozolamide））、伸乙基亞胺/甲基蜜胺，如：三伸乙基蜜胺（TEM）、三乙烯、硫代磷醯胺（硫太巴（thiotepa））、六甲基蜜胺（HMM，歐特塔胺（altretamine））、磺酸烷酯類，如：白消安；三吡類，如：甲氮咪胺（DTIC）、抗代謝物，包括：葉酸同系物，如：氨甲喋呤和三美喋呤（trimetrexate）、嘧啶同系物，如：5-氟尿嘧啶（5FU）、氟去氧尿苷、傑塞塔賓（gemcitabine）、胞嘧啶樹膠醛糖苷（AraC，阿糖胞苷）、5-氮雜胞苷、2,2'-二氟去氧胞苷、嘌呤同系物，如：6-巯嘌呤、6-硫鳥糞嘌呤、氮雜硫嘌呤、2'-去氧基助間型黴素（戊史塔汀（pentostatin））、紅脛壬基腺嘌呤（EHNA）、磷酸氟達拉賓（fludarabin）和 2-氯去氧腺苷酸（克拉利賓（Cladribine），2-CdA）；天然產物，包括：抗有絲分裂藥物，如：派克利塔索（paclitaxel），長春花鹼，包括：長春花生物鹼（VLB）、長春花新鹼，和長春花利賓（vinorelbine），帖索泰（texotere）、雌醇芥，和磷雌醇芥，哌啶族毒素類

(ppipodophylotoxins) ， 如： 鬼 臼 乙 叉 苷 和 表 鬼 臼 毒 噻 吩 糖 苷； 抗 生 素 類， 如： 放 射 線 菌 素 D、 柔 毛 黴 素（ 紅 比 黴 素 ）、 阿 黴 素、 邁 朵 仙 隆（ mitoxantrone ）、 伊 達 如 辛 黴 素（ idarubicin ）、 博 來 黴 素、 光 輝 黴 素（ 光 神 黴 素 ）、 自 力 黴 素 C 和 放 射 黴 素； 酶 類， 如： L-天 門 冬 醯 胺 酶； 生 物 反 應 修 正 劑 類， 如： 干 擾 素- α 、 IL-2、 G-CSF 和 GM-CSF； 其 它 作 用 劑， 包 括： 鉑 協 調 複 合 物 類， 如： 氯 氨 鉑 和 碳 氨 鉑（ carboplatin ）、 蒽 二 酮 類， 如： 邁 朵 仙 隆， 經 取 代 之 脲， 如： 羥 基 脲， 甲 基 胍 衍 生 物 類， 包 括： N-甲 基 胍（ MIH） 和 甲 苳 胍， 腎 上 腺 皮 質 遏 抑 劑 類， 如： 氯 苯 二 氯 乙 烷（ o,p'-DDD） 和 胺 基 苯 乙 哌 啶 酮； 激 素 和 拮 抗 劑 類， 包 括： 腎 上 腺 皮 質 類 固 醇 拮 抗 劑 類， 如： 腎 上 腺 皮 質 酮 同 等 物、 氟 美 松 和 胺 基 苯 乙 哌 啶 酮； 傑 沙（ Gemzar）TM（ 傑 塞 塔 賓 ）、 黃 體 脂 酮， 如： 羥 基 黃 體 脂 酮 己 酸 化 物、 甲 基 乙 醯 氧 孕 前 酮 和 醋 酸 甲 地 孕 酮； 動 情 繳 素， 如： 二 乙 基 春 情 素 和 乙 炔 基 雌 二 醇 同 等 物； 抗 動 情 激 素， 如： 三 苯 氧 胺； 雄 性 素， 包 括： 丙 酸 甾 脂 酮 和 氟 羥 甲 基 甾 丸 素 /同 等 物； 抗 雄 性 素 類， 如： 氟 它 醯 胺（ flutamide ）， 促 性 腺 素 -釋 出 激 素 同 系 物 和 白 普 來（ leuprolide ）； 及 非-類 固 醇 類 抗 雄 性 素 類， 如： 氟 它 醯 胺。

可 與 對 HGF 之 專 一 性 結 合 劑 一 起 投 服 之 癌 症 治 療 劑 亦 包 括， 但 不 限 於： 被 瞄 準 之 治 療 劑。 被 瞄 準 之 治 療 劑 的 實 施 例 包 括， 但 不 限 於： 治 療 性 抗 體 之 用 途。 示 範 之 治 療

性抗體包括，但不限於：老鼠、老鼠-人類嵌合性、CDR-移植的、人類化的和完整的人類抗體，以及合成的抗體，包括，但不限於：經由篩選抗體集合庫所選出者。示範性之抗體包括，但不限於：那些結合至下列蛋白質上，且隨意地對顯示這些蛋白質之腫瘤細胞誘導出細胞抑制，及/或細胞毒殺效果的抗體：細胞表面蛋白質 Her2、CDC20、CDC33、似-黏蛋白之糖蛋白，及呈現在腫瘤細胞上之表皮生長因子受體（EGFR）。示範性之抗體亦包括：赫塞普汀（HERCEPTIN）TM（特蘇如美（trastuzumab）），其可用來治療乳癌及其它型態之癌症，和利突仙（RITUXAN）TM（利突西美（rituximab）），才瓦林（ZEVALIN）TM（伊比突莫美（ibritumomab tiuxetan）），格利維（GLEEVEC）TM，和淋弗塞得（LYMPHOCIDE）TM（伊普蘇美（epratuzumab）），其可用來治療非-霍吉金氏淋巴瘤及其它型態之癌症。一些示範性之抗體亦包括：爾必突（ERBITUX）TM（IMC-C225），爾提諾（ertinolib）（伊利沙（Iressa））；畢沙（BEXXAR）TM（碘 131 托蘇莫美（tositumomab））；KDR（激酶功能區塊受體）抑制劑；抗 VEGF 抗體和拮抗劑（如：艾維斯汀（Avastin）TM 和 VEGAF-TRAP）；抗 VEGF 受體抗體和抗原結合區；抗-Ang-1，和 Ang-2 抗體和抗原結合區；對 Tie-2 及其它 Ang-1，和 Ang-2 受體之抗體；Tie-2 配合體；對抗 Tie-2 激酶抑制劑之抗體；和坎伯斯（Campath）[®]（艾利蘇美（Alemtuzumab））。在

某些實施態樣中，癌症治療劑為選擇性地在腫瘤細胞中誘導細胞凋亡的多肽，包括，但不限於：TNF-相關之多肽 TRAIL。

在某些實施態樣中，癌症治療劑為減少血管生成之抗-血管生成劑。一些這類作用劑包括，但不限於：IL-8；坎伯斯，B-FGF；FGF 拮抗劑；Tek 拮抗劑（Cerretti et al., 美國專利案第 2003/0162712 號；Cerretti et al., 美國專利案第 6,413,932 號，及 Cerretti et al., 美國專利案第 6,521,424 號，其內容併為本專利申請案中任何目的之參考資料）；抗-TWEAK 作用劑（其包括，但不限於：抗體和抗原結合區）；可溶性 TWEAK 受體拮抗劑（Wiley, 美國專利案第 6,727,225 號）；拮抗黏合素結合其配合體之 ADAM 去組合蛋白功能區塊（Fanslow et al., 美國專利案第 2002/0042368 號）；抗-eph 受體和抗-艾夫林（ephrin）抗體；抗原結合區，或拮抗劑（美國專利案第 5,981,245 ； 5,728,813 ； 5,969,110 ； 6,596,852 ； 6,232,447 ； 6,057,124 號及其專利案一族成員）；抗-VEGF 作用劑，如：特異結合 VEGF 之抗體或抗原結合區，或可溶性 VEGF 受體或其配合體結合區）如：艾維斯汀（Avastin）TM 或 VEGF-TRAPTM，和抗-VEGF 受體作用劑（如：特異結合至其上之抗體或抗原結合區），EGFR 抑制劑（如：特異結合至其上之抗體或抗原結合區），如：潘提慕美（pantitumumab）、IRESSATM（傑夫提尼（gefitinib））、TARCEVATM（而洛提尼

(erlotinib))、抗-Ang-1 和抗-Ang-2 作用劑(如：特異結合至其上，或其受體之抗體或抗原結合區，如：Tie-2/TEK)，和抗-Tie-2 激酶抑制劑(如：特異結合並抑制生長因子之活性的抗體或抗原結合區，如：肝細胞生長因子(HGF，亦稱為散射因素)，及特異結合其受體"c-met"之抗體或抗原結合區；抗-PDGF-BB 拮抗劑；對 PDGF-BB 配合體之抗體和抗原結合區；及 PDGFR 激酶抑制劑。

在某些實施態樣中，癌症治療劑為血管生成抑制劑。一些這類抑制劑包括，但不限於：SD-7784(輝瑞，美國)；塞蘭吉肽(cilengitide)(默克 KGaA，德國，EPO 770622)；八鈉佩佳坦尼(pegaptanib octasodium)(吉利(Gilead)科學，美國)；艾菲史塔汀(Alphastatin)(BioActa，英國)；M-PGA(塞爾金(Celgene)，美國，US 5712291)；伊洛瑪泰(ilomastat)(艾利瓦(Arriva)，美國，US 5892112)；塞瑪仙尼(semaxanib)(輝瑞，美國，US 5792783)；維他拉尼(vatalanib)(諾瓦提斯(Novartis)，瑞士)；2-甲氧基雌二醇(安得美(EntreMed)，美國)；TLC ELL-12(艾倫(Elan)，愛爾蘭)；醋酸安可他(anecortave acetate)(艾爾康(Alcon)，美國)； α -D148 Mab(安金(Amgen)，美國)；CEP-7055(塞法隆(Cephalon)，美國)；抗-Vn Mab(庫塞爾(Crucell)，荷蘭)；DAC：抗血管生成(康化(ConjuChem，加拿大)；安吉西汀

(Angiocidin) (因凱 (InKine) 製藥 , 美國) ; KM-2550 (Kyowa Hakko , 日本) ; SU-0879 (輝瑞 , 美國) ; CGP-79787 (諾瓦提斯 , 瑞士 , EP 970070) ; ARGENT 技術 (艾列雅得 (Ariad) , 美國) ; YIGSR-史提斯 (Stealth) (強生 , 美國) ; 纖維蛋白原-E 片段 (BioActa , 英國) ; 血管生成抑制劑 (特利金 (Trigen) , 英國) ; TBC-1635 (英塞辛 (Encysive) 製藥 , 美國) ; SC-236 (輝瑞 , 美國) ; ABT-567 (亞培 , 美國) ; 曼塔史塔汀 (Metastatin) (安得美 , 美國) ; 血管生成抑制劑 , (特利普 (Tripep) , 瑞典) ; 瑪斯平 (maspin) (舒塞 (Sosei) , 日本) ; 2-甲氧基雌二醇 (腫瘤科學公司 , 美國) ; ER-68203-00 (IVAX , 美國) ; 貝尼芬 (Benefin) (蘭實驗室 (Lane Labs) , 美國) ; Tz-93 (蘇慕拉 (Tsumura) , 日本) ; TAN-1120 (塔奇達 (Takeda) , 日本) ; FR-111142 (富吉沙 (Fujisawa) , 日本 , JP 02233610) ; 血小板因子 4 (瑞比利金 (RepliGen) , 美國 , EP 407112) ; 血管內皮生長因子拮抗劑 (波利安 (Borean) , 丹麥) ; 癌症治療劑 (南加州大學 , 美國) ; 貝瓦西如美 (Bevacizumab) (pINN) (金泰克 (Genentech) , 美國) ; 血管生成抑制劑 (SUGEN , 美國) ; XL 784 (艾西利斯 (Exelixis) , 美國) ; XL647 (艾西利斯 , 美國) ; MAb , $\alpha 5\beta 3$ 黏合素 , 第二代 (應用分子演化 , 英國 , 和醫用免疫公司 , 美國) ; 基因治療 , 腎病 (牛津生物醫

學，英國）；英沙陶林（enzastaurin）氫氯化物（USAN）（禮來，美國）；CEP 7055（塞法隆，美國，和珊諾非-合成實驗室（Sanofi-Synthelabo），法國）；BC 1（吉那歐癌症研究機構，義大利）；血管生成抑制劑（歐克米（Alchemia），澳洲）；VEGF 拮抗劑（瑞吉隆（Regeneron），美國）；rBPI 21 和 BPI-衍生之抗血管生成劑（XOMA，美國）；PI 88（普洛金（Progen），澳洲）；塞倫吉肽（cilengitide）（pINN）（默克 KGaA，德國；慕尼黑科技大學，德國，史克利普臨床和研究基金會，美國）；塞突西美（cetuximab）（INN）（艾文提斯（Aventis），法國）；AVE 8062（日清，日本）；AS 1404（癌症研究實驗室，紐西蘭）；SG 292（泰利歐（Telios），美國）；內史塔汀（Endostatin）（波士頓兒童醫院，美國）；ATN 161（安提農（Attenoun），美國）；血管史塔汀（Angiostatin）（波士頓兒童醫院，美國）；2-甲氧基雌二醇（波士頓兒童醫院，美國）；ZD 6474（艾特芮妮卡（AstraZeneca），英國）；ZD 6126（安吉歐金（Angiogene）製藥，英國）；PPI 2458（普瑞西（Praecis），美國）；AZD 9935（艾特芮妮卡，英國）；AZD 2171（艾特芮妮卡，英國）；維他拉尼（vatalanib）（pINN）（諾瓦提斯，瑞士，和仙靈 AG，德國）；組織因子途徑抑制劑（安得美，美國）；佩佳坦尼（pegaptanib）（吉利）科學，美國）；仙索羅（xanthorrhizol）（永西（Yonsei）大學，南韓）；疫

苗，以基因爲基礎，VEGF-2（史克利普臨床和研究基金會，美國）；SPV5.2（超技術（Supratek），加拿大）；SDX 103（加州大學聖地牙哥分校，美國）；PX 478（ProIX，美國）；曼塔史塔汀（安得美，美國）；托普寧（troponin）I（哈佛大學，美國）；SU 6668（SUGEN，美國）；OXI 4503（OXiGENE，美國）；鄰-胍（次元製藥，美國）；莫突玻胺 C（motuporamineC）
 ●（英國哥倫比亞大學，加拿大）；CDP 791（細胞技術群（Celltech Group），英國）；艾提普莫（Atiprimod）（pINN）（葛蘭素史密斯克來，英國）；E7820（艾沙（Eisai），日本）；CYC381（哈佛大學，美國）；AE 941（艾特納（Aterna），加拿大）；疫苗，血管生成（安得美，美國）；尿激酶纖維蛋白溶酶原活化因子抑制劑（丹德翁（Dendreon），美國）；歐庫芬尼（Oglufanide）（pINN）（美爾莫（Melmotte），美國）
 ●（美國）；HIF-1 α 抑制劑（塞諾瓦（Xenova），英國）；CEP 5214（塞法隆，美國）；BAY RES 2622（拜爾，德國）；安吉西汀（Angiocidin）（殷凱（InKine），美國）；A6（安斯壯（Angstrom），美國）；KR 31372（韓國化學技術研究機構，南韓）；GW 2286（葛蘭素史密斯克來，英國）；EHT 0101（艾松希（ExonHit），法國）；CP 868596（輝瑞，美國）；CP 564959（OSI，美國）；GP 547632（輝瑞，美國）；786034（葛蘭素史密斯克來，英國）；KRN 633（奇林布威（Kirin

Brewery) , 日本) ; 藥物遞送系統、眼內、2-甲氧基雌
 二醇 (安得美, 美國) ; 安吉內克 (anginex) (馬斯特
 克 (Maastricht) 大學, 荷蘭, 及明尼蘇達大學, 美
 國) ; ABT 510 (亞培, 美國) ; AAL 993 (諾瓦提斯,
 瑞士) ; VEGI (普洛提歐 (Proteom) 技術, 美國) ; 腫
 瘤壞死因子- α 抑制劑 (國際老化問題組織, 美國) ; SU
 11248 (輝瑞, 美國, 和 SUGEN, 美國) ; ABT518 (亞
 培, 美國) ; YH 16 (揚泰隆昌, 中國) ; S-3APG (波士頓
 兒童醫院, 美國, 和安得美, 美國) ; MAb、KDR (殷
 克隆 (ImClone) 系統, 美國) ; MAb、 $\alpha 5\beta 1$ (蛋白質設
 計, 美國) ; KDR 激酶抑制劑 (細胞技術群, 英國; 和
 強森 & 強森, 美國) ; GFB 116 (南佛羅里達大學, 美
 國, 和耶魯大學, 美國) ; CS 706 (山奇歐 (Sankyo) ,
 日本) ; 坎布利塔史塔汀 (Combretastatin) A4 先驅藥物
 (亞歷桑那州立大學, 美國) ; 軟骨膠酶 AC (IBEX, 加
 拿大) ; BAY RES 2690 (拜爾, 德國) ; AGM 1470 (哈
 佛大學, 美國、塔奇達 (Takeda) , 日本, 和 TAP, 美
 國) ; AG 13925 (阿庫隆 (gouron) , 美國) ; 四硫鉬酸
 化物 (密西根大學, 美國) ; GCS 100 (韋恩州立大學,
 美國) ; CV 247 (常春藤醫學, 英國) ; CKD 732 (中庫
 丹 (Chong Kun Dang) , 南韓) ; MAb、血管內皮生長因
 子 (仙諾瓦 (Xenova) , 英國) ; 艾索葛汀
 (irsogladine) (INN) (日本新雅庫 (Nippon
 Shinyaku) , 日本) ; RG 13577 (艾文提斯 (Aventis) ,

法國) ; WX 360 (威勒克斯 (Wilex) , 德國) ; 角鯊胺
 (pINN) (吉芮拉 (Genaera) , 美國) ; RPI 4610 (希
 那 (Sirna) , 美國) ; 癌症治療劑 (馬林諾瓦
 (Marinova) , 澳州) ; 乙醯肝素酶抑制劑 (因塞特
 (InSight) , 以色列) ; KL 3106 (柯隆 (Kolon) , 南
 韓) ; 霍諾奇 (Honokiol) (艾莫利大學, 美國) ; ZK
 CDK (仙林 AG, 德國) ; ZK 安吉歐 (仙林 AG, 德
 國) ; ZK 229561 (諾瓦提斯 (Novartis) , 瑞士, 和仙林
 AG, 德國) ; XMP 300 (XOMA, 美國) ; VGA 1102
 (太修 (Taisho) , 日本) ; VEGF 受體調節劑 (法馬柯
 佩 (Pharmacopeia) , 美國) ; VE-卡德林 (cadherin) -2
 拮抗劑 (殷克隆系統, 美國) ; 血管史塔汀
 (Vasostatin) (國家健康組織, 美國) ; 疫苗、Flk-1
 (殷克隆系統, 美國) ; TZ 93 (蘇慕拉 (Tsumura) , 日
 本) ; 湯史塔汀 (TumStatin) (貝斯以色列醫院, 美
 國) ; 截形可溶性 FLT 1 (血管內皮生長因子受體 1)
 (默克公司, 美國) ; Tie-2 配合體 (利金隆
 (Regeneron) , 美國) ; 血栓史潘汀 (thrombospondin)
 1 抑制劑 (艾利珍尼 (Allegheny) 健康教育和研究基金
 會, 美國) ; 2-苯磺醯胺, 4-(5-(4-氯苯基)-3-(三氟
 甲基)-1H-吡唑-1-基)-; 艾利瓦 (Arriva) ; 和 C-Met。
 AVE 8062 ((2S) -2-胺基-3-羥基-N-[2-甲氧基-5-
 [(1Z)-2-(3,4,5-三甲氧苯基) 乙烯基] 苯基] 丙醯胺
 一氫氯化物) ; 美泰利慕美 (metelimumab) (pINN)

(免疫球蛋白 G4 , 抗 - (人類轉形生長因子 . β .1. (人類單株 CAT 192. γ .4-鏈)) , 加上人類單株 CAT 192. κ -鏈二聚體之二硫化物) ; Flt3 配合體 ; CD40 配合體 ; 介白素 -2 ; 介白素 -12 ; 4-1BB 配合體 ; 抗 -4-1BB 抗體 ; TNF 拮抗劑和 TNF 受體拮抗劑 , 包括 : TNFR/Fc , TWEAK 拮抗劑和 TWEAK-R 拮抗劑 , 包括 : TWEAK-R/Fc ; TRAIL ; VEGF 拮抗劑 , 包括 : 抗 -VEGF 抗體 ; VEGF 受體 (包括 : VEGF-R1 和 VEGF-R2 , 亦稱為 Flt1 和 Flk1 或 KDR) 拮抗劑 ; CD148 (亦稱為 DEP-1 , ECRTF , 和 PTPRJ , 見 : Takahashi et al., J. Am. Soc. Nephrol. 10 : 2135-45 (1999) , 其併為本專利申請案中任何目的之參考資料) 激動劑 ; 血栓素 A₂ 拮抗劑 , 和 Tie-2 或 Tie-2 配合體 (如 : Ang-2) 二者之一 , 或此二者之抑制劑。本技藝中已知多種 Ang-2 之抑制劑 , 包括 : 已出版之美國專利申請案第 20030124129 號 (相當於 PCT 申請案第 WO 03/030833 號) 和美國專利案第 6,166,185 號 (其內容全部併為本專利申請案之參考資料) 中所描述之抗 - Ang-2 抗體。另外 , 本技藝亦知 Ang-2 肽體 , 其可在 , 如已出版之美國專利申請案第 20030229023 號 (相當於 PCT 申請案第 WO 03/057134 號) 和已出版之美國專利申請案第 20030236193 號中找到 , 其內容全部併為本專利申請案之參考資料。

一些癌症治療劑包括 , 但不限於 : 沙利竇邁和沙利竇邁同系物 (N- (2,6-二酮基 -3-六氫吡啶基) 酞醯亞胺) ;

泰可嘉蘭鈉 (tecogalan sodium) (硫酸化之多醣肽聚醣) ; TAN 1120 (8-乙醯基-7,8,9,10-四氫-6,8,11-三羥基-1-甲氧基-10-〔〔八氫-5-羥基-2-(2-羥丙基)-4,10-二甲基吡喃並〔3,4-d〕-1,3,6-二𪔐若辛(dioxazocin)-8-基〕氧基〕-5,12-萘甾二酮) ; 蘇拉狄斯塔 (suradista) (7,7'-〔羰基雙〔亞胺基(1-甲基-1H-吡咯-4,2-二基)羰亞胺基(1-甲基-1H-吡咯-4,2-二基)羰亞胺基〕〕雙-1,3-萘二磺酸四鈉鹽) ; SU 302 ; SU 301 ; SU 1498 ((E) -2-氰基-3-〔4-羥基-3,5-雙(1-甲基乙基)苯基〕-N-(3-苯丙基)-2-丙烯醯胺) ; SU 1433 (4-(6,7-二甲基-2-喹啉基)1,2-苯二醇) ; ST 1514 ; SR 25989 ; 可溶性 Tie-2 ; SERM 衍生物, 法莫斯 (Pharmos) ; 沙美仙尼 (semaxanib) (pINN) (3-〔(3,5-二甲基-1H-吡咯-2-基)伸甲基〕-1,3-二氫-2H-吡啶-2-酮) ; S 836 ; RG 8803 ; RESTIN ; R 440 (3-(1-甲基-1H-吡啶-3-基)-4-(1-甲基-6-硝基-1H-吡啶-3-基)-1H-吡咯-2,5-二酮) ; R 123942 (1-〔6-(1,2,4-噻二唑-5-基)-3-噻吡〕-N-〔3-(三氟甲基)苯基〕-4-六氫吡啶胺) ; 脯胺醯基羥基酶抑制劑 ; 進展提昇之基因 ; 普林諾美史達 (prinomastat) (INN) ((S) -2,2-二甲基-4-〔〔對-(4-吡啶氧基)苯基〕磺醯基〕-3-三嗎福啉羰基羅沙米酸 (roxamic acid)) ; NV 1030 ; NM 3 (8-羥基-6-甲氧基- α -甲基-1-酮基-1H-2-苯並吡喃-3-醋酸) ; NF 681 ; NF 050 ; MIG ; METH 2 ; METH 1 ; 馬內仙汀 B (manassantin B) (α -

[1- [4- [5- [4- [2- (3,4-二甲氧苯基) -2-羥基 -1-甲基
 乙氧基] -3-甲氧苯基] 四氫 -3,4-二甲基 -2-呋喃基] -2-甲
 氧苯氧基] 乙基] -1,3-苯並二呋喃 -5-甲醇) ; KDR 單株
 抗體 ; $\alpha 5 \beta 3$ 黏合素單株抗體 ; LY 290293 (2-胺基 -4-
 (3-吡啶基) -4H-萘並 [1,2-b] 吡喃 -3-碳腈) ; KP
 0201448 ; KM 2550 ; 黏合素-專一性肽 ; INGI 401 ; GYKI
 66475 ; GYKI 66462 ; 葛林史塔汀 (greenstatin) (101-
 354-血漿蛋白原 (人類)) ; 類風濕性關節炎、攝護腺
 癌、卵巢癌、小神經膠瘤、內史塔汀、結腸直腸癌、ATF
 BTPI、抗血管生成基因、血管生成抑制劑，或血管生成之
 基因治療劑；膠酶抑制劑，FR 111142 (4,5-二羥基 -2-己
 烯酸 -5-甲氧基 -4- [2-甲基 -3- (3-甲基 -2-丁烯基) 環氧乙
 烷基] -1-氧雜螺 [2,5] 辛 -6-基酯) ; 氟芬尼邁 (pINN)
 (S) - α -胺基 -3-羥基 -4- (羥甲基) 苯醋酸) ; 纖維結合
 素拮抗劑 (1-乙醯基 -L-脯胺醯基 -L-組胺醯基 -L-絲胺醯
 基 -L-半胱胺醯基 -L-天門冬醯胺) ; 纖維母細胞生長因子
 受體抑制劑 ; 纖維母細胞生長因子拮抗劑 ; FCE 27164
 (7,7'- [羰基雙 [亞胺基 (1-甲基 -1H-吡咯 -4,2-二基) 羰
 亞胺基 (1-甲基 -1H-吡咯 -4,2-二基) 羰亞胺基]] 雙 -
 1,3,5-萘三磺酸 -六鈉鹽) ; FCE 26752 (8,8'- [羰基雙
 [亞胺基 (1-甲基 -1H-吡咯 -4,2-二基) 羰亞胺基 (1-甲基 -
 1H-吡咯 -4,2-二基) 羰亞胺基]] 雙 -1,3,5-萘三磺酸) ;
 內皮單核細胞活化多肽 II ; VEGFR 反義寡核苷酸 ; 抗-血
 管生成和滋養因子 ; ANCHOR 血管拮抗劑 ; 內史塔汀 ;

Del-1 血管生成蛋白質；CT 3577；康德托史塔汀（contortrostatin）；CM 101；軟骨膠酶 AC；CDP 845；坎史塔汀（CanStatin）；BST 2002；BST 2001；BLS 0597；BIBF 1000；ARRESTIN；艾波米格（apomigren）（1304-1388-XV 型膠原蛋白（人類基因 COL 15A1 α 1-鏈先質 1）；血管抑制素（angioinhibin）；aa ATIII；A36； 9α -氟甲氧基黃體脂酮醋酸化物（（6- α ）-17-（乙醯氧基）-9-氟-6-甲基-孕-4-烯-3,20-二酮）；2-甲基-2-酞醯亞胺基-戊二酸（2-（1,3-二氫-1-酮基-2H-異吡啶-2-基）-2-甲基戊二酸）；經鏡 90 標示之單株抗體 BC-1；沙美仙尼（Semaxanib）（3-（4,5-二甲基吡咯-2-基伸甲基）吡啶-2-酮）（C15 H14 N2 O）；PI 88（硫酸磷甘露戊糖）；歐弗西廸（Alvocidib）（4H-1-苯並吡喃-4-酮,2-（2-氯苯基）-5,7-二羥基-8-（3-羥基-1-甲基-4-六氫吡啶基）-順-（-）-）（C21 H20 Cl N O5）；E7820；SU 11248（5-〔3-氟-2-酮基-1,2-二氫亞吡啶-（3Z）-烯基甲基〕-2,4-二甲基-1H-吡咯-3-羧酸（2-二乙胺乙基）醯胺）（C22 H27 F N4 O2）；史夸胺（Squalamine）（膽堿-7,24-二醇,3-〔〔3-〔（4-胺丁基）胺丙基〕胺基〕-,24-（硫酸氫）,（3. β .,5. α .,7. α .)-〕（C34 H65 N3 O5 S）；羊毛銻黑 T；AGM 1470（胺基碳酸,（氯乙醯基）-,5-甲氧基-4-〔2-甲基-3-（3-甲基-2-丁烯基）環氧乙烷基〕-1-氧雜螺〔2,5〕辛-6-基酯,〔3R-〔3 α ,4 α （2R,3R）,5 β ,6 β 〕〕〕（C19 H28 Cl N O6）；AZD

9935 ; BIBF 1000 ; AZD 2171 ; ABT 828 ; KS-介白素-2 ;
 子宮球蛋白 ; A6 ; NSV639366 (1- [3- (二乙胺基) -2-羥
 丙胺基] -4- (環氧乙烷-2-基甲胺基) 蔥醌丁烯二酸酯)
 (C24 H29 N3 O4 . C4 H4 O4) ; ISV 616 ; 抗-ED-B 融合
 蛋白質 ; HUI 77 ; 托彭寧 (Troponin) I ; BC-1 單株抗
 體 ; SPV 5.2 ; ER 68203 ; CKD 731 (3- (3,4,5-三甲氧苯
 基) -2 (E) -丙烯酸 (3R,4S,5S,6R) -4 [2 (R) -甲基-3
 (R) -3 (R) - (3-甲基-2-丁烯基) 環氧乙烷-2-基] -5-甲
 氧基-1-氧雜螺 [2,5] 辛-6-基酯) (C28 H38 O8) ; IMC-
 1C11 ; aaAT III ; SC 7 ; CM 101 ; 安吉歐可
 (Angiocol) ; 克林哥 (Kringle) 5 ; CKD 732 (3- [4-
 [2- (二甲胺基) 乙氧基] 苯基] -2 (E) -丙烯酸)
 (C29 H41 N O6) ; U 995 ; 肯史塔汀 (Canstatin) ; SQ
 885 ; CT 2584 (1- [11- (十二烷胺基) -10-羥十一烷
 基] -3,7-二甲基黃嘌呤) (C30 H55 N5 O3) ; 沙莫辛
 (Salmosin) ; EMAP II ; TX 1920 (1- (4-甲基六氫吡
 啶基) -2- (2-硝基-1H-1-咪唑基) -1-乙酮) (C10 H15
 N5 O3) ; α -v β -x 抑制劑 ; CHIR 11509 (N- (1-丙炔
 基) 甘胺醯基- [N- (2-萘基)] 甘胺醯- [N- (胺甲醯基
 甲基)] 甘胺酸 雙 (4-甲氧苯基) 甲醯胺) (C36 H37
 N5 O6) ; BST 2002 ; BST 2001 ; B 0829 ; FR 111142 ;
 4,5-二羥基-2 (E) -己烯酸 (3R,4S,5S,6R) -4- [1 (R) ,2
 (R) -環氧基-1,5-二甲基-4-己烯基] -5-甲氧基-1-氧雜螺
 [2,5] 辛-6-基酯 (C22 H34 O7) ; 和激酶抑制劑 , 包

括，但不限於：N-（4-氯苯基）-4-（4-吡啶甲基）-1-酞
 吡啶胺；4-〔4-〔〔〔〔4-氯-3-（三氟甲基）苯基〕胺基〕
 羰基〕胺基〕苯氧基〕-N-甲基-2-吡啶羧醯胺；N-〔2-
 （二乙胺基）乙基〕-5-〔（5-氟-1,2-二氫-2-酮基-3H-亞
 吡啶-3-烯基）甲基〕-2,4-二甲基-1H-吡咯-3-羧醯胺；3-
 〔（4-溴-2,6-二氟苯基）甲氧基〕-5-〔〔〔〔4-（1-吡咯
 烷基）丁基〕胺基〕羰基〕胺基〕苯氧基〕-4-異噻唑羧
 ●醯胺；N-（4-溴-2-氟苯基）-6-甲氧基-7-〔（1-甲基-4-六
 氫吡啶基）甲氧基〕-4-噻唑啉胺；3-〔5,6,7,13-四氫-9-
 〔（1-甲基乙氧基）甲基〕-5-酮基-12H-茛並〔2,1-a〕吡
 咯並〔3,4-c〕呋唑-12-基〕丙酯 N,N-二甲基-甘胺酸；N-
 〔5-〔〔〔〔5-（1,1-二甲基乙基）-2-噁唑基〕甲基〕硫
 基〕-2-噻唑基〕-4-六氫吡啶羧醯胺；N-〔3-氯-4-〔（3-
 氟苯基）甲氧基〕苯基〕-6-〔5-〔〔〔〔2-（甲磺醯基）乙
 基〕胺基〕甲基〕-2-呋喃基〕-4-噻唑啉胺；4-〔（4-甲
 ●基-1-六氫吡啶）甲基〕-N-〔4-甲基-3-〔〔〔4-（3-吡啶
 基）-2-嘧啶基〕胺基〕-苯基〕苯醯胺；N-（3-氯-4-氟苯
 基）-7-甲氧基-6-〔3-（4-嗎福啉基）丙氧基〕-4-噻唑啉
 胺；N-（3-乙炔苯基）-6,7-雙（2-甲氧乙氧基）-4-噻唑啉
 胺；N-（3-（（（（2R）-1-甲基-2-吡咯烷基）甲基）氧
 基）-5-（三氟甲基）苯基）-2-（（3-（1,3-噁唑-5-基）
 苯基）胺基）-3-吡啶羧醯胺；2-（（（4-氟苯基）甲基）
 胺基）-N-（3-（（（（2R）-1-甲基-2-吡咯烷基）甲基）
 氧基）-5-（三氟甲基）苯基）-3-吡啶羧醯胺；N-〔3-

(雜氮環丁烷-3-基甲氧基) -5-三氟甲基-苯基] -2- (4-
 氟-苄胺基) -菸醯胺 ; 6-氟-N- (4- (1-甲基乙基) 苯基) -
 2- ((4-吡啶甲基) 胺基) -3-吡啶羧醯胺 ; 2- ((4-吡啶
 甲基) 胺基) -N- (3- (((2S) -2-吡咯烷基甲基) 氧
 基) -5- (三氟甲基) 苯基) -3-吡啶羧醯胺 ; N- (3- (1,1-
 二甲基乙基) -1H-吡啶-5-基) -2- ((4-吡啶甲基) 胺
 基) -3-吡啶羧醯胺 ; N- (3,3-二甲基-2,3-二氫-1-苯並呋
 喃-6-基) -2- ((4-吡啶甲基) 胺基) -3-吡啶羧醯胺 ; N-
 (3- ((((2S) -1-甲基-2-吡咯烷基) 甲基) 氧基) -5-
 (三氟甲基) 苯基) -2- ((4-吡啶甲基) 胺基) -3-吡啶
 羧醯胺 ; 2- ((4-吡啶甲基) 胺基) - N- (3- ((2- (1-吡
 咯烷基) 乙基) 氧基) -4- (三氟甲基) 苯基) -3-吡啶羧
 醯胺 ; N- (3,3-二甲基-2,3-二氫-1H-吡啶-6-基) -2- ((4-
 吡啶甲基) 胺基) -3-吡啶羧醯胺 ; N- (4- (五氟乙基) -
 3- (((2S) -2-吡咯烷基甲基) 氧基) 苯基) -2- ((4-吡
 啶甲基) 胺基) -3-吡啶羧醯胺 ; N- (3- ((3- (雜氮環丁
 烷基甲基) 氧基) -5-三氟甲基) 苯基) -2- (4-吡啶甲
 基) 胺基) -3-吡啶羧醯胺 ; N- (3- (4-六氫吡啶氧基) -
 5-三氟甲基) 苯基) -2- ((2- (3-吡啶) 乙基) 胺基) -3-
 吡啶羧醯胺 ; N- (4,4-二甲基-1,2,3,4-四氫-異喹啉-7-
 基) -2- (1H-吡啶-6-基胺基) -菸醯胺 ; 2- (1H-吡啶-6-基
 胺基) -N- [3- (1-甲基吡咯烷-2-基甲氧基) -5-三氟甲
 基) 苯基] -菸醯胺 ; N- [1- (2-二甲基胺基-乙醯基) -
 3,3-二甲基-2,3-二氫-1H-吡啶-6-基] -2- (1H-吡啶-6-基胺

基)-菸醯胺；2-(1H-吡啶-6-基胺基)-N-[3-(吡咯烷-2-基甲氧基)-5-三氟甲基)苯基]-菸醯胺；N-(1-乙醯基-3,3-二甲基-2,3-二氫-1H-吡啶-6-基)-2-(1H-吡啶-6-基胺基)-菸醯胺；N-(4,4-二甲基-1-酮基-1,2,3,4-四氫-異喹啉-7-基)-2-(1H-吡啶-6-基胺基)-菸醯胺；N-[4-(第三-丁基)-3-(3-六氫吡啶基丙基)苯基][2-(1H-吡啶-6-基胺基)(3-吡啶基)]羧醯胺；N-[5-(第三-丁基)異喹啉-3-基][2-(1H-吡啶-6-基胺基)(3-吡啶基)]羧醯胺；和 N-[4-(第三-丁基)苯基][2-(1H-吡啶-6-基胺基)(3-吡啶基)]羧醯胺，和揭示於下列文獻中之激酶抑制劑：美國專利案第 6,258,812 號；6,235,764 號；6,630,500 號；6,515,004 號；6,713,485 號；5,521,184 號；5,770,599 號；5,747,498 號；5,990,141 號；美國刊物案第 US20030105091 號；和專利合作條約刊物第 WO01/37820 號；WO01/32651 號；WO02/68406 號；WO02/66470 號；WO02/55501 號；WO04/05279 號；WO04/07481 號；WO04/07458 號；WO04/09784 號；WO02/59110 號；WO09/45009 號；WO98/35958 號；WO00/59509 號；WO99/61422 號；WO00/12089 號；和 WO00/02871 號，各刊物併為本專利申請案中任何目的之參考資料。

在某些實施態樣中，對 HGF 之專一性結合劑可在投服癌症治療劑之前、同時，或治療之後投服。在某些實施態樣中，對 HGF 之專一性結合劑可以預防方式投服，以

預防或緩和因癌症轉移所開始的骨質流失。在某些實施態樣中，可投服對 HGF 之專一性結合劑以治療因癌症轉移所存在之骨質流失狀況。

示範性之癌症包括，但不限於：乳癌、結腸直腸癌、胃癌、神經膠瘤、頭和頸鱗狀細胞癌、遺傳性和偶發性乳頭狀腎癌、白血病、淋巴瘤、李-弗洛曼尼徵候群、惡性肋膜間皮瘤、黑色素瘤、多發性骨髓瘤、非-小細胞肺癌、骨肉瘤、卵巢癌、胰臟癌、攝護腺癌、小細胞肺癌、滑膜肉瘤、甲狀腺癌，及膀胱之移行細胞癌。

在某些實施態樣中，對 HGF 之專一性結合劑可單獨使用，或與至少一種用於治療癌症之其它治療劑一起使用。在某些實施態樣中，對 HGF 之專一性結合劑係與一治療上有效量之其它治療劑一起使用。可與對 HGF 之專一性結合劑一起使用之示範性治療劑包括，但不限於：茴香黴素抗生素之格爾德黴素族的一員；前-HGF；NK2；c-Met 肽抑制劑；Grb2 Src 同系 2 之拮抗劑；Gab1 調節劑；顯性-陰性 Src；凡-希伯-蘭道 von-Hippel-Landau 抑制劑，包括，但不限於：瓦特曼寧（wortmannin）；P13 激酶抑制劑，其它抗-受體治療劑、抗 EGFR、COX-2 抑制劑、希樂葆（Celebrex）TM、維歐克斯（Vioxx）TM；血管內皮生長因子（VEGF）、VEGF 調節劑、纖維母細胞生長因子（FGF）、FGF 調節劑、表皮生長因子（EGF）、EGF 調節劑、角質細胞生長因子（KGF）、KGF-相關分子、KGF 調節劑；基質金屬蛋白酶（MMP）調節劑。

在某些實施態樣中，將對 HGF 之專一性結合劑與特殊之治療劑一起使用，以治療不同的癌症。在某些實施態樣中，將對 HGF 之專一性結合劑與特殊之治療劑一起使用，以治療或預防瘡疾。在某些實施態樣中，將對 HGF 之專一性結合劑與特殊之治療劑一起使用，以治療或預防增殖性糖尿病性腎病。在某些實施態樣中，鑑於病況和所需之治療水準，可投服一、二、三，或更多之作用劑。在某些實施態樣中，可經由將這類作用劑包含在相同調和物內來一起提供。在某些實施態樣中，可經由將這類作用劑和對 HGF 之專一性結合劑包含在相同調和物來一起提供。在某些實施態樣中，可將這類作用劑分別調配，再將其包含在一治療套組中一起提供。在某些實施態樣中，可將這類作用劑分別提供。在某些實施態樣中，當經由基因治療來投服時，可將編碼蛋白質作用劑之基因，及/或對 HGF 之專一性結合劑包含在相同載體中。在某些實施態樣中，編碼蛋白質作用劑之基因，及/或對 HGF 之專一性結合劑可受相同啟動因子區之控制。在某些實施態樣中，可將編碼蛋白質作用劑之基因，及/或對 HGF 之專一性結合劑包含在分開之載體中。

在某些實施態樣中，本發明提供含有對 HGF 之專一性結合劑，加上藥學上可接受之稀釋劑、載體、助溶劑、乳化劑、防腐劑，及/或佐劑的藥學組成物。

在某些實施態樣中，本發明提供含有對 HGF 之專一性結合劑，及一治療上有效量之至少一種其它治療劑，加

上藥學上可接受之稀釋劑、載體、助溶劑、乳化劑、防腐劑，及/或佐劑的藥學組成物。

在某些實施態樣中，本發明針對含有對 HGF 之專一性結合劑，及一治療上有效量之至少一種絲胺酸蛋白酶抑制劑的治療劑，以及利用這類治療劑的治療方法。在某些實施態樣中，治療劑含有對 HGF 之專一性結合劑，和絲胺酸蛋白酶抑制劑，以及至少一種此處所描述之其它分子。

在某些情況中，擾亂蛋白酶/蛋白酶抑制劑之平衡可導致蛋白酶-傳介之組織破壞，包括，但不限於：腫瘤侵入正常組織，導致轉移。

在某些實施態樣中，對 HGF 之專一性結合劑可與至少一種用於發炎之治療劑一起使用。在某些實施態樣中，對 HGF 之專一性結合劑可與至少一種用於免疫疾病之治療劑一起使用。用於發炎和免疫疾病之示範性治療劑包括，但不限於：38kDa 有絲分裂因子-活化之蛋白質激酶（p38-MAPK）的第 1 型環氧酶（COX-1）和第 2 型環氧酶（COX-2）抑制劑的小分子調節劑；涉及發炎途徑之細胞內分子的小分子調節劑，其中這類細胞內分子包括，但不限於：jnk、IKK、NF- κ B、ZAP70，和 lck。一些用於發炎之示範性治療劑描述於，如：C.A. Dinarello and L.L. Moldawer Proinflammatory and Anti-Inflammatory Cytokines in Rheumatoid Arthritis : A Primer for Clinicians Third Edition (2001) Amgen Inc. Thousand

Oaks, CA 中。

在某些實施態樣中，藥學組成物將包括超過一種不同之對 HGF 的專一性結合劑。在某些實施態樣中，藥學組成物將包括超過一種對 HGF 的專一性結合劑，其中該對 HGF 之專一性結合劑結合超過一種抗原結合部位。

在某些實施態樣中，可接受之配方物質在所使用之劑量和濃度下宜為對受者無毒性。

在某些實施態樣中，藥學組成物可含有用於修改、維持或保存下列各項的配方物質，如：pH、滲透壓、黏度、澄明度、顏色、等張性、氣味、無菌性、穩定性、溶解或釋出之速度、組成物之吸收或滲透。在某些實施態樣中，合適之配方物質包括，但不限於：胺基酸（如：甘胺酸、麩胺醯胺、天門冬醯胺、精胺酸，或賴胺酸）；抗微生物劑；抗氧化劑（如：壞血酸、亞硫酸鈉，或氫化鈉-亞硫酸鹽）；緩衝劑（如：硼酸鹽、碳酸氫鹽、Tris-HCl、檸檬酸鹽、磷酸鹽，或其它有機酸）；膨脹劑（如：甘露糖醇，或甘胺酸）；螯合劑（如：乙二胺四醋酸（EDTA））；複合劑（如：咖啡因、聚乙烷基吡咯酮、 β -環糊精或羥丙基- β -環糊精）；充填劑；單醣類；雙醣類；及其它醣類（如：葡萄糖、甘露糖或糊精）；蛋白質（如：血清白蛋白、凝膠或免疫球蛋白）；染色劑、調味劑和稀釋劑；乳化劑；親水性聚合物（如：聚乙烷基吡咯酮）；低分子量之多肽；鹽-形成抗衡離子（如：鈉）；防腐劑（如：殺藻胺、苯甲酸、水楊酸、硫柳汞、苯乙

醇、對羥基過苯甲酸甲酯、對羥基過苯甲酸丙酯、雙氯苯脲己烷 (chlorhexidine)、山梨酸或過氧化氫)；溶劑 (如：甘油、丙二醇或聚乙二醇)；糖醇 (如：甘露醇或山梨醇)；懸浮劑；界面活性劑或濕潤劑 (如：普朗尼、PEG、山梨醇酐酯類、聚山梨醇酯 20、聚山梨醇酯 80、三通、胺丁三醇 (tromethamine)、卵磷脂、膽固醇、泰洛沙伯 (tyloxapal))；穩定性增進劑 (如：蔗糖或山梨醇)；張力增進劑 (如：鹼金屬鹵化物，宜為氯化鈉或鉀、甘露醇、山梨醇)；遞送載劑；稀釋劑；賦形劑，及/或藥學佐劑。(Remington's Pharmaceutical Sciences, 18th Edition, A.R. Gennaro, ed., Mack Publishing Company (1990))。

在某些實施態樣中，對 HGF 之專一性結合劑，及/或治療分子係連接一本技藝所已知之半生期延長的載劑。這類載劑包括，但不限於：聚乙二醇和葡萄聚糖。這類載劑描述於，如：美國申請案序號第 09/428,082 號，及已出版之 PCT 申請案第 WO 99/25044 號中，其併為本專利申請案中任何目的之參考資料。

在某些實施態樣中，本技藝之技術熟習人士可根據，如：欲投服之途徑、遞送形式和所需劑量來決定理想之藥學組成物。見，如：Remington's Pharmaceutical Sciences, 同上。在某些實施態樣中，這類組成物可影響生理狀態、穩定性，本發明抗體在活體中之釋出速度，和清除速度。

在某些實施態樣中，在藥學組成物中之主要載劑或載

體本質上可為水溶性，或非水溶性。例如：在某些實施態樣中，合適之載劑或載體可為注射用水，生理食鹽水溶液，或人工腦脊髓液，其中可能補充以常用於腸胃道外投服之組成物中的其它物質。在某些實施態樣中，中性之緩衝的生理食鹽水溶液，和與血清白蛋白混合之生理食鹽水溶液為其它示範性載劑。在某些實施態樣中，藥學組成物含有 pH 約為 7.0-8.5 之 Tris 緩衝液，或 pH 約為 4.0-5.5 之醋酸緩衝液，其可另外包含山梨醇，或用於其中之合適替代物。在某些實施態樣中，可製備含有對 HGF 之專一性結合劑，加上或不加上至少一種其它治療劑的貯存用組成物，此係經由將所選出之具有所需純度的組成物，與隨意之配方作用劑（Remington's Pharmaceutical Sciences, 同上）以凍乾團塊，或水溶液型式混合來製造。再者，在某些實施態樣中，對 HGF 之專一性結合劑（加上或不加上至少一種其它治療劑）的藥學組成物可利用合適之賦形劑（如：蔗糖），調備成凍乾劑。

在某些實施態樣中，本發明之藥學組成物可選擇於腸胃道外途徑遞送。在某些實施態樣中，該組成物可選擇以吸入方式，或透過消化道途徑（如：口服）來遞送。這類藥學上可接受之組成物的製備方法係在本技藝之技術範圍內。

在某些實施態樣中，配方成分係以可被投服部位接受之濃度存在。在某些實施態樣中，使用緩衝液來將組成物維持在生理 pH 值，或稍低之 pH 值，通常係在從約 5 至 8

之 pH 範圍內。

在某些實施態樣中，當考慮經腸胃道外途徑投藥時，治療組成物可為在藥學上可接受之載劑中，含有所需之對 HGF 的專一性結合劑，加有或不加有其它治療劑的無熱原，腸胃道外途徑可接受的水溶液型式。在某些實施態樣中，用於非經腸胃道之注射的載劑為無菌蒸餾水，其中將一對 HGF 之專一性結合劑（加有或不加有至少一種其它治療劑）配製成經適當保存之無菌等張溶液。在某些實施態樣中，該製備方法涉及將所需分子與可用來控制產物釋出或持續釋出產物的作用劑（如：可注射之中心體、生物-可食之顆粒、聚合之化合物（如：聚乳酸或聚甘醇酸）、小珠或脂粒一起調配，然後再將其經由狄波注射來遞送。在某些實施態樣中，亦可使用玻尿酸，且可具有促進在循環系統中持續存在的效果。在某些實施態樣中，可使用可植入之藥物遞送裝置來引入所需分子。

在某些實施態樣中，藥學組成物可配製成用於吸入途徑。在某些實施態樣中，可將對 HGF 之專一性結合劑（加上或不加上至少一種其它治療劑）配製成用於吸入之乾燥粉末。在某些實施態樣中，可將含有對 HGF 之專一性結合劑（加上或不加上至少一種其它治療劑）的吸入溶液與一種用於氣溶膠遞送之推進劑一起配製。在某些實施態樣中，可將溶液霧化。肺部投藥法進一步描寫於 PCT 申請案第 PCT/US94/001875 號中，其描述經化學修改之蛋白質的肺部遞送法。

在某些實施態樣中，可考慮經由口服途徑投藥。在某些實施態樣中，可將以此方式投服之對 HGF 的專一性結合劑（加上或不加上至少一種其它治療劑）與那些常用於合成固體劑型（如：錠劑和膠囊）之載體一起調配。在某些實施態樣中，膠囊係設計成其中之調和物的活性部分係在生物可利用性達到最大，而前-系統性降解最小時才於胃腸道中釋出的型式。在某些實施態樣中，可包含至少一種其它治療劑，以促進對 HGF 之專一性結合劑，及/或其它治療劑的吸收。在某些實施態樣中，亦可使用稀釋劑、調味劑、低熔點蠟、蔬菜油、潤滑劑、懸浮劑、錠劑崩散劑，和結合劑。

在某些實施態樣中，藥學組成物可能涉及將有效量之對 HGF 的專一性結合劑（加上或不加上至少一種其它治療劑）與非-毒性賦形劑（其適合用於製造錠劑）一起混合。在某些實施態樣中，經由將錠劑溶解在無菌水，或其它合適之載劑中可製備單位-劑型之溶液。在某些實施態樣中，合適之賦形劑包括，但不限於：惰性稀釋劑，如：碳酸鈣、碳酸鈉或重碳酸鹽、乳糖，或磷酸鈣；或結合劑，如：澱粉、凝膠或金合歡膠；或潤滑劑，如：硬脂酸鎂、硬脂酸或滑石粉。

其它藥學組成物對本技藝中之技術熟習人士而言是明白易知的，包括，但不限於：在持續或經控制遞送之調和物中含有對 HGF 之專一性結合劑，加上或不加上至少一種其它治療劑。在某些實施態樣中，用於配製多種其它持

續或經控制遞送媒介（如：脂粒載體、生物-可食之微粒，或多孔小珠及狄波注射）的技術亦為本技藝中之技術熟習人士所知。見，如：PCT 申請案第 PCT/US93/00829 號，其描述用於遞送藥學組成物之經控制釋出的多孔聚合性微粒。在某些實施態樣中，持續釋出之製劑可包括為成形物體型式（如：薄膜或微膠囊）的半滲透性聚合物基質。持續釋出之基質可包括：聚酯類、水凝膠類、聚交酯類（U.S. 3,773,919 和 EP 058,481），L-麩胺酸和 γ 乙基-L-麩胺酸酯之共聚物（Sidman et al., *Biopolymers*, 22 : 547-556 (1983)），聚（2-羥乙基-異丁烯酸酯）（Langer et al., *J. Biomed. Mater. Res.*, 15 : 167-277 (1981) 和 Langer, *Chem. Tech.*, 12 : 98-105 (1982)），伸乙基乙烯基醋酸酯（Langer et al, 同上），或聚-D(-)-3-羥基丁酸（EP 133,988）。在某些實施態樣中，持續釋出之組成物亦可包括脂粒，其可經由本技藝中數種已知之任一方法來製備。見，如：（Eppstein et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 82 : 3688-3692 (1985)；EP 036,676；EP 088,046 和 EP 143,949）。

用於活體內投服之藥學組成物通常為無菌的。在某些實施態樣中，此可經由通過無菌過濾膜來完成。在某些實施態樣中，當組成物為凍乾型時，利用此方法之消毒過程可在凍乾和重建之前，或之後進行。在某些實施態樣中，用於非經腸胃道途徑投服之組成物可以凍乾型式，或在溶

液中貯存。在某些實施態樣中，通常係將非經腸胃道之組成物置於具有無菌入口之容器（如：靜脈內溶液袋，或具有一可被注射針刺穿之塞子的玻璃瓶）中。

在某些實施態樣中，一旦配製好藥學組成物，可將其以溶液、懸浮液、凝膠、乳劑、固體之型式，或以脫水或凍乾粉末之型式貯存在無菌玻璃瓶中。在某些實施態樣中，這類調和物可以即時可用之型式，或以在投服前重建之型式（如：凍乾的）來貯存。

在某些實施態樣中，本發明係針對用於製造單一-劑量投服單位之套組。在某些實施態樣中，該套組可各含有第一個容器（具有乾燥之蛋白質），和第二個容器（具有水溶性調和物）。在本發明之某些實施態樣中係包括含有單一和多-隔室之預先-充填針筒（如：液體針筒和溶式針筒（lyosyringe））的套組。

在某些實施態樣中，欲用於治療之含有對 HGF 之專一性結合劑（加有或不加有至少一種其它治療劑）的藥學組成物的有效量係根據，如：治療內容和對象而定。根據某些實施態樣，本技藝中之技術熟習人士可察知：治療所用之合適劑量水準係部分取決於遞送之分子，所使用之對 HGF 之專一性結合劑（加有或不加有至少一種其它治療劑）的適應症，投服路徑，患者之尺寸（體重、體表面或器官尺寸），及/或患者之狀況（年齡和一般健康）。在某些實施態樣中，臨床醫師可決定劑量之力價，並修改投服途徑，以取得理想之療效。在某些實施態樣中，根據上

述因子，典型之劑量範圍可從約 0.1 微克/公斤至約 100 毫克/公斤，或更多。在某些實施態樣中，劑量範圍可從約 0.1 微克/公斤至約 100 毫克/公斤；或 1 微克/公斤至約 100 毫克/公斤；或 5 微克/公斤至約 100 毫克/公斤。

在某些實施態樣中，給藥頻率需考慮在所使用之調和物中，對 HGF 之專一性結合劑，及/或任何其它治療劑的藥物動力學變數。在某些實施態樣中，臨床醫師將給予該組成物直到達到可取得所需效果之劑量。因此，在某些實施態樣中，該組成物可在一段時間內以單一劑量，或以二或多個劑量（其可含，或可不含相同量之所需分子）之型式投服，或以連續注入之型式經由植入裝置，或導管投服。本技藝中之技術熟習人士例行對合適劑量做進一步之琢磨，且此為其例行進行之工作範圍。在某些實施態樣中，合適之劑量可透過使用正確之劑量-反應資料來確認。

在某些實施態樣中，本藥學組成物之投服途徑係根據已知方法，如：口服，經由靜脈內、腹膜內、顱內（主質內）、腦室內、肌肉內、眼內、動脈內、門靜脈內，或病灶內途徑注射；藉由持續釋出系統，或植入裝置進行。在某些實施態樣中，組成物可經由大丸藥注射，或持續注入，或植入裝置來投服。

在某些實施態樣中，組成物可經由植入其上已吸收所需分子，或將所需分子包囊的膜、海綿或其它合適物質來局部投服。在某些實施態樣中，使用植入裝置時，該裝置

可被植入任何合適之組織或器官中，且該所需分子可經由注入、定時釋出之大丸藥，或持續投藥來遞送。

在某些實施態樣中，在活體外方法中可能需要使用含有對 HGF 之專一性結合劑（加上或不加上至少一種其它治療劑）的藥學組成物。在這類情況中，將從患者移出之細胞、組織，及/或器官暴露於含有對 HGF 之專一性結合劑（加有或不加有至少一種其它治療劑）的藥學組成物，然後，接著將該細胞、組織，及/或器官植回患者體中。

在某些實施態樣中，對 HGF 之專一性結合劑，及/或任何其它治療劑可經由植入某些已利用，如：本專利申請書中所描述之方法，經過遺傳工程處理，以表現並分泌多肽的細胞來遞送。在某些實施態樣中，這類細胞可為動物或人類細胞，且可為同體、異種，或異體的。在某些實施態樣中，該細胞為永生化之細胞。在某些實施態樣中，為了降低免疫反應的機會，可將細胞包入囊中，以避免周圍組織之浸潤。在某些實施態樣中，包囊物質通常為可使蛋白質產物釋出，但防止細胞被患者之免疫系統，或其它來自周圍組織之有害因子破壞的生物相容、半-滲透性聚合包圍物，或膜。

【圖式簡單說明】

第 1A 圖示為顯示出某些對 HGF 之抗體的 κ 輕鏈的種系關係樹圖。種系基因鑑定證明標示在抗體命名之右側。第 1B 圖示為某些對 HGF 之抗體的 κ 輕鏈的可變區的胺基

酸序列排列。種系基因鑑定證明標示在左側。CDR 區係以粗線標示在排列之序列上方。

第 2A 圖示為顯示出某些對 HGF 之抗體的 γ 重鏈的種系關係樹圖。種系基因鑑定證明標示在抗體命名之右側。第 2B 圖示為某些對 HGF 之抗體的 γ 重鏈的可變區的胺基酸序列排列。種系基因鑑定證明標示在左側。CDR 區係以粗線標示在排列之序列上方。

第 3 圖示為編碼來自某些對 HGF 之抗體的輕和重鏈之可變區的 DNA 序列。標示出的為各序列之抗體名稱、種系命名和序列 ID。天然訊號肽序列在下方加線。其中亦顯示出人類 κ 、IgG1 和 IgG2 恆定區之 DNA 序列。

第 4 圖示為某些對 HGF 之抗體的輕和重鏈之可變區的胺基酸序列。標示出的為各序列之抗體名稱、種系命名和序列 ID。天然訊號肽序列在下方加線。其中亦顯示出人類 κ 、IgG1 和 IgG2 恆定區之胺基酸序列。

第 5 圖示為某些對 HGF 之抗體的輕和重鏈的互補決定區 (CDRs) 的胺基酸序列。標示出的為各序列之抗體名稱和序列 ID。第 5A 圖示為某些對 HGF 之抗體的輕鏈的 CDRs 的胺基酸序列。第 5B 圖示為某些對 HGF 之抗體的重鏈的 CDRs 的胺基酸序列。

第 6 圖示為某些對 HGF 之抗體的 K_D 測定結果 (討論於實施例 8 中)。第 6A 圖示為來自動力學方法的資料。第 6B 圖示為來自平衡/溶液方法的資料。

第 7 圖示為來自實施例 8 中所討論之西方點墨分析的

自體放射線照片，此分析測試某些抗體結合人類，及結合老鼠 HGF 之能力。左方之表板（第 1-4 道）顯示出在非-還原條件下進行之實驗的自體放射線照片。右方之表板（第 5-8 道）顯示出在還原條件下進行之實驗的自體放射線照片。

第 8 圖示為來自實施例 8 中所討論之實驗的螢光活化細胞分類器（FACS）資料，此實驗係評估某些抗體對某些靶的之結合情況。第 8 圖頂端顯示來自缺乏專一性結合劑之對照組樣本的 FACS 資料。表板 1 和 2（從左方）分別顯示出來自缺乏與 FITC 和 PE 一起培育之靶的的對照組樣本的資料。表板 3 和 4 分別顯示出來自含有經 FITC 和 PE 標示之 d5 HGF，但缺乏專一性結合劑的對照組樣本的資料。實線下方之表板顯示出來自測試 5 種對 HGF 之抗體的實驗的 FACS 資料。在各抗體方面，第 1 個表板（從左方）顯示出來自缺乏靶的之對照組樣本的資料，第 2 至 4 個表板顯示出來自其中該靶的分別為：人類 HGF、老鼠 HGF，和人類 d5 HGF 之實驗的資料。

第 9A 圖示為編碼與多選殖部位相鄰之卵白素的質體的圖示，其用來產生如實驗 8 中所討論之含有卵白素和靶的蛋白質的融合蛋白質。第 9B 圖示為雞卵白素之序列。

第 10A 和 10B 圖示為某些融合蛋白質之圖解表示，及實施例 8C 和 8D 中所討論之利用那些融合蛋白質所進行的結合分析的結果。第 10C 圖示為某些具有單點突變、插入或缺失之融合蛋白質的圖解表示。第 10D 圖示為在胺

基酸 451-731 區中之人類和老鼠 HGF 的胺基酸序列（分別為 SEQ ID NO.120 和 121），所標示出者為相對應之一致序列（SEQ ID NO.122）。

第 11A 和 11B 圖示為如實施例 8E 中所討論之對人類 HGF 進行的蛋白酶保護實驗的 HPLC 分析。第 11C 圖示為在該工作中，經由結合至抗體 2.12.1 來防止被蛋白酶分解之肽的胺基酸序列。

第 12A-12D 圖顯示來自實施例 8 中所討論之競爭性結合分析的結果。

第 13 圖示為來自實施例 9 中所討論之中和分析的 IC50 資料。

第 14 圖示為來自實施例 10 中所討論之 PC3 細胞中的中和分析的資料。

第 15 圖示為來自實施例 10 中所討論之 U-87 細胞中的抑制分析的資料。

第 16 圖示為來自實施例 11 中所討論之實驗的結果，該實驗係評估某些對 HGF 之抗體對小鼠體內 U-87MG 異種移植腫瘤的效果。第 16A 圖示為最少殘餘疾病中，抗體 2.4.4 對 U-87MG 異種移植腫瘤生長的劑量-反應資料。第 16B 圖示為在已建立之疾病模型中，抗體 2.4.4 對 U-87MG 異種移植腫瘤生長的劑量-反應資料。第 16C、16D、16E 和 16F 圖示為在 U-87 最少殘餘疾病模型（16C 和 16D），或 U-87 之已建立的疾病模型（16E 和 16F）中，測試對 HGF 之抗體的頭-頭實驗的資料。

【實施方式】

下列實施例，包括進行之實驗和所取得之結果係僅用來說明，而非限制本發明。

實施例 1

抗-HGF 雜交瘤之產生方法

在 XenoMouse[®]小鼠（艾伯堅尼（Abgenix），加州佛利蒙市）（此種小鼠含有人類免疫球蛋白基因）中提升對 HGF 之抗體。使用三組 XenoMouse[®]小鼠，第 1a、1b 和 2 組，來製造對 HGF 之抗體，並摘要於表 1 中。第 1a 組係由 XenoMouse[®]品種 XMG2 之小鼠所組成，其可製造完整之人類 IgG2_κ 抗體。以 HGF 將第 1a 組小鼠免疫化。利用 Nakamura et al., Nature 342: 440-443 (1989) 中之序列，藉標準重組技術來製備 HGF。

第 1b 組亦由 XenoMouse[®]品種 XMG2 之小鼠所組成，但第 1b 組小鼠係以已經化學方式結合至 T-細胞抗原決定部位（TCE）的 HGF 來進行免疫接種，該 TCE 具下列序列：Gln Tyr Ile Lys Ala Asn Ser Lys Phe Ile Gly Ile Thr Glu Leu Lys Lys Cys（SEQ ID NO.47）。此 TCE 係利用 Sulpho-SMCC（皮爾斯（Pierce），目錄編號 22322）和二硫代蘇糖醇（費雪（Fisher）科學），通過 TCE 之 C-端半胱氨酸交叉連接至 HGF 之 N 端來結合至 HGF 上。利用 Centricon[®]管柱（艾美康（Amicon））從未結合之肽中將所產生之結合的 TCE-HGF 分離出來。

第 2 組係由 XenoMouse[®] 品種 XMG1 之小鼠所組成，其可製造完整之人類 IgG1_κ 抗體。以上述之結合的 TCE-HGF 將第 2 組小鼠免疫化。

根據表 1 中之計劃，以抗原（HGF 或 TCE-HGF）注射所有三組之小鼠 8 次。在最初之免疫接種中，在各小鼠之後腳掌中注射全部為 10 微克之抗原（每一腳掌 5 微克）。那些注射液中含有佐劑 TiterMax[®]Gold（史格馬公司，目錄編號 T2684）。在第 2 至 7 次之注射中，以在佐劑明礬凝膠（Alum Gel）（磷酸鋁凝膠佐劑；Superfos Biosector a/s，由紐澤西州克利夫頓市，E.M. Sargent Pulp and Chemical Co. 配售，目錄編號 1452-250）中，全部為 5 微克之抗原注射每一隻小鼠。每隻小鼠之最後一次注射液中含有全部為 10 微克之抗原，但不含佐劑。

表 1. 小鼠之免疫法

	第1a組	第1b組	第2組
品種	XMG2	XMG2	XMG1
小鼠數目	8	8	10
抗原	HGF	HGF- TCE	HGF-TCE
第1次注射 (第1天)	10微克/小鼠，在 Titer Max [®] Gold中	10微克/小鼠，在 Titer Max [®] Gold中	10微克/小鼠，在 Titer Max [®] Gold中
第2次後續注射 (第7天)	5微克/小鼠，在明 礬凝膠中	5微克/小鼠，在明 礬凝膠中	5微克/小鼠，在明 礬凝膠中
第3次後續注射 (第9天)	5微克/小鼠，在明 礬凝膠中	5微克/小鼠，在明 礬凝膠中	5微克/小鼠，在明 礬凝膠中
第4次後續注射 (第13天)	5微克/小鼠，在明 礬凝膠中	5微克/小鼠，在明 礬凝膠中	5微克/小鼠，在明 礬凝膠中
第5次後續注射 (第16天)	5微克/小鼠，在明 礬凝膠中	5微克/小鼠，在明 礬凝膠中	5微克/小鼠，在明 礬凝膠中
第6次後續注射 (第20天)	5微克/小鼠，在明 礬凝膠中	5微克/小鼠，在明 礬凝膠中	5微克/小鼠，在明 礬凝膠中
抽血 (第22天)			
第7次後續注射 (第24天)	5微克/小鼠，在明 礬凝膠中	5微克/小鼠，在明 礬凝膠中	5微克/小鼠，在明 礬凝膠中
第8次後續注射 (第27天)	5微克/小鼠，在D- PBS中	5微克/小鼠，在D- PBS中	5微克/小鼠，在D- PBS中

在第六次注射後二天爲各小鼠抽血。藉 ELISA 分析來自那些抽血之血液樣本，以測定對 HGF 之抗體的力價。在那些 ELISA 之分析中，在 96-槽分析盤（費雪科學，目錄編號 12-565-136）中塗覆之 0.1M 碳酸鹽緩衝液（pH 9.6）中的 HGF。加入血液樣本，並將分析盤在室溫中溫育 2 小時。溫育後，以清洗溶液（0.05%在 PBS 中之吐溫 20）清洗分析盤三次，並加入 100 微克/槽之第二種抗體。第二種抗體爲與辣根過氧化酶（南方生物技術，目錄編號 9060-05）結合之山羊抗-人類 IgGF_c 抗體。在室溫培育 1 小時後，清洗分析盤，並加入 100 微升/槽之 TMB 顯影液（BioFX 實驗室，目錄編號 TMSK-0100-01），10 分鐘後。加入 50 微升/槽之 TMB 終止液（BioFX 實驗室，目錄編號 STPR-0100-01）。在 ELISA 盤讀計上於 450nm 波長處讀取吸收。

在最後一次注射後 4 天殺死小鼠，收集其滴乾之淋巴結，並回收淋巴球。分別累積來自三組小鼠之各小鼠的淋巴球。爲了增濃 B-細胞之淋巴球樣本，加入抗-CD90 磁珠（米爾泰尼生物技術（Miltenyi Biotech），目錄編號 491-01），以將 T-細胞削減，再使淋巴球通過 LS⁺管柱（米爾泰尼生物技術，目錄編號 424-01）。

利用電細胞融合裝置（吉內特（Genetronic）公司，型號 ECM2001）將三種 B-細胞增濃之淋巴球樣本各與 P3 骨髓瘤細胞融合，以製造雜交瘤。將三組融合的雜交瘤株平皿接種於 96-槽之盤中，密度爲每槽中含有在雜交瘤介

質（成分參見表 2）中之 1×10^6 個 B-細胞增濃的淋巴球，此雜交瘤介質中含次黃嘌呤-氮雜絲胺酸（史格馬公司）。將雜交瘤株在 37°C ， $15\%\text{CO}_2$ 中培養 14 天。

14 天後，利用上述分析血液樣本之相同策略，藉 ELISA 來分析培養上清液，以偵測是否有對 HGF 之人類 IgG 抗體存在。將在 ELISA 中測試為陽性之培養上清液進行第二次 ELISA 分析，以測試是否有人類 κ 鏈存在。在第二次 ELISA 分析中，所使用之條件與第一次 ELISA 分析相同，但第二種抗體為結合至辣根過氧化酶之山羊抗-人類 κ 鏈抗體。將在二次 ELISA 分析中測試為陽性之雜交瘤進一步增殖，以製造 5 毫升用於玻管中功能測試（此將在實施例 8 和 9 中進行討論）之上清液。測試來自相當於第 1a 組之小鼠的 82 個選植株，相當於第 1b 組之小鼠的 42 個選植株，和相當於第 2 組之小鼠的 176 個選植株的上清液。

根據那些功能分析之結果，鑑定數種可生產對 HGF 之抗體的雜交瘤株。使用限制稀釋來從各細胞株中分離出 3 至 6 個選植株。以雜交瘤株之編號（如：1.24）和選殖編號（如：1.24.1）來為選植株命名。藉由實施例 8 和 9 中所討論之功能分析並未偵測出在一特殊株中的不同選殖間有任何差異。將那些分離出之選植株各自在 50-100 毫升之雜交瘤介質中增殖，並使其生長至竭盡（也就是細胞存活力小於約 10%）。藉 ELISA，及實施例 8 和 9 中所討論之玻管內功能分析來測定在那些培養上清液中之對 HGF

的抗體的濃度和力價。鑑定出 10 種具有最高力價之對 HGF 的抗體的雜交瘤。那些雜交瘤株之命名為 1.24.1、1.29.1、1.60.1、1.61.3、1.74.3、1.75.1、2.4.4、2.12.1、2.40.1，和 3.10.1。

表 2. 介質之組成物

雜交瘤介質	
成分	來源
DEME	吉布可 (Gibco)
15%胎牛血清	海克隆 (Hyclone)，目錄編號SH30070.03
1% 200mM L-麩胺醯胺	史格馬，目錄編號G2150
1% 100X 非-必須胺基酸	史格馬，目錄編號M7145
1% 100X 青黴素/鏈黴素	史格馬，目錄編號P7539 (10,000 U/毫升，青黴素/10毫克/毫升鏈黴素)
10 U/毫升 IL-6	寶林格曼寧 (Boehringer Mannheim)，目錄編號1299972
1瓶/升 OPI介質補充劑 (草醯醋酸化物、丙酮酸化物、牛胰島素)	史格馬，目錄編號O5003
HSFM介質	
HSFM	吉布可 (Gibco)，目錄編號12045-076
10%超低IgG血清	吉布可，目錄編號16250-078
2 毫莫耳/升 L-麩胺醯胺	JRH 200mM，目錄編號59202
1% 100X非-必須胺基酸	JRH 100X，目錄編號58572
1% 100X 青黴素/鏈黴素	傑米尼，目錄編號400-109
INTEGRA介質	
HSFM	吉布可，目錄編號12045-076
10%超低IgG血清	吉布可，目錄編號16250-078
2 毫莫耳/升 L-麩胺醯胺	JRH 200mM，目錄編號59202
1% NEAA	JRH 100X，目錄編號58572
4克/升葡萄糖	JT貝克 (Baker)，目錄編號1920-07

實施例 2

從雜交瘤製造抗體的方法

利用下列二種不同系統的其中之一，從實施例 1 中所討論的 10 種雜交瘤中備抗體：因特果（Integra）燒瓶和射流旋轉燒瓶（sparged spinner）。

因特果燒瓶

讓 7 種雜交瘤株，2.12.1，1.24.2，1.29.1，1.74.1，1.75.1，1.60.2，和 2.40.1，各自分別生長在 T75 燒瓶中的 20 毫升 HSFM 介質（介質成分見表 2）中。當 T75 燒瓶中的雜交瘤接近融合時，將其轉入因特果燒瓶（因特果生物科技，因特果 CL11000，目錄編號 90 005）中。

因特果燒瓶為一種細胞培養燒瓶，其被一層膜分隔成二個隔室，一個小隔室和一個大隔室。將 20-30 毫升之分別來自 7 種雜交瘤株的雜交瘤細胞各以 1×10^6 細胞/毫升之最低細胞密度分別置入在 7 個因特果燒瓶的小隔室中的因特果介質（因特果介質之成分見表 2）內。將因特果介質（1 升）單獨置於因特果燒瓶的大隔室中。分隔二個隔室之膜可使小分子量營養滲透通過，但雜交瘤細胞和由那些細胞所製造之抗體則無法滲透通過。因此，雜交瘤細胞和由那些細胞所製造之抗體維持在小隔室中。

一週後，從該 7 個因特果燒瓶的二個隔室中各自移除介質，並以新鮮因特果介質取代之。將從 7 個小隔室收集到的介質分別保存。在生長第二週後，再次從小隔室中收

集介質。將從各雜交瘤株收集到之第 1 週介質與從相同雜交瘤株收集到之第 2 週介質合併在一起。將收集到之來自 7 個雜交瘤株的 7 種介質樣本加以離心，以去除細胞和碎片（在 3000rpm 離心 15 分鐘），並將所產生之上清液進行過濾（0.22 微米）。

射流旋轉燒瓶（3 升）

● 將三種雜交瘤株，3.10.1、2.4.4和2.12.1分別生長在 T75 燒瓶中之 20 毫升 HSFM 介質中。當雜交瘤達到足夠的細胞密度時，將其轉移至 T175 燒瓶中。同樣地，當 T175 燒瓶中之雜交瘤達到足夠的細胞密度時，將其轉移至 100 毫升之旋轉燒瓶中，然後轉移至 500 毫升之旋轉燒瓶中，然後轉移至 1 升之旋轉燒瓶中。當在 1 升旋轉燒瓶中之細胞達到足夠的細胞密度時，將其轉移至 3 升之噴灑過的射流旋轉燒瓶（貝爾可（Bellco）生物技術，目錄編號 1965-300，帶有側臂裝配，目錄編號 1965-30003）中。

該 3 升之射流旋轉燒瓶為一種玻璃容器，其中係以一由磁臺控制之推進器來混合培養。將該旋轉瓶連接至氣體管線，以提供 5%CO₂ 和空氣。

雜交瘤 3.10.1

將在 HSFM 介質中之來自雜交瘤株 3.10.1 的雜交瘤細胞接種入 2 個 3 升大之射流旋轉燒瓶中，而這二個射流燒瓶所需特別注意之其它生長條件摘述於表 3 中。

表 3 雜交瘤株 3.10.1 的生長條件

條件	旋轉瓶 1	旋轉瓶 2
接種密度（10E6 細胞/毫升）	0.46	0.46
HSFM（吉布可，目錄編號 12045-076）	X	X
超低 IgG 血清（吉布可，目錄編號 16250-078）	5%	5%
L-麩胺醯胺（JRH，目錄編號 59202-500M）	8 毫莫耳/升	2 毫莫耳/升
P/S（傑米尼，目錄編號 400-109）	1%	1%
NEAA（JRH，目錄編號 58572-77P）	1%	1%
胰（迪夫可（Difco），目錄編號 211693）	1 克/升	1 克/升
2M 葡萄糖（JT 貝克，目錄編號 1920-07）	8 克/升	2 克/升
抗起泡劑 C（史格馬，目錄編號 A-8011）	2 毫升/升	2 毫升/升
生產力（微克/毫升）	24	34

讓培養生長 15 天，當藉由錐蟲藍染色排除法測定出生存力低於 20%時，則收成該培養。收成步驟係包括在 7000rpm 離心 15 分鐘，再接著將所產生之上清液通過 0.22 微米濾器過濾。藉由蛋白質 A HPLC 測量在最終收成樣本中所存在之蛋白質量，以測定生產力，結果記錄於表 3 中。

● 雜交瘤 2.4.4

將在 HSFM 介質中之來自雜交瘤株 2.4.4 的雜交瘤細胞接種入 5 個 3 升大之射流旋轉燒瓶中，而這 5 個射流燒瓶所需注意之其它生長條件摘述於表 4 中。

表 4 雜交瘤株 2.4.4 的生長條件

條件	旋轉瓶 1	旋轉瓶 2	旋轉瓶 3	旋轉瓶 4	旋轉瓶 5
接種密度 (10E6 細胞/毫升)	0.3	0.3	0.18	0.18	0.4
HSFM (吉布可, 目錄編號 12045-076)	X	X	X	X	X
超低 IgG 血清 (吉布可, 目錄編號 16250-078)	5%	5%	5%	5%	5%
L-麩胺醯胺 (JRH, 目錄編號 59202-500M)	8 毫莫耳/升	2 毫莫耳/升	2 毫莫耳/升	8 毫莫耳/升	4 毫莫耳/升
P/S (傑米尼, 目錄編號 400-109)	1%	1%	1%	1%	1%
NEAA (JRH, 目錄編號 58572-77P)	1%	1%	1%	1%	1%
胰	1 克/升	1 克/升	1 克/升	1 克/升	1 克/升
2M 葡萄糖	8 克/升	2 克/升	2 克/升	8 克/升	4 克/升
抗起泡劑 C	2 毫升/升	2 毫升/升	2 毫升/升	2 毫升/升	2 毫升/升
生產力 (微克/毫升)	41	82	38	45	79
培養期	10	10	7	7	8

依表 4 之指示讓培養生長 7、8 或 10 天，並依上述，當細胞生存力低於 20%時，則收成該培養。

雜交瘤 2.12.1

將在 HSFM 介質中之來自雜交瘤株 2.12.1 的雜交瘤細胞接種入 6 個 3 升大之射流旋轉燒瓶中，而這 6 個射流燒瓶所需注意之其它生長條件摘述於表 5 中。

表 5 雜交瘤株 2.12.1 的生長條件

條件	旋轉瓶 1	旋轉瓶 2	旋轉瓶 3	旋轉瓶 4	旋轉瓶 5	旋轉 瓶 6
接種密度（10E6 細胞/毫升）	0.2	0.2	0.4	0.4	0.4	0.4
HSFM（吉布可， 目錄編號 12045- 076）	X	X	X	X	X	X
超低 IgG 血清 （吉布可，目錄 編號 16250-078）	5%	5%	5%	5%	5%	5%
L- 麩 胺 醯 胺 （JRH，目錄編號 59202-500M）	2 毫莫 耳/升	8 毫莫 耳/升	4 毫莫 耳/升	4 毫莫 耳/升	4 毫莫 耳/升	4 毫莫 耳/升
P/S（傑米尼，目 錄編號 400-109）	1%	1%	1%	1%	1%	1%
NEAA（JRH，目 錄 編 號 58572- 77P）	1%	1%	1%	1%	1%	1%
胰	1 克/升	1 克/升	1 克/升	1 克/升	1 克/升	1 克/ 升
2M 葡萄糖	2 克/升	8 克/升	4 克/升	4 克/升	4 克/升	4 克/ 升
抗起泡劑 C	2 毫升/ 升	2 毫升/ 升	2 毫升/ 升	2 毫升/ 升	2 毫升/ 升	2 毫升 /升
生產力 （微克/毫升）	44	49	65	65	65	65
培養期	7	7	11	11	11	11

依表 5 之指示讓培養生長 7 或 10 天，並依上述，當細胞生存力低於 20%時，則收成該培養。

實施例 3

抗體重鏈和輕鏈之選殖與序列分析

A. 輕鏈之選殖

依實施例 1 之討論鑑定出 10 種表現出對 HGF 之單株抗體的雜交瘤（1.24.1、1.29.1、1.60.1、1.61.3、1.74.3、1.75.1、2.4.4、2.12.1、2.40.1 和 3.10.1）。利用 TRIzol[®] 試劑（因維特金，加州卡斯巴市），從這 10 種雜交瘤之每一種中分離出總體 RNA。修改 10 種雜交瘤之總體 RNA 製品的 5'端，以使其適合利用 GeneRacer[®]套組（因維特金）之 cDNA 端之 5'快速增數反應（5' Rapid Amplification of cDNA Ends）（RACE）。然後，將 10 種 5'-修改之 RNA 製品用於 10 個分別之 RACE 反應中，其各使用一具有一延伸接合子（5'-GGC CGG ATA GGC CTC CAN NNN NNT -3'）（SEQ ID NO：48）的任意引物來產生 10 種 cDNA 分子。

然後，將 10 種 cDNA 分子在分別之聚合酶鏈反應（PCR）中增數，以產生 10 種增數之 κ 輕鏈序列。在此各反應中，正向引物為正向 GeneRacer[™] 套式引物（5' GGA CAC TGA CAT GGA CTG AAG GAG TA -3'）（SEQ ID NO：49）。逆向引物（5'-GGG GTC AGG CTG GAA CTG AGG -3'）（SEQ ID NO：50）係設計為結合至與 κ

輕鏈互補之序列。

然後，將 10 種增數之 κ 輕鏈序列的各分別連接至各別之 pCR4-TOPO 質體（因維特金）。將 10 種所產生之質體（各含有 10 種 κ 輕鏈序列的其中一種）分別在細菌中擴增，並各分析數個選殖株的序列。使用那些序列來設計 PCR 引物，以依下述擴增來自選殖之質體的 10 種 κ 輕鏈開放閱讀框構。

10 組 PCR 之各引物組包含一 5'-引物和一 3'-引物。各 5'-引物含有一與特殊 κ 輕鏈序列之胺基端序列互補的部分、一最優化之 Kozak 序列，和一或多個限制部位。例如：在以基本上從雜交瘤 3.10.1 中衍生出之質體進行的反應中所使用的 5'-引物序列為：

5'- ACA ACA AAG CTT CTA GAC CAC CAT GGA AGC CCC AGC TCA
XbaI Kozak

GCT TCT CTT -3' (SEQ ID: 51)

。各 PCR 之 3'-引物含有一與特殊 κ 輕鏈序列之羧基端互補的部分，包括終止密碼子和一限制部位。例如：在以基本上從雜交瘤 3.10.1 中衍生出之質體進行的反應中所使用的 3'-引物序列為：

5'- CTT GTC GAC TCA ACA CTC TCC CCT GTT GAA GCT
SalI *

C -3' (SEQ ID NO: 52)。

將分別之引物組用於相對應之選殖質體的 PCR 反應中，以擴增該 10 種 κ 輕鏈編碼區序列。將來自那些反應

的 10 種增數產物分別進行凝膠分離，並利用 QIAquick®凝膠萃取套組（目錄編號 28704，加州華倫西亞市奎爾金公司）進行純化。然後，將純化之產物各以適當之限制酶切出，以取得不含質體之 κ 輕鏈編碼區序列。例如，以 XbaI 和 SalI 切出相對應於雜交瘤 3.10.1 的純化產物（該部位係在選殖之質體進行 PCR 增數期間由引物引入）。將所產生之經限制酶分解出的 κ 輕鏈編碼區序列再分別進行凝膠分離，並利用 QIAquick®凝膠萃取套組（目錄編號 28704，加州華倫西亞市奎爾金公司）進行純化。

然後，將 10 種已純化之經限制酶分解的 κ 輕鏈編碼區序列各自分別接合入哺乳動物表現載體，pDSR α 20（WO 90/14363）中，以創造相對應於該 10 種原始雜交瘤的 10 種分別之 κ 輕鏈表現載體。然後，決定該 10 種 κ 輕鏈表現載體插入子之序列。含有基本上從雜交瘤 3.10.1 衍生出之 κ 輕鏈編碼區的 pDSR α 20 表現載體（pDSR α 20 : 3.10.1）確定含有 5473 個鹼基對，包括一 719 個鹼基對的 PCR 片段，其編碼 3.10.1 κ 輕鏈的 235 個胺基酸殘質（包括 20 個胺基酸之 κ 輕鏈訊號序列）。該表現載體含有如表 6 中所描述之 7 個功能區。

表 6 表現載體 pDSR α 20 : 3.10.1 κ

質體鹼基

對編號：

2 至 881	來自牛腦下腺糖蛋白激素 (α -FSH) 之 α -次單位的轉錄終止/聚腺苷酸化訊號 (Goodwin, te al., 1983, Nucleic Acids Res. 11 : 6873-82 ; Genbank 編號 X00004)
882 至 2027	老鼠二氫葉酸還原酶 (DHFR) 迷你基因，其包含：內生性老鼠 DHFR 啟動因子、cDNA 編碼序列，及 DHFR 轉錄終止/聚腺苷酸化訊號 (Gasser et al, 1982, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 79 : 6522-6 ; Nunberg et al., 1980, Cell 19 : 355-64 ; Setzer et al., 1982, J. Biol. Chem. 257 : 5143-7 ; McGrogan et al., 1985, J. Biol. Chem. 260 : 2307-14)
2031 至 3947	含有安苳青黴素抗性標記基因和質體在大腸桿菌中之複製起源的 pBR322 序列 (Genbank 編號 J01749)
3949 至 4292	SV40 早期啟動因子、增強子和複製起源 (Takebe et al., 1988, Mol. Cell Biol. 8 : 466-72 ; Genbank 編號 J02400)
4299 至 4565	來自 HTLV-1 LTR 功能區塊之轉譯增強子要素 (Seiki et al., 1983, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 80 : 3618-22 ; Genbank 編號 J02029)
4574 至 4730	來自 SV40 16 S , 19SDNA 剪接之捐贈者/受者訊號的內子 (Okayama and Berg, 1983. Mol. Cell Biol. 3 : 280-9 ; Genbank 編號 J02400)
4755 至 5473	介於 XbaI 和 SalI 部位間之 3.10.1 κ 輕鏈 cDNA

B. 重鏈之選殖

利用如上述實施例 3A 中所討論之用於輕鏈的相同方法來選殖來自該 10 種雜交瘤之對 HGF 的抗體的重鏈可變區。從該 10 種雜交瘤之每一種中分離的總體 RNA，修改 5' 端以適合 RACE，並依上述實施例 3 之描述來產生 cDNA 分子。

然後，依實施例 3A 中關於輕鏈之描述，將 10 種 cDNA 分子在分別之 PCR 中增數，但逆向引物（5'-GGA CAC TGA CAT GGA CTG AAG GAG TA-3'（SEQ ID NO：53））係設計為結合至重鏈可變區之互補序列。正向引物仍為正向 GeneRacer™ 套式引物（5' GGA CAC TGA CAT GGA CTG AAG GAG TA-3'）（SEQ ID NO：49）。

然後，將 10 種增數之重鏈可變區序列各分別連接入分別之 pCR4-TOPO 質體內。將 10 種所產生之質體（各含有 10 種重鏈可變區序列之一）分別在細菌中擴增，並依上述實施例 3A 中用於分析輕鏈的描述各分析數個選殖株的序列。使用那些序列來設計 PCR 引物，以依下述擴增來自 10 種選殖之質體的重鏈可變區。

利用上述實施例 3A 中所討論之用於輕鏈的相同策略來設計該 10 組 PCR 之每一組的引物組。各 5'-引物含有一與特殊重鏈可變區序列之胺基端序列互補的部分、一最優化之 Kozak 序列，和一或多個限制部位。例如：用於擴增基本上從雜交瘤 3.10.1 中衍生出之重鏈可變區的 5'-引物序列為：

5'- AGC AGA AGC TTC TAG ACC ACC ATG AAA CAC CTG TGG TTC

XbaI Kozak

TTC CTC CTC -3' (SEQ ID NO: 54)。

該 10 組 PCR 之每一組的 3'-引物含有一與該特殊重鏈可變區序列之一致序列的羧基端互補的部分，包括終止密碼子 and 一限制部位。例如：用於擴增基本上從雜交瘤 3.10.1 中衍生出之重鏈可變區的 3'-引物序列為：

5'- GTG GAG GCA CTA GAG ACG GTG ACC AGG GTT CC -3'
BsmBI

(SEQ ID NO: 55)。

將分別之引物組用於相對應之選殖質體的 PCR 反應中，以擴增該 10 種重鏈可變區序列。將來自那些反應的 10 種增數產物分別進行凝膠分離，並利用 QIAquick®凝膠萃取套組進行純化，然後，依實施例 3A 關於輕鏈之描述，以適當之限制酶切開。所產生之經限制酶分解出的重鏈可變區序列再分別進行凝膠分離，並依實施例 3A 之描述利用 QIAquick®凝膠萃取套組進行純化。

然後，將 10 種已純化之經限制酶分解的重鏈可變區序列中的 3 種（基本上從雜交瘤 3.10.1、1.24.1 和 2.4.4 衍生者）分別接合入哺乳動物表現載體 pDSR α 20 : hIgGC_H 中，以創造 3 種重鏈 IgG1 表現載體。pDSR α 20 : hIgGC_H 表現載體與 pDSR α 20 相同，但其亦含有 IgG1 恆定區序列。pDSR α 20 : hIgGC_H 表現載體摘述於表 7 中。

表 7 表現載體 pDSR α 20 : hIgGC_H
質體鹼基
對編號：

2 至 881	來自牛腦下腺糖蛋白激素 (α -FSH) 之 α -次單位的轉錄終止/聚腺苷酸化訊號 (Goodwin, et al., 1983, Nucleic Acids Res. 11 : 6873-82 ; Genbank 編號 X00004)
882 至 2027	老鼠二氫葉酸還原酶 (DHFR) 迷你基因，其包含：內生性老鼠 DHFR 啟動因子、cDNA 編碼序列，及 DHFR 轉錄終止/聚腺苷酸化訊號 (Gasser et al, 1982, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 79 : 6522-6 ; Nunberg et al., 1980, Cell 19 : 355-64 ; Setzer et al. 1982, J. Biol. Chem. 257 : 5143-7 ; McGrogan et al., 1985, J. Biol. Chem. 260-2307-14)
2031 至 3947	pBR322 序列，包含安苳青黴素抗性標記基因和質體在大腸桿菌中之複製起源的 (Genbank 編號 J01749)
3949 至 4292	SV40 早期啟動因子、增強子和複製起源 (Takebe et al., 1988, Mol. Cell Biol. 8 : 466-72 ; Genbank 編號 J02400)
4299 至 4565	來自 HTLV-1 LTR 功能區塊之轉譯增強子要素 (Seiki et al., 1983, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 80 : 3618-22 ; Genbank 編號 J02029)
4574 至 4730	來自 SV40 16 S , 19SDNA 剪接之捐贈者/受者訊號的內子 (Okayama and Berg, 1983. Mol. Cell Biol. 3 : 280-9 ; Genbank 編號 J02400)
4755 至 5791	介於 XbaI 和 SalI 部位間之 pI/hChI 重鏈 cDNA 。其序列如下： XbaI BsmBI TCTAGACCACCGCCATGGGTGAAAATTGAATCGTCTCTA GTGCCTCCACCAAGGGCCCA TCGGTCTTCC CCCTGGCACC CTCCTCCAAG AGCACCTCTGGGGGCACAGC GGCCCTGGGC TGCCTGGTCA AGGACTACTT CCCCGAACCG GTGACGGTGT CGTGGAATC AGGCGCCCTG ACCAGCGGCG TGCACACCTT CCCGGCTGTC CTACAGTCCT CAGGACTCTA CTCCCTCAGC AGCGTGGTGACCGTGCCCTC CAGCAGCTTG GGCACCCAGA CCTACATCTG CAACGTGAATCACAAGCCCA

	GCAACACCAA GGTGGACAAG AAAGTTGACG CCAAATCTTG TGACAAAAC CACACATGCC CACCGTGCCC AGCACCTGAA CTCCTGGGGG GACCGTCAGT CTTCCTCTTC CCCCCAAAAC CCAAGGACAC CCTCATGATC TCCCGGACCC CTGAGGTCAC ATGCGTGGTG GTGGACGTGA GCCACGAAGACCCTGAGGTC AAGTTCAACT GGTACGTGGA CGGCGTGGAG GTGCATAATG CCAAGACAAA GCCGCGGGAG GAGCAGTACA ACAGCACGTA CCGTGTGGTC AGCGTCCTCA CCGTCCTGCA CCAGGACTGG CTGAATGGCA AGGAGTACAAGTGCAAGTC TCCAACAAAG CCCTCCCAGC CCCCATCGAG AAAACCATCTCCAAAGCCAA AGGGCAGCCC CGAGAACCAC AGGTGTACAC CCTGCCCCCA TCCCGGGATG AGCTGACCAA GAACCAGGTC AGCCTGACCT GCCTGGTCAA AGGCTTCTAT CCCAGCGACA TCGCCGTGGA GTGGGAGAGC AATGGGCAGCCGGAGAACAA CTACAAGACC ACGCCTCCCG TGCTGGACTC CGACGGCTCC TTCTTCCTCT ATAGCAAGCT CACCGTGGAC AAGAGCAGGT GGCAGCAGGG GAACGTCTTC TCATGCTCCG TGATGCATGA GGCTCTGCAC AACCACTACA CGCAGAAGAG CCTCTCCCTG TCTCCGGGTA Sall AATGATAAGT <u>CGAC</u> (SEQ ID NO : 56)
--	--

分析該 3 種 IgG1 表現載體插入子之重鏈可變區的序
列。表 8 中摘述含有基本上從雜交瘤 3.10.1 (pDSR α
20 : hIgGC_H : 3.10.1) 衍生出之重鏈可變區的 pDSR α
20 : hIgGC_H 表現載體。

表 8 表現載體 pDSR α 20 : hIgGC_H : 3.10.1

質體鹼基

對編號：

2 至 881	來自牛腦下腺糖蛋白激素 (α -FSH) 之 α -次單位的轉錄終止/聚腺苷酸化訊號 (Goodwin, et al., 1983, Nucleic Acids Res. 11 : 6873-82 ; Genbank 編號 X00004)
882 至 2027	老鼠二氫葉酸還原酶 (DHFR) 迷你基因, 其包含: 內生性老鼠 DHFR 啟動因子、cDNA 編碼序列, 及 DHFR 轉錄終止/聚腺苷酸化訊號 (Gasser et al, 1982, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 79 : 6522-6 ; Nunberg et al., 1980, Cell 19 : 355-64 ; Setzer et al. 1982, J. Biol. Chem. 257 : 5143-7 ; McGrogan et al., 1985, J. Biol. Chem. 260-2307-14)
2031 至 3947	pBR322 序列, 包含安苳青黴素抗性標記基因和質體在大腸桿菌中之複製起源的 (Genbank 編號 J01749)
3949 至 4292	SV40 早期啟動因子、增強子和複製起源 (Takebe et al., 1988, Mol. Cell Biol. 8 : 466-72 ; Genbank 編號 J02400)
4299 至 4565	來自 HTLV-1 LTR 功能區塊之轉譯增強子要素 (Seiki et al., 1983, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 80 : 3618-22 ; Genbank 編號 J02029)
4574 至 4730	來自 SV40 16 S, 19SDNA 剪接之捐贈者/受者訊號的內子 (Okayama and Berg, 1983. Mol. Cell Biol. 3 : 280-9 ; Genbank 編號 J02400)
4755 至 6178	介於 XbaI 和 SalI 部位間之 3.10.1 重鏈 IgG1 cDNA。

將 10 種已純化之重鏈可變區序列各自分別接合入 pDSR α 20 哺乳動物表現載體中，加上編碼 IgG2 恆定區之序列，以創造 10 種 IgG2 表現載體。該 10 種所產生之 IgG2 表現載體（命名為 pDSR α 20 : hIgG2 : 雜交瘤#）各含有編碼 IgG2 之恆定區的序列，及 10 種重鏈可變區序列的其中之一。分析該 10 種重鏈可變區序列插入子之序列，以確認其含有來自 pCR4- TOPO 選殖株之選殖質體內的相同重鏈可變區序列。含有基本上從雜交瘤 2.12.1（pDSR α 20 : hIgG2 : 2.12.1）衍生出之重鏈可變區的 pDSR α 20 : hIgG2 表現載體摘述於表 9 中。

表 9 表現載體 pDSR α 20 : IgG2 : 2.12.1

質體鹼基

對編號：

2 至 881	來自牛腦下腺糖蛋白激素 (α -FSH) 之 α -次單位的轉錄終止/聚腺苷酸化訊號 (Goodwin, et al., 1983, Nucleic Acids Res. 11 : 6873-82 ; Genbank 編號 X00004)
882 至 2027	老鼠二氫葉酸還原酶 (DHFR) 迷你基因，其包含：內生性老鼠 DHFR 啟動因子、cDNA 編碼序列，及 DHFR 轉錄終止/聚腺苷酸化訊號 (Gasser et al, 1982, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 79 : 6522-6 ; Nunberg et al., 1980, Cell 19 : 355-64 ; Setzer et al. 1982, J. Biol. Chem. 257 : 5143-7 ; McGrogan et al., 1985, J. Biol. Chem. 260-2307-14)
2031 至 3947	pBR322 序列，包含安苳青黴素抗性標記基因和質體在大腸桿菌中之複製起源的 (Genbank 編號 J01749)
3949 至 4292	SV40 早期啟動因子、增強子和複製起源 (Takebe et al., 1988, Mol. Cell Biol. 8 : 466-72 ; Genbank 編號 J02400)
4299 至 4565	來自 HTLV-1 LTR 功能區塊之轉譯增強子要素 (Seiki et al., 1983, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 80 : 3618-22 ; Genbank 編號 J02029)
4574 至 4730	來自 SV40 16 S，19SDNA 剪接之捐贈者/受者訊號的內子 (Okayama and Berg, 1983. Mol. Cell Biol. 3 : 280-9 ; Genbank 編號 J02400)
4755 至 6166	介於 XbaI 和 SalI 部位間之 2.12.1 重鏈 IgG2 cDNA 。

κ 輕鏈可變區之 cDNA 序列 (SEQ ID NOs : 1、3、5、7、9、11、13、15、17 和 19)、 κ 輕鏈恆定區 (SEQ ID NO : 21)、重鏈可變區 (SEQ ID NOs : 2、4、6、8、10、12、14、16、18 和 20)，以及 IgG1 和 IgG2 重鏈恆定區 (SEQ ID NOs : 22 和 23) 顯示於第 3 圖中。

決定從那些 cDNA 序列所各預測得之多肽序列。 κ 輕鏈可變區之預測的多肽序列 (SEQ ID NOs : 24、26、28、30、32、34、36、38、40 和 42)、 κ 輕鏈恆定區之預測的序列 (SEQ ID NO : 44)、重鏈可變區之預測的多肽序列 (SEQ ID NOs : 25、27、29、31、33、35、37、39、41 和 43)，及 IgG1 和 IgG2 重鏈恆定區之預測的多肽序列 (SEQ ID NOs : 45 和 46) 顯示於第 4 圖中。

根據序列之資料可測定各重鏈或輕鏈可變區係從何種系基因衍生得來。在第 1、2、3，和 4 圖中，種系基因之鑑定證明係表示在相對應之雜交瘤株的旁邊。進一步分析序列之相關性 (第 1B 和 2B 圖) 可產生第 1A 圖 (κ 輕鏈可變區) 和第 2A 圖 (重鏈可變區) 中所顯示之樹圖。

實施例 4

293T 細胞中之過渡性表現

在 10 種分別之共同-轉染反應中，以實施例 3A 中所描述之含有 κ 輕鏈序列的 pDSR α 20 表現載體 (輕鏈載體)，和實施例 3B 中所描述之含有重鏈序列的 pDSR α 20 表現載體 (重鏈載體) 來共同-轉染 293T 細胞。在那

10 種分別之共同-轉染反應中，以基本上從實施例 1 所討論之雜交瘤的其中一種衍生得到的輕鏈載體，和重鏈載體來共同-轉染 393T 細胞。具體地說，爲了共同轉染基本上從雜交瘤 3.10.1 衍生得到的載體，使用含有 IgG1 (pDSR α 20 : hIgGC_H : 3.10.1) 的重鏈載體。爲了共同轉染基本上從其它 9 種雜交瘤衍生得到的載體，使用含有 IgG2 (pDSR α 20 : hIgG2 : 雜交瘤#) 的重鏈載體。共同-轉染反應係利用 Eugene 6 或 X-TremeGene RO-1539 (二者均來自印第安那州印第安那波里市，羅氏 (Roche) 分子生物化學公司)，依照製造者之指示進行。

共同-轉染首先係利用黏附在標準滾筒瓶中之 293T 細胞進行。將在 DMEM (含有 5%胎牛血清 (FSH) (海克隆，目錄編號 SH 30070.03)，1X 非必須胺基酸 (史格馬，目錄編號 M 7145)、1X 青黴素/鏈黴素 (史格馬，目錄編號 P 7539 (10,000 U/毫升青黴素/鏈黴素))，和 1X 丙酮酸鈉 (因維特金，加州卡斯巴市)) 中之 4×10^7 至 5×10^7 細胞/滾筒接種入滾筒瓶中。當細胞達到 60-70%融合時，將基本上從一特殊雜交瘤所衍生的重鏈載體，和輕鏈載體共同-轉染入細胞中 24 小時，然後，將介質改爲不含血清之相同介質。收集不含血清之介質，並在轉染 48 和 96 小時後，以新鮮之不含血清的介質替換二次，以產生全部體積爲 1.25 升之不含血清的介質。

利用已適應不含血清之 293T 細胞 (此細胞係在上述所討論之不含血清的相同介質內的懸浮液中) 重複進行

10 種分別之共同-轉染反應。將相對應於一特殊雜交瘤之重鏈載體和輕載體共同-轉染入細胞中，其培養體積為 500 毫升。將已轉染之細胞培養 7 天，然後，收集不含血清之條件介質。

實施例 5

CHO 細胞之抗體表現和選殖

使用缺乏 DHFR 之中國大頰鼠卵巢細胞（CHOd⁻）來產生對 HCF 之重組抗體的穩定表現。在 10 種分別之共同-轉染反應中，依實施例 4 之討論，以基本上從實施例 1 所討論之其中一種雜交瘤衍生得到的重鏈載體和輕鏈載體來共同-轉染 CHOd⁻細胞。利用標準之磷酸鈣方法來達成共同-轉染反應。

將來自該 10 種共同-轉染組之各轉染細胞分別生長在含高葡萄糖、缺少次黃嘌呤-胸腺核苷，帶有 5% 透析之胎牛血清的 DMEM 選擇介質（吉布可/BRL，加州卡斯巴市，目錄編號 11965）中。這類缺少次黃嘌呤-胸腺核苷之介質係用來長成可表現重組之 DHFR 酶的細胞。利用標準之 ELISA 分析篩選來自各長成之轉染株的介質，以偵測是否有人類抗體存在。

實施例 6

CHOd⁻殖株中，對 HGF 之抗體的表現

將實施例 5 中所描述之 10 種不同的穩定 CHOd⁻選殖

株（各個不同選殖株表現該 10 種對 HGF 之抗體的其中之一）的各 6 個樣本分別生長於生長介質中。該生長介質為具有高葡萄糖（吉布可/BRL，加州卡斯巴市，目錄編號 11965）之 DMEM，其中並補充有 5% 透析之 FBS、非必須胺基酸和 L-麩胺醯胺（生命技術，加州卡斯巴市）。讓細胞在 37°C，5%CO₂ 中生長。

● 當 CHO^d 選殖株達到生長之 6-槽階段時，將 10nM 胺基甲基葉酸加入生長介質中，以擴增抗體之表現。當細胞達到融合後，將其移至 100 毫米培養皿中。胺基甲基葉酸之濃度從 10nM 至 20nM，至 50nM，至 100nM，至 250nM，至 500nM，至 1μM，至 2μM，至 4μM，逐步增加，最後達 10μM。將細胞在各濃度至少維持一週，直到其足夠適應指定濃度之胺基甲基葉酸（由目視測定）。

● 在各胺基甲基葉酸濃度下，分析來自各選殖株之條件介質，以測定對 HGF 之各抗體的表現水準。藉由標準 ELISA 和時間-解析螢光（TRF）三明治分析，以半-定量方式測量對 HGF 之抗體結合至已塗覆人類 HGF 之分析盤的情況來分析該介質。

依下述，讓具有最高抗體表現水準之胺基甲基葉酸-擴增選殖株適應在不含血清之生產介質中生長。以胰蛋白酶將選殖株從培養瓶中移出，離心，並以 4×10⁵ 細胞/毫升之密度將其重新懸浮在 250 毫升之固體蓋搖動燒瓶內之不含血清的生產介質 50 毫升中。將培養在 37°C 之溫室中培養，並在約 125RPM 攪拌之。每 3-4 天將細胞離心下來，

並以新鮮之不含血清的生產介質將其稀釋成 4×10^5 細胞/毫升。每一培養約需加入 10 次新鮮、不含血清的生產介質，以完成此適應相。

實施例 7

從重組細胞之條件介質中純化抗體

收集來自實施例 1 中所描述之雜交瘤、來自實施例 4 中所描述之過渡表現 293T 細胞、來自實施例 5 中所描述之穩定轉染株，以及來自實施例 6 中所描述之胺基甲基葉酸-擴增的選殖株的介質。依照製造者之指示，利用 YM30 螺旋剝離筒匣 (spiral wound cartridge) (米厘波 (Milipore)，麻州貝德福市，目錄編號 S10Y30) 將來自各來源之介質分別濃縮約 10 倍。藉由高效能液態色層分析法 (HPLC) 來評估在各濃縮介質樣本中所存在之抗體濃度。

利用重組蛋白質 A 瓊脂糖 (Protein A Sepharose) (rProA) (艾默森公司，紐澤西州匹斯凱特威市，目錄編號 17-1279-03)，藉由親和力樹脂純化作用從濃縮之介質樣本中純化抗體。先以磷酸鹽緩衝之生理食鹽水 (PBS) 清洗 rProA 4 次。最後一次清洗後，經由混合等體積之 rProA 和 PBS 來製造在 PBS 中之清洗的 rProA 的漿液。將 rProA 漿液加入各濃縮介質樣本中，其量為：5 微克介質樣本中之抗體約使用 1 微升 rProA 漿液。但任何介質樣本中均不可使用少於 50 微升之 rProA 漿液。將所

產生之介質/漿液樣本在 4°C 培育一整夜，並一邊搖動。然後，將介質/漿液樣本離心，以沈澱出 rProA 小丸。丟棄含有未結合之蛋白質的上清液分液。將 rProA 小丸各分別再懸浮於 0.5 毫升 PBS 中。然後，將再懸浮之 rProA 樣本轉移至 0.45 微米 Spin-X 管（CoStar，紐約卅康寧，目錄編號 8162）中，並離心去除 PBS。然後，以每次 0.5 毫升之 PBS 清洗在 Spin-X 管中之 rProA 三次。

● 經由加入 1.5 體積之 0.1M 甘胺酸，pH2.7，並在室溫培育 10 分鐘來將抗體分液從 Spin-X 管內之 rProA 中洗提出來。然後，將 Spin-X 管離心，並分別收集來自各 Spin-X 管之洗提液。重複洗提，並將來自各 Spin-X 管的二次洗提液累積在一起。以 1/25 體積之 1.0M Tris，pH9.2 中和累積的洗提液。然後，將各樣本通過新的 Spin-X 管過濾，以去除顆粒。

● 利用人類 IgG 作為標準，藉由布雷福（Bradford）分析來決定最終製劑的蛋白質濃度。為了評估純度。將各最終製劑的樣本分別在分開之 SDS-PAGE 凝膠道上移行，以考麻薩（coomassie）染色，並經由目視檢查之。

實施例 8

決定抗體結合至 HGF 的特徵

A. 親和力之測量

根據製造者之指示，利用 BIAcore[®]3000（拜爾可（Biocore）公司，紐澤西州匹斯凱特威市）分析實施例 6

中所描述之 6 種對 HGF 之抗體（那些基本上從雜交瘤 3.10.1、2.4.4、2.12.1、1.29.1、1.75.1，和 1.74.3 衍生者）的親和力。用於那些分析之移行緩衝液為帶有 0.005%P20 界面活性劑（拜爾可公司，紐澤西州匹斯凱特威市）的 PBS。利用胺偶合套組（拜爾可（Biocore）公司，紐澤西州匹斯凱特威市），根據製造者之指示，經由一級胺基團將重組蛋白質 G（Recombinant Protein G）（皮爾斯（Pierce）公司，伊利諾州洛克福市）經由固定在一研究級 CM5 感應片（拜爾可公司，紐澤西州匹斯凱特威市）上。

根據製造者之指示，在 6 個分別之樣本中，將該 6 種對 HGF 之抗體各約 200 個共振單位（RU）分別連接至固定的蛋白質 G 上。將含有不同濃度（0-100nM）之人類 HGF 的樣本，以 50 微升/分之流速注入結合之抗體表面上 3 分鐘。利用 BIA 估算 3.1 電腦程式（拜爾可公司，紐澤西州匹斯凱特威市）來測定抗體結合動力學變數，包括 k_a （結合速率常數）、 k_d （離解速率常數），及 K_D （離解平衡常數）。較低之離解平衡常數表示抗體對 HGF 之親和力較大。其資料呈現於第 6A 圖中。

利用平衡結合方法測量 4 種對 HGF 之抗體（那些基本上從雜交瘤 2.4.4、1.29.1、1.74.2 和 2.12.1 衍生者）的個別 K_D 值。此方法係利用帶有 0.005%P20 界面活性劑（拜爾可公司，紐澤西州匹斯凱特威市）的 PBS 作為移行緩衝液，以 BIAcore®3000（拜爾可公司，紐澤西州匹斯

凱特威市) 來進行。利用胺偶合套組(拜爾可(Biocore)公司, 紐澤西州匹斯凱特威市), 根據製造者之指示, 將 4 種對 HGF 之抗體經由一級胺基團分別固定在研究級之 CM5 感應片(拜爾可公司, 紐澤西州匹斯凱特威市) 上。

在分別之分析中, 將在一濃度範圍(從 0.01nM 至 50nM) 內之 4 種對 HGF 的抗體各分別與二種在 PBS (帶有 0.005%P-20 和 0.1 毫克/毫升 BSA) 中之不同濃度(0.05nM 和 1nM) 的人類 HGF 在室溫中培育至少 6 小時。然後, 將那些樣本各注入 CM5 感應片(其上已固定該相同之對 HGF 的抗體)之表面上。所得之結合訊號與溶液中之游離 HGF 成比例。利用雙-曲線一-部位同質結合模型(KinExA 軟體, 沙比待(Sapidyne)儀器公司, 印第安那州波伊斯市), 從競爭曲線之非線性回歸分析中取得離解平衡常數(K_D)。那些離解平衡常數值呈現於第 6B 圖中。

B. 對 HGF 之抗體的結合專一性

將人類 HGF 或者是表現在 CHO 細胞中, 或者是從 R&D 系統(R&D 系統, 明尼蘇達州明尼艾波里市, 目錄編號 294-HG-005) 購得。重組之老鼠 HGF 係利用 Liu et al., Molecular cloning and characterization of cDNA encoding mouse hepatocyte growth factor, Biochim Biophys Acta. 16 : 1216 (2) : 299-300 (1993) 中的序列來製

備。重組之老鼠 HGF 係經由利用桿狀病毒載體表現在昆蟲細胞中，或經由表現在 293T 細胞中來取得。在任一種情況中，老鼠 HGF 係藉由硫酸肝素親和力色層分析法來進行純化。

每一種人類和老鼠 HGF 之製品均顯示出其為生物活性的。人類 HGF 可在人類 PC3 細胞（ATCC 曼那薩斯（Manassas），VA # CRL 1435）和老鼠 4T1 細胞（ATCC 曼那薩斯，VA # CRL 2531）中誘導出劑量-倚賴性之人類 Met 磷酸化作用。老鼠 HGF 可在老鼠 4T1 細胞中誘導出 Met 磷酸化作用，但在人類 PC3 細胞中則不。

將人類 HGF 和老鼠 HGF 在分開之 SDS PAGE 凝膠道上移行。將人類 HGF 和老鼠 HGF 各分別以 100 毫微克/道和 10 毫微克/道進行移行實驗。一些凝膠係在非-還原條件下進行移行，其它分別之凝膠則在利用 β -巰乙醇之還原條件下進行移行。將在 SDS PAGE 凝膠中之人類 HGF 和老鼠 HGF 轉移至硝基纖維素膜上。將那些膜分別與實施例 6 中所描述之 10 種對 HGF 的抗體的其中一種一起培育。將 10 種對 HGF 之抗體各分別在還原條件下與來自含人類 HGF 和老鼠 HGF 之凝膠的硝基纖維素膜一起培育，以及在非-還原條件下與來自含人類 HGF 和老鼠 HGF 之凝膠的硝基纖維素膜一起培育。然後，將膜與連接 HRP（皮爾斯公司，伊利諾州洛克福市，目錄編號 31412）之山羊抗-人類 IgG 抗體一起培育。依照製造者之指示，藉由電發光（ECLTM；Amersham Pharmacia Biotech, Piscataway,

NJ, Cat. # RPN2106) 化學偵察來自連接 HRR 之山羊 抗-人類 IgG 抗體的訊號。

第 7 圖顯示實施例 6 中所描述之測試該 10 種對 HGF 之抗體的凝膠圖。左邊之表板顯示在非還原條件下，測試對抗 100 毫微克人類 HGF (第 1 道)、10 毫微克人類 HGF (第 2 道)、100 毫微克老鼠 HGF (第 3 道)，和 10 毫微克老鼠 HGF (第 4 道) 之各抗體的凝膠圖。右邊之表板顯示在還原條件下，測試對抗 100 毫微克人類 HGF (第 5 道)、10 毫微克人類 HGF (第 6 道)、100 毫微克老鼠 HGF (第 7 道)，和 10 毫微克老鼠 HGF (第 8 道) 之各抗體的凝膠圖。在非還原條件下，各測試之對 HGF 的抗體結合至人類 HGF (第 1 和第 2 道)。在非還原條件下，所有測試之對 HGF 的抗體均不顯著結合老鼠 HGF (第 3 和第 4 道)，或者，在還原條件下，所有測試之對 HGF 的抗體均不顯著結合人類 HGF (第 5 和第 6 道)，或老鼠 HGF (第 7 和第 8 道)。

C. 利用融合蛋白質製作抗原決定部位圖與

利用標準之分子技術建構其中含有鄰近載體 pCEP4 (因維特金，加州卡斯巴市，目錄編號 V044-50) 之多選殖部位的編碼雞卵白素之 cDNA 序列的哺乳動物表現載體 (第 9A 圖)。該載體包括雞卵白素訊號序列 (第 9B 圖)，以分泌接著表現出之融合蛋白質。表現載體係經由將編碼特殊之靶的蛋白質的序列插入融合蛋白質表現載體

之多選殖部位來建構。所產生之融合構造物各編碼一在靶的蛋白質之 N-端的卵白素蛋白質。

利用此技術，製備含有融合至下列靶的蛋白質之卵白素的融合蛋白質：全長之人類蛋白質；d5 HGF，其為天然產生之人類 HGF 的基因剪接變異體（Rubin, J. et al. PNAS 88：415-419（1991））；全長之老鼠 HGF；嵌合體#1，其含有人類 HGF 之 N-端部分（胺基酸 32-505）和老鼠 HGF 之 C-端部分（胺基酸 508-728）；嵌合體#2，其含有老鼠 HGF 之 N-端部分（胺基酸 33-506）和人類 HGF 之 C-端部分（胺基酸 506-728）；和嵌合體#3，其含有人類 HGF 之 N-端部分（胺基酸 32-582）和老鼠 HGF 之 C-端部分（胺基酸 583-728）。

融合蛋白質之圖解表示顯示於第 10 圖中。HGF 之 N-端功能區塊含有 4 個由標示 K1-K4 之方格代表的丹麥餡餅（kringle）功能區塊。HGF 之 C-端功能區塊與絲胺酸蛋白酶同源。該功能區塊由棒形條代表。開放之方格和實體棒形條表示人類 HGF 序列。有陰影之方格和條紋棒形條表示老鼠序列。

根據製造者之指示，利用脂染胺（Lipofectamine）（吉布可 BRL 公司，加州卡斯巴市，目錄編號 18324），以一種個別之融合蛋白質表現載體分別轉染細胞，以使個別之融合蛋白質過渡表現在 293T 細胞中。在轉染後約 48 小時收集並分析條件化之介質。

在分別之樣本中，將實施例 6 中所描述之 10 種對

HGF 的抗體中的 5 種（那些基本上從雜交瘤 2.4.4、1.74.1、1.75.1、3.10.1 和 2.12.1 所衍生者）分別與含有各下列靶的蛋白質的融合蛋白質一起培育：全長之人類 HGF、d5 HGF 和老鼠 HGF。培育後，將各樣本中之融合蛋白質分別利用經生物素塗覆之小珠（史芬洛泰（Spherotech）公司，伊利諾州自由丘市，目錄編號 TP-60-5）捕捉。加入經 FITC 標示之抗-卵白素抗體（維克多●（Vector）實驗室，加州柏林根市，目錄編號 SP-2040）來標示所產生之小珠-蛋白質複合物。加入經藻紅質（PE）標示之山羊抗-人類 F(ab')₂ 抗體（南方生物技術聯合公司，阿拉巴馬州伯明罕市，目錄編號 2043-09）來決定是否有對 HGF 之抗體的存在。

然後，將那些樣本進行螢光活化之細胞分類器（FACS）分析。在貝克通 狄金森 生物科學（Becton Dickinson Bioscience）FACSscan（BD，紐澤西州富蘭克●林湖市）上偵測以 FITC（其指出是否有卵白素存在），及/或 PE（其指出是否有對 HGF 的抗體存在）標示之小珠複合物。該 5 種測試之對 HGF 的抗體的 FACS 散射繪圖呈現在第 8 圖中。

在分別之樣本中，將實施例 6 中所描述之 10 種對 HGF 的抗體中的 2 種（那些基本上從雜交瘤 2.12.1 和 2.4.4 所衍生者）分別與含有各下列靶的蛋白質的融合蛋白質一起培育：全長之人類 HGF、d5 HGF 和老鼠 HGF、嵌合體 #1、嵌合體 #2 和嵌合體 #3。依上述，將那些樣本

進行 FACS 分析。

那些結合實驗之結果摘述於第 10A 圖中，計畫圖解之右邊。抗體 2.12.1 和 2.4.4 均未結合至嵌合體 #1。抗體 2.12.1 和 2.4.4 二者均結合至嵌合體 #2。抗體 2.4.4 結合至嵌合體 #3。抗體 2.12.1 未結合至嵌合體 #3。

D. 利用融合蛋白質進一步製作抗原決定部位圖輿

依上述實施例 8C 中之描述建構其它人類/老鼠嵌合體，並進行分析（第 10B 圖），以提供其它關於抗體 2.4.4 和 2.12.1 所結合之 HGF 的抗原決定部位的資料。用來產生嵌合體的引物顯示於表 10 中。

表 10 用來產生人類/老鼠 HGF 嵌合體及單點突變種、插入和缺失的寡核苷酸

SEQ ID NO.	寡核苷酸 #	序列	n	構造物	斷裂點或突變
124	3201-76	ATG CGT CTC CCT TGA TGA TGC TGG CTG CAT TTC	33	pt.突變種	hHGFR647Q
125	3201-75	ATG CGT CTC TCA AGG GAA GGT GAC TCT GAA TGA	33	pt.突變種	hHGFR647Q
126	3201-72	ATG CGT CTC TAA CTA GGT AAA TCA ATC GTA CTA ACA	36	pt.突變種	hHGFR601S
127	3201-71	ATG CGT CTC TAG TTA TGG ATG CAC AAT TCC TGA AA	35	pt.突變種	hHGFR601S
128	3201-70	ATG CGT CTC AAT TAT CCA GGA CAG CAG GCC TG	32	pt.突變種	hHGFR592N
129	3201-69	ATG CGT CTC ATA ATT TTG TTA GTA CGA TTG ATT TAC C	37	pt.突變種	hHGFR592N
130	3201-68	ATG CGT CTC GCG TTT CTC ATC TCC TCT TCC GT	32	pt.突變種	hHGFR561R
131	3201-67	ATG CGT CTC AAA CGC AAA CAG GTT CTC AAT GTT T	34	pt.突變種	hHGFR561R
132	3201-66	ATG CGT CTC CTT TCG TGG ACA TCA TGA ATT CCA A	34	pt.突變種	hHGFR555E

133	3201-65	ATG CGT CTC CGA AAG AGG AGA TGA GAA ATG CAA A	34	pt.突變種	hHGFG555E
134	3201-64	GAG CAG CTG CTA GCA AGC TTG CTA	24	限制位	hHGF n-端+ NotI
135	3167-41	ATG CGT CTC AGA GAC TTG AAA GAC TAT GAA GCT TG	55	缺失	mHGF DK 缺失
136	3167-42	ATG CGT CTC GTC TCT GGC TGG AAA ACA TTG TCT T	34	缺失	mHGF DK 缺失
137	3167-44	ATG CGT CTC AAC AAA GAC TTG AAA GAT TAT GAA GCT TG	38	插入	hHGF DK 插 入
138	3167-43	ATG CGT CTC TTT GTT TCG AGA AGG GAA ACA CTG TCG	36	插入	hHGF DK 插 入
139	3167-37	ATG CGT CTC AAG CTT GCC AGG CCT GCT GT	29	嵌合體 9	hHGF aa586-3'
140	3167-40	ATG CGT CTC AAG CTT CAG TAA AAC CAA GTC TGA	33	嵌合體 9	mHGF 5'- aa585
141	3167-38	ATG CGT CTC AAG CTT GCT CGA CCT GCA ATC	30	嵌合體 8	mHGF aa586-3'
142	3167-39	ATG CGT CTC AAG CTT CAT TAA AAC CAG ATC TGA	33	嵌合體 8	hHGF 5'- aa585
143	3167-37	ATG CGT CTC AAG CTT GCC AGG CCT GCT GT	29	嵌合體 7	hHGF aa586-3'
144	3167-40	ATG CGT CTC AAG CTT CAG TAA AAC CAA GTC TGA	33	嵌合體 7	mHGF 5'- aa585
145	3167-38	ATG CGT CTC AAG CTT GCT CGA CCT GCA ATC	30	嵌合體 3	mHGF aa586-3'

146	3167-39	ATG CGT CTC AAG CTT CAT TAA AAC CAG ATC TGA	33	嵌合體 3	hHGF 5'- aa585
147	3167-35	ATG CGT CTC TAG GAT GGA TGG TTA GTT TGA GAT	33	嵌合體 2	hHGF aa507-3'
148	3167-36	ATG CGT CTC ATC CTA CTG TTG TTT GTG TTG GAA T	34	嵌合體 2	mHGF 5'- aa506
149	3144-31	ATG CGT CTC TAG GAT GGA TGG TTA GTT TGA AAT A	34	嵌合體 1	mHGF aa507-3'
150	3080-16	ATG CGT CTC ATC CTA TGT TTG TTC GTG TTG G	31	嵌合體 1	hHGF 5'- aa506
151	3080-04	ATG CGT CTC ATG CAT CCA AGG TCA AGG AGA AG	32	嵌合體 6	hHGF aa307-3'
152	3144-28	ATG CGT CTC ATG CAT TCA GTT GTT TCC ATA GG	32	嵌合體 6	mHGF 5'- aa306
153	3079-84	ATG CGT CTC ATG CAT GAC CTG CAA TGG GGA G	31	嵌合體 5	hHGF aa213-3'
154	3144-27	ATG CGT CTC ATG CAT TCA ACT TCT GAA CAC TGA	33	嵌合體 5	mHGF 5'- aa212
155	3079-77	ATG CGT CTC ATG CAT CAT TGG TAA AGG AGG C	31	嵌合體 4	hHGF aa129-3'
156	3079-78	ATG CGT CTC ATG CAG TTT CTA ATA TAG TCT TTG TTT TC	38	嵌合體 4	mHGF 5'- aa128
157	3079-83	ATG GGA TCC CTA TGA CTG TGG TAC CTT ATA TG	32	限制位	hHGF c-端+ BamHI

158	2870-60	ATG CGG CCG CAC AAA GGA AAA GAA GAA ATA CAA TTC	36	限制位	hHGF n-端+ NotI
159	3013-96	CGG GAT CCT TAC AAC TTG TAT GTC AAA ATT AC	32	限制位	hHGF c-端+ BamHI
160	3013-95	ATG ATG GCG GCC GCT CAG AAG AAA AGA AGA AAT ACA CTT C	40	限制位	hHGF n-端+ NotI

第 10B 圖顯示所創造之用於研究的老鼠和人類 HGF 嵌合分子的圖解圖形，圖形右手邊所指示的為抗體 2.12.1 和 2.4.4 結合至各嵌合體的行為。在本研究中嵌合體 #1-3 等同於實施例 8C 和第 10A 圖中之嵌合體 #1-3。嵌合體 #4-6 將老鼠 HGF 之 N-端增加量併入另一完全的人類 HGF 之分子中。嵌合體 #7 將老鼠 HGF 之胺基酸 507-585 用於另一人類 HGF 分子中，嵌合體 #8 將人類 HGF 之胺基酸 507-585 用於另一老鼠 HGF 分子中。嵌合體 #9 係從老鼠 HGF 之胺基酸 1-585 和人類 HGF 之胺基酸 586-737 建構出。

依實施例 8C 中之描述分析抗體 2.4.4 和 2.12.1 對嵌合蛋白質之結合情形。將抗體 2.4.4 或抗體 2.12.1 與一種融合蛋白質一起培育後，利用經生物素塗覆之小珠（史芬洛泰公司，伊利諾州自由丘市，目錄編號 TP-60-5）分別捕捉在各樣本中之融合蛋白質。加入經 FITC 標示之抗-卵白素抗體（維克多實驗室，加州柏林根市，目錄編號 SP-2040）以標示所產生之小珠-蛋白質複合物。加入經藻紅質（PE）標示之山羊抗-人類 F（ab'）₂ 抗體（南方生物

技術聯合公司，阿拉巴馬州伯明罕市，目錄編號 2043-09) 以決定是否有對 HGF 之抗體的存在。然後，將那些樣本進行螢光活化細胞分類器 (FACS) 分析。在貝克通狄金森 生物科學 FACScan (BD, 紐澤西州富蘭克林湖市) 上偵測以 FITC (其指出是否有卵白素存在)，及/或 PE (其指出是否有對 HGF 的抗體存在) 標示之小珠複合物。在某些情況中，利用 FITC 將表現標準化後，以 PE 標示結合抗體後進行單-色 FACS 分析。此方法可增加分析之敏感度，並協助測量與表現水準並非很高之構造物結合的情況。

如第 10B 圖中所示，抗體 2.4.4 和 2.12.1 二者均結合至嵌合體 #8 (第 10B 圖) (含有人類 HGF 之胺基酸 507-585)。這些結果提出該區含有直接或間接涉及抗體 2.4.4 和 2.12.1 結合至 HGF 的殘質。含有在此相同 507-585 區中之老鼠序列的嵌合體 (嵌合體 7 和 9) 不會結合抗體 2.12.1 和 2.4.4。雖然有人類 HGF 之胺基酸 507-585 存在，嵌合體 3 不會結合抗體 2.12.1，但會結合抗體 2.4.4。

爲了取得人類 HGF 之胺基酸 507-585 (GWMVSLRYRNKHI CGGSLIKESWVLTARQCFPSR—DLKDYEAWLGIHDVHGRGDEKCKQVLNVSQLVYGPEGSDLVLM (SEQ ID NO: 123) (見第 10D 圖)) 的進一步資料，利用表 10 中所列之引物創造含有特殊之單點突變的突變種 HGF (第 10C 圖)，此突變可將胺基酸 507-585 區

內之人類殘質改變成老鼠殘質。建構人類 HGF-卵白素融合蛋白質，其含有從人類 HGF 序列至老鼠 HGF 序列（Genebank 編號分別為 NM_000601 和 NM_010427）之 5 種單一，非保留性胺基酸變化。亦創造二種其它構造物，其中一種構造物係包含在人類 HGF 序列中插入二個胺基酸，另一包含從老鼠 HGF 序列刪除二個胺基酸（第 10C 圖）。

依實施例 8C 和 8D 之描述，將這些構造物表現出，並進行結合分析。將抗體 2.4.4 或抗體 2.12.1 與一種突變蛋白質培育後，利用經生物素塗覆之小珠（史芬洛泰公司，伊利諾州自由丘市，目錄編號 TP-60-5）分別捕捉在各樣本中之突變蛋白質。加入經 FITC 標示之抗-卵白素抗體（維克多實驗室，加州柏林根市，目錄編號 SP-2040）來標示所產生之小珠-蛋白質複合物。加入經藻紅質（PE）標示之山羊抗-人類 F(ab')₂ 抗體（南方生物技術聯合公司，阿拉巴馬州伯明罕市，目錄編號 2043-09）來決定是否有對 HGF 之抗體的存在。然後，將那些樣本進行螢光活化細胞分類器（FACS）分析。在貝克通 狄金森 生物科學 FACScan（BD，紐澤西州富蘭克林湖市）上偵測以 FITC（其指出是否有卵白素存在），及/或 PE（其指出是否有對 HGF 的抗體存在）標示之小珠複合物。在某些情況中，利用 FITC 將表現常態化後，在 PE 標示結合抗體後進行單-色 FACS 分析。此方法可增加分析之敏感度，並協助測量與表現水準並非很高之構造物結合的情

況。

結果發現在胺基酸 561 之突變會中斷突變之人類 HGF 和抗體 2.12.1 間，以及突變之人類 HGF 和抗體 2.4.4 間的結合，但胺基酸 592、601 或 647 處的突變則不會。在胺基酸 555 處之突變會中斷抗體 2.12.1 之結合，但不會干擾抗體 2.4.4 之結合。插入該二個老鼠胺基酸 540N 和 541K（不存在於人類序列中）（見第 10D 圖）會中斷結合至任一抗體。從老鼠 HGF 序列刪除那二個胺基酸不會使任一抗體結合至老鼠 HGF 上。

E.藉由蛋白酶保護分析來製作抗原決定部位圖與

進行互補性古典蛋白酶保護分析，以鑑定抗體 2.12.1 所結合之 HGF 抗原決定部位。見，Yiand Skalka, Mapping Epitopes of Monoclonal Antibodies Against HIV-1 Integrase with Limited Proteolysis and Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization Time-of-Flight Mass Spectrometry, Biopolymers (Peptide Science) 55 : 3-8-318 (2000)。將人類 HGF (30 微克 / 10 微升) 與抗體 2.12.1 (40 微克 / 4 微升) 混合在 200 微升之 0.1M Tris 緩衝液，pH7.5 中，並在冰上培育 30 分鐘。在 37℃ 以胰蛋白酶 (1 微克) 分解 1 小時。將已分解之物質進行逆相 HPLC，以將肽分離。同時，將人類 HGF 單獨 (無抗體 2.12.1) 以胰蛋白酶分解。將 HPLC 管柱 (Vydac C18，2.1×150 毫米，維達克 (Vidad) 公司，加州海斯培利市)

在 0.1% 三氟醋酸 (TFA) 中操作 , 洗提梯度為在 0.1%TFA 中之 2-35% 乙腈。以 HP 1090 HPLC 裝置 (惠普 , 帕羅歐圖) 記錄洗提出之肽的 UV 圖形。比較二種 HPLC 圖與 , 以檢查經由結合抗體 2.12.1 而受到保護之肽 (第 11A 圖) 。

接著進行 N-端序列分析和質譜分析 , 以鑑定該特殊之受保護的肽。在 ABI-Procise 蛋白質序列分析儀 (應用生物系統 , 加州福斯特市) 上 , 藉艾德曼 (Edman) 降解來進行 N-端肽之序列分析。藉由將在聯結之 HPLC 裝置上的持留時間與胺基酸標準進行比較來鑑定各循環中之胺基酸。在 Perceptive Voyager 質譜儀 (應用生物系統 , 麻州弗明漢市) 上進行受保護之片段的質譜分析。利用基質 , 4-羥基氰基桂皮酸 (HCCA) 或芥酸來進行基質-輔助之雷射去吸附離子化反應 (MALDI) 。經由相對於已知標準 (氧化之胰島素 β 鏈和細胞色素 C) 進行校正 , 來測定分子量。

人類 HGF 之 α 次單位展延在胺基酸 32-494 , 而 β 次單位展延在胺基酸 495-728 (人類 HGF 見 Swiss-Prot 項目 P14210) 。結合人類 HGF 之抗體 2.12.1 可保護二個峯 , T33 和 T38.6 。 (第 11A 圖) 。峯 T38.6 含有二種肽 , 此二者相當於在或接近成熟 HGF 之 β 次單位開端的序列 (見第 10D 圖 , 序列開端在粗體、下加線之文字處 (VVNGIPTRTN (SEQ ID NO : 172)) , 和第 11C 圖) 。 T33 從 α 次單位 (第 11C 圖) 衍生得來。根據質譜

分析，所觀察到之在峯 T38.6 中的二種肽的質量分別測出為 7165 和 6840 道耳吞。根據存在於 HGF 序列中之可能的胰蛋白酶分裂部位（見，如：第 10D 圖中，人類 HGF 之胺基酸 559 處的粗體、下加線精胺酸殘質），預測精胺酸殘質 559 號為受保護肽之 C-端。

設計另一種互補實驗以檢查抗體-結合肽。依上述，以胰蛋白酶分解 HGF 和抗體 2.12.1 的混合物 1 小時，然後藉 Microcon[®]10（迷你波（Milipore）公司，麻州貝得福市）過濾，以去除未結合之肽。已結合之肽被預期與抗體 2.12.1 一起被捕捉在膜中。將完整之人類 HGF（15 微克）加入肽-抗體 2.12.1 的混合物中，以從複合物中洗提出結合的肽。將樣本在 4℃ 培育一整夜，再藉 Microcon[®]10 過濾，以從抗體和完整 HGF 中分離出 HGF-洗提之肽。藉由逆相 HPLC 分析此二種樣本（結合和未結合之肽）（第 11B 圖）。藉由 HPLC 分離出已結合之肽，並依上述進行 N-端序列分析和質譜分析。

當使用 HGF 來洗提已結合之肽時，可觀察到有一個大肽峯（T48，在第 11B 圖中）從抗體-HGF 複合物中洗提出，經由 N-端肽序列分析可鑑定出其含有二個在上述 T38.6 中所發現之相同 β 次單位序列。根據質譜分析，在峯 T48 之肽的大小為異質性的，因此，無法由此資料中預測出確切之 C-端。其它三個峯（在第 11B 圖中標示為#）或是不含肽，或含有未知來源，與 HGF 無關之肽。

此二種實驗同時指出 HGF 之 β 次單位的 N-端區為抗

體 2.12.1 之抗原決定部位的一部分。此資料可補充實施例 8D 中之資料，實施例 8D 中發現涉及結合之抗原決定部位係位於人類 HGF 之胺基酸 507-585 之內。受保護之肽的突變分析和分子量顯示出人類 HGF 之抗體-結合抗原決定部位係位於人類 HGF 之胺基酸 495-556 之內。

F. 抗體之競爭結合

以 FITC 標示實施例 6 中所描述之基本上從雜交瘤 2.4.4 衍生出之對 HGF 的抗體（抗體 2.4.4）和基本上從雜交瘤 2.12.1 衍生出之對 HGF 的抗體（抗體 2.12.1），以將其依下述用於競爭分析中。將抗體 2.4.4 和抗體 2.12.1 分別在 PBS，pH8.5 中進行透析。將來自 FITC 標示之貯存溶液（5 毫克/毫升，在 DMSO 中）的 FITC 標示（〔6-螢光-5-（和-6）-羧醯胺基〕己酸，琥珀醯亞胺酯（5（6）-SFX）混合之同分異構物）（分子探針，目錄編號 F-2181）加入二種各別之透析抗體中，莫耳比為 5：1（標示：抗體）。將混合物在室溫（20-22℃）、黑暗中培育一整夜。將混合物各自分別通過法馬西亞（Pharmacia）PD-10 管柱（艾默森，紐澤西卅匹斯凱特威市）（已預先以 PBS 平衡過）移行。在分光計上，於 280nm 和 450nm 處讀取所產生之製品。利用 280nm 處之吸收計算那些製品之抗體濃度。利用下式計算已標示之抗體對未標示之抗體的比例：

$$\frac{Ax}{E} \times \frac{MW_{\text{抗體}}}{\text{毫克抗體 / 毫升}} = \frac{\text{莫耳已標示之抗體}}{\text{莫耳未標示之抗體}}$$

其中 A_x =在 495nm 處之標示吸收，而 E =標示之消失係數=77500。通常，抗體之標示比約為 3：1（FITC-標示抗體：未標示抗體）。

評估二種標示之抗體各自與其它 9 種對 HGF 之抗體競爭結合的能力。將二種標示之對 HGF 的抗體分別與 HGF 一起培育，且此二種經過標示之對 HGF 的抗體亦分別在 50-倍莫耳過量之其它 9 種未標示之對 HGF 之抗體的其中一種的存在下，與 HGF 一起培育。因此，在 9 種分別之樣本中，標示之抗體 2.4.4 分別與 HGF，以及其它 9 種未標示之對 HGF 之抗體的其中一種一起培育。同樣地，在 9 種分別之樣本中，標示之抗體 2.12.1 分別與 HGF，以及其它 9 種未標示之對 HGF 之抗體的其中一種一起培育。利用 HGF 之 d5 DNA 剪接變異體取代全長之 HGF 來重複這些組合。

這些競爭分析之陽性競爭對照組為將各標示之抗體與 50-倍莫耳過量之未標示的相同抗體一起培育。因此，FITC-標示之抗體 2.12.1 係在 50-倍莫耳過量之未標示的抗體 2.12.1 的存在下，及，另外在無未標示之抗體 2.12.1 的存在下進行培育。同樣地，FITC-標示之抗體 2.4.4 係在 50-倍莫耳過量之未標示的抗體 2.4.4 的存在下，及，另外在無未標示之抗體 2.4.4 的存在下進行培育。如同所預期者，在 50-倍莫耳過量之未標示的抗體的存在下，來自樣

本的螢光訊號較其中未加入未標示之抗體者的訊號明顯為弱。

第 12 圖中提供結合略圖。第 12A 和 12B 圖示為利用標示之抗體 2.12.1 所進行的實驗。在 12A 和 12B 之所有表板中的曲線的線索為：A：陰性對照組（FITC-標示之抗體 2.12.1，無 HGF）；B：陽性對照組（FITC-標示之抗體 2.12.1，加上 HGF）；C：抗體 1.74.1；D：抗體 1.75.1；E：抗體 1.29.1；F：抗體 3.10.1；G：抗體 1.61.3；H：抗體 1.24.1；I：抗體 1.60.1；J：抗體 2.40.1；K：抗體 2.12.1；L：抗體 2.4.4。第 12A 圖示為利用螢光抗體 2.12.1，與 d5HGF DNA 剪接變異體靶的蛋白質之競爭結合分析的結果。第 12B 圖示為利用螢光抗體 2.12.1，與全長 HGF 靶的蛋白質之競爭結合分析的結果。第 12C 和 12D 圖示為利用標示之抗體 2.4.4 的實驗。在 12C 和 12D 之所有表板中的曲線的線索為：A：陰性對照組（FITC-標示之抗體 2.4.4，無 HGF）；B：陽性對照組（FITC-標示之抗體 2.4.4，加上 HGF）；C：抗體 1.74.1；D：抗體 1.75.1；E：抗體 1.29.1；F：抗體 3.10.1；G：抗體 1.61.3；H：抗體 1.24.1；I：抗體 1.60.1；J：抗體 2.40.1；K：抗體 2.12.1；L：抗體 2.4.4。第 12C 圖示為利用螢光抗體 2.4.4，與 d5HGF DNA 剪接變異體靶的蛋白質之競爭結合分析的結果。第 12D 圖示為利用螢光抗體 2.4.4，與全長 HGF 靶的蛋白質之競爭結合分析的結果。

此資料表示該 10 種對 HGF 之抗體各與該二種標示之

抗體各自競爭與全長或 d5 HGF 結合的結果。這些抗體中有些顯現出與標示之抗體完全競爭（如：抗體 2.12.1、1.24.1 和 2.4.4 與 FITC-標示之抗體 2.12.1 完全競爭，在第 12A 和 12B 圖中，分別為峯 H、K 和 L）。其它抗體僅部分競爭結合（如：抗體 2.12.1、2.40.1 和 1.61.3 與 FITC-標示之抗體 2.4.4 部分競爭，在第 12C 和 12D 圖中，分別為峯 K、J 和 G）。

實施例 9

中和 ELISA 分析

中和 ELISA 分析係用來評估實施例 6 中所討論之抗體是否可阻礙 Met-HGF 結合。經由加入 100 微升 HGF（每槽 6.25 微克/毫升）將戴非爾（Delphia）96-槽盤（目錄編號 AAAND-0001，華勒（Wallac）公司，馬利蘭卅甘瑟堡市）塗層。將分析盤在 37°C 培育 1 小時，或在 4°C 培育一整夜。然後，在室溫中，以含有 0.1%吐溫 20 之在 PBS 中的 5%BSA（目錄編號 50-61-00，KPL，馬利蘭卅甘瑟堡市）阻斷分析盤 1 小時，並一邊搖動。

將可溶性 Met（2nM，0.256 微克/毫升）分別與不同濃度之欲測試的對 HGF 的特殊抗體的混合在一起，以製備測試樣本。測試之濃度為：667nM、223 nM、74.1 nM、24.7 nM、8.2 nM、2.7 nM、0.91 nM、0.30 nM、0.10 nM 和 0.034 nM。將 100 微升體積之測試樣本加入分析盤之各槽中。然後，將分析盤在 4°C 培育一整夜，再以含有

0.1%吐溫 20 之 PBS 清洗 4 次。接著，每槽內加入 100 微升，濃度為 2 微克/毫升之生物素化的抗-cMetR 抗體（目錄編號 BAF358，R&D 系統公司，明尼蘇達州明尼艾波里市）。抗體會結合在分析盤上之 Met-HGF 複合物，但不會結合與分析盤上之 HGF 結合的抗-HGF 抗體。然後，將分析盤培育 2 小時，並一邊搖動，再以含有 0.1%吐溫 20 之 PBS 清洗 4 次。加入 Eu-抗生蛋白鏈菌素（在分析緩衝液中稀釋 1：1000）（目錄編號 1244-360，華勒公司，馬利蘭州甘瑟堡市），並將分析盤在室溫搖動 1 小時。然後，以含有 0.1%吐溫 20 之 PBS 清洗分析盤 4 次。接著，加入 100 微升增強緩衝液（華勒公司，目錄編號：1244-105，馬利蘭州甘瑟堡市）。至少 5 分鐘後，利用優洛品（Europium）方法，在維克多 2（Victor2）（1420 多標示計數器（Multilabel Counter），華勒公司，馬利蘭州甘瑟堡市）上讀取分析盤。

計算 Met 結合至 HGF（也就是中和）的抑制百分比，並利用 4 變數配合方程式，Excelfit 軟體包，第 2.0.6 版（微軟公司，華盛頓州西雅圖市）來測定 IC₅₀ 值。在實施例 6 中所討論之抗體的存在下，Met 結合 HGF 之反應被中和。二種實驗之資料顯示於第 13 圖中。

實施例 10

在細胞中之中和作用

A. Met 磷酸化作用

HGF 誘導 PC-3 細胞 (ATCC, 曼那薩斯, VA# CRL 1435) 中之 Met 磷酸化作用。將 1×10^4 PC-3 細胞/槽加入 100 微升含有 5% 胎牛血清 (海克隆, 猶它州羅根市, 目錄編號 SH30070.03), 和 1x 青黴素、鏈黴素、麩胺醯胺 (因維特金, 加州卡斯巴市, 目錄編號 10378-016) 之 RPMI 1640 (因維特金, 加州卡斯巴市, 目錄編號 11875-093) 中, 以使 PC-3 細胞在 96-槽法兒康 (Falcon) 組織培養盤 (VWR, 加州聖地牙哥, 目錄編號 62740-081) 中生長。在 37°C 、5% CO_2 下生長 24 小時後, 以含有 0.1% 牛血清白蛋白 (史格馬, 密蘇里州聖路易市, 目錄編號 A-3156) 之 DMEM-低葡萄糖 (因維特金, 加州卡斯巴市, 目錄編號 11885-084) 輕洗細胞一次, 再以 100 微升含有 0.1% 牛血清白蛋白 (史格馬, 密蘇里州聖路易市, 目錄編號 A-3156) 之 DMEM-低葡萄糖培養 18 至 20 小時。

在含有 200 毫微克/毫升 HGF 之介質 (帶有 0.1% 牛血清白蛋白之 DMEM-低葡萄糖) 中經由系列稀釋來分別製備來自實施例 6 之 10 種抗體的各 8 種不同的稀釋液。在分別之稀釋中的對 HGF 之抗體的濃度為: 200 nM、67 nM、22 nM、7 nM、2.5 nM、1 nM、0.3 nM 和 0.1 nM 之對 HGF 的特殊抗體。將那些抗體/HGF 稀釋液在 37°C 培育 30 分鐘。

以 100 微升含有 0.1% 牛血清白蛋白之 DMEM-低葡萄糖輕洗 PC-3 細胞一次。然後, 將 100 微升之各抗體/HGF 稀釋液分別加入 PC-3 細胞之分別的槽中。在 37°C 、

5%CO₂ 下培養 10 分鐘後，將抗體/HGF 稀釋液從槽中吸除，並將培養盤置於冰上 1-2 分鐘。以含有 0.3mM 正鈣酸鈉（史格馬，密蘇里州聖路易市，目錄編號 S-6508）之冰冷的 PBS100 微升輕洗細胞一次。將清洗過之細胞在冰上，於 60 微升含有下列各項之溶解緩衝液中培養 15-30 分鐘：1%三通 X-100（皮爾斯（Pierce），伊利諾州洛克福市。目錄編號 28314）、50mM Tris，pH8，100mM NaCl、0.3 mM 正鈣酸鈉（史格馬，密蘇里州聖路易市，目錄編號 S-6508）和 1X 蛋白酶抑制劑混合劑（史格馬，目錄編號 P-8340）。

將 Dynabeads M-280 抗生蛋白鏈菌素（IGEN 國際公司，馬利蘭州甘瑟堡市，目錄編號 110029）與 4 微克/毫升之山羊-抗 Met-生物素（R&D 系統公司，明尼蘇達州明尼艾波里市，目錄編號 BAF358）在室溫下，於含有 1%牛血清白蛋白（史格馬公司，密蘇里州聖路易市，目錄編號 A-7888）、0.1%吐溫 20（拜爾瑞（Biorad），加州海格力斯，目錄編號 170-6531）之 PBS 中培育 30 分鐘，以製備經抗-Met 抗體塗覆之小珠。在 96-槽 Costar 分析盤（康寧，紐約州，目錄編號 3365）中之每一槽內加入體積 25 微升之經抗-Met 抗體塗覆的小珠。

將體積 25 微升之不同 PC-3 細胞的溶胞化物各分別加入含有經抗-Met 抗體塗覆之小珠的各個槽中。將分析盤在室溫培育 1 小時，並一邊搖動。在每槽中加入體積 12.5 微升之含有 1%牛血清白蛋白（史格馬公司，密蘇里州聖

S

路易市，目錄編號 A-7888）、0.1%吐溫 20（拜爾瑞，加州海格力斯，目錄編號 170-6531）和 0.04 微克抗-磷酸酪胺酸抗體 4G10（上卅生物技術公司，紐約州普來西湖市，目錄編號 05-321）的 PBS，並在室溫中培育 1 小時，且一邊搖動之。將體積 12.5 微升之含有 1%牛血清白蛋白、0.1%吐溫 20 和 8 微克/毫升抗-老鼠 ORI-TAG-標示（IGEN 國際公司，馬利蘭卅甘瑟堡市，目錄編號 110087）的 PBS 加入其中，並將分析盤在室溫中培育 30 分鐘，且一邊搖動之。在 IGEN M8 讀計（IGEN 國際公司，馬利蘭卅甘瑟堡市）中測定訊號（以 IGEN 計數表示）。利用 4 變數配合方程式，以及 Excelfit 軟體包，第 2.0.6 版（微軟公司，華盛頓州西雅圖市）來計算 IC_{50} 值。利用 IGEN 格式之二種實驗的資料顯示於第 14 圖中。在該 10 種對 HGF 之抗體方面， IC_{50} 值係在低毫微莫耳至毫微莫耳下的範圍內。

B. U-87 MG 生長/生存之中和

U-87 MG 細胞（ATCC#HTB-14）為一種可同時表現 Met 和 HGF 之人類神經膠母細胞瘤細胞株。外生性 HGF 並未增強那些細胞在培養中之生長/生存力。然而，在生長條件下，內生性 Met 似乎可被內生性 HGF 活化。中斷內生性 HGF 結合至內生性 Met 可減少生長，及/或生存力。

以 800 細胞/槽之量，將 U-87 MG 細胞加入含 5%FBS

之 IMEM 介質（吉布可 BRL，馬利蘭州洛克維爾市，目錄編號 11125-028）中，使細胞在 96-槽柯斯塔（Costar）分析盤（康寧，紐約州，目錄編號 3365）中生長。在約 24 小時後，將 10 種來自實施例 6 之對 HGF 的抗體各以 11 種不同濃度加入分別之 U-87 MG 細胞的槽中。在分別稀釋液中之對 HGF 抗體的濃度為：100 微克/毫升、33.3 微克/毫升、11.1 微克/毫升、3.7 微克/毫升、1.2 微克/毫升、0.4 微克/毫升、0.14 微克/毫升、0.05 微克/毫升、0.015 微克/毫升、5.1 毫微克/毫升和 1.7 毫微克/毫升之對 HGF 的特殊抗體。

加入對 HGF 之抗體後 7 天，將介質從分析盤中去除，在每槽中加入 100 微升之 10%三氯醋酸（史格馬公司，密蘇里州聖路易市，目錄編號 T-9159），並在 4℃ 培育 1-2 小時，以固定細胞。以自來水輕洗分析槽 5 次。經由以 100 微升之在 1%醋酸（費雪公司，賓州匹茲堡市，目錄編號 UN2789）中的 0.4%硫若丹明 B（史格馬，密蘇里州聖路易市，目錄編號 S-9012）在室溫中培育 10 分鐘來將固定好之細胞進行染色。染色後，以 1%醋酸清洗細胞 5 次並風乾之。在微量滴定盤讀計（SpectraMax PLUS，分子裝置，加州桑尼維市）上，於 540nm 處讀取分析盤之光學密度。光學密度與細胞單層中所存在之蛋白質總量成比例，因此，其為 7-天分析期間之細胞存活/增殖的測量值。經由與那些和同位素對照抗體一起培育，或不與抗體一起培育之細胞進行比較來計算抑制百分比，以

計算 IC_{50} 值。利用 4 變數配合方程式，以及 Excelfit 軟體包，第 2.0.6 版（微軟公司，華盛頓州西雅圖市）來計算 IC_{50} 值。

二種實驗的資料顯示於第 15 圖中。所有實施例 6 中所描述之 10 種對 HGF 之抗體均可抑制 U-87 MG 細胞之生長/存活。各抗體之 IC_{50} 值通常小於 100nM。

● 實施例 11

在異種移植之腫瘤中的中和作用

A. U-87 MG 異種移植之最少殘餘疾病模型

讓 U-87 MG 細胞生長至接近融合，然後將其以 25×10^6 細胞/毫升之濃度懸浮在不含血清之介質中。藉由錐蟲藍染色排除法進行測定，可由目視評估細胞存活率 $>98.5\%$ 。將在不含血清之介質中的 5×10^6 U-87 MG 細胞經由皮下注射入 50 隻雌裸鼠（CD1 Nu/Nu，查爾斯河實驗室，麻州威明頓市）之右脅腹中，以測試對 HGF 之單一抗體。將 50 隻小鼠平分為 5 組，每組 10 隻。

經由腹膜內注射途徑，以實施例 7 中所討論之相同劑量的對 HGF 之相同抗體，或以 IgG1 恆定區（同種型對照組）來處理在一特殊之 10 隻小鼠群中的每一隻小鼠。測試之抗體劑量為：1 微克、3 微克、10 微克，和 30 微克/注射。每週進行二次抗體注射，持續 4 週，於注射 U-87 MG 細胞後之第 2 天開始。每週記錄二次腫瘤測量值和體重，共 30 天，並利用下列程式計算腫瘤體積：長度 $\times$ 寬

度 x 高度。以利用重複之 ANOVA 測量，和接下去之謝佛氏事後測試 (Scheffe's post hoc test) 的 StatView® 統計程式 (SAS 協會，北卡羅來納州凱利市) 來分析結果。

在分別之實驗中，以此模型測試在實施例 6 中所討論之 10 種對 HGF 的抗體。第 16A 圖示為抗體 2.4.4 之劑量-反應實驗。箭頭指出給藥之時間，而劑量顯示於說明圖例中。在各劑量下不具有可測得之腫瘤的動物數 (從 10 隻動物中測出者) 指示於括弧中。在測試之二種最高劑量方面，當與每週接受二次 30 微克之同種型對照組 (人類 IgG2#PK16.3.1，艾伯堅尼克 (Abgenix) 公司，加州佛利蒙市) 的對照組動物相較時，每週投服 10 微克二次，及每週投服 30 微克二次，可對腫瘤之生長產生統計上有意義的抑制效果。在 2.4.4 之二種較低劑量 (每週二次 1 和 3 微克) 可見到輕微，但不具統計上之意義的生長抑制效果。數據係以平均值±標準差表示；n=10 動物/組，而 $p \leq 0.05$ 被認為係統計上有意義。測試來自實施例 6 之其它 9 種對 HGF 之抗體的實驗顯示出在較高劑量下對腫瘤生長具有類似之完全抑制效果。

B. U-87 MG 異種移植之建立的疾病模型

依照上述實施例 11A 中所描述之程序，將在不含血清之介質中的 U-87 MG 細胞注射入裸鼠中。在開始經由腹膜內途徑投服對 HGF 之抗體前，讓腫瘤生長約 2 週，直至其體積達到~200 毫米³。如第 16B 圖中之箭頭所指示，

從第 16 天開始，每週以 200 微克、100 微克或 30 微克之抗體 2.4.4 處理小鼠二次。依上述測量和評估腫瘤體積。在第 30 天時不具有可測得之腫瘤的動物數（從 10 隻動物中測出者）指示於括弧中。在所有劑量下均觀察到 U-87 MG 腫瘤之生長受到完全抑制。已建立之腫瘤在第 29 天之前可達到統計上有意義之消退。在分別之實驗中，以此模型測試在實施例 6 中所討論之 10 種對 HGF 的抗體，而在各抗體之較高劑量下均可觀察到完全抑制的情況。

C. 在 U-87 MG 最少殘餘疾病模型中評定抗體等級

爲了測定實施例 6 中所討論之 10 種對 HGF 之抗體在實施例 11A 中所討論之 U-87 MG 腫瘤模型中的相關效力，選擇在最少殘餘疾病模型中僅部分抑制腫瘤生長的低劑量。初步之劑量-反應研究（第 16A 圖）提出：每週投服 5 微克對 HGF 之抗體二次可產生部分抑制之作用。進行一系列比較至多 5 種不同之對 HGF 的抗體的頭-頭實驗。第 16C 和 16D 圖示爲這些實驗中之二個實驗的結果。**表示那些與 PBS 和同種型對照組 IgG2 抗體相較下可顯著抑制腫瘤生長（ $p < 0.0001$ ）之對 HGF 的抗體。

利用實施例 11B 中所討論之已建立的 U-87 疾病模型來進行類似之等級排列實驗。在那些實驗中，每週使用 10 微克之劑量二次。第 16E 和 16F 圖示爲這些實驗中之二個實驗的結果。

序列表

<110> 艾恩傑股份有限公司 (AMGEN INC.)
艾恩傑夫利蒙股份有限公司 (AMGEN FREMONT INC.)

<120> 對肝細胞生長因子具專一性之結合劑

<140>

<141>

<150> US 60/488,681

<151> 2003-07-18

<160> 194

<170> PatentIn Ver. 3.2

<210> 1

<211> 387

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之描述:合成的HGF 1.24.1輕鏈V區(Vk, 1-L15)

<400> 1

```
atggacatga gggigcccg ctagctcctg gggctcctgc tgctctggtt cccaggttcc 60
agatgcgaca tccagatgac ccagctcctca tcttccgtgt ctgcatctgt aggagacaga 120
gtcaccatca ctgtcgggc gaggcagggt attagcagct ggtagcctg gtatcagcag 180
aaaccaggga aagcccctaa cctcctgac tatgaagcat ccagtttgca aagtggggtc 240
ccatcaagggt tcggcggcag tggatctggg acagattica ctctcaccat cagcagcctg 300
cagcctgaag attttgcaac ttactattgt caacaggcta acggtttccc gtggacgttc 360
ggccaaggga ccaaggtgga aatcaaa 387
```

<210> 2

<211> 423

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之描述:合成的HGF 1.24.1重鏈V區(Vh, H3-11)-huIgG2 C區)

<400> 2

```
atggagtttg ggctgagctg gggttttccct gttgctatta taaaagggtt ccagtgctcag 60
gtgcagctgg tggagctcgg gggaggcctg gtcaagcctg gagggtcctt gagactctcc 120
tgtcagcctt ctggattcac cttagtgac tactacatga gctggatccg ccaggtctca 180
gggaaggggc tggagtgggt ttcatatatt agtagtagtg gtagtaccat atactacgca 240
gactctgtga agggccgatt caccatctcc agggacaacg ccaagaactc actgtatctg 300
caaatgaaca gcctgagagc cgaggacacg gccgtgtatt actgtgcgag agatgagtat 360
aacagtggct ggtacgtcct ctttgactac tggggccagg gaaccctggt caccgtctct 420
agt 423
```

<210> 3

<211> 399

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之描述:合成的HGF 1.29.1輕鏈V區(Vk, 4-B3)

<400> 3

```
atgggtgttc agaccaggt ctatatttct ctgttgctct ggatctctga tgcctacgga 60
gacatcgtga tgaccagtc tccagactcc ctggctgtgt ctctgggcga gagggccacc 120
atcaactgca agtccagcca gaggattttt tacagctcca ccaataagaa ctacttagct 180
tggatcaga agaaaccggg acagccctct aagctgtcga ttacttgggc atctaccggg 240
gaatccgggg tccctgaccg gttagtggtc agcgggtctg ggacagattt cactctcacc 300
atcagcagcc tgcaggctga agatgtggca gtttattact gtcagcaata ttatagtact 360
ccgtggacgt tcggccaagg gaccaaggtg gaaatcaaa 399
```

<210> 4
 <211> 411
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 人工序列之描述：合成的HGF 1.29.1重鏈V區(Vh, 3-33)-huIgG2 C區)

<400> 4
 atggagtttg ggctgaactg gggtttccct gttgctcttt taagagggtt ccagtgtcag 60
 gtgcagctgg tggagtctgg gggaggcgtg gtccagcctg ggaggiccct gagactctcc 120
 tgtgcagcgt ctggattcac cttcagtagc tatggcatgc actgggtccg ccaggctccg 180
 ggcaaggagc tggagtgggt ggcagttata tggatgatg gaagtataa atactatgca 240
 gactccgtga agggccgatt caccatctcc agagacaatt ccaagaacac gctgtatctg 300
 caaatgaaca gcctgagagc cgaggacacg gctgtgtatt actgtgcgag agaggactac 360
 ggcgagggtt ttgactactg gggccaggga accctggica ccgtctctag t 411

<210> 5
 <211> 387
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 人工序列之描述：合成的HGF 1.60.1輕鏈V區(Vk, 1-A20)

<400> 5
 atggacatga ggggtgccgc tcagctcctg ggactcctgc tgctctggct cccagatacc 60
 agatgtgaca tccagatgac ccagtcctca tcctccctgt ctgtatctgt cggagacaga 120
 gtccacatca ctgtccgggc gagtcagggc attagcagtt atttagcctg gtatcagcag 180
 aaaccaggga aagttcctaa gctcctgac tatgttgcat ccactttgca atcaggggtc 240
 ccgtctcggg tcagtgccag tggatctggg acagatttca ctctcaccat cagcagcctg 300
 cagcctgaag atgttgcaac ttattactgt caaaactata acagtgaacc gctcactttc 360
 ggcggcggga ccaaggtgga gatcaaa 387

<210> 6
 <211> 417
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 人工序列之描述：合成的HGF 1.60.1重鏈V區(Vh, H1-02)-huIgG2 C區)

<400> 6
 atggactgga cctggaggat cctcttcttg gtggcagcag ccacaggagc ccactcccag 60
 gtgcagctgg tgcagctctg ggtgagggtg aagaagcctg gggcctcagt gaaggtctcc 120
 tgaaggctt ctggatacac ctccaccggc tactatataa actgggtgag acaggcccct 180
 ggacaagggc ttgagtggat gggatggatc aaccctaaca gtggtggcac aaactatgca 240
 cagaagtctc agggcagggt caccatgacc agggacacgt ccatcaccac agcctacatg 300
 gagctgagca ggctgagagc tgacgacacg gccgtgtact actgtgcgag agaactggaa 360
 ctacgctact acggtatgga cgtctggggc caagggacca cggtcaccgt ctctagt 417

<210> 7
 <211> 387
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 人工序列之描述：合成的HGF 1.61.3輕鏈V區(Vk, 1-018/08)

<400> 7
 atggacatga ggggtgccgc tcagctcctg gggctcctgc tgctctggct ctgagggtcc 60
 agatgtgaca tccagatgac ccagtcctca tcctccctgt ctgcatctgt aggagacaga 120
 gtccacatca ctgtccaggc gagtcaggac attagcaact atttaaatg gtatcagcag 180
 aaaccaggga cagcccctaa actcctgac tacgggtgcat ccgatttgga aacgggggtc 240
 ccatcaaggt tcagtggaa tggatctggg acagatttta ctctcgccat cagcagcctg 300
 cagcctgaag atattgcaac atattactgt caacagtatg ataactctcc gtacaatttt 360

ggccaggga ccaagctgga gatcaaa

387

<210> 8
 <211> 444
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之描述：合成的HGF1.61.3重鏈V區（Vh, 4-31）-huIgG2 C區）

<400> 8

```
atgaaacacc tgtggttctt cctcctgctg gtggcagctc ccagatgggt cctgtcccag 60
gtgcagctgc aggagtcggg cccaggactg gtgaagcctt cacagaccct gtccctcacc 120
tgcaactgtc ctgggtggctc catcagcagt gatggttact actggagctg gatccgccag 180
caccagggga agggccttga gtggattggg tacatctatt acagtgggag cacctactac 240
aaccgcgtcc tcaagagtcg agtcaccata tcagtagaca cgtctaagaa ccagttctcc 300
ctgaagctga gctctgtgac tggcgcggac acggccgtct attactgtgc gagatccac 360
cttcattact atgatatgag tggttattac tacggcgggt cttttgatat ctggggccaa 420
gggacaatgg tcaccgtctc tagt 444
```

<210> 9
 <211> 387
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之描述：合成的HGF 1.74.3輕鏈V區（Vk, 1-012/02）

<400> 9

```
atggacatga gggtgcccg ctagctcctg gggctcctgc tactctggct ccgaggtgcc 60
agatgtgaca tccagatgac ccagtcacca tcctccctgt ctgcattctg aggagacaga 120
gtcaccatca ctgcccgggc aagtcagagc attaacagcg atttaaattg gtatcagcag 180
aaaccagggga aagtcacctaa gctcctgac tatgttgcat ccagtttgca aaatggggtc 240
ccatcaaggt tcaagtggag tggatctggg acagatttca ctctcaccat cagcagctgt 300
caacctgaag attttgcaac ttactactgt caacggagtt acagtacccc tcccactttc 360
ggccctggga ccaaagtga tatcaaa 387
```

<210> 10
 <211> 417
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之描述：合成的HGF1.74.3重鏈V區（Vh, VGI-02）-huIgG2 C區）

<400> 10

```
atggactgga cctggaggat cctcttcttg gtggcagcag ccacaggagc ccactcccag 60
gtgcagctgg tgcagtctgg ggctgagggt aagaagcctg gggcctcagt gaaggctctc 120
tgcaaggctt ctggatacac ctaccgggc tactatatac actgggtgag acaggcccct 180
ggacaagggc ttgagtggat gggatggatc aaccctaaca gtgggtggac aaactatgca 240
cagaagtgc agggcagggt caccatgacc agggacacgt ccatcagcac agcctacatg 300
gagctgagca ggcctgagat tgacgacacg gccgtgtatt actgtgcgag agaactggaa 360
ctacgtact acggtatgga cgtctgggac caagggacca cggtcaccgt ctctagt 417
```

<210> 11
 <211> 387
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之描述：合成的HGF 1.75.1輕鏈V區（Vk, 1-A30）

<400> 11

```
atggacatga gggtgcccg ctagctcctg gggctcctgc tgccttggtt ccaggtgcc 60
aggtgtgaca tccagatgac ccagtcacca tcctccctgt ctgcattctg aggagacaga 120
gtcaccatca ctgcccgggc aagtcagggc attagaaatg attaggctg gtctcagcag 180
aaaccagggga aagcccctaa ggcctgac tatgtgcat ccagtttgca aagtggggtc 240
```

```

ccatcaaggt tcagcggcag tggatctggg acagaattca ctctcacaat cagcagcctg 300
cagccctgaag attttgcaac ttattactgt ctacagcatg atagttaccc gctcactttc 360
ggcggaggga ccaaggtgga gatcaaa 387

```

<210> 12
 <211> 432
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 人工序列之描述：合成的HGF1.75.1重鏈V區（Vh, VG4-31）-huIgG2 C區）

```

<400> 12
atgaaacacc tgtggttctt cctcctgctg gtggcagctc ccagatgggt cctgtcccag 60
gtgcagctgc aggagtcggg cccaggactg gtgaagcctt cacagaccct gtccctcacc 120
tgcactgtct ctggtggctc catcagcagt ggtgggtact actggagctg gatccgccag 180
caccagggga agggcctgga gtggattggg tacatctatt acagtgggag cacctactac 240
aaccggtccc tcaagagtcg agttaccata tcagtagaca cgtctaagaa ccagttctcc 300
ctgaagggtga gctctgtgac tgcgcgggac acggccgtgt attactgtgc gagagaccca 360
ctatggttcg gggagttcga ctactacggt atggacgtct ggggccaagg gaccacggtc 420
accgtctcta gt 432

```

<210> 13
 <211> 399
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 人工序列之描述：合成的HGF 2.4.4輕鏈V區(Vk, 4-B3)

```

<400> 13
atggtgttgc agaccaggt cttcatttct ctgttgcctt ggatctctgg tgcctacggg 60
gacatcgtga tgaccagtc tccagactcc ctggctgtgt ctctgggcga gagggccacc 120
atcaactgca agtccagcca gagtgtttta ttacgtcca acaataagaa ttacttagct 180
tggtatcagc agaaaccagg acagcctcct aagtgtctca ttactgggc atctaccggg 240
gaaicggggg tccctgaccg attcagttggc agcgggtctg ggacagattt cactctcacc 300
atcagcagcc tgcaggctga agatgtggca gtttattact gtcagcaata ttttagtcct 360
ccgtggacgt tcggccaagg gaccaagggt gaaatcaaa 399

```

<210> 14
 <211> 426
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 人工序列之描述：合成的HGF2.4.4重鏈V區（Vh, VG 4-31）-huIgG2 C區）

```

<400> 14
atgaaacacc tgtggttctt cctcctgctg gtggcagctc ccagatggat cctgtcccag 60
gtgcagctga aggagtcggg cccaggactg gtgaagcctt cacagaccct gtccctcacc 120
tgcactgtct ctggtggctc catcagcagt ggtgtttact actggagctg gatccgccag 180
caccagggga agggcctgga gtggattggg tacttctatt atagtgggaa cacctaccac 240
aaccggtccc tcaagagtcg agtgaccata tcagtagaca cgtctaagaa ccagttctcc 300
ctgaagctga gctctgtgac tgcgcgggac acggccgtgt attactgtgc gagagatcgt 360
agtggctacg atcaccctga tgcttttgat atctggggcc aagggacaat ggtcaccgtc 420
tctagt 426

```

<210> 15
 <211> 384
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 人工序列之描述：合成的HGF 2.12.1輕鏈V區(Vk, 3-L2/L16)

<400> 15

```

atggaagccc cagctcagct tctcttctc ctgctactct ggctcccaga taccactgga 60
gaaatagtga tgacgcagtc tccagccacc ctgtctgtgt ctccagggga aagagccacc 120
ctctccctgca gggccagtcga gagtgttgac agcaacitgag cctgggtaccg gcagaaacct 180
ggccaggctc ccaggctcct catctatggt gcatccacca gggccactgg talccagcc 240
aggttcagtg gcagtggtgc tgggactgag ttactctca ccatcagcag cctgcagctt 300
gaagattttg cagtttatia ctgtcagcag tatattaact ggccctccgat caccttcggc 360
caagggacac gactggagat taaa 384

```

<210> 16
 <211> 417
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之描述：合成的HGF2.12.1重鏈V區（Vh4-59）-huIgG2 C區）

```

<400> 16
atgaaacacc tgtggttctt ccttctcctg gtggcagctc ccagatgggt cctgtcccag 60
gtgcagctgc aggagtcggg cccaggactg gtgaagcctt cggagaccct gtccctcacc 120
tgcactgtct ctggtggctc catcagtaatt tactactgga gctggatccg gcagccccc 180
gggaaggagc tggagtggat tgggtatgtc tattacagtg ggagcaccac ttacaacccc 240
tccctcaaga gtccagtcac catatcagta gacacgtcca agaaccagtt ctccctgaag 300
ctgaactctg tgaccgtcgc ggacacggcc gtgtattact gtgcgagagg gggatcacg 360
ttttggagtg gttattttga ctactggggc cagggaaccc tggtcaccgt ctctagt 417

```

<210> 17
 <211> 387
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之描述：合成的HGF 2.40.1輕鏈V區(Vk, 1A20)

```

<400> 17
atggacatga ggggtcccgc tcagctcctg gggctcctgc tgctctggtt cccagggtgcc 60
agggttgaca tccagatgac ccagctctca tcctccctgt ctgcatctgt aggagacaga 120
gtcaccatca cttgccgggc aagtcagggc attagaaatg atttaggctg gtatcagcag 180
aaaccaggga aagcccciaa gcgcctgac tatgttgcat ccagtttgca aagtggggtc 240
ccatcaaggc tcagcggcag tggatctggg acagaattca ctctcacaat cagcagcctg 300
cagcctgaag attttgcaac ttattactgt ctacaacata atagttaccc gctcacittc 360
ggcggaggga ccaagggtga gatcaaa 387

```

<210> 18
 <211> 420
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之描述：合成的HGF2.40.1重鏈V區（Vh, VG 4-31）-huIgG2 C區）

```

<400> 18
atgaaacacc tgtggttctt cctcctgctg gtggcagctc ccagatgggt cctgtcccag 60
gtgcagctgc aggagtcggg cccaggactg gtgaagcctt cacagaccct gtccctcacc 120
tgcactgtct ctggtggctc catcagcagt ggtggttact actggagctg gatccgtcag 180
caccagggga agggccttga gtggattggg aacatctatt acagtgggat cacctactac 240
aaccgttccc tcaagagtcg agttaccatg tcagtagaca cgtctaaaga ccagttctcc 300
ctgaagctga gttctgtgac tggcgcggac acggccgtgt attactgtgc gagagatccc 360
ctctacggtg actacgggtt cgacccttgg ggccagggaa ccttggtcac cgtctctagt 420

```

<210> 19
 <211> 384
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之描述：合成的HGF 3.10.1輕鏈V區(Vk, 3-L2/L16)

<400> 19

```

atggaagccc cagctcagct tctcttccct ctgctactct ggctcccaga taccactgga 60
gaaatagtga tgacgcagtc tccagccacc ctgtctgtgt ctcttgggga aagagccacc 120
ctctccctga gggccagtcg gagtgttagc agcaacttag cctgggtacca gcagaaacct 180
ggccaggctc ccaggctcct catgtatggt gcatccacca gggccactgg tatccagcc 240
aggttcagtg gcagtggtgc tgggacagag ttactcttca ccatcagcag cctgcagctt 300
gaagattttg cagtttatta ctgtcagcag tataataact ggctccgat caccttcggc 360
caagggacac gactggagat taaa 384

```

<210> 20

<211> 417

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之描述：合成的HGF3.10.1重鏈V區（Vh, VG 4-34）-huIgG2 C區）

<400> 20

```

atgaaacacc tgtggttctt cctcttccct gtggcagctc ccagatgggt cctgtcccag 60
gtgcagctac agcagtggtg cgcaggactg ttgaagcctt cggagaccct gtccctcacc 120
tgcgctgtct atggttggtc ctccagctac tactactgga gctggatccg ccagcccca 180
gggaaggggc tggagtggat tggggaaatc aatcatagtg gaagcaccaa ctacaaccg 240
tcctcaaga gtcagtcac catacagta gacacgtcca agaaccagtt ctccctgaag 300
ctgagctctg tgaccgccc ggacacggct gtgtattact gtgcgagagg ggggtacgat 360
ttttggagtg gttattatga ctactgggac cagggaacct tggtcaccgt ctctagt 417

```

<210> 21

<211> 324

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之描述：合成的中類K恆定區

<400> 21

```

cgaactgtgg ctgcaccatc tgtcttcac tccccccat ctgatgagca gttgaaatct 60
ggaactgcct ctgttgtgt cctgcigaat aacttctatc ccagagaggc caaagtacag 120
tggaaaggtg ataacgccct ccaatcgggt aactcccagg agagtgtcac agagcaggac 180
agcaaggaca gcacctacag cctcagcagc accctgacgc tgagcaaaag agactacgag 240
aaacacaaag tctacgcctg cgaagtcacc catcagggcc tgagctcgcc cgtcacaag 300
agcttcaaca ggggagagtg tga 324

```

<210> 22

<211> 993

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 人工序列之描述：合成的中類IgG1恆定區

<400> 22

```

gcctccacca agggcccatc ggtcttcccc ctggcaccct cctccaagag cacctctggg 60
ggcacagcgg ccctgggctg cctgggtcaag gactacttcc ccgaaccggt gacgggtgctg 120
tggaaactcag gcgccctgac cagcggcgig cacaccttcc cggctgtcct acagtcctca 180
ggactctact cctcagcagc cgtgggtgacc gtgccctcca gcagcttggg caccagacc 240
tacctgtgca acgtgaatca caagcccagc aacaccaagg tggacaagaa agttgagccc 300
aaatcttgtg acaaaaactca cacatgccca ccgtgccag cactgaact cctgggggga 360
ccgtcagctt tctcttcccc ccaaaaacc aaggacaccc tcatgatctc ccggaccct 420
gaggtcacat gcgtgtgtgt ggacgtgagc cacgaagacc ctgagggtcaa gttcaactgg 480
tacgtggagc gcgtggaggt gcataatgcc aagacaaagc cgcgggagga gcagtacaac 540
agcacgtacc gtgtgtgtag cgtctcacc gtccctgacc aggactggct gaattgcaag 600
gagtacaagt gcaaggcttc caacaaagcc ctccagccc ccatcgagaa aaccatctcc 660
aaagccaaag ggcagcccc agaaccacag gtgtacaccc tgcccccatc ccgggatgag 720
ctgaccaaga accaggtcag cctgacctgc ctgggtcaaag gcttctatcc cagcgacatc 780
gccgtggagt gggagagcaa tgggcagccc gagaacaact acaagaccac gcctcccgtg 840
ctggactccg acggctcctt ctctctctat agcaagctca ccgtggacaa gacgagtg 900
cagcagggga acgtcttctc atgtccgtg atgcatgagg ctctgcacaa ccactacacg 960
cagaagagcc tctccctgtc tccgggtaaa tga 993

```

<210> 23
<211> 981
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成的中類IgG2恆定區

<400> 23
gcctccacca agggcccatc ggtcttcccc ctggcgccct gctccaggag cacctccgag 60
agcacagcgg ccctgggctg cctgggtcaag gactacttcc ccgaaccggt gacgggtgicg 120
tggaaactcag gcgctctgac cagcggcggtg cacaccttcc cagctgtcct acagtcctca 180
ggactctact ccctcagcag cgtgggtgacc gtgccctcca gcaacttcgg caccagacc 240
tacacctgca acgtagatca caagcccagc aacaccaagg tggacaagac agttgagcgc 300
aaatgtttgt tcgagtgcc accgtgcccc gcaccacctg tggcaggacc gtcagtcttc 360
ctcttcccc caaaacccaa ggacacctc atgatctccc ggacctctga ggtcacgtgc 420
gtggtgtgtg acgtgagcca cgaagacccc gaggtccagt tcaactggta cgtggacggc 480
gtggagggtgc ataattgcaa gacaaagcca cgggaggagc agttcaacag cactgtccgt 540
gtggtcagcg tcctcaccgt tgtgcaccag gactggctga acggcaagga gtacaagtgc 600
aagggtctcca acaaaggcct ccagcccc atcgagaaaa ccatctccaa aaccaaaagg 660
cagccccgag aaccacaggi gtacacctg ccccatccc gggaggagat gaccaagaac 720
cagggtcagcc tgacctgcct ggtcaaaggc ttctacccca gcgacatcgc cgtggagtgg 780
gagagcaatg ggcagccgga gaacaactac aagaccacac ctcccatgct ggactccgac 840
ggctccttct tcctctacag caagctcacc gtggacaaga gcagggtggca gcaggggaac 900
gtcttctcat gtcctgtgat gcatgaggct ctgcacaacc actacacgca gaagagcctc 960
tccctgtctc cgggtaaaatg a 981

<210> 24
<211> 129
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成的HGF 1.24.1輕鏈V區(Vk, 1-L15)

<400> 24
Met Asp Met Arg Val Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp
1 5 10 15
Phe Pro Gly Ser Arg Cys Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser
20 25 30
Val Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser
35 40 45
Gln Gly Ile Ser Ser Trp Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys
50 55 60
Ala Pro Asn Leu Leu Ile Tyr Glu Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val
65 70 75 80
Pro Ser Arg Phe Gly Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
85 90 95
Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln
100 105 110
Ala Asn Gly Phe Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile
115 120 125
Lys

<210> 25
<211> 141
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之描述：合成的HGF1.24.1重鏈V區(Vb, H3-11)-huIgG2 C區)

<400> 25

Met Glu Phe Gly Leu Ser Trp Val Phe Leu Val Ala Ile Ile Lys Gly
1 5 10 15

Val Gln Cys Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys
20 25 30

Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe
35 40 45

Ser Asp Tyr Tyr Met Ser Trp Ile Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu
50 55 60

Glu Trp Val Ser Tyr Ile Ser Ser Ser Gly Ser Thr Ile Tyr Tyr Ala
65 70 75 80

Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn
85 90 95

Ser Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val
100 105 110

Tyr Tyr Cys Ala Arg Asp Glu Tyr Asn Ser Gly Trp Tyr Val Leu Phe
115 120 125

Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
130 135 140

<210> 26

<211> 133

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之描述：合成的HGF 1.29.1輕鏈V區(Vk, 4-B3)

<400> 26

Met Val Leu Gln Thr Gln Val Phe Ile Ser Leu Leu Leu Trp Ile Ser
1 5 10 15

Asp Ala Tyr Gly Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala
20 25 30

Val Ser Leu Gly Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser
35 40 45

Ile Phe Tyr Ser Ser Thr Asn Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Lys
50 55 60

Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg
65 70 75 80

Glu Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp
85 90 95

Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr
100 105 110

Tyr Cys Gln Gln Tyr Tyr Ser Thr Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr
115 120 125

Lys Val Glu Ile Lys
130

<210> 27

<211> 137

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之描述：合成的HGF1.29.1重鏈V區（Vh, 3-33）-huIgG2 C區）

<400> 27

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

<210> 28

<211> 129

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之描述：合成的HGF 1.60.1輕鏈V區(Vk, 1-A20)

<400> 28

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

<210> 29

<211> 139

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成的HGF1.60.1重鏈V區（Vh, H1-02）-huIgG2 C區）

<400> 29
Met Asp Trp Thr Trp Arg Ile Leu Phe Leu Val Ala Ala Ala Thr Gly
1 5 10 15
Ala His Ser Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys
20 25 30
Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe
35 40 45
Thr Gly Tyr Tyr Ile Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu
50 55 60
Glu Trp Met Gly Trp Ile Asn Pro Asn Ser Gly Gly Thr Asn Tyr Ala
65 70 75 80
Gln Lys Phe Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Thr
85 90 95
Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ala Asp Asp Thr Ala Val
100 105 110
Tyr Tyr Cys Ala Arg Glu Leu Glu Leu Arg Tyr Tyr Gly Met Asp Val
115 120 125
Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
130 135

<210> 30
<211> 129
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成的HGF 1.61.3輕鏈V區(Vk, 1-018/08)

<400> 30
Met Asp Met Arg Val Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Trp
1 5 10 15
Leu Ser Gly Ala Arg Cys Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser
20 25 30
Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser
35 40 45
Gln Asp Ile Ser Asn Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Thr
50 55 60
Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Gly Ala Ser Asp Leu Glu Thr Gly Val
65 70 75 80
Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Ala
85 90 95
Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln
100 105 110
Tyr Asp Asn Leu Pro Tyr Asn Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile
115 120 125
Lys

<210> 31
<211> 148
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之描述：合成的HGF1.61.3重鏈V區（Vg, 4-31）-huIgG2 C區）

<400> 31

```

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

```

<210> 32

<211> 129

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之描述：合成的HGF 1.74.3輕鏈V區(Vk, 1-012/02)

<400> 32

```

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

```

<210> 33
 <211> 139
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 人工序列之描述：合成的HGF1.74.3重鏈V區（Vh, VG1-02）-huIgG2 C區）

<400> 33
 Met Asp Trp Thr Trp Arg Ile Leu Phe Leu Val Ala Ala Ala Thr Gly
 1 5 10 15
 Ala His Ser Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys
 20 25 30
 Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe
 35 40 45
 Thr Gly Tyr Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu
 50 55 60
 Glu Trp Met Gly Trp Ile Asn Pro Asn Ser Gly Gly Thr Asn Tyr Ala
 65 70 75 80
 Gln Lys Phe Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser
 85 90 95
 Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val
 100 105 110
 Tyr Tyr Cys Ala Arg Glu Leu Glu Leu Arg Tyr Tyr Gly Met Asp Val
 115 120 125
 Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
 130 135

<210> 34
 <211> 129
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 人工序列之描述：合成的HGF 1.75.1輕鏈V區(Vk, 1-A30)

<400> 34
 Met Asp Met Arg Val Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Trp
 1 5 10 15
 Phe Pro Gly Ala Arg Cys Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser
 20 25 30
 Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser
 35 40 45
 Gln Gly Ile Arg Asn Asp Leu Gly Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys
 50 55 60
 Ala Pro Lys Arg Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val
 65 70 75 80
 Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr
 85 90 95
 Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln
 100 105 110
 His Asp Ser Tyr Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile
 115 120 125
 Lys

<210> 35
 <211> 144
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 人工序列之描述：合成的HGF1.75.1重鏈V區(Vh, VG4-31)-huIgG2 C區)

<400> 35
 Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp
 1 5 10 15
 Val Leu Ser Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys
 20 25 30
 Pro Ser Gln Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile
 35 40 45
 Ser Ser Gly Gly Tyr Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln His Pro Gly Lys
 50 55 60
 Gly Leu Glu Trp Ile Gly Tyr Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr
 65 70 75 80
 Asn Pro Ser Leu Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys
 85 90 95
 Asn Gln Phe Ser Leu Lys Val Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala
 100 105 110
 Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Asp Pro Leu Trp Phe Gly Glu Phe Asp Tyr
 115 120 125
 Tyr Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
 130 135 140

<210> 36
 <211> 133
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 人工序列之描述：合成的HGF 2.4.2輕鏈V區(Vk, 4-B3)

<400> 36
 Met Val Leu Gln Thr Gln Val Phe Ile Ser Leu Leu Leu Trp Ile Ser
 1 5 10 15
 Gly Ala Tyr Gly Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala
 20 25 30
 Val Ser Leu Gly Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser
 35 40 45
 Val Leu Phe Ser Ser Asn Asn Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln
 50 55 60
 Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg
 65 70 75 80
 Glu Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp
 85 90 95
 Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr
 100 105 110
 Tyr Cys Gln Gln Tyr Phe Ser Pro Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr
 115 120 125

Lys Val Glu Ile Lys
130

<210> 37
<211> 142
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成的HGF2.4.4重鏈V區（Vh, VG 4-31）-huIgG2 C區）

<400> 37
Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp
1 5 10 15
Ile Leu Ser Gln Val Gln Leu Lys Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys
20 25 30
Pro Ser Gln Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile
35 40 45
Ser Ser Gly Val Tyr Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln His Pro Gly Lys
50 55 60
Gly Leu Glu Trp Ile Gly Tyr Phe Tyr Tyr Ser Gly Asn Thr Tyr His
65 70 75 80
Asn Pro Ser Leu Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys
85 90 95
Asn Gln Phe Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala
100 105 110
Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Asp Arg Ser Gly Tyr Asp His Pro Asp Ala
115 120 125
Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser
130 135 140

<210> 38
<211> 128
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成的HGF 2.12.1輕鏈V區(Vk, 3-L2/L16)

<400> 38
Met Glu Ala Pro Ala Gln Leu Leu Phe Leu Leu Leu Trp Leu Pro
1 5 10 15
Asp Thr Thr Gly Glu Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser
20 25 30
Val Ser Pro Gly Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser
35 40 45
Val Asp Ser Asn Leu Ala Trp Tyr Arg Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro
50 55 60
Arg Leu Leu Ile Tyr Gly Ala Ser Thr Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala
65 70 75 80
Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser
85 90 95
Ser Leu Gln Ser Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Ile
100 105 110
Asn Trp Pro Pro Ile Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys

115

120

125

<210> 39
 <211> 139
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之描述：合成的HGF2.12.1重鏈V區（Vg, 4-59）-huIgG2 C區）

<400> 39

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

<210> 40
 <211> 129
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之描述：合成的HGF 2.40.1輕鏈V區(Vk, 1A20)

<400> 40

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

Lys

<210> 41
 <211> 140
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 人工序列之描述：合成的HGF2.40.1重鏈V區（Vh, VG 4-31）-huIgG2 C區）

<400> 41
 Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp
 1 5 10 15
 Val Leu Ser Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys
 20 25 30
 Pro Ser Gln Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile
 35 40 45
 Ser Ser Gly Gly Tyr Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln His Pro Gly Lys
 50 55 60
 Gly Leu Glu Trp Ile Gly Asn Ile Tyr Tyr Ser Gly Ile Thr Tyr Tyr
 65 70 75 80
 Asn Pro Ser Leu Lys Ser Arg Val Thr Met Ser Val Asp Thr Ser Lys
 85 90 95
 Asn Gln Phe Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala
 100 105 110
 Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Asp Pro Leu Tyr Gly Asp Tyr Gly Phe Asp
 115 120 125
 Pro Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 130 135 140

<210> 42
 <211> 128
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 人工序列之描述：合成的HGF 3.10.1輕鏈V區(Vk, 3-L2/L16)

<400> 42
 Met Glu Ala Pro Ala Gln Leu Leu Phe Leu Leu Leu Trp Leu Pro
 1 5 10 15
 Asp Thr Thr Gly Glu Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser
 20 25 30
 Val Ser Pro Gly Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser
 35 40 45
 Val Ser Ser Asn Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro
 50 55 60
 Arg Leu Leu Met Tyr Gly Ala Ser Thr Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala
 65 70 75 80
 Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser
 85 90 95
 Ser Leu Gln Ser Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn
 100 105 110

Asn Trp Pro Pro Ile Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys
 115 120 125

<210> 43
 <211> 139
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 人工序列之描述：合成的HGF3.10.1重鏈V區（Vh, VG 4-34）-huIgG2 C區）

<400> 43
 Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp
 1 5 10 15
 Val Leu Ser Gln Val Gln Leu Gln Gln Trp Gly Ala Gly Leu Leu Lys
 20 25 30
 Pro Ser Glu Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Tyr Gly Gly Ser Phe
 35 40 45
 Ser Thr Tyr Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu
 50 55 60
 Glu Trp Ile Gly Glu Ile Asn His Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro
 65 70 75 80
 Ser Leu Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln
 85 90 95
 Phe Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr
 100 105 110
 Tyr Cys Ala Arg Gly Gly Tyr Asp Phe Trp Ser Gly Tyr Tyr Asp Tyr
 115 120 125
 Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 130 135

<210> 44
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 人工序列之描述：合成的中類K恆定區

<400> 44
 Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
 1 5 10 15
 Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
 20 25 30
 Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
 35 40 45
 Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
 50 55 60
 Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
 65 70 75 80
 Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
 85 90 95
 Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 100 105

<210> 45
<211> 330
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成的中類IgG1恒定區

<400> 45
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15
Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30
Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45
Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60
Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80
Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95
Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
100 105 110
Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125
Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140
Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145 150 155 160
Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
165 170 175
Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
180 185 190
His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
195 200 205
Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
210 215 220
Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu
225 230 235 240
Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
245 250 255
Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
260 265 270
Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
275 280 285
Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
290 295 300
Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
305 310 315 320
Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325 330

<210> 46
 <211> 326
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 人工序列之描述：合成的中類IgG2恆定區

<400> 46
 Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
 1 5 10 15
 Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
 20 25 30
 Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
 35 40 45
 Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
 50 55 60
 Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr
 65 70 75 80
 Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
 85 90 95
 Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
 100 105 110
 Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
 115 120 125
 Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
 130 135 140
 Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
 145 150 155 160
 Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn
 165 170 175
 Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp
 180 185 190
 Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro
 195 200 205
 Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu
 210 215 220
 Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn
 225 230 235 240
 Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
 245 250 255
 Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
 260 265 270
 Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
 275 280 285
 Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
 290 295 300
 Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
 305 310 315 320
 Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 325

<210> 47

<211> 18
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成的t-細胞抗原決定部位肽

<400> 47
Gln Tyr Ile Lys Ala Asn Ser Lys Phe Ile Gly Ile Thr Glu Leu Lys
1 5 10 15
Lys Cys

<210> 48
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成的寡核苷酸

<220>
<221> 修改的_鹼基
<222> (18)..(23)
<223> a, t, c or g

<400> 48
ggccg gatag gcctccannn nnnt 24

<210> 49
<211> 26
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成的寡核苷酸

<400> 49
ggacactgac atggactgaa ggagta 26

<210> 50
<211> 21
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成的寡核苷酸

<400> 50
ggggtcaggc tggaactgag g 21

<210> 51
<211> 48
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成的寡核苷酸

<400> 51
acaacaaagc ttctagacca ccatggaagc cccagctcag ctctcttt 48

<210> 52
<211> 34
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之描述：合成的寡核苷酸

<400> 52
cttgtcgact caacactctc ccctgttgaa gctc 34

<210> 53
<211> 26
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成的寡核苷酸

<400> 53
ggacactgac atggactgaa ggagta 26

<210> 54
<211> 48
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成的寡核苷酸

<400> 54
agcagaagct tctagaccac catgaaacac ctgtggttct tcctcctc 48

<210> 55
<211> 32
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成的寡核苷酸

<400> 55
gtggaggcac tagagacggt gaccagggtt cc 32

<210> 56
<211> 1043
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成的pI/hCh1重鏈核苷酸序列

<400> 56
tctagaccac cgccatgggt gaaaattgaa tcgtctctag tgcctccacc aaggggcccat 60
cggctcttccc cctggcacccc tcctccaaga gcacctctgg gggcacagcg gccctgggct 120
gcctgggtcaa ggactacttc ccggaaccgg tgacgggtgc gtggaactca ggcgccctga 180
ccagcggcgt gcacaccttc ccggctgttc tacagtcttc aggactctac tccctcagca 240
gcgtgggtgac cgtgcccttc agcagcttgg gcacccagac ctacatctgc aacgtgaatc 300
acaagcccgag caacaccaag gtggacaaga aagttgagcc caaatctgt gacaaaactc 360
acacatgccc accgtgcccc gcacctgaac tcctgggggg accgtcagtc ttcctcttcc 420
ccccaaaacc caaggacacc ctcatgactt ccgggacccc tgaggtcaca tgcgtggtgg 480
tggacgtgag ccacgaagac cctgaggtca agttcaactg gtacgtggac ggcgtggagg 540
tgcataatgc caagacaaag ccgctggagg agcagtacaa cagcacgtac cgtgtggtca 600
gcgtcctcac cgtcctgcac caggactggc tgaatggcaa ggagtacaag tgcaaggctc 660
ccaacaaagc cctcccagcc cccatcgaga aaacctctc caaagccaaa gggcagcccc 720
gagaaccaca ggtgtacacc ctgcccccat cccgggatga gctgaccaag aaccagggtc 780
gcctgacctg cctggtcaaa ggcttctatc ccagcgacat cgcctgggag tgggagagca 840
atgggcagcc ggagaacaac tacaagacca cgcctcccgt gctggactcc gacggctcct 900
tcttctctta tagcaagctc accgtggaca agagcagggt gcagcagggg aacgtcttct 960
catgtccgt gatgcatgag gctctgcaca accactacac gcagaagagc ctctccctgt 1020
ctccgggtaa atgataagtc gac 1043

<210> 57

<211> 540
<212> DNA
<213> 原雞 原雞

<220>
<221> CDS
<222> (2)..(520)

<400> 57
c ccc acc atg gtg cac gca acc tcc ccg ctg ctg ctg ctg ctg ctg ctc 49
Pro Thr Met Val His Ala Thr Ser Pro Leu Leu Leu Leu Leu Leu Leu
1 5 10 15

agc ctg gct ctg gtg gct ccc ggc ctc tct gcc aga aag tgc tcg ctg 97
Ser Leu Ala Leu Val Ala Pro Gly Leu Ser Ala Arg Lys Cys Ser Leu
20 25 30

act ggg aaa tgg acc aac gat ctg ggc tcc aac atg acc atc ggg gct 145
Thr Gly Lys Trp Thr Asn Asp Leu Gly Ser Asn Met Thr Ile Gly Ala
35 40 45

gtg aac agc aaa ggt gaa ttc aca ggc acc tac acc aca gcc gta aca 193
Val Asn Ser Lys Gly Glu Phe Thr Gly Thr Tyr Thr Thr Ala Val Thr
50 55 60

gcc aca tca aat gag atc aaa gag tca cca ctg cat ggg aca caa aac 241
Ala Thr Ser Asn Glu Ile Lys Glu Ser Pro Leu His Gly Thr Gln Asn
65 70 75 80

acc atc aac aag agg acc cag ccc acc ttt ggc ttc act gtc aat tgg 289
Thr Ile Asn Lys Arg Thr Gln Pro Thr Phe Gly Phe Thr Val Asn Trp
85 90 95

aag ttt tca gag tcc acc act gtc ttc acg ggc cag tgc ttc ata gac 337
Lys Phe Ser Glu Ser Thr Thr Val Phe Thr Gly Gln Cys Phe Ile Asp
100 105 110

agg aac ggg aag gag gtc ctg aag acc atg tgg ctg ctg cgg tca agt 385
Arg Asn Gly Lys Glu Val Leu Lys Thr Met Trp Leu Leu Arg Ser Ser
115 120 125

gtt aat gac att ggt gat gac tgg aaa gct acc agg gtc ggc atc aac 433
Val Asn Asp Ile Gly Asp Asp Trp Lys Ala Thr Arg Val Gly Ile Asn
130 135 140

atc ttc act cgc ctg cgc aca cag aag gag cag ctg cta gca agc ttg 481
Ile Phe Thr Arg Leu Arg Thr Gln Lys Glu Gln Leu Leu Ala Ser Leu
145 150 155 160

cta gcg gcc gct cga ggc cgg caa ggc cgg atc cag aca tgataagata 530
Leu Ala Ala Arg Gly Arg Gln Gly Arg Ile Gln Thr
165 170

cattgatgag 540

<210> 58
<211> 540
<212> DNA
<213> 原雞 原雞

<400> 58
ctcatcaatg tatcttatca tgtctggatc cggccttgcc ggcctcgagc ggccgctagc 60
aagcttgcta gcagctgctc cttctgtgtg cgcaggcgag tgaagatgtt gatgccgacc 120
ctggtagctt tccagtcac accaatgtca ttaacacttg accgcagcag ccacatggtc 180
ttcaggacct ccttcccgtt cctgtctatg aagcactggc cctgaagac agtgggtggac 240
tctgaaaact tccaattgac agtgaagcca aagggtgggt gggtcctctt gttgatgggt 300
tttttgttcc catgcagtgg tgactctttg atctcatttg atgtggctgt tacggctgtg 360
gtgtagggtgc ctgtgaattc acctttgtctg ttcacagccc cgatgggtcat gttggagccc 420
agatcggttg tccatttccc agtcagcgag cactttcttg cagagaggcc gggagccacc 480
agagccaggc tgagcagcag cagcagcagc agcggggagg ttgcgtgcac catggtgggg 540

<210> 59
<211> 173
<212> PRT

<213> 原雞 原雞

<400> 59

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

<210> 60

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之描述：合成的輕鏈可變區CDR肽

<400> 60

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

<210> 61

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之描述：合成的輕鏈可變區CDR肽

<400> 61

Lys Ser Ser Gln Ser Ile Phe Tyr Ser Ser Thr Asn Lys Asn Tyr Leu
1 5 10 15

Ala

<210> 62

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之描述：合成的輕鏈可變區CDR肽

<400> 62
Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Tyr Leu Ala
1 5 10

<210> 63
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成的輕鏈可變區CDR肽

<400> 63
Gln Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr Leu Asn
1 5 10

<210> 64
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成的輕鏈可變區CDR肽

<400> 64
Arg Ala Ser Gln Ser Ile Asn Ser Asp Leu Asn
1 5 10

<210> 65
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成的輕鏈可變區CDR肽

<400> 65
Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn Asp Leu Gly
1 5 10

<210> 66
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成的輕鏈可變區CDR肽

<400> 66
Lys Ser Ser Gln Ser Val Leu Phe Ser Ser Asn Asn Lys Asn Tyr Leu
1 5 10 15
Ala

<210> 67
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成的輕鏈可變區CDR肽

<400> 67
Arg Ala Ser Gln Ser Val Asp Ser Asn Leu Ala
1 5 10

<210> 68
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成的輕鏈可變區CDR肽

<400> 68
Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn Asp Leu Gly
1 5 10

<210> 69
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成的輕鏈可變區CDR肽

<400> 69
Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Asn Leu Ala
1 5 10

<210> 70
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成的輕鏈可變區CDR肽

<400> 70
Glu Ala Ser Ser Leu Gln Ser
1 5

<210> 71
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成的輕鏈可變區CDR肽

<400> 71
Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser
1 5

<210> 72
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成的輕鏈可變區CDR肽

<400> 72
Val Ala Ser Thr Leu Gln Ser
1 5

<210> 73
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成的輕鏈可變區CDR肽

<400> 73
Gly Ala Ser Asp Leu Glu Thr
1 5

<210> 74
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成的輕鏈可變區CDR肽

<400> 74
Val Ala Ser Ser Leu Gln Asn
1 5

<210> 75
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成的輕鏈可變區CDR肽

<400> 75
Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser
1 5

<210> 76
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成的輕鏈可變區CDR肽

<400> 76
Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser
1 5

<210> 77
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成的輕鏈可變區CDR肽

<400> 77
Gly Ala Ser Thr Arg Ala Thr

1 5

<210> 78
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成的輕鏈可變區CDR肽

<400> 78
Val Ala Ser Ser Leu Gln Ser
1 5

<210> 79
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成的輕鏈可變區CDR肽

<400> 79
Gly Ala Ser Thr Arg Ala Thr
1 5

<210> 80
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成的輕鏈可變區CDR肽

<400> 80
Gln Gln Ala Asn Gly Phe Pro Trp Thr
1 5

<210> 81
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成的輕鏈可變區CDR肽

<400> 81
Gln Gln Tyr Tyr Ser Thr Pro Trp Thr
1 5

<210> 82
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成的輕鏈可變區CDR肽

<400> 82
Gln Asn Tyr Asn Ser Asp Pro Leu Thr
1 5

<210> 83
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之描述：合成的輕鏈可變區CDR肽

<400> 83
Gln Gln Tyr Asp Asn Leu Pro Tyr Asn
1 5

<210> 84
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之描述：合成的輕鏈可變區CDR肽

<400> 84
Gln Arg Ser Tyr Ser Thr Pro Pro Thr
1 5

<210> 85
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之描述：合成的輕鏈可變區CDR肽

<400> 85
Leu Gln His Asp Ser Tyr Pro Leu Thr
1 5

<210> 86
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之描述：合成的輕鏈可變區CDR肽

<400> 86
Gln Gln Tyr Phe Ser Pro Pro Trp Thr
1 5

<210> 87
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之描述：合成的輕鏈可變區CDR肽

<400> 87
Gln Gln Tyr Ile Asn Trp Pro Pro Ile Thr
1 5 10

<210> 88
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成的輕鏈可變區CDR肽

<400> 88
Leu Gln His Asn Ser Tyr Pro Leu Thr
1 5

<210> 89
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成的輕鏈可變區CDR肽

<400> 89
Gln Gln Tyr Asn Asn Trp Pro Pro Ile Thr
1 5 10

<210> 90
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成的重鏈可變區CDR肽

<400> 90
Asp Tyr Tyr Met Ser
1 5

<210> 91
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成的重鏈可變區CDR肽

<400> 91
Ser Tyr Gly Met His
1 5

<210> 92
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成的重鏈可變區CDR肽

<400> 92
Gly Tyr Tyr Ile Asn
1 5

<210> 93
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成的重鏈可變區CDR肽

<400> 93
Ser Asp Gly Tyr Tyr Trp Ser
1 5

<210> 94
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成的重鏈可變區CDR肽

<400> 94
Gly Tyr Tyr Ile His
1 5

<210> 95
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成的重鏈可變區CDR肽

<400> 95
Ser Gly Gly Tyr Tyr Trp Ser
1 5

<210> 96
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成的重鏈可變區CDR肽

<400> 96
Ser Gly Val Tyr Tyr Trp Ser
1 5

<210> 97
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成的重鏈可變區CDR肽

<400> 97
Ile Tyr Tyr Trp Ser
1 5

<210> 98
<211> 7

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成的重鏈可變區CDR肽

<400> 98
Ser Gly Gly Tyr Tyr Trp Ser
1 5

<210> 99
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成的重鏈可變區CDR肽

<400> 99
Thr Tyr Tyr Trp Ser
1 5

<210> 100
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成的重鏈可變區CDR肽

<400> 100
Tyr Ile Ser Ser Ser Gly Ser Thr Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 101
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成的重鏈可變區CDR肽

<400> 101
Val Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asp Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 102
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成的重鏈可變區CDR肽

<400> 102
Trp Ile Asn Pro Asn Ser Gly Gly Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
1 5 10 15

Gly

<210> 103
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成的重鏈可變區CDR肽

<400> 103
Tyr Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Ser
1 5 10 15

<210> 104
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成的重鏈可變區CDR肽

<400> 104
Trp Ile Asn Pro Asn Ser Gly Gly Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
1 5 10 15

Gly

<210> 105
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成的重鏈可變區CDR肽

<400> 105
Tyr Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Ser
1 5 10 15

<210> 106
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成的重鏈可變區CDR肽

<400> 106
Tyr Phe Tyr Tyr Ser Gly Asn Thr Tyr His Asn Pro Ser Leu Lys Ser
1 5 10 15

<210> 107
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成的重鏈可變區CDR肽

<400> 107

Tyr Val Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Ser
 1 5 10 15

<210> 108

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之描述：合成的重鏈可變區CDR肽

<400> 108

Asn Ile Tyr Tyr Ser Gly Ile Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Ser
 1 5 10 15

<210> 109

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之描述：合成的重鏈可變區CDR肽

<400> 109

Glu Ile Asn His Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Ser
 1 5 10 15

<210> 110

<211> 13

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之描述：合成的重鏈可變區CDR肽

<400> 110

Asp Glu Tyr Asn Ser Gly Trp Tyr Val Leu Phe Asp Tyr
 1 5 10

<210> 111

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之描述：合成的重鏈可變區CDR肽

<400> 111

Glu Asp Tyr Gly Glu Gly Phe Asp Tyr
 1 5

<210> 112

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之描述：合成的重鏈可變區CDR肽

<400> 112

Glu Leu Glu Leu Arg Tyr Tyr Gly Met Asp Val
 1 5 10

<210> 113
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 人工序列之描述：合成的重鏈可變區CDR肽

<400> 113
 Ser His Leu His Tyr Tyr Asp Ser Ser Gly Tyr Tyr Tyr Gly Gly Ala
 1 5 10 15

Phe Asp Ile

<210> 114
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 人工序列之描述：合成的重鏈可變區CDR肽

<400> 114
 Glu Leu Glu Leu Arg Tyr Tyr Gly Met Asp Val
 1 5 10

<210> 115
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 人工序列之描述：合成的重鏈可變區CDR肽

<400> 115
 Asp Pro Leu Trp Phe Gly Glu Phe Asp Tyr Tyr Gly Met Asp Val
 1 5 10 15

<210> 116
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 人工序列之描述：合成的重鏈可變區CDR肽

<400> 116
 Asp Arg Ser Gly Tyr Asp His Pro Asp Ala Phe Asp Ile
 1 5 10

<210> 117
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 人工序列之描述：合成的重鏈可變區CDR肽

<400> 117
 Gly Gly Tyr Asp Phe Trp Ser Gly Tyr Phe Asp Tyr
 1 5 10

<210> 118
 <211> 11
 <212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之描述：合成的重鏈可變區CDR肽

<400> 118

Asp Pro Leu Tyr Gly Asp Tyr Gly Phe Asp Pro
1 5 10

<210> 119

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之描述：合成的重鏈可變區CDR肽

<400> 119

Gly Gly Tyr Asp Phe Trp Ser Gly Tyr Tyr Asp Tyr
1 5 10

<210> 120

<211> 279

<212> PRT

<213> 現代人

<400> 120

Pro Trp Cys Tyr Thr Gly Asn Pro Leu Ile Pro Trp Asp Tyr Cys Pro
1 5 10 15

Ile Ser Arg Cys Glu Gly Asp Thr Thr Pro Thr Ile Val Asn Leu Asp
20 25 30

His Pro Val Ile Ser Cys Ala Lys Thr Lys Gln Leu Arg Val Val Asn
35 40 45

Gly Ile Pro Thr Arg Thr Asn Ile Gly Trp Met Val Ser Leu Arg Tyr
50 55 60

Arg Asn Lys His Ile Cys Gly Gly Ser Leu Ile Lys Glu Ser Trp Val
65 70 75 80

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

Ala Trp Leu Gly Ile His Asp Val His Gly Arg Gly Asp Glu Lys Cys
100 105 110

Lys Gln Val Leu Asn Val Ser Gln Leu Val Tyr Gly Pro Glu Gly Ser
115 120 125

Asp Leu Val Leu Met Lys Leu Ala Arg Pro Ala Val Leu Asp Asp Phe
130 135 140

Val Ser Thr Ile Asp Leu Pro Asn Tyr Gly Cys Thr Ile Pro Glu Lys
145 150 155 160

Thr Ser Cys Ser Val Tyr Gly Trp Gly Tyr Thr Gly Leu Ile Asn Tyr
165 170 175

Asp Gly Leu Leu Arg Val Ala His Leu Tyr Ile Met Gly Asn Glu Lys
180 185 190

Cys Ser Gln His His Arg Gly Lys Val Thr Leu Asn Glu Ser Glu Ile
195 200 205

Cys Ala Gly Ala Glu Lys Ile Gly Ser Gly Pro Cys Glu Gly Asp Tyr
210 215 220

Gly Gly Pro Leu Val Cys Glu Gln His Lys Met Arg Met Val Leu Gly
225 230 235 240

Val Ile Val Pro Gly Arg Gly Cys Ala Ile Pro Asn Arg Pro Gly Ile
245 250 255
Phe Val Arg Val Ala Tyr Tyr Ala Lys Trp Ile His Lys Ile Ile Leu
260 265 270
Thr Tyr Lys Val Pro Gln Ser
275

<210> 121
<211> 278
<212> PRT
<213> 家鼠

<400> 121
Pro Trp Cys Tyr Thr Gly Asn Pro Leu Ile Pro Trp Asp Tyr Cys Pro
1 5 10 15
Ile Ser Arg Cys Glu Gly Asp Thr Thr Pro Thr Ile Val Asn Leu Asp
20 25 30
His Pro Val Ile Ser Cys Ala Lys Thr Lys Gln Leu Arg Val Val Asn
35 40 45
Gly Ile Pro Thr Gln Thr Thr Val Gly Trp Met Val Ser Leu Lys Tyr
50 55 60
Arg Asn Lys His Ile Cys Gly Gly Ser Leu Ile Lys Glu Ser Trp Val
65 70 75 80
Leu Thr Ala Arg Gln Cys Phe Pro Ala Arg Asn Lys Asp Leu Lys Asp
85 90 95
Tyr Glu Ala Trp Leu Gly Ile His Asp Val His Glu Arg Gly Glu Glu
100 105 110
Lys Arg Lys Gln Ile Leu Asn Ile Ser Gln Leu Val Tyr Gly Pro Glu
115 120 125
Gly Ser Asp Leu Val Leu Leu Lys Leu Ala Arg Pro Ala Ile Leu Asp
130 135 140
Asn Phe Val Ser Thr Ile Asp Leu Pro Ser Tyr Gly Cys Thr Ile Pro
145 150 155 160
Glu Lys Thr Thr Cys Ser Ile Tyr Gly Trp Gly Tyr Thr Gly Leu Ile
165 170 175
Asn Ala Asp Gly Leu Leu Arg Val Ala His Leu Tyr Ile Met Gly Asn
180 185 190
Glu Lys Cys Ser Gln His His Gln Gly Lys Val Thr Leu Asn Glu Ser
195 200 205
Glu Leu Cys Ala Gly Ala Glu Lys Ile Gly Ser Gly Pro Cys Glu Gly
210 215 220
Asp Tyr Gly Gly Pro Leu Ile Cys Glu Gln His Lys Met Arg Met Val
225 230 235 240
Leu Gly Val Ile Val Pro Gly Arg Gly Cys Ala Ile Pro Asn Arg Pro
245 250 255
Gly Ile Phe Val Arg Val Ala Tyr Tyr Ala Lys Trp Ile His Lys Val
260 265 270
Ile Leu Thr Tyr Lys Leu
275

<210> 122
 <211> 278
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 未測定的一致殘質；可變的胺基酸

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (53)..(53)
 <223> 未測定的一致殘質；可變的胺基酸

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (55)..(55)
 <223> 未測定的一致殘質；可變的胺基酸

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (91)..(92)
 <223> 未測定的一致殘質；可變的胺基酸

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (108)..(108)
 <223> 未測定的一致殘質；可變的胺基酸

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (114)..(114)
 <223> 未測定的一致殘質；可變的胺基酸

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (145)..(145)
 <223> 未測定的一致殘質；可變的胺基酸

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (154)..(154)
 <223> 未測定的一致殘質；可變的胺基酸

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (178)..(178)
 <223> 未測定的一致殘質；可變的胺基酸

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (200)..(200)
 <223> 未測定的一致殘質；可變的胺基酸

<400> 122
 Pro Trp Cys Tyr Thr Gly Asn Pro Leu Ile Pro Trp Asp Tyr Cys Pro
 1 5 10 15
 Ile Ser Arg Cys Glu Gly Asp Thr Thr Pro Thr Ile Val Asn Leu Asp
 20 25 30
 His Pro Val Ile Ser Cys Ala Lys Thr Lys Gln Leu Arg Val Val Asn
 35 40 45
 Gly Ile Pro Thr Xaa Thr Xaa Ile Gly Trp Met Val Ser Leu Lys Tyr
 50 55 60
 Arg Asn Lys His Ile Cys Gly Gly Ser Leu Ile Lys Glu Ser Trp Val
 65 70 75 80
 Leu Thr Ala Arg Gln Cys Phe Pro Ala Arg Xaa Xaa Asp Leu Lys Asp
 85 90 95
 Tyr Glu Ala Trp Leu Gly Ile His Asp Val His Xaa Arg Gly Asp Glu
 100 105 110

Lys Xaa Lys Gln Ile Leu Asn Ile Ser Gln Leu Val Tyr Gly Pro Glu
115 120 125
Gly Ser Asp Leu Val Leu Leu Lys Leu Ala Arg Pro Ala Ile Leu Asp
130 135 140
Xaa Phe Val Ser Thr Ile Asp Leu Pro Xaa Tyr Gly Cys Thr Ile Pro
145 150 155 160
Glu Lys Thr Ser Cys Ser Ile Tyr Gly Trp Gly Tyr Thr Gly Leu Ile
165 170 175
Asn Xaa Asp Gly Leu Leu Arg Val Ala His Leu Tyr Ile Met Gly Asn
180 185 190
Glu Lys Cys Ser Gln His His Xaa Gly Lys Val Thr Leu Asn Glu Ser
195 200 205
Glu Ile Cys Ala Gly Ala Glu Lys Ile Gly Ser Gly Pro Cys Glu Gly
210 215 220
Asp Tyr Gly Gly Pro Leu Ile Cys Glu Gln His Lys Met Arg Met Val
225 230 235 240
Leu Gly Val Ile Val Pro Gly Arg Gly Cys Ala Ile Pro Asn Arg Pro
245 250 255
Gly Ile Phe Val Arg Val Ala Tyr Tyr Ala Lys Trp Ile His Lys Ile
260 265 270
Ile Leu Thr Tyr Lys Leu
275

<210> 123
<211> 77
<212> PRT
<213> 現代人

<400> 123
Gly Trp Met Val Ser Leu Arg Tyr Arg Asn Lys His Ile Cys Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Ile Lys Glu Ser Trp Val Leu Thr Ala Arg Gln Cys Phe Pro
20 25 30
Ser Arg Asp Leu Lys Asp Tyr Glu Ala Trp Leu Gly Ile His Asp Val
35 40 45
His Gly Arg Gly Asp Glu Lys Cys Lys Gln Val Leu Asn Val Ser Gln
50 55 60
Leu Val Tyr Gly Pro Glu Gly Ser Asp Leu Val Leu Met
65 70 75

<210> 124
<211> 33
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成的寡核苷酸

<400> 124
atgcgtctcc cttgatgatg ctggctgcat ttc

33

<210> 125
<211> 33
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>

<223> 人工序列之描述：合成的寡核苷酸

<400> 125
atgcgtctct caagggaagg tgactctgaa tga 33

<210> 126
<211> 36
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成的寡核苷酸

<400> 126
atgcgtctct aactaggtaa atcaatcgta ctaaca 36

<210> 127
<211> 35
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成的寡核苷酸

<400> 127
atgcgtctct agttaiggat gcacaaticc tgaaa 35

<210> 128
<211> 32
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成的寡核苷酸

<400> 128
atgcgtctca attatccagg acagcaggcc tg 32

<210> 129
<211> 37
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成的寡核苷酸

<400> 129
atgcgtctca taattttggt agtacgattg attacc 37

<210> 130
<211> 32
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成的寡核苷酸

<400> 130
atgcgtctcg cgtttctcat ctctcttcc gt 32

<210> 131
<211> 34
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成的寡核苷酸

<400> 131 atgcgtctca aacgcaaaca ggltctcaat gttt	34
<210> 132 <211> 34 <212> DNA <213> 人工序列	
<220> <223> 人工序列之描述：合成的寡核苷酸	
<400> 132 atgcgtctcc ttctgtggac atcatgaatt ccaa	34
<210> 133 <211> 34 <212> DNA <213> 人工序列	
<220> <223> 人工序列之描述：合成的寡核苷酸	
<400> 133 atgcgtctcc gaaagaggag atgagaaatg caaa	34
<210> 134 <211> 24 <212> DNA <213> 人工序列	
<220> <223> 人工序列之描述：合成的寡核苷酸	
<400> 134 gagcagctgc tagcaagctt gcta	24
<210> 135 <211> 35 <212> DNA <213> 人工序列	
<220> <223> 人工序列之描述：合成的寡核苷酸	
<400> 135 atgcgtctca gagactigaa agactatgaa gcttg	35
<210> 136 <211> 34 <212> DNA <213> 人工序列	
<220> <223> 人工序列之描述：合成的寡核苷酸	
<400> 136 atgcgtctcg tctctggctg gaaaacattg tcct	34
<210> 137 <211> 38 <212> DNA <213> 人工序列	
<220> <223> 人工序列之描述：合成的寡核苷酸	
<400> 137 atgcgtctca acaaagactt gaaagattat gaagcttg	38

<210> 138 <211> 36 <212> DNA <213> 人工序列 <220> <223> 人工序列之描述：合成的寡核苷酸 <400> 138 atgcgtctct ttgtttcgag aagggaaca ctgtcg	36
<210> 139 <211> 29 <212> DNA <213> 人工序列 <220> <223> 人工序列之描述：合成的寡核苷酸 <400> 139 atgcgtctca agcttgccag gcctgctgt	29
<210> 140 <211> 33 <212> DNA <213> 人工序列 <220> <223> 人工序列之描述：合成的寡核苷酸 <400> 140 atgcgtctca agcttcagta aaaccaagtc tga	33
<210> 141 <211> 30 <212> DNA <213> 人工序列 <220> <223> 人工序列之描述：合成的寡核苷酸 <400> 141 atgcgtctca agcttgctcg acctgcaatc	30
<210> 142 <211> 33 <212> DNA <213> 人工序列 <220> <223> 人工序列之描述：合成的寡核苷酸 <400> 142 atgcgtctca agcttcatta aaaccagatc tga	33
<210> 143 <211> 29 <212> DNA <213> 人工序列 <220> <223> 人工序列之描述：合成的寡核苷酸 <400> 143 atgcgtctca agcttgccag gcctgctgt	29
<210> 144	

<211> 33 <212> DNA <213> 人工序列 <220> <223> 人工序列之描述：合成的寡核苷酸 <400> 144 atgcgtctca agcttcagta aaaccaagtc tga	33
<210> 145 <211> 30 <212> DNA <213> 人工序列 <220> <223> 人工序列之描述：合成的寡核苷酸 <400> 145 atgcgtctca agcttgctcg acctgcaatc	30
<210> 146 <211> 33 <212> DNA <213> 人工序列 <220> <223> 人工序列之描述：合成的寡核苷酸 <400> 146 atgcgtctca agcttcatta aaaccagatc tga	33
<210> 147 <211> 33 <212> DNA <213> 人工序列 <220> <223> 人工序列之描述：合成的寡核苷酸 <400> 147 atgcgtctct aggatggatg gttagtltga gat	33
<210> 148 <211> 34 <212> DNA <213> 人工序列 <220> <223> 人工序列之描述：合成的寡核苷酸 <400> 148 atgcgtctca tcctactgtt gtttgtgtg gaat	34
<210> 149 <211> 34 <212> DNA <213> 人工序列 <220> <223> 人工序列之描述：合成的寡核苷酸 <400> 149 atgcgtctct aggatggatg gttagtltga aata	34
<210> 150 <211> 31	

<212> DNA <213> 人工序列 <220> <223> 人工序列之描述：合成的寡核苷酸	
<400> 150 atgcgtctca tcctatgttt gttcglttg g	31
<210> 151 <211> 32 <212> DNA <213> 人工序列 <220> <223> 人工序列之描述：合成的寡核苷酸	
<400> 151 atgcgtctca tgcattccaag gtcaaggaga ag	32
<210> 152 <211> 32 <212> DNA <213> 人工序列 <220> <223> 人工序列之描述：合成的寡核苷酸	
<400> 152 atgcgtctca tgcattcagt tgtttccata gg	32
<210> 153 <211> 31 <212> DNA <213> 人工序列 <220> <223> 人工序列之描述：合成的寡核苷酸	
<400> 153 atgcgtctca tgcattgacct gcaatgggga g	31
<210> 154 <211> 33 <212> DNA <213> 人工序列 <220> <223> 人工序列之描述：合成的寡核苷酸	
<400> 154 atgcgtctca tgcattcaac ttctgaacac tga	33
<210> 155 <211> 31 <212> DNA <213> 人工序列 <220> <223> 人工序列之描述：合成的寡核苷酸	
<400> 155 atgcgtctca tgcattcattg gtaaaggacg c	31
<210> 156 <211> 38 <212> DNA	

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之描述：合成的寡核苷酸

<400> 156

atgcgtctca tgcagtttct aatatagctt ttgttttc

38

<210> 157

<211> 32

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之描述：合成的寡核苷酸

<400> 157

atgggatccc tatgactgtg gtaccttata tg

32

<210> 158

<211> 36

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之描述：合成的寡核苷酸

<400> 158

atgcggccgc acaaaggaaa agaagaaata caattc

36

<210> 159

<211> 32

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之描述：合成的寡核苷酸

<400> 159

cgggatcctt acaacttgta tgtcaaaatt ac

32

<210> 160

<211> 40

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之描述：合成的寡核苷酸

<400> 160

atgatggcgg ccgctcagaa gaaaagaaga aatacacttc

40

<210> 161

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之描述：合成的肽

<400> 161

Val Val Asn Gly Ile Pro Thr Arg His Gly Arg
1 5 10

<210> 162
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 人工序列之描述：合成的肽

<400> 162
 Gly Ile Pro Thr Arg Thr His Gly Arg
 1 5

<210> 163
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 人工序列之描述：合成的肽

<400> 163
 Val Asn Thr Leu Asp Gln
 1 5

<210> 164
 <211> 62
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 人工序列之描述：合成的肽

<400> 164
 Val Val Asn Gly Ile Pro Thr Arg Thr Asn Ile Gly Trp Met Val Ser
 1 5 10 15
 Leu Arg Tyr Arg Asn Lys His Ile Cys Gly Gly Ser Leu Ile Lys Glu
 20 25 30
 Ser Trp Val Leu Thr Ala Arg Gln Cys Phe Pro Ser Arg Asp Leu Lys
 35 40 45
 Asp Tyr Glu Ala Trp Leu Gly Ile His Asp Val His Gly Arg
 50 55 60

<210> 165
 <211> 59
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 人工序列之描述：合成的肽

<400> 165
 Gly Ile Pro Thr Arg Thr Asn Ile Gly Trp Met Val Ser Leu Arg Tyr
 1 5 10 15
 Arg Asn Lys His Ile Cys Gly Gly Ser Leu Ile Lys Glu Ser Trp Val
 20 25 30
 Leu Thr Ala Arg Gln Cys Phe Pro Ser Arg Asp Leu Lys Asp Tyr Glu
 35 40 45
 Ala Trp Leu Gly Ile His Asp Val His Gly Arg
 50 55

<210> 166
 <211> 17

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：輕鏈CDR1一致序列(CDR1a)

<220>
<221> MOD_RES
<222> (1)
<223> 賴胺酸, 精胺酸, 或麩胺醯胺

<220>
<221> MOD_RES
<222> (2)
<223> 絲胺酸或丙胺酸

<220>
<221> MOD_RES
<222> (5)
<223> 絲胺酸, 甘胺酸, 或天門冬胺酸

<220>
<221> MOD_RES
<222> (6)
<223> 纈胺酸或異白胺酸或不存在

<220>
<221> MOD_RES
<222> (7)
<223> 白胺酸或苯丙胺酸或不存在

<220>
<221> MOD_RES
<222> (8)
<223> 苯丙胺酸, 酪胺酸或不存在

<220>
<221> MOD_RES
<222> (9) .. (10)
<223> 絲胺酸或不存在

<220>
<221> MOD_RES
<222> (11)
<223> 天門冬醯胺, 蘇胺酸, 或不存在

<220>
<221> MOD_RES
<222> (12)
<223> 天門冬醯胺, 異白胺酸, 或纈胺酸

<220>
<221> MOD_RES
<222> (13)
<223> 賴胺酸, 丙胺酸, 天門冬醯胺, 或天門冬胺酸

<220>
<221> MOD_RES
<222> (14)
<223> 天門冬醯胺或絲胺酸

<220>
<221> MOD_RES
<222> (15)
<223> 酪胺酸, 天門冬胺酸, 色胺酸, 或天門冬醯胺

<220>
<221> MOD_RES
<222> (17)
<223> 丙胺酸, 甘胺酸, 或天門冬醯胺

<400> 166
Xaa Xaa Ser Gln Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Leu
1 5 10 15

Xaa

<210> 167
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：輕鏈CDR2一致序列(CDR2a)

<220>
<221> MOD_RES
<222> (1)
<223> 色胺酸, 丙胺酸, 纈胺酸, 麩胺酸, 或甘胺酸

<220>
<221> MOD_RES
<222> (4)
<223> 蘇胺酸, 絲胺酸, 或天門冬胺酸

<220>
<221> MOD_RES
<222> (5)
<223> 丙胺酸或白胺酸

<220>
<221> MOD_RES
<222> (6)
<223> 麩胺酸, 麩胺醯胺, 或丙胺酸

<220>
<221> MOD_RES
<222> (7)
<223> 絲胺酸, 天門冬醯胺, 或蘇胺酸

<400> 167
Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
1 5

<210> 168
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：輕鏈CDR3一致序列(CDR3a)

<220>
<221> MOD_RES
<222> (1)
<223> 麩胺醯胺或白胺酸

<220>
<221> MOD_RES
<222> (2)
<223> 麩胺醯胺, 天門冬醯胺, 或丙胺酸

<220>
<221> MOD_RES
<222> (3)
<223> 酪胺酸, 組胺酸, 丙胺酸, 或絲胺酸

<220>
<221> MOD_RES
<222> (4)
<223> 苯丙胺酸, 酪胺酸, 天門冬胺酸, 天門冬醯胺,

或異白胺酸

<220>
<221> MOD_RES
<222> (5)
<223> 絲胺酸, 甘胺酸, 或天門冬醯胺

<220>
<221> MOD_RES
<222> (6)
<223> 脯胺酸, 酪胺酸, 蘇胺酸, 苯丙胺酸, 天門冬胺酸, 白胺酸, 或色胺酸

<220>
<221> MOD_RES
<222> (8)
<223> 脯胺酸或不存在

<220>
<221> MOD_RES
<222> (9)
<223> 色胺酸, 白胺酸, 脯胺酸, 酪胺酸, 或異白胺酸

<220>
<221> MOD_RES
<222> (10)
<223> 蘇胺酸或天門冬醯胺

<400> 168
Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Pro Xaa Xaa Xaa
1 5 10

<210> 169
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：重鏈CDR1一致序列(CDR1b)

<220>
<221> MOD_RES
<222> (1)
<223> 絲胺酸或不存在

<220>
<221> MOD_RES
<222> (2)
<223> 天門冬胺酸或甘胺酸, 或不存在

<220>
<221> MOD_RES
<222> (3)
<223> 天門冬胺酸, 甘胺酸, 絲胺酸, 纈胺酸, 蘇胺酸, 或異白胺酸

<220>
<221> MOD_RES
<222> (5)
<223> 酪胺酸或甘胺酸

<220>
<221> MOD_RES
<222> (6)
<223> 異白胺酸, 甲硫胺酸, 或色胺酸

<220>
<221> MOD_RES
<222> (7)
<223> 組胺酸, 天門冬醯胺, 或絲胺酸

<400> 169

Xaa Xaa Xaa Tyr Xaa Xaa Xaa
1 5

<210> 170

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之描述：重鏈CDR2一致序列(CDR2b)

<220>

<221> MOD_RES

<222> (1)

<223> 色胺酸, 酪胺酸, 纈胺酸, 天門冬醯胺, 或麩胺酸

<220>

<221> MOD_RES

<222> (2)

<223> 異白胺酸, 苯丙胺酸, 或纈胺酸

<220>

<221> MOD_RES

<222> (3)

<223> 天門冬醯胺, 絲胺酸, 色胺酸, 或蘇胺酸

<220>

<221> MOD_RES

<222> (4)

<223> 脯胺酸, 絲胺酸, 蘇胺酸, 或組胺酸

<220>

<221> MOD_RES

<222> (5)

<223> 天門冬醯胺, 絲胺酸, 或天門冬胺酸

<220>

<221> MOD_RES

<222> (6)

<223> 絲胺酸或甘胺酸

<220>

<221> MOD_RES

<222> (7)

<223> 甘胺酸或絲胺酸, 或不存在

<220>

<221> MOD_RES

<222> (8)

<223> 甘胺酸, 蘇胺酸, 天門冬胺酸, 絲胺酸, 異白胺酸,
或天門冬醯胺

<220>

<221> MOD_RES

<222> (9)

<223> 蘇胺酸, 異白胺酸, 或賴胺酸

<220>

<221> MOD_RES

<222> (10)

<223> 天門冬醯胺或酪胺酸

<220>

<221> MOD_RES

<222> (11)

<223> 酪胺酸或組胺酸

<220>

<221> MOD_RES

<222> (12)

<223> 丙胺酸或天門冬醯胺

<220>

<221> MOD_RES

<222> (13)

<223> 麩胺醯胺, 天門冬胺酸, 或脯胺酸

<220>

<221> MOD_RES

<222> (14)

<223> 賴胺酸或絲胺酸

<220>

<221> MOD_RES

<222> (15)

<223> 苯丙胺酸, 纈胺酸, 或白胺酸

<220>

<221> MOD_RES

<222> (16)

<223> 麩胺醯胺或賴胺酸

<220>

<221> MOD_RES

<222> (17)

<223> 甘胺酸或絲胺酸

<400> 170

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
1 5 10 15

Xaa

<210> 171

<211> 20

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之描述：重鏈CDR3一致序列(CDR3b)

<220>

<221> MOD_RES

<222> (1)

<223> 麩胺酸, 天門冬胺酸, 絲胺酸, 或甘胺酸, 或不存在

<220>

<221> MOD_RES

<222> (2)

<223> 白胺酸, 麩胺酸, 天門冬胺酸, 組胺酸, 脯胺酸,
或甘胺酸, 或不存在

<220>

<221> MOD_RES

<222> (3)

<223> 麩胺酸, 酪胺酸, 或白胺酸, 或不存在

<220>

<221> MOD_RES

<222> (4)

<223> 白胺酸, 天門冬醯胺, 甘胺酸, 組胺酸, 酪胺酸, 或不存在

<220>

<221> MOD_RES

<222> (5)

<223> 丙胺酸, 絲胺酸, 麩胺酸, 酪胺酸, 甘胺酸, 或
甘丙胺酸, 或不存在

<220>
<221> MOD_RES
<222> (6)
<223> 甘胺酸或不存在

<220>
<221> MOD_RES
<222> (7)
<223> 色胺酸或酪胺酸, 或不存在

<220>
<221> MOD_RES
<222> (8)
<223> 天門冬胺酸或不存在

<220>
<221> MOD_RES
<222> (9)
<223> 絲胺酸或丙胺酸, 或不存在

<220>
<221> MOD_RES
<222> (10)
<223> 絲胺酸或不存在

<220>
<221> MOD_RES
<222> (11)
<223> 甘胺酸或酪胺酸, 或不存在

<220>
<221> MOD_RES
<222> (12)
<223> 酪胺酸, 麩胺酸, 或天門冬胺酸, 或不存在

<220>
<221> MOD_RES
<222> (13)
<223> 酪胺酸, 苯丙胺酸, 或天門冬胺酸, 或不存在

<220>
<221> MOD_RES
<222> (14)
<223> 酪胺酸, 天門冬胺酸, 組胺酸, 或色胺酸, 或不存在

<220>
<221> MOD_RES
<222> (15)
<223> 酪胺酸, 甘胺酸, 天門冬胺酸, 脯胺酸, 或絲胺酸
或不存在

<220>
<221> MOD_RES
<222> (16)
<223> 甘胺酸, 纈胺酸, 酪胺酸, 或天門冬胺酸, 或不存在

<220>
<221> MOD_RES
<222> (17)
<223> 白胺酸, 丙胺酸, 甘胺酸, 或酪胺酸, 或不存在

<220>
<221> MOD_RES
<222> (18)
<223> 甲硫胺酸, 苯丙胺酸, 或酪胺酸

<220>
<221> MOD_RES
<222> (20)
<223> 纈胺酸, 酪胺酸, 異白胺酸, 或脯胺酸

<400> 171
Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
1 5 10 15

Xaa Xaa Asp Xaa
20

<210> 172
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成的肽

<400> 172
Val Val Asn Gly Ile Pro Thr Arg Thr Asn
1 5 10

<210> 173
<211> 113
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成的k輕鏈蛋白質序列

<400> 173
Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1 5 10 15
Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser Val Leu Phe Ser
20 25 30
Ser Asn Asn Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
35 40 45
Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
50 55 60
Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
65 70 75 80
Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln
85 90 95
Tyr Phe Ser Pro Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile
100 105 110
Lys

<210> 174
<211> 113
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成的k輕鏈蛋白質序列

<400> 174
Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1 5 10 15
Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser Ile Phe Tyr Ser
20 25 30
Ser Thr Asn Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Lys Lys Pro Gly Gln
35 40 45
Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
50 55 60

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

<210> 175
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 人工序列之描述：合成的k輕鏈蛋白質序列

<400> 175
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn Asp
 20 25 30
 Leu Gly Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Arg Leu Ile
 35 40 45
 Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80
 Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln His Asp Ser Tyr Pro Leu
 85 90 95
 Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105

<210> 176
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 人工序列之描述：合成的k輕鏈蛋白質序列

<400> 176
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn Asp
 20 25 30
 Leu Gly Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Arg Leu Ile
 35 40 45
 Tyr Val Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80
 Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln His Asn Ser Tyr Pro Leu
 85 90 95
 Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100

105

<210> 177
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成的k輕鏈蛋白質序列

<400> 177
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Trp
20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Asn Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Glu Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Gly Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ala Asn Gly Phe Pro Trp
85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 178
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成的k輕鏈蛋白質序列

<400> 178
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Val Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Tyr
20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Val Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Val Ala Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Asn Tyr Asn Ser Asp Pro Leu
85 90 95
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 179
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成的k輕鏈蛋白質序列

<400> 179
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Asn Ser Asp
20 25 30
Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Val Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Val Ala Ser Ser Leu Gln Asn Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Arg Ser Tyr Ser Thr Pro Pro
85 90 95
Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys
100 105

<210> 180
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成的k輕鏈蛋白質序列

<400> 180
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Asp Gln Ile Ser Asn Tyr
20 25 30
Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Gly Ala Ser Asp Leu Glu Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Ala Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asp Asn Leu Pro Tyr
85 90 95
Asn Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 181
<211> 108
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成的k輕鏈蛋白質序列

<400> 181
Glu Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Val Ser Pro Gly
1 5 10 15
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Asp Ser Asn
20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Arg Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
35 40 45

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

<210> 182
 <211> 108
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 人工序列之描述：合成的k輕鏈蛋白質序列

<400> 182
 Glu Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Val Ser Pro Gly
 1 5 10 15
 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Asn
 20 25 30
 Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Met
 35 40 45
 Tyr Gly Ala Ser Thr Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ser
 65 70 75 80
 Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Asn Trp Pro Pro
 85 90 95
 Ile Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys
 100 105

<210> 183
 <211> 114
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 人工序列之描述：合成的k輕鏈蛋白質序列

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (13)..(13)
 <223> 未測定的一致殘質；可變的胺基酸

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (29)..(34)
 <223> 未測定的一致殘質；可變的胺基酸

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (36)..(38)
 <223> 未測定的一致殘質；可變的胺基酸

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (56)..(56)

<223> 未測定的一致殘質；可變的胺基酸

<220>

<221> MOD_RES

<222> (98)..(98)

<223> 未測定的一致殘質；可變的胺基酸

<220>

<221> MOD_RES

<222> (100)..(100)

<223> 未測定的一致殘質；可變的胺基酸

<220>

<221> MOD_RES

<222> (102)..(103)

<223> 未測定的一致殘質；可變的胺基酸

<400> 183

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

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

Xaa Xaa Ile Xaa Xaa Xaa Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys
35 40 45

Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Xaa Ala Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val
50 55 60

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

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

Tyr Xaa Ser Xaa Pro Xaa Xaa Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu
100 105 110

Ile Lys

<210> 184

<211> 118

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之描述：合成的r重鏈蛋白質序列

<400> 184

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

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Gly Tyr
20 25 30

Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Trp Ile Asn Pro Asn Ser Gly Gly Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Glu Leu Glu Leu Arg Tyr Tyr Gly Met Asp Val Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Thr Val Thr Val
115

<210> 185
<211> 118
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成的r重鏈蛋白質序列

<400> 185
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Gly Tyr
20 25 30
Tyr Ile Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Trp Ile Asn Pro Asn Ser Gly Gly Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60
Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Thr Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ala Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Glu Leu Glu Leu Arg Tyr Tyr Gly Met Asp Val Trp Gly Gln
100 105 110
Gly Thr Thr Val Thr Val
115

<210> 186
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成的r重鏈蛋白質序列

<400> 186
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr
20 25 30
Tyr Met Ser Trp Ile Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ser Tyr Ile Ser Ser Ser Gly Ser Thr Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Asp Glu Tyr Asn Ser Gly Trp Tyr Val Leu Phe Asp Tyr Trp
100 105 110
Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val
115 120

<210> 187
 <211> 116
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 人工序列之描述：合成的r重鏈蛋白質序列

<400> 187
 Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ala Val Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asp Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Glu Asp Tyr Gly Glu Gly Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
 100 105 110
 Leu Val Thr Val
 115

<210> 188
 <211> 127
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 人工序列之描述：合成的r重鏈蛋白質序列

<400> 188
 Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gln
 1 5 10 15
 Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Asp
 20 25 30
 Gly Tyr Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln His Pro Gly Lys Gly Leu Glu
 35 40 45
 Trp Ile Gly Tyr Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser
 50 55 60
 Leu Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe
 65 70 75 80
 Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
 85 90 95
 Cys Ala Arg Ser His Leu His Tyr Tyr Asp Ser Ser Gly Tyr Tyr Tyr
 100 105 110
 Gly Gly Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val
 115 120 125

<210> 189
 <211> 119

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成的r重鏈蛋白質序列

<400> 189
Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gln
1 5 10 15
Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Gly
20 25 30
Gly Tyr Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln His Pro Gly Lys Gly Leu Glu
35 40 45
Trp Ile Gly Asn Ile Tyr Tyr Ser Gly Ile Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser
50 55 60
Leu Lys Ser Arg Val Thr Met Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe
65 70 75 80
Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
85 90 95
Cys Ala Arg Asp Pro Leu Tyr Gly Asp Tyr Gly Phe Asp Pro Trp Gly
100 105 110
Gln Gly Thr Leu Val Thr Val
115

<210> 190
<211> 123
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成的r重鏈蛋白質序列

<400> 190
Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gln
1 5 10 15
Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Gly
20 25 30
Gly Tyr Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln His Pro Gly Lys Gly Leu Glu
35 40 45
Trp Ile Gly Tyr Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser
50 55 60
Leu Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe
65 70 75 80
Ser Leu Lys Val Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
85 90 95
Cys Ala Arg Asp Pro Leu Trp Phe Gly Glu Phe Asp Tyr Tyr Gly Met
100 105 110
Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val
115 120

<210> 191
<211> 121
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之描述：合成的r重鏈蛋白質序列

<400> 191

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

<210> 192

<211> 118

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之描述：合成的r重鏈蛋白質序列

<400> 192

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

<210> 193

<211> 116

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之描述：合成的r重鏈蛋白質序列

<400> 193
Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15
Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ile Tyr
20 25 30
Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Tyr Val Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Lys
50 55 60
Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
65 70 75 80
Lys Leu Asn Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95
Arg Gly Gly Tyr Asp Phe Trp Ser Gly Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110
Gly Thr Leu Val
115

<210> 194
<211> 128
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成的r重鏈蛋白質序列

<220>
<221> MOD_RES
<222> (16)..(16)
<223> 未測定的一致殘質；可變的胺基酸

<220>
<221> MOD_RES
<222> (31)..(32)
<223> 未測定的一致殘質；可變的胺基酸

<220>
<221> MOD_RES
<222> (42)..(42)
<223> 未測定的一致殘質；可變的胺基酸

<220>
<221> MOD_RES
<222> (58)..(58)
<223> 未測定的一致殘質；可變的胺基酸

<220>
<221> MOD_RES
<222> (102)..(112)
<223> 未測定的一致殘質；可變的胺基酸

<220>
<221> MOD_RES
<222> (114)..(114)
<223> 未測定的一致殘質；可變的胺基酸

<220>
<221> MOD_RES
<222> (116)..(116)
<223> 未測定的一致殘質；可變的胺基酸

<400> 194

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

申請專利範圍

1. 一種經分離之多肽，其包含至少一種選自下述之互補決定區（CDR）：CDR1a、CDR2a 及 CDR3a，

其中 CDR1a 包含胺基酸序列 a b c d e f g h i j k l m n o p q，其中胺基酸 a 係選自賴胺酸、精胺酸，或麩胺醯胺；胺基酸 b 係選自絲胺酸或丙胺酸；胺基酸 c 為絲胺酸，胺基酸 d 為麩胺醯胺，胺基酸 e 係選自絲胺酸、甘胺酸，或天門冬胺酸；胺基酸 f 係選自纈胺酸或異白胺酸，或不存在；胺基酸 g 係選自白胺酸或苯丙胺酸，或不存在；胺基酸 h 係選自苯丙胺酸或酪胺酸，或不存在；胺基酸 i 為絲胺酸，或不存在；胺基酸 j 為絲胺酸，或不存在；胺基酸 k 係選自天門冬醯胺、蘇胺酸，或不存在；胺基酸 l 係選自天門冬醯胺、異白胺酸，或纈胺酸；胺基酸 m 係選自賴胺酸、精胺酸、天門冬醯胺，或天門冬胺酸；胺基酸 n 係選自天門冬醯胺，或絲胺酸；胺基酸 o 係選自酪胺酸、天門冬胺酸、色胺酸，或天門冬醯胺；胺基酸 p 為白胺酸；且胺基酸 q 係選自丙胺酸、甘胺酸，或天門冬醯胺；

其中 CDR2a 包含胺基酸序列 r s t u v w x，其中胺基酸 r 係選自色胺酸、丙胺酸、纈胺酸、麩胺酸，或甘胺酸；胺基酸 s 為丙胺酸，胺基酸 t 為絲胺酸，胺基酸 u 係選自蘇胺酸、絲胺酸，或天門冬胺酸；胺基酸 v 係選自精胺酸或白胺酸；胺基酸 w 係選自麩胺酸、麩胺醯胺或丙胺酸；且胺基酸 x 係選自絲胺酸、天門冬醯胺，或蘇胺酸；

其中 CDR3a 包含胺基酸序列 y z a' b' c' d' e' f' g'，

h'，其中胺基酸 y 係選自麩胺醯胺，或白胺酸；胺基酸 z 係選自麩胺醯胺、天門冬醯胺或精胺酸；胺基酸 a'係選自酪胺酸、組胺酸、丙胺酸，或絲胺酸；胺基酸 b'係選自苯丙胺酸、酪胺酸、天門冬胺酸、天門冬醯胺，或異白胺酸；胺基酸 c'係選自絲胺酸、甘胺酸或天門冬醯胺；胺基酸 d'係選自脯胺酸、酪胺酸、蘇胺酸、苯丙胺酸、天門冬胺酸、白胺酸或色胺酸；胺基酸 e'為脯胺酸；胺基酸 f'為脯胺酸，或不存在；胺基酸 g'為色胺酸、白胺酸、脯胺酸、酪胺酸，或異白胺酸；且胺基酸 h'為蘇胺酸，或天門冬醯胺；且

其中該多肽（與抗體重鏈聯結）可結合肝細胞生長因子（HGF）。

2.如申請專利範圍第 1 項之多肽，其包含至少一種選自下述之胺基酸序列：SEQ ID NO：24、26、28、30、32、34、36、38、40 及 42。

3.如申請專利範圍第 1 項之多肽，其包含至少一種選自下述之胺基酸序列：SEQ ID NO：60、61、62、63、64、65、66、67、68 及 69。

4.如申請專利範圍第 1 項之多肽，其包含至少一種選自下述之胺基酸序列：SEQ ID NO：70、71、72、73、74、75、76、77、78 及 79。

5.如申請專利範圍第 1 項之多肽，其包含至少一種選自下述之胺基酸序列：SEQ ID NO：80、81、82、83、84、85、86、87、88 及 89。

6.如申請專利範圍第 1-5 項中之任一項之多肽，其中該多肽為一種專一性結合劑。

7.如申請專利範圍第 1-5 項中之任一項之多肽，其中該多肽為一種抗體。

8. 一種經分離之多肽，其包含至少一種選自下述之互補決定區（CDR）：CDR1b、CDR2b 及 CDR3b，

其中 CDR1b 包含胺基酸序列 a b c d e f g，其中胺基酸 a 為絲胺酸，或不存在；胺基酸 b 係選自天門冬胺酸或甘胺酸，或不存在；胺基酸 c 係選自天門冬胺酸、甘胺酸、絲胺酸、纈胺酸、蘇胺酸，或異白胺酸；胺基酸 d 為酪胺酸；胺基酸 e 係選自酪胺酸，或甘胺酸；胺基酸 f 係選自異白胺酸、甲硫胺酸或色胺酸；且胺基酸 g 係選自組胺酸、天門冬醯胺，或絲胺酸；

其中 CDR2b 包含胺基酸序列 h i j k l m n o p q r s t u v w x，其中胺基酸 h 係選自色胺酸、酪胺酸、纈胺酸、天門冬醯胺，或麩胺酸；胺基酸 i 係選自異白胺酸、苯丙胺酸，或纈胺酸；胺基酸 j 係選自天門冬醯胺、絲胺酸、色胺酸，或酪胺酸；胺基酸 k 係選自脯胺酸、絲胺酸、酪胺酸，或組胺酸；胺基酸 l 係選自天門冬醯胺、絲胺酸，或天門冬胺酸；胺基酸 m 係選自絲胺酸，或甘胺酸；胺基酸 n 係選自甘胺酸，或絲胺酸，或不存在；胺基酸 o 係選自甘胺酸、蘇胺酸、天門冬胺酸、絲胺酸、異白胺酸，或天門冬醯胺；胺基酸 p 係選自蘇胺酸、異白胺酸，或賴胺酸；胺基酸 q 係選自天門冬醯胺，或酪胺酸；胺基酸 r 係選自

酪胺酸，或組胺酸；胺基酸 s 係選自丙胺酸，或天門冬醯胺；胺基酸 t 係選自麩胺醯胺、天門冬胺酸，或脯胺酸；胺基酸 u 係選自賴胺酸，或絲胺酸；胺基酸 v 係選自苯丙胺酸、纈胺酸，或白胺酸；胺基酸 w 係選自麩胺醯胺，或賴胺酸；且胺基酸 x 係選自甘胺酸，或絲胺酸；

其中 CDR3b 包含胺基酸序列 y z a' b' c' d' e' f' g' h' i' j' k' l' m' n' o' p' q' r'，其中胺基酸 y 係選自麩胺酸，天門冬胺酸、絲胺酸，或甘胺酸，或不存在；胺基酸 z 係選自白胺酸、麩胺酸、天門冬胺酸、組胺酸、脯胺酸，或甘胺酸，或不存在；胺基酸 a' 係選自麩胺酸、酪胺酸，或白胺酸，或不存在；胺基酸 b' 係選自白胺酸、天門冬醯胺、甘胺酸、組胺酸、酪胺酸，或色胺酸，或不存在；胺基酸 c' 係選自精胺酸、絲胺酸、麩胺酸、酪胺酸、甘胺酸，或苯丙胺酸，或不存在；胺基酸 d' 為甘胺酸，或不存在；胺基酸 e' 係選自色胺酸，或酪胺酸；胺基酸 f' 為天門冬胺酸，或不存在；胺基酸 g' 係選自絲胺酸，或精胺酸，或不存在；胺基酸 h' 為絲胺酸，或不存在；胺基酸 i' 係選自甘胺酸，或酪胺酸，或不存在；胺基酸 j' 係選自酪胺酸、麩胺酸，或天門冬胺酸，或不存在；胺基酸 k' 係選自酪胺酸、苯丙胺酸，或天門冬胺酸，或不存在；胺基酸 l' 係選自酪胺酸、天門冬胺酸、組胺酸，或色胺酸，或不存在；胺基酸 m' 係選自酪胺酸、甘胺酸、天門冬胺酸、脯胺酸，或絲胺酸，或不存在；胺基酸 n' 係選自甘胺酸、纈胺酸，酪胺酸，或天門冬胺酸，或不存在；胺基酸 o' 係選自

白胺酸、丙胺酸、甘胺酸，或酪胺酸，或不存在；胺基酸 p' 係選自甲硫胺酸、苯丙胺酸，或酪胺酸；胺基酸 q' 為天門冬胺酸；且胺基酸 r' 係選自纈胺酸、酪胺酸、異白胺酸，或脯胺酸；且

其中該多肽（與抗體輕鏈聯結）可結合 HGF。

9. 如申請專利範圍第 8 項之多肽，其包含至少一種選自下述之胺基酸序列：SEQ ID NO：25、27、29、31、33、35、37、39、41 及 43。

10. 如申請專利範圍第 8 項之多肽，其包含至少一種選自下述之胺基酸序列：SEQ ID NO：90、91、92、93、94、95、96、97、98 及 99。

11. 如申請專利範圍第 8 項之多肽，其包含至少一種選自下述之胺基酸序列：SEQ ID NO：100、101、102、103、104、105、106、107、108 及 109。

12. 如申請專利範圍第 8 項之多肽，其包含至少一種選自下述之胺基酸序列：SEQ ID NO：110、111、112、113、114、115、116、117、118 及 119。

13. 如申請專利範圍第 8-12 項中之任一項之多肽，其中該多肽為一種專一性結合劑。

14. 如申請專利範圍第 8-12 項中之任一項之多肽，其中該多肽為一種抗體。

15. 一種經分離之專一性結合劑，其中該專一性結合劑包含：

（i）第一種多肽，其包含至少一種選自下述之互補決

定區（CDR）：CDR1a、CDR2a 及 CDR3a，

其中 CDR1a 包含胺基酸序列 a b c d e f g h i j k l m n o p q，其中胺基酸 a 係選自賴胺酸、精胺酸，或麩胺醯胺；胺基酸 b 係選自絲胺酸或丙胺酸；胺基酸 c 為絲胺酸，胺基酸 d 為麩胺醯胺，胺基酸 e 係選自絲胺酸、甘胺酸，或天門冬胺酸；胺基酸 f 係選自纈胺酸或異白胺酸，或不存在；胺基酸 g 係選自白胺酸或苯丙胺酸，或不存在；胺基酸 h 係選自苯丙胺酸或酪胺酸，或不存在；胺基酸 i 為絲胺酸，或不存在；胺基酸 j 為絲胺酸，或不存在；胺基酸 k 係選自天門冬醯胺、蘇胺酸，或不存在；胺基酸 l 係選自天門冬醯胺、異白胺酸，或纈胺酸；胺基酸 m 係選自賴胺酸、精胺酸、天門冬醯胺，或天門冬胺酸；胺基酸 n 係選自天門冬醯胺，或絲胺酸；胺基酸 o 係選自酪胺酸、天門冬胺酸、色胺酸，或天門冬醯胺；胺基酸 p 為白胺酸；且胺基酸 q 係選自丙胺酸、甘胺酸，或天門冬醯胺；

其中 CDR2a 包含胺基酸序列 r s t u v w x，其中胺基酸 r 係選自色胺酸、丙胺酸、纈胺酸、麩胺酸，或甘胺酸；胺基酸 s 為丙胺酸，胺基酸 t 為絲胺酸，胺基酸 u 係選自蘇胺酸、絲胺酸，或天門冬胺酸；胺基酸 v 係選自精胺酸或白胺酸；胺基酸 w 係選自麩胺酸、麩胺醯胺或丙胺酸；且胺基酸 x 係選自絲胺酸、天門冬醯胺，或蘇胺酸；

其中 CDR3a 包含胺基酸序列 y z a' b' c' d' e' f' g' h'，其中胺基酸 y 係選自麩胺醯胺，或白胺酸；胺基酸 z 係選自麩胺醯胺、天門冬醯胺或精胺酸；胺基酸 a' 係選自

酪胺酸、組胺酸、丙胺酸，或絲胺酸；胺基酸 b'係選自苯丙胺酸、酪胺酸、天門冬胺酸、天門冬醯胺，或異白胺酸；胺基酸 c'係選自絲胺酸、甘胺酸或天門冬醯胺；胺基酸 d'係選自脯胺酸、酪胺酸、蘇胺酸、苯丙胺酸、天門冬胺酸、白胺酸或色胺酸；胺基酸 e'為脯胺酸；胺基酸 f'為脯胺酸，或不存在；胺基酸 g'為色胺酸、白胺酸、脯胺酸、酪胺酸，或異白胺酸；且胺基酸 h'為蘇胺酸，或天門冬醯胺；且

其中該第一種多肽（與抗體重鏈聯結）可結合肝細胞生長因子（HGF）；及

（ii）第二種多肽，其包含至少一種選自下述之互補決定區（CDR）：CDR1b、CDR2b 及 CDR3b，

其中 CDR1b 包含胺基酸序列 a b c d e f g，其中胺基酸 a 為絲胺酸，或不存在；胺基酸 b 係選自天門冬胺酸或甘胺酸，或不存在；胺基酸 c 係選自天門冬胺酸、甘胺酸、絲胺酸、纈胺酸、蘇胺酸，或異白胺酸；胺基酸 d 為酪胺酸；胺基酸 e 係選自酪胺酸，或甘胺酸；胺基酸 f 係選自異白胺酸、甲硫胺酸或色胺酸；且胺基酸 g 係選自組胺酸、天門冬醯胺，或絲胺酸；

其中 CDR2b 包含胺基酸序列 h i j k l m n o p q r s t u v w x，其中胺基酸 h 係選自色胺酸、酪胺酸、纈胺酸、天門冬醯胺，或麩胺酸；胺基酸 i 係選自異白胺酸、苯丙胺酸，或纈胺酸；胺基酸 j 係選自天門冬醯胺、絲胺酸、色胺酸，或酪胺酸；胺基酸 k 係選自脯胺酸、絲胺酸、酪胺酸

酸，或組胺酸；胺基酸 l 係選自天門冬醯胺、絲胺酸，或天門冬胺酸；胺基酸 m 係選自絲胺酸，或甘胺酸；胺基酸 n 係選自甘胺酸，或絲胺酸，或不存在；胺基酸 o 係選自甘胺酸、蘇胺酸、天門冬胺酸、絲胺酸、異白胺酸，或天門冬醯胺；胺基酸 p 係選自蘇胺酸、異白胺酸，或賴胺酸；胺基酸 q 係選自天門冬醯胺，或酪胺酸；胺基酸 r 係選自酪胺酸，或組胺酸；胺基酸 s 係選自丙胺酸，或天門冬醯胺；胺基酸 t 係選自麩胺醯胺、天門冬胺酸，或脯胺酸；胺基酸 u 係選自賴胺酸，或絲胺酸；胺基酸 v 係選自苯丙胺酸、纈胺酸，或白胺酸；胺基酸 w 係選自麩胺醯胺，或賴胺酸；且胺基酸 x 係選自甘胺酸，或絲胺酸；

其中 CDR3b 包含胺基酸序列 y z a' b' c' d' e' f' g' h' i' j' k' l' m' n' o' p' q' r'，其中胺基酸 y 係選自麩胺酸，天門冬胺酸、絲胺酸，或甘胺酸，或不存在；胺基酸 z 係選自白胺酸、麩胺酸、天門冬胺酸、組胺酸、脯胺酸，或甘胺酸，或不存在；胺基酸 a' 係選自麩胺酸、酪胺酸，或白胺酸，或不存在；胺基酸 b' 係選自白胺酸、天門冬醯胺、甘胺酸、組胺酸、酪胺酸，或色胺酸，或不存在；胺基酸 c' 係選自精胺酸、絲胺酸、麩胺酸、酪胺酸、甘胺酸，或苯丙胺酸，或不存在；胺基酸 d' 為甘胺酸，或不存在；胺基酸 e' 係選自色胺酸，或酪胺酸；胺基酸 f' 為天門冬胺酸，或不存在；胺基酸 g' 係選自絲胺酸，或精胺酸，或不存在；胺基酸 h' 為絲胺酸，或不存在；胺基酸 i' 係選自甘胺酸，或酪胺酸，或不存在；胺基酸 j' 係選自酪胺

酸、麩胺酸，或天門冬胺酸，或不存在；胺基酸 k'係選自酪胺酸、苯丙胺酸，或天門冬胺酸，或不存在；胺基酸 l'係選自酪胺酸、天門冬胺酸、組胺酸，或色胺酸，或不存在；胺基酸 m'係選自酪胺酸、甘胺酸、天門冬胺酸、脯胺酸，或絲胺酸，或不存在；胺基酸 n'係選自甘胺酸、纈胺酸，酪胺酸，或天門冬胺酸，或不存在；胺基酸 o'係選自白胺酸、丙胺酸、甘胺酸，或酪胺酸，或不存在；胺基酸 p'係選自甲硫胺酸、苯丙胺酸，或酪胺酸；胺基酸 q'為天門冬胺酸；且胺基酸 r'係選自纈胺酸、酪胺酸、異白胺酸，或脯胺酸；且

其中該第二種多肽（與抗體輕鏈聯結）可結合 HGF。

16.如申請專利範圍第 15 項之專一性結合劑，其包含至少一種選自下述之胺基酸序列：SEQ ID NO：24、26、28、30、32、34、36、38、40 及 42。

17.如申請專利範圍第 15 項之專一性結合劑，其包含至少一種選自下述之胺基酸序列：SEQ ID NO：25、27、29、31、33、35、37、39、41 及 43。

18. 如申請專利範圍第 15 項之專一性結合劑，其包含 SEQ ID NO：24 和 25 之胺基酸序列。

19. 如申請專利範圍第 15 項之專一性結合劑，其包含 SEQ ID NO：26 和 27 之胺基酸序列。

20. 如申請專利範圍第 15 項之專一性結合劑，其包含 SEQ ID NO：28 和 29 之胺基酸序列。

21. 如申請專利範圍第 15 項之專一性結合劑，其包含

SEQ ID NO：30 和 31 之胺基酸序列。

22. 如申請專利範圍第 15 項之專一性結合劑，其包含 SEQ ID NO：32 和 33 之胺基酸序列。

23. 如申請專利範圍第 15 項之專一性結合劑，其包含 SEQ ID NO：34 和 35 之胺基酸序列。

24. 如申請專利範圍第 15 項之專一性結合劑，其包含 SEQ ID NO：36 和 37 之胺基酸序列。

25. 如申請專利範圍第 15 項之專一性結合劑，其包含 SEQ ID NO：38 和 39 之胺基酸序列。

26. 如申請專利範圍第 15 項之專一性結合劑，其包含 SEQ ID NO：40 和 41 之胺基酸序列。

27. 如申請專利範圍第 15 項之專一性結合劑，其包含 SEQ ID NO：42 和 43 之胺基酸序列。

28. 如申請專利範圍第 15 項之專一性結合劑，其包含至少一種選自下述之胺基酸序列：SEQ ID NO：60、61、62、63、64、65、66、67、68 及 69。

29. 如申請專利範圍第 15 項之專一性結合劑，其包含至少一種選自下述之胺基酸序列：SEQ ID NO：70、71、72、73、74、75、76、77、78 及 79。

30. 如申請專利範圍第 15 項之專一性結合劑，其包含至少一種選自下述之胺基酸序列：SEQ ID NO：80、81、82、83、84、85、86、87、88 及 89。

31. 如申請專利範圍第 15 項之專一性結合劑，其包含至少一種選自下述之胺基酸序列：SEQ ID NO：90、91、

92、93、94、95、96、97、98 及 99。

32. 如申請專利範圍第 15 項之專一性結合劑，其包含至少一種選自下述之胺基酸序列：SEQ ID NO：100、101、102、103、104、105、106、107、108 及 109。

33. 如申請專利範圍第 15 項之專一性結合劑，其包含至少一種選自下述之胺基酸序列：SEQ ID NO：110、111、112、113、114、115、116、117、118 及 119。

● 34. 如申請專利範圍第 15 項之專一性結合劑，其包含：

一種含有第一個可變區的重鏈，該第一個可變區包含一種選自下述之胺基酸序列：SEQ ID NO：25、27、29、31、33、35、37、39、41 及 43；及

一種含有第二個可變區的輕鏈，該第二個可變區含有一種選自下述之胺基酸序列：SEQ ID NO：24、26、28、30、32、34、36、38、40 及 42。

● 35. 如申請專利範圍第 34 項之專一性結合劑，其中該專一性結合劑具有至少一種選自下述之性質：a) 與至少一種選自下述之抗體競爭結合至 HGF：1.24.1、1.29.1、1.60.1、1.61.3、1.74.3、1.75.1、2.4.4、2.12.1、2.40.1 和 3.10.1；b) 與至少一種選自下述之抗體結合至相同之 HGF 的抗原結合部位：1.24.1、1.29.1、1.60.1、1.61.3、1.74.3、1.75.1、2.4.4、2.12.1、2.40.1 和 3.10.1；及 c) 結合至與至少一種選自下述之抗體所結合之抗原相同的抗原上：1.24.1、1.29.1、1.60.1、1.61.3、1.74.3、1.75.1、

2.4.4、2.12.1、2.40.1 和 3.10.1。

36. 如申請專利範圍第 15 項之專一性結合劑，其包含：

一種含有第一個可變區的重鏈，該第一個可變區含有一種與選自下述之胺基酸序列具有至少 90%、95%或 99%之一致性的胺基酸序列：SEQ ID NO：25、27、29、31、33、35、37、39、41 及 43；及

一種含有第二個可變區的輕鏈，該第二個可變區含有一與選自下述之胺基酸序列具有至少 90%、95%或 99%之一致性的胺基酸序列：SEQ ID NO：24、26、28、30、32、34、36、38、40 及 42。

37. 如申請專利範圍第 36 項之專一性結合劑，其中該專一性結合劑具有至少一種選自下述之性質：a) 與至少一種選自下述之抗體競爭結合至 HGF：1.24.1、1.29.1、1.60.1、1.61.3、1.74.3、1.75.1、2.4.4、2.12.1、2.40.1 和 3.10.1；b) 與至少一種選自下述之抗體結合至相同之 HGF 的抗原結合部位：1.24.1、1.29.1、1.60.1、1.61.3、1.74.3、1.75.1、2.4.4、2.12.1、2.40.1 和 3.10.1；及 c) 結合至與至少一種選自下述之抗體所結合之抗原相同的抗原上：1.24.1、1.29.1、1.60.1、1.61.3、1.74.3、1.75.1、2.4.4、2.12.1、2.40.1 及 3.10.1。

38. 如申請專利範圍第 15-37 項中之任一項之專一性結合劑，其中該專一性結合劑為一種抗體。

39. 如申請專利範圍第 38 項之抗體，其中該重鏈和該

輕鏈係藉由聯結子連接。

40. 如申請專利範圍第 38 項之抗體，其為單一-Fv 抗體。

41. 如申請專利範圍第 38 項之抗體，其為免疫功能性免疫球蛋白片段。

42. 如申請專利範圍第 38 項之抗體，其為一種 Fab 抗體。

43. 如申請專利範圍第 38 項之抗體，其為一種 Fab' 抗體。

44. 如申請專利範圍第 38 項之抗體，其為一種 (Fab')² 抗體。

45. 如申請專利範圍第 38 項之抗體，其為一種完整之人類抗體。

46. 如申請專利範圍第 38 項之抗體，其為一種人類化抗體。

47. 如申請專利範圍第 38 項之抗體，其為一種嵌合性抗體。

48. 如申請專利範圍第 38 項之抗體，其中該抗體抑制 HGF 結合至 c-Met 受體。

49. 一種經分離之多肽，其包含至少一種選自下述之胺基酸序列：SEQ ID NO：24、26、28、30、32、34、36、38、40 及 42。

50. 一種經分離之多肽，其包含至少一種選自下述之胺基酸序列：SEQ ID NO：25、27、29、31、33、35、37、

39、41 及 43。

51. 一種經分離之核酸分子，其包含至少一種選自下述之核苷酸序列：SEQ ID NO：1、3、5、7、9、11、13、15、17 及 19。

52. 一種經分離之核酸分子，其包含至少一種選自下述之核苷酸序列：SEQ ID NO：2、4、6、8、10、12、14、16、18 及 20。

53. 一種經分離之核酸分子，其編碼含有至少一種選自 CDR1a、CDR2a 或 CDR3a 之互補決定區（CDR）的多肽：

其中 CDR1a 包含胺基酸序列 a b c d e f g h i j k l m n o p q，其中胺基酸 a 係選自賴胺酸、精胺酸，或麩胺醯胺；胺基酸 b 係選自絲胺酸或丙胺酸；胺基酸 c 為絲胺酸，胺基酸 d 為麩胺醯胺，胺基酸 e 係選自絲胺酸、甘胺酸，或天門冬胺酸；胺基酸 f 係選自纈胺酸或異白胺酸，或不存在；胺基酸 g 係選自白胺酸或苯丙胺酸，或不存在；胺基酸 h 係選自苯丙胺酸或酪胺酸，或不存在；胺基酸 i 為絲胺酸，或不存在；胺基酸 j 為絲胺酸，或不存在；胺基酸 k 係選自天門冬醯胺、蘇胺酸，或不存在；胺基酸 l 係選自天門冬醯胺、異白胺酸，或纈胺酸；胺基酸 m 係選自賴胺酸、精胺酸、天門冬醯胺，或天門冬胺酸；胺基酸 n 係選自天門冬醯胺，或絲胺酸；胺基酸 o 係選自酪胺酸、天門冬胺酸、色胺酸，或天門冬醯胺；胺基酸 p 為白胺酸；且胺基酸 q 係選自丙胺酸、甘胺酸，或天門冬醯胺；

其中 CDR2a 包含胺基酸序列 r s t u v w x，其中胺基酸 r 係選自色胺酸、丙胺酸、纈胺酸、麩胺酸，或甘胺酸；胺基酸 s 為丙胺酸，胺基酸 t 為絲胺酸，胺基酸 u 係選自蘇胺酸、絲胺酸，或天門冬胺酸；胺基酸 v 係選自精胺酸或白胺酸；胺基酸 w 係選自麩胺酸、麩胺醯胺或丙胺酸；且胺基酸 x 係選自絲胺酸、天門冬醯胺，或蘇胺酸；

其中 CDR3a 包含胺基酸序列 y z a' b' c' d' e' f' g' h'，其中胺基酸 y 係選自麩胺醯胺，或白胺酸；胺基酸 z 係選自麩胺醯胺、天門冬醯胺或精胺酸；胺基酸 a' 係選自酪胺酸、組胺酸、丙胺酸，或絲胺酸；胺基酸 b' 係選自苯丙胺酸、酪胺酸、天門冬胺酸、天門冬醯胺，或異白胺酸；胺基酸 c' 係選自絲胺酸、甘胺酸或天門冬醯胺；胺基酸 d' 係選自脯胺酸、酪胺酸、蘇胺酸、苯丙胺酸、天門冬胺酸、白胺酸或色胺酸；胺基酸 e' 為脯胺酸；胺基酸 f' 為脯胺酸，或不存在；胺基酸 g' 為色胺酸、白胺酸、脯胺酸、酪胺酸，或異白胺酸；且胺基酸 h' 為蘇胺酸，或天門冬醯胺；且

其中該多肽（與抗體重鏈聯結）可結合肝細胞生長因子（HGF）。

54. 如申請專利範圍第 53 項之核酸分子，其含有一種選自下述之核苷酸序列：SEQ ID NO：1、3、5、7、9、11、13、15、17 及 19。

55. 一種經分離之核酸分子，其編碼含有至少一種選自 CDR1b、CDR2b 或 CDR3b 之互補決定區（CDR）的多

肽：

其中 CDR1b 包含胺基酸序列 a b c d e f g，其中胺基酸 a 為絲胺酸，或不存在；胺基酸 b 係選自天門冬胺酸或甘胺酸，或不存在；胺基酸 c 係選自天門冬胺酸、甘胺酸、絲胺酸、纈胺酸、蘇胺酸，或異白胺酸；胺基酸 d 為酪胺酸；胺基酸 e 係選自酪胺酸，或甘胺酸；胺基酸 f 係選自異白胺酸、甲硫胺酸或色胺酸；且胺基酸 g 係選自組胺酸、天門冬醯胺，或絲胺酸；

其中 CDR2b 包含胺基酸序列 h i j k l m n o p q r s t u v w x，其中胺基酸 h 係選自色胺酸、酪胺酸、纈胺酸、天門冬醯胺，或麩胺酸；胺基酸 i 係選自異白胺酸、苯丙胺酸，或纈胺酸；胺基酸 j 係選自天門冬醯胺、絲胺酸、色胺酸，或酪胺酸；胺基酸 k 係選自脯胺酸、絲胺酸、酪胺酸，或組胺酸；胺基酸 l 係選自天門冬醯胺、絲胺酸，或天門冬胺酸；胺基酸 m 係選自絲胺酸，或甘胺酸；胺基酸 n 係選自甘胺酸，或絲胺酸，或不存在；胺基酸 o 係選自甘胺酸、蘇胺酸、天門冬胺酸、絲胺酸、異白胺酸，或天門冬醯胺；胺基酸 p 係選自蘇胺酸、異白胺酸，或賴胺酸；胺基酸 q 係選自天門冬醯胺，或酪胺酸；胺基酸 r 係選自酪胺酸，或組胺酸；胺基酸 s 係選自丙胺酸，或天門冬醯胺；胺基酸 t 係選自麩胺醯胺、天門冬胺酸，或脯胺酸；胺基酸 u 係選自賴胺酸，或絲胺酸；胺基酸 v 係選自苯丙胺酸、纈胺酸，或白胺酸；胺基酸 w 係選自麩胺醯胺，或賴胺酸；且胺基酸 x 係選自甘胺酸，或絲胺酸；

其中 CDR3b 包含胺基酸序列 y z a' b' c' d' e' f' g' h' i' j' k' l' m' n' o' p' q' r'，其中胺基酸 y 係選自麩胺酸，天門冬胺酸、絲胺酸，或甘胺酸，或不存在；胺基酸 z 係選自白胺酸、麩胺酸、天門冬胺酸、組胺酸、脯胺酸，或甘胺酸，或不存在；胺基酸 a' 係選自麩胺酸、酪胺酸，或白胺酸，或不存在；胺基酸 b' 係選自白胺酸、天門冬醯胺、甘胺酸、組胺酸、酪胺酸，或色胺酸，或不存在；胺基酸 c' 係選自精胺酸、絲胺酸、麩胺酸、酪胺酸、甘胺酸，或苯丙胺酸，或不存在；胺基酸 d' 為甘胺酸，或不存在；胺基酸 e' 係選自色胺酸，或酪胺酸；胺基酸 f' 為天門冬胺酸，或不存在；胺基酸 g' 係選自絲胺酸，或精胺酸，或不存在；胺基酸 h' 為絲胺酸，或不存在；胺基酸 i' 係選自甘胺酸，或酪胺酸，或不存在；胺基酸 j' 係選自酪胺酸、麩胺酸，或天門冬胺酸，或不存在；胺基酸 k' 係選自酪胺酸、苯丙胺酸，或天門冬胺酸，或不存在；胺基酸 l' 係選自酪胺酸、天門冬胺酸、組胺酸，或色胺酸，或不存在；胺基酸 m' 係選自酪胺酸、甘胺酸、天門冬胺酸、脯胺酸，或絲胺酸，或不存在；胺基酸 n' 係選自甘胺酸、纈胺酸，酪胺酸，或天門冬胺酸，或不存在；胺基酸 o' 係選自白胺酸、丙胺酸、甘胺酸，或酪胺酸，或不存在；胺基酸 p' 係選自甲硫胺酸、苯丙胺酸，或酪胺酸；胺基酸 q' 為天門冬胺酸；且胺基酸 r' 係選自纈胺酸、酪胺酸、異白胺酸，或脯胺酸；且

其中該多肽（與抗體輕鏈聯結）可結合 HGF。

56. 如申請專利範圍第 55 項之核酸分子，其包含一種選自下述之核苷酸序列：SEQ ID NO：2、4、6、8、10、12、14、16、18 及 20。

57. 一種宿主細胞，其包含申請專利範圍第 53 項之核酸分子。

58. 一種宿主細胞，其包含申請專利範圍第 55 項之核酸分子。

59. 一種經分離之細胞株，其製造申請專利範圍第 34 或 36 項之專一性結合劑。

60. 如申請專利範圍第 59 項之經分離之細胞株，其中該專一性結合劑為抗體。

61. 一種經分離之細胞株，其製造選自下述之抗體：1.24.1、1.29.1、1.60.1、1.61.3、1.74.3、1.75.1、2.4.4、2.12.1、2.40.1 及 3.10.1。

62. 一種組成物，其包含申請專利範圍第 34 或 36 項之專一性結合劑及一藥學上可接受的載體。

63. 如申請專利範圍第 62 項之組成物，其中該專一性結合劑為抗體。

64. 一種組成物，其包含申請專利範圍第 34 或 36 項之專一性結合劑及至少一種選自下述之作用劑：茴香黴素抗生素之格爾德黴素族的一員；Grb2 Src 同質 2 之拮抗劑；Gab1 調節劑；顯性-陰性之 Src；凡-希伯-蘭道抑制劑；非-類固醇類抗-發炎藥物（NSAID）；COX-2 抑制劑；希樂葆TM（希樂可西（Celecoxib））；維歐克斯TM（羅費可希^S

(rofecoxib)) ； 血 管 內 皮 生 長 因 子 (VEGF) ； VEGF 調 節 劑 ； 纖 維 母 細 胞 生 長 因 子 (FGF) 調 節 劑 ； 表 皮 生 長 因 子 (EGF) 調 節 劑 ； 角 質 細 胞 生 長 因 子 (KGF) ； KGF-相 關 分 子 ； KGF 調 節 劑 ； 基 質 金 屬 蛋 白 酶 (MMP) 調 節 劑 ； IL-2 ； 前 介 白 素 ； 赫 塞 普 汀 ； 利 突 仙 ； 才 瓦 林 ； 爾 必 突 ； 伊 普 蘇 美 ； 對 OPGL 之 抗 體 ； 對 Ang-2 之 抑 制 劑 ； 對 VEGF-2 之 抗 體 ； 艾 維 斯 汀 ； 抗 惡 性 腫 瘤 劑 ； 抗 有 絲 分 裂 劑 ； 抗 代 謝 物 ； 及 磺 酸 烷 酯 。

65. 如 申 請 專 利 範 圍 第 64 項 之 組 成 物 ， 其 中 該 專 一 性 結 合 劑 為 抗 體 。

66. 一 種 申 請 專 利 範 圍 第 62 項 之 組 成 物 於 製 造 用 於 治 療 癌 症 之 藥 物 上 的 用 途 。

67. 一 種 申 請 專 利 範 圍 第 63 項 之 組 成 物 於 製 造 用 於 治 療 癌 症 之 藥 物 上 的 用 途 。

68. 一 種 申 請 專 利 範 圍 第 64 項 之 組 成 物 於 製 造 用 於 治 療 癌 症 之 藥 物 上 的 用 途 。

69. 一 種 申 請 專 利 範 圍 第 65 項 之 組 成 物 於 製 造 用 於 治 療 癌 症 之 藥 物 上 的 用 途 。

70. 一 種 申 請 專 利 範 圍 第 62 項 之 組 成 物 於 製 造 用 於 治 療 實 體 腫 瘤 之 藥 物 上 的 用 途 。

71. 一 種 申 請 專 利 範 圍 第 63 項 之 組 成 物 於 製 造 用 於 治 療 實 體 腫 瘤 之 藥 物 上 的 用 途 。

72. 一 種 申 請 專 利 範 圍 第 64 項 之 組 成 物 於 製 造 用 於 治 療 實 體 腫 瘤 之 藥 物 上 的 用 途 。

73. 一種申請專利範圍第 65 項之組成物於製造用於治療實體腫瘤之藥物上的用途。

74. 一種申請專利範圍第 34 或 36 項之專一性結合劑於製造組合至少一種化療處理以治療癌症之藥物上的用途。

75. 如申請專利範圍第 74 項之用途，其中該專一性結合劑係在給予該化療處理之前投服。

76. 如申請專利範圍第 74 項之用途，其中該專一性結合劑係於給予該化療處理之同時投服。

77. 如申請專利範圍第 74 項之用途，其中該專一性結合劑係在給予該化療處理之後投服。

78. 一種申請專利範圍第 34 或 36 項之專一性結合劑於製造組合放射治療以治療癌症之藥物上的用途。

79. 如申請專利範圍第 78 項之用途，其中該專一性結合劑係在給予該放射治療之前投服。

80. 如申請專利範圍第 78 項之用途，其中該專一性結合劑係於給予該放射治療之同時投服。

81. 如申請專利範圍第 78 項之用途，其中該專一性結合劑係在給予該放射治療之後投服。

82. 一種偵測樣本中肝細胞生長因子（HGF）之水準的方法，其包含將該樣本與申請專利範圍第 34 或 36 項之專一性結合劑接觸。

83. 如申請專利範圍第 82 項之方法，其中該專一性結合劑為一種抗體。

84. 一種對 HGF 之專一性結合劑於製造用於抑制 HGF 結合至 Met 之藥物上的用途。

85. 如申請專利範圍第 84 項之用途，其中該專一性結合劑為抗體。

86. 如申請專利範圍第 84 項之用途，其中該專一性結合劑包含至少一種選自下述之胺基酸序列：SEQ ID NO：25、27、29、31、33、35、37、39、41 及 43。

87. 如申請專利範圍第 84 項之用途，其中該專一性結合劑包含至少一種選自下述之胺基酸序列：SEQ ID NO：24、26、28、30、32、34、36、38、40 及 42。

88. 一種多肽，其包含至少一種選自 SEQ ID NO：164 或 165 之胺基酸序列。

89. 一種多肽，其實質上係由至少一種選自 SEQ ID NO：164 或 165 之胺基酸序列所組成。

90. 一種專一性結合劑，其可結合至少一種選自 SEQ ID NO：164 或 165 之胺基酸序列。

91. 一種抗體或抗原結合功能區，其可結合至少一種選自 SEQ ID NO：164 或 165 之胺基酸序列。

92. 一種取得可結合肝細胞生長因子（HGF）之抗體的方法，其包含將至少一種選自 SEQ ID NO：164 或 165 之多肽投給動物，並從該動物中取得可結合 HGF 之抗體。

93. 一種含有至少一種選自 SEQ ID NO：164 或 165 之胺基酸序列的多肽於製造用於減少或防止申請專利範圍第 18 至 27 項中之任一項之專一性結合劑結合至肝細胞生長因

子（HGF）的藥物上的用途。

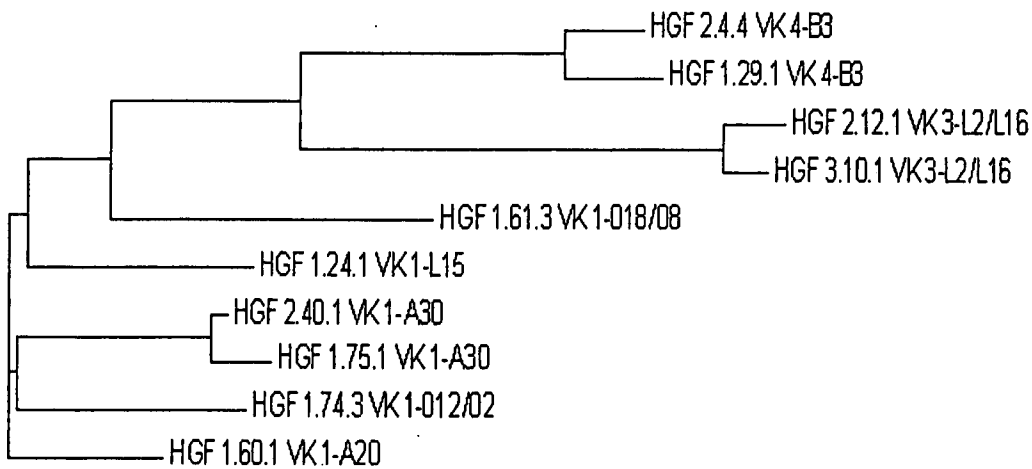
94.一種由至少一種選自 SEQ ID NO：164 或 165 之胺基酸序列所組成的多肽於製造用於減少或防止申請專利範圍第 18 至 27 項中之任一項之專一性結合劑結合至肝細胞生長因子（HGF）的藥物上的用途。

95.一種含有至少一種選自 SEQ ID NO：164 或 165 之胺基酸序列的多肽於製造用於減少或防止專一性結合劑結合至肝細胞生長因子（HGF）的藥物上的用途。

96.一種由至少一種選自 SEQ ID NO：164 或 165 之胺基酸序列所組成的多肽於製造用於減少或防止專一性結合劑結合至肝細胞生長因子（HGF）的藥物上的用途。

圖 式

第1A圖

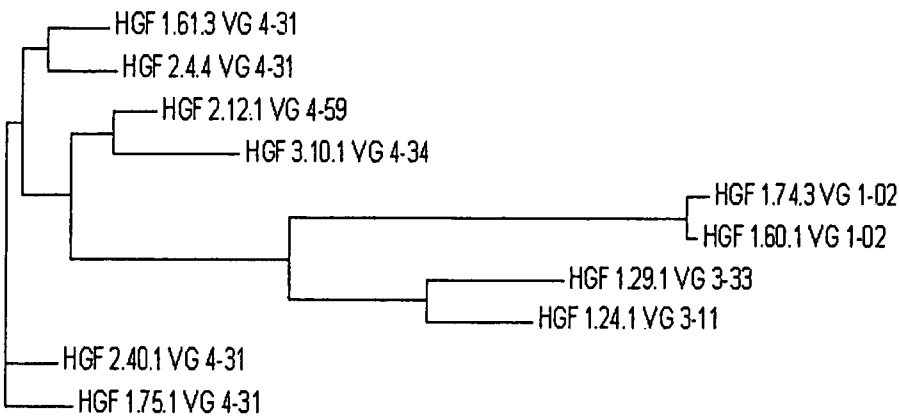


第1B圖

										第1部分																																					
										CDR 2																																					
										30	40	50																																			
HGF 2.4.4 VK4-B3	(1)	DI	VT	QSP	DSL	AV	SL	GER	AT	IN	CK	SS	QS	QV	LF	SS	NN	KN	YL	AW	YQ	QK	PG	QPP	KL	LI	YW	AS	TR																		
HGF 1.29.1 VK4-B3	(1)	DI	VT	QSP	DSL	AV	SL	GER	AT	IN	CK	SS	QS	IF	YS	ST	NN	KN	YL	AW	YQ	QK	PG	QPP	KL	LI	YW	AS	TR																		
HGF 1.75.1 VK1-A30	(1)	DI	QMT	QSP	SSL	AS	VG	DR	VT	IT	CR	AS	QG	-----IR													ND	L	G	W	F	Q	K	P	G	K	A	P	K	R	L	I	Y	A	AS	SL	
HGF 2.40.1 VK1-A30	(1)	DI	QMT	QSP	SSL	AS	VG	DR	VT	IT	CR	AS	QG	-----IR													ND	L	G	W	Y	Q	K	P	G	K	A	P	K	R	L	I	Y	V	AS	SL	
HGF 1.24.1 VK1-L15	(1)	DI	QMT	QSP	SS	V	SA	VG	DR	VT	IT	CR	AS	QG	-----IS													SW	L	A	W	Y	Q	K	P	G	K	A	P	N	L	L	I	Y	E	AS	SL
HGF 1.60.1 VK1-A20	(1)	DI	QMT	QSP	SSL	SV	SA	VG	DR	VT	IT	CR	AS	QG	-----IS													SY	L	A	W	Y	Q	K	P	G	K	V	P	K	L	I	Y	V	AS	TL	
HGF 1.74.3 VK1-012/02	(1)	DI	QMT	QSP	SS	LA	SA	VG	DR	VT	IT	CR	AS	QS	-----IN													SD	L	N	W	Y	Q	K	P	G	K	V	P	K	L	I	Y	V	AS	SL	
HGF 1.61.3 VK1-018/08	(1)	DI	QMT	QSP	SSL	AS	VG	DR	VT	IT	CR	AS	QD	-----IS													NY	L	N	W	Y	Q	K	P	G	T	A	P	K	L	I	Y	G	AS	DL		
HGF 2.12.1 VK3-L2/L16	(1)	EI	VT	QSP	SP	AT	LS	VS	PG	ER	AT	LS	CR	AS	QS	-----VD													SN	L	A	W	Y	Q	K	P	G	Q	A	P	R	L	I	Y	G	AS	TR
HGF 3.10.1 VK3-L2/L16	(1)	EI	VT	QSP	SP	AT	LS	VS	PG	ER	AT	LS	CR	AS	QS	-----V													SN	L	A	W	Y	Q	K	P	G	Q	A	P	R	L	I	Y	G	AS	TR
一致	(1)	DI	QMT	QSP	SSL	SV	SA	VG	DR	VT	IT	CR	AS	QS														I	LAWYQKPGKAPKLLIYASTL																		

										第2部分																																									
										CDR 3																																									
										61	70	80	90			114																																			
HGF 2.4.4 VK4-B3	(61)	ES	GV	P	D	R	F	SG	SG	S	G	T	D	F	T	L	T	I	SS	LQ	A	E	D	V	A	V	Y	C	Q	Q	Y	F	S	P	P	-	W	T	F	G	Q	G	T	K	V	E	I	K	(Seq ID No.: 173)		
HGF 1.29.1 VK4-B3	(61)	ES	GV	P	D	R	F	SG	SG	S	G	T	D	F	T	L	T	I	SS	LQ	A	E	D	V	A	V	Y	C	Q	Q	Y	Y	S	T	P	-	W	T	F	G	Q	G	T	K	V	E	I	K	(Seq ID No.: 174)		
HGF 1.75.1 VK1-A30	(55)	Q	S	G	V	P	S	R	F	SG	SG	S	G	T	E	F	T	L	I	SS	LQ	P	E	D	F	A	T	Y	C	LQ	H	S	P	-	L	T	F	G	G	G	T	K	V	E	I	K	(Seq ID No.: 175)				
HGF 2.40.1 VK1-A30	(55)	Q	S	G	V	P	S	R	F	SG	SG	S	G	T	E	F	T	L	I	SS	LQ	P	E	D	F	A	T	Y	C	LQ	H	S	Y	P	-	L	T	F	G	G	G	T	K	V	E	I	K	(Seq ID No.: 176)			
HGF 1.24.1 VK1-L15	(55)	Q	S	G	V	P	S	R	F	SG	SG	S	G	T	D	F	T	L	I	SS	LQ	P	E	D	F	A	T	Y	C	Q	Q	A	N	G	F	-	W	T	F	G	Q	G	T	K	V	E	I	K	(Seq ID No.: 177)		
HGF 1.60.1 VK1-A20	(55)	Q	S	G	V	P	S	R	F	SG	SG	S	G	T	D	F	T	L	I	SS	LQ	P	E	D	V	A	T	Y	C	Q	N	Y	N	S	D	P	-	L	T	F	G	G	G	T	K	V	E	I	K	(Seq ID No.: 178)	
HGF 1.74.3 VK1-012/02	(55)	Q	N	G	V	P	S	R	F	SG	SG	S	G	T	D	F	T	L	I	SS	LQ	P	E	D	F	A	T	Y	C	Q	R	S	Y	S	T	P	-	P	T	F	G	P	G	T	K	V	D	I	K	(Seq ID No.: 179)	
HGF 1.61.3 VK1-018/08	(55)	E	T	G	V	P	S	R	F	SG	SG	S	G	T	D	F	T	F	A	I	SS	LQ	P	E	D	I	A	T	Y	C	Q	Q	Y	D	N	L	P	-	Y	N	F	G	Q	G	T	K	L	E	I	K	(Seq ID No.: 180)
HGF 2.12.1 VK3-L2/L16	(55)	A	T	G	I	P	A	R	F	SG	SG	S	G	T	E	F	T	L	I	SS	LQ	S	E	D	F	A	V	Y	C	Q	Q	Y	I	N	W	P	I	T	F	G	Q	G	T	R	L	E	I	K	(Seq ID No.: 181)		
HGF 3.10.1 VK3-L2/L16	(55)	A	T	G	I	P	A	R	F	SG	SG	S	G	T	E	F	T	L	I	SS	LQ	S	E	D	F	A	V	Y	C	Q	Q	Y	I	N	W	P	I	T	F	G	Q	G	T	R	L	E	I	K	(Seq ID No.: 182)		
一致	(61)	Q	S	G	V	P	S	R	F	SG	SG	S	G	T	D	F	T	L	I	SS	LQ	P	E	D	F	A	T	Y	C	Q	Q	Y	S	P	-	T	F	G	Q	G	T	K	V	E	I	K	(Seq ID No.: 183)				

第2A圖



第2B圖

	(1)	1	10	20	30	CDR1	40	50	CDR2	62	
HGF 1.74.3 VG 1-02	(1)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFT--GYIHWVRQAPGQGLEWMGWINPNSGGTNY									
HGF 1.60.1 VG 1-02	(1)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFT--GYIINWVRQAPGQGLEWMGWINPNSGGTNY									
HGF 1.24.1 VG 3-11	(1)	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFS--DYYMSWIRQAPGKGLEWVSYISSSGSTIYY									
HGF 1.29.1 VG 3-33	(1)	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFS--SYGMHWVRQAPGKGLEWVAIVWYDGSCKYY									
HGF 1.61.3 VG 4-31	(1)	QVQLQESGPGGLVKPSQTLSTCTVSGGSISSDGYYWSWIRQHPGKGLEWIGYIYYSG-STYY									
HGF 2.40.1 VG 4-31	(1)	QVQLQESGPGGLVKPSQTLSTCTVSGGSISSGGYYWSWIRQHPGKGLEWIGNIYYSG-ITYY									
HGF 1.75.1 VG 4-31	(1)	QVQLQESGPGGLVKPSQTLSTCTVSGGSISSGGYYWSWIRQHPGKGLEWIGYIYYSG-STYY									
HGF 2.4.4 VG 4-31	(1)	QVQLKESGPGGLVKPSQTLSTCTVSGGSISSGVYYWSWIRQHPGKGLEWIGYFYYS-NTYH									
HGF 3.10.1 VG 4-34	(1)	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSPS--TYYWSWIRQPPGKGLEWIGEINHSG-STNY									
HGF 2.12.1 VG 4-59	(1)	QVQLQESGPGGLVKPSSETLSLTCTVSGGSISS--IYYWSWIRQPPGKGLEWIGYVYYSG-STNY									
一致	(1)	QVQLQESGPGGLVKPS TLSLTCTVSGGSISS GYYWSWIRQ PGKGLEWIGYIYYSG STYY									
	(63)	65CDR2708090100CDR3124									
HGF 1.74.3 VG 1-02	(61)	AQKFQGRVTMTTRDTSISTAYMELSRRLSDDTAVYYCARELELR-----YYG-MDVWGQG									
HGF 1.60.1 VG 1-02	(61)	AQKFQGRVTMTTRDTSITTAYMELSRRLRADDTAVYYCARELELR-----YYG-MDVWGQG									
HGF 1.24.1 VG 3-11	(61)	ADSVKGRFTISRDNNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDEYNSGW-----YVLFDYWGQG									
HGF 1.29.1 VG 3-33	(61)	ADSVKGRFTISRDNASKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREDYGEG-----FDYWGGQ									
HGF 1.61.3 VG 4-31	(62)	NPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARSHLHY-YDSSGYYYGGAFDIWGQG									
HGF 2.40.1 VG 4-31	(62)	NPSLKSRVTMSVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARDPLYG-----DYGFDPWGQG									
HGF 1.75.1 VG 4-31	(62)	NPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKVSSVTAADTAVYYCARDPLWFG-----EFDYGMVDWGQG									
HGF 2.4.4 VG 4-31	(62)	NPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCAR-----DRSGYDHPDAFDIWGQG									
HGF 3.10.1 VG 4-34	(60)	NPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARGG-----YDFWSGYDYWGQG									
HGF 2.12.1 VG 4-59	(60)	NPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARGG-----YDFWSGYFDYWGGQ									
一致	(63)	NPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARD Y G FDVWGQG									
	(125)	125129									
HGF 1.74.3 VG 1-02	(114)	TTVTv (Seq ID No.: 184)									
HGF 1.60.1 VG 1-02	(114)	TtvTv (Seq ID No.: 185)									
HGF 1.24.1 VG 3-11	(116)	TLVTv (Seq ID No.: 186)									
HGF 1.29.1 VG 3-33	(112)	TLVTv (Seq ID No.: 187)									
HGF 1.61.3 VG 4-31	(123)	TMVTv (Seq ID No.: 188)									
HGF 2.40.1 VG 4-31	(115)	TLVTv (Seq ID No.: 189)									
HGF 1.75.1 VG 4-31	(119)	TTVTv (Seq ID No.: 190)									
HGF 2.4.4 VG 4-31	(117)	TMVTv (Seq ID No.: 191)									
HGF 3.10.1 VG 4-34	(114)	TLVTv (Seq ID No.: 192)									
HGF 2.12.1 VG 4-59	(114)	TLV-- (Seq ID No.: 193)									
一致	(125)	TLVTv (Seq ID No.: 194)									

第3圖

HGF 1.24.1 輕鏈V區 (Vk, 1-L15)

ATGGACATGAGGGTGCCCGCTCAGCTCCTGGGGCTCCTGCTGCTCTGGTTCCCAGGTTCCAGATGC
GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCTTCCGTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCACT
TGTCGGGCGAGTCAGGGTATTAGCAGCTGGTTAGCCTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCT
AACCTCCTGATCTATGAAGCATCCAGTTTGCAAAGTGGGGTCCCATCAAGGTTCCGGCGGCAGTGGA
TCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTGCAGCCTGAAGATTTTGCAACTTACTATTGT
CAACAGGCTAACGGTTTCCCGTGGACGTTCCGGCCAAGGGACCAAGGTGGAAATCAAA (SEQ
ID NO: 01)

HGF 1.24.1 重鏈V區 (Vh, H3-11)-huIgG2 C 區)

ATGGAGTTTGGGCTGAGCTGGGTTTTCTTGTGCTATTATAAAAGGTGTCCAGTGTCCAGGTGCAG
CTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTCAAGCCTGGAGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCT
GGATTACCTTCAGTGACTACTACATGAGCTGGATCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGG
GTTTCATACATTAGTAGTAGTGGTAGTACCATATACTACGCAGACTCTGTGAAGGGCCGATTACCC
ATCTCCAGGGACAACGCCAAGAACTCACTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACG
GCCGTGTATTACTGTGCGAGAGATGAGTATAACAGTGGCTGGTACGTCCTCTTTGACTACTGGGGC
CAGGGAACCTGGTCACCGTCTCTAGT (SEQ ID NO: 02)

HGF 1.29.1 輕鏈V區 (Vk, 4-B3)

ATGGTGTTCAGACCCAGGTCTTCATTTCTCTGTTGCTCTGGATCTCTGATGCCTACGGAGACATC
GTGATGACCCAGTCTCCAGACTCCCTGGCTGTGTCTCTGGGCGAGAGGGCCACCATCAACTGCAAG
TCCAGCCAGAGTATTTTTTACAGCTCCACCAATAAGAACTACTTAGCTTGGTATCAGAAGAAACCG
GGACAGCCTCCTAAGCTGCTCATTACTGGGCATCTACCCGGAATCCGGGGTCCCTGACCGGTTCT
AGTGGCAGCGGGTCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTGCAGGCTGAAGATGTGGCA
GTTTATTACTGTGAGCAATATTATAGTACTCCGTGGACGTTCCGGCCAAGGGACCAAGGTGGAAATC
AAA (SEQ ID NO: 03)

HGF 1.29.1 重鏈V區 (Vh, 3-33)- huIgG2 C 區

ATGGAGTTTGGGCTGAACTGGGTTTTCTCTGCTCTTTTAAGAGGTGTCCAGTGTCCAGGTGCAG
CTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCGTGGTCCAGCCTGGGAGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCGTCT
GGATTACCTTCAGTAGCTATGGCATGCACTGGGTCCGCCAGGCTCCGGGCAAGGGACTGGAGTGG
GTGGCAGTTATATGGTATGATGGAAGTGATAAATACTATGCAGACTCCGTGAAGGGCCGATTACCC
ATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACG
GCTGTGTATTACTGTGCGAGAGAGGACTACGGCGAGGGTTTTGACTACTGGGGCCAGGGAACCTG
GTCACCGTCTCTAGT (SEQ ID NO: 04)

HGF 1.60.1 輕鏈V區 (Vk, 1-A20)

ATGGACATGAGGGTGCCCGCTCAGCTCCTGGGACTCCTGCTGCTCTGGCTCCCAGATACCAGATGT
GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGTATCTGTGCGAGACAGAGTCACCATCACT
TGCCGGGCGAGTCAGGGCATTAGCAGTTATTTAGCCTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGTTCCT
AAGCTCCTGATCTATGTTGCATCCACTTTGCAATCAGGGGTCCCGTCTCGGTTTCAGTGGCAGTGGA
TCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTGCAGCCTGAAGATGTTGCAACTTATTACTGT
CAAACTATAACAGTGACCCGCTCACTTTCGGCGGGCGGGACCAAGGTGGAGATCAAA (SEQ
ID NO: 05)

第3圖(續)

HGF 1.60.1 重鏈V區 (Vh, H1-02)- huIgG2 C 區

ATGGACTGGACCTGGAGGATCCTCTTCTTGGTGGCAGCAGCCACAGGAGCCCACTCCCAGGTGCAG
CTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTCAGTGAAGGTCTCCTGCAAGGCTTCT
GGATACACCTTCACCGGCTACTATATAAACTGGGTGCGACAGGCCCTGGACAAGGGCTTGAGTGG
ATGGGATGGATCAACCCTAACAGTGGTGGCACAACTATGCACAGAAGTTTCAGGGCAGGGTCACC
ATGACCAGGGACACGTCCATCACCACAGCCTACATGGAGCTGAGCAGGCTGAGAGCTGACGACACG
GCCGTGTACTACTGTGCGAGAGAACTGGAACCTACGCTACTACGGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGG
ACCACGGTCACCGTCTCTAGT (SEQ ID NO: 06)

HGF 1.61.3 輕鏈V區 (Vk, 1-018/08)

ATGGACATGAGGGTGCCCGCTCAGCTCCTGGGGCTCCTGCTGCTCTGGCTCTCAGGTGCCAGATGT
GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCACT
TGCCAGGCGAGTCAGGACATTAGCAACTATTTAAATTGGTATCAGCAGAAACCAGGGACAGCCCCT
AAACTCCTGATCTACGGTGCATCCGATTTGGAACCGGGGTCCCATCAAGGTTCAGTGGAAGTGA
TCTGGGACAGATTTTACTTTTCGCCATCAGCAGCCTGCAGCCTGAAGATATTGCAACATATTACTGT
CAACAGTATGATAATCTCCCGTACAATTTTGCCAGGGGACCAAGCTGGAGATCAAA (Seq.
ID NO: 07)

HGF 1.61.3 重鏈V區 (Vh, 4-31)- huIgG2 C 區

ATGAAACACCTGTGGTTCTTCCTCCTGCTGGTGGCAGCTCCCAGATGGGTCTGTCCCAGGTGCAG
CTGCAGGAGTCGGGCCAGGACTGGTGAAGCCTTCACAGACCCTGTCCCTCACCTGCACTGTCTCT
GGTGGCTCCATCAGCAGTGATGGTTACTACTGGAGCTGGATCCGCCAGCACCCAGGGAAGGGCCTG
GAGTGGATTGGGTACATCTATTACAGTGGGAGCACCTACTACAACCCGTCCCTCAAGAGTCGAGTC
ACCATATCAGTAGACACGTCTAAGAACCAGTTCTCCCTGAAGCTGAGCTCTGTGACTGCCGCGGAC
ACGGCCGTCTATTACTGTGCGAGATCCCACCTTCATTACTATGATAGTAGTGTTATTACTACGGC
GGTGCTTTTGATATCTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTAGT (SEQ ID NO: 08)

HGF 1.74.3 輕鏈V區 (Vk, 1-012/02)

ATGGACATGAGGGTGCCCGCTCAGCTCCTGGGGCTCCTGCTACTCTGGCTCCGAGGTGCCAGATGT
GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCACT
TGCCGGGCAAGTCAGAGCATTAACAGCGATTTAAATTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGTCCCT
AAGCTCCTGATCTATGTTGCATCCAGTTTGCAAAATGGGGTCCCATCAAGGTTCAGTGGCAGTGA
TCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGTCTGCAACCTGAAGATTTTGCAACTTACTACTGT
CAACGGAGTTACAGTACCCCTCCCACTTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATCAAA (SEQ
ID NO: 09)

HGF 1.74.3 重鏈V區 (Vh, VG1-02)- huIgG2 C 區

ATGGACTGGACCTGGAGGATCCTCTTCTTGGTGGCAGCAGCCACAGGAGCCCACTCCCAGGTGCAG
CTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTCAGTGAAGGTCTCCTGCAAGGCTTCT
GGATACACCTTCACCGGCTACTATATACACTGGGTGCGACAGGCCCTGGACAAGGGCTTGAGTGG
ATGGGATGGATCAACCCTAACAGTGGTGGCACAACTATGCACAGAAGTTTCAGGGCAGGGTCACC
ATGACCAGGGACACGTCCATCAGCACAGCCTACATGGAGCTGAGCAGGCTGAGATCTGACGACACG
GCCGTGTATTACTGTGCGAGAGAACTGGAACCTACGCTACTACGGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGG
ACCACGGTCACCGTCTCTAGT (SEQ ID NO: 10)

第3圖(續)

HGF 1.75.1 輕鏈V區 (Vk, 1-A30)

ATGGACATGAGGGTGCCCGCTCAGCTCCTGGGGCTCCTGCTGCTCTGGTTCCCAGGTGCCAGGTGT
GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCACT
TGCCGGGCAAGTCAGGGCATTAGAAATGATTTAGGCTGGTTTCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCT
AAGCGCCTGATCTATGCTGCATCCAGTTTGCAAAGTGGGGTCCCATCAAGGTTTCAGCGCAGTGGA
TCTGGGACAGAATTCACCTCTCACAATCAGCAGCCTGCAGCCTGAAGATTTTGCAACTTATTACTGT
CTACAGCATGATAGTTACCCGCTCACTTTCGGCGGAGGGACCAAGGTGGAGATCAAA (SEQ
ID NO: 11)

HGF 1.75.1 重鏈V區 (Vh, VG4-31)- huIgG2 C 區

ATGAAACACCTGTGGTTCTTCCTCCTGCTGGTGGCAGCTCCCAGATGGGTCTGTCCCAGGTGCAG
CTGCAGGAGTCGGGCCCAGGACTGGTGAAGCCTTCACAGACCCTGTCCCTCACCTGCACTGTCTCT
GGTGGCTCCATCAGCAGTGGTGGTTACTACTGGAGCTGGATCCGCCAGCACCCAGGGAAGGGCCTG
GAGTGGATTGGGTACATCTATTACAGTGGGAGCACCTACTACAACCCGTCCCTCAAGAGTCGAGTT
ACCATATCAGTAGACACGTCTAAGAACCAGTTCTCCCTGAAGGTGAGCTCTGTGACTGCCGCGGAC
ACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAGACCCACTATGGTTCGGGGAGTTCGACTACTACGGTATGGAC
GTCTGGGGCCAAGGGACCACGGTCACCGTCTCTAGT (SEQ ID NO: 12)

HGF 2.4.4 輕鏈V區 (Vk, 4-B3)

ATGGTGTTCAGACCCAGGTCTTCATTTCTCTGTTGCTCTGGATCTCTGGTGCCTACGGGGACATC
GTGATGACCCAGTCTCCAGACTCCCTGGCTGTGTCTCTGGGCGAGAGGGCCACCATCAACTGCAAG
TCCAGCCAGAGTGTTTTATTACAGCTCCAACAATAAGAATTACTTAGCTTGGTATCAGCAGAAACCA
GGACAGCCTCCTAAGTTGCTCATTTACTGGGCATCTACCCGGGAATCCGGGGTCCCTGACCGATTCT
AGTGGCAGCGGGTCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTGCAGGCTGAAGATGTGGCA
GTTTATTACTGTCAGCAATATTTTAGTCCTCCGTGGACGTTTCGGCCAAGGGACCAAGGTGGAAATC
AAA (SEQ ID NO: 13)

HGF 2.4.4 重鏈V區 (Vh, VG 4-31)- huIgG2 C 區

ATGAAACACCTGTGGTTCTTCCTCCTGCTGGTGGCAGCTCCCAGATGGATCCTGTCCCAGGTGCAG
CTGAAGGAGTCGGGCCCAGGACTGGTGAAGCCTTCACAGACCCTGTCCCTCACCTGCACTGTCTCT
GGTGGCTCCATCAGCAGTGGTGGTTACTACTGGAGCTGGATCCGCCAGCACCCAGGGAAGGGCCTG
GAGTGGATTGGGTACTTCTATTATAGTGGGAACACCTACCACAACCCGTCCCTCAAGAGTCGAGTG
ACCATATCAGTAGACACGTCTAAGAACCAGTTCTCCCTGAAGCTGAGCTCTGTGACTGCCGCGGAC
ACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAGATCGTAGTGGCTACGATCACCTGATGCTTTTGATATCTGG
GGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTAGT (SEQ ID NO: 14)

HGF 2.12.1 輕鏈V區 (Vk, 3-L2/L16)

ATGGAAGCCCCAGCTCAGCTTCTCTTCCTCCTGCTACTCTGGCTCCCAGATACCACTGGAGAAATA
GTGATGACGCAGTCTCCAGCCACCCTGTCTGTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGG
GCCAGTCAGAGTGTTGACAGCAACTTAGCCTGGTACCGGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTC
CTCATCTATGGTGCATCCACCAGGGCCACTGGTATCCCAGCCAGGTTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGG
ACTGAGTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTGCAGTCTGAAGATTTTGAGTTTATTACTGTCAGCAG
TATATTAAGTGGCCTCCGATCACCTTCGGCCAAGGGACACGACTGGAGATTAAA (SEQ ID NO:
15)

第3圖(續)

HGF 2.12.1 重鏈V區 (Vh4-59)- huIgG2 C 區

ATGAAACACCTGTGGTTCTTCCTTCTCCTGGTGGCAGCTCCCAGATGGGTCTGTCCCAGGTGCAG
CTGCAGGAGTCGGGCCCAGGACTGGTGAAGCCTTCGGAGACCCTGTCCCTCACCTGCACTGTCTCT
GGTGGCTCCATCAGTATTTACTACTGGAGCTGGATCCGGCAGCCCCCAGGGAAGGGACTGGAGTGG
ATTGGGTATGTCTATTACAGTGGGAGCACCAATTACAACCCCTCCCTCAAGAGTCGAGTCACCATA
TCAGTAGACACGTCCAAGAACCAGTTCTCCCTGAAGCTGAACTCTGTGACCGCTGCGGACACGGCC
GTGTATTACTGTGCGAGAGGGGGATACGATTTTTGGAGTGGTTATTTTGA TACTGTTGGGGCCAGGGA
ACCCTGGTCACCGTCTCTAGT (SEQ ID NO: 16)

HGF 2.40.1 輕鏈V區 (Vk, 1A20)

ATGGACATGAGGGTGCCCGCTCAGCTCCTGGGGCTCCTGCTGCTCTGGTTCCCAGGTGCCAGGTGT
GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCACT
TGCCGGGCAAGTCAGGGCATTAGAAATGATTTAGGCTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCCT
AAGCGCCTGATCTATGTTGCATCCAGTTTGCAAAGTGGGGTCCCATCAAGGTTTCAGCGGCAGTGGA
TCTGGGACAGAATTCACCTCTCACAATCAGCAGCCTGCAGCCTGAAGATTTTGCAACTTATTACTGT
CTACAACATAATAGTTACCCGCTCACTTTCGGCGGAGGGACCAAGGTGGAGATCAAA (SEQ
ID NO: 17)

HGF 2.40.1 重鏈V區 (Vh, VG 4-31)- huIgG2 C 區

ATGAAACACCTGTGGTTCTTCCTCCTGCTGGTGGCAGCTCCCAGATGGGTCTGTCCCAGGTGCAG
CTGCAGGAGTCGGGCCCAGGACTGGTGAAGCCTTCACAGACCCTGTCCCTCACCTGCACTGTCTCT
GGTGGCTCCATCAGCAGTGGTGGTTACTACTGGAGCTGGATCCGTCAGCACCCAGGGAAGGGCCTG
GAGTGGATTGGGAACATCTATTACAGTGGGATCACCTACTACAACCCGTCCCTCAAGAGTCGAGTT
ACCATGTCAGTAGACACGTCTAAGAACCAGTTCTCCCTGAAGCTGAGTTCTGTGACTGCCGCGGAC
ACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAGATCCCCTCTACGGTGACTACGGGTTCGACCCCTGGGGCCAG
GGAACCCTGGTCACCGTCTCTAGT (SEQ ID NO: 18)

HGF 3.10.1 輕鏈V區 (Vk, 3-L2/L16)

ATGGAAGCCCCAGCTCAGCTTCTCTTCCTCCTGCTACTCTGGCTCCCAGATACCACTGGAGAAATA
GTGATGACGCAGTCTCCAGCCACCCTGTCTGTGTCTCCTGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGG
GCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAACTTAGCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTC
CTCATGTATGGTGCATCCACCAGGGCCACTGGTATCCCAGCCAGGTTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGG
ACAGAGTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTGCAGTCTGAAGATTTTGAGTTTATTACTGTCAGCAG
TATAATAACTGGCCTCCGATCACCTTCGGCCAAGGGACACGACTGGAGATTAAA (SEQ ID NO:
19)

HGF 3.10.1 重鏈V區 (Vh, VG 4-34)- huIgG1 C 區

ATGAAACACCTGTGGTTCTTCCTCCTCCTGGTGGCAGCTCCCAGATGGGTCTGTCCCAGGTGCAG
CTACAGCAGTGGGGCGCAGGACTGTTGAAGCCTTCGGAGACCCTGTCCCTCACCTGCGCTGTCTAT
GGTGGGTCTTTCAGTACTTACTACTGGAGCTGGATCCGCCAGCCCCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGG
ATTGGGGAAATCAATCATAGTGGAAGCACCAACTACAACCCGTCCCTCAAGAGTCGAGTCACCATA
TCAGTAGACACGTCCAAGAACCAGTTCTCCCTGAAGCTGAGCTCTGTGACCGCCGCGGACACGGCT
GTGTATTACTGTGCGAGAGGGGGGTACGATTTTTGGAGTGGTTATTATGACTACTGGGGCCAGGGA
ACCCTGGTCACCGTCTCTAGT (SEQ ID NO: 20)

第3圖(續)

人類K恆定區

CGAACTGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAACT
GCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAAGGTGGAT
AACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTAC
AGCCTCAGCAGCACCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAA
GTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTGA
(SEQ ID NO: 21)

人類IgG1恆定區

GCCTCCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACA
GCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGGAAGTCTCAGGC
GCCCTGACCAGCGGCGTGACACCTTCCCGGCTGTCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGC
AGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAG
CCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACCTCACACATGCCCA
CCGTGCCCAGCACCTGAACTCCTGGGGGGACCGTCAGTCTTCTCTTCCCCCCTTCCCAAGGAC
ACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCCT
GAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAG
GAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAAGCGTCCTCACCCTGCTGACCCAGGACTGGCTGAAT
GGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCC
AAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCTGCCCCCATCCCGGGATGAGCTGACC
AAGAACCAGGTGACCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGG
GAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAATAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCC
TTCTTCTCTATAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGC
TCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAATGA
(SEQ ID NO: 22)

人類IgG2恆定區

GCCTCCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCGCCCTGCTCCAGGAGCACCTCCGAGAGCACA
GCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGGAAGTCTCAGGC
GCTCTGACCAGCGGCGTGACACCTTCCCAGCTGTCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGC
AGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAACTTCGGCACCCAGACCTACACCTGCAACGTAGATCACAAG
CCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGACAGTTGAGCGCAAATGTTGTGTCGAGTGCCACCGTGCCCA
GCACCACCTGTGGCAGGACCGTCAGTCTTCTCTTCCCCCCTTCCCAAGGACACCCTCATGATC
TCCCGGACCCCTGAGGTACGTGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCCGAGGTCCAGTTC
AACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCACGGGAGGAGCAGTTCAAC
AGCACGTTCCGTGTGGTCAAGCGTCCTCACCCTTGTGACCCAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTAC
AAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGGCCTCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAACCAAGGG
CAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTC
AGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTACCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGG
CAGCCGGAGAACAATAAGACCACACCTCCCATGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCTCTAC
AGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCAT
GAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAATGA (SEQ
ID NO: 23)

第4圖

HGF 1.24.1 輕鏈V區 (Vk, 1-L15)

MDMRVPAQLLGLLLLWFPGRCDIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCRASQGISSWLAWYQQKPGKAP
NLLIYEASSLQSGVPSRFGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQANGFPWTFGQGTKVEIK
(SEQ ID NO: 24)

HGF 1.24.1 重鏈V區 (Vh, H3-11)-huIgG2 C 區

MEFGLSWVFLVAIIKGVQCQVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQAPGKGLEW
VSYISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDEYNSGWYVLFDYWG
QGTLVTVSS (SEQ ID NO: 25)

HGF 1.29.1 輕鏈V區 (Vk, 4-B3)

MVLQQTQVFISLLLLWISDAYGDIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSIFYSSTNKNYLAWYQKKP
GQPPKLLIYWASTRESGVPDFRFGSGSGTDFTLTISLQAEADVAVYYCQYYSTPWTFGQGTKVEI
K (SEQ ID NO: 26)

HGF 1.29.1 重鏈V區 (Vh, 3-33)- huIgG2 C 區

MEFGLNWVFLVALLRGVQCQVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEW
VAVIWDGSDKYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREDYGEFDYWGQGT
LTVSS (SEQ ID NO: 27)

HGF 1.60.1 輕鏈V區 (Vk, 1-A20)

MDMRVPAQLLGLLLLWLPLDTRCDIQMTQSPSSLSVSVGDRVTITCRASQGISSYLAWYQQKPGKVP
KLLIYVASTLQSGVPSRFGSGSGTDFTLTISLQPEDVATYYCQNYNSDPLTFGGGGTKVEIK
(SEQ ID NO: 28)

HGF 1.60.1 重鏈V區 (Vh, H1-02)- huIgG2 C 區

MDWTWRILFLVAAATGAHSQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYYINWVRQAPGQGLEW
MGWINPNSGGTNYAQKFQGRVTMTRDTSITTAYMELSRRLRADDTAVYYCARELELRYYGMDVWGQ
GTTVTVSS (SEQ ID NO: 29)

HGF 1.61.3 輕鏈V區 (Vk, 1-018/08)

MDMRVPAQLLGLLLLWLWSGARCDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQDISNYLNWYQQKPGTAP
KLLIYGASDLETGVPSRFGSGSGTDFTFAISSLQPEDATYYCQQYDNLFPYFNGQGTKLEIK
(SEQ ID NO: 30)

HGF 1.61.3 重鏈V區 (Vg, 4-31)- huIgG2 C 區

MKHLWFFLLLLVAAPRWVLSQVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGGSISSDGYYSWIRQHHPGKGL
EWIGYIYYSGSTYYNPSLKSRTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARSHLHYDSSGYYYG
GAFDIWGQGTMTVTVSS (SEQ ID NO: 31)

HGF 1.74.3 輕鏈V區 (Vk, 1-012/02)

MDMRVPAQLLGLLLLWLRLGARCDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSINSDLNWYQQKPGKVP
KLLIYVASSLQNGVPSRFGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQRSYSTPPTFGPGTKVDIK
(SEQ ID NO: 32)

HGF 1.74.3 重鏈V區 (Vh, VG1-02)-huIgG2 C 區

MDWTWRILFLVAAATGAHSQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYYIHWVRQAPGQGLEW
MGWINPNSGGTNYAQKFQGRVTMTRDTSISTAYMELSRRLRSDDTAVYYCARELELRYYGMDVWGQ
GTTVTVSS (SEQ ID NO: 33)

第4圖(續)

HGF 1.75.1 輕鏈V區 (Vk, 1-A30)

MDMRVPAQLLGLLLLWFPGARCDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIRNDLGWFQQKPGKAP
KRLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTEFTLTISLQPEDFATYYCLQHDSYPLTFGGGTKVEIK
(SEQ ID NO: 34)

HGF 1.75.1 重鏈V區 (Vh, VG4-31)-huIgG2 C 區

MKHLWFFLLLVAAPRWVLSQVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGGSISSGGYYWSWIRQHPGKGL
EWIGYIYYSGSTYYNPSLKSRTISVDTSKNQFSLKVSSVTAADTAVYYCARDPLWFGFDYYGMD
VWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO: 35)

HGF 2.4.4 輕鏈V區 (Vk, 4-B3)

MVLQTQVFISLLLWISGAYDIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLFSSNNKNYLAWYQQKP
GQPPKLLIYWASTRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISLQAEDVAVYYCQQYFSPPWTFGQGTKVEI
K (SEQ ID NO: 36)

HGF 2.4.4 重鏈V區 (Vh, VG 4-31)-huIgG2 C 區

MKHLWFFLLLVAAPRWILSQVQLKESGPGLVKPSQTLSTCTVSGGSISSGVYYWSWIRQHPGKGL
EWIGYFYYSNGTYHNPSLKSRTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARDRSGYDHPDAFDIW
GQGTMTVTVSS (SEQ ID NO: 37)

HGF 2.12.1 輕鏈V區 (Vk, 3-L2/L16)

MEAPAQLLFLLLLWL PDTTGEIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVDSNLAWYRQKPGQAPRL
LIYGASTRATGIPARFSGSGSGTEFTLTISLQSEDFAVYYCQQYINWPPIITFGQGTRLEIK
(SEQ ID NO: 38)

HGF 2.12.1 重鏈V區 (Vg, 4-59)- huIgG2 C 區

MKHLWFFLLLVAAPRWVLSQVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGGSISIIYYWSWIRQPPGKGLEW
IGYVYYSGSTNYNPSLKSRTISVDTSKNQFSLKLNSVTAADTAVYYCARGGYDFWSGYFDYWGQG
TLVTVSS (SEQ ID NO: 39)

HGF 2.40.1 輕鏈V區 (Vk, 1A20)

MDMRVPAQLLGLLLLWFPGARCDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIRNDLGWYQQKPGKAP
KRLIYVASSLQSGVPSRFSGSGSGTEFTLTISLQPEDFATYYCLQHNSYPLTFGGGTKVEIK
(SEQ ID NO: 40)

HGF 2.40.1 重鏈V區 (Vh, VG 4-31)-huIgG2 C 區

MKHLWFFLLLVAAPRWVLSQVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGGSISSGGYYWSWIRQHPGKGL
EWIGNIYYSGITYYNPSLKSRTMSVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARDPLYGDYGFDPWQG
GTLVTVSS (SEQ ID NO: 41)

HGF 3.10.1 輕鏈V區 (Vk, 3-L2/L16)

MEAPAQLLFLLLLWL PDTTGEIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVSSNLAWYQQKPGQAPRL
LMYGASTRATGIPARFSGSGSGTEFTLTISLQSEDFAVYYCQQYNNWPPIITFGQGTRLEIK
(SEQ ID NO: 42)

HGF 3.10.1 重鏈V區 (Vh, VG 4-34)-huIgG1 C 區

MKHLWFFLLLVAAPRWVLSQVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSTYYWSWIRQPPGKGLEW
IGEINHSGSTNYNPSLKSRTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARGGYDFWSGYDYWGQG
TLVTVSS (SEQ ID NO: 43)

第4圖(續)

人類K恆定區

RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTY
SLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 44)

人類IgG1恆定區

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLS
SVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKD
TLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN
GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEW
ESNGQOPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSQVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
(SEQ ID NO: 45)

人類IgG2恆定區

ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLS
SVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVERKCCVECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMI
SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVSVLTVVHQDWLNGKEY
KCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG
QOPENNYKTTTPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSQVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
(SEQ ID NO: 46)

第5A圖

輕鏈可變區CDR1、CDR2，和CDR3胺基酸序列

Antibody	CDR1	CDR2	CDR3
1.24.1	RASQGISSWLA (SEQ ID NO. 60)	EASSLQS (SEQ ID NO. 70)	QQANGFPWT (SEQ ID NO. 80)
1.29.1	KSSQSIFYSSSTNKNYLA (SEQ ID NO. 61)	WASTRES (SEQ ID NO. 71)	QQYYSTPWT (SEQ ID NO. 81)
1.60.1	RASQGISSYLA (SEQ ID NO. 62)	VASTLQS (SEQ ID NO. 72)	QNYNSDPLT (SEQ ID NO. 82)
1.61.3	QASQDISNYLN (SEQ ID NO. 63)	GASDLET (SEQ ID NO. 73)	QQYDNLPPYN (SEQ ID NO. 83)
1.74.3	RASQSINSDLN (SEQ ID NO. 64)	VASSLQN (SEQ ID NO. 74)	QRSYSTPPT (SEQ ID NO. 84)
1.75.1	RASQGIRNDLG (SEQ ID NO. 65)	AASSLQS (SEQ ID NO. 75)	LQHDSYPLT (SEQ ID NO. 85)
2.4.4	KSSQSVLFSSNNKNYLA (SEQ ID NO. 66)	WASTRES (SEQ ID NO. 76)	QQYFSPPWT (SEQ ID NO. 86)
2.12.1	RASQSVDSNLA (SEQ ID NO. 67)	GASTRAT (SEQ ID NO. 77)	QQYINWPPIT (SEQ ID NO. 87)
2.40.1	RASQGIRNDLG (SEQ ID NO. 68)	VASSLQS (SEQ ID NO. 78)	LQHNSYPLT (SEQ ID NO. 88)
3.10.1	RASQSVSSNLA (SEQ ID NO. 69)	GASTRAT (SEQ ID NO. 79)	QQYNNWPPIT (SEQ ID NO. 89)

第5B圖

重鏈可變區之CDR1、CDR2，和CDR3胺基酸序列

Antibody	CDR1	CDR2	CDR3
1.24.1	DYYMS (SEQ ID NO. 90)	YISSSGSTIYYADSVKG (SEQ ID NO. 100)	DEYNSGWYVLFDY (SEQ ID NO. 110)
1.29.1	SYGMH (SEQ ID NO. 91)	VIWYDGSDKYYADSVKG (SEQ ID NO. 101)	EDYGEGFDY (SEQ ID NO. 111)
1.60.1	GYVIN (SEQ ID NO. 92)	WINPNSGGTNYAQKFQG (SEQ ID NO. 102)	ELELRYYGMDV (SEQ ID NO. 112)
1.61.3	SDGYYWS (SEQ ID NO. 93)	YIYYSGSTYYNPSLKS (SEQ ID NO. 103)	SHLHYDSSGYYYGGAFDI (SEQ ID NO. 113)
1.74.3	GYYIH (SEQ ID NO. 94)	WINPNSGGTNYAQKFQG (SEQ ID NO. 104)	ELELRYYGMDV (SEQ ID NO. 114)
1.75.1	SGGYYWS (SEQ ID NO. 95)	YIYYSGSTYYNPSLKS (SEQ ID NO. 105)	DPLWFGYFDYYGMDV (SEQ ID NO. 115)
2.4.4	SGVYYWS (SEQ ID NO. 96)	YFYYSGNTYHNPSLKS (SEQ ID NO. 106)	DRSGYDHPDAFDI (SEQ ID NO. 116)
2.12.1	IYYWS (SEQ ID NO. 97)	YVYYSGSTNYNPSLKS (SEQ ID NO. 107)	GGYDFWSGYFDY (SEQ ID NO. 117)
2.40.1	SGGYYWS (SEQ ID NO. 98)	NIYYSGITYYNPSLKS (SEQ ID NO. 108)	DPLYGDYGFDP (SEQ ID NO. 118)
3.10.1	TYYWS (SEQ ID NO. 99)	EINHSGSTNYNPSLKS (SEQ ID NO. 109)	GGYDFWSGYYDY (SEQ ID NO. 119)

第6A圖

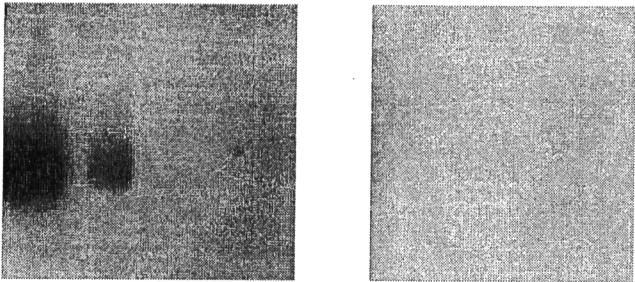
ID	$\sim K_D$ (M)	k_a (1/Ms)	k_d (1/s)
3.10.1	4.7E-10	6.5E+04	3.0E-05
2.4.4	9.9E-11	2.7E+05	2.7E-05
2.12.1	2.2E-10	1.3E+05	2.8E-05
1.29.1	7.9E-10	6.2E+04	4.8E-05
1.75.1	7.8E-10	3.6E+04	2.8E-05
1.74.3	3.6E-10	1.3E+05	4.7E-05

第6B圖

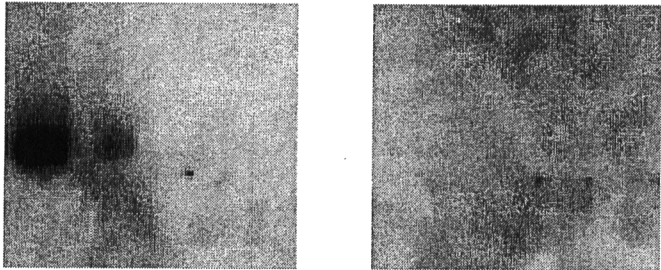
ID	K _D (pM)
2.4.4	< 10
1.29.1	34 +/- 15
1.74.2	41 +/- 13
2.12.1	54 +/- 7

第7圖

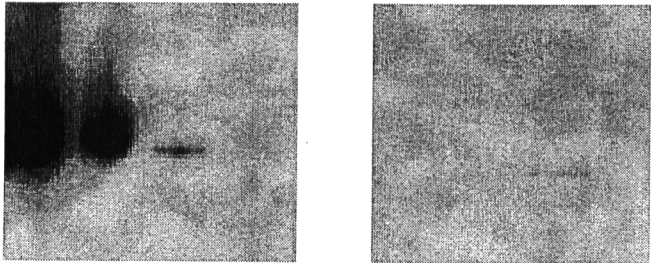
3.10.1 (IgG1)



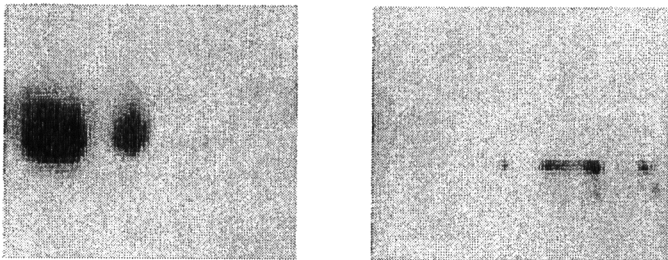
1.75.1 (IgG2)



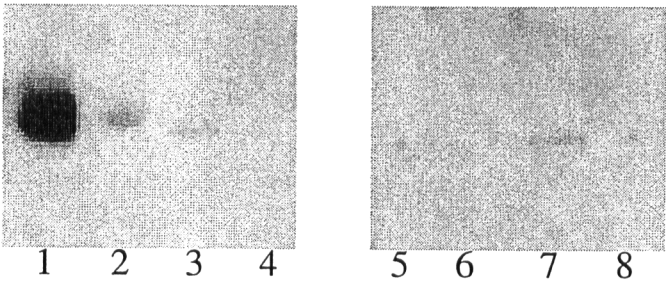
1.60.1 (IgG2)



2.12.1 (IgG2)

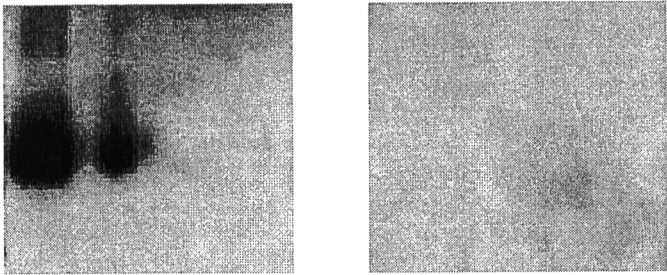


2.40.1 (IgG2)

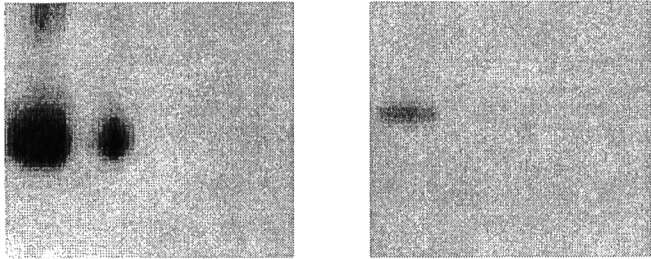


第7圖(續)

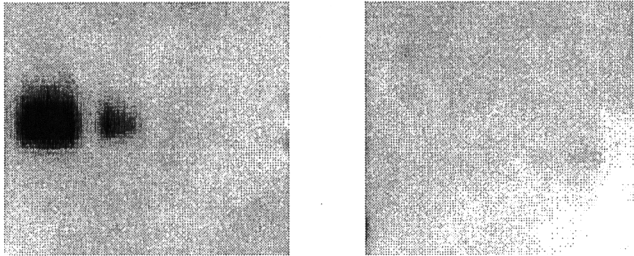
1.74.1 (IgG2)



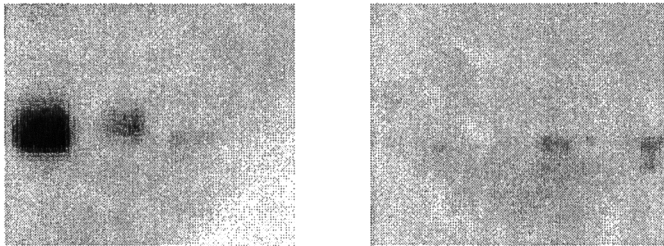
1.29.1 (IgG2)



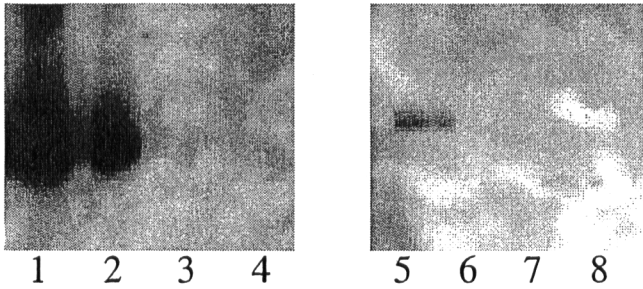
1.24.1 (IgG2)



1.61.3 (IgG2)



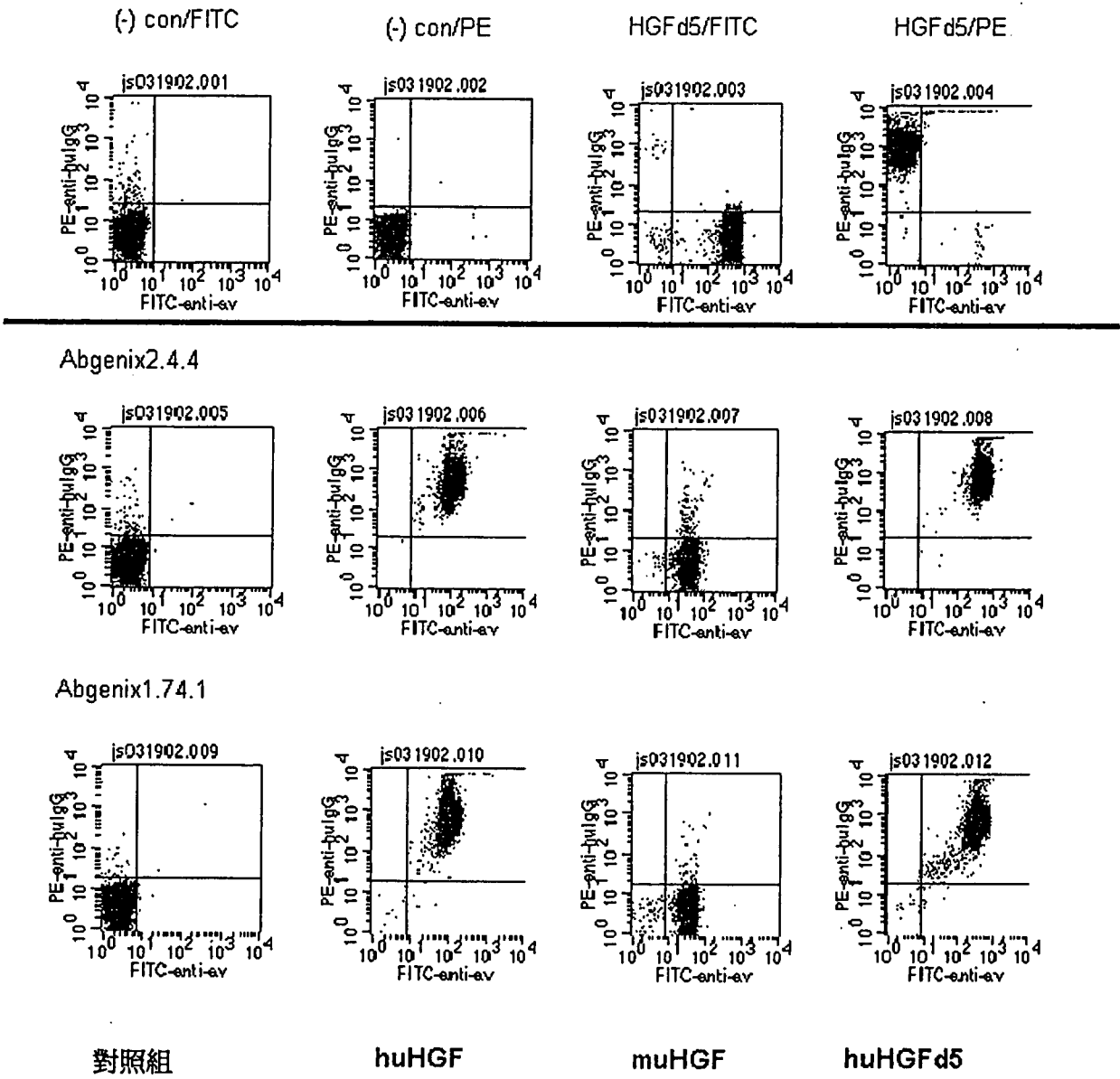
2.4.4 (IgG2)



1 2 3 4

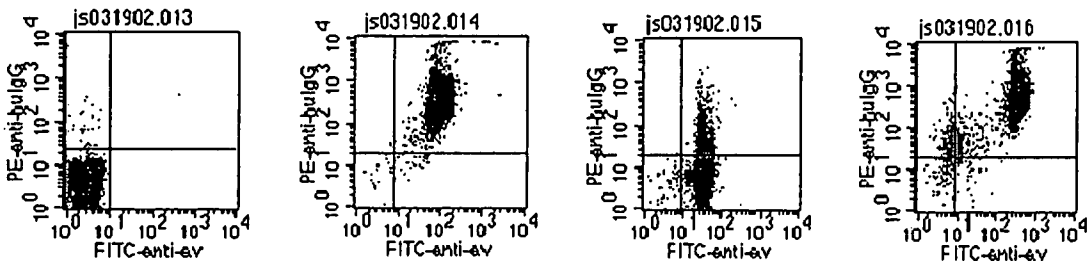
5 6 7 8

第8圖

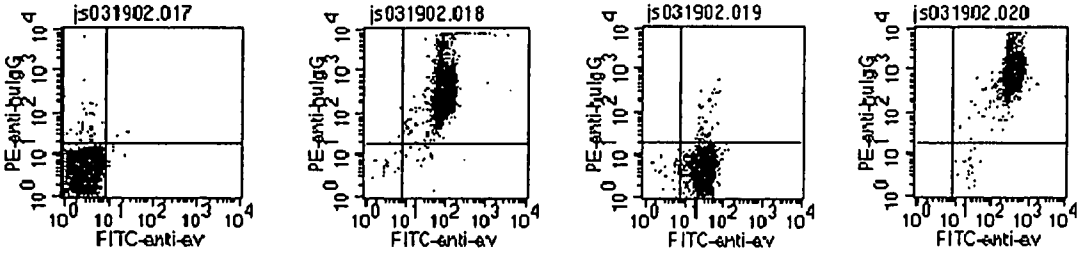


第8圖(續)

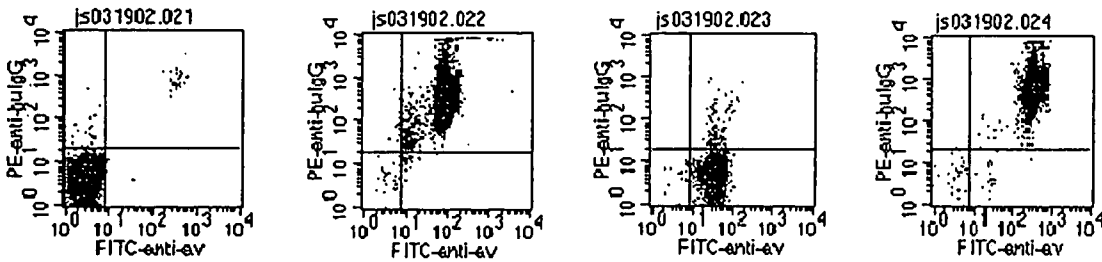
Abgenix1.75.1



Abgenix3.10.1

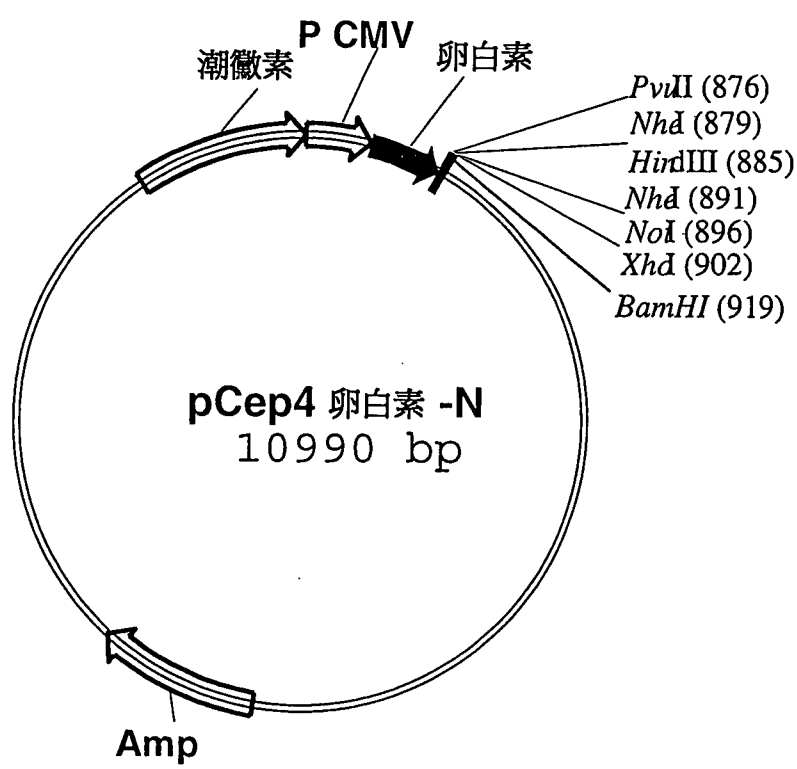


Abgenix2.12.1



對照組 huHGF muHGF huHGFd5

第9A圖



第9B圖

CCCCACCATGGTGCACGCAACCTCCCCGCTGCTGCTGCTGCTGCTCAGCCTGGCTCT
-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+
GGGGTGGTACCACGTGCGTTGGAGGGGCGACGACGACGACGACGAGTCGGACCGAGA

P T M V H A T S P L L L L L L L S L A L

GGTGGCTCCCGGCCTCTCTGCCAGAAAGTGCTCGCTGACTGGGAAATGGACCAACGATCT
-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+
CCACCGAGGGCCGGAGAGACGGTCTTTACGAGCGACTGACCCTTTACCTGGTTGCTAGA

V A P G L S A R K C S L T G K W T N D L

EcoRI
|
GGGCTCCAACATGACCATCGGGGCTGTGAACAGCAAAGGTGAATTCACAGGCACCTACAC
-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+
CCCGAGGTTGTACTGGTAGCCCCGACACTTGTGCTTTCCACTTAAGTGTCCGTGGATGTG

G S N M T I G A V N S K G E F T G T Y T

CACAGCCGTAACAGCCACATCAAATGAGATCAAAGAGTCACCACTGCATGGGACACAAAA
-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+
GTGTCGGCATTGTCGGTGTAGTTTACTCTAGTTTCTCAGTGGTGACGTACCCTGTGTTTT

T A V T A T S N E I K E S P L H G T Q N

CACCATCAACAAGAGGACCCAGCCACCTTTGGCTTCACTGTCAATTGGAAGTTTTTCAGA
-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+
GTGGTAGTTGTTCTCCTGGGTGCGGTGGAACCGAAGTGACAGTTAACCTTCAAAAGTCT

T I N K R T Q P T F G F T V N W K F S E

GTCCACCACTGTCTTCACGGGCCAGTGCTTCATAGACAGGAACGGGAAGGAGGTCTTGAA
-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+
CAGGTGGTGACAGAAGTGCCCGTACGAAGTATCTGTCCTTGCCCTTCCTCCAGGACTT

S T T V F T G Q C F I D R N G K E V L K

GACCATGTGGCTGCTGCGGTCAAGTGTTAATGACATTGGTGATGACTGGAAAGCTACCAG
-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+
CTGGTACACCGACGACGCCAGTTCACAATTACTGTAACCACTACTGACCTTTCGATGGTC

T M W L L R S S V N D I G D D W K A T R

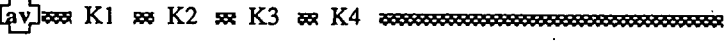
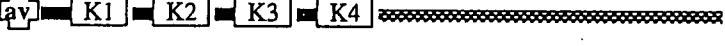
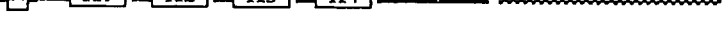
HindIII
NheI
PvuII
| | |
GGTCGGCATCAACATCTTCACTCGCCTGCGCACACAGAAGGAGCAGCTGCTAGCAAGCTT
-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+
CCAGCCGTAGTTGTAGAAGTGAGCGGACGCGTGTGTCTTCCTCGTCGACGATCGTTTCGAA

V G I N I F T R L R T Q K E Q L L A S L

NheI NotI XhoI BamHI
| | | |
GCTAGCGGCCGCTCGAGGCCGCAAGGCCGGATCCAGACATGATAAGATACATTGATGAG (SEQ ID NO: 57)
-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+
CGATCGCCGCGAGCTCCGGCCGTTCGGCCTAGGTCTGTACTATTCTATGTAACACTCTC (SEQ ID NO: 58)

L A A A R G R Q G R I Q T * * (SEQ ID NO: 59)

第10A圖

		結合	結果
h-HGF/m-HGF Chimeric Constructs		2.12.1	2.4.4
人類 HGF		是	是
人類 d5 HGF		是	是
老鼠 HGF		否	否
嵌合體 #1		否	否
嵌合體 #2		是	是
嵌合體 #3		否	是
			

第10B圖

	人類 HGF	老鼠 HGF	結合 2.12.1	結果 2.4.4
人類			是	是
老鼠			否	否
嵌合體				
1			否	否
2			是	是
3			否	是
4			是	是
5			是	是
6			是	是
7			否	否
8			是	是
9			否	否

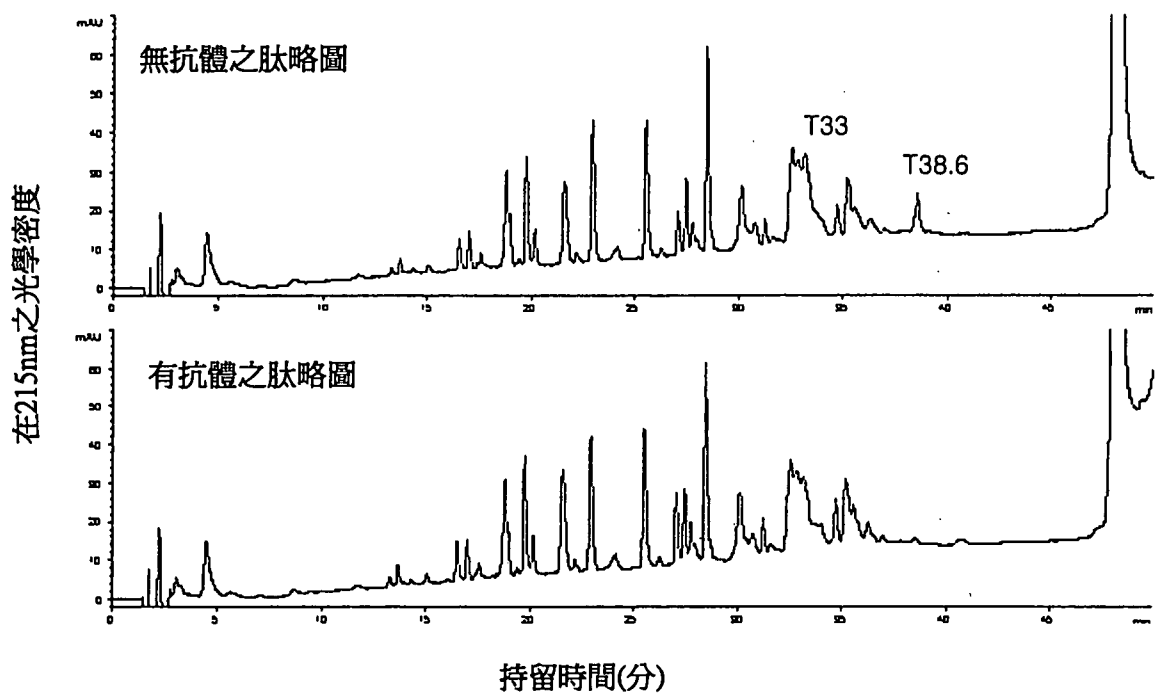
第10C圖

	人類 HGF	老鼠 HGF	結合 2.12.1	結果 2.4.4
hHGFG555E			否	是
hHGFC561R			否	否
hHGFD592N			是	是
hHGFN601S			是	是
hHGFR647Q			是	是
插入 hu			否	否
缺失 mu			否	否

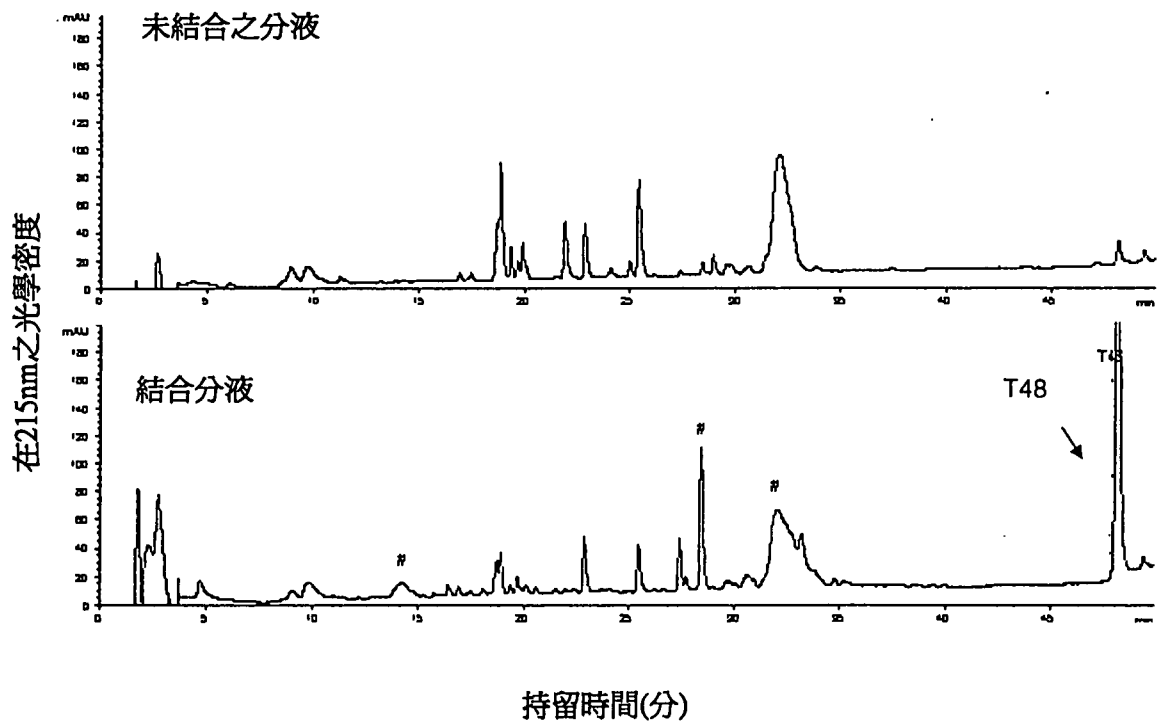
第10D圖

			451		500
人類	HGF	(450)	PWCYTGNPLIPWDYCPISRCEGDTTPTIVNLDHPVISCAKTKQLRVVNGI		
老鼠	HGF	(451)	PWCYTGNPLIPWDYCPISRCEGDTTPTIVNLDHPVISCAKTKQLRVVNGI		
一致		(451)	PWCYTGNPLIPWDYCPISRCEGDTTPTIVNLDHPVISCAKTKQLRVVNGI		
			501		550
人類	HGF	(500)	<u>PT</u> RTNIGWMVSLRYRNKHICGGSLIKESWVLTARQCFPSR--DLKDYEAW		
老鼠	HGF	(501)	PTQTTVGWMVSLKYRNKHICGGSLIKESWVLTARQCFPARNKDLKDYEAW		
一致		(501)	PT T IGWMVSLKYRNKHICGGSLIKESWVLTARQCFPAR DLKDYEAW		
			551		600
人類	HGF	(548)	LGIHDVHGR <u>G</u> DEKCKQVLNVSQLVYGPEGSDLVLMKLARPAVLDDFVSTI		
老鼠	HGF	(551)	LGIHDVHERGEEKRKQILNISQLVYGPEGSDLVLLKLARPAILDNFVSTI		
一致		(551)	LGIHDVH RGDEK KQILNISQLVYGPEGSDLVLLKLARPAILD FVSTI		
			601		650
人類	HGF	(598)	DLPNYGCTIPEKTSCSVYGWGYTGLINYDGLLRVAHLYIMGNEKCSQHHR		
老鼠	HGF	(601)	DLPSYGCTIPEKTTC S IYGWGYTGLINADGLLRVAHLYIMGNEKCSQH HQ		
一致		(601)	DLP YGCTIPEKTSCSIYGWGYTGLIN DGLLRVAHLYIMGNEKCSQH H		
			651		700
人類	HGF	(648)	GKVTLNESEICAGAEKIGSGPCEGDYGGPLVCEQHKKMRMVLGVIVPGRGC		
老鼠	HGF	(651)	GKVTLNESELGAGAEKIGSGPCEGDYGGPLICEQHKKMRMVLGVIVPGRGC		
一致		(651)	GKVTLNESEICAGAEKIGSGPCEGDYGGPLICEQHKKMRMVLGVIVPGRGC		
			701		731
人類	HGF	(698)	AIPNRPGIFVRVAYYAKW I HKIILTYKVPQS (SEQ ID NO. 120)		
老鼠	HGF	(701)	AIPNRPGIFVRVAYYAKW I HKVILTYKL--- (SEQ ID NO. 121)		
一致		(701)	AIPNRPGIFVRVAYYAKW I HKIILTYKL (SEQ ID NO. 122)		

第11A圖



第11B圖



第11C圖

T38.6= V V N G I P T R -----H G R (計算之質量=7152)觀察之質量=7165 (SEQ ID NO. 161)

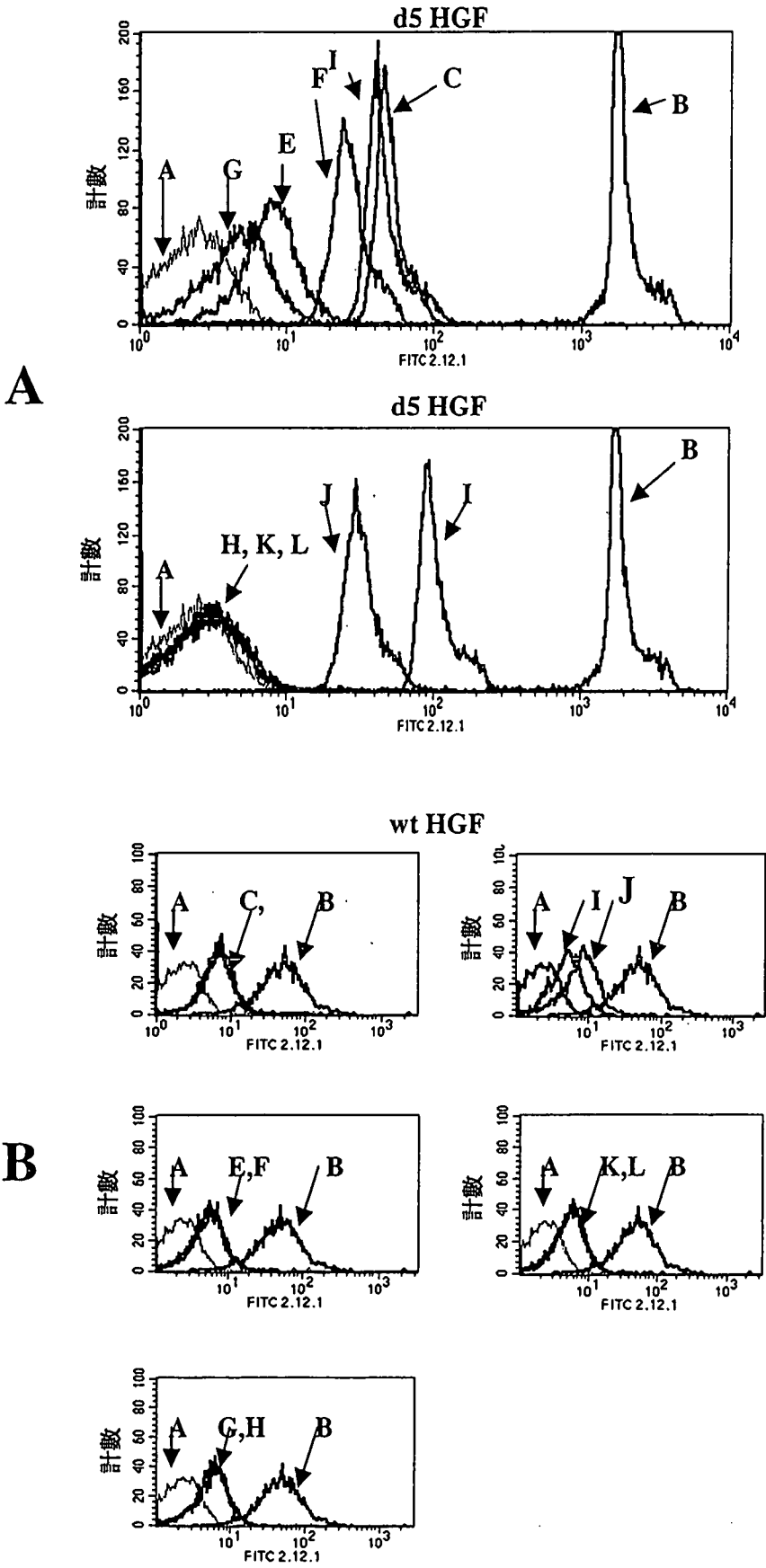
G I P T R T-----H G R (計算之質量= 6840)觀察之質量=~6878(SEQ ID NO. 162)

T33= V N T L D Q -----? (SEQ ID NO. 163)

從峰T38.6預測之受保護的肽

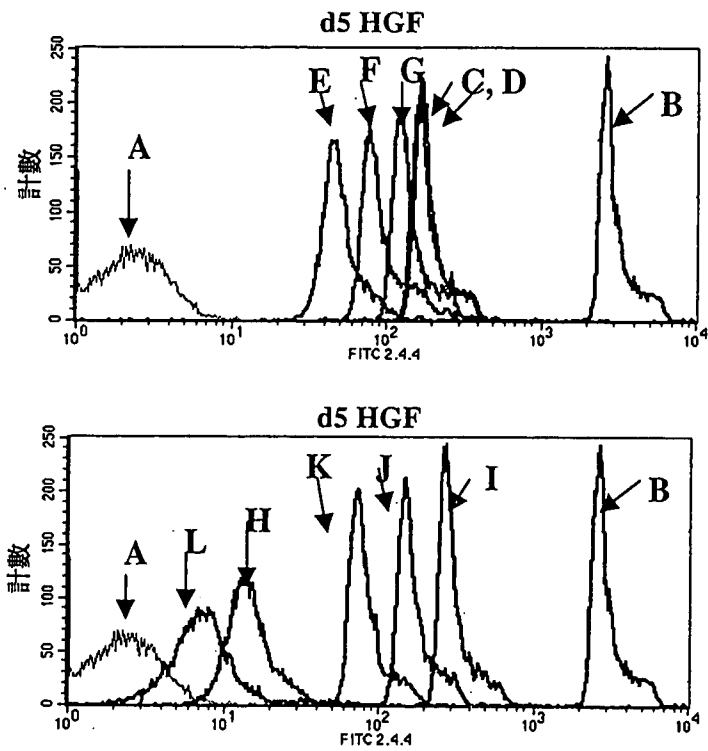
VVNGIPTRTNIGWMVSLRYRNKHICGGSLIKESWVLTARQCFPSRDLKDYEAWLGIHDVHGR
(SEQ ID NO. 164)

GIPTRTNIGWMVSLRYRNKHICGGSLIKESWVLTARQCFPSRDLKDYEAWLGIHDVHGR
(SEQ ID NO. 165)

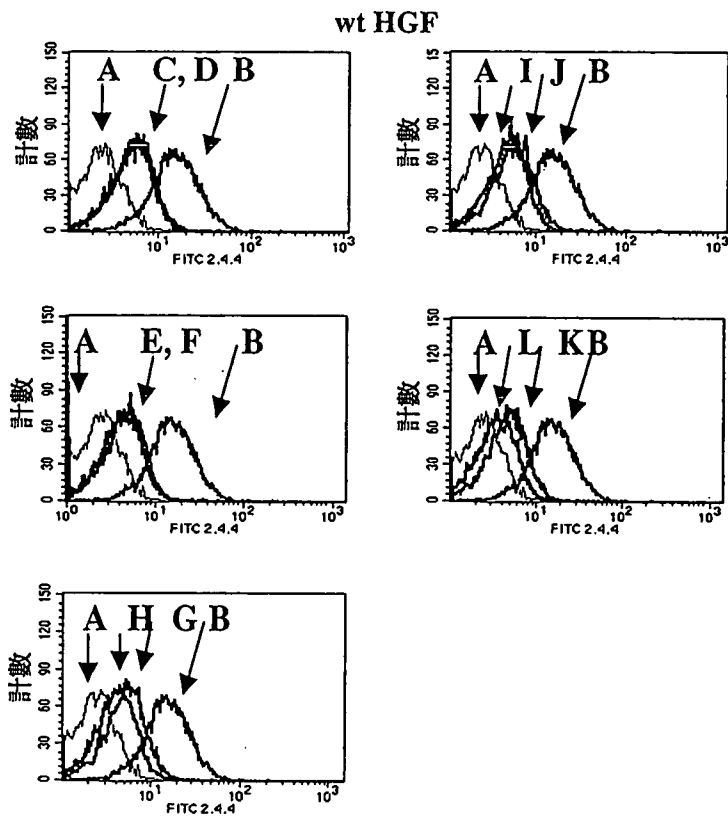


第12圖

C



D



第13圖

IC50 IP		IC50 IP	
ID	(nM)	ID	(nM)
3.10.1	0.9	3.10.1	0.37
2.40.1	1.0	2.12.1	0.52
1.75.1	1.0	1.75.1	0.72
2.12.1	2.1	1.29.1	1.93
1.24.1	2.6	1.74.1	2.31
1.29.1	3.2	1.61.3	2.59
1.74.1	3.7	1.24.1	9.36
1.60.2	4.5		
2.4.4	5.1		

第14圖

實驗#1

ID	IC50 IP (nM)
1.75.1	0.34
2.12.1	0.49
2.40.1	0.51
3.10.1	0.64
1.24.1	0.64
1.29.1	1.18
2.4.4	1.24
1.74.1	1.25

實驗#2

ID	IC50 IP (nM)
1.61.3	0.28
1.24.1	0.40
1.75.1	0.59
1.29.1	0.88
1.60.1	1.06
1.74.1	2.17

第15圖

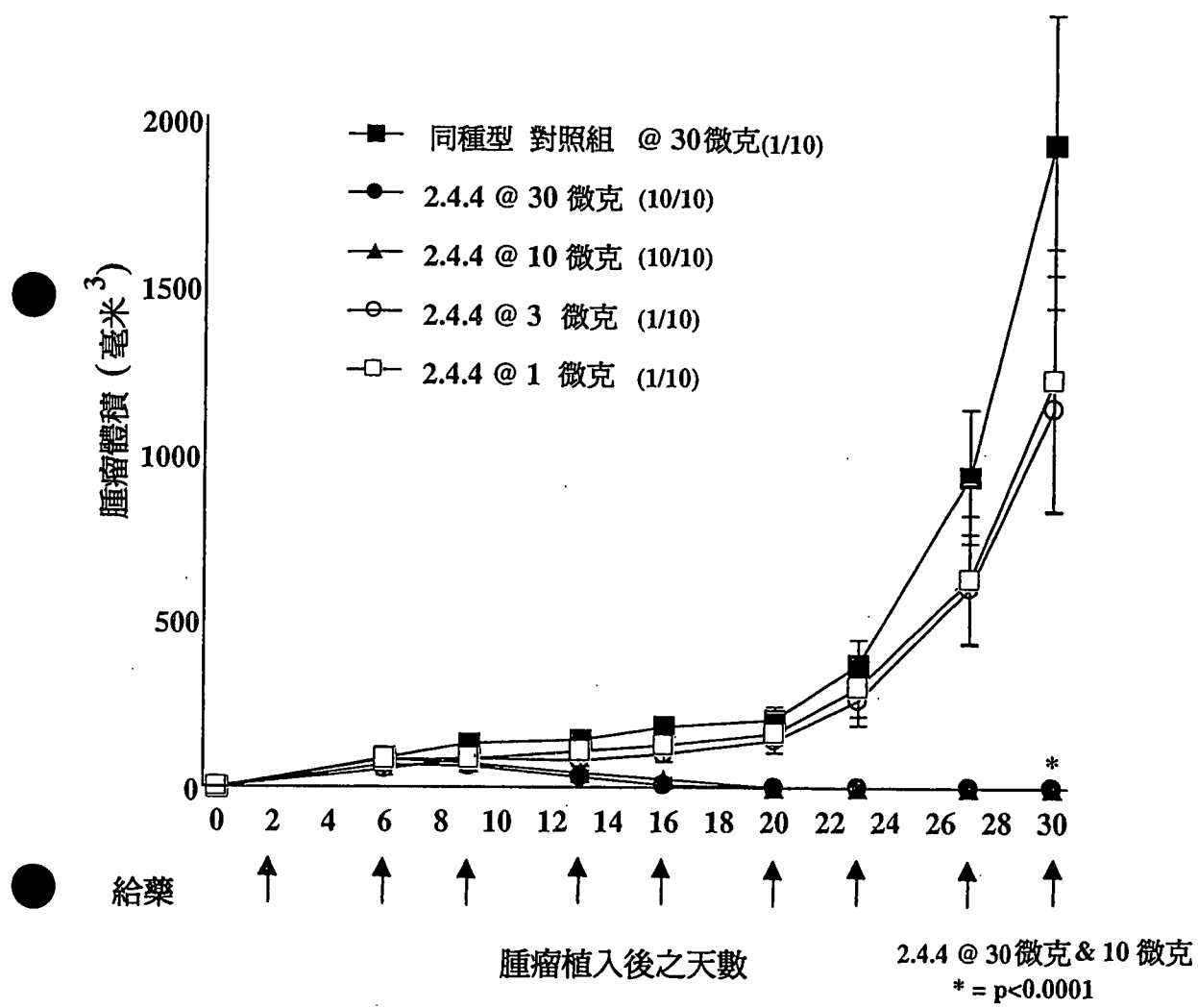
實驗#1

實驗#2

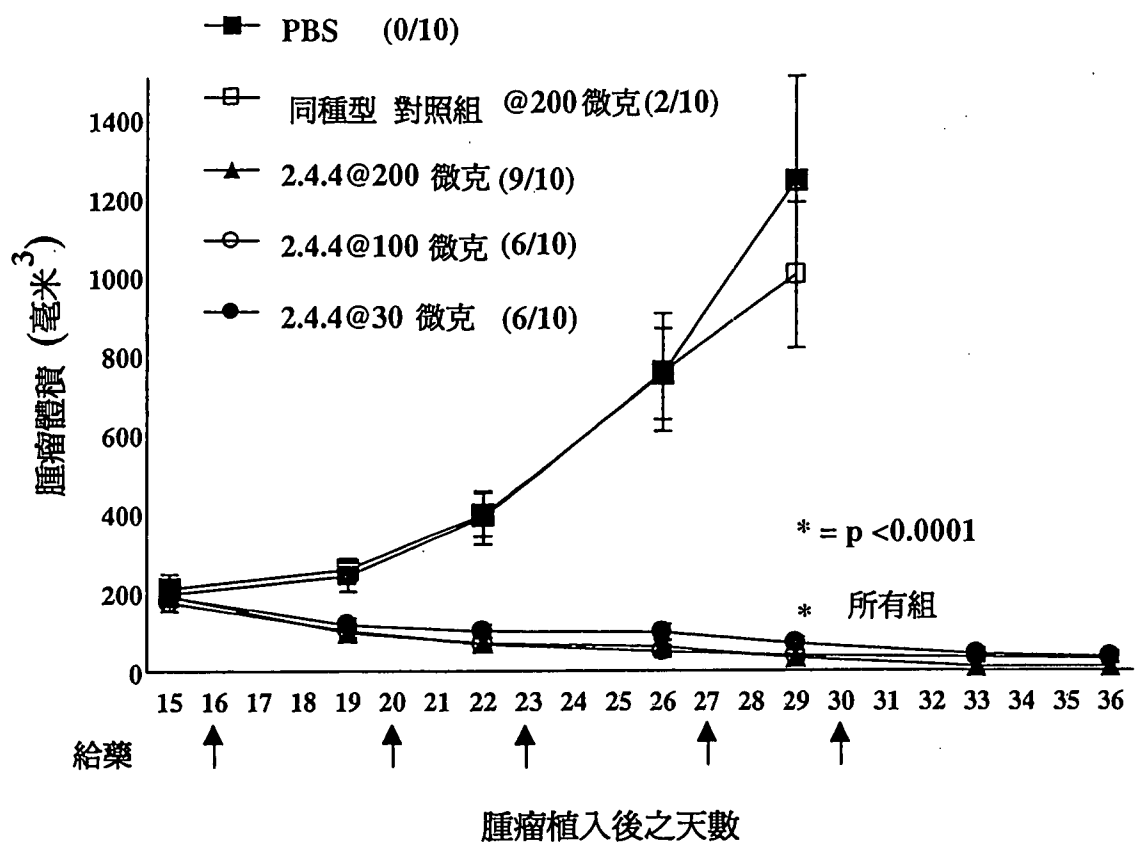
ID	IC50 IP (nM)
1.24.1	15
1.60.1	15
1.29.1	23
2.4.4	33
2.12.1	57
3.10.1	137

ID	IC50 IP (nM)
2.4.4	8
1.61.3	17
1.29.1	21
2.12.1	34
2.40.1	59
3.10.1	133
1.60.1	215
1.74.1	>666
1.75.1	>666

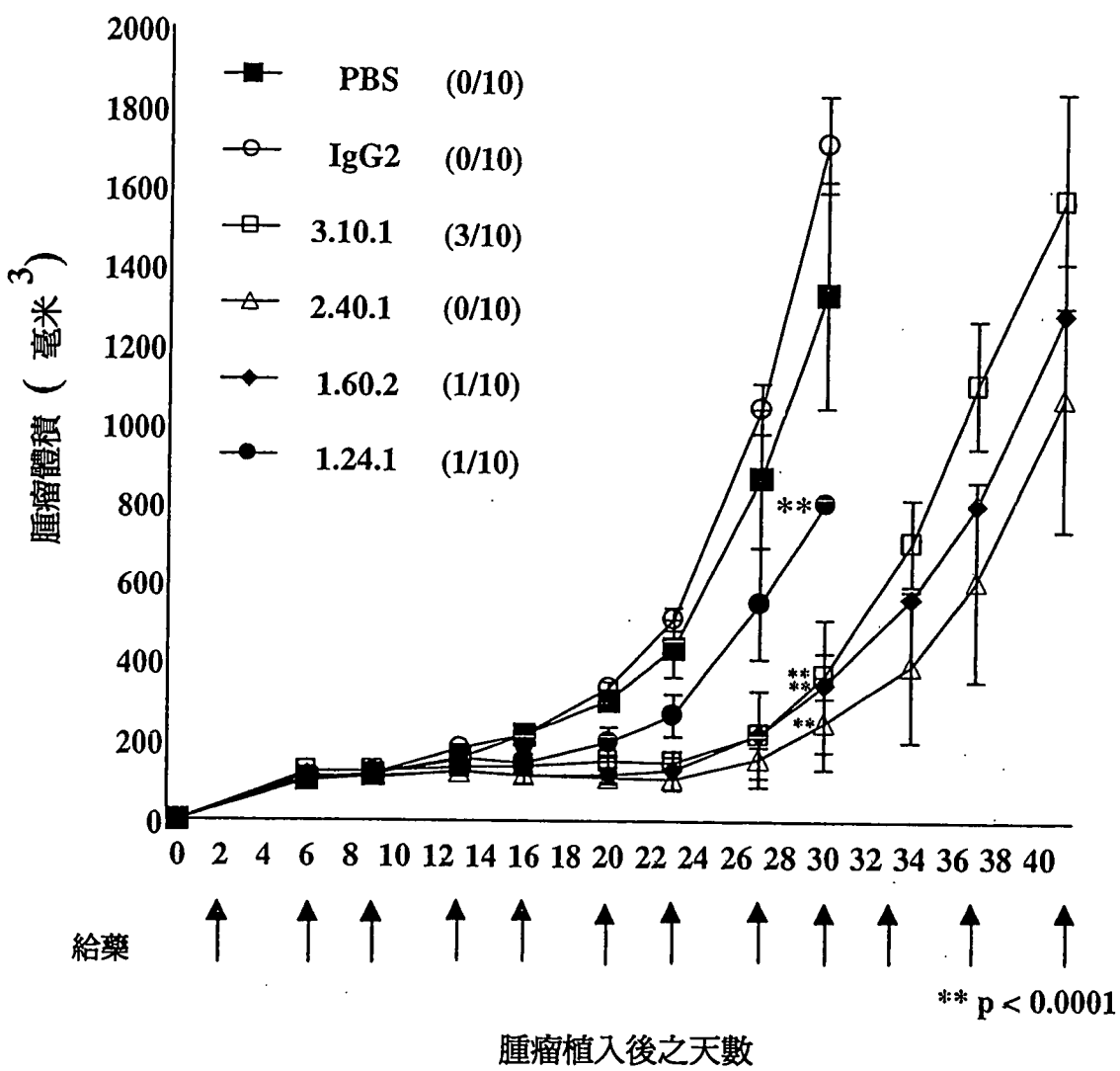
第16A圖



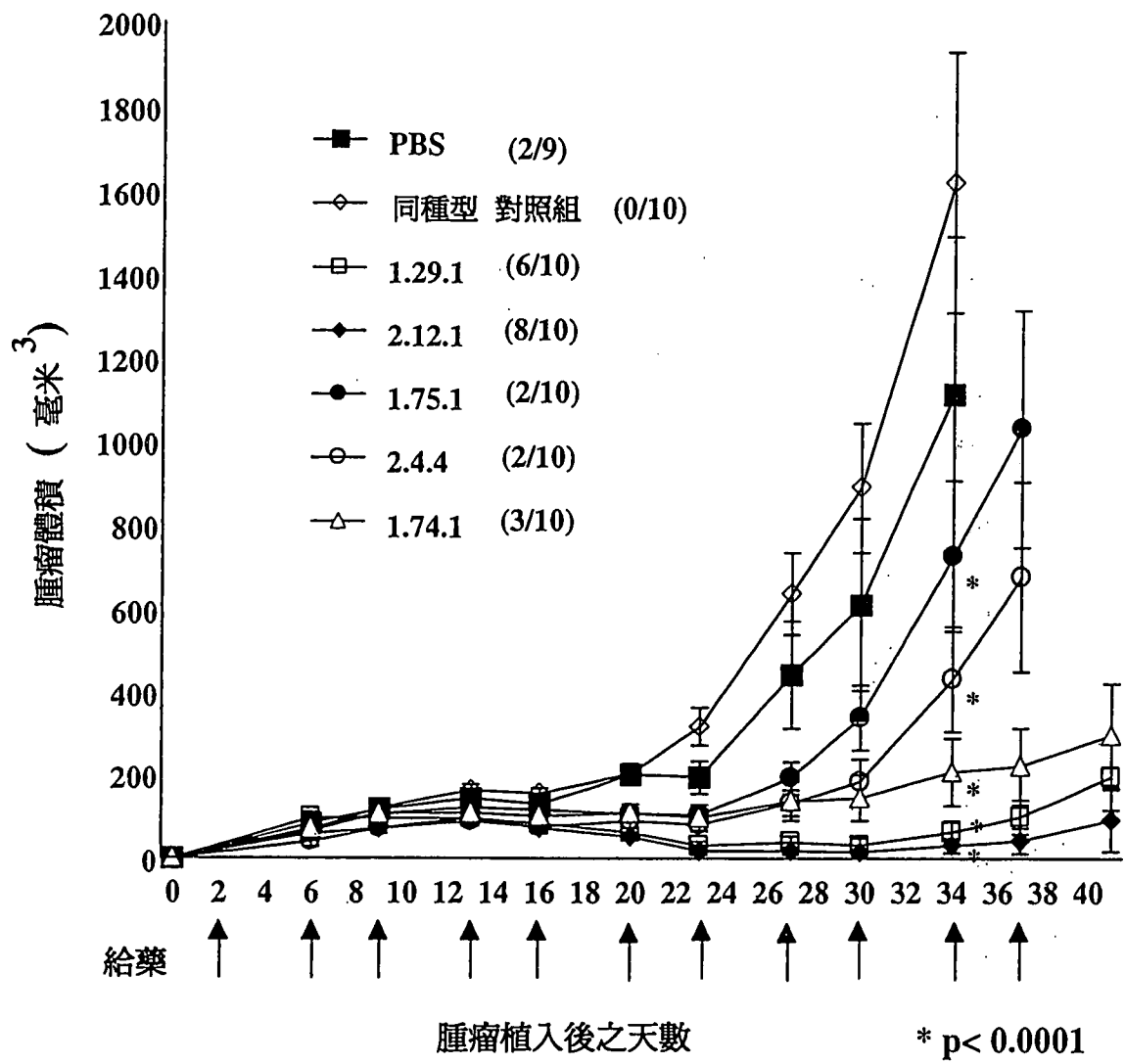
第16B圖



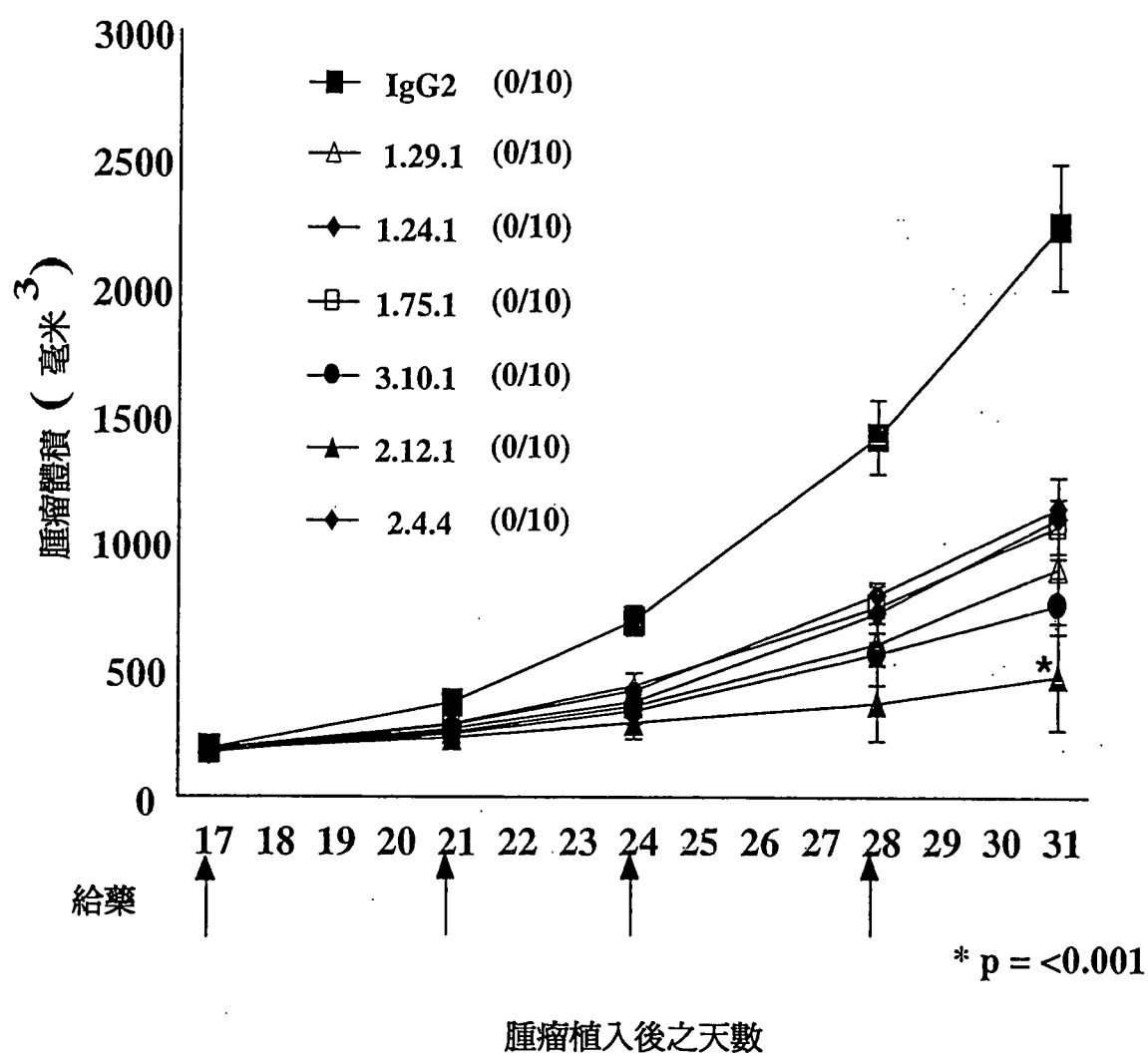
第16C圖



第16D圖



第16E圖



第16F圖

