



(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 202310868 A

(43)公開日：中華民國 112 (2023) 年 03 月 16 日

(21)申請案號：111118098

(22)申請日：中華民國 111 (2022) 年 05 月 13 日

(51)Int. Cl. : A61K38/18 (2006.01)

A61P27/02 (2006.01)

(30)優先權：2021/05/14 美國

63/188,816

(71)申請人：美商克拉里斯生物醫療股份有限公司 (美國) CLARIS BIOTHERAPEUTICS, INC.
(US)

美國

(72)發明人：布萊拉 皮奧塔 BRYLA, PIOTR (US)；奧爾 蘇珊 C ORR, SUSAN C. (US)；
艾特沃 A 克拉克 ATWELL, A. CLARKE (US)

(74)代理人：陳長文

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：72 項 圖式數：5 共 216 頁

(54)名稱

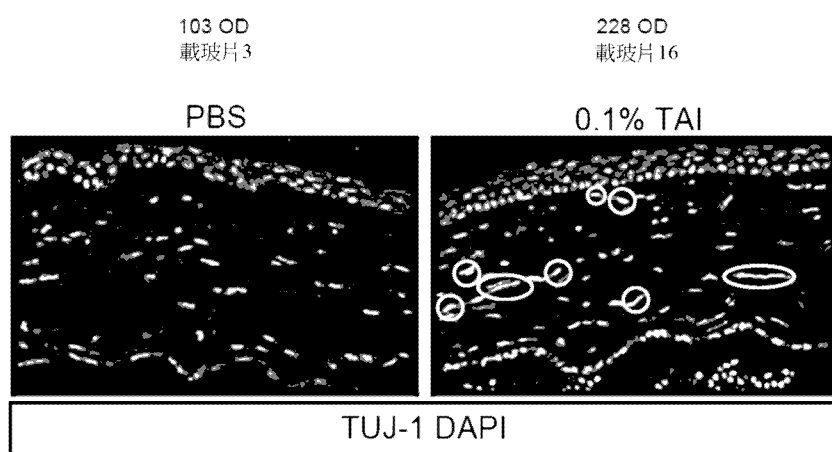
用於治療眼睛疾病的生長因子組合物

(57)摘要

本發明係關於包含生長因子之醫藥組合物及使用該生長因子及其組合物治療或預防眼睛疾病的方法。

The present disclosure relates to pharmaceutical compositions comprising a growth factor and methods of treating or preventing of eye diseases using the growth factor and compositions thereof.

指定代表圖：



【圖1】

【發明摘要】

【中文發明名稱】

用於治療眼睛疾病的生長因子組合物

【英文發明名稱】

COMPOSITIONS OF GROWTH FACTOR FOR THE TREATMENT
OF EYE DISEASE

【中文】

本發明係關於包含生長因子之醫藥組合物及使用該生長因子及其組合物治療或預防眼睛疾病的方法。

【英文】

The present disclosure relates to pharmaceutical compositions comprising a growth factor and methods of treating or preventing of eye diseases using the growth factor and compositions thereof.

【指定代表圖】

圖1

【代表圖之符號簡單說明】

無

【發明說明書】

【中文發明名稱】

用於治療眼睛疾病的生長因子組合物

【英文發明名稱】

COMPOSITIONS OF GROWTH FACTOR FOR THE TREATMENT
OF EYE DISEASE

【技術領域】

【0001】 本發明係關於包含生長因子之醫藥組合物及使用該生長因子及其組合物治療或預防眼睛疾病的方法。

【先前技術】

【0002】 已研究肝細胞生長因子(HGF)用於治療結疤之角膜霧霾。參見美國專利第10,449,234號。已鑑別可受益於新治療之其他眼睛損傷及疾病。舉例而言，神經營養性角膜炎(亦稱為神經營養性角膜病變(NK)或神經麻痺性角膜炎)為由對三叉神經或其通向角膜之路徑的損傷或受損的眼表面引起之角膜疾病，從而導致角膜感覺隨之減少或喪失。NK由Magendie在1824年首次確認為角膜病症(Okada等人., 2010, *Histol Histopathol*, 25:771-780)及其分子基礎隨後由Sigelman及Friedenwald於1954年在動物模型中建立(Sigelman and Friedenwald, 1954, *Arch Ophthalmol*, 53:46-57)。角膜為眼睛之透明的「窗」，且與鞏膜一起形成眼球之外殼層。由於角膜缺乏血管供應，營養物及氧氣主要經由前部的淚液流體及角膜緣血管及後部的眼房液供應至此組織。角膜組織分級成五個層：上皮細胞、鮑曼氏膜(Bowman's membrane)、基質、德塞梅氏膜(Descemet's membrane)及內皮，其中上皮細胞充當保護下方角膜基質的

主要障壁。角膜為體內最敏感組織，受跨越各種層及密集神經末梢之廣泛神經纖維網神經支配。角膜之感覺神經分佈起源於三叉神經之眼部分支，該眼部分支分泌對上皮細胞之存活至關重要的生長因子。三叉神經維持淚膜之穩定性且與上皮細胞所分泌之各種生理學活性物質(例如，細胞介素、蛋白酶及神經肽)一起進一步確保角膜上皮細胞及基質之活力。對三叉神經或上皮細胞之損傷最常由感染(例如，單純疱疹或帶狀疱疹感染)、眼睛手術(例如，白內障手術、角膜移植、屈光手術)、其他全身性疾病(諸如糖尿病、麻風、眼窩腫瘤及炎症)或物理創傷(包括化學物質及熱灼傷)及隱形眼鏡之使用引起。

【0003】 因此，持續需要用於諸如NK之眼睛疾病的新穎治療以及可投與至眼睛的新穎醫藥調配物。為此目的，已研發出本文所描述之方法。

【發明內容】

【0004】 本發明提供治療或預防有需要之個體之神經營養性角膜炎的方法，該方法包含向該個體投與諸如肝細胞生長因子(HGF)或纖維母細胞生長因子(FGF)之生長因子。

【0005】 本發明進一步提供用於治療眼睛疾病之包含HGF或FGF的醫藥組合物。

【0006】 本文提供治療或預防有需要之個體之神經營養性角膜炎的方法，該方法包含向個體投與治療有效量之例如如本文所描述之肝細胞生長因子(HGF)或纖維母細胞生長因子(FGF)。

【0007】 在一些實施例中，HGF或FGF經純化。

【0008】 在一些實施例中，HGF或FGF與角膜基質滲透賦形劑組合

投與。

【0009】 在一些實施例中，HGF或FGF係調配於液體醫藥組合物中。

【0010】 在一些實施例中，向眼睛投與HGF或FGF。在一些實施例中，該HGF或FGF局部投與至該眼睛。在一些實施例中，該HGF或FGF藉由注射投與至該眼睛。在一些實施例中，該HGF或FGF係結膜下投與。在一些實施例中，HGF或FGF係前房內投與。

【0011】 在一些實施例中，該液體醫藥組合物包含濃度為約0.01% (w/v)至約1.0% (w/v)之HGF或FGF。在一些實施例中，該液體醫藥組合物包含濃度為約0.08% (w/v)至約0.25% (w/v)之HGF或FGF。在一些實施例中，該液體醫藥組合物包含濃度為約0.1% (w/v)之HGF或FGF。在一些實施例中，該液體醫藥組合物包含濃度為約0.2% (w/v)之HGF或FGF。

【0012】 在一些實施例中，該HGF或FGF係與另一治療劑組合投與。在一些實施例中，該另一治療劑為另一生長因子。

【0013】 在一些實施例中，HGF包含具有SEQ ID NO: 1-27中之任一者的多肽序列。在一些實施例中，HGF包含與SEQ ID NO: 1具有95%序列一致性的多肽序列。在一些實施例中，HGF包含具有SEQ ID NO: 1之多肽序列。

【0014】 本文亦提供醫藥組合物，其包含：約0.01%至約1.0% (w/v) HGF；可使該組合物之pH維持在約5.8至約6.2之緩衝劑；約100至約300 mM之選自海藻糖、脯胺酸、山梨糖醇及其混合物之穩定劑；視情況選用之張力調節劑，其可提供約250 mOsm/kg H₂O至約500 mOsm/kg H₂O之組合物的滲透壓；及視情況選用之界面活性劑。

【0015】 在一些實施例中，該醫藥組合物包含約0.05%至約0.5 % (w/v) HGF。在一些實施例中，該醫藥組合物包含約0.08%至約0.25% (w/v) HGF。在一些實施例中，該醫藥組合物包含約0.1% (w/v) HGF。在一些實施例中，該醫藥組合物包含約0.2% (w/v) HGF。

【0016】 在一些實施例中，組合物之pH為約6.0。

【0017】 在一些實施例中，該醫藥組合物包含約150至約250 mM穩定劑。在一些實施例中，該醫藥組合物包含約200 mM穩定劑。在一些實施例中，該穩定劑為海藻糖或脯胺酸。在一些實施例中，該穩定劑為海藻糖。在一些實施例中，該穩定劑為脯胺酸。在一些實施例中，該穩定劑為山梨糖醇。

【0018】 在一些實施例中，該緩衝劑為檸檬酸鹽緩衝劑。在一些實施例中，該緩衝劑為檸檬酸鈉。在一些實施例中，該醫藥組合物包含約10至約50 mM緩衝劑。

【0019】 在一些實施例中，該組合物之滲透壓為約450 mOsm/kg H₂O。

【0020】 在一些實施例中，醫藥組合物不包括張力調節劑。在一些實施例中，醫藥組合物包含作為鹼金屬鹽之張力調節劑。在一些實施例中，醫藥組合物包含作為氯化鈉之張力調節劑。

【0021】 在一些實施例中，醫藥組合物包含界面活性劑。在一些實施例中，該界面活性劑選自聚山梨醇酯80 (PS80)、Polaxomer 188及Polaxomer 407。在一些實施例中，界面活性劑為聚山梨醇酯80 (PS80)。在一些實施例中，界面活性劑以約0.01%至約0.1% (w/v)之量存在。在一些實施例中，界面活性劑以約0.02%至約0.8% (w/v)之量存在。在一些實

施例中，界面活性劑以約0.05% (w/v)之量存在。

【0022】 本文亦提供包含以下之水性醫藥組合物：約0.1% (w/v) HGF；約20 mM檸檬酸鈉；約200 mM海藻糖、脯胺酸或山梨糖醇；約0.05% (w/v)界面活性劑；其中該組合物之pH為約6.0，且該組合物之滲透壓為約350 mOsm/kg H₂O。

【0023】 在一些實施例中，該水性醫藥組合物包含：約0.1% (w/v) HGF；約20 mM檸檬酸鈉；約200 mM海藻糖；約0.05% (w/v)聚山梨醇酯80 (PS80)；其中該組合物之pH為約6.0，且該組合物之滲透壓為約350 mOsm/kg H₂O。

【0024】 在一些實施例中，該水性醫藥組合物包含：約0.1% (w/v) HGF；約20 mM檸檬酸鈉；約200 mM脯胺酸；約0.05% (w/v)聚山梨醇酯80 (PS80)；其中該組合物之pH為約6.0，且該組合物之滲透壓為約350 mOsm/kg H₂O。

【0025】 在一些實施例中，該水性醫藥組合物包含：約0.1% (w/v) HGF；約20 mM檸檬酸鈉；約200 mM山梨糖醇；約0.05% (w/v)聚山梨醇酯80 (PS80)；其中該組合物之pH為約6.0，且該組合物之滲透壓為約350 mOsm/kg H₂O。

【0026】 在一些實施例中，該水性醫藥組合物包含：約0.2% (w/v) HGF；約20 mM檸檬酸鈉；約200 mM海藻糖、脯胺酸或山梨糖醇；

【0027】 約0.05% (w/v)界面活性劑；其中該組合物之pH為約6.0，且該組合物之滲透壓為約450 mOsm/kg H₂O。

【0028】 在一些實施例中，該水性醫藥組合物包含：約0.2% (w/v) HGF；約20 mM檸檬酸鈉；約200 mM海藻糖；約0.05% (w/v)聚山梨醇酯

80 (PS80)；其中該組合物之pH為約6.0，且該組合物之滲透壓為約450 mOsm/kg H₂O。

【0029】 在一些實施例中，該水性醫藥組合物包含：約0.2% (w/v) HGF；約20 mM檸檬酸鈉；約200 mM脯胺酸；約0.05% (w/v)聚山梨醇酯80 (PS80)；其中該組合物之pH為約6.0，且該組合物之滲透壓為約450 mOsm/kg H₂O。

【0030】 在一些實施例中，該水性醫藥組合物包含：約0.2% (w/v) HGF；約20 mM檸檬酸鈉；約200 mM山梨糖醇；約0.05% (w/v)聚山梨醇酯80 (PS80)；其中該組合物之pH為約6.0，且該組合物之滲透壓為約450 mOsm/kg H₂O。

【0031】 在一些實施例中，HGF包含具有SEQ ID NO: 1-27中之任一者的多肽序列。在一些實施例中，HGF包含與SEQ ID NO: 1具有95%序列一致性的多肽序列。在一些實施例中，HGF包含具有SEQ ID NO: 1之多肽序列。

【0032】 本文亦提供治療或預防有需要之個體之眼睛疾病的方法，該方法包含向個體投與治療有效量之本文所描述之醫藥組合物。

【0033】 在一些實施例中，該眼睛疾病為選自以下之角膜疾病：神經營養性角膜炎、持續性角膜缺損、角膜潰瘍、乾眼病、微生物角膜炎、細菌性角膜炎、病毒角膜炎、真菌角膜炎、化學燒傷、熱燒傷、機械性外傷、角膜刮傷、受損內皮、大泡性角膜病變、福斯氏角膜失養症(Fuch's corneal dystrophy)、角膜結疤、休格倫氏症候群或手術後併發症。在一些實施例中，該眼睛疾病為角膜霧霾或結疤。在一些實施例中，該眼睛疾病為神經營養性角膜炎。在一些實施例中，組合物與角膜基質滲透賦形劑

組合投與。

【0034】 在一些實施例中，向眼睛投與該組合物。在一些實施例中，組合物局部投與至眼部。在一些實施例中，該組合物藉由注射投與至該眼睛。在一些實施例中，該組合物係結膜下投與。在一些實施例中，該組合物係前房內投與。

【0035】 在本文所描述之方法或組合物的一些實施例中，HGF為經活化HGF。在一些實施例中，經活化HGF為經活化dHGF。

【0036】 在本文所描述之方法或組合物的一些實施例中，HGF包含：

(a)包含與SEQ ID NO: 2之胺基酸32-494具有至少80%，較佳90%一致性之胺基酸序列的第一多肽；及包含與SEQ ID NO: 2之胺基酸495-728具有至少80%，較佳90%一致性之胺基酸序列的第二多肽，視情況其中該第一多肽包含對應於SEQ ID NO: 2之胺基酸161-165之胺基酸的缺失；或

(b)包含與SEQ ID NO: 7之胺基酸32-494具有至少80%，較佳90%一致性之胺基酸序列的第一多肽；及包含與SEQ ID NO: 7之胺基酸495-728具有至少80%，較佳90%一致性之胺基酸序列的第二多肽，視情況其中該第一多肽包含對應於SEQ ID NO: 7之胺基酸161-165之胺基酸的缺失；或

(c)包含與SEQ ID NO: 8之胺基酸32-494具有至少80%，較佳90%一致性之胺基酸序列的第一多肽；及包含與SEQ ID NO: 8之胺基酸495-728具有至少80%，較佳90%一致性之胺基酸序列的第二多肽，視情況其中該第一多肽包含對應於SEQ ID NO: 8之胺基酸161-165之胺基酸的缺失；或

(d)包含與SEQ ID NO: 9之胺基酸32-494具有至少80%，較佳90%一致性之胺基酸序列的第一多肽；及包含與SEQ ID NO: 9之胺基酸495-728

具有至少80%，較佳90%一致性之胺基酸序列的第二多肽，視情況其中該第一多肽包含對應於SEQ ID NO: 9之胺基酸161-165之胺基酸的缺失；或

(e)包含與SEQ ID NO: 10之胺基酸32-494具有至少80%，較佳90%一致性之胺基酸序列的第一多肽；及包含與SEQ ID NO: 10之胺基酸495-728具有至少80%，較佳90%一致性之胺基酸序列的第二多肽，視情況其中該第一多肽包含對應於SEQ ID NO: 10之胺基酸161-165之胺基酸的缺失；或

(g)包含與SEQ ID NO: 11之胺基酸32-494具有至少80%，較佳90%一致性之胺基酸序列的第一多肽；及包含與SEQ ID NO: 11之胺基酸495-728具有至少80%，較佳90%一致性之胺基酸序列的第二多肽，視情況其中該第一多肽包含對應於SEQ ID NO: 11之胺基酸161-165之胺基酸的缺失；或

(h)包含與SEQ ID NO: 12之胺基酸32-494具有至少80%，較佳90%一致性之胺基酸序列的第一多肽；及包含與SEQ ID NO: 12之胺基酸495-728具有至少80%，較佳90%一致性之胺基酸序列的第二多肽，視情況其中該第一多肽包含對應於SEQ ID NO: 12之胺基酸161-165之胺基酸的缺失；或

(i)包含與SEQ ID NO: 13之胺基酸32-494具有至少80%，較佳90%一致性之胺基酸序列的第一多肽；及包含與SEQ ID NO: 13之胺基酸495-728具有至少80%，較佳90%一致性之胺基酸序列的第二多肽，視情況其中該第一多肽包含對應於SEQ ID NO: 13之胺基酸161-165之胺基酸的缺失；或

(j)包含與SEQ ID NO: 14之胺基酸32-494具有至少80%，較佳90%一

致性之胺基酸序列的第一多肽；及包含與SEQ ID NO: 14之胺基酸495-728具有至少80%，較佳90%一致性之胺基酸序列的第二多肽，視情況其中該第一多肽包含對應於SEQ ID NO: 14之胺基酸161-165之胺基酸的缺失；或

(k)包含與SEQ ID NO: 15之胺基酸32-494具有至少80%，較佳90%一致性之胺基酸序列的第一多肽；及包含與SEQ ID NO: 15之胺基酸495-728具有至少80%，較佳90%一致性之胺基酸序列的第二多肽，視情況其中該第一多肽包含對應於SEQ ID NO: 15之胺基酸161-165之胺基酸的缺失；或

(l)包含與SEQ ID NO: 16之胺基酸32-494具有至少80%，較佳90%一致性之胺基酸序列的第一多肽；及包含與SEQ ID NO: 16之胺基酸495-728具有至少80%，較佳90%一致性之胺基酸序列的第二多肽，視情況其中該第一多肽包含對應於SEQ ID NO: 16之胺基酸161-165之胺基酸的缺失；或

(m)包含與SEQ ID NO: 17之胺基酸32-494具有至少80%，較佳90%一致性之胺基酸序列的第一多肽；及包含與SEQ ID NO: 17之胺基酸495-728具有至少80%，較佳90%一致性之胺基酸序列的第二多肽，視情況其中該第一多肽包含對應於SEQ ID NO: 17之胺基酸161-165之胺基酸的缺失；或

(n)包含與SEQ ID NO: 18之胺基酸32-494具有至少80%，較佳90%一致性之胺基酸序列的第一多肽；及包含與SEQ ID NO: 18之胺基酸495-728具有至少80%，較佳90%一致性之胺基酸序列的第二多肽，視情況其中該第一多肽包含對應於SEQ ID NO: 18之胺基酸161-165之胺基酸的缺

失；或

(o)包含與SEQ ID NO: 19之胺基酸32-494具有至少80%，較佳90%一致性之胺基酸序列的第一多肽；及包含與SEQ ID NO: 19之胺基酸495-728具有至少80%，較佳90%一致性之胺基酸序列的第二多肽，視情況其中該第一多肽包含對應於SEQ ID NO: 19之胺基酸161-165之胺基酸的缺失；或

(p)包含與SEQ ID NO: 20之胺基酸32-494具有至少80%，較佳90%一致性之胺基酸序列的第一多肽；及包含與SEQ ID NO: 20之胺基酸495-728具有至少80%，較佳90%一致性之胺基酸序列的第二多肽，視情況其中該第一多肽包含對應於SEQ ID NO: 20之胺基酸161-165之胺基酸的缺失；或

(q)包含與SEQ ID NO: 21之胺基酸32-494具有至少80%，較佳90%一致性之胺基酸序列的第一多肽；及包含與SEQ ID NO: 21之胺基酸495-728具有至少80%，較佳90%一致性之胺基酸序列的第二多肽，視情況其中該第一多肽包含對應於SEQ ID NO: 21之胺基酸161-165之胺基酸的缺失；或

(r)包含與SEQ ID NO: 22之胺基酸32-494具有至少80%，較佳90%一致性之胺基酸序列的第一多肽；及包含與SEQ ID NO: 22之胺基酸495-728具有至少80%，較佳90%一致性之胺基酸序列的第二多肽，視情況其中該第一多肽包含對應於SEQ ID NO: 22之胺基酸161-165之胺基酸的缺失；或

(s)包含與SEQ ID NO: 23之胺基酸32-494具有至少80%，較佳90%一致性之胺基酸序列的第一多肽；及包含與SEQ ID NO: 23之胺基酸495-

728具有至少80%，較佳90%一致性之胺基酸序列的第二多肽，視情況其中該第一多肽包含對應於SEQ ID NO: 23之胺基酸161-165之胺基酸的缺失；或

(t)包含與SEQ ID NO: 24之胺基酸32-494具有至少80%，較佳90%一致性之胺基酸序列的第一多肽；及包含與SEQ ID NO: 24之胺基酸495-728具有至少80%，較佳90%一致性之胺基酸序列的第二多肽，視情況其中該第一多肽包含對應於SEQ ID NO: 24之胺基酸161-165之胺基酸的缺失；或

(u))包含與SEQ ID NO: 25之胺基酸32-494具有至少80%，較佳90%一致性之胺基酸序列的第一多肽；及包含與SEQ ID NO: 25之胺基酸495-728具有至少80%，較佳90%一致性之胺基酸序列的第二多肽，視情況其中該第一多肽包含對應於SEQ ID NO: 25之胺基酸161-165之胺基酸的缺失；或

(v)包含與SEQ ID NO: 26之胺基酸32-494具有至少80%，較佳90%一致性之胺基酸序列的第一多肽；及包含與SEQ ID NO: 26之胺基酸495-728具有至少80%，較佳90%一致性之胺基酸序列的第二多肽，視情況其中該第一多肽包含對應於SEQ ID NO: 26之胺基酸161-165之胺基酸的缺失；或

(w)包含與SEQ ID NO: 27之胺基酸32-494具有至少80%，較佳90%一致性之胺基酸序列的第一多肽；及包含與SEQ ID NO: 27之胺基酸495-728具有至少80%，較佳90%一致性之胺基酸序列的第二多肽，視情況其中該第一多肽包含對應於SEQ ID NO: 27之胺基酸161-165之胺基酸的缺失。

【0037】 在本文所描述之方法或組合物的一些實施例中，HGF包含：

(a)包含對應於SEQ ID NO: 2之胺基酸32-494之胺基酸序列或由該胺基酸序列組成的第一多肽；及包含對應於SEQ ID NO: 2之胺基酸495-728之胺基酸序列或由該胺基酸序列組成的第二多肽，視情況其中該第一多肽包含對應於SEQ ID NO: 2之胺基酸161-165之胺基酸的缺失；或

(b)包含對應於SEQ ID NO: 7之胺基酸32-494之胺基酸序列或由該胺基酸序列組成的第一多肽；及包含對應於SEQ ID NO: 7之胺基酸495-728之胺基酸序列或由該胺基酸序列組成的第二多肽，視情況其中該第一多肽包含對應於SEQ ID NO: 7之胺基酸161-165之胺基酸的缺失；或

(c)包含對應於SEQ ID NO: 8之胺基酸32-494之胺基酸序列或由該胺基酸序列組成的第一多肽；及包含對應於SEQ ID NO: 8之胺基酸495-728之胺基酸序列或由該胺基酸序列組成的第二多肽，視情況其中該第一多肽包含對應於SEQ ID NO: 8之胺基酸161-165之胺基酸的缺失；或

(d)包含對應於SEQ ID NO: 9之胺基酸32-494之胺基酸序列或由該胺基酸序列組成的第一多肽；及包含對應於SEQ ID NO: 9之胺基酸495-728之胺基酸序列或由該胺基酸序列組成的第二多肽，視情況其中該第一多肽包含對應於SEQ ID NO: 9之胺基酸161-165之胺基酸的缺失；或

(e)包含對應於SEQ ID NO: 10之胺基酸32-494之胺基酸序列或由該胺基酸序列組成的第一多肽；及包含對應於SEQ ID NO: 10之胺基酸495-728之胺基酸序列或由該胺基酸序列組成的第二多肽，視情況其中該第一多肽包含對應於SEQ ID NO: 10之胺基酸161-165之胺基酸的缺失；或

(g)包含對應於SEQ ID NO: 11之胺基酸32-494之胺基酸序列或由該

胺基酸序列組成的第一多肽；及包含對應於SEQ ID NO: 11之胺基酸495-728之胺基酸序列或由該胺基酸序列組成的第二多肽，視情況其中該第一多肽包含對應於SEQ ID NO: 11之胺基酸161-165之胺基酸的缺失；或

(h)包含對應於SEQ ID NO: 12之胺基酸32-494之胺基酸序列或由該胺基酸序列組成的第一多肽；及包含對應於SEQ ID NO: 12之胺基酸495-728之胺基酸序列或由該胺基酸序列組成的第二多肽，視情況其中該第一多肽包含對應於SEQ ID NO: 12之胺基酸161-165之胺基酸的缺失；或

(i)包含對應於SEQ ID NO: 13之胺基酸32-494之胺基酸序列或由該胺基酸序列組成的第一多肽；及包含對應於SEQ ID NO: 13之胺基酸495-728之胺基酸序列或由該胺基酸序列組成的第二多肽，視情況其中該第一多肽包含對應於SEQ ID NO: 13之胺基酸161-165之胺基酸的缺失；或

(j)包含對應於SEQ ID NO: 14之胺基酸32-494之胺基酸序列或由該胺基酸序列組成的第一多肽；及包含對應於SEQ ID NO: 14之胺基酸495-728之胺基酸序列或由該胺基酸序列組成的第二多肽，視情況其中該第一多肽包含對應於SEQ ID NO: 14之胺基酸161-165之胺基酸的缺失；或

(k)包含對應於SEQ ID NO: 15之胺基酸32-494之胺基酸序列或由該胺基酸序列組成的第一多肽；及包含對應於SEQ ID NO: 15之胺基酸495-728之胺基酸序列或由該胺基酸序列組成的第二多肽，視情況其中該第一多肽包含對應於SEQ ID NO: 15之胺基酸161-165之胺基酸的缺失；或

(l)包含對應於SEQ ID NO: 16之胺基酸32-494之胺基酸序列或由該胺基酸序列組成的第一多肽；及包含對應於SEQ ID NO: 16之胺基酸495-728之胺基酸序列或由該胺基酸序列組成的第二多肽，視情況其中該第一多肽包含對應於SEQ ID NO: 16之胺基酸161-165之胺基酸的缺失；或

(m)包含對應於SEQ ID NO: 17之胺基酸32-494之胺基酸序列或由該胺基酸序列組成的第一多肽；及包含對應於SEQ ID NO: 17之胺基酸495-728之胺基酸序列或由該胺基酸序列組成的第二多肽，視情況其中該第一多肽包含對應於SEQ ID NO: 17之胺基酸161-165之胺基酸的缺失；或

(n)包含對應於SEQ ID NO: 18之胺基酸32-494之胺基酸序列或由該胺基酸序列組成的第一多肽；及包含對應於SEQ ID NO: 18之胺基酸495-728之胺基酸序列或由該胺基酸序列組成的第二多肽，視情況其中該第一多肽包含對應於SEQ ID NO: 18之胺基酸161-165之胺基酸的缺失；或

(o)包含對應於SEQ ID NO: 19之胺基酸32-494之胺基酸序列或由該胺基酸序列組成的第一多肽；及包含對應於SEQ ID NO: 19之胺基酸495-728之胺基酸序列或由該胺基酸序列組成的第二多肽，視情況其中該第一多肽包含對應於SEQ ID NO: 19之胺基酸161-165之胺基酸的缺失；或

(p)包含對應於SEQ ID NO: 20之胺基酸32-494之胺基酸序列或由該胺基酸序列組成的第一多肽；及包含對應於SEQ ID NO: 20之胺基酸495-728之胺基酸序列或由該胺基酸序列組成的第二多肽，視情況其中該第一多肽包含對應於SEQ ID NO: 20之胺基酸161-165之胺基酸的缺失；或

(q)包含對應於SEQ ID NO: 21之胺基酸32-494之胺基酸序列或由該胺基酸序列組成的第一多肽；及包含對應於SEQ ID NO: 21之胺基酸495-728之胺基酸序列或由該胺基酸序列組成的第二多肽，視情況其中該第一多肽包含對應於SEQ ID NO: 21之胺基酸161-165之胺基酸的缺失；或

(r)包含對應於SEQ ID NO: 22之胺基酸32-494之胺基酸序列或由該胺基酸序列組成的第一多肽；及包含對應於SEQ ID NO: 22之胺基酸495-728之胺基酸序列或由該胺基酸序列組成的第二多肽，視情況其中該第一

多肽包含對應於SEQ ID NO: 22之胺基酸161-165之胺基酸的缺失；或

(s)包含對應於SEQ ID NO: 23之胺基酸32-494之胺基酸序列或由該胺基酸序列組成的第一多肽；及包含對應於SEQ ID NO: 23之胺基酸495-728之胺基酸序列或由該胺基酸序列組成的第二多肽，視情況其中該第一多肽包含對應於SEQ ID NO: 23之胺基酸161-165之胺基酸的缺失；或

(t)包含對應於SEQ ID NO: 24之胺基酸32-494之胺基酸序列或由該胺基酸序列組成的第一多肽；及包含對應於SEQ ID NO: 24之胺基酸495-728之胺基酸序列或由該胺基酸序列組成的第二多肽，視情況其中該第一多肽包含對應於SEQ ID NO: 24之胺基酸161-165之胺基酸的缺失；或

(u)包含對應於SEQ ID NO: 25之胺基酸32-494之胺基酸序列或由該胺基酸序列組成的第一多肽；及包含對應於SEQ ID NO: 25之胺基酸495-728之胺基酸序列或由該胺基酸序列組成的第二多肽，視情況其中該第一多肽包含對應於SEQ ID NO: 25之胺基酸161-165之胺基酸的缺失；或

(v)包含對應於SEQ ID NO: 26之胺基酸32-494之胺基酸序列或由該胺基酸序列組成的第一多肽；及包含對應於SEQ ID NO: 26之胺基酸495-728之胺基酸序列或由該胺基酸序列組成的第二多肽，視情況其中該第一多肽包含對應於SEQ ID NO: 26之胺基酸161-165之胺基酸的缺失；或

(w)包含對應於SEQ ID NO: 27之胺基酸32-494之胺基酸序列或由該胺基酸序列組成的第一多肽；及包含對應於SEQ ID NO: 27之胺基酸495-728之胺基酸序列或由該胺基酸序列組成的第二多肽，視情況其中該第一多肽包含對應於SEQ ID NO: 27之胺基酸161-165之胺基酸的缺失。

【0038】 在本文所描述之方法或組合物的一些實施例中，該第一多肽包含SEQ ID NO: 36之胺基酸序列或由該胺基酸序列組成，且該第二多

肽包含SEQ ID NO: 37之胺基酸序列或由該胺基酸序列組成。

【0039】 在本文所描述之方法或組合物的一些實施例中，該第一多肽之該N端胺基酸為吡咯啉酮羧酸。

【0040】 在本文所描述之方法或組合物的一些實施例中，該第一多肽與該第二多肽係藉由一或多個二硫鍵連接。

【0041】 在本文所描述之方法或組合物的一些實施例中，該HGF能夠結合至c-MET及/或活化上皮細胞中之MAPK路徑。

【圖式簡單說明】

【0042】 圖1. 含有小鼠視神經之連續切片之載玻片的螢光顯微鏡影像以評估手術後第3天之角膜神經分佈。組織樣品針對TUI-1 (亦稱為 β III微管蛋白，圓圈區域)染色以評估角膜神經分佈。經對照(PBS)處理之動物在第3天與接受0.1% dHGF (SEQ ID. NO. 1)之眼睛相比展現出潛在地更低TUI-1染色(圓圈區域)；DAPI用作複染劑以突出所有細胞核。

【0043】 圖2. 在小鼠角膜機械損傷模式下之1期研究中之手術及每日用PBS (媒劑對照)、0.1%或0.2% dHGF、0.1% mNGF或0.1% mHGF處理之後經螢光素染色之動物角膜表面上閉合時間分析。

【0044】 圖3A. 在小鼠角膜機械損傷模型中在手術後第7天時經PBS (對照)、0.1% dHGF或0.2% dHGF處理之動物角膜表面中量測之平均疤痕面積(以像素為單位)的亮場影像分析。

【0045】 圖3B. 在小鼠角膜機械損傷模型中在手術後第7天時經PBS (對照)、0.1% mNGF或0.1% mHGF處理之動物角膜表面中量測之平均疤痕面積(以像素為單位)的亮場影像分析。

【0046】 圖4. 在小鼠角膜機械損傷模型中經PBS (對照)、dHGF

(0.1%及0.2%)、mHGF及mNGF處理之動物的第8天至第21天之平均百分比、量測標準誤差(SEM)及疤痕減少之統計比較。

【0047】 圖5. 在小鼠角膜大腸桿菌LPS誘導之角膜炎模型中經PBS (對照)、dHGF (0.1%及0.2%)或mNGF處理之動物在第9天的疤痕大小變化百分比。

【實施方式】

【0048】

優先權主張

本申請案主張2021年5月14日申請之美國臨時專利申請案第63/188,816號之權益。以上申請案之全部內容以引用之方式併入本文中。

【0049】

序列表

本申請案含有已以電子方式作為名為「Sequence_Listing.txt.」之ASCII正文檔案提交的序列表。在2022年5月10日創建之ASCII正文檔案的大小為171千位元組。ASCII正文檔案中之材料以全文引用的方式併入本文中。

【0050】 在一些實施例中，本發明提供治療或預防有需要之個體之神經營養性角膜炎(NK)的方法，該方法包含向該個體投與肝細胞生長因子(HGF)或纖維母細胞生長因子(FGF)。

【0051】 神經營養性角膜炎(或替代地，神經營養性角膜病變(NK))為由對三叉神經或其分支之損傷或受損的眼表面引起之角膜的退化性病狀，其導致角膜敏感性隨之減少或角膜感覺完全喪失。如本文中所用，術語「疾病」、「病狀」或「病症」可互換地使用係指受影響組織或器官之

許多病理學病狀中之任一者。對三叉神經或其分支之損傷最常由感染(例如病毒感染，包括單純疱疹或帶狀疱疹感染、細菌性潰爛、後期棘狀阿米巴角膜潰瘍)、眼睛手術(例如白內障手術、角膜移植、屈光手術及視黃醛手術)、其他全身性疾病(諸如糖尿病、麻風、眼窩腫瘤及炎症)、由後窩中之三叉神經病變、動脈瘤、聽神經瘤、脊膜瘤或因化學物質及熱灼傷對角膜層造成的物理損傷引起的第五神經麻痹。NK之其他原因包括遺傳病(例如常見的角膜感覺遲鈍、Goldenhar-Gorlin症候群、遺傳感覺及自主神經性病變III、IV或V型、角膜營養不良及多發性內分泌瘤IIb)、使用某些藥物(例如局部 β -阻斷劑、局部非類固醇抗發炎(NSAID)、局部麻醉劑)及使用隱形眼鏡(關於審查參見Okada等人., 見上文)。

【0052】 NK可根據本文所描述之方法藉由投與肝細胞生長因子(HGF)及/或纖維母細胞生長因子(FGF)來治療或預防。

【0053】 HGF (例如，UniProt ID第P14210號))為尤其經由酪胺酸激酶傳訊路徑刺激各種器官中之上皮細胞增殖、活動性、形態發生及血管生成，且在胚胎器官發育及成人器官再生及創傷癒合中起主要作用的cMet激酶促效劑。HGF為包含以下兩個由單一雙硫鍵連接之次單元的約84 kDa蛋白質：表觀分子量為69 kDa之 α -次單元及表觀分子量為34 kDa之 β -次單元。

【0054】 HGF藉由間葉基質細胞(例如，纖維母細胞及巨噬細胞)作為728個胺基酸之前HGF分子產生，其中前1-31個胺基酸殘基對應於分泌傳訊序列(Matsumoto and Nakamura, *in Encyclopedia of Endocrine Diseases*, Elsevier, 2004, 436-442)。前HGF之一級胺基酸序列組織成四個三環(K)域之域結構(Sigurdardottir等人., 2015, *Chem. Sci.*, 6:6147-

6157)。如本文中所用，「三環」域係指摺疊成三環、二硫鍵交聯域的多肽線性序列(Simonneau等人., 2015, *Chem. Sci.*, 6:2110- 2121)。三環域存在於多種多肽中，包括脂蛋白元A、血液凝血因子XII、纖維蛋白溶酶原及HGF。名稱「三環」衍生自與此等結構類似的斯堪的納維亞糕點。咸信，三環域介導蛋白質、膜及磷脂之間的結合相互作用。在一些實施例中，本發明之多肽含有至少一個三環域。

【0055】 在分泌傳訊序列裂解之後，在前HGF之第四三環與C端絲胺酸-蛋白酶同源性(SPH)域之間的胰蛋白酶樣位點(R494-V495)處之蛋白水解分裂得到成熟經活化HGF。胰蛋白酶樣裂解位點為帶正電之胺基酸(例如，離胺酸或精胺酸)之後的肽鍵。在活化時，HGF結合至且活化其受體，cMet (亦稱為MET酪胺酸激酶)，其引起酪胺酸磷酸化，進一步實現多種下游接附分子之募集及各種胞內路徑及生物活性之調節，共同稱為侵襲性生長程序(Nakamura, T., 1991, *Prog. Growth Factor Res.*, 3:67-85; Bottaro等人., 1991, *Science* 251:802-804)。HGF及其受體cMet均表現於角膜上皮細胞、基質細胞、內皮及淚腺中，儘管在極低含量下，但人類淚液中HGF之量經估計為約500 pg/mL(Wilson等人., 1993, *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, 34:2544-2561; Li等人., 1996, *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, 37:727-739)。

【0056】 由HGF mRNA基因轉錄本之替代性拼接引起的HGF的六種天然存在之同功型係文獻中已知的，其中主要同功型為同功型1 (例如SEQ ID NO: 2)及2 (例如SEQ ID NO: 3) (Bottaro等人., 1991, *Science*, 251:802-804; Chan等人., 1991, *Science*, 254:1382-1385; Lokker and Godowski, 1992, *EMBO J.*, 11:2503-2510; Cioce等人., 1996, *J. Biol. Chem.*,

271:13110-13115)。如本文所使用，術語「同功型」係指由編碼HGF之 mRNA前軀體的替代性拼接產生的蛋白質。同功型1 mRNA轉錄物編碼最長HGF基因序列，其包含728個胺基酸殘基。第二主要HGF同功型由同功型2之mRNA轉錄物編碼，該mRNA轉錄物相對於同功型1轉錄物缺乏多個3' 外顯子但包括3'外顯子。由同功型2 mRNA轉錄物編碼之HGF蛋白質包含290個胺基酸殘基，且相較於同功型1 HGF蛋白質在第二三環域之後截斷(Miyazawa等人., 1991, *Eur. J. Biochem.*, 197:15-22)。同功型3 mRNA轉錄物缺乏存在於同功型1中之框內編碼片段且編碼包含缺乏在同功型1之第一三環域內位置161-165處的序列「SFLPS」之723個胺基酸殘基(例如，SEQ ID NO: 1)的HGF蛋白質(Rubin等人., 1991, *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 88:415-419)。同功型4 HGF蛋白質(例如，SEQ ID NO: 4)為包含殘基1-296之較小分子，其中胺基酸序列僅延伸穿過第二三環域(Chan等人., 1991, *Science*, 254:1382-1385)。同功型5 HGF蛋白質(例如，SEQ ID NO: 5)與具有如在同功型3 HGF中之殘基161-165 (SFLPS)之額外缺失的同功型2 HGF蛋白質類似(Rubin等人., 1991, *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 88: 415-419)。同功型6 HGF蛋白質(亦稱為NK1)(例如，SEQ ID NO: 6)為所有HGF同功型中最小的，僅包含210個胺基酸(Cioce等人., 1996, *J. Bio. Chem.*, 271:13110-13115)。

【0057】 HGF之全長及截斷同功型均已顯示結合至cMet，儘管具有不同效能及與胞外基質之硫酸肝素蛋白聚糖的相互作用，其幫助延長活體內HGF之循環半衰期(Masumoto and Yamamoto, 1991, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 174:90-95; Montesano等人., 1998, *Cell Growth Differ.*, 9:355-365; Sakata等人., 1997, *J. Biol. Chem.*, 272:9457-9463;

Stahl等人., 1997, *Biochem. J.*, 326:763-772)。雖然同功型1及3需要在R494- V495處發生蛋白水解分裂以變得具有生物學活性，但截短同功型2、4、5及6不具有R494-V495裂解位點，且因此，此活化步驟不為其生物活性所需。然而，已知截短同功型2、4、5及6一般不如全長同功型1及3對應物有效(Stahl等人., 1997; Montesano等人., 1998; 見上文)。

【0058】 纖維母細胞生長因子(FGF)為涉及廣泛範圍之生物過程(包括發育)的細胞傳訊蛋白質家族。人類FGF家族包括22個成員：FGF1、FGF2、FGF3 (INT2)、FGF4、FGF5、FGF6、FGF7 (KGF)、FGF8 (AIGF)、FGF9、FGF10、FGF11、FGF12、FGF13、FGF14、FGF16、FGF17、FGF18、FGF19、FGF20、FGF21、FGF22及FGF23。

【0059】 FGF經由結合及活化纖維母細胞生長因子受體(FGFR)發揮其生物學作用。經活化FGFR藉由募集在受體之細胞溶質部分處結合至磷酸化酪胺酸之特異性分子來介導傳訊，觸發許多傳訊路徑，從而引起特異性細胞反應。人類FGFR家族包括4個成員：FGFR1、FGFR2、FGFR3及FGFR4。

【0060】 在一些實施例中，HGF為包含SEQ ID NO: 1-27中之任一者之胺基酸序列，具有或不具有訊號序列(亦即，對應於SEQ ID NO: 1之胺基酸1-31之胺基酸)的多肽。在一些實施例中，HGF為包含SEQ ID NO: 1或SEQ ID NO: 2之胺基酸序列，具有或不具有訊號序列(亦即，對應於SEQ ID NO: 1或SEQ ID NO: 2之胺基酸1-31之胺基酸)的多肽。在一些實施例中，HGF為包含SEQ ID NO: 1之胺基酸序列，具有或不具有訊號序列(亦即，對應於SEQ ID NO: 1之胺基酸1-31之胺基酸)的多肽。在一些實施例中，HGF為包含SEQ ID NO: 2之胺基酸序列，具有或不具有訊號序

列(亦即，對應於SEQ ID NO: 2之胺基酸1-31之胺基酸)的多肽。在一些實施例中，HGF為包含SEQ ID NO. 1或SEQ ID NO. 2之經活化形式胺基酸序列的多肽。術語「經活化形式」係指尤其HGF多肽訊號序列(例如，SEQ ID NO: 1或SEQ ID NO: 2之胺基酸1-31)已自其中裂解且在SEQ ID NO:1之R489與V490之間或在SEQ ID NO:2之R494與V495之間裂解以形成HGF之二硫鍵連接的 α 鏈及 β 鏈。在一些實施例中，N端胺基酸(例如，SEQ ID NO: 1或SEQ ID NO: 2之胺基酸32)為吡咯啉酮羧酸，例如由訊號序列之裂解引起。在一些實施例中，本發明之多肽以HGF前驅體(pro-HGF)形式存在，其中SEQ ID NO: 1之R489與V490之間或SEQ ID NO: 2之R494及V495之間的肽鍵為完整的。在一些實施例中，本發明之多肽可藉由在SEQ ID NO: 1之R489及V490胺基酸殘基之間或在SEQ ID NO: 2 pro-HGF蛋白質活體內之R494及V495胺基酸殘基之間的胰蛋白酶樣裂解位點的蛋白水解分裂轉化成活性形式。在一些實施例中，本發明之多肽可藉由在SEQ ID NO: 1之R489及V490胺基酸殘基之間或在SEQ ID NO: 2 pro-HGF蛋白質活體外之R494及V495胺基酸殘基之間的胰蛋白酶樣裂解位點的蛋白水解分裂轉化成活性形式。在一些實施例中，HGF為包含SEQ ID NO:1 pro-HGF蛋白質之胺基酸32-723之胺基酸序列的多肽。在一些實施例中，HGF為包含SEQ ID NO: 1經活化蛋白質之胺基酸32-723之胺基酸序列的多肽。在一些實施例中，HGF為包含SEQ ID NO:2 pro-HGF蛋白質之胺基酸32-728之胺基酸序列的多肽。在一些實施例中，HGF為包含SEQ ID NO: 2經活化蛋白質之胺基酸32-728之胺基酸序列的多肽。

【0061】 在一些實施例中，HGF為包含SEQ ID NO: 3、4、5或6之胺基酸序列，具有或不具有訊號序列(例如，對應於SEQ ID NO: 3、4、5

或6之胺基酸1-31之胺基酸)的多肽。

【0062】 在一些實施例中，HGF為包含SEQ ID NO: 1、SEQ ID NO: 2、SEQ ID NO: 3、SEQ ID NO: 4、SEQ ID NO: 5或SEQ ID NO: 6之多肽變異體，具有或不具有訊號序列(亦即，對應於SEQ ID NO: 1、SEQ ID NO: 2、SEQ ID NO: 3、SEQ ID NO: 4、SEQ ID NO: 5或SEQ ID NO: 6之胺基酸1-31之胺基酸)的多肽。如本文所使用，術語「變異體」意指一種多肽與另一種多肽的不同之處在於由編碼該多肽之核酸中之突變引起的一或多個胺基酸取代、缺失或插入。在一些實施例中，HGF為包含與SEQ ID NO:1、SEQ ID NO: 2或SEQ ID NO:6具有至少90%序列一致性之胺基酸序列，具有或不具有訊號序列(亦即，對應於SEQ ID NO: 1、SEQ ID NO: 2或SEQ ID NO: 6之胺基酸1-31之胺基酸)的多肽。在一些實施例中，HGF為包含與SEQ ID NO:1、SEQ ID NO: 2或SEQ ID NO:6具有至少95%序列一致性之胺基酸序列，具有或不具有訊號序列(亦即，對應於SEQ ID NO: 1、SEQ ID NO: 2或SEQ ID NO: 6之胺基酸1-31之胺基酸)的多肽。在一些實施例中，HGF為包含與SEQ ID NO:1、SEQ ID NO: 2或SEQ ID NO:6具有至少98%序列一致性之胺基酸序列，具有或不具有訊號序列(亦即，對應於SEQ ID NO: 1、SEQ ID NO: 2或SEQ ID NO: 6之胺基酸1-31之胺基酸)的多肽。在一些實施例中，HGF為包含與SEQ ID NO:1、SEQ ID NO: 2或SEQ ID NO:6具有至少99%序列一致性之胺基酸序列，具有或不具有訊號序列(亦即，對應於SEQ ID NO: 1、SEQ ID NO: 2或SEQ ID NO: 6之胺基酸1-31之胺基酸)的多肽。在一些實施例中，該HGF變異體可(1)結合至c-MET及/或(2)活化上皮細胞(例如，人類角膜上皮細胞)中之MAPK路徑。

【0063】 在一些實施例中，該HGF為包含在野生型HGF同功型1之胺基酸序列(例如，SEQ ID NO: 2)中之突變，在位置62、64、77、95、125、127、130、132、137、142、148、154、170、173及193中之一或多者處具有或不具有訊號序列(例如，對應於SEQ ID NO: 2之胺基酸1-31之胺基酸)的多肽。在一些實施例中，野生型HGF同功型3 (例如，SEQ ID NO: 1)中之類似位置發生突變。在一些實施例中，HGF為包含如下表1及表2中所示之胺基酸序列中之突變的多肽。表1及表2中所示之突變的任何組合可包括於本文所揭示之HGF多肽中。

表1. HGF變異體中之序列突變.																			
SEQ ID NO: 2為野生型。僅來自野生型序列之差異展示於SEQ ID NO: 7-16中，空格表示保留野生型HGF殘基。																			
SEQ ID NO	同功型	bp	AA	28	30	33	37	38	42	44	48	58	62	64	65	75	77	82	95
2	1			Y	E	R	N	T	F	K	T	K	K	V	N	T	N	F	Q
7	1	15	12									R	E	A			S		R
8	1	21	15										E	A		I			R
9	1	16	14										E	A			S		R
10	1	18	15		K	G							E	A	D		S		
11	1	19	15								A	R	E	A			S		R
12	1	20	15										E	A			S		R
13	1	16	13										E	A		I			
14	1	28	20				D	A	C	R			E	A				S	R
15	1	14	12			G							E				S		R
16	1	17	15	H									E	A			S		R
SEQ ID NO	96	98	101	123	125	127	130	132	135	137	142	148	154	168	170	173	181	190	193
2	C	W	F	D	I	N	I	K	S	K	I	K	S	R	K	Q	R	F	N
7						D				R			A		E	R		Y	D
8			V		T		V	N		R	T		A		E	R		Y	D
9						D	V	N		R		E	A		E	R		Y	D
10						D	V	N		R	V				E	R		Y	D
11						D	V	N		R		E			E		W	Y	D
12					T		V	N		R		E	A	Q	E	R		Y	D
13				A		D		R	N	R		E			E	R		Y	D
14	R	R			T		V	N		R	T		A		E	R	W		D
15						D		R		R			A		E	R		Y	D
16					T		V	N		R	T		A		E	R		Y	D

bp：鹼基對突變之數目

AA：胺基酸突變數目

表2. HGF變異體中之序列突變。 SEQ ID NO: 2為野生型。僅來自野生型序列之差異展示於SEQ ID NO: 17-27中，空格表示保留野生型HGF殘基。																
SEQ ID NO	同功型	bp	AA	30	33	46	58	62	64	65	75	77	78	79	95	101
2	1			E	R	A	K	K	V	N	T	N	K	G	Q	F
17	1	17	13					E	A			S	R			
18	1	16	11					E	A						R	
19	1	20	17			V		E	A			S			R	V
20	1	18	13					E	A			S			R	
21	1	17	13				R	E	A			S	R		R	
22	1	21	16					E	A			S	R	R	R	
23	1	16	14					E	A			S			R	
24	1	14	9							D					R	
25	1	24	16		G		R	E	A			S			R	
26	1	21	15	K			R	E			I				R	
27	1	14	12		G			E				S			R	
SEQ ID NO	112	123	127	130	132	135	137	142	148	154	166	170	173	181	190	193
2	F	D	N	I	K	S	K	I	K	S	S	K	Q	R	F	N
17			D		N		R	V		A		E	R		Y	D
18			D	V	N		R					E	R		Y	D
19	S		D	V	N		R	T		A		E	R		Y	D
20			D	V	N		R					E	R	W	Y	D
21			D		N		R					E	R		Y	D
22			D				R	V	E	A	N	E	R		Y	D
23			D	V	N		R		E	A		E	R		Y	D
24			D		N		R					E	R		Y	D
25		A	D		R	N	R			A		E	R		Y	D
26		A	D		R	N	R			A		E	R		Y	D
27			D		N		R			A		E	R		Y	D

bp：鹼基對突變之數目

AA：胺基酸突變數目

【0064】 在一些實施例中，HGF為包含選自由SEQ ID NO: 7-27組成之群之胺基酸序列，具有或不具有訊號序列(例如，對應於SEQ ID NO: 7-27之胺基酸1-31之胺基酸)的多肽。在一些實施例中，HGF為由選自由SEQ ID NO: 7-27組成之群之胺基酸序列，具有或不具有訊號序列(例如，對應於SEQ ID NO: 7-27之胺基酸1-31之胺基酸)組成的多肽。

【0065】 在一些實施例中，FGF為包含SEQ ID NO: 28之胺基酸序列的多肽。在一些實施例中，FGF為SEQ ID NO: 28之多肽變異體。在一些實施例中，FGF為包含與SEQ ID NO: 28具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%序列一致性之胺基酸序列的多肽。在一些實施例中，相較於野生型FGF1，FGF變異體展現出增加之蛋白水解穩定性。

【0066】 在一些實施例中，FGF為在位置28、40、47、93或131中之一或多者處包含野生型FGF同功型1 (例如SEQ ID NO: 28)之胺基酸序列突變的多肽。位置28、40、47、93及131處之突變的任何組合可包括於本文所揭示之FGF多肽中。

【0067】 在一些實施例中，FGF1變異體包含至少一個選自由以下組成之群的胺基酸取代：D28N、Q40P、S47I、H93G、L131R及L131K。在一些實施例中，FGF1變異體包含胺基酸取代L131R。在一些實施例中，FGF1變異體包含胺基酸取代L131K。在一些實施例中，變異體包含胺基酸取代D28N及L131R (例如，SEQ ID NO: 29)。在一些實施例中，變異體包含胺基酸取代D28N及L131K。在一些實施例中，變異體包含胺基酸取代Q40P、S47I及H93G (例如，SEQ ID NO: 30)。在一些實施例中，變異體包含胺基酸取代Q40P、S47I、H93G及L131R。在一些實施例中，變異體包含胺基酸取代Q40P、S47I、H93G及L131K。在一些實

施例中，變異體包含胺基酸取代D28N、Q40P、S47I、H93G及L131R (例如，SEQ ID NO: 31)。在一些實施例中，變異體包含胺基酸取代D28N、Q40P、S47I、H93G及L131K。在一些實施例中，FGF1變異體不包含胺基酸取代L131A。

【0068】 在一些實施例中，FGF為包含選自由SEQ ID NO: 29-33組成之群之胺基酸序列的多肽。在一些實施例中，FGF為具有選自由SEQ ID NO: 29-33組成之群之胺基酸序列的多肽。

【0069】 本文所揭示之多肽(例如，HGF多肽、FGF多肽)可為單體或二聚體。在一些實施例中，該HGF為SEQ ID NO: 1-27中之任一者之多肽或其多肽變異體的共價二聚體(具有或不具有訊號序列(例如，對應於SEQ ID NO: 1-27之胺基酸1-31之胺基酸))。在一些實施例中，FGF為SEQ ID NO: 29-33中之任一者之多肽或其多肽變異體的共價二聚體。HGF或FGF多肽之共價二聚體可藉由在適合之表現系統(例如，酵母菌或大腸桿菌)中表現SEQ ID NO: 1-27之HGF多肽序列或其變異體中之任一者獲得，而單一胺基酸殘基(特定言之，N端胺基酸殘基)經半胱胺酸殘基置換。所表現及例如訊號序列裂解之HGF多肽單體或經表現FGF多肽單體可經由在經引入半胱胺酸殘基之間形成二硫鍵而誘導二聚(參見例如Liu等人., 2014, *FEBS Letters*, 588:4831-4837; Jones II等人., 2011, *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 108:13035-13040；及USSN 15/365,514)。

【0070】 在一些情況下，本文所描述之HGF多肽包含一或多個轉譯後修飾，包括(例如)以下中之一或多者：

關鍵特徵	位置	描述
經修飾殘基	32	吡咯啉酮羧酸
二硫鍵	70↔96	
二硫鍵	74↔84	
二硫鍵	128↔206	

關鍵特徵	位置	描述
二硫鍵	149↔189	
二硫鍵	177↔201	
二硫鍵	211↔288	
二硫鍵	232↔271	
二硫鍵	260↔283	
糖基化	294	N連接(GlcNAc...) (複合物)天冬醯胺
二硫鍵	305↔383	
二硫鍵	326↔365	
二硫鍵	354↔377	
二硫鍵	391↔469	
糖基化	402	N連接(GlcNAc...) (複合物)天冬醯胺
二硫鍵	412↔452	
二硫鍵	440↔464	
糖基化	476	O連接(GalNAc...)蘇胺酸
二硫鍵	487↔604	鏈間(在α鏈及β鏈之間)
二硫鍵	519↔535	
糖基化	566	N連接(GlcNAc...) (複合物)天冬醯胺
二硫鍵	612↔679	
二硫鍵	642↔658	
糖基化	653	N連接(GlcNAc...) (複合物)天冬醯胺
二硫鍵	669↔697	

【0071】 本文所揭示之多肽(例如，HGF多肽、FGF多肽)可包括經天然存在之胺基酸或非天然存在之胺基酸，包括(但不限於)羧脯胺酸(Hyp)、β-丙胺酸、瓜胺酸(Cit)、鳥胺酸(Orn)、正白胺酸(Nle)、3-硝基酪胺酸、硝基精胺酸及焦麩胺酸(Pyr)的取代。在一些情況下，HGF多肽經轉譯後修飾，例如如上表中所示。

【0072】 如本文所使用，術語「序列一致性」係指兩個多肽或核酸序列之間一致殘基的百分比。熟習此項技術者可容易地確定與HGF或FGF胺基酸之序列一致性，例如藉由使用藉由輸入HGF或FGF之胺基酸(或核酸)序列及所討論之多肽(或核酸)可在<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>上獲得之鹼基局部比對檢索工具(BLAST)。程式BLAST可例如用於比對兩個序列(具有預設參數)，如以下中所描述：Tatiana A. Tatusova and Thomas L. Madden (1999), 「Blast 2
第 29 頁(發明說明書)

sequences - a new tool for comparing protein and nucleotide sequences」, *FEMS Microbiol Lett.* 174:247-250。此項技術中熟知可用於獲得胺基酸或核苷酸序列之比對的各種演算法及軟體。此等演算法及軟體包括但不限於BLAST、ALIGN、Megalign、BestFit、GCG Wisconsin Package及其變化形式。在一些實施例中，如例如藉由使用程式BLAST來比對兩個序列(預設參數)所確定，本發明之多肽與HGF具有至少約50%、至少約60%、至少約70%、至少約80%、至少約85%、至少約90%、至少約95%、至少約97%、至少約98%或至少約99%同源性。在一些情況下，該等序列在所比較之序列的全長上實質上一致，例如(i)核苷酸序列之編碼區，或(ii)胺基酸序列。

【0073】 在一些實施例中，HGF及/或FGF自生物來源中分離，該生物來源諸如羊膜或流體、產生HGF及/或FGF (例如，間葉細胞基質細胞或肝細胞)之細胞或組織，或淚液。在一些實施例中，HGF為表現於適合之宿主蛋白質表現系統，諸如大腸桿菌、釀酒酵母、中國倉鼠卵巢(CHO)細胞、人類胚胎腎(HEK293)細胞或昆蟲細胞株(例如Sf9、Sf21或S2)中之重組蛋白質。在一些實施例中，HGF經純化。如本文中所用，「純化」HGF係指已經處理以移除其他非所需組分或污染物的多肽。在一些實施例中，FGF為表現於適合之宿主蛋白質表現系統，諸如大腸桿菌、釀酒酵母、中國倉鼠卵巢(CHO)細胞、人類胚胎腎(HEK293)細胞或昆蟲細胞株(例如Sf9、Sf21或S2)中之重組蛋白質。在一些實施例中，FGF經純化。如本文所用，「經純化」FGF係指已經處理以移除其他非所需組分或污染物的多肽。

【0074】 在純化過程期間移除之非所需組分或污染物的實例包括與

HGF及/或FGF無關之細胞、組織、核酸、多肽(例如，來自所用表現系統之宿主細胞蛋白質，或來自例如白蛋白及免疫球蛋白分離之自其中分離之生物來源的豐富蛋白質)、具有低於50%序列同源性之HGF及/或FGF之小片段、金屬及其他無機鹽。熟習此項技術者使用之純化方法的實例包括：沈澱、絮凝、切向流過濾(TFF)、超過濾(UF)、透濾作用(DF)、透析、凝膠過濾層析(GFC)、液相層析(LC)、離子交換層析法(IEX)、疏水性相互作用層析(HIC)及電泳。在一些實施例中，經純化HGF之純度為至少約50%。在一些實施例中，經純化HGF之純度為至少約60%。在一些實施例中，經純化HGF之純度為約75%。在一些實施例中，經純化HGF之純度為約80%。在一些實施例中，經純化HGF之純度為約85%。在一些實施例中，經純化HGF之純度為約90%。在一些實施例中，經純化HGF之純度為約95%。在一個較佳實施例中，經純化HGF之純度為約97%。在一些實施例中，經純化FGF之純度為至少約50%。在一些實施例中，經純化FGF之純度為至少約60%。在一些實施例中，經純化FGF之純度為約75%。在一些實施例中，經純化FGF之純度為約80%。在一些實施例中，經純化FGF之純度為約85%。在一些實施例中，經純化FGF之純度為約90%。在一些實施例中，經純化FGF之純度為約95%。在一個較佳實施例中，經純化FGF之純度為約97%。

【0075】 HGF及/或FGF之純度及含量之確定可由熟習此項技術者使用習知分析及方法容易地實現，例如藉由逆相高效液相層析(RP-HPLC)、尺寸排阻層析(SEC)、離子交換層析(IEX)、聚丙烯醯胺凝膠電泳(PAGE)、毛細管凝膠電泳(CGE)及西方墨點法。

【0076】 如本文中所用，「多肽」或「蛋白質」為具有例如2至約

1000個或更多個胺基酸殘基之胺基酸的聚合物。在一些實施例中，「多肽」具有10至約130個胺基酸、10至約220個胺基酸、10至約500個胺基酸或10至約730個胺基酸。任何天然存在或合成之胺基酸均可形成多肽。多肽亦可包括修飾，諸如糖基化及其他部分。在一些實施例中，本發明之多肽能夠基於例如目標之胺基酸序列，諸如N端或C端之胺基酸序列而選擇性地結合至目標多肽。

【0077】 如本文中所使用，術語「約」意謂大致、大約、粗略地或約。當術語「約」與數值範圍結合使用時，其藉由向上或向下擴展所闡述數值之邊界來調整其範圍。一般而言，術語「約」在本文中用以修改數值到所陳述值上方及下方10%之偏差。

【0078】

治療及預防方法

本發明提供治療或預防個體之眼睛疾病或病症的方法。在一些實施例中，眼睛疾病或病症為角膜疾病。角膜疾病之非限制性實例包括：神經營養性角膜炎、持續性角膜缺損、角膜潰瘍、乾眼病、微生物角膜炎、細菌性角膜炎、病毒角膜炎、真菌角膜炎、化學燒傷、熱燒傷、機械性外傷、角膜刮傷、受損內皮、大泡性角膜病變、福斯氏角膜失養症(Fuch's corneal dystrophy)、角膜結疤、休格倫氏症候群或手術後併發症。在一些實施例中，疾病或病症為角膜損傷，包括角膜霧霾或結疤。在一些實施例中，疾病為神經病變性角膜炎。該方法涉及向該個體投與治療有效量的如本文所描述之HGF及/或FGF多肽。如本文中所用，「個體」或「患者」可互換地使用，包括哺乳動物，諸如人類、牛、馬、犬、貓、豬及綿羊科動物。個體較佳地為人類。

【0079】 在一些實施例中，該個體具有NK，其中存在對三叉神經或其分支之損傷。在某些情況下，對三叉神經或其分支之損傷係由感染(例如，細菌或病毒感染，諸如單純疱疹或帶狀疱疹感染)引起。在某些情況下，對三叉神經或其分支之損傷係由眼睛手術(例如，白內障手術、角膜移植、屈光手術)引起。在某些情況下，對三叉神經或其分支之損傷係由全身性疾病引起，諸如糖尿病、麻風、眼窩腫瘤及炎症。在一些情況下，對三叉神經或其分支之損傷由物理創傷引起，包括化學物質及熱灼傷。在其他情況下，對三叉神經或其分支之損傷由使用隱形眼鏡引起。在一些實施例中，個體具有NK，其中對上皮之損傷不與對三叉神經路徑之任何擾動相關。

【0080】 在一些實施例中，向個體眼睛投與HGF及/或FGF。HGF及/或FGF投與途徑可根據已知方法進行，例如局部經由滴眼劑或軟性隱形眼鏡、局部眼部注射(例如，結膜下、玻璃體內、眼球後及前房內)或藉由如下文所指出之持續釋放系統。在一些實施例中，該HGF及/或FGF局部投與至該眼睛。術語「局部」指將HGF及/或FGF直接施用於眼睛之表面(亦即，角膜)上。在一些實施例中，該HGF及/或FGF藉由注射投與至該眼睛。在一些實施例中，該HGF及/或FGF係結膜下投與。術語「結膜下」係指在眼球結膜下(眼球上(epibulbar))或眼瞼之結膜內襯下(眼瞼下)給予之注射(Stanley, R., 2008 「Ocular Clinical Pharmacology」 in *Small Animal Clinical Pharmacology (2nd Ed.)*)。在一些實施例中，該HGF及/或FGF係玻璃體內投與。術語「玻璃體內」係指直接給予至眼睛之玻璃體腔中之注射。在一些實施例中，HGF及/或FGF係前房內投與。術語「前房內」係指直接給予至眼睛之前房中之注射。意欲用於注射之治療性多肽

組合物一般置於具有適合之進入孔的無菌容器中，例如具有可藉由皮下注射針刺穿之塞子的小瓶。對於局部投與，包含HGF及/或FGF之醫藥組合物可置於可擠壓滴眼劑容器中。在一些實施例中，包含HGF及/或FGF之醫藥組合物係使用經眼擠壓分配器(諸如來自Aptar Pharma之分配器)局部投與。

【0081】 持續釋放型製劑之適合實例包括半滲透聚合物基質的成形物件形式，例如薄膜、植入物或微膠囊。持續釋放基質包括聚酯、水凝膠、聚乳酸交酯(美國專利第3,773,919號及EP 58,481)、L-麩胺酸及 γ 乙基-L-麩胺酸之共聚物(Sidman等人, 1983, *Biopolymers*, 22:547-556)、聚(2-羥乙基-甲基丙烯酸酯) (Langer等人, 1981, *J. Biomed. Mater. Res.*, 15:267-277及Langer, 1982, *Chem. Tech.*, 12:98-105)、乙烯乙酸乙烯酯(Langer等人, 同上)或聚-D(-)-3-羥基丁酸(EP 133,988)。持續釋放組合物亦包括經脂質體包覆之HGF、FGF或HGF與FGF兩者。含有HGF、FGF或HGF及FGF兩者之脂質體可藉由本身已知的方法製備：DE 3,218,121；Eppstein等人, 1985, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 82:3688-3692；Hwang等人, 1980, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 77:4030-4034；EP 52,322；EP 36,676；EP 88,046；EP 143,949；EP 142,641；美國專利第4,485,045及4,544,545號；及EP 102,324。通常，脂質體屬於小(約200-800埃)單層型，其中脂質含量大於約30莫耳%膽固醇，所選擇之比例經調節以用於最有效療法。

【0082】 待治療採用之含HGF或含HGF組合物及/或含FGF或含FGF組合物之有效量將視例如治療目標、投與途徑及個體之病狀而定。因此，可能需要治療師來滴定劑量及視需要調節投與途徑以獲得最佳治療效果。

典型地，臨床醫師將投與HGF及/或FGF，直至達到達成所需作用之劑量。此療法之進程易於藉由習知分析及方法來監測。

【0083】 在治療及預防眼睛疾病及病症(諸如角膜霧霾或結疤)以及NK中，包含HGF及/或FGF之醫藥組合物可以與良好醫學實踐一致的方式調配、給藥及投與。在此上下文中考慮之因素包括所治療之特定哺乳動物、個別個體之臨床病狀、病症之病因、投與方法、投與時程及醫學從業者已知之其他因素。待投與之HGF及/或FGF的「治療有效量」可藉由此類考慮因素調節且為預防、改進或治療眼睛疾病之症狀所必需的最小量。此量較佳低於對宿主具有毒性或對宿主具有顯著不良作用的量。

【0084】 作為一般處方，以重量比體積(w/v)計，局部投與至個體眼睛之醫藥組合物包含初始濃度在約0.01%至約1.0%、約0.05%至約0.5%、約0.05%至約0.4%、約0.05%至約0.3%或約0.08%至約0.25%範圍內之HGF及/或FGF。在一些實施例中，局部投與至個體眼睛之醫藥組合物包含濃度為約0.1% (w/v)之HGF。在一些實施例中，局部投與至個體眼睛之醫藥組合物包含濃度為約0.2% (w/v)之HGF。在一些實施例中，局部投與至個體眼睛之醫藥組合物包含濃度為約0.1% (w/v)之FGF。在一些實施例中，局部投與至個體眼睛之醫藥組合物包含濃度為約0.2% (w/v)之FGF。在一些實施例中，局部投與至個體眼睛之醫藥組合物包含各自濃度為約0.1% (w/v)之HGF與FGF。在一些實施例中，局部投與至個體眼睛之醫藥組合物包含各自濃度為約0.2% (w/v)之HGF與FGF。在一些實施例中，醫藥組合物包含HGF且實質上不含FGF。在一些實施例中，醫藥組合物包含FGF且實質上不含HGF。

【0085】 本發明亦提供組合療法。舉例而言，向個體(例如，人類)

投與本文所描述之HGF與第二治療劑之組合。在一些實施例中，向個體伴隨第二治療劑投與HGF多肽。如本文所用，術語「伴隨」意謂「在相同時間段期間」發生。在一些實施例中，將HGF多肽及第二治療劑調配於同一調配物中。在一些實施例中，將HGF多肽及第二治療劑調配於各別調配物中。在一些實施例中，同時投與HGF多肽及第二治療劑。在一些實施例中，依序投與HGF多肽及第二治療劑。在一些實施例中，在投與第二治療劑之前投與HGF多肽。在一些實施例中，在投與第二治療劑之後投與HGF多肽。在一些實施例中，將HGF多肽及第二治療劑相隔1至60分鐘、相隔5至30分鐘或相隔10至20分鐘投與。在一些實施例中，相隔5分鐘投與HGF多肽及第二治療劑。在一些實施例中，相隔10分鐘投與HGF多肽及第二治療劑。在一些實施例中，相隔15分鐘投與HGF多肽及第二治療劑。在一些實施例中，相隔30分鐘投與HGF多肽及第二治療劑。在一些實施例中，相隔1小時投與HGF多肽及第二治療劑。在一些實施例中，FGF多肽為第二治療劑。

【0086】 在一些實施例中，第二治療劑可引起與HGF相同的生物學及生理作用，例如活化類似細胞內路徑。在一些實施例中，第二治療劑可引起與HGF不同的生物學及生理作用。在一些實施例中，第二治療劑增強由HGF引起之生物學及生理作用。在一些實施例中，第二治療劑具有與HGF相同之分子類別(亦即，兩者均為多肽)。在一些實施例中，第二治療劑具有不同類別之分子(例如，小分子或核酸)。第二治療劑之非限制性實例包括小分子、肽、蛋白質、抗體及抗原結合片段、核酸、細胞及組織提取物及羊膜及其他體液。第二治療劑可經由自天然來源分離、以合成方式產生或藉由細胞培養獲得。如本文所使用，術語「小分子」係指低於900

道爾頓之低分子量有機化合物。如本文所用，術語「肽」係指2至約50個次單位胺基酸、胺基酸類似物或肽模擬物之化合物。次單位可藉由肽鍵連接。如本文所用，術語「胺基酸」係指天然及/或非天然或合成胺基酸，包括甘胺酸及D或L光學異構體，及胺基酸類似物及肽模擬物。如本文所用，術語「抗體」包括多株抗體及單株抗體以及其片段。抗體包括(但不限於)小鼠、大鼠、兔、人類或嵌合抗體及其類似物。術語抗體亦包括所有同型之抗體。如本文所用，「核酸」或「聚核苷酸」係指任何長度之核苷酸或其類似物的聚合形式。聚核苷酸可含有去氧核糖核苷酸、核糖核苷酸及/或其類似物。核苷酸可具有任何三維結構，且可執行任何已知或未知的功能。核酸分子進一步包括寡核苷酸，諸如反義分子、探針、引子及其類似物。寡核苷酸通常具有約2至約100、8至約30或10至約28個核苷酸或其類似物。

【0087】 在一些實施例中，第二治療劑為抗生素。抗生素之非限制性實例包括甲氧苄啶(trimethoprim)、多黏菌素B (polymyxin B)、阿奇黴素(azithromycin)、慶大黴素(gentamicin)、貝西沙星(besifloxacin)、加替沙星(gatifloxacin)、莫西沙星(moxifloxacin)、左氧氟沙星(levofloxacin)、環丙沙星(ciprofloxacin)、氧氟沙星(ofloxacin)及托普黴素(tobramycin)。在一些實施例中，第二治療劑為非類固醇消炎藥(NSAID)。NSAID之非限制性實例包括阿司匹林(aspirin)、雙水楊酸酯(salsalate)、塞內昔布(celecoxib)、雙氯芬酸(diclofenac)、依託度酸(etodolac)、布洛芬(ibuprofen)、吲哚美辛(indomethacin)、酮基布洛芬(ketoprofen)、酮咯酸(ketorolac)、萘丁美酮(nabumetone)、萘普生(naproxen)、奧沙普嗪(oxaprozin)、吡羅昔康(piroxicam)、舒林酸

(sulindac)及托美丁(tolmetin)。在一些實施例中，第二治療劑為經眼類固醇。經眼類固醇之非限制性實例包括地塞米松眼用(Maxidex®)、二氟潑尼酯眼用(Durezol®)、氟米龍眼用(Flarex®、FML®、FML Liquifilm®、FML Forte®)、氯替潑諾眼用(Alrex®、Lotemax®)、普賴蘇穠乙酸鹽眼用(Omnipred®、Pred Forte®、Pred Mild®)、普賴蘇穠磷酸鈉眼用及利美索龍眼用(Vexol®)。在一些實施例中，第二治療劑為局部麻醉劑。局部麻醉劑之非限制性實例包括丙胺卡因(prilocaine)、腎上腺素(epinephrine)、利多卡因(lidocaine)、布比卡因(bupivacaine)、龍托卡因(lontocaine)、奴佛卡因(novocain)、羅比卡因(ropivacaine)、普魯卡因(procaine)、阿美索卡因(amethocaine)、辛可卡因(cinchocaine)、甲哌卡因(mepivacaine)及依替卡因(etidocaine)。在一些實施例中，第二治療劑為另一生長因子。生長因子之非限制性實例包括上皮生長因子(EGF)、纖維母細胞生長因子(FGF)、類胰島素生長因子(IGF-1)、血小板衍生生長因子(PDGF)、角質細胞生長因子(KGF)、轉型生長因子(TGF)、血管內皮生長因子及粒細胞－巨噬細胞群落刺激因子(GM-CSF)、神經營養素及神經生長因子(NGF)、腫瘤壞死因子- α (TNF- α)及介白素。

【0088】

醫藥組合物及調配物

維持多肽對熱應力之穩定性及最小化可見微粒及可溶性聚集體之形成在包含多肽之醫藥組合物，尤其主要包含需要長期儲存之水溶液的醫藥組合物之研發中至關重要。參見以下參考文獻，其中HGF及相關蛋白質與各種穩定劑一起調配：WO 90/10651WO00/72873 (歐洲專利第1180368號)、JP-A 9-25241 (美國專利第7,173,008號)、WO 2008/102849 (美國專

利第8461112號)及US 10213485。儘管蛋白質聚集及熱穩定性問題可能在一定程度上使用如先前技術中所描述之此類凍乾HGF調配物規避，但此使在產生包含HGF之醫藥組合物時冷凍乾燥單元操作成為必要，其在該方法中產生額外製造成本及複雜性。此外，凍乾HGF調配物在給藥及投與之前需要復原。因此，穩定溶液為有利的。

【0089】 在本發明之一些實施例中，HGF(及/或FGF)調配於液體醫藥組合物中。在一些實施例中，醫藥組合物為水性醫藥組合物。如本文中所示，「水性醫藥調配物」係指基於水之液體。在一些實施例中，水性醫藥組合物包含蒸餾水。在一些實施例中，該水性醫藥組合物包含去離子水。在一些實施例中，該水性醫藥組合物包含無菌水。在一些實施例中，水性醫藥組合物包含注射用水(WFI)。在一些實施例中，液體醫藥組合物調配為滴眼劑。在一些實施例中，液體醫藥組合物調配為溶液。在一些實施例中，液體醫藥組合物調配為懸浮液。在一些實施例中，HGF與另一治療劑一起調配於液體醫藥組合物中。在一些實施例中，將HGF與另一治療劑一起調配為滴眼劑。在一些實施例中，將HGF與另一治療劑一起調配為溶液。

【0090】 本發明之多肽或其衍生物的醫藥調配物可藉由將具有所需純度之多肽或其衍生物與呈凍乾濾餅或水溶液形式之視情況醫藥學上可接受之載劑、賦形劑、張力調節劑或穩定劑混合來製備用於儲存(參見例如 *Remington's Pharmaceutical Sciences*, 第43章, 第14版., Mack Publishing Co, Easton Pa. 18042, USA)。可接受之載劑、賦形劑、張力調節劑或穩定劑在所利用之劑量及濃度下對於接收者來說無毒性且包括諸如磷酸鹽、檸檬酸鹽、丁二酸鹽及其他有機酸之緩衝劑，其中該術語「緩衝劑」係指

弱酸與其共軛鹼之混合物，或反之亦然，亦即用於使溶液之pH維持在幾乎恆定值下；抗氧化劑，包括抗壞血酸；低分子量(低於約10個殘基)多肽；蛋白質，諸如血清白蛋白、明膠或免疫球蛋白；親水性聚合物，諸如聚乙烯吡咯啉酮(PVP)及聚乙二醇(PEG)；胺基酸，諸如甘胺酸、麩醯胺、天冬醯胺、精胺酸、組胺酸、脯胺酸或離胺酸；單醣、雙醣及其他碳水化合物化合物，包括葡萄糖、甘露糖、蔗糖、海藻糖或糊精；螯合劑，諸如EDTA；糖醇，諸如甘露糖醇或山梨糖醇；成鹽抗衡離子，諸如鈉或鉀；及/或非離子界面活性劑或共溶劑，諸如聚山梨醇酯及泊洛沙姆；張力調節劑，諸如氯化鈉、氯化鉀、甘露糖醇、右旋糖、丙三醇及氯化鎂。

【0091】 在一些實施例中，本發明之調配物基本上不含張力調節劑。在一些實施例中，本發明之調配物基本上不含氯化物鹽，諸如氯化鈉、氯化鉀及氯化鎂。

【0092】 在一些實施例中，包含HGF (及/或FGF)之醫藥調配物的pH為約5.5至約7.5。在一些實施例中，醫藥調配物之pH為約5.5至約6.0。在一些實施例中，醫藥調配物之pH為約5.8至約6.2。在一些實施例中，醫藥調配物之pH為約6.0至約6.5。在一些實施例中，醫藥調配物之pH為約6.5至約7.0。在一些實施例中，醫藥調配物之pH為約7.0至約7.5。在一些實施例中，醫藥調配物之pH為約6.0。在一些實施例中，醫藥調配物之pH為約6.5。在一些實施例中，醫藥調配物之pH為約7.0。

【0093】 在一些實施例中，本發明之醫藥調配物進一步包含緩衝劑。在一些實施例中，緩衝劑係選自乙酸鹽、檸檬酸鹽、麩胺酸鹽、組胺酸、丁二酸鹽、酒石酸鹽及Tris (羥基甲基)胺基甲烷(Tris)。在一些實施例中，緩衝劑為檸檬酸鹽緩衝劑，諸如檸檬酸鈉(例如，二水合檸檬酸

鈉)。在一些實施例中，緩衝劑為乙酸鹽緩衝劑。在一些實施例中，緩衝劑為丁二酸鹽緩衝劑。在一些實施例中，緩衝劑為酒石酸鹽緩衝劑。在一些實施例中，緩衝劑為麩胺酸緩衝劑。在一些實施例中，緩衝劑為Tris。在一些實施例中，緩衝劑以約10 mM至約100 mM存在。在一些實施例中，緩衝劑以約20 mM至約50 mM存在。在一些實施例中，緩衝劑以約20 mM存在。

【0094】 在一些實施例中，本發明之醫藥調配物進一步視情況包含張力調節劑。在一些實施例中，醫藥調配物實質上不含張力調節劑。在一些實施例中，張力調節劑為鹼金屬鹽，諸如氯化鈉(NaCl)或氯化鉀(KCl)。在一些實施例中，張力調節劑為氯化鈣(CaCl_2)。在一些實施例中，張力調節劑為甘露糖醇。在一些實施例中，張力調節劑為海藻糖(例如，二水合海藻糖)。在一些實施例中，張力調節劑以約0.1至約1.0 M、約0.2至約0.8 M、約0.3 M、約0.4 M、約0.5 M、約0.6 M、約0.7 M或約0.75 M存在。在一些實施例中，調配物之滲透壓為約200至約500 mOsm/kg H_2O 、約200至約300 mOsm/kg H_2O 、約250至約350 mOsm/kg H_2O 、約350至約400 mOsm/kg H_2O 、約400至約450 mOsm/kg H_2O 或約450 mOsm/kg H_2O 至約500 mOsm/kg H_2O 。在一些實施例中，調配物之滲透壓為約300 mOsm/kg H_2O 。在一些實施例中，調配物之滲透壓為約350 mOsm/kg H_2O 。在一些實施例中，調配物之滲透壓為約400 mOsm/kg H_2O 。在一些實施例中，調配物之滲透壓為約425 mOsm/kg H_2O 。在一些實施例中，調配物之滲透壓為約450 mOsm/kg H_2O 。在一些實施例中，調配物之滲透壓為約475 mOsm/kg H_2O 。在一些實施例中，調配物之滲透壓為約500 mOsm/kg H_2O 。

【0095】 在一些實施例中，本發明之醫藥調配物進一步包含一或多種穩定劑。在一些實施例中，一或多種穩定劑係選自山梨糖醇、海藻糖、蔗糖、丙胺酸、甘胺酸、脯胺酸、麩胺酸及精胺酸。在一些實施例中，一或多種穩定劑選自山梨糖醇、脯胺酸及海藻糖。在一些實施例中，一或多種穩定劑係選自脯胺酸、精胺酸及海藻糖。在一些實施例中，一或多種穩定劑選自麩胺酸、脯胺酸及海藻糖。在一些實施例中，一或多種穩定劑係選自精胺酸、麩胺酸及海藻糖。在一些實施例中，一或多種穩定劑係選自精胺酸、脯胺酸及山梨糖醇。在一些實施例中，一或多種穩定劑係選自麩胺酸、脯胺酸及山梨糖醇。在一些實施例中，一或多種穩定劑選自精胺酸、麩胺酸及山梨糖醇。在一些實施例中，一或多種穩定劑為精胺酸及海藻糖。在一些實施例中，一或多種穩定劑為山梨糖醇及海藻糖。在一些實施例中，一或多種穩定劑為脯胺酸及海藻糖。在一些實施例中，一或多種穩定劑為精胺酸及山梨糖醇。在一些實施例中，一或多種穩定劑為麩胺酸及山梨糖醇。在一些實施例中，一或多種穩定劑為脯胺酸及山梨糖醇。在一些實施例中，該穩定劑為海藻糖。在一些實施例中，該穩定劑為脯胺酸。在一些實施例中，穩定劑為精胺酸。在一些實施例中，該穩定劑為山梨糖醇。

【0096】 在一些實施例中，本發明之醫藥調配物實質上不含蔗糖、丙胺酸及甘胺酸。在一些實施例中，醫藥調配物實質上不含蔗糖。在一些實施例中，醫藥調配物實質上不含丙胺酸。在一些實施例中，醫藥調配物實質上不含甘胺酸。

【0097】 在一些實施例中，穩定劑以約100 mM至約500 mM之濃度存在於調配物中。在一些實施例中，穩定劑以約150 mM至約250 mM之濃

度存在。在一些實施例中，穩定劑以約200 mM之濃度存在。

【0098】 在一些實施例中，本發明之醫藥調配物進一步視情況包含界面活性劑。在一些實施例中，界面活性劑選自聚山梨醇酯80 (PS80)、聚山梨醇酯20 (PS20)、泊洛沙姆188 (P188)及泊洛沙姆407 (P407)。在一些實施例中，界面活性劑為聚山梨醇酯80。在一些實施例中，界面活性劑以約0.02%至約0.07% (w/v)存在。在一些實施例中，界面活性劑以約0.04%至約0.06% (w/v)存在。在一些實施例中，界面活性劑以約0.05% (w/v)存在。

【0099】 在一些實施例中，本發明之醫藥組合物包含：

- (i) 約0.1% (w/v)至約1.0% (w/v) HGF；
- (ii) 可使該組合物之pH維持在約5.8至約6.2之緩衝劑；
- (iii) 約100至約300 mM海藻糖、脯胺酸、山梨糖醇或其混合物；
- (iv) 視情況選用之張力調節劑，其可提供約250 mOsm/kg H₂O至約500 mOsm/kg H₂O之組合物的滲透壓；及
- (v) 視情況選用之界面活性劑。

【0100】 在一些實施例中，本發明之醫藥組合物包含：

- (i) 約0.1%至約0.5% (w/v) HGF；
- (ii) 可使該組合物之pH維持在約5.8至約6.2之緩衝劑；
- (iii) 約100至約300 mM海藻糖、脯胺酸、山梨糖醇或其混合物；
- (iv) 視情況選用之張力調節劑，其可提供約250 mOsm/kg H₂O至約500 mOsm/kg H₂O之組合物的滲透壓；及
- (v) 視情況選用之界面活性劑。

【0101】 在一些實施例中，本發明之醫藥組合物包含：

(i) 約0.1% (w/v) HGF；

(ii) 可使該組合物之pH維持在約5.8至約6.2之緩衝劑；

(iii) 約100至約300 mM海藻糖、脯胺酸、山梨糖醇或其混合物；

(iv) 視情況選用之張力調節劑，其可提供約250 mOsm/kg H₂O至約500 mOsm/kg H₂O之組合物的滲透壓；及

(v) 視情況選用之界面活性劑。

【0102】 在一些實施例中，本發明之醫藥組合物包含：

(i) 約0.2% (w/v) HGF；

(ii) 可使該組合物之pH維持在約5.8至約6.2之緩衝劑；

(iii) 約100至約300 mM海藻糖、脯胺酸、山梨糖醇或其混合物；

(iv) 視情況選用之張力調節劑，其可提供約250 mOsm/kg H₂O至約500 mOsm/kg H₂O之組合物的滲透壓；及

(v) 視情況選用之界面活性劑。

【0103】 在一些實施例中，本發明之醫藥組合物包含：

約0.1% (w/v) HGF；

約20 mM檸檬酸鈉；

約200 mM海藻糖、脯胺酸或山梨糖醇；

約0.05% (w/v)界面活性劑；

其中該組合物之pH為約6.0。

【0104】 在一些實施例中，本發明之醫藥組合物包含：

約0.1% (w/v) HGF；

約20 mM檸檬酸鈉；

約200 mM海藻糖；

約0.05% (w/v)聚山梨醇酯80 (PS80)；

其中該組合物之pH為約6.0。

【0105】 在一些實施例中，本發明之醫藥組合物包含：

約0.1% (w/v) HGF；

約20 mM檸檬酸鈉；

約200 mM脯胺酸；

約0.05% (w/v)聚山梨醇酯80 (PS80)；

其中該組合物之pH為約6.0。

【0106】 在一些實施例中，本發明之醫藥組合物包含：

約0.1% (w/v) HGF；

約20 mM檸檬酸鈉；

約200 mM山梨糖醇；

約0.05% (w/v)聚山梨醇酯80 (PS80)；

其中該組合物之pH為約6.0。

【0107】 在一些實施例中，本發明之醫藥組合物包含：

約0.2% (w/v) HGF；

約20 mM檸檬酸鈉；

約200 mM海藻糖、脯胺酸或山梨糖醇；

約0.05% (w/v)界面活性劑；

其中該組合物之pH為約6.0。

【0108】 在一些實施例中，本發明之醫藥組合物包含：

約0.2% (w/v) HGF；

約20 mM檸檬酸鈉；

約200 mM海藻糖；

約0.05% (w/v)聚山梨醇酯80 (PS80)；

其中該組合物之pH為約6.0。

【0109】 在一些實施例中，本發明之醫藥組合物包含：

約0.2% (w/v) HGF；

約20 mM檸檬酸鈉；

約200 mM脯胺酸；

約0.05% (w/v)聚山梨醇酯80 (PS80)；

其中該組合物之pH為約6.0。

【0110】 在一些實施例中，本發明之醫藥組合物包含：

約0.2% (w/v) HGF；

約20 mM檸檬酸鈉；

約200 mM山梨糖醇；

約0.05% (w/v)聚山梨醇酯80 (PS80)；

其中該組合物之pH為約6.0。

【0111】 在一些實施例中，本發明之醫藥組合物包含：

約0.1% (w/v) HGF；

約20 mM檸檬酸鈉；

約200 mM海藻糖、脯胺酸或山梨糖醇；

約0.05% (w/v)界面活性劑；

其中該組合物之pH為約6.0，且該組合物之滲透壓為約350 mOsm/kg

H₂O。

【0112】 在一些實施例中，本發明之醫藥組合物包含：

約0.1% (w/v) HGF；

約20 mM檸檬酸鈉；

約200 mM海藻糖；

約0.05% (w/v)聚山梨醇酯80 (PS80)；

其中該組合物之pH為約6.0，且該組合物之滲透壓為約350 mOsm/kg H₂O。

【0113】 在一些實施例中，本發明之醫藥組合物包含：

約0.1% (w/v) HGF；

約20 mM檸檬酸鈉；

約200 mM脯胺酸；

約0.05% (w/v)聚山梨醇酯80 (PS80)；

其中該組合物之pH為約6.0，且該組合物之滲透壓為約350 mOsm/kg H₂O。

【0114】 在一些實施例中，本發明之醫藥組合物包含：

約0.1% (w/v) HGF；

約20 mM檸檬酸鈉；

約200 mM山梨糖醇；

約0.05% (w/v)聚山梨醇酯80 (PS80)；

其中該組合物之pH為約6.0，且該組合物之滲透壓為約350 mOsm/kg H₂O。

【0115】 在一些實施例中，本發明之醫藥組合物包含：

約0.2% (w/v) HGF；

約20 mM檸檬酸鈉；

約200 mM海藻糖、脯胺酸或山梨糖醇；

約0.05% (w/v)界面活性劑；

其中該組合物之pH為約6.0，且該組合物之滲透壓為約450 mOsm/kg H₂O。

【0116】 在一些實施例中，本發明之醫藥組合物包含：

約0.2% (w/v) HGF；

約20 mM檸檬酸鈉；

約200 mM海藻糖；

約0.05% (w/v)聚山梨醇酯80 (PS80)；

其中該組合物之pH為約6.0，且該組合物之滲透壓為約450 mOsm/kg H₂O。

【0117】 在一些實施例中，本發明之醫藥組合物包含：

約0.2% (w/v) HGF；

約20 mM檸檬酸鈉；

約200 mM脯胺酸；

約0.05% (w/v)聚山梨醇酯80 (PS80)；

其中該組合物之pH為約6.0，且該組合物之滲透壓為約450 mOsm/kg H₂O。

【0118】 在一些實施例中，本發明之醫藥組合物包含：

約0.2% (w/v) HGF；

約20 mM檸檬酸鈉；

約200 mM山梨糖醇；

約0.05% (w/v)聚山梨醇酯80 (PS80)；

其中該組合物之pH為約6.0，且該組合物之滲透壓為約450 mOsm/kg H₂O。

【0119】 在一些實施例中，HGF與角膜基質滲透賦形劑組合投與。基質滲透賦形劑為可增強治療劑遞送穿過角膜層(主要為上皮)的化合物(Moiseev等人., 2019, *Pharmaceutics*, 11:321-354)。此等化合物當包括於醫藥組合物中且局部投與至眼睛時能夠修改淚膜、黏液層或眼部膜，由此增加治療劑之角膜滲透性。基質滲透賦形劑之非限制性實例包括環糊精(CD)，包括 α -、 β -及 γ -CD；螯合劑，諸如乙二胺-N,N,N',N'-四乙酸(EDTA)、乙二醇-雙(β -胺基乙基)-N,N,N',N'-四乙酸(EGTA)、1,2-雙(o-胺基苯氧基)乙烷-N,N,N',N'-四乙酸(BAPTA)及乙二胺-N,N,N',N'-二丁二酸(EDDS)；冠醚、界面活性劑、膽酸及膽汁鹽及細胞穿透肽。用於活體內投與之HGF較佳為無菌的。此可容易地藉由經由無菌過濾膜過濾HGF水溶液來實現。HGF或其變異體通常以凍乾形式或以溶液形式儲存。

【0120】 應瞭解，為清楚起見而在單獨實施例之上下文中所描述的本發明之某些特徵亦可以組合形式提供於單一實施例中。相反，為了簡便起見而描述於單個實施例之上下文中之本發明的各種特徵亦可分開或以任何適合的子組合形式提供。

【0121】

實例

實例 1：UniProtKB 上可用之人類 HGF 同功型的胺基酸序列 (uniprot.org/uniprot/P14210)

SEQ ID NO:1.智人HGF同功型3之胺基酸序列；(標識符：P14210-3，寄存編號NP_001010932.1) (dHGF)

MWVTKIJJPAJJJ.QIIVTJJJJJJJJPAJJYAAEQKRRNTTMMQKKSAKTITJJKIJJPAJJKIKTKKV
NTAADQCANRCIRNKGEJPICTKAAVVDKAKRKQCIWDPIINSMSSGVKKIDGIMQJDDYANKIDYIRNC
IIGKGRSYKGTIVSTTKSGIKCQIPWSSMIPIIMJISYRGKIDQINNYCRNIPRGIDGGIPWCIPTSNIPVIR
YIVCIDIPQCSIIVICMTICNGISYRGIMDITTSKGI CQIRWDDQITPIIRRIKIPIPIRYIPDKGPIIDNYCR
NIPDGOPIRIWICYITIDPIIRWICYCAIKTICADNIMNDITDVIPIPICTIQGQGIKYRGIVNTIWNGITP
CQIRWDSQYPIIMIMMIPINIKCKIDIRINNYCRNIPDGSISIPWCIPTITDIPNIRVGYCSQIPNCIDMSHIGQ
IDCYRGENGKNYMGNI.SQIRSGITCSMWIDKNMIDIDIRIIPWIPDASKIDINNYCRNIPIDIDANIGPWCY
TGNIPITPWICYPTSRCEGIDITPTITVNIIDMPVISC AKITKQIRVVNGIPIRTITNGMMVSTIRYRNKI
ICGGSIJKISWVITARQCIPISRIDIKDNYCAWI.GIDMDVIGRGIDKCKQVINVSQIVYGIPIKGSIDIVI
MKIARIPAVIJDMPVSTITIDIPNYGCTITPIKITS CSVYGWGYTGTINYNIGIIRVADITYIMGNIKCSQI
IIRGKVITINISIKICAGAIKIGSGIPCIGDYGGPIVCIQIIMRMVIGVITVPIGRGCAIPNRIPIPIVRV
AYYAKWIIDKIITTYKVIQS

SEQ ID NO:2. 智人HCGF10功型1之胺基酸序列：(標識符：IP14210.

1，寄存編號：NIP_000592.3)

MWVTKIJJPAJJJ.QIIVTJJJJJJJJPAJJYAAEQKRRNTTMMQKKSAKTITJJKIJJPAJJKIKTKKV
NTAADQCANRCIRNKGEJPICTKAAVVDKAKRKQCIWDPIINSMSSGVKKIDGIMQJDDYANKIDYIRNC
IIGKGRSYKGTIVSTTKSGIKCQIPWSSMIPIIMJISIPSSYRGKIDQINNYCRNIPRGIDGGIPWCIPTS
NIPVIRYIVCIDIPQCSIIVICMTICNGISYRGIMDITTSKGI CQIRWDDQITPIIRRIKIPIPIRYIPDKGPIID
NYCRNIPDGOPIRIWICYITIDPIIRWICYCAIKTICADNIMNDITDVIPIPICTIQGQGIKYRGIVNTI
WNGITPCQIRWDSQYPIIMIMMIPINIKCKIDIRINNYCRNIPDGSISIPWCIPTITDIPNIRVGYCSQIPNCID
MSHIGQIDCYRGENGKNYMGNI.SQIRSGITCSMWIDKNMIDIDIRIIPWIPDASKIDINNYCRNIPIDIDAN
IGPWCYTGNIPITPWICYPTSRCEGIDITPTITVNIIDMPVISC AKITKQIRVVNGIPIRTITNGMMVSTIR
YRNKIICGGSIJKISWVITARQCIPISRIDIKDNYCAWI.GIDMDVIGRGIDKCKQVINVSQIVYGIPIK
GSIDIVIMKIARIPAVIJDMPVSTITIDIPNYGCTITPIKITS CSVYGWGYTGTINYNIGIIRVADITYIMGNI
KCSQIIRGKVITINISIKICAGAIKIGSGIPCIGDYGGPIVCIQIIMRMVIGVITVPIGRGCAIPNRIPIPI
VRVAYYAKWIIDKIITTYKVIQS

SEQ ID NO:3. 智人HCGF10功型2之胺基酸序列 (標識符：IP14210.

2，寄存編號：NIP_001010931.1)：

MWVTKIJJPAJJJ.QIIVTJJJJJJJJPAJJYAAEQKRRNTTMMQKKSAKTITJJKIJJPAJJKIKTKKV
NTAADQCANRCIRNKGEJPICTKAAVVDKAKRKQCIWDPIINSMSSGVKKIDGIMQJDDYANKIDYIRNC
IIGKGRSYKGTIVSTTKSGIKCQIPWSSMIPIIMJISIPSSYRGKIDQINNYCRNIPRGIDGGIPWCIPTS
NIPVIRYIVCIDIPQCSIIVICMTICNGISYRGIMDITTSKGI CQIRWDDQITPIIRRIKIPIPIRYIPDKGPIID
NYCRNIPDGOPIRIWICYITIDPIIRWICYCAIKTICET

SEQ ID NO:4. 智人HCGF10功型4之胺基酸序列(標識符：IP14210. 4)：

MMWVTKIJJPAJJJ.QIIVTJJJJJJJJPAJAJPYAKGQIKRNRNTTMMQKKSAKTITTAJKIDDPAAJKIKKKV
NTTADQCANRCITRNKGIJPTTCKAJVITDKARKQCTWITPINSMSSEGVKKQJGMDQJDTYANKIYYTRNC
ITGKGRSYKGTVSTTKSGTKCQIPWSSMTIMJISITJSSSYRGKIDQINYCRNIPRGJGGIPWCITTS
NIPVRYVVCIDIPQCSIYVKCMTCNGISYRGIMJIMJISGKICQRWIDQITIMRUKITJPRYIPDKGID
DNYCRNIPDGQIPRPWCYTITIMJIMJIRWICYCAIKNMIDITWAIN

SEQ ID NO:5. 智人HICF同功型5之胺基酸序列(標識符：IP14210.

5，NIP (001010933.1)：

MMWVTKIJJPAJJJ.QIIVTJJJJJJJJPAJAJPYAKGQIKRNRNTTMMQKKSAKTITTAJKIDDPAAJKIK
TKKVNNTTADQCANRCITRNKGIJPTTCKAJVITDKARKQCTWITPINSMSSEGVKKQJGMDQJDTYANKIYY
TRNCITGKGRSYKGTVSTTKSGTKCQIPWSSMTIMJISITJSSSYRGKIDQINYCRNIPRGJGGIPWCITTS
NIPVRYVVCIDIPQCSIYVKCMTCNGISYRGIMJIMJISGKICQRWIDQITIMRUKITJPRYIPDKGID
NYCRNIPDGQIPRPWCYTITIMJIMJIRWICYCAIKTCIT

SEQ ID NO:6. 智人HICF同功型6之胺基酸序列(標識符：IP14210.

6，NIP (001010934.1)：

MMWVTKIJJPAJJJ.QIIVTJJJJJJJJPAJAJPYAKGQIKRNRNTTMMQKKSAKTITTAJKIDDPAAJKIK
TKKVNNTTADQCANRCITRNKGIJPTTCKAJVITDKARKQCTWITPINSMSSEGVKKQJGMDQJDTYANKIYY
TRNCITGKGRSYKGTVSTTKSGTKCQIPWSSMTIMJISITJSSSYRGKIDQINYCRNIPRGJGGIPWCITTS
NIPVRYVVCIDIPQCSIEK

SEQ ID NO: 7. HICF變異體：

MMWVTKIJJPAJJJ.QIIVTJJJJJJJJPAJAJPYAKGQIKRNRNTTMMQKKSAKTITTAJKIDDPAAJKIK
TKKANNTTADQCANRCITRSKGIJPTTCKAJVITDKARKRCITWITPINSMSSEGVKKQJGMDQJDTYAN
NKIYYTRDCTTGKGRSYRGTVSTTKSGTKCQIPWSAMTIMJISITJSSSYRGKIDQINYCRNIP
RGJGGIPWCYTISIDIPVRYVVCIDIPQCSIYVKCMTCNGISYRGIMJIMJISGKICQRWIDQIT
IMRUKITJPRYIPDKGIDDNYCRNIPDGQIPRPWCYTITIMJIMJIRWICYCAIKTCADNTMNDITVIT
KITTCTQGQGGYRGTVNTTWNGITPCQRWDSQYIPMAMITPITNPKCKIDQINYCRNIPDGS
KSPWCITITIDPNIRVGYCSQIPNCIDMSIGQIDCYRGNGKNYMGNTSQTRSGITCSMWIDKNMD
IDIMJITPWQIDASKIDQINYCRNIPIDIDAJGIPWCYTGNITJPPWIDYCTISRCIKGIDITPTVNT
IDIMPVTSACKIKQIJRVNGITPTRTNIGWMSIJRYRNKIIICGGSTIKKISWVITPARQCIPSRID
IKIYYAWIGIMDVJIGRGIDKCKQVINVSQIVYGPISGIDVIMKIDARPAVIDIDVSTTIDIP
NYGCITIPKITSCSVYGWGYTGTJNYDGIJRVANITYIMGNIDKCSQIMDRGVITIDSKITCAG
ADKIGSGIPCHIDYGGIPVCIQIDKMRMVI.GVIVPGRGCADIPNRPGLVIRVAYYAKWIDKID
ITTYKVIQS

SEQ ID NO: 8. HICF變異體：

MMVYTKJAJPAJAJ.QJNVJAJJAJAJPAJAPYAMGQJRKRRNTJMDQKKSAKTJTAJKTJDPATJKTK
TJJKANTJADQCANRCTJRNKGTJPTJCKAJVJTDKARKRCJAWJJPVNSMSSGVKKQJFGMDQJNJYJ
NKJDYJRNCTJVGNGRSYRGJVSJTJTKSGJTKCQJPSAMJJPBJJJSJTAJSSSYRGJQJNJRNJNYCJRNJ
RGJQGGJWJCYTJSJJPVJRYJVCJJPQCSJAVJCMJFCNGJSSYRGJMDJHJSGKJCQRWJNQJJP
JRNJKTJTAJRYJPDKGTJNDJNYCJRNJPDGQJRIJWJCYTJTDJHJRWJYCAJKTJCAJDNJMNJTDVJTA
JHTJCTJQGQJEGYRGJTVNJTJWNGJPCQRWJDSQYJPDJHJMTJPNJCKKJTDJRNJNYCJRNJPDGS
JSPWCTJTJTDJNJRJVGJCSQJDPNCJMSJHGQJDCYJRGNGKNJYMGNTJSQJRSJGTJCSMWJDKNMD
JTDJHJHJWJPDASKJTDJNYCJRNJPDJHJAJGJWJCYTJGNJTJDPWJYCPJSRJCGJDNJTJTVNJ
JHJPVJSCAKJTKQJRVVNGJTPJRNJTJGWMVSTJRYRNKJHJCGGSTJJKJSWVJTJARQJCTPSRJ
TKJDYJAWJGJMDJHJGRGJDKCKQJNVJNSQJYJYJGJPGSJAVJMKJARJPAVJNDJVSJTJTDJ
NYGCTJTPJKTJSCSVJGWGYTJGTJNYJGJJRVAJHJYJMGNTJCSQJHJRGKVJTJHJSKJTCAG
AJKTJGSGJPCJGJYGGJTJVCJQJHJMRMVJGVJVPJRGCAJPNJRPJTJVRVAYYAKWJHJKTJ
TJYKJVPQS

SEQ ID NO: 9. HCGF變異體：

MMVYTKJAJPAJAJ.QJNVJAJJAJAJPAJAPYAMGQJRKRRNTJMDQKKSAKTJTAJKTJDPATJKTK
TJJKANTJADQCANRCTJRSKGTJPTJCKAJVJTDKARKRCJAWJJPNSMSSGVKKQJFGMDQJNJYJ
NKJDYJRDCTJVGNGRSYRGJVSJTJTKSGJTKCQJPSAMJJPBJJJSJTAJSSSYRGJQJNJRNJNYCJRNJ
RGJQGGJWJCYTJSJJPVJRYJVCJJPQCSJAVJCMJFCNGJSSYRGJMDJHJSGKJCQRWJNQJJP
JRNJKTJTAJRYJPDKGTJNDJNYCJRNJPDGQJRIJWJCYTJTDJHJRWJYCAJKTJCAJDNJMNJTDVJTA
JHTJCTJQGQJEGYRGJTVNJTJWNGJPCQRWJDSQYJPDJHJMTJPNJCKKJTDJRNJNYCJRNJPDGS
JSPWCTJTJTDJNJRJVGJCSQJDPNCJMSJHGQJDCYJRGNGKNJYMGNTJSQJRSJGTJCSMWJDKNMD
JTDJHJHJWJPDASKJTDJNYCJRNJPDJHJAJGJWJCYTJGNJTJDPWJYCPJSRJCGJDNJTJTVNJ
JHJPVJSCAKJTKQJRVVNGJTPJRNJTJGWMVSTJRYRNKJHJCGGSTJJKJSWVJTJARQJCTPSRJ
TKJDYJAWJGJMDJHJGRGJDKCKQJNVJNSQJYJYJGJPGSJAVJMKJARJPAVJNDJVSJTJTDJ
NYGCTJTPJKTJSCSVJGWGYTJGTJNYJGJJRVAJHJYJMGNTJCSQJHJRGKVJTJHJSKJTCAG
AJKTJGSGJPCJGJYGGJTJVCJQJHJMRMVJGVJVPJRGCAJPNJRPJTJVRVAYYAKWJHJKTJ
TJYKJVPQS

SEQ ID NO: 10. HCGF變異體：

MWVYTKTJAJATJAJQJNVJAJJJAJJAJAJPYAKGQGRKRNJAJMDQKKSATJAJTJAKJDDPAJAKK
TJAKAJDPAJQCANRCTRSKGTJAJTCKAJVJDKAJRKQCTJWJAJNSMSSGVKKQJGMDQJNDJYK
NKJYJRDCTVGNGRSYRGJVSVTJCSGTJCKQJWSSMTJAJJISJAJSSSYRGJAJJAJNYCRNJ
RGJGEGJWGYTSDJAJVRYJVCJAJQCSJVKCMJCNGBSYRGJMDJAJSGKJCQRWJNQJAJ
JRIJKJAJAJRYJDKGJAJNYCRNJAJGQJAJWGYTJAJJAJRWJYCAJKTCAJNJTJMNJAJNVJAJ
JAJTJCTJQGQJGYRGJVNJTJWNGJAJCQRWDSQYJAJAJMTJAJAJKCKJAJAJNYCRNJAJGS
JAJWCTJAJAJNJAARGYCSQJAJNCJMSJGQJCYRGNKKNYMGNTJSQJRSJAJCSMWJKNMDJ
AJAJAJAJWJAJASKJAJNYCRNJAJAJAJGJWGYTJGNJAJAJWJYCPJAJSRCAJGJAJAJTJVNJAJ
AJAJVJSCAKJTKQJAJVVNGJAJAJTJAJGMMVSTJRYRNKJAJCGGSTJAJKASWVJAJARQCTJAJSRJ
AJKJYJAWJGJAJVJGRGJAJKCKQVJNVSQJVGJAJGSDJAJAJKJAJRPAVJAJAJVSTJAJAJ
NYGCTJAJAJKJAJSCSVYGWGYTJGJAJNYJGJAJRVAJAJYJAJMGNTJAJCSQJAJRGRVJAJAJKJAJCAG
AJKJCSGJAJGJYGGJAJVCJAJQJAJMMVJAJGVJAJGRGCAJAJAJRPGJAJVRVAYYAKWJAJKJAJ
AJYKVPQS

SEQ ID NO: 11. 序列變異體：

MWVYTKTJAJATJAJQJNVJAJJJAJJAJAJPYAKGQGRKRNJAJMDQKKSATJAJTJAKJDDPAJAKK
TJAKAJDPAJQCANRCTRSKGTJAJTCKAJVJDKAJRKQCTJWJAJNSMSSGVKKQJGMDQJNDJYK
NKJYJRDCTVGNGRSYRGJVSVTJCSGTJCKQJWSSMTJAJJISJAJSSSYRGJAJJAJNYCRNJ
WJGJGEGJWGYTSDJAJVRYJVCJAJQCSJVKCMJCNGBSYRGJMDJAJSGKJCQRWJNQJAJ
JRIJKJAJAJRYJDKGJAJNYCRNJAJGQJAJWGYTJAJJAJRWJYCAJKTCAJNJTJMNJAJNVJAJ
JAJTJCTJQGQJGYRGJVNJTJWNGJAJCQRWDSQYJAJAJMTJAJAJAJKCKJAJAJNYCRNJAJGS
JAJWCTJAJAJNJAARGYCSQJAJNCJMSJGQJCYRGNKKNYMGNTJSQJRSJAJCSMWJKNMDJ
AJAJAJAJWJAJASKJAJNYCRNJAJAJAJGJWGYTJGNJAJAJWJYCPJAJSRCAJGJAJAJTJVNJAJ
AJAJVJSCAKJTKQJAJVVNGJAJAJTJAJGMMVSTJRYRNKJAJCGGSTJAJKASWVJAJARQCTJAJSRJ
AJKJYJAWJGJAJVJGRGJAJKCKQVJNVSQJVGJAJGSDJAJAJKJAJRPAVJAJAJVSTJAJAJ
NYGCTJAJAJKJAJSCSVYGWGYTJGJAJNYJGJAJRVAJAJYJAJMGNTJAJCSQJAJRGRVJAJAJKJAJCAG
AJKJCSGJAJGJYGGJAJVCJAJQJAJMMVJAJGVJAJGRGCAJAJAJRPGJAJVRVAYYAKWJAJKJAJ
AJYKVPQS

SEQ ID NO: 12. 序列變異體：

MMVVTKIAJPAIAJQIVIAJIIJAJJPAIAIPYAKGQIRKIRNITIMJIKKSAKITITIKIDIPAIKIK
ITKANTIAIQCANRCTIRSKGITPITCKAJVITDKARKRCIWDIPINSMSSGVKKIJGIDJIDYK
NKIDYIRNCITVGNGRSYRGIVSTITKSGITKQIPWSAMIPIDJISITJPSYQGIIDIRKINYCRNIP
RGITGGIPWCYTISIPVIRYIVCIDIPQCSIIVICMITCNGKSYRGITMIDITKSGKITCQRWDIQITP
IIRIJKITJIPJRYIPDKGITIDINYCRNIPDGQIPRPWCYTITIDIPIRWICYCAIKITCADNITMNDITDVITP
KITITCITQGGQIKGYRGITVNTITWNGITPCQIRWDSQYIPIDJIDMITIPINIKCKIDIRKINYCRNIPDGS
IKSIPWCITITIDIPNITRVGYCSQITPNCIDMSIJGQIDCYRGNGKNYMGNTISQITRSGITITCSMWIDKNMD
IDJIRIITIPWIPDASKITIDINYCRNIPIDJIDJIGIPWCYTIGNITIPWIDYCIPTSRCKGITITITITVNT
IDIPVITSCAKITKQIJRVVNGITPITRITNGWMVSTIRYRNKIIICGGSTIKKISWVITJARQCIPTSRID
ITKIDYIAWI.GIIMDVIIERGIDIKCKQVITNVSQITVYGIPIGSIDIVIMKITAIRPAVITIDIVSTITIDIP
NYGCTITIPKITSCSVYGWGYTIGITINYDGIJRVADITYIMGNIKCSQIIMIRGKVITIDIKSITCAG
AIPKITGSGIPCKGITGGIPITVCIQIIMIRMVITGVITVPIRGCAITPNIIPGITVIRVAYYAKWIDKII
ITITYKVIIPS

SEQ ID NO: 13. 序列變異體：

MMVVTKIAJPAIAJQIVIAJIIJAJJPAIAIPYAKGQIRKIRNITIMJIKKSAKITITIKIDIPAIKIK
ITKKNITIAIQCANRCTIRNKGITPITCKAJVITDKARKQCIWDIPINSMSSGVKKIJGIDJIDYK
NKIDYIRNCITGKGRSYKGIIVSTITKSGITKQIPWSSMIPIDJISITJPSYRGKIDIQKINYCRNIP
RGITGGIPWCITISNIPVIRYIVCIDIPQCSIIVICMITCNGKSYRGITMIDITKSGKITCQRWDIQITP
IIRIJKITJIPJRYIPDKGITIDINYCRNIPDGQIPRPWCYTITIDIPIRWICYCAIKITCADNITMNDITDVITP
KITITCITQGGQIKGYRGITVNTITWNGITPCQIRWDSQYIPIDJIDMITIPINIKCKIDIRKINYCRNIPDGS
IKSIPWCITITIDIPNITRVGYCSQITPNCIDMSIJGQIDCYRGNGKNYMGNTISQITRSGITITCSMWIDKNMD
IDJIRIITIPWIPDASKITIDINYCRNIPIDJIDJIGIPWCYTIGNITIPWIDYCIPTSRCKGITITITITVNT
IDIPVITSCAKITKQIJRVVNGITPITRITNGWMVSTIRYRNKIIICGGSTIKKISWVITJARQCIPTSRID
ITKIDYIAWI.GIIMDVIIERGIDIKCKQVITNVSQITVYGIPIGSIDIVIMKITAIRPAVITIDIVSTITIDIP
NYGCTITIPKITSCSVYGWGYTIGITINYDGIJRVADITYIMGNIKCSQIIMIRGKVITIDIKSITCAG
AIPKITGSGIPCKGITGGIPITVCIQIIMIRMVITGVITVPIRGCAITPNIIPGITVIRVAYYAKWIDKII
ITITYKVIIPS

SEQ ID NO: 14. 序列變異體：

SEQ ID NO: 15. HIGF變異體：

SEQ ID NO: 16. HGF變異體：

SEQ ID NO: 1%. HIGH變異性 :

[illegible]

SEQ ID NO: 18. HIGHER ORDER :

SEO ID NO: 19. HIGHER 變異性 :

MWVYTKJAJPAJJJQJIVJAJJJJJJJJPAJAPYAJ:GQKKJRNJTTJNJJKSVKJTTJJKJDDPAJJKK
 TTKANTTADQCANRCJTRSKGJJPJPTCKAJ-VJDDKARKRCJWDJPVNSMSSGVKKJ:SGJDDJDDJYJ:
 NKJYJURJDCJVGNGRSYRGJTVSTJTKSGJKCQJPWSAMJDDJJSJTTJPSYRGJDDJRNJNYCRNJ
 RGRJGGJWCYJTSJDDJVRJYJVCJDDJQCSJ:VJCMJTCNGJ:SYRGJMDJDDJ:SGKJTCQRWJDDJQJTT
 JNRJDKJTTJPRYJDKGJDDJNYCRNJDDJGQJPRJWCYJTTJDDJTRRWJYCAJKTJCAJDDJMNJDDJNVJTT
 KJTTCKJQGQGGJYRGJTVNJTJWNGJPCQRWJDSQJDDJDDJMTJPNJTKCKJDDJRNJNYCRNJDDJGS
 KSPWCJTTJDDJNTJRVGYCSQJDDJNCJMSJHGQJCYRGNGKJNYMGNTJSQLRSGJTTCSMWJDKNMJ:
 DDJNRJDDJWDJPAJASKJDDJNYCRNJDDJDDJANGJWCYJTCNJTTJDDJWDYCPJTSRCJGJDDJTTJTVNJT
 DDJVTJSCAKJTKQJTRVVNGJTPJTRJNTJGWMVSTJRYRNKJTTJCGGSTJJKJ:SWVJTJARQCJTPJSJDD
 TKJYJKAWTJGJDDJVJGRGJDKCKQVJNVSQJNYGJPPJGSJDDJVMKJAJRPAVJDDJ:VSTJTTJDDJ
 NYGCJTTJPKJTSJSVYGWGYJTGJNYJGJAJRVADJYJMGNDJKCSQJDDJRGKVJTTNDJ:SKJTCAG
 AJKTJGSGJPCJGJYGGJPTVJ:QJDKMRMVTJGVJVPJGRGCAJPNRJGJTVRVAYYAKWJDDJKTJ
 TTYKVP:OS

SEQ ID NO: 20. HGF變異體

MMVVTKTJAJPAJAJQJIVJAJJJJAJJPAJAJPYAJKGQJRKJRNJAJJJAKKSJAKJAJAJKJNDJPAJAJKJAJ
JAJKJANTJAJDQCANJRCJTRSGJAJJAJTCKAJVJAJDKAJRKRCJAJWJAJJNSMSSGVKKJAJGJNDJAJYJ
NKJDYJTRDCJIVGNJRSYRGJIVSTJTKSGJAJKQJWSSMJAJJJJISJAJJSSYRGJAJJAJNYCJRNJ
WGIJKEGGJWJCYJTSJAJVRYJVCJAJJQCSJAVJAJCMJTCNGJASYRGJAJJJJTKSGJAJCQJRWJAJQJAJ
JJRJJKJAJJAJRYJAJDKGJAJJNYCJRNJAJDQJPRJWJCYJAJJJJJTRWJAYCAJAJKJCAJNDJMNJAJJNVJAJ
JAJTJAJCJAJQGQJAJGYRGJIVNJAJWNGJAJCQJRWJDSQJYJAJJJJJMJAJJAJNJAJKCKJAJJAJNYCJRNJAJDGS
JAJSPWJAJAJAJJNDJRVGYCSQJAJJNCJMSJAJGQJAJCYRGNGKNYMGJAJNSQJTRSGJAJJCSMWJAJKNMJ
AJJJJJJJWJAJJASKJAJJNYCJRNJAJJJJJAJGJWJCYJAJGJNJAJJWJYCPJAJSRCKJAJJAJJAJVNI
AJJJVJAJSCAJAJKQJAJRVVNGJAJJAJRJAJGJWJMVSTAJRYRNKJAJJCGGSTAJAJKJAJSWVJAJAJRQJAJJPSRJ
AJKJDYJAJWJAJGJAJJJVJAJGRGJAJKCKQJAJNVSQJAJVYGPJAJGSJAJVJAJMKJAJAJPAVJAJJJVSTJAJJJ
NYGCJAJJAJKJAJSCSVYGWGYJAJGJAJNYDGTAJRVAJJAJYJAJMGJAJKCSQJAJJJRGKVJAJJAJKJAJCAG
AJAJKJAJGSGJAJCJAJGYGGJAJVCIJAJQJAJKJAJRMVJAJGVJAJVJAJGRGCAJAJJNJAJGJAJVRVAYYAKWJAJKJAJ
AJJYKJAJJQS

SEQ ID NO: 21. 序列變異體：

MMVVTKTJAJPAJAJQJIVJAJJJJAJJPAJAJPYAJKGQJRKJRNJAJJJAKKSJAKJAJAJKJNDJPAJAJKJAJ
JAJKJANTJAJDQCANJRCJTRSGJAJJAJTCKAJVJAJDKAJRKRCJAJWJAJJNSMSSGVKKJAJGJNDJAJYJ
NKJDYJTRDCJIVGNJRSYRGJIVSTJTKSGJAJKQJWSSMJAJJJJISJAJJSSYRGJAJJAJNYCJRNJ
RGJAJKEGGJWJCYJTSJAJVRYJVCJAJJQCSJAVJAJCMJTCNGJASYRGJAJJJJTKSGJAJCQJRWJAJQJAJ
JJRJJKJAJJAJRYJAJDKGJAJJNYCJRNJAJDQJPRJWJCYJAJJJJJTRWJAYCAJAJKJCAJNDJMNJAJJNVJAJ
JAJTJAJCJAJQGQJAJGYRGJIVNJAJWNGJAJCQJRWJDSQJYJAJJJJJMJAJJAJNJAJKCKJAJJAJNYCJRNJAJDGS
JAJSPWJAJAJAJJNDJRVGYCSQJAJJNCJMSJAJGQJAJCYRGNGKNYMGJAJNSQJTRSGJAJJCSMWJAJKNMJ
AJJJJJJJWJAJJASKJAJJNYCJRNJAJJJJJAJGJWJCYJAJGJNJAJJWJYCPJAJSRCKJAJJAJJAJVNI
AJJJVJAJSCAJAJKQJAJRVVNGJAJJAJRJAJGJWJMVSTAJRYRNKJAJJCGGSTAJAJKJAJSWVJAJAJRQJAJJPSRJ
AJKJDYJAJWJAJGJAJJJVJAJGRGJAJKCKQJAJNVSQJAJVYGPJAJGSJAJVJAJMKJAJAJPAVJAJJJVSTJAJJJ
NYGCJAJJAJKJAJSCSVYGWGYJAJGJAJNYDGTAJRVAJJAJYJAJMGJAJKCSQJAJJJRGKVJAJJAJKJAJCAG
AJAJKJAJGSGJAJCJAJGYGGJAJVCIJAJQJAJKJAJRMVJAJGVJAJVJAJGRGCAJAJJNJAJGJAJVRVAYYAKWJAJKJAJ
AJJYKJAJJQS

SEQ ID NO: 22. 序列變異體：

MWVTKTJJPATJAJ.QHVTJJJJJJJJPTAJJPYAKGQRKRNTTMDJ:KKSAKT'TTJKTDDPATJKT
TJ:KANT'AJDQCANRC'TRSJRTJP'T'CKAJ:VJ'DKARKRCJ.WJ'PJ:NSMSSGVKKJ'J'GJDDJ'DJ.YJ:
NKJDYJRDCTTGKGRSYRGTVSV'TKSGJ:ECQJ'WSAMJ'DMDJ:STJ'J'SNYRGJ'DJ'J'J'NYCRNJ'
RGJ:GGJ'WCYT'SJDP:VRYJ:VCJ'DJ'PQCSJ:VJ:CMJ'CNGJ:SYRGJ'MDJ'TJ:SGKJ'CQRWDDQJ'
JRRJKTJ'J'J'RYJ'DKJ:DDNYCRNJ'DGQJ'RI'PWCYT'TJ'DJ'J'J'RWJ:YCAJKT'CAJ'DN'TMNDJ'DVJ'
KT'TJ:CTJQGQJ:GYRGTVNTJ'WNGJ'PCQRWDSQYJ'DJ'DJ'MTJ'J'NDJ'KCKJ'DJ'J'NYCRNJ'DGS
KJ:PWCT'TJ'DJ'NTJRVGYCSQJ'PNCJ'DMSJGQJ'DCYRNGNKNYMGNJ.SQJ'TRSGJ'J'CSMWJDKNMJ:
DJ'JRRJ'J'WJ:J'DASKJ'ND:NYCRNJ'DDDJ'AJGJ'WCYT'GNJ'J'J'PWJ:YCPJ'SRCJ:GJ'DJ'J'J'J'VNTJ'
DDJ'VT'SCAKT'KQJ'JRVVNGJ'J'J'J'NTJ'GWMVSTJRYRNKJ'J'CGGSTJ'J'J'J'SWVTJ'J'ARQCJ'J'SRJ'
J'KJ'DYJ'AWJ.GJ'DJ'VJ'GRGJ'DJ'KCKQVJ'NVSQJ'VYGPJ:GSDJ'VJ'MKT'AJRPAVJ'DDJ'VSTJ'DDJ'
NYGCJ'TJ'J'KJ'SCSVYGWGYT'GJ'J'NYJGJ'JRVANTJ'YJ'MGNJ:KCSQJ'DJ'RGKVJ'TJ'NDJ:SKJ'J'CAJ'
AJ:KJ'GSGJ'PJ:GJ'DYGGJ'J'VCJ:QJ'KMRMVJ.GVJ'VJ'PGRGCAJ'J'NRJ'GJ'VJRVAYYAKWJ'DKJ'J'
J'J'YKVPQS

SEQ ID NO: 23. 序列變異體:

MWVTKTJJPATJAJ.QHVTJJJJJJJJPTAJJPYAKGQRKRNTTMDJ:KKSAKT'TTJKTDDPATJKT
TJ:KANT'AJDQCANRC'TRSKGTJP'T'CKAJ:VJ'DKARKRCJ.WJ'PJ:NSMSSGVKKJ'J'GJDDJ'DJ.YJ:
NKJDYJRDCTJVGNGRSYRGTVST'TKSGJ:ECQJ'WSAMJ'DMDJ:STJ'J'SSYRGJ'DJ'J'J'NYCRNJ'
RGJ:GGJ'WCYT'SJDP:VRYJ:VCJ'DJ'PQCSJ:VJ:CMJ'CNGJ:SYRGJ'MDJ'TJ:SGKJ'CQRWDDQJ'
JRRJKTJ'J'J'RYJ'DKJ:DDNYCRNJ'DGQJ'RI'PWCYT'TJ'DJ'J'J'RWJ:YCAJKT'CAJ'DN'TMNDJ'DVJ'
KT'TJ:CTJQGQJ:GYRGTVNTJ'WNGJ'PCQRWDSQYJ'DJ'DJ'MTJ'J'NDJ'KCKJ'DJ'J'NYCRNJ'DGS
KJ:PWCT'TJ'DJ'NTJRVGYCSQJ'PNCJ'DMSJGQJ'DCYRNGNKNYMGNJ.SQJ'TRSGJ'J'CSMWJDKNMJ:
DJ'JRRJ'J'WJ:J'DASKJ'ND:NYCRNJ'DDDJ'AJGJ'WCYT'GNJ'J'J'PWJ:YCPJ'SRCJ:GJ'DJ'J'J'J'VNTJ'
DDJ'VT'SCAKT'KQJ'JRVVNGJ'J'J'J'NTJ'GWMVSTJRYRNKJ'J'CGGSTJ'J'J'J'SWVTJ'J'ARQCJ'J'SRJ'
J'KJ'DYJ'AWJ.GJ'DJ'VJ'GRGJ'DJ'KCKQVJ'NVSQJ'VYGPJ:GSDJ'VJ'MKT'AJRPAVJ'DDJ'VSTJ'DDJ'
NYGCJ'TJ'J'KJ'SCSVYGWGYT'GJ'J'NYJGJ'JRVANTJ'YJ'MGNJ:KCSQJ'DJ'RGKVJ'TJ'NDJ:SKJ'J'CAJ'
AJ:KJ'GSGJ'PJ:GJ'DYGGJ'J'VCJ:QJ'KMRMVJ.GVJ'VJ'PGRGCAJ'J'NRJ'GJ'VJRVAYYAKWJ'DKJ'J'
J'J'YKVPQS

SEQ ID NO: 24. 序列變異體:

MWVTKTJJPATJAJ.QHVTJJJJJJJJPTAJJPYAKGQRKRNTTMDJ:KKSAKT'TTJKTDDPATJKT

YKKNVNTADQCANRCIRNKGTJPIJCKAJVJDKAJRKRCTWJPIJNSMSSGVKKJGJGJNDJYK
NKJYJRDCTJGNGRSYRGTVSTTKSGJKCQJWSAMIPIJHJSTJPSSYRGJNDJYKJNYCRNJ
RGJGJGGJWCYJISDPIVRYKVCJDPQCSKVIKCMJCNGLSYRGJMDJITKSGKJCQRWJNQJPI
MDJIKJTPJRYPIKGIJNDJNYCRNJPDGQJPIJWCYJITJNDJITRWKYCAIKTCADNITMNDJIVPI
KJITKCTJGGQJGJYRGJVNITJWNGJPCQRWJDSQYPIJMDJITPIJNPKCKJNDJYKJNYCRNJPDGS
KSPWCJPIJNDJNIRVGYCSQJPNCDMSJGQJDCYRGNKKNYMGNTJSQJTRSGJJCJSMWJKNM
JITJIRJITJWJPDASKJNDJNYCRNJPDJDAJGJWCYJTGNTJJPWJYCPJTSRCKGJITJPIJVNJ
JNDJPVJSCAKJTKQJIRVVNGJPIJRIJNTJGWMVSTJRYRNKJITCGGSTJTKJSWVJITARQCTJPSRJ
TKJYJAWJGJMDJVJGRGJDKCKQVTJNVSQJYVGYKJGSJITVJMKJAJRPAVJNDJVSTJNDJ
NYGCJITPIKJITSCSVYGWGYJTGJITNYDGTJRVJITJYJMGNDKCSQJMDJRGKVJITNDJSKJTCAG
AJKJTGSGJPCJGJYGGJIVCKJQJMKJRMVJGVJVPGRGCJITPIJNIPGJITVIRVAYYAKWJITKJIT
JITYKVPQS

SEQ ID NO: 25. 序列變異體：

MWVTKJJPATJQJVTJITJJPJTAJPYAKGQKJRNTJMDJKKSAKJITJTKJNDJAJKJ
YKKNVNTADQCANRCIRNKGTJPIJCKAJVJDKAJRKRCTWJPIJNSMSSGVKKJGJGJNDJYK
NKJYJRDCTJGNGRSYRGTVSTTKSGJKCQJWSAMIPIJHJSTJPSSYRGJNDJYKJNYCRNJ
RGJGJGGJWCYJISDPIVRYKVCJDPQCSKVIKCMJCNGLSYRGJMDJITKSGKJCQRWJNQJPI
MDJIKJTPJRYPIKGIJNDJNYCRNJPDGQJPIJWCYJITJNDJITRWKYCAIKTCADNITMNDJIVPI
KJITKCTJGGQJGJYRGJVNITJWNGJPCQRWJDSQYPIJMDJITPIJNPKCKJNDJYKJNYCRNJPDGS
KSPWCJPIJNDJNIRVGYCSQJPNCDMSJGQJDCYRGNKKNYMGNTJSQJTRSGJJCJSMWJKNM
JITJIRJITJWJPDASKJNDJNYCRNJPDJDAJGJWCYJTGNTJJPWJYCPJTSRCKGJITJPIJVNJ
JNDJPVJSCAKJTKQJIRVVNGJPIJRIJNTJGWMVSTJRYRNKJITCGGSTJTKJSWVJITARQCTJPSRJ
TKJYJAWJGJMDJVJGRGJDKCKQVTJNVSQJYVGYKJGSJITVJMKJAJRPAVJNDJVSTJNDJ
NYGCJITPIKJITSCSVYGWGYJTGJITNYDGTJRVJITJYJMGNDKCSQJMDJRGKVJITNDJSKJTCAG
AJKJTGSGJPCJGJYGGJIVCKJQJMKJRMVJGVJVPGRGCJITPIJNIPGJITVIRVAYYAKWJITKJIT
JITYKVPQS

SEQ ID NO: 26. 序列變異體：

MWVTKJJPATJQJVTJITJJPJTAJPYAKGQKJRNTJMDJKKSAKJITJTKJNDJAJKJ
YKKNVNTADQCANRCIRNKGTJPIJCKAJVJDKAJRKRCTWJPIJNSMSSGVKKJGJGJNDJYK
NKJYJRDCTJGNGRSYRGTVSTTKSGJKCQJWSAMIPIJHJSTJPSSYRGJNDJYKJNYCRNJ

RGH:GGPWCYT(S)DP:VRY:VCD)PQCSI:V:CM:FCNG:SYRG:MD)T:SGK:ICQRW)DQTP
MR)K:TA)P:RY)P:KGI:ND)NYCRN)PDGQ)P:WCYT)D)D)TRW:YCA:KTCAD)NT)MN)D)DV)P:
K)T)P:CT)QGQGI:GYRG:TVN)T)WNG)P:QQRW)SQY)P)D)D)M)T)P:ND)KCK)D)R)NYCRN)PDGS
K:SPWC)T)T)D)P)N)R)VG)YCSQ)D)P)NC)D)MS)IGQD)CYR)ENG)KNY)M)G)NT)SQ)TRSG)T)C)SMW)D)KNM):
D)D)R)D)D)W)P)D)ASK)D)ND)NYCRN)PD)D)D)A)IGPWCYT)GND)P)D)W)DYCP)T)SRC)K)G)D)T)P)T)TVN):
D)D)PVT)SCAK)TKQ)JRVVNG)D)P)R)R)NT)GWMVST)RYRNK)D)CGGST)D)K)SWVT)T)ARQC)P)SRD)
T)K)DY)AW)G)D)D)V)IGRG)D)KCKQV)NVSQ)I)Y)G)P)K)GS)D)VI)MK)AR)P)AV)D)D)VST)D)D)P
NYGC)T)D)P)K)T)SCSVYGWGYT)G)T)NYD)G)JRV)D)D)Y)T)MGN)KCSQ)D)D)RGKV)T)D)S)K)CAG
A)K)T)GSG)P)C)G)DYGG)P)VC)Q)D)K)M)R)M)V)GV)I)VP)GRGCA)D)P)N)P)G)D)V)RV)AY)YAKW)D)K)T)T
T)Y)K)V)P)QS

SEQ ID NO: 27. HGF變異體:

MWVT)K)D)P)AT)T)Q)D)VT)D)D)T)T)P)AT)PYA)GQGR)RW)T)D)D)KKS)AK)T)T)T)K)D)D)AT)K)K
T)K)K)VN)T)D)QCA)NR)C)TRSK)G)P)T)CKA)V)D)K)AR)KR)C)W)D)P)NSMSS)GVKK)D)G)D)D)D)Y):
NK)DY)D)D)C)T)GNGR)SYRG:TVST)TKSG)TKQ)PWSAM)D)D)D)S)T)P)SSYRG)D)D)R)NYCRN)P
RGH:GGPWCYT(S)DP:VRY:VCD)PQCSI:V:CM:FCNG:SYRG:MD)T:SGK:ICQRW)DQTP
MR)K:TA)P:RY)P:KGI:ND)NYCRN)PDGQ)P:WCYT)D)D)TRW:YCA:KTCAD)NT)MN)D)DV)P:
K)T)P:CT)QGQGI:GYRG:TVN)T)WNG)P:QQRW)SQY)P)D)D)M)T)P:ND)KCK)D)R)NYCRN)PDGS
K:SPWC)T)T)D)P)N)R)VG)YCSQ)D)P)NC)D)MS)IGQD)CYR)ENG)KNY)M)G)NT)SQ)TRSG)T)C)SMW)D)KNM):
D)D)R)D)D)W)P)D)ASK)D)ND)NYCRN)PD)D)D)A)IGPWCYT)GND)P)D)W)DYCP)T)SRC)K)G)D)T)P)T)TVN):
D)D)PVT)SCAK)TKQ)JRVVNG)D)P)R)R)NT)GWMVST)RYRNK)D)CGGST)D)K)SWVT)T)ARQC)P)SRD)
T)K)DY)AW)G)D)D)V)IGRG)D)KCKQV)NVSQ)I)Y)G)P)K)GS)D)VI)MK)AR)P)AV)D)D)VST)D)D)P
NYGC)T)D)P)K)T)SCSVYGWGYT)G)T)NYD)G)JRV)D)D)Y)T)MGN)KCSQ)D)D)RGKV)T)D)S)K)CAG
A)K)T)GSG)P)C)G)DYGG)P)VC)Q)D)K)M)R)M)V)GV)I)VP)GRGCA)D)P)N)P)G)D)V)RV)AY)YAKW)D)K)T)T
T)Y)K)V)P)QS

SEQ ID NO: 28. FGF1野生型:

D)N)D)P)GNYKK)P)K)J)YCSNGG)D)T)R)T)D)P)NG)T)VD)G)T)R)D)RS)D)Q)D)Q)T)Q)S)A)S)VG)Y)Y)T)KS)T):
T)GQY)T)AM)D)D)D)G)J)YGSQ)T)P)ND)C)T)D)D)D)R)D)D)D)NYNT)Y)T)SKK)D)A)K)N)W)V)G)T)K)K)NGSCK)RG
P)R)D)D)Y)GQ)K)A)T)D)D)P)D)VSS)D

SEQ ID NO: 29. FGF1變異體:

D)N)D)P)GNYKK)P)K)J)YCSNGG)D)T)R)T)D)P)NG)T)VD)G)T)R)D)RS)D)Q)D)Q)T)Q)S)A)S)VG)Y)Y)T)KS)T):
T)GQY)T)AM)D)D)D)G)J)YGSQ)T)P)ND)C)T)D)D)D)R)D)D)D)NYNT)Y)T)SKK)D)A)K)N)W)V)G)T)K)K)NGSCK)RG
P)R)D)D)Y)GQ)K)A)T)D)D)P)D)VSS)D

SEQ ID NO: 30. FGF1變異體:

I¹NTI¹PPGNYKKIPKII¹YCSNGGMD¹IRI¹I¹PDGIVDGT¹IRDRSD¹PIII¹QT¹QT¹IAK¹SVG¹AVY¹IKS¹IK¹
T¹GQY¹IAM¹DI¹DGI¹IYGSQ¹IPND¹CI¹I¹I¹IRI¹I¹Q¹NGYNT¹Y¹SKKII¹AI¹KNW¹VG¹IKKNGSCKRG¹
PR¹II¹YGCQA¹IRI¹I¹I¹I¹VSS¹D

SEQ ID NO: 31. FGF1變異體：
I¹NTI¹PPGNYKKIPKII¹YCSNGGMD¹IRI¹I¹PDGIVDGT¹IRDRSD¹PIII¹QT¹QT¹IAK¹SVG¹AVY¹IKS¹IK¹
T¹GQY¹IAM¹DI¹DGI¹IYGSQ¹IPND¹CI¹I¹I¹IRI¹I¹Q¹NGYNT¹Y¹SKKII¹AI¹KNW¹VG¹IKKNGSCKRG¹
PR¹II¹YGCQA¹IRI¹I¹I¹I¹VSS¹D

SEQ ID NO: 32. FGF1變異體：
I¹NTI¹PPGNYKKIPKII¹YCSNGGMD¹IRI¹I¹PDGIVDGT¹IRDRSD¹QIII¹QT¹QT¹SAK¹SVG¹AVY¹IKS¹IK¹
T¹GQY¹IAM¹DI¹DGI¹IYGSQ¹IPND¹CI¹I¹I¹IRI¹I¹Q¹NGYNT¹Y¹SKKII¹AI¹KNW¹VG¹IKKNGSCKRG¹
PR¹II¹YGCQA¹IRI¹I¹I¹I¹VSS¹D

SEQ ID NO: 33. FGF1變異體：
I¹NTI¹PPGNYKKIPKII¹YCSNGGMD¹IRI¹I¹PDGIVDGT¹IRDRSD¹QIII¹QT¹QT¹SAK¹SVG¹AVY¹IKS¹IK¹
T¹GQY¹IAM¹DI¹DGI¹IYGSQ¹IPND¹CI¹I¹I¹IRI¹I¹Q¹NGYNT¹Y¹SKKII¹AI¹KNW¹VG¹IKKNGSCKRG¹
PR¹II¹YGCQA¹IKI¹I¹I¹I¹VSS¹D

SEQ ID NO:34 SEQ ID NO: 1之訊號肽

MMVITKII¹PAII¹IQIV¹IIII¹IIII¹PIAI¹PYAK¹G

SEQ ID NO:35 SEQ ID NO: 1之未裂解 α 及 β 鏈肽
QRKRRNT¹II¹IKKSARK¹IT¹IKI¹IPAI¹IKI¹KKVNT¹AI¹QCANRC¹IRNRGI¹IP¹ITCKAI¹VI¹IKAKARKQ¹
CT¹WI¹PI¹NSMSSGVKK¹IP¹GI¹MD¹Q¹NY¹ENKI¹Y¹IRNC¹II¹EKGRSYKGT¹VST¹IT¹KSGI¹KCQ¹PWSSMT¹PI¹IK¹
II¹SYRGG¹II¹Q¹NY¹CRNI¹PRGI¹IG¹GG¹PWC¹IT¹SN¹IP¹VR¹Y¹IVC¹II¹PQCS¹IV¹CM¹TCNG¹ISYRGI¹MD¹II¹IS¹
GKI¹CQRWD¹IQ¹PI¹IRI¹IKI¹I¹PI¹RY¹PI¹IKGI¹MD¹NY¹CRNI¹PD¹Q¹PI¹PWCY¹IT¹II¹PI¹IRW¹YCA¹IK¹TCADNT¹
MN¹DI¹IV¹PI¹IT¹IT¹CI¹QGQGI¹GYRGI¹VNT¹II¹WNG¹IP¹CQRWD¹SQY¹PI¹MD¹II¹MT¹PI¹ANI¹KCK¹DI¹IR¹NY¹CRN¹
PD¹GS¹IS¹PWC¹IT¹II¹PI¹NI¹RVGYCSQ¹IP¹NC¹IMSII¹GQ¹ICY¹RENGK¹NYMGN¹ISQ¹IRSG¹IT¹CSMW¹IKNM¹
DI¹IRI¹II¹WI¹PI¹ASK¹NI¹NY¹CRNI¹PD¹MD¹ANG¹PWCY¹TGN¹PI¹II¹PW¹YCP¹ISRC¹IG¹PI¹PI¹IVNT¹II¹MD¹IV¹
ISCA¹KIKQ¹IRVNG¹IP¹IRI¹NI¹GWMV¹STAR¹IRNK¹II¹CGGS¹II¹KK¹SWV¹II¹ARQC¹IP¹SR¹DI¹KI¹Y¹AWI¹
GI¹MD¹VI¹GRGI¹KCKQ¹IV¹VSQ¹IVYGI¹IG¹SD¹VI¹MKI¹ARPA¹VI¹MD¹IVST¹II¹PI¹NYGCT¹IP¹KIT¹SC¹
SVYGWGY¹TGI¹II¹NY¹DGI¹IRVA¹II¹Y¹IMGN¹KCSQ¹II¹IRGKV¹IT¹NI¹SK¹ICAG¹IK¹IGSG¹PC¹IG¹YGG¹
I¹VC¹QII¹KIM¹RMV¹IGV¹IV¹PGRGCA¹IP¹NI¹PG¹II¹VRVAYYAKW¹II¹KI¹II¹ITYKV¹IQS¹

SEQ ID NO:36 SEQ ID NO: 1之 α 鏈肽

SEQ ID NO:3' SEQ ID NO: 1之3'部分

 $|(0122)|$

實例2：調劑藥物

[(0123)] 使用消光係數為 $1.890 \text{ mL} \cdot \text{mg}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ 藉由UV-可見光譜法分

析緩衝液交換樣品之蛋白質含量。視需要使用適當調配緩衝液使樣品標準化至目標1 mg/mL且外加10% PS80 (w/v，由USP級PS80製備，目錄號4117-04 J.T.Baker或等效物)至目標濃度為0.05% PS80於HGF調配物中。在緩衝液交換過程結束時不考慮理論殘餘PS80含量(約0.004%)，因為PS80之殘餘含量相對於外加PS80之量為最小的。

【0124】 在蛋白質含量及界面活性劑濃度標準化之後，使用0.22 μ m無菌濃縮器(Millipore Ultrafree-CL GV，P/N UFC40GV0S)對該調配物進行無菌過濾。使各調配物以1.0 mL/小瓶無菌過濾至六個滅菌1型硼矽酸鹽玻璃小瓶(2 mL，13 mm，目錄號RTF8418，Afton)中。使剩餘樣品體積轉移至1 mL LDPE管(目錄號03-439-61W Fisher)且用作初始時間點對照(T0)以便分析型測試。對於中心點調配物，將來自T0測試小瓶之200 μ L轉移至1 mL LDPE管(目錄號03-439-61W Fisher)且用於如下文所描述之吸收研究。樣品轉移及無菌過濾程序在滅菌生物安全櫃中使用無菌技術進行。用滅菌Fluorotec塞來塞住小瓶，且用具有按鈕之13FO鋁蓋進行封蓋。在以下儲存條件下儲存各調配物類型之兩種小瓶：2至8 $^{\circ}$ C，持續4週，及40 $^{\circ}$ C，持續4週。藉由目視檢查，針對顏色、透明度及微粒評估樣品外觀。藉由DSF/SLS評估蛋白質之熱穩定性。另外，使用UV可見光譜法藉由量測340 nm波長下之吸收進行濁度量測。蛋白質之構形穩定性及聚集穩定性分別藉由DLS及SEC-HPLC確定。使用還原及非還原毛細管凝膠電泳(CE-SDS)及等電聚焦(icIEF)凝膠電泳進一步分析樣品。使用HIAC粒子計數器(其中報導樣品中 $> 2 \mu$ m、 $\geq 5 \mu$ m、 $\geq 10 \mu$ m及 $\geq 25 \mu$ m的平均粒子計數)評估粒子物質之存在。所有DoE分析以隨機順序進行。使用Design Expert Stat Ease®評估所有DoE調配物之T0及穩定性時間點的資

料以推導出統計顯著趨勢。

【0125】

評估非特異性HGF蛋白質吸附至LDPE容器表面之吸附研究

將LDPE試管中之樣品儲存於2-8℃下至少五天。在儲存五天之後量測此等樣品如由在280 nm (A280)下之UV吸光度所確定的蛋白質含量，且將該等值與T0時之相應結果相比，以確定是否存在蛋白質至LDPE容器材料之任何吸附。當儲存於LDPE容器中時觀測到最小蛋白質吸附，其中除調配物包括蔗糖及丙胺酸之外，在5天後量測之HGF濃度的差異%低於所測試之大部分調配物的4%，其中觀測到HGF蛋白質濃度降低8%（表3）。來自此研究之結果支持使用LDPE管作為HGF調配物之可行容器。

【0126】

表3. LDPE吸附研究

調配物	pH	濃度(mg/mL) T=初始	濃度(mg/mL) T=5天	差異%
20 mM檸檬酸鹽，200 mM山梨糖醇，0.05% PS80	6.0	1.0	1.0	1
	6.0	1.0	1.0	2
20 mM檸檬酸鹽，200 mM脯胺酸，0.05% PS80	6.0	1.0	1.0	3
	6.0	1.0	1.0	2
20 mM檸檬酸鹽，200 mM海藻糖，0.05% PS80	6.0	1.0	1.0	3
	6.0	1.0	1.0	1
30 mM乙酸鹽，200 mM山梨糖醇，0.05% PS80	5.0	1.0	1.0	4
	5.0	1.0	1.0	3
30 mM乙酸鹽，200 mM脯胺酸，0.05% PS80	5.0	1.0	1.0	1
	5.0	1.0	1.0	1
30 mM乙酸鹽，200 mM海藻糖，0.05% PS80**	5.0	1.0	1.0	2
	5.0	1.0	1.0	1
10 mM檸檬酸鹽，0.3M NaCl，1%蔗糖，0.5%丙胺酸，0.05% PS80**	6.0	1.1	1.0	8
10 mM檸檬酸鹽，0.75M NaCl，0.08%甘胺酸，0.01% PS80**	6.0	1.0	1.0	2

【0127】

結果

一般而言，在於40℃或5℃下儲存1個月時，在6.0至6.5之較高pH範圍下在調配物中觀測到較低濁度(表4)。包含200 mM海藻糖之調配物在5.0至6.5之pH範圍內展現出低濁度(低於0.01)，其中包含200 mM海藻糖之調配物(pH 6.0)在40℃下儲存1個月時展現出最低濁度。

【0128】

表4.在40℃或5℃下儲存1個月之各種HGF溶液調配物之濁度.

調配物	pH	在40℃下之 A340* 1M	在5℃下之 A340* 1M
20 mM檸檬酸鹽，200 mM山梨糖醇，0.05% PS80	5.5	0.011	0.005
	6.0	0.016	0.008
	6.5	0.024	0.013
20 mM檸檬酸鹽，200 mM脯胺酸，0.05% PS80	5.5	0.028	0.023
	6.0	0.009	0.006
	6.5	0.030	0.014
20 mM檸檬酸鹽，200 mM海藻糖，0.05% PS80	5.5	0.009	0.007
	6.0	0.007	0.005
	6.5	0.014	0.009
30 mM乙酸鹽，200 mM山梨糖醇，0.05% PS80	4.5	0.027	0.009
	5.0	0.015	0.013
	5.5	0.019	0.021
30 mM乙酸鹽，200 mM脯胺酸，0.05% PS80	4.5	0.023	0.021
	5.0	0.019	0.008
	5.5	0.011	0.018
30 mM乙酸鹽，200 mM海藻糖，0.05% PS80	4.5	0.032	0.014
	5.0	0.022	0.010
	5.5	0.010	0.009
10 mM檸檬酸鹽，0.3M NaCl，1%蔗糖，0.5%丙胺酸，0.05% PS80**	6.0	0.017	0.014
10 mM檸檬酸鹽，0.75M NaCl，0.08%甘胺酸，0.01% PS80**	6.0	0.006	0.000

* 所有A340值均報導為兩種獨立製備之量測結果的平均值，除了用
**指示之調配物，該調配物指示單一製備。

【0129】 在5℃或40℃下儲存1個月後，在若干調配物之情況下觀測到粒子物質之存在(表5)，如使用HIAC所偵測。包含200 mM山梨糖醇、200 mM脯胺酸或200 mM海藻糖(在pH 5.0下)或200 mM海藻糖或0.08%甘胺酸(在pH 6.0下)之調配物展現出最低粒子計數。然而，其他分析資料，

包括表4中所示之濁度資料，指向在pH 6.0下HGF蛋白質之總體穩定性更佳，其中僅200 mM海藻糖及0.08%甘胺酸調配物在儲存時展現出低粒子計數。

【0130】

表5.在40℃或5℃下儲存1個月的HGF調配物如HIAC所量測之粒子計數.

調配物	pH	在40℃下之HIAC粒子計數* T1M				在5℃下之HIAC粒子計數* T1M			
		≥2 μm	≥5 μm	≥10 μm	≥25 μm	≥2 μm	≥5 μm	≥10 μm	≥25 μm
20 mM檸檬酸鹽， 200 mM山梨糖醇， 0.05% PS80	6.0	326	121	46	4	386	146	48	3
20 mM檸檬酸鹽， 200 mM脯胺酸， 0.05% PS80	6.0	753	238	94	4	417	125	20	0
20 mM檸檬酸鹽， 200 mM海藻糖， 0.05% PS80	6.0	142	47	16	2	200	73	19	0
20 mM檸檬酸鹽， 200 mM山梨糖醇， 0.05% PS80	5.0	125	34	3	0	327	81	13	0
20 mM檸檬酸鹽， 200 mM脯胺酸， 0.05% PS80	5.0	74	24	7	2	433	140	26	1
20 mM檸檬酸鹽， 200 mM海藻糖， 0.05% PS80	5.0	132	33	6	2	314	113	50	8
10 mM檸檬酸鹽， 0.3M NaCl，1%蔗糖， 0.5%丙胺酸， 0.05% PS80**	6.0	955	100	43	2	172	57	23	3
10 mM檸檬酸鹽， 0.75M NaCl，0.08% 甘胺酸，0.01% PS80**	6.0	57	5	0	0	47	13	8	0

* 所有HIAC值均報導為兩種獨立製備之量測結果的平均值，除了用
**指示之調配物，該調配物指示單一製備。

【0131】 使用降低毛細管凝膠電泳(R-CE-SDS)以進一步評估不同調配物中之HGF蛋白質的化學穩定性。HGF為雜二聚體，其包含經由二硫鍵連接之α及β鏈。在還原條件下，兩個峰值存在於電泳圖中(表6中之%

主峰1及%主峰2)；經「其他%」標記之欄表示HGF蛋白質之潛在降解產物。如表6中所示，在40℃及5℃下，pH 6.0下之HGF調配物在長期儲存期間通常展現出較佳化學穩定性，其中在pH 6.0下，在包含200 mM海藻糖或200 mM脯胺酸之調配物下觀測到最高%總主峰。包含0.08%甘胺酸之HGF調配物，其展現出在粒子計數及濁度方面之良好穩定性，證實具有如R-CE-SDS所揭露之不良化學穩定性。

【0132】

表6.在40℃或5℃下儲存1個月之HGF調配物的降低毛細管凝膠電泳(R-CE-SDS).

調配物	pH	在40℃下之TIM				在5℃下之TIM			
		%主峰1	%主峰2	%其他	%總主*	%主峰1	%主峰2	%其他	%總主*
20 mM檸檬酸鹽，200 mM山梨糖醇，0.05% PS80	6.0	31.5	45.9	22.5	77.5	31.4	46.5	22.1	77.9
20 mM檸檬酸鹽，200 mM脯胺酸，0.05% PS80	6.0	31.9	47.1	21.0	79.0	31.8	46.9	21.3	78.7
20 mM檸檬酸鹽，200 mM海藻糖，0.05% PS80	6.0	32.0	47.0	20.9	79.1	31.3	46.8	21.9	78.1
20 mM檸檬酸鹽，200 mM山梨糖醇，0.05% PS80	5.0	34.2	41.0	24.8	75.2	32.0	47.5	20.5	79.5
20 mM檸檬酸鹽，200 mM脯胺酸，0.05% PS80	5.0	34.3	41.2	24.6	75.4	31.4	47.7	20.9	79.1
20 mM檸檬酸鹽，200 mM海藻糖，0.05% PS80	5.0	34.6	41.9	23.5	76.5	31.9	47.7	20.3	79.7
10 mM檸檬酸鹽，0.3M NaCl，1%蔗糖，0.5%丙胺酸，0.05% PS80**	6.0	30.8	44.5	24.6	75.4	30.1	43.0	27.0	73.0

10 mM檸檬酸鹽，0.75M NaCl，0.08%甘胺酸，0.01% PS80**	6.0	29.8	37.9	32.3	67.7	26.9	39.1	34.0	66.0
--	-----	------	------	------	------	------	------	------	------

* 所有%峰值均報導為兩種獨立製備之量測結果的平均值，除了用**指示之調配物，該調配物指示單一製備。

【0133】

實例3：用以確定相對效能之生物分析

展現出如實例2下所描述之調配物發展實驗中所鑑別之最佳整體屬性的調配物在轉型生長因子β (TGF-β)存在下使用具有Mv.1.Lu細胞(美國貂肺細胞株)之細胞增殖促進活性效能分析進一步評估相對效能。TGF-β抑制Mv.1.Lu細胞中之細胞生長，且本文所描述之HGF調配物可逆轉此生長抑制。使Mv.1.Lu細胞解凍，且藉由錐蟲藍染色評定細胞儲備液之活力。確定活細胞密度之後，將適當數目之細胞轉移至用於初始培養之燒瓶中。在接種以用於樣品分析之前，將細胞在組織培養燒瓶中連續生長及擴增。

【0134】 各參考標準物及各測試樣品用分析培養基稀釋以產生八點稀釋曲線。藉由將由測試樣品產生之稀釋曲線與參考標準物進行比較來確定各測試樣品之效能。使來自組織培養瓶之經培養細胞胰蛋白酶化且再懸浮於分析培養基(含有250 pg/mL TGF-β)中至約0.1 x 10⁶ 個細胞/mL。將五十微升細胞懸浮液接種於96孔盤之各孔中。含有經培養細胞之96孔盤在37°C/5% CO₂下培育1至4小時，之後添加參考標準物及測試樣品。將測試樣品及參考標準物重複三次添加至單獨的孔，且培育細胞72小時。

【0135】 在培育之後，將MTS增殖試劑(Promega，普洛麥格G3582)或其等效物添加至各孔，且將96孔盤在37°C/5% CO₂下培育4小時。在此培育之後，將盤置於UV-Vis盤讀取器中，且在490 nm下量測吸

光度。重複三次地分析各參考標準物及測試樣品且藉由平行線評估確定效能。藉由四參數約束擬合將各樣品與參考標準進行比較以確定相對效力。

【0136】

測試樣品(TS)接受準則：

- 1. 當繪製平均反應相對於對數蛋白質濃度時，TS獨立四個參數曲線擬合必須展現出劑量依賴性關係。
- 2. 非TS依賴型4參數擬合之 R^2 值必須 ≥ 0.97 。
- 3. TS之所有%CV值必須 $\leq 20\%$ 。
- 4. 系統適合樣品之效能將使用整體擬合模型確定且各TS之F機率必須 ≥ 0.01 。
- 5. 將在相同條件下重新測試未通過所有以上準則之測試樣品。
- 6. 未通過以上標準中之任一者的分析盤必須在相同條件下再測試一次。
- 7. 標準樣品(SS)之RP%必須在50%至200%內。

【0137】 來自選擇調配物之活體外相對效能生物分析的結果概述於表7中。證實包含200 mM海藻糖(在pH 6.0下)之HGF溶液調配物對於HGF蛋白質亦維持極佳效能(99%)。

【0138】

表7.不同調配物中HGF之相對效能

調配物	結果(相對效能)**
20 mM檸檬酸鹽，200 mM脯胺酸，pH 6.0	106%
20 mM檸檬酸鹽，200 mM海藻糖，pH 6.0	99%
20 mM檸檬酸鹽，200 mM山梨糖醇，pH 6.0	93%
30 mM乙酸鹽，200 mM脯胺酸，pH 4.5	34%
30 mM乙酸鹽，200 mM海藻糖，pH 4.5	35%
30 mM乙酸鹽，200 mM山梨糖醇，pH 4.5	29%
30 mM乙酸鹽，200 mM脯胺酸，pH 5.5	68%

30 mM乙酸鹽，200 mM海藻糖，pH 5.5	63%
30 mM乙酸鹽，200 mM山梨糖醇，pH 5.5	70%
10 mM檸檬酸鹽，0.75M NaCl，0.08%甘胺酸，0.01% PS80，pH 6.0	91%
10 mM檸檬酸鹽，0.3M NaCl，1%蔗糖，0.5%丙胺酸，0.05% PS80，pH 6.0	98%

** 相較於參考標準之相對效能。

【0139】

實例4：小鼠角膜機械損傷模型中局部調配物之功效

在小鼠角膜損傷模型中測試用於治療NK之HGF之局部調配物的有效性。在兩個階段中使用雄性C57BL/6小鼠進行功效測試。在第I階段中，75隻動物中之每一者一隻眼睛每天給藥4次(QID)，其中在第0天(損傷)各劑量之間為2小時且研究之剩餘部分(第8天)各劑量之間為3小時，使用3.5 µL體積之測試物品經由移液管。研究中不包括未對損傷(亦即，在第3天無角膜霧霾/不透明度)反應之動物(約10-20%)。1期研究實驗設計概述於下表8中。

【0140】

表8：在小鼠角膜機械損傷模型中治療NK中HGF之1期功效測試的實驗設計

群組編號	動物數目*	治療(在第0天之QID)	終點/程序	安樂死
1	12 +3	PBS	• 基線眼部檢查(裂隙燈) • 手術後亮場數位照相術且隨後每日至多7天。 • 手術後螢光素染色及成像且隨後每日至多7天。 • OCT (損傷前及損傷後基線，第3及7天) • N=3/組在3天治療之後處死用於病理組織學(整個眼球橫斷面之H&E染色)	第8天(來自PBS組之動物用於如下表9中所描述之試驗操作)
2	12 +3	0.1% (w/v) dHGF (T1)**		
3	12 +3	0.2% (w/v) dHGF (T2)**		
4	12 +3	0.1% (w/v) mNGF (N)		
5	12 +3	0.1% (w/v) mHGF (HGF)		

縮寫：

mNGF：鼠類神經生長因子

mHGF：鼠類肝細胞生長因子

【0141】

*在第3天排除以下動物：

- 1. 在第3天，發起人排除對損傷未反應(亦即，在第3天無角膜霧霾/不透明度)之動物(n=1-2/組)，且發起人被隱藏。
- 2. 收集各組作為代表之動物(n=3/組)以用於組織學(H&E染色)。

** T1：含0.1% (w/v)人類dHGF (SEQ ID NO: 1)之PBS。

T2：含0.2% (w/v)人類dHGF (SEQ ID NO: 1)之PBS。

【0142】

表9：用以確定上皮刮除之頻率(來自1期PBS組之動物(n=9-10)用於此試驗)的試驗操作及基於1期結果選擇0.1%相對於0.2% dHGF劑量.

群組編號	動物數目*	在第10天開始之治療(QID)	終點/程序	安樂死
1	3	HGF (0.1 %) (+一次上皮刮除)	- 在治療開始之前第10天一次，在不透明區域(1 mm骨髓環鑽)上使用Algerbrush刮擦角膜上皮細胞。 - 在基線時(第10天、第14天、第17天、第20天)之亮場圖及OCT	第20天
2	4	HGF (0.1 %) (+三次上皮刮除)	- 在治療之前第10天、第14天及第17天時每日一次，在不透明區域(1 mm骨髓環鑽)上使用Algerbrush刮擦上皮細胞。 - 在基線時(第10天、第14天、第17天、第20天)之亮場圖及OCT	第20天

【0143】 在2期功效研究中，85隻動物對受傷之角膜每天給藥4次(QID)，其中在第11天(損傷)各劑量之間為2小時且研究之剩餘部分(第20天)各劑量之間為3小時，在3.5 μL體積之測試物品中。在首次治療施用時(第11天)，藉由在角膜之不透明區域(藉由1mm骨髓環鑽標記)上平緩地施加Algerbrush之尖端來移除角膜上皮細胞。在第16天第二次移除角膜上皮細胞。2期之研究設計概述於下表10中。

【0144】

表10：在小鼠角膜機械損傷模型中治療NK中HGF之2期功效測試的實驗設計

群組編號	動物數目*	在第10天開始之治療(QID)	終點/程序	安樂死
1	17	媒劑**	• 基線眼部檢查(裂隙燈) • 在基線(第8天)、第16天及第21天時之亮場數位照相術。	第21天
2	17	0.1% (w/v) dHGF		
3	17	0.2% (w/v) dHGF		
4	17	0.1% (w/v) mNGF	• 在基線(第8天)、第21天時之螢光素染色及成像。 • OCT基線(第8天)、第16天及第21天。	
5	17	0.1% (w/v) mHGF		

*將具有正確表型之動物登記用於治療。

【0145】

縮寫：

mNGF：鼠類神經生長因子

mHGF：鼠類肝細胞生長因子

dHGF：人類肝細胞生長因子(SEQ. ID NO. 1)

**媒劑= PBS；mNGF、mHGF及dHGF以指示濃度調配於媒劑中。

【0146】

角膜損傷(1期及2期)：

在模型誘導之前，測試個體皮下給予0.01-0.05 mg/kg之丁基原啡因。亦向動物局部給予托品醯胺(1.0%)與苯腎上腺素(2.5%)混合液以擴張且突出眼睛。隨後用氯胺酮/甲苯噻嗪混合物及一滴0.5%丙美卡因HCl將動物轉移以用於手術程序。將鑷(例如Dumont #4)用於突出動物之眼睛，且施用輕微壓力，將2 mm骨髓環鑽置於中心角膜上。將骨髓環鑽在平緩壓力下旋轉3小時以界定缺陷區域。將具有0.5mm毛邊之Algerbrush II (Alger Company Inc., Lago Vista, TX)用於移除角膜上皮細胞及環鑽區域

內之前基質。受傷基質藉由基質碎片之外觀標記。藉由用平衡鹽生理鹽水(BSS)洗滌移除基質碎屑。藉由光同調斷層掃描(OCT)掃描動物且經螢光素染色，隨後將第一劑量之治療應用於受傷眼睛。在15分鐘之後施加局部抗生素(氧氟沙星(Ofloxacin))且使動物自手術正常恢復。動物在手術後約6-8小時皮下接受0.01-0.05 mg/kg之丁基原啡因之第二次給藥且在手術後兩天每6至8小時每天兩次接受。

【0147】

角膜損傷(上皮移除，僅2期)：

在開始2期之前，執行試驗研究以確定如上文針對1期所描述之初始損傷後之上皮細胞刮擦的最佳數目。兩個刮擦對於所需模型誘導為足夠的。在開始2期之後，動物皮下給予0.01-0.05 mg/kg之丁基原啡因。亦向動物局部給予托品醯胺(1.0%)與苯腎上腺素(2.5%)混合液以擴張且突出眼睛。隨後用氯胺酮/甲苯噻嗪混合物將動物轉移以用於手術程序，且施用一滴0.5%丙美卡因HCl。在第0天，動物經歷如上文針對1期所描述之手術程序。在初始損傷及疤痕形成之後第11天及第16天，將鑷(例如Dumont #4)用於突出動物之眼睛，且施用輕微壓力，將1 mm骨髓環鑽置於角膜上之疤痕區域。將骨髓環鑽在平緩壓力下旋轉3小時以界定缺陷區域。將具有0.5mm毛邊之Algerbrush II (Alger Company Inc., Lago Vista, TX)用於移除環鑽區域內之角膜上皮細胞。隨後用BSS洗滌眼表面。藉由光同調斷層掃描(OCT)掃描動物，經螢光素染色，隨後將第一劑量之治療應用於受傷眼睛。在15分鐘之後施加局部抗生素(氧氟沙星(Ofloxacin))且使動物自手術正常恢復。動物在手術後約6-8小時以0.01-0.05 mg/kg皮下接受第二劑量之丁基原啡因且每日兩次(BID)每6-8小時持續手術後兩天。

【0148】**監測之參數：****(i) 檢查及體重：**

每日兩次觀測死亡率及發病以及籠側觀測結果，特別注意兩隻眼睛。由於在給藥及成像之此研究的1期期間大量處置， $n=18$ 隻動物死亡(第1組：4隻小鼠；第2組：3隻小鼠；第3組：3隻小鼠；第4組：3隻小鼠；第5組：5隻小鼠)或在研究結束之前安樂死。在2期之試驗期間，無死亡。在2期中，減少成像會話之數目且僅 $n=3$ 隻小鼠死亡(第1組：1隻小鼠；第2組：1隻小鼠；第4組：1隻小鼠)。在模型誘導之前及在屍檢時獲取體重。

【0149】**(ii) 眼部檢查及亮場影像：**

基線眼表面形態在登記之前由獸醫學眼科醫師在裂隙燈生物顯微鏡下評估。使用成像J軟體在基線及如研究設計中所指示之天數捕獲亮場影像以分析角膜不透明度。

【0150】**(iii) 螢光素染色：**

在如實驗設計表中所指示之時間點處，動物經歷螢光素眼表面染色。將約 $1.5\ \mu\text{l}$ 之2.5%螢光素鈉施加至角膜表面持續30秒，接著用1X PBS使用1 ml注射器清洗。在鈷藍光下使用安裝於三角架上之Nikon數位SLR攝影機對角膜染色拍照。將相機透鏡處於手動模式，其中透鏡設定為1呎遠。動物眼睛聚焦於檢視窗之中心且收集影像以維持相機透鏡與動物眼睛之間的一致距離。使用影像J軟體(NIH)確定各時間點處之各眼的螢光

素染色之面積(以像素為單位)。

【0151】

(iv) 光同調斷層掃描(OCT)：

在如藉由實驗設計表指示之天數時，所有動物均經歷眼睛前部切片之OCT成像程序。麻醉動物且用PBS洗滌角膜，隨後進行OCT檢查。

【0152】

(v) 組織學(僅1期)：

在第3天，在最終生命量測後，藉由二氧化碳窒息，接著開胸術以人道方式處死動物之子集。將動物之手術眼睛收集至10%中性緩衝福馬林中。第二天，將眼睛放入70%乙醇中，嵌入石蠟中且矢狀地切割。將含有包括視神經之連續切片的三個載玻片經蘇木精及伊紅(H&E)染色用於形態學。另外，將在H&E之後剩餘的區塊進一步切片，且進行用於TUJ-1染色(亦稱為 β III微管蛋白)之免疫組織化學以評估角膜神經分佈。使用DAPI(藍)作為複染劑以突顯所有核。載玻片由獸醫眼科醫師分析。

【0153】

(vii)結果：

1) 加速癒合(螢光素染色)

與接收PBS媒劑之動物相比，在來自經0.1% dHGF處理動物之手術後3天的組織樣品中觀測到更多TUJ01染色(圖1)，指示經0.1% dHGF處理之動物中角膜神經分佈。當與PBS對照及0.1% mNGF相比時，上皮癒合時間在0.1% dHGF ($p=0.041$)及0.2% dHGF下更快(圖2)。針對50%研究完全癒合之時間在0.1% dHGF組中為三天，其為PBS組所花費之時間的一半(六天； $p=0.41$)。0.2% dHGF及0.1% mHGF組之癒合速率為PBS組之癒合

速率的三分之二(四天相對於六天)。另外，0.1% mHGF顯著快於mNGF ($p=0.053$)及PBS ($p=0.0018$)。接收0.1% dHGF之動物較早開始閉合且截至處理後第4天，>75%已閉合；0.1% mHGF有相同作用(圖2)。相比之下，僅50%經PBS治療之動物達到完全傷口閉合且直至第6天。

【0154】

2) 疤痕預防(亮場影像分析)

在手術及每日用PBS (對照)、0.1%或0.2% dHGF、0.1% mNGF或0.1% mHGF處理之後，除PBS對照之外的所有測試物品截至第7天有效減小平均疤痕尺寸(圖3)。對疤痕形成之測試物品效應的定量揭露，0.1% mHGF具有最大效應，接著為0.1% dHGF。在dHGF組中，疤痕顯著小於PBS對照(對於0.1%及0.2%組分別為 $p=0.0439$ 及 $p=0.0126$)，但彼此未顯著不同($p=0.7406$)。0.1% mHGF組中之疤痕的平均面積在第7天顯著小於對照組($p=0.0001$)及0.1% mNGF ($p=0.0029$)。對照組及0.1% mNGF組之平均尺寸彼此無顯著差異($p=0.2481$)。

【0155】 由HGF驅動之作用大小在閉合分析之時間時成鏡像(參見章節vii.1)。0.1% mHGF疤痕形成大致比對照組中觀測到的減少9倍，而0.1%及0.2% dHGF減少百分比比對照組大5倍。0.1% mNGF減少百分比大致為dHGF組之減少百分比一半，其中疤痕尺寸在數值上但非統計學上顯著比PBS對照組大。

【0156】

3) 疤痕逆轉(亮場影像分析)

在移除角膜上皮細胞及前基質之手術及兩次重複刮擦以僅僅移除上皮細胞之後，經PBS處理之動物的疤痕大小具有極小改變，而動物接受

0.1% dHGF、0.2% dHGF或0.1% mHGF具有減小之角膜疤痕大小。在PBS對照組中，平均疤痕大小自基線(第8天)至第21天持續增加超過20%。相比之下，三個HGF組中之疤痕的尺寸自基線至第21天減小超過35%，其中平均尺寸與PBS組相比之總體差異為55%。在0.1% dHGF與0.2% dHGF之間的差異與PBS對照相比為統計學上顯著的(分別為 $p=0.0054$ 及 $p=0.0015$)，如圖4中所繪示。0.1% mNGF組中之平均疤痕大小自第8天至第21天減小，但與PBS對照無顯著不同($p=0.0859$)。來自使用0.1%或0.2% dHGF之處理的結果無顯著差異($p=0.7558$)。

【0157】 基於此研究之結果，在單一上皮及前基質移除(1期)多個上皮刮擦(2期)之後0.1% dHGF處理在首次手術程序當天(1期)或第11天(2期)開始每天給藥四次時引起更快創傷閉合(1期)及疤痕尺寸更大減小(2期)。

【0158】 在1期中，所有動物經歷單一手術程序以在2 mm區域內移除角膜上皮細胞及前基質。所有動物在程序之後每天接受給藥四次。雖然約50%之PBS處理之動物(媒劑對照)截至手術後第7天癒合，接受0.1% dHGF或0.1% mHGF之>75%動物截至手術後第7天癒合(圖2及圖3)。另外，當與PBS處理相比時，此等動物之較大百分比的角膜在手術後第3天完全癒合(分別>60%相對於30%)。在第3天免疫螢光分析角膜神經分佈顯示在0.1% dHGF處理之動物中TUJ-1染色增加(圖1)。

【0159】 在2期中，動物經歷與1期中相同的手術程序，但隨後接受兩種額外程序僅移除上皮。在此實驗中，動物在第一次上皮刮擦之後開始接受處理。在此等條件下，接受HGF之動物(0.1% dHGF、0.2% dHGF或0.1% mHGF)顯示相比於經PBS處理之眼睛，疤痕大小對於所有經HGF處理之眼睛減小>35%(圖4)。

【0160】 此研究結果指示，在角膜上皮細胞損傷後局部投與HGF引起單一或多個損傷模型中之更快的癒合速率及癍痕大小減小。

【0161】

實例5：局部調配物在小鼠角膜細菌LPS誘導之角膜炎模型中之功效

在小鼠角膜細菌LPS誘導之角膜炎模型中測試用於治療NK之HGF之局部調配物的有效性。在雄性C57BL/6小鼠中進行功效測試。40隻動物中之每一者一隻眼睛每天給藥4次(QID)，其中在損傷後第4-9天各劑量之間為3小時，使用3.5 μL體積之測試物品經由移液管。受傷眼睛接受如實驗設計(表11)中所指示之測試物品或對照。來自大腸桿菌 O111:B4 (Invivogen)之脂多醣(LPS)的儲備溶液用1 mL無菌水稀釋，等分且根據製造商的方案儲存。在給藥當天，用PBS將經稀釋LPS溶液進一步1:1 (v/v)稀釋以在2.0 μL注射液中遞送約5 μg LPS材料。

【0162】

表11：在小鼠角膜細菌LPS誘導之角膜炎損傷模型中治療NK中HGF之功效測試的實驗設計

群組編號	動物數目*	在第10天開始之治療(QID)	終點/程序	安樂死
1	10	PBS	• 基線眼部檢查(裂隙燈)* • 亮場數位照相術(第0天，在注射之前n=5隻眼睛)，第5天至第9天 • 當天至第7天之螢光素染色。 • OCT (第0天，在注射之前n=5隻眼睛)及第8天。	第10天
2	10	0.1% (w/v) dHGF**		
3	10	0.2% (w/v) dHGF**		
4	10	0.1% (w/v) mNGF**		

* 對n=5隻小鼠進行基線眼部檢查；所有登記動物均在後續天數進行評估。

縮寫：

mNGF：鼠類神經生長因子

dHGF：人類肝細胞生長因子(SEQ. ID NO. 1)

** 以指定濃度調配於PBS中。

【0163】

使用來自大腸桿菌O111:B4之LPS的角膜損傷

在模型誘導之前，測試個體皮下給予0.01-0.05 mg/kg之丁基原啡因。亦向動物局部給予托品醯胺(1.0%)與苯腎上腺素(2.5%)混合液以擴張且突出眼睛。隨後用氯胺酮/甲苯噻嗪混合物及一滴0.5%丙美卡因HCl將動物轉移以用於手術程序。將鑷(例如Dumont #4)用於突出動物之眼睛，且使用連接至2.5 µL注射器之34G針，將約5 µg之LPS (大腸桿菌O111:B4)注射至2.0 µL體積中。在第0天及第4天進行LPS注射。第一劑量之治療在第4天注射LPS之後應用於受傷眼睛。在15分鐘之後施加局部抗生素(氧氟沙星(Ofloxacin))且使動物自手術正常恢復。動物在手術後約6-8小時皮下接受0.01-0.05 mg/kg之丁基原啡因之第二次給藥且在手術後兩天每6至8小時每天兩次接受。

【0164】

所監測之參數

(i) 檢查及體重：

每日兩次觀測死亡率及發病以及籠側觀測結果。在模型誘導之前及在屍檢時獲取體重。

【0165】

(ii) 眼部檢查及亮場影像：

眼表面形態在登記之前由獸醫學眼科醫師在裂隙燈生物顯微鏡下評估。使用成像J軟體在基線及如研究設計中所指示之天數捕獲亮場影像以

分析角膜不透明度。

【0166】

(iii) 螢光素染色：

在如實驗設計表中所指示之時間點處，動物經歷螢光素眼表面染色。將約1.5 μ l之2.5%螢光素鈉施加至角膜表面持續30秒，接著用1X PBS使用1 ml注射器清洗。在鈷藍光下使用安裝於三角架上之Nikon數位SLR攝影機對角膜染色拍照。將相機透鏡處於手動模式，其中透鏡設定為1呎遠。動物眼睛聚焦於檢視窗之中心且收集影像以維持相機透鏡與動物之眼睛之間的一致距離。使用影像J軟體(NIH)確定各時間點處之各眼的螢光素染色之面積(以像素為單位)。

【0167】

(iv) 光同調斷層掃描(OCT)：

在如藉由實驗設計表指示之天數時，所有動物均經歷眼睛前部切片之OCT成像程序。麻醉動物且用PBS洗滌角膜，隨後進行OCT檢查。

【0168】

(v) 結果：

在誘導該模型及每日用PBS (對照)、0.1%或0.2% dHGF或0.1% mNGF處理每天四次之後，第2組及第3組(分別為0.1%及0.2% dHGF)截至第9天展現出疤痕尺寸最大減小。當標準化至第1組時，第2組及第3組減小疤痕尺寸幾乎60%，而第4組中之測試物品減小疤痕尺寸約25% (圖5)。與PBS對照相比，平均疤痕面積顯著較小，其中0.1% dHGF ($p=0.0110$)及0.2% dHGF ($p=0.0028$)。在PBS對照下疤痕尺寸比0.1%及0.2% HGF組大約5倍，且在PBS下比0.1% mNGF組大約2.5倍($p=0.0417$)。兩個dHGF組

中所得平均疤痕大小彼此無顯著差異($p=0.6176$)(圖5)。

【0169】總之，此研究之結果表明，藉由大腸桿菌LPS之基質投與誘導之角膜上皮損傷後用HGF治療受傷眼睛改進癒合速率。

【0170】除本文所描述之彼等修改以外，根據前述描述，本發明之各種修改對熟習此項技術者而言將為顯而易見的。此類修改亦意欲屬於隨附申請專利範圍之範疇內。本申請案中所引用之各參考文獻(包括所有專利、專利申請案及公開案)係以全文引用的方式併入本文中。

【序列表】

<110> 美商克拉里斯生物醫療股份有限公司(Claris Biotherapeutics, Inc.)

<120> 用於治療眼睛疾病的生長因子組合物

<130> 49082-0004W01

<150> US 63/188,816

<151> 2021-05-14

<160> 37

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 723

<212> PRT

<213> 智人

<400> 1

Met Trp Val Thr Lys Leu Leu Pro Ala Leu Leu Leu Gln His Val Leu
1 5 10 15

Leu His Leu Leu Leu Leu Pro Ile Ala Ile Pro Tyr Ala Glu Gly Gln
20 25 30

Arg Lys Arg Arg Asn Thr Ile His Glu Phe Lys Lys Ser Ala Lys Thr
35 40 45

Thr Leu Ile Lys Ile Asp Pro Ala Leu Lys Ile Lys Thr Lys Lys Val
50 55 60

Asn Thr Ala Asp Gln Cys Ala Asn Arg Cys Thr Arg Asn Lys Gly Leu
65 70 75 80

Pro Phe Thr Cys Lys Ala Phe Val Phe Asp Lys Ala Arg Lys Gln Cys
85 90 95

Leu Trp Phe Pro Phe Asn Ser Met Ser Ser Gly Val Lys Lys Glu Phe
100 105 110

Gly His Glu Phe Asp Leu Tyr Glu Asn Lys Asp Tyr Ile Arg Asn Cys
115 120 125

Ile Ile Gly Lys Gly Arg Ser Tyr Lys Gly Thr Val Ser Ile Thr Lys
130 135 140

Ser Gly Ile Lys Cys Gln Pro Trp Ser Ser Met Ile Pro His Glu His
145 150 155 160

Ser Tyr Arg Gly Lys Asp Leu Gln Glu Asn Tyr Cys Arg Asn Pro Arg
165 170 175

Gly Glu Glu Gly Gly Pro Trp Cys Phe Thr Ser Asn Pro Glu Val Arg
180 185 190

Tyr Glu Val Cys Asp Ile Pro Gln Cys Ser Glu Val Glu Cys Met Thr
195 200 205

Cys Asn Gly Glu Ser Tyr Arg Gly Leu Met Asp His Thr Glu Ser Gly
210 215 220

Lys Ile Cys Gln Arg Trp Asp His Gln Thr Pro His Arg His Lys Phe
225 230 235 240

Leu Pro Glu Arg Tyr Pro Asp Lys Gly Phe Asp Asp Asn Tyr Cys Arg
245 250 255

Asn Pro Asp Gly Gln Pro Arg Pro Trp Cys Tyr Thr Leu Asp Pro His
260 265 270

Thr Arg Trp Glu Tyr Cys Ala Ile Lys Thr Cys Ala Asp Asn Thr Met
275 280 285

Asn Asp Thr Asp Val Pro Leu Glu Thr Thr Glu Cys Ile Gln Gly Gln
290 295 300

Gly Glu Gly Tyr Arg Gly Thr Val Asn Thr Ile Trp Asn Gly Ile Pro

305 310 315 320

Cys Gln Arg Trp Asp Ser Gln Tyr Pro His Glu His Asp Met Thr Pro
325 330 335

Glu Asn Phe Lys Cys Lys Asp Leu Arg Glu Asn Tyr Cys Arg Asn Pro
340 345 350

Asp Gly Ser Glu Ser Pro Trp Cys Phe Thr Thr Asp Pro Asn Ile Arg
355 360 365

Val Gly Tyr Cys Ser Gln Ile Pro Asn Cys Asp Met Ser His Gly Gln
370 375 380

Asp Cys Tyr Arg Gly Asn Gly Lys Asn Tyr Met Gly Asn Leu Ser Gln
385 390 395 400

Thr Arg Ser Gly Leu Thr Cys Ser Met Trp Asp Lys Asn Met Glu Asp
405 410 415

Leu His Arg His Ile Phe Trp Glu Pro Asp Ala Ser Lys Leu Asn Glu
420 425 430

Asn Tyr Cys Arg Asn Pro Asp Asp Asp Ala His Gly Pro Trp Cys Tyr
435 440 445

Thr Gly Asn Pro Leu Ile Pro Trp Asp Tyr Cys Pro Ile Ser Arg Cys
450 455 460

Glu Gly Asp Thr Thr Pro Thr Ile Val Asn Leu Asp His Pro Val Ile
465 470 475 480

Ser Cys Ala Lys Thr Lys Gln Leu Arg Val Val Asn Gly Ile Pro Thr
485 490 495

Arg Thr Asn Ile Gly Trp Met Val Ser Leu Arg Tyr Arg Asn Lys His
500 505 510

Ile Cys Gly Gly Ser Leu Ile Lys Glu Ser Trp Val Leu Thr Ala Arg
515 520 525

Gln Cys Phe Pro Ser Arg Asp Leu Lys Asp Tyr Glu Ala Trp Leu Gly
530 535 540

Ile His Asp Val His Gly Arg Gly Asp Glu Lys Cys Lys Gln Val Leu
545 550 555 560

Asn Val Ser Gln Leu Val Tyr Gly Pro Glu Gly Ser Asp Leu Val Leu
565 570 575

Met Lys Leu Ala Arg Pro Ala Val Leu Asp Asp Phe Val Ser Thr Ile
580 585 590

Asp Leu Pro Asn Tyr Gly Cys Thr Ile Pro Glu Lys Thr Ser Cys Ser
595 600 605

Val Tyr Gly Trp Gly Tyr Thr Gly Leu Ile Asn Tyr Asp Gly Leu Leu
610 615 620

Arg Val Ala His Leu Tyr Ile Met Gly Asn Glu Lys Cys Ser Gln His
625 630 635 640

His Arg Gly Lys Val Thr Leu Asn Glu Ser Glu Ile Cys Ala Gly Ala
645 650 655

Glu Lys Ile Gly Ser Gly Pro Cys Glu Gly Asp Tyr Gly Gly Pro Leu
660 665 670

Val Cys Glu Gln His Lys Met Arg Met Val Leu Gly Val Ile Val Pro
675 680 685

Gly Arg Gly Cys Ala Ile Pro Asn Arg Pro Gly Ile Phe Val Arg Val
690 695 700

Ala Tyr Tyr Ala Lys Trp Ile His Lys Ile Ile Leu Thr Tyr Lys Val

705710715720

Pro Gln Ser

<210> 2
<211> 728
<212> PRT
<213> 智人

<400> 2

Met Trp Val Thr Lys Leu Leu Pro Ala Leu Leu Leu Gln His Val Leu
151015

Leu His Leu Leu Leu Leu Pro Ile Ala Ile Pro Tyr Ala Glu Gly Gln
202530

Arg Lys Arg Arg Asn Thr Ile His Glu Phe Lys Lys Ser Ala Lys Thr
354045

Thr Leu Ile Lys Ile Asp Pro Ala Leu Lys Ile Lys Thr Lys Lys Val
505560

Asn Thr Ala Asp Gln Cys Ala Asn Arg Cys Thr Arg Asn Lys Gly Leu
65707580

Pro Phe Thr Cys Lys Ala Phe Val Phe Asp Lys Ala Arg Lys Gln Cys
859095

Leu Trp Phe Pro Phe Asn Ser Met Ser Ser Gly Val Lys Lys Glu Phe
100105110

Gly His Glu Phe Asp Leu Tyr Glu Asn Lys Asp Tyr Ile Arg Asn Cys
115120125

Ile Ile Gly Lys Gly Arg Ser Tyr Lys Gly Thr Val Ser Ile Thr Lys
130135140

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

Tyr Cys Arg Asn Pro Asp Gly Ser Glu Ser Pro Trp Cys Phe Thr Thr
355 360 365

Asp Pro Asn Ile Arg Val Gly Tyr Cys Ser Gln Ile Pro Asn Cys Asp
370 375 380

Met Ser His Gly Gln Asp Cys Tyr Arg Gly Asn Gly Lys Asn Tyr Met
385 390 395 400

Gly Asn Leu Ser Gln Thr Arg Ser Gly Leu Thr Cys Ser Met Trp Asp
405 410 415

Lys Asn Met Glu Asp Leu His Arg His Ile Phe Trp Glu Pro Asp Ala
420 425 430

Ser Lys Leu Asn Glu Asn Tyr Cys Arg Asn Pro Asp Asp Asp Ala His
435 440 445

Gly Pro Trp Cys Tyr Thr Gly Asn Pro Leu Ile Pro Trp Asp Tyr Cys
450 455 460

Pro Ile Ser Arg Cys Glu Gly Asp Thr Thr Pro Thr Ile Val Asn Leu
465 470 475 480

Asp His Pro Val Ile Ser Cys Ala Lys Thr Lys Gln Leu Arg Val Val
485 490 495

Asn Gly Ile Pro Thr Arg Thr Asn Ile Gly Trp Met Val Ser Leu Arg
500 505 510

Tyr Arg Asn Lys His Ile Cys Gly Gly Ser Leu Ile Lys Glu Ser Trp
515 520 525

Val Leu Thr Ala Arg Gln Cys Phe Pro Ser Arg Asp Leu Lys Asp Tyr
530 535 540

Glu Ala Trp Leu Gly Ile His Asp Val His Gly Arg Gly Asp Glu Lys
545 550 555 560

Cys Lys Gln Val Leu Asn Val Ser Gln Leu Val Tyr Gly Pro Glu Gly
565 570 575

Ser Asp Leu Val Leu Met Lys Leu Ala Arg Pro Ala Val Leu Asp Asp
580 585 590

Phe Val Ser Thr Ile Asp Leu Pro Asn Tyr Gly Cys Thr Ile Pro Glu
595 600 605

Lys Thr Ser Cys Ser Val Tyr Gly Trp Gly Tyr Thr Gly Leu Ile Asn
610 615 620

Tyr Asp Gly Leu Leu Arg Val Ala His Leu Tyr Ile Met Gly Asn Glu
625 630 635 640

Lys Cys Ser Gln His His Arg Gly Lys Val Thr Leu Asn Glu Ser Glu
645 650 655

Ile Cys Ala Gly Ala Glu Lys Ile Gly Ser Gly Pro Cys Glu Gly Asp
660 665 670

Tyr Gly Gly Pro Leu Val Cys Glu Gln His Lys Met Arg Met Val Leu
675 680 685

Gly Val Ile Val Pro Gly Arg Gly Cys Ala Ile Pro Asn Arg Pro Gly
690 695 700

Ile Phe Val Arg Val Ala Tyr Tyr Ala Lys Trp Ile His Lys Ile Ile
705 710 715 720

Leu Thr Tyr Lys Val Pro Gln Ser
725

<210> 3
<211> 290

<212> PRT
<213> 智人

<400> 3

Met Trp Val Thr Lys Leu Leu Pro Ala Leu Leu Leu Gln His Val Leu
1 5 10 15

Leu His Leu Leu Leu Leu Pro Ile Ala Ile Pro Tyr Ala Glu Gly Gln
20 25 30

Arg Lys Arg Arg Asn Thr Ile His Glu Phe Lys Lys Ser Ala Lys Thr
35 40 45

Thr Leu Ile Lys Ile Asp Pro Ala Leu Lys Ile Lys Thr Lys Lys Val
50 55 60

Asn Thr Ala Asp Gln Cys Ala Asn Arg Cys Thr Arg Asn Lys Gly Leu
65 70 75 80

Pro Phe Thr Cys Lys Ala Phe Val Phe Asp Lys Ala Arg Lys Gln Cys
85 90 95

Leu Trp Phe Pro Phe Asn Ser Met Ser Ser Gly Val Lys Lys Glu Phe
100 105 110

Gly His Glu Phe Asp Leu Tyr Glu Asn Lys Asp Tyr Ile Arg Asn Cys
115 120 125

Ile Ile Gly Lys Gly Arg Ser Tyr Lys Gly Thr Val Ser Ile Thr Lys
130 135 140

Ser Gly Ile Lys Cys Gln Pro Trp Ser Ser Met Ile Pro His Glu His
145 150 155 160

Ser Phe Leu Pro Ser Ser Tyr Arg Gly Lys Asp Leu Gln Glu Asn Tyr
165 170 175

Cys Arg Asn Pro Arg Gly Glu Glu Gly Gly Pro Trp Cys Phe Thr Ser

180185190

Asn Pro Glu Val Arg Tyr Glu Val Cys Asp Ile Pro Gln Cys Ser Glu
195200205

Val Glu Cys Met Thr Cys Asn Gly Glu Ser Tyr Arg Gly Leu Met Asp
210215220

His Thr Glu Ser Gly Lys Ile Cys Gln Arg Trp Asp His Gln Thr Pro
225230235240

His Arg His Lys Phe Leu Pro Glu Arg Tyr Pro Asp Lys Gly Phe Asp
245250255

Asp Asn Tyr Cys Arg Asn Pro Asp Gly Gln Pro Arg Pro Trp Cys Tyr
260265270

Thr Leu Asp Pro His Thr Arg Trp Glu Tyr Cys Ala Ile Lys Thr Cys
275280285

Glu Thr
290

<210> 4
<211> 296
<212> PRT
<213> 智人

<400> 4

Met Trp Val Thr Lys Leu Leu Pro Ala Leu Leu Leu Gln His Val Leu
151015

Leu His Leu Leu Leu Leu Pro Ile Ala Ile Pro Tyr Ala Glu Gly Gln
202530

Arg Lys Arg Arg Asn Thr Ile His Glu Phe Lys Lys Ser Ala Lys Thr
354045

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

Asp Asn Tyr Cys Arg Asn Pro Asp Gly Gln Pro Arg Pro Trp Cys Tyr
260 265 270

Thr Leu Asp Pro His Thr Arg Trp Glu Tyr Cys Ala Ile Lys Asn Met
275 280 285

Arg Asp Ile Thr Trp Ala Leu Asn
290 295

<210> 5
<211> 285
<212> PRT
<213> 智人

<400> 5

Met Trp Val Thr Lys Leu Leu Pro Ala Leu Leu Leu Gln His Val Leu
1 5 10 15

Leu His Leu Leu Leu Leu Pro Ile Ala Ile Pro Tyr Ala Glu Gly Gln
20 25 30

Arg Lys Arg Arg Asn Thr Ile His Glu Phe Lys Lys Ser Ala Lys Thr
35 40 45

Thr Leu Ile Lys Ile Asp Pro Ala Leu Lys Ile Lys Thr Lys Lys Val
50 55 60

Asn Thr Ala Asp Gln Cys Ala Asn Arg Cys Thr Arg Asn Lys Gly Leu
65 70 75 80

Pro Phe Thr Cys Lys Ala Phe Val Phe Asp Lys Ala Arg Lys Gln Cys
85 90 95

Leu Trp Phe Pro Phe Asn Ser Met Ser Ser Gly Val Lys Lys Glu Phe
100 105 110

Gly His Glu Phe Asp Leu Tyr Glu Asn Lys Asp Tyr Ile Arg Asn Cys

115 120 125

Ile Ile Gly Lys Gly Arg Ser Tyr Lys Gly Thr Val Ser Ile Thr Lys
130 135 140

Ser Gly Ile Lys Cys Gln Pro Trp Ser Ser Met Ile Pro His Glu His
145 150 155 160

Ser Tyr Arg Gly Lys Asp Leu Gln Glu Asn Tyr Cys Arg Asn Pro Arg
165 170 175

Gly Glu Glu Gly Gly Pro Trp Cys Phe Thr Ser Asn Pro Glu Val Arg
180 185 190

Tyr Glu Val Cys Asp Ile Pro Gln Cys Ser Glu Val Glu Cys Met Thr
195 200 205

Cys Asn Gly Glu Ser Tyr Arg Gly Leu Met Asp His Thr Glu Ser Gly
210 215 220

Lys Ile Cys Gln Arg Trp Asp His Gln Thr Pro His Arg His Lys Phe
225 230 235 240

Leu Pro Glu Arg Tyr Pro Asp Lys Gly Phe Asp Asp Asn Tyr Cys Arg
245 250 255

Asn Pro Asp Gly Gln Pro Arg Pro Trp Cys Tyr Thr Leu Asp Pro His
260 265 270

Thr Arg Trp Glu Tyr Cys Ala Ile Lys Thr Cys Glu Thr
275 280 285

<210> 6
<211> 210
<212> PRT
<213> 智人

<400> 6

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

Gly Lys
210

<210> 7
<211> 728
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HGF變異體

<400> 7

Met Trp Val Thr Lys Leu Leu Pro Ala Leu Leu Leu Gln His Val Leu
1 5 10 15

Leu His Leu Leu Leu Leu Pro Ile Ala Ile Pro Tyr Ala Glu Gly Gln
20 25 30

Arg Lys Arg Arg Asn Thr Ile His Glu Phe Lys Lys Ser Ala Lys Thr
35 40 45

Thr Leu Ile Lys Ile Asp Pro Ala Leu Glu Ile Lys Thr Lys Lys Ala
50 55 60

Asn Thr Ala Asp Gln Cys Ala Asn Arg Cys Thr Arg Ser Lys Gly Leu
65 70 75 80

Pro Phe Thr Cys Lys Ala Phe Val Phe Asp Lys Ala Arg Lys Arg Cys
85 90 95

Leu Trp Phe Pro Phe Asn Ser Met Ser Ser Gly Val Lys Lys Glu Phe
100 105 110

Gly His Glu Phe Asp Leu Tyr Glu Asn Lys Asp Tyr Ile Arg Asp Cys
115 120 125

Ile Ile Gly Lys Gly Arg Ser Tyr Arg Gly Thr Val Ser Ile Thr Lys
130 135 140

Ser Gly Ile Lys Cys Gln Pro Trp Ser Ala Met Ile Pro His Glu His
145 150 155 160

Ser Phe Leu Pro Ser Ser Tyr Arg Gly Glu Asp Leu Arg Glu Asn Tyr
165 170 175

Cys Arg Asn Pro Arg Gly Glu Glu Gly Gly Pro Trp Cys Tyr Thr Ser
180 185 190

Asp Pro Glu Val Arg Tyr Glu Val Cys Asp Ile Pro Gln Cys Ser Glu
195 200 205

Val Glu Cys Met Thr Cys Asn Gly Glu Ser Tyr Arg Gly Leu Met Asp
210 215 220

His Thr Glu Ser Gly Lys Ile Cys Gln Arg Trp Asp His Gln Thr Pro
225 230 235 240

His Arg His Lys Phe Leu Pro Glu Arg Tyr Pro Asp Lys Gly Phe Asp
245 250 255

Asp Asn Tyr Cys Arg Asn Pro Asp Gly Gln Pro Arg Pro Trp Cys Tyr
260 265 270

Thr Leu Asp Pro His Thr Arg Trp Glu Tyr Cys Ala Ile Lys Thr Cys
275 280 285

Ala Asp Asn Thr Met Asn Asp Thr Asp Val Pro Leu Glu Thr Thr Glu
290 295 300

Cys Ile Gln Gly Gln Gly Glu Gly Tyr Arg Gly Thr Val Asn Thr Ile
305 310 315 320

Trp Asn Gly Ile Pro Cys Gln Arg Trp Asp Ser Gln Tyr Pro His Glu
325 330 335

His	Asp	Met	Thr	Pro	Glu	Asn	Phe	Lys	Cys	Lys	Asp	Leu	Arg	Glu	Asn	
			340					345					350			
Tyr	Cys	Arg	Asn	Pro	Asp	Gly	Ser	Glu	Ser	Pro	Trp	Cys	Phe	Thr	Thr	
		355					360					365				
Asp	Pro	Asn	Ile	Arg	Val	Gly	Tyr	Cys	Ser	Gln	Ile	Pro	Asn	Cys	Asp	
		370				375					380					
Met	Ser	His	Gly	Gln	Asp	Cys	Tyr	Arg	Gly	Asn	Gly	Lys	Asn	Tyr	Met	
385					390					395					400	
Gly	Asn	Leu	Ser	Gln	Thr	Arg	Ser	Gly	Leu	Thr	Cys	Ser	Met	Trp	Asp	
			405						410					415		
Lys	Asn	Met	Glu	Asp	Leu	His	Arg	His	Ile	Phe	Trp	Glu	Pro	Asp	Ala	
		420						425					430			
Ser	Lys	Leu	Asn	Glu	Asn	Tyr	Cys	Arg	Asn	Pro	Asp	Asp	Asp	Ala	His	
		435						440				445				
Gly	Pro	Trp	Cys	Tyr	Thr	Gly	Asn	Pro	Leu	Ile	Pro	Trp	Asp	Tyr	Cys	
		450				455					460					
Pro	Ile	Ser	Arg	Cys	Glu	Gly	Asp	Thr	Thr	Pro	Thr	Ile	Val	Asn	Leu	
465					470					475					480	
Asp	His	Pro	Val	Ile	Ser	Cys	Ala	Lys	Thr	Lys	Gln	Leu	Arg	Val	Val	
			485						490				495			
Asn	Gly	Ile	Pro	Thr	Arg	Thr	Asn	Ile	Gly	Trp	Met	Val	Ser	Leu	Arg	
		500						505					510			
Tyr	Arg	Asn	Lys	His	Ile	Cys	Gly	Gly	Ser	Leu	Ile	Lys	Glu	Ser	Trp	
		515					520					525				
Val	Leu	Thr	Ala	Arg	Gln	Cys	Phe	Pro	Ser	Arg	Asp	Leu	Lys	Asp	Tyr	
		530				535					540					

Glu Ala Trp Leu Gly Ile His Asp Val His Gly Arg Gly Asp Glu Lys
545 550 555 560

Cys Lys Gln Val Leu Asn Val Ser Gln Leu Val Tyr Gly Pro Glu Gly
565 570 575

Ser Asp Leu Val Leu Met Lys Leu Ala Arg Pro Ala Val Leu Asp Asp
580 585 590

Phe Val Ser Thr Ile Asp Leu Pro Asn Tyr Gly Cys Thr Ile Pro Glu
595 600 605

Lys Thr Ser Cys Ser Val Tyr Gly Trp Gly Tyr Thr Gly Leu Ile Asn
610 615 620

Tyr Asp Gly Leu Leu Arg Val Ala His Leu Tyr Ile Met Gly Asn Glu
625 630 635 640

Lys Cys Ser Gln His His Arg Gly Lys Val Thr Leu Asn Glu Ser Glu
645 650 655

Ile Cys Ala Gly Ala Glu Lys Ile Gly Ser Gly Pro Cys Glu Gly Asp
660 665 670

Tyr Gly Gly Pro Leu Val Cys Glu Gln His Lys Met Arg Met Val Leu
675 680 685

Gly Val Ile Val Pro Gly Arg Gly Cys Ala Ile Pro Asn Arg Pro Gly
690 695 700

Ile Phe Val Arg Val Ala Tyr Tyr Ala Lys Trp Ile His Lys Ile Ile
705 710 715 720

Leu Thr Tyr Lys Val Pro Gln Ser
725

<210> 8
<211> 728
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HGF變異體

<400> 8

Met Trp Val Thr Lys Leu Leu Pro Ala Leu Leu Leu Gln His Val Leu
1 5 10 15

Leu His Leu Leu Leu Leu Pro Ile Ala Ile Pro Tyr Ala Glu Gly Gln
20 25 30

Arg Lys Arg Arg Asn Thr Ile His Glu Phe Lys Lys Ser Ala Lys Thr
35 40 45

Thr Leu Ile Lys Ile Asp Pro Ala Leu Lys Ile Lys Thr Glu Lys Ala
50 55 60

Asn Thr Ala Asp Gln Cys Ala Asn Arg Cys Ile Arg Asn Lys Gly Leu
65 70 75 80

Pro Phe Thr Cys Lys Ala Phe Val Phe Asp Lys Ala Arg Lys Arg Cys
85 90 95

Leu Trp Phe Pro Val Asn Ser Met Ser Ser Gly Val Lys Lys Glu Phe
100 105 110

Gly His Glu Phe Asp Leu Tyr Glu Asn Lys Asp Tyr Thr Arg Asn Cys
115 120 125

Ile Val Gly Asn Gly Arg Ser Tyr Arg Gly Thr Val Ser Thr Thr Lys
130 135 140

Ser Gly Ile Lys Cys Gln Pro Trp Ser Ala Met Ile Pro His Glu His
145 150 155 160

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

Asp Pro Asn Ile Arg Val Gly Tyr Cys Ser Gln Ile Pro Asn Cys Asp
370 375 380

Met Ser His Gly Gln Asp Cys Tyr Arg Gly Asn Gly Lys Asn Tyr Met
385 390 395 400

Gly Asn Leu Ser Gln Thr Arg Ser Gly Leu Thr Cys Ser Met Trp Asp
405 410 415

Lys Asn Met Glu Asp Leu His Arg His Ile Phe Trp Glu Pro Asp Ala
420 425 430

Ser Lys Leu Asn Glu Asn Tyr Cys Arg Asn Pro Asp Asp Asp Ala His
435 440 445

Gly Pro Trp Cys Tyr Thr Gly Asn Pro Leu Ile Pro Trp Asp Tyr Cys
450 455 460

Pro Ile Ser Arg Cys Glu Gly Asp Thr Thr Pro Thr Ile Val Asn Leu
465 470 475 480

Asp His Pro Val Ile Ser Cys Ala Lys Thr Lys Gln Leu Arg Val Val
485 490 495

Asn Gly Ile Pro Thr Arg Thr Asn Ile Gly Trp Met Val Ser Leu Arg
500 505 510

Tyr Arg Asn Lys His Ile Cys Gly Gly Ser Leu Ile Lys Glu Ser Trp
515 520 525

Val Leu Thr Ala Arg Gln Cys Phe Pro Ser Arg Asp Leu Lys Asp Tyr
530 535 540

Glu Ala Trp Leu Gly Ile His Asp Val His Gly Arg Gly Asp Glu Lys
545 550 555 560

Cys Lys Gln Val Leu Asn Val Ser Gln Leu Val Tyr Gly Pro Glu Gly
565 570 575

Ser Asp Leu Val Leu Met Lys Leu Ala Arg Pro Ala Val Leu Asp Asp
580 585 590

Phe Val Ser Thr Ile Asp Leu Pro Asn Tyr Gly Cys Thr Ile Pro Glu
595 600 605

Lys Thr Ser Cys Ser Val Tyr Gly Trp Gly Tyr Thr Gly Leu Ile Asn
610 615 620

Tyr Asp Gly Leu Leu Arg Val Ala His Leu Tyr Ile Met Gly Asn Glu
625 630 635 640

Lys Cys Ser Gln His His Arg Gly Lys Val Thr Leu Asn Glu Ser Glu
645 650 655

Ile Cys Ala Gly Ala Glu Lys Ile Gly Ser Gly Pro Cys Glu Gly Asp
660 665 670

Tyr Gly Gly Pro Leu Val Cys Glu Gln His Lys Met Arg Met Val Leu
675 680 685

Gly Val Ile Val Pro Gly Arg Gly Cys Ala Ile Pro Asn Arg Pro Gly
690 695 700

Ile Phe Val Arg Val Ala Tyr Tyr Ala Lys Trp Ile His Lys Ile Ile
705 710 715 720

Leu Thr Tyr Lys Val Pro Gln Ser
725

<210> 9
<211> 728
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> HGF變異體

<400> 9

Met Trp Val Thr Lys Leu Leu Pro Ala Leu Leu Leu Gln His Val Leu
1 5 10 15

Leu His Leu Leu Leu Leu Pro Ile Ala Ile Pro Tyr Ala Glu Gly Gln
20 25 30

Arg Lys Arg Arg Asn Thr Ile His Glu Phe Lys Lys Ser Ala Lys Thr
35 40 45

Thr Leu Ile Lys Ile Asp Pro Ala Leu Lys Ile Lys Thr Glu Lys Ala
50 55 60

Asn Thr Ala Asp Gln Cys Ala Asn Arg Cys Thr Arg Ser Lys Gly Leu
65 70 75 80

Pro Phe Thr Cys Lys Ala Phe Val Phe Asp Lys Ala Arg Lys Arg Cys
85 90 95

Leu Trp Phe Pro Phe Asn Ser Met Ser Ser Gly Val Lys Lys Glu Phe
100 105 110

Gly His Glu Phe Asp Leu Tyr Glu Asn Lys Asp Tyr Ile Arg Asp Cys
115 120 125

Ile Val Gly Asn Gly Arg Ser Tyr Arg Gly Thr Val Ser Ile Thr Lys
130 135 140

Ser Gly Ile Glu Cys Gln Pro Trp Ser Ala Met Ile Pro His Glu His
145 150 155 160

Ser Phe Leu Pro Ser Ser Tyr Arg Gly Glu Asp Leu Arg Glu Asn Tyr
165 170 175

Cys Arg Asn Pro Arg Gly Glu Glu Gly Gly Pro Trp Cys Tyr Thr Ser
180 185 190

Asp Pro Glu Val Arg Tyr Glu Val Cys Asp Ile Pro Gln Cys Ser Glu
195 200 205

Val Glu Cys Met Thr Cys Asn Gly Glu Ser Tyr Arg Gly Leu Met Asp
210 215 220

His Thr Glu Ser Gly Lys Ile Cys Gln Arg Trp Asp His Gln Thr Pro
225 230 235 240

His Arg His Lys Phe Leu Pro Glu Arg Tyr Pro Asp Lys Gly Phe Asp
245 250 255

Asp Asn Tyr Cys Arg Asn Pro Asp Gly Gln Pro Arg Pro Trp Cys Tyr
260 265 270

Thr Leu Asp Pro His Thr Arg Trp Glu Tyr Cys Ala Ile Lys Thr Cys
275 280 285

Ala Asp Asn Thr Met Asn Asp Thr Asp Val Pro Leu Glu Thr Thr Glu
290 295 300

Cys Ile Gln Gly Gln Gly Glu Gly Tyr Arg Gly Thr Val Asn Thr Ile
305 310 315 320

Trp Asn Gly Ile Pro Cys Gln Arg Trp Asp Ser Gln Tyr Pro His Glu
325 330 335

His Asp Met Thr Pro Glu Asn Phe Lys Cys Lys Asp Leu Arg Glu Asn
340 345 350

Tyr Cys Arg Asn Pro Asp Gly Ser Glu Ser Pro Trp Cys Phe Thr Thr
355 360 365

Asp Pro Asn Ile Arg Val Gly Tyr Cys Ser Gln Ile Pro Asn Cys Asp
370 375 380

Met	Ser	His	Gly	Gln	Asp	Cys	Tyr	Arg	Gly	Asn	Gly	Lys	Asn	Tyr	Met
385					390					395					400
Gly	Asn	Leu	Ser	Gln	Thr	Arg	Ser	Gly	Leu	Thr	Cys	Ser	Met	Trp	Asp
				405					410					415	
Lys	Asn	Met	Glu	Asp	Leu	His	Arg	His	Ile	Phe	Trp	Glu	Pro	Asp	Ala
		420						425					430		
Ser	Lys	Leu	Asn	Glu	Asn	Tyr	Cys	Arg	Asn	Pro	Asp	Asp	Asp	Ala	His
		435					440					445			
Gly	Pro	Trp	Cys	Tyr	Thr	Gly	Asn	Pro	Leu	Ile	Pro	Trp	Asp	Tyr	Cys
	450					455					460				
Pro	Ile	Ser	Arg	Cys	Glu	Gly	Asp	Thr	Thr	Pro	Thr	Ile	Val	Asn	Leu
465					470					475					480
Asp	His	Pro	Val	Ile	Ser	Cys	Ala	Lys	Thr	Lys	Gln	Leu	Arg	Val	Val
				485					490					495	
Asn	Gly	Ile	Pro	Thr	Arg	Thr	Asn	Ile	Gly	Trp	Met	Val	Ser	Leu	Arg
		500						505					510		
Tyr	Arg	Asn	Lys	His	Ile	Cys	Gly	Gly	Ser	Leu	Ile	Lys	Glu	Ser	Trp
		515					520					525			
Val	Leu	Thr	Ala	Arg	Gln	Cys	Phe	Pro	Ser	Arg	Asp	Leu	Lys	Asp	Tyr
	530					535					540				
Glu	Ala	Trp	Leu	Gly	Ile	His	Asp	Val	His	Gly	Arg	Gly	Asp	Glu	Lys
545					550					555				560	
Cys	Lys	Gln	Val	Leu	Asn	Val	Ser	Gln	Leu	Val	Tyr	Gly	Pro	Glu	Gly
				565					570					575	
Ser	Asp	Leu	Val	Leu	Met	Lys	Leu	Ala	Arg	Pro	Ala	Val	Leu	Asp	Asp
		580						585					590		

Phe Val Ser Thr Ile Asp Leu Pro Asn Tyr Gly Cys Thr Ile Pro Glu
595 600 605

Lys Thr Ser Cys Ser Val Tyr Gly Trp Gly Tyr Thr Gly Leu Ile Asn
610 615 620

Tyr Asp Gly Leu Leu Arg Val Ala His Leu Tyr Ile Met Gly Asn Glu
625 630 635 640

Lys Cys Ser Gln His His Arg Gly Lys Val Thr Leu Asn Glu Ser Glu
645 650 655

Ile Cys Ala Gly Ala Glu Lys Ile Gly Ser Gly Pro Cys Glu Gly Asp
660 665 670

Tyr Gly Gly Pro Leu Val Cys Glu Gln His Lys Met Arg Met Val Leu
675 680 685

Gly Val Ile Val Pro Gly Arg Gly Cys Ala Ile Pro Asn Arg Pro Gly
690 695 700

Ile Phe Val Arg Val Ala Tyr Tyr Ala Lys Trp Ile His Lys Ile Ile
705 710 715 720

Leu Thr Tyr Lys Val Pro Gln Ser
725

<210> 10
<211> 728
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HGF變異體

<400> 10

Met Trp Val Thr Lys Leu Leu Pro Ala Leu Leu Leu Gln His Val Leu
1 5 10 15

Leu His Leu Leu Leu Leu Pro Ile Ala Ile Pro Tyr Ala Lys Gly Gln
20 25 30

Gly Lys Arg Arg Asn Thr Ile His Glu Phe Lys Lys Ser Ala Lys Thr
35 40 45

Thr Leu Ile Lys Ile Asp Pro Ala Leu Lys Ile Lys Thr Glu Lys Ala
50 55 60

Asp Thr Ala Asp Gln Cys Ala Asn Arg Cys Thr Arg Ser Lys Gly Leu
65 70 75 80

Pro Phe Thr Cys Lys Ala Phe Val Phe Asp Lys Ala Arg Lys Gln Cys
85 90 95

Leu Trp Phe Pro Phe Asn Ser Met Ser Ser Gly Val Lys Lys Glu Phe
100 105 110

Gly His Glu Phe Asp Leu Tyr Glu Asn Lys Asp Tyr Ile Arg Asp Cys
115 120 125

Ile Val Gly Asn Gly Arg Ser Tyr Arg Gly Thr Val Ser Val Thr Lys
130 135 140

Ser Gly Ile Lys Cys Gln Pro Trp Ser Ser Met Ile Pro His Glu His
145 150 155 160

Ser Phe Leu Pro Ser Ser Tyr Arg Gly Glu Asp Leu Arg Glu Asn Tyr
165 170 175

Cys Arg Asn Pro Arg Gly Glu Glu Gly Gly Pro Trp Cys Tyr Thr Ser
180 185 190

Asp Pro Glu Val Arg Tyr Glu Val Cys Asp Ile Pro Gln Cys Ser Glu
195 200 205

Val Glu Cys Met Thr Cys Asn Gly Glu Ser Tyr Arg Gly Leu Met Asp
210 215 220

His Thr Glu Ser Gly Lys Ile Cys Gln Arg Trp Asp His Gln Thr Pro
225 230 235 240

His Arg His Lys Phe Leu Pro Glu Arg Tyr Pro Asp Lys Gly Phe Asp
245 250 255

Asp Asn Tyr Cys Arg Asn Pro Asp Gly Gln Pro Arg Pro Trp Cys Tyr
260 265 270

Thr Leu Asp Pro His Thr Arg Trp Glu Tyr Cys Ala Ile Lys Thr Cys
275 280 285

Ala Asp Asn Thr Met Asn Asp Thr Asp Val Pro Leu Glu Thr Thr Glu
290 295 300

Cys Ile Gln Gly Gln Gly Glu Gly Tyr Arg Gly Thr Val Asn Thr Ile
305 310 315 320

Trp Asn Gly Ile Pro Cys Gln Arg Trp Asp Ser Gln Tyr Pro His Glu
325 330 335

His Asp Met Thr Pro Glu Asn Phe Lys Cys Lys Asp Leu Arg Glu Asn
340 345 350

Tyr Cys Arg Asn Pro Asp Gly Ser Glu Ser Pro Trp Cys Phe Thr Thr
355 360 365

Asp Pro Asn Ile Arg Val Gly Tyr Cys Ser Gln Ile Pro Asn Cys Asp
370 375 380

Met Ser His Gly Gln Asp Cys Tyr Arg Gly Asn Gly Lys Asn Tyr Met
385 390 395 400

Gly Asn Leu Ser Gln Thr Arg Ser Gly Leu Thr Cys Ser Met Trp Asp
405 410 415

Lys Asn Met Glu Asp Leu His Arg His Ile Phe Trp Glu Pro Asp Ala
420 425 430

Ser Lys Leu Asn Glu Asn Tyr Cys Arg Asn Pro Asp Asp Asp Ala His
435 440 445

Gly Pro Trp Cys Tyr Thr Gly Asn Pro Leu Ile Pro Trp Asp Tyr Cys
450 455 460

Pro Ile Ser Arg Cys Glu Gly Asp Thr Thr Pro Thr Ile Val Asn Leu
465 470 475 480

Asp His Pro Val Ile Ser Cys Ala Lys Thr Lys Gln Leu Arg Val Val
485 490 495

Asn Gly Ile Pro Thr Arg Thr Asn Ile Gly Trp Met Val Ser Leu Arg
500 505 510

Tyr Arg Asn Lys His Ile Cys Gly Gly Ser Leu Ile Lys Glu Ser Trp
515 520 525

Val Leu Thr Ala Arg Gln Cys Phe Pro Ser Arg Asp Leu Lys Asp Tyr
530 535 540

Glu Ala Trp Leu Gly Ile His Asp Val His Gly Arg Gly Asp Glu Lys
545 550 555 560

Cys Lys Gln Val Leu Asn Val Ser Gln Leu Val Tyr Gly Pro Glu Gly
565 570 575

Ser Asp Leu Val Leu Met Lys Leu Ala Arg Pro Ala Val Leu Asp Asp
580 585 590

Phe Val Ser Thr Ile Asp Leu Pro Asn Tyr Gly Cys Thr Ile Pro Glu
595 600 605

Lys Thr Ser Cys Ser Val Tyr Gly Trp Gly Tyr Thr Gly Leu Ile Asn
610 615 620

Tyr Asp Gly Leu Leu Arg Val Ala His Leu Tyr Ile Met Gly Asn Glu
625 630 635 640

Lys Cys Ser Gln His His Arg Gly Lys Val Thr Leu Asn Glu Ser Glu
645 650 655

Ile Cys Ala Gly Ala Glu Lys Ile Gly Ser Gly Pro Cys Glu Gly Asp
660 665 670

Tyr Gly Gly Pro Leu Val Cys Glu Gln His Lys Met Arg Met Val Leu
675 680 685

Gly Val Ile Val Pro Gly Arg Gly Cys Ala Ile Pro Asn Arg Pro Gly
690 695 700

Ile Phe Val Arg Val Ala Tyr Tyr Ala Lys Trp Ile His Lys Ile Ile
705 710 715 720

Leu Thr Tyr Lys Val Pro Gln Ser
725

<210> 11
<211> 728
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HGF變異體

<400> 11

Met Trp Val Thr Lys Leu Leu Pro Ala Leu Leu Leu Gln His Val Leu
1 5 10 15

Leu His Leu Leu Leu Leu Pro Ile Ala Ile Pro Tyr Ala Glu Gly Gln
20 25 30

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

His Arg His Lys Phe Leu Pro Glu Arg Tyr Pro Asp Lys Gly Phe Asp
245 250 255

Asp Asn Tyr Cys Arg Asn Pro Asp Gly Gln Pro Arg Pro Trp Cys Tyr
260 265 270

Thr Leu Asp Pro His Thr Arg Trp Glu Tyr Cys Ala Ile Lys Thr Cys
275 280 285

Ala Asp Asn Thr Met Asn Asp Thr Asp Val Pro Leu Glu Thr Thr Glu
290 295 300

Cys Ile Gln Gly Gln Gly Glu Gly Tyr Arg Gly Thr Val Asn Thr Ile
305 310 315 320

Trp Asn Gly Ile Pro Cys Gln Arg Trp Asp Ser Gln Tyr Pro His Glu
325 330 335

His Asp Met Thr Pro Glu Asn Phe Lys Cys Lys Asp Leu Arg Glu Asn
340 345 350

Tyr Cys Arg Asn Pro Asp Gly Ser Glu Ser Pro Trp Cys Phe Thr Thr
355 360 365

Asp Pro Asn Ile Arg Val Gly Tyr Cys Ser Gln Ile Pro Asn Cys Asp
370 375 380

Met Ser His Gly Gln Asp Cys Tyr Arg Gly Asn Gly Lys Asn Tyr Met
385 390 395 400

Gly Asn Leu Ser Gln Thr Arg Ser Gly Leu Thr Cys Ser Met Trp Asp
405 410 415

Lys Asn Met Glu Asp Leu His Arg His Ile Phe Trp Glu Pro Asp Ala
420 425 430

Ser	Lys	Leu	Asn	Glu	Asn	Tyr	Cys	Arg	Asn	Pro	Asp	Asp	Asp	Ala	His
435			440			445									
Gly	Pro	Trp	Cys	Tyr	Thr	Gly	Asn	Pro	Leu	Ile	Pro	Trp	Asp	Tyr	Cys
450			455			460									
Pro	Ile	Ser	Arg	Cys	Glu	Gly	Asp	Thr	Thr	Pro	Thr	Ile	Val	Asn	Leu
465			470			475			480						
Asp	His	Pro	Val	Ile	Ser	Cys	Ala	Lys	Thr	Lys	Gln	Leu	Arg	Val	Val
485			490			495									
Asn	Gly	Ile	Pro	Thr	Arg	Thr	Asn	Ile	Gly	Trp	Met	Val	Ser	Leu	Arg
500			505			510									
Tyr	Arg	Asn	Lys	His	Ile	Cys	Gly	Gly	Ser	Leu	Ile	Lys	Glu	Ser	Trp
515			520			525									
Val	Leu	Thr	Ala	Arg	Gln	Cys	Phe	Pro	Ser	Arg	Asp	Leu	Lys	Asp	Tyr
530			535			540									
Glu	Ala	Trp	Leu	Gly	Ile	His	Asp	Val	His	Gly	Arg	Gly	Asp	Glu	Lys
545			550			555			560						
Cys	Lys	Gln	Val	Leu	Asn	Val	Ser	Gln	Leu	Val	Tyr	Gly	Pro	Glu	Gly
565			570			575									
Ser	Asp	Leu	Val	Leu	Met	Lys	Leu	Ala	Arg	Pro	Ala	Val	Leu	Asp	Asp
580			585			590									
Phe	Val	Ser	Thr	Ile	Asp	Leu	Pro	Asn	Tyr	Gly	Cys	Thr	Ile	Pro	Glu
595			600			605									
Lys	Thr	Ser	Cys	Ser	Val	Tyr	Gly	Trp	Gly	Tyr	Thr	Gly	Leu	Ile	Asn
610			615			620									
Tyr	Asp	Gly	Leu	Leu	Arg	Val	Ala	His	Leu	Tyr	Ile	Met	Gly	Asn	Glu
625			630			635			640						

Lys Cys Ser Gln His His Arg Gly Lys Val Thr Leu Asn Glu Ser Glu
645 650 655

Ile Cys Ala Gly Ala Glu Lys Ile Gly Ser Gly Pro Cys Glu Gly Asp
660 665 670

Tyr Gly Gly Pro Leu Val Cys Glu Gln His Lys Met Arg Met Val Leu
675 680 685

Gly Val Ile Val Pro Gly Arg Gly Cys Ala Ile Pro Asn Arg Pro Gly
690 695 700

Ile Phe Val Arg Val Ala Tyr Tyr Ala Lys Trp Ile His Lys Ile Ile
705 710 715 720

Leu Thr Tyr Lys Val Pro Gln Ser
725

<210> 12
<211> 728
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HGF變異體

<400> 12

Met Trp Val Thr Lys Leu Leu Pro Ala Leu Leu Leu Gln His Val Leu
1 5 10 15

Leu His Leu Leu Leu Pro Ile Ala Ile Pro Tyr Ala Glu Gly Gln
20 25 30

Arg Lys Arg Arg Asn Thr Ile His Glu Phe Lys Lys Ser Ala Lys Thr
35 40 45

Thr Leu Ile Lys Ile Asp Pro Ala Leu Lys Ile Lys Thr Glu Lys Ala
50 55 60

Asn Thr Ala Asp Gln Cys Ala Asn Arg Cys Thr Arg Ser Lys Gly Leu
65 70 75 80

Pro Phe Thr Cys Lys Ala Phe Val Phe Asp Lys Ala Arg Lys Arg Cys
85 90 95

Leu Trp Phe Pro Phe Asn Ser Met Ser Ser Gly Val Lys Lys Glu Phe
100 105 110

Gly His Glu Phe Asp Leu Tyr Glu Asn Lys Asp Tyr Thr Arg Asn Cys
115 120 125

Ile Val Gly Asn Gly Arg Ser Tyr Arg Gly Thr Val Ser Ile Thr Lys
130 135 140

Ser Gly Ile Glu Cys Gln Pro Trp Ser Ala Met Ile Pro His Glu His
145 150 155 160

Ser Phe Leu Pro Ser Ser Tyr Gln Gly Glu Asp Leu Arg Glu Asn Tyr
165 170 175

Cys Arg Asn Pro Arg Gly Glu Glu Gly Gly Pro Trp Cys Tyr Thr Ser
180 185 190

Asp Pro Glu Val Arg Tyr Glu Val Cys Asp Ile Pro Gln Cys Ser Glu
195 200 205

Val Glu Cys Met Thr Cys Asn Gly Glu Ser Tyr Arg Gly Leu Met Asp
210 215 220

His Thr Glu Ser Gly Lys Ile Cys Gln Arg Trp Asp His Gln Thr Pro
225 230 235 240

His Arg His Lys Phe Leu Pro Glu Arg Tyr Pro Asp Lys Gly Phe Asp
245 250 255

Asp Asn Tyr Cys Arg Asn Pro Asp Gly Gln Pro Arg Pro Trp Cys Tyr
260 265 270

Thr Leu Asp Pro His Thr Arg Trp Glu Tyr Cys Ala Ile Lys Thr Cys
275 280 285

Ala Asp Asn Thr Met Asn Asp Thr Asp Val Pro Leu Glu Thr Thr Glu
290 295 300

Cys Ile Gln Gly Gln Gly Glu Gly Tyr Arg Gly Thr Val Asn Thr Ile
305 310 315 320

Trp Asn Gly Ile Pro Cys Gln Arg Trp Asp Ser Gln Tyr Pro His Glu
325 330 335

His Asp Met Thr Pro Glu Asn Phe Lys Cys Lys Asp Leu Arg Glu Asn
340 345 350

Tyr Cys Arg Asn Pro Asp Gly Ser Glu Ser Pro Trp Cys Phe Thr Thr
355 360 365

Asp Pro Asn Ile Arg Val Gly Tyr Cys Ser Gln Ile Pro Asn Cys Asp
370 375 380

Met Ser His Gly Gln Asp Cys Tyr Arg Gly Asn Gly Lys Asn Tyr Met
385 390 395 400

Gly Asn Leu Ser Gln Thr Arg Ser Gly Leu Thr Cys Ser Met Trp Asp
405 410 415

Lys Asn Met Glu Asp Leu His Arg His Ile Phe Trp Glu Pro Asp Ala
420 425 430

Ser Lys Leu Asn Glu Asn Tyr Cys Arg Asn Pro Asp Asp Asp Ala His
435 440 445

Gly Pro Trp Cys Tyr Thr Gly Asn Pro Leu Ile Pro Trp Asp Tyr Cys
450 455 460

Pro Ile Ser Arg Cys Glu Gly Asp Thr Thr Pro Thr Ile Val Asn Leu
465 470 475 480

Asp His Pro Val Ile Ser Cys Ala Lys Thr Lys Gln Leu Arg Val Val
485 490 495

Asn Gly Ile Pro Thr Arg Thr Asn Ile Gly Trp Met Val Ser Leu Arg
500 505 510

Tyr Arg Asn Lys His Ile Cys Gly Gly Ser Leu Ile Lys Glu Ser Trp
515 520 525

Val Leu Thr Ala Arg Gln Cys Phe Pro Ser Arg Asp Leu Lys Asp Tyr
530 535 540

Glu Ala Trp Leu Gly Ile His Asp Val His Gly Arg Gly Asp Glu Lys
545 550 555 560

Cys Lys Gln Val Leu Asn Val Ser Gln Leu Val Tyr Gly Pro Glu Gly
565 570 575

Ser Asp Leu Val Leu Met Lys Leu Ala Arg Pro Ala Val Leu Asp Asp
580 585 590

Phe Val Ser Thr Ile Asp Leu Pro Asn Tyr Gly Cys Thr Ile Pro Glu
595 600 605

Lys Thr Ser Cys Ser Val Tyr Gly Trp Gly Tyr Thr Gly Leu Ile Asn
610 615 620

Tyr Asp Gly Leu Leu Arg Val Ala His Leu Tyr Ile Met Gly Asn Glu
625 630 635 640

Lys Cys Ser Gln His His Arg Gly Lys Val Thr Leu Asn Glu Ser Glu
645 650 655

Ile Cys Ala Gly Ala Glu Lys Ile Gly Ser Gly Pro Cys Glu Gly Asp
660 665 670

Tyr Gly Gly Pro Leu Val Cys Glu Gln His Lys Met Arg Met Val Leu
675 680 685

Gly Val Ile Val Pro Gly Arg Gly Cys Ala Ile Pro Asn Arg Pro Gly
690 695 700

Ile Phe Val Arg Val Ala Tyr Tyr Ala Lys Trp Ile His Lys Ile Ile
705 710 715 720

Leu Thr Tyr Lys Val Pro Gln Ser
725

<210> 13
<211> 728
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HGF變異體

<400> 13

Met Trp Val Thr Lys Leu Leu Pro Ala Leu Leu Leu Gln His Val Leu
1 5 10 15

Leu His Leu Leu Leu Leu Pro Ile Ala Ile Pro Tyr Ala Glu Gly Gln
20 25 30

Arg Lys Arg Arg Asn Thr Ile His Glu Phe Lys Lys Ser Ala Lys Thr
35 40 45

Thr Leu Ile Lys Ile Asp Pro Ala Leu Lys Ile Lys Thr Lys Lys Val
50 55 60

Asn Thr Ala Asp Gln Cys Ala Asn Arg Cys Thr Arg Asn Lys Gly Leu
65 70 75 80

Pro Phe Thr Cys Lys Ala Phe Val Phe Asp Lys Ala Arg Lys Gln Cys
85 90 95

Leu Trp Phe Pro Phe Asn Ser Met Ser Ser Gly Val Lys Lys Glu Phe
100 105 110

Gly His Glu Phe Asp Leu Tyr Glu Asn Lys Asp Tyr Ile Arg Asn Cys
115 120 125

Ile Ile Gly Lys Gly Arg Ser Tyr Lys Gly Thr Val Ser Ile Thr Lys
130 135 140

Ser Gly Ile Lys Cys Gln Pro Trp Ser Ser Met Ile Pro His Glu His
145 150 155 160

Ser Phe Leu Pro Ser Ser Tyr Arg Gly Lys Asp Leu Gln Glu Asn Tyr
165 170 175

Cys Arg Asn Pro Arg Gly Glu Glu Gly Gly Pro Trp Cys Phe Thr Ser
180 185 190

Asn Pro Glu Val Arg Tyr Glu Val Cys Asp Ile Pro Gln Cys Ser Glu
195 200 205

Val Glu Cys Met Thr Cys Asn Gly Glu Ser Tyr Arg Gly Leu Met Asp
210 215 220

His Thr Glu Ser Gly Lys Ile Cys Gln Arg Trp Asp His Gln Thr Pro
225 230 235 240

His Arg His Lys Phe Leu Pro Glu Arg Tyr Pro Asp Lys Gly Phe Asp
245 250 255

Asp Asn Tyr Cys Arg Asn Pro Asp Gly Gln Pro Arg Pro Trp Cys Tyr
260 265 270

Thr Leu Asp Pro His Thr Arg Trp Glu Tyr Cys Ala Ile Lys Thr Cys
275 280 285

Ala Asp Asn Thr Met Asn Asp Thr Asp Val Pro Leu Glu Thr Thr Glu
290 295 300

Cys Ile Gln Gly Gln Gly Glu Gly Tyr Arg Gly Thr Val Asn Thr Ile
305 310 315 320

Trp Asn Gly Ile Pro Cys Gln Arg Trp Asp Ser Gln Tyr Pro His Glu
325 330 335

His Asp Met Thr Pro Glu Asn Phe Lys Cys Lys Asp Leu Arg Glu Asn
340 345 350

Tyr Cys Arg Asn Pro Asp Gly Ser Glu Ser Pro Trp Cys Phe Thr Thr
355 360 365

Asp Pro Asn Ile Arg Val Gly Tyr Cys Ser Gln Ile Pro Asn Cys Asp
370 375 380

Met Ser His Gly Gln Asp Cys Tyr Arg Gly Asn Gly Lys Asn Tyr Met
385 390 395 400

Gly Asn Leu Ser Gln Thr Arg Ser Gly Leu Thr Cys Ser Met Trp Asp
405 410 415

Lys Asn Met Glu Asp Leu His Arg His Ile Phe Trp Glu Pro Asp Ala
420 425 430

Ser Lys Leu Asn Glu Asn Tyr Cys Arg Asn Pro Asp Asp Asp Ala His
435 440 445

Gly Pro Trp Cys Tyr Thr Gly Asn Pro Leu Ile Pro Trp Asp Tyr Cys
450 455 460

Pro Ile Ser Arg Cys Glu Gly Asp Thr Thr Pro Thr Ile Val Asn Leu
465 470 475 480

Asp His Pro Val Ile Ser Cys Ala Lys Thr Lys Gln Leu Arg Val Val
485 490 495

Asn Gly Ile Pro Thr Arg Thr Asn Ile Gly Trp Met Val Ser Leu Arg
500 505 510

Tyr Arg Asn Lys His Ile Cys Gly Gly Ser Leu Ile Lys Glu Ser Trp
515 520 525

Val Leu Thr Ala Arg Gln Cys Phe Pro Ser Arg Asp Leu Lys Asp Tyr
530 535 540

Glu Ala Trp Leu Gly Ile His Asp Val His Gly Arg Gly Asp Glu Lys
545 550 555 560

Cys Lys Gln Val Leu Asn Val Ser Gln Leu Val Tyr Gly Pro Glu Gly
565 570 575

Ser Asp Leu Val Leu Met Lys Leu Ala Arg Pro Ala Val Leu Asp Asp
580 585 590

Phe Val Ser Thr Ile Asp Leu Pro Asn Tyr Gly Cys Thr Ile Pro Glu
595 600 605

Lys Thr Ser Cys Ser Val Tyr Gly Trp Gly Tyr Thr Gly Leu Ile Asn
610 615 620

Tyr Asp Gly Leu Leu Arg Val Ala His Leu Tyr Ile Met Gly Asn Glu
625 630 635 640

Lys Cys Ser Gln His His Arg Gly Lys Val Thr Leu Asn Glu Ser Glu
645 650 655

Ile Cys Ala Gly Ala Glu Lys Ile Gly Ser Gly Pro Cys Glu Gly Asp
660 665 670

Tyr Gly Gly Pro Leu Val Cys Glu Gln His Lys Met Arg Met Val Leu
675 680 685

Gly Val Ile Val Pro Gly Arg Gly Cys Ala Ile Pro Asn Arg Pro Gly
690 695 700

Ile Phe Val Arg Val Ala Tyr Tyr Ala Lys Trp Ile His Lys Ile Ile
705 710 715 720

Leu Thr Tyr Lys Val Pro Gln Ser
725

<210> 14
<211> 728
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HGF變異體

<400> 14

Met Trp Val Thr Lys Leu Leu Pro Ala Leu Leu Leu Gln His Val Leu
1 5 10 15

Leu His Leu Leu Leu Leu Pro Ile Ala Ile Pro Tyr Ala Glu Gly Gln
20 25 30

Arg Lys Arg Arg Asp Ala Ile His Glu Cys Lys Arg Ser Ala Lys Thr
35 40 45

Thr Leu Ile Lys Ile Asp Pro Ala Leu Lys Ile Lys Thr Glu Lys Ala
50 55 60

Asn Thr Ala Asp Gln Cys Ala Asn Arg Cys Thr Arg Asn Lys Gly Leu
65 70 75 80

Pro Ser Thr Cys Lys Ala Phe Val Phe Asp Lys Ala Arg Lys Arg Arg
85 90 95

Leu Arg Phe Pro Phe Asn Ser Met Ser Ser Gly Val Lys Lys Glu Phe
100 105 110

Gly His Glu Phe Asp Leu Tyr Glu Asn Lys Asp Tyr Thr Arg Asn Cys
115 120 125

Ile Val Gly Lys Gly Arg Ser Tyr Arg Gly Thr Val Ser Thr Thr Lys
130 135 140

Ser Gly Ile Lys Cys Gln Pro Trp Ser Ala Met Ile Pro His Glu His
145 150 155 160

Ser Phe Leu Pro Ser Ser Tyr Arg Gly Glu Asp Leu Arg Glu Asn Tyr
165 170 175

Cys Arg Asn Pro Arg Gly Glu Glu Gly Gly Pro Trp Cys Tyr Thr Ser
180 185 190

Asp Pro Glu Val Arg Tyr Glu Val Cys Asp Ile Pro Gln Cys Ser Glu
195 200 205

Val Glu Cys Met Thr Cys Asn Gly Glu Ser Tyr Arg Gly Leu Met Asp
210 215 220

His Thr Glu Ser Gly Lys Ile Cys Gln Arg Trp Asp His Gln Thr Pro
225 230 235 240

His Arg His Lys Phe Leu Pro Glu Arg Tyr Pro Asp Lys Gly Phe Asp
245 250 255

Asp Asn Tyr Cys Arg Asn Pro Asp Gly Gln Pro Arg Pro Trp Cys Tyr
260 265 270

Thr Leu Asp Pro His Thr Arg Trp Glu Tyr Cys Ala Ile Lys Thr Cys
275 280 285

Ala Asp Asn Thr Met Asn Asp Thr Asp Val Pro Leu Glu Thr Thr Glu
290 295 300

Cys	Ile	Gln	Gly	Gln	Gly	Glu	Gly	Tyr	Arg	Gly	Thr	Val	Asn	Thr	Ile
305					310					315					320
Trp	Asn	Gly	Ile	Pro	Cys	Gln	Arg	Trp	Asp	Ser	Gln	Tyr	Pro	His	Glu
				325					330					335	
His	Asp	Met	Thr	Pro	Glu	Asn	Phe	Lys	Cys	Lys	Asp	Leu	Arg	Glu	Asn
			340					345						350	
Tyr	Cys	Arg	Asn	Pro	Asp	Gly	Ser	Glu	Ser	Pro	Trp	Cys	Phe	Thr	Thr
		355					360					365			
Asp	Pro	Asn	Ile	Arg	Val	Gly	Tyr	Cys	Ser	Gln	Ile	Pro	Asn	Cys	Asp
	370					375					380				
Met	Ser	His	Gly	Gln	Asp	Cys	Tyr	Arg	Gly	Asn	Gly	Lys	Asn	Tyr	Met
385					390					395					400
Gly	Asn	Leu	Ser	Gln	Thr	Arg	Ser	Gly	Leu	Thr	Cys	Ser	Met	Trp	Asp
				405					410					415	
Lys	Asn	Met	Glu	Asp	Leu	His	Arg	His	Ile	Phe	Trp	Glu	Pro	Asp	Ala
			420					425						430	
Ser	Lys	Leu	Asn	Glu	Asn	Tyr	Cys	Arg	Asn	Pro	Asp	Asp	Asp	Ala	His
		435					440					445			
Gly	Pro	Trp	Cys	Tyr	Thr	Gly	Asn	Pro	Leu	Ile	Pro	Trp	Asp	Tyr	Cys
	450					455					460				
Pro	Ile	Ser	Arg	Cys	Glu	Gly	Asp	Thr	Thr	Pro	Thr	Ile	Val	Asn	Leu
465					470					475					480
Asp	His	Pro	Val	Ile	Ser	Cys	Ala	Lys	Thr	Lys	Gln	Leu	Arg	Val	Val
				485					490					495	
Asn	Gly	Ile	Pro	Thr	Arg	Thr	Asn	Ile	Gly	Trp	Met	Val	Ser	Leu	Arg
			500					505						510	

Tyr Arg Asn Lys His Ile Cys Gly Gly Ser Leu Ile Lys Glu Ser Trp
515 520 525

Val Leu Thr Ala Arg Gln Cys Phe Pro Ser Arg Asp Leu Lys Asp Tyr
530 535 540

Glu Ala Trp Leu Gly Ile His Asp Val His Gly Arg Gly Asp Glu Lys
545 550 555 560

Cys Lys Gln Val Leu Asn Val Ser Gln Leu Val Tyr Gly Pro Glu Gly
565 570 575

Ser Asp Leu Val Leu Met Lys Leu Ala Arg Pro Ala Val Leu Asp Asp
580 585 590

Phe Val Ser Thr Ile Asp Leu Pro Asn Tyr Gly Cys Thr Ile Pro Glu
595 600 605

Lys Thr Ser Cys Ser Val Tyr Gly Trp Gly Tyr Thr Gly Leu Ile Asn
610 615 620

Tyr Asp Gly Leu Leu Arg Val Ala His Leu Tyr Ile Met Gly Asn Glu
625 630 635 640

Lys Cys Ser Gln His His Arg Gly Lys Val Thr Leu Asn Glu Ser Glu
645 650 655

Ile Cys Ala Gly Ala Glu Lys Ile Gly Ser Gly Pro Cys Glu Gly Asp
660 665 670

Tyr Gly Gly Pro Leu Val Cys Glu Gln His Lys Met Arg Met Val Leu
675 680 685

Gly Val Ile Val Pro Gly Arg Gly Cys Ala Ile Pro Asn Arg Pro Gly
690 695 700

Ile Phe Val Arg Val Ala Tyr Tyr Ala Lys Trp Ile His Lys Ile Ile
705 710 715 720

Leu Thr Tyr Lys Val Pro Gln Ser
725

<210> 15
<211> 728
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HGF變異體

<400> 15

Met Trp Val Thr Lys Leu Leu Pro Ala Leu Leu Leu Gln His Val Leu
1 5 10 15

Leu His Leu Leu Leu Leu Pro Ile Ala Ile Pro Tyr Ala Glu Gly Gln
20 25 30

Gly Lys Arg Arg Asn Thr Ile His Glu Phe Lys Lys Ser Ala Lys Thr
35 40 45

Thr Leu Ile Lys Ile Asp Pro Ala Leu Lys Ile Lys Thr Glu Lys Val
50 55 60

Asn Thr Ala Asp Gln Cys Ala Asn Arg Cys Thr Arg Ser Lys Gly Leu
65 70 75 80

Pro Phe Thr Cys Lys Ala Phe Val Phe Asp Lys Ala Arg Lys Arg Cys
85 90 95

Leu Trp Phe Pro Phe Asn Ser Met Ser Ser Gly Val Lys Lys Glu Phe
100 105 110

Gly His Glu Phe Asp Leu Tyr Glu Asn Lys Asp Tyr Ile Arg Asp Cys
115 120 125

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

His Asp Met Thr Pro Glu Asn Phe Lys Cys Lys Asp Leu Arg Glu Asn
340 345 350

Tyr Cys Arg Asn Pro Asp Gly Ser Glu Ser Pro Trp Cys Phe Thr Thr
355 360 365

Asp Pro Asn Ile Arg Val Gly Tyr Cys Ser Gln Ile Pro Asn Cys Asp
370 375 380

Met Ser His Gly Gln Asp Cys Tyr Arg Gly Asn Gly Lys Asn Tyr Met
385 390 395 400

Gly Asn Leu Ser Gln Thr Arg Ser Gly Leu Thr Cys Ser Met Trp Asp
405 410 415

Lys Asn Met Glu Asp Leu His Arg His Ile Phe Trp Glu Pro Asp Ala
420 425 430

Ser Lys Leu Asn Glu Asn Tyr Cys Arg Asn Pro Asp Asp Asp Ala His
435 440 445

Gly Pro Trp Cys Tyr Thr Gly Asn Pro Leu Ile Pro Trp Asp Tyr Cys
450 455 460

Pro Ile Ser Arg Cys Glu Gly Asp Thr Thr Pro Thr Ile Val Asn Leu
465 470 475 480

Asp His Pro Val Ile Ser Cys Ala Lys Thr Lys Gln Leu Arg Val Val
485 490 495

Asn Gly Ile Pro Thr Arg Thr Asn Ile Gly Trp Met Val Ser Leu Arg
500 505 510

Tyr Arg Asn Lys His Ile Cys Gly Gly Ser Leu Ile Lys Glu Ser Trp
515 520 525

Val Leu Thr Ala Arg Gln Cys Phe Pro Ser Arg Asp Leu Lys Asp Tyr
530 535 540

Glu Ala Trp Leu Gly Ile His Asp Val His Gly Arg Gly Asp Glu Lys
545 550 555 560

Cys Lys Gln Val Leu Asn Val Ser Gln Leu Val Tyr Gly Pro Glu Gly
565 570 575

Ser Asp Leu Val Leu Met Lys Leu Ala Arg Pro Ala Val Leu Asp Asp
580 585 590

Phe Val Ser Thr Ile Asp Leu Pro Asn Tyr Gly Cys Thr Ile Pro Glu
595 600 605

Lys Thr Ser Cys Ser Val Tyr Gly Trp Gly Tyr Thr Gly Leu Ile Asn
610 615 620

Tyr Asp Gly Leu Leu Arg Val Ala His Leu Tyr Ile Met Gly Asn Glu
625 630 635 640

Lys Cys Ser Gln His His Arg Gly Lys Val Thr Leu Asn Glu Ser Glu
645 650 655

Ile Cys Ala Gly Ala Glu Lys Ile Gly Ser Gly Pro Cys Glu Gly Asp
660 665 670

Tyr Gly Gly Pro Leu Val Cys Glu Gln His Lys Met Arg Met Val Leu
675 680 685

Gly Val Ile Val Pro Gly Arg Gly Cys Ala Ile Pro Asn Arg Pro Gly
690 695 700

Ile Phe Val Arg Val Ala Tyr Tyr Ala Lys Trp Ile His Lys Ile Ile
705 710 715 720

Leu Thr Tyr Lys Val Pro Gln Ser
725

<210> 16
<211> 728
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HGF變異體

<400> 16

Met Trp Val Thr Lys Leu Leu Pro Ala Leu Leu Leu Gln His Val Leu
1 5 10 15

Leu His Leu Leu Leu Pro Ile Ala Ile Pro His Ala Glu Gly Gln
20 25 30

Arg Lys Arg Arg Asn Thr Ile His Glu Phe Lys Lys Ser Ala Lys Thr
35 40 45

Thr Leu Ile Lys Ile Asp Pro Ala Leu Lys Ile Lys Thr Glu Lys Ala
50 55 60

Asn Thr Ala Asp Gln Cys Ala Asn Arg Cys Thr Arg Ser Lys Gly Leu
65 70 75 80

Pro Phe Thr Cys Lys Ala Phe Val Phe Asp Lys Ala Arg Lys Arg Cys
85 90 95

Leu Trp Phe Pro Phe Asn Ser Met Ser Ser Gly Val Lys Lys Glu Phe
100 105 110

Gly His Glu Phe Asp Leu Tyr Glu Asn Lys Asp Tyr Thr Arg Asn Cys
115 120 125

Ile Val Gly Asn Gly Arg Ser Tyr Arg Gly Thr Val Ser Thr Thr Lys
130 135 140

Ser Gly Ile Lys Cys Gln Pro Trp Ser Ala Met Ile Pro His Glu His
145 150 155 160

Ser Phe Leu Pro Ser Ser Tyr Arg Gly Glu Asp Leu Arg Glu Asn Tyr
165 170 175

Cys Arg Asn Pro Arg Gly Glu Glu Gly Gly Pro Trp Cys Tyr Thr Ser
180 185 190

Asp Pro Glu Val Arg Tyr Glu Val Cys Asp Ile Pro Gln Cys Ser Glu
195 200 205

Val Glu Cys Met Thr Cys Asn Gly Glu Ser Tyr Arg Gly Leu Met Asp
210 215 220

His Thr Glu Ser Gly Lys Ile Cys Gln Arg Trp Asp His Gln Thr Pro
225 230 235 240

His Arg His Lys Phe Leu Pro Glu Arg Tyr Pro Asp Lys Gly Phe Asp
245 250 255

Asp Asn Tyr Cys Arg Asn Pro Asp Gly Gln Pro Arg Pro Trp Cys Tyr
260 265 270

Thr Leu Asp Pro His Thr Arg Trp Glu Tyr Cys Ala Ile Lys Thr Cys
275 280 285

Ala Asp Asn Thr Met Asn Asp Thr Asp Val Pro Leu Glu Thr Thr Glu
290 295 300

Cys Ile Gln Gly Gln Gly Glu Gly Tyr Arg Gly Thr Val Asn Thr Ile
305 310 315 320

Trp Asn Gly Ile Pro Cys Gln Arg Trp Asp Ser Gln Tyr Pro His Glu
325 330 335

His Asp Met Thr Pro Glu Asn Phe Lys Cys Lys Asp Leu Arg Glu Asn
340 345 350

Tyr Cys Arg Asn Pro Asp Gly Ser Glu Ser Pro Trp Cys Phe Thr Thr
355 360 365

Asp Pro Asn Ile Arg Val Gly Tyr Cys Ser Gln Ile Pro Asn Cys Asp
370 375 380

Met Ser His Gly Gln Asp Cys Tyr Arg Gly Asn Gly Lys Asn Tyr Met
385 390 395 400

Gly Asn Leu Ser Gln Thr Arg Ser Gly Leu Thr Cys Ser Met Trp Asp
405 410 415

Lys Asn Met Glu Asp Leu His Arg His Ile Phe Trp Glu Pro Asp Ala
420 425 430

Ser Lys Leu Asn Glu Asn Tyr Cys Arg Asn Pro Asp Asp Asp Ala His
435 440 445

Gly Pro Trp Cys Tyr Thr Gly Asn Pro Leu Ile Pro Trp Asp Tyr Cys
450 455 460

Pro Ile Ser Arg Cys Glu Gly Asp Thr Thr Pro Thr Ile Val Asn Leu
465 470 475 480

Asp His Pro Val Ile Ser Cys Ala Lys Thr Lys Gln Leu Arg Val Val
485 490 495

Asn Gly Ile Pro Thr Arg Thr Asn Ile Gly Trp Met Val Ser Leu Arg
500 505 510

Tyr Arg Asn Lys His Ile Cys Gly Gly Ser Leu Ile Lys Glu Ser Trp
515 520 525

Val Leu Thr Ala Arg Gln Cys Phe Pro Ser Arg Asp Leu Lys Asp Tyr
530 535 540

Glu Ala Trp Leu Gly Ile His Asp Val His Gly Arg Gly Asp Glu Lys
545 550 555 560

Cys Lys Gln Val Leu Asn Val Ser Gln Leu Val Tyr Gly Pro Glu Gly
565 570 575

Ser Asp Leu Val Leu Met Lys Leu Ala Arg Pro Ala Val Leu Asp Asp
580 585 590

Phe Val Ser Thr Ile Asp Leu Pro Asn Tyr Gly Cys Thr Ile Pro Glu
595 600 605

Lys Thr Ser Cys Ser Val Tyr Gly Trp Gly Tyr Thr Gly Leu Ile Asn
610 615 620

Tyr Asp Gly Leu Leu Arg Val Ala His Leu Tyr Ile Met Gly Asn Glu
625 630 635 640

Lys Cys Ser Gln His His Arg Gly Lys Val Thr Leu Asn Glu Ser Glu
645 650 655

Ile Cys Ala Gly Ala Glu Lys Ile Gly Ser Gly Pro Cys Glu Gly Asp
660 665 670

Tyr Gly Gly Pro Leu Val Cys Glu Gln His Lys Met Arg Met Val Leu
675 680 685

Gly Val Ile Val Pro Gly Arg Gly Cys Ala Ile Pro Asn Arg Pro Gly
690 695 700

Ile Phe Val Arg Val Ala Tyr Tyr Ala Lys Trp Ile His Lys Ile Ile
705 710 715 720

Leu Thr Tyr Lys Val Pro Gln Ser
725

- <210> 17
- <211> 728
- <212> PRT
- <213> 人工序列

<220>

<223> HGF變異體

<400> 17

Met Trp Val Thr Lys Leu Leu Pro Ala Leu Leu Leu Gln His Val Leu
1 5 10 15

Leu His Leu Leu Leu Leu Pro Ile Ala Ile Pro Tyr Ala Glu Gly Gln
20 25 30

Arg Lys Arg Arg Asn Thr Ile His Glu Phe Lys Lys Ser Ala Lys Thr
35 40 45

Thr Leu Ile Lys Ile Asp Pro Ala Leu Lys Ile Lys Thr Glu Lys Ala
50 55 60

Asn Thr Ala Asp Gln Cys Ala Asn Arg Cys Thr Arg Ser Arg Gly Leu
65 70 75 80

Pro Phe Thr Cys Lys Ala Phe Val Phe Asp Lys Ala Arg Lys Gln Cys
85 90 95

Leu Trp Phe Pro Phe Asn Ser Met Ser Ser Gly Val Lys Lys Glu Phe
100 105 110

Gly His Glu Phe Asp Leu Tyr Glu Asn Lys Asp Tyr Ile Arg Asp Cys
115 120 125

Ile Ile Gly Asn Gly Arg Ser Tyr Arg Gly Thr Val Ser Val Thr Lys
130 135 140

Ser Gly Ile Lys Cys Gln Pro Trp Ser Ala Met Ile Pro His Glu His
145 150 155 160

Ser Phe Leu Pro Ser Ser Tyr Arg Gly Glu Asp Leu Arg Glu Asn Tyr
165 170 175

Cys Arg Asn Pro Arg Gly Glu Glu Gly Gly Pro Trp Cys Tyr Thr Ser
180 185 190

Asp Pro Glu Val Arg Tyr Glu Val Cys Asp Ile Pro Gln Cys Ser Glu
195 200 205

Val Glu Cys Met Thr Cys Asn Gly Glu Ser Tyr Arg Gly Leu Met Asp
210 215 220

His Thr Glu Ser Gly Lys Ile Cys Gln Arg Trp Asp His Gln Thr Pro
225 230 235 240

His Arg His Lys Phe Leu Pro Glu Arg Tyr Pro Asp Lys Gly Phe Asp
245 250 255

Asp Asn Tyr Cys Arg Asn Pro Asp Gly Gln Pro Arg Pro Trp Cys Tyr
260 265 270

Thr Leu Asp Pro His Thr Arg Trp Glu Tyr Cys Ala Ile Lys Thr Cys
275 280 285

Ala Asp Asn Thr Met Asn Asp Thr Asp Val Pro Leu Glu Thr Thr Glu
290 295 300

Cys Ile Gln Gly Gln Gly Glu Gly Tyr Arg Gly Thr Val Asn Thr Ile
305 310 315 320

Trp Asn Gly Ile Pro Cys Gln Arg Trp Asp Ser Gln Tyr Pro His Glu
325 330 335

His Asp Met Thr Pro Glu Asn Phe Lys Cys Lys Asp Leu Arg Glu Asn
340 345 350

Tyr Cys Arg Asn Pro Asp Gly Ser Glu Ser Pro Trp Cys Phe Thr Thr
355 360 365

Asp Pro Asn Ile Arg Val Gly Tyr Cys Ser Gln Ile Pro Asn Cys Asp
370 375 380

Met Ser His Gly Gln Asp Cys Tyr Arg Gly Asn Gly Lys Asn Tyr Met
385 390 395 400

Gly Asn Leu Ser Gln Thr Arg Ser Gly Leu Thr Cys Ser Met Trp Asp
405 410 415

Lys Asn Met Glu Asp Leu His Arg His Ile Phe Trp Glu Pro Asp Ala
420 425 430

Ser Lys Leu Asn Glu Asn Tyr Cys Arg Asn Pro Asp Asp Asp Ala His
435 440 445

Gly Pro Trp Cys Tyr Thr Gly Asn Pro Leu Ile Pro Trp Asp Tyr Cys
450 455 460

Pro Ile Ser Arg Cys Glu Gly Asp Thr Thr Pro Thr Ile Val Asn Leu
465 470 475 480

Asp His Pro Val Ile Ser Cys Ala Lys Thr Lys Gln Leu Arg Val Val
485 490 495

Asn Gly Ile Pro Thr Arg Thr Asn Ile Gly Trp Met Val Ser Leu Arg
500 505 510

Tyr Arg Asn Lys His Ile Cys Gly Gly Ser Leu Ile Lys Glu Ser Trp
515 520 525

Val Leu Thr Ala Arg Gln Cys Phe Pro Ser Arg Asp Leu Lys Asp Tyr
530 535 540

Glu Ala Trp Leu Gly Ile His Asp Val His Gly Arg Gly Asp Glu Lys
545 550 555 560

Cys Lys Gln Val Leu Asn Val Ser Gln Leu Val Tyr Gly Pro Glu Gly
565 570 575

Ser Asp Leu Val Leu Met Lys Leu Ala Arg Pro Ala Val Leu Asp Asp
580 585 590

Phe Val Ser Thr Ile Asp Leu Pro Asn Tyr Gly Cys Thr Ile Pro Glu
595 600 605

Lys Thr Ser Cys Ser Val Tyr Gly Trp Gly Tyr Thr Gly Leu Ile Asn
610 615 620

Tyr Asp Gly Leu Leu Arg Val Ala His Leu Tyr Ile Met Gly Asn Glu
625 630 635 640

Lys Cys Ser Gln His His Arg Gly Lys Val Thr Leu Asn Glu Ser Glu
645 650 655

Ile Cys Ala Gly Ala Glu Lys Ile Gly Ser Gly Pro Cys Glu Gly Asp
660 665 670

Tyr Gly Gly Pro Leu Val Cys Glu Gln His Lys Met Arg Met Val Leu
675 680 685

Gly Val Ile Val Pro Gly Arg Gly Cys Ala Ile Pro Asn Arg Pro Gly
690 695 700

Ile Phe Val Arg Val Ala Tyr Tyr Ala Lys Trp Ile His Lys Ile Ile
705 710 715 720

Leu Thr Tyr Lys Val Pro Gln Ser
725

<210> 18
<211> 728
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HGF變異體

<400> 18

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

Val Glu Cys Met Thr Cys Asn Gly Glu Ser Tyr Arg Gly Leu Met Asp
210 215 220

His Thr Glu Ser Gly Lys Ile Cys Gln Arg Trp Asp His Gln Thr Pro
225 230 235 240

His Arg His Lys Phe Leu Pro Glu Arg Tyr Pro Asp Lys Gly Phe Asp
245 250 255

Asp Asn Tyr Cys Arg Asn Pro Asp Gly Gln Pro Arg Pro Trp Cys Tyr
260 265 270

Thr Leu Asp Pro His Thr Arg Trp Glu Tyr Cys Ala Ile Lys Thr Cys
275 280 285

Ala Asp Asn Thr Met Asn Asp Thr Asp Val Pro Leu Glu Thr Thr Glu
290 295 300

Cys Ile Gln Gly Gln Gly Glu Gly Tyr Arg Gly Thr Val Asn Thr Ile
305 310 315 320

Trp Asn Gly Ile Pro Cys Gln Arg Trp Asp Ser Gln Tyr Pro His Glu
325 330 335

His Asp Met Thr Pro Glu Asn Phe Lys Cys Lys Asp Leu Arg Glu Asn
340 345 350

Tyr Cys Arg Asn Pro Asp Gly Ser Glu Ser Pro Trp Cys Phe Thr Thr
355 360 365

Asp Pro Asn Ile Arg Val Gly Tyr Cys Ser Gln Ile Pro Asn Cys Asp
370 375 380

Met Ser His Gly Gln Asp Cys Tyr Arg Gly Asn Gly Lys Asn Tyr Met
385 390 395 400

Gly Asn Leu Ser Gln Thr Arg Ser Gly Leu Thr Cys Ser Met Trp Asp
405 410 415

Lys Asn Met Glu Asp Leu His Arg His Ile Phe Trp Glu Pro Asp Ala
420 425 430

Ser Lys Leu Asn Glu Asn Tyr Cys Arg Asn Pro Asp Asp Asp Ala His
435 440 445

Gly Pro Trp Cys Tyr Thr Gly Asn Pro Leu Ile Pro Trp Asp Tyr Cys
450 455 460

Pro Ile Ser Arg Cys Glu Gly Asp Thr Thr Pro Thr Ile Val Asn Leu
465 470 475 480

Asp His Pro Val Ile Ser Cys Ala Lys Thr Lys Gln Leu Arg Val Val
485 490 495

Asn Gly Ile Pro Thr Arg Thr Asn Ile Gly Trp Met Val Ser Leu Arg
500 505 510

Tyr Arg Asn Lys His Ile Cys Gly Gly Ser Leu Ile Lys Glu Ser Trp
515 520 525

Val Leu Thr Ala Arg Gln Cys Phe Pro Ser Arg Asp Leu Lys Asp Tyr
530 535 540

Glu Ala Trp Leu Gly Ile His Asp Val His Gly Arg Gly Asp Glu Lys
545 550 555 560

Cys Lys Gln Val Leu Asn Val Ser Gln Leu Val Tyr Gly Pro Glu Gly
565 570 575

Ser Asp Leu Val Leu Met Lys Leu Ala Arg Pro Ala Val Leu Asp Asp
580 585 590

Phe Val Ser Thr Ile Asp Leu Pro Asn Tyr Gly Cys Thr Ile Pro Glu
595 600 605

Lys Thr Ser Cys Ser Val Tyr Gly Trp Gly Tyr Thr Gly Leu Ile Asn
610 615 620

Tyr Asp Gly Leu Leu Arg Val Ala His Leu Tyr Ile Met Gly Asn Glu
625 630 635 640

Lys Cys Ser Gln His His Arg Gly Lys Val Thr Leu Asn Glu Ser Glu
645 650 655

Ile Cys Ala Gly Ala Glu Lys Ile Gly Ser Gly Pro Cys Glu Gly Asp
660 665 670

Tyr Gly Gly Pro Leu Val Cys Glu Gln His Lys Met Arg Met Val Leu
675 680 685

Gly Val Ile Val Pro Gly Arg Gly Cys Ala Ile Pro Asn Arg Pro Gly
690 695 700

Ile Phe Val Arg Val Ala Tyr Tyr Ala Lys Trp Ile His Lys Ile Ile
705 710 715 720

Leu Thr Tyr Lys Val Pro Gln Ser
725

<210> 19
<211> 728
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HGF變異體

<400> 19

Met Trp Val Thr Lys Leu Leu Pro Ala Leu Leu Leu Gln His Val Leu
1 5 10 15

Leu His Leu Leu Leu Pro Ile Ala Ile Pro Tyr Ala Glu Gly Gln
20 25 30

Arg Lys Arg Arg Asn Thr Ile His Glu Phe Lys Lys Ser Val Lys Thr
35 40 45

Thr Leu Ile Lys Ile Asp Pro Ala Leu Lys Ile Lys Thr Glu Lys Ala
50 55 60

Asn Thr Ala Asp Gln Cys Ala Asn Arg Cys Thr Arg Ser Lys Gly Leu
65 70 75 80

Pro Phe Thr Cys Lys Ala Phe Val Phe Asp Lys Ala Arg Lys Arg Cys
85 90 95

Leu Trp Phe Pro Val Asn Ser Met Ser Ser Gly Val Lys Lys Glu Ser
100 105 110

Gly His Glu Phe Asp Leu Tyr Glu Asn Lys Asp Tyr Ile Arg Asp Cys
115 120 125

Ile Val Gly Asn Gly Arg Ser Tyr Arg Gly Thr Val Ser Thr Thr Lys
130 135 140

Ser Gly Ile Lys Cys Gln Pro Trp Ser Ala Met Ile Pro His Glu His
145 150 155 160

Ser Phe Leu Pro Ser Ser Tyr Arg Gly Glu Asp Leu Arg Glu Asn Tyr
165 170 175

Cys Arg Asn Pro Arg Gly Glu Glu Gly Gly Pro Trp Cys Tyr Thr Ser
180 185 190

Asp Pro Glu Val Arg Tyr Glu Val Cys Asp Ile Pro Gln Cys Ser Glu
195 200 205

Val Glu Cys Met Thr Cys Asn Gly Glu Ser Tyr Arg Gly Leu Met Asp
210 215 220

His Thr Glu Ser Gly Lys Ile Cys Gln Arg Trp Asp His Gln Thr Pro
225 230 235 240

His Arg His Lys Phe Leu Pro Glu Arg Tyr Pro Asp Lys Gly Phe Asp
245 250 255

Asp Asn Tyr Cys Arg Asn Pro Asp Gly Gln Pro Arg Pro Trp Cys Tyr
260 265 270

Thr Leu Asp Pro His Thr Arg Trp Glu Tyr Cys Ala Ile Lys Thr Cys
275 280 285

Ala Asp Asn Thr Met Asn Asp Thr Asp Val Pro Leu Glu Thr Thr Glu
290 295 300

Cys Ile Gln Gly Gln Gly Glu Gly Tyr Arg Gly Thr Val Asn Thr Ile
305 310 315 320

Trp Asn Gly Ile Pro Cys Gln Arg Trp Asp Ser Gln Tyr Pro His Glu
325 330 335

His Asp Met Thr Pro Glu Asn Phe Lys Cys Lys Asp Leu Arg Glu Asn
340 345 350

Tyr Cys Arg Asn Pro Asp Gly Ser Glu Ser Pro Trp Cys Phe Thr Thr
355 360 365

Asp Pro Asn Ile Arg Val Gly Tyr Cys Ser Gln Ile Pro Asn Cys Asp
370 375 380

Met Ser His Gly Gln Asp Cys Tyr Arg Gly Asn Gly Lys Asn Tyr Met
385 390 395 400

Gly Asn Leu Ser Gln Thr Arg Ser Gly Leu Thr Cys Ser Met Trp Asp
405 410 415

Lys Asn Met Glu Asp Leu His Arg His Ile Phe Trp Glu Pro Asp Ala
420 425 430

Ser Lys Leu Asn Glu Asn Tyr Cys Arg Asn Pro Asp Asp Asp Ala His
435 440 445

Gly Pro Trp Cys Tyr Thr Gly Asn Pro Leu Ile Pro Trp Asp Tyr Cys
450 455 460

Pro Ile Ser Arg Cys Glu Gly Asp Thr Thr Pro Thr Ile Val Asn Leu
465 470 475 480

Asp His Pro Val Ile Ser Cys Ala Lys Thr Lys Gln Leu Arg Val Val
485 490 495

Asn Gly Ile Pro Thr Arg Thr Asn Ile Gly Trp Met Val Ser Leu Arg
500 505 510

Tyr Arg Asn Lys His Ile Cys Gly Gly Ser Leu Ile Lys Glu Ser Trp
515 520 525

Val Leu Thr Ala Arg Gln Cys Phe Pro Ser Arg Asp Leu Lys Asp Tyr
530 535 540

Glu Ala Trp Leu Gly Ile His Asp Val His Gly Arg Gly Asp Glu Lys
545 550 555 560

Cys Lys Gln Val Leu Asn Val Ser Gln Leu Val Tyr Gly Pro Glu Gly
565 570 575

Ser Asp Leu Val Leu Met Lys Leu Ala Arg Pro Ala Val Leu Asp Asp
580 585 590

Phe Val Ser Thr Ile Asp Leu Pro Asn Tyr Gly Cys Thr Ile Pro Glu
595 600 605

Lys Thr Ser Cys Ser Val Tyr Gly Trp Gly Tyr Thr Gly Leu Ile Asn
610 615 620

Tyr Asp Gly Leu Leu Arg Val Ala His Leu Tyr Ile Met Gly Asn Glu
625 630 635 640

Lys Cys Ser Gln His His Arg Gly Lys Val Thr Leu Asn Glu Ser Glu
645 650 655

Ile Cys Ala Gly Ala Glu Lys Ile Gly Ser Gly Pro Cys Glu Gly Asp
660 665 670

Tyr Gly Gly Pro Leu Val Cys Glu Gln His Lys Met Arg Met Val Leu
675 680 685

Gly Val Ile Val Pro Gly Arg Gly Cys Ala Ile Pro Asn Arg Pro Gly
690 695 700

Ile Phe Val Arg Val Ala Tyr Tyr Ala Lys Trp Ile His Lys Ile Ile
705 710 715 720

Leu Thr Tyr Lys Val Pro Gln Ser
725

<210> 20
<211> 728
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HGF變異體

<400> 20

Met Trp Val Thr Lys Leu Leu Pro Ala Leu Leu Leu Gln His Val Leu
1 5 10 15

Leu His Leu Leu Leu Leu Pro Ile Ala Ile Pro Tyr Ala Glu Gly Gln
20 25 30

Arg Lys Arg Arg Asn Thr Ile His Glu Phe Lys Lys Ser Ala Lys Thr
35 40 45

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

Asp Asn Tyr Cys Arg Asn Pro Asp Gly Gln Pro Arg Pro Trp Cys Tyr
260 265 270

Thr Leu Asp Pro His Thr Arg Trp Glu Tyr Cys Ala Ile Lys Thr Cys
275 280 285

Ala Asp Asn Thr Met Asn Asp Thr Asp Val Pro Leu Glu Thr Thr Glu
290 295 300

Cys Ile Gln Gly Gln Gly Glu Gly Tyr Arg Gly Thr Val Asn Thr Ile
305 310 315 320

Trp Asn Gly Ile Pro Cys Gln Arg Trp Asp Ser Gln Tyr Pro His Glu
325 330 335

His Asp Met Thr Pro Glu Asn Phe Lys Cys Lys Asp Leu Arg Glu Asn
340 345 350

Tyr Cys Arg Asn Pro Asp Gly Ser Glu Ser Pro Trp Cys Phe Thr Thr
355 360 365

Asp Pro Asn Ile Arg Val Gly Tyr Cys Ser Gln Ile Pro Asn Cys Asp
370 375 380

Met Ser His Gly Gln Asp Cys Tyr Arg Gly Asn Gly Lys Asn Tyr Met
385 390 395 400

Gly Asn Leu Ser Gln Thr Arg Ser Gly Leu Thr Cys Ser Met Trp Asp
405 410 415

Lys Asn Met Glu Asp Leu His Arg His Ile Phe Trp Glu Pro Asp Ala
420 425 430

Ser Lys Leu Asn Glu Asn Tyr Cys Arg Asn Pro Asp Asp Asp Ala His
435 440 445

Gly Pro Trp Cys Tyr Thr Gly Asn Pro Leu Ile Pro Trp Asp Tyr Cys
450 455 460

Pro Ile Ser Arg Cys Glu Gly Asp Thr Thr Pro Thr Ile Val Asn Leu
465 470 475 480

Asp His Pro Val Ile Ser Cys Ala Lys Thr Lys Gln Leu Arg Val Val
485 490 495

Asn Gly Ile Pro Thr Arg Thr Asn Ile Gly Trp Met Val Ser Leu Arg
500 505 510

Tyr Arg Asn Lys His Ile Cys Gly Gly Ser Leu Ile Lys Glu Ser Trp
515 520 525

Val Leu Thr Ala Arg Gln Cys Phe Pro Ser Arg Asp Leu Lys Asp Tyr
530 535 540

Glu Ala Trp Leu Gly Ile His Asp Val His Gly Arg Gly Asp Glu Lys
545 550 555 560

Cys Lys Gln Val Leu Asn Val Ser Gln Leu Val Tyr Gly Pro Glu Gly
565 570 575

Ser Asp Leu Val Leu Met Lys Leu Ala Arg Pro Ala Val Leu Asp Asp
580 585 590

Phe Val Ser Thr Ile Asp Leu Pro Asn Tyr Gly Cys Thr Ile Pro Glu
595 600 605

Lys Thr Ser Cys Ser Val Tyr Gly Trp Gly Tyr Thr Gly Leu Ile Asn
610 615 620

Tyr Asp Gly Leu Leu Arg Val Ala His Leu Tyr Ile Met Gly Asn Glu
625 630 635 640

Lys Cys Ser Gln His His Arg Gly Lys Val Thr Leu Asn Glu Ser Glu
645 650 655

Ile Cys Ala Gly Ala Glu Lys Ile Gly Ser Gly Pro Cys Glu Gly Asp
660 665 670

Tyr Gly Gly Pro Leu Val Cys Glu Gln His Lys Met Arg Met Val Leu
675 680 685

Gly Val Ile Val Pro Gly Arg Gly Cys Ala Ile Pro Asn Arg Pro Gly
690 695 700

Ile Phe Val Arg Val Ala Tyr Tyr Ala Lys Trp Ile His Lys Ile Ile
705 710 715 720

Leu Thr Tyr Lys Val Pro Gln Ser
725

<210> 21
<211> 728
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HGF變異體

<400> 21

Met Trp Val Thr Lys Leu Leu Pro Ala Leu Leu Leu Gln His Val Leu
1 5 10 15

Leu His Leu Leu Leu Leu Pro Ile Ala Ile Pro Tyr Ala Glu Gly Gln
20 25 30

Arg Lys Arg Arg Asn Thr Ile His Glu Phe Lys Lys Ser Ala Lys Thr
35 40 45

Thr Leu Ile Lys Ile Asp Pro Ala Leu Arg Ile Lys Thr Glu Lys Ala
50 55 60

Asn Thr Ala Asp Gln Cys Ala Asn Arg Cys Thr Arg Ser Arg Gly Leu
65 70 75 80

Pro Phe Thr Cys Lys Ala Phe Val Phe Asp Lys Ala Arg Lys Arg Cys
85 90 95

Leu Trp Phe Pro Phe Asn Ser Met Ser Ser Gly Val Lys Lys Glu Phe
100 105 110

Gly His Glu Phe Asp Leu Tyr Glu Asn Lys Asp Tyr Ile Arg Asp Cys
115 120 125

Ile Ile Gly Asn Gly Arg Ser Tyr Arg Gly Thr Val Ser Ile Thr Lys
130 135 140

Ser Gly Ile Lys Cys Gln Pro Trp Ser Ser Met Ile Pro His Glu His
145 150 155 160

Ser Phe Leu Pro Ser Ser Tyr Arg Gly Glu Asp Leu Arg Glu Asn Tyr
165 170 175

Cys Arg Asn Pro Arg Gly Glu Glu Gly Gly Pro Trp Cys Tyr Thr Ser
180 185 190

Asp Pro Glu Val Arg Tyr Glu Val Cys Asp Ile Pro Gln Cys Ser Glu
195 200 205

Val Glu Cys Met Thr Cys Asn Gly Glu Ser Tyr Arg Gly Leu Met Asp
210 215 220

His Thr Glu Ser Gly Lys Ile Cys Gln Arg Trp Asp His Gln Thr Pro
225 230 235 240

His Arg His Lys Phe Leu Pro Glu Arg Tyr Pro Asp Lys Gly Phe Asp
245 250 255

Asp Asn Tyr Cys Arg Asn Pro Asp Gly Gln Pro Arg Pro Trp Cys Tyr
260 265 270

Thr Leu Asp Pro His Thr Arg Trp Glu Tyr Cys Ala Ile Lys Thr Cys
275 280 285

Ala Asp Asn Thr Met Asn Asp Thr Asp Val Pro Leu Glu Thr Thr Glu
290 295 300

Cys Ile Gln Gly Gln Gly Glu Gly Tyr Arg Gly Thr Val Asn Thr Ile
305 310 315 320

Trp Asn Gly Ile Pro Cys Gln Arg Trp Asp Ser Gln Tyr Pro His Glu
325 330 335

His Asp Met Thr Pro Glu Asn Phe Lys Cys Lys Asp Leu Arg Glu Asn
340 345 350

Tyr Cys Arg Asn Pro Asp Gly Ser Glu Ser Pro Trp Cys Phe Thr Thr
355 360 365

Asp Pro Asn Ile Arg Val Gly Tyr Cys Ser Gln Ile Pro Asn Cys Asp
370 375 380

Met Ser His Gly Gln Asp Cys Tyr Arg Gly Asn Gly Lys Asn Tyr Met
385 390 395 400

Gly Asn Leu Ser Gln Thr Arg Ser Gly Leu Thr Cys Ser Met Trp Asp
405 410 415

Lys Asn Met Glu Asp Leu His Arg His Ile Phe Trp Glu Pro Asp Ala
420 425 430

Ser Lys Leu Asn Glu Asn Tyr Cys Arg Asn Pro Asp Asp Asp Ala His
435 440 445

Gly Pro Trp Cys Tyr Thr Gly Asn Pro Leu Ile Pro Trp Asp Tyr Cys
450 455 460

Pro Ile Ser Arg Cys Glu Gly Asp Thr Thr Pro Thr Ile Val Asn Leu
465 470 475 480

Asp His Pro Val Ile Ser Cys Ala Lys Thr Lys Gln Leu Arg Val Val
485 490 495

Asn Gly Ile Pro Thr Arg Thr Asn Ile Gly Trp Met Val Ser Leu Arg
500 505 510

Tyr Arg Asn Lys His Ile Cys Gly Gly Ser Leu Ile Lys Glu Ser Trp
515 520 525

Val Leu Thr Ala Arg Gln Cys Phe Pro Ser Arg Asp Leu Lys Asp Tyr
530 535 540

Glu Ala Trp Leu Gly Ile His Asp Val His Gly Arg Gly Asp Glu Lys
545 550 555 560

Cys Lys Gln Val Leu Asn Val Ser Gln Leu Val Tyr Gly Pro Glu Gly
565 570 575

Ser Asp Leu Val Leu Met Lys Leu Ala Arg Pro Ala Val Leu Asp Asp
580 585 590

Phe Val Ser Thr Ile Asp Leu Pro Asn Tyr Gly Cys Thr Ile Pro Glu
595 600 605

Lys Thr Ser Cys Ser Val Tyr Gly Trp Gly Tyr Thr Gly Leu Ile Asn
610 615 620

Tyr Asp Gly Leu Leu Arg Val Ala His Leu Tyr Ile Met Gly Asn Glu
625 630 635 640

Lys Cys Ser Gln His His Arg Gly Lys Val Thr Leu Asn Glu Ser Glu
645 650 655

Ile Cys Ala Gly Ala Glu Lys Ile Gly Ser Gly Pro Cys Glu Gly Asp
660 665 670

Tyr Gly Gly Pro Leu Val Cys Glu Gln His Lys Met Arg Met Val Leu
675 680 685

Gly Val Ile Val Pro Gly Arg Gly Cys Ala Ile Pro Asn Arg Pro Gly
690 695 700

Ile Phe Val Arg Val Ala Tyr Tyr Ala Lys Trp Ile His Lys Ile Ile
705 710 715 720

Leu Thr Tyr Lys Val Pro Gln Ser
725

<210> 22
<211> 728
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HGF變異體

<400> 22

Met Trp Val Thr Lys Leu Leu Pro Ala Leu Leu Leu Gln His Val Leu
1 5 10 15

Leu His Leu Leu Leu Leu Pro Ile Ala Ile Pro Tyr Ala Glu Gly Gln
20 25 30

Arg Lys Arg Arg Asn Thr Ile His Glu Phe Lys Lys Ser Ala Lys Thr
35 40 45

Thr Leu Ile Lys Ile Asp Pro Ala Leu Lys Ile Lys Thr Glu Lys Ala
50 55 60

Asn Thr Ala Asp Gln Cys Ala Asn Arg Cys Thr Arg Ser Arg Arg Leu
65 70 75 80

Pro Phe Thr Cys Lys Ala Phe Val Phe Asp Lys Ala Arg Lys Arg Cys
85 90 95

Leu Trp Phe Pro Phe Asn Ser Met Ser Ser Gly Val Lys Lys Glu Phe
100 105 110

Gly His Glu Phe Asp Leu Tyr Glu Asn Lys Asp Tyr Ile Arg Asp Cys
115 120 125

Ile Ile Gly Lys Gly Arg Ser Tyr Arg Gly Thr Val Ser Val Thr Lys
130 135 140

Ser Gly Ile Glu Cys Gln Pro Trp Ser Ala Met Ile Pro His Glu His
145 150 155 160

Ser Phe Leu Pro Ser Asn Tyr Arg Gly Glu Asp Leu Arg Glu Asn Tyr
165 170 175

Cys Arg Asn Pro Arg Gly Glu Glu Gly Gly Pro Trp Cys Tyr Thr Ser
180 185 190

Asp Pro Glu Val Arg Tyr Glu Val Cys Asp Ile Pro Gln Cys Ser Glu
195 200 205

Val Glu Cys Met Thr Cys Asn Gly Glu Ser Tyr Arg Gly Leu Met Asp
210 215 220

His Thr Glu Ser Gly Lys Ile Cys Gln Arg Trp Asp His Gln Thr Pro
225 230 235 240

His Arg His Lys Phe Leu Pro Glu Arg Tyr Pro Asp Lys Gly Phe Asp
245 250 255

Asp Asn Tyr Cys Arg Asn Pro Asp Gly Gln Pro Arg Pro Trp Cys Tyr
260 265 270

Thr Leu Asp Pro His Thr Arg Trp Glu Tyr Cys Ala Ile Lys Thr Cys
275 280 285

Ala Asp Asn Thr Met Asn Asp Thr Asp Val Pro Leu Glu Thr Thr Glu
290 295 300

Cys Ile Gln Gly Gln Gly Glu Gly Tyr Arg Gly Thr Val Asn Thr Ile
305 310 315 320

Trp Asn Gly Ile Pro Cys Gln Arg Trp Asp Ser Gln Tyr Pro His Glu
325 330 335

His Asp Met Thr Pro Glu Asn Phe Lys Cys Lys Asp Leu Arg Glu Asn
340 345 350

Tyr Cys Arg Asn Pro Asp Gly Ser Glu Ser Pro Trp Cys Phe Thr Thr
355 360 365

Asp Pro Asn Ile Arg Val Gly Tyr Cys Ser Gln Ile Pro Asn Cys Asp
370 375 380

Met Ser His Gly Gln Asp Cys Tyr Arg Gly Asn Gly Lys Asn Tyr Met
385 390 395 400

Gly Asn Leu Ser Gln Thr Arg Ser Gly Leu Thr Cys Ser Met Trp Asp
405 410 415

Lys Asn Met Glu Asp Leu His Arg His Ile Phe Trp Glu Pro Asp Ala
420 425 430

Ser Lys Leu Asn Glu Asn Tyr Cys Arg Asn Pro Asp Asp Asp Ala His
435 440 445

Gly Pro Trp Cys Tyr Thr Gly Asn Pro Leu Ile Pro Trp Asp Tyr Cys
450 455 460

Pro Ile Ser Arg Cys Glu Gly Asp Thr Thr Pro Thr Ile Val Asn Leu
465 470 475 480

Asp His Pro Val Ile Ser Cys Ala Lys Thr Lys Gln Leu Arg Val Val
485 490 495

Asn Gly Ile Pro Thr Arg Thr Asn Ile Gly Trp Met Val Ser Leu Arg
500 505 510

Tyr Arg Asn Lys His Ile Cys Gly Gly Ser Leu Ile Lys Glu Ser Trp
515 520 525

Val Leu Thr Ala Arg Gln Cys Phe Pro Ser Arg Asp Leu Lys Asp Tyr
530 535 540

Glu Ala Trp Leu Gly Ile His Asp Val His Gly Arg Gly Asp Glu Lys
545 550 555 560

Cys Lys Gln Val Leu Asn Val Ser Gln Leu Val Tyr Gly Pro Glu Gly
565 570 575

Ser Asp Leu Val Leu Met Lys Leu Ala Arg Pro Ala Val Leu Asp Asp
580 585 590

Phe Val Ser Thr Ile Asp Leu Pro Asn Tyr Gly Cys Thr Ile Pro Glu
595 600 605

Lys Thr Ser Cys Ser Val Tyr Gly Trp Gly Tyr Thr Gly Leu Ile Asn
610 615 620

Tyr Asp Gly Leu Leu Arg Val Ala His Leu Tyr Ile Met Gly Asn Glu
625 630 635 640

Lys Cys Ser Gln His His Arg Gly Lys Val Thr Leu Asn Glu Ser Glu
645 650 655

Ile Cys Ala Gly Ala Glu Lys Ile Gly Ser Gly Pro Cys Glu Gly Asp
660 665 670

Tyr Gly Gly Pro Leu Val Cys Glu Gln His Lys Met Arg Met Val Leu
675 680 685

Gly Val Ile Val Pro Gly Arg Gly Cys Ala Ile Pro Asn Arg Pro Gly
690 695 700

Ile Phe Val Arg Val Ala Tyr Tyr Ala Lys Trp Ile His Lys Ile Ile
705 710 715 720

Leu Thr Tyr Lys Val Pro Gln Ser
725

<210> 23
<211> 728
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HGF變異體

<400> 23

Met Trp Val Thr Lys Leu Leu Pro Ala Leu Leu Leu Gln His Val Leu
1 5 10 15

Leu His Leu Leu Leu Pro Ile Ala Ile Pro Tyr Ala Glu Gly Gln
20 25 30

Arg Lys Arg Arg Asn Thr Ile His Glu Phe Lys Lys Ser Ala Lys Thr
35 40 45

Thr Leu Ile Lys Ile Asp Pro Ala Leu Lys Ile Lys Thr Glu Lys Ala
50 55 60

Asn Thr Ala Asp Gln Cys Ala Asn Arg Cys Thr Arg Ser Lys Gly Leu
65 70 75 80

Pro Phe Thr Cys Lys Ala Phe Val Phe Asp Lys Ala Arg Lys Arg Cys
85 90 95

Leu Trp Phe Pro Phe Asn Ser Met Ser Ser Gly Val Lys Lys Glu Phe
100 105 110

Gly His Glu Phe Asp Leu Tyr Glu Asn Lys Asp Tyr Ile Arg Asp Cys
115 120 125

Ile Val Gly Asn Gly Arg Ser Tyr Arg Gly Thr Val Ser Ile Thr Lys
130 135 140

Ser Gly Ile Glu Cys Gln Pro Trp Ser Ala Met Ile Pro His Glu His
145 150 155 160

Ser Phe Leu Pro Ser Ser Tyr Arg Gly Glu Asp Leu Arg Glu Asn Tyr
165 170 175

Cys Arg Asn Pro Arg Gly Glu Glu Gly Gly Pro Trp Cys Tyr Thr Ser
180 185 190

Asp Pro Glu Val Arg Tyr Glu Val Cys Asp Ile Pro Gln Cys Ser Glu
195 200 205

Val Glu Cys Met Thr Cys Asn Gly Glu Ser Tyr Arg Gly Leu Met Asp
210 215 220

His Thr Glu Ser Gly Lys Ile Cys Gln Arg Trp Asp His Gln Thr Pro
225 230 235 240

His Arg His Lys Phe Leu Pro Glu Arg Tyr Pro Asp Lys Gly Phe Asp
245 250 255

Asp Asn Tyr Cys Arg Asn Pro Asp Gly Gln Pro Arg Pro Trp Cys Tyr
260 265 270

Thr Leu Asp Pro His Thr Arg Trp Glu Tyr Cys Ala Ile Lys Thr Cys
275 280 285

Ala Asp Asn Thr Met Asn Asp Thr Asp Val Pro Leu Glu Thr Thr Glu
290 295 300

Cys Ile Gln Gly Gln Gly Glu Gly Tyr Arg Gly Thr Val Asn Thr Ile
305 310 315 320

Trp Asn Gly Ile Pro Cys Gln Arg Trp Asp Ser Gln Tyr Pro His Glu
325 330 335

His Asp Met Thr Pro Glu Asn Phe Lys Cys Lys Asp Leu Arg Glu Asn
340 345 350

Tyr Cys Arg Asn Pro Asp Gly Ser Glu Ser Pro Trp Cys Phe Thr Thr
355 360 365

Asp Pro Asn Ile Arg Val Gly Tyr Cys Ser Gln Ile Pro Asn Cys Asp
370 375 380

Met Ser His Gly Gln Asp Cys Tyr Arg Gly Asn Gly Lys Asn Tyr Met
385 390 395 400

Gly Asn Leu Ser Gln Thr Arg Ser Gly Leu Thr Cys Ser Met Trp Asp
405 410 415

Lys Asn Met Glu Asp Leu His Arg His Ile Phe Trp Glu Pro Asp Ala
420 425 430

Ser Lys Leu Asn Glu Asn Tyr Cys Arg Asn Pro Asp Asp Asp Ala His
435 440 445

Gly Pro Trp Cys Tyr Thr Gly Asn Pro Leu Ile Pro Trp Asp Tyr Cys
450 455 460

Pro Ile Ser Arg Cys Glu Gly Asp Thr Thr Pro Thr Ile Val Asn Leu
465 470 475 480

Asp His Pro Val Ile Ser Cys Ala Lys Thr Lys Gln Leu Arg Val Val
485 490 495

Asn Gly Ile Pro Thr Arg Thr Asn Ile Gly Trp Met Val Ser Leu Arg
500 505 510

Tyr Arg Asn Lys His Ile Cys Gly Gly Ser Leu Ile Lys Glu Ser Trp
515 520 525

Val Leu Thr Ala Arg Gln Cys Phe Pro Ser Arg Asp Leu Lys Asp Tyr
530 535 540

Glu Ala Trp Leu Gly Ile His Asp Val His Gly Arg Gly Asp Glu Lys
545 550 555 560

Cys Lys Gln Val Leu Asn Val Ser Gln Leu Val Tyr Gly Pro Glu Gly
565 570 575

Ser Asp Leu Val Leu Met Lys Leu Ala Arg Pro Ala Val Leu Asp Asp
580 585 590

Phe Val Ser Thr Ile Asp Leu Pro Asn Tyr Gly Cys Thr Ile Pro Glu
595 600 605

Lys Thr Ser Cys Ser Val Tyr Gly Trp Gly Tyr Thr Gly Leu Ile Asn
610 615 620

Tyr Asp Gly Leu Leu Arg Val Ala His Leu Tyr Ile Met Gly Asn Glu
625 630 635 640

Lys Cys Ser Gln His His Arg Gly Lys Val Thr Leu Asn Glu Ser Glu
645 650 655

Ile Cys Ala Gly Ala Glu Lys Ile Gly Ser Gly Pro Cys Glu Gly Asp
660 665 670

Tyr Gly Gly Pro Leu Val Cys Glu Gln His Lys Met Arg Met Val Leu
675 680 685

Gly Val Ile Val Pro Gly Arg Gly Cys Ala Ile Pro Asn Arg Pro Gly
690 695 700

Ile Phe Val Arg Val Ala Tyr Tyr Ala Lys Trp Ile His Lys Ile Ile
705 710 715 720

Leu Thr Tyr Lys Val Pro Gln Ser
725

<210> 24
<211> 728
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HGF變異體

<400> 24

Met Trp Val Thr Lys Leu Leu Pro Ala Leu Leu Leu Gln His Val Leu
1 5 10 15

Leu His Leu Leu Leu Leu Pro Ile Ala Ile Pro Tyr Ala Glu Gly Gln
20 25 30

Arg Lys Arg Arg Asn Thr Ile His Glu Phe Lys Lys Ser Ala Lys Thr
35 40 45

Thr Leu Ile Lys Ile Asp Pro Ala Leu Lys Ile Lys Thr Lys Lys Val
50 55 60

Asp Thr Ala Asp Gln Cys Ala Asn Arg Cys Thr Arg Asn Lys Gly Leu
65 70 75 80

Pro Phe Thr Cys Lys Ala Phe Val Phe Asp Lys Ala Arg Lys Arg Cys
85 90 95

Leu Trp Phe Pro Phe Asn Ser Met Ser Ser Gly Val Lys Lys Glu Phe
100 105 110

Gly His Glu Phe Asp Leu Tyr Glu Asn Lys Asp Tyr Ile Arg Asp Cys
115 120 125

Ile Ile Gly Asn Gly Arg Ser Tyr Arg Gly Thr Val Ser Ile Thr Lys
130 135 140

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

Tyr Cys Arg Asn Pro Asp Gly Ser Glu Ser Pro Trp Cys Phe Thr Thr
355 360 365

Asp Pro Asn Ile Arg Val Gly Tyr Cys Ser Gln Ile Pro Asn Cys Asp
370 375 380

Met Ser His Gly Gln Asp Cys Tyr Arg Gly Asn Gly Lys Asn Tyr Met
385 390 395 400

Gly Asn Leu Ser Gln Thr Arg Ser Gly Leu Thr Cys Ser Met Trp Asp
405 410 415

Lys Asn Met Glu Asp Leu His Arg His Ile Phe Trp Glu Pro Asp Ala
420 425 430

Ser Lys Leu Asn Glu Asn Tyr Cys Arg Asn Pro Asp Asp Asp Ala His
435 440 445

Gly Pro Trp Cys Tyr Thr Gly Asn Pro Leu Ile Pro Trp Asp Tyr Cys
450 455 460

Pro Ile Ser Arg Cys Glu Gly Asp Thr Thr Pro Thr Ile Val Asn Leu
465 470 475 480

Asp His Pro Val Ile Ser Cys Ala Lys Thr Lys Gln Leu Arg Val Val
485 490 495

Asn Gly Ile Pro Thr Arg Thr Asn Ile Gly Trp Met Val Ser Leu Arg
500 505 510

Tyr Arg Asn Lys His Ile Cys Gly Gly Ser Leu Ile Lys Glu Ser Trp
515 520 525

Val Leu Thr Ala Arg Gln Cys Phe Pro Ser Arg Asp Leu Lys Asp Tyr
530 535 540

Glu Ala Trp Leu Gly Ile His Asp Val His Gly Arg Gly Asp Glu Lys
545 550 555 560

Cys Lys Gln Val Leu Asn Val Ser Gln Leu Val Tyr Gly Pro Glu Gly
565 570 575

Ser Asp Leu Val Leu Met Lys Leu Ala Arg Pro Ala Val Leu Asp Asp
580 585 590

Phe Val Ser Thr Ile Asp Leu Pro Asn Tyr Gly Cys Thr Ile Pro Glu
595 600 605

Lys Thr Ser Cys Ser Val Tyr Gly Trp Gly Tyr Thr Gly Leu Ile Asn
610 615 620

Tyr Asp Gly Leu Leu Arg Val Ala His Leu Tyr Ile Met Gly Asn Glu
625 630 635 640

Lys Cys Ser Gln His His Arg Gly Lys Val Thr Leu Asn Glu Ser Glu
645 650 655

Ile Cys Ala Gly Ala Glu Lys Ile Gly Ser Gly Pro Cys Glu Gly Asp
660 665 670

Tyr Gly Gly Pro Leu Val Cys Glu Gln His Lys Met Arg Met Val Leu
675 680 685

Gly Val Ile Val Pro Gly Arg Gly Cys Ala Ile Pro Asn Arg Pro Gly
690 695 700

Ile Phe Val Arg Val Ala Tyr Tyr Ala Lys Trp Ile His Lys Ile Ile
705 710 715 720

Leu Thr Tyr Lys Val Pro Gln Ser
725

<210> 25
<211> 728

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HGF變異體

<400> 25

Met Trp Val Thr Lys Leu Leu Pro Ala Leu Leu Leu Gln His Val Leu
1 5 10 15

Leu His Leu Leu Leu Leu Pro Ile Ala Ile Pro Tyr Ala Glu Gly Gln
20 25 30

Gly Lys Arg Arg Asn Thr Ile His Glu Phe Lys Lys Ser Ala Lys Thr
35 40 45

Thr Leu Ile Lys Ile Asp Pro Ala Leu Arg Ile Lys Thr Glu Lys Ala
50 55 60

Asn Thr Ala Asp Gln Cys Ala Asn Arg Cys Thr Arg Ser Lys Gly Leu
65 70 75 80

Pro Phe Thr Cys Lys Ala Phe Val Phe Asp Lys Ala Arg Lys Arg Cys
85 90 95

Leu Trp Phe Pro Phe Asn Ser Met Ser Ser Gly Val Lys Lys Glu Phe
100 105 110

Gly His Glu Phe Asp Leu Tyr Glu Asn Lys Ala Tyr Ile Arg Asp Cys
115 120 125

Ile Ile Gly Arg Gly Arg Asn Tyr Arg Gly Thr Val Ser Ile Thr Lys
130 135 140

Ser Gly Ile Lys Cys Gln Pro Trp Ser Ala Met Ile Pro His Glu His
145 150 155 160

Ser Phe Leu Pro Ser Ser Tyr Arg Gly Glu Asp Leu Arg Glu Asn Tyr
165 170 175

Cys Arg Asn Pro Arg Gly Glu Glu Gly Gly Pro Trp Cys Tyr Thr Ser
180 185 190

Asp Pro Glu Val Arg Tyr Glu Val Cys Asp Ile Pro Gln Cys Ser Glu
195 200 205

Val Glu Cys Met Thr Cys Asn Gly Glu Ser Tyr Arg Gly Leu Met Asp
210 215 220

His Thr Glu Ser Gly Lys Ile Cys Gln Arg Trp Asp His Gln Thr Pro
225 230 235 240

His Arg His Lys Phe Leu Pro Glu Arg Tyr Pro Asp Lys Gly Phe Asp
245 250 255

Asp Asn Tyr Cys Arg Asn Pro Asp Gly Gln Pro Arg Pro Trp Cys Tyr
260 265 270

Thr Leu Asp Pro His Thr Arg Trp Glu Tyr Cys Ala Ile Lys Thr Cys
275 280 285

Ala Asp Asn Thr Met Asn Asp Thr Asp Val Pro Leu Glu Thr Thr Glu
290 295 300

Cys Ile Gln Gly Gln Gly Glu Gly Tyr Arg Gly Thr Val Asn Thr Ile
305 310 315 320

Trp Asn Gly Ile Pro Cys Gln Arg Trp Asp Ser Gln Tyr Pro His Glu
325 330 335

His Asp Met Thr Pro Glu Asn Phe Lys Cys Lys Asp Leu Arg Glu Asn
340 345 350

Tyr Cys Arg Asn Pro Asp Gly Ser Glu Ser Pro Trp Cys Phe Thr Thr
355 360 365

Asp Pro Asn Ile Arg Val Gly Tyr Cys Ser Gln Ile Pro Asn Cys Asp
370 375 380

Met Ser His Gly Gln Asp Cys Tyr Arg Gly Asn Gly Lys Asn Tyr Met
385 390 395 400

Gly Asn Leu Ser Gln Thr Arg Ser Gly Leu Thr Cys Ser Met Trp Asp
405 410 415

Lys Asn Met Glu Asp Leu His Arg His Ile Phe Trp Glu Pro Asp Ala
420 425 430

Ser Lys Leu Asn Glu Asn Tyr Cys Arg Asn Pro Asp Asp Asp Ala His
435 440 445

Gly Pro Trp Cys Tyr Thr Gly Asn Pro Leu Ile Pro Trp Asp Tyr Cys
450 455 460

Pro Ile Ser Arg Cys Glu Gly Asp Thr Thr Pro Thr Ile Val Asn Leu
465 470 475 480

Asp His Pro Val Ile Ser Cys Ala Lys Thr Lys Gln Leu Arg Val Val
485 490 495

Asn Gly Ile Pro Thr Arg Thr Asn Ile Gly Trp Met Val Ser Leu Arg
500 505 510

Tyr Arg Asn Lys His Ile Cys Gly Gly Ser Leu Ile Lys Glu Ser Trp
515 520 525

Val Leu Thr Ala Arg Gln Cys Phe Pro Ser Arg Asp Leu Lys Asp Tyr
530 535 540

Glu Ala Trp Leu Gly Ile His Asp Val His Gly Arg Gly Asp Glu Lys
545 550 555 560

Cys Lys Gln Val Leu Asn Val Ser Gln Leu Val Tyr Gly Pro Glu Gly
565 570 575

Ser Asp Leu Val Leu Met Lys Leu Ala Arg Pro Ala Val Leu Asp Asp
580 585 590

Phe Val Ser Thr Ile Asp Leu Pro Asn Tyr Gly Cys Thr Ile Pro Glu
595 600 605

Lys Thr Ser Cys Ser Val Tyr Gly Trp Gly Tyr Thr Gly Leu Ile Asn
610 615 620

Tyr Asp Gly Leu Leu Arg Val Ala His Leu Tyr Ile Met Gly Asn Glu
625 630 635 640

Lys Cys Ser Gln His His Arg Gly Lys Val Thr Leu Asn Glu Ser Glu
645 650 655

Ile Cys Ala Gly Ala Glu Lys Ile Gly Ser Gly Pro Cys Glu Gly Asp
660 665 670

Tyr Gly Gly Pro Leu Val Cys Glu Gln His Lys Met Arg Met Val Leu
675 680 685

Gly Val Ile Val Pro Gly Arg Gly Cys Ala Ile Pro Asn Arg Pro Gly
690 695 700

Ile Phe Val Arg Val Ala Tyr Tyr Ala Lys Trp Ile His Lys Ile Ile
705 710 715 720

Leu Thr Tyr Lys Val Pro Gln Ser
725

<210> 26
<211> 728
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HGF變異體

<400> 26

Met Trp Val Thr Lys Leu Leu Pro Ala Leu Leu Leu Gln His Val Leu
1 5 10 15

Leu His Leu Leu Leu Leu Pro Ile Ala Ile Pro Tyr Ala Lys Gly Gln
20 25 30

Arg Lys Arg Arg Asn Thr Ile His Glu Phe Lys Lys Ser Ala Lys Thr
35 40 45

Thr Leu Ile Lys Ile Asp Pro Ala Leu Glu Ile Lys Thr Glu Lys Val
50 55 60

Asn Thr Ala Asp Gln Cys Ala Asn Arg Cys Ile Arg Asn Lys Gly Leu
65 70 75 80

Pro Phe Thr Cys Lys Ala Phe Val Phe Asp Lys Ala Arg Lys Arg Cys
85 90 95

Leu Trp Phe Pro Phe Asn Ser Met Ser Ser Gly Val Lys Lys Glu Phe
100 105 110

Gly His Glu Phe Asp Leu Tyr Glu Asn Lys Ala Tyr Ile Arg Asp Cys
115 120 125

Ile Ile Gly Arg Gly Arg Asn Tyr Arg Gly Thr Val Ser Ile Thr Lys
130 135 140

Ser Gly Ile Lys Cys Gln Pro Trp Ser Ala Met Ile Pro His Glu His
145 150 155 160

Ser Phe Leu Pro Ser Ser Tyr Arg Gly Glu Asp Leu Arg Glu Asn Tyr
165 170 175

Cys Arg Asn Pro Arg Gly Glu Glu Gly Gly Pro Trp Cys Tyr Thr Ser
180 185 190

Asp Pro Glu Val Arg Tyr Glu Val Cys Asp Ile Pro Gln Cys Ser Glu
195 200 205

Val Glu Cys Met Thr Cys Asn Gly Glu Ser Tyr Arg Gly Leu Met Asp
210 215 220

His Thr Glu Ser Gly Lys Ile Cys Gln Arg Trp Asp His Gln Thr Pro
225 230 235 240

His Arg His Lys Phe Leu Pro Glu Arg Tyr Pro Asp Lys Gly Phe Asp
245 250 255

Asp Asn Tyr Cys Arg Asn Pro Asp Gly Gln Pro Arg Pro Trp Cys Tyr
260 265 270

Thr Leu Asp Pro His Thr Arg Trp Glu Tyr Cys Ala Ile Lys Thr Cys
275 280 285

Ala Asp Asn Thr Met Asn Asp Thr Asp Val Pro Leu Glu Thr Thr Glu
290 295 300

Cys Ile Gln Gly Gln Gly Glu Gly Tyr Arg Gly Thr Val Asn Thr Ile
305 310 315 320

Trp Asn Gly Ile Pro Cys Gln Arg Trp Asp Ser Gln Tyr Pro His Glu
325 330 335

His Asp Met Thr Pro Glu Asn Phe Lys Cys Lys Asp Leu Arg Glu Asn
340 345 350

Tyr Cys Arg Asn Pro Asp Gly Ser Glu Ser Pro Trp Cys Phe Thr Thr
355 360 365

Asp Pro Asn Ile Arg Val Gly Tyr Cys Ser Gln Ile Pro Asn Cys Asp
370 375 380

Met Ser His Gly Gln Asp Cys Tyr Arg Gly Asn Gly Lys Asn Tyr Met
385 390 395 400

Gly Asn Leu Ser Gln Thr Arg Ser Gly Leu Thr Cys Ser Met Trp Asp
405 410 415

Lys Asn Met Glu Asp Leu His Arg His Ile Phe Trp Glu Pro Asp Ala
420 425 430

Ser Lys Leu Asn Glu Asn Tyr Cys Arg Asn Pro Asp Asp Asp Ala His
435 440 445

Gly Pro Trp Cys Tyr Thr Gly Asn Pro Leu Ile Pro Trp Asp Tyr Cys
450 455 460

Pro Ile Ser Arg Cys Glu Gly Asp Thr Thr Pro Thr Ile Val Asn Leu
465 470 475 480

Asp His Pro Val Ile Ser Cys Ala Lys Thr Lys Gln Leu Arg Val Val
485 490 495

Asn Gly Ile Pro Thr Arg Thr Asn Ile Gly Trp Met Val Ser Leu Arg
500 505 510

Tyr Arg Asn Lys His Ile Cys Gly Gly Ser Leu Ile Lys Glu Ser Trp
515 520 525

Val Leu Thr Ala Arg Gln Cys Phe Pro Ser Arg Asp Leu Lys Asp Tyr
530 535 540

Glu Ala Trp Leu Gly Ile His Asp Val His Gly Arg Gly Asp Glu Lys
545 550 555 560

Cys Lys Gln Val Leu Asn Val Ser Gln Leu Val Tyr Gly Pro Glu Gly
565 570 575

Ser Asp Leu Val Leu Met Lys Leu Ala Arg Pro Ala Val Leu Asp Asp
580 585 590

Phe Val Ser Thr Ile Asp Leu Pro Asn Tyr Gly Cys Thr Ile Pro Glu
595 600 605

Lys Thr Ser Cys Ser Val Tyr Gly Trp Gly Tyr Thr Gly Leu Ile Asn
610 615 620

Tyr Asp Gly Leu Leu Arg Val Ala His Leu Tyr Ile Met Gly Asn Glu
625 630 635 640

Lys Cys Ser Gln His His Arg Gly Lys Val Thr Leu Asn Glu Ser Glu
645 650 655

Ile Cys Ala Gly Ala Glu Lys Ile Gly Ser Gly Pro Cys Glu Gly Asp
660 665 670

Tyr Gly Gly Pro Leu Val Cys Glu Gln His Lys Met Arg Met Val Leu
675 680 685

Gly Val Ile Val Pro Gly Arg Gly Cys Ala Ile Pro Asn Arg Pro Gly
690 695 700

Ile Phe Val Arg Val Ala Tyr Tyr Ala Lys Trp Ile His Lys Ile Ile
705 710 715 720

Leu Thr Tyr Lys Val Pro Gln Ser
725

<210> 27
<211> 728
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HGF變異體

<400> 27

Met Trp Val Thr Lys Leu Leu Pro Ala Leu Leu Leu Gln His Val Leu
1 5 10 15

Leu His Leu Leu Leu Pro Ile Ala Ile Pro Tyr Ala Glu Gly Gln
20 25 30

Gly Lys Arg Arg Asn Thr Ile His Glu Phe Lys Lys Ser Ala Lys Thr
35 40 45

Thr Leu Ile Lys Ile Asp Pro Ala Leu Lys Ile Lys Thr Glu Lys Val
50 55 60

Asn Thr Ala Asp Gln Cys Ala Asn Arg Cys Thr Arg Ser Lys Gly Leu
65 70 75 80

Pro Phe Thr Cys Lys Ala Phe Val Phe Asp Lys Ala Arg Lys Arg Cys
85 90 95

Leu Trp Phe Pro Phe Asn Ser Met Ser Ser Gly Val Lys Lys Glu Phe
100 105 110

Gly His Glu Phe Asp Leu Tyr Glu Asn Lys Asp Tyr Ile Arg Asp Cys
115 120 125

Ile Ile Gly Asn Gly Arg Ser Tyr Arg Gly Thr Val Ser Ile Thr Lys
130 135 140

Ser Gly Ile Lys Cys Gln Pro Trp Ser Ala Met Ile Pro His Glu His
145 150 155 160

Ser Phe Leu Pro Ser Ser Tyr Arg Gly Glu Asp Leu Arg Glu Asn Tyr
165 170 175

Cys Arg Asn Pro Arg Gly Glu Glu Gly Gly Pro Trp Cys Tyr Thr Ser
180 185 190

Asp Pro Glu Val Arg Tyr Glu Val Cys Asp Ile Pro Gln Cys Ser Glu
195 200 205

Val Glu Cys Met Thr Cys Asn Gly Glu Ser Tyr Arg Gly Leu Met Asp
210 215 220

His Thr Glu Ser Gly Lys Ile Cys Gln Arg Trp Asp His Gln Thr Pro
225 230 235 240

His Arg His Lys Phe Leu Pro Glu Arg Tyr Pro Asp Lys Gly Phe Asp
245 250 255

Asp Asn Tyr Cys Arg Asn Pro Asp Gly Gln Pro Arg Pro Trp Cys Tyr
260 265 270

Thr Leu Asp Pro His Thr Arg Trp Glu Tyr Cys Ala Ile Lys Thr Cys
275 280 285

Ala Asp Asn Thr Met Asn Asp Thr Asp Val Pro Leu Glu Thr Thr Glu
290 295 300

Cys Ile Gln Gly Gln Gly Glu Gly Tyr Arg Gly Thr Val Asn Thr Ile
305 310 315 320

Trp Asn Gly Ile Pro Cys Gln Arg Trp Asp Ser Gln Tyr Pro His Glu
325 330 335

His Asp Met Thr Pro Glu Asn Phe Lys Cys Lys Asp Leu Arg Glu Asn
340 345 350

Tyr Cys Arg Asn Pro Asp Gly Ser Glu Ser Pro Trp Cys Phe Thr Thr
355 360 365

Asp Pro Asn Ile Arg Val Gly Tyr Cys Ser Gln Ile Pro Asn Cys Asp
370 375 380

Met Ser His Gly Gln Asp Cys Tyr Arg Gly Asn Gly Lys Asn Tyr Met
385 390 395 400

Gly Asn Leu Ser Gln Thr Arg Ser Gly Leu Thr Cys Ser Met Trp Asp
405 410 415

Lys Asn Met Glu Asp Leu His Arg His Ile Phe Trp Glu Pro Asp Ala
420 425 430

Ser Lys Leu Asn Glu Asn Tyr Cys Arg Asn Pro Asp Asp Ala His
435 440 445

Gly Pro Trp Cys Tyr Thr Gly Asn Pro Leu Ile Pro Trp Asp Tyr Cys
450 455 460

Pro Ile Ser Arg Cys Glu Gly Asp Thr Thr Pro Thr Ile Val Asn Leu
465 470 475 480

Asp His Pro Val Ile Ser Cys Ala Lys Thr Lys Gln Leu Arg Val Val
485 490 495

Asn Gly Ile Pro Thr Arg Thr Asn Ile Gly Trp Met Val Ser Leu Arg
500 505 510

Tyr Arg Asn Lys His Ile Cys Gly Gly Ser Leu Ile Lys Glu Ser Trp
515 520 525

Val Leu Thr Ala Arg Gln Cys Phe Pro Ser Arg Asp Leu Lys Asp Tyr
530 535 540

Glu Ala Trp Leu Gly Ile His Asp Val His Gly Arg Gly Asp Glu Lys
545 550 555 560

Cys Lys Gln Val Leu Asn Val Ser Gln Leu Val Tyr Gly Pro Glu Gly
565 570 575

Ser Asp Leu Val Leu Met Lys Leu Ala Arg Pro Ala Val Leu Asp Asp
580 585 590

Phe Val Ser Thr Ile Asp Leu Pro Asn Tyr Gly Cys Thr Ile Pro Glu
595 600 605

Lys Thr Ser Cys Ser Val Tyr Gly Trp Gly Tyr Thr Gly Leu Ile Asn
610 615 620

Tyr Asp Gly Leu Leu Arg Val Ala His Leu Tyr Ile Met Gly Asn Glu
625 630 635 640

Lys Cys Ser Gln His His Arg Gly Lys Val Thr Leu Asn Glu Ser Glu
645 650 655

Ile Cys Ala Gly Ala Glu Lys Ile Gly Ser Gly Pro Cys Glu Gly Asp
660 665 670

Tyr Gly Gly Pro Leu Val Cys Glu Gln His Lys Met Arg Met Val Leu
675 680 685

Gly Val Ile Val Pro Gly Arg Gly Cys Ala Ile Pro Asn Arg Pro Gly
690 695 700

Ile Phe Val Arg Val Ala Tyr Tyr Ala Lys Trp Ile His Lys Ile Ile
705 710 715 720

Leu Thr Tyr Lys Val Pro Gln Ser
725

<210> 28
<211> 140
<212> PRT
<213> 智人

<400> 28

Phe Asn Leu Pro Pro Gly Asn Tyr Lys Lys Pro Lys Leu Leu Tyr Cys
1 5 10 15

Ser Asn Gly Gly His Phe Leu Arg Ile Leu Pro Asp Gly Thr Val Asp
20 25 30

Gly Thr Arg Asp Arg Ser Asp Gln His Ile Gln Leu Gln Leu Ser Ala
35 40 45

Glu Ser Val Gly Glu Val Tyr Ile Lys Ser Thr Glu Thr Gly Gln Tyr

50

55

60

Leu Ala Met Asp Thr Asp Gly Leu Leu Tyr Gly Ser Gln Thr Pro Asn

65707580

Glu Glu Cys Leu Phe Leu Glu Arg Leu Glu Glu Asn His Tyr Asn Thr

859095

Tyr Ile Ser Lys Lys His Ala Glu Lys Asn Trp Phe Val Gly Leu Lys

100105110

Lys Asn Gly Ser Cys Lys Arg Gly Pro Arg Thr His Tyr Gly Gln Lys

115120125

Ala Ile Leu Phe Leu Pro Leu Pro Val Ser Ser Asp

130135140

<210> 29

<211> 140

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> FGF1變異體

<400> 29

Phe Asn Leu Pro Pro Gly Asn Tyr Lys Lys Pro Lys Leu Leu Tyr Cys

151015

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

202530

Gly Thr Arg Asp Arg Ser Asp Gln His Ile Gln Leu Gln Leu Ser Ala

354045

Glu Ser Val Gly Glu Val Tyr Ile Lys Ser Thr Glu Thr Gly Gln Tyr

505560

Leu Ala Met Asp Thr Asp Gly Leu Leu Tyr Gly Ser Gln Thr Pro Asn

65 70 75 80

Glu Glu Cys Leu Phe Leu Glu Arg Leu Glu Glu Asn His Tyr Asn Thr
85 90 95

Tyr Ile Ser Lys Lys His Ala Glu Lys Asn Trp Phe Val Gly Leu Lys
100 105 110

Lys Asn Gly Ser Cys Lys Arg Gly Pro Arg Thr His Tyr Gly Gln Lys
115 120 125

Ala Ile Arg Phe Leu Pro Leu Pro Val Ser Ser Asp
130 135 140

<210> 30
<211> 140
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> FGF1變異體

<400> 30

Phe Asn Leu Pro Pro Gly Asn Tyr Lys Lys Pro Lys Leu Leu Tyr Cys
1 5 10 15

Ser Asn Gly Gly His Phe Leu Arg Ile Leu Pro Asp Gly Thr Val Asp
20 25 30

Gly Thr Arg Asp Arg Ser Asp Pro His Ile Gln Leu Gln Leu Ile Ala
35 40 45

Glu Ser Val Gly Glu Val Tyr Ile Lys Ser Thr Glu Thr Gly Gln Tyr
50 55 60

Leu Ala Met Asp Thr Asp Gly Leu Leu Tyr Gly Ser Gln Thr Pro Asn
65 70 75 80

Glu Glu Cys Leu Phe Leu Glu Arg Leu Glu Glu Asn Gly Tyr Asn Thr

859095

Tyr Ile Ser Lys Lys His Ala Glu Lys Asn Trp Phe Val Gly Leu Lys
100105110

Lys Asn Gly Ser Cys Lys Arg Gly Pro Arg Thr His Tyr Gly Gln Lys
115120125

Ala Ile Leu Phe Leu Pro Leu Pro Val Ser Ser Asp
130135140

<210> 31
<211> 140
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> FGF1變異體

<400> 31

Phe Asn Leu Pro Pro Gly Asn Tyr Lys Lys Pro Lys Leu Leu Tyr Cys
151015

Ser Asn Gly Gly His Phe Leu Arg Ile Leu Pro Asn Gly Thr Val Asp
202530

Gly Thr Arg Asp Arg Ser Asp Pro His Ile Gln Leu Gln Leu Ile Ala
354045

Glu Ser Val Gly Glu Val Tyr Ile Lys Ser Thr Glu Thr Gly Gln Tyr
505560

Leu Ala Met Asp Thr Asp Gly Leu Leu Tyr Gly Ser Gln Thr Pro Asn
65707580

Glu Glu Cys Leu Phe Leu Glu Arg Leu Glu Glu Asn Gly Tyr Asn Thr
859095

Tyr Ile Ser Lys Lys His Ala Glu Lys Asn Trp Phe Val Gly Leu Lys

100105110

Lys Asn Gly Ser Cys Lys Arg Gly Pro Arg Thr His Tyr Gly Gln Lys
115120125

Ala Ile Arg Phe Leu Pro Leu Pro Val Ser Ser Asp
130135140

<210> 32
<211> 140
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> FGF1變異體

<400> 32

Phe Asn Leu Pro Pro Gly Asn Tyr Lys Lys Pro Lys Leu Leu Tyr Cys
151015

Ser Asn Gly Gly His Phe Leu Arg Ile Leu Pro Asp Gly Thr Val Asp
202530

Gly Thr Arg Asp Arg Ser Asp Gln His Ile Gln Leu Gln Leu Ser Ala
354045

Glu Ser Val Gly Glu Val Tyr Ile Lys Ser Thr Glu Thr Gly Gln Tyr
505560

Leu Ala Met Asp Thr Asp Gly Leu Leu Tyr Gly Ser Gln Thr Pro Asn
65707580

Glu Glu Cys Leu Phe Leu Glu Arg Leu Glu Glu Asn His Tyr Asn Thr
859095

Tyr Ile Ser Lys Lys His Ala Glu Lys Asn Trp Phe Val Gly Leu Lys
100105110

Lys Asn Gly Ser Cys Lys Arg Gly Pro Arg Thr His Tyr Gly Gln Lys

115

120

125

Ala Ile Arg Phe Leu Pro Leu Pro Val Ser Ser Asp
130 135 140

<210> 33
<211> 140
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> FGF1變異體

<400> 33

Phe Asn Leu Pro Pro Gly Asn Tyr Lys Lys Pro Lys Leu Leu Tyr Cys
1 5 10 15

Ser Asn Gly Gly His Phe Leu Arg Ile Leu Pro Asp Gly Thr Val Asp
20 25 30

Gly Thr Arg Asp Arg Ser Asp Gln His Ile Gln Leu Gln Leu Ser Ala
35 40 45

Glu Ser Val Gly Glu Val Tyr Ile Lys Ser Thr Glu Thr Gly Gln Tyr
50 55 60

Leu Ala Met Asp Thr Asp Gly Leu Leu Tyr Gly Ser Gln Thr Pro Asn
65 70 75 80

Glu Glu Cys Leu Phe Leu Glu Arg Leu Glu Glu Asn His Tyr Asn Thr
85 90 95

Tyr Ile Ser Lys Lys His Ala Glu Lys Asn Trp Phe Val Gly Leu Lys
100 105 110

Lys Asn Gly Ser Cys Lys Arg Gly Pro Arg Thr His Tyr Gly Gln Lys
115 120 125

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

130	135	140
<210> 34		
<211> 31		
<212> PRT		
<213> 智人		
<400> 34		
Met Trp Val Thr Lys Leu Leu Pro Ala Leu Leu Leu Gln His Val Leu		
1 5 10 15		
Leu His Leu Leu Leu Leu Pro Ile Ala Ile Pro Tyr Ala Glu Gly		
20 25 30		
<210> 35		
<211> 692		
<212> PRT		
<213> 智人		
<400> 35		
Gln Arg Lys Arg Arg Asn Thr Ile His Glu Phe Lys Lys Ser Ala Lys		
1 5 10 15		
Thr Thr Leu Ile Lys Ile Asp Pro Ala Leu Lys Ile Lys Thr Lys Lys		
20 25 30		
Val Asn Thr Ala Asp Gln Cys Ala Asn Arg Cys Thr Arg Asn Lys Gly		
35 40 45		
Leu Pro Phe Thr Cys Lys Ala Phe Val Phe Asp Lys Ala Arg Lys Gln		
50 55 60		
Cys Leu Trp Phe Pro Phe Asn Ser Met Ser Ser Gly Val Lys Lys Glu		
65 70 75 80		
Phe Gly His Glu Phe Asp Leu Tyr Glu Asn Lys Asp Tyr Ile Arg Asn		
85 90 95		
Cys Ile Ile Gly Lys Gly Arg Ser Tyr Lys Gly Thr Val Ser Ile Thr		

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

Pro	Glu	Asn	Phe	Lys	Cys	Lys	Asp	Leu	Arg	Glu	Asn	Tyr	Cys	Arg	Asn
305					310					315					320
Pro	Asp	Gly	Ser	Glu	Ser	Pro	Trp	Cys	Phe	Thr	Thr	Asp	Pro	Asn	Ile
				325					330					335	
Arg	Val	Gly	Tyr	Cys	Ser	Gln	Ile	Pro	Asn	Cys	Asp	Met	Ser	His	Gly
			340					345						350	
Gln	Asp	Cys	Tyr	Arg	Gly	Asn	Gly	Lys	Asn	Tyr	Met	Gly	Asn	Leu	Ser
		355						360					365		
Gln	Thr	Arg	Ser	Gly	Leu	Thr	Cys	Ser	Met	Trp	Asp	Lys	Asn	Met	Glu
	370						375					380			
Asp	Leu	His	Arg	His	Ile	Phe	Trp	Glu	Pro	Asp	Ala	Ser	Lys	Leu	Asn
385					390					395					400
Glu	Asn	Tyr	Cys	Arg	Asn	Pro	Asp	Asp	Asp	Ala	His	Gly	Pro	Trp	Cys
				405						410				415	
Tyr	Thr	Gly	Asn	Pro	Leu	Ile	Pro	Trp	Asp	Tyr	Cys	Pro	Ile	Ser	Arg
			420						425					430	
Cys	Glu	Gly	Asp	Thr	Thr	Pro	Thr	Ile	Val	Asn	Leu	Asp	His	Pro	Val
		435						440					445		
Ile	Ser	Cys	Ala	Lys	Thr	Lys	Gln	Leu	Arg	Val	Val	Asn	Gly	Ile	Pro
	450						455						460		
Thr	Arg	Thr	Asn	Ile	Gly	Trp	Met	Val	Ser	Leu	Arg	Tyr	Arg	Asn	Lys
465					470						475				480
His	Ile	Cys	Gly	Gly	Ser	Leu	Ile	Lys	Glu	Ser	Trp	Val	Leu	Thr	Ala
				485						490				495	
Arg	Gln	Cys	Phe	Pro	Ser	Arg	Asp	Leu	Lys	Asp	Tyr	Glu	Ala	Trp	Leu

500 505 510

Gly Ile His Asp Val His Gly Arg Gly Asp Glu Lys Cys Lys Gln Val
515 520 525

Leu Asn Val Ser Gln Leu Val Tyr Gly Pro Glu Gly Ser Asp Leu Val
530 535 540

Leu Met Lys Leu Ala Arg Pro Ala Val Leu Asp Asp Phe Val Ser Thr
545 550 555 560

Ile Asp Leu Pro Asn Tyr Gly Cys Thr Ile Pro Glu Lys Thr Ser Cys
565 570 575

Ser Val Tyr Gly Trp Gly Tyr Thr Gly Leu Ile Asn Tyr Asp Gly Leu
580 585 590

Leu Arg Val Ala His Leu Tyr Ile Met Gly Asn Glu Lys Cys Ser Gln
595 600 605

His His Arg Gly Lys Val Thr Leu Asn Glu Ser Glu Ile Cys Ala Gly
610 615 620

Ala Glu Lys Ile Gly Ser Gly Pro Cys Glu Gly Asp Tyr Gly Gly Pro
625 630 635 640

Leu Val Cys Glu Gln His Lys Met Arg Met Val Leu Gly Val Ile Val
645 650 655

Pro Gly Arg Gly Cys Ala Ile Pro Asn Arg Pro Gly Ile Phe Val Arg
660 665 670

Val Ala Tyr Tyr Ala Lys Trp Ile His Lys Ile Ile Leu Thr Tyr Lys
675 680 685

Val Pro Gln Ser
690

<210> 36
<211> 458
<212> PRT
<213> 智人

<400> 36

Gln Arg Lys Arg Arg Asn Thr Ile His Glu Phe Lys Lys Ser Ala Lys
1 5 10 15

Thr Thr Leu Ile Lys Ile Asp Pro Ala Leu Lys Ile Lys Thr Lys Lys
20 25 30

Val Asn Thr Ala Asp Gln Cys Ala Asn Arg Cys Thr Arg Asn Lys Gly
35 40 45

Leu Pro Phe Thr Cys Lys Ala Phe Val Phe Asp Lys Ala Arg Lys Gln
50 55 60

Cys Leu Trp Phe Pro Phe Asn Ser Met Ser Ser Gly Val Lys Lys Glu
65 70 75 80

Phe Gly His Glu Phe Asp Leu Tyr Glu Asn Lys Asp Tyr Ile Arg Asn
85 90 95

Cys Ile Ile Gly Lys Gly Arg Ser Tyr Lys Gly Thr Val Ser Ile Thr
100 105 110

Lys Ser Gly Ile Lys Cys Gln Pro Trp Ser Ser Met Ile Pro His Glu
115 120 125

His Ser Tyr Arg Gly Lys Asp Leu Gln Glu Asn Tyr Cys Arg Asn Pro
130 135 140

Arg Gly Glu Glu Gly Gly Pro Trp Cys Phe Thr Ser Asn Pro Glu Val
145 150 155 160

Arg Tyr Glu Val Cys Asp Ile Pro Gln Cys Ser Glu Val Glu Cys Met
165 170 175

Thr Cys Asn Gly Glu Ser Tyr Arg Gly Leu Met Asp His Thr Glu Ser
180 185 190

Gly Lys Ile Cys Gln Arg Trp Asp His Gln Thr Pro His Arg His Lys
195 200 205

Phe Leu Pro Glu Arg Tyr Pro Asp Lys Gly Phe Asp Asp Asn Tyr Cys
210 215 220

Arg Asn Pro Asp Gly Gln Pro Arg Pro Trp Cys Tyr Thr Leu Asp Pro
225 230 235 240

His Thr Arg Trp Glu Tyr Cys Ala Ile Lys Thr Cys Ala Asp Asn Thr
245 250 255

Met Asn Asp Thr Asp Val Pro Leu Glu Thr Thr Glu Cys Ile Gln Gly
260 265 270

Gln Gly Glu Gly Tyr Arg Gly Thr Val Asn Thr Ile Trp Asn Gly Ile
275 280 285

Pro Cys Gln Arg Trp Asp Ser Gln Tyr Pro His Glu His Asp Met Thr
290 295 300

Pro Glu Asn Phe Lys Cys Lys Asp Leu Arg Glu Asn Tyr Cys Arg Asn
305 310 315 320

Pro Asp Gly Ser Glu Ser Pro Trp Cys Phe Thr Thr Asp Pro Asn Ile
325 330 335

Arg Val Gly Tyr Cys Ser Gln Ile Pro Asn Cys Asp Met Ser His Gly
340 345 350

Gln Asp Cys Tyr Arg Gly Asn Gly Lys Asn Tyr Met Gly Asn Leu Ser
355 360 365

Gln	Thr	Arg	Ser	Gly	Leu	Thr	Cys	Ser	Met	Trp	Asp	Lys	Asn	Met	Glu
370						375					380				
Asp	Leu	His	Arg	His	Ile	Phe	Trp	Glu	Pro	Asp	Ala	Ser	Lys	Leu	Asn
385					390					395					400
Glu	Asn	Tyr	Cys	Arg	Asn	Pro	Asp	Asp	Asp	Ala	His	Gly	Pro	Trp	Cys
				405					410					415	
Tyr	Thr	Gly	Asn	Pro	Leu	Ile	Pro	Trp	Asp	Tyr	Cys	Pro	Ile	Ser	Arg
			420						425					430	
Cys	Glu	Gly	Asp	Thr	Thr	Pro	Thr	Ile	Val	Asn	Leu	Asp	His	Pro	Val
			435					440					445		
Ile	Ser	Cys	Ala	Lys	Thr	Lys	Gln	Leu	Arg						
			450					455							
<210> 37															
<211> 234															
<212> PRT															
<213> 智人															
<400> 37															
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	Gly	Asp
	50					55					60				
Glu	Lys	Cys	Lys	Gln	Val	Leu	Asn	Val	Ser	Gln	Leu	Val	Tyr	Gly	Pro
65					70					75					80

Glu Gly Ser Asp Leu Val Leu Met Lys Leu Ala Arg Pro Ala Val Leu
85 90 95

Asp Asp Phe Val Ser Thr Ile Asp Leu Pro Asn Tyr Gly Cys Thr Ile
100 105 110

Pro Glu Lys Thr Ser Cys Ser Val Tyr Gly Trp Gly Tyr Thr Gly Leu
115 120 125

Ile Asn Tyr Asp Gly Leu Leu Arg Val Ala His Leu Tyr Ile Met Gly
130 135 140

Asn Glu Lys Cys Ser Gln His His Arg Gly Lys Val Thr Leu Asn Glu
145 150 155 160

Ser Glu Ile Cys Ala Gly Ala Glu Lys Ile Gly Ser Gly Pro Cys Glu
165 170 175

Gly Asp Tyr Gly Gly Pro Leu Val Cys Glu Gln His Lys Met Arg Met
180 185 190

Val Leu Gly Val Ile Val Pro Gly Arg Gly Cys Ala Ile Pro Asn Arg
195 200 205

Pro Gly Ile Phe Val Arg Val Ala Tyr Tyr Ala Lys Trp Ile His Lys
210 215 220

Ile Ile Leu Thr Tyr Lys Val Pro Gln Ser
225 230

【發明申請專利範圍】

【請求項1】

一種治療或預防有需要之個體之神經營養性角膜炎的方法，該方法包含向該個體投與治療有效量之肝細胞生長因子(HGF)或纖維母細胞生長因子(FGF)。

【請求項2】

如請求項1之方法，其中該HGF或FGF經純化。

【請求項3】

如請求項1或2之方法，其中該HGF或FGF係與角膜基質滲透賦形劑組合投與。

【請求項4】

如請求項1至3中任一項之方法，其中該HGF或FGF調配於液體醫藥組合物中。

【請求項5】

如請求項1至4中任一項之方法，其中向眼睛投與該HGF或FGF。

【請求項6】

如請求項5之方法，其中該HGF或FGF局部投與至該眼睛。

【請求項7】

如請求項5之方法，其中該HGF或FGF藉由注射投與至該眼睛。

【請求項8】

如請求項7之方法，其中該HGF或FGF係結膜下投與。

【請求項9】

如請求項7之方法，其中該HGF或FGF係前房內投與。

【請求項10】

如請求項1至9中任一項之方法，其中該液體醫藥組合物包含濃度為約0.01% (w/v)至約1.0% (w/v)之HGF或FGF。

【請求項11】

如請求項10之方法，其中該液體醫藥組合物包含濃度為約0.08% (w/v)至約0.25% (w/v)之HGF或FGF。

【請求項12】

如請求項10之方法，其中該液體醫藥組合物包含濃度為約0.1% (w/v)之HGF或FGF。

【請求項13】

如請求項10之方法，其中該液體醫藥組合物包含濃度為約0.2% (w/v)之HGF或FGF。

【請求項14】

如請求項1至13中任一項之方法，其中該HGF或FGF係與另一治療劑組合投與。

【請求項15】

如請求項14之方法，其中該另一治療劑為另一生長因子。

【請求項16】

如請求項1至15中任一項之方法，其中該HGF包含具有SEQ ID NO: 1-27中之任一者的多肽序列。

【請求項17】

如請求項1至15中任一項之方法，其中該HGF包含與SEQ ID NO: 1具有95%序列一致性的多肽序列。

【請求項18】

如請求項1至15中任一項之方法，其中該HGF包含具有SEQ ID NO: 1之多肽序列。

【請求項19】

一種醫藥組合物，其包含：

約0.01%至約1.0% (w/v) HGF；

可使該組合物之pH維持在約5.8至約6.2之緩衝劑；

約100至約300 mM之選自海藻糖、脯胺酸、山梨糖醇及其混合物之穩定劑；

視情況選用之張力調節劑，其可提供約250 mOsm/kg H₂O至約500 mOsm/kg H₂O之組合物的滲透壓；及

視情況選用之界面活性劑。

【請求項20】

如請求項19之組合物，其包含約0.05%至約0.5% (w/v) HGF。

【請求項21】

如請求項19之組合物，其包含約0.08%至約0.25% (w/v) HGF。

【請求項22】

如請求項19之組合物，其包含約0.1% (w/v) HGF。

【請求項23】

如請求項19之組合物，其包含約0.2% (w/v) HGF。

【請求項24】

如請求項19至23中任一項之組合物，其中該組合物之pH為約6.0。

【請求項25】

如請求項19至24中任一項之組合物，其包含約150至約250 mM穩定劑。

【請求項26】

如請求項25之組合物，其包含約200 mM穩定劑。

【請求項27】

如請求項19至26中任一項之組合物，其中該穩定劑為海藻糖或脯胺酸。

【請求項28】

如請求項19至26中任一項之組合物，其中該穩定劑為海藻糖。

【請求項29】

如請求項19至26中任一項之組合物，其中該穩定劑為脯胺酸。

【請求項30】

如請求項19至26中任一項之組合物，其中該穩定劑為山梨糖醇。

【請求項31】

如請求項19至30中任一項之組合物，其中該緩衝劑為檸檬酸鹽緩衝劑。

【請求項32】

如請求項19至30中任一項之組合物，其中該緩衝劑為檸檬酸鈉。

【請求項33】

如請求項19至30中任一項之組合物，包含約10至約50 mM緩衝劑。

【請求項34】

如請求項19至33中任一項之組合物，其中該組合物之滲透壓為約450 mOsm/kg H₂O。

【請求項35】

如請求項19至33中任一項之組合物，其不包括張力調節劑。

【請求項36】

如請求項19至33中任一項之組合物，其包含張力調節劑鹼金屬鹽。

【請求項37】

如請求項19至33中任一項之組合物，其包含張力調節劑氯化鈉。

【請求項38】

如請求項19至37中任一項之組合物，其包含界面活性劑。

【請求項39】

如請求項38之組合物，其中該界面活性劑選自聚山梨醇酯80 (PS80)、Polaxomer 188及Polaxomer 407。

【請求項40】

如請求項38之組合物，其中該界面活性劑為聚山梨醇酯80 (PS80)。

【請求項41】

如請求項19至40中任一項之組合物，其中該界面活性劑係以約0.01%至約0.1% (w/v)之量存在。

【請求項42】

如請求項19至40中任一項之組合物，其中該界面活性劑係以約0.02%至約0.8% (w/v)之量存在。

【請求項43】

如請求項19至40中任一項之組合物，其中該界面活性劑係以約0.05% (w/v)之量存在。

【請求項44】

一種水性醫藥組合物，其包含：

約0.1% (w/v) HGF；

約20 mM檸檬酸鈉；

約200 mM海藻糖、脯胺酸或山梨糖醇；

約0.05% (w/v)界面活性劑；

其中該組合物之pH為約6.0，且該組合物之滲透壓為約350 mOsm/kg H₂O。

【請求項45】

如請求項44之水性醫藥組合物，其包含：

約0.1% (w/v) HGF；

約20 mM檸檬酸鈉；

約200 mM海藻糖；

約0.05% (w/v)聚山梨醇酯80 (PS80)；

其中該組合物之pH為約6.0，且該組合物之滲透壓為約350 mOsm/kg H₂O。

【請求項46】

如請求項44之水性醫藥組合物，其包含：

約0.1% (w/v) HGF；

約20 mM檸檬酸鈉；

約200 mM脯胺酸；

約0.05% (w/v)聚山梨醇酯80 (PS80)；

其中該組合物之pH為約6.0，且該組合物之滲透壓為約350 mOsm/kg H₂O。

【請求項47】

如請求項44之水性醫藥組合物，其包含：

約0.1% (w/v) HGF；

約20 mM檸檬酸鈉；

約200 mM山梨糖醇；

約0.05% (w/v)聚山梨醇酯80 (PS80)；

其中該組合物之pH為約6.0，且該組合物之滲透壓為約350 mOsm/kg H₂O。

【請求項48】

一種水性醫藥組合物，其包含：

約0.2% (w/v) HGF；

約20 mM檸檬酸鈉；

約200 mM海藻糖、脯胺酸或山梨糖醇；

約0.05% (w/v)界面活性劑；

其中該組合物之pH為約6.0，且該組合物之滲透壓為約450 mOsm/kg H₂O。

【請求項49】

如請求項48之水性醫藥組合物，其包含：

約0.2% (w/v) HGF；

約20 mM檸檬酸鈉；

約200 mM海藻糖；

約0.05% (w/v)聚山梨醇酯80 (PS80)；

其中該組合物之pH為約6.0，且該組合物之滲透壓為約450 mOsm/kg

H₂O。

【請求項50】

如請求項48之水性醫藥組合物，其包含：

約0.2% (w/v) HGF；

約20 mM檸檬酸鈉；

約200 mM脯胺酸；

約0.05% (w/v)聚山梨醇酯80 (PS80)；

其中該組合物之pH為約6.0，且該組合物之滲透壓為約450 mOsm/kg

H₂O。

【請求項51】

如請求項49之水性醫藥組合物，其包含：

約0.2% (w/v) HGF；

約20 mM檸檬酸鈉；

約200 mM山梨糖醇；

約0.05% (w/v)聚山梨醇酯80 (PS80)；

其中該組合物之pH為約6.0，且該組合物之滲透壓為約450 mOsm/kg

H₂O。

【請求項52】

如請求項19至51中任一項之醫藥組合物，其中該HGF包含SEQ ID NO: 1-27中之任一者的多肽序列。

【請求項53】

如請求項19至51中任一項之醫藥組合物，其中該HGF包含與SEQ ID NO: 1具有95%序列一致性的多肽序列。

【請求項54】

如請求項19至51中任一項之醫藥組合物，其中該HGF包含具有SEQ ID NO: 1之多肽序列。

【請求項55】

一種治療或預防有需要之個體之眼睛疾病的方法，該方法包含向該個體投與治療有效量之如請求項19至55中任一項之醫藥組合物。

【請求項56】

如請求項55之方法，其中該眼睛疾病為選自以下之角膜疾病：神經營養性角膜炎、持續性角膜缺損、角膜潰瘍、乾眼病、微生物角膜炎、細菌性角膜炎、病毒角膜炎、真菌角膜炎、化學燒傷、熱燒傷、機械性外傷、角膜刮傷、受損內皮、大泡性角膜病變、福斯氏角膜失養症(Fuch's corneal dystrophy)、角膜結疤、休格倫氏症候群或手術後併發症。

【請求項57】

如請求項55之方法，其中該眼睛疾病為角膜霧霾或結疤。

【請求項58】

如請求項55之方法，其中該眼睛疾病為神經營養性角膜炎。

【請求項59】

如請求項55至58中任一項之方法，其中該組合物係與角膜基質滲透賦形劑組合投與。

【請求項60】

如請求項55至58中任一項之方法，其中該組合物投與至眼睛。

【請求項61】

如請求項60之方法，其中該組合物局部投與至該眼睛。

【請求項62】

如請求項60之方法，其中該組合物藉由注射投與至該眼睛。

【請求項63】

如請求項62之方法，其中該組合物係結膜下投與。

【請求項64】

如請求項62之方法，其中該組合物係前房內投與。

【請求項65】

如前述請求項中任一項之組合物或方法，其中該HGF為經活化HGF。

【請求項66】

如請求項65之組合物或方法，其中該經活化HGF為經活化dHGF。

【請求項67】

如前述請求項中任一項之組合物或方法，其中該HGF包含：

(a) 包含與SEQ ID NO: 2之胺基酸32-494具有至少80%，較佳90%一致性之胺基酸序列的第一多肽；及包含與SEQ ID NO: 2之胺基酸495-728具有至少80%，較佳90%一致性之胺基酸序列的第二多肽，視情況其中該第一多肽包含對應於SEQ ID NO: 2之胺基酸161-165之胺基酸的缺失；或

(b) 包含與SEQ ID NO: 7之胺基酸32-494具有至少80%，較佳90%一致性之胺基酸序列的第一多肽；及包含與SEQ ID NO: 7之胺基酸495-728具有至少80%，較佳90%一致性之胺基酸序列的第二多肽，視情況其中該第一多肽包含對應於SEQ ID NO: 7之胺基酸161-165之胺基酸的缺失；或

(c) 包含與SEQ ID NO: 8之胺基酸32-494具有至少80%，較佳90%一致性之胺基酸序列的第一多肽；及包含與SEQ ID NO: 8之胺基酸495-728

具有至少80%，較佳90%一致性之胺基酸序列的第二多肽，視情況其中該第一多肽包含對應於SEQ ID NO: 8之胺基酸161-165之胺基酸的缺失；或

(d) 包含與SEQ ID NO: 9之胺基酸32-494具有至少80%，較佳90%一致性之胺基酸序列的第一多肽；及包含與SEQ ID NO: 9之胺基酸495-728具有至少80%，較佳90%一致性之胺基酸序列的第二多肽，視情況其中該第一多肽包含對應於SEQ ID NO: 9之胺基酸161-165之胺基酸的缺失；或

(e) 包含與SEQ ID NO: 10之胺基酸32-494具有至少80%，較佳90%一致性之胺基酸序列的第一多肽；及包含與SEQ ID NO: 10之胺基酸495-728具有至少80%，較佳90%一致性之胺基酸序列的第二多肽，視情況其中該第一多肽包含對應於SEQ ID NO: 10之胺基酸161-165之胺基酸的缺失；或

(g) 包含與SEQ ID NO: 11之胺基酸32-494具有至少80%，較佳90%一致性之胺基酸序列的第一多肽；及包含與SEQ ID NO: 11之胺基酸495-728具有至少80%，較佳90%一致性之胺基酸序列的第二多肽，視情況其中該第一多肽包含對應於SEQ ID NO: 11之胺基酸161-165之胺基酸的缺失；或

(h) 包含與SEQ ID NO: 12之胺基酸32-494具有至少80%，較佳90%一致性之胺基酸序列的第一多肽；及包含與SEQ ID NO: 12之胺基酸495-728具有至少80%，較佳90%一致性之胺基酸序列的第二多肽，視情況其中該第一多肽包含對應於SEQ ID NO: 12之胺基酸161-165之胺基酸的缺失；或

(i) 包含與SEQ ID NO: 13之胺基酸32-494具有至少80%，較佳90%一致性之胺基酸序列的第一多肽；及包含與SEQ ID NO: 13之胺基酸495-

728具有至少80%，較佳90%一致性之胺基酸序列的第二多肽，視情況其中該第一多肽包含對應於SEQ ID NO: 13之胺基酸161-165之胺基酸的缺失；或

(j)包含與SEQ ID NO: 14之胺基酸32-494具有至少80%，較佳90%一致性之胺基酸序列的第一多肽；及包含與SEQ ID NO: 14之胺基酸495-728具有至少80%，較佳90%一致性之胺基酸序列的第二多肽，視情況其中該第一多肽包含對應於SEQ ID NO: 14之胺基酸161-165之胺基酸的缺失；或

(k)包含與SEQ ID NO: 15之胺基酸32-494具有至少80%，較佳90%一致性之胺基酸序列的第一多肽；及包含與SEQ ID NO: 15之胺基酸495-728具有至少80%，較佳90%一致性之胺基酸序列的第二多肽，視情況其中該第一多肽包含對應於SEQ ID NO: 15之胺基酸161-165之胺基酸的缺失；或

(l)包含與SEQ ID NO: 16之胺基酸32-494具有至少80%，較佳90%一致性之胺基酸序列的第一多肽；及包含與SEQ ID NO: 16之胺基酸495-728具有至少80%，較佳90%一致性之胺基酸序列的第二多肽，視情況其中該第一多肽包含對應於SEQ ID NO: 16之胺基酸161-165之胺基酸的缺失；或

(m)包含與SEQ ID NO: 17之胺基酸32-494具有至少80%，較佳90%一致性之胺基酸序列的第一多肽；及包含與SEQ ID NO: 17之胺基酸495-728具有至少80%，較佳90%一致性之胺基酸序列的第二多肽，視情況其中該第一多肽包含對應於SEQ ID NO: 17之胺基酸161-165之胺基酸的缺失；或

(n)包含與SEQ ID NO: 18之胺基酸32-494具有至少80%，較佳90%一致性之胺基酸序列的第一多肽；及包含與SEQ ID NO: 18之胺基酸495-728具有至少80%，較佳90%一致性之胺基酸序列的第二多肽，視情況其中該第一多肽包含對應於SEQ ID NO: 18之胺基酸161-165之胺基酸的缺失；或

(o)包含與SEQ ID NO: 19之胺基酸32-494具有至少80%，較佳90%一致性之胺基酸序列的第一多肽；及包含與SEQ ID NO: 19之胺基酸495-728具有至少80%，較佳90%一致性之胺基酸序列的第二多肽，視情況其中該第一多肽包含對應於SEQ ID NO: 19之胺基酸161-165之胺基酸的缺失；或

(p)包含與SEQ ID NO: 20之胺基酸32-494具有至少80%，較佳90%一致性之胺基酸序列的第一多肽；及包含與SEQ ID NO: 20之胺基酸495-728具有至少80%，較佳90%一致性之胺基酸序列的第二多肽，視情況其中該第一多肽包含對應於SEQ ID NO: 20之胺基酸161-165之胺基酸的缺失；或

(q)包含與SEQ ID NO: 21之胺基酸32-494具有至少80%，較佳90%一致性之胺基酸序列的第一多肽；及包含與SEQ ID NO: 21之胺基酸495-728具有至少80%，較佳90%一致性之胺基酸序列的第二多肽，視情況其中該第一多肽包含對應於SEQ ID NO: 21之胺基酸161-165之胺基酸的缺失；或

(r)包含與SEQ ID NO: 22之胺基酸32-494具有至少80%，較佳90%一致性之胺基酸序列的第一多肽；及包含與SEQ ID NO: 22之胺基酸495-728具有至少80%，較佳90%一致性之胺基酸序列的第二多肽，視情況其

中該第一多肽包含對應於SEQ ID NO: 22之胺基酸161-165之胺基酸的缺失；或

(s)包含與SEQ ID NO: 23之胺基酸32-494具有至少80%，較佳90%一致性之胺基酸序列的第一多肽；及包含與SEQ ID NO: 23之胺基酸495-728具有至少80%，較佳90%一致性之胺基酸序列的第二多肽，視情況其中該第一多肽包含對應於SEQ ID NO: 23之胺基酸161-165之胺基酸的缺失；或

(t)包含與SEQ ID NO: 24之胺基酸32-494具有至少80%，較佳90%一致性之胺基酸序列的第一多肽；及包含與SEQ ID NO: 24之胺基酸495-728具有至少80%，較佳90%一致性之胺基酸序列的第二多肽，視情況其中該第一多肽包含對應於SEQ ID NO: 24之胺基酸161-165之胺基酸的缺失；或

(u))包含與SEQ ID NO: 25之胺基酸32-494具有至少80%，較佳90%一致性之胺基酸序列的第一多肽；及包含與SEQ ID NO: 25之胺基酸495-728具有至少80%，較佳90%一致性之胺基酸序列的第二多肽，視情況其中該第一多肽包含對應於SEQ ID NO: 25之胺基酸161-165之胺基酸的缺失；或

(v)包含與SEQ ID NO: 26之胺基酸32-494具有至少80%，較佳90%一致性之胺基酸序列的第一多肽；及包含與SEQ ID NO: 26之胺基酸495-728具有至少80%，較佳90%一致性之胺基酸序列的第二多肽，視情況其中該第一多肽包含對應於SEQ ID NO: 26之胺基酸161-165之胺基酸的缺失；或

(w)包含與SEQ ID NO: 27之胺基酸32-494具有至少80%，較佳90%

一致性之胺基酸序列的第一多肽；及包含與SEQ ID NO: 27之胺基酸495-728具有至少80%，較佳90%一致性之胺基酸序列的第二多肽，視情況其中該第一多肽包含對應於SEQ ID NO: 27之胺基酸161-165之胺基酸的缺失。

【請求項68】

如前述請求項中任一項之組合物或方法，其中該HGF包含：

(a) 包含對應於SEQ ID NO: 2之胺基酸32-494之胺基酸序列或由該胺基酸序列組成的第一多肽；及包含對應於SEQ ID NO: 2之胺基酸495-728之胺基酸序列或由該胺基酸序列組成的第二多肽，視情況其中該第一多肽包含對應於SEQ ID NO: 2之胺基酸161-165之胺基酸的缺失；或

(b) 包含對應於SEQ ID NO: 7之胺基酸32-494之胺基酸序列或由該胺基酸序列組成的第一多肽；及包含對應於SEQ ID NO: 7之胺基酸495-728之胺基酸序列或由該胺基酸序列組成的第二多肽，視情況其中該第一多肽包含對應於SEQ ID NO: 7之胺基酸161-165之胺基酸的缺失；或

(c) 包含對應於SEQ ID NO: 8之胺基酸32-494之胺基酸序列或由該胺基酸序列組成的第一多肽；及包含對應於SEQ ID NO: 8之胺基酸495-728之胺基酸序列或由該胺基酸序列組成的第二多肽，視情況其中該第一多肽包含對應於SEQ ID NO: 8之胺基酸161-165之胺基酸的缺失；或

(d) 包含對應於SEQ ID NO: 9之胺基酸32-494之胺基酸序列或由該胺基酸序列組成的第一多肽；及包含對應於SEQ ID NO: 9之胺基酸495-728之胺基酸序列或由該胺基酸序列組成的第二多肽，視情況其中該第一多肽包含對應於SEQ ID NO: 9之胺基酸161-165之胺基酸的缺失；或

(e) 包含對應於SEQ ID NO: 10之胺基酸32-494之胺基酸序列或由該

胺基酸序列組成的第一多肽；及包含對應於SEQ ID NO: 10之胺基酸495-728之胺基酸序列或由該胺基酸序列組成的第二多肽，視情況其中該第一多肽包含對應於SEQ ID NO: 10之胺基酸161-165之胺基酸的缺失；或

(g)包含對應於SEQ ID NO: 11之胺基酸32-494之胺基酸序列或由該胺基酸序列組成的第一多肽；及包含對應於SEQ ID NO: 11之胺基酸495-728之胺基酸序列或由該胺基酸序列組成的第二多肽，視情況其中該第一多肽包含對應於SEQ ID NO: 11之胺基酸161-165之胺基酸的缺失；或

(h)包含對應於SEQ ID NO: 12之胺基酸32-494之胺基酸序列或由該胺基酸序列組成的第一多肽；及包含對應於SEQ ID NO: 12之胺基酸495-728之胺基酸序列或由該胺基酸序列組成的第二多肽，視情況其中該第一多肽包含對應於SEQ ID NO: 12之胺基酸161-165之胺基酸的缺失；或

(i)包含對應於SEQ ID NO: 13之胺基酸32-494之胺基酸序列或由該胺基酸序列組成的第一多肽；及包含對應於SEQ ID NO: 13之胺基酸495-728之胺基酸序列或由該胺基酸序列組成的第二多肽，視情況其中該第一多肽包含對應於SEQ ID NO: 13之胺基酸161-165之胺基酸的缺失；或

(j)包含對應於SEQ ID NO: 14之胺基酸32-494之胺基酸序列或由該胺基酸序列組成的第一多肽；及包含對應於SEQ ID NO: 14之胺基酸495-728之胺基酸序列或由該胺基酸序列組成的第二多肽，視情況其中該第一多肽包含對應於SEQ ID NO: 14之胺基酸161-165之胺基酸的缺失；或

(k)包含對應於SEQ ID NO: 15之胺基酸32-494之胺基酸序列或由該胺基酸序列組成的第一多肽；及包含對應於SEQ ID NO: 15之胺基酸495-728之胺基酸序列或由該胺基酸序列組成的第二多肽，視情況其中該第一多肽包含對應於SEQ ID NO: 15之胺基酸161-165之胺基酸的缺失；或

(l)包含對應於SEQ ID NO: 16之胺基酸32-494之胺基酸序列或由該胺基酸序列組成的第一多肽；及包含對應於SEQ ID NO: 16之胺基酸495-728之胺基酸序列或由該胺基酸序列組成的第二多肽，視情況其中該第一多肽包含對應於SEQ ID NO: 16之胺基酸161-165之胺基酸的缺失；或

(m)包含對應於SEQ ID NO: 17之胺基酸32-494之胺基酸序列或由該胺基酸序列組成的第一多肽；及包含對應於SEQ ID NO: 17之胺基酸495-728之胺基酸序列或由該胺基酸序列組成的第二多肽，視情況其中該第一多肽包含對應於SEQ ID NO: 17之胺基酸161-165之胺基酸的缺失；或

(n)包含對應於SEQ ID NO: 18之胺基酸32-494之胺基酸序列或由該胺基酸序列組成的第一多肽；及包含對應於SEQ ID NO: 18之胺基酸495-728之胺基酸序列或由該胺基酸序列組成的第二多肽，視情況其中該第一多肽包含對應於SEQ ID NO: 18之胺基酸161-165之胺基酸的缺失；或

(o)包含對應於SEQ ID NO: 19之胺基酸32-494之胺基酸序列或由該胺基酸序列組成的第一多肽；及包含對應於SEQ ID NO: 19之胺基酸495-728之胺基酸序列或由該胺基酸序列組成的第二多肽，視情況其中該第一多肽包含對應於SEQ ID NO: 19之胺基酸161-165之胺基酸的缺失；或

(p)包含對應於SEQ ID NO: 20之胺基酸32-494之胺基酸序列或由該胺基酸序列組成的第一多肽；及包含對應於SEQ ID NO: 20之胺基酸495-728之胺基酸序列或由該胺基酸序列組成的第二多肽，視情況其中該第一多肽包含對應於SEQ ID NO: 20之胺基酸161-165之胺基酸的缺失；或

(q)包含對應於SEQ ID NO: 21之胺基酸32-494之胺基酸序列或由該胺基酸序列組成的第一多肽；及包含對應於SEQ ID NO: 21之胺基酸495-728之胺基酸序列或由該胺基酸序列組成的第二多肽，視情況其中該第一

多肽包含對應於SEQ ID NO: 21之胺基酸161-165之胺基酸的缺失；或

(r)包含對應於SEQ ID NO: 22之胺基酸32-494之胺基酸序列或由該胺基酸序列組成的第一多肽；及包含對應於SEQ ID NO: 22之胺基酸495-728之胺基酸序列或由該胺基酸序列組成的第二多肽，視情況其中該第一多肽包含對應於SEQ ID NO: 22之胺基酸161-165之胺基酸的缺失；或

(s)包含對應於SEQ ID NO: 23之胺基酸32-494之胺基酸序列或由該胺基酸序列組成的第一多肽；及包含對應於SEQ ID NO: 23之胺基酸495-728之胺基酸序列或由該胺基酸序列組成的第二多肽，視情況其中該第一多肽包含對應於SEQ ID NO: 23之胺基酸161-165之胺基酸的缺失；或

(t)包含對應於SEQ ID NO: 24之胺基酸32-494之胺基酸序列或由該胺基酸序列組成的第一多肽；及包含對應於SEQ ID NO: 24之胺基酸495-728之胺基酸序列或由該胺基酸序列組成的第二多肽，視情況其中該第一多肽包含對應於SEQ ID NO: 24之胺基酸161-165之胺基酸的缺失；或

(u))包含對應於SEQ ID NO: 25之胺基酸32-494之胺基酸序列或由該胺基酸序列組成的第一多肽；及包含對應於SEQ ID NO: 25之胺基酸495-728之胺基酸序列或由該胺基酸序列組成的第二多肽，視情況其中該第一多肽包含對應於SEQ ID NO: 25之胺基酸161-165之胺基酸的缺失；或

(v)包含對應於SEQ ID NO: 26之胺基酸32-494之胺基酸序列或由該胺基酸序列組成的第一多肽；及包含對應於SEQ ID NO: 26之胺基酸495-728之胺基酸序列或由該胺基酸序列組成的第二多肽，視情況其中該第一多肽包含對應於SEQ ID NO: 26之胺基酸161-165之胺基酸的缺失；或

(w)包含對應於SEQ ID NO: 27之胺基酸32-494之胺基酸序列或由該胺基酸序列組成的第一多肽；及包含對應於SEQ ID NO: 27之胺基酸495-

728之胺基酸序列或由該胺基酸序列組成的第二多肽，視情況其中該第一多肽包含對應於SEQ ID NO: 27之胺基酸161-165之胺基酸的缺失。

【請求項69】

如請求項66之組合物或方法，其中該第一多肽包含SEQ ID NO: 36之胺基酸序列或由該胺基酸序列組成，且該第二多肽包含SEQ ID NO: 37之胺基酸序列或由該胺基酸序列組成。

【請求項70】

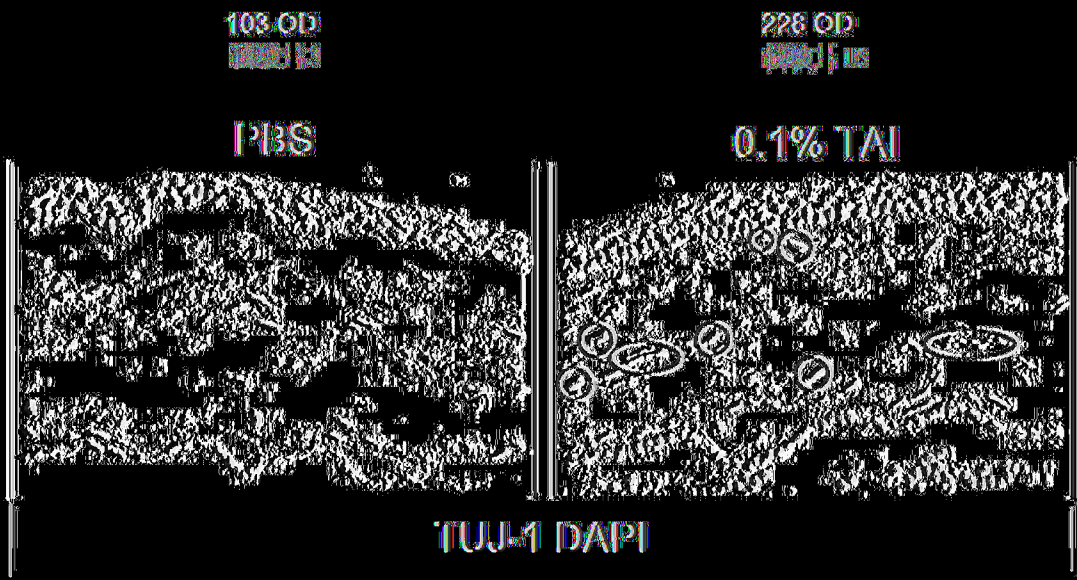
如請求項66或請求項67之組合物或方法，其中該第一多肽之該N端胺基酸為吡咯啉酮羧酸。

【請求項71】

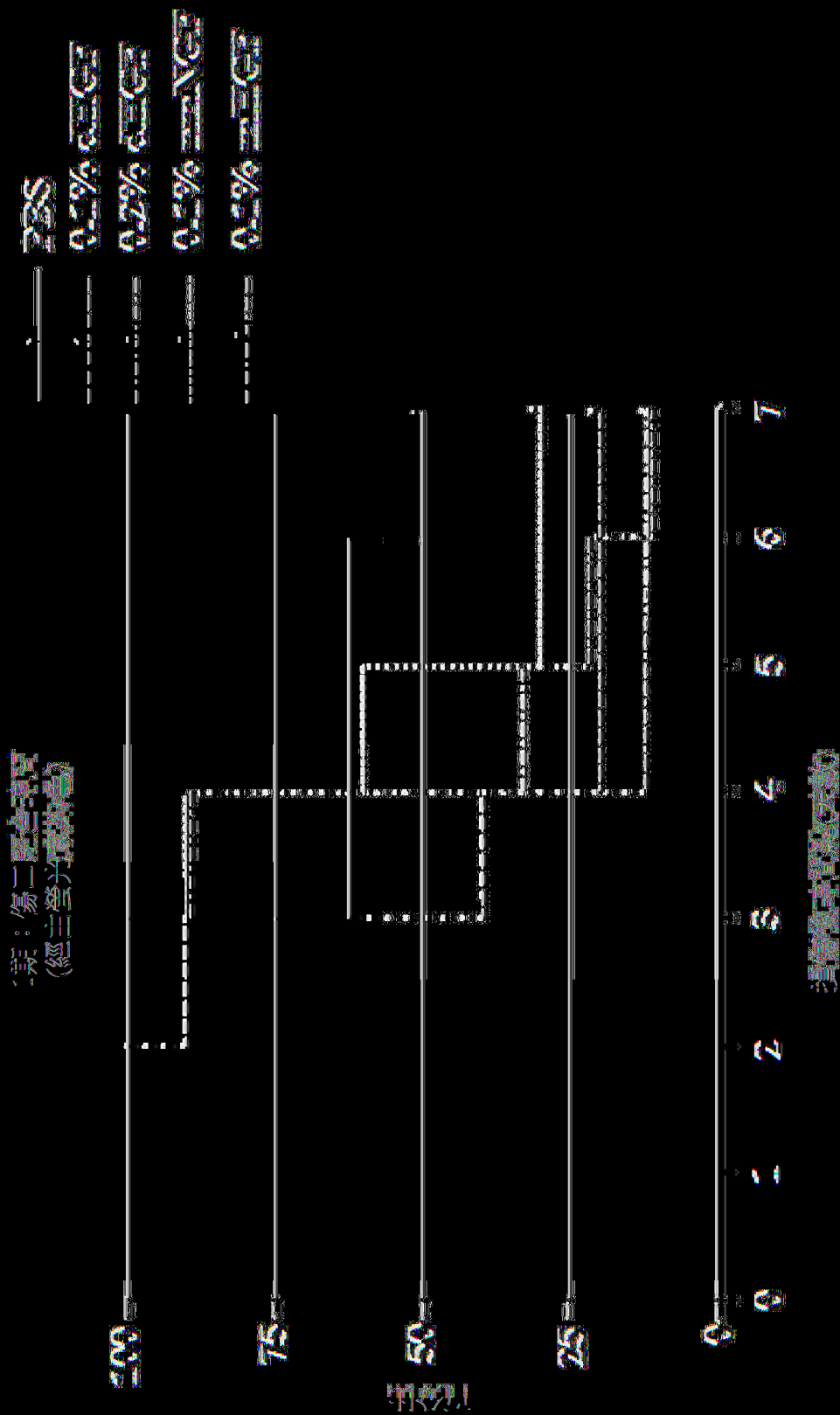
如請求項65至68中任一項之組合物或方法，其中該第一多肽與該第二多肽係藉由一或多個二硫鍵連接。

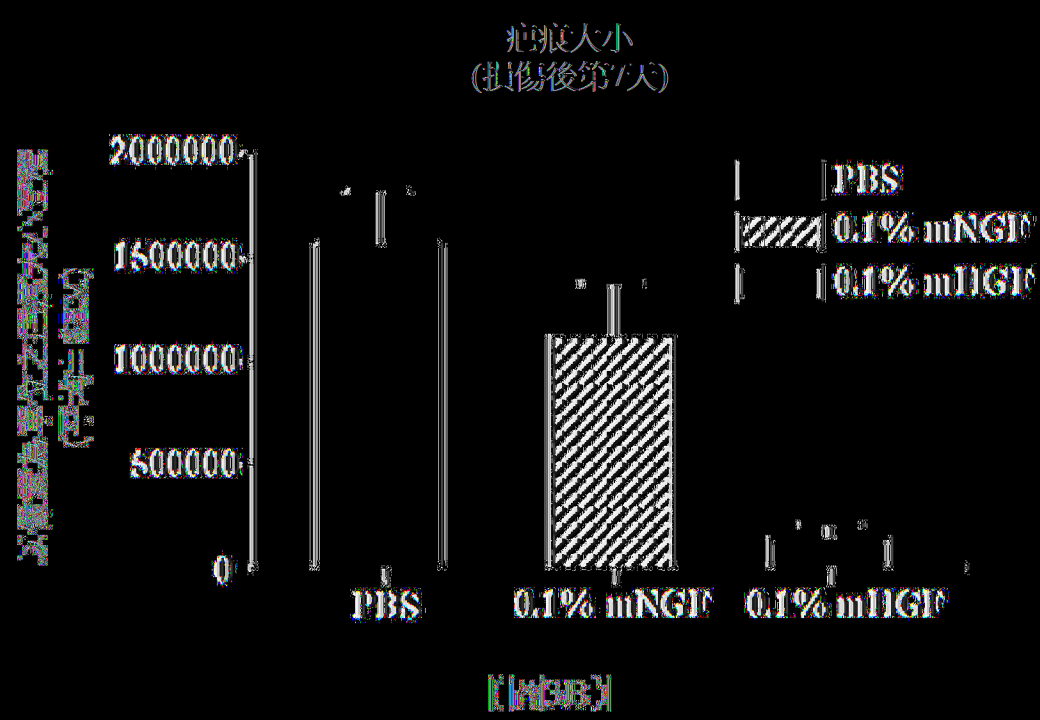
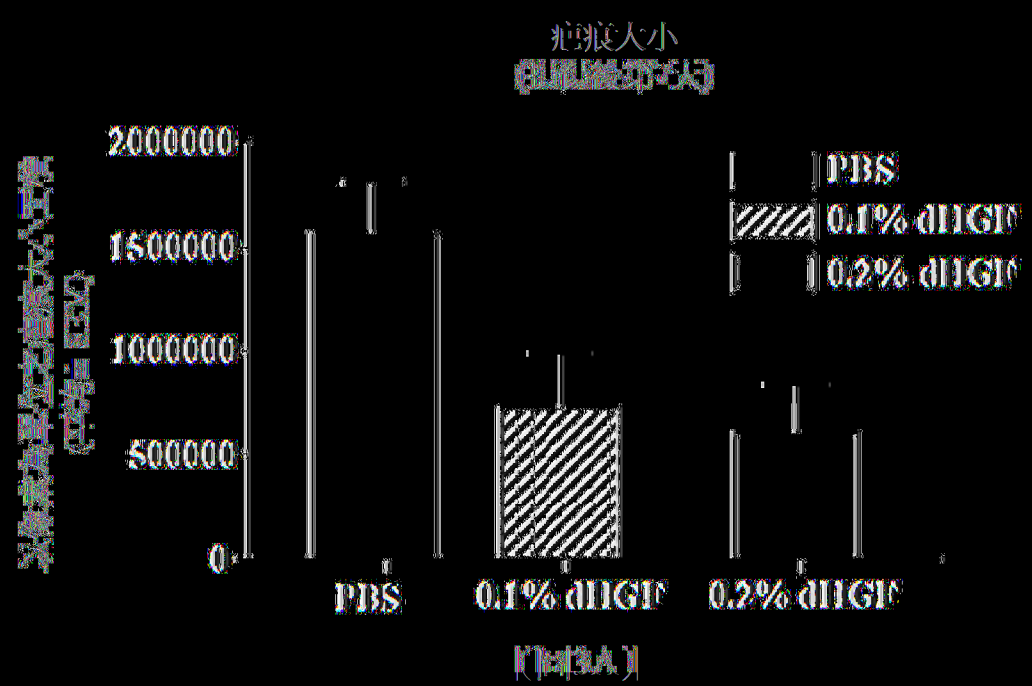
【請求項72】

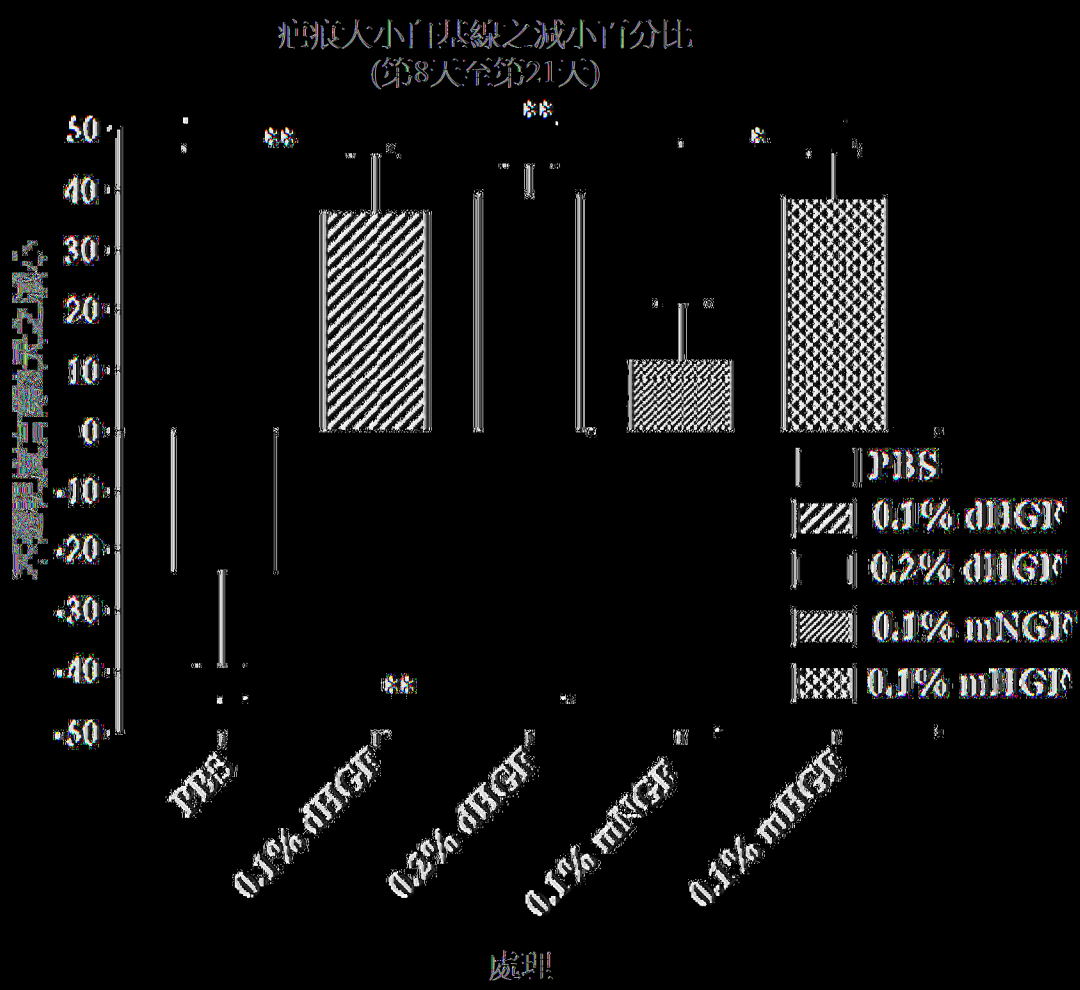
如請求項65至69中任一項之組合物或方法，其中該HGF能夠結合至c-MET及/或活化上皮細胞中之MAPK路徑。



|(|圖1)|



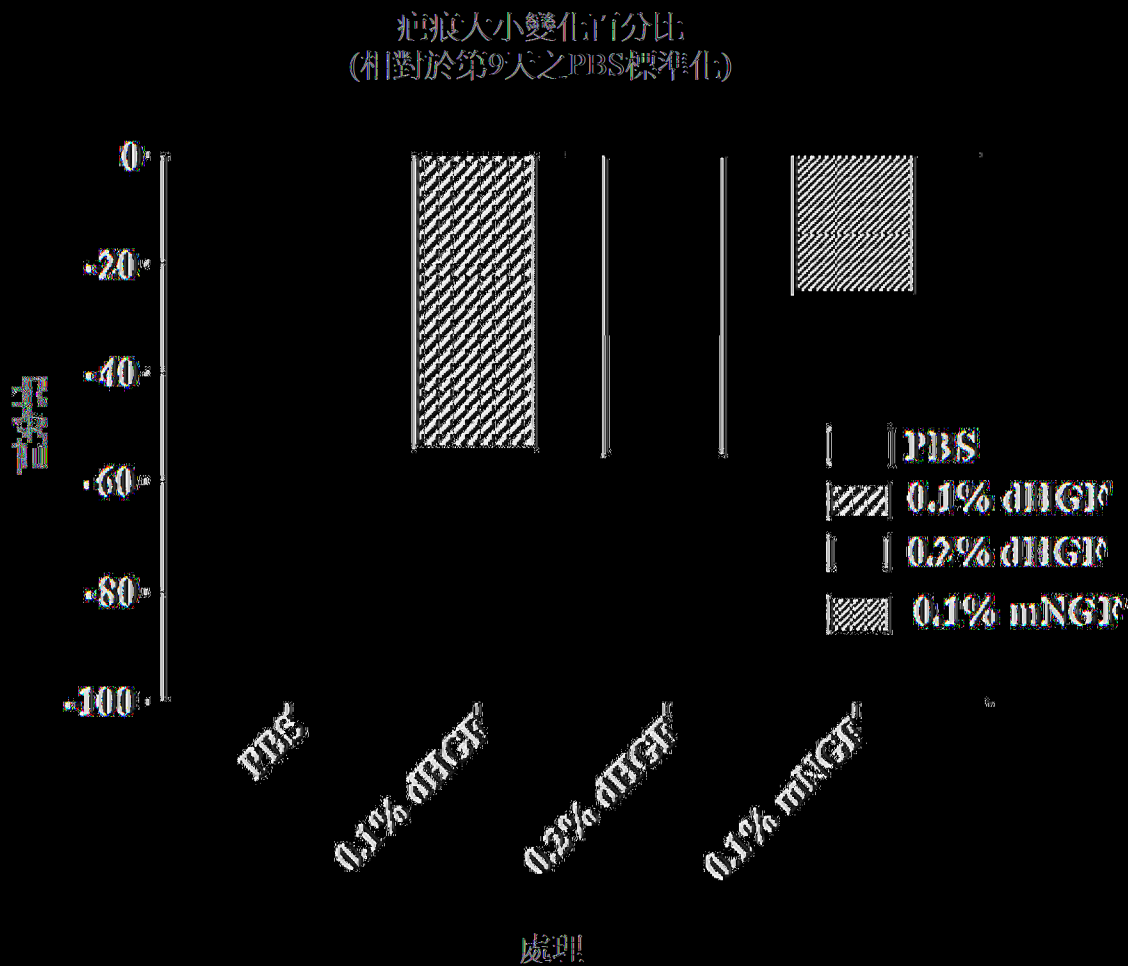




比較	P值	顯著
PBS相對於0.1% dHGF	0.0054	**
PBS相對於0.2% dHGF	0.0015	**
PBS相對於mHGF	0.0859	ns
PBS相對於mHGF	0.0027	**
0.1% dHGF相對於0.2% dHGF	0.7588	ns
mHGF相對於mHGF	0.0228	*

ns：無顯著
**：p < 0.01
*：p < 0.05

|(B4)|



(圖5)