



등록특허 10-2564097



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2023년08월04일
(11) 등록번호 10-2564097
(24) 등록일자 2023년08월02일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07K 16/30 (2006.01) *C12N 5/078* (2010.01)
G01N 33/574 (2006.01)

(52) CPC특허분류
C07K 16/303 (2013.01)
C12N 5/0634 (2023.05)

(21) 출원번호 10-2019-7019505

(22) 출원일자(국제) 2018년01월10일
심사청구일자 2020년12월01일

(85) 번역문제출일자 2019년07월04일

(65) 공개번호 10-2019-0101989

(43) 공개일자 2019년09월02일

(86) 국제출원번호 PCT/JP2018/000257

(87) 국제공개번호 WO 2018/131586
국제공개일자 2018년07월19일

(30) 우선권주장
JP-P-2017-001732 2017년01월10일 일본(JP)

(56) 선행기술조사문현
JP2016523518 A
JP2015526387 A

(73) 특허권자
고쿠리츠다이아가쿠호우진 야마구치 다이가쿠
일본 야마구치켄 야마구치시 요시다 1677-1
국립연구개발법인 고쿠리츠간체인센터
일본국 도쿄도 추오구 츠키지 5-1-1
노일 이류 바이오테크 가부시키가이샤
일본 도쿄도 미나토구 시바다이몬 2쵸메 12방 10
고

(72) 발명자
다마다 고지
일본 야마구치켄 우베시 미나미코구시 1쵸메 1-1
고쿠리츠다이아가쿠호우진 야마구치 다이가쿠 이가
쿠부 나이

사코다 유키미
일본 야마구치켄 우베시 미나미코구시 1쵸메 1-1
고쿠리츠다이아가쿠호우진 야마구치 다이가쿠 이가
쿠부 나이
(뒷면에 계속)

(74) 대리인
특허법인코리아나

전체 청구항 수 : 총 18 항

심사관 : 김윤선

(54) 발명의 명칭 항 GPC3 항체

(57) 요 약

본 발명은, 기준의 항체 (예를 들어, GC33, GC199) 와는 상이한 에피토프를 인식하고, 또한 1 본체 항체의 상태에서도 세포막에 국재하는 GPC3 에 특이적으로 결합할 수 있는 항 GPC3 항체 ; 이러한 항 GPC3 1 본체 항체를 포함하는 CAR ; 이러한 CAR 을 발현하는 면역 담당 세포 ; 상기 항 GPC3 항체 유전자 또는 CAR 유전자 ; 이러한 항 GPC3 항체 유전자 또는 CAR 유전자를 포함하는 벡터 ; 이러한 벡터가 도입된 숙주 세포 ; GPC3 을 특이적으로 검출하는 방법 ; 및 GPC3 을 특이적으로 검출하기 위한 키트 ;를 제공하는 것을 과제로 한다.

청구항 1 에 정의되어 있는 특정한 중사슬 CDR1 ~ 3 과, 특정한 경사슬 CDR1 ~ 3 을 포함하고, 또한 인간 유래 GPC3 폴리펩ти드에 특이적으로 결합하는 항체는, 세포막에 국재하는 GPC3 에 특이적으로 결합한다. 이러한 1 본체 항체를 포함하는 CAR 을 기초로 제조한 CAR-면역 담당 세포는, 암 면역 요법에 유용하다.

대 표 도

(52) CPC특허분류

G01N 33/57438 (2019.01)

C07K 2317/24 (2013.01)

C07K 2317/622 (2013.01)

C07K 2319/10 (2013.01)

C12N 2510/00 (2013.01)

(72) 발명자

나카츠라 데츠야

일본 지바켄 가시와시 가시와노하 6쵸메 5방 1고

국립연구개발법인 고쿠리츠간켄큐센터 히가시묘잉

나이

사이트 게이고

일본 지바켄 가시와시 가시와노하 6쵸메 5방 1고

국립연구개발법인 고쿠리츠간켄큐센터 히가시묘잉

나이

명세서

청구범위

청구항 1

서열 번호 155 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 인간 GPC3 (Glypican-3) 유래의 폴리펩티드에 특이적으로 결합하는 항체로서,

(1-1) 서열 번호 1 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 중사슬 상보성 결정 영역 (CDR) 1, 서열 번호 2 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 중사슬 CDR2, 및 서열 번호 3 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 중사슬 CDR3 과,

서열 번호 4 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 경사슬 CDR1, 서열 번호 5 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 경사슬 CDR2, 및 서열 번호 6 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 경사슬 CDR3 을 포함하거나 ;

(2-1) 서열 번호 11 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 중사슬 CDR1, 서열 번호 12 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 중사슬 CDR2, 및 서열 번호 13 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 중사슬 CDR3 과,

서열 번호 14 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 경사슬 CDR1, 서열 번호 15 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 경사슬 CDR2, 및 서열 번호 16 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 경사슬 CDR3 을 포함하거나 ;

(3-1) 서열 번호 21 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 중사슬 CDR1, 서열 번호 22 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 중사슬 CDR2, 및 서열 번호 23 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 중사슬 CDR3 과,

서열 번호 24 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 경사슬 CDR1, 서열 번호 25 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 경사슬 CDR2, 및 서열 번호 26 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 경사슬 CDR3 을 포함하거나 ;

(4-1) 서열 번호 31 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 중사슬 CDR1, 서열 번호 32 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 중사슬 CDR2, 및 서열 번호 33 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 중사슬 CDR3 과,

서열 번호 34 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 경사슬 CDR1, 서열 번호 35 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 경사슬 CDR2, 및 서열 번호 36 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 경사슬 CDR3 을 포함하거나 ;

(5-1) 서열 번호 41 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 중사슬 CDR1, 서열 번호 42 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 중사슬 CDR2, 및 서열 번호 43 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 중사슬 CDR3 과,

서열 번호 44 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 경사슬 CDR1, 서열 번호 45 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 경사슬 CDR2, 및 서열 번호 46 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 경사슬 CDR3 을 포함하거나 ;

(6-1) 서열 번호 51 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 중사슬 CDR1, 서열 번호 52 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 중사슬 CDR2, 및 서열 번호 53 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 중사슬 CDR3 과,

서열 번호 54 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 경사슬 CDR1, 서열 번호 55 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 경사슬 CDR2, 및 서열 번호 56 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 경사슬 CDR3 을 포함하거나 ;

(7-1) 서열 번호 61 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 중사슬 CDR1, 서열 번호 62 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 중사슬 CDR2, 및 서열 번호 63 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 중사슬 CDR3 과,

서열 번호 64 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 경사슬 CDR1, 서열 번호 65 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 경사슬 CDR2, 및 서열 번호 66 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 경사슬 CDR3 을 포함하거나 ;

(8-1) 서열 번호 71 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 중사슬 CDR1, 서열 번호 72 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 중사슬 CDR2, 및 서열 번호 73 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 중사슬 CDR3 과,

서열 번호 74 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 경사슬 CDR1, 서열 번호 75 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 경사슬 CDR2, 및 서열 번호 76 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 경사슬 CDR3 을 포함하거나;

(9-1) 서열 번호 81 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 중사슬 CDR1, 서열 번호 82 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 중사슬 CDR2, 및 서열 번호 83 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 중사슬 CDR3 과,

서열 번호 84 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 경사슬 CDR1, 서열 번호 85 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 경사슬 CDR2, 및 서열 번호 86 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 경사슬 CDR3 을 포함하거나;

(10-1) 서열 번호 91 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 중사슬 CDR1, 서열 번호 92 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 중사슬 CDR2, 및 서열 번호 93 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 중사슬 CDR3 과,

서열 번호 94 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 경사슬 CDR1, 서열 번호 95 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 경사슬 CDR2, 및 서열 번호 96 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 경사슬 CDR3 을 포함하거나; 혹은

(11-1) 서열 번호 101 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 중사슬 CDR1, 서열 번호 102 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 중사슬 CDR2, 및 서열 번호 103 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 중사슬 CDR3 과,

서열 번호 104 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 경사슬 CDR1, 서열 번호 105 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 경사슬 CDR2, 및 서열 번호 106 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 경사슬 CDR3 을 포함하는;

상기 항체.

청구항 2

제 1 항에 있어서,

(1-2) 서열 번호 7 에 나타내는 아미노산 서열과 적어도 80 % 이상의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열로 이루어지는 중사슬 가변 영역과, 서열 번호 8 에 나타내는 아미노산 서열과 적어도 80 % 이상의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열로 이루어지는 경사슬 가변 영역을 포함하거나;

(2-2) 서열 번호 17 에 나타내는 아미노산 서열과 적어도 80 % 이상의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열로 이루어지는 중사슬 가변 영역과, 서열 번호 18 에 나타내는 아미노산 서열과 적어도 80 % 이상의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열로 이루어지는 경사슬 가변 영역을 포함하거나;

(3-2) 서열 번호 27 에 나타내는 아미노산 서열과 적어도 80 % 이상의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열로 이루어지는 중사슬 가변 영역과, 서열 번호 28 에 나타내는 아미노산 서열과 적어도 80 % 이상의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열로 이루어지는 경사슬 가변 영역을 포함하거나;

(4-2) 서열 번호 37 에 나타내는 아미노산 서열과 적어도 80 % 이상의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열로 이루어지는 중사슬 가변 영역과, 서열 번호 38 에 나타내는 아미노산 서열과 적어도 80 % 이상의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열로 이루어지는 경사슬 가변 영역을 포함하거나;

(5-2) 서열 번호 47 에 나타내는 아미노산 서열과 적어도 80 % 이상의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열로 이루어지는 중사슬 가변 영역과, 서열 번호 48 에 나타내는 아미노산 서열과 적어도 80 % 이상의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열로 이루어지는 경사슬 가변 영역을 포함하거나;

(6-2) 서열 번호 57 에 나타내는 아미노산 서열과 적어도 80 % 이상의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열로 이루어지는 중사슬 가변 영역과, 서열 번호 58 에 나타내는 아미노산 서열과 적어도 80 % 이상의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열로 이루어지는 경사슬 가변 영역을 포함하거나;

(7-2) 서열 번호 67 에 나타내는 아미노산 서열과 적어도 80 % 이상의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열로 이

루어지는 중사슬 가변 영역과, 서열 번호 68 에 나타내는 아미노산 서열과 적어도 80 % 이상의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열로 이루어지는 경사를 가변 영역을 포함하거나 ;

(8-2) 서열 번호 77 에 나타내는 아미노산 서열과 적어도 80 % 이상의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열로 이루어지는 중사슬 가변 영역과, 서열 번호 78 에 나타내는 아미노산 서열과 적어도 80 % 이상의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열로 이루어지는 경사를 가변 영역을 포함하거나 ;

(9-2) 서열 번호 87 에 나타내는 아미노산 서열과 적어도 80 % 이상의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열로 이루어지는 중사슬 가변 영역과, 서열 번호 88 에 나타내는 아미노산 서열과 적어도 80 % 이상의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열로 이루어지는 경사를 가변 영역을 포함하거나 ;

(10-2) 서열 번호 97 에 나타내는 아미노산 서열과 적어도 80 % 이상의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열로 이루어지는 중사슬 가변 영역과, 서열 번호 98 에 나타내는 아미노산 서열과 적어도 80 % 이상의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열로 이루어지는 경사를 가변 영역을 포함하거나 ; 혹은

(11-2) 서열 번호 107 에 나타내는 아미노산 서열과 적어도 80 % 이상의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열로 이루어지는 중사슬 가변 영역과, 서열 번호 108 에 나타내는 아미노산 서열과 적어도 80 % 이상의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열로 이루어지는 경사를 가변 영역을 포함하는 ;

항체.

청구항 3

제 1 항에 있어서,

scFv (single chain Fv) 인 항체.

청구항 4

제 3 항에 있어서,

scFv 가,

(1-3) 서열 번호 165 에 나타내는 아미노산 서열과 적어도 80 % 이상의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하거나 ;

(2-3) 서열 번호 166 에 나타내는 아미노산 서열과 적어도 80 % 이상의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하거나 ;

(3-3) 서열 번호 167 에 나타내는 아미노산 서열과 적어도 80 % 이상의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하거나 ;

(4-3) 서열 번호 168 에 나타내는 아미노산 서열과 적어도 80 % 이상의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하거나 ;

(5-3) 서열 번호 169 에 나타내는 아미노산 서열과 적어도 80 % 이상의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하거나 ;

(6-3) 서열 번호 170 에 나타내는 아미노산 서열과 적어도 80 % 이상의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하거나 ;

(7-3) 서열 번호 171 에 나타내는 아미노산 서열과 적어도 80 % 이상의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하거나 ;

(8-3) 서열 번호 172 에 나타내는 아미노산 서열과 적어도 80 % 이상의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하거나 ;

(9-3) 서열 번호 173 에 나타내는 아미노산 서열과 적어도 80 % 이상의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하거나 ;

(10-3) 서열 번호 174 에 나타내는 아미노산 서열과 적어도 80 % 이상의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하거나 ; 혹은

(11-3) 서열 번호 175 에 나타내는 아미노산 서열과 적어도 80 % 이상의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 ;

항체.

청구항 5

제 3 항에 있어서,

scFv 가,

(1-3'-1) 서열 번호 178 에 나타내는 아미노산 서열과 적어도 80 % 이상의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하거나 ;

(1-3'-2) 서열 번호 179 에 나타내는 아미노산 서열과 적어도 80 % 이상의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하거나 ;

(1-3'-3) 서열 번호 180 에 나타내는 아미노산 서열과 적어도 80 % 이상의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하거나 ;

(2-3'-1) 서열 번호 181 에 나타내는 아미노산 서열과 적어도 80 % 이상의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하거나 ;

(2-3'-2) 서열 번호 182 에 나타내는 아미노산 서열과 적어도 80 % 이상의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하거나 ; 혹은

(2-3'-3) 서열 번호 183 에 나타내는 아미노산 서열과 적어도 80 % 이상의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하거나 ; 혹은

(2-3'-4) 서열 번호 184 에 나타내는 아미노산 서열과 적어도 80 % 이상의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 ;

항체.

청구항 6

제 1 항에 있어서,

(1-4) 서열 번호 9 에 나타내는 아미노산 서열과 적어도 80 % 이상의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열로 이루어지는 중사슬과, 서열 번호 10 에 나타내는 아미노산 서열과 적어도 80 % 이상의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열로 이루어지는 경사슬을 포함하거나 ;

(2-4) 서열 번호 19 에 나타내는 아미노산 서열과 적어도 80 % 이상의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열로 이루어지는 중사슬과, 서열 번호 20 에 나타내는 아미노산 서열과 적어도 80 % 이상의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열로 이루어지는 경사슬을 포함하거나 ;

(3-4) 서열 번호 29 에 나타내는 아미노산 서열과 적어도 80 % 이상의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열로 이루어지는 중사슬과, 서열 번호 30 에 나타내는 아미노산 서열과 적어도 80 % 이상의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열로 이루어지는 경사슬을 포함하거나 ;

(4-4) 서열 번호 39 에 나타내는 아미노산 서열과 적어도 80 % 이상의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열로 이루어지는 중사슬과, 서열 번호 40 에 나타내는 아미노산 서열과 적어도 80 % 이상의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열로 이루어지는 경사슬을 포함하거나 ;

(5-4) 서열 번호 49 에 나타내는 아미노산 서열과 적어도 80 % 이상의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열로 이루어지는 중사슬과, 서열 번호 50 에 나타내는 아미노산 서열과 적어도 80 % 이상의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열로 이루어지는 경사슬을 포함하거나 ;

(6-4) 서열 번호 59 에 나타내는 아미노산 서열과 적어도 80 % 이상의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열로 이루어지는 중사슬과, 서열 번호 60 에 나타내는 아미노산 서열과 적어도 80 % 이상의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열로 이루어지는 경사슬을 포함하거나 ;

(7-4) 서열 번호 69 에 나타내는 아미노산 서열과 적어도 80 % 이상의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열로 이루어지는 중사슬과, 서열 번호 70 에 나타내는 아미노산 서열과 적어도 80 % 이상의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열로 이루어지는 경사슬을 포함하거나;

(8-4) 서열 번호 79 에 나타내는 아미노산 서열과 적어도 80 % 이상의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열로 이루어지는 중사슬과, 서열 번호 80 에 나타내는 아미노산 서열과 적어도 80 % 이상의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열로 이루어지는 경사슬을 포함하거나;

(9-4) 서열 번호 89 에 나타내는 아미노산 서열과 적어도 80 % 이상의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열로 이루어지는 중사슬과, 서열 번호 90 에 나타내는 아미노산 서열과 적어도 80 % 이상의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열로 이루어지는 경사슬을 포함하거나;

(10-4) 서열 번호 99 에 나타내는 아미노산 서열과 적어도 80 % 이상의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열로 이루어지는 중사슬과, 서열 번호 100 에 나타내는 아미노산 서열과 적어도 80 % 이상의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열로 이루어지는 경사슬을 포함하거나; 혹은

(11-4) 서열 번호 109 에 나타내는 아미노산 서열과 적어도 80 % 이상의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열로 이루어지는 중사슬과, 서열 번호 110 에 나타내는 아미노산 서열과 적어도 80 % 이상의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열로 이루어지는 경사슬을 포함하는;

항체.

청구항 7

제 3 항 내지 제 5 항 중 어느 한 항에 기재된 항체와, 그 항체의 카르복실 말단에 융합한 세포막 관통 영역과, 그 세포막 관통 영역의 카르복실 말단에 융합한 면역 담당 세포 활성화 시그널 전달 영역을 포함하는 키메라 항원 수용체 (CAR).

청구항 8

제 7 항에 있어서,

서열 번호 185 ~ 187 중 어느 것에 나타내는 아미노산 서열을 포함하는 키메라 항원 수용체 (CAR).

청구항 9

제 7 항에 기재된 CAR 을 발현하는 면역 담당 세포.

청구항 10

제 9 항에 있어서,

또한, 인터류킨 7 (IL-7), 및 케모카인 리간드 19 (CCL19) 를 발현하는 면역 담당 세포.

청구항 11

제 1 항 내지 제 6 항 중 어느 한 항에 기재된 항체를 코드하는 항체 유전자.

청구항 12

제 7 항에 기재된 CAR 을 코드하는 CAR 유전자.

청구항 13

프로모터와, 그 프로모터의 하류에 작동 가능하게 연결되어 있는 제 11 항에 기재된 항체 유전자를 포함하는 벡터.

청구항 14

프로모터와, 그 프로모터의 하류에 작동 가능하게 연결되어 있는 제 12 항에 기재된 CAR 을 코드하는 CAR 유전자를 포함하는 벡터.

청구항 15

제 13 항에 기재된 벡터가 도입되어 있는 단리된 숙주 세포.

청구항 16

제 14 항에 기재된 벡터가 도입되어 있는 단리된 숙주 세포.

청구항 17

제 1 항 내지 제 6 항 중 어느 한 항에 기재된 항체를 사용하여, GPC3 (Glypican-3) 을 인비트로로 검출하는 공정을 구비한 GPC3 의 인비트로에서의 검출 방법.

청구항 18

제 1 항 내지 제 6 항 중 어느 한 항에 기재된 항체, 또는 그 표지물을 포함하는, 인비트로에서의 GPC3 (Glypican-3) 의 검출용 키트.

발명의 설명**기술 분야**

[0001]

본 발명은, GPC3 (Glypican-3) 에 특이적으로 결합하는 항체 (항 GPC3 항체) ; 항 GPC3 1 분쇄 항체와, 이러한 항 GPC3 1 분쇄 항체의 카르복실 (C) 말단에 융합한 세포막 관통 영역과, 이러한 세포막 관통 영역의 C 말단에 융합한 면역 담당 세포 활성화 시그널 전달 영역을 포함하는 키메라 항원 수용체 (Chimeric Antigen Receptor : 이하, 「CAR」 이라고도 한다) ; CAR 을 발현하는 면역 담당 세포 ; 항 GPC3 항체 유전자 또는 CAR 유전자 ; 항 GPC3 항체 유전자 또는 CAR 유전자를 포함하는 벡터 ; 이러한 벡터가 도입된 숙주 세포 ; GPC3 을 검출하는 방법 ; 및 GPC3 을 검출하기 위한 키트 ; 에 관한 것이다.

배경기술

[0002]

Glypican-3 (GPC3) 은, 태생기의 조직, 특히 간장 · 신장에서 발현하고, 기관 형성에 관련된 세포외 매트릭스 단백질이다. GPC3 은, 성인 조직에 있어서는 태반 이외에 발현은 확인되지 않기는 하지만, 간세포암, 멜라노마, 난소 명세포암, 폐 편평 상피암 등의 다양한 암 조직에 있어서 발현이 확인된다. 이와 같이 GPC3 은, α -페토프로테인 (α -fetoprotein ; AFP), 암 태아성 항원 (Carcinoembryonic antigen ; CEA) 등의 단백질과 마찬가지로, 태생기의 조직에 발현하는 단백질이기 때문에, 태아성 암 항원으로 분류된다. 즉, GPC3 은, 정상 조직 세포에 있어서는 발현하지 않지만, 암 세포에 특이적으로 발현하는 특징을 나타내기 때문에, 암 치료의 표적 분자나, 종양 마커 및 진단 마커로서 유용하다.

[0003]

GPC3 은, 기관 형성에 있어서의 세포외 매트릭스로서 세포 접착이나 세포 중식 인자의 수용체로서 기능하는 프로테오글리칸 패밀리의 하나이다. GPC3 의 카르복실 (C) 말단측에 위치하는 560 번째의 세린에, GPI (Glycosylphosphatidylinositol) 앵커가 부가한다. GPI 앵커는, 세포막 지질과 공유 결합하고, GPC3 을 세포 표면 상에 국제시키는 역할을 담당하고 있다. 또, GPC3 의 495 번째의 세린과, 509 번째의 세린은, 혼파란 황산 사슬 (HS 사슬) 이 수식하고 있다. HS 사슬은, Wnt 시그널, FGF 시그널, BMP 시그널 등의 복수의 중식 시그널 전달 경로를 조절하는 것이 알려져 있다. 암종에 따라서는, 관련된 중식 시그널 전달 경로가 상이한 것이 알려져 있고, 예를 들어, 간세포암 (HCC) 에 있어서는, Wnt 시그널 경로를 자극하여 세포 중식한다. 글리피칸 패밀리에 공통되는 특징으로서, 세포외 영역에 시스테인이 16 개로 풍부하게 포함하고 있어, 복수의 분자 내 디슬파이드 결합을 형성하여 입체 구조 형성의 안정화에 기여하고 있는 것으로 생각되고 있다. 세포막 표면의 GPC3 은, 푸린 콘바타아제 (furin convertase) 에 의해 358 번째의 아르기닌 (R) 과, 359 번째의 세린 (S) 의 사이 (R358/S359) 에서 절단될 가능성이 있는 것이 보고되어 있다. 그러나, GPC3 의 아미노 (N) 말단 서브 유닛은, 분자 내 디슬파이드 결합에 의해 가교되어 있기 때문에, 푸린 콘바타아제에 의해 N 말단측 서브 유닛 및 C 말단측 서브 유닛의 2 개로 절단된 경우이더라도, 양자는 해리하는 일 없이, 전체 길이형의 구조를 유지하는 가능성도 생각되어, 가용성 GPC3 의 구조에 대해서는 논의가 나뉘고 있다. 이와 같이, 세포막에 국재하는 GPC3 의 입체 구조는, GPC3 의 아이소폼의 구조도 포함하여, 불분명한 점이 많다.

[0004]

세포막에 있어서의 GPC3 의 구조는 복잡하기 때문에, GPC3 에 대한 항체를 제조하는 데 있어서, 가장 단순한 구조 영역을 에피토프로 하는 것이 바람직한 것으로 생각되고 있었다. 기존의 항 GPC3 항체의 대표로서, 바이

오 모자이크사로부터 판매되고 있는 모노클로날 항체 1G12 가 있다. 이 항체는 GPC3 의 복잡한 구조나 국재를 회피하여 디자인된 항원 (GPC3 의 C 말단측 70 잔기의 폴리펩티드) 을 Balb/c 마우스에 면역하고, 하이브리도마를 제조하고, 당해 항원을 사용한 스크리닝에 의해 얻어진 항체이다. 또 일본 내 제약 메이커가 개발한 항체 GC33 및 GC199 도, 동일한 컨셉을 기초로 하여 수립한 모노클로날 항체이고, GPC3 의 C 말단측 부분 단편을 항원으로 하여 얻어진 항체이다 (특허문헌 1).

선행기술문헌

특허문헌

[0005] (특허문헌 0001) 일본 특허공보 제4011100호

발명의 내용

해결하려는 과제

[0006] 본 발명의 과제는, 기존의 항체 (예를 들어, GC33, GC199) 와는 상이한 에피토프를 인식하고, 또한 1 본쇄 항체 상태에서도 세포막에 국재하는 GPC3 에 특이적으로 결합할 수 있는 항 GPC3 항체 ; 이러한 항 GPC3 1 본쇄 항체를 포함하는 CAR ; 이러한 CAR 을 발현하는 면역 담당 세포 ; 상기 항 GPC3 항체 유전자 또는 CAR 유전자 ; 이러한 항 GPC3 항체 유전자 또는 CAR 유전자를 포함하는 벡터 ; 이러한 벡터가 도입된 숙주 세포 ; GPC3 을 특이적으로 검출하는 방법 ; 및 GPC3 을 특이적으로 검출하기 위한 키트 ; 를 제공하는 것에 있다.

과제의 해결 수단

[0007] 본 발명자들은, 상기 과제를 해결하기 위해서 예의 연구를 계속하고 있다. 그 과정에 있어서, 하이브리도마를 수립하는 종래의 모노클로날 항체 제조법과는 상이한 수법인 파지 디스플레이법으로 신규 항 GPC3 항체를 제조하였다. 구체적으로는, 인간 GPC3 의 전체 길이를 면역한 마우스 유래의 B 세포를 사용하여, 항체 유전자의 면역 라이브러리를 합성하고, 1 본쇄 항체 (single chain Fv ; scFv) 라이브러리에 유전자를 재구성하여 파지 디스플레이에 삽입하고, 파지 표면에 발현시키고, 재조합 전체 길이 인간 GPC3 및 당해 GPC3 발현 세포주와, 필요에 따라, 또한 컴페티터로서 상기 기존 항체의 에피토프인 GPC3 의 C 말단측 폴리펩티드를 사용한 바이오패닝을 실시하고, 항 GPC3 항체를 제조하였다. 또, 제조한 항 GPC3 항체는, 키메라 항원 수용체 (Chimeric Antigen Receptor : CAR) 를 발현하는 T 세포 (이하, 「CAR-T 세포」 라고 하는 경우가 있다) 를 사용한 암 면역 요법에 유용한 것을 확인하였다. 본 발명은, 이들 지견에 기초하여, 완성하기에 이른 것이다.

[0008] 즉, 본 발명은 이하와 같다.

[1] 서열 번호 155 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 인간 GPC3 (Glypican-3) 유래의 폴리펩티드에 특이적으로 결합하는 항체로서,

[0010] (1-1) 서열 번호 1 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 중사슬 상보성 결정 영역 (CDR) 1, 서열 번호 2 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 중사슬 CDR2, 및 서열 번호 3 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 중사슬 CDR3 과,

[0011] 서열 번호 4 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 경사슬 CDR1, 서열 번호 5 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 경사슬 CDR2, 및 서열 번호 6 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 경사슬 CDR3 을 포함하거나 ;

[0012] (2-1) 서열 번호 11 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 중사슬 CDR1, 서열 번호 12 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 중사슬 CDR2, 및 서열 번호 13 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 중사슬 CDR3 과,

[0013] 서열 번호 14 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 경사슬 CDR1, 서열 번호 15 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 경사슬 CDR2, 및 서열 번호 16 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 경사슬 CDR3 을 포함하거나 ;

[0014] (3-1) 서열 번호 21 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 중사슬 CDR1, 서열 번호 22 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 중사슬 CDR2, 및 서열 번호 23 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 중사슬 CDR3 과,

[0032] 상기 항체 (이하, 「본건 항체」 라고 하는 경우가 있다).

[0033] [2] (1-2) 서열 번호 7 에 나타내는 아미노산 서열과 적어도 80 % 이상의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열로 이루어지는 중사슬 가변 영역과, 서열 번호 8 에 나타내는 아미노산 서열과 적어도 80 % 이상의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열로 이루어지는 경사슬 가변 영역을 포함하거나;

[0034] (2-2) 서열 번호 17 에 나타내는 아미노산 서열과 적어도 80 % 이상의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열로 이루어지는 중사슬 가변 영역과, 서열 번호 18 에 나타내는 아미노산 서열과 적어도 80 % 이상의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열로 이루어지는 경사슬 가변 영역을 포함하거나;

[0035] (3-2) 서열 번호 27 에 나타내는 아미노산 서열과 적어도 80 % 이상의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열로 이루어지는 중사슬 가변 영역과, 서열 번호 28 에 나타내는 아미노산 서열과 적어도 80 % 이상의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열로 이루어지는 경사슬 가변 영역을 포함하거나;

[0036] (4-2) 서열 번호 37 에 나타내는 아미노산 서열과 적어도 80 % 이상의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열로 이루어지는 중사슬 가변 영역과, 서열 번호 38 에 나타내는 아미노산 서열과 적어도 80 % 이상의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열로 이루어지는 경사슬 가변 영역을 포함하거나;

[0037] (5-2) 서열 번호 47 에 나타내는 아미노산 서열과 적어도 80 % 이상의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열로 이루어지는 중사슬 가변 영역과, 서열 번호 48 에 나타내는 아미노산 서열과 적어도 80 % 이상의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열로 이루어지는 경사슬 가변 영역을 포함하거나;

[0038] (6-2) 서열 번호 57 에 나타내는 아미노산 서열과 적어도 80 % 이상의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열로 이루어지는 중사슬 가변 영역과, 서열 번호 58 에 나타내는 아미노산 서열과 적어도 80 % 이상의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열로 이루어지는 경사슬 가변 영역을 포함하거나;

[0039] (7-2) 서열 번호 67 에 나타내는 아미노산 서열과 적어도 80 % 이상의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열로 이루어지는 중사슬 가변 영역과, 서열 번호 68 에 나타내는 아미노산 서열과 적어도 80 % 이상의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열로 이루어지는 경사슬 가변 영역을 포함하거나;

[0040] (8-2) 서열 번호 77 에 나타내는 아미노산 서열과 적어도 80 % 이상의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열로 이루어지는 중사슬 가변 영역과, 서열 번호 78 에 나타내는 아미노산 서열과 적어도 80 % 이상의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열로 이루어지는 경사슬 가변 영역을 포함하거나;

[0041] (9-2) 서열 번호 87 에 나타내는 아미노산 서열과 적어도 80 % 이상의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열로 이루어지는 중사슬 가변 영역과, 서열 번호 88 에 나타내는 아미노산 서열과 적어도 80 % 이상의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열로 이루어지는 경사슬 가변 영역을 포함하거나;

[0042] (10-2) 서열 번호 97 에 나타내는 아미노산 서열과 적어도 80 % 이상의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열로 이루어지는 중사슬 가변 영역과, 서열 번호 98 에 나타내는 아미노산 서열과 적어도 80 % 이상의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열로 이루어지는 경사슬 가변 영역을 포함하거나; 혹은

[0043] (11-2) 서열 번호 107 에 나타내는 아미노산 서열과 적어도 80 % 이상의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열로 이루어지는 중사슬 가변 영역과, 서열 번호 108 에 나타내는 아미노산 서열과 적어도 80 % 이상의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열로 이루어지는 경사슬 가변 영역을 포함하는;

[0044] 상기 [1] 에 기재된 항체.

[0045] [3] 1 본체 항체인 상기 [1] 또는 [2] 중 어느 하나에 기재된 항체.

[0046] [4] 1 본체 항체가,

[0047] (1-3) 서열 번호 165 에 나타내는 아미노산 서열과 적어도 80 % 이상의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하거나;

[0048] (2-3) 서열 번호 166 에 나타내는 아미노산 서열과 적어도 80 % 이상의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하거나;

[0049] (3-3) 서열 번호 167 에 나타내는 아미노산 서열과 적어도 80 % 이상의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하거나;

[0050] (4-3) 서열 번호 168 에 나타내는 아미노산 서열과 적어도 80 % 이상의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하거나 ;

[0051] (5-3) 서열 번호 169 에 나타내는 아미노산 서열과 적어도 80 % 이상의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하거나 ;

[0052] (6-3) 서열 번호 170 에 나타내는 아미노산 서열과 적어도 80 % 이상의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하거나 ;

[0053] (7-3) 서열 번호 171 에 나타내는 아미노산 서열과 적어도 80 % 이상의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하거나 ;

[0054] (8-3) 서열 번호 172 에 나타내는 아미노산 서열과 적어도 80 % 이상의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하거나 ;

[0055] (9-3) 서열 번호 173 에 나타내는 아미노산 서열과 적어도 80 % 이상의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하거나 ; 혹은

[0056] (10-3) 서열 번호 174 에 나타내는 아미노산 서열과 적어도 80 % 이상의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하거나 ; 혹은

[0057] (11-3) 서열 번호 175 에 나타내는 아미노산 서열과 적어도 80 % 이상의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 ;

[0058] 상기 [3] 에 기재된 항체.

[0059] [5] 1 본체 항체가,

[0060] (1-3'-1) 서열 번호 178 에 나타내는 아미노산 서열과 적어도 80 % 이상의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하거나 ;

[0061] (1-3'-2) 서열 번호 179 에 나타내는 아미노산 서열과 적어도 80 % 이상의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하거나 ;

[0062] (1-3'-3) 서열 번호 180 에 나타내는 아미노산 서열과 적어도 80 % 이상의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하거나 ;

[0063] (2-3'-1) 서열 번호 181 에 나타내는 아미노산 서열과 적어도 80 % 이상의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하거나 ;

[0064] (2-3'-2) 서열 번호 182 에 나타내는 아미노산 서열과 적어도 80 % 이상의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하거나 ;

[0065] (2-3'-3) 서열 번호 183 에 나타내는 아미노산 서열과 적어도 80 % 이상의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하거나 ; 혹은

[0066] (2-3'-4) 서열 번호 184 에 나타내는 아미노산 서열과 적어도 80 % 이상의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 ;

[0067] 상기 [3] 에 기재된 항체.

[0068] [6] (1-4) 서열 번호 9 에 나타내는 아미노산 서열과 적어도 80 % 이상의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열로 이루어지는 중사슬과, 서열 번호 10 에 나타내는 아미노산 서열과 적어도 80 % 이상의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열로 이루어지는 경사슬을 포함하거나 ;

[0069] (2-4) 서열 번호 19 에 나타내는 아미노산 서열과 적어도 80 % 이상의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열로 이루어지는 중사슬과, 서열 번호 20 에 나타내는 아미노산 서열과 적어도 80 % 이상의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열로 이루어지는 경사슬을 포함하거나 ;

[0070] (3-4) 서열 번호 29 에 나타내는 아미노산 서열과 적어도 80 % 이상의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열로 이루어지는 중사슬과, 서열 번호 30 에 나타내는 아미노산 서열과 적어도 80 % 이상의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열로 이루어지는 경사슬을 포함하거나 ;

[0071] (4-4) 서열 번호 39 에 나타내는 아미노산 서열과 적어도 80 % 이상의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열로 이루어지는 중사슬과, 서열 번호 40 에 나타내는 아미노산 서열과 적어도 80 % 이상의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열로 이루어지는 경사슬을 포함하거나;

[0072] (5-4) 서열 번호 49 에 나타내는 아미노산 서열과 적어도 80 % 이상의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열로 이루어지는 중사슬과, 서열 번호 50 에 나타내는 아미노산 서열과 적어도 80 % 이상의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열로 이루어지는 경사슬을 포함하거나;

[0073] (6-4) 서열 번호 59 에 나타내는 아미노산 서열과 적어도 80 % 이상의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열로 이루어지는 중사슬과, 서열 번호 60 에 나타내는 아미노산 서열과 적어도 80 % 이상의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열로 이루어지는 경사슬을 포함하거나;

[0074] (7-4) 서열 번호 69 에 나타내는 아미노산 서열과 적어도 80 % 이상의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열로 이루어지는 중사슬과, 서열 번호 70 에 나타내는 아미노산 서열과 적어도 80 % 이상의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열로 이루어지는 경사슬을 포함하거나;

[0075] (8-4) 서열 번호 79 에 나타내는 아미노산 서열과 적어도 80 % 이상의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열로 이루어지는 중사슬과, 서열 번호 80 에 나타내는 아미노산 서열과 적어도 80 % 이상의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열로 이루어지는 경사슬을 포함하거나;

[0076] (9-4) 서열 번호 89 에 나타내는 아미노산 서열과 적어도 80 % 이상의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열로 이루어지는 중사슬과, 서열 번호 90 에 나타내는 아미노산 서열과 적어도 80 % 이상의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열로 이루어지는 경사슬을 포함하거나;

[0077] (10-4) 서열 번호 99 에 나타내는 아미노산 서열과 적어도 80 % 이상의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열로 이루어지는 중사슬과, 서열 번호 100 에 나타내는 아미노산 서열과 적어도 80 % 이상의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열로 이루어지는 경사슬을 포함하거나; 혹은

[0078] (11-4) 서열 번호 109 에 나타내는 아미노산 서열과 적어도 80 % 이상의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열로 이루어지는 중사슬과, 서열 번호 110 에 나타내는 아미노산 서열과 적어도 80 % 이상의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열로 이루어지는 경사슬을 포함하는;

[0079] 상기 [1] 또는 [2] 에 기재된 항체.

[0080] [7] 상기 [3] ~ [5] 중 어느 하나에 기재된 항체 (이하, 「본건 1 본체 항체」 라고 하는 경우가 있다) 와, 본건 1 본체의 카르복실 말단에 융합한 세포막 관통 영역과, 상기 세포막 관통 영역의 카르복실 말단에 융합한 면역 담당 세포 활성화 시그널 전달 영역을 포함하는 CAR (이하, 「본건 CAR」 이라고 하는 경우가 있다).

[0081] [8] 서열 번호 185 ~ 187 중 어느 것에 나타내는 아미노산 서열을 포함하는 상기 [7] 에 기재된 CAR.

[0082] [9] 상기 [7] 또는 [8] 에 기재된 CAR 을 발현하는 면역 담당 세포 (이하, 「본건 면역 담당 세포」 라고 하는 경우가 있다).

[0083] [10] 또한, 인터류킨 7 (IL-7), 및 케모카인 리간드 19 (CCL19) 를 발현하는 상기 [9] 에 기재된 면역 담당 세포.

[0084] [11] 상기 [1] ~ [6] 중 어느 하나에 기재된 항체를 코드하는 항체 유전자 (이하, 「본건 항체 유전자」 라고 하는 경우가 있다), 또는 상기 [7] 혹은 [8] 에 기재된 CAR 을 코드하는 CAR 유전자 (이하, 「본건 CAR 유전자」 라고 하는 경우가 있다).

[0085] [12] 상기 [1] ~ [4] 및 [6] 중 어느 하나에 기재된 항체를 코드하는 항체 유전자.

[0086] [13] 프로모터와, 그 프로모터의 하류에 작동 가능하게 연결되어 있는 상기 [11] 에 기재된 항체 유전자, 또는 상기 [11] 에 기재된 CAR 을 코드하는 CAR 유전자를 포함하는 백터 (이하, 「본건 백터」 라고 하는 경우가 있다).

[0087] [14] 프로모터와, 그 프로모터의 하류에 작동 가능하게 연결되어 있는 상기 [12] 에 기재된 항체 유전자를 포함하는 백터.

[0088] [15] 상기 [13] 또는 [14] 에 기재된 백터가 도입되어 있는 숙주 세포 (이하, 「본건 숙주 세포」 라고 하는 경

우가 있다).

[0089] [16] 상기 [1] ~ [6] 중 어느 하나에 기재된 항체를 사용하여, GPC3 (Glypican-3) 을 검출하는 공정을 구비한 GPC3 의 검출 방법 (이하, 「본건 검출 방법」 이라고 하는 경우가 있다).

[0090] [17] 상기 [1] ~ [6] 중 어느 하나에 기재된 항체, 또는 그 표지물을 포함하는, GPC3 (Glypican-3) 의 검출용 키트 (이하, 「본건 검출용 키트」 라고 하는 경우가 있다).

본 발명의 실시의 다른 형태로서, GPC3 의 검출에 사용하기 위한 본건 항체나, 서열 번호 157 로 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 전체 길이 인간 GPC3 을, 비인간 동물 (예를 들어, 마우스, 래트) 에 면역하는 공정과, 상기 면역 비인간 동물 유래 B 세포의 전체 RNA로부터 역전사 반응에 의해 cDNA 를 합성하고, 항체 유전자를 증폭하여 항체 유전자 라이브러리를 제조하는 공정과, 상기 항체 유전자 라이브러리로부터 scFv 과지 라이브러리를 구축하고, 대장균에 감염시켜 scFv 를 발현시킨 것에 대하여, 상기 전체 길이 인간 GPC3 이나 당해 GPC3 발현 세포주, 필요에 따라, 또한 컴페티터로서 GPC3 의 C 말단측 폴리펩티드 (서열 번호 156 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 인간 유래 GPC3 폴리펩티드) 를 사용한 바이오패닝을 실시하는 공정을 구비한 본건 항체의 제조 방법을 들 수 있다.

발명의 효과

[0092] 본건 항체는, IgG 형 뿐만 아니라, scFv 형의 상태이더라도, 세포막에 국재하는 GPC3 에 특이적으로 결합하는 항체이다. 또, CAR 에 있어서의 scFv 로서 본건 항체를 사용한 CAR-T 세포는, 우수한 세포 상해 활성 및 IFN-γ 산생능을 갖는다. 이 때문에, 본건 항체는, 암 면역 요법에 유용하다.

도면의 간단한 설명

[0093] 도 1 은, 5 종류의 시리즈 (A ~ E 시리즈) 로 이루어지는 바이오패닝의 각 라운드 (공정) 를 나타내는 도면이다. A 시리즈는, 자성 비즈에 고정화한 재조합 GPC3 을 베이트로 하여 3 라운드 바이오패닝을 실시하고, 4 ~ 5 라운드에 GPC3 발현 세포주를 베이트로 하여 바이오패닝을 실시하는 것이다 (5 라운드째는 1413#3 만 실시). 또한, 1 ~ 4 라운드에서는 기존의 항 GPC3 항체 (GC33 및 GC199) 를 경합 (競合) 항체로서 첨가하였다. B 시리즈는, A 시리즈의 라운드 2 후, 경합 항체 존재하에서 GPC3 발현 세포를 베이트로 하여 바이오패닝을 실시하는 것이다. E 시리즈는, A 시리즈의 라운드 3 후, 경합 항체 없음의 조건으로, 자성 비즈에 고정화한 재조합 GPC3 을 베이트로 하여 바이오패닝을 실시하는 것이다. C 시리즈는, GPC3 발현 세포주를 베이트로 하여 2 라운드, 및 자성 비즈에 고정화한 재조합 GPC3 을 베이트로 하여 2 라운드의 합계 4 라운드를 경합 항체 비존재하에서 실시하였다. D 시리즈는, 경합 항체 비존재하에서 A 시리즈와 동일한 바이오패닝을 실시하는 것이다.

도 2 는, 18 종류의 항 GPC3 scFv 클론 (TF1413-02d023, 02d028, 02d030, 02d039, 02e003, 02e004, 02e014, 02e030, 02e040, 03e001, 03e004, 03e005, 03e015, 03e016, 03e019, 03e027, 03e034, 및 03e045) 및 기존의 항 GPC3 항체 (GC33 및 GC199) 와, 3 종류의 세포주 (GPC3 N 말단 단편 발현 세포주, GPC3 C 말단 단편 발현 세포주, 및 GPC3 [전체 길이] 발현 세포주) 를 사용하여, 플로우 사이토메트리 (FCM) 를 실시한 결과를 나타내는 도면이다. 도 중의 수치는, FCM 에 의해, GPC3 을 발현하지 않는 세포주 (SK-Hep-1 세포주) 의 형광 강도를 1 로 했을 때의 상대값으로서 나타낸다.

도 3 은, 11 종류의 scFv 클론 (TF1413-02d028, 02d039, 02e004, 02e014, 02e030, 02e040, 03e001, 03e004, 03e005, 03e015, 및 03e034) 으로부터 제조한 IgG 항체 및 기존의 항 GPC3 항체 (GC33 및 GC199) 와, 3 종류의 세포주 (GPC3 N 말단 단편 발현 세포주, GPC3 C 말단 단편 발현 세포주, 및 GPC3 [전체 길이] 발현 세포주) 를 사용하여, FCM 을 실시한 결과를 나타내는 도면이다.

도 4 는, 3 종류의 방법 (EDTA, 트립신, 및 「EDTA + 콜라제나아제」) 으로 처리한 GPC3 발현 세포주와, 3 종류의 항체의 조합 (APC 로 표지한 항마우스 IgG 항체 [이하, 「APC 항마우스 IgG 항체」 라고 하는 경우가 있다], 및 APC 항마우스 IgG 항체와 scFv 클론 [TF1413-02d028] 항체의 조합) 을 사용하여 FACS (fluorescence activated cell sorting) 한 결과를 나타내는 도면이다.

도 5 는, 5 종류의 scFv 클론 (TF1413-02d028, TF1413-02d039, TF1413-02e014, TF1413-02e030, 및 TF1413-03e005) 에서 유래하는 GPC3 CAR-T 세포 (GPC3 을 인식하는 scFv 의 CAR 을 발현하는 T 세포) 에 대해, Sk-HEP-1 GPC3 세포주에 대한 세포 상해 활성을 해석한 결과를 나타내는 도면이다. 각 그래프에 있어서의 우측

의 피크가, CD45 양성 세포 (GPC3 CAR-T 세포) 를 나타내고, 좌측의 피크가, CD45 음성 세포 (잔존 암 세포 [Sk-HEP-1 GPC3 세포]) 를 나타낸다. 각 그래프의 세로축은 세포수를 나타낸다. 각 그래프에 있어서의 수치는, 전체 세포수 (CD45 양성 세포 및 CD45 음성 세포) 에 대한 CD45 양성 세포의 비율 (%) 을 나타낸다. 컨트롤로서, GPC3 CAR 을 발현하지 않는 T 세포 (도 중의 「Non infection」) 를 사용하였다.

도 6 은, 도 5 에 있어서의 CD45 음성 세포의 비율 (도 6A) 및 CD45 음성 세포수 (도 6B) 를 나타내는 그래프이다. 페어의 막대 그래프 중, 좌측의 막대 그래프가 「mock」 (Sk-HEP-1 mock 세포주) 를 나타내고, 우측의 막대 그래프가 「GPC3」 (Sk-HEP-1 GPC3 세포주) 을 나타낸다.

도 7 은, 5 종류의 scFv 클론 (TF1413-02d028, TF1413-02d039, TF1413-02e014, TF1413-02e030, 및 TF1413-03e005) 에서 유래하는 GPC3 CAR-T 세포에 대해, Sk-HEP-1 GPC3 세포주에 대한 IFN- γ 산생능을 해석한 결과를 나타내는 도면이다. 컨트롤로서, GPC3 CAR 을 발현하지 않는 T 세포 (도 중의 「Non infection」) 를 사용하였다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0094]

본건 항체는, 상기 (1-1) ~ (11-1) 중 어느 것의 중(重) (H) 사슬 및 경(輕) (L) 사슬의 CDR1 ~ 3 을 포함하고, 또한, 서열 번호 155 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 인간 유래 GPC3 폴리펩티드 (서열 번호 157 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 인간 유래 전체 길이 GPC3 의 32 ~ 471 번째의 아미노산 잔기 [액손 1 ~ 7] 로 이루어지는 아미노 [N] 말단측 폴리펩티드) 의 적어도 일부 (통상적으로 3 ~ 30 아미노산 잔기의 범위 내, 바람직하게는 4 ~ 20 아미노산 잔기, 보다 바람직하게는 5 ~ 15 아미노산 잔기) 를 에피토프로 하여 특이적으로 결합하는 항체이고, IgG 형 뿐만 아니라, scFv 형의 상태로, 세포막에 국재하는 GPC3 에 특이적으로 결합하는 항체이고, 통상적으로, 상기 (1-1) ~ (11-1) 중 어느 것의 H 사슬 CDR1 ~ 3 을 포함하는 H 사슬 가변 영역과, 상기 (1-1) ~ (11-1) 중 어느 것의 L 사슬 CDR1 ~ 3 을 포함하는 L 사슬 가변 영역이 포함된다.

여기서 「특이적으로 결합한다」 란, 항원-항체간의 특이성이 높은 인식 기구에 의해, 서열 번호 155 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 폴리펩티드를 인식하여 결합하는 항체를 의미한다. 따라서, 본건 항체는, 서열 번호 156 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 인간 유래 GPC3 폴리펩티드 (서열 번호 157 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 인간 유래 전체 길이 GPC3 의 472 ~ 580 번째의 아미노산 잔기 [액손 8 ~ 9] 로 이루어지는 카르복실 [C] 말단측 폴리펩티드) 에 대하여 특이적으로 결합하는 것은 아니다.

[0095]

본건 항체의 유래, 종류, 클래스, 형태 등은 특별히 제한되지 않고, 예를 들어 본건 항체에는, 인간 유래의 항체 ; 마우스, 래트 등의 비인간 동물 유래의 항체 ; 폴리클로날 항체, 올리고클로날 항체 (수 종 ~ 수십 종의 항체의 혼합물), 모노클로날 항체 ; 항체의 일부 영역 (예를 들어, 정상 영역) 을 상이한 생물종 유래의 영역으로 치환한 키메라 항체 또는 인간화 항체, 모노클로날 항체를 펩신으로 소화하여 얻어지는 $F(ab')_2$ 항체 프래그먼트, $F(ab')_2$ 항체 프래그먼트를 환원하여 얻어지는 Fab' 항체 프래그먼트, 모노클로날 항체를 파파인으로 소화하여 얻어지는 Fab 등의 항체 프래그먼트, 항체 중 (H) 사슬 가변 영역과 항체 경 (H) 사슬 가변 영역을, 아미노산 가교에 의해 연결시킨 scFv 등의 재조합 항체 ; 등이 포함된다. 본건 항체를 CAR 로서 사용하는 경우, scFv 가 바람직하다.

[0096]

본건 항체는, 분리되어 있는 것이 바람직하다. 여기서 「분리되어 있다」 란, 인위적 조작에 의해, 항체를, 본래 존재하는 환경으로부터 꺼내거나, 항체가 본래 존재하는 환경과는 다른 환경하에서 발현시키는 등 하여, 항체가 본래 존재하고 있는 상태와는 상이한 상태로 존재하고 있는 것을 의미한다. 즉, 「분리되어 있는 항체」 에는, 어느 개체 유래의 항체로서, 또한 외적 조작 (인위적 조작) 이 실시되지 않고, 당해 개체의 체내 중 또는 체내 유래의 조직 혹은 체액 (혈액, 혈장, 혈청 등) 중에 포함되는 상태의 항체는 포함되지 않는다. 또, 본건 항체는, 인위적 조작에 의해 제조한 항체 (예를 들어, 상기 재조합 항체) 가 바람직하다. 이러한 「인위적 조작에 의해 제조한 세포 유래의 항체나 당해 세포로부터 산생되는 항체」 에는, 인위적 조작이 실시되어 있지 않은 항체, 예를 들어, 천연에 존재하는 B 세포로부터 산생되는 항체는 포함되지 않는다.

[0097]

본건 항체는, 통상적으로, H 사슬 및 L 사슬의 CDR1 ~ 3 의 각 영역의 N 말단 및 C 말단에는, 프레임 워크 영역 (FR) 이 연결되어 있다. 이러한 FR 중 H 사슬 FR 로는, H 사슬 CDR1 의 N 말단에 연결되어 있는 H 사슬 FR1 이나, H 사슬 CDR1 의 C 말단 (H 사슬 CDR2 의 N 말단) 에 연결되어 있는 H 사슬 FR2 나, H 사슬 CDR2 의 C 말단 (H 사슬 CDR3 의 N 말단) 에 연결되어 있는 H 사슬 FR3 이나, H 사슬 CDR3 의 C 말단에 연결되어 있는 H 사슬 FR4 를 들 수 있다. 또, 상기 FR 중 L 사슬 FR 로는, L 사슬 CDR1 의 N 말단에 연결되어 있는 L 사슬 FR1 이나, L 사슬 CDR1 의 C 말단 (L 사슬 CDR2 의 N 말단) 에 연결되어 있는 L 사슬 FR2 나, L 사슬 CDR2 의

당해 폴리펩티드의 아미노산 서열과 적어도 80 % 이상의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열로 이루어지는 폴리펩티드 ; 를 들 수 있다.

[0106] 본건 항체의 FR 로는, 이미 알려진 인간 항체의 FR 이 바람직하다. 이러한 「이미 알려진 인간 항체의 FR」 로는, 예를 들어, GenBank 등의 공지된 서열 데이터베이스에 등록되어 있는 인간 항체의 FR, 인간 항체의 각 서브 그룹에서 유래하는 공통 서열 (Human Most Homologous Consensus Sequence ; Kabat, E. A. 등의 Sequences of Proteins of Immunological Interest, US Dept. Health and Human Services, 1991) 에서 선택된 FR 등을 들 수 있다.

[0107] 본건 항체에 있어서의 H 사슬 CDR1 은, 통상적으로, kabat 에 의한 번호 부여 (문헌 「kabat, E. A. et al., (1991) NIH Publication No. 91-3242, sequences of proteins of immunological interest」 참조) 로 H31 ~ 35 의 위치에 존재한다. 또, 본건 항체에 있어서의 H 사슬 CDR2 는, 통상적으로, kabat 에 의한 번호 부여로 H50 ~ 52, H52A, 및 H53 ~ 65 의 위치에 존재한다. 또, 본건 항체에 있어서의 H 사슬 CDR3 은, 통상적으로, kabat 에 의한 번호 부여로 H95 ~ 100, H100A, H100B, H101, 및 H102 의 위치에 존재한다. 또, 본건 항체에 있어서의 L 사슬 CDR1 은, 통상적으로, kabat 에 의한 번호 부여로 L24 ~ 34 의 위치에 존재한다. 또, 본건 항체에 있어서의 L 사슬 CDR2 는, 통상적으로, kabat 에 의한 번호 부여로 L50 ~ 56 의 위치에 존재한다. 또, 본건 항체에 있어서의 L 사슬 CDR3 은, 통상적으로, kabat 에 의한 번호 부여로 L89 ~ 97 의 위치에 존재한다.

[0108] 본건 항체 중, 상기 (1-1) 의 H 사슬 및 L 사슬의 CDR1 ~ 3 을 포함하는 항체로는, 상기 (1-2) 의 H 사슬 및 L 사슬의 가변 (V) 영역을 포함하는 것을 들 수 있으며, 구체적으로는, 상기 (1-3) 의 1 본쇄 항체 ; 나, 상기 (1-3'-1) 의 1 본쇄 항체, 상기 (1-3'-2) 의 1 본쇄 항체, 및 상기 (1-3'-3) 의 1 본쇄 항체 ; 나, 상기 (1-4) 의 H 사슬 및 L 사슬을 포함하는 항체 ; 를 들 수 있다. 또, 상기 (2-1) 의 H 사슬 및 L 사슬의 CDR1 ~ 3 을 포함하는 항체로는, 상기 (2-2) 의 H 사슬 및 L 사슬의 V 영역을 포함하는 것을 들 수 있으며, 구체적으로는, 상기 (2-3) 의 1 본쇄 항체 ; 나, 상기 (2-3'-1) 의 1 본쇄 항체, 상기 (2-3'-2) 의 1 본쇄 항체, 상기 (2-3'-3) 의 1 본쇄 항체, 및 상기 (2-3'-4) 의 1 본쇄 항체 ; 나, 상기 (2-4) 의 H 사슬 및 L 사슬을 포함하는 항체 ; 를 들 수 있다. 또, 상기 (3-1) 의 H 사슬 및 L 사슬의 CDR1 ~ 3 을 포함하는 항체로는, 상기 (3-2) 의 H 사슬 및 L 사슬의 V 영역을 포함하는 것을 들 수 있으며, 구체적으로는, 상기 (3-3) 의 1 본쇄 항체 ; 나, 상기 (3-4) 의 H 사슬 및 L 사슬을 포함하는 항체 ; 를 들 수 있다. 또, 상기 (4-1) 의 H 사슬 및 L 사슬의 CDR1 ~ 3 을 포함하는 항체로는, 상기 (4-2) 의 H 사슬 및 L 사슬의 V 영역을 포함하는 것을 들 수 있으며, 구체적으로는, 상기 (4-3) 의 1 본쇄 항체 ; 나, 상기 (4-4) 의 H 사슬 및 L 사슬을 포함하는 항체 ; 를 들 수 있다.

또, 상기 (5-1) 의 H 사슬 및 L 사슬의 CDR1 ~ 3 을 포함하는 항체로는, 상기 (5-2) 의 H 사슬 및 L 사슬의 V 영역을 포함하는 것을 들 수 있으며, 구체적으로는, 상기 (5-3) 의 1 본쇄 항체 ; 나, 상기 (5-4) 의 H 사슬 및 L 사슬을 포함하는 항체 ; 를 들 수 있다. 또, 상기 (6-1) 의 H 사슬 및 L 사슬의 CDR1 ~ 3 을 포함하는 항체로는, 상기 (6-2) 의 H 사슬 및 L 사슬의 V 영역을 포함하는 것을 들 수 있으며, 구체적으로는, 상기 (6-3) 의 1 본쇄 항체 ; 나, 상기 (6-4) 의 H 사슬 및 L 사슬을 포함하는 항체 ; 를 들 수 있다. 또, 상기 (7-1) 의 H 사슬 및 L 사슬의 CDR1 ~ 3 을 포함하는 항체로는, 상기 (7-2) 의 H 사슬 및 L 사슬의 V 영역을 포함하는 것을 들 수 있으며, 구체적으로는, 상기 (7-3) 의 1 본쇄 항체 ; 나, 상기 (7-4) 의 H 사슬 및 L 사슬을 포함하는 항체 ; 를 들 수 있다. 또, 상기 (8-1) 의 H 사슬 및 L 사슬의 CDR1 ~ 3 을 포함하는 항체로는, 상기 (8-2) 의 H 사슬 및 L 사슬의 V 영역을 포함하는 것을 들 수 있으며, 구체적으로는, 상기 (8-3) 의 1 본쇄 항체 ; 나, 상기 (8-4) 의 H 사슬 및 L 사슬을 포함하는 항체 ; 를 들 수 있다. 또, 상기 (9-1) 의 H 사슬 및 L 사슬의 CDR1 ~ 3 을 포함하는 항체로는, 상기 (9-2) 의 H 사슬 및 L 사슬의 V 영역을 포함하는 것을 들 수 있으며, 구체적으로는, 상기 (9-3) 의 1 본쇄 항체 ; 나, 상기 (9-4) 의 H 사슬 및 L 사슬을 포함하는 항체 ; 를 들 수 있다. 또, 상기 (10-1) 의 H 사슬 및 L 사슬의 CDR1 ~ 3 을 포함하는 항체로는, 상기 (10-2) 의 H 사슬 및 L 사슬의 V 영역을 포함하는 것을 들 수 있으며, 구체적으로는, 상기 (10-3) 의 1 본쇄 항체 ; 나, 상기 (10-4) 의 H 사슬 및 L 사슬을 포함하는 항체 ; 를 들 수 있다. 또, 상기 (11-1) 의 H 사슬 및 L 사슬의 CDR1 ~ 3 을 포함하는 항체로는, 상기 (11-2) 의 H 사슬 및 L 사슬의 V 영역을 포함하는 것을 들 수 있으며, 구체적으로는, 상기 (11-3) 의 1 본쇄 항체 ; 나, 상기 (11-4) 의 H 사슬 및 L 사슬을 포함하는 항체 ; 를 들 수 있다.

또한, 1 본쇄 항체에 있어서의 중사슬 가변 영역 및 경사슬 가변 영역은, 통상적으로 웹티드 링커를 개재하여 결합하고 있다.

[0109] 본건 CAR 로는, 본건 1 본쇄 항체와, 본건 1 본쇄 항체의 C 말단에 융합한 세포막 관통 영역과, 이러한 세포막 관통 영역의 C 말단에 융합한 면역 담당 세포 활성화 시그널 전달 영역을 포함하는 것이면 되고, 여기서, 본건

1 본쇄 항체와 세포막 관통 영역의 사이나, 세포막 관통 영역과 면역 담당 세포 활성화 시그널 전달 영역의 사이는, 펩티드 링커 또는 IgG4 헌지 영역을 개재하여 융합해도 된다.

[0110] 본건 항체에 있어서의 펩티드 링커의 길이로는, 예를 들어, 1 ~ 100 아미노산 잔기, 바람직하게는 10 ~ 50 아미노산 잔기를 들 수 있다. 또, 본건 항체에 있어서의 펩티드 링커로는, 구체적으로는, 1 ~ 4 개의 글리신과, 1 개의 세린으로 이루어지는 아미노산 서열이 3 개 연속으로 이어진 것을 들 수 있다.

[0111] 상기 세포막 관통 영역으로는, 세포막을 관통할 수 있는 펩티드이면 되고, 예를 들어, CD8, T 세포 수용체의 α , β 사슬, CD3 ζ , CD28, CD3 ϵ , CD45, CD4, CD5, CD8, CD9, CD16, CD22, CD33, CD37, CD64, CD80, CD86, CD134, CD137, ICOS, CD154, EGFR (epidermal growth factor receptor), 또는 GITR 유래의 세포막 관통 영역을 들 수 있으며, 구체적으로는, 서열 번호 185 에 나타내는 아미노산 서열의 1 ~ 83 번째의 아미노산 잔기로 이루어지는 인간 CD8 세포막 관통 영역을 들 수 있다. 또, 상기 세포막 관통 영역으로는, 세포막을 관통할 수 있는 펩티드의 C 말단측의 1 ~ 10 아미노산 잔기, 바람직하게는 6 ~ 7 아미노산 잔기가 삭제된 것이어도 되고, 예를 들어, 서열 번호 186 에 나타내는 아미노산 서열의 1 ~ 77 번째의 아미노산 잔기로 이루어지는, 상기 인간 CD8 세포막 관통 영역의 개변체 1 이나, 서열 번호 187 에 나타내는 아미노산 서열의 1 ~ 76 번째의 아미노산 잔기로 이루어지는, 상기 인간 CD8 세포막 관통 영역의 개변체 2 를 들 수 있다.

[0112] 상기 면역 담당 세포 활성화 시그널 전달 영역으로는, 본건 1 본쇄 항체가 인간 GPC3 에 결합했을 때에, 면역 담당 세포 내에 시그널 전달하는 것이 가능한 영역이면 되고, CD28, 4-1BB(CD137), GITR, CD27, OX40, HVEM, CD3 ζ , Fc Receptor-associated γ chain 의 세포 내 영역의 폴리펩티드에서 선택되는 적어도 1 종 또는 2 종 이상을 포함하는 것이 바람직하고, CD28, 4-1BB, 및 CD3 ζ 의 세포 내 영역의 폴리펩티드 3 종을 포함하는 것이 보다 바람직하다. 이러한 CD28 의 세포 내 영역의 폴리펩티드로는, 구체적으로는, 서열 번호 185 에 나타내는 아미노산 서열의 85 ~ 124 번째의 아미노산 잔기로 이루어지는 인간 CD28 의 세포 내 영역의 폴리펩티드를 들 수 있다. 또, 상기 「4-1BB 의 세포 내 영역의 폴리펩티드」로는, 구체적으로는, 서열 번호 185 에 나타내는 아미노산 서열의 125 ~ 170 번째의 아미노산 잔기로 이루어지는 인간 4-1BB 의 세포 내 영역의 폴리펩티드를 들 수 있다. 또, 상기 CD3 ζ 의 세포 내 영역의 폴리펩티드로는, 구체적으로는, 서열 번호 185 에 나타내는 아미노산 서열의 172 ~ 283 번째의 아미노산 잔기로 이루어지는 인간 CD3 ζ 의 세포 내 영역의 폴리펩티드를 들 수 있다.

[0113] 또한, 서열 번호 185 에 나타내는 아미노산 서열의 84 번째의 아르기닌(Arg), 서열 번호 186 에 나타내는 아미노산 서열의 78 번째의 아르기닌, 서열 번호 187 에 나타내는 아미노산 서열의 77 번째의 아르기닌은, 상기 인간 CD8 유래의 세포막 관통 영역의 폴리펩티드와 상기 인간 CD28 의 세포 내 영역의 폴리펩티드의 공통 서열이다. 또, 서열 번호 185 에 나타내는 아미노산 서열의 171 번째의 류신(Leu), 서열 번호 186 에 나타내는 아미노산 서열의 165 번째의 류신, 서열 번호 187 에 나타내는 아미노산 서열의 164 번째의 류신은, 상기 인간 4-1BB 의 세포 내 영역의 폴리펩티드와 상기 인간 CD3 ζ 의 세포 내 영역의 폴리펩티드의 공통 서열이다.

[0114] 본 명세서에 있어서, 「면역 담당 세포」란, 생체에 있어서 면역 기능을 담당하는 세포를 의미한다. 면역 담당 세포로는, 예를 들어, T 세포, 내츄럴 킬러 세포(NK 세포), B 세포 등의 립프구계 세포나, 단구, 매크로파지, 수상 세포 등의 항원 제시 세포나, 호중구, 호산구, 호염기구, 비만 세포 등의 과립구를 들 수 있다. 구체적으로는, 인간, 개, 고양이, 돼지, 마우스 등의 포유 동물 유래의 T 세포, 바람직하게는 인간 유래의 T 세포를 적합하게 들 수 있다. 또, T 세포는, 혈액, 끌수액 등의 체액이나, 비장, 흉선, 립프절 등의 조직, 혹은 원발 종양, 전이성 종양, 암성 복수 등의 암 조직에 침윤하는 면역 담당 세포로부터 단리, 정제하여 얻을 수 있고, 또한, ES 세포나 iPS 세포로부터 제조된 것을 이용해도 된다. 이러한 T 세포로는, 알파 · 베타 T 세포, 감마 · 뱃타 T 세포, CD8⁺ T 세포, CD4⁺ T 세포, 종양 침윤 T 세포, 메모리 T 세포, 나이브 T 세포, NKT 세포를 들 수 있다. 또한, 면역 담당 세포의 유래와 투여 대상은 동일해도 되고 상이해도 된다. 또한, 투여 대상이 인간인 경우에 있어서, 면역 담당 세포로는, 투여 대상으로서의 환자 본인으로부터 채취한 자가 세포를 사용해도 되고, 타인으로부터 채취한 타가(他家) 세포를 사용해도 된다. 즉, 도너와 레시피엔트는 일치해도 되도 불일치해도 되지만, 일치하는 것이 바람직하다.

[0115] 상기 투여 대상으로는, 포유 동물 또는 포유 동물 세포를 적합하게 들 수 있고, 이러한 포유 동물 중에서도, 인간, 마우스, 개, 래트, 모르모트, 토끼, 새, 양, 돼지, 소, 말, 고양이, 원숭이, 침팬지를 보다 적합하게 들 수 있으며, 인간을 특히 적합하게 들 수 있다.

[0116] 본건 CAR 은, 바람직하게는, 암 치료에 있어서, 암 환자로부터 채취된 면역 담당 세포의 세포 표면 상에 엑스 비보에서 발현시키기 위해서 사용된다. 면역 담당 세포로서 T 세포를 사용하는 경우, 본건 CAR 에 있어서의

세포막 관통 영역과, 이러한 세포막 관통 영역의 C 말단에 융합한 면역 담당 세포 활성화 시그널 전달 영역으로 이루어지는 펩티드로는, 구체적으로는, 서열 번호 185 ~ 187 중 어느 것에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 펩티드를 들 수 있다. 또, 본건 CAR로는, 구체적으로, 상기 (1-3)의 1 본쇄 항체, 상기 (2-3)의 1 본쇄 항체, 상기 (1-3'-1)의 1 본쇄 항체, 상기 (1-3'-2)의 1 본쇄 항체, 상기 (1-3'-3)의 1 본쇄 항체, 상기 (2-3'-1)의 1 본쇄 항체, 상기 (2-3'-2)의 1 본쇄 항체, 상기 (2-3'-3)의 1 본쇄 항체, 및 상기 (2-3'-4)의 1 본쇄 항체로 이루어지는 군에서 선택되는 1 본쇄 항체와, 이러한 1 본쇄 항체의 C 말단에 융합한, 서열 번호 185 ~ 187 중 어느 것에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 펩티드를 포함하는 것을 들 수 있다.

[0117] 즉, 상기 본건 CAR로는,

[0118] 상기 (1-3)의 1 본쇄 항체와, 서열 번호 185에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 펩티드를 포함하는 것이나,

[0119] 상기 (1-3)의 1 본쇄 항체와, 서열 번호 186에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 펩티드를 포함하는 것이나,

[0120] 상기 (1-3)의 1 본쇄 항체와, 서열 번호 187에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 펩티드를 포함하는 것이나,

[0121] 상기 (1-3'-1)의 1 본쇄 항체와, 서열 번호 185에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 펩티드를 포함하는 것이나,

[0122] 상기 (1-3'-1)의 1 본쇄 항체와, 서열 번호 186에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 펩티드를 포함하는 것이나,

[0123] 상기 (1-3'-1)의 1 본쇄 항체와, 서열 번호 187에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 펩티드를 포함하는 것이나,

[0124] 상기 (1-3'-2)의 1 본쇄 항체와, 서열 번호 185에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 펩티드를 포함하는 것이나,

[0125] 상기 (1-3'-2)의 1 본쇄 항체와, 서열 번호 186에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 펩티드를 포함하는 것이나,

[0126] 상기 (1-3'-2)의 1 본쇄 항체와, 서열 번호 187에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 펩티드를 포함하는 것이나,

[0127] 상기 (1-3'-3)의 1 본쇄 항체와, 서열 번호 185에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 펩티드를 포함하는 것이나,

[0128] 상기 (1-3'-3)의 1 본쇄 항체와, 서열 번호 186에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 펩티드를 포함하는 것이나,

[0129] 상기 (1-3'-3)의 1 본쇄 항체와, 서열 번호 187에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 펩티드를 포함하는 것이나,

[0130] 상기 (2-3)의 1 본쇄 항체와, 서열 번호 185에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 펩티드를 포함하는 것이나,

[0131] 상기 (2-3)의 1 본쇄 항체와, 서열 번호 186에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 펩티드를 포함하는 것이나,

[0132] 상기 (2-3)의 1 본쇄 항체와, 서열 번호 187에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 펩티드를 포함하는 것이나,

[0133] 상기 (2-3'-1)의 1 본쇄 항체와, 서열 번호 185에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 펩티드를 포함하는 것이나,

[0134] 상기 (2-3'-1)의 1 본쇄 항체와, 서열 번호 186에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 펩티드를 포함하는 것이나,

[0135] 상기 (2-3'-1)의 1 본쇄 항체와, 서열 번호 187에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 펩티드를 포함하는

것이나,

[0136] 상기 (2-3'-2) 의 1 본쇄 항체와, 서열 번호 185 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 펩티드를 포함하는 것이나,

[0137] 상기 (2-3'-2) 의 1 본쇄 항체와, 서열 번호 186 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 펩티드를 포함하는 것이나,

[0138] 상기 (2-3'-2) 의 1 본쇄 항체와, 서열 번호 187 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 펩티드를 포함하는 것이나,

[0139] 상기 (2-3'-3) 의 1 본쇄 항체와, 서열 번호 185 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 펩티드를 포함하는 것이나,

[0140] 상기 (2-3'-3) 의 1 본쇄 항체와, 서열 번호 186 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 펩티드를 포함하는 것이나,

[0141] 상기 (2-3'-3) 의 1 본쇄 항체와, 서열 번호 187 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 펩티드를 포함하는 것이나,

[0142] 상기 (2-3'-4) 의 1 본쇄 항체와, 서열 번호 185 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 펩티드를 포함하는 것이나,

[0143] 상기 (2-3'-4) 의 1 본쇄 항체와, 서열 번호 186 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 펩티드를 포함하는 것이나,

[0144] 상기 (2-3'-4) 의 1 본쇄 항체와, 서열 번호 187 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 펩티드를 포함하는 것, 을 들 수 있다.

[0145] 본건 면역 담당 세포로는, CAR 을 발현하는 면역 담당 세포이면 되고, CAR 은 통상적으로 천연에는 존재하지 않기 때문에, 내재성이 아니라, 외래성의 CAR 을 발현하는 면역 담당 세포이다. 본건 면역 담당 세포로는, 또한, IL-7 및/또는 CCL19 를 발현하는 것이 바람직하다. 면역 담당 세포가 IL-7 및/또는 CCL19 의 발현이 확인되지 않는 세포, 예를 들어, T 세포인 경우나, 면역 담당 세포가 T 세포 이외로서 IL-7 및/또는 CCL19 의 발현이 낮은 세포의 경우에는, 본건 면역 담당 세포로는, 외래성의 IL-7 및/또는 CCL19 를 발현하는 것이 바람직하다.

[0146] 본건 면역 담당 세포는, 본건 CAR 유전자를 포함하는 본건 벡터나, IL-7 및/또는 CCL19 유전자를 포함하는 벡터를, 면역 담당 세포에 도입함으로써 제조할 수 있다. 도입하는 방법으로는, 포유 동물 세포에 DNA 를 도입하는 방법이면 되고, 예를 들어, 일렉트로포레이션법 (Cytotechnology, 3, 133 (1990)), 인산칼슘법 (일본 공개특허공보 평2-227075호), 리포렉션법 (Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 84, 7413 (1987)), 바이러스 감염법 등의 방법을 들 수 있다. 이러한 바이러스 감염법으로는, CAR 발현 벡터 (국제 공개 2016/056228호 팜플릿) 와, 패키징 플라스미드를 GP2-293 세포 (다카라 바이오사 제조), Plat-GP 세포 (코스모 · 바이오사 제조), PG13 세포 (ATCC CRL-10686), PA317 세포 (ATCC CRL-9078) 등의 패키징 세포에 트랜스펙션 하여 재조합 바이러스를 제조하고, 이러한 재조합 바이러스를 T 세포에 감염시키는 방법을 들 수 있다.

[0147] 또, 본건 면역 담당 세포는, 본건 CAR 을 코드하는 뉴클레오티드나, IL-7 및/또는 CCL19 를 코드하는 뉴클레오티드를, 공지된 유전자 편집 기술을 이용하여, 적절한 프로모터의 제어하에서 발현 가능하도록, 세포의 게놈에 삽입함으로써 제조해도 된다. 공지된 유전자 편집술로는, 징크 평거 뉴클레아제, TALEN (전사 활성화형 이펙터 뉴클레아제), CRISPR (Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeat)-Cas 시스템 등의 엔도뉴클레아제를 사용하는 기술을 들 수 있다.

[0148] 본건 면역 담당 세포는, 다른 항암제와 병용하여 사용할 수 있다. 다른 항암제로는, 시클로포스파미드, 벤담스틴, 이오스파미드, 다카르바진 등의 알킬화 약, 펜토스타틴, 플루다라빈, 쿠라드리빈, 메소트렉세이트, 5-플루오로우라실, 6-메르캅토푸린, 에노시타빈 등의 대사 길항약, 리툭시맙, 세툭시맙, 트라스트주맙 등의 분자 표적약, 이마티닙, 게페티닙, 예를로티닙, 아파티닙, 다사티닙, 수니티닙, 트라메티닙 등의 키나아제 저해제, 보르테조맙 등의 프로테아제 저해제, 시클로스포린, 타크로리무스 등의 칼시뉴린 저해약, 이다루비신, 독소루비신 마이토마이신 C 등의 항암성 항생 물질, 이리노테칸, 에토포시드 등의 식물 알카로이드, 시스프라틴, 옥사리플라틴, 카르보플라틴 등의 플라티나 제제, 타목시펜, 비칼루다미드 등의 호르몬 요법약, 인터페론, 니보르맙,

펩브롤리주맙 등의 면역 제어약을 들 수 있다.

[0149] 상기 「본건 면역 담당 세포와 다른 항암제와 병용하여 사용하는」 방법으로는, 다른 항암제를 사용하여 처리하고, 그 후 본건 면역 담당 세포를 사용하는 방법이나, 본건 면역 담당 세포와 다른 항암제를 동시에 사용하는 방법이나, 본건 면역 담당 세포를 사용하여 처리하고, 그 후 다른 항암제를 사용하는 방법을 들 수 있다. 또, 본건 면역 담당 세포와 다른 항암제와 병용한 경우에는, 암의 치료 효과가 보다 향상됨과 함께, 각각의 투여 횟수 또는 투여량을 줄임으로써, 각각에 의한 부작용을 저감시키는 것이 가능해진다.

[0150] 본건 항체 유전자로는, 본건 항체를 코드하는 항체 유전자 (뉴클레오티드) 이면 특별히 제한되지 않고, 예를 들어,

[0151] (1-1D) 서열 번호 111에 나타내는 뉴클레오티드 서열로 이루어지는 H 사슬 V 영역의 91 ~ 105 번째의 뉴클레오티드 잔기로 이루어지는 H 사슬 CDR1 유전자 (상기 (1-1)의 H 사슬 CDR1을 코드하는 유전자), 또는 당해 H 사슬 CDR1 유전자의 축중 코돈 개변체; 서열 번호 111에 나타내는 뉴클레오티드 서열로 이루어지는 H 사슬 V 영역의 148 ~ 198 번째의 뉴클레오티드 잔기로 이루어지는 H 사슬 CDR2 유전자 (상기 (1-1)의 H 사슬 CDR2를 코드하는 유전자), 또는 당해 H 사슬 CDR2 유전자의 축중 코돈 개변체; 및 서열 번호 111에 나타내는 뉴클레오티드 서열로 이루어지는 H 사슬 V 영역의 295 ~ 324 번째의 뉴클레오티드 잔기로 이루어지는 H 사슬 CDR3 유전자 (상기 (1-1)의 H 사슬 CDR3을 코드하는 유전자), 또는 당해 H 사슬 CDR3 유전자의 축중 코돈 개변체; 와,

[0152] 서열 번호 112에 나타내는 뉴클레오티드 서열로 이루어지는 L 사슬 V 영역의 70 ~ 102 번째의 뉴클레오티드 잔기로 이루어지는 L 사슬 CDR1 유전자 (상기 (1-1)의 L 사슬 CDR1을 코드하는 유전자), 또는 당해 L 사슬 CDR1 유전자의 축중 코돈 개변체; 서열 번호 112에 나타내는 뉴클레오티드 서열로 이루어지는 L 사슬 V 영역의 148 ~ 168 번째의 뉴클레오티드 잔기로 이루어지는 L 사슬 CDR2 유전자 (상기 (1-1)의 L 사슬 CDR2를 코드하는 유전자), 또는 당해 L 사슬 CDR2 유전자의 축중 코돈 개변체; 및 서열 번호 112에 나타내는 뉴클레오티드 서열로 이루어지는 L 사슬 V 영역의 265 ~ 291 번째의 뉴클레오티드 잔기로 이루어지는 L 사슬 CDR3 유전자 (상기 (1-1)의 L 사슬 CDR3을 코드하는 유전자), 또는 당해 L 사슬 CDR3 유전자의 축중 코돈 개변체; 를 포함하는 것이나,

[0153] (2-1D) 서열 번호 115에 나타내는 뉴클레오티드 서열로 이루어지는 H 사슬 V 영역의 91 ~ 105 번째의 뉴클레오티드 잔기로 이루어지는 H 사슬 CDR1 유전자 (상기 (2-1)의 H 사슬 CDR1을 코드하는 유전자), 또는 당해 H 사슬 CDR1 유전자의 축중 코돈 개변체; 서열 번호 115에 나타내는 뉴클레오티드 서열로 이루어지는 H 사슬 V 영역의 148 ~ 198 번째의 뉴클레오티드 잔기로 이루어지는 H 사슬 CDR2 유전자 (상기 (2-1)의 H 사슬 CDR2를 코드하는 유전자), 또는 당해 H 사슬 CDR2 유전자의 축중 코돈 개변체; 및 서열 번호 115에 나타내는 뉴클레오티드 서열로 이루어지는 H 사슬 V 영역의 295 ~ 321 번째의 뉴클레오티드 잔기로 이루어지는 H 사슬 CDR3 유전자 (상기 (2-1)의 H 사슬 CDR3을 코드하는 유전자), 또는 당해 H 사슬 CDR3 유전자의 축중 코돈 개변체; 와,

[0154] 서열 번호 116에 나타내는 뉴클레오티드 서열로 이루어지는 L 사슬 V 영역의 70 ~ 117 번째의 뉴클레오티드 잔기로 이루어지는 L 사슬 CDR1 유전자 (상기 (2-1)의 L 사슬 CDR1을 코드하는 유전자), 또는 당해 L 사슬 CDR1 유전자의 축중 코돈 개변체; 서열 번호 116에 나타내는 뉴클레오티드 서열로 이루어지는 L 사슬 V 영역의 163 ~ 183 번째의 뉴클레오티드 잔기로 이루어지는 L 사슬 CDR2 유전자 (상기 (2-1)의 L 사슬 CDR2를 코드하는 유전자), 또는 당해 L 사슬 CDR2 유전자의 축중 코돈 개변체; 및 서열 번호 116에 나타내는 뉴클레오티드 서열로 이루어지는 L 사슬 V 영역의 280 ~ 306 번째의 뉴클레오티드 잔기로 이루어지는 L 사슬 CDR3 유전자 (상기 (2-1)의 L 사슬 CDR3을 코드하는 유전자), 또는 당해 L 사슬 CDR3 유전자의 축중 코돈 개변체; 를 포함하는 것이나,

[0155] (3-1D) 서열 번호 119에 나타내는 뉴클레오티드 서열로 이루어지는 H 사슬 V 영역의 91 ~ 105 번째의 뉴클레오티드 잔기로 이루어지는 H 사슬 CDR1 유전자 (상기 (3-1)의 H 사슬 CDR1을 코드하는 유전자), 또는 당해 H 사슬 CDR1 유전자의 축중 코돈 개변체; 서열 번호 119에 나타내는 뉴클레오티드 서열로 이루어지는 H 사슬 V 영역의 148 ~ 198 번째의 뉴클레오티드 잔기로 이루어지는 H 사슬 CDR2 유전자 (상기 (3-1)의 H 사슬 CDR2를 코드하는 유전자), 또는 당해 H 사슬 CDR2 유전자의 축중 코돈 개변체; 및 서열 번호 119에 나타내는 뉴클레오티드 서열로 이루어지는 H 사슬 V 영역의 295 ~ 315 번째의 뉴클레오티드 잔기로 이루어지는 H 사슬 CDR3 유전자 (상기 (3-1)의 H 사슬 CDR3을 코드하는 유전자), 또는 당해 H 사슬 CDR3 유전자의 축중 코돈 개변체; 와,

[0156] 서열 번호 120에 나타내는 뉴클레오티드 서열로 이루어지는 L 사슬 V 영역의 70 ~ 102 번째의 뉴클레오티드 잔기로 이루어지는 L 사슬 CDR1 유전자 (상기 (3-1)의 L 사슬 CDR1을 코드하는 유전자), 또는 당해 L 사슬

[0169] (10-1D) 서열 번호 147 에 나타내는 뉴클레오티드 서열로 이루어지는 H 사슬 V 영역의 91 ~ 105 번째의 뉴클레오티드 잔기로 이루어지는 H 사슬 CDR1 유전자 (상기 (10-1) 의 H 사슬 CDR1 을 코드하는 유전자), 또는 당해 H 사슬 CDR1 유전자의 축중 코돈 개변체 ; 서열 번호 147 에 나타내는 뉴클레오티드 서열로 이루어지는 H 사슬 V 영역의 148 ~ 198 번째의 뉴클레오티드 잔기로 이루어지는 H 사슬 CDR2 유전자 (상기 (10-1) 의 H 사슬 CDR2 를 코드하는 유전자), 또는 당해 H 사슬 CDR2 유전자의 축중 코돈 개변체 ; 및 서열 번호 147 에 나타내는 뉴클레오티드 서열로 이루어지는 H 사슬 V 영역의 295 ~ 327 번째의 뉴클레오티드 잔기로 이루어지는 H 사슬 CDR3 유전자 (상기 (10-1) 의 H 사슬 CDR3 을 코드하는 유전자), 또는 당해 H 사슬 CDR3 유전자의 축중 코돈 개변체 ; 와,

[0170] 서열 번호 148 에 나타내는 뉴클레오티드 서열로 이루어지는 L 사슬 V 영역의 70 ~ 102 번째의 뉴클레오티드 잔기로 이루어지는 L 사슬 CDR1 유전자 (상기 (10-1) 의 L 사슬 CDR1 을 코드하는 유전자), 또는 당해 L 사슬 CDR1 유전자의 축중 코돈 개변체 ; 서열 번호 148 에 나타내는 뉴클레오티드 서열로 이루어지는 L 사슬 V 영역의 148 ~ 168 번째의 뉴클레오티드 잔기로 이루어지는 L 사슬 CDR2 유전자 (상기 (10-1) 의 L 사슬 CDR2 를 코드하는 유전자), 또는 당해 L 사슬 CDR2 유전자의 축중 코돈 개변체 ; 및 서열 번호 148 에 나타내는 뉴클레오티드 서열로 이루어지는 L 사슬 V 영역의 265 ~ 291 번째의 뉴클레오티드 잔기로 이루어지는 L 사슬 CDR3 유전자 (상기 (10-1) 의 L 사슬 CDR3 을 코드하는 유전자), 또는 당해 L 사슬 CDR3 유전자의 축중 코돈 개변체 ; 를 포함하는 것이나,

[0171] (11-1D) 서열 번호 151 에 나타내는 뉴클레오티드 서열로 이루어지는 H 사슬 V 영역의 91 ~ 105 번째의 뉴클레오티드 잔기로 이루어지는 H 사슬 CDR1 유전자 (상기 (11-1) 의 H 사슬 CDR1 을 코드하는 유전자), 또는 당해 H 사슬 CDR1 유전자의 축중 코돈 개변체 ; 서열 번호 151 에 나타내는 뉴클레오티드 서열로 이루어지는 H 사슬 V 영역의 148 ~ 198 번째의 뉴클레오티드 잔기로 이루어지는 H 사슬 CDR2 유전자 (상기 (11-1) 의 H 사슬 CDR2 를 코드하는 유전자), 또는 당해 H 사슬 CDR2 유전자의 축중 코돈 개변체 ; 및 서열 번호 151 에 나타내는 뉴클레오티드 서열로 이루어지는 H 사슬 V 영역의 295 ~ 324 번째의 뉴클레오티드 잔기로 이루어지는 H 사슬 CDR3 유전자 (상기 (11-1) 의 H 사슬 CDR3 을 코드하는 유전자), 또는 당해 H 사슬 CDR3 유전자의 축중 코돈 개변체 ; 를 포함하는 것을 들 수 있다.

[0172] 또한 본건 항체 유전자로는,

[0173] (1-2D) 서열 번호 111 에 나타내는 뉴클레오티드 서열과 적어도 80 % 이상의 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 산 서열로 이루어지는 H 사슬 가변 영역 유전자 (서열 번호 7 에 나타내는 아미노산 서열과 적어도 80 % 이상의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열로 이루어지는 H 사슬 가변 영역을 코드하는 유전자) 와, 서열 번호 112 에 나타내는 뉴클레오티드 서열과 적어도 80 % 이상의 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드산 서열로 이루어지는 L 사슬 가변 영역 유전자 (서열 번호 8 에 나타내는 아미노산 서열과 적어도 80 % 이상의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열로 이루어지는 L 사슬 가변 영역을 코드하는 유전자) 를 포함하는 것이나,

[0174] (2-2D) 서열 번호 115 에 나타내는 뉴클레오티드 서열과 적어도 80 % 이상의 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 산 서열로 이루어지는 H 사슬 가변 영역 유전자 (서열 번호 17 에 나타내는 아미노산 서열과 적어도 80 % 이상의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열로 이루어지는 H 사슬 가변 영역을 코드하는 유전자) 와, 서열 번호 116 에 나타내는 뉴클레오티드 서열과 적어도 80 % 이상의 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드산 서열로 이루어지는 L 사슬 가변 영역 유전자 (서열 번호 18 에 나타내는 아미노산 서열과 적어도 80 % 이상의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열로 이루어지는 L 사슬 가변 영역을 코드하는 유전자) 를 포함하는 것이나,

[0175] (3-2D) 서열 번호 119 에 나타내는 뉴클레오티드 서열과 적어도 80 % 이상의 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 산 서열로 이루어지는 H 사슬 가변 영역 유전자 (서열 번호 27 에 나타내는 아미노산 서열과 적어도 80 % 이상의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열로 이루어지는 H 사슬 가변 영역을 코드하는 유전자) 와, 서열 번호 120 에 나타내는 뉴클레오티드 서열과 적어도 80 % 이상의 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드산 서열로 이루어지는 L 사슬 가변 영역 유전자 (서열 번호 28 에 나타내는 아미노산 서열과 적어도 80 % 이상의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열로 이루어지는 L 사슬 가변 영역을 코드하는 유전자) 를 포함하는 것이나,

[0176] (4-2D) 서열 번호 123 에 나타내는 뉴클레오티드 서열과 적어도 80 % 이상의 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 산 서열로 이루어지는 H 사슬 가변 영역 유전자 (서열 번호 37 에 나타내는 아미노산 서열과 적어도 80 % 이상의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열로 이루어지는 H 사슬 가변 영역을 코드하는 유전자) 와, 서열 번호 124 에 나타내는 뉴클레오티드 서열과 적어도 80 % 이상의 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드산 서열로 이루어지는 L 사슬 가변 영역 유전자 (서열 번호 38 에 나타내는 아미노산 서열과 적어도 80 % 이상의 서열 동일성을 갖는

아미노산 서열로 이루어지는 L 사슬 가변 영역을 코드하는 유전자)를 포함하는 것이나,

일성을 갖는 아미노산 서열로 이루어지는 H 사슬을 코드하는 유전자) 와, 서열 번호 146 에 나타내는 뉴클레오티드 서열과 적어도 80 % 이상의 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드산 서열로 이루어지는 L 사슬 유전자 (서열 번호 90 에 나타내는 아미노산 서열과 적어도 80 % 이상의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열로 이루어지는 L 사슬을 코드하는 유전자) 를 포함하는 것이나,

[0194] (10-4D) 서열 번호 149 에 나타내는 뉴클레오티드 서열과 적어도 80 % 이상의 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드산 서열로 이루어지는 H 사슬 유전자 (서열 번호 99 에 나타내는 아미노산 서열과 적어도 80 % 이상의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열로 이루어지는 H 사슬을 코드하는 유전자) 와, 서열 번호 150 에 나타내는 뉴클레오티드 서열과 적어도 80 % 이상의 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드산 서열로 이루어지는 L 사슬 유전자 (서열 번호 100 에 나타내는 아미노산 서열과 적어도 80 % 이상의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열로 이루어지는 L 사슬을 코드하는 유전자) 를 포함하는 것이나,

[0195] (11-4D) 서열 번호 153 에 나타내는 뉴클레오티드 서열과 적어도 80 % 이상의 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드산 서열로 이루어지는 H 사슬 유전자 (서열 번호 109 에 나타내는 아미노산 서열과 적어도 80 % 이상의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열로 이루어지는 H 사슬을 코드하는 유전자) 와, 서열 번호 154 에 나타내는 뉴클레오티드 서열과 적어도 80 % 이상의 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드산 서열로 이루어지는 L 사슬 유전자 (서열 번호 110 에 나타내는 아미노산 서열과 적어도 80 % 이상의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열로 이루어지는 L 사슬을 코드하는 유전자) 를 포함하는 것을 구체적으로 들 수 있다.

[0196] 본건 CAR 유전자로는, 본건 CAR 을 코드하는 유전자 (뉴클레오티드) 이면 특별히 제한되지 않고, 예를 들어,

[0197] (1-3D) 상기 (1-3) 의 1 본체 항체를 코드하는 유전자, 또는 당해 유전자의 축중 코돈 개변체를 포함하는 것이나,

[0198] (2-3D) 상기 (2-3) 의 1 본체 항체를 코드하는 유전자, 또는 당해 유전자의 축중 코돈 개변체를 포함하는 것이나,

[0199] (3-3D) 상기 (3-3) 의 1 본체 항체를 코드하는 유전자, 또는 당해 유전자의 축중 코돈 개변체를 포함하는 것이나,

[0200] (4-3D) 상기 (4-3) 의 1 본체 항체를 코드하는 유전자, 또는 당해 유전자의 축중 코돈 개변체를 포함하는 것이나,

[0201] (5-3D) 상기 (5-3) 의 1 본체 항체를 코드하는 유전자, 또는 당해 유전자의 축중 코돈 개변체를 포함하는 것이나,

[0202] (6-3D) 상기 (6-3) 의 1 본체 항체를 코드하는 유전자, 또는 당해 유전자의 축중 코돈 개변체를 포함하는 것이나,

[0203] (7-3D) 상기 (7-3) 의 1 본체 항체를 코드하는 유전자, 또는 당해 유전자의 축중 코돈 개변체를 포함하는 것이나,

[0204] (8-3D) 상기 (8-3) 의 1 본체 항체를 코드하는 유전자, 또는 당해 유전자의 축중 코돈 개변체를 포함하는 것이나,

[0205] (9-3D) 상기 (9-3) 의 1 본체 항체를 코드하는 유전자, 또는 당해 유전자의 축중 코돈 개변체를 포함하는 것이나,

[0206] (10-3D) 상기 (10-3) 의 1 본체 항체를 코드하는 유전자, 또는 당해 유전자의 축중 코돈 개변체를 포함하는 것이나,

[0207] (11-3D) 상기 (11-3) 의 1 본체 항체를 코드하는 유전자, 또는 당해 유전자의 축중 코돈 개변체를 포함하는 것이나,

[0208] (1-3'-1D) 상기 (1-3'-1) 의 1 본체 항체를 코드하는 유전자, 또는 당해 유전자의 축중 코돈 개변체를 포함하는 것이나,

[0209] (1-3'-2D) 상기 (1-3'-2) 의 1 본체 항체를 코드하는 유전자, 또는 당해 유전자의 축중 코돈 개변체를 포함하는 것이나,

[0210] (1-3'-3D) 상기 (1-3'-3) 의 1 본체 항체를 코드하는 유전자, 또는 당해 유전자의 축중 코돈 개변체를 포함하는 것이나,

것이나,

[0211] (2-3'-1D) 상기 (2-3'-1) 의 1 본체 항체를 코드하는 유전자, 또는 당해 유전자의 축중 코돈 개변체를 포함하는 것이나,

[0212] (2-3'-2D) 상기 (2-3'-2) 의 1 본체 항체를 코드하는 유전자, 또는 당해 유전자의 축중 코돈 개변체를 포함하는 것이나,

[0213] (2-3'-3D) 상기 (2-3'-3) 의 1 본체 항체를 코드하는 유전자, 또는 당해 유전자의 축중 코돈 개변체를 포함하는 것이나,

[0214] (2-3'-4D) 상기 (2-3'-4) 의 1 본체 항체를 코드하는 유전자, 또는 당해 유전자의 축중 코돈 개변체를 포함하는 것을 구체적으로 들 수 있다.

[0215] 본 명세서에 있어서, 「적어도 80 % 이상의 동일성」 이란, 동일성이 80 % 이상인 것을 의미하며, 바람직하게는 85 % 이상, 보다 바람직하게는 88 % 이상, 더욱 바람직하게는 90 % 이상, 보다 더 바람직하게는 93 % 이상, 특히 바람직하게는 95 % 이상, 보다 특히 바람직하게는 98 % 이상, 가장 바람직하게는 100 % 의 동일성을 의미한다.

[0216] 본 명세서에 있어서, 용어 「동일성」 은, 폴리펩티드 또는 폴리뉴클레오티드 서열 근사성의 정도 (이것은, 쿠에리 서열과 다른 바람직하게는 동일한 형태의 서열 (핵산 혹은 단백질 서열) 의 매칭에 의해 결정된다) 를 의미한다. 「동일성」 을 계산 및 결정하는 바람직한 컴퓨터 프로그램법으로는, GCG BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) (Altschul et al., J. Mol. Biol. 1990, 215 : 403-410 ; Altschul et al., Nucleic Acids Res. 1997, 25 : 3389-3402 ; Devereux et al., Nucleic Acid Res. 1984, 12 : 387), 그리고 BLASTN 2.0 (Gish W., <http://blast.wustl.edu>, 1996-2002), 그리고 FASTA (Pearson 및 Lipman, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 1988, 85 : 2444-2448), 그리고 가장 길게 중복한 1 쌍의 콘티그를 결정 및 엑라인먼트하는 GCG GelMerge (Wibur 및 Lipman, SIAM J. Appl. Math. 1984, 44 : 557-567 ; Needleman 및 Wunsch, J. Mol. Biol. 1970, 48 : 443-453) 를 들 수 있지만, 이들에 한정되지 않는다.

[0217] 본 명세서에 있어서, 「서열 번호 X 에 나타내는 아미노산 서열과 적어도 80 % 이상의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열」 이란, 바꿔 말하면, 「서열 번호 X 에 나타내는 아미노산 서열에 있어서, 0, 1 혹은 몇 개의 아미노산 잔기가 결실, 치환, 삽입, 및/또는 부가된 아미노산 서열」 이며, 또한, 서열 번호 X 에 나타내는 아미노산과 동등한 기능을 갖는다. 여기서, 「1 혹은 몇 개의 아미노산 잔기가 결실, 치환, 삽입, 및/또는 부가된 아미노산 서열」 이란, 예를 들어 1 ~ 30 개의 범위 내, 바람직하게는 1 ~ 20 개의 범위 내, 보다 바람직하게는 1 ~ 15 개의 범위 내, 더욱 바람직하게는 1 ~ 10 개의 범위 내, 더욱 바람직하게는 1 ~ 5 개의 범위 내, 더욱 바람직하게는 1 ~ 3 개의 범위 내, 더욱 바람직하게는 1 ~ 2 개의 범위 내의 수의 아미노산 잔기가 결실, 치환, 삽입, 및/또는 부가된 아미노산 서열을 의미한다. 이들 아미노산 잔기의 변이 처리는, 화학 합성, 유전자 공학적 수법, 돌연변이 유발 등의 당업자에게 이미 알려진 임의의 방법에 의해 실시할 수 있다.

[0218] 본건 벡터에 있어서의 프로모터로는, 프로모터의 하류에 위치하는 본건 항체 유전자가 코드하는 mRNA 의 전사를 개시시키는 영역이면 되고, 프로모터에는, 통상적으로 전사 개시점 (TSS) 이 포함된다.

[0219] 본건 벡터에 있어서의 프로모터나 벡터의 종류는, 도입하는 숙주 세포 (또는 숙주 생물) 의 종류에 따라 적절히 선택할 수 있다.

[0220] 숙주 세포로는, 본건 항체 유전자가 전사되어 본건 항체가 발현하는 것, 또는 본건 CAR 유전자의 mRNA 가 전사되어 본건 CAR 이 발현하는 것이면 되고, 본건 벡터로서 「본건 항체 유전자를 포함하는 벡터」 를 도입하는 경우에는, 숙주 세포로서 이하의 효모, 포유 동물 세포, 곤충 세포, 또는 식물 세포를 사용할 수 있고, 본건 벡터로서 「본건 CAR 유전자를 포함하는 벡터」 를 도입하는 경우에는, 숙주 세포로서 상기 면역 담당 세포를 사용할 수 있다.

[0221] 숙주 세포로서 효모 (예를 들어, 사카로미세스 세레비지에 (Saccharomyces Cerevisiae), 스키조사카로마이세스 폼베 (Schizosaccharomyces Pombe) 등) 를 사용하는 경우, 본건 벡터로는, 예를 들어, YEP13 (ATCC37115), YEp24 (ATCC37051), YCp50 (ATCC37419) 등의 벡터 또는 이러한 벡터 유래의 것을 들 수 있으며, 프로모터로는, 예를 들어, 핵소스키나아제 등의 해당계 (解糖系) 의 유전자의 프로모터, PH05 프로모터, PGK 프로모터, GAP 프로모터, ADH 프로모터, gal1 프로모터, gal10 프로모터, 히트 쇼크 단백질 프로모터, MF a1 프로모터, CUP1 프로모터 등을 들 수 있다.

[0222] 또, 숙주 세포로서 포유 동물 세포 (예를 들어, 인간 유래의 나말바 [Namalwa] 세포, 원숭이 유래의 COS 세포, 차이니즈 햄스터 난소 유래의 CHO 세포, 인간, 마우스 등 유래의 T 세포 등)를 사용하는 경우로서, 본건 벡터가 항체 유전자를 포함하는 벡터일 때, 본건 벡터로는, 예를 들어, pcDNA1, pcDM8 (후나코시사 제조), pAGE107 (일본 공개특허공보 평3-22979호 ; Cytotechnology, 3, 133, (1990)), pAS3-3 (일본 공개특허공보 평2-227075호), pCDM8 (Nature, 329, 840, (1987)), pcDNA1/Amp (Invitrogen 사 제조), pREP4 (Invitrogen 사 제조), pAGE103 (J. Biochemistry, 101, 1307 (1987)), pAGE210 등의 벡터 또는 이러한 벡터 유래의 것을 들 수 있다. 한편, 숙주 세포로서 포유 동물 세포 (예를 들어, 인간 유래의 상기 면역 담당 세포 등)를 사용하는 경우로서, 본건 벡터가 CAR 유전자를 포함하는 벡터일 때, 본건 벡터로는, 예를 들어, pMSGV 벡터 (Tamada k et al., Clin Cancer Res 18 : 6436-6445 (2002))나 pMSCV 벡터 (다카라 바이오사 제조) 등의 레트로바이러스 벡터 또는 이러한 벡터 유래의 것을 들 수 있다.

[0223] 본건 벡터에 있어서의 프로모터로는, 예를 들어, 사이토메갈로바이러스 (CMV)의 IE (immediate early) 유전자의 프로모터, SV40의 초기 프로모터, 레트로바이러스의 프로모터, 메탈로티오네인 프로모터, 히트 쇼크 프로모터, SRα 프로모터, NFAT 프로모터, HIF 프로모터 등을 들 수 있다.

[0224] 또, 숙주 세포로서 곤충 세포 (예를 들어, 스포도프테라프루기페르다 (Spodopterafrugiperda)의 난소 세포인 Sf9 세포, Sf21 세포, 트리코프루시아니 (Trichoplusiani)의 난소 세포인 High5 세포 등)를 사용하는 경우, 본건 벡터로는, 예를 들어, 재조합 바클로바이러스 제조법에 있어서 사용되는 트랜스퍼 벡터, 구체적으로는, pVL1392, pVL1393, pBlueBacIII (모두 Invitrogen 사 제조) 등의 벡터 또는 이러한 벡터 유래의 것을 들 수 있으며, 프로모터로는, 예를 들어, 폴리헤드린 프로모터, p10 프로모터 등을 들 수 있다.

[0225] 또, 숙주 세포로서 식물 세포 (예를 들어, 담배, 감자, 토마토, 당근, 대두, 유채, 알팔파, 벼, 소맥, 대맥 등)를 사용하는 경우, 발현 벡터로는, 예를 들어, Ti 플라스미드, 담배 모자이크 바이러스 벡터 등의 벡터 또는 이러한 벡터 유래의 것을 들 수 있으며, 프로모터로는, 예를 들어, 콜리플라워 모자이크 바이러스 (CaMV)의 35S 프로모터, 벼 액틴 1 프로모터 등을 들 수 있다.

[0226] 본건 벡터로는, 유전자 발현 효율을 더욱 높이기 위해서, 인핸서 영역이나 리보솜 결합 영역 (RBS ; ribosome binding site)의 염기 서열을 추가로 포함하는 것이나, 본건 숙주 세포의 스크리닝을 위해서, 숙주 세포의 종류에 따른 약제 내성 유전자 (예를 들어, 스펙티노마이신 내성 유전자, 클로람페니콜 내성 유전자, 테트라사이클린 내성 유전자, 카나마이신 내성 유전자, 암피실린 내성 유전자, 퓨로마이신 내성 유전자, 하이그로마이신 내성 유전자, 블라스트사이딘 내성 유전자, 제네티신 내성 유전자 등)를 추가로 포함하는 것이 바람직하다. 인핸서 영역은, 통상적으로 프로모터의 상류에 배치되고, RBS는, 통상적으로 프로모터와 본건 유전자의 사이에 배치된다. 본건 벡터에 삽입하는 본건 항체 유전자의 뉴클레오티드 서열은, 발현시키는 숙주 세포에 맞추어 코돈 서열의 최적화가 되어 있어도 된다. 본건 벡터는, 유전자 조작 기술을 이용하여 공지된 방법에 의해 제조할 수 있다.

[0227] 본건 숙주 세포는, 본건 벡터를, 숙주 세포의 종류에 따른 방법에 의해, 숙주 세포에 도입 (트랜스펙션) 함으로써 얻을 수 있다.

[0228] 숙주 세포로서 상기 효모를 사용하는 경우, 본건 벡터의 효모에 대한 도입 방법으로는, 효모에 DNA를 도입하는 방법이면 되고, 예를 들어, 일렉트로포레이션법 (Methods. Enzymol., 194, 182 (1990)), 스페로플라스트법 (Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A, 84, 1929 (1978)), 아세트산리튬법 (J. Bacteriology, 153, 163 (1983)) 등의 방법을 들 수 있다.

[0229] 또, 숙주 세포로서 상기 포유 동물 세포를 사용하는 경우, 본건 벡터의 포유 동물 세포에 대한 도입 방법으로는, 포유 동물 세포에 DNA를 도입하는 방법이면 되고, 예를 들어, 상기 서술한 바와 같이, 일렉트로포레이션법 (Cytotechnology, 3, 133 (1990)), 인산칼슘법 (일본 공개특허공보 평2-227075호), 리포펙션법 (Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 84, 7413 (1987)), 바이러스 감염법 등의 방법을 들 수 있다. 이러한 바이러스 감염법으로는, 상기 서술한 바와 같이, CAR 발현 벡터 (국제 공개 2016/056228호 팸플릿) 와, 패키징 플라스미드를 GP2-293 세포 (다카라 바이오사 제조), Plat-GP 세포 (코스모 · 바이오사 제조), PG13 세포 (ATCC CRL-10686), PA317 세포 (ATCC CRL-9078) 등의 패키징 세포에 트랜스펙션 하여 재조합 바이러스를 제조하고, 이러한 재조합 바이러스를 T 세포에 감염시키는 방법을 들 수 있다.

[0230] 또, 숙주 세포로서 상기 곤충 세포를 사용하는 경우, 본건 벡터의 곤충 세포에 대한 도입 방법으로는, 예를 들어 「Current Protocols in Molecular Biology」, 「Baculovirus Expression Vectors, A Laboratory Manual」,

W. H. Freeman and Company, New York (1992)」, 「Bio/Technology, 6, 47 (1988)」 등에 기재된 방법에 따라서, 본건 벡터 (트랜스퍼 벡터) 와, 바클로바이러스 유래의 계놈 DNA 를 상기 곤충 세포에 코트랜스펙션 하고, 재조합 바클로바이러스를 제조하는 방법을 들 수 있다. 이러한 코트랜스펙션의 방법으로는, 예를 들어, 인산칼슘법 (일본 공개특허공보 평2-227075호), 리포펙션법 (Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 84, 7413 (1987) 등의 방법을 들 수 있다.

[0231] 또, 숙주 세포로서 상기 식물 세포를 사용하는 경우, 본건 벡터의 식물 세포에 대한 도입 방법으로는, 예를 들어, 아그로박테리움 (*Agrobacterium*) 을 사용하는 방법 (일본 공개특허공보 소59-140885호, 일본 공개특허공보 소60-70080호), 일렉트로포레이션법 (일본 공개특허공보 소60-251887호), 파티클 건 (유전자총) 을 사용하는 방법 (일본 특허공보 제2606856호, 일본 특허공보 제2517813호) 등의 방법을 들 수 있다.

[0232] 본건 항체는, 상기 서술한 방법으로 얻어진 본건 숙주 세포를, 숙주 세포에 따른 배양액 중에서 배양함으로써 얻을 수 있다.

[0233] 또, 트랜스제닉 동물 제조 기술을 이용하여 본건 항체 유전자 (본건 벡터) 가 삽입된 마우스, 소, 염소, 양, 닭, 돼지 등의 트랜스제닉 동물을 제조하고, 이러한 트랜스제닉 동물의 혈액, 밀크 중 등으로부터 본건 항체 유전자에서 유래하는 항체를 대량으로 산생할 수도 있다.

[0234] 또한, 서열 번호 155 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 인간 유래 GPC3 폴리펩티드를 포함하는 물질 (GPC3 폴리펩티드 항원) 을, 비인간 동물 (예를 들어, 마우스, 래트) 에 면역하고, 파지 디스플레이법에 의해 scFv 유전자의 파지 라이브러리를 제조하고, 이러한 GPC3 폴리펩티드 항원, 및/또는 이러한 GPC3 폴리펩티드 항원을 발현하는 세포주 (바람직하게는, 내재성 GPC3 을 발현하지 않는 세포주) 와, 바람직하게는, 또한 컴페터터로서 서열 번호 159 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 GPC3 의 C 말단측 폴리펩티드를 사용한 바이오패닝 (Biopanning) 법에 의해, 본건 scFv 를 얻을 수 있다. 또, 상기 항원을 면역한 비인간 동물로부터, 세포융합 기술을 이용하여, 항체를 산생하는 하이브리도마를 조제하고, 상기 항원을 고상화한 플레이트를 사용한 ELISA 법에 의한 스크리닝에 의해, 본건 항체를 포함하는 배양 상청을 얻을 수도 있다. 본건 항체는, 이러한 배양 상청으로부터 공지된 항체 정제 기술을 이용하여 분리하고, 정제할 수 있다.

[0235] 본건 검출 방법으로는, 본건 항체를 사용하여, 시료 (예를 들어, 혈액, 조직, 요 (尿) 등) 중의 세포막에 국재하는 (세포막에 앵커된) GPC3 을 검출하는 공정을 구비한 방법이면 되고, 구체적인 검출 방법으로는, 본건 항체를 사용한 면역 형광 염색법, 웨스턴 블로팅법, ELISA 등을 들 수 있다.

[0236] 본건 검출용 키트로는, 「GPC3 을 검출하기 위해서」 라고 하는 용도에 한정된, 본건 항체 또는 그 표지물을 포함하는 키트이고, 이러한 키트에는, 일반적으로 이런 종류의 키트에 사용되는 성분, 예를 들어 담체, pH 완충제, 안정제 외에, 취급 설명서, GPC3 을 검출하기 위한 설명서 등의 첨부 문서가 통상적으로 포함된다.

[0237] 본건 검출 방법이나 본건 검출용 키트에 있어서, 검출 대상의 GPC3 의 생물종은, 마우스, 래트 등의 비인간 동물이어도 되지만, 통상적으로 인간이다.

[0238] 상기 본건 항체의 표지물에 있어서의 표지 물질로는, 예를 들어, 퍼옥시다아제 (예를 들어, horseradish peroxidase [HRP]), 알칼리 포스파타아제, β -D-갈락토시다아제, 글루코스옥시다아제, 글루코오스-6-포스페이트 디하이드로게나아제, 알코올 탈수소 효소, 말산 탈수소 효소, 페니실리나아제, 카탈라아제, 아포글루코스옥시다아제, 우레아제, 루시페라아제 혹은 아세틸콜린에스테라아제 등의 효소, 플루오레스세인 이소티오시아네이트, 피코빌리 단백, 희토류 금속 퀄레이트, 댄실 클로라이드 혹은 테트라메틸로다민이소티오시아네이트 등의 형광 물질, 녹색 형광 단백질 (Green Fluorescence Protein ; GFP), 시안 형광 단백질 (Cyan Fluorescence Protein ; CFP), 청색 형광 단백질 (Blue Fluorescence Protein ; BFP), 황색 형광 단백질 (Yellow Fluorescence Protein ; YFP), 적색 형광 단백질 (Red Fluorescence Protein ; RFP), 루시페라아제 (luciferase) 등의 형광 단백질, 3 H, 14 C, 125 I 혹은 131 I 등의 방사성 동위체, 비오틴, 아비딘, 또는 화학 발광 물질을 들 수 있다.

[0239] 본 명세서에 있어서 인용된, 학술 문헌, 특허, 특허 출원 등의 참고 문헌은, 그 전체가, 각각 구체적으로 기재된 것과 동일한 정도로 본 명세서에 있어서 참고로서 원용된다. 또, 본 출원은, 일본 특허출원 2017-001732 호 (2017년 1월 10 일 출원) 에 기초하는 우선권을 주장하고 있으며, 이 내용은 그 전체가 본 명세서에 참조로서 도입된다.

[0240] 이하, 실시예에 의해 본 발명을 보다 구체적으로 설명하는데, 본 발명의 기술적 범위는 이들 예시에 한정되는 것은 아니다.

[0241] 실시예 1

[0242] 1. 인간 GPC3 의 N 말단측 폴리펩티드를 인식하는 신규 항 GPC3 항체의 조제

[0243] [개요]

항인간 GPC3 항체를 조제하기 위한 면역 동물로서 SKG/Jcl 마우스를 사용하고, 면역하는 항원으로서 전체 길이 인간 GPC3 단백질을 사용하였다. SKG/Jcl 마우스는, 관절 류마티즘을 자연 발증하는 자기 면역 질환 모델 마우스이며, 가령이나 사육 환경에 의해, 자기 성분에 대해서도 항체 산생 응답하는 것이 알려져 있다. 한편, GPC3 은, 인간 및 마우스의 사이에서 상동성이 높고, 통상적으로는 정상 마우스에 면역해도 항체 산생 산생이 일어나기 어렵기 때문에, SKG/Jcl 마우스를 면역 동물로서 사용하였다. GPC3 을 면역한 마우스의 B 세포 유래 cDNA로부터 scFv 파지 라이브러리를 제조하고, 파지 디스플레이법을 응용하여, 항인간 GPC3 항체를 단리하였다.

[0244] 면역한 마우스의 항혈청에는, 다종류의 항체가 포함되지만, GPC3 에 대하여 특이성이 낮은 항체나, GPC3 의 C 말단측 폴리펩티드를 인식하는 항체를 산생하는 마우스를 제외하고, GPC3 의 N 말단측 폴리펩티드에 대하여 특이성을 갖는 항체를 산생하는 마우스를 선택할 필요가 있다. 그래서 ELISA 와 FCM 을 사용하여, GPC3 의 N 말단측 폴리펩티드에 특이적으로 결합하는 항체 산생을 나타내는 마우스 개체를 선택하였다. 구체적으로는, 면역 마우스 유래 B 세포의 전체 RNA로부터 역전사 반응에 의해 cDNA 를 합성하고, 항체 유전자를 증폭하여 항체 유전자 라이브러리를 제조하였다. 항체 유전자 라이브러리로부터 scFv 파지 라이브러리를 구축하고, 대장균에 감염시켜 scFv 를 발현시킨 것에 대하여, 재조합 GPC3, GPC3 발현 세포주, 및 GPC3 의 C 말단측 폴리펩티드를 사용한 바이오패닝을 실시함으로써, 목적으로 하는 scFv, 즉, GPC3 의 N 말단측 폴리펩티드에 대한 항체를 발현하는 파지를 놓축하였다. 또한, 얻어진 scFv 에 대해, 세포 중의 GPC3, 즉, GPI (Glycosylphosphatidylinositol) 앵커를 개재하여 세포막에 국재 (결합) 하는 GPC3 (막형 GPC3) 에 대한 결합 특이성을 해석하기 위해서, cell based-ELISA, FCM 을 사용하여 검증하였다. 또, 결합 특이성을 갖는 클론의 H 사슬 가변 영역 및 L 사슬 가변 영역의 뉴클레오티드 서열을 시퀀스하고, 이러한 서열을 기초로, 면역 마우스 유래 B 세포가 산생하는 항 GPC3 항체의 뉴클레오티드 서열을 결정하였다. 마지막으로 GPC3 의 N 말단측 폴리펩티드 단편 및 C 말단측 폴리펩티드 단편을 세포 표면에 발현시킨 맘밀리안 · 디스플레이법을 이용하여, scFv 의 애피토프가 GPC3 의 N 말단측 폴리펩티드 단편인 것을 확인하였다. 이하에 상세한 방법 및 결과를 나타낸다.

[0245] 1-1 재료와 방법

[0246] [세포 배양]

[0247] 인간 GPC3 발현 세포로서, JHH7 세포주, HepG2 세포주, 및 인간 GPC3 전체 길이를 강제 발현시킨 SK-Hep-1 세포주 (이하, 「GPC3 발현 세포주」 라고 하는 경우가 있다)를 사용하여, 항 GPC3 항체의 바이오패닝 및 스크리닝을 실시하였다. JHH7 세포주는, 간세포암 유래의 GPC3 발현 세포주이며, 당해 세포 중에는, GPI (Glycosylphosphatidylinositol) 앵커를 개재하여 세포막에 결합하는 GPC3 (막형 GPC3) 이 항상적으로 발현하고 있다. 한편, HepG2 세포주는, JHH7 세포주와 마찬가지로, 간세포암 유래의 GPC3 발현 세포주이지만, 막형 GPC3 보다, 세포막에 결합하고 있지 않은 분비형 GPC3 의 발현이 우세한 세포주이다. 또, Sk-Hep-1 세포주는, GPC3 미발현의 간세포암 유래의 세포주이다. 이 때문에, 강제 발현에 의해 막형의 전체 길이 GPC3 만이나, 일부의 엑손이 결손한 부분 길이의 막형 GPC3 을 발현하는 세포주를 제조할 수 있다.

[0248] 4 종류의 세포주 (JHH7 세포주, HepG2 세포주, GPC3 발현 세포주, 및 인간 태아 신장 상피 유래 293T 세포주)의 배양은, 10 % FBS (Gibco 사 제조) 및 1 % 페니실린-스트렙토마이신 (Gibco 사 제조) 을 포함하는 DMEM 배양액 (Sigma-Aldrich 사 제조) (이하, 간단히 「DMEM 배양액」 이라고 한다) 중에서 37 °C, 5 % CO₂ 조건하에서 실시하였다. 또, CHO-K1 세포주의 배양은, 10 % FBS (Gibco 사 제조) 를 포함하는 Ham's F12 배양액 (Sigma-Aldrich 사 제조) 중에서 37 °C, 5 % CO₂ 조건하에서 실시하였다.

[0249] [면역 항원]

[0250] 6 × His 태그가 C 말단에 부가한 재조합 GPC3 (R & D systems 사 제조) 을 PBS 로 0.1 mg/ml 로 조정하고, 인공 아쥬반트 TiterMax Gold (TiterMax 사 제조) 또는 CFA (Freund's Adjuvant Complete) (F5881, Sigma-Aldrich 사 제조) 와 등량 혼합하여 애밀션을 제조한 것을 첫회의 면역 항원으로서 사용하였다. 2 회째 이후의 면역 항원은, 재조합 GPC3 을 PBS 로 10 ~ 100 µg/ml 로 농도 조정한 것을 사용하였다.

[0252] [GPC3 발현 세포주의 제조]

[0253] 서열 번호 157 로 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 전체 길이 인간 GPC3 을 코드하는 유전자 (서열 번호 160 으로 나타내는 뉴클레오티드 서열로 이루어지는 전체 길이 인간 GPC3 유전자) 를, pcDNA3.1 벡터 (ThermoFisher Scientific 사 제조) 에 삽입하여 GPC3 발현 벡터를 제조하였다. GPC3 발현 벡터를, SK-Hep-1 세포주에 정법에 따라서 트랜스펙션 한 후, G418 (Roche diagnostics 사 제조) 을 포함하는 DMEM 배양액 중에서 배양함으로써, GPC3 전체 길이가 안정적으로 발현하는 SK-Hep-1 세포주 (GPC3 발현 세포주) 의 수립을 실시하였다.

[0254] [마우스의 면역]

[0255] SKG/jcl 마우스 (일본 쿠레아, 8 주령 암컷, SPF) 를 면역 동물로 하여, 재조합 GPC3 을, 풋 패트에 1 주간마다 함께 4 회 면역하였다. 면역 개시부터 5 주째에 채혈하고, 정법에 따라서 혈청을 조제하고, 항체가의 확인 용 검체로 하였다.

[0256] [ELISA 를 사용한 항혈청의 혈청 항체가]

[0257] 면역한 마우스에 있어서의 항 GPC3 항체 산생 응답을 확인하기 위해서, 항원 고정화 ELISA 를 사용하여 혈청 항체가를 측정하였다. 0.5 또는 2 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 재조합 GPC3 을, 96 웰 마이크로 플레이트 (Nunc 사 제조) 에 50 $\mu\text{l}/\text{웰}$ 씩 첨가하여 실온에서 1 시간, 또는 4 °C 에서 12 시간 인큐베이트 하였다. 그 후에, 2 % 블록에이스 (DS 파마사 제조) 를, 200 $\mu\text{l}/\text{웰}$ 씩 첨가하여 블로킹 처리를 실시하였다. GPC3 면역 마우스 유래의 혈청을, 100 배 ~ 16500 배까지 0.1 % 블록 에이스/PBS 용액으로 단계 희석하고, 각 희석 혈청 샘플을 50 $\mu\text{l}/\text{웰}$ 씩 첨가하여, 2 시간, 실온에서 인큐베이트 하고, 항원 항체 반응 처리를 실시하였다. Tween20 함유 PBS (PBST) 용액으로 웰을 세정한 후, 2 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 퍼옥시다아제가 콘쥬게이트 한 염소 항마우스 IgG (Jackson ImmunoResearch laboratories 사 제조) 를 첨가하여 2 시간, 실온에서 인큐베이트 하고, 2 차 항체 반응 처리를 실시하였다.

PBST 용액으로 5 회 웰을 세정 후, 수분을 제거한 후에 TMB 기질 (Thermo Fisher Scientific 사 제조) 을 50 $\mu\text{l}/\text{웰}$ 씩 첨가하여, 발색 반응을 실시하였다. 15 분 후에 0.18 M 황산을 50 $\mu\text{l}/\text{웰}$ 씩 첨가하여, 발색 반응을 정지시킨 후, 450 nm 와 540 nm 의 흡광도를 플레이트 리더 (Bio-Rad 사 제조) 로 측정하였다. 450 nm 의 측정값으로부터, 540 nm 의 측정값을 뺀 보정값을 사용하여 정량을 실시하였다.

[0258] [FCM 을 사용한 항혈청 중의 항체의 특이성]

[0259] 면역한 마우스에 대해, 또한, 막형 GPC3 에 대한 항혈청의 특이적 결합성을 확인하기 위해서, 100 배 희석한 마우스 혈청파, GPC3 발현 세포주 5×10^5 개의 세포를 혼합하고, 빙상 (氷上) 에서 30 분 인큐베이트 하였다.

FACS 완충액 (1 % BSA/PBS 용액) 를 첨가하여 원심 처리하고, 상청을 제거한 후, 2 차 항체인 염소 항마우스 IgG (H+L) Alexa Fluor488 (ThermoFisher Scientific 사 제조) 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 를 100 μl 첨가하고, 빙상에서 30 분 인큐베이트 하여 2 차 항체 반응 처리를 실시하였다. Alexa Fluor488 의 검출 및 형광 레벨의 측정은, 플로우 사이토미터 (FACSCanto) (BD Biosciences 사 제조) 를 사용하여 실시하였다.

[0260] [scFv 파지 라이브러리의 제조]

[0261] 상기 [플로우 사이토미터] 의 항목에 기재된 방법에 의해, 막형 GPC3 에 결합하는 항체가 산생되었던 것이 나타난 마우스에 대해, B 세포 유래의 전체 RNA 를 정법에 따라서 추출하고, 전체 RNA 를 템플레이트로 한 RT-PCR 을 정법에 따라서 실시하고, cDNA 를 조제하였다. 항체 H 사슬 및 L 사슬의 가변 영역 유전자를 PCR 에 의해 증폭하고, 그것들을 플렉시블 링커로 연결한 scFv 와, 섬유상 박테리오파지 M13 의 코트 단백질 g3p (cp3) 의 융합 단백질을 코드하는 뉴클레오티드 서열을, pTZ19R 파지미드 벡터의 멀티 클로닝 사이트에 삽입하고, scFv 발현 벡터를 제조하였다. scFv 라이브러리 사이즈는, 대장균 DH12S 주 (Invitrogen 사 제조) 의 형질 전환 효율에 의해 산출하였다. 형질 전환한 DH12S 주에 헬퍼 파지인 M13K07 (Invitrogen 사 제조) 을 감염 시켜, scFv 를 발현하는 파지 라이브러리를 제조하였다.

[0262] [파지 scFv 의 바이오페닝과 클론화]

[0263] Dynabeads His-Tag Isolation & Pulldown 자성 비즈 (VERITAS 사 제조) 에, 6 × His 태그를 개재하여 고정화 한 재조합 GPC3 파, GPC3 발현 세포주를 조합한 것을 베이트 하여 사용한 파지 scFv 의 바이오페닝은, 문헌 「J Mol Biol. 1991 Dec 5 ; 222 (3) : 581-97.」, 「J Med Virol. 2007 Jun ; 79 (6) : 852-62.」, 「Proc Natl Acad Sci U S A. 2008 May 20 ; 105 (20) : 7287-92.」, 「JOURNAL OF VIROLOGY, Apr. 2004, p. 3325-3332 Vol. 78, No. 7」 등에 기재된 방법에 따라서 실시하였다. 5 종류의 시리즈 (A ~ E 시리즈) 로 이루어지는 바이오페

닝 (도 1 참조) 의 각 라운드 (공정) 에 있어서, 폴리클로날 파지 항체의 일부를 샘플링 하고, scFv 의 결합 특이성을 확인하기 위해서, 항원 고정화 ELISA 를, 상기 [ELISA 를 사용한 항혈청의 혈청 항체가] 의 항목에 기재된 방법 (혈청 대신에 파지를 포함하는 대장균의 배양 상청을 사용한 방법) 에 따라서 실시함과 함께, Cell based-ELISA 를, 하기 [Cell-based ELISA 에 의한 scFv 의 스크리닝] 의 항목에 기재된 방법에 따라서 실시하였다. 또한, 이러한 바이오페닝의 각 공정에 있어서, 기존의 항 GPC3 항체인 GC33 (츄가이 제약사 제조) 과 GC199 (츄가이 제약사 제조) 를, 베이트에 미리 결합시켜 둠으로써, 기존 항체가 인식하는 GPC3 의 C 말단 에피토프와 동일한 부분에 결합하는 scFv 파지가 선택되지 않도록 연구하였다. 즉, 이 결합법에 의해, 기존의 항 GPC3 항체와 상이한 GPC3 에피토프를 인식하는 신규 항체를 선택적으로 페닝하는 것이 가능해진다. 바이오페닝에 의해 농축한 파지를 대장균 DH12S 에 트랜스폼 하고, LB 아가로스 한천 배지에 파종하고, 싱글 콜로니를 분리하였다. 또한 소(小) 스케일 LB 액체 배지 중에서 대장균을 배양한 후, 플라스미드를 추출 및 정제하였다. 정제한 플라스미드의 DNA 시퀀스를 실시하고, scFv 의 H 사슬 및 L 사슬의 가변 영역의 뉴클레오티드 서열을 결정하였다.

[0264] [FCM 에 의한 scFv 의 스크리닝]

GPC3 발현 세포주 (1 샘플당 5×10^5 개) 에, scFv 파지가 분비되어 있는 배양 상청 $100 \mu\text{l}$ 를 첨가하고, 혼합한 후, 냉장에서 30 분 인큐베이트 하였다. FACS 완충액 (1 % BSA/PBS 용액) 를 첨가하여 원심 세정한 후, 2 차 항체인 항마우스 항체-alexa488 (Thermo Fisher Scientific 사 제조) 을 $1 \mu\text{g}/\text{ml}$ 첨가하고, 냉장에서 30 분 인큐베이트 하였다. 그 후, 플로우 사이토미터 (FACSCanto, BD 사 제조) 로 세포의 형광 염색을 측정하였다.

[0265] [Cell-based ELISA 에 의한 scFv 의 스크리닝]

1 웨일당 2×10^5 개의 GPC3 발현 세포가 접착한 96 웨일 마이크로 플레이트의 DMEM 배양액을 제거한 후, scFv 의, 세포나 플레이트에 대한 비특이적인 결합을 방지하는 목적으로, 2 % BSA-PBS 용액을 첨가하고, 냉장에서 30 분 간 인큐베이트 하였다. 다음으로, scFv 파지가 분비되어 있는 대장균의 배양 상청 $100 \mu\text{l}$ 를 첨가하고, 냉장에서 45 분간 인큐베이트 한 후, scFv 의 C 말단측에 융합한 cp3 에 대한 토끼 항 cp3 항체 (MBL 사 제조) 를 $5 \mu\text{g}/\text{ml}$ 로 1 웨일당 $100 \mu\text{l}$ 첨가하고, 또한 냉장에서 45 분간 인큐베이트 하였다. 항 cp3 항체 검출용의 3 차 항체로서 5000 배 희석한 HRP 표지 항토끼 IgG 항체 (MBL 사 제조) 를 1 웨일당 $100 \mu\text{l}$ 첨가하고, 냉장에서 45 분간 인큐베이트 한 후, HRP 의 기질로서 o-페닐렌디아민 (OPD) 및 과산화수소를 첨가하여 발색시켰다. 492 nm 의 흡광도로부터 백그라운드로서 620 nm 에서의 흡광도를 뺀 수치로 정량을 실시하였다. 또한, scFv 가 아니라, IgG 형 항체에 변환된 항체를 사용하여 cell-based ELISA 를 실시했을 때는, 상기 조건 중, 항 cp3 항체 및 HRP 표지 항토끼 IgG 항체 대신에, 당해 IgG 형 항체의 검출용의 2 차 항체로서 2000 배 희석한 HRP 표지 항마우스 IgG 항체 (MBL 사 제조) 를 사용하였다.

[0266] [scFv 의 가변 영역 유전자 서열의 결정]

막형 GPC3 에 결합하는 파지 scFv 의 가변 영역 유전자 서열은, 유니버설 프라이머인 T7 프라이머 (서열 번호 176 에 나타내는 뉴클레오티드 서열로 이루어지는 프라이머) 및 cp3R 프라이머 (서열 번호 177 에 나타내는 뉴클레오티드 서열로 이루어지는 프라이머) 를, 각각 H 사슬 V 영역 (V_H) 해독용 포워드 프라이머 및 L 사슬 V 영역 (V_L) 해독용 리버스 프라이머로서 사용하고, 시퀀서 (CEQ2000XL, 벡크만쿨터사 제조) 로 해독하였다.

[0267] [항체 에피토프 매핑에 사용하는 세포주의 제조]

클로닝한 scFv 의 에피토프를 동정 (同定) 하기 위해서 포유 동물 디스플레이법을 응용하였다. 인간 GPC3 의 엑손 1 ~ 7 로 이루어지는 GPC3 N 말단 단편 (서열 번호 155 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 폴리펩티드) 을 코드하는 유전자와, 인간 GPC3 의 엑손 8 ~ 9 로 이루어지는 GPC3 C 말단 단편 (서열 번호 156 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 폴리펩티드) 을 코드하는 유전자를, PCR 로 증폭하고, pDisplay 발현 벡터 (Thermo Fisher Scientific 사 제조) 의 멀티 클로닝 사이트 (MSC) 에 삽입하였다. 또한, pDisplay 발현 벡터는, 목적 단백질의 C 말단에, 혈소-판유래 생장인자 수용체 (platelet-derived growth factor receptor (PDGFR)) 의 막 관통 영역과 융합시켜 임의의 포유 동물 세포의 세포 표면에 디스플레이 가능한 발현 벡터이다.

또, pDisplay 발현 벡터는, 목적 단백질의 N 말단에, HA 태그가 부가되고, 상기 PDGFR 의 C 말단에는, myc 태그가 부가되도록 구성되어 있다. 상기 GPC3 N 말단 단편 및 GPC3 C 말단 단편을 발현하는 pDisplay 발현 벡터를, SK-Hep-1 세포주나 293T 세포주에 유전자 도입하고, GPC3 N 말단 단편이나 GPC3 C 말단 단편이 세포 표

면에 발현하는 세포주 (GPC3 N 말단 단편 발현 세포주, 및 GPC3 C 말단 단편 발현 세포주) 를 단리하고, scFv 의 애피토프 매핑에 사용하였다.

[0272] [FCM 에 의한 항체 애피토프 매핑]

[0273] GPC3 N 말단 단편 발현 세포주, GPC3 C 말단 단편 발현 세포주, 및 GPC3 발현 세포주 (각각, 1 샘플당 5×10^5 개) 와, scFv 파지가 분비되어 있는 배양 상청 $100 \mu\text{l}$ 를 혼합하고, 냉장에서 30 분 인큐베이트 하였다. FACS 완충액 (1 % BSA/PBS 용액) 를 첨가하여 원심 세정한 후, 2 차 항체인 항마우스 항체-alexa488 (Thermo Fisher Scientific 사 제조) 를 $1 \mu\text{g}/\text{ml}$ 첨가하고, 냉장에서 30 분 인큐베이트 하였다. 그 후, 플로우 사이토미터 (FACSCanto, BD 사 제조) 로 세포의 형광 염색을 측정하였다.

[0274] [재조합 IgG 발현 벡터의 구축]

[0275] scFv 로부터 IgG 로의 변환을 실시하기 위해서, Mammalian PowerExpress system (Toyobo 사 제조) 의 발현 벡터를 사용하였다. pEH1.1 벡터의 MSC 에, scFv 의 H 사슬 가변 영역과, 마우스 IgG2aH 사슬 유래의 정상 영역의 융합 단백질을 코드하는 뉴클레오티드 서열을 삽입하였다 (pEH1.1-H). 또, pELX2.2 벡터의 MSC 에, scFv 의 L 사슬 가변 영역과, 마우스 IgG2aL 사슬 유래의 정상 영역의 융합 단백질을 코드하는 뉴클레오티드 서열을 삽입하였다 (pEH2.2-L). 다음으로, pEH2.2-L 로부터 EF1a 프로모터로부터 L 사슬 유전자까지의 폴리뉴클레오티드 단편을, 제한 효소 (BgIII 및 SalI) 로 잘라내고, 제한 효소 (BgIII 및 SalI) 로 처리한 pEH1.1-H 에 라이케이션 하고, 항체 H 사슬 및 L 사슬이 공발현하는 벡터를 구축하였다.

[0276] [재조합 IgG 의 발현]

[0277] 상기 [재조합 IgG 발현 벡터의 구축] 에 기재된 방법으로 제조한 항체 H 사슬 및 L 사슬의 공발현 벡터 $32.6 \mu\text{g}$ 을, 1.6 ml 의 opti-MEM (Gibco 사 제조) 에 희석하고, Transficient Transfection Reagent (MBL 사 제조) $65 \mu\text{l}$ 를, 1.6 ml opti-MEM 에 희석한 것과 혼합하고, 실온에서 10 분간 인큐베이트 하였다. 그 후, 10 ml 의 DMEM 배양액에 혼탁한 CHO-K1 세포 (1×10^7 개) 와 혼합하고, 배양하였다. 4 시간 후에 무혈청 배지 (Free Style expression CHO media [Gibco 사 제조]) 를 첨가하고, 추가로 4 ~ 6 일 배양하여 재조합 항체를 포함하는 배양 상청을 회수하였다.

[0278] [항체의 어피니티 정제]

[0279] Protein G Sepharose 4 Fast Flow (GE healthcare 사 제조) 또는 Bipo Resin Protein L (Protein Express 사 제조) 칼럼을, 엠프티 칼럼 (Bio-Rad 사 제조) 에 1 ml bed volume 으로 충전한 후, 10 배 bed volume 량의 PBS 로 칼럼 수지를 세정하였다. 0.22 미크론 필터 여과한 배양 상청을 칼럼에 첨가하여, 항체를 칼럼 내의 Protein G 또는 Protein L 에 트랩한 후, 칼럼을 10 배 bed volume 량의 PBS 로 세정하여 비특이적으로 흡착한 협잡물을 세정하였다. 100 mM 글리신-HCl (pH 2.7) 용액을 사용하여 항체를 용출하고, 용출액은 1M Tris-HCl (pH 8.5) 로 pH 를 중화하였다. 흡광도계 nanoDrop (Thermo fisher scientific 사 제조) 에 의해 280 nm 의 흡광도를 측정하고, 항체 농도를 산출하였다. 경합 항체로서 사용한 GC33 항체 및 GC199 항체에 대해서도, 동일한 방법에 의해 발현 벡터를 디자인하고, 제조하였다.

[0280] 1-2 결과

[0281] [면역한 마우스의 항혈청 평가]

[0282] 재조합 GPC3 을 4 회 면역한 SKG/jcl 마우스로부터 채혈하고, 혈청 중에 GPC3 에 대한 항체가 산생되고 있는지 확인한 바, 재조합 GPC3 에 대한 ELIS 와, GPC3 발현 세포에 대한 FCM 의 실험에 의해, GPC3 에 대하여 결합성을 갖는 항체가 검출되었다. 이 중, 항체가 특히 높았던 마우스 2 마리 (개체 번호 1413#2, 1413#3) 를 항체 라이브러리 제조의 소스로서 사용하였다.

[0283] [파지 라이브러리의 구축]

[0284] 형질 전환 효율로부터 계산하여 추측된 scFv 라이브러리 수는, 마우스 1413#2 에서 5.8×10^7 , 마우스 1413#3 에서 4.3×10^8 이었다. 본 실시예에서 제조한 면역 글로불린 라이브러리는, 항원인 GPC3 을 면역하여 목적 항원에 대한 항체 응답이 확인된 마우스로부터 제조한 라이브러리이기 때문에, 라이브러리 사이즈가 작은 경우에도 목적으로 하는 항체 유전자가 포함될 가능성성이 높은 것이 특징이다. 또, 랜덤인 합성 항체 라이브러리에 비해, 생체 내에서 올바른 입체 구조를 형성하는 항체가 포함되어 있는 것도 유리한 특징이다.

[0285] [모노클로날 scFv 의 서열 해석에 의한 클론의 분류]

[0286] 꾹업한 모노클로날 scFv 의 DNA 서열 해석을 실시하고, 중복을 제외하고 클론 분류를 실시하였다. 그 결과, 마우스 1413#2 라이브러리의 D 시리즈로부터 7 종류, E 시리즈로부터 5 종류, 마우스 1413#3 라이브러리의 D 시리즈로부터 3 종류, 및 E 시리즈로부터 9 종류의 후보 클론이 동정되었다. 그들 후보 클론의 중사를 및 경사사를 가변 영역의 뉴클레오티드 서열을 해석하고, 중복하는 동일 클론을 제외한 결과, 마우스 1413#2 라이브러리 유래의 9 종류의 scFv, 및 마우스 1413#3 라이브러리 유래의 9 종류의 scFv 의 합계 18 종류의 scFv 가 동정되었다.

[0287] [항 GPC3 scFv 클론의 에피토프 매핑 해석]

[0288] 상기 [모노클로날 scFv 의 서열 해석에 의한 클론의 분류] 의 항목에 기재된 방법에 따라서 동정된 18 종류의 scFv 를 사용하여, 3 종류의 세포주 (GPC3 N 말단 단편 발현 세포주, GPC3 C 말단 단편 발현 세포주, 및 GPC3 발현 세포주) 의 각종 GPC3 과의 결합을, FCM 으로 해석하였다. 그 결과, 18 종류의 scFv 클론 중, 14 종류 (TF1413-02d028, 02d030, 02d039, 02e004, 02e014, 02e030, 02e040, 03e001, 03e004, 03e005, 03e015, 03e019, 03e027, 및 03e034) 에 대해서는, 전체 길이의 GPC3 및 GPC3 N 말단 단편 (서열 번호 155 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 폴리펩티드) 에 결합하는 데 반해, GPC3 C 말단 단편 (서열 번호 156 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 폴리펩티드) 에는 결합하지 않았다 (도 2 참조). 한편, 기존의 항 GPC3 항체인 GC33 (츄가이 제약사 제조) 이나 GC199 (츄가이 제약사 제조) 는, 전체 길이의 GPC3 및 GPC3 C 말단 단편에 결합하는 데 반해, GPC3 N 말단 단편에는 결합하지 않았다.

[0289] 이상의 결과로부터, 기존의 항 GPC3 항체 (GC33 및 GC199) 의 GPC3 C 말단측의 에피토프와는 상이하고, GPC3N 말측의 에피토프를 인식하는 상기 14 종류의 신규 scFv 가 동정되었다.

[0290] 동정한 14 종류의 scFv 클론 중, 결합력이 특히 높은 상위 11 종류의 scFv 클론 (TF1413-02d028, 02d039, 02e004, 02e014, 02e030, 02e040, 03e001, 03e004, 03e005, 03e015, 및 03e034) 을 선택하였다. 표 1 에는, 이러한 11 종류의 scFv 클론의 H 사슬 및 L 사슬 V 영역과, 서열 번호의 대응을 나타내고, 표 2 에는, 이러한 11 종류의 scFv 클론의 H 사슬 CDR1 ~ 3 과, 서열 번호의 대응을 나타내고, 표 3 에는, 이러한 11 종류의 scFv 클론의 L 사슬 CDR1 ~ 3 과, 서열 번호의 대응을 나타낸다.

[0291]

[표 1]

s c F v	클론명 및 V 영역	서열 번호
TF1413-02d028	H 사슬 V 영역	7
TF1413-02d039	H 사슬 V 영역	1 7
TF1413-02e004	H 사슬 V 영역	2 7
TF1413-02e014	H 사슬 V 영역	3 7
TF1413-02e030	H 사슬 V 영역	4 7
TF1413-02e040	H 사슬 V 영역	5 7
TF1413-03e001	H 사슬 V 영역	6 7
TF1413-03e004	H 사슬 V 영역	7 7
TF1413-03e005	H 사슬 V 영역	8 7
TF1413-03e015	H 사슬 V 영역	9 7
TF1413-03e034	H 사슬 V 영역	1 0 7
TF1413-02d028	L 사슬 V 영역	8
TF1413-02d039	L 사슬 V 영역	1 8
TF1413-02e004	L 사슬 V 영역	2 8
TF1413-02e014	L 사슬 V 영역	3 8
TF1413-02e030	L 사슬 V 영역	4 8
TF1413-02e040	L 사슬 V 영역	5 8
TF1413-03e001	L 사슬 V 영역	6 8
TF1413-03e004	L 사슬 V 영역	7 8
TF1413-03e005	L 사슬 V 영역	8 8
TF1413-03e015	L 사슬 V 영역	9 8
TF1413-03e034	L 사슬 V 영역	1 0 8

[0292]

[0293]

[표 2]

클론명 및 CDR	서열 번호
TF1413-02d028	H사슬CDR1
	H사슬CDR2
	H사슬CDR3
TF1413-02d039	H사슬CDR1
	H사슬CDR2
	H사슬CDR3
TF1413-02e004	H사슬CDR1
	H사슬CDR2
	H사슬CDR3
TF1413-02e014	H사슬CDR1
	H사슬CDR2
	H사슬CDR3
TF1413-02e030	H사슬CDR1
	H사슬CDR2
	H사슬CDR3
TF1413-02e040	H사슬CDR1
	H사슬CDR2
	H사슬CDR3
TF1413-03e001	H사슬CDR1
	H사슬CDR2
	H사슬CDR3
TF1413-03e004	H사슬CDR1
	H사슬CDR2
	H사슬CDR3
TF1413-03e005	H사슬CDR1
	H사슬CDR2
	H사슬CDR3
TF1413-03e015	H사슬CDR1
	H사슬CDR2
	H사슬CDR3
TF1413-03e034	H사슬CDR1
	H사슬CDR2
	H사슬CDR3

[0294]

[0295]

[표 3]

클론명 및 CDR	서열 번호
TF1413-02d028	L사슬CDR 1 4
	L사슬CDR 2 5
	L사슬CDR 3 6
TF1413-02d039	L사슬CDR 1 1 4
	L사슬CDR 2 1 5
	L사슬CDR 3 1 6
TF1413-02e004	L사슬CDR 1 2 4
	L사슬CDR 2 2 5
	L사슬CDR 3 2 6
TF1413-02e014	L사슬CDR 1 3 4
	L사슬CDR 2 3 5
	L사슬CDR 3 3 6
TF1413-02e030	L사슬CDR 1 4 4
	L사슬CDR 2 4 5
	L사슬CDR 3 4 6
TF1413-02e040	L사슬CDR 1 5 4
	L사슬CDR 2 5 5
	L사슬CDR 3 5 6
TF1413-03e001	L사슬CDR 1 6 4
	L사슬CDR 2 6 5
	L사슬CDR 3 6 6
TF1413-03e004	L사슬CDR 1 7 4
	L사슬CDR 2 7 5
	L사슬CDR 3 7 6
TF1413-03e005	L사슬CDR 1 8 4
	L사슬CDR 2 8 5
	L사슬CDR 3 8 6
TF1413-03e015	L사슬CDR 1 9 4
	L사슬CDR 2 9 5
	L사슬CDR 3 9 6
TF1413-03e034	L사슬CDR 1 1 0 4
	L사슬CDR 2 1 0 5
	L사슬CDR 3 1 0 6

[0296]

[항 GPC3 scFv 항체의 IgG 화와 그 결합능]

[0298]

선택한 상기 11 종류의 scFv 클론에 대해, H 사슬 및 L 사슬 가변부 영역을, 마우스 IgG 의 정상 영역에 결합하고, 재조합 IgG 발현용 벡터로 완전 길이의 재조합 항체로서 발현시키고, 어피니티 정제를 실시하였다. 이들 IgG 항체와, GPC3 N 말단 단편의 결합능을, GPC3 N 말단 단편 발현 세포주를 사용하여 해석한 결과, 9 종류의 IgG 클론 (TF1413-02d028, 02d039, 02e004, 02e014, 02e030, 02e040, 03e004, 03e005, 및 03e034) 은, GPC3 N 말단 단편과 결합성은 유지되고 있었지만, 나머지 2 종류의 IgG 클론 (TF1413-03e001 및 03e015) 은, GPC3 N 말단 단편과 결합성이 소실되었다 (도 3 참조). 또, 상기 9 종류의 IgG 클론은, GPC3 C 말단 단편에는 결합하지 않았다 (도 3 참조).

[0299]

이상의 결과는, 11 종류의 scFv 클론 중, 9 종류 (TF1413-02d028, 02d039, 02e004, 02e014, 02e030, 02e040, 03e004, 03e005, 및 03e034) 에 대해서는, IgG 형으로 변환 가능한 것인 것을 나타내고 있다. 표 4 에는,

상기 11 종류의 IgG 클론의 H 사슬 및 L 사슬과, 서열 번호의 대응을 나타낸다.

[표 4]

IgG 클론명 및 영역	서열 번호
TF1413-02d028	H사슬 9
TF1413-02d039	H사슬 19
TF1413-02e004	H사슬 29
TF1413-02e014	H사슬 39
TF1413-02e030	H사슬 49
TF1413-02e040	H사슬 59
TF1413-03e001	H사슬 69
TF1413-03e004	H사슬 79
TF1413-03e005	H사슬 89
TF1413-03e015	H사슬 99
TF1413-03e034	H사슬 109
TF1413-02d028	L사슬 10
TF1413-02d039	L사슬 20
TF1413-02e004	L사슬 30
TF1413-02e014	L사슬 40
TF1413-02e030	L사슬 50
TF1413-02e040	L사슬 60
TF1413-03e001	L사슬 70
TF1413-03e004	L사슬 80
TF1413-03e005	L사슬 90
TF1413-03e015	L사슬 100
TF1413-03e034	L사슬 110

[0301]

실시예 2

[0302]

2. EDTA (Ethylenediaminetetraacetic acid), 트립신 또는 콜라게나아제 처리한 GPC3에 대한 신규 항 GPC3 항체의 결합성

[0303]

[EDTA 또는 트립신 처리한 세포의 조제]

[0304]

GPC3을 강제 발현시킨 SK-Hep-1 세포주를, 2개의 T-75 플라스크에서 배양하였다. 각 플라스크의 배양 상청을 흡인하고, PBS 3 ml로 세정 후, 각 플라스크에, 0.02%의 EDTA/PBS 용액(이하, 간단히 「EDTA」라고 한다) 3 ml, 또는 0.05%의 트립신 용액(이하, 간단히 「트립신」이라고 한다)을 첨가하고, 37°C에서 각각 5분간(EDTA) 또는 2분 30초간(트립신) 인큐베이트하고, 세포를 플라스크로부터 박리하였다. 그 후, 각 플라스크에 7 ml의 DMEM 배양액을 첨가하고, 피펫팅한 후, 세포 혼탁액을 50 ml 코니컬 튜브에 회수하였다. 또한 10 ml의 DMEM 배양액으로 각 플라스크를 세정 후, 회수한 세정액도 각 세포 혼탁액이 들어간 50 ml 코니컬 튜브에 각각 회수하여 원심(1,500 rpm, 4°C, 4분간)하였다. 코니컬 튜브로부터 상청을 흡인 후, 펠릿에 10 ml의 DMEM 배양액을 첨가하고, EDTA 또는 트립신으로 박리한 세포수를 각각 계측하였다.

[0305]

EDTA 또는 트립신 처리한 세포는, 세포수가 각각 2×10^5 개/튜브가 되도록 조정하고, FACS(EC800) 해석을 실시하였다. FACS 해석에는, 3종류의 항체(APC로 형광 표지한 항마우스 IgG 항체 [5 µg/튜브: Biologend 사제조], GC33 항체 [1.0 µg/튜브: MBL 라이프 사이언스사 제조], 및 상기 scFv 클론 [TF1413-02d028] 항체 [1.0 µg/튜브])를 사용하였다.

[0306]

[콜라게나아제 처리한 세포의 조제]

[0308] 상기와 같이 EDTA 로 박리한 1×10^6 개의 세포를, 50 ml 코니컬 투브에 넣고, 원심 (1,500 rpm, 4 °C, 4 분간) 하여 상청을 흡인하고, 세포괴 (펠릿)를 조제하였다. 펠릿에 5 ml 콜라게나아제 P 용액을 첨가하여, 30 분간, 37 °C에서 인큐베이트 하고, 세포 혼탁액을 조제 후, 30 ml의 DMEM 배양액으로 세정하면서, 100 μ m 셀 스트레이너에 통과시켰다. 세포 혼탁액을 재차 100 μ m 셀 스트레이너에 통과시키고, 원심 (300 g, 4 °C, 10 분간) 하여 상청을 흡인하고, PBS 20 ml를 첨가하여 세정 후, 원심 (300 g, 4 °C, 5 분간) 하여 상청을 흡인하였다. 5 ml의 DMEM의 배양액을 첨가하여 혼탁한 후, 세포수를 계측하고, 2×10^5 개/튜브의 세포를, FACS (EC800) 해석하였다. FACS 해석에는, EDTA 또는 트립신 처리를 한 세포와 마찬가지로, 3 종류의 항체 (APC로 형광 표지한 항마우스 IgG 항체 [5 μ g/튜브 : Biolejend 사 제조], GC33 항체 [1.0 μ g/튜브 : MBL 라이프 사이언스사 제조], 및 상기 scFv 클론 [TF1413-02d028] 항체 [1.0 μ g/튜브])를 사용하였다. 결과를 도 4에 나타낸다. 또한, 도 4에 있어서, 가로축의 우측에 피크가 있는 경우, GC33 항체 또는 scFv 클론 [TF1413-02d028] 항체가, GPC3 단백질에 결합하고 있는 것을 나타낸다.

[0309] [결과]

[0310] 도 4에 나타내는 바와 같이, 트립신 처리나 콜라게나아제 처리한 GPC3 단백질에 대한 본 발명의 항체 (TF1413-02d028)의 결합성은, 현저하게 감소하고 있었다. 이들 결과는, 본 발명의 항체는, GPC3 단백질의 입체 구조를 특이적으로 인식하는 것을 나타내고 있으며, 본 발명의 항체는, 생체에 있어서의 특이성이 높은 것으로 생각된다.

[0311] 실시예 3

[0312] 3. 신규 항 GPC3 항체를 이용한 GPC3 CAR-T 세포의 개발

[0313] [개요]

[0314] GPC3은, 성인에서는 태반 이외에는 발현이 확인되지 않는 한편, 간세포암, 멜라노마, 난소 명세포암, 폐 편평상피암 등 다양한 암 조직에서 발현하고 있는 세포 표면 분자이며, 키메라 항원 수용체 (Chimeric Antigen Receptor ; CAR)를 이용한 CAR-T 세포 요법의 표적 분자가 될 수 있다. 그래서, 실시예 1에서 조제한 11종류의 scFv 클론을 이용한 GPC3 CAR-T 세포를 제조하고, 암 세포 상해 활성이나 인터페론 γ (IFN- γ) 산생능에 대해 해석하였다.

[0315] [GPC3 CAR 벡터의 제조]

[0316] 실시예 1에서 조제한 11종류의 scFv 클론 (TF1413-02d028, 02d039, 02e004, 02e014, 02e030, 02e040, 03e001, 03e004, 03e005, 03e015, 및 03e034)에 대해, 각각의 V_H 및 V_L 의 아미노산 서열에 기초하여, V_H -링커- V_L 서열의 scFv를 디자인하였다 (표 5 참조). 링커는, 폴리펩티드 「GGGGS」를 3회 반복한 15아미노산 잔기로 이루어지는 것을 사용하였다. 또, V_H 의 N 말단에는, 서열 번호 188에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 인간 이谬노글로불린 H 사슬 유래 시그널 시퀀스를 부가하였다.

[0317]

[표 5-1]

서열번호 1 6 5 : TF1413-02d028 유래의 s c F v
QVQLKESGPELEKPGASVKISCKASGYSFTGYNMNVVKQSNGKSLEWIGNIDPYGGTSYNQKF KGKATLTVDKSSSTAYMQLKSLTSEDSAVYYCARGDYRAYYFDYWGQGTTLTVS GGGGSGGGGS GGGGS DIQMTQSPKFMSTSVGDRVSITCKASQNVRTAVAWYQQKPGQSPKALIYLASNRTGVP DRFTGSGSGTDFLTISNVQSEDLADYFCLQHWNYPPLTFGAGTKLELKR
서열번호 1 6 6 : TF1413-02d039 유래의 s c F v
EVKLVEGGGLVKPGGSLKLSKAASGFAFSSYDMSWVRQTPEKRLEWVAYISSGGGSTYPDTVK GRFTISRDNAKNTLYLQMSSLKSEDTAMYYCARRGLRRAMDYWGQGTSVTVS GGGGSGGGSG GGGS DVVMTQTPLSLPVSLLGDQASISCRSSQSILVHSNGNTYLHWYLQKPGQSPKLLIYKVSNRF SGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGVYFCSQSTHVPPLTFGAGTKLELKR
서열번호 1 6 7 : TF1413-02e004 유래의 s c F v
QVQLQQSGAELVKPGAPVKLSCKASGYTFTSYWMNVVKQRPGRGLEWIGRIDPSDSETHYNQK FKDEATLTVDKSSSTAYIQLSSLTSEDSAVYYCARGYYAMDYWGQGTSVTVS GGGGSGGGSGG GGGS DIVLTQSPKFMSTSVGDRVSITCKASQDVSTAVAWYQQKPGQSPKLLIYASASYRTGVPDRFT GSGSGTDETTISSVQAEDLAVYYCQQHYSTPTFGGGTKEIKR
서열번호 1 6 8 : TF1413-02e014 유래의 s c F v
QVQLKQSGAELVRSGASVKLSCTASGFNIKDYMMHWVKQRPEQGLEWIGWIDPENGTEYAPKF QGKATMTADTSSNTAYLQLSSLTSEDTAVYYCNAGYYDYGAMYMDYWGQGTSVTVS GGGGSGGG GGGGGGGS DIVLTQSPKFMSTSVGDRVSITCKASQDVGTAVAWYQQKPGQSPKLLIYWASTRHTG VPDRFTGSGSGTDFLTISNVQSEDLADYFCQQYSSYPLTFGGGTKEIKR
서열번호 1 6 9 : TF1413-02e030 유래의 s c F v
EVQLQQSGAELVRPGALVKLSCKASGFNIKDYMMHWVKQRPEQGLEWIGWIDPENGNTIYDPKF QGKASITADTSSNTAYLQLSSLTSEDTAVYYCAISTMITLDYWGQGTTLTVS GGGGSGGGSGG GGGS DIQMTQSPSSLAMSVGQKVTMCKSSQSLLNNSNQKNYLAWYQQKPGQSPKLLVYFASTRE SGVPDRFIGSGSGTDFLTISNVQSEDLADYFCQQHYSTPLTFGAGTKLELKR
서열번호 1 7 0 : TF1413-02e040 유래의 s c F v
EVMLVESGPELVKPGASMKISCKASGYSFTGYTMNVVKQSHGKNLEWIGLINPYNGGTSYNQN FKGKATLTVDKSSSTAYMELLSLTSEDSAVYYCARGYYGRFDYWGQGTTLTVS GGGGSGGGSG GGGS DILLTQSPKFMSTSVGDRVSITCKASQNVRTAVAWYQQKPGQSPKALIYLASNRTGVPDR FTGSGSGTDFLTISNVQSEDLADYFCLQHWNYPPLTFGAGTKLELKR

[0318]

[0319]

[표 5-2]

서열번호 1 7 1 : TF1413-03e001 유래의 s c F v
<u>QVQLKQSGPELVKPGASVKISCKASGYSGFTGYYMHWVKQSHVKSLEWIGRINPYNGATSYNQNF</u> <u>KDKASLTVDKSSSTAYMELHSLTSEDSAVYYCARNYGYFDYWQQGQTTLTVS</u> <u>GGGGSGGGGGGG</u> <u>GGS</u> <u>DIKMTQSPKFMSTSVGDRVSVTCEASQNVDDNNVVYQQKPGQSPKALIYSASYRYSGV</u> <u>PDR</u> <u>FTGSGSGTDFTLTISNVQSEDLAEYFCQQYNSYPLTFGAGTKLEIKR</u>
서열번호 1 7 2 : TF1413-03e004 유래의 s c F v
<u>QVQLKQSGAELVKPGAPVKLSCKASGYTFTSYWMNWWVKQRPGRLWIGRIDPSDSETHYNQK</u> <u>FKDKATLTVDKSSSTAYIQLSSLTSEDSAVYYCARGYYGSNYWGQQGTTLTVS</u> <u>GGGGSGGGGGGG</u> <u>GSD</u> <u>DIKMTQSPKFMSTSVGDRVSVTCKASQNVGTNVAVYQQKPGQSPKALIYSASYRYSGV</u> <u>PDRE</u> <u>TGGSGSGTDFTLTISNVQSEDLAEYFCQQYNSYPLTFGAGTKLEIKR</u>
서열번호 1 7 3 : TF1413-03e005 유래의 s c F v
<u>QVQLKESGAEVLVRSGASVVKLSCTASGFNIKDYMMHWVKQRPEQGLEWIGWIDPENGDT</u> <u>YEAPKF</u> <u>QGKATMTADTSSNTAYLQLSSLTSEDTAVYYCNAFYDYDGYAMDYWGQQGTSVTVS</u> <u>GGGGSGCG</u> <u>GGGGGGGS</u> <u>DIVVMTQTPSSLSASLGERVSLTCRASQEISGYLSWLQQKPDGTIKRLIYAAS</u> <u>TLDSG</u> <u>VPKRFTSGRSRGSDYSLTISLESEDFA</u> <u>DYYCLQYASYPLTFGAGTKLEIKR</u>
서열번호 1 7 4 : TF1413-03e015 유래의 s c F v
<u>EVQLQQSGPELVKPGASMKISCKASGYSGFTGTYTMNWWVKQSHGKNLEWIGL</u> <u>INPYNGGT</u> <u>SYNQK</u> <u>FKGKATLTVDKSSSTAYMELLSTSEDSAVYYCARGDYYPPYAMDYWGQQGTSVTVS</u> <u>GGGGSGGG</u> <u>GSGGGGS</u> <u>DIVMSQSPKFMSTSVGDRVSVTCKASQNVGTNVAVYQQKPGQSPKPLIYSASYRSG</u> <u>VPDFRTGSGSGTDFTLTISNVQSEDLAEYFCQQYNSYPLTFGAGTKLEIKR</u>
서열번호 1 7 5 : TF1413-03e034 유래의 s c F v
<u>EVQLQQSGPELEKPGASVKISCKASGYSGFTGYNMWWVKQSNGKSLEWIGNIDPYYGGT</u> <u>SYNQKF</u> <u>KGKATLTVDKSSSTAYMQLKSLTSEDSAVYYCARGNYGYYAMDYWGQQGTSVTVS</u> <u>GGGGSGGG</u> <u>GGGGGS</u> <u>DIVMSQSPKFMSTSVGDRVSITCKASQNVRTAVAVYQQKPGQSPKALIYLASNRHTGV</u> <u>PDRFTGSGSGTDFTLTISNVQSEDLADYFCLQHWNYP</u> <u>LTFGAGTKLEIKR</u>

[0320]

[0321]

표 중, 이중 사각은 링커를 나타내고, 한줄 밑줄은 V_H 를 나타내고, 두줄 밑줄은 V_L 를 나타낸다.

[0322]

표 5 의 항 GPC3 scFv 를 코드하는 뉴클레오티드 서열은, 인간 코돈에 최적화한 것을 합성하고, CAR 발현 벡터에 삽입하였다. 사용한 CAR 유전자는, scFv 의 하류에, 인간 CD8 유래 세포막 관통 영역 ; 및 인간 CD28/4-1BB/CD3zeta 유래 면역 담당 세포 활성화 시그널 전달 영역 ;으로 이루어지는 융합 웨티드 (서열 번호 185 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 웨티드) 를 코드하는 유전자와, 2A 자기 절단 서열, 인간 IL-7 유전자, 2A 자기 절단 서열, 인간 CCL19 유전자, 2A 자기 절단 서열, 및 HSV-TK 유전자를 갖고, 전체를 MSGV1 레트로바이러스 벡터에 삽입한 것이다 (국제 공개 2016/056228호 팜플릿 참조).

[0323]

[GPC3 CAR-T 세포의 제조]

[0324]

상기 11 종류의 scFv 클론에서 유래하는 GPC3 CAR 벡터를, 각각 GP2 패키징 세포에 일과성 도입하여 레트로바이러스 벡터를 제조하고, 그것들을 T 세포에 감염시켜 유전자 도입하고, GPC3 CAR-T 세포를 유도하였다. 유전자 도입 T 세포에 있어서의 GPC3 CAR 을 발현하는 세포의 비율은, 5.3 ~ 39.2 % 로 편차가 있었다. 그래서, 당해 비율이 25 % 이상을 나타내는 5 종류의 scFv 클론 (TF1413-02d028, TF1413-02d039, TF1413-02e014, TF1413-02e030, 및 TF1413-03e005) 에서 유래하는 GPC3 CAR-T 세포를 사용하여, 이하의 기능 어세이를 실시하였다.

[0325]

[GPC3 CAR-T 세포의 GPC3 발현 세포주에 대한 상해 활성]

[0326]

GPC3 CAR-T 세포의 암 세포에 대한 상해 활성을 검토하기 위해서, GPC3 CAR-T 세포와, GPC3 발현 세포주, 즉, 간세포암 유래의 세포주인 Sk-HEP-1 에, GPC3 을 발현시킨 세포주 (Sk-HEP-1 GPC3 세포주) 나, GPC3 을 발현하지 않는 세포주 (Sk-HEP-1 mock 세포주) 의 공배양 어세이를 실시하였다. GPC3 CAR-T 세포와, 표적 암 세포 (Sk-HEP-1 GPC3 세포주, 또는 Sk-HEP-1 mock 세포주) 를, 1:1 (1×10^5 /웰씩) 로 혼합하고, 24 웰 플레이트로 배양하였다. 48 시간 후에 세포를 회수하고, 항 CD45 항체로 염색하고, CD45 양성 세포를 GPC3 CAR-T 세포로서, CD45 음성 세포는, 잔존 암 세포 [Sk-HEP-1 GPC3 세포] 로서 FCM 으로 해석하였다. 그 결과, 상기 5 종류의 scFv 클론에서 유래하는 GPC3 CAR-T 세포는, 모두 Sk-HEP-1 GPC3 세포를, 거의 완전하게 상해시키는 한편, Sk-HEP-1 mock 세포에 대해서는 상해 활성을 나타내지 않았다 (도 5 및 6 참조). GPC3 CAR-T 세포에

대한 네거티브 컨트롤로서, 바이러스 백터를 감염시키지 않은 세포 (유전자 비도입 세포 [도 5 및 6 중의 「Non infection」]) 를 사용한 경우에는, Sk-HEP-1 GPC3 세포, 및 Sk-HEP-1 mock 세포 어느 것에도 상해 활성을 나타내지 않았다.

[0327] 이상의 결과로부터, 선택한 5 종류의 항 GPC3 scFv 클론 (TF1413-02d028, TF1413-02d039, TF1413-02e014, TF1413-02e030, 및 TF1413-03e005) 에서 유래하는 GPC3CAR-T 세포는, GPC3 을 발현하지만 세포 특이적으로 세포 상해 활성을 발휘하는 것이 나타났다.

[0328] [GPC3 CAR-T 세포의 GPC3 발현 세포 인식에 의한 IFN- γ 산생능]

[0329] GPC3 발현 (양성) 암 세포에 대한 상해 활성에 더하여, GPC3 CAR-T 세포의 IFN- γ 산생능에 대해 해석하였다. GPC3 CAR-T 세포와, 표적 암 세포 (Sk-HEP-1 GPC3 세포주, 또는 Sk-HEP-1 mock 세포주) 를, 1:1 (1 \times 10⁵/웰씩) 로 혼합하고, 24 웰 플레이트에서 48 시간 배양하고, 배양 상청 중에 산생되는 IFN- γ 의 농도를 ELISA 로 측정하였다. 그 결과, 상기 5 종류의 scFv 클론에서 유래하는 GPC3 CAR-T 세포는, 모두 GPC3 의 발현 의존적인 IFN- γ 의 산생능을 나타내고, 특히 클론 TF1413-02d028 에서 유래하는 GPC3 CAR-T 세포는, 가장 높은 IFN- γ 산생능을 나타내었다 (도 7 참조).

[0330] 실시예 4

[0331] 4. 인간화 항체의 제조

[0332] 실시예 1에서 조제한 2 종류의 scFv 클론 (TF1413-02d028 및 02d039) 을 베이스로, scFv 인간화 항체를 디자인하였다 (표 6 참조). 링커는, 폴리펩티드 「GGGGS」 를 3 회 반복한 15 아미노산 잔기로 이루어지는 것을 사용하였다. 또, V_H 의 N 말단에는, 서열 번호 188 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 인간 이谬노글로브린 H 사슬 유래 시그널 시퀀스를 부가하였다.

[0333]

[표 6-1]

서열번호 1 7 8 : #5 VH1-15-VL1 (TF1413-02d028 유래의 s c F v 인간화 형체 1)
<u>QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSFTGYNMNVWRQAPGQGLEWIGNIDPYGGTSYNQK</u>
<u>FKGRATLTVDTSTSTAYMELRSLSRSDDTAVYYCARGDYRAYYFDYWGQGTTVSS</u> <u>GGGGSGGG</u>
<u>GSGGGGS</u> <u>DIQMTQSPSSLASAVGDRVTITCKASQNVRTAVAWYQQKPGKAPKALIYLASNRTG</u>
<u>PSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCLQHWNYPPLTFGGGTKEIK</u>
서열번호 1 7 9 : #5 VH2-15-VL1 (TF1413-02d028 유래의 s c F v 인간화 형체 2)
<u>QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSFTGYNMNVWRQAPGQGLEWIGNIDPYGGTSYNQK</u>
<u>FKGRVTLTVDTSTSTAYMELRSLSRSDDTAVYYCARGDYRAYYFDYWGQGTTVSS</u> <u>GGGGSGGG</u>
<u>GSGGGGS</u> <u>DIQMTQSPSSLASAVGDRVTITCKASQNVRTAVAWYQQKPGKAPKALIYLASNRTG</u>
<u>PSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCLQHWNYPPLTFGGGTKEIK</u>
서열번호 1 8 0 : #5 VH3-15-VL1 (TF1413-02d028 유래의 s c F v 인간화 형체 3)
<u>QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGTYFTGYNMNVWRQAPGQGLEWIGNIDPYGGTSYNQK</u>
<u>FKGRVTLTVDTSTSTAYMELRSLSRSDDTAVYYCARGDYRAYYFDYWGQGTTVSS</u> <u>GGGGSGGG</u>
<u>GSGGGGS</u> <u>DIQMTQSPSSLASAVGDRVTITCKASQNVRTAVAWYQQKPGKAPKALIYLASNRTG</u>
<u>PSRFSGSGSGTDFTLTISSLQ PEDFATYYCLQHWNYPPLTFGGGTKEIK</u>
서열번호 1 8 1 : #6 VH1-15-VL1 (TF1413-02d039 유래의 s c F v 인간화 형체 1)
<u>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFAFSSYDMSWVRQAPGKGLEWVAYISSGGGSTYYYPDTVK</u>
<u>GRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARRGLRRAMDYWGQGTMVTVSS</u> <u>GGGGSGGGGS</u>
<u>GGGGS</u> <u>DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLVHSSGNTYLHWYLQKPGQSPQLIYKVSNRF</u>
<u>SGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCSQSTHVPPLTFGGGTKEIK</u>
서열번호 1 8 2 : #6 VH1-15-VL2 (TF1413-02d039 유래의 s c F v 인간화 형체 2)
<u>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFAFSSYDMSWVRQAPGKGLEWVAYISSGGGSTYYYPDTVK</u>
<u>GRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARRGLRRAMDYWGQGTMVTVSS</u> <u>GGGGSGGGGS</u>
<u>GGGGS</u> <u>DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLVHSSGNTYLHWYLQKPGQSPQLIYKVSNRF</u>
<u>SGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCSQSTHVPPLTFGGGTKEIK</u>
서열번호 1 8 3 : #6 VH2-15-VL1 (TF1413-02d039 유래의 s c F v 인간화 형체 3)
<u>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFAFSSYDMSWVRQAPGKRLEWVAYISSGGGSTYYYPDTVK</u>
<u>GRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARRGLRRAMDYWGQGTMVTVSS</u> <u>GGGGSGGGGS</u>
<u>GGGGS</u> <u>DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLVHSSGNTYLHWYLQKPGQSPQLIYKVSNRF</u>
<u>SGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCSQSTHVPPLTFGGGTKEIK</u>

[0334]

[0335]

[표 6-2]

서열번호 1 8 4 : #6 VH2-15-VL2 (TF1413-02d039 유래의 s c F v 인간화 형체 4)
<u>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFAFSSYDMSWVRQAPGKRLEWVAYISSGGGSTYYYPDTVK</u>
<u>GRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARRGLRRAMDYWGQGTMVTVSS</u> <u>GGGGSGGGGS</u>
<u>GGGGS</u> <u>DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLVHSSGNTYLHWYLQKPGQSPQLIYKVSNRF</u>
<u>SGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCSQSTHVPPLTFGGGTKEIK</u>

[0336]

[0337]

표 중, 이중 사각은 링커를 나타내고, 한줄 밑줄은 V_H 를 나타내고, 두줄 밑줄은 V_L 을 나타낸다.

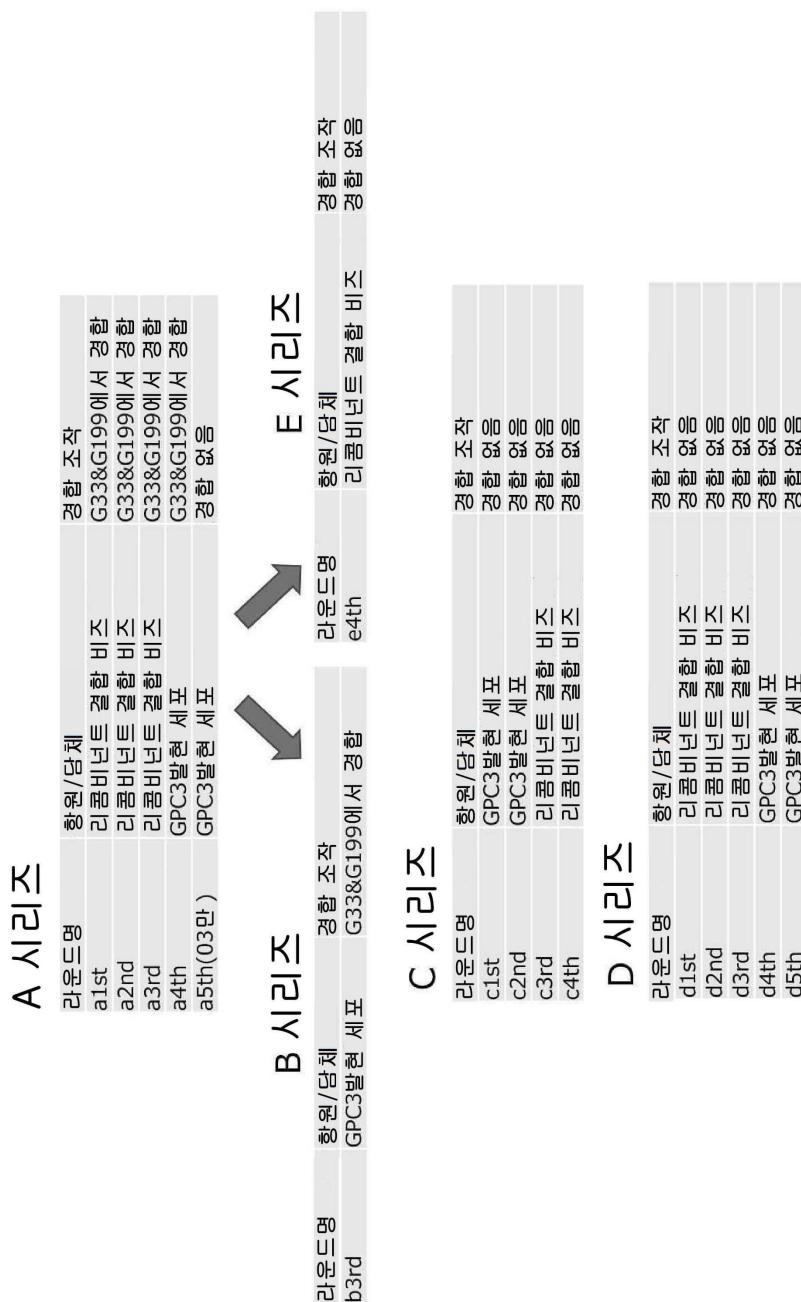
산업상 이용가능성

[0339]

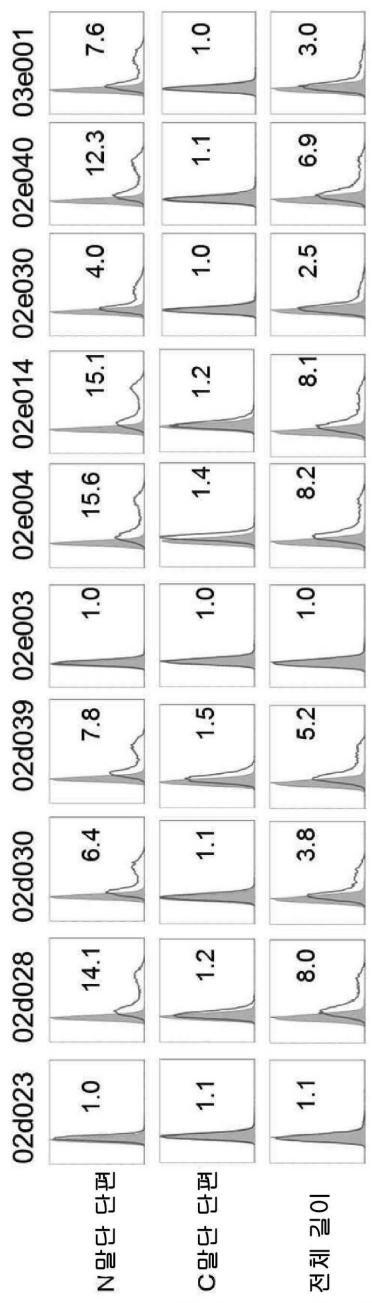
본 발명은 암 면역 요법의 분야에 이바지하는 것이다.

도면

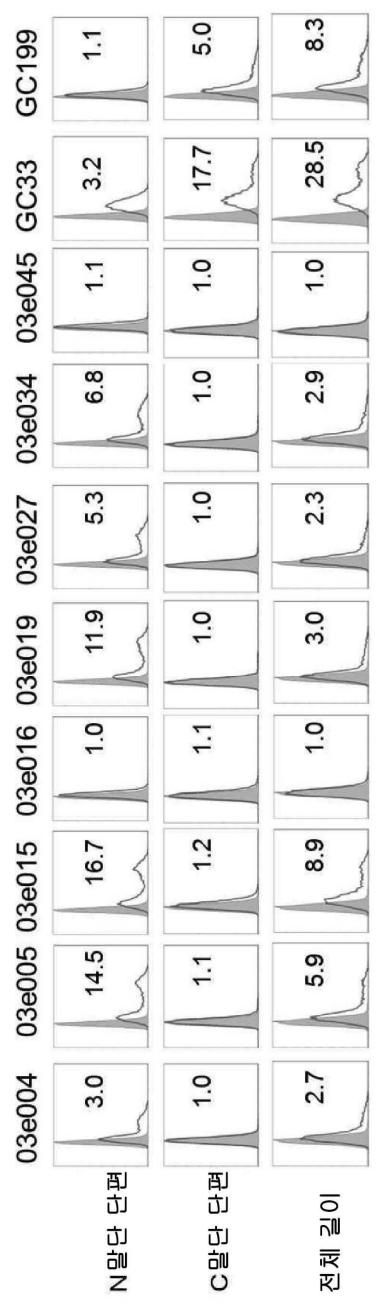
도면1



도면2

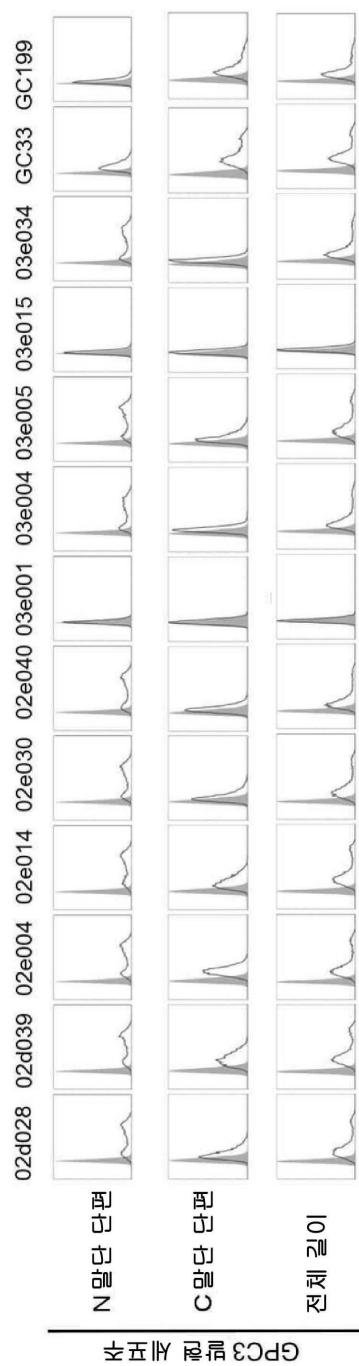


GPC3 결과 표정

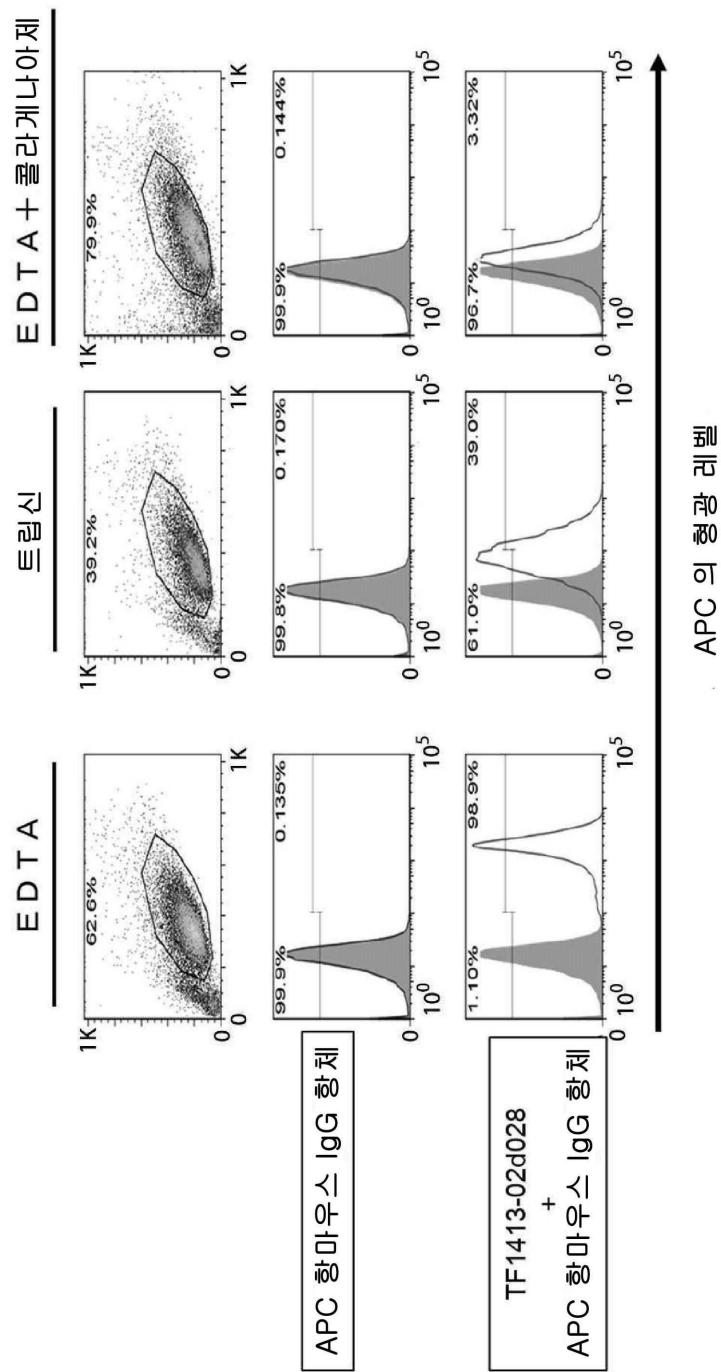


GPC3 결과 표정

도면3

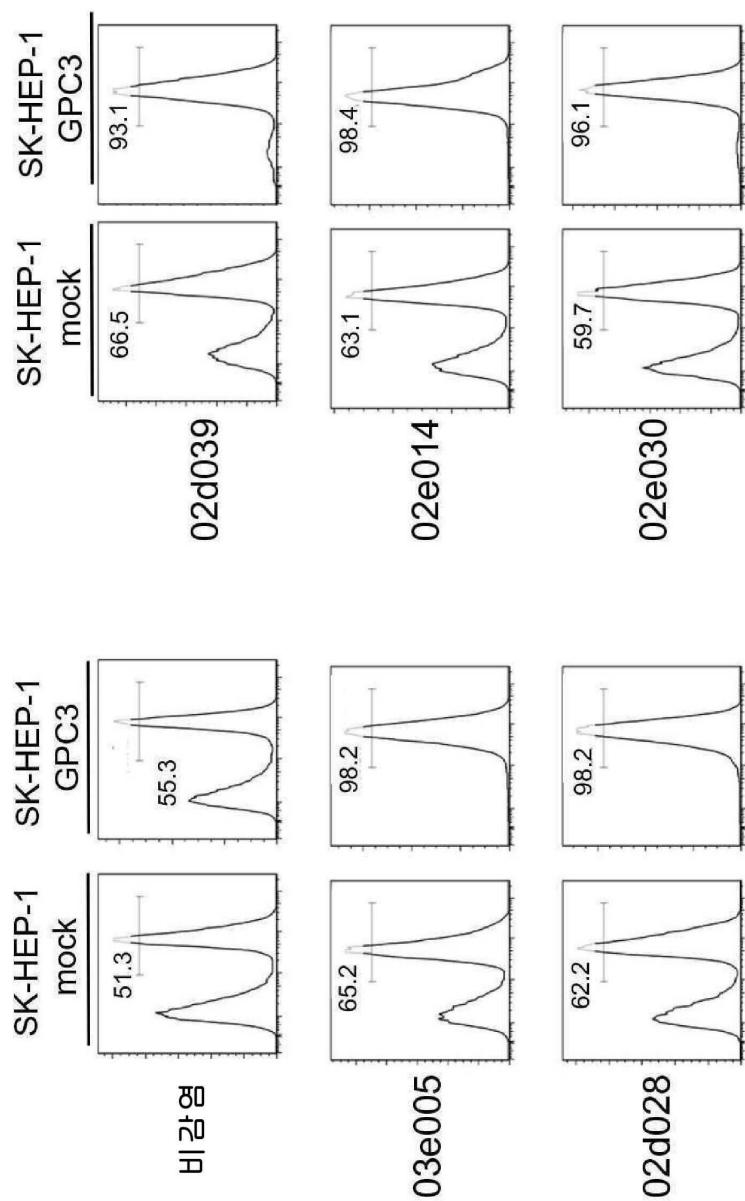


도면4

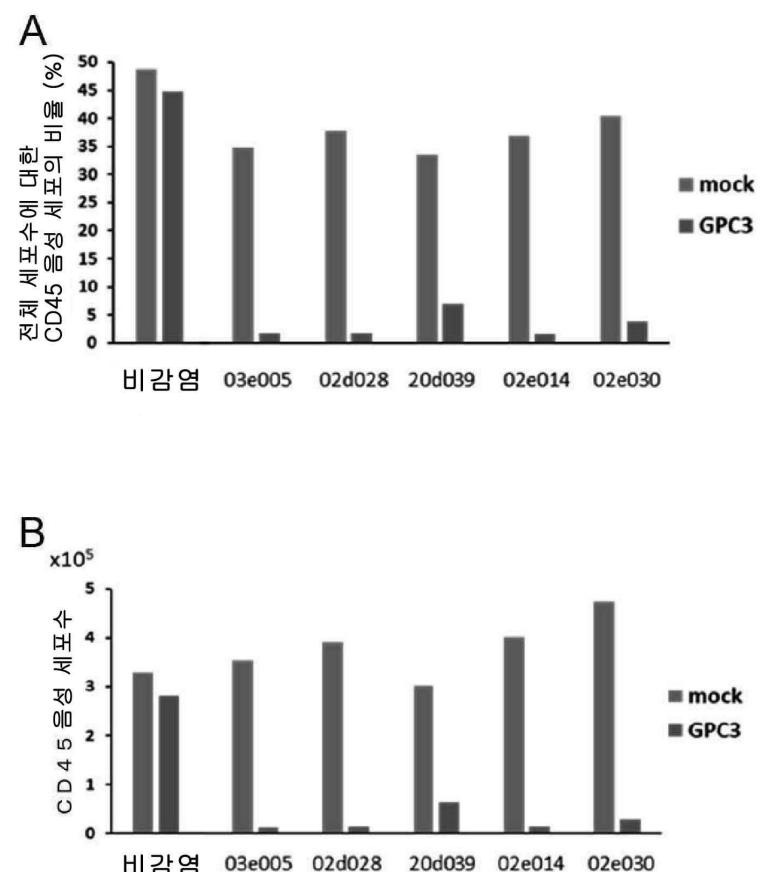


APC 의 형광 레벨

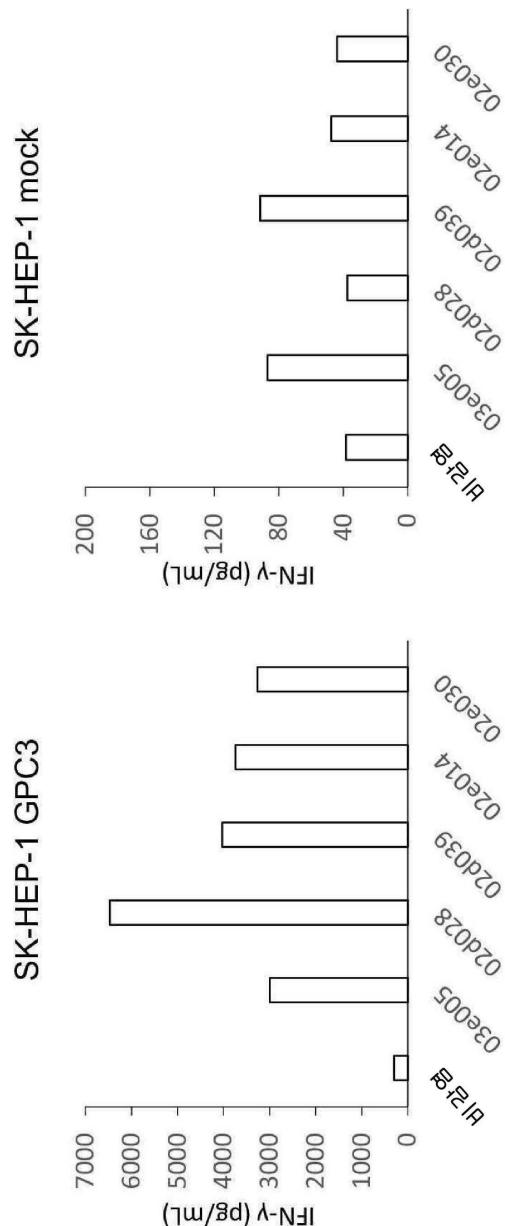
도면5



도면6



도면7



서 열 목록

SEQUENCE LISTING

<110> YAMAGUCHI UNIVERSITY
 NATIONAL CANCER CENTER
 NOILE-IMMUNE BIOTECH, INC.
<120> Anti-GPC3 antibody
<130> FH29-004TW
<150> JP 2017-1732
<151> 2017-01-10
<160> 188

<170> PatentIn version 3.1

<210> 1

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> TF1413-02d028 H Chain CDR 1

<220><221> MISC_FEATURE

<223> Inventor: TAMADA, Koji; SAKODA, Yukimi; NAKATSURA, Tetsuya; SAITO
, Keigo

<400> 1

Gly Tyr Asn Met Asn

1 5

<210> 2

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> TF1413-02d028 H Chain CDR 2

<400> 2

Asn Ile Asp Pro Tyr Tyr Gly Gly Thr Ser Tyr Asn Gln Lys Phe Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 3

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> TF1413-02d028 H Chain CDR 3

<400> 3

Gly Asp Tyr Arg Ala Tyr Tyr Phe Asp Tyr

1 5 10

<210> 4

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223>

> TF1413-02d028 L Chain CDR 1

<400> 4

Lys Ala Ser Gln Asn Val Arg Thr Ala Val Ala

1 5 10

<210> 5

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> TF1413-02d028 L Chain CDR 2

<400> 5

Leu Ala Ser Asn Arg His Thr

1 5

<210> 6

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> TF1413-02d028 L Chain CDR 3

<400> 6

Leu Gln His Trp Asn Tyr Pro Leu Thr

1 5

<210> 7

<211> 118

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> TF1413-02d028 H Chain V Region

<400> 7

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

1 5 10 15

Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Gly Tyr

20 25 30

Asn Met Asn Trp Val Lys Gln Ser Asn Gly Lys Ser Leu Glu Trp Ile

35 40 45

Gly Asn Ile Asp Pro Tyr Tyr Gly Thr Ser Tyr Asn Gln Lys Phe

50	55	60	
Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr			
65	70	75	80
Met Gln Leu Lys Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys			
85	90	95	
Ala Arg Gly Asp Tyr Arg Ala Tyr Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly			
100	105	110	
Thr Thr Leu Thr Val Ser			
115			

<210> 8

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> TF1413-02d028 L Chain V Region

<400> 8

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Lys Phe Met Ser Thr Ser Val Gly

1	5	10	15
---	---	----	----

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

20	25	30
----	----	----

Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Ala Leu Ile

35	40	45
----	----	----

Tyr Leu Ala Ser Asn Arg His Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly

50	55	60
----	----	----

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Asn Val Gln Ser

65	70	75	80
----	----	----	----

Glu Asp Leu Ala Asp Tyr Phe Cys Leu Gln His Trp Asn Tyr Pro Leu

85	90	95
----	----	----

Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys Arg

100	105
-----	-----

<210> 9

<211> 449

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> TF1413-02d028 H Chain

<400> 9

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

1 5 10 15

Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Gly Tyr

20 25 30

Asn Met Asn Trp Val Lys Gln Ser Asn Gly Lys Ser Leu Glu Trp Ile

35 40 45

Gly Asn Ile Asp Pro Tyr Tyr Gly Thr Ser Tyr Asn Gln Lys Phe

50 55 60

Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80

Met Gln Leu Lys Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Gly Asp Tyr Arg Ala Tyr Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly

100 105 110

Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser Ala Lys Thr Thr Ala Pro Ser Val Tyr

115 120 125

Pro Leu Ala Pro Val Cys Gly Asp Thr Thr Gly Ser Ser Val Thr Leu

130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Gly Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Leu Thr Trp

145 150 155 160

Asn Ser Gly Ser Leu Ser Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu

165 170 175

Gln Ser Asp Leu Tyr Thr Leu Ser Ser Ser Val Thr Val Thr Ser Ser

180 185 190

Thr Trp Pro Ser Gln Ser Ile Thr Cys Asn Val Ala His Pro Ala Ser

195 200 205

Ser Thr Lys Val Asp Lys Lys Ile Glu Pro Arg Gly Pro Thr Ile Lys

210	215	220
Pro Cys Pro Pro Cys Lys Cys Pro Ala Pro Asn Leu Leu Gly Gly Pro		
225	230	235
Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Lys Ile Lys Asp Val Leu Met Ile Ser		
245	250	255
Leu Ser Pro Ile Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Glu Asp Asp		
260	265	270
Pro Asp Val Gln Ile Ser Trp Phe Val Asn Asn Val Glu Val His Thr		
275	280	285
Ala Gln Thr Gln Thr His Arg Glu Asp Tyr Asn Ser Thr Leu Arg Val		
290	295	300
Val Ser Ala Leu Pro Ile Gln His Gln Asp Trp Met Ser Gly Lys Glu		
305	310	315
320		
Phe Lys Cys Lys Val Asn Asn Lys Asp Leu Pro Ala Pro Ile Glu Arg		
325	330	335
Thr Ile Ser Lys Pro Lys Gly Ser Val Arg Ala Pro Gln Val Tyr Val		
340	345	350
Leu Pro Pro Pro Glu Glu Met Thr Lys Lys Gln Val Thr Leu Thr		
355	360	365
Cys Met Val Thr Asp Phe Met Pro Glu Asp Ile Tyr Val Glu Trp Thr		
370	375	380
Asn Asn Gly Lys Thr Glu Leu Asn Tyr Lys Asn Thr Glu Pro Val Leu		
385	390	395
Asp Ser Asp Gly Ser Tyr Phe Met Tyr Ser Lys Leu Arg Val Glu Lys		
405	410	415
Lys Asn Trp Val Glu Arg Asn Ser Tyr Ser Cys Ser Val Val His Glu		
420	425	430
Gly Leu His Asn His His Thr Thr Lys Ser Phe Ser Arg Thr Pro Gly		
435	440	445
Lys		

<210> 10

<211> 214

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> TF1413-02d028 L Chain

<400> 10

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Lys Phe Met Ser Thr Ser Val Gly

1 5 10 15

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

20 25 30

Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Ala Leu Ile

35 40 45

Tyr Leu Ala Ser Asn Arg His Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Asn Val Gln Ser

65 70 75 80

Glu Asp Leu Ala Asp Tyr Phe Cys Leu Gln His Trp Asn Tyr Pro Leu

85 90 95

Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys Arg Ala Asp Ala Ala

100 105 110

Pro Thr Val Ser Ile Phe Pro Pro Ser Ser Glu Gln Leu Thr Ser Gly

115 120 125

Gly Ala Ser Val Val Cys Phe Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Lys Asp Ile

130 135 140

Asn Val Lys Trp Lys Ile Asp Gly Ser Glu Arg Gln Asn Gly Val Leu

145 150 155 160

Asn Ser Trp Thr Asp Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Met Ser

165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Thr Lys Asp Glu Tyr Glu Arg His Asn Ser Tyr

180 185 190

Thr Cys Glu Ala Thr His Lys Thr Ser Thr Ser Pro Ile Val Lys Ser

195 200 205

Phe Asn Arg Asn Glu Cys

210

<210> 11

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> TF1413-02d039 H Chain CDR 1

<400> 11

Ser Tyr Asp Met Ser

1 5

<210> 12

<211> 17

<212> PRT

<213>

> Artificial

<220><223> TF1413-02d039 H Chain CDR 2

<400> 12

Tyr Ile Ser Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Pro Asp Thr Val Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 13

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> TF1413-02d039 H Chain CDR 3

<400> 13

Arg Gly Leu Arg Arg Ala Met Asp Tyr

1 5

<210> 14

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> TF1413-02d039 L Chain CDR 1

<400> 14

Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu His

1 5 10 15

<210> 15

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> TF1413-02d039 L Chain CDR 2

<400> 15

Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser

1 5

<210> 16

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> TF1413-02d039 L Chain CDR 3

<400> 16

Ser Gln Ser Thr His Val Pro Leu Thr

1 5

<210> 17

<211> 117

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> TF1413-02d039 H Chain V Region

<400> 17

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

1 5 10 15

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ala Phe Ser Ser Tyr

20 25 30

Asp Met Ser Trp Val Arg Gln Thr Pro Glu Lys Arg Leu Glu Trp Val

35 40 45

Ala Tyr Ile Ser Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Pro Asp Thr Val

50	55	60	
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu Tyr			
65	70	75	80
Leu Gln Met Ser Ser Leu Lys Ser Glu Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys			
85	90	95	
Ala Arg Arg Gly Leu Arg Arg Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr			
100	105	110	
Ser Val Thr Val Ser			
115			

<210>

> 18

<211> 113

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> TF1413-02d039 L Chain V Region

<400> 18

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

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

<210> 19

<211> 448

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> TF1413-02d039 H Chain

<400> 19

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

1 5 10 15

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ala Phe Ser Ser Tyr

20 25 30

Asp Met Ser Trp Val Arg Gln Thr Pro Glu Lys Arg Leu Glu Trp Val

35 40 45

Ala Tyr Ile Ser Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Pro Asp Thr Val

50 55 60

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

65 70 75 80

Leu Gln Met Ser Ser Leu Lys Ser Glu Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Arg Gly Leu Arg Arg Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr

100 105 110

Ser Val Thr Val Ser Ser Ala Lys Thr Thr Ala Pro Ser Val Tyr Pro

115 120 125

Leu Ala Pro Val Cys Gly Asp Thr Thr Gly Ser Ser Val Thr Leu Gly

130 135 140

Cys Leu Val Lys Gly Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Leu Thr Trp Asn

145 150 155 160

Ser Gly Ser Leu Ser Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln

165 170 175

Ser Asp Leu Tyr Thr Leu Ser Ser Val Thr Val Thr Ser Ser Thr

180 185 190

Trp Pro Ser Gln Ser Ile Thr Cys Asn Val Ala His Pro Ala Ser Ser

195 200 205

Thr Lys Val Asp Lys Lys Ile Glu Pro Arg Gly Pro Thr Ile Lys Pro

210	215	220	
Cys Pro Pro Cys Lys Cys Pro Ala Pro Asn Leu Leu Gly Gly Pro Ser			
225	230	235	240
Val Phe Ile Phe Pro Pro Lys Ile Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Leu			
245	250	255	
Ser Pro Ile Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Glu Asp Asp Pro			
260	265	270	
Asp Val Gln Ile Ser Trp Phe Val Asn Asn Val Glu Val His Thr Ala			
275	280	285	
Gln Thr Gln Thr His Arg Glu Asp Tyr Asn Ser Thr Leu Arg Val Val			
290	295	300	
Ser Ala Leu Pro Ile Gln His Gln Asp Trp Met Ser Gly Glu Phe			
305	310	315	320
Lys Cys Lys Val Asn Asn Lys Asp Leu Pro Ala Pro Ile Glu Arg Thr			
325	330	335	
Ile Ser Lys Pro Lys Gly Ser Val Arg Ala Pro Gln Val Tyr Val Leu			
340	345	350	
Pro Pro Pro Glu Glu Glu Met Thr Lys Lys Gln Val Thr Leu Thr Cys			
355	360	365	
Met Val Thr Asp Phe Met Pro Glu Asp Ile Tyr Val Glu Trp Thr Asn			
370	375	380	
Asn Gly Lys Thr Glu Leu Asn Tyr Lys Asn Thr Glu Pro Val Leu Asp			
385	390	395	400
Ser Asp Gly Ser Tyr Phe Met Tyr Ser Lys Leu Arg Val Glu Lys Lys			
405	410	415	
Asn Trp Val Glu Arg Asn Ser Tyr Ser Cys Ser Val Val His Glu Gly			
420	425	430	
Leu His Asn His His Thr Thr Lys Ser Phe Ser Arg Thr Pro Gly Lys			
435	440	445	
<210> 20			
<211> 219			

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> TF1413-02d039 L Chain

<400> 20

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

1 5 10 15

Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser

20 25 30

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

35 40 45

Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro

50 55 60

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

65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Phe Cys Ser Gln Ser

85 90 95

Thr His Val Pro Leu Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys

100 105 110

Arg Ala Asp Ala Ala Pro Thr Val Ser Ile Phe Pro Pro Ser Ser Glu

115 120 125

Gln Leu Thr Ser Gly Gly Ala Ser Val Val Cys Phe Leu Asn Asn Phe

130 135 140

Tyr Pro Lys Asp Ile Asn Val Lys Trp Lys Ile Asp Gly Ser Glu Arg

145 150 155 160

Gln Asn Gly Val Leu Asn Ser Trp Thr Asp Gln Asp Ser Lys Asp Ser

165 170 175

Thr Tyr Ser Met Ser Ser Thr Leu Thr Leu Thr Lys Asp Glu Tyr Glu

180 185 190

Arg His Asn Ser Tyr Thr Cys Glu Ala Thr His Lys Thr Ser Thr Ser

195 200 205

Pro Ile Val Lys Ser Phe Asn Arg Asn Glu Cys

210 215

<210> 21

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> TF1413-02e004 H Chain CDR 1

<400> 21

Ser Tyr Trp Met Asn

1 5

<210> 22

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> TF1413-02e004 H Chain CDR 2

<400> 22

Arg Ile Asp Pro Ser Asp Ser Glu Thr His Tyr Asn Gln Lys Phe Lys

1 5 10 15

Asp

<210> 23

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> TF1413-02e004 H Chain CDR 3

<400> 23

Gly Tyr Tyr Ala Met Asp Tyr

1 5

<210> 24

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> TF1413-02e004 L Chain CDR 1

<400> 24

Lys Ala Ser Gln Asp Val Ser Thr Ala Val Ala

1 5 10

<210> 25

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> TF1413-02e004 L Chain CDR 2

<400> 25

Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Thr

1 5

<210> 26

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> TF1413-02e004 L Chain CDR 3

<400> 26

Gln Gln His Tyr Ser Thr Pro Thr

1 5

<210> 27

<211> 115

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> TF1413-02e004 H Chain V Region

<400> 27

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

1 5 10 15

Pro Val Lys Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr

20 25 30

Trp Met Asn Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Arg Gly Leu Glu Trp Ile

35 40 45

Gly Arg Ile Asp Pro Ser Asp Ser Glu Thr His Tyr Asn Gln Lys Phe

50 55 60

Lys Asp Glu Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Gly Tyr Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val

100 105 110

Thr Val Ser

115

<210> 28

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> TF1413-02e004 L Chain V Region

<400> 28

Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Lys Phe Met Ser Thr Ser Val Gly

1 5 10 15

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

20 25 30

Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser Ser Val Gln Ala

65 70 75 80

Glu Asp Leu Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln His Tyr Ser Thr Pro Thr

85 90 95

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg

100 105

<210> 29

<211> 446

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> TF1413-02e004 H Chain

<400> 29

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

 Lys Asp Glu Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Ile Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Gly Tyr Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val
 100 105 110
 Thr Val Ser Ser Ala Lys Thr Thr Ala Pro Ser Val Tyr Pro Leu Ala
 115 120 125

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

 Ser Gln Ser Ile Thr Cys Asn Val Ala His Pro Ala Ser Ser Thr Lys
 195 200 205
 Val Asp Lys Lys Ile Glu Pro Arg Gly Pro Thr Ile Lys Pro Cys Pro
 210 215 220
 Pro Cys Lys Cys Pro Ala Pro Asn Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe
 225 230 235 240
 Ile Phe Pro Pro Lys Ile Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Leu Ser Pro

245 250 255

Ile Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Glu Asp Asp Pro Asp Val

260 265 270

Gln Ile Ser Trp Phe Val Asn Asn Val Glu Val His Thr Ala Gln Thr

275 280 285

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

290 295 300

Leu Pro Ile Gln His Gln Asp Trp Met Ser Gly Glu Phe Lys Cys

305 310 315 320

Lys Val Asn Asn Lys Asp Leu Pro Ala Pro Ile Glu Arg Thr Ile Ser

325 330 335

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

340 345 350

Pro Glu Glu Glu Met Thr Lys Lys Gln Val Thr Leu Thr Cys Met Val

355 360 365

Thr Asp Phe Met Pro Glu Asp Ile Tyr Val Glu Trp Thr Asn Asn Gly

370 375 380

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

385 390 395 400

Gly Ser Tyr Phe Met Tyr Ser Lys Leu Arg Val Glu Lys Lys Asn Trp

405 410 415

Val Glu Arg Asn Ser Tyr Ser Cys Ser Val Val His Glu Gly Leu His

420 425 430

Asn His His Thr Thr Lys Ser Phe Ser Arg Thr Pro Gly Lys

435 440 445

<210> 30

<211> 213

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> TF1413-02e004 L Chain

<400> 30

Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Lys Phe Met Ser Thr Ser Val Gly

1 5 10 15

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

20 25 30

Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser Ser Val Gln Ala

65 70 75 80

Glu Asp Leu Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln His Tyr Ser Thr Pro Thr

85 90 95

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Ala Asp Ala Ala Pro

100 105 110

Thr Val Ser Ile Phe Pro Pro Ser Ser Glu Gln Leu Thr Ser Gly Gly

115 120 125

Ala Ser Val Val Cys Phe Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Lys Asp Ile Asn

130 135 140

Val Lys Trp Lys Ile Asp Gly Ser Glu Arg Gln Asn Gly Val Leu Asn

145 150 155 160

Ser Trp Thr Asp Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Met Ser Ser

165 170 175

Thr Leu Thr Leu Thr Lys Asp Glu Tyr Glu Arg His Asn Ser Tyr Thr

180 185 190

Cys Glu Ala Thr His Lys Thr Ser Thr Ser Pro Ile Val Lys Ser Phe

195 200 205

Asn Arg Asn Glu Cys

210

<210> 31

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> TF1413-02e014 H Chain CDR 1

<400> 31

Asp Tyr Tyr Met His

1 5

<210> 32

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> TF1413-02e014 H Chain CDR 2

<400> 32

Trp Ile Asp Pro Glu Asn Gly Asp Thr Glu Tyr Ala Pro Lys Phe Gln

1 5 10 15

Gly

<210> 33

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> TF1413-02e014 H Chain CDR 3

<400> 33

Tyr Tyr Asp Tyr Asp Gly Tyr Ala Met Asp Tyr

1 5 10

<210> 34

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> TF1413-02e014 L Chain CDR 1

<400> 34

Lys Ala Ser Gln Asp Val Gly Thr Ala Val Ala

1 5 10

<210> 35

<211> 7

<212>

> PRT

<213> Artificial

<220><223> TF1413-02e014 L Chain CDR 2

<400> 35

Trp Ala Ser Thr Arg His Thr

1 5

<210> 36

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> TF1413-02e014 L Chain CDR 3

<400> 36

Gln Gln Tyr Ser Ser Tyr Pro Leu Thr

1 5

<210> 37

<211> 120

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> TF1413-02e014 H Chain V Region

<400> 37

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

1 5 10 15

Ser Val Lys Leu Ser Cys Thr Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Tyr

20 25 30

Tyr Met His Trp Val Lys Gln Arg Pro Glu Gln Gly Leu Glu Trp Ile

35 40 45

Gly Trp Ile Asp Pro Glu Asn Gly Asp Thr Glu Tyr Ala Pro Lys Phe

50 55 60

Gln Gly Lys Ala Thr Met Thr Ala Asp Thr Ser Ser Asn Thr Ala Tyr

65 70 75 80

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

85 90 95

Asn Ala Gly Tyr Tyr Asp Tyr Asp Gly Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly

100 105 110

Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser

115 120

<210> 38

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> TF1413-02e014 L Chain V Region

<400> 38

Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Lys Phe Met Ser Thr Ser Val Gly

1 5 10 15

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

20 25 30

Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

Tyr Trp Ala Ser Thr Arg His Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Asn Val Gln Ser

65 70 75 80

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

85 90 95

Thr Phe Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg

100 105

<210> 39

<211> 451

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> TF1413-02e014 H Chain

<400> 39

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

1 5 10 15

Ser Val Lys Leu Ser Cys Thr Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Tyr

20 25 30

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

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

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

 Ala Ser Ser Thr Lys Val Asp Lys Lys Ile Glu Pro Arg Gly Pro Thr
 210 215 220
 Ile Lys Pro Cys Pro Pro Cys Lys Cys Pro Ala Pro Asn Leu Leu Gly
 225 230 235 240
 Gly Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Lys Ile Lys Asp Val Leu Met
 245 250 255
 Ile Ser Leu Ser Pro Ile Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Glu
 260 265 270

 Asp Asp Pro Asp Val Gln Ile Ser Trp Phe Val Asn Asn Val Glu Val

275

280

285

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

290

295

300

Arg Val Val Ser Ala Leu Pro Ile Gln His Gln Asp Trp Met Ser Gly

305

310

315

320

Lys Glu Phe Lys Cys Lys Val Asn Asn Lys Asp Leu Pro Ala Pro Ile

325

330

335

Glu Arg Thr Ile Ser Lys Pro Lys Gly Ser Val Arg Ala Pro Gln Val

340

345

350

Tyr Val Leu Pro Pro Glu Glu Glu Met Thr Lys Lys Gln Val Thr

355

360

365

Leu Thr Cys Met Val Thr Asp Phe Met Pro Glu Asp Ile Tyr Val Glu

370

375

380

Trp Thr Asn Asn Gly Lys Thr Glu Leu Asn Tyr Lys Asn Thr Glu Pro

385

390

395

400

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

405

410

415

Glu Lys Lys Asn Trp Val Glu Arg Asn Ser Tyr Ser Cys Ser Val Val

420

425

430

His Glu Gly Leu His Asn His His Thr Thr Lys Ser Phe Ser Arg Thr

435

440

445

Pro Gly Lys

450

<210> 40

<211> 214

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> TF1413-02e014 L Chain

<400> 40

Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Lys Phe Met Ser Thr Ser Val Gly

1

5

10

15

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

20	25	30	
Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile			
35	40	45	
Tyr Trp Ala Ser Thr Arg His Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly			
50	55	60	
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Asn Val Gln Ser			
65	70	75	80
Glu Asp Leu Ala Asp Tyr Phe Cys Gln Gln Tyr Ser Ser Tyr Pro Leu			
85	90	95	
Thr Phe Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Ala Asp Ala Ala			
100	105	110	
Pro Thr Val Ser Ile Phe Pro Pro Ser Ser Glu Gln Leu Thr Ser Gly			
115	120	125	
Gly Ala Ser Val Val Cys Phe Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Lys Asp Ile			
130	135	140	
Asn Val Lys Trp Lys Ile Asp Gly Ser Glu Arg Gln Asn Gly Val Leu			
145	150	155	160
Asn Ser Trp Thr Asp Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Met Ser			
165	170	175	
Ser Thr Leu Thr Leu Thr Lys Asp Glu Tyr Glu Arg His Asn Ser Tyr			
180	185	190	
Thr Cys Glu Ala Thr His Lys Thr Ser Thr Ser Pro Ile Val Lys Ser			
195	200	205	
Phe Asn Arg Asn Glu Cys			
210			
<210> 41			
<211> 5			
<212> PRT			
<213> Artificial			
<220><223> TF1413-02e030 H Chain CDR 1			
<400> 41			
Asp Tyr Tyr Met His			

1 5
 <210> 42
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Artificial
 <220><223> TF1413-02e030 H Chain CDR 2
 <400> 42
 Trp Ile Asp Pro Glu Asn Gly Asn Thr Ile Tyr Asp Pro Lys Phe Gln

1 5 10 15
 Gly

<210> 43
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Artificial
 <220><223> TF1413-02e030 H Chain CDR 3
 <400> 43
 Thr Met Ile Thr Thr Leu Asp Tyr

1 5

<210> 44
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Artificial
 <220><223> TF1413-02e030 L Chain CDR 1

<400> 44

Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser Ser Asn Gln Lys Asn Tyr Leu

1 5 10 15
 Ala

<210> 45
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220><223> TF1413-02e030 L Chain CDR 2

<400> 45

Phe Ala Ser Thr Arg Glu Ser

1 5

<210> 46

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> TF1413-02e030 L Chain CDR 3

<400> 46

Gln Gln His Tyr Ser Thr Pro Leu Thr

1 5

<210> 47

<211> 117

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> TF1413-02e030 H Chain V Region

<400> 47

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

1 5 10 15

Leu Val Lys Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Tyr

20 25 30

Tyr Met His Trp Val Lys Gln Arg Pro Glu Gln Gly Leu Glu Trp Ile

35 40 45

Gly Trp Ile Asp Pro Glu Asn Gly Asn Thr Ile Tyr Asp Pro Lys Phe

50 55 60

Gln Gly Lys Ala Ser Ile Thr Ala Asp Thr Ser Ser Asn Thr Ala Tyr

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Ile Ser Thr Met Ile Thr Thr Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr

100 105 110

Thr Leu Thr Val Ser

115

<210> 48

<211> 114

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> TF1413-02e030 L Chain V Region

<400> 48

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

1 5 10 15

Gln Lys Val Thr Met Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser
20 25 30

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

35 40 45

Ser Pro Lys Leu Leu Val Tyr Phe Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
50 55 60

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

65 70 75 80

Ile Ser Ser Val Gln Ala Glu Asp Leu Ala Asp Tyr Phe Cys Gln Gln
85 90 95His Tyr Ser Thr Pro Leu Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu
100 105 110

Lys Arg

<210> 49

<211> 448

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> TF1413-02e030 H Chain

<400> 49

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

1 5 10 15

Leu Val Lys Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Tyr

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

Asp Val Gln Ile Ser Trp Phe Val Asn Asn Val Glu Val His Thr Ala
 275 280 285

Gln Thr Gln Thr His Arg Glu Asp Tyr Asn Ser Thr Leu Arg Val Val
 290 295 300

Ser Ala Leu Pro Ile Gln His Gln Asp Trp Met Ser Gly Lys Glu Phe
 305 310 315 320
 Lys Cys Lys Val Asn Asn Lys Asp Leu Pro Ala Pro Ile Glu Arg Thr

325 330 335
 Ile Ser Lys Pro Lys Gly Ser Val Arg Ala Pro Gln Val Tyr Val Leu
 340 345 350

Pro Pro Pro Glu Glu Glu Met Thr Lys Lys Gln Val Thr Leu Thr Cys
 355 360 365

Met Val Thr Asp Phe Met Pro Glu Asp Ile Tyr Val Glu Trp Thr Asn
 370 375 380
 Asn Gly Lys Thr Glu Leu Asn Tyr Lys Asn Thr Glu Pro Val Leu Asp

385 390 395 400
 Ser Asp Gly Ser Tyr Phe Met Tyr Ser Lys Leu Arg Val Glu Lys Lys
 405 410 415

Asn Trp Val Glu Arg Asn Ser Tyr Ser Cys Ser Val Val His Glu Gly
 420 425 430

Leu His Asn His His Thr Thr Lys Ser Phe Ser Arg Thr Pro Gly Lys
 435 440 445

<210> 50

<211> 220

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> TF1413-02e030 L Chain

<400> 50

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

Gln Lys Val Thr Met Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser
 20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

His Tyr Ser Thr Pro Leu Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu

100 105 110

Lys Arg Ala Asp Ala Ala Pro Thr Val Ser Ile Phe Pro Pro Ser Ser

115 120 125

Glu Gln Leu Thr Ser Gly Gly Ala Ser Val Val Cys Phe Leu Asn Asn

130 135 140

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

145 150 155 160

Arg Gln Asn Gly Val Leu Asn Ser Trp Thr Asp Gln Asp Ser Lys Asp

165 170 175

Ser Thr Tyr Ser Met Ser Ser Thr Leu Thr Leu Thr Lys Asp Glu Tyr

180 185 190

Glu Arg His Asn Ser Tyr Thr Cys Glu Ala Thr His Lys Thr Ser Thr

195 200 205

Ser Pro Ile Val Lys Ser Phe Asn Arg Asn Glu Cys

210 215 220

<210> 51

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> TF1413-02e040 H Chain CDR 1

<400> 51

Gly Tyr Thr Met Asn

1 5

<210> 52

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial

<

<220><223> TF1413-02e040 H Chain CDR 2

<400> 52

Leu Ile Asn Pro Tyr Asn Gly Gly Thr Ser Tyr Asn Gln Asn Phe Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 53

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> TF1413-02e040 H Chain CDR 3

<400> 53

Gly Tyr Tyr Gly Arg Phe Asp Tyr

1 5

<210> 54

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> TF1413-02e040 L Chain CDR 1

<400> 54

Lys Ala Ser Gln Asn Val Arg Thr Ala Val Ala

1 5 10

<210> 55

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> TF1413-02e040 L Chain CDR 2

<400> 55

Leu Ala Ser Asn Arg His Thr

1 5

<210> 56

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> TF1413-02e040 L Chain CDR 3

<400> 56

Leu Gln His Trp Asn Tyr Pro Leu Thr

1 5

<210> 57

<211> 116

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> TF1413-02e040 H Chain V Region

<400>

57

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

1 5 10 15

Ser Met Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Gly Tyr

20 25 30

Thr Met Asn Trp Val Lys Gln Ser His Gly Lys Asn Leu Glu Trp Ile

35 40 45

Gly Leu Ile Asn Pro Tyr Asn Gly Gly Thr Ser Tyr Asn Gln Asn Phe

50 55 60

Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80

Met Glu Leu Leu Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Gly Tyr Tyr Gly Arg Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr

100 105 110

Leu Thr Val Ser

115

<210> 58

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> TF1413-02e040 L Chain V Region

<400> 58

Asp Ile Leu Leu Thr Gln Ser Pro Lys Phe Met Ser Thr Ser Val Gly

1 5 10 15

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

20 25 30

Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Ala Leu Ile

35 40 45

Tyr Leu Ala Ser Asn Arg His Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Asn Val Gln Ser

65 70 75 80

Glu Asp Leu Ala Asp Tyr Phe Cys Leu Gln His Trp Asn Tyr Pro Leu

85 90 95

Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys Arg

100 105

<210> 59

<211> 447

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> TF1413-02e040 H Chain

<400> 59

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

1 5 10 15

Ser Met Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Gly Tyr

20 25 30

Thr Met Asn Trp Val Lys Gln Ser His Gly Lys Asn Leu Glu Trp Ile

35 40 45

Gly Leu Ile Asn Pro Tyr Asn Gly Gly Thr Ser Tyr Asn Gln Asn Phe

50 55 60

Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80

Met Glu Leu Leu Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Gly Tyr Tyr Gly Arg Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr

100 105 110

Leu Thr Val Ser Ser Ala Lys Thr Thr Ala Pro Ser Val Tyr Pro Leu

115 120 125

Ala Pro Val Cys Gly Asp Thr Thr Gly Ser Ser Val Thr Leu Gly Cys

130 135 140

Leu Val Lys Gly Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Leu Thr Trp Asn Ser

145 150 155 160

Gly Ser Leu Ser Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser

165 170 175

Asp Leu Tyr Thr Leu Ser Ser Val Thr Val Thr Ser Ser Thr Trp

180 185 190

Pro Ser Gln Ser Ile Thr Cys Asn Val Ala His Pro Ala Ser Ser Thr

195 200 205

Lys Val Asp Lys Lys Ile Glu Pro Arg Gly Pro Thr Ile Lys Pro Cys

210 215 220

Pro Pro Cys Lys Cys Pro Ala Pro Asn Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val

225 230 235 240

Phe Ile Phe Pro Pro Lys Ile Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Leu Ser

245 250 255

Pro Ile Val Thr Cys Val Val Asp Val Ser Glu Asp Asp Pro Asp

260 265 270

Val Gln Ile Ser Trp Phe Val Asn Asn Val Glu Val His Thr Ala Gln

275 280 285

Thr Gln Thr His Arg Glu Asp Tyr Asn Ser Thr Leu Arg Val Val Ser

290 295 300

Ala Leu Pro Ile Gln His Gln Asp Trp Met Ser Gly Lys Glu Phe Lys

305 310 315 320

Cys Lys Val Asn Asn Lys Asp Leu Pro Ala Pro Ile Glu Arg Thr Ile

325 330 335

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

340 345 350

Pro Pro Glu Glu Met Thr Lys Lys Gln Val Thr Leu Thr Cys Met

355 360 365

Val Thr Asp Phe Met Pro Glu Asp Ile Tyr Val Glu Trp Thr Asn Asn

370 375 380

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

385 390 395 400

Asp Gly Ser Tyr Phe Met Tyr Ser Lys Leu Arg Val Glu Lys Lys Asn

405 410 415

Trp Val Glu Arg Asn Ser Tyr Ser Cys Ser Val Val His Glu Gly Leu

420 425 430

His Asn His His Thr Thr Lys Ser Phe Ser Arg Thr Pro Gly Lys

435 440 445

<210> 60

<211> 214

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> TF1413-02e040 L Chain

<400> 60

Asp Ile Leu Leu Thr Gln Ser Pro Lys Phe Met Ser Thr Ser Val Gly

1 5 10 15

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

20 25 30

Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Ala Leu Ile

35 40 45

Tyr Leu Ala Ser Asn Arg His Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly

50 55 60

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

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

 180 185 190
 Thr Cys Glu Ala Thr His Lys Thr Ser Thr Ser Pro Ile Val Lys Ser
 195 200 205
 Phe Asn Arg Asn Glu Cys
 210
 <210> 61
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Artificial
 <220><223> TF1413-03e001 H Chain CDR 1
 <400> 61
 Gly Tyr Tyr Met His
 1 5
 <210> 62
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Artificial
 <220><223> TF1413-03e001 H Chain CDR 2

<400> 62

Arg Ile Asn Pro Tyr Asn Gly Ala Thr Ser Tyr Asn Gln Asn Phe Lys

1 5 10 15

Asp

<210> 63

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> TF1413-03e001 H Chain CDR 3

<400> 63

Asn Tyr Gly Tyr Phe Asp Tyr

1 5

<210> 64

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> TF1413-03e001 L Chain CDR 1

<400> 64

Glu Ala Ser Gln Asn Val Asp Asn Asn Val Val

1 5 10

<210> 65

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> TF1413-03e001 L Chain CDR 2

<400> 65

Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Ser

1 5

<210> 66

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> TF1413-03e001 L Chain CDR 3

<400> 66

Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Leu Thr

1 5

<210> 67

<211> 115

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> TF1413-03e001 H Chain V Region

<400> 67

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

1 5 10 15

Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Gly Tyr

20 25 30

Tyr Met His Trp Val Lys Gln Ser His Val Lys Ser Leu Glu Trp Ile

35 40 45

Gly Arg Ile Asn Pro Tyr Asn Gly Ala Thr Ser Tyr Asn Gln Asn Phe

50 55 60

Lys Asp Lys Ala Ser Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80

Met Glu Leu His Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

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

100 105 110

Thr Val Ser

115

<210> 68

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> TF1413-03e001 L Chain V Region

<400> 68

Asp Ile Lys Met Thr Gln Ser Pro Lys Phe Met Ser Thr Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Ser Val Thr Cys Glu Ala Ser Gln Asn Val Asp Asn Asn

20 25 30

Val Val Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Ala Leu Ile

35 40 45

Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Asn Val Gln Ser

65 70 75 80

Glu Asp Leu Ala Glu Tyr Phe Cys Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Leu

85 90 95

Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg

100 105

<210> 69

<211> 446

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> TF1413-03e001 H Chain

<400> 69

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

1 5 10 15

Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Gly Tyr

20 25 30

Tyr Met His Trp Val Lys Gln Ser His Val Lys Ser Leu Glu Trp Ile

35 40 45

Gly Arg Ile Asn Pro Tyr Asn Gly Ala Thr Ser Tyr Asn Gln Asn Phe

50 55 60

Lys Asp Lys Ala Ser Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80

Met Glu Leu His Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys

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

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

340 345 350

Pro Glu Glu Glu Met Thr Lys Lys Gln Val Thr Leu Thr Cys Met Val

355 360 365

Thr Asp Phe Met Pro Glu Asp Ile Tyr Val Glu Trp Thr Asn Asn Gly

370 375 380

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

385 390 395 400

Gly Ser Tyr Phe Met Tyr Ser Lys Leu Arg Val Glu Lys Lys Asn Trp

405 410 415

Val Glu Arg Asn Ser Tyr Ser Cys Ser Val Val His Glu Gly Leu His

420 425 430

Asn His His Thr Thr Lys Ser Phe Ser Arg Thr Pro Gly Lys

435 440 445

<210> 70

<211> 214

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> TF1413-03e001 L Chain

<400> 70

Asp Ile Lys Met Thr Gln Ser Pro Lys Phe Met Ser Thr Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Ser Val Thr Cys Glu Ala Ser Gln Asn Val Asp Asn Asn

20 25 30

Val Val Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Ala Leu Ile

35 40 45

Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Asn Val Gln Ser

65 70 75 80

Glu Asp Leu Ala Glu Tyr Phe Cys Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Leu

85 90 95

Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Ala Asp Ala Ala
 100 105 110
 Pro Thr Val Ser Ile Phe Pro Pro Ser Ser Glu Gln Leu Thr Ser Gly
 115 120 125
 Gly Ala Ser Val Val Cys Phe Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Lys Asp Ile
 130 135 140
 Asn Val Lys Trp Lys Ile Asp Gly Ser Glu Arg Gln Asn Gly Val Leu
 145 150 155 160
 Asn Ser Trp Thr Asp Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Met Ser
 165 170 175
 Ser Thr Leu Thr Leu Thr Lys Asp Glu Tyr Glu Arg His Asn Ser Tyr
 180 185 190
 Thr Cys Glu Ala Thr His Lys Thr Ser Thr Ser Pro Ile Val Lys Ser
 195 200 205
 Phe Asn Arg Asn Glu Cys
 210
 <210> 71
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Artificial
 <220><223> TF1413-03e004 H Chain CDR 1
 <400> 71
 Ser Tyr Trp Met Asn
 1 5
 <210> 72
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Artificial
 <220><223> TF1413-03e004 H Chain CDR 2
 <400> 72
 Arg Ile Asp Pro Ser Asp Ser Glu Thr His Tyr Asn Gln Lys Phe Lys
 1 5 10 15

Asp

<210> 73

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> TF1413-03e004 H Chain CDR 3

<400> 73

Gly Tyr Tyr Gly Ser Asn Tyr

1 5

<210> 74

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> TF1413-03e004 L Chain CDR 1

<400> 74

Lys Ala Ser Gln Asn Val Gly Thr Asn Val Ala

1 5 10

<210> 75

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> TF1413-03e004 L Chain CDR 2

<400> 75

Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Ser

1 5

<210> 76

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> TF1413-03e004 L Chain CDR 3

<400> 76

Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Leu Thr

1 5

<210> 77

<211> 115

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> TF1413-03e004 H Chain V Region

<400> 77

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

1 5 10 15

Pro Val Lys Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr

20 25 30

Trp Met Asn Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Arg Gly Leu Glu Trp Ile

35 40 45

Gly Arg Ile Asp Pro Ser Asp Ser Glu Thr His Tyr Asn Gln Lys Phe

50 55 60

Lys Asp Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Gly Tyr Tyr Gly Ser Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu

100 105 110

Thr Val Ser

115

<210> 78

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> TF1413-03e004 L Chain V Region

<400> 78

Asp Ile Lys Met Thr Gln Ser Pro Lys Phe Met Ser Thr Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Ser Val Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asn Val Gly Thr Asn

20 25 30

Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Ala Leu Ile

35 40 45

Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Asn Val Gln Ser

65 70 75 80

Glu Asp Leu Ala Glu Tyr Phe Cys Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Leu

85 90 95

Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys Arg

100 105

<210> 79

<211> 403

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> TF1413-03e004 H Chain

<400> 79

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

1 5 10 15

Pro Val Lys Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr

20 25 30

Trp Met Asn Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Arg Gly Leu Glu Trp Ile

35 40 45

Gly Arg Ile Asp Pro Ser Asp Ser Glu Thr His Tyr Asn Gln Lys Phe

50 55 60

Lys Asp Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Gly Tyr Tyr Gly Ser Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu

100 105 110

Thr Val Ser Ser Ala Lys Thr Thr Ala Pro Ser Val Tyr Pro Leu Ala

115 120 125

Pro Val Cys Gly Asp Thr Thr Gly Ser Ser Val Thr Leu Gly Cys Leu

130 135 140

Val Lys Gly Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Leu Thr Trp Asn Ser Gly

145 150 155 160

Ser Leu Ser Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Asp

165 170 175

Leu Tyr Thr Leu Ser Ser Ser Val Thr Val Thr Ser Ser Thr Trp Pro

180 185 190

Ser Gln Ser Ile Thr Cys Asn Val Ala His Pro Ala Ser Ser Thr Lys

195 200 205

Val Asp Lys Lys Ile Glu Pro Arg Gly Pro Thr Ile Lys Pro Cys Pro

210 215 220

Pro Cys Lys Cys Pro Ala Pro Asn Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe

225 230 235 240

Ile Phe Pro Pro Lys Ile Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Leu Ser Pro

245 250 255

Ile Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Glu Asp Asp Pro Asp Val

260 265 270

Gln Ile Ser Trp Phe Val Asn Asn Val Glu Val His Thr Ala Gln Thr

275 280 285

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

290 295 300

Leu Pro Ile Gln His Gln Asp Trp Met Ser Gly Lys Glu Phe Lys Cys

305 310 315 320

Lys Val Asn Asn Lys Asp Leu Pro Ala Pro Ile Glu Arg Thr Ile Ser

325 330 335

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

340 345 350

Pro Glu Glu Glu Met Thr Lys Lys Gln Val Thr Leu Thr Cys Met Val

355 360 365

Thr Asp Phe Met Pro Glu Asp Ile Tyr Val Glu Trp Thr Asn Asn Gly

370	375	380	
Lys Thr Glu Leu Asn Tyr Lys Asn Thr Glu Pro Val Leu Asp Ser Asp			
385	390	395	400
Gly Ser Tyr			

<210> 80			
<211> 214			
<212> PRT			
<213> Artificial			
<220><223> TF1413-03e004 L Chain			

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

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Asn Val Gln Ser			
65	70	75	80
Glu Asp Leu Ala Glu Tyr Phe Cys Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Leu			
85	90	95	
Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys Arg Ala Asp Ala Ala			
100	105	110	
Pro Thr Val Ser Ile Phe Pro Pro Ser Ser Glu Gln Leu Thr Ser Gly			
115	120	125	

Gly Ala Ser Val Val Cys Phe Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Lys Asp Ile			
130	135	140	
Asn Val Lys Trp Lys Ile Asp Gly Ser Glu Arg Gln Asn Gly Val Leu			
145	150	155	160
Asn Ser Trp Thr Asp Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Met Ser			

165	170	175
Ser Thr Leu Thr Leu Thr Lys Asp Glu Tyr Glu Arg His Asn Ser Tyr		
180	185	190

Thr Cys Glu Ala Thr His Lys Thr Ser Thr Ser Pro Ile Val Lys Ser		
195	200	205
Phe Asn Arg Asn Glu Cys		

210		
<210> 81		
<211> 5		
<212> PRT		
<213> Artificial		

<220><223> TF1413-03e005 H Chain CDR 1

<400> 81		
Asp Tyr Tyr Met His		

1	5	
---	---	--

<210> 82		
<211> 17		
<212> PRT		
<213> Artificial		

<220><223> TF1413-03e005 H Chain CDR 2

<400> 82		
----------	--	--

Trp Ile Asp Pro Glu Asn Gly Asp Thr Glu Tyr Ala Pro Lys Phe Gln

1	5	10	15
---	---	----	----

Gly

<210> 83		
<211> 11		
<212> PRT		
<213> Artificial		

<220><223> TF1413-03e005 H Chain CDR 3

<400> 83		
----------	--	--

Tyr Tyr Asp Tyr Asp Gly Tyr Ala Met Asp Tyr

1	5	10
---	---	----

<210> 84

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> TF1413-03e005 L Chain CDR 1

<400> 84

Arg Ala Ser Gln Glu Ile Ser Gly Tyr Leu Ser

1 5 10

<210> 85

<211> 7

<212>

> PRT

<213> Artificial

<220><223> TF1413-03e005 L Chain CDR 2

<400> 85

Ala Ala Ser Thr Leu Asp Ser

1 5

<210> 86

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> TF1413-03e005 L Chain CDR 3

<400> 86

Leu Gln Tyr Ala Ser Tyr Pro Leu Thr

1 5

<210> 87

<211> 120

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> TF1413-03e005 H Chain V Region

<400> 87

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

1 5 10 15

Ser Val Lys Leu Ser Cys Thr Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Tyr

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

Leu Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys		
85	90	95
Asn Ala Phe Tyr Tyr Asp Tyr Asp Gly Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly		
100	105	110

Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser

115	120
-----	-----

<210> 88

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> TF1413-03e005 L Chain V Region

<400> 88

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

1	5	10	15
Glu Arg Val Ser Leu Thr Cys Arg Ala Ser Gln Glu Ile Ser Gly Tyr			
20	25	30	

Leu Ser Trp Leu Gln Gln Lys Pro Asp Gly Thr Ile Lys Arg Leu Ile		
35	40	45

Tyr Ala Ala Ser Thr Leu Asp Ser Gly Val Pro Lys Arg Phe Ser Gly		
50	55	60

Ser Arg Ser Gly Ser Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Ser		
65	70	75
		80

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

Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys Arg		
---	--	--

100 105
 <210> 89
 <211> 451
 <212> PRT
 <213> Artificial
 <220><223> TF1413-03e005 H Chain
 <400> 89
 Gln Val Gln Leu Lys Glu Ser Gly Ala Glu Leu Val Arg Ser Gly Ala
 1 5 10 15

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

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

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

195 200 205

Ala Ser Ser Thr Lys Val Asp Lys Lys Ile Glu Pro Arg Gly Pro Thr

210 215 220

Ile Lys Pro Cys Pro Pro Cys Lys Cys Pro Ala Pro Asn Leu Leu Gly

225 230 235 240

Gly Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Lys Ile Lys Asp Val Leu Met

245 250 255

Ile Ser Leu Ser Pro Ile Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Glu

260 265 270

Asp Asp Pro Asp Val Gln Ile Ser Trp Phe Val Asn Asn Val Glu Val

275 280 285

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

290 295 300

Arg Val Val Ser Ala Leu Pro Ile Gln His Gln Asp Trp Met Ser Gly

305 310 315 320

Lys Glu Phe Lys Cys Lys Val Asn Asn Lys Asp Leu Pro Ala Pro Ile

325 330 335

Glu Arg Thr Ile Ser Lys Pro Lys Gly Ser Val Arg Ala Pro Gln Val

340 345 350

Tyr Val Leu Pro Pro Glu Glu Glu Met Thr Lys Lys Gln Val Thr

355 360 365

Leu Thr Cys Met Val Thr Asp Phe Met Pro Glu Asp Ile Tyr Val Glu

370 375 380

Trp Thr Asn Asn Gly Lys Thr Glu Leu Asn Tyr Lys Asn Thr Glu Pro

385 390 395 400

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

405 410 415

Glu Lys Lys Asn Trp Val Glu Arg Asn Ser Tyr Ser Cys Ser Val Val

420 425 430

His Glu Gly Leu His Asn His His Thr Thr Lys Ser Phe Ser Arg Thr

435 440 445

Pro Gly Lys

450

<210> 90

<211> 214

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> TF1413-03e005 L Chain

<400> 90

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

1 5 10 15

Glu Arg Val Ser Leu Thr Cys Arg Ala Ser Gln Glu Ile Ser Gly Tyr

20 25 30

Leu Ser Trp Leu Gln Gln Lys Pro Asp Gly Thr Ile Lys Arg Leu Ile

35 40 45

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

50 55 60

Ser Arg Ser Gly Ser Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Ser

65 70 75 80

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

85 90 95

Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys Arg Ala Asp Ala Ala

100 105 110

Pro Thr Val Ser Ile Phe Pro Pro Ser Ser Glu Gln Leu Thr Ser Gly

115 120 125

Gly Ala Ser Val Val Cys Phe Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Lys Asp Ile

130 135 140

Asn Val Lys Trp Lys Ile Asp Gly Ser Glu Arg Gln Asn Gly Val Leu

145 150 155 160

Asn Ser Trp Thr Asp Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Met Ser

165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Thr Lys Asp Glu Tyr Glu Arg His Asn Ser Tyr

180 185 190

Thr Cys Glu Ala Thr His Lys Thr Ser Thr Ser Pro Ile Val Lys Ser

195 200 205

Phe Asn Arg Asn Glu Cys

210

<210> 91

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> TF1413-03e015 H Chain CDR 1

<400> 91

Gly Tyr Thr Met Asn

1 5

<210> 92

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> TF1413-03e015 H Chain CDR 2

<400> 92

Leu Ile Asn Pro Tyr Asn Gly Gly Thr Ser Tyr Asn Gln Lys Phe Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 93

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> TF1413-03e015 H Chain CDR 3

<400> 93

Gly Asp Tyr Tyr Pro Pro Tyr Ala Met Asp Tyr

1 5 10

<210> 94

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> TF1413-03e015 L Chain CDR 1

<400> 94

Lys Ala Ser Gln Asn Val Gly Thr Asn Val Ala

1 5 10

<210> 95

<211> 7

<212>

> PRT

<213> Artificial

<220><223> TF1413-03e015 L Chain CDR 2

<400> 95

Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Ser

1 5

<210> 96

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> TF1413-03e015 L Chain CDR 3

<400> 96

Gln Gln Tyr Asn Arg Tyr Pro Leu Thr

1 5

<210> 97

<211> 119

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> TF1413-03e015 H Chain V Region

<400> 97

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

1 5 10 15

Ser Met Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Gly Tyr

20 25 30

Thr Met Asn Trp Val Lys Gln Ser His Gly Lys Asn Leu Glu Trp Ile

35 40 45

Gly Leu Ile Asn Pro Tyr Asn Gly Gly Thr Ser Tyr Asn Gln Lys Phe

50 55 60

Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80

Met Glu Leu Leu Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Gly Asp Tyr Tyr Pro Pro Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln

100 105 110

Gly Thr Ser Val Thr Val Ser

115

<210> 98

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> TF1413-03e015 L Chain V Region

<400> 98

Asp Ile Val Met Ser Gln Ser Pro Lys Phe Met Ser Thr Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Ser Val Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asn Val Gly Thr Asn

20 25 30

Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Pro Leu Ile

35 40 45

Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Asn Val Gln Ser

65 70 75 80

Glu Asp Leu Ala Glu Tyr Phe Cys Gln Gln Tyr Asn Arg Tyr Pro Leu

85 90 95

Thr Phe Gly Val Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg

100 105

<210> 99

<211> 450

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> TF1413-03e015 H Chain

<400> 99

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

1 5 10 15

Ser Met Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Gly Tyr

20 25 30

Thr Met Asn Trp Val Lys Gln Ser His Gly Lys Asn Leu Glu Trp Ile

35 40 45

Gly Leu Ile Asn Pro Tyr Asn Gly Gly Thr Ser Tyr Asn Gln Lys Phe

50 55 60

Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80

Met Glu Leu Leu Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Gly Asp Tyr Tyr Pro Pro Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln

100 105 110

Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser Ala Lys Thr Thr Ala Pro Ser Val

115 120 125

Tyr Pro Leu Ala Pro Val Cys Gly Asp Thr Thr Gly Ser Ser Val Thr

130 135 140

Leu Gly Cys Leu Val Lys Gly Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Leu Thr

145 150 155 160

Trp Asn Ser Gly Ser Leu Ser Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val

165 170 175

Leu Gln Ser Asp Leu Tyr Thr Leu Ser Ser Ser Val Thr Val Thr Ser

180 185 190

Ser Thr Trp Pro Ser Gln Ser Ile Thr Cys Asn Val Ala His Pro Ala

195 200 205

Ser Ser Thr Lys Val Asp Lys Lys Ile Glu Pro Arg Gly Pro Thr Ile

210 215 220

Lys Pro Cys Pro Pro Cys Lys Cys Pro Ala Pro Asn Leu Leu Gly Gly

225 230 235 240

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Lys Ile Lys Asp Val Leu Met Ile

245 250 255

Ser Leu Ser Pro Ile Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Glu Asp

260 265 270

Asp Pro Asp Val Gln Ile Ser Trp Phe Val Asn Asn Val Glu Val His

275 280 285

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

290 295 300

Val Val Ser Ala Leu Pro Ile Gln His Gln Asp Trp Met Ser Gly Lys

305 310 315 320

Glu Phe Lys Cys Lys Val Asn Asn Lys Asp Leu Pro Ala Pro Ile Glu

325 330 335

Arg Thr Ile Ser Lys Pro Lys Gly Ser Val Arg Ala Pro Gln Val Tyr

340 345 350

Val Leu Pro Pro Pro Glu Glu Glu Met Thr Lys Lys Gln Val Thr Leu

355 360 365

Thr Cys Met Val Thr Asp Phe Met Pro Glu Asp Ile Tyr Val Glu Trp

370 375 380

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

385 390 395 400

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Tyr Phe Met Tyr Ser Lys Leu Arg Val Glu

405 410 415

Lys Lys Asn Trp Val Glu Arg Asn Ser Tyr Ser Cys Ser Val Val His

420 425 430

Glu Gly Leu His Asn His His Thr Thr Lys Ser Phe Ser Arg Thr Pro

435 440 445

Gly Lys

450

<210> 100

<211> 214

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> TF1413-03e015 L Chain

<400> 100

Asp Ile Val Met Ser Gln Ser Pro Lys Phe Met Ser Thr Ser Val Gly

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

Thr Cys Glu Ala Thr His Lys Thr Ser Thr Ser Pro Ile Val Lys Ser

195

200

205

Phe Asn Arg Asn Glu Cys

210

<210> 101

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> TF1413-03e034 H Chain CDR 1

<400> 101

Gly Tyr Asn Met Asn

1 5

<210> 102

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> TF1413-03e034 H Chain CDR 2

<400> 102

Asn Ile Asp Pro Tyr Tyr Gly Gly Thr Ser Tyr Asn Gln Lys Phe Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 103

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> TF1413-03e034 H Chain CDR 3

<400> 103

Gly Asn Tyr Gly Tyr Tyr Ala Met Asp Tyr

1 5 10

<210> 104

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> TF1413-03e034 L Chain CDR 1

<400> 104

Lys Ala Ser Gln Asn Val Arg Thr Ala Val Ala

1 5 10

<210> 105

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> TF1413-03e034 L Chain CDR 2

<400> 105

Leu Ala Ser Asn Arg His Thr

1 5

<210> 106

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> TF1413-03e034 L Chain CDR 3

<400> 106

Leu Gln His Trp Asn Tyr Pro Leu Thr

1 5

<210> 107

<211> 118

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> TF1413-03e034 H Chain V Region

<400> 107

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

1 5 10 15

Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Gly Tyr

20 25 30

Asn Met Asn Trp Val Lys Gln Ser Asn Gly Lys Ser Leu Glu Trp Ile

35 40 45

Gly Asn Ile Asp Pro Tyr Tyr Gly Thr Ser Tyr Asn Gln Lys Phe
 50 55 60

Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80

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

Ala Arg Gly Asn Tyr Gly Tyr Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
 100 105 110

Thr Ser Val Thr Val Ser

115

<210> 108

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> TF1413-03e034 L Chain V Region

<400> 108

Asp Ile Val Met Ser Gln Ser Pro Lys Phe Met Ser Thr Ser Val Gly
 1 5 10 15

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

Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Ala Leu Ile
 35 40 45

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

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

Glu Asp Leu Ala Asp Tyr Phe Cys Leu Gln His Trp Asn Tyr Pro Leu
 85 90 95

Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys Arg
 100 105

<210> 109

<211> 449

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> TF1413-03e034 H Chain

<400> 109

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

1 5 10 15

Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Gly Tyr

20 25 30

Asn Met Asn Trp Val Lys Gln Ser Asn Gly Lys Ser Leu Glu Trp Ile

35 40 45

Gly Asn Ile Asp Pro Tyr Tyr Gly Gly Thr Ser Tyr Asn Gln Lys Phe

50 55 60

Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80

Met Gln Leu Lys Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Gly Asn Tyr Gly Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly

100 105 110

Thr Ser Val Thr Val Ser Ser Ala Lys Thr Thr Ala Pro Ser Val Tyr

115 120 125

Pro Leu Ala Pro Val Cys Gly Asp Thr Thr Gly Ser Ser Val Thr Leu

130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Gly Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Leu Thr Trp

145 150 155 160

Asn Ser Gly Ser Leu Ser Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu

165 170 175

Gln Ser Asp Leu Tyr Thr Leu Ser Ser Ser Val Thr Val Thr Ser Ser

180 185 190

Thr Trp Pro Ser Gln Ser Ile Thr Cys Asn Val Ala His Pro Ala Ser

195 200 205

Ser Thr Lys Val Asp Lys Lys Ile Glu Pro Arg Gly Pro Thr Ile Lys

210	215	220
Pro Cys Pro Pro Cys Lys Cys Pro Ala Pro Asn Leu Leu Gly Gly Pro		
225	230	235
Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Lys Ile Lys Asp Val Leu Met Ile Ser		
245	250	255
Leu Ser Pro Ile Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Glu Asp Asp		
260	265	270
Pro Asp Val Gln Ile Ser Trp Phe Val Asn Asn Val Glu Val His Thr		
275	280	285
Ala Gln Thr Gln Thr His Arg Glu Asp Tyr Asn Ser Thr Leu Arg Val		
290	295	300
Val Ser Ala Leu Pro Ile Gln His Gln Asp Trp Met Ser Gly Lys Glu		
305	310	315
Phe Lys Cys Lys Val Asn Asn Lys Asp Leu Pro Ala Pro Ile Glu Arg		
325	330	335
Thr Ile Ser Lys Pro Lys Gly Ser Val Arg Ala Pro Gln Val Tyr Val		
340	345	350
Leu Pro Pro Pro Glu Glu Glu Met Thr Lys Lys Gln Val Thr Leu Thr		
355	360	365
Cys Met Val Thr Asp Phe Met Pro Glu Asp Ile Tyr Val Glu Trp Thr		
370	375	380
Asn Asn Gly Lys Thr Glu Leu Asn Tyr Lys Asn Thr Glu Pro Val Leu		
385	390	395
Asp Ser Asp Gly Ser Tyr Phe Met Tyr Ser Lys Leu Arg Val Glu Lys		
405	410	415
Lys Asn Trp Val Glu Arg Asn Ser Tyr Ser Cys Ser Val Val His Glu		
420	425	430
Gly Leu His Asn His His Thr Thr Lys Ser Phe Ser Arg Thr Pro Gly		
435	440	445
Lys		

<210> 110

<211> 214

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> TF1413-03e034 L Chain

<400> 110

Asp Ile Val Met Ser Gln Ser Pro Lys Phe Met Ser Thr Ser Val Gly

1 5 10 15

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

20 25 30

Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Ala Leu Ile

35 40 45

Tyr Leu Ala Ser Asn Arg His Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Asn Val Gln Ser

65 70 75 80

Glu Asp Leu Ala Asp Tyr Phe Cys Leu Gln His Trp Asn Tyr Pro Leu

85 90 95

Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys Arg Ala Asp Ala Ala

100 105 110

Pro Thr Val Ser Ile Phe Pro Pro Ser Ser Glu Gln Leu Thr Ser Gly

115 120 125

Gly Ala Ser Val Val Cys Phe Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Lys Asp Ile

130 135 140

Asn Val Lys Trp Lys Ile Asp Gly Ser Glu Arg Gln Asn Gly Val Leu

145 150 155 160

Asn Ser Trp Thr Asp Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Met Ser

165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Thr Lys Asp Glu Tyr Glu Arg His Asn Ser Tyr

180 185 190

Thr Cys Glu Ala Thr His Lys Thr Ser Thr Ser Pro Ile Val Lys Ser

195 200 205

Phe Asn Arg Asn Glu Cys

210

<210> 111

<211> 354

<212> DNA

<213> Artificial

<220><223> TF1413-02d028 H Chain V Region Gene

<400> 111

caggtgcagc tgaaggagtc aggacctgag ctggagaagc ctgggtctc agtgaagata	60
tcctgcaagg ctctggta ctcatcact ggctacaaca tgaactgggt gaaggcagagc	120
aatggaaaga gccttgagtg gattggaaat attgatcctt actatggtg tactagctac	180
aaccagaagt tcaagggcaa ggccacattg actgttagaca aatcctccag cacagctac	240

atgcagctca agaggctgac atctgaggac tctgcagtc attactgtgc aagaggagac	300
tatagggcgt actacttga ctactgggc caaggcacca ctctcacagt ctgc	354

<210> 112

<211> 324

<212> DNA

<213> Artificial

<220><223> TF1413-02d028 L Chain V Region Gene

<400> 112

gacattcaga tgaccaggc tccaaaattc atgtccacat cagtaggaga cagggtcagc	60
atcacctgca aggccagtca gaatgttcgt actgctgtag cctggtatca acagaaacca	120
ggcagtcctc ctaaagcact gatttacttg gcatccaacc ggcacactgg agtccctgat	180
cgcttcacag gcagtggatc tggacagat ttcactctca ccattagcaa tgtgaatct	240

gaagacctgg cagattattt ctgtctgcaa cattggatt atcctctcac gttcggtgct	300
gggaccaagc tggagctgaa acgg	324

<210> 113

<211> 1347

<212> DNA

<213> Artificial

<220><223> TF1413-02d028 H Chain Gene

<400> 113

caggtgcagc tgaaggagtc aggacctgag ctggagaagc ctgggtctc agtgaagata	60
--	----

tcctgcaagg cttctggta ctcattcact ggctacaaca tgaactgggt gaagcagagc 120
aatggaaaga gccttgagtg gattggaaat attgatcctt actatggtgg tactagctac 180
aaccagaagt tcaagggcaa ggccacattg actgttagaca aatcctccag cacagcctac 240

atgcagctca agagcctgac atctgaggac tctgcagtct attactgtgc aagaggagac	300
tatagggcgt actacttga ctactgggc caaggcacca ctctcacagt ctcgagcgcc	360
aaaacaacag ccccatcggt ctatccactg gccctgtgt gtggagatac aactggctcc	420
tcggtgactc taggatgcct ggtcaagggt tatttccctg agccagtgac cttagccctgg	480
aactctggat ccctgtccag tggtgtgcac accttcccag ctgtcctgca gtctgaccc	540
tacaccctca gcagctcagt gactgttaacc tcgagcacct ggcccagccca gtccatcacc	600
tgcaatgtgg cccacccggc aagcagcacc aaggtggaca agaaaattga gccccgggaa	660

cccacaaatca	agccctgtcc	tccatgaaa	tgcccagcac	ctaaccttt	gggtggacca	720
tccgtttca	tctccctcc	aaagatcaag	gatgtactca	tgatctccct	gagccccata	780
gtcacatgt	tggtggtgg	tgtgagcgag	gatgacccag	atgtccagat	cagctggtt	840
gtgaacaacg	tggaagtaca	cacagctcg	acacaaaccc	atagagagga	ttacaacagt	900
actctccgg	tggtcagtgc	cctccccatc	cagcaccagg	actggatgag	tggcaaggag	960
ttcaaatgca	aggtcaacaa	caaagacctc	ccagcgccca	tcgagagaac	catctcaaaa	1020
cccaaagggt	cagtaagagc	tccacaggta	tatgtttgc	ctccaccaga	agaagagatg	1080

actaagaac	aggtaact	ctgacactgcatg	gtcacagact	tcatgcctga	agacattac	1140
gtggagtgga	ccaacaacgg	gaaaacagag	ctaaactaca	agaacactga	accagtcctg	1200
gactctgatg	gttcttactt	catgtacagc	aagctgagag	tggaaaagaa	gaactgggtg	1260
gaaagaaata	gctactcc	ttcagtggtc	cacgagggtc	tgcacaatca	ccacacgact	1320
aagagcttct	cccgga	ctcc	gggt	aaaa		1347

<210> 114

<211> 642

<212> DNA

<213> Artificial

<220><223> TF1413-02d028 H Chain Gene

<400> 114

gacat t caga

ggcagtc ctaaagca gatttacttg gcatccaacc ggcacactgg agtccctgat 180

cgcttcacag gcagtggatc tggacagat ttcactctca ccattagcaa tgtgaatct 240
 gaagacctgg cagattattt ctgtctgaa cattggatt atcctctcac gttcggtgct 300
 gggaccaagc tggagctgaa acgggctgat gctgcaccaa ctgtatccat cttccacca 360
 tccagtgagc agttaacatc tggaggtgcc tcagtcgtgt gcttcttcaa caacttctac 420
 cccaaagaca tcaatgtcaa gtgaaagatt gatggcagt aacgacaaaa tggcgtcctg 480

aacagttgga ctgatcagga cagcaaagac agcacataca gcatgagcag caccctcagc 540
 ttgaccaagg acgagtatga acgacataac agctataacct gtgaggccac tcacaagaca 600
 tcaacttcac ccattgtcaa gagcttcaac aggaatgagt gt 642

<210> 115

<211> 351

<212> DNA

<213> Artificial

<220><223> TF1413-02d039 H Chain V Region Gene

<400> 115

gaagtgaagc tggggagtc tgggggaggc ttagtgaagc ctggagggtc cctgaaactc 60
 tcctgtgcag cctctggatt cgctttcagt agctatgaca tgtctgggt tcgcccagact 120
 ccggagaaga ggctggagtg ggtcgcatac attagtagtg gtgggtgttag cacctactat 180

ccagacactg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca atgccaagaa caccctgtac 240
 ctgcaaatga gcagtctgaa gtctgaggac acagccatgt attactgtgc aagaagagga 300
 ttacgacgag ctagggacta ctggggtcaa ggaacctcag tcaccgtctc g 351

<210> 116

<211> 339

<212> DNA

<213> Artificial

<220><223> TF1413-02d039 L Chain V Region Gene

<400> 116

gatgttgtga tgacccaaac tccactctcc ctgcctgtca gtctggaga tcaaggctcc 60
 atctcttgca gatctagtca gaggcttgta cacagtaatg gaaacaccta tttacattgg 120
 tacctgcaga agccaggcca gtctccaaag ctcctgatct acaaagttc caaccgattt 180

tctgggtcc cagacaggtt cagttggcagt ggatcaggaa cagatttcac actcaagatc 240
 agcagagtgg aggctgagga tctggagtt tatttctgct ctcaaagtac acatgttccg 300
 ctcacgttcg gtgtggac caagctggag ctgaaacgg 339

<210> 117

<211> 1344

<212> DNA

<213> Artificial

<220><223> TF1413-02d039 H Chain Gene

<400> 117

gaagtgaagc tggtgagtc tgggggaggc ttagtgaagc ctggagggtc cctgaaactc	60
tcctgtcag cctctggatt cgcttcagt agctatgaca tgtctgggt tcgcagact	120
ccggagaaga ggctggagtg ggtcgatac attagtagtg gtggtgtag cacctactat	180

ccagacactg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca atgccaagaa caccctgtac	240
ctgcaaatga gcagtctgaa gtctgaggac acagecatgt attactgtgc aagaagagga	300
ttacgacgag ctatggacta ctggggtcaa ggaacctcg tcaccgtctc gagcgccaaa	360
acaacagccc catcggtcta tccactggcc cctgtgttg gagatacaac tggctctcg	420
gtgactctag gatgcctggt caagggttat ttccctgagc cagtgacctt gacctggaac	480
tctggatccc tgtccagtgg tgtgcacacc ttccctgagc tcctgcagtc tgacctctac	540
accctcagca gtcagtgac tgtaacctcg agcacctggc ccagccagtc catcacctgc	600

aatgtggccc acccggaag cagcaccaag gtggacaaga aaattgagcc ccggggaccc	660
acaatcaagc cctgtcctcc atgcaaatgc ccagcaccta acctcttggg tggaccatcc	720
gtcttcatct tccctccaaa gatcaaggat gtactcatga tctccctgag ccccatagtc	780
acatgtgtgg tggtgatgt gagcgaggat gacccagatg tccagatcg ctggtttg	840
aacaacgtgg aagtacacac agctcagaca caaaccata gagaggatta caacagtact	900
ctccgggtgg tcaactgcct ccccatccag caccaggact ggatgagtgg caaggagttc	960
aaatgcaagg tcaacaacaa agacctccca ggcgcacatcg agagaaccat ctcaaaaccc	1020

aaagggtcag taagagctcc acaggtataat gtctgcctc caccagaaga agagatgact	1080
aagaaacagg tcactctgac ctgcatggtc acagacttca tgcctgaaga catttacgt	1140
gagtggacca acaacggaa aacagagcta aactacaaga acactgaacc agtccctggac	1200
tctgatggtt cttaacttcat gtacagcaag ctgagagttt aaaagaagaa ctgggtggaa	1260
agaaatagct actcctgttc agtggtccac gagggtctgc acaatcacca cacgactaag	1320
agcttctccc ggactccggg taaa	1344

<210> 118

<211> 657

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

><223> TF1413-02d039 L Chain Gene

<400> 118

gatgttgtga	tgacccaaac	tccactctcc	ctgcctgtca	gtcttgaga	tcaagcctcc	60
atctttgca	gatctagtca	gaggcctgtta	cacagtaatg	gaaacaccta	tttacattgg	120
tacctgcaga	agccaggcca	gtctccaaag	ctcctgatct	acaaagtttc	caaccgattt	180
tctgggtcc	cagacagggtt	cagtggcagt	ggatcaggga	cagatttcac	actcaagatc	240
agcagagtgg	aggctgagga	tctgggagtt	tatttctgct	ctcaaagtac	acatgttccg	300
ctcacgttcg	gtgctggac	caagctggag	ctgaaacggg	ctgatgtgc	accaactgta	360
tccatttcc	caccatccag	tgagcagttt	acatctggag	gtgcctcagt	cgtgtgttc	420

ttgaacaact	tctacccaa	agacatcaat	gtcaagtggaa	agattgtatgg	cagtgaacgaa	480
caaaatggcg	tcctgaacag	ttggactgtat	caggacagca	aagacagcac	ctacagcatg	540
agcagcaccc	tcacgttgac	caaggacgag	tatgaacgac	ataacagcta	tacctgttag	600
gccactcaca	agacatcaac	ttcacccattt	gtcaagagct	tcaacaggaa	tgagtgt	657

<210> 119

<211> 345

<212> DNA

<213> Artificial

<220><223> TF1413-02e004 H Chain V Region Gene

<400> 119

cagggtccagc	tgcagcagtc	tggggctgag	cttgtaagc	ctggggctcc	agtgaagctg	60
tcctgcaagg	cttctggcta	cacccacc	agctactgga	tgaactgggt	gaaggcaggag	120

cctggacgag	gcctcgagtg	gatttggaaagg	attgtatcc	ccgatagtga	aactcactac	180
aatcaaaaat	tcaaggacga	ggccacactg	actgttagaca	aatcctccag	cacagcctac	240
atccaaactca	gcagcctgac	atctgaggac	tctgcggctt	attactgtgc	aagagggtac	300
tatgctatgg	actactgggg	tcaaggaacc	tcagtcacc	tctcg		345

<210> 120

<211> 321

<212> DNA

<213> Artificial

<220><223> TF1413-02e004 L Chain V Region Gene

<400> 120

gacattgtgc tgacccaatc tccaaattc atgtccacat cagtaggaga cagggtcagc	60
atcacctgca aggcagtca ggatgtgagt actgctgtag cctggtatca acagaaacca	120
ggacaatctc ctaaactact gatTTactca gcacTctacc ggtacactgg agtccctgat	180
cgcttcactg gcagtggatc tggacggat ttcaTTca ccatcagcag tgtgcaggct	240
gaagacCTgg cagTTtatta ctgtcagcaa cattatagta ctccgacgTT cggtggaggc	300
accaagctgg aaatcaaacg g	321
<210> 121	
<211> 1338	
<212> DNA	
<213> Artificial	
<220><223> TF1413-02e004 H Chain Gene	
<400> 121	
caggTccagc tgacgcagtc tggggctgag cttgtgaagc ctggggctcc agtgaagctg	60
tcctgcaagg ctTctggcta cacTTcacc agctactgga tgaactgggt gaagcagagg	120
cctggacgag gcctcgagtg gattggaagg attgatcTT ccgatagtga aactcactac	180
aatcaaaagt tcaaggacga ggccacactg actgttagaca aatcctccag cacagectac	240
atccaaCTca gcagcCTgac atctgaggac tctgcggTct attactgtgc aagagggtac	300
tatgctatgg actactgggg tcaaggaacc tcagtcaccc tctcgagcgc caaaacaaca	360
gccccatcg tctatccact ggcccctgtg tgtggagata caactggctc ctgcggTact	420
cttagatgcc tggTcaaggg ttatTTccct gagccagtgta cttgacctg gaactctgga	480
tccctgtcca gtggTgtgca cacTTccca gctgtcctgc agtctgaccc ctacaccctc	540
agcagctcag tgactgtAAC ctgcggcacc tggcccagcc agtccatcac ctgcaatgtg	600
gcccacccgg caagcagcac caaggtggac aagaaaattg agccccgggg acccacaatc	660
aagccctgtc ctccatgcaa atgcccagca cctaaccTct tgggtggacc atccgtttc	720
atctTccctc caaagatcaa ggatgtactc atgatctcc tgagccccat agtcacatgt	780
gtggTggTgg atgtgagcga ggatgaccca gatgtccaga tcagctggTT tgtgaacaac	840
gtggaaagtac acacagctca gacacaaacc catagagagg attacaacag tactctccgg	900
gtggTcagtg ccctccccat ccagcaccag gactggatga gtggcaagga gttcaaATgc	960
aaggTcaaca acaaagacct cccagcgccc atcgagagaa ccatctcaa acccaaagg	1020
tcaGtaagag ctccacaggt atatgtcttgc cttccaccag aagaagagat gactaagaaa	1080
caggTcactc tgacctgcat ggtcacagac ttcatgcctg aagacatttgc cgtggagtgg	1140

accaacaacg ggaaaacaga gctaaactac aagaacactg aaccagtctt ggactctgat	1200
gtttcttact tcatgtacag caagctgaga gtggaaaaga agaactgggt ggaagaataat	1260
agctactcct gttcagtggc ccacgagggt ctgcacaatc accacacgac taagagcttc	1320
tcccgactc cggtaaa	1338

<210> 122

<211> 639

<212> DNA

<213> Artificial

<220><223> TF1413-02e004 L Chain Gene

<400> 122

gacattgtgc tgacccaatc tccaaattc atgtccacat cagtaggaga cagggtcagc	60
atcacctgca aggccagtca ggatgtgagt actgctgttag cctggtatca acagaaacca	120
ggacaatctc ctaaactact gatttactca gcattctacc ggtacactgg agtccctgat	180
cgcttcactg gcagtggatc tgggacggat ttcaacttca ccatcagcag tgtgcaggct	240
gaagacctgg cagtttatta ctgtcagcaa cattatagta ctccgacgtt cggtgaggc	300
accaagctgg aaatcaaacg ggctgatgct gcaccaactg tatccatctt cccaccatcc	360

agtgaggcgt taacatctgg aggtgcctca gtcgtgtgct tttgaacaa ctttacccc	420
aaagacatca atgtcaagtg gaagatttgc ggcagtgaac gacaaaatgg cgtcctgaac	480
agtggactg atcaggacag caaagacagc acctacagca tgaggcagcac cctcacgtt	540
accaaggacg agtatgaacg acataacagc tatactgtg aggcactca caagacatca	600
acttcaccca ttgtcaagag cttcaacagg aatgagtgt	639

<210> 123

<211> 360

<212> DNA

<213> Artificial

<220><223> TF1413-02e014 H Chain V Region Gene

<400> 123

cagggtgcagc tgaaggcagtc aggggcagag cttgtgaggc cagggccctc agtcaagttg 60

tcctgcacag ctctggctt caacattaaa gactactata tgcactgggt gaaggcagg	120
cctgaacagg gcctggagtg gattggatgg attgatcctg agaatggta tactgaatat	180
gccccgaagt tccaggcata ggccactatg actgcagacata catcctccaa cacagcctac	240
ctgcagctca gcagcctgac atctgaggac actgcgcgtt attactgtaa tgcaggctac	300

tatgattacg acggctatgc tatggactac tgggtcaag gaacctcagt caccgtctcg 360
 <210> 124
 <211> 324
 <212> DNA
 <213> Artificial
 <220><223> TF1413-02e014 L Chain V Region Gene
 <400> 124
 gacattgtgc tgacacagtc tcccaaattc atgtccacat cagtaggaga cagggtcagc 60

 atcacctgca aggccagtc ggtatgtggg actgtgttag cctggatca acagaaacca 120
 gggcaatctc ctaaaactact gatttactgg gcatccaccc ggcacactgg agtccccat 180
 cgcttcacag gcagtggatc tggacagat ttcactctca ccattagcaa tgtcagtct 240
 gaagacttgg cagattattt ctgtcagcaa tatagcagct atcctctgac gttcggtgga 300
 ggcaccaagc tgaaatcaa acgg 324
 <210> 125
 <211> 1353
 <212> DNA
 <213> Artificial
 <220><223> TF1413-02e014 H Chain Gene
 <400> 125
 caggtgcagc tgaaggcagtc aggggcagag cttgtgaggt cagggccctc agtcaagttg 60

 tcctgcacag ctctggctt caacattaaa gactactata tgcactgggt gaagcagagg 120
 cctgaacagg gcctggagtg gattggatgg attgatctg agaatggta tactgaatat 180
 gccccgaagt tccagggcaa ggccactatg actgcagaca catcctccaa cacagctac 240
 ctgcagctca gcagcctgac atctgaggac actgccgtct attactgtaa tgcaggctac 300
 tatgattacg acggctatgc tatggactac tgggtcaag gaacctcagt caccgtctcg 360
 agcgccaaaa aaacagcccc atcggctat ccactggccc ctgtgtgtgg agatacaact 420
 ggctcctcgg tgactctagg atgcctggtc aagggttatt tccctgagcc agtgacattg 480

 acctggaaact ctggatccct gtccagtggt gtgcacaccc tccagctgt cctgcagtct 540
 gacctctaca ccctcagcag ctcaactgact gtaacctcgaa gcacctggcc cagccagtc 600
 atcacctgca atgtggccca cccggcaagc agtaccaagg tggacaagaa aattgagccc 660
 cggggaccca caatcaagcc ctgtcctcca tgcaaattgcc cagcacctaa cctctgggt 720
 ggaccatccg tcttcatctt ccctccaaag atcaaggatg tactcatgtat ctccctgagc 780

cccatagtca catgtgtgg ggtggatgtg agcgaggatg acccagatgt ccagatcagc 840
tggtttgtga acaacgtgga agtacacaca gctcagacac aaaccatag agaggattac 900

aacagtactc tccgggtgg cagtgcctc cccatccagc accaggactg gatgagtggc 960
aaggagtta aatgcaggt caacaacaaa gacctccag cgcccatcga gagaaccatc 1020
tcaaaaccca aagggtcagt aagagctcca caggttatatg tcttgctcc accagaagaa 1080
gagatgacta agaaacaggt cactctgacc tgcatggtca cagacttcat gcctgaagac 1140
atttacgtgg agtggaccaa caacggaaa acagagctaa actacaagaa cactgaacca 1200
gtcctggact ctgatggttc ttacttcatg tacagcaagc tgagagtggaa aaagaagaac 1260
tgggtggaaa gaaatagcta ctccgttca gtggccacg aggtctgca caatcaccac 1320

acgactaaga gcttctcccg gactccgggt aaa 1353

<210> 126

<211> 642

<212> DNA

<213> Artificial

<220><223> TF1413-02e014 L Chain Gene

<400> 126

gacattgtgc tgacacagtc tccaaattc atgtccacat cagtaggaga cagggtcagc 60
atcacctgca aggccagtca ggatgtgggt actgctgtag cctggatca acagaaacca 120
ggcaatctc ctaaactact gatttactgg gcatccaccc ggcacactgg agtccccat 180
cgcttcacag gcagtggatc tggacagat ttcaactctca ccattagcaa tgtgcagtct 240
gaagacttgg cagattattt ctgtcagcaa tatagcagct atcctctgac gttcggtgg 300

ggcaccaagc tggaaatcaa acgggctgat gctgcaccaa ctgtatccat cttccacca 360
tccagtgagc agttaacatc tggaggtgcc tcagtcgtgt gcttctgaa caacttctac 420
ccaaagaca tcaatgtcaa gtggaagatt gatggcagtg aacgacaaaa tggcgtctg 480
aacagttgga ctgatcagga cagcaaagac agcacatcaca gcatgagcag caccctcagc 540
ttgaccaagg acgagtatga acgacataac agctataacct gtgaggccac tcacaagaca 600
tcaacttcac ccattgtcaa gagcttcaac aggaatgagt gt 642

<210> 127

<211> 351

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

><223> TF1413-02e030 H Chain V Region Gene

<400> 127

gagggtcagc ttccagcagtc tggggctgag ctgtgaggg cagggccctt agtcaagttg	60
tcctgcaaag ctctggctt caacattaaa gactactata tgcactgggt gaagcagagg	120
cctgaacagg gcctggagtg gattggatgg attgtacccctg agaatggtaa cactatata	180
gaccgaagt tccaggcggaa ggccagtgata acagcagaca catcctccaa cacagcctac	240
ctgcagctca gcagcctgac atctgaggac actgcgtctt attactgtgc tatatctact	300
atgattacga cccttgacta ctggggccaa ggcaccactc tcacagtctc g	351

<210>

> 128

<211> 342

<212> DNA

<213> Artificial

<220><223> TF1413-02e030 L Chain V Region Gene

<400> 128

gacatccaga tgaccaggc tccatccctcc ctggctatgt cagtagggca gaaggtaact	60
atgagctgca agtccaggta gaggctttta aatagtagca atcaaaagaa ctatggcc	120
tgttaccagg agaaaccagg acagtctctt aaactctgg tatacttgc atccactagg	180
gaatctgggg tccctgatcg cttcataggc agtggatctg ggacagattt cactttacc	240
atcagcaggta tgaggctga agacctggca gattacttct gtcagcaaca ttatagact	300
ccgctcacgt tcggtgctgg gaccaagctg gagctgaaac gg	342

<210> 129

<211> 1344

<212> DNA

<213> Artificial

<220><223> TF1413-02e030 H Chain Gene

<400> 129

gagggtcagc ttccagcagtc tggggctgag ctgtgaggg cagggccctt agtcaagttg	60
tcctgcaaag ctctggctt caacattaaa gactactata tgcactgggt gaagcagagg	120
cctgaacagg gcctggagtg gattggatgg attgtacccctg agaatggtaa cactatata	180
gaccgaagt tccaggcggaa ggccagtgata acagcagaca catcctccaa cacagcctac	240
ctgcagctca gcagcctgac atctgaggac actgcgtctt attactgtgc tatatctact	300
atgattacga cccttgacta ctggggccaa ggcaccactc tcacagtctc gagcgccaa	360

acaacagccc catcggtcta tccactggcc cctgtgtgt gagataacaac tggctcctcg 420
 gtgactctag gatgcctggt caagggttat ttccctgagc cagtgcaccc gacctggac 480
 tctggatccc tgtccagtgg tgtgcacacc ttcccagctg tccgcagtc tgacctctac 540
 accctcagca gcicagtgac tgtaaccccg agcaccctggc ccagccagtc catcaccctgc 600
 aatgtggccc acccggcaag cagcaccaag gtggacaaga aaattgagcc ccggggaccc 660
 acaatcaaggc cctgtcctcc atgcaaatgc ccagcaccta acctcttggg tggaccatcc 720
 gtcttcatct tccctccaaa gatcaaggat gtactcatga tctccctgag ccccatagtc 780

acatgtgtgg tggtgatgt gagcgaggat gacccagatg tccagatcg ctgggttg 840
 aacaacgtgg aagtacacac agctcagaca caaaccata gagaggatta caacagtact 900
 ctccgggtgg tcagtgccct ccccatccag caccaggact ggatgagtgg caaggagttc 960
 aaatgcaagg tcaacaacaa agacctccca ggcgcacatcg agagaaccat ctcaaaaccc 1020
 aaagggtcag taagagctcc acaggtatat gtcttgccctc caccagaaga agagatgact 1080
 aagaaacagg tcaactctgac ctgcatggtc acagacttca tgcctgaaga cattacgtg 1140
 gagtggacca acaacggaa aacagagcta aactacaaga acactgaacc agtccctggac 1200

tctgatggtt cttaatccat gtacagcaag ctgagagttgg aaaagaagaa ctgggtggaa 1260
 agaaatagct actcctgttc agtggtccac gagggtctgc acaatcacca cacgactaag 1320
 agtttctccc ggactccggg taaa 1344

<210> 130

<211> 660

<212> DNA

<213> Artificial

<220><223> TF1413-02e030 L Chain Gene

<400> 130

gacatccaga tgaccaggatc tccatcctcc ctggctatgt cagtagggca gaaggtaact 60
 atgagctgca agtccaggatca gagcctttta aatagtagca atcaaaagaa ctatttgcc 120
 tggtaccaggc agaaaccagg acagtctctt aaacttctgg tatactttgc atccactagg 180

gaatctgggg tccctgatcg cttcataggc agtggatctg ggacagattt cactcttacc 240
 atcagcagtg tgcaaggctga agacctggca gattacttct gtcagcaaca ttatagact 300
 ccgcctcacgt tcggtgctgg gaccaaggatcg gagctgaaac gggctgatgc tgcaccaact 360
 gtatccatct tccaccatc cagtgaggatcg ttaacatctg gaggtgcctc agtctgtgc 420
 ttcttgaaaca acttctaccc caaagacatc aatgtcaagt ggaagattga tggcagtgaa 480
 cgacaaaatg ggcgtcctgaa cagttggact gatcaggaca gcaaagacag cacctacagg 540

atgagcagca ccctcacgtt gaccaaggac gagtatgaac gacataacag ctatacctgt 600

gaggccactc acaagacatc aacttcaccc attgtcaaga gcttcaacag gaatgagtgt 660

<210> 131

<211> 348

<212> DNA

<213> Artificial

<220><223> TF1413-02e040 H Chain V Region Gene

<400> 131

gaagtgtatgc tggggagtc tggaccttag ctggtaaagc ctggagcttc aatgaagata 60

tcctgcagg ctctggta ctcattcaact ggctacacca tgaactgggt gaagcagagc 120

catggaaaga accttgatg gattggactt attaattcattt acaatgggtg tactagctac 180

aaccagaatt ttaaggcggaa ggccacattt actgttagaca agtcatccag cacagcctac 240

atggagctcc tcagtctgac atctgaggac tctgcagttt attactgtgc aagagggtac 300

tacggtcgtt tgactactg gggcaaggc accactctca cagtctcg 348

<210> 132

<211> 324

<212> DNA

<213> Artificial

<220><223> TF1413-02e040 L Chain V Region Gene

<400> 132

gacatcttgc tgactcagtc tccaaaattt atgtccacat cagtaggaga cagggtcagc 60

atcacctgca aggcaggatca gaatgttcgtt actgctgttag cctggatca acagaaacca 120

gggcaggcttc ctaaaggactt gattttacttgc gcatccaacc ggcacactgg agtccctgat 180

cgcttcacag gcaggatggatc tgggacatgtt ttcactctca ccattagcaa tgtgaatct 240

gaagacctgg cagattttt ctgtctgca cattggattt atcctctcac gttcggtgct 300

gggaccaaggc tggagctgaa acgg 324

<210> 133

<211> 1341

<212> DNA

<213> Artificial

<220><223> TF1413-02e040 H Chain Gene

<400> 133

gaagtgatgc tggggagtc tggaccttag ctggtaagc ctggagcttc aatgaagata	60
tcctgcaagg ctctggta ctcatctact ggctacacca tgaactgggt gaagcagagc	120
catgaaaga accttgagt gattggactt attaatcctt acaatggtg tactagctac	180
aaccagaatt ttaaggcaaa ggccacattt acttagacaa agtcatccag cacagctac	240
atggagctcc tcagtctgac atctgaggac tctcagttt attactgtgc aagagggtac	300
tacggcgct ttgactactg gggccaaggc accactctca cagtcgag cgccaaaaca	360
acagccccat cggctatcc actggccct gtgtgtggag atacaactgg ctcctcggt	420
actctaggat gcctggtcaa gggttatttc cctgagccag tgaccttgac ctggaaactct	480
ggatccctgt ccagtgggt gcacaccc tcagctgtcc tgagcttga cctctacacc	540
ctcagcagct cagtgactgt aacctcgagc acctggccca gccagttcat cacctgcaat	600
gtggccacc cggcaaggcag caccaagggtg gacaagaaaa ttgagccccc gggaccacaa	660
atcaagccct gtcctccatg caaatgccccca gcacctaacc tcttgggtgg accatccgtc	720
ttcatcttcc ctccaaagat caaggatgtt ctcatgatct ccctgagccc catagtcaca	780
tgtgtgggg tggtgttag cgaggatgac ccagatgtcc agatcagctg gtttgtgaac	840
aacgtgaaag tacacacagc tcagacacaa acccatagag aggattacaa cagtacttc	900
cgggtggtca gtgcctccc catccagcac caggactgga tgagtggcaa ggagttaaa	960
tgcaagggtca acaacaaaga cctcccagcg cccatcgaga gaaccatctc aaaacccaaa	1020
gggtcagtaa gagctccaca ggtatatgtc ttgcctccac cagaagaaga gatgactaag	1080
aaacagggtca ctctgaccc tcgttgcaca gacttcatgc ctgaagacat ttacgtggag	1140
tggaccaaca acggaaaac agagctaaac tacaagaaca ctgaaccagt cctggactct	1200
gatggttctt acttcatgtt cagcaagctg agagtggaaa agaagaactg ggtggaaaga	1260
aatagctact cctgttca ggtccacgag ggtctgcaca atcaccacac gactaagagc	1320
ttctcccgga ctccggtaa a	1341
<210> 134	
<211> 642	
<212> DNA	
<213> Artificial	
<220><223> TF1413-02e040 L Chain Gene	
<400> 134	
gacatcttgc tgactcagtc tccaaaattt atgtccacat cagtagggaga cagggtcagc	60
atcacctgca aggccagtca gaatgttcgt actgctgttag cctggatca acagaaacca	120

ggcagtctc ctaaagcaact gatttacttg gcatccaacc ggcacactgg agtccctgat 180
 cgcttcacag gcagtggatc tggacagat ttcaactctca ccattagcaa tgtcaatct 240
 gaagacctgg cagattattt ctgtctgcaa cattgaaatt atcctctcac gttcggtgct 300
 gggaccaagg tggagctgaa acgggctgat gctgcaccaa ctgtatccat cttccacca 360
 tccagtgagc agttaacatc tggaggtgcc tcagtcgtgt gcttctgaa caacttctac 420
 cccaaagaca tcaatgtcaa gtggaaagatt gatggcagt aacgacaaaa tggcgtctg 480
 aacagttgga ctgatcagga cagcaaagac agcacctaca gcatgagcag caccctcagc 540

ttgaccaagg acgagtatga acgacataac agctataacct gtgaggccac tcacaagaca 600
 tcaacttcac ccattgtcaa gagcttcaac aggaatgagt gt 642

<210> 135

<211> 345

<212> DNA

<213> Artificial

<220><223> TF1413-03e001 H Chain V Region Gene

<400> 135

caggtgcagc tgaaggcagtc aggacctgag ctggtaagc ctggggcttc agtgaagata 60
 tcctgcaagg ctctggta ctcatctact ggctactaca tgcactgggt gaagcaaagc 120
 catgtaaaga gccttgagtg gattggacgt attaatcctt acaatggtgc tactagctac 180
 aaccagaatt tcaaggacaa ggccagctg actgtagata agtcctccag cacagcctac 240

atggagctcc acagcctgac atctgaggac tctgcagtc attactgtgc aagaaaactac 300

ggctactttg actactgggg ccaaggcacc actctcacag tctcg 345

<210> 136

<211> 324

<212> DNA

<213> Artificial

<220><223> TF1413-03e001 L Chain V Region Gene

<400> 136

gacatcaaga tgacccagtc tccaaaattc atgtccacat cagtaggaga cagggtcagc 60
 gtcacctgctc aggcaggatca gaatgtggat aataatgttag tctggatca acagaaacca 120
 gggcaatctc ctaaagcaact gatttactcg gcatcctacc ggtacagtgg agtccctgat 180
 cgcttcacag gcagtggatc tggacagat ttcaactctca ccatcagcaa tgtcagtc 240

gaagacttgg cagagtattt ctgtcagcaa tataacagct atcctctcac gttcggtgct 300

gggaccaagt	tggaaataaa	acgg	324			
<210>	137					
<211>	1338					
<212>	DNA					
<213>	Artificial					
<220><223> TF1413-03e001 H Chain Gene						
<400>	137					
cagggtgcagc	tgaaggcagtc	aggacctgag	ctggtaaagc	ctggggcttc	agtgaagata	60
tcctgcagg	cttctggta	ctcattca	ggctactaca	tgcactgggt	gaagcaaagc	120
catgtaaaga	gccttgagtg	gattggacgt	attaatcctt	acaatggtgc	tactagctac	180
aaccagaatt	tcaaggacaa	ggccagcttg	actgttagata	agtccctccag	cacagcctac	240
atggagctcc	acagcctgac	atctgaggac	tctgcagtc	attactgtgc	aagaaactac	300
ggctactttg	actactgggg	ccaaggcacc	actctcacag	tctcgagcgc	caaaacaaca	360
gccccatcg	tctatccact	ggcccccgtg	tgtggagata	caactggctc	ctcggtgact	420
cttaggatgcc	tggtaaaggg	ttatcccct	gagccagtg	ccttgacctg	gaactctgga	480
tccctgtcca	gtgggtgtca	cacccccc	gctgtctgc	agtctgacct	ctacaccctc	540
agcagctcag	tgactgtaa	ctcgagcacc	tggccagcc	agtccatcac	ctgcaatgt	600
gcccacccgg	caagcagcac	caaggtggac	aagaaaatg	agccccgggg	acccacaatc	660
aagccctgtc	ctccatgcaa	atgcccagca	cctaaccctt	tgggtggacc	atccgtttc	720
atcttccctc	caaagatcaa	ggatgtactc	atgatctcc	tgagcccat	agtcatgt	780
gtgggtgtgg	atgtgagcga	ggatgaccca	gatgtccaga	ttagctgggt	tgtgaacaac	840
gtggaagtac	acacagctca	gacacaaacc	catagagagg	attacaacag	tactctccgg	900
gtggtcagt	ccctccccat	ccagcaccag	gactggatga	gtggcaagga	gttcaatgc	960
aaggtaaca	acaaagaccc	cccagcggcc	atcgagagaa	ccatctaaa	acccaaaggg	1020
ttagtaagag	ctccacaggt	atatgtctt	cctccaccag	aagaagagat	gactaagaaa	1080
caggtcactc	tgacctgcat	ggtcacagac	ttcatgcctg	aagacattta	cgtggagtgg	1140
accaacaacg	ggaaaacaga	gctaaactac	aagaacactg	aaccagtct	ggactctgtat	1200
ggtttcttact	tcatgtacag	caagctgaga	gtggaaaaga	agaactgggt	ggaaagaaaat	1260
agctactcct	gttcagtggt	ccacgagggt	ctgcacaatc	accacacgac	taagagcttc	1320
tcccgactc	cggtaaa					1338
<210>	138					
<211>	642					

<212> DNA

<213> Artificial

<220><223> TF1413-03e001 L Chain Gene

<400> 138

gacatcaaga tgaccaggc tccaaaattc atgtccacat cagtaggaga cagggtcagc 60

gtcacctgcg aggccagtca gaatgtggat aataatgtag tctggtatca acagaaacca 120

ggcaatctc ctaaagcaact gatttactcg gcacccctacc ggtacagtgg agtccctgat 180

cgcttcacag gcagtggatc tggacagat ttcactctca ccatcagcaa tgtgcagtct 240

gaagacttgg cagagtattt ctgtcagcaa tataacagct atccttcac gttcggtgt 300

gggaccaagt tggaaataaa acgggctgtat gctgcaccaa ctgtatccat cttccacca 360

tccagtggc agttaacatc tggagggtgcc tcagtcgtgt gttcttggaa caacttctac 420

cccaaagaca tcaatgtcaa gtggaaagatt gatggcagtg aacgacaaaa tggcgtcctg 480

aacagtttggc ctgatcagga cagcaaaagac agcacccatac gcatgaggcag caccctcacc 540

ttgaccaagg acgagttatga acgacataac agctataacct gtgaggccac tcacaagaca 600

tcaacttcac ccattgtcaa gagcttcaac aggaatgagt gt 642

<210> 139

<211> 345

<212> DNA

<213> Artificial

<220><223> TF1413-03e004 H Chain V Region Gene

<400> 139

caggtgcagc tgaaggcagtc aggggcttag cttgtgaagc ctggggctcc agtgaagctg 60

tcctgcaagg ctctggcta cacccatcacc agctacttggaa tgaactgggt gaagcagagg 120

cctggacgag gcctcgagtg gatttggaaagg attgtatccctt ccgatagtga aactcactac 180

aatcaaaaat tcaaggacaa ggccacactg actgttagaca aatcctccag cacagcctac 240

atccaactca gcagcctgac atctgaggac tctgcggctt attactgtgc aagagggtac 300

tacggtagta actactgggg ccaaggcacc actctcacag tctcg 345

<210> 140

<211> 324

<212> DNA

<213> Artificial

<220><223> TF1413-03e004 L Chain V Region Gene

<400> 140

gacatcaaga tgacccagtc tccaaaattc atgtccacat cagtaggaga cagggtcagc	60
gtcacctgca aggccagtc gaatgtgggt actaatgtag cctggtatca acagaaacca	120
ggcaatctc ctaaagcact gatttactcg gcacatctacc ggtacagtgg agtccctgat	180

cgcttcacag gcagtggatc tgggacagat ttcaactctca ccatcagcaa tgtgcagtct	240
gaagacttgg cagagtattt ctgtcagcaa tataacagct atcctctcac gttcggtgct	300
gggaccaagc tggagctgaa acgg	324

<210> 141

<211> 1338

<212> DNA

<213> Artificial

<220><223> TF1413-03e004 H Chain Gene

<400> 141

caggtgcagc tgaaggcagtc aggggctgag cttgtgaagc ctggggctcc agtgaagctg	60
tcctgcaagg ctctggcta caccttcacc agctactggta tgaacttgggt gaaggcagagg	120
cctggacgag gcctcgagtg gatttggaaagg attgtacctt ccgtatgtga aactcactac	180

aatcaaaaatc tcaaggacaa ggccacactg actgttagaca aatcctccag cacagcctac	240
atccaaactca gcagcctgac atctgaggac tctgcggctt attactgtgc aagagggtac	300
tacggtagta actactgggg ccaaggcacc actctcacag tctcgagcgc caaaacaaca	360
gccccatcg tctatccact ggccctgtg tgggagata caactggctc ctgggtgact	420
ctaggatgcc tggtaaggg ttatccctt gagccagtgaa ctttgacctg gaactctggaa	480
tccctgtcca gtgggtgca caccccca gctgtctgc agtctgaccc ctacaccctc	540
agcagctcag tggactgtaaac ctgcagcacc tggccagcc agtccatcac ctgcaatgtg	600

gccccccgg caagcagcac caaggtggac aagaaaattt agccccgggg acccacaatc	660
aaggccctgtc ctccatgcaatgcccagca cctaacctt tgggtggacc atccgtttc	720
atctccctc caaagatcaa ggatgtactc atgatctcc ttggccat agtcacatgt	780
gtgggtgggg atgtgagcga ggatgaccca gatgtccaga tggatgttttgtgaacaac	840
gtggaaagtac acacagctca gacacaaacc catagagagg attacaacag tactctccgg	900
gtggtcagtgc cccatccat ccagcaccag gactggatga gtggcaagga gttcaaatgc	960
aaggtaacaaca acaaagaccc cccagcggcc atcgagagaa ccatctaaa acccaaagg	1020

tcaagtaagat ctccacaggt atatgtcttgc cttccaccat aagaagagat gactaagaaa	1080
---	------

caggtcactc tgacctgcat ggtcacagac ttcatgcctg aagacattt a cgtggagtgg 1140
 accaacaacg gaaaaacaga gctaaactac aagaacactg aaccagtctt ggactctgat 1200
 gtttcttact tcatgtacag caagctgaga gtggaaaaga agaactgggt ggaaagaaat 1260
 agctactcct gticagtggt ccacgagggt ctgcacaatc accacacgac taagagcttc 1320
 tccggactc cggtaaa 1338

<210> 142

<211> 642

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> TF1413-03e004 L Chain Gene

<400> 142

gacatcaaga tgacccagtc tccaaaattc atgtccacat cagtaggaga cagggtcagc 60
 gtcacctgca aggccagtca gaatgtgggt actaatgttag cctggatca acagaaacca 120
 gggcaatctc ctaaaggact gatttactcg gcattctacc ggtacagtgg agtccctgat 180
 cgcttcacag gcagtggatc tggacagat ttcaactctca ccatcagcaa tgtgcagtt 240
 gaagacttgg cagagtatctt ctgtcagcaa tataacagct atcctctcac gttcggtgct 300
 gggaccaagg tggagctgaa acgggctgat gctgcaccaa ctgtatccat cttccacca 360
 tccagtgagc agttaacatc tggaggagcc tcagtcgtgt gttcttgaa caacttctac 420

ccccaaagaca tcaatgtcaa gtggaaaggatt gatggcagtg aacgacaaaa tggcgtcctg 480
 aacagttgga ctgatcagga cagcaagac agcacatcaca gcatgagcag caccctcagc 540
 ttgaccaagg acgagttatga acgacataac agctataacct gtgaggccac tcacaagaca 600
 tcaacttcac ccattgtcaa gagcttcaac aggaatgagt gt 642

<210> 143

<211> 360

<212> DNA

<213> Artificial

<220><223> TF1413-03e005 H Chain V Region Gene

<400> 143

caggtgcagc tgaaggagtc aggggcagag cttgtgaggt cagggcctc agtcaagttg 60
 tcctgcacag cttctggctt caacattaaa gactactata tgcaactgggt gaagcagagg 120

cctgaacagg gcctggagtg gattggatgg attgatcctg agaatggta tactgaat 180
 gccccgaagt tccaggcggaa ggccactatg actgcagaca catcctccaa cacagcctac 240

ctgcagctca gcagcctgac atctgaggac actgccgtct attactgtaa tgccttctac 300
 tatgattacg acgggtatgc tatggactac tgggtcaag gaacctcagt caccgtctcg 360
 <210> 144
 <211> 324
 <212> DNA
 <213> Artificial
 <220><223> TF1413-03e005 L Chain V Region Gene
 <400> 144
 gatgttgtga tgacccaaac tccatcctcc ttatctgcct ctctgggaga aagagtca 60
 ctcacttgta gggcaagtca gaaatttagt gttacttaa gtcggctca gcagaaacca 120

 gatggaacta ttaaacgcct gatctacgcc gcatccactt tagattctgg tgtcccaaaa 180
 aggttcagtg gcagtaggtc tgggtcagat tattctctca ccatcagcag ctttgagtct 240
 gaagattttg cagactattt ctgtctacaa tatgcttagt atccgctcac gttcggtgct 300
 gggaccaagc tggagctgaa acgg 324
 <210> 145
 <211> 1353
 <212> DNA
 <213> Artificial
 <220><223> TF1413-03e005 H Chain Gene
 <400> 145
 caggtgcagc tgaaggagtc aggggcagag ctttgaggt cagggcctc agtcaagttg 60
 tcctgcacag ctctggctt caacattaaa gactactata tgcactgggt gaagcagagg 120

 cctgaacagg gcctggagtg gattggatgg attgatcctg agaatggta tactgaatat 180
 gccccgaagt tccagggcaa ggccactatg actgcagaca catcctccaa cacagcctac 240
 ctgcagctca gcagcctgac atctgaggac actgccgtct attactgtaa tgccttctac 300
 tatgattacg acgggtatgc tatggactac tgggtcaag gaacctcagt caccgtctcg 360
 agggccaaaa caacagcccc atcggctat ccactggccc ctgtgtgtgg agatacaact 420
 ggctcctcgg tgactctagg atgcctggtc aagggttatt tccctgagcc agtgcaccc 480
 acctggaact ctggatccct gtccagtggt gtgcacaccc tcccagctgt cctgcagtc 540

 gacctctaca ccctcagcag ctcagtgact gtaacctcga gcacctggcc cagccagtc 600
 atcacctgca atgtggccca cccggcaagc agcaccaagg tggacaagaa aattgagccc 660
 cggggaccca caatcaagcc ctgtcctcca tgcaaattgcc cagcacctaa cctcttggt 720

ggaccatccg tttcatctt ccctccaaag atcaaggatg tactcatgt ctccctgagc	780
cccatagtca catgtgtgg ggtggatgtg agcgaggatg acccagatgt ccagatcagc	840
tggttgtga acaacgtgga agtacacaca gctcagacac aaaccatag agaggattac	900
aacagtactc tccgggtggt cagtgcctc cccatccagc accaggactg gatgagtggc	960

aaggagttca aatgcaaggt caacaacaaa gaccccccag cgcccatcga gagaaccatc	1020
tcaaaaacca aagggtcagt aagagctcca caggtatatg tcttgcctcc accagaagaa	1080
gagatgacta agaaacaggt cactctgacc tgcatggtca cagacttcat gcctgaagac	1140
atttacgtgg agtggacca caacggaaa acagagctaa actacaagaa cactgaacca	1200
gtccctggact ctgtgggatc ttacttcatg tacagcaagc tgagagtggaa aagaagaac	1260
tgggtggaaa gaaatagcta ctccgttca gtggccacg agggctgca caatcaccac	1320
acgactaaga gtttcccg gactccgggt aaa	1353

<210> 146

<211> 642

<212> DNA

<213> Artificial

<220><223> TF1413-03e005 L Chain Gene

<400> 146

gatgttgtga tgacccaaac tccatcctcc ttatctgcct ctctgggaga aagagtca	60
ctcaacttgtc gggcaagtca gaaatttagt ggttacttaa gctggcttca gcagaaacca	120
gatggaacta ttaaacgcct gatctacgccc gcattccactt tagattctgg tgcctaaaaa	180
aggttcagtg gcagtaggtc tgggtcagat tattctctca ccatcagcag ctttgcgtct	240
gaagattttgcagactattatgtctacaa tatgcttagtt atccgctcac gttcggtgt	300
gggaccaagc tggagctgaa acgggctgat gctgcaccaaa ctgtatccat cttccacca	360

tccagtggc agttaacatc tggaggtgcc tcagtcgtgt gttcttgaa caacttctac	420
cccaaagaca tcaatgtcaa gtggaaaggatt gatggcagtg aacgacaaaa tggcgtctg	480
aacagttgga ctgtatcagga cagcaaaagac agcacatcaca gcatgagcag caccctcagc	540
ttgaccaagg acgagatgtga acgacataac agctataacct gtgaggccac tcacaagaca	600
tcaacttac ccattgtcaa gagcttcaac aggaatgagt gt	642

<210> 147

<211> 357

<212> DNA

<213> Artificial

<220><223> TF1413-03e015 H Chain V Region Gene

<400> 147

gaggtccagc tgccatcgatc tggacctgag ctggtaaagc ctggagcttc aatgaagata 60

tcctgcaagg ctctggta ctcattcaact ggctacacca tgaactgggt gaaggcagac 120

catgaaaga accttgatgt gattggactt attaattcctt acaatggtgg tactagctac 180

aaccagaagt tcaaggcaaa ggccacatta actgttagaca agtcatccag cacagcctac 240

atggagctcc tcagtctgac atctgaggac tctgcagttt tactatgcgc aagagggat 300

tactacccccc cctatgctat ggactactgg ggtcaaggaa cctcagtcac cgtctcg 357

<210> 148

<211> 324

<212> DNA

<213> Artificial

<220><223> TF1413-03e015 L Chain V Region Gene

<400> 148

gacattgtga tgcacatgc tccaaaattc atgtccacat cagtaggaga cagggtcagc 60

gtcacctgca aggccagtca gaatgtgggt actaatgttag cctggatca acagaaaccg 120

ggcaatctc ctaaaccact gatttattcg gcgtcctacc ggtatagtgg agtccctgat 180

cgctcacag gcagtggatc tggacagat ttcaactctca ccatcagcaa tgtgcagtct 240

gaagacttgg cagagtatcc ctgtcagcaa tataacagat atccttcac gttcggttt 300

gggaccaagg tgaaatcaa acgg 324

<210> 149

<211> 1350

<212> DNA

<213> Artificial

<220><223> TF1413-03e015 H Chain Gene

<400> 149

gaggtccagc tgccatcgatc tggacctgag ctggtaaagc ctggagcttc aatgaagata 60

tcctgcaagg ctctggta ctcattcaact ggctacacca tgaactgggt gaaggcagac 120

catgaaaga accttgatgt gattggactt attaattcctt acaatggtgg tactagctac 180

aaccagaagt tcaaggcaaa ggccacatta actgttagaca agtcatccag cacagcctac 240

atggagctcc tcagtctgac atctgaggac tctgcagttt tactatgcgc aagagggat 300

tactacccccc cctatgctat ggactactgg ggtcaaggaa cctcagtcac cgtctcg 360

gccaaaacaa cagccccatc ggtctatcca ctggccctg tgtgtggaga tacaactggc	420
tcctcggtga ctctaggatg cctggtaag ggttattcc ctgagccagt gaccttgacc	480
tggaactctg gatccctgtc cagtggtg caccacccatc cagctgtct gcagtcgtac	540
ctctacaccc tcagcagctc agtactgt aacctcgagca cctggccag ccagtccatc	600
acctgcaatg tggcccaccc ggcaagcgc accaagggtgg acaagaaaat tgagccccgg	660
ggacccacaa tcaagccctg tcctccatgc aaatgcccag cacctaacct cttgggtgga	720
ccatccgtct tcatacttccc tccaaagatc aaggatgtac tcatgatctc cctgagcccc	780
atagtcacat gtgtgggtt ggatgtgagc gaggatgacc cagatgtcca gatcagctgg	840
tttgtgaaca acgtggaagt acacacagct cagacacaaa cccatagaga ggattacaac	900
agtactctcc ggggtggtcag tgcctcccc atccagcacc aggactggat gagtggcaag	960
gagttcaaat gcaaggtcaa caacaaagac ctcccagcgc ccatcgagag aaccatctca	1020
aaacccaaag ggtcagtaag agctccacag gtatatgtct tgcctccacc agaagaagag	1080
atgactaaga aacaggtcac tctgacactc atggtcacag acttcatgcc tgaagacatt	1140
taclgtggagt ggaccaacaa cgggaaaaca gagctaaact acaagaacac tgaaccagtc	1200
ctggactctg atggttctta cttcatgtac agcaagctga gagtggaaaa gaagaactgg	1260
gtggaaagaa atagctactc ctgttcagtg gtccacgagg gtcgtcacaac tcaccacacg	1320
actaagagct tctccggac tccggtaaa	1350
<210> 150	
<211> 642	
<212> DNA	
<213> Artificial	
<220><223> TF1413-03e015 L Chain Gene	
<400> 150	
gacattgtga tgcacagtc tccaaaattc atgtccacat cagtaggaga cagggtcagc	60
gtcacctgca aggcagtc gaatgtgggt actaatgttag cctggtatca acagaaacccg	120
gggcaatctc ctaaaccact gatttattcg gcgtctacc ggtatagtgg agtccctgat	180
cgcttcacag gcagtggatc tggacagat ttcactctca ccatcagcaa tgtgcagtc	240
gaagacttgg cagagtattt ctgtcagcaa tataacagat atcctctcac gttcggttt	300
gggaccaagc tgaaatcaa acgggctgtat gctgcaccaa ctgtatccat cttccacca	360
tccagtgagc agttaacatc tggaggtgcc tcagtcgtgt gttcttgcgaa caacttctac	420
cccaaagaca tcaatgtcaa gtggaaagatt gatggcagtg aacgacaaa tggcgtctg	480

aacagttgga ctgatcagga cagcaaagac agcacctaca gcatgagcag caccctcagc 540
ttgaccaagg acgagtatga acgacataac agctataacct gtgaggccac tcacaagaca 600
tcaacttac ccattgtcaa gagcttcaac aggaatgagt gt 642
<210> 151
<211> 354
<212> DNA
<213> Artificial
<220>
><223> TF1413-03e034 H Chain V Region Gene
<400> 151
gaggtccagc tgccaggc tggacctgag ctggagaagc ctggcgcttc agtgaagata 60
tcctgcaagg ctctggta ctcattcaact ggctacaaca tgaactgggt gaagcagagc 120
aatggaaaga gccttgatg gattggaaat attgatcctt actatggtg tactagctac 180
aaccagaagt tcaaggcCAA ggccacattt actgttagaca aatcctccag cacagcctac 240
atgcagctca agaggctgac atctgaggac tctgcagttt attactgtgc aagagggAAC 300
tacgggtact atgctatgga ctactgggtt caaggaacct cagtcaccgt ctcg 354
<210>
> 152
<211> 324
<212> DNA
<213> Artificial
<220><223> TF1413-03e034 L Chain V Region Gene
<400> 152
gacattgtga tgcacagtc tccaaaattt atgtccacat cagtaggaga cagggtcagc 60
atcacctgca aggcaggatca gaatgttcgtt actgctgttag cctggtatca acagaaacca 120
ggcaggcttc ctaaaggact gattttacttgc gcatccaacc ggcacactgg agtccctgat 180
cgcttcacag gcaggatgatc tgggacagat ttcactctca ccattagcaa tgtcaatct 240
gaagacctgg cagatttattt ctgtctgcaa cattggattt atccgctcac gttcggtgct 300
gggaccaagc tggagctgaa acgg 324
<210> 153
<211> 1347
<212> DNA
<213> Artificial
<220><223> TF1413-03e034 H Chain Gene

<400> 153

gagggtccagc tgccatgtt tggacactgat ctggagaagc ctggcgcttc agtgaagata	60
tccatgtttt cttctggat ctcatttact ggctacaaca tgaactgggt gaagcagagc	120
aatggaaaga gccttgatgt gattggaaat attgtatcattt actatggtgg tactatgtac	180
aaccagaagt tcaaggccaa ggccacattt actgttagaca aatcctccag cacagcctac	240
atgcagctca agaggctgac atctgaggac tctgcgttctt attactgtgc aagaggaaac	300
tacgggtact atgctatgga ctactgggtt caagggaaacctt cagtcaccgtt ctgcggcc	360

aaaacaacag ccccatcggt ctatccactg gcccctgtgt gtggagatac aactggctcc	420
tcggtgactc taggatgcct ggtcaagggt tatttccctg agccagtgac cttagctgg	480
aactctggat ccctgtccag tggtgtgcac accttccag ctgtcctgca gtctgaccc	540
tacaccctca gcagctcagt gactgttaacc tcgagcacct ggcccagcca gtccatcacc	600
tgcaatgtgg cccacccggc aagcagcacc aaggtggaca agaaaattga gccccgggaa	660
cccacaatca agccctgtcc tccatgcaaa tgcccagcac ctaacctttt gggtgacca	720
tccgtttca tcttccctcc aaagatcaag gatgtactca tgatctccct gagccccata	780

gtcacatgt tggtgggaa tgtgagcggatgacccaggatgtccagat cagctggtt	840
gtgaacaacgttgaagtaca cacagcttagacacaaacccatagagaggttacaacagt	900
actctccgggttggtcagtgc cctccccatccagcaccaggactggatgaggggcaaggag	960
ttcaaatgcaggtcaacaacaaagacctccagcgccatcgagagaacatctcaaaa	1020
cccaaagggtcagtaagagctccacaggtatgtcttgcctccaccagaagaagagatg	1080
actaagaaacaggtcactctgacctgcgtgtcacagacttcatgcctgagacatttac	1140
gtggagtggccaacaacacggaaaaacagagctaaactacaagaacactgaccagtcctg	1200

```
gactctgatg gttcttactt catgtacagc aagctgagag tggaaaagaa gaactgggtg 1260
gaaagaaaata gctactcccg ttcagtggtc cacgagggtc tgcacaatca ccacacgact 1320
aagagcttct cccggactcc gggtaaa 1347
```

<210> 154

<211> 642

<212> DNA

<213> Artificial

<220><223> TF1413-03e034 L Chain Gene

<400> 154

gacattgtga tgtcacagtc tccaaaattc atgtccacat cagtaggaga cagggtcagc 60
atcacctgca aggccagtc gaatgttgcgt actgtgttag cctggtatca acagaaacca 120

ggcagtcctc ctaaagcaact gatTTacttg gcatccaacc ggcacactgg agtccctgat 180

cgcttcacag gcagtggatc tggacagat ttcaactctca ccattagcaa tgtgcaatct 240
 gaagacctgg cagattattt ctgtctgca cattggatt atccgctcac gttcggtgct 300
 gggaccaagc tggagctgaa acgggctgat gctgcaccaa ctgtatccat cttccacca 360
 tccagtggc agttaacatc tggaggtgcc tcagtcgtgt gttctgaa caacttctac 420
 cccaaagaca tcaatgtcaa gtggaagatt gatggcagtg aacgacaaaa tggcgtcctg 480
 aacagttgga ctgatcagga cagcaaagac agcacatcaca gcatgagcag caccctcagc 540
 ttgaccaagg acgagttatga acgacataac agctataacct gtgaggccac tcacaagaca 600

tcaacttcac ccattgtcaa gagttcaac aggaatgagt gt 642

<210> 155

<211> 440

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><221> MISC_FEATURE

<223> Human GPC3 N Terminal Fragment

<400> 155

Asp Ala Thr Cys His Gln Val Arg Ser Phe Phe Gln Arg Leu Gln Pro

1 5 10 15

Gly Leu Lys Trp Val Pro Glu Thr Pro Val Pro Gly Ser Asp Leu Gln

20 25 30

Val Cys Leu Pro Lys Gly Pro Thr Cys Cys Ser Arg Lys Met Glu Glu

35 40 45

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

50 55 60

Ala Ser Met Glu Leu Lys Phe Leu Ile Ile Gln Asn Ala Ala Val Phe

65 70 75 80

Gln Glu Ala Phe Glu Ile Val Val Arg His Ala Lys Asn Tyr Thr Asn

85 90 95

Ala Met Phe Lys Asn Asn Tyr Pro Ser Leu Thr Pro Gln Ala Phe Glu

100 105 110

Phe Val Gly Glu Phe Phe Thr Asp Val Ser Leu Tyr Ile Leu Gly Ser

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

Ser Phe Tyr Ser Ala Leu Pro Gly Tyr Ile Cys Ser His Ser Pro Val

370 375 380

Ala Glu Asn Asp Thr Leu Cys Trp Asn Gly Gln Glu Leu Val Glu Arg

385 390 395 400

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

405 410 415

His Glu Leu Lys Met Lys Gly Pro Glu Pro Val Val Ser Gln Ile Ile

420 425 430

Asp Lys Leu Lys His Ile Asn Gln

435 440

<210> 156

<211> 109

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><221> MISC_FEATURE

<223> Human GPC3 C Terminal Fragment

<400> 156

Leu Leu Arg Thr Met Ser Met Pro Lys Gly Arg Val Leu Asp Lys Asn

1 5 10 15

Leu Asp Glu Glu Gly Phe Glu Ser Gly Asp Cys Gly Asp Asp Glu Asp

20 25 30

Glu Cys Ile Gly Gly Ser Gly Asp Gly Met Ile Lys Val Lys Asn Gln

35 40 45

Leu Arg Phe Leu Ala Glu Leu Ala Tyr Asp Leu Asp Val Asp Asp Ala

50 55 60

Pro Gly Asn Ser Gln Gln Ala Thr Pro Lys Asp Asn Glu Ile Ser Thr

65 70 75 80

Phe His Asn Leu Gly Asn Val His Ser Pro Leu Lys Leu Leu Thr Ser

85 90 95

Met Ala Ile Ser Val Val Cys Phe Phe Leu Val His

100 105

<210> 157

<211> 580

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><221> MISC_FEATURE

<223> Human GPC3

<400> 157

Met Ala Gly Thr Val Arg Thr Ala Cys Leu Val Val Ala Met Leu Leu

1 5 10 15

Ser Leu Asp Phe Pro Gly Gln Ala Gln Pro Pro Pro Pro Pro Pro Asp

20 25 30

Ala Thr Cys His Gln Val Arg Ser Phe Phe Gln Arg Leu Gln Pro Gly

35 40 45

Leu Lys Trp Val Pro Glu Thr Pro Val Pro Gly Ser Asp Leu Gln Val

50 55 60

Cys Leu Pro Lys Gly Pro Thr Cys Cys Ser Arg Lys Met Glu Glu Lys

65 70 75 80

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

85 90 95

Ser Met Glu Leu Lys Phe Leu Ile Ile Gln Asn Ala Ala Val Phe Gln

100 105 110

Glu Ala Phe Glu Ile Val Val Arg His Ala Lys Asn Tyr Thr Asn Ala

115 120 125

Met Phe Lys Asn Asn Tyr Pro Ser Leu Thr Pro Gln Ala Phe Glu Phe

130 135 140

Val Gly Glu Phe Phe Thr Asp Val Ser Leu Tyr Ile Leu Gly Ser Asp

145 150 155 160

Ile Asn Val Asp Asp Met Val Asn Glu Leu Phe Asp Ser Leu Phe Pro

165 170 175

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

180 185 190

Asp Ile Asn Glu Cys Leu Arg Gly Ala Arg Arg Asp Leu Lys Val Phe

195 200 205

Gly Asn Phe Pro Lys Leu Ile Met Thr Gln Val Ser Lys Ser Leu Gln
 210 215 220
 Val Thr Arg Ile Phe Leu Gln Ala Leu Asn Leu Gly Ile Glu Val Ile
 225 230 235 240
 Asn Thr Thr Asp His Leu Lys Phe Ser Lys Asp Cys Gly Arg Met Leu
 245 250 255
 Thr Arg Met Trp Tyr Cys Ser Tyr Cys Gln Gly Leu Met Met Val Lys
 260 265 270
 Pro Cys Gly Gly Tyr Cys Asn Val Val Met Gln Gly Cys Met Ala Gly
 275 280 285
 Val Val Glu Ile Asp Lys Tyr Trp Arg Glu Tyr Ile Leu Ser Leu Glu
 290 295 300
 Glu Leu Val Asn Gly Met Tyr Arg Ile Tyr Asp Met Glu Asn Val Leu
 305 310 315 320
 Leu Gly Leu Phe Ser Thr Ile His Asp Ser Ile Gln Tyr Val Gln Lys
 325 330 335
 Asn Ala Gly Lys Leu Thr Thr Ile Gly Lys Leu Cys Ala His Ser
 340 345 350
 Gln Gln Arg Gln Tyr Arg Ser Ala Tyr Tyr Pro Glu Asp Leu Phe Ile
 355 360 365
 Asp Lys Lys Val Leu Lys Val Ala His Val Glu His Glu Glu Thr Leu
 370 375 380
 Ser Ser Arg Arg Arg Glu Leu Ile Gln Lys Leu Lys Ser Phe Ile Ser
 385 390 395 400
 Phe Tyr Ser Ala Leu Pro Gly Tyr Ile Cys Ser His Ser Pro Val Ala
 405 410 415
 Glu Asn Asp Thr Leu Cys Trp Asn Gln Glu Leu Val Glu Arg Tyr
 420 425 430
 Ser Gln Lys Ala Ala Arg Asn Gly Met Lys Asn Gln Phe Asn Leu His
 435 440 445
 Glu Leu Lys Met Lys Gly Pro Glu Pro Val Val Ser Gln Ile Ile Asp

450	455	460	
Lys Leu Lys His Ile Asn Gln Leu Leu Arg Thr Met Ser Met Pro Lys			
465	470	475	480
Gly Arg Val Leu Asp Lys Asn Leu Asp Glu Glu Gly Phe Glu Ser Gly			
485	490	495	
Asp Cys Gly Asp Asp Glu Asp Cys Ile Gly Gly Ser Gly Asp Gly			
500	505	510	
Met Ile Lys Val Lys Asn Gln Leu Arg Phe Leu Ala Glu Leu Ala Tyr			
515	520	525	
Asp Leu Asp Val Asp Asp Ala Pro Gly Asn Ser Gln Gln Ala Thr Pro			
530	535	540	
Lys Asp Asn Glu Ile Ser Thr Phe His Asn Leu Gly Asn Val His Ser			
545	550	555	560
Pro Leu Lys Leu Leu Thr Ser Met Ala Ile Ser Val Val Cys Phe Phe			
565	570	575	
Phe Leu Val His			
580			
<210> 158			
<211> 1320			
<212> DNA			
<213> Homo sapiens			
<220><221> misc_feature			
<223> Human GPC3 N Terminal Fragment Gene			
<400> 158			
gacgccacct gtcaccaagt ccgctccttc ttccagagac tgcagccgg actcaagtgg 60			
gtgccagaaa ctcctgtgcc aggatcagat ttgcaagtat gtctccctaa gggcccaaca 120			
tgctgctcaa gaaagatgga agaaaaatac caactaacag cacgattgaa catggaacag 180			
ctgcttcagt ctgcaagtat ggagctcaag ttcttaattt ttcagaatgc tgcggtttc 240			
caagaggcct ttgaaattgt tttcgccat gccaagaact acaccaatgc catttcaag 300			
aacaactacc caagcctgac tccacaagct tttgagttt tgggtgaatt tttcacagat 360			
gtgtctctt acatcttggg ttctgacatc aatgttagatg acatggtaa tgaattgttt 420			
gacagcctgt ttccagtcat ctaatccag ctaatgaacc caggcctgcc tgattcagcc 480			

ttggacatca atgagtgcct ccgaggagca agacgtgacc taaaagtatt tggaaattc 540

cccaagctta ttatgaccca ggtttccaag tcactgcaag tcactaggat cttcccttag 600

gctctgaatc ttgaaattga agtgcaccaac acaactgatc acctgaagtt cagtaaggac 660

tgtggccgaa tgctcaccag aatgtggta tcgtcttact gccagggact gatgtggtt 720

aaaccctgtg gcggttactg caatgtggtc atgcaggct gtatggcagg tgtggtggag 780

atggacaagt actggagaga atacattctg tccctgaag aacttgcgaa tggcatgtac 840

agaatctatg acatggagaa cgtactgctt ggtctttt caacaatcca tgattctatc 900

cagtagatgtcc agaagaatgc agggaaagctg accaccacta ttggcaagtt atgtgccat 960

tctcaacaac gccaatatacg atctgcttat tattctgaag atctctttat tgacaagaaa 1020

gtattaaaag ttgctcatgt agaacatgaa gaaaccttat ccagccgaag aagggacta 1080

attcagaagt tgaagtctt catcagcttctt tattgtctt tgcctggcta catctgcgc 1140

catagccctg tggcgaaaaa cgacaccctt tgctggatg gacaagaact cgtggagaga 1200

tacagccaaa aggcagcaag gaatggatg aaaaaccagt tcaatctcca tgagctgaaa 1260

atgaaggccc ctgagccagt ggtcagtcaa attattgaca aactgaagca cattaaccag 1320

<210> 159

<211> 327

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

><221> misc_feature

<223> Human GPC3 C Terminal Fragment Gene

<400> 159

ctcctgagaa ccatgtctat gcccggaaatg agagttctgg ataaaaaccc ggttggggaa 60

gggtttgaaa gtggagactg cgggtatgtat gaagatgatgtt gcattggagg ctctgggtat 120

ggaatgataa aagtgaagaa tcagtcgc ttccttgcag aactggctt tgatctggat 180

gtggatgtatg cgcctggaaa cagtcagcag gcaactccga aggacaacga gataagcacc 240

tttcacaacc tcgggaacgt tcattcccg ctgaagctt tcaccagcat ggccatctcg 300

gtggatgtatg tcttcttctt ggtgcac 327

<210> 160

<211> 1743

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 160

atggccggga ccgtgcgcac cgctgcttg gtggggcga tgctgctcg cttggacttc	60
ccgggacagg cgagcccccc gcccggccg cggacgcca cctgtcacca agtccgctcc	120
ttcttccaga gactgcagcc cggactcaag tgggtgccag aaactccgt gccaggatca	180
gatttgcaggatgtctccc taagggccca acatgctgct caagaagat ggaagaaaaa	240
taccaactaa cagcacgatt gaacatggaa cagctgcttc agtctgcaggatgtctcc	300
aagttcttaa ttattcagaa tgctgcgtt ttccaagagg ccttgcggaaat tggttgcgc	360

catgccaaga actacaccaa tgccatgttc aagaacaact accaaggct gactccacaa	420
gccttigagt ttgtgggtga attttcaca gatgtgtctc tctacatctt gggttctgac	480
atcaatgttag atgacatggt caatgaattt tttgacagcc tggttccagt catctatacc	540
cagctaatacga acccaggcct gcctgattca gccttggaca tcaatgagtg cctccgagga	600
gcaagacgtg acctgaaagt atttggaaat ttcccaagc ttattatgac ccaggttcc	660
aagtcaactgc aagtcaactg gattttcctt caggctctga atcttgcggaaat tgaagtgtac	720
aacacaactg atcacctgaa gttcagtaag gactgtggcc gaatgctcac cagaatgtgg	780

tactgctctt actgccaggactgatgatg gttaaaccct gtggcggtta ctgcaatgtg	840
gtcatgcaag gctgtatggc aggtgtggtg gagattgaca agtactggag agaatacatt	900
ctgtcccttg aagaacttgt gaatggcatg tacagaatct atgacatggaa acgtactg	960
cttggctctt ttcaacaat ccatgattct atccagatgt tccagaagaa tgcaggaaag	1020
ctgaccacca ctatggcaa gttatgtgcc cattctcaac aacgccaata tagatctgct	1080
tattatcctg aagatcttatttgcggaaat aagtattaa aagttgctca tgcggaaat	1140
gaagaaacct tatccagccg aagaaggaa ctaattcaga agtgcggaaat tttcatcagc	1200

ttctatagtg ctggcctgg ctacatctgc agccatagcc ctgtggcgaa aaacgcacacc	1260
ctttgcgtggaa atggacaaga actcgtggag agatacagcc aaaaggcagc aagggatgga	1320
atgaaaaacc agttcaatct ccatgagctg aaaaatgaaagg gccctgagcc agtggtcagt	1380
caaattatttgc acaaactgaa gcacattaac cagctctga gaaccatgtc tatgcccggaa	1440
ggtagagttc tggataaaaaa cctggatgag gaagggttg aaagtggaga ctgcgggtat	1500
gatgaagatg agtgcattgg aggctctgtt gatggatga taaaatgaa gaatcagctc	1560
cgcttccttg cagaactggc ctatgatctg gatgtggatg atgcgcctgg aaacagtcag	1620

caggcaactc cgaaggacaa cgagataagc accttcaca acctcggaa cggttgcac	1680
ccgctgaagc ttctcaccag catggccatc tcgggttgtt gtttcttctt cctgggtgcac	1740
tga	1743

<210> 161
 <211> 33
 <212> DNA
 <213> Artificial
 <220><223> F-1 Primer
 <400> 161
 tccccccggg gacgccacct gtcaccaagt ccg 33
 <210> 162
 <211> 33
 <212> DNA
 <213> Artificial
 <220><223> R-7 Primer
 <400> 162
 tcccccggc tggttaatgt gcttcagttt gtc 33

 <210> 163
 <211> 28
 <212> DNA
 <213> Artificial
 <220><223> F-8 Primer
 <400> 163
 tccccccggg ctccctgagaa ccatgtct 28
 <210> 164
 <211> 33
 <212> DNA
 <213> Artificial
 <220><223> R-9 Primer
 <400> 164
 tcccccggg tgcaccagga agaagaagca cac 33
 <210> 165
 <211> 241
 <212> PRT
 <213> Artificial
 <220><223> TF1413-02d028 scFv
 <400> 165

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

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

<210> 166

<211> 245

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> TF1413-02d039 scFv

<400> 166

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

1 5 10 15

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ala Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Asp Met Ser Trp Val Arg Gln Thr Pro Glu Lys Arg Leu Glu Trp Val

35 40 45

Ala Tyr Ile Ser Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Pro Asp Thr Val
50 55 60

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

65 70 75 80

Leu Gln Met Ser Ser Leu Lys Ser Glu Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
85 90 95Ala Arg Arg Gly Leu Arg Arg Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110Ser Val Thr Val Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly
115 120 125

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

130 135 140

Val Ser Leu Gly Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser

145 150 155 160

Leu Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Leu Gln Lys

165 170 175

Pro Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe

180 185 190

Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe

195 200 205

Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Phe

210 215 220

Cys Ser Gln Ser Thr His Val Pro Leu Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys

225 230 235 240

Leu Glu Leu Lys Arg

245

<210> 167

<211> 237

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> TF1413-02e004 scFv

<400> 167

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

1 5 10 15

Pro Val Lys Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr

20 25 30

Trp Met Asn Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Arg Gly Leu Glu Trp Ile

35 40 45

Gly Arg Ile Asp Pro Ser Asp Ser Glu Thr His Tyr Asn Gln Lys Phe

50 55 60

Lys Asp Glu Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Gly Tyr Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val

100 105 110

Thr Val Ser Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly

115 120 125

Gly Ser Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Lys Phe Met Ser Thr Ser

130	135	140														
Val	Gly	Asp	Arg	Val	Ser	Ile	Thr	Cys	Ala	Ser	Gln	Asp	Val	Ser		
145	150	155	160													
Thr	Ala	Val	Ala	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Gln	Ser	Pro	Lys	Leu	
165	170	175														
Leu	Ile	Tyr	Ser	Ala	Ser	Tyr	Arg	Tyr	Thr	Gly	Val	Pro	Asp	Arg	Phe	
180	185	190														
Thr	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr	Phe	Thr	Ile	Ser	Ser	Val	
195	200	205														
Gln	Ala	Glu	Asp	Leu	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Gln	Gln	His	Tyr	Ser	Thr	
210	215	220														
Pro	Thr	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Leu	Glu	Ile	Lys	Arg				
225	230	235														
<210>	168															
<211>	243															
<212>	PRT															
<213>	Artificial															
<220><223>	TF1413-02e014	scFv														
<400>	168															
Gln	Val	Gln	Leu	Lys	Gln	Ser	Gly	Ala	Glu	Leu	Val	Arg	Ser	Gly	Ala	
1	5	10	15													
Ser	Val	Lys	Leu	Ser	Cys	Thr	Ala	Ser	Gly	Phe	Asn	Ile	Lys	Asp	Tyr	
20	25	30														
Tyr	Met	His	Trp	Val	Lys	Gln	Arg	Pro	Glu	Gln	Gly	Leu	Glu	Trp	Ile	
35	40	45														
Gly	Trp	Ile	Asp	Pro	Glu	Asn	Gly	Asp	Thr	Glu	Tyr	Ala	Pro	Lys	Phe	
50	55	60														
Gln	Gly	Lys	Ala	Thr	Met	Thr	Ala	Asp	Thr	Ser	Ser	Asn	Thr	Ala	Tyr	
65	70	75	80													
Leu	Gln	Leu	Ser	Ser	Leu	Thr	Ser	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	
85	90	95														
Asn	Ala	Gly	Tyr	Tyr	Asp	Tyr	Asp	Gly	Tyr	Ala	Met	Asp	Tyr	Trp	Gly	

100	105	110													
Gln	Gly	Thr	Ser	Val	Thr	Val	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly
115	120	125													
Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Ser	Asp	Ile	Val	Leu	Thr	Gln	Ser	Pro	Lys	
130	135	140													

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

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

<210> 169
 <211> 246
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220><223> TF1413-02e030 scFv

<400> 169

Glu	Val	Gln	Leu	Gln	Gln	Ser	Gly	Ala	Glu	Leu	Val	Arg	Pro	Gly	Ala
1	5	10	15												

Leu	Val	Lys	Leu	Ser	Cys	Lys	Ala	Ser	Gly	Phe	Asn	Ile	Lys	Asp	Tyr
20	25	30													
Tyr	Met	His	Trp	Val	Lys	Gln	Arg	Pro	Glu	Gln	Gly	Leu	Glu	Trp	Ile
35	40	45													
Gly	Trp	Ile	Asp	Pro	Glu	Asn	Gly	Asn	Thr	Ile	Tyr	Asp	Pro	Lys	Phe

50	55	60
Gln Gly Lys Ala Ser Ile Thr Ala Asp Thr Ser Ser Asn Thr Ala Tyr		
65	70	75
Leu Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys		
85	90	95
Ala Ile Ser Thr Met Ile Thr Thr Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr		
100	105	110
Thr Leu Thr Val Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly		
115	120	125
Gly Gly Gly Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ala		
130	135	140
Met Ser Val Gly Gln Lys Val Thr Met Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser		
145	150	155
Leu Leu Asn Ser Ser Asn Gln Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln		
165	170	175
Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Val Tyr Phe Ala Ser Thr Arg		
180	185	190
Glu Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ile Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp		
195	200	205
Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Val Gln Ala Glu Asp Leu Ala Asp Tyr		
210	215	220
Phe Cys Gln Gln His Tyr Ser Thr Pro Leu Thr Phe Gly Ala Gly Thr		
225	230	235
Lys Leu Glu Leu Lys Arg		
245		
<210> 170		
<211> 239		
<212> PRT		
<213> Artificial		
<220><223> TF1413-02e040 scFv		
<400> 170		
Glu Val Met Leu Val Glu Ser Gly Pro Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala		

1	5	10	15
---	---	----	----

Ser Met Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Gly Tyr

20	25	30
----	----	----

Thr Met Asn Trp Val Lys Gln Ser His Gly Lys Asn Leu Glu Trp Ile

35	40	45
----	----	----

Gly Leu Ile Asn Pro Tyr Asn Gly Gly Thr Ser Tyr Asn Gln Asn Phe

50	55	60
----	----	----

Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr

65	70	75	80
----	----	----	----

Met Glu Leu Leu Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys

85	90	95
----	----	----

Ala Arg Gly Tyr Tyr Gly Arg Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr

100	105	110
-----	-----	-----

Leu Thr Val Ser Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly

115	120	125
-----	-----	-----

Gly Gly Ser Asp Ile Leu Leu Thr Gln Ser Pro Lys Phe Met Ser Thr

130	135	140
-----	-----	-----

Ser Val Gly Asp Arg Val Ser Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asn Val

145	150	155	160
-----	-----	-----	-----

Arg Thr Ala Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys

165	170	175
-----	-----	-----

Ala Leu Ile Tyr Leu Ala Ser Asn Arg His Thr Gly Val Pro Asp Arg

180	185	190
-----	-----	-----

Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Asn

195	200	205
-----	-----	-----

Val Gln Ser Glu Asp Leu Ala Asp Tyr Phe Cys Leu Gln His Trp Asn

210	215	220
-----	-----	-----

Tyr Pro Leu Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys Arg

225	230	235
-----	-----	-----

<210> 171

<211> 238

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> TF1413-03e001 scFv

<400> 171

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

1 5 10 15

Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Gly Tyr

20 25 30

Tyr Met His Trp Val Lys Gln Ser His Val Lys Ser Leu Glu Trp Ile

35 40 45

Gly Arg Ile Asn Pro Tyr Asn Gly Ala Thr Ser Tyr Asn Gln Asn Phe

50 55 60

Lys Asp Lys Ala Ser Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80

Met Glu Leu His Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

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

100 105 110

Thr Val Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Gly

115 120 125

Gly Ser Asp Ile Lys Met Thr Gln Ser Pro Lys Phe Met Ser Thr Ser

130 135 140

Val Gly Asp Arg Val Ser Val Thr Cys Glu Ala Ser Gln Asn Val Asp

145 150 155 160

Asn Asn Val Val Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Ala

165 170 175

Leu Ile Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe

180 185 190

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

195 200 205

Gln Ser Glu Asp Leu Ala Glu Tyr Phe Cys Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr

210	215	220
Pro Leu Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg		
225	230	235
<210> 172		
<211> 238		
<212> PRT		
<213> Artificial		
<220><223> TF1413-03e004 scFv		
<400> 172		
Gln Val Gln Leu Lys Gln Ser Gly Ala Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala		
1	5	10
Pro Val Lys Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr		
20	25	30
Trp Met Asn Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Arg Gly Leu Glu Trp Ile		
35	40	45
Gly Arg Ile Asp Pro Ser Asp Ser Glu Thr His Tyr Asn Gln Lys Phe		
50	55	60
Lys Asp Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr		
65	70	75
Ile Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys		
85	90	95
Ala Arg Gly Tyr Tyr Gly Ser Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu		
100	105	110
Thr Val Ser Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly		
115	120	125
Gly Ser Asp Ile Lys Met Thr Gln Ser Pro Lys Phe Met Ser Thr Ser		
130	135	140
Val Gly Asp Arg Val Ser Val Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asn Val Gly		
145	150	155
Thr Asn Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Ala		
165	170	175
Leu Ile Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe		

180	185	190
Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Asn Val		
195	200	205
Gln Ser Glu Asp Leu Ala Glu Tyr Phe Cys Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr		
210	215	220
Pro Leu Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys Arg		
225	230	235
<210> 173		
<211> 243		
<212> PRT		
<213> Artificial		
<220><223> TF1413-03e005 scFv		
<400> 173		
Gln Val Gln Leu Lys Glu Ser Gly Ala Glu Leu Val Arg Ser Gly Ala		
1	5	10
Ser Val Lys Leu Ser Cys Thr Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Tyr		
20	25	30
Tyr Met His Trp Val Lys Gln Arg Pro Glu Gln Gly Leu Glu Trp Ile		
35	40	45
Gly Trp Ile Asp Pro Glu Asn Gly Asp Thr Glu Tyr Ala Pro Lys Phe		
50	55	60
Gln Gly Lys Ala Thr Met Thr Ala Asp Thr Ser Ser Asn Thr Ala Tyr		
65	70	75
Leu Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys		
85	90	95
Asn Ala Phe Tyr Tyr Asp Tyr Asp Gly Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly		
100	105	110
Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly		
115	120	125
Gly Ser Gly Gly Gly Ser Asp Val Val Met Thr Gln Thr Pro Ser		
130	135	140
Ser Leu Ser Ala Ser Leu Gly Glu Arg Val Ser Leu Thr Cys Arg Ala		

145 150 155 160

Ser Gln Glu Ile Ser Gly Tyr Leu Ser Trp Leu Gln Gln Lys Pro Asp

165 170 175

Gly Thr Ile Lys Arg Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Thr Leu Asp Ser Gly

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

Leu Lys Arg

<210> 174

<211> 242

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> TF1413-03e015 scFv

<400> 174

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

1 5 10 15

Ser Met Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Gly Tyr

20 25 30

Thr Met Asn Trp Val Lys Gln Ser His Gly Lys Asn Leu Glu Trp Ile

35 40 45

Gly Leu Ile Asn Pro Tyr Asn Gly Gly Thr Ser Tyr Asn Gln Lys Phe

50 55 60

Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80

Met Glu Leu Leu Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Gly Asp Tyr Tyr Pro Pro Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln

100 105 110

Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly

115 120 125

Ser Gly Gly Gly Ser Asp Ile Val Met Ser Gln Ser Pro Lys Phe

130 135 140

Met Ser Thr Ser Val Gly Asp Arg Val Ser Val Thr Cys Lys Ala Ser

145 150 155 160

Gln Asn Val Gly Thr Asn Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln

165 170 175

Ser Pro Lys Pro Leu Ile Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Ser Gly Val

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

Tyr Asn Arg Tyr Pro Leu Thr Phe Gly Val Gly Thr Lys Leu Glu Ile

225 230 235 240

Lys Arg

<210> 175

<211> 241

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> TF1413-03e034 scFv

<400> 175

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

1 5 10 15

Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Gly Tyr

20 25 30

Asn Met Asn Trp Val Lys Gln Ser Asn Gly Lys Ser Leu Glu Trp Ile

35 40 45

Gly Asn Ile Asp Pro Tyr Tyr Gly Thr Ser Tyr Asn Gln Lys Phe

50 55 60

Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80

Met Gln Leu Lys Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Gly Asn Tyr Gly Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly

100 105 110

Thr Ser Val Thr Val Ser Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser

115 120 125

Gly Gly Gly Ser Asp Ile Val Met Ser Gln Ser Pro Lys Phe Met

130 135 140

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

145 150 155 160

Asn Val Arg Thr Ala Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser

165 170 175

Pro Lys Ala Leu Ile Tyr Leu Ala Ser Asn Arg His Thr Gly Val Pro

180 185 190

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

195 200 205

Ser Asn Val Gln Ser Glu Asp Leu Ala Asp Tyr Phe Cys Leu Gln His

210 215 220

Trp Asn Tyr Pro Leu Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys

225 230 235 240

Arg

<210> 176

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial

<220><223> T7 primer

<400> 176

taatacgaact cactataggg 20

<210> 177

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial

<220><223> cp3R primer

<400> 177

gcccagcattg acaggagggtt g 21

<210> 178

<211> 241

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> #5 VH1-15-VL1

<400>

178

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

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Gly Tyr

20 25 30

Asn Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile

35 40 45

Gly Asn Ile Asp Pro Tyr Tyr Gly Gly Thr Ser Tyr Asn Gln Lys Phe

50 55 60

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

65 70 75 80

Met Glu Leu Arg Ser Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Gly Asp Tyr Arg Ala Tyr Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly

100 105 110

Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly

115 120 125

Ser Gly Gly Gly Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser

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

Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr		
195	200	205
Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln		
210	215	220
His Trp Asn Tyr Pro Leu Thr Phe Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile		
225	230	235
Lys		240

<210> 179			
<211> 241			
<212> PRT			
<213> Artificial			
<220><223> #5 VH2-15-VL1			
<400> 179			
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala			

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

85	90	95
Ala Arg Gly Asp Tyr Arg Ala Tyr Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly		
100	105	110
Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly		
115	120	125
Ser Gly Gly Gly Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser		
130	135	140
Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser		
145	150	155
Gln Asn Val Arg Thr Ala Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys		
165	170	175
Ala Pro Lys Ala Leu Ile Tyr Leu Ala Ser Asn Arg His Thr Gly Val		
180	185	190
Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr		
195	200	205
Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln		
210	215	220
His Trp Asn Tyr Pro Leu Thr Phe Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile		
225	230	235
Lys		
<210> 180		
<211> 241		
<212> PRT		
<213> Artificial		
<220><223> #5 VH3-15-VL1		
<400> 180		
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala		
1	5	10
15		
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Gly Tyr		
20	25	30
Asn Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile		

35 40 45

Gly Asn Ile Asp Pro Tyr Tyr Gly Gly Thr Ser Tyr Asn Gln Lys Phe
 50 55 60
 Lys Gly Arg Val Thr Leu Thr Val Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80

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

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

Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln
 210 215 220
 His Trp Asn Tyr Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile
 225 230 235 240
 Lys

<210> 181

<211> 245

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> #6 VH1-15-VL1

<400> 181

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Ala Tyr Ile Ser Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Pro Asp Thr Val

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Arg Gly Leu Arg Arg Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr

100 105 110

Met Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser

115 120 125

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

130 135 140

Pro Val Thr Pro Gly Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln

145 150 155 160

Ser Leu Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Leu Gln

165 170 175

Lys Pro Gly Gln Ser Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg

180 185 190

Phe Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp

195 200 205

Phe Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr

210 215 220

Tyr Cys Ser Gln Ser Thr His Val Pro Leu Thr Phe Gly Gly Thr

225 230 235 240

Lys Val Glu Ile Lys

245

<210> 182

<211> 245

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> #6 VH1-15-VL2

<400> 182

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Ala Tyr Ile Ser Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Pro Asp Thr Val

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Arg Gly Leu Arg Arg Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr

100 105 110

Met Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser

115 120 125

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

130 135 140

Pro Val Thr Pro Gly Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln

145 150 155 160

Ser Leu Val His Ser Ser Gly Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Leu Gln

165 170 175

Lys Pro Gly Gln Ser Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg

180 185 190

Phe Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp
 195 200 205
 Phe Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr

210 215 220
 Tyr Cys Ser Gln Ser Thr His Val Pro Leu Thr Phe Gly Gly Thr
 225 230 235 240
 Lys Val Glu Ile Lys

245
 <210> 183
 <211> 245
 <212> PRT
 <213> Artificial
 <220><223> #6 VH2-15-VL1
 <400> 183

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ala Phe Ser Ser Tyr

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

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

Pro Val Thr Pro Gly Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln

145 150 155 160

Ser Leu Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Leu Gln

165 170 175

Lys Pro Gly Gln Ser Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg

180 185 190

Phe Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp

195 200 205

Phe Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr

210 215 220

Tyr Cys Ser Gln Ser Thr His Val Pro Leu Thr Phe Gly Gly Thr

225 230 235 240

Lys Val Glu Ile Lys

245

<210> 184

<211> 245

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> #6 VH2-15-VL2

<400> 184

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Ala Tyr Ile Ser Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Pro Asp Thr Val

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85	90	95	
Ala Arg Arg Gly Leu Arg Arg Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr			
100	105	110	
Met Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser			
115	120	125	
Gly Gly Gly Ser Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu			
130	135	140	
Pro Val Thr Pro Gly Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln			
145	150	155	160
Ser Leu Val His Ser Ser Gly Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Leu Gln			
165	170	175	
Lys Pro Gly Gln Ser Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg			
180	185	190	
Phe Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Thr Asp			
195	200	205	
Phe Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr			
210	215	220	
Tyr Cys Ser Gln Ser Thr His Val Pro Leu Thr Phe Gly Gly Thr			
225	230	235	240
Lys Val Glu Ile Lys			
245			
<210> 185			
<211> 283			
<212> PRT			
<213> Artificial			
<220><223> hCD8-hCD28-h4-1BB-hCD3			
<400> 185			
Phe Val Pro Val Phe Leu Pro Ala Lys Pro Thr Thr Thr Pro Ala Pro			
1	5	10	15
Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu			
20	25	30	
Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg			

35	40	45
Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly		
50	55	60
Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys Asn		
65	70	75
His Arg Asn Arg Ser Lys Arg Ser Arg Leu Leu His Ser Asp Tyr Met		
85	90	95
Asn Met Thr Pro Arg Arg Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro		
100	105	110
Tyr Ala Pro Pro Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Ser Arg Phe Ser Val		
115	120	125
Val Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe		
130	135	140
Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg		
145	150	155
Phe Pro Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser		
165	170	175
Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr		
180	185	190
Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys		
195	200	205
Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn		
210	215	220
Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu		
225	230	235
Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Gly Lys Gly		
245	250	255
His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr		
260	265	270
Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg		
275	280	

<210> 186

<211> 277

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> hCD8-hCD28-h4-1BB-hCD3

<400> 186

Phe Val Pro Val Phe Leu Pro Ala Lys Pro Thr Thr Thr Pro Ala Pro

1 5 10 15

Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu

20 25 30

Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg

35 40 45

Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly

50 55 60

Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Arg Ser Lys

65 70 75 80

Arg Ser Arg Leu Leu His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro Arg Arg

85 90 95

Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro Pro Arg Asp

100 105 110

Phe Ala Ala Tyr Arg Ser Arg Phe Ser Val Val Lys Arg Gly Arg Lys

115 120 125

Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr

130 135 140

Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu

145 150 155 160

Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro

165 170 175

Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly

180 185 190

Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro

195 200 205

Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr

210 215 220

Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly

225 230 235 240

Met Lys Gly Glu Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln

245 250 255

Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln

260 265 270

Ala Leu Pro Pro Arg

275

<210> 187

<211> 276

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> hCD8-hCD28-h4-1BB-hCD3

<400> 187

Phe Val Pro Val Phe Leu Pro Ala Lys Pro Thr Thr Thr Pro Ala Pro

1 5 10 15

Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu

20 25 30

Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg

35 40 45

Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly

50 55 60

Thr Cys Gly Val Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Arg Ser Lys Arg

65 70 75 80

Ser Arg Leu Leu His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro Arg Arg Pro

85 90 95

Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro Pro Arg Asp Phe

100 105 110

Ala Ala Tyr Arg Ser Arg Phe Ser Val Val Lys Arg Gly Arg Lys Lys

115 120 125

Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr

130 135 140

Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Gly

145 150 155 160

Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala

165 170 175

Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg

180 185 190

Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu

195 200 205

Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn

210 215 220

Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met

225 230 235 240

Lys Gly Glu Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly

245 250 255

Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala

260 265 270

Leu Pro Pro Arg

275

<210> 188

<211> 19

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 188

Met Asp Trp Thr Trp Arg Ile Leu Phe Leu Val Ala Ala Ala Thr Gly

1 5 10 15

Ala His Ser