



(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) 선행기술조사문헌
JP2016523518 A
JP2015526387 A

(73) 특허권자
고쿠리츠다이가쿠호우진 야마구치 다이가쿠
일본 야마구치켄 야마구치시 요시다 1677-1
국립연구개발법인 고쿠리츠간켄큐센터
일본국 도쿄도 추오구 츠키지 5-1-1
노일 이문 바이오테크 가부시키가이샤
일본 도쿄도 미나토구 시바다이몬 2초메 12방 10
고

(72) 발명자
다마다 교지
일본 야마구치켄 우베시 미나미코구시 1초메 1-1
고쿠리츠다이가쿠호우진 야마구치 다이가쿠 이가
쿠부 나이
사코다 유키미
일본 야마구치켄 우베시 미나미코구시 1초메 1-1
고쿠리츠다이가쿠호우진 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) 요약

본 발명은, 기존의 항체 (예를 들어, GC33, GC199) 와는 상이한 에피토프를 인식하고, 또한 1 본쇄 항체의 상태에서 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 것을 과제로 한다.

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

대표도



(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 고쿠리츠칸켄큐센터 히가시요잉
나이

사이토 게이코

일본 지바켄 가시와시 가시와노하 6쵸메 5방 1고
국립연구개발법인 고쿠리츠칸켄큐센터 히가시요잉
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 항제.

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 경사슬 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 경사슬 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 경사슬 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 경사슬 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 경사슬 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 ;

(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 본쇄 항체와, 이러한 항 GPC3 1 본쇄 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.

배경 기술

[0002] Glypican-3 (GPC3) 은, 태생기의 조직, 특히 간장·신장에서 발현하고, 기관 형성에 관련된 세포의 매트릭스 단백질이다. GPC3 은, 성인 조직에 있어서는 태반 이외에 발현은 확인되지 않기는 하지만, 간세포암, 췌라노마, 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 세포의 매트릭스로서 세포 접착이나 세포 증식 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 국재시키는 역할을 담당하고 있다. 또, GPC3 의 495 번째의 세린과, 509 번째의 세린은, 헤파란 황산 사슬 (HS 사슬) 이 수식하고 있다. HS 사슬은, Wnt 시그널, FGF 시그널, BMP 시그널 등의 복수의 증식 시그널 전달 경로를 조절하는 것이 알려져 있다. 암종에 따라서는, 관련된 증식 시그널 전달 경로가 상이한 것이 알려져 있고, 예를 들어, 간세포암 (HCC) 에 있어서는, Wnt 시그널 경로를 자극하여 세포 증식한다. 글리피칸 패밀리에 공통되는 특징으로서, 세포의 영역에 시스테인이 16 개로 풍부하게 포함하고 있어, 복수의 분자 내 디설파이드 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 디설파이드 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 면역요법에 유용한 것을 확인하였다. 본 발명은, 이들 지견에 기초하여, 완성하기에 이른 것이다.

[0008] 즉, 본 발명은 이하와 같다.

[0009] [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,

- [illegible]

- [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 본쇄 항체인 상기 [1] 또는 [2] 중 어느 하나에 기재된 항체.
- [0046] [4] 1 본쇄 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 ;
- [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 본쇄 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 본쇄 항체」 라고 하는 경우가 있다) 와, 본건 1 본쇄 항체의 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 코딩하는 항체 유전자 (이하, 「본건 항체 유전자」 라고 하는 경우가 있다), 또는 상기 [7] 혹은 [8] 에 기재된 CAR 을 코딩하는 CAR 유전자 (이하, 「본건 CAR 유전자」 라고 하는 경우가 있다).
- [0085] [12] 상기 [1] ~ [4] 및 [6] 중 어느 하나에 기재된 항체를 코딩하는 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 코딩하는 CAR 유전자를 포함하는 벡터 (이하, 「본건 벡터」 라고 하는 경우가 있다).
- [0087] [14] 프로모터와, 그 프로모터의 하류에 작동 가능하게 연결되어 있는 상기 [12] 에 기재된 항체 유전자를 포함하는 벡터.
- [0088] [15] 상기 [13] 또는 [14] 에 기재된 벡터가 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).

[0091] 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 RNA 로부터 역전사 반응에 의해 cDNA 를 합성하고, 항체 유전자를 증폭하여 항체 유전자 라이브러리를 제조하는 공정과, 상기 항체 유전자 라이브러리로부터 scFv 파지 라이브러리를 구축하고, 대장균에 감염시켜 scFv 를 발현시킨 것에 대하여, 상기 전체 길이 인간 GPC3 이나 당해 GPC3 발현 세포주, 필요에 따라, 또한 경쟁체로서 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 2 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+콜라게나아제」) 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 [엑손 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 [엑손 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 중 ~ 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 캡신으로 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 펩티드 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 힌지 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, 내츨릴 킬러 세포 (NK 세포), B 세포 등의 림프구계 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, 골수액 등의 체액이나, 비장, 흉선, 림프절 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·델타 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 레시피언트는 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 CAR 로는, 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 CAR 로는,
- [0118] 상기 (1-3) 의 1 본쇄 항체와, 서열 번호 185 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 펩티드를 포함하는 것이나,
- [0119] 상기 (1-3) 의 1 본쇄 항체와, 서열 번호 186 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 펩티드를 포함하는 것이나,
- [0120] 상기 (1-3) 의 1 본쇄 항체와, 서열 번호 187 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 펩티드를 포함하는 것이나,
- [0121] 상기 (1-3'-1) 의 1 본쇄 항체와, 서열 번호 185 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 펩티드를 포함하는 것이나,
- [0122] 상기 (1-3'-1) 의 1 본쇄 항체와, 서열 번호 186 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 펩티드를 포함하는 것이나,
- [0123] 상기 (1-3'-1) 의 1 본쇄 항체와, 서열 번호 187 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 펩티드를 포함하는 것이나,
- [0124] 상기 (1-3'-2) 의 1 본쇄 항체와, 서열 번호 185 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 펩티드를 포함하는 것이나,
- [0125] 상기 (1-3'-2) 의 1 본쇄 항체와, 서열 번호 186 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 펩티드를 포함하는 것이나,
- [0126] 상기 (1-3'-2) 의 1 본쇄 항체와, 서열 번호 187 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 펩티드를 포함하는 것이나,
- [0127] 상기 (1-3'-3) 의 1 본쇄 항체와, 서열 번호 185 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 펩티드를 포함하는 것이나,
- [0128] 상기 (1-3'-3) 의 1 본쇄 항체와, 서열 번호 186 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 펩티드를 포함하는 것이나,
- [0129] 상기 (1-3'-3) 의 1 본쇄 항체와, 서열 번호 187 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 펩티드를 포함하는 것이나,
- [0130] 상기 (2-3) 의 1 본쇄 항체와, 서열 번호 185 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 펩티드를 포함하는 것이나,
- [0131] 상기 (2-3) 의 1 본쇄 항체와, 서열 번호 186 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 펩티드를 포함하는 것이나,
- [0132] 상기 (2-3) 의 1 본쇄 항체와, 서열 번호 187 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 펩티드를 포함하는 것이나,
- [0133] 상기 (2-3'-1) 의 1 본쇄 항체와, 서열 번호 185 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 펩티드를 포함하는 것이나,
- [0134] 상기 (2-3'-1) 의 1 본쇄 항체와, 서열 번호 186 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 펩티드를 포함하는 것이나,
- [0135] 상기 (2-3'-1) 의 1 본쇄 항체와, 서열 번호 187 에 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), 리포펙션법 (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 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 제조함 바이러스를 제조하고, 이러한 제조함 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 핑거 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-메르캅토프린, 에노시타빈 등의 대사 길항약, 리톡시맵, 세톡시맵, 트라스트주맵 등의 분자 표적약, 이마티닙, 게페티닙, 에를로티닙, 아파티닙, 다사티닙, 수니티닙, 트라메티닙 등의 키나아제 저해제, 보르테오미드 등의 프로테아솜 저해제, 시클로스포린, 타크로리무스 등의 칼시뉴린 저해약, 이다루비신, 독소루비신, 마이토마이신 C 등의 항암성 항생 물질, 이리노테칸, 에토포시드 등의 식물 알칼로이드, 시스플라틴, 옥사리플라틴, 카르보플라틴 등의 플라티나 제제, 타목시펜, 비칼루다미드 등의 호르몬 요법약, 인터페론, 니보르맵,

캡슐화리주맵 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 (뉴클레오타이드) 이면 특별히 제한되지 않고, 예를 들어,
- [0151] (1-1D) 서열 번호 111 에 나타내는 뉴클레오타이드 서열로 이루어지는 H 사슬 V 영역의 91 ~ 105 번째의 뉴클레오타이드 잔기로 이루어지는 H 사슬 CDR1 유전자 (상기 (1-1) 의 H 사슬 CDR1 을 코드하는 유전자), 또는 당해 H 사슬 CDR1 유전자의 축중 코돈 개변체; 서열 번호 111 에 나타내는 뉴클레오타이드 서열로 이루어지는 H 사슬 V 영역의 148 ~ 198 번째의 뉴클레오타이드 잔기로 이루어지는 H 사슬 CDR2 유전자 (상기 (1-1) 의 H 사슬 CDR2 를 코드하는 유전자), 또는 당해 H 사슬 CDR2 유전자의 축중 코돈 개변체; 및 서열 번호 111 에 나타내는 뉴클레오타이드 서열로 이루어지는 H 사슬 V 영역의 295 ~ 324 번째의 뉴클레오타이드 잔기로 이루어지는 H 사슬 CDR3 유전자 (상기 (1-1) 의 H 사슬 CDR3 을 코드하는 유전자), 또는 당해 H 사슬 CDR3 유전자의 축중 코돈 개변체; 와,
- [0152] 서열 번호 112 에 나타내는 뉴클레오타이드 서열로 이루어지는 L 사슬 V 영역의 70 ~ 102 번째의 뉴클레오타이드 잔기로 이루어지는 L 사슬 CDR1 유전자 (상기 (1-1) 의 L 사슬 CDR1 을 코드하는 유전자), 또는 당해 L 사슬 CDR1 유전자의 축중 코돈 개변체; 서열 번호 112 에 나타내는 뉴클레오타이드 서열로 이루어지는 L 사슬 V 영역의 148 ~ 168 번째의 뉴클레오타이드 잔기로 이루어지는 L 사슬 CDR2 유전자 (상기 (1-1) 의 L 사슬 CDR2 를 코드하는 유전자), 또는 당해 L 사슬 CDR2 유전자의 축중 코돈 개변체; 및 서열 번호 112 에 나타내는 뉴클레오타이드 서열로 이루어지는 L 사슬 V 영역의 265 ~ 291 번째의 뉴클레오타이드 잔기로 이루어지는 L 사슬 CDR3 유전자 (상기 (1-1) 의 L 사슬 CDR3 을 코드하는 유전자), 또는 당해 L 사슬 CDR3 유전자의 축중 코돈 개변체; 를 포함하는 것이나,
- [0153] (2-1D) 서열 번호 115 에 나타내는 뉴클레오타이드 서열로 이루어지는 H 사슬 V 영역의 91 ~ 105 번째의 뉴클레오타이드 잔기로 이루어지는 H 사슬 CDR1 유전자 (상기 (2-1) 의 H 사슬 CDR1 을 코드하는 유전자), 또는 당해 H 사슬 CDR1 유전자의 축중 코돈 개변체; 서열 번호 115 에 나타내는 뉴클레오타이드 서열로 이루어지는 H 사슬 V 영역의 148 ~ 198 번째의 뉴클레오타이드 잔기로 이루어지는 H 사슬 CDR2 유전자 (상기 (2-1) 의 H 사슬 CDR2 를 코드하는 유전자), 또는 당해 H 사슬 CDR2 유전자의 축중 코돈 개변체; 및 서열 번호 115 에 나타내는 뉴클레오타이드 서열로 이루어지는 H 사슬 V 영역의 295 ~ 321 번째의 뉴클레오타이드 잔기로 이루어지는 H 사슬 CDR3 유전자 (상기 (2-1) 의 H 사슬 CDR3 을 코드하는 유전자), 또는 당해 H 사슬 CDR3 유전자의 축중 코돈 개변체; 와,
- [0154] 서열 번호 116 에 나타내는 뉴클레오타이드 서열로 이루어지는 L 사슬 V 영역의 70 ~ 117 번째의 뉴클레오타이드 잔기로 이루어지는 L 사슬 CDR1 유전자 (상기 (2-1) 의 L 사슬 CDR1 을 코드하는 유전자), 또는 당해 L 사슬 CDR1 유전자의 축중 코돈 개변체; 서열 번호 116 에 나타내는 뉴클레오타이드 서열로 이루어지는 L 사슬 V 영역의 163 ~ 183 번째의 뉴클레오타이드 잔기로 이루어지는 L 사슬 CDR2 유전자 (상기 (2-1) 의 L 사슬 CDR2 를 코드하는 유전자), 또는 당해 L 사슬 CDR2 유전자의 축중 코돈 개변체; 및 서열 번호 116 에 나타내는 뉴클레오타이드 서열로 이루어지는 L 사슬 V 영역의 280 ~ 306 번째의 뉴클레오타이드 잔기로 이루어지는 L 사슬 CDR3 유전자 (상기 (2-1) 의 L 사슬 CDR3 을 코드하는 유전자), 또는 당해 L 사슬 CDR3 유전자의 축중 코돈 개변체; 를 포함하는 것이나,
- [0155] (3-1D) 서열 번호 119 에 나타내는 뉴클레오타이드 서열로 이루어지는 H 사슬 V 영역의 91 ~ 105 번째의 뉴클레오타이드 잔기로 이루어지는 H 사슬 CDR1 유전자 (상기 (3-1) 의 H 사슬 CDR1 을 코드하는 유전자), 또는 당해 H 사슬 CDR1 유전자의 축중 코돈 개변체; 서열 번호 119 에 나타내는 뉴클레오타이드 서열로 이루어지는 H 사슬 V 영역의 148 ~ 198 번째의 뉴클레오타이드 잔기로 이루어지는 H 사슬 CDR2 유전자 (상기 (3-1) 의 H 사슬 CDR2 를 코드하는 유전자), 또는 당해 H 사슬 CDR2 유전자의 축중 코돈 개변체; 및 서열 번호 119 에 나타내는 뉴클레오타이드 서열로 이루어지는 H 사슬 V 영역의 295 ~ 315 번째의 뉴클레오타이드 잔기로 이루어지는 H 사슬 CDR3 유전자 (상기 (3-1) 의 H 사슬 CDR3 을 코드하는 유전자), 또는 당해 H 사슬 CDR3 유전자의 축중 코돈 개변체; 와,
- [0156] 서열 번호 120 에 나타내는 뉴클레오타이드 서열로 이루어지는 L 사슬 V 영역의 70 ~ 102 번째의 뉴클레오타이드 잔기로 이루어지는 L 사슬 CDR1 유전자 (상기 (3-1) 의 L 사슬 CDR1 을 코드하는 유전자), 또는 당해 L 사슬

- [0169] (10-1D) 서열 번호 147 에 나타내는 뉴클레오타이드 서열로 이루어지는 H 사슬 V 영역의 91 ~ 105 번째의 뉴클레오타이드 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 뉴클레오타이드 서열로 이루어지는 H 사슬 V 영역의 148 ~ 198 번째의 뉴클레오타이드 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 뉴클레오타이드 서열로 이루어지는 H 사슬 V 영역의 295 ~ 327 번째의 뉴클레오타이드 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 뉴클레오타이드 서열로 이루어지는 L 사슬 V 영역의 70 ~ 102 번째의 뉴클레오타이드 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 뉴클레오타이드 서열로 이루어지는 L 사슬 V 영역의 148 ~ 168 번째의 뉴클레오타이드 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 뉴클레오타이드 서열로 이루어지는 L 사슬 V 영역의 265 ~ 291 번째의 뉴클레오타이드 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 뉴클레오타이드 서열로 이루어지는 H 사슬 V 영역의 91 ~ 105 번째의 뉴클레오타이드 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 뉴클레오타이드 서열로 이루어지는 H 사슬 V 영역의 148 ~ 198 번째의 뉴클레오타이드 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 뉴클레오타이드 서열로 이루어지는 H 사슬 V 영역의 295 ~ 324 번째의 뉴클레오타이드 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 뉴클레오타이드 서열과 적어도 80 % 이상의 서열 동일성을 갖는 뉴클레오타이드 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 뉴클레오타이드 서열과 적어도 80 % 이상의 서열 동일성을 갖는 뉴클레오타이드산 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 뉴클레오타이드 서열과 적어도 80 % 이상의 서열 동일성을 갖는 뉴클레오타이드 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 뉴클레오타이드 서열과 적어도 80 % 이상의 서열 동일성을 갖는 뉴클레오타이드산 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 뉴클레오타이드 서열과 적어도 80 % 이상의 서열 동일성을 갖는 뉴클레오타이드 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 뉴클레오타이드 서열과 적어도 80 % 이상의 서열 동일성을 갖는 뉴클레오타이드산 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 뉴클레오타이드 서열과 적어도 80 % 이상의 서열 동일성을 갖는 뉴클레오타이드 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 뉴클레오타이드 서열과 적어도 80 % 이상의 서열 동일성을 갖는 뉴클레오타이드산 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,

- [illegible]

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 본쇄 항체를 코드하는 유전자, 또는 당해 유전자의 축중 코돈 개변체를 포함하는 것이나,
- [0198] (2-3D) 상기 (2-3) 의 1 본쇄 항체를 코드하는 유전자, 또는 당해 유전자의 축중 코돈 개변체를 포함하는 것이나,
- [0199] (3-3D) 상기 (3-3) 의 1 본쇄 항체를 코드하는 유전자, 또는 당해 유전자의 축중 코돈 개변체를 포함하는 것이나,
- [0200] (4-3D) 상기 (4-3) 의 1 본쇄 항체를 코드하는 유전자, 또는 당해 유전자의 축중 코돈 개변체를 포함하는 것이나,
- [0201] (5-3D) 상기 (5-3) 의 1 본쇄 항체를 코드하는 유전자, 또는 당해 유전자의 축중 코돈 개변체를 포함하는 것이나,
- [0202] (6-3D) 상기 (6-3) 의 1 본쇄 항체를 코드하는 유전자, 또는 당해 유전자의 축중 코돈 개변체를 포함하는 것이나,
- [0203] (7-3D) 상기 (7-3) 의 1 본쇄 항체를 코드하는 유전자, 또는 당해 유전자의 축중 코돈 개변체를 포함하는 것이나,
- [0204] (8-3D) 상기 (8-3) 의 1 본쇄 항체를 코드하는 유전자, 또는 당해 유전자의 축중 코돈 개변체를 포함하는 것이나,
- [0205] (9-3D) 상기 (9-3) 의 1 본쇄 항체를 코드하는 유전자, 또는 당해 유전자의 축중 코돈 개변체를 포함하는 것이나,
- [0206] (10-3D) 상기 (10-3) 의 1 본쇄 항체를 코드하는 유전자, 또는 당해 유전자의 축중 코돈 개변체를 포함하는 것이나,
- [0207] (11-3D) 상기 (11-3) 의 1 본쇄 항체를 코드하는 유전자, 또는 당해 유전자의 축중 코돈 개변체를 포함하는 것이나,
- [0208] (1-3'-1D) 상기 (1-3'-1) 의 1 본쇄 항체를 코드하는 유전자, 또는 당해 유전자의 축중 코돈 개변체를 포함하는 것이나,
- [0209] (1-3'-2D) 상기 (1-3'-2) 의 1 본쇄 항체를 코드하는 유전자, 또는 당해 유전자의 축중 코돈 개변체를 포함하는 것이나,
- [0210] (1-3'-3D) 상기 (1-3'-3) 의 1 본쇄 항체를 코드하는 유전자, 또는 당해 유전자의 축중 코돈 개변체를 포함하는

것이나,

- [0211] (2-3'-1D) 상기 (2-3'-1) 의 1 본쇄 향체를 코드하는 유전자, 또는 당해 유전자의 축중 코돈 개변체를 포함하는 것이나,
- [0212] (2-3'-2D) 상기 (2-3'-2) 의 1 본쇄 향체를 코드하는 유전자, 또는 당해 유전자의 축중 코돈 개변체를 포함하는 것이나,
- [0213] (2-3'-3D) 상기 (2-3'-3) 의 1 본쇄 향체를 코드하는 유전자, 또는 당해 유전자의 축중 코돈 개변체를 포함하는 것이나,
- [0214] (2-3'-4D) 상기 (2-3'-4) 의 1 본쇄 향체를 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, 쿠퍼리 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 얼라인먼트하는 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 향체 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 향체 유전자가 전사되어 본건 향체가 발현하는 것, 또는 본건 CAR 유전자의 mRNA 가 전사되어 본건 CAR 이 발현하는 것이면 되고, 본건 벡터로서 「본건 향체 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), 스킴조사카로마이세스 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, PHO5 프로모터, PGK 프로모터, GAP 프로모터, ADH 프로모터, gal1 프로모터, gal10 프로모터, 히트 쇼크 단백질 프로모터, MF α 1 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, pcDNAI, pcDM8 (후나코시사 제조), pAGE107 (일본 공개특허공보 평3-22979호; Cytotechnology, 3, 133, (1990)), pAS3-3 (일본 공개특허공보 평2-227075호), pcDM8 (Nature, 329, 840, (1987)), pcDNAI/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 상피 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, SV40 의 초기 프로모터, 레트로바이러스의 프로모터, 메탈로티오네인 프로모터, 히트 쇼크 프로모터, SR α 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 (Trichoplusia) 의 난소 세포인 High5 세포 등) 를 사용하는 경우, 본건 벡터로는, 예를 들어, 재조합 바쿨로바이러스 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, 콜리폴라워 모자이크 바이러스 (CaMV) 의 35S 프로모터, 벼 액틴 1 프로모터 등을 들 수 있다.
- [0226] 본건 벡터로는, 유전자 발현 효율을 더욱 높이기 위해서, 인헨서 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, 블라스트마이신 내성 유전자, 제네티신 내성 유전자 등) 를 추가로 포함하는 것이 바람직하다. 인헨서 영역은, 통상적으로 프로모터의 상류에 배치되고, RBS 는, 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 상피 효모를 사용하는 경우, 본건 벡터의 효모에 대한 도입 방법으로는, 효모에 DNA 를 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 상피 포유 동물 세포를 사용하는 경우, 본건 벡터의 포유 동물 세포에 대한 도입 방법으로는, 포유 동물 세포에 DNA 를 도입하는 방법이면 되고, 예를 들어, 상피 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, 상피 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 상피 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 (트랜스포 벡터) 와, 바큘로바이러스 유래의 게놈 DNA 를 상기 곤충 세포에 코트랜스펙션 하고, 재조합 바큘로바이러스를 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 컴페티터로서 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, 세포 융합 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, 글루코옥시다아제, 글루코오스-6-포스페이트 디하이드로게나아제, 알코올 탈수소 효소, 말산 탈수소 효소, 페니실리나아제, 카탈라아제, 아포글루코옥시다아제, 우레아제, 루시페라아제 혹은 아세틸콜린에스테라아제 등의 효소, 플루오레스세인 이소티오시아네이트, 피코빌리 단백질, 희토류 금속 킬레이트, 덴실 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, ^3H , ^{14}C , ^{125}I 혹은 ^{131}I 등의 방사성 동위원소, 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 인용된다. 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]

[0244] 항인간 GPC3 항체를 조제하기 위한 면역 동물로서 SKG/Jcl 마우스를 사용하고, 면역하는 항원으로서 전체 길이 인간 GPC3 단백질을 사용하였다. SKG/Jcl 마우스는, 관절 류머티즘을 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 cDNA 로부터 scFv 파지 라이브러리를 제조하고, 파지 디스플레이법을 응용하여, 항인간 GPC3 항체를 분리하였다.

[0245] 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 RNA 로부터 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 농축하였다. 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 시퀀싱하고, 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 맘말리안 · 디스플레이법을 이용하여, scFv 의 에피토프가 GPC3 의 N 말단측 폴리펩티드 단편인 것을 확인하였다. 이하에 상세한 방법 및 결과를 나타낸다.

[0246] 1-1 재료와 방법

[0247] [세포 배양]

[0248] 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.

[0249] 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.

[0250] [면역 항원]

[0251] 6 × His 태그가 C 말단에 부가한 재조합 GPC3 (R & D systems 사 제조) 을 PBS 로 0.1 mg/ml 로 조정하고, 인공 아췌반트 TiterMax Gold (TiterMax 사 제조) 또는 CFA (Freund's Adjuvant Complete) (F5881, Sigma-Aldrich 사 제조) 와 등량 혼합하여 에멀션을 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 코딩하는 유전자 (서열 번호 160 으로 나타내는 뉴클레오타이드 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, 쏫 패트에 1 주간마다 함께 4 회 면역하였다. 면역 개시부터 5 주째에 채혈하고, 정법에 따라서 혈청을 조제하고, 항체의 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 항체를 측정하였다. 0.5 또는 2 $\mu\text{g/ml}$ 의 재조합 GPC3 을, 96 웰 마이크로 플레이트 (Nunc 사 제조) 에 50 μl /웰씩 첨가하여 실온에서 1 시간, 또는 4 $^{\circ}\text{C}$ 에서 12 시간 인큐베이트 하였다. 그 후에, 2 % 블로케이스 (DS 파마사 제조) 를, 200 μl /웰씩 첨가하여 블로킹 처리를 실시하였다. GPC3 면역 마우스 유래의 혈청을, 100 배 ~ 16500 배까지 0.1 % 블로케이스/PBS 용액으로 단계 희석하고, 각 희석 혈청 샘플을 50 μl /웰씩 첨가하여, 2 시간, 실온에서 인큐베이트 하고, 항원 항체 반응 처리를 실시하였다. Tween20 함유 PBS (PBST) 용액으로 웰을 세정한 후, 2 $\mu\text{g/ml}$ 퍼옥시다아제가 콘주제이트 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 μl /웰씩 첨가하여, 발색 반응을 실시하였다. 15 분 후에 0.18 M 황산을 50 μl /웰씩 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 혈청과, 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 $\mu\text{g/ml}$ 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 코딩하는 뉴클레오타이드 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 감염시켜, scFv 를 발현하는 파지 라이브러리를 제조하였다.
- [0262] [파지 scFv 의 바이오패닝과 클로닝]
- [0263] Dynabeads His-Tag Isolation & Pulldown 자성 비즈 (VERITAS 사 제조) 에, 6 \times His 태그를 개재하여 고정화한 재조합 GPC3 과, GPC3 발현 세포주를 조합한 것을 베이트 하여 사용한 파지 scFv 의 바이오패닝은, 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 바이오패

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 바이오오프닝의 각 공정에 있어서, 기존의 항 GPC3 항체인 GC33 (추가이 제약사 제조) 과 GC199 (추가이 제약사 제조) 를, 베이트에 미리 결합시켜 둬으로써, 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 패닝하는 것이 가능해진다. 바이오오프닝에 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. 정제된 플라스미드의 DNA 시퀀스를 실시하고, scFv 의 H 사슬 및 L 사슬의 가변 영역의 뉴클레오티드 서열을 결정하였다.

[0264] [FCM 에 의한 scFv 의 스크리닝]

[0265] GPC3 발현 세포주 (1 샘플당 5×10^5 개) 에, scFv 파지가 분비되어 있는 배양 상청 $100 \mu\text{l}$ 를 첨가하고, 혼합한 후, 빙상에서 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, 빙상에서 30 분 인큐베이트 하였다. 그 후, 플로우 사이토미터 (FACSCanto, BD 사 제조) 로 세포의 형광 염색을 측정하였다.

[0266] [Cell-based ELISA 에 의한 scFv 의 스크리닝]

[0267] 1 웰당 2×10^5 개의 GPC3 발현 세포가 접착한 96 웰 마이크로 플레이트의 DMEM 배양액을 제거한 후, scFv 의, 세포나 플레이트에 대한 비특이적인 결합을 방지하는 목적으로, 2 % BSA-PBS 용액을 첨가하고, 빙상에서 30 분간 인큐베이트 하였다. 다음으로, scFv 파지가 분비되어 있는 대장균의 배양 상청 $100 \mu\text{l}$ 를 첨가하고, 빙상에서 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 웰당 $100 \mu\text{l}$ 첨가하고, 또한 빙상에서 45 분간 인큐베이트 하였다. 항 cp3 항체 검출용의 3 차 항체로서 5000 배 희석한 HRP 표지 항토끼 IgG 항체 (MBL 사 제조) 를 1 웰당 $100 \mu\text{l}$ 첨가하고, 빙상에서 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 변환이 끝난 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.

[0268] [scFv 의 가변 영역 유전자 서열의 결정]

[0269] 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, 벡만콜터사 제조) 로 해독하였다.

[0270] [항체 에피토프 매핑에 사용하는 세포주의 제조]

[0271] 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 코딩하는 유전자와, 인간 GPC3 의 엑손 8 ~ 9 로 이루어지는 GPC3 C 말단 단편 (서열 번호 156 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 폴리펩티드) 을 코딩하는 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-관유래 성장인자 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 분리하고, scFv 의 에피토프 매핑에 사용하였다.

[0272] [FCM 에 의한 항체 에피토프 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 μ l 를 혼합하고, 빙상에서 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 μ g/ml 첨가하고, 빙상에서 30 분 인큐베이트 하였다. 그 후, 플로우 사이토미터 (FACSCanto, BD 사 제조) 로 세포의 형광 염색을 측정하였다.

[0274] [제조항 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 코딩하는 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 코딩하는 뉴클레오티드 서열을 삽입하였다 (pEH2.2-L). 다음으로, pEH2.2-L 로부터 EF1 α 프로모터로부터 L 사슬 유전자까지의 폴리뉴클레오티드 단편을, 제한 효소 (BglII 및 SalI) 로 잘라내고, 제한 효소 (BglII 및 SalI) 로 처리한 pEH1.1-H 에 라이게이션 하고, 항체 H 사슬 및 L 사슬이 공발현하는 벡터를 구축하였다.

[0276] [제조항 IgG 의 발현]

[0277] 상기 [제조항 IgG 발현 벡터의 구축] 에 기재된 방법으로 제조한 항체 H 사슬 및 L 사슬의 공발현 벡터 32.6 μ g 을, 1.6 ml 의 opti-MEM (Gibco 사 제조) 에 희석하고, Transficient Transfection Reagent (MBL 사 제조) 65 μ l 를, 1.6 ml opti-MEM 에 희석한 것과 혼합하고, 실온에서 10 분간 인큐베이트 하였다. 그 후, 10 ml 의 DMEM 배양액에 현탁한 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 제조항 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. 흡광도가 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] 제조항 GPC3 을 4 회 면역한 SKG/jc1 마우스로부터 채혈하고, 혈청 중에 GPC3 에 대한 항체가 생성되고 있는지 확인한 바, 제조항 GPC3 에 대한 ELIS 와, GPC3 발현 세포에 대한 FCM 의 실험에 의해, GPC3 에 대하여 결합성을 갖는 항체가 검출되었다. 이 중, 항체가가 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 글로블린 라이브러리는, 항원인 GPC3 을 면역하여 목적 항원에 대한 항체 응답이 확인된 마우스로부터 제조한 라이브러리이기 때문에, 라이브러리 사이즈가 작은 경우에도 목적으로 하는 항체 유전자가 포함될 가능성이 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] 픽업한 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 중사슬 및 경사슬 가변 영역의 뉴클레오타이드 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 (췌가이 제약사 제조) 이나 GC199 (췌가이 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	1
	H사슬CDR2	2
	H사슬CDR3	3
TF1413-02d039	H사슬CDR1	1 1
	H사슬CDR2	1 2
	H사슬CDR3	1 3
TF1413-02e004	H사슬CDR1	2 1
	H사슬CDR2	2 2
	H사슬CDR3	2 3
TF1413-02e014	H사슬CDR1	3 1
	H사슬CDR2	3 2
	H사슬CDR3	3 3
TF1413-02e030	H사슬CDR1	4 1
	H사슬CDR2	4 2
	H사슬CDR3	4 3
TF1413-02e040	H사슬CDR1	5 1
	H사슬CDR2	5 2
	H사슬CDR3	5 3
TF1413-03e001	H사슬CDR1	6 1
	H사슬CDR2	6 2
	H사슬CDR3	6 3
TF1413-03e004	H사슬CDR1	7 1
	H사슬CDR2	7 2
	H사슬CDR3	7 3
TF1413-03e005	H사슬CDR1	8 1
	H사슬CDR2	8 2
	H사슬CDR3	8 3
TF1413-03e015	H사슬CDR1	9 1
	H사슬CDR2	9 2
	H사슬CDR3	9 3
TF1413-03e034	H사슬CDR1	1 0 1
	H사슬CDR2	1 0 2
	H사슬CDR3	1 0 3

[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]

[0297] [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, 제조함 IgG 발현용 벡터로 완전 길이의 제조함 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]

I g G 클론명 및 영역		서열 번호
TF1413-02d028	H사슬	9
TF1413-02d039	H사슬	1 9
TF1413-02e004	H사슬	2 9
TF1413-02e014	H사슬	3 9
TF1413-02e030	H사슬	4 9
TF1413-02e040	H사슬	5 9
TF1413-03e001	H사슬	6 9
TF1413-03e004	H사슬	7 9
TF1413-03e005	H사슬	8 9
TF1413-03e015	H사슬	9 9
TF1413-03e034	H사슬	1 0 9
TF1413-02d028	L사슬	1 0
TF1413-02d039	L사슬	2 0
TF1413-02e004	L사슬	3 0
TF1413-02e014	L사슬	4 0
TF1413-02e030	L사슬	5 0
TF1413-02e040	L사슬	6 0
TF1413-03e001	L사슬	7 0
TF1413-03e004	L사슬	8 0
TF1413-03e005	L사슬	9 0
TF1413-03e015	L사슬	1 0 0
TF1413-03e034	L사슬	1 1 0

실시예 2

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

[EDTA 또는 트립신 처리한 세포의 조제]

GPC3 을 강제 발현시킨 SK-Hep-1 세포주를, 2 개의 T-75 플라스크에서 배양하였다. 각 플라스크의 배양 상청을 흡인하고, PBS 3 ml 로 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 °C 에서 각각 5 분간 (EDTA) 또는 2 분 30 초간 (트립신) 인큐베이트 하고, 세포를 플라스크로부터 박리하였다. 그 후, 각 플라스크에 7 ml 의 DMEM 배양액을 첨가하고, 피펫팅 한 후, 세포 현탁액을 50 ml 코니컬 튜브에 회수하였다. 또한 10 ml 의 DMEM 배양액으로 각 플라스크를 세정 후, 회수한 세정액도 각 세포 현탁액이 들어간 50 ml 코니컬 튜브에 각각 회수하여 원심 (1,500 rpm, 4 °C, 4 분간) 하였다. 코니컬 튜브로부터 상청을 흡인 후, 펠릿에 10 ml 의 DMEM 배양액을 첨가하고, EDTA 또는 트립신으로 박리한 세포수를 각각 계측하였다.

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

[콜라게나아제 처리한 세포의 조제]

- [0308] 상기와 같이 EDTA 로 박리한 1×10^6 개의 세포를, 50 ml 코니컬 튜브에 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 °C 에서 인큐베이트 하고, 세포 현탁액을 조제 후, 30 ml 의 DMEM 배양액으로 세정하면서, 100 μ m 셀 스트레이너에 통과시켰다. 세포 현탁액을 재차 100 μ m 셀 스트레이너에 통과시키고, 원심 (300 g, 4 °C, 10 분간) 하여 상청을 흡인하고, PBS 20 ml 를 첨가하여 세정 후, 원심 (300 g, 4 °C, 5 분간) 하여 상청을 흡인하였다. 5 ml 의 DMEM 의 배양액을 첨가하여 현탁한 후, 세포수를 계측하고, 2×10^5 개/튜브의 세포를, FACS (EC800) 해석하였다. FACS 해석에는, EDTA 또는 트립신 처리를 한 세포와 마찬가지로, 3 종류의 항체 (APC 로 형광 표지한 항마우스 IgG 항체 [5 μ g/튜브 : Biolegend 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 4 에 나타낸다. 또한, 도 4 에 있어서, 가로축의 우측에 피크가 있는 경우, GC33 항체 또는 scFv 클론 [TF1413-02d028] 항체가, GPC3 단백질에 결합하고 있는 것을 나타낸다.
- [0309] [결과]
- [0310] 도 4 에 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] GPC3 은, 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 1 에서 조제한 11 종류의 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 1 에서 조제한 11 종류의 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 scFv 를 디자인하였다 (표 5 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 이뮤노글로블린 H 사슬 유래 시그널 시퀀스를 부가하였다.

[0317] [표 5-1]

서열번호 1 6 5 : TF1413-02d028 유래의 s c F v
QVQLKESGPELEKPGASVKISCKASGYSFTGYNMNWWVKQSNQKSLIEWIGNIDPYYGGTSYNQKF KGKATLTVDKSSSTAYMQLKSLTSEDSAVYYCARGDYRAYYFDYWGGQTTLTVS GGGGSGGGGS GGGSDIQMTQSPKFMSTSVGDRVSITCKASQNVRTAVAWYQQKPGQSPKALIYLASNRTGVP DRFTGSGSGTDFLTISNVQSEDLADYFCLQHWNYPLTFGAGTKLELKR
서열번호 1 6 6 : TF1413-02d039 유래의 s c F v
EVKLVESGGGLVKPGGSLKLSAASGFAFSSYDMSWVRQTPEKRLEWVAYISSGGGSTYYPDTVK GRFTISRDNAKNTLYLQMSSLKSEDTAMYYCARRGLRRAMDYWGQGTSTVTVS GGGGSGGGSGG GGGSDVVMQTPLSLPVSLGDQASISCRSSQSLVHSNGNTYLHWYLQKPGQSPKLLIYKVSNRF SGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGYYFCQSQSTHVPLTFGAGTKLELKR
서열번호 1 6 7 : TF1413-02e004 유래의 s c F v
QVQLQQSGAELVKPGAPVKLSCKASGYTFTSYWMNWWVKQRPGRGLEWIGRIDPSDSETHYNQK FKDEATLTVDKSSSTAYIQLSSLTSEDSAVYYCARGYAMDYWGQGTSTVTVS GGGGSGGGSGG GGSDIVLTQSPKFMSTSVGDRVSITCKASQDVSTAVAWYQQKPGQSPKLLIYSASYRYTGVPDRFT GSGSGTDFTFITSSVQAEDLAVYYCQQHYSTPTFGGGTKLEIKR
서열번호 1 6 8 : TF1413-02e014 유래의 s c F v
QVQLKQSGAELVRSGASVKLSCTASGFNIKDYMHVVKQRPEQGLEWIGWIDPENGDTHEYAPKF QGKATMTADTSSNTAYLQLSSLTSEDTAVYYCNAGYYDYDGYAMDYWGQGTSTVTVS GGGGSGG GGSGGGSDIVLTQSPKFMSTSVGDRVSITCKASQDVGTAVAWYQQKPGQSPKLLIYWASTRHTG VPDRFTGSGSGTDFLTISNVQSEDLADYFCQQYSSYPLTFGGGTKLEIKR
서열번호 1 6 9 : TF1413-02e030 유래의 s c F v
EVQLQQSGAELVRPGALVKLSCKASGFNIKDYMHVVKQRPEQGLEWIGWIDPENGNTIYDPKF QGKASITADTSSNTAYLQLSSLTSEDTAVYYCAISTMITTLDYWGGQTTLTVS GGGGSGGGSGG GGSDIQMTQSPSSLAMSVGQKVTMSCKSSQSLNSSNQKNYLAWYQQKPGQSPKLLIYVFASTRE SGVPDRFIGSGSGTDFLTISNVQAEDLADYFCQQHYSTPLTFGAGTKLELKR
서열번호 1 7 0 : TF1413-02e040 유래의 s c F v
EVMLVESGPELVKPGASMKISCKASGYSFTGYTMNWWVKQSHGKNLEWIGLINPYNGGTSYNQN FKGKATLTVDKSSSTAYMELLSLTSEDSAVYYCARGYYGRFDYWGGQTTLTVS GGGGSGGGSGG GGGSDILLTQSPKFMSTSVGDRVSITCKASQNVRTAVAWYQQKPGQSPKALIYLASNRTGVPDR FTGSGSGTDFLTISNVQSEDLADYFCLQHWNYPLTFGAGTKLELKR

[0318]

[0319] [표 5-2]

서열번호 171 : TF1413-03e001 유래의 scFv
QVQLKQSGPELVKPGASVKISCKASGYSTFTGYMHVVKQSHVKSLEWIGRINPYNGATSYNQNF KDKASLTVDKSSSTAYMELHSLTSEDSAVYYCARNYGYFDYWGQGTTLTVS[GGGGSGGGSGG] [GGS]DIKMTQSPKFMSTSVGDRVSVTCEASQNVNNAVWYQQKPGQSPKALIYSASYRYSQVDPDR FTGSGSGTDFTLTISNVQSEDLAEYFCQQYNSYPLTFGAGTKLEIKR
서열번호 172 : TF1413-03e004 유래의 scFv
QVQLKQSGAELVKPGAPVKLSCKASGYTFTSYWMNVVKQRPGRGLEWIGRIDPSDSETHYNQK FKDKATLTVDKSSSTAYIQLSSLTSEDSAVYYCARGYYGSNYWGQGTTLTVS[GGGGSGGGSGGG] [GS]DIKMTQSPKFMSTSVGDRVSVTCKASQNVGTNAVWYQQKPGQSPKALIYSASYRYSQVDPDR TGSGSGTDFTLTISNVQSEDLAEYFCQQYNSYPLTFGAGTKLEIKR
서열번호 173 : TF1413-03e005 유래의 scFv
QVQLKESGAELVRSASVKLSCTASGFNIKDYMHVVKQRPQGLEWIGWIDPENGDEYAPKF QGKATMTADTSSNTAYLQLSSLTSEDYAVYYCNAFYDYDGYAMDYWGQGTSTVTS[GGGGSGG] [GGSGGGGS]DVVMTQTPSSLSASLGERVSLTCRASQEISGYLSWLQQKPDGTIKRLIYAASLTDSG VPKRFSGSRSGSDYSLTISSESEDFADYYCLQYASYPLTFGAGTKLEIKR
서열번호 174 : TF1413-03e015 유래의 scFv
EVQLQQSGPELVKPGASMKISCKASGYSTFTGYTMNVVKQSHGKNLEWIGLINPYNGGTSYNQK FKGKATLTVDKSSSTAYMELLSLTSEDSAVYYCARGDYPPYAMDYWGQGTSTVTS[GGGGSGGG] [GSGGGGS]DIVMSQSPKFMSTSVGDRVSVTCKASQNVGTNAVWYQQKPGQSPKPLIYSASYRYSQ VPDRFTGSGSGTDFTLTISNVQSEDLAEYFCQQYNNRYPLTFGVGKLEIKR
서열번호 175 : TF1413-03e034 유래의 scFv
EVQLQQSGPELEKPGASVKISCKASGYSTFTGYNMNVVKQSNGLSLEWIGNIDPYGGTSYNQKF KKGATLTVDKSSSTAYMQLKSLTSEDSAVYYCARGNYGYAMDYWGQGTSTVTS[GGGGSGGGG] [SGGGGS]DIVMSQSPKFMSTSVGDRVSVITCKASQNVRTAVAWYQQKPGQSPKALIYASNRHTGV PDRFTGSGSGTDFTLTISNVQSEDLADYFCLQHWNYPLTFGAGTKLEIKR

[0320]

[0321] 표 중, 이중 사각은 링커를 나타내고, 한줄 밑줄은 V_H 를 나타내고, 두줄 밑줄은 V_L 을 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 펩티드 (서열 번호 185 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 펩티드) 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 팸플릿 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 벡터를 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 (1×10^5 /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 1 에서 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 이뮤노글로브린 H 사슬 유래 시그널 시퀀스를 추가하였다.

[0333] [표 6-1]

서열번호 178 : #5 VH1-15-VL1 (TF1413-02d028 유래의 s c F v 인간화 항체 1)
QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSTFGYNMNVWRQAPGQGLEWIGNIDPYYGGTSYNQK FKGRATLTVDSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARGDYRAYYFDYWGQGTITVTVSSGGGSGGGG GSGGGGS
DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNVRTAVAWYQQKPGKAPKALIYLASNRHTGV PSRFGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCLQHWNYPITFGGGTKVEIK
서열번호 179 : #5 VH2-15-VL1 (TF1413-02d028 유래의 s c F v 인간화 항체 2)
QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSTFGYNMNVWRQAPGQGLEWIGNIDPYYGGTSYNQK FKGRVTLTVDSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARGDYRAYYFDYWGQGTITVTVSSGGGSGGGG GSGGGGS
DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNVRTAVAWYQQKPGKAPKALIYLASNRHTGV PSRFGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCLQHWNYPITFGGGTKVEIK
서열번호 180 : #5 VH3-15-VL1 (TF1413-02d028 유래의 s c F v 인간화 항체 3)
QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSTFGYNMNVWRQAPGQGLEWIGNIDPYYGGTSYNQK FKGRVTLTVDSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARGDYRAYYFDYWGQGTITVTVSSGGGSGGGG GSGGGGS
DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNVRTAVAWYQQKPGKAPKALIYLASNRHTGV PSRFGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCLQHWNYPITFGGGTKVEIK
서열번호 181 : #6 VH1-15-VL1 (TF1413-02d039 유래의 s c F v 인간화 항체 1)
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFAFSSYDMSWVRQAPGKGLEWVAYISSGGGSTYYPDIVK GRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARRGLRRAMDYWGQGTMTVTVSSGGGSGGGGS GGGGS
DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLVHSNGNTYLHWYLQKPGQSPQLLIYKVSNR SGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCSQSTHVPLTFTGGGTKVEIK
서열번호 182 : #6 VH1-15-VL2 (TF1413-02d039 유래의 s c F v 인간화 항체 2)
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFAFSSYDMSWVRQAPGKGLEWVAYISSGGGSTYYPDIVK GRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARRGLRRAMDYWGQGTMTVTVSSGGGSGGGGS GGGGS
DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLVHSNGNTYLHWYLQKPGQSPQLLIYKVSNR SGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCSQSTHVPLTFTGGGTKVEIK
서열번호 183 : #6 VH2-15-VL1 (TF1413-02d039 유래의 s c F v 인간화 항체 3)
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFAFSSYDMSWVRQAPGKLEWVAYISSGGGSTYYPDIVK GRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARRGLRRAMDYWGQGTMTVTVSSGGGSGGGGS GGGGS
DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLVHSNGNTYLHWYLQKPGQSPQLLIYKVSNR SGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCSQSTHVPLTFTGGGTKVEIK

[0334]

[0335] [표 6-2]

서열번호 184 : #6 VH2-15-VL2 (TF1413-02d039 유래의 s c F v 인간화 항체 4)
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFAFSSYDMSWVRQAPGKLEWVAYISSGGGSTYYPDIVK GRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARRGLRRAMDYWGQGTMTVTVSSGGGSGGGGS GGGGS
DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLVHSNGNTYLHWYLQKPGQSPQLLIYKVSNR SGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCSQSTHVPLTFTGGGTKVEIK

[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

A 시리즈

라운드명	항원/담체	경합 조작
a1st	리콤비넨트 결합 비즈	G33&G199에서 경합
a2nd	리콤비넨트 결합 비즈	G33&G199에서 경합
a3rd	리콤비넨트 결합 비즈	G33&G199에서 경합
a4th	GPC3발현 세포	G33&G199에서 경합
a5th(03만)	GPC3발현 세포	경합 없음

B 시리즈

라운드명	항원/담체	경합 조작
b3rd	GPC3발현 세포	G33&G199에서 경합

E 시리즈

라운드명	항원/담체	경합 조작
e4th	리콤비넨트 결합 비즈	경합 없음

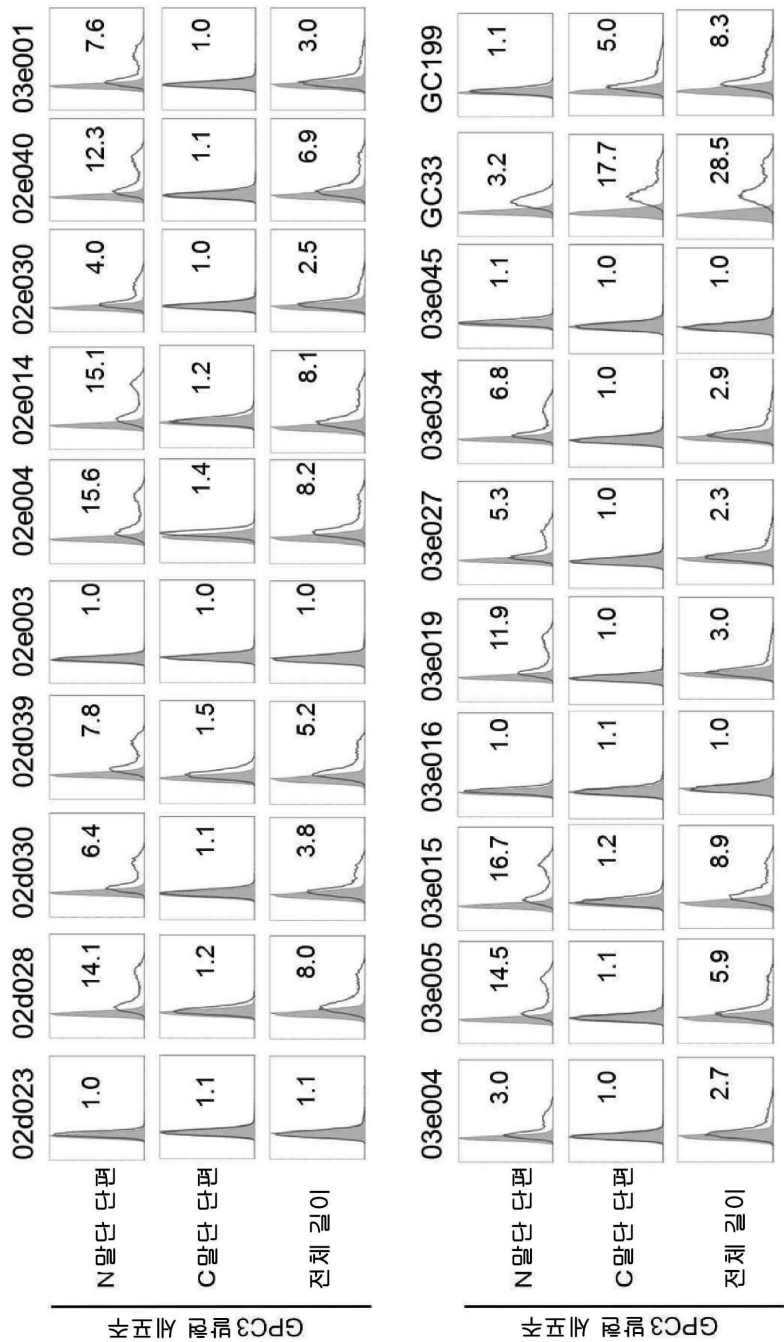
C 시리즈

라운드명	항원/담체	경합 조작
c1st	GPC3발현 세포	경합 있음
c2nd	GPC3발현 세포	경합 없음
c3rd	리콤비넨트 결합 비즈	경합 없음
c4th	리콤비넨트 결합 비즈	경합 없음

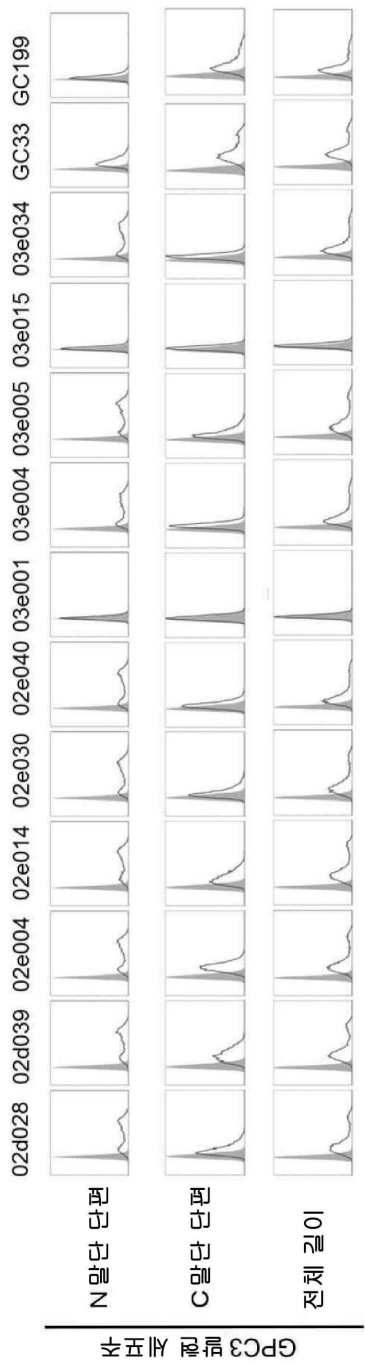
D 시리즈

라운드명	항원/담체	경합 조작
d1st	리콤비넨트 결합 비즈	경합 있음
d2nd	리콤비넨트 결합 비즈	경합 있음
d3rd	리콤비넨트 결합 비즈	경합 없음
d4th	GPC3발현 세포	경합 없음
d5th	GPC3발현 세포	경합 없음

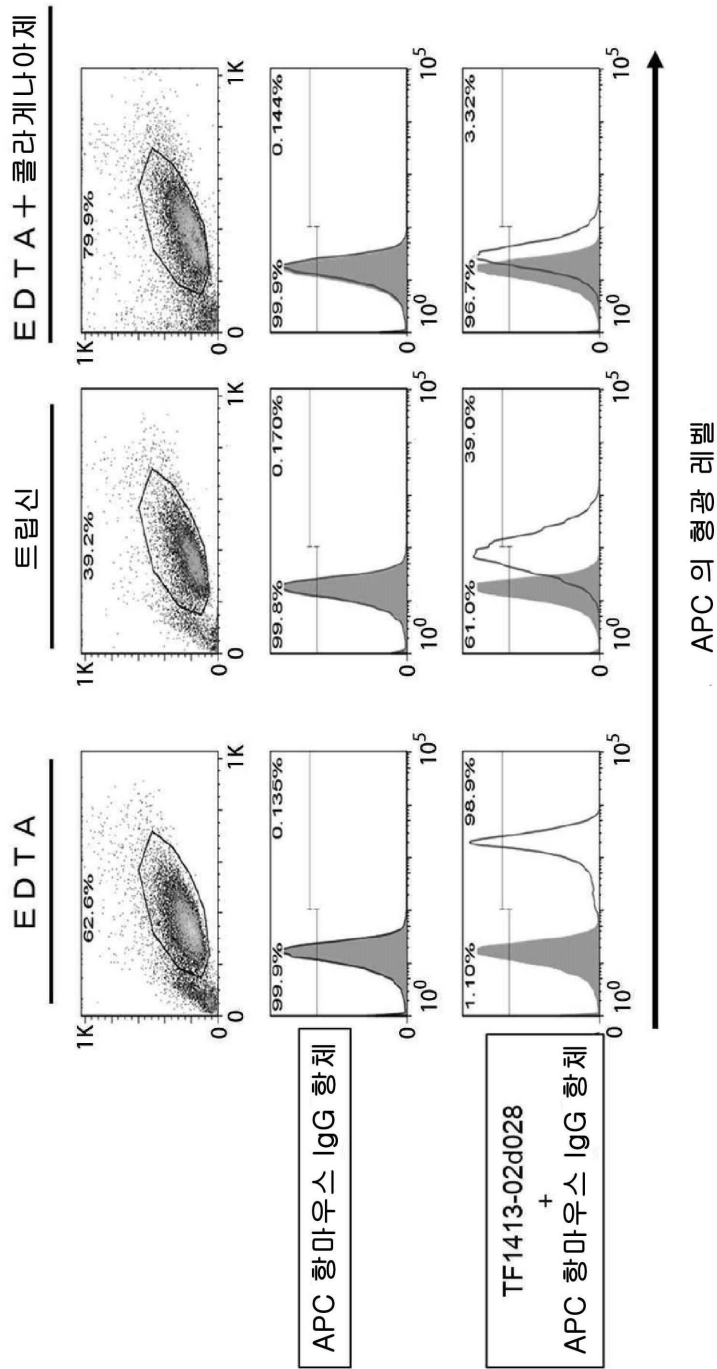
도면2



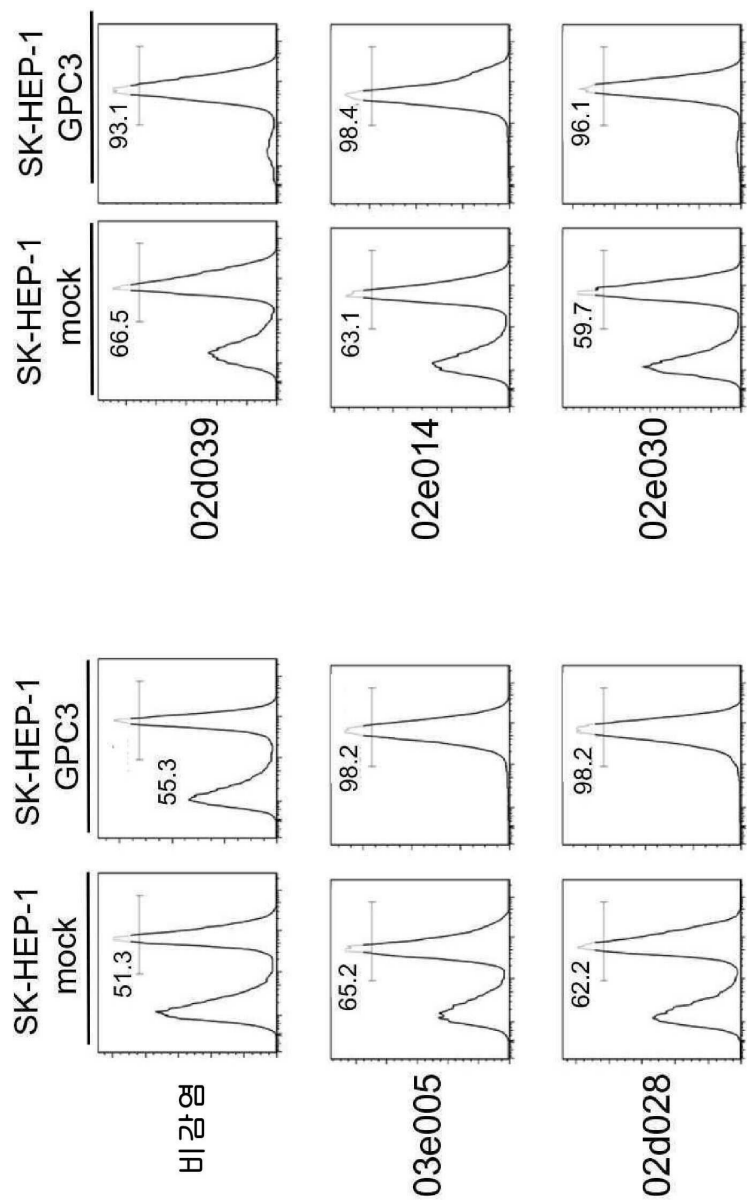
도면3



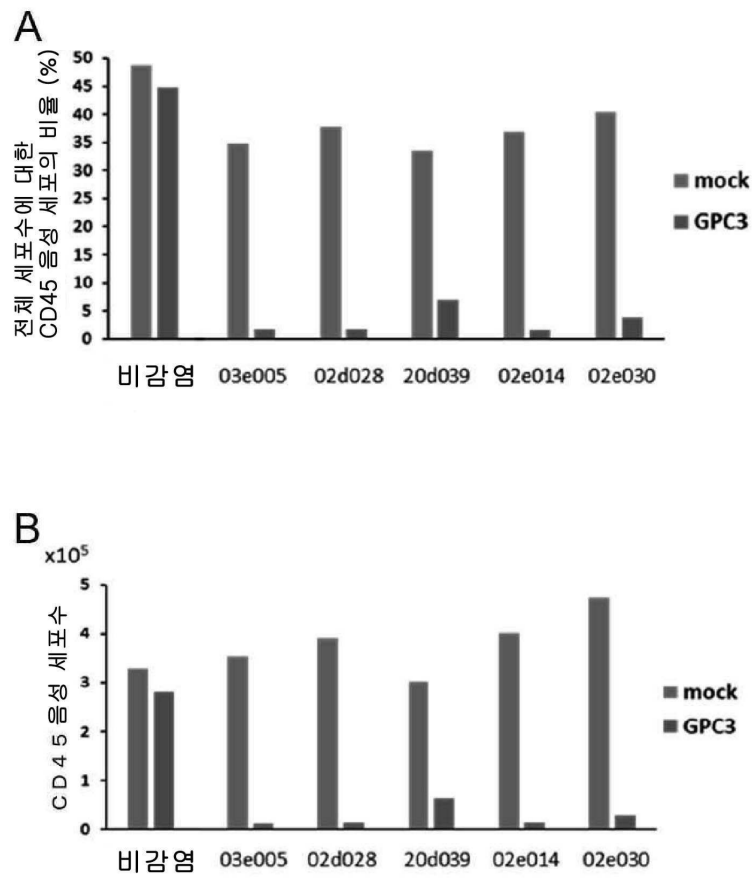
도면4



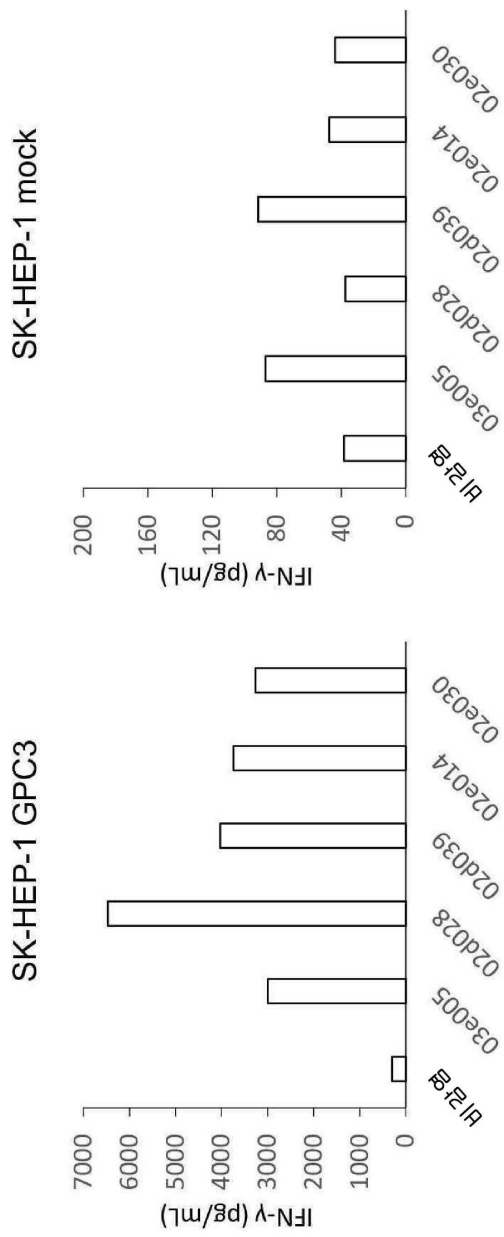
도면5



도면6



도면7



서열 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 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 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
 225 230 235 240
 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 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
 385 390 395 400
 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 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 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 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 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 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 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 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> 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 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 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 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 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 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 95

His 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 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 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 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 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 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 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 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
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
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
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
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
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 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
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 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 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
 225 230 235 240
 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 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
 385 390 395 400
 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 ctggtgcttc agtgaagata 60

tcctgcaagg ctcttggtta ctcttactt ggctacaaca tgaactgggt gaagcagagc 120

aatggaaaga gccttgagtg gattggaaat attgatacctt actatggtgg tactagctac 180

aaccagaagt tcaagggaac ggccacattg actgtagaca aatcctccag cacagcctac 240

atgcagctca agagcctgac atctgaggac tctgcagtct attactgtgc aagaggagac 300

tataggcgct actactttga ctactggggc caaggcacca ctctcacagt ctcg 354

<210> 112

<211> 324

<212> DNA

<213> Artificial

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

<400> 112

gacattcaga tgaccagtc tccaaaattc atgtccacat cagtaggaga cagggtcagc 60

atcacctgca aggccagtc gaattgttct actgctgtag cctggtatca acagaaacca 120

gggcagtctc ctaaagcact gatttacttg gcatccaacc ggcacactgg agtcctgat 180

cgcttcacag gcagtggatc tgggacagat ttactctca ccattagcaa tgtgcaatct 240

gaagacctgg cagattatit ctgtctgcaa catgtgaatt 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 ctggtgcttc agtgaagata 60

tcctgcaagg ctcttggtta ctcttccact ggctacaaca tgaactgggt gaagcagagc	120
aatggaaaga gccttgagtg gattggaaat attgatcctt actatggtgg tactagctac	180
aaccagaagt tcaagggcaa ggccacattg actgtagaca aatcctccag cacagcctac	240
atgcagctca agagcctgac atctgaggac tctgcagtct attactgtgc aagaggagac	300
tatagggcgt actactttga ctactggggc caaggcacca ctctcacagt ctcgagcgcc	360
aaaacaacag ccccatcggt ctatccactg gcccctgtgt gtggagatac aactggctcc	420
tcggtgactc taggatgcct ggtcaagggt tatttccctg agccagtgc cttgacctgg	480
aactctggat cctgtccag tgggtgtcac accttcccag ctgtcctgca gtctgacctc	540
tacacctca gcagctcagt gactgtaacc tcgagcacct ggcccagcca gtccatcacc	600
tgcaatgtgg cccacccggc aagcagcacc aaggtggaca agaaaattga gccccgggga	660
cccacaatca agccctgtcc tccatgcaaa tgcccagcac ctaacctctt gggtggacca	720
tccgtcttca tcttccctcc aaagatcaag gatgtactca tgatctccct gagccccata	780
gtcacatgtg tgggtgtgga tgtgagcgag gatgaccagc atgtccagat cagctggttt	840
gtgaacaacg tggaagtaca cacagctcag acacaaaccc atagagagga ttacaacagt	900
acttccggg tggctcagtc cctcccatc cagcaccagg actggatgag tggcaaggag	960
ttcaaatgca aggtcaacaa caaagacctc ccagcgccca tcgagagaac catctcaaaa	1020
cccaaagggt cagtaagagc tccacaggta tatgtcttgc ctccaccaga agaagagatg	1080
actaagaaac aggtcactct gacctgcatg gtcacagact tcatgcctga agacatttac	1140
gtggagtgga ccaacaacgg gaaaacagag ctaaaactaca agaacactga accagtcctg	1200
gactctgatg gtcttactt catgtacagc aagctgagag tggaaaagaa gaactgggtg	1260
gaaagaaata gctactcctg ttcagtggtc cagcagggtc tgcacaatca ccacagcact	1320
aagagcttct cccgactcc gggtaaa	1347
<210> 114	
<211> 642	
<212> DNA	
<213> Artificial	
<220><223> TF1413-02d028 H Chain Gene	
<400> 114	
gacattcaga tgaccagtc tccaaaattc atgtccacat cagtaggaga cagggtcagc	60
atcacctgca aggccagtca gaatgttcgt actgctgtag cctggtatca acagaaacca	120
gggcagtctc ctaaagcact gatttacttg gcatccaacc ggacactgg agtcctgat	180

cgcttcacag gcagtgatc tgggacagat ttcactctca ccattagcaa tgtgcaatct 240
gaagacctgg cagattatct ctgtctgcaa cattggaatt atcctctcac gttcgggtgct 300
gggaccaagc tggagctgaa acgggctgat gctgcaccaa ctgtatccat ctccccacca 360
tccagtgagc agttaacatc tggaggtgcc tcagtcgtgt gcttcttgaa caacttctac 420
cccaaagaca tcaatgtcaa gtggaagatt gatggcagtg aacgacaaaa tggcgtcctg 480

aacagttgga ctgatcagga cagcaaagac agcacctaca gcatgagcag caccctcacg 540
ttgaccaagg acgagtatga acgacataac agctatacct 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 tgggtggagtc tgggggaggc ttagtgaagc ctggagggtc cctgaaactc 60
tcctgtgcag cctctggatt cgctttcagt agctatgaca tgtcttgggt tcgccagact 120
ccggagaaga ggctggagtg ggtcgcatac attagtagtg gtggtggttag cacctactat 180

ccagacactg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca atgccaagaa caccctgtac 240
ctgcaaatga gcagtctgaa gtctgaggac acagccatgt attactgtgc aagaagagga 300
ttacgacgag ctatggacta ctgggggtcaa 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 gtcttggaga tcaagcctcc 60
atctcttgca gatctagtc gagccttgta cacagtaatg gaaacaccta ttacattgg 120
tacctgcaga agccaggcca gtctccaaag ctctgatct acaaagtctc caaccgattt 180

tctgggggtcc cagacaggtt cagtggcagt ggatcaggga cagatttcac actcaagatc 240
agcagagtgg aggctgagga tctgggagtt tatttctgct ctcaaagtac acatgttccg 300
ctcacgttcg gtgctgggac caagctggag ctgaaacgg 339

<210> 117

<211> 1344

<212> DNA

<213> Artificial

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

<400> 117

```

gaagtgaagc tgggtggagtc tgggggaggc ttagtgaagc ctggagggtc cctgaaactc    60
tcctgtgcag cctctggatt cgctttcagt agctatgaca tgtcttgggt tcgccagact    120
ccggagaaga ggctggagtg ggtcgcatat attagtagtg gtggtggttag cacctactat    180

ccagacactg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca atgccaagaa caccctgtac    240
ctgcaaatga gcagtctgaa gtctgaggac acagccatgt attactgtgc aagaagagga    300
ttacgacgag ctatggacta ctgggggtcaa ggaacctcag tcaccgtctc gagcgccaaa    360
acaacagccc catcggctta tccactggcc cctgtgtgtg gagataaac tggtcctcgc    420
gtgactctag gatgcctggt caagggttat ttccctgagc cagtgcactt gacctggaac    480
tctggatccc tgtccagtgg tgtgcacacc ttcccagctg tcctgcagtc tgacctctac    540
accctcagca gctcagtgc tgtaacctcg agcacctggc ccagccagtc catcacctgc    600

aatgtggccc acccggcaag cagcaccaag gtggacaaga aaattgagcc cgggggaccc    660
acaatcaagc cctgtcctcc atgcaaatgc ccagcaccta acctcttggg tggaccatcc    720
gtcttcactt tccctccaaa gatcaaggat gtactcatga tctccctgag ccccatagtc    780
acatgtgtgg tgggtgatgt gagcgaggat gaccagatg tccagatcag ctggtttgtg    840
aacaacgtgg aagtlacacac agctcagaca caaacccata gagaggatta caacagtact    900
ctccgggtgg tcagtgcctt ccccatccag caccaggact ggatgagtgg caaggagttc    960
aatgcaagg tcaacaacaa agacctccca gcgcccacgc agagaacat ctcaaaaccc    1020

aaagggtcag taagagctcc acaggtatat gtcttgccct caccagaaga agagatgact    1080
aagaaacagg tcactctgac ctgcatggtc acagacttca tgctgaaga catttacgtg    1140
gagtggacca acaacgggaa aacagagcta aactacaaga aactgaacc agtcctggac    1200
tctgatggtt cttacttcac gtacagcaag ctgagagtgg aaaagaagaa ctgggtggaa    1260
agaaatagct actcctgttc agtgggccac gagggctctgc acaatcacca cagactaag    1320
agcttctccc ggactccggg taaa                                1344

```

<210> 118

<211> 657

<212> DNA

<213> Artificial

<220

><223> TF1413-02d039 L Chain Gene

<400> 118

gatgttgta tgacccaaac tccactctcc ctgcctgtca gtcttggaga tcaagcctcc	60
atctcttgca gatctagta gagccttgta cacagtaatg gaaacaccta ttacattgg	120
tacctgcaga agccaggcca gtctccaaag ctctgatct acaaagtttc caaccgattt	180
tctgggggcc cagacaggtt cagtggcagt ggatcaggga cagatttcac actcaagatc	240
agcagagtgg aggctgagga tctgggagtt tatttctgct ctcaaagtac acatgttccg	300
ctcacgttcg gtctgggac caagctggag ctgaaacggg ctgatgtgc accaactgta	360
tccatcttcc caccatccag tgagcagttt acatctggag gtgcctcagt cgtgtgcttc	420

ttgaacaact tctaccccaa agacatcaat gtcaagtga agattgatgg cagtgaacga	480
caaatggcg tctgaacag ttggactgat caggacagca aagacagcac ctacagcatg	540
agcagcacc tcacgttgac caaggacgag tatgaacgac ataacagcta tacctgtgag	600
gccactcaca agacatcaac ttcacccatt gtcaagagct tcaacaggaa tgagtgt	657

<210> 119

<211> 345

<212> DNA

<213> Artificial

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

<400> 119

caggtccagc tgcagcagtc tgggctgag cttgtgaagc ctggggctcc agtgaagctg	60
tcttgaagg cttctggcta cacttcacc agctactgga tgaactgggt gaagcagagg	120
cctggacgag gcctcgagtg gattggaagg attgatcctt ccgatagtga aactcactac	180
aatcaaaagt tcaaggacga ggccacactg actgtagaca aatcctccag cacagcctac	240
atccaactca gcagcctgac atctgaggac tctgcggtct attactgtgc aagagggtac	300
tatgctatgg actactgggg tcaaggaacc tcagtcaccg tctcg	345

<210> 120

<211> 321

<212> DNA

<213> Artificial

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

<400> 120

gacattgtgc tgacccaatc tcccaaattc atgtccacat cagtaggaga cagggtcagc 60
atcacctgca aggccagtc ggaatgtgagt actgctgtag cctggtatca acagaaacca 120

ggacaatctc ctaaactact gatttactca gcatcctacc ggtacactgg agtccctgat 180
cgcttcactg gcagtggatc tgggacggat ttcactttca ccatcagcag tgtgcaggct 240
gaagacctgg cagttttatta ctgtcagcaa cattatagta ctccgacgtt cgggtggaggc 300
accaagctgg aaatcaaacg g 321

<210> 121
<211> 1338
<212> DNA
<213> Artificial
<220><223> TF1413-02e004 H Chain Gene
<400> 121

caggtccagc tgcagcagtc tggggctgag cttgtgaagc ctggggctcc agtgaagctg 60
tcctgcaagg ctcttgcta caccttcacc agctactgga tgaactgggt gaagcagagg 120

cctggacgag gcctcgagt gattggaagg attgatcctt ccgatagtga aactcactac 180
aatcaaaagt tcaaggacga ggccacactg actgtagaca aatcctccag cacagcctac 240
atccaactca gcagcctgac atctgaggac tctgcggtct attactgtgc aagagggtac 300
tatgctatgg actactgggg tcaaggaacc tcagtcaccg tctcgagcgc caaaacaaca 360
gccccatcgg tctatccact ggccccctgtg tgtggagata caactggctc ctcggtgact 420
ctaggatgcc tggtaagggt ttatttcctt gagccagtga ccttgacctg gaactctgga 480
tcctgtcca gtggtgtgca caccttccca gctgtcctgc agtctgacct ctacaccctc 540

agcagctcag tgactgtaac ctgcagcacc tggcccagcc agtccatcac ctgcaatgtg 600
gccccccgg caagcagcac caaggtggac aagaaaattg agccccgggg acccacaatc 660
aagccctgtc ctccatgcaa atgcccagca cctaacctct tgggtggacc atccgtcttc 720
atcttcctc caaagatcaa ggatgtactc atgatctccc tgagcccat agtcacatgt 780
gtggtggtgg atgtgagcga ggatgaccca gatgtccaga tcagctggtt tgtgaacaac 840
gtggaagtac acacagctca gacacaaacc catagagagg attacaacag tactctccgg 900
gtggtcagtg cctccccat ccagcaccag gactggatga gtggcaagga gttcaaatgc 960

aaggtcaaca acaaagacct cccagcgccc atcgagagaa ccatctcaa acccaaaggg 1020
tcagtaagag ctccacaggt atatgtcttg cctccaccag aagaagagat gactaagaaa 1080
caggtcactc tgacctgcat ggtcacagac ttcatgcctg aagacattta cgtggagtgg 1140

accaacaacg ggaaaacaga gctaaactac aagaacactg aaccagtcct ggactctgat 1200
gtttcttact tcatgtacag caagctgaga gtggaaaaga agaactgggt ggaaagaaat 1260
agctactcct gttcagtggg ccacgagggt ctgcacaatc accacacgac taagagcttc 1320
tcccggactc cgggtaaa 1338

<210> 122

<211> 639

<212> DNA

<213> Artificial

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

<400> 122

gacattgtgc tgacccaatc tcccaaattc atgtccacat cagtaggaga cagggtcagc 60
atcacctgca aggccagtca ggatgtgagt actgctgtag cctggtatca acagaaacca 120
ggacaatctc ctaaactact gatttactca gcatcctacc ggtacactgg agtcctgat 180
cgcttcactg gcagtggatc tgggacggat ttcaacttca ccatcagcag tgtgcaggct 240
gaagacctgg cagtttatta ctgtcagcaa cattatagta ctccgacgtt cgggtggaggc 300
accaagctgg aaatcaaacg ggctgatgct gcaccaactg tatccatctt cccaccatcc 360

agtgagcagt taacatctgg aggtgcctca gtcgtgtgct tcttgaacaa cttctacccc 420
aaagacatca atgtcaagtg gaagattgat ggacagtgaac gacaaaatgg cgtcctgaac 480
agttggactg atcaggacag caaagacagc acctacagca tgagcagcac cctcacgttg 540
accaaggacg agtatgaacg acataacagc tatacctgtg 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

caggtgcagc tgaagcagtc aggggcagag cttgtgaggt caggggcctc agtcaagttg 60

tcctgcacag cttctggctt caacattaaa gactactata tgcactgggt gaagcagagg 120
cctgaacagg gcctggagtg gattggatgg attgatcctg agaatggtga tactgaatat 180
gccccgaagt tccagggcaa ggccactatg actgcagaca catcctcaa cacagcctac 240
ctgcagctca gcagcctgac atctgaggac actgccgtct attactgtaa tgcaggctac 300

tatgattacg acggctatgc tatggactac tggggtcaag 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 ggaatgtggg actgctgtag cctggtatca acagaaacca 120
 gggcaatctc ctaaactact gatttactgg gcatccaccc ggcacactgg agtccccgat 180
 cgcttcacag gcagtggatc tgggacagat ttactctca ccattagcaa tgtgcagtct 240
 gaagacttgg cagattatct ctgtcagcaa tatagcagct atcctctgac gttcggtgga 300
 ggcaccaagc tggaaatcaa acgg 324
 <210> 125
 <211> 1353
 <212> DNA
 <213> Artificial
 <220><223> TF1413-02e014 H Chain Gene
 <400> 125
 cagggtcagc tgaagcagtc aggggcagag cttgtgaggt caggggcctc agtcaagttg 60
 tcctgcacag ctcttggtt caacattaaa gactactata tgcactgggt gaagcagagg 120
 cctgaacagg gcctggagtg gattggatgg attgatcctg agaatggtga tactgaatat 180
 gccccgaagt tccagggcaa ggccactatg actgcagaca catcctcaa cacagcctac 240
 ctgcagctca gcagcctgac atctgaggac actgccgtct attactgtaa tgcaggtctac 300
 tatgattacg acggctatgc tatggactac tggggtcaag gaacctcagt caccgtctcg 360
 agcgccaaaa aaacagcccc atcggctctat ccaactggccc ctgtgtgtgg agatacaact 420
 ggctcctcgg tgactctagg atgcctggtc aagggttatt tccctgagcc agtgaccttg 480
 acctggaact ctggatccct gtccagtggg gtgcacacct tcccagctgt cctgcagtct 540
 gacctctaca ccctcagcag ctcaagtact gtaacctga gcacctggcc cagccagtcc 600
 atcacctgca atgtggccca cccgcaagc agtaccaagg tggacaagaa aattgagccc 660
 cggggaccca caatcaagcc ctgtcctcca tgcaaatgcc cagcacctaa cctcttgggt 720
 ggaccatcgg tcttcatctt cctccaaag atcaaggatg tactcatgat ctccctgagc 780

cccatagtca catgtgtggt ggtggatgtg agcgaggatg acccagatgt ccagatcagc 840
 tggtttgtga acaacgtgga agtacacaca gctcagacac aaacccatag agaggattac 900

aacagtactc tccgggtggt cagtgccctc cccatccagc accaggactg gatgagtggc 960
 aaggagtcca aatgcaaggt caacaacaaa gacctcccag cgcccatcga gagaaccatc 1020
 tcaaaaccca aagggtcagt aagagctcca caggatatatg tcttgctcc accagaagaa 1080
 gagatgacta agaaacaggt cactctgacc tgcattgtca cagacttcat gcctgaagac 1140
 atttactgtg agtggaccaa caacgggaaa acagagctaa actacaagaa cactgaacca 1200
 gtcttgact ctgatgttc ttacttcatg tacagcaagc tgagagtgga aaagaagaac 1260
 tgggtggaaa gaaatagcta ctctgttca gtggtccacg agggctcga 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 tcccaaattc atgtccacat cagtaggaga cagggtcagc 60
 atcacctgca aggccagtc ggtatgtgggt actgctgtag cctggtatca acagaaacca 120
 gggcaatctc ctaaactact gatttactgg gcatccaccc ggcacactgg agtccccgat 180
 cgcttcacag gcagtggatc tgggacagat ttactctca ccattagcaa tgtgcagtct 240
 gaagacttgg cagattattt ctgtcagcaa tatagcagct atcctctgac gttcgggtgga 300

ggcaccaagc tggaatcaa acgggtgat gctgcaccaa ctgtatccat cttcccacca 360
 tccagtgagc agttaacatc tggaggtgcc tcagtctgtg gcttcttgaa caacttctac 420
 cccaaagaca tcaatgtcaa gtggaagatt gatggcagtg aacgacaaaa tggcgtcctg 480
 aacagttgga ctgatcagga cagcaaagac agcacctaca gcatgagcag caccctcacg 540
 ttgaccaagg acgagtatga acgacataac agctatacct 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

```
gaggttcagc ttcagcagtc tggggctgag cttgtgaggc caggggcctt agtcaagttg    60
tcctgcaaag cttctggctt caacattaaa gactactata tgcactgggt gaagcagagg    120
cctgaacagg gcctggagtg gattggatgg attgatcctg agaatggtaa cactatatat    180
gacccgaagt tccagggcaa ggccagtata acagcagaca catcctcaa cacagcctac    240
ctgcagctca gcagcctgac atctgaggac actgccgtct 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 tgacccagtc tccatcctcc ctggctatgt cagtagggca gaaggtcact    60
atgagctgca agtccagtc gagcctttta aatagtagca atcaaaagaa ctatttggcc    120
tggtaccagc agaaaccagg acagtctcct aaacttctgg tatactttgc atccactagg    180
gaatctgggg tcctgatcg cttcataggc agtggatctg ggacagattt cactcttacc    240
atcagcagtg tgcaggctga agacctggca gattacttct gtcagcaaca ttatagcact    300
ccgctcacgt tcggtgctgg gaccaagctg gagctgaaac gg            342
```

<210> 129

<211> 1344

<212> DNA

<213> Artificial

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

<400> 129

```
gaggttcagc ttcagcagtc tggggctgag cttgtgaggc caggggcctt agtcaagttg    60
tcctgcaaag cttctggctt caacattaaa gactactata tgcactgggt gaagcagagg    120
cctgaacagg gcctggagtg gattggatgg attgatcctg agaatggtaa cactatatat    180
gacccgaagt tccagggcaa ggccagtata acagcagaca catcctcaa cacagcctac    240
ctgcagctca gcagcctgac atctgaggac actgccgtct attactgtgc tatatctact    300
atgattacga cccttgacta ctggggccaa ggcaccactc tcacagtctc gagcgccaaa    360
```

acaacagccc catcggtcta tccactggcc cctgtgtgtg gagataaac tggctcctcg 420
 gtgactctag gatgcctggt caagggttat ttccctgagc cagtgcctt gacctggaac 480
 tctggatccc tgtccagtgg tgtgcacacc ttcccagctg tctgcagtc tgacctctac 540
 accctcagca gtcagtgac tgtaacctcg agcacctggc ccagccagtc catcacctgc 600
 aatgtggccc acccggcaag cagcaccaag gtggacaaga aaattgagcc ccggggaccc 660
 acaatcaagc cctgtcctcc atgcaaatgc ccagcaccta acctcttggg tggaccatcc 720
 gtcttcatct tccttcaaa gatcaaggat gtactcatga tctccctgag ccccatagtc 780

acatgtgtgg tgggtgatgt gagcgaggat gaccagatg tccagatcag ctggtttgtg 840
 aacaacgtgg aagtacacac agctcagaca caaaccata gagaggatta caacagtact 900
 ctccgggtgg tcagtgcctt ccccatccag caccaggact ggatgagtgg caaggagttc 960
 aaatgcaagg tcaacaacaa agacctccca gcgcccacg agagaaccat ctcaaaaccc 1020
 aaagggtcag taagagctcc acaggtatat gtcttgctc caccagaaga agagatgact 1080
 aagaaacagg tactctgac ctgcatggc acagacttca tgcctgaaga catttacgtg 1140
 gagtggacca acaacgggaa aacagagcta aactacaaga aactgaacc agtctggac 1200

tctgatgggt cttacttcat gtacagcaag ctgagagtgg aaaagaagaa ctgggtggaa 1260
 agaaatagct actcctgttc agtgggtccac gaggtctgc acaatcacca cagactaag 1320
 agcttctccc ggactccggg taaa 1344

<210> 130
 <211> 660
 <212> DNA
 <213> Artificial
 <220><223> TF1413-02e030 L Chain Gene
 <400> 130

gacatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctggctatgt cagtagggca gaaggtcact 60
 atgagctgca agtcagtc gagcctttta aatagtagca atcaaaagaa ctatttggcc 120
 tggtagcagc agaaaccagg acagctcct aaacttctgg tatactttgc atccactagg 180

gaatctgggg tcctgatcg cttcataggc agtggatctg ggacagattt cactcttacc 240
 atcagcagtg tgcaggtga agacctggca gattacttct gtcagcaaca ttatagcact 300
 ccgctcacgt tcggtgctgg gaccaagctg gagctgaaac gggctgatgc tgcaccaact 360
 gtatccatct tcccaccatc cagttagcag ttaacatctg gaggtgcctc agtcgtgtgc 420
 ttcttgaaca acttctacc caaagacatc aatgtcaagt ggaagattga tggcagtga 480
 cgacaaaatg gcgtcctgaa cagttggact gatcaggaca gcaaagacag cacctacagc 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

gaagtgatgc tgggtggagtc tggacctgag ctggtgaagc ctggagcttc aatgaagata 60

tcctgcaagg ctctcgttga ctcatcact ggctacacca tgaactgggt gaagcagagc 120

catggaaga accttgagtg gattggactt attaatcctt acaatggtgg tactagctac 180

aaccagaatt ttaagggcaa ggccacatta actgtagaca agtcatccag cacagcctac 240

atggagctcc tcagtctgac atctgaggac tctgcagtct attactgtgc aagagggtac 300

tacggtcgct ttgactactg gggccaaggc accactetca cagtctcg 348

<210> 132

<211> 324

<212> DNA

<213> Artificial

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

<400> 132

gacatcttgc tgactcagtc tccaaaattc atgtccacat cagtaggaga cagggtcagc 60

atcacctgca aggccagtc gaattgtcgt actgctgtag cctggtatca acagaaacca 120

gggcagtctc ctaaagcact gatttacttg gcatccaacc ggacacactgg agtccctgat 180

cgcttcacag gcagtggatc tgggacagat ttactctca ccattagcaa tgtgcaatct 240

gaagacctgg cagattatct ctgtctgcaa cattggaatt atcctctcac gtccggtgct 300

gggaccaagc tggagctgaa acgg 324

<210> 133

<211> 1341

<212> DNA

<213> Artificial

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

<400> 133

gaagtgatgc tggtaggagtc tggacctgag ctggtgaagc ctggagcttc aatgaagata 60
tcctgcaagg ctcttggtta ctcatcact ggctacacca tgaactgggt gaagcagagc 120
catggaaga accttgagtg gattggactt attaatcctt acaatgggtg tactagctac 180
aaccagaatt ttaagggcaa ggccacatta actgtagaca agtcatccag cacagcctac 240
atggagctcc tcagtctgac atctgaggac tctgcagtct attactgtgc aagagggtac 300

tacggtcgct ttgactactg gggccaaggc accactctca cagtctcgag cgccaaaaca 360
acagcccat cggtctatcc actggccct gtgtgtggag atacaactgg ctctcggtg 420
actctaggat gcctggtcaa gggttatttc cctgagccag tgaccttgac ctggaactct 480
ggatccctgt ccagtgggtg gcacaccttc ccagtgtcc tgcagtctga cctctacacc 540
ctcagcagct cagtgactgt aacctcgagc acctggccca gccagtccat cacctgcaat 600
gtggcccacc cggcaagcag caccaagggtg gacaagaaaa ttgagccccg gggaccacaca 660
atcaagccct gtctccatg caaatgccca gcacctaacc tcttgggtgg accatccgtc 720

ttcatcttcc ctccaaagat caaggatgta ctcatgatct ccctgagccc catagtcaca 780
tgtgtggtgg tggatgtgag cgaggatgac ccagatgtcc agatcagctg gtttgtgaac 840
aacgtggaag tacacacagc tcagacacaa acccatagag aggattacaa cagtactctc 900
cgggtggtca gtgccctccc catccagcac caggactgga tgagtggcaa ggagttcaaa 960
tgcaaggtea acaacaaaga cctccagcgc cccatcgaga gaaccatctc aaaacccaaa 1020
gggtcagtaa gagctccaca ggtatatgtc ttgcctccac cagaagaaga gatgactaag 1080
aaacaggtca ctctgacctg catggtcaca gacttcatgc ctgaagacat ttacgtggag 1140

tggaccaaca acgggaaaac agagctaaac tacaagaaca ctgaaccagt cctggactct 1200
gatggttctt acttcatgta cagcaagctg agagtggaaa agaagaactg ggtggaaaga 1260
aatagetact cctgttcagt ggtccacgag ggtctgcaca atcaccacac gactaagagc 1320
ttctcccga ctccgggtaa a 1341

<210> 134
<211> 642
<212> DNA
<213> Artificial
<220><223> TF1413-02e040 L Chain Gene
<400> 134

gacatcttgc tgactcagtc tccaaaattc atgtccacat cagtaggaga cagggtcagc 60
atcacctgca aggccagtc gaatgttcgt actgctgtag cctggtatca acagaaacca 120

gggcagtctc ctaaagcact gatttacttg gcatccaacc ggcacactgg agtccctgat 180
cgcttcacag gcagtggatc tgggacagat ttactctca ccattagcaa tgtgcaatct 240
gaagacctgg cagattatit ctgtctgcaa cattggaatt atcctctcac gttcggtgct 300
gggaccaagc tggagctgaa acgggctgat gctgcaccaa ctgtatccat cttcccacca 360
tccagtgagc agttaacatc tggaggtgcc tcagtcgtgt gcttcttgaa caacttctac 420
cccaaagaca tcaatgtcaa gtggaagatt gatggcagtg aacgacaaaa tggcgtcctg 480
aacagttgga ctgatcagga cagcaaagac agcacctaca gcatgagcag caccctcacg 540

ttgaccaagg acgagtatga acgacataac agctatacct 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 tgaagcagtc aggacctgag ctggtgaagc ctggggcttc agtgaagata 60
tcctgcaagg ctcttggtta ctatttact ggctactaca tgcaactggg gaagcaaagc 120
catgtaaaga gccttgagtg gattggacgt attaatcctt acaatggtgc tactagctac 180
aaccagaatt tcaaggacaa ggccagcttg actgtagata agtcctccag cacagcctac 240

atggagctcc acagcctgac atctgaggac tctgcagtct attactgtgc aagaaactac 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
gtcacctgcg aggccagtc gaatgtggat aataatgtag tctggtatca acagaaacca 120
gggcaatctc ctaaagcact gatttactcg gcatcctacc ggtacagtgg agtccctgat 180
cgcttcacag gcagtggatc tgggacagat ttactctca ccatcagcaa tgtgcagtct 240

gaagacttgg cagagtatit 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

caggtgcagc tgaagcagtc aggacctgag ctggtgaagc ctggggcttc agtgaagata 60

tcctgcaagg cttctggtta ctcttccact ggctactaca tgcaactgggt gaagcaaagc 120

catgtaaaga gccttgagtg gattggacgt attaatcctt acaatgggtgc tactagctac 180

aaccagaatt tcaaggacaa ggccagcttg actgtagata agtcctccag cacagcctac 240

atggagctcc acagcctgac atctgaggac tctgcagtct attactgtgc aagaaactac 300

ggctactttg actactgggg ccaaggcacc actctcacag tctcgagcgc caaaacaaca 360

gccccatcgg tctatccact ggccccctgtg tgtggagata caactggctc ctcggtgact 420

ctaggatgcc tgggtcaaggg ttatttcctt gagccagtga ccttgacctg gaactctgga 480

tccctgtcca gtggtgtgca caccttccca gctgtcctgc agtctgacct ctacaccctc 540

agcagctcag tgactgtaac ctcgagcacc tggcccagcc agtccatcac ctgcaatgtg 600

gccccccgg caagcagcac caaggtggac aagaaaattg agccccgggg acccacaatc 660

aagccctgtc ctccatgcaa atgcccagca cctaacctct tgggtggacc atccgtcttc 720

atcttccctc caaagatcaa ggatgtactc atgatctccc tgagcccat agtcacatgt 780

gtggtggtgg atgtgagcga ggatgacca gatgtccaga tcagctggtt tgtgaacaac 840

gtggaagtac acacagctca gacacaaacc catagagagg attacaacag tactctccgg 900

gtggtcagtg ccctcccat ccagcaccag gactggatga gtggcaagga gttcaaatgc 960

aaggtcaaca acaaagacct cccagcgcct atcgagagaa ccatctcaa acccaaaggg 1020

tcagtaagag ctccacaggt atatgtcttg cctccaccag aagaagagat gactaagaaa 1080

caggtcactc tgacctgcat ggtcacagac ttcatgcctg aagacattta cgtggagtgg 1140

accaacaacg ggaacacaga gctaaactac aagaacactg aaccagtcct ggactctgat 1200

ggttcttact tcatgtacag caagctgaga gtggaaaaga agaactgggt ggaaagaaat 1260

agctactcct gttcagtggg ccacgagggt ctgcacaatc accacacgac taagagcttc 1320

tcccggactc cgggtaaa 1338

<210> 138

<211> 642

<212> DNA

<213> Artificial

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

<400> 138

gacatcaaga tgacccagtc tccaaaattc atgtccacat cagtaggaga cagggtcagc 60

gtcacctgcg aggccagtc gaattgtgat aataatgtag tctggtatca acagaaacca 120

gggcaatctc ctaaagcact gatttactcg gcatcctacc ggtacagtgg agtccctgat 180

cgttcacag gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcaa tgtgcagtct 240

gaagacttgg cagagtatct ctgtcagcaa tataacagct atcctctcac gttcggtgct 300

gggaccaagt tggaaataaa acgggctgat gctgcaccaa ctgtatccat cttccacca 360

tccagtgagc agttaacatc tggaggtgcc tcagtcgtgt gcttcttgaa caacttctac 420

cccaaagaca tcaatgtcaa gtggaagatt gatggcagtg aacgacaaaa tggcgtcctg 480

aacagttgga ctgacagga cagcaaagac agcacctaca gcatgagcag caccctcacg 540

ttgaccaagg acgagtatga acgacataac agctatacct 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 tgaagcagtc aggggctgag cttgtgaagc ctggggctcc agtgaagctg 60

tcctgcaagg ctcttggtca caccttcacc agctactgga tgaactgggt gaagcagagg 120

cctggacgag gcctcgagtg gattggaagg attgatcctt ccgatagtga aactcactac 180

aatcaaaagt tcaaggacaa ggccacactg actgtagaca aatcctccag cacagcctac 240

atccaactca gcagcctgac atctgaggac tctgcggtct 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 gaattgtgggt actaatgtag cctggatatca acagaaacca	120
gggcaatctc ctaaagcact gatttactcg gcatcctacc ggtacagtgg agtcctgat	180
cgcttcacag gcagtggatc tgggacagat ttactctca 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 tgaagcagtc aggggctgag ctgtgaagc ctggggctcc agtgaagctg	60
tcctgcaagg ctcttgcta caccttcacc agctactgga tgaactgggt gaagcagagg	120
cctggacgag gcctcgagtg gattggaagg attgatcctt ccgatagtga aactcactac	180
aatcaaaagt tcaaggacaa ggccacactg actgtagaca aatcctccag cacagcctac	240
atccaactca gcagcctgac atctgaggac tctgcggtct attactgtgc aagagggtac	300
tacggtagta actactgggg ccaaggcacc actctcacag tctcgagcgc caaaacaaca	360
gccccatcgg tctatccact ggccccctgtg tgtggagata caactggctc ctcggtgact	420
ctaggatgcc tggtaagggt ttatttcctt gagccagtga ccttgacctg gaactctgga	480
tcctgtcca gtggtgtgca caccttccca gctgtcctgc agtctgacct ctacaccctc	540
agcagctcag tgactgtaac ctcgagcacc tggcccagcc agtccatcac ctgcaatgtg	600
gccccccgg caagcagcac caaggtggac aagaaaattg agccccgggg acccacaatc	660
aagccctgtc ctccatgcaa atgccagca cctaacctct tgggtggacc atccgtcttc	720
atcttcctc caaagatcaa ggatgtactc atgatctccc tgagcccat agtcacatgt	780
gtggtggtgg atgtgagcga ggatgacca gatgtccaga tcagctggtt tgtgaacaac	840
gtggaagtac acacagctca gacacaaacc catagagagg attacaacag tactctccgg	900
gtggtcagtg cctccccat ccagcaccag gactggatga gtggcaagga gttcaaatgc	960
aaggtcaaca acaaagacct cccagcggcc atcgagagaa ccatctcaaa acccaaaggg	1020
tcagtaagag ctccacaggt atatgtcttg cctccaccag aagaagagat gactaagaaa	1080

caggtcactc tgacctgcat ggtcacagac ttcatgcctg aagacattta cgtggagtgg 1140
 accaacaacg ggaaaacaga gctaaactac aagaacactg aaccagtcct ggactctgat 1200
 ggttcttact tcatgtacag caagctgaga gtggaaaaga agaactgggt ggaaagaaat 1260
 agctactcct gttcagtggc ccacgagggt ctgcacaatc accacacgac taagagcttc 1320
 tcccggactc cgggtaaa 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 aggccagtc gaattgtggc actaatgtag cctggatatc acagaaacca 120
 gggcaatctc ctaaagcact gatttactcg gcatcctacc ggtacagtgg agtcctgat 180
 cgcttcacag gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcaa tgtgcagtct 240
 gaagacttgg cagagtattt ctgtcagcaa tataacagct atcctctcac gttcgggtgt 300
 gggaccaagc tggagctgaa acgggctgat gctgcaccaa ctgtatccat ctcccacca 360
 tccagtgagc agttaacatc tggaggagcc tcagtcgtgt gcttcttgaa caacttctac 420

cccaaagaca tcaatgtcaa gtggaagatt gatggcagtg aacgacaaaa tggcgtcctg 480
 aacagttgga ctgatcagga cagcaaagac agcacctaca gcatgagcag caccctcacg 540
 ttgaccaagg acgagtatga acgacataac agctatacct 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 caggggcctc agtcaagttg 60
 tcctgcacag ctcttggtt caacattaaa gactactata tgcactgggt gaagcagagg 120
 cctgaacagg gcctggagtg gattggatgg attgatcctg agaatggtga tactgaatat 180
 gccccgaagt tccagggcaa ggccactatg actgcagaca catcctcaa cacagcctac 240

ctgcagctca gcagcctgac atctgaggac actgccgtct attactgtaa tgccttctac 300
tatgattacg acgggtatgc tatggactac tggggtaag 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 aagagtcagt 60
ctcacttgtc gggcaagtca ggaaattagt ggttacttaa gctggcttca gcagaaacca 120
gatggaacta ttaaagcct gatctacgcc gcatccactt tagattctgg tgcctcaaaa 180
aggttcagtg gcagtaggtc tgggtcagat tattctctca ccatcagcag ccttgagtct 240
gaagattttg cagactatta ctgtctacaa tatgctagtt atccgtcac 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 cttgtgaggt caggggcctc agtcaagttg 60
tcctgcacag cttctggctt caacattaaa gactactata tgcactgggt gaagcagagg 120
cctgaacagg gcctggagtg gattggatgg attgatcctg agaatggtga tactgaatat 180
gccccgaagt tccaggga ggcactatg actgcagaca catctccaa cacagcctac 240
ctgcagctca gcagcctgac atctgaggac actgccgtct attactgtaa tgccttctac 300
tatgattacg acgggtatgc tatggactac tggggtaag gaacctcagt caccgtctcg 360
agggccaaaa caacagcccc atcggtctat cactggccc ctgtgtgtgg agatacaact 420
ggctcctcgg tgactctagg atgcctggtc aagggttatt tcctgagcc agtgaccttg 480
acctggaact ctggatccct gtccagtggg gtgcacacct tccagctgt cctgcagtct 540
gacctctaca cctcagcag ctcagtgact gtaacctega gcacctggcc cagccagtec 600
atcacctgca atgtggccca cccggcaagc agcaccaagg tggacaagaa aattgagccc 660
cggggacca caatcaagcc ctgtcctcca tgcaaatgcc cagcacctaa cctcttgggt 720

ggaccatccg tcttcattctt ccttccaaag atcaaggatg tactcatgat ctccctgagc 780
cccatagtca catgtgtggt ggtggatgtg agcgaggatg acccagatgt ccagatcagc 840
tggtttgtga acaacgtgga agtacacaca gctcagacac aaacccatag agaggattac 900
aacagtactc tccgggtggt cagtgccctc cccatccagc accaggactg gatgagtggc 960

aaggagtcca aatgcaaggt caacaacaaa gacctcccag cgcccatcga gagaaccatc 1020
tcaaaaccca aagggtcagt aagagctcca caggatatatg tcttgctcc accagaagaa 1080
gagatgacta agaaacaggt cactctgacc tgcattggtca cagacttcat gcctgaagac 1140
atttactgtg agtggaccaa caacgggaaa acagagctaa actacaagaa cactgaacca 1200
gtcctggact ctgatgggtc ttacttcatg tacagcaagc tgagagtgga aaagaagaac 1260
tgggtggaaa gaaatagcta ctctgttca gtggtccacg agggctcga caatcaccac 1320
acgactaaga gcttctccc 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 aagagtcagt 60
ctcacttgtc gggcaagtca ggaaattagt ggttacttaa gctggcttca gcagaaacca 120
gatggaacta ttaaagcct gatctacgcc gcatccactt tagattctgg tgtccaaaa 180
aggttcagt gtagtaggtc tgggtcagat tattctctca ccatcagcag ccttgagtct 240
gaagattttg cagactatta ctgtctacaa tatgctagtt atccgctcac gttegggtgct 300
gggaccaagc tggagctgaa acgggctgat gctgcacaa ctgtatccat ctcccacca 360

tccagtgagc agttaacatc tggaggtgcc tcagtcgtgt gcttcttgaa caacttctac 420
cccaaagaca tcaatgtcaa gtggaagatt gatggcagtg aacgacaaaa tggcgtcctg 480
aacagttgga ctgatcagga cagcaaagac agcacctaca gcatgagcag caccctcacg 540
ttgaccaagg acgagtatga acgacataac agctatacct gtgaggccac tcacaagaca 600
tcaacttcac 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 tgcagcagtc tggacctgag ctggtgaagc ctggagcttc aatgaagata 60

tcctgcaagg ctcttggtta ctcatcact ggctacacca tgaactgggt gaagcagagc 120

catggaaaga accttgagtg gattggactt attaatcctt acaatggtgg tactagctac 180

aaccagaagt tcaagggcaa ggccacatta actgtagaca agtcatccag cacagcctac 240

atggagctcc tcagtctgac atctgaggac tctgcagtct attactgcgc aagaggggat 300

tactaccccc 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 tgcacagtc tccaaaattc atgtccacat cagtaggaga cagggtcagc 60

gtcacctgca aggccagtca gaatgtgggt actaatgtag cctggtatca acagaaaccg 120

gggcaatctc ctaaaccact gatttattcg gcgtcctacc ggtatagtgg agtcctgat 180

cgcttcacag gcagtggatc tgggacagat ttactctca ccatcagcaa tgtgcagtct 240

gaagacttgg cagagtattt ctgtcagcaa tataacagat atcctctcac gttcggtgtt 300

gggaccaagc tggaaatcaa acgg 324

<210> 149

<211> 1350

<212> DNA

<213> Artificial

<220><223> TF1413-03e015 H Chain Gene

<400> 149

gaggtccagc tgcagcagtc tggacctgag ctggtgaagc ctggagcttc aatgaagata 60

tcctgcaagg ctcttggtta ctcatcact ggctacacca tgaactgggt gaagcagagc 120

catggaaaga accttgagtg gattggactt attaatcctt acaatggtgg tactagctac 180

aaccagaagt tcaagggcaa ggccacatta actgtagaca agtcatccag cacagcctac 240

atggagctcc tcagtctgac atctgaggac tctgcagtct attactgcgc aagaggggat 300

tactaccccc cctatgctat ggactactgg ggtcaaggaa cctcagtcac cgtctcgagc 360

gccccaaaca cagccccatc ggtctatcca ctggccccctg tgtgtggaga tacaactggc 420
tcctcgggtga ctctaggatg cctgggtcaag ggttatttcc ctgagccagt gaccttgacc 480

tggaactctg gatccctgtc cagtgggtgtg cacaccttcc cagctgtcct gcagtctgac 540
ctctacacc tcagcagctc agtgactgta acctcgagca cctggcccag ccagtccatc 600
acctgcaatg tggccccacc ggcaagcagc accaaggtgg acaagaaaat tgagccccgg 660
ggaccacaaa tcaagccctg tcctccatgc aaatgccagc cacctaacct cttgggtgga 720
ccatccgtct tcatcttccc tccaaagatc aaggatgtac tcatgatctc cctgagcccc 780
atagtcacat gtgtgggtgt ggatgtgagc gaggatgacc cagatgtcca gatcagctgg 840
tttgtgaaca acgtggaagt acacacagct cagacacaaa cccatagaga ggattacaac 900

agtactctcc ggggtgtcag tgccctcccc atccagcacc aggactggat gagtggcaag 960
gagttcaaat gcaaggtcaa caacaaagac ctcccagcgc ccatcgagag aaccatctca 1020
aaacccaaag ggtcagtaag agtccacag gtatatgtct tgcctccacc agaagaagag 1080
atgactaaga aacaggtcac tctgacctgc atggtcacag acttcatgcc tgaagacatt 1140
tacgtggagt ggaccaaaaa cgggaaaaaca gagctaaact acaagaacac tgaaccagtc 1200
ctggactctg atggttctta cttcatgtac agcaagctga gagtggaaaa gaagaactgg 1260
gtggaaagaa atagctactc ctgttcagtgt gtccacgagg gtctgcacaa tcaccacacg 1320

actaagagct tctcccgac tccgggtaaa 1350

<210> 150
<211> 642
<212> DNA
<213> Artificial
<220><223> TF1413-03e015 L Chain Gene
<400> 150

gacattgtga tgtcacagtc tccaaaattc atgtccacat cagtaggaga cagggtcagc 60
gtcacctgca aggccagtc gaatgtgggt actaatgtag cctggtatca acagaaaccg 120
gggcaatctc ctaaaccact gatttattcg gcgtcctacc ggtatagtgg agtccctgat 180
cgcttcacag gcagtggatc tgggacagat ttactctca ccatcagcaa tgtcagctct 240
gaagacttgg cagagtattt ctgtcagcaa tataacagat atcctctcac gtccggtgtt 300

gggaccaagc tggaatcaa acgggctgat gctgcaccaa ctgtatccat cttccacca 360
tccagtgagc agttaacatc tggaggtgcc tcagtcgtgt gcttcttgaa caacttctac 420
cccaaagaca tcaatgtcaa gtggaagatt gatggcagtg aacgacaaaa tggcgtcctg 480

aacagttgga ctgatcagga cagcaaagac agcacctaca gcatgagcag caccctcacg 540
 ttgaccaagg acgagtatga acgacataac agctatacct gtgaggccac tcacaagaca 600
 tcaacttcac 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 tgcagcagtc tggacctgag ctggagaagc ctggcgcttc agtgaagata 60
 tcctgcaagg ctcttggtta ctcttcact ggctacaaca tgaactgggt gaagcagagc 120
 aatggaaaga gccttgagtg gattggaaat attgatcctt actatggtgg tactagctac 180
 aaccagaagt tcaagggcaa ggccacattg actgtagaca aatcctccag cacagcctac 240
 atgcagctca agagcctgac atctgaggac tctgcagtct attactgtgc aagaggggaa 300
 tacgggtact atgctatgga ctactgggggt caaggaacct cagtcaccgt ctcg 354

<210>

> 152

<211> 324

<212> DNA

<213> Artificial

<220><223> TF1413-03e034 L Chain V Region Gene

<400> 152

gacattgtga tgtcacagtc tccaaaattc atgtccacat cagtaggaga cagggtcagc 60
 atcacctgca aggccagtcga gaatgttcgt actgctgtag cctggtatca acagaaacca 120
 gggcagtcct ctaaagcact gatttacttg gcatccaacc ggcacactgg agtcctgat 180
 cgcttcacag gcagtggatc tgggacagat ttactctca ccattagcaa tgtgcaatct 240
 gaagacctgg cagattatct ctgtctgcaa cattggaatt atccgctcac gtgcggtgct 300
 gggaccaagc tggagctgaa acgg 324

<210> 153

<211> 1347

<212> DNA

<213> Artificial

<220><223> TF1413-03e034 H Chain Gene

<400> 153

gaggtccagc tgcagcagtc tggacctgag ctggagaagc ctggcgcttc agtgaagata	60
tcctgcaagg ctcttggtta ctcatcact ggctacaaca tgaactgggt gaagcagagc	120
aatggaaaga gccttgagtg gattggaaat attgatcctt actatggtgg tactagctac	180
aaccagaagt tcaagggcaa ggccacattg actgtagaca aatcctccag cacagcctac	240
atgcagctca agagcctgac atctgaggac tctgcagtct attactgtgc aagagggaac	300
tacgggtact atgctatgga ctactggggt caaggaacct cagtcaccgt ctcgagcgcc	360
aaaacaacag ccccatcgggt ctatccactg gccctgtgt gtggagatac aactggctcc	420
tcggtgactc taggatgcct ggtcaagggt tatttccttg agccagtgc ctgacctgg	480
aactctggat cctgtccag tgggtgtcac accttcccag ctgtcctgca gtctgacctc	540
tacacctca gcagctcagt gactgtaacc tcgagcacct ggcccagcca gtccatcacc	600
tgcaatgtgg cccaccggc aagcagcacc aagggtggaca agaaaattga gccccgggga	660
cccacaatca agccctgtcc tccatgcaaa tgcccagcac ctaacctctt ggggtggacca	720
tccgtcttca tcttccctcc aaagatcaag gatgtactca tgatctccct gagccccata	780
gtcacatgtg tgggtgggtga tgtgagcgag gatgaccag atgtccagat cagctggttt	840
gtgaacaacg tggaagtaca cacagctcag acacaaacc atagagagga ttacaacagt	900
actctccggg tggctcagtc cctcccctc cagcaccagg actggatgag tggcaaggag	960
ttcaaatgca aggtcaacaa caaagacctc ccagcgcca tcgagagAAC catctcaaaa	1020
cccaaagggt cagtaagagc tccacaggta tatgtcttgc ctccaccaga agaagagatg	1080
actaagaaac aggtcactct gacctgcatg gtcacagact tcatgcctga agacatttac	1140
gtggagtgga ccaacaacgg gaaaacagag ctaaactaca agaactga accagtcctg	1200
gactctgatg gttcttactt catgtacagc aagctgagag tggaaaagaa gaactgggtg	1260
gaaagaaata gctactcctg ttcagtggtc cagcagggtc tgcacaatca ccacagcact	1320
aagagcttct cccggactcc gggtaaa	1347

<210> 154

<211> 642

<212> DNA

<213> Artificial

<220><223> TF1413-03e034 L Chain Gene

<400> 154

gacattgtga tgcacagtc tccaaaattc atgtccacat cagtaggaga cagggtcagc	60
atcacctgca aggccagtca gaatgttcgt actgctgtag cctggatatca acagaaacca	120

gggcagtctc ctaaagcact gatttacttg gcatccaacc ggcacactgg agtcctgat 180

cgcttcacag gcagtggatc tgggacagat ttactctca ccattagcaa tgtgcaatct 240

gaagacctgg cagattatit ctgtctgcaa catiggaatt atccgctcac gttcggtgct 300

gggaccaagc tggagctgaa acgggctgat gctgcaccaa ctgtatccat cttcccacca 360

tccagtgagc agttaacatc tggaggtgcc tcagtcgtgt gcttcttgaa caacttctac 420

cccaaagaca tcaatgtcaa gtggaagatt gatggcagtg aacgacaaaa tggcgtcctg 480

aacagttgga ctgatcagga cagcaaagac agcacctaca gcatgagcag caccctcacg 540

ttgaccaagg acgagtatga acgacataac agctatacct gtgaggccac tcacaagaca 600

tcaacttcac ccattgtcaa gagcttcaac 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 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 Lys Val Leu Lys Val Ala His Val Glu His Glu Glu Thr
 340 345 350
 Leu Ser Ser Arg 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 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 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 Gly 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 Glu 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 ccgtcccttc ttccagagac tgcagcccgg actcaagtgg 60
 gtgccagaaa ctcccgtgcc aggatcagat ttgcaagtat gtctccctaa gggccaaca 120

tgctgtctcaa gaaagatgga agaaaaatac caactaacag cagattgaa catggaacag 180
 ctgcttcagt ctgcaagtat ggagctcaag ttcttaatta ttcagaatgc tgcggttttc 240
 caagaggcct ttgaaattgt tgttcgcat gccagaact acaccaatgc catgttcaag 300
 aacaactacc caagcctgac tccacaagct tttgagtttg tgggtgaatt tttcacagat 360
 gtgtctctct acatcttggg ttctgacatc aatgtagatg acatgggtcaa tgaattgttt 420
 gacagcctgt ttccagtcac ctataccag ctaatgaacc caggcctgcc tgattcagcc 480

ttggacatca atgagtgcct ccgaggagca agacgtgacc tgaaagtatt tgggaatttc 540

cccaagctta ttatgaccca ggtttccaag tcaactgcaag tcaactaggat cttccttcag 600

gctctgaatc ttggaattga agtgatcaac acaactgac accgaagtt cagtaaggac 660

tgtggccgaa tgctcaccag aatgtggtag tgctcttact gccagggact gatgatgggt 720

aaacctgtg gcggttactg caatgtggc atgcaaggct gtatggcagg tgtgtggag 780

attgacaagt actggagaga atacattctg tcccttgaag aacttgtgaa tggcatgtac 840

agaatctatg acatggagaa cgtactgctt ggtctctttt caacaatcca tgattctatc 900

cagtatgtcc agaagaatgc aggaaagctg accaccacta ttggcaagtt atgtgccat 960

tctcaacaac gccaatatag atctgcttat taccctgaag atctctttat tgacaagaaa 1020

gtattaaaag ttgctcatgt agaacatgaa gaaaccttat ccagccgaag aagggaacta 1080

attcagaagt tgaagtcttt catcagcttc tatagtgtt tgcttgcta catctgcagc 1140

catagccctg tggcggaaaa cgacacctt tgctggaatg gacaagaact cgtggagaga 1200

tacagccaaa aggcagcaag gaatggaatg aaaaaccagt tcaatctcca tgagctgaaa 1260

atgaagggcc ctgagccagt ggtcagtcac attattgaca aactgaagca cattaacag 1320

<210> 159

<211> 327

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220

><221> misc_feature

<223> Human GPC3 C Terminal Fragment Gene

<400> 159

ctctgagaa ccatgtctat gcccacaggt agagttcttg ataaaaacct ggatgaggaa 60

gggtttgaaa gtggagactg cggtgatgat gaagatgagt gcattggagg ctctggtgat 120

ggaatgataa aagtgaagaa tcagctccgc ttccttgacag aactggccta tgatctggat 180

gtggatgatg cgcttggaac cagtcagcag gcaactccga aggacaacga gataagcacc 240

tttcacaacc tcgggaacgt tcattccccg ctgaagcttc tcaccagcat ggccatctcg 300

gtggtgtgct tcttcttctt ggtgcac 327

<210> 160

<211> 1743

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 160

atggccggga ccgtgcgcac cgcgtgcttg gtggtggcga tgctgctcag ctggacttc	60
ccgggacagg cgcagccccc gccgccgccg ccggacgcca cctgtcacca agtccgctcc	120
ttcttcacaga gactgcagcc cggactcaag tgggtgccag aaactcccgt gccaggatca	180
gatttgcaag tatgtctccc taagggccca acatgtctgt caagaaagat ggaagaaaaa	240
taccaactaa cagcacgatt gaacatggaa cagctgcttc agtctgcaag tatggagctc	300
aagtctctaa ttattcagaa tgctgcgggt ttccaagagg cctttgaaat tgttgttcgc	360
catgccaaga actacaccaa tgccatgttc aagaacaact acccaagcct gactccacaa	420
gcttttgagt ttgtgggtga atttttcaca gatgtgtctc tctacatctt gggttctgac	480
atcaatgtag atgacatggt caatgaattg ttgacagcc tgtttccagt catctatacc	540
cagctaatga acccaggcct gcctgattca gccttgga tcaatgagtg cctccgagga	600
gcaagacgtg acctgaaagt atttgggaat ttccccaagc ttattatgac ccaggtttcc	660
aagtcactgc aagtcactag gatcttctt caggctctga atcttggaat tgaagtgtc	720
aacacaactg atcacctgaa gttagtaag gactgtggcc gaatgtcac cagaatgtgg	780
tactgtctct acgccaggg actgatgatg gttaaaccct gtggcgggta ctgcaatgtg	840
gtcatgcaag gctgtatggc aggtgtggtg gagattgaca agtactggag agaatacatt	900
ctgtcccttg aagaacttgt gaatggcatg tacagaatct atgacatgga gaacgtactg	960
cttggtctct tttaacaat ccatgattct atccagtatg tccagaagaa tgcaggaaag	1020
ctgaccacca ctattggcaa gttatgtgcc cattctcaac aacccaata tagatctgct	1080
tattatcttg aagatctctt tattgacaag aaagtattaa aagttgtca tgtagaacat	1140
gaagaaacct tatccagccg aagaaggga ctaattcaga agttgaagtc ttcatcagc	1200
ttctatagtg ctttgccctg ctacatctgc agccatagcc ctgtggcgga aaacgacacc	1260
ctttgctgga atggacaaga actcgtggag agatacagcc aaaaggcagc aaggaatgga	1320
atgaaaaacc agttcaatct ccatgagctg aaaatgaagg gccctgagcc agtggctcagt	1380
caaattattg acaaactgaa gcacattaac cagctcctga gaaccatgtc tatgcccaaa	1440
ggtagagtgc tggataaaaa cctggatgag gaagggtttg aaagtgaga ctgcggtgat	1500
gatgaagatg agtgcattgg aggtctggt gatggaatga taaaagtga gaatcagctc	1560
cgcttccttg cagaactggc ctatgatctg gatgtggatg atgcgcctgg aaacagtcag	1620
caggcaactc cgaaggacaa cgagataagc acctttcaca acctcgggaa cgttcattcc	1680
ccgtgaagc ttctaccag catggccatc tcggtggtgt gcttcttctt 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
 tccccgcggc tggttaatgt gcttcagttt gtc 33
 <210> 163
 <211> 28
 <212> DNA
 <213> Artificial
 <220><223> F-8 Primer
 <400> 163
 tccccccggg ctctgagaa ccatgtct 28
 <210> 164
 <211> 33
 <212> DNA
 <213> Artificial
 <220><223> R-9 Primer
 <400> 164
 tccccgcggg 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 Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser

115 120 125

Gly 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	Ser	Gly	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	Ala	Met
Asp	Tyr	Trp	Gly
Gln	Gly	Thr	100
105	110		
Ser	Val	Thr	Val
Ser	Gly	Gly	Gly
Gly	Ser	Gly	Gly
Gly	Gly	Ser	Gly
115	120	125	
Gly	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 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 Gly Gly Ser Gly 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 Lys 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 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 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 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 Gly Gly Gly Gly Ser Gly 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
 145 150 155 160
 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
 225 230 235 240
 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 Gly Gly Ser Gly 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 Gly Gly Ser Gly 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 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 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 Gly Gly Gly Gly Ser Gly 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
 145 150 155 160

 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 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 Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly

115 120 125

Gly Ser Gly 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 Gly Ser Gly Gly Gly Gly
115 120 125
Ser Gly 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 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 Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
 115 120 125
 Gly 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

taatacgact cactataggg

20

<210> 177

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial

<220><223> cp3R primer

<400> 177

gccagcattg acaggaggtt 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 Gly Ser Gly Gly Gly Gly

115 120 125

Ser Gly 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 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> 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 Gly Ser Gly Gly Gly Gly
115 120 125
Ser Gly 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 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> 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 Gly Ser Gly Gly Gly Gly
 115 120 125
 Ser Gly 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 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 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 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 Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser

115 120 125

Gly 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 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 Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

Ala Tyr Ile Ser Ser Gly 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 Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser

115 120 125

Gly 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 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 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 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 Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
 115 120 125
 Gly 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 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 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 Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
115 120 125
Gly 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 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 80
 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

 145 150 155 160
 Phe Pro Glu 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 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
 225 230 235 240
 Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg 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 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 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 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 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 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