



(45) 授权公告日 2025.06.13

T·阿克

专利代理师 顾晨昕

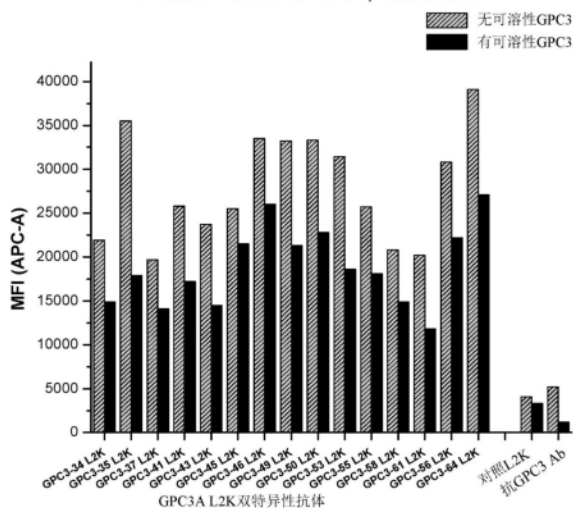
A61P 35/00 (2006.01)

审查员 孙琳

序列表244页 附图44页

(57) 摘要

在可溶性GPC3存在及不存在下对Hep2细胞的竞争结合



1. 一种经分离的抗GPC3构筑体,其包括特异性识别细胞表面结合的GPC3的抗GPC3抗体部分,其中所述抗体部分包括:

I. i) 重链可变域 V_H ,其包括重链互补决定区HC-CDR1、HC-CDR2以及HC-CDR3,HC-CDR1由SEQ ID NO:3的氨基酸序列组成,HC-CDR2由SEQ ID NO:54的氨基酸序列组成,HC-CDR3由SEQ ID NO:105的氨基酸序列组成;以及ii) 轻链可变域 V_L ,其包括轻链互补决定区LC-CDR1、LC-CDR2以及LC-CDR3,LC-CDR1由SEQ ID NO:156的氨基酸序列组成,LC-CDR2由SEQ ID NO:207的氨基酸序列组成,LC-CDR3由SEQ ID NO:258的氨基酸序列组成;

II. i) V_H ,其包括HC-CDR1、HC-CDR2以及HC-CDR3,HC-CDR1由SEQ ID NO:21的氨基酸序列组成,HC-CDR2由SEQ ID NO:72的氨基酸序列组成,HC-CDR3由SEQ ID NO:123的氨基酸序列组成;以及ii) V_L ,其包括LC-CDR1、LC-CDR2以及LC-CDR3,LC-CDR1由SEQ ID NO:174的氨基酸序列组成,LC-CDR2由SEQ ID NO:225的氨基酸序列组成,LC-CDR3由SEQ ID NO:276的氨基酸序列组成;

III. i) V_H ,其包括HC-CDR1、HC-CDR2以及HC-CDR3,HC-CDR1由SEQ ID NO:24的氨基酸序列组成,HC-CDR2由SEQ ID NO:75的氨基酸序列组成,HC-CDR3由SEQ ID NO:126的氨基酸序列组成;以及ii) V_L ,其包括LC-CDR1、LC-CDR2以及LC-CDR3,LC-CDR1由SEQ ID NO:177的氨基酸序列组成,LC-CDR2由SEQ ID NO:228的氨基酸序列组成,LC-CDR3由SEQ ID NO:279的氨基酸序列组成;

IV. i) V_H ,其包括HC-CDR1、HC-CDR2以及HC-CDR3,HC-CDR1由SEQ ID NO:1的氨基酸序列组成,HC-CDR2由SEQ ID NO:52的氨基酸序列组成,HC-CDR3由SEQ ID NO:103的氨基酸序列组成;以及ii) V_L ,其包括LC-CDR1、LC-CDR2以及LC-CDR3,LC-CDR1由SEQ ID NO:154的氨基酸序列组成,LC-CDR2由SEQ ID NO:205的氨基酸序列组成,LC-CDR3由SEQ ID NO:256的氨基酸序列组成;

V. i) V_H ,其包括HC-CDR1、HC-CDR2以及HC-CDR3,HC-CDR1由SEQ ID NO:11的氨基酸序列组成,HC-CDR2由SEQ ID NO:62的氨基酸序列组成,HC-CDR3由SEQ ID NO:113的氨基酸序列组成;以及ii) V_L ,其包括LC-CDR1、LC-CDR2以及LC-CDR3,LC-CDR1由SEQ ID NO:164的氨基酸序列组成,LC-CDR2由SEQ ID NO:215的氨基酸序列组成,LC-CDR3由SEQ ID NO:266的氨基酸序列组成;

VI. i) V_H ,其包括HC-CDR1、HC-CDR2以及HC-CDR3,HC-CDR1由SEQ ID NO:12的氨基酸序列组成,HC-CDR2由SEQ ID NO:63的氨基酸序列组成,HC-CDR3由SEQ ID NO:114的氨基酸序列组成;以及ii) V_L ,其包括LC-CDR1、LC-CDR2以及LC-CDR3,LC-CDR1由SEQ ID NO:165的氨基酸序列组成,LC-CDR2由SEQ ID NO:216的氨基酸序列组成,LC-CDR3由SEQ ID NO:267的氨基酸序列组成;

VII. i) V_H ,其包括HC-CDR1、HC-CDR2以及HC-CDR3,HC-CDR1由SEQ ID NO:44的氨基酸序列组成,HC-CDR2由SEQ ID NO:95的氨基酸序列组成,HC-CDR3由SEQ ID NO:146的氨基酸序列组成;以及ii) V_L ,其包括LC-CDR1、LC-CDR2以及LC-CDR3,LC-CDR1由SEQ ID NO:197的氨基酸序列组成,LC-CDR2由SEQ ID NO:248的氨基酸序列组成,LC-CDR3由SEQ ID NO:299的氨基酸序列组成;

VIII. i) V_H ,其包括HC-CDR1、HC-CDR2以及HC-CDR3,HC-CDR1由SEQ

ID NO:28的氨基酸序列组成,HC-CDR2由SEQ ID NO:79的氨基酸序列组成,HC-CDR3由

SEQ ID NO:130的氨基酸序列组成;以及ii)V_L,其包括LC-CDR1、LC-CDR2以及LC-CDR3,LC-CDR1由SEQ ID NO:181的氨基酸序列组成,LC-CDR2由SEQ ID NO:232的氨基酸序列组成,LC-CDR3由SEQ ID NO:283的氨基酸序列组成;

IX.i)V_H,其包括HC-CDR1、HC-CDR2以及HC-CDR3,HC-CDR1由SEQ ID NO:4的氨基酸序列组成,HC-CDR2由SEQ ID NO:55的氨基酸序列组成,HC-CDR3由SEQ ID NO:106的氨基酸序列组成;以及ii)V_L,其包括LC-CDR1、LC-CDR2以及LC-CDR3,LC-CDR1由SEQ ID NO:157的氨基酸序列组成,LC-CDR2由SEQ ID NO:208的氨基酸序列组成,LC-CDR3由SEQ

ID NO:259的氨基酸序列组成;

X.i)V_H,其包括HC-CDR1、HC-CDR2以及HC-CDR3,HC-CDR1由SEQ ID NO:5的氨基酸序列组成,HC-CDR2由SEQ ID NO:56的氨基酸序列组成,HC-CDR3由SEQ ID NO:107的氨基酸序列组成;以及ii)V_L,其包括LC-CDR1、LC-CDR2以及LC-CDR3,LC-CDR1由SEQ ID NO:158的氨基酸序列组成,LC-CDR2由SEQ ID NO:209的氨基酸序列组成,LC-CDR3由SEQ ID NO:260的氨基酸序列组成;

XI.i)V_H,其包括HC-CDR1、HC-CDR2以及HC-CDR3,HC-CDR1由SEQ ID NO:30的氨基酸序列组成,HC-CDR2由SEQ ID NO:81的氨基酸序列组成,HC-CDR3由SEQ ID NO:132的氨基酸序列组成;以及ii)V_L,其包括LC-CDR1、LC-CDR2以及LC-CDR3,LC-CDR1由SEQ ID NO:183的氨基酸序列组成,LC-CDR2由SEQ ID NO:234的氨基酸序列组成,LC-CDR3由SEQ ID NO:285的氨基酸序列组成;

XII.i)V_H,其包括HC-CDR1、HC-CDR2以及HC-CDR3,HC-CDR1由SEQ ID NO:41的氨基酸序列组成,HC-CDR2由SEQ ID NO:92的氨基酸序列组成,HC-CDR3由SEQ ID NO:143的氨基酸序列组成;以及ii)V_L,其包括LC-CDR1、LC-CDR2以及LC-CDR3,LC-CDR1由SEQ ID NO:194的氨基酸序列组成,LC-CDR2由SEQ ID NO:245的氨基酸序列组成,LC-CDR3由SEQ ID NO:296的氨基酸序列组成;或

XIII.i)V_H,其包括HC-CDR1、HC-CDR2以及HC-CDR3,HC-CDR1由SEQ ID NO:49的氨基酸序列组成,HC-CDR2由SEQ ID NO:100的氨基酸序列组成,HC-CDR3由SEQ ID NO:151的氨基酸序列组成;以及ii)V_L,其包括LC-CDR1、LC-CDR2以及LC-CDR3,LC-CDR1由SEQ ID NO:202的氨基酸序列组成,LC-CDR2由SEQ ID NO:253的氨基酸序列组成,LC-CDR3由SEQ ID NO:304的氨基酸序列组成;

其中分离的抗GPC3构筑体是抗GPC3单链Fv(scFv)、抗GPC3 Fc融合蛋白、全长抗GPC3抗体、抗GPC3串联双scFv双特异性T细胞接合体、抗GPC3嵌合抗原受体(CAR)、抗GPC3嵌合抗体-T细胞受体(TCR)(caTCR)或抗GPC3协同刺激嵌合受体(CSR);和

其中抗GPC3串联双scFv包含通过肽连接子连接的两个scFv,其中抗GPC3抗体部分是第一scFv,并且其中第二scFv是特异性识别CD3ε的第二抗体部分。

2.根据权利要求1所述的经分离的抗GPC3构筑体,其中所述抗GPC3抗体部分包括:

I.i)V_H,其包含SEQ ID NO:327的氨基酸序列和ii)V_L,其包含SEQ ID NO:378的氨基酸序列;

II.i)V_H,其包含SEQ ID NO:330的氨基酸序列和ii)V_L,其包含SEQ ID NO:381的氨基酸序列;

III.i)V_H,其包含SEQ ID NO:309的氨基酸序列和ii)V_L,其包含SEQ ID NO:

360的氨基酸序列;

IV.i)V_H,其包含SEQ ID NO:307的氨基酸序列和ii)V_L,其包含SEQ ID NO:

358的氨基酸序列;

V.i)V_H,其包含SEQ ID NO:317的氨基酸序列和ii)V_L,其包含SEQ ID NO:

368的氨基酸序列;

VI.i)V_H,其包含SEQ ID NO:318的氨基酸序列和ii)V_L,其包含SEQ ID NO:

369的氨基酸序列;

VII.i)V_H,其包含SEQ ID NO:350的氨基酸序列和ii)V_L,其包含SEQ ID NO:

401的氨基酸序列;

VIII.i)V_H,其包含SEQ ID NO:334的氨基酸序列和ii)V_L,其包含SEQ ID NO:

385的氨基酸序列;

IX.i)V_H,其包含SEQ ID NO:310的氨基酸序列和ii)V_L,其包含SEQ ID NO:

361的氨基酸序列;

X.i)V_H,其包含SEQ ID NO:311的氨基酸序列和ii)V_L,其包含SEQ ID NO:

362的氨基酸序列;

XI.i)V_H,其包含SEQ ID NO:336的氨基酸序列和ii)V_L,其包含SEQ ID NO:

387的氨基酸序列;

XII.i)V_H,其包含SEQ ID NO:347的氨基酸序列和ii)V_L,其包含SEQ ID NO:

398的氨基酸序列;或

XIII.i)V_H,其包含SEQ ID NO:355的氨基酸序列和ii)V_L,其包含SEQ ID NO:

406的氨基酸序列。

3.根据权利要求1所述的经分离的抗GPC3构筑体,其中所述抗GPC3抗体部分包括:

I.i)V_H,其包括HC-CDR1、HC-CDR2以及HC-CDR3,HC-CDR1由SEQ ID NO:21的氨基酸序列组成,HC-CDR2由SEQ ID NO:72的氨基酸序列组成,HC-CDR3由SEQ ID NO:123的氨基酸序列组成;以及ii)V_L,其包括LC-CDR1、LC-CDR2以及LC-CDR3,LC-CDR1由SEQ ID NO:174的氨基酸序列组成,LC-CDR2由SEQ ID NO:225的氨基酸序列组成,LC-CDR3由SEQ ID NO:276的氨基酸序列组成;

II.i)V_H,其包括HC-CDR1、HC-CDR2以及HC-CDR3,HC-CDR1由SEQ ID NO:24的氨基酸序列组成,HC-CDR2由SEQ ID NO:75的氨基酸序列组成,HC-CDR3由SEQ ID NO:126的氨基酸序列组成;以及ii)V_L,其包括LC-CDR1、LC-CDR2以及LC-CDR3,LC-CDR1由SEQ ID NO:177的氨基酸序列组成,LC-CDR2由SEQ ID NO:228的氨基酸序列组成,LC-CDR3由SEQ ID NO:279;381的氨基酸序列组成;或

III.i)V_H,其包括HC-CDR1、HC-CDR2以及HC-CDR3,HC-CDR1由SEQ ID NO:3的氨基酸序列组成,HC-CDR2由SEQ ID NO:54的氨基酸序列组成,HC-CDR3由SEQ ID NO:105的氨基酸序列组成;以及ii)V_L,其包括LC-CDR1、LC-CDR2以及LC-CDR3,LC-CDR1由SEQ ID NO:156的氨基酸序列组成,LC-CDR2由SEQ ID NO:207的氨基酸序列组成,LC-CDR3由SEQ ID NO:258的氨基酸序列组成。

4.根据权利要求1所述的经分离的抗GPC3构筑体,其中所述抗GPC3抗体部分包括:

I.i)V_H,其包含SEQ ID NO:309的氨基酸序列和ii)V_L,其包含SEQ ID NO:

- 360的氨基酸序列;
- II.i)V_H,其包含SEQ ID NO:327的氨基酸序列和ii)V_L,其包含SEQ ID NO:378的氨基酸序列;或
- III.i)V_H,其包含SEQ ID NO:330的氨基酸序列和ii)V_L,其包含SEQ ID NO:381的氨基酸序列。
- 5.根据权利要求1所述的经分离的抗GPC3构筑体,其中:
- i.所述抗GPC3抗体部分为全长抗体、Fab、Fab'、F(ab')₂、Fv或单链Fv scFv;
- ii.所述抗GPC3抗体部分与Fc片段融合,任选地经由连接子融合;和/或
- iii.所述经分离的抗GPC3构筑体具有多特异性。
- 6.根据权利要求1所述的经分离的抗GPC3构筑体,其中所述经分离的抗GPC3构筑体为抗GPC3 CAR,其包括:
- (a) 包括所述抗GPC3抗体部分的胞外域;
- (b) 跨膜域;及
- (c) 胞内信号传导域。
- 7.根据权利要求6所述的经分离的抗GPC3构筑体,其中所述胞内信号传导域包括CD3ζ胞内信号传导序列及CD28胞内信号传导序列。
- 8.根据权利要求6所述的经分离的抗GPC3构筑体,其中所述抗GPC3 CAR包括SEQ ID NO:491和516-521中任一者的氨基酸序列。
- 9.根据权利要求1所述的经分离的抗GPC3构筑体,其中所述经分离的抗GPC3构筑体为抗GPC3 caTCR,其包括:
- (a) 包括所述抗GPC3抗体部分的胞外域;及
- (b) TCR模块TCRM,其所述TCRM包括含有第一TCR跨膜域TCR-TM的第一TCR域TCRD及含有第二TCR-TM的第二TCRD,其中所述TCRM促进至少一种TCR相关信号传导分子的募集。
- 10.根据权利要求9所述的经分离的抗GPC3构筑体,其中TCR相关信号传导分子选自由CD3δ_ε、CD3γ_ε和ζζ组成的群组。
- 11.根据权利要求9所述的经分离的抗GPC3构筑体,其中:
- i.第一TCR-TM来源于TCRγ的跨膜域且第二TCR-TM来源于TCRδ的跨膜域;
- 或
- ii.第一TCR-TM来源于TCRδ的跨膜域且第二TCR-TM来源于TCRγ的跨膜域。
- 12.根据权利要求9所述的经分离的抗GPC3构筑体,其中:
- i.第一TCR-TM来源于TCRα的跨膜域且第二TCR-TM来源于TCRβ的跨膜域;
- 或
- ii.第一TCR-TM来源于TCRβ的跨膜域且第二TCR-TM来源于TCRα的跨膜域。
- 13.根据权利要求1所述的经分离的抗GPC3构筑体,其中所述经分离的抗GPC3构筑体是抗GPC3 CSR,其包括:
- (a) 配体结合模块,其包括所述抗GPC3抗体部分;
- (b) 跨膜模块;及
- (c) 协同刺激免疫细胞信号传导模块。
- 14.根据权利要求13所述的经分离的抗GPC3构筑体,其中所述抗GPC3 CSR不包括功能

性初始免疫细胞信号传导序列。

15. 根据权利要求13所述的经分离的抗GPC3构筑体,其中所述抗GPC3 CSR缺乏任何初始免疫细胞信号传导序列。

16. 根据权利要求13所述的经分离的抗GPC3构筑体,其中所述协同刺激免疫细胞信号传导模块包括协同刺激分子的胞内域的一部分,其选自由CD27、CD28、4-1BB (CD137)、OX40、CD30、CD40、PD-1、ICOS、LFA-1、CD2、CD7、LIGHT、KG2C、B7-H3和特异性结合CD83的配体组成的群组。

17. 根据权利要求13所述的经分离的抗GPC3构筑体,其中所述抗GPC3 CSR包括SEQ ID NO:531的氨基酸序列。

18. 一种经分离的核酸,其编码根据权利要求1至17中任一权利要求所述的经分离的抗GPC3构筑体中的多肽组分。

19. 一种载体,其包括根据权利要求18所述的经分离的核酸。

20. 一种经分离的宿主细胞,其包括根据权利要求1至17中任一权利要求所述的抗GPC3构筑体、根据权利要求18所述的经分离的核酸或根据权利要求19所述的载体。

21. 一种效应细胞,其表达根据权利要求1到17中任一权利要求的经分离的抗GPC3构筑体。

22. 根据权利要求21所述的效应细胞,其中所述效应细胞为T细胞。

23. 根据权利要求22所述的效应细胞,其中所述T细胞选自由以下组成的群组:细胞毒性T细胞、辅助T细胞和自然杀手T细胞。

24. 根据权利要求21所述的效应细胞,其中通过活化所述效应细胞来诱导所述抗GPC3构筑体的表达。

25. 根据权利要求21所述的效应细胞,其中所述效应细胞包括抗GPC3 CSR和caTCR。

26. 根据权利要求25所述的效应细胞,其中所述caTCR包括:

(a) 胞外域,其中所述胞外域包括:

(i) 抗GPC3抗体部分;或

(ii) 抗AMC抗体部分,其特异性结合包含 α 胎蛋白AFP肽和主要组织相容性复合物MHC I类蛋白的复合物 (AFP/MHC I类复合物,或AMC);和

(b) TCRM,其中所述TCRM包含第一TCRD和第二TCRD,所述第一TCRD包含第一TCR-TM,所述第二TCRD包含第二TCR-TM,其中所述TCRM促进至少一种TCR相关信号传导分子的募集。

27. 权利要求26的效应细胞,其中TCR相关信号传导分子选自由CD3 $\delta\epsilon$ 、CD3 $\gamma\epsilon$ 和 $\zeta\zeta$ 组成的群组。

28. 权利要求26的效应细胞,其中所述caTCR的胞外域包含抗GPC3抗体部分,并且其中:

(i) 所述抗GPC3抗体部分以高结合亲和力特异性识别细胞表面结合的GPC3并以低结合亲和力结合可溶性GPC3;和/或

(ii) 可溶性GPC3在抗GPC3抗体部分和细胞表面结合的GPC3之间竞争结合的IC₅₀为约1 $\mu\text{g/mL}$ 至约100 $\mu\text{g/mL}$ 。

29. 权利要求26的效应细胞,其中所述caTCR是权利要求9的抗GPC3 caTCR。

30. 权利要求21的效应细胞,其中所述效应细胞包含所述抗GPC3 caTCR,其中所述效应细胞还包含CSR,以及其中所述CSR包含:

- (a) 包含抗体部分的配体结合模块;
- (b) 跨膜模块;和
- (c) 协同刺激免疫细胞信号传导模块。

31. 权利要求30的效应细胞,其中所述CSR是包括抗GPC3抗体部分的抗GPC3 CSR。

32. 权利要求31的效应细胞,其中:

I. (1) 所述抗GPC3 caTCR包括抗GPC3抗体部分,所述抗GPC3抗体部分包括:

(a) i) V_H ,其包括HC-CDR1、HC-CDR2以及HC-CDR3,HC-CDR1由SEQ ID NO:3的氨基酸序列组成,HC-CDR2由SEQ ID NO:54的氨基酸序列组成,HC-CDR3由SEQ ID NO:105的氨基酸序列组成;以及ii) V_L ,其包括LC-CDR1、LC-CDR2以及LC-CDR3,LC-CDR1由SEQ ID NO:156的氨基酸序列组成,LC-CDR2由SEQ ID NO:207的氨基酸序列组成,LC-CDR3由SEQ ID NO:258的氨基酸序列组成;和/或

(b) 包含SEQ ID NO:309的氨基酸序列的VH和包含SEQ ID NO:360的氨基酸序列的VL;以及

(2) 所述抗GPC3 CSR包括抗GPC3抗体部分,所述抗GPC3抗体部分包括:

(a) i) V_H ,其包括HC-CDR1、HC-CDR2以及HC-CDR3,HC-CDR1由SEQ ID NO:3的氨基酸序列组成,HC-CDR2由SEQ ID NO:54的氨基酸序列组成,HC-CDR3由SEQ ID NO:105的氨基酸序列组成;以及ii) V_L ,其包括LC-CDR1、LC-CDR2以及LC-CDR3,LC-CDR1由SEQ ID NO:156的氨基酸序列组成,LC-CDR2由SEQ ID NO:207的氨基酸序列组成,LC-CDR3由SEQ ID NO:258的氨基酸序列组成;和/或

(b) 包含SEQ ID NO:309的氨基酸序列的VH和包含SEQ ID NO:360的氨基酸序列的VL;或

II. (1) 所述抗GPC3 caTCR包括抗GPC3抗体部分,所述抗GPC3抗体部分包括:

(a) i) V_H ,其包括HC-CDR1、HC-CDR2以及HC-CDR3,HC-CDR1由SEQ ID NO:3的氨基酸序列组成,HC-CDR2由SEQ ID NO:54的氨基酸序列组成,HC-CDR3由SEQ ID NO:105的氨基酸序列组成;以及ii) V_L ,其包括LC-CDR1、LC-CDR2以及LC-CDR3,LC-CDR1由SEQ ID NO:156的氨基酸序列组成,LC-CDR2由SEQ ID NO:207的氨基酸序列组成,LC-CDR3由SEQ ID NO:258的氨基酸序列组成;和/或

(b) 包含SEQ ID NO:309的氨基酸序列的VH和包含SEQ ID NO:360的氨基酸序列的VL;以及

(2) 所述抗GPC3 CSR包括抗GPC3抗体部分,所述抗GPC3抗体部分包括:

(a) i) V_H ,其包括HC-CDR1、HC-CDR2以及HC-CDR3,HC-CDR1由SEQ ID NO:21的氨基酸序列组成,HC-CDR2由SEQ ID NO:72的氨基酸序列组成,HC-CDR3由SEQ ID NO:123的氨基酸序列组成;以及ii) V_L ,其包括LC-CDR1、LC-CDR2以及LC-CDR3,LC-CDR1由SEQ ID NO:174的氨基酸序列组成,LC-CDR2由SEQ ID NO:225的氨基酸序列组成,LC-CDR3由SEQ ID NO:276的氨基酸序列组成;和/或

(b) 包含SEQ ID NO:327的氨基酸序列的VH和包含SEQ ID NO:378的氨基酸序列的VL;或

III. (1) 所述抗GPC3 caTCR包括抗GPC3抗体部分,所述抗GPC3抗体部分包括:

(a) i) V_H ,其包括HC-CDR1、HC-CDR2以及HC-CDR3,HC-CDR1由SEQ ID NO:3的氨基酸序列

组成,HC-CDR2由SEQ ID NO:54的氨基酸序列组成,HC-CDR3由SEQ ID NO:105的氨基酸序列组成;以及ii)V_L,其包括LC-CDR1、LC-CDR2以及LC-CDR3,LC-CDR1由SEQ ID NO:156的氨基酸序列组成,LC-CDR2由SEQ ID NO:207的氨基酸序列组成,LC-CDR3由SEQ ID NO:258的氨基酸序列组成;和/或

(b) 包含SEQ ID NO:309的氨基酸序列的VH和包含SEQ ID NO:360的氨基酸序列的VL;以及

(2) 所述抗GPC3 CSR包括抗GPC3抗体部分,所述抗GPC3抗体部分包括:

(a) i)V_H,其包括HC-CDR1、HC-CDR2以及HC-CDR3,HC-CDR1由SEQ ID NO:24的氨基酸序列组成,HC-CDR2由SEQ ID NO:75的氨基酸序列组成,HC-CDR3由SEQ ID NO:126的氨基酸序列组成;以及ii)V_L,其包括LC-CDR1、LC-CDR2以及LC-CDR3,LC-CDR1由SEQ ID NO:177的氨基酸序列组成,LC-CDR2由SEQ ID NO:228的氨基酸序列组成,LC-CDR3由SEQ ID NO:279的氨基酸序列组成;和/或

(b) 包含SEQ ID NO:330的氨基酸序列的VH和包含SEQ ID NO:381的氨基酸序列的VL;或

IV. (1) 所述抗GPC3 caTCR包括抗GPC3抗体部分,所述抗GPC3抗体部分包括:

(a) i)V_H,其包括HC-CDR1、HC-CDR2以及HC-CDR3,HC-CDR1由SEQ ID NO:21的氨基酸序列组成,HC-CDR2由SEQ ID NO:72的氨基酸序列组成,HC-CDR3由SEQ ID NO:123的氨基酸序列组成;以及ii)V_L,其包括LC-CDR1、LC-CDR2以及LC-CDR3,LC-CDR1由SEQ ID NO:174的氨基酸序列组成,LC-CDR2由SEQ ID NO:225的氨基酸序列组成,LC-CDR3由SEQ ID NO:276的氨基酸序列组成;和/或

(b) 包含SEQ ID NO:327的氨基酸序列的VH和包含SEQ ID NO:378的氨基酸序列的VL;以及

(2) 所述抗GPC3 CSR包括抗GPC3抗体部分,所述抗GPC3抗体部分包括:

(a) i)V_H,其包括HC-CDR1、HC-CDR2以及HC-CDR3,HC-CDR1由SEQ ID NO:3的氨基酸序列组成,HC-CDR2由SEQ ID NO:54的氨基酸序列组成,HC-CDR3由SEQ ID NO:105的氨基酸序列组成;以及ii)V_L,其包括LC-CDR1、LC-CDR2以及LC-CDR3,LC-CDR1由SEQ ID NO:156的氨基酸序列组成,LC-CDR2由SEQ ID NO:207的氨基酸序列组成,LC-CDR3由SEQ ID NO:258的氨基酸序列组成;和/或

(b) 包含SEQ ID NO:309的氨基酸序列的VH和包含SEQ ID NO:360的氨基酸序列的VL;或

V. (1) 所述抗GPC3 caTCR包括抗GPC3抗体部分,所述抗GPC3抗体部分包括:

(a) i)V_H,其包括HC-CDR1、HC-CDR2以及HC-CDR3,HC-CDR1由SEQ ID NO:21的氨基酸序列组成,HC-CDR2由SEQ ID NO:72的氨基酸序列组成,HC-CDR3由SEQ ID NO:123的氨基酸序列组成;以及ii)V_L,其包括LC-CDR1、LC-CDR2以及LC-CDR3,LC-CDR1由SEQ ID NO:174的氨基酸序列组成,LC-CDR2由SEQ ID NO:225的氨基酸序列组成,LC-CDR3由SEQ ID NO:276的氨基酸序列组成;和/或

(b) 包含SEQ ID NO:327的氨基酸序列的VH和包含SEQ ID NO:378的氨基酸序列的VL;以及

(2) 所述抗GPC3 CSR包括抗GPC3抗体部分,所述抗GPC3抗体部分包括:

(a) i) V_H , 其包括HC-CDR1、HC-CDR2以及HC-CDR3, HC-CDR1由SEQ ID NO:21的氨基酸序列组成, HC-CDR2由SEQ ID NO:72的氨基酸序列组成, HC-CDR3由SEQ ID NO:123的氨基酸序列组成; 以及ii) V_L , 其包括LC-CDR1、LC-CDR2以及LC-CDR3, LC-CDR1由SEQ ID NO:174的氨基酸序列组成, LC-CDR2由SEQ ID NO:225的氨基酸序列组成, LC-CDR3由SEQ ID NO:276的氨基酸序列组成; 和/或

(b) 包含SEQ ID NO:327的氨基酸序列的VH和包含SEQ ID NO:378的氨基酸序列的VL; 或

VI. (1) 所述抗GPC3 caTCR包括抗GPC3抗体部分, 所述抗GPC3抗体部分包括:

(a) i) V_H , 其包括HC-CDR1、HC-CDR2以及HC-CDR3, HC-CDR1由SEQ ID NO:21的氨基酸序列组成, HC-CDR2由SEQ ID NO:72的氨基酸序列组成, HC-CDR3由SEQ ID NO:123的氨基酸序列组成; 以及ii) V_L , 其包括LC-CDR1、LC-CDR2以及LC-CDR3, LC-CDR1由SEQ ID NO:174的氨基酸序列组成, LC-CDR2由SEQ ID NO:225的氨基酸序列组成, LC-CDR3由SEQ ID NO:276的氨基酸序列组成; 和/或

(b) 包含SEQ ID NO:327的氨基酸序列的VH和包含SEQ ID NO:378的氨基酸序列的VL; 以及

(2) 所述抗GPC3 CSR包括抗GPC3抗体部分, 所述抗GPC3抗体部分包括:

(a) i) V_H , 其包括HC-CDR1、HC-CDR2以及HC-CDR3, HC-CDR1由SEQ ID NO:24的氨基酸序列组成, HC-CDR2由SEQ ID NO:75的氨基酸序列组成, HC-CDR3由SEQ ID NO:126的氨基酸序列组成; 以及ii) V_L , 其包括LC-CDR1、LC-CDR2以及LC-CDR3, LC-CDR1由SEQ ID NO:177的氨基酸序列组成, LC-CDR2由SEQ ID NO:228的氨基酸序列组成, LC-CDR3由SEQ ID NO:279的氨基酸序列组成; 和/或

(b) 包含SEQ ID NO:330的氨基酸序列的VH和包含SEQ ID NO:381的氨基酸序列的VL; 或

VII. (1) 所述抗GPC3 caTCR包括抗GPC3抗体部分, 所述抗GPC3抗体部分包括:

(a) i) V_H , 其包括HC-CDR1、HC-CDR2以及HC-CDR3, HC-CDR1由SEQ ID NO:24的氨基酸序列组成, HC-CDR2由SEQ ID NO:75的氨基酸序列组成, HC-CDR3由SEQ ID NO:126的氨基酸序列组成; 以及ii) V_L , 其包括LC-CDR1、LC-CDR2以及LC-CDR3, LC-CDR1由SEQ ID NO:177的氨基酸序列组成, LC-CDR2由SEQ ID NO:228的氨基酸序列组成, LC-CDR3由SEQ ID NO:279的氨基酸序列组成; 和/或

(b) 包含SEQ ID NO:330的氨基酸序列的VH和包含SEQ ID NO:381的氨基酸序列的VL; 以及

(2) 所述抗GPC3 CSR包括抗GPC3抗体部分, 所述抗GPC3抗体部分包括:

(a) i) V_H , 其包括HC-CDR1、HC-CDR2以及HC-CDR3, HC-CDR1由SEQ ID NO:3的氨基酸序列组成, HC-CDR2由SEQ ID NO:54的氨基酸序列组成, HC-CDR3由SEQ ID NO:105的氨基酸序列组成; 以及ii) V_L , 其包括LC-CDR1、LC-CDR2以及LC-CDR3, LC-CDR1由SEQ ID NO:156的氨基酸序列组成, LC-CDR2由SEQ ID NO:207的氨基酸序列组成, LC-CDR3由SEQ ID NO:258的氨基酸序列组成; 和/或

(b) 包含SEQ ID NO:309的氨基酸序列的VH和包含SEQ ID NO:360的氨基酸序列的VL; 或

VIII. (1) 所述抗GPC3 caTCR包括抗GPC3抗体部分,所述抗GPC3抗体部分包括:

(a) i) V_H ,其包括HC-CDR1、HC-CDR2以及HC-CDR3,HC-CDR1由SEQ ID NO:24的氨基酸序列组成,HC-CDR2由SEQ ID NO:75的氨基酸序列组成,HC-CDR3由SEQ ID NO:126的氨基酸序列组成;以及ii) V_L ,其包括LC-CDR1、LC-CDR2以及LC-CDR3,LC-CDR1由SEQ ID NO:177的氨基酸序列组成,LC-CDR2由SEQ ID NO:228的氨基酸序列组成,LC-CDR3由SEQ ID NO:279的氨基酸序列组成;和/或

(b) 包含SEQ ID NO:330的氨基酸序列的VH和包含SEQ ID NO:381的氨基酸序列的VL;以及

(2) 所述抗GPC3 CSR包括抗GPC3抗体部分,所述抗GPC3抗体部分包括:

(a) i) V_H ,其包括HC-CDR1、HC-CDR2以及HC-CDR3,HC-CDR1由SEQ ID NO:21的氨基酸序列组成,HC-CDR2由SEQ ID NO:72的氨基酸序列组成,HC-CDR3由SEQ ID NO:123的氨基酸序列组成;以及ii) V_L ,其包括LC-CDR1、LC-CDR2以及LC-CDR3,LC-CDR1由SEQ ID NO:174的氨基酸序列组成,LC-CDR2由SEQ ID NO:225的氨基酸序列组成,LC-CDR3由SEQ ID NO:276的氨基酸序列组成;和/或

(b) 包含SEQ ID NO:327的氨基酸序列的VH和包含SEQ ID NO:378的氨基酸序列的VL;或

IX. (1) 所述抗GPC3 caTCR包括抗GPC3抗体部分,所述抗GPC3抗体部分包括:

(a) i) V_H ,其包括HC-CDR1、HC-CDR2以及HC-CDR3,HC-CDR1由SEQ ID NO:24的氨基酸序列组成,HC-CDR2由SEQ ID NO:75的氨基酸序列组成,HC-CDR3由SEQ ID NO:126的氨基酸序列组成;以及ii) V_L ,其包括LC-CDR1、LC-CDR2以及LC-CDR3,LC-CDR1由SEQ ID NO:177的氨基酸序列组成,LC-CDR2由SEQ ID NO:228的氨基酸序列组成,LC-CDR3由SEQ ID NO:279的氨基酸序列组成;和/或

(b) 包含SEQ ID NO:330的氨基酸序列的VH和包含SEQ ID NO:381的氨基酸序列的VL;以及

(2) 所述抗GPC3 CSR包括抗GPC3抗体部分,所述抗GPC3抗体部分包括:

(a) i) V_H ,其包括HC-CDR1、HC-CDR2以及HC-CDR3,HC-CDR1由SEQ ID NO:24的氨基酸序列组成,HC-CDR2由SEQ ID NO:75的氨基酸序列组成,HC-CDR3由SEQ ID NO:126的氨基酸序列组成;以及ii) V_L ,其包括LC-CDR1、LC-CDR2以及LC-CDR3,LC-CDR1由SEQ ID NO:177的氨基酸序列组成,LC-CDR2由SEQ ID NO:228的氨基酸序列组成,LC-CDR3由SEQ ID NO:279的氨基酸序列组成;和/或

(b) 包含SEQ ID NO:330的氨基酸序列的VH和包含SEQ ID NO:381的氨基酸序列的VL。

33. 一种医药组合物,其包括根据权利要求1到5中任一权利要求所述的经分离的抗GPC3构筑体以及医药学上可接受的载剂。

34. 一种医药组合物,其包括根据权利要求21到32中任一权利要求所述的效应细胞以及医药学上可接受的载剂。

35. 一种试剂盒,其包括根据权利要求1到5中任一权利要求所述的经分离的抗GPC3构筑体。

36. 一种根据权利要求33所述的医药组合物在制备用于治疗患有GPC3阳性疾病的个体的药物中的用途,其中所述GPC3阳性疾病是肝细胞癌HCC。

37.一种根据权利要求34所述的医药组合物在制备用于治疗患有GPC3阳性疾病的个体的药物中的用途,其中所述GPC3阳性疾病是肝细胞癌HCC。

38.一种产生经分离的抗GPC3构筑体的方法,其包括:

(a) 在有效表达所述抗GPC3构筑体的条件下培养包括根据权利要求18所述的经分离的核酸的经分离宿主细胞;及

(b) 从所述宿主细胞获得所表达的抗GPC3构筑体。

特异性识别磷脂酰肌醇蛋白聚糖3的构筑体及其用途

[0001] 相关申请案的交叉参考

[0002] 本申请案请求2017年4月26日提交的美国临时申请案第62/490,586号的优先权,所述临时申请案的内容全文以引用的方式并入本文中。

[0003] 序列列表以ASCII正文文件提交

[0004] 以ASCII正文文件提交的以下内容全文以引用的方式并入本文中:计算机可读形式(CRF)的序列列表(文件名称:750042001240SEQLIST.txt,记录日期:2018年4月24日,大小:395KB)。

技术领域

[0005] 本发明涉及特异性识别磷脂酰肌醇蛋白聚糖3 (Glypican 3) (GPC3) 的抗体构筑体、其制备方法及其用途,包含治疗及诊断疾病。

背景技术

[0006] 磷脂酰肌醇蛋白聚糖3 (GPC3,也称为SGB、DGSX、MXR7、SDYS、SGBS、OCI-5、SGBS1、GTR2-2) 为一种细胞表面蛋白,其过度表达于多种类型的癌症中,包含多种实体肿瘤,例如肝细胞癌(HCC)、黑色素瘤(Nakatsura T等人,Clin Cancer Res.2004)、鳞状细胞肺癌(Yu X等人,Genet Mol Res.2015)、卵巢癌(Stadlmann S等人,Int J Gynecol Pathol.2007)、卵黄囊肿瘤、绒膜癌(Zynger DL等人,Am J Surg Pathol.2006)、威尔姆斯氏肿瘤(Wilms' tumor)及脂肪肉瘤(Baumhoer D等人,Am J Clin Pathol.2008)。医学上仍需要开发针对各种癌症(包含过度表达GPC3的癌症)的疗法。

[0007] GPC3基因位于X染色体上且编码580个氨基酸(aa)的70kDa前体蛋白。这种前体蛋白可以通过弗林蛋白酶(Furin)在Arg³⁵⁸与Cys³⁵⁹之间分裂且产生经二硫键连接的40kDa N端亚单元及30kDa C端亚单元。成熟GPC3在接近于细胞膜的C端区域通过具有两条硫酸肝素(HS)链的糖基化磷脂酰肌醇(GPI)锚附着到细胞表面。作为硫酸肝素蛋白聚糖家族的一员,GPC3为一种癌胚蛋白,其广泛表达于人类胚胎中且经由与信号传导因子(例如Wnt、刺猬信号传导等)相互作用来调控形态发生或生长。GPC3不表达于正常成人肝脏中;然而,在肝癌发生期间,已报告GPC3在HCC患者中再活化。YamauchiN等人检查了GPC3在正常、非赘生性及赘生性肝脏组织中的表达,且发现GPC3存在于84%(47/56)的HCC患者中,但不存在于正常成人肝脏、肝硬化或肝炎中(YamauchiN等人,Modern Pathology 2005)。其它研究组报告的结果类似(Nakatsura T等人,Biochem Biophys Res Commun.2003;Baumhoer D等人,Am J Clin Pathol 2008;Shirakawa H等人,Cancer Sci.2009;Wang L等人,Hepatobiliary Pancreat Dis Int.2015)。研究还展示,GPC3在HCC患者中可以不同形式从细胞表面释放到细胞外环境中,但在健康供体中则不然。因此,GPC3目前用作HCC的血清诊断标记物(Hippo Y等人,Cancer Res.2004;Capurro M等人,Gastroenterology 2003;Haruyama Y及Kataoka H,World J Gastroenterol.2016)。

[0008] 肝细胞癌(HCC)为最常见的肝癌类型,占有所有肝癌的约75%。肝癌为世界上第五常

见的癌症及第二常见的癌症死亡病因。肝癌发生率从1980年以来已增加到超过三倍,且肝癌死亡率从2000年以来每年增加几乎3% (<https://www.cancer.org/cancer/liver-cancer/about/what-is-key-statistics.html>)。肝癌预后非常不良,死亡率相对于发生率的总体比率为0.95。目前,肝癌治疗主要限于化学疗法或手术。然而,化学疗法的作用因肝细胞表达ATP结合卡匣(ABC)转运蛋白而通常受到限制,所述转运蛋白能输出大范围的常用化学治疗剂。另一选项—手术仅可用于早期癌症,其中5年存活率为31%。如果癌症诊断处于晚期(5年存活率:3-11%),那么唯一批准的化学疗法为酪氨酸激酶抑制剂索拉非尼(sorafenib)。这种疗法仅使存活期增加2-3个月(Fleming BD及Ho M,毒素2016(Toxins 2016))。因此,需要开发一种新颖的肝癌治疗方法。

[0009] 本文所提及的所有公开案、专利、专利申请案及已公开专利申请案的公开内容的全文在此以引用的方式并入本文中。

发明内容

[0010] 本申请案在一个方面中提供特异性识别与细胞表面结合的GPC3(在本文中称为“原生形式GPC3”或“原生GPC3(nGPC3)”)的抗GPC3构筑体(例如经分离的抗GPC3构筑体)。在一些实施例中,构筑体(在本文中称为“抗GPC3构筑体”)包括特异性识别原生形式GPC3的抗体部分(在本文中称为“抗GPC3抗体部分”)。

[0011] 因此,在一些实施例中,提供一种抗GPC3构筑体(例如经分离的抗GPC3构筑体),其包括特异性识别与细胞表面结合的GPC3的抗体部分。在一些实施例中,所述抗体部分以高结合亲和力特异性识别与细胞表面结合的GPC3且以低结合亲和力结合到可溶性GPC3。在一些实施例中,抗GPC3构筑体针对与细胞表面结合的GPC3的 K_d 为约0.1nM到约2nM(例如约0.1nM到约1nM,或约0.1nM到约1.5nM)。在一些实施例中,可溶性GPC3在抗GPC3构筑体与结合细胞表面的GPC3之间竞争结合的 IC_{50} 为约1 μ g/ml到约100 μ g/ml(例如约1 μ g/ml到约10 μ g/ml,或约2 μ g/ml到约5 μ g/ml)。在一些实施例中,与细胞表面结合的GPC3包括SEQ ID NO:460或SEQ ID NO:462的氨基酸序列。在一些实施例中,与细胞表面结合的GPC3为HepG2细胞上所表达的GPC3。在一些实施例中,可溶性GPC3包括SEQ ID NO:461或SEQ ID NO:463的氨基酸序列。

[0012] 在根据上述任一种抗GPC3构筑体(例如经分离的抗GPC3构筑体)的一些实施例中,抗体部分特异性识别包括氨基酸序列SEQ ID NO:460的人类GPC3内的抗原决定基。

[0013] 在上述任一种抗GPC3构筑体(例如经分离的抗GPC3构筑体)的一些实施例中,抗体部分特异性识别氨基酸序列SEQ ID NO:461内的抗原决定基。

[0014] 在根据上述任一种抗GPC3构筑体(例如经分离的抗GPC3构筑体)的一些实施例中,抗体部分特异性识别氨基酸序列SEQ ID NO:462内的抗原决定基。

[0015] 在根据上述任一种抗GPC3构筑体(例如经分离的抗GPC3构筑体)的一些实施例中,抗体部分特异性识别氨基酸序列SEQ ID NO:463内的抗原决定基。

[0016] 在根据上述任一种抗GPC3构筑体(例如经分离的抗GPC3构筑体)的一些实施例中,抗体部分特异性识别GPC3的N端片段内的抗原决定基。在一些实施例中,抗体部分特异性识别氨基酸序列SEQ ID NO:464内的抗原决定基。

[0017] 在根据上述任一种抗GPC3构筑体(例如经分离的抗GPC3构筑体)的一些实施例中,

抗体部分特异性识别GPC3的C端片段内的抗原决定基。在一些实施例中,抗体部分特异性识别缺乏硫酸肝素侧链的GPC3的C端片段内的抗原决定基。

[0018] 在根据上述任一种抗GPC3构筑体(例如经分离的抗GPC3构筑体)的一些实施例中,抗体部分不与GC33竞争性地特异性结合到相同或基本上相同的GPC3抗原决定基。在一些实施例中,抗体部分不结合到氨基酸序列SEQ ID NO:536内的抗原决定基。在一些实施例中,抗体部分不结合到包括氨基酸序列SEQ ID NO:536的片段。

[0019] 在根据上述任一种抗GPC3构筑体(例如经分离的抗GPC3构筑体)的一些实施例中,GPC3表达于选自自由以下组成的群组的细胞的表面上:HepG2、Hep3B、Huh7、JHH-7及293。

[0020] 在根据上述任一种抗GPC3构筑体(例如经分离的抗GPC3构筑体)的一些实施例中,GPC3表达于癌细胞表面上。在一些实施例中,癌细胞为肝癌细胞,例如肝细胞癌(HCC)。

[0021] 本申请案在另一个方面中提供一种抗GPC3构筑体(例如经分离的抗GPC3构筑体),其包括特异性识别与细胞表面结合的GPC3的抗体部分,其中所述抗体部分包括:i)重链可变域(V_H),其包括含有SEQ ID NO:1-31中任一者的氨基酸序列的重链互补决定区(HC-CDR)1或包括最多约5个氨基酸取代的其变异体、含有SEQ ID NO:52-82中任一者的氨基酸序列的HC-CDR2或包括最多约5个氨基酸取代的其变异体,及含有SEQ ID NO:103-133中任一者的氨基酸序列的HC-CDR3或包括最多约5个氨基酸取代的其变异体;以及ii)轻链可变域(V_L),其包括含有SEQ ID NO:154-184中任一者的氨基酸序列的轻链互补决定区(LC-CDR)1或包括最多约5个氨基酸取代的其变异体、含有SEQ ID NO:205-235中任一者的氨基酸序列的LC-CDR2或包括最多约3个氨基酸取代的其变异体,及含有SEQ ID NO:256-286中任一者的氨基酸序列的LC-CDR3或包括最多约5个氨基酸取代的其变异体。在一些实施例中,抗体部分包括:i) V_H ,其包括含有SEQ ID NO:1-31中任一者的氨基酸序列的HC-CDR1、含有SEQ ID NO:52-82中任一者的氨基酸序列的HC-CDR2及含有SEQ ID NO:103-133中任一者的氨基酸序列的HC-CDR3;以及ii) V_L ,其包括含有SEQ ID NO:154-184中任一者的氨基酸序列的LC-CDR1、含有SEQ ID NO:205-235中任一者的氨基酸序列的LC-CDR2及含有SEQ ID NO:256-286中任一者的氨基酸序列的LC-CDR3。

[0022] 在根据上述任一种抗GPC3构筑体(例如经分离的抗GPC3构筑体)的一些实施例中,抗体部分包括:i)包括SEQ ID NO:307-337中任一者的氨基酸序列的 V_H ,或与SEQ ID NO:307-337中的任一者具有至少约95%序列一致性的其变异体;及ii)包括SEQ ID NO:358-388中任一者的氨基酸序列的 V_L ,或与SEQ ID NO:358-388中的任一者具有至少约95%序列一致性的其变异体。在一些实施例中,抗体部分包括:i)包括SEQ ID NO:307-337中任一者的氨基酸序列的 V_H ;及ii)包括SEQ ID NO:358-388中任一者的氨基酸序列的 V_L 。

[0023] 本申请案在另一个方面中提供抗GPC3构筑体(例如经分离的抗GPC3构筑体),其包括特异性识别与细胞表面结合的GPC3的抗体部分,其中所述抗体部分包括分离的抗GPC3构筑体中的 V_H 的HC-CDR及 V_L 的LC-CDR,所述 V_H 包括SEQ ID NO:307-337中任一者的氨基酸序列且所述 V_L 包括SEQ ID NO:358-388中任一者的氨基酸序列。

[0024] 本申请案在另一个方面中提供一种分离的抗GPC3构筑体,其包括特异性识别GPC3的抗体部分,其中所述抗体部分包括:i) V_H ,其包括含有SEQ ID NO:32-51中任一者的氨基酸序列的HC-CDR1或包括最多约5个氨基酸取代的其变异体、含有SEQ ID NO:83-102中任一者的氨基酸序列的HC-CDR2或包括最多约5个氨基酸取代的其变异体,及含有SEQ ID NO:

134-153中任一者的氨基酸序列的HC-CDR3或包括最多约5个氨基酸取代的其变异体;以及ii)V_L,其包括含有SEQ ID NO:185-204中任一者的氨基酸序列的LC-CDR1或包括最多约5个氨基酸取代的其变异体、包括SEQ ID NO:236-255中任一者的氨基酸序列的LC-CDR2或包括最多约3个氨基酸取代的其变异体,及含有SEQ ID NO:287-306中任一者的氨基酸序列的LC-CDR3或包括最多约5个氨基酸取代的其变异体。在一些实施例中,抗体部分包括:i)V_H,其包括含有SEQ ID NO:32-51中任一者的氨基酸序列的HC-CDR1、含有SEQ ID NO:83-102中任一者的氨基酸序列的HC-CDR2及含有SEQ ID NO:134-153中任一者的氨基酸序列的HC-CDR3;以及ii)V_L,其包括含有SEQ ID NO:185-204中任一者的氨基酸序列的LC-CDR1、含有SEQ ID NO:236-255中任一者的氨基酸序列的LC-CDR2及含有SEQ ID NO:287-306中任一者的氨基酸序列的LC-CDR3。

[0025] 在根据上述任一种抗GPC3构筑体(例如经分离的抗GPC3构筑体)的一些实施例中,抗体部分包括:i)包括SEQ ID NO:338-357中任一者的氨基酸序列的V_H,或与SEQ ID NO:338-357中的任一者具有至少约95%序列一致性的其变异体;及ii)包括SEQ ID NO:389-408中任一者的氨基酸序列的V_L,或与SEQ ID NO:389-408中的任一者具有至少约95%序列一致性的其变异体。在一些实施例中,抗体部分包括:i)包括SEQ ID NO:338-357中任一者的氨基酸序列的V_H;及ii)包括SEQ ID NO:389-408中任一者的氨基酸序列的V_L。

[0026] 本申请案在另一个方面中提供抗GPC3构筑体(例如经分离的抗GPC3构筑体),其包括特异性识别GPC3的抗体部分,其中所述抗体部分包括分离的抗GPC3构筑体中的V_H的HC-CDR及V_L的LC-CDR,所述V_H包括SEQ ID NO:338-357中任一者的氨基酸序列且所述V_L包括SEQ ID NO:389-408中任一者的氨基酸序列。

[0027] 本申请案在另一个方面中提供包括抗体部分的抗GPC3构筑体(例如经分离的抗GPC3构筑体),其与上述抗GPC3构筑体中任一者的经分离的抗GPC3构筑体竞争性地特异性结合到GPC3。

[0028] 本申请案在另一个方面中提供包括抗体部分的抗GPC3构筑体(例如经分离的抗GPC3构筑体),其与上述任一种抗GPC3构筑体的经分离的抗GPC3构筑体竞争性地特异性结合到相同或基本上相同的GPC3抗原决定基。

[0029] 在根据上述任一种抗GPC3构筑体(例如经分离的抗GPC3构筑体)的一些实施例中,特异性识别GPC3的抗体部分为嵌合的、人类的、部分人类化的、完全人类化的或半合成的。

[0030] 在根据上述任一种抗GPC3构筑体(例如经分离的抗GPC3构筑体)的一些实施例中,特异性识别GPC3的抗体部分为全长抗体、Fab、Fab'、F(ab')₂、Fv或单链Fv(scFv)。在一些实施例中,特异性识别GPC3的抗体部分为scFv。在一些实施例中,特异性识别GPC3的抗体部分为Fab或Fab'。

[0031] 在根据上述任一种抗GPC3构筑体(例如经分离的抗GPC3构筑体)的一些实施例中,特异性识别GPC3的抗体部分与Fc片段融合,任选地经由连接子融合。在一些实施例中,Fc片段为IgG1 Fc片段。

[0032] 在根据上述任一种抗GPC3构筑体(例如经分离的抗GPC3构筑体)的一些实施例中,分离的抗GPC3构筑体为全长抗体。

[0033] 在根据上述任一种抗GPC3构筑体(例如经分离的抗GPC3构筑体)的一些实施例中,分离的抗GPC3构筑体具有单特异性。

[0034] 在根据上述任一种抗GPC3构筑体(例如经分离的抗GPC3构筑体)的一些实施例中,分离的抗GPC3构筑体具有多特异性,例如双特异性。在一些实施例中,分离的抗GPC3构筑体为串联scFv、双功能抗体(Db)、单链双功能抗体(scDb)、双重亲和力再靶向(DART)抗体、F(ab')₂、双重可变域(DVD)抗体、臼包杵(KiH)抗体、对接及锁定(DNL)抗体、化学交联抗体、杂多聚抗体或异结合物抗体。在一些实施例中,分离的抗GPC3构筑体为串联scFv,其包括两个经肽连接子连接的scFv。在一些实施例中,肽连接子包括氨基酸序列TSGGGGS(SEQ ID NO:474)。在一些实施例中,分离的抗GPC3构筑体进一步包括特异性识别第二抗原的第二抗体部分。在一些实施例中,第二抗原为T细胞(例如细胞毒性T细胞、辅助T细胞或自然杀手T细胞)表面上的抗原。在一些实施例中,第二抗原为B细胞、自然杀手细胞、树突状细胞、巨噬细胞、单核细胞或嗜中性细胞表面上的抗原。在一些实施例中,第二抗原选自自由以下组成的群组:CD3 γ 、CD3 δ 、CD3 ϵ 、CD3 ζ 、CD28、OX40、GITR、CD137、CD27、CD40L及HVEM。在一些实施例中,第二抗原为CD3 ϵ 。在一些实施例中,分离的抗GPC3构筑体为串联scFv,其包括特异性识别GPC3的N端scFv及特异性识别CD3 ϵ 的C端scFv。在一些实施例中,抗GPC3构筑体的表达通过活化工程改造T细胞来诱导。在一些实施例中,工程改造T细胞为包括嵌合抗原受体(CAR)的T细胞。在一些实施例中,工程改造T细胞为包括嵌合抗体-T细胞受体(TCR)构筑体(caTCR)的T细胞。

[0035] 在根据上述任一种抗GPC3构筑体(例如经分离的抗GPC3构筑体)的一些实施例中,分离的抗GPC3构筑体为嵌合抗原受体(CAR),其包括:(a)包括抗体部分的胞外域;(b)跨膜域;及(c)胞内信号传导域。在一些实施例中,胞内信号传导域包括CD3 ζ 胞内信号传导序列及CD28胞内信号传导序列。

[0036] 在根据上述任一种抗GPC3构筑体(例如经分离的抗GPC3构筑体)的一些实施例中,分离的抗GPC3构筑体为嵌合抗体-T细胞受体(TCR)构筑体(caTCR),其包括:(a)包括抗体部分的胞外域;及(b)T细胞受体模块(TCRM),其包括含有第一TCR跨膜域(TCR-TM)的第一TCR域(TCRD)及含有第二TCR-TM的第二TCRD,其中所述TCRM促进至少一种TCR相关信号传导分子的募集。在一些实施例中,第一TCR-TM来源于天然存在的第一TCR的跨膜域之一且第二TCR-TM来源于天然存在的第一TCR的另一跨膜域。在一些实施例中,TCR-TM中的至少一者为非天然存在的。在一些实施例中,所述TCRM相较于包括天然存在的第一T细胞受体跨膜域的TCRM,可以使至少一种TCR相关信号传导分子的募集增强。在一些实施例中,天然存在的第一TCR为 γ/δ TCR。在一些实施例中,天然存在的第一TCR为 α/β TCR。在一些实施例中,结合TCR的信号传导分子选自自由以下组成的群组:CD3 $\delta\epsilon$ 、CD3 $\gamma\epsilon$ 及 $\zeta\zeta$ (也称为CD3 ζ 或CD3 $\zeta\zeta$)。

[0037] 在根据上述任一种抗GPC3构筑体(例如经分离的抗GPC3构筑体)的一些实施例中,分离的抗GPC3构筑体为包括抗体部分及效应分子的免疫结合物。在一些实施例中,效应分子为选自自由以下组成的群组的治疗剂:药物、毒素、放射性同位素、蛋白质、肽及核酸。在一些实施例中,治疗剂为药物或毒素。在一些实施例中,效应分子为标记。

[0038] 本申请案在另一个方面中提供分离的核酸,其编码上述任一种经分离的抗GPC3构筑体中的多肽组分。

[0039] 本申请案在另一个方面中提供一种包括经分离的核酸的载体,所述核酸编码上述任一种经分离的抗GPC3构筑体中的多肽组分。

[0040] 本申请案在另一个方面中提供包括上述任一种抗GPC3构筑体的经分离宿主细胞。

[0041] 本申请案在另一个方面中提供包括经分离核酸的经分离宿主细胞,所述核酸编码上述任一种经分离的抗GPC3构筑体中的多肽组分。

[0042] 本申请案在另一个方面中提供经分离的宿主细胞,其包括含有经分离的核酸的载体,所述核酸编码上述任一种经分离的抗GPC3构筑体中的多肽组分。

[0043] 本申请案在另一个方面中提供一种效应细胞,其表达上述任一种经分离的抗GPC3构筑体。在一些实施例中,效应细胞为T细胞。

[0044] 本申请案在另一个方面中提供一种医药组合物,其包括上述任一种抗GPC3构筑体(例如经分离的抗GPC3构筑体)及药学上可接受的载剂。

[0045] 还提供试剂盒,其包括上述任一种经分离的抗GPC3构筑体、编码上述任一种经分离的抗GPC3构筑体中的多肽组分的经分离核酸、包括编码上述任一种经分离的抗GPC3构筑体中的多肽组分的核酸的载体、上述任一种经分离细胞,或上述任一种效应细胞。

[0046] 本申请案在另一个方面中提供一种检测样本中的GPC3的方法,包括:使所述样本与包括抗体部分及标记的上述任一种经分离的抗GPC3免疫结合物接触,及检测所述标记的存在。在一些实施例中,样本包括细胞表面结合有GPC3的细胞。在一些实施例中,样本包括可溶性GPC3。

[0047] 本申请案在另一个方面中提供一种治疗患有GPC3阳性疾病的个体的方法,包括向所述个体投与:a)有效量的上述任一种医药组合物;或b)有效量的上述任一种效应细胞。在一些实施例中,经由静脉内或瘤内途径投与。在一些实施例中,投与第一疾病位点远侧的注射位点。在一些实施例中,治疗患有GPC3阳性疾病的个体的方法进一步包括向所述个体投与另一种疗法。在一些实施例中,GPC3阳性疾病为癌症,例如HCC、黑色素瘤、鳞状细胞肺癌、卵巢癌、卵黄囊肿瘤、绒膜癌、成神经细胞瘤、肝胚细胞瘤、威尔姆斯氏肿瘤、睾丸非精原细胞瘤型生殖细胞肿瘤、胃癌或脂肪肉瘤。在一些实施例中,癌症为HCC,例如转移HCC。

[0048] 本申请案在另一个方面中提供一种诊断患有GPC3阳性疾病的个体的方法,包括:a)投与有效量的包括抗体部分及标记的上述任一种经分离抗GPC3免疫结合物;及b)测定个体中的标记含量,其中标记含量高于阈值表明所述个体患有GPC3阳性疾病。在一些实施例中,GPC3阳性疾病为癌症,例如HCC、黑色素瘤、鳞状细胞肺癌、卵巢癌、卵黄囊肿瘤、绒膜癌、成神经细胞瘤、肝胚细胞瘤、威尔姆斯氏肿瘤、睾丸非精原细胞瘤型生殖细胞肿瘤、胃癌或脂肪肉瘤。在一些实施例中,癌症为HCC,例如转移HCC。

[0049] 本申请案在另一个方面中提供一种诊断患有GPC3阳性疾病的个体的方法,包括:a)使来源于个体的样本与包括抗体部分及标记的上述任一种经分离抗GPC3接触;及b)测定样本中与经分离的抗GPC3构筑体结合的细胞数目,其中与经分离抗GPC3构筑体结合的细胞数目值高于阈值表明所述个体患有GPC3阳性疾病。在一些实施例中,GPC3阳性疾病为癌症,例如HCC、黑色素瘤、鳞状细胞肺癌、卵巢癌、卵黄囊肿瘤、绒膜癌、成神经细胞瘤、肝胚细胞瘤、威尔姆斯氏肿瘤、睾丸非精原细胞瘤型生殖细胞肿瘤、胃癌或脂肪肉瘤。在一些实施例中,癌症为HCC,例如转移HCC。

[0050] 还提供制备本文所述的任一种构筑体的方法、制品及适用于本文所述方法的试剂盒。

附图说明

[0051] 图1A至1G展示14种示范性GPC3A噬菌体克隆与GPC3⁺HepG2细胞的结合的FACS分析。辅助噬菌体与GPC3⁺HepG2细胞的结合用作对照。

[0052] 图2A至2E展示5种示范性GPC3A噬菌体克隆与GPC3⁺HepG2细胞系及HepG2GPC3基因剔除细胞系(HepG2-GPC3-K0-2及HepG2-GPC3-K0-3)的结合的FACS分析。辅助噬菌体用作阴性对照。

[0053] 图3A到3D展示4种示范性GPC3B噬菌体克隆与GPC3⁺HepG2细胞系及HepG2-GPC3-K0-2细胞系的结合的FACS分析。辅助噬菌体用作阴性对照。

[0054] 图4A至4B展示示范性GPC3A L2K双特异性抗体(来源于GPC3A筛选的抗GPC3×CD3双scFv)与SK-Hep1-GPC3细胞及GPC3阴性SK-Hep1细胞的结合的FACS分析。y轴展示中值荧光强度(MFI)。

[0055] 图5A至5B展示示范性GPC3A L2K双特异性抗体(来源于GPC3A筛选的抗GPC3×CD3双scFv)与GPC3⁺HepG2细胞的结合的FACS分析。对照L2K双特异性抗体与GPC3⁺HepG2细胞的结合用作阴性对照。

[0056] 图6展示在提供有或未提供可溶性GPC3抗原的竞争分析中,对GPC3A L2K双特异性抗体与GPC3⁺HepG2细胞的结合进行的FACS分析。阴性对照L2K双特异性抗体及市售抗GPC3(1G12)抗体用于比较目的。

[0057] 图7A展示T细胞介导GPC3A L2K双特异性抗体杀死靶细胞,针对GPC3⁺HepG2细胞、GPC3阴性SK-Hep1细胞、SK-Hep1-GPC3细胞、HepG2-GPC3-K0细胞(#2及#11)进行测试。图7B展示T细胞介导GPC3B L2K双特异性抗体杀死靶细胞,针对GPC3⁺HepG2细胞、GPC3阴性SK-Hep1细胞、SK-Hep1-GPC3细胞及HepG2-GPC3-K0-2细胞进行测试。

[0058] 图8展示使用市售小鼠抗人类GPC3抗体(1G12)对HepG2 GPC3基因剔除细胞系进行的FACS分析,证明成功产生了HepG2-GPC3-K0细胞系。

[0059] 图9A展示具有小鼠恒定域/Fc区(mIgG1)的抗人类GPC3(hGPC3)单特异性IgG抗体与GPC3阳性HepG2细胞的结合的FACS分析。图9B展示抗hGPC3 mIgG1与GPC3阴性SK-Hep1细胞的结合的FACS分析。

[0060] 图10展示FACS荧光强度曲线,其表明GPC3 L2K抗体(GPC3B-87L2K或GC33L2K)通过可溶性GPC3竞争结合于HepG2。

[0061] 图11展示FACS荧光强度曲线,其表明GPC3 LK2克隆对HepG2细胞的结合亲和力。

[0062] 图12展示GPC3 mIgG1克隆对于大鼠GPC3及人类GPC3(hGPC3)的反应性的ELISA分析。

[0063] 图13展示使用抗原决定基分组(bin)的线性形式对GC33-mIgG、GPC3A-37mIgG及GPC3A-55mIgG进行的GPC3抗原决定基分组分析。

[0064] 图14展示使用抗原决定基分组的夹层形式对GC33-mIgG、GPC3A-37mIgG及GPC3A-55mIgG进行的GPC3抗原决定基分组分析。

[0065] 图15A及15B展示GPC3A L2K克隆与GPC3抗原之间结合的单一循环动力学分析的数据图。

[0066] 图16展示经GPC3A或GPC3B CAR-T细胞及GC33 CAR-T细胞处理的GPC3阳性HepG2细胞、GPC3阴性SK-Hep1细胞、SK-Hep1-GPC3细胞及HepG2-GPC3-K0细胞的LDH细胞毒性分析。

[0067] 图17A展示经GPC3A或GPC3B CAR-T细胞及GC33 CAR-T细胞处理的GPC3+HepG2细胞、GPC3阴性SK-Hep1细胞、SK-Hep1-GPC3细胞及HepG2-GPC3-K0细胞的LDH细胞毒性分析。图17B展示经GPC3A或GPC3B CAR-T细胞及GC33 CAR-T细胞处理的GPC3阳性JHH5细胞、GPC3阴性A-498细胞及GPC3阴性PANC-1细胞的LDH细胞毒性分析。

[0068] 图18展示T细胞介导杀死癌细胞系HepG2 (AFP⁺/GPC3⁺) 及HepG2-GPC3-K0 (AFP⁺/GPC3⁻) 的比溶胞率百分比,所述T细胞经指定百分比的caTCR阳性(5%到40%)的单独抗AFP158/HLA-A*2:01caTCR或抗AFP158/HLA-A*2:01caTCR+抗CD3/抗GPC3 BsAb转导。

[0069] 图19展示T细胞介导体外杀死癌细胞系HepG2及HepG2-GPC3-K0之后,在上清液中发现的细胞因子(IL-2、IFN- γ 及TNF- α)的浓度,所述T细胞经指定百分比的caTCR阳性(5%到40%)的单独抗AFP158/HLA-A*2:01caTCR或抗AFP158/HLA-A*2:01caTCR+抗CD3/抗GPC3 BsAb转导。

[0070] 图20展示从活化抗AFP158/HLA-A*2:01caTCR+抗CD3/抗GPC3 BsAb T细胞释放的抗CD3/抗GPC3 BsAb所介导的靶标特异性癌细胞系杀死增强。将指定的经转导T细胞与靶细胞一起培育且通过可透过BsAb、但不能透过T细胞的膜来与指定的靶细胞及模拟T细胞分离。

[0071] 图21展示T细胞介导杀死癌细胞系HepG2 (AFP⁺/GPC3⁺) 及HepG2-GPC3.ko (AFP⁺/GPC3⁻) 的比溶胞率百分比,所述T细胞经单独的抗AFP158/HLA-A*2:01caTCR-1-0、单独的抗GPC3 CSR,或抗AFP158/HLA-A*2:01caTCR(1-0及1-TM5)+抗GPC3CSR转导。

[0072] 图22展示T细胞介导体外杀死癌细胞系HepG2及HepG2-GPC3-K0之后,在上清液中发现的细胞因子(IL-2、GM-CSF、IFN- γ 及TNF- α)的浓度,所述T细胞经单独的抗AFP158/HLA-A*2:01caTCR-1-0、单独的抗GPC3 CSR,或抗AFP158/HLA-A*2:01caTCR(1-0及1-TM5)+抗GPC3 CSR转导。

[0073] 图23展示用癌细胞系HepG2刺激之后,经单独的抗AFP158/HLA-A*2:01caTCR-1-0、单独的抗GPC3 CSR,或抗AFP158/HLA-A*2:01caTCR(1-0及1-TM5)+抗GPC3CSR转导的T细胞中的脱粒活性(如根据CD107a表达所测定)。

[0074] 图24展示用癌细胞系HepG2刺激之后,经单独的抗AFP158/HLA-A*2:01caTCR-1-0、单独的抗GPC3 CSR,或抗AFP158/HLA-A*2:01caTCR(1-0及1-TM5)+抗GPC3CSR转导的T细胞的增殖(如通过CFSE染料稀释所测定)。

[0075] 图25展示HepG2在皮下小鼠模型中的肿瘤生长,其经模拟物处理或单次瘤内注射经抗AFPCAR转导的T细胞,或抗AFPCAR与抗GPC3 CSR的组合。

具体实施方式

[0076] 本申请案在一个方面中提供构筑体(在本文中称为“抗GPC3构筑体”) (例如经分离的抗GPC3构筑体),其包括特异性识别与细胞表面结合的GPC3(在本文中称为“原生形式GPC3”或“原生GPC3(nGPC3)”)的抗体部分(在本文中称为“抗GPC3抗体部分”)。相对于非细胞表面结合的GPC3(在本文中称为“可溶性GPC3(sGPC3)”或“非原生GPC3”),例如血清中的循环GPC3蛋白或游离GPC3肽,这些抗GPC3构筑体特异性识别与细胞表面结合的GPC3。

[0077] 当以抗CD3双特异性抗体形式提供或存在于T细胞所表达的嵌合抗原受体(CAR)中时,抗GPC3抗体部分特异性地再引导人类T细胞杀死表达GPC3的靶细胞(例如表达GPC3的癌

细胞)。这种策略的技术优势显著优于使用针对任何形式的GPC3(尤其可溶性GPC3)的抗体,原因在于T细胞靶向肿瘤位点可以变得有效且精确得多,从而有效地发生T细胞介导癌细胞杀死而不伤害正常组织。另外,抗GPC3抗体部分在与可检测部分融合时,能够诊断及预后对在细胞表面上表达GPC3的细胞(例如GPC3阳性肿瘤细胞)的数目及分布变化(疾病进展的一种潜在度量,相关性比循环GPC3含量更大)具有高度敏感性的GPC3阳性疾病或病症。

[0078] 本申请案还提供包括特异性识别GPC3(例如nGPC3及/或sGPC3)的抗体部分的抗GPC3构筑体(例如经分离的抗GPC3构筑体)。这些构筑体还可以抗CD3双特异性抗体提供或存在于由T细胞表达的CAR中。在癌症患者(例如HCC患者)中,GPC3可以表达于细胞表面上或以不同形式从细胞表面释放到胞外环境中。因此,这些抗GPC3构筑体还可与可检测部分融合且用于诊断及预后目的。

[0079] 使用噬菌体呈现技术,产生了具有特异性且展示针对与细胞表面结合的人类GPC3的高亲和力的多种单株抗体。流式细胞术及T细胞介导细胞毒性分析证明,这些抗体以限于原生形式GPC3的方式识别表达GPC3的癌细胞系。当以抗CD3双特异性抗体或CAR-T细胞形式提供时,抗体再引导人类T细胞杀死GPC3阳性靶标癌细胞。本文中呈递的数据证明,包括本文所述的特异性识别与细胞表面结合的GPC3的抗体部分的抗GPC3构筑体可为癌症适应症(例如实体肿瘤适应症(例如HCC))的有效治疗剂。

[0080] 使用噬菌体呈现技术,还产生了具有针对人类GPC3(例如nGPC3及/或sGPC3)的特异性及高亲和力的多种单株抗体。流式细胞术及T细胞介导细胞毒性分析证明,这些抗体特异性识别GPC3。

[0081] 本申请案因此提供包括特异性识别GPC3(例如与细胞表面结合的GPC3)的抗体部分的构筑体(例如分离的构筑体)。构筑体可为例如抗GPC3 scFv、抗GPC3 Fc融合蛋白、全长抗GPC3抗体、多特异性(例如双特异性)抗GPC3分子(例如串联双scFv双特异性T细胞接合体)、抗GPC3嵌合抗原受体(CAR)、抗GPC3嵌合抗体-T细胞受体(caTCRs)及抗GPC3免疫结合物。

[0082] 在另一方面中,提供编码抗GPC3构筑体(例如经分离的抗GPC3构筑体)或构筑体的部分抗GPC3抗体部分(例如特异性识别与细胞表面结合的GPC3的那些部分)的核酸。

[0083] 在另一方面中,提供包括抗GPC3构筑体(例如经分离的抗GPC3构筑体)的组合物(例如医药组合物),所述构筑体包括特异性识别GPC3(例如与细胞表面结合的GPC3)的抗体部分。组合物可为医药组合物,其包括抗GPC3构筑体(例如与细胞表面结合的GPC3)或表达抗GPC3构筑体或与所述抗GPC3构筑体结合的效应细胞(例如表达抗GPC3 CAR)(特异性识别与细胞表面结合的GPC3的CAR)的T细胞)。

[0084] 还提供制备及使用抗GPC3构筑体(例如经分离的抗GPC3构筑体,或表达抗GPC3构筑体或与所述抗GPC3构筑体结合的细胞)供用于治疗或诊断目的的方法,以及适用于这类方法的试剂盒及制品。

[0085] 定义

[0086] 如本文所用,“治疗(treatment/treating)”为用于获得有益或所需结果(包含临床结果)的方法。出于本发明的目的,有益或所需临床结果包含(但不限于)以下中的一或多个:减轻疾病所引起的一或多种症状、减弱疾病程度、稳定疾病(例如预防或延迟疾病恶化)、预防或延迟疾病扩散(例如转移)、预防或延迟疾病复发、延迟或减缓疾病进展、改善疾

病状态、使得疾病缓解(部分或完全)、减少治疗疾病所需的一或多种其它药物的剂量、延迟疾病进展、提高或改进生活质量、增大体重增加及/或延长存活期。“治疗”还涵盖癌症的病理性结果(例如肿瘤体积)减小。本发明的方法涵盖这些治疗方面中的任一者或多者。

[0087] 如本文中关于T细胞所用的“活化”是指已充分刺激诱导可检测细胞增殖的T细胞状态。活化还可与诱导的细胞激素产生及可检测效应功能相关。

[0088] 术语“抗体部分”包含全长抗体及其抗原结合片段。全长抗体包括两条重链及两条轻链。轻链及重链的可变区对抗原结合负责。两种链中的可变区一般均含有三个高度可变环,称作互补决定区(CDR)(轻链(LC)CDR包含LC-CDR1、LC-CDR2及LC-CDR3,重链(HC)CDR包含HC-CDR1、HC-CDR2及HC-CDR3)。本文所公开的抗体及抗原结合片段的CDR边界可根据Kabat、Chothia或Al-Lazikani公约(Al-Lazikani 1997;Chothia1985;Chothia 1987;Chothia 1989;Kabat 1987;Kabat 1991)界定或鉴别。重链或轻链的三个CDR插入于称为框架区(FR)的侧接片段之间,所述侧接片段的保守性比CDR更高且形成支撑高变环的支架。重链及轻链的恒定区不参与抗原结合,但展现各种效应功能。抗体基于其重链恒定区的氨基酸序列分类。抗体的五种主要类别或同型为IgA、IgD、IgE、IgG及IgM,其特征为分别存在 α 、 δ 、 ϵ 、 γ 及 μ 重链。若干主要抗体类别分成子类,例如IgG1(γ 1重链)、IgG2(γ 2重链)、IgG3(γ 3重链)、IgG4(γ 4重链)、IgA1(α 1重链)或IgA2(α 2重链)。

[0089] 如本文所用,术语“抗原结合片段”是指抗体片段,包含例如双功能抗体、Fab、Fab'、F(ab')₂、Fv片段、二硫键稳定化Fv片段(dsFv)、(dsFv)₂、双特异性dsFv(dsFv-dsFv')、二硫键稳定化双功能抗体(ds双功能抗体)、单链Fv(scFv)、scFv二聚体(二价双功能抗体)、由包括一或多个CDR的抗体的一部分形成的多特异性抗体、骆驼化单域抗体、纳米抗体、域抗体、二价域抗体,或结合到抗原但不包括完整抗体结构的任何其它抗体片段。抗原结合片段能够结合到与亲本抗体或亲本抗体片段(例如亲本scFv)所结合相同的抗原。在一些实施例中,抗原结合片段可包括移植到来自一或多种不同人类抗体的框架区的来自特定人类抗体的一或多种CDR。

[0090] 如本文所用,术语“抗原决定基”是指抗体或抗体部分所结合的抗原上的特定原子或氨基酸基团。如果两个抗体或抗体部分对抗原展现竞争性结合,那么其可结合抗原内的相同抗原决定基。

[0091] 如本文所用,在等摩尔浓度的第一抗体部分存在下,当第一抗体部分将第二抗体部分与靶标GPC3的结合抑制至少约50%(例如至少约55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、98%或99%中的任一者)时,第一抗体部分与第二抗体部分“竞争”结合到靶标GPC3(例如nGPC3及/或sGPC3),或反之亦然。基于抗体的交叉竞争而将其“分组”的高通量方法描述于PCT公开案第W0 03/48731号中。

[0092] 如本文所用,术语“特异性结合”、“特异性识别”或“具有特异性”是指在异质分子(包含生物分子)群存在下确定靶标的存在的可测量且可再现的相互作用,例如靶标与抗体或抗体部分之间的结合。举例来说,特异性识别靶标(其可为抗原决定基)的抗体或抗体部分为结合所述靶标的亲和力、亲合力、容易性及/或持续时间大于其结合到其它靶标的抗体或抗体部分。在一些实施例中,特异性识别抗原的抗体或抗体部分与抗原的一或多种抗原决定子(例如原生形式GPC3)反应的结合亲和力为其针对其它靶标(例如可溶性GPC3)的至少约10倍。

[0093] 如本文所用,“经分离的”抗GPC3构筑体是指(1)不与自然界中发现的蛋白质结合,(2)不含来自相同来源的其它蛋白质,(3)由来自不同物种的细胞表达,或(4)不存在于自然界中的抗GPC3构筑体。

[0094] 如本文所用,术语“经分离的核酸”意指基因组、cDNA或合成来源或其某一组合的核酸,借助于其来源,“经分离的核酸”(1)不与自然界中所述“经分离的核酸”所存在的聚核苷酸的全部或一部分结合,(2)可操作地连接到自然界中不与其连接的聚核苷酸,或(3)在自然界中不作为较大序列的一部分存在。

[0095] 如本文所用,术语“CDR”或“互补决定区”意指重链与轻链多肽的可变区内发现的非邻接抗原组合位点。这些特定区域已描述于Kabat等人,J.Biol.Chem.252:6609-6616(1977);Kabat等人,美国健康与人类服务部(U.S.Dept.of Health and Human Services),“具有免疫学意义的蛋白质序列(Sequences of proteins of immunological interest)”(1991);Chothia等人,J.Mol.Biol.196:901-917(1987);Al-Lazikani B.等人,J.Mol.Biol.273:927-948(1997);MacCallum等人,J.Mol.Biol.262:732-745(1996);Abhinandan及Martin,Mol.Immunol.,45:3832-3839(2008);Lefranc M.P.等人,Dev.Comp.Immunol.,27:55-77(2003);以及Honegger及Plückthun,J.Mol.Biol.309:657-670(2001),其中在相互比较时,所述定义包含氨基酸残基的重叠或亚群。然而,应用任一定义来提及抗体或所移植抗体的CDR或其变异体均打算属于如本文所定义及使用的术语的范围内。涵盖如上述各参考文献所定义的CDR的氨基酸残基阐述于下表1中作为比较。CDR预测算法及界面在所属领域中已知,包含例如Abhinandan及Martin,Mol.Immunol.,45:3832-3839(2008);Ehrenmann F.等人,Nucleic Acids Res.,38:D301-D307(2010);及Adolf-Bryfogle J.等人,Nucleic Acids Res.,43:D432-D438(2015)。这个段落中所引述的参考文献内容全文以引用的方式并入本文中以用于本发明中且可能包含于本文的一或多个权利要求中。

[0096] 表1:CDR定义

		Kabat ¹	Chothia ²	MacCallum ³	IMGT ⁴	AHo ⁵
	V _H CDR1	31-35	26-32	30-35	27-38	25-40
	V _H CDR2	50-65	53-55	47-58	56-65	58-77
[0097]	V _H CDR3	95-102	96-101	93-101	105-117	109-137
	V _L CDR1	24-34	26-32	30-36	27-38	25-40
	V _L CDR2	50-56	50-52	46-55	56-65	58-77
	V _L CDR3	89-97	91-96	89-96	105-117	109-137

[0098] ¹残基编号遵循前述Kabat等人的命名法

[0099] ²残基编号遵循前述Chothia等人的命名法

[0100] ³残基编号遵循前述MacCallum等人的命名法

[0101] ⁴残基编号遵循前述Lefranc等人的命名法

[0102] ⁵残基编号遵循前述Honegger及Plückthun的命名法

[0103] 术语“嵌合抗体”是指其中重链及/或轻链的一部分与来源于特定物种或属于特定抗体类别或子类的抗体中的相应序列一致或同源,而所述链中的其余部分与来源于另一物种或属于另一抗体类别或子类的抗体中的相应序列一致或同源的抗体,以及这类抗体的片段,只要其展现本发明的生物活性(参见美国专利第4,816,567号;及Morrison等人,Proc.Natl.Acad.Sci.USA,81:6851-6855(1984))。

[0104] 关于抗体或抗体部分的术语“半合成”意指所述抗体或抗体部分具有一或多个天然存在的序列及一或多个非天然存在的(即合成)序列。

[0105] “Fv”为含有完整抗原识别及结合位点的最小抗体片段。这个片段由非共价紧密结合的一个重链可变区域与一个轻链可变区域的二聚体组成。所述两个域折叠得到六个高变环(重链及轻链各有3个环),其贡献了用于抗原结合的氨基酸残基且向抗体赋予抗原结合特异性。然而,即使单一可变域(或仅包括三个对抗原具有特异性的CDR的Fv的一半)能够识别且结合抗原,但亲和力比整个结合位点低。

[0106] “单链Fv”(也缩写为“sFv”或“scFv”)为包括连接成单一多肽链的 V_H 及 V_L 抗体域的抗体片段。在一些实施例中,scFv多肽进一步包括介于 V_H 与 V_L 域之间的多肽连接子,其使得scFv能够形成用于抗原结合的所需结构。关于scFv的评述,参见Plückthun在The Pharmacology of Monoclonal Antibodies,第113卷,Rosenburg及Moore编,Springer-Verlag,New York,第269-315页(1994)。

[0107] 术语“双功能抗体”是指如下制备的小抗体片段:在 V_H 与 V_L 域之间典型地使用短连接子(例如约5到约10个残基)构建scFv片段(参见前述段落),使得V域实现链间配对,而非链内配对,从而产生二价片段,即具有两个抗原结合位点的片段。双特异性双功能抗体为两个“互换型”scFv片段的杂二聚体,其中两个抗体的 V_H 及 V_L 域存在于不同多肽链上。双功能抗体更充分描述于例如EP 404,097;WO 93/11161;及Hollinger等人,美国国家科学院院刊 90:6444-6448(1993)中。

[0108] 非人类(例如啮齿动物)抗体的“人类化”形式为含有来源于非人类抗体的最小序列的嵌合抗体。在很大程度上,人类化抗体为人类免疫球蛋白(接受者抗体),其中来自接受者的高变区(HVR)残基经来自非人类物种(供体抗体)的高变区的残基(例如具有所期望抗体特异性、亲和力及能力的小鼠、大鼠、兔或非人类灵长类动物)置换。在一些情况下,人类免疫球蛋白的框架区(FR)残基经相应非人类残基置换。此外,人类化抗体可以包括接受者抗体或供体抗体中未发现的残基。这些修饰是为了进一步改进抗体性能而进行。一般来说,人类化抗体将包括至少一个且通常两个可变域的基本上全部,其中全部或基本上全部的高变环对应于非人类免疫球蛋白的高变环且全部或基本上全部的FR为具有人类免疫球蛋白序列的FR。人类化抗体任选地还将包括免疫球蛋白恒定区(Fc)的至少一部分,通常为人类免疫球蛋白的恒定区的至少一部分。关于其它细节,参见Jones等人,Nature 321:522-525(1986);Riechmann等人,Nature 332:323-329(1988);及Presta,Curr.Op.Struct.Biol.2:593-596(1992)。

[0109] 关于本文中鉴别的多肽及抗体序列的“氨基酸序列一致性百分比(%)”或“同源性”定义为在序列比对后,在将任何保守取代考虑为序列一致性的一部分的情况下,候选序列中与所比较多肽中氨基酸残基一致的氨基酸残基的百分比。用于测定氨基酸序列一致性百分比目的的比对可以所属领域中的技能范围内的各种方式实现,例如使用公开可获得的计算机软件,如BLAST、BLAST-2、ALIGN、Megalign(DNASTAR)或MUSCLE软件。本领域技术人员可确定适用于测量比对的参数,包含在所比较序列的全长内实现最大比对所需的任何算法。然而,出于本文的目的,氨基酸序列一致性%值是利用序列比较计算机程序MUSCLE产生的(Edgar,R.C.,Nucleic Acids Research 32(5):1792-1797,2004;Edgar,R.C.,BMC Bioinformatics 5(1):113,2004)。

[0110] 术语“Fc受体”或“FcR”用于描述结合到抗体的Fc区的受体。在一些实施例中,本发明的FcR为结合IgG抗体(γ 受体)且包含Fc γ RI、Fc γ RII及Fc γ RIII子类的受体(包含这些受体的等位基因变异体及交替剪接形式)的FcR。Fc γ RII受体包含Fc γ RIIA(“活化受体”)及Fc γ RIIB(“抑制受体”),其具有相似的氨基酸序列,不同之处主要在于其细胞质域。活化受体Fc γ RIIA在其细胞质域中含有基于免疫受体酪氨酸的活化基元(ITAM)。抑制受体Fc γ RIIB在其细胞质域中含有基于免疫受体酪氨酸的抑制基元(ITIM)(评述参见M.于Daëron, Annu.Rev.Immunol.15:203-234(1997))。所述术语包含异型,例如Fc γ RIIIA异型:Fc γ RIIIA-Phe158、Fc γ RIIIA-Val158、Fc γ RIIA-R131及/或Fc γ RIIA-H131。FcRs评述于Ravetch及Kinet, Annu.Rev.Immunol.9:457-92(1991);Capel等人, Immunomethods 4:25-34(1994);及de Haas等人, J.Lab.Clin.Med.126:330-41(1995)。本文术语“FcR”涵盖其它FcR, 包含将来鉴别的FcR。所述术语还包含负责母体IgG转移到胎儿的新生儿受体FcRn(Guyer等人, J.Immunol.117:587(1976)及Kim等人, J.Immunol.24:249(1994))。

[0111] 术语“FcRn”是指新生儿Fc受体(FcRn)。FcRn在结构上类似于主要组织相容性复合物(MHC)且由 α 链非共价结合到 β 2-微球蛋白而组成。新生儿Fc受体FcRn的多种功能评述于Ghetie及Ward(2000)Annu.Rev.Immunol.18,739-766中。FcRn在免疫球蛋白IgG从母亲被动递送到幼儿及血清IgG含量调控方面起作用。FcRn可充当救助受体,其在细胞内与跨细胞结合及输送完整形式的胞饮IgG,且将其从默认降解路径中拯救出来。

[0112] 人类IgG Fc区的“CH1域”(也称作“H1”域的“C1”)通常从约氨基酸118延伸到约氨基酸215(EU编号系统)。

[0113] “铰链区”通常定义为从人类IgG1的Glu216延伸到Pro230(Burton, Molec.Immunol.22:161-206(1985))。其它IgG同型的铰链区可以通过将形成重链间S-S键的第一个及最后一个半胱氨酸残基放置在相同位置而与IgG1序列对齐。

[0114] 人类IgG Fc区的“CH2域”(也称作“H2”域的“C2”)通常从约氨基酸231延伸到约氨基酸340。CH2域的独特之处在于其不与另一域紧密配对。实情为两个N连接分支链碳水化合物链插入完整原生IgG分子的两个CH2域之间。已推测碳水化合物可为域-域配对提供替代物且有助于CH2域稳定化。Burton, MolecImmunol.22:161-206(1985)。

[0115] “CH3域”(也称为“C2”或“H3”域)包括C端残基到Fc区中的CH2域的片段(即,从抗体序列的约氨基酸残基341到C端,所述C端典型地位于IgG的氨基酸残基446或447)。

[0116] “功能Fc片段”具有原生序列Fc区的“效应功能”。示范性“效应功能”包含C1q结合;补体依赖性细胞毒性(CDC);Fc受体结合;抗体依赖性细胞介导的细胞毒性(ADCC);噬菌作用;细胞表面受体(例如B细胞受体;BCR)下调等。这类效应功能通常需要Fc区与结合域(例如抗体可变域)组合且可以使用所属领域中已知的各种分析评估。

[0117] 具有“经改变”的FcR结合亲和力或ADCC活性的变异型IgG Fc的抗体为相较于亲本多肽或包括原生序列Fc区的多肽,具有增强或减弱的FcR结合活性(例如Fc γ R或FcRn)及/或ADCC活性的抗体。“展现”与FcR的“结合增强”的变异型Fc结合至少一种FcR的亲和力高于(例如更低的表观 K_d 或 IC_{50} 值)亲本多肽或原生序列IgG Fc。根据一些实施例,结合改进为亲本多肽的约3倍,例如约5、10、25、50、60、100、150、200或高达500倍中的任一者,或约25%到1000%的结合改进。“展现与FcR的结合减少”的多肽变异体结合至少一种FcR的亲和力低于(例如更高的表观 K_d 或更高的 IC_{50} 值)亲本多肽。相较于亲本多肽的结合减少可为结合减少

约40%或超过40%。

[0118] “抗体依赖性细胞介导的细胞毒性”或“ADCC”是指一种细胞毒性形式,其中结合到存在于某些细胞毒性细胞(例如自然杀手(NK)细胞、嗜中性粒细胞及巨噬细胞)上的Fc受体(FcRs)的所分泌Ig允许这些细胞毒性效应细胞特异性结合到带有抗原的靶细胞且随后经由细胞毒素杀死靶细胞。抗体“武装”细胞毒性细胞且为这种杀死所绝对必需的。用于介导ADCC的原代细胞NK细胞仅表达Fc γ RIII,而单核细胞表达Fc γ RI、Fc γ RII及Fc γ RIII。FcR在造血细胞上的表达概述于Ravetch及Kinet, *Annu. Rev. Immunol.* 9:457-92(1991)第464页的表3中。为了评估所关注分子的ADCC活性,可以进行体外ADCC分析,例如美国专利第5,500,362号或第5,821,337号中所述的分析。适用于这类分析的效应细胞包含末梢血液单核细胞(PBMC)及自然杀手(NK)细胞。替代地或另外,可以评估所关注分子在体内(例如在动物模型中,例如Clynes等人, *PNAS (USA)* 95:652-656(1998)中所公开的动物模型)的ADCC活性。

[0119] 当具有变异型Fc区的多肽与具有野生型Fc区的多肽(或亲本多肽)的量在分析中基本上相同时,在人类效应细胞存在下比具有野生型IgG Fc的多肽或亲本多肽更有效地“展现增强的ADCC”或介导ADCC的包括变异型Fc区的多肽为体外或体内大体上更有效地介导ADCC的多肽。一般来说,这类变异体将使用所属领域中已知的任何体外ADCC分析加以鉴别,例如用于例如在动物模型中测定ADCC活性的分析或方法等。在一些实施例中,变异体介导ADCC的有效性为野生型Fc(或亲本多肽)的约5倍到约100倍,例如约25到约50倍。

[0120] “补体依赖性细胞毒性”或“CDC”是指靶细胞在补体存在下溶解。经典补体路径的活化始于补体系统(C1q)的第一组分结合到与其同源抗原结合的(适当子类的)抗体。为了评估补体活化,可以进行CDC分析,例如如Gazzano-Santoro等人, *J. Immunol. Methods* 202:163(1996)中所述。具有改变的Fc区氨基酸序列及增加或减少的C1q结合能力的多肽变异体描述于美国专利第6,194,551B1号及W099/51642中。那些专利公开案的内容以引用的方式特别并入本文中。还参见Idusogie等人, *J. Immunol.* 164:4178-4184(2000)。

[0121] 除非另外说明,否则“编码氨基酸序列的核苷酸序列”包含彼此互为简并型且编码相同氨基酸序列的所有核苷酸序列。就编码蛋白质的核苷酸序列可以在一些形式中含有内含子而言,短语编码所述蛋白质或RNA的核苷酸序列还可包含内含子。

[0122] 术语“可操作地连接”是指调控序列与异源核酸序列之间的功能连接,从而引起后者表达。举例来说,当第一核酸序列与第二核酸序列以功能关系放置时,第一核酸序列与第二核酸序列可操作地连接。举例来说,如果启动子影响编码序列的转录或表达,那么启动子可操作地连接到编码序列。一般来说,可操作地连接的DNA序列为邻接的,且必要时使两个蛋白质编码区在同一个阅读框架中连接。

[0123] “同源”是指两个多肽之间或两个核酸分子之间的序列相似性或序列一致性。当两个比较序列中的位置被相同碱基或氨基酸单体亚单元占据时,例如如果两个DNA分子中的每一者的位置被腺嘌呤占据,那么所述分子在所述位置处同源。两个序列之间的同源性%为两个序列共享的匹配或同源位置的数目除以所比较位置的数目乘以100的函数。举例来说,如果两个序列中的6/10位置匹配或同源,那么所述两个序列为60%同源。举例来说,DNA序列ATTGCC与TATGGC共享50%同源性。一般来说,当两个序列经对齐而得到最大同源性时进行比较。

[0124] 如本文中所公开的抗GPC3构筑体或组合物的“有效量”为足以进行特定陈述目的

的量。“有效量”可凭经验及通过与所述目的相关的已知方法确定。

[0125] 术语“治疗有效量”是指如本文所公开的抗GPC3构筑体或组合物的有效“治疗”个体的疾病或病症的量。在癌症的情况下,如本文所公开的抗GPC3构筑体或组合物的治疗有效量可以减少癌细胞数目;减小肿瘤尺寸或重量;抑制(即在一定程度上减缓且优选为阻止)癌细胞浸润到周边器官;抑制(即在一定程度上缓慢且优选为阻止)肿瘤转移;在一定程度上抑制肿瘤生长;和/或在一定程度上减轻与癌症有关的一或多种症状。就如本文所公开的抗GPC3构筑体或组合物可阻止生长及/或杀死现有癌细胞而言,其可以具有细胞抑制性及/或细胞毒性。在一些实施例中,治疗有效量为生长抑制量。在一些实施例中,治疗有效量为延长患者存活期的量。在一些实施例中,治疗有效量为改善患者的无进展存活期的量。

[0126] 如本文所用,“药学上可接受”或“药理学相容性”意指在生物学上或在其它方面无不良影响的材料,即,所述材料可并入投与患者的医药组合物中而不会引起任何显著不良生物学效应或以有害方式与含有其组合物中的任何其它组分相互作用。药学上可接受的载剂或赋形剂优选满足毒理学及制造测试的必需标准且/或包含于美国食品及药物管理局(U.S. Food and Drug administration)制定的非活性成分指南(Inactive Ingredient Guide)中。

[0127] 术语“标记”当在本文中使用是指可以与抗GPC3抗体部分直接或间接结合的可检测化合物或组合物。标记本身可以是可检测的(例如放射性同位素标记或荧光标记),或在酶标记的情况下,可以催化底物化合物或组合物发生可检测的化学变化。

[0128] 应了解,本文所述的本发明实施例包含“由实施例组成”及/或“基本上由实施例组成”。

[0129] 本文中提及“约”某值或参数包含(及描述)关于所述值或参数本身的变化形式。举例来说,提及“约X”的描述包含“X”的描述。

[0130] 如本文所用,提及“不为”某一值或参数通常意指及描述“除某一值或参数外”。举例来说,方法不用于治疗X型癌症意指所述方法用于治疗除X型外的癌症类型。

[0131] 除非上下文另外明确指示,否则如本文及所附权利要求书中所使用,单数形式“一(a或an)”及“所述”包含多个指示物。

[0132] 抗GPC3构筑体

[0133] 在一个方面中,本发明提供包括特异性结合到GPC3的抗体部分的GPC3特异性构筑体(例如经分离的抗GPC3构筑体)。抗GPC3构筑体的特异性来源于特异性结合到GPC3的抗GPC3抗体部分,例如全长抗体或其抗原结合片段。在一些实施例中,提及特异性结合到GPC3的部分(例如抗体部分)意指所述部分以其针对非靶标的结合亲和力至少约10倍(包含例如至少约 10 、 10^2 、 10^3 、 10^4 、 10^5 、 10^6 或 10^7 倍中的任一者)的亲和力结合到GPC3。在一些实施例中,非靶标为并非GPC3的抗原。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分的非靶标为可溶性GPC3。在一些实施例中,抗sGPC3抗体部分的非靶标为与细胞表面结合的GPC3。结合亲和力可以通过所属领域中已知的方法测定,例如ELISA、荧光活化细胞分选(FACS)分析或放射免疫沉淀分析(RIA)。K_d可通过所属领域中已知的方法测定,例如利用例如BIACORE™仪器的表面等离子体共振(SPR)分析,或利用例如Sapidyne仪器的动力学排除分析(KinExA)。

[0134] 所涵盖的抗GPC3构筑体包含例如抗GPC3 scFv、抗GPC3 Fc融合蛋白、全长抗GPC3抗体、多特异性(例如双特异性)抗GPC3分子(例如串联双scFv双特异性T细胞接合体)、抗

GPC3嵌合抗原受体(CAR)、抗GPC3嵌合抗体-T细胞受体(caTCR)及抗GPC3免疫结合物。

[0135] 不同方面更详细地论述于下文各章节中。

[0136] 虽然本文广泛地论述使用抗GPC3构筑体的实施例,所述抗GPC3构筑体包括含有人类序列(即包括人类CDR序列的人类重链及轻链可变区序列)的抗GPC3抗体部分,但本发明还提供非人类抗GPC3构筑体。在一些实施例中,非人类抗体药剂包括来自如本文所述的抗体药剂的人类CDR序列及非人类框架序列。在一些实施例中,非人类框架序列包含可以通过使用如本文所述的一或多个人类CDR序列而用于产生合成重链及/或轻链可变区的任何序列,包含例如哺乳动物,例如小鼠、大鼠、兔、猪、牛科动物(例如母牛、公牛、水牛)、鹿、绵羊、山羊、鸡、猫、犬、白鼬、灵长类动物(例如狨猴、恒河猴)等。在一些实施例中,所提供的抗体药剂包含通过将如本文所述的一或多个人类CDR序列移植到非人类框架序列(例如小鼠或鸡框架序列)上所产生的抗体药剂。在多个实施例中,所提供的抗体药剂为人类抗体药剂(例如人类单株抗体或其片段、人类抗原结合蛋白或多肽、人类多特异性结合药剂[例如人类双特异性抗体]、具有人类免疫球蛋白多肽的一或多种结构组分的人类多肽)。

[0137] 抗GPC3抗体部分

[0138] 抗GPC3构筑体(例如经分离的抗GPC3构筑体)包括特异性识别GPC3的抗GPC3抗体部分。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分特异性识别与细胞表面结合的GPC3(在本文中称为“抗nGPC3抗体部分”)。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分对nGPC3的结合亲和力高于对sGPC3的结合亲和力。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分的结合亲和力以高结合亲和力特异性识别与细胞表面结合的GPC3且以低结合亲和力结合到可溶性GPC3。在一些实施例中,表面上表达GPC3的细胞为HepG2、Hep3B、Huh7、JHH-7或293。在一些实施例中,细胞在其表面上呈递含量异常高的GPC3。在一些实施例中,细胞为癌细胞。在一些实施例中,癌细胞存在于实体肿瘤(例如肝癌,例如HCC)中。在一些实施例中,癌细胞为转移癌细胞(例如转移HCC)。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分特异性识别可溶性GPC3(在本文中称为“抗sGPC3抗体部分”)。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分特异性识别nGPC3与sGPC3。

[0139] 磷脂酰肌醇蛋白聚糖3(GPC3)

[0140] 磷脂酰肌醇蛋白聚糖3(GPC3)为存在于细胞表面上的属于硫酸肝素蛋白聚糖家族的癌胚抗原,其涉及细胞-细胞外基质界面处发生的细胞信号传导。GPC3表达于发育期间的胎儿肝脏及胎盘中且在正常成人组织中下调或静默。这种发育阶段特异性及组织特异性表达方式表明GPC3可能涉及形态发生。

[0141] GPC3基因编码580个氨基酸的70kDa前体蛋白。移位到内质网中后,N端信号肽(SS;残基1-24)及C端糖基化磷脂酰肌醇(GPI)锚添加信号(预测的裂解位点:S⁵⁶⁰)被去除且后者被GPI锚置换。GPC3前体蛋白可以通过弗林蛋白酶在Arg³⁵⁸与Ser³⁵⁹之间分裂而产生经二硫键连接的40kDa N端亚单元(Q²⁵-R³⁵⁸)及30kDa C端亚单元(始于S³⁵⁹)。GPC3的C端经由GPI锚连接到膜且经转译后修饰而具有两条接近于细胞表面的O连接型硫酸肝素(HS)侧链。基于初始氨基酸序列,N端亚单元、C端亚单元及两条HS聚糖链形成GPC3的三个功能域。N端与C端亚单元形成GPC3的核心蛋白。

[0142] GPC3上带负电的HS链为功能上重要的葡糖胺聚糖。其可以结合带正电的生长因子,例如HGF、成纤维细胞生长因子(FGF)、Wnts、刺猬及骨形态发生蛋白。因此,HS链可能充当这些生长因子的“对接位点”,这视细胞背景而定。

[0143] GPC3的N端亚单元为GPC3的约40kDa N端肽,发现其呈GPC3核心蛋白的可溶形式。在一些实施例中,N端亚单元为包括Met¹到Arg³⁵⁸的氨基酸序列的肽。在一些实施例中,N端亚单元为包括Gln²⁵到Arg³⁵⁸的氨基酸序列的肽。根据本发明,还可使用这类N端肽的片段,在本文中称为GPC3 N端片段。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分特异性识别存在于GPC3蛋白质的N端亚单元上的抗原决定基。在一些实施例中,特异性识别本文所述的GPC3蛋白质N端亚单元(或其片段)的抗体部分特异性结合到GPC3的可溶形式。在一些实施例中,特异性识别GPC3蛋白质N端亚单元(或其片段)的抗体部分特异性结合到GPC3原生形式。在一些实施例中,特异性识别GPC3蛋白质N端亚单元(或其片段)的抗体部分可以结合到nGPC3与sGPC3。

[0144] GPC3的C端亚单元为GPC3的约30kDa的C端肽。基于上述裂解位点,在一些实施例中,C端亚单元为包括Ser³⁵⁹到His⁵⁸⁰的氨基酸序列的肽。在一些实施例中,C端亚单元为包括Ser³⁵⁹到Ser⁵⁶⁰的氨基酸序列的肽。根据本发明,还可使用这类C端肽的片段,在本文中称为GPC3 C端片段。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分特异性识别存在于GPC3蛋白质的C端亚单元上的抗原决定基。在一些实施例中,特异性识别本文所述的GPC3蛋白质C端亚单元(或其片段)的抗体部分特异性结合到GPC3的可溶形式。在一些实施例中,特异性识别GPC3蛋白质的C端亚单元(或其片段)的抗体部分特异性结合到GPC3的原生形式。在一些实施例中,特异性识别GPC3蛋白质的C端亚单元(或其片段)的抗体部分可以结合到nGPC3与sGPC3。

[0145] 本文所述的抗GPC3构筑体与所属领域中已知的抗体不结合到GPC3上的相同抗原决定基,例如GC33(Ishiguro等人,Cancer Res 2008;68:9832-9838)(例如SEQ ID NO:510)。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分不与GC33竞争性地特异性结合到相同或基本上相同的GPC3抗原决定基。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分不结合到SEQ ID NO:536氨基酸序列内的抗原决定基。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分不结合到包括SEQ ID NO:536氨基酸序列的片段。

[0146] 已报告GPC3表达于各种癌症中且特定来说,表达于HCC、黑色素瘤、鳞状细胞肺癌、卵巢癌、卵黄囊肿瘤、绒膜癌、成神经细胞瘤、威尔姆斯氏肿瘤及脂肪肉瘤中。因此,GPC3可以潜在地充当基于抗体的免疫疗法与基于细胞的免疫疗法的治疗靶标。特定来说,鉴于GPC3高度表达于HCC中且表达于大于70%的HCC肿瘤中,但不表达于正常肝脏组织中,因此GPC3可以有望成为肝癌疗法的候选靶。对于患有GPC3阳性癌症的一些患者而言,可以在血液中检测到GPC3的可溶形式。因此,GPC3的可溶形式与原生形式均可以充当癌症诊断(例如HCC诊断)的适用生物标记。已发现GPC3阳性HCC患者的5年存活率显著低于GPC3阴性HCC患者。因此,GPC3表达与HCC的不良预后相关。

[0147] GPC3细胞表面局域化为细胞生长及HCC中的Wnt活化的关键。GPC3经由其核心蛋白结合到Wnt。假设GPC3通过促进且/或稳定化Wnt与其信号传导受体Frizzled(Fz)的相互作用来刺激Wnt信号传导。有趣的是,注意到约50% HCC患者的血清中分泌有GPC3。然而,不清楚癌症患者的循环血液中存在哪种形式的GPC3。细胞外脂肪酶Notum可以负责GPC3从肿瘤细胞裂解到细胞外环境中。

[0148] 在一些实施例中,本文所述的抗GPC3抗体部分(针对nGPC3及/或sGPC3)特异性识别人类GPC3内的抗原决定基。示范性人类GPC3的完全氨基酸序列具有UniProt第P51654号(SEQ ID NO:460)。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分特异性识别包括SEQ ID NO:460氨基酸序列的人类GPC3内的抗原决定基。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分特异性识别SEQ ID

NO:460的氨基酸1-560 (SEQ ID NO:461) 内的抗原决定基。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分特异性识别SEQ ID NO:460的氨基酸25-580内的抗原决定基 (SEQ ID NO:462)。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分特异性识别SEQ ID NO:460的氨基酸25-560 (SEQ ID NO:463) 内的抗原决定基。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分特异性识别GPC3的N端片段内的抗原决定基。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分特异性识别SEQ ID NO:460的氨基酸1-358 (SEQ ID NO:468) 内的抗原决定基。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分特异性识别SEQ ID NO:460的氨基酸25-358内的抗原决定基 (SEQ ID NO:464)。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分特异性识别GPC3的C端片段内的抗原决定基。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分特异性识别SEQ ID NO:460的氨基酸359-560内的抗原决定基 (SEQ ID NO:465)。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分特异性识别SEQ ID NO:460的氨基酸359-580内的抗原决定基 (SEQ ID NO:466)。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分特异性识别缺乏硫酸肝素侧链的GPC3内的抗原决定基。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分特异性识别携有硫酸肝素侧链的GPC3内的抗原决定基。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分特异性识别缺乏硫酸肝素侧链的GPC3的C端片段内的抗原决定基。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分特异性识别SEQ ID NO:460的氨基酸510-560内的抗原决定基 (SEQ ID NO:467)。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分特异性识别跨越位于SEQ ID NO:460的氨基酸R³⁵⁸/S³⁵⁹的弗林裂解位点的抗原决定基。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分可以特异性结合到人类成熟全长GPC3 (例如SEQ ID NO:460的氨基酸25-560或25-580),但不结合到人类GPC3的N端片段 (例如SEQ ID NO:460的氨基酸25-358) 或人类GPC3的C端片段 (例如SEQ ID NO:460的氨基酸359-560或359-580)。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分特异性识别重组人类GPC3内的抗原决定基。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分以高结合亲和力特异性识别与细胞表面结合的GPC3且以低结合亲和力结合到可溶性GPC3。在一些实施例中,与细胞表面结合的GPC3包括 (且在一些实施例中,组成为或主要组成为) SEQ ID NO:460或SEQ ID NO:462的氨基酸序列。在一些实施例中,可溶性GPC3为血清中的循环GPC3蛋白质或游离GPC3肽。在一些实施例中,可溶性GPC3为存在于溶液中的GPC3蛋白质或肽。在一些实施例中,可溶性GPC3包括 (且在一些实施例中,组成为或主要组成为) SEQ ID NO:461或SEQ ID NO:463的氨基酸序列。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分可以与来自除人类之外的物种的GPC3交叉反应。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分可以对一或多种人类GPC3蛋白具有完全的特异性且可能不展现物种或其它类型的非人类交叉反应。

[0149] 在一些实施例中,抗GPC3抗体部分与GPC3蛋白质 (或其片段) 的至少一种等位基因变异体交叉反应。在一些实施例中,相较于天然存在的GPC3 (或其片段),等位基因变异体具有最多约30 (例如约1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、15、20、25或30) 个氨基酸取代 (例如保守性取代)。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分不与GPC3蛋白质 (或其片段) 的任何等位基因变异体交叉反应。

[0150] 在一些实施例中,抗GPC3抗体部分与GPC3蛋白质的至少一种种间变异体交叉反应。在一些实施例中,例如,GPC3蛋白质 (或其片段) 为人类GPC3且GPC3蛋白质 (或其片段) 的种间变异体为其小鼠或大鼠变异体。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分不与GPC3蛋白质的任何种间变异体交叉反应。

[0151] 在一些实施例中,抗GPC3抗体部分特异性识别HepG2、Hep3B、Huh7、JHH-7或293细胞的细胞表面上所表达的GPC3。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分特异性识别癌细胞 (例如

实体肿瘤)的细胞表面上所表达的GPC3。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分特异性识别肝癌(例如HCC)、黑色素瘤、鳞状细胞肺癌、卵巢癌、卵黄囊肿瘤、绒膜癌、成神经细胞瘤、威尔姆斯氏肿瘤、肝胚细胞瘤、睾丸非精原细胞瘤型生殖细胞肿瘤、胃癌或脂肪肉瘤的细胞表面上所表达的GPC3。

[0152] 结合亲和力

[0153] 结合亲和力可以 K_d 、 $K_{\text{解离}}$ 、 $K_{\text{结合}}$ 或 K_a 指示。如本文所用,术语“ $K_{\text{解离}}$ ”意指抗体部分从抗体部分/抗原复合物解离的解离速率常量,如利用动力学选择配置所测定。如本文所用,术语“ $K_{\text{结合}}$ ”意指抗体部分与抗原结合以形成抗体部分/抗原复合物的结合速率常量。如本文所用,术语平衡解离常量“ K_d ”是指特定抗体部分-抗原相互作用的解离常量,且描述在平衡时占据存在于抗体分子溶液中的所有抗体结合域的一半所需的抗原浓度,且等于 $K_{\text{解离}}/K_{\text{结合}}$ 。 K_d 的测量假设所有结合剂均在溶液中。在抗体部分拴系到细胞壁的情况下,例如在酵母表达系统中,相应的平衡速率常量以 EC_{50} 表示,由此得到 K_d 的良好近似值。亲和力常量 K_a 为解离常量 K_d 的倒数。

[0154] 解离常量(K_d)用作展示抗体部分对抗原的亲合力的指标。举例来说,通过史卡查方法(Scatchard method),使用经多种标记剂标记的抗体,以及通过使用BIAcore™(由Amersham Biosciences制造)、通过表面等离子体共振分析生物分子相互作用,根据用户手册及随附试剂盒,可以使分析简便。可以使用这些方法得到的 K_d 值以单位M(Mols)表示。特异性结合到靶标的抗体部分可以具有例如 $\leq 10^{-7}M$ 、 $\leq 10^{-8}M$ 、 $\leq 10^{-9}M$ 、 $\leq 10^{-10}M$ 、 $\leq 10^{-11}M$ 、 $\leq 10^{-12}M$ 或 $\leq 10^{-13}M$ 的 K_d 。

[0155] 抗体部分的结合特异性可以在实验上通过所属领域中已知的方法测定。这类方法包括(但不限于)蛋白质印迹法、ELISA、RIA、ECL、IRMA、EIA、BIAcore™测试及肽扫描。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分的结合亲和力通过测试抗GPC3抗体部分对表面上表达GPC3的细胞(例如HepG2细胞)的结合亲和力来测量。

[0156] 在一些实施例中,抗GPC3抗体部分特异性识别与细胞表面结合的GPC3(例如抗体部分对与细胞表面结合的GPC3的结合亲和力高于对可溶性GPC3的结合亲和力)。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分以高结合亲和力特异性识别与细胞表面结合的GPC3且以低结合亲和力结合到可溶性GPC3。在一些实施例中,在使用例如流式细胞术对可溶性GPC3抗原进行的竞争性结合分析中,抗nGPC3抗体部分特异性结合到与细胞表面结合的GPC3。在一些实施例中,当抗nGPC3抗体部分已与可溶性GPC3抗原一起在竞争性结合分析中预培育时,抗nGPC3抗体部分特异性结合到与细胞表面结合的GPC3。举例来说,在一些实施例中,包括抗nGPC3抗体部分的抗GPC3构筑体可以与各种浓度的可溶性GPC3抗原(例如重组GPC3片段)一起预培育,接着可以将GPC3⁺细胞(例如HepG2细胞)添加到抗体/抗原混合物中且培育,接着可以检测与细胞表面结合的抗GPC3构筑体:可溶性GPC3预培育的抗GPC3构筑体对GPC3⁺细胞的结合相较于在可溶性GPC3预培育不存在下抗GPC3构筑体对GPC3⁺细胞的结合可能不展示显著差异,证明抗GPC3抗体部分可以特异性识别与细胞表面结合的GPC3,或抗nGPC3抗体部分对与细胞表面结合的GPC3的结合亲和力高于对可溶性GPC3的结合亲和力,抗GPC3抗体部分以高结合亲和力特异性识别与细胞表面结合的GPC3且以低结合亲和力结合到可溶性GPC3。

[0157] 在一些实施例中,抗GPC3抗体部分以约 $10^{-7}M$ 到约 $10^{-13}M$ (例如约 $10^{-7}M$ 到约 $10^{-13}M$ 、

约 10^{-9} M到约 10^{-13} M,或约 10^{-10} M到约 10^{-12} M)的 K_d 特异性结合到靶标GPC3(例如nGPC3及/或sGPC3)。因此在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分与nGPC3之间结合的 K_d 、抗sGPC3抗体部分与sGPC3之间结合的 K_d 或抗GPC3抗体部分与GPC3(任何形式)之间结合的 K_d 为约 10^{-7} M到约 10^{-13} M、约 1×10^{-7} M到约 5×10^{-13} M、约 10^{-7} M到约 10^{-12} M、约 10^{-7} M到约 10^{-11} M、约 10^{-7} M到约 10^{-10} M、约 10^{-7} M到约 10^{-9} M、约 10^{-8} M到约 10^{-13} M、约 1×10^{-8} M到约 5×10^{-13} M、约 10^{-8} M到约 10^{-12} M、约 10^{-8} M到约 10^{-11} M、约 10^{-8} M到约 10^{-10} M、约 10^{-8} M到约 10^{-9} M、约 5×10^{-9} M到约 1×10^{-13} M、约 5×10^{-9} M到约 1×10^{-12} M、约 5×10^{-9} M到约 1×10^{-11} M、约 5×10^{-9} M到约 1×10^{-10} M、约 10^{-9} M到约 10^{-13} M、约 10^{-9} M到约 10^{-12} M、约 10^{-9} M到约 10^{-11} M、约 10^{-9} M到约 10^{-10} M、约 5×10^{-10} M到约 1×10^{-13} M、约 5×10^{-10} M到约 1×10^{-12} M、约 5×10^{-10} M到约 1×10^{-11} M、约 10^{-10} M到约 10^{-13} M、约 1×10^{-10} M到约 5×10^{-13} M、约 1×10^{-10} M到约 1×10^{-12} M、约 1×10^{-10} M到约 5×10^{-12} M、约 1×10^{-10} M到约 1×10^{-11} M、约 10^{-11} M到约 10^{-13} M、约 1×10^{-11} M到约 5×10^{-13} M、约 10^{-11} M到约 10^{-12} M,或约 10^{-12} M到约 10^{-13} M。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分与nGPC3之间结合的 K_d 为约 10^{-7} M到约 10^{-13} M。

[0158] 在一些实施例中,抗GPC3抗体部分与非靶标之间结合的 K_d 大于抗GPC3抗体部分与靶标之间结合的 K_d ,且在本文中、在一些实施例中称为抗GPC3抗体部分对靶标(例如与细胞表面结合的GPC3)的结合亲和力高于对非靶标(例如可溶性GPC3)的结合亲和力。在一些实施例中,非靶标为非GPC3抗原。在一些实施例中,对于抗nGPC3抗体部分而言,非靶标为可溶性GPC3。在一些实施例中,对于抗sGPC3抗体部分而言,非靶标为与细胞表面结合的GPC3。举例来说,抗nGPC3抗体部分与可溶性GPC3之间结合的 K_d 可为抗nGPC3抗体部分与结合于细胞表面的GPC3之间结合的 K_d 的至少约10倍,例如约10-100倍、约100-1000倍、约 10^3 - 10^4 倍、约 10^4 - 10^5 倍、约 10^5 - 10^6 倍、约 10^6 - 10^7 倍、约 10^7 - 10^8 倍、约 10^8 - 10^9 倍、约 10^9 - 10^{10} 倍、约 10^{10} - 10^{11} 倍或约 10^{11} - 10^{12} 倍。同样举例来说,抗sGPC3抗体部分与结合于细胞表面的GPC3之间结合的 K_d 可为抗sGPC3抗体部分与可溶性GPC3之间结合的 K_d 的至少约10倍,例如约10-100倍、约100-1000倍、约 10^3 - 10^4 倍、约 10^4 - 10^5 倍、约 10^5 - 10^6 倍、约 10^6 - 10^7 倍、约 10^7 - 10^8 倍、约 10^8 - 10^9 倍、约 10^9 - 10^{10} 倍、约 10^{10} - 10^{11} 倍或约 10^{11} - 10^{12} 。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分(针对nGPC3及/或sGPC3)与非GPC3靶标之间结合的 K_d 可为抗GPC3抗体部分与靶标GPC3之间结合的 K_d 的至少约10倍,例如约10-100倍、约100-1000倍、约 10^3 - 10^4 倍、约 10^4 - 10^5 倍、约 10^5 - 10^6 倍、约 10^6 - 10^7 倍、约 10^7 - 10^8 倍、约 10^8 - 10^9 倍、约 10^9 - 10^{10} 倍、约 10^{10} - 10^{11} 倍或约 10^{11} - 10^{12} 倍。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分与可溶性GPC3之间结合的 K_d 为抗nGPC3抗体部分与结合于细胞表面的GPC3之间结合的 K_d 的至少约10倍。

[0159] 在一些实施例中,抗GPC3抗体部分与非靶标结合的 K_d 为约 10^{-1} M到约 10^{-6} M(例如约 10^{-1} M到约 10^{-6} M、约 10^{-1} M到约 10^{-5} M,或约 10^{-2} M到约 10^{-4} M)。在一些实施例中,非靶标为非GPC3抗原。在一些实施例中,对于抗nGPC3抗体部分而言,非靶标为可溶性GPC3。在一些实施例中,对于抗sGPC3抗体部分而言,非靶标为与细胞表面结合的GPC3。因此在一些实施例中,抗GPC3抗体部分与非GPC3靶标之间结合的 K_d 、抗nGPC3抗体部分与可溶性GPC3之间结合的 K_d 或抗sGPC3抗体部分与结合于细胞表面的GPC3之间结合的 K_d 为约 10^{-1} M到约 10^{-6} M、约 1×10^{-1} M到约 5×10^{-6} M、约 10^{-1} M到约 10^{-5} M、约 1×10^{-1} M到约 5×10^{-5} M、约 10^{-1} M到约 10^{-4} M、约 1×10^{-1} M到约 5×10^{-4} M、约 10^{-1} M到约 10^{-3} M、约 1×10^{-1} M到约 5×10^{-3} M、约 10^{-1} M到约 10^{-2} M、约 10^{-2} M到约 10^{-6} M、约 1×10^{-2} M到约 5×10^{-6} M、约 10^{-2} M到约 10^{-5} M、约 1×10^{-2} M到约 5×10^{-5} M、约 10^{-2} M到约 10^{-4} M、约 1×10^{-2} M到约 5×10^{-4} M、约 10^{-2} M到约 10^{-3} M、约 10^{-3} M到约 10^{-6} M、约 1×10^{-3} M到约 5×10^{-6} M、约

10^{-3} M到约 10^{-5} M、约 1×10^{-3} M到约 5×10^{-5} M、约 10^{-3} M到约 10^{-4} M、约 10^{-4} M到约 10^{-6} M、约 1×10^{-4} M到约 5×10^{-6} M、约 10^{-4} M到约 10^{-5} M,或约 10^{-5} M到约 10^{-6} M。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分与可溶性GPC3之间结合的 K_d 为约 10^{-1} M到约 10^{-6} M。在一些实施例中,特异性识别与细胞表面结合的GPC3的抗nGPC3抗体部分不结合到可溶性GPC3。

[0160] 在一些实施例中,当提及抗GPC3抗体部分以高结合亲和力特异性识别靶标GPC3(例如与细胞表面结合的GPC3)且以低结合亲和力结合到非靶标(例如可溶性GPC3)时,抗GPC3抗体部分与靶标GPC3(例如与细胞表面结合的GPC3)结合的 K_d 为约 10^{-7} M到约 10^{-13} M(例如约 10^{-7} M到约 10^{-13} M、约 10^{-9} M到约 10^{-13} M,或约 10^{-10} M到约 10^{-12} M),且与非靶标(例如可溶性GPC3)结合的 K_d 为约 10^{-1} M到约 10^{-6} M(例如约 10^{-1} M到约 10^{-6} M、约 10^{-1} M到约 10^{-5} M,或约 10^{-2} M到约 10^{-4} M)。

[0161] 在一些实施例中,当提及抗GPC3抗体部分特异性识别与细胞表面结合的GPC3(例如抗体部分对与细胞表面结合的GPC3的结合亲和力高于对可溶性GPC3的结合亲和力)时,或当提及抗GPC3抗体部分以高结合亲和力特异性识别与细胞表面结合的GPC3、同时以低结合亲和力结合到可溶性GPC3时,对抗GPC3抗体部分的结合亲和力与对照抗GPC3抗体(例如单株抗体GC33)进行比较。在一些实施例中,GC33(例如SEQ ID NO:510)与结合于细胞表面的GPC3之间结合的 K_d 可为本文所述的抗nGPC3抗体部分与结合于细胞表面的GPC3之间结合的 K_d 的至少约2倍,例如约2倍、约3倍、约4倍、约5倍、约6倍、约7倍、约8倍、约9倍、约10倍、约10-100倍、约100-1000倍、约 10^3 - 10^4 倍、约 10^4 - 10^5 倍、约 10^5 - 10^6 倍、约 10^6 - 10^7 倍、约 10^7 - 10^8 倍、约 10^8 - 10^9 倍、约 10^9 - 10^{10} 倍、约 10^{10} - 10^{11} 倍,或约 10^{11} - 10^{12} 倍。在一些实施例中,抗GPC3构筑体相对于与细胞表面结合的GPC3的 K_d 为约0.1nM到约2nM,例如约0.1nM到约0.5nM、约0.5nM到约1nM,或约1.5到约2nM。在一些实施例中,本文所述的抗nGPC3抗体部分与可溶性GPC3之间结合的 K_d 可为GC33(例如SEQ ID NO:510)与可溶性GPC3之间结合的 K_d 的至少约2倍,例如约2倍、约3倍、约4倍、约5倍、约6倍、约7倍、约8倍、约9倍、约10倍、约10-100倍、约100-1000倍、约 10^3 - 10^4 倍、约 10^4 - 10^5 倍、约 10^5 - 10^6 倍、约 10^6 - 10^7 倍、约 10^7 - 10^8 倍、约 10^8 - 10^9 倍、约 10^9 - 10^{10} 倍、约 10^{10} - 10^{11} 倍,或约 10^{11} - 10^{12} 倍。在一些实施例中,抗GPC3构筑体相对于与细胞表面结合的GPC3的 K_d 为约10nM到约100nM,例如约10nM到约20nM、约20nM到约40nM、约40nM到约80nM,或约80nM到约100nM。在一些实施例中,对照抗GPC3抗体与结合于细胞表面的GPC3之间结合的 K_d 可为本文所述的抗nGPC3抗体部分与结合于细胞表面的GPC3之间结合的 K_d 的至少约2倍,例如约2倍、约3倍、约4倍、约5倍、约6倍、约7倍、约8倍、约9倍、约10倍、约10-100倍、约100-1000倍、约 10^3 - 10^4 倍、约 10^4 - 10^5 倍、约 10^5 - 10^6 倍、约 10^6 - 10^7 倍、约 10^7 - 10^8 倍、约 10^8 - 10^9 倍、约 10^9 - 10^{10} 倍、约 10^{10} - 10^{11} 倍,或约 10^{11} - 10^{12} 倍,其中对照抗体包括:i) 包括氨基酸序列SEQ ID NO:503的 V_H ,或与SEQ ID NO:503具有至少约95%序列一致性的其变异体;及ii) 包括氨基酸序列SEQ ID NO:504的 V_L ,或与SEQ ID NO:504具有至少约95%序列一致性的其变异体。在一些实施例中,本文所述的抗nGPC3抗体部分与可溶性GPC3之间结合的 K_d 可为对照抗GPC3抗体与可溶性GPC3之间结合的 K_d 的至少约2倍,例如约2倍、约3倍、约4倍、约5倍、约6倍、约7倍、约8倍、约9倍、约10倍、约10-100倍、约100-1000倍、约 10^3 - 10^4 倍、约 10^4 - 10^5 倍、约 10^5 - 10^6 倍、约 10^6 - 10^7 倍、约 10^7 - 10^8 倍、约 10^8 - 10^9 倍、约 10^9 - 10^{10} 倍、约 10^{10} - 10^{11} 倍,或约 10^{11} - 10^{12} 倍,其中对照抗体包括:i) 包括氨基酸序列SEQ ID NO:503的 V_H ,或与SEQ ID NO:503具有至少约95%序列一致性的其变异体;及ii) 包括氨基酸序列SEQ ID NO:504

的 V_L ,或与SEQ ID NO:504具有至少约95%序列一致性的其变异体。在一些实施例中,对照抗GPC3抗体与结合于细胞表面结合的GPC3之间结合的 K_d 可为本文所述的抗nGPC3抗体部分与结合于细胞表面的GPC3之间结合的 K_d 的至少约2倍,例如约2倍、约3倍、约4倍、约5倍、约6倍、约7倍、约8倍、约9倍、约10倍、约10-100倍、约100-1000倍、约 10^3 - 10^4 倍、约 10^4 - 10^5 倍、约 10^5 - 10^6 倍、约 10^6 - 10^7 倍、约 10^7 - 10^8 倍、约 10^8 - 10^9 倍、约 10^9 - 10^{10} 倍、约 10^{10} - 10^{11} 倍,或约 10^{11} - 10^{12} 倍,其中对照抗体包括:i) V_H ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:497的HC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:498的HC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:499的HC-CDR3;及ii) V_L ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:500的LC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:501的LC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:502的LC-CDR3。在一些实施例中,本文所述的抗nGPC3抗体部分与可溶性GPC3之间结合的 K_d 可为对照抗GPC3抗体与可溶性GPC3之间结合的 K_d 的至少约2倍,例如约2倍、约3倍、约4倍、约5倍、约6倍、约7倍、约8倍、约9倍、约10倍、约10-100倍、约100-1000倍、约 10^3 - 10^4 倍、约 10^4 - 10^5 倍、约 10^5 - 10^6 倍、约 10^6 - 10^7 倍、约 10^7 - 10^8 倍、约 10^8 - 10^9 倍、约 10^9 - 10^{10} 倍、约 10^{10} - 10^{11} 倍,或约 10^{11} - 10^{12} 倍,其中对照抗体包括:i) V_H ,包括氨基酸序列为SEQ ID NO:497的HC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:498的HC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:499的HC-CDR3;及ii) V_L ,包括氨基酸序列为SEQ ID NO:500的LC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:501的LC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:502的LC-CDR3。

[0162] 在一些实施例中,可溶性GPC3在抗GPC3构筑体与结合于细胞表面的GPC3之间竞争结合的IC₅₀为约1 μ g/ml到约100 μ g/ml,例如约1 μ g/ml到约5 μ g/ml、1 μ g/ml到约10 μ g/ml、约10 μ g/ml到约20 μ g/ml、约20 μ g/ml到约50 μ g/ml,或50 μ g/ml到约100 μ g/ml。在一些实施例中,可溶性GPC3在抗GPC3构筑体与结合于细胞表面的GPC3之间竞争结合的IC₅₀为可溶性GPC3在对照抗GPC3抗体(例如GC33)与细胞表面所结合GPC3之间竞争结合的IC₅₀的至少约2倍、3倍、4倍、5倍、10倍、20倍、50倍、100倍或超过100倍中的任一者。

[0163] 抗GPC3抗体部分形式

[0164] 本文所述的抗GPC3抗体部分(针对例如nGPC3及/或sGPC3)可具有任何抗体或抗原结合片段形式。

[0165] 在一些实施例中,抗GPC3抗体部分(针对例如nGPC3及/或sGPC3)为全长抗体或免疫球蛋白衍生物。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分为抗原结合片段,例如选自由以下组成的群组的抗原结合片段:Fab、Fab'、F(ab')₂、Fv片段、二硫键稳定化Fv片段(dsFv)或单链Fv(scFv)。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分为scFv。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分为Fab或Fab'。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分为嵌合的、人类的、部分人类化的、完全人类化的或半合成的。

[0166] 在一些实施例中,抗GPC3抗体部分(针对nGPC3及/或sGPC3)为包括完全人类序列及一或多个合成区域的半合成抗体部分。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分为包括完全人类轻链可变域及半合成重链可变域的半合成抗体部分,所述半合成重链可变域包括完全人类FR1、HC-CDR1、FR2、HC-CDR2、FR3及FR4区域及合成HC-CDR3。在一些实施例中,半合成重链可变域包括全合成HC-CDR3,其具有长度为约5到约25(如约5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24或25中的任一者)个氨基酸的序列。在一些实施例中,半合成重链可变域或合成HC-CDR3从半合成文库(例如半合成人类文库)获得,其包括具有长度为约5到约25(例如约5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24或

25中的任一者)个氨基酸的序列的全合成HC-CDR3,其中序列中的各氨基酸随机选自除半胱氨酸之外的标准人类氨基酸。在一些实施例中,合成HC-CDR3的长度为约5到约19(例如约5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18或19中的任一者)个氨基酸。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分为包括人类CDR及非人类框架序列的半合成抗体部分。在一些实施例中,非人类框架序列包含可以使用如本文所述的一或多个人类CDR序列而用于产生合成重链及/或轻链可变区的任何序列,包含例如哺乳动物,例如小鼠、大鼠、兔、猪、牛科动物(例如母牛、公牛、水牛)、鹿、绵羊、山羊、鸡、猫、犬、白鼬、灵长类动物(例如狨猴、恒河猴)等。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分通过将如本文所述的一或多个人类CDR序列移植到非人类框架序列(例如小鼠或鸡框架序列)上而产生。

[0167] 抗GPC3抗体部分序列

[0168] 在一些实施例中,抗GPC3抗体部分包括特定序列或这类序列的某些变异体。在一些实施例中,变异体序列中的氨基酸取代大体上不降低抗nGPC3抗体部分特异性识别与细胞表面结合的GPC3的能力、抗sGPC3抗体部分特异性识别可溶性GPC3的能力,或抗GPC3抗体部分特异性识别靶标GPC3(例如nGPC3及/或sGPC3)的能力。举例来说,可以产生大体上不降低靶标GPC3(例如nGPC3及/或sGPC3)结合亲和力的变异。还涵盖大体上改进靶标GPC3结合亲和力或影响一些其它特性(例如特异性及/或与靶标GPC3的相关变异体的交叉反应性)的变异。

[0169] 示范性抗体序列展示于表6到表9中。使用IgBLAST算法预测表6及表8中的示范性CDR序列。参见例如Ye J等人,Nucleic Acids Research,41:W34-W40(2013),其公开内容全文以引用的方式并入本文中。本领域技术人员将认识到,多种算法已知用于预测抗体重链及轻链可变区中的CDR位置,且包括来自本文所述抗体的CDR、但基于除IgBLAST之外的预测算法的抗体药剂属于本发明的范围内。

[0170] 表7及表9中的示范性抗体重链及轻链可变区序列是根据INTERNATIONAL IMMUNOGENETICS INFORMATION SYSTEM[®](IMGT)界定对。参见例如Lefranc,M.-P.等人,Nucleic Acids Res.,43:D413-422(2015),其公开内容全文以引用的方式并入本文中。本领域技术人员将认识到,包括来自本文所述抗体的V_H或V_L序列、但基于除IMGT之外的算法的抗体药剂属于本发明的范围内。

[0171] 特异性识别与细胞表面结合的GPC3的抗GPC3抗体部分

[0172] 在一些实施例中,抗GPC3抗体部分特异性识别与细胞表面结合的GPC3(抗nGPC3抗体部分)。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分对与细胞表面结合的GPC3的结合亲和力高于对可溶性GPC3的结合亲和力。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分以高结合亲和力特异性识别与细胞表面结合的GPC3且以低结合亲和力结合到可溶性GPC3。

[0173] 在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分包括i)重链可变域(V_H),其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:103-133中任一者的HC-CDR3或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体;及ii)轻链可变域(V_L),其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:256-286中任一者的LC-CDR3或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体。

[0174] 在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分包括i)包括氨基酸序列为SEQ ID NO:103-133中任一者的HC-CDR3;及ii)包括氨基酸序列为SEQ ID NO:256-286中任一者的LC-CDR3。

[0175] 在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分包括i) V_H ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:1-31中任一者的HC-CDR1或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体、氨基酸序列为SEQ ID NO:52-82中任一者的HC-CDR2或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体,及氨基酸序列为SEQ ID NO:103-133中任一者的HC-CDR3或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体;以及ii) V_L ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:154-184中任一者的LC-CDR1或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体、氨基酸序列为SEQ ID NO:205-235中任一者的LC-CDR2或包括最多约3(例如约1、2或3中的任一者)个氨基酸取代的其变异体,及氨基酸序列为SEQ ID NO:256-286中任一者的LC-CDR3或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体。

[0176] 在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分包括i) V_H ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:1-31中任一者的HC-CDR1或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体、氨基酸序列为SEQ ID NO:52-82中任一者的HC-CDR2或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体,及氨基酸序列为SEQ ID NO:103-133中任一者的HC-CDR3;以及ii) V_L ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:154-184中任一者的LC-CDR1或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体、氨基酸序列为SEQ ID NO:205-235中任一者的LC-CDR2或包括最多约3(例如约1、2或3中的任一者)个氨基酸取代的其变异体,及氨基酸序列为SEQ ID NO:256-286中任一者的LC-CDR3。

[0177] 在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分包括i) V_H ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:1-31中任一者的HC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:52-82中任一者的HC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:103-133中任一者的HC-CDR3,或HC-CDR序列中包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体;以及ii) V_L ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:154-184中任一者的LC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:205-235中任一者的LC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:256-286中任一者的LC-CDR3,或LC-CDR序列中包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体。

[0178] 在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分包括i) V_H ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:1-31中任一者的HC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:52-82中任一者的HC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:103-133中任一者的HC-CDR3,或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体,其中氨基酸取代发生于HC-CDR1或HC-CDR2中;以及ii) V_L ,包括氨基酸序列为SEQ ID NO:154-184中任一者的LC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:205-235中任一者的LC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:256-286中任一者的LC-CDR3,或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体,其中氨基酸取代发生于LC-CDR1或LC-CDR2中。

[0179] 在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分包括:i) V_H ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:1-31中任一者的HC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:52-82中任一者的HC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:103-133中任一者的HC-CDR3;以及ii) V_L ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:154-184中任一者的LC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:205-235中任一者的LC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:256-286中任一者的LC-CDR3。

[0180] 在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分包括:a) V_H ,其包括SEQ ID NO:1-31中任一者

的氨基酸序列、SEQ ID NO:52-82中任一者的氨基酸序列及SEQ ID NO:103-133中任一者的氨基酸序列;以及ii) V_L , 其包括SEQ ID NO:154-184中任一者的氨基酸序列、SEQ ID NO:205-235中任一者的氨基酸序列及SEQ ID NO:256-286中任一者的氨基酸序列。

[0181] 在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分包括:a) V_H , 其包括SEQ ID NO:307-337中任一者的一个、两个或三个CDR, 及b) V_L , 其包括SEQ ID NO:358-388中任一者的一个、两个或三个CDR。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分包括:a) V_H , 其包括SEQ ID NO:307-337中任一者的重链可变域的HC-CDR1、HC-CDR2及HC-CDR3, 以及b) V_L , 其包括SEQ ID NO:358-388中任一者的CDR轻链可变域的LC-CDR1、LC-CDR2及LC-CDR3。

[0182] 在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分包括:a) 包括SEQ ID NO:307-337中任一者的氨基酸序列的 V_H , 或与SEQ ID NO:307-337中的任一者具有至少约80% (包含例如至少约80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%中的任一者) 序列一致性的其变异体; 及b) 包括SEQ ID NO:358-388中任一者的氨基酸序列的 V_L , 或与SEQ ID NO:358-388中的任一者具有至少约80% (包含例如至少约80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%中的任一者) 序列一致性的其变异体。

[0183] 在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分包括:a) 包括SEQ ID NO:307-337中任一者的氨基酸序列的 V_H ; 及b) 包括SEQ ID NO:358-388中任一者的氨基酸序列的 V_L 。

[0184] 在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分包括氨基酸序列为SEQ ID NO:307-337中任一者的 V_H 的HC-CDR, 及氨基酸序列为SEQ ID NO:358-388中任一者的 V_L 的LC-CDR。

[0185] 重链与轻链可变域可以各种成对组合来组合以产生多种抗nGPC3抗体部分。示范性抗nGPC3抗体提供于表6及表7中。

[0186] 表6特异性识别与细胞表面结合的GPC3 CDR序列的抗GPC3抗体部分

克隆编号	SEQ ID NO:	HCDR1	SEQ ID NO:	HCDR2	SEQ ID NO:	HCDR3	SEQ ID NO:	LCDR1	SEQ ID NO:	LCDR2	SEQ ID NO:	LCDR3
GPC3A-034	1	GGSFSGYY	52	INHSGST	103	ARGYGG RFDY	154	SSNIGS NN	205	SNH	256	AAWDDS LDGYL
GPC3A-035	2	GYTFT GYY	53	INPNS GGT	104	ARSWTS GFDY	155	SSNIGS NY	206	KNF	257	AAWDD ALSGYV
GPC3A-037	3	GFTFSS YA	54	IYSGG SST	105	ARTSYL NHGDY	156	RSNIGS DY	207	GDN	258	GTWDYT LNGVV
GPC3A-038	4	GYTFT SY	55	INPSG GST	106	ARKVTG YDS	157	NIGSKS	208	YDS	259	QVWDSS SDHV
GPC3A-039	5	GFTFSS YA	56	IGTGG GT	107	ARYGRK SIDA	158	NIGSKS	209	YDS	260	QVWDSS SDHWV

[0188]

克隆编号	SEQ ID NO:	HCDR1	SEQ ID NO:	HCDR2	SEQ ID NO:	HCDR3	SEQ ID NO:	LCDR1	SEQ ID NO:	LCDR2	SEQ ID NO:	LCDR3
GPC3A-040	6	GYTFT GYY	57	INPNS GGT	108	ARRGYY GYDS	159	SSNIGS NY	210	SNN	261	AAWDDS LSGYV
GPC3A-041	7	GYTFT GYY	58	INPNS GGT	109	ARSGKY YGDK	160	SSNIGS NY	211	KNF	262	AAWDD ALSGYV
GPC3A-042	8	GYSFT GYY	59	MNPR SGGT	110	ARSSYY WADS	161	SSDIGS NS	212	STQ	263	ATWDDS LNGYV
GPC3A-043	9	GYTFT DYY	60	VDPED GET	111	ARELRD VAYYPW GVEDF	162	SSNIGT NY	213	RNN	264	AVWDDS LSGVV
GPC3A-044	10	GGSFs GYY	61	INHSG ST	112	ARYYVP YLSD	163	NIGYK G	214	DDS	265	QVWDSS SDHVV
GPC3A-045	11	GFTFS DYY	62	ISSSGS TI	113	ARASDL YGD	164	TSNIGT NT	215	SNN	266	AAWDDS LNGVV
GPC3A-046	12	GYRFS NYG	63	ISGSN GNT	114	ARGNRR YYSPIIDP	165	SSNFGS NT	216	SNT	267	AAWDDS LTGVV
GPC3A-047	13	GYTFT GYY	64	INPNS GGT	115	ARSDYG SLYDK	166	RSNIAS ND	217	KKN	268	AAWDD NLSGYV
GPC3A-048	14	GFTFSS YA	65	ISYDG SNK	116	ARSSFVA TDY	167	NIGSKS	218	YDS	269	QVWDSS SDRGV
GPC3A-049	15	GYTFT GYY	66	INPNS GGT	117	ARHGGI GSMRSF DQ	168	SSNIGS NY	219	RNN	270	AAWDDS LSG
GPC3A-050	16	GYSFT GYY	67	MNPR SGGT	118	ARSGYR WLDV	169	SSNIGS NT	220	SNN	271	AAWDDS LNGPV
GPC3A-051	17	GGAFS SYA	68	IIPIFG TA	119	ARMLYL SGRYYW DS	170	SSNIGA GYD	221	GNS	272	QSYDSS LSGYV
GPC3A-052	18	GYTFT GYY	69	INPNS GGT	120	ARSHSSG YDK	171	SSNIGS NY	222	RNN	273	AAWDDS LSGYV
GPC3A-053	19	GGSISS SSYY	70	IYYSG ST	121	ARWWSG SYDT	172	SSNIGS NY	223	GNS	274	QSYDSS LSGSNV
GPC3A-054	20	GYTFT SYG	71	ISAYN GNT	122	ARIPMYS GSSDY	173	SSNIGS NY	224	RNN	275	AAWDDS LSGYV
GPC3A-055	21	GYTFT SYG	72	INPSG GST	123	ARWHGG PYDY	174	NIGSKS	225	YDS	276	QVWDSS SDHYV
GPC3A-056	22	GYSFN DYY	73	INPNN GDT	124	ARFSTH NWWWP TYDY	175	QSISSY	226	AAS	277	QQSYST PIT
GPC3A-057	23	GFTFSS YA	74	ISGSG GST	125	ARYNYM SSGFYDR	176	NIGSKS	227	YDS	278	QVWDSS SDHVV
GPC3A-058	24	GYTFA SHG	75	ISPYT GNT	126	ARGKRT LASCDF Y	177	NIGSKS	228	DDS	279	QVWDSS SDHV
GPC3A-059	25	GYTFT RYG	76	ISAYS DKT	127	ARSRWS YMDV	178	NIGSKS	229	YDS	280	QVWDSS SDHV
GPC3A-060	26	GYTFN SYA	77	ISAYN GNT	128	AREGYG SWAMDQ	179	NIGSES	230	DDD	281	QTWDSS TAI
GPC3A-061	27	GYTFT SYG	78	ISAYN GNT	129	ARKGSS QFDQ	180	NIGSKS	231	YDS	282	QVWDSS SDHYV
GPC3A-062	28	GGTFS SYA	79	IIPKIG TA	130	ARMYM DMGWG WGYWD W	181	SSNIGA GYD	232	GNS	283	QSYDSS LSGSYV
GPC3A-063	29	GYTFT SYG	80	INPSG GSA	131	ARDRLA SDAFDI	182	WSNIG SYT	233	GNN	284	AAWDD NLNGVV

[0189]

克隆编号	SEQ ID NO:	HCDR1	SEQ ID NO:	HCDR2	SEQ ID NO:	HCDR3	SEQ ID NO:	LCDR1	SEQ ID NO:	LCDR2	SEQ ID NO:	LCDR3
GPC3A-064	30	GYTFTIYG	81	ISPYNDNT	132	ARMGVG WG YAQDS	183	NIGSKS	234	DDT	285	QVWDRS SAHWV
GPC3A-067	31	GGTFS SYA	82	IIPFIGIT	133	ARGAEM SDY	184	NIGSKS	235	YDS	286	QVWDSS SDHV

[0190] 表7特异性识别与细胞表面结合的GPC3 V_H/V_L 序列的抗GPC3抗体部分 (CDR序列加下划线)

[0191]

克隆编号	SEQ ID NO:	V_H	SEQ ID NO:	V_L
GPC3A-034	307	QVQLQQWGAGLLKP SETLSLTCAVYGGSF <u>GYYSWIRQPPGKGL</u> EWIGEINHSGSTNYNP SLKSRVTISVDTSKNQ FSLELSSVTAADTAVY YC <u>ARGYGGRFDYWG</u> QGTLTVTVSS	358	QPVLTPPSASGTPGQ RVTISCSGSSSNIGSNN VIWYQQLPGAAPKLLI YSNHRRPSGVPDRFSG SRSGTSASLAISGLQSE DEADYYCA <u>AWDDSLD</u> <u>GYLFGTGT</u> KVTVLG
GPC3A-035	308	QVQLVQSGAEVKKPG ASVKVSCKASGYTFT <u>GYMHWRQAPGQ</u> GLEWMGWINPNSGG <u>TNYAQKFQGRVTMTR</u> DTSISTAYMELSRLRS DDTAVYYC <u>CARSWTSG</u> <u>FDYWGQGT</u> LVTVSS	359	QAVLTQPPSASQTPGQ MVTISCSGTSSNIGSNY VFWYQQLPGTAPKLLI <u>YKNFQRPSGVPGRFSG</u> SKSGTAASLAISGLRSE DEADYFCA <u>AWDDALS</u> <u>GYVFGAGT</u> KVTVLG
GPC3A-037	309	QVQLVESGGGLVQPG GSLRLSCAAS <u>GFTFSS</u> <u>YAMSWVRQAPGKGL</u> EWVSVIYSGGSSTYY ADSVKGRFTISRDN KNTLYLQMNSLRAED TAVYYC <u>CARTSYLNHG</u> <u>DYWGQGT</u> LVTVSS	360	QSVLTQPPSVSAAPGQ RVTISCSGTRSNIGSDY VSWYQHLPGTAPKLL <u>VYGDNL</u> RPSGIPDRFS ASKSGTSATLGITGLQT GDEADYYC <u>GTWDYTL</u> <u>NGVVF</u> GGGTKLTVLG
GPC3A-038	310	QVQLVQSGAEVKKPG ASVKVSCKASGYTFT <u>SYMHWRQAPGQG</u> <u>LEWMGIINPSGGSTSY</u> AQKFQGRVTMTRDTS TSTVYMELSSLRSED AVYYC <u>ARKVTGYDS</u> <u>WGQGT</u> LVTVSS	361	QSVLTQPPSVSVAPGK TARITCGGNNIGSKSV HWYQQKPGQAPVLVI <u>YYDS</u> DRPSGIPERFSGS NSGNTATLTISRVEAGD EADYYCQVWDSSSDH <u>VVF</u> GGGTKLTVLG

[0192]

克隆编号	SEQ ID NO:	V _H	SEQ ID NO:	V _L
GPC3A-039	311	QVQLVQSGGGLVHPG GSLRLSCAGSGFTFSS <u>YAMHWVRQAPGKGL</u> EWVSAIGTGGGTYYA DSVKGRFTISRDNAL NSLYLQMNSLRAEDT AVYYCARYGRKSIDA WGQGTLLTVSS	362	SYVLTQPPSVSVAPGK TARITCGGNNIGSKSV HWYQQKPGQAPVLVI YYDSDRPSGIPERFSGS NSGNTATLTISRVEAGD EADYYCQVWDSSSDH <u>WVFGGGTKLTVLG</u>
GPC3A-040	312	QVQLVQSGAEVKKPG ASVTVSCKASGYTFT <u>GYMHWRQAPGQ</u> GLEWMGWINPNSGG <u>TNYAQKFQGRVTMTR</u> DTSISTAYMELSRLRS DDTAVYYCARRGY GYDSWGQGTLLTVSS	363	LPVLTQPPSASGTPGQ RVTISCSGSSSNIGSNY VYWYQQLPGTAPKLLI YSNNQRPSGVPDRFSG SKSGTSASLAISGLRSE DEADYYCAAWDDSL <u>GYVFGTGTQVTVLG</u>
GPC3A-041	313	EVQLVQSGAEVKKPG ASVKVSCASGYTFT <u>GYMHWRQAPGQ</u> GLEWMGWINPNSGG <u>TNYAQKFQGRVTMTR</u> DTSISTAYMELSRLRS DDTAMYYCARSGKY <u>YGDKWGQGTLLTVS</u> S	364	QAVLTQPPSASQTPGQ MVTISCSGTSSNIGSNY VFWYQQLPGTAPKLLI YKNEQRPSGVPGRFSG SKSGTAASLAISGLRSE DEADYFCAAWDDALS <u>GYVFGAGTKVTVLG</u>
GPC3A-042	314	QVQLQQSGAEVKKP GASVKVSCASGYSE <u>TGYVYWMRQAPGK</u> GLEWMGWMNPRSG <u>GTNYAQKFQGRVTM</u> TRDTSISTAYMELSRL TSDDTAVYYCARSSY <u>YWADSWGQGTLLTV</u> SS	365	SYVLTQPPSASGTPGQ RVTISCFGSSSDIGSNS VFWYQQLPGAAPKLLI YSTQYRPSGVPDRFSG SKSGTSASLAISGLQSE DEAEYHCATWDDSLN <u>GYVFGSGTKVTVLG</u>
GPC3A-043	315	EVQLVQSGAEVKKPG ATVKVSCKVSGYTFT <u>DYYMHWVQAPGK</u> GLEWMGLVDPEDGE <u>TIYAEKFQGRVTITAD</u> TSTDYAMELSSLRSE DTAVYYCARELRDVA <u>YYPWGVEDFWGQGT</u> LTVSS	366	QSVLTQPPSASGTPGQ RVTISCSGSSSNIGTNY VYWYQQLPGTAPKLLI YRNNQRPSGVPDRFSG SESGTSASLAISGLRSE DEADYYCAVWDDSL GVVFGGGTKLTVLG

[0193]

克隆编号	SEQ ID NO:	V _H	SEQ ID NO:	V _L
GPC3A-044	316	QVQLQQWGAGLLKP SETLSLTCAYVGGSF <u>GGYWSWIRQPPGKGL</u> EWIGEINHSGSTNYNP SLKSRVTISVDTSKNQ FSLKLSSVTAADTAVY <u>YCARYYVPYLSDWG</u> QGTLTVTVSS	367	SYVLTQPPSVSVAPGK TARITCGGDNIGYKGV HWYQQKPGQAPVLV YDDSDRPSGIPERFSGS NSGNTATLTISRVEAGD EADYYCQVWDSSSDH <u>VVFGGGTKLTVLG</u>
GPC3A-045	317	QMQLVQSGGGLVKP GGSLRLSCAASGFTFS <u>DYYMSWIRQAPGKG</u> LEWVSYISSSGSTIYY ADSVKGRFTISRDN KNSLYLQMNSLRAED TAVYYCARASDLYGD <u>WGQGT</u> TLTVTVSS	368	QSVLTQPPSVSGTPGQ RVIISCPGSTSNIGTNTV NWYQQFPGTAPKLLIY <u>SNNQRPSGVPDRFSGS</u> KSGTSASLAISGLQSED EADYYCAAWDDSLNG <u>VVFGGGTKLTVLG</u>
GPC3A-046	318	QVQLVQSGAEVKKPG ASVTVSCKASGYRFS <u>NYGVS</u> WVRQAPGG LEWMGWISGSNGNT NYAQKFLGRVTMTD TSTTTAYMELSSLRSD DTAVYYCARGNRRY <u>YSPIIDP</u> WGQGT TLTVTVSS	369	QAVLTQPPSVSGTPGQ RVTISCSGSSSNFGSNT VHWYQQVPGTAPKLLI FSNTQRPSEIPDRFSGS KSGTSASLAISGLQSED EADYYCAAWDDSLTG <u>VVFGGGTKLTVLG</u>
GPC3A-047	319	QVQLVQSGAEVKKPG ASVKVSCKAPGYTFT <u>GYM</u> HWVRQAPGQ GLEWMGWINPNSGG <u>T</u> NYAQKFQGRVTMTR DTSISTAYMELSRLRS DDTAVYYCARSDYGS <u>LYDKW</u> GQGT TLTVTVSS	370	LPVLTQPPSASGTPGQ RVTISCSGSRSNIASND VYWYQQLPGTAPKRLI YKKNQRPSGVPDRFSA SKSGTSASLAISGLRSE DEADYYCAAWDDNLS <u>GYVFGT</u> GTKVTVLG
GPC3A-048	320	EVQLVESGGGEVQPG RSLRLSCAASGFTFSS <u>YAM</u> HWVRQAPGKGL EWVAVISYDGSNKYY ADSVKGRFTISRDN KNTLYLQMNSLRAED TAVYYCARSSFVATD <u>YWGQGT</u> TLTVTVSS	371	QPVLTQPPSVSVAPGK TARITCGGNNIGSKSV HWYQQKPGQAPVLVI YYDSDRPSGIPERFSGS NSGNTATLTISRVEAGD EADFYCQVWDSSSDR <u>GVFGGGTKLTVLG</u>
GPC3A-049	321	QVQLVQSGAEVKEPG ASVKVSCKASGYTFT <u>GYM</u> HWVRQAPGQ GLEWMGWINPNSGG <u>T</u> NYAQKFQGRVTMTR DTSISTAYMELSRLRS DDTAVYYCARHGGIG <u>SMRSFDQ</u> WGQGT TLTVTVSS	372	QAVLTQPSSASGTPGQ RVTISCSGGSSNIGSNY VYWYQQLPGTAPKLLI YRNNQRPSGVPDRFSG SKSGTSASLAISGLRSE DEADYYCAAWDDSL <u>GWVFGGR</u> TKLTVLG

[0194]

克隆编号	SEQ ID NO:	V _H	SEQ ID NO:	V _L
GPC3A-050	322	QITLKESGAEVKKPG ASVKVSCKASGYSFT <u>GYVYVWMRQAPGK</u> GLEWMGWMNPRSG <u>GTNYAQKFQGRVTM</u> TRDTSISTAYMELSRL TSDDTATYYCARSGY <u>RWLDVWGQGTTLTV</u> SS	373	QAVLTQPSSASGTPGQ RVTISCSGSSSNIGSNT VNWYQQLPGTAPKLLI YSNNQRPSGVPDRFSG SKSGTSASLAISGLQSE DEADYYCAAWDDSLN <u>GPVFGTGTKVTVLG</u>
GPC3A-051	323	QVQLVQSGAEVKKPG SSVKVSCKASGGAFS <u>SYAISWVRQAPGQGL</u> EWMGGIPIFGTANYA QKFQGRVTITADESTS TAYMELSSLRSEDYAV YYCARMYLKSGRYY <u>WDSWGQGTTLTVSS</u>	374	QAVLTQPSSASGAPGQ RVTISCTGGSSNIGAGY <u>DVHWYQQLPGTAPKL</u> LIYGNSNRPSGVPDRF SGSKSGTSASLAITGLQ AEDEADYYCQSYDSS <u>LSGYVFGTGTKVTVL</u> G
GPC3A-052	324	EVQLVESGAEVKKPG ASVKVSCKASGYTFT <u>GYVMHWVRQAPGQ</u> GLEWMGWINPNSGG <u>TNYAQKFQGRVTMTR</u> DTSISTAYMELSRLRS DDTAVYYCARSHSSG <u>YDKWGQGTTLTVSS</u>	375	QAVLTQPSSASGTPGQ RVTISCSGSSSNIGSNT VYWYQQLSGTAPKLLI YRNNQRPSGVPDRFSG SKSGTSASLAISGLRSE DEADYYCAAWDDSLN <u>GYVFGTGTKVTVLG</u>
GPC3A-053	325	QLQLQESGPGVLKPS ETLSLTCTVSGGSISS <u>SYVWGWIRQPPGKGL</u> EWIGSIYSGSTYYNP SLKSRVTISVDTSKNQ FSLKLSSVTAADTAVY YCARWWSGSYDTWG <u>QGTTLTVSS</u>	376	QSVLTQPPSASAAPGQ RVTISCSGTSSNIGSNT VWYQQLPGAAPRLL IYGNSNRPSGVPDRFS GSKSGTSASLAITGLQ AEDEADYYCQSYDSS <u>LSGSNVFGTGTKVTVL</u> G
GPC3A-054	326	QMQLVQSGAEVKKP GASVKVSCKASGYTF <u>TSYGISWVRQAPGQG</u> LEWMGWI SAYNGNT NYAQKLQGRVTMTT DTSTSTAYMELRSLRS DDTAVYYCARIPMYS <u>GSSDYWGQGTTLTVS</u> S	377	SYELTQPPSASGTPGQ RVTISCSGSSSNIGSNT VYWYQQLPGTAPKLLI YRNNQRPSGVPDRFSG SKSGTSASLAISGLRSE DEADYYCAAWDDSLN <u>GYVFGTGTKVTVLG</u>
GPC3A-055	327	QVQLVQSGAEVKKPG ASVKVSCKASGYTFT <u>SYVMHWVRQAPGQG</u> LEWMGIINPSGGSTSY AQKFQGRVTMTRDTS TSTVYMELSSLRSEDY AVYYCARWHGGPYD <u>YWGQGTTLTVSS</u>	378	QPVLTPPPSVSVAPGK TARITCGGNIGSKSV HWYQKPGQAPVLVI YYDSRPSGIPERFSGS NSGNTATLTISRVEAGD EADYYCQVWDSSSDH <u>YVFGTGTKVTVLG</u>

[0195]

克隆编号	SEQ ID NO:	V _H	SEQ ID NO:	V _L
GPC3A-056	328	QVQLQQSGAEVKKF GASVKVSCKASGYSE <u>NDYYIH</u> WVRQAPGQ GLEWMGW <u>INPN</u> NGD <u>TKYEKK</u> WQGRVTMT RDTSIITAYMELSSLR SDDTAVYYC <u>CARFSTH</u> <u>NWWWPTYDYWGQG</u> TLVTVSS	379	DIQLTQSPSSLASVGD RVTITCRASQSISSYLN WYQQKPGKAPKLLIY <u>AASSLQSGVPSRFSGS</u> GSGTDFTLTISSLQPED FATYYCQQSYSTPITFG QGTRLEIKR
GPC3A-057	329	EVQLVESGGGLIQPG GSLRLSCAASGFTFSS <u>YAMSWVRQAPGKGL</u> <u>EWVSAISGSGGSTYY</u> ADSVKGRFTISRDN KNTLYLQMNSLRAED TAVYYCARYNYMSSG <u>FYDRWGQGT</u> TLVTVSS	380	EIVLTQSPSVSVAPGKT ARITCGGN <u>NIGSKSVH</u> WYQQKPGQAPVLVIY <u>YDS</u> DRPSGIPERFSGSN SGNTATLTISRVEAGDE ADYYCQVWDSSSDHV <u>VFGGGTKVEIKR</u>
GPC3A-058	330	QVQLVQSGADVRKP GASVKVSCKASGYTF <u>ASHGISWVRQAPGQG</u> LEWLGWISPYTGNTN YAQKFQGRVTMATDT STSTAYMELRSLRSD <u>TAIYYCARGKRTLAS</u> <u>CFDYWGQGT</u> TLVTVSS	381	QSVLTQPPSVSVAPGK TARITCGGN <u>NIGSKSV</u> HWYQQKPGQAPVLV <u>YDD</u> SDRPSGIPERFSGS NSGNTATLTISRVEAGD EADYYCQVWDSSSDH <u>VFGTGT</u> KVTVLG
GPC3A-059	331	QVQLVQSGAEVKKPG ASVTVSCKASGYTFT <u>RYGITWVRQAPGQGL</u> EWMGWISAYS <u>DKTN</u> YAQKLQGRVTMTTDI STNTAYMELSSLRSED TAVYYCARSRSYM <u>DVWGQGT</u> TLVTVSS	382	SYVLTQPPSVSVAPGK TARITCGGN <u>NIGSKSV</u> YWYQQKPGQAPVLVI <u>YYD</u> SDRPSGIPERFSGS NSGNTATLTISRVEAGD EADYYCQVWDSSSDH <u>VFGTGT</u> KVTVLG
GPC3A-060	332	QVQLVQSGGEVKKPG ASVKVSCKASGYTFN <u>SYAISWVRQAPGQGL</u> EWMGWISAY <u>NGNTN</u> YAQKLQGRVTMTTDT STNTAFMELRSLRSD DTAVYYC <u>AREGYGS</u> <u>WAMDQWGQGT</u> TLVTVSS	383	SYVLTQPPSVSVAPGK TARITCGGN <u>NIGSESV</u> HWYQQKPGQAPLLV <u>YDDD</u> DRPSGIPERFSG SNS EDTATLTISGTQAL DEAEYYCQTWDSSSTAI FGTGTKLTVLG
GPC3A-061	333	QVQLVQSGAEVKKPG ASVKVSCKASGYTFT <u>SYGISWVRQTPGQGL</u> EWMGWISAY <u>NGNTN</u> YAQKLQGRVTMTTDT STSTAYMELSSLRSED TAVYYCARKGSSQFD <u>QWGQGT</u> TLVTVSS	384	QPVLTPPPSVSVAPGK TARITCGGN <u>NIGSKSV</u> HWYQQKPGQAPVLVI <u>YYD</u> SDRPSGIPERFSGS NSGNTATLTISRVEAGD EADYYCQVWDSSSDH <u>YVFGTGT</u> KVTVLG

[0196]

克隆编号	SEQ ID NO:	V _H	SEQ ID NO:	V _L
GPC3A-062	334	QMQLVQSGSELKKPG ASVKVSCKASGGTFS <u>SYAISWVRQAPGQGL</u> EWMGGIIPKIGTANYA QKFQGRVTITADESTS TAYMELSSLRSEDTA MYYCARMYMDMGW GWGYWDWWGQGT LTVSS	385	QSVLTQPPSVSGAPGQ RVTISCTGSSSNIGAGY <u>DVHWYQQLPGTAPKL</u> LIYGNSNWPSGVPDRF SGSKSGTSASLAITGLR AEDEADYYCQSYDSS <u>LSGSYVFGTGKTVTL</u> G
GPC3A-063	335	QVQLVQSGAEVKKPG ASVKVSCKASGYTFT <u>SYVMHWVRQAPGQG</u> LEWMGIINPSGGSAS YAQKFQGRVTMTTRDT STSTVYMELSSLRSED TAVYYCARDRLASDA <u>FDIWGQGTMTVTSS</u>	386	QTVVTQPPSASGTPGQ RVTISCSGSWSNIGSYT VNWYQHLPGTAPKLLI <u>SGNNQRPSGVPGRFSG</u> SKSGTSASLAISGLQSE DEADYHCAAWDDNL NGVVFGGGTKLTVLG
GPC3A-064	336	QMQLVQSGAEVKKP GASVKVSCKASGYTF <u>TIYGISWVRQAPGQG</u> LEWMGWISPYNDNTI YAQKVQGRVTMTTD TSTSTAYMELRSLRSD DTAVYYCARMGVGW <u>GQAQDSWGQGT</u> LTVSS	387	LPVLTQPPSLSVAPGKT ARLTCGGNNIGSKSVH WYHQKPGQAPVLVY <u>DDTDRPSGIPERFSGSN</u> SGNTAALTISRVEVD EADYYCQVWDRSSAH <u>WVFGGGTKLTVLG</u>
GPC3A-067	337	EVQLVQSGAEVKKPG SSVKVSCKASGGTFS <u>SYAISWVRQAPGQGL</u> EWMGRIIPFIGNYA QKFQGRVTITADKSTS TAYMELSSLRSED TAVYYCARGAEMSDYWG <u>QGT</u> LTVSS	388	QSVLTQPPSVSVAPGK TARITCGGNNIGSKSV HWYQKPGQAPVLVI <u>YYDSRPSGIPERFSGS</u> NSGNTATLTISRVEAGD EADYYCQVWDSSSDH <u>VVFGGGTKLTVLG</u>

[0197] 在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分包括:i) V_H,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:1的HC-CDR1或包括最多约5 (例如约1、2、3、4或5中的任一者) 个氨基酸取代的其变异体、氨基酸序列为SEQ ID NO:52的HC-CDR2或包括最多约5 (例如约1、2、3、4或5中的任一者) 个氨基酸取代的其变异体,及氨基酸序列为SEQ ID NO:103的HC-CDR3或包括最多约5 (例如约1、2、3、4或5中的任一者) 个氨基酸取代的其变异体;以及ii) V_L,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:154的LC-CDR1或包括最多约5 (例如约1、2、3、4或5中的任一者) 个氨基酸取代的其变异体、氨基酸序列为SEQ ID NO:205的LC-CDR2或包括最多约3 (例如约1、2或3中的任一者) 个氨基酸取代的其变异体,及氨基酸序列为SEQ ID NO:256的LC-CDR3或包括最多约5 (例如约1、2、3、4或5中的任一者) 个氨基酸取代的其变异体。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分包括:(1) i) V_H,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:1的HC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:52的HC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:103的HC-CDR3,或HC-CDR序列中包括最多约5 (例如约1、2、3、4或5中的任一者) 个氨基酸取代的其变异体;以及ii) V_L,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:154的LC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:205的LC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:256的LC-CDR3,或LC-CDR序列中包括最多约5 (例如约1、2、3、4或5中的任一者) 个氨基酸取代的其变异体。在一些实施例中,氨基酸取代发生于HC-CDR1或HC-CDR2。在一些实施例中,

氨基酸取代发生于LC-CDR1或LC-CDR2中。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分包括i) V_H ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:1的HC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:52的HC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:103的HC-CDR3;以及ii) V_L ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:154的LC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:205的LC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:256的LC-CDR3。

[0198] 在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分包括:i) V_H ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:2的HC-CDR1或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体、氨基酸序列为SEQ ID NO:53的HC-CDR2或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体,及氨基酸序列为SEQ ID NO:104的HC-CDR3或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体;以及ii) V_L ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:155的LC-CDR1或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体、氨基酸序列为SEQ ID NO:206的LC-CDR2或包括最多约3(例如约1、2或3中的任一者)个氨基酸取代的其变异体,及氨基酸序列为SEQ ID NO:257的LC-CDR3或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分包括:(1) i) V_H ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:2的HC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:53的HC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:104的HC-CDR3,或HC-CDR序列中包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体;以及ii) V_L ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:155的LC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:206的LC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:257的LC-CDR3,或LC-CDR序列中包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体。在一些实施例中,氨基酸取代发生于HC-CDR1或HC-CDR2中。在一些实施例中,氨基酸取代发生于LC-CDR1或LC-CDR2中。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分包括i) V_H ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:2的HC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:53的HC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:104的HC-CDR3;以及ii) V_L ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:155的LC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:206的LC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:257的LC-CDR3。

[0199] 在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分包括:i) V_H ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:3的HC-CDR1或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体、氨基酸序列为SEQ ID NO:54的HC-CDR2或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体,及氨基酸序列为SEQ ID NO:105的HC-CDR3或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体;以及ii) V_L ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:156的LC-CDR1或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体、氨基酸序列为SEQ ID NO:207的LC-CDR2或包括最多约3(例如约1、2或3中的任一者)个氨基酸取代的其变异体,及氨基酸序列为SEQ ID NO:258的LC-CDR3或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分包括:(1) i) V_H ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:3的HC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:54的HC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:105的HC-CDR3,或HC-CDR序列中包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体;以及ii) V_L ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:156的LC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:207的LC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:258的LC-CDR3,或LC-CDR序列中包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体。在一些实施例中,氨基酸取代发生于HC-CDR1或HC-CDR2中。在一些实施例中,氨基酸取代发生于LC-CDR1或LC-CDR2中。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分包括i) V_H ,

其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:3的HC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:54的HC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:105的HC-CDR3;以及ii) V_L ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:156的LC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:207的LC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:258的LC-CDR3。

[0200] 在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分包括:i) V_H ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:4的HC-CDR1或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体、氨基酸序列为SEQ ID NO:55的HC-CDR2或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体,及氨基酸序列为SEQ ID NO:106的HC-CDR3或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体;以及ii) V_L ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:157的LC-CDR1或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体、氨基酸序列为SEQ ID NO:208的LC-CDR2或包括最多约3(例如约1、2或3中的任一者)个氨基酸取代的其变异体,及氨基酸序列为SEQ ID NO:259的LC-CDR3或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分包括:(1) i) V_H ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:4的HC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:55的HC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:106的HC-CDR3,或HC-CDR序列中包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体;以及ii) V_L ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:157的LC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:208的LC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:259的LC-CDR3,或LC-CDR序列中包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体。在一些实施例中,氨基酸取代发生于HC-CDR1或HC-CDR2中。在一些实施例中,氨基酸取代发生于LC-CDR1或LC-CDR2中。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分包括i) V_H ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:4的HC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:55的HC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:106的HC-CDR3;以及ii) V_L ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:157的LC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:208的LC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:259的LC-CDR3。

[0201] 在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分包括:i) V_H ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:5的HC-CDR1或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体、氨基酸序列为SEQ ID NO:56的HC-CDR2或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体,及氨基酸序列为SEQ ID NO:107的HC-CDR3或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体;以及ii) V_L ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:158的LC-CDR1或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体、氨基酸序列为SEQ ID NO:209的LC-CDR2或包括最多约3(例如约1、2或3中的任一者)个氨基酸取代的其变异体,及氨基酸序列为SEQ ID NO:260的LC-CDR3或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分包括:(1) i) V_H ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:5的HC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:56的HC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:107的HC-CDR3,或HC-CDR序列中包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体;以及ii) V_L ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:158的LC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:209的LC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:260的LC-CDR3,或LC-CDR序列中包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体。在一些实施例中,氨基酸取代发生于HC-CDR1或HC-CDR2中。在一些实施例

中,氨基酸取代发生于LC-CDR1或LC-CDR2中。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分包括i) V_H ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:5的HC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:56的HC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:107的HC-CDR3;以及ii) V_L ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:158的LC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:209的LC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:260的LC-CDR3。

[0202] 在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分包括:i) V_H ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:6的HC-CDR1或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体、氨基酸序列为SEQ ID NO:57的HC-CDR2或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体,及氨基酸序列为SEQ ID NO:108的HC-CDR3或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体;以及ii) V_L ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:159的LC-CDR1或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体、氨基酸序列为SEQ ID NO:210的LC-CDR2或包括最多约3(例如约1、2或3中的任一者)个氨基酸取代的其变异体,及氨基酸序列为SEQ ID NO:261的LC-CDR3或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分包括:(1) i) V_H ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:6的HC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:57的HC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:108的HC-CDR3,或HC-CDR序列中包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体;以及ii) V_L ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:159的LC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:210的LC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:261的LC-CDR3,或LC-CDR序列中包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体。在一些实施例中,氨基酸取代发生于HC-CDR1或HC-CDR2中。在一些实施例中,氨基酸取代发生于LC-CDR1或LC-CDR2中。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分包括i) V_H ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:6的HC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:57的HC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:108的HC-CDR3;以及ii) V_L ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:159的LC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:210的LC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:261的LC-CDR3。

[0203] 在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分包括:i) V_H ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:7的HC-CDR1或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体、氨基酸序列为SEQ ID NO:58的HC-CDR2或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体,及氨基酸序列为SEQ ID NO:109的HC-CDR3或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体;以及ii) V_L ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:160的LC-CDR1或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体、氨基酸序列为SEQ ID NO:211的LC-CDR2或包括最多约3(例如约1、2或3中的任一者)个氨基酸取代的其变异体,及氨基酸序列为SEQ ID NO:262的LC-CDR3或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分包括:(1) i) V_H ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:7的HC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:58的HC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:109的HC-CDR3,或HC-CDR序列中包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体;以及ii) V_L ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:160的LC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:211的LC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:262的LC-CDR3,或LC-CDR序列中包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取

代的其变异体。在一些实施例中,氨基酸取代发生于HC-CDR1或HC-CDR2中。在一些实施例中,氨基酸取代发生于LC-CDR1或LC-CDR2中。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分包括i) V_H , 其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:7的HC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:58的HC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:109的HC-CDR3;以及ii) V_L , 其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:160的LC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:211的LC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:262的LC-CDR3。

[0204] 在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分包括:i) V_H , 其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:8的HC-CDR1或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体、氨基酸序列为SEQ ID NO:59的HC-CDR2或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体,及氨基酸序列为SEQ ID NO:110的HC-CDR3或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体;以及ii) V_L , 其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:161的LC-CDR1或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体、氨基酸序列为SEQ ID NO:212的LC-CDR2或包括最多约3(例如约1、2或3中的任一者)个氨基酸取代的其变异体,及氨基酸序列为SEQ ID NO:263的LC-CDR3或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分包括:(1) i) V_H , 其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:8的HC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:59的HC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:110的HC-CDR3,或HC-CDR序列中包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体;以及ii) V_L , 其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:161的LC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:212的LC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:263的LC-CDR3,或LC-CDR序列中包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体。在一些实施例中,氨基酸取代发生于HC-CDR1或HC-CDR2中。在一些实施例中,氨基酸取代发生于LC-CDR1或LC-CDR2中。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分包括i) V_H , 其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:8的HC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:59的HC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:110的HC-CDR3;以及ii) V_L , 其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:161的LC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:212的LC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:263的LC-CDR3。

[0205] 在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分包括:i) V_H , 其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:9的HC-CDR1或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体、氨基酸序列为SEQ ID NO:60的HC-CDR2或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体,及氨基酸序列为SEQ ID NO:111的HC-CDR3或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体;以及ii) V_L , 其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:162的LC-CDR1或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体、氨基酸序列为SEQ ID NO:213的LC-CDR2或包括最多约3(例如约1、2或3中的任一者)个氨基酸取代的其变异体,及氨基酸序列为SEQ ID NO:264的LC-CDR3或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分包括:(1) i) V_H , 其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:9的HC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:60的HC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:111的HC-CDR3,或HC-CDR序列中包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体;以及ii) V_L , 其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:162的LC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:213的LC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:

264的LC-CDR3,或LC-CDR序列中包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体。在一些实施例中,氨基酸取代发生于HC-CDR1或HC-CDR2中。在一些实施例中,氨基酸取代发生于LC-CDR1或LC-CDR2中。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分包括i)V_H,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:9的HC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:60的HC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:111的HC-CDR3;以及ii)V_L,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:162的LC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:213的LC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:264的LC-CDR3。

[0206] 在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分包括:i)V_H,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:10的HC-CDR1或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体、氨基酸序列为SEQ ID NO:61的HC-CDR2或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体,及氨基酸序列为SEQ ID NO:112的HC-CDR3或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体;以及ii)V_L,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:163的LC-CDR1或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体、氨基酸序列为SEQ ID NO:214的LC-CDR2或包括最多约3(例如约1、2或3中的任一者)个氨基酸取代的其变异体,及氨基酸序列为SEQ ID NO:265的LC-CDR3或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分包括:(1)i)V_H,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:10的HC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:61的HC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:112的HC-CDR3,或HC-CDR序列中包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体;以及ii)V_L,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:163的LC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:214的LC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:265的LC-CDR3,或LC-CDR序列中包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体。在一些实施例中,氨基酸取代发生于HC-CDR1或HC-CDR2中。在一些实施例中,氨基酸取代发生于LC-CDR1或LC-CDR2中。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分包括i)V_H,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:10的HC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:61的HC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:112的HC-CDR3;以及ii)V_L,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:163的LC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:214的LC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:265的LC-CDR3。

[0207] 在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分包括:i)V_H,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:11的HC-CDR1或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体、氨基酸序列为SEQ ID NO:62的HC-CDR2或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体,及氨基酸序列为SEQ ID NO:113的HC-CDR3或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体;以及ii)V_L,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:164的LC-CDR1或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体、氨基酸序列为SEQ ID NO:215的LC-CDR2或包括最多约3(例如约1、2或3中的任一者)个氨基酸取代的其变异体,及氨基酸序列为SEQ ID NO:266的LC-CDR3或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分包括:(1)i)V_H,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:11的HC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:62的HC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:113的HC-CDR3,或HC-CDR序列中包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体;以及ii)V_L,其包括氨基酸序列为SEQ

ID NO:164的LC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:215的LC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:266的LC-CDR3,或LC-CDR序列中包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体。在一些实施例中,氨基酸取代发生于HC-CDR1或HC-CDR2中。在一些实施例中,氨基酸取代发生于LC-CDR1或LC-CDR2中。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分包括i)V_H,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:11的HC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:62的HC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:113的HC-CDR3;以及ii)V_L,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:164的LC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:215的LC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:266的LC-CDR3。

[0208] 在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分包括:i)V_H,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:12的HC-CDR1或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体、氨基酸序列为SEQ ID NO:63的HC-CDR2或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体,及氨基酸序列为SEQ ID NO:114的HC-CDR3或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体;以及ii)V_L,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:165的LC-CDR1或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体、氨基酸序列为SEQ ID NO:216的LC-CDR2或包括最多约3(例如约1、2或3中的任一者)个氨基酸取代的其变异体,及氨基酸序列为SEQ ID NO:267的LC-CDR3或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分包括:(1)i)V_H,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:12的HC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:63的HC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:114的HC-CDR3,或HC-CDR序列中包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体;以及ii)V_L,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:165的LC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:216的LC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:267的LC-CDR3,或LC-CDR序列中包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体。在一些实施例中,氨基酸取代发生于HC-CDR1或HC-CDR2中。在一些实施例中,氨基酸取代发生于LC-CDR1或LC-CDR2中。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分包括i)V_H,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:12的HC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:63的HC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:114的HC-CDR3;以及ii)V_L,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:165的LC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:216的LC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:267的LC-CDR3。

[0209] 在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分包括:i)V_H,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:13的HC-CDR1或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体、氨基酸序列为SEQ ID NO:64的HC-CDR2或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体,及氨基酸序列为SEQ ID NO:115的HC-CDR3或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体;以及ii)V_L,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:166的LC-CDR1或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体、氨基酸序列为SEQ ID NO:217的LC-CDR2或包括最多约3(例如约1、2或3中的任一者)个氨基酸取代的其变异体,及氨基酸序列为SEQ ID NO:268的LC-CDR3或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分包括:(1)i)V_H,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:13的HC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:64的HC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:115的HC-CDR3,或HC-CDR序列中包括最多约5(例如约

1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体;以及ii) V_L ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:166的LC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:217的LC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:268的LC-CDR3,或LC-CDR序列中包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体。在一些实施例中,氨基酸取代发生于HC-CDR1或HC-CDR2。在一些实施例中,氨基酸取代发生于LC-CDR1或LC-CDR2中。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分包括i) V_H ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:13的HC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:64的HC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:115的HC-CDR3;以及ii) V_L ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:166的LC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:217的LC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:268的LC-CDR3。

[0210] 在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分包括:i) V_H ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:14的HC-CDR1或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体、氨基酸序列为SEQ ID NO:65的HC-CDR2或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体,及氨基酸序列为SEQ ID NO:116的HC-CDR3或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体;以及ii) V_L ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:167的LC-CDR1或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体、氨基酸序列为SEQ ID NO:218的LC-CDR2或包括最多约3(例如约1、2或3中的任一者)个氨基酸取代的其变异体,及氨基酸序列为SEQ ID NO:269的LC-CDR3或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分包括:(1) i) V_H ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:14的HC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:65的HC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:116的HC-CDR3,或HC-CDR序列中包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体;以及ii) V_L ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:167的LC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:218的LC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:269的LC-CDR3,或LC-CDR序列中包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体。在一些实施例中,氨基酸取代发生于HC-CDR1或HC-CDR2中。在一些实施例中,氨基酸取代发生于LC-CDR1或LC-CDR2中。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分包括i) V_H ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:14的HC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:65的HC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:116的HC-CDR3;以及ii) V_L ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:167的LC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:218的LC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:269的LC-CDR3。

[0211] 在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分包括:i) V_H ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:15的HC-CDR1或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体、氨基酸序列为SEQ ID NO:66的HC-CDR2或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体,及氨基酸序列为SEQ ID NO:117的HC-CDR3或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体;以及ii) V_L ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:168的LC-CDR1或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体、氨基酸序列为SEQ ID NO:219的LC-CDR2或包括最多约3(例如约1、2或3中的任一者)个氨基酸取代的其变异体,及氨基酸序列为SEQ ID NO:270的LC-CDR3或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分包括:(1) i) V_H ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:15的HC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:66的HC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:117的HC-CDR3,或HC-CDR序列中包括最多约5(例如约

1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体;以及ii) V_L ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:168的LC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:219的LC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:270的LC-CDR3,或LC-CDR序列中包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体。在一些实施例中,氨基酸取代发生于HC-CDR1或HC-CDR2中。在一些实施例中,氨基酸取代发生于LC-CDR1或LC-CDR2中。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分包括i) V_H ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:15的HC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:66的HC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:117的HC-CDR3;以及ii) V_L ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:168的LC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:219的LC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:270的LC-CDR3。

[0212] 在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分包括:i) V_H ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:16的HC-CDR1或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体、氨基酸序列为SEQ ID NO:67的HC-CDR2或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体,及氨基酸序列为SEQ ID NO:118的HC-CDR3或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体;以及ii) V_L ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:169的LC-CDR1或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体、氨基酸序列为SEQ ID NO:220的LC-CDR2或包括最多约3(例如约1、2或3中的任一者)个氨基酸取代的其变异体,及氨基酸序列为SEQ ID NO:271的LC-CDR3或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分包括:(1)i) V_H ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:16的HC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:67的HC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:118的HC-CDR3,或HC-CDR序列中包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体;以及ii) V_L ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:169的LC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:220的LC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:271的LC-CDR3,或LC-CDR序列中包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体。在一些实施例中,氨基酸取代发生于HC-CDR1或HC-CDR2中。在一些实施例中,氨基酸取代发生于LC-CDR1或LC-CDR2中。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分包括i) V_H ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:16的HC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:67的HC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:118的HC-CDR3;以及ii) V_L ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:169的LC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:220的LC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:271的LC-CDR3。

[0213] 在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分包括:i) V_H ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:17的HC-CDR1或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体、氨基酸序列为SEQ ID NO:68的HC-CDR2或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体,及氨基酸序列为SEQ ID NO:119的HC-CDR3或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体;以及ii) V_L ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:170的LC-CDR1或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体、氨基酸序列为SEQ ID NO:221的LC-CDR2或包括最多约3(例如约1、2或3中的任一者)个氨基酸取代的其变异体,及氨基酸序列为SEQ ID NO:272的LC-CDR3或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分包括:(1)i) V_H ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:17的HC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:68的

HC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:119的HC-CDR3,或HC-CDR序列中包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体;以及ii) V_L ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:170的LC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:221的LC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:272的LC-CDR3;或LC-CDR序列中包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体。在一些实施例中,氨基酸取代发生于HC-CDR1或HC-CDR2中。在一些实施例中,氨基酸取代发生于LC-CDR1或LC-CDR2中。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分包括i) V_H ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:17的HC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:68的HC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:119的HC-CDR3;以及ii) V_L ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:170的LC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:221的LC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:272的LC-CDR3。

[0214] 在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分包括:i) V_H ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:18的HC-CDR1或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体、氨基酸序列为SEQ ID NO:69的HC-CDR2或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体,及氨基酸序列为SEQ ID NO:120的HC-CDR3或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体;以及ii) V_L ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:171的LC-CDR1或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体、氨基酸序列为SEQ ID NO:222的LC-CDR2或包括最多约3(例如约1、2或3中的任一者)个氨基酸取代的其变异体,及氨基酸序列为SEQ ID NO:273的LC-CDR3或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分包括:(1) i) V_H ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:18的HC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:69的HC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:120的HC-CDR3,或HC-CDR序列中包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体;以及ii) V_L ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:171的LC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:222的LC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:273的LC-CDR3,或LC-CDR序列中包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体。在一些实施例中,氨基酸取代发生于HC-CDR1或HC-CDR2中。在一些实施例中,氨基酸取代发生于LC-CDR1或LC-CDR2中。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分包括i) V_H ,包括氨基酸序列为SEQ ID NO:18的HC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:69的HC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:120的HC-CDR3;以及ii) V_L ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:171的LC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:222的LC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:273的LC-CDR3。

[0215] 在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分包括:i) V_H ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:19的HC-CDR1或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体、氨基酸序列为SEQ ID NO:70的HC-CDR2或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体及氨基酸序列为SEQ ID NO:121的HC-CDR3,或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体;以及ii) V_L ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:172的LC-CDR1或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体、氨基酸序列为SEQ ID NO:223的LC-CDR2或包括最多约3(例如约1、2或3中的任一者)个氨基酸取代的其变异体,及氨基酸序列为SEQ ID NO:274的LC-CDR3或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分包括:(1) i) V_H ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:19的HC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:70的

HC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:121的HC-CDR3,或HC-CDR序列中包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体;以及ii) V_L ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:172的LC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:223的LC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:274的LC-CDR3,或LC-CDR序列中包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体。在一些实施例中,氨基酸取代发生于HC-CDR1或HC-CDR2中。在一些实施例中,氨基酸取代发生于LC-CDR1或LC-CDR2中。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分包括i) V_H ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:19的HC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:70的HC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:121的HC-CDR3;以及ii) V_L ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:172的LC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:223的LC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:274的LC-CDR3。

[0216] 在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分包括:i) V_H ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:20的HC-CDR1或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体、氨基酸序列为SEQ ID NO:71的HC-CDR2或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体,及氨基酸序列为SEQ ID NO:122的HC-CDR3或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体;以及ii) V_L ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:173的LC-CDR1或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体、氨基酸序列为SEQ ID NO:224的LC-CDR2或包括最多约3(例如约1、2或3中的任一者)个氨基酸取代的其变异体,及氨基酸序列为SEQ ID NO:275的LC-CDR3或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分包括:(1) i) V_H ,包括氨基酸序列为SEQ ID NO:20的HC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:71的HC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:122的HC-CDR3,或HC-CDR序列中包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体;以及ii) V_L ,包括氨基酸序列为SEQ ID NO:173的LC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:224的LC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:275的LC-CDR3,或LC-CDR序列中包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体。在一些实施例中,氨基酸取代发生于HC-CDR1或HC-CDR2中。在一些实施例中,氨基酸取代发生于LC-CDR1或LC-CDR2中。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分包括i) V_H ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:20的HC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:71的HC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:122的HC-CDR3;以及ii) V_L ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:173的LC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:224的LC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:275的LC-CDR3。

[0217] 在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分包括:i) V_H ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:21的HC-CDR1或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体、氨基酸序列为SEQ ID NO:72的HC-CDR2或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体,及氨基酸序列为SEQ ID NO:123的HC-CDR3或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体;以及ii) V_L ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:174的LC-CDR1或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体、氨基酸序列为SEQ ID NO:225的LC-CDR2或包括最多约3(例如约1、2或3中的任一者)个氨基酸取代的其变异体,及氨基酸序列为SEQ ID NO:276的LC-CDR3或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分包括:(1) i) V_H ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:21的HC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:72的

HC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:123的HC-CDR3,或HC-CDR序列中包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体;以及ii) V_L ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:174的LC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:225的LC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:276的LC-CDR3,或LC-CDR序列中包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体。在一些实施例中,氨基酸取代发生于HC-CDR1或HC-CDR2中。在一些实施例中,氨基酸取代发生于LC-CDR1或LC-CDR2中。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分包括i) V_H ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:21的HC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:72的HC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:123的HC-CDR3;以及ii) V_L ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:174的LC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:225的LC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:276的LC-CDR3。

[0218] 在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分包括:i) V_H ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:22的HC-CDR1或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体、氨基酸序列为SEQ ID NO:73的HC-CDR2或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体及氨基酸序列为SEQ ID NO:124的HC-CDR3,或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体;以及ii) V_L ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:175的LC-CDR1或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体、氨基酸序列为SEQ ID NO:226的LC-CDR2或包括最多约3(例如约1、2或3中的任一者)个氨基酸取代的其变异体及氨基酸序列为SEQ ID NO:277的LC-CDR3,或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分包括:(1) i) V_H ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:22的HC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:73的HC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:124的HC-CDR3,或HC-CDR序列中包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体;以及ii) V_L ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:175的LC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:226的LC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:277的LC-CDR3,或LC-CDR序列中包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体。在一些实施例中,氨基酸取代发生于HC-CDR1或HC-CDR2中。在一些实施例中,氨基酸取代发生于LC-CDR1或LC-CDR2中。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分包括i) V_H ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:22的HC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:73的HC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:124的HC-CDR3;以及ii) V_L ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:175的LC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:226的LC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:277的LC-CDR3。

[0219] 在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分包括:i) V_H ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:23的HC-CDR1或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体、氨基酸序列为SEQ ID NO:74的HC-CDR2或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体,及氨基酸序列为SEQ ID NO:125的HC-CDR3或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体;以及ii) V_L ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:176的LC-CDR1或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体、氨基酸序列为SEQ ID NO:227的LC-CDR2或包括最多约3(例如约1、2或3中的任一者)个氨基酸取代的其变异体,及氨基酸序列为SEQ ID NO:278的LC-CDR3或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分包

括：(1) i) V_H ，其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:23的HC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:74的HC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:125的HC-CDR3，或HC-CDR序列中包括最多约5（例如约1、2、3、4或5中的任一者）个氨基酸取代的其变异体；以及ii) V_L ，其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:176的LC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:227的LC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:278的LC-CDR3，或LC-CDR序列中包括最多约5（例如约1、2、3、4或5中的任一者）个氨基酸取代的其变异体。在一些实施例中，氨基酸取代发生于HC-CDR1或HC-CDR2中。在一些实施例中，氨基酸取代发生于LC-CDR1或LC-CDR2中。在一些实施例中，抗nGPC3抗体部分包括i) V_H ，其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:23的HC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:74的HC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:125的HC-CDR3；以及ii) V_L ，其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:176的LC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:227的LC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:278的LC-CDR3。

[0220] 在一些实施例中，抗nGPC3抗体部分包括：i) V_H ，其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:24的HC-CDR1或包括最多约5（例如约1、2、3、4或5中的任一者）个氨基酸取代的其变异体、氨基酸序列为SEQ ID NO:75的HC-CDR2或包括最多约5（例如约1、2、3、4或5中的任一者）个氨基酸取代的其变异体，及氨基酸序列为SEQ ID NO:126的HC-CDR3或包括最多约5（例如约1、2、3、4或5中的任一者）个氨基酸取代的其变异体；以及ii) V_L ，其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:177的LC-CDR1或包括最多约5（例如约1、2、3、4或5中的任一者）个氨基酸取代的其变异体、氨基酸序列为SEQ ID NO:228的LC-CDR2或包括最多约3（例如约1、2或3中的任一者）个氨基酸取代的其变异体，及氨基酸序列为SEQ ID NO:279的LC-CDR3或包括最多约5（例如约1、2、3、4或5中的任一者）个氨基酸取代的其变异体。在一些实施例中，抗nGPC3抗体部分包括：(1) i) V_H ，其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:24的HC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:75的HC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:126的HC-CDR3，或HC-CDR序列中包括最多约5（例如约1、2、3、4或5中的任一者）个氨基酸取代的其变异体；以及ii) V_L ，其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:177的LC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:228的LC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:279的LC-CDR3，或LC-CDR序列中包括最多约5（例如约1、2、3、4或5中的任一者）个氨基酸取代的其变异体。在一些实施例中，氨基酸取代发生于HC-CDR1或HC-CDR2中。在一些实施例中，氨基酸取代发生于LC-CDR1或LC-CDR2中。在一些实施例中，抗nGPC3抗体部分包括i) V_H ，其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:24的HC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:75的HC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:126的HC-CDR3；以及ii) V_L ，其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:177的LC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:228的LC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:279的LC-CDR3。

[0221] 在一些实施例中，抗nGPC3抗体部分包括：i) V_H ，其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:25的HC-CDR1或包括最多约5（例如约1、2、3、4或5中的任一者）个氨基酸取代的其变异体、氨基酸序列为SEQ ID NO:76的HC-CDR2或包括最多约5（例如约1、2、3、4或5中的任一者）个氨基酸取代的其变异体，及氨基酸序列为SEQ ID NO:127的HC-CDR3或包括最多约5（例如约1、2、3、4或5中的任一者）个氨基酸取代的其变异体；以及ii) V_L ，其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:178的LC-CDR1或包括最多约5（例如约1、2、3、4或5中的任一者）个氨基酸取代的其变异体、氨基酸序列为SEQ ID NO:229的LC-CDR2或包括最多约3（例如约1、2或3中的任一者）个氨基酸取代的其变异体，及氨基酸序列为SEQ ID NO:280的LC-CDR3或包括最多约5（例如约

1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分包括:(1) i) V_H ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:25的HC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:76的HC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:127的HC-CDR3,或HC-CDR序列中包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体;以及ii) V_L ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:178的LC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:229的LC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:280的LC-CDR3,或LC-CDR序列中包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体。在一些实施例中,氨基酸取代发生于HC-CDR1或HC-CDR2中。在一些实施例中,氨基酸取代发生于LC-CDR1或LC-CDR2中。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分包括i) V_H ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:25的HC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:76的HC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:127的HC-CDR3;以及ii) V_L ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:178的LC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:229的LC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:280的LC-CDR3。

[0222] 在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分包括:i) V_H ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:26的HC-CDR1或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体、氨基酸序列为SEQ ID NO:77的HC-CDR2或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体,及氨基酸序列为SEQ ID NO:128的HC-CDR3或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体;以及ii) V_L ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:179的LC-CDR1或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体、氨基酸序列为SEQ ID NO:230的LC-CDR2或包括最多约3(例如约1、2或3中的任一者)个氨基酸取代的其变异体,及氨基酸序列为SEQ ID NO:281的LC-CDR3或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分包括:(1) i) V_H ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:26的HC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:77的HC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:128的HC-CDR3,或HC-CDR序列中包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代;以及ii) V_L ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:179的LC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:230的LC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:281的LC-CDR3,或LC-CDR序列中包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体。在一些实施例中,氨基酸取代发生于HC-CDR1或HC-CDR2中。在一些实施例中,氨基酸取代发生于LC-CDR1或LC-CDR2中。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分包括i) V_H ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:26的HC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:77的HC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:128的HC-CDR3;以及ii) V_L ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:179的LC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:230的LC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:281的LC-CDR3。

[0223] 在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分包括:i) V_H ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:27的HC-CDR1或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体、氨基酸序列为SEQ ID NO:78的HC-CDR2或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体,及氨基酸序列为SEQ ID NO:129的HC-CDR3或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体;以及ii) V_L ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:180的LC-CDR1或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体、氨基酸序列为SEQ ID NO:231的LC-CDR2或包括最多约3(例如约1、2或3中的任一者)个氨基酸取代的其变异体,及氨基酸序列为SEQ ID NO:282的LC-CDR3或包括最多约5(例如约

1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分包括:(1) i) V_H ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:27的HC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:78的HC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:129的HC-CDR3,或HC-CDR序列中包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体;以及ii) V_L ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:180的LC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:231的LC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:282的LC-CDR3,或LC-CDR序列中包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体。在一些实施例中,氨基酸取代发生于HC-CDR1或HC-CDR2。在一些实施例中,氨基酸取代发生于LC-CDR1或LC-CDR2中。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分包括i) V_H ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:27的HC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:78的HC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:129的HC-CDR3;以及ii) V_L ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:180的LC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:231的LC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:282的LC-CDR3。

[0224] 在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分包括:i) V_H ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:28的HC-CDR1或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体、氨基酸序列为SEQ ID NO:79的HC-CDR2或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体,及氨基酸序列为SEQ ID NO:130的HC-CDR3或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体;以及ii) V_L ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:181的LC-CDR1或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体、氨基酸序列为SEQ ID NO:232的LC-CDR2或包括最多约3(例如约1、2或3中的任一者)个氨基酸取代的其变异体,及氨基酸序列为SEQ ID NO:283的LC-CDR3或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分包括:(1) i) V_H ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:28的HC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:79的HC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:130的HC-CDR3,或HC-CDR序列中包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体;以及ii) V_L ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:181的LC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:232的LC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:283的LC-CDR3,或LC-CDR序列中包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体。在一些实施例中,氨基酸取代发生于HC-CDR1或HC-CDR2中。在一些实施例中,氨基酸取代发生于LC-CDR1或LC-CDR2中。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分包括i) V_H ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:28的HC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:79的HC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:130的HC-CDR3;以及ii) V_L ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:181的LC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:232的LC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:283的LC-CDR3。

[0225] 在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分包括:i) V_H ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:29的HC-CDR1或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体、氨基酸序列为SEQ ID NO:80的HC-CDR2或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体,及氨基酸序列为SEQ ID NO:131的HC-CDR3或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体;以及ii) V_L ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:182的LC-CDR1或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体、氨基酸序列为SEQ ID NO:233的LC-CDR2或包括最多约3(例如约1、2或3中的任一者)个氨基酸取代的其变异体,及氨基酸序列为SEQ ID NO:284的LC-CDR3或包括最多约5(例如约

1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分包括:(1) i) V_H ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:29的HC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:80的HC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:131的HC-CDR3,或HC-CDR序列中包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体;以及ii) V_L ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:182的LC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:233的LC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:284的LC-CDR3,或LC-CDR序列中包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体。在一些实施例中,氨基酸取代发生于HC-CDR1或HC-CDR2中。在一些实施例中,氨基酸取代发生于LC-CDR1或LC-CDR2中。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分包括i) V_H ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:29的HC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:80的HC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:131的HC-CDR3;以及ii) V_L ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:182的LC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:233的LC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:284的LC-CDR3。

[0226] 在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分包括:i) V_H ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:30的HC-CDR1或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体、氨基酸序列为SEQ ID NO:81的HC-CDR2或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体,及氨基酸序列为SEQ ID NO:132的HC-CDR3或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体;以及ii) V_L ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:183的LC-CDR1或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体、氨基酸序列为SEQ ID NO:234的LC-CDR2或包括最多约3(例如约1、2或3中的任一者)个氨基酸取代的其变异体,及氨基酸序列为SEQ ID NO:285的LC-CDR3或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分包括:(1) i) V_H ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:30的HC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:81的HC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:132的HC-CDR3,或HC-CDR序列中包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体;以及ii) V_L ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:183的LC-CDR1、包括氨基酸序列为SEQ ID NO:234的LC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:285的LC-CDR3,或LC-CDR序列中包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体。在一些实施例中,氨基酸取代发生于HC-CDR1或HC-CDR2中。在一些实施例中,氨基酸取代发生于LC-CDR1或LC-CDR2中。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分包括i) V_H ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:30的HC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:81的HC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:132的HC-CDR3;以及ii) V_L ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:183的LC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:234的LC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:285的LC-CDR3。

[0227] 在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分包括:i) V_H ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:31的HC-CDR1或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体、氨基酸序列为SEQ ID NO:82的HC-CDR2或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体,及氨基酸序列为SEQ ID NO:133的HC-CDR3或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体;以及ii) V_L ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:184的LC-CDR1或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体、氨基酸序列为SEQ ID NO:235的LC-CDR2或包括最多约3(例如约1、2或3中的任一者)个

氨基酸取代的其变异体,及氨基酸序列为SEQ ID NO:286的LC-CDR3或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分包括:(1) i) V_H ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:31的HC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:82的HC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:133的HC-CDR3,或HC-CDR序列中包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体;以及ii) V_L ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:184的LC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:235的LC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:286的LC-CDR3,或LC-CDR序列中包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体。在一些实施例中,氨基酸取代发生于HC-CDR1或HC-CDR2中。在一些实施例中,氨基酸取代发生于LC-CDR1或LC-CDR2中。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分包括i) V_H ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:31的HC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:82的HC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:133的HC-CDR3;以及ii) V_L ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:184的LC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:235的LC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:286的LC-CDR3。

[0228] 在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分包括:a) 包括氨基酸序列SEQ ID NO:307的 V_H 或与SEQ ID NO:307具有至少约80%(包含例如至少约80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%中的任一者)序列一致性的其变异体;及b) 包括氨基酸序列SEQ ID NO:358的 V_L 或与SEQ ID NO:358具有至少约80%(包含例如至少约80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%中的任一者)序列一致性的其变异体。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分包括:a) 包括氨基酸序列SEQ ID NO:307的 V_H ;及b) 包括氨基酸序列SEQ ID NO:358的 V_L 。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分包括含有氨基酸序列SEQ ID NO:307的 V_H 的HC-CDR,及含有氨基酸序列SEQ ID NO:358的 V_L 的LC-CDR。

[0229] 在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分包括:a) 包括氨基酸序列SEQ ID NO:308的 V_H 或与SEQ ID NO:308具有至少约80%(包含例如至少约80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%中的任一者)序列一致性的其变异体;及b) 包括氨基酸序列SEQ ID NO:359的 V_L 或与SEQ ID NO:359具有至少约80%(包含例如至少约80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%中的任一者)序列一致性的其变异体。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分包括:a) 包括氨基酸序列SEQ ID NO:308的 V_H ;及b) 包括氨基酸序列SEQ ID NO:359的 V_L 。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分包括含有氨基酸序列SEQ ID NO:308的 V_H 的HC-CDR,及含有氨基酸序列SEQ ID NO:359的 V_L 的LC-CDR。

[0230] 在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分包括:a) 包括氨基酸序列SEQ ID NO:309的 V_H 或与SEQ ID NO:309具有至少约80%(包含例如至少约80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%中的任一者)序列一致性的其变异体;及b) 包括氨基酸序列SEQ ID NO:360的 V_L 或与SEQ ID NO:360具有至少约80%(包含例如至少约80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%中的任一者)序列一致性的其变异体。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分包括:a) 包括氨基酸序列SEQ ID NO:309的 V_H ;及b) 包括氨基酸序列SEQ ID NO:360的 V_L 。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分包括含有氨基酸序列SEQ ID NO:309的 V_H 的HC-CDR,及含有氨基酸序列SEQ ID NO:360的 V_L 的LC-CDR。

[0231] 在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分包括:a) 包括氨基酸序列SEQ ID NO:310的 V_H 或与SEQ ID NO:310具有至少约80%(包含例如至少约80%、85%、90%、95%、96%、97%、

98%或99%中的任一者)序列一致性的其变异体;及b)包括氨基酸序列SEQ ID NO:361的V_L或与SEQ ID NO:361具有至少约80%(包含例如至少约80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%中的任一者)序列一致性的其变异体。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分包括:a)包括氨基酸序列SEQ ID NO:310的V_H;及b)包括氨基酸序列SEQ ID NO:361的V_L。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分包括含有氨基酸序列SEQ ID NO:310的V_H的HC-CDR,及含有氨基酸序列SEQ ID NO:361的V_L的LC-CDR。

[0232] 在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分包括:a)包括氨基酸序列SEQ ID NO:311的V_H或与SEQ ID NO:311具有至少约80%(包含例如至少约80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%中的任一者)序列一致性的其变异体;及b)包括氨基酸序列SEQ ID NO:362的V_L或与SEQ ID NO:362具有至少约80%(包含例如至少约80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%中的任一者)序列一致性的其变异体。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分包括:a)包括氨基酸序列SEQ ID NO:311的V_H;及b)包括氨基酸序列SEQ ID NO:362的V_L。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分包括含有氨基酸序列SEQ ID NO:311的V_H的HC-CDR,及含有氨基酸序列SEQ ID NO:362的V_L的LC-CDR。

[0233] 在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分包括:a)包括氨基酸序列SEQ ID NO:312的V_H或与SEQ ID NO:312具有至少约80%(包含例如至少约80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%中的任一者)序列一致性的其变异体;及b)包括氨基酸序列SEQ ID NO:363的V_L或与SEQ ID NO:363具有至少约80%(包含例如至少约80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%中的任一者)序列一致性的其变异体。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分包括:a)包括氨基酸序列SEQ ID NO:312的V_H;及b)包括氨基酸序列SEQ ID NO:363的V_L。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分包括含有氨基酸序列SEQ ID NO:312的V_H的HC-CDR,及含有氨基酸序列SEQ ID NO:363的V_L的LC-CDR。

[0234] 在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分包括:a)包括氨基酸序列SEQ ID NO:313的V_H或与SEQ ID NO:313具有至少约80%(包含例如至少约80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%中的任一者)序列一致性的其变异体;及b)包括氨基酸序列SEQ ID NO:364的V_L或与SEQ ID NO:364具有至少约80%(包含例如至少约80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%中的任一者)序列一致性的其变异体。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分包括:a)包括氨基酸序列SEQ ID NO:313的V_H;及b)包括氨基酸序列SEQ ID NO:364的V_L。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分包括含有氨基酸序列SEQ ID NO:313的V_H的HC-CDR,及含有氨基酸序列SEQ ID NO:364的V_L的LC-CDR。

[0235] 在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分包括:a)包括氨基酸序列SEQ ID NO:314的V_H或与SEQ ID NO:314具有至少约80%(包含例如至少约80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%中的任一者)序列一致性的其变异体;及b)包括氨基酸序列SEQ ID NO:365的V_L或与SEQ ID NO:365具有至少约80%(包含例如至少约80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%中的任一者)序列一致性的其变异体。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分包括:a)包括氨基酸序列SEQ ID NO:314的V_H;及b)包括氨基酸序列SEQ ID NO:365的V_L。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分包括含有氨基酸序列SEQ ID NO:314的V_H的HC-CDR,及含有氨基酸序列SEQ ID NO:365的V_L的LC-CDR。

[0236] 在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分包括:a)包括氨基酸序列SEQ ID NO:315的V_H

或与SEQ ID NO:315具有至少约80% (包含例如至少约80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%中的任一者) 序列一致性的其变异体;及b) 包括氨基酸序列SEQ ID NO:366的V_L或与SEQ ID NO:366具有至少约80% (包含例如至少约80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%中的任一者) 序列一致性的其变异体。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分包括:a) 包括氨基酸序列SEQ ID NO:315的V_H;及b) 包括氨基酸序列SEQ ID NO:366的V_L。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分包括含有氨基酸序列SEQ ID NO:315的V_H的HC-CDR,及含有氨基酸序列SEQ ID NO:366的V_L的LC-CDR。

[0237] 在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分包括:a) 包括氨基酸序列SEQ ID NO:316的V_H或与SEQ ID NO:316具有至少约80% (包含例如至少约80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%中的任一者) 序列一致性的其变异体;及b) 包括氨基酸序列SEQ ID NO:367的V_L或与SEQ ID NO:367具有至少约80% (包含例如至少约80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%中的任一者) 序列一致性的其变异体。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分包括:a) 包括氨基酸序列SEQ ID NO:316的V_H;及b) 包括氨基酸序列SEQ ID NO:367的V_L。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分包括含有氨基酸序列SEQ ID NO:316的V_H的HC-CDR,及含有氨基酸序列SEQ ID NO:367的V_L的LC-CDR。

[0238] 在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分包括:a) 包括氨基酸序列SEQ ID NO:317的V_H或与SEQ ID NO:317具有至少约80% (包含例如至少约80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%中的任一者) 序列一致性的其变异体;及b) 包括氨基酸序列SEQ ID NO:368的V_L或与SEQ ID NO:368具有至少约80% (包含例如至少约80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%中的任一者) 序列一致性的其变异体。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分包括:a) 包括氨基酸序列SEQ ID NO:317的V_H;及b) 包括氨基酸序列SEQ ID NO:368的V_L。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分包括含有氨基酸序列SEQ ID NO:317的V_H的HC-CDR,及含有氨基酸序列SEQ ID NO:368的V_L的LC-CDR。

[0239] 在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分包括:a) 包括氨基酸序列SEQ ID NO:318的V_H或与SEQ ID NO:318具有至少约80% (包含例如至少约80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%中的任一者) 序列一致性的其变异体;及b) 包括氨基酸序列SEQ ID NO:369的V_L或与SEQ ID NO:369具有至少约80% (包含例如至少约80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%中的任一者) 序列一致性的其变异体。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分包括:a) 包括氨基酸序列SEQ ID NO:318的V_H;及b) 包括氨基酸序列SEQ ID NO:369的V_L。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分包括含有氨基酸序列SEQ ID NO:318的V_H的HC-CDR,及含有氨基酸序列SEQ ID NO:369的V_L的LC-CDR。

[0240] 在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分包括:a) 包括氨基酸序列SEQ ID NO:319的V_H或与SEQ ID NO:319具有至少约80% (包含例如至少约80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%中的任一者) 序列一致性的其变异体;及b) 包括氨基酸序列SEQ ID NO:370的V_L或与SEQ ID NO:370具有至少约80% (包含例如至少约80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%中的任一者) 序列一致性的其变异体。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分包括:a) 包括氨基酸序列SEQ ID NO:319的V_H;及b) 包括氨基酸序列SEQ ID NO:370的V_L。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分包括含有氨基酸序列SEQ ID NO:319的V_H的HC-CDR,及含有氨基酸序列SEQ ID NO:370的V_L的LC-CDR。

[0241] 在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分包括:a)包括氨基酸序列SEQ ID NO:320的V_H或与SEQ ID NO:320具有至少约80% (包含例如至少约80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%中的任一者)序列一致性的其变异体;及b)包括氨基酸序列SEQ ID NO:371的V_L或与SEQ ID NO:371具有至少约80% (包含例如至少约80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%中的任一者)序列一致性的其变异体。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分包括:a)包括氨基酸序列SEQ ID NO:320的V_H;及b)包括氨基酸序列SEQ ID NO:371的V_L。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分包括含有氨基酸序列SEQ ID NO:320的V_H的HC-CDR,及含有氨基酸序列SEQ ID NO:371的V_L的LC-CDR。

[0242] 在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分包括:a)包括氨基酸序列SEQ ID NO:321的V_H或与SEQ ID NO:321具有至少约80% (包含例如至少约80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%中的任一者)序列一致性的其变异体;及b)包括氨基酸序列SEQ ID NO:372的V_L或与SEQ ID NO:372具有至少约80% (包含例如至少约80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%中的任一者)序列一致性的其变异体。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分包括:a)包括氨基酸序列SEQ ID NO:321的V_H;及b)包括氨基酸序列SEQ ID NO:372的V_L。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分包括含有氨基酸序列SEQ ID NO:321的V_H的HC-CDR,及含有氨基酸序列SEQ ID NO:372的V_L的LC-CDR。

[0243] 在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分包括:a)包括氨基酸序列SEQ ID NO:322的V_H或与SEQ ID NO:322具有至少约80% (包含例如至少约80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%中的任一者)序列一致性的其变异体;及b)包括氨基酸序列SEQ ID NO:373的V_L或与SEQ ID NO:373具有至少约80% (包含例如至少约80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%中的任一者)序列一致性的其变异体。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分包括:a)包括氨基酸序列SEQ ID NO:322的V_H;及b)包括氨基酸序列SEQ ID NO:373的V_L。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分包括含有氨基酸序列SEQ ID NO:322的V_H的HC-CDR,及含有氨基酸序列SEQ ID NO:373的V_L的LC-CDR。

[0244] 在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分包括:a)包括氨基酸序列SEQ ID NO:323的V_H或与SEQ ID NO:323具有至少约80% (包含例如至少约80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%中的任一者)序列一致性的其变异体;及b)包括氨基酸序列SEQ ID NO:374的V_L或与SEQ ID NO:374具有至少约80% (包含例如至少约80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%中的任一者)序列一致性的其变异体。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分包括:a)包括氨基酸序列SEQ ID NO:323的V_H;及b)包括氨基酸序列SEQ ID NO:374的V_L。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分包括含有氨基酸序列SEQ ID NO:323的V_H的HC-CDR,及含有氨基酸序列SEQ ID NO:374的V_L的LC-CDR。

[0245] 在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分包括:a)包括氨基酸序列SEQ ID NO:324的V_H或与SEQ ID NO:324具有至少约80% (包含例如至少约80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%中的任一者)序列一致性的其变异体;及b)包括氨基酸序列SEQ ID NO:375的V_L或与SEQ ID NO:375具有至少约80% (包含例如至少约80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%中的任一者)序列一致性的其变异体。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分包括:a)包括氨基酸序列SEQ ID NO:324的V_H;及b)包括氨基酸序列SEQ ID NO:375的V_L。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分包括含有氨基酸序列SEQ ID NO:324的V_H的HC-CDR,及含有氨基

酸序列SEQ ID NO:375的V_L的LC-CDR。

[0246] 在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分包括:a)包括氨基酸序列SEQ ID NO:325的V_H或与SEQ ID NO:325具有至少约80% (包含例如至少约80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%中的任一者)序列一致性的其变异体;及b)包括氨基酸序列SEQ ID NO:376的V_L或与SEQ ID NO:376具有至少约80% (包含例如至少约80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%中的任一者)序列一致性的其变异体。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分包括:a)包括氨基酸序列SEQ ID NO:325的V_H;及b)包括氨基酸序列SEQ ID NO:376的V_L。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分包括含有氨基酸序列SEQ ID NO:325的V_H的HC-CDR,及含有氨基酸序列SEQ ID NO:376的V_L的LC-CDR。

[0247] 在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分包括:a)包括氨基酸序列SEQ ID NO:326的V_H或与SEQ ID NO:326具有至少约80% (包含例如至少约80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%中的任一者)序列一致性的其变异体;及b)包括氨基酸序列SEQ ID NO:377的V_L或与SEQ ID NO:377具有至少约80% (包含例如至少约80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%中的任一者)序列一致性的其变异体。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分包括:a)包括氨基酸序列SEQ ID NO:326的V_H;及b)包括氨基酸序列SEQ ID NO:377的V_L。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分包括含有氨基酸序列SEQ ID NO:326的V_H的HC-CDR,及含有氨基酸序列SEQ ID NO:377的V_L的LC-CDR。

[0248] 在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分包括:a)包括氨基酸序列SEQ ID NO:327的V_H或与SEQ ID NO:327具有至少约80% (包含例如至少约80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%中的任一者)序列一致性的其变异体;及b)包括氨基酸序列SEQ ID NO:378的V_L或与SEQ ID NO:378具有至少约80% (包含例如至少约80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%中的任一者)序列一致性的其变异体。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分包括:a)包括氨基酸序列SEQ ID NO:327的V_H;及b)包括氨基酸序列SEQ ID NO:378的V_L。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分包括含有氨基酸序列SEQ ID NO:327的V_H的HC-CDR,及含有氨基酸序列SEQ ID NO:378的V_L的LC-CDR。

[0249] 在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分包括:a)包括氨基酸序列SEQ ID NO:328的V_H或与SEQ ID NO:328具有至少约80% (包含例如至少约80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%中的任一者)序列一致性的其变异体;及b)包括氨基酸序列SEQ ID NO:379的V_L或与SEQ ID NO:379具有至少约80% (包含例如至少约80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%中的任一者)序列一致性的其变异体。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分包括:a)包括氨基酸序列SEQ ID NO:328的V_H;及b)包括氨基酸序列SEQ ID NO:379的V_L。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分包括含有氨基酸序列SEQ ID NO:328的V_H的HC-CDR,及含有氨基酸序列SEQ ID NO:379的V_L的LC-CDR。

[0250] 在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分包括:a)包括氨基酸序列SEQ ID NO:329的V_H或与SEQ ID NO:329具有至少约80% (包含例如至少约80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%中的任一者)序列一致性的其变异体;及b)包括氨基酸序列SEQ ID NO:380的V_L或与SEQ ID NO:380具有至少约80% (包含例如至少约80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%中的任一者)序列一致性的其变异体。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分包括:a)包括氨基酸序列SEQ ID NO:329的V_H;及b)包括氨基酸序列SEQ ID NO:380的V_L。在一些实

施例中,抗nGPC3抗体部分包括含有氨基酸序列SEQ ID NO:329的V_H的HC-CDR,及含有氨基酸序列SEQ ID NO:380的V_L的LC-CDR。

[0251] 在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分包括:a) 包括氨基酸序列SEQ ID NO:330的V_H或与SEQ ID NO:330具有至少约80% (包含例如至少约80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%中的任一者) 序列一致性的其变异体;及b) 包括氨基酸序列SEQ ID NO:381的V_L或与SEQ ID NO:381具有至少约80% (包含例如至少约80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%中的任一者) 序列一致性的其变异体。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分包括:a) 包括氨基酸序列SEQ ID NO:330的V_H;及b) 包括氨基酸序列SEQ ID NO:381的V_L。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分包括含有氨基酸序列SEQ ID NO:330的V_H的HC-CDR,及含有氨基酸序列SEQ ID NO:381的V_L的LC-CDR。

[0252] 在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分包括:a) 包括氨基酸序列SEQ ID NO:331的V_H或与SEQ ID NO:331具有至少约80% (包含例如至少约80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%中的任一者) 序列一致性的其变异体;及b) 包括氨基酸序列SEQ ID NO:382的V_L或与SEQ ID NO:382具有至少约80% (包含例如至少约80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%中的任一者) 序列一致性的其变异体。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分包括:a) 包括氨基酸序列SEQ ID NO:331的V_H;及b) 包括氨基酸序列SEQ ID NO:382的V_L。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分包括含有氨基酸序列SEQ ID NO:331的V_H的HC-CDR,及含有氨基酸序列SEQ ID NO:382的V_L的LC-CDR。

[0253] 在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分包括:a) 包括氨基酸序列SEQ ID NO:332的V_H或与SEQ ID NO:332具有至少约80% (包含例如至少约80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%中的任一者) 序列一致性的其变异体;及b) 包括氨基酸序列SEQ ID NO:383的V_L或与SEQ ID NO:383具有至少约80% (包含例如至少约80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%中的任一者) 序列一致性的其变异体。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分包括:a) 包括氨基酸序列SEQ ID NO:332的V_H;及b) 包括氨基酸序列SEQ ID NO:383的V_L。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分包括含有氨基酸序列SEQ ID NO:332的V_H的HC-CDR,及含有氨基酸序列SEQ ID NO:383的V_L的LC-CDR。

[0254] 在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分包括:a) 包括氨基酸序列SEQ ID NO:333的V_H或与SEQ ID NO:333具有至少约80% (包含例如至少约80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%中的任一者) 序列一致性的其变异体;及b) 包括氨基酸序列SEQ ID NO:384的V_L或与SEQ ID NO:384具有至少约80% (包含例如至少约80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%中的任一者) 序列一致性的其变异体。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分包括:a) 包括氨基酸序列SEQ ID NO:333的V_H;及b) 包括氨基酸序列SEQ ID NO:384的V_L。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分包括含有氨基酸序列SEQ ID NO:333的V_H的HC-CDR,及含有氨基酸序列SEQ ID NO:384的V_L的LC-CDR。

[0255] 在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分包括:a) 包括氨基酸序列SEQ ID NO:334的V_H或与SEQ ID NO:334具有至少约80% (包含例如至少约80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%中的任一者) 序列一致性的其变异体;及b) 包括氨基酸序列SEQ ID NO:385的V_L或与SEQ ID NO:385具有至少约80% (包含例如至少约80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%中的任一者) 序列一致性的其变异体。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分包括:

a) 包括氨基酸序列SEQ ID NO:334的V_H;及b) 包括氨基酸序列SEQ ID NO:385的V_L。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分包括含有氨基酸序列SEQ ID NO:334的V_H的HC-CDR,及含有氨基酸序列SEQ ID NO:385的V_L的LC-CDR。

[0256] 在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分包括:a) 包括氨基酸序列SEQ ID NO:335的V_H或与SEQ ID NO:335具有至少约80% (包含例如至少约80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%中的任一者) 序列一致性的其变异体;及b) 包括氨基酸序列SEQ ID NO:386的V_L或与SEQ ID NO:386具有至少约80% (包含例如至少约80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%中的任一者) 序列一致性的其变异体。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分包括:a) 包括氨基酸序列SEQ ID NO:335的V_H;及b) 包括氨基酸序列SEQ ID NO:386的V_L。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分包括含有氨基酸序列SEQ ID NO:335的V_H的HC-CDR,及含有氨基酸序列SEQ ID NO:386的V_L的LC-CDR。

[0257] 在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分包括:a) 包括氨基酸序列SEQ ID NO:336的V_H或与SEQ ID NO:336具有至少约80% (包含例如至少约80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%中的任一者) 序列一致性的其变异体;及b) 包括氨基酸序列SEQ ID NO:387的V_L或与SEQ ID NO:387具有至少约80% (包含例如至少约80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%中的任一者) 序列一致性的其变异体。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分包括:a) 包括氨基酸序列SEQ ID NO:336的V_H;及b) 包括氨基酸序列SEQ ID NO:387的V_L。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分包括含有氨基酸序列SEQ ID NO:336的V_H的HC-CDR,及含有氨基酸序列SEQ ID NO:387的V_L的LC-CDR。

[0258] 在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分包括:a) 包括氨基酸序列SEQ ID NO:337的V_H或与SEQ ID NO:337具有至少约80% (包含例如至少约80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%中的任一者) 序列一致性的其变异体;及b) 包括氨基酸序列SEQ ID NO:388的V_L或与SEQ ID NO:388具有至少约80% (包含例如至少约80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%中的任一者) 序列一致性的其变异体。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分包括:a) 包括氨基酸序列SEQ ID NO:337的V_H;及b) 包括氨基酸序列SEQ ID NO:388的V_L。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分包括含有氨基酸序列SEQ ID NO:337的V_H的HC-CDR,及含有氨基酸序列SEQ ID NO:388的V_L的LC-CDR。

[0259] 在一些实施例中,所述抗nGPC3抗体部分与根据本文所述的任一种抗nGPC3抗体部分的第二抗nGPC3抗体部分竞争结合到与细胞表面结合的GPC3。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分与第二抗nGPC3抗体部分结合到相同或基本上相同的抗原决定基。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分结合到与细胞表面结合的GPC3将第二抗nGPC3抗体部分对相同与细胞表面结合的GPC3的结合抑制至少约70% (例如至少约75%、80%、85%、90%、95%、98%或99%中的任一者) 或反之亦然。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分与第二抗nGPC3抗体部分交叉竞争结合到与细胞表面结合的GPC3,即,抗nGPC3抗体部分中的每一者与另一者竞争结合到与细胞表面结合的GPC3。

[0260] 特异性识别GPC3的抗GPC3抗体部分

[0261] 在一些实施例中,抗GPC3抗体部分特异性识别GPC3。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分特异性识别与细胞表面结合的GPC3。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分特异性识别可溶性GPC3。在一些实施例中,抗sGPC3抗体部分对可溶性GPC3的结合亲和力高于对与细胞表

面结合的GPC3的结合亲和力。在一些实施例中,抗sGPC3抗体部分特异性识别SEQ ID NO: 461氨基酸序列内的抗原决定基。在一些实施例中,抗sGPC3抗体部分特异性识别SEQ ID NO: 460 (SEQ ID NO: 467) 的氨基酸510-560内的抗原决定基。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分特异性识别与细胞表面结合的GPC3与可溶性GPC3。

[0262] 在一些实施例中,抗GPC3抗体部分包括i) 重链可变域(V_H),其包括含有SEQ ID NO: 134-153中任一者的氨基酸序列的HC-CDR3或包括最多约5 (例如约1、2、3、4或5中的任一者) 个氨基酸取代的其变异体;及ii) 轻链可变域(V_L),其包括含有SEQ ID NO: 287-306中任一者的氨基酸序列的LC-CDR3或包括最多约5 (例如约1、2、3、4或5中的任一者) 个氨基酸取代的其变异体。

[0263] 在一些实施例中,抗GPC3抗体部分包括i) V_H ,其包括含有SEQ ID NO: 134-153中任一者的氨基酸序列的HC-CDR3;及ii) V_L ,其包括含有SEQ ID NO: 287-306中任一者的氨基酸序列的LC-CDR3。

[0264] 在一些实施例中,抗GPC3抗体部分包括i) V_H ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO: 32-51中任一者的HC-CDR1或包括最多约5 (例如约1、2、3、4或5中的任一者) 个氨基酸取代的其变异体、氨基酸序列为SEQ ID NO: 83-102中任一者的HC-CDR2或包括最多约5 (例如约1、2、3、4或5中的任一者) 个氨基酸取代的其变异体,及氨基酸序列为SEQ ID NO: 134-153中任一者的HC-CDR3或包括最多约5 (例如约1、2、3、4或5中的任一者) 个氨基酸取代的其变异体;以及ii) V_L ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO: 185-204中任一者的LC-CDR1或包括最多约5 (例如约1、2、3、4或5中的任一者) 个氨基酸取代的其变异体、氨基酸序列为SEQ ID NO: 236-255中任一者的LC-CDR2或包括最多约3 (例如约1、2或3中的任一者) 个氨基酸取代的其变异体,及氨基酸序列为SEQ ID NO: 287-306中任一者的LC-CDR3或包括最多约5 (例如约1、2、3、4或5中的任一者) 个氨基酸取代的其变异体。

[0265] 在一些实施例中,抗GPC3抗体部分包括i) V_H ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO: 32-51中任一者的HC-CDR1或包括最多约5 (例如约1、2、3、4或5中的任一者) 个氨基酸取代的其变异体、氨基酸序列为SEQ ID NO: 83-102中任一者的HC-CDR2或包括最多约5 (例如约1、2、3、4或5中的任一者) 个氨基酸取代的其变异体,及氨基酸序列为SEQ ID NO: 134-153中任一者的HC-CDR3;以及ii) V_L ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO: 185-204中任一者的LC-CDR1或包括最多约5 (例如约1、2、3、4或5中的任一者) 个氨基酸取代的其变异体、氨基酸序列为SEQ ID NO: 236-255中任一者的LC-CDR2或包括最多约3 (例如约1、2或3中的任一者) 个氨基酸取代的其变异体,及氨基酸序列为SEQ ID NO: 287-306中任一者的LC-CDR3。

[0266] 在一些实施例中,抗GPC3抗体部分包括i) V_H ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO: 32-51中任一者的HC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO: 83-102中任一者的HC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO: 134-153中任一者的HC-CDR3,或HC-CDR序列中包括最多约5 (例如约1、2、3、4或5中的任一者) 个氨基酸取代的其变异体;以及ii) V_L ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO: 185-204中任一者的LC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO: 236-255中任一者的LC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO: 287-306中任一者的LC-CDR3,或LC-CDR序列中包括最多约5 (例如约1、2、3、4或5中的任一者) 个氨基酸取代的其变异体。

[0267] 在一些实施例中,抗GPC3抗体部分包括i) V_H ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO: 32-51中任一者的HC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO: 83-102中任一者的HC-CDR2及氨基酸序列

为SEQ ID NO:134-153中任一者的HC-CDR3,或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体,其中氨基酸取代发生于HC-CDR1或HC-CDR2中;以及ii) V_L ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:185-204中任一者的LC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:236-255中任一者的LC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:287-306中任一者的LC-CDR3,或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体,其中氨基酸取代发生于LC-CDR1或LC-CDR2中。

[0268] 在一些实施例中,抗GPC3抗体部分包括:i) V_H ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:32-51中的任一者的HC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:83-102中的任一者的HC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:134-153中的任一者的HC-CDR3;以及ii) V_L ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:185-204中的任一者的LC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:236-255中的任一者的LC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:287-306中的任一者的LC-CDR3。

[0269] 在一些实施例中,抗GPC3抗体部分包括:a) V_H ,其包括SEQ ID NO:32-51中任一者的氨基酸序列、SEQ ID NO:83-102中任一者的氨基酸序列及SEQ ID NO:134-153中任一者的氨基酸序列;以及ii) V_L ,其包括SEQ ID NO:185-204中任一者的氨基酸序列、SEQ ID NO:236-255中任一者的氨基酸序列及SEQ ID NO:287-306中任一者的氨基酸序列。

[0270] 在一些实施例中,抗GPC3抗体部分包括:a) V_H ,其包括SEQ ID NO:338-357中任一者的一个、两个或三个CDR,及b) V_L ,其包括SEQ ID NO:389-408中任一者的一个、两个或三个CDR。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分包括:a) V_H ,其包括SEQ ID NO:389-408中任一者的重链可变域的HC-CDR1、HC-CDR2及HC-CDR3,以及b) V_L ,其包括SEQ ID NO:358-388中任一者的CDR轻链可变域的LC-CDR1、LC-CDR2及LC-CDR3。

[0271] 在一些实施例中,抗GPC3抗体部分包括:a) V_H ,其包括SEQ ID NO:338-357中任一者的氨基酸序列,或与SEQ ID NO:338-357中的任一者具有至少约80%(包含例如至少约80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%中的任一者)序列一致性的其变异体;及b) V_L ,其包括SEQ ID NO:389-408中任一者的氨基酸序列,或与SEQ ID NO:389-408中的任一者具有至少约80%(包含例如至少约80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%中的任一者)序列一致性的其变异体。

[0272] 在一些实施例中,抗GPC3抗体部分包括:a) 包括SEQ ID NO:338-357中任一者的氨基酸序列的 V_H ;及b) 包括SEQ ID NO:389-408中任一者的氨基酸序列的 V_L 。

[0273] 在一些实施例中,抗GPC3抗体部分包括氨基酸序列为SEQ ID NO:338-357中任一者的 V_H 的HC-CDR,及氨基酸序列为SEQ ID NO:389-408中任一者的 V_L 的LC-CDR。

[0274] 重链与轻链可变域可以各种成对组合来组合以产生多种抗GPC3抗体部分。示范性抗GPC3抗体部分提供于表8及表9中。

[0275] 表8抗GPC3抗体部分CDR序列

[0276]

克隆编号	SEQ ID NO:	HCDR1	SEQ ID NO:	HCDR2	SEQ ID NO:	HCDR3	SEQ ID NO:	LCDR1	SEQ ID NO:	LCDR2	SEQ ID NO:	LCDR3
GPC3B-54	32	GYTFIDYY	83	IIPIFGT A	134	ARERRYS SSPSDH	185	NSNIGSDT	236	RDN	287	TTWDD SLNGLV
GPC3B-60	33	GYTFTSY	84	INPSGGST	135	ARSLYSQ PYIDG	186	NLENKF	237	EDN	288	QTWDS PTGLFV
GPC3B-63	34	GYTFTSY	85	INPSGGST	136	ARSLHAMRWSQTMDS	187	QSLLSNGYNY	238	LGS	289	MQALQ TPPT
GPC3B-66	35	GYTFIGQY	86	INPMTGVT	137	ARFSSGY SRDT	188	NIGSKS	239	YDS	290	QVWDS SSDHLY V
GPC3B-68	36	GGTFSYA	87	IIPILGI A	138	ARYGYE GHDT	189	SSNIGNNY	240	DNI	291	GTWDS SLSAGV
GPC3B-71	37	GFTFSRYT	88	ISSSGSYI	139	ARQGHM WYVPVDA	190	NIGSKS	241	YDS	292	QVWDS SSDHYV
GPC3B-76	38	GYTFTDYY	89	INPNSGT	140	ARNYD	191	SSNIGNNY	242	DNN	293	GTWDS SLSAGV

[0277]

克隆编号	SEQ ID NO:	HCDR1	SEQ ID NO:	HCDR2	SEQ ID NO:	HCDR3	SEQ ID NO:	LCDR1	SEQ ID NO:	LCDR2	SEQ ID NO:	LCDR3
GPC3B-78	39	GYTFTSY	90	INPSGGST	141	ARGYSSF FDS	192	KLGDKY	243	QDN	294	QTWDR STYV
GPC3B-80	40	GGTLSRFA	91	IIPIFRT A	142	ARMSKY YGSYSSYDE	193	SSNIGSNT	244	SNN	295	AAWDD SLNG
GPC3B-81	41	GYTFTGY	92	INPNSGT	143	ARGLWDS	194	NIGSKS	245	YDS	296	QVWDS SSDLLY V
GPC3B-82	42	GYSFTSY	93	INPSGGST	144	ARYPVY METSDFDS	195	SSNIGA GFD	246	DNN	297	QSFDS LSGWV
GPC3B-85	43	GYTFTSYA	94	INTNTG NP	145	ARSSLYW MGSKWS RQTD	196	SSNIGSNT	247	SNN	298	AAWDD SLNGY V
GPC3B-87	44	GGTFGSYA	95	IIPVLGRT	146	ARTNDS	197	QSLLSNGYNY	248	LGS	299	MQALQ TPWT
GPC3B-92	45	GYTFSNY	96	INPSGGTT	147	ARPSMW TSSMGDV	198	TLAKRY	249	RDT	300	QSADNS RTFV
GPC3B-93	46	GYTFTSY	97	INPSGGST	148	ARYTALK PRGIYSVDS	199	SGSIASNY	250	EDN	301	QSYDSS NWV
GPC3B-110	47	GGTFTTYS	98	IIPTFGT T	149	ARYYWR GSGQGS VTSDY	200	SSNIGSNT	251	SSN	302	AAWDD SLNGPV
GPC3B-113	48	GYTLT ELS	99	FDPEDGET	150	ARYSGDY	201	SSNIGSNS	252	SNN	303	AAWDD SLNGVL
GPC3B-115	49	GYTFTAYY	100	INANTGGT	151	ARISGYH SSGWDY	202	NIGSKS	253	DDS	304	QVWDS SSDPLY V
GPC3B-119	50	GYTFTSYA	101	INTNTG NP	152	ARGYYG KYDK	203	SSNIGNNY	254	DNN	305	ATWDN SLSALI
GPC3B-125	51	GYTFTSYA	102	INTNTG NP	153	ARQSHDE	204	SSDVGGYNY	255	EVS	306	SSYTSS TTVI

[0278] 表9抗GPC3抗体部分V_H/V_L序列(CDR序列加下划线)

[0279]

克隆编号	SEQ ID NO:	VH	SEQ ID NO:	VL
GPC3B-54	338	EVQLVQSGAEVKKPG ASVKLSCKTSGYTFID YYVYWVRQAPGQGL EWMGGIPIFGTANYA QKFQGRVTITADKSTS TAYMELSSLGSEDVAV YYCARERRYSSSPSDH WGQGTLLTVSS	389	QSVLTQPPSASGTPGQ RVTISCSGSNSNIGSDT VNWYQQLPGTAPKLL IYRDNQRPSGVPDRFS GSKSGTSASLAISGLQ SEDEADYYCTTWDDS LNGLVFGGGTKVTVL G

[0280]

克隆编号	SEQ ID NO:	VH	SEQ ID NO:	VL
GPC3B-60	339	EVQLVESGAIEVKKPG ASVKVSCASGYTFTS <u>YYMHWVRQAPGQGL</u> EWMGIINPSGGSTSYA QKFQGRVTMTRDTST STVYMELSSLRSEDTA VYYCARSLSYQPYIDG WSQGTLTVTVSS	390	SYVLTQPPSVSVSPGQ TATIACSGDNLENKFV YWYHQKPGQSPVLV MYEDNKRPSGIPERFS GSNSGNTAALTISGAQ PMDEADYYCQTWDS <u>PTGLFVFGTGKVTVL</u> G
GPC3B-63	340	QVQLVQSGAEVKKPG ASVKVSCASGYTFTS <u>YYMHWVRQAPGQGL</u> EWMGIINPSGGSTSYA QKFQGRVTMTRDTST STVYMELSSLRSEDTA VYYCARSLHAMRWS <u>QTMDSWGQGLTVTVS</u> S	391	EIVLTQSPLSLPVTSGE PASISCRSSQSLLHSNG <u>YNYLDWYLQKPGQSP</u> QLLIYLGSNRASGVDP RFSGSGSGTDFTLKIS RVEAEDVGVYYCMQ <u>ALQTPPTFGQGTKVEI</u> KR
GPC3B-66	341	QVQLVQSGAEVKRPG ASVKVSCASGYTFIG <u>QYLHWVRQAPGQGL</u> EWMGRINPMTGVTNY APKFQGRVTMTRDTSI STGYMEISRLRSDDTA VYYCARFSSGYSRDT <u>WGQGLTVTVSS</u>	392	QAVLTQPPSVSVAPGK TASITCGGNNIGSKSV HWYQQKPGQAPVLVI YYDSDRPSGIPERFSG SNSGNTATLTISRVEA GDEADYYCQVWDSSS <u>DHLYVFGTGKVTVL</u> G
GPC3B-68	342	QVQLVQSGAEVKKPG SSVKVSCASGGTFSS <u>YAIWVRQAPGQGLE</u> WMGRIPILGIANYAQ KFQGRVTITADKSTST AYMELSSLRSEDTA VYCARYGEGHDTWG <u>QGTLTVTVSS</u>	393	QSVLTQPPSVSAAPGQ KVTISCSGSSSNIGNN YVSWYQQLPGTAPKL LIYDNIKRPSPGIPDRFS GSKSGTSATLGITGLQ TGDEADYYCGTWDS <u>LSAGVFGGGLKTLVL</u> G
GPC3B-71	343	EVQLVESGGGLVKPG GSLRLSCAASGFTFSR <u>YTMNWVRQAPGKGL</u> EWVSSISSSGSYIYYA DSVKGRFTISRDNANKN SLFLQMDSLRAEDTAV YYCARQGHMWYVPV <u>DAWGQGLTVTVSS</u>	394	SYVLTQPPSVSVAPGK TARVTCGGNNIGSKSV HWYQQKPGQAPVLV MYYDSDRPSGIPERFS GSNSGNTATLTISVEA GDEADYYCQVWDSSS <u>DHYVFGTGKVTVLG</u>
GPC3B-76	344	QMQLVQSGAEVKEPG ASVKVSCASGYTFT <u>DYYIHWVRQAPGQGL</u> EWMGWINPNSGGTN YAQKFQGRVTMTRDT SISTAYMELSRLRSD TAVYYCARNYDWGQ <u>GTLTVTVSS</u>	395	QSVVTQPPSVSAAPG QKVTISCSGSSSNIGN <u>NYVSWYQQLPGTAPK</u> LLIYDNNKRPSGIPDR FSGSKSGTSATLGITGL QTGDEAAYYCGTWDS <u>SLSAGVFGTGKVTV</u> LG

[0281]

克隆编号	SEQ ID NO:	VH	SEQ ID NO:	VL
GPC3B-78	345	QMQLVQSGAEVKKPG ASVKVSCKASGYTFTS <u>YYMHWVRQAPGQGL</u> EWMGIINPSGGSTSYA QKFQGRVTMTRDTST STVYMELSSLRSEDTA VYYCARGYSSFFDSW GQGTTLTVSS	396	LPVLTQPPSVSVSPGQ TASITCSGDKLGDKYA YWYQQKPGQSPVLVI YQDNKRPSGIPERFSG SNSGNTATLTISGTQA MDAADYYCQTWDRS <u>TYVFGTGTKVTVLG</u>
GPC3B-80	346	QVQLVQSGAEVKKPG SSVKVSCKASGGTSLR <u>FAISWVRQAPGQGLE</u> WMGGIIPFERTANYAQ KFQGRVTITADESTST AYMELSSLRSEDTAVY YCARMSKYYGSYSSY <u>DEWGQGTTLTVSS</u>	397	QAVLTQPPSASGTPGQ RVTISCSGSSSNIGSNT VNWYQQLPGTAPKLL IYSNNQRPSGVPDRFS GSKSGTSAYLAISGLQ SEDEADYYCAAWDDS <u>LNGWGVFGGGTKLTV</u> LG
GPC3B-81	347	EVQLVQSGAEVKKPG ASVKVSCKASGYTFT <u>GYMHWVRQAPGQG</u> LEWMGRINPNSGGTN YAQKFQGRVTMTRDT SISTAYMELSRLRSD TAVYYCARGLWDSW <u>GQGTTLTVSS</u>	398	SYELTQPPSVSVAPGK TARITCGGNNIGSKSV HWYQQKPGQAPVLVI YYDSDRPSGIPERFSG SNSGNTATLTISRVEA GDEADYYCQVWDDSS <u>DLLYVFGTGTKVTVL</u> G
GPC3B-82	348	EVQLVQSGAEVKKPG ESLKISCKGSGYSFTS <u>YYMHWVRQAPGQGL</u> EWMGIINPSGGSTSYA QKFQGRVTMTRDTST STVYMEMSSLRSEDT AVYYCARYPVYMET <u>DFDSWGSRYSGDRLL</u>	399	QSVLTQPPSVSGAPGQ RVTISCTGSSSNIGAGF <u>DVHWYQQLPGTAPKL</u> LIYDNNRPSGVPDRF SGSKSDTSASLAITGL QAEDEADYYCQSFDS <u>SLSGWVFGGGTKLTV</u> LG
GPC3B-85	349	QVQLVQSGSELKKPG ASVKVSCKASGYTFTS <u>YAMNWVRQAPGQGL</u> EWMGWINTNTGNPTY AQFTGRFVFSLDTSV STAYLQISSLKAEDTAV YYCARSSLYWMGSK <u>WSRQTDMWGQGT</u> TVSS	400	QAVLTQPPSASGTPGQ RVTISCSGSSSNIGSNT VNWYQQLPGTAPKLL IYSNNQRPSGVPDRFS GSKSGTSASLAISGLQ SEDEADYYCAAWDDS <u>LNGYVFGTGTKVTVL</u> G
GPC3B-87	350	EVQLVQSGAEVRKPG SSVKVSCQASGGTFGS <u>YAIWVRQAPGQGLE</u> WMGR IIPVLGR TKYA QKFQGRVTVTADTSTS TVYMELTSLTSED TAV YYCARTNDSWGQGT TVSS	401	DVVMTQSPLSLPVT GEPASVSCRSSQSLLH <u>SNGYNYLDWYLQKP</u> GQSPQLLIYLGSNRAS GVPDRFSGSGSGTDFT LKISRVEAEDVGVYY <u>CMQALQTPWTFGQGT</u> KVEIKR

[0282]

克隆编号	SEQ ID NO:	VH	SEQ ID NO:	VL
GPC3B-92	351	EVQLVQSGAEVKKPG ASVKVSCKASGYTFS <u>NY</u> YMHWRQAPGQG LEWMGIINPSGGTTTY AQKFQGRVTMTRDTS TSTVYMELSSLRSED AVYYCARPSMWTSSM GDVWGQGTTLTVSS	402	QSVLTQPPSVSVSPGQ TARITCSGETLAKRYA HWYQQKPGQAPVLLI YRDTTERPSGIPERFSGS SSGTTITLTITGVQAED EADYYCQSADNSRTF VFPGTKVTVLG
GPC3B-93	352	EVQLVQSGAEVKKPG ASVKVSCKASGYTFTS <u>YY</u> MHWRQAPGQGL EWMGIINPSGGSTRYA QKFQGRVTMTRDTS STVYMELSSLRSED TA VYYCARYTALKPRGI <u>YSVDS</u> WGQGTTLTVS S	403	NFMLTQPHSVSESPGK TVTISCTGSSGSIASNY VQWYQQRPGSAPTTV IYEDNQRPSGVPDRFS GSIDSSNSASLTISGL KTEDEADYYCQSYDS <u>SNWV</u> FGGGTKLTVLG
GPC3B-110	353	EVQLVQSGAEVKKPG SSVKVSCQASGGTFTT <u>YS</u> INWVRQAPGQGLE WMGGIIPTFGTTNYAQ NFQDRVTISADESTNT AYMELTSLRSED TAVY YCARYYWRGGSGQG <u>SVTSDY</u> WGQGTTLTV SS	404	QSVLTQPPSASGTPGQ RVTVSCSGSSSNIGSN <u>TV</u> NWYQQLPGTAPKL LLYSSNQRPSGVPDRF SGSRSGTSASLAISGL QSEDEADYYCAAWD <u>DSLNGP</u> VFGGGTKLT VLG
GPC3B-113	354	QVQLVQSGAEVKKPG ASVKVSCKVSGYTLTE <u>LS</u> MHWRQAPGKGL EWMGGFDPEDGETIY AQKFQGRVTMTEDTS TDTAYMELSSLRSED TAVY AVYYCARYSGDYWG QGTTLTVSS	405	SYELTQPPSASGTPGQ RVTISCSGSSSNIGSNS VSWYQHLPGVAPKLL IYSNNQRPSGVPDRFS GSKTGTSASLAISGLQ SEDEGDYYCAAWDDS <u>LNGV</u> LFGGGTKLTVL G
GPC3B-115	355	QVQLVQSGAEVKRPG ATIKVSCKTSGYTFTA <u>YY</u> THWRQAPGQGL EWVGRINANTGGTDY APKFRDRVIMTRDTSI STAYMELGRLTSED TA VYYCARISGYHSSGW <u>DYWG</u> QGTTLTVSS	406	SYELTQPPSVSVAPGK TARITCGGNNIGSKSV HWYQQKPGQAPVLV VYDDSDRPSGIPERFS GSNSGNTATLTISRVE AGDEADYYCQVWDS <u>SSDPLY</u> VFGTGTKVTV LG
GPC3B-119	356	QVQLVQSGSELKKPG ASVKVSCKASGYTFTS <u>Y</u> AMNWVRQAPGQGL EWMGWINTNTGNPTY AQGFTGRFVFSLDTSV STAYLQISSLKAEDTAV YYCARGYYGKYDKW GQGTTLTVSS	407	QSVVTQPPSVSAAPG QKVTISCSGSSSNIGN <u>NY</u> VSWYQQIPGTAPK LLIYDNNKRPSGIPDR FSGSRSGTSATLGITGL QTGDEAHYYCATWD <u>NSLSAL</u> IFGGGTKVTV LG

[0283]

克隆编号	SEQ ID NO:	VH	SEQ ID NO:	VL
GPC3B-125	357	QMQLVQSGSELKKPG ASVKVSCASGYTFTS YAMNWVRQAPGQGL EWMGWINTNTGNPTY AQGFTGRFVFSLDTSV STAYLQISSLKAEDTAV YYCARQSHDEWGQG TLVTVSS	408	QSALTQPASVSGSPGQ SITISCTGTSSDVGGY NYVSWFQQHPGKAPK LIIYEVSNRPSGVSDRF SGSKSGSTASLTISGLQ AEDEANYCYSSYTSST TVIFGGGTKLTVLG

[0284] 在一些实施例中,抗GPC3抗体部分包括:i) V_H ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:32的HC-CDR1或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体、氨基酸序列为SEQ ID NO:83的HC-CDR2或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体,及氨基酸序列为SEQ ID NO:134的HC-CDR3或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体;以及ii) V_L ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:185的LC-CDR1或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体、氨基酸序列为SEQ ID NO:236的LC-CDR2或包括最多约3(例如约1、2或3中的任一者)个氨基酸取代的其变异体,及氨基酸序列为SEQ ID NO:287的LC-CDR3或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分包括:(1) i) V_H ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:32的HC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:83的HC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:134的HC-CDR3,或HC-CDR序列中包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体;以及ii) V_L ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:185的LC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:236的LC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:287的LC-CDR3,或LC-CDR序列中包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体。在一些实施例中,氨基酸取代发生于HC-CDR1或HC-CDR2中。在一些实施例中,氨基酸取代发生于LC-CDR1或LC-CDR2中。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分包括i) V_H ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:32的HC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:83的HC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:134的HC-CDR3;以及ii) V_L ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:185的LC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:236的LC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:287的LC-CDR3。

[0285] 在一些实施例中,抗GPC3抗体部分包括:i) V_H ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:33的HC-CDR1或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体、氨基酸序列为SEQ ID NO:84的HC-CDR2或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体,及氨基酸序列为SEQ ID NO:135的HC-CDR3或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体;以及ii) V_L ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:186的LC-CDR1或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体、氨基酸序列为SEQ ID NO:237的LC-CDR2或包括最多约3(例如约1、2或3中的任一者)个氨基酸取代的其变异体,及氨基酸序列为SEQ ID NO:288的LC-CDR3或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分包括:(1) i) V_H ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:33的HC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:84的HC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:135的HC-CDR3,或HC-CDR序列中包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体;以及ii) V_L ,其包括氨基酸序列为SEQ

ID NO:186的LC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:237的LC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:288的LC-CDR3,或LC-CDR序列中包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体。在一些实施例中,氨基酸取代发生于HC-CDR1或HC-CDR2中。在一些实施例中,氨基酸取代发生于LC-CDR1或LC-CDR2中。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分包括i) V_H ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:33的HC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:84的HC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:135的HC-CDR3;以及ii) V_L ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:186的LC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:237的LC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:288的LC-CDR3。

[0286] 在一些实施例中,抗GPC3抗体部分包括:i) V_H ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:34的HC-CDR1或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体、氨基酸序列为SEQ ID NO:85的HC-CDR2或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体,及氨基酸序列为SEQ ID NO:136的HC-CDR3或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体;以及ii) V_L ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:187的LC-CDR1或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体、氨基酸序列为SEQ ID NO:238的LC-CDR2或包括最多约3(例如约1、2或3中的任一者)个氨基酸取代的其变异体,及氨基酸序列为SEQ ID NO:289的LC-CDR3或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分包括:(1) i) V_H ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:34的HC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:85的HC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:136的HC-CDR3,或HC-CDR序列中包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体;以及ii) V_L ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:187的LC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:238的LC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:289的LC-CDR3,或LC-CDR序列中包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体。在一些实施例中,氨基酸取代发生于HC-CDR1或HC-CDR2中。在一些实施例中,氨基酸取代发生于LC-CDR1或LC-CDR2中。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分包括i) V_H ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:34的HC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:85的HC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:136的HC-CDR3;以及ii) V_L ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:187的LC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:238的LC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:289的LC-CDR3。

[0287] 在一些实施例中,抗GPC3抗体部分包括:i) V_H ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:35的HC-CDR1或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体、氨基酸序列为SEQ ID NO:86的HC-CDR2或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体,及氨基酸序列为SEQ ID NO:137的HC-CDR3或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体;以及ii) V_L ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:188的LC-CDR1或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体、氨基酸序列为SEQ ID NO:239的LC-CDR2或包括最多约3(例如约1、2或3中的任一者)个氨基酸取代的其变异体,及氨基酸序列为SEQ ID NO:290的LC-CDR3或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分包括:(1) i) V_H ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:35的HC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:86的HC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:137的HC-CDR3,或HC-CDR序列中包括最多约5(例如约

1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体;以及ii) V_L ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:188的LC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:239的LC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:290的LC-CDR3,或LC-CDR序列中包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体。在一些实施例中,氨基酸取代发生于HC-CDR1或HC-CDR2中。在一些实施例中,氨基酸取代发生于LC-CDR1或LC-CDR2中。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分包括i) V_H ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:35的HC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:86的HC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:137的HC-CDR3;以及ii) V_L ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:188的LC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:239的LC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:290的LC-CDR3。

[0288] 在一些实施例中,抗GPC3抗体部分包括:i) V_H ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:36的HC-CDR1或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体、氨基酸序列为SEQ ID NO:87的HC-CDR2或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体,及氨基酸序列为SEQ ID NO:138的HC-CDR3或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体;以及ii) V_L ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:189的LC-CDR1或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体、氨基酸序列为SEQ ID NO:240的LC-CDR2或包括最多约3(例如约1、2或3中的任一者)个氨基酸取代的其变异体,及氨基酸序列为SEQ ID NO:291的LC-CDR3或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分包括:(1) i) V_H ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:36的HC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:87的HC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:138的HC-CDR3,或HC-CDR序列中包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体;以及ii) V_L ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:189的LC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:240的LC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:291的LC-CDR3,或LC-CDR序列中包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体。在一些实施例中,氨基酸取代发生于HC-CDR1或HC-CDR2中。在一些实施例中,氨基酸取代发生于LC-CDR1或LC-CDR2中。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分包括i) V_H ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:36的HC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:87的HC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:138的HC-CDR3;以及ii) V_L ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:189的LC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:240的LC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:291的LC-CDR3。

[0289] 在一些实施例中,抗GPC3抗体部分包括:i) V_H ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:37的HC-CDR1或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体、氨基酸序列为SEQ ID NO:88的HC-CDR2或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体,及氨基酸序列为SEQ ID NO:139的HC-CDR3或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体;以及ii) V_L ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:190的LC-CDR1或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体、氨基酸序列为SEQ ID NO:241的LC-CDR2或包括最多约3(例如约1、2或3中的任一者)个氨基酸取代的其变异体,及氨基酸序列为SEQ ID NO:292的LC-CDR3或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分包括:(1) i) V_H ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:37的HC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:88的

HC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:139的HC-CDR3,或HC-CDR序列中包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体;以及ii) V_L ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:190的LC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:241的LC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:292的LC-CDR3,或LC-CDR序列中包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体。在一些实施例中,氨基酸取代发生于HC-CDR1或HC-CDR2中。在一些实施例中,氨基酸取代发生于LC-CDR1或LC-CDR2中。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分包括i) V_H ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:37的HC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:88的HC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:139的HC-CDR3;以及ii) V_L ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:190的LC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:241的LC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:292的LC-CDR3。

[0290] 在一些实施例中,抗GPC3抗体部分包括:i) V_H ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:38的HC-CDR1或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体、氨基酸序列为SEQ ID NO:89的HC-CDR2或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体,及氨基酸序列为SEQ ID NO:140的HC-CDR3或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体;以及ii) V_L ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:191的LC-CDR1或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体、氨基酸序列为SEQ ID NO:242的LC-CDR2或包括最多约3(例如约1、2或3中的任一者)个氨基酸取代的其变异体,及氨基酸序列为SEQ ID NO:293的LC-CDR3或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分包括:(1) i) V_H ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:38的HC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:89的HC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:140的HC-CDR3,或HC-CDR序列中包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体;以及ii) V_L ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:191的LC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:242的LC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:293的LC-CDR3,或LC-CDR序列中包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体。在一些实施例中,氨基酸取代发生于HC-CDR1或HC-CDR2中。在一些实施例中,氨基酸取代发生于LC-CDR1或LC-CDR2中。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分包括i) V_H ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:38的HC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:89的HC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:140的HC-CDR3;以及ii) V_L ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:191的LC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:242的LC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:293的LC-CDR3。

[0291] 在一些实施例中,抗GPC3抗体部分包括:i) V_H ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:39的HC-CDR1或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体、氨基酸序列为SEQ ID NO:90的HC-CDR2或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体,及氨基酸序列为SEQ ID NO:141的HC-CDR3或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体;以及ii) V_L ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:192的LC-CDR1或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体、氨基酸序列为SEQ ID NO:243的LC-CDR2或包括最多约3(例如约1、2或3中的任一者)个氨基酸取代的其变异体,及氨基酸序列为SEQ ID NO:294的LC-CDR3或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分包

括：(1) i) V_H ，其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:39的HC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:90的HC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:141的HC-CDR3，或HC-CDR序列中包括最多约5（例如约1、2、3、4或5中的任一者）个氨基酸取代的其变异体；以及ii) V_L ，其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:192的LC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:243的LC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:294的LC-CDR3，或LC-CDR序列中包括最多约5（例如约1、2、3、4或5中的任一者）个氨基酸取代的其变异体。在一些实施例中，氨基酸取代发生于HC-CDR1或HC-CDR2中。在一些实施例中，氨基酸取代发生于LC-CDR1或LC-CDR2中。在一些实施例中，抗GPC3抗体部分包括i) V_H ，其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:39的HC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:90的HC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:141的HC-CDR3；以及ii) V_L ，其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:192的LC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:243的LC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:294的LC-CDR3。

[0292] 在一些实施例中，抗GPC3抗体部分包括：i) V_H ，其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:40的HC-CDR1或包括最多约5（例如约1、2、3、4或5中的任一者）个氨基酸取代的其变异体、氨基酸序列为SEQ ID NO:91的HC-CDR2或包括最多约5（例如约1、2、3、4或5中的任一者）个氨基酸取代的其变异体，及氨基酸序列为SEQ ID NO:142的HC-CDR3或包括最多约5（例如约1、2、3、4或5中的任一者）个氨基酸取代的其变异体；以及ii) V_L ，其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:193的LC-CDR1或包括最多约5（例如约1、2、3、4或5中的任一者）个氨基酸取代的其变异体、氨基酸序列为SEQ ID NO:244的LC-CDR2或包括最多约3（例如约1、2或3中的任一者）个氨基酸取代的其变异体，及氨基酸序列为SEQ ID NO:295的LC-CDR3或包括最多约5（例如约1、2、3、4或5中的任一者）个氨基酸取代的其变异体。在一些实施例中，抗GPC3抗体部分包括：(1) i) V_H ，其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:40的HC-CDR1、包括氨基酸序列为SEQ ID NO:91的HC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:142的HC-CDR3，或HC-CDR序列中包括最多约5（例如约1、2、3、4或5中的任一者）个氨基酸取代；以及ii) V_L ，其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:193的LC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:244的LC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:295的LC-CDR3，或LC-CDR序列中包括最多约5（例如约1、2、3、4或5中的任一者）个氨基酸取代的其变异体。在一些实施例中，氨基酸取代发生于HC-CDR1或HC-CDR2中。在一些实施例中，氨基酸取代发生于LC-CDR1或LC-CDR2中。在一些实施例中，抗GPC3抗体部分包括i) V_H ，其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:40的HC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:91的HC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:142的HC-CDR3；以及ii) V_L ，其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:193的LC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:244的LC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:295的LC-CDR3。

[0293] 在一些实施例中，抗GPC3抗体部分包括：i) V_H ，其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:41的HC-CDR1或包括最多约5（例如约1、2、3、4或5中的任一者）个氨基酸取代的其变异体、氨基酸序列为SEQ ID NO:92的HC-CDR2或包括最多约5（例如约1、2、3、4或5中的任一者）个氨基酸取代的其变异体，及氨基酸序列为SEQ ID NO:143的HC-CDR3或包括最多约5（例如约1、2、3、4或5中的任一者）个氨基酸取代的其变异体；以及ii) V_L ，其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:194的LC-CDR1或包括最多约5（例如约1、2、3、4或5中的任一者）个氨基酸取代的其变异体、氨基酸序列为SEQ ID NO:245的LC-CDR2或包括最多约3（例如约1、2或3中的任一者）个氨基酸取代的其变异体，及氨基酸序列为SEQ ID NO:296的LC-CDR3或包括最多约5（例如约1、2、3、4或5中的任一者）个氨基酸取代的其变异体。在一些实施例中，抗GPC3抗体部分包

括：(1) i) V_H ，其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:41的HC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:92的HC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:143的HC-CDR3，或HC-CDR序列中包括最多约5（例如约1、2、3、4或5中的任一者）个氨基酸取代的其变异体；以及ii) V_L ，其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:194的LC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:245的LC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:296的LC-CDR3，或LC-CDR序列中包括最多约5（例如约1、2、3、4或5中的任一者）个氨基酸取代的其变异体。在一些实施例中，氨基酸取代发生于HC-CDR1或HC-CDR2中。在一些实施例中，氨基酸取代发生于LC-CDR1或LC-CDR2中。在一些实施例中，抗GPC3抗体部分包括i) V_H ，其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:41的HC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:92的HC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:143的HC-CDR3；以及ii) V_L ，其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:194的LC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:245的LC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:296的LC-CDR3。

[0294] 在一些实施例中，抗GPC3抗体部分包括：i) V_H ，其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:42的HC-CDR1或包括最多约5（例如约1、2、3、4或5中的任一者）个氨基酸取代的其变异体、氨基酸序列为SEQ ID NO:93的HC-CDR2或包括最多约5（例如约1、2、3、4或5中的任一者）个氨基酸取代的其变异体，及氨基酸序列为SEQ ID NO:144的HC-CDR3或包括最多约5（例如约1、2、3、4或5中的任一者）个氨基酸取代的其变异体；以及ii) V_L ，其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:195的LC-CDR1或包括最多约5（例如约1、2、3、4或5中的任一者）个氨基酸取代的其变异体、氨基酸序列为SEQ ID NO:246的LC-CDR2或包括最多约3（例如约1、2或3中的任一者）个氨基酸取代的其变异体，及氨基酸序列为SEQ ID NO:297的LC-CDR3或包括最多约5（例如约1、2、3、4或5中的任一者）个氨基酸取代的其变异体。在一些实施例中，抗GPC3抗体部分包括：(1) i) V_H ，其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:42的HC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:93的HC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:144的HC-CDR3，或HC-CDR序列中包括最多约5（例如约1、2、3、4或5中的任一者）个氨基酸取代的其变异体；以及ii) V_L ，其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:195的LC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:246的LC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:297的LC-CDR3，或LC-CDR序列中包括最多约5（例如约1、2、3、4或5中的任一者）个氨基酸取代的其变异体。在一些实施例中，氨基酸取代发生于HC-CDR1或HC-CDR2中。在一些实施例中，氨基酸取代发生于LC-CDR1或LC-CDR2中。在一些实施例中，抗GPC3抗体部分包括i) V_H ，其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:42的HC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:93的HC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:144的HC-CDR3；以及ii) V_L ，其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:195的LC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:246的LC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:297的LC-CDR3。

[0295] 在一些实施例中，抗GPC3抗体部分包括：i) V_H ，其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:43的HC-CDR1或包括最多约5（例如约1、2、3、4或5中的任一者）个氨基酸取代的其变异体、氨基酸序列为SEQ ID NO:94的HC-CDR2或包括最多约5（例如约1、2、3、4或5中的任一者）个氨基酸取代的其变异体，及氨基酸序列为SEQ ID NO:145的HC-CDR3或包括最多约5（例如约1、2、3、4或5中的任一者）个氨基酸取代的其变异体；以及ii) V_L ，其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:196的LC-CDR1或包括最多约5（例如约1、2、3、4或5中的任一者）个氨基酸取代的其变异体、氨基酸序列为SEQ ID NO:247的LC-CDR2或包括最多约3（例如约1、2或3中的任一者）个氨基酸取代的其变异体，及氨基酸序列为SEQ ID NO:298的LC-CDR3或包括最多约5（例如约

1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分包括:(1) i) V_H ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:43的HC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:94的HC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:145的HC-CDR3,或HC-CDR序列中包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体;以及ii) V_L ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:196的LC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:247的LC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:298的LC-CDR3,或LC-CDR序列中包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体。在一些实施例中,氨基酸取代发生于HC-CDR1或HC-CDR2中。在一些实施例中,氨基酸取代发生于LC-CDR1或LC-CDR2中。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分包括i) V_H ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:43的HC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:94的HC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:145的HC-CDR3;以及ii) V_L ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:196的LC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:247的LC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:298的LC-CDR3。

[0296] 在一些实施例中,抗GPC3抗体部分包括:i) V_H ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:44的HC-CDR1或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体、氨基酸序列为SEQ ID NO:95的HC-CDR2或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体,及氨基酸序列为SEQ ID NO:146的HC-CDR3或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体;以及ii) V_L ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:197的LC-CDR1或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体、氨基酸序列为SEQ ID NO:248的LC-CDR2或包括最多约3(例如约1、2或3中的任一者)个氨基酸取代的其变异体,及氨基酸序列为SEQ ID NO:299的LC-CDR3或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分包括:(1) i) V_H ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:44的HC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:95的HC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:146的HC-CDR3,或HC-CDR序列中包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体;以及ii) V_L ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:197的LC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:248的LC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:299的LC-CDR3,或LC-CDR序列中包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体。在一些实施例中,氨基酸取代发生于HC-CDR1或HC-CDR2中。在一些实施例中,氨基酸取代发生于LC-CDR1或LC-CDR2中。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分包括i) V_H ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:44的HC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:95的HC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:146的HC-CDR3;以及ii) V_L ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:197的LC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:248的LC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:299的LC-CDR3。

[0297] 在一些实施例中,抗GPC3抗体部分包括:i) V_H ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:45的HC-CDR1或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体、氨基酸序列为SEQ ID NO:96的HC-CDR2或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体,及氨基酸序列为SEQ ID NO:147的HC-CDR3或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体;以及ii) V_L ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:198的LC-CDR1或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体、氨基酸序列为SEQ ID NO:249的LC-CDR2或包括最多约3(例如约1、2或3中的任一者)个

氨基酸取代的其变异体,及氨基酸序列为SEQ ID NO:300的LC-CDR3或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分包括:(1) i) V_H ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:45的HC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:96的HC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:147的HC-CDR3,或HC-CDR序列中包括最多约5(例如约1、2、3、4或5)个氨基酸取代的其变异体;以及ii) V_L ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:198的LC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:249的LC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:300的LC-CDR3,或LC-CDR序列中包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体。在一些实施例中,氨基酸取代发生于HC-CDR1或HC-CDR2中。在一些实施例中,氨基酸取代发生于LC-CDR1或LC-CDR2中。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分包括i) V_H ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:45的HC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:96的HC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:147的HC-CDR3;以及ii) V_L ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:198的LC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:249的LC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:300的LC-CDR3。

[0298] 在一些实施例中,抗GPC3抗体部分包括:i) V_H ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:46的HC-CDR1或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体、氨基酸序列为SEQ ID NO:97的HC-CDR2或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体,及氨基酸序列为SEQ ID NO:148的HC-CDR3或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体;以及ii) V_L ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:199的LC-CDR1或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体、氨基酸序列为SEQ ID NO:250的LC-CDR2或包括最多约3(例如约1、2或3中的任一者)个氨基酸取代的其变异体,及氨基酸序列为SEQ ID NO:301的LC-CDR3或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分包括:(1) i) V_H ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:46的HC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:97的HC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:148的HC-CDR3,或HC-CDR序列中包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体;以及ii) V_L ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:199的LC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:250的LC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:301的LC-CDR3,或LC-CDR序列中包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体。在一些实施例中,氨基酸取代发生于HC-CDR1或HC-CDR2中。在一些实施例中,氨基酸取代发生于LC-CDR1或LC-CDR2中。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分包括i) V_H ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:46的HC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:97的HC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:148的HC-CDR3;以及ii) V_L ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:199的LC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:250的LC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:301的LC-CDR3。

[0299] 在一些实施例中,抗GPC3抗体部分包括:i) V_H ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:47的HC-CDR1或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体、氨基酸序列为SEQ ID NO:98的HC-CDR2或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体,及氨基酸序列为SEQ ID NO:149的HC-CDR3或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体;以及ii) V_L ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:200的LC-CDR1或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体、氨基酸序列为SEQ ID NO:251的LC-CDR2或包括最多约3(例如约1、2或3中的任一者)个

氨基酸取代的其变异体,及氨基酸序列为SEQ ID NO:302的LC-CDR3或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分包括:(1) i) V_H ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:47的HC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:98的HC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:149的HC-CDR3,或HC-CDR序列中包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体;以及ii) V_L ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:200的LC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:251的LC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:302的LC-CDR3,或LC-CDR序列中包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体。在一些实施例中,氨基酸取代发生于HC-CDR1或HC-CDR2中。在一些实施例中,氨基酸取代发生于LC-CDR1或LC-CDR2中。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分包括i) V_H ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:47的HC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:98的HC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:149的HC-CDR3;以及ii) V_L ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:200的LC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:251的LC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:302的LC-CDR3。

[0300] 在一些实施例中,抗GPC3抗体部分包括:i) V_H ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:48的HC-CDR1或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体、氨基酸序列为SEQ ID NO:99的HC-CDR2或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体,及氨基酸序列为SEQ ID NO:150的HC-CDR3或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体;以及ii) V_L ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:201的LC-CDR1或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体、氨基酸序列为SEQ ID NO:252的LC-CDR2或包括最多约3(例如约1、2或3中的任一者)个氨基酸取代的其变异体,及氨基酸序列为SEQ ID NO:303的LC-CDR3或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分包括:(1) i) V_H ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:48的HC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:99的HC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:150的HC-CDR3,或HC-CDR序列中包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体;以及ii) V_L ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:201的LC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:252的LC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:303的LC-CDR3,或LC-CDR序列中包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体。在一些实施例中,氨基酸取代发生于HC-CDR1或HC-CDR2中。在一些实施例中,氨基酸取代发生于LC-CDR1或LC-CDR2中。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分包括i) V_H ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:48的HC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:99的HC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:150的HC-CDR3;以及ii) V_L ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:201的LC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:252的LC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:303的LC-CDR3。

[0301] 在一些实施例中,抗GPC3抗体部分包括:i) V_H ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:49的HC-CDR1或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体、氨基酸序列为SEQ ID NO:100的HC-CDR2或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体,及氨基酸序列为SEQ ID NO:151的HC-CDR3或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体;以及ii) V_L ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:202的LC-CDR1或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异

体、氨基酸序列为SEQ ID NO:253的LC-CDR2或包括最多约3 (例如约1、2或3中的任一者) 个氨基酸取代的其变异体,及氨基酸序列为SEQ ID NO:304的LC-CDR3或包括最多约5 (例如约1、2、3、4或5中的任一者) 个氨基酸取代的其变异体。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分包括:(1) i) V_H ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:49的HC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:100的HC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:151的HC-CDR3,或HC-CDR序列中包括最多约5 (例如约1、2、3、4或5中的任一者) 个氨基酸取代的其变异体;以及ii) V_L ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:202的LC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:253的LC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:304的LC-CDR3,或LC-CDR序列中包括最多约5 (例如约1、2、3、4或5中的任一者) 个氨基酸取代的其变异体。在一些实施例中,氨基酸取代发生于HC-CDR1或HC-CDR2。在一些实施例中,氨基酸取代发生于LC-CDR1或LC-CDR2中。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分包括i) V_H ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:49的HC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:100的HC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:151的HC-CDR3;以及ii) V_L ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:202的LC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:253的LC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:304的LC-CDR3。

[0302] 在一些实施例中,抗GPC3抗体部分包括:i) V_H ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:50的HC-CDR1或包括最多约5 (例如约1、2、3、4或5中的任一者) 个氨基酸取代的其变异体、氨基酸序列为SEQ ID NO:101的HC-CDR2或包括最多约5 (例如约1、2、3、4或5中的任一者) 个氨基酸取代的其变异体,及氨基酸序列为SEQ ID NO:152的HC-CDR3或包括最多约5 (例如约1、2、3、4或5中的任一者) 个氨基酸取代的其变异体;以及ii) V_L ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:203的LC-CDR1或包括最多约5 (例如约1、2、3、4或5中的任一者) 个氨基酸取代的其变异体、氨基酸序列为SEQ ID NO:254的LC-CDR2或包括最多约3 (例如约1、2或3中的任一者) 个氨基酸取代的其变异体,及氨基酸序列为SEQ ID NO:305的LC-CDR3或包括最多约5 (例如约1、2、3、4或5中的任一者) 个氨基酸取代的其变异体。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分包括:(1) i) V_H ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:50的HC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:101的HC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:152的HC-CDR3,或HC-CDR序列中包括最多约5 (例如约1、2、3、4或5中的任一者) 个氨基酸取代的其变异体;以及ii) V_L ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:203的LC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:254的LC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:305的LC-CDR3,或LC-CDR序列中包括最多约5 (例如约1、2、3、4或5中的任一者) 个氨基酸取代的其变异体。在一些实施例中,氨基酸取代发生于HC-CDR1或HC-CDR2中。在一些实施例中,氨基酸取代发生于LC-CDR1或LC-CDR2。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分包括i) V_H ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:50的HC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:101的HC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:152的HC-CDR3;以及ii) V_L ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:203的LC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:254的LC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:305的LC-CDR3。

[0303] 在一些实施例中,抗GPC3抗体部分包括:i) V_H ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:51的HC-CDR1或包括最多约5 (例如约1、2、3、4或5中的任一者) 个氨基酸取代的其变异体、氨基酸序列为SEQ ID NO:102的HC-CDR2或包括最多约5 (例如约1、2、3、4或5中的任一者) 个氨基酸取代的其变异体,及氨基酸序列为SEQ ID NO:153的HC-CDR3或包括最多约5 (例如约1、2、3、4或5中的任一者) 个氨基酸取代的其变异体;以及ii) V_L ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:204的LC-CDR1或包括最多约5 (例如约1、2、3、4或5中的任一者) 个氨基酸取代的其变异

体、氨基酸序列为SEQ ID NO:255的LC-CDR2或包括最多约3(例如约1、2或3中的任一者)个氨基酸取代的其变异体,及氨基酸序列为SEQ ID NO:306的LC-CDR3或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分包括:(1) i) V_H ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:51的HC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:102的HC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:153的HC-CDR3,或HC-CDR序列中包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体;以及ii) V_L ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:204的LC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:255的LC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:306的LC-CDR3,或LC-CDR序列中包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体。在一些实施例中,氨基酸取代发生于HC-CDR1或HC-CDR2中。在一些实施例中,氨基酸取代发生于LC-CDR1或LC-CDR2中。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分包括i) V_H ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:51的HC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:102的HC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:153的HC-CDR3;以及ii) V_L ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:204的LC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:255的LC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:306的LC-CDR3。

[0304] 在一些实施例中,抗GPC3抗体部分包括:a) 包括氨基酸序列SEQ ID NO:338的 V_H 或与SEQ ID NO:338具有至少约80%(包含例如至少约80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%中的任一者)序列一致性的其变异体;以及b) 包括氨基酸序列SEQ ID NO:389的 V_L 或与SEQ ID NO:389具有至少约80%(包含例如至少约80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%中的任一者)序列一致性的其变异体。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分包括:a) 包括氨基酸序列SEQ ID NO:338的 V_H ;及b) 包括氨基酸序列SEQ ID NO:389的 V_L 。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分包括氨基酸序列为SEQ ID NO:338的 V_H 的HC-CDR,及氨基酸序列为SEQ ID NO:389的 V_L 的LC-CDR。

[0305] 在一些实施例中,抗GPC3抗体部分包括:a) 氨基酸序列为SEQ ID NO:339的 V_H 或与SEQ ID NO:339具有至少约80%(包含例如至少约80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%中的任一者)序列一致性的其变异体;及b) 氨基酸序列为SEQ ID NO:390的 V_L 或与SEQ ID NO:390具有至少约80%(包含例如至少约80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%中的任一者)序列一致性的其变异体。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分包括:a) 氨基酸序列为SEQ ID NO:339的 V_H ;及b) 氨基酸序列为SEQ ID NO:390的 V_L 。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分包括氨基酸序列为SEQ ID NO:339的 V_H 的HC-CDR,及氨基酸序列为SEQ ID NO:390的 V_L 的LC-CDR。

[0306] 在一些实施例中,抗GPC3抗体部分包括:a) 氨基酸序列为SEQ ID NO:340的 V_H 或与SEQ ID NO:340具有至少约80%(包含例如至少约80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%中的任一者)序列一致性的其变异体;及b) 氨基酸序列为SEQ ID NO:391的 V_L 或与SEQ ID NO:391具有至少约80%(包含例如至少约80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%中的任一者)序列一致性的其变异体。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分包括:a) 氨基酸序列为SEQ ID NO:340的 V_H ;及b) 氨基酸序列为SEQ ID NO:391的 V_L 。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分包括氨基酸序列为SEQ ID NO:340的 V_H 的HC-CDR,及氨基酸序列为SEQ ID NO:391的 V_L 的LC-CDR。

[0307] 在一些实施例中,抗GPC3抗体部分包括:a) 氨基酸序列为SEQ ID NO:341的 V_H 或与

SEQ ID NO:341具有至少约80% (包含例如至少约80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%中的任一者) 序列一致性的其变异体;及b) 氨基酸序列为SEQ ID NO:392的V_L或与SEQ ID NO:392具有至少约80% (包含例如至少约80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%中的任一者) 序列一致性的其变异体。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分包括:a) 氨基酸序列为SEQ ID NO:341的V_H;及b) 氨基酸序列为SEQ ID NO:392的V_L。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分包括氨基酸序列为SEQ ID NO:341的V_H的HC-CDR,及氨基酸序列为SEQ ID NO:392的V_L的LC-CDR。

[0308] 在一些实施例中,抗GPC3抗体部分包括:a) 氨基酸序列为SEQ ID NO:342的V_H或与SEQ ID NO:342具有至少约80% (包含例如至少约80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%中的任一者) 序列一致性的其变异体;及b) 氨基酸序列为SEQ ID NO:393的V_L或与SEQ ID NO:393具有至少约80% (包含例如至少约80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%中的任一者) 序列一致性的其变异体。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分包括:a) 氨基酸序列为SEQ ID NO:342的V_H;及b) 氨基酸序列为SEQ ID NO:393的V_L。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分包括氨基酸序列为SEQ ID NO:342的V_H的HC-CDR,及氨基酸序列为SEQ ID NO:393的V_L的LC-CDR。

[0309] 在一些实施例中,抗GPC3抗体部分包括:a) 氨基酸序列为SEQ ID NO:343的V_H或与SEQ ID NO:343具有至少约80% (包含例如至少约80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%中的任一者) 序列一致性的其变异体;及b) 包括氨基酸序列SEQ ID NO:394的V_L或与SEQ ID NO:394具有至少约80% (包含例如至少约80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%中的任一者) 序列一致性的其变异体。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分包括:a) 氨基酸序列为SEQ ID NO:343的V_H;及b) 氨基酸序列为SEQ ID NO:394的V_L。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分包括氨基酸序列为SEQ ID NO:343的V_H的HC-CDR,及氨基酸序列为SEQ ID NO:394的V_L的LC-CDR。

[0310] 在一些实施例中,抗GPC3抗体部分包括:a) 氨基酸序列为SEQ ID NO:344的V_H或与SEQ ID NO:344具有至少约80% (包含例如至少约80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%中的任一者) 序列一致性的其变异体;及b) 氨基酸序列为SEQ ID NO:395的V_L或与SEQ ID NO:395具有至少约80% (包含例如至少约80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%中的任一者) 序列一致性的其变异体。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分包括:a) 氨基酸序列为SEQ ID NO:344的V_H;及b) 氨基酸序列为SEQ ID NO:395的V_L。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分包括氨基酸序列为SEQ ID NO:344的V_H的HC-CDR,及氨基酸序列为SEQ ID NO:395的V_L的LC-CDR。

[0311] 在一些实施例中,抗GPC3抗体部分包括:a) 氨基酸序列为SEQ ID NO:345的V_H或与SEQ ID NO:345具有至少约80% (包含例如至少约80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%中的任一者) 序列一致性的其变异体;及b) 氨基酸序列为SEQ ID NO:396的V_L或与SEQ ID NO:396具有至少约80% (包含例如至少约80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%中的任一者) 序列一致性的其变异体。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分包括:a) 氨基酸序列为SEQ ID NO:345的V_H;及b) 氨基酸序列为SEQ ID NO:396的V_L。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分包括氨基酸序列为SEQ ID NO:345的V_H的HC-CDR,及氨基酸序列为SEQ ID NO:396的V_L的LC-CDR。

[0312] 在一些实施例中,抗GPC3抗体部分包括:a)氨基酸序列为SEQ ID NO:346的V_H或与SEQ ID NO:346具有至少约80% (包含例如至少约80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%中的任一者)序列一致性的其变异体;及b)氨基酸序列为SEQ ID NO:397的V_L或与SEQ ID NO:397具有至少约80% (包含例如至少约80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%中的任一者)序列一致性的其变异体。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分包括:a)氨基酸序列为SEQ ID NO:346的V_H;及b)氨基酸序列为SEQ ID NO:397的V_L。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分包括氨基酸序列为SEQ ID NO:346的V_H的HC-CDR,及氨基酸序列为SEQ ID NO:397的V_L的LC-CDR。

[0313] 在一些实施例中,抗GPC3抗体部分包括:a)氨基酸序列为SEQ ID NO:347的V_H或与SEQ ID NO:347具有至少约80% (包含例如至少约80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%中的任一者)序列一致性的其变异体;及b)氨基酸序列为SEQ ID NO:398的V_L或与SEQ ID NO:398具有至少约80% (包含例如至少约80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%中的任一者)序列一致性的其变异体。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分包括:a)氨基酸序列为SEQ ID NO:347的V_H;及b)氨基酸序列为SEQ ID NO:398的V_L。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分包括氨基酸序列为SEQ ID NO:347的V_H的HC-CDR,及氨基酸序列为SEQ ID NO:398的V_L的LC-CDR。

[0314] 在一些实施例中,抗GPC3抗体部分包括:a)氨基酸序列为SEQ ID NO:348的V_H或与SEQ ID NO:348具有至少约80% (包含例如至少约80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%中的任一者)序列一致性的其变异体;及b)氨基酸序列为SEQ ID NO:399的V_L或与SEQ ID NO:399具有至少约80% (包含例如至少约80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%中的任一者)序列一致性的其变异体。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分包括:a)氨基酸序列为SEQ ID NO:348的V_H;及b)氨基酸序列为SEQ ID NO:399的V_L。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分包括氨基酸序列为SEQ ID NO:348的V_H的HC-CDR,及氨基酸序列为SEQ ID NO:399的V_L的LC-CDR。

[0315] 在一些实施例中,抗GPC3抗体部分包括:a)氨基酸序列为SEQ ID NO:349的V_H或与SEQ ID NO:349具有至少约80% (包含例如至少约80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%中的任一者)序列一致性的其变异体;及b)氨基酸序列为SEQ ID NO:400的V_L或与SEQ ID NO:400具有至少约80% (包含例如至少约80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%中的任一者)序列一致性的其变异体。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分包括:a)氨基酸序列为SEQ ID NO:349的V_H;及b)氨基酸序列为SEQ ID NO:400的V_L。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分包括氨基酸序列为SEQ ID NO:349的V_H的HC-CDR,及氨基酸序列为SEQ ID NO:400的V_L的LC-CDR。

[0316] 在一些实施例中,抗GPC3抗体部分包括:a)氨基酸序列为SEQ ID NO:350的V_H或与SEQ ID NO:350具有至少约80% (包含例如至少约80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%中的任一者)序列一致性的其变异体;及b)氨基酸序列为SEQ ID NO:401的V_L或与SEQ ID NO:401具有至少约80% (包含例如至少约80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%中的任一者)序列一致性的其变异体。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分包括:a)氨基酸序列为SEQ ID NO:350的V_H;及b)氨基酸序列为SEQ ID NO:401的V_L。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分包括氨基酸序列为SEQ ID NO:350的V_H的HC-CDR,及氨基酸序列为SEQ ID

NO:401的V_L的LC-CDR。

[0317] 在一些实施例中,抗GPC3抗体部分包括:a)氨基酸序列为SEQ ID NO:351的V_H或与SEQ ID NO:351具有至少约80% (包含例如至少约80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%中的任一者)序列一致性的其变异体;及b)氨基酸序列为SEQ ID NO:402的V_L或与SEQ ID NO:402具有至少约80% (包含例如至少约80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%中的任一者)序列一致性的其变异体。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分包括:a)氨基酸序列为SEQ ID NO:351的V_H;及b)氨基酸序列为SEQ ID NO:402的V_L。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分包括氨基酸序列为SEQ ID NO:351的V_H的HC-CDR,及氨基酸序列为SEQ ID NO:402的V_L的LC-CDR。

[0318] 在一些实施例中,抗GPC3抗体部分包括:a)氨基酸序列为SEQ ID NO:352的V_H或与SEQ ID NO:352具有至少约80% (包含例如至少约80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%中的任一者)序列一致性的其变异体;及b)氨基酸序列为SEQ ID NO:403的V_L或与SEQ ID NO:403具有至少约80% (包含例如至少约80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%中的任一者)序列一致性的其变异体。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分包括:a)氨基酸序列为SEQ ID NO:352的V_H;及b)氨基酸序列为SEQ ID NO:403的V_L。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分包括氨基酸序列为SEQ ID NO:352的V_H的HC-CDR,及氨基酸序列为SEQ ID NO:403的V_L的LC-CDR。

[0319] 在一些实施例中,抗GPC3抗体部分包括:a)氨基酸序列为SEQ ID NO:353的V_H或与SEQ ID NO:353具有至少约80% (包含例如至少约80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%中的任一者)序列一致性的其变异体;及b)氨基酸序列为SEQ ID NO:404的V_L或与SEQ ID NO:404具有至少约80% (包含例如至少约80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%中的任一者)序列一致性的其变异体。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分包括:a)氨基酸序列为SEQ ID NO:353的V_H;及b)氨基酸序列为SEQ ID NO:404的V_L。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分包括氨基酸序列为SEQ ID NO:353的V_H的HC-CDR,及氨基酸序列为SEQ ID NO:404的V_L的LC-CDR。

[0320] 在一些实施例中,抗GPC3抗体部分包括:a)氨基酸序列为SEQ ID NO:354的V_H或与SEQ ID NO:354具有至少约80% (包含例如至少约80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%中的任一者)序列一致性的其变异体;及b)氨基酸序列为SEQ ID NO:405的V_L或与SEQ ID NO:405具有至少约80% (包含例如至少约80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%中的任一者)序列一致性的其变异体。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分包括:a)氨基酸序列为SEQ ID NO:354的V_H;及b)氨基酸序列为SEQ ID NO:405的V_L。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分包括氨基酸序列为SEQ ID NO:354的V_H的HC-CDR,及氨基酸序列为SEQ ID NO:405的V_L的LC-CDR。

[0321] 在一些实施例中,抗GPC3抗体部分包括:a)氨基酸序列为SEQ ID NO:355的V_H或与SEQ ID NO:355具有至少约80% (包含例如至少约80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%中的任一者)序列一致性的其变异体;及b)氨基酸序列为SEQ ID NO:406的V_L或与SEQ ID NO:406具有至少约80% (包含例如至少约80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%中的任一者)序列一致性的其变异体。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分包括:a)氨基酸序列为SEQ ID NO:355的V_H;及b)氨基酸序列为SEQ ID NO:406的V_L。在一些实施例中,

抗GPC3抗体部分包括氨基酸序列为SEQ ID NO:355的V_H的HC-CDR,及氨基酸序列为SEQ ID NO:406的V_L的LC-CDR。

[0322] 在一些实施例中,抗GPC3抗体部分包括:a)氨基酸序列为SEQ ID NO:356的V_H或与SEQ ID NO:356具有至少约80% (包含例如至少约80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%中的任一者)序列一致性的其变异体;及b)氨基酸序列为SEQ ID NO:407的V_L或与SEQ ID NO:407具有至少约80% (包含例如至少约80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%中的任一者)序列一致性的其变异体。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分包括:a)氨基酸序列为SEQ ID NO:356的V_H;及b)氨基酸序列为SEQ ID NO:407的V_L。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分包括氨基酸序列为SEQ ID NO:356的V_H的HC-CDR,及氨基酸序列为SEQ ID NO:407的V_L的LC-CDR。

[0323] 在一些实施例中,抗GPC3抗体部分包括:a)氨基酸序列为SEQ ID NO:357的V_H或与SEQ ID NO:357具有至少约80% (包含例如至少约80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%中的任一者)序列一致性的其变异体;及b)氨基酸序列为SEQ ID NO:408的V_L或与SEQ ID NO:408具有至少约80% (包含例如至少约80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%中的任一者)序列一致性的其变异体。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分包括:a)氨基酸序列为SEQ ID NO:357的V_H;及b)氨基酸序列为SEQ ID NO:408的V_L。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分包括氨基酸序列为SEQ ID NO:357的V_H的HC-CDR,及氨基酸序列为SEQ ID NO:408的V_L的LC-CDR。

[0324] 在一些实施例中,抗GPC3抗体部分与根据本文所述的任一种抗GPC3抗体部分的第二抗GPC3抗体部分竞争结合到靶标GPC3 (例如nGPC3及/或sGPC3)。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分与第二抗GPC3抗体部分结合到相同或基本上相同的抗原决定基。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分结合到靶标GPC3将第二抗GPC3抗体部分对靶标GPC3的结合抑制至少约70% (例如至少约75%、80%、85%、90%、95%、98%或99%中的任一者),或反之亦然。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分与第二抗GPC3抗体部分交叉竞争结合到靶标GPC3,即,抗GPC3抗体部分中的每一者与另一者竞争结合到靶标GPC3。

[0325] 在一些实施例中,提供一种抗GPC3构筑体 (例如经分离的抗GPC3构筑体),其包括特异性识别与细胞表面结合的GPC3的抗GPC3抗体部分,其中所述抗nGPC3抗体部分可为本文所述的任一种抗nGPC3抗体部分。在一些实施例中,提供一种抗GPC3构筑体 (例如经分离的抗GPC3构筑体),其包括特异性识别GPC3 (例如nGPC3及/或sGPC3)的抗GPC3抗体部分,其中所述抗GPC3抗体部分可为本文所述的任一种抗GPC3抗体部分。

[0326] 举例来说,在一些实施例中,提供一种抗GPC3构筑体 (例如经分离的抗GPC3构筑体),其包括特异性识别与细胞表面结合的GPC3的抗GPC3抗体部分 (在本文中称为“抗nGPC3抗体部分”;例如,抗体部分对与细胞表面结合的GPC3的结合亲和力对高于可溶性GPC3的结合亲和力,或抗体部分以高结合亲和力特异性识别与细胞表面结合的GPC3且以低结合亲和力结合到可溶性GPC3)。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分特异性识别包括氨基酸序列SEQ ID NO:460的人类GPC3内的抗原决定基。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分特异性识别氨基酸序列SEQ ID NO:461内的抗原决定基。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分特异性识别氨基酸序列SEQ ID NO:462内的抗原决定基。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分特异性识别氨基酸序列SEQ ID NO:463内的抗原决定基。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分特异性

识别GPC3的N端片段内的抗原决定基。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分特异性识别SEQ ID NO:460的氨基酸1-358内的抗原决定基(SEQ ID NO:468)。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分特异性识别氨基酸序列SEQ ID NO:464内的抗原决定基。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分特异性识别GPC3的C端片段内的抗原决定基。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分特异性识别SEQ ID NO:460的氨基酸359-560内的抗原决定基(SEQ ID NO:465)。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分特异性识别SEQ ID NO:460的氨基酸359-580内的抗原决定基(SEQ ID NO:466)。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分特异性识别缺乏硫酸肝素侧链的GPC3的C端片段内的抗原决定基。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分特异性识别SEQ ID NO:460的氨基酸510-560内的抗原决定基(SEQ ID NO:467)。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分特异性识别跨越位于SEQ ID NO:460的氨基酸R³⁵⁸/S³⁵⁹的弗林裂解位点的抗原决定基。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分可以特异性结合到人类成熟全长GPC3(例如SEQ ID NO:460的氨基酸25-560或25-580),但不结合到人类GPC3的N端片段(例如SEQ ID NO:460的氨基酸25-358)或人类GPC3的C端片段(例如SEQ ID NO:460的氨基酸359-560或359-580)。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分特异性识别缺乏硫酸肝素侧链的GPC3的C端片段内的抗原决定基。在一些实施例中,提供抗GPC3构筑体(例如经分离的抗GPC3构筑体),其包括与本文所述的任一种抗GPC3构筑体竞争结合到nGPC3的抗nGPC3抗体部分。在一些实施例中,提供一种包括抗nGPC3抗体部分的抗GPC3构筑体(例如经分离的抗GPC3构筑体),所述抗nGPC3抗体部分与本文所述的任一种抗GPC3构筑体竞争性地特异性结合到相同或基本上相同的nGPC3抗原决定基。在一些实施例中,GPC3表达于选自自由以下组成的群组的细胞的表面上:HepG2、Hep3B、Huh7、JHH-7及293。在一些实施例中,GPC3表达于癌细胞(例如肝癌细胞,例如HCC)的表面上。在一些实施例中,抗GPC3构筑体为非天然存在的。在一些实施例中,抗GPC3构筑体为Fab、Fab'、F(ab')₂、Fv或scFv。在一些实施例中,抗GPC3构筑体为Fab或Fab'。在一些实施例中,抗GPC3构筑体为scFv。在一些实施例中,抗GPC3构筑体包括任选地经由连接子与Fc片段(例如IgG1 Fc片段)融合的抗GPC3抗体部分。在一些实施例中,抗GPC3构筑体为全长抗体(例如单株抗体)。在一些实施例中,抗GPC3构筑体为多特异性(例如双特异性)分子,例如串联双scFv抗GPC3 T细胞接合体(串联双scFv抗GPC3×CD3ε)。在一些实施例中,抗GPC3构筑体为CAR。在一些实施例中,抗GPC3构筑体为caTCR。在一些实施例中,抗GPC3构筑体为免疫结合物。在一些实施例中,抗GPC3构筑体具有单特异性。在一些实施例中,抗GPC3构筑体具有多特异性(例如双特异性)。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分与nGPC3之间结合的K_d为约10⁻⁷M到约10⁻¹³M(例如约10⁻⁷M到约10⁻¹³M、约10⁻⁹M到约10⁻¹³M,或约10⁻¹⁰M到约10⁻¹²M)。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分与sGPC3之间结合的K_d可为抗nGPC3抗体部分与nGPC3之间结合的K_d的至少约10倍(例如至少约10、10²、10³、10⁴、10⁵、10⁶或10⁷倍)。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分与sGPC3之间结合的K_d为约10⁻¹M到约10⁻⁶M(例如约10⁻¹M到约10⁻⁶M、约10⁻¹M到约10⁻⁵M,或约10⁻²M到约10⁻⁴M)。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分为嵌合的、人类的、部分人类化的、完全人类化的或半合成的。

[0327] 在一些实施例中,提供一种抗GPC3构筑体(例如经分离的抗GPC3构筑体),其包括特异性识别与细胞表面结合的GPC3的抗GPC3抗体部分,所述抗体部分包括:i) V_H,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:1-31中的任一者的HC-CDR1或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体、氨基酸序列为SEQ ID NO:52-82中的任一者的HC-CDR2

或包括最多约5 (例如约1、2、3、4或5中的任一者) 个氨基酸取代的其变异体, 及氨基酸序列为SEQ ID NO:103-133中的任一者的HC-CDR3或包括最多约5 (例如约1、2、3、4或5中的任一者) 个氨基酸取代的其变异体; 以及ii) V_L , 其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:154-184中的任一者的LC-CDR1或包括最多约5 (例如约1、2、3、4或5中的任一者) 个氨基酸取代的其变异体、氨基酸序列为SEQ ID NO:205-235中的任一者的LC-CDR2或包括最多约3 (例如约1、2或3中的任一者) 个氨基酸取代的其变异体, 及氨基酸序列为SEQ ID NO:256-286中的任一者的LC-CDR3或包括最多约5 (例如约1、2、3、4或5中的任一者) 个氨基酸取代的其变异体。在一些实施例中, 提供抗GPC3构筑体 (例如经分离的抗GPC3构筑体), 其包括特异性识别与细胞表面结合的GPC3的抗GPC3抗体部分, 所述抗体部分包括:i) V_H , 其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:1-31中的任一者的HC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:52-82中的任一者的HC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:103-133中的任一者的HC-CDR3, 或HC-CDR序列中包括最多约5 (例如约1、2、3、4或5中的任一者) 个氨基酸取代的其变异体; 以及ii) V_L , 其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:154-184中的任一者的LC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:205-235中的任一者的LC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:256-286中的任一者的LC-CDR3, 或LC-CDR序列中包括最多约5 (例如约1、2、3、4或5中的任一者) 个氨基酸取代的其变异体。在一些实施例中, 氨基酸取代发生于HC-CDR1或HC-CDR2中。在一些实施例中, 氨基酸取代发生于LC-CDR1或LC-CDR2中。在一些实施例中, 提供一种抗GPC3构筑体 (例如经分离的抗GPC3构筑体), 其包括特异性识别与细胞表面结合的GPC3的抗GPC3抗体部分, 所述抗体部分包括:i) V_H , 其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:1-31中的任一者的HC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:52-82中的任一者的HC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:103-133中的任一者的HC-CDR3; 以及ii) V_L , 其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:154-184中的任一者的LC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:205-235中的任一者的LC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:256-286中的任一者的LC-CDR3。在一些实施例中, 提供一种抗GPC3构筑体 (例如经分离的抗GPC3构筑体), 其包括特异性识别与细胞表面结合的GPC3的抗GPC3抗体部分, 所述抗体部分包括:i) 包括SEQ ID NO:307-337中任一者的氨基酸序列的 V_H 或与SEQ ID NO:307-337中的任一者具有至少约80% (包含例如至少约80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%中的任一者) 序列一致性的其变异体; 以及ii) V_L , 其包括SEQ ID NO:358-388中任一者的氨基酸序列或与SEQ ID NO:358-388中的任一者具有至少约80% (包含例如至少约80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%中的任一者) 序列一致性的其变异体。在一些实施例中, 提供一种抗GPC3构筑体 (例如经分离的抗GPC3构筑体), 其包括特异性识别与细胞表面结合的GPC3的抗GPC3抗体部分, 所述抗体部分包括:i) V_H , 其包括SEQ ID NO:307-337中任一者的氨基酸序列; 及ii) V_L , 其包括SEQ ID NO:358-388中任一者的氨基酸序列。在一些实施例中, 提供一种抗GPC3构筑体 (例如经分离的抗GPC3构筑体), 其包括特异性识别与细胞表面结合的GPC3的抗GPC3抗体部分, 所述构筑体包括氨基酸序列为SEQ ID NO:307-337中任一者的 V_H 的HC-CDR, 及氨基酸序列为SEQ ID NO:358-388中任一者的 V_L 的LC-CDR。在一些实施例中, 提供一种抗GPC3构筑体 (例如经分离的抗GPC3构筑体), 其包括与本文所述的任一种抗GPC3构筑体竞争结合到nGPC3的抗nGPC3抗体部分。在一些实施例中, 提供一种包括抗nGPC3抗体部分的抗GPC3构筑体 (例如经分离的抗GPC3构筑体), 所述抗nGPC3抗体部分与本文所述的任一种抗GPC3构筑体竞争性地特异性结合到相同或基本上相同的nGPC3抗原决定基。在一些实施例中, GPC3表达于选自由

以下组成的群组的细胞表面上:HepG2、Hep3B、Huh7、JHH-7及293。在一些实施例中,GPC3表达于癌细胞(例如肝癌细胞,例如HCC)的表面上。在一些实施例中,抗GPC3构筑体为非天然存在的。在一些实施例中,抗GPC3构筑体为Fab、Fab'、F(ab')₂、Fv或scFv。在一些实施例中,抗GPC3构筑体为Fab或Fab'。在一些实施例中,抗GPC3构筑体为scFv。在一些实施例中,抗GPC3构筑体包括任选地经由连接子与Fc片段(例如IgG1 Fc片段)融合的抗GPC3抗体部分。在一些实施例中,抗GPC3构筑体为全长抗体(例如单株抗体)。在一些实施例中,抗GPC3构筑体为多特异性(例如双特异性)分子,例如串联双scFv抗GPC3 T细胞接合体(串联双scFv抗GPC3×CD3 ϵ)。在一些实施例中,抗GPC3构筑体为CAR。在一些实施例中,抗GPC3构筑体为caTCR。在一些实施例中,抗GPC3构筑体为免疫结合物。在一些实施例中,抗GPC3构筑体具有单特异性。在一些实施例中,抗GPC3构筑体具有多特异性(例如双特异性)。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分与nGPC3之间结合的 K_d 为约 10^{-7} M到约 10^{-13} M(例如约 10^{-7} M到约 10^{-13} M、约 10^{-9} M到约 10^{-13} M,或约 10^{-10} M到约 10^{-12} M)。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分与sGPC3之间结合的 K_d 可为抗nGPC3抗体部分与nGPC3之间结合的 K_d 的至少约10倍(例如至少约10、 10^2 、 10^3 、 10^4 、 10^5 、 10^6 或 10^7 倍)。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分与sGPC3之间结合的 K_d 为约 10^{-1} M到约 10^{-6} M(例如约 10^{-1} M到约 10^{-6} M、约 10^{-1} M到约 10^{-5} M,或约 10^{-2} M到约 10^{-4} M)。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分为嵌合的、人类的、部分人类化的、完全人类化的或半合成的。

[0328] 在一些实施例中,提供一种抗GPC3构筑体(例如经分离的抗GPC3构筑体),其包括特异性识别GPC3(例如nGPC3及/或sGPC3)的抗GPC3抗体部分。在一些实施例中,提供一种抗GPC3构筑体(例如经分离的抗GPC3构筑体),其包括特异性识别GPC3的抗GPC3抗体部分,所述抗体部分包括:i) V_H ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:32-51中的任一者的HC-CDR1或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体、氨基酸序列为SEQ ID NO:83-102中的任一者的HC-CDR2或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体,及氨基酸序列为SEQ ID NO:134-153中的任一者的HC-CDR3或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体;以及ii) V_L ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:185-204中的任一者的LC-CDR1或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体、氨基酸序列为SEQ ID NO:236-255中的任一者的LC-CDR2或包括最多约3(例如约1、2或3中的任一者)个氨基酸取代的其变异体,及氨基酸序列为SEQ ID NO:287-306中的任一者的LC-CDR3或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体。在一些实施例中,提供抗GPC3构筑体(例如经分离的抗GPC3构筑体),其包括特异性识别GPC3的抗GPC3抗体部分,所述抗体部分包括:i) V_H ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:32-51中的任一者的HC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:83-102中的任一者的HC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:134-153中的任一者的HC-CDR3,或HC-CDR序列中包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体;以及ii) V_L ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:185-204中的任一者的LC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:236-255中的任一者的LC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:287-306中的任一者的LC-CDR3,或LC-CDR序列中包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体。在一些实施例中,氨基酸取代发生于HC-CDR1或HC-CDR2中。在一些实施例中,氨基酸取代发生于LC-CDR1或LC-CDR2中。在一些实施例中,提供一种抗GPC3构筑体(例如经分离的抗GPC3构筑体),其包括特异性识别GPC3的抗GPC3抗体部分,所述抗体部分包括:i) V_H ,其包括氨基

酸序列为SEQ ID NO:32-51中的任一者的HC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:83-102中的任一者的HC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:134-153中的任一者的HC-CDR3;以及ii) V_L , 其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:185-204中的任一者的LC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:236-255中的任一者的LC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:287-306中的任一者的LC-CDR3。在一些实施例中, 提供一种抗GPC3构筑体(例如经分离的抗GPC3构筑体), 其包括特异性识别GPC3的抗GPC3抗体部分, 所述抗体部分包括:i) V_H , 其包括SEQ ID NO:338-357中任一者的氨基酸序列或与SEQ ID NO:338-357中的任一者具有至少约80% (包含例如至少约80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%中的任一者) 序列一致性的其变异体; 以及ii) V_L , 其包括SEQ ID NO:389-408中任一者的氨基酸序列或与SEQ ID NO:389-408中的任一者具有至少约80% (包含例如至少约80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%中的任一者) 序列一致性的其变异体。在一些实施例中, 提供一种抗GPC3构筑体(例如经分离的抗GPC3构筑体), 其包括特异性识别GPC3的抗GPC3抗体部分, 所述抗体部分包括:i) V_H , 其包括SEQ ID NO:338-357中任一者的氨基酸序列; 及ii) V_L , 其包括SEQ ID NO:389-408中任一者的氨基酸序列。在一些实施例中, 提供一种抗GPC3构筑体(例如经分离的抗GPC3构筑体), 其包括特异性识别GPC3的抗GPC3抗体部分, 所述构筑体包括氨基酸序列为SEQ ID NO:338-357中任一者的 V_H 的HC-CDR, 及氨基酸序列为SEQ ID NO:389-408中任一者的 V_L 的LC-CDR。在一些实施例中, 提供一种抗GPC3构筑体(例如经分离的抗GPC3构筑体), 其包括与本文所述的任一种抗GPC3构筑体竞争结合到GPC3(例如nGPC3及/或sGPC3)的抗GPC3抗体部分。在一些实施例中, 提供一种包括抗GPC3抗体部分的抗GPC3构筑体(例如经分离的抗GPC3构筑体), 所述抗GPC3抗体部分与本文所述的任一种抗GPC3构筑体竞争性地特异性结合到相同或基本上相同的GPC3抗原决定基。在一些实施例中, 抗GPC3抗体部分特异性识别与细胞表面结合的GPC3。在一些实施例中, 抗nGPC3抗体部分对与细胞表面结合的GPC3的结合亲和力高于对可溶性GPC3的结合亲和力。在一些实施例中, 抗nGPC3抗体部分以高结合亲和力特异性识别与细胞表面结合的GPC3且以低结合亲和力结合到可溶性GPC3。在一些实施例中, 抗GPC3抗体部分特异性识别可溶性GPC3。在一些实施例中, 抗sGPC3抗体部分对可溶性GPC3的结合亲和力高于对与细胞表面结合的GPC3的结合亲和力。在一些实施例中, 抗sGPC3抗体部分特异性识别氨基酸序列SEQ ID NO:461内的抗原决定基。在一些实施例中, 抗sGPC3抗体部分特异性识别SEQ ID NO:460的氨基酸510-560内的抗原决定基(SEQ ID NO:467)。在一些实施例中, 抗GPC3抗体部分特异性识别与细胞表面结合的GPC3与可溶性GPC3。在一些实施例中, GPC3表达于选自由以下组成的群组的细胞的表面上:HepG2、Hep3B、Huh7、JHH-7及293。在一些实施例中, GPC3表达于癌细胞(例如肝癌细胞, 例如HCC)的表面上。在一些实施例中, 抗GPC3构筑体为非天然存在的。在一些实施例中, 抗GPC3构筑体为Fab、Fab'、F(ab')₂、Fv或scFv。在一些实施例中, 抗GPC3构筑体为Fab或Fab'。在一些实施例中, 抗GPC3构筑体为scFv。在一些实施例中, 抗GPC3构筑体包括任选地经由连接子与Fc片段(例如IgG1 Fc片段)融合的抗GPC3抗体部分。在一些实施例中, 抗GPC3构筑体为全长抗体(例如单株抗体)。在一些实施例中, 抗GPC3构筑体为多特异性(例如双特异性)分子, 例如串联双scFv抗GPC3 T细胞接合体(串联双scFv抗GPC3 × CD3 ϵ)。在一些实施例中, 抗GPC3构筑体为CAR。在一些实施例中, 抗GPC3构筑体为caTCR。在一些实施例中, 抗GPC3构筑体为免疫结合物。在一些实施例中, 抗GPC3构筑体具有单特异性。在一些实施例中, 抗GPC3构筑体具有多特异性(例如双

特异性)。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分与靶标GPC3(例如nGPC3及/或sGPC3)之间结合的 K_d 为约 10^{-7} M到约 10^{-13} M(例如约 10^{-7} M到约 10^{-13} M、约 10^{-9} M到约 10^{-13} M,或约 10^{-10} M到约 10^{-12} M)。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分与非靶标之间结合的 K_d 可为抗GPC3抗体部分与靶标GPC3之间结合的 K_d 的至少约10倍(例如至少约10、 10^2 、 10^3 、 10^4 、 10^5 、 10^6 或 10^7 倍)。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分与非靶标之间结合的 K_d 为约 10^{-1} M到约 10^{-6} M(例如约 10^{-1} M到约 10^{-6} M、约 10^{-1} M到约 10^{-5} M,或约 10^{-2} M到约 10^{-4} M)。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分为嵌合的、人类的、部分人类化的、完全人类化的或半合成的。

[0329] 抗GPC3 scFv

[0330] 在一些实施例中,抗GPC3构筑体(例如经分离的抗GPC3构筑体)为包括本文所述的抗GPC3抗体部分(靶向例如nGPC3及/或sGPC3)的scFvs(下文中称为“抗GPC3scFv”)。在一些实施例中,抗GPC3 scFv特异性识别与细胞表面结合的GPC3。抗GPC3-scFv可以包括本文所述的抗GPC3抗体部分中的任一者(参见“抗GPC3抗体部分”章节)。抗GPC3 scFv(靶向例如nGPC3及/或sGPC3)可以具有(从N端到C端) V_L (GPC3)-L- V_H (GPC3)或 V_H (GPC3)-L- V_L (GPC3)的配置,其中L为连接子(例如肽连接子)。在一些实施例中,抗GPC3 scFv为嵌合的、人类的、部分人类化的、完全人类化的或半合成的。示范性抗GPC3 scFv序列展示于表10到表11中。

[0331] 表10特异性识别与细胞表面结合的GPC3 scFv序列的抗GPC3抗体部分(CDR序列加下划线;连接子序列加粗)

[0332]

克隆编号	SEQ ID NO:	scFv
GPC3A-034	409	QPVLTPPPSASGTPGQRTVISCSSSSNIGSNNVWYQQLP GAAPKLLIYSNHRPSGVPDRFSGSRSGTSASLAISGLQSE DEADYYCAA ~~WDDSLDGYLFGTG~~ KVTVLGS RRGGGSG GGGSGGGGSLEMA QVQLQWAGLLKPSETLSLTCAYV GGSFSGYYWSWIRQPPGKGLEWIGELNHSNSTNYPNPSLKS RVTISVDTSKNQFSLELSSVTAADTAVYYC ARGYGGRFDY WGQGTLLTVSS
GPC3A-035	410	QAVLTQPPSASQTPGQMTVISCSTSSNIGSNYVFWYQQLP GTAPKLLIYK NFQR PSGVPGRFSGSKSGTAASLAISGLRSE DEADYFCAA ~~WDDALS~~ GYVFGAGTKVTVLGS RRGGGSG GGGSGGGGSLEMA QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKA SGYTFTGYMHWVRQAPGQGLEWMGWINPNSGGTNYA QKFQGRVTMTRDTSISTAYMELSRLRSDDTAVYYC CARSWT SGFDYWGQGTLLTVSS
GPC3A-037	411	QSVLTQPPSVSAAPGQRTVISCSTGTRSNIGSDYVSWYQHLP GTAPKLLVY GDNL RPSGIPDRFSASKSGTSATLGITGLQTG DEADYYCGTWDYTLNGVVFGGGTKLTVLGS RRGGGSG GGGSGGGGSLEMA QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS GFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSVIYSGGSSTYADSV KGRFTISRDNSTNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC CARTSYLNH GDYWGQGTLLTVSS

[0333]

克隆编号	SEQ ID NO:	scFv
GPC3A-038	412	QSVLTQPPSVSVAPGKTARITCGGNNIGSKSVHWYQQKPG QAPVLVIYYDSDRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISRVEAGDE ADYYCQVWDSSSDHVVFGGGTKLTVLGS SRGGGGS GGG GSGGGGSLEMA QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGY TFTSYMHWVRQAPGQGLEWMGIINPSGGSTSYAQKFQG RVTMTRDTSSTVYMESSLRSED ~~TAVYYC~~ <u>CARKVTGYDS</u> WGQGLTVTVSS
GPC3A-039	413	SYVLTQPPSVSVAPGKTARITCGGNNIGSKSVHWYQQKPG QAPVLVIYYDSDRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISRVEAGDE ADYYCQVWDSSSDHVVFGGGTKLTVLGS SRGGGGS GGG GSGGGGSLEMA QVQLVQSGGGLVHPGGSLRLSCAGSGF TFSSYAMHWVRQAPGKGLEWVSAIGTGGGTYYADSVKG RFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAED ~~TAVYYC~~ <u>CARYGRKSIDA</u> WGQGLTVTVSS
GPC3A-040	414	LPVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSSSNIGSNYVYWYQQLP GTAPKLLIYSNNQRPSPGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSE DEADYYCAAWDDSLSGYVFGTGKTVTVLGS SRGGGGS GG GSGGGGSLEMA QVQLVQSGAEVKKPGASVTVSCKASG YTFTGYMHWVRQAPGQGLEWMGWINPNSGGTNYAQK FQGRVTMTRDTSISTAYMELSRLRSDD ~~TAVYYC~~ <u>CARRGYYG</u> YDSWGQGLTVTVSS
GPC3A-041	415	QAVLTQPPSASQTPGQMVTISCSGTSSNIGSNYVFWYQQLP GTAPKLLIYKNEQRPSPGVPGRFSGSKSGTAASLAISGLRSE DEADYFCAAWDDALSGYVFGAGTKTVTVLGS SRGGGGS G GGSGGGGSLEMA EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKAS GYTFTGYMHWVRQAPGQGLEWMGWINPNSGGTNYAQ KFQGRVTMTRDTSISTAYMELSRLRSDD ~~TAMYYC~~ <u>CARSGK</u> YYGDKWGQGLTVTVSS
GPC3A-042	416	SYVLTQPPSASGTPGQRVTISCFGSSSDIGSNSVFWYQQLP GAAPKLLIYSTQYRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLQSE DEAEYHCATWDDSLNGYVFGSGTKTVTVLGS SRGGGGS G GSGGGGSLEMA QVQLQQSGAEVKKPGASVKVSCKAS GYSFTGYVYWMRQAPGKGLEWMGWMNPRSGGTNYA QKFQGRVTMTRDTSISTAYMELSRLTSDD ~~TAVYYC~~ <u>CARSSY</u> YWADSWGQGLTVTVSS
GPC3A-043	417	QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSSSNIGTNYVYWYQQLP GTAPKLLIYRNNQRPSPGVPDRFSGSESGTSASLAISGLRSED EADYYCAVWDDSLSGVVFGGGTKLTVLGS SRGGGGS GGG GSGGGGSLEMA EVQLVQSGAEVKKPGATVKVSKVSGY TFTDYMHWVQQAPGKGLEWMGLVDPEDGETIYAEKFQ GRVTITADTSTD ~~TAYMEL~~ SSLRSED ~~TAVYYC~~ <u>CARELRDVAYY</u> PWGVEDFWGQGLTVTVSS
GPC3A-044	418	SYVLTQPPSVSVAPGKTARITCGGDNIGYKGVHWYQQKPG QAPVLVYYDDSDRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISRVEAGD EADYYCQVWDSSSDHVVFGGGTKLTVLGS SRGGGGS GGG GSGGGGSLEMA QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGG SFSGYYSWIRQPPGKGLEWIGEINHSGSTNYPNPSLKSRV TISVDTSKNQFSLKLSSVTAAD ~~TAVYYC~~ <u>CARYVPYLSDWG</u> QGLTVTVSS

[0334]

克隆编号	SEQ ID NO:	scFv
GPC3A-045	419	QSVLTQPPSVSGTPGQRVIISCPGSTSNIGTNTVNWYQQFP GTAPKLLIYSNNQRPSPGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLQSE DEADYYCAAWDDSLNGVVFGGGTKLTVLGS RRGGGSGS GGGSGGGGSLEMA QMQVLVQSGGGLVKPGGSLRLSCAAS GFTFSDYYMSWIRQAPGKGLEWVS YISSSGSTI YADSVK GRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYC CARASDLYG DWGQGTLTVTVSS
GPC3A-046	420	QAVLTQPPSVSGTPGQRVTISCSGSSSNFGSNTVHWYQQVP GTAPKLLIFSNTQRPSEIPDRFSGSKSGTSASLAISGLQSEDE ADYYCAAWDDSLTGVVFGGGTKLTVLGS RRGGGSGGG GSGGGGSLEMA QVQLVQSGAEVKKPGASVTVSCKASGY RFSNYGVSWVRQAPGQGLEWMGWISGSNGNTNYAQKFL GRVTMTTDTSTTTAYMELSSRLSDDTAVYYC CARGNRRYYS PIIDPWGQGTTLTVTVSS
GPC3A-047	421	LPVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSRSNIASNDVYWYQQLP GTAPKRLIYKKNQRPSPGVPDRFSASKSGTSASLAISGLRSE DEADYYCAAWDDNLSGYVFGTGTKVTVLGS RRGGGSGS GGGSGGGGSLEMA QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKA PGYTFTGYMHWVRQAPGQGLEWMGWINPNSGGTNYA QKFQGRVTMTRDTSISTAYMELSRLSDDTAVYYC CARSDY GSLYDKWGQGTTLTVTVSS
GPC3A-048	422	QPVLTQPPSVSVAPGKTARITCGGNNIGSKSVHWYQQKPG QAPVLVIYYDSRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISRVEAGDE ADFCYQVWDSSSDRGVFGGGTKLTVLGS RRGGGSGGGG SGGGGSLEMA EVQLVESGGGEVQPGRSLRLSCAASGTFE SSYAMHWVRQAPGKGLEWVAVISYDGSNKYYADSVKGR FTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC CARSSFVATDYW GQGTTLTVTVSS
GPC3A-049	423	QAVLTQPSSASGTPGQRVTISCSGSSNIGSNYVYWYQQLP GTAPKLLIYRNNQRPSPGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSE DEADYYCAAWDDSLSGWVFGGRTKLTVLGS RRGGGSGS GGGSGGGGSLEMA QVQLVQSGAEVKEPGASVKVSCKAS GYTFTGYMHWVRQAPGQGLEWMGWINPNSGGTNYAQ KFQGRVTMTRDTSISTAYMELSRLSDDTAVYYC CARHGGI GSMRSFDQWGQGTTLTVTVSS
GPC3A-050	424	QAVLTQPSSASGTPGQRVTISCSGSSNIGSNTVNWYQQLP GTAPKLLIYSNNQRPSPGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLQSE DEADYYCAAWDDSLNGPVFGTGKTVTVLGS RRGGGSGG GSGGGGSLEMA QITLKESGAEVKKPGASVKVSCKASG YSFTGYVYWMRQAPGKGLEWMGWMNPRSGGTNYAQ KFQGRVTMTRDTSISTAYMELSRLTSDDTATYYC CARSGYR WLDVWGQGTTLTVTVSS
GPC3A-051	425	QAVLTQPSSASGAPGQRVTISCTGGSSNIGAGYDVHWYQQ LPGTAPKLLIYGNSNRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAITGLQ AEDEADYYCQSYDSSLSGYVFGTGKTVTVLGS RRGGGGS GGGSGGGGSLEMA QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCK ASGGAFFSSYAIWVRQAPGQGLEWMGGIPIFGTANYAQK FQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSED TAVYYCARM LYLSG RYYWDSWGQGTTLTVTVSS

[0335]

克隆编号	SEQ ID NO:	scFv
GPC3A-052	426	QAVLTQPSSASGTPGQRTVISCSSGSSNIGSNYVYWYQQLS GTAPKLLIYRNNQRPSPGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSE DEADYYCAAWDDSLSGYVFGTGTKVTVLGSRGGGGSGG GSGGGGSLEMA EVQLVESGAEVKKPGASVKVSCKASG YTFTGYMHWVRQAPGQGLEWMGWINPNSGGTNYAQK FQGRVTMTDRDTSISTAYMELSLRSDDTAVYYCARSHSSG YDKWGQGTTLTVSS
GPC3A-053	427	QSVLTQPPSASAPGQRTVISCSTSSNIGSNYVWWYQQL PGAAPRLLIYGNSNRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAITGLQA EDEADYYCQSYDSSLSGSNVFGTGTKVTVLGSRGGGGSG GSGGGGSLEMA QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSG GSISSSSYYWGWIRQPPGKLEWIGSIYSGSTYYNPSLKS RVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARWWSGSYDT WGQGTTLTVSS
GPC3A-054	428	SYELTQPPSASGTPGQRTVISCSSGSSNIGSNYVYWYQQLP GTAPKLLIYRNNQRPSPGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSE DEADYYCAAWDDSLSGYVFGTGTKVTVLGSRGGGGSGG GSGGGGSLEMA QMQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKAS GYTFTSYGISWVRQAPGQGLEWMGWISAYNGNTNYAQK LQGRVTMTTDTSTSTAYMELSLRSDDTAVYYCARIPMYS GSSDYWGQGTTLTVSS
GPC3A-055	429	QPVLTQPPSVSVAPGKTARITCGGNNIGSKSVHWYQQKPG QAPVLVIYYDSRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISRVEAGDE ADYYCQVWDSSSDHYVFGTGTKVTVLGSRGGGGSGGG GSGGGGSLEMA QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGY TFTSYMHWVRQAPGQGLEWMGIINPSGGSTSYAQKFQ RVTMTDRDTSSTVYMELSSLRSEDVAVYYCARWHGGPYD YWGQGTTLTVSS
GPC3A-056	430	DIQLTQSPSSLSASVGDRTITCRASQSISSYLNWYQQKPG KAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDF ATYYCQQSYSTPITFGQGTRLEIKRSRGGGGSGGGSGG GGSLEMA QVQLQSGAEVKKFGASVKVSCKASGYSFND YYIHWVRQAPGQGLEWMGWINPNNGDTKYEKKWQGRV TMTDRDTSITTAYMELSSLRSDDTAVYYCARFSTHNWWP TYDYWGQGTTLTVSS
GPC3A-057	431	EIVLTQSPSVSVAPGKTARITCGGNNIGSKSVHWYQQKPG QAPVLVIYYDSRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISRVEAGDE ADYYCQVWDSSSDHVVFGGGTKVEIKRSRGGGGSGGG GSGGGGSLEMA EVQLVESGGGLIQPGGSLRLSCAASGFT FSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGR FTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARYNYMSSGFY DRWGQGTTLTVSS
GPC3A-058	432	QSVLTQPPSVSVAPGKTARITCGGNNIGSKSVHWYQQKPG QAPVLVYYDDSDRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISRVEAGD EADYYCQVWDSSSDHVFGTGTKVTVLGSRGGGGSGGG GSGGGGSLEMA QVQLVQSGADVRLPGASVKVSCKASGY TFASHGISWVRQAPGQGLEWLGWISPYTGNTNYAQKFQ RVTMATDTSSTAYMELSLRSDDTAIYYCARGKRTLASC FDYWGQGTTLTVSS

[0336]

克隆编号	SEQ ID NO:	scFv
GPC3A-059	433	SYVLTQPPSVSVAPGKTARITCGGNNIGSKSVYWYQQKPG QAPVLVIYYDSRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISRVEAGDE ADYYCQVWDSSSDHVFGTGTKVTVLGS SRGGGSGGGG SGGGGSLEMA QVQLVQSGAEVKKPGASVTVSCKASGYT FTRYGITWVRQAPGQGLEWMGWISAYS SDK TNYAQKLQG RVTMTTDTSTAYMELSSLRSEDTAVYYC CARSRWSYMDV WGQGTLLTVSS
GPC3A-060	434	SYVLTQPPSVSVAPGKTARLTCTGGNNIGSESVHWYQQKPG QAPLLVYD ~~DD~~ DRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISGTQALDE AEYYCQ TW DSS TA IFGTGTKLTVLGS SRGGGSGGGGSG GGSLEMA QVQLVQSGGEVKKPGASVKV SCKASGYTFN SYAISWVRQAPGQGLEWMGWISAYNGNTNYAQKLQGRV TMTTDTSTNTAFMELRSLRSDDTAVYYC CAREGYGSWAMD QWGQGTLLTVSS
GPC3A-061	435	QPVLTPPPSVSVAPGKTARITCGGNNIGSKSVHWYQQKPG QAPVLVIYYDSRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISRVEAGDE ADYYCQVWDSSSDHYVFGTGTKVTVLGS SRGGGSGGGG GSGGGGSLEMA QVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKASGY TFTSYGISWVRQTPGQGLEWMGWISAYNGNTNYAQKLQG RVTMTTDTSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYC ARKGSSQFDQ WGQGTLLTVSS
GPC3A-062	436	QSVLTQPPSVSGAPGQRVTISCTGSSNIGAGYDVHWYQQ LPGTAPKLLIYGNSNWPSPGVDPDRFSGSKSGTSASLAITGLR AEDEADYYCQSYDSSLSGSYVFGTGTKVTVLGS SRGGGGS GGGSGGGGSLEMA QMQVLVQSGSELKKPGASVKV SCK ASGGTFESSY AI SWVRQAPGQGLEWMGG IIPKIGTANYAQK FQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAMYYC CARMYMD MGWGWGYWDWWGQGTLLTVSS
GPC3A-063	437	QTVVTQPPSASGTPGQRVTISCSGSWSNIGSYTVN WYQHL PGTAPKLLISGNNQRPSPGVPGRFSGSKSGTSASLAISGLQSE DEADYHCAAWDDNLNGVVFGGGTKLTVLGS SRGGGSGG GGS SGGGGSLEMA QVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKA SGYTFTSY YMH WVRQAPGQGLEWMG IIN PSGGSAS Y AQK FQGRVTMTTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYC CARDRLAS DAFDIWGQGTMTVSS
GPC3A-064	438	LPVLTQPPSLSVAPGKTARLTCTGGNNIGSKSVHWYHQKPG QAPVLVYD ~~DT~~ DRPSGIPERFSGSNSGNTAALTISRVEVG EADYYCQVWDRSSAHWVFGGGTKLTVLGS SRGGGSGG GSGGGGSLEMA QMQVLVQSGAEVKKPGASVKV SCKAS GYTFTIY GIS WVRQAPGQGLEWMGWIS PYNDNTIYAQKV QGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYC CARMGVG WGYAQDSWGQGTLLTVSS
GPC3A-067	439	QSVLTQPPSVSVAPGKTARITCGGNNIGSKSVHWYQQKPG QAPVLVIYYDSRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISRVEAGDE ADYYCQVWDSSSDHVVFGGGTKLTVLGS SRGGGSGGGG GSGGGGSLEMA EVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGG TFSSY AI SWVRQAPGQGLEWMGR IIP IGITNYAQKFQGRV TITADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYC CARGAEMSDYWGQ GTLTVSS

[0337] 表11抗GPC3抗体部分scFv序列(CDR序列加下划线;连接子序列加粗)

[0338]

克隆编号	SEQ ID NO:	scFv
GPC3B-54	440	QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSNSNIGSDTVNWKYQQL PGTAPKLLIY <u>RD</u> NQRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLQS EDEADYYCTTWDDSLNGLVFGGGTKVTVLGS RRGGGGS GGGSGGGGSLEMA EVQLVQSGAEVKKPGASVKLSCK TSGYTFIDYYVYWVRQAPGQGLEWMGGIPIFGTANYAQ KFQGRVTITADKSTSTAYMELSSLGSEDTA ~~VYYC~~ <u>CARERRY</u> SSSPSDHWGQGTTLTVSS
GPC3B-60	441	SYVLTQPPSVSVSPGQTATIACSGDNLENKFVYWHQKP GQSPVLVMY <u>ED</u> NKRPSGIPERFSGSNSGNTAALTISGAQP MDEADYYCQTWDSPTGLFVFGTGTGVTVLGS RRGGGGS GGGSGGGGSLEMA EVQLVESGAEVKKPGASVKVSK ASGYTFTSYMHVVRQAPGQGLEWMGIINPSGGSTSYA QKFQGRVTMTTRDTSTSTVYMESSLRSEDTA ~~VYYC~~ <u>CARSL</u> YSQPYIDGWSQGTLTVSS
GPC3B-63	442	EIVLTQSPLSLPVTGPGEPAISCRSSQSLLHSNGYNYLDWY LQKPGQSPQLLIYLGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKIS RVEAEDVGYYCMQALQTPPTFGQGTKVEIKR SRGGGG SGGGSGGGGSLEMA QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC KASGYTFTSYMHVVRQAPGQGLEWMGIINPSGGSTSY AQKFQGRVTMTTRDTSTSTVYMESSLRSEDTA ~~VYYC~~ <u>CARS</u> LHAMRWSQTMDSWGQGTTLTVSS
GPC3B-66	443	QAVLTQPPSVSVAPGKTASITCGGNIGSKSVHWYQQKP GQAPVLVIYYDSRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISRVEAG DEADYYCQVWDSSSDHLYVFGTGTGVTVLGS RRGGGGS GGGSGGGGSLEMA QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSK ASGYTFIGQYLHWVRQAPGQGLEWMGRINPMTGVTNY APKFQGRVTMTTRDTSISTGYMEISRLRSDDTA ~~VYYC~~ <u>CARFS</u> SGYSRDTWGQGTTLTVSS
GPC3B-68	444	QSVLTQPPSVSAAPGQKVTISCSGSSSNIGNNYVSWYQQL PGTAPKLLIY <u>DN</u> IKRPSGIPDRFSGSKSGTSATLGITGLQTG DEADYYCGTWDSLSAGVFGGGTKLTVLGS RRGGGGSG GGGSGGGGSLEMA QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCA SGGTFSSYAISWVRQAPGQGLEWMGRIIPILGIANAYAKF QGRVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDTA ~~VYYC~~ <u>CARYGYEG</u> HDTWGQGTTLTVSS
GPC3B-71	445	SYVLTQPPSVSVAPGKTARVTCGGNNIGSKSVHWYQQKP GQAPVLVMIY <u>YD</u> SDRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISVEA GDEADYYCQVWDSSSDHYVFGTGTGVTVLGS RRGGGGS GGGSGGGGSLEMA EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCA ASGFTFSRYTMNWVRQAPGKGLEWVSSISSGSYIYAD SVKGRFTISRDNAKNSLFLQMDSLRAEDTA ~~VYYC~~ <u>ARQGH</u> MWYVPVDAWGQGTTLTVSS

[0339]

克隆编号	SEQ ID NO:	scFv
GPC3B-76	446	QSVVTQPPSVSAAPGQKVTISCSGSSSNIGNNYVSWYQQ LPGTAPKLLIYDNNKRPSGIPDRFSGSKSGTSATLGITGLQ TGDEAAYYCGTWDSLSAGVFGTGTKVTVLGS SRGGGS GGGSGGGGSLEMA QMQLVQSGAEVKEPGASVKVSC KASGYTFTDYYIHWVRQAPGQGLEWMGWINPNSGGTN YAQKFQGRVTMTRDTSISTAYMELSRLRSDDTAVYYC <u>AR</u> <u>NYDWGQGTLTVTVSS</u>
GPC3B-78	447	LPVLTQPPSVSVSPGQTASITCSGDKLGDKYAYWYQKQP GQSPVLVIYQDNKRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISGTQAM DAADYYCQTWDRSTYVFGTGTKVTVLGS SRGGGS GG GGSGGGGSLEMA QMQLVQSGAEVKKPGASVKVSCAS GYTFTSYMHWRQAPGQGLEWMGIINPSGGSTSYAQK FQGRVTMTRDTSSTVYMELSSLRSEDATAVYYC <u>CARGYSS</u> <u>FFDSWGQGTLTVTVSS</u>
GPC3B-80	448	QAVLTQPPSASGTPGQRTVITCSGSSSNIGSNTVNWYQQL PGTAPKLLIYSNNQRPSGVPDRFSGSKSGTSAYLAISGLQS EDEADYYCAAWDDSLNGWGVFGGGTKLTVLGS SRGGG GSGGGSGGGGSLEMA QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVS CKASGGTLSRFAISWVRQAPGQGLEWMGGIPIFRTANYA QKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDATAVYYC <u>CARMSK</u> <u>YYGSYSSYDEWGQGTLTVTVSS</u>
GPC3B-81	449	SYELTQPPSVSVAPGKTARITCGGNIGSKSVHWYQKPG QAPVLVIYYDSRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISRVEAGD EADYYCQVWDSSDDLTVFGTGTKVTVLGS SRGGGS G GGSGGGGSLEMA EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKA SGYTFTGYMHWRQAPGQGLEWMGRINPNSGGTNYA QKFQGRVTMTRDTSISTAYMELSRLRSDDTAVYYC <u>CARGL</u> <u>WDSWGQGTLTVTVSS</u>
GPC3B-82	450	QSVLTQPPSVSGAPGQRTVITCSGSSSNIGAGFDVHWYQQ LPGTAPKLLIYDNNNRPSGVPDRFSGSKSDTSASLAITGL QAEDEADYYCQSFDDSLSGWVFGGGTKLTVLGS SRGGGG SGGGSGGGGSLEMA EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCK GSGYSFTSYMHWRQAPGQGLEWMGIINPSGGSTSYA QKFQGRVTMTRDTSSTVYMEMSSLRSEDATAVYYC <u>CARY</u> <u>PVYMETSDFDWSGSRYSGRLL</u>
GPC3B-85	451	QAVLTQPPSASGTPGQRTVITCSGSSSNIGSNTVNWYQQL PGTAPKLLIYSNNQRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLQS EDEADYYCAAWDDSLNGYVFGTGTKVTVLGS SRGGGS GGGSGGGGSLEMA QVQLVQSGSELKKPGASVKVSCK ASGYTFTSYAMNWVRQAPGQGLEWMGWINTNTGNPTY AQGFTGRFVFSLDTSVSTAYLQISSLKAEDTAVYYC <u>CARSS</u> <u>LYWMGSKWSRQTDMMWGQGTLTVTVSS</u>
GPC3B-87	452	DVVMTQSPLSLPVTTPGEPASVSCRSSQSLLHSNGYNYLD WYLQKPGQSPQLLIYLGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTL KISRVEAEDVGVYYCMQALQTPWTFGQGTKVEIKR SRG GGSGGGSGGGGSLEMA EVQLVQSGAEVRKPGSSVK VSCQASGGTFGSYASWVRQAPGQGLEWMGRIPVLGRT KYAQKFQGRVTMTADTSTSTVYMELTSLTSEDATAVYYC <u>CA</u> <u>RTNDSWGQGTLTVTVSS</u>

[0340]

克隆编号	SEQ ID NO:	scFv
GPC3B-92	453	QSVLTQPPSVSVSPGQTARITCSGETLAKRYAHWYQQKP GQAPVLLIYRDTERPSGIPERFSGSSSGTTITLTITGVQAED EADYYCQSADNSRTEVFVFGPGTKVTVLGS SRGGGGS GGGGGSLEMA EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASG YTFSNYYMHWVRQAPGQGLEWMGIINPSGGTTTYAQKF QGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSED TAVYYC <u>CARPSMW</u> <u>TSSMGDVWGQGLTVTVSS</u>
GPC3B-93	454	NFMLTQPHSVSESPGKTVTISCTGSSGSIASNYVQWYQQR PGSAPTTVIYEDNQRPSPGVDRFSGSIDSSNSASLTISGLK TEDEADYYCQSYDSSNWVFGGGTKLTVLGS SRGGGGS GGGSGGGGSLEMA EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCA SGYTFTSYMHWVRQAPGQGLEWMGIINPSGGSTRYAQ KFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSED TAVYYC <u>CARYTA</u> <u>LKPRGIYSVDSWGQGLTVTVSS</u>
GPC3B-110	455	QSVLTQPPSASGTPGQRVTVSCSGSSSNIGSNTVNWYQQL PGTAPKLLLYSSNQRPSPGVDRFSGSRSGTSASLAISGLQS EDEADYYCAAWDDSLNGVPVFGGGTKLTVLGS SRGGGGS GGGSGGGGSLEMA EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCQ ASGGTFTTYSINWVRQAPGQGLEWMGGIIPTEGTTNYAQ NFQDRVTISADESTNTAYMELTSLRSED TAVYYC <u>CARYYW</u> <u>RGSGGQGSVTSYWGQGLTVTVSS</u>
GPC3B-113	456	SYELTQPPSASGTPGQRVTISCSGSSSNIGSNSVSWYQHLP GVAPKLLIYSSNQRPSPGVDRFSGSKTGTSASLAISGLQSE DEGDYYCAAWDDSLNGVLFGGGTKLTVLGS SRGGGGS GGGSGGGGSLEMA QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKV SGYTLTELSMHWVRQAPGKGLEWMGGFDPEDGETIYAQ KFQGRVTMTEDTSTDTAYMELSSLRSED TAVYYC <u>CARYSG</u> <u>DYWGQGLTVTVSS</u>
GPC3B-115	457	SYELTQPPSVSVAPGKTARITCGGNIGSKSVHWYQQKPG QAPVLVVYDSDRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISRVEAGD EADYYCQVWDSSSDPLYVFGTGKTVTVLGS SRGGGGS GGGSGGGGSLEMA QVQLVQSGAEVKRPGATIKVSCKTS GYTFTAYYTHWVRQAPGQGLEWVGRINANTGGTDYAPK FRDRVIMTRDTSTSTAYMELGRLTSED TAVYYC <u>CARISGYH</u> <u>SSGWDYWGQGLTVTVSS</u>
GPC3B-119	458	QSVVTQPPSVSAAPGQKVTISCSGSSSNIGNNYVSWYQQI PGTAPKLLIYDNNKRPSGIPDRFSGSRSGTSATLGITGLQT GDEAHYYCATWDNSLSALIFGGGKTVTVLGS SRGGGGS GGGSGGGGSLEMA QVQLVQSGSELKKPGASVKVSCA SGYTFTSYAMNWVRQAPGQGLEWMGWINTNTGNPTYA QGFTGRFVFSLDTSVSTAYLQISSLKAED TAVYYC <u>CARGYY</u> <u>GKYDKWQGLTVTVSS</u>
GPC3B-125	459	QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGGYNYVSWFQQ HPGKAPKLIIEVSNRPSGVSDRFSGSKSGSTASLTISGLQ AEDEANYYCSSYTSSTTVIFGGGKTVTVLGS SRGGGGS GGSGGGGSLEMA QMQVLVQSGSELKKPGASVKVSCAS GYTFTSYAMNWVRQAPGQGLEWMGWINTNTGNPTYA GFTGRFVFSLDTSVSTAYLQISSLKAED TAVYYC <u>CARQSHD</u> <u>EWGQGLTVTVSS</u>

[0341] 连接子

[0342] 关于可以用于本文所述的抗GPC3 scFv中的所有适用连接子,参见下文“抗GPC3Fc融合蛋白”章节下的“连接子”小节。在一些实施例中,连接子包括氨基酸序列SRGGGSGGGSGGGGSLEMA(SEQ ID NO:473)。在一些实施例中,连接子为或包括(GGGGS)_n序列(SEQ ID NO:471),其中n等于1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或大于10。在一些实施例中,连接子

包括氨基酸序列TSGGGGS (SEQ ID NO:474)。在一些实施例中,连接子包括氨基酸序列GEGTSTGSGSGSGSGAD (SEQ ID NO:490)。

[0343] 在一些实施例中,提供一种抗GPC3构筑体(例如经分离的抗GPC3构筑体),其包括特异性识别与细胞表面结合的GPC3的scFv(在本文中称为“抗nGPC3 scFv”;例如抗nGPC3 scFv对与细胞表面结合的GPC3的结合亲和力高于对可溶性GPC3的结合亲和力,或抗nGPC3 scFv以高结合亲和力特异性识别与细胞表面结合的GPC3且以低结合亲和力结合到可溶性GPC3)。在一些实施例中,抗nGPC3-scFv特异性识别包括氨基酸序列SEQ ID NO:460的人类GPC3内的抗原决定基。在一些实施例中,抗nGPC3-scFv特异性识别氨基酸序列SEQ ID NO:461内的抗原决定基。在一些实施例中,抗nGPC3-scFv特异性识别氨基酸序列SEQ ID NO:462内的抗原决定基。在一些实施例中,抗nGPC3-scFv特异性识别氨基酸序列SEQ ID NO:463内的抗原决定基。在一些实施例中,抗nGPC3-scFv特异性识别GPC3的N端片段内的抗原决定基。在一些实施例中,抗nGPC3-scFv特异性识别SEQ ID NO:460的氨基酸1-358内的抗原决定基 (SEQ ID NO:468)。在一些实施例中,抗nGPC3-scFv特异性识别氨基酸序列SEQ ID NO:464内的抗原决定基。在一些实施例中,抗nGPC3-scFv特异性识别GPC3的C端片段内的抗原决定基。在一些实施例中,抗nGPC3-scFv特异性识别SEQ ID NO:460的氨基酸359-560内的抗原决定基 (SEQ ID NO:465)。在一些实施例中,抗nGPC3-scFv特异性识别SEQ ID NO:460的氨基酸359-580内的抗原决定基 (SEQ ID NO:466)。在一些实施例中,抗nGPC3-scFv特异性识别缺乏硫酸肝素侧链的GPC3的C端片段内的抗原决定基。在一些实施例中,抗nGPC3-scFv特异性识别SEQ ID NO:460的氨基酸510-560内的抗原决定基 (SEQ ID NO:467)。在一些实施例中,抗nGPC3-scFv特异性识别跨越位于SEQ ID NO:460的氨基酸³⁵⁸/S³⁵⁹的弗林裂解位点的抗原决定基。在一些实施例中,抗nGPC3-scFv可以特异性结合到人类成熟全长GPC3(例如SEQ ID NO:460的氨基酸25-560或25-580),但不结合到人类GPC3的N端片段(例如SEQ ID NO:460的氨基酸25-358)或人类GPC3的C端片段(例如SEQ ID NO:460的氨基酸359-560或359-580)。在一些实施例中,抗nGPC3-scFv特异性识别缺乏硫酸肝素侧链的GPC3的C端片段内的抗原决定基。在一些实施例中,提供一种抗GPC3构筑体(例如经分离的抗GPC3构筑体),其包括与本文所述的任一种抗GPC3构筑体竞争结合到nGPC3的抗nGPC3-scFv(例如抗nGPC3-scFv对与细胞表面结合的GPC3的结合亲和力高于对可溶性GPC3的结合亲和力,或抗nGPC3-scFv以高结合亲和力特异性识别与细胞表面结合的GPC3且以低结合亲和力结合到可溶性GPC3)。在一些实施例中,提供一种抗GPC3构筑体(例如经分离的抗GPC3构筑体),其包括与本文所述的任一种抗GPC3构筑体竞争性地特异性结合到相同或基本上相同nGPC3抗原决定基的抗nGPC3-scFv(例如抗nGPC3-scFv对与细胞表面结合的GPC3的结合亲和力高于对可溶性GPC3的结合亲和力,或抗nGPC3-scFv以高结合亲和力特异性识别与细胞表面结合的GPC3且以低结合亲和力结合到可溶性GPC3)。在一些实施例中,GPC3表达于选自以下组成的群组的细胞的表面上:HepG2、Hep3B、Huh7、JHH-7及293。在一些实施例中,GPC3表达于癌细胞(例如肝癌细胞,例如HCC)的表面上。在一些实施例中,抗GPC3构筑体为非天然存在的。在一些实施例中,抗nGPC3-scFv与nGPC3之间结合的 K_d 为约 10^{-7} M到约 10^{-13} M(例如约 10^{-7} M到约 10^{-13} M、约 10^{-9} M到约 10^{-13} M,或约 10^{-10} M到约 10^{-12} M)。在一些实施例中,抗nGPC3-scFv与sGPC3之间结合的 K_d 可为抗nGPC3-scFv与nGPC3之间结合的 K_d 的至少约10倍(例如至少约10、 10^2 、 10^3 、 10^4 、 10^5 、 10^6 或 10^7 倍)。在一些实施例中,抗nGPC3-scFv与sGPC3之

间结合的 K_d 为约 10^{-1} M到约 10^{-6} M(例如约 10^{-1} M到约 10^{-6} M、约 10^{-1} M到约 10^{-5} M,或约 10^{-2} M到约 10^{-4} M)。在一些实施例中,抗nGPC3-scFv为嵌合的、人类的、部分人类化的、完全人类化的或半合成的。在一些实施例中,抗nGPC3-scFv的 V_H 位于抗nGPC3-scFv的 V_L 的N端。在一些实施例中,抗nGPC3-scFv的 V_H 位于抗nGPC3-scFv的 V_L 的C端。在一些实施例中,抗nGPC3-scFv的 V_H 与 V_L 之间的连接子包括氨基酸序列SRGGGSGGGGSGGGGSLEMA(SEQ ID NO:473)。在一些实施例中,抗nGPC3-scFv的 V_H 与 V_L 之间的连接子为或包括(GGGGS) $_n$ 序列(SEQ ID NO:471),其中n等于1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或大于10。在一些实施例中,位于抗nGPC3-scFv的 V_H 与 V_L 之间的连接子包括氨基酸序列GEGTSTGSGGSGGSGGAD(SEQ ID NO:490)。在一些实施例中,抗nGPC3-scFv进一步包括标签(例如用于纯化目的的肽标签)。在一些实施例中,标签位于抗nGPC3-scFv的N端。在一些实施例中,标签位于抗nGPC3-scFv的C端。在一些实施例中,标签包括His标签及HA标签。在一些实施例中,标签包括氨基酸序列TSGQAGQHSHHHHHGAYPYDVPDYAS(SEQ ID NO:477)。

[0344] 在一些实施例中,提供一种抗GPC3构筑体(例如经分离的抗GPC3构筑体),其包括特异性识别与细胞表面结合的GPC3的抗GPC3-scFv。在一些实施例中,提供一种抗GPC3构筑体(例如经分离的抗GPC3构筑体),其包括特异性识别与细胞表面结合的GPC3的抗GPC3-scFv抗体部分,所述抗体部分包括:i) V_H ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:1-31中的任一者的HC-CDR1或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体、氨基酸序列为SEQ ID NO:52-82中的任一者的HC-CDR2或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体,及氨基酸序列为SEQ ID NO:103-133中的任一者的HC-CDR3或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体;以及ii) V_L ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:154-184中的任一者的LC-CDR1或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体、氨基酸序列为SEQ ID NO:205-235中的任一者的LC-CDR2或包括最多约3(例如约1、2或3中的任一者)个氨基酸取代的其变异体,及氨基酸序列为SEQ ID NO:256-286中的任一者的LC-CDR3或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体。在一些实施例中,提供一种抗GPC3构筑体(例如经分离的抗GPC3构筑体),其包括特异性识别与细胞表面结合的GPC3的抗GPC3-scFv,所述抗体部分包括:i) V_H ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:1-31中的任一者的HC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:52-82中的任一者的HC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:103-133中的任一者的HC-CDR3;以及ii) V_L ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:154-184中的任一者的LC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:205-235中的任一者的LC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:256-286中的任一者的LC-CDR3。在一些实施例中,提供一种抗GPC3构筑体(例如经分离的抗GPC3构筑体),其包括特异性识别与细胞表面结合的GPC3的抗GPC3-scFv,所述抗体部分包括:i) 氨基酸序列为SEQ ID NO:307-337中的任一者的 V_H ;及ii) 氨基酸序列为SEQ ID NO:358-388中的任一者的 V_L 。在一些实施例中,提供一种抗GPC3构筑体(例如经分离的抗GPC3构筑体),其包括特异性识别与细胞表面结合的GPC3的抗GPC3-scFv,所述抗GPC3-scFv包括氨基酸序列为SEQ ID NO:307-337中的任一者的 V_H 的HC-CDR,及氨基酸序列为SEQ ID NO:358-388中的任一者的 V_L 的LC-CDR。在一些实施例中,提供一种抗GPC3构筑体(例如经分离的抗GPC3构筑体),其包括与本文所述的任一种抗GPC3构筑体竞争结合到nGPC3的抗nGPC3-scFv。在一些实施例中,提供一种包括抗nGPC3-scFv的抗GPC3构筑体(例如经分离的抗GPC3

构筑体),所述抗nGPC3-scFv与本文所述的任一种抗GPC3构筑体竞争性地特异性结合到相同或基本上相同的nGPC3抗原决定基。在一些实施例中,GPC3表达于选自以下组成的群组的细胞的表面上:HepG2、Hep3B、Huh7、JHH-7及293。在一些实施例中,GPC3表达于癌细胞(例如肝癌细胞,例如HCC)的表面上。在一些实施例中,抗GPC3构筑体为非天然存在的。在一些实施例中,抗nGPC3-scFv与nGPC3之间结合的 K_d 为约 10^{-7} M到约 10^{-13} M(例如约 10^{-7} M到约 10^{-13} M、约 10^{-9} M到约 10^{-13} M,或约 10^{-10} M到约 10^{-12} M)。在一些实施例中,抗nGPC3-scFv与sGPC3之间结合的 K_d 可为抗nGPC3抗体部分与nGPC3之间结合的 K_d 的至少约10倍(例如至少约10、 10^2 、 10^3 、 10^4 、 10^5 、 10^6 或 10^7 倍)。在一些实施例中,抗nGPC3-scFv与sGPC3之间结合的 K_d 为约 10^{-1} M到约 10^{-6} M(例如约 10^{-1} M到约 10^{-6} M、约 10^{-1} M到约 10^{-5} M,或约 10^{-2} M到约 10^{-4} M)。在一些实施例中,抗nGPC3-scFv为嵌合的、人类的、部分人类化的、完全人类化的或半合成的。在一些实施例中,抗nGPC3-scFv的 V_H 位于抗nGPC3-scFv的 V_L 的N端。在一些实施例中,抗nGPC3-scFv的 V_H 位于抗nGPC3-scFv的 V_L 的C端。在一些实施例中,抗nGPC3-scFv的 V_H 与 V_L 之间的连接子包括氨基酸序列SRGGGSGGGSGGGGSLEMA(SEQ ID NO:473)。在一些实施例中,抗nGPC3-scFv的 V_H 与 V_L 之间的连接子为或包括 $(GGGS)_n$ 序列(SEQ ID NO:471),其中n等于1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或大于10。在一些实施例中,位于抗nGPC3-scFv的 V_H 与 V_L 之间的连接子包括氨基酸序列GEGTSTGSGGSGGGSGGAD(SEQ ID NO:490)。在一些实施例中,提供一种抗GPC3构筑体(例如经分离的抗GPC3构筑体),其包括特异性识别与细胞表面结合的GPC3的抗GPC3-scFv,其中所述抗nGPC3 scFv包括SEQ ID NO:409-439中任一者的氨基酸序列。在一些实施例中,抗nGPC3 scFv进一步包括标签(例如用于纯化目的的肽标签)。在一些实施例中,标签位于抗nGPC3 scFv的N端。在一些实施例中,标签位于抗nGPC3 scFv的C端。在一些实施例中,标签包括His标签及HA标签。在一些实施例中,标签包括氨基酸序列TSGQAGQHSHHHHHGAYPYDVPDYAS(SEQ ID NO:477)。

[0345] 在一些实施例中,提供一种抗GPC3构筑体(例如经分离的抗GPC3构筑体),其包括特异性识别GPC3(例如nGPC3及/或sGPC3)的抗GPC3-scFv。在一些实施例中,提供一种抗GPC3构筑体(例如经分离的抗GPC3构筑体),其包括特异性识别GPC3(例如nGPC3及/或sGPC3)的抗GPC3-scFv,所述抗GPC3-scFv包括:i) V_H ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:32-51中的任一者的HC-CDR1或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体、氨基酸序列为SEQ ID NO:83-102中的任一者的HC-CDR2或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体,及氨基酸序列为SEQ ID NO:134-153中的任一者的HC-CDR3或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体;以及ii) V_L ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:185-204中的任一者的LC-CDR1或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体、氨基酸序列为SEQ ID NO:236-255中的任一者的LC-CDR2或包括最多约3(例如约1、2或3中的任一者)个氨基酸取代的其变异体,及氨基酸序列为SEQ ID NO:287-306中的任一者的LC-CDR3或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体。在一些实施例中,提供一种抗GPC3构筑体(例如经分离的抗GPC3构筑体),其包括特异性识别GPC3(例如nGPC3及/或sGPC3)的抗GPC3-scFv,包括:i) V_H ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:32-51中的任一者的HC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:83-102中的任一者的HC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:134-153中的任一者的HC-CDR3;以及ii) V_L ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:185-204中

的任一者的LC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:236-255中的任一者的LC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:287-306中的任一者的LC-CDR3。在一些实施例中,提供一种抗GPC3构筑体(例如经分离的抗GPC3构筑体),其包括特异性识别GPC3(例如nGPC3及/或sGPC3)的抗GPC3-scFv,所述抗GPC3-scFv包括:i)氨基酸序列为SEQ ID NO:338-357中的任一者的V_H;及ii)氨基酸序列为SEQ ID NO:389-408中的任一者的V_L。在一些实施例中,提供一种抗GPC3构筑体(例如经分离的抗GPC3构筑体),其包括特异性识别GPC3(例如nGPC3及/或sGPC3)的抗GPC3-scFv,所述抗GPC3-scFv包括氨基酸序列为SEQ ID NO:338-357中的任一者的V_H的HC-CDR,及氨基酸序列为SEQ ID NO:389-408中的任一者的V_L的LC-CDR。在一些实施例中,提供一种抗GPC3构筑体(例如经分离的抗GPC3构筑体),其包括与本文所述的任一种抗GPC3构筑体竞争结合到GPC3(例如nGPC3及/或sGPC3)的抗GPC3-scFv。在一些实施例中,提供一种包括抗GPC3-scFv的抗GPC3构筑体(例如经分离的抗GPC3构筑体),所述抗GPC3-scFv与本文所述的任一种抗GPC3构筑体竞争性地特异性结合到相同或基本上相同的GPC3抗原决定基。在一些实施例中,抗GPC3-scFv特异性识别与细胞表面结合的GPC3。在一些实施例中,抗GPC3-scFv对与细胞表面结合的GPC3的结合亲和力高于对可溶性GPC3的结合亲和力。在一些实施例中,抗GPC3-scFv以高结合亲和力特异性识别与细胞表面结合的GPC3且以低结合亲和力结合到可溶性GPC3。在一些实施例中,抗GPC3-scFv特异性识别可溶性GPC3。在一些实施例中,抗GPC3-scFv对可溶性GPC3的结合亲和力高于对与细胞表面结合的GPC3的结合亲和力。在一些实施例中,抗sGPC3-scFv特异性识别氨基酸序列SEQ ID NO:461内的抗原决定基。在一些实施例中,抗sGPC3-scFv特异性识别SEQ ID NO:460的氨基酸510-560内的抗原决定基(SEQ ID NO:467)。在一些实施例中,抗GPC3-scFv特异性识别与细胞表面结合的GPC3与可溶性GPC3。在一些实施例中,GPC3表达于选自以下组成的群组的细胞的表面上:HepG2、Hep3B、Huh7、JHH-7及293。在一些实施例中,GPC3表达于癌细胞(例如肝癌细胞,例如HCC)的表面上。在一些实施例中,抗GPC3构筑体为非天然存在的。在一些实施例中,抗GPC3-scFv与靶标GPC3(例如nGPC3及/或sGPC3)之间结合的K_d为约10⁻⁷M到约10⁻¹³M(例如约10⁻⁷M到约10⁻¹³M、约10⁻⁹M到约10⁻¹³M,或约10⁻¹⁰M到约10⁻¹²M)。在一些实施例中,抗GPC3-scFv与非靶标之间结合的K_d可为抗GPC3-scFv与靶标GPC3之间结合的K_d的至少约10倍(例如至少约10、10²、10³、10⁴、10⁵、10⁶或10⁷倍)。在一些实施例中,抗GPC3-scFv与非靶标之间结合的K_d为约10⁻¹M到约10⁻⁶M(例如约10⁻¹M到约10⁻⁶M、约10⁻¹M到约10⁻⁵M,或约10⁻²M到约10⁻⁴M)。在一些实施例中,抗GPC3-scFv为嵌合的、人类的、部分人类化的、完全人类化的或半合成的。在一些实施例中,抗GPC3-scFv的V_H位于抗GPC3-scFv的V_L的N端。在一些实施例中,抗GPC3-scFv的V_H位于抗GPC3-scFv的V_L的C端。在一些实施例中,位于抗GPC3-scFv的V_H与V_L之间的连接子包括氨基酸序列SRGGGSGGGGSGGGGSLEMA(SEQ ID NO:473)。在一些实施例中,位于抗GPC3-scFv的V_H与V_L之间的连接子为或包括(GGGGS)_n序列(SEQ ID NO:471),其中n等于1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或大于10。在一些实施例中,位于抗GPC3-scFv的V_H与V_L之间的连接子包括氨基酸序列GEGTSTGSGGSGGGSGGAD(SEQ ID NO:490)。在一些实施例中,提供一种抗GPC3构筑体(例如经分离的抗GPC3构筑体),其包括特异性识别GPC3(例如nGPC3及/或sGPC3)的抗GPC3-scFv,其中所述抗GPC3-scFv包括SEQ ID NO:440-459中任一者的氨基酸序列。在一些实施例中,抗GPC3-scFv进一步包括标签(例如用于纯化目的的肽标签)。在一些实施例中,标签位于抗GPC3-scFv的N端。在一些实施例中,标签位于抗GPC3-scFv的C端。在一些实施例中,

标签包括 His 标签及 HA 标签。在一些实施例中,标签包括氨基酸序列 TSGQAGQHSHHHGAYPYDVPDYAS (SEQ ID NO:477)。

[0346] 抗GPC3 Fc融合蛋白

[0347] 在一些实施例中,抗GPC3构筑体(例如经分离的抗GPC3构筑体)为Fc融合蛋白(下文中称为“抗GPC3-Fc融合蛋白”),其包括与Fc片段(例如IgG1 Fc片段)融合的本文所述抗GPC3抗体部分。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分与Fc片段经由连接子(例如肽连接子)融合。在一些实施例中,抗GPC3-Fc融合蛋白包括含有Fc片段的抗体。在一些实施例中,抗GPC3-Fc融合蛋白为全长抗体。“抗GPC3抗体部分章节”中所述的任一种抗GPC3抗体部分可以用于抗GPC3 Fc融合蛋白中。

[0348] Fc片段

[0349] 术语“Fc区”、“Fc域”或“Fc”是指含有恒定区的至少一部分的免疫球蛋白重链的C端非抗原结合区。所述术语包含原生Fc区及变异型Fc区。在一些实施例中,人类IgG重链Fc区从Cys226延伸到重链的羧基末端。然而,Fc区的C端赖氨酸(Lys447)可以或可以不存在,这不影响Fc区的结构或稳定性。除非另外说明,否则IgG或Fc区中的氨基酸残基根据抗体的EU编号系统编号,也称为EU索引,如以下文献中所述:Kabat等人,具有免疫学意义的蛋白质序列(Sequences of Proteins of Immunological Interest),第5版,公众健康服务署(Public Health Service),美国国家卫生研究院(National Institutes of Health), Bethesda, MD, 1991。

[0350] 在一些实施例中,Fc片段包括含有铰链区(始于Cys226)、IgG CH2域及CH3域的免疫球蛋白IgG重链恒定区。如本文所用,术语“铰链区”或“铰链序列”是指位于连接子与CH2域之间的氨基酸序列。在一些实施例中,融合蛋白包括含有铰链区的Fc片段。在一些实施例中,铰链区包括氨基酸序列CPPCP (SEQ ID NO:478) (发现于原生IgG1铰链区中的一种序列),以促进二聚合。在一些实施例中,融合蛋白的Fc片段始于铰链区且延伸到IgG重链的C端。在一些实施例中,融合蛋白包括不包括铰链区的Fc片段。

[0351] 在一些实施例中,融合蛋白包括选自来自以下的Fc片段组成的群组的Fc片段: IgG、IgA、IgD、IgE、IgM,及其组合及混合物。在一些实施例中,Fc片段来源于人类IgG。在一些实施例中,Fc片段包括人类IgG1、IgG2、IgG3、IgG4的Fc区,或组合或混合IgG。在一些实施例中,Fc片段为IgG1 Fc片段。在一些实施例中,Fc片段包括IgG1的CH2及CH3域。在一些实施例中,Fc片段为IgG4 Fc片段。在一些实施例中,Fc片段包括IgG4的CH2及CH3域。已知IgG4 Fc展现的效应子活性小于IgG1 Fc,且因此可为一些应用中所需要的。在一些实施例中,Fc片段来源于小鼠免疫球蛋白。

[0352] 在一些实施例中,IgG CH2域始于Ala231。在一些实施例中,CH3域始于Gly341。应了解,人类IgG的C端Lys残基可任选地为不存在的。还应了解,本发明的范围内涵盖不影响Fc的所需结构及/或稳定性的Fc区保守氨基酸取代。

[0353] 另外,涵盖包括下述任一种Fc变异体或其组合的抗GPC3-Fc融合蛋白。在一些实施例中,Fc片段包括已改变或以其它方式变化的序列,以使得其具有增强的抗体依赖性细胞的细胞毒性(ADCC)或补体依赖性细胞毒性(CDC)效应功能。

[0354] 在一些实施例中,Fc片段中的每条链与相同实体融合。在一些实施例中,抗GPC3-Fc融合蛋白包括本文所述的两种相同抗GPC3抗体部分(特异性识别例如nGPC3及/或

sGPC3),其各自与Fc片段中的一条链融合。在一些实施例中,Fc片段的两条链相同。在一些实施例中,包括Fc片段的抗GPC3-Fc融合蛋白(包含包括抗体的抗GPC3-Fc融合蛋白)为同二聚体。

[0355] 在一些实施例中,Fc片段中的每条链与不同实体融合。在一些实施例中,融合蛋白包括两种不同抗GPC3抗体部分,其各自与Fc片段中的一条链融合。在一些实施例中,两种抗GPC3抗体部分不同,但均特异性识别nGPC3。在一些实施例中,两种抗GPC3抗体部分不同,但均特异性识别sGPC3。在一些实施例中,一种抗GPC3抗体部分特异性识别nGPC3,且另一种抗GPC3抗体部分特异性识别sGPC3。在一些实施例中,抗GPC3-Fc融合蛋白为单价的,即,仅一种抗GPC3抗体部分与Fc片段中的一条链融合,且Fc片段中的第二条链不与抗GPC3抗体部分融合。在一些实施例中,包括Fc片段的抗GPC3-Fc融合蛋白(包含包括抗体的抗GPC3-Fc融合蛋白)为杂二聚体。

[0356] 抗GPC3-Fc融合蛋白中的不相同多肽的杂二聚化可通过所属领域中已知的方法促进,包含(但不限于)通过臼包杵式技术进行杂二聚化。臼包杵式技术的结构及组装方法可以发现于例如US5,821,333、US7,642,228、US2011/0287009及PCT/US2012/059810中,所述文献全文以引用的方式并入本文中。这种技术通过在一个Fc的CH3域中用大氨基酸残基置换小氨基酸残基来引入“杵”(或隆凸)且在另一个Fc的CH3域中用较小氨基酸残基置换一或多个大氨基酸残基来引入“臼”(或空腔)而开发。在一些实施例中,融合蛋白中的Fc片段的一条链包括杵,且Fc片段的第二条链包括臼。

[0357] 用于形成杵的优选残基通常为天然存在的氨基酸残基且优选选自精氨酸(R)、苯丙氨酸(F)、酪氨酸(Y)及色氨酸(W)。最优选为色氨酸及酪氨酸。在一个实施例中,用于形成杵的原始残基具有较小侧链体积,例如丙氨酸、天冬酰胺、天冬氨酸、甘氨酸、丝氨酸、苏氨酸或缬氨酸。用于形成杵的CH3域中的示范性氨基酸取代包含(不限于)T366W、T366Y或F405W取代。

[0358] 用于形成臼的优选残基通常为天然存在的氨基酸残基且优选选自丙氨酸(A)、丝氨酸(S)、苏氨酸(T)及缬氨酸(V)。在一个实施例中,用于形成臼的原始残基具有大侧链体积,例如酪氨酸、精氨酸、苯丙氨酸或色氨酸。用于产生臼的CH3域中的示范性氨基酸取代包含(不限于)T366S、L368A、F405A、Y407A、Y407T及Y407V取代。在某些实施例中,杵包括T366W取代,且臼包括T366S/L368A/Y 407V取代。应了解,本申请案还预期且涵盖所属领域中已知的促进杂二聚化的针对Fc区的其它修饰。

[0359] 预期其它抗GPC3 Fc融合蛋白变异体(例如经分离的抗GPC3-Fc融合蛋白的变异体,例如全长抗GPC3抗体变异体),包括本文所述的任一种变异体(例如Fc变异体、效应功能变异体、糖基化变异体、半胱氨酸工程改造变异体)或其组合。关于抗GPC3 Fc融合蛋白的所有适用变异体(例如全长抗GPC3抗体),参见“抗GPC3变异体”章节。

[0360] 连接子

[0361] 在一些实施例中,本文所述的抗GPC3-Fc融合蛋白包括与Fc片段经由连接子融合的本文所述的抗GPC3抗体部分。

[0362] 抗GPC3-Fc融合蛋白中所用的连接子的长度、柔性度及/或其它特性可以对特性产生一些影响,包含(但不限于)抗GPC3抗体部分的亲和力、特异性或亲合力,及/或抗GPC3-Fc融合蛋白(例如包括Fc片段及抗GPC3抗体部分的抗体)的一或多种特定抗原或抗原决定基。

举例来说,可以选择较长连接子以确保两个相邻抗体部分在空间上彼此无干扰。在一些实施例中,连接子(例如肽连接子)包括柔性残基(例如甘氨酸及丝氨酸),使得相邻抗体部分相对于彼此自由移动。举例来说,甘氨酸-丝氨酸对可为适合的肽连接子。在一些实施例中,连接子为非肽连接子。在一些实施例中,连接子为肽连接子。在一些实施例中,连接子为不可裂解的连接子。在一些实施例中,连接子为可裂解的连接子。

[0363] 其它连接子考虑因素包含对所得抗GPC3-Fc融合蛋白的物理或药物动力学特性的影响,例如溶解性、亲脂性、亲水性、疏水性、稳定性(较稳定或不大稳定以及有计划的降解)、硬度、柔性、免疫原性、抗体部分结合的调节、并入微胞或脂质体中的能力,及其类似因素。

[0364] 非肽连接子

[0365] 本文所述的任一种或所有连接子可以通过使两个分子结合的任何化学反应完成,只要组分或片段保持其相应活性,即结合到靶标GPC3(例如nGPC3及/或sGPC3)、结合到FcR,或ADCC/CDC。这种连接可以包含许多化学机制,例如共价结合、亲和力结合、插入、配位结合及络合。在一些实施例中,结合为共价结合。共价结合可通过现有侧链的直接缩合或通过并入外部桥连分子实现。许多二价或多价连接剂适用于蛋白质分子的偶合,例如Fc片段与本发明的抗GPC3抗体部分的偶合。举例来说,代表性偶合剂可以包含有机化合物,例如硫酯、碳化二亚胺、丁二酰亚胺酯、二异氰酸酯、戊二醛、重氮苯及六亚甲基二胺。不希望所述列表为所属领域中已知的各类偶合剂的详尽列表,而实际上为较常见的偶合剂的示例(参见Killen及Lindstrom, *Jour. Immun.* 133:1335-2549 (1984); Jansen等人, *Immunological Reviews* 62:185-216 (1982); 及Vitetta等人, *Science* 238:1098 (1987))。

[0366] 可适用于本申请案中的连接子描述于文献中(参见例如Ramakrishnan, S.等人, *Cancer Res.* 44:201-208 (1984), 其描述MBS (M-顺丁烯二酰亚氨基苯甲酰基-N-羟基丁二酰亚胺酯)的用途)。在一些实施例中,本文所用的非肽连接子包含:(i) EDC (1-乙基-3-(3-二甲氨基-丙基)碳化二亚胺盐酸盐); (ii) SMPT (4-丁二酰亚氨基氧基羰基- α -甲基- α -(2-吡啶基-二硫基)-甲苯 (Pierce Chem. Co., 目录号 (21558G)); (iii) SPDP (丁二酰亚氨基-6[3-(2-吡啶基二硫基)丙酰氨基]己酸酯 (Pierce Chem. Co., 目录号 21651G)); (iv) 磺基-LC-SPDP (磺基丁二酰亚氨基6[3-(2-吡啶基二硫基)-丙酰胺]己酸酯 (Pierce Chem. Co., 目录号 2165-G); 及 (v) 与EDC结合的磺基-NHS (N-羟基磺基-丁二酰亚胺; Pierce Chem. Co., 目录号 24510)。

[0367] 上述连接子含有具有不同属性的组分,从而产生具有不同物理化学特性的抗GPC3-Fc融合蛋白。举例来说,烷基羧酸酯的磺基-NHS酯的稳定性大于芳香族羧酸酯的磺基-NHS酯。含有NHS酯的连接子溶解性低于磺基-NHS酯。另外,连接子SMPT含有位阻二硫键,且可以形成稳定性增强的融合蛋白。二硫键的稳定性一般小于其它键联,原因是二硫键在体外裂解,使得融合蛋白可用性较差。特定来说,磺基-NHS可增强碳化二亚胺偶合的稳定性。碳化二亚胺偶合(例如EDC)当结合磺基-NHS使用时,形成的酯对水解的抗性大于单独的碳化二亚胺偶合反应。

[0368] 肽连接子

[0369] 本文所述的任一种或全部连接子可为肽连接子。肽连接子可以具有天然存在的序列或非天然存在的序列。举例来说,来源于抗体单独重链的铰链区的序列可以用作连接子。

参见例如W01996/34103。在一些实施例中,肽连接子包括氨基酸序列CPPCP (SEQ ID NO: 478),一种发现于原生IgG1铰链区中的序列。

[0370] 肽连接子可具有任何适合的长度。在一些实施例中,肽连接子具有至少约1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95、100或超过100个氨基酸(aa)长度中的任一者。在一些实施例中,肽连接子具有不超过约100、75、50、40、35、30、25、20、19、18、17、16、15、14、13、12、11、10、9、8、7、6、5或少于5个氨基酸长度中的任一者。在一些实施例中,肽连接子长度为约1aa到约10aa、约1aa到约20aa、约1aa到约30aa、约5aa到约15aa、约10aa到约25aa、约5aa到约30aa、约10aa到约30aa、约30aa到约50aa、约50aa到约100aa或约1aa到约100aa中的任一者。

[0371] 这类肽连接子的必需技术特征为所述肽连接子不包括任何聚合活性。肽连接子的特征(包括二级结构的促进作用的缺乏)在所属领域中已知且描述于例如Dall'Acqua等人(Biochem. (1998) 37, 9266-9273), Cheadle等人(Mol Immunol (1992) 29, 21-30)以及Raag及Whitlow(FASEB (1995) 9(1), 73-80)。在“肽连接子”的情形下,尤其优选的氨基酸为Gly。此外,优选同样不促成任何二级结构的肽连接子。分子彼此间的连接可以通过例如基因工程来实现。用于制备经融合及可操作地连接的抗体构筑体且在哺乳动物细胞或细菌中表达其的方法在所属领域中熟知(例如W0 99/54440, Ausubel, Current Protocols in Molecular Biology, Green Publishing Associates and Wiley Interscience, N.Y. 1989及1994或Sambrook等人, Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y., 2001)。

[0372] 在一些实施例中,肽连接子为稳定连接子,其不可通过蛋白酶(例如通过基质金属蛋白酶(MMP))裂解。

[0373] 在一些实施例中,肽连接子不容易呈现刚性三维结构,而是使多肽(例如第一及/或第二组分)具有柔性,例如使抗GPC3抗体部分与Fc片段之间具有柔性。在一些实施例中,肽连接子为柔性连接子。示范性柔性连接子包含甘氨酸聚合物($(G)_n$)、甘氨酸-丝氨酸聚合物(包含例如 $(GS)_n$ (SEQ ID NO: 469)、 $(GSGGS)_n$ (SEQ ID NO: 470)、 $(GGGGS)_n$ (SEQ ID NO: 471)及 $(GGGS)_n$ (SEQ ID NO: 472),其中n为至少一的整数)、甘氨酸-丙氨酸聚合物、丙氨酸-丝氨酸聚合物,及所属领域中已知的其它柔性连接子。甘氨酸及甘氨酸-丝氨酸聚合物相对而言非结构化,且因此能够充当各组分之间的中性系链。甘氨酸甚至比丙氨酸更显著地接近 Φ - Ψ 空间,且所受限制比具有较长侧链的残基少得多(参见Scheraga, Rev. Computational Chem. 11 173-142 (1992))。所属领域的一般技术人员将认识到,抗GPC3-Fc融合蛋白的设计可以包含完全或部分具有柔性的连接子,使得连接子可以包含柔性连接子部分以及赋予结构较少柔性以提供所需融合蛋白结构的一或多个部分。

[0374] 在一些实施例中,抗GPC3抗体部分与Fc片段通过连接子连接在一起,所述连接子的长度足以使抗GPC3-Fc融合蛋白能够依允许结合到靶标GPC3(例如nGPC3及/或sGPC3)以及FcR的方式折叠。在一些实施例中,连接子包括氨基酸序列SRGGGSGGGGSGGGGSLEMA (SEQ ID NO: 473)。在一些实施例中,连接子为或包括 $(GGGGS)_n$ 序列(SEQ ID NO: 471),其中n等于1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或大于10。在一些实施例中,连接子包括氨基酸序列TSGGGGS (SEQ ID NO: 474)。在一些实施例中,连接子包括氨基酸序列GEGTSTGSGGSGGSGGAD (SEQ ID NO:

490)。

[0375] 天然连接子的二级结构呈现各种构形,例如螺旋形、 β 链、卷曲螺旋/弯曲及转弯,以发挥其功能。 α -螺旋结构中的连接子可以充当有效分隔蛋白域的刚性间隔子,从而减少其不利相互作用。具有富含Pro序列的非螺旋形连接子可以增强连接子刚性且发挥减少域间干扰的作用。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分(特异性识别例如nGPC3及/或sGPC3)及Fc片段(或包括Fc片段的抗体)通过 α -螺旋形连接子与氨基酸序列A(EAAAK)₄A (SEQ ID NO: 475)连接在一起。

[0376] 抗GPC3-Fc融合蛋白序列

[0377] 在一些实施例中,抗GPC3构筑体(例如经分离的抗GPC3构筑体)为包括抗GPC3抗体部分的抗GPC3-Fc融合蛋白,所述抗体部分任选地经由连接子(例如肽连接子)与Fc片段(例如IgG1 Fc片段)融合。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分特异性识别与细胞表面结合的GPC3。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分对与细胞表面结合的GPC3的结合亲和力高于对可溶性GPC3的结合亲和力。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分以高结合亲和力特异性识别与细胞表面结合的GPC3且以低结合亲和力结合到可溶性GPC3。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分特异性识别可溶性GPC3。在一些实施例中,抗sGPC3抗体部分对可溶性GPC3的结合亲和力高于对与细胞表面结合的GPC3的结合亲和力。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分特异性识别与细胞表面结合的GPC3与可溶性GPC3。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分(靶向例如nGPC3及/或sGPC3)为Fab、Fab'、Fc或scFv。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分为嵌合的、人类的、部分人类化的、完全人类化的或半合成的。在一些实施例中,抗GPC3-Fc融合蛋白为全长抗体。在一些实施例中,全长抗GPC3抗体为单株抗体。在一些实施例中,抗GPC3-Fc融合蛋白(例如全长抗GPC3抗体)具有单特异性。在一些实施例中,抗GPC3-Fc融合蛋白为单价的。在一些实施例中,抗GPC3-Fc融合蛋白(例如全长抗GPC3抗体)为多价的。在一些实施例中,抗GPC3-Fc融合蛋白(例如全长抗GPC3抗体)具有多特异性。在一些实施例中,连接子包括氨基酸序列(GGGGS)_n (SEQ ID NO: 471),其中n等于1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或大于10。在一些实施例中,连接子包括氨基酸序列CPPCP (SEQ ID NO: 478)。

[0378] 因此,举例来说,在一些实施例中,提供一种抗GPC3-Fc融合蛋白,其包括:a)特异性识别与细胞表面结合的GPC3的抗GPC3抗体部分(例如,抗GPC3抗体部分对与细胞表面结合的GPC3的结合亲和力高于对可溶性GPC3的结合亲和力,或抗GPC3抗体部分以高结合亲和力特异性识别与细胞表面结合的GPC3且以低结合亲和力结合到可溶性GPC3);及b)Fc片段。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分特异性识别包括氨基酸序列SEQ ID NO: 460的人类GPC3内的抗原决定基。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分特异性识别氨基酸序列SEQ ID NO: 461内的抗原决定基。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分特异性识别氨基酸序列SEQ ID NO: 462内的抗原决定基。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分特异性识别氨基酸序列SEQ ID NO: 463内的抗原决定基。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分特异性识别GPC3的N端片段内的抗原决定基。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分特异性识别SEQ ID NO: 460的氨基酸1-358内的抗原决定基 (SEQ ID NO: 468)。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分特异性识别氨基酸序列SEQ ID NO: 464内的抗原决定基。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分特异性识别GPC3的C端片段内的抗原决定基。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分特异性识别SEQ ID NO: 460的氨基酸359-560内的抗原决定基 (SEQ ID NO: 465)。在一些实施例中,抗nGPC3抗体

部分特异性识别SEQ ID NO:460的氨基酸359-580内的抗原决定基(SEQ ID NO:466)。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分特异性识别缺乏硫酸肝素侧链的GPC3的C端片段内的抗原决定基。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分特异性识别SEQ ID NO:460的氨基酸510-560内的抗原决定基(SEQ ID NO:467)。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分特异性识别跨越位于SEQ ID NO:460的氨基酸R³⁵⁸/S³⁵⁹的弗林裂解位点的抗原决定基。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分可以特异性结合到人类成熟全长GPC3(例如SEQ ID NO:460的氨基酸25-560或25-580),但不结合到人类GPC3的N端片段(例如SEQ ID NO:460的氨基酸25-358)或人类GPC3的C端片段(例如SEQ ID NO:460的氨基酸359-560或359-580)。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分特异性识别缺乏硫酸肝素侧链的GPC3的C端片段内的抗原决定基。在一些实施例中,提供一种抗GPC3-Fc融合蛋白,其包括:a)与本文所述的抗GPC3构筑体竞争结合到nGPC3的抗nGPC3抗体部分(例如,抗GPC3抗体部分对与细胞表面结合的GPC3的结合亲和力高于对可溶性GPC3的结合亲和力,或抗GPC3抗体部分以高结合亲和力特异性识别与细胞表面结合的GPC3且以低结合亲和力结合到可溶性GPC3);及b)Fc片段。在一些实施例中,提供一种抗GPC3-Fc融合蛋白,其包括与本文所述的任一种抗GPC3构筑体竞争性地特异性结合到相同或基本上相同nGPC3抗原决定基的抗nGPC3抗体部分(例如,抗GPC3抗体部分对与细胞表面结合的GPC3的结合亲和力高于对可溶性GPC3的结合亲和力,或抗GPC3抗体部分以高结合亲和力特异性识别与细胞表面结合的GPC3且以低结合亲和力结合到可溶性GPC3);及b)Fc片段。在一些实施例中,GPC3表达于选自由以下组成的群组的细胞的表面上:HepG2、Hep3B、Huh7、JHH-7及293。在一些实施例中,GPC3表达于癌细胞(例如肝癌细胞,例如HCC)的表面上。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分与Fc片段经由连接子(例如肽连接子)连接。在一些实施例中,连接子包括氨基酸序列(GGGGS)_n(SEQ ID NO:471),其中n等于1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或大于10。在一些实施例中,连接子包括氨基酸序列CPPCP(SEQ ID NO:478)。在一些实施例中,Fc片段包括IgG1 Fc序列。在一些实施例中,Fc片段包括人类IgG1 Fc序列。在一些实施例中,Fc片段包括小鼠IgG1 Fc序列。在一些实施例中,抗GPC3-Fc融合蛋白为全长抗体。在一些实施例中,全长抗GPC3抗体为单株抗体。在一些实施例中,抗GPC3-Fc融合蛋白(例如全长抗GPC3抗体)具有单特异性。在一些实施例中,抗GPC3-Fc融合蛋白为单价的。在一些实施例中,抗GPC3-Fc融合蛋白(例如全长抗GPC3抗体)为多价的。在一些实施例中,抗GPC3-Fc融合蛋白(例如全长抗GPC3抗体)具有多特异性。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分为Fab或Fab'。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分为scFv。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分为嵌合的、人类的、部分人类化的、完全人类化的或半合成的。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分与nGPC3之间结合的K_d为约10⁻⁷M到约10⁻¹³M(例如约10⁻⁷M到约10⁻¹³M、约10⁻⁹M到约10⁻¹³M,或约10⁻¹⁰M到约10⁻¹²M)。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分与sGPC3之间结合的K_d可为抗nGPC3抗体部分与nGPC3之间结合的K_d的至少约10倍(例如至少约10、10²、10³、10⁴、10⁵、10⁶或10⁷倍)。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分与sGPC3之间结合的K_d为约10⁻¹M到约10⁻⁶M(例如约10⁻¹M到约10⁻⁶M、约10⁻¹M到约10⁻⁵M,或约10⁻²M到约10⁻⁴M)。

[0379] 在一些实施例中,提供一种抗GPC3-Fc融合蛋白,其包括:a)抗nGPC3抗体部分,所述抗体部分包括:i)V_H,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:1-31中的任一者的HC-CDR1或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体、氨基酸序列为SEQ ID NO:52-82中的任一者的HC-CDR2或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸

取代的其变异体,及氨基酸序列为SEQ ID NO:103-133中的任一者的HC-CDR3或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代;及ii) V_L ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:154-184中的任一者的LC-CDR1或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体、氨基酸序列为SEQ ID NO:205-235中的任一者的LC-CDR2或包括最多约3(例如约1、2或3中的任一者)个氨基酸取代的其变异体,及氨基酸序列为SEQ ID NO:256-286中的任一者的LC-CDR3或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体;以及b) Fc片段。在一些实施例中,提供一种抗GPC3-Fc融合蛋白,其包括:a) 抗nGPC3抗体部分,所述抗体部分包括:i) V_H ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:1-31中的任一者的HC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:52-82中的任一者的HC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:103-133中的任一者的HC-CDR3;以及ii) V_L ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:154-184中的任一者的LC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:205-235中的任一者的LC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:256-286中的任一者的LC-CDR3;以及b) Fc片段。在一些实施例中,提供一种抗GPC3-Fc融合蛋白,其包括:a) 抗nGPC3抗体部分,所述抗体部分包括:i) 氨基酸序列为SEQ ID NO:307-337中的任一者的 V_H ;及ii) 氨基酸序列为SEQ ID NO:358-388中的任一者的 V_L ;以及b) Fc片段。在一些实施例中,提供一种抗GPC3-Fc融合蛋白,其包括:a) 抗nGPC3抗体部分,所述抗体部分包括:i) 氨基酸序列为SEQ ID NO:307-337中的任一者的 V_H 的HC-CDR;及ii) 氨基酸序列为SEQ ID NO:358-388中的任一者的 V_L 的LC-CDR;以及b) Fc片段。在一些实施例中,提供抗GPC3-Fc融合蛋白,其包括a) 与本文所述的任一种抗GPC3构筑体竞争结合到nGPC3的抗nGPC3抗体部分;以及b) Fc片段。在一些实施例中,提供一种抗GPC3-Fc融合蛋白,其包括a) 抗nGPC3抗体部分,所述抗体部分与本文所述的任一种抗GPC3构筑体竞争性地特异性结合到相同或基本上相同的nGPC3抗原决定基;以及b) Fc片段。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分与nGPC3之间结合的 K_d 为约 10^{-7} M到约 10^{-13} M(例如约 10^{-7} M到约 10^{-13} M、约 10^{-9} M到约 10^{-13} M,或约 10^{-10} M到约 10^{-12} M)。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分与sGPC3之间结合的 K_d 可为抗nGPC3抗体部分与nGPC3之间结合的 K_d 的至少约10倍(例如至少约 10 、 10^2 、 10^3 、 10^4 、 10^5 、 10^6 或 10^7 倍)。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分与sGPC3之间结合的 K_d 为约 10^{-1} M到约 10^{-6} M(例如约 10^{-1} M到约 10^{-6} M、约 10^{-1} M到约 10^{-5} M,或约 10^{-2} M到约 10^{-4} M)。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分与Fc片段经由连接子(例如肽连接子)连接。在一些实施例中,连接子包括氨基酸序列 $(GGGG)_n$ (SEQ ID NO:471),其中n等于1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或大于10。在一些实施例中,连接子包括氨基酸序列CPPCP(SEQ ID NO:478)。在一些实施例中,Fc片段包括IgG1 Fc序列。在一些实施例中,Fc片段包括人类IgG1 Fc序列。在一些实施例中,Fc片段包括小鼠IgG1 Fc序列。在一些实施例中,抗GPC3-Fc融合蛋白为全长抗体。在一些实施例中,全长抗GPC3抗体为单株抗体。在一些实施例中,抗GPC3-Fc融合蛋白(例如全长抗GPC3抗体)具有单特异性。在一些实施例中,抗GPC3-Fc融合蛋白为单价的。在一些实施例中,抗GPC3-Fc融合蛋白(例如全长抗GPC3抗体)为多价的。在一些实施例中,抗GPC3-Fc融合蛋白(例如全长抗GPC3抗体)具有多特异性。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分为Fab或Fab'。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分为scFv。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分为嵌合的、人类的、部分人类化的、完全人类化的或半合成的。

[0380] 在一些实施例中,包括抗nGPC3抗体部分的抗GPC3-Fc融合蛋白(例如全长抗GPC3抗体)与第二抗GPC3-Fc融合蛋白(例如第二全长抗GPC3抗体)竞争结合到与细胞表面结合

的GPC3,所述第二抗GPC3-Fc融合蛋白包括根据本文所述的任一种抗GPC3-Fc融合蛋白(例如全长抗GPC3抗体)的抗nGPC3抗体部分。在一些实施例中,包括抗nGPC3抗体部分的抗GPC3-Fc融合蛋白(例如全长抗GPC3抗体)与包括抗nGPC3抗体部分的第二抗GPC3-Fc融合蛋白(例如第二全长抗GPC3抗体)结合到相同或基本上相同的抗原决定基。在一些实施例中,包括抗nGPC3抗体部分的抗GPC3-Fc融合蛋白(例如全长抗GPC3抗体)结合到与细胞表面结合的GPC3将包括抗nGPC3抗体部分的第二抗GPC3-Fc融合蛋白(例如全长抗GPC3抗体)对与细胞表面结合的相同GPC3的结合抑制至少约70%(例如至少约75%、80%、85%、90%、95%、98%或99%中的任一者),或反之亦然。在一些实施例中,包括抗nGPC3抗体部分的抗GPC3-Fc融合蛋白(例如全长抗GPC3抗体)与包括抗nGPC3抗体部分的第二抗GPC3-Fc融合蛋白(例如第二全长抗GPC3抗体)交叉竞争结合到与细胞表面结合的GPC3,即,抗GPC3-Fc融合蛋白(例如全长抗GPC3抗体)中的每一者与另一者竞争结合到与细胞表面结合的GPC3。

[0381] 在一些实施例中,提供一种抗GPC3-Fc融合蛋白(例如全长抗GPC3抗体),其包括:
a) 特异性识别GPC3(例如nGPC3及/或sGPC3)的抗GPC3抗体部分,所述抗体部分包括:i) V_H ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:32-51中的任一者的HC-CDR1或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体、氨基酸序列为SEQ ID NO:83-102中的任一者的HC-CDR2或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体,及氨基酸序列为SEQ ID NO:134-153中的任一者的HC-CDR3或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体;及ii) V_L ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:185-204中的任一者的LC-CDR1或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体、氨基酸序列为SEQ ID NO:236-255中的任一者的LC-CDR2或包括最多约3(例如约1、2或3中的任一者)个氨基酸取代的其变异体,及氨基酸序列为SEQ ID NO:287-306中的任一者的LC-CDR3或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体;以及b) Fc片段。在一些实施例中,提供一种抗GPC3-Fc融合蛋白,其包括:a) 特异性识别GPC3(例如nGPC3及/或sGPC3)的抗GPC3抗体部分,所述抗体部分包括:i) V_H ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:32-51中的任一者的HC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:83-102中的任一者的HC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:134-153中的任一者的HC-CDR3;以及ii) V_L ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:185-204中的任一者的LC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:236-255中的任一者的LC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:287-306中的任一者的LC-CDR3;以及b) Fc片段。在一些实施例中,提供一种抗GPC3-Fc融合蛋白,其包括:a) 特异性识别GPC3(例如nGPC3及/或sGPC3)的抗GPC3抗体部分,所述抗体部分包括:i) 氨基酸序列为SEQ ID NO:338-357中的任一者的 V_H ;及ii) 氨基酸序列为SEQ ID NO:389-408中的任一者的 V_L ;以及b) Fc片段。在一些实施例中,提供一种抗GPC3-Fc融合蛋白,其包括:a) 特异性识别GPC3(例如nGPC3及/或sGPC3)的抗GPC3抗体部分,所述抗体部分包括:i) 氨基酸序列为SEQ ID NO:338-357中的任一者的 V_H 的HC-CDR;及ii) 氨基酸序列为SEQ ID NO:389-408中的任一者的 V_L 的LC-CDR;以及b) Fc片段。在一些实施例中,提供一种抗GPC3-Fc融合蛋白,其包括a) 与本文所述的任一种抗GPC3构筑体竞争结合到GPC3(例如nGPC3及/或sGPC3)的抗GPC3抗体部分;及b) Fc片段。在一些实施例中,提供一种抗GPC3-Fc融合蛋白,其包括a) 抗GPC3抗体部分,所述抗体部分与本文所述的任一种抗GPC3构筑体竞争性地特异性结合到相同或基本上相同的GPC3抗原决定基;及b) Fc片段。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分特异性识别与细胞表面

结合的GPC3。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分对与细胞表面结合的GPC3的结合亲和力高于对可溶性GPC3的结合亲和力。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分以高结合亲和力特异性识别与细胞表面结合的GPC3且以低结合亲和力结合到可溶性GPC3。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分特异性识别可溶性GPC3。在一些实施例中,抗sGPC3抗体部分对可溶性GPC3的结合亲和力高于对与细胞表面结合的GPC3的结合亲和力。在一些实施例中,抗sGPC3抗体部分特异性识别氨基酸序列SEQ ID NO:461内的抗原决定基。在一些实施例中,抗sGPC3抗体部分特异性识别SEQ ID NO:460的氨基酸510-560内的抗原决定基(SEQ ID NO:467)。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分特异性识别与细胞表面结合的GPC3与可溶性GPC3。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分与靶标GPC3(例如nGPC3及/或sGPC3)之间结合的 K_d 为约 10^{-7} M到约 10^{-13} M(例如约 10^{-7} M到约 10^{-13} M、约 10^{-9} M到约 10^{-13} M,或约 10^{-10} M到约 10^{-12} M)。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分与非靶标之间结合的 K_d 可为抗GPC3抗体部分与靶标GPC3之间结合的 K_d 的至少约10倍(例如至少约 10^1 、 10^2 、 10^3 、 10^4 、 10^5 、 10^6 或 10^7 倍)。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分与非靶标之间结合的 K_d 为约 10^{-1} M到约 10^{-6} M(例如约 10^{-1} M到约 10^{-6} M、约 10^{-1} M到约 10^{-5} M,或约 10^{-2} M到约 10^{-4} M)。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分与Fc片段经由连接子(例如肽连接子)连接。在一些实施例中,连接子包括氨基酸序列(GGGGS)_n(SEQ ID NO:471),其中n等于1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或大于10。在一些实施例中,连接子包括氨基酸序列CPPCP(SEQ ID NO:478)。在一些实施例中,Fc片段包括IgG1Fc序列。在一些实施例中,Fc片段包括人类IgG1 Fc序列。在一些实施例中,Fc片段包括小鼠IgG1 Fc序列。在一些实施例中,抗GPC3-Fc融合蛋白为全长抗体。在一些实施例中,全长抗GPC3抗体为单株抗体。在一些实施例中,抗GPC3-Fc融合蛋白(例如全长抗GPC3抗体)具有单特异性。在一些实施例中,抗GPC3-Fc融合蛋白为单价的。在一些实施例中,抗GPC3-Fc融合蛋白(例如全长抗GPC3抗体)为多价的。在一些实施例中,抗GPC3-Fc融合蛋白(例如全长抗GPC3抗体)具有多特异性。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分为Fab或Fab'。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分为scFv。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分为嵌合的、人类的、部分人类化的、完全人类化的或半合成的。

[0382] 在一些实施例中,包括抗GPC3抗体部分的抗GPC3-Fc融合蛋白(例如全长抗GPC3抗体)与第二抗GPC3-Fc融合蛋白(例如第二全长抗GPC3抗体)竞争结合到靶标GPC3(例如nGPC3及/或sGPC3),所述第二抗GPC3-Fc融合蛋白包括根据本文所述的任一种抗GPC3-Fc融合蛋白(例如全长抗GPC3抗体)的抗GPC3抗体部分。在一些实施例中,包括抗GPC3抗体部分的抗GPC3-Fc融合蛋白(例如全长抗GPC3抗体)与包括抗GPC3抗体部分的第二抗GPC3-Fc融合蛋白(例如第二全长抗GPC3抗体)结合到相同或基本上相同的抗原决定基。在一些实施例中,包括抗GPC3抗体部分的抗GPC3-Fc融合蛋白(例如全长抗GPC3抗体)结合到靶标GPC3(例如nGPC3及/或sGPC3)将包括抗GPC3抗体部分的第二抗GPC3-Fc融合蛋白(例如全长抗GPC3抗体)对靶标GPC3的结合抑制至少约70%(例如至少约75%、80%、85%、90%、95%、98%或99%中的任一者),或反之亦然。在一些实施例中,包括抗GPC3抗体部分的抗GPC3-Fc融合蛋白(例如全长抗GPC3抗体)与包括抗GPC3抗体部分的第二抗GPC3-Fc融合蛋白(例如第二全长抗GPC3抗体)交叉竞争结合到靶标GPC3(例如nGPC3及/或sGPC3),即,抗GPC3-Fc融合蛋白(例如全长抗GPC3抗体)中的每一者与另一者竞争结合到靶标GPC3。

[0383] 在一些实施例中,提供一种全长抗GPC3抗体(例如分离的全长抗GPC3抗体),其包括:a)特异性识别与细胞表面结合的GPC3的抗GPC3抗体部分(例如,抗GPC3抗体部分对与细

胞表面结合的GPC3的结合亲和力高于对可溶性GPC3的结合亲和力,或抗GPC3抗体部分以高结合亲和力特异性识别与细胞表面结合的GPC3且以低结合亲和力结合到可溶性GPC3);及b)Fc片段。在一些实施例中,Fc片段包括IgG1 Fc序列(例如人类或小鼠IgG1 Fc序列)。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分特异性识别包括氨基酸序列SEQ ID NO:460的人类GPC3内的抗原决定基。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分特异性识别氨基酸序列SEQ ID NO:461内的抗原决定基。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分特异性识别氨基酸序列SEQ ID NO:462内的抗原决定基。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分特异性识别氨基酸序列SEQ ID NO:463内的抗原决定基。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分特异性识别GPC3的N端片段内的抗原决定基。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分特异性识别SEQ ID NO:460的氨基酸1-358内的抗原决定基(SEQ ID NO:468)。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分特异性识别氨基酸序列SEQ ID NO:464内的抗原决定基。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分特异性识别GPC3的C端片段内的抗原决定基。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分特异性识别SEQ ID NO:460的氨基酸359-560内的抗原决定基(SEQ ID NO:465)。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分特异性识别SEQ ID NO:460的氨基酸359-580内的抗原决定基(SEQ ID NO:466)。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分特异性识别缺乏硫酸肝素侧链的GPC3的C端片段内的抗原决定基。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分特异性识别SEQ ID NO:460的氨基酸510-560内的抗原决定基(SEQ ID NO:467)。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分特异性识别跨越位于SEQ ID NO:460的氨基酸R³⁵⁸/S³⁵⁹的弗林裂解位点的抗原决定基。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分可以特异性结合到人类成熟全长GPC3(例如SEQ ID NO:460的氨基酸25-560或25-580),但不结合到人类GPC3的N端片段(例如SEQ ID NO:460的氨基酸25-358)或人类GPC3的C端片段(例如SEQ ID NO:460的氨基酸359-560或359-580)。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分特异性识别缺乏硫酸肝素侧链的GPC3的C端片段内的抗原决定基。在一些实施例中,提供一种全长抗GPC3-Fc融合蛋白,其包括:a)与本文所述的任一种抗GPC3构筑体竞争结合到nGPC3的抗nGPC3抗体部分(例如,抗GPC3抗体部分对与细胞表面结合的GPC3的结合亲和力高于对可溶性GPC3的结合亲和力,或抗GPC3抗体部分以高结合亲和力特异性识别与细胞表面结合的GPC3且以低结合亲和力结合到可溶性GPC3);及b)Fc片段。在一些实施例中,提供一种全长抗GPC3-Fc融合蛋白,其包括a)与本文所述的任一种抗GPC3构筑体竞争性地特异性结合到相同或基本上相同nGPC3抗原决定基的抗nGPC3抗体部分(例如,抗GPC3抗体部分对与细胞表面结合的GPC3的结合亲和力高于对可溶性GPC3的结合亲和力,或抗GPC3抗体部分以高结合亲和力特异性识别与细胞表面结合的GPC3且以低结合亲和力结合到可溶性GPC3);及b)Fc片段。在一些实施例中,GPC3表达于选自由以下组成的群组的细胞的表面上:HepG2、Hep3B、Huh7、JHH-7及293。在一些实施例中,GPC3表达于癌细胞(例如肝癌细胞,例如HCC)的表面上。在一些实施例中,全长抗GPC3抗体为非天然存在的。在一些实施例中,全长抗GPC3抗体为单株抗体。在一些实施例中,全长抗GPC3抗体具有单特异性。在一些实施例中,全长抗GPC3抗体具有多特异性(例如双特异性)。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分与nGPC3之间结合的K_d为约10⁻⁷M到约10⁻¹³M(例如约10⁻⁷M到约10⁻¹³M、约10⁻⁹M到约10⁻¹³M,或约10⁻¹⁰M到约10⁻¹²M)。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分与sGPC3之间结合的K_d可为抗nGPC3抗体部分与nGPC3之间结合的K_d的至少约10倍(例如至少约10、10²、10³、10⁴、10⁵、10⁶或10⁷倍)。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分与sGPC3之间结合的K_d为约10⁻¹M到约10⁻⁶M(例如约10⁻¹M到约10

10^{-6} M、约 10^{-1} M到约 10^{-5} M,或约 10^{-2} M到约 10^{-4} M)。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分为嵌合的、人类的、部分人类化的、完全人类化的或半合成的。在一些实施例中,全长抗GPC3抗体包括氨基酸序列为SEQ ID NO:507的小鼠IgG1重链恒定域(C_H1)。在一些实施例中,全长抗GPC3抗体包括氨基酸序列为SEQ ID NO:508的小鼠 λ 轻链恒定域(C_L)。举例来说,在一些实施例中,全长抗GPC3抗体包括氨基酸序列为SEQ ID NO:505的重链,及氨基酸序列为SEQ ID NO:506的轻链。在一些实施例中,全长抗GPC3抗体的重链及/或轻链任选地包括N端信号肽。在一些实施例中,信号肽包括SEQ ID NO:509的氨基酸序列。

[0384] 在一些实施例中,提供一种全长抗GPC3抗体(例如分离的全长抗GPC3抗体),其包括:a)特异性识别与细胞表面结合的GPC3的抗GPC3抗体部分,所述抗体部分包括:i) V_H ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:1-31中的任一者的HC-CDR1或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体、氨基酸序列为SEQ ID NO:52-82中的任一者的HC-CDR2或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体,及氨基酸序列为SEQ ID NO:103-133中的任一者的HC-CDR3或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体;及ii) V_L ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:154-184中的任一者的LC-CDR1或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体、氨基酸序列为SEQ ID NO:205-235中的任一者的LC-CDR2或包括最多约3(例如约1、2或3中的任一者)个氨基酸取代的其变异体,及氨基酸序列为SEQ ID NO:256-286中的任一者的LC-CDR3或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体;以及b)Fc片段。在一些实施例中,提供一种全长抗GPC3抗体(例如分离的全长抗GPC3抗体),其包括:a)特异性识别与细胞表面结合的GPC3的抗GPC3抗体部分,所述抗体部分包括:i) V_H ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:1-31中的任一者的HC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:52-82中的任一者的HC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:103-133中的任一者的HC-CDR3;以及ii) V_L ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:154-184中的任一者的LC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:205-235中的任一者的LC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:256-286中的任一者的LC-CDR3;以及b)Fc片段。在一些实施例中,提供一种全长抗GPC3抗体(例如分离的全长抗GPC3抗体),其包括:a)特异性识别与细胞表面结合的GPC3的抗GPC3抗体部分,所述抗体部分包括:i)氨基酸序列为SEQ ID NO:307-337中的任一者的 V_H ;及ii)氨基酸序列为SEQ ID NO:358-388中的任一者的 V_L 。在一些实施例中,提供一种全长抗GPC3抗体(例如分离的全长抗GPC3抗体),其包括:a)特异性识别与细胞表面结合的GPC3的抗GPC3抗体部分,所述抗体部分包括氨基酸序列为SEQ ID NO:307-337中任一者的 V_H 的HC-CDR及氨基酸序列为SEQ ID NO:358-388中任一者的 V_L 的LC-CDR。在一些实施例中,提供一种全长抗GPC3抗体(例如分离的全长抗GPC3抗体),其包括:a)与本文所述的任一种抗GPC3构筑体竞争性地特异性结合到与细胞表面结合的GPC3的抗GPC3抗体部分;及Fc片段。在一些实施例中,提供一种全长抗GPC3抗体(例如分离的全长抗GPC3抗体),其包括:抗nGPC3抗体部分,所述抗体部分与本文所述的任一种抗GPC3构筑体竞争性地特异性结合到相同或基本上相同的nGPC3抗原决定基;及Fc片段。在一些实施例中,Fc片段包括IgG1Fc序列(例如人类或小鼠IgG1 Fc序列)。在一些实施例中,GPC3表达于选自由以下组成的群组的细胞的表面上:HepG2、Hep3B、Huh7、JHH-7及293。在一些实施例中,GPC3表达于癌细胞(例如肝癌细胞,例如HCC)的表面上。在一些实施例中,全长抗GPC3抗体为非天然存在的。在一些实施例中,全长抗GPC3抗体为单株抗

体。在一些实施例中,全长抗GPC3抗体具有单特异性。在一些实施例中,全长抗GPC3抗体具有多特异性(例如双特异性)。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分与nGPC3之间结合的 K_d 为约 10^{-7} M到约 10^{-13} M(例如约 10^{-7} M到约 10^{-13} M、约 10^{-9} M到约 10^{-13} M,或约 10^{-10} M到约 10^{-12} M)。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分与sGPC3之间结合的 K_d 可为抗nGPC3抗体部分与nGPC3之间结合的 K_d 的至少约10倍(例如至少约 10^1 、 10^2 、 10^3 、 10^4 、 10^5 、 10^6 或 10^7 倍)。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分与sGPC3之间结合的 K_d 为约 10^{-1} M到约 10^{-6} M(例如约 10^{-1} M到约 10^{-6} M、约 10^{-1} M到约 10^{-5} M,或约 10^{-2} M到约 10^{-4} M)。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分为嵌合的、人类的、部分人类化的、完全人类化的或半合成的。在一些实施例中,全长抗GPC3抗体包括氨基酸序列为SEQ ID NO:507的小鼠IgG1重链恒定域(C_H)。在一些实施例中,全长抗GPC3抗体包括氨基酸序列为SEQ ID NO:508的小鼠 λ 轻链恒定域(C_L)。举例来说,在一些实施例中,全长抗GPC3抗体包括氨基酸序列为SEQ ID NO:505的重链,及氨基酸序列为SEQ ID NO:506的轻链。在一些实施例中,全长抗GPC3抗体的重链及/或轻链任选地包括N端信号肽。在一些实施例中,信号肽包括SEQ ID NO:509的氨基酸序列。

[0385] 在一些实施例中,提供一种全长抗GPC3抗体(例如分离的全长抗GPC3抗体),其包括:a)特异性识别GPC3(例如nGPC3及/或sGPC3)的抗GPC3抗体部分,所述抗体部分包括:i) V_H ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:32-51中的任一者的HC-CDR1或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体、氨基酸序列为SEQ ID NO:83-102中的任一者的HC-CDR2或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体,及氨基酸序列为SEQ ID NO:134-153中的任一者的HC-CDR3或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体;及ii) V_L ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:185-204中的任一者的LC-CDR1或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体、氨基酸序列为SEQ ID NO:236-255中的任一者的LC-CDR2或包括最多约3(例如约1、2或3中的任一者)个氨基酸取代的其变异体,及氨基酸序列为SEQ ID NO:287-306中的任一者的LC-CDR3或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体;以及b)Fc片段。在一些实施例中,提供一种全长抗GPC3抗体(例如分离的全长抗GPC3抗体),其包括:a)特异性识别GPC3(例如nGPC3及/或sGPC3)的抗GPC3抗体部分,所述抗体部分包括:i) V_H ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:32-51中的任一者的HC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:83-102中的任一者的HC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:134-153中的任一者的HC-CDR3;及ii) V_L ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:185-204中的任一者的LC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:236-255中的任一者的LC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:287-306中的任一者的LC-CDR3;以及b)Fc片段。在一些实施例中,提供一种全长抗GPC3抗体(例如分离的全长抗GPC3抗体),其包括:a)特异性识别GPC3(例如nGPC3及/或sGPC3)的抗GPC3抗体部分,所述抗体部分包括:i)氨基酸序列为SEQ ID NO:338-357中的任一者的 V_H ;及ii)氨基酸序列为SEQ ID NO:389-408中的任一者的 V_L 。在一些实施例中,提供一种全长抗GPC3抗体(例如分离的全长抗GPC3抗体),其包括:a)特异性识别GPC3(例如nGPC3及/或sGPC3)的抗GPC3抗体部分,所述抗体部分包括氨基酸序列为SEQ ID NO:338-357中任一者的 V_H 的HC-CDR及氨基酸序列为SEQ ID NO:389-408中任一者的 V_L 的LC-CDR。在一些实施例中,提供一种全长抗GPC3抗体(例如分离的全长抗GPC3抗体),其包括:a)与本文所述的任一种抗GPC3构筑体竞争性地特异性结合到靶标GPC3(例如nGPC3及/或sGPC3)的抗GPC3抗体部分;及Fc片段。在一

些实施例中,提供一种全长抗GPC3抗体(例如分离的全长抗GPC3抗体),其包括:抗GPC3抗体部分,所述抗体部分与本文所述的任一种抗GPC3构筑体竞争性地特异性结合到相同或基本上相同的GPC3抗原决定基;及Fc片段。在一些实施例中,Fc片段包括IgG1 Fc序列(例如人类或小鼠IgG1 Fc序列)。在一些实施例中,GPC3表达于选自由以下组成的群组的细胞的表面上:HepG2、Hep3B、Huh7、JHH-7及293。在一些实施例中,GPC3表达于癌细胞(例如肝癌细胞,例如HCC)的表面上。在一些实施例中,抗GPC3构筑体为非天然存在的。在一些实施例中,全长抗GPC3抗体为单株抗体。在一些实施例中,全长抗GPC3抗体具有单特异性。在一些实施例中,全长抗GPC3抗体具有多特异性(例如双特异性)。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分特异性识别与细胞表面结合的GPC3。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分对与细胞表面结合的GPC3的结合亲和力高于对可溶性GPC3的结合亲和力。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分以高结合亲和力特异性识别与细胞表面结合的GPC3且以低结合亲和力结合到可溶性GPC3。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分特异性识别可溶性GPC3。在一些实施例中,抗sGPC3抗体部分对可溶性GPC3的结合亲和力高于对与细胞表面结合的GPC3的结合亲和力。在一些实施例中,抗sGPC3抗体部分特异性识别氨基酸序列SEQ ID NO:461内的抗原决定基。在一些实施例中,抗sGPC3抗体部分特异性识别SEQ ID NO:460的氨基酸510-560内的抗原决定基(SEQ ID NO:467)。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分特异性识别与细胞表面结合的GPC3与可溶性GPC3。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分与靶标GPC3(例如nGPC3及/或sGPC3)之间结合的 K_d 为约 10^{-7} M到约 10^{-13} M(例如约 10^{-7} M到约 10^{-13} M、约 10^{-9} M到约 10^{-13} M,或约 10^{-10} M到约 10^{-12} M)。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分与非靶标之间结合的 K_d 可为抗GPC3抗体部分与靶标GPC3之间结合的 K_d 的至少约10倍(例如至少约 10 、 10^2 、 10^3 、 10^4 、 10^5 、 10^6 或 10^7 倍)。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分与非靶标之间结合的 K_d 为约 10^{-1} M到约 10^{-6} M(例如约 10^{-1} M到约 10^{-6} M、约 10^{-1} M到约 10^{-5} M,或约 10^{-2} M到约 10^{-4} M)。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分为嵌合的、人类的、部分人类化的、完全人类化的或半合成的。在一些实施例中,全长抗GPC3抗体包括氨基酸序列为SEQ ID NO:507的小鼠IgG1重链恒定域(C_H1)。在一些实施例中,全长抗GPC3抗体包括氨基酸序列为SEQ ID NO:508的小鼠 λ 轻链恒定域(C_L)。在一些实施例中,全长抗GPC3抗体的重链及/或轻链任选地包括N端信号肽。在一些实施例中,信号肽包括SEQ ID NO:509的氨基酸序列。

[0386] 多特异性抗GPC3分子

[0387] 在一些实施例中,抗GPC3构筑体(例如经分离的抗GPC3构筑体)包括多特异性(例如双特异性)抗GPC3分子,所述抗GPC3分子包括根据本文所述的任一种抗GPC3抗体部分的抗GPC3抗体部分及特异性识别第二抗原的第二结合部分(例如第二抗体部分)。在一些实施例中,多特异性抗GPC3分子包括抗GPC3抗体部分及特异性识别第二抗原的第二抗体部分。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分特异性识别与细胞表面结合的GPC3。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分对与细胞表面结合的GPC3的结合亲和力高于对可溶性GPC3的结合亲和力。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分以高结合亲和力特异性识别与细胞表面结合的GPC3且以低结合亲和力结合到可溶性GPC3。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分特异性识别可溶性GPC3。在一些实施例中,抗sGPC3抗体部分对可溶性GPC3的结合亲和力高于对与细胞表面结合的GPC3的结合亲和力。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分特异性识别与细胞表面结合的GPC3与可溶性GPC3。

[0388] 多特异性分子为对至少两种不同抗原或抗原决定基具有结合特异性的分子(例如双特异性抗体对两种抗原或抗原决定基具有结合特异性)。还涵盖具有超过两个价和/或特异性的多特异性分子。举例来说,可以制备三特异性抗体(Tutt等人,J.Immunol.147:60(1991))。应了解,本领域技术人员可以选择本文所述的个别多特异性分子的适当特征以彼此组合而形成本发明的多特异性抗GPC3分子。

[0389] 因此,举例来说,在一些实施例中,提供一种多特异性(例如双特异性)抗GPC3分子,其包括a)特异性识别靶标GPC3(例如nGPC3及/或sGPC3)的抗GPC3抗体部分(例如scFv)及b)特异性识别第二抗原的第二结合部分(例如第二抗体部分,例如scFv)。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分特异性识别与细胞表面结合的GPC3。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分对与细胞表面结合的GPC3的结合亲和力高于对可溶性GPC3的结合亲和力。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分以高结合亲和力特异性识别与细胞表面结合的GPC3且以低结合亲和力结合到可溶性GPC3。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分特异性识别可溶性GPC3。在一些实施例中,抗sGPC3抗体部分对可溶性GPC3的结合亲和力高于对与细胞表面结合的GPC3的结合亲和力。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分特异性识别与细胞表面结合的GPC3与可溶性GPC3。在一些实施例中,第二结合部分特异性识别与抗GPC3抗体部分相同的GPC3形式(例如nGPC3及/或sGPC3)。在一些实施例中,相较于抗GPC3抗体部分,第二结合部分特异性识别不同GPC3抗原决定基。在一些实施例中,相较于抗GPC3抗体部分,第二结合部分特异性识别GPC3的不同形式。举例来说,在一些实施例中,第二结合部分特异性识别sGPC3(或sGPC3与nGPC3),而抗GPC3抗体部分特异性识别nGPC3(不结合到或极少结合到sGPC3)。在一些实施例中,第二结合部分特异性识别不为GPC3的第二抗原。在一些实施例中,第二结合部分特异性识别细胞(例如细胞毒性细胞)表面上的第二抗原。在一些实施例中,第二结合部分特异性结合到淋巴细胞(例如T细胞、B细胞、自然杀手(NK)细胞、嗜中性细胞、单核细胞、巨噬细胞或树突状细胞)表面上的抗原。在一些实施例中,第二结合部分特异性结合到效应子T细胞,例如细胞毒性T细胞(也称为细胞毒性T淋巴细胞(CTL)或T杀手细胞)或自然杀手T(NKT)细胞。在一些实施例中,第二结合部分特异性结合到效应细胞表面上的第二抗原,包含例如CD3 γ 、CD3 δ 、CD3 ϵ 、CD3 ζ 、CD27、CD28、CD16a、CD40L、CD56、CD68、CD137、OX40、GITR、HVEM及GDS2D。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分为嵌合的、人类的、部分人类化的、完全人类化的或半合成的。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分为全长抗体、Fab、Fab'、F(ab')₂、Fv或scFv。在一些实施例中,第二结合部分为嵌合的、人类的、部分人类化的、完全人类化的或半合成的。在一些实施例中,多特异性抗GPC3分子进一步包括至少一种(例如至少约2、3、4、5或大于5中的任一者)其它抗体部分。

[0390] 在一些实施例中,提供一种多特异性(例如双特异性)抗GPC3分子,其包括a)特异性识别与细胞表面结合的GPC3的抗GPC3抗体部分(例如scFv)(例如,抗nGPC3抗体部分对与细胞表面结合的GPC3的结合亲和力高于对可溶性GPC3的结合亲和力,或抗nGPC3抗体部分以高结合亲和力特异性识别与细胞表面结合的GPC3且以低结合亲和力结合到可溶性GPC3),及b)特异性识别第二抗原(例如T细胞上的CD3)的第二结合部分(例如第二抗体部分,例如scFv)。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分特异性识别包括氨基酸序列SEQ ID NO:460的人类GPC3内的抗原决定基。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分特异性识别氨基酸序列SEQ ID NO:461内的抗原决定基。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分特异性识别氨基酸

序列SEQ ID NO:462内的抗原决定基。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分特异性识别氨基酸序列SEQ ID NO:463内的抗原决定基。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分特异性识别GPC3的N端片段内的抗原决定基。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分特异性识别SEQ ID NO:460的氨基酸1-358内的抗原决定基(SEQ ID NO:468)。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分特异性识别氨基酸序列SEQ ID NO:464内的抗原决定基。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分特异性识别GPC3的C端片段内的抗原决定基。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分特异性识别SEQ ID NO:460的氨基酸359-560内的抗原决定基(SEQ ID NO:465)。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分特异性识别SEQ ID NO:460的氨基酸359-580内的抗原决定基(SEQ ID NO:466)。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分特异性识别缺乏硫酸肝素侧链的GPC3的C端片段内的抗原决定基。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分特异性识别SEQ ID NO:460的氨基酸510-560内的抗原决定基(SEQ ID NO:467)。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分特异性识别跨越位于SEQ ID NO:460的氨基酸R³⁵⁸/S³⁵⁹的弗林裂解位点的抗原决定基。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分可以特异性结合到人类成熟全长GPC3(例如SEQ ID NO:460的氨基酸25-560或25-580),但不结合到人类GPC3的N端片段(例如SEQ ID NO:460的氨基酸25-358)或人类GPC3的C端片段(例如SEQ ID NO:460的氨基酸359-560或359-580)。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分特异性识别缺乏硫酸肝素侧链的GPC3的C端片段内的抗原决定基。在一些实施例中,提供一种多特异性(例如双特异性)抗GPC3分子,其包括:a)与本文所述的任一种抗GPC3构筑体竞争结合到nGPC3的抗nGPC3抗体部分(例如scFv;例如抗nGPC3抗体部分对与细胞表面结合的GPC3的结合亲和力高于对可溶性GPC3的结合亲和力,或抗nGPC3抗体部分以高结合亲和力特异性识别与细胞表面结合的GPC3且以低结合亲和力结合到可溶性GPC3);及b)特异性识别第二抗原(例如T细胞上的CD3)的第二结合部分(例如第二抗体部分,例如scFv)。在一些实施例中,提供一种多特异性(例如双特异性)抗GPC3分子,其包括:a)与本文所述的任一种抗GPC3构筑体竞争性地特异性结合到相同或基本上相同nGPC3抗原决定基的抗nGPC3抗体部分(例如scFv;例如抗nGPC3抗体部分对与细胞表面结合的GPC3的结合亲和力高于对可溶性GPC3的结合亲和力,或抗nGPC3抗体部分以高结合亲和力特异性识别与细胞表面结合的GPC3且以低结合亲和力结合到可溶性GPC3);及b)特异性识别第二抗原(例如T细胞上的CD3)的第二结合部分(例如第二抗体部分,例如scFv)。在一些实施例中,GPC3表达于选自由以下组成的群组的细胞的表面上:HepG2、Hep3B、Huh7、JHH-7及293。在一些实施例中,GPC3表达于癌细胞(例如肝癌细胞,例如HCC)的表面上。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分与nGPC3之间结合的K_d为约10⁻⁷M到约10⁻¹³M(例如约10⁻⁷M到约10⁻¹³M、约10⁻⁹M到约10⁻¹³M,或约10⁻¹⁰M到约10⁻¹²M)。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分与sGPC3之间结合的K_d可为抗nGPC3抗体部分与nGPC3之间结合的K_d的至少约10倍(例如至少约10、10²、10³、10⁴、10⁵、10⁶或10⁷倍)。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分与sGPC3之间结合的K_d为约10⁻¹M到约10⁻⁶M(例如约10⁻¹M到约10⁻⁶M、约10⁻¹M到约10⁻⁵M,或约10⁻²M到约10⁻⁴M)。在一些实施例中,第一及/或第二抗体部分为嵌合的、人类的、部分人类化的、完全人类化的或半合成的。在一些实施例中,第一及/或第二抗体部分为全长抗体、Fab、Fab'、F(ab')₂、Fv或scFv。在一些实施例中,第一及/或第二抗体部分为scFv。在一些实施例中,第一与第二抗体部分通过连接子(例如SEQ ID NO:474)连接。在一些实施例中,第一抗GPC3抗体部分位于第二抗体部分的N端。在一些实施例中,效应细胞为T细胞(例如细胞毒性T细胞、辅助T细胞或自然杀手T

细胞)、B细胞、NK细胞、树突状细胞、巨噬细胞、单核细胞或嗜中性细胞。在一些实施例中,第二抗原为CD3 γ 、CD3 δ 、CD3 ϵ 、CD3 ζ 、CD28、OX40、GITR、CD137、CD27、CD40L或HVEM。

[0391] 在一些实施例中,提供一种多特异性(例如双特异性)抗GPC3分子,其包括:a)特异性识别与细胞表面结合的GPC3的抗GPC3抗体部分(例如scFv),所述抗体部分包括:i) V_H ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:1-31中的任一者的HC-CDR1或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体、氨基酸序列为SEQ ID NO:52-82中的任一者的HC-CDR2或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体,及氨基酸序列为SEQ ID NO:103-133中的任一者的HC-CDR3或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体;及ii) V_L ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:154-184中的任一者的LC-CDR1或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体、氨基酸序列为SEQ ID NO:205-235中的任一者的LC-CDR2或包括最多约3(例如约1、2或3中的任一者)个氨基酸取代的其变异体,及氨基酸序列为SEQ ID NO:256-286中的任一者的LC-CDR3或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体;以及b)特异性识别第二抗原(例如T细胞上的CD3)的第二结合部分(例如第二抗体部分,例如scFv)。在一些实施例中,提供一种多特异性(例如双特异性)抗GPC3分子,其包括:a)特异性识别与细胞表面结合的GPC3的抗GPC3抗体部分(例如scFv),所述抗体部分包括:i) V_H ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:1-31中的任一者的HC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:52-82中的任一者的HC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:103-133中的任一者的HC-CDR3;以及ii) V_L ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:154-184中的任一者的LC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:205-235中的任一者的LC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:256-286中的任一者的LC-CDR3;以及b)特异性识别第二抗原(例如T细胞上的CD3)上的第二结合部分(例如第二抗体部分,例如scFv)。在一些实施例中,提供一种多特异性(例如双特异性)抗GPC3分子,其包括a)特异性识别与细胞表面结合的GPC3的抗GPC3抗体部分(例如scFv),所述抗体部分包括:i)氨基酸序列为SEQ ID NO:307-337中的任一者的 V_H ;及ii)氨基酸序列为SEQ ID NO:358-388中的任一者的 V_L ;以及b)特异性识别第二抗原(例如T细胞上的CD3)的第二结合部分(例如第二抗体部分,例如scFv)。在一些实施例中,提供一种多特异性(例如双特异性)抗GPC3分子,其包括a)特异性识别与细胞表面结合的GPC3的抗GPC3抗体部分(例如scFv),所述抗体部分包括氨基酸序列为SEQ ID NO:307-337中的任一者的 V_H 的HC-CDR及氨基酸序列为SEQ ID NO:358-388中的任一者的 V_L 的LC-CDR;以及b)特异性识别第二抗原(例如T细胞上的CD3)的第二结合部分(例如第二抗体部分,例如scFv)。在一些实施例中,提供一种多特异性(例如双特异性)抗GPC3分子,其包括a)特异性识别与细胞表面结合的GPC3的抗GPC3抗体部分(例如scFv),其中抗nGPC3抗体部分与根据本文所述的任一种抗nGPC3抗体部分的第二抗nGPC3抗体部分竞争结合到与细胞表面结合的GPC3;及b)特异性识别第二抗原(例如T细胞上的CD3)的第二结合部分(例如第二抗体部分,例如scFv)。在一些实施例中,提供一种多特异性(例如双特异性)抗GPC3分子,其包括:a)与本文所述的任一种抗GPC3构筑体竞争性地特异性结合到相同或基本上相同nGPC3抗原决定基的抗nGPC3抗体部分(例如scFv);及b)特异性识别第二抗原(例如T细胞上的CD3)的第二结合部分(例如第二抗体部分,例如scFv)。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分与nGPC3之间结合的 K_d 为约 10^{-7} M到约 10^{-13} M(例如约 10^{-7} M到约 10^{-13} M、约 10^{-9} M到约 10^{-13} M,或约 10^{-10} M到约 10^{-12} M)。在一些实施例中,抗nGPC3抗

体部分与sGPC3之间结合的 K_d 可为抗nGPC3抗体部分与nGPC3之间结合的 K_d 的至少约10倍(例如至少约 10 、 10^2 、 10^3 、 10^4 、 10^5 、 10^6 或 10^7 倍)。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分与sGPC3之间结合的 K_d 为约 10^{-1} M到约 10^{-6} M(例如约 10^{-1} M到约 10^{-6} M、约 10^{-1} M到约 10^{-5} M,或约 10^{-2} M到约 10^{-4} M)。在一些实施例中,第一及/或第二抗体部分为嵌合的、人类的、部分人类化的、完全人类化的或半合成的。在一些实施例中,第一及/或第二抗体部分为全长抗体、Fab、Fab'、F(ab')₂、Fv或scFv。在一些实施例中,第一及/或第二抗体部分为scFv。在一些实施例中,第一与第二抗体部分通过连接子(例如SEQ ID NO:474)连接。在一些实施例中,第一抗GPC3抗体部分位于第二抗体部分的N端。在一些实施例中,效应细胞为T细胞(例如细胞毒性T细胞、辅助T细胞或自然杀手T细胞)、B细胞、NK细胞、树突状细胞、巨噬细胞、单核细胞或嗜中性细胞。在一些实施例中,第二抗原为CD3 γ 、CD3 δ 、CD3 ϵ 、CD3 ζ 、CD28、OX40、GITR、CD137、CD27、CD40L或HVEM。

[0392] 在一些实施例中,提供一种多特异性(例如双特异性)抗GPC3分子,其包括:a)特异性识别GPC3(例如nGPC3及/或sGPC3)的抗GPC3抗体部分(例如scFv),所述抗体部分包括:i) V_H ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:32-51中的任一者的HC-CDR1或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体、氨基酸序列为SEQ ID NO:83-102中的任一者的HC-CDR2或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体,及氨基酸序列为SEQ ID NO:134-153中的任一者的HC-CDR3或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体;及ii) V_L ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:185-204中的任一者的LC-CDR1或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体、氨基酸序列为SEQ ID NO:236-255中的任一者的LC-CDR2或包括最多约3(例如约1、2或3中的任一者)个氨基酸取代的其变异体,及氨基酸序列为SEQ ID NO:287-306中的任一者的LC-CDR3或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体;以及b)特异性识别第二抗原(例如T细胞上的CD3)的第二结合部分(例如第二抗体部分,例如scFv)。在一些实施例中,提供一种多特异性(例如双特异性)抗GPC3分子,其包括a)特异性识别GPC3的抗GPC3抗体部分(例如scFv),所述抗体部分包括:i) V_H ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:32-51中的任一者的HC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:83-102中的任一者的HC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:134-153中的任一者的HC-CDR3;及ii) V_L ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:185-204中的任一者的LC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:236-255中的任一者的LC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:287-306中的任一者的LC-CDR3;以及b)特异性识别第二抗原(例如T细胞上的CD3)的第二结合部分(例如第二抗体部分,例如scFv)。在一些实施例中,提供一种多特异性(例如双特异性)抗GPC3分子,其包括a)特异性识别GPC3的抗GPC3抗体部分(例如scFv),所述抗体部分包括:i) 氨基酸序列为SEQ ID NO:338-357中的任一者的 V_H ;及ii) 氨基酸序列为SEQ ID NO:389-408中的任一者的 V_L ;以及b)特异性识别第二抗原(例如T细胞上的CD3)的第二结合部分(例如第二抗体部分,例如scFv)。在一些实施例中,提供一种多特异性(例如双特异性)抗GPC3分子,其包括a)特异性识别GPC3的抗GPC3抗体部分(例如scFv),所述抗体部分包括氨基酸序列为SEQ ID NO:338-357中的任一者的 V_H 的HC-CDR及氨基酸序列为SEQ ID NO:389-408中的任一者的 V_L 的LC-CDR;以及b)特异性识别第二抗原(例如T细胞上的CD3)的第二结合部分(例如第二抗体部分,例如scFv)。在一些实施例中,提供一种多特异性(例如双特异性)抗GPC3分子,其包括a)特异性

识别GPC3的抗GPC3抗体部分(例如scFv),其中抗nGPC3抗体部分与根据本文所述的任一种抗GPC3抗体部分的第二抗GPC3抗体部分竞争结合到靶标GPC3(例如nGPC3及/或sGPC3);及b)特异性识别第二抗原(例如T细胞上的CD3)的第二结合部分(例如第二抗体部分,例如scFv)。在一些实施例中,提供一种多特异性(例如双特异性)抗GPC3分子,其包括:a)与本文所述的任一种抗GPC3构筑体竞争性地特异性结合到相同或基本上相同GPC3抗原决定基的抗GPC3抗体部分(例如scFv);及b)特异性识别第二抗原(例如T细胞上的CD3)的第二结合部分(例如第二抗体部分,例如scFv)。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分特异性识别与细胞表面结合的GPC3。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分对与细胞表面结合的GPC3的结合亲和力高于对可溶性GPC3的结合亲和力。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分以高结合亲和力特异性识别与细胞表面结合的GPC3且以低结合亲和力结合到可溶性GPC3。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分特异性识别可溶性GPC3。在一些实施例中,抗sGPC3抗体部分对可溶性GPC3的结合亲和力高于对与细胞表面结合的GPC3的结合亲和力。在一些实施例中,抗sGPC3抗体部分特异性识别氨基酸序列SEQ ID NO:461内的抗原决定基。在一些实施例中,抗sGPC3抗体部分特异性识别SEQ ID NO:460的氨基酸510-560内的抗原决定基(SEQ ID NO:467)。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分特异性识别与细胞表面结合的GPC3与可溶性GPC3。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分与靶标GPC3(例如gGPC3及/或sGPC3)之间结合的 K_d 为约 10^{-7} M到约 10^{-13} M(例如约 10^{-7} M到约 10^{-13} M、约 10^{-9} M到约 10^{-13} M,或约 10^{-10} M到约 10^{-12} M)。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分与非靶标之间结合的 K_d 可为抗GPC3抗体部分与靶标GPC3之间结合的 K_d 的至少约10倍(例如至少约 10^0 、 10^2 、 10^3 、 10^4 、 10^5 、 10^6 或 10^7 倍)。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分与非靶标之间结合的 K_d 为约 10^{-1} M到约 10^{-6} M(例如约 10^{-1} M到约 10^{-6} M、约 10^{-1} M到约 10^{-5} M,或约 10^{-2} M到约 10^{-4} M)。在一些实施例中,第一及/或第二抗体部分为嵌合的、人类的、部分人类化的、完全人类化的或半合成的。在一些实施例中,第一及/或第二抗体部分为全长抗体、Fab、Fab'、F(ab')₂、Fv或scFv。在一些实施例中,第一及/或第二抗体部分为scFv。在一些实施例中,第一与第二抗体部分通过连接子(例如SEQ ID NO:474)连接。在一些实施例中,第一抗GPC3抗体部分位于第二抗体部分的N端。在一些实施例中,效应细胞为T细胞(例如细胞毒性T细胞、辅助T细胞或自然杀手T细胞)、B细胞、NK细胞、树突状细胞、巨噬细胞、单核细胞或嗜中性细胞。在一些实施例中,第二抗原为CD3 γ 、CD3 δ 、CD3 ϵ 、CD3 ζ 、CD28、OX40、GITR、CD137、CD27、CD40L或HVEM。

[0393] 在一些实施例中,多特异性抗GPC3分子为例如双功能抗体(Db)、单链双功能抗体(scDb)、串联scDb(Tandab)、线性二聚scDb(LD-scDb)、圆形二聚scDb(CD-scDb)、双重双功能抗体、串联scFv、串联双scFv(例如双特异性T细胞接合体)、串联三scFv、三功能抗体、双特异性Fab₂、双微型抗体、四功能抗体、scFv-Fc-scFv融合体、双亲和力再靶向(DART)抗体、双可变域(DVD)抗体、IgG-scFab、scFab-ds-scFv、Fv₂-Fc、IgG-scFv融合体、对接及锁定(DNL)抗体、臼包杵(KiH)抗体(通过KiH技术制备的双特异性IgG)、DuoBody(通过Duobody技术制备的双特异性IgG)、杂多聚体抗体或杂结合抗体。在一些实施例中,多特异性抗GPC3分子为串联scFv(例如串联双scFv,如双特异性T细胞接合体)。

[0394] 第二抗原

[0395] 在一些实施例中,抗GPC3构筑体(例如经分离的抗GPC3构筑体)包括多特异性(例如双特异性)抗GPC3分子,所述抗GPC3分子包括抗GPC3抗体部分(例如抗nGPC3抗体部分)及

特异性识别第二抗原的第二抗体部分(例如scFv)。在一些实施例中,第二抗原也为GPC3,但包括与抗GPC3抗体部分所识别不同的抗原决定基。在一些实施例中,第二抗原不为GPC3。在一些实施例中,第二抗原为肿瘤抗原。在一些实施例中,第二抗原为细胞表面分子。在一些实施例中,第二抗原为效应细胞上的细胞表面分子。

[0396] 可被本文所述的第二抗体部分识别的示范性肿瘤抗原包含(但不限于) α 胎蛋白(AFP)、CA15-3、CA27-29、CA19-9、CA-125、钙网膜蛋白(calretinin)、癌胚抗原、CD34、CD99、CD117、嗜铬粒蛋白(chromogranin)、细胞角蛋白、肌间线蛋白、上皮细胞膜蛋白(EMA)、因子VIII、CD31 FL1、胶质原纤维酸性蛋白(GFAP)、粗大囊肿病体液蛋白质(GCDFP-15)、HMB-45、人类绒毛膜激性腺素(hGG)抑制素、角蛋白、CD45(淋巴细胞标记物)、MART-1(Melan-A)、Myo D1、肌肉特异性肌动蛋白(MSA)、神经丝、神经元特异性烯醇酶(NSE)、胎盘碱性磷酸酶(PLAP)、前列腺特异性抗原、S100蛋白、平滑肌肌动蛋白(SMA)、突触素、甲状腺球蛋白、甲状腺转录因子-1、肿瘤M2-PK及波形蛋白。

[0397] 在一些实施例中,本文所述的多特异性(例如双特异性)抗GPC3分子可以经工程改造以通过将效应细胞(例如细胞毒性T细胞)引导(或募集)到肿瘤位点而促进肿瘤细胞杀死(例如细胞毒性溶解或噬菌作用)。在一些实施例中,肿瘤细胞毒性可以利用LDH细胞毒性分析加以测试。在一些实施例中,多特异性(例如双特异性)抗GPC3分子可以有效地将效应细胞(例如T细胞、NK细胞、CAR-T细胞、caTCR-T细胞)引导到免疫抑制环境(例如免疫抑制肿瘤环境)中的靶细胞。

[0398] 示范性效应细胞包含(不限于)T细胞、B细胞、自然杀手(NK)细胞、树突状细胞(DC)、巨噬细胞、单核细胞、嗜中性细胞、自然杀手T(NKT)细胞、抗体依赖性细胞毒性细胞、嵌合抗原受体(CAR)效应细胞(例如CAR-T)、嵌合抗体-T细胞受体(TCR)构筑体(caTCR)效应细胞(参见下文caTCR章节)或其类似物。在一些实施例中,效应细胞为T细胞(例如细胞毒性T细胞、辅助T细胞或NKT细胞)。在一些实施例中,效应细胞为细胞毒性T细胞。在一些实施例中,效应细胞是同种异体的。在一些实施例中,效应细胞是自体的。

[0399] 本发明的细胞表面分子为特定细胞类型或有限数目的细胞类型的外部细胞壁或质膜上所发现的分子。细胞表面分子的实例包含(但不限于)膜蛋白,例如受体、转运蛋白、离子通道、质子泵及G蛋白偶联受体;细胞外基质分子,例如粘附分子(例如整合素、钙粘素、选择素或NCAMS);参见例如美国专利第7,556,928号,其全文以引用的方式并入本文中。效应细胞上的细胞表面分子包含(但不限于)CD3(例如CD3 γ 、CD3 δ 、CD3 ϵ 或CD3 ζ)、CD4、CD5、CD7、CD8、CD13、CD14、CD16、CD27(TNFRSF7)、CD28、CD31、CD38、CD40L(TNFSF5或CD154)、CD56、CD64、CD68、CD89、CD94、CD137(TNFRSF9或4-1BB)、CD278、Nkp46、Nkp30、NKG2D、MAC-1/MAC-3、IL-2Ra、OX40(TNFRSF4或CD134)、GITR、HVEM(TNFRSF14或CD270)、Ly49或恒定TCR。

[0400] 本领域技术人员将认识到免疫细胞具有不同细胞表面分子。举例来说,CD3为T细胞上的细胞表面分子,而CD16、NKG2D或Nkp30为NK细胞上的细胞表面分子,且CD3或恒定TCR为NKT细胞上的细胞表面分子。在一些实施例中,例如在效应细胞为T细胞的情况下,活化分子为CD3(例如CD3 γ 、CD3 δ 或CD3 ϵ)、CD27、CD28、CD40、CD134、CD137及CD278中的一或多者。在一些实施例中,例如在效应细胞为NK细胞的情况下,细胞表面分子为CD16、NKG2D或Nkp30;或在效应细胞为NKT细胞的情况下,细胞表面分子为CD3或恒定TCR。

[0401] 在一些实施例中,第二抗体部分特异性结合到CD3。CD3为由T细胞表达的抗原且包

括三条不同多肽链(ϵ 、 δ 及 γ 链)。三条CD3多肽链与T细胞受体(TCR)及 ζ 链结合而形成TCR复合物,所述TCR复合物具有活化T细胞中的信号传导级联的功能。当前,许多治疗策略靶向TCR信号转导以使用抗人类CD3单株抗体治疗疾病。本领域技术人员应认识到,TCR复合物为具有可变TCR α 及 β 链与三个二聚合信号传导模块CD3 δ/ϵ 、CD3 γ/ϵ 及CD3 ζ/ζ 或 ζ/η 的八聚体复合物。虽然在一些实施例中,本文所述的第二抗体部分(例如scFv)结合到CD3 ϵ ,但本发明还涵盖靶向其它CD3分子,特定来说,CD3 ζ ,或TCR α 及 β 链。

[0402] 在一些实施例中,提供一种多特异性(例如双特异性)抗GPC3分子,其包括a)特异性识别靶标GPC3(例如InGPC3及/或sGPC3)的抗GPC3抗体部分(例如scFv),及b)特异性结合到CD3的第二抗体部分(例如scFv)。在一些实施例中,第二抗体部分特异性结合到CD3 ϵ 。在一些实施例中,第二抗体部分特异性结合到CD3 ϵ 的促效抗原决定基。如本文所用,术语“促效抗原决定基”意指(a)在多特异性分子结合后,任选地在若干个多特异性分子在相同细胞上结合后,允许所述多特异性分子活化TCR信号传导且诱导T细胞活化的抗原决定基,及/或(b)仅由CD3的 ϵ 链的氨基酸残基组成且当在其天然背景下在T细胞上呈递(即被TCR、CD3 γ 链等包围)时可接近以供多特异性分子结合的抗原决定基,及/或(c)在多特异性分子结合后,不引起CD3 ϵ 的空间位置相对于CD3 γ 稳定化的抗原决定基。

[0403] 在一些实施例中,提供一种多特异性(例如双特异性)抗GPC3分子,其包括a)特异性识别靶标GPC3(例如InGPC3及/或sGPC3)的抗GPC3抗体部分(例如scFv),及b)特异性结合到效应细胞表面上的抗原(包含例如CD3 γ 、CD3 δ 、CD3 ϵ 、CD3 ζ 、CD28、CD16a、CD56、CD68及GDS2D)的第二抗体部分(例如scFv)。

[0404] 在一些实施例中,提供一种多特异性(例如双特异性)抗GPC3分子,其包括a)特异性识别靶标GPC3(例如InGPC3及/或sGPC3)的抗GPC3抗体部分(例如scFv),及b)特异性结合到补体系统的组分(例如C1q)的第二抗体部分(例如scFv)。C1q为活化血清补体系统的C1酶复合物的亚单元。

[0405] 在一些实施例中,第二抗体部分特异性结合到Fc受体。在一些实施例中,第二抗体部分特异性结合到Fc γ 受体(Fc γ R)。Fc γ R可为存在于NK细胞表面上的Fc γ RIII或存在于巨噬细胞、单核细胞、嗜中性细胞及/或树突状细胞表面上的Fc γ RI、Fc γ RIIA、Fc γ RIIBI、Fc γ RIIB2及Fc γ RIIIB之一。在一些实施例中,第二抗体部分为Fc区或其功能片段。如本中所用的“功能片段”是指抗体Fc区的片段,所述片段仍能够以足够的特异性及亲和力结合到FcR,尤其Fc γ R,以允许携有Fc γ R的效应细胞(特定来说,巨噬细胞、单核细胞、嗜中性细胞及/或树突状细胞)通过细胞毒性溶解或吞噬作用杀死靶细胞。功能Fc片段能够竞争性地抑制原始全长Fc部分结合到FcR,例如活化Fc γ RI。在一些实施例中,功能Fc片段保持其对活化Fc γ R的亲和力的至少30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%或95%。在一些实施例中,Fc区或其功能片段为增强型Fc区或其功能片段。如本文所用,术语“增强型Fc区”是指一种Fc区,其经修饰以增强Fc受体介导的效应功能,特定来说,抗体依赖性细胞介导的细胞毒性(ADCC)、补体依赖性细胞毒性(CDC)及抗体介导的吞噬作用。这可如所属领域中所知来实现,例如通过以引起活化受体(例如NK细胞上所表达的Fc γ RIIIA(CD16A))的亲和力增强及/或与抑制受体(例如Fc γ RIIB1/B2(CD32B))的结合减少的方式改变Fc区。在其它实施例中,第二抗体部分为一种抗体或其抗原结合片段,其以足够特异性及亲和力特异性结合到FcR,特定来说,Fc γ R,从而允许携有Fc γ R的效应细胞(特定来说,巨噬细胞、单核细胞、嗜

中性细胞及/或树突状细胞)通过细胞毒性溶解或吞噬作用杀死靶细胞。

[0406] 在一些实施例中,多特异性(例如双特异性)抗GPC3分子允许杀死GPC3⁺细胞(例如HCC细胞)且/或可以有效地再引导CTL溶解靶细胞表面上表达GPC3的细胞。在一些实施例中,本发明的多特异性抗GPC3分子展示10到500ng/ml范围内的体外EC₅₀,且能够以约1:1到约50:1(例如约1:1到约15:1,或约2:1到约10:1)的CTL与靶细胞比率、经由CTL诱导约50%靶细胞再定向溶解。

[0407] 在一些实施例中,多特异性(例如双特异性)抗GPC3分子能够以使得靶细胞溶解的方式与经刺激或未刺激的CTL及靶细胞(例如GPC3⁺细胞,例如HCC细胞)发生交联。由此得到的优势在于,多特异性抗GPC3分子无需产生靶标特异性T细胞克隆或由树突状细胞呈递共同抗原便可发挥其所需活性。在一些实施例中,本发明的多特异性(例如双特异性)抗GPC3分子能够在缺乏其它活化信号的情况下再引导CTL溶解靶细胞(例如GPC3⁺细胞,例如HCC细胞)。在一些实施例中,多特异性抗GPC3分子的第二抗体部分特异性结合到CD3(例如特异性结合到CD3 ϵ),且再引导CTL溶解靶细胞无需经由CD28及/或IL-2发生信号传导。

[0408] 用于测量多特异性(例如双特异性)抗GPC3分子同时结合到两种抗原(例如两种不同细胞上的抗原)的偏好的方法属于本领域技术人员正常能力范围内。举例来说,当第二结合部分(例如第二抗体部分)特异性结合到CD3时,可以使多特异性抗GPC3分子与CD3⁺/GPC3⁻细胞及CD3⁻/GPC3⁺细胞的混合物接触。接着可通过所属领域中已知的显微术或荧光活化细胞分选(FACS)评估多特异性抗GPC3分子阳性单细胞的数目及与多特异性抗GPC3分子交联的细胞的数目。

[0409] 在一些实施例中,多特异性(例如双特异性)抗GPC3分子包括a)特异性识别靶标GPC3(例如nGPC3及/或sGPC3)的抗GPC3抗体部分(例如scFv),及b)特异性结合到T细胞上的CD3 ϵ 的第二抗体部分(例如scFv)(下文中称为“抗CD3抗体部分”)。在一些实施例中,抗CD3抗体部分(例如scFv)包括:i)V_H,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:479的HC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:480的HC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:481的HC-CDR3;以及ii)V_L,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:482的LC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:483的LC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:484的LC-CDR3。在一些实施例中,抗CD3抗体部分(例如scFv)包括:i)氨基酸序列为SEQ ID NO:485的V_H;及ii)氨基酸序列为SEQ ID NO:486的V_L。在一些实施例中,抗CD3抗体部分(例如scFv)包括:i)氨基酸序列为SEQ ID NO:485的V_H;及ii)氨基酸序列为SEQ ID NO:486的V_L。在一些实施例中,抗CD3抗体部分为scFv。在一些实施例中,抗CD3-scFv包括SEQ ID NO:487的氨基酸序列。

[0410] 连接子

[0411] 在一些实施例中,特异性识别靶标GPC3(例如nGPC3及/或sGPC3)的抗GPC3抗体部分(例如scFv)与特异性识别第二抗原(例如T细胞上的CD3)的第二抗体部分(例如scFv)通过连接子(例如肽连接子)连接。关于可以用于本文所述的多特异性抗GPC3分子中的所有适用连接子,参见“抗GPC3 Fc融合蛋白”章节下的“连接子”小节。在一些实施例中,连接子包括氨基酸序列SRGGGSGGGSGGGGSLEMA(SEQ ID NO:473)。在一些实施例中,连接子为或包括(GGGGS)_n序列(SEQ ID NO:471),其中n等于1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或大于10。在一些实施例中,连接子包括氨基酸序列TSGGGGS(SEQ ID NO:474)。在一些实施例中,连接子包括氨基酸序列GEGTSTGSGGSGGGSGGAD(SEQ ID NO:490)。

[0412] 串联scFv

[0413] 在一些实施例中,多特异性抗GPC3分子为串联scFv,其包括含有特异性识别GPC3的抗GPC3抗体部分的第一scFv(在本文中称为“抗GPC3 scFv”;识别nGPC3及/或sGPC3)及特异性识别第二抗原的第二scFv(在本文中也称为“串联scFv多特异性抗GPC3抗体”)。在一些实施例中,串联scFv多特异性抗GPC3抗体进一步包括至少一种(例如至少约2、3、4、5或大于5中的任一者)的其它scFv。

[0414] 在一些实施例中,提供一种串联scFv多特异性(例如双特异性)抗GPC3抗体,其包括a)特异性识别GPC3的第一scFv,及b)特异性识别第二抗原(例如T细胞上的CD3)的第二scFv,其中串联scFv多特异性抗GPC3抗体为串联双scFv或串联三scFv。在一些实施例中,串联scFv多特异性抗GPC3抗体为串联双scFv。在一些实施例中,串联scFv多特异性抗GPC3抗体为双特异性T细胞接合体。在一些实施例中,第一抗GPC3 scFv特异性识别与细胞表面结合的GPC3。在一些实施例中,第一抗nGPC3 scFv对与细胞表面结合的GPC3的结合亲和力高于对可溶性GPC3的结合亲和力。在一些实施例中,第一抗nGPC3 scFv以高结合亲和力特异性识别与细胞表面结合的GPC3且以低结合亲和力结合到可溶性GPC3。在一些实施例中,第一抗GPC3 scFv特异性识别可溶性GPC3。在一些实施例中,第一抗sGPC3 scFv对可溶性GPC3的结合亲和力高于对与细胞表面结合的GPC3的结合亲和力。在一些实施例中,第一抗GPC3 scFv特异性识别与细胞表面结合的GPC3与可溶性GPC3。在一些实施例中,第二scFv特异性结合到不同的GPC3抗原决定基。在一些实施例中,第二scFv特异性识别不为GPC3的第二抗原。在一些实施例中,第二scFv特异性识别细胞(例如细胞毒性细胞)表面上的第二抗原。在一些实施例中,第二scFv特异性结合到淋巴细胞(例如T细胞(例如CTL、辅助T细胞或NKT)、B细胞、自然杀手(NK)细胞、嗜中性细胞、单核细胞、巨噬细胞或树突状细胞)表面上的抗原。在一些实施例中,第二scFv特异性结合到效应子T细胞,例如CTL或NKT细胞。在一些实施例中,第二scFv特异性结合到效应细胞表面上的第二抗原,包含例如CD3 γ 、CD3 δ 、CD3 ϵ 、CD3 ζ 、CD27、CD28、CD16a、CD40L、CD56、CD68、CD137、OX40、GITR、HVEM及GDS2D。在一些实施例中,第一抗GPC3 scFv为嵌合的、人类的、部分人类化的、完全人类化的或半合成的。在一些实施例中,第二scFv为嵌合的、人类的、部分人类化的、完全人类化的或半合成的。在一些实施例中,第一与第二scFvs为嵌合的、人类的、部分人类化的、完全人类化的或半合成的。在一些实施例中,串联scFv多特异性抗GPC3抗体进一步包括至少一种(例如至少约2、3、4、5或大于5中的任一者)的其它scFv。在一些实施例中,第一抗GPC3 scFv与第二scFv通过连接子(例如肽连接子)连接。在一些实施例中,连接子包括氨基酸序列(GGGGS)_n(SEQ ID NO:471),其中n等于1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或大于10。在一些实施例中,连接子包括氨基酸序列TSGGGGS(SEQ ID NO:474)。在一些实施例中,第一抗GPC3 scFv位于第二scFv的N端。在一些实施例中,第一抗GPC3 scFv位于第二scFv的C端。在一些实施例中,串联scFv多特异性(例如双特异性)抗GPC3抗体进一步包括标签(例如用于纯化目的的肽标签)。在一些实施例中,标签位于串联scFv多特异性(例如双特异性)抗GPC3抗体的N端。在一些实施例中,标签位于串联scFv多特异性(例如双特异性)抗GPC3抗体的C端。在一些实施例中,标签包括氨基酸序列HHHHHH(SEQ ID NO:476)。

[0415] 在一些实施例中,串联scFv多特异性抗GPC3抗体为包括两种scFvs的串联双scFv(在本文中称为“串联双scFv双特异性抗GPC3抗体”)。串联双scFv双特异性抗GPC3抗体可以

具有以任何构型组装的 V_H 及 V_L ,例如下文所列的构型(N端到C端),其中X为第二scFv特异性结合的第二抗原,L1、L2及L3为任选地存在的连接子(例如肽连接子)。关于所有适用的连接子,参见“抗GPC3 Fc融合蛋白”章节下的“连接子”小节。在一些实施例中,连接子(L1、L2或L3)包括氨基酸序列SRGGGSGGGGSGGGGSLEMA(SEQ ID NO:473)。在一些实施例中,连接子(L1、L2或L3)为或包括(GGGGS) $_n$ 序列(SEQ ID NO:471),其中n等于1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或大于10。在一些实施例中,连接子(L1、L2或L3)包括氨基酸序列TSGGGGS(SEQ ID NO:474)。在一些实施例中,连接子(L1、L2或L3)包括氨基酸序列GEGTSTGSGGSGGGGAD(SEQ ID NO:490)。

[0416] 在一些实施例中,多特异性抗GPC3抗体为具有以下结构的一串联双scFv:

[0417] $V_L(\text{GPC3}) - L1 - V_H(\text{GPC3}) - L2 - V_L(X) - L3 - V_H(X)$;

[0418] $V_L(\text{GPC3}) - L1 - V_H(\text{GPC3}) - L2 - V_H(X) - L3 - V_L(X)$;

[0419] $V_H(\text{GPC3}) - L1 - V_L(\text{GPC3}) - L2 - V_L(X) - L3 - V_H(X)$;

[0420] $V_H(\text{GPC3}) - L1 - V_L(\text{GPC3}) - L2 - V_H(X) - L3 - V_L(X)$;

[0421] $V_L(X) - L1 - V_H(X) - L2 - V_L(\text{GPC3}) - L3 - V_H(\text{GPC3})$;

[0422] $V_L(X) - L1 - V_H(X) - L2 - V_H(\text{GPC3}) - L3 - V_L(\text{GPC3})$;

[0423] $V_H(X) - L1 - V_L(X) - L2 - V_L(\text{GPC3}) - L3 - V_H(\text{GPC3})$;

[0424] $V_H(X) - L1 - V_L(X) - L2 - V_H(\text{GPC3}) - L3 - V_L(\text{GPC3})$;

[0425] $V_L(\text{GPC3}) - L1 - V_H(X) - L2 - V_L(X) - L3 - V_H(\text{GPC3})$;

[0426] $V_L(\text{GPC3}) - L1 - V_L(X) - L2 - V_H(X) - L3 - V_H(\text{GPC3})$;

[0427] $V_H(\text{GPC3}) - L1 - V_H(X) - L2 - V_L(X) - L3 - V_L(\text{GPC3})$;

[0428] $V_H(\text{GPC3}) - L1 - V_L(X) - L2 - V_H(X) - L3 - V_L(\text{GPC3})$;

[0429] $V_L(X) - L1 - V_H(\text{GPC3}) - L2 - V_L(\text{GPC3}) - L3 - V_H(X)$;

[0430] $V_L(X) - L1 - V_L(\text{GPC3}) - L2 - V_H(\text{GPC3}) - L3 - V_H(X)$;

[0431] $V_H(X) - L1 - V_H(\text{GPC3}) - L2 - V_L(\text{GPC3}) - L3 - V_L(X)$;或

[0432] $V_H(X) - L1 - V_L(\text{GPC3}) - L2 - V_H(\text{GPC3}) - L3 - V_L(X)$ 。

[0433] 在一些实施例中,提供一种串联scFv多特异性(例如双特异性)抗GPC3抗体,其包括a)特异性识别与细胞表面结合的GPC3的第一scFv(例如第一抗nGPC3 scFv对与细胞表面结合的GPC3的结合亲和力高于对可溶性GPC3的结合亲和力,或第一抗nGPC3scFv以高结合亲和力特异性识别与细胞表面结合的GPC3且以低结合亲和力结合到可溶性GPC3),及b)特异性识别第二抗原(例如效应细胞上的第二抗原,例如T细胞上的CD3)的第二scFv。在一些实施例中,第一抗nGPC3 scFv特异性识别包括氨基酸序列SEQ ID NO:460的人类GPC3内的抗原决定基。在一些实施例中,第一抗nGPC3 scFv特异性识别氨基酸序列SEQ ID NO:461内的抗原决定基。在一些实施例中,第一抗nGPC3 scFv特异性识别氨基酸序列SEQ ID NO:462内的抗原决定基。在一些实施例中,第一抗nGPC3 scFv特异性识别氨基酸序列SEQ ID NO:463内的抗原决定基。在一些实施例中,第一抗nGPC3 scFv特异性识别GPC3的N端片段内的抗原决定基。在一些实施例中,第一抗nGPC3 scFv特异性识别SEQ ID NO:460的氨基酸1-358内的抗原决定基(SEQ ID NO:468)。在一些实施例中,第一抗nGPC3 scFv特异性识别氨基酸序列SEQ ID NO:464内的抗原决定基。在一些实施例中,第一抗nGPC3 scFv特异性识别GPC3的C端片段内的抗原决定基。在一些实施例中,第一抗nGPC3 scFv特异性识别SEQ ID

N0:460的氨基酸359-560内的抗原决定基(SEQ ID N0:465)。在一些实施例中,第一抗nGPC3scFv特异性识别SEQ ID N0:460(SEQ ID N0:466)的氨基酸359-580内的抗原决定基。在一些实施例中,第一抗nGPC3 scFv特异性识别缺乏硫酸肝素侧链的GPC3的C端片段内的抗原决定基。在一些实施例中,第一抗nGPC3 scFv特异性识别SEQ ID N0:460的氨基酸510-560内的抗原决定基(SEQ ID N0:467)。在一些实施例中,第一抗nGPC3scFv特异性识别跨越位于SEQ ID N0:460的氨基酸R³⁵⁸/S³⁵⁹的弗林裂解位点的抗原决定基。在一些实施例中,第一抗nGPC3 scFv可以特异性结合到人类成熟全长GPC3(例如SEQ ID N0:460的氨基酸25-560或25-580),但不结合到人类GPC3的N端片段(例如SEQ ID N0:460的氨基酸25-358)或人类GPC3的C端片段(例如SEQ ID N0:460的氨基酸359-560或359-580)。在一些实施例中,第一抗nGPC3 scFv特异性识别缺乏硫酸肝素侧链的GPC3的C端片段内的抗原决定基。在一些实施例中,提供一种串联scFv多特异性(例如双特异性)抗GPC3分子,其包括:a)与本文所述的任一种抗GPC3构筑体竞争结合到nGPC3的第一抗nGPC3 scFv(例如,第一抗nGPC3 scFv对与细胞表面结合的GPC3的结合亲和力高于对可溶性GPC3的结合亲和力,或第一抗nGPC3 scFv以高结合亲和力特异性识别与细胞表面结合的GPC3且以低结合亲和力结合到可溶性GPC3);及b)特异性识别第二抗原(例如效应细胞上的第二抗原,例如T细胞上的CD3)的第二scFv。在一些实施例中,提供一种串联scFv多特异性(例如双特异性)抗GPC3抗体,其包括:a)与本文所述的任一种抗GPC3构筑体竞争性地特异性结合到相同或基本上相同nGPC3抗原决定基的第一抗nGPC3 scFv(例如,第一抗nGPC3 scFv对与细胞表面结合的GPC3的结合亲和力高于对可溶性GPC3的结合亲和力,或第一抗nGPC3 scFv以高结合亲和力特异性识别与细胞表面结合的GPC3且以低结合亲和力结合到可溶性GPC3);及b)特异性识别第二抗原(例如效应细胞上的第二抗原,例如T细胞上的CD3)的第二scFv。在一些实施例中,GPC3表达于选自以下组成的群组的细胞的表面上:HepG2、Hep3B、Huh7、JHH-7及293。在一些实施例中,GPC3表达于癌细胞(例如肝癌细胞,例如HCC)的表面上。在一些实施例中,第一抗nGPC3 scFv与第二scFv通过连接子(例如肽连接子)连接。在一些实施例中,连接子包括氨基酸序列(GGGGS)_n(SEQ ID N0:471),其中n等于1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或大于10。在一些实施例中,连接子包括氨基酸序列TSGGGGS(SEQ ID N0:474)。在一些实施例中,第一抗nGPC3 scFv位于第二scFv的N端。在一些实施例中,第一抗nGPC3 scFv为嵌合的、人类的、部分人类化的、完全人类化的或半合成的。在一些实施例中,第二scFv为嵌合的、人类的、部分人类化的、完全人类化的或半合成的。在一些实施例中,第一与第二scFvs为嵌合的、人类的、部分人类化的、完全人类化的或半合成的。在一些实施例中,抗nGPC3-scFv与nGPC3之间结合的K_d为约10⁻⁷M到约10⁻¹³M(例如约10⁻⁷M到约10⁻¹³M、约10⁻⁹M到约10⁻¹³M,或约10⁻¹⁰M到约10⁻¹²M)。在一些实施例中,抗nGPC3-scFv与sGPC3之间结合的K_d可为抗nGPC3-scFv与nGPC3之间结合的K_d的至少约10倍(例如至少约10、10²、10³、10⁴、10⁵、10⁶或10⁷倍)。在一些实施例中,抗nGPC3-scFv与sGPC3之间结合的K_d为约10⁻¹M到约10⁻⁶M(例如约10⁻¹M到约10⁻⁶M、约10⁻¹M到约10⁻⁵M,或约10⁻²M到约10⁻⁴M)。在一些实施例中,第二scFv特异性结合到淋巴细胞(例如T细胞(例如CTL、辅助T细胞或NKT)、B细胞、自然杀手(NK)细胞、嗜中性细胞、单核细胞、巨噬细胞或树突状细胞)表面上的抗原。在一些实施例中,第二scFv特异性结合到效应子T细胞,例如CTL或NKT细胞。在一些实施例中,第二scFv特异性结合到效应细胞表面上的第二抗原,包含例如CD3 γ 、CD3 δ 、CD3 ϵ 、CD3 ζ 、CD27、CD28、CD16a、CD40L、CD56、CD68、CD137、OX40、GITR、HVEM

及GDS2D。

[0434] 在一些实施例中,提供一种串联scFv多特异性(例如双特异性)抗GPC3抗体,其包括a)特异性识别与细胞表面结合的GPC3的第一scFv,所述第一scFv包括:i) V_H ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:1-31中的任一者的HC-CDR1或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体、氨基酸序列为SEQ ID NO:52-82中的任一者的HC-CDR2或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体,及氨基酸序列为SEQ ID NO:103-133中的任一者的HC-CDR3或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体;及ii) V_L ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:154-184中的任一者的LC-CDR1或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体、氨基酸序列为SEQ ID NO:205-235中的任一者的LC-CDR2或包括最多约3(例如约1、2或3中的任一者)个氨基酸取代的其变异体,及氨基酸序列为SEQ ID NO:256-286中的任一者的LC-CDR3或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体;以及b)特异性识别第二抗原的第二scFv(例如效应细胞上的第二抗原,例如T细胞上的CD3)。在一些实施例中,提供一种串联scFv多特异性(例如双特异性)抗GPC3抗体,其包括a)特异性识别与细胞表面结合的GPC3的第一scFv,所述第一scFv包括:i) V_H ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:1-31中的任一者的HC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:52-82中的任一者的HC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:103-133中的任一者的HC-CDR3;及ii) V_L ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:154-184中的任一者的LC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:205-235中的任一者的LC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:256-286中的任一者的LC-CDR3;以及b)特异性识别第二抗原的第二scFv(例如效应细胞上的第二抗原,例如T细胞上的CD3)。在一些实施例中,提供一种串联scFv多特异性(例如双特异性)抗GPC3抗体,其包括a)特异性识别与细胞表面结合的GPC3的第一scFv,所述第一scFv包括:氨基酸序列为SEQ ID NO:307-337中的任一者的 V_H ;及ii)氨基酸序列为SEQ ID NO:358-388中的任一者的 V_L ;以及b)特异性识别第二抗原(例如效应细胞上的第二抗原,例如T细胞上的CD3)的第二scFv。在一些实施例中,提供一种串联scFv多特异性(例如双特异性)抗GPC3抗体,其包括a)特异性识别与细胞表面结合的GPC3的第一scFv,所述第一scFv包括氨基酸序列为SEQ ID NO:307-337中的任一者的 V_H 的HC-CDR,及氨基酸序列为SEQ ID NO:358-388中的任一者的 V_L 的LC-CDR;以及b)特异性识别第二抗原(例如效应细胞上的第二抗原,例如T细胞上的CD3)的第二scFv。在一些实施例中,提供一种串联scFv多特异性(例如双特异性)抗GPC3抗体,其包括a)与本文所述的任一种抗GPC3构筑体竞争结合到nGPC3的第一抗nGPC3 scFv;及b)特异性识别第二抗原(例如效应细胞上的第二抗原,例如T细胞上的CD3)的第二scFv。在一些实施例中,提供一种串联scFv多特异性(例如双特异性)抗GPC3抗体,其包括a)与本文所述的任一种抗GPC3构筑体竞争性地特异性结合到相同或基本上相同nGPC3抗原决定基的第一抗nGPC3 scFv;及b)特异性识别第二抗原(例如效应细胞上的第二抗原,例如T细胞上的CD3)的第二scFv。在一些实施例中,抗nGPC3-scFv与nGPC3之间结合的 K_d 为约 10^{-7} M到约 10^{-13} M(例如约 10^{-7} M到约 10^{-13} M、约 10^{-9} M到约 10^{-13} M,或约 10^{-10} M到约 10^{-12} M)。在一些实施例中,抗nGPC3-scFv与sGPC3之间结合的 K_d 可为抗nGPC3-scFv与nGPC3之间结合的 K_d 的至少约10倍(例如至少约10、 10^2 、 10^3 、 10^4 、 10^5 、 10^6 或 10^7 倍)。在一些实施例中,抗nGPC3-scFv与sGPC3之间结合的 K_d 为约 10^{-1} M到约 10^{-6} M(例如约 10^{-1} M到约 10^{-6} M、约 10^{-1} M到约 10^{-5} M,或约 10^{-2} M到约 10^{-4} M)。在一些实施例中,第一抗

nGPC3 scFv与第二scFv通过连接子(例如肽连接子)连接。在一些实施例中,连接子包括氨基酸序列(GGGGS)_n(SEQ ID NO:471),其中n等于1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或大于10。在一些实施例中,连接子包括氨基酸序列TSGGGGS(SEQ ID NO:474)。在一些实施例中,第一抗nGPC3 scFv位于第二scFv的N端。在一些实施例中,第一抗nGPC3 scFv为嵌合的、人类的、部分人类化的、完全人类化的或半合成的。在一些实施例中,第二scFv为嵌合的、人类的、部分人类化的、完全人类化的或半合成的。在一些实施例中,第一与第二scFvs为嵌合的、人类的、部分人类化的、完全人类化的或半合成的。在一些实施例中,第二scFv特异性结合到淋巴细胞(例如T细胞(例如CTL、辅助T细胞或NKT)、B细胞、自然杀手(NK)细胞、嗜中性细胞、单核细胞、巨噬细胞或树突状细胞)表面上的抗原。在一些实施例中,第二scFv特异性结合到效应子T细胞,例如CTL或NKT细胞。在一些实施例中,第二scFv特异性结合到效应细胞表面上的第二抗原,包含例如CD3 γ 、CD3 δ 、CD3 ϵ 、CD3 ζ 、CD27、CD28、CD16a、CD40L、CD56、CD68、CD137、OX40、GITR、HVEM及GDS2D。

[0435] 在一些实施例中,提供一种串联scFv多特异性(例如双特异性)抗GPC3抗体,其包括a)特异性识别GPC3(例如nGPC3及/或sGPC3)的第一scFv,所述第一scFv包括:i) V_H,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:32-51中的任一者的HC-CDR1或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体、氨基酸序列为SEQ ID NO:83-102中的任一者的HC-CDR2或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体,及氨基酸序列为SEQ ID NO:134-153中的任一者的HC-CDR3或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体;及ii) V_L,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:185-204中的任一者的LC-CDR1或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体、氨基酸序列为SEQ ID NO:236-255中的任一者的LC-CDR2或包括最多约3(例如约1、2或3中的任一者)个氨基酸取代的其变异体,及氨基酸序列为SEQ ID NO:287-306中的任一者的LC-CDR3或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体;以及b)特异性识别第二抗原(例如效应细胞上的第二抗原,例如T细胞上的CD3)的第二scFv。在一些实施例中,提供一种串联scFv多特异性(例如双特异性)抗GPC3抗体,其包括a)特异性识别GPC3的第一scFv,所述第一scFv包括:i) V_H,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:32-51中的任一者的HC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:83-102中的任一者的HC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:134-153中的任一者的HC-CDR3;及ii) V_L,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:185-204中的任一者的LC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:236-255中的任一者的LC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:287-306中的任一者的LC-CDR3;以及b)特异性识别第二抗原(例如效应细胞上的第二抗原,例如T细胞上的CD3)的第二scFv。在一些实施例中,提供一种串联scFv多特异性(例如双特异性)抗GPC3抗体,其包括a)特异性识别GPC3的第一scFv,所述第一scFv包括:氨基酸序列为SEQ ID NO:338-357中的任一者的V_H;及ii)氨基酸序列为SEQ ID NO:389-408中的任一者的V_L;以及b)特异性识别第二抗原(例如效应细胞上的第二抗原,例如T细胞上的CD3)的第二scFv。在一些实施例中,提供一种串联scFv多特异性(例如双特异性)抗GPC3抗体,其包括a)特异性识别GPC3的第一scFv,所述第一scFv包括氨基酸序列为SEQ ID NO:338-357中的任一者的V_H的HC-CDR,及氨基酸序列为SEQ ID NO:389-408中的任一者的V_L的LC-CDR;以及b)特异性识别第二抗原(例如效应细胞上的第二抗原,例如T细胞上的CD3)的第二scFv。在一些实施例中,提供一种串联scFv多特异性(例如双特异性)抗

GPC3抗体,其包括a)与本文所述的任一种抗GPC3构筑体竞争结合到GPC3的第一抗GPC3 scFv;及b)特异性识别第二抗原(例如效应细胞上的第二抗原,例如T细胞上的CD3)的第二scFv。在一些实施例中,提供一种串联scFv多特异性(例如双特异性)抗GPC3抗体,其包括:a)与本文所述的任一种抗GPC3构筑体竞争性地特异性结合到相同或基本上相同GPC3抗原决定基的第一抗GPC3 scFv;及b)特异性识别第二抗原(例如效应细胞上的第二抗原,例如T细胞上的CD3)的第二scFv。在一些实施例中,第一抗GPC3抗体部分特异性识别与细胞表面结合的GPC3。在一些实施例中,第一抗nGPC3抗体部分对与细胞表面结合的GPC3的结合亲和力高于对可溶性GPC3的结合亲和力。在一些实施例中,第一抗nGPC3抗体部分以高结合亲和力特异性识别与细胞表面结合的GPC3且以低结合亲和力结合到可溶性GPC3。在一些实施例中,第一抗GPC3抗体部分特异性识别可溶性GPC3。在一些实施例中,第一抗sGPC3抗体部分对可溶性GPC3的结合亲和力高于对与细胞表面结合的GPC3的结合亲和力。在一些实施例中,第一抗sGPC3抗体部分特异性识别氨基酸序列SEQ ID NO:461内的抗原决定基。在一些实施例中,第一抗sGPC3抗体部分特异性识别SEQ ID NO:460的氨基酸510-560内的抗原决定基(SEQ ID NO:467)。在一些实施例中,第一抗GPC3抗体部分特异性识别与细胞表面结合的GPC3与可溶性GPC3。在一些实施例中,第一抗GPC3-scFv与靶标GPC3(例如nGPC3及/或sGPC3)之间结合的 K_d 为约 10^{-7} M到约 10^{-13} M(例如约 10^{-7} M到约 10^{-13} M、约 10^{-9} M到约 10^{-13} M,或约 10^{-10} M到约 10^{-12} M)。在一些实施例中,第一抗GPC3-scFv与非靶标之间结合的 K_d 可为抗GPC3-scFv与靶标GPC3之间结合的 K_d 的至少约10倍(例如至少约 10^1 、 10^2 、 10^3 、 10^4 、 10^5 、 10^6 或 10^7 倍)。在一些实施例中,抗GPC3-scFv与非靶标之间结合的 K_d 为约 10^{-1} M到约 10^{-6} M(例如约 10^{-1} M到约 10^{-6} M、约 10^{-1} M到约 10^{-5} M,或约 10^{-2} M到约 10^{-4} M)。在一些实施例中,第一抗GPC3scFv与第二scFv通过连接子(例如肽连接子)连接。在一些实施例中,连接子包括氨基酸序列(GGGGS)_n(SEQ ID NO:471),其中n等于1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或大于10。在一些实施例中,连接子包括氨基酸序列TSGGGGS(SEQ ID NO:474)。在一些实施例中,第一抗GPC3 scFv位于第二scFv的N端。在一些实施例中,第一抗GPC3 scFv为嵌合的、人类的、部分人类化的、完全人类化的或半合成的。在一些实施例中,第二scFv为嵌合的、人类的、部分人类化的、完全人类化的或半合成的。在一些实施例中,第一与第二scFvs为嵌合的、人类的、部分人类化的、完全人类化的或半合成的。在一些实施例中,第二scFv特异性结合到淋巴细胞(例如T细胞(例如CTL、辅助T细胞或NKT)、B细胞、自然杀手(NK)细胞、嗜中性细胞、单核细胞、巨噬细胞或树突状细胞)表面上的抗原。在一些实施例中,第二scFv特异性结合到效应子T细胞,例如CTL或NKT细胞。在一些实施例中,第二scFv特异性结合到效应细胞表面上的第二抗原,包含例如CD3 γ 、CD3 δ 、CD3 ϵ 、CD3 ζ 、CD27、CD28、CD16a、CD40L、CD56、CD68、CD137、OX40、GITR、HVEM及GDS2D。

[0436] 在一些实施例中,提供一种串联双scFv双特异性抗GPC3抗体,其包括a)特异性识别GPC3的第一scFv,及b)特异性识别T细胞的细胞表面上的CD3 ϵ 的第二scFv。在一些实施例中,串联双scFv双特异性抗GPC3抗体为双特异性T细胞接合体。在一些实施例中,第一抗GPC3 scFv特异性识别与细胞表面结合的GPC3。在一些实施例中,第一抗nGPC3 scFv对与细胞表面结合的GPC3的结合亲和力高于对可溶性GPC3的结合亲和力。在一些实施例中,第一抗nGPC3 scFv以高结合亲和力特异性识别与细胞表面结合的GPC3且以低结合亲和力结合到可溶性GPC3。在一些实施例中,第一抗GPC3scFv特异性识别可溶性GPC3。在一些实施例

中,第一抗sGPC3 scFv对可溶性GPC3的结合亲和力高于对与细胞表面结合的GPC3的结合亲和力。在一些实施例中,第一抗GPC3 scFv特异性识别与细胞表面结合的GPC3与可溶性GPC3。在一些实施例中,第一抗GPC3 scFv为嵌合的、人类的、部分人类化的、完全人类化的或半合成的。在一些实施例中,第二scFv为嵌合的、人类的、部分人类化的、完全人类化的或半合成的。在一些实施例中,第一与第二scFvs为嵌合的、人类的、部分人类化的、完全人类化的或半合成的。在一些实施例中,第一抗GPC3 scFv与第二scFv通过连接子(例如肽连接子)连接。在一些实施例中,连接子包括氨基酸序列(GGGGS)_n(SEQ ID NO:471),其中n等于1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或大于10。在一些实施例中,连接子包括氨基酸序列TSGGGGS(SEQ ID NO:474)。在一些实施例中,第一抗GPC3 scFv位于第二抗CD3-scFv的N端。在一些实施例中,抗CD3-scFv包括:i) V_H,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:479的HC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:480的HC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:481的HC-CDR3;及ii) V_L,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:482的LC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:483的LC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:484的LC-CDR3。在一些实施例中,抗CD3-scFv包括:i) 氨基酸序列为SEQ ID NO:485的V_H;及ii) 氨基酸序列为SEQ ID NO:486的V_L。在一些实施例中,抗CD3-scFv包括:i) 氨基酸序列为SEQ ID NO:485的V_H;及ii) 氨基酸序列为SEQ ID NO:486的V_L。在一些实施例中,抗CD3-scFv包括氨基酸序列SEQ ID NO:487。

[0437] 在一些实施例中,提供一种串联双scFv双特异性抗GPC3抗体,其包括a) 特异性识别与细胞表面结合的GPC3的第一scFv(例如第一抗nGPC3 scFv对与细胞表面结合的GPC3的结合亲和力高于对可溶性GPC3的结合亲和力,或第一抗nGPC3 scFv以高结合亲和力特异性识别与细胞表面结合的GPC3且以低结合亲和力结合到可溶性GPC3),及b) 特异性识别T细胞的细胞表面上的CD3ε的第二scFv。在一些实施例中,第一抗nGPC3scFv特异性识别包括氨基酸序列SEQ ID NO:460的人类GPC3内的抗原决定基。在一些实施例中,第一抗nGPC3 scFv特异性识别氨基酸序列SEQ ID NO:461内的抗原决定基。在一些实施例中,第一抗nGPC3 scFv特异性识别氨基酸序列SEQ ID NO:462内的抗原决定基。在一些实施例中,第一抗nGPC3 scFv特异性识别氨基酸序列SEQ ID NO:463内的抗原决定基。在一些实施例中,第一抗nGPC3 scFv特异性识别GPC3的N端片段内的抗原决定基。在一些实施例中,第一抗nGPC3 scFv特异性识别SEQ ID NO:460的氨基酸1-358内的抗原决定基(SEQ ID NO:468)。在一些实施例中,第一抗nGPC3 scFv特异性识别氨基酸序列SEQ ID NO:464内的抗原决定基。在一些实施例中,第一抗nGPC3 scFv特异性识别GPC3的C端片段内的抗原决定基。在一些实施例中,第一抗nGPC3 scFv特异性识别SEQ ID NO:460的氨基酸359-560内的抗原决定基(SEQ ID NO:465)。在一些实施例中,第一抗nGPC3 scFv特异性识别SEQ ID NO:460(SEQ ID NO:466)的氨基酸359-580内的抗原决定基。在一些实施例中,第一抗nGPC3 scFv特异性识别缺乏硫酸肝素侧链的GPC3的C端片段内的抗原决定基。在一些实施例中,第一抗nGPC3 scFv特异性识别SEQ ID NO:460的氨基酸510-560内的抗原决定基(SEQ ID NO:467)。在一些实施例中,第一抗nGPC3 scFv特异性识别跨越位于SEQ ID NO:460的氨基酸R³⁵⁸/S³⁵⁹的弗林裂解位点的抗原决定基。在一些实施例中,第一抗nGPC3 scFv可以特异性结合到人类成熟全长GPC3(例如SEQ ID NO:460的氨基酸25-560或25-580),但不结合到人类GPC3的N端片段(例如SEQ ID NO:460的氨基酸25-358)或人类GPC3的C端片段(例如SEQ ID NO:460的氨基酸359-560或359-580)。在一些实施例中,第一抗nGPC3 scFv特异性识别缺乏硫酸肝素侧链的

GPC3的C端片段内的抗原决定基。在一些实施例中,提供一种串联双scFv双特异性抗GPC3抗体,其包括:a)与本文所述的任一种抗GPC3构筑体竞争结合到nGPC3的第一抗nGPC3-scFv(例如第一抗nGPC3scFv对与细胞表面结合的GPC3的结合亲和力高于对可溶性GPC3的结合亲和力,或第一抗nGPC3 scFv以高结合亲和力特异性识别与细胞表面结合的GPC3且以低结合亲和力结合到可溶性GPC3);及b)特异性识别T细胞的细胞表面上的CD3 ϵ 的第二scFv。在一些实施例中,提供一种串联双scFv双特异性抗GPC3抗体,其包括:a)与本文所述的任一种抗GPC3构筑体竞争性地特异性结合到相同或基本上相同nGPC3抗原决定基的第一抗nGPC3-scFv(例如,第一抗nGPC3 scFv对与细胞表面结合的GPC3的结合亲和力高于对可溶性GPC3的结合亲和力,或第一抗nGPC3 scFv以高结合亲和力特异性识别与细胞表面结合的GPC3且以低结合亲和力结合到可溶性GPC3);及b)特异性识别T细胞的细胞表面上的CD3 ϵ 的第二scFv。在一些实施例中,GPC3表达于选自以下组成的群组的细胞的表面上:HepG2、Hep3B、Huh7、JHH-7及293。在一些实施例中,GPC3表达于癌细胞(例如肝癌细胞,例如HCC)的表面上。在一些实施例中,第一抗nGPC3 scFv与第二scFv通过连接子(例如肽连接子)连接。在一些实施例中,连接子包括氨基酸序列(GGGGS)_n(SEQ ID NO:471),其中n等于1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或大于10。在一些实施例中,连接子包括氨基酸序列TSGGGGS(SEQ ID NO:474)。在一些实施例中,第一抗nGPC3 scFv位于第二scFv的N端。在一些实施例中,第一抗nGPC3 scFv为嵌合的、人类的、部分人类化的、完全人类化的或半合成的。在一些实施例中,第二scFv为嵌合的、人类的、部分人类化的、完全人类化的或半合成的。在一些实施例中,第一与第二scFvs为嵌合的、人类的、部分人类化的、完全人类化的或半合成的。在一些实施例中,抗nGPC3-scFv与nGPC3之间结合的K_d为约10⁻⁷M到约10⁻¹³M(例如约10⁻⁷M到约10⁻¹³M、约10⁻⁹M到约10⁻¹³M,或约10⁻¹⁰M到约10⁻¹²M)。在一些实施例中,抗nGPC3-scFv与sGPC3之间结合的K_d可为抗nGPC3-scFv与nGPC3之间结合的K_d的至少约10倍(例如至少约10、10²、10³、10⁴、10⁵、10⁶或10⁷倍)。在一些实施例中,抗nGPC3-scFv与sGPC3之间结合的K_d为约10⁻¹M到约10⁻⁶M(例如约10⁻¹M到约10⁻⁶M、约10⁻¹M到约10⁻⁵M,或约10⁻²M到约10⁻⁴M)。在一些实施例中,抗CD3-scFv包括:i) V_H,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:479的HC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:480的HC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:481的HC-CDR3;以及ii) V_L,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:482的LC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:483的LC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:484的LC-CDR3。在一些实施例中,抗CD3-scFv包括:i)氨基酸序列为SEQ ID NO:485的V_H;及ii)氨基酸序列为SEQ ID NO:486的V_L。在一些实施例中,抗CD3-scFv包括:i)氨基酸序列为SEQ ID NO:485的V_H;及ii)氨基酸序列为SEQ ID NO:486的V_L。在一些实施例中,抗CD3-scFv包括氨基酸序列SEQ ID NO:487。在一些实施例中,串联双scFv双特异性抗GPC3抗体进一步包括标签(例如用于纯化目的的肽标签)。在一些实施例中,标签位于串联双scFv双特异性抗GPC3抗体的N端。在一些实施例中,标签位于串联双scFv双特异性抗GPC3抗体的C端。在一些实施例中,标签包括氨基酸序列HHHHHH(SEQ ID NO:476)。

[0438] 在一些实施例中,提供一种串联双scFv双特异性抗GPC3抗体,其包括a)特异性识别与细胞表面结合的GPC3的第一scFv,所述第一scFv包括:i) V_H,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:1-31中的任一者的HC-CDR1或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体、氨基酸序列为SEQ ID NO:52-82中的任一者的HC-CDR2或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体,及氨基酸序列为SEQ ID NO:

103-133中的任一者的HC-CDR3或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体;及ii) V_L ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:154-184中的任一者的LC-CDR1或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体、氨基酸序列为SEQ ID NO:205-235中的任一者的LC-CDR2或包括最多约3(例如约1、2或3中的任一者)个氨基酸取代的其变异体,及氨基酸序列为SEQ ID NO:256-286中的任一者的LC-CDR3或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体;以及b)特异性识别T细胞的细胞表面上的CD3 ϵ 的第二scFv。在一些实施例中,提供一种串联双scFv双特异性抗GPC3抗体,其包括a)特异性识别与细胞表面结合的GPC3的第一scFv,所述第一scFv包括:i) V_H ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:1-31中的任一者的HC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:52-82中的任一者的HC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:103-133中的任一者的HC-CDR3;及ii) V_L ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:154-184中的任一者的LC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:205-235中的任一者的LC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:256-286中的任一者的LC-CDR3;以及b)特异性识别T细胞的细胞表面上的CD3 ϵ 的第二scFv。在一些实施例中,提供一种串联双scFv双特异性抗GPC3抗体,其包括a)特异性识别与细胞表面结合的GPC3的第一scFv,所述第一scFv包括:氨基酸序列为SEQ ID NO:307-337中的任一者的 V_H ;及ii)氨基酸序列为SEQ ID NO:358-388中的任一者的 V_L ;以及b)特异性识别T细胞的细胞表面上的CD3 ϵ 的第二scFv。在一些实施例中,提供一种串联双scFv双特异性抗GPC3抗体,所述抗体包括a)特异性识别与细胞表面结合的GPC3的第一scFv,所述第一scFv包括氨基酸序列为SEQ ID NO:307-337中的任一者的 V_H 的HC-CDR,及氨基酸序列为SEQ ID NO:358-388中的任一者的 V_L 的LC-CDR;以及b)特异性识别T细胞的细胞表面上的CD3 ϵ 的第二scFv。在一些实施例中,提供一种串联双scFv双特异性抗GPC3抗体,所述抗体包括:a)与本文所述的任一种抗GPC3构筑体竞争结合到nGPC3的第一抗nGPC3-scFv;及b)特异性识别T细胞的细胞表面上的CD3 ϵ 的第二scFv。在一些实施例中,提供一种串联双scFv双特异性抗GPC3抗体,其包括:a)与本文所述的任一种抗GPC3构筑体竞争性地特异性结合到相同或基本上相同nGPC3抗原决定基的第一抗nGPC3-scFv;及b)特异性识别T细胞的细胞表面上的CD3 ϵ 的第二scFv。在一些实施例中,抗nGPC3-scFv与nGPC3之间结合的 K_d 为约 10^{-7} M到约 10^{-13} M(例如约 10^{-7} M到约 10^{-13} M、约 10^{-9} M到约 10^{-13} M,或约 10^{-10} M到约 10^{-12} M)。在一些实施例中,抗nGPC3-scFv与sGPC3之间结合的 K_d 可为抗nGPC3-scFv与nGPC3之间结合的 K_d 的至少约10倍(例如至少约10、 10^2 、 10^3 、 10^4 、 10^5 、 10^6 或 10^7 倍)。在一些实施例中,抗nGPC3-scFv与sGPC3之间结合的 K_d 为约 10^{-1} M到约 10^{-6} M(例如约 10^{-1} M到约 10^{-6} M、约 10^{-1} M到约 10^{-5} M,或约 10^{-2} M到约 10^{-4} M)。在一些实施例中,第一抗nGPC3 scFv与第二scFv通过连接子(例如肽连接子)连接。在一些实施例中,连接子包括氨基酸序列(GGGGS) $_n$ (SEQ ID NO:471),其中n等于1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或大于10。在一些实施例中,连接子包括氨基酸序列TSGGGGS(SEQ ID NO:474)。在一些实施例中,第一抗nGPC3 scFv位于第二scFv的N端。在一些实施例中,第一抗nGPC3 scFv为嵌合的、人类的、部分人类化的、完全人类化的或半合成的。在一些实施例中,第二scFv为嵌合的、人类的、部分人类化的、完全人类化的或半合成的。在一些实施例中,第一与第二scFvs为嵌合的、人类的、部分人类化的、完全人类化的或半合成的。在一些实施例中,抗nGPC3 scFv包括SEQ ID NO:409-439中任一者的氨基酸序列。在一些实施例中,抗CD3-scFv包括:i) V_H ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:479的HC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:480的HC-CDR2及氨基酸序列

为SEQ ID NO:481的HC-CDR3;及ii) V_L ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:482的LC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:483的LC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:484的LC-CDR3。在一些实施例中,抗CD3-scFv包括:i)氨基酸序列为SEQ ID NO:485的 V_H ;及ii)氨基酸序列为SEQ ID NO:486的 V_L 。在一些实施例中,抗CD3-scFv包括:i)氨基酸序列为SEQ ID NO:485的 V_H ;及ii)氨基酸序列为SEQ ID NO:486的 V_L 。在一些实施例中,抗CD3-scFv包括SEQ ID NO:487的氨基酸序列。在一些实施例中,提供一种串联双scFv双特异性抗GPC3抗体,其包括a)特异性识别与细胞表面结合的GPC3的第一scFv;及b)特异性识别T细胞的细胞表面上的CD3 ϵ 的第二scFv,其中串联双scFv双特异性抗GPC3抗体包括SEQ ID NO:488及511-515中任一者的氨基酸序列。在一些实施例中,串联双scFv双特异性抗GPC3抗体进一步包括标签(例如用于纯化目的的肽标签)。在一些实施例中,标签位于串联双scFv双特异性抗GPC3抗体的N端。在一些实施例中,标签位于串联双scFv双特异性抗GPC3抗体的C端。在一些实施例中,标签包括氨基酸序列HHHHHH(SEQ ID NO:476)。

[0439] 在一些实施例中,提供一种串联双scFv双特异性抗GPC3抗体,其包括a)特异性识别GPC3(例如nGPC3及/或sGPC3)的第一scFv,所述第一scFv包括:i) V_H ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:32-51中任一者的HC-CDR1或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体、氨基酸序列为SEQ ID NO:83-102中任一者的HC-CDR2或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体,及包括SEQ ID NO:134-153中任一者的氨基酸序列的HC-CDR3或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体;及ii) V_L ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:185-204中任一者的LC-CDR1或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体、氨基酸序列为SEQ ID NO:236-255中任一者的LC-CDR2或包括最多约3(例如约1、2或3中的任一者)个氨基酸取代的其变异体,及氨基酸序列为SEQ ID NO:287-306中任一者的LC-CDR3或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体;及b)特异性识别T细胞的细胞表面上的CD3 ϵ 的第二scFv。在一些实施例中,提供一种串联双scFv双特异性抗GPC3抗体,其包括a)特异性识别GPC3(例如nGPC3及/或sGPC3)的第一scFv,所述第一scFv包括:i) V_H ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:32-51中任一者的HC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:83-102中任一者的HC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:134-153中任一者的HC-CDR3,其中氨基酸取代发生于HC-CDR1或HC-CDR2中;及ii) V_L ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:185-204中任一者的LC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:236-255中任一者的LC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:287-306中任一者的LC-CDR3;及b)特异性识别T细胞的细胞表面上的CD3 ϵ 的第二scFv。在一些实施例中,提供一种串联双scFv双特异性抗GPC3抗体,其包括特异性识别GPC3(例如nGPC3及/或sGPC3)的第一scFv,所述第一scFv包括:氨基酸序列为SEQ ID NO:338-357中任一者的 V_H ;及ii)氨基酸序列为SEQ ID NO:389-408中任一者的 V_L ;及b)特异性识别T细胞的细胞表面上的CD3 ϵ 的第二scFv。在一些实施例中,提供一种串联双scFv双特异性抗GPC3抗体,其包括a)特异性识别GPC3(例如nGPC3及/或sGPC3)的第一scFv,所述第一scFv包括氨基酸序列为SEQ ID NO:338-357中任一者的 V_H 的HC-CDR及氨基酸序列为SEQ ID NO:389-408中任一者的 V_L 的LC-CDR;及b)特异性识别T细胞的细胞表面上的CD3 ϵ 的第二scFv。在一些实施例中,提供一种串联双scFv双特异性抗GPC3抗体,其包括:a)与本文所述的任一种抗GPC3构筑体竞争结合到靶标GPC3(例如nGPC3及/或sGPC3)的第一抗GPC3-scFv;及b)特

异性识别T细胞的细胞表面上的CD3 ϵ 的第二scFv。在一些实施例中,提供一种串联双scFv双特异性抗GPC3抗体,其包括:a)与本文所述的任一种抗GPC3构筑体竞争性地特异性结合到相同或基本上相同nGPC3抗原决定基的第一抗GPC3-scFv;及b)特异性识别T细胞的细胞表面上的CD3 ϵ 的第二scFv。在一些实施例中,第一抗GPC3抗体部分特异性识别与细胞表面结合的GPC3。在一些实施例中,第一抗nGPC3抗体部分对与细胞表面结合的GPC3的结合亲和力高于对可溶性GPC3的结合亲和力。在一些实施例中,第一抗nGPC3抗体部分以高结合亲和力特异性识别与细胞表面结合的GPC3且以低结合亲和力结合到可溶性GPC3。在一些实施例中,第一抗GPC3抗体部分特异性识别可溶性GPC3。在一些实施例中,第一抗sGPC3抗体部分对可溶性GPC3的结合亲和力高于对与细胞表面结合的GPC3的结合亲和力。在一些实施例中,抗sGPC3抗体部分特异性识别氨基酸序列SEQ ID NO:461内的抗原决定基。在一些实施例中,抗sGPC3抗体部分特异性识别SEQ ID NO:460的氨基酸510-560内的抗原决定基(SEQ ID NO:467)。在一些实施例中,第一抗GPC3抗体部分特异性识别与细胞表面结合的GPC3与可溶性GPC3。在一些实施例中,抗GPC3-scFv与靶标GPC3(例如nGPC3及/或sGPC3)之间结合的 K_d 为约 10^{-7} M到约 10^{-13} M(例如约 10^{-7} M到约 10^{-13} M、约 10^{-9} M到约 10^{-13} M,或约 10^{-10} M到约 10^{-12} M)。在一些实施例中,抗GPC3-scFv与非靶标之间结合的 K_d 可为抗GPC3-scFv与靶标GPC3之间结合的 K_d 的至少约10倍(例如至少约10、 10^2 、 10^3 、 10^4 、 10^5 、 10^6 或 10^7 倍)。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分与非靶标之间结合的 K_d 为约 10^{-1} M到约 10^{-6} M(例如约 10^{-1} M到约 10^{-6} M、约 10^{-1} M到约 10^{-5} M,或约 10^{-2} M到约 10^{-4} M)。在一些实施例中,第一抗GPC3-scFv与第二抗CD3-scFv通过连接子(例如肽连接子)连接。在一些实施例中,连接子包括氨基酸序列(GGGGS) $_n$ (SEQ ID NO:471),其中n等于1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或大于10。在一些实施例中,连接子包括氨基酸序列TSGGGS(SEQ ID NO:474)。在一些实施例中,第一抗GPC3-scFv位于第二scFv的N端。在一些实施例中,第一抗GPC3-scFv为嵌合的、人类的、部分人类化的、完全人类化的或半合成的。在一些实施例中,第二scFv为嵌合的、人类的、部分人类化的、完全人类化的或半合成的。在一些实施例中,第一与第二scFvs为嵌合的、人类的、部分人类化的、完全人类化的或半合成的。在一些实施例中,抗GPC3-scFv包括SEQ ID NO:440-459中任一者的氨基酸序列。在一些实施例中,抗CD3-scFv包括:i) V_H ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:479的HC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:480的HC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:481的HC-CDR3;及ii) V_L ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:482的LC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:483的LC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:484的LC-CDR3。在一些实施例中,抗CD3-scFv包括:i) 氨基酸序列为SEQ ID NO:485的 V_H ;及ii) 氨基酸序列为SEQ ID NO:486的 V_L 。在一些实施例中,抗CD3-scFv包括:i) 氨基酸序列为SEQ ID NO:485的 V_H ;及ii) 氨基酸序列为SEQ ID NO:486的 V_L 。在一些实施例中,抗CD3-scFv包括SEQ ID NO:487的氨基酸序列。在一些实施例中,提供一种串联双scFv双特异性抗GPC3抗体,其包括a)特异性识别GPC3(例如nGPC3及/或sGPC3)的第一scFv;及b)特异性识别T细胞的细胞表面上的CD3 ϵ 的第二scFv,其中串联双scFv双特异性抗GPC3抗体包括SEQ ID NO:489所例示的氨基酸序列。在一些实施例中,串联双scFv双特异性抗GPC3抗体进一步包括标签(例如用于纯化目的的肽标签)。在一些实施例中,标签位于串联双scFv双特异性抗GPC3抗体的N端。在一些实施例中,标签位于串联双scFv双特异性抗GPC3抗体的C端。在一些实施例中,标签包括氨基酸序列HHHHHH(SEQ ID NO:476)。

[0440] 可诱导的表达

[0441] 在一些实施例中,多特异性(例如双特异性)抗GPC3分子(例如抗GPC3×CD3串联双scFv T细胞接合体)的表达为可诱导性的。在一些实施例中,效应细胞(例如T细胞、CAR-T细胞、caTCR T细胞)包括编码多特异性(例如双特异性)抗GPC3分子(例如抗GPC3×CD3双特异性T细胞接合体)的核酸序列,所述核酸序列可操作地连接到诱导型启动子,包含本文所述的任何诱导型启动子(例如参见“核酸”章节)。在一些实施例中,经由效应细胞上的信号传导受体(例如TCR、CAR、caTCR)发生信号传导后,可诱导效应细胞(例如T细胞、CAR-T细胞、caTCR T细胞)表达多特异性(例如双特异性)抗GPC3分子(例如抗GPC3×CD3串联双scFv T细胞接合体)。在一些这类实施例中,CAR-T细胞包括编码多特异性(例如双特异性)抗GPC3分子(例如抗GPC3×CD3串联双scFv T细胞接合体)的核酸序列,所述核酸序列可操作地连接到对经由CAR传导信号有反应的启动子或调控元件。在一些这类实施例中,caTCR-T细胞包括编码多特异性(例如双特异性)抗GPC3分子(例如抗GPC3×CD3串联双scFv T细胞接合体)的核酸序列,所述核酸序列可操作地连接到对经由caTCR传导信号有反应的启动子或调控元件。在一些实施例中,编码多特异性(例如双特异性)抗GPC3分子(例如抗GPC3×CD3串联双scFv T细胞接合体)的核酸序列可操作地连接到活化T细胞(NFAT)来源启动子的核因子。在一些实施例中,源自NFAT的启动子为源自NFAT的最小启动子(参见例如Durand, D. 等人, *Molec. Cell. Biol.* 8, 1715-1724 (1988); Clipstone, NA, Crabtree, GR. *Nature*. 1992 357 (6380): 695-7; Chmielewski, M. 等人, *Cancer research* 71.17 (2011): 5697-5706; 及 Zhang, L. 等人, *Molecular therapy* 19.4 (2011): 751-759)。NFAT转录因子家族为T细胞活化的重要调节因子。在一些实施例中,编码多特异性(例如双特异性)抗GPC3分子(例如抗GPC3×CD3串联双scFv T细胞接合体)的核酸序列可操作地连接到IL-2启动子。

[0442] 在一些实施例中,提供一种经工程改造免疫细胞(例如T细胞), 在其表面上表达二聚合caTCR及表达或能够表达根据本文所述的任一种多特异性抗GPC3分子的多特异性(例如双特异性)抗GPC3分子(例如抗GPC3×CD3双特异性抗体), 其中经工程改造免疫细胞包括:a) 编码caTCR的第一caTCR多肽链的第一caTCR核酸序列;b) 编码caTCR的第二caTCR多肽链的第二caTCR核酸序列;及c) 编码多特异性抗GPC3分子的核酸序列, 其中caTCR定位于免疫细胞的表面上且多特异性抗GPC3分子能够从免疫细胞分泌。在一些实施例中, 第一caTCR核酸序列包括于第一载体(例如病毒载体, 例如慢病毒载体)中, 第二caTCR核酸序列包括于第二载体(例如病毒载体, 例如慢病毒载体)中, 且编码多特异性抗GPC3分子的核酸序列包括于第三载体(例如病毒载体, 例如慢病毒载体)中。在一些实施例中, 第一及第二caTCR核酸序列中的一些或全部以及编码多特异性抗GPC3分子的核酸序列包括于同一载体(例如病毒载体, 例如慢病毒载体)中。在一些实施例中, 第一及第二caTCR核酸序列中的每一者与编码多特异性抗GPC3分子的核酸序列个别地可操作地连接到启动子。在一些实施例中, 核酸序列中的一些或全部处于单一启动子的控制下。在一些实施例中, 启动子中的一些或全部具有相同序列。在一些实施例中, 启动子中的一些或全部具有不同序列。在一些实施例中, 启动子中的一些或全部为可诱导性的。在一些实施例中, 编码caTCR的核酸序列处于一或多种组成型启动子, 例如EF1- α 启动子(例如包括核酸序列SEQ ID NO: 527的EF1- α 启动子)的控制下。在一些实施例中, 编码多特异性抗GPC3分子的核酸序列处于诱导型启动子的控制下。在一些实施例中, 免疫细胞活化后, 诱导型启动子为可诱导性的。在一些实施例中, 诱导型启动子为源自NFAT的启动子, 例如包括核酸序列SEQ ID NO: 524或526的源自NFAT的

启动子。在一些实施例中,载体中的一些或全部为病毒载体(例如慢病毒载体)。在一些实施例中,免疫细胞不表达TCR亚单元,caTCR的TCR-TM来源于所述TCR亚单元。举例来说,在一些实施例中,免疫细胞为 $\alpha\beta$ T细胞且所引入caTCR的TCR-TM包括来源于TCR δ 及 γ 链的序列,或免疫细胞为 $\gamma\delta$ T细胞且所引入caTCR的TCR-TM包括来源于TCR α 及 β 链的序列。在一些实施例中,免疫细胞经修饰以阻断或减少其内源TCR亚单元中的一者或两者的表达。举例来说,在一些实施例中,免疫细胞为经修饰以阻断或减少TCR α 及/或 β 链表达的 $\alpha\beta$ T细胞,或者免疫细胞为经修饰以阻断或减少TCR γ 及/或 δ 链表达的 $\gamma\delta$ T细胞。在一些实施例中,免疫细胞选自以下组成的群组:细胞毒性T细胞、辅助T细胞、自然杀手T细胞及抑制T细胞。在一些实施例中,载体中的一些或全部为整合于免疫细胞的宿主基因组中的病毒载体(例如慢病毒载体)。在一些实施例中,caTCR特异性识别AFP/MHC I类复合物(例如AFP158/HLA-A*02:01)。在一些实施例中,caTCR包括氨基酸序列为SEQ ID NO:522的第一多肽及氨基酸序列为SEQ ID NO:523的第二多肽。在一些实施例中,多特异性抗GPC3分子包括氨基酸序列SEQ ID NO:511。

[0443] 嵌合抗原受体(CAR)及CAR效应细胞

[0444] 抗GPC3构筑体在一些实施例中为包括抗GPC3抗体部分的CAR(在本文中也称为“抗GPC3 CAR”)。本文所述的抗GPC3抗体部分中的任一者可以用于抗GPC3 CAR中。还提供一种包括CAR的CAR效应细胞(例如T细胞),所述CAR包括抗GPC3抗体部分(在本文中也称为“抗GPC3 CAR效应细胞”,例如“抗GPC3 CAR T细胞”)。在一些实施例中,抗GPC3 CAR包括特异性识别与细胞表面结合的GPC3的抗GPC3抗体部分。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分对与细胞表面结合的GPC3的结合亲和力高于对可溶性GPC3的结合亲和力。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分以高结合亲和力特异性识别与细胞表面结合的GPC3且以低结合亲和力结合到可溶性GPC3。在一些实施例中,抗GPC3 CAR包括特异性识别可溶性GPC3的抗GPC3抗体部分。

[0445] 抗GPC3 CAR包括a)胞外域,所述胞外域包括特异性结合到GPC3(例如nGPC3及/或sGPC3)的抗GPC3抗体部分;及b)胞内信号传导域。跨膜域可以存在于胞外域与胞内域之间。

[0446] 在抗GPC3 CAR的胞外域与跨膜域之间,或在抗GPC3 CAR的胞内域与跨膜域之间,可存在间隔域。间隔域可为用于将多肽链中的跨膜域连接到胞外域或胞内域的任何寡肽或多肽。间隔域可包括最多约300个氨基酸,包含例如约10到约100,或约25到约50个氨基酸。

[0447] 跨膜域可来源于天然来源或合成来源。在来源为天然的情况下,域可来源于任何膜结合蛋白或跨膜蛋白。在本发明中具有特定用途的跨膜区可以来源于T细胞受体、CD28、CD3 ϵ 、CD3 ζ 、CD45、CD4、CD5、CD8、CD9、CD16、CD22、CD33、CD37、CD64、CD80、CD86、CD134、CD137或CD154的 α 、 β 、 δ 或 γ 链(即至少包括其跨膜区)。在一些实施例中,跨膜域可为合成的,在这种情况下,其可以主要包括疏水性残基,例如亮氨酸及缬氨酸。在一些实施例中,在合成跨膜域的各端可以发现苯丙氨酸、色氨酸及缬氨酸的三联体。在一些实施例中,长度在例如约2与约10(如约2、3、4、5、6、7、8、9或10中的任一者)个氨基酸之间的短寡肽或多肽连接子可以在抗GPC3 CAR的跨膜域与胞内信号传导域之间形成键联。在一些实施例中,连接子为甘氨酸-丝氨酸二联体。

[0448] 在一些实施例中,使用与抗GPC3 CAR的胞内域的一序列天然结合的跨膜域(例如如果抗GPC3 CAR胞内域包括CD28协同刺激序列,那么抗GPC3 CAR的跨膜域来源于CD28跨膜

域)。在一些实施例中,可以选择跨膜域或通过氨基酸取代来修饰跨膜域,以避免这类域结合到相同或不同表面膜蛋白的跨膜域,从而使得与受体复合物的其它成员的相互作用最小化。

[0449] 抗GPC3 CAR的胞内信号传导域负责其中已置入抗GPC3 CAR的免疫细胞的至少一种正常效应功能的活化。T细胞的效应功能可以是例如溶胞活性或辅助活性,包含细胞因子的分泌。因此,术语“胞内信号传导域”是指转导效应功能信号且引导细胞执行特定功能的蛋白质部分。尽管通常可以使用整个胞内信号传导域,但在许多情况下,无需使用整条链。就使用胞内信号传导域的截断部分而言,这类截断部分只要转导效应功能信号即可用于替代完整链。术语“胞内信号传导序列”因此打算包含足以转导效应功能信号的胞内信号传导域的任何截断部分。

[0450] 用于本发明的抗GPC3 CAR中的胞内信号传导域实例包含在抗原受体接合之后起始信号转导方面起协同作用的T细胞受体(TCR)及共受体的细胞质序列,以及这些序列的任何衍生物或变体,及具有相同功能能力的任何合成序列。

[0451] 已知经由单独的TCR产生的信号不足以完全活化T细胞且还需要次级或协同刺激信号。因此,T细胞活化可称为由两种不同类别的胞内信号传导序列介导:经由TCR起始抗原依赖性初始活化的那些序列(初始信号传导序列),及以抗原非依赖性方式起作用以提供次级或协同刺激信号的那些序列(协同刺激信号传导序列)。

[0452] 初始信号传导序列以刺激方式或抑制方式调控TCR复合物的初始活化。以刺激方式起作用的初始信号传导序列可以含有信号传导基元,称为基于免疫受体酪氨酸的活化基元或ITAM。在一些实施例中,抗GPC3 CAR构筑体包括一或多种ITAM。

[0453] 在本发明中具有特定用途的含有ITAM的初始信号传导序列实例包含来源于TCR ζ 、FcR γ 、FcR β 、CD3 γ 、CD3 δ 、CD3 ϵ 、CD5、CD22、CD79a、CD79b及CD66d的那些序列。

[0454] 在一些实施例中,抗GPC3 CAR包括来源于CD3 ζ 的初始信号传导序列。举例来说,CAR的胞内信号传导域可以包括CD3 ζ 胞内信号传导序列本身或与适用于本发明的抗GPC3 CAR的情形下的任何其它所需胞内信号传导序列组合。举例来说,抗GPC3 CAR的胞内域可以包括CD3 ζ 胞内信号传导序列及协同刺激信号传导序列。协同刺激信号传导序列可为协同刺激分子的胞内域的一部分,包含例如CD27、CD28、4-1BB(CD137)、OX40、CD30、CD40、PD-1、ICOS、淋巴细胞功能相关抗原-1(LFA-1)、CD2、CD7、LIGHT、NKG2C、B7-H3、特异性结合CD83的配体,及其类似物。

[0455] 在一些实施例中,抗GPC3 CAR的胞内信号传导域包括CD3 ζ 的胞内信号传导序列及CD28的胞内信号传导序列。在一些实施例中,抗GPC3 CAR的胞内信号传导域包括CD3 ζ 的胞内信号传导序列及4-1BB的胞内信号传导序列。在一些实施例中,抗GPC3CAR的胞内信号传导域包括CD3 ζ 的胞内信号传导序列及CD28及4-1BB的胞内信号传导序列。

[0456] 因此,例如,在一些实施例中,提供一种抗GPC3 CAR,其包括:a)包括抗GPC3抗体部分的胞外域,所述抗体部分特异性结合到与细胞表面结合的GPC3(例如抗nGPC3抗体部分对与细胞表面结合的GPC3的结合亲和力高于对可溶性GPC3的结合亲和力,或抗nGPC3抗体部分以高结合亲和力特异性识别与细胞表面结合的GPC3且以低结合亲和力结合到可溶性GPC3);b)跨膜域;及c)胞内信号传导域。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分特异性识别包括氨基酸序列SEQ ID NO:460的人类GPC3内的抗原决定基。在一些实施例中,抗nGPC3抗体

部分特异性识别氨基酸序列SEQ ID NO:461内的抗原决定基。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分特异性识别氨基酸序列SEQ ID NO:462内的抗原决定基。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分特异性识别氨基酸序列SEQ ID NO:463内的抗原决定基。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分特异性识别GPC3的N端片段内的抗原决定基。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分特异性识别SEQ ID NO:460的氨基酸1-358内的抗原决定基(SEQ ID NO:468)。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分特异性识别氨基酸序列SEQ ID NO:464内的抗原决定基。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分特异性识别GPC3的C端片段内的抗原决定基。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分特异性识别SEQ ID NO:460的氨基酸359-560内的抗原决定基(SEQ ID NO:465)。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分特异性识别SEQ ID NO:460的氨基酸359-580内的抗原决定基(SEQ ID NO:466)。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分特异性识别缺乏硫酸肝素侧链的GPC3的C端片段内的抗原决定基。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分特异性识别SEQ ID NO:460的氨基酸510-560内的抗原决定基(SEQ ID NO:467)。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分特异性识别跨越位于SEQ ID NO:460的氨基酸R³⁵⁸/S³⁵⁹的弗林裂解位点的抗原决定基。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分可以特异性结合到人类成熟全长GPC3(例如SEQ ID NO:460的氨基酸25-560或25-580),但不结合到人类GPC3的N端片段(例如SEQ ID NO:460的氨基酸25-358)或人类GPC3的C端片段(例如SEQ ID NO:460的氨基酸359-560或359-580)。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分特异性识别缺乏硫酸肝素侧链的GPC3的C端片段内的抗原决定基。在一些实施例中,提供一种抗GPC3 CAR,其包括:a)胞外域,所述胞外域包括与本文所述的任一种抗GPC3构筑体竞争结合到nGPC3的抗nGPC3抗体部分(例如,抗nGPC3抗体部分对与细胞表面结合的GPC3的结合亲和力高于对可溶性GPC3的结合亲和力,或抗nGPC3抗体部分以高结合亲和力特异性识别与细胞表面结合的GPC3且以低结合亲和力结合到可溶性GPC3);b)跨膜域;及c)胞内信号传导域。在一些实施例中,提供一种抗GPC3 CAR,其包括:a)胞外域,所述胞外域包括与本文所述的任一种抗GPC3构筑体竞争性地特异性结合到相同或基本上相同nGPC3抗原决定基的抗nGPC3抗体部分(例如,抗nGPC3抗体部分对与细胞表面结合的GPC3的结合亲和力高于对可溶性GPC3的结合亲和力,或抗nGPC3抗体部分以高结合亲和力特异性识别与细胞表面结合的GPC3且以低结合亲和力结合到可溶性GPC3);b)跨膜域;及c)胞内信号传导域。在一些实施例中,GPC3表达于选自以下组成的群组的细胞的表面上:HepG2、Hep3B、Huh7、JHH-7及293。在一些实施例中,GPC3表达于癌细胞(例如肝癌细胞,例如HCC)的表面上。在一些实施例中,胞内信号传导域能够活化免疫细胞。在一些实施例中,胞内信号传导域包括初始信号传导序列及协同刺激信号传导序列。在一些实施例中,初始信号传导序列包括CD3ζ胞内信号传导序列。在一些实施例中,协同刺激信号传导序列包括CD28胞内信号传导序列。在一些实施例中,胞内域包括CD3ζ胞内信号传导序列及CD28胞内信号传导序列。在一些实施例中,抗GPC3 CAR包括胞外域,所述胞外域包括与SEQ ID NO:494的N端融合的本文所述抗GPC3抗体部分,所述抗体部分特异性结合到与细胞表面结合的GPC3(例如,抗nGPC3抗体部分对与细胞表面结合的GPC3的结合亲和力高于对可溶性GPC3的结合亲和力,或抗nGPC3抗体部分以高结合亲和力特异性识别与细胞表面结合的GPC3且以低结合亲和力结合到可溶性GPC3)。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分为Fab或Fab'。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分为scFv。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分为嵌合的、人类的、人类化的或半合成的。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分与nGPC3之间结

合的 K_d 为约 10^{-7} M到约 10^{-13} M(例如约 10^{-7} M到约 10^{-13} M、约 10^{-9} M到约 10^{-13} M,或约 10^{-10} M到约 10^{-12} M)。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分与sGPC3之间结合的 K_d 可为抗nGPC3抗体部分与nGPC3之间结合的 K_d 的至少约10倍(例如至少约10、 10^2 、 10^3 、 10^4 、 10^5 、 10^6 或 10^7 倍)。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分与sGPC3之间结合的 K_d 为约 10^{-1} M到约 10^{-6} M(例如约 10^{-1} M到约 10^{-6} M、约 10^{-1} M到约 10^{-5} M,或约 10^{-2} M到约 10^{-4} M)。

[0457] 在一些实施例中,提供一种抗GPC3 CAR,其包括:a)胞外域,所述胞外域包括特异性结合到与细胞表面结合的GPC3的抗GPC3抗体部分,所述抗体部分包括:i) V_H ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:1-31中的任一者的HC-CDR1或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体、氨基酸序列为SEQ ID NO:52-82中的任一者的HC-CDR2或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体,及氨基酸序列为SEQ ID NO:103-133中的任一者的HC-CDR3或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体;及ii) V_L ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:154-184中的任一者的LC-CDR1或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体、氨基酸序列为SEQ ID NO:205-235中的任一者的LC-CDR2或包括最多约3(例如约1、2或3中的任一者)个氨基酸取代的其变异体,及氨基酸序列为SEQ ID NO:256-286中的任一者的LC-CDR3或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体;b)跨膜域;及c)胞内信号传导域。在一些实施例中,提供一种抗GPC3 CAR,其包括:a)胞外域,所述胞外域包括特异性结合到与细胞表面结合的GPC3的抗GPC3抗体部分,所述抗体部分包括:i) V_H ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:1-31中的任一者的HC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:52-82中的任一者的HC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:103-133中的任一者的HC-CDR3;及ii) V_L ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:154-184中的任一者的LC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:205-235中的任一者的LC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:256-286中的任一者的LC-CDR3;b)跨膜域;及c)胞内信号传导域。在一些实施例中,提供一种抗GPC3 CAR,其包括a)胞外域,所述胞外域包括特异性结合到与细胞表面结合的GPC3的抗GPC3抗体部分,所述抗体部分包括:i)氨基酸序列为SEQ ID NO:307-337中的任一者的 V_H ,及ii)氨基酸序列为SEQ ID NO:358-388中的任一者的 V_L ;b)跨膜域;及c)胞内信号传导域。在一些实施例中,提供一种抗GPC3CAR,其包括a)胞外域,所述胞外域包括特异性结合到与细胞表面结合的GPC3的抗GPC3抗体部分,所述抗体部分包括:氨基酸序列为SEQ ID NO:307-337中的任一者的 V_H 的HC-CDR及氨基酸序列为SEQ ID NO:358-388中的任一者的 V_L 的LC-CDR;b)跨膜域;及c)胞内信号传导域。在一些实施例中,提供一种抗GPC3 CAR,其包括a)胞外域,所述胞外域包括与本文所述的任一种抗GPC3构筑体竞争结合到nGPC3的抗nGPC3抗体部分;b)跨膜域;及c)胞内信号传导域。在一些实施例中,提供一种抗GPC3 CAR,其包括a)胞外域,所述胞外域包括与本文所述的任一种抗GPC3构筑体竞争性地特异性结合到相同或基本上相同nGPC3抗原决定基的抗nGPC3抗体部分;b)跨膜域;及c)胞内信号传导域。在一些实施例中,抗GPC3 CAR包括与SEQ ID NO:494的N端融合的胞外域,所述胞外域包括特异性结合到与细胞表面结合的GPC3的本文所述抗GPC3抗体部分。举例来说,在一些实施例中,抗GPC3 CAR包括氨基酸序列SEQ ID NO:491。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分与nGPC3之间结合的 K_d 为约 10^{-7} M到约 10^{-13} M(例如约 10^{-7} M到约 10^{-13} M、约 10^{-9} M到约 10^{-13} M,或约 10^{-10} M到约 10^{-12} M)。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分与sGPC3之间结合的 K_d 可为抗nGPC3抗体部分与nGPC3之间结合的 K_d 的

至少约10倍(例如至少约 10^1 、 10^2 、 10^3 、 10^4 、 10^5 、 10^6 或 10^7 倍)。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分与sGPC3之间结合的 K_d 为约 10^{-1} M到约 10^{-6} M(例如约 10^{-1} M到约 10^{-6} M、约 10^{-1} M到约 10^{-5} M,或约 10^{-2} M到约 10^{-4} M)。在一些实施例中,胞内信号传导域能够活化免疫细胞。在一些实施例中,胞内信号传导域包括初始信号传导序列及协同刺激信号传导序列。在一些实施例中,初始信号传导序列包括CD3 ζ 胞内信号传导序列。在一些实施例中,协同刺激信号传导序列包括CD28胞内信号传导序列。在一些实施例中,胞内域包括CD3 ζ 胞内信号传导序列及CD28胞内信号传导序列。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分为Fab或Fab'。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分为scFv。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分为嵌合的、人类的、人类化的或半合成的。

[0458] 在一些实施例中,提供一种抗GPC3 CAR,其包括a) 胞外域,所述胞外域包括特异性结合GPC3(例如nGPC3及/或sGPC3)的抗GPC3抗体部分;b) 跨膜域;及c) 胞内信号传导域。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分特异性识别与细胞表面结合的GPC3。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分对与细胞表面结合的GPC3的结合亲和力高于对可溶性GPC3的结合亲和力。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分以高结合亲和力特异性识别与细胞表面结合的GPC3且以低结合亲和力结合到可溶性GPC3。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分特异性识别可溶性GPC3。在一些实施例中,抗sGPC3抗体部分对可溶性GPC3的结合亲和力高于对与细胞表面结合的GPC3的结合亲和力。在一些实施例中,抗sGPC3抗体部分特异性识别氨基酸序列SEQ ID NO:461内的抗原决定基。在一些实施例中,抗sGPC3抗体部分特异性识别SEQ ID NO:460的氨基酸510-560内的抗原决定基(SEQ ID NO:467)。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分特异性识别与细胞表面结合的GPC3与可溶性GPC3。在一些实施例中,GPC3表达于选自自由以下组成的群组的细胞表面上:HepG2、Hep3B、Huh7、JHH-7及293。在一些实施例中,GPC3表达于癌细胞(例如肝癌细胞,例如HCC)的表面上。在一些实施例中,胞内信号传导域能够活化免疫细胞。在一些实施例中,胞内信号传导域包括初始信号传导序列及协同刺激信号传导序列。在一些实施例中,初始信号传导序列包括CD3 ζ 胞内信号传导序列。在一些实施例中,协同刺激信号传导序列包括CD28胞内信号传导序列。在一些实施例中,胞内域包括CD3 ζ 胞内信号传导序列及CD28胞内信号传导序列。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分为Fab或Fab'。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分为scFv。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分为嵌合的、人类的、人类化的或半合成的。

[0459] 在一些实施例中,提供一种抗GPC3 CAR,其包括a) 胞外域,所述胞外域包括特异性结合到GPC3(例如nGPC3及/或sGPC3)的抗GPC3抗体部分,所述抗体部分包括:i) V_H ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:32-51中的任一者的HC-CDR1或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体、氨基酸序列为SEQ ID NO:83-102中的任一者的HC-CDR2或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体,及氨基酸序列为SEQ ID NO:134-153中的任一者的HC-CDR3或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体;及ii) V_L ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:185-204中的任一者的LC-CDR1或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体、氨基酸序列为SEQ ID NO:236-255中的任一者的LC-CDR2或包括最多约3(例如约1、2或3中的任一者)个氨基酸取代的其变异体,及氨基酸序列为SEQ ID NO:287-306中的任一者的LC-CDR3或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体;b) 跨膜

域;及c)胞内信号传导域。在一些实施例中,提供一种抗GPC3 CAR,其包括a)胞外域,所述胞外域包括特异性结合到与细胞表面结合的GPC3(例如nGPC3及/或sGPC3)的抗GPC3抗体部分,所述抗体部分包括:i) V_H ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:32-51中的任一者的HC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:83-102中的任一者的HC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:134-153中的任一者的HC-CDR3,及ii) V_L ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:185-204中的任一者的LC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:236-255中的任一者的LC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:287-306中的任一者的LC-CDR3;b)跨膜域;及c)胞内信号传导域。在一些实施例中,提供一种抗GPC3 CAR,所述CAR包括a)胞外域,所述胞外域包括特异性结合到与细胞表面结合的GPC3(例如nGPC3及/或sGPC3)的抗GPC3抗体部分,所述抗体部分包括:i)氨基酸序列为SEQ ID NO:338-357中的任一者的 V_H ,及ii)氨基酸序列为SEQ ID NO:389-408中的任一者的 V_L ;b)跨膜域;及c)胞内信号传导域。在一些实施例中,提供一种抗GPC3 CAR,其包括a)胞外域,所述胞外域包括特异性结合到与细胞表面结合的GPC3(例如nGPC3及/或sGPC3)的抗GPC3抗体部分,所述抗体部分包括:氨基酸序列为SEQ ID NO:338-357中的任一者的 V_H 的HC-CDR,及氨基酸序列为SEQ ID NO:389-408中的任一者的 V_L 的LC-CDR;b)跨膜域;及c)胞内信号传导域。在一些实施例中,提供一种抗GPC3 CAR,其包括a)胞外域,所述胞外域包括与本文所述的任一种抗GPC3构筑体竞争结合到靶标GPC3(例如nGPC3及/或sGPC3)的抗GPC3抗体部分;b)跨膜域;及c)胞内信号传导域。在一些实施例中,提供一种抗GPC3 CAR,其包括a)胞外域,所述胞外域包括与本文所述的任一种抗GPC3构筑体竞争性地特异性结合到相同或基本上相同nGPC3抗原决定基的抗nGPC3抗体部分;b)跨膜域;及c)胞内信号传导域。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分特异性识别与细胞表面结合的GPC3。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分对与细胞表面结合的GPC3的结合亲和力高于对可溶性GPC3的结合亲和力。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分以高结合亲和力特异性识别与细胞表面结合的GPC3且以低结合亲和力结合到可溶性GPC3。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分特异性识别可溶性GPC3。在一些实施例中,抗sGPC3抗体部分对可溶性GPC3的结合亲和力高于对与细胞表面结合的GPC3的结合亲和力。在一些实施例中,抗sGPC3抗体部分特异性识别氨基酸序列SEQ ID NO:461内的抗原决定基。在一些实施例中,抗sGPC3抗体部分特异性识别SEQ ID NO:460的氨基酸510-560内的抗原决定基(SEQ ID NO:467)。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分特异性识别与细胞表面结合的GPC3与可溶性GPC3。在一些实施例中,胞内信号传导域能够活化免疫细胞。在一些实施例中,胞内信号传导域包括初始信号传导序列及协同刺激信号传导序列。在一些实施例中,初始信号传导序列包括CD3 ζ 胞内信号传导序列。在一些实施例中,协同刺激信号传导序列包括CD28胞内信号传导序列。在一些实施例中,胞内域包括CD3 ζ 胞内信号传导序列及CD28胞内信号传导序列。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分为Fab或Fab'。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分为scFv。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分为嵌合的、人类的、人类化的或半合成的。在一些实施例中,抗GPC3 CAR包括与SEQ ID NO:494的N端融合的胞外域,所述胞外域包括特异性结合到GPC3(例如nGPC3及/或sGPC3)的本文所述抗GPC3抗体部分。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分与靶标GPC3(例如nGPC3及/或sGPC3)之间结合的 K_d 为约 10^{-7} M到约 10^{-13} M(例如约 10^{-7} M到约 10^{-13} M、约 10^{-9} M到约 10^{-13} M,或约 10^{-10} M到约 10^{-12} M)。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分与非靶标之间结合的 K_d 可为抗GPC3抗体部分与靶标GPC3之间结合的 K_d 的至少约10倍(例如至少约10、 10^2 、 10^3 、 10^4 、 10^5 、 10^6 或 10^7 倍)。在

一些实施例中,抗GPC3抗体部分与非靶标之间结合的 K_d 为约 10^{-1} M到约 10^{-6} M(例如约 10^{-1} M到约 10^{-6} M、约 10^{-1} M到约 10^{-5} M,或约 10^{-2} M到约 10^{-4} M)。

[0460] 在一些实施例中,提供一种抗GPC3 CAR,其包括a)胞外域,所述胞外域包括特异性结合到与细胞表面结合的GPC3的抗GPC3抗体部分(例如,抗nGPC3抗体部分对与细胞表面结合的GPC3的结合亲和力高于对可溶性GPC3的结合亲和力,或抗nGPC3抗体部分以高结合亲和力特异性识别与细胞表面结合的GPC3且以低结合亲和力结合到可溶性GPC3);b)跨膜域;及c)包括CD3 ζ 胞内信号传导序列及CD28胞内信号传导序列的胞内信号传导域。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分特异性识别包括氨基酸序列SEQ ID NO:460的人类GPC3内的抗原决定基。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分特异性识别氨基酸序列SEQ ID NO:461内的抗原决定基。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分特异性识别氨基酸序列SEQ ID NO:462内的抗原决定基。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分特异性识别氨基酸序列SEQ ID NO:463内的抗原决定基。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分特异性识别GPC3的N端片段内的抗原决定基。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分特异性识别SEQ ID NO:460的氨基酸1-358内的抗原决定基(SEQ ID NO:468)。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分特异性识别氨基酸序列SEQ ID NO:464内的抗原决定基。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分特异性识别GPC3的C端片段内的抗原决定基。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分特异性识别SEQ ID NO:460的氨基酸359-560内的抗原决定基(SEQ ID NO:465)。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分特异性识别SEQ ID NO:460的氨基酸359-580内的抗原决定基(SEQ ID NO:466)。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分特异性识别缺乏硫酸肝素侧链的GPC3的C端片段内的抗原决定基。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分特异性识别SEQ ID NO:460的氨基酸510-560内的抗原决定基(SEQ ID NO:467)。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分特异性识别跨越位于SEQ ID NO:460的氨基酸R³⁵⁸/S³⁵⁹的弗林裂解位点的抗原决定基。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分可以特异性结合到人类成熟全长GPC3(例如SEQ ID NO:460的氨基酸25-560或25-580),但不结合到人类GPC3的N端片段(例如SEQ ID NO:460的氨基酸25-358)或人类GPC3的C端片段(例如SEQ ID NO:460的氨基酸359-560或359-580)。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分特异性识别缺乏硫酸肝素侧链的GPC3的C端片段内的抗原决定基。在一些实施例中,提供一种抗GPC3CAR,其包括:a)胞外域,所述胞外域包括与本文所述的任一种抗GPC3构筑体竞争结合到nGPC3的抗nGPC3抗体部分(例如,抗nGPC3抗体部分对与细胞表面结合的GPC3的结合亲和力高于对可溶性GPC3的结合亲和力,或抗nGPC3抗体部分以高结合亲和力特异性识别与细胞表面结合的GPC3且以低结合亲和力结合到可溶性GPC3);b)跨膜域;及c)包括CD3 ζ 胞内信号传导序列及CD28胞内信号传导序列的胞内信号传导域。在一些实施例中,提供一种抗GPC3 CAR,其包括:a)胞外域,所述胞外域包括与本文所述的任一种抗GPC3构筑体竞争性地特异性结合到相同或基本上相同nGPC3抗原决定基的抗nGPC3抗体部分(例如,抗nGPC3抗体部分对与细胞表面结合的GPC3的结合亲和力高于对可溶性GPC3的结合亲和力,或抗nGPC3抗体部分以高结合亲和力特异性识别与细胞表面结合的GPC3且以低结合亲和力结合到可溶性GPC3);b)跨膜域;及c)包括CD3 ζ 胞内信号传导序列及CD28胞内信号传导序列的胞内信号传导域。在一些实施例中,抗GPC3 CAR包括与SEQ ID NO:494的N端融合的胞外域,所述胞外域包括特异性结合到与细胞表面结合的GPC3的本文所述抗GPC3抗体部分。在一些实施例中,GPC3表达于选自由以下组成的群组的细胞表面上:HepG2、Hep3B、Huh7、JHH-7及293。在

一些实施例中, GPC3表达于癌细胞(例如肝癌细胞, 例如HCC)的表面上。在一些实施例中, 抗nGPC3抗体部分与nGPC3之间结合的 K_d 为约 10^{-7} M到约 10^{-13} M(例如约 10^{-7} M到约 10^{-13} M、约 10^{-9} M到约 10^{-13} M, 或约 10^{-10} M到约 10^{-12} M)。在一些实施例中, 抗nGPC3抗体部分与sGPC3之间结合的 K_d 可为抗nGPC3抗体部分与nGPC3之间结合的 K_d 的至少约10倍(例如至少约10、 10^2 、 10^3 、 10^4 、 10^5 、 10^6 或 10^7 倍)。在一些实施例中, 抗nGPC3抗体部分与sGPC3之间结合的 K_d 为约 10^{-1} M到约 10^{-6} M(例如约 10^{-1} M到约 10^{-6} M、约 10^{-1} M到约 10^{-5} M, 或约 10^{-2} M到约 10^{-4} M)。在一些实施例中, 抗nGPC3抗体部分为嵌合的、人类的、部分人类化的、完全人类化的或半合成的。在一些实施例中, 抗nGPC3抗体部分为Fab或Fab'。在一些实施例中, 抗nGPC3抗体部分为scFv。

[0461] 在一些实施例中, 提供一种抗GPC3 CAR, 其包括a) 胞外域, 所述胞外域包括特异性结合到与细胞表面结合的GPC3的抗GPC3抗体部分, 所述抗体部分包括: i) V_H , 其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:1-31中的任一者的HC-CDR1或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体、氨基酸序列为SEQ ID NO:52-82中的任一者的HC-CDR2或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体, 及氨基酸序列为SEQ ID NO:103-133中的任一者的HC-CDR3或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体; 及ii) V_L , 其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:154-184中的任一者的LC-CDR1或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体、氨基酸序列为SEQ ID NO:205-235中的任一者的LC-CDR2或包括最多约3(例如约1、2或3中的任一者)个氨基酸取代的其变异体, 及氨基酸序列为SEQ ID NO:256-286中的任一者的LC-CDR3或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体; b) 跨膜域; 及c) 包括CD3 ζ 胞内信号传导序列及CD28胞内信号传导序列的胞内信号传导域。在一些实施例中, 提供一种抗GPC3 CAR, 其包括a) 胞外域, 所述胞外域包括特异性结合到与细胞表面结合的GPC3的抗GPC3抗体部分, 所述抗体部分包括: i) V_H , 其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:1-31中的任一者的HC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:52-82中的任一者的HC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:103-133中的任一者的HC-CDR3; 及ii) V_L , 其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:154-184中的任一者的LC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:205-235中的任一者的LC-CDR2, 及氨基酸序列为SEQ ID NO:256-286中的任一者的LC-CDR3; b) 跨膜域; 及c) 包括CD3 ζ 胞内信号传导序列及CD28胞内信号传导序列的胞内信号传导域。在一些实施例中, 提供一种抗GPC3 CAR, 其包括a) 胞外域, 所述胞外域包括特异性结合到与细胞表面结合的GPC3的抗GPC3抗体部分, 所述抗体部分包括: i) 包括氨基酸序列为SEQ ID NO:307-337中的任一者的 V_H ; 及ii) 氨基酸序列为SEQ ID NO:358-388中的任一者的 V_L ; b) 跨膜域; 及c) 包括CD3 ζ 胞内信号传导序列及CD28胞内信号传导序列的胞内信号传导域。在一些实施例中, 提供一种抗GPC3 CAR, 其包括a) 胞外域, 所述胞外域包括与本文所述的任一种抗GPC3构体竞争结合到nGPC3的抗nGPC3抗体部分; b) 跨膜域; 及c) 包括CD3 ζ 胞内信号传导序列及CD28胞内信号传导序列的胞内信号传导域。在一些实施例中, 提供一种抗GPC3 CAR, 其包括a) 胞外域, 所述胞外域包括与本文所述的任一种抗GPC3构体竞争性地特异性结合到相同

或基本上相同nGPC3抗原决定基的抗nGPC3抗体部分;b)跨膜域;及c)包括CD3 ζ 胞内信号传导序列及CD28胞内信号传导序列的胞内信号传导域。在一些实施例中,抗GPC3 CAR包括与SEQ ID NO:494的N端融合的胞外域,所述胞外域包括特异性结合到与细胞表面结合的GPC3的本文所述抗GPC3抗体部分。举例来说,在一些实施例中,抗GPC3 CAR包括氨基酸序列SEQ ID NO:491。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分与nGPC3之间结合的 K_d 为约 10^{-7} M到约 10^{-13} M(例如约 10^{-7} M到约 10^{-13} M、约 10^{-9} M到约 10^{-13} M,或约 10^{-10} M到约 10^{-12} M)。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分与sGPC3之间结合的 K_d 可为抗nGPC3抗体部分与nGPC3之间结合的 K_d 的至少约10倍(例如至少约10、 10^2 、 10^3 、 10^4 、 10^5 、 10^6 或 10^7 倍)。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分与sGPC3之间结合的 K_d 为约 10^{-1} M到约 10^{-6} M(例如约 10^{-1} M到约 10^{-6} M、约 10^{-1} M到约 10^{-5} M,或约 10^{-2} M到约 10^{-4} M)。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分为Fab或Fab'。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分为scFv。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分为嵌合的、人类的、人类化的或半合成的。

[0462] 在一些实施例中,提供一种抗GPC3 CAR,其包括a)胞外域,所述胞外域包括特异性结合到GPC3(例如nGPC3及/或sGPC3)的抗GPC3抗体部分,所述抗体部分包括:i) V_H ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:32-51中的任一者的HC-CDR1或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体、氨基酸序列为SEQ ID NO:83-102中的任一者的HC-CDR2或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体,及氨基酸序列为SEQ ID NO:134-153中的任一者的HC-CDR3或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体;及ii) V_L ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:185-204中的任一者的LC-CDR1或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体、氨基酸序列为SEQ ID NO:236-255中的任一者的LC-CDR2或包括最多约3(例如约1、2或3中的任一者)个氨基酸取代的其变异体,及氨基酸序列为SEQ ID NO:287-306中的任一者的LC-CDR3或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体;b)跨膜域;及c)包括CD3 ζ 胞内信号传导序列及CD28胞内信号传导序列的胞内信号传导域。在一些实施例中,提供一种抗GPC3 CAR,其包括a)胞外域,所述胞外域包括特异性结合到GPC3(例如nGPC3及/或sGPC3)的抗GPC3抗体部分,所述抗体部分包括:i) V_H ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:32-51中的任一者的HC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:83-102中的任一者的HC-CDR2,及氨基酸序列为SEQ ID NO:134-153中的任一者的HC-CDR3;及ii) V_L ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:185-204中的任一者的LC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:236-255中的任一者的LC-CDR2,及氨基酸序列为SEQ ID NO:287-306中的任一者的LC-CDR3;b)跨膜域;及c)包括CD3 ζ 胞内信号传导序列及CD28胞内信号传导序列的胞内信号传导域。在一些实施例中,提供一种抗GPC3 CAR,其包括a)胞外域,所述胞外域包括特异性结合到GPC3(例如nGPC3及/或sGPC3)的抗GPC3抗体部分,所述抗体部分包括:i)氨基酸序列为SEQ ID NO:338-357中的任一者的 V_H ,及ii)氨基酸序列为SEQ ID NO:389-408中的任一者的 V_L ;b)跨膜域;及c)胞内信号传导域。在一些实施例中,提供一种抗GPC3 CAR,其包括a)胞外域,所述胞外域包括特异性结合到GPC3(例如nGPC3及/或sGPC3)的抗GPC3抗体部分,所述抗体部分包括:氨基酸序列为SEQ ID NO:338-357中任一者的 V_H 的HC-CDR,及氨基酸序列为SEQ ID NO:389-408中任一者的 V_L 的LC-CDR;b)跨膜域;及c)包括CD3 ζ 胞内信号传导序列及CD28胞内信号传导序列的胞内信号传导域。在一些实施例中,提供一种抗GPC3 CAR,其包括a)胞外域,

所述胞外域包括与本文所述的任一种抗GPC3构筑体竞争结合到靶标GPC3(例如nGPC3及/或sGPC3)的抗GPC3抗体部分;b)跨膜域;及c)包括CD3 ζ 胞内信号传导序列及CD28胞内信号传导序列的胞内信号传导域。在一些实施例中,提供一种抗GPC3 CAR,其包括a)胞外域,所述胞外域包括与本文所述的任一种抗GPC3构筑体竞争性地特异性结合到相同或基本上相同GPC3抗原决定基的抗GPC3抗体部分;b)跨膜域;及c)包括CD3 ζ 胞内信号传导序列及CD28胞内信号传导序列的胞内信号传导域。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分特异性识别与细胞表面结合的GPC3。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分对与细胞表面结合的GPC3的结合亲和力高于对可溶性GPC3的结合亲和力。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分以高结合亲和力特异性识别与细胞表面结合的GPC3且以低结合亲和力结合到可溶性GPC3。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分特异性识别可溶性GPC3。在一些实施例中,抗sGPC3抗体部分对可溶性GPC3的结合亲和力高于对与细胞表面结合的GPC3的结合亲和力。在一些实施例中,抗sGPC3抗体部分特异性识别氨基酸序列SEQ ID NO:461内的抗原决定基。在一些实施例中,抗sGPC3抗体部分特异性识别SEQ ID NO:460的氨基酸510-560内的抗原决定基(SEQ ID NO:467)。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分特异性识别与细胞表面结合的GPC3与可溶性GPC3。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分为Fab或Fab'。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分为scFv。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分为嵌合的、人类的、人类化的或半合成的。在一些实施例中,抗GPC3 CAR包括与SEQ ID NO:494的N端融合的胞外域,所述胞外域包括特异性结合到GPC3(例如nGPC3及/或sGPC3)的本文所述抗GPC3抗体部分。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分与靶标GPC3(例如nGPC3及/或sGPC3)之间结合的 K_d 为约 10^{-7} M到约 10^{-13} M(例如约 10^{-7} M到约 10^{-13} M、约 10^{-9} M到约 10^{-13} M,或约 10^{-10} M到约 10^{-12} M)。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分与非靶标之间结合的 K_d 可为抗GPC3抗体部分与靶标GPC3之间结合的 K_d 的至少约10倍(例如至少约10、 10^2 、 10^3 、 10^4 、 10^5 、 10^6 或 10^7 倍)。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分与非靶标之间结合的 K_d 为约 10^{-1} M到约 10^{-6} M(例如约 10^{-1} M到约 10^{-6} M、约 10^{-1} M到约 10^{-5} M,或约 10^{-2} M到约 10^{-4} M)。

[0463] 本文还提供表达抗GPC3 CAR的效应细胞(例如淋巴细胞,例如T细胞)。

[0464] 还提供一种产生表达抗GPC3 CAR的效应细胞的方法,所述方法包括将包括编码抗GPC3 CAR的核酸的载体引入效应细胞中。在一些实施例中,将载体引入效应细胞中包括通过载体转导效应细胞。在一些实施例中,将载体引入效应细胞中包括通过载体转染效应细胞。载体转导或转染到效应细胞中可使用所属领域中已知的任何方法进行。

[0465] 在一些实施例中,提供一种抗GPC3 CAR效应细胞(例如淋巴细胞,例如T细胞),其包括编码本文所述的多特异性(例如双特异性)抗GPC3分子(例如抗GPC3 $\times$ CD3双特异性T细胞接合体)的核酸序列,所述核酸序列可操作地连接到诱导型启动子。在一些实施例中,经由抗GPC3 CAR传导信号后,多特异性(例如双特异性)抗GPC3分子(例如抗GPC3 $\times$ CD3串联双scFv T细胞接合体)在抗GPC3 CAR效应细胞中的表达为可诱导性的。在一些实施例中,编码多特异性(例如双特异性)抗GPC3分子(例如抗GPC3 $\times$ CD3串联双scFv T细胞接合体)的核酸序列可操作地连接到源自NFAT的启动子。在一些实施例中,源自NFAT的启动子为源自NFAT的最小启动子。在一些实施例中,编码多特异性(例如双特异性)抗GPC3分子(例如抗GPC3 $\times$ CD3串联双scFv T细胞接合体)的核酸序列可操作地连接到IL-2启动子。

[0466] 嵌合抗体-T细胞受体(TCR)构筑体(caTCR)及caTCR效应细胞

[0467] 在一些实施例中,抗GPC3构筑体为包括抗GPC3抗体部分的嵌合抗体-T细胞受体构

筑体 (caTCR) (在本文中也称为“抗GPC3 caTCR”)。示范性caTCRs提供于PCT/US2016/058305中,所述文献以引用的方式并入本文中。抗GPC3 caTCR中可以使用本文所述的任一种抗GPC3抗体部分(靶向例如nGPC3及/或sGPC3)。抗GPC3 caTCR可以特异性结合到GPC3且能够募集至少一种TCR相关信号传导分子(例如CD3 $\delta\epsilon$ 、CD3 $\gamma\epsilon$ 及/或 $\zeta\zeta$)。还提供一种包括含有抗GPC3抗体部分的caTCR的caTCR效应细胞(例如T细胞)(在本文中也称为“抗GPC3 caTCR效应细胞”,例如“抗GPC3 caTCR T细胞”)。在一些实施例中,抗GPC3 caTCR包括特异性识别与细胞表面结合的GPC3的抗GPC3抗体部分。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分对与细胞表面结合的GPC3的结合亲和力高于对可溶性GPC3的结合亲和力。在一些实施例中,抗GPC3 caTCR包括特异性识别可溶性GPC3的抗GPC3抗体部分。

[0468] 在一些实施例中,提供一种抗GPC3 caTCR,其包括a) 抗原结合模块,所述模块包括特异性识别本文所述的GPC3 (例如nGPC3及/或sGPC3) 的抗体部分;及b) T细胞受体模块(TCRM),所述模块包括含有来源于天然存在的TCR(例如 $\alpha\beta$ TCR或 $\gamma\delta$ TCR)的跨膜域之一的第一TCR跨膜域(TCR-TM)的第一TCR域(TCRD)及含有来源于天然存在的TCR(例如 $\alpha\beta$ TCR或 $\gamma\delta$ TCR)的另一跨膜域的第二TCR-TM的第二TCRD,其中所述TCRM促进至少一种TCR相关信号传导分子(例如CD3 $\delta\epsilon$ 、CD3 $\gamma\epsilon$ 及/或 $\zeta\zeta$)的募集,且其中所述抗体部分连接到第一及/或第二TCRD。在一些实施例中,抗GPC3 caTCR包括天然存在的TCR域。在一些实施例中,抗GPC3 caTCR包括至少一个非天然存在的TCR域。抗GPC3 caTCR包括:含有提供抗原特异性的抗GPC3抗体部分的抗原结合模块;及允许CD3募集及信号传导的TCRM。抗原结合模块不为天然存在的T细胞受体抗原结合部分。在一些实施例中,抗原结合模块连接到TCRM中的多肽链的N端。在一些实施例中,抗原结合模块为抗体部分。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分为Fab、Fab'、F(ab')₂、Fv或scFv。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分为Fab或Fab'。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分为scFv。TCRM包括来源于一或多种TCR的跨膜域的跨膜模块(TCR-TM),例如 $\alpha\beta$ 及/或 $\gamma\delta$ TCR,且任选地进一步包括TCR的连接肽或其片段及/或一或多种TCR胞内域或其片段中的一者或两者。在一些实施例中,TCRM包括两条多肽链,各多肽链从N端到C端包括连接肽、跨膜域及任选地存在的TCR胞内域。在一些实施例中,TCRM包括一或多个非天然存在的TCR域。举例来说,在一些实施例中,TCRM包括一或两个非天然存在的TCR跨膜域。非天然存在的TCR域可为天然存在的TCR的相应域,其通过取代一或多个氨基酸及/或通过用来自另一TCR的类似域的一部分置换相应域的一部分而经修饰。抗GPC3 caTCR可以包括第一多肽链及第二多肽链,其中第一及第二多肽链一起形成抗原结合模块及TCRM。在一些实施例中,第一及第二多肽链为分开的多肽链,且caTCR为多聚体,例如二聚体。在一些实施例中,第一与第二多肽链共价连接,例如通过肽键或通过另一种化学键(例如二硫键)连接。在一些实施例中,第一多肽链与第二多肽链通过至少一个二硫键连接。在一些实施例中,抗GPC3caTCR进一步包括一或多个T细胞协同刺激信号传导序列。一或多个协同刺激信号传导序列可以个别地为协同刺激分子的胞内域的全部或一部分,包含例如CD27、CD28、4-1BB(CD137)、OX40、CD30、CD40、ICOS、淋巴细胞功能相关抗原-1(LFA-1)、CD2、CD7、LIGHT、NKG2C、B7-H3、特异性结合CD83的配体及其类似物。在一些实施例中,一或多个协同刺激信号传导序列位于第一TCR-TM与第一TCR胞内域之间及/或第二TCR-TM与第二TCR胞内域之间。在一些实施例中,一或多个协同刺激信号传导序列位于第一TCRD及/或第二TCRD的C端。在一些实施例中,抗GPC3 caTCR缺乏T细胞协同刺激信号传导序列。在一些实施例中,抗

GPC3 caTCR进一步包括稳定模块,所述稳定模块包括第一稳定域及第二稳定域,其中第一与第二稳定域彼此具有使抗GPC3 caTCR稳定的结合亲和力。在一些实施例中,稳定模块位于抗原结合模块与TCRM之间。在一些实施例中,抗GPC3 caTCR进一步包括位于任何两个caTCR模块或域之间的间隔模块。在一些实施例中,间隔模块包括连接两个caTCR模块或域的一或多个肽连接子。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分特异性识别与细胞表面结合的GPC3。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分对与细胞表面结合的GPC3的结合亲和力高于对可溶性GPC3的结合亲和力。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分以高结合亲和力特异性识别与细胞表面结合的GPC3且以低结合亲和力结合到可溶性GPC3。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分特异性识别可溶性GPC3。在一些实施例中,抗sGPC3抗体部分对可溶性GPC3的结合亲和力高于对与细胞表面结合的GPC3的结合亲和力。在一些实施例中,抗sGPC3抗体部分特异性识别氨基酸序列SEQ ID NO:461内的抗原决定基。在一些实施例中,抗sGPC3抗体部分特异性识别SEQ ID NO:460的氨基酸510-560内的抗原决定基(SEQ ID NO:467)。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分特异性识别与细胞表面结合的GPC3与可溶性GPC3。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分为嵌合的、人类的、部分人类化的、完全人类化的或半合成的。在一些实施例中,提供一种抗GPC3caTCR,其包括:a)第一多肽链,所述第一多肽链包括含有V_H及C_{H1}抗体域的第一抗原结合域及含有第一TCR亚单元的第一跨膜域的第一T细胞受体域(TCRD);及b)第二多肽链,所述第二多肽链包括含有V_L及C_L抗体域的第二抗原结合域及含有第二TCR亚单元的第二跨膜域的第二TCRD,其中第一抗原结合域的V_H及C_{H1}域与第二抗原结合域的V_L及C_L域形成特异性结合到GPC3的抗原结合模块,且其中第一TCRD与第二TCRD形成能够募集至少一种TCR相关信号传导模块的T细胞受体模块(TCRM)。在一些实施例中,抗原结合模块包括位于C_{H1}域中的残基与C_L域中的残基之间的二硫键。在一些实施例中,提供一种抗GPC3 caTCR,其包括:a)第一多肽链,所述第一多肽链包括含有V_H抗体域的第一抗原结合域及含有第一TCR亚单元的第一跨膜域的第一TCRD;及b)第二多肽链,所述第二多肽链包括含有V_L抗体域的第二抗原结合域及含有第二TCR亚单元的第二跨膜域的第二TCRD,其中第一抗原结合域的V_H域与第二抗原结合域的V_L域形成特异性结合到GPC3的抗原结合模块,其中第一TCRD与第二TCRD形成能够募集至少一种TCR相关信号传导模块的T细胞受体模块(TCRM)。在一些实施例中,TCR-TM包括氨基酸序列SEQ ID NO:495。在一些实施例中,TCR-TM包括氨基酸序列SEQ ID NO:496。

[0469] 在一些实施例中,本文所述的TCRM包括a)含有第一TCR跨膜域(TCR-TM)的第一T细胞受体域(TCRD)及b)含有第二TCR-TM的第二TCRD,其中TCRM促进募集至少一种TCR相关信号传导分子。在一些实施例中,两种TCR-TM均为天然存在的。在一些实施例中,TCR-TM中的至少一者为非天然存在的。在一些实施例中,两种TCR-TM为非天然存在的。在一些实施例中,第一TCR-TM来源于T细胞受体(例如 $\alpha\beta$ TCR或 $\gamma\delta$ TCR)的跨膜域之一且第二TCR-TM来源于T细胞受体的另一跨膜域。在一些实施例中,所述TCRM相较于包括T细胞受体跨膜域的TCRM,实现增强募集至少一种TCR相关信号传导分子。TCR相关信号传导分子的募集可以通过所属领域中已知的方法测定,例如针对TCR-CD3复合物表面表达或CD3亚单元与caTCR共免疫沉淀的FACS分析。

[0470] 在一些实施例中,抗原结合模块包括含有V_H抗体域(例如本文关于抗GPC3抗体部分所述的任一种V_H抗体域)的第一抗原结合域及含有V_L抗体域(例如本文关于抗GPC3抗体部

分所述的任一种 V_L 抗体域)的第二抗原结合域。在一些实施例中, V_H 抗体域及 V_L 抗体域CDR来源于相同抗体部分。在一些实施例中, V_H 抗体域及 V_L 抗体域CDR中的一些来源于不同抗体部分。在一些实施例中, V_H 抗体域及/或 V_L 抗体域为人类的、人类化的、嵌合的、半合成的或全合成的。

[0471] 在一些实施例中,caTCR包括连接到本文所述TCRM的本文所述抗原结合模块,任选地包含稳定模块。举例来说,在一些实施例中,caTCR包括连接到TCRD中的一者或两者的N端的抗原结合模块。在一些实施例中,caTCR包括位于TCRM与抗原结合模块之间的稳定模块。在一些实施例中,caTCR进一步包括位于任何两个caTCR模块或域之间的间隔模块。在一些实施例中,间隔模块包括长度在约5到约70个氨基酸之间(例如约5、10、15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65或70中的任一者,包含这些数值之间的任何范围)的一或多个肽连接子。在一些实施例中,caTCR进一步包括一或多个附属胞内域。在一些实施例中,一或多个附属胞内域位于第一及/或第二TCRD的羧基端。在一些实施例中,一或多个附属胞内域位于第一TCR-TM与第一TCR胞内域之间及/或第二TCR-TM与第二TCR胞内域之间。在一些实施例中,一或多个附属胞内域个别地包括TCR协同刺激域。在一些实施例中,TCR协同刺激域包括免疫协同刺激分子(例如CD27、CD28、4-1BB(CD137)、OX40、CD30、CD40、ICOS、淋巴细胞功能相关抗原-1(LFA-1)、CD2、CD7、LIGHT、NKG2C、B7-H3、特异性结合CD83的配体,及其类似物)的胞内域的全部或一部分。在一些实施例中,TCR协同刺激域包括SEQ ID NO:51-56中任一者的氨基酸序列的全部或一部分,或其变异体。

[0472] 在一些实施例中,提供一种抗GPC3 caTCR,其包括:a) 抗原结合模块,所述抗原结合模块包括特异性识别与细胞表面结合的GPC3的抗体部分(例如,抗nGPC3抗体部分对与细胞表面结合的GPC3的结合亲和力高于对可溶性GPC3的结合亲和力,或抗nGPC3抗体部分以高结合亲和力特异性识别与细胞表面结合的GPC3且以低结合亲和力结合到可溶性GPC3);及b) T细胞受体模块(TCRM),所述T细胞受体模块包括含有来源于天然存在的TCR(例如 $\alpha\beta$ TCR或 $\gamma\delta$ TCR)的跨膜域之一的第一TCR跨膜域(TCR-TM)的第一TCR域(TCRD)及含有来源于天然存在的TCR(例如 $\alpha\beta$ TCR或 $\gamma\delta$ TCR)的另一跨膜域的第二TCR-TM的第二TCRD,其中所述TCRM促进至少一种TCR相关信号传导分子(例如CD3 $\delta\epsilon$ 、CD3 $\gamma\epsilon$ 及/或 $\zeta\zeta$)的募集,且其中抗体部分连接到第一及/或第二TCRD。在一些实施例中,提供一种抗GPC3 caTCR,其包括:a) 第一多肽链,所述第一多肽链包括含有 V_H 及 C_H1 抗体域的第一抗原结合域及含有第一TCR亚单元的第一跨膜域的第一T细胞受体域(TCRD);及b) 第二多肽链,所述第二多肽链包括含有 V_L 及 C_L 抗体域的第二抗原结合域及含有第二TCR亚单元的第二跨膜域的第二TCRD,其中第一抗原结合域的 V_H 及 C_H1 域与第二抗原结合域的 V_L 及 C_L 域形成特异性结合到与细胞表面结合的GPC3的抗原结合模块(例如 V_H 及 V_L 对与细胞表面结合的GPC3的结合亲和力高于对可溶性GPC3的结合亲和力,或 V_H 及 V_L 以高结合亲和力特异性识别与细胞表面结合的GPC3且以低结合亲和力结合到可溶性GPC3),且其中第一TCRD与第二TCRD形成能够募集至少一种TCR相关信号传导模块的T细胞受体模块(TCRM)。在一些实施例中,抗原结合模块包括位于 C_H1 域中的残基与 C_L 域中的残基之间的二硫键。在一些实施例中,提供一种抗GPC3 caTCR,其包括:a) 第一多肽链,所述第一多肽链包括含有 V_H 抗体域的第一抗原结合域及含有第一TCR亚单元的第一跨膜域的第一TCRD;及b) 第二多肽链,所述第二多肽链包括含有 V_L 抗体域的第二抗原结合域及含有第二TCR亚单元的第二跨膜域的第二TCRD,其中第一抗原结合域中的 V_H

域及第二抗原结合域中的 V_L 域形成特异性结合到与细胞表面结合的GPC3的抗原结合模块(例如, V_H 及 V_L 对与细胞表面结合的GPC3的结合亲和力高于对可溶性GPC3的结合亲和力,或 V_H 及 V_L 以高结合亲和力特异性识别与细胞表面结合的GPC3且以低结合亲和力结合到可溶性GPC3),其中第一TCRD与第二TCRD形成能够募集至少一种TCR相关信号传导模块的T细胞受体模块(TCRM)。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分特异性识别包括氨基酸序列SEQ ID NO:460的人类GPC3内的抗原决定基。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分特异性识别氨基酸序列SEQ ID NO:461内的抗原决定基。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分特异性识别氨基酸序列SEQ ID NO:462内的抗原决定基。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分特异性识别氨基酸序列SEQ ID NO:463内的抗原决定基。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分特异性识别GPC3的N端片段内的抗原决定基。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分特异性识别SEQ ID NO:460的氨基酸1-358内的抗原决定基(SEQ ID NO:468)。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分特异性识别氨基酸序列SEQ ID NO:464内的抗原决定基。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分特异性识别GPC3的C端片段内的抗原决定基。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分特异性识别SEQ ID NO:460的氨基酸359-560内的抗原决定基(SEQ ID NO:465)。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分特异性识别SEQ ID NO:460的氨基酸359-580内的抗原决定基(SEQ ID NO:466)。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分特异性识别缺乏硫酸肝素侧链的GPC3的C端片段内的抗原决定基。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分特异性识别SEQ ID NO:460的氨基酸510-560内的抗原决定基(SEQ ID NO:467)。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分特异性识别跨越位于SEQ ID NO:460的氨基酸R³⁵⁸/S³⁵⁹的弗林裂解位点的抗原决定基。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分可以特异性结合到人类成熟全长GPC3(例如SEQ ID NO:460的氨基酸25-560或25-580),但不结合到人类GPC3的N端片段(例如SEQ ID NO:460的氨基酸25-358)或人类GPC3的C端片段(例如SEQ ID NO:460的氨基酸359-560或359-580)。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分特异性识别缺乏硫酸肝素侧链的GPC3的C端片段内的抗原决定基。在一些实施例中,提供一种抗GPC3caTCR,其包括a)抗原结合模块,所述抗原结合模块包括与本文所述的任一种抗GPC3构筑体竞争结合到nGPC3的抗nGPC3抗体部分(例如,抗nGPC3抗体部分对与细胞表面结合的GPC3的结合亲和力高于对可溶性GPC3的结合亲和力,或抗nGPC3抗体部分以高结合亲和力特异性识别与细胞表面结合的GPC3且以低结合亲和力结合到可溶性GPC3);及b)T细胞受体模块(TCRM),所述T细胞受体模块包括含有来源于天然存在的TCR(例如 $\alpha\beta$ TCR或 $\gamma\delta$ TCR)的跨膜域之一的第一TCR跨膜域(TCR-TM)的第一TCR域(TCRD)及含有来源于天然存在的TCR(例如 $\alpha\beta$ TCR或 $\gamma\delta$ TCR)的另一跨膜域的第二TCR-TM的第二TCRD,其中所述TCRM促进至少一种TCR相关信号传导分子(例如CD3 $\delta\epsilon$ 、CD3 $\gamma\epsilon$ 及/或 $\zeta\zeta$)的募集,且其中所述抗体部分连接到第一及/或第二TCRD。在一些实施例中,提供一种抗GPC3 caTCR,其包括a)抗原结合模块,所述抗原结合模块包括与本文所述的任一种抗GPC3构筑体竞争性地特异性结合到相同或基本上相同nGPC3抗原决定基的抗nGPC3抗体部分(例如,抗nGPC3抗体部分对与细胞表面结合的GPC3的结合亲和力高于对可溶性GPC3的结合亲和力,或抗nGPC3抗体部分以高结合亲和力特异性识别与细胞表面结合的GPC3且以低结合亲和力结合到可溶性GPC3);及b)T细胞受体模块(TCRM),所述T细胞受体模块包括含有来源于天然存在的TCR(例如 $\alpha\beta$ TCR或 $\gamma\delta$ TCR)的跨膜域之一的第一TCR跨膜域(TCR-TM)的第一TCR域(TCRD)及含有来源于天然存在的TCR(例如 $\alpha\beta$ TCR或 $\gamma\delta$ TCR)的另一跨膜域的第二TCR-TM的第二

TCRD,其中TCRM促进至少一种TCR相关信号传导分子(例如CD3 $\delta\epsilon$ 、CD3 $\gamma \epsilon$ 及/或 $\zeta\zeta$)的募集,且其中抗体部分连接到第一及/或第二TCRD。在一些实施例中,GPC3表达于选自由以下组成的群组的细胞的表面上:HepG2、Hep3B、Huh7、JHH-7及293。在一些实施例中,GPC3表达于癌细胞(例如肝癌细胞,例如HCC)的表面上。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分与nGPC3之间结合的 K_d 为约 10^{-7} M到约 10^{-13} M(例如约 10^{-7} M到约 10^{-13} M、约 10^{-9} M到约 10^{-13} M,或约 10^{-10} M到约 10^{-12} M)。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分与sGPC3之间结合的 K_d 可为抗nGPC3抗体部分与nGPC3之间结合的 K_d 的至少约10倍(例如至少约10、 10^2 、 10^3 、 10^4 、 10^5 、 10^6 或 10^7 倍)。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分与sGPC3之间结合的 K_d 为约 10^{-1} M到约 10^{-6} M(例如约 10^{-1} M到约 10^{-6} M、约 10^{-1} M到约 10^{-5} M,或约 10^{-2} M到约 10^{-4} M)。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分为嵌合的、人类的、部分人类化的、完全人类化的或半合成的。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分为Fab或Fab'。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分为scFv。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分为人类的、人类化的、嵌合的或合成的。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分连接到第一及/或第二TCRD的N端。在一些实施例中,天然存在的第一TCR为 γ/δ TCR。在一些实施例中,天然存在的第一TCR为 α/β TCR。在一些实施例中,TCR-TM中的至少一者为非天然存在的。在一些实施例中,第一及第二TCR-TM为非天然存在的。在一些实施例中,第一TCR-TM相较于衍生其的跨膜域包括最多5(例如1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代且/或第二TCR-TM相较于衍生其的跨膜域包括最多5(例如1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代。在一些实施例中,TCRM包括来源于一或多种TCR的跨膜域的跨膜模块(TCR-TM),例如 $\alpha\beta$ 及/或 $\gamma \delta$ TCR,且任选地进一步包括TCR的连接肽或其片段及/或一或多种TCR胞内域或其片段中的一者或两者。在一些实施例中,TCRM包括两条多肽链,各多肽链从氨基末端到羧基末端包括连接肽、跨膜域及任选地存在的TCR胞内域。在一些实施例中,抗GPC3 caTCR可以包括第一多肽链及第二多肽链,其中第一及第二多肽链一起形成抗原结合模块及TCRM。在一些实施例中,第一及第二多肽链为分开的多肽链,且caTCR为多聚体,例如二聚体。在一些实施例中,第一与第二多肽链共价连接,例如通过肽键或通过另一种化学键(例如二硫键)连接。在一些实施例中,第一多肽链与第二多肽链通过至少一个二硫键连接。在一些实施例中,caTCR进一步包括一或多个T细胞协同刺激信号传导序列。一或多个协同刺激信号传导序列可以个别地为协同刺激分子的胞内域的全部或一部分,包含例如CD27、CD28、4-1BB(CD137)、OX40、CD30、CD40、ICOS、淋巴细胞功能相关抗原-1(LFA-1)、CD2、CD7、LIGHT、NKG2C、B7-H3、特异性结合CD83的配体,及其类似物。在一些实施例中,一或多个协同刺激信号传导序列位于第一TCR-TM与第一TCR胞内域之间及/或第二TCR-TM与第二TCR胞内域之间。在一些实施例中,一或多个协同刺激信号传导序列位于第一TCRD及/或第二TCRD的羧基端。在一些实施例中,caTCR缺乏T细胞协同刺激信号传导序列。在一些实施例中,caTCR进一步包括稳定模块,所述稳定模块包括第一稳定域及第二稳定域,其中第一及第二稳定域彼此具有使所述caTCR稳定的结合亲和力。在一些实施例中,稳定模块位于抗原结合模块与TCRM之间。在一些实施例中,稳定模块包括含有 C_H1 抗体域或其变异体的第一稳定域及含有 C_L 抗体域或其变异体的第二稳定域。在一些实施例中,caTCR进一步包括位于任何两个caTCR模块或域之间的间隔模块。在一些实施例中,TCRM能够募集至少一种选自由CD3 $\delta\epsilon$ 、CD3 $\gamma \epsilon$ 及 $\zeta\zeta$ 组成的群组的TCR相关信号传导分子。在一些实施例中,所述TCRM相较于包括天然存在的T细胞受体跨膜域的TCRM,可以更增强至少一种TCR相关信号传导分子的募集。在一些实施例中,TCRM促进caTCR-CD3复合

物形成。在一些实施例中,任何两个caTCR模块或域之间存在间隔子模块。在一些实施例中,抗GPC3 caTCR为杂多聚体,例如杂二聚体。举例来说,在一些实施例中,抗GPC3 caTCR为杂二聚体,其包括含有第一TCRD的第一多肽链及含有第二TCRD的第二多肽链,其中所述抗体部分连接到第一及/或第二多肽链。在一些实施例中,TCRM包括一或多个非天然存在的TCR域。在一些实施例中,TCR-TM包括氨基酸序列SEQ ID NO:495。在一些实施例中,TCR-TM包括氨基酸序列SEQ ID NO:496。

[0473] 在一些实施例中,提供一种抗GPC3 caTCR,其包括a) 抗原结合模块,所述抗原结合模块包括特异性识别与细胞表面结合的GPC3的抗体部分;及b) T细胞受体模块(TCRM),所述T细胞受体模块包括含有来源于天然存在的TCR(例如 $\alpha\beta$ TCR或 $\gamma\delta$ TCR)的跨膜域之一的第一TCR跨膜域(TCR-TM)的第一TCR域(TCRD)及含有来源于天然存在的TCR(例如 $\alpha\beta$ TCR或 $\gamma\delta$ TCR)的另一跨膜域的第二TCR-TM的第二TCRD,其中所述TCRM促进至少一种TCR相关信号传导分子(例如CD3 $\delta\epsilon$ 、CD3 $\gamma\epsilon$ 及/或 $\zeta\zeta$)的募集,且其中所述抗体部分连接到第一及/或第二TCRD。在一些实施例中,提供一种抗GPC3caTCR,其包括a) 抗原结合模块,所述抗原结合模块包括特异性识别与细胞表面结合的GPC3的抗体部分,所述抗体部分包括:i) V_H ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:1-31中的任一者的HC-CDR1或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体、氨基酸序列为SEQ ID NO:52-82中的任一者的HC-CDR2或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体,及氨基酸序列为SEQ ID NO:103-133中的任一者的HC-CDR3或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体,及ii) V_L ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:154-184中的任一者的LC-CDR1或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体、氨基酸序列为SEQ ID NO:205-235中的任一者的LC-CDR2或包括最多约3(例如约1、2或3中的任一者)个氨基酸取代的其变异体,及氨基酸序列为SEQ ID NO:256-286中的任一者的LC-CDR3或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体;以及b) T细胞受体模块(TCRM),所述T细胞受体模块包括含有来源于天然存在的TCR(例如 $\alpha\beta$ TCR或 $\gamma\delta$ TCR)的跨膜域之一的第一TCR跨膜域(TCR-TM)的第一TCR域(TCRD)及含有来源于天然存在的TCR(例如 $\alpha\beta$ TCR或 $\gamma\delta$ TCR)的另一跨膜域的第二TCR-TM的第二TCRD,其中所述TCRM促进至少一种TCR相关信号传导分子(例如CD3 $\delta\epsilon$ 、CD3 $\gamma\epsilon$ 及/或 $\zeta\zeta$)的募集,且其中所述抗体部分连接到第一及/或第二TCRD。在一些实施例中,提供一种抗GPC3 caTCR,其包括a) 抗原结合模块,所述抗原结合模块包括特异性识别与细胞表面结合

的GPC3的抗体部分,所述抗体部分包括:i)氨基酸序列为SEQ ID NO:307-337中的任一者的 V_H ;及ii)氨基酸序列为SEQ ID NO:358-388中的任一者的 V_L ;以及b)T细胞受体模块(TCRM),所述T细胞受体模块包括含有来源于天然存在的TCR(例如 $\alpha\beta$ TCR或 $\gamma\delta$ TCR)的跨膜域之一的第一TCR跨膜域(TCR-TM)的第一TCR域(TCRD)及含有来源于天然存在的TCR(例如 $\alpha\beta$ TCR或 $\gamma\delta$ TCR)的另一跨膜域的第二TCR-TM的第二TCRD,其中所述TCRM促进至少一种TCR相关信号传导分子(例如CD3 $\delta\epsilon$ 、CD3 $\gamma\epsilon$ 及/或 $\zeta\zeta$)的募集,且其中所述抗体部分连接到第一及/或第二TCRD。在一些实施例中,提供一种抗GPC3caTCR,其包括a)抗原结合模块,所述抗原结合模块包括特异性识别与细胞表面结合的GPC3的抗体部分,所述抗体部分包括氨基酸序列为SEQ ID NO:307-337中任一者的 V_H 的HC-CDR,及氨基酸序列为SEQ ID NO:358-388中任一者的 V_L 的LC-CDR;及b)T细胞受体模块(TCRM),所述T细胞受体模块包括含有来源于天然存在的TCR(例如 $\alpha\beta$ TCR或 $\gamma\delta$ TCR)的跨膜域之一的第一TCR跨膜域(TCR-TM)的第一TCR域(TCRD)及来源于天然存在的TCR(例如 $\alpha\beta$ TCR或 $\gamma\delta$ TCR)的另一跨膜域的第二TCR-TM的第二TCRD,其中TCRM促进至少一种TCR相关信号传导分子(例如CD3 $\delta\epsilon$ 、CD3 $\gamma\epsilon$ 及/或 $\zeta\zeta$)的募集,且其中抗体部分连接到第一及/或第二TCRD。在一些实施例中,提供一种抗GPC3 caTCR,其包括a)抗原结合模块,所述抗原结合模块包括与本文所述的任一种抗GPC3构筑体竞争结合到nGPC3的抗nGPC3抗体部分;及b)T细胞受体模块(TCRM),所述T细胞受体模块包括含有来源于天然存在的TCR(例如 $\alpha\beta$ TCR或 $\gamma\delta$ TCR)的跨膜域之一的第一TCR跨膜域(TCR-TM)的第一TCR域(TCRD)及含有来源于天然存在的TCR(例如 $\alpha\beta$ TCR或 $\gamma\delta$ TCR)的另一跨膜域的第二TCR-TM的第二TCRD,其中所述TCRM促进至少一种TCR相关信号传导分子(例如CD3 $\delta\epsilon$ 、CD3 $\gamma\epsilon$ 及/或 $\zeta\zeta$)的募集,且其中所述抗体部分连接到第一及/或第二TCRD。在一些实施例中,提供一种抗GPC3 caTCR,其包括a)抗原结合模块,所述抗原结合模块包括与本文所述的任一种抗GPC3构筑体竞争性地特异性结合到相同或基本上相同nGPC3抗原决定基的抗nGPC3抗体部分,及b)T细胞受体模块(TCRM),所述T细胞受体模块包括含有来源于天然存在的TCR(例如 $\alpha\beta$ TCR或 $\gamma\delta$ TCR)的跨膜域之一的第一TCR跨膜域(TCR-TM)的第一TCR域(TCRD)及含有来源于天然存在的TCR(例如 $\alpha\beta$ TCR或 $\gamma\delta$ TCR)的另一跨膜域的第二TCR-TM的第二TCRD,其中所述TCRM促进至少一种TCR相关信号传导分子(例如CD3 $\delta\epsilon$ 、CD3 $\gamma\epsilon$ 及/或 $\zeta\zeta$)的募集且其中所述抗体部分连接到第一及/或第二TCRD。在一些实施例中,提供一种抗GPC3 caTCR,其包括:a)第一多肽链,所述第一多肽链包括含有氨基酸序列为SEQ ID NO:307-337中的任一者的 V_H 的第一抗原结合域及 C_H1 抗体域及含有第一TCR亚单元的第一跨膜域的第一T细胞受体域(TCRD);及b)第二多肽链,所述第二多肽链包括含有氨基酸序列为SEQ ID NO:358-388中的任一者的 V_L 的第二抗原结合域及 C_L 抗体域及含有第二TCR亚单元的第二跨膜域的第二TCRD,其中第一抗原结合域的 V_H 及 C_H1 域与第二抗原结合域的 V_L 及 C_L 域形成特异性结合到与细胞表面结合的GPC3的抗原结合模块,且其中第一TCRD与第二TCRD形成能够募集至少一种TCR相关信号传导模块的T细胞受体模块(TCRM)。在一些实施例中,抗原结合模块包括位于 C_H1 域中的残基与 C_L 域中的残基之间的二硫键。在一些实施例中,提供一种抗GPC3 caTCR,其包括:a)第一多肽链,所述第一多肽链包括含有氨基酸序列为SEQ ID NO:307-337中的任一者的 V_H 的第一抗原结合域及含有第一TCR亚单元的第一跨膜域的第一TCRD;及b)第二多肽链,所述第二多肽链包括含有氨基酸序列为SEQ ID NO:358-388中的任一者的 V_L 抗体域的第二抗原结合域及含有第二TCR亚单元的第二跨膜域的第二TCRD,其中第一抗原结合域的 V_H 域与第二

抗原结合域的V_L域形成特异性结合到与细胞表面结合的GPC3的抗原结合模块,其中第一TCRD与第二TCRD形成能够募集至少一种TCR相关信号传导模块的T细胞受体模块(TCRM)。在一些实施例中,抗GPC3 caTCR包括两条多肽链,其包括氨基酸序列SEQ ID NO:492及SEQ ID NO:493。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分与nGPC3之间结合的K_d为约10⁻⁷M到约10⁻¹³M(例如约10⁻⁷M到约10⁻¹³M、约10⁻⁹M到约10⁻¹³M,或约10⁻¹⁰M到约10⁻¹²M)。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分与sGPC3之间结合的K_d可为抗nGPC3抗体部分与nGPC3之间结合的K_d的至少约10倍(例如至少约10、10²、10³、10⁴、10⁵、10⁶或10⁷倍)。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分与sGPC3之间结合的K_d为约10⁻¹M到约10⁻⁶M(例如约10⁻¹M到约10⁻⁶M、约10⁻¹M到约10⁻⁵M,或约10⁻²M到约10⁻⁴M)。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分为Fab或Fab'。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分为scFv。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分为人类的、人类化的、嵌合的或合成的。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分连接到第一及/或第二TCRD的N端。在一些实施例中,天然存在的第一TCR为γ/δTCR。在一些实施例中,天然存在的第一TCR为α/βTCR。在一些实施例中,TCR-TM中的至少一者为非天然存在的。在一些实施例中,第一及第二TCR-TM为非天然存在的。在一些实施例中,第一TCR-TM相较于衍生其的跨膜域包括最多5(例如1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代且/或第二TCR-TM相较于衍生其的跨膜域包括最多5(例如1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代。在一些实施例中,TCRM包括来源于一或多种TCR的跨膜域的跨膜模块(TCR-TM),例如αβ及/或γδTCR,且任选地进一步包括TCR的连接肽或其片段及/或一或多种TCR胞内域或其片段中的一者或两者。在一些实施例中,TCRM包括两条多肽链,各多肽链从氨基末端到羧基末端包括连接肽、跨膜域及任选地存在的TCR胞内域。在一些实施例中,抗GPC3 caTCR可以包括第一多肽链及第二多肽链,其中第一及第二多肽链一起形成抗原结合模块及TCRM。在一些实施例中,第一及第二多肽链为分开的多肽链,且caTCR为多聚体,例如二聚体。在一些实施例中,第一与第二多肽链共价连接,例如通过肽键或通过另一种化学键(例如二硫键)连接。在一些实施例中,第一多肽链与第二多肽链通过至少一个二硫键连接。在一些实施例中,caTCR进一步包括一或多个T细胞协同刺激信号传导序列。一或多个协同刺激信号传导序列可以个别地为协同刺激分子的胞内域的全部或一部分,包含例如CD27、CD28、4-1BB(CD137)、OX40、CD30、CD40、ICOS、淋巴细胞功能相关抗原-1(LFA-1)、CD2、CD7、LIGHT、NKG2C、B7-H3、特异性结合CD83的配体,及其类似物。在一些实施例中,一或多个协同刺激信号传导序列位于第一TCR-TM与第一TCR胞内域之间及/或第二TCR-TM与第二TCR胞内域之间。在一些实施例中,一或多个协同刺激信号传导序列位于第一TCRD及/或第二TCRD的羧基端。在一些实施例中,caTCR缺乏T细胞协同刺激信号传导序列。在一些实施例中,caTCR进一步包括稳定模块,所述稳定模块包括第一稳定域及第二稳定域,其中第一及第二稳定域彼此具有使所述caTCR稳定的结合亲和力。在一些实施例中,稳定模块位于抗原结合模块与TCRM之间。在一些实施例中,稳定模块包括含有C_H1抗体域或其变异体的第一稳定域及含有C_L抗体域或其变异体的第二稳定域。在一些实施例中,caTCR进一步包括位于任何两个caTCR模块或域之间的间隔模块。在一些实施例中,TCRM能够募集至少一种选自CD3δε、CD3 γ ε及ζζ组成的群组的TCR相关信号传导分子。在一些实施例中,所述TCRM相较于包括天然存在的T细胞受体跨膜域的TCRM,可以更增强至少一种TCR相关信号传导分子的募集。在一些实施例中,TCRM促进caTCR-CD3复合物形成。在一些实施例中,任何两个caTCR模块或域之间存在间隔子模块。在一些实施例中,抗GPC3 caTCR为杂多聚体,例如杂二聚体。

举例来说,在一些实施例中,抗GPC3caTCR为杂二聚体,其包括含有第一TCRD的第一多肽链及含有第二TCRD的第二多肽链,其中所述抗体部分连接到第一及/或第二多肽链。在一些实施例中,TCRM包括一或多个非天然存在的TCR域。在一些实施例中,TCR-TM包括氨基酸序列SEQ ID NO:495。在一些实施例中,TCR-TM包括氨基酸序列SEQ ID NO:496。

[0474] 在一些实施例中,提供一种抗GPC3 caTCR,其包括a) 抗原结合模块,所述抗原结合模块包括特异性识别GPC3 (例如nGPC3及/或sGPC3) 的抗体部分,及b) TCRM,所述TCRM包括来源于天然存在的TCR (例如 $\alpha\beta$ TCR或 $\gamma\delta$ TCR) 的跨膜域的第一及第二TCR-TM,其中所述TCRM能够募集至少一种TCR相关信号传导分子。在一些实施例中,提供一种抗GPC3 caTCR,其包括a) 抗原结合模块,所述抗原结合模块包括特异性识别GPC3的抗体部分,所述抗体部分包括:i) V_H ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:32-51中的任一者的HC-CDR1或包括最多约5 (例如约1、2、3、4或5中的任一者) 个氨基酸取代的其变异体、氨基酸序列为SEQ ID NO:83-102中的任一者的HC-CDR2或包括最多约5 (例如约1、2、3、4或5中的任一者) 个氨基酸取代的其变异体,及氨基酸序列为SEQ ID NO:134-153中的任一者的HC-CDR3或包括最多约5 (例如约1、2、3、4或5中的任一者) 个氨基酸取代的其变异体,及ii) V_L ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:185-204中的任一者的LC-CDR1或包括最多约5 (例如约1、2、3、4或5中的任一者) 个氨基酸取代的其变异体、氨基酸序列为SEQ ID NO:236-255中的任一者的LC-CDR2或包括最多约3 (例如约1、2或3中的任一者) 个氨基酸取代的其变异体,及氨基酸序列为SEQ ID NO:287-306中的任一者的LC-CDR3或包括最多约5 (例如约1、2、3、4或5中的任一者) 个氨基酸取代的其变异体;以及b) T细胞受体模块 (TCRM),所述T细胞受体模块包括含有来源于天然存在的TCR (例如 $\alpha\beta$ TCR或 $\gamma\delta$ TCR) 的跨膜域之一的第一TCR跨膜域 (TCR-TM) 的第一TCR域 (TCRD) 及含有来源于天然存在的TCR (例如 $\alpha\beta$ TCR或 $\gamma\delta$ TCR) 的另一跨膜域的第二TCR-TM的第二TCRD,其中所述TCRM促进至少一种TCR相关信号传导分子 (例如CD3 $\delta\epsilon$ 、CD3 $\gamma\epsilon$ 及/或 $\zeta\zeta$) 的募集,且其中所述抗体部分连接到第一及/或第二TCRD。在一些实施例中,提供一种抗GPC3 caTCR,其包括a) 抗原结合模块,所述抗原结合模块包括特异性识别GPC3 (例如nGPC3及/或sGPC3) 的抗体部分,所述抗体部分包括:i) V_H ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:32-51中的任一者的HC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:83-102中的任一者的HC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:134-153中的任一者的HC-CDR3;及ii) V_L ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:185-204中的任一者的LC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:236-255中的任一者的LC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:287-306中的任一者的LC-CDR3,及b) TCRM,所述TCRM包括来源于天然存在的TCR (例如 $\alpha\beta$ TCR或 $\gamma\delta$ TCR) 的跨膜域的第一及第二TCR-TM,其中所述TCRM能够募集至少一种TCR相关信号传导分子。在一些实施例中,提供一种抗GPC3 caTCR,其包括a) 抗原结合模块,所述抗原结合模块包括特异性识别GPC3 (例如nGPC3及/或sGPC3) 的抗体部分,所述抗体部分包括:i) 氨基酸序列为SEQ ID NO:338-357中的任一者的 V_H ,及ii) 氨基酸序列为SEQ ID NO:389-408中的任一者的 V_L ;及b) T细胞受体模块 (TCRM),所述T细胞受体模块包括含有来源于天然存在的TCR (例如 $\alpha\beta$ TCR或 $\gamma\delta$ TCR) 的跨膜域之一的第一TCR跨膜域 (TCR-TM) 的第一TCR域 (TCRD) 及含有来源于天然存在的TCR (例如 $\alpha\beta$ TCR或 $\gamma\delta$ TCR) 的另一跨膜域的第二TCR-TM的第二TCRD,其中所述TCRM促进至少一种TCR相关信号传导分子 (例如CD3 $\delta\epsilon$ 、CD3 $\gamma\epsilon$ 及/或 $\zeta\zeta$) 的募集,且其中所述抗体部分连接到第一及/或第二TCRD。在一些实施例中,提供一种抗GPC3 caTCR,其包括a) 抗原结合模块,所述抗原结合模块包括特异性识别 (例如nGPC3及/

或sGPC3)的抗体部分,所述抗体部分包括氨基酸序列为SEQ ID NO:338-357中任一者的V_H的HC-CDR,及氨基酸序列为SEQ ID NO:389-408中任一者的V_L的LC-CDR;及b) T细胞受体模块(TCRM),所述T细胞受体模块包括含有来源于天然存在的TCR(例如 $\alpha\beta$ TCR或 $\gamma\delta$ TCR)的跨膜域之一的第一TCR跨膜域(TCR-TM)的第一TCR域(TCRD)及含有来源于天然存在的TCR(例如 $\alpha\beta$ TCR或 $\gamma\delta$ TCR)的另一跨膜域的第二TCR-TM的第二TCRD,其中所述TCRM促进至少一种TCR相关信号传导分子(例如CD3 $\delta\epsilon$ 、CD3 $\gamma\epsilon$ 及/或 $\zeta\zeta$)的募集,且其中所述抗体部分连接到第一及/或第二TCRD。在一些实施例中,提供一种抗GPC3 caTCR,其包括a) 抗原结合模块,所述抗原结合模块包括与本文所述的任一种抗GPC3构筑体竞争结合到GPC3(例如nGPC3和/或sGPC3)的抗GPC3抗体部分;及b) T细胞受体模块(TCRM),所述T细胞受体模块包括含有来源于天然存在的TCR(例如 $\alpha\beta$ TCR或 $\gamma\delta$ TCR)的跨膜域之一的第一TCR跨膜域(TCR-TM)的第一TCR域(TCRD)及含有来源于天然存在的TCR(例如 $\alpha\beta$ TCR或 $\gamma\delta$ TCR)的另一跨膜域的第二TCR-TM的第二TCRD,其中所述TCRM促进至少一种TCR相关信号传导分子(例如CD3 $\delta\epsilon$ 、CD3 $\gamma\epsilon$ 及/或 $\zeta\zeta$)的募集,且其中所述抗体部分连接到第一及/或第二TCRD。在一些实施例中,提供一种抗GPC3 caTCR,其包括a) 抗原结合模块,所述抗原结合模块包括与本文所述的任一种抗GPC3构筑体竞争性地特异性结合到相同或基本上相同GPC3抗原决定基的抗GPC3抗体部分,及b) T细胞受体模块(TCRM),所述T细胞受体模块包括含有来源于天然存在的TCR(例如 $\alpha\beta$ TCR或 $\gamma\delta$ TCR)的跨膜域之一的第一TCR跨膜域(TCR-TM)的第一TCR域(TCRD)及含有来源于天然存在的TCR(例如 $\alpha\beta$ TCR或 $\gamma\delta$ TCR)的另一跨膜域的第二TCR-TM的第二TCRD,其中所述TCRM促进至少一种TCR相关信号传导分子(例如CD3 $\delta\epsilon$ 、CD3 $\gamma\epsilon$ 及/或 $\zeta\zeta$)的募集且其中所述抗体部分连接到第一及/或第二TCRD。在一些实施例中,提供一种抗GPC3 caTCR,其包括:a) 第一多肽链,所述第一多肽链包括含有氨基酸序列为SEQ ID NO:338-357中的任一者的V_H的第一抗原结合域及C_H1抗体域及含有第一TCR亚单元的第一跨膜域的第一T细胞受体域(TCRD);及b) 第二多肽链,所述第二多肽链包括含有氨基酸序列为SEQ ID NO:389-408中的任一者的V_L的第二抗原结合域及C_L抗体域及包括第二TCR亚单元的第二跨膜域的第二TCRD,其中第一抗原结合域的V_H及C_H1域与第二抗原结合域的V_L及C_L域形成特异性结合到GPC3(例如nGPC3及/或sGPC3)的抗原结合模块,且其中第一TCRD与第二TCRD形成能够募集至少一种TCR相关信号传导模块的T细胞受体模块(TCRM)。在一些实施例中,抗原结合模块包括位于C_H1域中的残基与C_L域中的残基之间的二硫键。在一些实施例中,提供一种抗GPC3caTCR,其包括:a) 第一多肽链,所述第一多肽链包括含有氨基酸序列为SEQ ID NO:338-357中的任一者的V_H抗体域的第一抗原结合域及含有第一TCR亚单元的第一跨膜域的第一TCRD;及b) 第二多肽链,所述第二多肽链包括含有氨基酸序列为SEQ ID NO:389-408中的任一者的V_L抗体域的第二抗原结合域及含有第二TCR亚单元的第二跨膜域的第二TCRD,其中第一抗原结合域的V_H域与第二抗原结合域的V_L域形成特异性结合到GPC3(例如nGPC3及/或sGPC3)的抗原结合模块,其中第一TCRD与第二TCRD形成能够募集至少一种TCR相关信号传导模块的T细胞受体模块(TCRM)。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分特异性识别与细胞表面结合的GPC3。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分对与细胞表面结合的GPC3的结合亲和力高于对可溶性GPC3的结合亲和力。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分以高结合亲和力特异性识别与细胞表面结合的GPC3且以低结合亲和力结合到可溶性GPC3。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分特异性识别可溶性GPC3。在一些实施例中,抗sGPC3抗体部分对可溶性GPC3的结合亲和力高

于对与细胞表面结合的GPC3的结合亲和力。在一些实施例中,抗sGPC3抗体部分特异性识别氨基酸序列SEQ ID NO:461内的抗原决定基。在一些实施例中,抗sGPC3抗体部分特异性识别SEQ ID NO:460的氨基酸510-560内的抗原决定基(SEQ ID NO:467)。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分特异性识别与细胞表面结合的GPC3与可溶性GPC3。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分为Fab或Fab'。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分为scFv。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分与靶标GPC3(例如nGPC3及/或sGPC3)之间结合的 K_d 为约 10^{-7} M到约 10^{-13} M(例如约 10^{-7} M到约 10^{-13} M、约 10^{-9} M到约 10^{-13} M,或约 10^{-10} M到约 10^{-12} M)。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分与非靶标之间结合的 K_d 可为抗GPC3抗体部分与靶标GPC3之间结合的 K_d 的至少约10倍(例如至少约 10 、 10^2 、 10^3 、 10^4 、 10^5 、 10^6 或 10^7 倍)。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分与非靶标之间结合的 K_d 为约 10^{-1} M到约 10^{-6} M(例如约 10^{-1} M到约 10^{-6} M、约 10^{-1} M到约 10^{-5} M,或约 10^{-2} M到约 10^{-4} M)。在一些实施例中,GPC3表达于选自自由以下组成的群组的细胞的表面上:HepG2、Hep3B、Huh7、JHH-7及293。在一些实施例中,GPC3表达于癌细胞(例如肝癌细胞,例如HCC)的表面上。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分为人类的、人类化的、嵌合的或合成的。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分连接到第一及/或第二TCRD的N端。在一些实施例中,天然存在的第一TCR为 γ/δ TCR。在一些实施例中,天然存在的第一TCR为 α/β TCR。在一些实施例中,TCR-TM中的至少一者为非天然存在的。在一些实施例中,第一及第二TCR-TM为非天然存在的。在一些实施例中,第一TCR-TM相较于衍生其的跨膜域包括最多5(例如1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代且/或第二TCR-TM相较于衍生其的跨膜域包括最多5(例如1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代。在一些实施例中,TCRM包括来源于一或多种TCR的跨膜域的跨膜模块(TCR-TM),例如 $\alpha\beta$ 及/或 $\gamma\delta$ TCR,且任选地进一步包括TCR的连接肽或其片段及/或一或多种TCR胞内域或其片段中的一者或两者。在一些实施例中,TCRM包括两条多肽链,各多肽链从氨基末端到羧基末端包括连接肽、跨膜域及任选地存在的TCR胞内域。在一些实施例中,抗GPC3 caTCR可以包括第一多肽链及第二多肽链,其中第一及第二多肽链一起形成抗原结合模块及TCRM。在一些实施例中,第一及第二多肽链为分开的多肽链,且caTCR为多聚体,例如二聚体。在一些实施例中,第一与第二多肽链共价连接,例如通过肽键或通过另一种化学键(例如二硫键)连接。在一些实施例中,第一多肽链与第二多肽链通过至少一个二硫键连接。在一些实施例中,caTCR进一步包括一或多个T细胞协同刺激信号传导序列。一或多个协同刺激信号传导序列可以个别地为协同刺激分子的胞内域的全部或一部分,包含例如CD27、CD28、4-1BB(CD137)、OX40、CD30、CD40、ICOS、淋巴细胞功能相关抗原-1(LFA-1)、CD2、CD7、LIGHT、NKG2C、B7-H3、特异性结合CD83的配体,及其类似物。在一些实施例中,一或多个协同刺激信号传导序列位于第一TCR-TM与第一TCR胞内域之间及/或第二TCR-TM与第二TCR胞内域之间。在一些实施例中,一或多个协同刺激信号传导序列位于第一TCRD及/或第二TCRD的羧基端。在一些实施例中,caTCR缺乏T细胞协同刺激信号传导序列。在一些实施例中,caTCR进一步包括稳定模块,所述稳定模块包括第一稳定域及第二稳定域,其中第一及第二稳定域彼此具有使所述caTCR稳定的结合亲和力。在一些实施例中,稳定模块位于抗原结合模块与TCRM之间。在一些实施例中,稳定模块包括含有 C_H1 抗体域或其变异体的第一稳定域及含有 C_L 抗体域或其变异体的第二稳定域。在一些实施例中,caTCR进一步包括位于任何两个caTCR模块或域之间的间隔模块。在一些实施例中,TCRM能够募集至少一种选自自由CD3 $\delta\epsilon$ 、CD3 $\gamma\epsilon$ 及 $\zeta\zeta$ 组成的群组的TCR相关信号传导分子。在一些实施例中,所述TCRM相较于

包括天然存在的T细胞受体跨膜域的TCRM,可以更增强至少一种TCR相关信号传导分子的募集。在一些实施例中,TCRM促进caTCR-CD3复合物形成。在一些实施例中,任何两个caTCR模块或域之间存在间隔子模块。在一些实施例中,抗GPC3 caTCR为杂多聚体,例如杂二聚体。举例来说,在一些实施例中,抗GPC3 caTCR为杂二聚体,其包括含有第一TCRD的第一多肽链及含有第二TCRD的第二多肽链,其中所述抗体部分连接到第一及/或第二多肽链。在一些实施例中,TCRM包括一或多个非天然存在的TCR域。在一些实施例中,TCR-TM包括氨基酸序列SEQ ID NO:495。在一些实施例中,TCR-TM包括氨基酸序列SEQ ID NO:496。

[0475] 本文还提供表达抗GPC3 caTCR的效应细胞(例如淋巴细胞,例如T细胞)。

[0476] 还提供一种产生表达抗GPC3 caTCR的效应细胞的方法,所述方法包括将含有编码抗GPC3 caTCR的核酸的载体引入效应细胞中。在一些实施例中,将载体引入效应细胞中包括通过载体转导效应细胞。在一些实施例中,将载体引入效应细胞中包括通过载体转染效应细胞。载体转导或转染到效应细胞中可使用所属领域中已知的任何方法进行。

[0477] 在一些实施例中,提供一种抗GPC3 caTCR效应细胞(例如淋巴细胞,例如T细胞),其包括可操作地连接到诱导型启动子的核酸序列,所述核酸序列编码本文所述的多特异性(例如双特异性)抗GPC3分子(例如抗GPC3×CD3双特异性T细胞接合体)。在一些实施例中,经由抗GPC3 caTCR传导信号后,多特异性(例如双特异性)抗GPC3分子(例如抗GPC3×CD3串联双scFv T细胞接合体)在抗GPC3 caTCR效应细胞中的表达为可诱导性的。在一些实施例中,编码多特异性(例如双特异性)抗GPC3分子(例如抗GPC3×CD3串联双scFv T细胞接合体)的核酸序列可操作地连接到源自NFAT的启动子。在一些实施例中,源自NFAT的启动子为源自NFAT的最小启动子。在一些实施例中,编码多特异性(例如双特异性)抗GPC3分子(例如抗GPC3×CD3串联双scFv T细胞接合体)的核酸序列可操作地连接到IL-2启动子。

[0478] 协同刺激嵌合受体(CSR)构筑体

[0479] 在一些实施例中,抗GPC3构筑体为一种协同刺激嵌合受体(CSR),其特异性结合到GPC3且能够刺激免疫细胞,其在靶标配体结合后,在所述免疫细胞的表面上受到功能表达。CSR包括提供配体结合特异性的配体结合模块、跨膜模块,及允许刺激免疫细胞的协同刺激免疫细胞信号传导模块。CSR缺乏功能性初始免疫细胞信号传导序列。在一些实施例中,CSR缺乏任何初始免疫细胞信号传导序列。在一些实施例中,CSR包括含有配体结合模块、跨膜模块及协同刺激信号传导模块的单一多肽链。在一些实施例中,CSR包括第一多肽链及第二多肽链,其中所述第一与第二多肽链一起形成配体结合模块、跨膜模块及协同刺激信号传导模块。在一些实施例中,第一及第二多肽链为分开的多肽链,且CSR为多聚体,例如二聚体。在一些实施例中,第一与第二多肽链共价连接,例如通过肽键或通过另一种化学键(例如二硫键)连接。在一些实施例中,第一多肽链与第二多肽链通过至少一个二硫键连接。在一些实施例中,CSR在caTCR加CSR免疫细胞中的表达为可诱导性的。在一些实施例中,经由caTCR传导信号后,CSR在caTCR加CSR免疫细胞中的表达为可诱导性的。

[0480] 在一些实施例中,提供一种特异性结合到GPC3的CSR,所述CSR包括a) scFv,所述scFv包括氨基酸序列为SEQ ID NO:309的VH域及氨基酸序列为SEQ ID NO:360的VL域;及b) 包括氨基酸序列SEQ ID NO:530、基本上由所述序列组成或由所述序列组成的CD28片段。在一些实施例中,scFv包括氨基酸序列SEQ ID NO:441、基本上由所述序列组成或由所述序列组成。在一些实施例中,CSR从氨基末端到羧基末端包括scFv、具有氨基酸序列AAA的肽连接

子及CD28片段。在一些实施例中,CSR包括氨基酸序列SEQ ID NO:530、基本上由所述序列组成或由所述序列组成。

[0481] 在一些实施例中,提供一种包括核酸的免疫细胞(例如T细胞),所述核酸编码caTCR(例如特异性结合到AFP/MHC I类分子(例如AFP158/HLA-A02)的caTCR)及根据本文所述的任一种CSR的抗GPC3 CSR,其中caTCR及CSR由核酸表达且定位于免疫细胞表面。在一些实施例中,所述核酸包括编码caTCR的第一caTCR多肽链的第一caTCR核酸序列、编码caTCR的第二caTCR多肽链的第二caTCR核酸序列,及编码CSR的CSR多肽链的CSR核酸序列。在一些实施例中,第一及第二caTCR核酸序列及CSR核酸序列各自包括于不同载体中。在一些实施例中,核酸序列中的一些或全部包括于同一载体中。载体可选自由例如哺乳动物表达载体及病毒载体(例如来源于逆转录病毒、腺病毒、腺相关病毒、疱疹病毒及慢病毒的那些载体)组成的群组。在一些实施例中,将一或多种载体整合于免疫细胞的宿主基因组中。在一些实施例中,第一及第二caTCR核酸序列及CSR核酸序列各自处于不同启动子的控制下。在一些实施例中,启动子中的一些或全部具有相同序列。在一些实施例中,启动子中的一些或全部具有不同序列。在一些实施例中,核酸序列中的一些或全部处于单一启动子的控制下。在一些实施例中,启动子中的一些或全部为可诱导性的。在一些实施例中,免疫细胞选自自由以下组成的群组:细胞毒性T细胞、辅助T细胞、自然杀手T细胞及抑制T细胞。

[0482] 免疫结合物

[0483] 在一些实施例中,抗GPC3构筑体(例如经分离的抗GPC3构筑体)包括免疫结合物,所述免疫结合物包括连接到效应分子的根据本文所述的任一种抗GPC3抗体部分的抗GPC3抗体部分(在本文中也称为“抗GPC3免疫结合物”)。在一些实施例中,效应分子为治疗剂,例如药物、毒素、放射性同位素、蛋白质、肽、碳水化合物、脂质或核酸。在一些实施例中,效应分子为癌症治疗剂,其具有细胞毒性、细胞抑制性或以其它方式提供一些治疗益处。在一些实施例中,根据本发明使用的治疗剂可以具有与调节免疫系统及/或增强T细胞介导的细胞毒性有关的生物活性。在一些实施例中,效应分子为标签,其可以直接或间接地产生可检测信号。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分特异性识别与细胞表面结合的GPC3。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分对与细胞表面结合的GPC3的结合亲和力高于对可溶性GPC3的结合亲和力。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分以高结合亲和力特异性识别与细胞表面结合的GPC3且以低结合亲和力结合到可溶性GPC3。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分特异性识别可溶性GPC3。在一些实施例中,抗sGPC3抗体部分对可溶性GPC3的结合亲和力高于对与细胞表面结合的GPC3的结合亲和力。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分特异性识别与细胞表面结合的GPC3与可溶性GPC3。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分为全长抗体、Fab、Fab'、F(ab')₂、Fv或scFv。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分为嵌合的、人类的、部分人类化的、完全人类化的或半合成的。

[0484] 在一些实施例中,提供包括抗GPC3抗体部分及治疗剂的抗GPC3免疫结合物(在本文中也称为“抗体-药物结合物”或“ADC”)。在一些实施例中,治疗剂为毒素,所述毒素具有细胞毒性、细胞抑制性或以其它方式阻止或降低靶细胞分裂能力。在癌症治疗中利用ADC局部递送细胞毒性剂或细胞抑制剂(即药物)杀死或抑制肿瘤细胞(Syrigos及Epenetos, *Anticancer Research* 19:605-614(1999); Niculescu-Duvaz及Springer, *Adv.Drg.Del.Rev.* 26:151-172(1997); 美国专利第4,975,278号)允许药物部分靶向递送到

靶细胞及在其中发生的胞内积聚,其中这些未结合治疗剂的全身性投与可能对正常细胞以及设法排除的靶细胞产生不可接受的毒性程度(Baldwin等人,Lancet(1986年3月15日):603-605(1986);Thorpe,(1985)“癌症治疗中细胞毒性剂的抗体载体的综述(Antibody Carriers Of Cytotoxic Agents In Cancer Therapy:A Review)”,于Monoclonal Antibodies'84:BiologicalAnd ClinicalApplications,A.Pinchera等人(编),第475-506页)。借此寻求毒性最小的最大功效。

[0485] 抗GPC3免疫结合物中使用的治疗剂包含例如柔红霉素(daunomycin)、多柔比星(doxorubicin)、甲氨喋呤(methotrexate)及长春地辛(vindesine)(Rowland等人,Cancer Immunol.Immunother.21:183-187(1986))。抗GPC3免疫结合物中使用的毒素包含细菌毒素,例如白喉毒素(diphtheria toxin);植物毒素,例如蓖麻毒素(ricin);小分子毒素,例如格尔德霉素(geldanamycin)(Mandler等人,J.Nat.Cancer Inst.92(19):1573-1581(2000);Mandler等人,Bioorganic&Med.Chem.Letters 10:1025-1028(2000);Mandler等人,Bioconjugate Chem.13:786-791(2002))、类美登素(maytansinoids)(EP 1391213;Liu等人,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 93:8618-8623(1996))及卡奇霉素(calicheamicin)(Lode等人,Cancer Res.58:2928(1998);Hinman等人,Cancer Res.53:3336-3342(1993))。毒素可以通过包含微管蛋白结合、DNA结合或拓扑异构酶抑制的机制发挥其细胞毒性及细胞抑制效应。一些细胞毒性药物当与较大抗体或蛋白质受体配体结合时,倾向于为非活性的或弱活性的。

[0486] 可以使用的酶活性毒素及其片段包含例如白喉A链、白喉毒素的非结合活性片段、外毒素A链(来自绿脓假单胞菌)、蓖麻毒素A链、相思子毒素A链(abrin A chain)、蒴莲根毒素A链(modeccin A chain)、 α -帚曲菌素(α -sarcin)、油桐蛋白(Aleurites fordii protein)、康乃馨蛋白(dianthin protein)、美洲商陆(Phytolacca americana)蛋白(PAPI、PAPII及PAP-S)、苦瓜抑制剂、麻疯树毒蛋白(curcin)、巴豆毒素(croton)、肥皂草(saponaire officinalis)抑制剂、白树素(gelonin)、有丝分裂素、局限曲菌素(restrictocin)、酚霉素(phenomycin)、伊诺霉素(enomycin)及单端孢霉烯(tricothecenes)。参见例如1993年10月28日公开的WO 93/21232。

[0487] 在一些实施例中,抗GPC3免疫结合物包括抗GPC3抗体部分及一或多种小分子毒素,例如卡奇霉素、类美登素、海兔毒素(dolastatin)、奥瑞他汀(aurostatin)、新月毒素(trichothecene)及CC1065,及具有毒素活性的这些毒素的衍生物,其也涵盖于本文中。

[0488] 在一些实施例中,提供包括具有胞内活性的治疗剂的抗GPC3免疫结合物。在一些实施例中,抗GPC3免疫结合物被内化且治疗剂为阻断细胞中的蛋白质合成、借此引起细胞死亡的细胞毒素。在一些实施例中,治疗剂为包括具有核糖体不活化活性的多肽的细胞毒素,包含例如白树素、波甘宁(bouganin)、皂草素(saporin)、蓖麻毒素、蓖麻毒素A链、榄香胶素、白喉毒素、局限曲菌素、绿脓杆菌外毒素A及其变异体。在一些实施例中,当治疗剂为包括具有核糖体不活化活性的多肽的细胞毒素时,抗GPC3免疫结合物在结合到靶细胞后必须被内化以使蛋白质对细胞具有细胞毒性。

[0489] 在一些实施例中,提供一种抗GPC3免疫结合物,其包括用于断裂DNA的治疗剂。在一些实施例中,用于断裂DNA的治疗剂例如选自以下组成的群组:烯二炔(例如卡奇霉素及埃斯培拉霉素(esperamicin))及非烯二炔小分子药剂(例如博莱霉素(bleomycin)、甲锭

丙基-EDTA-Fe(II))。根据本申请案适用的其它癌症治疗剂包含(但不限于)道诺霉素、多柔比星、偏端霉素A(distamycin A)、顺铂、丝裂霉素C、海鞘素(ecteinascidins)、倍癌霉素(duocarmycin)/CC-1065,及博莱霉素/派莱霉素(pepleomycin)。

[0490] 本发明另外涵盖抗GPC3抗体部分与具有核分解活性的化合物(例如核糖核酸酶或DNA核酸内切酶,例如脱氧核糖核酸酶DNA酶)之间所形成的抗GPC3免疫结合物。

[0491] 在一些实施例中,抗GPC3免疫结合物包括用于分裂微管蛋白的药剂。这类药剂可包含例如根瘤菌素/美登素(rhizoxin/maytansine)、太平洋紫杉醇(paclitaxel)、长春新碱(vincristine)及长春碱(vinblastine)、秋水仙碱(colchicine)、奥瑞他汀海兔毒素10MMAE(auristatin dolastatin 10MMAE)及派罗昔A(peloruside A)。

[0492] 在一些实施例中,抗GPC3免疫结合物包括烷基化剂,包含例如Asaley NSC 167780、AZQ NSC 182986、BCNU NSC 409962、白消安(Busulfan)NSC 750、羧基邻苯二甲酸铂NSC 271674、CBDCA NSC 241240、CCNU NSC 79037、CHIP NSC 256927、苯丁酸氮芥NSC 3088、氯脲菌素(chlorozotocin)NSC 178248、顺铂NSC 119875、氯乙砒(clomesone)NSC 338947、氰基(N-吗啉基)多柔比星NSC 357704、塞迪逊(cyclodisone)NSC 348948、卫康醇(dianhydrogalactitol)NSC 132313、氟多潘(fluorodopan)NSC 73754、海普法姆(hepsulfam)NSC 329680、羟胺硫蒽酮(hycanthone)NSC 142982、美法仑(melphalan)NSC 8806、甲基CCNU NSC 95441、丝裂霉素C NSC 26980、米托唑酰胺(米托唑酰胺)NSC 353451、氮芥NSC 762、PCNU NSC 95466、哌嗪NSC 344007、哌嗪二酮NSC 135758、哌泊溴烷(pipobroman)NSC 25154、泊非罗霉素(porfiromycin)NSC 56410、螺乙内酰脲氮芥(spirohydantoin mustard)NSC 172112、替罗昔隆(teroxirone)NSC 296934、四铂NSC 363812、噻替派(thio-tepa)NSC 6396、三仲乙基三聚氰胺(triethylenemelamine)NSC 9706、尿嘧啶氮芥NSC 34462及Yoshi-864 NSC 102627。

[0493] 在一些实施例中,本申请案的抗GPC3免疫结合物中的癌症治疗剂部分可以包括抗有丝分裂剂,包含(但不限于)别秋水仙碱(allocolchicine)NSC 406042、软海绵素B(Halichondrin B)NSC 609395、秋水仙碱NSC 757、秋水仙碱衍生物NSC 33410、海兔毒素10NSC 376128(NG-奥瑞他汀衍生物)、美登素NSC 153858、根瘤菌素NSC 332598、紫杉醇NSC 125973、紫杉醇衍生物NSC 608832、硫代秋水仙碱NSC 361792、三苯甲基半胱氨酸NSC 83265、硫酸长春碱NSC 49842及硫酸长春新碱NSC 67574。

[0494] 在一些实施例中,抗GPC3免疫结合物包括拓扑异构酶I抑制剂,包含(但不限于)喜树碱NSC 94600、喜树碱Na盐NSC 100880、氨基喜树碱NSC 603071、喜树碱衍生物NSC 95382、喜树碱衍生物NSC 107124、喜树碱衍生物NSC 643833、喜树碱衍生物NSC 629971、喜树碱衍生物NSC 295500、喜树碱衍生物NSC 249910、喜树碱衍生物NSC 606985、喜树碱衍生物NSC 374028、喜树碱衍生物NSC 176323、喜树碱衍生物NSC 295501、喜树碱衍生物NSC 606172、喜树碱衍生物NSC 606173、喜树碱衍生物NSC 610458、喜树碱衍生物NSC 618939、喜树碱衍生物NSC 610457、喜树碱衍生物NSC 610459、喜树碱衍生物NSC 606499、喜树碱衍生物NSC 610456、喜树碱衍生物NSC 364830、喜树碱衍生物NSC 606497及吗啉基阿霉素NSC 354646。

[0495] 在一些实施例中,抗GPC3免疫结合物包括拓扑异构酶II抑制剂,包含(但不限于)多柔比星NSC 123127、胺蒽非特(amonafide)NSC 308847、m-AMSA NSC 249992、蒽吡唑衍生

物NSC 355644、派拉瑞丁(pyrazoloacridine)NSC 366140、比山群(bisantrene)HCL NSC 337766、道诺霉素NSC 82151、脱氧多柔比星NSC 267469、米托蒽醌NSC 301739、美诺立尔(menogaril)NSC 269148、N,N-二苯甲基柔红霉素NSC 268242、氧杂蒽唑(oxanthrazole)NSC 349174、柔红霉素苯腈(rubidazone)NSC 164011、VM-26NSC 122819及VP-16NSC 141540。

[0496] 在一些实施例中,抗GPC3免疫结合物包括RNA或DNA抗代谢物,包含(但不限于)L-丙氨酸(L-alanosine)NSC 153353、5-氮杂胞苷NSC 102816、5-氟尿嘧啶NSC 19893、阿西维辛(acivicin)NSC 163501、氨基喋呤衍生物NSC 132483、氨基喋呤衍生物NSC 184692、氨基喋呤衍生物NSC 134033、抗叶酸剂NSC 633713、抗叶酸剂NSC 623017、贝氏(Baker's)可溶抗叶酸剂NSC 139105、二氯烯丙基指甲花醌(dichlorallyllawsone)NSC 126771、布喹那(brequinar)NSC 368390、替加氟(ftorafur)(前药)NSC 148958、5,6-二氢-5-氮杂胞苷NSC 264880、甲氨喋呤NSC 740、甲氨喋呤衍生物NSC 174121、N-(膦酰乙酰基)-L-天冬氨酸(PALA)NSC 224131、吡唑呋喃菌素(pyrazofurin)NSC 143095、曲美沙特(trimetrexate)NSC 352122、3-HP NSC 95678、2'-脱氧-5-氟尿苷NSC 27640、5-HP NSC 107392、 α -TGDR NSC 71851、甘氨酸阿非迪霉素(aphidicolin glycinate)NSC 303812、阿糖胞苷NSC 63878、5-氮杂-2'-脱氧胞苷NSC 127716、 β -TGDR NSC 71261、环胞苷NSC 145668、胍唑(guanazole)NSC 1895、羟基脲NSC 32065、肌苷乙醇醛NSC 118994、麦克菌素I1(macbecinI1)NSC 330500、吡唑并咪唑NSC 51143、硫鸟嘌呤NSC 752及硫代嘌呤NSC 755。

[0497] 在一些实施例中,抗GPC3免疫结合物包括高放射性原子。多种放射性同位素可利用于产生放射性结合的抗体。实例包含 ^{211}At 、 ^{131}I 、 ^{125}I 、 ^{90}Y 、 ^{186}Re 、 ^{188}Re 、 ^{153}Sm 、 ^{212}Bi 、 ^{32}P 、 ^{212}Pb 及Lu的放射性同位素。

[0498] 在一些实施例中,抗GPC3抗体部分可以与“受体”(例如抗生蛋白链菌素)结合,以用于肿瘤预靶向,其中将抗体-受体结合物投与患者,随后使用清除剂将未结合的结合物从循环中去除,且接着投与与细胞毒性剂(例如放射性核苷酸)结合的“配体”(例如抗生素蛋白)。

[0499] 在一些实施例中,抗GPC3免疫结合物可以包括与前药活化酶结合的抗GPC3抗体部分。在一些这类实施例中,前药活化酶使前药(例如肽基化学治疗剂,参见W0 81/01145)转化为活性药物,例如抗癌药物。在一些实施例中,这类抗GPC3免疫结合物适用于抗体依赖性酶介导的前药疗法(“ADEPT”)。可以与抗体结合的酶包含(但不限于)碱性磷酸酶,其适用于将含磷酸酯前药转化成游离药物;芳基硫酸酯酶,其适用于将含硫酸酯前药转化成游离药物;胞嘧啶脱胺酶,其适用于将无毒5-氟胞嘧啶转化成抗癌药物5-氟尿嘧啶;蛋白酶,例如沙雷菌属(serratia)蛋白酶、嗜热菌蛋白酶、枯草杆菌蛋白酶、羧基肽酶及组织蛋白酶(例如组织蛋白酶B及L),其适用于将含肽前药转化成游离药物;D-丙氨酰基羧基肽酶,其适用于转化含有D-氨基酸取代基的前药;碳水化合物裂解酶,例如 β -半乳糖苷酶及神经氨酸酶,其适用于将糖基化前药转化成游离药物; β -内酰胺酶,其适用于将 β -内酰胺衍生化药物转化成游离药物;以及青霉素酰胺酶,例如青霉素V酰胺酶及青霉素G酰胺酶,其适用于将胺氮分别经苯氧基乙酰基或苯乙酰基衍生化的药物转化成游离药物。在一些实施例中,酶可通过所属领域中熟知的重组DNA技术与抗体部分共价结合。参见例如Neuberger等人,Nature 312:604-608(1984)。

[0500] 在一些实施例中,抗GPC3免疫结合物的治疗部分可为核酸。可以使用的核酸包含(但不限于)反义RNA、基因或其它聚核苷酸,包含核酸类似物,例如硫鸟嘌呤及硫代嘌呤。

[0501] 本申请案另外提供包括抗GPC3免疫结合物,其包括连接到效应分子的抗GPC3抗体部分,其中所述效应分子为可以间接或直接地产生可检测信号的标记。这些抗GPC3免疫结合物可用于研究或诊断应用,例如体内癌症检测。标记优选能够直接或间接地产生可检测信号。举例来说,标记可为不透射线的或为放射性同位素,例如³H、铜-225、砷-211、铋-212、碳-14、铬-51、氯-36、钴-57、钴-58、铜-67、镅-152、镓-67、氢-3、碘-123、碘-124、碘-125、碘-131、铟-111、铁-59、铅-212、镭-177、磷-32、镭-223、镭-224、铈-186、铈-188、硒-75、硫-35、铈-99m、钍-227、钇-90或锆-89;荧光(荧光团)或化学发光(发色团)化合物,例如荧光异硫氰酸盐、若丹明、荧光素、Alexa 350、Alexa 430、AMCA、BODIPY 630/650、BODIPY 650/665、BODIPY-F1、BODIPY-R6G、BODIPY-TMR、BODIPY-TRX、级联蓝、Cy3、Cy5、6-FAM、HEX、6-JOE、俄勒冈绿(Oregon Green) 488、俄勒冈绿500、俄勒冈绿514、太平洋蓝、REG、肾造影剂(Renographin)、ROX、TAMRA、TET、四甲基若丹明及/或德克萨斯红(Texas Red);酶,例如碱性磷酸酶、 β -半乳糖苷酶或辣根过氧化物酶;成像剂;或金属离子,例如铬(III)、锰(II)、铁(III)、铁(II)、钴(II)、镍(II)、铜(II)、钆(III)、钐(III)、铈(III)、钕(III)、钐(III)、钐(II)、铈(III)、镨(III)、钕(III)、钐(III)、镧(III)、金(III)、铅(II)及/或铋(III)。在一些实施例中,标记为闪烁扫描术研究用的放射性原子,例如⁹⁹Tc或¹²³I,或核磁共振(NMR)成像(也称为磁共振成像,MRI)用的自旋标记,如锆-89、碘-123、碘-131、铟-111、氟-19、碳-13、氮-15、氧-17、钆、锰或铁。锆-89可与各种金属螯合剂络合且与抗体结合,例如用于PET成像(WO 2011/056983)。

[0502] 在一些实施例中,可间接地检测抗GPC3免疫结合物。举例来说,对于抗GPC3免疫结合物具有特异性且含有可检测标记的二级抗体可以用于检测抗GPC3免疫结合物。

[0503] 在一些实施例中,提供一种抗GPC3免疫结合物,其包括:a) 特异性结合到与细胞表面结合的GPC3的抗GPC3抗体部分(例如,抗nGPC3抗体部分对与细胞表面结合的GPC3的结合亲和力高于对可溶性GPC3的结合亲和力,或抗nGPC3抗体部分以高结合亲和力特异性识别与细胞表面结合的GPC3且以低结合亲和力结合到可溶性GPC3);及b) 效应分子。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分特异性识别包括氨基酸序列SEQ ID NO:460的人类GPC3内的抗原决定基。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分特异性识别氨基酸序列SEQ ID NO:461内的抗原决定基。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分特异性识别SEQ ID NO:460的氨基酸25-580内的抗原决定基(SEQ ID NO:463)。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分特异性识别氨基酸序列SEQ ID NO:463内的抗原决定基。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分特异性识别GPC3的N端片段内的抗原决定基。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分特异性识别SEQ ID NO:460的氨基酸1-358内的抗原决定基(SEQ ID NO:468)。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分特异性识别氨基酸序列SEQ ID NO:464内的抗原决定基。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分特异性识别GPC3的C端片段内的抗原决定基。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分特异性识别SEQ ID NO:460的氨基酸359-560内的抗原决定基(SEQ ID NO:465)。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分特异性识别SEQ ID NO:460的氨基酸359-580内的抗原决定基(SEQ ID NO:466)。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分特异性识别缺乏硫酸肝素侧链的GPC3的C端片段内的抗原决定基。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分特异性识别SEQ ID NO:460的氨基酸510-560

内的抗原决定基(SEQ ID NO:467)。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分特异性识别跨越位于SEQ ID NO:460的氨基酸R³⁵⁸/S³⁵⁹的弗林裂解位点的抗原决定基。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分可以特异性结合到人类成熟全长GPC3(例如SEQ ID NO:460的氨基酸25-560或25-580),但不结合到人类GPC3的N端片段(例如SEQ ID NO:460的氨基酸25-358)或人类GPC3的C端片段(例如SEQ ID NO:460的氨基酸359-560或359-580)。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分特异性识别缺乏硫酸肝素侧链的GPC3的C端片段内的抗原决定基。在一些实施例中,提供一种抗GPC3免疫结合物,其包括:a)与本文所述的任一种抗GPC3构筑体竞争结合到nGPC3的抗nGPC3抗体部分(例如,抗nGPC3抗体部分对与细胞表面结合的GPC3的结合亲和力高于对可溶性GPC3的结合亲和力,或抗nGPC3抗体部分以高结合亲和力特异性识别与细胞表面结合的GPC3且以低结合亲和力结合到可溶性GPC3);及b)效应分子。在一些实施例中,提供一种抗GPC3免疫结合物,其包括a)与本文所述的任一种抗GPC3构筑体竞争性地特异性结合到相同或基本上相同nGPC3抗原决定基的抗nGPC3抗体部分(例如,抗nGPC3抗体部分对与细胞表面结合的GPC3的结合亲和力高于对可溶性GPC3的结合亲和力,或抗nGPC3抗体部分以高结合亲和力特异性识别与细胞表面结合的GPC3且以低结合亲和力结合到可溶性GPC3);及b)效应分子。在一些实施例中,GPC3表达于选自由以下组成的群组的细胞表面上:HepG2、Hep3B、Huh7、JHH-7及293。在一些实施例中,GPC3表达于癌细胞(例如肝癌细胞,例如HCC)的表面上。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分与nGPC3之间结合的K_d为约10⁻⁷M到约10⁻¹³M(例如约10⁻⁷M到约10⁻¹³M、约10⁻⁹M到约10⁻¹³M,或约10⁻¹⁰M到约10⁻¹²M)。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分与sGPC3之间结合的K_d可为抗nGPC3抗体部分与nGPC3之间结合的K_d的至少约10倍(例如至少约10、10²、10³、10⁴、10⁵、10⁶或10⁷倍)。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分与sGPC3之间结合的K_d为约10⁻¹M到约10⁻⁶M(例如约10⁻¹M到约10⁻⁶M、约10⁻¹M到约10⁻⁵M,或约10⁻²M到约10⁻⁴M)。在一些实施例中,效应分子共价连接到抗GPC3抗体部分。在一些实施例中,效应分子为选自由例如以下组成的群组的治疗剂:药物、毒素、放射性同位素、蛋白质、肽及核酸。在一些实施例中,效应分子为癌症治疗剂。在一些实施例中,癌症治疗剂为化学治疗剂。在一些实施例中,癌症治疗剂为选自由例如以下组成的群组的高放射性原子:²¹¹At、¹³¹I、¹²⁵I、⁹⁰Y、¹⁸⁶Re、¹⁸⁸Re、¹⁵³Sm、²¹²Bi、³²P及²¹²Pb。在一些实施例中,效应分子为可以直接或间接地产生可检测信号的标记。在一些实施例中,标记为选自由例如以下组成的群组的放射性同位素:³H、¹⁴C、³²P、³⁵S、¹²³I、¹²⁵I及¹³¹I。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分为全长抗体、Fab、Fab'、F(ab')₂、Fv或scFv。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分为Fab或Fab'。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分为scFv。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分为嵌合的、人类的、人类化的或半合成的。

[0504] 在一些实施例中,提供一种抗GPC3免疫结合物,其包括a)特异性结合到与细胞表面结合的GPC3的抗GPC3抗体部分,所述抗体部分包括i) V_H,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:1-31中的任一者的HC-CDR1或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体、氨基酸序列为SEQ ID NO:52-82中的任一者的HC-CDR2或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体,及氨基酸序列为SEQ ID NO:103-133中的任一者的HC-CDR3或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体;及ii) V_L,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:154-184中的任一者的LC-CDR1或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体、氨基酸序列为SEQ ID

NO:205-235中的任一者的LC-CDR2或包括最多约3(例如约1、2或3中的任一者)个氨基酸取代的其变异体,及氨基酸序列为SEQ ID NO:256-286中的任一者的LC-CDR3或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体;及b)效应分子。在一些实施例中,提供一种抗GPC3免疫结合物,其包括a)特异性结合到与细胞表面结合的GPC3的抗GPC3抗体部分,所述抗体部分包括:i) V_H ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:1-31中的任一者的HC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:52-82中的任一者的HC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:103-133中的任一者的HC-CDR3;及ii) V_L ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:154-184中的任一者的LC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:205-235中的任一者的LC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:256-286中的任一者的LC-CDR3;及b)效应分子。在一些实施例中,提供一种抗GPC3免疫结合物,其包括a)特异性结合到与细胞表面结合的GPC3的抗GPC3抗体部分,所述抗体部分包括:i)氨基酸序列为SEQ ID NO:307-337中的任一者的 V_H ,及ii)氨基酸序列为SEQ ID NO:358-388中的任一者的 V_L ;以及b)效应分子。在一些实施例中,提供一种抗GPC3免疫结合物,其包括a)特异性结合到与细胞表面结合的GPC3的抗GPC3抗体部分,所述抗体部分包括氨基酸序列为SEQ ID NO:307-337中任一者的 V_H 的HC-CDR,及氨基酸序列为SEQ ID NO:358-388中任一者的 V_L 的LC-CDR;以及b)效应分子。在一些实施例中,提供一种抗GPC3免疫结合物,其包括a)与本文所述的任一种抗GPC3构筑体竞争结合到nGPC3的抗nGPC3抗体部分;及b)效应分子。在一些实施例中,提供一种抗GPC3免疫结合物,其包括a)抗nGPC3抗体部分,所述抗体部分与本文所述的任一种抗GPC3构筑体竞争性地特异性结合到相同或基本上相同的nGPC3抗原决定基;及b)效应分子。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分与nGPC3之间结合的 K_d 为约 10^{-7} M到约 10^{-13} M(例如约 10^{-7} M到约 10^{-13} M、约 10^{-9} M到约 10^{-13} M,或约 10^{-10} M到约 10^{-12} M)。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分与sGPC3之间结合的 K_d 可为抗nGPC3抗体部分与nGPC3之间结合的 K_d 的至少约10倍(例如至少约 10 、 10^2 、 10^3 、 10^4 、 10^5 、 10^6 或 10^7 倍)。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分与sGPC3之间结合的 K_d 为约 10^{-1} M到约 10^{-6} M(例如约 10^{-1} M到约 10^{-6} M、约 10^{-1} M到约 10^{-5} M,或约 10^{-2} M到约 10^{-4} M)。在一些实施例中,效应分子共价连接到抗GPC3抗体部分。在一些实施例中,效应分子为选自例如以下组成的群组的治疗剂:药物、毒素、放射性同位素、蛋白质、肽及核酸。在一些实施例中,效应分子为癌症治疗剂。在一些实施例中,癌症治疗剂为化学治疗剂。在一些实施例中,癌症治疗剂为选自例如以下组成的高放射性原子: ^{211}At 、 ^{131}I 、 ^{125}I 、 ^{90}Y 、 ^{186}Re 、 ^{188}Re 、 ^{153}Sm 、 ^{212}Bi 、 ^{32}P 及 ^{212}Pb 。在一些实施例中,效应分子为可以直接或间接地产生可检测信号的标记。在一些实施例中,标记为选自例如以下组成的群组的放射性同位素: ^3H 、 ^{14}C 、 ^{32}P 、 ^{35}S 、 ^{123}I 、 ^{125}I 及 ^{131}I 。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分为全长抗体、Fab、Fab'、F(ab')₂、Fv或scFv。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分为Fab或Fab'。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分为scFv。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分为嵌合的、人类的、人类化的或半合成的。

[0505] 在一些实施例中,提供一种抗GPC3免疫结合物,其包括a)特异性结合到GPC3(例如nGPC3及/或sGPC3)的抗GPC3抗体部分,所述抗体部分包括:i) V_H ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:32-51中的任一者的HC-CDR1或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体、氨基酸序列为SEQ ID NO:83-102中的任一者的HC-CDR2或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体,及氨基酸序列为SEQ ID NO:134-153中的任一者的HC-CDR3或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取

代的其变异体;及ii)V_L,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:185-204中的任一者的LC-CDR1或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体、氨基酸序列为SEQ ID NO:236-255中的任一者的LC-CDR2或包括最多约3(例如约1、2或3中的任一者)个氨基酸取代的其变异体,及氨基酸序列为SEQ ID NO:287-306中的任一者的LC-CDR3或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体;及b)效应分子。在一些实施例中,提供一种抗GPC3免疫结合物,其包括a)特异性结合到GPC3(例如nGPC3及/或sGPC3)的抗GPC3抗体部分,所述抗体部分包括:i)V_H,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:32-51中的任一者的HC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:83-102中的任一者的HC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:134-153中的任一者的HC-CDR3;及ii)V_L,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:185-204中的任一者的LC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:236-255中的任一者的LC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:287-306中的任一者的LC-CDR3;以及b)效应分子。在一些实施例中,提供一种抗GPC3免疫结合物,其包括a)特异性结合到GPC3(例如nGPC3及/或sGPC3)的抗GPC3抗体部分,所述抗体部分包括:i)氨基酸序列为SEQ ID NO:338-357中的任一者的V_H;及ii)氨基酸序列为SEQ ID NO:389-408中的任一者的V_L;以及b)效应分子。在一些实施例中,提供一种抗GPC3免疫结合物,其包括a)特异性结合到GPC3(例如nGPC3及/或sGPC3)的抗GPC3抗体部分,所述抗体部分包括氨基酸序列为SEQ ID NO:338-357中任一者的V_H的HC-CDR,及氨基酸序列为SEQ ID NO:389-408中任一者的V_L的LC-CDR;以及b)效应分子。在一些实施例中,提供一种抗GPC3免疫结合物,其包括a)与本文所述的任一种抗GPC3构筑体竞争结合到GPC3(例如nGPC3及/或sGPC3)的抗GPC3抗体部分;及b)效应分子。在一些实施例中,提供一种抗GPC3免疫结合物,其包括a)抗GPC3抗体部分,所述抗体部分与本文所述的任一种抗GPC3构筑体竞争性地特异性结合到相同或基本上相同的GPC3抗原决定基;及b)效应分子。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分特异性识别与细胞表面结合的GPC3。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分对与细胞表面结合的GPC3的结合亲和力高于对可溶性GPC3的结合亲和力。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分以高结合亲和力特异性识别与细胞表面结合的GPC3且以低结合亲和力结合到可溶性GPC3。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分特异性识别可溶性GPC3。在一些实施例中,抗sGPC3抗体部分对可溶性GPC3的结合亲和力高于对与细胞表面结合的GPC3的结合亲和力。在一些实施例中,抗sGPC3抗体部分特异性识别氨基酸序列SEQ ID NO:461内的抗原决定基。在一些实施例中,抗sGPC3抗体部分特异性识别SEQ ID NO:460的氨基酸510-560内的抗原决定基(SEQ ID NO:467)。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分特异性识别与细胞表面结合的GPC3与可溶性GPC3。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分与靶标GPC3(例如nGPC3及/或sGPC3)之间结合的K_d为约10⁻⁷M到约10⁻¹³M(例如约10⁻⁷M到约10⁻¹³M、约10⁻⁹M到约10⁻¹³M,或约10⁻¹⁰M到约10⁻¹²M)。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分与非靶标之间结合的K_d可为抗GPC3抗体部分与靶标GPC3之间结合的K_d的至少约10倍(例如至少约10、10²、10³、10⁴、10⁵、10⁶或10⁷倍)。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分与非靶标之间结合的K_d为约10⁻¹M到约10⁻⁶M(例如约10⁻¹M到约10⁻⁶M、约10⁻¹M到约10⁻⁵M,或约10⁻²M到约10⁻⁴M)。在一些实施例中,效应分子共价连接到抗GPC3抗体部分。在一些实施例中,效应分子为选自例如以下组成的群组的治疗剂:药物、毒素、放射性同位素、蛋白质、肽及核酸。在一些实施例中,效应分子为癌症治疗剂。在一些实施例中,癌症治疗剂为化学治疗剂。在一些实施例中,癌症治疗剂为选自例如以下组成的群组的高放射性原子:²¹¹At、¹³¹I、¹²⁵I、⁹⁰Y、¹⁸⁶Re、¹⁸⁸Re、

^{153}Sm 、 ^{212}Bi 、 ^{32}P 及 ^{212}Pb 。在一些实施例中,效应分子为可以直接或间接地产生可检测信号的标记。在一些实施例中,标记为选自例如以下组成的群组的放射性同位素: ^3H 、 ^{14}C 、 ^{32}P 、 ^{35}S 、 ^{123}I 、 ^{125}I 及 ^{131}I 。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分为全长抗体、Fab、Fab'、F(ab')₂、Fv或scFv。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分为Fab或Fab'。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分为scFv。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分为嵌合的、人类的、人类化的或半合成的。

[0506] 核酸

[0507] 还涵盖编码抗GPC3构筑体(例如经分离的抗GPC3构筑体)或抗GPC3抗体部分的核酸分子。在一些实施例中,提供编码全长抗GPC3抗体的核酸(或一组核酸)。在一些实施例中,提供编码抗GPC3 scFv的核酸(或一组核酸)。在一些实施例中,提供编码抗GPC3 Fc融合蛋白的核酸(或一组核酸)。在一些实施例中,提供一种核酸(或一组核酸),其编码多特异性抗GPC3分子(例如多特异性抗GPC3抗体、双特异性抗GPC3抗体或双特异性T细胞接合体抗GPC3抗体)或其多肽部分。在一些实施例中,提供编码抗GPC3CAR的核酸(或一组核酸)。在一些实施例中,提供编码抗GPC3 caTCR的核酸(或一组核酸)。在一些实施例中,提供编码抗GPC3免疫结合物或其多肽部分的核酸(或一组核酸)。在一些实施例中,编码本文所述的抗GPC3构筑体的核酸(或一组核酸)可以进一步包括编码肽标签(例如蛋白质纯化标签,例如His标签、HA标签)的核酸序列。

[0508] 本文还涵盖包括抗GPC3构筑体的经分离的宿主细胞、编码抗GPC3构筑体的多肽组分的经分离的核酸,或包括编码本文所述的抗GPC3构筑体的多肽组分的核酸的载体。

[0509] 本申请案还包含这些核酸序列的变异体。举例来说,变异体包含与编码本申请案的抗GPC3构筑体(例如经分离的抗GPC3构筑体)或抗GPC3抗体部分的核酸序列在至少中等严格杂交条件下杂交的核苷酸序列。

[0510] 本发明还提供其中插有本发明的核酸的载体。

[0511] 简单概述来说,抗GPC3构筑体(例如抗GPC3 CAR、抗GPC3 caTCR)或其多肽部分表达编码所述抗GPC3构筑体或其多肽部分的天然或合成核酸可以如下实现:将核酸插入适当表达载体中,使得核酸可操作地连接到5'及3'调控元件,包含例如启动子(例如淋巴细胞特异性启动子)及3'非转译区(UTR)。载体可以适于在真核宿主细胞中复制及整合。典型的克隆及表达载体含有转录及转译终止子、起始序列及适用于调控所需核酸序列表达的启动子。

[0512] 使用标准基因递送方案,本发明的核酸还可用于核酸免疫接种及基因疗法。基因递送方法在所属领域中已知。参见例如美国专利第5,399,346号、第5,580,859号、第5,589,466号,其全文以引用的方式并入本文中。在一些实施例中,本发明提供一种基因疗法载体。

[0513] 核酸可以克隆到许多类型的载体中。举例来说,核酸可以克隆到载体中,包含(但不限于)质粒、噬菌粒、噬菌体衍生物、动物病毒及粘粒。备受关注的载体包含表达载体、复制载体、探针产生载体及测序载体。

[0514] 此外,表达载体可以病毒载体形式提供给细胞。病毒载体技术为所属领域中熟知的且描述于例如Sambrook等人(2001,Molecular Cloning:A Laboratory Manual,Cold Spring Harbor Laboratory,New York)及其它病毒学及分子生物学手册中。适用作载体的病毒包含(但不限于)逆转录病毒、腺病毒、腺相关病毒、疱疹病毒及慢病毒。一般来说,适合载体含有在至少一种生物体中起作用的复制起点、启动子序列、适宜的限制性核酸内切酶

位点,及一或多种可选标记物(参见例如WO 01/96584;WO 01/29058;及美国专利第6,326,193号)。

[0515] 已开发出多种基于病毒的系统用于将基因转移到哺乳动物细胞中。举例来说,逆转录病毒提供基因递送系统的适宜平台。所选基因可以插入载体中且使用所属领域中已知的技术封装于逆转录病毒颗粒中。接着可以分离出重组病毒且体内或体外递送到个体的细胞中。所属领域中已知多种逆转录病毒系统。在一些实施例中,使用腺病毒载体。多种腺病毒载体在所属领域中已知。在一些实施例中,使用慢病毒载体。来源于逆转录病毒(例如慢病毒)的载体为实现长期基因转移的适合工具,因为其允许转殖基因长期稳定整合且繁殖于子细胞中。慢病毒载体优于来源于致癌逆转录病毒(例如鼠类白血病病毒)的载体的额外优势在于其可以转导非增殖细胞,例如肝细胞。其还具有低免疫原性的额外优势。

[0516] 其它启动子元件(例如强化子)调控转录起始频率。典型地,这些元件定位于起始位点上游30-110bp区域中,但是多种启动子最近已展示含有同样位于起始位点下游的功能元件。启动子元件之间的间距通常为灵活的,使得当元件相对于彼此倒置或移动时保留启动子功能。在胸苷激酶(tk)启动子中,启动子元件之间的间距在活性开始下降之前可以增加至相隔50bp。

[0517] 适合启动子的一个实例为即刻早期巨细胞病毒(CMV)启动子序列。所述启动子序列为能够驱使与其可操作地连接的任何聚核苷酸序列高量表达的强组成型启动子序列。适合启动子的另一实例为延长因子-1 α (EF-1 α)。然而,还可使用其它组成型启动子序列,包含(但不限于)猴病毒40(SV40)早期启动子、小鼠乳腺肿瘤病毒(MMTV)、人类免疫缺乏病毒(HIV)长末端重复(LTR)启动子、MoMuLV启动子、禽类白血病病毒启动子、埃-巴二氏病毒即刻早期启动子、劳斯肉瘤病毒启动子(Rous sarcoma virus promoter),以及人类基因启动子,例如(但不限于)肌动蛋白启动子、肌凝蛋白启动子、血红素启动子及肌酸激酶启动子。此外,本发明应不限于使用组成型启动子。还涵盖诱导型启动子作为本发明的一部分。诱导型启动子的使用提供分子开关,所述分子开关能够在需要这类表达时打开其可操作地连接的聚核苷酸序列的表达或不需要表达时关闭表达。诱导型启动子的实例包含(但不限于)金属硫蛋白启动子、糖皮质激素启动子、孕酮启动子及四环素启动子。

[0518] 如上文所提及,在一些实施例中,多特异性(例如双特异性)抗GPC3分子(例如抗GPC3 $\times$ CD3串联双scFv T细胞接合体)的表达为可诱导性的。在一些实施例中,效应细胞(例如T细胞、CAR-T细胞、caTCR T细胞)包括编码多特异性(例如双特异性)抗GPC3分子(例如抗GPC3 $\times$ CD3双特异性T细胞接合体)的核酸序列,所述核酸序列可操作地连接到诱导型启动子,包含本文所述的任何诱导型启动子。在一些实施例中,经由效应细胞上的信号传导受体(例如TCR、CAR、caTCR)发生信号传导后,可诱导效应细胞(例如T细胞、CAR-T细胞、caTCR T细胞)表达多特异性(例如双特异性)抗GPC3分子(例如抗GPC3 $\times$ CD3串联双scFv T细胞接合体)。在一些实施例中,编码多特异性(例如双特异性)抗GPC3分子(例如抗GPC3 $\times$ CD3串联双scFv T细胞接合体)的核酸序列可操作地连接到源自NFAT的启动子。在一些实施例中,源自NFAT的启动子为源自NFAT的最小启动子。在一些实施例中,编码多特异性(例如双特异性)抗GPC3分子(例如抗GPC3 $\times$ CD3串联双scFv T细胞接合体)的核酸序列可操作地连接到IL-2启动子。

[0519] 诱导型启动子

[0520] 诱导型启动子的使用提供分子开关,所述分子开关能够在需要这类表达时打开其可操作地连接的聚核苷酸序列的表达或不需要表达时关闭表达。用于真核细胞中的示范性诱导型启动子系统包含(但不限于)激素调控元件(参见例如Mader,S.及White,J.H.(1993) *Proc.Natl.Acad.Sci.USA* 90:5603-5607)、合成配体调控元件(参见例如Spencer,D.M.等人,1993) *Science* 262:1019-1024)及电离辐射调控元件(参见例如Manome,Y.等人(1993) *Biochemistry* 32:10607-10613;Datta,R.等人(1992) *Proc.Natl.Acad.Sci.USA*89:1014-10153)。用于体外或体内哺乳动物系统中的其它示范性诱导型启动子系统评述于Gingrich等人(1998) *Annual Rev.Neurosci* 21:377-405中。在一些实施例中,用于表达多特异性(例如双特异性)抗GPC3分子的诱导型启动子系统为Tet系统。在一些实施例中,用于表达多特异性(例如双特异性)抗GPC3分子的诱导型启动子系统为来自大肠杆菌的lac抑制系统。在一些实施例中,用于表达多特异性(例如双特异性)抗GPC3分子的诱导型启动子系统为源自NFAT的启动子。

[0521] 用于本发明的示范性诱导型启动子系统为Tet系统。这类系统基于Gossen等人(1993)所述的Tet系统。在一个示范性实施例中,所关注的聚核苷酸处于包括一或多个Tet操纵子(TetO)位点的启动子的控制下。处于非活性状态时,Tet抑制子(TetR)将结合到TetO位点且抑制从启动子转录。处于活性状态时,例如在例如四环素(Tc)、无水四环素、多西环素(doxycycline;Dox)或其活性类似物的诱导剂存在下,诱导剂促使TetR从TetO释放,从而允许转录发生。多西环素为四环素抗生素家族的成员,化学名称为1-二甲氨基-2,4a,5,7,12-五羟基-11-甲基-4,6-二氧化代-1,4a,11,11a,12,12a-六氢并四苯-3-甲酰胺。

[0522] 在一个实施例中,TetR的密码子经优化以便表达于哺乳动物细胞中,例如鼠类或人类细胞。由于遗传密码的简并,因此大部分氨基酸由超过一个密码子编码,从而允许指定核酸的核苷酸序列存在相当大的变化,而核酸编码的氨基酸序列无任何改变。然而,许多生物体在密码子使用方面呈现差异,也称为“密码子偏差”(即,特定密码子的使用偏向于指定氨基酸)。密码子偏差常常与特定密码子的tRNA的主要种类的存在相关,这进而提高mRNA转译效率。因此,可以经由密码子优化来定制来源于特定生物体(例如原核生物)的编码序列,以改进在不同生物体(例如真核生物)中的表达。

[0523] Tet系统的其它特定变化形式包含以下“Tet关”及“Tet开”系统。在Tet关系统中,转录在Tc或Dox存在下为不活跃的。在这种系统中,四环素控制的转活化蛋白(tTA)调控靶核酸在四环素反应性启动子元件(TRE)的转录控制下的表达,所述转活化蛋白是由TetR与来自单纯疱疹病毒的VP16的强转活化域融合而组成。TRE是由TetO序列多联体与启动子(通常为来源于人类巨细胞病毒(hCMV)即刻早期启动子的最小启动子序列)融合而组成。在不存在Tc或Dox的情况下,tTA结合到TRE且活靶基因的转录。在Tc或Dox存在下,tTA不能结合到TRE,且靶基因的表达仍不活跃。

[0524] 反之,在Tet开系统中,转录在Tc或Dox存在下为活跃的。Tet开系统基于四环素控制的逆向转活化剂rtTA。如同tTA,rtTA为包括TetR抑制子及VP16转活化域的融合蛋白。然而,TetR DNA结合部分中的四个氨基酸变化使rtTA的结合特征改变,使得其在Dox存在下仅可识别靶标转殖基因的TRE中的tetO序列。因此,在Tet开系统中,TRE调控的靶基因的转录在Dox存在下仅受rtTA刺激。

[0525] 另一种诱导型启动子系统为来自大肠杆菌的lac抑制子系统(参见Brown等人,

Cell149:603-612(1987))。lac抑制子系统通过调控可操作地连接到包括lac操纵子(lacO)的启动子的所关注聚核苷酸的转录来起作用。lac抑制子(lacR)结合到LacO,从而防止所关注的聚核苷酸转录。所关注的聚核苷酸的表达由适合诱导剂诱导,例如异丙基- β -D-硫代吡喃半乳糖苷(IPTG)。

[0526] 用于本发明的另一示范性诱导型启动子系统为NFAT系统。NFAT转录因子家族为T细胞活化的重要调节因子。NFAT反应元件发现于例如IL-2启动子中(参见例如Durand,D.等人,Molec.Cell.Biol.8,1715-1724(1988);Clipstone,NA,Crabtree,GR.Nature.1992357(6380):695-7;Chmielewski,M.等人,Cancer research 71.17(2011):5697-5706;及Zhang,L.等人,Molecular therapy 19.4(2011):751-759)。

[0527] 为了评估多肽或其部分的表达,待引入细胞中的表达载体还可含有可选标记基因或报告基因或两者,以有利于从设法经由病毒载体转染或感染的细胞群中鉴别及选择表达细胞。在其它方面中,可选标记物可携带于单独的DNA段上且用于共转染程序。可选标记物与报告基因均可侧接适当的调控序列以实现在宿主细胞中的表达。适用的可选标记物包含例如耐抗生素基因,例如neo及其类似物。

[0528] 报告基因用于鉴别潜在经转染的细胞及评估调控序列功能性。一般来说,报告基因为不存在于接受者生物体或组织中或由接受者生物体或组织表达的基因,且所述基因编码表达通过一些容易检测的特性(例如酶促活性)显现的多肽。在DNA已引入接受者细胞中之后的适合时间分析报告基因的表达。适合的报告基因可以包含编码荧光素酶、 β -半乳糖苷酶、氯霉素乙酰基转移酶、分泌型碱性磷酸酶的基因或绿色荧光蛋白基因(例如Ui-Tel等人,2000FEBS Letters 479:79-82)。适合的表达系统已熟知且可使用已知技术制备或商业购买。一般来说,其中最小5'侧接区展示报告基因最高表达量的构筑体鉴别为启动子。这类启动子区域可连接到报告基因且用于评估药剂调节启动子驱动的转录的能力。

[0529] 在一些实施例中,提供编码根据本文所述的任一种抗GPC3 CAR及多特异性(例如双特异性)抗GPC3分子的抗GPC3 CAR及/或多特异性(例如双特异性)抗GPC3分子(例如抗GPC3 $\times$ CD3串联双scFv T细胞接合体)的核酸。在一些实施例中,核酸包括一或多种编码抗GPC3 CAR的所有多肽链的核酸序列。在一些实施例中,核酸包括一或多种编码多特异性(例如双特异性)抗GPC3分子的所有多肽链的核酸序列。在一些实施例中,核酸包括一或多种编码抗GPC3 CAR及多特异性(例如双特异性)抗GPC3分子的所有多肽链的核酸序列。在一些实施例中,一或多种核酸序列各自包括于单独载体中。在一些实施例中,至少一些核酸序列包括于同一载体中。在一些实施例中,所有核酸序列包括于同一载体中。载体可选自由例如哺乳动物表达载体及病毒载体(例如来源于逆转录病毒、腺病毒、腺相关病毒、疱疹病毒及慢病毒的那些载体)组成的群组。

[0530] 在一些实施例中,抗GPC3 CAR为包括单一多肽链的单体(例如抗GPC3 scFv-CAR)且多特异性(例如双特异性)抗GPC3分子为包括单一多特异性(例如双特异性)抗GPC3多肽链的单体(例如抗GPC3 $\times$ CD3串联双scFv T细胞接合体),且核酸包括编码抗GPC3CAR多肽链的第一核酸序列及编码多特异性(例如双特异性)抗GPC3多肽链的第二核酸序列。在一些实施例中,第一核酸序列包括于第一载体中,且第二核酸序列包括于第二载体中。在一些实施例中,第一及第二核酸序列包括于同一载体中。在一些实施例中,第一核酸序列处于第一启动子控制下且第二核酸序列处于第二启动子控制下。在一些实施例中,第一与第二启动子

中的一个或两个具有相同序列。在一些实施例中,第一及第二启动子中的一个或两个具有不同序列。在一些实施例中,第一及第二核酸序列中的一个或两个在多顺反子载体中、在单一启动子的控制下以单一转录物形式表达。参见例如金JH(Kim, JH)等人,公共科学图书馆:综合(PLoS One)6(4):e18556,2011。在一些实施例中,启动子中的一个或两个为可诱导性的。在一些实施例中,控制所述编码多特异性(例如双特异性)抗GPC3多肽链的核酸序列的启动子为可诱导性的(例如可经由抗GPC3CAR的活化来诱导)。在一些实施例中,诱导型启动子为源自NFAT的启动子。

[0531] 在一些实施例中,提供的核酸编码根据本文所述的任一种抗GPC3 caTCRs及多特异性(例如双特异性)抗GPC3分子的抗GPC3 caTCR及/或多特异性(例如双特异性)抗GPC3分子(例如抗GPC3×CD3串联双scFv T细胞接合体)。在一些实施例中,核酸包括一或多种编码抗GPC3 caTCR的所有多肽链的核酸序列。在一些实施例中,核酸包括一或多种编码多特异性(例如双特异性)抗GPC3分子的所有多肽链的核酸序列。在一些实施例中,核酸包括一或多种编码抗GPC3 caTCR及多特异性(例如双特异性)抗GPC3分子的所有多肽链的核酸序列。在一些实施例中,一或多种核酸序列各自包括于单独载体中。在一些实施例中,至少一些核酸序列包括于同一载体中。在一些实施例中,所有核酸序列包括于同一载体中。载体可选自由例如哺乳动物表达载体及病毒载体(例如来源于逆转录病毒、腺病毒、腺相关病毒、疱疹病毒及慢病毒的那些载体)组成的群组。

[0532] 在一些实施例中,抗GPC3 caTCR为包括第一caTCR多肽链及第二caTCR多肽链的二聚体且多特异性(例如双特异性)抗GPC3分子为包括单一一条多特异性(例如双特异性)抗GPC3多肽链的单体(例如抗GPC3×CD3串联双scFv T细胞接合体),且核酸包括编码第一caTCR多肽链的第一核酸序列、编码第二caTCR链的第二核酸及编码多特异性(例如双特异性)抗GPC3多肽链的第三核酸序列。在一些实施例中,第一核酸序列包括于第一载体中,第二核酸序列包括于第二载体中,且第三核酸序列包括于第三载体中。在一些实施例中,第一及第二核酸序列包括于第一载体中,且第三核酸序列包括于第二载体中。在一些实施例中,第一及第三核酸序列包括于第一载体中,且第二核酸序列包括于第二载体中。在一些实施例中,第二及第三核酸序列包括于第一载体中,且第一核酸序列包括于第二载体中。在一些实施例中,第一、第二及第三核酸序列包括于同一载体中。在一些实施例中,第一核酸序列处于第一启动子的控制下,第二核酸序列处于第二启动子的控制下,且第三核酸序列处于第三启动子的控制下。在一些实施例中,第一、第二及第三启动子中的一些(例如全部)具有相同序列。在一些实施例中,第一、第二及第三启动子中的一些(例如全部)具有不同序列。在一些实施例中,第一、第二及第三核酸序列中的一些(例如全部)是在多顺反子载体中、在单一启动子的控制下以单一转录物形式表达。参见例如Kim, JH等人, PLoS One 6(4):e18556,2011。在一些实施例中,启动子中的一或多个者为可诱导性的。在一些实施例中,控制核酸序列的启动子为可诱导的(例如可经由抗GPC3 caTCR的活化来诱导),所述核酸序列编码多特异性(例如双特异性)抗GPC3多肽链。在一些实施例中,诱导型启动子为源自NFAT的启动子。

[0533] 向细胞中引入及表达基因的方法在所属领域中已知。在表达载体的情形下,所述载体可以容易地通过所属领域中的任何方法引入宿主细胞中,例如哺乳动物、细菌、酵母或昆虫细胞。举例来说,表达载体可以通过物理、化学或生物学方式转移到宿主细胞中。

[0534] 用于将聚核苷酸引入宿主细胞中的物理方法包含磷酸钙沉淀、脂质体转染、粒子轰击、显微注射、电穿孔及其类似方法。用于产生包括载体及/或外源核酸的细胞的方法在所属领域中熟知。参见例如Sambrook等人(2001, *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory, New York)。在一些实施例中,将聚核苷酸引入宿主细胞中是通过磷酸钙转染来实施的。

[0535] 将所关注的聚核苷酸引入宿主细胞中的生物学方法包含使用DNA及RNA载体。病毒载体及尤其逆转录病毒载体已成为将基因插入哺乳动物(例如人类)细胞中的最广泛使用方法。其它病毒载体可来源于慢病毒、痘病毒、单纯疱疹病毒1、腺病毒及腺相关病毒,及其类似病毒。参见例如美国专利第5,350,674号及第5,585,362号。

[0536] 将聚核苷酸引入宿主细胞中的化学方式包含胶态分散系统,例如大分子复合物、纳米胶囊、微球体、珠粒及基于脂质的系统,包含水包油乳液、微胞、混合微胞及脂质体。用作体外及体内递送媒介剂的示范性胶态系统为脂质体(例如人工膜微脂粒)。

[0537] 在利用非病毒递送系统的情况下,示范性递送媒介剂为脂质体。涵盖使用脂质调配物将核酸引入宿主细胞中(体外、离体或体内)。在另一方面中,可使核酸与脂质结合。与脂质结合的核酸可囊封于脂质体的水性内部中,散置于脂质体的脂质双层内,经由与脂质体及寡核苷酸结合的连接分子连接到脂质体,包覆于脂质体中,与脂质体复合,分散于含有脂质的溶液中,与脂质混合,与脂质合并,以悬浮液形式含于脂质中,含有微胞或与微胞复合,或以其它方式与脂质结合。与脂质、脂质/DNA或脂质/表达载体结合的组合物不限于溶液中的任何特定结构。举例来说,其可存在于双层结构中,以微胞形式存在或具有“塌陷”结构。其还可简单地散置于溶液中,可能形成尺寸或形状上不均一的聚集物。脂质为可天然存在的脂肪物质或合成脂质。举例来说,脂质包含细胞质中天然存在的脂肪滴以及含有长链脂肪族烃的化合物类别及其衍生物,例如脂肪酸、醇、胺、氨基醇及醛。

[0538] 不论用于将外源核酸引入宿主细胞或以其它方式使细胞暴露于本发明的抑制剂的方法,为了确认重组DNA序列在宿主细胞中的存在,可进行多种分析。这类分析包含例如本领域技术人员熟知的“分子生物学”分析,例如DNA及RNA印迹法、RT-PCR及PCR;“生物化学”分析,例如检测特定肽的存在或不存在,例如通过免疫学方式(ELISA及蛋白质印迹法)或通过本文所述的分析来鉴别属于本发明范围内的药剂。

[0539] 制备抗GPC3构筑体及抗GPC3抗体部分

[0540] 在一些实施例中,抗GPC3构筑体或抗GPC3抗体部分为单株抗体。在一些实施例中,抗GPC3构筑体为包括抗GPC3抗体部分的抗GPC3 CAR或抗GPC3 caTCR,所述抗GPC3抗体部分(例如Fab、Fab'、F(ab')₂、Fv或scFv)包括来源于单株抗体的序列。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分包括来自单株抗体的V_H及V_L域,或其变异体。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分进一步包括来自单株抗体的C_H1及C_L域,或其变异体。单株抗体可例如使用融合瘤方法,例如Kohler及Milstein, *Nature*, 256:495(1975)及Sergeeva等人, *Blood*, 117(16):4262-4272所述的方法;使用本文及下文实例中所述的噬菌体呈现方法,或使用重组DNA方法(参见例如美国专利第4,816,567号)制备。

[0541] 在融合瘤方法中,仓鼠、小鼠或其它适当宿主动物典型地用免疫媒介物免疫以诱使淋巴细胞产生或能够产生将特异性结合到所述免疫媒介物的抗体。或者,淋巴细胞可在体外免疫。免疫媒介物可以包含多肽或所关注蛋白质的融合蛋白,或包括至少两种分子的

复合物,例如包括肽及MHC蛋白质的复合物。一般来说,如果需要人类来源的细胞,那么使用末梢血液淋巴细胞(“PBL”);或如果需要非人类哺乳动物来源,那么使用脾细胞或淋巴结细胞。淋巴细胞接着使用适合融合剂(例如聚乙二醇)与永生化细胞系融合以形成融合瘤细胞。参见例如Goding,单克隆抗体的理论与实践(Monoclonal Antibodies:Principles and Practice)(New York:Academic Press,1986),第59-103页。永生化细胞通常为经转型的哺乳动物细胞,特定来说,啮齿动物、牛科动物及人类来源的骨髓瘤细胞。通常,采用大鼠或小鼠骨髓瘤细胞系。融合瘤细胞可以在适合培养基中培养,所述培养基优选含有一或多种抑制未融合、永生化细胞生长或存活物质。举例来说,如果亲代细胞缺乏酶次黄嘌呤鸟嘌呤磷酸核糖基转移酶(HGPRT或HPRT),那么用于融合瘤的培养基典型地包含次黄嘌呤、氨基蝶呤及胸苷(“HAT培养基”),所述物质阻止缺乏HGPRT的细胞生长。

[0542] 在一些实施例中,永生化细胞系有效融合,通过所选的产抗体细胞支持抗体的稳定高量表达且对于例如HAT培养基的培养基敏感。在一些实施例中,永生化细胞系为鼠类骨髓瘤细胞系,其可从例如加利福利亚州圣地亚哥的沙克研究所细胞分配中心(Salk Institute Cell Distribution Center, San Diego, California)及弗吉尼亚州马纳萨斯的美国菌种保藏中心(American Type Culture Collection, Manassas, Virginia)获得。也描述了用于产生人类单株抗体的人类骨髓瘤及小鼠-人类融合骨髓瘤细胞。Kozbor, J. Immunol., 133:3001 (1984); Brodeur等人, Monoclonal Antibody Production Techniques and Applications (Marcel Dekker, Inc.: New York, 1987) 第51-63页。

[0543] 接着可以分析其中培养融合瘤细胞的培养基中针对多肽的单株抗体的存在。融合瘤细胞产生的单株抗体的结合特异性可以通过免疫沉淀或通过体外结合分析来确定,例如放射免疫分析(RIA)或酶联免疫吸附分析(ELISA)。这类技术及分析在所属领域中已知。单株抗体的结合亲和力可例如通过Munson及Pollard等人, Anal. Biochem., 107:220 (1980)的史卡查分析(Scatchard analysis)测定。

[0544] 鉴别出所需融合瘤细胞之后,克隆可通过限制稀释程序亚克隆且通过标准方法生长。Goding, 同上。适用于这种目的的培养基包含例如达尔伯克氏改进型伊格尔氏培养基(Dulbecco's Modified Eagle's Medium)及RPMI-1640培养基。或者,融合瘤细胞可以在哺乳动物中以腹水形式体内生长。

[0545] 亚克隆所分泌的单株抗体可通过常规免疫球蛋白纯化程序从培养基或腹水液中分离或纯化,例如蛋白质A-琼脂糖、羟磷灰石色谱、凝胶电泳、透析或亲和色谱。

[0546] 在一些实施例中,根据本文所述的包括抗GPC3抗体部分的任一种抗GPC3构筑体,所述抗GPC3抗体部分包括来自选自抗体部分文库(例如呈递scFv或Fab片段的噬菌体文库)的克隆的序列。克隆可通过筛选组合文库中具有所要活性的抗体片段来鉴别。举例来说,所属领域中已知多种方法用于产生噬菌体呈现文库及从这类文库中筛选出具有所需结合特征的抗体。这类方法评述于例如Hoogenboom等人, Methods in Molecular Biology 178:1-37 (O'Brien等人编, Human Press, Totowa, N.J., 2001)且进一步描述于McCafferty等人, Nature 348:552-554; Clackson等人, Nature 352:624-628 (1991); Marks等人, J. Mol. Biol. 222:581-597 (1992); Marks及Bradbury, Methods in Molecular Biology 248:161-175 (Lo编, Human Press, Totowa, N.J., 2003); Sidhu等人, J. Mol. Biol. 338(2): 299-310 (2004); Lee等人, J. Mol. Biol. 340(5):1073-1093 (2004); Fellouse,

Proc.Natl.Acad.Sci.USA 101 (34) :12467-12472 (2004) ;及Lee等人,J.Immunol.Methods 284(1-2) :119-132 (2004) 。

[0547] 在某些噬菌体呈现方法中, V_H 及 V_L 基因的谱系分别通过聚合酶链反应(PCR)克隆且在噬菌体文库中随机重组,接着可以筛选出抗原结合噬菌体,如Winter等人,Ann.Rev.Immunol.12:433-455(1994)中所述。噬菌体典型地以scFv片段形式或以Fab片段形式呈现抗体片段。来自免疫来源的文库提供针对免疫原的高亲和力抗体而无需构建融合瘤。或者,可以克隆(例如从人类)初始谱系以提供针对广泛范围的非自体抗原以及自体抗原的单一抗体来源而无需任何免疫接种,如Griffiths等人,EMBO J,12:725-734(1993)所述。最后,初始文库还可以合成方式如下制备:从干细胞克隆未重排V基因区段,且使用含有随机序列的PCR引物编码高度可变的CDR3区域且在体外实现重排,如Hoogenboom及Winter,J.Mol.Biol.,227:381-388(1992)所述。描述人类抗体噬菌体文库的专利公开案包含例如:美国专利第5,750,373号及美国专利公开案第2005/0079574号、第2005/0119455号、第2005/0266000号、第2007/0117126号、第2007/0160598号、第2007/0237764号、第2007/0292936号及第2009/0002360号。

[0548] 可以通过使用噬菌体呈现术筛选文库中特异性针对靶标GPC3(例如nGPC3及/或sGPC3)的抗GPC3抗体部分来制备抗GPC3构筑体。文库可为具有至少 1×10^9 (例如至少约 1×10^9 、 2.5×10^9 、 5×10^9 、 7.5×10^9 、 1×10^{10} 、 2.5×10^{10} 、 5×10^{10} 、 7.5×10^{10} 或 1×10^{11} 中的任一者)个独特人类抗体片段的多样性的人类scFv噬菌体呈现文库。在一些实施例中,文库为初始人类文库,所述文库由从健康供体的人类PMBC及脾提取的DNA构建,包括所有人类重链及轻链亚家族。在一些实施例中,文库为初始人类文库,所述文库是由从在患有各种疾病的患者(例如自体免疫疾病患者、癌症患者及感染性疾病患者)中分离的PBMC提取的DNA构建。在一些实施例中,文库为半合成人类文库,其中重链CDR3为完全随机化的,所有氨基酸(除半胱氨酸之外)同等地可能存在于任何指定位置(参见例如Ho et, R. M. 等人, Nat.Biotechnol.23(3) :344-348,2005)。在一些实施例中,半合成人类文库的重链CDR3具有约5到约24(例如约5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23或24中的任一者)个氨基酸的长度。在一些实施例中,文库为全合成的噬菌体呈现文库。在一些实施例中,文库为非人类噬菌体呈现文库。

[0549] 以高亲和力结合到靶标GPC3(例如nGPC3及/或sGPC3)的噬菌体克隆可以如下选择:使噬菌体迭代结合到与固体载体(例如溶液淘选用的珠粒或细胞淘选用的哺乳动物细胞)结合的靶标GPC3,随后去除未结合的噬菌体;及对特异性结合的噬菌体进行洗脱。在溶液淘选的一个实例中,GPC3多肽可经生物素标记以固定到固体载体。将生物素标记的GPC3与噬菌体文库及固体载体(例如抗生蛋白链菌素结合的DYNABEADS®M-280)混合,且接着分离出GPC3-噬菌体-珠粒复合物。接着对所结合的噬菌体克隆进行洗脱且用于感染适当宿主细胞,例如大肠杆菌XL1-Blue,以供表达及纯化。在细胞淘选的一个实例中,将细胞表面上过度表达GPC3的SK-Hep1细胞与噬菌体文库混合,之后收集细胞且对所结合的克隆进行洗脱且用于感染适当的宿主细胞以供表达及纯化(所有皆参见实例)。可通过溶液淘选、细胞淘选或两者的组合进行多轮(例如约2、3、4、5、6或大于6中的任一者)淘选,以富集特异性结合到靶标GPC3的噬菌体克隆。可通过所属领域中已知的任何方法(包含例如ELISA及FACS)测试所富集的噬菌体克隆对靶标GPC3的特异性结合。

[0550] 单株抗体还可通过重组DNA法制得,例如美国专利第4,816,567号中描述的方法。编码本发明单株抗体的DNA可以容易地使用常规程序(例如使用能够特异性结合到编码鼠类抗体重链及轻链的基因的寡核苷酸探针)分离及测序。如上文所述的融合瘤细胞或本发明的GPC3特异性噬菌体克隆可以充当这类DNA的来源。DNA一经分离,那么可放置于表达载体中,接着转染到原本不产生免疫球蛋白的宿主细胞(例如猿猴COS细胞、中国仓鼠卵巢(CHO)细胞或骨髓瘤细胞)中,以在重组宿主细胞中实现单株抗体的合成。DNA还可经修饰,例如通过用编码序列取代人类重链及轻链恒定域及/或用框架区替代同源非人类序列(美国专利第4,816,567号;Morrison等人,同上)或通过使非免疫球蛋白多肽的编码序列的全部或一部分共价连接到免疫球蛋白编码序列。这类非免疫球蛋白多肽可取代本发明抗体的恒定域,或可取代本发明抗体的一个抗原组合位点的可变域以产生嵌合二价抗体。

[0551] 抗体可为单价抗体。用于制备单价抗体的方法在所属领域中已知。举例来说,一种方法涉及免疫球蛋白轻链与经修饰的重链的重组表达。通常在Fc区中的任一点截断重链以防止重链交联。或者,相关半胱氨酸残基经另一氨基酸残基取代或缺失以防止交联。

[0552] 体外方法也适合于制备单价抗体。可使用所属领域中已知的任何方法实现抗体的消化以产生其片段,特定来说,Fab片段。

[0553] 具有所需结合特异性的抗体可变域(抗体-抗原组合位点)可以与免疫球蛋白恒定域序列融合。优选与包括铰链、CH2及CH3区的至少一部分的免疫球蛋白重链恒定域进行融合。在一些实施例中,含有轻链结合所需的位点的第一重链恒定区(CH1)存在于融合物中的至少一者中。将编码免疫球蛋白重链融合物及(如果需要)免疫球蛋白轻链的DNA插入单独的表达载体中,且共转染到适合的宿主生物体中。关于产生双特异性抗体的其它细节,参见例如Suresh等人,Methods in Enzymology,121:210(1986)。

[0554] 人类及人类化抗体

[0555] 抗GPC3构筑体(例如抗GPC3 CAR或caTCR)或抗GPC3抗体部分可为人类化抗体或人类抗体。人类化形式的非人类(例如鼠类)抗体部分为嵌合免疫球蛋白、免疫球蛋白链或其片段(例如Fv、Fab、Fab'、F(ab')₂、scFv或抗体的其它抗原结合子序列),其典型地含有来源于非人类免疫球蛋白的最小序列。人类化抗体部分包含人类免疫球蛋白、免疫球蛋白链或其片段(接受者抗体),其中来自接受者的CDR的残基经来自具有所需特异性、亲和力及能力的非人类物种(供体抗体)(例如小鼠、大鼠或兔)的CDR的残基置换。在一些情况下,人类免疫球蛋白的Fv框架残基经相应的非人类残基置换。人类化抗体部分还可包括既未在接受者抗体部分中、也未在所输入的CDR或框架序列中发现的残基。一般来说,人类化抗体部分可以包括至少一个且典型两个可变域的基本上全部,其中CDR区的全部或基本上全部对应于非人类免疫球蛋白的那些区域,且FR区域的全部或基本上全部为人类免疫球蛋白共同序列的那些区域。参见例如Jones等人,Nature,321:522-525(1986);Riechmann等人,Nature,332:323-329(1988);Presta,Curr.Op.Struct.Biol.,2:593-596(1992)。

[0556] 一般来说,人类化抗体部分中已引入来自非人类来源的一或多个氨基酸残基。这些非人类氨基酸残基通常称为“输入”残基,其典型地从“输入”可变域获得。根据一些实施例,人类化基本上可遵循Winter及同事的方法(Jones等人,Nature,321:522-525(1986);Riechmann等人,Nature,332:323-327(1988);Verhoeyen等人,Science,239:1534-1536(1988)),通过用啮齿动物CDR或CDR序列取代人类抗体的相应序列进行。因此,这类“人类

化”抗体部分是其中大体上小于完整的人类可变域已经来自非人类物种的相应序列取代的抗体部分(美国专利号4,816,567)。在实务中,人类化抗体部分典型地为人类抗体部分,其中一些CDR残基及可能一些FR残基经来自啮齿动物抗体中的类似位点的残基取代。

[0557] 作为人类化的一个替代方案,可以产生人类抗体部分。举例来说,现可以产生转基因动物(例如小鼠),其在免疫接种后能够在不产生内源免疫球蛋白的情况下产生完整谱系的人类抗体。举例来说,已描述嵌合及生殖系突变小鼠中的抗体重链接合区(JH)基因的同型接合缺失导致内源抗体产生被完全抑制。将人类生殖系免疫球蛋白基因阵列转移到这类生殖系突变小鼠中将使得在抗原攻击时产生人类抗体。参见例如Jakobovits等人,PNAS USA,90:2551(1993);Jakobovits等人,Nature,362:255-258(1993);Bruggemann等人,Year in Immunol.,7:33(1993);美国专利第5,545,806号、第5,569,825号、第5,591,669号、第5,545,807号及W0 97/17852。或者,可通过将人类免疫球蛋白基因座引入转基因动物(例如内源免疫球蛋白基因已部分或完全不活化的小鼠)来制备人类抗体。攻毒之后,观测人类抗体产生,其在所有方面与人体中所见密切相似,包含基因重排、组装及抗体谱系。这种方法描述于例如美国专利第5,545,807号、第5,545,806号、第5,569,825号、第5,625,126号、第5,633,425号及第5,661,016号,及Marks等人,Bio/Technology,10:779-783(1992);Lonberg等人,Nature,368:856-859(1994);Morrison,Nature,368:812-813(1994);Fishwild等人,Nature Biotechnology,14:845-851(1996);Neuberger,Nature Biotechnology,14:826(1996);Lonberg及Huszar,Intern.Rev.Immunol.,13:65-93(1995)。

[0558] 人类抗体还可由体外活化的B细胞产生(参见美国专利5,567,610及5,229,275)或通过使用所属领域中已知的各种技术(包含噬菌体呈现文库)产生。Hoogenboom及Winter,J.Mol.Biol.,227:381(1991);Marks等人,J.Mol.Biol.,222:581(1991)。Cole等人及Boerner等人的技术也可用于制备人类单株抗体。Cole等人,Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy,Alan R.Liss,第77页(1985)及Boerner等人,J.Immunol.,147(1):86-95(1991)。

[0559] 多特异性抗体

[0560] 在一些实施例中,抗GPC3构筑体(例如经分离的抗GPC3构筑体)为多特异性抗体(例如串联双scFv双特异性抗GPC3抗体)。适用于制备多特异性(例如双特异性)抗体的方法在所属领域中熟知。举例来说,双特异性抗体的产生基于两个免疫球蛋白重链/轻链对的共表达,其中两对各具有不同特异性,且在结合后,产生杂二聚体抗体(参见例如Milstein及Cuellar,Nature,305:537-539(1983);W0 93/08829,及Traunecker等人,EMBO J.10:3655(1991))。由于免疫球蛋白重链及轻链的随机分类,因此这些融合瘤(四源融合瘤)产生十种不同抗体分子的潜在混合物,其中仅一种具有正确的双特异性结构。适当分子的纯化通常通过亲和色谱步骤完成。类似程序公开于W0 93/08829中及Traunecker等人,EMBO,10:3655-3659(1991)中。或者,重链与轻链的组合可通过利用局限于物种的配对来引导(参见例如Lindhofer等人,J.Immunol.,155:219-225(1995))且重链的配对可通过使用CH3域的“臼包杵”工程改造来引导(参见例如美国专利第5,731,168号;Ridgway等人,Protein Eng.,9(7):617-621(1996))。多特异性抗体还可通过工程改造静电转向效应以制造抗体Fc-杂二聚体分子而制得(参见例如W0 2009/089004A1)。在另一种方法中,稳定的双特异性

抗体可以通过可控的Fab臂交换而产生,其中将具有不同抗原特异性且CH3域中具有匹配点突变的两种亲本抗体在还原条件下混合以允许分离、重组及再氧化而形成高纯度双特异性抗体。Labrigin等人,Proc.Natl.Acad.Sci.,110(13):5145-5150(2013)。包括重链/轻链对的混合物的这类抗体在本文中也称为“杂多聚体抗体”。

[0561] 具有不同特异性的抗体或其抗原结合片段还可发生化学交联以产生多特异性杂结合物抗体。举例来说,各具有针对不同抗原的特异性的两个F(ab')₂分子可以化学方式连接。Pullarkat等人,Trends Biotechnol.,48:9-21(1999)。举例来说,已提出这类抗体可使免疫系统细胞靶向非所需细胞(美国专利第4,676,980号)且用于治疗HIV感染。WO 91/00360;WO 92/200373;EP 03089。预期抗体可使用合成蛋白质化学中的已知方法(包含涉及交联剂的方法)在体外制备。举例来说,免疫毒素可使用二硫键交换反应或通过形成硫醚键来构建。适于这种目的的试剂的实例包含亚氨基硫醇酯及甲基-4-巯基丁酰亚胺酯及例如美国专利第4,676,980号中公开的试剂。

[0562] 在一些实施例中,多特异性抗体可使用重组DNA技术制备。举例来说,双特异性抗体可通过将两种scFv融合而经工程改造,例如经由肽连接子将其融合,从而产生串联scFv。串联scFv的一个实例为双特异性T细胞接合体。双特异性T细胞接合体通过将抗CD3 scFv连接到对靶细胞的表面抗原(例如GPC3)具有特异性的scFv而制得,从而将T细胞再引导到靶细胞(例如HCC细胞)。Mack等人,Proc.Natl.Acad.Sci.,92:7021-7025(1995);Brischwein等人,Mol.Immunol.,43(8):1129-1143(2006)。通过缩短两个可变域之间的肽连接子长度,可防止其自组装且迫使其与第二多肽上的域配对,从而产生紧凑型双特异性抗体,称为双功能抗体(Db)。Holliger等人,Proc.Natl.Acad.Sci.,90:6444-6448(1993)。Db的两个多肽各自包括通过太短而不允许同一链上的两个域之间配对的连接子连接到V_L的V_H。相应地,迫使一个多肽的V_H及V_L域与另一多肽的互补V_L及V_H域成对,借此形成两个抗原结合位点。经由这种形式的修饰,两个多肽通过另一肽连接子连接,从而产生单链双功能抗体(scDb)。经由Db形式的另一修饰,双亲和力再靶向(DART)双特异性抗体可通过在各多肽的C端处的半胱氨酸残基之间引入二硫键而产生,任选地在C端半胱氨酸残基之前包含驱动所需杂二聚体结构组装的域。Veri等人,Arthritis Rheum.,62(7):1933-1943(2010)。所属领域中还已知双可变域免疫球蛋白(DVD-IgTM),其中两种单株抗体的靶标结合可变域经由天然存在的连接子组合而产生四价双特异性抗体。Gu及Ghayur,Methods Enzymol.,502:25-41(2012)。在另一种形式中,利用来源于人类cAMP依赖性蛋白激酶(PKA)的调控亚单元的肽(DDD2)与来源于人类A激酶锚定蛋白(AKAP)的锚定域的肽(AD2)的二聚合来制备对接及锁定(DNL)双特异性抗体。Rossi等人,Proc.Natl.Acad.Sci.,103:6841-6846(2006)。

[0563] 还已描述直接从重组细胞培养物制备及分离双特异性抗体片段的各种技术。举例来说,已使用亮氨酸拉链产生双特异性抗体。Kostelny等人,J.Immunol.,148(5):1547-1553(1992)。这种方法还可用于产生抗体同二聚体。

[0564] 抗GPC3变异体

[0565] 在一些实施例中,涵盖本文所提供的抗GPC3构筑体(例如抗GPC3全长抗体)的氨基酸序列变异体。举例来说,可能需提高抗体的结合亲和力及/或其它生物特性。抗体的氨基酸序列变异体可通过将适当修饰引入编码所述抗体的核苷酸序列中或通过肽合成制备。这类修饰包含例如抗体氨基酸序列内的残基缺失及/或插入及/或取代。为了获得最终构筑

体,缺失、插入与取代可任意组合,前提是最终构筑体具有所要特征,例如抗原结合。

[0566] 在一些实施例中,提供具有一或多个氨基酸取代的抗GPC3抗体变异体。所关注的取代型突变诱发位点包含HVR及FR。可以将氨基酸取代引入所关注的抗体中且筛选出具有所需活性的产物,例如保持/改善的抗原结合、减小的免疫原性或改善的ADCC或CDC。

[0567] 保守取代展示于下表2中。

[0568] 表2:保守取代

[0569]

原始残基	示范性取代	优选取代
Ala (A)	Val; Leu; Ile	Val
Arg (R)	Lys; Gln; Asn	Lys
Asn (N)	Gln; His; Asp, Lys; Arg	Gln
Asp (D)	Glu; Asn	Glu
Cys (C)	Ser; Ala	Ser
Gln (Q)	Asn; Glu	Asn
Glu (E)	Asp; Gln	Asp
Gly (G)	Ala	Ala
His (H)	Asn; Gln; Lys; Arg	Arg
Ile (I)	[0100] Leu; Val; Met; Ala; Phe; 正亮氨酸	Leu
Leu (L)	[0101] 正亮氨酸; Ile; Val; Met; Ala; Phe	Ile
Lys (K)	Arg; Gln; Asn	Arg
Met (M)	Leu; Phe; Ile	Leu
Phe (F)	[0102] Trp; Leu; Val; Ile; Ala; Tyr	Tyr
Pro (P)	Ala	Ala
Ser (S)	Thr	Thr
Thr (T)	Val; Ser	Ser
Trp (W)	Tyr; Phe	Tyr
Tyr (Y)	Trp; Phe; Thr; Ser	Phe
Val (V)	[0103] Ile; Leu; Met; Phe; Ala; 正亮氨酸	Leu

[0570] 氨基酸可根据共同的侧链特性分成不同类别:

[0571] a. 疏水性: 正亮氨酸、Met、Ala、Val、Leu、Ile;

[0572] b. 中性亲水性: Cys、Ser、Thr、Asn、Gln;

[0573] c. 酸性: ASP、Glu;

[0574] d. 碱性: His、Lys、Arg;

[0575] e. 影响链取向的残基: Gly、Pro;

[0576] f. 芳香族: Trp、Tyr、Phe。

[0577] 非保守取代需要将这些类别中的一者的成员换成另一类别。

[0578] 示范性取代型变异体为亲和力成熟抗体部分,其宜例如使用基于噬菌体呈现的亲和力成熟技术产生。简单来说,使一或多个CDR残基突变且在噬菌体上呈现变异抗体部分且针对特定生物活性(例如结合亲和力)筛选。变异(例如取代)可发生于HVR中,以例如改进抗体亲和力。这类变异可在HVR“热点”(即在体细胞成熟过程期间经历高频率突变的密码子所编码的残基(参见例如Chowdhury, Methods Mol. Biol. 207:179-196(2008)),及/或特异性决定残基(SDR))中产生,其中测试所得变异体 V_H 或 V_L 的结合亲和力。通过构建二级文库及从二级文库再选择来实现亲和力成熟已描述于Hoogenboom等人的Methods in Molecular

Biology 178:1-37 (O'Brien等人编, Human Press, Totowa, NJ, (2001))。

[0579] 在亲和力成熟的一些实施例中,通过多种方法(例如易错PCR、链改组或寡核苷酸定向突变诱发)中的任一种将多样性引入为了成熟而选择的可变基因中。接着产生二级文库。接着筛选文库以鉴别具有所要亲和力的任何抗体部分变异体。引入多样性的另一方法包含HVR定向方法,其中若干个HVR残基(例如一次4-6个残基)随机进行。可特异性鉴别抗原结合所涉及的CDR残基,例如使用丙氨酸扫描突变诱发或模型化来鉴别。特定来说,通常以CDR-H3及CDR-L3为目标。

[0580] 在一些实施例中,取代、插入或缺失可发生在一或多个HVR内,只要这些变异大体上不降低抗体结合抗原的能力即可。举例来说,HVR中可发生大体上不降低结合亲和力的保守变异(例如如本文所提供的保守取代)。这类变异可位于HVR“热点”或SDR外部。在上文所提供的变异型VH及VL序列的某些实施例中,各HVR不变或含有不超过一个、两个或三个氨基酸取代。

[0581] 用于鉴别可靶向突变诱发的抗体残基或区域的适用方法称为“丙氨酸扫描突变诱发”,如Cunningham及Wells (1989) Science, 244:1081-1085所述。在这种方法中,鉴别残基或一组靶标残基(例如带电残基,例如arg、asp、his、lys及glu)且用中性或带负电氨基酸(例如丙氨酸或聚丙氨酸)置换以确定抗体与抗原的相互相用是否受到影响。可在对初始取代展现功能敏感性的氨基酸位置处引入其它取代。或者或另外,抗原-抗体复合物的晶体结构可经测定以鉴别抗体与抗原之间的接触点。这类接触残基及邻近残基可作为取代候选物的靶标或排除在取代候选物之外。可筛选变异体以确定其是否含有所需特性。

[0582] 氨基酸序列插入包含长度在一个残基到含有一百个或超过一百个残基的多肽范围内的氨基末端及/或羧基末端融合物,以及单一或多个氨基酸残基的序列内插入。末端插入的实例包含具有N端甲硫胺酰基残基的抗体。抗体分子的其它插入变异体包含抗体的N端或C端与酶(例如对于ADEPT而言)或延长抗体的血清半衰期的多肽的融合物。

[0583] Fc区变异体

[0584] 在一些实施例中,可以将一或多种氨基酸修饰引入本文所提供的全长抗GPC3抗体或抗GPC3 Fc融合蛋白的Fc区中,借此产生Fc区变异体。在一些实施例中,Fc区变异体具有增强的ADCC效应功能,其通常与结合到Fc受体(FcR)有关。在一些实施例中,Fc区变异体具有降低的ADCC效应功能。Fc序列中存在可以改变效应功能的许多变化或突变实例。举例来说,WO 00/42072及Shields等人,J Biol.Chem. 9(2):6591-6604(2001)描述对FcR的结合改善或减弱的抗体变异体。这些公开案的内容特别以引用的方式并入本文中。

[0585] 抗体依赖性细胞介导的细胞毒性(ADCC)为治疗性抗体针对肿瘤细胞的作用机制。ADCC为细胞介导的免疫防御,借此免疫系统的效应细胞主动地溶解靶细胞(例如癌细胞),其膜表面抗原已被特异性抗体(例如抗GPC3抗体)结合。典型的ADCC涉及NK细胞被抗体活化。NK细胞表达作为Fc受体的CD16。所述受体识别且结合到与靶细胞表面结合的抗体的Fc部分。NK细胞表面上的最常见Fc受体称作CD16或Fc γ RIII。Fc受体与抗体Fc区的结合引起NK细胞活化、溶胞颗粒释放及随之而来的靶细胞雕亡。ADCC对肿瘤细胞杀死的贡献可通过使用已经高亲和力FcR转染的NK-92细胞的特定测试来测量。将结果与不表达FcR的野生型NK-92细胞进行比较。

[0586] 在一些实施例中,本发明涵盖抗GPC3构筑体变异体(例如经分离的抗GPC3构筑体

变异体),其包括具有一些而非全部效应功能的Fc区,对于其中抗GPC3构筑体体内半衰期很重要、但某些效应功能(例如CDC及ADCC)不必要或有害的应用而言,这使得其成为合乎需要的候选物。可进行体外及/或体内细胞毒性分析以证实CDC及/或ADCC活性的减小/耗竭。举例来说,可进行Fc受体(FcR)结合分析以确保抗体缺乏Fc γ R结合能力(因此可能缺乏ADCC活性),但保留FcRn结合能力。用于介导ADCC的原代细胞NK细胞仅表达Fc γ RIII,而单核细胞表达Fc γ RI、Fc γ RII及Fc γ RIII。造血细胞上的FcR表达概述于Ravetch及Kinet, *Annu. Rev. Immunol.* 9:457-492 (1991) 第464页的表3中。评估所关注分子的ADCC活性的体外分析的非限制性实例描述于美国专利第5,500,362号(参见例如Hellstrom, I.等人, *Proc. Nat'l Acad. Sci. USA* 83:7059-7063 (1986))及Hellstrom, I等人, *Proc. Nat'l Acad. Sci. USA* 82:1499-1502 (1985);美国专利第5,821,337号(参见Bruggemann, M.等人, *J. Exp. Med.* 166:1351-1361 (1987))。或者,可采用非放射性分析方法(参见例如流式细胞术用的ACTI™非放射性细胞毒性分析(Cell Technology, Inc. Mountain View, Calif.;及CytoTox 96™非放射性细胞毒性分析(Promega, Madison, Wis.))。适用于这类分析的效应细胞包含末梢血液单核细胞(PBMC)及自然杀手(NK)细胞。或者或另外,可评估所关注分子在体内的ADCC活性,例如在动物模型中,例如Clynes等人, *Proc. Nat'l Acad. Sci. USA* 95:652-656 (1998)中所公开的动物模型。还可进行C1q结合分析以证实抗体不能结合C1q且因此缺乏CDC活性。参见例如WO 2006/029879及WO 2005/100402中的C1q及C3c结合ELISA。为了评估补体活化,可进行CDC分析(参见例如Gazzano-Santoro等人, *J. Immunol. Methods* 202:163 (1996);Cragg, M. S.等人, *Blood* 101:1045-1052 (2003);及Cragg, M. S.及M. J. Glennie, *Blood* 103:2738-2743 (2004))。还可使用所属领域中已知的方法(参见例如Petkova, S. B.等人, *Int'l. Immunol.* 18(12):1759-1769 (2006))测定FcRn结合及体内清除/半衰期。

[0587] 效应功能减小的抗体包含Fc区残基238、265、269、270、297、327及329中的一或多个者发生取代的那些抗体(美国专利第6,737,056号)。这类Fc突变体包含氨基酸位置265、269、270、297及327中的两者或更多者发生取代的Fc突变体,包含残基265及297经丙氨酸取代的所谓“DANA”Fc突变体(美国专利第7,332,581号)。

[0588] 已描述对FcR的结合改进或减弱的某些抗体变异体。(参见美国专利第6,737,056号;WO 2004/056312,及Shields等人, *J. Biol. Chem.* 9(2):6591-6604 (2001))。

[0589] 在一些实施例中,提供抗GPC3构筑体(例如经分离的抗GPC3构筑体,例如抗GPC3-Fc融合蛋白、全长抗GPC3抗体)变异体,其包括含有改进ADCC的一或多种氨基酸取代的变异型Fc区。在一些实施例中,变异型Fc区包括一或多个改进ADCC的氨基酸取代,其中取代发生于变异型Fc区的位置298、333及/或334(EU残基编号)。在一些实施例中,抗GPC3构筑体(例如全长抗GPC3抗体)变异体包括发生于其变异型Fc区中的以下氨基酸取代:S298A、E333A及K334A。

[0590] 在一些实施例中,变异发生于Fc区中,从而引起C1q结合及/或补体依赖性细胞毒性(CDC)改变(即改进或减弱),例如如以下文献中所述:美国专利第6,194,551号、W099/51642及Idusogie等人, *J. Immunol.* 164:4178-4184 (2000)。

[0591] 在一些实施例中,提供包括变异型Fc区的抗GPC3构筑体(例如经分离的抗GPC3构筑体,例如抗GPC3-Fc融合蛋白、全长抗GPC3抗体)变异体,所述变异型Fc区包括一或多种延

长半衰期及/或改进对新生儿Fc受体 (FcRn) 的结合的氨基酸取代。半衰期延长且对FcRn的结合改进的抗体描述于US2005/0014934A1 (Hinton等人) 中。那些抗体包括其中具有一或多个取代的Fc区,所述取代改进Fc区与FcRn的结合。这类Fc变异体包含以下一或多个Fc区残基发生取代的那些变异体:238、256、265、272、286、303、305、307、311、312、317、340、356、360、362、376、378、380、382、413、424或434,例如Fc区残基434被取代(美国专利第7,371,826号)。

[0592] 关于Fc区变异体的其它实例,还参见Duncan及Winter, *Nature* 322:738-40 (1988);美国专利第5,648,260号;美国专利第5,624,821号;及WO 94/29351。

[0593] 涵盖包括本文所述的任一种Fc变异体或其组合的抗GPC3构筑体(例如经分离的抗GPC3构筑体,例如抗GPC3-Fc融合蛋白、全长抗GPC3抗体)。

[0594] 糖基化变异体

[0595] 在一些实施例中,本文中提供的抗GPC3构筑体(例如经分离的抗GPC3构筑体,例如抗GPC3-Fc融合蛋白、全长抗GPC3抗体)经改变以增强或减少抗GPC3构筑体发生糖基化的程度。抗GPC3构筑体中的糖基化位点的添加或缺失宜通过改变抗GPC3构筑体或其多肽部分的氨基酸序列以便产生或去除一或多个糖基化位点来完成。

[0596] 在抗GPC3构筑体包括Fc区的情况下,可改变与其连接的碳水化合物。由哺乳动物细胞产生的原生抗体典型地包括分支双触角寡糖,其通常通过N键连接到Fc区的CH2域的Asn297。参见例如Wright等人, *TIBTECH* 15:26-32 (1997)。寡糖可包含各种碳水化合物,例如甘露糖、N-乙酰基葡萄糖胺 (GlcNAc)、半乳糖及唾液酸,以及连接到双触角寡糖结构的“茎”中的GlcNAc的岩藻糖。在一些实施例中,可以修饰本发明的抗GPC3构筑体中的寡糖以便产生某些特性改进的抗GPC3构筑体变异体。

[0597] 连接到Fc的CH2域的N-聚糖为非均质的。CHO细胞中产生的抗体或Fc融合蛋白通过岩藻糖基转移酶活性发生岩藻糖基化。参见Shoji-Hosaka等人, *J. Biochem.* 2006, 140:777-83。通常,可以在人类血清中检测到小百分比的天然存在的脱岩藻糖基化IgG。Fc的N-糖基化对于结合到Fc γ R而言具有重要作用;且N-聚糖的脱岩藻糖基化增强了Fc对Fc γ RIIIa的结合能力。增强的Fc γ RIIIa结合可以增强ADCC,这在需要细胞毒性的某些抗体治疗应用中可为有利的。

[0598] 在一些实施例中,当Fc介导的细胞毒性非所需时,增强的效应功能可为有害的。在一些实施例中,Fc片段或CH2域未发生糖基化。在一些实施例中,CH2域中的N-糖基化位点发生突变以防止糖基化。

[0599] 在一些实施例中,提供包括Fc区的抗GPC3构筑体(例如经分离的抗GPC3构筑体,例如抗GPC3-Fc融合蛋白、全长抗GPC3抗体)变异体,其中连接到Fc区的碳水化合物结构中的岩藻糖减少或缺乏岩藻糖,这可以改进ADCC功能。特定来说,本文中涵盖其中岩藻糖相对于野生型CHO细胞中产生的相同抗GPC3构筑体上的岩藻糖的量减少的抗GPC3构筑体。即,其特征为岩藻糖的量比其原本由原生CHO细胞(例如产生原生糖基化模式的CHO细胞,例如含有原生FUT8基因的CHO细胞)产生的量低。在一些实施例中,抗GPC3构筑体为其上的N连接型聚糖中小于约50%、40%、30%、20%、10%或5%包括岩藻糖的构筑体。举例来说,这类抗GPC3抗体中的岩藻糖含量可为1%到80%、1%到65%、5%到65%,或20%到40%。在一些实施例中,抗GPC3构筑体为其上N连接型聚糖均不包括岩藻糖的抗GPC3构筑体,即,其中抗GPC3构

筑体完全不含岩藻糖,或无岩藻糖或脱岩藻糖基化。岩藻糖的量通过计算糖链内Asn297处的岩藻糖的平均量来确定,所述平均量是相对于连接到Asn 297的所有糖结构(例如复杂、混合的高甘露糖结构)的总和而言,如通过例如WO 2008/077546中所述的MALDI-TOF质谱法所测量。Asn297是指Fc区中的位于约位置297处的天冬酰胺残基(Fc区残基的EU编号);然而,Asn297还可位于位置297上游或下游约 ± 3 个氨基酸处,即位置294与300之间,原因是抗体中的序列变异较少。这类岩藻糖基化变异体可以具有改进的ADCC功能。参见例如美国专利公开案第US2003/0157108号(Presta,L.);第US2004/0093621号(Kyowa Hakko Kogyo Co.,Ltd)。关于“脱岩藻糖基化”或“岩藻糖缺乏型”抗体变异体的公开案实例包含:US2003/0157108;WO 2000/61739;WO 2001/29246;US 2003/0115614;US2002/0164328;US2004/0093621;US2004/0132140;US2004/0110704;US2004/0110282;US2004/0109865;WO 2003/085119;WO 2003/084570;WO 2005/035586;WO 2005/035778;WO2005/053742;WO2002/031140;Okazaki等人,J.Mol.Biol.336:1239-1249(2004);Yamane-Ohnuki等人,Biotech.Bioeng.87:614(2004)。能够产生脱岩藻糖基化抗体的细胞系实例包含缺乏蛋白质岩藻糖基化的Lec13 CHO细胞(Ripka等人,Arch.Biochem.Biophys.249:533-545(1986);美国专利申请案第US2003/0157108A1号,Presta,L;以及WO 2004/056312 A1,Adams等人,尤其实例11),及基因剔除细胞系,例如 α -1,6-岩藻糖基转移酶基因、FUT8、基因剔除CHO细胞(参见例如Yamane-Ohnuki等人,Biotech.Bioeng.87:614(2004);Kanda,Y.等人,Biotechnol.Bioeng.,94(4):680-688(2006);以及WO2003/085107)。

[0600] 抗GPC3构筑体(例如经分离的抗GPC3构筑体,例如抗GPC3-Fc融合蛋白、全长抗GPC3抗体)变异体进一步提供有等分寡糖,例如其中连接到抗GPC3构筑体Fc区的双触角寡糖被GlcNAc等分。这类抗GPC3构筑体(例如经分离的抗GPC3构筑体,例如抗GPC3-Fc融合蛋白、全长抗GPC3抗体)变异体可以具有减少的岩藻糖基化及/或改进的ADCC功能。这类抗体变异体的实例描述于例如WO 2003/011878(Jean-Mairet等人);美国专利第6,602,684号(Umana等人);US2005/0123546(Umana等人)及Ferrara等人,Biotechnology and Bioengineering,93(5):851-861(2006)中。还提供寡糖中有至少一个半乳糖残基连接到Fc区的抗GPC3构筑体(例如全长抗GPC3抗体)变异体。这类抗GPC3构筑体变异体可以具有改进的CDC功能。这类抗体变异体描述于例如WO 1997/30087(Patel等人);WO 1998/58964(Raju,S.);及WO 1999/22764(Raju,S.)。

[0601] 在一些实施例中,包括Fc区的抗GPC3构筑体(例如经分离的抗GPC3构筑体,例如抗GPC3-Fc融合蛋白、全长抗GPC3抗体)变异体能够结合到Fc γ RIII。在一些实施例中,包括Fc区的抗GPC3构筑体(例如经分离的抗GPC3构筑体,例如抗GPC3-Fc融合蛋白、全长抗GPC3抗体)变异体在人类效应细胞(例如T细胞)存在下具有ADCC活性,或相较于包括人类野生型IgG1Fc区的原本相同抗GPC3构筑体(例如经分离的抗GPC3构筑体,例如抗GPC3-Fc融合蛋白、全长抗GPC3抗体),在人类效应细胞存在下具有增强的ADCC活性。

[0602] 半胱氨酸工程改造变异体

[0603] 在一些实施例中,可能需要产生半胱氨酸工程改造抗GPC3构筑体(例如经分离的抗GPC3构筑体,例如抗GPC3-Fc融合蛋白、全长抗GPC3抗体),其中一或多个氨基酸残基经半胱氨酸残基取代。在一些实施例中,经取代的残基存在于抗GPC3构筑体的可接近位点处。通过用半胱氨酸取代那些残基,反应性硫醇基借此定位于抗GPC3构筑体的可接近位点处且可

用于使抗GPC3构筑体与其它部分结合,例如药物部分或连接子-药物部分,以产生抗GPC3免疫结合物,如本文中进一步描述。半胱氨酸工程改造抗GPC3构筑体(例如全长抗GPC3抗体)可以如例如美国专利第7,521,541号中所述产生。

[0604] 衍生物

[0605] 在一些实施例中,本文所提供的抗GPC3构筑体(例如经分离的抗GPC3构筑体,例如抗GPC3-Fc融合蛋白、全长抗GPC3抗体)可以进一步加以修饰,以含有所属领域中已知且容易利用的其它非蛋白质部分。适于衍生抗GPC3构筑体的部分包含(但不限于)水溶性聚合物。水溶性聚合物的非限制性实例包含(但不限于)聚乙二醇(PEG)、乙二醇/丙二醇共聚物、羧甲基纤维素、葡聚糖、聚乙烯醇、聚乙烯吡咯烷酮、聚-1,3-二氧杂环戊烷、聚-1,3,6-三恶烷、乙烯/顺丁烯二酸酐共聚物、聚氨基酸(均聚物或无规共聚物)及葡聚糖或聚(N-乙烯吡咯烷酮)聚乙二醇、聚丙二醇均聚物、聚氧化丙烯/氧化乙烯共聚物、聚氧乙基化多元醇(例如甘油)、聚乙烯醇及其混合物。聚乙二醇丙醛因其于水中的稳定性而可具有制造优势。聚合物可具有任何分子量,且可为分支或未分支的。连接到抗GPC3构筑体的聚合物数目可变化,且如果连接超过一种聚合物,那么其可为相同或不同分子。一般来说,用于衍生化的聚合物数目及/或类型可以基于包含(但不限于)以下的考虑因素来确定:待改进的抗GPC3构筑体的具体特性或功能、抗GPC3构筑体衍生物是否将用于限定条件下的疗法等。

[0606] 在一些实施例中,提供抗GPC3构筑体(例如经分离的抗GPC3构筑体,例如全长抗GPC3抗体)与非蛋白质部分的结合物,所述非蛋白质部分可以通过暴露于辐射而选择性地受热。在一个实施例中,非蛋白质部分为碳纳米管(Kam等人,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 102:11600-11605(2005))。辐射可具有任何波长,且包含(但不限于)不伤害普通细胞、但将非蛋白质部分加热到杀死抗GPC3构筑体-非蛋白质部分近侧的细胞的温度的波长。

[0607] CAR效应细胞及caTCR效应细胞制备

[0608] 在一个方面中,本发明提供表达抗GPC3 CAR的效应细胞(例如淋巴细胞,例如T细胞)。本文提供制备表达抗GPC3 CAR的效应细胞(例如T细胞)(抗GPC3 CAR效应细胞,例如抗GPC3 CAR T细胞)的示范性方法。

[0609] 在一些实施例中,抗GPC3 CAR效应细胞(例如T细胞)可以通过将包括抗GPC3CAR(例如包括抗GPC3抗体部分及CD28及CD3 ζ 胞内信号传导序列的CAR)的载体(包含例如慢病毒载体)引入效应细胞(例如T细胞)中而产生。在一些实施例中,本发明的抗GPC3 CAR效应细胞(例如T细胞)能够在体内复制,从而可以长期存留,由此可以持续控制GPC3阳性疾病(例如癌症,例如HCC)。在一些实施例中,通过将包括多特异性(例如双特异性)抗GPC3分子(例如抗GPC3 $\times$ CD3串联双scFv T细胞接合体)的载体(包含例如慢病毒载体)引入效应细胞(例如T细胞)内,抗GPC3 CAR效应细胞(例如T细胞)进一步表达本文所述的多特异性(例如双特异性)抗GPC3分子。在一些实施例中,编码抗GPC3 CAR及多特异性(例如双特异性)抗GPC3分子的核酸包括于同一载体中。在一些实施例中,编码多特异性(例如双特异性)抗GPC3分子的核酸处于诱导型启动子的控制下。在一些实施例中,多特异性(例如双特异性)抗GPC3分子的表达可经由抗GPC3 CAR活化来诱导。在一些实施例中,诱导型启动子为源自NFAT的启动子。

[0610] 在一些实施例中,抗GPC3 CAR T细胞表达包括抗GPC3抗体部分的抗GPC3 CAR(在本文中也称为“抗GPC3 CAR T细胞”)。在一些实施例中,抗GPC3 CAR T细胞表达包括含有抗

GPC3抗体部分的胞外域及含有CD3 ζ 及CD28的胞内信号传导序列的胞内域的抗GPC3 CAR。在一些实施例中,抗GPC3 CAR T细胞表达包括抗GPC3抗体部分的抗GPC3 CAR,及本文所述的多特异性(例如双特异性)抗GPC3分子(例如抗GPC3 $\times$ CD3串联双scFv T细胞接合体)。本发明的抗GPC3 CAR T细胞可以经历稳定的体内T细胞扩增且可以形成在血液及骨髓中长时间高含量保持的GPC3特异性记忆细胞。在一些实施例中,输注到患者中的本发明抗GPC3 CAR T细胞可以体内排除患有GPC3阳性疾病的患者中的GPC3⁺细胞,例如GPC3⁺癌细胞(例如HCC细胞)。

[0611] 本发明在另一个方面中提供表达抗GPC3 caTCR的效应细胞(例如淋巴细胞,例如T细胞)。本文提供制备表达抗GPC3 caTCR(抗GPC3 caTCR效应细胞,例如抗GPC3 caTCR T细胞)的效应细胞(例如T细胞)的示范性方法。

[0612] 在一些实施例中,可以通过将包括抗GPC3 caTCR的载体(包含例如慢病毒载体)引入效应细胞(例如T细胞)中来产生抗GPC3 caTCR效应细胞(例如T细胞)。在一些实施例中,本发明的抗GPC3 caTCR效应细胞(例如T细胞)能够在体内复制,从而可以长期存留,由此可以持续控制GPC3阳性疾病(例如癌症,例如HCC)。在一些实施例中,通过将包括多特异性(例如双特异性)抗GPC3分子(例如抗GPC3 $\times$ CD3串联双scFv T细胞接合体)的载体(包含例如慢病毒载体)引入效应细胞(例如T细胞)内,抗GPC3 caTCR效应细胞(例如T细胞)进一步表达本文所述的多特异性(例如双特异性)抗GPC3分子。在一些实施例中,编码抗GPC3 caTCR及多特异性(例如双特异性)抗GPC3分子的核酸包括于同一载体中。在一些实施例中,编码多特异性(例如双特异性)抗GPC3分子的核酸处于诱导型启动子的控制下。在一些实施例中,多特异性(例如双特异性)抗GPC3分子的表达可经由抗GPC3 caTCR活化来诱导。在一些实施例中,诱导型启动子为源自NFAT的启动子。

[0613] 在一些实施例中,抗GPC3 caTCR T细胞表达包括抗GPC3抗体部分的抗GPC3caTCR(在本文中也称为“抗GPC3 caTCR T细胞”)。在一些实施例中,抗GPC3 caTCR T细胞表达包括含有抗GPC3抗体部分的胞外域的抗GPC3 caTCR及包括含有第一TCR跨膜域(TCR-TM)的第一TCR域(TCRD)及含有第二TCR-TM的第二TCRD的T细胞受体模块(TCRM),其中所述TCRM促进至少一个TCR相关信号传导分子的募集。在一些实施例中,TCR-TM来源于 $\alpha\beta$ TCR或 $\gamma\delta$ TCR。在一些实施例中,抗GPC3 caTCR T细胞表达包括抗GPC3抗体部分的抗GPC3 caTCR,及本文所述的多特异性(例如双特异性)抗GPC3分子(例如抗GPC3 $\times$ CD3串联双scFv T细胞接合体)。本发明的抗GPC3 caTCR T细胞可以经历稳定的体内T细胞扩增且可以形成在血液及骨髓中长时间高含量存留的GPC3特异性记忆细胞。在一些实施例中,输注到患者中的本发明抗GPC3 caTCR T细胞可以体内排除患有GPC3阳性疾病的患者中的GPC3⁺细胞,例如GPC3⁺癌细胞(例如HCC细胞)。

[0614] 在一些实施例中,本发明涉及利用淋巴细胞输注来投与表达抗GPC3 CAR的经基因修饰的T细胞或表达抗GPC3 caTCR的经基因修饰的T细胞,以治疗患有GPC3阳性疾病或处于GPC3阳性疾病的风险下的患者。在一些实施例中,治疗时利用自体淋巴细胞输注。从需要治疗的患者收集自体PBMC且使用本文所述及所属领域中已知的方法活化及扩增T细胞,且接着输注回到患者体内。

[0615] 在一些实施例中,抗GPC3 CAR T细胞表达在细胞表面均匀分布的抗GPC3 CAR。在一些实施例中,抗GPC3 caTCR T细胞表达在细胞表面均匀分布的抗GPC3 caTCR。均匀细胞

表面分布可例如通过具有连续外观及均匀厚度或信号强度的染色图案表征。举例来说,在一些实施例中,包括抗GPC3 CAR T细胞(或抗GPC3 caTCR T细胞)的组合物(例如医药组合物)包括少于约10% (例如少于约10、9、8、7、6、5、4、3、2或1%)的细胞,所述细胞的细胞表面上聚集有抗GPC3 CAR(或抗GPC3 caTCR)。聚集可通过例如具有不均匀厚度或信号强度的染色图案或不连续、块状、点状及/或不均匀分布图案表征。在一些实施例中,抗GPC3 CAR T细胞表达抗GPC3 CAR,其中小于约10% (例如小于约10%、9%、8%、7%、6%、5%、4%、3%、2%或1%)的抗GPC3 CAR聚集于细胞表面上。在一些实施例中,抗GPC3 caTCR T细胞表达抗GPC3 caTCR,其中小于约10% (例如小于约10、9、8、7、6、5、4、3、2或1%)的抗GPC3 caTCR聚集于细胞表面上。在一些实施例中,抗GPC3 CAR T细胞中存在低水位的抗原非依赖性抗GPC3CAR活化。在一些实施例中,抗GPC3 caTCR T细胞中存在低水位的抗原非依赖性抗GPC3 caTCR活化。在一些实施例中,抗GPC3 CAR T细胞或抗GPC3 caTCR T细胞发生低水位的T细胞耗竭。T细胞衰竭在延长的免疫活化条件期间自然发生,例如在癌症或慢性感染情况下,其中T细胞变得功能异常。T细胞衰竭的特征可为相较于功能效应子或记忆T细胞,效应功能减弱、抑制受体的表达延长及/或转录状态改变。T细胞耗竭阻碍了肿瘤细胞及感染的最优选清除。抗GPC3 CAR T细胞或抗GPC3 caTCR T细胞发生的T细胞耗竭可通过所属领域中已知的任何方式表征,例如通过测定其功能及/或表型概况来表征(Wherry, E. J., *Nature immunology* 12(6):492-499, 2011; Jiang, Y. 等人, *Cell death&disease* 6(6):e1792, 2015)。举例来说,在一些实施例中,抗GPC3 CAR T细胞或抗GPC3 caTCR T细胞表达低含量的一或多种T细胞耗竭标记物,包含例如PD-1、LAG-3、TIM-3、CTLA-4、BTLA及TIGIT。在一些实施例中,抗GPC3 CAR T细胞或抗GPC3caTCR T细胞维持非耗竭T细胞的特征含量用于IL-2产生、TNF- α 产生、IFN- γ 产生及颗粒酶B产生,且/或在靶细胞存在下维持体外杀死能力,这表明抗GPC3 CAR T细胞或抗GPC3 caTCR T细胞不经历自活化及过早耗竭。

[0616] 在T细胞扩增及基因修饰之前,从个体获得T细胞来源。T细胞可从许多来源获得,包含末梢血液单核细胞、骨髓、淋巴结组织、脐带血、胸腺组织、来自感染位点的组织、腹水、胸膜积液、脾组织及肿瘤。在本发明的一些实施例中,可以使用所属领域中可利用的任何数目个T细胞系。在本发明的一些实施例中,T细胞可根据使用本领域技术人员已知的任何数目种技术(例如Ficoll™分离)从个体收集的血液单元获得。在一些实施例中,通过血球分离术获得来自个体的循环血液的细胞。血球分离术产物典型地含有淋巴细胞,包含T细胞、单核细胞、粒细胞、B细胞、其它成核白细胞、红细胞及血小板。在一些实施例中,通过血球分离术收集的细胞可经洗涤以去除血浆部分且将细胞置于适当缓冲液或培养基中以用于后续处理步骤。在一些实施例中,细胞用磷酸盐缓冲生理盐水(PBS)洗涤。在一些实施例中,洗涤溶液缺乏钙且可能缺乏镁或可能缺乏许多(如果非全部)二价阳离子。如一般技术者将容易了解,洗涤步骤可通过本领域技术人员已知的方法实现,例如根据制造商说明书使用半自动“流过式”离心机(例如Cobe 2991细胞处理器、Baxter CytoMate或Haemonetics CellSaver 5)。洗涤之后,可以将细胞再悬浮于多种生物相容性缓冲液中,例如无Ca²⁺、无Mg²⁺的PBS、PlasmaLyte A或其它具有或不具有缓冲剂的生理盐水溶液。或者,可去除血球分离术样本的非所要组分且将细胞直接再悬浮于培养基中。

[0617] 在一些实施例中,通过溶解红细胞及耗竭单核细胞而使T细胞与末梢血液淋巴细胞分离,例如通过PERCOLL™梯度进行离心或通过逆流离心淘析进行。T细胞的特定亚群(例

如CD3⁺、CD28⁺、CD4⁺、CD8⁺、CD45RA⁺及CD45RO⁺T细胞)可通过正向或负向选择技术进一步分离。举例来说,在一些实施例中,通过将T细胞与抗CD3/抗CD28(即3×28)结合的珠粒(例如DYNABEADS[®]M-450CD3/CD28 T)一起培育足以正向选择所需T细胞的时间段来分离出T细胞。在一些实施例中,所述时间段为约30分钟。在一些实施例中,所述时间段的范围为30分钟到36小时或更长及其间的所有整数值。在一些实施例中,所述时间段为至少1、2、3、4、5或6小时。在一些实施例中,所述时间段为10到24小时。在一些实施例中,培育时间段为24小时。为了从白血病患者分离出T细胞,使用较长培育时间(例如24小时)可提高细胞产量。在T细胞相较于其它细胞类型而言很少的任何情形下,可以使用较长培育时间分离T细胞,例如从肿瘤组织或从免疫功能不全个体分离出肿瘤浸润淋巴细胞(TIL)。此外,使用较长培育时间可提高捕捉CD8⁺T细胞的效率。因此,通过仅缩短或延长允许T细胞结合到CD3/CD28珠粒的时间及/或通过增加或减少珠粒与T细胞的比率,可以在培养起始或在工艺期间的其它时间点借此优先选择T细胞亚群。此外,通过增加或降低珠粒或其它表面上的抗CD3及/或抗CD28抗体的比率,可以在培养起始时或在其它所要时间点借此优先选择T细胞亚群。本领域技术人员将认识到在本发明的背景下还可使用多轮选择。在一些实施例中,在活化及扩增过程中可能需要执行选择程序且使用“未选择的”细胞。“未选择的”细胞还可经受其它多轮选择。

[0618] 通过负向选择富集T细胞群可以经由将抗体组合引导到经负向选择的细胞所独有的表面标记物来完成。一种方法为经由负向磁性免疫粘附或流式细胞术进行的细胞分选及/或选择,其使用引导到存在于经负向选择的细胞上的细胞表面标记物的单株抗体混合物。举例来说,为了通过负向选择富集CD4⁺细胞,单株抗体混合物典型地包含CD-14、CD20、CD11b、CD-16、HLA-DR及CD8的抗体。在一些实施例中,可能需要富集或正向选择典型地表达CD4⁺、CD25⁺、CD62Lhi、GITR⁺及FoxP3⁺的T调控细胞。或者,在一些实施例中,T调控细胞通过抗CD25结合的珠粒或其它类似选择方法耗竭。

[0619] 为了通过正向或负向选择分离出所要细胞群,可以改变细胞浓度及表面(例如颗粒,例如珠粒)。在一些实施例中,可能需要显著减小珠粒与细胞混合在一起的体积(即增加细胞浓度),以确保细胞与珠粒的最大接触。举例来说,在一些实施例中,使用约20亿个细胞/毫升的浓度。在一些实施例中,使用约10亿个细胞/毫升的浓度。在一些实施例中,使用大于约1亿个细胞/毫升。在一些实施例中,使用约10、15、20、25、30、35、40、45或50百万个细胞/毫升中的任一者的细胞浓度。在一些实施例中,使用约75、80、85、90、95或100百万个细胞/毫升中的任一者的细胞浓度。在一些实施例中,使用约125或约150百万个细胞/毫升的浓度。使用高浓度可以引起细胞产量、细胞活化及细胞扩增增加。另外,使用高细胞浓度可以更有效地捕捉可能微弱表达所关注的靶抗原的细胞,例如CD28阴性T细胞,或来自存在许多肿瘤细胞的样本(即,白血病血液、肿瘤组织等)的细胞。这类细胞群可以具有治疗价值且需要获得。举例来说,使用高细胞浓度允许更有效选择通常具有较弱CD28表达的CD8⁺T细胞。

[0620] 在本发明的一些实施例中,T细胞直接从治疗之后的患者获得。在这方面,已观测到在某些癌症治疗(特定来说,用损伤免疫系统的药物治疗)之后,在治疗之后不久,在患者从治疗正常恢复的时间期间,所得T细胞的质量可为最优的或其离体扩增的能力得到改进。类似地,在使用本文所述的方法离体操纵之后,这些细胞可以处于移植及体内扩增增强

的优选状态。因此,本发明的上下文内涵盖在这个恢复阶段期间收集血细胞,包含T细胞、树突状细胞或造血谱系的其它细胞。此外,在一些实施例中,移动(例如随GM-CSF移动)及调理疗法可以用于建立个体内的条件,其中有利于重建、再循环、再生及/或扩增特定细胞类型,尤其在治疗之后的限定时间段期间。说明性细胞类型包含T细胞、B细胞、树突状细胞及免疫系统的其它细胞。

[0621] 不论在对表达所需抗GPC3 CAR或抗GPC3 α TCR(及在一些实施例中,进一步共表达多特异性(例如双特异性)抗GPC3分子)的T细胞进行基因修饰之前或之后,通常均可以利用例如以下文献中所述的方法活化及扩增T细胞:美国专利第6,352,694号;第6,534,055号;第6,905,680号;第6,692,964号;第5,858,358号;第6,887,466号;第6,905,681号;第7,144,575号;第7,067,318号;第7,172,869号;第7,232,566号;第7,175,843号;第5,883,223号;第6,905,874号;第6,797,514号;第6,867,041号;及美国专利申请公开案第20060121005号。

[0622] 一般来说,本发明的T细胞通过使刺激CD3/TCR复合物相关信号的药剂及刺激T细胞表面上的协同刺激分子的配体与其所连接的表面接触来扩增。特定来说,T细胞群可以如下刺激:例如通过与抗CD3抗体或其抗原结合片段或固定于表面上的抗CD3抗体接触,或通过结合钙离子载体的蛋白激酶C活化剂(例如苔藓虫素)接触。为了协同刺激T细胞表面上的辅助分子,使用结合辅助分子的配体。举例来说,可以使T细胞群与抗CD3抗体及抗CD28抗体在适于刺激T细胞增殖的条件下接触。为了刺激CD4⁺T细胞或CD8⁺T细胞增殖,抗CD3抗体及抗CD28抗体。可以使用的抗CD28抗体的实例包含9.3、b-T3、XR-CD28(Diaclone, Besançon, France),还可使用所属领域中通常已知的其它方法(Berg等人,Transplant Proc.30(8):3975-3977,1998;Haanen等人,J.Exp.Med.190(9):1319-1328,1999;Garland等人,J.Immunol.Meth.227(1-2):53-63,1999)。

[0623] 免疫结合物制备

[0624] 抗GPC3免疫结合物可以使用所属领域中已知的任何方法制备。参见例如WO 2009/067800、WO 2011/133886及美国专利申请公开案第2014322129号,其全文以引用的方式并入本文中。

[0625] 抗GPC3免疫结合物中的抗GPC3抗体部分可以通过使抗GPC3抗体部分能与效应分子结合或连接的任何方式“连接到”效应分子。举例来说,抗GPC3免疫结合物中的抗GPC3抗体部分可以通过化学或重组方式连接到效应分子。制备融合物或结合物的化学方式在所属领域中已知且可用于制备抗GPC3免疫结合物。用于使抗GPC3抗体部分与效应分子结合的方法必须能够在不干扰结合蛋白结合到靶细胞上的抗原的能力的情况下使结合蛋白与效应分子连接。

[0626] 抗GPC3免疫结合物中的抗GPC3抗体部分可以间接连接到效应分子。举例来说,抗GPC3免疫结合物中的抗GPC3抗体部分可以直接连接到含有若干类型之一的效应分子的脂质体。效应分子及/或抗GPC3抗体部分还可结合到固体表面。

[0627] 在一些实施例中,抗GPC3免疫结合物中的抗GPC3抗体部分与效应分子均为蛋白质且可使用所属领域中熟知的技术结合。可供能使两种蛋白质结合用的交联剂存在数百种。(参见例如“蛋白质结合与交联化学(Chemistry of Protein Conjugation and Crosslinking)”1991,Shans Wong,CRC Press,Ann Arbor)。交联剂一般基于抗GPC3抗体部

分及/或效应分子上可利用的或插入的反应性官能团选择。另外,如果不存在反应性基团,那么可使用光可活化交联剂。在某些情况下,抗GPC3抗体部分与效应分子之间可能需要包含间隔子。所属领域已知的交联剂包含同双官能药剂:戊二醛、二亚胺代己二酸二甲酯及双(重氮联苯胺),及异双官能药剂:间顺丁烯二酰亚氨基苯甲酰基-N-羟基丁二酰亚胺及磺酰基-间顺丁烯二酰亚氨基苯甲酰基-N-羟基丁二酰亚胺。

[0628] 在一些实施例中,抗GPC3免疫结合物中的抗GPC3抗体部分可以用特定残基加以工程改造以便化学连接效应分子。所属领域已知的用于化学连接分子的特定残基包含赖氨酸及半胱氨酸。交联剂一般基于抗GPC3抗体部分中所插入及效应分子上可利用的反应性官能团选择。

[0629] 抗GPC3免疫结合物还可使用重组DNA技术制备。在这种情况下,使编码抗GPC3抗体部分的DNA序列与编码效应分子的DNA序列融合,产生嵌合DNA分子。将嵌合DNA序列转染到表达融合蛋白的宿主细胞中。融合蛋白可从细胞培养物回收且使用所属领域中已知的技术纯化。

[0630] 作为标记的效应分子连接到结合蛋白的实例包含以下文献中所述的方法:Hunter等人,Nature 144:945 (1962);David等人,Biochemistry 13:1014 (1974);Pain等人,J.Immunol.Meth.40:219 (1981);Nygren,J.Histochem.and Cytochem.30:407 (1982);Wensel及Meares,Radioimmunoimaging And Radioimmunotherapy,Elsevier,N.Y. (1983);及Colcher等人,“单克隆抗体作为放射性药物在定位物胸腺小鼠中的人类癌瘤异种移植术方面的用途(Use of MonoclonalAntibodies as Radiopharmaceuticals for the Localization of Human Carcinoma Xenografts in Athymic Mice)”,Meth.Enzymol., 121:802-16 (1986)。

[0631] 放射性标记或其它标记可以已知方式并入免疫结合物中。举例来说,肽可生物合成或可通过化学氨基酸合成、使用包含例如氟-19(替代氢)的适合氨基酸前体合成。例如⁹⁹Tc或¹²³I、¹⁸⁶Re、¹⁸⁸Re及¹¹¹In的标记可经由肽中的半胱氨酸残基连接。钇-90可经由赖氨酸残基连接。IODOGEN方法(Fraker等人,Biochem.Biophys.Res.Comm.80:49-57 (1978))可以用于并入碘-123。“免疫闪烁扫描术中的单克隆抗体(MonoclonalAntibodies in Immunoscintigraphy)”(Chatal,CRC Press 1989)详细描述其它方法。

[0632] 可使用多种双官能蛋白质偶合剂制得抗GPC3抗体部分与细胞毒性剂的结合物,所述双官能蛋白质偶合剂例如N-丁二酰亚氨基-3-(2-吡啶基二硫基)丙酸酯(SPDP)、丁二酰亚氨基-4-(N-顺丁烯二酰亚氨基甲基)环己烷-1-甲酸酯(SMCC)、亚氨基硫杂环戊烷(IT)、酰亚胺酯的双官能衍生物(例如二亚胺代己二酸二甲酯HCl)、活性酯(例如二丁二酰亚氨基辛二酸酯)、醛(例如戊二醛)、双叠氮基化合物(例如双(对叠氮基苯甲酰基)己二胺)、双重氮衍生物(例如双(对重氮苯甲酰基)-乙二胺)、二异氰酸酯(例如甲苯2,6-二异氰酸酯)及双活性氟化合物(例如1,5-二氟-2,4-二硝基苯)。举例来说,蓖麻毒素免疫毒素可如Vitetta等人,Science 238:1098 (1987)所述来制备。碳14标记的1-异硫氰基苯甲基-3-甲基二仲乙三胺五乙酸(MX-DTPA)为用于放射性核苷酸与抗体结合的示范性螯合剂。参见例如W094/11026。连接子可为促进细胞毒性药物在细胞中释放的“可裂解连接子”。举例来说,可以使用酸不稳定连接子、肽酶敏感连接子、光不稳定性连接子、二甲基连接子或含二硫键连接子(Chari等人,Cancer Research 52:127-131 (1992);美国专利第5,208,020号)。

[0633] 本发明的抗GPC3免疫结合物明确地涵盖但不限于用交联试剂制备的ADC:BMPS、EMCS、GMBS、HBVS、LC-SMCC、MBS、MPBH、SBAP、SIA、SIAB、SMCC、SMPB、SMPH、磺基-EMCS、磺基-GMBS、磺基-KMUS、磺基-MBS、磺基-SIAB、磺基-SMCC及磺基-SMPB,及SVSB(丁二酰亚氨基-(4-乙烯基砜)苯甲酸酯),其可市购(例如从Pierce Biotechnology, Inc., Rockford, IL, U.S.A购得)。参见应用手册与目录(Applications Handbook and Catalog)第467-498页, 2003-2004。

[0634] 医药组合物

[0635] 本文还提供包括抗GPC3构筑体(例如经分离的抗GPC3构筑体)的组合物(例如医药组合物,在本文中也称为调配物)、编码所述构筑体的核酸、包括编码所述构筑体的核酸的载体、包括所述核酸或载体的宿主细胞,或包括所述核酸或载体的效应细胞。在一些实施例中,组合物进一步包括与抗GPC3构筑体结合的细胞(例如效应细胞,例如T细胞)。在一些实施例中,提供一种医药组合物,其包括抗GPC3构筑体及任选地存在的药学上可接受的载剂。在一些实施例中,医药组合物进一步包括与抗GPC3构筑体结合的细胞(例如效应细胞,例如T细胞、CAR-T细胞、caTCR-T细胞)。

[0636] 适合的抗GPC3构筑体(例如经分离的抗GPC3构筑体)调配物通过将具有所需纯度的抗GPC3构筑体与任选地存在的药学上可接受的载剂、赋形剂或稳定剂(Remington's Pharmaceutical Sciences第16版, Osol, A. 编(1980))混合、以冻干调配物或水溶液形式获得。可接受的载剂、赋形剂或稳定剂在所用剂量及浓度下对接受者无毒,且包含缓冲剂,例如磷酸盐、柠檬酸盐及其它有机酸;抗氧化剂,包含抗坏血酸及甲硫氨酸;防腐剂(例如氯化十八烷基二甲基苯甲基铵、氯化六羟季铵、苯扎氯铵、苜素氯铵、苯酚、丁醇或苯甲醇、对羟基苯甲酸烷基酯,例如对羟基苯甲酸甲酯或对羟基苯甲酸丙酯;儿茶酚、间苯二酚、环己醇、3-戊醇;及间甲酚);低分子量(少于约10个残基)的多肽;蛋白质,例如血清白蛋白、明胶或免疫球蛋白;亲水性聚合物,例如聚乙烯吡咯烷酮;氨基酸,例如甘氨酸、谷氨酰胺、天冬酰胺、组氨酸、精氨酸或赖氨酸;单糖、双糖及其它碳水化合物,包含葡萄糖、甘露糖或糊精;螯合剂,例如EDTA;糖类,例如蔗糖、甘露醇、岩藻糖或山梨糖醇;成盐相对离子,例如钠;金属络合物(例如Zn蛋白质络合物);及/或非离子型表面活性剂,例如TWEEN™、PLURONICS™或聚乙二醇(PEG)。示范性调配物描述于W098/56418中,所述专利以引用的方式明确并入本文中。适于皮下投与的冻干调配物描述于W097/04801中。这类冻干调配物可以用适合稀释剂复原到高蛋白质浓度且经复原的调配物可以皮下投与本文中的待治疗个体。脂质体(Lipofectin/liposome)可用于将本发明的抗GPC3构筑体递送到细胞中。

[0637] 本文中的调配物在所治疗的特定适应症需要时还可含有除抗GPC3构筑体(例如经分离的抗GPC3构筑体)之外的一或多种活性化合物,优选为具有对彼此无有害影响的互补活性的那些活性化合物。举例来说,除抗GPC3构筑体之外,可能需要进一步提供抗赘生剂、生长抑制剂、细胞毒性剂或化学治疗剂。这类分子宜以对预期目的有效的量组合存在。这类其它药剂的有效量视以下因素而定:存在于调配物中的抗GPC3构筑体的量、疾病或病症或治疗的类型及如上文所述的其它因素。这些药剂一般以如本文所述的相同剂量及投与途径或迄今使用的剂量的约1%到99%使用。

[0638] 抗GPC3构筑体(例如经分离的抗GPC3构筑体)还可包覆于微胶囊中,例如分别通过凝聚技术或通过界面聚合所制备的微胶囊,例如羟基甲基纤维素或明胶微胶囊及聚(甲基

丙烯酸甲酯)微胶囊;包覆于胶态药物递送系统(例如脂质体、白蛋白微球体、微乳液、纳米颗粒及纳米胶囊)中或包覆于粗乳液中。这类技术公开于Remington's Pharmaceutical Sciences第16版,Osol,A.编(1980)中。可以制备持续释放制剂。

[0639] 可以制备抗GPC3构筑体(例如经分离的抗GPC3构筑体)的持续释放制剂。持续释放制剂的适合实例包含含有抗体(或其片段)的固体疏水性聚合物的半渗透基质,所述基质呈成形物品形式,例如膜或微胶囊。持续释放基质的实例包含聚酯、水凝胶(例如聚(甲基丙烯酸2-羟基乙酯)或聚(乙烯醇))、聚乳酸交酯(美国专利第3,773,919号)、L-谷氨酸与乙基-L-谷氨酸盐的共聚物、不可降解乙烯-乙酸乙烯酯、可降解乳酸-乙醇酸共聚物(例如LUPRON DEPOT™(由乳酸-乙醇酸共聚物及亮丙立德乙酸酯(leuprolide acetate)组成的可注射微球体)),及聚-D-(-)-3-羟基丁酸。虽然例如乙烯-乙酸乙烯酯及乳酸-乙醇酸的聚合物允许分子释放超过100天,但某些水凝胶释放蛋白质的时间段较短。如果囊封抗体长时间留存于体内,那么其可因在37℃下暴露于水分而变性或聚集,引起生物活性损失及可能的免疫原性变化。根据所涉及的机制,可以设计出使抗GPC3构筑体稳定的合理策略。举例来说,如果发现聚集机制经由巯基-二硫化物互换而形成分子间S-S键,那么稳定化可通过修饰巯基残基、从酸性溶液冻干、控制水分含量、使用适当添加剂及开发特定聚合物基质组合物来实现。

[0640] 在一些实施例中,抗GPC3构筑体(例如经分离的抗GPC3构筑体)是在缓冲液中调配,所述缓冲液包括柠檬酸盐、NaCl、乙酸盐、丁二酸盐、甘氨酸、聚山梨醇酯80(吐温80)或前述各者的任何组合。在一些实施例中,抗GPC3构筑体是在包括约100mM到约150mM甘氨酸的缓冲液中调配地。在一些实施例中,抗GPC3构筑体是在包括约50mM到约100mM NaCl的缓冲液中调配的。在一些实施例中,抗GPC3构筑体是在包括约10mM到约50mM乙酸盐的缓冲液中调配的。在一些实施例中,抗GPC3构筑体是在包括约10mM到约50mM丁二酸盐的缓冲液中调配的。在一些实施例中,抗GPC3构筑体是在包括约0.005%到约0.02%聚山梨醇酯80的缓冲液中调配的。在一些实施例中,抗GPC3构筑体是在具有约5.1与5.6之间的pH的缓冲液中调配的。在一些实施例中,抗GPC3构筑体是在包括10mM柠檬酸盐、100mM NaCl、100mM甘氨酸及0.01%聚山梨醇酯80的缓冲液中调配的,其中调配物的pH为5.5。

[0641] 用于体内投与的调配物必须为无菌的。这容易通过例如无菌过滤膜过滤来实现。

[0642] 使用抗GPC3构筑体的治疗方法

[0643] 本发明的抗GPC3构筑体(例如经分离的抗GPC3构筑体)及/或组合物可以投与个体(例如哺乳动物,例如人类),以治疗涉及GPC3表达异常高的疾病及/或病症(在本文中也称为“GPC3阳性”疾病或病症),包含例如癌症(例如肝细胞癌(HCC))。本申请案因此在一些实施例中提供治疗个体的GPC3阳性疾病(例如癌症)的方法,包括向个体投与有效量的包括含有抗GPC3抗体部分的抗GPC3构筑体(例如本文所述的任一种抗GPC3构筑体)的组合物(例如医药组合物)。在一些实施例中,所述组合物进一步包括与抗GPC3构筑体(例如抗GPC3 CAR或抗GPC3 caTCR)结合的细胞(例如效应细胞,例如T细胞)。在一些实施例中,提供一种治疗个体的GPC3阳性疾病(例如癌症)的方法,包括向个体投与有效量的包括抗GPC3构筑体(例如抗GPC3×CD3串联双scFv T细胞接合体)的组合物(例如医药组合物),其中在经由效应细胞(例如T细胞)上的信号传导受体(例如TCR、CAR、caTCR)传导信号后,可诱导抗GPC3构筑体表达。在一些实施例中,提供一种治疗个体的GPC3阳性疾病(例如癌症)的方法,包括向个体

投与有效量的包括效应细胞(例如T细胞、CAR-T细胞、caTCR-T细胞)的组合物(例如医药组合物),其中所述效应细胞经由效应细胞信号传导受体(例如TCR、CAR、caTCR)活化来诱导抗GPC3构筑体(例如抗GPC3×CD3串联双scFv T细胞接合体)表达。在一些实施例中,编码抗GPC3构筑体(例如抗GPC3×CD3串联双scFv T细胞接合体)的核酸可操作地连接到诱导型启动子,例如信号传导受体(例如TCR、CAR、caTCR)活化依赖性启动子。在一些实施例中,诱导型启动子为源自NFAT的启动子,例如源自NFAT的最小启动子。在一些实施例中,诱导型启动子为IL-2启动子。在一些实施例中,效应细胞为抗GPC3 CAR-T细胞。在一些实施例中,效应细胞为抗GPC3 caTCR-T细胞。

[0644] 在一些实施例中,癌症选自例如以下组成的群组:HCC、黑色素瘤、鳞状细胞肺癌、卵巢癌、卵黄囊肿瘤、绒膜癌、成神经细胞瘤、肝胚细胞瘤、威尔姆斯氏肿瘤、睾丸非精原细胞瘤型生殖细胞肿瘤、胃癌及脂肪肉瘤。在一些实施例中,癌症为HCC。在一些实施例中,癌症为肝细胞癌且治疗包括预防癌症扩散,例如抑制(例如预防)癌症转移。在一些实施例中,癌症为转移HCC。在一些实施例中,个体为人类。

[0645] 举例来说,在一些实施例中,提供一种治疗患有GPC3阳性疾病的个体的方法,包括向个体投与有效量的包括抗GPC3构筑体(例如经分离的抗GPC3构筑体)的组合物,所述构筑体包括特异性结合到GPC3(例如nGPC3及/或sGPC3)的抗GPC3抗体部分。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分特异性识别与细胞表面结合的GPC3。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分对与细胞表面结合的GPC3的结合亲和力高于对可溶性GPC3的结合亲和力。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分以高结合亲和力特异性识别与细胞表面结合的GPC3且以低结合亲和力结合到可溶性GPC3。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分特异性识别可溶性GPC3。在一些实施例中,抗sGPC3抗体部分对可溶性GPC3的结合亲和力高于对与细胞表面结合的GPC3的结合亲和力。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分特异性识别与细胞表面结合的GPC3与可溶性GPC3。在一些实施例中,抗GPC3构筑体为非天然存在的。在一些实施例中,抗GPC3构筑体为scFv。在一些实施例中,抗GPC3构筑体为全长抗体。在一些实施例中,抗GPC3构筑体为多特异性分子(例如双特异性T细胞接合体)。在一些实施例中,抗GPC3构筑体为CAR或caTCR。在一些实施例中,抗GPC3构筑体为免疫结合物。在一些实施例中,组合物进一步包括与抗GPC3构筑体结合的细胞(例如效应细胞,例如T细胞)。在一些实施例中,组合物包括效应细胞(例如T细胞、CAR-T细胞、caTCR-T细胞),其中所述效应细胞经由效应细胞信号传导受体(例如TCR、CAR、caTCR)的活化来诱导抗GPC3构筑体(例如抗GPC3×CD3串联双scFv T细胞接合体)表达。在一些实施例中,编码抗GPC3构筑体(例如抗GPC3×CD3串联双scFv T细胞接合体)的核酸可操作地连接到诱导型启动子,例如信号传导受体(例如TCR、CAR、caTCR)活化依赖性启动子。在一些实施例中,诱导型启动子为源自NFAT的启动子,例如源自NFAT的最小启动子。在一些实施例中,诱导型启动子为IL-2启动子。在一些实施例中,效应细胞为抗GPC3 CAR-T细胞。在一些实施例中,效应细胞为抗GPC3 caTCR-T细胞。在一些实施例中,GPC3阳性疾病为癌症。在一些实施例中,癌症为例如HCC、黑色素瘤、鳞状细胞肺癌、卵巢癌、卵黄囊肿瘤、绒膜癌、成神经细胞瘤、肝胚细胞瘤、威尔姆斯氏肿瘤、睾丸非精原细胞瘤型生殖细胞肿瘤、胃癌或脂肪肉瘤。在一些实施例中,癌症为HCC。在一些实施例中,癌症为HCC且治疗包括预防癌症扩散,例如抑制(例如预防)癌症转移。在一些实施例中,癌症为转移HCC。在一些实施例中,个体为人类。

[0646] 在一些实施例中,提供一种治疗患有GPC3阳性疾病(例如癌症)的个体的方法,包括向个体投与有效量的包括抗GPC3构筑体(例如经分离的抗GPC3构筑体)的组合物,所述构筑体包括特异性结合到与细胞表面结合的GPC3的抗GPC3抗体部分(例如,抗nGPC3抗体部分对与细胞表面结合的GPC3的结合亲和力高于对可溶性GPC3的结合亲和力,或抗nGPC3抗体部分以高结合亲和力特异性识别与细胞表面结合的GPC3且以低结合亲和力结合到可溶性GPC3)。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分特异性识别包括氨基酸序列SEQ ID NO:460的人类GPC3内的抗原决定基。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分特异性识别氨基酸序列SEQ ID NO:461内的抗原决定基。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分特异性识别氨基酸序列SEQ ID NO:462内的抗原决定基。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分特异性识别氨基酸序列SEQ ID NO:463内的抗原决定基。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分特异性识别GPC3的N端片段内的抗原决定基。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分特异性识别SEQ ID NO:460的氨基酸1-358内的抗原决定基(SEQ ID NO:468)。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分特异性识别氨基酸序列SEQ ID NO:464内的抗原决定基。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分特异性识别GPC3的C端片段内的抗原决定基。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分特异性识别SEQ ID NO:460的氨基酸359-560内的抗原决定基(SEQ ID NO:465)。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分特异性识别SEQ ID NO:460的氨基酸359-580内的抗原决定基(SEQ ID NO:466)。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分特异性识别缺乏硫酸肝素侧链的GPC3的C端片段内的抗原决定基。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分特异性识别SEQ ID NO:460的氨基酸510-560内的抗原决定基(SEQ ID NO:467)。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分特异性识别跨越位于SEQ ID NO:460的氨基酸R³⁵⁸/S³⁵⁹的弗林裂解位点的抗原决定基。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分可以特异性结合到人类成熟全长GPC3(例如SEQ ID NO:460的氨基酸25-560或25-580),但不结合到人类GPC3的N端片段(例如SEQ ID NO:460的氨基酸25-358)或人类GPC3的C端片段(例如SEQ ID NO:460的氨基酸359-560或359-580)。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分特异性识别缺乏硫酸肝素侧链的GPC3的C端片段内的抗原决定基。在一些实施例中,提供一种治疗患有GPC3阳性疾病(例如癌症)的个体的方法,包括向个体投与有效量的包括抗GPC3构筑体(例如经分离的抗GPC3构筑体)的组合物,所述构筑体包括与本文所述的任一种抗GPC3构筑体竞争结合到nGPC3的抗nGPC3抗体部分(例如,抗nGPC3抗体部分对与细胞表面结合的GPC3的结合亲和力高于对可溶性GPC3的结合亲和力,或抗nGPC3抗体部分以高结合亲和力特异性识别与细胞表面结合的GPC3且以低结合亲和力结合到可溶性GPC3)。在一些实施例中,提供一种治疗患有GPC3阳性疾病(例如癌症)的个体的方法,包括向个体投与有效量的包括抗GPC3构筑体(例如经分离的抗GPC3构筑体)的组合物,所述构筑体包括与本文所述的任一种抗GPC3构筑体竞争性地特异性结合到相同或基本上相同nGPC3抗原决定基的抗nGPC3抗体部分(例如,抗nGPC3抗体部分对与细胞表面结合的GPC3的结合亲和力高于对可溶性GPC3的结合亲和力,或抗nGPC3抗体部分以高结合亲和力特异性识别与细胞表面结合的GPC3且以低结合亲和力结合到可溶性GPC3)。在一些实施例中,抗GPC3构筑体为非天然存在的。在一些实施例中,抗GPC3构筑体为scFv。在一些实施例中,抗GPC3构筑体为全长抗体。在一些实施例中,抗GPC3构筑体为多特异性分子(例如双特异性T细胞接合体)。在一些实施例中,抗GPC3构筑体为CAR或caTCR。在一些实施例中,抗GPC3构筑体为免疫结合物。在一些实施例中,组合物进一步包括与抗GPC3构筑体结合的细胞(例如效应细胞,例如T细胞、

CAR-T细胞、caTCR-T细胞)。在一些实施例中,效应细胞(例如T细胞、CAR-T细胞、caTCR-T细胞)经由效应细胞信号传导受体(例如TCR、CAR、caTCR)的活化来诱导抗GPC3构筑体(例如抗GPC3×CD3串联双scFv T细胞接合体)表达。在一些实施例中,抗GPC3构筑体(例如抗GPC3×CD3串联双scFv T细胞接合体)是在诱导型启动子(例如信号传导受体(例如TCR、CAR、caTCR)活化依赖性启动子)的控制下表达。在一些实施例中,诱导型启动子为源自NFAT的启动子,例如源自NFAT的最小启动子。在一些实施例中,诱导型启动子为IL-2启动子。在一些实施例中,效应细胞为抗GPC3 CAR-T细胞。在一些实施例中,效应细胞为抗GPC3 caTCR-T细胞。在一些实施例中,GPC3阳性疾病为癌症。在一些实施例中,癌症为例如HCC、黑色素瘤、鳞状细胞肺癌、卵巢癌、卵黄囊肿瘤、绒膜癌、成神经细胞瘤、肝胚细胞瘤、威尔姆斯氏肿瘤、睾丸非精原细胞瘤型生殖细胞肿瘤、胃癌或脂肪肉瘤。在一些实施例中,癌症为HCC。在一些实施例中,癌症为HCC且治疗包括预防癌症扩散,例如抑制(例如预防)癌症转移。在一些实施例中,癌症为转移HCC。在一些实施例中,个体为人类。

[0647] 在一些实施例中,提供一种治疗患有GPC3阳性疾病(例如癌症)的个体的方法,包括向个体投与有效量的包括抗GPC3构筑体(例如经分离的抗GPC3构筑体)的组合物,所述构筑体包括特异性结合到与细胞表面结合的GPC3的抗GPC3抗体部分,所述抗体部分包括:i) V_H ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:1-31中的任一者的HC-CDR1或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体、氨基酸序列为SEQ ID NO:52-82中的任一者的HC-CDR2或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体,及氨基酸序列为SEQ ID NO:103-133中的任一者的HC-CDR3或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体;以及ii) V_L ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:154-184中的任一者的LC-CDR1或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体、氨基酸序列为SEQ ID NO:205-235中的任一者的LC-CDR2或包括最多约3(例如约1、2或3中的任一者)个氨基酸取代的其变异体,及氨基酸序列为SEQ ID NO:256-286中的任一者的LC-CDR3或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体。在一些实施例中,提供一种治疗患有GPC3阳性疾病的个体的方法,包括向个体投与有效量的包括抗GPC3构筑体(例如经分离的抗GPC3构筑体)的组合物,所述构筑体包括特异性结合到与细胞表面结合的GPC3的抗GPC3抗体部分,所述抗体部分包括:i) V_H ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:1-31中的任一者的HC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:52-82中的任一者的HC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:103-133中的任一者的HC-CDR3;及ii) V_L ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:154-184中的任一者的LC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:205-235中的任一者的LC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:256-286中的任一者的LC-CDR3。在一些实施例中,提供一种治疗患有GPC3阳性疾病的个体的方法,包括向个体投与有效量的包括抗GPC3构筑体(例如经分离的抗GPC3构筑体)的组合物,所述构筑体包括特异性结合到与细胞表面结合的GPC3的抗GPC3抗体部分,所述抗体部分包括:i) 氨基酸序列为SEQ ID NO:307-337中的任一者的 V_H ;及ii) 氨基酸序列为SEQ ID NO:358-388中的任一者的 V_L 。在一些实施例中,提供一种治疗患有GPC3阳性疾病的个体的方法,包括向个体投与有效量的包括抗GPC3构筑体(例如经分离的抗GPC3构筑体)的组合物,所述构筑体包括特异性结合到与细胞表面结合的GPC3的抗GPC3抗体部分,所述抗体部分包括氨基酸序列为SEQ ID NO:307-337中任一者的 V_H 的HC-CDR及氨基酸序列为SEQ ID NO:358-388中任一者的 V_L 的LC-CDR。在一些

实施例中,提供一种治疗患有GPC3阳性疾病(例如癌症)的个体的方法,包括向个体投与有效量的包括抗GPC3构筑体(例如经分离的抗GPC3构筑体)的组合物,所述构筑体包括与本文所述的任一种抗GPC3构筑体竞争结合到nGPC3的抗nGPC3抗体部分。在一些实施例中,提供一种治疗患有GPC3阳性疾病(例如癌症)的个体的方法,包括向个体投与有效量的包括抗GPC3构筑体(例如经分离的抗GPC3构筑体)的组合物,所述构筑体包括与本文所述的任一种抗GPC3构筑体竞争性地特异性结合到相同或基本上相同nGPC3抗原决定基的抗nGPC3抗体部分。在一些实施例中,抗GPC3构筑体为非天然存在的。在一些实施例中,抗GPC3构筑体为scFv。在一些实施例中,抗GPC3构筑体为全长抗体。在一些实施例中,抗GPC3构筑体为多特异性分子(例如双特异性T细胞接合体)。在一些实施例中,抗GPC3构筑体为CAR或caTCR。在一些实施例中,抗GPC3构筑体为免疫结合物。在一些实施例中,组合物进一步包括与抗GPC3构筑体结合的细胞(例如效应细胞,例如T细胞、CAR-T细胞、caTCR-T细胞)。在一些实施例中,效应细胞(例如T细胞、CAR-T细胞、caTCR-T细胞)经由效应细胞信号传导受体(例如TCR、CAR、caTCR)的活化来诱导抗GPC3构筑体(例如抗GPC3×CD3串联双scFv T细胞接合体)表达。在一些实施例中,抗GPC3构筑体(例如抗GPC3×CD3串联双scFv T细胞接合体)是在诱导型启动子(例如信号传导受体(例如TCR、CAR、caTCR)活化依赖性启动子)的控制下表达。在一些实施例中,诱导型启动子为源自NFAT的启动子,例如源自NFAT的最小启动子。在一些实施例中,诱导型启动子为IL-2启动子。在一些实施例中,效应细胞为抗GPC3 CAR-T细胞。在一些实施例中,效应细胞为抗GPC3 caTCR-T细胞。在一些实施例中,GPC3阳性疾病为癌症。在一些实施例中,癌症为例如HCC、黑色素瘤、鳞状细胞肺癌、卵巢癌、卵黄囊肿瘤、绒膜癌、成神经细胞瘤、肝胚细胞瘤、威尔姆斯氏肿瘤、睾丸非精原细胞瘤型生殖细胞肿瘤、胃癌或脂肪肉瘤。在一些实施例中,癌症为HCC。在一些实施例中,癌症为HCC且治疗包括预防癌症扩散,例如抑制(例如预防)癌症转移。在一些实施例中,癌症为转移HCC。在一些实施例中,个体为人类。

[0648] 在一些实施例中,提供一种治疗患有GPC3阳性疾病的个体的方法,包括向个体投与有效量的包括抗GPC3构筑体(例如经分离的抗GPC3构筑体)的组合物,所述构筑体包括特异性结合到GPC3(例如nGPC3及/或sGPC3)的抗GPC3抗体部分,所述抗体部分包括:i) V_H ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:32-51中的任一者的HC-CDR1或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体、氨基酸序列为SEQ ID NO:83-102中的任一者的HC-CDR2或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体,及氨基酸序列为SEQ ID NO:134-153中的任一者的HC-CDR3或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体;以及ii) V_L ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:185-204中的任一者的LC-CDR1或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体、氨基酸序列为SEQ ID NO:236-255中的任一者的LC-CDR2或包括最多约3(例如约1、2或3中的任一者)个氨基酸取代的其变异体,及氨基酸序列为SEQ ID NO:287-306中的任一者的LC-CDR3或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体。在一些实施例中,提供一种治疗患有GPC3阳性疾病的个体的方法,包括向个体投与有效量的包括抗GPC3构筑体(例如经分离的抗GPC3构筑体)的组合物,所述构筑体包括特异性结合到GPC3(例如nGPC3及/或sGPC3)的抗GPC3抗体部分,所述抗体部分包括:i) V_H ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:32-51中的任一者的HC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:83-102中的任一

者的HC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:134-153中的任一者的HC-CDR3;及ii)V_L,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:185-204中的任一者的LC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:236-255中的任一者的LC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:287-306中的任一者的LC-CDR3。在一些实施例中,提供一种治疗患有GPC3阳性疾病的个体的方法,包括向个体投与有效量的包括抗GPC3构筑体(例如经分离的抗GPC3构筑体)的组合物,所述构筑体包括特异性结合到GPC3(例如nGPC3及/或sGPC3)的抗GPC3抗体部分,所述抗体部分包括:i)氨基酸序列为SEQ ID NO:338-357中的任一者的V_H;及ii)氨基酸序列为SEQ ID NO:389-408中的任一者的V_L。在一些实施例中,提供一种治疗患有GPC3阳性疾病的个体的方法,包括向个体投与有效量的包括抗GPC3构筑体(例如经分离的抗GPC3构筑体)的组合物,所述构筑体包括特异性结合到GPC3(例如nGPC3及/或sGPC3)的抗GPC3抗体部分,所述抗体部分包括氨基酸序列为SEQ ID NO:338-357中任一者的V_H的HC-CDR,及氨基酸序列为SEQ ID NO:389-408中任一者的V_L的LC-CDR。在一些实施例中,提供一种治疗患有GPC3阳性疾病(例如癌症)的个体的方法,包括向个体投与有效量的包括抗GPC3构筑体(例如经分离的抗GPC3构筑体)的组合物,所述构筑体包括与本文所述的任一种抗GPC3构筑体竞争结合到GPC3(例如nGPC3及/或sGPC3)的抗GPC3抗体部分。在一些实施例中,提供一种治疗患有GPC3阳性疾病(例如癌症)的个体的方法,包括向个体投与有效量的包括抗GPC3构筑体(例如经分离的抗GPC3构筑体)的组合物,所述构筑体包括与本文所述的任一种抗GPC3构筑体竞争性地特异性结合到相同或基本上相同GPC3抗原决定基的抗nGPC3抗体部分。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分特异性识别与细胞表面结合的GPC3。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分对与细胞表面结合的GPC3的结合亲和力高于对可溶性GPC3的结合亲和力。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分以高结合亲和力特异性识别与细胞表面结合的GPC3且以低结合亲和力结合到可溶性GPC3。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分特异性识别可溶性GPC3。在一些实施例中,抗sGPC3抗体部分对可溶性GPC3的结合亲和力高于对与细胞表面结合的GPC3的结合亲和力。在一些实施例中,抗sGPC3抗体部分特异性识别氨基酸序列SEQ ID NO:461内的抗原决定基。在一些实施例中,抗sGPC3抗体部分特异性识别SEQ ID NO:460的氨基酸510-560内的抗原决定基(SEQ ID NO:467)。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分特异性识别与细胞表面结合的GPC3与可溶性GPC3。在一些实施例中,抗GPC3构筑体为非天然存在的。在一些实施例中,抗GPC3构筑体为scFv。在一些实施例中,抗GPC3构筑体为全长抗体。在一些实施例中,抗GPC3构筑体为多特异性分子(例如双特异性T细胞接合体)。在一些实施例中,抗GPC3构筑体为CAR或caTCR。在一些实施例中,抗GPC3构筑体为免疫结合物。在一些实施例中,组合物进一步包括与抗GPC3构筑体结合的细胞(例如效应细胞,例如T细胞、CAR-T细胞、caTCR-T细胞)。在一些实施例中,效应细胞(例如T细胞、CAR-T细胞、caTCR-T细胞)经由效应细胞信号传导受体(例如TCR、CAR、caTCR)的活化来诱导抗GPC3构筑体(例如抗GPC3×CD3串联双scFv T细胞接合体)表达。在一些实施例中,抗GPC3构筑体(例如抗GPC3×CD3串联双scFv T细胞接合体)是在诱导型启动子(例如信号传导受体(例如TCR、CAR、caTCR)活化依赖性启动子)的控制下表达。在一些实施例中,诱导型启动子为源自NFAT的启动子,例如源自NFAT的最小启动子。在一些实施例中,诱导型启动子为IL-2启动子。在一些实施例中,效应细胞为抗GPC3 CAR-T细胞。在一些实施例中,效应细胞为抗GPC3caTCR-T细胞。在一些实施例中,GPC3阳性疾病为癌症。在一些实施例中,癌症为例如HCC、黑色素瘤、鳞状细胞肺癌、卵巢癌、卵黄囊肿瘤、绒膜癌、成神经

细胞瘤、肝胚细胞瘤、威尔姆斯氏肿瘤、睾丸非精原细胞瘤型生殖细胞肿瘤、胃癌或脂肪肉瘤。在一些实施例中,癌症为HCC。在一些实施例中,癌症为HCC且治疗包括预防癌症扩散,例如抑制(例如预防)癌症转移。在一些实施例中,癌症为转移HCC。在一些实施例中,个体为人类。

[0649] 在一些实施例中,提供一种治疗个体的转移HCC的方法,包括向个体投与有效量的包括根据上述任一实施例的抗GPC3构筑体(例如经分离的抗GPC3构筑体)的组合物。在一些实施例中,组合物进一步包括与抗GPC3构筑体结合的细胞(例如效应细胞,例如T细胞、CAR-T细胞、caTCR-T细胞)。在一些实施例中,个体为人类。

[0650] 在一些实施例中,提供抑制(例如预防)个体的肝细胞癌转移的方法,包括向个体投与有效量的包括根据上述任一实施例的抗GPC3构筑体(例如经分离的抗GPC3构筑体)的组合物。在一些实施例中,个体为人类。

[0651] 在用于治疗上述GPC3阳性疾病的任一方法的一些实施例中,抗GPC3构筑体(例如经分离的抗GPC3构筑体)在投与个体之前与细胞(例如免疫细胞,例如T细胞)结合。因此,举例来说,提供一种治疗个体的GPC3阳性疾病的方法,包括a)使本文所述的任一种抗GPC3构筑体与细胞(例如免疫细胞,例如T细胞)结合以形成抗GPC3构筑体/细胞结合物,及b)向个体投与有效量的包括抗GPC3构筑体/细胞结合物的组合物。在一些实施例中,细胞来源于个体。在一些实施例中,细胞不来源于个体。在一些实施例中,抗GPC3构筑体通过共价连接到细胞表面上的分子而与细胞结合。在一些实施例中,抗GPC3构筑体通过非共价连接到细胞表面上的分子而与细胞结合。在一些实施例中,抗GPC3构筑体通过将抗GPC3构筑体的一部分插入细胞的外膜中而与细胞结合。在一些实施例中,抗GPC3构筑体为非天然存在的。在一些实施例中,抗GPC3构筑体为全长抗体。在一些实施例中,抗GPC3构筑体为多特异性(例如双特异性)分子。在一些实施例中,抗GPC3构筑体为嵌合抗原受体。在一些实施例中,抗GPC3构筑体为caTCR。在一些实施例中,治疗患有GPC3阳性疾病的个体的方法包括向个体投与有效量的抗GPC3 CAR T细胞。在一些实施例中,治疗患有GPC3阳性疾病的个体的方法包括向个体投与有效量的抗GPC3 caTCR T细胞。在一些实施例中,抗GPC3构筑体为免疫结合物。在一些实施例中,GPC3阳性疾病为癌症。在一些实施例中,癌症为例如HCC、黑色素瘤、鳞状细胞肺癌、卵巢癌、卵黄囊肿瘤、绒膜癌、成神经细胞瘤、肝胚细胞瘤、威尔姆斯氏肿瘤、睾丸非精原细胞瘤型生殖细胞肿瘤、胃癌或脂肪肉瘤。在一些实施例中,癌症为HCC。在一些实施例中,癌症为HCC且治疗包括预防癌症扩散,例如抑制(例如预防)癌症转移。在一些实施例中,癌症为转移HCC。在一些实施例中,个体为人类。

[0652] 在用于治疗上述GPC3阳性疾病的任一方法的一些实施例中,在效应细胞(例如T细胞、CAR-T细胞、caTCR-T细胞)经由其信号传导受体(例如TCR、CAR、caTCR)活化后,抗GPC3构筑体(例如经分离的抗GPC3构筑体,例如抗GPC3×CD3双特异性T细胞接合体)受到表达。在一些实施例中,效应细胞包括编码抗GPC3构筑体(例如经分离的抗GPC3构筑体,例如抗GPC3×CD3双特异性T细胞接合体)的核酸序列,所述核酸序列可操作地连接到诱导型启动子,例如信号传导受体(例如TCR、CAR、caTCR)活化依赖性启动子。在一些实施例中,诱导型启动子为源自NFAT的启动子,例如源自NFAT的最小启动子。在一些实施例中,诱导型启动子为IL-2启动子。在一些实施例中,效应细胞为抗GPC3 CAR-T细胞。在一些实施例中,效应细胞为抗GPC3 caTCR-T细胞。因此,举例来说,提供一种治疗个体的GPC3阳性疾病的方法,包括a)将

编码本文所述的任一种抗GPC3构筑体的核酸引入效应细胞(例如T细胞、CAR-T细胞、caTCR-T细胞),其中核酸可操作地连接到诱导型启动子(例如信号传导受体(例如TCR、CAR、caTCR)活化依赖性启动子);及b)向个体投与有效量的包括效应细胞的组合物。在一些实施例中,细胞来源于个体。在一些实施例中,细胞不来源于个体。在一些实施例中,抗GPC3构筑体为非天然存在的。在一些实施例中,抗GPC3构筑体为scFv。在一些实施例中,抗GPC3构筑体为全长抗体。在一些实施例中,抗GPC3构筑体为多特异性(例如双特异性)分子。在一些实施例中,抗GPC3构筑体为嵌合抗原受体。在一些实施例中,抗GPC3构筑体为caTCR。在一些实施例中,治疗患有GPC3阳性疾病的个体的方法包括向个体投与有效量的抗GPC3 CAR T细胞。在一些实施例中,治疗患有GPC3阳性疾病的个体的方法包括向个体投与有效量的抗GPC3 caTCR T细胞。在一些实施例中,抗GPC3构筑体为免疫结合物。在一些实施例中,GPC3阳性疾病为癌症。在一些实施例中,癌症为例如HCC、黑色素瘤、鳞状细胞肺癌、卵巢癌、卵黄囊肿瘤、绒膜癌、成神经细胞瘤、肝胚细胞瘤、威尔姆斯氏肿瘤、睾丸非精原细胞瘤型生殖细胞肿瘤、胃癌或脂肪肉瘤。在一些实施例中,癌症为HCC。在一些实施例中,癌症为HCC且治疗包括预防癌症扩散,例如抑制(例如预防)癌症转移。在一些实施例中,癌症为转移HCC。在一些实施例中,个体为人类。

[0653] 在一些实施例中,个体为哺乳动物(例如人类、非人类灵长类动物、大鼠、小鼠、牛、马、猪、绵羊、山羊、犬、猫等)。在一些实施例中,个体为人类。在一些实施例中,个体为临床患者、临床试验志愿者、实验动物等。在一些实施例中,个体年龄小于约60岁(包含例如年龄小于约50、40、30、25、20、15或10岁中的任一者)。在一些实施例中,个体年龄大于约60岁(包含例如年龄大于约70、80、90或100岁中的任一者)。在一些实施例中,个体经诊断患有或在遗传上容易患有本文所述的一或多种疾病或病症(例如HCC、黑色素瘤、鳞状细胞肺癌、卵巢癌、卵黄囊肿瘤、绒膜癌、成神经细胞瘤、肝胚细胞瘤、威尔姆斯氏肿瘤、睾丸非精原细胞瘤型生殖细胞肿瘤、胃癌或脂肪肉瘤)。在一些实施例中,个体具有与一或多种本文所述的疾病或病症相关的一或多种风险因素。

[0654] 本申请案在一些实施例中,提供一种将抗GPC3构筑体(例如本文所述的任一种抗GPC3构筑体,例如经分离的抗GPC3构筑体)递送到个体或具有可溶性GPC3(例如血清中具有循环GPC3蛋白或游离GPC3肽)的个体的细胞表面上表达GPC3的细胞中的方法,所述方法包括向个体投与包括抗GPC3构筑体的组合物。在一些实施例中,待递送的抗GPC3构筑体与细胞(例如效应细胞,例如T细胞)结合。在一些实施例中,所述方法包括向个体投与抗GPC3 CAR T细胞。在一些实施例中,所述方法包括向个体投与抗GPC3 caTCR T细胞。

[0655] 所属领域中已知用于癌症(例如HCC、黑色素瘤、鳞状细胞肺癌、卵巢癌、卵黄囊肿瘤、绒膜癌、成神经细胞瘤、肝胚细胞瘤、威尔姆斯氏肿瘤、睾丸非精原细胞瘤型生殖细胞肿瘤、胃癌或脂肪肉瘤)或展现异常GPC3表达的任何其它疾病的许多诊断及那些疾病的临床界定。这类方法包含(但不限于)例如免疫组织化学、PCR及荧光原位杂交(FISH)。

[0656] 在一些实施例中,本发明的抗GPC3构筑体(例如经分离的抗GPC3构筑体)及/或组合物与第二、第三或第四药剂(包含例如抗增殖剂、生长抑制剂、细胞毒性剂或化学治疗剂)组合投与以治疗涉及异常GPC3表达的疾病或病症。在一些实施例中,药剂包含例如IFN受体促效剂、Hsp90抑制剂、p53表达增强剂及化学治疗剂。在一些实施例中,药剂为IFN受体促效剂,包含例如IFN γ 、IFN β 及IFN α 。在一些实施例中,药剂为Hsp90抑制剂,包含例如坦螺旋霉

素(tanespimycin) (17-AAG)、阿螺旋霉素(alvespimycin) (17-DMAG)、瑞他霉素(retaspimycin) (IPI-504、IPI-493、CNF2024/BIIB021、MPC-3100、Debio0932 (CUDC-305)、PU-H71、加利特皮(Ganetespib) (STA-9090)、NVP-AUY922 (VER-52269)、HSP990、KW-2478、AT13387、SNX-5422、DS-2248及XL888。在一些实施例中,药剂为p53表达增强剂,包含例如5-氟尿嘧啶及努特林-3(nutlin-3)。在一些实施例中,药剂为化学治疗剂,包含例如拓朴替康、依托泊苷、顺铂、太平洋紫杉醇及长春碱。

[0657] 癌症治疗可以根据以下来评估:例如肿瘤消退、肿瘤重量或尺寸缩小、进展时间、存活持续时间、无进展存活率、总体反应率、反应持续时间、生活质量、蛋白质表达及/或活性。可以使用测定治疗功效的方法,包含例如经由放射学成像测量反应。

[0658] 在一些实施例中,治疗功效以肿瘤生长抑制百分比(TGI%)度量,使用方程式 $100 - (T/C \times 100)$ 计算,其中T为所治疗肿瘤的平均相对肿瘤体积,且C为未治疗肿瘤的平均相对肿瘤体积。在一些实施例中,TGI%为约10%、约20%、约30%、约40%、约50%、约60%、约70%、约80%、约90%、约91%、约92%、约93%、约94%、约95%或大于95%。

[0659] 投与抗GPC3构筑体组合物的剂量及方法

[0660] 给予个体(例如人类)的抗GPC3构筑体(例如经分离的抗GPC3构筑体或以抗GPC3CAR T细胞或抗GPC3 caTCR T细胞形式投与的)组合物的剂量可以随特定组成、投与模式及所治疗的疾病类型而变化。在一些实施例中,组合物(例如包括分离的抗GPC3构筑体、抗GPC3 CAR T细胞或抗GPC3 caTCR T细胞)的量有效引起目标反应(例如部分反应或完全反应)。在一些实施例中,抗GPC3构筑体组合物的量足以引起个体中的完全反应。在一些实施例中,抗GPC3构筑体组合物的量足以引起个体中的部分反应。在一些实施例中,抗GPC3构筑体组合物的投与量(例如单独投与时)足以在抗GPC3构筑体组合物治疗的个体群体中产生大于约20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、64%、65%、70%、75%、80%、85%或90%中的任一者的总体反应率。个体对本文所述方法的治疗的反应可以例如基于RECIST水准来确定。

[0661] 在一些实施例中,组合物(例如包括分离的抗GPC3构筑体、抗GPC3 CAR T细胞或抗GPC3 caTCR T细胞的组合物)的量足以延长个体的无进展存活期。在一些实施例中,组合物的量足以延长个体的总体存活期。在一些实施例中,组合物的量(例如单独投与时)足以在抗GPC3构筑体组合物治疗的个体群体中产生大于约50%、60%、70%或77%中的任一者的临床益处。

[0662] 在一些实施例中,组合物(例如包括分离的抗GPC3构筑体、抗GPC3 CAR T细胞或抗GPC3 caTCR T细胞的组合物)单独或与第二、第三及/或第四药剂组合的量为足以使肿瘤尺寸减小、癌细胞数目减少或肿瘤生长速率降低至少约10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%或100%中的任一者的量(相较于同一个体在治疗之前的相应肿瘤尺寸、癌细胞数目或肿瘤生长速率,或相较于未接受治疗的其它个体中的相应活性)。标准方法可以用于测量这种效应的量级,例如使用纯化酶的体外分析、基于细胞的分析、动物模型或人类测试。

[0663] 在一些实施例中,抗GPC3构筑体(例如经分离的抗GPC3构筑体,例如抗GPC3scFv、全长抗GPC3抗体、多特异性抗GPC3分子、抗GPC3 CAR、抗GPC3 caTCR,或抗GPC3免疫结合物)在组合物中的量低于诱导毒理学效应(即,高于临床上可接受的毒性水准的效应)的水准或

处于当组合物投与个体时潜在副作用可控或可耐受的水准。

[0664] 在一些实施例中,组合物的量接近遵循相同给药方案的组合物的最大耐受剂量(MTD)。在一些实施例中,组合物的量大于MTD的约80%、90%、95%或98%中的任一者。

[0665] 在一些实施例中,抗GPC3构筑体(例如经分离的抗GPC3构筑体,例如全长抗GPC3抗体、多特异性抗GPC3分子或抗GPC3免疫结合物)在组合物中的量包含约0.001 μ g到约1000 μ g的范围。

[0666] 在上述任一方面的一些实施例中,抗GPC3构筑体(例如经分离的抗GPC3构筑体,例如全长抗GPC3抗体、多特异性抗GPC3分子或抗GPC3免疫结合物)在组合物中的有效量在每千克总体重约0.1 μ g到约100mg范围内。

[0667] 抗GPC3构筑体组合物可以经由各种途径投与个体(例如人类),包含例如静脉内、动脉内、腹膜内、肺内、经口、吸入、囊泡内、肌肉内、气管内、皮下、眼内、鞘内、经粘膜及经皮。在一些实施例中,可以使用组合物的持续连续释放调配物。在一些实施例中,静脉内投与组合物。在一些实施例中,门静脉内投与组合物。在一些实施例中,动脉内投与组合物。在一些实施例中,腹膜内投与组合物。在一些实施例中,肝内投与组合物。在一些实施例中,通过肝动脉输注投与组合物。在一些实施例中,投与第一疾病位点远侧的注射位点。

[0668] 抗GPC3 CAR效应细胞疗法及抗GPC3 caTCR效应细胞疗法

[0669] 本申请案还提供利用抗GPC3 CAR或抗GPC3 caTCR将效应细胞(例如初始T细胞)的特异性再导向GPC3(例如与细胞表面结合的GPC3或可溶性GPC3)的方法。因此,本发明还提供一种在哺乳动物中刺激效应细胞介导的针对包括GPC表达细胞的靶细胞群或组织的反应(例如T细胞介导的免疫反应)的方法,包括向哺乳动物投与表达抗GPC3CAR或抗GPC3 caTCR的效应细胞(例如T细胞)的步骤。在一些实施例中,抗GPC3CAR效应细胞或抗GPC3 caTCR效应细胞进一步包括编码多特异性(例如双特异性)抗GPC3分子(例如抗GPC3 $\times$ CD3双特异性T细胞接合体)的核酸,所述核酸可操作地连接到诱导型启动子。在一些实施例中,(分别)经由抗GPC3 CAR或抗GPC3 caTCR传导信号后,可诱导抗GPC3 CAR效应细胞或抗GPC3 caTCR效应细胞表达多特异性(例如双特异性)抗GPC3分子(例如抗GPC3 $\times$ CD3串联双scFv T细胞接合体)。在一些实施例中,诱导型启动子为源自NFAT的启动子,例如源自NFAT的最小启动子。在一些实施例中,诱导型启动子为IL-2启动子。

[0670] 可以将表达抗GPC3 CAR(任选地进一步表达抗GPC3双特异性T细胞接合体)的抗GPC3 CAR效应细胞(例如T细胞)输注到有需要的接受者。可以将表达抗GPC3 caTCR(任选地进一步表达抗GPC3双特异性T细胞接合体)的抗GPC3 caTCR效应细胞(例如T细胞)输注到有需要的接受者。所输注的细胞能够杀死接受者中的在细胞表面上表达GPC3的细胞。在一些实施例中,不同于抗体疗法,抗GPC3 CAR效应细胞(例如T细胞)或抗GPC3 caTCR效应细胞(例如T细胞)能够在体内复制,引起长期存留,从而可以维持肿瘤控制。

[0671] 在一些实施例中,抗GPC3 CAR效应细胞为可以经历稳定体内T细胞扩增且可以长时间存留的抗GPC3 CAR T细胞。在一些实施例中,本发明的抗GPC3 CAR T细胞发展为特异性记忆T细胞,其可以再活化以抑制任何额外肿瘤形成或生长。

[0672] 在一些实施例中,抗GPC3 caTCR效应细胞为可以经历稳定体内T细胞扩增且可以长时间存留的抗GPC3 caTCR T细胞。在一些实施例中,本发明的抗GPC3 caTCR T细胞发展为特异性记忆T细胞,其可以再活化以抑制任何额外肿瘤形成或生长。

[0673] 本发明的抗GPC3 CAR T细胞或抗GPC3 caTCR T细胞还可充当一种疫苗类型用于哺乳动物的离体免疫及/或体内治疗。在一些实施例中,哺乳动物为人类。在一些实施例中,抗GPC3 CAR T细胞或抗GPC3 caTCR T细胞进一步包括编码多特异性(例如双特异性)抗GPC3分子(例如抗GPC3×CD3双特异性T细胞接合体)的核酸,所述核酸可操作地连接到诱导型启动子。在一些实施例中,经由抗GPC3 CAR或抗GPC3 caTCR传导信号后,可诱导多特异性(例如双特异性)抗GPC3分子(例如抗GPC3×CD3串联双scFv T细胞接合体)表达。在一些实施例中,诱导型启动子为源自NFAT的启动子,例如源自NFAT的最小启动子。在一些实施例中,诱导型启动子为IL-2启动子。

[0674] 关于离体免疫,在细胞投与哺乳动物之前,发生以下中的至少一者:i) 扩增细胞; ii) 将编码抗GPC3 CAR或抗GPC3 caTCR的核酸引入细胞;及/或iii) 细胞的低温保存。在一些实施例中,通过引入可操作地连接到诱导型启动子的编码多特异性(例如双特异性)抗GPC3分子(例如抗GPC3×CD3双特异性T细胞接合体)的核酸来进一步体外操纵细胞。在一些实施例中,诱导型启动子为源自NFAT的启动子,例如源自NFAT的最小启动子。在一些实施例中,诱导型启动子为IL-2启动子。

[0675] 离体程序在所属领域中熟知且在下文中更充分地论述。简单来说,从哺乳动物(优选为人类)分离出细胞且用本文公开的表达抗GPC3 CAR或抗GPC3 caTCR的载体进行基因修饰(即,体外转导或转染)。可以将抗GPC3 CAR效应细胞或抗GPC3 caTCR效应细胞投与哺乳动物接受者以得到治疗益处。哺乳动物接受者可为人类且抗GPC3 CAR细胞(或抗GPC3 caTCR细胞)相对于接受者可为自体的。或者,细胞相对于接受者可为同种异体的、同基因型的或异种的。在一些实施例中,抗GPC3 CAR效应细胞或抗GPC3caTCR效应细胞进一步包括可操作地连接到诱导型启动子的编码多特异性(例如双特异性)抗GPC3分子(例如抗GPC3×CD3双特异性T细胞接合体)的核酸,其中诱导型启动子对经由抗GPC3 CAR或抗GPC3 caTCR发生的信号传导有反应。

[0676] 造血干细胞及祖细胞离体扩增程序描述于美国专利第5,199,942号中,所述专利以引用的方式并入本文中,可应用于本发明的细胞。其它适合方法在所属领域中已知;因此,本发明不限于任何特定的细胞离体扩增方法。简单来说,T细胞的离体培养及扩增包括:(1) 从哺乳动物、从未梢血液收集物或骨髓外植体收集CD34⁺造血干细胞及祖细胞;及(2) 离体扩增这类细胞。除美国专利第5,199,942号中所述的细胞生长因子之外,还可使用其它因子(例如flt3-L、IL-1、IL-3及c-kit配体)培养及扩增细胞。

[0677] 除了在离体免疫方面使用基于细胞的疫苗之外,本发明还提供用于体内免疫以在患者中引发抗原的免疫反应的组合物及方法。

[0678] 本发明的抗GPC3 CAR效应细胞(例如T细胞)或抗GPC3 caTCR效应细胞(例如T细胞)可以单独投与,或与稀释剂及/或其它组分(例如IL-2或其它细胞因子或细胞群)组合成医药组合物投与。简单来说,本发明的医药组合物可以包括抗GPC3 CAR效应细胞(例如T细胞)或抗GPC3 caTCR效应细胞(例如T细胞)与一或多种药学或生理学上可接受的载剂、稀释剂或赋形剂的组合。这类组合物可以包括缓冲液,例如中性缓冲生理盐水、磷酸盐缓冲生理盐水及其类似物;碳水化合物,例如葡萄糖、甘露糖、蔗糖或葡聚糖、甘露糖醇;蛋白质;多肽或氨基酸,例如甘氨酸;抗氧化剂;螯合剂,例如EDTA或谷胱甘肽;佐剂(例如氢氧化铝);及防腐剂。在一些实施例中,抗GPC3 CAR效应细胞(例如T细胞)组合物或抗GPC3 caTCR效应细

胞(例如T细胞)组合物经调配用于静脉内投与。

[0679] 本发明的抗GPC3 CAR效应细胞(例如T细胞)组合物或抗GPC3 caTCR效应细胞(例如T细胞)组合物的精确投与量可以由医师在考虑个体年龄、体重、肿瘤尺寸、感染或转移程度及患者(个体)状况的差异的情况下确定。在一些实施例中,包括抗GPC3 CAR效应细胞(例如T细胞)或抗GPC3 caTCR效应细胞(例如T细胞)的医药组合物以每千克体重约 10^4 到约 10^9 个细胞的剂量投与,例如每千克体重约 10^4 到约 10^5 、约 10^5 到约 10^6 、约 10^6 到约 10^7 、约 10^7 到约 10^8 或约 10^8 到约 10^9 个细胞中的任一者,包含那些范围内的所有整数值。抗GPC3 CAR效应细胞(例如T细胞)组合物或抗GPC3 caTCR效应细胞(例如T细胞)组合物还可以这些剂量分多次投与。细胞可通过使用免疫疗法中通常已知的输注技术投与(参见例如Rosenberg等人, New Eng. J. of Med. 319:1676, 1988)。特定患者的最优选剂量及治疗方案可以由医药领域的技术人员通过监测患者的疾病病征且相应地调整疗法而容易地确定。

[0680] 在一些实施例中,可能需要将活化的抗GPC3 CAR T细胞或活化的抗GPC3 caTCR T细胞投与个体且接着再抽血(或进行血球分离术)、根据本发明活化来自其的T细胞且将这些经活化及扩增的T细胞再输注到患者中。这个过程可每几周进行多次。在一些实施例中,可抽血10cc到400cc来活化T细胞。在一些实施例中,从抽血20cc、30cc、40cc、50cc、60cc、70cc、80cc、90cc或100cc来活化T细胞。

[0681] 抗GPC3 CAR效应细胞(例如T细胞)或抗GPC3 caTCR效应细胞(例如T细胞)的投与可依任何适宜方式进行,包含气溶胶吸入、注射、摄取、输注、植入或移植。本文所述的组合物可以皮下、皮内、瘤内、结节内、髓内、肌肉内、静脉内(i.v.)注射或腹膜内投与患者。在一些实施例中,本发明的抗GPC3 CAR效应细胞(例如T细胞)组合物或抗GPC3 caTCR效应细胞(例如T细胞)组合物通过皮内或皮下注射投与患者。在一些实施例中,本发明的抗GPC3 CAR效应细胞(例如T细胞)组合物或抗GPC3 caTCR效应细胞(例如T细胞)组合物通过静脉内注射投与。抗GPC3 CAR效应细胞(例如T细胞)或抗GPC3 caTCR效应细胞(例如T细胞)的组合物可以直接注射到肿瘤、淋巴结或感染位点。

[0682] 因此,举例来说,在一些实施例中,提供一种治疗个体的GPC3阳性疾病(例如HCC)的方法,包括向个体投与有效量的包括表达抗GPC3 CAR的效应细胞(例如T细胞)的组合物,所述抗GPC3 CAR包括a)胞外域,所述胞外域包括特异性结合到与细胞表面结合的GPC3的抗GPC3抗体部分(例如,抗nGPC3抗体部分对与细胞表面结合的GPC3的结合亲和力高于对可溶性GPC3的结合亲和力,或抗nGPC3抗体部分以高结合亲和力特异性识别与细胞表面结合的GPC3且以低结合亲和力结合到可溶性GPC3);b)跨膜域;c)胞内信号传导域,所述胞内信号传导域包括CD3 ζ 胞内信号传导序列及CD28胞内信号传导序列。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分特异性识别包括氨基酸序列SEQ ID NO:460的人类GPC3内的抗原决定基。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分特异性识别氨基酸序列SEQ ID NO:461内的抗原决定基。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分特异性识别氨基酸序列SEQ ID NO:462内的抗原决定基。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分特异性识别氨基酸序列SEQ ID NO:463内的抗原决定基。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分特异性识别GPC3的N端片段内的抗原决定基。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分特异性识别SEQ ID NO:460的氨基酸1-358内的抗原决定基(SEQ ID NO:468)。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分特异性识别氨基酸序列SEQ ID NO:464内的抗原决定基。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分特异性识别GPC3的C端片段内的抗原决定基。

在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分特异性识别SEQ ID NO:460的氨基酸359-560内的抗原决定基(SEQ ID NO:465)。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分特异性识别SEQ ID NO:460的氨基酸359-580内的抗原决定基(SEQ ID NO:466)。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分特异性识别缺乏硫酸肝素侧链的GPC3的C端片段内的抗原决定基。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分特异性识别SEQ ID NO:460的氨基酸510-560内的抗原决定基(SEQ ID NO:467)。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分特异性识别跨越位于SEQ ID NO:460的氨基酸R³⁵⁸/S³⁵⁹的弗林裂解位点的抗原决定基。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分可以特异性结合到人类成熟全长GPC3(例如SEQ ID NO:460的氨基酸25-560或25-580),但不结合到人类GPC3的N端片段(例如SEQ ID NO:460的氨基酸25-358)或人类GPC3的C端片段(例如SEQ ID NO:460的氨基酸359-560或359-580)。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分特异性识别缺乏硫酸肝素侧链的GPC3的C端片段内的抗原决定基。在一些实施例中,提供一种治疗个体的GPC3阳性疾病的方法,包括向个体投与有效量的包括表达抗GPC3 CAR的效应细胞(例如T细胞)的组合物,所述抗GPC3 CAR包括a)胞外域,所述胞外域包括与本文所述的任一种抗GPC3构筑体竞争结合到nGPC3的抗nGPC3抗体部分(例如,抗nGPC3抗体部分对与细胞表面结合的GPC3的结合亲和力高于对可溶性GPC3的结合亲和力,或抗nGPC3抗体部分以高结合亲和力特异性识别与细胞表面结合的GPC3且以低结合亲和力结合到可溶性GPC3);b)跨膜域;及c)胞内信号传导域,所述胞内信号传导域包括CD3 ζ 胞内信号传导序列及CD28胞内信号传导序列。在一些实施例中,提供一种治疗个体的GPC3阳性疾病的方法,包括向个体投与有效量的包括表达抗GPC3 CAR的效应细胞(例如T细胞)的组合物,所述抗GPC3 CAR包括a)胞外域,所述胞外域包括与本文所述的任一种抗GPC3构筑体竞争性地特异性结合到相同或基本上相同nGPC3抗原决定基的抗nGPC3抗体部分(例如,抗nGPC3抗体部分对与细胞表面结合的GPC3的结合亲和力高于对可溶性GPC3的结合亲和力,或抗nGPC3抗体部分以高结合亲和力特异性识别与细胞表面结合的GPC3且以低结合亲和力结合到可溶性GPC3);b)跨膜域;及c)胞内信号传导域,所述胞内信号传导域包括CD3 ζ 胞内信号传导序列及CD28胞内信号传导序列。在一些实施例中,抗GPC3 CAR包括胞外域,所述胞外域包括与SEQ ID NO:494的N端融合的本文所述的特异性结合到与细胞表面结合的GPC3的抗GPC3抗体部分。在一些实施例中,表达抗GPC3 CAR的效应细胞(例如T细胞)进一步包括可操作地连接到诱导型启动子的编码多特异性(例如双特异性)抗GPC3分子(例如抗GPC3 $\times$ CD3双特异性T细胞接合体)的核酸。在一些实施例中,经由抗GPC3 CAR传导信号后,可诱导多特异性(例如双特异性)抗GPC3分子(例如抗GPC3 $\times$ CD3串联双scFv T细胞接合体)表达。在一些实施例中,诱导型启动子为源自NFAT的启动子,例如源自NFAT的最小启动子。在一些实施例中,诱导型启动子为IL-2启动子。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分为嵌合的、人类的、部分人类化的、完全人类化的或半合成的。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分为Fab、Fab'、F(ab')₂、Fv或scFv。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分为Fab或Fab'。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分为scFv。在一些实施例中,GPC3阳性疾病为癌症。在一些实施例中,癌症为例如HCC、黑色素瘤、鳞状细胞肺癌、卵巢癌、卵黄囊肿瘤、绒膜癌、成神经细胞瘤、肝胚细胞瘤、威尔姆斯氏肿瘤、睾丸非精原细胞瘤型生殖细胞肿瘤、胃癌或脂肪肉瘤。在一些实施例中,癌症为HCC。在一些实施例中,癌症为转移HCC。在一些实施例中,癌症为HCC且治疗包括预防癌症扩散,例如抑制(例如预防)癌症转移。在一些实施例中,癌症为转移HCC。在一些实施例中,经由静脉内、腹膜内或瘤内途径投

与。在一些实施例中,经由静脉内途径投与。在一些实施例中,经由瘤内途径投与。在一些实施例中,投与包括在GPC3阳性疾病(例如GPC3阳性肿瘤)位点远侧的注射位点进行局部注射。在一些实施例中,注射位点为第一GPC3阳性肿瘤(即,经由瘤内途径投与)。在一些实施例中,GPC3阳性疾病位点为第二GPC3阳性肿瘤。在一些实施例中,注射位点为第一GPC3阳性肿瘤且GPC3阳性疾病位点为第二GPC3阳性肿瘤。在一些实施例中,个体为人类。

[0683] 在一些实施例中,提供一种治疗个体的GPC3阳性疾病(例如HCC)的方法,包括向个体投与有效量的包括表达抗GPC3 CAR的效应细胞(例如T细胞)的组合物,所述抗GPC3 CAR包括a)胞外域,所述胞外域包括特异性结合到与细胞表面结合的GPC3的抗GPC3抗体部分,所述抗体部分包括:i) V_H ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:1-31中的任一者的HC-CDR1或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体、氨基酸序列为SEQ ID NO:52-82中的任一者的HC-CDR2或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体,及氨基酸序列为SEQ ID NO:103-133中的任一者的HC-CDR3或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体;及ii) V_L ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:154-184中的任一者的LC-CDR1或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体、氨基酸序列为SEQ ID NO:205-235中的任一者的LC-CDR2或包括最多约3(例如约1、2或3中的任一者)个氨基酸取代的其变异体,及氨基酸序列为SEQ ID NO:256-286中的任一者的LC-CDR3或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体;b)跨膜域;及c)胞内信号传导域,所述胞内信号传导域包括CD3 ζ 胞内信号传导序列及CD28胞内信号传导序列。在一些实施例中,提供一种治疗个体的GPC3阳性疾病(例如HCC)的方法,包括向个体投与有效量的包括表达抗GPC3 CAR的效应细胞(例如T细胞)的组合物,所述抗GPC3 CAR包括a)胞外域,所述胞外域包括特异性结合到与细胞表面结合的GPC3的抗GPC3抗体部分,所述抗体部分包括:i) V_H ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:1-31中的任一者的HC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:52-82中的任一者的HC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:103-133中的任一者的HC-CDR3;及ii) V_L ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:154-184中的任一者的LC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:205-235中的任一者的LC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:256-286中的任一者的LC-CDR3;b)跨膜域;及c)胞内信号传导域,所述胞内信号传导域包括CD3 ζ 胞内信号传导序列及CD28胞内信号传导序列。在一些实施例中,提供一种治疗个体的GPC3阳性疾病(例如HCC)的方法,包括向个体投与有效量的包括表达抗GPC3 CAR的效应细胞(例如T细胞)的组合物,所述抗GPC3 CAR包括a)胞外域,所述胞外域包括特异性结合到与细胞表面结合的GPC3的抗GPC3抗体部分,所述抗体部分包括:i)氨基酸序列为SEQ ID NO:307-337中的任一者的 V_H ,及ii)氨基酸序列为SEQ ID NO:358-388中的任一者的 V_L ;b)跨膜域;及c)胞内信号传导域,所述胞内信号传导域包括CD3 ζ 胞内信号传导序列及CD28胞内信号传导序列。在一些实施例中,提供一种治疗个体的GPC3阳性疾病(例如HCC)的方法,包括向个体投与有效量的包括表达抗GPC3 CAR的效应细胞(例如T细胞)的组合物,所述抗GPC3 CAR包括a)胞外域,所述胞外域包括特异性结合到与细胞表面结合的GPC3的抗GPC3抗体部分,所述抗体部分包括氨基酸序列为SEQ ID NO:307-337中任一者的 V_H 的HC-CDR及氨基酸序列为SEQ ID NO:358-388中任一者的 V_L 的LC-CDR;b)跨膜域;及c)胞内信号传导域,所述胞内信号传导域包括CD3 ζ 胞内信号传导序列及CD28胞内信号传导序列。在一些实施例中,提供一种治疗个体的GPC3阳性疾病的方法,包括向个体投与

有效量的包括表达抗GPC3 CAR的效应细胞(例如T细胞)的组合物,所述抗GPC3 CAR包括a)胞外域,所述胞外域包括与本文所述的任一种抗GPC3构筑体竞争结合到nGPC3的抗nGPC3抗体部分;b)跨膜域;及c)胞内信号传导域,所述胞内信号传导域包括CD3 ζ 胞内信号传导序列及CD28胞内信号传导序列。在一些实施例中,提供一种治疗个体的GPC3阳性疾病的方法,包括向个体投与有效量的包括表达抗GPC3 CAR的效应细胞(例如T细胞)的组合物,所述抗GPC3 CAR包括a)胞外域,所述胞外域包括与本文所述的任一种抗GPC3构筑体竞争性地特异性结合到相同或基本上相同nGPC3抗原决定基的抗nGPC3抗体部分;b)跨膜域;及c)胞内信号传导域,所述胞内信号传导域包括CD3 ζ 胞内信号传导序列及CD28胞内信号传导序列。在一些实施例中,抗GPC3 CAR包括胞外域,所述胞外域包括与SEQ ID NO:494的N端融合的特异性结合到与细胞表面结合的GPC3的本文所述抗GPC3抗体部分。举例来说,在一些实施例中,抗GPC3 CAR包括SEQ ID NO:491及516-521中的任一者的氨基酸序列。在一些实施例中,表达抗GPC3CAR的效应细胞(例如T细胞)进一步包括可操作地连接到诱导型启动子的编码多特异性(例如双特异性)抗GPC3分子(例如抗GPC3 $\times$ CD3双特异性T细胞接合体)的核酸。在一些实施例中,经由抗GPC3 CAR传导信号后,可诱导多特异性(例如双特异性)抗GPC3分子(例如抗GPC3 $\times$ CD3串联双scFv T细胞接合体)表达。在一些实施例中,诱导型启动子为源自NFAT的启动子,例如源自NFAT的最小启动子。在一些实施例中,诱导型启动子为IL-2启动子。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分为嵌合的、人类的、部分人类化的、完全人类化的或半合成的。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分为Fab、Fab'、F(ab')₂、Fv或scFv。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分为Fab或Fab'。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分为scFv。在一些实施例中,GPC3阳性疾病为癌症。在一些实施例中,癌症为例如HCC、黑色素瘤、鳞状细胞肺癌、卵巢癌、卵黄囊肿瘤、绒膜癌、成神经细胞瘤、肝胚细胞瘤、威尔姆斯氏肿瘤、睾丸非精原细胞瘤型生殖细胞肿瘤、胃癌或脂肪肉瘤。在一些实施例中,癌症为HCC。在一些实施例中,癌症为HCC且治疗包括预防癌症扩散,例如抑制(例如预防)癌症转移。在一些实施例中,癌症为转移HCC。在一些实施例中,经由静脉内、腹膜内或瘤内途径投与。在一些实施例中,经由静脉内途径投与。在一些实施例中,经由瘤内途径投与。在一些实施例中,投与包括在GPC3阳性疾病(例如GPC3阳性肿瘤)位点远侧的注射位点进行局部注射。在一些实施例中,注射位点为第一GPC3阳性肿瘤(即,经由瘤内途径投与)。在一些实施例中,GPC3阳性疾病位点为第二GPC3阳性肿瘤。在一些实施例中,注射位点为第一GPC3阳性肿瘤且GPC3阳性疾病位点为第二GPC3阳性肿瘤。在一些实施例中,个体为人类。

[0684] 在一些实施例中,提供一种治疗个体的GPC3阳性疾病(例如HCC)的方法,包括向个体投与有效量的包括表达抗GPC3 CAR的效应细胞(例如T细胞)的组合物,所述抗GPC3 CAR包括a)胞外域,所述胞外域包括特异性结合到GPC3(例如nGPC3及/或sGPC3)的抗GPC3抗体部分,所述抗体部分包括:i) V_H,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:32-51中的任一者的HC-CDR1或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体、氨基酸序列为SEQ ID NO:83-102中的任一者的HC-CDR2或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体,及氨基酸序列为SEQ ID NO:134-153中的任一者的HC-CDR3或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体,及ii) V_L,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:185-204中的任一者的LC-CDR1或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体、氨基酸序列为SEQ ID NO:236-255中的任一者

的LC-CDR2或包括最多约3(例如约1、2或3中的任一者)个氨基酸取代的其变异体,及氨基酸序列为SEQ ID NO:287-306中的任一者的LC-CDR3或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体;b)跨膜域;及c)胞内信号传导域,所述胞内信号传导域包括CD3 ζ 胞内信号传导序列及CD28胞内信号传导序列。在一些实施例中,提供一种治疗个体的GPC3阳性疾病(例如HCC)的方法,包括向个体投与有效量的包括表达抗GPC3 CAR的效应细胞(例如T细胞)的组合物,所述抗GPC3 CAR包括a)胞外域,所述胞外域包括特异性结合到GPC3(例如nGPC3及/或sGPC3)的抗GPC3抗体部分,所述抗体部分包括:i) V_H ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:32-51中的任一者的HC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:83-102中的任一者的HC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:134-153中的任一者的HC-CDR3,及ii) V_L ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:185-204中的任一者的LC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:236-255中的任一者的LC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:287-306中的任一者的LC-CDR3;b)跨膜域;及c)胞内信号传导域,所述胞内信号传导域包括CD3 ζ 胞内信号传导序列及CD28胞内信号传导序列。在一些实施例中,提供一种治疗个体的GPC3阳性疾病(例如HCC)的方法,包括向个体投与有效量的包括表达抗GPC3 CAR的效应细胞(例如T细胞)的组合物,所述抗GPC3 CAR包括a)胞外域,所述胞外域包括特异性结合到GPC3(例如nGPC3及/或sGPC3)的抗GPC3抗体部分,所述抗体部分包括:i)氨基酸序列为SEQ ID NO:338-357中的任一者的 V_H ,及ii)氨基酸序列为SEQ ID NO:389-408中的任一者的 V_L ;b)跨膜域;及c)胞内信号传导域,所述胞内信号传导域包括CD3 ζ 胞内信号传导序列及CD28胞内信号传导序列。在一些实施例中,提供一种治疗个体的GPC3阳性疾病(例如HCC)的方法,包括向个体投与有效量的包括表达抗GPC3 CAR的效应细胞(例如T细胞)的组合物,所述抗GPC3 CAR包括a)胞外域,所述胞外域包括与本文所述的任一种抗GPC3构筑体竞争结合到GPC3(例如nGPC3及/或sGPC3)的抗GPC3抗体部分;b)跨膜域;及c)胞内信号传导域,所述胞内信号传导域包括CD3 ζ 胞内信号传导序列及CD28胞内信号传导序列。在一些实施例中,提供一种治疗个体的GPC3阳性疾病的方法,包括向个体投与有效量的包括表达抗GPC3 CAR的效应细胞(例如T细胞)的组合物,所述抗GPC3 CAR包括a)胞外域,所述胞外域包括与本文所述的任一种抗GPC3构筑体竞争性地特异性结合到相同或基本上相同GPC3抗原决定基的抗GPC3抗体部分;b)跨膜域;及c)胞内信号传导域,所述胞内信号传导域包括CD3 ζ 胞内信号传导序列及CD28胞内信号传导序列。在一些实施例中,抗GPC3 CAR包括胞外域,所述胞外域包括与SEQ ID NO:494的N端融合的特异性结合到GPC3(例如nGPC3及/或sGPC3)的本文所述抗GPC3抗体部分。在一些实施例中,表达抗GPC3 CAR的效应细胞(例如T细胞)进一步包括可操作地连接到诱导型启动子的编码多特异性(例如双特异性)抗GPC3分子(例如抗GPC3 $\times$ CD3双特异性T细胞接合体)的核酸。在一些实施例中,经由抗GPC3 CAR传导信号后,可诱导多特异性(例如双特异性)抗GPC3分子(例如抗GPC3 $\times$ CD3串联双scFv T细胞接合体)表达。在一些实施例中,诱导型启动子为源自NFAT的启动子,例如源自NFAT的最

小启动子。在一些实施例中,诱导型启动子为IL-2启动子。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分特异性识别与细胞表面结合的GPC3。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分对与细胞表面结合的GPC3的结合亲和力高于对可溶性GPC3的结合亲和力。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分以高结合亲和力特异性识别与细胞表面结合的GPC3且以低结合亲和力结合到可溶性GPC3。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分特异性识别可溶性GPC3。在一些实施例中,抗sGPC3抗体部分对可溶性GPC3的结合亲和力高于对与细胞表面结合的GPC3的结合亲和力。在一些实施例中,抗sGPC3抗体部分特异性识别氨基酸序列SEQ ID NO:461内的抗原决定基。在一些实施例中,抗sGPC3抗体部分特异性识别SEQ ID NO:460的氨基酸510-560内的抗原决定基(SEQ ID NO:467)。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分特异性识别与细胞表面结合的GPC3与可溶性GPC3。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分为嵌合的、人类的、部分人类化的、完全人类化的或半合成的。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分为Fab、Fab'、F(ab')₂、Fv或scFv。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分为Fab或Fab'。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分为scFv。在一些实施例中,GPC3阳性疾病为癌症。在一些实施例中,癌症为例如HCC、黑色素瘤、鳞状细胞肺癌、卵巢癌、卵黄囊肿瘤、绒膜癌、成神经细胞瘤、肝胚细胞瘤、威尔姆斯氏肿瘤、睾丸非精原细胞瘤型生殖细胞肿瘤、胃癌或脂肪肉瘤。在一些实施例中,癌症为HCC。在一些实施例中,癌症为HCC且治疗包括预防癌症扩散,例如抑制(例如预防)癌症转移。在一些实施例中,癌症为转移HCC。在一些实施例中,经由静脉内、腹膜内或瘤内途径投与。在一些实施例中,经由静脉内途径投与。在一些实施例中,经由瘤内途径投与。在一些实施例中,投与包括在GPC3阳性疾病(例如GPC3阳性肿瘤)位点远侧的注射位点进行局部注射。在一些实施例中,注射位点为第一GPC3阳性肿瘤(即,经由瘤内途径投与)。在一些实施例中,GPC3阳性疾病位点为第二GPC3阳性肿瘤。在一些实施例中,注射位点为第一GPC3阳性肿瘤且GPC3阳性疾病位点为第二GPC3阳性肿瘤。在一些实施例中,个体为人类。

[0685] 在一些实施例中,提供一种治疗个体的GPC3阳性疾病(例如HCC)的方法,包括向个体投与有效量的包括表达抗GPC3 caTCR的效应细胞(例如T细胞)的组合物,所述抗GPC3 caTCR包括a) 抗原结合模块,所述抗原结合模块包括特异性结合到与细胞表面结合的GPC3的抗GPC3抗体部分(例如,抗nGPC3抗体部分对与细胞表面结合的GPC3的结合亲和力高于对可溶性GPC3的结合亲和力,或抗nGPC3抗体部分以高结合亲和力特异性识别与细胞表面结合的GPC3且以低结合亲和力结合到可溶性GPC3);及b) T细胞受体模块(TCRM),所述T细胞受体模块包括含有来源于天然存在的TCR(例如 $\alpha\beta$ TCR或 $\gamma\delta$ TCR)的一跨膜域的第一TCR跨膜域(TCR-TM)的第一TCR域(TCRD)及含有来源于天然存在的TCR(例如 $\alpha\beta$ TCR或 $\gamma\delta$ TCR)的另一跨膜域的第二TCR-TM的第二TCRD,其中所述TCRM促进至少一种TCR相关信号传导分子(例如CD3 $\delta\epsilon$ 、CD3 $\gamma\epsilon$ 及/或 $\zeta\zeta$)的募集,且其中所述抗体部分连接到第一及/或第二TCRD。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分特异性识别包括氨基酸序列SEQ ID NO:460的人类GPC3内的抗原决定基。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分特异性识别氨基酸序列SEQ ID NO:461内的抗原决定基。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分特异性识别氨基酸序列SEQ ID NO:462内的抗原决定基。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分特异性识别氨基酸序列SEQ ID NO:463内的抗原决定基。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分特异性识别GPC3的N端片段内的抗原决定基。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分特异性识别SEQ ID NO:460的氨基酸1-358内的抗原决定基(SEQ ID NO:468)。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分特异性识别氨基酸序列SEQ

ID NO:464内的抗原决定基。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分特异性识别GPC3的C端片段内的抗原决定基。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分特异性识别SEQ ID NO:460的氨基酸359-560内的抗原决定基(SEQ ID NO:465)。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分特异性识别SEQ ID NO:460的氨基酸359-580内的抗原决定基(SEQ ID NO:466)。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分特异性识别缺乏硫酸肝素侧链的GPC3的C端片段内的抗原决定基。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分特异性识别SEQ ID NO:460的氨基酸510-560内的抗原决定基(SEQ ID NO:467)。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分特异性识别跨越位于SEQ ID NO:460的氨基酸R³⁵⁸/S³⁵⁹的弗林裂解位点的抗原决定基。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分可以特异性结合到人类成熟全长GPC3(例如SEQ ID NO:460的氨基酸25-560或25-580),但不结合到人类GPC3的N端片段(例如SEQ ID NO:460的氨基酸25-358)或人类GPC3的C端片段(例如SEQ ID NO:460的氨基酸359-560或359-580)。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分特异性识别缺乏硫酸肝素侧链的GPC3的C端片段内的抗原决定基。在一些实施例中,提供一种治疗个体的GPC3阳性疾病的方法,包括向个体投与有效量的包括表达抗GPC3 caTCR的效应细胞(例如T细胞)的组合物,所述抗GPC3caTCR包括a) 抗原结合模块,所述抗原结合模块包括与本文所述的任一种抗GPC3构筑体竞争结合到nGPC3的抗nGPC3抗体部分(例如,抗nGPC3抗体部分对与细胞表面结合的GPC3的结合亲和力高于对可溶性GPC3的结合亲和力,或抗nGPC3抗体部分以高结合亲和力特异性识别与细胞表面结合的GPC3且以低结合亲和力结合到可溶性GPC3);及b) T细胞受体模块(TCRM),所述T细胞受体模块包括含有来源于天然存在的TCR(例如 $\alpha\beta$ TCR或 $\gamma\delta$ TCR)的一跨膜域的第一TCR跨膜域(TCR-TM)的第一TCR域(TCRD)及含有来源于天然存在的TCR(例如 $\alpha\beta$ TCR或 $\gamma\delta$ TCR)的另一跨膜域的第二TCR-TM的第二TCRD,其中所述TCRM促进至少一种TCR相关信号传导分子(例如CD3 $\delta\epsilon$ 、CD3 $\gamma\epsilon$ 及/或 $\zeta\zeta$)的募集,且其中所述抗体部分连接到第一及/或第二TCRD。在一些实施例中,提供一种治疗个体的GPC3阳性疾病的方法,包括向个体投与有效量的包括表达抗GPC3 caTCR的效应细胞(例如T细胞)的组合物,所述抗GPC3 caTCR包括a) 抗原结合模块,所述抗原结合模块包括与本文所述的任一种抗GPC3构筑体竞争性地特异性结合到相同或基本上相同nGPC3抗原决定基的抗nGPC3抗体部分(例如,抗nGPC3抗体部分对与细胞表面结合的GPC3的结合亲和力高于对可溶性GPC3的结合亲和力,或抗nGPC3抗体部分以高结合亲和力特异性识别与细胞表面结合的GPC3且以低结合亲和力结合到可溶性GPC3);及b) T细胞受体模块(TCRM),所述T细胞受体模块包括含有来源于天然存在的TCR(例如 $\alpha\beta$ TCR或 $\gamma\delta$ TCR)的一跨膜域的第一TCR跨膜域(TCR-TM)的第一TCR域(TCRD)及含有来源于天然存在的TCR(例如 $\alpha\beta$ TCR或 $\gamma\delta$ TCR)的另一跨膜域的第二TCR-TM的第二TCRD,其中所述TCRM促进至少一种TCR相关信号传导分子(例如CD3 $\delta\epsilon$ 、CD3 $\gamma\epsilon$ 及/或 $\zeta\zeta$)的募集,且其中所述抗体部分连接到第一及/或第二TCRD。在一些实施例中,提供一种治疗个体的GPC3阳性疾病的方法,包括向个体投与有效量的包括表达抗GPC3 caTCR的效应细胞(例如T细胞)的组合物,所述抗GPC3caTCR包括:a) 第一多肽链,所述第一多肽链包括含有V_H及C_H1抗体域的第一抗原结合域及含有第一TCR亚单元的第一跨膜域的第一T细胞受体域(TCRD);及b) 第二多肽链,所述第二多肽链包括含有V_L及C_L1抗体域的第二抗原结合域及含有第二TCR亚单元的第二跨膜域的第二TCRD,其中第一抗原结合域的V_H及C_H1域与第二抗原结合域的V_L及C_L1域形成特异性结合到与细胞表面结合的GPC3的抗原结合模块(例如,V_H及V_L对与细胞表面结合的GPC3的结合亲和力高于对可溶性GPC3的结合亲和

力,或 V_H 及 V_L 以高结合亲和力特异性识别与细胞表面结合的GPC3且以低结合亲和力结合到可溶性GPC3),且其中第一TCRD与第二TCRD形成能够募集至少一种TCR相关信号传导模块的T细胞受体模块(TCRM)。在一些实施例中,抗原结合模块包括位于 C_H1 域中的残基与 C_L 域中的残基之间的二硫键。在一些实施例中,提供一种治疗个体的GPC3阳性疾病的方法,包括向个体投与有效量的包括表达抗GPC3 caTCR的效应细胞(例如T细胞)的组合物,所述抗GPC3 caTCR包括:a)第一多肽链,所述第一多肽链包括含有 V_H 抗体域的第一抗原结合域及含有第一TCR亚单元的第一跨膜域的第一TCRD;及b)第二多肽链,所述第二多肽链包括含有 V_L 抗体域的第二抗原结合域及含有第二TCR亚单元的第二跨膜域的第二TCRD,其中第一抗原结合域的 V_H 域与第二抗原结合域的 V_L 域形成特异性结合到与细胞表面结合的GPC3的抗原结合模块(例如, V_H 及 V_L 对与细胞表面结合的GPC3的结合亲和力高于对可溶性GPC3的结合亲和力,或 V_H 及 V_L 以高结合亲和力特异性识别与细胞表面结合的GPC3且以低结合亲和力结合到可溶性GPC3),其中第一TCRD与第二TCRD形成能够募集至少一种TCR相关信号传导模块的T细胞受体模块(TCRM)。在一些实施例中,表达抗GPC3 caTCR的效应细胞(例如T细胞)进一步包括可操作地连接到诱导型启动子的编码多特异性(例如双特异性)抗GPC3分子(例如抗GPC3×CD3双特异性T细胞接合体)的核酸。在一些实施例中,经由抗GPC3 caTCR传导信号后,可诱导多特异性(例如双特异性)抗GPC3分子(例如抗GPC3×CD3串联双scFv T细胞接合体)表达。在一些实施例中,诱导型启动子为源自NFAT的启动子,例如源自NFAT的最小启动子。在一些实施例中,诱导型启动子为IL-2启动子。在一些实施例中,第一TCR-TM来源于天然存在的T细胞受体(例如 $\alpha\beta$ TCR或 $\gamma\delta$ TCR)的跨膜域之一。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分为嵌合的、人类的、部分人类化的、完全人类化的或半合成的。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分为Fab、Fab'、F(ab')₂、Fv或scFv。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分为Fab或Fab'。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分为scFv。在一些实施例中,GPC3阳性疾病为癌症。在一些实施例中,癌症为例如HCC、黑色素瘤、鳞状细胞肺癌、卵巢癌、卵黄囊肿瘤、绒膜癌、成神经细胞瘤、肝胚细胞瘤、威尔姆斯氏肿瘤、睾丸非精原细胞瘤型生殖细胞肿瘤、胃癌或脂肪肉瘤。在一些实施例中,癌症为HCC。在一些实施例中,癌症为HCC且治疗包括预防癌症扩散,例如抑制(例如预防)癌症转移。在一些实施例中,癌症为转移HCC。在一些实施例中,经由静脉内、腹膜内或瘤内途径投与。在一些实施例中,经由静脉内途径投与。在一些实施例中,经由瘤内途径投与。在一些实施例中,投与包括在GPC3阳性疾病(例如GPC3阳性肿瘤)位点远侧的注射位点进行局部注射。在一些实施例中,注射位点为第一GPC3阳性肿瘤(即,经由瘤内途径投与)。在一些实施例中,GPC3阳性疾病位点为第二GPC3阳性肿瘤。在一些实施例中,注射位点为第一GPC3阳性肿瘤且GPC3阳性疾病位点为第二GPC3阳性肿瘤。在一些实施例中,个体为人类。

[0686] 在一些实施例中,提供一种治疗个体的GPC3阳性疾病(例如HCC)的方法,包括向个体投与有效量的包括表达抗GPC3 caTCR的效应细胞(例如T细胞)的组合物,所述抗GPC3 caTCR包括a)抗原结合模块,所述抗原结合模块包括特异性结合到与细胞表面结合的GPC3的抗GPC3抗体部分,所述抗体部分包括:i) V_H ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:1-31中的任一者的HC-CDR1或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体、氨基酸序列为SEQ ID NO:52-82中的任一者的HC-CDR2或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体,及氨基酸序列为SEQ ID NO:103-133中的任一者的

HC-CDR3或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体,及ii) V_L ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:154-184中的任一者的LC-CDR1或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体、氨基酸序列为SEQ ID NO:205-235中的任一者的LC-CDR2或包括最多约3(例如约1、2或3中的任一者)个氨基酸取代的其变异体,及氨基酸序列为SEQ ID NO:256-286中的任一者的LC-CDR3或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体;及b) T细胞受体模块(TCRM),所述T细胞受体模块包括含有来源于天然存在的TCR(例如 $\alpha\beta$ TCR或 $\gamma\delta$ TCR)的一跨膜域的第一TCR跨膜域(TCR-TM)的第一TCR域(TCRD)及含有来源于天然存在的TCR(例如 $\alpha\beta$ TCR或 $\gamma\delta$ TCR)的另一跨膜域的第二TCR-TM的第二TCRD,其中所述TCRM促进至少一种TCR相关信号传导分子(例如CD3 $\delta\epsilon$ 、CD3 $\gamma\epsilon$ 及/或 $\zeta\zeta$)的募集,且其中所述抗体部分连接到第一及/或第二TCRD。在一些实施例中,提供一种治疗个体的GPC3阳性疾病(例如HCC)的方法,包括向个体投与有效量的包括表达抗GPC3 caTCR的效应细胞(例如T细胞)的组合物,所述抗GPC3 caTCR包括a) 抗原结合模块,所述抗原结合模块包括特异性结合到与细胞表面结合的GPC3的抗GPC3抗体部分,所述抗体部分包括:i) V_H ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:1-31中的任一者的HC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:52-82中的任一者的HC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:103-133中的任一者的HC-CDR3,及ii) V_L ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:154-184中的任一者的LC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:205-235中的任一者的LC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:256-286中的任一者的LC-CDR3;以及b) T细胞受体模块(TCRM),所述T细胞受体模块包括含有来源于天然存在的TCR(例如 $\alpha\beta$ TCR或 $\gamma\delta$ TCR)的一跨膜域的第一TCR跨膜域(TCR-TM)的第一TCR域(TCRD)及含有来源于天然存在的TCR(例如 $\alpha\beta$ TCR或 $\gamma\delta$ TCR)的另一跨膜域的第二TCR-TM的第二TCRD,其中所述TCRM促进至少一种TCR相关信号传导分子(例如CD3 $\delta\epsilon$ 、CD3 $\gamma\epsilon$ 及/或 $\zeta\zeta$)的募集,且其中所述抗体部分连接到第一及/或第二TCRD。在一些实施例中,提供一种治疗个体的GPC3阳性疾病(例如HCC)的方法,包括向个体投与有效量的包括表达抗GPC3 caTCR的效应细胞(例如T细胞)的组合物,所述抗GPC3 caTCR包括a) 抗原结合模块,所述抗原结合模块包括特异性结合到与细胞表面结合的GPC3的抗GPC3抗体部分,包括:i) 氨基酸序列为SEQ ID NO:307-337中的任一者的 V_H ,及ii) 氨基酸序列为SEQ ID NO:358-388中的任一者的 V_L ;及b) T细胞受体模块(TCRM),所述T细胞受体模块包括含有来源于天然存在的TCR(例如 $\alpha\beta$ TCR或 $\gamma\delta$ TCR)的一跨膜域的第一TCR跨膜域(TCR-TM)的第一TCR域(TCRD)及含有来源于天然存在的TCR(例如 $\alpha\beta$ TCR或 $\gamma\delta$ TCR)的另一跨膜域的第二TCR-TM的第二TCRD,其中所述TCRM促进至少一种TCR相关信号传导分子(例如CD3 $\delta\epsilon$ 、CD3 $\gamma\epsilon$ 及/或 $\zeta\zeta$)的募集,且其中所述抗体部分连接到第一及/或第二TCRD。在一些实施例中,提供一种治疗个体的GPC3阳性疾病(例如HCC)的方法,包括向个体投与有效量的包括表达抗GPC3 caTCR的效应细胞(例如T细胞)的组合物,所述抗GPC3 caTCR包括a) 抗原结合模块,所述抗原结合模块包括特异性结合到与细胞表面结合的GPC3的抗GPC3抗体部分,所述抗体部分包括氨基酸序列为SEQ ID NO:307-337中任一者的 V_H 的HC-CDR及氨基酸序列为SEQ ID NO:358-388中任一者的 V_L 的LC-CDR;及b) T细胞受体模块(TCRM),所述T细胞受体模块包括含有来源于天然存在的TCR(例如 $\alpha\beta$ TCR或 $\gamma\delta$ TCR)的一跨膜域的第一TCR跨膜域(TCR-TM)的第一TCR域(TCRD)及含有来源于天然存在的TCR(例如 $\alpha\beta$ TCR或 $\gamma\delta$ TCR)的另一跨膜域的第二TCR-TM的第二TCRD,其中所述TCRM促进至少一种TCR相关信号传导分子(例如CD3 $\delta\epsilon$ 、CD3 $\gamma\epsilon$ 及/或 $\zeta\zeta$)的募集,且其中所

述抗体部分连接到第一及/或第二TCRD。在一些实施例中,提供一种治疗个体的GPC3阳性疾病的方法,包括向个体投与有效量的包括表达抗GPC3 caTCR的效应细胞(例如T细胞)的组合物,包括a) 抗原结合模块,所述抗原结合模块包括与本文所述的任一种抗GPC3构筑体竞争结合到nGPC3的抗nGPC3抗体部分;及b) T细胞受体模块(TCRM),所述T细胞受体模块包括含有来源于天然存在的TCR(例如 $\alpha\beta$ TCR或 $\gamma\delta$ TCR)的一跨膜域的第一TCR跨膜域(TCR-TM)的第一TCR域(TCRD)及含有来源于天然存在的TCR(例如 $\alpha\beta$ TCR或 $\gamma\delta$ TCR)的另一跨膜域的第二TCR-TM的第二TCRD,其中所述TCRM促进至少一种TCR相关信号传导分子(例如CD3 $\delta\epsilon$ 、CD3 $\gamma\epsilon$ 及/或 $\zeta\zeta$)的募集,且其中所述抗体部分连接到第一及/或第二TCRD。在一些实施例中,提供一种治疗个体的GPC3阳性疾病的方法,包括向个体投与有效量的包括表达抗GPC3 caTCR的效应细胞(例如T细胞)的组合物,所述抗GPC3 caTCR包括a) 抗原结合模块,所述抗原结合模块包括与本文所述的任一种抗GPC3构筑体竞争性地特异性结合到相同或基本上相同nGPC3抗原决定基的抗nGPC3抗体部分; b) T细胞受体模块(TCRM),所述T细胞受体模块包括含有来源于天然存在的TCR(例如 $\alpha\beta$ TCR或 $\gamma\delta$ TCR)的一跨膜域的第一TCR跨膜域(TCR-TM)的第一TCR域(TCRD)及含有来源于天然存在的TCR(例如 $\alpha\beta$ TCR或 $\gamma\delta$ TCR)的另一跨膜域的第二TCR-TM的第二TCRD,其中所述TCRM促进至少一种TCR相关信号传导分子(例如CD3 $\delta\epsilon$ 、CD3 $\gamma\epsilon$ 及/或 $\zeta\zeta$)的募集,且其中所述抗体部分连接到第一及/或第二TCRD。在一些实施例中,提供一种治疗个体的GPC3阳性疾病的方法,包括向个体投与有效量的包括表达抗GPC3 caTCR的效应细胞(例如T细胞)的组合物,所述抗GPC3 caTCR包括:a) 第一多肽链,所述第一多肽链包括含有氨基酸序列为SEQ ID NO:307-337中任一者的V_H的第一抗原结合域及C_H1抗体域及含有第一TCR亚单元的第一跨膜域的第一T细胞受体域(TCRD);及b) 第二多肽链,所述第二多肽链包括含有氨基酸序列为SEQ ID NO:358-388中任一者的V_L的第二抗原结合域及C_L抗体域及含有第二TCR亚单元的第二跨膜域的第二TCRD,其中第一抗原结合域的V_H及C_H1域与第二抗原结合域的V_L及C_L域形成特异性结合到与细胞表面结合的GPC3的抗原结合模块,且其中第一TCRD与第二TCRD形成能够募集至少一种TCR相关信号传导模块的T细胞受体模块(TCRM)。在一些实施例中,抗原结合模块包括位于C_H1域中的残基与C_L域中的残基之间的二硫键。在一些实施例中,提供一种治疗个体的GPC3阳性疾病的方法,包括向个体投与有效量的包括表达抗GPC3 caTCR的效应细胞(例如T细胞)的组合物,所述抗GPC3 caTCR包括:a) 第一多肽链,所述第一多肽链包括含有氨基酸序列为SEQ ID NO:307-337中任一者的V_H抗体域的第一抗原结合域及含有第一TCR亚单元的第一跨膜域的第一TCRD;及b) 第二多肽链,所述第二多肽链包括含有氨基酸序列为SEQ ID NO:358-388中任一者的V_L抗体域的第二抗原结合域及含有第二TCR亚单元的第二跨膜域的第二TCRD,其中第一抗原结合域的V_H域与第二抗原结合域的V_L域形成特异性结合到与细胞表面结合的GPC3的抗原结合模块,其中第一TCRD与第二TCRD形成能够募集至少一种TCR相关信号传导模块的T细胞受体模块(TCRM)。在一些实施例中,抗GPC3 caTCR包括两条含有氨基酸序列SEQ ID NO:492及SEQ ID NO:493的多肽链。在一些实施例中,表达抗GPC3 caTCR的效应细胞(例如T细胞)进一步包括可操作地连接到诱导型启动子的编码多特异性(例如双特异性)抗GPC3分子(例如抗GPC3×CD3双特异性T细胞接合体)的核酸。在一些实施例中,经由抗GPC3 caTCR传导信号后,可诱导多特异性(例如双特异性)抗GPC3分子(例如抗GPC3×CD3串联双scFv T细胞接合体)表达。在一些实施例中,诱导型启动子为源自NFAT的启动子,例如源自NFAT的最小启动子。在一些实施例

中,诱导型启动子为IL-2启动子。在一些实施例中,第一TCR-TM来源于天然存在的T细胞受体(例如 $\alpha\beta$ TCR或 $\gamma\delta$ TCR)的跨膜域之一。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分为嵌合的、人类的、部分人类化的、完全人类化的或半合成的。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分为Fab、Fab'、F(ab')₂、Fv或scFv。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分为Fab或Fab'。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分为scFv。在一些实施例中,GPC3阳性疾病为癌症。在一些实施例中,癌症为例如HCC、黑色素瘤、鳞状细胞肺癌、卵巢癌、卵黄囊肿瘤、绒膜癌、成神经细胞瘤、肝胚细胞瘤、威尔姆斯氏肿瘤、睾丸非精原细胞瘤型生殖细胞肿瘤、胃癌或脂肪肉瘤。在一些实施例中,癌症为HCC。在一些实施例中,癌症为HCC且治疗包括预防癌症扩散,例如抑制(例如预防)癌症转移。在一些实施例中,癌症为转移HCC。在一些实施例中,经由静脉内、腹膜内或瘤内途径投与。在一些实施例中,经由静脉内途径投与。在一些实施例中,经由瘤内途径投与。在一些实施例中,投与包括在GPC3阳性疾病(例如GPC3阳性肿瘤)位点远侧的注射位点进行局部注射。在一些实施例中,注射位点为第一GPC3阳性肿瘤(即,经由瘤内途径投与)。在一些实施例中,GPC3阳性疾病位点为第二GPC3阳性肿瘤。在一些实施例中,注射位点为第一GPC3阳性肿瘤且GPC3阳性疾病位点为第二GPC3阳性肿瘤。在一些实施例中,个体为人类。

[0687] 在一些实施例中,提供一种治疗个体的GPC3阳性疾病(例如HCC)的方法,包括向个体投与有效量的包括表达抗GPC3 caTCR的效应细胞(例如T细胞)的组合物,所述抗GPC3 caTCR包括a) 抗原结合模块,所述抗原结合模块包括特异性结合到GPC3(例如nGPC3及/或sGPC3)的抗GPC3抗体部分,所述抗体部分包括:i) V_H,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:32-51中的任一者的HC-CDR1或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体、氨基酸序列为SEQ ID NO:83-102中的任一者的HC-CDR2或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体,及氨基酸序列为SEQ ID NO:134-153中的任一者的HC-CDR3或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体,及ii) V_L,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:185-204中的任一者的LC-CDR1或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体、氨基酸序列为SEQ ID NO:236-255中的任一者的LC-CDR2或包括最多约3(例如约1、2或3中的任一者)个氨基酸取代的其变异体,及氨基酸序列为SEQ ID NO:287-306中的任一者的LC-CDR3或包括最多约5(例如约1、2、3、4或5中的任一者)个氨基酸取代的其变异体;及b) T细胞受体模块(TCRM),所述T细胞受体模块包括含有来源于天然存在的TCR(例如 $\alpha\beta$ TCR或 $\gamma\delta$ TCR)的一跨膜域的第一TCR跨膜域(TCR-TM)的第一TCR域(TCRD)及含有来源于天然存在的TCR(例如 $\alpha\beta$ TCR或 $\gamma\delta$ TCR)的另一跨膜域的第二TCR-TM的第二TCRD,其中所述TCRM促进至少一种TCR相关信号传导分子(例如CD3 $\delta\epsilon$ 、CD3 $\gamma\epsilon$ 及/或 $\zeta\zeta$)的募集,且其中所述抗体部分连接到第一及/或第二TCRD。在一些实施例中,提供一种治疗个体的GPC3阳性疾病(例如HCC)的方法,包括向个体投与有效量的包括表达抗GPC3 caTCR的效应细胞(例如T细胞)的组合物,所述抗GPC3 caTCR包括a) 抗原结合模块,所述抗原结合模块包括特异性结合到GPC3(例如nGPC3及/或sGPC3)的抗GPC3抗体部分,所述抗体部分包括:i) V_H,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:32-51中的任一者的HC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:83-102中的任一者的HC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:134-153中的任一者的HC-CDR3,及ii) V_L,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:185-204中的任一者的LC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:236-255中的任一者的LC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:287-306中的任一者的LC-CDR3;以及b) T细胞受体模块(TCRM),所述T细胞受体

模块包括含有来源于天然存在的TCR (例如 $\alpha\beta$ TCR或 $\gamma\delta$ TCR) 的一跨膜域的第一TCR跨膜域 (TCR-TM) 的第一TCR域 (TCRD) 及含有来源于天然存在的TCR (例如 $\alpha\beta$ TCR或 $\gamma\delta$ TCR) 的另一跨膜域的第二TCR-TM的第二TCRD, 其中所述TCRM促进至少一种TCR相关信号传导分子 (例如CD3 $\delta\epsilon$ 、CD3 $\gamma\epsilon$ 及/或 $\zeta\zeta$) 的募集, 且其中所述抗体部分连接到第一及/或第二TCRD。在一些实施例中, 提供一种治疗个体的GPC3阳性疾病 (例如HCC) 的方法, 包括向个体投与有效量的包括表达抗GPC3 caTCR的效应细胞 (例如T细胞) 的组合物, 所述抗GPC3 caTCR包括a) 抗原结合模块, 所述抗原结合模块包括特异性结合到GPC3 (例如nGPC3及/或sGPC3) 的抗GPC3抗体部分, 所述抗体部分包括: i) 氨基酸序列为SEQ ID NO: 338-357中的任一者的 V_H , 及ii) 氨基酸序列为SEQ ID NO: 389-408中的任一者的 V_L ; 以及b) T细胞受体模块 (TCRM), 所述T细胞受体模块包括含有来源于天然存在的TCR (例如 $\alpha\beta$ TCR或 $\gamma\delta$ TCR) 的一跨膜域的第一TCR跨膜域 (TCR-TM) 的第一TCR域 (TCRD) 及含有来源于天然存在的TCR (例如 $\alpha\beta$ TCR或 $\gamma\delta$ TCR) 的另一跨膜域的第二TCR-TM的第二TCRD, 其中所述TCRM促进至少一种TCR相关信号传导分子 (例如CD3 $\delta\epsilon$ 、CD3 $\gamma\epsilon$ 及/或 $\zeta\zeta$) 的募集, 且其中所述抗体部分连接到第一及/或第二TCRD。在一些实施例中, 提供一种治疗个体的GPC3阳性疾病 (例如HCC) 的方法, 包括向个体投与有效量的包括表达抗GPC3 caTCR的效应细胞 (例如T细胞) 的组合物, 所述抗GPC3 caTCR包括a) 抗原结合模块, 所述抗原结合模块包括特异性结合到GPC3 (例如nGPC3及/或sGPC3) 的抗GPC3抗体部分, 所述抗体部分包括氨基酸序列为SEQ ID NO: 338-357中任一者的 V_H 的HC-CDR及氨基酸序列为SEQ ID NO: 389-408中任一者的 V_L 的LC-CDR; 以及b) T细胞受体模块 (TCRM), 所述T细胞受体模块包括含有来源于天然存在的TCR (例如 $\alpha\beta$ TCR或 $\gamma\delta$ TCR) 的一跨膜域的第一TCR跨膜域 (TCR-TM) 的第一TCR域 (TCRD) 及含有来源于天然存在的TCR (例如 $\alpha\beta$ TCR或 $\gamma\delta$ TCR) 的另一跨膜域的第二TCR-TM的第二TCRD, 其中所述TCRM促进至少一种TCR相关信号传导分子 (例如CD3 $\delta\epsilon$ 、CD3 $\gamma\epsilon$ 及/或 $\zeta\zeta$) 的募集, 且其中所述抗体部分连接到第一及/或第二TCRD。在一些实施例中, 提供一种治疗个体的GPC3阳性疾病的方法, 包括向个体投与有效量的包括表达抗GPC3 caTCR的效应细胞 (例如T细胞) 的组合物, 所述抗GPC3 caTCR包括a) 抗原结合模块, 所述抗原结合模块包括与本文所述的任一种抗GPC3构筑体竞争结合到GPC3 (例如nGPC3及/或sGPC3) 的抗GPC3抗体部分; 及b) T细胞受体模块 (TCRM), 所述T细胞受体模块包括含有来源于天然存在的TCR (例如 $\alpha\beta$ TCR或 $\gamma\delta$ TCR) 的一跨膜域的第一TCR跨膜域 (TCR-TM) 的第一TCR域 (TCRD) 及含有来源于天然存在的TCR (例如 $\alpha\beta$ TCR或 $\gamma\delta$ TCR) 的另一跨膜域的第二TCR-TM的第二TCRD, 其中所述TCRM促进至少一种TCR相关信号传导分子 (例如CD3 $\delta\epsilon$ 、CD3 $\gamma\epsilon$ 及/或 $\zeta\zeta$) 的募集, 且其中所述抗体部分连接到第一及/或第二TCRD。在一些实施例中, 提供一种治疗个体的GPC3阳性疾病的方法, 包括向个体投与有效量的包括表达抗GPC3 caTCR的

效应细胞(例如T细胞)的组合物,所述抗GPC3 caTCR包括:a)第一多肽链,所述第一多肽链包括含有氨基酸序列为SEQ ID NO:338-357中任一者的 V_H 的第一抗原结合域及 C_H1 抗体域及含有第一TCR亚单元的第一跨膜域的第一T细胞受体域(TCRD);及b)第二多肽链,所述第二多肽链包括含有氨基酸序列为SEQ ID NO:389-408中任一者的 V_L 的第二抗原结合域及 C_L 抗体域及含有第二TCR亚单元的第二跨膜域的第二TCRD,其中第一抗原结合域的 V_H 及 C_H1 域与第二抗原结合域的 V_L 及 C_L 域形成特异性结合到GPC3(例如nGPC3及/或sGPC3)的抗原结合模块,且其中第一TCRD与第二TCRD形成能够募集至少一种TCR相关信号传导模块的T细胞受体模块(TCRM)。在一些实施例中,抗原结合模块包括位于 C_H1 域中的残基与 C_L 域中的残基之间的二硫键。在一些实施例中,提供一种治疗个体的GPC3阳性疾病的方法,包括向个体投与有效量的包括表达抗GPC3 caTCR的效应细胞(例如T细胞)的组合物,所述抗GPC3 caTCR包括:a)第一多肽链,所述第一多肽链包括含有氨基酸序列为SEQ ID NO:338-357中任一者的 V_H 抗体域的第一抗原结合域及含有第一TCR亚单元的第一跨膜域的第一TCRD;及b)第二多肽链,所述第二多肽链包括含有氨基酸序列为SEQ ID NO:389-408中任一者的 V_L 抗体域的第二抗原结合域及含有第二TCR亚单元的第二跨膜域的第二TCRD,其中第一抗原结合域的 V_H 域与第二抗原结合域的 V_L 域形成特异性结合到GPC3(例如nGPC3及/或sGPC3)的抗原结合模块,其中第一TCRD与第二TCRD形成能够募集至少一种TCR相关信号传导模块的T细胞受体模块(TCRM)。在一些实施例中,表达抗GPC3 caTCR的效应细胞(例如T细胞)进一步包括可操作地连接到诱导型启动子的编码多特异性(例如双特异性)抗GPC3分子(例如抗GPC3×CD3双特异性T细胞接合体)的核酸。在一些实施例中,经由抗GPC3caTCR传导信号后,可诱导多特异性(例如双特异性)抗GPC3分子(例如抗GPC3×CD3串联双scFv T细胞接合体)表达。在一些实施例中,诱导型启动子为源自NFAT的启动子,例如源自NFAT的最小启动子。在一些实施例中,诱导型启动子为IL-2启动子。在一些实施例中,第一TCR-TM来源于天然存在的T细胞受体(例如 $\alpha\beta$ TCR或 $\gamma\delta$ TCR)的跨膜域之一。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分特异性识别与细胞表面结合的GPC3。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分对与细胞表面结合的GPC3的结合亲和力高于对可溶性GPC3的结合亲和力。在一些实施例中,抗nGPC3抗体部分以高结合亲和力特异性识别与细胞表面结合的GPC3且以低结合亲和力结合到可溶性GPC3。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分特异性识别可溶性GPC3。在一些实施例中,抗sGPC3抗体部分对可溶性GPC3的结合亲和力高于对与细胞表面结合的GPC3的结合亲和力。在一些实施例中,抗sGPC3抗体部分特异性识别氨基酸序列SEQ ID NO:461内的抗原决定基。在一些实施例中,抗sGPC3抗体部分特异性识别SEQ ID NO:460的氨基酸510-560内的抗原决定基(SEQ ID NO:467)。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分特异性识别与细胞表面结合的GPC3与可溶性GPC3。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分为嵌合的、人类的、部分人类化的、完全人类化的或半合成的。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分为Fab、Fab'、F(ab')₂、Fv或scFv。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分为Fab或Fab'。在一些实施例中,抗GPC3抗体部分为scFv。在一些实施例中,GPC3阳性疾病为癌症。在一些实施例中,癌症为例如HCC、黑色素瘤、鳞状细胞肺癌、卵巢癌、卵黄囊肿瘤、绒膜癌、成神经细胞瘤、肝胚细胞瘤、威尔姆斯氏肿瘤、睾丸非精原细胞瘤型生殖细胞肿瘤、胃癌或脂肪肉瘤。在一些实施例中,癌症为HCC。在一些实施例中,癌症为HCC且治疗包括预防癌症扩散,例如抑制(例如预防)癌症转移。在一些实施例中,癌症为转移HCC。在一些实施例中,经由静脉内、腹膜内或瘤内途径投与。在一些实施例中,经由静脉内途径

投与。在一些实施例中,经由瘤内途径投与。在一些实施例中,投与包括在GPC3阳性疾病(例如GPC3阳性肿瘤)位点远侧的注射位点进行局部注射。在一些实施例中,注射位点为第一GPC3阳性肿瘤(即,经由瘤内途径投与)。在一些实施例中,GPC3阳性疾病位点为第二GPC3阳性肿瘤。在一些实施例中,注射位点为第一GPC3阳性肿瘤且GPC3阳性疾病位点为第二GPC3阳性肿瘤。在一些实施例中,个体为人类。

[0688] 在一些实施例中,提供一种治疗个体的转移HCC的方法,包括向个体投与有效量的包括效应细胞(例如T细胞)的组合物,所述效应细胞表达根据上述任一实施例的抗GPC3 CAR或抗GPC3 caTCR。在一些实施例中,个体为人类。在一些实施例中,表达抗GPC3 CAR或抗GPC3 caTCR的效应细胞(例如T细胞)进一步包括可操作地连接到诱导型启动子的编码多特异性(例如双特异性)抗GPC3分子(例如抗GPC3×CD3双特异性T细胞接合体)的核酸。在一些实施例中,经由抗GPC3 CAR或抗GPC3 caTCR传导信号后,可诱导多特异性(例如双特异性)抗GPC3分子(例如抗GPC3×CD3双特异性T细胞接合体)表达。在一些实施例中,诱导型启动子为源自NFAT的启动子,例如源自NFAT的最小启动子。在一些实施例中,诱导型启动子为IL-2启动子。

[0689] 在一些实施例中,提供一种抑制(例如预防)个体HCC转移的方法,包括向个体投与有效量的包括效应细胞(例如T细胞)的组合物,所述效应细胞表达根据上述任一实施例的抗GPC3 CAR或抗GPC3 caTCR。在一些实施例中,个体为人类。在一些实施例中,表达抗GPC3 CAR或抗GPC3 caTCR的效应细胞(例如T细胞)进一步包括可操作地连接到诱导型启动子的编码多特异性(例如双特异性)抗GPC3分子(例如抗GPC3×CD3双特异性T细胞接合体)的核酸。在一些实施例中,经由抗GPC3 CAR或抗GPC3 caTCR传导信号后,可诱导多特异性(例如双特异性)抗GPC3分子(例如抗GPC3×CD3双特异性T细胞接合体)表达。在一些实施例中,诱导型启动子为源自NFAT的启动子,例如源自NFAT的最小启动子。在一些实施例中,诱导型启动子为IL-2启动子。

[0690] 在一些实施例中,提供一种使个体中的T细胞致敏的方法,包括向个体投与有效量的包括效应细胞(例如T细胞)的组合物,所述效应细胞表达根据上述任一种抗GPC3 CAR的抗GPC3 CAR。在一些实施例中,提供一种使个体中的T细胞致敏的方法,包括向个体投与有效量的包括效应细胞(例如T细胞)的组合物,所述效应细胞表达根据上述任一种抗GPC3 caTCRs的抗GPC3 caTCR。在一些实施例中,个体患有GPC3阳性疾病。在一些实施例中,GPC3阳性疾病为癌症。在一些实施例中,癌症例如HCC、黑色素瘤、鳞状细胞肺癌、卵巢癌、卵黄囊肿瘤、绒膜癌、成神经细胞瘤、肝胚细胞瘤、威尔姆斯氏肿瘤、睾丸非精原细胞瘤型生殖细胞肿瘤、胃癌或脂肪肉瘤。在一些实施例中,癌症为HCC。在一些实施例中,经由静脉内、腹膜内或瘤内途径投与。在一些实施例中,经由静脉内途径投与。在一些实施例中,经由瘤内途径投与。在一些实施例中,投与第一疾病位点远侧的注射位点。在一些实施例中,个体为人类。

[0691] 在一些实施例中,根据上述任一种方法,所述方法进一步包括向个体投与抗原呈递细胞或APC(例如单核细胞或单核细胞分化的树突状细胞)。树突状细胞可以经由将单核细胞与特异性细胞因子一起培养而离体产生(Palucka及Banchereau, *Nature Reviews Cancer* 12:265-277, 2012)。在一些实施例中,APC与效应细胞组合物同时投与。在一些实施例中,APC与效应细胞组合物并行投与。在一些实施例中,APC与效应细胞组合物依序投与。

在一些实施例中,APC经由与效应细胞组合物相同的途径投与。在一些实施例中,APC与效应细胞组合物投与相同位点。在一些实施例中,效应细胞组合物包括APC。

[0692] 癌症

[0693] 在一些实施例中,抗GPC3构筑体(例如经分离的抗GPC3构筑体)、抗GPC3 CAR细胞及抗GPC3 caTCR细胞可以适用于治疗癌症。可使用本文所述的任一种方法治疗的癌症包含未血管化或大体上尚未血管化的肿瘤,以及血管化肿瘤。癌症可以包括实体肿瘤。待用本发明的抗GPC3构筑体、抗GPC3 CAR细胞及抗GPC3 caTCR细胞治疗的癌症类型包含(但不限于)癌瘤、母细胞瘤、肉瘤、良性及恶性肿瘤,以及恶性疾病,例如肉瘤、癌瘤及黑色素瘤。还包含成人肿瘤/癌症及儿科肿瘤/癌症。

[0694] 实体肿瘤为通常不含有囊肿或液体区域的异常组织团块。实体肿瘤可为良性或恶性的。不同类型的实体肿瘤根据形成其的细胞类型命名(例如肉瘤、癌瘤及淋巴瘤)。实体肿瘤(例如肉瘤及癌瘤)的实例包含纤维肉瘤、粘液肉瘤、脂肪肉瘤、软骨肉瘤、骨肉瘤及其它肉瘤、滑膜瘤、间皮瘤、尤文氏肿瘤(Ewing's tumor)、平滑肌肉瘤、横纹肌肉瘤、结肠癌、淋巴恶性疾病、胰脏癌、乳癌、肺癌(例如鳞状细胞肺癌)、卵巢癌、卵黄囊肿瘤(内胚层窦瘤)、前列腺癌、肝细胞癌(HCC)、鳞状细胞癌、基底细胞癌、腺癌、汗腺癌、甲状腺髓质癌、乳头状甲状腺癌、嗜铬细胞瘤、皮脂腺癌、乳头状癌、乳头状腺癌、髓质癌、支气管癌、肾细胞癌、肝癌、胆管癌、绒膜癌、威尔姆斯氏肿瘤(Wilms' tumor)、子宫颈癌、睾丸肿瘤、精原细胞瘤、膀胱癌、黑色素瘤及CNS肿瘤(例如神经胶质瘤(例如脑干神经胶质瘤及混合神经胶质瘤)、成胶质细胞瘤(也称为多形性成胶质细胞瘤)星形细胞瘤、CNS淋巴瘤、胚细胞瘤、神经管胚细胞瘤、神经鞘瘤、颅咽管瘤、室管膜瘤、松果体瘤、成血管细胞瘤、听神经瘤、寡树突神经胶质瘤、脑膜瘤、成神经细胞瘤、成视网膜细胞瘤及脑转移瘤)。

[0695] 在一些实施例中,可以通过本发明治疗的癌症为HCC。GPC3高表达于HCC及HCC细胞系中,例如HepG2、Hep3B、HT17、HuH6、HuH7及PLC/PRF/5。GPC3表达与HCC的不良预后相关。在一些实施例中,HCC为早期HCC、非转移HCC、原发HCC、晚期HCC、局部晚期HCC、转移HCC、缓解的HCC或复发HCC。在一些实施例中,HCC为局部可切除的(即,肿瘤局限于允许完全手术去除的肝脏部分)、局部不可切除的(即,局部肿瘤可由于所牵涉的关键血管结构或由于肝脏受损而不可切除),或不可切除的(即,肿瘤牵涉所有肝叶及/或已扩散而牵涉其它器官(例如肺、淋巴结、骨骼)。在一些实施例中,根据TNM分类,HCC为I期肿瘤(无血管侵入的单一肿瘤)、II期肿瘤(具有血管侵入的单一肿瘤,或多个肿瘤,均不大于5cm)、III期肿瘤(多个肿瘤,均大于5cm,或牵涉门静脉或肝静脉的主要分支的肿瘤)、IV期肿瘤(具有除胆囊之外的相邻器官的直接侵入,或内脏腹膜穿孔的肿瘤)、N1肿瘤(区域淋巴结转移),或M1肿瘤(远程转移)。在一些实施例中,根据AJCC(美国癌症联合委员会)分期标准,HCC为T1、T2、T3或T4期HCC。在一些实施例中,HCC为肝细胞癌、HCC纤维板层变异体及混合肝细胞胆管癌中的任一者。

[0696] 在一些实施例中,GPC3阳性癌症为卵黄囊肿瘤(YST,内胚层窦瘤)。在一些实施例中,GPC3阳性癌症为卵巢癌。在一些实施例中,GPC3阳性癌症为绒膜癌。在一些实施例中,GPC3阳性癌症为睾丸非精原细胞瘤型生殖细胞肿瘤。

[0697] YST为3岁以下儿童中最常见的睾丸肿瘤且也称为婴儿胚胎性癌瘤。不同于婴儿典型的纯形式,成人YSTs通常与其它类型的生殖细胞肿瘤(特定来说,畸胎瘤及胚胎性癌瘤)

组合存在。虽然畸胎瘤通常为良性的,但YST为恶性的。

[0698] GPC3表达于小于20%的卵巢癌中,但大于60%的卵巢透明细胞癌中,表明GPC3可以代表卵巢透明细胞癌的潜在生物标记。GPC3免疫染色可以有益于诊断YST及绒膜癌。

[0699] 绒膜癌为通常发生于胎盘的恶性滋养细胞癌。绒膜癌罕见地发生于除胎盘之外的原发位置;其极罕见地发生于睾丸。成人睾丸的纯绒膜癌为罕见的,但代表成人中的最具侵袭性的生殖细胞肿瘤(GCT)病理学变化形式。其特征为早期血原性及淋巴转移性扩散。患者由于早期扩散及固有的抗癌药物抗性而预后非常不良。

[0700] GPC3可以用作诊断黑色素瘤(尤其疾病的早期)的肿瘤标记物,因为已在>80%黑色素瘤及黑色素细胞痣中发现GPC3 mRNA及蛋白质。

[0701] GPC3的表达还发现于成神经细胞瘤、肝胚细胞瘤、威尔姆斯氏肿瘤细胞、睾丸非精原细胞瘤型生殖细胞肿瘤,及不同类别的胃癌(称为GPC3-GC)中。因此,在一些实施例中,本发明可用于治疗或诊断这些GPC3阳性疾病。

[0702] 癌症治疗可以根据以下来评估:例如肿瘤消退、肿瘤重量或尺寸缩小、进展时间、存活持续时间、无进展存活率、总体反应率、反应持续时间、生活质量、蛋白质表达及/或活性。可以使用测定治疗功效的方法,包含例如经由放射学成像测量反应。

[0703] 利用抗GPC3构筑体诊断、检测及成像的方法

[0704] 特异性结合到GPC3(细胞表面所结合或可溶性)的经标记的抗GPC3抗体部分及其衍生物及类似物(例如包括标记的抗GPC3免疫结合物)可用于诊断目的,以检测、诊断或监测与GPC3的表达、异常表达及/或活性有关的疾病及/或病症,包含上述任一种疾病及病症,例如癌症(例如HCC、黑色素瘤、鳞状细胞肺癌、卵巢癌、卵黄囊肿瘤、绒膜癌、成神经细胞瘤、肝胚细胞瘤、威尔姆斯氏肿瘤、睾丸非精原细胞瘤型生殖细胞肿瘤、胃癌或脂肪肉瘤)。举例来说,本发明的抗GPC3抗体部分可用于原位、体内、离体及体外诊断分析或成像分析中。

[0705] 本发明的其它实施例包含检测样本中的GPC3的方法,包括使样本与本文所述的抗GPC3构筑体(例如经分离的抗GPC3构筑体,例如包括标记的抗GPC3免疫结合物)接触及检测标记的存在。在一些实施例中,样本包括细胞表面结合有GPC3的细胞。在一些实施例中,样本包括可溶性GPC3。

[0706] 本发明的其它实施例包含诊断与个体(例如哺乳动物,例如人类)中的GPC3表达或异常表达有关的疾病或病症的方法。方法包括检测个体中的与细胞表面结合的GPC3或可溶性GPC3。在一些实施例中,提供一种诊断个体(例如哺乳动物,例如人类)中的与GPC3表达或异常表达有关的疾病或病症的方法,包括(a)将有效量的根据上述任一实施例的经标记抗GPC3抗体部分(例如包括标记的抗GPC3免疫结合物)投与个体;及(b)测定所述个体中的标记含量,因此标记含量高于阈值表示个体患有GPC3阳性疾病或病症。在一些实施例中,GPC3阳性疾病或病症为癌症。在一些实施例中,癌症选自例如以下组成的群组:HCC、黑色素瘤、鳞状细胞肺癌、卵巢癌、卵黄囊肿瘤、绒膜癌、成神经细胞瘤、肝胚细胞瘤、威尔姆斯氏肿瘤(Wilms'tumor)、睾丸非精原细胞瘤型生殖细胞肿瘤、胃癌及脂肪肉瘤。在一些实施例中,癌症为HCC。在一些实施例中,癌症为转移HCC。在一些实施例中,癌症为转移HCC,且方法进一步包括测定个体血液中的标记含量。在一些实施例中,提供一种诊断个体(例如哺乳动物,例如人类)中的转移性肝细胞癌的方法,包括(a)向个体投与有效量的根据上述任一实施例的经标记抗GPC3抗体部分(例如包括标记的抗GPC3免疫结合物);及(b)测定个体中的

标记含量,因此标记含量高于阈值表示个体患有HCC(例如转移HCC)。阈值可以通过各种方法测定,包含例如根据上述诊断方法检测患有疾病或病症的第一组个体及不患有疾病或病症的第二组个体中的标记,且阈值设定为允许区分第一组与第二组的水准。在一些实施例中,阈值为零,且方法包括测定个体中的标记存在或不存在。在一些实施例中,方法进一步包括在步骤(a)的投与之后等待一段时间以允许经标记的抗GPC3抗体部分(例如包括标记的抗GPC3免疫结合物)优先在个体中的表达GPC3的位点(例如GPC3阳性肿瘤位点,且未结合的经标记抗GPC3抗体部分将清除)集中。在一些实施例中,方法进一步包括减去标记的背景含量。可以通过各种方法测定背景含量,包含例如在投与经标记的抗GPC3抗体部分(例如包括标记的抗GPC3免疫结合物)之前检测个体中的标记,或根据上述诊断方法检测未患所述疾病或病症的个体中的标记。在一些实施例中,个体为人类。

[0707] 在一些实施例中,提供一种诊断与个体(例如哺乳动物,例如人类)中的GPC3表达或异常表达有关的疾病或病症的方法,包括(a)使根据上述任一实施例的经标记抗GPC3抗体部分(例如包括标记的抗GPC3免疫结合物)与来源于个体的样本(例如全血或均质化组织)接触;及(b)测定样本中的与经标记抗GPC3抗体部分结合的细胞的数目,因此与经标记的抗GPC3抗体部分结合的细胞的数目值高于阈值表示个体患有疾病或病症。在一些实施例中,疾病或病症为癌症。在一些实施例中,癌症选自由例如以下组成的群组:HCC、黑色素瘤、鳞状细胞肺癌、卵巢癌、卵黄囊肿瘤、绒膜癌、成神经细胞瘤、肝胚细胞瘤、威尔姆斯氏肿瘤、睾丸非精原细胞瘤型生殖细胞肿瘤、胃癌及脂肪肉瘤。在一些实施例中,癌症为HCC。在一些实施例中,癌症为转移HCC,且样本为血液样本(例如全血)。在一些实施例中,癌症为转移HCC。在一些实施例中,提供诊断个体(例如哺乳动物,例如人类)中的HCC(例如转移HCC)的方法,包括(a)使根据上述任一实施例的经标记抗GPC3抗体部分与来源于个体的样本(例如全血)接触;及(b)测定样本中的与经标记抗GPC3抗体部分结合的细胞的数目,因此与经标记的抗GPC3抗体部分结合的细胞的数目值高于阈值表示个体患有HCC(例如转移HCC)。阈值可以通过各种方法测定,包含例如根据上述诊断方法测定患有疾病或病症的第一组个体及不患有疾病或病症的第二组个体中的与经标记抗GPC3抗体部分结合的细胞数目,及将阈值设定为允许区分第一组与第二组的水准。在一些实施例中,阈值含量为零,且方法包括测定样本中的与经标记的抗GPC3抗体部分结合的细胞的存在或不存在。在一些实施例中,方法进一步包括减去与经标记的抗GPC3抗体部分结合的细胞的背景数目水准。背景水准可以通过各种方法测定,包含例如在投与经标记的抗GPC3抗体部分之前测定个体中的与经标记抗GPC3抗体部分结合的细胞数目,或根据上述诊断方法测定不患有所述疾病或病症的个体中的与经标记抗GPC3抗体部分结合的细胞数目。在一些实施例中,个体为人类。

[0708] 利用本领域技术人员已知的方法,可以使用本发明的抗GPC3抗体部分分析生物样本中的GPC3含量。适合的抗体标记在所属领域中已知且包含酶标记,例如葡萄糖氧化酶;放射性同位素,例如碘(^{131}I 、 ^{125}I 、 ^{123}I 、 ^{121}I)、碳(^{14}C)、硫(^{35}S)、氚(^3H)、铟($^{115\text{m}}\text{In}$ 、 $^{113\text{m}}\text{In}$ 、 ^{112}In 、 ^{111}In)、锝(^{99}Tc 、 $^{99\text{m}}\text{Tc}$)、钛(^{201}Ti)、镓(^{68}Ga 、 ^{67}Ga)、钯(^{103}Pd)、钼(^{99}Mo)、氙(^{133}Xe)、氟(^{18}F)、钐(^{153}Sm)、镱(^{177}Lu)、钆(^{159}Gd)、钷(^{149}Pm)、镧(^{140}La)、铪(^{175}Yb)、钬(^{166}Ho)、钇(^{90}Y)、钪(^{47}Sc)、铼(^{186}Re 、 ^{188}Re)、镨(^{142}Pr)、铑(^{105}Rh)及钌(^{97}Ru);鲁米诺(luminol);荧光标记,例如荧光素及若丹明;及生物素。

[0709] 可以对本发明的经标记抗GPC3抗体部分(例如包括标记的抗GPC3免疫结合物)应

用所属领域中已知的技术。这类技术包含(但不限于)使用双官能结合剂(参见例如美国专利第5,756,065号;第5,714,631号;第5,696,239号;第5,652,361号;第5,505,931号;第5,489,425号;第5,435,990号;第5,428,139号;第5,342,604号;第5,274,119号;第4,994,560号;及第5,808,003号)。除上述分析以外,本领域技术人员可使用各种体内及离体分析。举例来说,可以将个体体内的细胞暴露于任选地经可检测标记(例如放射性同位素)标记的抗GPC3抗体部分,且可以例如通过外部放射性扫描或通过分析来源于先前暴露于抗GPC3抗体部分的个体的样本(例如活体组织切片或其它生物样本)来评估抗GPC3抗体部分对细胞的结合。

[0710] 制品及试剂盒

[0711] 在本发明的一些实施例中,提供一种含有适用于治疗GPC3阳性疾病的材料的制品,所述疾病例如癌症(例如HCC、黑色素瘤、鳞状细胞肺癌、卵巢癌、卵黄囊肿瘤、绒膜癌、成神经细胞瘤、肝胚细胞瘤、威尔姆斯氏肿瘤、睾丸非精原细胞瘤型生殖细胞肿瘤、胃癌或脂肪肉瘤),用于将抗GPC3构筑体(例如经分离的抗GPC3构筑体)递送到表面上表达GPC3的细胞,或用于分离或检测细胞表面上表达GPC3的细胞,或用于分离或检测个体中的可溶性GPC3。制品可以包括容器及附于或系连于容器的标签或药品说明书。适合容器包含例如瓶子、小瓶、注射器等。容器可由多种材料(例如玻璃或塑料)形成。一般来说,容器容纳有效治疗本文所述疾病或病症的组合物,且可具有无菌接管口(例如容器可为静脉内溶液袋或具有可通过皮下注射针刺穿的塞子的小瓶)。组合物中的至少一种活性剂为本发明的抗GPC3构筑体。标签或药品说明书指示所述组合物用于治疗特定病状。标签或药品说明书将进一步包括向患者投与抗GPC3构筑体组合物的说明。还涵盖包括本文所述的组合疗法的制品及试剂盒。

[0712] 药品说明书是指市售治疗产品封装中通常所包含的说明书,其含有关于适应症、使用、剂量、投与、与这类治疗产品的使用有关的禁忌及/或警告的信息。在一些实施例中,药品说明书指示组合物用于治疗癌症(例如HCC、黑色素瘤、鳞状细胞肺癌、卵巢癌、卵黄囊肿瘤、绒膜癌、成神经细胞瘤、肝胚细胞瘤、威尔姆斯氏肿瘤、睾丸非精原细胞瘤型生殖细胞肿瘤、胃癌或脂肪肉瘤)。

[0713] 另外,制品可以进一步包括第二容器,所述第二容器包括药学上可接受的缓冲液,例如抑菌性注射用水(BWFI)、磷酸盐缓冲生理盐水、林格氏溶液(Ringer's solution)及右旋糖溶液。其可以进一步包含就商业及用户观点而言所需的其它物质,包含其它缓冲剂、稀释剂、过滤器、针及注射器。

[0714] 还提供适用于各种目的的试剂盒,例如用于治疗本文所述的GPC3阳性疾病或病症,用于递送抗GPC3构筑体(例如经分离的抗GPC3构筑体)到表面上表达GPC3的细胞,或用于分离或检测细胞表面上表达GPC3的细胞,或用于分离或检测个体中的可溶性GPC3,任选地与制品组合。本发明的试剂盒包含一或多个容器,所述容器包括抗GPC3构筑体组合物(或单位剂型及/或制品),且在一些实施例中,进一步包括根据本文所述任一种方法的另一药剂(例如本文所述的药剂)及/或使用说明书。试剂盒可以进一步包括选择适于治疗的个体的说明。本发明试剂盒中供应的说明书典型地为标签或药品说明书(例如,试剂盒中包含的纸片)上的书面说明书,但机器可读指令(例如,磁性或光学存储盘上承载的指令)也为可接受的。

[0715] 举例来说,在一些实施例中,试剂盒包括含有抗GPC3构筑体(例如经分离的抗GPC3构筑体,例如抗GPC3 scFv、全长抗GPC3抗体、多特异性抗GPC3分子(例如双特异性抗GPC3抗体)或抗GPC3免疫结合物)的组合物。在一些实施例中,试剂盒包括a)含有抗GPC3构筑体的组合物,及b)有效量的至少一种其它药剂,其中所述其它药剂增强抗GPC3构筑体的作用(例如治疗效果、检测效果)。在一些实施例中,试剂盒包括a)包括抗GPC3构筑体的组合物,及b)向个体投与抗GPC3构筑体组合物以治疗GPC3阳性疾病(例如HCC)的说明书。在一些实施例中,试剂盒包括a)含有抗GPC3构筑体的组合物;b)有效量的至少一种其它药剂,其中所述其它药剂增强抗GPC3构筑体的效果(例如治疗效果、检测效果);及c)用于将抗GPC3构筑体组合物及其它药剂投与个体以便治疗GPC3阳性疾病(例如HCC)的说明书。抗GPC3构筑体及其它药剂可存在于分开的容器或单一容器中。举例来说,试剂盒可以包括一种不同的组合物或两种或超过两种组合物,其中一种组合物包括抗GPC3构筑体且另一组合物包括另一药剂。

[0716] 在一些实施例中,试剂盒包括a)包括抗GPC3构筑体(例如经分离的抗GPC3构筑体,例如抗GPC3 scFv、全长抗GPC3抗体、多特异性抗GPC3分子(例如双特异性抗GPC3抗体),或抗GPC3免疫结合物)的组合物,及b)关于将抗GPC3构筑体与细胞(例如效应细胞,例如来源于个体的免疫细胞、CAR-T细胞或caTCR-T细胞)组合而形成包括抗GPC3构筑体/细胞结合物的组合物且将抗GPC3构筑体/细胞结合物组合物投与个体以治疗GPC3阳性疾病(例如HCC)的说明书。在一些实施例中,试剂盒包括a)含有抗GPC3构筑体的组合物,及b)细胞(例如细胞毒性细胞,例如细胞毒性T细胞、CAR-T细胞或caTCR-T细胞)。在一些实施例中,试剂盒包括a)含有抗GPC3构筑体的组合物;b)细胞(例如细胞毒性细胞,例如细胞毒性T细胞、CAR-T细胞或caTCR-T细胞);及c)关于将抗GPC3构筑体与细胞组合而形成包括抗GPC3构筑体/细胞结合物的组合物及将抗GPC3构筑体/细胞结合物组合物投与个体以治疗GPC3阳性疾病(例如HCC)的说明书。在一些实施例中,试剂盒包括含有抗GPC3构筑体与细胞(例如细胞毒性细胞,例如细胞毒性T细胞、CAR-T细胞或caTCR-T细胞)结合的组合物。在一些实施例中,试剂盒包括a)含有抗GPC3构筑体与细胞(例如细胞毒性细胞,例如细胞毒性T细胞、CAR-T细胞或caTCR-T细胞)结合的组合物,及b)关于将组合物投与个体以治疗GPC3阳性疾病(例如HCC)的说明书。在一些实施例中,结合为抗GPC3构筑体结合到细胞表面上的分子。在一些实施例中,结合为抗GPC3构筑体(例如抗GPC3 CAR、抗GPC3 caTCR)的一部分插入细胞的外膜中。

[0717] 在一些实施例中,试剂盒包括编码抗GPC3构筑体(例如经分离的抗GPC3构筑体,例如抗GPC3 scFv、全长抗GPC3抗体、多特异性抗GPC3分子(例如双特异性抗GPC3抗体)、抗GPC3 CAR、抗GPC3caTCR或抗GPC3免疫结合物)或其多肽部分的核酸(或一组核酸)。在一些实施例中,试剂盒包括a)编码抗GPC3构筑体(例如抗GPC3×CD3串联双scFv T细胞接合体)或其多肽部分的核酸(或一组核酸),及b)表达核酸(或一组核酸)的宿主细胞(例如效应细胞,例如T细胞、CAR-T细胞或caTCR-T细胞)。在一些实施例中,试剂盒包括a)编码抗GPC3构筑体(例如抗GPC3×CD3串联双scFv T细胞接合体)或其多肽部分的核酸(或一组核酸);及b)关于以下的说明书:i)在宿主细胞(例如效应细胞,例如T细胞、CAR-T细胞或caTCR-T细胞)中表达抗GPC3构筑体;ii)制备包括抗GPC3构筑体或表达抗GPC3构筑体的宿主细胞的组合物;及iii)向个体投与包括抗GPC3构筑体或表达抗GPC3构筑体的宿主细胞的组合物以治

疗GPC3阳性疾病,例如HCC。在一些实施例中,宿主细胞来源于个体。在一些实施例中,试剂盒包括a) 编码抗GPC3构筑体(例如抗GPC3×CD3串联双scFv T细胞接合体)或其多肽部分的核酸(或一组核酸);b) 宿主细胞(例如效应细胞,例如T细胞、CAR-T细胞或caTCR-T细胞)以表达核酸(或一组核酸);及c) 关于以下的说明书:i) 在宿主细胞中表达抗GPC3构筑体,ii) 制备包括抗GPC3构筑体或表达抗GPC3构筑体的宿主细胞的组合物,及iii) 向个体投与包括抗GPC3构筑体或表达抗GPC3构筑体的宿主细胞的组合物以治疗GPC3阳性疾病,例如HCC。在一些实施例中,抗GPC3构筑体(例如抗GPC3×CD3串联双scFv T细胞接合体)或其多肽部分的表达为可诱导性的。在一些实施例中,编码抗GPC3构筑体(例如抗GPC3×CD3串联双scFv T细胞接合体)或其多肽部分的核酸(或一组核酸)处于诱导型启动子的控制下。在一些实施例中,经由效应细胞上的信号传导受体(例如TCR、CAR、caTCR)发生信号传导后,可诱导效应细胞(例如T细胞、CAR-T细胞、caTCR T细胞)表达抗GPC3构筑体(例如抗GPC3×CD3串联双scFv T细胞接合体)或其多肽部分。举例来说,在一些实施例中,根据试剂盒说明书将编码抗GPC3构筑体(例如抗GPC3×CD3串联双scFv T细胞接合体)或其多肽部分的核酸(或一组核酸)引入CAR-T细胞中且将包括抗GPC3构筑体或表达抗GPC3构筑体的宿主细胞的组合物引入患有GPC3阳性疾病的个体后,编码抗GPC3构筑体(例如抗GPC3×CD3串联双scFv T细胞接合体)或其多肽部分的核酸(或一组核酸)处于诱导型启动子的控制下,所述(等)诱导型启动子对经由CAR-T细胞上的CAR发生的信号传导有反应。在一些实施例中,根据试剂盒说明书将编码抗GPC3构筑体(例如抗GPC3×CD3串联双scFv T细胞接合体)或其多肽部分的核酸(或一组核酸)引入caTCR-T细胞且将包括抗GPC3构筑体或表达抗GPC3构筑体的宿主细胞的组合物引入患有GPC3阳性疾病的个体后,编码抗GPC3构筑体(例如抗GPC3×CD3串联双scFv T细胞接合体)或其多肽部分的核酸(或一组核酸)处于响应于caTCR-T细胞上的caTCR的信号传导的诱导型启动子的控制下。在一些实施例中,编码抗GPC3构筑体(例如抗GPC3×CD3串联双scFv T细胞接合体)或其多肽部分的核酸(或一组核酸)可操作地连接到源自NFAT的启动子。在一些实施例中,源自NFAT的启动子为源自NFAT的最小启动子。在一些实施例中,编码抗GPC3构筑体(例如抗GPC3×CD3串联双scFv T细胞接合体)或其多肽部分的核酸(或一组核酸)可操作地连接到IL-2启动子。

[0718] 在一些实施例中,试剂盒包括编码抗GPC3 CAR的核酸。在一些实施例中,试剂盒包括含有编码抗GPC3 CAR的核酸的载体。在一些实施例中,试剂盒包括a) 含有编码抗GPC3 CAR的核酸的载体;及b) 关于以下的说明书:i) 将载体引入效应细胞(例如来源于个体的T细胞)中,ii) 制备包括抗GPC3 CAR效应细胞的组合物,及iii) 向个体投与抗GPC3 CAR效应细胞组合物以治疗GPC3阳性疾病(例如HCC)。

[0719] 在一些实施例中,试剂盒包括编码抗GPC3 CAR的第一核酸,及编码多特异性(例如双特异性)抗GPC3分子(例如抗GPC3×CD3串联双scFv T细胞接合体)的第二核酸。在一些实施例中,试剂盒包括含有编码抗GPC3 CAR的核酸的第一载体,及含有编码多特异性(例如双特异性)抗GPC3分子(例如抗GPC3×CD3串联双scFv T细胞接合体)的核酸的第二载体。在一些实施例中,试剂盒包括含有编码抗GPC3 CAR的第一核酸及编码多特异性(例如双特异性)抗GPC3分子(例如抗GPC3×CD3串联双scFv T细胞接合体)的第二核酸的载体。在一些实施例中,试剂盒包括a) 含有编码抗GPC3 CAR的核酸的第一载体,及含有编码多特异性(例如双特异性)抗GPC3分子(例如抗GPC3×CD3串联双scFv T细胞接合体)的核酸的第二载体;及b)

关于以下的说明书: i) 将载体引入效应细胞, 例如来源于个体的T细胞, ii) 制备包括抗GPC3 CAR效应细胞及多特异性 (例如双特异性) 抗GPC3分子的组合物, 及iii) 向个体投与抗GPC3 CAR效应细胞及多特异性 (例如双特异性) 抗GPC3分子组合物以治疗GPC3阳性疾病, 例如HCC。在一些实施例中, 试剂盒包括a) 含有编码抗GPC3 CAR的第一核酸及编码多特异性 (例如双特异性) 抗GPC3分子 (例如抗GPC3×CD3串联双scFv T细胞接合体) 的第二核酸的载体; 及b) 关于以下的说明书: i) 将载体引入效应细胞, 例如来源于个体的T细胞, ii) 制备包括抗GPC3 CAR效应细胞及多特异性 (例如双特异性) 抗GPC3分子的组合物, 及iii) 向个体投与抗GPC3CAR效应细胞及多特异性 (例如双特异性) 抗GPC3分子组合物以治疗GPC3阳性疾病, 例如HCC。在一些实施例中, 编码多特异性 (例如双特异性) 抗GPC3分子 (例如抗GPC3×CD3串联双scFv T细胞接合体) 的核酸处于诱导型启动子的控制下。在一些实施例中, 经由抗GPC3-CAR的信号传导 (例如在GPC3阳性疾病环境中), 可诱导多特异性 (例如双特异性) 抗GPC3分子 (例如抗GPC3×CD3串联双scFv T细胞接合体) 表达。在一些实施例中, 编码多特异性 (例如双特异性) 抗GPC3分子 (例如抗GPC3×CD3串联双scFv T细胞接合体) 的核酸处于源自NFAT的启动子的控制下。在一些实施例中, 源自NFAT的启动子为源自NFAT的最小启动子。在一些实施例中, 编码多特异性 (例如双特异性) 抗GPC3分子 (例如抗GPC3×CD3串联双scFv T细胞接合体) 的核酸处于IL-2启动子的控制下。

[0720] 在一些实施例中, 试剂盒包括编码抗GPC3 caTCR的核酸。在一些实施例中, 试剂盒包括含有编码抗GPC3 caTCR的核酸的载体。在一些实施例中, 试剂盒包括a) 含有编码抗GPC3 caTCR的核酸的载体; 及b) 关于以下的说明书: i) 将载体引入效应细胞, 例如来源于个体的T细胞, ii) 制备包括抗GPC3 caTCR效应细胞的组合物, 及iii) 向个体投与抗GPC3 caTCR效应细胞以治疗GPC3阳性疾病, 例如HCC。

[0721] 在一些实施例中, 试剂盒包括编码抗GPC3 caTCR的第一核酸, 及编码多特异性 (例如双特异性) 抗GPC3分子 (例如抗GPC3×CD3串联双scFv T细胞接合体) 的第二核酸。在一些实施例中, 试剂盒包括含有编码抗GPC3 caTCR的核酸的第一载体, 及含有编码多特异性 (例如双特异性) 抗GPC3分子 (例如抗GPC3×CD3串联双scFv T细胞接合体) 的核酸的第二载体。在一些实施例中, 试剂盒包括含有编码抗GPC3 caTCR的第一核酸及编码多特异性 (例如双特异性) 抗GPC3分子 (例如抗GPC3×CD3串联双scFv T细胞接合体) 的第二核酸的载体。在一些实施例中, 试剂盒包括a) 含有编码抗GPC3 caTCR的核酸的第一载体, 及含有编码多特异性 (例如双特异性) 抗GPC3分子 (例如抗GPC3×CD3串联双scFv T细胞接合体) 的核酸的第二载体; 及b) 关于以下的说明书: i) 将载体引入效应细胞, 例如来源于个体的T细胞, ii) 制备包括抗GPC3 caTCR效应细胞及多特异性 (例如双特异性) 抗GPC3分子的组合物, 及iii) 向个体投与抗GPC3 caTCR效应细胞及多特异性 (例如双特异性) 抗GPC3分子组合物以治疗GPC3阳性疾病, 例如HCC。在一些实施例中, 试剂盒包括a) 含有编码抗GPC3 caTCR的第一核酸及编码多特异性 (例如双特异性) 抗GPC3分子 (例如抗GPC3×CD3串联双scFv T细胞接合体) 的第二核酸的载体; 及b) 关于以下的说明书: i) 将载体引入效应细胞, 例如来源于个体的T细胞, ii) 制备包括抗GPC3 caTCR效应细胞及多特异性 (例如双特异性) 抗GPC3分子的组合物, 及iii) 向个体投与抗GPC3 caTCR效应细胞及多特异性 (例如双特异性) 抗GPC3分子组合物以治疗GPC3阳性疾病, 例如HCC。在一些实施例中, 编码多特异性 (例如双特异性) 抗GPC3分子 (例如抗GPC3×CD3串联双scFv T细胞接合体) 的核酸处于诱导型启动子的控制下。在一

些实施例中,经由抗GPC3 caTCR传导信号(例如在GPC3阳性疾病环境中)后,可诱导多特异性(例如双特异性)抗GPC3分子(例如抗GPC3×CD3串联双scFv T细胞接合体)表达。在一些实施例中,编码多特异性(例如双特异性)抗GPC3分子(例如抗GPC3×CD3串联双scFv T细胞接合体)的核酸处于源自NFAT的启动子的控制下。在一些实施例中,源自NFAT的启动子为源自NFAT的最小启动子。在一些实施例中,编码多特异性(例如双特异性)抗GPC3分子(例如抗GPC3×CD3串联双scFv T细胞接合体)的核酸处于IL-2启动子的控制下。

[0722] 本发明的试剂盒使用适合的包装。适合的包装包含(但不限于)小瓶、瓶子、罐、可挠性包装(例如密封的Mylar或塑料袋)及其类似物。试剂盒可任选地提供例如缓冲液的额外组分及说明性信息。本申请案因此还提供制品,其包含小瓶(例如密封小瓶)、瓶子、罐、可挠性包装及其类似物。

[0723] 与抗GPC3构筑体组合物的使用相关的说明书通常包含关于预期疗法的剂量、给药时程及投与途径的信息。容器可为单位剂量、成批包装(例如多剂量包装)或次单位剂量。举例来说,可以提供含有足够剂量的如本文所公开的抗GPC3构筑体(例如经分离的抗GPC3构筑体,例如抗GPC3 scFv、全长抗GPC3抗体、多特异性抗GPC3分子(例如双特异性抗GPC3抗体)、抗GPC3 CAR、抗GPC3 caTCR或抗GPC3免疫结合物)的试剂盒,以向个体提供延长时间的有效治疗,例如一周、8天、9天、10天、11天、12天、13天、2周、3周、4周、6周、8周、3个月、4个月、5个月、7个月、8个月、9个月或超过9个月中的任一者。试剂盒还可包含多个单位剂量的抗GPC3构筑体及医药组合物及使用说明书,其包装量足以在药房(例如医院药房及复合药房)中存储及使用。

[0724] 本领域技术人员将认识到,在本发明的范围及精神内,若干实施例为可能的。现将参照下列非限制性实例来更详细地描述本发明。以下实施例进一步说明本发明,但当然不应理解为以任何方式限制其范围。

[0725] 示范性实施例

[0726] 实施例1.一种经分离的抗磷脂酰肌醇蛋白聚糖3 (GPC3) 构筑体,包括特异性识别与细胞表面结合的GPC3的抗体部分。

[0727] 实施例2.根据实施例1所述的经分离的抗GPC3构筑体,其中所述抗体部分以高结合亲和力特异性识别与细胞表面结合的GPC3且以低结合亲和力结合到可溶性GPC3。

[0728] 实施例3.根据实施例2所述的经分离的抗GPC3构筑体,其中所述抗GPC3构筑体相对于与细胞表面结合的GPC3的 K_d 为约0.1nM到约2nM。

[0729] 实施例4.根据实施例2或3所述的经分离的抗GPC3构筑体,其中可溶性GPC3竞争结合所述抗GPC3构筑体与结合于细胞表面的所述GPC3的 IC_{50} 为约1 μ g/ml到约100 μ g/ml。

[0730] 实施例5.根据实施例1所述的经分离的抗GPC3构筑体,其中所述抗体部分以低结合亲和力特异性识别与细胞表面结合的GPC3且以高结合亲和力结合到可溶性GPC3。

[0731] 实施例6.根据实施例5所述的经分离的抗GPC3构筑体,其中所述抗GPC3构筑体相对于与细胞表面结合的GPC3的 K_d 为约10nM到约100nM。

[0732] 实施例7.根据实施例5或6所述的经分离的抗GPC3构筑体,其中可溶性GPC3竞争结合所述抗GPC3构筑体与结合于细胞表面的所述GPC3的 IC_{50} 为约0.01 μ g/ml到约1 μ g/ml。

[0733] 实施例8.根据实施例3至7中任一者所述的经分离的抗GPC3构筑体,其中与细胞表面结合的所述GPC3为HepG2细胞上所表达的GPC3。

[0734] 实施例9.根据实施例1至8中任一者所述的经分离的抗GPC3构筑体,其中与细胞表面结合的所述GPC3包括氨基酸序列SEQ ID NO:460或SEQ ID NO:462。

[0735] 实施例10.根据实施例1至9中任一者所述的经分离的抗GPC3构筑体,其中所述可溶性GPC3包括氨基酸序列SEQ ID NO:461或SEQ ID NO:463。

[0736] 实施例11.根据实施例1至10中任一者所述的经分离的抗GPC3构筑体,其中所述抗体部分特异性识别包括氨基酸序列SEQ ID NO:460的人类GPC3内的抗原决定基。

[0737] 实施例12.根据实施例11所述的经分离的抗GPC3构筑体,其中所述抗体部分特异性识别SEQ ID NO:460的氨基酸1-560内的抗原决定基(SEQ ID NO:461)。

[0738] 实施例13.根据实施例11所述的经分离的抗GPC3构筑体,其中所述抗体部分特异性识别SEQ ID NO:460的氨基酸25-580内的抗原决定基(SEQ ID NO:462)。

[0739] 实施例14.根据实施例11或12所述的经分离的抗GPC3构筑体,其中所述抗体部分特异性识别SEQ ID NO:460的氨基酸25-560内的抗原决定基(SEQ ID NO:463)。

[0740] 实施例15.根据实施例1至15中任一者所述的经分离的抗GPC3构筑体,其中所述抗体部分特异性识别GPC3的N端片段内的抗原决定基。

[0741] 实施例16.根据实施例15所述的经分离的抗GPC3构筑体,其中所述抗体部分特异性识别SEQ ID NO:460的氨基酸25-358内的抗原决定基(SEQ ID NO:464)。

[0742] 实施例17.根据实施例1至15中任一者所述的经分离的抗GPC3构筑体,其中所述抗体部分特异性识别GPC3的C端片段内的抗原决定基。

[0743] 实施例18.根据实施例17所述的经分离的抗GPC3构筑体,其中所述抗体部分特异性识别缺乏硫酸肝素侧链的GPC3的C端片段内的抗原决定基。

[0744] 实施例19.根据实施例1至18中任一者所述的经分离的抗GPC3构筑体,其中所述抗体部分不与GC33竞争性地特异性结合到相同或基本上相同的GPC3抗原决定基。

[0745] 实施例20.根据实施例19所述的经分离的抗GPC3构筑体,其中所述抗体部分不结合到SEQ ID NO:460的氨基酸524-565内的抗原决定基(SEQ ID NO:536)。

[0746] 实施例21.根据实施例19或20所述的经分离的抗GPC3构筑体,其中所述抗体部分不结合到包括SEQ ID NO:460的氨基酸524-565的片段(SEQ ID NO:536)。

[0747] 实施例22.根据实施例1至21中任一者所述的经分离的抗GPC3构筑体,其中所述GPC3表达于选自自由以下组成的群组的细胞的表面上:HepG2、Hep3B、Huh7、JHH-7及293。

[0748] 实施例23.根据实施例1至22中任一者所述的经分离的抗GPC3构筑体,其中所述GPC3表达于癌细胞表面上。

[0749] 实施例24.根据实施例23所述的经分离的抗GPC3构筑体,其中所述癌细胞为肝癌细胞。

[0750] 实施例25.根据实施例24所述的经分离的抗GPC3构筑体,其中所述癌细胞为肝细胞癌(HCC)。

[0751] 实施例26.一种经分离的抗GPC3构筑体,其包括特异性识别与细胞表面结合的GPC3的抗体部分,其中所述抗体部分包括:i)重链可变域(V_H),其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:1-31中任一者的重链互补决定区(HC-CDR)1或包括最多约5个氨基酸取代的其变异体、氨基酸序列为SEQ ID NO:52-82中任一者的HC-CDR2或包括最多约5个氨基酸取代的其变异体,及氨基酸序列为SEQ ID NO:103-133中任一者的HC-CDR3或包括最多约5个氨基酸取代

的其变异体;以及ii)轻链可变域(V_L),其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:154-184中任一者的轻链互补决定区(LC-CDR)1或包括最多约5个氨基酸取代的其变异体、氨基酸序列为SEQ ID NO:205-235中任一者的LC-CDR2或包括最多约3个氨基酸取代的其变异体,及氨基酸序列为SEQ ID NO:256-286中任一者的LC-CDR3或包括最多约5个氨基酸取代的其变异体。

[0752] 实施例27.根据实施例26所述的经分离的抗GPC3构筑体,其中所述抗体部分包括:i) V_H ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:1-31中的任一者的HC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:52-82中的任一者的HC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:103-133中的任一者的HC-CDR3;及ii) V_L ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:154-184中的任一者的LC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:205-235中的任一者的LC-CDR2,及氨基酸序列为SEQ ID NO:256-286中的任一者的LC-CDR3。

[0753] 实施例28.根据实施例26或27所述的经分离的抗GPC3构筑体,其中所述抗体部分包括:i)氨基酸序列为SEQ ID NO:307-337中的任一者的 V_H 或与SEQ ID NO:307-337中的任一者具有至少约95%序列一致性的其变异体;及ii)氨基酸序列为SEQ ID NO:358-388中的任一者的 V_L 或与SEQ ID NO:358-388中的任一者具有至少约95%序列一致性的其变异体。

[0754] 实施例29.根据实施例28所述的经分离的抗GPC3构筑体,其中所述抗体部分包括:i)氨基酸序列为SEQ ID NO:307-337中任一者的 V_H ;及ii)氨基酸序列为SEQ ID NO:358-388中任一者的 V_L 。

[0755] 实施例30.一种经分离的抗GPC3构筑体,其包括特异性识别与细胞表面结合的GPC3的抗体部分,其中所述抗体部分包括氨基酸序列为SEQ ID NO:307-337中任一者的 V_H 的HC-CDR;及氨基酸序列为SEQ ID NO:358-388中任一者的 V_L 的LC-CDR。

[0756] 实施例31.一种经分离的抗GPC3构筑体,其包括特异性识别与细胞表面结合的GPC3的抗体部分,其中所述抗体部分包括:i) V_H ,其包括SEQ ID NO:1-31中的任一者的氨基酸序列、SEQ ID NO:52-82中的任一者的氨基酸序列及SEQ ID NO:103-133中的任一者的氨基酸序列;及ii) V_L ,其包括SEQ ID NO:154-184中的任一者的氨基酸序列、SEQ ID NO:205-235中的任一者的氨基酸序列及SEQ ID NO:256-286中的任一者的氨基酸序列。

[0757] 实施例32.一种经分离的抗GPC3构筑体,其包括特异性识别GPC3的抗体部分,其中所述抗体部分包括:i) V_H ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:32-51中的任一者的HC-CDR1或包括最多约5个氨基酸取代的其变异体、氨基酸序列为SEQ ID NO:83-102中的任一者的HC-CDR2或包括最多约5个氨基酸取代的其变异体,及氨基酸序列为SEQ ID NO:134-153中的任一者的HC-CDR3或包括最多约5个氨基酸取代的其变异体;及ii) V_L ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:185-204中的任一者的LC-CDR1或包括最多约5个氨基酸取代的其变异体、氨基酸序列为SEQ ID NO:236-255中的任一者的LC-CDR2或包括最多约3个氨基酸取代的其变异体,及氨基酸序列为SEQ ID NO:287-306中的任一者的LC-CDR3或包括最多约5个氨基酸取代的其变异体。

[0758] 实施例33.根据实施例32所述的经分离的抗GPC3构筑体,其中所述抗体部分包括:i) V_H ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:32-51中的任一者的HC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:83-102中的任一者的HC-CDR2及氨基酸序列为SEQ ID NO:134-153中的任一者的HC-CDR3;及ii) V_L ,其包括氨基酸序列为SEQ ID NO:185-204中的任一者的LC-CDR1、氨基酸序列为SEQ ID NO:236-255中的任一者的LC-CDR2,及氨基酸序列为SEQ ID NO:287-306中的

任一者的LC-CDR3。

[0759] 实施例34.根据实施例32或33所述的经分离的抗GPC3构筑体,其中所述抗体部分包括:i)氨基酸序列为SEQ ID NO:338-357中的任一者的 V_H 或与SEQ ID NO:338-357中的任一者具有至少约95%序列一致性的其变异体;及ii)氨基酸序列为SEQ ID NO:389-408中的任一者的 V_L 或与SEQ ID NO:389-408中的任一者具有至少约95%序列一致性的其变异体。

[0760] 实施例35.根据实施例34所述的经分离的抗GPC3构筑体,其中所述抗体部分包括:i)氨基酸序列为SEQ ID NO:338-357中的任一者的 V_H ;及ii)氨基酸序列为SEQ ID NO:389-408中的任一者的 V_L 。

[0761] 实施例36.一种经分离的抗GPC3构筑体,其包括特异性识别GPC3的抗体部分,其中所述抗体部分包括氨基酸序列为SEQ ID NO:338-357中任一者的 V_H 的HC-CDR;及氨基酸序列为SEQ ID NO:389-408中任一者的 V_L 的LC-CDR。

[0762] 实施例37.一种经分离的抗GPC3构筑体,其包括特异性识别与细胞表面结合的GPC3的抗体部分,其中所述抗体部分包括:i) V_H ,其包括SEQ ID NO:32-51中的任一者的氨基酸序列、SEQ ID NO:83-102中的任一者的氨基酸序列及SEQ ID NO:134-153中的任一者的氨基酸序列;及ii) V_L ,其包括SEQ ID NO:185-204中的任一者的氨基酸序列、SEQ ID NO:236-255中的任一者的氨基酸序列及SEQ ID NO:287-306中的任一者的氨基酸序列。

[0763] 实施例38.一种经分离的抗GPC3构筑体,其包括与实施例1-37中任一者的经分离的抗GPC3构筑体竞争性地特异性结合到GPC3的抗体部分。

[0764] 实施例39.一种经分离的抗GPC3构筑体,其包括与实施例1-37中任一者的经分离的抗GPC3构筑体竞争性地特异性结合到相同或基本上相同GPC3抗原决定基的抗体部分。

[0765] 实施例40.根据实施例1至39中任一者所述的经分离的抗GPC3构筑体,其中特异性识别GPC3的所述抗体部分为嵌合的、人类的、部分人类化的、完全人类化的或半合成的。

[0766] 实施例41.根据实施例1至40中任一者所述的经分离的抗GPC3构筑体,其中特异性识别GPC3的所述抗体部分为全长抗体、Fab、Fab'、F(ab')₂、Fv或单链Fv(scFv)。

[0767] 实施例42.根据实施例41所述的经分离的抗GPC3构筑体,其中特异性识别GPC3的所述抗体部分为scFv。

[0768] 实施例43.根据实施例41所述的经分离的抗GPC3构筑体,其中特异性识别GPC3的所述抗体部分为Fab或Fab'。

[0769] 实施例44.根据实施例1至43中任一者所述的经分离的抗GPC3构筑体,其中特异性识别GPC3的所述抗体部分与Fc片段融合,任选地经由连接子融合。

[0770] 实施例45.根据实施例44所述的经分离的抗GPC3构筑体,其中所述Fc片段为IgG1 Fc片段。

[0771] 实施例46.根据实施例1至40及44至45中任一者所述的经分离的抗GPC3构筑体,其中所述经分离的抗GPC3构筑体为全长抗体。

[0772] 实施例47.根据实施例1至46中任一者所述的经分离的抗GPC3构筑体,其中所述经分离的抗GPC3构筑体具有单特异性。

[0773] 实施例48.根据实施例1至46中任一者所述的经分离的抗GPC3构筑体,其中所述经分离的抗GPC3构筑体具有多特异性。

[0774] 实施例49.根据实施例48所述的经分离的抗GPC3构筑体,其中所述经分离的抗

GPC3构筑体具有双特异性。

[0775] 实施例50.根据实施例48或49所述的经分离的抗GPC3构筑体,其中所述经分离的抗GPC3构筑体为串联scFv、双功能抗体(Db)、单链双功能抗体(scDb)、双亲和力再靶向(DART)抗体、F(ab')₂、双可变域(DVD)抗体、臼包杵型(KiH)抗体、对接及锁定(DNL)抗体、化学交联抗体、杂多聚体抗体或杂结合物抗体。

[0776] 实施例51.根据实施例50所述的经分离的抗GPC3构筑体,其中经分离的抗GPC3构筑体为串联scFv,所述scFv包括两个通过肽连接子连接的scFv。

[0777] 实施例52.根据实施例51所述的经分离的抗GPC3构筑体,其中所述肽连接子包括氨基酸序列TSGGGGS(SEQ ID NO:474)。

[0778] 实施例53.根据实施例48至52中任一者所述的经分离的抗GPC3构筑体,其中所述经分离的抗GPC3构筑体进一步包括特异性识别第二抗原的第二抗体部分。

[0779] 实施例54.根据实施例53所述的经分离的抗GPC3构筑体,其中第二抗原为T细胞表面上的抗原。

[0780] 实施例55.根据实施例54所述的经分离的抗GPC3构筑体,其中所述第二抗原选自自由以下组成的群组:CD3 γ 、CD3 δ 、CD3 ϵ 、CD3 ζ 、CD28、OX40、GITR、CD137、CD27、CD40L及HVEM。

[0781] 实施例56.根据实施例55所述的经分离的抗GPC3构筑体,其中所述第二抗原为CD3 ϵ 。

[0782] 实施例57.根据实施例56所述的经分离的抗GPC3构筑体,其中所述经分离的抗GPC3构筑体为串联scFv,所述串联scFv包括特异性识别GPC3的N端scFv及特异性识别CD3 ϵ 的C端scFv。

[0783] 实施例58.根据实施例53所述的经分离的抗GPC3构筑体,其中所述第二抗原为B细胞、自然杀手细胞、树突状细胞、巨噬细胞、单核细胞或嗜中性细胞的表面上的抗原。

[0784] 实施例59.根据实施例1至43中任一者所述的经分离的抗GPC3构筑体,其中所述经分离的抗GPC3构筑体为嵌合抗原受体(CAR),所述嵌合抗原受体包括:(a)含有所述抗体部分的胞外域;(b)跨膜域;及(c)胞内信号传导域。

[0785] 实施例60.根据实施例59所述的经分离的抗GPC3构筑体,其中所述胞内信号传导域包括CD3 ζ 胞内信号传导序列及CD28胞内信号传导序列。

[0786] 实施例61.根据实施例1至43中任一者所述的经分离的抗GPC3构筑体,其中所述经分离的抗GPC3构筑体为嵌合抗体-T细胞受体(TCR)构筑体(caTCR),所述嵌合抗体-T细胞受体(TCR)构筑体包括:(a)含有所述抗体部分的胞外域;及(b)T细胞受体模块(TCRM),其包括含有第一TCR跨膜域(TCR-TM)的第一TCR域(TCRD)及含有第二TCR-TM的第二TCRD,其中所述TCRM促进募集至少一种TCR相关信号传导分子。

[0787] 实施例62.根据实施例61所述的经分离的抗GPC3构筑体,其中所述第一TCR-TM来源于天然存在的第一TCR的一跨膜域且第二TCR-TM来源于天然存在的第一TCR的另一跨膜域。

[0788] 实施例63.根据实施例61所述的经分离的抗GPC3构筑体,其中TCR-TM中的至少一者为非天然存在的。

[0789] 实施例64.根据实施例63所述的经分离的抗GPC3构筑体,其中相较于包括天然存在的第一T细胞受体跨膜域的TCRM,所述TCRM增强募集至少一种TCR相关信号传导分子。

- [0790] 实施例65.根据实施例62所述的经分离的抗GPC3构筑体,其中天然存在的所述第一TCR为 γ/δ TCR。
- [0791] 实施例66.根据实施例62所述的经分离的抗GPC3构筑体,其中天然存在的所述第一TCR为 α/β TCR。
- [0792] 实施例67.根据实施例61至66中任一者所述的经分离的抗GPC3构筑体,其中所述TCR相关信号传导分子选自由CD3 $\delta\epsilon$ 、CD3 $\gamma\epsilon$ 及 $\zeta\zeta$ 组成的群组。
- [0793] 实施例68.根据实施例1至58中任一者所述的经分离的抗GPC3构筑体,其中经分离的抗GPC3构筑体为包括抗体部分及效应分子的免疫结合物。
- [0794] 实施例69.根据实施例68所述的经分离的抗GPC3构筑体,其中效应分子为选自由以下组成的群组的治疗剂:药物、毒素、放射性同位素、蛋白质、肽及核酸。
- [0795] 实施例70.根据实施例69所述的经分离的抗GPC3构筑体,其中所述治疗剂为药物或毒素。
- [0796] 实施例71.根据实施例68所述的经分离的抗GPC3构筑体,其中效应分子为标记。
- [0797] 实施例72.一种经分离的核酸,其编码根据实施例1至71中任一者所述的经分离的抗GPC3构筑体。
- [0798] 实施例73.一种载体,其包括根据实施例72所述的经分离的核酸。
- [0799] 实施例74.一种经分离的宿主细胞,其包括根据实施例1至71中任一者所述的抗GPC3构筑体、如实施例72的经分离的核酸或73的载体。
- [0800] 实施例75.一种效应细胞,其表达根据实施例53至67中任一者所述的经分离的抗GPC3构筑体。
- [0801] 实施例76.根据实施例75所述的效应细胞,其中所述效应细胞为T细胞。
- [0802] 实施例77.根据实施例76所述的效应细胞,其中所述T细胞选自由细胞毒性T细胞、辅助T细胞及自然杀手T细胞组成的群组。
- [0803] 实施例78.根据实施例75至77中任一者所述的效应细胞,其中所述抗GPC3构筑体的表达通过所述效应细胞的活化来诱导。
- [0804] 实施例79.根据实施例75至78中任一者所述的效应细胞,其中所述效应细胞进一步包括嵌合抗体-T细胞受体(TCR)构筑体(caTCR)。
- [0805] 实施例80.一种医药组合物,其包括根据实施例1至71中任一者所述的经分离的抗GPC3构筑体或根据实施例75至79中任一者所述的效应细胞,及药学上可接受的载剂。
- [0806] 实施例81.一种试剂盒,其包括根据实施例1至71中任一者所述的经分离的抗GPC3构筑体、根据实施例72所述的经分离的核酸、根据实施例73所述的载体、根据实施例74所述的经分离的宿主细胞、根据实施例75至79中任一者所述的效应细胞,或根据实施例80所述的医药组合物。
- [0807] 实施例82.一种检测样本中的GPC3的方法,包括使所述样本与根据实施例71所述的经分离的抗GPC3构筑体接触及检测所述标记的存在。
- [0808] 实施例83.根据实施例82所述的方法,其中所述样本包括细胞表面结合有GPC3的细胞。
- [0809] 实施例84.根据实施例83所述的方法,其中所述样本包括可溶性GPC3。
- [0810] 实施例85.一种治疗患有GPC3阳性疾病的个体的方法,包括向所述个体投与有效

量的根据实施例80所述的医药组合物。

[0811] 实施例86.根据实施例85所述的方法,其中所述投与经由静脉内或瘤内途径。

[0812] 实施例87.根据实施例85所述的方法,其中所述投与位于第一疾病位点远侧的注射位点。

[0813] 实施例88.根据实施例85至87中任一者所述的方法,进一步包括向所述个体投与另一种疗法。

[0814] 实施例89.一种诊断患有GPC3阳性疾病的个体的方法,包括:a)向所述个体投与有效量的根据实施例71所述的经分离的抗GPC3构筑体;及b)测定所述个体中的标记含量,其中所述标记含量高于阈值表示所述个体患有所述GPC3阳性疾病。

[0815] 实施例90.一种诊断患有GPC3阳性疾病的个体的方法,包括:a)使来源于所述个体的样本与根据实施例71所述的经分离的抗GPC3构筑体接触;及b)测定所述样本中的与所述经分离的抗GPC3构筑体结合的细胞的数目,其中与所述经分离的抗GPC3构筑体结合的细胞的数目值高于阈值表示所述个体患有所述GPC3阳性疾病。

[0816] 实施例91.根据实施例85至90中任一者所述的方法,其中所述GPC3阳性疾病为癌症。

[0817] 实施例92.根据实施例91所述的方法,其中所述癌症选自以下组成的群组:HCC、黑色素瘤、鳞状细胞肺癌、卵巢癌、卵黄囊肿瘤、绒膜癌、成神经细胞瘤、肝胚细胞瘤、威尔姆斯氏肿瘤、睾丸非精原细胞瘤型生殖细胞肿瘤、胃癌及脂肪肉瘤。

[0818] 实施例93.根据实施例92所述的方法,其中所述癌症为HCC。

[0819] 实施例94.根据实施例93所述的方法,其中所述癌症为转移HCC。

[0820] 实施例95.一种产生经分离的抗GPC3构筑体的方法,包括:(a)在有效表达所述抗GPC3构筑体的条件下培养包括根据实施例72所述的经分离的核酸或根据实施例73所述的载体的宿主细胞或根据实施例74所述的经分离的宿主细胞;及(b)从所述宿主细胞获得所述经表达的抗GPC3构筑体。

[0821] 实施例96.根据实施例95所述的方法,其中步骤(a)进一步包括产生包括所述经分离的核酸或所述载体的宿主细胞。

[0822] 实例

[0823] 材料及方法

[0824] 细胞系HepG2及SK-Hep1从美国菌种保藏中心(American Type Culture Collection)获得。HepG2为人类肝细胞癌细胞系(ATCC HB-8065)。SK-Hep1为肝脏内皮细胞腺癌细胞系(ATCC HTB-52)。细胞系在补充有10% FBS的RPMI 1640或DMEM中,在37℃/5% CO₂下培养。

[0825] 经FITC标记的抗His抗体从Thermo Fisher Scientific(目录号MA1-81891)购得,用于检测本文所述的双特异性抗GPC3 T细胞接合体抗体,所述抗体在C端具有6×His标签。

[0826] GC33为来源于经人类C端GPC3片段免疫的小鼠的单株抗体,所述片段由氨基酸524-565组成(Ishiguro等人,Cancer Res 2008;68:9832-9838)。图7B中所用的GC33抗体从Roche Diagnostics(目录号790-4564)购得。

[0827] 重组人类GPC3片段的产生

[0828] 重组人类GPC3₍₅₆₀₎蛋白质包括人类全长GPC3前体蛋白的氨基酸1-560(SEQ ID NO:

461),所述重组蛋白质包括缺乏GPI锚点的人类GPC3的胞外域且另外在其C端与6×His标签融合。重组人类GPC3₍₅₆₀₎蛋白质由慢病毒载体pCDH EF1-MCS(System Biosciences)表达。

[0829] 生物素标记的GPC3₍₅₆₀₎ (bt-GPC3₍₅₆₀₎)根据标准方案(Altman,J.D.及Davis,M.M., Current Protocols in Immunology 17.3.1-17.3.33,2003)制备。简单来说,使编码BirA底物肽(BSP)的DNA连接到重组人类GPC3₍₅₆₀₎蛋白质(SEQ ID NO:461)的C端且克隆到载体pET-27b中,在大肠杆菌BL21细胞中转型,接着以包涵体形式从细菌培养物中分离。GPC3₍₅₆₀₎-BSP蛋白质通过超滤加以浓缩且经由尺寸排阻色谱法进一步纯化。GPC3₍₅₆₀₎-BSP肽接着经由BirA介导的酶反应进行生物素标记且随后通过高分辨率阴离子交换色谱法加以纯化。

[0830] GPC3-51mer片段代表人类全长GPC3前体蛋白的氨基酸510-560(SEQ ID NO:467),所述肽及所述肽的生物素标记形式由Elim Biopharmaceuticals合成。

[0831] SK-Hep1-GPC3细胞的产生

[0832] 过度表达GPC3蛋白质的SK-Hep1细胞系由Eureka Therapeutics利用携载于慢病毒载体(pCDH EF1-MCS, System Biosciences)的人类全长GPC3(SEQ ID NO:460)制得,在本文中称为“SK-Hep1-GPC3”。

[0833] HepG2GPC3基因剔除(HepG2-GPC3-KO)细胞的产生

[0834] HepG2 GPC3基因剔除细胞系HepG2-GPC3-KO-2、KO-3及KO-11利用如所述的市售CRISPR-Cas9载体(lentiCRISPR-V2, OriGene; Sanjana等人, Nat Methods. 2014; 11: 783-784)产生。将GPC3特异性向导RNA(gRNA)序列克隆到lentiCRISPR-V2主链中且使用载体将Stb13细菌转型。对阳性克隆测序且转染到HEK 293FT细胞中以产生GPC3-CRISPR慢病毒。感染HepG2细胞且选择培养2周且通过FACS分析测量GPC3表达。

[0835] FACS分析

[0836] 使用市售小鼠抗人类GPC3抗体(1G12, Santa Cruz Biotech sc-65443)进行FACS,所述抗体结合到GPC3的C端部分。50μl 1G12抗体在PBS加5% FBS中稀释50、100及200倍且在4℃与GPC3+HepG2细胞培育一小时。细胞在PBS中洗涤且添加1:200于PBS+5% FBS中稀释的与PE结合的小鼠抗IgG二级抗体(Vector Labs#EI-2007)且在黑暗中、在4℃再培育30分钟。细胞用PBS洗涤两次且固定。

[0837] FACS分析结果概述于图8中。所产生的所有13种HepG2-GPC3-KO细胞系对于抗hGPC3抗体(1G12)结合呈阴性,证明HepG2细胞中的GPC3表达被成功剔除。测序分析进一步证实HepG2-GPC3-KO细胞系KO#2、KO#3及KO#11呈GPC3阴性。在13种HepG2-GPC3-KO细胞系中,使用HepG2-GPC3-KO-2、HepG2-GPC3-KO-3及HepG2-GPC3-KO-11细胞系进行进一步研究。

[0838] 噬菌体呈现文库的淘选

[0839] 通过淘选来筛选出Eureka Therapeutics E-ALPHA™噬菌体文库(人类scFv噬菌体文库)中的GPC3反应性噬菌体克隆。利用以下试剂对噬菌体克隆进行分离及FACS分析:小鼠抗M13 mAb(Thermo Fisher Scientific(#MA1-12900)、PE-抗小鼠IgG(Vector Labs(#EI-2007)及固定缓冲液(Biolegend#420801)。对照小鼠抗GPC3抗体(克隆1G12)从Santa Cruz Biotech(#SC-65443)购得。

[0840] ELISA淘选

[0841] 在涂有抗生蛋白链菌素的96孔板中进行ELISA淘选,用经生物素标记的GPC3肽靶

标(bt-GPC3₍₅₆₀₎或bt-GPC3-51mer)阻断且涂布,接着与噬菌体文库一起培育(人类scFv表达于噬菌体衣壳上)。洗掉未结合的噬菌体之后,将所结合的噬菌体洗脱,扩增且在若干轮选择过程中再淘选。接着筛选出结合到表达GPC3的HepG2细胞的ELISA淘选克隆。

[0842] 珠粒淘选

[0843] 对涂有抗生蛋白链菌素及bt-GPC3-51mer肽的DYNABEADS®进行珠粒淘选。添加噬菌体文库用于培育。洗掉未结合的噬菌体之后,珠粒结合的噬菌体用胰蛋白酶洗脱且进行若干轮珠粒-GPC3-51mer培育、洗涤及洗脱。进一步测试结合到GPC3⁺HepG2细胞及GPC3⁻HepG2-GPC3-KO细胞的阳性噬菌体克隆。

[0844] 细胞淘选

[0845] 通过将噬菌体克隆与表达GPC3的SK-Hep1-GPC3细胞在悬浮液中一起培育来进行细胞淘选。通过洗涤来去除未结合的噬菌体。结合有噬菌体的细胞与小鼠抗M13抗体一起培育,随后与PE结合的抗小鼠二级抗体一起培育,接着通过流式细胞术证实。针对SK-Hep1-GPC3细胞选择的噬菌体克隆进一步针对GPC3⁺HepG2细胞及GPC3⁻HepG2-GPC3-KO细胞筛选。

[0846] 实例1.产生及选择对人类GPC3具有特异性的人类抗体构筑体

[0847] 这个实例展现对人类GPC3(hGPC3)具有特异性的人类抗体构筑体的产生。特定来说,这个实例展现特异性结合到人类GPC3的原生形式(与细胞表面结合的GPC3)的人类scFv的产生。本文所述的人类抗体构筑体利用由正常供体及/或自体免疫疾病供体产生的初始或半合成人类抗体文库开发且针对与细胞表面结合的人类GPC3的原生构形、经由淘选、基于对人类GPC3的高特异性来选择。因此,这些人类抗GPC3抗体构筑体(例如抗GPC3 scFv)为构建例如全长IgG、多特异性抗GPC3抗体分子、抗GPC3 CAR或抗GPC3 caTCR提供宝贵的抗体组分来源。

[0848] 用于开发抗人类GPC3构筑体的示范性概述阐述于表3中。方法开始为从Eureka Therapeutics E-ALPHA™噬菌体文库中鉴别出人类GPC3特异性及生物活性抗体构筑体。

[0849] 表3

阶段	方法
用 E-ALPHA™噬菌体文库进行初始淘选	细胞淘选、ELISA 淘选 FACS 筛选噬菌体克隆
克隆表征	结合到 HepG2 细胞 靶标癌细胞杀死 人类肝癌细胞结合 针对 GPC3 基因剔除细胞系的筛选
双特异性抗体的产生	hGPC3 特异性噬菌体克隆及 抗 CD3ε scFv 克隆到表达载体中

[0851] 利用一组在Eureka Therapeutics构建的人类scFv抗体噬菌体呈现文库(多样性=10×10¹⁰) (商标为E-ALPHA™噬菌体文库)选择对人类GPC3具有特异性的人类抗体构筑体(例如scFv)。E-ALPHA™噬菌体文库包含包括完全初始人类重链及轻链谱系的初始文库,以及含有完全初始人类轻链谱系及重链CDR3区域完全随机化的半合成重链的半合成文库。将初始抗体谱系克隆于健康供体的PBMC及脾中或自体免疫疾病(例如全身性红斑性狼疮症及类风湿性关节炎)供体的PBMC中。

[0852] 针对与细胞表面结合的GPC3 (GPC3A) 的淘选策略及噬菌体文库筛选

[0853] 针对GPC3+细胞的淘选

[0854] 针对人类GPC3如下筛选 (淘选) E-APLPHA™ scFv噬菌体文库: 与重组GPC3表达SK-Hep1细胞 (SK-Hep1-GPC3) 共培育, 接着根据对GPC3+HepG2细胞的结合来确认, 两者均使用流式细胞术 (参见方法)。将0.2百万个SK-Hep1-GPC3细胞与噬菌体文库 (约 1×10^7 溶菌斑形成单位) 在4℃共培育1小时。细胞/噬菌体混合物用PBST洗涤, 与小鼠抗M13抗体一起在4℃培育1小时, 在PBST中再次洗涤, 接着在黑暗中、在4℃与PE结合的抗小鼠IgG一起培育30分钟, 且进行FACS分析。

[0855] 利用相同程序, 根据针对GPC3+HepG2细胞系的细胞表面hGPC3结合来进一步验证得从初始SK-Hep1-GPC3筛选的36种阳性克隆。利用FACS分析, 33种噬菌体克隆对GPC3⁺HepG2细胞 (表4) 展现特异性结合。如方法中所述进行FACS。简单来说, 稀释市售小鼠抗人类GPC3抗体 (1G12, Santa Cruz Biotech sc-65443) 且与GPC3+HepG2细胞一起在4℃培育一小时。细胞用PBS洗涤且添加PE结合的小鼠抗IgG二级抗体 (Vector Labs#EI-2007) 且在黑暗中、在4℃另培育30分钟。接着用PBS洗涤细胞且固定。对14种示范性GPC3⁺HepG2结合克隆的FACS分析展示于图1A-1G中, 表明对与细胞表面结合的GPC3的结合强。还使用辅助噬菌体与GPC3+HepG2细胞一起培育, 充当对照。

[0856] 进一步测试从GPC3A筛选获得的噬菌体克隆对Eureka Therapeutics所制得的GPC3基因剔除细胞系HepG2-GPC3-K0-2及HepG2-GPC3-K0-3 (参见方法中的“HepG2 GPC3基因剔除 (HepG2-GPC3-K0) 细胞的产生”) 的结合。在根据对GPC3⁺HepG2细胞系的结合所鉴别的33种克隆中, 五种克隆 (GPC3A-34、37、38、58及62) 展示对HepG2-GPC3-K0细胞系 (HepG2-GPC3-K0-2及HepG2-GPC3-K0-3) 的结合很少或无结合, 证明其对GPC3阳性细胞结合具有高特异性。FACS分析例示于图2A到2E中: GPC3A-39 (图2A)、GPC3A-46 (图2B)、GPC3A-56 (图2C) 及GPC3A-64 (图2E) 展示对GPC3⁺HepG2细胞系的结合显著, 及对HepG2-GPC3-K0细胞系的结合水准相对较低; 而GPC3A-58 (图2D) 展现对GPC3⁺HepG2细胞系的结合水准高及对HepG2-GPC3-K0细胞系的结合几乎没有。几种克隆展示对GPC3⁺HepG2与HepG2-GPC3-K0细胞系的结合水准均较高 (数据未展示)。

[0857] 通过ELISA测试GPC3A噬菌体克隆对可溶性GPC3的结合。使用三种形式的经生物素标记的可溶性GPC3蛋白 (GPC3₍₅₆₀₎, R&D Systems GPC3蛋白 [目录号2119-GP-0505] 及GPC3-51mer) 涂布如所述的96孔ELISA板 (参见方法)。所有克隆均能够结合GPC3₍₅₆₀₎ 及GPC3 (R&D Systems), 其中克隆GPC3A-37、GPC3A-42、GPC3A-43及GPC3A-47显示对GPC3₍₅₆₀₎ 的结合最小及对GPC3-51mer无结合 (数据未展示)。

[0858] 表4

	细胞淘选	细胞/ELISA 淘选 GPC3-51mer
	SK-Hep1-GPC3 细胞 (GPC3A)	SK-Hep1-GPC3 细胞 (GPC3B)
[0859] 克隆数目(FACS 筛选)	540	368
结合细胞表面 GPC3 的独特克隆	33	14

	结合 GPC3 基因剔除细胞的克隆	5	4
[0860]	转化成双特异性抗体的克隆	20	14
	双特异性抗体对靶细胞的杀死	16	1

[0861] 使用51merGPC3片段 (GPC3B) 的淘选策略及噬菌体文库筛选

[0862] 另一方面,利用经生物素标记的C端51mer hGPC3片段 (bt-GPC3-51mer,参见方法) 实施三种类型的噬菌体文库淘选。这种筛选策略称为GPC3B且概述于表4中。

[0863] 板式淘选

[0864] 在PBS中,以100 μ l体积,使用2 μ g/ml的经生物素标记的GPC3-51mer片段(参见方法) 进行板式淘选筛选且添加到经抗生蛋白链菌素涂布的96孔ELISA板中,允许在4 $^{\circ}$ C培育隔夜。培养板在室温下用含有5%无脂乳粉(NFDM)的PBS阻断2小时。两次额外洗涤之后,将100 μ l噬菌体文库(效价为 2×10^{12} pfu/ml)添加到个别孔中。测试138种噬菌体克隆。培养板在4 $^{\circ}$ C培育2小时且用PBSTB洗涤6次。各孔在室温下通过胰蛋白酶(100 μ l,1mg/ml)洗脱10分钟。所洗脱的噬菌体根据标准方法回收。进行三轮板式淘选以根据针对hGPC3-51mer片段的特异性噬菌体结合进行富集。利用这种筛选,在138种经分离的噬菌体克隆中,99种根据ELISA呈阳性且鉴别出53种独特克隆。

[0865] 板式加细胞淘选

[0866] 对138种经分离的噬菌体克隆进行第二轮淘选筛选,其中进行两轮板式淘选,随后进行一轮细胞淘选,使用SK-Hep1细胞系进行减除淘选且使用SK-Hep1-GPC3细胞系进行正向淘选。在第三轮细胞淘选中,使用约 4×10^7 个SK-Hep1细胞、通过在室温下共培育2小时而对各种噬菌体文库进行减除淘选。使用约 1×10^7 个SK-Hep1-GPC3细胞,还通过在4 $^{\circ}$ C共培育2小时而对各噬菌体文库进行正向淘选。细胞/噬菌体混合物在含10%FBS的PBS中洗涤4次且用单独的PBS洗涤两次。特异性结合的噬菌体在室温下用胰蛋白酶(1ml,1mg/ml)洗脱10分钟。洗脱的噬菌体使用标准技术拯救。使用这种淘选方法,从138种克隆中进一步分离出14种独特克隆。

[0867] 珠粒淘选

[0868] 还对另外92种经分离的噬菌体克隆进行珠粒淘选筛选。50 μ l DYNABEADS[®]用PBST洗涤2次且再悬浮于500 μ l噬菌体文库(效价为 2×10^{12} pfu/ml)中。噬菌体/珠粒混合物在室温下培育2小时以耗竭对抗生蛋白链菌素展示非特异性结合的噬菌体。使用相同洗涤程序制备另外50 μ l DYNABEADS[®]且以2.4 μ g/ml再悬浮于500 μ l bt-GPC3-51mer片段/2.5% PBSM溶液中,以便在室温下培育15分钟,接着洗涤两次。抽吸噬菌体文库且与bt-GPC3-51mer片段/珠粒混合物混合,接着在4 $^{\circ}$ C培育2小时且用PBSTB洗涤5-10次。结合的噬菌体在室温下使用胰蛋白酶(400 μ l,1mg/ml)洗脱10分钟且使用标准技术拯救。进行三轮珠粒淘选以富集针对hGPC3-51mer片段结合的GPC3特异性噬菌体。使用珠粒淘选方法分离出另外62种独特克隆。

[0869] 在利用GPC3B筛选鉴别的所有这些129种独特克隆中,使用流式细胞术测试20种结合GPC3+HepG2细胞的能力。对于阳性细胞淘选而言,将0.2百万个GPC3+HepG2细胞悬浮于50 μ l含5% FBS的PBS及0.05% NaN₃中。对于减除淘选而言,将0.2百万个HepG2-GPC3基因剔

除细胞 (HepG2-GPC3-K0-2) 悬浮于50 μ l含5% FBS的PBS及0.05% NaN_3 中。GPC3B噬菌体及阴性对照噬菌体(辅助噬菌体)于PBS中以约 1.0×10^{11} pfu/mL添加且在4 $^{\circ}\text{C}$ 培育1小时。混合物用PBST洗涤,且200倍稀释的小鼠抗M13抗体(参见方法)于5% FBS (PBS中) 及0.05% NaN_3 中以100 μ l体积添加且在4 $^{\circ}\text{C}$ 培育另一小时。混合物用PBS再次洗涤且PE-抗小鼠IgG二级抗体于100 μ l含5% FBS的PBS及0.05% NaN_3 中以200倍稀释度添加且在黑暗中、在4 $^{\circ}\text{C}$ 培育另一小时。混合物用PBS洗涤两次且以三倍稀释度在固定缓冲液中、以150 μ l体积固定。在所测试的20种克隆中,其均未展示对HepG2-GPC3-K0-2细胞的结合。如图3A到3D中所例示, GPC3B噬菌体克隆#81、#87及#115展示对GPC3+HepG2细胞的结合强,而GPC3B-80克隆展示微弱的结合,但其均未展示对HepG2-GPC3-K0-2细胞的任何结合。

[0870] 利用ELISA分析进一步测试得从GPC3B筛选的这些20种克隆对经生物素标记的可溶性GPC3₍₅₆₀₎及GPC3-51mer的结合(参见方法)。20种克隆中有16种展示对bt-GPC3-51mer的结合强且对可溶性bt-GPC3₍₅₆₀₎的结合甚至更强。3种克隆展示对bt-GPC3-51mer的结合强,但对可溶性bt-GPC3₍₅₆₀₎无结合。1种克隆未结合任一种可溶性蛋白(数据未展示)。

[0871] 实例2.抗GPC3双特异性抗体构筑体

[0872] 利用人类抗GPC3抗体产生双特异性抗体构筑体

[0873] 这个实例展现使用对人类GPC3具有特异性的人类scFv片段构建多特异性抗GPC3分子。特定来说,这个实例展现双特异性抗体的构建,所述双特异性抗体具有结合人类GPC3的原生形式(细胞表面表达)的第一抗体部分(例如scFv)及结合T细胞上的CD3的第二抗体部分(例如scFv)。本文所述的这些多特异性抗GPC3分子(例如串联双scFv抗GPC3T细胞接合体)可用于引导T细胞杀死表达人类GPC3的靶细胞。

[0874] 双特异性抗体(称为“L2K”)利用人类GPC3特异性噬菌体克隆的scFv序列产生,所述噬菌体克隆展示特异性细胞表面-GPC3结合及很少或不存在的GPC3-K0细胞结合(根据GPC3A与GPC3B筛选)。双特异性抗体利用单链形式构建,所述单链形式包括位于N端的人类GPC3特异性噬菌体克隆的V_L-V_H scFv序列及位于C端的抗人类CD3 ϵ 小鼠单株scFv(抗GPC3 $\times$ CD3双scFv;参见例如Brischwein, k.等人, Mol. Immunol. 43:1129-1143, 2006)。来源于GPC3A-34、GPC3B-87、GPC3A-37、GPC3A-45、GPC3A-46、GPC3A-55及GPC3A-58抗体克隆的示范性抗GPC3 $\times$ CD3双scFv抗体分别包括氨基酸序列SEQ ID NO:488、489及511-515。

[0875] 通过Genewiz或Genscript合成编码抗人类GPC3 scFv及抗人类CD3 ϵ scFv的DNA片段且使用标准重组DNA技术亚克隆到哺乳动物表达载体pQD-T (Eureka Therapeutics, Inc.) 中。在C端插入六组氨酸标签用于纯化及检测。HEK293细胞用双特异性抗体表达载体转染且培养七天以便产生双特异性抗GPC3抗体。基于细胞培养物体积,利用FPLC AKTA系统的HisTrap HP管柱(GE healthcare)或His GraviTrap管柱(GE healthcare)从HEK293细胞上清液中纯化双特异性抗体。澄清HEK293细胞培养物上清液且随低浓度的咪唑(20mM)一起装载到管柱上,且接着利用等度的高咪唑浓度洗脱缓冲液(500mM)洗脱所结合的双特异性抗GPC3抗体。在非还原条件下通过凝胶电泳测量经纯化的人类GPC3双特异性抗体的分子量。在凝胶上观测到对应于双特异性抗GPC3抗体(抗GPC3scFv-抗CD3 scFv)的色带(约98kD)为主要物种(数据未展示)。

[0876] 综合而言,这个实例展现双特异性抗GPC3分子的成功构建,所述分子具有对细胞表面上所表达的人类GPC3(即原生形式)具有特异性的第一抗体部分及对CD3具有特异性的

第二抗体部分。这类双特异性分子的进一步表征在下文描述。从GPC3A筛选选择20种独特克隆且从GPC3B筛选选择14种独特克隆用于产生双特异性抗GPC3抗体且进一步表征(表4)。

[0877] 抗GPC3双特异性抗体(GPC3A L2K)对人类肝细胞癌细胞系的结合

[0878] 在两个实验中使用人类GPC3+HepG2细胞、GPC3-阴性SK-Hep1细胞及SK-Hep1-GPC3(过度表达GPC3)细胞,通过流式细胞术测试表达GPC3的HCC细胞系相对于抗GPC3双特异性抗体的结合。

[0879] 对照-L2K双特异性抗体如上所述通过将非GPC3结合scFv与抗人类CD3εscFv融合而类似地产生,其中C端插入六组氨酸标签用于纯化及检测。所述对照-L2K抗体用作阴性GPC3结合对照物。

[0880] 将GPC3A L2K双特异性抗体或对照-L2K双特异性抗体(分别)与GPC3阴性SK-Hep1细胞及SK-Hep1-GPC3细胞一起在含有5% FBS的PBS与0.05% NaN₃中、在4℃培育1小时,最终浓度为5μg/ml。细胞接着用PBS洗涤一次。将APC结合的抗His标签小鼠抗体(R&D Systems)添加到经洗涤的细胞中(体积为100μl,在含有5% FBS的PBS及0.05% NaN₃中以20倍稀释),且在黑暗中、在4℃培育1小时。接着用PBS洗涤细胞两次。细胞在150μl体积的PBS中、在3倍稀释的固定缓冲液(BioLegend)中固定。如图4A及4B中所示,GPC3A L2K双特异性抗体未结合到GPC3阴性SK-Hep1细胞且良好结合到过度表达GPC3的SK-Hep1-GPC3细胞。

[0881] GPC3A L2K双特异性抗体或对照-L2K双特异性抗体与GPC3+HepG2细胞一起在含有5% FBS的PBS及0.05% NaN₃中、在4℃培育1小时(最终浓度为5μg/ml),接着用PBS洗涤一次。添加与APC结合的抗His标签小鼠抗体(R&D Systems)(体积为100μl,在含有5% FBS的PBS及0.05% NaN₃中以20倍稀释),且在黑暗中、在4℃培育1小时,接着用PBS洗涤两次。细胞在150μl体积的PBS中、在3倍稀释的固定缓冲液(BioLegend)中固定。相较于对照-L2K抗体与GPC3+HepG2细胞之间的结合,图5A到5B展现GPC3A L2K双特异性抗体显著结合到GPC3+HepG2细胞。

[0882] 抗GPC3双特异性抗体(GPC3BL2K)对人类肝细胞癌细胞系的结合

[0883] 在两个实验中使用人类GPC3+HepG2细胞、HepG2-GPC3-K0细胞、GPC3阴性SK-Hep1细胞及SK-Hep1-GPC3(过度表达GPC3)细胞,通过流式细胞术类似地测试来源于B筛选(GPC3B L2K双特异性抗体)的抗GPC3×CD3双scFv抗体。

[0884] GPC3B L2K双特异性抗体或对照-L2K双特异性抗体(分别)与GPC3阴性SK-Hep1细胞及SK-Hep1-GPC3细胞一起在含有5% FBS的PBS及0.05% NaN₃中、在4℃培育1小时,最终浓度为5μg/ml。接着用PBS洗涤细胞一次。将APC结合的抗His标签小鼠抗体(R&D Systems)添加到经洗涤的细胞中(体积为100μl,在含有5% FBS的PBS及0.05% NaN₃中稀释20倍),且在黑暗中、在4℃培育1小时。接着用PBS洗涤细胞两次。细胞在150μl体积的PBS中、在3倍稀释的固定缓冲液(BioLegend)中固定。进行FACS分析,以比较GPC3B L2K双特异性抗体对GPC3阴性SK-Hep1细胞及过度表达GPC3的SK-Hep1-GPC3细胞的结合。展现与细胞表面结合的人类GPC3特异性的GPC3BL2K双特异性抗体预期可展示显著结合到SK-Hep1-GPC3细胞,及很少或不结合到GPC3阴性SK-Hep1细胞。

[0885] 还测试GPC3B L2K双特异性抗体及对照L2K双特异性抗体对GPC3+HepG2细胞的结合。将两组抗体与GPC3+HepG2细胞一起在含有5% FBS的PBS及0.05% NaN₃中、在4℃培育1小时(最终浓度为5μg/ml),接着用PBS洗涤一次。添加与APC结合的抗His标签小鼠抗体(R&D

Systems) (体积为100 μ l,在含有5% FBS的PBS及0.05% NaN_3 中以20倍稀释),且在黑暗中、在4 $^{\circ}\text{C}$ 培育1小时,接着用PBS洗涤两次。细胞在150 μ l体积的PBS中、在3倍稀释的固定缓冲液(BioLegend)中固定。进行FACS分析以比较GPC3B L2K双特异性抗体及对照L2K双特异性抗体对GPC3+HepG2细胞的结合。展现与细胞表面结合的人类GPC3特异性的GPC3B L2K双特异性抗体预期可展示显著结合到GPC3+HepG2细胞,而对于对照L2K双特异性抗体,预期对这些细胞的结合很少或无结合。

[0886] GPC3B L2K双特异性抗体及对照-L2K双特异性抗体还在含有5% FBS的PBS及0.05% NaN_3 中与HepG2-GPC3-KO细胞一起在4 $^{\circ}\text{C}$ 培育1小时,最终浓度为5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 。细胞接着用PBS洗涤一次。将APC结合的抗His标签小鼠抗体(R&D Systems)添加到经洗涤的细胞中(体积为100 μ l,在含有5% FBS的PBS及0.05% NaN_3 中稀释20倍),且在黑暗中、在4 $^{\circ}\text{C}$ 培育1小时。接着用PBS洗涤细胞两次。细胞在150 μ l体积的PBS中、在3倍稀释的固定缓冲液(BioLegend)中固定。进行FACS分析以比较GPC3B L2K双特异性抗体及对照IgG1同型抗体对HepG2-GPC3-KO细胞的结合。展现与细胞表面结合的人类GPC3特异性的GPC3B L2K双特异性抗体预期可展示很少或不展示对HepG2-GPC3-KO细胞的结合,这类似于IgG1同型对照抗体。

[0887] 实例3. 人类GPC3双特异性抗体的表征

[0888] 与可溶性GPC3竞争结合到人类肝脏细胞系

[0889] 在竞争性结合分析(IC_{50})中,使用经生物素标记的重组GPC3(560)蛋白(参见方法),测试针对与细胞表面结合的GPC3所产生的抗体结合GPC3+HepG2细胞的能力。将抗GPC3 L2K抗体(来源于GPC3A筛选)或对照-L2K双特异性抗体与不同浓度的可溶性bt-GPC3(560)蛋白预混合且在4 $^{\circ}\text{C}$ 培育一小时;接着添加HepG2细胞且在4 $^{\circ}\text{C}$ 培育混合物另一小时。以20倍稀释度添加与APC结合的抗His抗体(R&D Systems,#IC050A),以检测L2K抗体结合(携带C端His标签的L2K抗体)。还以200倍稀释度添加抗生蛋白链菌素-PE(Vector Labs EI-2007)且在黑暗中、在4 $^{\circ}\text{C}$ 培育30分钟以监测可溶性bt-GPC3(560)蛋白。小鼠抗GPC3抗体阳性对照物(1G12,Santa Cruz#sc-65443)在相同条件下使用PE结合的抗小鼠IgG(H+L)、用或不用可溶性bt-GPC3(560)蛋白处理。表5展示所测试的六种GPC3A L2K抗体的 IC_{50} 值。所有GPC3 L2K展示的 IC_{50} 值皆比抗GPC3阳性对照抗体(1G12)高得多,其中GPC3A-37及GPC3A-46展示最高值,即,受可溶性GPC3存在的影响最小。如从图6可见,所有GPC3A L2K双特异性抗体的中值荧光强度(MFI)证明对存在于HepG2细胞上的GPC3的结合显著地强于对照-L2K双特异性抗体及抗GPC3阳性对照抗体(1G12)。此外,在竞争分析中,大部分GPC3A L2K双特异性抗体证明对与细胞表面结合的GPC3的特异性比可溶性bt-GPC3(560)蛋白高得多,例如GPC3A-37及GPC3A-46克隆。

[0890] 表5

	GPC3×CD3 双特异性抗体克隆	IC ₅₀ (μg/ml)
[0891]	GPC3A-34 L2K	2.4
	GPC3A-37 L2K	4.6
	GPC3A-45 L2K	1.2
	GPC3A-46 L2K	4.1
	GPC3A-55 L2K	2.7
	GPC3A-58 L2K	2.4
	NC16 L2K 阴性对照物	-
	抗 GPC3 阳性对照 Ab	0.25

[0892] 类似地,在竞争性结合分析(IC₅₀)中,使用如上文所述的经生物素标记的重组GPC3₍₅₆₀₎蛋白,测试克隆GPC3B-87L2K结合到GPC3+HepG2细胞的能力。GC33 L2K(转化成L2K的GC33抗体)及抗CD19 L2K用作对照。简单来说,将GPC3B-87L2K双特异性抗体或对照-L2K双特异性抗体与不同浓度的可溶性bt-GPC3₍₅₆₀₎蛋白预混合且在4℃培育一小时;添加HepG2细胞且在4℃培育混合物另一小时。以20倍稀释度添加与APC结合的抗His标签抗体(R&D Systems,#IC050A),以检测L2K抗体结合(携带C端His标签的L2K抗体)。还以200倍稀释度添加抗生蛋白链菌素-PE(Vector Labs EI-2007)且在黑暗中、在4℃培育30分钟以监测可溶性bt-GPC3₍₅₆₀₎蛋白。小鼠抗GPC3抗体阳性对照物(1G12,Santa Cruz#sc-65443)在相同条件下使用PE结合的抗小鼠IgG(H+L)、用或不用可溶性bt-GPC3₍₅₆₀₎蛋白处理。进行FACS分析。

[0893] 如图10及表12中所示,GPC3B-87L2K(IC₅₀ 0.12μg/ml)及GC33 L2K(IC₅₀ 0.86μg/ml)展示的IC₅₀比所测试的GPC3AL2K低得多(IC₅₀在1.2与4.6μg/ml之间)。这表明相较于GPC3A L2K对细胞表面GPC3的结合,可溶性GPC3更容易淘汰GPC3B-87L2K及GC33 L2K对细胞表面GPC3的结合。

[0894] 表12

	GPC3×CD3 双特异性抗体克隆	IC ₅₀ (μg/ml)
[0895]	GPC3B-87 L2K	0.12
	抗 CD19 L2K 阴性对照物	-
	GC33 L2K	0.86

[0896] GPC3A及GPC3BL2K克隆对HepG2细胞的结合亲和力

[0897] 使用人类GPC3+HepG2细胞,通过流式细胞术测试抗GPC3双特异性抗体(GPC3L2K克隆)对表达GPC3的HCC细胞系的结合。

[0898] 通过将非GPC3结合scFv与抗人类CD3εscFv融合来产生对照-L2K双特异性抗体,其中在C端插入六组氨酸标签用于纯化及检测。所述对照-L2K抗体(命名为ET-901L2K)用作GPC3结合的阴性对照物。参考抗GPC3双特异性抗体还类似地使用GC33的scFv产生且命名为GC33 L2K。

[0899] GPC3A L2K克隆(GPC3A-34L2K、GPC3A-37L2K、GPC3A-45L2K、GPC3A-46L2K、GPC3A-55L2K及GPC3A-58L2K)、GPC3B L2K克隆(GPC3B-87L2K)、参考物GC33L2K双特异性抗体或阴性对照抗CD19 L2K与GPC3阳性HepG2细胞一起在含有5%FBS的PBS及0.05% NaN₃中、在4℃

培育1小时(最终浓度为5 $\mu\text{g}/\text{ml}$),接着用PBS洗涤一次。添加与APC结合的抗His标签小鼠抗体(R&D Systems)(体积为100 μl ,在含有5%FBS的PBS及0.05% NaN_3 中以20倍稀释),且在黑暗中、在4 $^{\circ}\text{C}$ 培育1小时,接着用PBS洗涤两次。细胞在150 μl 体积的PBS中、在3倍稀释的固定缓冲液(BioLegend)中固定。作为单独的对照,还将HepG2细胞与APC结合的抗His标签小鼠抗体(R&D Systems)一起在任何L2K双特异性抗体不存在的情况下培育。图11证明GPC3A L2K克隆显著结合到GPC3阳性HepG2细胞。

[0900] 具体来说,通过FACS分析6种GPC3AL2K双特异性抗体克隆(GPC3A-34L2K、GPC3A-37L2K、GPC3A-45L2K、GPC3A-46L2K、GPC3A-55L2K、GPC3A-58L2K)及1种GPC3B L2K双特异性抗体克隆(GPC3B-87L2K)以及参考物抗GPC3 GC33 L2K,以测定其对GPC3+HepG2细胞的结合亲和力。6种GPC3A L2K克隆展示0.045-0.12 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 之间的 EC_{50} ,及0.86-2.4nM之间的表观 K_d 值。GPC3B L2K克隆(GPC3B-87L2K)展示弱得多的结合,其 EC_{50} 为4.3 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 且表观 K_d 为84nM。GC33 L2K展示0.14 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 的 EC_{50} ,及2.7nM的表观 K_d 。相较于GC33 L2K($K_d=2.7\text{nM}$),所有GPC3A L2K克隆展示较高的结合亲和力,尤其GPC3A-37L2K($K_d=0.92\text{nM}$)、GPC3A-46L2K($K_d=1.0\text{nM}$)及GPC3A-55L2K($K_d=0.86\text{nM}$)(参见表13及图11)。

[0901] 表13

	GPC3 $\times$ CD3 双特异性抗体克隆	EC_{50} ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	表观 K_d (nM)
[0902]	GPC3A-34 L2K	0.11	2.0
	GPC3A-37 L2K	0.048	0.92
	GPC3A-45 L2K	0.12	2.4
	GPC3A-46 L2K	0.050	1.0
	GPC3A-55 L2K	0.045	0.86
	GPC3A-58 L2K	0.12	2.4
[0903]	GPC3B-87 L2K	4.3	81
	抗 GPC3 阳性对照 Ab	0.14	2.7

[0904] T细胞介导细胞毒性分析

[0905] 使用LDH细胞毒性分析(Promega)来分析肿瘤细胞毒性。将人类T细胞(A11Cells)或来自全血的Ficoll纯化细胞(Blood Centers of the Pacific)活化且用CD3/CD28 DYNABEADS[®](Invitrogen)、根据制造商说明书扩增。活化T细胞在具有10% FBS加100U/mL IL-2的RPMI1640培养基中培养及维持,且在活化后第7-14天使用。根据FACS分析,T细胞为>99% $\text{CD}3^{+}$ 。活化T细胞及靶细胞以5:1比率与双特异性抗体(0.2 $\mu\text{g}/\text{ml}$;GPC3A L2K或GPC3B L2K)共培养16小时。通过测量培养物上清液中的LDH活性来测定细胞毒性。

[0906] 如图7A及图7B中所示,来源于GPC3A与GPC3B筛选的双特异性抗GPC3 $\times$ CD3抗体以人类GPC3特异性方式有效介导癌细胞的杀死。还测试来源于经C端人类GPC3片段免疫的小鼠(参见方法)的单株抗体GC33对GPC3的特异性杀死(图7B),结果表明GC33的癌细胞杀死能力不具有GPC3特异性,原因为GC33介导GPC3基因剔除细胞系HepG-GPC3-KO-2以及GPC3阳性细胞系HepG2及SK-Hep1-GPC3的杀死。另一方面,GPC3A L2K双特异性抗体#43、#53、#58及#61(以及其它;图7A)及GPC3B L2K双特异性抗体#87(图7B)介导GPC3阳性细胞(HepG2及SK-Hep1-GPC3)的稳定杀死,同时对GPC3阴性细胞系(SK-Hep1及HepG2-GPC3-KO细胞)无显著作用。

[0907] 实例4.小鼠抗hGPC3单特异性IgG抗体的构建

[0908] 使用表达鼠类IgG1重链Fc区的克隆质粒及表达IgG轻链的质粒,使用与小鼠IgG1恒定区及Fc区序列融合的GPC3A-39、46、51、56、58及64重链及轻链可变区序列(V_H 及 V_L 分别为SEQ ID NO:311及362、318及369、323及374、328及379、330及381、336及387)构建全长小鼠抗人类GPC3(hGPC3)单特异性IgG抗体。所得抗体克隆称为抗GPC3 mIgG1克隆A-39、A-46、A-51、A-56、A-58及A-64。示范性抗GPC3 mIgG1A-39序列包括含有氨基酸序列SEQ ID NO:505的重链,及含有氨基酸序列SEQ ID NO:506的轻链。使用GPC3B克隆87的重链及轻链可变区(SEQ ID NO:350及401)及抗GPC3抗体GC33的重链及轻链可变区(SEQ ID NO:503及504),以相同方式构建全长GPC3B单特异性IgG抗体及全长GC33抗体且分别命名为抗GPC3 mIgG1克隆B-87及抗GPC3 mIgG1-GC33。

[0909] 简单来说,所选噬菌体克隆的全长小鼠IgG1在HEK293及中国仓鼠卵巢(CHO)细胞系中产生,如(Tomimatsu,K.等人,Biosci.Biotechnol.Biochem.73(7):1465-1469,2009)所述(数据未展示)。GPC3克隆可变区随小鼠IgG1重链及轻链恒定区亚克隆到哺乳动物表达载体中。通过电泳在还原与非还原条件下测量纯化全长IgG抗体的分子量,以测定蛋白质纯度,其经计算超过95%(数据未展示)。

[0910] 通过流式细胞术测试抗GPC3 mIgG1抗体对GPC3阳性HepG2及GPC3阴性SK-Hep1细胞的结合。将10 μ g/ml经构建的抗体添加到位于冰上的细胞中维持1小时。洗涤之后,添加PE结合的抗小鼠IgG(H及L)(Vector Labs#EI-2007)(在4 $^{\circ}$ C、在黑暗中维持30分钟且洗涤两次)以检测抗体结合。如从图9A可见,发现所有抗GPC3 mIgG结合到GPC3阳性HepG2细胞,而二级抗体及单独的对照抗体(对照mIgG1)确实不结合到相同细胞。抗GPC3 mIgG或对照mIgG1均不显示结合到SK-Hep1细胞(图9B)。使用抗GPC3 mIgG1克隆B-87及mIgG-GC33抗体进行相同FACS分析。

[0911] 根据ELISA,GPC3A mIgG1抗体针对大鼠GPC3的反应性

[0912] 在ELISA分析中,测试GPC3特异性及阴性对照(ET-901)小鼠嵌合IgG1对大鼠GPC3肽的结合。抗体在3倍连续稀释下测试,从100ng/mL开始,总计8种浓度。经生物素标记的大鼠GPC3于PBS中以100 μ L体积、以2 μ g/mL涂布到抗生蛋白链菌素培养板上且添加到抗生蛋白链菌素涂布的96孔ELISA板中,以便在4 $^{\circ}$ C培育隔夜。培养板在室温下用含有5%无脂乳粉(NFDM)的PBS阻断2小时。在PBST缓冲液中以5 μ g/mL复原的GPC3A mIgG1克隆(A-34、A-46、A-53、A-58、A-61)中的每一者以及阴性对照ET-901mIgG1分别与单独的大鼠bt-GPC3涂布孔一起在室温下培育1小时。培养板用PBST洗涤,且与抗小鼠Fc(Bethyl Labs#A90-131P,1:2000稀释度)一起在室温下培育30分钟。用PBST洗涤之后,反应用1-STEPTMUltra TMB-ELISA底物溶液(Thermofisher Scientific#34028)显影且用2N硫酸中止。相较于阴性对照抗CD19 mIgG1,5种GPC3AmIgG1克隆中有4种(A-34、A-46、A-58、A-61)与大鼠bt-GPC3反应(图12)。GPC3A-53mIgG1克隆确实不与大鼠bt-GPC3反应。在一个同时进行的实验中,所测试的全部GPC3A mIgG1(A-34、A-46、A-53、A-58、A-61)与人类GPC3反应(图12)。

[0913] 实例5.抗hGPC3单特异性及双特异性抗体对细胞表面及可溶性GPC3的结合分布测定

[0914] 这个实例展现所选单特异性及双特异性抗体的GPC3结合分布。特定来说,这个实例描述所选抗hGPC3单特异性mIgG1克隆的抗原决定基结合位点表征(如实例4中所述)。另一方面,这个实例还描述本发明的所选抗hGPC3单特异性mIgG1克隆及人类抗hGPC3抗CD3双

特异性抗体 (GPC3A-L2K及GPC3B-L2K,如实例2中所述)的结合分布,以及克隆GC33-mIgG1及双特异性GC33-L2K对癌细胞(例如GPC3阳性HepG2及SK-Hep1-GPC3细胞)表面上的重组人类可溶性GPC3(即,人类GPC3₍₅₆₀₎,hGPC3的残基1-560aa)或GPC3抗原的结合分布。

[0915] GPC3AmIgG克隆的抗原决定基结合位点表征

[0916] 进行GPC3抗原决定基分组以确定参考GC33-mIgG1及抗hGPC3单特异性mIgG1克隆GPC3A-37mIgG及GPC3A-55mIgG是否识别不同抗原决定基。使第一对mIgG蛋白质与GPC3发生反应以便第一mIgG占据其在GPC3上的结合抗原决定基,随后添加第二种不同mIgG以便确定两种mIgG蛋白质是否结合到不同抗原决定基。简单来说,测定结合亲和力且使用1:1结合位点、部分拟合模型计算结合参数。mIgG蛋白质与GPC3首次配对之后(其中所述对中的一个实体固着到抗生蛋白链菌素生物传感器上),生物传感器所检测到的信号尖峰反映了第一mIgG与GPC3之间的结合,且在洗涤之后,第一对mIgG/GPC3仍结合到抗生蛋白链菌素涂布板。随后,将第二mIgG添加到所固着的GPC3/第一mIgG对之后,另一个信号尖峰反映了第二mIgG与所固着的GPC3之间的结合,表明在与第一mIgG反应之后,第二mIgG与GPC3上暴露的未结合抗原决定基发生反应。因此,添加第二mIgG后的信号尖峰证明第一与第二mIgG结合到不同抗原决定基。相反,添加第二mIgG后的信号尖峰缺乏可以证明第一与第二mIgG结合到相同的抗原决定基。

[0917] 在GPC3抗原决定基分组的线性形式中,将5 μ g/mL经生物素标记的GPC3装载到抗生蛋白链菌素生物传感器上。洗掉过量抗原之后,依序添加mIgG蛋白,其中添加50 μ g/mL第一mIgG,随后添加100 μ g/mL第二mIgG。具体来说,首先添加50 μ g/mL GC33-mIgG1,触发信号尖峰,借此表明GC33-mIgG1特异性结合到GPC3抗原决定基(图13)。随后,添加100 μ g/mL GPC3A-37mIgG或GPC3A-55mIgG。在两种情况下,在添加GPC3A-37mIgG或A-55mIgG后记录到第二尖峰(图13),表明GPC3A-37mIgG与GC33-mIgG1结合到不同抗原决定基,且GPC3A-55mIgG与GC33-mIgG1也结合到不同抗原决定基。

[0918] 在另一实验中,首先添加50 μ g/mL GPC3A-37mIgG,其触发信号尖峰,借此表明GPC3A-37mIgG特异性结合到GPC3抗原决定基。随后,添加100 μ g/mL GPC3A-55mIgG,其触发第二尖峰,表明GPC3A-37mIgG与GPC3A-55mIgG结合到不同抗原决定基(图13)。将上述结果组合,GC33-mIgG1、GPC3A-37mIgG及GPC3A-55mIgG各自结合到GPC3上的不同抗原决定基。

[0919] 在GPC3抗原决定基分组的夹心形式中,mIgG蛋白质经生物素标记且以5 μ g/mL固着于抗生蛋白链菌素生物传感器上。洗掉过量mIgG之后,将GPC3以10 μ g/mL添加到所固着的抗体中且保持结合到所固着的mIgG。洗涤之后,接着以10 μ g/mL添加第二mIgG且监测结合。

[0920] 具体来说,GC33-mIgG、GPC3A-37mIgG及GPC3A-55mIgG蛋白质中的每一者(作为第一mIgG1)经生物素标记且以5 μ g/mL分别固着于抗生蛋白链菌素生物传感器上。洗掉过量mIgG之后,将10 μ g/mL GPC3添加到所固着的抗体中,触发三种经测试的mIgG中的每一者出现尖峰,借此表明GC33-mIgG、GPC3A-37mIgG及GPC3A-55mIgG中的每一者特异性结合GPC3抗原决定基。洗掉过量GPC3抗原之后,添加10 μ g/mL第二mIgG(不同于第一mIgG)且监测结合。类似于抗原决定基分组的线性形式,随后添加第二种不同mIgG触发另一个信号尖峰(图14),因这表明GC33-mIgG1、GPC3A-37mIgG及GPC3A-55mIgG各自结合到GPC3上的不同抗原决定基。

[0921] GPC3-L2K结合到重组人类可溶性GPC3蛋白

[0922] 通过表面等离子体共振技术、使用BIAcore™ X100仪器 (GE Healthcare) 及生物素捕捉试剂盒 (GE Healthcare, 目录号28-9202-33)、以单循环动力学模式、根据制造商说明书测量抗hGPC3抗hGPC3 L2K双特异性抗体 (GPC3A L2K来源于克隆GPC3A-34、GPC3A-37、GPC3A-45、GPC3A-46、GPC3A-55、GPC3A-58) 对经生物素标记的重组GPC3₍₅₆₀₎ (bt-GPC3₍₅₆₀₎) 的结合特性。分析中所用的全部蛋白质在使用之前均在HBS-E缓冲液中稀释。简单来说,使5-10 μ g/mL bt-GPC3₍₅₆₀₎固着于经捕捉试剂预功能化的感测芯片上且注射到流动池上。如下测量L2K双特异性抗体对所固着的抗原的亲和力:以30 μ l/分钟的流速注射0.3-5mg/ml的各种双特异性抗体,90秒结合期后为90秒解离期。每次操作结束时,使用生物素捕捉试剂盒所提供的试剂使感测芯片表面再生。使用1:1结合模型 (BIAcore™ X-100评估软件,图15A及15B),通过非线性回归分析来确定结合常量。接着计算各种L2K克隆的结合速率- $k_{\text{结}}$ 、亲和力常量- k_a 、解离常量- k_d 及平衡解离常量- K_d (表14)。

[0923] 表14

	GPC3 $\times$ CD3 双特异性抗体克隆	k_a (1/Ms)	k_d (1/s)	K_d (nM)
[0924]	GPC3A-34 L2K	4.00E+05	0.001398	3.5
	GPC3A-37 L2K	5.67E+05	0.002886	5.1
	GPC3A-45 L2K	1.28E+05	0.000455	3.5
	GPC3A-46 L2K	3.99E+05	0.001289	3.2
[0925]	GPC3A-55 L2K	7.05E+05	0.001606	2.3
	GPC3A-58 L2K	3.68E+05	0.00188	5.1

[0926] 对HepG2 (GPC3阳性) 细胞的结合

[0927] 测试HepG2细胞相对于抗hGPC3 mIgG1或BsAb的剂量依赖性结合。简单来说,将HepG2细胞与10、3.3、1.1、0.37、0.12、0.041、0.014或0 μ g/mL的抗hGPC3 mIgG1或BsAb一起在冰上培育1小时。用PBS缓冲液进行一轮短暂洗涤之后,用经二级抗体APC标记的抗His标签抗体检测到BsAb。用经PE标记的抗小鼠二级抗体检测到mIgG1抗体。根据剂量依赖性曲线 (MFI相对于BsAb浓度) 的EC₅₀评估抗GPC3 mIgG1或BsAb对HepG2细胞的亲和力。另外,基于EC₅₀值来确定表观 K_d 。计算本发明的mIgG1克隆针对克隆GC33 mIgG1的EC₅₀或表观 K_d 比率。还计算本发明的BsAb克隆针对克隆GC33 BsAb的EC₅₀或表观 K_d 比率。

[0928] 实例6. 抗GPC3嵌合抗原受体的构建及表征

[0929] 使用慢病毒CAR表达载体构建抗GPC3 CAR。将来源于抗GPC3克隆 (GPC3A-34、GPC3A-37、GPC3A-45、GPC3A-46、GPC3A-55、GPC3A-58及GPC3B-87;本文中称为“GPC3A-CAR”或“GPC3B-CAR”) 的scFv中的每一者移植到CAR表达载体上。还使用来源于GC33的scFv构建GC33 CAR。各种CAR构筑体包括CD28的胞内信号传导域及CD3 ζ 的胞内信号传导域。来源于GPC3A-34、GPC3A-37、GPC3A-45、GPC3A-46、GPC3A-55及GPC3A-58抗体克隆的示范性CAR分别包括氨基酸序列SEQ ID NO:491及516-521。

[0930] 人类初始T细胞通过存在白介素-7及白介素-15存在下用CD3/CD28珠粒 (DYNABEADS®, Invitrogen) 刺激一天而活化。以6的MOI将浓缩的慢病毒施加到经重组人纤维连接蛋白 (Retronectin) (Takara) 涂布的6孔板中的T细胞中维持72小时。转导效率展示于表15中。

[0931] 表15

	T 细胞	转导效率 (CAR 阳性%)
[0932]	GC33-CAR	95.9
	GPC3A-CAR-34	66.8
	GPC3A-CAR-37	85.9
	GPC3A-CAR-45	80.7
	GPC3A-CAR-46	91.9
	GPC3A-CAR-55	76.7
	GPC3A-CAR-58	95.5
	GPC3A-CAR-87	94.1
[0933]	模拟物	0.67

[0934] 使用LDH细胞毒性分析对经转导的CAR T细胞(GPC3A、GPC3B或GC33 CAR-T细胞)进行功能评估。CAR-T细胞与靶细胞(HepG2、HepG2-GPC3-KO、SK-Hep1,或SK-Hep1-GPC3)以2:1的效应子与靶标比率混合,其中每个测试孔接种100,000个靶细胞且用200,000个CAR-T细胞处理(经感染的CAR T细胞经标准化为67% CAR阳性)。培育隔夜之后,进行LDH细胞毒性分析。

[0935] 将一组七种GPC3A或GPC3B CAR以及GC33 CAR转导到T细胞中且针对靶细胞系HepG2、HepG2-GPC3-KO、SK-Hep1及SK-Hep1-GPC3加以测试。经CAR构筑体(GPC3A-CAR-37、GPC3A-CAR-45、GPC3A-CAR-46、GPC3A-CAR-55、GPC3A-CAR-58、GPC3B-CAR-87)转导的T细胞特异性杀死GPC3阳性细胞系,例如HepG2及SK-Hep1-GPC3(图16)。然而,相同CAR T细胞不能充分地识别GPC3阴性细胞,例如野生型SK-Hep1或HepG2-GPC3-KO。在这些LDH细胞毒性实验中,包括GPC3A-CAR-37、GPC3A-CAR-55及GPC3A-CAR-58CAR的CAR-T在杀死GPC3阳性靶细胞方面显示高效率,但在非特异性杀死GPC3阴性细胞方面则较低(图16)。

[0936] 在第二批LDH细胞毒性分析中,将CAR-T细胞与靶细胞(HepG2、HepG2-GPC3-KO、SK-Hep1、SK-Hep1-GPC3、JHH-5、A498或PANC-1)以2:1效应子与靶标比率混合,其中每个测试孔接种100,000个细胞且用200,000个抗GPC3 CAR阳性T细胞处理(经感染的CAR T细胞经标准化为37.1% CAR阳性)。CAR-T细胞的转导效率展示于表16中。培育隔夜之后,进行LDH分析。

[0937] 表16

	T 细胞	转导效率 (CAR 阳性%)
[0938]	GC33-CAR	74.4
	GPC3A-CAR-34	51.2
	GPC3A-CAR-37	69.2
	GPC3A-CAR-45	58.8
	GPC3A-CAR-46	60.3
	GPC3A-CAR-55	37.1
	GPC3A-CAR-58	78
	GPC3A-CAR-87	74.8
	模拟物	0.67

[0939] 如图17A及17B中所示,经CAR构筑体GPC3A-CAR-37、GPC3A-CAR-45、GPC3A-CAR-46、

GPC3A-CAR-55及GPC3B-CAR-87转导的T细胞特异性杀死GPC3阳性细胞系HepG2、SK-Hep1-GPC3及JHH-5。然而,相同CAR-T细胞不能充分地识别GPC3阴性靶细胞,例如A-498、PANC-1、野生型SK-Hep1细胞及HepG2-GPC3-K0(图17A及17B)。这些实验证明使用抗GPC3 GPC3A或GPC3B CAR-T在特异性靶向表达GPC3的肿瘤细胞方面而对GPC3阴性细胞无显著影响的治疗益处。

[0940] 实例7.经抗AFP caTCR-1及抗CD3/抗GPC3双特异性抗体转导的T细胞的构建及表征

[0941] 初始T细胞用编码抗AFP caTCR(SEQ ID NO:522及523)或抗AFP caTCR+抗GPC3/抗CD3 BsAb(SEQ ID NO:511)的慢病毒转导。确定caTCR阳性细胞百分比测量结果以评估转导效率。抗AFP caTCR处于EF1- α 启动子(SEQ ID NO:527)的控制下且抗GPC3/抗CD3 BsAb处于源自NFAT的启动子(SEQ ID NO:526)的控制下,所述源自NFAT的启动子包括6个NFAT反应元件(SEQ ID NO:524)及最小TA启动子(SEQ ID NO:525)。T细胞通过与模拟T细胞混合而以指定的受体阳性百分比匹配。以2.5:1的效应子与靶标比率使用两种细胞系:HEPG2 (AFP+/GPC3+)及HepG2-GPC3-K0 (AFP+/GPC3-)。培育16小时后,使用Cyttox 96非放射性细胞毒性分析(Promega)测量特异性T细胞溶解。

[0942] 体外杀死数据表明,在T细胞剂量的整个范围内,抗GPC3/抗CD3 BsAb在经抗AFP caTCR+抗GPC3/抗CD3 BsAb转导的T细胞中的表达以GPC3依赖性方式使经转导的T细胞的性能相较于经单独抗AFP caTCR转导的T细胞增强(图18)。展现细胞毒性性能增强的反应还展示细胞因子(IFN γ 、TNF α 及IL-2)的释放量增加(图19)。因此,经诱导的抗GPC3/抗CD3 BsAb表达使T细胞的性能及细胞因子产生增强。

[0943] 除抗AFP caTCR T细胞毒性之外,为了直接测量抗原所诱导的抗GPC3/抗CD3 BsAb的细胞毒性,使用具有BsAb渗透膜的跨孔。将 2.5×10^5 个SK-HEP1-GPC3 (GPC3⁺)或SK-HEP1 (GPC3⁻)肿瘤细胞及 4×10^6 个受体阴性“模拟”T细胞一起接种于下部腔室中。将 2.5×10^5 个经抗AFP caTCR转染的T细胞随 2.5×10^5 个相应靶细胞SK-HEP1-MG (AFP⁺)或SK-HEP1 (AFP⁻)一起接种于上部腔室中。当抗AFP caTCR+抗GPC3/抗CD3 BsAb T细胞用AFP阳性(SK-Hep1-MG)肿瘤细胞刺激时,所分泌的抗GPC3/抗CD3 BsAb通过跨孔膜且能够刺激GPC3阳性SK-Hep1-GPC3肿瘤细胞溶解(图20)。这些结果证明抗AFP caTCR+抗GPC3/抗CD3 BsAb T细胞能够响应于caTCR受体接合而分泌完全功能的特异性抗GPC3/抗CD3BsAb,且这类BsAbs的治疗作用可以与caTCR疗法以相加方式使用。

[0944] 实例8.经抗AFP caTCR-1及抗GPC3嵌合刺激受体转导的T细胞的构建及表征

[0945] 使用编码抗AFP结合部分(SEQ ID NO:528及529)的核酸片段产生caTCR-1构筑体(caTCR-1-0或caTCR-1-TM5)。使用编码抗GPC3结合部分(SEQ ID NO:309及360)的核酸片段产生包括CD28跨膜及胞内信号传导序列(SEQ ID NO:530)的CSR(即CSR1)。

[0946] 体外杀死

[0947] 以2.5:1的效应子与靶标比率使用HEPG2细胞(表达AFP及GPC3的人类肝癌细胞)及HEPG2-GPC3-K0细胞作为靶细胞用于T细胞刺激。培育16小时之后,使用Cyttox96非放射性细胞毒性分析(Promega)测量特异性T细胞溶解。

[0948] 抗GPC3-CSR(SEQ ID NO:531)与抗AFP-caTCR-1-0(SEQ ID NO:532、533)或抗AFP-caTCR-1-TM5(SEQ ID NO:534、535)一起表达使得完全功能的细胞毒性T细胞能够在体外溶

解HEPG2细胞(图21)。仅表达caTCR-1-0的T细胞的特异性杀死(约15%)比表达caTCR-1(caTCR-1-0或caTCR-1-TM5)与CSR的T细胞(约55%到约65%之间)少得多。相比之下,当使用HEPG2-GPC3-K0靶细胞时(图21),对于表达caTCR与CSR的T细胞而言,特异性杀死减小到约10%,表明CSR与其靶标配体的接合引起细胞毒性增强。

[0949] 细胞因子分泌

[0950] 体外杀死实验的上清液中所释放的细胞因子浓度通过Bioplex200 (Luminex)、使用Bio-plex Pro人类细胞因子8-plex试剂盒(BioRad)测量。对于表达caTCR靶抗原与CSR靶标配体的HEPG2靶细胞而言,CSR阳性及caTCR阳性T细胞释放的细胞毒性细胞因子多于仅表达ca-TCR-1-0的T细胞(图22)。相比之下,对于缺乏CSR靶标配体的HEPG2-GPC3-K0靶细胞而言,仅表达ca-TCR-1-0的T细胞或表达caTCR与CSR的T细胞之间的差异很小或无差异(图22)。

[0951] 胞内细胞因子表达

[0952] 在分泌抑制剂布雷菲尔德菌素A(brefeldin A,BFA)存在下,以1:2的E:T比率用靶细胞(HEPG2)刺激T细胞4小时。T细胞被渗透且使用细胞因子特异性抗体检测响应于肿瘤刺激而表达的细胞因子。使用流式细胞术测定细胞因子阳性细胞百分比。CSR阳性及caTCR阳性T细胞表达的胞内细胞因子比仅表达ca-TCR-1-0的T细胞多(表17)。

[0953] 表17

CD8+ T 细胞中的胞内 TNF α 表达		
阳性%	HEPG2	单独的 T 细胞
CSR	0.3	0.2
caTCR-1-0	14.7	0.1
caTCR-1-0+CSR	17.0	0.1
caTCR-1-TM5+CSR	15.7	0.1

[0954]

CD4+ T 细胞中的胞内 IL-2 表达		
阳性%	HEPG2	单独的 T 细胞
CSR	0.1	0.04
caTCR-1-0	8.2	0.11
caTCR-1-0+CSR	9.8	0.05
caTCR-1-TM5+CSR	11.2	0.03

[0955]

CD8+T 细胞中的胞内 IFN γ 表达		
阳性%	HEPG2	单独的 T 细胞
CSR	0.2	0.08
caTCR-1-0	3.1	0.2
caTCR-1-0+CSR	4.5	0.1
caTCR-1-TM5+CSR	5.1	0.06

[0956] 综合而言,结果表明CSR的添加增强了具有不同caTCR靶抗原及CSR靶标配体的caTCR加CSR T细胞的敏感性及反应。这些CSR-caTCR双重阳性T细胞中所表达及所释放的细胞因子的量增加进一步证明caTCR-1与CSR的协同刺激提高了T细胞的细胞毒性潜力。

[0957] 脱粒

[0958] 将T细胞与荧光结合的抗CD107a混合且在内吞抑制剂莫能菌素(monensin)存在下以1:2的E:T比率用HEPG2靶细胞刺激4小时。caTCR T细胞上的CSR接合增强了T细胞脱粒,进一步证明CSR使治疗T细胞具有更多的针对预定肿瘤细胞的反应性(图23)。

[0959] 增殖

[0960] T细胞用胞内染料CFSE标记,且测量在指定的某天剩余的CFSE阳性细胞的染料稀释度及数目。

[0961] 使相应的T细胞在血清中饥饿隔夜且使用CellTrace CFSE(Thermo Fisher C34554)经CFSE标记。100,000个T细胞以2:1的E:T比率培育且当T细胞在指定的某天分裂时,使用流式细胞术观测CFSE染料的连续稀释度。通过FAC对T细胞总数目计数。

[0962] CFSE稀释度在CSR刺激下增大,表明这些T细胞具有较高的增殖潜力(图24)。重要的是,细胞数目也增加,这意味着所述细胞不仅增殖优选,而且其存留也得以维持(表18)。

[0963] 表18

与 HEPG2 接合之后存留的 T 细胞数目			
	第 3 天	第 5 天	第 7 天
[0964] CSR	7,147	4,519	3,055
caTCR1-0	5,674	4,362	3,372
caTCR1-0 +CSR	31,422	18,689	8,833
caTCR-1-TM5 +CSR	28,874	21,978	9,471

[0965] 结果表明我们能够以配体阳性肿瘤细胞同时刺激CSR与caTCR,且CSR与caTCR的协同刺激增强caTCR T细胞的细胞毒性、增殖潜力及存留。这些为利用过继转移来增强基于caTCR的疗法的治疗潜力的所有特征。

[0966] 实例9:经抗AFP caTCR-1及抗GPC3 CSR转导的T细胞的体内功效研究

[0967] 测试表达抗AFP caTCR-1与抗GPC3 CSR-1的T细胞在所建立的人类AFP⁺/HLA-A2⁺Hep G2肝癌异种移植模型中的体内抗肿瘤活性(构筑体信息参见实例8)。将Hep G2细胞皮下植入(s.c.)SCID-Beige小鼠的右侧腹中。肿瘤达到约100mm³时,向小鼠瘤内(i.t.)注射(1)5×10⁶个未转导的供体匹配(模拟)T细胞;(2)2×10⁶个表达抗AFPCAR的T细胞,所述抗AFPCAR包括相同的抗AFP结合部分(SEQ ID NO:528及529);或(3)2×10⁶个表达抗AFP caTCR-1与抗GPC3 CSR-1的T细胞(n=6个小鼠/组)。T细胞输注对小鼠造成的健康影响通过监测其全身外观、体重及不良反应的其它临床征象(包含体温降低、呼吸困难及后肢麻痹/虚弱)来评估。

[0968] 如图25中所示,抗AFPCAR T细胞疗法与抗AFP caTCR-1/抗GPC3 CSR-1T细胞疗法均引起深刻且显著(****P<0.0001;邓尼特氏多重比较检验(Dunnett's multiple comparison test))的肿瘤生长抑制。所有抗AFPCAR-T治疗的小鼠及抗AFP caTCR-1/抗GPC3 CSR-1T细胞治疗的小鼠在研究持续时间期间均展现正常的步态、姿势及活动/反应。

另外,抗AFPCAR-T治疗的小鼠及抗AFP caTCR-1/抗GPC3 CSR-1T细胞治疗的小鼠的体重在研究期间无损失。总体而言,所治疗小鼠缺乏可观测到的异常参数证明抗AFP caTCR-1/抗GPC3 CSR-1T细胞疗法安全。

- [0001] 序列表
- [0002] <110> 优瑞科生物技术公司 (Eureka Therapeutics, Inc.)
- [0003] 张鹏博 (Zhang, Pengbo)
- [0004] 许亦阳 (Xu, Yiyang)
- [0005] J·莫拉莱斯 (Morales, Javier)
- [0006] 中野阳子 (Nakano, Yoko)
- [0007] 刘宏 (Liu, Hong)
- [0008] 向京宜 (Xiang, Jingyi)
- [0009] T·阿克 (Acker, Timothy)
- [0010] <120> 特异性识别磷脂酰醇蛋白聚糖3的构筑体及其用途
- [0011] <130> 75004-20012.40
- [0012] <140> 尚未指配
- [0013] <141> 与此同时
- [0014] <150> US 62/490,586
- [0015] <151> 2017-04-26
- [0016] <160> 536
- [0017] <170> 用于Windows 4.0版的FastSEQ
- [0018] <210> 1
- [0019] <211> 8
- [0020] <212> PRT
- [0021] <213> 人工序列
- [0022] <220>
- [0023] <223> GPC3A-034 HCDR1
- [0024] <400> 1
- [0025] Gly Gly Ser Phe Ser Gly Tyr Tyr
- [0026] 1 5
- [0027] <210> 2
- [0028] <211> 8
- [0029] <212> PRT
- [0030] <213> 人工序列
- [0031] <220>
- [0032] <223> GPC3A-035 HCDR1
- [0033] <400> 2
- [0034] Gly Tyr Thr Phe Thr Gly Tyr Tyr
- [0035] 1 5
- [0036] <210> 3
- [0037] <211> 8
- [0038] <212> PRT

[0039] <213> 人工序列
[0040] <220>
[0041] <223> GPC3A-037 HCDR1
[0042] <400> 3
[0043] Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Ala
[0044] 1 5
[0045] <210> 4
[0046] <211> 8
[0047] <212> PRT
[0048] <213> 人工序列
[0049] <220>
[0050] <223> GPC3A-038 HCDR1
[0051] <400> 4
[0052] Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr Tyr
[0053] 1 5
[0054] <210> 5
[0055] <211> 8
[0056] <212> PRT
[0057] <213> 人工序列
[0058] <220>
[0059] <223> GPC3A-039 HCDR1
[0060] <400> 5
[0061] Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Ala
[0062] 1 5
[0063] <210> 6
[0064] <211> 8
[0065] <212> PRT
[0066] <213> 人工序列
[0067] <220>
[0068] <223> GPC3A-040 HCDR1
[0069] <400> 6
[0070] Gly Tyr Thr Phe Thr Gly Tyr Tyr
[0071] 1 5
[0072] <210> 7
[0073] <211> 8
[0074] <212> PRT
[0075] <213> 人工序列
[0076] <220>
[0077] <223> GPC3A-041 HCDR1

[0078]	<400> 7
[0079]	Gly Tyr Thr Phe Thr Gly Tyr Tyr
[0080]	1 5
[0081]	<210> 8
[0082]	<211> 8
[0083]	<212> PRT
[0084]	<213> 人工序列
[0085]	<220>
[0086]	<223> GPC3A-042 HCDR1
[0087]	<400> 8
[0088]	Gly Tyr Ser Phe Thr Gly Tyr Tyr
[0089]	1 5
[0090]	<210> 9
[0091]	<211> 8
[0092]	<212> PRT
[0093]	<213> 人工序列
[0094]	<220>
[0095]	<223> GPC3A-043 HCDR1
[0096]	<400> 9
[0097]	Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr Tyr
[0098]	1 5
[0099]	<210> 10
[0100]	<211> 8
[0101]	<212> PRT
[0102]	<213> 人工序列
[0103]	<220>
[0104]	<223> GPC3A-044 HCDR1
[0105]	<400> 10
[0106]	Gly Gly Ser Phe Ser Gly Tyr Tyr
[0107]	1 5
[0108]	<210> 11
[0109]	<211> 8
[0110]	<212> PRT
[0111]	<213> 人工序列
[0112]	<220>
[0113]	<223> GPC3A-045 HCDR1
[0114]	<400> 11
[0115]	Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr Tyr
[0116]	1 5

[0117]	<210> 12
[0118]	<211> 8
[0119]	<212> PRT
[0120]	<213> 人工序列
[0121]	<220>
[0122]	<223> GPC3A-046 HCDR1
[0123]	<400> 12
[0124]	Gly Tyr Arg Phe Ser Asn Tyr Gly
[0125]	1 5
[0126]	<210> 13
[0127]	<211> 8
[0128]	<212> PRT
[0129]	<213> 人工序列
[0130]	<220>
[0131]	<223> GPC3A-047 HCDR1
[0132]	<400> 13
[0133]	Gly Tyr Thr Phe Thr Gly Tyr Tyr
[0134]	1 5
[0135]	<210> 14
[0136]	<211> 8
[0137]	<212> PRT
[0138]	<213> 人工序列
[0139]	<220>
[0140]	<223> GPC3A-048 HCDR1
[0141]	<400> 14
[0142]	Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Ala
[0143]	1 5
[0144]	<210> 15
[0145]	<211> 8
[0146]	<212> PRT
[0147]	<213> 人工序列
[0148]	<220>
[0149]	<223> GPC3A-049 HCDR1
[0150]	<400> 15
[0151]	Gly Tyr Thr Phe Thr Gly Tyr Tyr
[0152]	1 5
[0153]	<210> 16
[0154]	<211> 8
[0155]	<212> PRT

[0156] <213> 人工序列
[0157] <220>
[0158] <223> GPC3A-050 HCDR1
[0159] <400> 16
[0160] Gly Tyr Ser Phe Thr Gly Tyr Tyr
[0161] 1 5
[0162] <210> 17
[0163] <211> 8
[0164] <212> PRT
[0165] <213> 人工序列
[0166] <220>
[0167] <223> GPC3A-051 HCDR1
[0168] <400> 17
[0169] Gly Gly Ala Phe Ser Ser Tyr Ala
[0170] 1 5
[0171] <210> 18
[0172] <211> 8
[0173] <212> PRT
[0174] <213> 人工序列
[0175] <220>
[0176] <223> GPC3A-052 HCDR1
[0177] <400> 18
[0178] Gly Tyr Thr Phe Thr Gly Tyr Tyr
[0179] 1 5
[0180] <210> 19
[0181] <211> 10
[0182] <212> PRT
[0183] <213> 人工序列
[0184] <220>
[0185] <223> GPC3A-053 HCDR1
[0186] <400> 19
[0187] Gly Gly Ser Ile Ser Ser Ser Ser Tyr Tyr
[0188] 1 5 10
[0189] <210> 20
[0190] <211> 8
[0191] <212> PRT
[0192] <213> 人工序列
[0193] <220>
[0194] <223> GPC3A-054 HCDR1

[0195] <400> 20
[0196] Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr Gly
[0197] 1 5
[0198] <210> 21
[0199] <211> 8
[0200] <212> PRT
[0201] <213> 人工序列
[0202] <220>
[0203] <223> GPC3A-055 HCDR1
[0204] <400> 21
[0205] Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr Tyr
[0206] 1 5
[0207] <210> 22
[0208] <211> 8
[0209] <212> PRT
[0210] <213> 人工序列
[0211] <220>
[0212] <223> GPC3A-056 HCDR1
[0213] <400> 22
[0214] Gly Tyr Ser Phe Asn Asp Tyr Tyr
[0215] 1 5
[0216] <210> 23
[0217] <211> 8
[0218] <212> PRT
[0219] <213> 人工序列
[0220] <220>
[0221] <223> GPC3A-057 HCDR1
[0222] <400> 23
[0223] Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Ala
[0224] 1 5
[0225] <210> 24
[0226] <211> 8
[0227] <212> PRT
[0228] <213> 人工序列
[0229] <220>
[0230] <223> GPC3A-058 HCDR1
[0231] <400> 24
[0232] Gly Tyr Thr Phe Ala Ser His Gly
[0233] 1 5

[0234] <210> 25
[0235] <211> 8
[0236] <212> PRT
[0237] <213> 人工序列
[0238] <220>
[0239] <223> GPC3A-059 HCDR1
[0240] <400> 25
[0241] Gly Tyr Thr Phe Thr Arg Tyr Gly
[0242] 1 5
[0243] <210> 26
[0244] <211> 8
[0245] <212> PRT
[0246] <213> 人工序列
[0247] <220>
[0248] <223> GPC3A-060 HCDR1
[0249] <400> 26
[0250] Gly Tyr Thr Phe Asn Ser Tyr Ala
[0251] 1 5
[0252] <210> 27
[0253] <211> 8
[0254] <212> PRT
[0255] <213> 人工序列
[0256] <220>
[0257] <223> GPC3A-061 HCDR1
[0258] <400> 27
[0259] Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr Gly
[0260] 1 5
[0261] <210> 28
[0262] <211> 8
[0263] <212> PRT
[0264] <213> 人工序列
[0265] <220>
[0266] <223> GPC3A-062 HCDR1
[0267] <400> 28
[0268] Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr Ala
[0269] 1 5
[0270] <210> 29
[0271] <211> 8
[0272] <212> PRT

[0273] <213> 人工序列
[0274] <220>
[0275] <223> GPC3A-063 HCDR1
[0276] <400> 29
[0277] Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr Tyr
[0278] 1 5
[0279] <210> 30
[0280] <211> 8
[0281] <212> PRT
[0282] <213> 人工序列
[0283] <220>
[0284] <223> GPC3A-064 HCDR1
[0285] <400> 30
[0286] Gly Tyr Thr Phe Thr Ile Tyr Gly
[0287] 1 5
[0288] <210> 31
[0289] <211> 8
[0290] <212> PRT
[0291] <213> 人工序列
[0292] <220>
[0293] <223> GPC3A-067 HCDR1
[0294] <400> 31
[0295] Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr Ala
[0296] 1 5
[0297] <210> 32
[0298] <211> 8
[0299] <212> PRT
[0300] <213> 人工序列
[0301] <220>
[0302] <223> GPC3B-54 HCDR1
[0303] <400> 32
[0304] Gly Tyr Thr Phe Ile Asp Tyr Tyr
[0305] 1 5
[0306] <210> 33
[0307] <211> 8
[0308] <212> PRT
[0309] <213> 人工序列
[0310] <220>
[0311] <223> GPC3B-60 HCDR1

[0312] <400> 33
[0313] Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr Tyr
[0314] 1 5
[0315] <210> 34
[0316] <211> 8
[0317] <212> PRT
[0318] <213> 人工序列
[0319] <220>
[0320] <223> GPC3B-63 HCDR1
[0321] <400> 34
[0322] Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr Tyr
[0323] 1 5
[0324] <210> 35
[0325] <211> 8
[0326] <212> PRT
[0327] <213> 人工序列
[0328] <220>
[0329] <223> GPC3B-66 HCDR1
[0330] <400> 35
[0331] Gly Tyr Thr Phe Ile Gly Gln Tyr
[0332] 1 5
[0333] <210> 36
[0334] <211> 8
[0335] <212> PRT
[0336] <213> 人工序列
[0337] <220>
[0338] <223> GPC3B-68 HCDR1
[0339] <400> 36
[0340] Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr Ala
[0341] 1 5
[0342] <210> 37
[0343] <211> 8
[0344] <212> PRT
[0345] <213> 人工序列
[0346] <220>
[0347] <223> GPC3B-71 HCDR1
[0348] <400> 37
[0349] Gly Phe Thr Phe Ser Arg Tyr Thr
[0350] 1 5

[0351] <210> 38
[0352] <211> 8
[0353] <212> PRT
[0354] <213> 人工序列
[0355] <220>
[0356] <223> GPC3B-76 HCDR1
[0357] <400> 38
[0358] Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr Tyr
[0359] 1 5
[0360] <210> 39
[0361] <211> 8
[0362] <212> PRT
[0363] <213> 人工序列
[0364] <220>
[0365] <223> GPC3B-78 HCDR1
[0366] <400> 39
[0367] Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr Tyr
[0368] 1 5
[0369] <210> 40
[0370] <211> 8
[0371] <212> PRT
[0372] <213> 人工序列
[0373] <220>
[0374] <223> GPC3B-80 HCDR1
[0375] <400> 40
[0376] Gly Gly Thr Leu Ser Arg Phe Ala
[0377] 1 5
[0378] <210> 41
[0379] <211> 8
[0380] <212> PRT
[0381] <213> 人工序列
[0382] <220>
[0383] <223> GPC3B-81 HCDR1
[0384] <400> 41
[0385] Gly Tyr Thr Phe Thr Gly Tyr Tyr
[0386] 1 5
[0387] <210> 42
[0388] <211> 8
[0389] <212> PRT

[0390] <213> 人工序列
[0391] <220>
[0392] <223> GPC3B-82 HCDR1
[0393] <400> 42
[0394] Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Tyr Tyr
[0395] 1 5
[0396] <210> 43
[0397] <211> 8
[0398] <212> PRT
[0399] <213> 人工序列
[0400] <220>
[0401] <223> GPC3B-85 HCDR1
[0402] <400> 43
[0403] Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr Ala
[0404] 1 5
[0405] <210> 44
[0406] <211> 8
[0407] <212> PRT
[0408] <213> 人工序列
[0409] <220>
[0410] <223> GPC3B-87 HCDR1
[0411] <400> 44
[0412] Gly Gly Thr Phe Gly Ser Tyr Ala
[0413] 1 5
[0414] <210> 45
[0415] <211> 8
[0416] <212> PRT
[0417] <213> 人工序列
[0418] <220>
[0419] <223> GPC3B-92 HCDR1
[0420] <400> 45
[0421] Gly Tyr Thr Phe Ser Asn Tyr Tyr
[0422] 1 5
[0423] <210> 46
[0424] <211> 8
[0425] <212> PRT
[0426] <213> 人工序列
[0427] <220>
[0428] <223> GPC3B-93 HCDR1

[0429] <400> 46
[0430] Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr Tyr
[0431] 1 5
[0432] <210> 47
[0433] <211> 8
[0434] <212> PRT
[0435] <213> 人工序列
[0436] <220>
[0437] <223> GPC3B-110 HCDR1
[0438] <400> 47
[0439] Gly Gly Thr Phe Thr Thr Tyr Ser
[0440] 1 5
[0441] <210> 48
[0442] <211> 8
[0443] <212> PRT
[0444] <213> 人工序列
[0445] <220>
[0446] <223> GPC3B-113 HCDR1
[0447] <400> 48
[0448] Gly Tyr Thr Leu Thr Glu Leu Ser
[0449] 1 5
[0450] <210> 49
[0451] <211> 8
[0452] <212> PRT
[0453] <213> 人工序列
[0454] <220>
[0455] <223> GPC3B-115 HCDR1
[0456] <400> 49
[0457] Gly Tyr Thr Phe Thr Ala Tyr Tyr
[0458] 1 5
[0459] <210> 50
[0460] <211> 8
[0461] <212> PRT
[0462] <213> 人工序列
[0463] <220>
[0464] <223> GPC3B-119 HCDR1
[0465] <400> 50
[0466] Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr Ala
[0467] 1 5

[0468] <210> 51
[0469] <211> 8
[0470] <212> PRT
[0471] <213> 人工序列
[0472] <220>
[0473] <223> GPC3B-125 HCDR1
[0474] <400> 51
[0475] Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr Ala
[0476] 1 5
[0477] <210> 52
[0478] <211> 7
[0479] <212> PRT
[0480] <213> 人工序列
[0481] <220>
[0482] <223> GPC3A-034 HCDR2
[0483] <400> 52
[0484] Ile Asn His Ser Gly Ser Thr
[0485] 1 5
[0486] <210> 53
[0487] <211> 8
[0488] <212> PRT
[0489] <213> 人工序列
[0490] <220>
[0491] <223> GPC3A-035 HCDR2
[0492] <400> 53
[0493] Ile Asn Pro Asn Ser Gly Gly Thr
[0494] 1 5
[0495] <210> 54
[0496] <211> 8
[0497] <212> PRT
[0498] <213> 人工序列
[0499] <220>
[0500] <223> GPC3A-037 HCDR2
[0501] <400> 54
[0502] Ile Tyr Ser Gly Gly Ser Ser Thr
[0503] 1 5
[0504] <210> 55
[0505] <211> 8
[0506] <212> PRT

[0507] <213> 人工序列
[0508] <220>
[0509] <223> GPC3A-038 HCDR2
[0510] <400> 55
[0511] Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr
[0512] 1 5
[0513] <210> 56
[0514] <211> 7
[0515] <212> PRT
[0516] <213> 人工序列
[0517] <220>
[0518] <223> GPC3A-039 HCDR2
[0519] <400> 56
[0520] Ile Gly Thr Gly Gly Gly Thr
[0521] 1 5
[0522] <210> 57
[0523] <211> 8
[0524] <212> PRT
[0525] <213> 人工序列
[0526] <220>
[0527] <223> GPC3A-040 HCDR2
[0528] <400> 57
[0529] Ile Asn Pro Asn Ser Gly Gly Thr
[0530] 1 5
[0531] <210> 58
[0532] <211> 8
[0533] <212> PRT
[0534] <213> 人工序列
[0535] <220>
[0536] <223> GPC3A-041 HCDR2
[0537] <400> 58
[0538] Ile Asn Pro Asn Ser Gly Gly Thr
[0539] 1 5
[0540] <210> 59
[0541] <211> 8
[0542] <212> PRT
[0543] <213> 人工序列
[0544] <220>
[0545] <223> GPC3A-042 HCDR2

[0546] <400> 59
[0547] Met Asn Pro Arg Ser Gly Gly Thr
[0548] 1 5
[0549] <210> 60
[0550] <211> 8
[0551] <212> PRT
[0552] <213> 人工序列
[0553] <220>
[0554] <223> GPC3A-043 HCDR2
[0555] <400> 60
[0556] Val Asp Pro Glu Asp Gly Glu Thr
[0557] 1 5
[0558] <210> 61
[0559] <211> 7
[0560] <212> PRT
[0561] <213> 人工序列
[0562] <220>
[0563] <223> GPC3A-044 HCDR2
[0564] <400> 61
[0565] Ile Asn His Ser Gly Ser Thr
[0566] 1 5
[0567] <210> 62
[0568] <211> 8
[0569] <212> PRT
[0570] <213> 人工序列
[0571] <220>
[0572] <223> GPC3A-045 HCDR2
[0573] <400> 62
[0574] Ile Ser Ser Ser Gly Ser Thr Ile
[0575] 1 5
[0576] <210> 63
[0577] <211> 8
[0578] <212> PRT
[0579] <213> 人工序列
[0580] <220>
[0581] <223> GPC3A-046 HCDR2
[0582] <400> 63
[0583] Ile Ser Gly Ser Asn Gly Asn Thr
[0584] 1 5

[0585] <210> 64
[0586] <211> 8
[0587] <212> PRT
[0588] <213> 人工序列
[0589] <220>
[0590] <223> GPC3A-047 HCDR2
[0591] <400> 64
[0592] Ile Asn Pro Asn Ser Gly Gly Thr
[0593] 1 5
[0594] <210> 65
[0595] <211> 8
[0596] <212> PRT
[0597] <213> 人工序列
[0598] <220>
[0599] <223> GPC3A-048 HCDR2
[0600] <400> 65
[0601] Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys
[0602] 1 5
[0603] <210> 66
[0604] <211> 8
[0605] <212> PRT
[0606] <213> 人工序列
[0607] <220>
[0608] <223> GPC3A-049 HCDR2
[0609] <400> 66
[0610] Ile Asn Pro Asn Ser Gly Gly Thr
[0611] 1 5
[0612] <210> 67
[0613] <211> 8
[0614] <212> PRT
[0615] <213> 人工序列
[0616] <220>
[0617] <223> GPC3A-050 HCDR2
[0618] <400> 67
[0619] Met Asn Pro Arg Ser Gly Gly Thr
[0620] 1 5
[0621] <210> 68
[0622] <211> 8
[0623] <212> PRT

[0624] <213> 人工序列
[0625] <220>
[0626] <223> GPC3A-051 HCDR2
[0627] <400> 68
[0628] Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Ala
[0629] 1 5
[0630] <210> 69
[0631] <211> 8
[0632] <212> PRT
[0633] <213> 人工序列
[0634] <220>
[0635] <223> GPC3A-052 HCDR2
[0636] <400> 69
[0637] Ile Asn Pro Asn Ser Gly Gly Thr
[0638] 1 5
[0639] <210> 70
[0640] <211> 7
[0641] <212> PRT
[0642] <213> 人工序列
[0643] <220>
[0644] <223> GPC3A-053 HCDR2
[0645] <400> 70
[0646] Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr
[0647] 1 5
[0648] <210> 71
[0649] <211> 8
[0650] <212> PRT
[0651] <213> 人工序列
[0652] <220>
[0653] <223> GPC3A-054 HCDR2
[0654] <400> 71
[0655] Ile Ser Ala Tyr Asn Gly Asn Thr
[0656] 1 5
[0657] <210> 72
[0658] <211> 8
[0659] <212> PRT
[0660] <213> 人工序列
[0661] <220>
[0662] <223> GPC3A-055 HCDR2

[0663] <400> 72
[0664] Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr
[0665] 1 5
[0666] <210> 73
[0667] <211> 8
[0668] <212> PRT
[0669] <213> 人工序列
[0670] <220>
[0671] <223> GPC3A-056 HCDR2
[0672] <400> 73
[0673] Ile Asn Pro Asn Asn Gly Asp Thr
[0674] 1 5
[0675] <210> 74
[0676] <211> 8
[0677] <212> PRT
[0678] <213> 人工序列
[0679] <220>
[0680] <223> GPC3A-057 HCDR2
[0681] <400> 74
[0682] Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr
[0683] 1 5
[0684] <210> 75
[0685] <211> 8
[0686] <212> PRT
[0687] <213> 人工序列
[0688] <220>
[0689] <223> GPC3A-058 HCDR2
[0690] <400> 75
[0691] Ile Ser Pro Tyr Thr Gly Asn Thr
[0692] 1 5
[0693] <210> 76
[0694] <211> 8
[0695] <212> PRT
[0696] <213> 人工序列
[0697] <220>
[0698] <223> GPC3A-059 HCDR2
[0699] <400> 76
[0700] Ile Ser Ala Tyr Ser Asp Lys Thr
[0701] 1 5

[0702] <210> 77
[0703] <211> 8
[0704] <212> PRT
[0705] <213> 人工序列
[0706] <220>
[0707] <223> GPC3A-060 HCDR2
[0708] <400> 77
[0709] Ile Ser Ala Tyr Asn Gly Asn Thr
[0710] 1 5
[0711] <210> 78
[0712] <211> 8
[0713] <212> PRT
[0714] <213> 人工序列
[0715] <220>
[0716] <223> GPC3A-061 HCDR2
[0717] <400> 78
[0718] Ile Ser Ala Tyr Asn Gly Asn Thr
[0719] 1 5
[0720] <210> 79
[0721] <211> 8
[0722] <212> PRT
[0723] <213> 人工序列
[0724] <220>
[0725] <223> GPC3A-062 HCDR2
[0726] <400> 79
[0727] Ile Ile Pro Lys Ile Gly Thr Ala
[0728] 1 5
[0729] <210> 80
[0730] <211> 8
[0731] <212> PRT
[0732] <213> 人工序列
[0733] <220>
[0734] <223> GPC3A-063 HCDR2
[0735] <400> 80
[0736] Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Ala
[0737] 1 5
[0738] <210> 81
[0739] <211> 8
[0740] <212> PRT

[0741] <213> 人工序列
[0742] <220>
[0743] <223> GPC3A-064 HCDR2
[0744] <400> 81
[0745] Ile Ser Pro Tyr Asn Asp Asn Thr
[0746] 1 5
[0747] <210> 82
[0748] <211> 8
[0749] <212> PRT
[0750] <213> 人工序列
[0751] <220>
[0752] <223> GPC3A-067 HCDR2
[0753] <400> 82
[0754] Ile Ile Pro Ile Phe Gly Ile Thr
[0755] 1 5
[0756] <210> 83
[0757] <211> 8
[0758] <212> PRT
[0759] <213> 人工序列
[0760] <220>
[0761] <223> GPC3B-54 HCDR2
[0762] <400> 83
[0763] Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Ala
[0764] 1 5
[0765] <210> 84
[0766] <211> 8
[0767] <212> PRT
[0768] <213> 人工序列
[0769] <220>
[0770] <223> GPC3B-60 HCDR2
[0771] <400> 84
[0772] Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr
[0773] 1 5
[0774] <210> 85
[0775] <211> 8
[0776] <212> PRT
[0777] <213> 人工序列
[0778] <220>
[0779] <223> GPC3B-63 HCDR2

[0780] <400> 85
[0781] Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr
[0782] 1 5
[0783] <210> 86
[0784] <211> 8
[0785] <212> PRT
[0786] <213> 人工序列
[0787] <220>
[0788] <223> GPC3B-66 HCDR2
[0789] <400> 86
[0790] Ile Asn Pro Met Thr Gly Val Thr
[0791] 1 5
[0792] <210> 87
[0793] <211> 8
[0794] <212> PRT
[0795] <213> 人工序列
[0796] <220>
[0797] <223> GPC3B-68 HCDR2
[0798] <400> 87
[0799] Ile Ile Pro Ile Leu Gly Ile Ala
[0800] 1 5
[0801] <210> 88
[0802] <211> 8
[0803] <212> PRT
[0804] <213> 人工序列
[0805] <220>
[0806] <223> GPC3B-71 HCDR2
[0807] <400> 88
[0808] Ile Ser Ser Ser Gly Ser Tyr Ile
[0809] 1 5
[0810] <210> 89
[0811] <211> 8
[0812] <212> PRT
[0813] <213> 人工序列
[0814] <220>
[0815] <223> GPC3B-76 HCDR2
[0816] <400> 89
[0817] Ile Asn Pro Asn Ser Gly Gly Thr
[0818] 1 5

[0819] <210> 90
[0820] <211> 8
[0821] <212> PRT
[0822] <213> 人工序列
[0823] <220>
[0824] <223> GPC3B-78 HCDR2
[0825] <400> 90
[0826] Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr
[0827] 1 5
[0828] <210> 91
[0829] <211> 8
[0830] <212> PRT
[0831] <213> 人工序列
[0832] <220>
[0833] <223> GPC3B-80 HCDR2
[0834] <400> 91
[0835] Ile Ile Pro Ile Phe Arg Thr Ala
[0836] 1 5
[0837] <210> 92
[0838] <211> 8
[0839] <212> PRT
[0840] <213> 人工序列
[0841] <220>
[0842] <223> GPC3B-81 HCDR2
[0843] <400> 92
[0844] Ile Asn Pro Asn Ser Gly Gly Thr
[0845] 1 5
[0846] <210> 93
[0847] <211> 8
[0848] <212> PRT
[0849] <213> 人工序列
[0850] <220>
[0851] <223> GPC3B-82 HCDR2
[0852] <400> 93
[0853] Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr
[0854] 1 5
[0855] <210> 94
[0856] <211> 8
[0857] <212> PRT

[0858] <213> 人工序列
[0859] <220>
[0860] <223> GPC3B-85 HCDR2
[0861] <400> 94
[0862] Ile Asn Thr Asn Thr Gly Asn Pro
[0863] 1 5
[0864] <210> 95
[0865] <211> 8
[0866] <212> PRT
[0867] <213> 人工序列
[0868] <220>
[0869] <223> GPC3B-87 HCDR2
[0870] <400> 95
[0871] Ile Ile Pro Val Leu Gly Arg Thr
[0872] 1 5
[0873] <210> 96
[0874] <211> 8
[0875] <212> PRT
[0876] <213> 人工序列
[0877] <220>
[0878] <223> GPC3B-92 HCDR2
[0879] <400> 96
[0880] Ile Asn Pro Ser Gly Gly Thr Thr
[0881] 1 5
[0882] <210> 97
[0883] <211> 8
[0884] <212> PRT
[0885] <213> 人工序列
[0886] <220>
[0887] <223> GPC3B-93 HCDR2
[0888] <400> 97
[0889] Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr
[0890] 1 5
[0891] <210> 98
[0892] <211> 8
[0893] <212> PRT
[0894] <213> 人工序列
[0895] <220>
[0896] <223> GPC3B-110 HCDR2

[0897] <400> 98
[0898] Ile Ile Pro Thr Phe Gly Thr Thr
[0899] 1 5
[0900] <210> 99
[0901] <211> 8
[0902] <212> PRT
[0903] <213> 人工序列
[0904] <220>
[0905] <223> GPC3B-113 HCDR2
[0906] <400> 99
[0907] Phe Asp Pro Glu Asp Gly Glu Thr
[0908] 1 5
[0909] <210> 100
[0910] <211> 8
[0911] <212> PRT
[0912] <213> 人工序列
[0913] <220>
[0914] <223> GPC3B-115 HCDR2
[0915] <400> 100
[0916] Ile Asn Ala Asn Thr Gly Gly Thr
[0917] 1 5
[0918] <210> 101
[0919] <211> 8
[0920] <212> PRT
[0921] <213> 人工序列
[0922] <220>
[0923] <223> GPC3B-119 HCDR2
[0924] <400> 101
[0925] Ile Asn Thr Asn Thr Gly Asn Pro
[0926] 1 5
[0927] <210> 102
[0928] <211> 8
[0929] <212> PRT
[0930] <213> 人工序列
[0931] <220>
[0932] <223> GPC3B-125 HCDR2
[0933] <400> 102
[0934] Ile Asn Thr Asn Thr Gly Asn Pro
[0935] 1 5

[0936] <210> 103
[0937] <211> 10
[0938] <212> PRT
[0939] <213> 人工序列
[0940] <220>
[0941] <223> GPC3A-034 HCDR3
[0942] <400> 103
[0943] Ala Arg Gly Tyr Gly Gly Arg Phe Asp Tyr
[0944] 1 5 10
[0945] <210> 104
[0946] <211> 10
[0947] <212> PRT
[0948] <213> 人工序列
[0949] <220>
[0950] <223> GPC3A-035 HCDR3
[0951] <400> 104
[0952] Ala Arg Ser Trp Thr Ser Gly Phe Asp Tyr
[0953] 1 5 10
[0954] <210> 105
[0955] <211> 11
[0956] <212> PRT
[0957] <213> 人工序列
[0958] <220>
[0959] <223> GPC3A-037 HCDR3
[0960] <400> 105
[0961] Ala Arg Thr Ser Tyr Leu Asn His Gly Asp Tyr
[0962] 1 5 10
[0963] <210> 106
[0964] <211> 9
[0965] <212> PRT
[0966] <213> 人工序列
[0967] <220>
[0968] <223> GPC3A-038 HCDR3
[0969] <400> 106
[0970] Ala Arg Lys Val Thr Gly Tyr Asp Ser
[0971] 1 5
[0972] <210> 107
[0973] <211> 10
[0974] <212> PRT

[0975] <213> 人工序列
[0976] <220>
[0977] <223> GPC3A-039 HCDR3
[0978] <400> 107
[0979] Ala Arg Tyr Gly Arg Lys Ser Ile Asp Ala
[0980] 1 5 10
[0981] <210> 108
[0982] <211> 10
[0983] <212> PRT
[0984] <213> 人工序列
[0985] <220>
[0986] <223> GPC3A-040 HCDR3
[0987] <400> 108
[0988] Ala Arg Arg Gly Tyr Tyr Gly Tyr Asp Ser
[0989] 1 5 10
[0990] <210> 109
[0991] <211> 10
[0992] <212> PRT
[0993] <213> 人工序列
[0994] <220>
[0995] <223> GPC3A-041 HCDR3
[0996] <400> 109
[0997] Ala Arg Ser Gly Lys Tyr Tyr Gly Asp Lys
[0998] 1 5 10
[0999] <210> 110
[1000] <211> 10
[1001] <212> PRT
[1002] <213> 人工序列
[1003] <220>
[1004] <223> GPC3A-042 HCDR3
[1005] <400> 110
[1006] Ala Arg Ser Ser Tyr Tyr Trp Ala Asp Ser
[1007] 1 5 10
[1008] <210> 111
[1009] <211> 17
[1010] <212> PRT
[1011] <213> 人工序列
[1012] <220>
[1013] <223> GPC3A-043 HCDR3

[1014]	<400> 111
[1015]	Ala Arg Glu Leu Arg Asp Val Ala Tyr Tyr Pro Trp Gly Val Glu Asp
[1016]	1 5 10 15
[1017]	Phe
[1018]	<210> 112
[1019]	<211> 10
[1020]	<212> PRT
[1021]	<213> 人工序列
[1022]	<220>
[1023]	<223> GPC3A-044 HCDR3
[1024]	<400> 112
[1025]	Ala Arg Tyr Tyr Val Pro Tyr Leu Ser Asp
[1026]	1 5 10
[1027]	<210> 113
[1028]	<211> 9
[1029]	<212> PRT
[1030]	<213> 人工序列
[1031]	<220>
[1032]	<223> GPC3A-045 HCDR3
[1033]	<400> 113
[1034]	Ala Arg Ala Ser Asp Leu Tyr Gly Asp
[1035]	1 5
[1036]	<210> 114
[1037]	<211> 14
[1038]	<212> PRT
[1039]	<213> 人工序列
[1040]	<220>
[1041]	<223> GPC3A-046 HCDR3
[1042]	<400> 114
[1043]	Ala Arg Gly Asn Arg Arg Tyr Tyr Ser Pro Ile Ile Asp Pro
[1044]	1 5 10
[1045]	<210> 115
[1046]	<211> 11
[1047]	<212> PRT
[1048]	<213> 人工序列
[1049]	<220>
[1050]	<223> GPC3A-047 HCDR3
[1051]	<400> 115
[1052]	Ala Arg Ser Asp Tyr Gly Ser Leu Tyr Asp Lys

[1053]	1	5	10
[1054]	<210> 116		
[1055]	<211> 10		
[1056]	<212> PRT		
[1057]	<213> 人工序列		
[1058]	<220>		
[1059]	<223> GPC3A-048 HCDR3		
[1060]	<400> 116		
[1061]	Ala Arg Ser Ser Phe Val Ala Thr Asp Tyr		
[1062]	1	5	10
[1063]	<210> 117		
[1064]	<211> 14		
[1065]	<212> PRT		
[1066]	<213> 人工序列		
[1067]	<220>		
[1068]	<223> GPC3A-049 HCDR3		
[1069]	<400> 117		
[1070]	Ala Arg His Gly Gly Ile Gly Ser Met Arg Ser Phe Asp Gln		
[1071]	1	5	10
[1072]	<210> 118		
[1073]	<211> 10		
[1074]	<212> PRT		
[1075]	<213> 人工序列		
[1076]	<220>		
[1077]	<223> GPC3A-050 HCDR3		
[1078]	<400> 118		
[1079]	Ala Arg Ser Gly Tyr Arg Trp Leu Asp Val		
[1080]	1	5	10
[1081]	<210> 119		
[1082]	<211> 14		
[1083]	<212> PRT		
[1084]	<213> 人工序列		
[1085]	<220>		
[1086]	<223> GPC3A-051 HCDR3		
[1087]	<400> 119		
[1088]	Ala Arg Met Leu Tyr Leu Ser Gly Arg Tyr Tyr Trp Asp Ser		
[1089]	1	5	10
[1090]	<210> 120		
[1091]	<211> 10		

[1092]	<212>	PRT
[1093]	<213>	人工序列
[1094]	<220>	
[1095]	<223>	GPC3A-052 HCDR3
[1096]	<400>	120
[1097]	Ala Arg Ser His Ser Ser Gly Tyr Asp Lys	
[1098]	1 5 10	
[1099]	<210>	121
[1100]	<211>	10
[1101]	<212>	PRT
[1102]	<213>	人工序列
[1103]	<220>	
[1104]	<223>	GPC3A-053 HCDR3
[1105]	<400>	121
[1106]	Ala Arg Trp Trp Ser Gly Ser Tyr Asp Thr	
[1107]	1 5 10	
[1108]	<210>	122
[1109]	<211>	12
[1110]	<212>	PRT
[1111]	<213>	人工序列
[1112]	<220>	
[1113]	<223>	GPC3A-054 HCDR3
[1114]	<400>	122
[1115]	Ala Arg Ile Pro Met Tyr Ser Gly Ser Ser Asp Tyr	
[1116]	1 5 10	
[1117]	<210>	123
[1118]	<211>	10
[1119]	<212>	PRT
[1120]	<213>	人工序列
[1121]	<220>	
[1122]	<223>	GPC3A-055 HCDR3
[1123]	<400>	123
[1124]	Ala Arg Trp His Gly Gly Pro Tyr Asp Tyr	
[1125]	1 5 10	
[1126]	<210>	124
[1127]	<211>	15
[1128]	<212>	PRT
[1129]	<213>	人工序列
[1130]	<220>	

[1131]	<223>	GPC3A-056	HCDR3
[1132]	<400>	124	
[1133]	Ala	Arg	Phe Ser Thr His Asn Trp Trp Trp Pro Thr Tyr Asp Tyr
[1134]	1	5	10 15
[1135]	<210>	125	
[1136]	<211>	13	
[1137]	<212>	PRT	
[1138]	<213>	人工序列	
[1139]	<220>		
[1140]	<223>	GPC3A-057	HCDR3
[1141]	<400>	125	
[1142]	Ala	Arg Tyr Asn Tyr Met Ser Ser Gly Phe Tyr Asp Arg	
[1143]	1	5	10
[1144]	<210>	126	
[1145]	<211>	13	
[1146]	<212>	PRT	
[1147]	<213>	人工序列	
[1148]	<220>		
[1149]	<223>	GPC3A-058	HCDR3
[1150]	<400>	126	
[1151]	Ala	Arg Gly Lys Arg Thr Leu Ala Ser Cys Phe Asp Tyr	
[1152]	1	5	10
[1153]	<210>	127	
[1154]	<211>	10	
[1155]	<212>	PRT	
[1156]	<213>	人工序列	
[1157]	<220>		
[1158]	<223>	GPC3A-059	HCDR3
[1159]	<400>	127	
[1160]	Ala	Arg Ser Arg Trp Ser Tyr Met Asp Val	
[1161]	1	5	10
[1162]	<210>	128	
[1163]	<211>	12	
[1164]	<212>	PRT	
[1165]	<213>	人工序列	
[1166]	<220>		
[1167]	<223>	GPC3A-060	HCDR3
[1168]	<400>	128	
[1169]	Ala	Arg Glu Gly Tyr Gly Ser Trp Ala Met Asp Gln	

[1170]	1	5	10
[1171]	<210> 129		
[1172]	<211> 10		
[1173]	<212> PRT		
[1174]	<213> 人工序列		
[1175]	<220>		
[1176]	<223> GPC3A-061 HCDR3		
[1177]	<400> 129		
[1178]	Ala Arg Lys Gly Ser Ser Gln Phe Asp Gln		
[1179]	1	5	10
[1180]	<210> 130		
[1181]	<211> 16		
[1182]	<212> PRT		
[1183]	<213> 人工序列		
[1184]	<220>		
[1185]	<223> GPC3A-062 HCDR3		
[1186]	<400> 130		
[1187]	Ala Arg Met Tyr Met Asp Met Gly Trp Gly Trp Gly Tyr Trp Asp Trp		
[1188]	1	5	10 15
[1189]	<210> 131		
[1190]	<211> 12		
[1191]	<212> PRT		
[1192]	<213> 人工序列		
[1193]	<220>		
[1194]	<223> GPC3A-063 HCDR3		
[1195]	<400> 131		
[1196]	Ala Arg Asp Arg Leu Ala Ser Asp Ala Phe Asp Ile		
[1197]	1	5	10
[1198]	<210> 132		
[1199]	<211> 13		
[1200]	<212> PRT		
[1201]	<213> 人工序列		
[1202]	<220>		
[1203]	<223> GPC3A-064 HCDR3		
[1204]	<400> 132		
[1205]	Ala Arg Met Gly Val Gly Trp Gly Tyr Ala Gln Asp Ser		
[1206]	1	5	10
[1207]	<210> 133		
[1208]	<211> 9		

[1209]	<212>	PRT
[1210]	<213>	人工序列
[1211]	<220>	
[1212]	<223>	GPC3A-067 HCDR3
[1213]	<400>	133
[1214]	Ala Arg Gly Ala Glu Met Ser Asp Tyr	
[1215]	1	5
[1216]	<210>	134
[1217]	<211>	13
[1218]	<212>	PRT
[1219]	<213>	人工序列
[1220]	<220>	
[1221]	<223>	GPC3B-54 HCDR3
[1222]	<400>	134
[1223]	Ala Arg Glu Arg Arg Tyr Ser Ser Ser Pro Ser Asp His	
[1224]	1	5 10
[1225]	<210>	135
[1226]	<211>	12
[1227]	<212>	PRT
[1228]	<213>	人工序列
[1229]	<220>	
[1230]	<223>	GPC3B-60 HCDR3
[1231]	<400>	135
[1232]	Ala Arg Ser Leu Tyr Ser Gln Pro Tyr Ile Asp Gly	
[1233]	1	5 10
[1234]	<210>	136
[1235]	<211>	15
[1236]	<212>	PRT
[1237]	<213>	人工序列
[1238]	<220>	
[1239]	<223>	GPC3B-63 HCDR3
[1240]	<400>	136
[1241]	Ala Arg Ser Leu His Ala Met Arg Trp Ser Gln Thr Met Asp Ser	
[1242]	1	5 10 15
[1243]	<210>	137
[1244]	<211>	11
[1245]	<212>	PRT
[1246]	<213>	人工序列
[1247]	<220>	

[1248] <223> GPC3B-66 HCDR3
[1249] <400> 137
[1250] Ala Arg Phe Ser Ser Gly Tyr Ser Arg Asp Thr
[1251] 1 5 10
[1252] <210> 138
[1253] <211> 10
[1254] <212> PRT
[1255] <213> 人工序列
[1256] <220>
[1257] <223> GPC3B-68 HCDR3
[1258] <400> 138
[1259] Ala Arg Tyr Gly Tyr Glu Gly His Asp Thr
[1260] 1 5 10
[1261] <210> 139
[1262] <211> 13
[1263] <212> PRT
[1264] <213> 人工序列
[1265] <220>
[1266] <223> GPC3B-71 HCDR3
[1267] <400> 139
[1268] Ala Arg Gln Gly His Met Trp Tyr Val Pro Val Asp Ala
[1269] 1 5 10
[1270] <210> 140
[1271] <211> 5
[1272] <212> PRT
[1273] <213> 人工序列
[1274] <220>
[1275] <223> GPC3B-76 HCDR3
[1276] <400> 140
[1277] Ala Arg Asn Tyr Asp
[1278] 1 5
[1279] <210> 141
[1280] <211> 10
[1281] <212> PRT
[1282] <213> 人工序列
[1283] <220>
[1284] <223> GPC3B-78 HCDR3
[1285] <400> 141
[1286] Ala Arg Gly Tyr Ser Ser Phe Phe Asp Ser

[1287]	1	5	10
[1288]	<210> 142		
[1289]	<211> 15		
[1290]	<212> PRT		
[1291]	<213> 人工序列		
[1292]	<220>		
[1293]	<223> GPC3B-80 HCDR3		
[1294]	<400> 142		
[1295]	Ala Arg Met Ser Lys Tyr Tyr Gly Ser Tyr Ser Ser Tyr Asp Glu		
[1296]	1	5	10 15
[1297]	<210> 143		
[1298]	<211> 7		
[1299]	<212> PRT		
[1300]	<213> 人工序列		
[1301]	<220>		
[1302]	<223> GPC3B-81 HCDR3		
[1303]	<400> 143		
[1304]	Ala Arg Gly Leu Trp Asp Ser		
[1305]	1	5	
[1306]	<210> 144		
[1307]	<211> 14		
[1308]	<212> PRT		
[1309]	<213> 人工序列		
[1310]	<220>		
[1311]	<223> GPC3B-82 HCDR3		
[1312]	<400> 144		
[1313]	Ala Arg Tyr Pro Val Tyr Met Glu Thr Ser Asp Phe Asp Ser		
[1314]	1	5	10
[1315]	<210> 145		
[1316]	<211> 18		
[1317]	<212> PRT		
[1318]	<213> 人工序列		
[1319]	<220>		
[1320]	<223> GPC3B-85 HCDR3		
[1321]	<400> 145		
[1322]	Ala Arg Ser Ser Leu Tyr Trp Met Gly Ser Lys Trp Ser Arg Gln Thr		
[1323]	1	5	10 15
[1324]	Asp Met		
[1325]	<210> 146		

[1326]	<211>	6
[1327]	<212>	PRT
[1328]	<213>	人工序列
[1329]	<220>	
[1330]	<223>	GPC3B-87 HCDR3
[1331]	<400>	146
[1332]	Ala Arg Thr Asn Asp Ser	
[1333]	1	5
[1334]	<210>	147
[1335]	<211>	13
[1336]	<212>	PRT
[1337]	<213>	人工序列
[1338]	<220>	
[1339]	<223>	GPC3B-92 HCDR3
[1340]	<400>	147
[1341]	Ala Arg Pro Ser Met Trp Thr Ser Ser Met Gly Asp Val	
[1342]	1	5 10
[1343]	<210>	148
[1344]	<211>	16
[1345]	<212>	PRT
[1346]	<213>	人工序列
[1347]	<220>	
[1348]	<223>	GPC3B-93 HCDR3
[1349]	<400>	148
[1350]	Ala Arg Tyr Thr Ala Leu Lys Pro Arg Gly Ile Tyr Ser Val Asp Ser	
[1351]	1	5 10 15
[1352]	<210>	149
[1353]	<211>	18
[1354]	<212>	PRT
[1355]	<213>	人工序列
[1356]	<220>	
[1357]	<223>	GPC3B-110 HCDR3
[1358]	<400>	149
[1359]	Ala Arg Tyr Tyr Trp Arg Gly Gly Ser Gly Gln Gly Ser Val Thr Ser	
[1360]	1	5 10 15
[1361]	Asp Tyr	
[1362]	<210>	150
[1363]	<211>	7
[1364]	<212>	PRT

[1365] <213> 人工序列
[1366] <220>
[1367] <223> GPC3B-113 HCDR3
[1368] <400> 150
[1369] Ala Arg Tyr Ser Gly Asp Tyr
[1370] 1 5
[1371] <210> 151
[1372] <211> 13
[1373] <212> PRT
[1374] <213> 人工序列
[1375] <220>
[1376] <223> GPC3B-115 HCDR3
[1377] <400> 151
[1378] Ala Arg Ile Ser Gly Tyr His Ser Ser Gly Trp Asp Tyr
[1379] 1 5 10
[1380] <210> 152
[1381] <211> 10
[1382] <212> PRT
[1383] <213> 人工序列
[1384] <220>
[1385] <223> GPC3B-119 HCDR3
[1386] <400> 152
[1387] Ala Arg Gly Tyr Tyr Gly Lys Tyr Asp Lys
[1388] 1 5 10
[1389] <210> 153
[1390] <211> 7
[1391] <212> PRT
[1392] <213> 人工序列
[1393] <220>
[1394] <223> GPC3B-125 HCDR3
[1395] <400> 153
[1396] Ala Arg Gln Ser His Asp Glu
[1397] 1 5
[1398] <210> 154
[1399] <211> 8
[1400] <212> PRT
[1401] <213> 人工序列
[1402] <220>
[1403] <223> GPC3A-034 LCDR1

[1404]	<400> 154
[1405]	Ser Ser Asn Ile Gly Ser Asn Asn
[1406]	1 5
[1407]	<210> 155
[1408]	<211> 8
[1409]	<212> PRT
[1410]	<213> 人工序列
[1411]	<220>
[1412]	<223> GPC3A-035 LCDR1
[1413]	<400> 155
[1414]	Ser Ser Asn Ile Gly Ser Asn Tyr
[1415]	1 5
[1416]	<210> 156
[1417]	<211> 8
[1418]	<212> PRT
[1419]	<213> 人工序列
[1420]	<220>
[1421]	<223> GPC3A-037 LCDR1
[1422]	<400> 156
[1423]	Arg Ser Asn Ile Gly Ser Asp Tyr
[1424]	1 5
[1425]	<210> 157
[1426]	<211> 6
[1427]	<212> PRT
[1428]	<213> 人工序列
[1429]	<220>
[1430]	<223> GPC3A-038 LCDR1
[1431]	<400> 157
[1432]	Asn Ile Gly Ser Lys Ser
[1433]	1 5
[1434]	<210> 158
[1435]	<211> 6
[1436]	<212> PRT
[1437]	<213> 人工序列
[1438]	<220>
[1439]	<223> GPC3A-039 LCDR1
[1440]	<400> 158
[1441]	Asn Ile Gly Ser Lys Ser
[1442]	1 5

[1443] <210> 159
[1444] <211> 8
[1445] <212> PRT
[1446] <213> 人工序列
[1447] <220>
[1448] <223> GPC3A-040 LCDR1
[1449] <400> 159
[1450] Ser Ser Asn Ile Gly Ser Asn Tyr
[1451] 1 5
[1452] <210> 160
[1453] <211> 8
[1454] <212> PRT
[1455] <213> 人工序列
[1456] <220>
[1457] <223> GPC3A-041 LCDR1
[1458] <400> 160
[1459] Ser Ser Asn Ile Gly Ser Asn Tyr
[1460] 1 5
[1461] <210> 161
[1462] <211> 8
[1463] <212> PRT
[1464] <213> 人工序列
[1465] <220>
[1466] <223> GPC3A-042 LCDR1
[1467] <400> 161
[1468] Ser Ser Asp Ile Gly Ser Asn Ser
[1469] 1 5
[1470] <210> 162
[1471] <211> 8
[1472] <212> PRT
[1473] <213> 人工序列
[1474] <220>
[1475] <223> GPC3A-043 LCDR1
[1476] <400> 162
[1477] Ser Ser Asn Ile Gly Thr Asn Tyr
[1478] 1 5
[1479] <210> 163
[1480] <211> 6
[1481] <212> PRT

- [1482] <213> 人工序列
[1483] <220>
[1484] <223> GPC3A-044 LCDR1
[1485] <400> 163
[1486] Asn Ile Gly Tyr Lys Gly
[1487] 1 5
[1488] <210> 164
[1489] <211> 8
[1490] <212> PRT
[1491] <213> 人工序列
[1492] <220>
[1493] <223> GPC3A-045 LCDR1
[1494] <400> 164
[1495] Thr Ser Asn Ile Gly Thr Asn Thr
[1496] 1 5
[1497] <210> 165
[1498] <211> 8
[1499] <212> PRT
[1500] <213> 人工序列
[1501] <220>
[1502] <223> GPC3A-046 LCDR1
[1503] <400> 165
[1504] Ser Ser Asn Phe Gly Ser Asn Thr
[1505] 1 5
[1506] <210> 166
[1507] <211> 8
[1508] <212> PRT
[1509] <213> 人工序列
[1510] <220>
[1511] <223> GPC3A-047 LCDR1
[1512] <400> 166
[1513] Arg Ser Asn Ile Ala Ser Asn Asp
[1514] 1 5
[1515] <210> 167
[1516] <211> 6
[1517] <212> PRT
[1518] <213> 人工序列
[1519] <220>
[1520] <223> GPC3A-048 LCDR1

[1521] <400> 167
[1522] Asn Ile Gly Ser Lys Ser
[1523] 1 5
[1524] <210> 168
[1525] <211> 8
[1526] <212> PRT
[1527] <213> 人工序列
[1528] <220>
[1529] <223> GPC3A-049 LCDR1
[1530] <400> 168
[1531] Ser Ser Asn Ile Gly Ser Asn Tyr
[1532] 1 5
[1533] <210> 169
[1534] <211> 8
[1535] <212> PRT
[1536] <213> 人工序列
[1537] <220>
[1538] <223> GPC3A-050 LCDR1
[1539] <400> 169
[1540] Ser Ser Asn Ile Gly Ser Asn Thr
[1541] 1 5
[1542] <210> 170
[1543] <211> 9
[1544] <212> PRT
[1545] <213> 人工序列
[1546] <220>
[1547] <223> GPC3A-051 LCDR1
[1548] <400> 170
[1549] Ser Ser Asn Ile Gly Ala Gly Tyr Asp
[1550] 1 5
[1551] <210> 171
[1552] <211> 8
[1553] <212> PRT
[1554] <213> 人工序列
[1555] <220>
[1556] <223> GPC3A-052 LCDR1
[1557] <400> 171
[1558] Ser Ser Asn Ile Gly Ser Asn Tyr
[1559] 1 5

[1560] <210> 172
[1561] <211> 8
[1562] <212> PRT
[1563] <213> 人工序列
[1564] <220>
[1565] <223> GPC3A-053 LCDR1
[1566] <400> 172
[1567] Ser Ser Asn Ile Gly Ser Asn Tyr
[1568] 1 5
[1569] <210> 173
[1570] <211> 8
[1571] <212> PRT
[1572] <213> 人工序列
[1573] <220>
[1574] <223> GPC3A-054 LCDR1
[1575] <400> 173
[1576] Ser Ser Asn Ile Gly Ser Asn Tyr
[1577] 1 5
[1578] <210> 174
[1579] <211> 6
[1580] <212> PRT
[1581] <213> 人工序列
[1582] <220>
[1583] <223> GPC3A-055 LCDR1
[1584] <400> 174
[1585] Asn Ile Gly Ser Lys Ser
[1586] 1 5
[1587] <210> 175
[1588] <211> 6
[1589] <212> PRT
[1590] <213> 人工序列
[1591] <220>
[1592] <223> GPC3A-056 LCDR1
[1593] <400> 175
[1594] Gln Ser Ile Ser Ser Tyr
[1595] 1 5
[1596] <210> 176
[1597] <211> 6
[1598] <212> PRT

[1599] <213> 人工序列
[1600] <220>
[1601] <223> GPC3A-057 LCDR1
[1602] <400> 176
[1603] Asn Ile Gly Ser Lys Ser
[1604] 1 5
[1605] <210> 177
[1606] <211> 6
[1607] <212> PRT
[1608] <213> 人工序列
[1609] <220>
[1610] <223> GPC3A-058 LCDR1
[1611] <400> 177
[1612] Asn Ile Gly Ser Lys Ser
[1613] 1 5
[1614] <210> 178
[1615] <211> 6
[1616] <212> PRT
[1617] <213> 人工序列
[1618] <220>
[1619] <223> GPC3A-059 LCDR1
[1620] <400> 178
[1621] Asn Ile Gly Ser Lys Ser
[1622] 1 5
[1623] <210> 179
[1624] <211> 6
[1625] <212> PRT
[1626] <213> 人工序列
[1627] <220>
[1628] <223> GPC3A-060 LCDR1
[1629] <400> 179
[1630] Asn Ile Gly Ser Glu Ser
[1631] 1 5
[1632] <210> 180
[1633] <211> 6
[1634] <212> PRT
[1635] <213> 人工序列
[1636] <220>
[1637] <223> GPC3A-061 LCDR1

[1638] <400> 180
[1639] Asn Ile Gly Ser Lys Ser
[1640] 1 5
[1641] <210> 181
[1642] <211> 9
[1643] <212> PRT
[1644] <213> 人工序列
[1645] <220>
[1646] <223> GPC3A-062 LCDR1
[1647] <400> 181
[1648] Ser Ser Asn Ile Gly Ala Gly Tyr Asp
[1649] 1 5
[1650] <210> 182
[1651] <211> 8
[1652] <212> PRT
[1653] <213> 人工序列
[1654] <220>
[1655] <223> GPC3A-063 LCDR1
[1656] <400> 182
[1657] Trp Ser Asn Ile Gly Ser Tyr Thr
[1658] 1 5
[1659] <210> 183
[1660] <211> 6
[1661] <212> PRT
[1662] <213> 人工序列
[1663] <220>
[1664] <223> GPC3A-064 LCDR1
[1665] <400> 183
[1666] Asn Ile Gly Ser Lys Ser
[1667] 1 5
[1668] <210> 184
[1669] <211> 6
[1670] <212> PRT
[1671] <213> 人工序列
[1672] <220>
[1673] <223> GPC3A-067 LCDR1
[1674] <400> 184
[1675] Asn Ile Gly Ser Lys Ser
[1676] 1 5

[1677] <210> 185
[1678] <211> 8
[1679] <212> PRT
[1680] <213> 人工序列
[1681] <220>
[1682] <223> GPC3B-54 LCDR1
[1683] <400> 185
[1684] Asn Ser Asn Ile Gly Ser Asp Thr
[1685] 1 5
[1686] <210> 186
[1687] <211> 6
[1688] <212> PRT
[1689] <213> 人工序列
[1690] <220>
[1691] <223> GPC3B-60 LCDR1
[1692] <400> 186
[1693] Asn Leu Glu Asn Lys Phe
[1694] 1 5
[1695] <210> 187
[1696] <211> 11
[1697] <212> PRT
[1698] <213> 人工序列
[1699] <220>
[1700] <223> GPC3B-63 LCDR1
[1701] <400> 187
[1702] Gln Ser Leu Leu His Ser Asn Gly Tyr Asn Tyr
[1703] 1 5 10
[1704] <210> 188
[1705] <211> 6
[1706] <212> PRT
[1707] <213> 人工序列
[1708] <220>
[1709] <223> GPC3B-66 LCDR1
[1710] <400> 188
[1711] Asn Ile Gly Ser Lys Ser
[1712] 1 5
[1713] <210> 189
[1714] <211> 8
[1715] <212> PRT

[1716] <213> 人工序列
[1717] <220>
[1718] <223> GPC3B-68 LCDR1
[1719] <400> 189
[1720] Ser Ser Asn Ile Gly Asn Asn Tyr
[1721] 1 5
[1722] <210> 190
[1723] <211> 6
[1724] <212> PRT
[1725] <213> 人工序列
[1726] <220>
[1727] <223> GPC3B-71 LCDR1
[1728] <400> 190
[1729] Asn Ile Gly Ser Lys Ser
[1730] 1 5
[1731] <210> 191
[1732] <211> 8
[1733] <212> PRT
[1734] <213> 人工序列
[1735] <220>
[1736] <223> GPC3B-76 LCDR1
[1737] <400> 191
[1738] Ser Ser Asn Ile Gly Asn Asn Tyr
[1739] 1 5
[1740] <210> 192
[1741] <211> 6
[1742] <212> PRT
[1743] <213> 人工序列
[1744] <220>
[1745] <223> GPC3B-78 LCDR1
[1746] <400> 192
[1747] Lys Leu Gly Asp Lys Tyr
[1748] 1 5
[1749] <210> 193
[1750] <211> 8
[1751] <212> PRT
[1752] <213> 人工序列
[1753] <220>
[1754] <223> GPC3B-80 LCDR1

[1755] <400> 193
[1756] Ser Ser Asn Ile Gly Ser Asn Thr
[1757] 1 5
[1758] <210> 194
[1759] <211> 6
[1760] <212> PRT
[1761] <213> 人工序列
[1762] <220>
[1763] <223> GPC3B-81 LCDR1
[1764] <400> 194
[1765] Asn Ile Gly Ser Lys Ser
[1766] 1 5
[1767] <210> 195
[1768] <211> 9
[1769] <212> PRT
[1770] <213> 人工序列
[1771] <220>
[1772] <223> GPC3B-82 LCDR1
[1773] <400> 195
[1774] Ser Ser Asn Ile Gly Ala Gly Phe Asp
[1775] 1 5
[1776] <210> 196
[1777] <211> 8
[1778] <212> PRT
[1779] <213> 人工序列
[1780] <220>
[1781] <223> GPC3B-85 LCDR1
[1782] <400> 196
[1783] Ser Ser Asn Ile Gly Ser Asn Thr
[1784] 1 5
[1785] <210> 197
[1786] <211> 11
[1787] <212> PRT
[1788] <213> 人工序列
[1789] <220>
[1790] <223> GPC3B-87 LCDR1
[1791] <400> 197
[1792] Gln Ser Leu Leu His Ser Asn Gly Tyr Asn Tyr
[1793] 1 5 10

[1794] <210> 198
[1795] <211> 6
[1796] <212> PRT
[1797] <213> 人工序列
[1798] <220>
[1799] <223> GPC3B-92 LCDR1
[1800] <400> 198
[1801] Thr Leu Ala Lys Arg Tyr
[1802] 1 5
[1803] <210> 199
[1804] <211> 8
[1805] <212> PRT
[1806] <213> 人工序列
[1807] <220>
[1808] <223> GPC3B-93 LCDR1
[1809] <400> 199
[1810] Ser Gly Ser Ile Ala Ser Asn Tyr
[1811] 1 5
[1812] <210> 200
[1813] <211> 8
[1814] <212> PRT
[1815] <213> 人工序列
[1816] <220>
[1817] <223> GPC3B-110 LCDR1
[1818] <400> 200
[1819] Ser Ser Asn Ile Gly Ser Asn Thr
[1820] 1 5
[1821] <210> 201
[1822] <211> 8
[1823] <212> PRT
[1824] <213> 人工序列
[1825] <220>
[1826] <223> GPC3B-113 LCDR1
[1827] <400> 201
[1828] Ser Ser Asn Ile Gly Ser Asn Ser
[1829] 1 5
[1830] <210> 202
[1831] <211> 6
[1832] <212> PRT

- [1833] <213> 人工序列
[1834] <220>
[1835] <223> GPC3B-115 LCDR1
[1836] <400> 202
[1837] Asn Ile Gly Ser Lys Ser
[1838] 1 5
[1839] <210> 203
[1840] <211> 8
[1841] <212> PRT
[1842] <213> 人工序列
[1843] <220>
[1844] <223> GPC3B-119 LCDR1
[1845] <400> 203
[1846] Ser Ser Asn Ile Gly Asn Asn Tyr
[1847] 1 5
[1848] <210> 204
[1849] <211> 9
[1850] <212> PRT
[1851] <213> 人工序列
[1852] <220>
[1853] <223> GPC3B-125 LCDR1
[1854] <400> 204
[1855] Ser Ser Asp Val Gly Gly Tyr Asn Tyr
[1856] 1 5
[1857] <210> 205
[1858] <211> 3
[1859] <212> PRT
[1860] <213> 人工序列
[1861] <220>
[1862] <223> GPC3A-034 LCDR2
[1863] <400> 205
[1864] Ser Asn His
[1865] 1
[1866] <210> 206
[1867] <211> 3
[1868] <212> PRT
[1869] <213> 人工序列
[1870] <220>
[1871] <223> GPC3A-035 LCDR2

[1872] <400> 206
[1873] Lys Asn Phe
[1874] 1
[1875] <210> 207
[1876] <211> 3
[1877] <212> PRT
[1878] <213> 人工序列
[1879] <220>
[1880] <223> GPC3A-037 LCDR2
[1881] <400> 207
[1882] Gly Asp Asn
[1883] 1
[1884] <210> 208
[1885] <211> 3
[1886] <212> PRT
[1887] <213> 人工序列
[1888] <220>
[1889] <223> GPC3A-038 LCDR2
[1890] <400> 208
[1891] Tyr Asp Ser
[1892] 1
[1893] <210> 209
[1894] <211> 3
[1895] <212> PRT
[1896] <213> 人工序列
[1897] <220>
[1898] <223> GPC3A-039 LCDR2
[1899] <400> 209
[1900] Tyr Asp Ser
[1901] 1
[1902] <210> 210
[1903] <211> 3
[1904] <212> PRT
[1905] <213> 人工序列
[1906] <220>
[1907] <223> GPC3A-040 LCDR2
[1908] <400> 210
[1909] Ser Asn Asn
[1910] 1

[1911] <210> 211
[1912] <211> 3
[1913] <212> PRT
[1914] <213> 人工序列
[1915] <220>
[1916] <223> GPC3A-041 LCDR2
[1917] <400> 211
[1918] Lys Asn Phe
[1919] 1
[1920] <210> 212
[1921] <211> 3
[1922] <212> PRT
[1923] <213> 人工序列
[1924] <220>
[1925] <223> GPC3A-042 LCDR2
[1926] <400> 212
[1927] Ser Thr Gln
[1928] 1
[1929] <210> 213
[1930] <211> 3
[1931] <212> PRT
[1932] <213> 人工序列
[1933] <220>
[1934] <223> GPC3A-043 LCDR2
[1935] <400> 213
[1936] Arg Asn Asn
[1937] 1
[1938] <210> 214
[1939] <211> 3
[1940] <212> PRT
[1941] <213> 人工序列
[1942] <220>
[1943] <223> GPC3A-044 LCDR2
[1944] <400> 214
[1945] Asp Asp Ser
[1946] 1
[1947] <210> 215
[1948] <211> 3
[1949] <212> PRT

[1950] <213> 人工序列
[1951] <220>
[1952] <223> GPC3A-045 LCDR2
[1953] <400> 215
[1954] Ser Asn Asn
[1955] 1
[1956] <210> 216
[1957] <211> 3
[1958] <212> PRT
[1959] <213> 人工序列
[1960] <220>
[1961] <223> GPC3A-046 LCDR2
[1962] <400> 216
[1963] Ser Asn Thr
[1964] 1
[1965] <210> 217
[1966] <211> 3
[1967] <212> PRT
[1968] <213> 人工序列
[1969] <220>
[1970] <223> GPC3A-047 LCDR2
[1971] <400> 217
[1972] Lys Lys Asn
[1973] 1
[1974] <210> 218
[1975] <211> 3
[1976] <212> PRT
[1977] <213> 人工序列
[1978] <220>
[1979] <223> GPC3A-048 LCDR2
[1980] <400> 218
[1981] Tyr Asp Ser
[1982] 1
[1983] <210> 219
[1984] <211> 3
[1985] <212> PRT
[1986] <213> 人工序列
[1987] <220>
[1988] <223> GPC3A-049 LCDR2

[1989] <400> 219
[1990] Arg Asn Asn
[1991] 1
[1992] <210> 220
[1993] <211> 3
[1994] <212> PRT
[1995] <213> 人工序列
[1996] <220>
[1997] <223> GPC3A-050 LCDR2
[1998] <400> 220
[1999] Ser Asn Asn
[2000] 1
[2001] <210> 221
[2002] <211> 3
[2003] <212> PRT
[2004] <213> 人工序列
[2005] <220>
[2006] <223> GPC3A-051 LCDR2
[2007] <400> 221
[2008] Gly Asn Ser
[2009] 1
[2010] <210> 222
[2011] <211> 3
[2012] <212> PRT
[2013] <213> 人工序列
[2014] <220>
[2015] <223> GPC3A-052 LCDR2
[2016] <400> 222
[2017] Arg Asn Asn
[2018] 1
[2019] <210> 223
[2020] <211> 3
[2021] <212> PRT
[2022] <213> 人工序列
[2023] <220>
[2024] <223> GPC3A-053 LCDR2
[2025] <400> 223
[2026] Gly Asn Ser
[2027] 1

[2028] <210> 224
[2029] <211> 3
[2030] <212> PRT
[2031] <213> 人工序列
[2032] <220>
[2033] <223> GPC3A-054 LCDR2
[2034] <400> 224
[2035] Arg Asn Asn
[2036] 1
[2037] <210> 225
[2038] <211> 3
[2039] <212> PRT
[2040] <213> 人工序列
[2041] <220>
[2042] <223> GPC3A-055 LCDR2
[2043] <400> 225
[2044] Tyr Asp Ser
[2045] 1
[2046] <210> 226
[2047] <211> 3
[2048] <212> PRT
[2049] <213> 人工序列
[2050] <220>
[2051] <223> GPC3A-056 LCDR2
[2052] <400> 226
[2053] Ala Ala Ser
[2054] 1
[2055] <210> 227
[2056] <211> 3
[2057] <212> PRT
[2058] <213> 人工序列
[2059] <220>
[2060] <223> GPC3A-057 LCDR2
[2061] <400> 227
[2062] Tyr Asp Ser
[2063] 1
[2064] <210> 228
[2065] <211> 3
[2066] <212> PRT

[2067] <213> 人工序列
[2068] <220>
[2069] <223> GPC3A-058 LCDR2
[2070] <400> 228
[2071] Asp Asp Ser
[2072] 1
[2073] <210> 229
[2074] <211> 3
[2075] <212> PRT
[2076] <213> 人工序列
[2077] <220>
[2078] <223> GPC3A-059 LCDR2
[2079] <400> 229
[2080] Tyr Asp Ser
[2081] 1
[2082] <210> 230
[2083] <211> 3
[2084] <212> PRT
[2085] <213> 人工序列
[2086] <220>
[2087] <223> GPC3A-060 LCDR2
[2088] <400> 230
[2089] Asp Asp Asp
[2090] 1
[2091] <210> 231
[2092] <211> 3
[2093] <212> PRT
[2094] <213> 人工序列
[2095] <220>
[2096] <223> GPC3A-061 LCDR2
[2097] <400> 231
[2098] Tyr Asp Ser
[2099] 1
[2100] <210> 232
[2101] <211> 3
[2102] <212> PRT
[2103] <213> 人工序列
[2104] <220>
[2105] <223> GPC3A-062 LCDR2

[2106] <400> 232
[2107] Gly Asn Ser
[2108] 1
[2109] <210> 233
[2110] <211> 3
[2111] <212> PRT
[2112] <213> 人工序列
[2113] <220>
[2114] <223> GPC3A-063 LCDR2
[2115] <400> 233
[2116] Gly Asn Asn
[2117] 1
[2118] <210> 234
[2119] <211> 3
[2120] <212> PRT
[2121] <213> 人工序列
[2122] <220>
[2123] <223> GPC3A-064 LCDR2
[2124] <400> 234
[2125] Asp Asp Thr
[2126] 1
[2127] <210> 235
[2128] <211> 3
[2129] <212> PRT
[2130] <213> 人工序列
[2131] <220>
[2132] <223> GPC3A-067 LCDR2
[2133] <400> 235
[2134] Tyr Asp Ser
[2135] 1
[2136] <210> 236
[2137] <211> 3
[2138] <212> PRT
[2139] <213> 人工序列
[2140] <220>
[2141] <223> GPC3B-54 LCDR2
[2142] <400> 236
[2143] Arg Asp Asn
[2144] 1

[2145] <210> 237
[2146] <211> 3
[2147] <212> PRT
[2148] <213> 人工序列
[2149] <220>
[2150] <223> GPC3B-60 LCDR2
[2151] <400> 237
[2152] Glu Asp Asn
[2153] 1
[2154] <210> 238
[2155] <211> 3
[2156] <212> PRT
[2157] <213> 人工序列
[2158] <220>
[2159] <223> GPC3B-63 LCDR2
[2160] <400> 238
[2161] Leu Gly Ser
[2162] 1
[2163] <210> 239
[2164] <211> 3
[2165] <212> PRT
[2166] <213> 人工序列
[2167] <220>
[2168] <223> GPC3B-66 LCDR2
[2169] <400> 239
[2170] Tyr Asp Ser
[2171] 1
[2172] <210> 240
[2173] <211> 3
[2174] <212> PRT
[2175] <213> 人工序列
[2176] <220>
[2177] <223> GPC3B-68 LCDR2
[2178] <400> 240
[2179] Asp Asn Ile
[2180] 1
[2181] <210> 241
[2182] <211> 3
[2183] <212> PRT

[2184] <213> 人工序列
[2185] <220>
[2186] <223> GPC3B-71 LCDR2
[2187] <400> 241
[2188] Tyr Asp Ser
[2189] 1
[2190] <210> 242
[2191] <211> 3
[2192] <212> PRT
[2193] <213> 人工序列
[2194] <220>
[2195] <223> GPC3B-76 LCDR2
[2196] <400> 242
[2197] Asp Asn Asn
[2198] 1
[2199] <210> 243
[2200] <211> 3
[2201] <212> PRT
[2202] <213> 人工序列
[2203] <220>
[2204] <223> GPC3B-78 LCDR2
[2205] <400> 243
[2206] Gln Asp Asn
[2207] 1
[2208] <210> 244
[2209] <211> 3
[2210] <212> PRT
[2211] <213> 人工序列
[2212] <220>
[2213] <223> GPC3B-80 LCDR2
[2214] <400> 244
[2215] Ser Asn Asn
[2216] 1
[2217] <210> 245
[2218] <211> 3
[2219] <212> PRT
[2220] <213> 人工序列
[2221] <220>
[2222] <223> GPC3B-81 LCDR2

[2223] <400> 245
[2224] Tyr Asp Ser
[2225] 1
[2226] <210> 246
[2227] <211> 3
[2228] <212> PRT
[2229] <213> 人工序列
[2230] <220>
[2231] <223> GPC3B-82 LCDR2
[2232] <400> 246
[2233] Asp Asn Asn
[2234] 1
[2235] <210> 247
[2236] <211> 3
[2237] <212> PRT
[2238] <213> 人工序列
[2239] <220>
[2240] <223> GPC3B-85 LCDR2
[2241] <400> 247
[2242] Ser Asn Asn
[2243] 1
[2244] <210> 248
[2245] <211> 3
[2246] <212> PRT
[2247] <213> 人工序列
[2248] <220>
[2249] <223> GPC3B-87 LCDR2
[2250] <400> 248
[2251] Leu Gly Ser
[2252] 1
[2253] <210> 249
[2254] <211> 3
[2255] <212> PRT
[2256] <213> 人工序列
[2257] <220>
[2258] <223> GPC3B-92 LCDR2
[2259] <400> 249
[2260] Arg Asp Thr
[2261] 1

[2262] <210> 250
[2263] <211> 3
[2264] <212> PRT
[2265] <213> 人工序列
[2266] <220>
[2267] <223> GPC3B-93 LCDR2
[2268] <400> 250
[2269] Glu Asp Asn
[2270] 1
[2271] <210> 251
[2272] <211> 3
[2273] <212> PRT
[2274] <213> 人工序列
[2275] <220>
[2276] <223> GPC3B-110 LCDR2
[2277] <400> 251
[2278] Ser Ser Asn
[2279] 1
[2280] <210> 252
[2281] <211> 3
[2282] <212> PRT
[2283] <213> 人工序列
[2284] <220>
[2285] <223> GPC3B-113 LCDR2
[2286] <400> 252
[2287] Ser Asn Asn
[2288] 1
[2289] <210> 253
[2290] <211> 3
[2291] <212> PRT
[2292] <213> 人工序列
[2293] <220>
[2294] <223> GPC3B-115 LCDR2
[2295] <400> 253
[2296] Asp Asp Ser
[2297] 1
[2298] <210> 254
[2299] <211> 3
[2300] <212> PRT

[2301]	<213>	人工序列
[2302]	<220>	
[2303]	<223>	GPC3B-119 LCDR2
[2304]	<400>	254
[2305]	Asp Asn Asn	
[2306]	1	
[2307]	<210>	255
[2308]	<211>	3
[2309]	<212>	PRT
[2310]	<213>	人工序列
[2311]	<220>	
[2312]	<223>	GPC3B-125 LCDR2
[2313]	<400>	255
[2314]	Glu Val Ser	
[2315]	1	
[2316]	<210>	256
[2317]	<211>	11
[2318]	<212>	PRT
[2319]	<213>	人工序列
[2320]	<220>	
[2321]	<223>	GPC3A-034 LCDR3
[2322]	<400>	256
[2323]	Ala Ala Trp Asp Asp Ser Leu Asp Gly Tyr Leu	
[2324]	1	5 10
[2325]	<210>	257
[2326]	<211>	11
[2327]	<212>	PRT
[2328]	<213>	人工序列
[2329]	<220>	
[2330]	<223>	GPC3A-035 LCDR3
[2331]	<400>	257
[2332]	Ala Ala Trp Asp Asp Ala Leu Ser Gly Tyr Val	
[2333]	1	5 10
[2334]	<210>	258
[2335]	<211>	11
[2336]	<212>	PRT
[2337]	<213>	人工序列
[2338]	<220>	
[2339]	<223>	GPC3A-037 LCDR3

[2340]	<400> 258
[2341]	Gly Thr Trp Asp Tyr Thr Leu Asn Gly Val Val
[2342]	1 5 10
[2343]	<210> 259
[2344]	<211> 11
[2345]	<212> PRT
[2346]	<213> 人工序列
[2347]	<220>
[2348]	<223> GPC3A-038 LCDR3
[2349]	<400> 259
[2350]	Gln Val Trp Asp Ser Ser Ser Asp His Val Val
[2351]	1 5 10
[2352]	<210> 260
[2353]	<211> 11
[2354]	<212> PRT
[2355]	<213> 人工序列
[2356]	<220>
[2357]	<223> GPC3A-039 LCDR3
[2358]	<400> 260
[2359]	Gln Val Trp Asp Ser Ser Ser Asp His Trp Val
[2360]	1 5 10
[2361]	<210> 261
[2362]	<211> 11
[2363]	<212> PRT
[2364]	<213> 人工序列
[2365]	<220>
[2366]	<223> GPC3A-040 LCDR3
[2367]	<400> 261
[2368]	Ala Ala Trp Asp Asp Ser Leu Ser Gly Tyr Val
[2369]	1 5 10
[2370]	<210> 262
[2371]	<211> 11
[2372]	<212> PRT
[2373]	<213> 人工序列
[2374]	<220>
[2375]	<223> GPC3A-041 LCDR3
[2376]	<400> 262
[2377]	Ala Ala Trp Asp Asp Ala Leu Ser Gly Tyr Val
[2378]	1 5 10

[2379]	<210>	263	
[2380]	<211>	11	
[2381]	<212>	PRT	
[2382]	<213>	人工序列	
[2383]	<220>		
[2384]	<223>	GPC3A-042	LCDR3
[2385]	<400>	263	
[2386]	Ala Thr Trp Asp Asp Ser Leu Asn Gly Tyr Val		
[2387]	1	5	10
[2388]	<210>	264	
[2389]	<211>	11	
[2390]	<212>	PRT	
[2391]	<213>	人工序列	
[2392]	<220>		
[2393]	<223>	GPC3A-043	LCDR3
[2394]	<400>	264	
[2395]	Ala Val Trp Asp Asp Ser Leu Ser Gly Val Val		
[2396]	1	5	10
[2397]	<210>	265	
[2398]	<211>	11	
[2399]	<212>	PRT	
[2400]	<213>	人工序列	
[2401]	<220>		
[2402]	<223>	GPC3A-044	LCDR3
[2403]	<400>	265	
[2404]	Gln Val Trp Asp Ser Ser Ser Asp His Val Val		
[2405]	1	5	10
[2406]	<210>	266	
[2407]	<211>	11	
[2408]	<212>	PRT	
[2409]	<213>	人工序列	
[2410]	<220>		
[2411]	<223>	GPC3A-045	LCDR3
[2412]	<400>	266	
[2413]	Ala Ala Trp Asp Asp Ser Leu Asn Gly Val Val		
[2414]	1	5	10
[2415]	<210>	267	
[2416]	<211>	11	
[2417]	<212>	PRT	

[2418] <213> 人工序列
[2419] <220>
[2420] <223> GPC3A-046 LCDR3
[2421] <400> 267
[2422] Ala Ala Trp Asp Asp Ser Leu Thr Gly Val Val
[2423] 1 5 10
[2424] <210> 268
[2425] <211> 11
[2426] <212> PRT
[2427] <213> 人工序列
[2428] <220>
[2429] <223> GPC3A-047 LCDR3
[2430] <400> 268
[2431] Ala Ala Trp Asp Asp Asn Leu Ser Gly Tyr Val
[2432] 1 5 10
[2433] <210> 269
[2434] <211> 11
[2435] <212> PRT
[2436] <213> 人工序列
[2437] <220>
[2438] <223> GPC3A-048 LCDR3
[2439] <400> 269
[2440] Gln Val Trp Asp Ser Ser Ser Asp Arg Gly Val
[2441] 1 5 10
[2442] <210> 270
[2443] <211> 9
[2444] <212> PRT
[2445] <213> 人工序列
[2446] <220>
[2447] <223> GPC3A-049 LCDR3
[2448] <400> 270
[2449] Ala Ala Trp Asp Asp Ser Leu Ser Gly
[2450] 1 5
[2451] <210> 271
[2452] <211> 11
[2453] <212> PRT
[2454] <213> 人工序列
[2455] <220>
[2456] <223> GPC3A-050 LCDR3

[2457]	<400> 271
[2458]	Ala Ala Trp Asp Asp Ser Leu Asn Gly Pro Val
[2459]	1 5 10
[2460]	<210> 272
[2461]	<211> 11
[2462]	<212> PRT
[2463]	<213> 人工序列
[2464]	<220>
[2465]	<223> GPC3A-051 LCDR3
[2466]	<400> 272
[2467]	Gln Ser Tyr Asp Ser Ser Leu Ser Gly Tyr Val
[2468]	1 5 10
[2469]	<210> 273
[2470]	<211> 11
[2471]	<212> PRT
[2472]	<213> 人工序列
[2473]	<220>
[2474]	<223> GPC3A-052 LCDR3
[2475]	<400> 273
[2476]	Ala Ala Trp Asp Asp Ser Leu Ser Gly Tyr Val
[2477]	1 5 10
[2478]	<210> 274
[2479]	<211> 12
[2480]	<212> PRT
[2481]	<213> 人工序列
[2482]	<220>
[2483]	<223> GPC3A-053 LCDR3
[2484]	<400> 274
[2485]	Gln Ser Tyr Asp Ser Ser Leu Ser Gly Ser Asn Val
[2486]	1 5 10
[2487]	<210> 275
[2488]	<211> 11
[2489]	<212> PRT
[2490]	<213> 人工序列
[2491]	<220>
[2492]	<223> GPC3A-054 LCDR3
[2493]	<400> 275
[2494]	Ala Ala Trp Asp Asp Ser Leu Ser Gly Tyr Val
[2495]	1 5 10

[2496] <210> 276
[2497] <211> 11
[2498] <212> PRT
[2499] <213> 人工序列
[2500] <220>
[2501] <223> GPC3A-055 LCDR3
[2502] <400> 276
[2503] Gln Val Trp Asp Ser Ser Ser Asp His Tyr Val
[2504] 1 5 10
[2505] <210> 277
[2506] <211> 9
[2507] <212> PRT
[2508] <213> 人工序列
[2509] <220>
[2510] <223> GPC3A-056 LCDR3
[2511] <400> 277
[2512] Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Ile Thr
[2513] 1 5
[2514] <210> 278
[2515] <211> 11
[2516] <212> PRT
[2517] <213> 人工序列
[2518] <220>
[2519] <223> GPC3A-057 LCDR3
[2520] <400> 278
[2521] Gln Val Trp Asp Ser Ser Ser Asp His Val Val
[2522] 1 5 10
[2523] <210> 279
[2524] <211> 10
[2525] <212> PRT
[2526] <213> 人工序列
[2527] <220>
[2528] <223> GPC3A-058 LCDR3
[2529] <400> 279
[2530] Gln Val Trp Asp Ser Ser Ser Asp His Val
[2531] 1 5 10
[2532] <210> 280
[2533] <211> 10
[2534] <212> PRT

[2535] <213> 人工序列
[2536] <220>
[2537] <223> GPC3A-059 LCDR3
[2538] <400> 280
[2539] Gln Val Trp Asp Ser Ser Ser Asp His Val
[2540] 1 5 10
[2541] <210> 281
[2542] <211> 9
[2543] <212> PRT
[2544] <213> 人工序列
[2545] <220>
[2546] <223> GPC3A-060 LCDR3
[2547] <400> 281
[2548] Gln Thr Trp Asp Ser Ser Thr Ala Ile
[2549] 1 5
[2550] <210> 282
[2551] <211> 11
[2552] <212> PRT
[2553] <213> 人工序列
[2554] <220>
[2555] <223> GPC3A-061 LCDR3
[2556] <400> 282
[2557] Gln Val Trp Asp Ser Ser Ser Asp His Tyr Val
[2558] 1 5 10
[2559] <210> 283
[2560] <211> 12
[2561] <212> PRT
[2562] <213> 人工序列
[2563] <220>
[2564] <223> GPC3A-062 LCDR3
[2565] <400> 283
[2566] Gln Ser Tyr Asp Ser Ser Leu Ser Gly Ser Tyr Val
[2567] 1 5 10
[2568] <210> 284
[2569] <211> 11
[2570] <212> PRT
[2571] <213> 人工序列
[2572] <220>
[2573] <223> GPC3A-063 LCDR3

[2574]	<400> 284
[2575]	Ala Ala Trp Asp Asp Asn Leu Asn Gly Val Val
[2576]	1 5 10
[2577]	<210> 285
[2578]	<211> 11
[2579]	<212> PRT
[2580]	<213> 人工序列
[2581]	<220>
[2582]	<223> GPC3A-064 LCDR3
[2583]	<400> 285
[2584]	Gln Val Trp Asp Arg Ser Ser Ala His Trp Val
[2585]	1 5 10
[2586]	<210> 286
[2587]	<211> 11
[2588]	<212> PRT
[2589]	<213> 人工序列
[2590]	<220>
[2591]	<223> GPC3A-067 LCDR3
[2592]	<400> 286
[2593]	Gln Val Trp Asp Ser Ser Ser Asp His Val Val
[2594]	1 5 10
[2595]	<210> 287
[2596]	<211> 11
[2597]	<212> PRT
[2598]	<213> 人工序列
[2599]	<220>
[2600]	<223> GPC3B-54 LCDR3
[2601]	<400> 287
[2602]	Thr Thr Trp Asp Asp Ser Leu Asn Gly Leu Val
[2603]	1 5 10
[2604]	<210> 288
[2605]	<211> 11
[2606]	<212> PRT
[2607]	<213> 人工序列
[2608]	<220>
[2609]	<223> GPC3B-60 LCDR3
[2610]	<400> 288
[2611]	Gln Thr Trp Asp Ser Pro Thr Gly Leu Phe Val
[2612]	1 5 10

[2613]	<210>	289	
[2614]	<211>	9	
[2615]	<212>	PRT	
[2616]	<213>	人工序列	
[2617]	<220>		
[2618]	<223>	GPC3B-63 LCDR3	
[2619]	<400>	289	
[2620]		Met Gln Ala Leu Gln Thr Pro Pro Thr	
[2621]	1	5	
[2622]	<210>	290	
[2623]	<211>	12	
[2624]	<212>	PRT	
[2625]	<213>	人工序列	
[2626]	<220>		
[2627]	<223>	GPC3B-66 LCDR3	
[2628]	<400>	290	
[2629]		Gln Val Trp Asp Ser Ser Ser Asp His Leu Tyr Val	
[2630]	1	5	10
[2631]	<210>	291	
[2632]	<211>	11	
[2633]	<212>	PRT	
[2634]	<213>	人工序列	
[2635]	<220>		
[2636]	<223>	GPC3B-68 LCDR3	
[2637]	<400>	291	
[2638]		Gly Thr Trp Asp Ser Ser Leu Ser Ala Gly Val	
[2639]	1	5	10
[2640]	<210>	292	
[2641]	<211>	11	
[2642]	<212>	PRT	
[2643]	<213>	人工序列	
[2644]	<220>		
[2645]	<223>	GPC3B-71 LCDR3	
[2646]	<400>	292	
[2647]		Gln Val Trp Asp Ser Ser Ser Asp His Tyr Val	
[2648]	1	5	10
[2649]	<210>	293	
[2650]	<211>	11	
[2651]	<212>	PRT	

[2652] <213> 人工序列
[2653] <220>
[2654] <223> GPC3B-76 LCDR3
[2655] <400> 293
[2656] Gly Thr Trp Asp Ser Ser Leu Ser Ala Gly Val
[2657] 1 5 10
[2658] <210> 294
[2659] <211> 9
[2660] <212> PRT
[2661] <213> 人工序列
[2662] <220>
[2663] <223> GPC3B-78 LCDR3
[2664] <400> 294
[2665] Gln Thr Trp Asp Arg Ser Thr Tyr Val
[2666] 1 5
[2667] <210> 295
[2668] <211> 9
[2669] <212> PRT
[2670] <213> 人工序列
[2671] <220>
[2672] <223> GPC3B-80 LCDR3
[2673] <400> 295
[2674] Ala Ala Trp Asp Asp Ser Leu Asn Gly
[2675] 1 5
[2676] <210> 296
[2677] <211> 12
[2678] <212> PRT
[2679] <213> 人工序列
[2680] <220>
[2681] <223> GPC3B-81 LCDR3
[2682] <400> 296
[2683] Gln Val Trp Asp Ser Ser Ser Asp Leu Leu Tyr Val
[2684] 1 5 10
[2685] <210> 297
[2686] <211> 11
[2687] <212> PRT
[2688] <213> 人工序列
[2689] <220>
[2690] <223> GPC3B-82 LCDR3

[2691]	<400> 297
[2692]	Gln Ser Phe Asp Ser Ser Leu Ser Gly Trp Val
[2693]	1 5 10
[2694]	<210> 298
[2695]	<211> 11
[2696]	<212> PRT
[2697]	<213> 人工序列
[2698]	<220>
[2699]	<223> GPC3B-85 LCDR3
[2700]	<400> 298
[2701]	Ala Ala Trp Asp Asp Ser Leu Asn Gly Tyr Val
[2702]	1 5 10
[2703]	<210> 299
[2704]	<211> 9
[2705]	<212> PRT
[2706]	<213> 人工序列
[2707]	<220>
[2708]	<223> GPC3B-87 LCDR3
[2709]	<400> 299
[2710]	Met Gln Ala Leu Gln Thr Pro Trp Thr
[2711]	1 5
[2712]	<210> 300
[2713]	<211> 10
[2714]	<212> PRT
[2715]	<213> 人工序列
[2716]	<220>
[2717]	<223> GPC3B-92 LCDR3
[2718]	<400> 300
[2719]	Gln Ser Ala Asp Asn Ser Arg Thr Phe Val
[2720]	1 5 10
[2721]	<210> 301
[2722]	<211> 9
[2723]	<212> PRT
[2724]	<213> 人工序列
[2725]	<220>
[2726]	<223> GPC3B-93 LCDR3
[2727]	<400> 301
[2728]	Gln Ser Tyr Asp Ser Ser Asn Trp Val
[2729]	1 5

[2730]	<210>	302
[2731]	<211>	11
[2732]	<212>	PRT
[2733]	<213>	人工序列
[2734]	<220>	
[2735]	<223>	GPC3B-110 LCDR3
[2736]	<400>	302
[2737]	Ala Ala Trp Asp Asp Ser Leu Asn Gly Pro Val	
[2738]	1	5 10
[2739]	<210>	303
[2740]	<211>	11
[2741]	<212>	PRT
[2742]	<213>	人工序列
[2743]	<220>	
[2744]	<223>	GPC3B-113 LCDR3
[2745]	<400>	303
[2746]	Ala Ala Trp Asp Asp Ser Leu Asn Gly Val Leu	
[2747]	1	5 10
[2748]	<210>	304
[2749]	<211>	12
[2750]	<212>	PRT
[2751]	<213>	人工序列
[2752]	<220>	
[2753]	<223>	GPC3B-115 LCDR3
[2754]	<400>	304
[2755]	Gln Val Trp Asp Ser Ser Ser Asp Pro Leu Tyr Val	
[2756]	1	5 10
[2757]	<210>	305
[2758]	<211>	11
[2759]	<212>	PRT
[2760]	<213>	人工序列
[2761]	<220>	
[2762]	<223>	GPC3B-119 LCDR3
[2763]	<400>	305
[2764]	Ala Thr Trp Asp Asn Ser Leu Ser Ala Leu Ile	
[2765]	1	5 10
[2766]	<210>	306
[2767]	<211>	10
[2768]	<212>	PRT

[2769]	<213>	人工序列
[2770]	<220>	
[2771]	<223>	GPC3B-125 LCDR3
[2772]	<400>	306
[2773]	Ser Ser Tyr Thr Ser Ser Thr Thr Val Ile	
[2774]	1	5 10
[2775]	<210>	307
[2776]	<211>	116
[2777]	<212>	PRT
[2778]	<213>	人工序列
[2779]	<220>	
[2780]	<223>	GPC3A-034 VH
[2781]	<400>	307
[2782]	Gln Val Gln Leu Gln Gln Trp Gly Ala Gly Leu Leu Lys Pro Ser Glu	
[2783]	1	5 10 15
[2784]	Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Tyr Gly Gly Ser Phe Ser Gly Tyr	
[2785]	20	25 30
[2786]	Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile	
[2787]	35	40 45
[2788]	Gly Glu Ile Asn His Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Lys	
[2789]	50	55 60
[2790]	Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu	
[2791]	65	70 75 80
[2792]	Glu Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala	
[2793]	85	90 95
[2794]	Arg Gly Tyr Gly Gly Arg Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val	
[2795]	100	105 110
[2796]	Thr Val Ser Ser	
[2797]	115	
[2798]	<210>	308
[2799]	<211>	117
[2800]	<212>	PRT
[2801]	<213>	人工序列
[2802]	<220>	
[2803]	<223>	GPC3A-035 VH
[2804]	<400>	308
[2805]	Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala	
[2806]	1	5 10 15
[2807]	Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Gly Tyr	

[2847]	<213> 人工序列																		
[2848]	<220>																		
[2849]	<223> GPC3A-038 VH																		
[2850]	<400> 310																		
[2851]	Gln	Val	Gln	Leu	Val	Gln	Ser	Gly	Ala	Glu	Val	Lys	Lys	Pro	Gly	Ala			
[2852]	1				5					10					15				
[2853]	Ser	Val	Lys	Val	Ser	Cys	Lys	Ala	Ser	Gly	Tyr	Thr	Phe	Thr	Ser	Tyr			
[2854]				20					25					30					
[2855]	Tyr	Met	His	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Gln	Gly	Leu	Glu	Trp	Met			
[2856]				35				40					45						
[2857]	Gly	Ile	Ile	Asn	Pro	Ser	Gly	Gly	Ser	Thr	Ser	Tyr	Ala	Gln	Lys	Phe			
[2858]		50					55					60							
[2859]	Gln	Gly	Arg	Val	Thr	Met	Thr	Arg	Asp	Thr	Ser	Thr	Ser	Thr	Val	Tyr			
[2860]	65					70					75					80			
[2861]	Met	Glu	Leu	Ser	Ser	Leu	Arg	Ser	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys			
[2862]					85					90					95				
[2863]	Ala	Arg	Lys	Val	Thr	Gly	Tyr	Asp	Ser	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val			
[2864]				100					105					110					
[2865]	Thr	Val	Ser	Ser															
[2866]				115															
[2867]	<210> 311																		
[2868]	<211> 116																		
[2869]	<212> PRT																		
[2870]	<213> 人工序列																		
[2871]	<220>																		
[2872]	<223> GPC3A-039 VH																		
[2873]	<400> 311																		
[2874]	Gln	Val	Gln	Leu	Val	Gln	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val	His	Pro	Gly	Gly			
[2875]	1				5					10					15				
[2876]	Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Gly	Ser	Gly	Phe	Thr	Phe	Ser	Ser	Tyr			
[2877]				20					25					30					
[2878]	Ala	Met	His	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val			
[2879]				35				40					45						
[2880]	Ser	Ala	Ile	Gly	Thr	Gly	Gly	Gly	Thr	Tyr	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val	Lys			
[2881]		50					55					60							
[2882]	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn	Ala	Lys	Asn	Ser	Leu	Tyr	Leu			
[2883]	65					70					75					80			
[2884]	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Ala			
[2885]					85					90					95				

[2886]	Arg Tyr Gly Arg Lys Ser Ile Asp Ala Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
[2887]	100 105 110
[2888]	Thr Val Ser Ser
[2889]	115
[2890]	<210> 312
[2891]	<211> 117
[2892]	<212> PRT
[2893]	<213> 人工序列
[2894]	<220>
[2895]	<223> GPC3A-040 VH
[2896]	<400> 312
[2897]	Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
[2898]	1 5 10 15
[2899]	Ser Val Thr Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Gly Tyr
[2900]	20 25 30
[2901]	Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
[2902]	35 40 45
[2903]	Gly Trp Ile Asn Pro Asn Ser Gly Gly Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
[2904]	50 55 60
[2905]	Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
[2906]	65 70 75 80
[2907]	Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
[2908]	85 90 95
[2909]	Ala Arg Arg Gly Tyr Tyr Gly Tyr Asp Ser Trp Gly Gln Gly Thr Leu
[2910]	100 105 110
[2911]	Val Thr Val Ser Ser
[2912]	115
[2913]	<210> 313
[2914]	<211> 117
[2915]	<212> PRT
[2916]	<213> 人工序列
[2917]	<220>
[2918]	<223> GPC3A-041 VH
[2919]	<400> 313
[2920]	Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
[2921]	1 5 10 15
[2922]	Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Gly Tyr
[2923]	20 25 30
[2924]	Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

[2925]	35	40	45
[2926]	Gly Trp Ile Asn Pro Asn Ser Gly Gly Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe		
[2927]	50	55	60
[2928]	Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr		
[2929]	65	70	75
[2930]	Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys		
[2931]	85	90	95
[2932]	Ala Arg Ser Gly Lys Tyr Tyr Gly Asp Lys Trp Gly Gln Gly Thr Leu		
[2933]	100	105	110
[2934]	Val Thr Val Ser Ser		
[2935]	115		
[2936]	<210> 314		
[2937]	<211> 117		
[2938]	<212> PRT		
[2939]	<213> 人工序列		
[2940]	<220>		
[2941]	<223> GPC3A-042 VH		
[2942]	<400> 314		
[2943]	Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala		
[2944]	1	5	10
[2945]	Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Gly Tyr		
[2946]	20	25	30
[2947]	Tyr Val Tyr Trp Met Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met		
[2948]	35	40	45
[2949]	Gly Trp Met Asn Pro Arg Ser Gly Gly Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe		
[2950]	50	55	60
[2951]	Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr		
[2952]	65	70	75
[2953]	Met Glu Leu Ser Arg Leu Thr Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys		
[2954]	85	90	95
[2955]	Ala Arg Ser Ser Tyr Tyr Trp Ala Asp Ser Trp Gly Gln Gly Thr Leu		
[2956]	100	105	110
[2957]	Val Thr Val Ser Ser		
[2958]	115		
[2959]	<210> 315		
[2960]	<211> 124		
[2961]	<212> PRT		
[2962]	<213> 人工序列		
[2963]	<220>		

[2964]	<223> GPC3A-043 VH															
[2965]	<400> 315															
[2966]	Glu	Val	Gln	Leu	Val	Gln	Ser	Gly	Ala	Glu	Val	Lys	Lys	Pro	Gly	Ala
[2967]	1				5					10					15	
[2968]	Thr	Val	Lys	Val	Ser	Cys	Lys	Val	Ser	Gly	Tyr	Thr	Phe	Thr	Asp	Tyr
[2969]					20					25					30	
[2970]	Tyr	Met	His	Trp	Val	Gln	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Met
[2971]					35					40					45	
[2972]	Gly	Leu	Val	Asp	Pro	Glu	Asp	Gly	Glu	Thr	Ile	Tyr	Ala	Glu	Lys	Phe
[2973]					50					55					60	
[2974]	Gln	Gly	Arg	Val	Thr	Ile	Thr	Ala	Asp	Thr	Ser	Thr	Asp	Thr	Ala	Tyr
[2975]	65									70					75	
[2976]	Met	Glu	Leu	Ser	Ser	Leu	Arg	Ser	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys
[2977]																
[2978]					85					90					95	
[2978]	Ala	Arg	Glu	Leu	Arg	Asp	Val	Ala	Tyr	Tyr	Pro	Trp	Gly	Val	Glu	Asp
[2979]																
[2979]					100					105					110	
[2980]	Phe	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser				
[2981]																
[2981]					115					120						
[2982]	<210> 316															
[2983]	<211> 116															
[2984]	<212> PRT															
[2985]	<213> 人工序列															
[2986]	<220>															
[2987]	<223> GPC3A-044 VH															
[2988]	<400> 316															
[2989]	Gln	Val	Gln	Leu	Gln	Gln	Trp	Gly	Ala	Gly	Leu	Leu	Lys	Pro	Ser	Glu
[2990]	1															
[2990]					5					10					15	
[2991]	Thr	Leu	Ser	Leu	Thr	Cys	Ala	Val	Tyr	Gly	Gly	Ser	Phe	Ser	Gly	Tyr
[2992]																
[2992]					20					25					30	
[2993]	Tyr	Trp	Ser	Trp	Ile	Arg	Gln	Pro	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Ile
[2994]																
[2994]					35					40					45	
[2995]	Gly	Glu	Ile	Asn	His	Ser	Gly	Ser	Thr	Asn	Tyr	Asn	Pro	Ser	Leu	Lys
[2996]																
[2996]					50					55					60	
[2997]	Ser	Arg	Val	Thr	Ile	Ser	Val	Asp	Thr	Ser	Lys	Asn	Gln	Phe	Ser	Leu
[2998]																
[2998]	65									70					75	
[2999]	Lys	Leu	Ser	Ser	Val	Thr	Ala	Ala	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Ala
[3000]																
[3000]																
[3000]					85					90					95	
[3001]	Arg	Tyr	Tyr	Val	Pro	Tyr	Leu	Ser	Asp	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val
[3002]																
[3002]					100					105					110	

[3003]	Thr Val Ser Ser
[3004]	115
[3005]	<210> 317
[3006]	<211> 116
[3007]	<212> PRT
[3008]	<213> 人工序列
[3009]	<220>
[3010]	<223> GPC3A-045 VH
[3011]	<400> 317
[3012]	Gln Met Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
[3013]	1 5 10 15
[3014]	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr
[3015]	20 25 30
[3016]	Tyr Met Ser Trp Ile Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
[3017]	35 40 45
[3018]	Ser Tyr Ile Ser Ser Ser Gly Ser Thr Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
[3019]	50 55 60
[3020]	Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
[3021]	65 70 75 80
[3022]	Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
[3023]	85 90 95
[3024]	Ala Arg Ala Ser Asp Leu Tyr Gly Asp Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
[3025]	100 105 110
[3026]	Thr Val Ser Ser
[3027]	115
[3028]	<210> 318
[3029]	<211> 121
[3030]	<212> PRT
[3031]	<213> 人工序列
[3032]	<220>
[3033]	<223> GPC3A-046 VH
[3034]	<400> 318
[3035]	Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
[3036]	1 5 10 15
[3037]	Ser Val Thr Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Arg Phe Ser Asn Tyr
[3038]	20 25 30
[3039]	Gly Val Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
[3040]	35 40 45
[3041]	Gly Trp Ile Ser Gly Ser Asn Gly Asn Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe

[3042]	50	55	60
[3043]	Leu Gly Arg Val Thr Met Thr Thr Asp Thr Ser Thr Thr Thr Ala Tyr		
[3044]	65	70	75 80
[3045]	Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys		
[3046]	85	90	95
[3047]	Ala Arg Gly Asn Arg Arg Tyr Tyr Ser Pro Ile Ile Asp Pro Trp Gly		
[3048]	100	105	110
[3049]	Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser		
[3050]	115	120	
[3051]	<210> 319		
[3052]	<211> 118		
[3053]	<212> PRT		
[3054]	<213> 人工序列		
[3055]	<220>		
[3056]	<223> GPC3A-047 VH		
[3057]	<400> 319		
[3058]	Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala		
[3059]	1	5	10 15
[3060]	Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Pro Gly Tyr Thr Phe Thr Gly Tyr		
[3061]	20	25	30
[3062]	Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met		
[3063]	35	40	45
[3064]	Gly Trp Ile Asn Pro Asn Ser Gly Gly Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe		
[3065]	50	55	60
[3066]	Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr		
[3067]	65	70	75 80
[3068]	Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys		
[3069]	85	90	95
[3070]	Ala Arg Ser Asp Tyr Gly Ser Leu Tyr Asp Lys Trp Gly Gln Gly Thr		
[3071]	100	105	110
[3072]	Leu Val Thr Val Ser Ser		
[3073]	115		
[3074]	<210> 320		
[3075]	<211> 117		
[3076]	<212> PRT		
[3077]	<213> 人工序列		
[3078]	<220>		
[3079]	<223> GPC3A-048 VH		
[3080]	<400> 320		

[3081]	Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Glu Val Gln Pro Gly Arg
[3082]	1 5 10 15
[3083]	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
[3084]	20 25 30
[3085]	Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
[3086]	35 40 45
[3087]	Ala Val Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
[3088]	50 55 60
[3089]	Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
[3090]	65 70 75 80
[3091]	Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
[3092]	85 90 95
[3093]	Ala Arg Ser Ser Phe Val Ala Thr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
[3094]	100 105 110
[3095]	Val Thr Val Ser Ser
[3096]	115
[3097]	<210> 321
[3098]	<211> 121
[3099]	<212> PRT
[3100]	<213> 人工序列
[3101]	<220>
[3102]	<223> GPC3A-049 VH
[3103]	<400> 321
[3104]	Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Glu Pro Gly Ala
[3105]	1 5 10 15
[3106]	Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Gly Tyr
[3107]	20 25 30
[3108]	Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
[3109]	35 40 45
[3110]	Gly Trp Ile Asn Pro Asn Ser Gly Gly Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
[3111]	50 55 60
[3112]	Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
[3113]	65 70 75 80
[3114]	Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
[3115]	85 90 95
[3116]	Ala Arg His Gly Gly Ile Gly Ser Met Arg Ser Phe Asp Gln Trp Gly
[3117]	100 105 110
[3118]	Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
[3119]	115 120

[3120]	<210> 322																
[3121]	<211> 117																
[3122]	<212> PRT																
[3123]	<213> 人工序列																
[3124]	<220>																
[3125]	<223> GPC3A-050 VH																
[3126]	<400> 322																
[3127]	Gln	Ile	Thr	Leu	Lys	Glu	Ser	Gly	Ala	Glu	Val	Lys	Lys	Pro	Gly	Ala	
[3128]	1				5					10					15		
[3129]	Ser	Val	Lys	Val	Ser	Cys	Lys	Ala	Ser	Gly	Tyr	Ser	Phe	Thr	Gly	Tyr	
[3130]				20					25					30			
[3131]	Tyr	Val	Tyr	Trp	Met	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Met	
[3132]			35					40					45				
[3133]	Gly	Trp	Met	Asn	Pro	Arg	Ser	Gly	Gly	Thr	Asn	Tyr	Ala	Gln	Lys	Phe	
[3134]		50					55					60					
[3135]	Gln	Gly	Arg	Val	Thr	Met	Thr	Arg	Asp	Thr	Ser	Ile	Ser	Thr	Ala	Tyr	
[3136]	65					70					75					80	
[3137]	Met	Glu	Leu	Ser	Arg	Leu	Thr	Ser	Asp	Asp	Thr	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Cys	
[3138]					85					90					95		
[3139]	Ala	Arg	Ser	Gly	Tyr	Arg	Trp	Leu	Asp	Val	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	
[3140]				100					105					110			
[3141]	Val	Thr	Val	Ser	Ser												
[3142]			115														
[3143]	<210> 323																
[3144]	<211> 121																
[3145]	<212> PRT																
[3146]	<213> 人工序列																
[3147]	<220>																
[3148]	<223> GPC3A-051 VH																
[3149]	<400> 323																
[3150]	Gln	Val	Gln	Leu	Val	Gln	Ser	Gly	Ala	Glu	Val	Lys	Lys	Pro	Gly	Ser	
[3151]	1				5					10					15		
[3152]	Ser	Val	Lys	Val	Ser	Cys	Lys	Ala	Ser	Gly	Gly	Ala	Phe	Ser	Ser	Tyr	
[3153]				20					25					30			
[3154]	Ala	Ile	Ser	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Gln	Gly	Leu	Glu	Trp	Met	
[3155]			35					40					45				
[3156]	Gly	Gly	Ile	Ile	Pro	Ile	Phe	Gly	Thr	Ala	Asn	Tyr	Ala	Gln	Lys	Phe	
[3157]		50					55					60					
[3158]	Gln	Gly	Arg	Val	Thr	Ile	Thr	Ala	Asp	Glu	Ser	Thr	Ser	Thr	Ala	Tyr	

[3159]	65	70	75	80
[3160]	Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys			
[3161]	85	90	95	
[3162]	Ala Arg Met Leu Tyr Leu Ser Gly Arg Tyr Tyr Trp Asp Ser Trp Gly			
[3163]	100	105	110	
[3164]	Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser			
[3165]	115	120		
[3166]	<210> 324			
[3167]	<211> 117			
[3168]	<212> PRT			
[3169]	<213> 人工序列			
[3170]	<220>			
[3171]	<223> GPC3A-052 VH			
[3172]	<400> 324			
[3173]	Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala			
[3174]	1 5 10 15			
[3175]	Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Gly Tyr			
[3176]	20 25 30			
[3177]	Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met			
[3178]	35 40 45			
[3179]	Gly Trp Ile Asn Pro Asn Ser Gly Gly Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe			
[3180]	50 55 60			
[3181]	Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr			
[3182]	65 70 75 80			
[3183]	Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys			
[3184]	85 90 95			
[3185]	Ala Arg Ser His Ser Ser Gly Tyr Asp Lys Trp Gly Gln Gly Thr Leu			
[3186]	100 105 110			
[3187]	Val Thr Val Ser Ser			
[3188]	115			
[3189]	<210> 325			
[3190]	<211> 118			
[3191]	<212> PRT			
[3192]	<213> 人工序列			
[3193]	<220>			
[3194]	<223> GPC3A-053 VH			
[3195]	<400> 325			
[3196]	Gln Leu Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu			
[3197]	1 5 10 15			

[3198]	Thr	Leu	Ser	Leu	Thr	Cys	Thr	Val	Ser	Gly	Gly	Ser	Ile	Ser	Ser	Ser
[3199]				20					25					30		
[3200]	Ser	Tyr	Tyr	Trp	Gly	Trp	Ile	Arg	Gln	Pro	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu
[3201]				35				40					45			
[3202]	Trp	Ile	Gly	Ser	Ile	Tyr	Tyr	Ser	Gly	Ser	Thr	Tyr	Tyr	Asn	Pro	Ser
[3203]		50						55				60				
[3204]	Leu	Lys	Ser	Arg	Val	Thr	Ile	Ser	Val	Asp	Thr	Ser	Lys	Asn	Gln	Phe
[3205]	65						70				75				80	
[3206]	Ser	Leu	Lys	Leu	Ser	Ser	Val	Thr	Ala	Ala	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr
[3207]					85					90					95	
[3208]	Cys	Ala	Arg	Trp	Trp	Ser	Gly	Ser	Tyr	Asp	Thr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr
[3209]				100					105					110		
[3210]	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser										
[3211]				115												
[3212]	<210> 326															
[3213]	<211> 119															
[3214]	<212> PRT															
[3215]	<213> 人工序列															
[3216]	<220>															
[3217]	<223> GPC3A-054 VH															
[3218]	<400> 326															
[3219]	Gln	Met	Gln	Leu	Val	Gln	Ser	Gly	Ala	Glu	Val	Lys	Lys	Pro	Gly	Ala
[3220]	1				5					10					15	
[3221]	Ser	Val	Lys	Val	Ser	Cys	Lys	Ala	Ser	Gly	Tyr	Thr	Phe	Thr	Ser	Tyr
[3222]				20					25					30		
[3223]	Gly	Ile	Ser	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Gln	Gly	Leu	Glu	Trp	Met
[3224]			35					40					45			
[3225]	Gly	Trp	Ile	Ser	Ala	Tyr	Asn	Gly	Asn	Thr	Asn	Tyr	Ala	Gln	Lys	Leu
[3226]		50					55					60				
[3227]	Gln	Gly	Arg	Val	Thr	Met	Thr	Thr	Asp	Thr	Ser	Thr	Ser	Thr	Ala	Tyr
[3228]	65					70					75				80	
[3229]	Met	Glu	Leu	Arg	Ser	Leu	Arg	Ser	Asp	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys
[3230]				85					90					95		
[3231]	Ala	Arg	Ile	Pro	Met	Tyr	Ser	Gly	Ser	Ser	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly
[3232]				100					105					110		
[3233]	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser									
[3234]				115												
[3235]	<210> 327															
[3236]	<211> 117															

[3237]	<212>	PRT
[3238]	<213>	人工序列
[3239]	<220>	
[3240]	<223>	GPC3A-055 VH
[3241]	<400>	327
[3242]	Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala	
[3243]	1 5 10 15	
[3244]	Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr	
[3245]	20 25 30	
[3246]	Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met	
[3247]	35 40 45	
[3248]	Gly Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe	
[3249]	50 55 60	
[3250]	Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr	
[3251]	65 70 75 80	
[3252]	Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys	
[3253]	85 90 95	
[3254]	Ala Arg Trp His Gly Gly Pro Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu	
[3255]	100 105 110	
[3256]	Val Thr Val Ser Ser	
[3257]	115	
[3258]	<210>	328
[3259]	<211>	122
[3260]	<212>	PRT
[3261]	<213>	人工序列
[3262]	<220>	
[3263]	<223>	GPC3A-056 VH
[3264]	<400>	328
[3265]	Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Phe Gly Ala	
[3266]	1 5 10 15	
[3267]	Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Asn Asp Tyr	
[3268]	20 25 30	
[3269]	Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met	
[3270]	35 40 45	
[3271]	Gly Trp Ile Asn Pro Asn Asn Gly Asp Thr Lys Tyr Glu Lys Lys Trp	
[3272]	50 55 60	
[3273]	Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Thr Thr Ala Tyr	
[3274]	65 70 75 80	
[3275]	Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys	

[3276]		85		90		95
[3277]	Ala Arg Phe Ser Thr His Asn Trp Trp Trp Pro Thr Tyr Asp Tyr Trp					
[3278]		100		105		110
[3279]	Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser					
[3280]		115		120		
[3281]	<210> 329					
[3282]	<211> 120					
[3283]	<212> PRT					
[3284]	<213> 人工序列					
[3285]	<220>					
[3286]	<223> GPC3A-057 VH					
[3287]	<400> 329					
[3288]	Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Ile Gln Pro Gly Gly					
[3289]	1	5		10		15
[3290]	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr					
[3291]		20		25		30
[3292]	Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val					
[3293]		35		40		45
[3294]	Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val					
[3295]	50		55		60	
[3296]	Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr					
[3297]	65		70		75	80
[3298]	Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys					
[3299]		85		90		95
[3300]	Ala Arg Tyr Asn Tyr Met Ser Ser Gly Phe Tyr Asp Arg Trp Gly Gln					
[3301]		100		105		110
[3302]	Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser					
[3303]		115		120		
[3304]	<210> 330					
[3305]	<211> 120					
[3306]	<212> PRT					
[3307]	<213> 人工序列					
[3308]	<220>					
[3309]	<223> GPC3A-058 VH					
[3310]	<400> 330					
[3311]	Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Asp Val Arg Lys Pro Gly Ala					
[3312]	1	5		10		15
[3313]	Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Ala Ser His					
[3314]		20		25		30

[3315]	Gly	Ile	Ser	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Gln	Gly	Leu	Glu	Trp	Leu
[3316]				35				40					45			
[3317]	Gly	Trp	Ile	Ser	Pro	Tyr	Thr	Gly	Asn	Thr	Asn	Tyr	Ala	Gln	Lys	Phe
[3318]			50				55					60				
[3319]	Gln	Gly	Arg	Val	Thr	Met	Ala	Thr	Asp	Thr	Ser	Thr	Ser	Thr	Ala	Tyr
[3320]	65					70					75					80
[3321]	Met	Glu	Leu	Arg	Ser	Leu	Arg	Ser	Asp	Asp	Thr	Ala	Ile	Tyr	Tyr	Cys
[3322]					85					90					95	
[3323]	Ala	Arg	Gly	Lys	Arg	Thr	Leu	Ala	Ser	Cys	Phe	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln
[3324]				100					105					110		
[3325]	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser								
[3326]				115				120								
[3327]	<210> 331															
[3328]	<211> 117															
[3329]	<212> PRT															
[3330]	<213> 人工序列															
[3331]	<220>															
[3332]	<223> GPC3A-059 VH															
[3333]	<400> 331															
[3334]	Gln	Val	Gln	Leu	Val	Gln	Ser	Gly	Ala	Glu	Val	Lys	Lys	Pro	Gly	Ala
[3335]	1				5					10					15	
[3336]	Ser	Val	Thr	Val	Ser	Cys	Lys	Ala	Ser	Gly	Tyr	Thr	Phe	Thr	Arg	Tyr
[3337]				20					25					30		
[3338]	Gly	Ile	Thr	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Gln	Gly	Leu	Glu	Trp	Met
[3339]			35					40					45			
[3340]	Gly	Trp	Ile	Ser	Ala	Tyr	Ser	Asp	Lys	Thr	Asn	Tyr	Ala	Gln	Lys	Leu
[3341]		50					55					60				
[3342]	Gln	Gly	Arg	Val	Thr	Met	Thr	Thr	Asp	Ile	Ser	Thr	Asn	Thr	Ala	Tyr
[3343]	65					70					75					80
[3344]	Met	Glu	Leu	Ser	Ser	Leu	Arg	Ser	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys
[3345]					85					90					95	
[3346]	Ala	Arg	Ser	Arg	Trp	Ser	Tyr	Met	Asp	Val	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu
[3347]				100					105					110		
[3348]	Val	Thr	Val	Ser	Ser											
[3349]				115												
[3350]	<210> 332															
[3351]	<211> 119															
[3352]	<212> PRT															
[3353]	<213> 人工序列															

[3354]	<220>
[3355]	<223> GPC3A-060 VH
[3356]	<400> 332
[3357]	Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
[3358]	1 5 10 15
[3359]	Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Asn Ser Tyr
[3360]	20 25 30
[3361]	Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
[3362]	35 40 45
[3363]	Gly Trp Ile Ser Ala Tyr Asn Gly Asn Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Leu
[3364]	50 55 60
[3365]	Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Thr Asp Thr Ser Thr Asn Thr Ala Phe
[3366]	65 70 75 80
[3367]	Met Glu Leu Arg Ser Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
[3368]	85 90 95
[3369]	Ala Arg Glu Gly Tyr Gly Ser Trp Ala Met Asp Gln Trp Gly Gln Gly
[3370]	100 105 110
[3371]	Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
[3372]	115
[3373]	<210> 333
[3374]	<211> 117
[3375]	<212> PRT
[3376]	<213> 人工序列
[3377]	<220>
[3378]	<223> GPC3A-061 VH
[3379]	<400> 333
[3380]	Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
[3381]	1 5 10 15
[3382]	Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
[3383]	20 25 30
[3384]	Gly Ile Ser Trp Val Arg Gln Thr Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
[3385]	35 40 45
[3386]	Gly Trp Ile Ser Ala Tyr Asn Gly Asn Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Leu
[3387]	50 55 60
[3388]	Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Thr Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
[3389]	65 70 75 80
[3390]	Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
[3391]	85 90 95
[3392]	Ala Arg Lys Gly Ser Ser Gln Phe Asp Gln Trp Gly Gln Gly Thr Leu

[3393]	100	105	110
[3394]	Val Thr Val Ser Ser		
[3395]	115		
[3396]	<210> 334		
[3397]	<211> 123		
[3398]	<212> PRT		
[3399]	<213> 人工序列		
[3400]	<220>		
[3401]	<223> GPC3A-062 VH		
[3402]	<400> 334		
[3403]	Gln Met Gln Leu Val Gln Ser Gly Ser Glu Leu Lys Lys Pro Gly Ala		
[3404]	1 5 10 15		
[3405]	Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr		
[3406]	20 25 30		
[3407]	Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met		
[3408]	35 40 45		
[3409]	Gly Gly Ile Ile Pro Lys Ile Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe		
[3410]	50 55 60		
[3411]	Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr		
[3412]	65 70 75 80		
[3413]	Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys		
[3414]	85 90 95		
[3415]	Ala Arg Met Tyr Met Asp Met Gly Trp Gly Trp Gly Tyr Trp Asp Trp		
[3416]	100 105 110		
[3417]	Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser		
[3418]	115 120		
[3419]	<210> 335		
[3420]	<211> 119		
[3421]	<212> PRT		
[3422]	<213> 人工序列		
[3423]	<220>		
[3424]	<223> GPC3A-063 VH		
[3425]	<400> 335		
[3426]	Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala		
[3427]	1 5 10 15		
[3428]	Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr		
[3429]	20 25 30		
[3430]	Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met		
[3431]	35 40 45		

[3432]	Gly Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Ala Ser Tyr Ala Gln Lys Phe
[3433]	50 55 60
[3434]	Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr
[3435]	65 70 75 80
[3436]	Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
[3437]	85 90 95
[3438]	Ala Arg Asp Arg Leu Ala Ser Asp Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly
[3439]	100 105 110
[3440]	Thr Met Val Thr Val Ser Ser
[3441]	115
[3442]	<210> 336
[3443]	<211> 120
[3444]	<212> PRT
[3445]	<213> 人工序列
[3446]	<220>
[3447]	<223> GPC3A-064 VH
[3448]	<400> 336
[3449]	Gln Met Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
[3450]	1 5 10 15
[3451]	Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ile Tyr
[3452]	20 25 30
[3453]	Gly Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
[3454]	35 40 45
[3455]	Gly Trp Ile Ser Pro Tyr Asn Asp Asn Thr Ile Tyr Ala Gln Lys Val
[3456]	50 55 60
[3457]	Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Thr Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
[3458]	65 70 75 80
[3459]	Met Glu Leu Arg Ser Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
[3460]	85 90 95
[3461]	Ala Arg Met Gly Val Gly Trp Gly Tyr Ala Gln Asp Ser Trp Gly Gln
[3462]	100 105 110
[3463]	Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
[3464]	115 120
[3465]	<210> 337
[3466]	<211> 116
[3467]	<212> PRT
[3468]	<213> 人工序列
[3469]	<220>
[3470]	<223> GPC3A-067 VH

[3471]	<400>	337																	
[3472]	Glu	Val	Gln	Leu	Val	Gln	Ser	Gly	Ala	Glu	Val	Lys	Lys	Pro	Gly	Ser			
[3473]	1				5					10					15				
[3474]	Ser	Val	Lys	Val	Ser	Cys	Lys	Ala	Ser	Gly	Gly	Thr	Phe	Ser	Ser	Tyr			
[3475]					20				25					30					
[3476]	Ala	Ile	Ser	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Gln	Gly	Leu	Glu	Trp	Met			
[3477]					35				40					45					
[3478]	Gly	Arg	Ile	Ile	Pro	Ile	Phe	Gly	Ile	Thr	Asn	Tyr	Ala	Gln	Lys	Phe			
[3479]					50				55				60						
[3480]	Gln	Gly	Arg	Val	Thr	Ile	Thr	Ala	Asp	Lys	Ser	Thr	Ser	Thr	Ala	Tyr			
[3481]	65					70					75				80				
[3482]	Met	Glu	Leu	Ser	Ser	Leu	Arg	Ser	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys			
[3483]					85					90				95					
[3484]	Ala	Arg	Gly	Ala	Glu	Met	Ser	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val			
[3485]					100				105					110					
[3486]	Thr	Val	Ser	Ser															
[3487]					115														
[3488]	<210>	338																	
[3489]	<211>	120																	
[3490]	<212>	PRT																	
[3491]	<213>	人工序列																	
[3492]	<220>																		
[3493]	<223>	GPC3B-54 VH																	
[3494]	<400>	338																	
[3495]	Glu	Val	Gln	Leu	Val	Gln	Ser	Gly	Ala	Glu	Val	Lys	Lys	Pro	Gly	Ala			
[3496]	1				5					10					15				
[3497]	Ser	Val	Lys	Leu	Ser	Cys	Lys	Thr	Ser	Gly	Tyr	Thr	Phe	Ile	Asp	Tyr			
[3498]					20					25				30					
[3499]	Tyr	Val	Tyr	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Gln	Gly	Leu	Glu	Trp	Met			
[3500]					35					40				45					
[3501]	Gly	Gly	Ile	Ile	Pro	Ile	Phe	Gly	Thr	Ala	Asn	Tyr	Ala	Gln	Lys	Phe			
[3502]					50					55				60					
[3503]	Gln	Gly	Arg	Val	Thr	Ile	Thr	Ala	Asp	Lys	Ser	Thr	Ser	Thr	Ala	Tyr			
[3504]	65					70					75				80				
[3505]	Met	Glu	Leu	Ser	Ser	Leu	Gly	Ser	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys			
[3506]					85					90				95					
[3507]	Ala	Arg	Glu	Arg	Arg	Tyr	Ser	Ser	Ser	Pro	Ser	Asp	His	Trp	Gly	Gln			
[3508]					100					105				110					
[3509]	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser											

[3510]	115	120
[3511]	<210> 339	
[3512]	<211> 119	
[3513]	<212> PRT	
[3514]	<213> 人工序列	
[3515]	<220>	
[3516]	<223> GPC3B-60 VH	
[3517]	<400> 339	
[3518]	Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala	
[3519]	1 5 10 15	
[3520]	Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr	
[3521]	20 25 30	
[3522]	Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met	
[3523]	35 40 45	
[3524]	Gly Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe	
[3525]	50 55 60	
[3526]	Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr	
[3527]	65 70 75 80	
[3528]	Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys	
[3529]	85 90 95	
[3530]	Ala Arg Ser Leu Tyr Ser Gln Pro Tyr Ile Asp Gly Trp Ser Gln Gly	
[3531]	100 105 110	
[3532]	Thr Leu Val Thr Val Ser Ser	
[3533]	115	
[3534]	<210> 340	
[3535]	<211> 122	
[3536]	<212> PRT	
[3537]	<213> 人工序列	
[3538]	<220>	
[3539]	<223> GPC3B-63 VH	
[3540]	<400> 340	
[3541]	Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala	
[3542]	1 5 10 15	
[3543]	Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr	
[3544]	20 25 30	
[3545]	Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met	
[3546]	35 40 45	
[3547]	Gly Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe	
[3548]	50 55 60	

[3549]	Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr
[3550]	65 70 75 80
[3551]	Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
[3552]	85 90 95
[3553]	Ala Arg Ser Leu His Ala Met Arg Trp Ser Gln Thr Met Asp Ser Trp
[3554]	100 105 110
[3555]	Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
[3556]	115 120
[3557]	<210> 341
[3558]	<211> 118
[3559]	<212> PRT
[3560]	<213> 人工序列
[3561]	<220>
[3562]	<223> GPC3B-66 VH
[3563]	<400> 341
[3564]	Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Arg Pro Gly Ala
[3565]	1 5 10 15
[3566]	Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Ile Gly Gln
[3567]	20 25 30
[3568]	Tyr Leu His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
[3569]	35 40 45
[3570]	Gly Arg Ile Asn Pro Met Thr Gly Val Thr Asn Tyr Ala Pro Lys Phe
[3571]	50 55 60
[3572]	Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Gly Tyr
[3573]	65 70 75 80
[3574]	Met Glu Ile Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
[3575]	85 90 95
[3576]	Ala Arg Phe Ser Ser Gly Tyr Ser Arg Asp Thr Trp Gly Gln Gly Thr
[3577]	100 105 110
[3578]	Leu Val Thr Val Ser Ser
[3579]	115
[3580]	<210> 342
[3581]	<211> 117
[3582]	<212> PRT
[3583]	<213> 人工序列
[3584]	<220>
[3585]	<223> GPC3B-68 VH
[3586]	<400> 342
[3587]	Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser

[3588]	1	5	10	15
[3589]	Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr			
[3590]	20	25	30	
[3591]	Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met			
[3592]	35	40	45	
[3593]	Gly Arg Ile Ile Pro Ile Leu Gly Ile Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe			
[3594]	50	55	60	
[3595]	Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr			
[3596]	65	70	75	80
[3597]	Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys			
[3598]	85	90	95	
[3599]	Ala Arg Tyr Gly Tyr Glu Gly His Asp Thr Trp Gly Gln Gly Thr Leu			
[3600]	100	105	110	
[3601]	Val Thr Val Ser Ser			
[3602]	115			
[3603]	<210> 343			
[3604]	<211> 120			
[3605]	<212> PRT			
[3606]	<213> 人工序列			
[3607]	<220>			
[3608]	<223> GPC3B-71 VH			
[3609]	<400> 343			
[3610]	Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly			
[3611]	1	5	10	15
[3612]	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Arg Tyr			
[3613]	20	25	30	
[3614]	Thr Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val			
[3615]	35	40	45	
[3616]	Ser Ser Ile Ser Ser Ser Gly Ser Tyr Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val			
[3617]	50	55	60	
[3618]	Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Phe			
[3619]	65	70	75	80
[3620]	Leu Gln Met Asp Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys			
[3621]	85	90	95	
[3622]	Ala Arg Gln Gly His Met Trp Tyr Val Pro Val Asp Ala Trp Gly Gln			
[3623]	100	105	110	
[3624]	Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser			
[3625]	115	120		
[3626]	<210> 344			

[3627]	<211>	112
[3628]	<212>	PRT
[3629]	<213>	人工序列
[3630]	<220>	
[3631]	<223>	GPC3B-76 VH
[3632]	<400>	344
[3633]	Gln Met Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Glu Pro Gly Ala	
[3634]	1	5 10 15
[3635]	Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr	
[3636]	20	25 30
[3637]	Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met	
[3638]	35	40 45
[3639]	Gly Trp Ile Asn Pro Asn Ser Gly Gly Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe	
[3640]	50	55 60
[3641]	Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr	
[3642]	65	70 75 80
[3643]	Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys	
[3644]	85	90 95
[3645]	Ala Arg Asn Tyr Asp Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser	
[3646]	100	105 110
[3647]	<210>	345
[3648]	<211>	117
[3649]	<212>	PRT
[3650]	<213>	人工序列
[3651]	<220>	
[3652]	<223>	GPC3B-78 VH
[3653]	<400>	345
[3654]	Gln Met Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala	
[3655]	1	5 10 15
[3656]	Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr	
[3657]	20	25 30
[3658]	Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met	
[3659]	35	40 45
[3660]	Gly Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe	
[3661]	50	55 60
[3662]	Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr	
[3663]	65	70 75 80
[3664]	Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys	
[3665]	85	90 95

[3666]	Ala Arg Gly Tyr Ser Ser Phe Phe Asp Ser Trp Gly Gln Gly Thr Leu
[3667]	100 105 110
[3668]	Val Thr Val Ser Ser
[3669]	115
[3670]	<210> 346
[3671]	<211> 122
[3672]	<212> PRT
[3673]	<213> 人工序列
[3674]	<220>
[3675]	<223> GPC3B-80 VH
[3676]	<400> 346
[3677]	Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
[3678]	1 5 10 15
[3679]	Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Leu Ser Arg Phe
[3680]	20 25 30
[3681]	Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
[3682]	35 40 45
[3683]	Gly Gly Ile Ile Pro Ile Phe Arg Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
[3684]	50 55 60
[3685]	Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
[3686]	65 70 75 80
[3687]	Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
[3688]	85 90 95
[3689]	Ala Arg Met Ser Lys Tyr Tyr Gly Ser Tyr Ser Ser Tyr Asp Glu Trp
[3690]	100 105 110
[3691]	Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
[3692]	115 120
[3693]	<210> 347
[3694]	<211> 114
[3695]	<212> PRT
[3696]	<213> 人工序列
[3697]	<220>
[3698]	<223> GPC3B-81 VH
[3699]	<400> 347
[3700]	Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
[3701]	1 5 10 15
[3702]	Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Gly Tyr
[3703]	20 25 30
[3704]	Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

[3705]	35	40	45
[3706]	Gly Arg Ile Asn Pro Asn Ser Gly Gly Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe		
[3707]	50	55	60
[3708]	Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr		
[3709]	65	70	75
[3710]	Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys		
[3711]	85	90	95
[3712]	Ala Arg Gly Leu Trp Asp Ser Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val		
[3713]	100	105	110
[3714]	Ser Ser		
[3715]	<210> 348		
[3716]	<211> 121		
[3717]	<212> PRT		
[3718]	<213> 人工序列		
[3719]	<220>		
[3720]	<223> GPC3B-82 VH		
[3721]	<400> 348		
[3722]	Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Glu		
[3723]	1	5	10
[3724]	Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Tyr		
[3725]	20	25	30
[3726]	Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met		
[3727]	35	40	45
[3728]	Gly Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe		
[3729]	50	55	60
[3730]	Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr		
[3731]	65	70	75
[3732]	Met Glu Met Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys		
[3733]	85	90	95
[3734]	Ala Arg Tyr Pro Val Tyr Met Glu Thr Ser Asp Phe Asp Ser Trp Gly		
[3735]	100	105	110
[3736]	Ser Arg Tyr Ser Gly Asp Arg Leu Leu		
[3737]	115	120	
[3738]	<210> 349		
[3739]	<211> 125		
[3740]	<212> PRT		
[3741]	<213> 人工序列		
[3742]	<220>		
[3743]	<223> GPC3B-85 VH		

[3744]	<400>	349
[3745]	Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ser Glu Leu Lys Lys Pro Gly Ala	
[3746]	1	51015
[3747]	Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr	
[3748]		202530
[3749]	Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met	
[3750]		354045
[3751]	Gly Trp Ile Asn Thr Asn Thr Gly Asn Pro Thr Tyr Ala Gln Gly Phe	
[3752]		505560
[3753]	Thr Gly Arg Phe Val Phe Ser Leu Asp Thr Ser Val Ser Thr Ala Tyr	
[3754]	65	707580
[3755]	Leu Gln Ile Ser Ser Leu Lys Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys	
[3756]		859095
[3757]	Ala Arg Ser Ser Leu Tyr Trp Met Gly Ser Lys Trp Ser Arg Gln Thr	
[3758]		100105110
[3759]	Asp Met Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser	
[3760]		115120125
[3761]	<210>	350
[3762]	<211>	113
[3763]	<212>	PRT
[3764]	<213>	人工序列
[3765]	<220>	
[3766]	<223>	GPC3B-87 VH
[3767]	<400>	350
[3768]	Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Arg Lys Pro Gly Ser	
[3769]	1	51015
[3770]	Ser Val Lys Val Ser Cys Gln Ala Ser Gly Gly Thr Phe Gly Ser Tyr	
[3771]		202530
[3772]	Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met	
[3773]		354045
[3774]	Gly Arg Ile Ile Pro Val Leu Gly Arg Thr Lys Tyr Ala Gln Lys Phe	
[3775]		505560
[3776]	Gln Gly Arg Val Thr Val Thr Ala Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr	
[3777]	65	707580
[3778]	Met Glu Leu Thr Ser Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys	
[3779]		859095
[3780]	Ala Arg Thr Asn Asp Ser Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser	
[3781]		100105110
[3782]	Ser	

[3783]	<210> 351															
[3784]	<211> 120															
[3785]	<212> PRT															
[3786]	<213> 人工序列															
[3787]	<220>															
[3788]	<223> GPC3B-92 VH															
[3789]	<400> 351															
[3790]	Glu	Val	Gln	Leu	Val	Gln	Ser	Gly	Ala	Glu	Val	Lys	Lys	Pro	Gly	Ala
[3791]	1				5					10					15	
[3792]	Ser	Val	Lys	Val	Ser	Cys	Lys	Ala	Ser	Gly	Tyr	Thr	Phe	Ser	Asn	Tyr
[3793]				20					25					30		
[3794]	Tyr	Met	His	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Gln	Gly	Leu	Glu	Trp	Met
[3795]			35					40					45			
[3796]	Gly	Ile	Ile	Asn	Pro	Ser	Gly	Gly	Thr	Thr	Thr	Tyr	Ala	Gln	Lys	Phe
[3797]		50					55					60				
[3798]	Gln	Gly	Arg	Val	Thr	Met	Thr	Arg	Asp	Thr	Ser	Thr	Ser	Thr	Val	Tyr
[3799]	65					70					75					80
[3800]	Met	Glu	Leu	Ser	Ser	Leu	Arg	Ser	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys
[3801]					85					90					95	
[3802]	Ala	Arg	Pro	Ser	Met	Trp	Thr	Ser	Ser	Met	Gly	Asp	Val	Trp	Gly	Gln
[3803]				100					105					110		
[3804]	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser								
[3805]			115					120								
[3806]	<210> 352															
[3807]	<211> 123															
[3808]	<212> PRT															
[3809]	<213> 人工序列															
[3810]	<220>															
[3811]	<223> GPC3B-93 VH															
[3812]	<400> 352															
[3813]	Glu	Val	Gln	Leu	Val	Gln	Ser	Gly	Ala	Glu	Val	Lys	Lys	Pro	Gly	Ala
[3814]	1				5					10					15	
[3815]	Ser	Val	Lys	Val	Ser	Cys	Lys	Ala	Ser	Gly	Tyr	Thr	Phe	Thr	Ser	Tyr
[3816]				20					25					30		
[3817]	Tyr	Met	His	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Gln	Gly	Leu	Glu	Trp	Met
[3818]			35					40					45			
[3819]	Gly	Ile	Ile	Asn	Pro	Ser	Gly	Gly	Ser	Thr	Arg	Tyr	Ala	Gln	Lys	Phe
[3820]		50					55					60				
[3821]	Gln	Gly	Arg	Val	Thr	Met	Thr	Arg	Asp	Thr	Ser	Thr	Ser	Thr	Val	Tyr

[3822]	65	70	75	80
[3823]	Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys			
[3824]	85	90	95	
[3825]	Ala Arg Tyr Thr Ala Leu Lys Pro Arg Gly Ile Tyr Ser Val Asp Ser			
[3826]	100	105	110	
[3827]	Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser			
[3828]	115	120		
[3829]	<210> 353			
[3830]	<211> 125			
[3831]	<212> PRT			
[3832]	<213> 人工序列			
[3833]	<220>			
[3834]	<223> GPC3B-110 VH			
[3835]	<400> 353			
[3836]	Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser			
[3837]	1 5 10 15			
[3838]	Ser Val Lys Val Ser Cys Gln Ala Ser Gly Gly Thr Phe Thr Thr Tyr			
[3839]	20 25 30			
[3840]	Ser Ile Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met			
[3841]	35 40 45			
[3842]	Gly Gly Ile Ile Pro Thr Phe Gly Thr Thr Asn Tyr Ala Gln Asn Phe			
[3843]	50 55 60			
[3844]	Gln Asp Arg Val Thr Ile Ser Ala Asp Glu Ser Thr Asn Thr Ala Tyr			
[3845]	65 70 75 80			
[3846]	Met Glu Leu Thr Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys			
[3847]	85 90 95			
[3848]	Ala Arg Tyr Tyr Trp Arg Gly Gly Ser Gly Gln Gly Ser Val Thr Ser			
[3849]	100 105 110			
[3850]	Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser			
[3851]	115 120 125			
[3852]	<210> 354			
[3853]	<211> 114			
[3854]	<212> PRT			
[3855]	<213> 人工序列			
[3856]	<220>			
[3857]	<223> GPC3B-113 VH			
[3858]	<400> 354			
[3859]	Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala			
[3860]	1 5 10 15			

[3861]	Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Val Ser Gly Tyr Thr Leu Thr Glu Leu
[3862]	20 25 30
[3863]	Ser Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met
[3864]	35 40 45
[3865]	Gly Gly Phe Asp Pro Glu Asp Gly Glu Thr Ile Tyr Ala Gln Lys Phe
[3866]	50 55 60
[3867]	Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Glu Asp Thr Ser Thr Asp Thr Ala Tyr
[3868]	65 70 75 80
[3869]	Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
[3870]	85 90 95
[3871]	Ala Arg Tyr Ser Gly Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val
[3872]	100 105 110
[3873]	Ser Ser
[3874]	<210> 355
[3875]	<211> 120
[3876]	<212> PRT
[3877]	<213> 人工序列
[3878]	<220>
[3879]	<223> GPC3B-115 VH
[3880]	<400> 355
[3881]	Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Arg Pro Gly Ala
[3882]	1 5 10 15
[3883]	Thr Ile Lys Val Ser Cys Lys Thr Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ala Tyr
[3884]	20 25 30
[3885]	Tyr Thr His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Val
[3886]	35 40 45
[3887]	Gly Arg Ile Asn Ala Asn Thr Gly Gly Thr Asp Tyr Ala Pro Lys Phe
[3888]	50 55 60
[3889]	Arg Asp Arg Val Ile Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
[3890]	65 70 75 80
[3891]	Met Glu Leu Gly Arg Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
[3892]	85 90 95
[3893]	Ala Arg Ile Ser Gly Tyr His Ser Ser Gly Trp Asp Tyr Trp Gly Gln
[3894]	100 105 110
[3895]	Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
[3896]	115 120
[3897]	<210> 356
[3898]	<211> 117
[3899]	<212> PRT

[3900]	<213> 人工序列																		
[3901]	<220>																		
[3902]	<223> GPC3B-119 VH																		
[3903]	<400> 356																		
[3904]	Gln	Val	Gln	Leu	Val	Gln	Ser	Gly	Ser	Glu	Leu	Lys	Lys	Pro	Gly	Ala			
[3905]	1				5					10					15				
[3906]	Ser	Val	Lys	Val	Ser	Cys	Lys	Ala	Ser	Gly	Tyr	Thr	Phe	Thr	Ser	Tyr			
[3907]					20					25					30				
[3908]	Ala	Met	Asn	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Gln	Gly	Leu	Glu	Trp	Met			
[3909]					35					40					45				
[3910]	Gly	Trp	Ile	Asn	Thr	Asn	Thr	Gly	Asn	Pro	Thr	Tyr	Ala	Gln	Gly	Phe			
[3911]					50					55					60				
[3912]	Thr	Gly	Arg	Phe	Val	Phe	Ser	Leu	Asp	Thr	Ser	Val	Ser	Thr	Ala	Tyr			
[3913]	65					70					75					80			
[3914]	Leu	Gln	Ile	Ser	Ser	Leu	Lys	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys			
[3915]					85					90					95				
[3916]	Ala	Arg	Gly	Tyr	Tyr	Gly	Lys	Tyr	Asp	Lys	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu			
[3917]					100					105					110				
[3918]	Val	Thr	Val	Ser	Ser														
[3919]					115														
[3920]	<210> 357																		
[3921]	<211> 114																		
[3922]	<212> PRT																		
[3923]	<213> 人工序列																		
[3924]	<220>																		
[3925]	<223> GPC3B-125 VH																		
[3926]	<400> 357																		
[3927]	Gln	Met	Gln	Leu	Val	Gln	Ser	Gly	Ser	Glu	Leu	Lys	Lys	Pro	Gly	Ala			
[3928]	1				5					10					15				
[3929]	Ser	Val	Lys	Val	Ser	Cys	Lys	Ala	Ser	Gly	Tyr	Thr	Phe	Thr	Ser	Tyr			
[3930]					20					25					30				
[3931]	Ala	Met	Asn	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Gln	Gly	Leu	Glu	Trp	Met			
[3932]					35					40					45				
[3933]	Gly	Trp	Ile	Asn	Thr	Asn	Thr	Gly	Asn	Pro	Thr	Tyr	Ala	Gln	Gly	Phe			
[3934]					50					55					60				
[3935]	Thr	Gly	Arg	Phe	Val	Phe	Ser	Leu	Asp	Thr	Ser	Val	Ser	Thr	Ala	Tyr			
[3936]	65					70					75					80			
[3937]	Leu	Gln	Ile	Ser	Ser	Leu	Lys	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys			
[3938]					85					90					95				

[3939]	Ala Arg Gln Ser His Asp Glu Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val
[3940]	100 105 110
[3941]	Ser Ser
[3942]	<210> 358
[3943]	<211> 111
[3944]	<212> PRT
[3945]	<213> 人工序列
[3946]	<220>
[3947]	<223> GPC3A-034 VL
[3948]	<400> 358
[3949]	Gln Pro Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Thr Pro Gly Gln
[3950]	1 5 10 15
[3951]	Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ser Asn
[3952]	20 25 30
[3953]	Asn Val Ile Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Ala Ala Pro Lys Leu Leu
[3954]	35 40 45
[3955]	Ile Tyr Ser Asn His Arg Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser
[3956]	50 55 60
[3957]	Gly Ser Arg Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Gln
[3958]	65 70 75 80
[3959]	Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Ala Trp Asp Asp Ser Leu
[3960]	85 90 95
[3961]	Asp Gly Tyr Leu Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly
[3962]	100 105 110
[3963]	<210> 359
[3964]	<211> 111
[3965]	<212> PRT
[3966]	<213> 人工序列
[3967]	<220>
[3968]	<223> GPC3A-035 VL
[3969]	<400> 359
[3970]	Gln Ala Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gln Thr Pro Gly Gln
[3971]	1 5 10 15
[3972]	Met Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Thr Ser Ser Asn Ile Gly Ser Asn
[3973]	20 25 30
[3974]	Tyr Val Phe Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
[3975]	35 40 45
[3976]	Ile Tyr Lys Asn Phe Gln Arg Pro Ser Gly Val Pro Gly Arg Phe Ser
[3977]	50 55 60

[3978]	Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ala Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Arg
[3979]	65 70 75 80
[3980]	Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Phe Cys Ala Ala Trp Asp Asp Ala Leu
[3981]	85 90 95
[3982]	Ser Gly Tyr Val Phe Gly Ala Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly
[3983]	100 105 110
[3984]	<210> 360
[3985]	<211> 111
[3986]	<212> PRT
[3987]	<213> 人工序列
[3988]	<220>
[3989]	<223> GPC3A-037 VL
[3990]	<400> 360
[3991]	Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Ala Ala Pro Gly Gln
[3992]	1 5 10 15
[3993]	Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Thr Arg Ser Asn Ile Gly Ser Asp
[3994]	20 25 30
[3995]	Tyr Val Ser Trp Tyr Gln His Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
[3996]	35 40 45
[3997]	Val Tyr Gly Asp Asn Leu Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
[3998]	50 55 60
[3999]	Ala Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Thr Leu Gly Ile Thr Gly Leu Gln
[4000]	65 70 75 80
[4001]	Thr Gly Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gly Thr Trp Asp Tyr Thr Leu
[4002]	85 90 95
[4003]	Asn Gly Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly
[4004]	100 105 110
[4005]	<210> 361
[4006]	<211> 109
[4007]	<212> PRT
[4008]	<213> 人工序列
[4009]	<220>
[4010]	<223> GPC3A-038 VL
[4011]	<400> 361
[4012]	Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ala Pro Gly Lys
[4013]	1 5 10 15
[4014]	Thr Ala Arg Ile Thr Cys Gly Gly Asn Asn Ile Gly Ser Lys Ser Val
[4015]	20 25 30
[4016]	His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu Val Ile Tyr

[4017]	35	40	45
[4018]	Tyr Asp Ser Asp Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser		
[4019]	50	55	60
[4020]	Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Arg Val Glu Ala Gly		
[4021]	65	70	75
[4022]	Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Asp Ser Ser Ser Asp His		
[4023]	85	90	95
[4024]	Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly		
[4025]	100	105	
[4026]	<210> 362		
[4027]	<211> 109		
[4028]	<212> PRT		
[4029]	<213> 人工序列		
[4030]	<220>		
[4031]	<223> GPC3A-039 VL		
[4032]	<400> 362		
[4033]	Ser Tyr Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ala Pro Gly Lys		
[4034]	1	5	10
[4035]	Thr Ala Arg Ile Thr Cys Gly Gly Asn Asn Ile Gly Ser Lys Ser Val		
[4036]	20	25	30
[4037]	His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu Val Ile Tyr		
[4038]	35	40	45
[4039]	Tyr Asp Ser Asp Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser		
[4040]	50	55	60
[4041]	Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Arg Val Glu Ala Gly		
[4042]	65	70	75
[4043]	Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Asp Ser Ser Ser Asp His		
[4044]	85	90	95
[4045]	Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly		
[4046]	100	105	
[4047]	<210> 363		
[4048]	<211> 111		
[4049]	<212> PRT		
[4050]	<213> 人工序列		
[4051]	<220>		
[4052]	<223> GPC3A-040 VL		
[4053]	<400> 363		
[4054]	Leu Pro Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Thr Pro Gly Gln		
[4055]	1	5	10

[4056]	Arg	Val	Thr	Ile	Ser	Cys	Ser	Gly	Ser	Ser	Ser	Asn	Ile	Gly	Ser	Asn
[4057]				20				25					30			
[4058]	Tyr	Val	Tyr	Trp	Tyr	Gln	Gln	Leu	Pro	Gly	Thr	Ala	Pro	Lys	Leu	Leu
[4059]			35					40					45			
[4060]	Ile	Tyr	Ser	Asn	Asn	Gln	Arg	Pro	Ser	Gly	Val	Pro	Asp	Arg	Phe	Ser
[4061]		50					55					60				
[4062]	Gly	Ser	Lys	Ser	Gly	Thr	Ser	Ala	Ser	Leu	Ala	Ile	Ser	Gly	Leu	Arg
[4063]	65					70					75				80	
[4064]	Ser	Glu	Asp	Glu	Ala	Asp	Tyr	Tyr	Cys	Ala	Ala	Trp	Asp	Asp	Ser	Leu
[4065]					85				90					95		
[4066]	Ser	Gly	Tyr	Val	Phe	Gly	Thr	Gly	Thr	Lys	Val	Thr	Val	Leu	Gly	
[4067]				100					105					110		
[4068]	<210> 364															
[4069]	<211> 111															
[4070]	<212> PRT															
[4071]	<213> 人工序列															
[4072]	<220>															
[4073]	<223> GPC3A-041 VL															
[4074]	<400> 364															
[4075]	Gln	Ala	Val	Leu	Thr	Gln	Pro	Pro	Ser	Ala	Ser	Gln	Thr	Pro	Gly	Gln
[4076]	1			5					10					15		
[4077]	Met	Val	Thr	Ile	Ser	Cys	Ser	Gly	Thr	Ser	Ser	Asn	Ile	Gly	Ser	Asn
[4078]				20					25					30		
[4079]	Tyr	Val	Phe	Trp	Tyr	Gln	Gln	Leu	Pro	Gly	Thr	Ala	Pro	Lys	Leu	Leu
[4080]			35					40					45			
[4081]	Ile	Tyr	Lys	Asn	Phe	Gln	Arg	Pro	Ser	Gly	Val	Pro	Gly	Arg	Phe	Ser
[4082]		50					55					60				
[4083]	Gly	Ser	Lys	Ser	Gly	Thr	Ala	Ala	Ser	Leu	Ala	Ile	Ser	Gly	Leu	Arg
[4084]	65					70					75				80	
[4085]	Ser	Glu	Asp	Glu	Ala	Asp	Tyr	Phe	Cys	Ala	Ala	Trp	Asp	Asp	Ala	Leu
[4086]					85				90					95		
[4087]	Ser	Gly	Tyr	Val	Phe	Gly	Ala	Gly	Thr	Lys	Val	Thr	Val	Leu	Gly	
[4088]				100					105					110		
[4089]	<210> 365															
[4090]	<211> 111															
[4091]	<212> PRT															
[4092]	<213> 人工序列															
[4093]	<220>															
[4094]	<223> GPC3A-042 VL															

[4095]	<400> 365
[4096]	Ser Tyr Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Thr Pro Gly Gln
[4097]	1 5 10 15
[4098]	Arg Val Thr Ile Ser Cys Phe Gly Ser Ser Ser Asp Ile Gly Ser Asn
[4099]	20 25 30
[4100]	Ser Val Phe Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Ala Ala Pro Lys Leu Leu
[4101]	35 40 45
[4102]	Ile Tyr Ser Thr Gln Tyr Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser
[4103]	50 55 60
[4104]	Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Gln
[4105]	65 70 75 80
[4106]	Ser Glu Asp Glu Ala Glu Tyr His Cys Ala Thr Trp Asp Asp Ser Leu
[4107]	85 90 95
[4108]	Asn Gly Tyr Val Phe Gly Ser Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly
[4109]	100 105 110
[4110]	<210> 366
[4111]	<211> 111
[4112]	<212> PRT
[4113]	<213> 人工序列
[4114]	<220>
[4115]	<223> GPC3A-043 VL
[4116]	<400> 366
[4117]	Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Thr Pro Gly Gln
[4118]	1 5 10 15
[4119]	Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Thr Asn
[4120]	20 25 30
[4121]	Tyr Val Tyr Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Ile
[4122]	35 40 45
[4123]	Ile Tyr Arg Asn Asn Gln Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser
[4124]	50 55 60
[4125]	Gly Ser Glu Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Arg
[4126]	65 70 75 80
[4127]	Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Val Trp Asp Asp Ser Leu
[4128]	85 90 95
[4129]	Ser Gly Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly
[4130]	100 105 110
[4131]	<210> 367
[4132]	<211> 109
[4133]	<212> PRT

[4134]	<213> 人工序列																		
[4135]	<220>																		
[4136]	<223> GPC3A-044 VL																		
[4137]	<400> 367																		
[4138]	Ser	Tyr	Val	Leu	Thr	Gln	Pro	Pro	Ser	Val	Ser	Val	Ala	Pro	Gly	Lys			
[4139]	1				5					10					15				
[4140]	Thr	Ala	Arg	Ile	Thr	Cys	Gly	Gly	Asp	Asn	Ile	Gly	Tyr	Lys	Gly	Val			
[4141]				20					25					30					
[4142]	His	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Gln	Ala	Pro	Val	Leu	Val	Val	Tyr			
[4143]			35					40					45						
[4144]	Asp	Asp	Ser	Asp	Arg	Pro	Ser	Gly	Ile	Pro	Glu	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser			
[4145]		50					55				60								
[4146]	Asn	Ser	Gly	Asn	Thr	Ala	Thr	Leu	Thr	Ile	Ser	Arg	Val	Glu	Ala	Gly			
[4147]	65					70				75					80				
[4148]	Asp	Glu	Ala	Asp	Tyr	Tyr	Cys	Gln	Val	Trp	Asp	Ser	Ser	Ser	Asp	His			
[4149]				85					90					95					
[4150]	Val	Val	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Leu	Thr	Val	Leu	Gly						
[4151]				100					105										
[4152]	<210> 368																		
[4153]	<211> 111																		
[4154]	<212> PRT																		
[4155]	<213> 人工序列																		
[4156]	<220>																		
[4157]	<223> GPC3A-045 VL																		
[4158]	<400> 368																		
[4159]	Gln	Ser	Val	Leu	Thr	Gln	Pro	Pro	Ser	Val	Ser	Gly	Thr	Pro	Gly	Gln			
[4160]	1				5					10					15				
[4161]	Arg	Val	Ile	Ile	Ser	Cys	Pro	Gly	Ser	Thr	Ser	Asn	Ile	Gly	Thr	Asn			
[4162]				20					25					30					
[4163]	Thr	Val	Asn	Trp	Tyr	Gln	Gln	Phe	Pro	Gly	Thr	Ala	Pro	Lys	Leu	Leu			
[4164]			35					40					45						
[4165]	Ile	Tyr	Ser	Asn	Asn	Gln	Arg	Pro	Ser	Gly	Val	Pro	Asp	Arg	Phe	Ser			
[4166]		50					55				60								
[4167]	Gly	Ser	Lys	Ser	Gly	Thr	Ser	Ala	Ser	Leu	Ala	Ile	Ser	Gly	Leu	Gln			
[4168]	65					70				75					80				
[4169]	Ser	Glu	Asp	Glu	Ala	Asp	Tyr	Tyr	Cys	Ala	Ala	Trp	Asp	Asp	Ser	Leu			
[4170]				85					90				95						
[4171]	Asn	Gly	Val	Val	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Leu	Thr	Val	Leu	Gly				
[4172]				100					105					110					

[4173]	<210>	369
[4174]	<211>	111
[4175]	<212>	PRT
[4176]	<213>	人工序列
[4177]	<220>	
[4178]	<223>	GPC3A-046 VL
[4179]	<400>	369
[4180]	Gln	Ala Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Gly Thr Pro Gly Gln
[4181]	1	5 10 15
[4182]	Arg	Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Phe Gly Ser Asn
[4183]	20	25 30
[4184]	Thr	Val His Trp Tyr Gln Gln Val Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
[4185]	35	40 45
[4186]	Ile	Phe Ser Asn Thr Gln Arg Pro Ser Glu Ile Pro Asp Arg Phe Ser
[4187]	50	55 60
[4188]	Gly	Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Gln
[4189]	65	70 75 80
[4190]	Ser	Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Ala Trp Asp Asp Ser Leu
[4191]	85	90 95
[4192]	Thr	Gly Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly
[4193]	100	105 110
[4194]	<210>	370
[4195]	<211>	111
[4196]	<212>	PRT
[4197]	<213>	人工序列
[4198]	<220>	
[4199]	<223>	GPC3A-047 VL
[4200]	<400>	370
[4201]	Leu	Pro Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Thr Pro Gly Gln
[4202]	1	5 10 15
[4203]	Arg	Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Arg Ser Asn Ile Ala Ser Asn
[4204]	20	25 30
[4205]	Asp	Val Tyr Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Arg Leu
[4206]	35	40 45
[4207]	Ile	Tyr Lys Lys Asn Gln Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser
[4208]	50	55 60
[4209]	Ala	Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Arg
[4210]	65	70 75 80
[4211]	Ser	Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Ala Trp Asp Asp Asn Leu

[4212]		85		90		95
[4213]	Ser Gly Tyr Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly					
[4214]		100		105		110
[4215]	<210> 371					
[4216]	<211> 109					
[4217]	<212> PRT					
[4218]	<213> 人工序列					
[4219]	<220>					
[4220]	<223> GPC3A-048 VL					
[4221]	<400> 371					
[4222]	Gln Pro Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ala Pro Gly Lys					
[4223]	1	5		10		15
[4224]	Thr Ala Arg Ile Thr Cys Gly Gly Asn Asn Ile Gly Ser Lys Ser Val					
[4225]		20		25		30
[4226]	His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu Val Ile Tyr					
[4227]		35		40		45
[4228]	Tyr Asp Ser Asp Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser					
[4229]	50		55		60	
[4230]	Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Arg Val Glu Ala Gly					
[4231]	65		70		75	80
[4232]	Asp Glu Ala Asp Phe Tyr Cys Gln Val Trp Asp Ser Ser Ser Asp Arg					
[4233]		85		90		95
[4234]	Gly Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly					
[4235]		100		105		
[4236]	<210> 372					
[4237]	<211> 111					
[4238]	<212> PRT					
[4239]	<213> 人工序列					
[4240]	<220>					
[4241]	<223> GPC3A-049 VL					
[4242]	<400> 372					
[4243]	Gln Ala Val Leu Thr Gln Pro Ser Ser Ala Ser Gly Thr Pro Gly Gln					
[4244]	1	5		10		15
[4245]	Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Gly Ser Ser Asn Ile Gly Ser Asn					
[4246]		20		25		30
[4247]	Tyr Val Tyr Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu					
[4248]		35		40		45
[4249]	Ile Tyr Arg Asn Asn Gln Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser					
[4250]	50		55		60	

[4251]	Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Arg
[4252]	65 70 75 80
[4253]	Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Ala Trp Asp Asp Ser Leu
[4254]	85 90 95
[4255]	Ser Gly Trp Val Phe Gly Gly Arg Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly
[4256]	100 105 110
[4257]	<210> 373
[4258]	<211> 111
[4259]	<212> PRT
[4260]	<213> 人工序列
[4261]	<220>
[4262]	<223> GPC3A-050 VL
[4263]	<400> 373
[4264]	Gln Ala Val Leu Thr Gln Pro Ser Ser Ala Ser Gly Thr Pro Gly Gln
[4265]	1 5 10 15
[4266]	Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ser Asn
[4267]	20 25 30
[4268]	Thr Val Asn Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
[4269]	35 40 45
[4270]	Ile Tyr Ser Asn Asn Gln Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser
[4271]	50 55 60
[4272]	Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Gln
[4273]	65 70 75 80
[4274]	Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Ala Trp Asp Asp Ser Leu
[4275]	85 90 95
[4276]	Asn Gly Pro Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly
[4277]	100 105 110
[4278]	<210> 374
[4279]	<211> 112
[4280]	<212> PRT
[4281]	<213> 人工序列
[4282]	<220>
[4283]	<223> GPC3A-051 VL
[4284]	<400> 374
[4285]	Gln Ala Val Leu Thr Gln Pro Ser Ser Ala Ser Gly Ala Pro Gly Gln
[4286]	1 5 10 15
[4287]	Arg Val Thr Ile Ser Cys Thr Gly Gly Ser Ser Asn Ile Gly Ala Gly
[4288]	20 25 30
[4289]	Tyr Asp Val His Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu

[4290]	35	40	45
[4291]	Leu Ile Tyr Gly Asn Ser Asn Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe		
[4292]	50	55	60
[4293]	Ser Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Thr Gly Leu		
[4294]	65	70	75
[4295]	Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Tyr Asp Ser Ser		
[4296]	85	90	95
[4297]	Leu Ser Gly Tyr Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly		
[4298]	100	105	110
[4299]	<210> 375		
[4300]	<211> 111		
[4301]	<212> PRT		
[4302]	<213> 人工序列		
[4303]	<220>		
[4304]	<223> GPC3A-052 VL		
[4305]	<400> 375		
[4306]	Gln Ala Val Leu Thr Gln Pro Ser Ser Ala Ser Gly Thr Pro Gly Gln		
[4307]	1	5	10
[4308]	Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ser Asn		
[4309]	20	25	30
[4310]	Tyr Val Tyr Trp Tyr Gln Gln Leu Ser Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu		
[4311]	35	40	45
[4312]	Ile Tyr Arg Asn Asn Gln Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser		
[4313]	50	55	60
[4314]	Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Arg		
[4315]	65	70	75
[4316]	Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Ala Trp Asp Asp Ser Leu		
[4317]	85	90	95
[4318]	Ser Gly Tyr Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly		
[4319]	100	105	110
[4320]	<210> 376		
[4321]	<211> 112		
[4322]	<212> PRT		
[4323]	<213> 人工序列		
[4324]	<220>		
[4325]	<223> GPC3A-053 VL		
[4326]	<400> 376		
[4327]	Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Ala Ala Pro Gly Gln		
[4328]	1	5	10

[4329]	Arg	Val	Thr	Ile	Ser	Cys	Ser	Gly	Thr	Ser	Ser	Asn	Ile	Gly	Ser	Asn
[4330]				20					25					30		
[4331]	Tyr	Val	Trp	Trp	Tyr	Gln	Gln	Leu	Pro	Gly	Ala	Ala	Pro	Arg	Leu	Leu
[4332]			35					40					45			
[4333]	Ile	Tyr	Gly	Asn	Ser	Asn	Arg	Pro	Ser	Gly	Val	Pro	Asp	Arg	Phe	Ser
[4334]		50					55					60				
[4335]	Gly	Ser	Lys	Ser	Gly	Thr	Ser	Ala	Ser	Leu	Ala	Ile	Thr	Gly	Leu	Gln
[4336]	65					70					75				80	
[4337]	Ala	Glu	Asp	Glu	Ala	Asp	Tyr	Tyr	Cys	Gln	Ser	Tyr	Asp	Ser	Ser	Leu
[4338]					85					90				95		
[4339]	Ser	Gly	Ser	Asn	Val	Phe	Gly	Thr	Gly	Thr	Lys	Val	Thr	Val	Leu	Gly
[4340]				100					105					110		
[4341]	<210> 377															
[4342]	<211> 111															
[4343]	<212> PRT															
[4344]	<213> 人工序列															
[4345]	<220>															
[4346]	<223> GPC3A-054 VL															
[4347]	<400> 377															
[4348]	Ser	Tyr	Glu	Leu	Thr	Gln	Pro	Pro	Ser	Ala	Ser	Gly	Thr	Pro	Gly	Gln
[4349]	1				5					10				15		
[4350]	Arg	Val	Thr	Ile	Ser	Cys	Ser	Gly	Ser	Ser	Ser	Asn	Ile	Gly	Ser	Asn
[4351]				20					25					30		
[4352]	Tyr	Val	Tyr	Trp	Tyr	Gln	Gln	Leu	Pro	Gly	Thr	Ala	Pro	Lys	Leu	Leu
[4353]			35					40					45			
[4354]	Ile	Tyr	Arg	Asn	Asn	Gln	Arg	Pro	Ser	Gly	Val	Pro	Asp	Arg	Phe	Ser
[4355]		50					55					60				
[4356]	Gly	Ser	Lys	Ser	Gly	Thr	Ser	Ala	Ser	Leu	Ala	Ile	Ser	Gly	Leu	Arg
[4357]	65					70					75				80	
[4358]	Ser	Glu	Asp	Glu	Ala	Asp	Tyr	Tyr	Cys	Ala	Ala	Trp	Asp	Asp	Ser	Leu
[4359]					85					90				95		
[4360]	Ser	Gly	Tyr	Val	Phe	Gly	Thr	Gly	Thr	Lys	Val	Thr	Val	Leu	Gly	
[4361]				100					105					110		
[4362]	<210> 378															
[4363]	<211> 109															
[4364]	<212> PRT															
[4365]	<213> 人工序列															
[4366]	<220>															
[4367]	<223> GPC3A-055 VL															

[4368]	<400> 378
[4369]	Gln Pro Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ala Pro Gly Lys
[4370]	1 5 10 15
[4371]	Thr Ala Arg Ile Thr Cys Gly Gly Asn Asn Ile Gly Ser Lys Ser Val
[4372]	20 25 30
[4373]	His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu Val Ile Tyr
[4374]	35 40 45
[4375]	Tyr Asp Ser Asp Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser
[4376]	50 55 60
[4377]	Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Arg Val Glu Ala Gly
[4378]	65 70 75 80
[4379]	Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Asp Ser Ser Ser Asp His
[4380]	85 90 95
[4381]	Tyr Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly
[4382]	100 105
[4383]	<210> 379
[4384]	<211> 108
[4385]	<212> PRT
[4386]	<213> 人工序列
[4387]	<220>
[4388]	<223> GPC3A-056 VL
[4389]	<400> 379
[4390]	Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
[4391]	1 5 10 15
[4392]	Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr
[4393]	20 25 30
[4394]	Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
[4395]	35 40 45
[4396]	Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
[4397]	50 55 60
[4398]	Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
[4399]	65 70 75 80
[4400]	Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Ile
[4401]	85 90 95
[4402]	Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys Arg
[4403]	100 105
[4404]	<210> 380
[4405]	<211> 109
[4406]	<212> PRT

[4407]	<213> 人工序列																		
[4408]	<220>																		
[4409]	<223> GPC3A-057 VL																		
[4410]	<400> 380																		
[4411]	Glu	Ile	Val	Leu	Thr	Gln	Ser	Pro	Ser	Val	Ser	Val	Ala	Pro	Gly	Lys			
[4412]	1				5					10					15				
[4413]	Thr	Ala	Arg	Ile	Thr	Cys	Gly	Gly	Asn	Asn	Ile	Gly	Ser	Lys	Ser	Val			
[4414]				20					25					30					
[4415]	His	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Gln	Ala	Pro	Val	Leu	Val	Ile	Tyr			
[4416]			35					40					45						
[4417]	Tyr	Asp	Ser	Asp	Arg	Pro	Ser	Gly	Ile	Pro	Glu	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser			
[4418]		50					55				60								
[4419]	Asn	Ser	Gly	Asn	Thr	Ala	Thr	Leu	Thr	Ile	Ser	Arg	Val	Glu	Ala	Gly			
[4420]	65					70				75					80				
[4421]	Asp	Glu	Ala	Asp	Tyr	Tyr	Cys	Gln	Val	Trp	Asp	Ser	Ser	Ser	Asp	His			
[4422]				85					90					95					
[4423]	Val	Val	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Val	Glu	Ile	Lys	Arg						
[4424]				100					105										
[4425]	<210> 381																		
[4426]	<211> 108																		
[4427]	<212> PRT																		
[4428]	<213> 人工序列																		
[4429]	<220>																		
[4430]	<223> GPC3A-058 VL																		
[4431]	<400> 381																		
[4432]	Gln	Ser	Val	Leu	Thr	Gln	Pro	Pro	Ser	Val	Ser	Val	Ala	Pro	Gly	Lys			
[4433]	1				5					10					15				
[4434]	Thr	Ala	Arg	Ile	Thr	Cys	Gly	Gly	Asn	Asn	Ile	Gly	Ser	Lys	Ser	Val			
[4435]				20					25					30					
[4436]	His	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Gln	Ala	Pro	Val	Leu	Val	Val	Tyr			
[4437]			35					40					45						
[4438]	Asp	Asp	Ser	Asp	Arg	Pro	Ser	Gly	Ile	Pro	Glu	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser			
[4439]		50					55				60								
[4440]	Asn	Ser	Gly	Asn	Thr	Ala	Thr	Leu	Thr	Ile	Ser	Arg	Val	Glu	Ala	Gly			
[4441]	65					70				75					80				
[4442]	Asp	Glu	Ala	Asp	Tyr	Tyr	Cys	Gln	Val	Trp	Asp	Ser	Ser	Ser	Asp	His			
[4443]				85					90					95					
[4444]	Val	Phe	Gly	Thr	Gly	Thr	Lys	Val	Thr	Val	Leu	Gly							
[4445]				100					105										

[4446]	<210>	382
[4447]	<211>	108
[4448]	<212>	PRT
[4449]	<213>	人工序列
[4450]	<220>	
[4451]	<223>	GPC3A-059 VL
[4452]	<400>	382
[4453]	Ser Tyr Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ala Pro Gly Lys	
[4454]	1 5 10 15	
[4455]	Thr Ala Arg Ile Thr Cys Gly Gly Asn Asn Ile Gly Ser Lys Ser Val	
[4456]	20 25 30	
[4457]	Tyr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu Val Ile Tyr	
[4458]	35 40 45	
[4459]	Tyr Asp Ser Asp Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser	
[4460]	50 55 60	
[4461]	Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Arg Val Glu Ala Gly	
[4462]	65 70 75 80	
[4463]	Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Asp Ser Ser Ser Asp His	
[4464]	85 90 95	
[4465]	Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly	
[4466]	100 105	
[4467]	<210>	383
[4468]	<211>	107
[4469]	<212>	PRT
[4470]	<213>	人工序列
[4471]	<220>	
[4472]	<223>	GPC3A-060 VL
[4473]	<400>	383
[4474]	Ser Tyr Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ala Pro Gly Lys	
[4475]	1 5 10 15	
[4476]	Thr Ala Arg Leu Thr Cys Gly Gly Asn Asn Ile Gly Ser Glu Ser Val	
[4477]	20 25 30	
[4478]	His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Leu Leu Val Val Tyr	
[4479]	35 40 45	
[4480]	Asp Asp Asp Asp Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser	
[4481]	50 55 60	
[4482]	Asn Ser Glu Asp Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Gly Thr Gln Ala Leu	
[4483]	65 70 75 80	
[4484]	Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Gln Thr Trp Asp Ser Ser Thr Ala Ile	

[4485]		85		90		95
[4486]	Phe Gly Thr Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly					
[4487]		100		105		
[4488]	<210> 384					
[4489]	<211> 109					
[4490]	<212> PRT					
[4491]	<213> 人工序列					
[4492]	<220>					
[4493]	<223> GPC3A-061 VL					
[4494]	<400> 384					
[4495]	Gln Pro Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ala Pro Gly Lys					
[4496]	1	5		10		15
[4497]	Thr Ala Arg Ile Thr Cys Gly Gly Asn Asn Ile Gly Ser Lys Ser Val					
[4498]		20		25		30
[4499]	His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu Val Ile Tyr					
[4500]		35		40		45
[4501]	Tyr Asp Ser Asp Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser					
[4502]		50		55		60
[4503]	Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Arg Val Glu Ala Gly					
[4504]	65		70		75	80
[4505]	Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Asp Ser Ser Ser Asp His					
[4506]		85		90		95
[4507]	Tyr Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly					
[4508]		100		105		
[4509]	<210> 385					
[4510]	<211> 113					
[4511]	<212> PRT					
[4512]	<213> 人工序列					
[4513]	<220>					
[4514]	<223> GPC3A-062 VL					
[4515]	<400> 385					
[4516]	Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Gly Ala Pro Gly Gln					
[4517]	1	5		10		15
[4518]	Arg Val Thr Ile Ser Cys Thr Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ala Gly					
[4519]		20		25		30
[4520]	Tyr Asp Val His Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu					
[4521]		35		40		45
[4522]	Leu Ile Tyr Gly Asn Ser Asn Trp Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe					
[4523]		50		55		60

[4524]	Ser Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Thr Gly Leu
[4525]	65 70 75 80
[4526]	Arg Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Tyr Asp Ser Ser
[4527]	85 90 95
[4528]	Leu Ser Gly Ser Tyr Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu
[4529]	100 105 110
[4530]	Gly
[4531]	<210> 386
[4532]	<211> 111
[4533]	<212> PRT
[4534]	<213> 人工序列
[4535]	<220>
[4536]	<223> GPC3A-063 VL
[4537]	<400> 386
[4538]	Gln Thr Val Val Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Thr Pro Gly Gln
[4539]	1 5 10 15
[4540]	Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Trp Ser Asn Ile Gly Ser Tyr
[4541]	20 25 30
[4542]	Thr Val Asn Trp Tyr Gln His Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
[4543]	35 40 45
[4544]	Ile Ser Gly Asn Asn Gln Arg Pro Ser Gly Val Pro Gly Arg Phe Ser
[4545]	50 55 60
[4546]	Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Gln
[4547]	65 70 75 80
[4548]	Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr His Cys Ala Ala Trp Asp Asp Asn Leu
[4549]	85 90 95
[4550]	Asn Gly Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly
[4551]	100 105 110
[4552]	<210> 387
[4553]	<211> 109
[4554]	<212> PRT
[4555]	<213> 人工序列
[4556]	<220>
[4557]	<223> GPC3A-064 VL
[4558]	<400> 387
[4559]	Leu Pro Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Leu Ser Val Ala Pro Gly Lys
[4560]	1 5 10 15
[4561]	Thr Ala Arg Leu Thr Cys Gly Gly Asn Asn Ile Gly Ser Lys Ser Val
[4562]	20 25 30

[4563]	His Trp Tyr His Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu Val Val Tyr
[4564]	35 40 45
[4565]	Asp Asp Thr Asp Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser
[4566]	50 55 60
[4567]	Asn Ser Gly Asn Thr Ala Ala Leu Thr Ile Ser Arg Val Glu Val Gly
[4568]	65 70 75 80
[4569]	Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Asp Arg Ser Ser Ala His
[4570]	85 90 95
[4571]	Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly
[4572]	100 105
[4573]	<210> 388
[4574]	<211> 109
[4575]	<212> PRT
[4576]	<213> 人工序列
[4577]	<220>
[4578]	<223> GPC3A-067 VL
[4579]	<400> 388
[4580]	Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ala Pro Gly Lys
[4581]	1 5 10 15
[4582]	Thr Ala Arg Ile Thr Cys Gly Gly Asn Asn Ile Gly Ser Lys Ser Val
[4583]	20 25 30
[4584]	His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu Val Ile Tyr
[4585]	35 40 45
[4586]	Tyr Asp Ser Asp Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser
[4587]	50 55 60
[4588]	Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Arg Val Glu Ala Gly
[4589]	65 70 75 80
[4590]	Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Asp Ser Ser Ser Asp His
[4591]	85 90 95
[4592]	Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly
[4593]	100 105
[4594]	<210> 389
[4595]	<211> 111
[4596]	<212> PRT
[4597]	<213> 人工序列
[4598]	<220>
[4599]	<223> GPC3B-54 VL
[4600]	<400> 389
[4601]	Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Thr Pro Gly Gln

[4602]	1	5	10	15
[4603]	Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Asn Ser Asn Ile Gly Ser Asp			
[4604]	20	25	30	
[4605]	Thr Val Asn Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu			
[4606]	35	40	45	
[4607]	Ile Tyr Arg Asp Asn Gln Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser			
[4608]	50	55	60	
[4609]	Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Gln			
[4610]	65	70	75	80
[4611]	Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Thr Thr Trp Asp Asp Ser Leu			
[4612]	85	90	95	
[4613]	Asn Gly Leu Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly			
[4614]	100	105	110	
[4615]	<210> 390			
[4616]	<211> 109			
[4617]	<212> PRT			
[4618]	<213> 人工序列			
[4619]	<220>			
[4620]	<223> GPC3B-60 VL			
[4621]	<400> 390			
[4622]	Ser Tyr Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ser Pro Gly Gln			
[4623]	1	5	10	15
[4624]	Thr Ala Thr Ile Ala Cys Ser Gly Asp Asn Leu Glu Asn Lys Phe Val			
[4625]	20	25	30	
[4626]	Tyr Trp Tyr His Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Val Leu Val Met Tyr			
[4627]	35	40	45	
[4628]	Glu Asp Asn Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser			
[4629]	50	55	60	
[4630]	Asn Ser Gly Asn Thr Ala Ala Leu Thr Ile Ser Gly Ala Gln Pro Met			
[4631]	65	70	75	80
[4632]	Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Thr Trp Asp Ser Pro Thr Gly Leu			
[4633]	85	90	95	
[4634]	Phe Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly			
[4635]	100	105		
[4636]	<210> 391			
[4637]	<211> 113			
[4638]	<212> PRT			
[4639]	<213> 人工序列			
[4640]	<220>			

[4641]	<223>	GPC3B-63	VL
[4642]	<400>	391	
[4643]	Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly		
[4644]	1	5	10 15
[4645]	Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser		
[4646]	20	25	30
[4647]	Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser		
[4648]	35	40	45
[4649]	Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro		
[4650]	50	55	60
[4651]	Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile		
[4652]	65	70	75 80
[4653]	Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ala		
[4654]	85	90	95
[4655]	Leu Gln Thr Pro Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys		
[4656]	100	105	110
[4657]	Arg		
[4658]	<210>	392	
[4659]	<211>	110	
[4660]	<212>	PRT	
[4661]	<213>	人工序列	
[4662]	<220>		
[4663]	<223>	GPC3B-66	VL
[4664]	<400>	392	
[4665]	Gln Ala Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ala Pro Gly Lys		
[4666]	1	5	10 15
[4667]	Thr Ala Ser Ile Thr Cys Gly Gly Asn Asn Ile Gly Ser Lys Ser Val		
[4668]	20	25	30
[4669]	His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu Val Ile Tyr		
[4670]	35	40	45
[4671]	Tyr Asp Ser Asp Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser		
[4672]	50	55	60
[4673]	Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Arg Val Glu Ala Gly		
[4674]	65	70	75 80
[4675]	Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Asp Ser Ser Ser Asp His		
[4676]	85	90	95
[4677]	Leu Tyr Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly		
[4678]	100	105	110
[4679]	<210>	393	

366

[4719]	Tyr Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly
[4720]	100 105
[4721]	<210> 395
[4722]	<211> 111
[4723]	<212> PRT
[4724]	<213> 人工序列
[4725]	<220>
[4726]	<223> GPC3B-76 VL
[4727]	<400> 395
[4728]	Gln Ser Val Val Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Ala Ala Pro Gly Gln
[4729]	1 5 10 15
[4730]	Lys Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Asn Asn
[4731]	20 25 30
[4732]	Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
[4733]	35 40 45
[4734]	Ile Tyr Asp Asn Asn Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
[4735]	50 55 60
[4736]	Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Thr Leu Gly Ile Thr Gly Leu Gln
[4737]	65 70 75 80
[4738]	Thr Gly Asp Glu Ala Ala Tyr Tyr Cys Gly Thr Trp Asp Ser Ser Leu
[4739]	85 90 95
[4740]	Ser Ala Gly Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly
[4741]	100 105 110
[4742]	<210> 396
[4743]	<211> 107
[4744]	<212> PRT
[4745]	<213> 人工序列
[4746]	<220>
[4747]	<223> GPC3B-78 VL
[4748]	<400> 396
[4749]	Leu Pro Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ser Pro Gly Gln
[4750]	1 5 10 15
[4751]	Thr Ala Ser Ile Thr Cys Ser Gly Asp Lys Leu Gly Asp Lys Tyr Ala
[4752]	20 25 30
[4753]	Tyr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Val Leu Val Ile Tyr
[4754]	35 40 45
[4755]	Gln Asp Asn Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser
[4756]	50 55 60
[4757]	Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Gly Thr Gln Ala Met

[4758]	65	70	75	80
[4759]	Asp Ala Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Thr Trp Asp Arg Ser Thr Tyr Val			
[4760]	85	90	95	
[4761]	Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly			
[4762]	100	105		
[4763]	<210> 397			
[4764]	<211> 112			
[4765]	<212> PRT			
[4766]	<213> 人工序列			
[4767]	<220>			
[4768]	<223> GPC3B-80 VL			
[4769]	<400> 397			
[4770]	Gln Ala Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Thr Pro Gly Gln			
[4771]	1	5	10	15
[4772]	Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ser Asn			
[4773]	20	25	30	
[4774]	Thr Val Asn Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu			
[4775]	35	40	45	
[4776]	Ile Tyr Ser Asn Asn Gln Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser			
[4777]	50	55	60	
[4778]	Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Tyr Leu Ala Ile Ser Gly Leu Gln			
[4779]	65	70	75	80
[4780]	Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Ala Trp Asp Asp Ser Leu			
[4781]	85	90	95	
[4782]	Asn Gly Trp Gly Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly			
[4783]	100	105	110	
[4784]	<210> 398			
[4785]	<211> 110			
[4786]	<212> PRT			
[4787]	<213> 人工序列			
[4788]	<220>			
[4789]	<223> GPC3B-81 VL			
[4790]	<400> 398			
[4791]	Ser Tyr Glu Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ala Pro Gly Lys			
[4792]	1	5	10	15
[4793]	Thr Ala Arg Ile Thr Cys Gly Gly Asn Asn Ile Gly Ser Lys Ser Val			
[4794]	20	25	30	
[4795]	His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu Val Ile Tyr			
[4796]	35	40	45	

[4797]	Tyr	Asp	Ser	Asp	Arg	Pro	Ser	Gly	Ile	Pro	Glu	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser
[4798]	50						55				60					
[4799]	Asn	Ser	Gly	Asn	Thr	Ala	Thr	Leu	Thr	Ile	Ser	Arg	Val	Glu	Ala	Gly
[4800]	65					70					75					80
[4801]	Asp	Glu	Ala	Asp	Tyr	Tyr	Cys	Gln	Val	Trp	Asp	Ser	Ser	Ser	Asp	Leu
[4802]					85					90					95	
[4803]	Leu	Tyr	Val	Phe	Gly	Thr	Gly	Thr	Lys	Val	Thr	Val	Leu	Gly		
[4804]				100					105					110		
[4805]	<210> 399															
[4806]	<211> 112															
[4807]	<212> PRT															
[4808]	<213> 人工序列															
[4809]	<220>															
[4810]	<223> GPC3B-82 VL															
[4811]	<400> 399															
[4812]	Gln	Ser	Val	Leu	Thr	Gln	Pro	Pro	Ser	Val	Ser	Gly	Ala	Pro	Gly	Gln
[4813]	1				5					10					15	
[4814]	Arg	Val	Thr	Ile	Ser	Cys	Thr	Gly	Ser	Ser	Ser	Asn	Ile	Gly	Ala	Gly
[4815]				20					25					30		
[4816]	Phe	Asp	Val	His	Trp	Tyr	Gln	Gln	Leu	Pro	Gly	Thr	Ala	Pro	Lys	Leu
[4817]			35				40						45			
[4818]	Leu	Ile	Tyr	Asp	Asn	Asn	Asn	Arg	Pro	Ser	Gly	Val	Pro	Asp	Arg	Phe
[4819]	50						55					60				
[4820]	Ser	Gly	Ser	Lys	Ser	Asp	Thr	Ser	Ala	Ser	Leu	Ala	Ile	Thr	Gly	Leu
[4821]	65					70					75					80
[4822]	Gln	Ala	Glu	Asp	Glu	Ala	Asp	Tyr	Tyr	Cys	Gln	Ser	Phe	Asp	Ser	Ser
[4823]					85					90					95	
[4824]	Leu	Ser	Gly	Trp	Val	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Leu	Thr	Val	Leu	Gly
[4825]				100						105					110	
[4826]	<210> 400															
[4827]	<211> 111															
[4828]	<212> PRT															
[4829]	<213> 人工序列															
[4830]	<220>															
[4831]	<223> GPC3B-85 VL															
[4832]	<400> 400															
[4833]	Gln	Ala	Val	Leu	Thr	Gln	Pro	Pro	Ser	Ala	Ser	Gly	Thr	Pro	Gly	Gln
[4834]	1				5					10					15	
[4835]	Arg	Val	Thr	Ile	Ser	Cys	Ser	Gly	Ser	Ser	Ser	Asn	Ile	Gly	Ser	Asn

[4875]	<400> 402
[4876]	Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ser Pro Gly Gln
[4877]	1 5 10 15
[4878]	Thr Ala Arg Ile Thr Cys Ser Gly Glu Thr Leu Ala Lys Arg Tyr Ala
[4879]	20 25 30
[4880]	His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu Leu Ile Tyr
[4881]	35 40 45
[4882]	Arg Asp Thr Glu Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser
[4883]	50 55 60
[4884]	Ser Ser Gly Thr Thr Ile Thr Leu Thr Ile Thr Gly Val Gln Ala Glu
[4885]	65 70 75 80
[4886]	Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Ala Asp Asn Ser Arg Thr Phe
[4887]	85 90 95
[4888]	Val Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly
[4889]	100 105
[4890]	<210> 403
[4891]	<211> 111
[4892]	<212> PRT
[4893]	<213> 人工序列
[4894]	<220>
[4895]	<223> GPC3B-93 VL
[4896]	<400> 403
[4897]	Asn Phe Met Leu Thr Gln Pro His Ser Val Ser Glu Ser Pro Gly Lys
[4898]	1 5 10 15
[4899]	Thr Val Thr Ile Ser Cys Thr Gly Ser Ser Gly Ser Ile Ala Ser Asn
[4900]	20 25 30
[4901]	Tyr Val Gln Trp Tyr Gln Gln Arg Pro Gly Ser Ala Pro Thr Thr Val
[4902]	35 40 45
[4903]	Ile Tyr Glu Asp Asn Gln Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser
[4904]	50 55 60
[4905]	Gly Ser Ile Asp Ser Ser Ser Asn Ser Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly
[4906]	65 70 75 80
[4907]	Leu Lys Thr Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Tyr Asp Ser
[4908]	85 90 95
[4909]	Ser Asn Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly
[4910]	100 105 110
[4911]	<210> 404
[4912]	<211> 111
[4913]	<212> PRT

[4914]	<213> 人工序列															
[4915]	<220>															
[4916]	<223> GPC3B-110 VL															
[4917]	<400> 404															
[4918]	Gln	Ser	Val	Leu	Thr	Gln	Pro	Pro	Ser	Ala	Ser	Gly	Thr	Pro	Gly	Gln
[4919]	1				5					10					15	
[4920]	Arg	Val	Thr	Val	Ser	Cys	Ser	Gly	Ser	Ser	Ser	Asn	Ile	Gly	Ser	Asn
[4921]					20					25					30	
[4922]	Thr	Val	Asn	Trp	Tyr	Gln	Gln	Leu	Pro	Gly	Thr	Ala	Pro	Lys	Leu	Leu
[4923]					35					40					45	
[4924]	Leu	Tyr	Ser	Ser	Asn	Gln	Arg	Pro	Ser	Gly	Val	Pro	Asp	Arg	Phe	Ser
[4925]					50					55					60	
[4926]	Gly	Ser	Arg	Ser	Gly	Thr	Ser	Ala	Ser	Leu	Ala	Ile	Ser	Gly	Leu	Gln
[4927]	65									70					75	
[4928]	Ser	Glu	Asp	Glu	Ala	Asp	Tyr	Tyr	Cys	Ala	Ala	Trp	Asp	Asp	Ser	Leu
[4929]										85					90	
[4930]	Asn	Gly	Pro	Val	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Leu	Thr	Val	Leu	Gly	
[4931]										100					105	
[4932]	<210> 405															
[4933]	<211> 111															
[4934]	<212> PRT															
[4935]	<213> 人工序列															
[4936]	<220>															
[4937]	<223> GPC3B-113 VL															
[4938]	<400> 405															
[4939]	Ser	Tyr	Glu	Leu	Thr	Gln	Pro	Pro	Ser	Ala	Ser	Gly	Thr	Pro	Gly	Gln
[4940]	1					5					10				15	
[4941]	Arg	Val	Thr	Ile	Ser	Cys	Ser	Gly	Ser	Ser	Ser	Asn	Ile	Gly	Ser	Asn
[4942]						20					25				30	
[4943]	Ser	Val	Ser	Trp	Tyr	Gln	His	Leu	Pro	Gly	Val	Ala	Pro	Lys	Leu	Leu
[4944]						35					40				45	
[4945]	Ile	Tyr	Ser	Asn	Asn	Gln	Arg	Pro	Ser	Gly	Val	Pro	Asp	Arg	Phe	Ser
[4946]						50					55				60	
[4947]	Gly	Ser	Lys	Thr	Gly	Thr	Ser	Ala	Ser	Leu	Ala	Ile	Ser	Gly	Leu	Gln
[4948]	65									70					75	
[4949]	Ser	Glu	Asp	Glu	Gly	Asp	Tyr	Tyr	Cys	Ala	Ala	Trp	Asp	Asp	Ser	Leu
[4950]										85					90	
[4951]	Asn	Gly	Val	Leu	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Leu	Thr	Val	Leu	Gly	
[4952]										100					105	
															110	

[4953]	<210>	406
[4954]	<211>	110
[4955]	<212>	PRT
[4956]	<213>	人工序列
[4957]	<220>	
[4958]	<223>	GPC3B-115 VL
[4959]	<400>	406
[4960]	Ser Tyr Glu Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ala Pro Gly Lys	
[4961]	1 5 10 15	
[4962]	Thr Ala Arg Ile Thr Cys Gly Gly Asn Asn Ile Gly Ser Lys Ser Val	
[4963]	20 25 30	
[4964]	His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu Val Val Tyr	
[4965]	35 40 45	
[4966]	Asp Asp Ser Asp Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser	
[4967]	50 55 60	
[4968]	Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Arg Val Glu Ala Gly	
[4969]	65 70 75 80	
[4970]	Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Asp Ser Ser Ser Asp Pro	
[4971]	85 90 95	
[4972]	Leu Tyr Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly	
[4973]	100 105 110	
[4974]	<210>	407
[4975]	<211>	111
[4976]	<212>	PRT
[4977]	<213>	人工序列
[4978]	<220>	
[4979]	<223>	GPC3B-119 VL
[4980]	<400>	407
[4981]	Gln Ser Val Val Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Ala Ala Pro Gly Gln	
[4982]	1 5 10 15	
[4983]	Lys Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Asn Asn	
[4984]	20 25 30	
[4985]	Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln Ile Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu	
[4986]	35 40 45	
[4987]	Ile Tyr Asp Asn Asn Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser	
[4988]	50 55 60	
[4989]	Gly Ser Arg Ser Gly Thr Ser Ala Thr Leu Gly Ile Thr Gly Leu Gln	
[4990]	65 70 75 80	
[4991]	Thr Gly Asp Glu Ala His Tyr Tyr Cys Ala Thr Trp Asp Asn Ser Leu	

[4992]					85					90					95	
[4993]	Ser	Ala	Leu	Ile	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Val	Thr	Val	Leu	Gly	
[4994]					100					105					110	
[4995]	<210> 408															
[4996]	<211> 111															
[4997]	<212> PRT															
[4998]	<213> 人工序列															
[4999]	<220>															
[5000]	<223> GPC3B-125 VL															
[5001]	<400> 408															
[5002]	Gln	Ser	Ala	Leu	Thr	Gln	Pro	Ala	Ser	Val	Ser	Gly	Ser	Pro	Gly	Gln
[5003]	1				5					10					15	
[5004]	Ser	Ile	Thr	Ile	Ser	Cys	Thr	Gly	Thr	Ser	Ser	Asp	Val	Gly	Gly	Tyr
[5005]					20					25					30	
[5006]	Asn	Tyr	Val	Ser	Trp	Phe	Gln	Gln	His	Pro	Gly	Lys	Ala	Pro	Lys	Leu
[5007]					35					40				45		
[5008]	Ile	Ile	Tyr	Glu	Val	Ser	Asn	Arg	Pro	Ser	Gly	Val	Ser	Asp	Arg	Phe
[5009]			50					55					60			
[5010]	Ser	Gly	Ser	Lys	Ser	Gly	Ser	Thr	Ala	Ser	Leu	Thr	Ile	Ser	Gly	Leu
[5011]	65						70					75				80
[5012]	Gln	Ala	Glu	Asp	Glu	Ala	Asn	Tyr	Tyr	Cys	Ser	Ser	Tyr	Thr	Ser	Ser
[5013]						85					90					95
[5014]	Thr	Thr	Val	Ile	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Leu	Thr	Val	Leu	Gly	
[5015]					100					105					110	
[5016]	<210> 409															
[5017]	<211> 248															
[5018]	<212> PRT															
[5019]	<213> 人工序列															
[5020]	<220>															
[5021]	<223> GPC3A-034 scFv															
[5022]	<400> 409															
[5023]	Gln	Pro	Val	Leu	Thr	Gln	Pro	Pro	Ser	Ala	Ser	Gly	Thr	Pro	Gly	Gln
[5024]	1				5					10					15	
[5025]	Arg	Val	Thr	Ile	Ser	Cys	Ser	Gly	Ser	Ser	Ser	Asn	Ile	Gly	Ser	Asn
[5026]					20					25					30	
[5027]	Asn	Val	Ile	Trp	Tyr	Gln	Gln	Leu	Pro	Gly	Ala	Ala	Pro	Lys	Leu	Leu
[5028]					35					40				45		
[5029]	Ile	Tyr	Ser	Asn	His	Arg	Arg	Pro	Ser	Gly	Val	Pro	Asp	Arg	Phe	Ser
[5030]			50					55					60			

[5031]	Gly Ser Arg Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Gln
[5032]	65 70 75 80
[5033]	Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Ala Trp Asp Asp Ser Leu
[5034]	85 90 95
[5035]	Asp Gly Tyr Leu Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly Ser
[5036]	100 105 110
[5037]	Arg Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
[5038]	115 120 125
[5039]	Leu Glu Met Ala Gln Val Gln Leu Gln Gln Trp Gly Ala Gly Leu Leu
[5040]	130 135 140
[5041]	Lys Pro Ser Glu Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Tyr Gly Gly Ser
[5042]	145 150 155 160
[5043]	Phe Ser Gly Tyr Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly
[5044]	165 170 175
[5045]	Leu Glu Trp Ile Gly Glu Ile Asn His Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn
[5046]	180 185 190
[5047]	Pro Ser Leu Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn
[5048]	195 200 205
[5049]	Gln Phe Ser Leu Glu Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val
[5050]	210 215 220
[5051]	Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Tyr Gly Gly Arg Phe Asp Tyr Trp Gly Gln
[5052]	225 230 235 240
[5053]	Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
[5054]	245
[5055]	<210> 410
[5056]	<211> 249
[5057]	<212> PRT
[5058]	<213> 人工序列
[5059]	<220>
[5060]	<223> GPC3A-035 scFv
[5061]	<400> 410
[5062]	Gln Ala Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gln Thr Pro Gly Gln
[5063]	1 5 10 15
[5064]	Met Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Thr Ser Ser Asn Ile Gly Ser Asn
[5065]	20 25 30
[5066]	Tyr Val Phe Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
[5067]	35 40 45
[5068]	Ile Tyr Lys Asn Phe Gln Arg Pro Ser Gly Val Pro Gly Arg Phe Ser
[5069]	50 55 60

[5070]	Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ala Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Arg
[5071]	65 70 75 80
[5072]	Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Phe Cys Ala Ala Trp Asp Asp Ala Leu
[5073]	85 90 95
[5074]	Ser Gly Tyr Val Phe Gly Ala Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly Ser
[5075]	100 105 110
[5076]	Arg Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
[5077]	115 120 125
[5078]	Leu Glu Met Ala Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys
[5079]	130 135 140
[5080]	Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr
[5081]	145 150 155 160
[5082]	Phe Thr Gly Tyr Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly
[5083]	165 170 175
[5084]	Leu Glu Trp Met Gly Trp Ile Asn Pro Asn Ser Gly Gly Thr Asn Tyr
[5085]	180 185 190
[5086]	Ala Gln Lys Phe Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile
[5087]	195 200 205
[5088]	Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala
[5089]	210 215 220
[5090]	Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Ser Trp Thr Ser Gly Phe Asp Tyr Trp Gly
[5091]	225 230 235 240
[5092]	Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
[5093]	245
[5094]	<210> 411
[5095]	<211> 250
[5096]	<212> PRT
[5097]	<213> 人工序列
[5098]	<220>
[5099]	<223> GPC3A-037 scFv
[5100]	<400> 411
[5101]	Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Ala Ala Pro Gly Gln
[5102]	1 5 10 15
[5103]	Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Thr Arg Ser Asn Ile Gly Ser Asp
[5104]	20 25 30
[5105]	Tyr Val Ser Trp Tyr Gln His Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
[5106]	35 40 45
[5107]	Val Tyr Gly Asp Asn Leu Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
[5108]	50 55 60

[5109]	Ala Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Thr Leu Gly Ile Thr Gly Leu Gln
[5110]	65 70 75 80
[5111]	Thr Gly Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gly Thr Trp Asp Tyr Thr Leu
[5112]	85 90 95
[5113]	Asn Gly Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Ser
[5114]	100 105 110
[5115]	Arg Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
[5116]	115 120 125
[5117]	Leu Glu Met Ala Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val
[5118]	130 135 140
[5119]	Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr
[5120]	145 150 155 160
[5121]	Phe Ser Ser Tyr Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly
[5122]	165 170 175
[5123]	Leu Glu Trp Val Ser Val Ile Tyr Ser Gly Gly Ser Ser Thr Tyr Tyr
[5124]	180 185 190
[5125]	Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys
[5126]	195 200 205
[5127]	Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala
[5128]	210 215 220
[5129]	Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Thr Ser Tyr Leu Asn His Gly Asp Tyr Trp
[5130]	225 230 235 240
[5131]	Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
[5132]	245 250
[5133]	<210> 412
[5134]	<211> 246
[5135]	<212> PRT
[5136]	<213> 人工序列
[5137]	<220>
[5138]	<223> GPC3A-038 scFv
[5139]	<400> 412
[5140]	Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ala Pro Gly Lys
[5141]	1 5 10 15
[5142]	Thr Ala Arg Ile Thr Cys Gly Gly Asn Asn Ile Gly Ser Lys Ser Val
[5143]	20 25 30
[5144]	His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu Val Ile Tyr
[5145]	35 40 45
[5146]	Tyr Asp Ser Asp Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser
[5147]	50 55 60

[5148]	Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Arg Val Glu Ala Gly
[5149]	65 70 75 80
[5150]	Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Asp Ser Ser Ser Asp His
[5151]	85 90 95
[5152]	Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Ser Arg Gly
[5153]	100 105 110
[5154]	Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Leu Glu
[5155]	115 120 125
[5156]	Met Ala Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro
[5157]	130 135 140
[5158]	Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr
[5159]	145 150 155 160
[5160]	Ser Tyr Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu
[5161]	165 170 175
[5162]	Trp Met Gly Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln
[5163]	180 185 190
[5164]	Lys Phe Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr
[5165]	195 200 205
[5166]	Val Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr
[5167]	210 215 220
[5168]	Tyr Cys Ala Arg Lys Val Thr Gly Tyr Asp Ser Trp Gly Gln Gly Thr
[5169]	225 230 235 240
[5170]	Leu Val Thr Val Ser Ser
[5171]	245
[5172]	<210> 413
[5173]	<211> 246
[5174]	<212> PRT
[5175]	<213> 人工序列
[5176]	<220>
[5177]	<223> GPC3A-039 scFv
[5178]	<400> 413
[5179]	Ser Tyr Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ala Pro Gly Lys
[5180]	1 5 10 15
[5181]	Thr Ala Arg Ile Thr Cys Gly Gly Asn Asn Ile Gly Ser Lys Ser Val
[5182]	20 25 30
[5183]	His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu Val Ile Tyr
[5184]	35 40 45
[5185]	Tyr Asp Ser Asp Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser
[5186]	50 55 60

[5187]	Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Arg Val Glu Ala Gly
[5188]	65 70 75 80
[5189]	Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Asp Ser Ser Ser Asp His
[5190]	85 90 95
[5191]	Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Ser Arg Gly
[5192]	100 105 110
[5193]	Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Leu Glu
[5194]	115 120 125
[5195]	Met Ala Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Leu Val His Pro
[5196]	130 135 140
[5197]	Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Gly Ser Gly Phe Thr Phe Ser
[5198]	145 150 155 160
[5199]	Ser Tyr Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu
[5200]	165 170 175
[5201]	Trp Val Ser Ala Ile Gly Thr Gly Gly Gly Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser
[5202]	180 185 190
[5203]	Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu
[5204]	195 200 205
[5205]	Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
[5206]	210 215 220
[5207]	Cys Ala Arg Tyr Gly Arg Lys Ser Ile Asp Ala Trp Gly Gln Gly Thr
[5208]	225 230 235 240
[5209]	Leu Val Thr Val Ser Ser
[5210]	245
[5211]	<210> 414
[5212]	<211> 249
[5213]	<212> PRT
[5214]	<213> 人工序列
[5215]	<220>
[5216]	<223> GPC3A-040 scFv
[5217]	<400> 414
[5218]	Leu Pro Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Thr Pro Gly Gln
[5219]	1 5 10 15
[5220]	Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ser Asn
[5221]	20 25 30
[5222]	Tyr Val Tyr Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
[5223]	35 40 45
[5224]	Ile Tyr Ser Asn Asn Gln Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser
[5225]	50 55 60

[5226]	Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Arg
[5227]	65 70 75 80
[5228]	Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Ala Trp Asp Asp Ser Leu
[5229]	85 90 95
[5230]	Ser Gly Tyr Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly Ser
[5231]	100 105 110
[5232]	Arg Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
[5233]	115 120 125
[5234]	Leu Glu Met Ala Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys
[5235]	130 135 140
[5236]	Lys Pro Gly Ala Ser Val Thr Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr
[5237]	145 150 155 160
[5238]	Phe Thr Gly Tyr Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly
[5239]	165 170 175
[5240]	Leu Glu Trp Met Gly Trp Ile Asn Pro Asn Ser Gly Gly Thr Asn Tyr
[5241]	180 185 190
[5242]	Ala Gln Lys Phe Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile
[5243]	195 200 205
[5244]	Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala
[5245]	210 215 220
[5246]	Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Arg Gly Tyr Tyr Gly Tyr Asp Ser Trp Gly
[5247]	225 230 235 240
[5248]	Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
[5249]	245
[5250]	<210> 415
[5251]	<211> 249
[5252]	<212> PRT
[5253]	<213> 人工序列
[5254]	<220>
[5255]	<223> GPC3A-041 scFv
[5256]	<400> 415
[5257]	Gln Ala Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gln Thr Pro Gly Gln
[5258]	1 5 10 15
[5259]	Met Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Thr Ser Ser Asn Ile Gly Ser Asn
[5260]	20 25 30
[5261]	Tyr Val Phe Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
[5262]	35 40 45
[5263]	Ile Tyr Lys Asn Phe Gln Arg Pro Ser Gly Val Pro Gly Arg Phe Ser
[5264]	50 55 60

[5265]	Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ala Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Arg
[5266]	65 70 75 80
[5267]	Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Phe Cys Ala Ala Trp Asp Asp Ala Leu
[5268]	85 90 95
[5269]	Ser Gly Tyr Val Phe Gly Ala Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly Ser
[5270]	100 105 110
[5271]	Arg Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
[5272]	115 120 125
[5273]	Leu Glu Met Ala Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys
[5274]	130 135 140
[5275]	Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr
[5276]	145 150 155 160
[5277]	Phe Thr Gly Tyr Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly
[5278]	165 170 175
[5279]	Leu Glu Trp Met Gly Trp Ile Asn Pro Asn Ser Gly Gly Thr Asn Tyr
[5280]	180 185 190
[5281]	Ala Gln Lys Phe Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile
[5282]	195 200 205
[5283]	Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala
[5284]	210 215 220
[5285]	Met Tyr Tyr Cys Ala Arg Ser Gly Lys Tyr Tyr Gly Asp Lys Trp Gly
[5286]	225 230 235 240
[5287]	Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
[5288]	245
[5289]	<210> 416
[5290]	<211> 249
[5291]	<212> PRT
[5292]	<213> 人工序列
[5293]	<220>
[5294]	<223> GPC3A-042 scFv
[5295]	<400> 416
[5296]	Ser Tyr Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Thr Pro Gly Gln
[5297]	1 5 10 15
[5298]	Arg Val Thr Ile Ser Cys Phe Gly Ser Ser Ser Asp Ile Gly Ser Asn
[5299]	20 25 30
[5300]	Ser Val Phe Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Ala Ala Pro Lys Leu Leu
[5301]	35 40 45
[5302]	Ile Tyr Ser Thr Gln Tyr Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser
[5303]	50 55 60

[5304]	Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Gln
[5305]	65 70 75 80
[5306]	Ser Glu Asp Glu Ala Glu Tyr His Cys Ala Thr Trp Asp Asp Ser Leu
[5307]	85 90 95
[5308]	Asn Gly Tyr Val Phe Gly Ser Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly Ser
[5309]	100 105 110
[5310]	Arg Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
[5311]	115 120 125
[5312]	Leu Glu Met Ala Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys
[5313]	130 135 140
[5314]	Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser
[5315]	145 150 155 160
[5316]	Phe Thr Gly Tyr Tyr Val Tyr Trp Met Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly
[5317]	165 170 175
[5318]	Leu Glu Trp Met Gly Trp Met Asn Pro Arg Ser Gly Gly Thr Asn Tyr
[5319]	180 185 190
[5320]	Ala Gln Lys Phe Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile
[5321]	195 200 205
[5322]	Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Arg Leu Thr Ser Asp Asp Thr Ala
[5323]	210 215 220
[5324]	Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Ser Ser Tyr Tyr Trp Ala Asp Ser Trp Gly
[5325]	225 230 235 240
[5326]	Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
[5327]	245
[5328]	<210> 417
[5329]	<211> 256
[5330]	<212> PRT
[5331]	<213> 人工序列
[5332]	<220>
[5333]	<223> GPC3A-043 scFv
[5334]	<400> 417
[5335]	Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Thr Pro Gly Gln
[5336]	1 5 10 15
[5337]	Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Thr Asn
[5338]	20 25 30
[5339]	Tyr Val Tyr Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Ile
[5340]	35 40 45
[5341]	Ile Tyr Arg Asn Asn Gln Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser
[5342]	50 55 60

[5343]	Gly Ser Glu Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Arg
[5344]	65 70 75 80
[5345]	Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Val Trp Asp Asp Ser Leu
[5346]	85 90 95
[5347]	Ser Gly Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Ser
[5348]	100 105 110
[5349]	Arg Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
[5350]	115 120 125
[5351]	Leu Glu Met Ala Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys
[5352]	130 135 140
[5353]	Lys Pro Gly Ala Thr Val Lys Val Ser Cys Lys Val Ser Gly Tyr Thr
[5354]	145 150 155 160
[5355]	Phe Thr Asp Tyr Tyr Met His Trp Val Gln Gln Ala Pro Gly Lys Gly
[5356]	165 170 175
[5357]	Leu Glu Trp Met Gly Leu Val Asp Pro Glu Asp Gly Glu Thr Ile Tyr
[5358]	180 185 190
[5359]	Ala Glu Lys Phe Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Thr
[5360]	195 200 205
[5361]	Asp Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala
[5362]	210 215 220
[5363]	Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Glu Leu Arg Asp Val Ala Tyr Tyr Pro Trp
[5364]	225 230 235 240
[5365]	Gly Val Glu Asp Phe Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
[5366]	245 250 255
[5367]	<210> 418
[5368]	<211> 246
[5369]	<212> PRT
[5370]	<213> 人工序列
[5371]	<220>
[5372]	<223> GPC3A-044 scFv
[5373]	<400> 418
[5374]	Ser Tyr Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ala Pro Gly Lys
[5375]	1 5 10 15
[5376]	Thr Ala Arg Ile Thr Cys Gly Gly Asp Asn Ile Gly Tyr Lys Gly Val
[5377]	20 25 30
[5378]	His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu Val Val Tyr
[5379]	35 40 45
[5380]	Asp Asp Ser Asp Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser
[5381]	50 55 60

[5382]	Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Arg Val Glu Ala Gly
[5383]	65 70 75 80
[5384]	Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Asp Ser Ser Ser Asp His
[5385]	85 90 95
[5386]	Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Ser Arg Gly
[5387]	100 105 110
[5388]	Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Leu Glu
[5389]	115 120 125
[5390]	Met Ala Gln Val Gln Leu Gln Gln Trp Gly Ala Gly Leu Leu Lys Pro
[5391]	130 135 140
[5392]	Ser Glu Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Tyr Gly Gly Ser Phe Ser
[5393]	145 150 155 160
[5394]	Gly Tyr Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu
[5395]	165 170 175
[5396]	Trp Ile Gly Glu Ile Asn His Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser
[5397]	180 185 190
[5398]	Leu Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe
[5399]	195 200 205
[5400]	Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
[5401]	210 215 220
[5402]	Cys Ala Arg Tyr Tyr Val Pro Tyr Leu Ser Asp Trp Gly Gln Gly Thr
[5403]	225 230 235 240
[5404]	Leu Val Thr Val Ser Ser
[5405]	245
[5406]	<210> 419
[5407]	<211> 248
[5408]	<212> PRT
[5409]	<213> 人工序列
[5410]	<220>
[5411]	<223> GPC3A-045 scFv
[5412]	<400> 419
[5413]	Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Gly Thr Pro Gly Gln
[5414]	1 5 10 15
[5415]	Arg Val Ile Ile Ser Cys Pro Gly Ser Thr Ser Asn Ile Gly Thr Asn
[5416]	20 25 30
[5417]	Thr Val Asn Trp Tyr Gln Gln Phe Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
[5418]	35 40 45
[5419]	Ile Tyr Ser Asn Asn Gln Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser
[5420]	50 55 60

[5421]	Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Gln
[5422]	65 70 75 80
[5423]	Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Ala Trp Asp Asp Ser Leu
[5424]	85 90 95
[5425]	Asn Gly Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Ser
[5426]	100 105 110
[5427]	Arg Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
[5428]	115 120 125
[5429]	Leu Glu Met Ala Gln Met Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Leu Val
[5430]	130 135 140
[5431]	Lys Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr
[5432]	145 150 155 160
[5433]	Phe Ser Asp Tyr Tyr Met Ser Trp Ile Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly
[5434]	165 170 175
[5435]	Leu Glu Trp Val Ser Tyr Ile Ser Ser Ser Gly Ser Thr Ile Tyr Tyr
[5436]	180 185 190
[5437]	Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys
[5438]	195 200 205
[5439]	Asn Ser Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala
[5440]	210 215 220
[5441]	Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Ala Ser Asp Leu Tyr Gly Asp Trp Gly Gln
[5442]	225 230 235 240
[5443]	Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
[5444]	245
[5445]	<210> 420
[5446]	<211> 253
[5447]	<212> PRT
[5448]	<213> 人工序列
[5449]	<220>
[5450]	<223> GPC3A-046 scFv
[5451]	<400> 420
[5452]	Gln Ala Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Gly Thr Pro Gly Gln
[5453]	1 5 10 15
[5454]	Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Phe Gly Ser Asn
[5455]	20 25 30
[5456]	Thr Val His Trp Tyr Gln Gln Val Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
[5457]	35 40 45
[5458]	Ile Phe Ser Asn Thr Gln Arg Pro Ser Glu Ile Pro Asp Arg Phe Ser
[5459]	50 55 60

[5460]	Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Gln
[5461]	65 70 75 80
[5462]	Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Ala Trp Asp Asp Ser Leu
[5463]	85 90 95
[5464]	Thr Gly Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Ser
[5465]	100 105 110
[5466]	Arg Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
[5467]	115 120 125
[5468]	Leu Glu Met Ala Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys
[5469]	130 135 140
[5470]	Lys Pro Gly Ala Ser Val Thr Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Arg
[5471]	145 150 155 160
[5472]	Phe Ser Asn Tyr Gly Val Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly
[5473]	165 170 175
[5474]	Leu Glu Trp Met Gly Trp Ile Ser Gly Ser Asn Gly Asn Thr Asn Tyr
[5475]	180 185 190
[5476]	Ala Gln Lys Phe Leu Gly Arg Val Thr Met Thr Thr Asp Thr Ser Thr
[5477]	195 200 205
[5478]	Thr Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala
[5479]	210 215 220
[5480]	Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Asn Arg Arg Tyr Tyr Ser Pro Ile Ile
[5481]	225 230 235 240
[5482]	Asp Pro Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
[5483]	245 250
[5484]	<210> 421
[5485]	<211> 250
[5486]	<212> PRT
[5487]	<213> 人工序列
[5488]	<220>
[5489]	<223> GPC3A-047 scFv
[5490]	<400> 421
[5491]	Leu Pro Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Thr Pro Gly Gln
[5492]	1 5 10 15
[5493]	Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Arg Ser Asn Ile Ala Ser Asn
[5494]	20 25 30
[5495]	Asp Val Tyr Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Arg Leu
[5496]	35 40 45
[5497]	Ile Tyr Lys Lys Asn Gln Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser
[5498]	50 55 60

[5499]	Ala Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Arg
[5500]	65 70 75 80
[5501]	Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Ala Trp Asp Asp Asn Leu
[5502]	85 90 95
[5503]	Ser Gly Tyr Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly Ser
[5504]	100 105 110
[5505]	Arg Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
[5506]	115 120 125
[5507]	Leu Glu Met Ala Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys
[5508]	130 135 140
[5509]	Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Pro Gly Tyr Thr
[5510]	145 150 155 160
[5511]	Phe Thr Gly Tyr Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly
[5512]	165 170 175
[5513]	Leu Glu Trp Met Gly Trp Ile Asn Pro Asn Ser Gly Gly Thr Asn Tyr
[5514]	180 185 190
[5515]	Ala Gln Lys Phe Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile
[5516]	195 200 205
[5517]	Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala
[5518]	210 215 220
[5519]	Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Ser Asp Tyr Gly Ser Leu Tyr Asp Lys Trp
[5520]	225 230 235 240
[5521]	Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
[5522]	245 250
[5523]	<210> 422
[5524]	<211> 247
[5525]	<212> PRT
[5526]	<213> 人工序列
[5527]	<220>
[5528]	<223> GPC3A-048 scFv
[5529]	<400> 422
[5530]	Gln Pro Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ala Pro Gly Lys
[5531]	1 5 10 15
[5532]	Thr Ala Arg Ile Thr Cys Gly Gly Asn Asn Ile Gly Ser Lys Ser Val
[5533]	20 25 30
[5534]	His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu Val Ile Tyr
[5535]	35 40 45
[5536]	Tyr Asp Ser Asp Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser
[5537]	50 55 60

[5538]	Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Arg Val Glu Ala Gly
[5539]	65 70 75 80
[5540]	Asp Glu Ala Asp Phe Tyr Cys Gln Val Trp Asp Ser Ser Ser Asp Arg
[5541]	85 90 95
[5542]	Gly Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Ser Arg Gly
[5543]	100 105 110
[5544]	Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Leu Glu
[5545]	115 120 125
[5546]	Met Ala Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Glu Val Gln Pro
[5547]	130 135 140
[5548]	Gly Arg Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser
[5549]	145 150 155 160
[5550]	Ser Tyr Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu
[5551]	165 170 175
[5552]	Trp Val Ala Val Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp
[5553]	180 185 190
[5554]	Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr
[5555]	195 200 205
[5556]	Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr
[5557]	210 215 220
[5558]	Tyr Cys Ala Arg Ser Ser Phe Val Ala Thr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
[5559]	225 230 235 240
[5560]	Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
[5561]	245
[5562]	<210> 423
[5563]	<211> 253
[5564]	<212> PRT
[5565]	<213> 人工序列
[5566]	<220>
[5567]	<223> GPC3A-049 scFv
[5568]	<400> 423
[5569]	Gln Ala Val Leu Thr Gln Pro Ser Ser Ala Ser Gly Thr Pro Gly Gln
[5570]	1 5 10 15
[5571]	Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Gly Ser Ser Asn Ile Gly Ser Asn
[5572]	20 25 30
[5573]	Tyr Val Tyr Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
[5574]	35 40 45
[5575]	Ile Tyr Arg Asn Asn Gln Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser
[5576]	50 55 60

[5577]	Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Arg
[5578]	65 70 75 80
[5579]	Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Ala Trp Asp Asp Ser Leu
[5580]	85 90 95
[5581]	Ser Gly Trp Val Phe Gly Gly Arg Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Ser
[5582]	100 105 110
[5583]	Arg Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
[5584]	115 120 125
[5585]	Leu Glu Met Ala Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys
[5586]	130 135 140
[5587]	Glu Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr
[5588]	145 150 155 160
[5589]	Phe Thr Gly Tyr Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly
[5590]	165 170 175
[5591]	Leu Glu Trp Met Gly Trp Ile Asn Pro Asn Ser Gly Gly Thr Asn Tyr
[5592]	180 185 190
[5593]	Ala Gln Lys Phe Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile
[5594]	195 200 205
[5595]	Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala
[5596]	210 215 220
[5597]	Val Tyr Tyr Cys Ala Arg His Gly Gly Ile Gly Ser Met Arg Ser Phe
[5598]	225 230 235 240
[5599]	Asp Gln Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
[5600]	245 250
[5601]	<210> 424
[5602]	<211> 249
[5603]	<212> PRT
[5604]	<213> 人工序列
[5605]	<220>
[5606]	<223> GPC3A-050 scFv
[5607]	<400> 424
[5608]	Gln Ala Val Leu Thr Gln Pro Ser Ser Ala Ser Gly Thr Pro Gly Gln
[5609]	1 5 10 15
[5610]	Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ser Asn
[5611]	20 25 30
[5612]	Thr Val Asn Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
[5613]	35 40 45
[5614]	Ile Tyr Ser Asn Asn Gln Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser
[5615]	50 55 60

[5616]	Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Gln
[5617]	65 70 75 80
[5618]	Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Ala Trp Asp Asp Ser Leu
[5619]	85 90 95
[5620]	Asn Gly Pro Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly Ser
[5621]	100 105 110
[5622]	Arg Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
[5623]	115 120 125
[5624]	Leu Glu Met Ala Gln Ile Thr Leu Lys Glu Ser Gly Ala Glu Val Lys
[5625]	130 135 140
[5626]	Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser
[5627]	145 150 155 160
[5628]	Phe Thr Gly Tyr Tyr Val Tyr Trp Met Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly
[5629]	165 170 175
[5630]	Leu Glu Trp Met Gly Trp Met Asn Pro Arg Ser Gly Gly Thr Asn Tyr
[5631]	180 185 190
[5632]	Ala Gln Lys Phe Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile
[5633]	195 200 205
[5634]	Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Arg Leu Thr Ser Asp Asp Thr Ala
[5635]	210 215 220
[5636]	Thr Tyr Tyr Cys Ala Arg Ser Gly Tyr Arg Trp Leu Asp Val Trp Gly
[5637]	225 230 235 240
[5638]	Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
[5639]	245
[5640]	<210> 425
[5641]	<211> 254
[5642]	<212> PRT
[5643]	<213> 人工序列
[5644]	<220>
[5645]	<223> GPC3A-051 scFv
[5646]	<400> 425
[5647]	Gln Ala Val Leu Thr Gln Pro Ser Ser Ala Ser Gly Ala Pro Gly Gln
[5648]	1 5 10 15
[5649]	Arg Val Thr Ile Ser Cys Thr Gly Gly Ser Ser Asn Ile Gly Ala Gly
[5650]	20 25 30
[5651]	Tyr Asp Val His Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu
[5652]	35 40 45
[5653]	Leu Ile Tyr Gly Asn Ser Asn Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe
[5654]	50 55 60

[5655]	Ser Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Thr Gly Leu
[5656]	65 70 75 80
[5657]	Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Tyr Asp Ser Ser
[5658]	85 90 95
[5659]	Leu Ser Gly Tyr Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly
[5660]	100 105 110
[5661]	Ser Arg Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
[5662]	115 120 125
[5663]	Ser Leu Glu Met Ala Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val
[5664]	130 135 140
[5665]	Lys Lys Pro Gly Ser Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly
[5666]	145 150 155 160
[5667]	Ala Phe Ser Ser Tyr Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln
[5668]	165 170 175
[5669]	Gly Leu Glu Trp Met Gly Gly Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Ala Asn
[5670]	180 185 190
[5671]	Tyr Ala Gln Lys Phe Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser
[5672]	195 200 205
[5673]	Thr Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr
[5674]	210 215 220
[5675]	Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Met Leu Tyr Leu Ser Gly Arg Tyr Tyr
[5676]	225 230 235 240
[5677]	Trp Asp Ser Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
[5678]	245 250
[5679]	<210> 426
[5680]	<211> 249
[5681]	<212> PRT
[5682]	<213> 人工序列
[5683]	<220>
[5684]	<223> GPC3A-052 scFv
[5685]	<400> 426
[5686]	Gln Ala Val Leu Thr Gln Pro Ser Ser Ala Ser Gly Thr Pro Gly Gln
[5687]	1 5 10 15
[5688]	Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ser Asn
[5689]	20 25 30
[5690]	Tyr Val Tyr Trp Tyr Gln Gln Leu Ser Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
[5691]	35 40 45
[5692]	Ile Tyr Arg Asn Asn Gln Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser
[5693]	50 55 60

[5694]	Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Arg
[5695]	65 70 75 80
[5696]	Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Ala Trp Asp Asp Ser Leu
[5697]	85 90 95
[5698]	Ser Gly Tyr Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly Ser
[5699]	100 105 110
[5700]	Arg Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
[5701]	115 120 125
[5702]	Leu Glu Met Ala Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Ala Glu Val Lys
[5703]	130 135 140
[5704]	Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr
[5705]	145 150 155 160
[5706]	Phe Thr Gly Tyr Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly
[5707]	165 170 175
[5708]	Leu Glu Trp Met Gly Trp Ile Asn Pro Asn Ser Gly Gly Thr Asn Tyr
[5709]	180 185 190
[5710]	Ala Gln Lys Phe Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile
[5711]	195 200 205
[5712]	Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala
[5713]	210 215 220
[5714]	Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Ser His Ser Ser Gly Tyr Asp Lys Trp Gly
[5715]	225 230 235 240
[5716]	Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
[5717]	245
[5718]	<210> 427
[5719]	<211> 251
[5720]	<212> PRT
[5721]	<213> 人工序列
[5722]	<220>
[5723]	<223> GPC3A-053 scFv
[5724]	<400> 427
[5725]	Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Ala Ala Pro Gly Gln
[5726]	1 5 10 15
[5727]	Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Thr Ser Ser Asn Ile Gly Ser Asn
[5728]	20 25 30
[5729]	Tyr Val Trp Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Ala Ala Pro Arg Leu Leu
[5730]	35 40 45
[5731]	Ile Tyr Gly Asn Ser Asn Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser
[5732]	50 55 60

[5733]	Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Thr Gly Leu Gln
[5734]	65 70 75 80
[5735]	Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Tyr Asp Ser Ser Leu
[5736]	85 90 95
[5737]	Ser Gly Ser Asn Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly
[5738]	100 105 110
[5739]	Ser Arg Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
[5740]	115 120 125
[5741]	Ser Leu Glu Met Ala Gln Leu Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu
[5742]	130 135 140
[5743]	Val Lys Pro Ser Glu Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly
[5744]	145 150 155 160
[5745]	Ser Ile Ser Ser Ser Ser Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro
[5746]	165 170 175
[5747]	Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile Gly Ser Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr
[5748]	180 185 190
[5749]	Tyr Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr
[5750]	195 200 205
[5751]	Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp
[5752]	210 215 220
[5753]	Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Trp Trp Ser Gly Ser Tyr Asp Thr
[5754]	225 230 235 240
[5755]	Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
[5756]	245 250
[5757]	<210> 428
[5758]	<211> 251
[5759]	<212> PRT
[5760]	<213> 人工序列
[5761]	<220>
[5762]	<223> GPC3A-054 scFv
[5763]	<400> 428
[5764]	Ser Tyr Glu Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Thr Pro Gly Gln
[5765]	1 5 10 15
[5766]	Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ser Asn
[5767]	20 25 30
[5768]	Tyr Val Tyr Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
[5769]	35 40 45
[5770]	Ile Tyr Arg Asn Asn Gln Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser
[5771]	50 55 60

[5772]	Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Arg		
[5773]	65	70	75 80
[5774]	Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Ala Trp Asp Asp Ser Leu		
[5775]		85	90 95
[5776]	Ser Gly Tyr Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly Ser		
[5777]		100	105 110
[5778]	Arg Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser		
[5779]		115	120 125
[5780]	Leu Glu Met Ala Gln Met Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys		
[5781]		130	135 140
[5782]	Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr		
[5783]	145	150	155 160
[5784]	Phe Thr Ser Tyr Gly Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly		
[5785]		165	170 175
[5786]	Leu Glu Trp Met Gly Trp Ile Ser Ala Tyr Asn Gly Asn Thr Asn Tyr		
[5787]		180	185 190
[5788]	Ala Gln Lys Leu Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Thr Asp Thr Ser Thr		
[5789]		195	200 205
[5790]	Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu Arg Ser Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala		
[5791]		210	215 220
[5792]	Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Ile Pro Met Tyr Ser Gly Ser Ser Asp Tyr		
[5793]	225	230	235 240
[5794]	Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser		
[5795]		245	250
[5796]	<210> 429		
[5797]	<211> 247		
[5798]	<212> PRT		
[5799]	<213> 人工序列		
[5800]	<220>		
[5801]	<223> GPC3A-055 scFv		
[5802]	<400> 429		
[5803]	Gln Pro Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ala Pro Gly Lys		
[5804]	1	5	10 15
[5805]	Thr Ala Arg Ile Thr Cys Gly Gly Asn Asn Ile Gly Ser Lys Ser Val		
[5806]		20	25 30
[5807]	His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu Val Ile Tyr		
[5808]		35	40 45
[5809]	Tyr Asp Ser Asp Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser		
[5810]		50	55 60

[5811]	Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Arg Val Glu Ala Gly
[5812]	65 70 75 80
[5813]	Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Asp Ser Ser Ser Asp His
[5814]	85 90 95
[5815]	Tyr Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly Ser Arg Gly
[5816]	100 105 110
[5817]	Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Leu Glu
[5818]	115 120 125
[5819]	Met Ala Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro
[5820]	130 135 140
[5821]	Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr
[5822]	145 150 155 160
[5823]	Ser Tyr Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu
[5824]	165 170 175
[5825]	Trp Met Gly Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln
[5826]	180 185 190
[5827]	Lys Phe Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr
[5828]	195 200 205
[5829]	Val Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr
[5830]	210 215 220
[5831]	Tyr Cys Ala Arg Trp His Gly Gly Pro Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
[5832]	225 230 235 240
[5833]	Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
[5834]	245
[5835]	<210> 430
[5836]	<211> 251
[5837]	<212> PRT
[5838]	<213> 人工序列
[5839]	<220>
[5840]	<223> GPC3A-056 scFv
[5841]	<400> 430
[5842]	Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
[5843]	1 5 10 15
[5844]	Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr
[5845]	20 25 30
[5846]	Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
[5847]	35 40 45
[5848]	Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
[5849]	50 55 60

[5850]	Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
[5851]	65 70 75 80
[5852]	Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Ile
[5853]	85 90 95
[5854]	Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys Arg Ser Arg Gly Gly
[5855]	100 105 110
[5856]	Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Leu Glu Met
[5857]	115 120 125
[5858]	Ala Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Phe Gly
[5859]	130 135 140
[5860]	Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Asn Asp
[5861]	145 150 155 160
[5862]	Tyr Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp
[5863]	165 170 175
[5864]	Met Gly Trp Ile Asn Pro Asn Asn Gly Asp Thr Lys Tyr Glu Lys Lys
[5865]	180 185 190
[5866]	Trp Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Thr Thr Ala
[5867]	195 200 205
[5868]	Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
[5869]	210 215 220
[5870]	Cys Ala Arg Phe Ser Thr His Asn Trp Trp Trp Pro Thr Tyr Asp Tyr
[5871]	225 230 235 240
[5872]	Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
[5873]	245 250
[5874]	<210> 431
[5875]	<211> 250
[5876]	<212> PRT
[5877]	<213> 人工序列
[5878]	<220>
[5879]	<223> GPC3A-057 scFv
[5880]	<400> 431
[5881]	Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ser Val Ser Val Ala Pro Gly Lys
[5882]	1 5 10 15
[5883]	Thr Ala Arg Ile Thr Cys Gly Gly Asn Asn Ile Gly Ser Lys Ser Val
[5884]	20 25 30
[5885]	His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu Val Ile Tyr
[5886]	35 40 45
[5887]	Tyr Asp Ser Asp Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser
[5888]	50 55 60

[5889]	Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Arg Val Glu Ala Gly
[5890]	65 70 75 80
[5891]	Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Asp Ser Ser Ser Asp His
[5892]	85 90 95
[5893]	Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Ser Arg Gly
[5894]	100 105 110
[5895]	Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Leu Glu
[5896]	115 120 125
[5897]	Met Ala Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Ile Gln Pro
[5898]	130 135 140
[5899]	Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser
[5900]	145 150 155 160
[5901]	Ser Tyr Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu
[5902]	165 170 175
[5903]	Trp Val Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp
[5904]	180 185 190
[5905]	Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr
[5906]	195 200 205
[5907]	Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr
[5908]	210 215 220
[5909]	Tyr Cys Ala Arg Tyr Asn Tyr Met Ser Ser Gly Phe Tyr Asp Arg Trp
[5910]	225 230 235 240
[5911]	Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
[5912]	245 250
[5913]	<210> 432
[5914]	<211> 249
[5915]	<212> PRT
[5916]	<213> 人工序列
[5917]	<220>
[5918]	<223> GPC3A-058 scFv
[5919]	<400> 432
[5920]	Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ala Pro Gly Lys
[5921]	1 5 10 15
[5922]	Thr Ala Arg Ile Thr Cys Gly Gly Asn Asn Ile Gly Ser Lys Ser Val
[5923]	20 25 30
[5924]	His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu Val Val Tyr
[5925]	35 40 45
[5926]	Asp Asp Ser Asp Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser
[5927]	50 55 60

[5928]	Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Arg Val Glu Ala Gly
[5929]	65 70 75 80
[5930]	Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Asp Ser Ser Ser Asp His
[5931]	85 90 95
[5932]	Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly Ser Arg Gly Gly
[5933]	100 105 110
[5934]	Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Leu Glu Met
[5935]	115 120 125
[5936]	Ala Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Asp Val Arg Lys Pro Gly
[5937]	130 135 140
[5938]	Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Ala Ser
[5939]	145 150 155 160
[5940]	His Gly Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp
[5941]	165 170 175
[5942]	Leu Gly Trp Ile Ser Pro Tyr Thr Gly Asn Thr Asn Tyr Ala Gln Lys
[5943]	180 185 190
[5944]	Phe Gln Gly Arg Val Thr Met Ala Thr Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala
[5945]	195 200 205
[5946]	Tyr Met Glu Leu Arg Ser Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr
[5947]	210 215 220
[5948]	Cys Ala Arg Gly Lys Arg Thr Leu Ala Ser Cys Phe Asp Tyr Trp Gly
[5949]	225 230 235 240
[5950]	Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
[5951]	245
[5952]	<210> 433
[5953]	<211> 246
[5954]	<212> PRT
[5955]	<213> 人工序列
[5956]	<220>
[5957]	<223> GPC3A-059 scFv
[5958]	<400> 433
[5959]	Ser Tyr Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ala Pro Gly Lys
[5960]	1 5 10 15
[5961]	Thr Ala Arg Ile Thr Cys Gly Gly Asn Asn Ile Gly Ser Lys Ser Val
[5962]	20 25 30
[5963]	Tyr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu Val Ile Tyr
[5964]	35 40 45
[5965]	Tyr Asp Ser Asp Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser
[5966]	50 55 60

[5967]	Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Arg Val Glu Ala Gly
[5968]	65 70 75 80
[5969]	Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Asp Ser Ser Ser Asp His
[5970]	85 90 95
[5971]	Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly Ser Arg Gly Gly
[5972]	100 105 110
[5973]	Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Leu Glu Met
[5974]	115 120 125
[5975]	Ala Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly
[5976]	130 135 140
[5977]	Ala Ser Val Thr Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Arg
[5978]	145 150 155 160
[5979]	Tyr Gly Ile Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp
[5980]	165 170 175
[5981]	Met Gly Trp Ile Ser Ala Tyr Ser Asp Lys Thr Asn Tyr Ala Gln Lys
[5982]	180 185 190
[5983]	Leu Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Thr Asp Ile Ser Thr Asn Thr Ala
[5984]	195 200 205
[5985]	Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
[5986]	210 215 220
[5987]	Cys Ala Arg Ser Arg Trp Ser Tyr Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr
[5988]	225 230 235 240
[5989]	Leu Val Thr Val Ser Ser
[5990]	245
[5991]	<210> 434
[5992]	<211> 247
[5993]	<212> PRT
[5994]	<213> 人工序列
[5995]	<220>
[5996]	<223> GPC3A-060 scFv
[5997]	<400> 434
[5998]	Ser Tyr Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ala Pro Gly Lys
[5999]	1 5 10 15
[6000]	Thr Ala Arg Leu Thr Cys Gly Gly Asn Asn Ile Gly Ser Glu Ser Val
[6001]	20 25 30
[6002]	His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Leu Leu Val Val Tyr
[6003]	35 40 45
[6004]	Asp Asp Asp Asp Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser
[6005]	50 55 60

[6006]	Asn Ser Glu Asp Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Gly Thr Gln Ala Leu
[6007]	65 70 75 80
[6008]	Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Gln Thr Trp Asp Ser Ser Thr Ala Ile
[6009]	85 90 95
[6010]	Phe Gly Thr Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Ser Arg Gly Gly Gly
[6011]	100 105 110
[6012]	Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Leu Glu Met Ala
[6013]	115 120 125
[6014]	Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
[6015]	130 135 140
[6016]	Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Asn Ser Tyr
[6017]	145 150 155 160
[6018]	Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
[6019]	165 170 175
[6020]	Gly Trp Ile Ser Ala Tyr Asn Gly Asn Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Leu
[6021]	180 185 190
[6022]	Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Thr Asp Thr Ser Thr Asn Thr Ala Phe
[6023]	195 200 205
[6024]	Met Glu Leu Arg Ser Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
[6025]	210 215 220
[6026]	Ala Arg Glu Gly Tyr Gly Ser Trp Ala Met Asp Gln Trp Gly Gln Gly
[6027]	225 230 235 240
[6028]	Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
[6029]	245
[6030]	<210> 435
[6031]	<211> 247
[6032]	<212> PRT
[6033]	<213> 人工序列
[6034]	<220>
[6035]	<223> GPC3A-061 scFv
[6036]	<400> 435
[6037]	Gln Pro Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ala Pro Gly Lys
[6038]	1 5 10 15
[6039]	Thr Ala Arg Ile Thr Cys Gly Gly Asn Asn Ile Gly Ser Lys Ser Val
[6040]	20 25 30
[6041]	His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu Val Ile Tyr
[6042]	35 40 45
[6043]	Tyr Asp Ser Asp Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser
[6044]	50 55 60

[6045]	Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Arg Val Glu Ala Gly
[6046]	65 70 75 80
[6047]	Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Asp Ser Ser Ser Asp His
[6048]	85 90 95
[6049]	Tyr Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly Ser Arg Gly
[6050]	100 105 110
[6051]	Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Leu Glu
[6052]	115 120 125
[6053]	Met Ala Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro
[6054]	130 135 140
[6055]	Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr
[6056]	145 150 155 160
[6057]	Ser Tyr Gly Ile Ser Trp Val Arg Gln Thr Pro Gly Gln Gly Leu Glu
[6058]	165 170 175
[6059]	Trp Met Gly Trp Ile Ser Ala Tyr Asn Gly Asn Thr Asn Tyr Ala Gln
[6060]	180 185 190
[6061]	Lys Leu Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Thr Asp Thr Ser Thr Ser Thr
[6062]	195 200 205
[6063]	Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr
[6064]	210 215 220
[6065]	Tyr Cys Ala Arg Lys Gly Ser Ser Gln Phe Asp Gln Trp Gly Gln Gly
[6066]	225 230 235 240
[6067]	Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
[6068]	245
[6069]	<210> 436
[6070]	<211> 257
[6071]	<212> PRT
[6072]	<213> 人工序列
[6073]	<220>
[6074]	<223> GPC3A-062 scFv
[6075]	<400> 436
[6076]	Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Gly Ala Pro Gly Gln
[6077]	1 5 10 15
[6078]	Arg Val Thr Ile Ser Cys Thr Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ala Gly
[6079]	20 25 30
[6080]	Tyr Asp Val His Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu
[6081]	35 40 45
[6082]	Leu Ile Tyr Gly Asn Ser Asn Trp Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe
[6083]	50 55 60

[6084]	Ser Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Thr Gly Leu
[6085]	65 70 75 80
[6086]	Arg Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Tyr Asp Ser Ser
[6087]	85 90 95
[6088]	Leu Ser Gly Ser Tyr Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu
[6089]	100 105 110
[6090]	Gly Ser Arg Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
[6091]	115 120 125
[6092]	Gly Ser Leu Glu Met Ala Gln Met Gln Leu Val Gln Ser Gly Ser Glu
[6093]	130 135 140
[6094]	Leu Lys Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly
[6095]	145 150 155 160
[6096]	Gly Thr Phe Ser Ser Tyr Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly
[6097]	165 170 175
[6098]	Gln Gly Leu Glu Trp Met Gly Gly Ile Ile Pro Lys Ile Gly Thr Ala
[6099]	180 185 190
[6100]	Asn Tyr Ala Gln Lys Phe Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu
[6101]	195 200 205
[6102]	Ser Thr Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp
[6103]	210 215 220
[6104]	Thr Ala Met Tyr Tyr Cys Ala Arg Met Tyr Met Asp Met Gly Trp Gly
[6105]	225 230 235 240
[6106]	Trp Gly Tyr Trp Asp Trp Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser
[6107]	245 250 255
[6108]	Ser
[6109]	<210> 437
[6110]	<211> 251
[6111]	<212> PRT
[6112]	<213> 人工序列
[6113]	<220>
[6114]	<223> GPC3A-063 scFv
[6115]	<400> 437
[6116]	Gln Thr Val Val Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Thr Pro Gly Gln
[6117]	1 5 10 15
[6118]	Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Trp Ser Asn Ile Gly Ser Tyr
[6119]	20 25 30
[6120]	Thr Val Asn Trp Tyr Gln His Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
[6121]	35 40 45
[6122]	Ile Ser Gly Asn Asn Gln Arg Pro Ser Gly Val Pro Gly Arg Phe Ser

[6123]	50	55	60
[6124]	Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Gln		
[6125]	65	70	75
[6126]	Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr His Cys Ala Ala Trp Asp Asp Asn Leu		
[6127]	85	90	95
[6128]	Asn Gly Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Ser		
[6129]	100	105	110
[6130]	Arg Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser		
[6131]	115	120	125
[6132]	Leu Glu Met Ala Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys		
[6133]	130	135	140
[6134]	Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr		
[6135]	145	150	155
[6136]	Phe Thr Ser Tyr Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly		
[6137]	165	170	175
[6138]	Leu Glu Trp Met Gly Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Ala Ser Tyr		
[6139]	180	185	190
[6140]	Ala Gln Lys Phe Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr		
[6141]	195	200	205
[6142]	Ser Thr Val Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala		
[6143]	210	215	220
[6144]	Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Asp Arg Leu Ala Ser Asp Ala Phe Asp Ile		
[6145]	225	230	235
[6146]	Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser		
[6147]	245	250	
[6148]	<210> 438		
[6149]	<211> 250		
[6150]	<212> PRT		
[6151]	<213> 人工序列		
[6152]	<220>		
[6153]	<223> GPC3A-064 scFv		
[6154]	<400> 438		
[6155]	Leu Pro Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Leu Ser Val Ala Pro Gly Lys		
[6156]	1	5	10
[6157]	Thr Ala Arg Leu Thr Cys Gly Gly Asn Asn Ile Gly Ser Lys Ser Val		
[6158]	20	25	30
[6159]	His Trp Tyr His Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu Val Val Tyr		
[6160]	35	40	45
[6161]	Asp Asp Thr Asp Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser		

[6162]	50	55	60
[6163]	Asn Ser Gly Asn Thr Ala Ala Leu Thr Ile Ser Arg Val Glu Val Gly		
[6164]	65	70	75
[6165]	Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Asp Arg Ser Ser Ala His		
[6166]	85	90	95
[6167]	Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Ser Arg Gly		
[6168]	100	105	110
[6169]	Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Leu Glu		
[6170]	115	120	125
[6171]	Met Ala Gln Met Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro		
[6172]	130	135	140
[6173]	Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr		
[6174]	145	150	155
[6175]	Ile Tyr Gly Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu		
[6176]	165	170	175
[6177]	Trp Met Gly Trp Ile Ser Pro Tyr Asn Asp Asn Thr Ile Tyr Ala Gln		
[6178]	180	185	190
[6179]	Lys Val Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Thr Asp Thr Ser Thr Ser Thr		
[6180]	195	200	205
[6181]	Ala Tyr Met Glu Leu Arg Ser Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr		
[6182]	210	215	220
[6183]	Tyr Cys Ala Arg Met Gly Val Gly Trp Gly Tyr Ala Gln Asp Ser Trp		
[6184]	225	230	235
[6185]	Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser		
[6186]	245	250	
[6187]	<210> 439		
[6188]	<211> 246		
[6189]	<212> PRT		
[6190]	<213> 人工序列		
[6191]	<220>		
[6192]	<223> GPC3A-067 scFv		
[6193]	<400> 439		
[6194]	Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ala Pro Gly Lys		
[6195]	1	5	10
[6196]	Thr Ala Arg Ile Thr Cys Gly Gly Asn Asn Ile Gly Ser Lys Ser Val		
[6197]	20	25	30
[6198]	His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu Val Ile Tyr		
[6199]	35	40	45
[6200]	Tyr Asp Ser Asp Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser		

[6201]	50	55	60
[6202]	Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Arg Val Glu Ala Gly		
[6203]	65	70	75
[6204]	Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Asp Ser Ser Ser Asp His		
[6205]	85	90	95
[6206]	Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Ser Arg Gly		
[6207]	100	105	110
[6208]	Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Leu Glu		
[6209]	115	120	125
[6210]	Met Ala Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro		
[6211]	130	135	140
[6212]	Gly Ser Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser		
[6213]	145	150	155
[6214]	Ser Tyr Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu		
[6215]	165	170	175
[6216]	Trp Met Gly Arg Ile Ile Pro Ile Phe Gly Ile Thr Asn Tyr Ala Gln		
[6217]	180	185	190
[6218]	Lys Phe Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr		
[6219]	195	200	205
[6220]	Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr		
[6221]	210	215	220
[6222]	Tyr Cys Ala Arg Gly Ala Glu Met Ser Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr		
[6223]	225	230	235
[6224]	Leu Val Thr Val Ser Ser		240
[6225]	245		
[6226]	<210> 440		
[6227]	<211> 252		
[6228]	<212> PRT		
[6229]	<213> 人工序列		
[6230]	<220>		
[6231]	<223> GPC3B-54 scFv		
[6232]	<400> 440		
[6233]	Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Thr Pro Gly Gln		
[6234]	1	5	10
[6235]	Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Asn Ser Asn Ile Gly Ser Asp		
[6236]	20	25	30
[6237]	Thr Val Asn Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu		
[6238]	35	40	45
[6239]	Ile Tyr Arg Asp Asn Gln Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser		

[6240]	50	55	60
[6241]	Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Gln		
[6242]	65	70	75
[6243]	Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Thr Thr Trp Asp Asp Ser Leu		
[6244]	85	90	95
[6245]	Asn Gly Leu Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly Ser		
[6246]	100	105	110
[6247]	Arg Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser		
[6248]	115	120	125
[6249]	Leu Glu Met Ala Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys		
[6250]	130	135	140
[6251]	Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Leu Ser Cys Lys Thr Ser Gly Tyr Thr		
[6252]	145	150	155
[6253]	Phe Ile Asp Tyr Tyr Val Tyr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly		
[6254]	165	170	175
[6255]	Leu Glu Trp Met Gly Gly Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Ala Asn Tyr		
[6256]	180	185	190
[6257]	Ala Gln Lys Phe Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr		
[6258]	195	200	205
[6259]	Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Gly Ser Glu Asp Thr Ala		
[6260]	210	215	220
[6261]	Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Glu Arg Arg Tyr Ser Ser Ser Pro Ser Asp		
[6262]	225	230	235
[6263]	His Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser		
[6264]	245	250	
[6265]	<210> 441		
[6266]	<211> 249		
[6267]	<212> PRT		
[6268]	<213> 人工序列		
[6269]	<220>		
[6270]	<223> GPC3B-60 scFv		
[6271]	<400> 441		
[6272]	Ser Tyr Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ser Pro Gly Gln		
[6273]	1	5	10
[6274]	Thr Ala Thr Ile Ala Cys Ser Gly Asp Asn Leu Glu Asn Lys Phe Val		
[6275]	20	25	30
[6276]	Tyr Trp Tyr His Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Val Leu Val Met Tyr		
[6277]	35	40	45
[6278]	Glu Asp Asn Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser		

[6279]	50	55	60
[6280]	Asn Ser Gly Asn Thr Ala Ala Leu Thr Ile Ser Gly Ala Gln Pro Met		
[6281]	65	70	75
[6282]	Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Thr Trp Asp Ser Pro Thr Gly Leu		
[6283]	85	90	95
[6284]	Phe Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly Ser Arg Gly		
[6285]	100	105	110
[6286]	Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Leu Glu		
[6287]	115	120	125
[6288]	Met Ala Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro		
[6289]	130	135	140
[6290]	Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr		
[6291]	145	150	155
[6292]	Ser Tyr Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu		
[6293]	165	170	175
[6294]	Trp Met Gly Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln		
[6295]	180	185	190
[6296]	Lys Phe Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr		
[6297]	195	200	205
[6298]	Val Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr		
[6299]	210	215	220
[6300]	Tyr Cys Ala Arg Ser Leu Tyr Ser Gln Pro Tyr Ile Asp Gly Trp Ser		
[6301]	225	230	235
[6302]	Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser		
[6303]	245		
[6304]	<210> 442		
[6305]	<211> 256		
[6306]	<212> PRT		
[6307]	<213> 人工序列		
[6308]	<220>		
[6309]	<223> GPC3B-63 scFv		
[6310]	<400> 442		
[6311]	Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly		
[6312]	1	5	10
[6313]	Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser		
[6314]	20	25	30
[6315]	Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser		
[6316]	35	40	45
[6317]	Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro		

[6318]	50	55	60
[6319]	Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile		
[6320]	65	70	75
[6321]	Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ala		
[6322]	85	90	95
[6323]	Leu Gln Thr Pro Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys		
[6324]	100	105	110
[6325]	Arg Ser Arg Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly		
[6326]	115	120	125
[6327]	Gly Ser Leu Glu Met Ala Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu		
[6328]	130	135	140
[6329]	Val Lys Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly		
[6330]	145	150	155
[6331]	Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly		
[6332]	165	170	175
[6333]	Gln Gly Leu Glu Trp Met Gly Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr		
[6334]	180	185	190
[6335]	Ser Tyr Ala Gln Lys Phe Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr		
[6336]	195	200	205
[6337]	Ser Thr Ser Thr Val Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp		
[6338]	210	215	220
[6339]	Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Ser Leu His Ala Met Arg Trp Ser		
[6340]	225	230	235
[6341]	Gln Thr Met Asp Ser Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser		
[6342]	245	250	255
[6343]	<210> 443		
[6344]	<211> 249		
[6345]	<212> PRT		
[6346]	<213> 人工序列		
[6347]	<220>		
[6348]	<223> GPC3B-66 scFv		
[6349]	<400> 443		
[6350]	Gln Ala Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ala Pro Gly Lys		
[6351]	1	5	10
[6352]	Thr Ala Ser Ile Thr Cys Gly Gly Asn Asn Ile Gly Ser Lys Ser Val		
[6353]	20	25	30
[6354]	His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu Val Ile Tyr		
[6355]	35	40	45
[6356]	Tyr Asp Ser Asp Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser		

[6357]	50	55	60
[6358]	Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Arg Val Glu Ala Gly		
[6359]	65	70	75
[6360]	Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Asp Ser Ser Ser Asp His		
[6361]	85	90	95
[6362]	Leu Tyr Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly Ser Arg		
[6363]	100	105	110
[6364]	Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Leu		
[6365]	115	120	125
[6366]	Glu Met Ala Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Arg		
[6367]	130	135	140
[6368]	Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe		
[6369]	145	150	155
[6370]	Ile Gly Gln Tyr Leu His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu		
[6371]	165	170	175
[6372]	Glu Trp Met Gly Arg Ile Asn Pro Met Thr Gly Val Thr Asn Tyr Ala		
[6373]	180	185	190
[6374]	Pro Lys Phe Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser		
[6375]	195	200	205
[6376]	Thr Gly Tyr Met Glu Ile Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val		
[6377]	210	215	220
[6378]	Tyr Tyr Cys Ala Arg Phe Ser Ser Gly Tyr Ser Arg Asp Thr Trp Gly		
[6379]	225	230	235
[6380]	Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser		
[6381]	245		
[6382]	<210> 444		
[6383]	<211> 249		
[6384]	<212> PRT		
[6385]	<213> 人工序列		
[6386]	<220>		
[6387]	<223> GPC3B-68 scFv		
[6388]	<400> 444		
[6389]	Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Ala Ala Pro Gly Gln		
[6390]	1	5	10
[6391]	Lys Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Asn Asn		
[6392]	20	25	30
[6393]	Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu		
[6394]	35	40	45
[6395]	Ile Tyr Asp Asn Ile Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser		

[6396]	50	55	60
[6397]	Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Thr Leu Gly Ile Thr Gly Leu Gln		
[6398]	65	70	75
[6399]	Thr Gly Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gly Thr Trp Asp Ser Ser Leu		
[6400]	85	90	95
[6401]	Ser Ala Gly Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Ser		
[6402]	100	105	110
[6403]	Arg Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser		
[6404]	115	120	125
[6405]	Leu Glu Met Ala Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys		
[6406]	130	135	140
[6407]	Lys Pro Gly Ser Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr		
[6408]	145	150	155
[6409]	Phe Ser Ser Tyr Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly		
[6410]	165	170	175
[6411]	Leu Glu Trp Met Gly Arg Ile Ile Pro Ile Leu Gly Ile Ala Asn Tyr		
[6412]	180	185	190
[6413]	Ala Gln Lys Phe Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr		
[6414]	195	200	205
[6415]	Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala		
[6416]	210	215	220
[6417]	Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Tyr Gly Tyr Glu Gly His Asp Thr Trp Gly		
[6418]	225	230	235
[6419]	Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser		240
[6420]	245		
[6421]	<210> 445		
[6422]	<211> 250		
[6423]	<212> PRT		
[6424]	<213> 人工序列		
[6425]	<220>		
[6426]	<223> GPC3B-71 scFv		
[6427]	<400> 445		
[6428]	Ser Tyr Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ala Pro Gly Lys		
[6429]	1	5	10
[6430]	Thr Ala Arg Val Thr Cys Gly Gly Asn Asn Ile Gly Ser Lys Ser Val		
[6431]	20	25	30
[6432]	His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu Val Met Tyr		
[6433]	35	40	45
[6434]	Tyr Asp Ser Asp Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser		

[6435]	50	55	60
[6436]	Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Ser Val Glu Ala Gly		
[6437]	65	70	75
[6438]	Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Asp Ser Ser Ser Asp His		
[6439]	85	90	95
[6440]	Tyr Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly Ser Arg Gly		
[6441]	100	105	110
[6442]	Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Leu Glu		
[6443]	115	120	125
[6444]	Met Ala Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro		
[6445]	130	135	140
[6446]	Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser		
[6447]	145	150	155
[6448]	Arg Tyr Thr Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu		
[6449]	165	170	175
[6450]	Trp Val Ser Ser Ile Ser Ser Ser Gly Ser Tyr Ile Tyr Tyr Ala Asp		
[6451]	180	185	190
[6452]	Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser		
[6453]	195	200	205
[6454]	Leu Phe Leu Gln Met Asp Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr		
[6455]	210	215	220
[6456]	Tyr Cys Ala Arg Gln Gly His Met Trp Tyr Val Pro Val Asp Ala Trp		
[6457]	225	230	235
[6458]	Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser		
[6459]	245	250	
[6460]	<210> 446		
[6461]	<211> 244		
[6462]	<212> PRT		
[6463]	<213> 人工序列		
[6464]	<220>		
[6465]	<223> GPC3B-76 scFv		
[6466]	<400> 446		
[6467]	Gln Ser Val Val Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Ala Ala Pro Gly Gln		
[6468]	1	5	10
[6469]	Lys Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Asn Asn		
[6470]	20	25	30
[6471]	Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu		
[6472]	35	40	45
[6473]	Ile Tyr Asp Asn Asn Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser		

[6474]	50	55	60
[6475]	Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Thr Leu Gly Ile Thr Gly Leu Gln		
[6476]	65	70	75
[6477]	Thr Gly Asp Glu Ala Ala Tyr Tyr Cys Gly Thr Trp Asp Ser Ser Leu		
[6478]	85	90	95
[6479]	Ser Ala Gly Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly Ser		
[6480]	100	105	110
[6481]	Arg Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser		
[6482]	115	120	125
[6483]	Leu Glu Met Ala Gln Met Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys		
[6484]	130	135	140
[6485]	Glu Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr		
[6486]	145	150	155
[6487]	Phe Thr Asp Tyr Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly		
[6488]	165	170	175
[6489]	Leu Glu Trp Met Gly Trp Ile Asn Pro Asn Ser Gly Gly Thr Asn Tyr		
[6490]	180	185	190
[6491]	Ala Gln Lys Phe Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile		
[6492]	195	200	205
[6493]	Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala		
[6494]	210	215	220
[6495]	Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Asn Tyr Asp Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val		
[6496]	225	230	235
[6497]	Thr Val Ser Ser		
[6498]	<210> 447		
[6499]	<211> 245		
[6500]	<212> PRT		
[6501]	<213> 人工序列		
[6502]	<220>		
[6503]	<223> GPC3B-78 scFv		
[6504]	<400> 447		
[6505]	Leu Pro Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ser Pro Gly Gln		
[6506]	1	5	10
[6507]	Thr Ala Ser Ile Thr Cys Ser Gly Asp Lys Leu Gly Asp Lys Tyr Ala		
[6508]	20	25	30
[6509]	Tyr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Val Leu Val Ile Tyr		
[6510]	35	40	45
[6511]	Gln Asp Asn Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser		
[6512]	50	55	60

[6513]	Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Gly Thr Gln Ala Met
[6514]	65 70 75 80
[6515]	Asp Ala Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Thr Trp Asp Arg Ser Thr Tyr Val
[6516]	85 90 95
[6517]	Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly Ser Arg Gly Gly Gly
[6518]	100 105 110
[6519]	Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Leu Glu Met Ala
[6520]	115 120 125
[6521]	Gln Met Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
[6522]	130 135 140
[6523]	Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
[6524]	145 150 155 160
[6525]	Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
[6526]	165 170 175
[6527]	Gly Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe
[6528]	180 185 190
[6529]	Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr
[6530]	195 200 205
[6531]	Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
[6532]	210 215 220
[6533]	Ala Arg Gly Tyr Ser Ser Phe Phe Asp Ser Trp Gly Gln Gly Thr Leu
[6534]	225 230 235 240
[6535]	Val Thr Val Ser Ser
[6536]	245
[6537]	<210> 448
[6538]	<211> 255
[6539]	<212> PRT
[6540]	<213> 人工序列
[6541]	<220>
[6542]	<223> GPC3B-80 scFv
[6543]	<400> 448
[6544]	Gln Ala Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Thr Pro Gly Gln
[6545]	1 5 10 15
[6546]	Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ser Asn
[6547]	20 25 30
[6548]	Thr Val Asn Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
[6549]	35 40 45
[6550]	Ile Tyr Ser Asn Asn Gln Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser
[6551]	50 55 60

[6552]	Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Tyr Leu Ala Ile Ser Gly Leu Gln
[6553]	65 70 75 80
[6554]	Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Ala Trp Asp Asp Ser Leu
[6555]	85 90 95
[6556]	Asn Gly Trp Gly Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly
[6557]	100 105 110
[6558]	Ser Arg Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
[6559]	115 120 125
[6560]	Ser Leu Glu Met Ala Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val
[6561]	130 135 140
[6562]	Lys Lys Pro Gly Ser Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly
[6563]	145 150 155 160
[6564]	Thr Leu Ser Arg Phe Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln
[6565]	165 170 175
[6566]	Gly Leu Glu Trp Met Gly Gly Ile Ile Pro Ile Phe Arg Thr Ala Asn
[6567]	180 185 190
[6568]	Tyr Ala Gln Lys Phe Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser
[6569]	195 200 205
[6570]	Thr Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr
[6571]	210 215 220
[6572]	Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Met Ser Lys Tyr Tyr Gly Ser Tyr Ser
[6573]	225 230 235 240
[6574]	Ser Tyr Asp Glu Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
[6575]	245 250 255
[6576]	<210> 449
[6577]	<211> 245
[6578]	<212> PRT
[6579]	<213> 人工序列
[6580]	<220>
[6581]	<223> GPC3B-81 scFv
[6582]	<400> 449
[6583]	Ser Tyr Glu Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ala Pro Gly Lys
[6584]	1 5 10 15
[6585]	Thr Ala Arg Ile Thr Cys Gly Gly Asn Asn Ile Gly Ser Lys Ser Val
[6586]	20 25 30
[6587]	His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu Val Ile Tyr
[6588]	35 40 45
[6589]	Tyr Asp Ser Asp Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser
[6590]	50 55 60

[6591]	Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Arg Val Glu Ala Gly
[6592]	65 70 75 80
[6593]	Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Asp Ser Ser Ser Asp Leu
[6594]	85 90 95
[6595]	Leu Tyr Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly Ser Arg
[6596]	100 105 110
[6597]	Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Leu
[6598]	115 120 125
[6599]	Glu Met Ala Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys
[6600]	130 135 140
[6601]	Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe
[6602]	145 150 155 160
[6603]	Thr Gly Tyr Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu
[6604]	165 170 175
[6605]	Glu Trp Met Gly Arg Ile Asn Pro Asn Ser Gly Gly Thr Asn Tyr Ala
[6606]	180 185 190
[6607]	Gln Lys Phe Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser
[6608]	195 200 205
[6609]	Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val
[6610]	210 215 220
[6611]	Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Leu Trp Asp Ser Trp Gly Gln Gly Thr Leu
[6612]	225 230 235 240
[6613]	Val Thr Val Ser Ser
[6614]	245
[6615]	<210> 450
[6616]	<211> 254
[6617]	<212> PRT
[6618]	<213> 人工序列
[6619]	<220>
[6620]	<223> GPC3B-82 scFv
[6621]	<400> 450
[6622]	Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Gly Ala Pro Gly Gln
[6623]	1 5 10 15
[6624]	Arg Val Thr Ile Ser Cys Thr Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ala Gly
[6625]	20 25 30
[6626]	Phe Asp Val His Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu
[6627]	35 40 45
[6628]	Leu Ile Tyr Asp Asn Asn Asn Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe
[6629]	50 55 60

[6630]	Ser Gly Ser Lys Ser Asp Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Thr Gly Leu
[6631]	65 70 75 80
[6632]	Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Phe Asp Ser Ser
[6633]	85 90 95
[6634]	Leu Ser Gly Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly
[6635]	100 105 110
[6636]	Ser Arg Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
[6637]	115 120 125
[6638]	Ser Leu Glu Met Ala Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val
[6639]	130 135 140
[6640]	Lys Lys Pro Gly Glu Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr
[6641]	145 150 155 160
[6642]	Ser Phe Thr Ser Tyr Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln
[6643]	165 170 175
[6644]	Gly Leu Glu Trp Met Gly Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser
[6645]	180 185 190
[6646]	Tyr Ala Gln Lys Phe Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser
[6647]	195 200 205
[6648]	Thr Ser Thr Val Tyr Met Glu Met Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr
[6649]	210 215 220
[6650]	Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Tyr Pro Val Tyr Met Glu Thr Ser Asp
[6651]	225 230 235 240
[6652]	Phe Asp Ser Trp Gly Ser Arg Tyr Ser Gly Asp Arg Leu Leu
[6653]	245 250
[6654]	<210> 451
[6655]	<211> 257
[6656]	<212> PRT
[6657]	<213> 人工序列
[6658]	<220>
[6659]	<223> GPC3B-85 scFv
[6660]	<400> 451
[6661]	Gln Ala Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Thr Pro Gly Gln
[6662]	1 5 10 15
[6663]	Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ser Asn
[6664]	20 25 30
[6665]	Thr Val Asn Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
[6666]	35 40 45
[6667]	Ile Tyr Ser Asn Asn Gln Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser
[6668]	50 55 60

[6669]	Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Gln
[6670]	65 70 75 80
[6671]	Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Ala Trp Asp Asp Ser Leu
[6672]	85 90 95
[6673]	Asn Gly Tyr Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly Ser
[6674]	100 105 110
[6675]	Arg Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
[6676]	115 120 125
[6677]	Leu Glu Met Ala Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ser Glu Leu Lys
[6678]	130 135 140
[6679]	Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr
[6680]	145 150 155 160
[6681]	Phe Thr Ser Tyr Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly
[6682]	165 170 175
[6683]	Leu Glu Trp Met Gly Trp Ile Asn Thr Asn Thr Gly Asn Pro Thr Tyr
[6684]	180 185 190
[6685]	Ala Gln Gly Phe Thr Gly Arg Phe Val Phe Ser Leu Asp Thr Ser Val
[6686]	195 200 205
[6687]	Ser Thr Ala Tyr Leu Gln Ile Ser Ser Leu Lys Ala Glu Asp Thr Ala
[6688]	210 215 220
[6689]	Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Ser Ser Leu Tyr Trp Met Gly Ser Lys Trp
[6690]	225 230 235 240
[6691]	Ser Arg Gln Thr Asp Met Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser
[6692]	245 250 255
[6693]	Ser
[6694]	<210> 452
[6695]	<211> 247
[6696]	<212> PRT
[6697]	<213> 人工序列
[6698]	<220>
[6699]	<223> GPC3B-87 scFv
[6700]	<400> 452
[6701]	Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
[6702]	1 5 10 15
[6703]	Glu Pro Ala Ser Val Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser
[6704]	20 25 30
[6705]	Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
[6706]	35 40 45
[6707]	Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro

[6708]	50	55	60
[6709]	Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile		
[6710]	65	70	75
[6711]	Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ala		
[6712]	85	90	95
[6713]	Leu Gln Thr Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys		
[6714]	100	105	110
[6715]	Arg Ser Arg Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly		
[6716]	115	120	125
[6717]	Gly Ser Leu Glu Met Ala Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu		
[6718]	130	135	140
[6719]	Val Arg Lys Pro Gly Ser Ser Val Lys Val Ser Cys Gln Ala Ser Gly		
[6720]	145	150	155
[6721]	Gly Thr Phe Gly Ser Tyr Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly		
[6722]	165	170	175
[6723]	Gln Gly Leu Glu Trp Met Gly Arg Ile Ile Pro Val Leu Gly Arg Thr		
[6724]	180	185	190
[6725]	Lys Tyr Ala Gln Lys Phe Gln Gly Arg Val Thr Val Thr Ala Asp Thr		
[6726]	195	200	205
[6727]	Ser Thr Ser Thr Val Tyr Met Glu Leu Thr Ser Leu Thr Ser Glu Asp		
[6728]	210	215	220
[6729]	Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Thr Asn Asp Ser Trp Gly Gln Gly		
[6730]	225	230	235
[6731]	Thr Leu Val Thr Val Ser Ser		240
[6732]	245		
[6733]	<210> 453		
[6734]	<211> 249		
[6735]	<212> PRT		
[6736]	<213> 人工序列		
[6737]	<220>		
[6738]	<223> GPC3B-92 scFv		
[6739]	<400> 453		
[6740]	Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ser Pro Gly Gln		
[6741]	1	5	10
[6742]	Thr Ala Arg Ile Thr Cys Ser Gly Glu Thr Leu Ala Lys Arg Tyr Ala		
[6743]	20	25	30
[6744]	His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu Leu Ile Tyr		
[6745]	35	40	45
[6746]	Arg Asp Thr Glu Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser		

[6747]	50	55	60
[6748]	Ser Ser Gly Thr Thr Ile Thr Leu Thr Ile Thr Gly Val Gln Ala Glu		
[6749]	65	70	75
[6750]	Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Ala Asp Asn Ser Arg Thr Phe		
[6751]	85	90	95
[6752]	Val Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly Ser Arg Gly Gly		
[6753]	100	105	110
[6754]	Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Leu Glu Met		
[6755]	115	120	125
[6756]	Ala Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly		
[6757]	130	135	140
[6758]	Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Ser Asn		
[6759]	145	150	155
[6760]	Tyr Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp		
[6761]	165	170	175
[6762]	Met Gly Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Thr Thr Thr Tyr Ala Gln Lys		
[6763]	180	185	190
[6764]	Phe Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val		
[6765]	195	200	205
[6766]	Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr		
[6767]	210	215	220
[6768]	Cys Ala Arg Pro Ser Met Trp Thr Ser Ser Met Gly Asp Val Trp Gly		
[6769]	225	230	235
[6770]	Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser		
[6771]	245		
[6772]	<210> 454		
[6773]	<211> 255		
[6774]	<212> PRT		
[6775]	<213> 人工序列		
[6776]	<220>		
[6777]	<223> GPC3B-93 scFv		
[6778]	<400> 454		
[6779]	Asn Phe Met Leu Thr Gln Pro His Ser Val Ser Glu Ser Pro Gly Lys		
[6780]	1	5	10
[6781]	Thr Val Thr Ile Ser Cys Thr Gly Ser Ser Gly Ser Ile Ala Ser Asn		
[6782]	20	25	30
[6783]	Tyr Val Gln Trp Tyr Gln Gln Arg Pro Gly Ser Ala Pro Thr Thr Val		
[6784]	35	40	45
[6785]	Ile Tyr Glu Asp Asn Gln Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser		

[6786]	50	55	60
[6787]	Gly Ser Ile Asp Ser Ser Ser Asn Ser Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly		
[6788]	65	70	75
[6789]	Leu Lys Thr Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Tyr Asp Ser		
[6790]	85	90	95
[6791]	Ser Asn Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Ser		
[6792]	100	105	110
[6793]	Arg Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser		
[6794]	115	120	125
[6795]	Leu Glu Met Ala Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys		
[6796]	130	135	140
[6797]	Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr		
[6798]	145	150	155
[6799]	Phe Thr Ser Tyr Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly		
[6800]	165	170	175
[6801]	Leu Glu Trp Met Gly Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Arg Tyr		
[6802]	180	185	190
[6803]	Ala Gln Lys Phe Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr		
[6804]	195	200	205
[6805]	Ser Thr Val Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala		
[6806]	210	215	220
[6807]	Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Tyr Thr Ala Leu Lys Pro Arg Gly Ile Tyr		
[6808]	225	230	235
[6809]	Ser Val Asp Ser Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser		
[6810]	245	250	255
[6811]	<210> 455		
[6812]	<211> 257		
[6813]	<212> PRT		
[6814]	<213> 人工序列		
[6815]	<220>		
[6816]	<223> GPC3B-110 scFv		
[6817]	<400> 455		
[6818]	Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Thr Pro Gly Gln		
[6819]	1	5	10
[6820]	Arg Val Thr Val Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ser Asn		
[6821]	20	25	30
[6822]	Thr Val Asn Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu		
[6823]	35	40	45
[6824]	Leu Tyr Ser Ser Asn Gln Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser		

[6825]	50	55	60
[6826]	Gly Ser Arg Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Gln		
[6827]	65	70	75
[6828]	Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Ala Trp Asp Asp Ser Leu		
[6829]	85	90	95
[6830]	Asn Gly Pro Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Ser		
[6831]	100	105	110
[6832]	Arg Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser		
[6833]	115	120	125
[6834]	Leu Glu Met Ala Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys		
[6835]	130	135	140
[6836]	Lys Pro Gly Ser Ser Val Lys Val Ser Cys Gln Ala Ser Gly Gly Thr		
[6837]	145	150	155
[6838]	Phe Thr Thr Tyr Ser Ile Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly		
[6839]	165	170	175
[6840]	Leu Glu Trp Met Gly Gly Ile Ile Pro Thr Phe Gly Thr Thr Asn Tyr		
[6841]	180	185	190
[6842]	Ala Gln Asn Phe Gln Asp Arg Val Thr Ile Ser Ala Asp Glu Ser Thr		
[6843]	195	200	205
[6844]	Asn Thr Ala Tyr Met Glu Leu Thr Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala		
[6845]	210	215	220
[6846]	Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Tyr Tyr Trp Arg Gly Gly Ser Gly Gln Gly		
[6847]	225	230	235
[6848]	Ser Val Thr Ser Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser		
[6849]	245	250	255
[6850]	Ser		
[6851]	<210> 456		
[6852]	<211> 246		
[6853]	<212> PRT		
[6854]	<213> 人工序列		
[6855]	<220>		
[6856]	<223> GPC3B-113 scFv		
[6857]	<400> 456		
[6858]	Ser Tyr Glu Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Thr Pro Gly Gln		
[6859]	1	5	10
[6860]	Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ser Asn		
[6861]	20	25	30
[6862]	Ser Val Ser Trp Tyr Gln His Leu Pro Gly Val Ala Pro Lys Leu Leu		
[6863]	35	40	45

[6864]	Ile Tyr Ser Asn Asn Gln Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser
[6865]	50 55 60
[6866]	Gly Ser Lys Thr Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Gln
[6867]	65 70 75 80
[6868]	Ser Glu Asp Glu Gly Asp Tyr Tyr Cys Ala Ala Trp Asp Asp Ser Leu
[6869]	85 90 95
[6870]	Asn Gly Val Leu Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Ser
[6871]	100 105 110
[6872]	Arg Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
[6873]	115 120 125
[6874]	Leu Glu Met Ala Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys
[6875]	130 135 140
[6876]	Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Val Ser Gly Tyr Thr
[6877]	145 150 155 160
[6878]	Leu Thr Glu Leu Ser Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly
[6879]	165 170 175
[6880]	Leu Glu Trp Met Gly Gly Phe Asp Pro Glu Asp Gly Glu Thr Ile Tyr
[6881]	180 185 190
[6882]	Ala Gln Lys Phe Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Glu Asp Thr Ser Thr
[6883]	195 200 205
[6884]	Asp Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala
[6885]	210 215 220
[6886]	Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Tyr Ser Gly Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
[6887]	225 230 235 240
[6888]	Leu Val Thr Val Ser Ser
[6889]	245
[6890]	<210> 457
[6891]	<211> 251
[6892]	<212> PRT
[6893]	<213> 人工序列
[6894]	<220>
[6895]	<223> GPC3B-115 scFv
[6896]	<400> 457
[6897]	Ser Tyr Glu Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ala Pro Gly Lys
[6898]	1 5 10 15
[6899]	Thr Ala Arg Ile Thr Cys Gly Gly Asn Asn Ile Gly Ser Lys Ser Val
[6900]	20 25 30
[6901]	His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu Val Val Tyr
[6902]	35 40 45

[6903]	Asp Asp Ser Asp Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser
[6904]	50 55 60
[6905]	Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Arg Val Glu Ala Gly
[6906]	65 70 75 80
[6907]	Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Asp Ser Ser Ser Asp Pro
[6908]	85 90 95
[6909]	Leu Tyr Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly Ser Arg
[6910]	100 105 110
[6911]	Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Leu
[6912]	115 120 125
[6913]	Glu Met Ala Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Arg
[6914]	130 135 140
[6915]	Pro Gly Ala Thr Ile Lys Val Ser Cys Lys Thr Ser Gly Tyr Thr Phe
[6916]	145 150 155 160
[6917]	Thr Ala Tyr Tyr Thr His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu
[6918]	165 170 175
[6919]	Glu Trp Val Gly Arg Ile Asn Ala Asn Thr Gly Gly Thr Asp Tyr Ala
[6920]	180 185 190
[6921]	Pro Lys Phe Arg Asp Arg Val Ile Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser
[6922]	195 200 205
[6923]	Thr Ala Tyr Met Glu Leu Gly Arg Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Val
[6924]	210 215 220
[6925]	Tyr Tyr Cys Ala Arg Ile Ser Gly Tyr His Ser Ser Gly Trp Asp Tyr
[6926]	225 230 235 240
[6927]	Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
[6928]	245 250
[6929]	<210> 458
[6930]	<211> 249
[6931]	<212> PRT
[6932]	<213> 人工序列
[6933]	<220>
[6934]	<223> GPC3B-119 scFv
[6935]	<400> 458
[6936]	Gln Ser Val Val Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Ala Ala Pro Gly Gln
[6937]	1 5 10 15
[6938]	Lys Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Asn Asn
[6939]	20 25 30
[6940]	Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln Ile Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
[6941]	35 40 45

[6942]	Ile Tyr Asp Asn Asn Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
[6943]	50 55 60
[6944]	Gly Ser Arg Ser Gly Thr Ser Ala Thr Leu Gly Ile Thr Gly Leu Gln
[6945]	65 70 75 80
[6946]	Thr Gly Asp Glu Ala His Tyr Tyr Cys Ala Thr Trp Asp Asn Ser Leu
[6947]	85 90 95
[6948]	Ser Ala Leu Ile Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly Ser
[6949]	100 105 110
[6950]	Arg Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
[6951]	115 120 125
[6952]	Leu Glu Met Ala Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ser Glu Leu Lys
[6953]	130 135 140
[6954]	Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr
[6955]	145 150 155 160
[6956]	Phe Thr Ser Tyr Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly
[6957]	165 170 175
[6958]	Leu Glu Trp Met Gly Trp Ile Asn Thr Asn Thr Gly Asn Pro Thr Tyr
[6959]	180 185 190
[6960]	Ala Gln Gly Phe Thr Gly Arg Phe Val Phe Ser Leu Asp Thr Ser Val
[6961]	195 200 205
[6962]	Ser Thr Ala Tyr Leu Gln Ile Ser Ser Leu Lys Ala Glu Asp Thr Ala
[6963]	210 215 220
[6964]	Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Tyr Tyr Gly Lys Tyr Asp Lys Trp Gly
[6965]	225 230 235 240
[6966]	Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
[6967]	245
[6968]	<210> 459
[6969]	<211> 246
[6970]	<212> PRT
[6971]	<213> 人工序列
[6972]	<220>
[6973]	<223> GPC3B-125 scFv
[6974]	<400> 459
[6975]	Gln Ser Ala Leu Thr Gln Pro Ala Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly Gln
[6976]	1 5 10 15
[6977]	Ser Ile Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Ser Asp Val Gly Gly Tyr
[6978]	20 25 30
[6979]	Asn Tyr Val Ser Trp Phe Gln Gln His Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu
[6980]	35 40 45

[6981]	Ile Ile Tyr Glu Val Ser Asn Arg Pro Ser Gly Val Ser Asp Arg Phe
[6982]	50 55 60
[6983]	Ser Gly Ser Lys Ser Gly Ser Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu
[6984]	65 70 75 80
[6985]	Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asn Tyr Tyr Cys Ser Ser Tyr Thr Ser Ser
[6986]	85 90 95
[6987]	Thr Thr Val Ile Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Ser
[6988]	100 105 110
[6989]	Arg Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
[6990]	115 120 125
[6991]	Leu Glu Met Ala Gln Met Gln Leu Val Gln Ser Gly Ser Glu Leu Lys
[6992]	130 135 140
[6993]	Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr
[6994]	145 150 155 160
[6995]	Phe Thr Ser Tyr Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly
[6996]	165 170 175
[6997]	Leu Glu Trp Met Gly Trp Ile Asn Thr Asn Thr Gly Asn Pro Thr Tyr
[6998]	180 185 190
[6999]	Ala Gln Gly Phe Thr Gly Arg Phe Val Phe Ser Leu Asp Thr Ser Val
[7000]	195 200 205
[7001]	Ser Thr Ala Tyr Leu Gln Ile Ser Ser Leu Lys Ala Glu Asp Thr Ala
[7002]	210 215 220
[7003]	Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Gln Ser His Asp Glu Trp Gly Gln Gly Thr
[7004]	225 230 235 240
[7005]	Leu Val Thr Val Ser Ser
[7006]	245
[7007]	<210> 460
[7008]	<211> 580
[7009]	<212> PRT
[7010]	<213> 人工序列
[7011]	<220>
[7012]	<223> P51654全长人类GPC3 (UNIPROT)
[7013]	<400> 460
[7014]	Met Ala Gly Thr Val Arg Thr Ala Cys Leu Val Val Ala Met Leu Leu
[7015]	1 5 10 15
[7016]	Ser Leu Asp Phe Pro Gly Gln Ala Gln Pro Pro Pro Pro Pro Pro Asp
[7017]	20 25 30
[7018]	Ala Thr Cys His Gln Val Arg Ser Phe Phe Gln Arg Leu Gln Pro Gly
[7019]	35 40 45

[7020]	Leu	Lys	Trp	Val	Pro	Glu	Thr	Pro	Val	Pro	Gly	Ser	Asp	Leu	Gln	Val
[7021]	50						55					60				
[7022]	Cys	Leu	Pro	Lys	Gly	Pro	Thr	Cys	Cys	Ser	Arg	Lys	Met	Glu	Glu	Lys
[7023]	65					70					75				80	
[7024]	Tyr	Gln	Leu	Thr	Ala	Arg	Leu	Asn	Met	Glu	Gln	Leu	Leu	Gln	Ser	Ala
[7025]					85					90					95	
[7026]	Ser	Met	Glu	Leu	Lys	Phe	Leu	Ile	Ile	Gln	Asn	Ala	Ala	Val	Phe	Gln
[7027]				100					105					110		
[7028]	Glu	Ala	Phe	Glu	Ile	Val	Val	Arg	His	Ala	Lys	Asn	Tyr	Thr	Asn	Ala
[7029]			115					120					125			
[7030]	Met	Phe	Lys	Asn	Asn	Tyr	Pro	Ser	Leu	Thr	Pro	Gln	Ala	Phe	Glu	Phe
[7031]	130						135					140				
[7032]	Val	Gly	Glu	Phe	Phe	Thr	Asp	Val	Ser	Leu	Tyr	Ile	Leu	Gly	Ser	Asp
[7033]	145					150					155				160	
[7034]	Ile	Asn	Val	Asp	Asp	Met	Val	Asn	Glu	Leu	Phe	Asp	Ser	Leu	Phe	Pro
[7035]				165					170						175	
[7036]	Val	Ile	Tyr	Thr	Gln	Leu	Met	Asn	Pro	Gly	Leu	Pro	Asp	Ser	Ala	Leu
[7037]			180						185					190		
[7038]	Asp	Ile	Asn	Glu	Cys	Leu	Arg	Gly	Ala	Arg	Arg	Asp	Leu	Lys	Val	Phe
[7039]			195					200					205			
[7040]	Gly	Asn	Phe	Pro	Lys	Leu	Ile	Met	Thr	Gln	Val	Ser	Lys	Ser	Leu	Gln
[7041]	210						215					220				
[7042]	Val	Thr	Arg	Ile	Phe	Leu	Gln	Ala	Leu	Asn	Leu	Gly	Ile	Glu	Val	Ile
[7043]	225					230					235				240	
[7044]	Asn	Thr	Thr	Asp	His	Leu	Lys	Phe	Ser	Lys	Asp	Cys	Gly	Arg	Met	Leu
[7045]				245					250					255		
[7046]	Thr	Arg	Met	Trp	Tyr	Cys	Ser	Tyr	Cys	Gln	Gly	Leu	Met	Met	Val	Lys
[7047]			260						265					270		
[7048]	Pro	Cys	Gly	Gly	Tyr	Cys	Asn	Val	Val	Met	Gln	Gly	Cys	Met	Ala	Gly
[7049]			275					280					285			
[7050]	Val	Val	Glu	Ile	Asp	Lys	Tyr	Trp	Arg	Glu	Tyr	Ile	Leu	Ser	Leu	Glu
[7051]	290						295					300				
[7052]	Glu	Leu	Val	Asn	Gly	Met	Tyr	Arg	Ile	Tyr	Asp	Met	Glu	Asn	Val	Leu
[7053]	305					310					315				320	
[7054]	Leu	Gly	Leu	Phe	Ser	Thr	Ile	His	Asp	Ser	Ile	Gln	Tyr	Val	Gln	Lys
[7055]				325					330					335		
[7056]	Asn	Ala	Gly	Lys	Leu	Thr	Thr	Thr	Ile	Gly	Lys	Leu	Cys	Ala	His	Ser
[7057]				340					345					350		
[7058]	Gln	Gln	Arg	Gln	Tyr	Arg	Ser	Ala	Tyr	Tyr	Pro	Glu	Asp	Leu	Phe	Ile

[7059]	355	360	365
[7060]	Asp Lys Lys Val Leu Lys Val Ala His Val Glu His Glu Glu Thr Leu		
[7061]	370	375	380
[7062]	Ser Ser Arg Arg Arg Glu Leu Ile Gln Lys Leu Lys Ser Phe Ile Ser		
[7063]	385	390	395
[7064]	Phe Tyr Ser Ala Leu Pro Gly Tyr Ile Cys Ser His Ser Pro Val Ala		
[7065]	405	410	415
[7066]	Glu Asn Asp Thr Leu Cys Trp Asn Gly Gln Glu Leu Val Glu Arg Tyr		
[7067]	420	425	430
[7068]	Ser Gln Lys Ala Ala Arg Asn Gly Met Lys Asn Gln Phe Asn Leu His		
[7069]	435	440	445
[7070]	Glu Leu Lys Met Lys Gly Pro Glu Pro Val Val Ser Gln Ile Ile Asp		
[7071]	450	455	460
[7072]	Lys Leu Lys His Ile Asn Gln Leu Leu Arg Thr Met Ser Met Pro Lys		
[7073]	465	470	475
[7074]	Gly Arg Val Leu Asp Lys Asn Leu Asp Glu Glu Gly Phe Glu Ser Gly		
[7075]	485	490	495
[7076]	Asp Cys Gly Asp Asp Glu Asp Glu Cys Ile Gly Gly Ser Gly Asp Gly		
[7077]	500	505	510
[7078]	Met Ile Lys Val Lys Asn Gln Leu Arg Phe Leu Ala Glu Leu Ala Tyr		
[7079]	515	520	525
[7080]	Asp Leu Asp Val Asp Asp Ala Pro Gly Asn Ser Gln Gln Ala Thr Pro		
[7081]	530	535	540
[7082]	Lys Asp Asn Glu Ile Ser Thr Phe His Asn Leu Gly Asn Val His Ser		
[7083]	545	550	555
[7084]	Pro Leu Lys Leu Leu Thr Ser Met Ala Ile Ser Val Val Cys Phe Phe		
[7085]	565	570	575
[7086]	Phe Leu Val His		
[7087]	580		
[7088]	<210> 461		
[7089]	<211> 560		
[7090]	<212> PRT		
[7091]	<213> 人工序列		
[7092]	<220>		
[7093]	<223> 全长人类GPC3 SEQ ID NO: 460的氨基酸1-560 (UNIPROT)		
[7094]	<400> 461		
[7095]	Met Ala Gly Thr Val Arg Thr Ala Cys Leu Val Val Ala Met Leu Leu		
[7096]	1	5	10
[7097]	Ser Leu Asp Phe Pro Gly Gln Ala Gln Pro Pro Pro Pro Pro Pro Asp		

[7098]	20	25	30
[7099]	Ala Thr Cys His Gln Val Arg Ser Phe Phe Gln Arg Leu Gln Pro Gly		
[7100]	35	40	45
[7101]	Leu Lys Trp Val Pro Glu Thr Pro Val Pro Gly Ser Asp Leu Gln Val		
[7102]	50	55	60
[7103]	Cys Leu Pro Lys Gly Pro Thr Cys Cys Ser Arg Lys Met Glu Glu Lys		
[7104]	65	70	75
[7105]	Tyr Gln Leu Thr Ala Arg Leu Asn Met Glu Gln Leu Leu Gln Ser Ala		
[7106]	85	90	95
[7107]	Ser Met Glu Leu Lys Phe Leu Ile Ile Gln Asn Ala Ala Val Phe Gln		
[7108]	100	105	110
[7109]	Glu Ala Phe Glu Ile Val Val Arg His Ala Lys Asn Tyr Thr Asn Ala		
[7110]	115	120	125
[7111]	Met Phe Lys Asn Asn Tyr Pro Ser Leu Thr Pro Gln Ala Phe Glu Phe		
[7112]	130	135	140
[7113]	Val Gly Glu Phe Phe Thr Asp Val Ser Leu Tyr Ile Leu Gly Ser Asp		
[7114]	145	150	155
[7115]	Ile Asn Val Asp Asp Met Val Asn Glu Leu Phe Asp Ser Leu Phe Pro		
[7116]	165	170	175
[7117]	Val Ile Tyr Thr Gln Leu Met Asn Pro Gly Leu Pro Asp Ser Ala Leu		
[7118]	180	185	190
[7119]	Asp Ile Asn Glu Cys Leu Arg Gly Ala Arg Arg Asp Leu Lys Val Phe		
[7120]	195	200	205
[7121]	Gly Asn Phe Pro Lys Leu Ile Met Thr Gln Val Ser Lys Ser Leu Gln		
[7122]	210	215	220
[7123]	Val Thr Arg Ile Phe Leu Gln Ala Leu Asn Leu Gly Ile Glu Val Ile		
[7124]	225	230	235
[7125]	Asn Thr Thr Asp His Leu Lys Phe Ser Lys Asp Cys Gly Arg Met Leu		
[7126]	245	250	255
[7127]	Thr Arg Met Trp Tyr Cys Ser Tyr Cys Gln Gly Leu Met Met Val Lys		
[7128]	260	265	270
[7129]	Pro Cys Gly Gly Tyr Cys Asn Val Val Met Gln Gly Cys Met Ala Gly		
[7130]	275	280	285
[7131]	Val Val Glu Ile Asp Lys Tyr Trp Arg Glu Tyr Ile Leu Ser Leu Glu		
[7132]	290	295	300
[7133]	Glu Leu Val Asn Gly Met Tyr Arg Ile Tyr Asp Met Glu Asn Val Leu		
[7134]	305	310	315
[7135]	Leu Gly Leu Phe Ser Thr Ile His Asp Ser Ile Gln Tyr Val Gln Lys		
[7136]	325	330	335

[7137]	Asn Ala Gly Lys Leu Thr Thr Thr Ile Gly Lys Leu Cys Ala His Ser
[7138]	340 345 350
[7139]	Gln Gln Arg Gln Tyr Arg Ser Ala Tyr Tyr Pro Glu Asp Leu Phe Ile
[7140]	355 360 365
[7141]	Asp Lys Lys Val Leu Lys Val Ala His Val Glu His Glu Glu Thr Leu
[7142]	370 375 380
[7143]	Ser Ser Arg Arg Arg Glu Leu Ile Gln Lys Leu Lys Ser Phe Ile Ser
[7144]	385 390 395 400
[7145]	Phe Tyr Ser Ala Leu Pro Gly Tyr Ile Cys Ser His Ser Pro Val Ala
[7146]	405 410 415
[7147]	Glu Asn Asp Thr Leu Cys Trp Asn Gly Gln Glu Leu Val Glu Arg Tyr
[7148]	420 425 430
[7149]	Ser Gln Lys Ala Ala Arg Asn Gly Met Lys Asn Gln Phe Asn Leu His
[7150]	435 440 445
[7151]	Glu Leu Lys Met Lys Gly Pro Glu Pro Val Val Ser Gln Ile Ile Asp
[7152]	450 455 460
[7153]	Lys Leu Lys His Ile Asn Gln Leu Leu Arg Thr Met Ser Met Pro Lys
[7154]	465 470 475 480
[7155]	Gly Arg Val Leu Asp Lys Asn Leu Asp Glu Glu Gly Phe Glu Ser Gly
[7156]	485 490 495
[7157]	Asp Cys Gly Asp Asp Glu Asp Glu Cys Ile Gly Gly Ser Gly Asp Gly
[7158]	500 505 510
[7159]	Met Ile Lys Val Lys Asn Gln Leu Arg Phe Leu Ala Glu Leu Ala Tyr
[7160]	515 520 525
[7161]	Asp Leu Asp Val Asp Asp Ala Pro Gly Asn Ser Gln Gln Ala Thr Pro
[7162]	530 535 540
[7163]	Lys Asp Asn Glu Ile Ser Thr Phe His Asn Leu Gly Asn Val His Ser
[7164]	545 550 555 560
[7165]	<210> 462
[7166]	<211> 556
[7167]	<212> PRT
[7168]	<213> 人工序列
[7169]	<220>
[7170]	<223> 全长人类GPC3 SEQ ID NO: 460的氨基酸25-580 (UNIPROT)
[7171]	<400> 462
[7172]	Gln Pro Pro Pro Pro Pro Pro Asp Ala Thr Cys His Gln Val Arg Ser
[7173]	1 5 10 15
[7174]	Phe Phe Gln Arg Leu Gln Pro Gly Leu Lys Trp Val Pro Glu Thr Pro
[7175]	20 25 30

[7176]	Val	Pro	Gly	Ser	Asp	Leu	Gln	Val	Cys	Leu	Pro	Lys	Gly	Pro	Thr	Cys
[7177]			35				40					45				
[7178]	Cys	Ser	Arg	Lys	Met	Glu	Glu	Lys	Tyr	Gln	Leu	Thr	Ala	Arg	Leu	Asn
[7179]			50				55					60				
[7180]	Met	Glu	Gln	Leu	Leu	Gln	Ser	Ala	Ser	Met	Glu	Leu	Lys	Phe	Leu	Ile
[7181]	65					70					75					80
[7182]	Ile	Gln	Asn	Ala	Ala	Val	Phe	Gln	Glu	Ala	Phe	Glu	Ile	Val	Val	Arg
[7183]					85					90					95	
[7184]	His	Ala	Lys	Asn	Tyr	Thr	Asn	Ala	Met	Phe	Lys	Asn	Asn	Tyr	Pro	Ser
[7185]				100					105					110		
[7186]	Leu	Thr	Pro	Gln	Ala	Phe	Glu	Phe	Val	Gly	Glu	Phe	Phe	Thr	Asp	Val
[7187]				115					120					125		
[7188]	Ser	Leu	Tyr	Ile	Leu	Gly	Ser	Asp	Ile	Asn	Val	Asp	Asp	Met	Val	Asn
[7189]				130					135					140		
[7190]	Glu	Leu	Phe	Asp	Ser	Leu	Phe	Pro	Val	Ile	Tyr	Thr	Gln	Leu	Met	Asn
[7191]	145					150					155					160
[7192]	Pro	Gly	Leu	Pro	Asp	Ser	Ala	Leu	Asp	Ile	Asn	Glu	Cys	Leu	Arg	Gly
[7193]					165						170					175
[7194]	Ala	Arg	Arg	Asp	Leu	Lys	Val	Phe	Gly	Asn	Phe	Pro	Lys	Leu	Ile	Met
[7195]				180						185					190	
[7196]	Thr	Gln	Val	Ser	Lys	Ser	Leu	Gln	Val	Thr	Arg	Ile	Phe	Leu	Gln	Ala
[7197]				195						200					205	
[7198]	Leu	Asn	Leu	Gly	Ile	Glu	Val	Ile	Asn	Thr	Thr	Asp	His	Leu	Lys	Phe
[7199]				210					215				220			
[7200]	Ser	Lys	Asp	Cys	Gly	Arg	Met	Leu	Thr	Arg	Met	Trp	Tyr	Cys	Ser	Tyr
[7201]	225					230					235					240
[7202]	Cys	Gln	Gly	Leu	Met	Met	Val	Lys	Pro	Cys	Gly	Gly	Tyr	Cys	Asn	Val
[7203]					245						250				255	
[7204]	Val	Met	Gln	Gly	Cys	Met	Ala	Gly	Val	Val	Glu	Ile	Asp	Lys	Tyr	Trp
[7205]				260						265					270	
[7206]	Arg	Glu	Tyr	Ile	Leu	Ser	Leu	Glu	Glu	Leu	Val	Asn	Gly	Met	Tyr	Arg
[7207]				275						280					285	
[7208]	Ile	Tyr	Asp	Met	Glu	Asn	Val	Leu	Leu	Gly	Leu	Phe	Ser	Thr	Ile	His
[7209]				290						295				300		
[7210]	Asp	Ser	Ile	Gln	Tyr	Val	Gln	Lys	Asn	Ala	Gly	Lys	Leu	Thr	Thr	Thr
[7211]	305					310					315					320
[7212]	Ile	Gly	Lys	Leu	Cys	Ala	His	Ser	Gln	Gln	Arg	Gln	Tyr	Arg	Ser	Ala
[7213]					325						330				335	
[7214]	Tyr	Tyr	Pro	Glu	Asp	Leu	Phe	Ile	Asp	Lys	Lys	Val	Leu	Lys	Val	Ala

[7215]	340	345	350
[7216]	His Val Glu His Glu Glu Thr Leu Ser Ser Arg Arg Arg Glu Leu Ile		
[7217]	355	360	365
[7218]	Gln Lys Leu Lys Ser Phe Ile Ser Phe Tyr Ser Ala Leu Pro Gly Tyr		
[7219]	370	375	380
[7220]	Ile Cys Ser His Ser Pro Val Ala Glu Asn Asp Thr Leu Cys Trp Asn		
[7221]	385	390	395
[7222]	Gly Gln Glu Leu Val Glu Arg Tyr Ser Gln Lys Ala Ala Arg Asn Gly		
[7223]	405	410	415
[7224]	Met Lys Asn Gln Phe Asn Leu His Glu Leu Lys Met Lys Gly Pro Glu		
[7225]	420	425	430
[7226]	Pro Val Val Ser Gln Ile Ile Asp Lys Leu Lys His Ile Asn Gln Leu		
[7227]	435	440	445
[7228]	Leu Arg Thr Met Ser Met Pro Lys Gly Arg Val Leu Asp Lys Asn Leu		
[7229]	450	455	460
[7230]	Asp Glu Glu Gly Phe Glu Ser Gly Asp Cys Gly Asp Asp Glu Asp Glu		
[7231]	465	470	475
[7232]	Cys Ile Gly Gly Ser Gly Asp Gly Met Ile Lys Val Lys Asn Gln Leu		
[7233]	485	490	495
[7234]	Arg Phe Leu Ala Glu Leu Ala Tyr Asp Leu Asp Val Asp Asp Ala Pro		
[7235]	500	505	510
[7236]	Gly Asn Ser Gln Gln Ala Thr Pro Lys Asp Asn Glu Ile Ser Thr Phe		
[7237]	515	520	525
[7238]	His Asn Leu Gly Asn Val His Ser Pro Leu Lys Leu Leu Thr Ser Met		
[7239]	530	535	540
[7240]	Ala Ile Ser Val Val Cys Phe Phe Phe Leu Val His		
[7241]	545	550	555
[7242]	<210> 463		
[7243]	<211> 536		
[7244]	<212> PRT		
[7245]	<213> 人工序列		
[7246]	<220>		
[7247]	<223> 全长人类GPC3 SEQ ID NO: 460的氨基酸25-560 (UNIPROT)		
[7248]	<400> 463		
[7249]	Gln Pro Pro Pro Pro Pro Pro Asp Ala Thr Cys His Gln Val Arg Ser		
[7250]	1	5	10
[7251]	Phe Phe Gln Arg Leu Gln Pro Gly Leu Lys Trp Val Pro Glu Thr Pro		
[7252]	20	25	30
[7253]	Val Pro Gly Ser Asp Leu Gln Val Cys Leu Pro Lys Gly Pro Thr Cys		

[7254]	35	40	45
[7255]	Cys Ser Arg Lys Met Glu Glu Lys Tyr Gln Leu Thr Ala Arg Leu Asn		
[7256]	50	55	60
[7257]	Met Glu Gln Leu Leu Gln Ser Ala Ser Met Glu Leu Lys Phe Leu Ile		
[7258]	65	70	75
[7259]	Ile Gln Asn Ala Ala Val Phe Gln Glu Ala Phe Glu Ile Val Val Arg		
[7260]	85	90	95
[7261]	His Ala Lys Asn Tyr Thr Asn Ala Met Phe Lys Asn Asn Tyr Pro Ser		
[7262]	100	105	110
[7263]	Leu Thr Pro Gln Ala Phe Glu Phe Val Gly Glu Phe Phe Thr Asp Val		
[7264]	115	120	125
[7265]	Ser Leu Tyr Ile Leu Gly Ser Asp Ile Asn Val Asp Asp Met Val Asn		
[7266]	130	135	140
[7267]	Glu Leu Phe Asp Ser Leu Phe Pro Val Ile Tyr Thr Gln Leu Met Asn		
[7268]	145	150	155
[7269]	Pro Gly Leu Pro Asp Ser Ala Leu Asp Ile Asn Glu Cys Leu Arg Gly		
[7270]	165	170	175
[7271]	Ala Arg Arg Asp Leu Lys Val Phe Gly Asn Phe Pro Lys Leu Ile Met		
[7272]	180	185	190
[7273]	Thr Gln Val Ser Lys Ser Leu Gln Val Thr Arg Ile Phe Leu Gln Ala		
[7274]	195	200	205
[7275]	Leu Asn Leu Gly Ile Glu Val Ile Asn Thr Thr Asp His Leu Lys Phe		
[7276]	210	215	220
[7277]	Ser Lys Asp Cys Gly Arg Met Leu Thr Arg Met Trp Tyr Cys Ser Tyr		
[7278]	225	230	235
[7279]	Cys Gln Gly Leu Met Met Val Lys Pro Cys Gly Gly Tyr Cys Asn Val		
[7280]	245	250	255
[7281]	Val Met Gln Gly Cys Met Ala Gly Val Val Glu Ile Asp Lys Tyr Trp		
[7282]	260	265	270
[7283]	Arg Glu Tyr Ile Leu Ser Leu Glu Glu Leu Val Asn Gly Met Tyr Arg		
[7284]	275	280	285
[7285]	Ile Tyr Asp Met Glu Asn Val Leu Leu Gly Leu Phe Ser Thr Ile His		
[7286]	290	295	300
[7287]	Asp Ser Ile Gln Tyr Val Gln Lys Asn Ala Gly Lys Leu Thr Thr Thr		
[7288]	305	310	315
[7289]	Ile Gly Lys Leu Cys Ala His Ser Gln Gln Arg Gln Tyr Arg Ser Ala		
[7290]	325	330	335
[7291]	Tyr Tyr Pro Glu Asp Leu Phe Ile Asp Lys Lys Val Leu Lys Val Ala		
[7292]	340	345	350

[7293]	His Val Glu His Glu Glu Thr Leu Ser Ser Arg Arg Arg Glu Leu Ile
[7294]	355 360 365
[7295]	Gln Lys Leu Lys Ser Phe Ile Ser Phe Tyr Ser Ala Leu Pro Gly Tyr
[7296]	370 375 380
[7297]	Ile Cys Ser His Ser Pro Val Ala Glu Asn Asp Thr Leu Cys Trp Asn
[7298]	385 390 395 400
[7299]	Gly Gln Glu Leu Val Glu Arg Tyr Ser Gln Lys Ala Ala Arg Asn Gly
[7300]	405 410 415
[7301]	Met Lys Asn Gln Phe Asn Leu His Glu Leu Lys Met Lys Gly Pro Glu
[7302]	420 425 430
[7303]	Pro Val Val Ser Gln Ile Ile Asp Lys Leu Lys His Ile Asn Gln Leu
[7304]	435 440 445
[7305]	Leu Arg Thr Met Ser Met Pro Lys Gly Arg Val Leu Asp Lys Asn Leu
[7306]	450 455 460
[7307]	Asp Glu Glu Gly Phe Glu Ser Gly Asp Cys Gly Asp Asp Glu Asp Glu
[7308]	465 470 475 480
[7309]	Cys Ile Gly Gly Ser Gly Asp Gly Met Ile Lys Val Lys Asn Gln Leu
[7310]	485 490 495
[7311]	Arg Phe Leu Ala Glu Leu Ala Tyr Asp Leu Asp Val Asp Asp Ala Pro
[7312]	500 505 510
[7313]	Gly Asn Ser Gln Gln Ala Thr Pro Lys Asp Asn Glu Ile Ser Thr Phe
[7314]	515 520 525
[7315]	His Asn Leu Gly Asn Val His Ser
[7316]	530 535
[7317]	<210> 464
[7318]	<211> 334
[7319]	<212> PRT
[7320]	<213> 人工序列
[7321]	<220>
[7322]	<223> 全长人类GPC3 SEQ ID NO: 460的氨基酸25-358 (UNIPROT)
[7323]	<400> 464
[7324]	Gln Pro Pro Pro Pro Pro Pro Asp Ala Thr Cys His Gln Val Arg Ser
[7325]	1 5 10 15
[7326]	Phe Phe Gln Arg Leu Gln Pro Gly Leu Lys Trp Val Pro Glu Thr Pro
[7327]	20 25 30
[7328]	Val Pro Gly Ser Asp Leu Gln Val Cys Leu Pro Lys Gly Pro Thr Cys
[7329]	35 40 45
[7330]	Cys Ser Arg Lys Met Glu Glu Lys Tyr Gln Leu Thr Ala Arg Leu Asn
[7331]	50 55 60

[7332]	Met Glu Gln Leu Leu Gln Ser Ala Ser Met Glu Leu Lys Phe Leu Ile
[7333]	65 70 75 80
[7334]	Ile Gln Asn Ala Ala Val Phe Gln Glu Ala Phe Glu Ile Val Val Arg
[7335]	85 90 95
[7336]	His Ala Lys Asn Tyr Thr Asn Ala Met Phe Lys Asn Asn Tyr Pro Ser
[7337]	100 105 110
[7338]	Leu Thr Pro Gln Ala Phe Glu Phe Val Gly Glu Phe Phe Thr Asp Val
[7339]	115 120 125
[7340]	Ser Leu Tyr Ile Leu Gly Ser Asp Ile Asn Val Asp Asp Met Val Asn
[7341]	130 135 140
[7342]	Glu Leu Phe Asp Ser Leu Phe Pro Val Ile Tyr Thr Gln Leu Met Asn
[7343]	145 150 155 160
[7344]	Pro Gly Leu Pro Asp Ser Ala Leu Asp Ile Asn Glu Cys Leu Arg Gly
[7345]	165 170 175
[7346]	Ala Arg Arg Asp Leu Lys Val Phe Gly Asn Phe Pro Lys Leu Ile Met
[7347]	180 185 190
[7348]	Thr Gln Val Ser Lys Ser Leu Gln Val Thr Arg Ile Phe Leu Gln Ala
[7349]	195 200 205
[7350]	Leu Asn Leu Gly Ile Glu Val Ile Asn Thr Thr Asp His Leu Lys Phe
[7351]	210 215 220
[7352]	Ser Lys Asp Cys Gly Arg Met Leu Thr Arg Met Trp Tyr Cys Ser Tyr
[7353]	225 230 235 240
[7354]	Cys Gln Gly Leu Met Met Val Lys Pro Cys Gly Gly Tyr Cys Asn Val
[7355]	245 250 255
[7356]	Val Met Gln Gly Cys Met Ala Gly Val Val Glu Ile Asp Lys Tyr Trp
[7357]	260 265 270
[7358]	Arg Glu Tyr Ile Leu Ser Leu Glu Glu Leu Val Asn Gly Met Tyr Arg
[7359]	275 280 285
[7360]	Ile Tyr Asp Met Glu Asn Val Leu Leu Gly Leu Phe Ser Thr Ile His
[7361]	290 295 300
[7362]	Asp Ser Ile Gln Tyr Val Gln Lys Asn Ala Gly Lys Leu Thr Thr Thr
[7363]	305 310 315 320
[7364]	Ile Gly Lys Leu Cys Ala His Ser Gln Gln Arg Gln Tyr Arg
[7365]	325 330
[7366]	<210> 465
[7367]	<211> 202
[7368]	<212> PRT
[7369]	<213> 人工序列
[7370]	<220>

[7371]	<223> 全长人类GPC3 SEQ ID NO: 460的氨基酸359-560 (UNIPROT)															
[7372]	<400> 465															
[7373]	Ser	Ala	Tyr	Tyr	Pro	Glu	Asp	Leu	Phe	Ile	Asp	Lys	Lys	Val	Leu	Lys
[7374]	1				5					10					15	
[7375]	Val	Ala	His	Val	Glu	His	Glu	Glu	Thr	Leu	Ser	Ser	Arg	Arg	Arg	Glu
[7376]				20					25					30		
[7377]	Leu	Ile	Gln	Lys	Leu	Lys	Ser	Phe	Ile	Ser	Phe	Tyr	Ser	Ala	Leu	Pro
[7378]			35					40					45			
[7379]	Gly	Tyr	Ile	Cys	Ser	His	Ser	Pro	Val	Ala	Glu	Asn	Asp	Thr	Leu	Cys
[7380]		50					55					60				
[7381]	Trp	Asn	Gly	Gln	Glu	Leu	Val	Glu	Arg	Tyr	Ser	Gln	Lys	Ala	Ala	Arg
[7382]	65					70				75						80
[7383]	Asn	Gly	Met	Lys	Asn	Gln	Phe	Asn	Leu	His	Glu	Leu	Lys	Met	Lys	Gly
[7384]					85					90					95	
[7385]	Pro	Glu	Pro	Val	Val	Ser	Gln	Ile	Ile	Asp	Lys	Leu	Lys	His	Ile	Asn
[7386]				100					105					110		
[7387]	Gln	Leu	Leu	Arg	Thr	Met	Ser	Met	Pro	Lys	Gly	Arg	Val	Leu	Asp	Lys
[7388]			115					120					125			
[7389]	Asn	Leu	Asp	Glu	Glu	Gly	Phe	Glu	Ser	Gly	Asp	Cys	Gly	Asp	Asp	Glu
[7390]		130					135					140				
[7391]	Asp	Glu	Cys	Ile	Gly	Gly	Ser	Gly	Asp	Gly	Met	Ile	Lys	Val	Lys	Asn
[7392]	145					150					155					160
[7393]	Gln	Leu	Arg	Phe	Leu	Ala	Glu	Leu	Ala	Tyr	Asp	Leu	Asp	Val	Asp	Asp
[7394]					165					170					175	
[7395]	Ala	Pro	Gly	Asn	Ser	Gln	Gln	Ala	Thr	Pro	Lys	Asp	Asn	Glu	Ile	Ser
[7396]				180						185				190		
[7397]	Thr	Phe	His	Asn	Leu	Gly	Asn	Val	His	Ser						
[7398]			195					200								
[7399]	<210> 466															
[7400]	<211> 222															
[7401]	<212> PRT															
[7402]	<213> 人工序列															
[7403]	<220>															
[7404]	<223> 全长人类GPC3 SEQ ID NO: 460的氨基酸359-580 (UNIPROT)															
[7405]	<400> 466															
[7406]	Ser	Ala	Tyr	Tyr	Pro	Glu	Asp	Leu	Phe	Ile	Asp	Lys	Lys	Val	Leu	Lys
[7407]	1				5					10					15	
[7408]	Val	Ala	His	Val	Glu	His	Glu	Glu	Thr	Leu	Ser	Ser	Arg	Arg	Arg	Glu
[7409]				20						25					30	

[7410]	Leu Ile Gln Lys Leu Lys Ser Phe Ile Ser Phe Tyr Ser Ala Leu Pro
[7411]	35 40 45
[7412]	Gly Tyr Ile Cys Ser His Ser Pro Val Ala Glu Asn Asp Thr Leu Cys
[7413]	50 55 60
[7414]	Trp Asn Gly Gln Glu Leu Val Glu Arg Tyr Ser Gln Lys Ala Ala Arg
[7415]	65 70 75 80
[7416]	Asn Gly Met Lys Asn Gln Phe Asn Leu His Glu Leu Lys Met Lys Gly
[7417]	85 90 95
[7418]	Pro Glu Pro Val Val Ser Gln Ile Ile Asp Lys Leu Lys His Ile Asn
[7419]	100 105 110
[7420]	Gln Leu Leu Arg Thr Met Ser Met Pro Lys Gly Arg Val Leu Asp Lys
[7421]	115 120 125
[7422]	Asn Leu Asp Glu Glu Gly Phe Glu Ser Gly Asp Cys Gly Asp Asp Glu
[7423]	130 135 140
[7424]	Asp Glu Cys Ile Gly Gly Ser Gly Asp Gly Met Ile Lys Val Lys Asn
[7425]	145 150 155 160
[7426]	Gln Leu Arg Phe Leu Ala Glu Leu Ala Tyr Asp Leu Asp Val Asp Asp
[7427]	165 170 175
[7428]	Ala Pro Gly Asn Ser Gln Gln Ala Thr Pro Lys Asp Asn Glu Ile Ser
[7429]	180 185 190
[7430]	Thr Phe His Asn Leu Gly Asn Val His Ser Pro Leu Lys Leu Leu Thr
[7431]	195 200 205
[7432]	Ser Met Ala Ile Ser Val Val Cys Phe Phe Phe Leu Val His
[7433]	210 215 220
[7434]	<210> 467
[7435]	<211> 51
[7436]	<212> PRT
[7437]	<213> 人工序列
[7438]	<220>
[7439]	<223> 全长人类GPC3 SEQ ID NO: 460的氨基酸510-560 (UNIPROT)
[7440]	<400> 467
[7441]	Gly Asp Gly Met Ile Lys Val Lys Asn Gln Leu Arg Phe Leu Ala Glu
[7442]	1 5 10 15
[7443]	Leu Ala Tyr Asp Leu Asp Val Asp Asp Ala Pro Gly Asn Ser Gln Gln
[7444]	20 25 30
[7445]	Ala Thr Pro Lys Asp Asn Glu Ile Ser Thr Phe His Asn Leu Gly Asn
[7446]	35 40 45
[7447]	Val His Ser
[7448]	50

[7449]	<210>	468														
[7450]	<211>	358														
[7451]	<212>	PRT														
[7452]	<213>	人工序列														
[7453]	<220>															
[7454]	<223>	全长人类GPC3 SEQ ID NO: 460的氨基酸1-358 (UNIPROT)														
[7455]	<400>	468														
[7456]	Met	Ala	Gly	Thr	Val	Arg	Thr	Ala	Cys	Leu	Val	Val	Ala	Met	Leu	Leu
[7457]	1				5					10					15	
[7458]	Ser	Leu	Asp	Phe	Pro	Gly	Gln	Ala	Gln	Pro	Pro	Pro	Pro	Pro	Pro	Asp
[7459]				20					25					30		
[7460]	Ala	Thr	Cys	His	Gln	Val	Arg	Ser	Phe	Phe	Gln	Arg	Leu	Gln	Pro	Gly
[7461]			35					40					45			
[7462]	Leu	Lys	Trp	Val	Pro	Glu	Thr	Pro	Val	Pro	Gly	Ser	Asp	Leu	Gln	Val
[7463]		50					55				60					
[7464]	Cys	Leu	Pro	Lys	Gly	Pro	Thr	Cys	Cys	Ser	Arg	Lys	Met	Glu	Glu	Lys
[7465]	65				70					75				80		
[7466]	Tyr	Gln	Leu	Thr	Ala	Arg	Leu	Asn	Met	Glu	Gln	Leu	Leu	Gln	Ser	Ala
[7467]				85					90					95		
[7468]	Ser	Met	Glu	Leu	Lys	Phe	Leu	Ile	Ile	Gln	Asn	Ala	Ala	Val	Phe	Gln
[7469]			100					105					110			
[7470]	Glu	Ala	Phe	Glu	Ile	Val	Val	Arg	His	Ala	Lys	Asn	Tyr	Thr	Asn	Ala
[7471]			115					120					125			
[7472]	Met	Phe	Lys	Asn	Asn	Tyr	Pro	Ser	Leu	Thr	Pro	Gln	Ala	Phe	Glu	Phe
[7473]		130					135				140					
[7474]	Val	Gly	Glu	Phe	Phe	Thr	Asp	Val	Ser	Leu	Tyr	Ile	Leu	Gly	Ser	Asp
[7475]	145					150					155					160
[7476]	Ile	Asn	Val	Asp	Asp	Met	Val	Asn	Glu	Leu	Phe	Asp	Ser	Leu	Phe	Pro
[7477]				165					170					175		
[7478]	Val	Ile	Tyr	Thr	Gln	Leu	Met	Asn	Pro	Gly	Leu	Pro	Asp	Ser	Ala	Leu
[7479]			180					185					190			
[7480]	Asp	Ile	Asn	Glu	Cys	Leu	Arg	Gly	Ala	Arg	Arg	Asp	Leu	Lys	Val	Phe
[7481]			195					200					205			
[7482]	Gly	Asn	Phe	Pro	Lys	Leu	Ile	Met	Thr	Gln	Val	Ser	Lys	Ser	Leu	Gln
[7483]		210					215				220					
[7484]	Val	Thr	Arg	Ile	Phe	Leu	Gln	Ala	Leu	Asn	Leu	Gly	Ile	Glu	Val	Ile
[7485]	225					230				235						240
[7486]	Asn	Thr	Thr	Asp	His	Leu	Lys	Phe	Ser	Lys	Asp	Cys	Gly	Arg	Met	Leu
[7487]				245					250					255		

[7488]	Thr Arg Met Trp Tyr Cys Ser Tyr Cys Gln Gly Leu Met Met Val Lys
[7489]	260 265 270
[7490]	Pro Cys Gly Gly Tyr Cys Asn Val Val Met Gln Gly Cys Met Ala Gly
[7491]	275 280 285
[7492]	Val Val Glu Ile Asp Lys Tyr Trp Arg Glu Tyr Ile Leu Ser Leu Glu
[7493]	290 295 300
[7494]	Glu Leu Val Asn Gly Met Tyr Arg Ile Tyr Asp Met Glu Asn Val Leu
[7495]	305 310 315 320
[7496]	Leu Gly Leu Phe Ser Thr Ile His Asp Ser Ile Gln Tyr Val Gln Lys
[7497]	325 330 335
[7498]	Asn Ala Gly Lys Leu Thr Thr Thr Ile Gly Lys Leu Cys Ala His Ser
[7499]	340 345 350
[7500]	Gln Gln Arg Gln Tyr Arg
[7501]	355
[7502]	<210> 469
[7503]	<211> 2
[7504]	<212> PRT
[7505]	<213> 人工序列
[7506]	<220>
[7507]	<223> 连接子氨基酸序列
[7508]	<220>
[7509]	<221> 变异体
[7510]	<222> (1) .. (2)
[7511]	<223> 可以位于至少一个至十个或超过十个重复序列中
[7512]	<400> 469
[7513]	Gly Ser
[7514]	1
[7515]	<210> 470
[7516]	<211> 5
[7517]	<212> PRT
[7518]	<213> 人工序列
[7519]	<220>
[7520]	<223> 连接子氨基酸序列
[7521]	<220>
[7522]	<221> 变异体
[7523]	<222> (1) .. (5)
[7524]	<223> 可以位于至少一个至十个或超过十个重复序列中
[7525]	<400> 470
[7526]	Gly Ser Gly Gly Ser

[7527]	1	5	
[7528]	<210>	471	
[7529]	<211>	5	
[7530]	<212>	PRT	
[7531]	<213>	人工序列	
[7532]	<220>		
[7533]	<223>	连接子氨基酸序列	
[7534]	<220>		
[7535]	<221>	变异体	
[7536]	<222>	(1) .. (5)	
[7537]	<223>	可以位于至少一个至十个或超过十个重复序列中	
[7538]	<400>	471	
[7539]	Gly Gly Gly Gly Ser		
[7540]	1	5	
[7541]	<210>	472	
[7542]	<211>	4	
[7543]	<212>	PRT	
[7544]	<213>	人工序列	
[7545]	<220>		
[7546]	<223>	连接子氨基酸序列	
[7547]	<220>		
[7548]	<221>	变异体	
[7549]	<222>	(1) .. (4)	
[7550]	<223>	可以位于至少一个至十个或超过十个重复序列中	
[7551]	<400>	472	
[7552]	Gly Gly Gly Ser		
[7553]	1		
[7554]	<210>	473	
[7555]	<211>	21	
[7556]	<212>	PRT	
[7557]	<213>	人工序列	
[7558]	<220>		
[7559]	<223>	连接子氨基酸序列	
[7560]	<400>	473	
[7561]	Ser Arg Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly		
[7562]	1	5	10 15
[7563]	Ser Leu Glu Met Ala		
[7564]		20	
[7565]	<210>	474	

[7566]	<211> 7
[7567]	<212> PRT
[7568]	<213> 人工序列
[7569]	<220>
[7570]	<223> 连接子氨基酸序列
[7571]	<400> 474
[7572]	Thr Ser Gly Gly Gly Gly Ser
[7573]	1 5
[7574]	<210> 475
[7575]	<211> 22
[7576]	<212> PRT
[7577]	<213> 人工序列
[7578]	<220>
[7579]	<223> 连接子氨基酸序列
[7580]	<400> 475
[7581]	Ala Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys
[7582]	1 5 10 15
[7583]	Glu Ala Ala Ala Lys Ala
[7584]	20
[7585]	<210> 476
[7586]	<211> 6
[7587]	<212> PRT
[7588]	<213> 人工序列
[7589]	<220>
[7590]	<223> His标签氨基酸序列
[7591]	<400> 476
[7592]	His His His His His His
[7593]	1 5
[7594]	<210> 477
[7595]	<211> 25
[7596]	<212> PRT
[7597]	<213> 人工序列
[7598]	<220>
[7599]	<223> His标签及HA标签氨基酸序列
[7600]	<400> 477
[7601]	Thr Ser Gly Gln Ala Gly Gln His His His His His His Gly Ala Tyr
[7602]	1 5 10 15
[7603]	Pro Tyr Asp Val Pro Asp Tyr Ala Ser
[7604]	20 25

[7605]	<210>	478
[7606]	<211>	5
[7607]	<212>	PRT
[7608]	<213>	人工序列
[7609]	<220>	
[7610]	<223>	Fc铰链氨基酸序列
[7611]	<400>	478
[7612]	Cys Pro Pro Cys Pro	
[7613]	1	5
[7614]	<210>	479
[7615]	<211>	8
[7616]	<212>	PRT
[7617]	<213>	人工序列
[7618]	<220>	
[7619]	<223>	抗CD3抗体HC-CDR1氨基酸序列
[7620]	<400>	479
[7621]	Gly Tyr Thr Phe Thr Arg Tyr Thr	
[7622]	1	5
[7623]	<210>	480
[7624]	<211>	8
[7625]	<212>	PRT
[7626]	<213>	人工序列
[7627]	<220>	
[7628]	<223>	抗CD3抗体HC-CDR2氨基酸序列
[7629]	<400>	480
[7630]	Ile Asn Pro Ser Arg Gly Tyr Thr	
[7631]	1	5
[7632]	<210>	481
[7633]	<211>	12
[7634]	<212>	PRT
[7635]	<213>	人工序列
[7636]	<220>	
[7637]	<223>	抗CD3抗体HC-CDR3氨基酸序列
[7638]	<400>	481
[7639]	Ala Arg Tyr Tyr Asp Asp His Tyr Cys Leu Asp Tyr	
[7640]	1	5 10
[7641]	<210>	482
[7642]	<211>	5
[7643]	<212>	PRT

[7644]	<213>	人工序列
[7645]	<220>	
[7646]	<223>	抗CD3抗体LC-CDR1氨基酸序列
[7647]	<400>	482
[7648]	Gln Ser Val Ser Tyr	
[7649]	1	5
[7650]	<210>	483
[7651]	<211>	3
[7652]	<212>	PRT
[7653]	<213>	人工序列
[7654]	<220>	
[7655]	<223>	抗CD3抗体LC-CDR2氨基酸序列
[7656]	<400>	483
[7657]	Asp Thr Ser	
[7658]	1	
[7659]	<210>	484
[7660]	<211>	9
[7661]	<212>	PRT
[7662]	<213>	人工序列
[7663]	<220>	
[7664]	<223>	抗CD3抗体LC-CDR3氨基酸序列
[7665]	<400>	484
[7666]	Gln Gln Trp Ser Ser Asn Pro Leu Thr	
[7667]	1	5
[7668]	<210>	485
[7669]	<211>	119
[7670]	<212>	PRT
[7671]	<213>	人工序列
[7672]	<220>	
[7673]	<223>	抗CD3抗体VH氨基酸序列
[7674]	<400>	485
[7675]	Asp Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala	
[7676]	1	5 10 15
[7677]	Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Arg Tyr	
[7678]		20 25 30
[7679]	Thr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile	
[7680]		35 40 45
[7681]	Gly Tyr Ile Asn Pro Ser Arg Gly Tyr Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val	
[7682]		50 55 60

[7683]	Lys Gly Arg Phe Thr Ile Thr Thr Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
[7684]	65 70 75 80
[7685]	Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys
[7686]	85 90 95
[7687]	Ala Arg Tyr Tyr Asp Asp His Tyr Cys Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
[7688]	100 105 110
[7689]	Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
[7690]	115
[7691]	<210> 486
[7692]	<211> 106
[7693]	<212> PRT
[7694]	<213> 人工序列
[7695]	<220>
[7696]	<223> 抗CD3抗体VL氨基酸序列
[7697]	<400> 486
[7698]	Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
[7699]	1 5 10 15
[7700]	Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Tyr Met
[7701]	20 25 30
[7702]	Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Arg Trp Ile Tyr
[7703]	35 40 45
[7704]	Asp Thr Ser Lys Val Ala Ser Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser
[7705]	50 55 60
[7706]	Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Asn Ser Leu Glu Ala Glu
[7707]	65 70 75 80
[7708]	Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Ser Ser Asn Pro Leu Thr
[7709]	85 90 95
[7710]	Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
[7711]	100 105
[7712]	<210> 487
[7713]	<211> 243
[7714]	<212> PRT
[7715]	<213> 人工序列
[7716]	<220>
[7717]	<223> 抗CD3 scFv氨基酸序列
[7718]	<400> 487
[7719]	Asp Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
[7720]	1 5 10 15
[7721]	Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Arg Tyr

[7722]	20	25	30
[7723]	Thr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile		
[7724]	35	40	45
[7725]	Gly Tyr Ile Asn Pro Ser Arg Gly Tyr Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val		
[7726]	50	55	60
[7727]	Lys Gly Arg Phe Thr Ile Thr Thr Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr		
[7728]	65	70	75
[7729]	Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys		
[7730]	85	90	95
[7731]	Ala Arg Tyr Tyr Asp Asp His Tyr Cys Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly		
[7732]	100	105	110
[7733]	Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Glu Gly Thr Ser Thr Gly Ser Gly		
[7734]	115	120	125
[7735]	Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ala Asp Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser		
[7736]	130	135	140
[7737]	Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys		
[7738]	145	150	155
[7739]	Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Tyr Met Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro		
[7740]	165	170	175
[7741]	Gly Lys Ala Pro Lys Arg Trp Ile Tyr Asp Thr Ser Lys Val Ala Ser		
[7742]	180	185	190
[7743]	Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Ser		
[7744]	195	200	205
[7745]	Leu Thr Ile Asn Ser Leu Glu Ala Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys		
[7746]	210	215	220
[7747]	Gln Gln Trp Ser Ser Asn Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val		
[7748]	225	230	235
[7749]	Glu Ile Lys		240
[7750]	<210> 488		
[7751]	<211> 498		
[7752]	<212> PRT		
[7753]	<213> 人工序列		
[7754]	<220>		
[7755]	<223> 抗nGPC3 (GPC3A-034) scFv-抗CD3 scFv氨基酸序列		
[7756]	<400> 488		
[7757]	Gln Pro Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Thr Pro Gly Gln		
[7758]	1	5	10
[7759]	Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ser Asn		15
[7760]	20	25	30

[7761]	Asn	Val	Ile	Trp	Tyr	Gln	Gln	Leu	Pro	Gly	Ala	Ala	Pro	Lys	Leu	Leu
[7762]			35					40						45		
[7763]	Ile	Tyr	Ser	Asn	His	Arg	Arg	Pro	Ser	Gly	Val	Pro	Asp	Arg	Phe	Ser
[7764]			50					55					60			
[7765]	Gly	Ser	Arg	Ser	Gly	Thr	Ser	Ala	Ser	Leu	Ala	Ile	Ser	Gly	Leu	Gln
[7766]	65					70					75					80
[7767]	Ser	Glu	Asp	Glu	Ala	Asp	Tyr	Tyr	Cys	Ala	Ala	Trp	Asp	Asp	Ser	Leu
[7768]					85					90					95	
[7769]	Asp	Gly	Tyr	Leu	Phe	Gly	Thr	Gly	Thr	Lys	Val	Thr	Val	Leu	Gly	Ser
[7770]				100					105					110		
[7771]	Arg	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser
[7772]				115					120					125		
[7773]	Leu	Glu	Met	Ala	Gln	Val	Gln	Leu	Gln	Gln	Trp	Gly	Ala	Gly	Leu	Leu
[7774]				130					135				140			
[7775]	Lys	Pro	Ser	Glu	Thr	Leu	Ser	Leu	Thr	Cys	Ala	Val	Tyr	Gly	Gly	Ser
[7776]	145					150					155					160
[7777]	Phe	Ser	Gly	Tyr	Tyr	Trp	Ser	Trp	Ile	Arg	Gln	Pro	Pro	Gly	Lys	Gly
[7778]					165					170					175	
[7779]	Leu	Glu	Trp	Ile	Gly	Glu	Ile	Asn	His	Ser	Gly	Ser	Thr	Asn	Tyr	Asn
[7780]				180					185					190		
[7781]	Pro	Ser	Leu	Lys	Ser	Arg	Val	Thr	Ile	Ser	Val	Asp	Thr	Ser	Lys	Asn
[7782]				195					200					205		
[7783]	Gln	Phe	Ser	Leu	Glu	Leu	Ser	Ser	Val	Thr	Ala	Ala	Asp	Thr	Ala	Val
[7784]				210					215				220			
[7785]	Tyr	Tyr	Cys	Ala	Arg	Gly	Tyr	Gly	Gly	Arg	Phe	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln
[7786]	225					230					235					240
[7787]	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Asp
[7788]					245					250					255	
[7789]	Val	Gln	Leu	Val	Gln	Ser	Gly	Ala	Glu	Val	Lys	Lys	Pro	Gly	Ala	Ser
[7790]				260					265					270		
[7791]	Val	Lys	Val	Ser	Cys	Lys	Ala	Ser	Gly	Tyr	Thr	Phe	Thr	Arg	Tyr	Thr
[7792]				275					280					285		
[7793]	Met	His	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Gln	Gly	Leu	Glu	Trp	Ile	Gly
[7794]				290					295					300		
[7795]	Tyr	Ile	Asn	Pro	Ser	Arg	Gly	Tyr	Thr	Asn	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val	Lys
[7796]	305					310					315					320
[7797]	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Thr	Thr	Asp	Lys	Ser	Thr	Ser	Thr	Ala	Tyr	Met
[7798]					325					330					335	
[7799]	Glu	Leu	Ser	Ser	Leu	Arg	Ser	Glu	Asp	Thr	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Cys	Ala

[7800]		340		345		350	
[7801]	Arg	Tyr	Tyr	Asp	Asp	His	Tyr
[7802]		355		360		365	
[7803]	Thr	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Gly
[7804]		370		375		380	
[7805]	Ser	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Ala
[7806]	385			390		395	
[7807]	Ala	Thr	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro
[7808]		405		410		415	
[7809]	Ala	Ser	Gln	Ser	Val	Ser	Tyr
[7810]		420		425		430	
[7811]	Lys	Ala	Pro	Lys	Arg	Trp	Ile
[7812]		435		440		445	
[7813]	Val	Pro	Ala	Arg	Phe	Ser	Gly
[7814]		450		455		460	
[7815]	Thr	Ile	Asn	Ser	Leu	Glu	Ala
[7816]	465			470		475	
[7817]	Gln	Trp	Ser	Ser	Asn	Pro	Leu
[7818]		485		490		495	
[7819]	Ile	Lys					
[7820]	<210>	489					
[7821]	<211>	497					
[7822]	<212>	PRT					
[7823]	<213>	人工序列					
[7824]	<220>						
[7825]	<223>	抗GPC3 (GPC3B-87) scFv-抗CD3 scFv氨基酸序列					
[7826]	<400>	489					
[7827]	Asp	Val	Val	Met	Thr	Gln	Ser
[7828]	1		5			10	
[7829]	Glu	Pro	Ala	Ser	Val	Ser	Cys
[7830]		20				25	
[7831]	Asn	Gly	Tyr	Asn	Tyr	Leu	Asp
[7832]		35				40	
[7833]	Pro	Gln	Leu	Leu	Ile	Tyr	Leu
[7834]		50				55	
[7835]	Asp	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Gly
[7836]	65					70	
[7837]	Ser	Arg	Val	Glu	Ala	Glu	Asp
[7838]		85				90	

[7839]	Leu	Gln	Thr	Pro	Trp	Thr	Phe	Gly	Gln	Gly	Thr	Lys	Val	Glu	Ile	Lys
[7840]				100				105					110			
[7841]	Arg	Ser	Arg	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly
[7842]			115					120					125			
[7843]	Gly	Ser	Leu	Glu	Met	Ala	Glu	Val	Gln	Leu	Val	Gln	Ser	Gly	Ala	Glu
[7844]		130						135					140			
[7845]	Val	Arg	Lys	Pro	Gly	Ser	Ser	Val	Lys	Val	Ser	Cys	Gln	Ala	Ser	Gly
[7846]	145					150					155					160
[7847]	Gly	Thr	Phe	Gly	Ser	Tyr	Ala	Ile	Ser	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly
[7848]					165					170					175	
[7849]	Gln	Gly	Leu	Glu	Trp	Met	Gly	Arg	Ile	Ile	Pro	Val	Leu	Gly	Arg	Thr
[7850]				180					185					190		
[7851]	Lys	Tyr	Ala	Gln	Lys	Phe	Gln	Gly	Arg	Val	Thr	Val	Thr	Ala	Asp	Thr
[7852]			195					200					205			
[7853]	Ser	Thr	Ser	Thr	Val	Tyr	Met	Glu	Leu	Thr	Ser	Leu	Thr	Ser	Glu	Asp
[7854]		210					215					220				
[7855]	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Ala	Arg	Thr	Asn	Asp	Ser	Trp	Gly	Gln	Gly
[7856]	225					230					235					240
[7857]	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Asp	Val
[7858]				245						250					255	
[7859]	Gln	Leu	Val	Gln	Ser	Gly	Ala	Glu	Val	Lys	Lys	Pro	Gly	Ala	Ser	Val
[7860]			260						265					270		
[7861]	Lys	Val	Ser	Cys	Lys	Ala	Ser	Gly	Tyr	Thr	Phe	Thr	Arg	Tyr	Thr	Met
[7862]		275						280					285			
[7863]	His	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Gln	Gly	Leu	Glu	Trp	Ile	Gly	Tyr
[7864]		290						295					300			
[7865]	Ile	Asn	Pro	Ser	Arg	Gly	Tyr	Thr	Asn	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val	Lys	Gly
[7866]	305					310					315					320
[7867]	Arg	Phe	Thr	Ile	Thr	Thr	Asp	Lys	Ser	Thr	Ser	Thr	Ala	Tyr	Met	Glu
[7868]				325						330				335		
[7869]	Leu	Ser	Ser	Leu	Arg	Ser	Glu	Asp	Thr	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Cys	Ala	Arg
[7870]			340						345				350			
[7871]	Tyr	Tyr	Asp	Asp	His	Tyr	Cys	Leu	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Thr
[7872]			355					360					365			
[7873]	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Gly	Glu	Gly	Thr	Ser	Thr	Gly	Ser	Gly	Gly	Ser
[7874]		370						375					380			
[7875]	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Ala	Asp	Asp	Ile	Val	Leu	Thr	Gln	Ser	Pro	Ala
[7876]	385					390					395					400
[7877]	Thr	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Glu	Arg	Ala	Thr	Leu	Ser	Cys	Arg	Ala

[7878]	405							410							415				
[7879]	Ser	Gln	Ser	Val	Ser	Tyr	Met	Asn	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Lys			
[7880]	420							425							430				
[7881]	Ala	Pro	Lys	Arg	Trp	Ile	Tyr	Asp	Thr	Ser	Lys	Val	Ala	Ser	Gly	Val			
[7882]	435							440							445				
[7883]	Pro	Ala	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Tyr	Ser	Leu	Thr			
[7884]	450							455							460				
[7885]	Ile	Asn	Ser	Leu	Glu	Ala	Glu	Asp	Ala	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Cys	Gln	Gln			
[7886]	465							470							475			480	
[7887]	Trp	Ser	Ser	Asn	Pro	Leu	Thr	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Val	Glu	Ile			
[7888]	485							490							495				
[7889]	Lys																		
[7890]	<210> 490																		
[7891]	<211> 18																		
[7892]	<212> PRT																		
[7893]	<213> 人工序列																		
[7894]	<220>																		
[7895]	<223> 连接子氨基酸序列																		
[7896]	<400> 490																		
[7897]	Gly	Glu	Gly	Thr	Ser	Thr	Gly	Ser	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly			
[7898]	1			5				10					15						
[7899]	Ala Asp																		
[7900]	<210> 491																		
[7901]	<211> 470																		
[7902]	<212> PRT																		
[7903]	<213> 人工序列																		
[7904]	<220>																		
[7905]	<223> GPC3A-034 scFv-CAR氨基酸序列																		
[7906]	<400> 491																		
[7907]	Gln	Pro	Val	Leu	Thr	Gln	Pro	Pro	Ser	Ala	Ser	Gly	Thr	Pro	Gly	Gln			
[7908]	1			5				10					15						
[7909]	Arg	Val	Thr	Ile	Ser	Cys	Ser	Gly	Ser	Ser	Ser	Asn	Ile	Gly	Ser	Asn			
[7910]	20							25					30						
[7911]	Asn	Val	Ile	Trp	Tyr	Gln	Gln	Leu	Pro	Gly	Ala	Ala	Pro	Lys	Leu	Leu			
[7912]	35							40					45						
[7913]	Ile	Tyr	Ser	Asn	His	Arg	Arg	Pro	Ser	Gly	Val	Pro	Asp	Arg	Phe	Ser			
[7914]	50							55					60						
[7915]	Gly	Ser	Arg	Ser	Gly	Thr	Ser	Ala	Ser	Leu	Ala	Ile	Ser	Gly	Leu	Gln			
[7916]	65			70				75					80						

[7917]	Ser	Glu	Asp	Glu	Ala	Asp	Tyr	Tyr	Cys	Ala	Ala	Trp	Asp	Asp	Ser	Leu
[7918]					85				90						95	
[7919]	Asp	Gly	Tyr	Leu	Phe	Gly	Thr	Gly	Thr	Lys	Val	Thr	Val	Leu	Gly	Ser
[7920]				100					105					110		
[7921]	Arg	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser
[7922]				115					120					125		
[7923]	Leu	Glu	Met	Ala	Gln	Val	Gln	Leu	Gln	Gln	Trp	Gly	Ala	Gly	Leu	Leu
[7924]		130						135					140			
[7925]	Lys	Pro	Ser	Glu	Thr	Leu	Ser	Leu	Thr	Cys	Ala	Val	Tyr	Gly	Gly	Ser
[7926]	145					150					155					160
[7927]	Phe	Ser	Gly	Tyr	Tyr	Trp	Ser	Trp	Ile	Arg	Gln	Pro	Pro	Gly	Lys	Gly
[7928]				165						170						175
[7929]	Leu	Glu	Trp	Ile	Gly	Glu	Ile	Asn	His	Ser	Gly	Ser	Thr	Asn	Tyr	Asn
[7930]				180					185					190		
[7931]	Pro	Ser	Leu	Lys	Ser	Arg	Val	Thr	Ile	Ser	Val	Asp	Thr	Ser	Lys	Asn
[7932]			195					200					205			
[7933]	Gln	Phe	Ser	Leu	Glu	Leu	Ser	Ser	Val	Thr	Ala	Ala	Asp	Thr	Ala	Val
[7934]		210						215					220			
[7935]	Tyr	Tyr	Cys	Ala	Arg	Gly	Tyr	Gly	Gly	Arg	Phe	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln
[7936]	225					230					235					240
[7937]	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ala	Ala	Ile	Glu	Val	Met	Tyr
[7938]				245						250					255	
[7939]	Pro	Pro	Pro	Tyr	Leu	Asp	Asn	Glu	Lys	Ser	Asn	Gly	Thr	Ile	Ile	His
[7940]				260					265					270		
[7941]	Val	Lys	Gly	Lys	His	Leu	Cys	Pro	Ser	Pro	Leu	Phe	Pro	Gly	Pro	Ser
[7942]			275						280					285		
[7943]	Lys	Pro	Phe	Trp	Val	Leu	Val	Val	Val	Gly	Gly	Val	Leu	Ala	Cys	Tyr
[7944]		290						295					300			
[7945]	Ser	Leu	Leu	Val	Thr	Val	Ala	Phe	Ile	Ile	Phe	Trp	Val	Arg	Ser	Lys
[7946]	305					310					315					320
[7947]	Arg	Ser	Arg	Leu	Leu	His	Ser	Asp	Tyr	Met	Asn	Met	Thr	Pro	Arg	Arg
[7948]				325						330					335	
[7949]	Pro	Gly	Pro	Thr	Arg	Lys	His	Tyr	Gln	Pro	Tyr	Ala	Pro	Pro	Arg	Asp
[7950]				340					345					350		
[7951]	Phe	Ala	Ala	Tyr	Arg	Ser	Arg	Val	Lys	Phe	Ser	Arg	Ser	Ala	Asp	Ala
[7952]			355						360					365		
[7953]	Pro	Ala	Tyr	Gln	Gln	Gly	Gln	Asn	Gln	Leu	Tyr	Asn	Glu	Leu	Asn	Leu
[7954]		370						375					380			
[7955]	Gly	Arg	Arg	Glu	Glu	Tyr	Asp	Val	Leu	Asp	Lys	Arg	Arg	Gly	Arg	Asp

[7956]	385	390	395	400
[7957]	Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu			
[7958]	405	410	415	
[7959]	Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile			
[7960]	420	425	430	
[7961]	Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr			
[7962]	435	440	445	
[7963]	Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met			
[7964]	450	455	460	
[7965]	Gln Ala Leu Pro Pro Arg			
[7966]	465	470		
[7967]	<210> 492			
[7968]	<211> 287			
[7969]	<212> PRT			
[7970]	<213> 人工序列			
[7971]	<220>			
[7972]	<223> GPC3A-034 (VHCH) -TCR δ 氨基酸序列			
[7973]	<400> 492			
[7974]	Gln Val Gln Leu Gln Gln Trp Gly Ala Gly Leu Leu Lys Pro Ser Glu			
[7975]	1	5	10	15
[7976]	Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Tyr Gly Gly Ser Phe Ser Gly Tyr			
[7977]	20	25	30	
[7978]	Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile			
[7979]	35	40	45	
[7980]	Gly Glu Ile Asn His Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Lys			
[7981]	50	55	60	
[7982]	Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu			
[7983]	65	70	75	80
[7984]	Glu Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala			
[7985]	85	90	95	
[7986]	Arg Gly Tyr Gly Gly Arg Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val			
[7987]	100	105	110	
[7988]	Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala			
[7989]	115	120	125	
[7990]	Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu			
[7991]	130	135	140	
[7992]	Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly			
[7993]	145	150	155	160
[7994]	Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser			

[7995]					165					170						175
[7996]	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu
[7997]					180					185						190
[7998]	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr
[7999]					195					200						205
[8000]	Lys	Val	Asp	Lys	Arg	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Glu	Val	Lys	Thr	Asp
[8001]					210					215						220
[8002]	Ser	Thr	Asp	His	Val	Lys	Pro	Lys	Glu	Thr	Glu	Asn	Thr	Lys	Gln	Pro
[8003]	225						230					235				240
[8004]	Ser	Lys	Ser	Cys	His	Lys	Pro	Lys	Ala	Ile	Val	His	Thr	Glu	Lys	Val
[8005]					245					250						255
[8006]	Asn	Met	Met	Ser	Leu	Thr	Val	Leu	Gly	Leu	Arg	Met	Leu	Phe	Ala	Lys
[8007]					260					265						270
[8008]	Thr	Val	Ala	Val	Asn	Phe	Leu	Leu	Thr	Ala	Lys	Leu	Phe	Phe	Leu	
[8009]					275					280						285
[8010]	<210> 493															
[8011]	<211> 283															
[8012]	<212> PRT															
[8013]	<213> 人工序列															
[8014]	<220>															
[8015]	<223> GPC3A-034 (VLCL)-TCR γ 氨基酸序列															
[8016]	<400> 493															
[8017]	Gln	Pro	Val	Leu	Thr	Gln	Pro	Pro	Ser	Ala	Ser	Gly	Thr	Pro	Gly	Gln
[8018]	1				5					10					15	
[8019]	Arg	Val	Thr	Ile	Ser	Cys	Ser	Gly	Ser	Ser	Ser	Asn	Ile	Gly	Ser	Asn
[8020]					20					25					30	
[8021]	Asn	Val	Ile	Trp	Tyr	Gln	Gln	Leu	Pro	Gly	Ala	Ala	Pro	Lys	Leu	Leu
[8022]					35					40					45	
[8023]	Ile	Tyr	Ser	Asn	His	Arg	Arg	Pro	Ser	Gly	Val	Pro	Asp	Arg	Phe	Ser
[8024]					50					55					60	
[8025]	Gly	Ser	Arg	Ser	Gly	Thr	Ser	Ala	Ser	Leu	Ala	Ile	Ser	Gly	Leu	Gln
[8026]	65						70					75				80
[8027]	Ser	Glu	Asp	Glu	Ala	Asp	Tyr	Tyr	Cys	Ala	Ala	Trp	Asp	Asp	Ser	Leu
[8028]					85					90						95
[8029]	Asp	Gly	Tyr	Leu	Phe	Gly	Thr	Gly	Thr	Lys	Val	Thr	Val	Leu	Gly	Gln
[8030]					100					105						110
[8031]	Pro	Lys	Ala	Asn	Pro	Thr	Val	Thr	Leu	Phe	Pro	Pro	Ser	Ser	Glu	Glu
[8032]					115					120						125
[8033]	Leu	Gln	Ala	Asn	Lys	Ala	Thr	Leu	Val	Cys	Leu	Ile	Ser	Asp	Phe	Tyr

[8034]	130	135	140
[8035]	Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Gly Ser Pro Val Lys		
[8036]	145	150	155
[8037]	Ala Gly Val Glu Thr Thr Lys Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr		
[8038]	165	170	175
[8039]	Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His		
[8040]	180	185	190
[8041]	Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys		
[8042]	195	200	205
[8043]	Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser Pro Ile Lys Thr Asp Val Ile Thr		
[8044]	210	215	220
[8045]	Met Asp Pro Lys Asp Asn Cys Ser Lys Asp Ala Asn Asp Thr Leu Leu		
[8046]	225	230	235
[8047]	Leu Gln Leu Thr Asn Thr Ser Ala Tyr Tyr Met Tyr Leu Leu Leu Leu		
[8048]	245	250	255
[8049]	Leu Lys Ser Val Val Tyr Phe Ala Ile Ile Thr Cys Cys Leu Leu Arg		
[8050]	260	265	270
[8051]	Arg Thr Ala Phe Cys Cys Asn Gly Glu Lys Ser		
[8052]	275	280	
[8053]	<210> 494		
[8054]	<211> 219		
[8055]	<212> PRT		
[8056]	<213> 人工序列		
[8057]	<220>		
[8058]	<223> CD28-CD3 ζ CAR域融合氨基酸序列		
[8059]	<400> 494		
[8060]	Ile Glu Val Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Asp Asn Glu Lys Ser Asn		
[8061]	1	5	10
[8062]	Gly Thr Ile Ile His Val Lys Gly Lys His Leu Cys Pro Ser Pro Leu		
[8063]	20	25	30
[8064]	Phe Pro Gly Pro Ser Lys Pro Phe Trp Val Leu Val Val Val Gly Gly		
[8065]	35	40	45
[8066]	Val Leu Ala Cys Tyr Ser Leu Leu Val Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe		
[8067]	50	55	60
[8068]	Trp Val Arg Ser Lys Arg Ser Arg Leu Leu His Ser Asp Tyr Met Asn		
[8069]	65	70	75
[8070]	Met Thr Pro Arg Arg Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr		
[8071]	85	90	95
[8072]	Ala Pro Pro Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Ser Arg Val Lys Phe Ser		

[8073]	100	105	110
[8074]	Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr		
[8075]	115	120	125
[8076]	Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys		
[8077]	130	135	140
[8078]	Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn		
[8079]	145	150	155
[8080]	Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu		
[8081]	165	170	175
[8082]	Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly		
[8083]	180	185	190
[8084]	His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr		
[8085]	195	200	205
[8086]	Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg		
[8087]	210	215	
[8088]	<210> 495		
[8089]	<211> 68		
[8090]	<212> PRT		
[8091]	<213> 人工序列		
[8092]	<220>		
[8093]	<223> TCR δ 链氨基酸序列		
[8094]	<400> 495		
[8095]	Glu Val Lys Thr Asp Ser Thr Asp His Val Lys Pro Lys Glu Thr Glu		
[8096]	1	5	10
[8097]	Asn Thr Lys Gln Pro Ser Lys Ser Cys His Lys Pro Lys Ala Ile Val		
[8098]	20	25	30
[8099]	His Thr Glu Lys Val Asn Met Met Ser Leu Thr Val Leu Gly Leu Arg		
[8100]	35	40	45
[8101]	Met Leu Phe Ala Lys Thr Val Ala Val Asn Phe Leu Leu Thr Ala Lys		
[8102]	50	55	60
[8103]	Leu Phe Phe Leu		
[8104]	65		
[8105]	<210> 496		
[8106]	<211> 67		
[8107]	<212> PRT		
[8108]	<213> 人工序列		
[8109]	<220>		
[8110]	<223> TCR γ 链氨基酸序列		
[8111]	<400> 496		

[8112]	Pro	Ile	Lys	Thr	Asp	Val	Ile	Thr	Met	Asp	Pro	Lys	Asp	Asn	Cys	Ser
[8113]	1				5					10					15	
[8114]	Lys	Asp	Ala	Asn	Asp	Thr	Leu	Leu	Leu	Gln	Leu	Thr	Asn	Thr	Ser	Ala
[8115]					20					25					30	
[8116]	Tyr	Tyr	Met	Tyr	Leu	Leu	Leu	Leu	Leu	Lys	Ser	Val	Val	Tyr	Phe	Ala
[8117]					35					40					45	
[8118]	Ile	Ile	Thr	Cys	Cys	Leu	Leu	Arg	Arg	Thr	Ala	Phe	Cys	Cys	Asn	Gly
[8119]					50					55					60	
[8120]	Glu	Lys	Ser													
[8121]	65															
[8122]	<210>	497														
[8123]	<211>	5														
[8124]	<212>	PRT														
[8125]	<213>	人工序列														
[8126]	<220>															
[8127]	<223>	GC33抗体HC-CDR1氨基酸序列														
[8128]	<400>	497														
[8129]	Asp	Tyr	Glu	Met	His											
[8130]	1				5											
[8131]	<210>	498														
[8132]	<211>	17														
[8133]	<212>	PRT														
[8134]	<213>	人工序列														
[8135]	<220>															
[8136]	<223>	GC33抗体HC-CDR2氨基酸序列														
[8137]	<400>	498														
[8138]	Ala	Leu	Asp	Pro	Lys	Thr	Gly	Asp	Thr	Ala	Tyr	Ser	Gln	Lys	Phe	Lys
[8139]	1				5					10					15	
[8140]	Gly															
[8141]	<210>	499														
[8142]	<211>	6														
[8143]	<212>	PRT														
[8144]	<213>	人工序列														
[8145]	<220>															
[8146]	<223>	GC33抗体HC-CDR3氨基酸序列														
[8147]	<400>	499														
[8148]	Phe	Tyr	Ser	Tyr	Thr	Tyr										
[8149]	1				5											
[8150]	<210>	500														

[8151]	<211> 16
[8152]	<212> PRT
[8153]	<213> 人工序列
[8154]	<220>
[8155]	<223> GC33抗体LC-CDR1氨基酸序列
[8156]	<400> 500
[8157]	Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu His
[8158]	1 5 10 15
[8159]	<210> 501
[8160]	<211> 7
[8161]	<212> PRT
[8162]	<213> 人工序列
[8163]	<220>
[8164]	<223> GC33抗体LC-CDR2氨基酸序列
[8165]	<400> 501
[8166]	Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser
[8167]	1 5
[8168]	<210> 502
[8169]	<211> 9
[8170]	<212> PRT
[8171]	<213> 人工序列
[8172]	<220>
[8173]	<223> GC33抗体LC-CDR3氨基酸序列
[8174]	<400> 502
[8175]	Ser Gln Asn Thr His Val Pro Pro Thr
[8176]	1 5
[8177]	<210> 503
[8178]	<211> 116
[8179]	<212> PRT
[8180]	<213> 人工序列
[8181]	<220>
[8182]	<223> GC33抗体VH氨基酸序列
[8183]	<400> 503
[8184]	Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala
[8185]	1 5 10 15
[8186]	Ser Val Lys Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
[8187]	20 25 30
[8188]	Glu Met His Trp Val Lys Gln Thr Pro Val His Gly Leu Lys Trp Met
[8189]	35 40 45

[8190]	Ile Gly Ala Leu Asp Pro Lys Thr Gly Asp Thr Ala Tyr Ser Gln Lys
[8191]	50 55 60
[8192]	Phe Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala
[8193]	65 70 75 80
[8194]	Tyr Met Glu Leu Arg Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr
[8195]	85 90 95
[8196]	Cys Thr Arg Phe Tyr Ser Tyr Thr Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
[8197]	100 105 110
[8198]	Thr Val Ser Ala
[8199]	115
[8200]	<210> 504
[8201]	<211> 112
[8202]	<212> PRT
[8203]	<213> 人工序列
[8204]	<220>
[8205]	<223> GC33抗体VL氨基酸序列
[8206]	<400> 504
[8207]	Asp Val Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Pro Val Ser Leu Gly
[8208]	1 5 10 15
[8209]	Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser
[8210]	20 25 30
[8211]	Asn Gly Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
[8212]	35 40 45
[8213]	Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
[8214]	50 55 60
[8215]	Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
[8216]	65 70 75 80
[8217]	Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Phe Cys Ser Gln Asn
[8218]	85 90 95
[8219]	Thr His Val Pro Pro Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
[8220]	100 105 110
[8221]	<210> 505
[8222]	<211> 440
[8223]	<212> PRT
[8224]	<213> 人工序列
[8225]	<220>
[8226]	<223> GPC3A-039小鼠重链氨基酸序列
[8227]	<400> 505
[8228]	Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Leu Val His Pro Gly Gly

[8229]	1	5	10	15
[8230]	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Gly Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr			
[8231]	20	25	30	
[8232]	Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val			
[8233]	35	40	45	
[8234]	Ser Ala Ile Gly Thr Gly Gly Gly Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys			
[8235]	50	55	60	
[8236]	Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr Leu			
[8237]	65	70	75	80
[8238]	Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala			
[8239]	85	90	95	
[8240]	Arg Tyr Gly Arg Lys Ser Ile Asp Ala Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val			
[8241]	100	105	110	
[8242]	Thr Val Ser Ser Ala Lys Thr Thr Pro Pro Ser Val Tyr Pro Leu Ala			
[8243]	115	120	125	
[8244]	Pro Gly Ser Ala Ala Gln Thr Asn Ser Met Val Thr Leu Gly Cys Leu			
[8245]	130	135	140	
[8246]	Val Lys Gly Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Thr Trp Asn Ser Gly			
[8247]	145	150	155	160
[8248]	Ser Leu Ser Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Asp			
[8249]	165	170	175	
[8250]	Leu Tyr Thr Leu Ser Ser Ser Val Thr Val Pro Ser Ser Thr Trp Pro			
[8251]	180	185	190	
[8252]	Ser Glu Thr Val Thr Cys Asn Val Ala His Pro Ala Ser Ser Thr Lys			
[8253]	195	200	205	
[8254]	Val Asp Lys Lys Ile Val Pro Arg Asp Cys Gly Cys Lys Pro Cys Ile			
[8255]	210	215	220	
[8256]	Cys Thr Val Pro Glu Val Ser Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Lys Pro			
[8257]	225	230	235	240
[8258]	Lys Asp Val Leu Thr Ile Thr Leu Thr Pro Lys Val Thr Cys Val Val			
[8259]	245	250	255	
[8260]	Val Ala Ile Ser Lys Asp Asp Pro Glu Val Gln Phe Ser Trp Phe Val			
[8261]	260	265	270	
[8262]	Asp Asp Val Glu Val His Thr Ala Gln Thr Gln Pro Arg Glu Glu Gln			
[8263]	275	280	285	
[8264]	Phe Asn Ser Thr Phe Arg Ser Val Ser Glu Leu Pro Ile Met His Gln			
[8265]	290	295	300	
[8266]	Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Phe Lys Cys Arg Val Asn Ser Ala Ala			
[8267]	305	310	315	320

[8268]	Phe Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Arg Pro
[8269]	325 330 335
[8270]	Lys Ala Pro Gln Val Tyr Thr Ile Pro Pro Pro Lys Glu Gln Met Ala
[8271]	340 345 350
[8272]	Lys Asp Lys Val Ser Leu Thr Cys Met Ile Thr Asp Phe Phe Pro Glu
[8273]	355 360 365
[8274]	Asp Ile Thr Val Glu Trp Gln Trp Asn Gly Gln Pro Ala Glu Asn Tyr
[8275]	370 375 380
[8276]	Lys Asn Thr Gln Pro Ile Met Asp Thr Asp Gly Ser Tyr Phe Val Tyr
[8277]	385 390 395 400
[8278]	Ser Lys Leu Asn Val Gln Lys Ser Asn Trp Glu Ala Gly Asn Thr Phe
[8279]	405 410 415
[8280]	Thr Cys Ser Val Leu His Glu Gly Leu His Asn His His Thr Glu Lys
[8281]	420 425 430
[8282]	Ser Leu Ser His Ser Pro Gly Lys
[8283]	435 440
[8284]	<210> 506
[8285]	<211> 214
[8286]	<212> PRT
[8287]	<213> 人工序列
[8288]	<220>
[8289]	<223> GPC3A-039小鼠轻链氨基酸序列
[8290]	<400> 506
[8291]	Ser Tyr Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ala Pro Gly Lys
[8292]	1 5 10 15
[8293]	Thr Ala Arg Ile Thr Cys Gly Gly Asn Asn Ile Gly Ser Lys Ser Val
[8294]	20 25 30
[8295]	His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu Val Ile Tyr
[8296]	35 40 45
[8297]	Tyr Asp Ser Asp Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser
[8298]	50 55 60
[8299]	Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Arg Val Glu Ala Gly
[8300]	65 70 75 80
[8301]	Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Asp Ser Ser Ser Asp His
[8302]	85 90 95
[8303]	Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gln Pro Lys
[8304]	100 105 110
[8305]	Ser Ser Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu Leu Glu
[8306]	115 120 125

[8307]	Thr Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Thr Ile Thr Asp Phe Tyr Pro Gly
[8308]	130 135 140
[8309]	Val Val Thr Val Asp Trp Lys Val Asp Gly Thr Pro Val Thr Gln Gly
[8310]	145 150 155 160
[8311]	Met Glu Thr Thr Gln Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr Met Ala
[8312]	165 170 175
[8313]	Ser Ser Tyr Leu Thr Leu Thr Ala Arg Ala Trp Glu Arg His Ser Ser
[8314]	180 185 190
[8315]	Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly His Thr Val Glu Lys Ser Leu
[8316]	195 200 205
[8317]	Ser Arg Ala Asp Cys Ser
[8318]	210
[8319]	<210> 507
[8320]	<211> 324
[8321]	<212> PRT
[8322]	<213> 人工序列
[8323]	<220>
[8324]	<223> 小鼠IgG1重链恒定域氨基酸序列
[8325]	<400> 507
[8326]	Ala Lys Thr Thr Pro Pro Ser Val Tyr Pro Leu Ala Pro Gly Ser Ala
[8327]	1 5 10 15
[8328]	Ala Gln Thr Asn Ser Met Val Thr Leu Gly Cys Leu Val Lys Gly Tyr
[8329]	20 25 30
[8330]	Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Thr Trp Asn Ser Gly Ser Leu Ser Ser
[8331]	35 40 45
[8332]	Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Asp Leu Tyr Thr Leu
[8333]	50 55 60
[8334]	Ser Ser Ser Val Thr Val Pro Ser Ser Thr Trp Pro Ser Glu Thr Val
[8335]	65 70 75 80
[8336]	Thr Cys Asn Val Ala His Pro Ala Ser Ser Thr Lys Val Asp Lys Lys
[8337]	85 90 95
[8338]	Ile Val Pro Arg Asp Cys Gly Cys Lys Pro Cys Ile Cys Thr Val Pro
[8339]	100 105 110
[8340]	Glu Val Ser Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Val Leu
[8341]	115 120 125
[8342]	Thr Ile Thr Leu Thr Pro Lys Val Thr Cys Val Val Val Ala Ile Ser
[8343]	130 135 140
[8344]	Lys Asp Asp Pro Glu Val Gln Phe Ser Trp Phe Val Asp Asp Val Glu
[8345]	145 150 155 160

[8346]	Val His Thr Ala Gln Thr Gln Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr		
[8347]		165	170
[8348]	Phe Arg Ser Val Ser Glu Leu Pro Ile Met His Gln Asp Trp Leu Asn		175
[8349]		180	185
[8350]	Gly Lys Glu Phe Lys Cys Arg Val Asn Ser Ala Ala Phe Pro Ala Pro		190
[8351]		195	200
[8352]	Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Arg Pro Lys Ala Pro Gln		205
[8353]		210	215
[8354]	Val Tyr Thr Ile Pro Pro Pro Lys Glu Gln Met Ala Lys Asp Lys Val		220
[8355]		225	230
[8356]	Ser Leu Thr Cys Met Ile Thr Asp Phe Phe Pro Glu Asp Ile Thr Val		235
[8357]		245	250
[8358]	Glu Trp Gln Trp Asn Gly Gln Pro Ala Glu Asn Tyr Lys Asn Thr Gln		255
[8359]		260	265
[8360]	Pro Ile Met Asp Thr Asp Gly Ser Tyr Phe Val Tyr Ser Lys Leu Asn		270
[8361]		275	280
[8362]	Val Gln Lys Ser Asn Trp Glu Ala Gly Asn Thr Phe Thr Cys Ser Val		285
[8363]		290	295
[8364]	Leu His Glu Gly Leu His Asn His His Thr Glu Lys Ser Leu Ser His		300
[8365]		305	310
[8366]	Ser Pro Gly Lys		315
[8367]	<210> 508		320
[8368]	<211> 105		
[8369]	<212> PRT		
[8370]	<213> 人工序列		
[8371]	<220>		
[8372]	<223> 小鼠λ轻链恒定域氨基酸序列		
[8373]	<400> 508		
[8374]	Gln Pro Lys Ser Ser Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu		
[8375]	1	5	10
[8376]	Glu Leu Glu Thr Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Thr Ile Thr Asp Phe		15
[8377]		20	25
[8378]	Tyr Pro Gly Val Val Thr Val Asp Trp Lys Val Asp Gly Thr Pro Val		30
[8379]		35	40
[8380]	Thr Gln Gly Met Glu Thr Thr Gln Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys		45
[8381]		50	55
[8382]	Tyr Met Ala Ser Ser Tyr Leu Thr Leu Thr Ala Arg Ala Trp Glu Arg		60
[8383]		65	70
[8384]	His Ser Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly His Thr Val Glu		75
			80

[8385]		85	90	95
[8386]	Lys Ser Leu Ser Arg Ala Asp Cys Ser			
[8387]		100	105	
[8388]	<210> 509			
[8389]	<211> 20			
[8390]	<212> PRT			
[8391]	<213> 人工序列			
[8392]	<220>			
[8393]	<223> 信号肽氨基酸序列			
[8394]	<400> 509			
[8395]	Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro			
[8396]	1	5	10	15
[8397]	Gly Ser Thr Gly			
[8398]		20		
[8399]	<210> 510			
[8400]	<211> 228			
[8401]	<212> PRT			
[8402]	<213> 人工序列			
[8403]	<220>			
[8404]	<223> GC33抗体氨基酸序列			
[8405]	<400> 510			
[8406]	Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala			
[8407]	1	5	10	15
[8408]	Ser Val Lys Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr			
[8409]		20	25	30
[8410]	Glu Met His Trp Val Lys Gln Thr Pro Val His Gly Leu Lys Trp Met			
[8411]		35	40	45
[8412]	Ile Gly Ala Leu Asp Pro Lys Thr Gly Asp Thr Ala Tyr Ser Gln Lys			
[8413]		50	55	60
[8414]	Phe Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala			
[8415]	65	70	75	80
[8416]	Tyr Met Glu Leu Arg Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr			
[8417]		85	90	95
[8418]	Cys Thr Arg Phe Tyr Ser Tyr Thr Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val			
[8419]		100	105	110
[8420]	Thr Val Ser Ala Asp Val Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Pro			
[8421]		115	120	125
[8422]	Val Ser Leu Gly Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser			
[8423]		130	135	140

[8424]	Leu Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Leu Gln Lys
[8425]	145 150 155 160
[8426]	Pro Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe
[8427]	165 170 175
[8428]	Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe
[8429]	180 185 190
[8430]	Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Phe
[8431]	195 200 205
[8432]	Cys Ser Gln Asn Thr His Val Pro Pro Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys
[8433]	210 215 220
[8434]	Leu Glu Ile Lys
[8435]	225
[8436]	<210> 511
[8437]	<211> 500
[8438]	<212> PRT
[8439]	<213> 人工序列
[8440]	<220>
[8441]	<223> 抗nGPC3 (GPC3A-037) scFv-抗CD3 scFv氨基酸序列
[8442]	<400> 511
[8443]	Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Ala Ala Pro Gly Gln
[8444]	1 5 10 15
[8445]	Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Thr Arg Ser Asn Ile Gly Ser Asp
[8446]	20 25 30
[8447]	Tyr Val Ser Trp Tyr Gln His Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
[8448]	35 40 45
[8449]	Val Tyr Gly Asp Asn Leu Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
[8450]	50 55 60
[8451]	Ala Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Thr Leu Gly Ile Thr Gly Leu Gln
[8452]	65 70 75 80
[8453]	Thr Gly Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gly Thr Trp Asp Tyr Thr Leu
[8454]	85 90 95
[8455]	Asn Gly Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Ser
[8456]	100 105 110
[8457]	Arg Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
[8458]	115 120 125
[8459]	Leu Glu Met Ala Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val
[8460]	130 135 140
[8461]	Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr
[8462]	145 150 155 160

[8463]	Phe Ser Ser Tyr Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly
[8464]	165 170 175
[8465]	Leu Glu Trp Val Ser Val Ile Tyr Ser Gly Gly Ser Ser Thr Tyr Tyr
[8466]	180 185 190
[8467]	Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys
[8468]	195 200 205
[8469]	Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala
[8470]	210 215 220
[8471]	Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Thr Ser Tyr Leu Asn His Gly Asp Tyr Trp
[8472]	225 230 235 240
[8473]	Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Thr Ser Gly Gly Gly Gly
[8474]	245 250 255
[8475]	Ser Asp Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly
[8476]	260 265 270
[8477]	Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Arg
[8478]	275 280 285
[8479]	Tyr Thr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp
[8480]	290 295 300
[8481]	Ile Gly Tyr Ile Asn Pro Ser Arg Gly Tyr Thr Asn Tyr Ala Asp Ser
[8482]	305 310 315 320
[8483]	Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Thr Thr Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala
[8484]	325 330 335
[8485]	Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
[8486]	340 345 350
[8487]	Cys Ala Arg Tyr Tyr Asp Asp His Tyr Cys Leu Asp Tyr Trp Gly Gln
[8488]	355 360 365
[8489]	Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Glu Gly Thr Ser Thr Gly Ser
[8490]	370 375 380
[8491]	Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ala Asp Asp Ile Val Leu Thr Gln
[8492]	385 390 395 400
[8493]	Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly Glu Arg Ala Thr Leu Ser
[8494]	405 410 415
[8495]	Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Tyr Met Asn Trp Tyr Gln Gln Lys
[8496]	420 425 430
[8497]	Pro Gly Lys Ala Pro Lys Arg Trp Ile Tyr Asp Thr Ser Lys Val Ala
[8498]	435 440 445
[8499]	Ser Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr
[8500]	450 455 460
[8501]	Ser Leu Thr Ile Asn Ser Leu Glu Ala Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr

[8502]	465	470	475	480
[8503]	Cys Gln Gln Trp Ser Ser Asn Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys			
[8504]		485	490	495
[8505]	Val Glu Ile Lys			
[8506]		500		
[8507]	<210> 512			
[8508]	<211> 498			
[8509]	<212> PRT			
[8510]	<213> 人工序列			
[8511]	<220>			
[8512]	<223> 抗nGPC3 (GPC3A-045) scFv-抗CD3 scFv氨基酸序列			
[8513]	<400> 512			
[8514]	Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Gly Thr Pro Gly Gln			
[8515]	1	5	10	15
[8516]	Arg Val Ile Ile Ser Cys Pro Gly Ser Thr Ser Asn Ile Gly Thr Asn			
[8517]		20	25	30
[8518]	Thr Val Asn Trp Tyr Gln Gln Phe Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu			
[8519]		35	40	45
[8520]	Ile Tyr Ser Asn Asn Gln Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser			
[8521]	50	55	60	
[8522]	Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Gln			
[8523]	65	70	75	80
[8524]	Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Ala Trp Asp Asp Ser Leu			
[8525]		85	90	95
[8526]	Asn Gly Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Ser			
[8527]		100	105	110
[8528]	Arg Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser			
[8529]		115	120	125
[8530]	Leu Glu Met Ala Gln Met Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Leu Val			
[8531]	130	135	140	
[8532]	Lys Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr			
[8533]	145	150	155	160
[8534]	Phe Ser Asp Tyr Tyr Met Ser Trp Ile Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly			
[8535]		165	170	175
[8536]	Leu Glu Trp Val Ser Tyr Ile Ser Ser Ser Gly Ser Thr Ile Tyr Tyr			
[8537]		180	185	190
[8538]	Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys			
[8539]		195	200	205
[8540]	Asn Ser Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala			

[8541]	210	215	220
[8542]	Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Ala Ser Asp Leu Tyr Gly Asp Trp Gly Gln		
[8543]	225	230	235 240
[8544]	Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Thr Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp		
[8545]	245	250	255
[8546]	Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala Ser		
[8547]	260	265	270
[8548]	Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Arg Tyr Thr		
[8549]	275	280	285
[8550]	Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile Gly		
[8551]	290	295	300
[8552]	Tyr Ile Asn Pro Ser Arg Gly Tyr Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val Lys		
[8553]	305	310	315 320
[8554]	Gly Arg Phe Thr Ile Thr Thr Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr Met		
[8555]	325	330	335
[8556]	Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala		
[8557]	340	345	350
[8558]	Arg Tyr Tyr Asp Asp His Tyr Cys Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr		
[8559]	355	360	365
[8560]	Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Glu Gly Thr Ser Thr Gly Ser Gly Gly		
[8561]	370	375	380
[8562]	Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ala Asp Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro		
[8563]	385	390	395 400
[8564]	Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg		
[8565]	405	410	415
[8566]	Ala Ser Gln Ser Val Ser Tyr Met Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly		
[8567]	420	425	430
[8568]	Lys Ala Pro Lys Arg Trp Ile Tyr Asp Thr Ser Lys Val Ala Ser Gly		
[8569]	435	440	445
[8570]	Val Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Ser Leu		
[8571]	450	455	460
[8572]	Thr Ile Asn Ser Leu Glu Ala Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln		
[8573]	465	470	475 480
[8574]	Gln Trp Ser Ser Asn Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu		
[8575]	485	490	495
[8576]	Ile Lys		
[8577]	<210> 513		
[8578]	<211> 503		
[8579]	<212> PRT		

[8580]	<213> 人工序列															
[8581]	<220>															
[8582]	<223> 抗nGPC3 (GPC3A-046) scFv-抗CD3 scFv氨基酸序列															
[8583]	<400> 513															
[8584]	Gln	Ala	Val	Leu	Thr	Gln	Pro	Pro	Ser	Val	Ser	Gly	Thr	Pro	Gly	Gln
[8585]	1				5					10					15	
[8586]	Arg	Val	Thr	Ile	Ser	Cys	Ser	Gly	Ser	Ser	Ser	Asn	Phe	Gly	Ser	Asn
[8587]					20					25					30	
[8588]	Thr	Val	His	Trp	Tyr	Gln	Gln	Val	Pro	Gly	Thr	Ala	Pro	Lys	Leu	Leu
[8589]					35					40					45	
[8590]	Ile	Phe	Ser	Asn	Thr	Gln	Arg	Pro	Ser	Glu	Ile	Pro	Asp	Arg	Phe	Ser
[8591]		50					55					60				
[8592]	Gly	Ser	Lys	Ser	Gly	Thr	Ser	Ala	Ser	Leu	Ala	Ile	Ser	Gly	Leu	Gln
[8593]	65					70					75					80
[8594]	Ser	Glu	Asp	Glu	Ala	Asp	Tyr	Tyr	Cys	Ala	Ala	Trp	Asp	Asp	Ser	Leu
[8595]					85					90					95	
[8596]	Thr	Gly	Val	Val	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Leu	Thr	Val	Leu	Gly	Ser
[8597]					100					105					110	
[8598]	Arg	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser
[8599]					115					120					125	
[8600]	Leu	Glu	Met	Ala	Gln	Val	Gln	Leu	Val	Gln	Ser	Gly	Ala	Glu	Val	Lys
[8601]		130					135						140			
[8602]	Lys	Pro	Gly	Ala	Ser	Val	Thr	Val	Ser	Cys	Lys	Ala	Ser	Gly	Tyr	Arg
[8603]	145					150					155					160
[8604]	Phe	Ser	Asn	Tyr	Gly	Val	Ser	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Gln	Gly
[8605]					165					170					175	
[8606]	Leu	Glu	Trp	Met	Gly	Trp	Ile	Ser	Gly	Ser	Asn	Gly	Asn	Thr	Asn	Tyr
[8607]					180					185					190	
[8608]	Ala	Gln	Lys	Phe	Leu	Gly	Arg	Val	Thr	Met	Thr	Thr	Asp	Thr	Ser	Thr
[8609]					195					200				205		
[8610]	Thr	Thr	Ala	Tyr	Met	Glu	Leu	Ser	Ser	Leu	Arg	Ser	Asp	Asp	Thr	Ala
[8611]		210					215						220			
[8612]	Val	Tyr	Tyr	Cys	Ala	Arg	Gly	Asn	Arg	Arg	Tyr	Tyr	Ser	Pro	Ile	Ile
[8613]	225					230					235					240
[8614]	Asp	Pro	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Thr	Ser	Gly
[8615]					245					250					255	
[8616]	Gly	Gly	Gly	Ser	Asp	Val	Gln	Leu	Val	Gln	Ser	Gly	Ala	Glu	Val	Lys
[8617]					260					265				270		
[8618]	Lys	Pro	Gly	Ala	Ser	Val	Lys	Val	Ser	Cys	Lys	Ala	Ser	Gly	Tyr	Thr

[8619]	275	280	285
[8620]	Phe Thr Arg Tyr Thr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly		
[8621]	290	295	300
[8622]	Leu Glu Trp Ile Gly Tyr Ile Asn Pro Ser Arg Gly Tyr Thr Asn Tyr		
[8623]	305	310	315
[8624]	Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Thr Thr Asp Lys Ser Thr		
[8625]	325	330	335
[8626]	Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala		
[8627]	340	345	350
[8628]	Thr Tyr Tyr Cys Ala Arg Tyr Tyr Asp Asp His Tyr Cys Leu Asp Tyr		
[8629]	355	360	365
[8630]	Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Glu Gly Thr Ser		
[8631]	370	375	380
[8632]	Thr Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ala Asp Asp Ile Val		
[8633]	385	390	395
[8634]	Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly Glu Arg Ala		
[8635]	405	410	415
[8636]	Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Tyr Met Asn Trp Tyr		
[8637]	420	425	430
[8638]	Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Arg Trp Ile Tyr Asp Thr Ser		
[8639]	435	440	445
[8640]	Lys Val Ala Ser Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly		
[8641]	450	455	460
[8642]	Thr Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Asn Ser Leu Glu Ala Glu Asp Ala Ala		
[8643]	465	470	475
[8644]	Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Ser Ser Asn Pro Leu Thr Phe Gly Gly		
[8645]	485	490	495
[8646]	Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys		
[8647]	500		
[8648]	<210> 514		
[8649]	<211> 497		
[8650]	<212> PRT		
[8651]	<213> 人工序列		
[8652]	<220>		
[8653]	<223> 抗nGPC3 (GPC3A-055) scFv-抗CD3 scFv氨基酸序列		
[8654]	<400> 514		
[8655]	Gln Pro Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ala Pro Gly Lys		
[8656]	1	5	10
[8657]	Thr Ala Arg Ile Thr Cys Gly Gly Asn Asn Ile Gly Ser Lys Ser Val		

[8658]		20		25		30											
[8659]	His	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Gln	Ala	Pro	Val	Leu	Val	Ile	Tyr	
[8660]		35		40		45											
[8661]	Tyr	Asp	Ser	Asp	Arg	Pro	Ser	Gly	Ile	Pro	Glu	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	
[8662]		50		55		60											
[8663]	Asn	Ser	Gly	Asn	Thr	Ala	Thr	Leu	Thr	Ile	Ser	Arg	Val	Glu	Ala	Gly	
[8664]	65			70		75											
[8665]	Asp	Glu	Ala	Asp	Tyr	Tyr	Cys	Gln	Val	Trp	Asp	Ser	Ser	Ser	Asp	His	
[8666]		85		90		95											
[8667]	Tyr	Val	Phe	Gly	Thr	Gly	Thr	Lys	Val	Thr	Val	Leu	Gly	Ser	Arg	Gly	
[8668]		100		105		110											
[8669]	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Leu	Glu	
[8670]		115		120		125											
[8671]	Met	Ala	Gln	Val	Gln	Leu	Val	Gln	Ser	Gly	Ala	Glu	Val	Lys	Lys	Pro	
[8672]		130		135		140											
[8673]	Gly	Ala	Ser	Val	Lys	Val	Ser	Cys	Lys	Ala	Ser	Gly	Tyr	Thr	Phe	Thr	
[8674]	145			150		155											
[8675]	Ser	Tyr	Tyr	Met	His	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Gln	Gly	Leu	Glu	
[8676]		165		170		175											
[8677]	Trp	Met	Gly	Ile	Ile	Asn	Pro	Ser	Gly	Gly	Ser	Thr	Ser	Tyr	Ala	Gln	
[8678]		180		185		190											
[8679]	Lys	Phe	Gln	Gly	Arg	Val	Thr	Met	Thr	Arg	Asp	Thr	Ser	Thr	Ser	Thr	
[8680]		195		200		205											
[8681]	Val	Tyr	Met	Glu	Leu	Ser	Ser	Leu	Arg	Ser	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	
[8682]		210		215		220											
[8683]	Tyr	Cys	Ala	Arg	Trp	His	Gly	Gly	Pro	Tyr	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	
[8684]	225			230		235											
[8685]	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Asp	Val	
[8686]		245		250		255											
[8687]	Gln	Leu	Val	Gln	Ser	Gly	Ala	Glu	Val	Lys	Lys	Pro	Gly	Ala	Ser	Val	
[8688]		260		265		270											
[8689]	Lys	Val	Ser	Cys	Lys	Ala	Ser	Gly	Tyr	Thr	Phe	Thr	Arg	Tyr	Thr	Met	
[8690]		275		280		285											
[8691]	His	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Gln	Gly	Leu	Glu	Trp	Ile	Gly	Tyr	
[8692]		290		295		300											
[8693]	Ile	Asn	Pro	Ser	Arg	Gly	Tyr	Thr	Asn	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val	Lys	Gly	
[8694]	305			310		315											
[8695]	Arg	Phe	Thr	Ile	Thr	Thr	Asp	Lys	Ser	Thr	Ser	Thr	Ala	Tyr	Met	Glu	
[8696]		325		330		335											

[8697]	Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala Arg
[8698]	340 345 350
[8699]	Tyr Tyr Asp Asp His Tyr Cys Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr
[8700]	355 360 365
[8701]	Val Thr Val Ser Ser Gly Glu Gly Thr Ser Thr Gly Ser Gly Gly Ser
[8702]	370 375 380
[8703]	Gly Gly Ser Gly Gly Ala Asp Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala
[8704]	385 390 395 400
[8705]	Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala
[8706]	405 410 415
[8707]	Ser Gln Ser Val Ser Tyr Met Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys
[8708]	420 425 430
[8709]	Ala Pro Lys Arg Trp Ile Tyr Asp Thr Ser Lys Val Ala Ser Gly Val
[8710]	435 440 445
[8711]	Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Ser Leu Thr
[8712]	450 455 460
[8713]	Ile Asn Ser Leu Glu Ala Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln
[8714]	465 470 475 480
[8715]	Trp Ser Ser Asn Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile
[8716]	485 490 495
[8717]	Lys
[8718]	<210> 515
[8719]	<211> 499
[8720]	<212> PRT
[8721]	<213> 人工序列
[8722]	<220>
[8723]	<223> 抗nGPC3 (GPC3A-058) scFv-抗CD3 scFv氨基酸序列
[8724]	<400> 515
[8725]	Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ala Pro Gly Lys
[8726]	1 5 10 15
[8727]	Thr Ala Arg Ile Thr Cys Gly Gly Asn Asn Ile Gly Ser Lys Ser Val
[8728]	20 25 30
[8729]	His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu Val Val Tyr
[8730]	35 40 45
[8731]	Asp Asp Ser Asp Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser
[8732]	50 55 60
[8733]	Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Arg Val Glu Ala Gly
[8734]	65 70 75 80
[8735]	Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Asp Ser Ser Ser Asp His

[8736]					85					90					95				
[8737]	Val	Phe	Gly	Thr	Gly	Thr	Lys	Val	Thr	Val	Leu	Gly	Ser	Arg	Gly	Gly			
[8738]					100					105					110				
[8739]	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Leu	Glu	Met			
[8740]					115					120					125				
[8741]	Ala	Gln	Val	Gln	Leu	Val	Gln	Ser	Gly	Ala	Asp	Val	Arg	Lys	Pro	Gly			
[8742]					130					135					140				
[8743]	Ala	Ser	Val	Lys	Val	Ser	Cys	Lys	Ala	Ser	Gly	Tyr	Thr	Phe	Ala	Ser			
[8744]	145							150				155				160			
[8745]	His	Gly	Ile	Ser	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Gln	Gly	Leu	Glu	Trp			
[8746]					165					170					175				
[8747]	Leu	Gly	Trp	Ile	Ser	Pro	Tyr	Thr	Gly	Asn	Thr	Asn	Tyr	Ala	Gln	Lys			
[8748]					180					185					190				
[8749]	Phe	Gln	Gly	Arg	Val	Thr	Met	Ala	Thr	Asp	Thr	Ser	Thr	Ser	Thr	Ala			
[8750]					195					200					205				
[8751]	Tyr	Met	Glu	Leu	Arg	Ser	Leu	Arg	Ser	Asp	Asp	Thr	Ala	Ile	Tyr	Tyr			
[8752]					210					215					220				
[8753]	Cys	Ala	Arg	Gly	Lys	Arg	Thr	Leu	Ala	Ser	Cys	Phe	Asp	Tyr	Trp	Gly			
[8754]	225							230				235				240			
[8755]	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser			
[8756]					245					250					255				
[8757]	Asp	Val	Gln	Leu	Val	Gln	Ser	Gly	Ala	Glu	Val	Lys	Lys	Pro	Gly	Ala			
[8758]					260					265					270				
[8759]	Ser	Val	Lys	Val	Ser	Cys	Lys	Ala	Ser	Gly	Tyr	Thr	Phe	Thr	Arg	Tyr			
[8760]					275					280					285				
[8761]	Thr	Met	His	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Gln	Gly	Leu	Glu	Trp	Ile			
[8762]					290					295					300				
[8763]	Gly	Tyr	Ile	Asn	Pro	Ser	Arg	Gly	Tyr	Thr	Asn	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val			
[8764]	305							310				315				320			
[8765]	Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Thr	Thr	Asp	Lys	Ser	Thr	Ser	Thr	Ala	Tyr			
[8766]					325					330					335				
[8767]	Met	Glu	Leu	Ser	Ser	Leu	Arg	Ser	Glu	Asp	Thr	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Cys			
[8768]					340					345					350				
[8769]	Ala	Arg	Tyr	Tyr	Asp	Asp	His	Tyr	Cys	Leu	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly			
[8770]					355					360					365				
[8771]	Thr	Thr	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Gly	Glu	Gly	Thr	Ser	Thr	Gly	Ser	Gly			
[8772]					370					375					380				
[8773]	Gly	Ser	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Ala	Asp	Asp	Ile	Val	Leu	Thr	Gln	Ser			
[8774]	385							390				395				400			

[8775]	Pro	Ala	Thr	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Glu	Arg	Ala	Thr	Leu	Ser	Cys
[8776]					405					410					415	
[8777]	Arg	Ala	Ser	Gln	Ser	Val	Ser	Tyr	Met	Asn	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro
[8778]					420					425					430	
[8779]	Gly	Lys	Ala	Pro	Lys	Arg	Trp	Ile	Tyr	Asp	Thr	Ser	Lys	Val	Ala	Ser
[8780]					435					440					445	
[8781]	Gly	Val	Pro	Ala	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Tyr	Ser
[8782]					450					455					460	
[8783]	Leu	Thr	Ile	Asn	Ser	Leu	Glu	Ala	Glu	Asp	Ala	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Cys
[8784]	465							470				475				480
[8785]	Gln	Gln	Trp	Ser	Ser	Asn	Pro	Leu	Thr	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Val
[8786]					485					490						495
[8787]	Glu	Ile	Lys													
[8788]	<210>	516														
[8789]	<211>	472														
[8790]	<212>	PRT														
[8791]	<213>	人工序列														
[8792]	<220>															
[8793]	<223>	ET230-37-28Z CAR氨基酸序列														
[8794]	<400>	516														
[8795]	Gln	Ser	Val	Leu	Thr	Gln	Pro	Pro	Ser	Val	Ser	Ala	Ala	Pro	Gly	Gln
[8796]	1				5					10					15	
[8797]	Arg	Val	Thr	Ile	Ser	Cys	Ser	Gly	Thr	Arg	Ser	Asn	Ile	Gly	Ser	Asp
[8798]					20					25					30	
[8799]	Tyr	Val	Ser	Trp	Tyr	Gln	His	Leu	Pro	Gly	Thr	Ala	Pro	Lys	Leu	Leu
[8800]					35					40					45	
[8801]	Val	Tyr	Gly	Asp	Asn	Leu	Arg	Pro	Ser	Gly	Ile	Pro	Asp	Arg	Phe	Ser
[8802]					50					55					60	
[8803]	Ala	Ser	Lys	Ser	Gly	Thr	Ser	Ala	Thr	Leu	Gly	Ile	Thr	Gly	Leu	Gln
[8804]	65									70					75	80
[8805]	Thr	Gly	Asp	Glu	Ala	Asp	Tyr	Tyr	Cys	Gly	Thr	Trp	Asp	Tyr	Thr	Leu
[8806]					85					90					95	
[8807]	Asn	Gly	Val	Val	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Leu	Thr	Val	Leu	Gly	Ser
[8808]					100					105					110	
[8809]	Arg	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser
[8810]					115					120					125	
[8811]	Leu	Glu	Met	Ala	Gln	Val	Gln	Leu	Val	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val
[8812]					130					135					140	
[8813]	Gln	Pro	Gly	Gly	Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Thr

[8814]	145	150	155	160
[8815]	Phe Ser Ser Tyr Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly			
[8816]		165	170	175
[8817]	Leu Glu Trp Val Ser Val Ile Tyr Ser Gly Gly Ser Ser Thr Tyr Tyr			
[8818]		180	185	190
[8819]	Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys			
[8820]		195	200	205
[8821]	Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala			
[8822]		210	215	220
[8823]	Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Thr Ser Tyr Leu Asn His Gly Asp Tyr Trp			
[8824]	225	230	235	240
[8825]	Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ala Ala Ile Glu Val			
[8826]		245	250	255
[8827]	Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Asp Asn Glu Lys Ser Asn Gly Thr Ile			
[8828]		260	265	270
[8829]	Ile His Val Lys Gly Lys His Leu Cys Pro Ser Pro Leu Phe Pro Gly			
[8830]		275	280	285
[8831]	Pro Ser Lys Pro Phe Trp Val Leu Val Val Val Gly Gly Val Leu Ala			
[8832]		290	295	300
[8833]	Cys Tyr Ser Leu Leu Val Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp Val Arg			
[8834]	305	310	315	320
[8835]	Ser Lys Arg Ser Arg Leu Leu His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro			
[8836]		325	330	335
[8837]	Arg Arg Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro Pro			
[8838]		340	345	350
[8839]	Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Ser Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala			
[8840]		355	360	365
[8841]	Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu			
[8842]		370	375	380
[8843]	Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly			
[8844]	385	390	395	400
[8845]	Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu			
[8846]		405	410	415
[8847]	Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser			
[8848]		420	425	430
[8849]	Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly			
[8850]		435	440	445
[8851]	Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu			
[8852]		450	455	460

[8853]	His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
[8854]	465 470
[8855]	<210> 517
[8856]	<211> 248
[8857]	<212> PRT
[8858]	<213> 人工序列
[8859]	<220>
[8860]	<223> ET230-45-28Z CAR氨基酸序列
[8861]	<400> 517
[8862]	Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Gly Thr Pro Gly Gln
[8863]	1 5 10 15
[8864]	Arg Val Ile Ile Ser Cys Pro Gly Ser Thr Ser Asn Ile Gly Thr Asn
[8865]	20 25 30
[8866]	Thr Val Asn Trp Tyr Gln Gln Phe Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
[8867]	35 40 45
[8868]	Ile Tyr Ser Asn Asn Gln Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser
[8869]	50 55 60
[8870]	Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Gln
[8871]	65 70 75 80
[8872]	Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Ala Trp Asp Asp Ser Leu
[8873]	85 90 95
[8874]	Asn Gly Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Ser
[8875]	100 105 110
[8876]	Arg Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
[8877]	115 120 125
[8878]	Leu Glu Met Ala Gln Met Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Leu Val
[8879]	130 135 140
[8880]	Lys Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr
[8881]	145 150 155 160
[8882]	Phe Ser Asp Tyr Tyr Met Ser Trp Ile Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly
[8883]	165 170 175
[8884]	Leu Glu Trp Val Ser Tyr Ile Ser Ser Ser Gly Ser Thr Ile Tyr Tyr
[8885]	180 185 190
[8886]	Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys
[8887]	195 200 205
[8888]	Asn Ser Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala
[8889]	210 215 220
[8890]	Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Ala Ser Asp Leu Tyr Gly Asp Trp Gly Gln
[8891]	225 230 235 240

[8892]	Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
[8893]	245
[8894]	<210> 518
[8895]	<211> 253
[8896]	<212> PRT
[8897]	<213> 人工序列
[8898]	<220>
[8899]	<223> ET230-46-28Z CAR氨基酸序列
[8900]	<400> 518
[8901]	Gln Ala Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Gly Thr Pro Gly Gln
[8902]	1 5 10 15
[8903]	Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Phe Gly Ser Asn
[8904]	20 25 30
[8905]	Thr Val His Trp Tyr Gln Gln Val Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
[8906]	35 40 45
[8907]	Ile Phe Ser Asn Thr Gln Arg Pro Ser Glu Ile Pro Asp Arg Phe Ser
[8908]	50 55 60
[8909]	Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Gln
[8910]	65 70 75 80
[8911]	Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Ala Trp Asp Asp Ser Leu
[8912]	85 90 95
[8913]	Thr Gly Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Ser
[8914]	100 105 110
[8915]	Arg Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
[8916]	115 120 125
[8917]	Leu Glu Met Ala Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys
[8918]	130 135 140
[8919]	Lys Pro Gly Ala Ser Val Thr Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Arg
[8920]	145 150 155 160
[8921]	Phe Ser Asn Tyr Gly Val Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly
[8922]	165 170 175
[8923]	Leu Glu Trp Met Gly Trp Ile Ser Gly Ser Asn Gly Asn Thr Asn Tyr
[8924]	180 185 190
[8925]	Ala Gln Lys Phe Leu Gly Arg Val Thr Met Thr Thr Asp Thr Ser Thr
[8926]	195 200 205
[8927]	Thr Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala
[8928]	210 215 220
[8929]	Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Asn Arg Arg Tyr Tyr Ser Pro Ile Ile
[8930]	225 230 235 240

[8931]	Asp Pro Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
[8932]	245 250
[8933]	<210> 519
[8934]	<211> 247
[8935]	<212> PRT
[8936]	<213> 人工序列
[8937]	<220>
[8938]	<223> ET230-55-28Z CAR氨基酸序列
[8939]	<400> 519
[8940]	Gln Pro Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ala Pro Gly Lys
[8941]	1 5 10 15
[8942]	Thr Ala Arg Ile Thr Cys Gly Gly Asn Asn Ile Gly Ser Lys Ser Val
[8943]	20 25 30
[8944]	His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu Val Ile Tyr
[8945]	35 40 45
[8946]	Tyr Asp Ser Asp Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser
[8947]	50 55 60
[8948]	Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Arg Val Glu Ala Gly
[8949]	65 70 75 80
[8950]	Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Asp Ser Ser Ser Asp His
[8951]	85 90 95
[8952]	Tyr Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly Ser Arg Gly
[8953]	100 105 110
[8954]	Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Leu Glu
[8955]	115 120 125
[8956]	Met Ala Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro
[8957]	130 135 140
[8958]	Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr
[8959]	145 150 155 160
[8960]	Ser Tyr Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu
[8961]	165 170 175
[8962]	Trp Met Gly Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln
[8963]	180 185 190
[8964]	Lys Phe Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr
[8965]	195 200 205
[8966]	Val Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr
[8967]	210 215 220
[8968]	Tyr Cys Ala Arg Trp His Gly Gly Pro Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
[8969]	225 230 235 240

[8970]	Thr Leu Val Thr Val Ser Ser		
[8971]		245	
[8972]	<210>	520	
[8973]	<211>	249	
[8974]	<212>	PRT	
[8975]	<213>	人工序列	
[8976]	<220>		
[8977]	<223>	ET230-58-28Z CAR氨基酸序列	
[8978]	<400>	520	
[8979]	Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ala Pro Gly Lys		
[8980]	1	5	10 15
[8981]	Thr Ala Arg Ile Thr Cys Gly Gly Asn Asn Ile Gly Ser Lys Ser Val		
[8982]		20	25 30
[8983]	His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu Val Val Tyr		
[8984]		35	40 45
[8985]	Asp Asp Ser Asp Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser		
[8986]		50	55 60
[8987]	Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Arg Val Glu Ala Gly		
[8988]		65	70 75 80
[8989]	Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Asp Ser Ser Ser Asp His		
[8990]		85	90 95
[8991]	Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly Ser Arg Gly Gly		
[8992]		100	105 110
[8993]	Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Leu Glu Met		
[8994]		115	120 125
[8995]	Ala Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Asp Val Arg Lys Pro Gly		
[8996]		130	135 140
[8997]	Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Ala Ser		
[8998]		145	150 155 160
[8999]	His Gly Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp		
[9000]		165	170 175
[9001]	Leu Gly Trp Ile Ser Pro Tyr Thr Gly Asn Thr Asn Tyr Ala Gln Lys		
[9002]		180	185 190
[9003]	Phe Gln Gly Arg Val Thr Met Ala Thr Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala		
[9004]		195	200 205
[9005]	Tyr Met Glu Leu Arg Ser Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr		
[9006]		210	215 220
[9007]	Cys Ala Arg Gly Lys Arg Thr Leu Ala Ser Cys Phe Asp Tyr Trp Gly		
[9008]		225	230 235 240

[9009]	Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
[9010]	245
[9011]	<210> 521
[9012]	<211> 247
[9013]	<212> PRT
[9014]	<213> 人工序列
[9015]	<220>
[9016]	<223> ET230-87-28Z CAR氨基酸序列
[9017]	<400> 521
[9018]	Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
[9019]	1 5 10 15
[9020]	Glu Pro Ala Ser Val Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser
[9021]	20 25 30
[9022]	Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
[9023]	35 40 45
[9024]	Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro
[9025]	50 55 60
[9026]	Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
[9027]	65 70 75 80
[9028]	Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ala
[9029]	85 90 95
[9030]	Leu Gln Thr Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
[9031]	100 105 110
[9032]	Arg Ser Arg Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
[9033]	115 120 125
[9034]	Gly Ser Leu Glu Met Ala Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu
[9035]	130 135 140
[9036]	Val Arg Lys Pro Gly Ser Ser Val Lys Val Ser Cys Gln Ala Ser Gly
[9037]	145 150 155 160
[9038]	Gly Thr Phe Gly Ser Tyr Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly
[9039]	165 170 175
[9040]	Gln Gly Leu Glu Trp Met Gly Arg Ile Ile Pro Val Leu Gly Arg Thr
[9041]	180 185 190
[9042]	Lys Tyr Ala Gln Lys Phe Gln Gly Arg Val Thr Val Thr Ala Asp Thr
[9043]	195 200 205
[9044]	Ser Thr Ser Thr Val Tyr Met Glu Leu Thr Ser Leu Thr Ser Glu Asp
[9045]	210 215 220
[9046]	Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Thr Asn Asp Ser Trp Gly Gln Gly
[9047]	225 230 235 240

[9048]	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser										
[9049]						245											
[9050]	<210>	522															
[9051]	<211>	288															
[9052]	<212>	PRT															
[9053]	<213>	人工序列															
[9054]	<220>																
[9055]	<223>	抗AFP158/HLA-A*02:01-caTCR-6MDδ															
[9056]	<400>	522															
[9057]	Glu	Val	Gln	Leu	Val	Gln	Ser	Gly	Ala	Glu	Val	Lys	Lys	Pro	Gly	Glu	
[9058]	1				5					10					15		
[9059]	Ser	Leu	Thr	Ile	Ser	Cys	Lys	Ala	Ser	Gly	Tyr	Ser	Phe	Pro	Asn	Tyr	
[9060]				20					25					30			
[9061]	Trp	Ile	Thr	Trp	Val	Arg	Gln	Met	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Glu	Trp	Met	
[9062]			35					40					45				
[9063]	Gly	Arg	Ile	Asp	Pro	Gly	Asp	Ser	Tyr	Thr	Thr	Tyr	Asn	Pro	Ser	Phe	
[9064]		50					55					60					
[9065]	Gln	Gly	His	Val	Thr	Ile	Ser	Ile	Asp	Lys	Ser	Thr	Asn	Thr	Ala	Tyr	
[9066]	65					70				75						80	
[9067]	Leu	His	Trp	Asn	Ser	Leu	Lys	Ala	Ser	Asp	Thr	Ala	Met	Tyr	Tyr	Cys	
[9068]				85						90					95		
[9069]	Ala	Arg	Tyr	Tyr	Val	Ser	Leu	Val	Asp	Ile	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	
[9070]				100					105					110			
[9071]	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	
[9072]			115					120					125				
[9073]	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	
[9074]		130					135					140					
[9075]	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	
[9076]	145					150				155						160	
[9077]	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	
[9078]				165					170						175		
[9079]	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	
[9080]				180					185					190			
[9081]	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro	Ser	Asn	
[9082]			195					200					205				
[9083]	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Arg	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Glu	Val	Lys	Thr	
[9084]		210					215					220					
[9085]	Asp	Ser	Thr	Asp	His	Val	Lys	Pro	Lys	Glu	Thr	Glu	Asn	Thr	Lys	Gln	
[9086]	225					230				235						240	

[9087]	Pro Ser Lys Ser Cys His Lys Pro Lys Ala Ile Val His Thr Glu Lys
[9088]	245 250 255
[9089]	Val Asn Met Met Ser Leu Thr Val Leu Gly Leu Arg Met Leu Phe Ala
[9090]	260 265 270
[9091]	Lys Thr Val Ala Val Asn Phe Leu Leu Thr Ala Lys Leu Phe Phe Leu
[9092]	275 280 285
[9093]	<210> 523
[9094]	<211> 283
[9095]	<212> PRT
[9096]	<213> 人工序列
[9097]	<220>
[9098]	<223> 抗AFP158/HLA-A*02:01-caTCR-6MD γ
[9099]	<400> 523
[9100]	Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Ala Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly Gln
[9101]	1 5 10 15
[9102]	Ser Ile Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Ser Asp Val Gly Gly Tyr
[9103]	20 25 30
[9104]	Asn Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln His Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu
[9105]	35 40 45
[9106]	Met Ile Tyr Asp Val Asn Asn Arg Pro Ser Glu Val Ser Asn Arg Phe
[9107]	50 55 60
[9108]	Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu
[9109]	65 70 75 80
[9110]	Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ser Ser Tyr Thr Thr Gly
[9111]	85 90 95
[9112]	Ser Arg Ala Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gln
[9113]	100 105 110
[9114]	Pro Lys Ala Asn Pro Thr Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu
[9115]	115 120 125
[9116]	Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr
[9117]	130 135 140
[9118]	Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Gly Ser Pro Val Lys
[9119]	145 150 155 160
[9120]	Ala Gly Val Glu Thr Thr Lys Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr
[9121]	165 170 175
[9122]	Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His
[9123]	180 185 190
[9124]	Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys
[9125]	195 200 205

[9126]	Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser Pro Ile Lys Thr Asp Val Ile Thr
[9127]	210 215 220
[9128]	Met Asp Pro Lys Asp Asn Cys Ser Lys Asp Ala Asn Asp Thr Leu Leu
[9129]	225 230 235 240
[9130]	Leu Gln Leu Thr Asn Thr Ser Ala Tyr Tyr Met Tyr Leu Leu Leu Leu
[9131]	245 250 255
[9132]	Leu Lys Ser Val Val Tyr Phe Ala Ile Ile Thr Cys Cys Leu Leu Arg
[9133]	260 265 270
[9134]	Arg Thr Ala Phe Cys Cys Asn Gly Glu Lys Ser
[9135]	275 280
[9136]	<210> 524
[9137]	<211> 180
[9138]	<212> DNA
[9139]	<213> 人工序列
[9140]	<220>
[9141]	<223> 6NFAT反应元
[9142]	<400> 524
[9143]	ggaggaaaaa ctgtttcata cagaaggcgt ggaggaaaaa ctgtttcata cagaaggcgt 60
[9144]	ggaggaaaaa ctgtttcata cagaaggcgt ggaggaaaaa ctgtttcata cagaaggcgt 120
[9145]	ggaggaaaaa ctgtttcata cagaaggcgt ggaggaaaaa ctgtttcata cagaaggcgt 180
[9146]	<210> 525
[9147]	<211> 149
[9148]	<212> DNA
[9149]	<213> 人工序列
[9150]	<220>
[9151]	<223> TA启动子
[9152]	<400> 525
[9153]	gccgccccga ctgcatctgc gtgtttccaat tcgccaatga caagacgctg ggcgggggttt 60
[9154]	gtgtcatcat agaactaaag acatgcaaat atattttcttc cggggacacc gccagcaaac 120
[9155]	gcgagcaacg ggccacgggg atgaagcag 149
[9156]	<210> 526
[9157]	<211> 335
[9158]	<212> DNA
[9159]	<213> 人工序列
[9160]	<220>
[9161]	<223> 源自NFAT的启动子
[9162]	<400> 526
[9163]	ggaggaaaaa ctgtttcata cagaaggcgt ggaggaaaaa ctgtttcata cagaaggcgt 60
[9164]	ggaggaaaaa ctgtttcata cagaaggcgt ggaggaaaaa ctgtttcata cagaaggcgt 120

[9165]	ggaggaaaaa ctgtttcata cagaaggcgt ggaggaaaaa ctgtttcata cagaaggcgt	180
[9166]	ctcaggcccg ccccgactgc atctgcgtgt tccaattcgc caatgacaag acgctgggcg	240
[9167]	gggtttgtgt catcatagaa ctaaagacat gcaaataat tttttccggg gacaccgcca	300
[9168]	gcaaacgcga gcaacgggcc acggggatga agcag	335
[9169]	<210>	527
[9170]	<211>	544
[9171]	<212>	DNA
[9172]	<213>	人工序列
[9173]	<220>	
[9174]	<223>	EF1- α 启动子
[9175]	<400>	527
[9176]	ggatctgcga tcgtccgggt gcccgtcagt gggcagagcg cacatgccc acagtccccg	60
[9177]	agaagttggg gggaggggtc ggcaattgaa cgggtgccta gagaaggagg cgcggggtaa	120
[9178]	actgggaaag tgatgtcgtg tactggctcc gcctttttcc cgagggtggg ggagaaccgt	180
[9179]	atataagtgc agtagtcgcc gtgaacgttc tttttcgcaa cgggtttgcc gccagaacac	240
[9180]	agctgaagct tcgaggggct cgcactcttc cttcacgcgc ccgccgccct acctgaggcc	300
[9181]	gccatccacg ccggttgagt cgcgtttctgc cgcctcccgc ctgtggtgcc tcctgaactg	360
[9182]	cgtccgccgt ctaggtaagt ttaaagctca ggtcgagacc gggcctttgt ccggcgctcc	420
[9183]	cttgagacct acctagactc agccggctct ccacgctttg cctgaccctg cttgctcaac	480
[9184]	tctacgtctt tgtttcgttt tctgtttctgc gccgttacag atccaagctg tgaccggcgc	540
[9185]	ctac	544
[9186]	<210>	528
[9187]	<211>	117
[9188]	<212>	PRT
[9189]	<213>	人工序列
[9190]	<220>	
[9191]	<223>	EF1- α 启动子
[9192]	<400>	528
[9193]	Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Glu	
[9194]	1 5 10 15	
[9195]	Ser Leu Thr Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Pro Asn Tyr	
[9196]	20 25 30	
[9197]	Trp Ile Thr Trp Val Arg Gln Met Ser Gly Gly Gly Leu Glu Trp Met	
[9198]	35 40 45	
[9199]	Gly Arg Ile Asp Pro Gly Asp Ser Tyr Thr Thr Tyr Asn Pro Ser Phe	
[9200]	50 55 60	
[9201]	Gln Gly His Val Thr Ile Ser Ile Asp Lys Ser Thr Asn Thr Ala Tyr	
[9202]	65 70 75 80	
[9203]	Leu His Trp Asn Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys	

[9204]		85		90		95
[9205]	Ala Arg Tyr Tyr Val Ser Leu Val Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Leu					
[9206]		100		105		110
[9207]	Val Thr Val Ser Ser					
[9208]		115				
[9209]	<210> 529					
[9210]	<211> 110					
[9211]	<212> PRT					
[9212]	<213> 人工序列					
[9213]	<220>					
[9214]	<223> 抗AFP抗体的IgVL域					
[9215]	<400> 529					
[9216]	Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Ala Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly Gln					
[9217]	1	5		10		15
[9218]	Ser Ile Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Ser Asp Val Gly Gly Tyr					
[9219]		20		25		30
[9220]	Asn Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln His Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu					
[9221]		35		40		45
[9222]	Met Ile Tyr Asp Val Asn Asn Arg Pro Ser Glu Val Ser Asn Arg Phe					
[9223]		50		55		60
[9224]	Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu					
[9225]	65	70		75		80
[9226]	Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ser Ser Tyr Thr Thr Gly					
[9227]		85		90		95
[9228]	Ser Arg Ala Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu					
[9229]		100		105		110
[9230]	<210> 530					
[9231]	<211> 110					
[9232]	<212> PRT					
[9233]	<213> 人工序列					
[9234]	<220>					
[9235]	<223> CSR1					
[9236]	<400> 530					
[9237]	Ala Ala Ala Ile Glu Val Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Asp Asn Glu					
[9238]	1	5		10		15
[9239]	Lys Ser Asn Gly Thr Ile Ile His Val Lys Gly Lys His Leu Cys Pro					
[9240]		20		25		30
[9241]	Ser Pro Leu Phe Pro Gly Pro Ser Lys Pro Phe Trp Val Leu Val Val					
[9242]		35		40		45

[9243]	Val	Gly	Gly	Val	Leu	Ala	Cys	Tyr	Ser	Leu	Leu	Val	Thr	Val	Ala	Phe
[9244]	50						55					60				
[9245]	Ile	Ile	Phe	Trp	Val	Arg	Ser	Lys	Arg	Ser	Arg	Leu	Leu	His	Ser	Asp
[9246]	65					70					75					80
[9247]	Tyr	Met	Asn	Met	Thr	Pro	Arg	Arg	Pro	Gly	Pro	Thr	Arg	Lys	His	Tyr
[9248]					85					90					95	
[9249]	Gln	Pro	Tyr	Ala	Pro	Pro	Arg	Asp	Phe	Ala	Ala	Tyr	Arg	Ser		
[9250]				100					105					110		
[9251]	<210>	531														
[9252]	<211>	360														
[9253]	<212>	PRT														
[9254]	<213>	人工序列														
[9255]	<220>															
[9256]	<223>	抗GPC3	CSR													
[9257]	<400>	531														
[9258]	Gln	Ser	Val	Leu	Thr	Gln	Pro	Pro	Ser	Val	Ser	Ala	Ala	Pro	Gly	Gln
[9259]	1			5					10					15		
[9260]	Arg	Val	Thr	Ile	Ser	Cys	Ser	Gly	Thr	Arg	Ser	Asn	Ile	Gly	Ser	Asp
[9261]			20					25					30			
[9262]	Tyr	Val	Ser	Trp	Tyr	Gln	His	Leu	Pro	Gly	Thr	Ala	Pro	Lys	Leu	Leu
[9263]		35				40					45					
[9264]	Val	Tyr	Gly	Asp	Asn	Leu	Arg	Pro	Ser	Gly	Ile	Pro	Asp	Arg	Phe	Ser
[9265]	50					55					60					
[9266]	Ala	Ser	Lys	Ser	Gly	Thr	Ser	Ala	Thr	Leu	Gly	Ile	Thr	Gly	Leu	Gln
[9267]	65				70					75						80
[9268]	Thr	Gly	Asp	Glu	Ala	Asp	Tyr	Tyr	Cys	Gly	Thr	Trp	Asp	Tyr	Thr	Leu
[9269]				85					90					95		
[9270]	Asn	Gly	Val	Val	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Leu	Thr	Val	Leu	Gly	Ser
[9271]			100					105					110			
[9272]	Arg	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser
[9273]			115				120						125			
[9274]	Leu	Glu	Met	Ala	Gln	Val	Gln	Leu	Val	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val
[9275]		130					135					140				
[9276]	Gln	Pro	Gly	Gly	Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Thr
[9277]	145				150					155						160
[9278]	Phe	Ser	Ser	Tyr	Ala	Met	Ser	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly
[9279]				165					170					175		
[9280]	Leu	Glu	Trp	Val	Ser	Val	Ile	Tyr	Ser	Gly	Gly	Ser	Ser	Thr	Tyr	Tyr
[9281]			180					185						190		

[9282]	Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys
[9283]	195 200 205
[9284]	Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala
[9285]	210 215 220
[9286]	Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Thr Ser Tyr Leu Asn His Gly Asp Tyr Trp
[9287]	225 230 235 240
[9288]	Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ala Ala Ile Glu Val
[9289]	245 250 255
[9290]	Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Asp Asn Glu Lys Ser Asn Gly Thr Ile
[9291]	260 265 270
[9292]	Ile His Val Lys Gly Lys His Leu Cys Pro Ser Pro Leu Phe Pro Gly
[9293]	275 280 285
[9294]	Pro Ser Lys Pro Phe Trp Val Leu Val Val Val Gly Gly Val Leu Ala
[9295]	290 295 300
[9296]	Cys Tyr Ser Leu Leu Val Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp Val Arg
[9297]	305 310 315 320
[9298]	Ser Lys Arg Ser Arg Leu Leu His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro
[9299]	325 330 335
[9300]	Arg Arg Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro Pro
[9301]	340 345 350
[9302]	Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Ser
[9303]	355 360
[9304]	<210> 532
[9305]	<211> 288
[9306]	<212> PRT
[9307]	<213> 人工序列
[9308]	<220>
[9309]	<223> 抗AFP158/HLA-A*02:01-caTCR-1-08
[9310]	<400> 532
[9311]	Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Glu
[9312]	1 5 10 15
[9313]	Ser Leu Thr Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Pro Asn Tyr
[9314]	20 25 30
[9315]	Trp Ile Thr Trp Val Arg Gln Met Ser Gly Gly Gly Leu Glu Trp Met
[9316]	35 40 45
[9317]	Gly Arg Ile Asp Pro Gly Asp Ser Tyr Thr Thr Tyr Asn Pro Ser Phe
[9318]	50 55 60
[9319]	Gln Gly His Val Thr Ile Ser Ile Asp Lys Ser Thr Asn Thr Ala Tyr
[9320]	65 70 75 80

[9321]	Leu His Trp Asn Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
[9322]	85 90 95
[9323]	Ala Arg Tyr Tyr Val Ser Leu Val Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Leu
[9324]	100 105 110
[9325]	Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
[9326]	115 120 125
[9327]	Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys
[9328]	130 135 140
[9329]	Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
[9330]	145 150 155 160
[9331]	Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
[9332]	165 170 175
[9333]	Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser
[9334]	180 185 190
[9335]	Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn
[9336]	195 200 205
[9337]	Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Glu Val Lys Thr
[9338]	210 215 220
[9339]	Asp Ser Thr Asp His Val Lys Pro Lys Glu Thr Glu Asn Thr Lys Gln
[9340]	225 230 235 240
[9341]	Pro Ser Lys Ser Cys His Lys Pro Lys Ala Ile Val His Thr Glu Lys
[9342]	245 250 255
[9343]	Val Asn Met Met Ser Leu Thr Val Leu Gly Leu Arg Met Leu Phe Ala
[9344]	260 265 270
[9345]	Lys Thr Val Ala Val Asn Phe Leu Leu Thr Ala Lys Leu Phe Phe Leu
[9346]	275 280 285
[9347]	<210> 533
[9348]	<211> 283
[9349]	<212> PRT
[9350]	<213> 人工序列
[9351]	<220>
[9352]	<223> 抗AFP158/HLA-A*02:01-caTCR-1-0 γ
[9353]	<400> 533
[9354]	Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Ala Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly Gln
[9355]	1 5 10 15
[9356]	Ser Ile Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Ser Asp Val Gly Gly Tyr
[9357]	20 25 30
[9358]	Asn Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln His Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu
[9359]	35 40 45

[9360]	Met	Ile	Tyr	Asp	Val	Asn	Asn	Arg	Pro	Ser	Glu	Val	Ser	Asn	Arg	Phe
[9361]	50					55					60					
[9362]	Ser	Gly	Ser	Lys	Ser	Gly	Asn	Thr	Ala	Ser	Leu	Thr	Ile	Ser	Gly	Leu
[9363]	65					70					75					80
[9364]	Gln	Ala	Glu	Asp	Glu	Ala	Asp	Tyr	Tyr	Cys	Ser	Ser	Tyr	Thr	Thr	Gly
[9365]					85					90					95	
[9366]	Ser	Arg	Ala	Val	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Leu	Thr	Val	Leu	Gly	Gln
[9367]				100					105						110	
[9368]	Pro	Lys	Ala	Asn	Pro	Thr	Val	Thr	Leu	Phe	Pro	Pro	Ser	Ser	Glu	Glu
[9369]				115					120					125		
[9370]	Leu	Gln	Ala	Asn	Lys	Ala	Thr	Leu	Val	Cys	Leu	Ile	Ser	Asp	Phe	Tyr
[9371]		130						135						140		
[9372]	Pro	Gly	Ala	Val	Thr	Val	Ala	Trp	Lys	Ala	Asp	Gly	Ser	Pro	Val	Lys
[9373]	145					150					155					160
[9374]	Ala	Gly	Val	Glu	Thr	Thr	Lys	Pro	Ser	Lys	Gln	Ser	Asn	Asn	Lys	Tyr
[9375]					165					170						175
[9376]	Ala	Ala	Ser	Ser	Tyr	Leu	Ser	Leu	Thr	Pro	Glu	Gln	Trp	Lys	Ser	His
[9377]				180						185					190	
[9378]	Arg	Ser	Tyr	Ser	Cys	Gln	Val	Thr	His	Glu	Gly	Ser	Thr	Val	Glu	Lys
[9379]			195						200					205		
[9380]	Thr	Val	Ala	Pro	Thr	Glu	Cys	Ser	Pro	Ile	Lys	Thr	Asp	Val	Ile	Thr
[9381]		210					215					220				
[9382]	Met	Asp	Pro	Lys	Asp	Asn	Cys	Ser	Lys	Asp	Ala	Asn	Asp	Thr	Leu	Leu
[9383]	225					230					235					240
[9384]	Leu	Gln	Leu	Thr	Asn	Thr	Ser	Ala	Tyr	Tyr	Met	Tyr	Leu	Leu	Leu	Leu
[9385]					245					250						255
[9386]	Leu	Lys	Ser	Val	Val	Tyr	Phe	Ala	Ile	Ile	Thr	Cys	Cys	Leu	Leu	Arg
[9387]				260					265						270	
[9388]	Arg	Thr	Ala	Phe	Cys	Cys	Asn	Gly	Glu	Lys	Ser					
[9389]			275						280							
[9390]	<210>	534														
[9391]	<211>	288														
[9392]	<212>	PRT														
[9393]	<213>	人工序列														
[9394]	<220>															
[9395]	<223>	抗AFP158/HLA-A*02:01-caTCR-1-TM58														
[9396]	<400>	534														
[9397]	Glu	Val	Gln	Leu	Val	Gln	Ser	Gly	Ala	Glu	Val	Lys	Lys	Pro	Gly	Glu
[9398]	1				5					10					15	

[9399]	Ser	Leu	Thr	Ile	Ser	Cys	Lys	Ala	Ser	Gly	Tyr	Ser	Phe	Pro	Asn	Tyr
[9400]				20					25					30		
[9401]	Trp	Ile	Thr	Trp	Val	Arg	Gln	Met	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Glu	Trp	Met
[9402]			35					40						45		
[9403]	Gly	Arg	Ile	Asp	Pro	Gly	Asp	Ser	Tyr	Thr	Thr	Tyr	Asn	Pro	Ser	Phe
[9404]		50					55					60				
[9405]	Gln	Gly	His	Val	Thr	Ile	Ser	Ile	Asp	Lys	Ser	Thr	Asn	Thr	Ala	Tyr
[9406]	65					70				75					80	
[9407]	Leu	His	Trp	Asn	Ser	Leu	Lys	Ala	Ser	Asp	Thr	Ala	Met	Tyr	Tyr	Cys
[9408]				85					90					95		
[9409]	Ala	Arg	Tyr	Tyr	Val	Ser	Leu	Val	Asp	Ile	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu
[9410]			100						105					110		
[9411]	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu
[9412]			115						120					125		
[9413]	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys
[9414]		130					135					140				
[9415]	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser
[9416]	145					150				155					160	
[9417]	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser
[9418]				165					170					175		
[9419]	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser
[9420]			180						185					190		
[9421]	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro	Ser	Asn
[9422]			195					200					205			
[9423]	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Arg	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Glu	Val	Lys	Thr
[9424]		210					215					220				
[9425]	Asp	Ser	Thr	Asp	His	Val	Lys	Pro	Lys	Glu	Thr	Glu	Asn	Thr	Lys	Gln
[9426]	225					230				235					240	
[9427]	Pro	Ser	Lys	Ser	Cys	His	Lys	Pro	Lys	Ala	Ile	Val	His	Thr	Glu	Lys
[9428]				245					250				255			
[9429]	Val	Asn	Met	Met	Ser	Leu	Thr	Val	Leu	Gly	Leu	Arg	Val	Leu	Phe	Ala
[9430]			260						265				270			
[9431]	Lys	Thr	Val	Ala	Val	Asn	Phe	Leu	Leu	Thr	Ala	Lys	Leu	Phe	Phe	Leu
[9432]			275					280					285			
[9433]	<210>	535														
[9434]	<211>	283														
[9435]	<212>	PRT														
[9436]	<213>	人工序列														
[9437]	<220>															

[9438]	<223> 抗AFP158/HLA-A*02:01-caTCR-1-TM5 γ															
[9439]	<400> 535															
[9440]	Gln	Ser	Val	Leu	Thr	Gln	Pro	Ala	Ser	Val	Ser	Gly	Ser	Pro	Gly	Gln
[9441]	1				5					10					15	
[9442]	Ser	Ile	Thr	Ile	Ser	Cys	Thr	Gly	Thr	Ser	Ser	Asp	Val	Gly	Gly	Tyr
[9443]					20				25					30		
[9444]	Asn	Tyr	Val	Ser	Trp	Tyr	Gln	Gln	His	Pro	Gly	Lys	Ala	Pro	Lys	Leu
[9445]				35					40				45			
[9446]	Met	Ile	Tyr	Asp	Val	Asn	Asn	Arg	Pro	Ser	Glu	Val	Ser	Asn	Arg	Phe
[9447]		50					55					60				
[9448]	Ser	Gly	Ser	Lys	Ser	Gly	Asn	Thr	Ala	Ser	Leu	Thr	Ile	Ser	Gly	Leu
[9449]	65					70					75				80	
[9450]	Gln	Ala	Glu	Asp	Glu	Ala	Asp	Tyr	Tyr	Cys	Ser	Ser	Tyr	Thr	Thr	Gly
[9451]					85					90					95	
[9452]	Ser	Arg	Ala	Val	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Leu	Thr	Val	Leu	Gly	Gln
[9453]				100					105					110		
[9454]	Pro	Lys	Ala	Asn	Pro	Thr	Val	Thr	Leu	Phe	Pro	Pro	Ser	Ser	Glu	Glu
[9455]				115					120					125		
[9456]	Leu	Gln	Ala	Asn	Lys	Ala	Thr	Leu	Val	Cys	Leu	Ile	Ser	Asp	Phe	Tyr
[9457]		130					135					140				
[9458]	Pro	Gly	Ala	Val	Thr	Val	Ala	Trp	Lys	Ala	Asp	Gly	Ser	Pro	Val	Lys
[9459]	145					150					155				160	
[9460]	Ala	Gly	Val	Glu	Thr	Thr	Lys	Pro	Ser	Lys	Gln	Ser	Asn	Asn	Lys	Tyr
[9461]					165					170					175	
[9462]	Ala	Ala	Ser	Ser	Tyr	Leu	Ser	Leu	Thr	Pro	Glu	Gln	Trp	Lys	Ser	His
[9463]				180						185				190		
[9464]	Arg	Ser	Tyr	Ser	Cys	Gln	Val	Thr	His	Glu	Gly	Ser	Thr	Val	Glu	Lys
[9465]			195					200					205			
[9466]	Thr	Val	Ala	Pro	Thr	Glu	Cys	Ser	Pro	Ile	Lys	Thr	Asp	Val	Ile	Thr
[9467]		210					215					220				
[9468]	Met	Asp	Pro	Lys	Asp	Asn	Cys	Ser	Lys	Asp	Ala	Asn	Asp	Thr	Leu	Leu
[9469]	225					230					235				240	
[9470]	Leu	Gln	Leu	Thr	Asn	Thr	Ser	Ala	Tyr	Leu	Val	Tyr	Leu	Leu	Leu	Leu
[9471]					245					250					255	
[9472]	Leu	Lys	Ser	Val	Val	Tyr	Phe	Val	Ile	Val	Thr	Cys	Cys	Leu	Leu	Arg
[9473]				260					265					270		
[9474]	Arg	Thr	Ala	Phe	Cys	Cys	Asn	Gly	Glu	Lys	Ser					
[9475]			275						280							
[9476]	<210> 536															

[9477] <211> 43
[9478] <212> PRT
[9479] <213> 人工序列
[9480] <220>
[9481] <223> GPC33片段
[9482] <400> 536
[9483] Leu Ala Glu Leu Ala Tyr Asp Leu Asp Val Asp Asp Ala Pro Gly Asn
[9484] 1 5 10 15
[9485] Ser Gln Gln Ala Thr Pro Lys Asp Asn Glu Ile Ser Thr Phe His Asn
[9486] 20 25 30
[9487] Leu Gly Asn Val His Ser Pro Leu Lys Leu Leu
[9488] 35 40

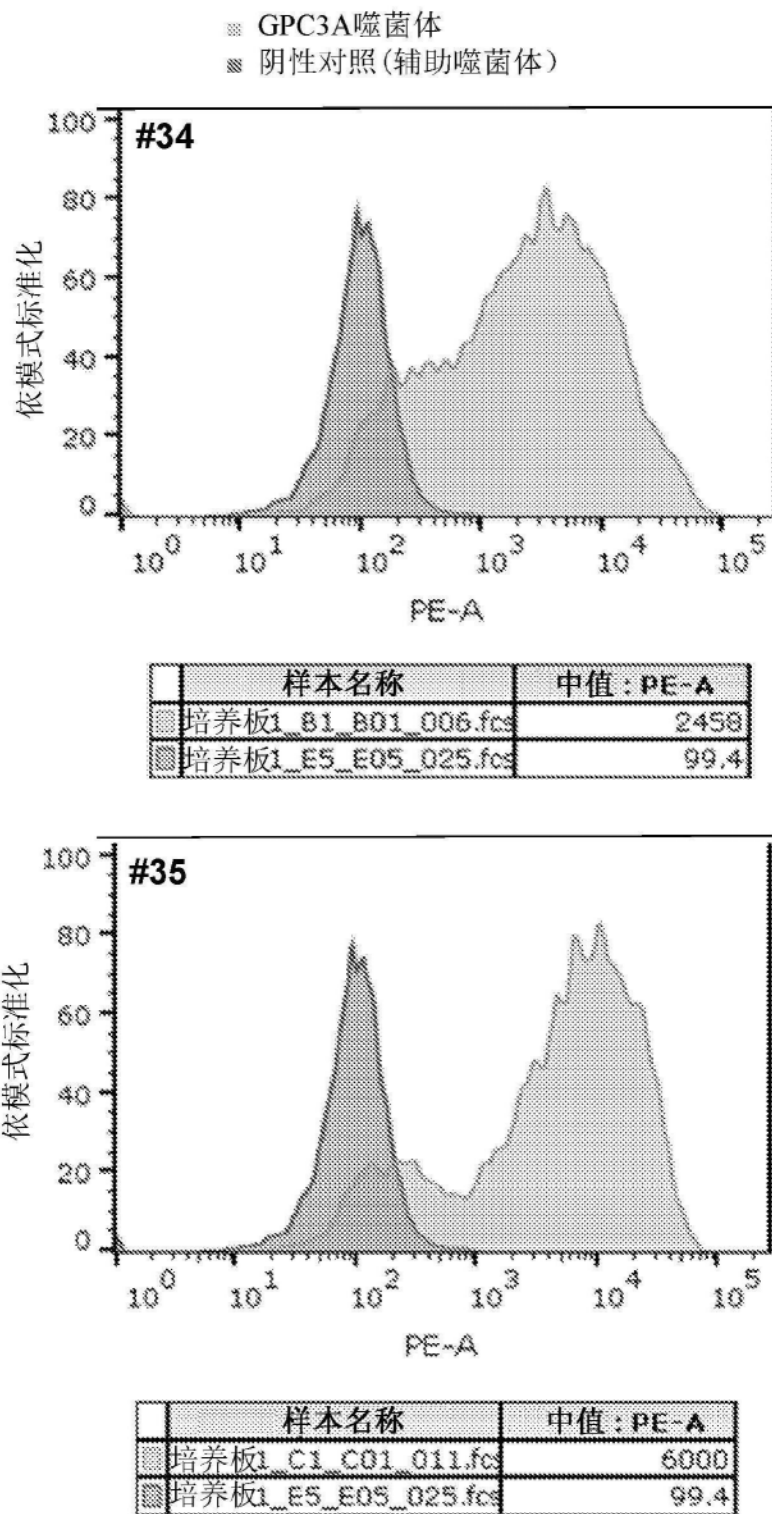


图1A

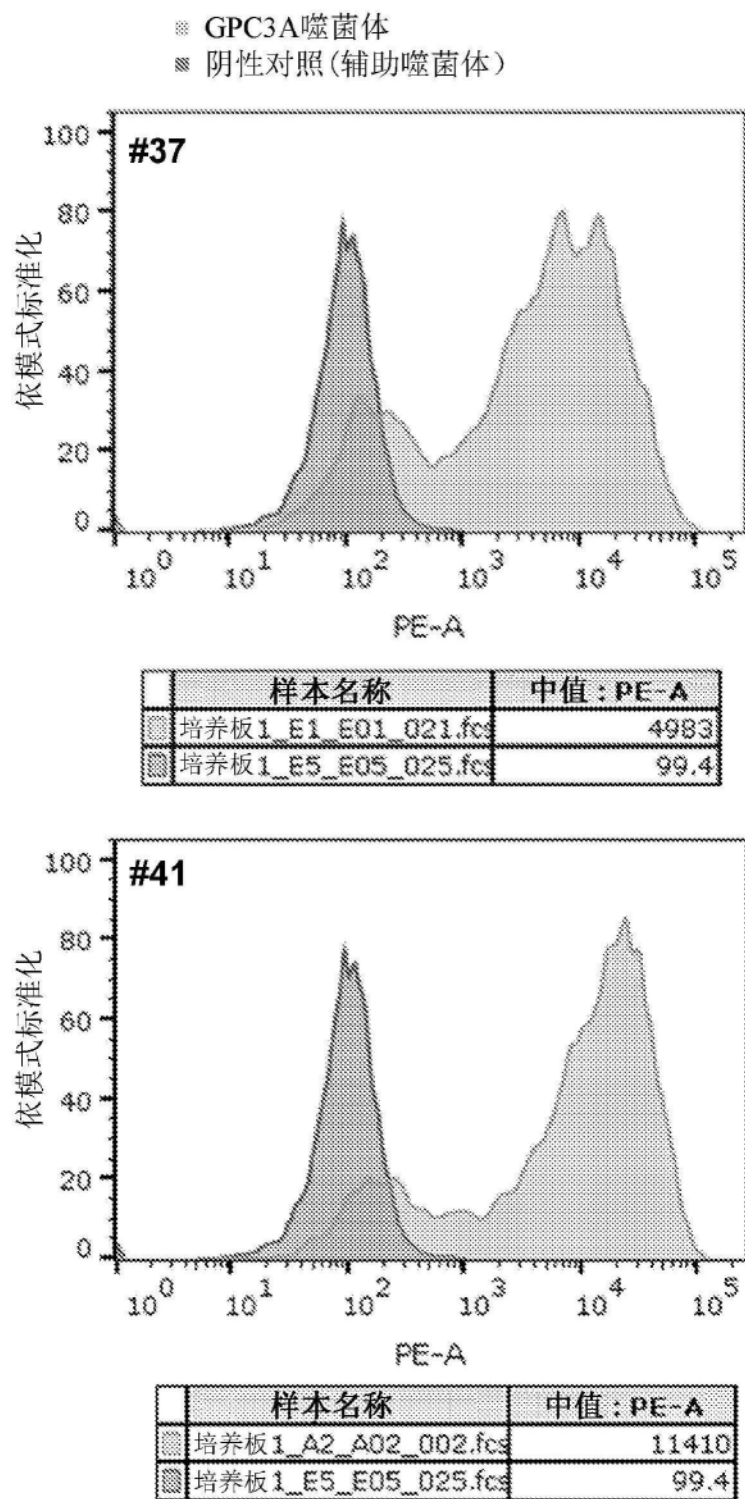


图1B

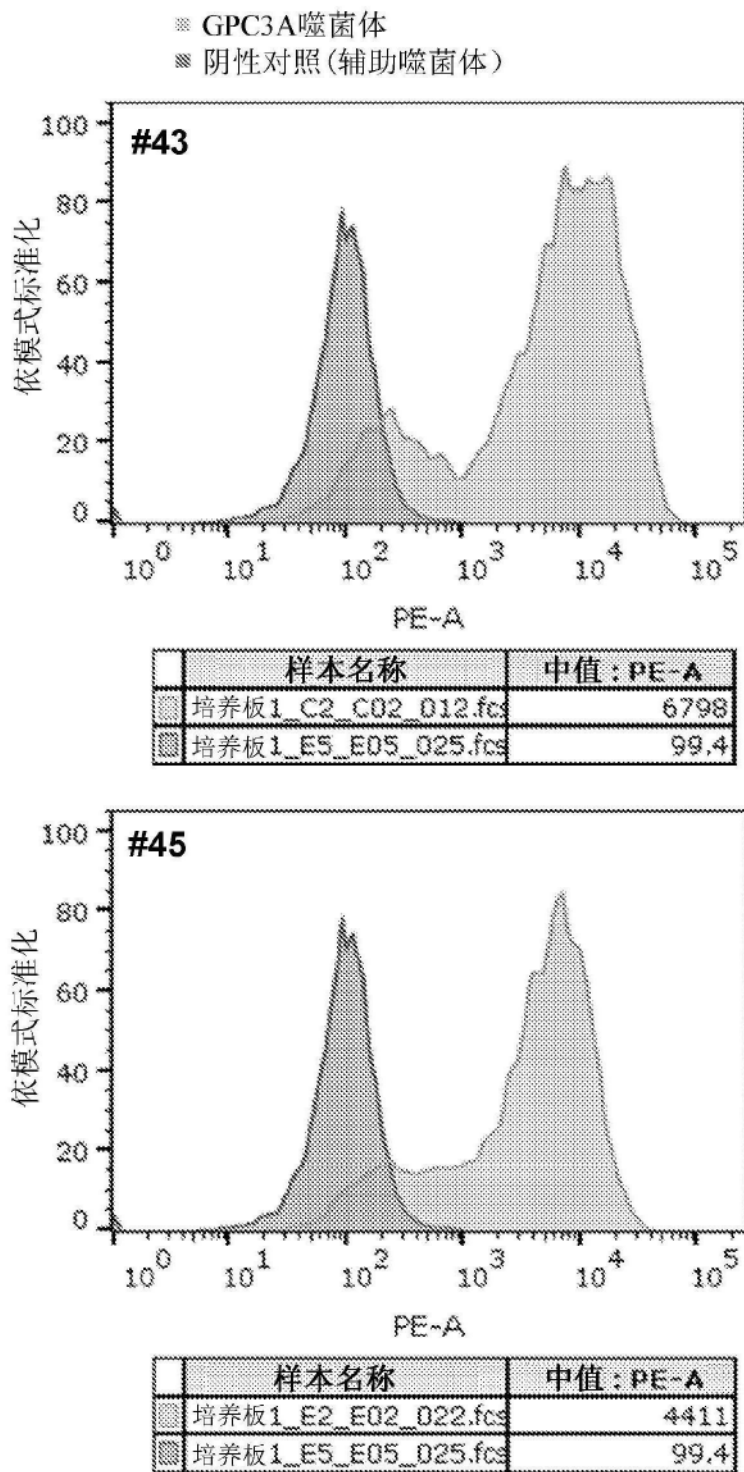


图1C

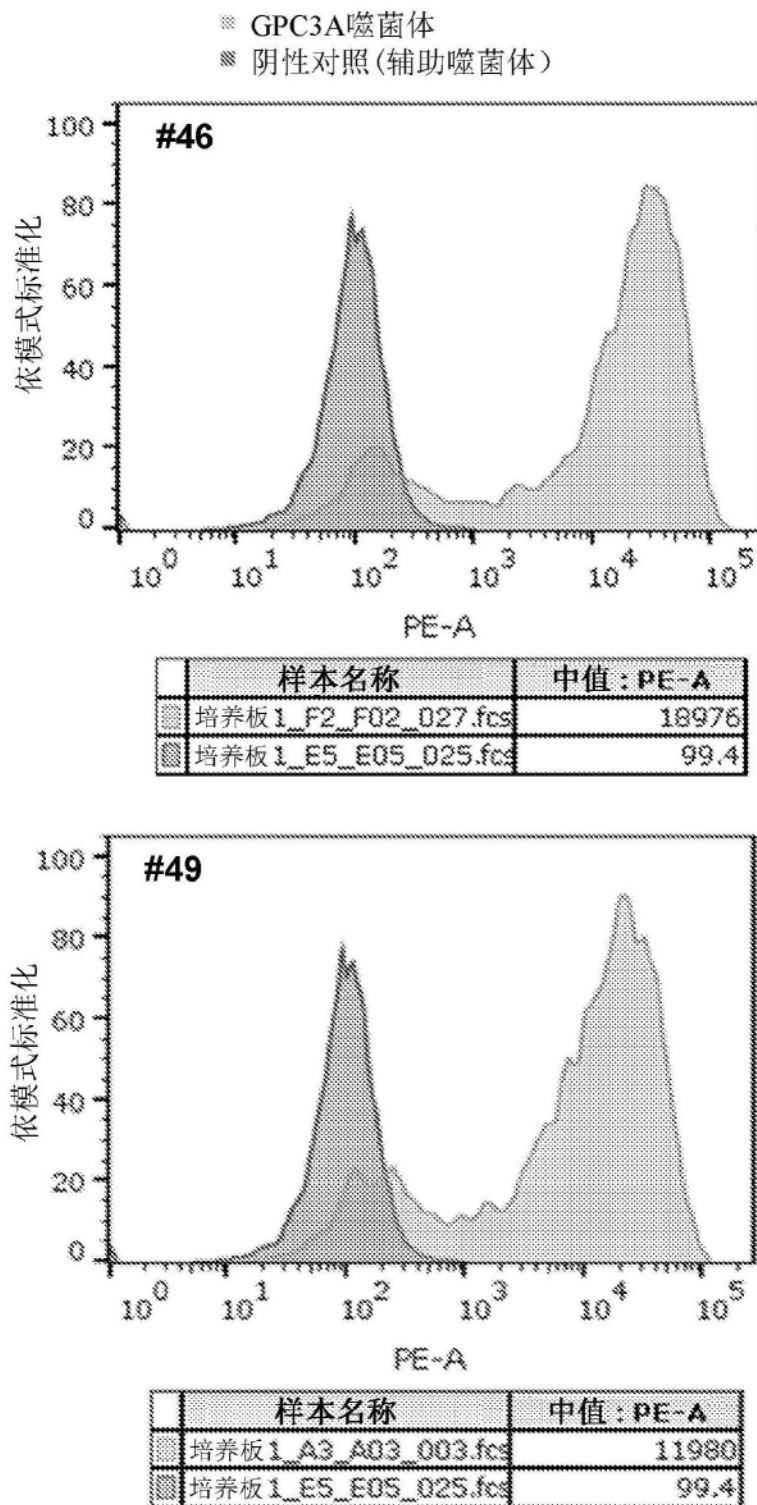


图1D

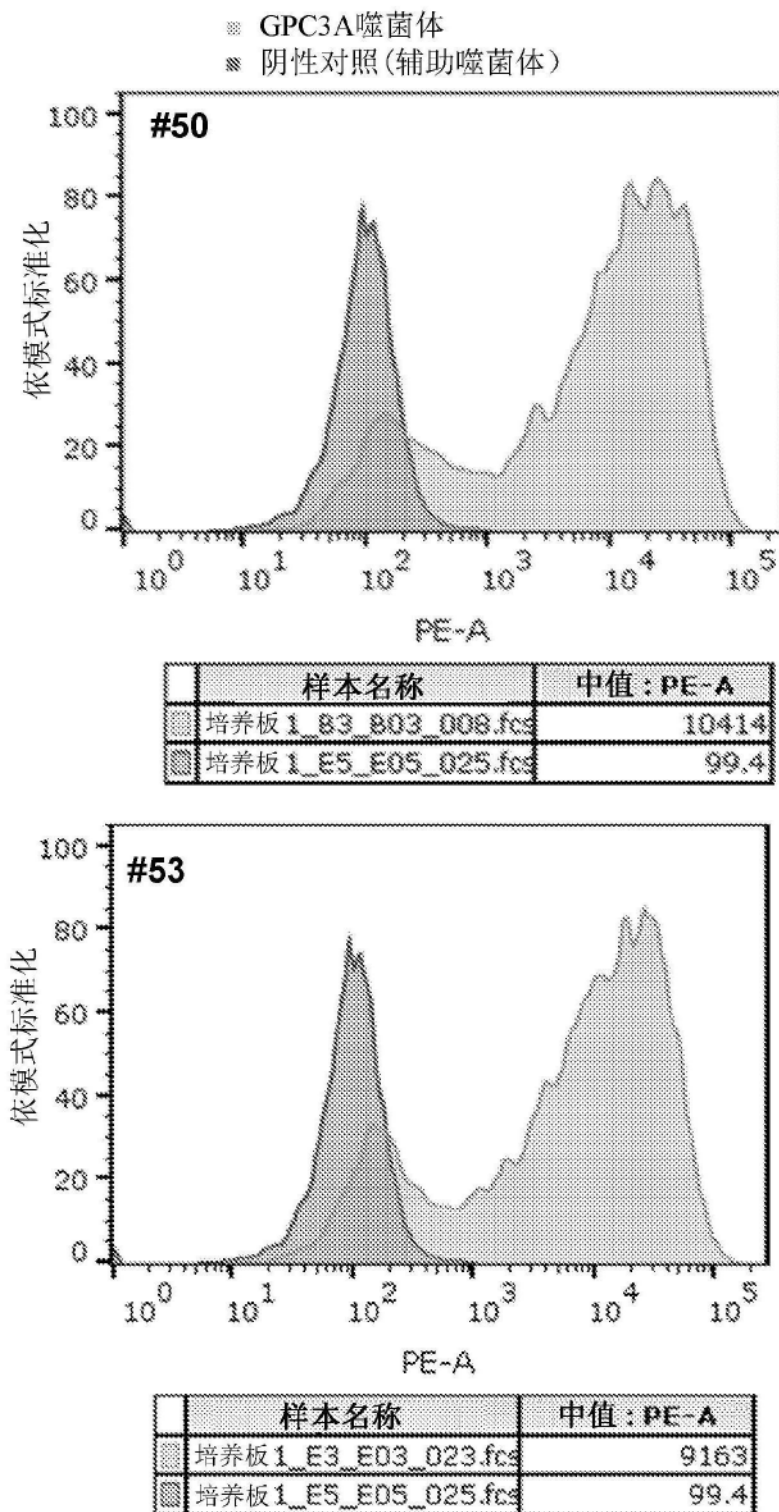


图1E

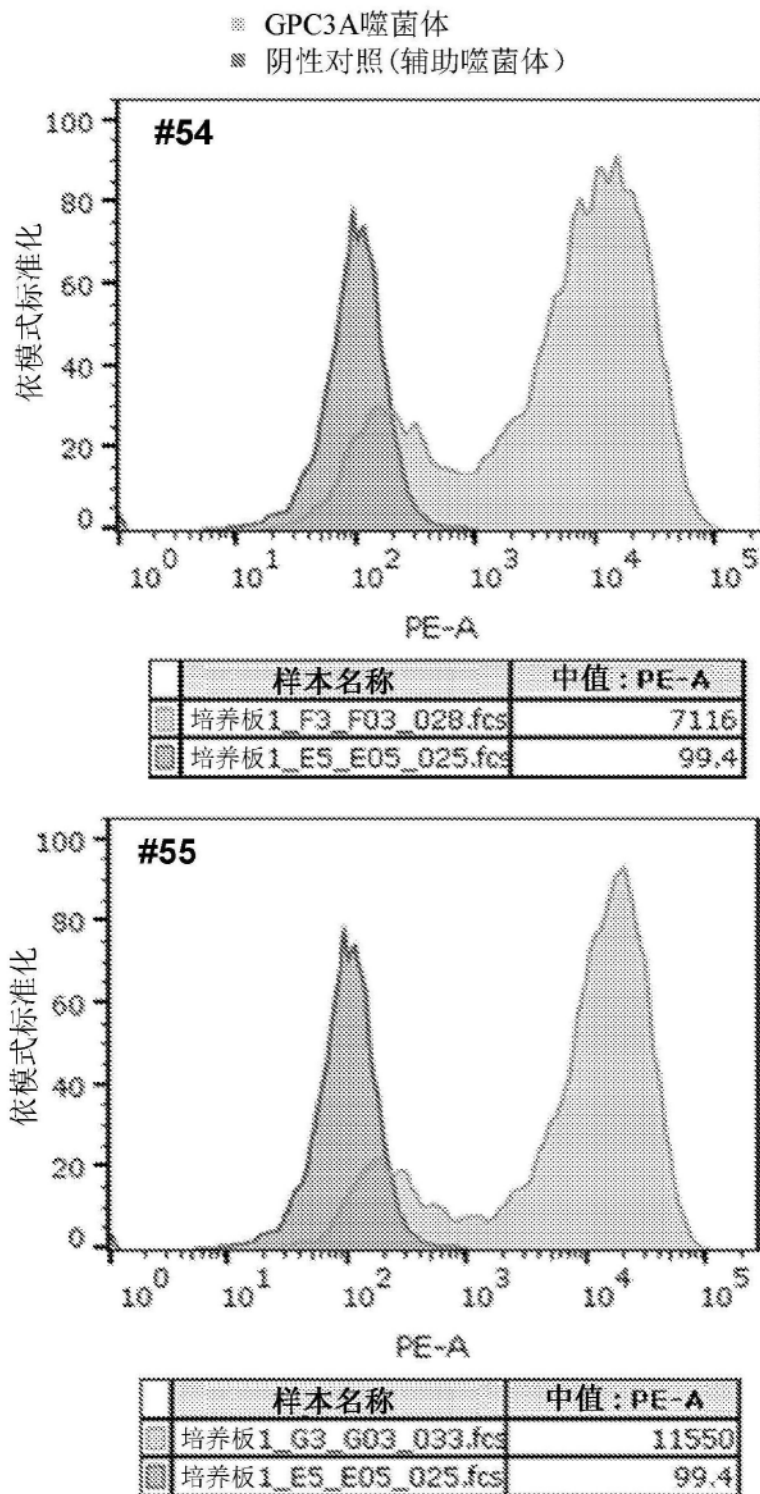


图1F

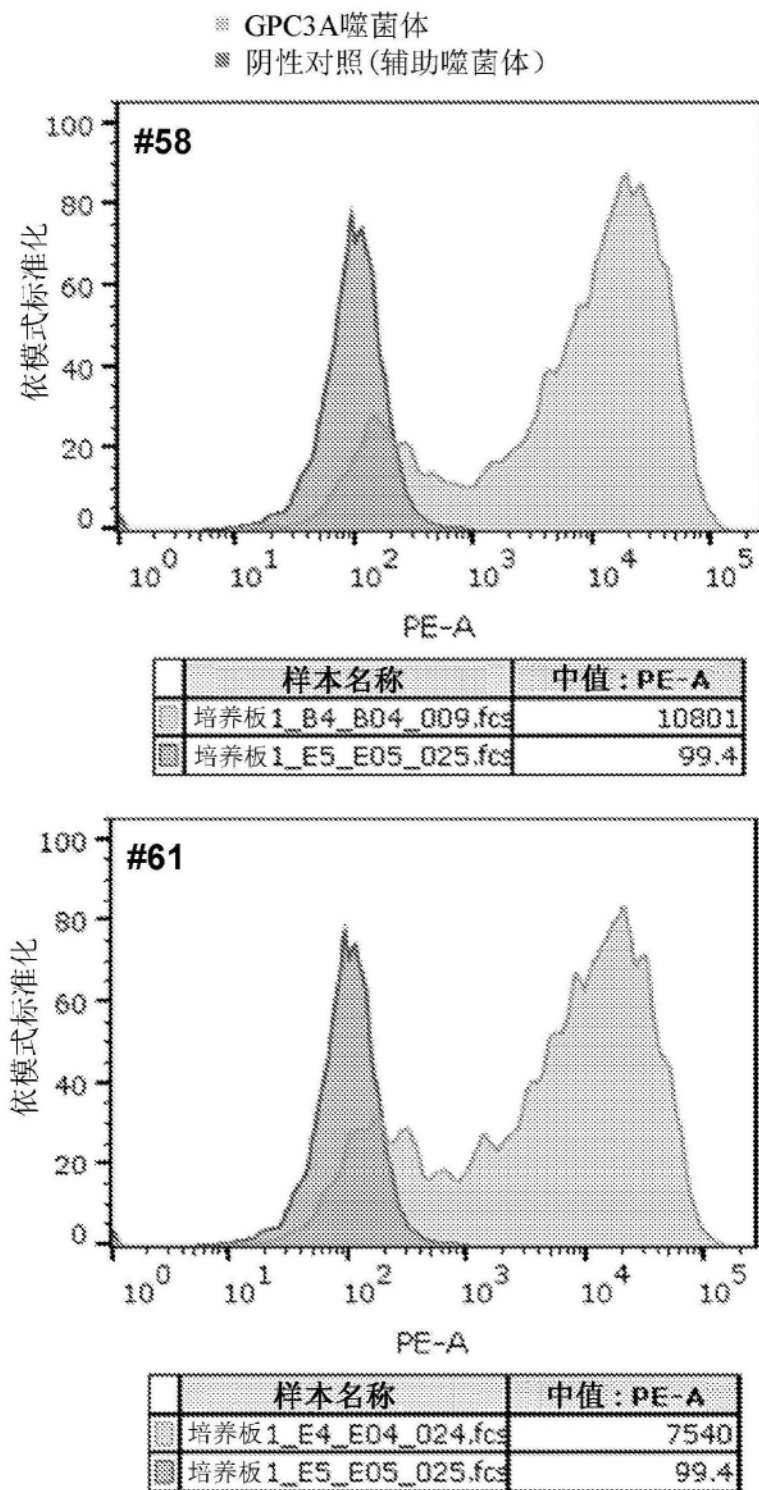


图1G

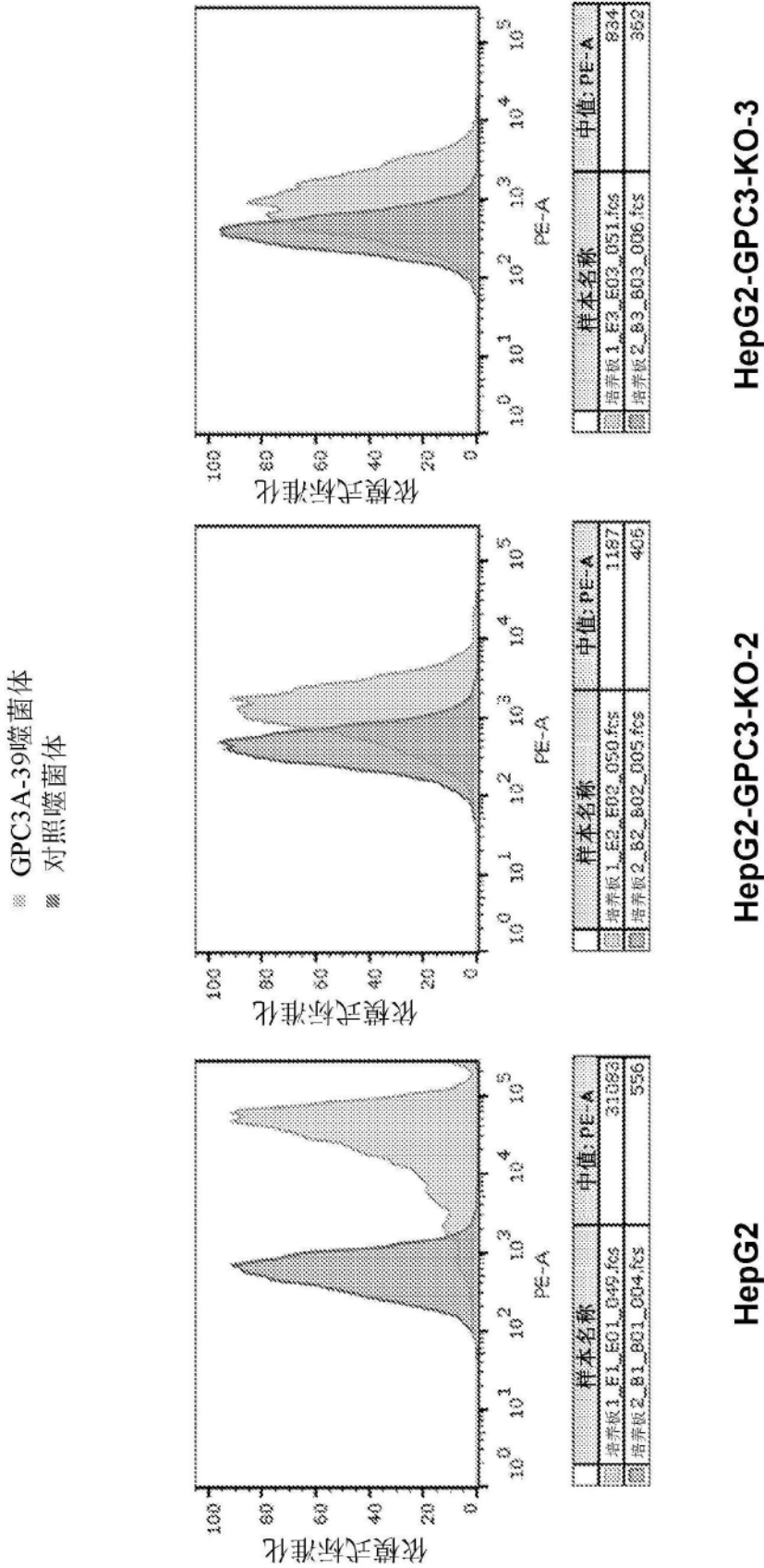


图2A

GPC3A-46噬菌体
对照噬菌体

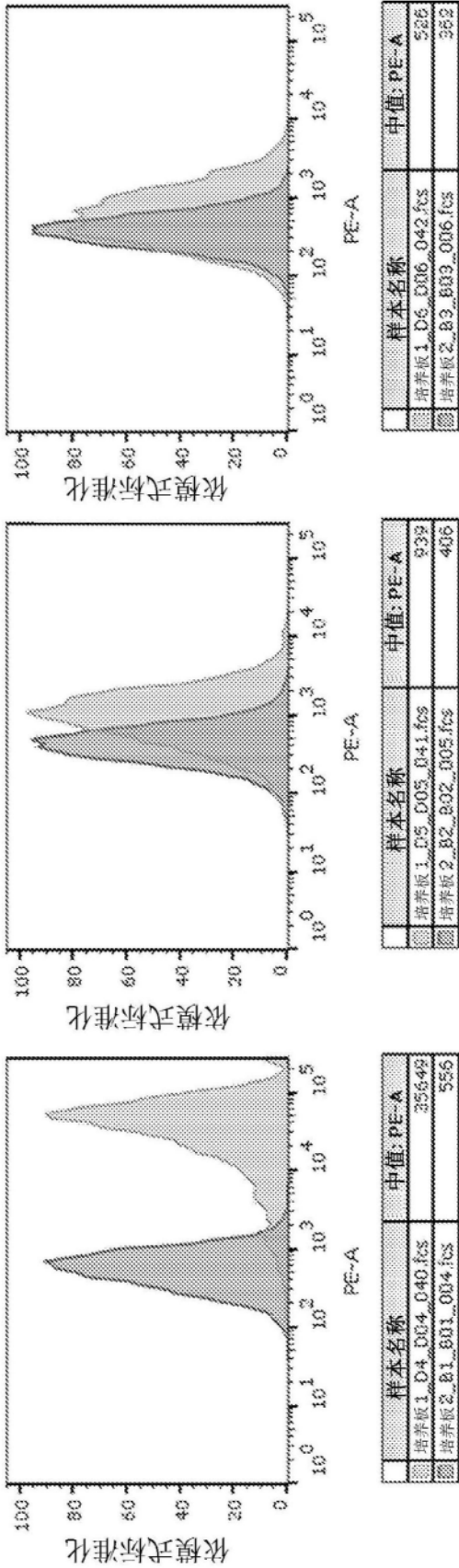
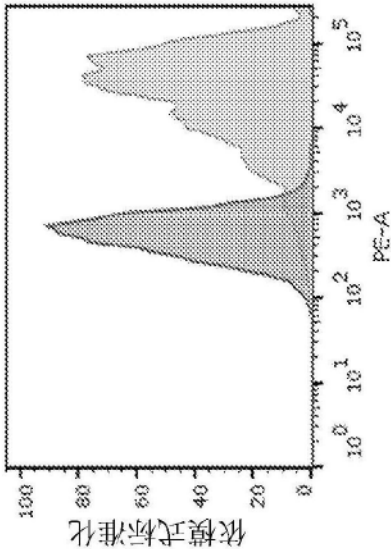


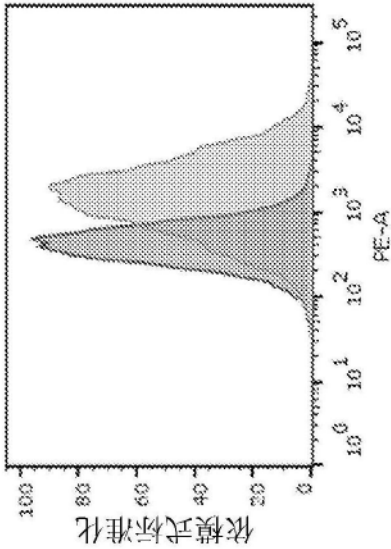
图2B

■ GPC3A-56噬菌体
■ 对照噬菌体



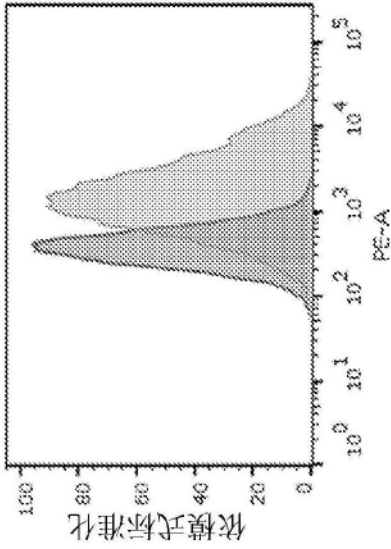
样本名称		中值: PE-A
培养板1_F7_F07_067.fcs		27601
培养板2_B1_B01_004.fcs		556

HepG2



样本名称		中值: PE-A
培养板1_F8_F08_068.fcs		1436
培养板2_B2_B02_005.fcs		408

HepG2-GPC3-KO-2



样本名称		中值: PE-A
培养板1_F9_F09_069.fcs		1403
培养板2_B3_B03_006.fcs		362

HepG2-GPC3-KO-3

图2C

■ GPC3A-58噬菌体
■ 对照噬菌体

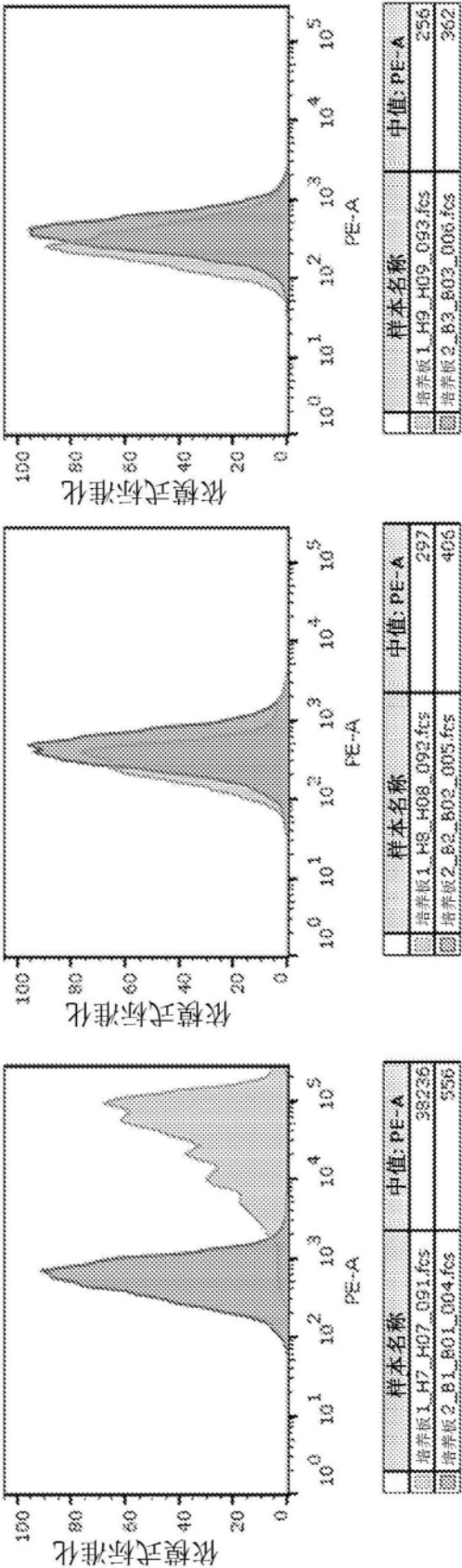
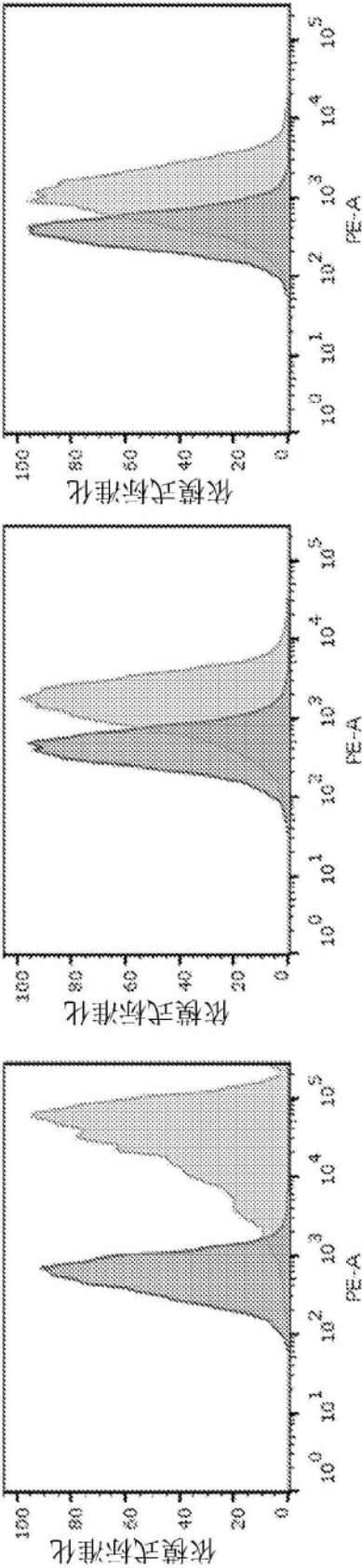


图2D

■ GPC3A-64噬菌体
■ 对照噬菌体



样本名称		中值: PE-A
培养板1_F10_F10_070.fcs		31947
培养板2_B1_B01_004.fcs		556

HepG2

样本名称		中值: PE-A
培养板1_F11_F11_071.fcs		1478
培养板2_B2_B02_005.fcs		406

HepG2-GPC3-KO-2

样本名称		中值: PE-A
培养板1_F12_F12_072.fcs		1010
培养板2_B3_B03_006.fcs		362

HepG2-GPC3-KO-3

图2E

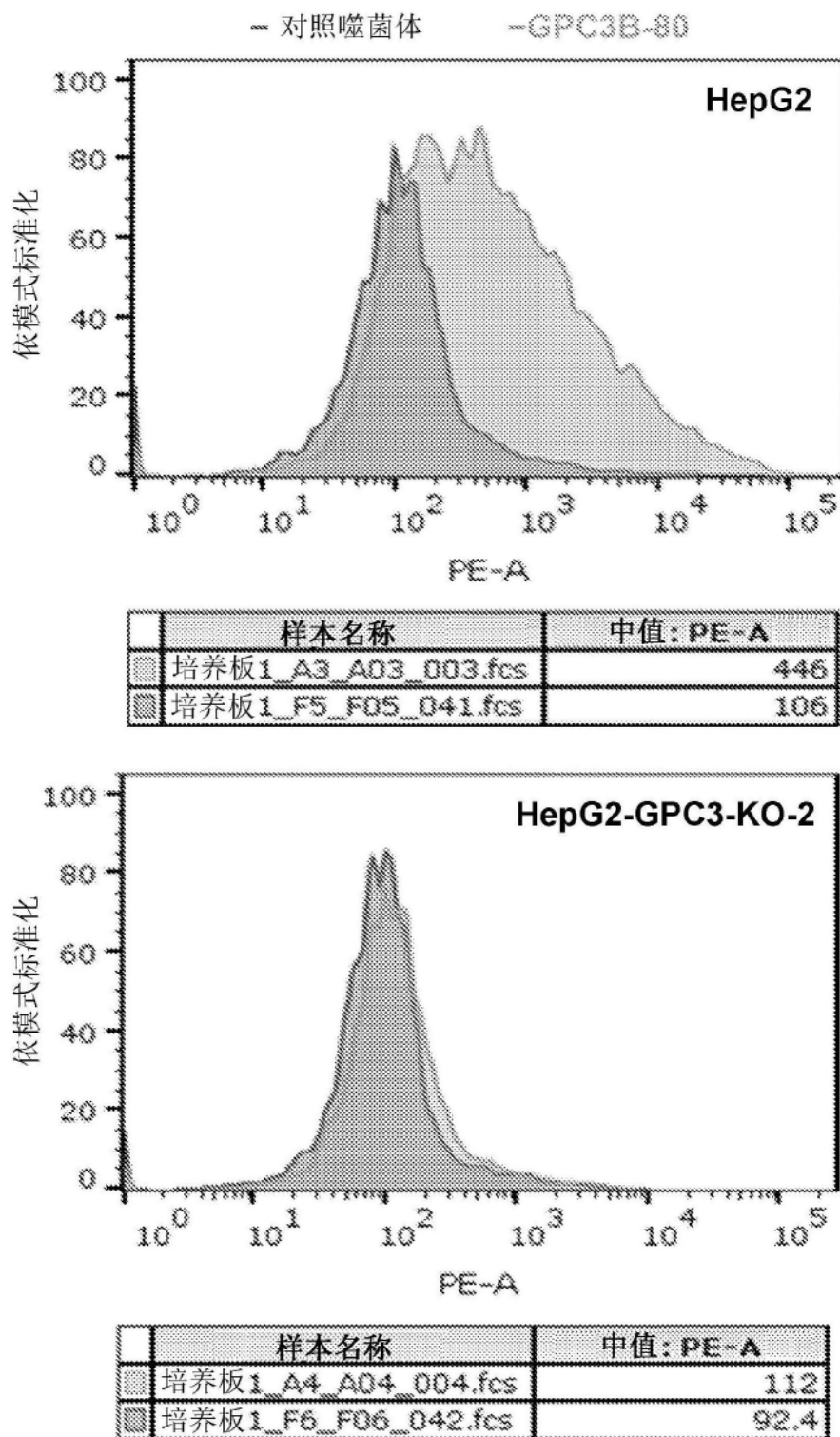


图3A

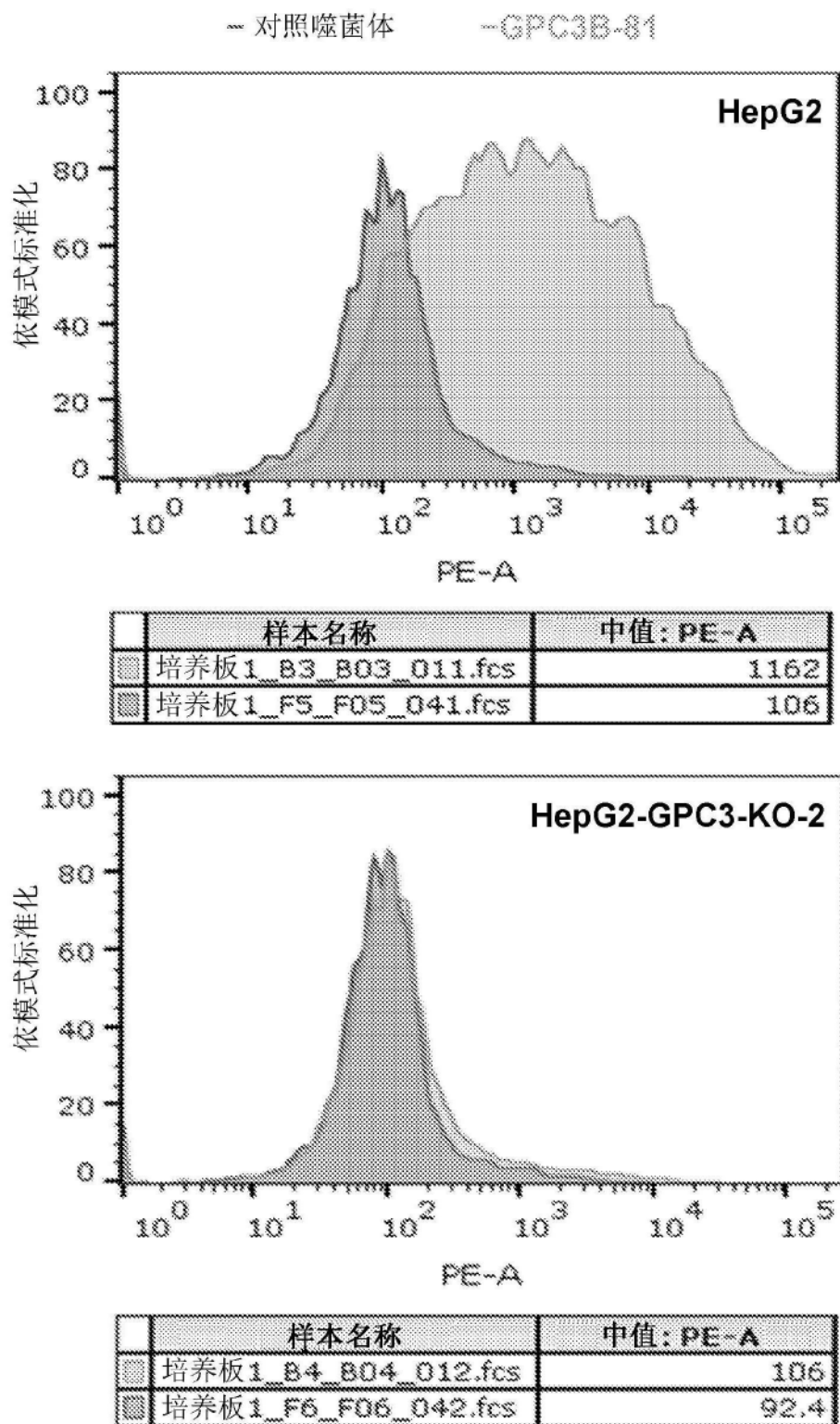


图3B

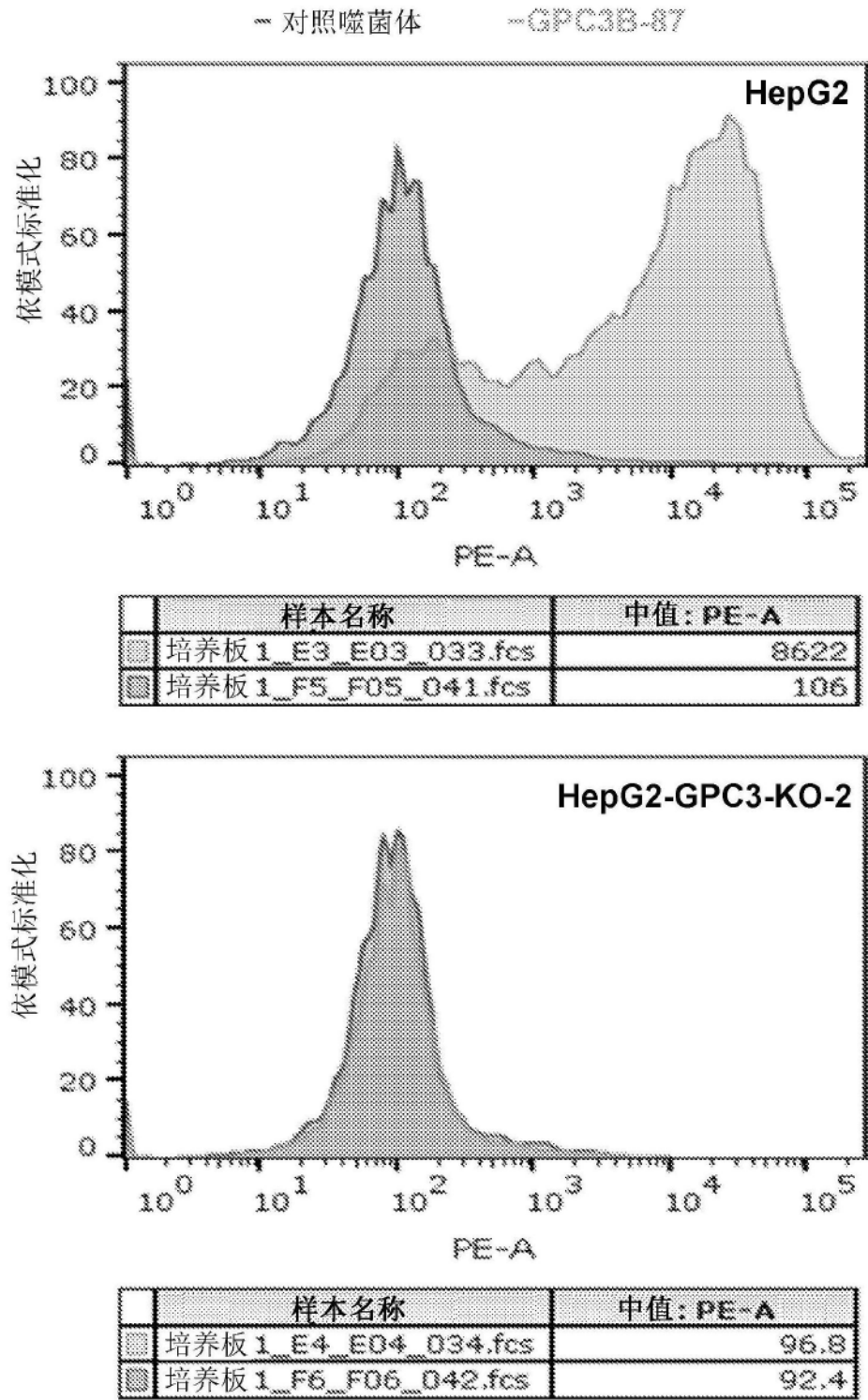


图3C

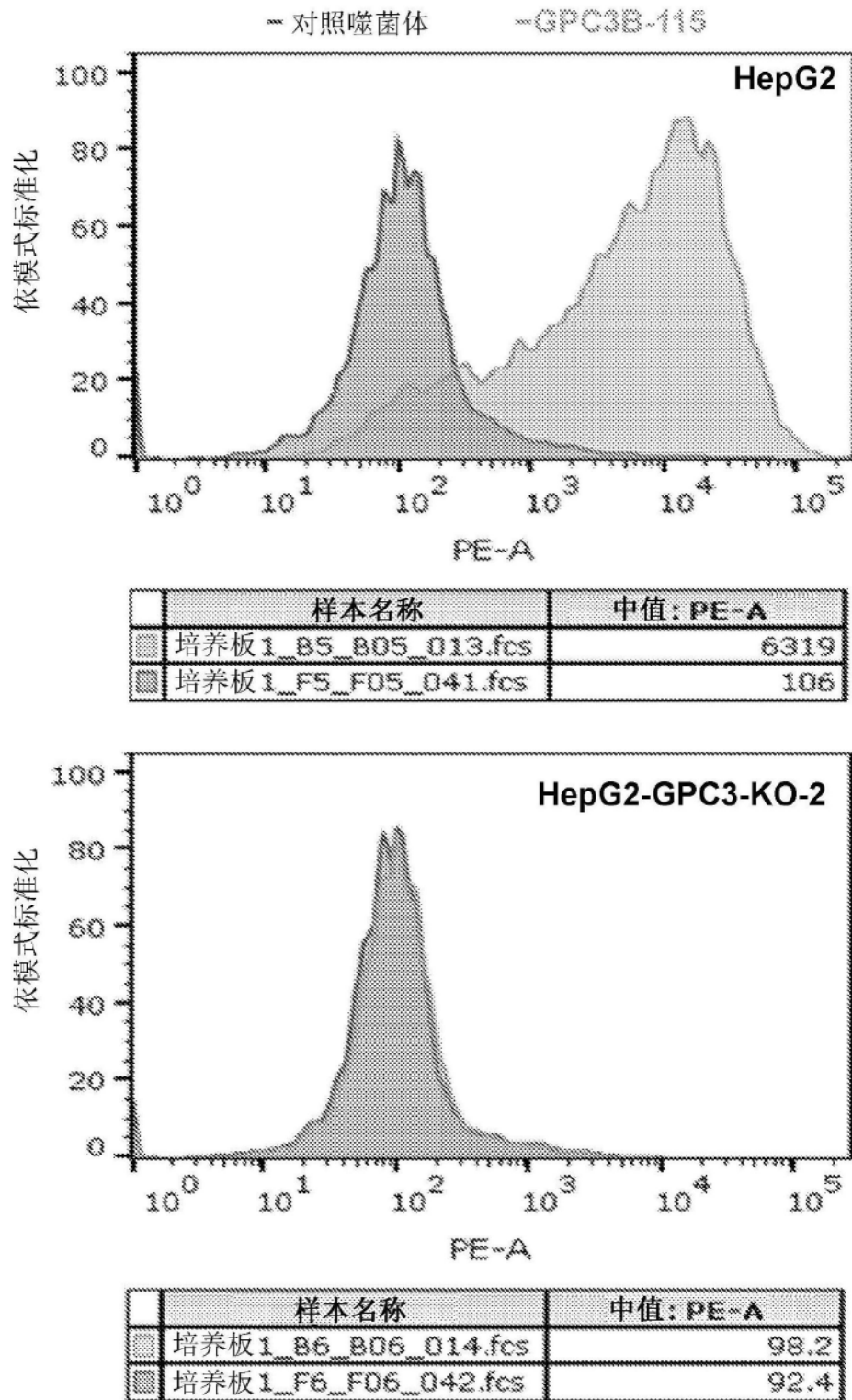
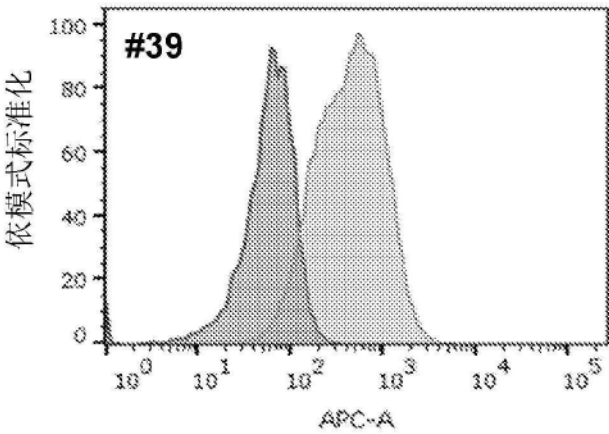
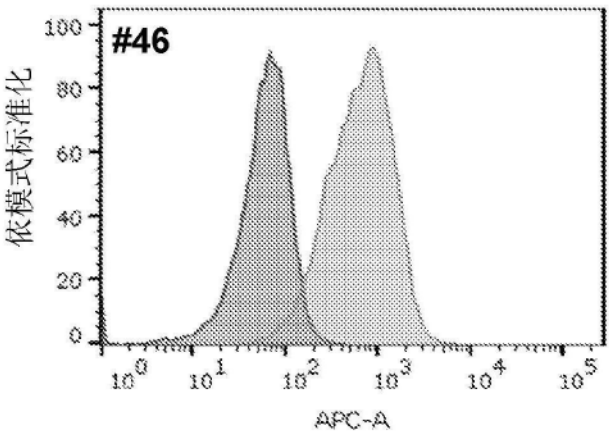


图3D

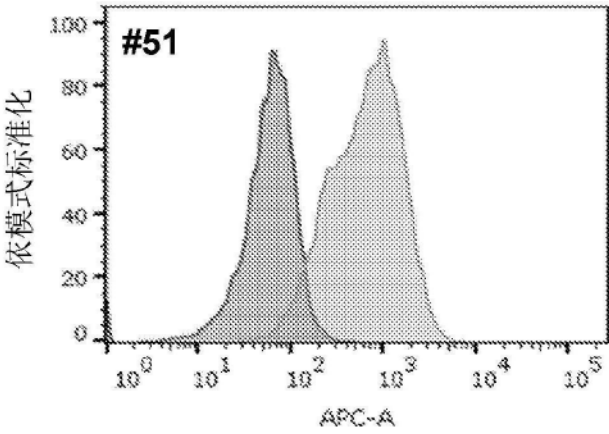
-SK-Hep1
-SK-Hep1-GPC3



样本名称	中值: PE-A
培养板1_Hep1-GPC3_A2_A02_002.fc	448
培养板1_Hep1-GPC3_A1_A01_001.fc	61.6



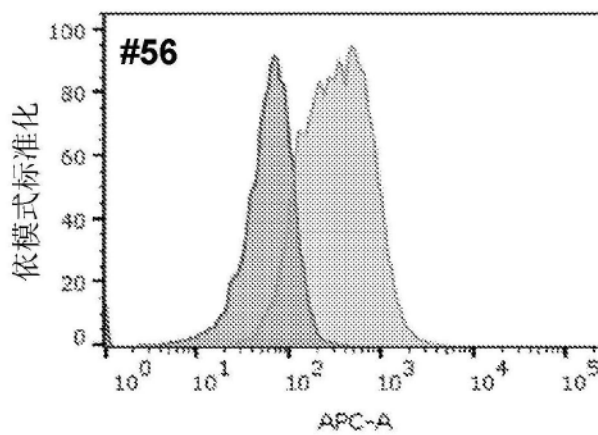
样本名称	中值: PE-A
培养板1_Hep1-GPC3_B2_B02_006.fc	657
培养板1_Hep1-GPC3_B1_B01_005.fc	61.6



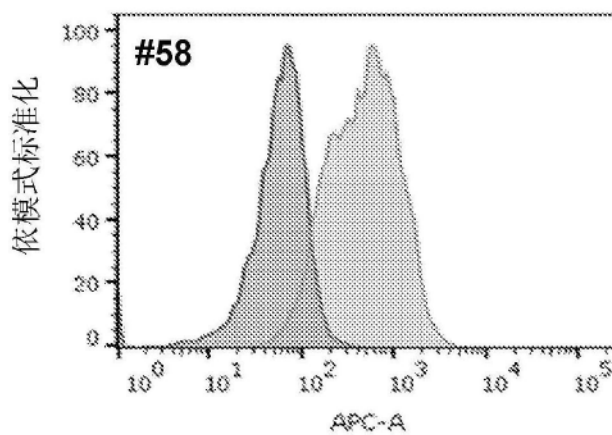
样本名称	中值: PE-A
培养板1_Hep1-GPC3_C2_C02_010.fc	677
培养板1_Hep1-GPC3_C1_C01_009.fc	61.6

图4A

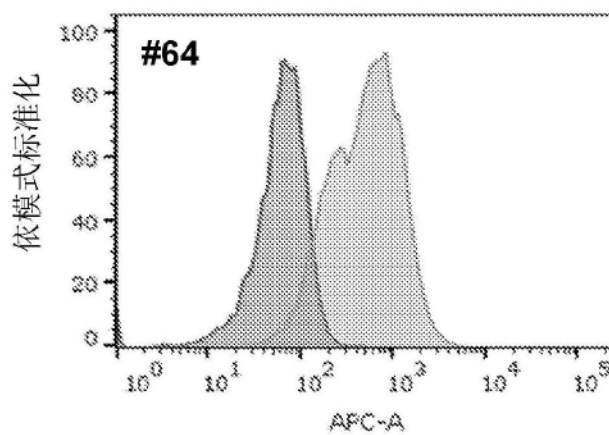
-SK-Hep1
-SK-Hep1-GPC3



样本名称	中值: PE-A
培养板1_Hep1-GPC3_D2_D02_014.fc	328
培养板1_Hep1-GPC3_D1_D01_013.fc	62.9



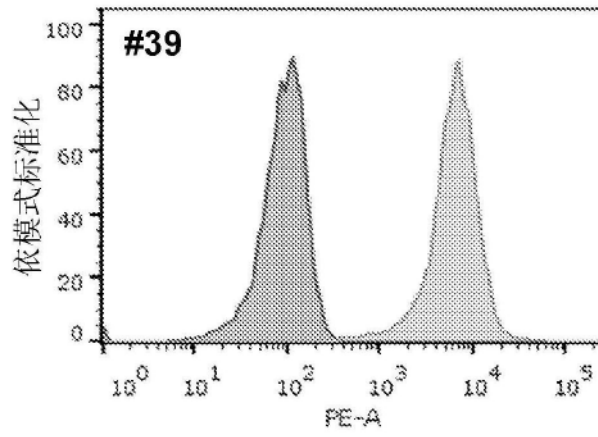
样本名称	中值: PE-A
培养板1_Hep1-GPC3_E2_E02_016.fc	478
培养板1_Hep1-GPC3_E1_E01_015.fc	60.4



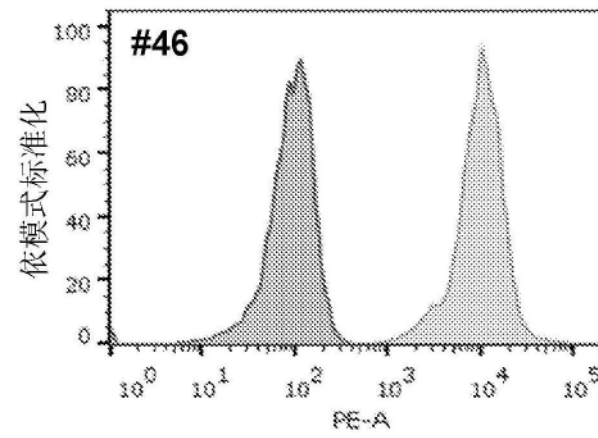
样本名称	中值: PE-A
培养板1_Hep1-GPC3_F2_F02_018.fc	525
培养板1_Hep1-GPC3_F1_F01_017.fc	64.2

图4B

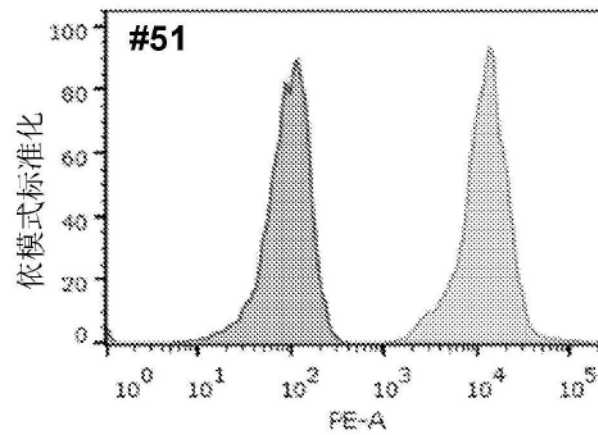
— 对照L2K
- GPC3A L2K



	样本名称	中值: PE-A
	HepG2_A2_A02_001.fcs	6377
	HepG2_G2_G02_009.fcs	93.8



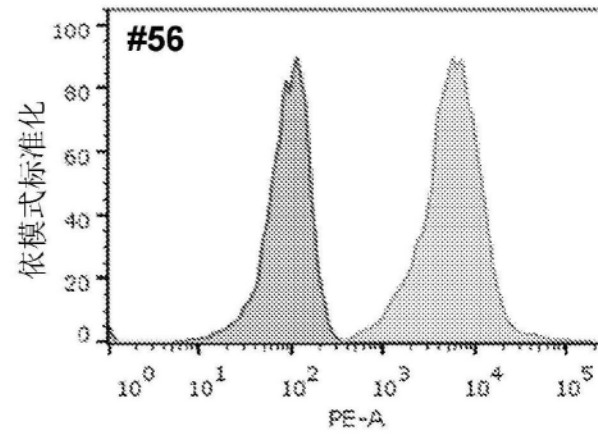
	样本名称	中值: PE-A
	HepG2_B2_B02_003.fcs	9862
	HepG2_G2_G02_009.fcs	93.8



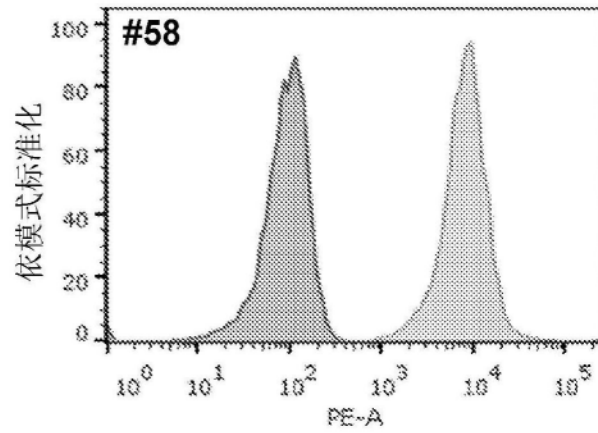
	样本名称	中值: PE-A
	HepG2_C2_C02_005.fcs	12156
	HepG2_G2_G02_009.fcs	93.8

图5A

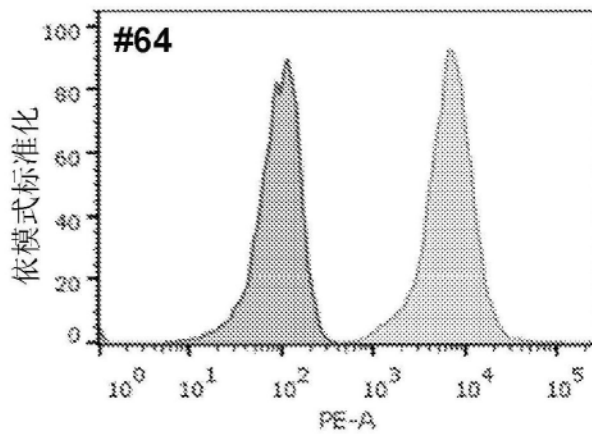
— 对照L2K
— GPC3A L2K



样本名称	中值: PE-A
HepG2_D2_D02_006.fcs	5628
HepG2_G2_G02_009.fcs	93.8



样本名称	中值: PE-A
HepG2_E2_E02_007.fcs	8027
HepG2_G2_G02_009.fcs	93.8



样本名称	中值: PE-A
HepG2_F2_F02_008.fcs	6602
HepG2_G2_G02_009.fcs	93.8

图5B

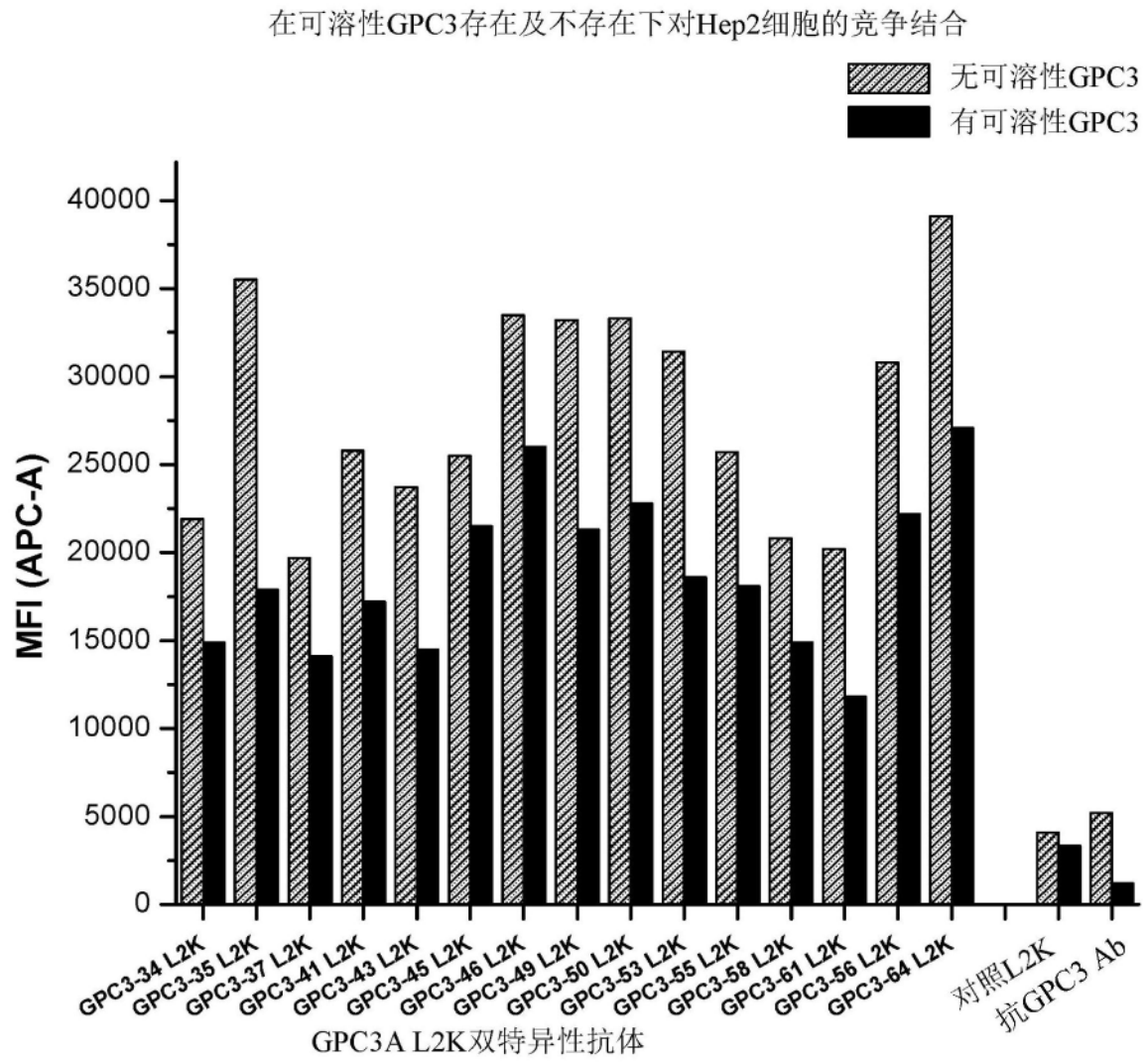


图6

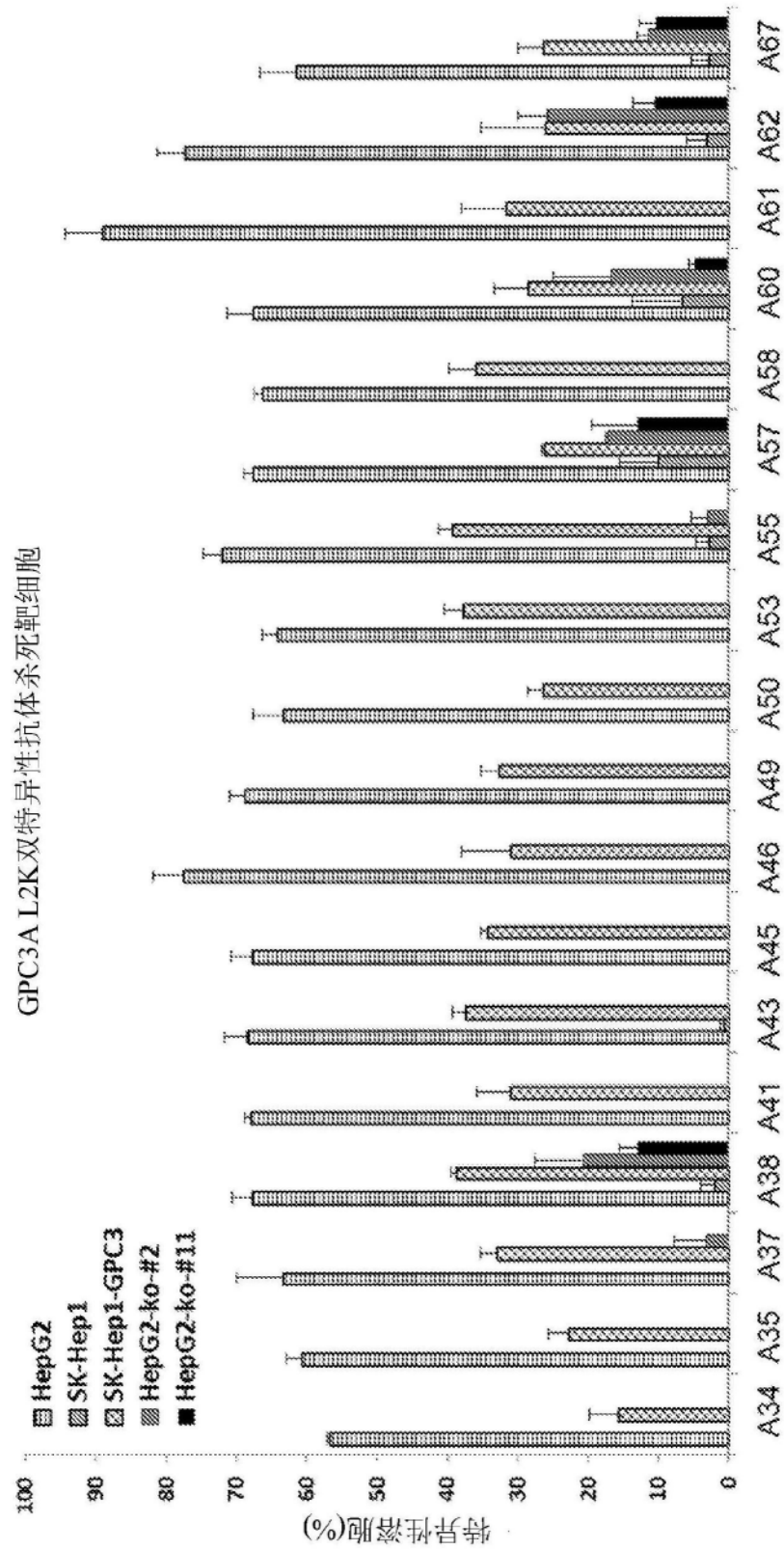


图7A

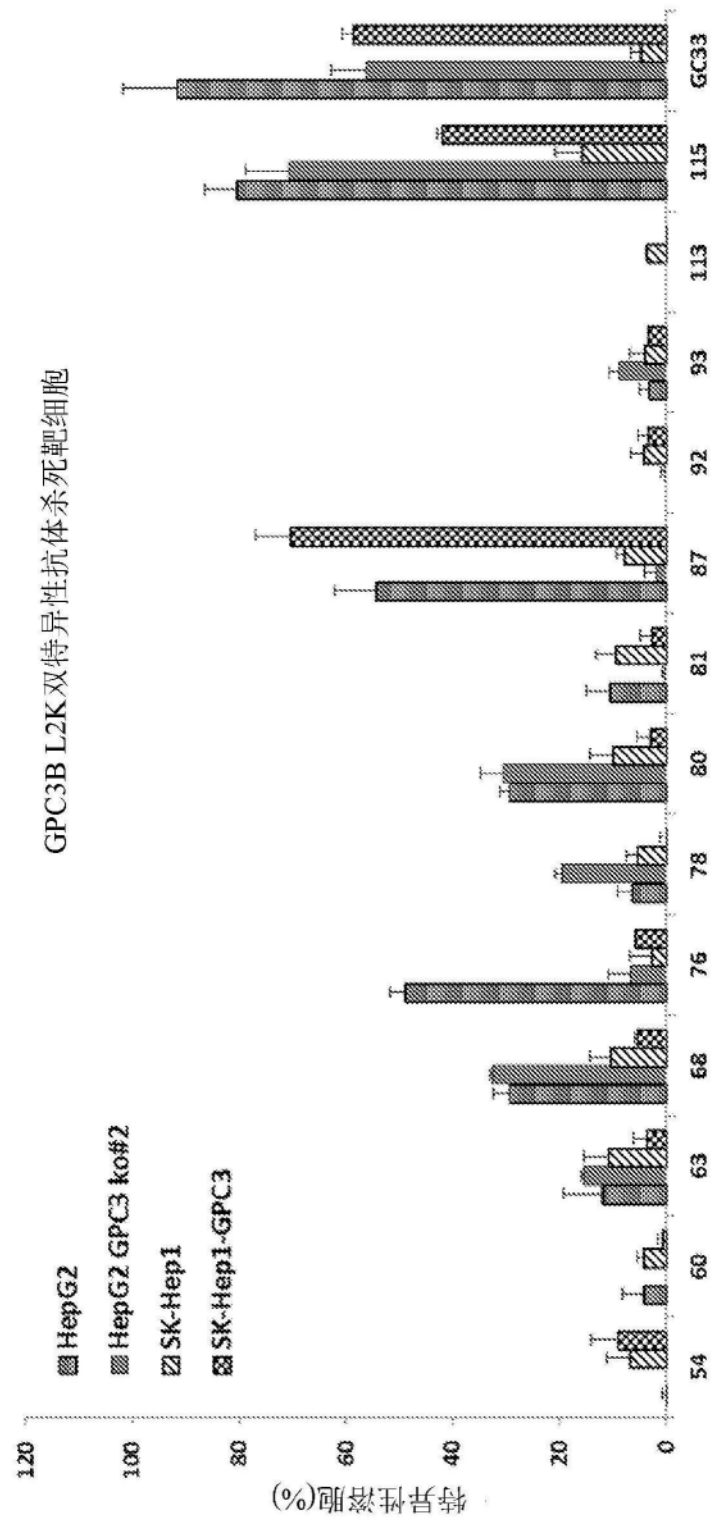


图7B



图8

L2K通过sGPC3对HepG2细胞的竞争结合

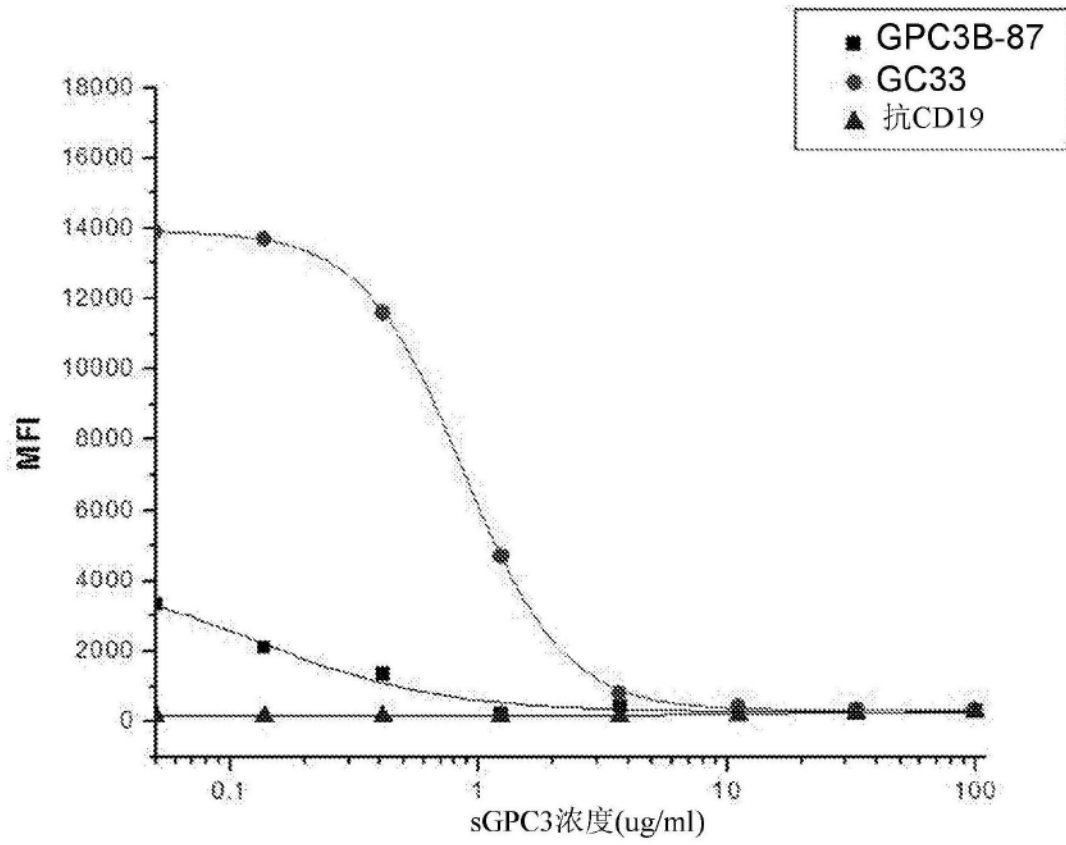


图10

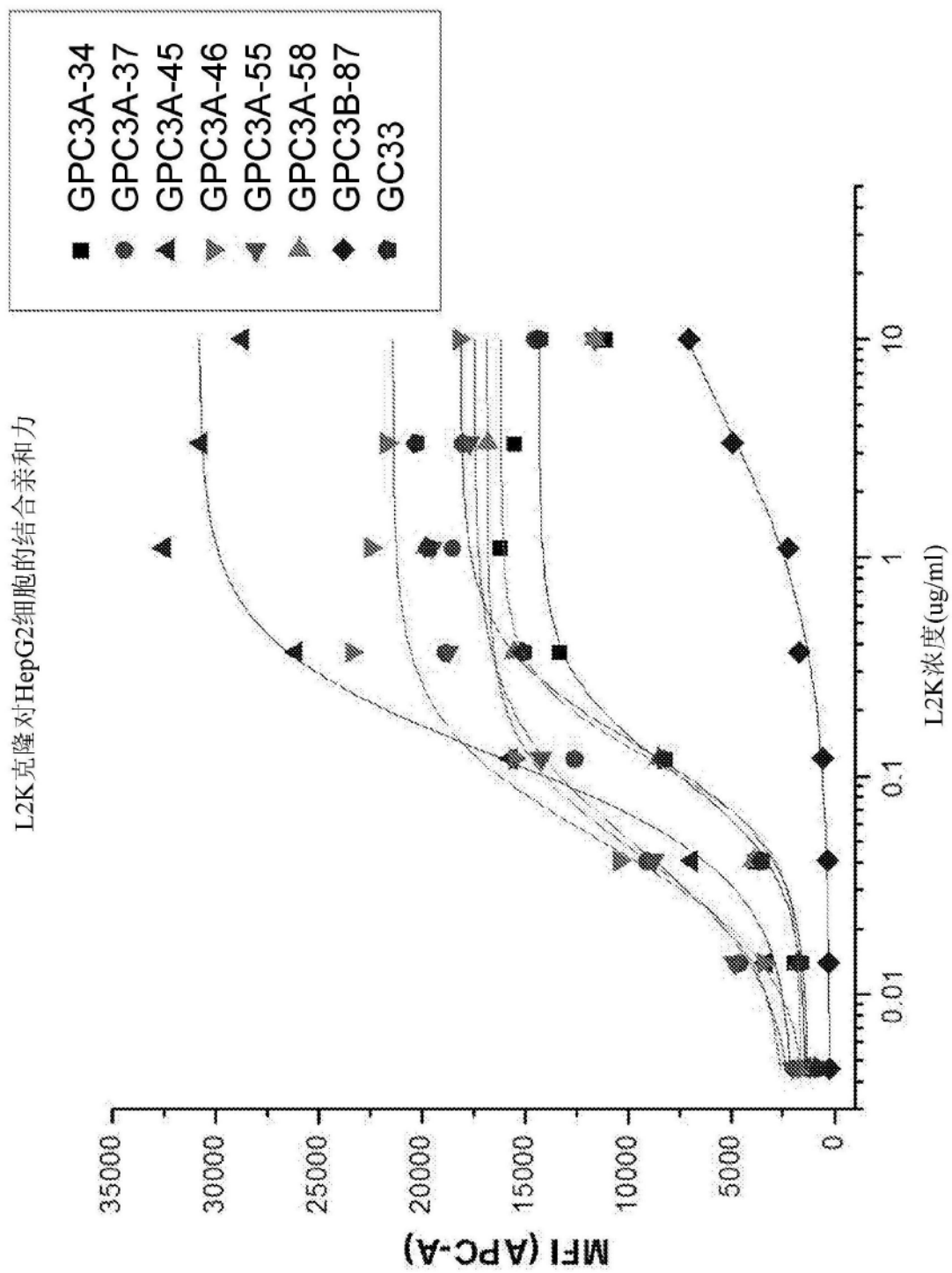


图11

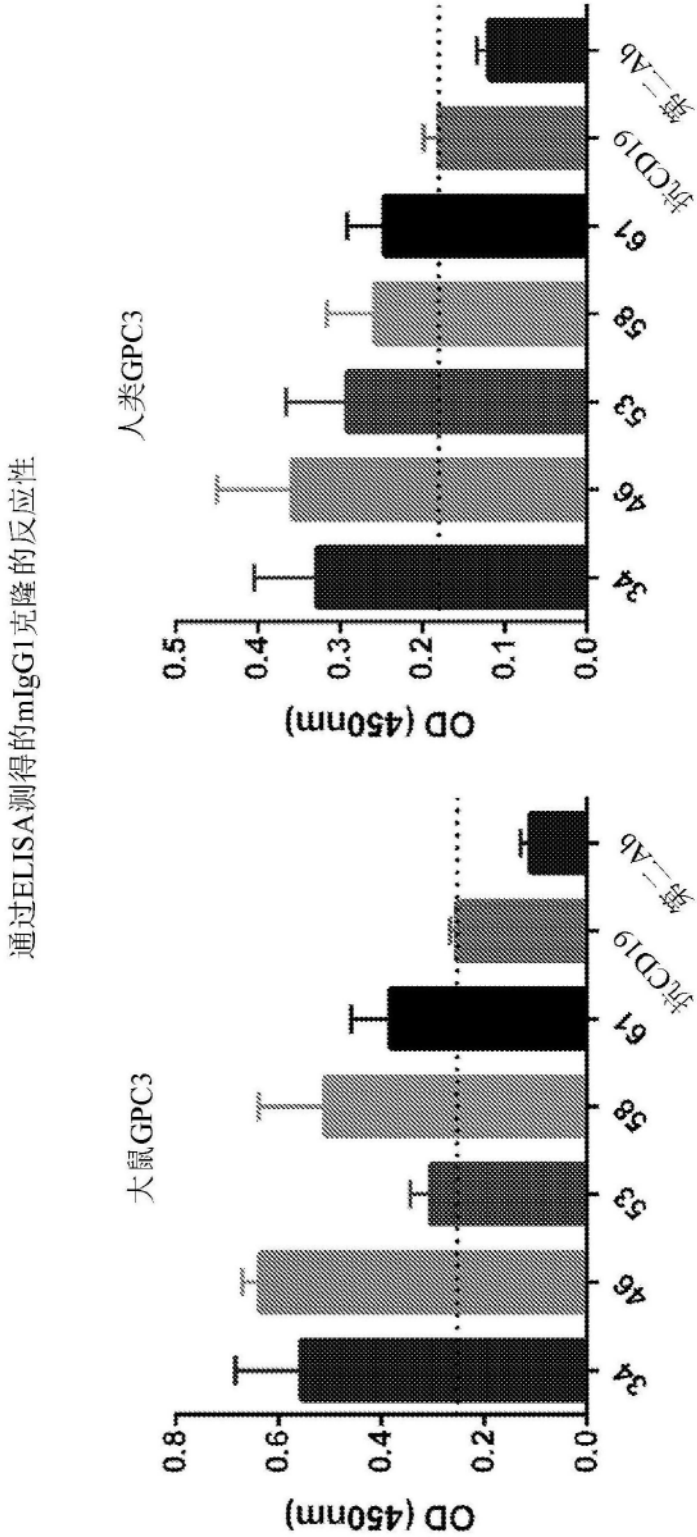


图12

抗原决定基分组分析

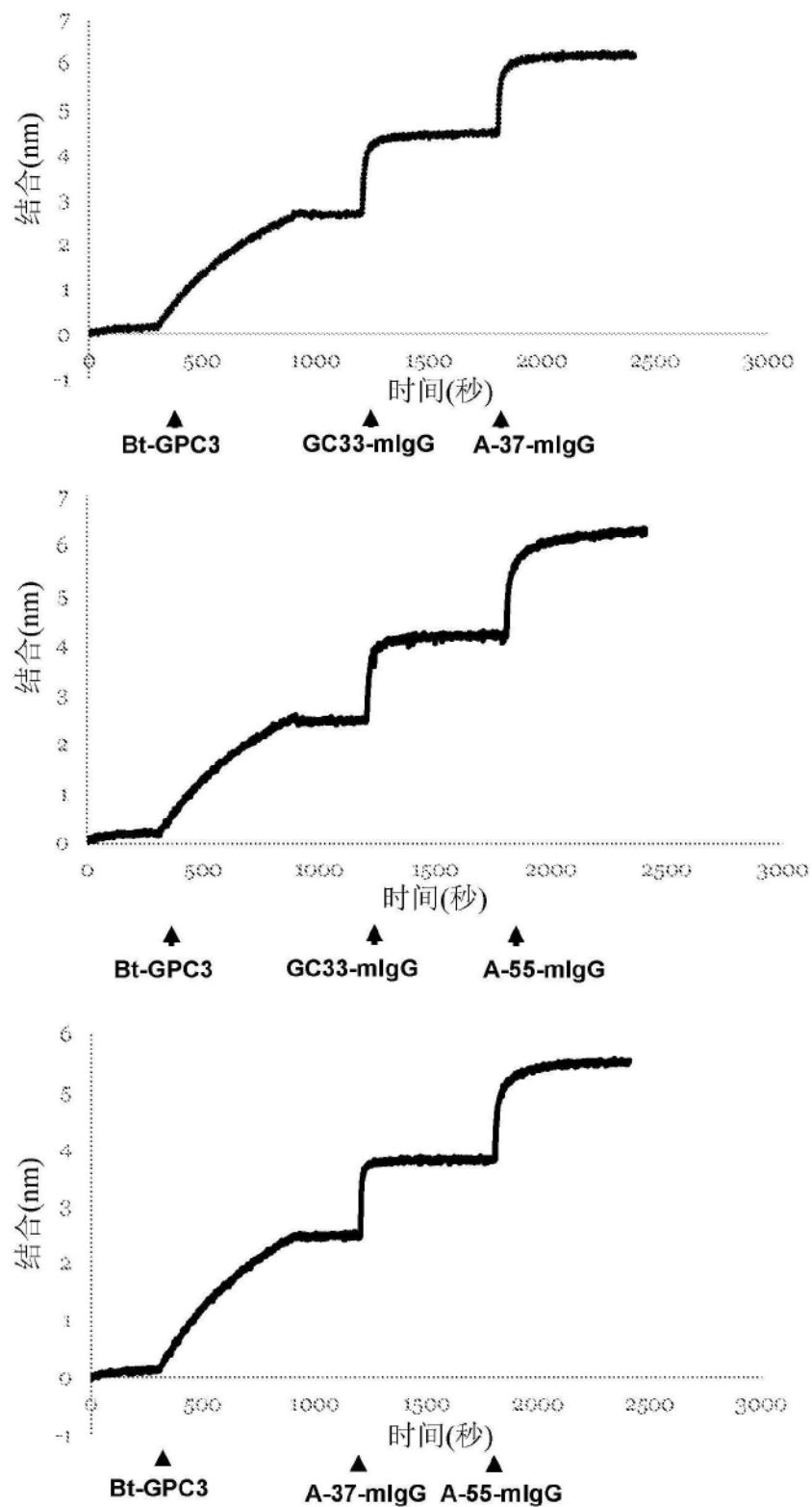


图13

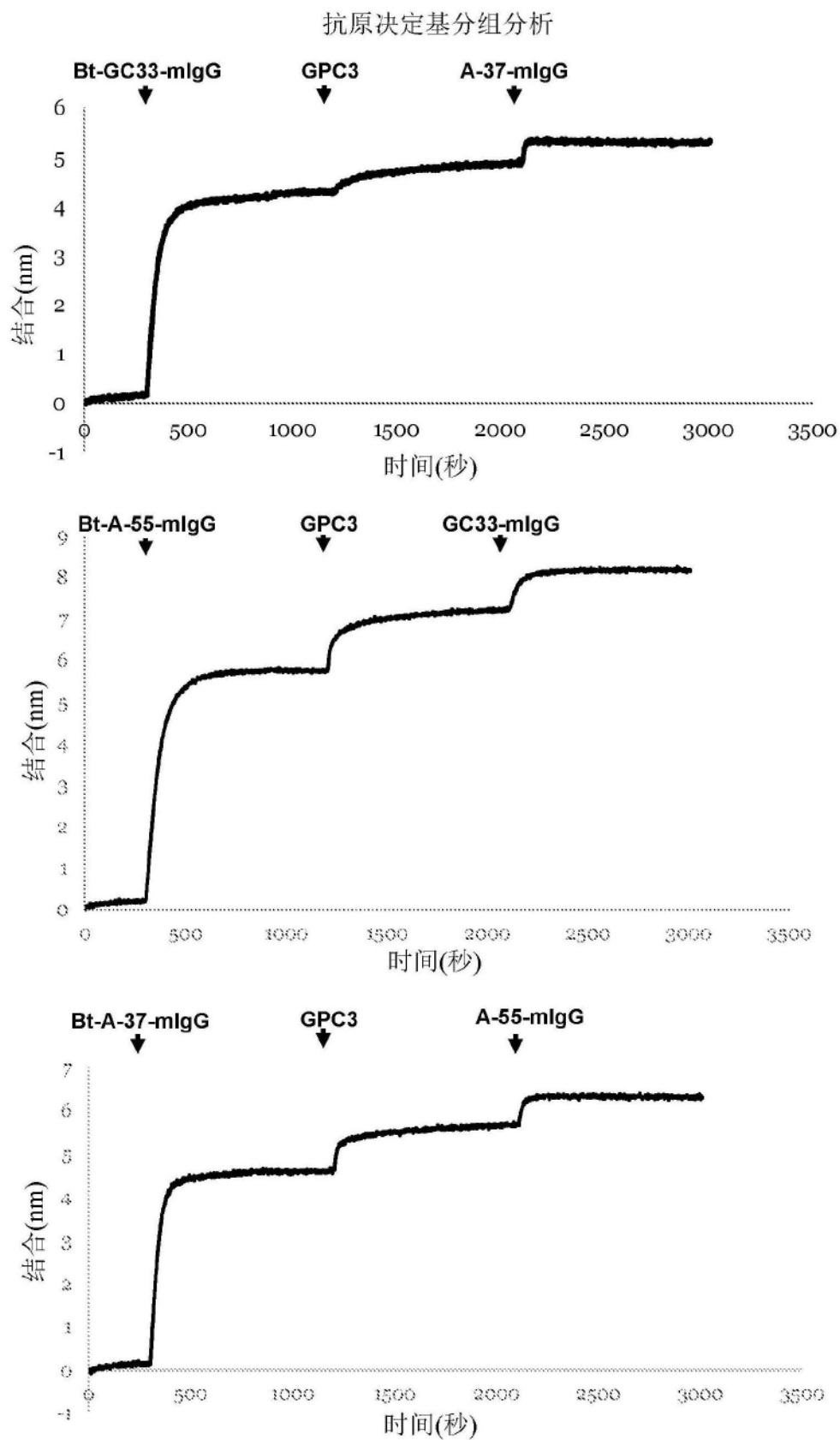


图14

GPC3A L2K克隆与GPC3抗原之间的结合动力学

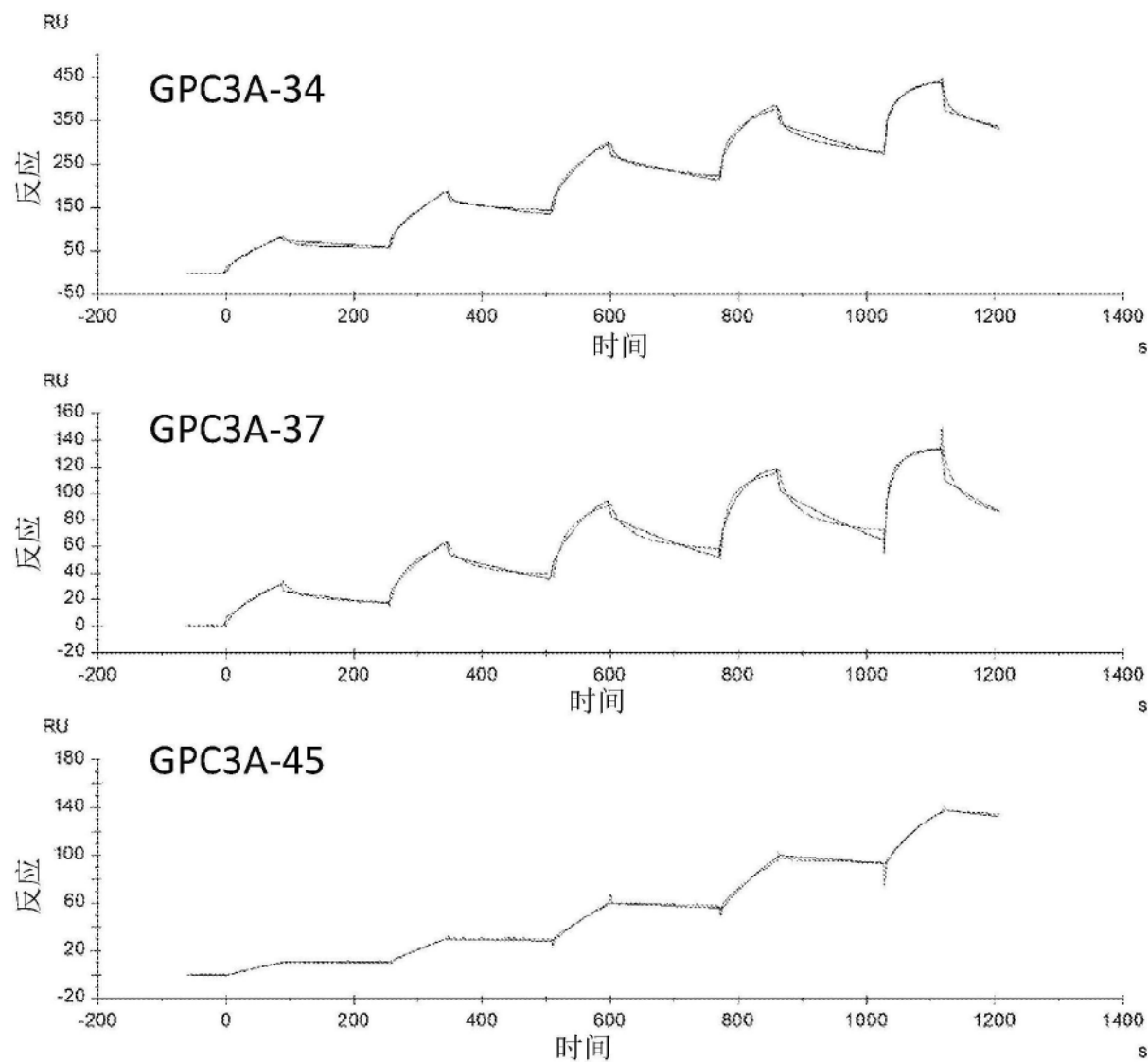


图15A

GPC3A L2K克隆与GPC3抗原之间的结合动力学

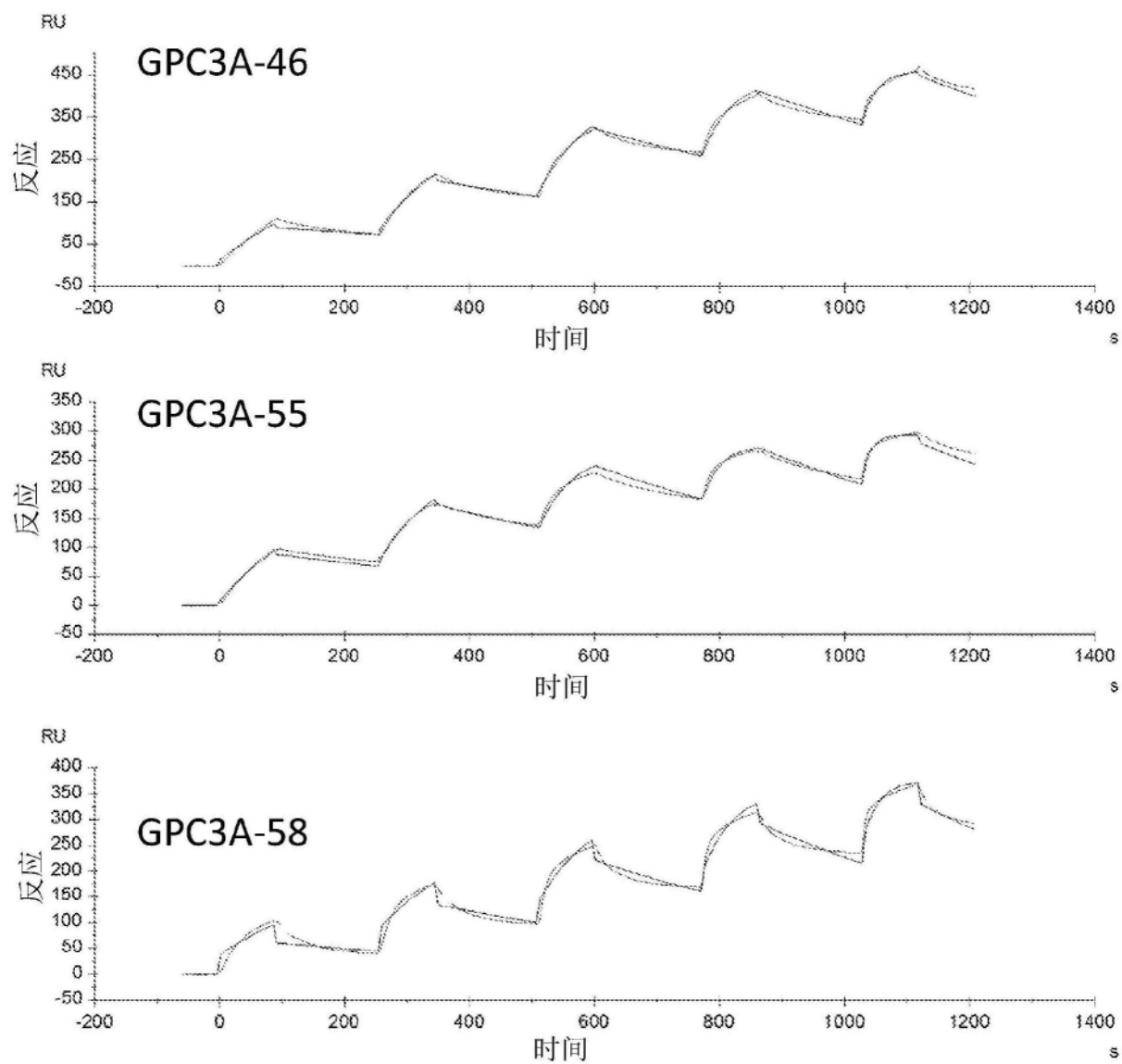


图15B

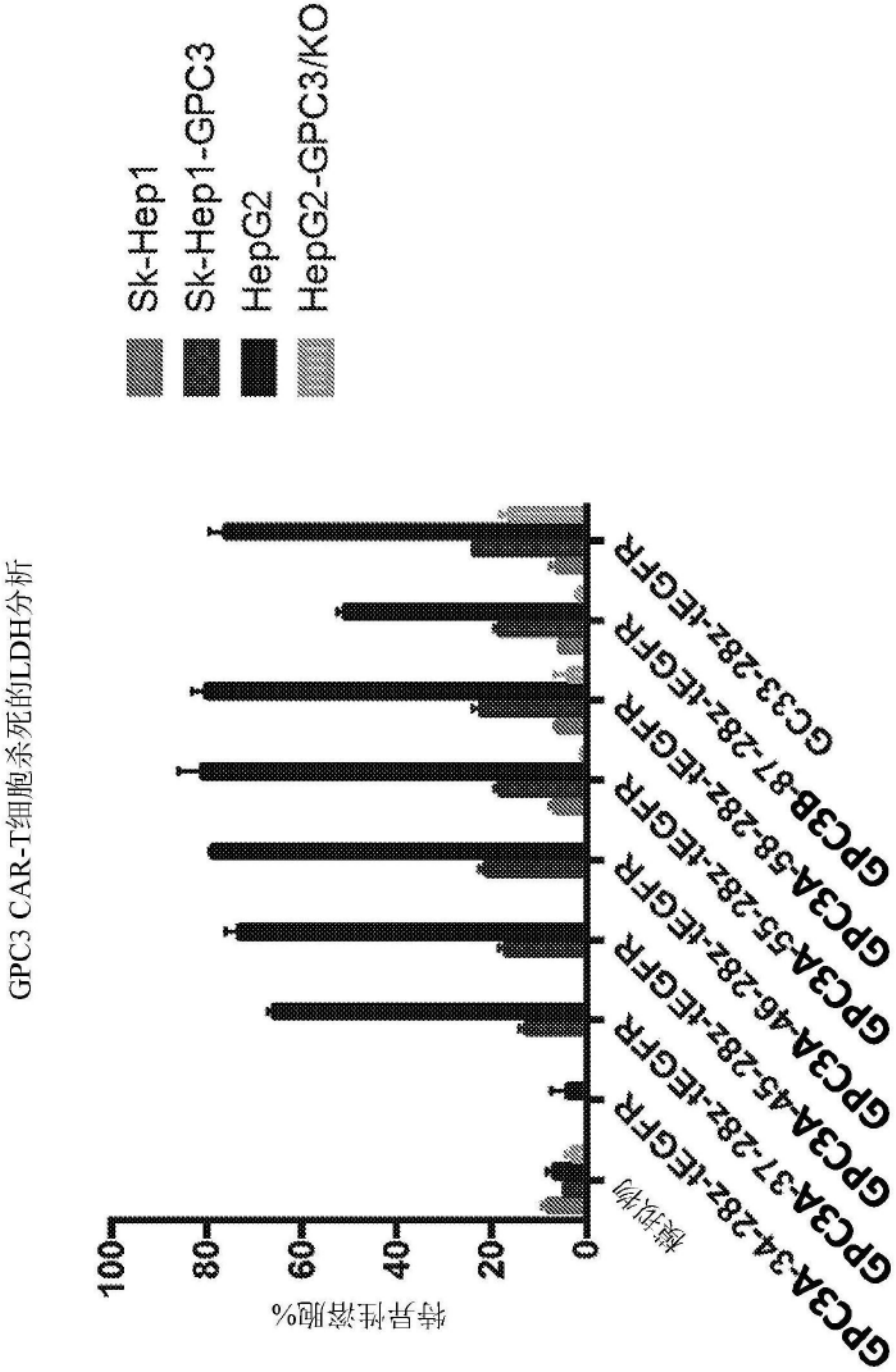


图16

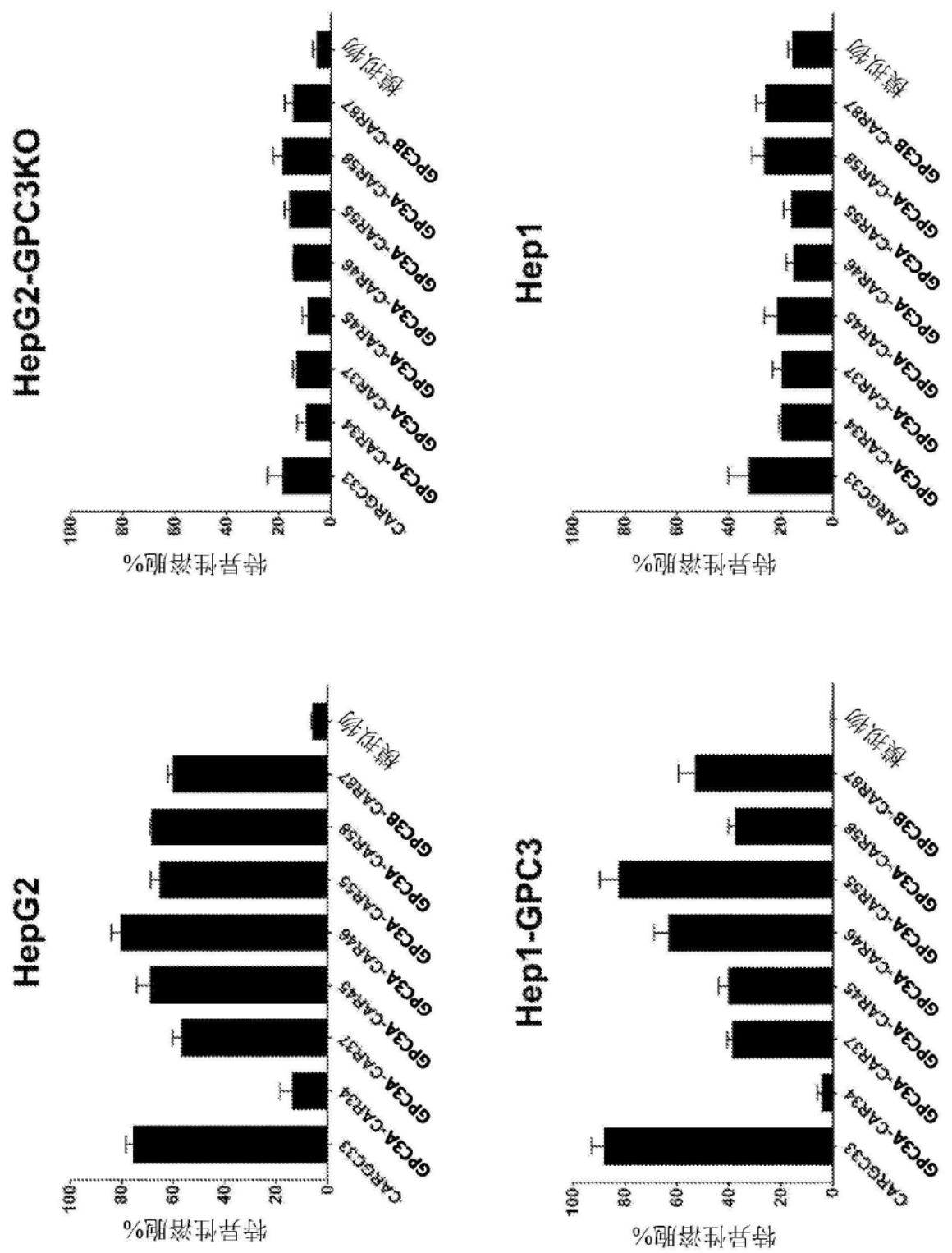


图17A

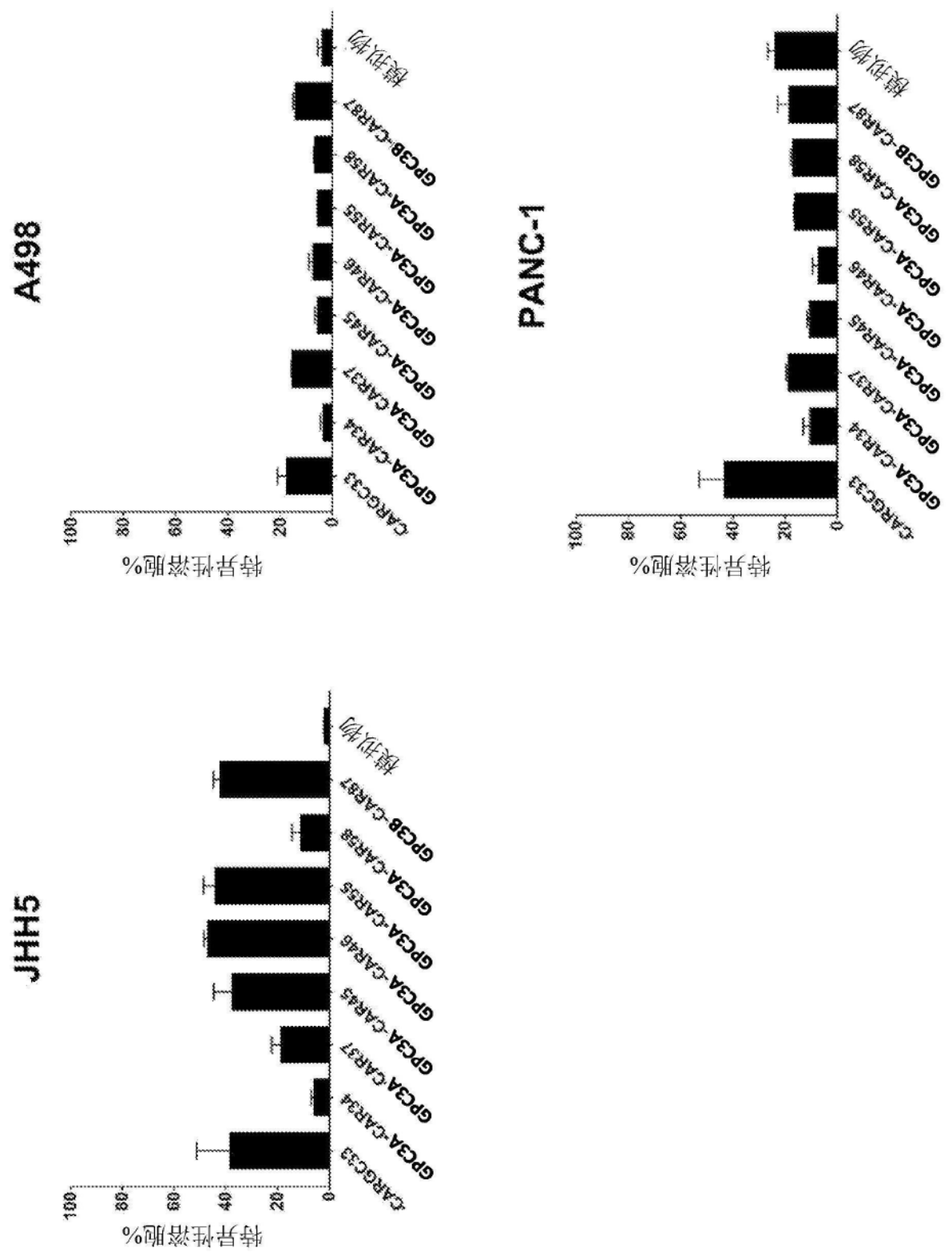


图17B

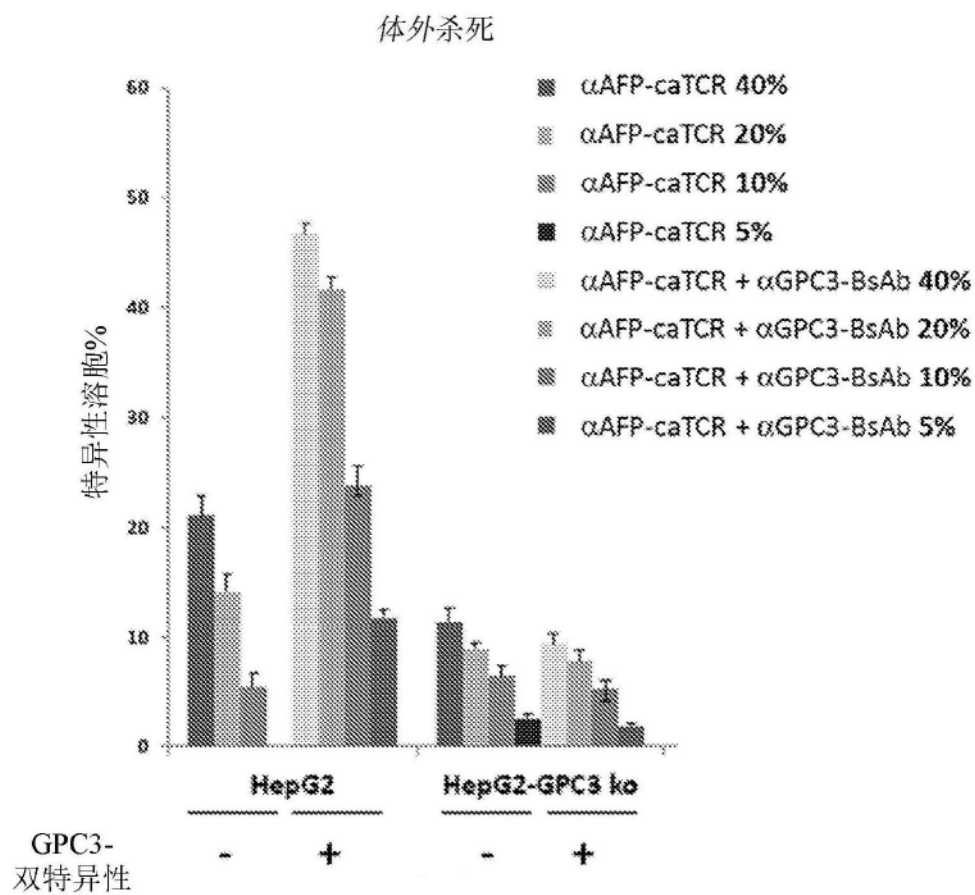


图18

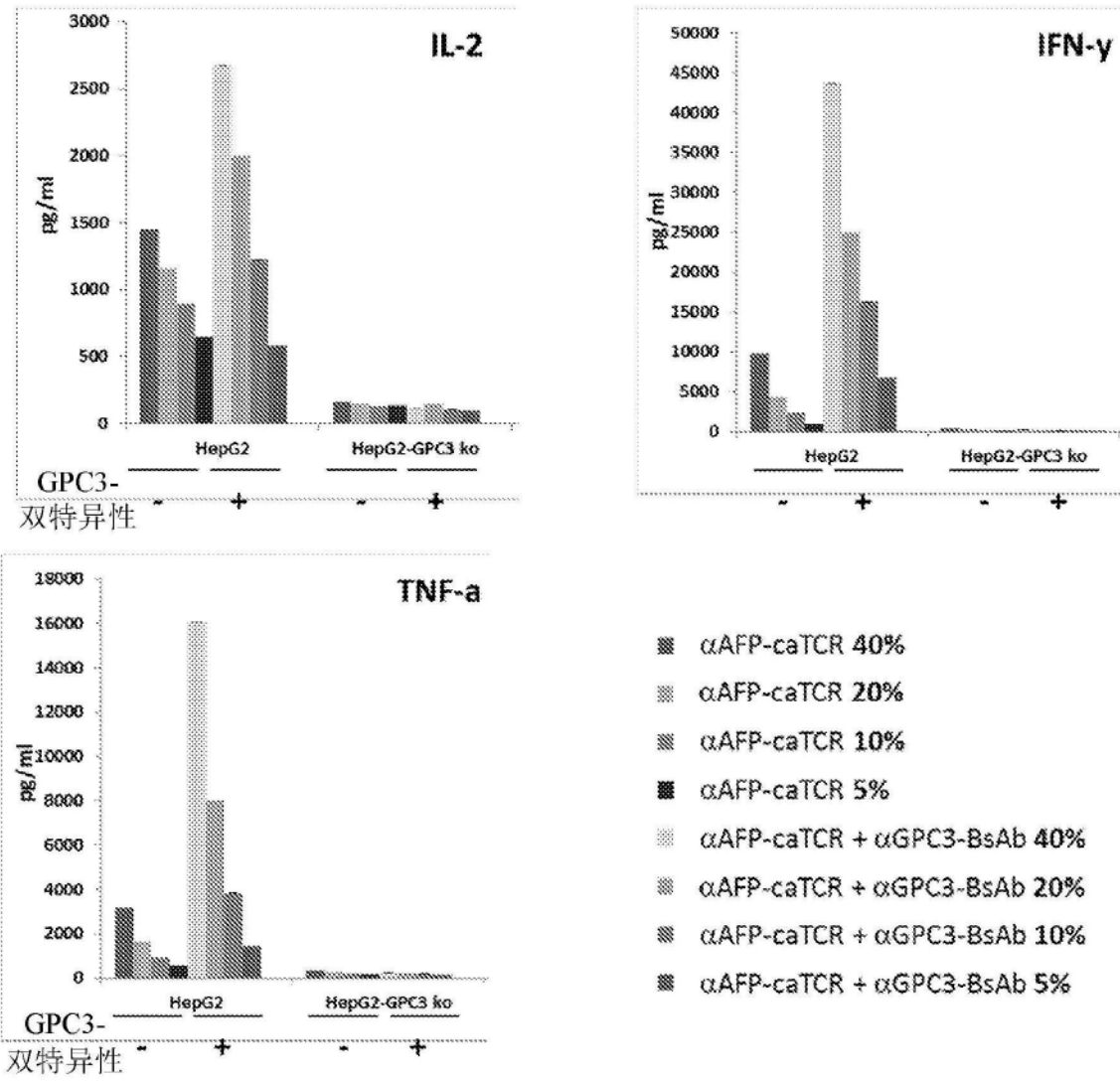


图19

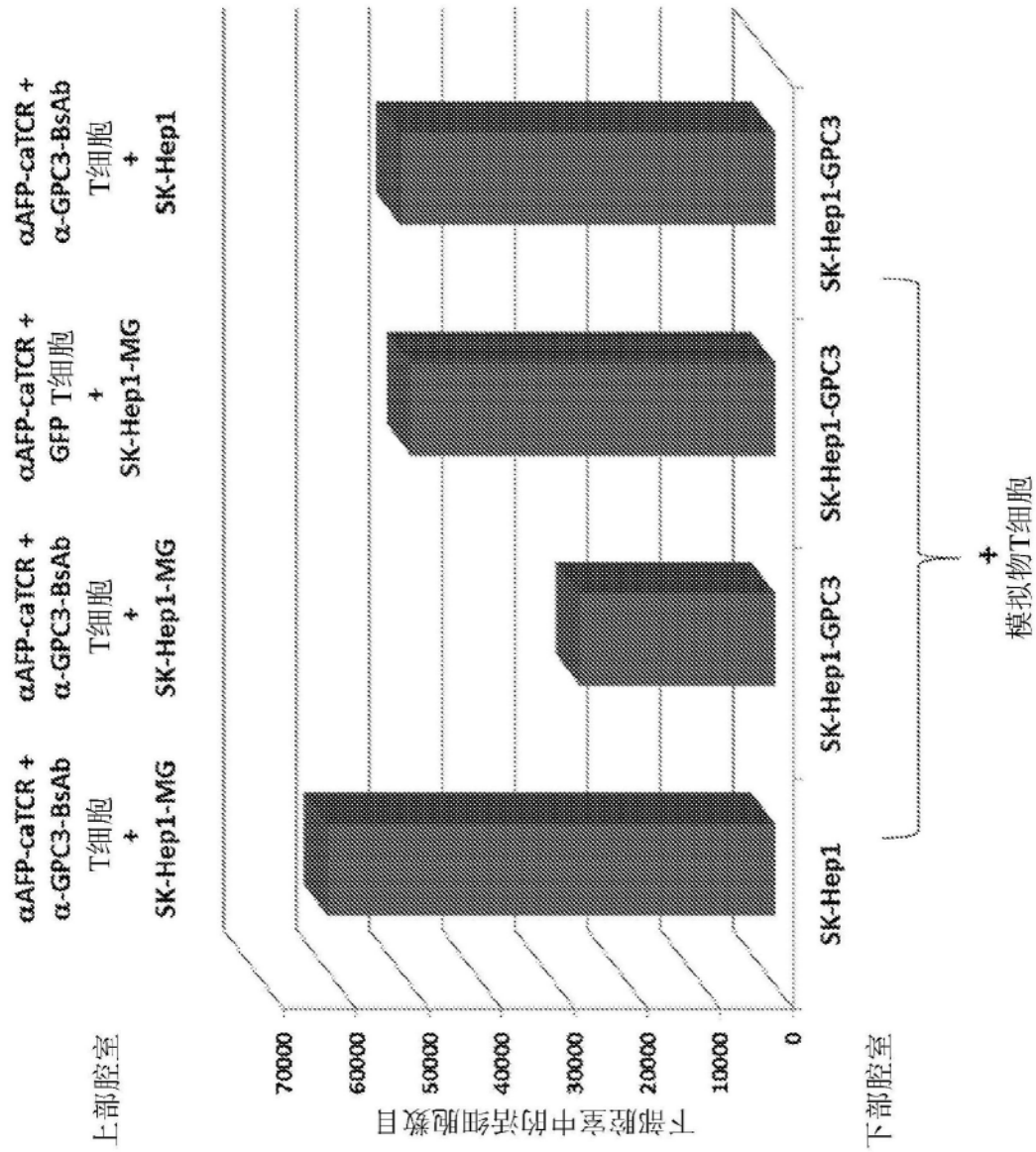


图20

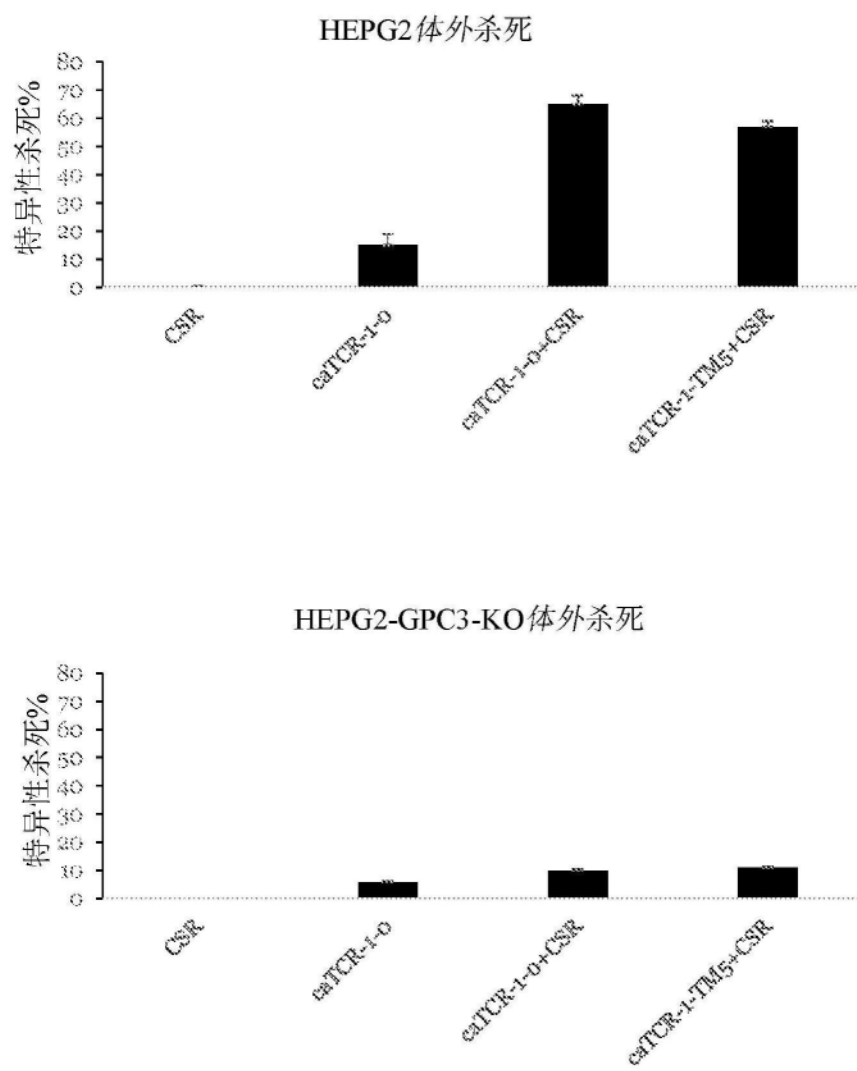


图21

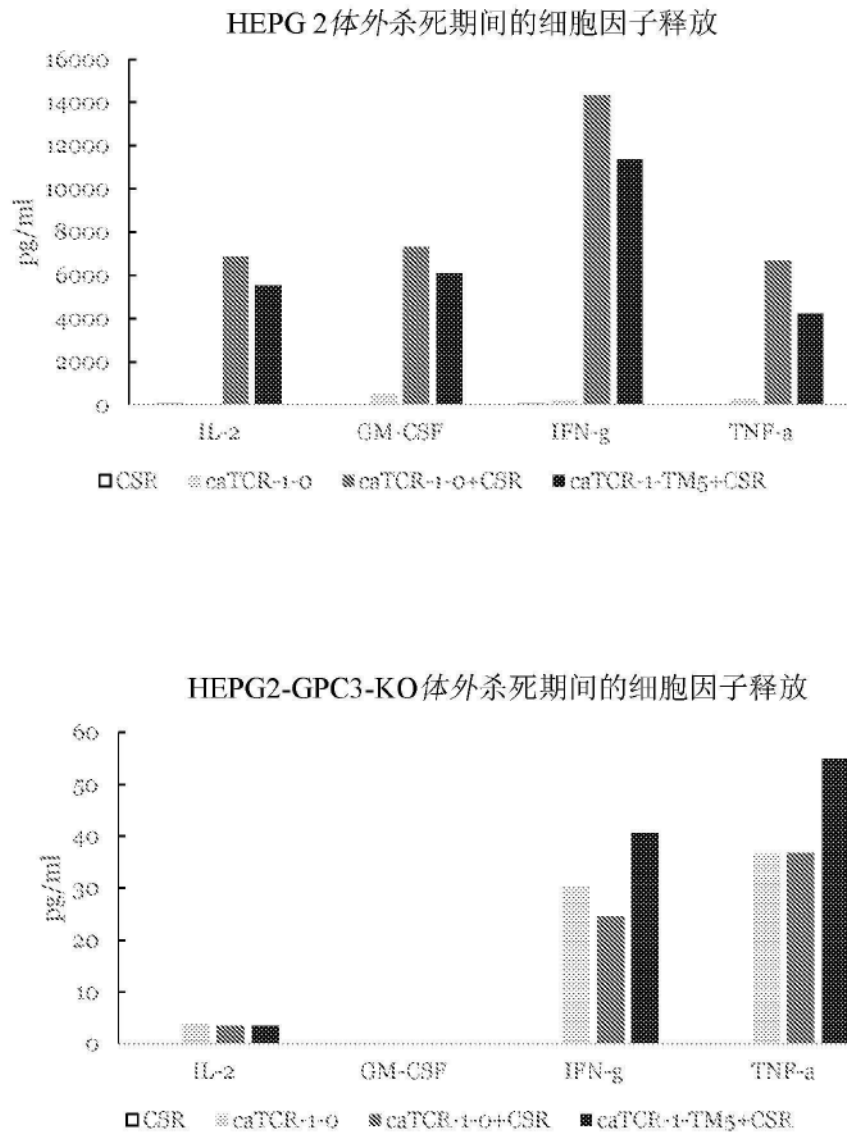


图22

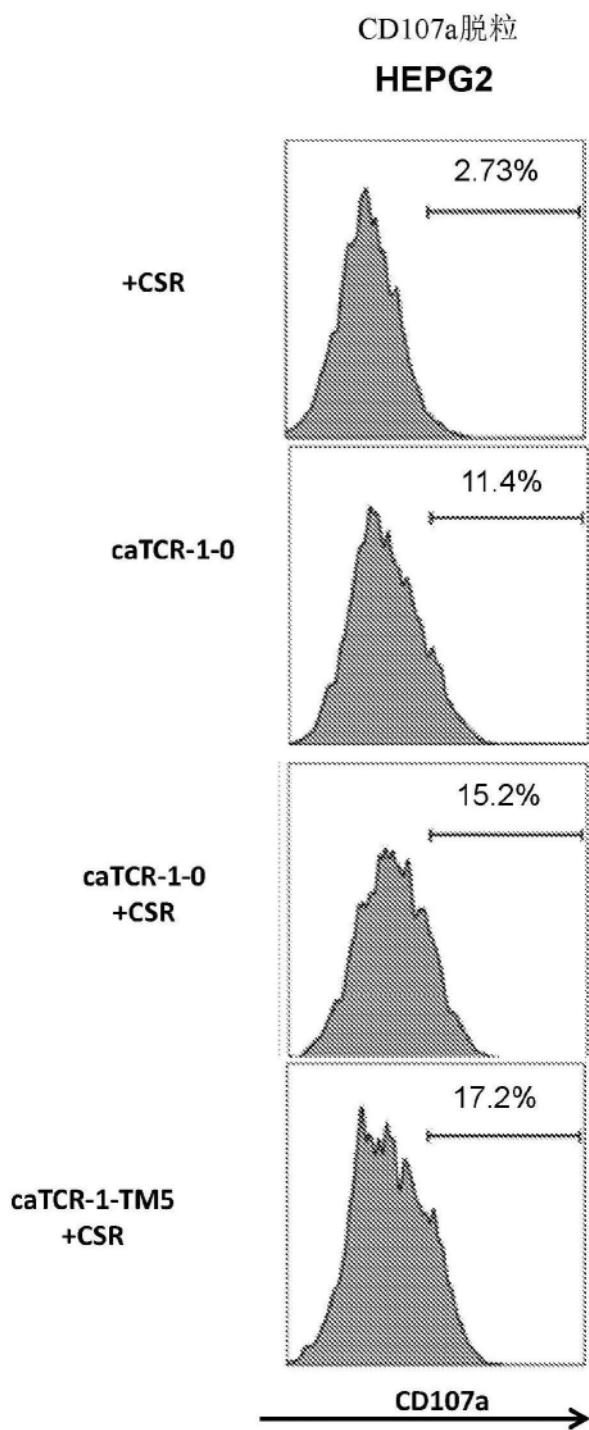


图23

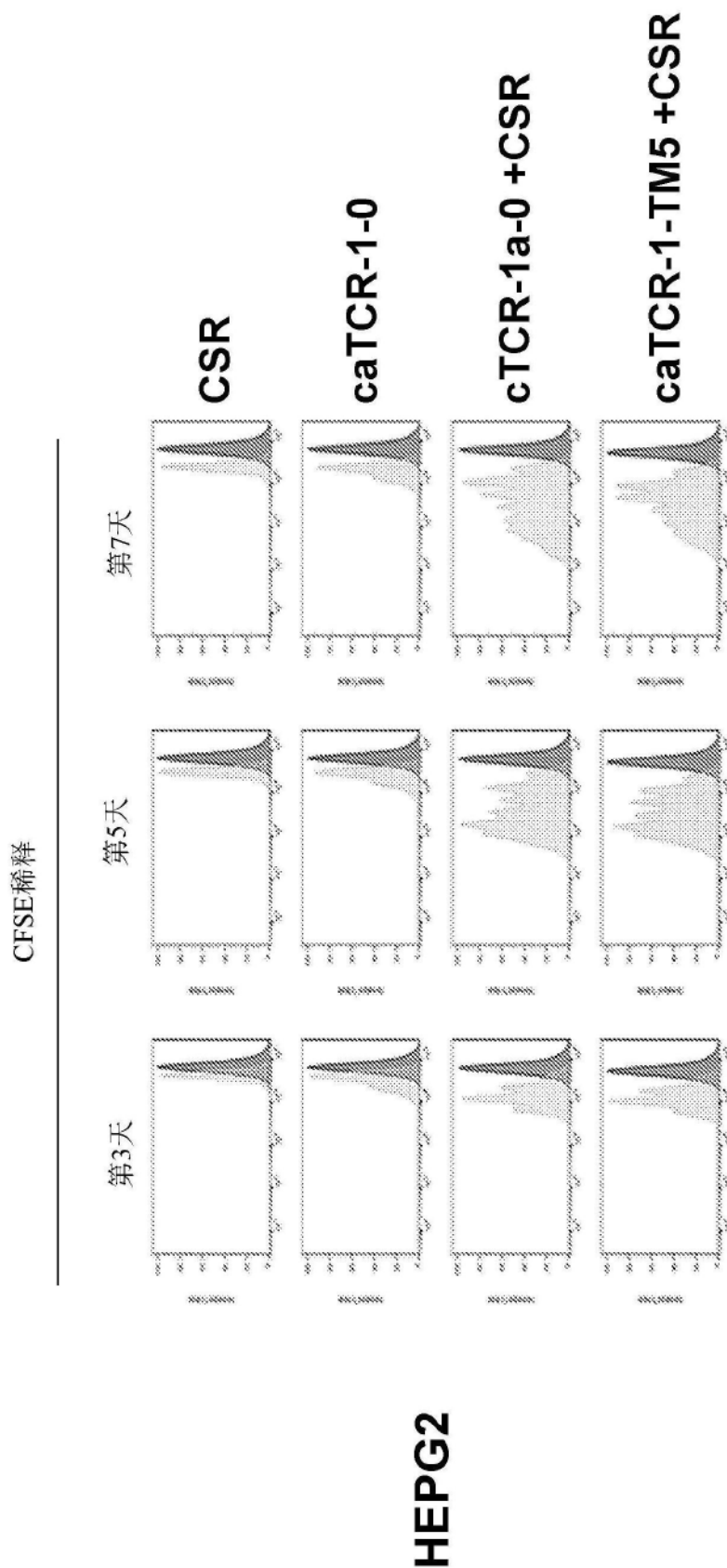


图24

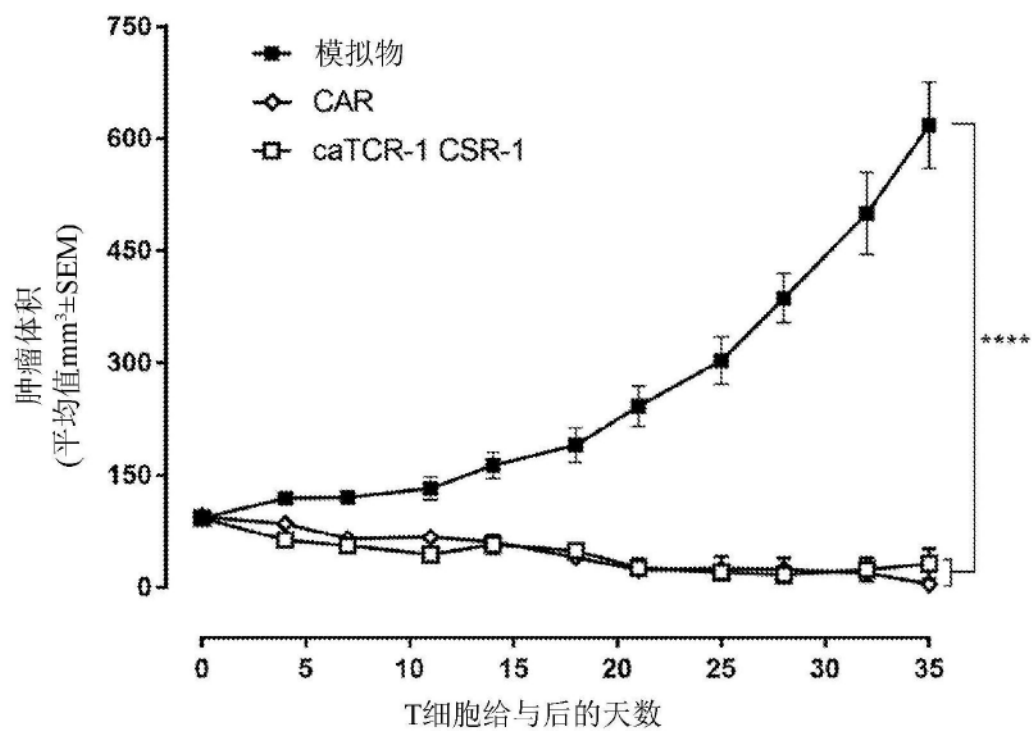


图25