

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(21) **201991385** (13) **A1**

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2019.12.30

(22) Дата подачи заявки
2018.01.10

(51) Int. Cl. *C12N 15/09* (2006.01)
C07K 16/18 (2006.01)
C12N 1/15 (2006.01)
C12N 1/19 (2006.01)
C12N 1/21 (2006.01)
C12N 5/10 (2006.01)
G01N 33/574 (2006.01)
C12P 21/08 (2006.01)

(54) АНТИ-GPC3-АНТИТЕЛО

(31) 2017-001732

(32) 2017.01.10

(33) JP

(86) PCT/JP2018/000257

(87) WO 2018/131586 2018.07.19

(71) Заявитель:
**ЯМАГУТИ ЮНИВЕРСИТИ;
НЭШНЛ КЭНСЕР СЕНТЕР; НОЙЛ-
ИММЬОН БАЙОТЕК, ИНК. (JP)**

(72) Изобретатель:
**Тамада Кодзи, Сакода Юкими,
Накацура Тецуя, Сайто Кейго (JP)**

(74) Представитель:
Медведев В.Н. (RU)

(57) Объектом настоящего изобретения является анти-GPC3 антитело, которое распознает эпитоп, отличный от эпитопов для существующих антител (например, GC33 и GC199) и может специфически связываться, даже в форме одноцепочечного антитела, с GPC3, расположенного на клеточной мембране; CAR, содержащий анти-GPC3 одноцепочечное антитело; иммунокомпетентная клетка, экспрессирующая CAR; ген анти-GPC3 антитела или ген CAR; вектор, содержащий ген анти-GPC3 антитела или ген CAR; клетка-хозяин, в которую введен вектор; способ для специфической детекции GPC3 и набор для специфической детекции GPC3. Антитело, содержащее конкретные CDR1-CDR3 тяжелой цепи и конкретные CDR1-CDR3 легкой цепи по п.1, и специфически связывающееся с полипептидом GPC3 человека, локализованного на клеточной мембране. CAR-иммунокомпетентные клетки, полученные на основе CAR, содержащие такое одноцепочечное антитело, для применения в иммунотерапии злокачественных новообразований.

A1

201991385

201991385

A1

ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

2420-557452ЕА/041

АНТИ-GPC3-АНТИТЕЛО

ОБЛАСТЬ ТЕХНИКИ, К КОТОРОЙ ОТНОСИТСЯ ИЗОБРЕТЕНИЕ

[0001] Настоящее изобретение относится: к антителу, специфически связывающемуся с GPC3 (глипикан-3) (анти-GPC3-антитело); к химерному антигенному рецептору (также обозначено в настоящем описании как «CAR»), содержащему анти-GPC3 одноцепочечное антитело, трансмембранную область, слитую с карбоксильным (С) концом анти-GPC3 одноцепочечного антитела, и область активации сигнальной трансдукции иммунокомпетентной клетки, слитую с С-концом трансмембранной области; к иммунокомпетентной клетке, экспрессирующей CAR; к гену анти-GPC3-антитела или гену CAR; к вектору, содержащему ген анти-GPC3-антитела или ген CAR; к клетке-хозяину, в которую был введен вектор; к способу детекции GPC3; и к набору для детекции GPC3.

УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ

[0002] Глипикан-3 (GPC3) представляет собой белок внеклеточного матрикса, который экспрессируется в эмбриональных тканях, в частности, в печени или почках, и связан с органогенезом. Экспрессия GPC3 не наблюдается в тканях взрослого человека, за исключением плаценты, но наблюдается в тканях различных видов злокачественных опухолей, таких как гепатоцеллюлярная карцинома, меланома, светлоклеточная аденокарцинома яичников и плоскоклеточный рак легких. Таким образом, GPC3 представляет собой белок, который экспрессируется в эмбриональных тканях, например, как в случае белков, таких как α -фетопротейн (AFP) и карциноэмбриональный антиген (СЕА), и, поэтому, они классифицируются как эмбриональные антигены карциномы. В частности, GPC3 можно использовать в качестве молекулы-мишени при лечении злокачественного новообразования, в качестве опухолевого маркера и диагностического маркера, поскольку его отличительной чертой является отсутствие экспрессии белка в клетках нормальных тканей и специфическая

экспрессия в злокачественных клетках.

[0003] GPC3 является членом семейства протеогликанов, которые действуют как внеклеточный матрикс в клеточной адгезии при органогенезе или как рецептор фактора роста клетки. Якорь GPI (гликосилфосфатидилинозитол) добавляется к серину в положении 560, расположенному на карбоксильном (C) конце GPC3. Якорь GPI играет роль в локализации GPC3 на поверхности клетки через ковалентное связывание с липидом клеточной мембраны. Кроме того, серин в положении 495 и серин в положении 509 GPC3 модифицированы цепью гепарансульфата (HS-цепью). HS-цепь, как известно, регулирует множество путей передачи сигнала, связанных с ростом, таких как путь передачи сигнала Wnt, FGF и BMP. Известно, что путь передачи сигнала, связанный с ростом, различается у разных типов злокачественных новообразований. Например, при гепатоцеллюлярной карциноме (HCC) клетки растут при стимуляции сигнального пути Wnt. Общим признаком семейства глипиканов является избыточное количество цистеина, в количестве 16, во внеклеточной области, и считается, что эти цистеиновые остатки способствуют образованию стабильной конформации путем образования множества внутримолекулярных дисульфидных связей. Сообщалось о возможности расщепления фурин-конвертазой GPC3 на поверхности клеточной мембраны между аргинином (R) в положении 358 и серином (S) в положении 359 (R358/S359). Однако, поскольку аминоконцевая субъединица GPC3 перекрестно связана посредством внутримолекулярных дисульфидных связей, то даже при расщеплении фурин-конвертазой на две субъединицы, N-концевую субъединицу и C-концевую субъединицу, GPC3 вероятно может сохранять свою полноразмерную структуру без диссоциации этих субъединиц. Структура растворимого GPC3 остается под вопросом. Таким образом, существует множество вопросов относительно конформации GPC3, локализованной на клеточной мембране, включая также структуры изоформ GPC3.

[0004] GPC3 на клеточной мембране имеет сложную структуру. Поэтому, для получения анти-GPC3 антитела было бы желательным, чтобы самой простой структурной областью был эпитоп. Существующий пример анти-GPC3 антитела представляет собой

моноклональное антитело 1G12, которое доступно от BioMosaics, Inc. Это антитело представляет собой антитело, полученное путем иммунизации мышей Balb/c антигеном (С-концевой полипептид GPC3 из 70 остатков), разработанным в обход сложной структуры или локализации GPC3, с получением гибридом и для скрининга гибридом с помощью этого антигена. Антитела GC33 и GC199, разработанные японским фармацевтическим производителем, также являются моноклональными антителами, созданными на основе той же концепции, что и выше, и представляют собой антитела, полученные с помощью С-концевого фрагмента GPC3, использованного в качестве антигена (патентный документ 1).

Документы уровня техники

Патентный документ

[0005] Патентный документ 1: Японский патент № 4011100

СУЩНОСТЬ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Задача, решаемая изобретением

[0006] Объектом настоящего изобретения является: анти-GPC3 антитело, которое распознает эпитоп, отличный от эпитопа существующих антител (например, GC33 и GC199), и которое может специфически связываться, даже в форме одноцепочечного антитела, с GPC3, расположенным на клеточной мембране; CAR, содержащий анти-GPC3 одноцепочечное антитело; иммунокометентная клетка, экспрессирующая CAR; ген анти-GPC3 антитела или ген CAR; вектор, содержащий ген анти-GPC3 антитела или ген CAR; клетка-хозяин, в которую введен указанный вектор; способ специфической детекции GPC3; и набор для специфической детекции GPC3.

Средства решения задачи

[0007] Авторы изобретения провели ряд тщательных исследований и создали настоящее изобретение. В ходе этих исследований авторы изобретения получили новое анти-GPC3 антитело методом фагового дисплея, который отличается от обычных способов получения моноклональных антител, включающих получение гибридом. В частности, с помощью В-клеток, полученных от мышей, иммунизированных полноразмерным GPC3 человека, была синтезирована иммунная библиотека генов антител, и гены были преобразованы в библиотеку одноцепочечных антител (scFv),

которая была затем включена в фаговый дисплей и экспрессирована на поверхности фага, а затем селектирована биопэннингом с помощью рекомбинантного полноразмерного GPC3 человека и GPC3-экспрессирующих клеточных линий, и затем, при необходимости, конкурентным С-концевым полипептидом GPC3 в качестве эпитопа существующих антител, с получением анти-GPC3-антитела. Также было подтверждено, что полученное анти-GPC3 антитело может использоваться для иммунотерапии злокачественных новообразований, используя Т-клетки, экспрессирующие химерный антигенный рецептор (CAR) (также называемые «CAR-Т-клетки»). Настоящее изобретение было осуществлено на основании этих обнаружений.

[0008] В частности, настоящее изобретение представляет собой следующее.

[1] Антитело, специфически связывающееся с GPC3 (полипептид, полученный из (гликана-3)) человека, состоящим из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:155 (в настоящем документе также обозначен как «антитело по настоящему изобретению»), где антитело

(1-1) содержит определяющую комплементарность область (CDR) 1 тяжелой цепи, состоящую из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:1, CDR2 тяжелой цепи, состоящую из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:2, и CDR3 тяжелой цепи, состоящую из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:3, и

CDR1 легкой цепи, состоящую из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:4, CDR2 легкой цепи, состоящую из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:5, и CDR3 легкой цепи, состоящую из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:6; или

(2-1) содержит CDR1 тяжелой цепи, состоящую из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:11, CDR2 тяжелой цепи, состоящую из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:12, и CDR3 тяжелой цепи, состоящую из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:13, и

CDR1 легкой цепи, состоящую из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:14, CDR2 легкой цепи, состоящую из

NO:86; или

(10-1) содержит CDR1 тяжелой цепи, состоящую из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:91, CDR2 тяжелой цепи, состоящую из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:92, и CDR3 тяжелой цепи, состоящую из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:93, и

CDR1 легкой цепи, состоящую из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:94, CDR2 легкой цепи, состоящую из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:95, и CDR3 легкой цепи, состоящую из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:96; или

(11-1) содержит CDR1 тяжелой цепи, состоящую из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:101, CDR2 тяжелой цепи, состоящую из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:102, и CDR3 тяжелой цепи, состоящую из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:103, и

CDR1 легкой цепи, состоящую из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:104, CDR2 легкой цепи, состоящую из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:105, и CDR3 легкой цепи, состоящую из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:106.

[2] Антитело по [1], где антитело

(1-2) содержит переменную область тяжелой цепи, состоящую из аминокислотной последовательности, которая по меньшей мере на 80% или больше идентична по последовательности аминокислотной последовательности SEQ ID NO:7, и переменную область легкой цепи, состоящую из аминокислотной последовательности, которая по меньшей мере на 80% или больше идентична по последовательности аминокислотной последовательности SEQ ID NO:8; или

(2-2) содержит переменную область тяжелой цепи, состоящую из аминокислотной последовательности, которая по меньшей мере на 80% или больше идентична по последовательности аминокислотной последовательности SEQ ID NO:17, и переменную область легкой цепи, состоящую из аминокислотной последовательности, которая по меньшей мере на 80% или больше идентична по последовательности аминокислотной последовательности SEQ ID NO:18; или

из аминокислотной последовательности, которая по меньшей мере на 80% или больше идентична по последовательности аминокислотной последовательности SEQ ID NO:77, и вариабельную область легкой цепи, состоящую из аминокислотной последовательности, которая по меньшей мере на 80% или больше идентична по последовательности аминокислотной последовательности SEQ ID NO:78; или

(9-2) содержит вариабельную область тяжелой цепи, состоящую из аминокислотной последовательности, которая по меньшей мере на 80% или больше идентична по последовательности аминокислотной последовательности SEQ ID NO:87, и вариабельную область легкой цепи, состоящую из аминокислотной последовательности, которая по меньшей мере на 80% или больше идентична по последовательности аминокислотной последовательности SEQ ID NO:88; или

(10-2) содержит вариабельную область тяжелой цепи, состоящую из аминокислотной последовательности, которая по меньшей мере на 80% или больше идентична по последовательности аминокислотной последовательности SEQ ID NO:97, и вариабельную область легкой цепи, состоящую из аминокислотной последовательности, которая по меньшей мере на 80% или больше идентична по последовательности аминокислотной последовательности SEQ ID NO:98; или

(11-2) содержит вариабельную область тяжелой цепи, состоящую из аминокислотной последовательности, которая по меньшей мере на 80% или больше идентична по последовательности аминокислотной последовательности SEQ ID NO:107, и вариабельную область легкой цепи, состоящую из аминокислотной последовательности, которая по меньшей мере на 80% или больше идентична по последовательности аминокислотной последовательности SEQ ID NO:108.

[3] Антитело по [1] или [2], где антитело представляет собой одноцепочечное антитело.

[4] Антитело по [3], где одноцепочечное антитело

(1-3) содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80% или больше идентична по последовательности аминокислотной последовательности SEQ ID NO:165; или

(2-3) содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80% или больше идентична по последовательности аминокислотной последовательности SEQ ID NO:166; или

(3-3) содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80% или больше идентична по последовательности аминокислотной последовательности SEQ ID NO:167; или

(4-3) содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80% или больше идентична по последовательности аминокислотной последовательности SEQ ID NO:168; или

(5-3) содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80% или больше идентична по последовательности аминокислотной последовательности SEQ ID NO:169; или

(6-3) содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80% или больше идентична по последовательности аминокислотной последовательности SEQ ID NO:170; или

(7-3) содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80% или больше идентична по последовательности аминокислотной последовательности SEQ ID NO:171; или

(8-3) содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80% или больше идентична по последовательности аминокислотной последовательности SEQ ID NO:172; или

(9-3) содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80% или больше идентична по последовательности аминокислотной последовательности SEQ ID NO:173; или

(10-3) содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80% или больше идентична по последовательности аминокислотной последовательности SEQ ID NO:174; или

(11-3) содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80% или больше идентична по последовательности аминокислотной последовательности SEQ ID NO:175.

[5] Антитело по [3], где одноцепочечное антитело

(1-3'-1) содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80% или больше идентична по последовательности аминокислотной последовательности SEQ ID NO:178; или

(1-3'-2) содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80% или больше идентична по последовательности аминокислотной последовательности SEQ ID NO:179; или

(1-3'-3) содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80% или больше идентична по последовательности аминокислотной последовательности SEQ ID NO:180; или

(2-3'-1) содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80% или больше идентична по последовательности аминокислотной последовательности SEQ ID NO:181; или

(2-3'-2) содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80% или больше идентична по последовательности аминокислотной последовательности SEQ ID NO:182; или

(2-3'-3) содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80% или больше идентична по последовательности аминокислотной последовательности SEQ ID NO:183; или

(2-3'-4) содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80% или больше идентична по последовательности аминокислотной последовательности SEQ ID NO:184.

[6] Антитело по [1] или [2], где антитело

(1-4) содержит тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, которая по меньшей мере на 80% или больше

(3-4) содержит тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, которая по меньшей мере на 80% или больше идентична по последовательности аминокислотной последовательности SEQ ID NO:29, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, которая по меньшей мере на 80% или больше идентична по последовательности аминокислотной последовательности SEQ ID NO:30; или

(4-4) содержит тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, которая по меньшей мере на 80% или больше идентична по последовательности аминокислотной последовательности SEQ ID NO:39, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, которая по меньшей мере на 80% или больше идентична по последовательности аминокислотной последовательности SEQ ID NO:40; или

(5-4) содержит тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, которая по меньшей мере на 80% или больше идентична по последовательности аминокислотной последовательности SEQ ID NO:49, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, которая по меньшей мере на 80% или больше идентична по последовательности аминокислотной последовательности SEQ ID NO:50; или

(6-4) содержит тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, которая по меньшей мере на 80% или больше идентична по последовательности аминокислотной

аминокислотной последовательности, которая по меньшей мере на 80% или больше идентична по последовательности аминокислотной последовательности SEQ ID NO:110.

[7] CAR, содержащий антитело по любому из [3]–[5] (в настоящем описании также обозначен как «одноцепочечное антитело по настоящему изобретению»), трансмембранную область, слитую с карбоксильным концом одноцепочечного антитела по настоящему изобретению, и область активации сигнальной трансдукции иммунокомпетентной клетки, слитую с карбоксильным концом трансмембранной области (в настоящем описании также обозначен как «CAR по настоящему изобретению»).

[8] CAR по [7], содержащий любую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:185–187.

[9] Иммунокомпетентная клетка, экспрессирующая CAR по [7] или [8] (в настоящем описании, также обозначена как «иммунокомпетентная клетка по настоящему изобретению»).

[10] Иммунокомпетентная клетка по [9], также экспрессирующая интерлейкин 7 (IL-7) и хемокиновый лиганд 19 (CCL19).

[11] Ген антитела, кодирующий антитело по любому из [1]–[6] (в настоящем описании также обозначен как «ген антитела по настоящему изобретению»), или ген CAR, кодирующий CAR по [7] или [8] (в настоящем описании также обозначен как «ген CAR по настоящему изобретению»).

[12] Ген антитела, кодирующий антитело по любому из [1]–[4] и [6].

[13] Вектор, содержащий промотор и ген антитела по [11] или ген CAR, кодирующий CAR по [11], функционально связанный с расположенным ниже в сигнальном пути промотором (в настоящем описании также обозначен как «вектор по настоящему изобретению»).

[14] Вектор, содержащий промотор и ген антитела по [12], функционально связанный с расположенным ниже в сигнальном пути промотором.

[15] Клетка-хозяин, в которую введен вектор по [13] или [14] (в настоящем описании также обозначена как «клетка-хозяин

по настоящему изобретению»).

[16] Способ детекции GPC3 (глипикан-3), включающий стадию детекции GPC3, используя антитело по любому из [1]-[6] (в настоящем описании также обозначен как «способ детекции по настоящему изобретению»).

[17] Набор для детекции GPC3 (глипикан-3), содержащий антитело по любому из [1]-[6], или его меченную форму (в настоящем описании также обозначен как «набор для детекции по настоящему изобретению»).

[0009] Примеры других вариантов осуществления настоящего изобретения включают антитело по настоящему изобретению для применения для детекции GPC3 и способ получения антитела по настоящему изобретению, включающий стадии: иммунизацию животных, исключая человека (например, мышей и крыс), полноразмерным GPC3 человека, состоящим из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:157; синтез кДНК реакцией обратной транскрипции из общей РНК В-клеток, полученных от иммунизированных животных, исключая человека, и амплификацию генов антитела с получением библиотеки генов антитела; и конструирование фаговой библиотеки scFv из библиотеки генов антитела, и инфицирование *E.coli* библиотекой так, чтобы клетки экспрессировали scFv, с последующим биопэннингом, используя полноразмерный GPC3 человека и линии, GPC3-экспрессирующей, и, если необходимо, дополнительно, конкурентный С-концевой полипептид GPC3 (полипептид GPC3 человека, состоящей из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:156).

Эффект изобретения

[0010] Антитело по настоящему изобретению представляет собой антитело, специфически связывающееся с GPC3, локализованным на клеточной мембране, не только в форме IgA, но также в форме scFv. CAR-T клетки, использующие антитело по настоящему изобретению в качестве scFc в CAR, обладают отличной цитотоксической активностью и способностью продуцировать IFN-γ. Следовательно, антитело по настоящему изобретению можно использовать в иммунотерапии злокачественных новообразований.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ФИГУР

[0011] [Фигура 1] На фигуре 1 приведена диаграмма, демонстрирующая каждый раунд (стадию) биопэннинга, состоящий из 5 типов рядов (А-Е серии). Серия А предусматривает проведение 3 раундов биопэннинга с рекомбинантным GPC3, иммобилизованным на магнитных бусах в качестве затравки, и проведение биопэннинга в 4-ом и 5-ом раунде с GPC3-экспрессирующей клеточной линией в качестве затравки (5-ый раунд проводят только для 1413 #3). В 1-4 раундах в качестве конкурентных антител добавляли существующие анти-GPC3 антитела (GC33 и GC199). Серия В предусматривает проведение биопэннинга с GPC3-экспрессирующими клетками в качестве затравки в присутствии конкурентных антител после 2-ого раунда серии А. Серия Е предусматривает проведение биопэннинга с рекомбинантным GPC3, иммобилизованным на магнитных бусах в качестве затравки в отсутствии конкурентного антитела после 3-его раунда серии А. В серии С в отсутствии конкурентных антител проводили 4 раунда биопэннинга: 2 раунда с GPC3-экспрессирующей клеточной линией в качестве затравки и 2 раунда с рекомбинантным GPC3, иммобилизованным на магнитных бусах, в качестве затравки. Серия D предусматривает проведение такого же биопэннинга как и в серии А в отсутствии конкурентных антител.

[Фигура 2] На фигуре 2 представлена диаграмма, показывающая результаты проточной цитометрии (FCM) с использованием 18 типов клонов анти-GPC3 scFv (TF1413-02d023, 02d028, 02d030, 02d039, 02e003, 02e004, 02e014, 02e030, 02e040, 03e001, 03e004, 03e005, 03e015, 03e016, 03e019, 03e027, 03e034 и 03e045) и существующих анти-GPC3 антител (GC33 и GC199), и 3-х видов клеточных линий (клеточная линия, экспрессирующая N-концевой фрагмент GPC3, клеточная линия, экспрессирующая С-концевой фрагмент GPC3, и клеточная линия, экспрессирующая [полноразмерный] GPC3). Числовые значения на диаграмме указывают относительные значения, тогда как интенсивность флуоресценции клеточной линии, не GPC3-экспрессирующей (клеточная линия SK-Ner-1), была определена как 1 в FCM.

[Фигура 3] На фигуре 3 представлена диаграмма, демонстрирующая результаты проточной цитометрии (FCM) с

использованием 11 типов клонов scFv (TF1413-02d028, 02d039, 02e004, 02e014, 02e030, 02e040, 03e001, 03e004, 03e005, 03e015 и 03e034) и существующих анти-GPC3 антител (GC33 и GC199), и 3-х видов клеточных линий (клеточная линия, экспрессирующая N-концевой фрагмент GPC3, клеточная линия, экспрессирующая C-концевой фрагмент GPC3, и клеточная линия, экспрессирующая [полноразмерный] GPC3).

[Фигура 4] На фигуре 4 приведена диаграмма, демонстрирующая результаты проведения FACS сортировки клеток с активацией флуоресценцией), используя GPC3-экспрессирующие клеточные линии, обработанные 3-мя способами (ЭДТА, трипсином и «ЭДТА+коллагеназа»), 3-мя вариантами комбинации антител (анти-мышинное IgG антитело, меченное APC [в настоящем описании также обозначено как «APC анти-мышинное IgG антитело»] и комбинацией APC анти-мышинного IgG антитела и клона scFv антитела [TF1413-02d028]).

[Фигура 5] На фигуре 5 показана диаграмма, демонстрирующая результаты анализа GPC3 CAR-T-клеток (Т-клетки, экспрессирующие CAR из scFv, распознающего GPC3), полученных из 5 типов клонов scFv (TF1413-02d028, TF1413-02d039, TF1413-02e014, TF1413-02e030 и TF1413-03e005) на цитотоксическую активность против клеточной линии GPC3 Sk-HEP-1. На каждом графике правый пик изображает CD45-положительные клетки (GPC3 CAR-T клетки), а левый пик изображает CD45-отрицательные клетки (остатальные злокачественные клетки [клетки GPC3 Sk-HEP-1]). Ордината каждого графика соответствует количеству клеток. Числовое значение на каждом графике показывает отношение (%) числа CD45-положительных клеток к общему количеству клеток (CD45-положительные клетки и CD45-отрицательные клетки). В качестве контроля использовали Т-клетки, не экспрессирующие GPC3 CAR («неинфицированные» на диаграмме).

[Фигура 6] На фигуре 6 представлен график, демонстрирующий соотношение CD45-отрицательных клеток на фигуре 5 (фигура 6А) и количество CD45-отрицательных клеток (фигура 6В). На паре гистограмм: на левой гистограмме показана «ложная» (ложная клеточная линия Sk-HEP-1) и на правой гистограмме показана

«GPC3» (GPC3 клеточная линия Sk-HEP-1).

[Фигура 7] На фигуре 7 показана диаграмма, демонстрирующая результаты анализа GPC3 CAR-T-клеток, полученных из 5 типов клонов scFv (TF1413-02d028, TF1413-02d039, TF1413-02e014, TF1413-02e030 и TF1413-03e005) на способность продуцировать IFN- γ против клеточной линии GPC3 Sk-HEP-1. В качестве контроля использовали Т-клетки, не экспрессирующие GPC3 CAR («не инфицированные» на диаграмме).

Варианты осуществления изобретения

[0012] Антитело по настоящему изобретению представляет собой антитело, содержащее CDR1-CDR3 тяжелой (H) цепи и легкой (L) цепи, как описано выше в любом из (1-1)-(11-1), и специфически связывающее в качестве эпитопа, по меньшей мере, часть (как правило, в диапазоне 3-30 аминокислотных остатков, предпочтительно 4-20 аминокислотных остатков, более предпочтительно 5-15 аминокислотных остатков) полипептида GPC3 человека, состоящего из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:155 (амино [N] концевой полипептид, состоящий из 32-471 аминокислотных остатков [экзоны 1-7] полноразмерного GPC3 человека, состоящего из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:157). Это антитело специфически связывается не только в форме иммуноглобулина А, но и в форме scFv с GPC3, распложенным на клеточной мембране, и, как правило, содержит переменную область Н-цепи, содержащую CDR1- CDR3 Н-цепи, как описано выше в любом из (1-1)-(11-1), и переменную область L-цепи, содержащую CDR1-CDR3 L-цепи, как описано выше в любом из (1-1)-(11-1). В этом контексте фраза «специфически связывается» означает, что антитело распознает и связывается с полипептидом SEQ ID NO:155 посредством высоко специфичного механизма распознавания «антиген-антитело». Таким образом, антитело по настоящему изобретению не связывается специфически с полипептидом GPC3 человека, состоящим из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:156 (карбоксильный [C] концевой полипептид, состоящий из аминокислотных остатков 472-580 [экзоны 8 и 9] полноразмерного GPC3 человека, состоящего из аминокислотной последовательности

SEQ ID NO:157).

[0013] Антитело по настоящему изобретению конкретно не ограничено происхождением, типом, классом, морфологией и тому подобное. Антитело по настоящему изобретению включает, например: антитело человека; антитело животного, такого как мышь или крыса; поликлональное антитело, олигоклональное антитело (смесь от нескольких до нескольких десятков антител) и моноклональное антитело; и химерное антитело или гуманизированное антитело, в котором часть области (например, константные области) антитела заменены областью, полученной у организмов, отличающихся по виду, фрагмент антитела, такой как фрагмент антитела $F(ab')_2$, полученный путем расщепления моноклонального антитела пепсином, фрагмент антитела Fab' , полученный путем восстановления фрагмента антитела $F(ab')_2$, и Fab , полученный расщеплением моноклонального антитела папаином, и рекомбинантное антитело, такое как $scFv$, содержащее переменную область тяжелой (H) цепи антитела и переменную область легкой (L) цепи антитела, связанные посредством поперечных аминокислотных связей. В случае применения антитела по настоящему изобретению в качестве CAR, $scFv$ является предпочтительным.

[0014] Антитело по настоящему изобретению предпочтительно находится в форме выделенного антитела. В этом контексте термин «выделенное» означает, что антитело находится в состоянии, отличном от состояния, в котором антитело изначально присутствует, то есть антитело извлекают из среды, в которой оно изначально присутствовало, или экспрессируется в среду, отличную от среды, в которой изначально экспрессируется антитело, путем искусственной манипуляции. В частности, «выделенное антитело» исключает антитело, которое получено у конкретного индивидуума и находится в том виде, в котором оно находится в организме индивидуума, без применения внешних манипуляций (искусственной манипуляции) или в ткани или жидкости организма (крови, плазме, сыворотке и тому подобное), взятых из организма. Антитело по настоящему изобретению предпочтительно является антителом, полученным искусственной манипуляцией (например, рекомбинантное антитело, как описано выше). Такое «антитело, полученное из

клетки, полученное искусственной манипуляцией, или антитело, полученное из клетки» исключает антитело, которое не подвергалось искусственной манипуляции, например, антитело, полученное из природной В-клетки.

[0015] В антителе по настоящему изобретению, каркасная область (FR) обычно связана с N-концом и/или C-концом каждой из CDR1-CDR3 областей H-цепи и L-цепи. Среди таких FR, например, FR H-цепи включают FR1 H-цепи, связанную с N-концом CDR1 H-цепи, FR2 H-цепи, связанную с C-концом CDR1 H-цепи (N-конец CDR2 H-цепи), FR3 H-цепи, связанную с C-концом CDR2 H-цепи (N-конец CDR3 H-цепи) и FR4 H-цепи, связанную с C-концом CDR3 H-цепи. Среди FR, примеры FR L-цепи могут включать FR1 L-цепи, связанную с N-концом CDR1 L-цепи, FR2 L-цепи, связанную с C-концом CDR1 L-цепи (N-конец CDR2 L-цепи), FR3 L-цепи, связанную с C-концом CDR2 L-цепи (N-конец CDR3 L-цепи) и FR4 L-цепи, связанную с C-концом CDR3 L-цепи.

[0016] Примеры FR1 H-цепи могут конкретно включать: (1-HFR1) полипептид, состоящий из аминокислотной последовательности 1-30 аминокислотной последовательности SEQ ID NO:7, или полипептид, состоящий из аминокислотной последовательности, которая по меньшей мере на 80% или больше идентична по последовательности аминокислотной последовательности этого полипептида; (2-HFR1) полипептид, состоящий из аминокислотной последовательности 1-30 аминокислотной последовательности SEQ ID NO:17, или полипептид, состоящий из аминокислотной последовательности, которая по меньшей мере на 80% или больше идентична по последовательности аминокислотной последовательности этого полипептида; (3-HFR1) полипептид, состоящий из аминокислотной последовательности 1-30 аминокислотной последовательности SEQ ID NO:27, или полипептид, состоящий из аминокислотной последовательности, которая по меньшей мере на 80% или больше идентична по последовательности аминокислотной последовательности этого полипептида; (4-HFR1) полипептид, состоящий из аминокислотной последовательности 1-30 аминокислотной последовательности SEQ ID NO:37, или полипептид, состоящий из аминокислотной последовательности, которая по

[illegible]

аминокислотной последовательности этого полипептида.

[0017] Примеры FR2 Н-цепи могут конкретно включать: (1-HFR2) полипептид, состоящий из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:7, или полипептид, состоящий из аминокислотной последовательности, которая по меньшей мере на 80% или больше идентична по последовательности аминокислотной последовательности этого полипептида; (2-HFR2) полипептид, состоящий из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:17, или полипептид, состоящий из аминокислотной последовательности, которая по меньшей мере на 80% или больше идентична по последовательности аминокислотной последовательности этого полипептида; (3-HFR2) полипептид, состоящий из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:27, или полипептид, состоящий из аминокислотной последовательности, которая по меньшей мере на 80% или больше идентична по последовательности аминокислотной последовательности этого полипептида; (4-HFR2) полипептид, состоящий из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:37, или полипептид, состоящий из аминокислотной последовательности, которая по меньшей мере на 80% или больше идентична по последовательности аминокислотной последовательности этого полипептида; (5-HFR2) полипептид, состоящий из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:47, или полипептид, состоящий из аминокислотной последовательности, которая по меньшей мере на 80% или больше идентична по последовательности аминокислотной последовательности этого полипептида; (6-HFR2) полипептид, состоящий из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:57, или полипептид, состоящий из аминокислотной последовательности, которая по меньшей мере на 80% или больше идентична по последовательности аминокислотной последовательности этого полипептида; (7-HFR2) полипептид, состоящий из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:67, или полипептид, состоящий из аминокислотной последовательности, которая по

[illegible]

меньшей мере на 80% или больше идентична по последовательности аминокислотной последовательности этого полипептида; и (11-HFR3) полипептид, состоящий из аминокислотной последовательности 67-98 аминокислотной последовательности SEQ ID NO:107, или полипептид, состоящий из аминокислотной последовательности, которая по меньшей мере на 80% или больше идентична по последовательности аминокислотной последовательности этого полипептида.

[0019] Примеры FR4 Н-цепи могут конкретно включать: (1-HFR4) полипептид, состоящий из аминокислотной последовательности 109-118 аминокислотной последовательности SEQ ID NO:7, или полипептид, состоящий из аминокислотной последовательности, которая по меньшей мере на 80% или больше идентична по последовательности аминокислотной последовательности этого полипептида; (2-HFR4) полипептид, состоящий из аминокислотной последовательности 108-117 аминокислотной последовательности SEQ ID NO:17, или полипептид, состоящий из аминокислотной последовательности, которая по меньшей мере на 80% или больше идентична по последовательности аминокислотной последовательности этого полипептида; (3-HFR4) полипептид, состоящий из аминокислотной последовательности 106-115 аминокислотной последовательности SEQ ID NO:27, или полипептид, состоящий из аминокислотной последовательности, которая по меньшей мере на 80% или больше идентична по последовательности аминокислотной последовательности этого полипептида; (4-HFR4) полипептид, состоящий из аминокислотной последовательности 111-120 аминокислотной последовательности SEQ ID NO:37, или полипептид, состоящий из аминокислотной последовательности, которая по меньшей мере на 80% или больше идентична по последовательности аминокислотной последовательности этого полипептида; (5-HFR4) полипептид, состоящий из аминокислотной последовательности 108-117 аминокислотной последовательности SEQ ID NO:47, или полипептид, состоящий из аминокислотной последовательности, которая по меньшей мере на 80% или больше идентична по последовательности аминокислотной последовательности этого полипептида; (6-HFR4) полипептид, состоящий из аминокислотной последовательности 107-116

аминокислотной последовательности SEQ ID NO:57, или полипептид, состоящий из аминокислотной последовательности, которая по меньшей мере на 80% или больше идентична по последовательности аминокислотной последовательности этого полипептида; (7-HFR4) полипептид, состоящий из аминокислотной последовательности 106-115 аминокислотной последовательности SEQ ID NO:67, или полипептид, состоящий из аминокислотной последовательности, которая по меньшей мере на 80% или больше идентична по последовательности аминокислотной последовательности этого полипептида; (8-HFR4) полипептид, состоящий из аминокислотной последовательности 106-115 аминокислотной последовательности SEQ ID NO:77, или полипептид, состоящий из аминокислотной последовательности, которая по меньшей мере на 80% или больше идентична по последовательности аминокислотной последовательности этого полипептида; (9-HFR4) полипептид, состоящий из аминокислотной последовательности 111-120 аминокислотной последовательности SEQ ID NO:87, или полипептид, состоящий из аминокислотной последовательности, которая по меньшей мере на 80% или больше идентична по последовательности аминокислотной последовательности этого полипептида; (10-HFR4) полипептид, состоящий из аминокислотной последовательности 110-119 аминокислотной последовательности SEQ ID NO:97, или полипептид, состоящий из аминокислотной последовательности, которая по меньшей мере на 80% или больше идентична по последовательности аминокислотной последовательности этого полипептида; и (11-HFR4) полипептид, состоящий из аминокислотной последовательности 109-118 аминокислотной последовательности SEQ ID NO:107, или полипептид, состоящий из аминокислотной последовательности, которая по меньшей мере на 80% или больше идентична по последовательности аминокислотной последовательности этого полипептида.

[0020] Пример L-цепи FR1 может конкретно включать: (1-LFR1) полипептид, состоящий из аминокислотной последовательности 1-23 аминокислотной последовательности SEQ ID NO:8, или полипептид, состоящий из аминокислотной последовательности, которая по меньшей мере на 80% или больше идентична по последовательности

[illegible]

полипептид, состоящий из аминокислотной последовательности 1-23 аминокислотной последовательности SEQ ID NO:88, или полипептид, состоящий из аминокислотной последовательности, которая по меньшей мере на 80% или больше идентична по последовательности аминокислотной последовательности этого полипептида; (10-LFR1) полипептид, состоящий из аминокислотной последовательности 1-23 аминокислотной последовательности SEQ ID NO:98, или полипептид, состоящий из аминокислотной последовательности, которая по меньшей мере на 80% или больше идентична по последовательности аминокислотной последовательности этого полипептида; и (11-LFR1) полипептид, состоящий из аминокислотной последовательности 1-23 аминокислотной последовательности SEQ ID NO:108, или полипептид, состоящий из аминокислотной последовательности, которая по меньшей мере на 80% или больше идентична по последовательности аминокислотной последовательности этого полипептида.

[0021] Пример L-цепи FR2 может конкретно включать: (1-LFR2) полипептид, состоящий из аминокислотной последовательности 35-49 аминокислотной последовательности SEQ ID NO:8, или полипептид, состоящий из аминокислотной последовательности, которая по меньшей мере на 80% или больше идентична по последовательности аминокислотной последовательности этого полипептида; (2-LFR2) полипептид, состоящий из аминокислотной последовательности 40-54 аминокислотной последовательности SEQ ID NO:18, или полипептид, состоящий из аминокислотной последовательности, которая по меньшей мере на 80% или больше идентична по последовательности аминокислотной последовательности этого полипептида; (3-LFR2) полипептид, состоящий из аминокислотной последовательности 35-49 аминокислотной последовательности SEQ ID NO:28, или полипептид, состоящий из аминокислотной последовательности, которая по меньшей мере на 80% или больше идентична по последовательности аминокислотной последовательности этого полипептида; (4-LFR2) полипептид, состоящий из аминокислотной последовательности 35-49 аминокислотной последовательности SEQ ID NO:38, или полипептид, состоящий из аминокислотной последовательности, которая по меньшей мере на 80% или больше идентична по последовательности аминокислотной последовательности этого полипептида; (5-LFR2)

[illegible]

[0022] Пример FR3 L-цепи может конкретно включать: (1-LFR3)

аминокислотной последовательности SEQ ID NO:78, или полипептид, состоящий из аминокислотной последовательности, которая по меньшей мере на 80% или больше идентична по последовательности аминокислотной последовательности этого полипептида; (9-LFR3) полипептид, состоящий из аминокислотной последовательности 57-88 аминокислотной последовательности SEQ ID NO:88, или полипептид, состоящий из аминокислотной последовательности, которая по меньшей мере на 80% или больше идентична по последовательности аминокислотной последовательности этого полипептида; (10-LFR3) полипептид, состоящий из аминокислотной последовательности 57-88 аминокислотной последовательности SEQ ID NO:98, или полипептид, состоящий из аминокислотной последовательности, которая по меньшей мере на 80% или больше идентична по последовательности аминокислотной последовательности этого полипептида; и (11-LFR3) полипептид, состоящий из аминокислотной последовательности 57-88 аминокислотной последовательности SEQ ID NO:108, или полипептид, состоящий из аминокислотной последовательности, которая по меньшей мере на 80% или больше идентична по последовательности аминокислотной последовательности этого полипептида.

[0023] Пример L-цепи FR4 может конкретно включать: (1-LFR4) полипептид, состоящий из аминокислотной последовательности 98-108 аминокислотной последовательности SEQ ID NO:8, или полипептид, состоящий из аминокислотной последовательности, которая по меньшей мере на 80% или больше идентична по последовательности аминокислотной последовательности этого полипептида; (2-LFR4) полипептид, состоящий из аминокислотной последовательности 103-113 аминокислотной последовательности SEQ ID NO:18, или полипептид, состоящий из аминокислотной последовательности, которая по меньшей мере на 80% или больше идентична по последовательности аминокислотной последовательности этого полипептида; (3-LFR4) полипептид, состоящий из аминокислотной последовательности 97-107 аминокислотной последовательности SEQ ID NO:28, или полипептид, состоящий из аминокислотной последовательности, которая по меньшей мере на 80% или больше идентична по последовательности аминокислотной последовательности этого полипептида; (4-LFR4)

[illegible]

последовательности аминокислотной последовательности этого полипептида; и (11-LFR4) полипептид, состоящий из аминокислотной последовательности 98-108 аминокислотной последовательности SEQ ID NO:108, или полипептид, состоящий из аминокислотной последовательности, которая по меньшей мере на 80% или больше идентична по последовательности аминокислотной последовательности этого полипептида.

[0024] FR антитела по настоящему изобретению предпочтительно представляют собой FR известного антитела человека. Примеры таких «FR известного антитела человека» могут включать FR антитела человека с зарегистрированной в базе данных последовательностей, известной в данной области, такой как GenBank, и FR, выбранные из обычной последовательности (консенсусной последовательности наиболее гомологичной последовательности человека; Kabat, E. A. et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, US Dept. Health and Human Services, 1991), полученной из каждой подгруппы антитела человека.

[0025] CDR1 H-цепи в антителе по настоящему изобретению обычно соответствует остаткам в положениях H31-H35 на основании нумерации Kabat (см. документ «Kabat, E.A. et al., (1991) NIH Publication No. 91-3242, последовательность белков, представляющих иммунологический интерес»). CDR2 H-цепи в антителе по настоящему изобретению обычно соответствует остаткам в положениях H50-H52, H52A и H53-H65 на основании нумерации Kabat. CDR3 H-цепи в антителе по настоящему изобретению обычно соответствует остаткам в положениях H95-H100, H100A, H100B, H101 и H102 на основании нумерации Kabat. CDR1 L-цепи в антителе по настоящему изобретению обычно соответствует остаткам в положениях L24-L34 на основании нумерации Kabat. CDR2 L-цепи в антителе по настоящему изобретению обычно соответствует остаткам в положениях L50-L56 на основании нумерации Kabat. CDR3 L-цепи в антителе по настоящему изобретению обычно соответствует остаткам в положениях L89-L97 на основании нумерации Kabat.

[0026] Примеры антитела, содержащего CDR1-CDR3 H-цепи и L-цепи, как описано выше в (1-1), в качестве антитела по

настоящему изобретению, могут включать антитело, содержащее переменные (V) области Н-цепи и L-цепи, как описано выше в (1-2), и могут конкретно включать: одноцепочечное антитело, как описано выше в (1-3); одноцепочечное антитело, как описано выше в (1-3'-1), одноцепочечное антитело, как описано выше в (1-3'-2), и одноцепочечное антитело, как описано выше в (1-3'-3); и антитело, содержащее Н-цепь и L-цепь, как описано выше в (1-4). Примеры антитела, содержащего CDR1-CDR3 Н-цепи и L-цепи, как описано выше в (2-1), могут включать антитело, содержащее V-области Н-цепи и L-цепи, как описано выше в (2-2), и может конкретно включать: одноцепочечное антитело, как описано выше в (2-3); одноцепочечное антитело, как описано выше в (2-3'-1), одноцепочечное антитело, как описано выше в (2-3'-2), одноцепочечное антитело, как описано выше в (2-3'-3), и одноцепочечное антитело, как описано выше в (2-3'-4); и антитело, содержащее Н-цепь и L-цепь, как описано выше в (2-4). Примеры антитела, содержащего CDR1-CDR3 Н-цепи и L-цепи, как описано выше в (3-1), могут включать антитело, содержащее V-области Н-цепи и L-цепи, как описано выше в (3-2) и может конкретно включать: одноцепочечное антитело, как описано выше в (3-3); и антитело, содержащее Н-цепь и L-цепь, как описано выше в (3-4). Примеры антитела, содержащего CDR1-CDR3 Н-цепи и L-цепи, как описано выше в (4-1), могут включать антитело, содержащее V-области Н-цепи и L-цепи, как описано выше в (4-2) и может конкретно включать: одноцепочечное антитело, как описано выше в (4-3); и антитело, содержащее Н-цепь и L-цепь, как описано выше в (4-4). Примеры антитела, содержащего CDR1-CDR3 Н-цепи и L-цепи, как описано выше в (5-1), могут включать антитело, содержащее V-области Н-цепи и L-цепи, как описано выше в (5-2) и может конкретно включать: одноцепочечное антитело, как описано выше в (5-3); и антитело, содержащее Н-цепь и L-цепь, как описано выше в (5-4). Примеры антитела, содержащего CDR1-CDR3 Н-цепи и L-цепи, как описано выше в (6-1), могут включать антитело, содержащее V-области Н-цепи и L-цепи, как описано выше в (6-2) и может конкретно включать: одноцепочечное антитело, как описано выше в (6-3); и антитело, содержащее Н-цепь и L-цепь,

как описано выше в (6-4). Примеры антитела, содержащего CDR1-CDR3 Н-цепи и L-цепи, как описано выше в (7-1), могут включать антитело, содержащее V-области Н-цепи и L-цепи, как описано выше в (7-2) и может конкретно включать: одноцепочечное антитело, как описано выше в (7-3); и антитело, содержащее Н-цепь и L-цепь, как описано выше в (7-4). Примеры антитела, содержащего CDR1-CDR3 Н-цепи и L-цепи, как описано выше в (8-1), могут включать антитело, содержащее V-области Н-цепи и L-цепи, как описано выше в (8-2) и может конкретно включать: одноцепочечное антитело, как описано выше в (8-3); и антитело, содержащее Н-цепь и L-цепь, как описано выше в (8-4). Примеры антитела, содержащего CDR1-CDR3 Н-цепи и L-цепи, как описано выше в (9-1), могут включать антитело, содержащее V-области Н-цепи и L-цепи, как описано выше в (9-2) и может конкретно включать: одноцепочечное антитело, как описано выше в (9-3); и антитело, содержащее Н-цепь и L-цепь, как описано выше в (9-4). Примеры антитела, содержащего CDR1-CDR3 Н-цепи и L-цепи, как описано выше в (10-1), могут включать антитело, содержащее V-области Н-цепи и L-цепи, как описано выше в (10-2) и может конкретно включать: одноцепочечное антитело, как описано выше в (10-3); и антитело, содержащее Н-цепь и L-цепь, как описано выше в (10-4). Примеры антитела, содержащего CDR1-CDR3 Н-цепи и L-цепи, как описано выше в (11-1), могут включать антитело, содержащее V-области Н-цепи и L-цепи, как описано выше в (11-2) и может конкретно включать: одноцепочечное антитело, как описано выше в (11-3); и антитело, содержащее Н-цепь и L-цепь, как описано выше в (11-4). Вариабельная область тяжелой цепи и вариабельная область легкой цепи в одноцепочечном антителе обычно связаны посредством пептидного линкера.

[0027] CAR по настоящему изобретению может содержать одноцепочечное антитело по настоящему изобретению, трансмембранную область, слитую с С-концом одноцепочечного антитела по настоящему изобретению, и область активации сигнальной трансдукции иммунокомпетентной клетки, слитую С-концом трансмембранной области. В этом контексте, слияние одноцепочечного антитела по настоящему изобретению и трансмембранной области, или трансмембранной области и области

активации сигнальной трансдукции иммунокомпетентной клетки могут быть опосредовано пептидным линкером или шарнирной областью IgG4.

[0028] Примеры длины пептидного линкера в антителе по настоящему изобретению могут включать 1-100 аминокислотных остатков, предпочтительно 10-50 аминокислотных остатков. Примеры пептидного линкера в антителе по настоящему изобретению могут включать непрерывную связь 3 аминокислотных последовательностей, каждая из которых состоит из 1-4 остатков глицина и 1 остатка серина.

[0029] Трансмембранная область может быть любым пептидом, который может проникать через клеточную мембрану. Примеры могут включать трансмембранную область, полученную из CD8, T-клеточного рецептора с α - или β -цепью, CD3 ζ , CD28, CD3 ϵ , CD45, CD4, CD5, CD8, CD9, CD16, CD22, CD33, CD37, CD64, CD80, CD86, CD134, CD137, ICOS, CD154, EGFR (рецептора эпидермального фактора роста) или GITR, и могут конкретно включать трансмембранную область CD8 человека, состоящую из аминокислотных остатков 1-83 аминокислотной последовательности SEQ ID NO:185. Альтернативно, трансмембранная область может быть получена из пептида, который может проникать через клеточную мембрану путем усечения C-концевых 1-10 аминокислотных остатков, предпочтительно 6 или 7 аминокислотных остатков. Примеры могут включать сконструированную форму 1 трансмембранной области CD8 человека в составе аминокислотных остатков 1-77 аминокислотной последовательности SEQ ID NO:186, и сконструированную форму 2 трансмембранной области CD8 человека, состоящую из аминокислотных остатков 1-76 аминокислотной последовательности SEQ ID NO:187.

[0030] Областью активации сигнальной трансдукции иммунокомпетентной клетки может быть любой областью, способной передавать сигнал иммунокомпетентным клеткам при связывании одноцепочечного антитела по настоящему изобретению с GPC3 человека. Область активации сигнальной трансдукции иммунокомпетентной клетки предпочтительно содержит по меньшей

мере один или несколько членов, выбранных из полипептидов внутриклеточных областей CD28, 4-1BB (CD137), GITR, CD27, OX40, HVEM, CD3 ζ и Fc рецептор-связанной γ -цепи, и, более предпочтительно, содержит три полипептида внутриклеточных областей CD28, 4-1BB и CD3 ζ . Примеры такого полипептида внутриклеточной области CD28 могут конкретно включать полипептид внутриклеточной области CD28 человека, состоящий из аминокислотных остатков 85-124 аминокислотной последовательности SEQ ID NO:185. Примеры "полипептида внутриклеточной области 4-1BB" могут конкретно включать полипептид внутриклеточной области человека 4-1BB, состоящий из аминокислотных остатков 125-170 аминокислотной последовательности SEQ ID NO:185. Примеры такого полипептида внутриклеточной области CD3 ζ могут конкретно включать полипептид внутриклеточной области CD3 ζ человека, состоящий из аминокислотных остатков 172-283 аминокислотной последовательности SEQ ID NO:185.

[0031] Аргинин (Arg) в положении 84 аминокислотной последовательности SEQ ID NO:185, аргинин в положении 78 аминокислотной последовательности SEQ ID NO:186 и аргинин в положении 77 аминокислотной последовательности SEQ ID NO:187 являются общей последовательностью полипептида трансмембранной области, полученного из CD8 человека, и полипептида внутриклеточной области CD28 человека. Лейцин (Leu) в положении 171 аминокислотной последовательности SEQ ID NO:185, лейцин в положении 165 аминокислотной последовательности SEQ ID NO:186 и лейцин в положении 164 аминокислотной последовательности SEQ ID NO:187 являются общей последовательностью полипептида внутриклеточной области 4-1BB человека и полипептида внутриклеточной области CD3 ζ человека.

[0032] В настоящем описании "иммунокомпетентная клетка" означает клетку, ответственную за иммунные функции в живом организме. Примеры иммунокомпетентных клеток могут включать: лимфоидные клетки, такие как Т-клетки, природные клетки-киллеры (НК-клетки) и В-клетки; антиген-презентирующие клетки, такие как моноциты, макрофаги и дендритные клетки; и гранулоциты,

например, нейтрофилы, эозинофилы, базофилы и тучные клетки. Конкретные примеры предпочтительно могут включать Т-клетку, полученную у млекопитающего, такого как человек, собака, кошка, свинья или мышь, предпочтительно, Т-клетку, полученную у человека. Т-клетка может быть получена путем выделения или очистки из иммунокомпетентной клетки, инфильтрирующей жидкость организма, такой как кровь или жидкость костного мозга, ткань селезенки, тимуса, лимфатического узла или тому подобное, или злокачественную ткань первичной опухоли, метастатической опухоли, ракового асцита или тому подобного. Альтернативно, можно использовать Т-клетку, полученную из ES-клетки или iPS-клетки. Примеры такой Т-клетки могут включать альфа-бета Т-клетку, гамма-дельта Т-клетку, CD8⁺ Т-клетку, CD4⁺ Т-клетку, опухоль-инфильтрирующий лимфоцит, Т-клетку памяти, наивную Т-клетку и клетку NKT. Иммунокомпетентная клетка имеет такое же происхождение как и индивида или ее природа может отличаться. Если индивид, которому проводят введение, является человеком, то в качестве иммунокомпетентной клетки может быть использована аутологичная клетка, полученная у пациента как у индивида, которому проводят введение, или в качестве иммунокомпетентной клетки может быть использована любая другая клетка, полученная у человека, отличного от индивида, которому проводят введение. В частности, донор и реципиент могут быть одинаковыми или разными и, предпочтительно, они одинаковые.

[0033] Примеры индивида, которому проводят введение, предпочтительно включают млекопитающее и клетку млекопитающего. Примеры млекопитающих предпочтительно включают человека, мышь, собаку, крысу, морскую свинку, кролика, птицу, овцу, свинью, крупный рогатый скот, лошадь, кошку, обезьяну и шимпанзе, особенно предпочтительно, человека.

[0034] CAR по настоящему изобретению предпочтительно используют для *ex vivo* экспрессии на клеточной поверхности иммунокомпетентной клетки, собраной у пациента, страдающего злокачественным новообразованием, при лечении. В случае использования Т-клетки в качестве иммунокомпетентной клетки, примеры пептида, состоящего из трансмембранной области и области

активации сигнальной трансдукции иммунокомпетентной клетки, слитой с С-концом трансмембранной области, в CAR по настоящему изобретению может конкретно включать пептид, состоящий из любой аминокислотной последовательности SEQ ID NO:185-187. Примеры CAR по настоящему изобретению могут конкретно включать CAR, содержащий одноцепочечное антитело, выбранное из группы, включающей одноцепочечное антитело, как описано выше в (1-3), одноцепочечное антитело, как описано выше в (2-3), одноцепочечное антитело, как описано выше в (1-3'-1), одноцепочечное антитело, как описано выше в (1-3'-2), одноцепочечное антитело, как описано выше в (1-3'-3), одноцепочечное антитело, как описано выше в (2-3'-1), одноцепочечное антитело, как описано выше в (2-3'-2), одноцепочечное антитело, как описано выше в (2-3'-3), и одноцепочечное антитело, как описано выше в (2-3'-4), и пептид, состоящий из любой аминокислотной последовательности SEQ ID NO:185-187, слитый с С-концом одноцепочечного антитела.

[0035] Конкретно, примеры CAR по настоящему изобретению могут включать:

CAR, содержащий одноцепочечное антитело, как описано выше в (1-3), и пептид, состоящий из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:185,

CAR, содержащий одноцепочечное антитело, как описано выше в (1-3), и пептид, состоящий из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:186,

CAR, содержащий одноцепочечное антитело, как описано выше в (1-3), и пептид, состоящий из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:187,

CAR, содержащий одноцепочечное антитело, как описано выше в (1-3'-1), и пептид, состоящий из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:185,

CAR, содержащий одноцепочечное антитело, как описано выше в (1-3'-1), и пептид, состоящий из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:186,

CAR, содержащий одноцепочечное антитело, как описано выше в (1-3'-1), и пептид, состоящий из аминокислотной

последовательности SEQ ID NO:187,

CAR, содержащий одноцепочечное антитело, как описано выше в (2-3'-2), и пептид, состоящий из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:185,

CAR, содержащий одноцепочечное антитело, как описано выше в (2-3'-2), и пептид, состоящий из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:186,

CAR, содержащий одноцепочечное антитело, как описано выше в (2-3'-2), и пептид, состоящий из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:187,

CAR, содержащий одноцепочечное антитело, как описано выше в (2-3'-3), и пептид, состоящий из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:185,

CAR, содержащий одноцепочечное антитело, как описано выше в (2-3'-3), и пептид, состоящий из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:186,

CAR, содержащий одноцепочечное антитело, как описано выше в (2-3'-3), и пептид, состоящий из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:187,

CAR, содержащий одноцепочечное антитело, как описано выше в (2-3'-4), и пептид, состоящий из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:185,

CAR, содержащий одноцепочечное антитело, как описано выше в (2-3'-4), и пептид, состоящий из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:186, и

CAR, содержащий одноцепочечное антитело, как описано выше в (2-3'-4), и пептид, состоящий из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:187.

[0036] Иммунокомпетентная клетка по настоящему изобретению может быть любой иммунокомпетентной клеткой, экспрессирующей CAR. Поскольку CAR обычно не возникает естественным образом, иммунокомпетентная клетка экспрессирует чужеродный, а не эндогенный CAR. Иммунокомпетентная клетка по настоящему изобретению предпочтительно также экспрессирует IL-7 и/или CCL19. Если иммунокомпетентной клеткой является клетка, которая не экспрессирует IL-7 и/или CCL19, например, Т-клетка, или, если

иммунокомпетентной клетка является клетка, отличная от Т-клетки, которая экспрессирует IL-7 и/или CCL19 на низком уровне, то иммунокомпетентная клетка по настоящему изобретению предпочтительно экспрессирует чужеродный IL-7 и/или CCL19.

[0037] Иммунокомпетентная клетка по настоящему изобретению может быть получена путем введения вектора по настоящему изобретению, содержащего ген CAR по настоящему изобретению, и вектора, содержащего ген IL-7 и/или CCL19, в иммунокомпетентную клетку. Способ введения может быть любым способом введения ДНК в клетки млекопитающих. Примеры таких способов могут включать в себя, например, электропорацию (Cytotechnology, 3, 133 (1990)), метод с фосфатом кальция (японская патентная заявка № 2-227075, по которой не проводилась экспертиза), липофекция (Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 84, 7413 (1987)), и способы на основе инфицирования вируса. Примеры такого способа на основе инфицирования вируса могут включать способ, который включает трансфекцию упаковочной клетки, такой как клетка GP2-293 (производство Takara Bio Inc.), клетка Plat-GP (производство Cosmo Bio Co., Ltd.), клетка PG13 (ATCC CRL-10686) или клетка PA317 (ATCC CRL-9078) с вектором экспрессии CAR (международная публикация № WO 2016/056228) и упаковочной плазмиды для получения рекомбинантного вируса и инфицирования Т-клетки этим рекомбинантным вирусом.

[0038] Иммунокомпетентная клетка по настоящему изобретению может быть получена путем встраивания нуклеотида, кодирующего CAR по настоящему изобретению, и нуклеотида, кодирующего IL-7 и/или CCL19, в геном клетки методом редактирования генов, известным в данной области, с возможностью экспрессии нуклеотидов под контролем соответствующего промотора. Примеры методик редактирования генов, известных в данной области, включают методику с использованием эндонуклеазы, такой как нуклеаза цинковых пальцев, TALEN (эффекторная нуклеаза, подобная активатору транскрипции) или CRISPR (короткие палиндромные повторы, регулярно расположенные группами) – система Cas.

[0039] Иммунокомпетентная клетка по настоящему изобретению можно использовать в комбинации с дополнительным

противоопухолевым средством. Примеры дополнительного противоопухолевого средства могут включать: алкилирующее лекарственное средство, такое как циклофосфамид, бендамустин, ифосфамид и дакарбазин; антиметаболит, такой как пентостатин, флударабин, кладрибин, метотрексат, 5-фторурацил, 6-меркаптопурин и эноцитабин; лекарственное средство для молекулярного нацеливания, такое как ритуксимаб, цетуксимаб и трастузумаб; ингибитор киназы, такой как иматиниб, гефитиниб, эрлотиниб, афатиниб, дазатиниб, сунитиниб и траметиниб; ингибитор протеасомы, такой как бортезомиб; лекарственное средство, ингибирующее кальциневрин, такое как циклоспорин и такролимус; противораковый антибиотик, такой как идарубицин и доксорубицин мексомицин С; растительный алкалоид, такой как иринотекан и этопозид; лекарственное средство на основе платины, такое как цисплатин, оксалиплатин и карбоплатин; гормонотерапевтическое средство, такое как тамоксифен и бикалутамид; и иммуносупрессивное лекарственное средство, такое как интерферон, ниволумаб и пембролизумаб.

[0040] Примеры способа «использования иммунокомпетентной клетки по настоящему изобретению в сочетании с дополнительным противоопухолевым средством» может включать в себя метод, использующий лечение дополнительным противоопухолевым средством с последующим применением иммунокомпетентной клетки по настоящему изобретению, способ, использующий иммунокомпетентную клетку по настоящему изобретению и дополнительное противоопухолевое средство одновременно, а также способ, использующий лечение иммунокомпетентной клеткой по настоящему изобретению с последующим применением дополнительного противоопухолевого средства. Применение иммунокомпетентной клетки по настоящему изобретению в сочетании с дополнительным противоопухолевым средством может улучшать терапевтический эффект против злокачественного новообразования, а также уменьшать побочные реакции, уменьшая количество введений или дозу.

[0041] Ген антитела по настоящему изобретению конкретно не ограничен, если ген антитела (нуклеотид) кодирует антитело по

настоящему изобретению. Пример гена антитела включают:

(1-1D) ген антитела, содержащий: ген CDR1 Н-цепи, состоящий из нуклеотидных остатков 91-105 гена V-области Н-цепи, состоящего из нуклеотидных остатков SEQ ID NO:111 (ген, кодирующий Н-цепь CDR1, как описано выше в (1-1)), или вариант, на основе вырожденности кодонов, гена CDR1 Н-цепи; ген CDR2 Н-цепи, состоящий из нуклеотидных остатков 148-198 гена V-области Н-цепи, состоящего из нуклеотидных остатков SEQ ID NO:111 (ген, кодирующий Н-цепь CDR2, как описано выше в (1-1)), или вариант, на основе вырожденности кодонов, гена CDR2 Н-цепи; и ген CDR3 Н-цепи, состоящий из нуклеотидных остатков 295-324 гена V-области Н-цепи, состоящего из нуклеотидных остатков SEQ ID NO:111 (ген, кодирующий Н-цепь CDR3, как описано выше в (1-1)), или вариант, на основе вырожденности кодонов, гена CDR3 Н-цепи; и

ген CDR1 L-цепи, состоящий из нуклеотидных остатков 70-102 гена V-области L-цепи, состоящего из нуклеотидной последовательности SEQ ID NO:112 (ген, кодирующий CDR1 L-цепи, как описано выше в (1-1)), или вариант, на основе вырожденности кодонов, гена CDR1 L-цепи; ген CDR2 L-цепи, состоящий из нуклеотидных остатков 148-168 гена V-области L-цепи, состоящего из нуклеотидной последовательности SEQ ID NO:112 (ген, кодирующий CDR2 L-цепи, как описано выше в (1-1)), или вариант, на основе вырожденности кодонов, гена CDR2 L-цепи; и ген CDR3 L-цепи, состоящий из нуклеотидных остатков 265-291 гена V-области L-цепи, состоящего из нуклеотидной последовательности SEQ ID NO:112 (ген, кодирующий CDR3 L-цепи, как описано выше в (1-1)), или вариант, на основе вырожденности кодонов, гена CDR3 L-цепи,

(2-1D) ген антитела, содержащий: ген CDR1 Н-цепи, состоящий из нуклеотидных остатков 91-105 гена V-области Н-цепи, состоящего из нуклеотидных остатков SEQ ID NO:115 (ген, кодирующий Н-цепь CDR1, как описано выше в (2-1)), или вариант, на основе вырожденности кодонов, гена CDR1 Н-цепи; ген CDR2 Н-цепи, состоящий из нуклеотидных остатков 148-198 гена V-области Н-цепи, состоящего из нуклеотидных остатков SEQ ID NO:115 (ген, кодирующий Н-цепь CDR2, как описано выше в (2-1)), или вариант, на основе вырожденности кодонов, гена CDR2 Н-цепи; и ген CDR3 Н-

цепи, состоящий из нуклеотидных остатков 295-321 гена V-области Н-цепи, состоящего из нуклеотидных остатков SEQ ID NO:115 (ген, кодирующий Н-цепь CDR3, как описано выше в (2-1)), или вариант, на основе вырожденности кодонов, гена CDR3 Н-цепи; и

ген CDR1 L-цепи, состоящий из нуклеотидных остатков 70-117 гена V-области L-цепи, состоящего из нуклеотидной последовательности SEQ ID NO:116 (ген, кодирующий CDR1 L-цепи, как описано выше в (2-1)), или вариант, на основе вырожденности кодонов, гена CDR1 L-цепи; ген CDR2 L-цепи, состоящий из нуклеотидных остатков 163-183 гена V-области L-цепи, состоящего из нуклеотидной последовательности SEQ ID NO:116 (ген, кодирующий CDR2 L-цепи, как описано выше в (2-1)), или вариант, на основе вырожденности кодонов, гена CDR2 L-цепи; и ген CDR3 L-цепи, состоящий из нуклеотидных остатков 280-306 гена V-области L-цепи, состоящего из нуклеотидной последовательности SEQ ID NO:116 (ген, кодирующий CDR3 L-цепи, как описано выше в (2-1)), или вариант, на основе вырожденности кодонов, гена CDR3 L-цепи,

(3-1D) ген антитела, содержащий: ген CDR1 Н-цепи, состоящий из нуклеотидных остатков 91-105 гена V-области Н-цепи, состоящего из нуклеотидных остатков SEQ ID NO:119 (ген, кодирующий Н-цепь CDR1, как описано выше в (3-1)), или вариант, на основе вырожденности кодонов, гена CDR1 Н-цепи; ген CDR2 Н-цепи, состоящий из нуклеотидных остатков 148-198 гена V-области Н-цепи, состоящего из нуклеотидных остатков SEQ ID NO:119 (ген, кодирующий Н-цепь CDR2, как описано выше в (3-1)), или вариант, на основе вырожденности кодонов, гена CDR2 Н-цепи; и ген CDR3 Н-цепи, состоящий из нуклеотидных остатков 295-315 гена V-области Н-цепи, состоящего из нуклеотидных остатков SEQ ID NO:119 (ген, кодирующий Н-цепь CDR3, как описано выше в (3-1)), или вариант, на основе вырожденности кодонов, гена CDR3 Н-цепи; и

ген CDR1 L-цепи, состоящий из нуклеотидных остатков 70-102 гена V-области L-цепи, состоящего из нуклеотидной последовательности SEQ ID NO:120 (ген, кодирующий CDR1 L-цепи, как описано выше в (3-1)), или вариант, на основе вырожденности кодонов, гена CDR1 L-цепи; ген CDR2 L-цепи, состоящий из нуклеотидных остатков 148-168 гена V-области L-цепи, состоящего

из нуклеотидной последовательности SEQ ID NO:120 (ген, кодирующий CDR2 L-цепи, как описано выше в (3-1)), или вариант, на основе вырожденности кодонов, гена CDR2 L-цепи; и ген CDR3 L-цепи, состоящий из нуклеотидных остатков 265-288 гена V-области L-цепи, состоящего из нуклеотидной последовательности SEQ ID NO:120 (ген, кодирующий CDR3 L-цепи, как описано выше в (3-1)), или вариант, на основе вырожденности кодонов, гена CDR3 L-цепи,

(4-1D) ген антитела, содержащий: ген CDR1 H-цепи, состоящий из нуклеотидных остатков 91-105 гена V-области H-цепи, состоящего из нуклеотидных остатков SEQ ID NO:123 (ген, кодирующий H-цепь CDR1, как описано выше в (4-1)), или вариант, на основе вырожденности кодонов, гена CDR1 H-цепи; ген CDR2 H-цепи, состоящий из нуклеотидных остатков 148-198 гена V-области H-цепи, состоящего из нуклеотидных остатков SEQ ID NO:123 (ген, кодирующий H-цепь CDR2, как описано выше в (4-1)), или вариант, на основе вырожденности кодонов, гена CDR2 H-цепи; и ген CDR3 H-цепи, состоящий из нуклеотидных остатков 298-330 гена V-области H-цепи, состоящего из нуклеотидных остатков SEQ ID NO:123 (ген, кодирующий H-цепь CDR3, как описано выше в (4-1)), или вариант, на основе вырожденности кодонов, гена CDR3 H-цепи; и

ген CDR1 L-цепи, состоящий из нуклеотидных остатков 70-102 гена V-области L-цепи, состоящего из нуклеотидной последовательности SEQ ID NO:124 (ген, кодирующий CDR1 L-цепи, как описано выше в (4-1)), или вариант, на основе вырожденности кодонов, гена CDR1 L-цепи; ген CDR2 L-цепи, состоящий из нуклеотидных остатков 148-168 гена V-области L-цепи, состоящего из нуклеотидной последовательности SEQ ID NO:124 (ген, кодирующий CDR2 L-цепи, как описано выше в (4-1)), или вариант, на основе вырожденности кодонов, гена CDR2 L-цепи; и ген CDR3 L-цепи, состоящий из нуклеотидных остатков 265-291 гена V-области L-цепи, состоящего из нуклеотидной последовательности SEQ ID NO:124 (ген, кодирующий CDR3 L-цепи, как описано выше в (4-1)), или вариант, на основе вырожденности кодонов, гена CDR3 L-цепи,

(5-1D) ген антитела, содержащий: ген CDR1 H-цепи, состоящий из нуклеотидных остатков 91-105 гена V-области H-цепи, состоящего из нуклеотидных остатков SEQ ID NO:127 (ген,

кодирующий Н-цепь CDR1, как описано выше в (5-1)), или вариант, на основе вырожденности кодонов, гена CDR1 Н-цепи; ген CDR2 Н-цепи, состоящий из нуклеотидных остатков 148-198 гена V-области Н-цепи, состоящего из нуклеотидных остатков SEQ ID NO:127 (ген, кодирующий Н-цепь CDR2, как описано выше в (5-1)), или вариант, на основе вырожденности кодонов, гена CDR2 Н-цепи; и ген CDR3 Н-цепи, состоящий из нуклеотидных остатков 298-321 гена V-области Н-цепи, состоящего из нуклеотидных остатков SEQ ID NO:127 (ген, кодирующий Н-цепь CDR3, как описано выше в (5-1)), или вариант, на основе вырожденности кодонов, гена CDR3 Н-цепи; и

ген CDR1 L-цепи, состоящий из нуклеотидных остатков 70-120 гена V-области L-цепи, состоящего из нуклеотидной последовательности SEQ ID NO:128 (ген, кодирующий CDR1 L-цепи, как описано выше в (5-1)), или вариант, на основе вырожденности кодонов, гена CDR1 L-цепи; ген CDR2 L-цепи, состоящий из нуклеотидных остатков 166-186 гена V-области L-цепи, состоящего из нуклеотидной последовательности SEQ ID NO:128 (ген, кодирующий CDR2 L-цепи, как описано выше в (5-1)), или вариант, на основе вырожденности кодонов, гена CDR2 L-цепи; и ген CDR3 L-цепи, состоящий из нуклеотидных остатков 283-309 гена V-области L-цепи, состоящего из нуклеотидной последовательности SEQ ID NO:128 (ген, кодирующий CDR3 L-цепи, как описано выше в (5-1)), или вариант, на основе вырожденности кодонов, гена CDR3 L-цепи,

(6-1D) ген антитела, содержащий: ген CDR1 Н-цепи, состоящий из нуклеотидных остатков 91-105 гена V-области Н-цепи, состоящего из нуклеотидных остатков SEQ ID NO:131 (ген, кодирующий Н-цепь CDR1, как описано выше в (6-1)), или вариант, на основе вырожденности кодонов, гена CDR1 Н-цепи; ген CDR2 Н-цепи, состоящий из нуклеотидных остатков 148-198 гена V-области Н-цепи, состоящего из нуклеотидных остатков SEQ ID NO:131 (ген, кодирующий Н-цепь CDR2, как описано выше в (6-1)), или вариант, на основе вырожденности кодонов, гена CDR2 Н-цепи; и ген CDR3 Н-цепи, состоящий из нуклеотидных остатков 295-318 гена V-области Н-цепи, состоящего из нуклеотидных остатков SEQ ID NO:131 (ген, кодирующий Н-цепь CDR3, как описано выше в (6-1)), или вариант, на основе вырожденности кодонов, гена CDR3 Н-цепи; и

ген CDR1 L-цепи, состоящий из нуклеотидных остатков 70-102 гена V-области L-цепи, состоящего из нуклеотидной последовательности SEQ ID NO:132 (ген, кодирующий CDR1 L-цепи, как описано выше в (6-1)), или вариант, на основе вырожденности кодонов, гена CDR1 L-цепи; ген CDR2 L-цепи, состоящий из нуклеотидных остатков 148-168 гена V-области L-цепи, состоящего из нуклеотидной последовательности SEQ ID NO:132 (ген, кодирующий CDR2 L-цепи, как описано выше в (6-1)), или вариант, на основе вырожденности кодонов, гена CDR2 L-цепи; и ген CDR3 L-цепи, состоящий из нуклеотидных остатков 265-291 гена V-области L-цепи, состоящего из нуклеотидной последовательности SEQ ID NO:132 (ген, кодирующий CDR3 L-цепи, как описано выше в (6-1)), или вариант, на основе вырожденности кодонов, гена CDR3 L-цепи,

(7-1D) ген антитела, содержащий: ген CDR1 H-цепи, состоящий из нуклеотидных остатков 91-105 гена V-области H-цепи, состоящего из нуклеотидных остатков SEQ ID NO:135 (ген, кодирующий H-цепь CDR1, как описано выше в (7-1)), или вариант, на основе вырожденности кодонов, гена CDR1 H-цепи; ген CDR2 H-цепи, состоящий из нуклеотидных остатков 148-198 гена V-области H-цепи, состоящего из нуклеотидных остатков SEQ ID NO:135 (ген, кодирующий H-цепь CDR2, как описано выше в (7-1)), или вариант, на основе вырожденности кодонов, гена CDR2 H-цепи; и ген CDR3 H-цепи, состоящий из нуклеотидных остатков 295-315 гена V-области H-цепи, состоящего из нуклеотидных остатков SEQ ID NO:135 (ген, кодирующий H-цепь CDR3, как описано выше в (7-1)), или вариант, на основе вырожденности кодонов, гена CDR3 H-цепи; и

ген CDR1 L-цепи, состоящий из нуклеотидных остатков 70-102 гена V-области L-цепи, состоящего из нуклеотидной последовательности SEQ ID NO:136 (ген, кодирующий CDR1 L-цепи, как описано выше в (7-1)), или вариант, на основе вырожденности кодонов, гена CDR1 L-цепи; ген CDR2 L-цепи, состоящий из нуклеотидных остатков 148-168 гена V-области L-цепи, состоящего из нуклеотидной последовательности SEQ ID NO:136 (ген, кодирующий CDR2 L-цепи, как описано выше в (7-1)), или вариант, на основе вырожденности кодонов, гена CDR2 L-цепи; и ген CDR3 L-цепи, состоящий из нуклеотидных остатков 265-291 гена V-области

L-цепи, состоящего из нуклеотидной последовательности SEQ ID NO:136 (ген, кодирующий CDR3 L-цепи, как описано выше в (7-1)), или вариант, на основе вырожденности кодонов, гена CDR3 L-цепи,

(8-1D) ген антитела, содержащий: ген CDR1 H-цепи, состоящий из нуклеотидных остатков 91-105 гена V-области H-цепи, состоящего из нуклеотидных остатков SEQ ID NO:139 (ген, кодирующий H-цепь CDR1, как описано выше в (8-1)), или вариант, на основе вырожденности кодонов, гена CDR1 H-цепи; ген CDR2 H-цепи, состоящий из нуклеотидных остатков 148-198 гена V-области H-цепи, состоящего из нуклеотидных остатков SEQ ID NO:139 (ген, кодирующий H-цепь CDR2, как описано выше в (8-1)), или вариант, на основе вырожденности кодонов, гена CDR2 H-цепи; и ген CDR3 H-цепи, состоящий из нуклеотидных остатков 295-315 гена V-области H-цепи, состоящего из нуклеотидных остатков SEQ ID NO:139 (ген, кодирующий H-цепь CDR3, как описано выше в (8-1)), или вариант, на основе вырожденности кодонов, гена CDR3 H-цепи; и

ген CDR1 L-цепи, состоящий из нуклеотидных остатков 70-102 гена V-области L-цепи, состоящего из нуклеотидной последовательности SEQ ID NO:140 (ген, кодирующий CDR1 L-цепи, как описано выше в (8-1)), или вариант, на основе вырожденности кодонов, гена CDR1 L-цепи; ген CDR2 L-цепи, состоящий из нуклеотидных остатков 148-168 гена V-области L-цепи, состоящего из нуклеотидной последовательности SEQ ID NO:140 (ген, кодирующий CDR2 L-цепи, как описано выше в (8-1)), или вариант, на основе вырожденности кодонов, гена CDR2 L-цепи; и ген CDR3 L-цепи, состоящий из нуклеотидных остатков 265-291 гена V-области L-цепи, состоящего из нуклеотидной последовательности SEQ ID NO:140 (ген, кодирующий CDR3 L-цепи, как описано выше в (8-1)), или вариант, на основе вырожденности кодонов, гена CDR3 L-цепи,

(9-1D) ген антитела, содержащий: ген CDR1 H-цепи, состоящий из нуклеотидных остатков 91-105 гена V-области H-цепи, состоящего из нуклеотидных остатков SEQ ID NO:143 (ген, кодирующий H-цепь CDR1, как описано выше в (9-1)), или вариант, на основе вырожденности кодонов, гена CDR1 H-цепи; ген CDR2 H-цепи, состоящий из нуклеотидных остатков 148-198 гена V-области H-цепи, состоящего из нуклеотидных остатков SEQ ID NO:143 (ген,

кодирующий Н-цепь CDR2, как описано выше в (9-1)), или вариант, на основе вырожденности кодонов, гена CDR2 Н-цепи; и ген CDR3 Н-цепи, состоящий из нуклеотидных остатков 298-330 гена V-области Н-цепи, состоящего из нуклеотидных остатков SEQ ID NO:143 (ген, кодирующий Н-цепь CDR3, как описано выше в (9-1)), или вариант, на основе вырожденности кодонов, гена CDR3 Н-цепи; и

ген CDR1 L-цепи, состоящий из нуклеотидных остатков 70-102 гена V-области L-цепи, состоящего из нуклеотидной последовательности SEQ ID NO:144 (ген, кодирующий CDR1 L-цепи, как описано выше в (9-1)), или вариант, на основе вырожденности кодонов, гена CDR1 L-цепи; ген CDR2 L-цепи, состоящий из нуклеотидных остатков 148-168 гена V-области L-цепи, состоящего из нуклеотидной последовательности SEQ ID NO:144 (ген, кодирующий CDR2 L-цепи, как описано выше в (9-1)), или вариант, на основе вырожденности кодонов, гена CDR2 L-цепи; и ген CDR3 L-цепи, состоящий из нуклеотидных остатков 265-291 гена V-области L-цепи, состоящего из нуклеотидной последовательности SEQ ID NO:144 (ген, кодирующий CDR3 L-цепи, как описано выше в (9-1)), или вариант, на основе вырожденности кодонов, гена CDR3 L-цепи,

(10-1D) ген антитела, содержащий: ген CDR1 Н-цепи, состоящий из нуклеотидных остатков 91-105 гена V-области Н-цепи, состоящего из нуклеотидных остатков SEQ ID NO:147 (ген, кодирующий Н-цепь CDR1, как описано выше в (10-1)), или вариант, на основе вырожденности кодонов, гена CDR1 Н-цепи; ген CDR2 Н-цепи, состоящий из нуклеотидных остатков 148-198 гена V-области Н-цепи, состоящего из нуклеотидных остатков SEQ ID NO:147 (ген, кодирующий Н-цепь CDR2, как описано выше в (10-1)), или вариант, на основе вырожденности кодонов, гена CDR2 Н-цепи; и ген CDR3 Н-цепи, состоящий из нуклеотидных остатков 295-327 гена V-области Н-цепи, состоящего из нуклеотидных остатков SEQ ID NO:147 (ген, кодирующий Н-цепь CDR3, как описано выше в (10-1)), или вариант, на основе вырожденности кодонов, гена CDR3 Н-цепи; и

ген CDR1 L-цепи, состоящий из нуклеотидных остатков 70-102 гена V-области L-цепи, состоящего из нуклеотидной последовательности SEQ ID NO:148 (ген, кодирующий CDR1 L-цепи, как описано выше в (10-1)), или вариант, на основе вырожденности

кодонов, гена CDR1 L-цепи; ген CDR2 L-цепи, состоящий из нуклеотидных остатков 148-168 гена V-области L-цепи, состоящего из нуклеотидной последовательности SEQ ID NO:148 (ген, кодирующий CDR2 L-цепи, как описано выше в (10-1)), или вариант, на основе вырожденности кодонов, гена CDR2 L-цепи; и ген CDR3 L-цепи, состоящий из нуклеотидных остатков 265-291 гена V-области L-цепи, состоящего из нуклеотидной последовательности SEQ ID NO:148 (ген, кодирующий CDR3 L-цепи, как описано выше в (10-1)), или вариант, на основе вырожденности кодонов, гена CDR3 L-цепи, и

(11-1D) ген антитела, содержащий: ген CDR1 H-цепи, состоящий из нуклеотидных остатков 91-105 гена V-области H-цепи, состоящего из нуклеотидных остатков SEQ ID NO:151 (ген, кодирующий H-цепь CDR1, как описано выше в (11-1)), или вариант, на основе вырожденности кодонов, гена CDR1 H-цепи; ген CDR2 H-цепи, состоящий из нуклеотидных остатков 148-198 гена V-области H-цепи, состоящего из нуклеотидных остатков SEQ ID NO:151 (ген, кодирующий H-цепь CDR2, как описано выше в (11-1)), или вариант, на основе вырожденности кодонов, гена CDR2 H-цепи; и ген CDR3 H-цепи, состоящий из нуклеотидных остатков 295-324 гена V-области H-цепи, состоящего из нуклеотидной последовательности SEQ ID NO:151 (ген, кодирующий H-цепь CDR3, как описано выше в (11-1)), или вариант, на основе вырожденности кодонов, гена CDR3 H-цепи.

[0042] Другие примеры гена антитела по настоящему изобретению могут включать

(1-2D) ген антитела, содержащий ген переменной области H-цепи, состоящий из нуклеотидной последовательности, которая по меньшей мере на 80% или выше идентична по последовательности нуклеотидной последовательности SEQ ID NO:111 (ген, кодирующий переменную область H-цепи, состоящую из аминокислотной последовательности, которая по меньшей мере на 80% или больше идентична по последовательности аминокислотной последовательности SEQ ID NO:7), и ген, переменной области L-цепи, состоящий из нуклеотидной последовательности, которая по меньшей мере 80% или выше идентична по последовательности нуклеотидной последовательности SEQ ID NO:112 (ген, кодирующий

вариабельную области L-цепи, состоящую из аминокислотной последовательности, которая по меньшей мере на 80% или больше идентична по последовательности аминокислотной последовательности SEQ ID NO:8),

(2-2D) ген антитела, содержащий ген вариабельной области H-цепи, состоящий из нуклеотидной последовательности, которая по меньшей мере на 80% или выше идентична по последовательности нуклеотидной последовательности SEQ ID NO:115 (ген, кодирующий вариабельную области H-цепи, состоящую из аминокислотной последовательности, которая по меньшей мере на 80% или больше идентична по последовательности аминокислотной последовательности SEQ ID NO:17), и ген, вариабельной области L-цепи, состоящий из нуклеотидной последовательности, которая по меньшей мере 80% или выше идентична по последовательности нуклеотидной последовательности SEQ ID NO:116 (ген, кодирующий вариабельную области L-цепи, состоящую из аминокислотной последовательности, которая по меньшей мере на 80% или больше идентична по последовательности аминокислотной последовательности SEQ ID NO:18),

(3-2D) ген антитела, содержащий ген вариабельной области H-цепи, состоящий из нуклеотидной последовательности, которая по меньшей мере на 80% или выше идентична по последовательности нуклеотидной последовательности SEQ ID NO:119 (ген, кодирующий вариабельную области H-цепи, состоящую из аминокислотной последовательности, которая по меньшей мере на 80% или больше идентична по последовательности аминокислотной последовательности SEQ ID NO:27), и ген, вариабельной области L-цепи, состоящий из нуклеотидной последовательности, которая по меньшей мере 80% или выше идентична по последовательности нуклеотидной последовательности SEQ ID NO:120 (ген, кодирующий вариабельную области L-цепи, состоящую из аминокислотной последовательности, которая по меньшей мере на 80% или больше идентична по последовательности аминокислотной последовательности SEQ ID NO:28),

(4-2D) ген антитела, содержащий ген вариабельной области H-цепи, состоящий из нуклеотидной последовательности, которая по

меньшей мере на 80% или выше идентична по последовательности нуклеотидной последовательности SEQ ID NO:123 (ген, кодирующий переменную область Н-цепи, состоящую из аминокислотной последовательности, которая по меньшей мере на 80% или больше идентична по последовательности аминокислотной последовательности SEQ ID NO:37), и ген, переменной области L-цепи, состоящий из нуклеотидной последовательности, которая по меньшей мере 80% или выше идентична по последовательности нуклеотидной последовательности SEQ ID NO:124 (ген, кодирующий переменную область L-цепи, состоящую из аминокислотной последовательности, которая по меньшей мере на 80% или больше идентична по последовательности аминокислотной последовательности SEQ ID NO:38),

(5-2D) ген антитела, содержащий ген переменной области Н-цепи, состоящий из нуклеотидной последовательности, которая по меньшей мере на 80% или выше идентична по последовательности нуклеотидной последовательности SEQ ID NO:127 (ген, кодирующий переменную область Н-цепи, состоящую из аминокислотной последовательности, которая по меньшей мере на 80% или больше идентична по последовательности аминокислотной последовательности SEQ ID NO:47), и ген, переменной области L-цепи, состоящий из нуклеотидной последовательности, которая по меньшей мере 80% или выше идентична по последовательности нуклеотидной последовательности SEQ ID NO:128 (ген, кодирующий переменную область L-цепи, состоящую из аминокислотной последовательности, которая по меньшей мере на 80% или больше идентична по последовательности аминокислотной последовательности SEQ ID NO:48),

(6-2D) ген антитела, содержащий ген переменной области Н-цепи, состоящий из нуклеотидной последовательности, которая по меньшей мере на 80% или выше идентична по последовательности нуклеотидной последовательности SEQ ID NO:131 (ген, кодирующий переменную область Н-цепи, состоящую из аминокислотной последовательности, которая по меньшей мере на 80% или больше идентична по последовательности аминокислотной последовательности SEQ ID NO:57), и ген, переменной области L-

цепи, состоящий из нуклеотидной последовательности, которая по меньшей мере 80% или выше идентична по последовательности нуклеотидной последовательности SEQ ID NO:132 (ген, кодирующий переменную область L-цепи, состоящую из аминокислотной последовательности, которая по меньшей мере на 80% или больше идентична по последовательности аминокислотной последовательности SEQ ID NO:58),

(7-2D) ген антитела, содержащий ген переменной области H-цепи, состоящий из нуклеотидной последовательности, которая по меньшей мере на 80% или выше идентична по последовательности нуклеотидной последовательности SEQ ID NO:135 (ген, кодирующий переменную область H-цепи, состоящую из аминокислотной последовательности, которая по меньшей мере на 80% или больше идентична по последовательности аминокислотной последовательности SEQ ID NO:67), и ген, переменной области L-цепи, состоящий из нуклеотидной последовательности, которая по меньшей мере 80% или выше идентична по последовательности нуклеотидной последовательности SEQ ID NO:136 (ген, кодирующий переменную область L-цепи, состоящую из аминокислотной последовательности, которая по меньшей мере на 80% или больше идентична по последовательности аминокислотной последовательности SEQ ID NO:68),

(8-2D) ген антитела, содержащий ген переменной области H-цепи, состоящий из нуклеотидной последовательности, которая по меньшей мере на 80% или выше идентична по последовательности нуклеотидной последовательности SEQ ID NO:139 (ген, кодирующий переменную область H-цепи, состоящую из аминокислотной последовательности, которая по меньшей мере на 80% или больше идентична по последовательности аминокислотной последовательности SEQ ID NO:77), и ген, переменной области L-цепи, состоящий из нуклеотидной последовательности, которая по меньшей мере 80% или выше идентична по последовательности нуклеотидной последовательности SEQ ID NO:140 (ген, кодирующий переменную область L-цепи, состоящую из аминокислотной последовательности, которая по меньшей мере на 80% или больше идентична по последовательности аминокислотной

последовательности SEQ ID NO:78),

(9-2D) ген антитела, содержащий ген вариабельной области Н-цепи, состоящий из нуклеотидной последовательности, которая по меньшей мере на 80% или выше идентична по последовательности нуклеотидной последовательности SEQ ID NO:143 (ген, кодирующий вариабельную области Н-цепи, состоящую из аминокислотной последовательности, которая по меньшей мере на 80% или больше идентична по последовательности аминокислотной последовательности SEQ ID NO:87), и ген, вариабельной области L-цепи, состоящий из нуклеотидной последовательности, которая по меньшей мере 80% или выше идентична по последовательности нуклеотидной последовательности SEQ ID NO:144 (ген, кодирующий вариабельную области L-цепи, состоящую из аминокислотной последовательности, которая по меньшей мере на 80% или больше идентична по последовательности аминокислотной последовательности SEQ ID NO:88),

(10-2D) ген антитела, содержащий ген вариабельной области Н-цепи, состоящий из нуклеотидной последовательности, которая по меньшей мере на 80% или выше идентична по последовательности нуклеотидной последовательности SEQ ID NO:147 (ген, кодирующий вариабельную области Н-цепи, состоящую из аминокислотной последовательности, которая по меньшей мере на 80% или больше идентична по последовательности аминокислотной последовательности SEQ ID NO:97), и ген, вариабельной области L-цепи, состоящий из нуклеотидной последовательности, которая по меньшей мере 80% или выше идентична по последовательности нуклеотидной последовательности SEQ ID NO:148 (ген, кодирующий вариабельную области L-цепи, состоящую из аминокислотной последовательности, которая по меньшей мере на 80% или больше идентична по последовательности аминокислотной последовательности SEQ ID NO:98), и

(11-2D) ген антитела, содержащий ген вариабельной области Н-цепи, состоящий из нуклеотидной последовательности, которая по меньшей мере на 80% или выше идентична по последовательности нуклеотидной последовательности SEQ ID NO:151 (ген, кодирующий вариабельную области Н-цепи, состоящую из аминокислотной

последовательности, которая по меньшей мере на 80% или больше идентична по последовательности аминокислотной последовательности SEQ ID NO:107), и ген, вариабельной области L-цепи, состоящий из нуклеотидной последовательности, которая по меньшей мере 80% или выше идентична по последовательности нуклеотидной последовательности SEQ ID NO:152 (ген, кодирующий вариабельную область L-цепи, состоящую из аминокислотной последовательности, которая по меньшей мере на 80% или больше идентична по последовательности аминокислотной последовательности SEQ ID NO:108).

[0043] В частности, примеры гена антитела по настоящему изобретению могут конкретно включать

(1-4D) ген антитела, содержащий ген H-цепи, состоящий из нуклеотидной последовательности, которая по меньшей мере 80% или выше идентична по последовательности нуклеотидной последовательности SEQ ID NO:113 (ген, кодирующий H-цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, которая по меньшей мере на 80% или больше идентична по последовательности аминокислотной последовательности SEQ ID NO:9), и ген L-цепи, состоящий из нуклеотидной последовательности, которая по меньшей мере 80% или выше идентична по последовательности нуклеотидной последовательности SEQ ID NO:114 (ген, кодирующий L-цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, которая по меньшей мере на 80% или больше идентична по последовательности аминокислотной последовательности SEQ ID NO:10),

(2-4D) ген антитела, содержащий ген H-цепи, состоящий из нуклеотидной последовательности, которая по меньшей мере 80% или выше идентична по последовательности нуклеотидной последовательности SEQ ID NO:117 (ген, кодирующий H-цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, которая по меньшей мере на 80% или больше идентична по последовательности аминокислотной последовательности SEQ ID NO:19), и ген L-цепи, состоящий из нуклеотидной последовательности, которая по меньшей мере 80% или выше идентична по последовательности нуклеотидной последовательности SEQ ID NO:118 (ген, кодирующий L-цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, которая по

мере 80% или выше идентична по последовательности нуклеотидной последовательности SEQ ID NO:130 (ген, кодирующий L-цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, которая по меньшей мере на 80% или больше идентична по последовательности аминокислотной последовательности SEQ ID NO:50),

(6-4D) ген антитела, содержащий ген H-цепи, состоящий из нуклеотидной последовательности, которая по меньшей мере 80% или выше идентична по последовательности нуклеотидной последовательности SEQ ID NO:133 (ген, кодирующий H-цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, которая по меньшей мере на 80% или больше идентична по последовательности аминокислотной последовательности SEQ ID NO:59), и ген L-цепи, состоящий из нуклеотидной последовательности, которая по меньшей мере 80% или выше идентична по последовательности нуклеотидной последовательности SEQ ID NO:134 (ген, кодирующий L-цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, которая по меньшей мере на 80% или больше идентична по последовательности аминокислотной последовательности SEQ ID NO:60),

(7-4D) ген антитела, содержащий ген H-цепи, состоящий из нуклеотидной последовательности, которая по меньшей мере 80% или выше идентична по последовательности нуклеотидной последовательности SEQ ID NO:137 (ген, кодирующий H-цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, которая по меньшей мере на 80% или больше идентична по последовательности аминокислотной последовательности SEQ ID NO:69), и ген L-цепи, состоящий из нуклеотидной последовательности, которая по меньшей мере 80% или выше идентична по последовательности нуклеотидной последовательности SEQ ID NO:138 (ген, кодирующий L-цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, которая по меньшей мере на 80% или больше идентична по последовательности аминокислотной последовательности SEQ ID NO:70),

(8-4D) ген антитела, содержащий ген H-цепи, состоящий из нуклеотидной последовательности, которая по меньшей мере 80% или выше идентична по последовательности нуклеотидной последовательности SEQ ID NO:141 (ген, кодирующий H-цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, которая по

меньшей мере на 80% или больше идентична по последовательности аминокислотной последовательности SEQ ID NO:79), и ген L-цепи, состоящий из нуклеотидной последовательности, которая по меньшей мере 80% или выше идентична по последовательности нуклеотидной последовательности SEQ ID NO:142 (ген, кодирующий L-цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, которая по меньшей мере на 80% или больше идентична по последовательности аминокислотной последовательности SEQ ID NO:80),

(9-4D) ген антитела, содержащий ген Н-цепи, состоящий из нуклеотидной последовательности, которая по меньшей мере 80% или выше идентична по последовательности нуклеотидной последовательности SEQ ID NO:145 (ген, кодирующий Н-цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, которая по меньшей мере на 80% или больше идентична по последовательности аминокислотной последовательности SEQ ID NO:89), и ген L-цепи, состоящий из нуклеотидной последовательности, которая по меньшей мере 80% или выше идентична по последовательности нуклеотидной последовательности SEQ ID NO:146 (ген, кодирующий L-цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, которая по меньшей мере на 80% или больше идентична по последовательности аминокислотной последовательности SEQ ID NO:90),

(10-4D) ген антитела, содержащий ген Н-цепи, состоящий из нуклеотидной последовательности, которая по меньшей мере 80% или выше идентична по последовательности нуклеотидной последовательности SEQ ID NO:149 (ген, кодирующий Н-цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, которая по меньшей мере на 80% или больше идентична по последовательности аминокислотной последовательности SEQ ID NO:99), и ген L-цепи, состоящий из нуклеотидной последовательности, которая по меньшей мере 80% или выше идентична по последовательности нуклеотидной последовательности SEQ ID NO:150 (ген, кодирующий L-цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, которая по меньшей мере на 80% или больше идентична по последовательности аминокислотной последовательности SEQ ID NO:100), и

(11-4D) ген антитела, содержащий ген Н-цепи, состоящий из нуклеотидной последовательности, которая по меньшей мере 80% или

выше идентична по последовательности нуклеотидной последовательности SEQ ID NO:153 (ген, кодирующий Н-цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, которая по меньшей мере на 80% или больше идентична по последовательности аминокислотной последовательности SEQ ID NO:109), и ген L-цепи, состоящий из нуклеотидной последовательности, которая по меньшей мере 80% или выше идентична по последовательности нуклеотидной последовательности SEQ ID NO:154 (ген, кодирующий L-цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, которая по меньшей мере на 80% или больше идентична по последовательности аминокислотной последовательности SEQ ID NO:110).

[0044] Ген CAR по настоящему изобретению gene в частности не ограниче, если ген (нуклеотид) кодирует CAR по настоящему изобретению. Примеры гена CAR могут конкретно включать

(1-3D) ген CAR, содержащий ген, кодирующий одноцепочечное антитело, как описано выше в (1-3), или вариант гена на основе вырожденности кодонов,

(2-3D) ген CAR, содержащий ген, кодирующий одноцепочечное антитело, как описано выше в (2-3), или вариант гена на основе вырожденности кодонов,

(3-3D) ген CAR, содержащий ген, кодирующий одноцепочечное антитело, как описано выше в (3-3), или вариант гена на основе вырожденности кодонов,

(4-3D) ген CAR, содержащий ген, кодирующий одноцепочечное антитело, как описано выше в (4-3), или вариант гена на основе вырожденности кодонов,

(5-3D) ген CAR, содержащий ген, кодирующий одноцепочечное антитело, как описано выше в (5-3), или вариант гена на основе вырожденности кодонов,

(6-3D) ген CAR, содержащий ген, кодирующий одноцепочечное антитело, как описано выше в (6-3), или вариант гена на основе вырожденности кодонов,

(7-3D) ген CAR, содержащий ген, кодирующий одноцепочечное антитело, как описано выше в (7-3), или вариант гена на основе вырожденности кодонов,

(8-3D) ген CAR, содержащий ген, кодирующий одноцепочечное

антитело, как описано выше в (8-3), или вариант гена на основе вырожденности кодонов,

(9-3D) ген CAR, содержащий ген, кодирующий одноцепочечное антитело, как описано выше в (9-3), или вариант гена на основе вырожденности кодонов,

(10-3D) ген CAR, содержащий ген, кодирующий одноцепочечное антитело, как описано выше в (10-3), или вариант гена на основе вырожденности кодонов,

(11-3D) ген CAR, содержащий ген, кодирующий одноцепочечное антитело, как описано выше в (11-3), или вариант гена на основе вырожденности кодонов,

(1-3'-1D) ген CAR, содержащий ген, кодирующий одноцепочечное антитело, как описано выше в (1-3'-1), или вариант гена на основе вырожденности кодонов,

(1-3'-2D) ген CAR, содержащий ген, кодирующий одноцепочечное антитело, как описано выше в (1-3'-2), или вариант гена на основе вырожденности кодонов,

(1-3'-3D) ген CAR, содержащий ген, кодирующий одноцепочечное антитело, как описано выше в (1-3'-3), или вариант гена на основе вырожденности кодонов,

(2-3'-1D) ген CAR, содержащий ген, кодирующий одноцепочечное антитело, как описано выше в (2-3'-1), или вариант гена на основе вырожденности кодонов,

(2-3'-2D) ген CAR, содержащий ген, кодирующий одноцепочечное антитело, как описано выше в (2-3'-2), или вариант гена на основе вырожденности кодонов,

(2-3'-3D) ген CAR, содержащий ген, кодирующий одноцепочечное антитело, как описано выше в (2-3'-3), или вариант гена на основе вырожденности кодонов, и

(2-3'-4D) ген CAR, содержащий ген, кодирующий одноцепочечное антитело, как описано выше в (2-3'-4), или вариант гена на основе вырожденности кодонов.

[0045] В настоящем описании фраза "идентичен по меньшей мере на 80% или выше" означает, что идентичность составляет 80% или выше, предпочтительно 85% или выше, более предпочтительно 88% или выше, еще более предпочтительно 90% или выше, более

предпочтительно 93% или выше, особенно предпочтительно 95% или выше, в частности, более предпочтительно 98% или выше, наиболее предпочтительно 100%.

[0046] В настоящем описании термин "идентичность" означает степень сходства полипептидных или полинуклеотидных последовательностей (эта степень определяется путем сопоставления искомой последовательности с другой последовательностью, предпочтительно того же типа (последовательность нуклеиновой кислоты или белка)). Примеры предпочтительного метода компьютерной программы для подсчета и определения "идентичности" включают, но не ограничиваются ими, GCG BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) (Altschul et al. J. Mol. Biol. 1990, 215: 403-410; Altschul et al., Nucleic Acids Res. 1997, 25: 3389-3402; and Devereux et al., Nucleic Acid Res. 1984, 12: 387), BLASTN 2.0 (Gish W., <http://blast.wustl.edu>, 1996-2002), FASTA (Pearson and Lipman, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 1988, 85: 2444-2448), и GCG GelMerge, которые определяет и выравнивает пары самых длинных перекрывающихся контигов (Wibur and Lipman, SIAM J. Appl. Math. 1984, 44: 557-567; и Needleman and Wunsch, J. Mol. Biol. 1970, 48: 443-453).

[0047] В настоящем описании «аминокислотная последовательность, которая по меньшей мере на 80% или более идентична по последовательности аминокислотной последовательности SEQ ID NO:X», другими словами, представляет собой, «аминокислотную последовательность, полученную из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:X путем делеции, замены, вставки и/или добавления 0, 1 или нескольких аминокислотных остатков" и имеет функции, эквивалентные функциям аминокислотной последовательности SEQ ID NO:X. В этом контексте «аминокислотная последовательность, полученная путем делеции, замены, вставки и/или добавления 1 или нескольких аминокислотных остатков» означает аминокислотную последовательность, в которой аминокислотные остатки были удалены, замещены, вставлены и/или добавлены, например, в пределах 1-30 остатков, предпочтительно в пределах 1-20 остатков, более предпочтительно в пределах 1-15

остатков, еще более предпочтительно в пределах 1-10 остатков, еще более предпочтительно в пределах 1-5 остатков, еще более предпочтительно в пределах 1-3 остатков, еще более предпочтительно в пределах 1 или 2 остатков. Мутационная обработка этих аминокислотных остатков может быть выполнена произвольным способом, известным специалистам в данной области, таким как химический синтез, подход генной инженерии или мутагенез.

[0048] Промотор в векторе по настоящему изобретению может представлять собой любую область, которая запускает транскрипцию мРНК, кодируемую геном антитела по настоящему изобретению, и расположенную ниже промотора. Промотор обычно содержит сайт начала транскрипции (TSS).

[0049] Тип промотора или вектора в векторе по настоящему уровню может быть соответствующим образом выбран в соответствии с типом клетки-хозяина (или организмом-хозяином), в которую вводится вектор по настоящему изобретению.

[0050] Клетка-хозяин может экспрессировать антитело по настоящему изобретению путем транскрипции гена антитела по настоящему изобретению или может экспрессировать CAR по настоящему изобретению путем транскрипции мРНК гена CAR по настоящему изобретению. В случае введения «вектора, содержащего антитело по настоящему изобретению» в качестве вектора по настоящему изобретению, дрожжи, клетки млекопитающих, клетки насекомых или клетки растений, приведенные ниже, могут использоваться в качестве клетки-хозяина. В случае введения «вектора, содержащего ген CAR по настоящему изобретению» в качестве вектора по настоящему изобретению, в качестве клетки-хозяина может использоваться иммунокомпетентная клетка.

[0051] В случае использования дрожжей (например, *Saccharomyces cerevisiae* и *Schizosaccharomyces pombe*) в качестве клетки-хозяина примеры вектора по настоящему могут включать вектор, такой как YEP13 (ATCC37115), YEp24 (ATCC37051) и YCr50 (ATCC37419), и любой вектор, полученный из этого вектора. Примеры промотора могут включать промотор гена гликолиза (например, гена гексозинкиназы), промотор PH05, промотор PGK,

промотор GAP, промотор ADH, промотор gal1, промотор gal10, промотор белка теплового шока, промотор MF α 1 и промотор CUP1.

[0052] В случае использования клетки млекопитающего (например, клетки Namalwa, выделенной из человека, клетки COS, выделенной из обезьяны, клетки CHO яичника китайского хомячка и Т-клетки человека или мыши), в качестве клетки-хозяина, и в случае использования вектора, содержащего ген антитела, в качестве вектора по настоящему изобретению, примеры вектора по настоящему изобретению могут включать вектор, такой как pCDNAI, pCDM8 (производство Funakoshi Co., Ltd.), pAGE107 (публикация японской патентной заявки № 3-22979, по которой не проведена экспертиза; и Cytotechnology, 3, 133 ((1990)), pAS3-3 (публикация японской патентной заявки № 2-227075, по которой не проведена экспертиза), pCDM8 (Nature, 329, 840, (1987)), pCDNAI/Amp (производство Invitrogen Corp.), pREP4 (производство Invitrogen Corp.), pAGE103 (J. Biochemistry, 101, 1307 (1987)) и pAGE210, и любому вектор, полученный из этого вектора. С другой стороны, в случае использования клетки млекопитающего (например, иммунокомпетентной клетки человека, описанной выше) в качестве клетки-хозяина и использования вектора, содержащего ген CAR, в качестве вектора по настоящему изобретению, примеры вектора по настоящему изобретению могут включать ретровирусный вектор, такой как вектор pMSGV (Tamada k et al., Clin Cancer Res 18: 6436-6445 (2002)) и вектор pMSCV (производство Takara Bio Inc.) и любой вектор, полученный из этого вектора.

[0053] Примеры промотора в векторе по настоящему изобретению могут включать промотор гена IE цитомегаловируса (CMV) (предранний), ранний промотор SV40, ретровирусный промотор, промотор металлотионеина, промотор теплового шока, промотор SR α , промотор NFAT и промотор HIF.

[0054] В случае использования клетки насекомого (например, клетки Sf9 и клетки Sf21, которые являются клетками яичника *Spodoptera frugiperda*, и клетки *High5*, которая является клеткой яичника *Trichoplusia ni*) в качестве клетки-хозяина, примеры вектора по настоящему изобретению могут включать вектор переноса

для применения в способах получения рекомбинантного бакуловируса, в частности вектор, такой как pVL1392, pVL1393 и pBlueBacIII (все произведены Invitrogen Corp.), и любой вектор, полученный из этого вектора. Примеры промотора могут включать полиэдриновый промотор и p10-промотор.

[0055] В случае использования клетки растения (например, клеток табака, картофеля, томата, моркови, сои, рапса, люцерны, риса, пшеницы и ячменя) в качестве клетки-хозяина примеры вектора экспрессии могут включать вектор, такой как Ti-вектор и вектор вируса табачной мозаики, и любой вектор, полученный из этого вектора. Примеры промотора могут включать 35S-промотор вируса мозаики цветной капусты (CaMV) и промотор 1 актина риса.

[0056] Вектор по настоящему изобретению предпочтительно также содержит нуклеотидные последовательности энхансерной области и сайта связывания рибосомы (RBS) для дополнительного повышения эффективности экспрессии генов и также содержит ген устойчивости к лекарственным средствам (например, ген устойчивости к спектиномицину, ген устойчивости к хлорамфениколу, устойчивость к тетрациклину) гена, гена устойчивости к канамицину, гена устойчивости к ампициллину, гена устойчивости к пурамицину, гена устойчивости к гигромицину, гена устойчивости к бластидину и гена устойчивости к генетицину), подходящих для типа клетки-хозяина для скрининга на клетку-хозяин по настоящему изобретению. Энхансерная область обычно располагается выше промотора, а RBS обычно располагается между промотором и геном по настоящему изобретению. Нуклеотидная последовательность гена антитела по настоящему изобретению, которую вводят в вектор по настоящему изобретению факту, может быть подвергнута оптимизации последовательности кодонов в зависимости от клетки-хозяина для экспрессии. Вектор по настоящему изобретению может быть получен способом, известным в данной области, используя методику генной рекомбинации.

[0057] Клетка-хозяин по настоящему изобретению может быть получена путем введения вектора по настоящему изобретению в клетку-хозяин (трансфекция клетки-хозяина) методом, подходящим для типа клетки-хозяина.

[0058] В случае использования дрожжей, описанных выше, в качестве клетки-хозяина, способ введения вектора по настоящему изобретению в дрожжи может быть любым способом введения ДНК в дрожжи. Примеры включают способ, такой как электропорация (Methods Enzymol., 194, 182 (1990)), метод сферопластов (Proc. Natl. Акад. Sci. U.S.A, 84, 1929 (1978)), и способ с ацетатом лития (J. Bacteriology, 153, 163 (1983)).

[0059] В случае использования клеток млекопитающих, описанных выше, в качестве клетки-хозяина, способ введения вектора по настоящему изобретению в клетки млекопитающего может быть любым способом введения ДНК в клетки млекопитающего. Примеры включают метод, такой как электропорация (Cytotechnology, 3, 133 (1990)), метод с фосфатом кальция (публикация японской патентной заявки № 2-227075, находящейся на рассмотрении), липофекция (Proc. Natl. Акад. Sci. U.S.A., 84, 7413 (1987)) и способ вирусной инфекции, как указано выше. Примеры такого способа вирусной инфекции могут включать способ, который включает трансфекцию упаковочной клетки, такой как клетка GP2-293 (производство Takara Bio Inc.), клетка Plat-GP (производство Cosmo Bio Co., Ltd.), клетка PG13 (ATCC CRL-10686) или клетка PA317 (ATCC CRL-9078), вектором экспрессии CAR (Международная публикация WO 2016/056228) и упаковочную плазмиду для получения рекомбинантного вируса, и инфицирование Т-клетки рекомбинантным вирусом, как указано выше.

[0060] В случае использования клеток насекомых, описанных выше, в качестве клетки-хозяина, примеры способа введения вектора по настоящему изобретению в клетки насекомых включают способ, который включает в себя котрансфекцию клеток насекомого с помощью вектора по настоящему изобретению (вектор переноса) и полученную из бакуловируса геномную ДНК для получения рекомбинантного бакуловируса согласно методу, описанному в «Current Protocols in Molecular Biology», «Baculovirus Expression Vectors, A Laboratory Manual, W.H. Freeman and Company, New York (1992)», «Bio/Technology, 6, 47 (1988)», и тому подобное. Примеры такого способа котрансфекции могут включать способ, такой как способ с фосфатом кальция (публикация

японской патентной заявки № 2-227075, находящейся на рассмотрении) и липофекция (Proc. Natl. Акад. Sci. U.S.A., 84, 7413 (1987)).

[0061] В случае использования растительных клеток, описанных выше, в качестве клетки-хозяина, примеры способа введения вектора по настоящему изобретению в растительные клетки могут включать в себя способ, такой как способ, использующий *Agrobacterium* (публикации японских патентных заявок №№ 59-140885 и 60-70080, находящихся на рассмотрении; и *Cytotechnology*, 3, 133 ((1990)), pAS3-3 (публикация японской патентной заявки № 60-251887, находящейся на рассмотрении) и способ с использованием пушки для частиц (генная пушка) (патенты Японии №№ 2606856 и 2517813).

[0062] Антитело по настоящему изобретению может быть получено путем культивирования клетки-хозяина по настоящему изобретению, полученной указанным выше способом, в культуральном растворе, подходящем для клетки-хозяина.

[0063] Трансгенное животное, такое как мышь, крупный рогатый скот, коза, овца, курица или свинья, в которое был введен ген антитела по настоящему изобретению (вектор по настоящему изобретению), получают с использованием методики препаратов трансгенного животного, и антитело, полученное из гена антитела по настоящему числу, также может быть получено в большом количестве из крови, молока или тому подобного трансгенного животного.

[0064] Животных, исключая человека (например, мыши и крысы) иммунизируют веществом, содержащим полипептид GPC3 человека, состоящий из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 155 (полипептидный антиген GPC3). Фаговую библиотеку генов scFv получают способом фагового дисплея. scFv по настоящему изобретению может быть получен способом биопэннинга с использованием полипептидного антигена GPC3 и/или клеточной линии, экспрессирующей полипептидный антиген GPC3 (предпочтительно клеточной линии, не экспрессирующей эндогенный GPC3), и, кроме того, предпочтительно, конкурентный С-концевой полипептид GPC3, состоящий из аминокислотной последовательности

SEQ ID NO:159. Из животных, исключая человека, иммунизированных антигеном получают гибридомы, продуцирующие антитела, используя способ слияния клеток. Культуральный супернатант, содержащий антитело по настоящему изобретению, также может быть получен путем скрининга ELISA с использованием планшета, в котором антиген иммобилизован на твердой фазе. Антитело по настоящему изобретению может быть отделено и очищено от культурального супернатанта, используя способ очистки антител, известный в данной области.

[0065] Способом детекции по настоящему изобретению может быть любой способ, включающий стадию детекции GPC3, расположенного на клеточной мембране (заякоренного на клеточной мембране) в образце (например, крови, ткани и моче), используя антитело по настоящему изобретению. Конкретные примеры способа детекции могут включать иммунофлуоресцентное окрашивание, вестерн-блоттинг и ELISA, используя антитело по настоящему изобретению.

[0066] Набор для детекции по настоящему изобретению представляет собой набор, содержащий антитело по настоящему изобретению или его меченную форму, и он ограничен целью «для обнаружения GPC3». Набор, как правило, содержит компоненты, обычно используемые в наборе такого типа, например, носитель, буфер для pH и стабилизатор, а также прилагаемый документ, такой как руководство и инструкция по детекции GPC3.

[0067] Виды организмов GPC3, которые должны быть обнаружены в способе детекции по настоящему изобретению, могут представлять собой животное, исключая человека, такое как мышь или крыса, и, как правило, человека.

[0068] Примеры метки для получения меченной формы антитела по настоящему изобретению могут включать: фермент, такой как пероксидаза (например, пероксидаза хрена [HRP]), щелочная фосфатаза, β -D-галактозидаза, глюкозооксидаза, глюкозо-6-фосфат дегидрогеназа, алкогольдегидрогеназа, малатдегидрогеназа, пенициллиназа, каталаза, апо-глюкозооксидаза, уреазы, люцифераза и ацетилхолинэстераза; флуоресцентный материал, такой как

изотиоцианат флуоресцеина, фикобилипротейн, хелаты редкоземельных металлов, дансилхлорид и изотиоцианат тетраметилпродамина; белок флуоресценции, такой как белок зеленой флуоресценции (GFP), белок голубой флуоресценции (CFP), белок голубой флуоресценции (BFP), белок желтой флуоресценции (YFP), белок красной флуоресценции (RFP) и люцифераза; радиоизотоп, такой как ^3H , ^{14}C , ^{125}I и ^{131}I ; биотин; авидин; и хемилюминесцентный агент.

[0069] Ссылки, например на научную литературу, патенты и патентные заявки, цитированные в настоящем документе, включены в настоящее изобретение в качестве ссылки в полном объеме в той же степени, как если бы каждая отдельная ссылка была конкретно описана. Настоящая заявка испрашивает приоритет на основании японской патентной заявки № 2017-001732 (подана 10 января 2017 г.), содержание которой включено в настоящий документ посредством ссылки в полном объеме.

[0070] В настоящем описании настоящее изобретение будет описано более подробно со ссылкой на Примеры. Однако технический объем настоящего изобретения не ограничен этими примерами.

Примеры 1

[0071] 1. Получение нового анти-GPC3-антитела, распознающего N-концевой полипептид GPC3 человека

[Протокол]

В качестве животных для иммунизации с целью получения анти-GPC3 антитела человека использовали мышей SKG/Jcl, и в качестве иммунизирующего антигена использовали полноразмерный белок GPC3 человека. Мыши SKG/Jcl представляют собой модель аутоиммунного заболевания у мышей, у которых спонтанно развивается ревматоидный артрит, и у которых, как известно, продуцируются антитела в ответ даже на собственные компоненты в зависимости от возраста или внешних условий. Между тем, GPC3 является высоко гомологичным у человека и мыши и, как правило, с меньшей вероятностью вызывает индукцию антител даже при иммунизации нормальных мышей. Поэтому, в качестве животных для иммунизации использовали мышей SKG/Jcl. Фаговую библиотеку scFv получали из кДНК, полученной из В-клеток мышей, иммунизированных GPC3, и

анти-GPC3 антитело человека выделяли методом фагового дисплея.

[0072] Хотя антисыворотка иммунизированных мышей содержит много типов антител, необходимо провести селекцию мышей, продуцирующих антитела, обладающие специфичностью к N-концевому полипептиду GPC3, путем исключения мышей, продуцирующих антитела с низкой специфичностью к GPC3 или антител, распознающих C-концевой полипептид GPC3. Соответственно, мышей, у которых отмечали продукцию антител, специфически связывающихся с N-концевым полипептидом GPC3, отбирали с помощью ELISA и FCM. В частности, кДНК синтезировали реакцией обратной транскрипции из общей РНК В-клеток, полученных от иммунизированных мышей, и гены антител амплифицировали для получения библиотеки генов антител. Из библиотеки генов антител конструировали библиотеку фагов scFv, и клетки E.coli инфицировали библиотекой так, что они экспрессировали scFv, а затем осуществляли биоэппенинг с помощью рекомбинантного GPC3, GPC3-экспрессирующей клеточной линии и C-концевого полипептида GPC3 для обогащения фагов, экспрессирующих целевой scFv, то есть антител против N-концевого полипептида GPC3. Для дальнейшего анализа полученного scFv на специфичность связывания с GPC3 в клетках, то есть GPC3, локализованного на (связанного с) клеточной мембране (мембраносвязанный GPC3) посредством якоря GPI (гликозилфосфатидилинозитол), проводили проверку, используя клеточный ELISA и FCM. Кроме того, нуклеотидные последовательности переменных областей H-цепи и L-цепи клонов, обладающих специфичностью связывания, секвенировали, и на основе этих последовательностей определяли нуклеотидные последовательности анти-GPC3 антител, продуцируемых В-клетками иммунизированных мышей. Наконец, метод дисплея молокапитающих, который предусматривал экспрессию N-концевого полипептидного фрагмента и C-концевого полипептидного фрагмента GPC3 на клеточной поверхности, использовали для подтверждения того, что эпитоп для scFv является N-концевым полипептидным фрагментом GPC3. В настоящем описании будет представлено подробное описание методов и результатов.

[0073] 1-1 Материалы и методы

[Культура клеток]

Клеточную линию JHH7, клеточную линию HepG2 и клеточную линию SK-Hep-1, активированные на экспрессию полноразмерного GPC3 человека (в описании, также обозначена как «клеточная линия, экспрессирующая GPC3»), использовали в качестве GPC3-экспрессирующих клеток для осуществления биопэннинга и скрининга анти-GPC3 антител. Клеточная линия JHH7 представляет собой клеточную GPC3-экспрессирующую линию, полученную из гепатоцеллюлярной карциномы, и ее клетки конститутивно экспрессируют GPC3, связанный с клеточной мембраной (мембраносвязанный GPC3) через якорь GPI (гликозилфосфатидилинозитол). С другой стороны, клеточная линия HepG2 является GPC3-экспрессирующей линией клеток гепатоцеллюлярной карциномы, как и клеточная линия JHH7, но представляет собой клеточную линию, в которой экспрессия секреторного GPC3, не связанного с клеточной мембраной, преобладает над экспрессией мембраносвязанного GPC3. Клеточная линия Sk-Hep-1 представляет собой линию клеток гепатоцеллюлярной карциномы, не экспрессирующую GPC3. Следовательно, клеточная линия, экспрессирующая только мембраносвязанный полноразмерный GPC3 или мембраносвязанный GPC3 частичной длины с дефицитом экзонов, может быть получена путем принудительной экспрессии.

[0074] Культивирование 4-х типов клеточных линий (клеточная линия JHH7, клеточная линия HepG2, клеточная линия, экспрессирующая GPC3, и клеточная линия 293T, полученная из эпителия эмбриональной почки человека) проводили в условиях 37°C и 5% CO₂ в культуре DMEM (производство Sigma-Aldrich Co. LLC), содержащей 10% FBS (производство Gibco/Thermo Fisher Scientific Inc.) и 1% пенициллин-стрептомицин (производство Gibco/Thermo Fisher Scientific Inc.) (в описании, просто обозначен как «культуральный раствор DMEM»). Культивирование клеточной линии CHO-K1 проводили в условиях 37°C и 5% CO₂ в культуральном растворе Ham's F12 (производство Sigma-Aldrich Co. LLC), содержащем 10% FBS (производство Gibco/Thermo Fisher Scientific Inc.).

[0075] [Иммунизирующий антиген]

C-концевой 6×His-меченный рекомбинантный GPC3 (производство R&D Systems Inc.) доводили до 0,1 мг/мл с помощью PBS и смешивали с искусственным адъювантом TiterMax Gold (производство TiterMax USA, Inc.) или CFA (полный адъювант Фрейнда) (F5881, производство Sigma-Aldrich Co. LLC) в равных количествах с получением эмульсии, которую затем использовали в качестве исходного иммунизирующего антигена. Рекомбинантный GPC3 доводили до концентрации 10-100 мкг/мл с помощью PBS и использовали в качестве второго или более позднего иммунизирующего антигена.

[0076] [Получение GPC3-экспрессирующей клеточной линии]

Ген, кодирующий полноразмерный GPC3 человека, состоящий из SEQ ID NO:157 (полноразмерный ген GPC3 человека, состоящий из нуклеотидной последовательности SEQ ID NO:160), встраивали в вектор pcDNA3.1 (производство Thermo Fisher Scientific Inc.) с получением вектора экспрессии GPC3. Клеточную линию SK-Hep-1 трансфицировали вектором экспрессии GPC3 стандартным способом и затем культивировали в культуральном растворе DMEM, содержащем G418 (производство Roche Diagnostics KK), с получением клеточной линии SK-Hep-1, стабильно экспрессирующей полноразмерный GPC3 (GPC3-экспрессирующая клеточная линия).

[0077] [Иммунизация мыши]

Мышей SKG/Jcl (CLEA Japan, Inc., 8-и недельная самка, SPF) использовали в качестве животных для иммунизации и иммунизировали рекомбинантным GPC3 в общей сложности 4 раза с 1-недельными интервалами в подушечку стопы. Через 5 недель после начала иммунизации кровь собирали и получали сыворотку в соответствии со стандартным методом и использовали в качестве образца для подтверждения титра антител.

[0078] [Титр сывороточных антител в антисыворотке, используя ELISA]

Для подтверждения ответа иммунизированных мышей с продукцией анти-GPC3 антител, титр сывороточного антитела измеряли с использованием иммуноферментного ELISA. В 96-и луночный микропланшет (производство Nalge Nunc International) добавляли 0,5 или 2 мкг/мл рекомбинантного GPC3 в количестве 50

мкл/лунка, и планшет инкубировали при комнатной температуре в течение 1 часа или при 4°C в течение 12 часов. Затем добавляли 2% Block ACE (производство DS Pharma Biomedical Co., Ltd.) в количестве 200 мкл/лунка для блокирования. Сыворотку мышей, иммунизированных GPC3, серийно 100-160-и кратно разводили 0,1% раствором Block ACE/PBS. Каждый разведенный образец сыворотки добавляли в количестве 50 мкл/лунка, и планшет инкубировали при комнатной температуре в течение 2 часов для осуществления реакции антиген-антитело. После промывки лунок раствором PBS, содержащим Tween 20 (PBST), добавляли козий анти-мышиный IgG (производство Jackson ImmunoResearch Laboratories Inc.), конъюгированный с 2 мкг/мл пероксидазы, и планшет инкубировали при комнатной температуре в течение 2 часов для второй реакции антитела. После пятикратного промывания лунки раствором PBST, влагу удаляли и добавляли субстрат TMB (производство Thermo Fisher Scientific Inc.) в количестве 50 мкл/лунка для реакции окрашивания. Через 15 минут реакцию окрашивания останавливали, добавляя 0,18 М серной кислоты в количестве 50 мкл/лунка, а затем измеряли оптическую плотность при 450 нм и 540 нм, используя планшет-ридер (производство Bio-Rad Laboratories, Inc.). Количественное определение проводили с использованием скорректированного значения, полученного вычитанием значения, измеренного при 540 нм из значения, измеренного при 450 нм.

[0079] [Специфичность антитела в антисыворотке с использованием FCM]

Для дополнительного подтверждения специфическое связывание антисыворотки против мембраносвязанного GPC3 у иммунизированных мышей, сыворотку мыши 100 кратно разводили и 5×10^5 клеток линии GPC3-экспрессирующих клеток смешивали и инкубировали в течение 30 минут на льду. К раствору добавляли буфер FACS (1% раствор BSA/PBS), и смесь центрифугировали для удаления супернатанта. Затем в качестве второго антитела добавляли 100 мкл 1 мкг/мл козьего анти-мышинного IgG (H+L) Alexa Fluor 488 (производство Thermo Fisher Scientific Inc.), и смесь инкубировали в течение 30 минут на льду для осуществления второй реакции антитела.

Детекцию Alexa Fluor 488 и измерение уровня флуоресценции проводили, используя проточный цитометр (FACSCanto) (производство BD Biosciences).

[0080] [Получение фаговой библиотеки scFv]

Общую РНК, полученную из В-клеток, экстрагировали стандартной методикой в случае мышей, для которых было показано, что они продуцируют антитело, связывающееся с мембраносвязанным GPC3, методом, описанным выше в разделе [Проточный цитометр]. Проводили ОТ-ПЦР с общей РНК в качестве матрицы по стандартному протоколу получения кДНК. Гены варибельной области Н-цепи и L-цепи антитела амплифицировали с помощью ПЦР. Нуклеотидную последовательность, кодирующую слитый белок scFv с варибельными областями Н-цепи и L-цепи, связанными посредством гибкого линкера, и белок оболочки g3p (ср3) фиброзного бактериофага M13 встраивали в сайт мультиклонирования фагмидинового вектора pTZ19R с получением вектора экспрессии scFv. Размер библиотеки scFv рассчитывали по эффективности трансформации штамма E.coli DH12S (производство Invitrogen Corp.). Трансформированный штамм DH12S инфицировали фагом-помощником M13KO7 (производство Invitrogen Corp.) с получением фаговой библиотеки, экспрессирующей scFv.

[0081] [Биопэннинг и клонирование фага scFv]

Осуществляли биопэннинг фага scFv комбинацией рекомбинантного GPC3, иммобилизованного на магнитных шариках Dynabeads His-Tag Isolation & Pulldown (производство VERITAS Corp.) с помощью 6xHis-тага, и GPC3-экспрессирующей клеточной линией, в качестве приманки, согласно способу, описанному в документе «J Mol Biol. 1991 Dec 5; 222 (3): 581-97», «J Med Virol. 2007 Jun; 79 (6): 852-62», «Proc Natl Acad Sci U S A. 2008 May 20; 105 (20): 7287-92», or «JOURNAL OF VIROLOGY, Apr. 2004, p. 3325-3332 Vol. 78, No. 7». В каждом раунде (стадии) биопэннинга, состоящего из 5 типов серий (серии А-Е) (см. Фиг.1), отбирали аликвоту поликлональных фаговых антител. Для подтверждения специфичности связывания scFv, проводили ELISA с иммобилизованным антигеном, по методу, описанному выше в разделе [Титр антитела в сыворотке, используя ELISA] (метод с

использованием культурального супернатанта *E. coli*, содержащего фаг вместо сыворотки), и ELISA на основе клеток проводили по методу, описанному ниже в разделе [Скрининг scFv с помощью ELISA на основе клеток]. Каждая стадия биопэннинга была разработана без селекции связывание фага scFv с той же частью, что и C-концевой эпитоп GPC3, распознаваемый существующими антителами, путем предварительного связывания существующих анти-GPC3 антител GC33 (производство Chugai Pharmaceutical Co., Ltd.) и GC199 (производство Chugai Pharmaceutical Co., Ltd.) для приманки. Конкретно, этот конкурентный метод позволяет осуществлять селективный биопэннинг нового антитела, распознающего эпитоп GPC3, отличный эпитопов существующих анти-GPC3 антител. DH12S *E. coli* трансформировали фагами, обогащенными с помощью биопаннинга, и инокулировали в агарозную среду LB для разделения на отдельные колонии. *E. coli* затем культивировали в жидкой среде LB небольшого масштаба, а затем экстрагировали и очищали плазмиды. Очищенные плазмиды подвергали секвенированию ДНК для определения нуклеотидных последовательностей переменных областей H-цепи и L-цепи scFv.

[0082] [Скрининг scFv с помощью FCM]

100 мкл культурального супернатанта, в котором секретировались фаги scFv, добавляли к клеточной линии, GPC3-экспрессирующей (5×10^5 клеток на образец), и смешивали, а затем смесь инкубировали в течение 30 минут на льду. К смеси добавляли буфер FACS (1% раствор BSA/PBS), и смесь центрифугировали для удаления супернатанта. Затем в качестве второго антитела добавляли 1 мкг/мл анти-мышинное антитело-Alexa 488 (производство Thermo Fisher Scientific Inc.), и смесь инкубировали в течение 30 минут на льду. Затем измеряли флуоресцентное окрашивание клеток с использованием проточного цитометра (FACSCanto, производство BD Biosciences).

[0083] [Скрининг scFv с помощью ELISA на основе клеток]

После удаления культурального раствора DMEM из 96-и луночного микропланшета, в каждой лунке которого были прикреплены 2×10^5 GPC3-экспрессирующих клеток, добавляли 2%

раствор BSA-PBS для предотвращения неспецифического связывания scFv с клетками или планшетом, и планшет инкубировали в течение 30 минут на льду. Затем в каждую лунку добавляли 100 мкл культурального супернатанта *E. coli*, в котором были секретированы фаги scFv, и планшет инкубировали в течение 45 минут на льду. Затем добавляли 5 мкг/мл кроличьего анти-ср3-антитела (производство Medical & Biological Laboratories Co., Ltd.) против ср3, слитого на С-концевой стороне scFv, при 100 мкл на лунку, и планшет инкубировали еще 45 минут на льду. HRP-меченное анти-кроличье IgG антитело (производство Medical & Biological Laboratories Co., Ltd.), в 500 кратном разведении добавляли в количестве 100 мкл/лунка в качестве третьего антитела для детекции анти-ср3 антитела, и планшет инкубировали 45 минут на льду. Затем в качестве субстратов HRP для реакции окрашивания добавляли о-фенилендиамин (OPD) и перекись водорода. Количественную оценку проводили, используя числовое значение, полученное вычитанием оптической плотности при 620 нм в качестве фона из оптической плотности при 492 нм. Если проводили клеточное ELISA, используя антитело, уже преобразованное в антитело типа IgG, а не scFv, то использовали HRP-меченное анти-мышинное IgG антитело (производства Medical & Biological Laboratories Co., Ltd.), в 2000-кратном разведении в качестве второго антитела для обнаружения антитела типа IgG вместо анти-ср3 антитела и HRP-меченное анти-кроличье IgG антитело, в условиях, описанных выше.

[0084] [Определение последовательностей генов варибельной области scFv]

Последовательности гена варибельной области фагового scFv, связывающегося с мембраносвязанным GPC3, декодировали на секвенаторе (SEQ2000XL, производство Beckman Coulter, Inc.), используя праймер T7 (праймер, состоящий из нуклеотидной последовательности SEQ ID NO:176), который представляет собой универсальный праймер, и праймер ср3R (праймер, состоящий из нуклеотидной последовательности SEQ ID NO:177) в качестве прямого праймера для декодирования V-области Н-цепи (VH) и обратного праймера для декодирования V-области (VL) L-цепи,

соответственно.

[0085] [Получение клеточной линии для картирования эпитопа антитела]

Для идентификации эпитопа клонированного scFv использовали метод дисплея млекопитающих. Ген, состоящий из экзонов 1-7 GPC3 человека и кодирующий N-концевой фрагмент GPC3 (полипептид, состоящий из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:155), и ген, состоящий из экзонов 8 и 9 GPC3 человека и кодирующий C-концевой фрагмент GPC3 (полипептид, состоящий из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 156), амплифицировали ПЦР, и каждый встраивали в сайт мультиклонирования (MSC) экспрессирующего вектора pDisplay (производство Thermo Fisher Scientific Inc.). Вектор экспрессии pDisplay представляет собой вектор экспрессии, способный конденсировать трансмембранный домен рецептора тромбоцитарного фактора роста (PDGFR) и C-конец белка-мишени и представлять эту слитую конструкцию на клеточной поверхности произвольных клеток млекопитающих. Кроме того, вектор экспрессии pDisplay сконструирован для прибавления НА-тага к N-концу мишеневого белка и мус-тага к C-концу PDGFR. Осуществляли генный перенос с помощью вектора экспрессии pDisplay для экспрессии N-концевого фрагмента GPC3 или C-концевого фрагмента GPC3 в клеточную линию SK-Nep-1 или клеточную линию 293T, и клеточную линию, экспрессирующую N-концевой фрагмент GPC3 или C-концевой фрагмент GPC3 на поверхности клетки (клеточная линия, экспрессирующая N-концевой фрагмент GPC3, и клеточная линия, экспрессирующая C-концевой фрагмент GPC3) выделяли и использовали для картирования эпитопа scFv.

[0086] [Картирование эпитопа антитела с помощью FCM]

Клеточную линию, экспрессирующую N-концевой фрагмент GPC3, клеточную линию, экспрессирующую C-концевой фрагмент GPC3, и клеточную GPC3-экспрессирующую линию (в каждом случае 5×10^5 клеток на образец), смешивали с 100 мкл культурального супернатанта, в котором фаги scFv секретировали, и смесь инкубировали в течение 30 минут на льду. К смеси добавляли буфер

FACS (1% раствор BSA/PBS), и смесь центрифугировали и промывали. Затем в качестве второго антитела добавляли 1 мкг/мл анти-мышинное антитело-Alexa 488 (производство Thermo Fisher Scientific Inc.), и смесь инкубировали в течение 30 минут на льду. Затем измеряли флуоресцентное окрашивание клеток с использованием проточного цитометра (FACSCanto, производство BD Biosciences).

[0087] [Конструирование рекомбинантного вектора экспрессии IgG]

Для преобразования scFv в IgG использовали вектор экспрессии системы Mammalian PowerExpress (производство Toyobo Co., Ltd.). Нуклеотидную последовательность, кодирующую слитый белок варибельной области Н-цепи scFv и константную область Н-цепи IgG2a мыши, встраивали в MSC вектора pEH1.1 (pEH1.1-H). Кроме того, нуклеотидную последовательность, кодирующую слитый белок варибельной области L-цепи scFv и константную область L-цепи IgG2a мыши, встраивали в MSC вектора pELX2.2 (pEH2.2-L). Затем полинуклеотидный фрагмент промотора, начиная с EF1 α до гена L-цепи, вырезали из pEH2.2-L с помощью ферментов рестрикции (BglII и SalI) и лигировали в pEH1.1-H, обработанным ферментами рестрикции (BglII и SalI) с получением вектора для одновременной экспрессии Н-цепи и L-цепи антитела.

[0088] [Экспрессия рекомбинантного IgG]

32,6 мкг вектора для одновременной экспрессии Н-цепи и L-цепи антитела, полученного способом, как описано выше в [Конструирование рекомбинантного вектора экспрессии IgG], разбавляли 1,6 мл opti-MEM (производство Gibco/Thermo Fisher Scientific Inc.) и смешивали с 65 мкл реагента для трансфекционной трансфекции (производство Medical & Biological Laboratories Co., Ltd.), разбавленного 1,6 мл opti-MEM, и смесь инкубировали при комнатной температуре в течение 10 минут. Затем смесь смешивали с клетками CHO-K1 (1×10^7 клеток), суспендированными в 10 мл культурального раствора DMEM, а затем культивировали. Через 4 часа к смеси добавляли бессывороточную среду (среда Free Style expression CHO [производство

Gibco/Thermo Fisher Scientific Inc.]), и смесь дополнительно культивировали в течение 4-6 дней для извлечения супернатанта культуры, содержащего рекомбинантное антитело.

[0089] [Аффинная очистка антитела]

Пустую колонку (производство Bio-Rad Laboratories, Inc.) заполняли протеином G Sepharose 4 Fast Flow (производство GE Healthcare Japan Corp.) или Bipo Resin Protein L (производство Protein Express) с объемом слоя 1 мл. Затем полимер колонки промывали PBS в количестве, в 10 раз превышающем объем слоя. Культуральный супернатант, отфильтрованный через фильтр 0,22 микрона, добавляли в колонку так, чтобы антитело захватывалось белком G или белком L внутри колонки. Затем колонку промывали PBS в количестве, в 10 раз превышающем объем слоя, чтобы смыть неспецифически адсорбированные загрязнения. Антитело элюировали, используя раствор 100 мМ глицин-HCl (pH 2,7), и pH элюата нейтрализовали 1 М Tris-HCl (pH 8,5). Измеряли поглощение при 280 нм с помощью измерителя поглощения nanoDrop (производство Thermo Fisher Scientific Inc.) и рассчитывали концентрацию антитела. Векторы экспрессии конструировали и получали тем же способом, что и выше, что и для антитела GC33 и антитела GC199, используемых в качестве конкурентных антител.

[0090] 1-2 Результаты

[Оценка антисыворотки иммунизированной мыши]

У мышей SKG/Jcl, иммунизированных четыре раза рекомбинантным GPC3, собирали кровь, и подтверждали продукцию анти-GPC3 антитела в сыворотке. В результате антитело, обладающее связывающей активностью в отношении GPC3, было обнаружено в экспериментах ELIS с рекомбинантным GPC3 и FCM на GPC3-экспрессирующих клетках. Две мыши с особенно высоким титром антител (под номерами 1413 #2 и 1413 #3) среди мышей использовали в качестве источников для получения библиотеки антител.

[0091] [Конструирование фаговой библиотеки]

Количество членов библиотеки scFv, рассчитанное путем по эффективности трансформации, составило $5,8 \times 10^7$ для мыши 1413 #2 и

$4,3 \times 10^8$ для мыши 1413# 3. Библиотека иммуноглобулинов, полученная в этом примере, представляла собой библиотеку, полученную у мышей, у которых была обнаружена продукция антител в ответ на антиген-мишень при иммунизации антигеном GPC3. Следовательно, особенностью этой библиотеки является высокая вероятность содержания гена мишеневого антитела, даже учитывая небольшой размер библиотеки. Другое преимущественно библиотеки является содержание антитела, которое образует правильную конформацию *in vivo* по сравнению со случайной библиотекой синтетических антител.

[0092] [Классификация клона с помощью анализа последовательности моноклонального scFv]

Анализ последовательности ДНК выделенного моноклонального scFv проводили для классификации клонов, исключая перекрытие. В результате клоны-кандидаты были идентифицированы как 7 типов серии D библиотеки мыши 1413 #2, 5 типов серии E той же библиотеки, 3 типа из серии D библиотеки мыши 1413 #3 и 9 типов серии E той же библиотеки. Нуклеотидные последовательности переменных областей тяжелой цепи и легкой цепи этих клонов-кандидатов анализировали для исключения перекрывающихся идентичных клонов. В результате было идентифицировано в общей сложности 18 типов клонов scFv, то есть 9 типов клонов scFv, полученных из библиотеки мыши 1413 #2, и 9 типов клонов scFv, полученных из библиотеки мыши 1413 #3.

[0093] [Анализ картирования эпитопа клона анти-GPC3 scFc]

18 типов клонов scFv, идентифицированных методом, описанным выше в разделе [Классификация клонов с помощью анализа последовательности моноклонального scFv], использовали для анализа связывания с каждым GPC3 с помощью FCM, используя 3 типа клеточных линий (клеточная линия, экспрессирующая N-концевой фрагмент GPC3, клеточная линия, экспрессирующая C-концевой фрагмент GPC3, и клеточная линия, экспрессирующая GPC3). В результате среди 18 типов клонов scFv 14 типов (TF1413-02d028, 02d030, 02d039, 02e004, 02e014, 02e030, 02e040, 03e001, 03e004, 03e005, 03e015, 03e019, 03e027 и 03e034) связывались с

полноразмерным GPC3 и N-концевым фрагментом GPC3 (полипептид, состоящий из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:155), но не связывались с С-концевым фрагментом GPC3 (полипептид, состоящий из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:156) (см. Фиг.2). С другой стороны, существующие анти-GPC3-антитела GC33 (производство Chugai Pharmaceutical Co., Ltd.) и GC199 (производство Chugai Pharmaceutical Co., Ltd.) связывались с полноразмерным GPC3 и С-концевым фрагментом GPC3, но не связывались с N-концевым фрагментом GPC3.

По результатам было идентифицировано 14 типов новых клонов scFv, описанных выше, распознающих N-концевой эпитоп GPC3, отличный от С-концевого эпитопа GPC3, для существующих анти-GPC3 антител (GC33 и GC199).

[0094] Из 14 типов клонов scFv, идентифицированных таким образом, были выбраны 11 лучших клонов scFv (TF1413-02d028, 02d039, 02e004, 02e014, 02e030, 02e040, 03e001, 03e004, 03e005, 03e015 и 03e034), обладающих особенно высокой силой связывания. В Таблице 1 показано соответствие SEQ ID NO V-области Н-цепи и L-цепи этих 11 типов клонов scFv. В Таблице 2 показано соответствие SEQ ID NO CDR1-CDR3 Н-цепи этих 11 типов клонов scFv. В Таблице 3 показано соответствие SEQ ID NO CDR1-CDR3 L-цепи этих 11 типов клонов scFv.

[0095]

[Таблица 1]

Название scFv клона и V-области		SEQ ID NO
TF1413-02d028	V-область Н-цепи	7
TF1413-02d039	V-область Н-цепи	17
TF1413-02e004	V-область Н-цепи	27
TF1413-02e014	V-область Н-цепи	37
TF1413-02e030	V-область Н-цепи	47
TF1413-02e040	V-область Н-цепи	57
TF1413-03e001	V-область Н-цепи	67
TF1413-03e004	V-область Н-цепи	77
TF1413-03e005	V-область Н-цепи	87
TF1413-03e015	V-область Н-цепи	97

TF1413-03e034	V-область H-цепи	107
TF1413-02d028	L chain V region	8
TF1413-02d039	L chain V region	18
TF1413-02e004	L chain V region	28
TF1413-02e014	L chain V region	38
TF1413-02e030	L chain V region	48
TF1413-02e040	L chain V region	58
TF1413-03e001	L chain V region	68
TF1413-03e004	L chain V region	78
TF1413-03e005	L chain V region	88
TF1413-03e015	L chain V region	98
TF1413-03e034	L chain V region	108

[0096]

[Таблица 2]

Назование клона и CDR		SEQ ID NO
TF1413-02d028	CDR1 H-цепи	1
	CDR2 H-цепи	2
	CDR3 H-цепи	3
TF1413-02d039	CDR1 H-цепи	11
	CDR2 H-цепи	12
	CDR3 H-цепи	13
TF1413-02e004	CDR1 H-цепи	21
	CDR2 H-цепи	22
	CDR3 H-цепи	23
TF1413-02e014	CDR1 H-цепи	31
	CDR2 H-цепи	32
	CDR3 H-цепи	33
TF1413-02e030	CDR1 H-цепи	41
	CDR2 H-цепи	42
	CDR3 H-цепи	43
TF1413-02e040	CDR1 H-цепи	51
	CDR2 H-цепи	52
	CDR3 H-цепи	53
TF1413-03e001	CDR1 H-цепи	61

	CDR2 Н-цепи	62
	CDR3 Н-цепи	63
TF1413-03e004	CDR1 Н-цепи	71
	CDR2 Н-цепи	72
	CDR3 Н-цепи	73
TF1413-03e005	CDR1 Н-цепи	81
	CDR2 Н-цепи	82
	CDR3 Н-цепи	83
TF1413-03e015	CDR1 Н-цепи	91
	CDR2 Н-цепи	92
	CDR3 Н-цепи	93
TF1413-03e034	CDR1 Н-цепи	101
	CDR2 Н-цепи	102
	CDR3 Н-цепи	103

[0097]

[Таблица 3]

Название клона и CDR		SEQ ID NO
TF1413-02d028	CDR1 L-цепи	4
	CDR2 L-цепи	5
	CDR3 L-цепи	6
TF1413-02d039	CDR1 L-цепи	14
	CDR2 L-цепи	15
	CDR3 L-цепи	16
TF1413-02e004	CDR1 L-цепи	24
	CDR2 L-цепи	25
	CDR3 L-цепи	26
TF1413-02e014	CDR1 L-цепи	34
	CDR2 L-цепи	35
	CDR3 L-цепи	36
TF1413-02e030	CDR1 L-цепи	44
	CDR2 L-цепи	45
	CDR3 L-цепи	46
TF1413-02e040	CDR1 L-цепи	54
	CDR2 L-цепи	55

	CDR3 L-цепи	56
TF1413-03e001	CDR1 L-цепи	64
	CDR2 L-цепи	65
	CDR3 L-цепи	66
TF1413-03e004	CDR1 L-цепи	74
	CDR2 L-цепи	75
	CDR3 L-цепи	76
TF1413-03e005	CDR1 L-цепи	84
	CDR2 L-цепи	85
	CDR3 L-цепи	86
TF1413-03e015	CDR1 L-цепи	94
	CDR2 L-цепи	95
	CDR3 L-цепи	96
TF1413-03e034	CDR1 L-цепи	104
	CDR2 L-цепи	105
	CDR3 L-цепи	106

[0098] [Преобразование scFv анти-GPC3 антитела в IgG и его способность связываться]

Вариабельные области Н-цепи и L-цепи 11 типов клонов scFv, выбранных, как описано выше, связывали с константными областями IgG мыши, и полноразмерные рекомбинантные антитела были экспрессированы с использованием вектора экспрессии рекомбинантного IgG и аффинно-очищены. Способность этих антител IgG связываться с N-концевым фрагментом GPC3 анализировали с использованием линии клеток, экспрессирующих N-концевой фрагмент GPC3. По результатам, 9 типов клонов IgG (TF1413-02d028, 02d039, 02e004, 02e014, 02e030, 02e040, 03e004, 03e005 и 03e034) сохраняли активность связывания против N-концевого фрагмента GPC3, а у остальных двух типов клонов IgG (TF1413-03e001 и 03e015) активность связывания против N-концевого фрагмента GPC3 отсутствовала (см. Фиг.3). Описанные выше 9 типов клонов IgG не связывались с С-концевым фрагментом GPC3 (см. Фиг.3).

Эти результаты показывают, что среди 11 типов клонов scFv 9 типов (TF1413-02d028, 02d039, 02e004, 02e014, 02e030, 02e040, 03e004, 03e005 и 03e034) могут быть преобразованы в тип IgG. В

Таблице 3 показано соответствие SEQ ID NO CDR1-CDR3 Н-цепей и L-цепи этих 11 типов клонов IgG.

[0099]

[Таблица 4]

Имя клона IgG и область		SEQ ID NO
TF1413-02d028	Н-цепь	9
TF1413-02d039	Н-цепь	19
TF1413-02e004	Н-цепь	29
TF1413-02e014	Н-цепь	39
TF1413-02e030	Н-цепь	49
TF1413-02e040	Н-цепь	59
TF1413-03e001	Н-цепь	69
TF1413-03e004	Н-цепь	79
TF1413-03e005	Н-цепь	89
TF1413-03e015	Н-цепь	99
TF1413-03e034	Н-цепь	109
TF1413-02d028	L-цепь	10
TF1413-02d039	L-цепь	20
TF1413-02e004	L-цепь	30
TF1413-02e014	L-цепь	40
TF1413-02e030	L-цепь	50
TF1413-02e040	L-цепь	60
TF1413-03e001	L-цепь	70
TF1413-03e004	L-цепь	80
TF1413-03e005	L-цепь	90
TF1413-03e015	L-цепь	100
TF1413-03e034	L-цепь	110

Пример 2

[0100] 2. Связывающая активность нового анти-GPC3 антитела против GPC3, обработанного EDTA (этилендиаминтетрауксусная кислота), трипсином или коллагеназой

[Получение клеток, обработанных EDTA или трипсином]

Клеточную линию SK-Ner-1, активированную на экспрессию GPC3, культивировали в двух колбах T-75. Культуральный супернатант каждой колбы отсасывали, и колбу промывали 3 мл PBS.

Затем в каждую колбу добавляли 3 мл 0,02% раствора EDTA/PBS (в настоящем описании, указан просто как «EDTA») или 0,05% раствора трипсина (в описании, указан просто как «трипсин»). Каждую колбу инкубировали при 37°C в течение 5 минут (EDTA) или 2 минут и 30 секунд (трипсин) для снятия клеток с колбы. Затем в каждую колбу добавляли 7 мл культурального раствора DMEM. После пипетирования суспензию клеток собирали в каждую коническую пробирку объемом 50 мл. Каждую колбу затем промывали 10 мл культурального раствора DMEM. Затем полученные промывки также возвращали в коническую пробирку объемом 50 мл, содержащую каждую клеточную суспензию, а затем центрифугировали (1500 об/мин, 4°C, 4 мин). После аспирации супернатанта из каждой конической пробирки к осадку добавляли 10 мл культурального раствора DMEM и подсчитывали количество клеток, диссоциированных с помощью EDTA или трипсина.

[0101] Клетки, обработанные EDTA или трипсином, доводили до 2×10^5 клеток/пробирка и проводили анализ FACS (EC800). В анализе FACS использовали 3 типа антител (флуоресцентно APC-меченное анти-мышинное IgG антитело [5 мкг/пробирка; производство BioLegend, Inc.], антитело GC33 [1,0 мкг/пробирка; производство Medical & Biological Laboratories Co., Ltd), Life Science] и антитело клона scFv [TF1413-02d028], описанное выше [1,0 мкг/пробирка]).

[0102] [Получение клеток, обработанных EDTA или трипсином]

В коническую пробирку объемом помещали 50 мл 1×10^6 клеток, диссоциированных с помощью EDTA, как описано выше, и центрифугировали (1500 об/мин, 4°C, 4 мин), и супернатант отсасывали с получением клеточной массы (осадок). К осадку добавляли 5 мл раствора коллагеназы Р, и смесь инкубировали при 37°C в течение 30 минут с получением клеточной суспензии. Затем клеточную суспензию пропускали через 100 мкм-овое сито для клеток, промывая 30 мл культурального раствора DMEM. Суспензию клеток снова пропускали через 100 мкм-овое сито для клеток и центрифугировали (300 г, 4°C, 10 минут), и супернатант отсасывали. Осадок промывали, добавляя 20 мл PBS, а затем

центрифугировали (300 г, 4°C, 5 минут), и супернатант отсасывали. Клетки суспендировали, добавляя 5 мл культурального раствора DMEM. Затем подсчитывали количество клеток и 2×10^5 клеток/пробирка анализировали FACS (EC800). В анализе FACS использовали 3 типа антител (флуоресцентно APC-меченное анти-мышинное IgG антитело [5 мкг/пробирка; производство BioLegend, Inc.], антитело GC33 [1,0 мкг/пробирка; производство Medical & Biological Laboratories Co., Ltd). Life Science] и scFv клон [антитело [TF1413-02d028], описанное выше [1,0 мкг/пробирка]], как в случае клеток, обработанных EDTA или трипсином. Результаты показаны на Фиг.4. На Фиг.4, правый пик на оси абсцисс указывает на то, что антитело GC33 или клон scFv [TF1413-02d028] связываются с белком GPC3.

[0103] [Результаты]

Как показано на Фиг.4, активность связывания антитела по настоящему изобретению (TF1413-02d028) с белком GPC3, обработанного трипсином или коллагеназой, была заметно ниже. Эти результаты показывают, что антитело по настоящему изобретению специфически распознает конформацию белка GPC3, что позволяет предположить, что антитело по настоящему изобретению обладает высокой специфичностью *in vivo*.

Пример 3

[0104] 3. Разработка GPC3 CAR-T-клеток, используя новое анти-GPC3 антитело

[Протокол]

GPC3 представляет собой молекулу на клеточной поверхности, экспрессия которой не отмечается в тканях взрослого человека, кроме плаценты, но наблюдается в тканях различных видов рака, таких как гепатоцеллюлярная карцинома, меланома, аденокарцинома прозрачных клеток яичников и плоскоклеточный рак легких. Таким образом, GPC3 может служить мишенивой молекулой при CAR-T-клеточной терапии, используя рецептор химерного антигена (CAR). Соответственно, GPC3 CAR-T клетки получали, используя 11 типов клонов scFv, полученных в примере 1, и анализировали на цитотоксическую активность при злокачественном новообразовании и

способность продуцировать интерферон γ (IFN- γ).

[0105] [Получение вектора GPC3 CAR]

scFv с последовательностью VH-линкер-VL конструировали для 11 типов клонов scFv (TF1413-02d028, 02d039, 02e004, 02e014, 02e030, 02e040, 03e001, 03e004, 03e005, 03e015 и 03e034), полученных в примере 1, на основе их соответствующих аминокислотных последовательностей VH и VL (см. Таблицу 5). Использовали линкер, состоящий из 15 аминокислотных остатков с 3 повторами полипептида «GGGGS». К N-концу VH добавляли сигнальную последовательность Н-цепи иммуноглобулина человека SEQ ID NO:188.

[0106]

[Таблица 5-1]

SEQ ID NO:165: TF1413-02d028 scFv
<u>QVQLKESGPELEKPGASVKISCKASGYSTGYNMNWVKQSNKGSLEWIGNIDPYYGGTSYNQKF</u> <u>KGKATLTVDKSSSTAYMQLKSLTSEDSAVYYCARGDYRAYYFDYWGGQTTLTVS</u> <u>GGGGSGGGGS</u> <u>GGGS</u> <u>DIQMTQSPKFMSTSVGDRVSITCKASQNVRTAVAWYQQKPGQSPKALIYLASNRHTGVP</u> <u>DRFTGSGSGTDFTLTISNVQSEDLADYFCLQHWNYPLTFGAGTKLELKR</u>
SEQ ID NO:166: TF1413-02d039 scFv
<u>EVKLVESGGGLVKPGGSLKLSAASGFAFSSYDMSWVRQTPEKRLEWVAYISSGGGSTYYPDTVK</u> <u>GRFTISRDNAKNTLYLQMSSLKSEDTAMYYCARRGLRRAMDYWGQGTSTVTVS</u> <u>GGGGSGGGGSG</u> <u>GGGS</u> <u>DVVMQTQPLSLPVSLGDQASISCRSSQSLVHSNGNTYLHWYLOKPGQSPKLLIYKVSNRF</u> <u>SGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGYYFCSQSTHVPLTFGAGTKLELKR</u>
SEQ ID NO:167: TF1413-02e004 scFv
<u>QVQLQQSGAELVKPGAPVKLSCKASGYTFTSYWMNWVKQRPGRGLEWIGRIDPSDSETHYNQK</u> <u>FKDEATLTVDKSSSTAYIQLSSLTSEDSAVYYCARGYYAMDYWGQGTSTVTVS</u> <u>GGGGSGGGGSGG</u> <u>GGG</u> <u>DIVLTQSPKFMSTSVGDRVSITCKASQDVSTAVAWYQQKPGQSPKLLIYSASYRYTGVPDRFT</u> <u>GSGSGTDFTFETISSVQAEDLAVYYCQQHYSTPTEGGGKLEIKR</u>
SEQ ID NO:168: TF1413-02e014 scFv
<u>QVQLKQSGAELVRSGASVKLSCTASGFNIKDYMHWVKQRPEQGLEWIGWIDPENGDEYAPKF</u> <u>QGKATMTADTSSNTAYLQLSSLTSEDTAVYYCNAGYYDYDGYAMDYWGQGTSTVTVS</u> <u>GGGGSGG</u> <u>GGSGGGGS</u> <u>DIVLTQSPKFMSTSVGDRVSITCKASQDVGTAVAWYQQKPGQSPKLLIYWASTRHTG</u> <u>VPDRFTGSGSGTDFTLTISNVQSEDLADYFCQQYSSYPLTFGGGKLEIKR</u>
SEQ ID NO:169: TF1413-02e030 scFv
<u>EVQLQQSGAELVRPGALVKLSCKASGFNIKDYMHWVKQRPEQGLEWIGWIDPENGTIYDPKF</u> <u>QGKASITADTSSNTAYLQLSSLTSEDTAVYYCAISTMITTLDYWGGQTTLTVS</u> <u>GGGGSGGGGSGG</u> <u>GGG</u> <u>DIQMTQSPSSLAMSVGQKVTMSCKSSQSLNSSNQKNYLAWYQQKPGQSPKLLVYFASTRE</u> <u>SGVPDRFIGSGSGTDFTLTISSVQAEDLADYFCQQHYSTPLTFGAGTKLELKR</u>
SEQ ID NO:170: TF1413-02e040 scFv
<u>EVMLVESGPELVKPGASMKISCKASGYSTGYTMNWVKQSHGKNLEWIGLINPYNGGTSYNQN</u> <u>FKGKATLTVDKSSSTAYMELLSLTSEDSAVYYCARGYYGRFDYWGGQTTLTVS</u> <u>GGGGSGGGGSGG</u> <u>GGGS</u> <u>DILLTQSPKFMSTSVGDRVSITCKASQNVRTAVAWYQQKPGQSPKALIYLASNRHTGVPDR</u> <u>FTGSGSGTDFTLTISNVQSEDLADYFCLQHWNYPLTFGAGTKLELKR</u>

[0107]

[Table 5-2]

SEQ ID NO:171: TF1413-03e001 scFv
<u>QVQLKQSGPELVKPGASVKISCKASGYSTGYMHVVKQSHVKSLEWIGRINPYNGATSYNQNF</u> <u>KDKASLTVDKSSSTAYMELHSLTSEDSAVYYCARNYGYFDYWGGQTTLTVS</u> <u>GGGGSGGGSGG</u> <u>GGSDIKMTQSPKFMSTSVGDRVSVTCEASQNVDDNNVWVYQQKPGQSPKALIYSASYRSGVPDR</u> <u>FTGSGSGTDFTLTISNVQSEDLAEYFCQQYNSYPLTFGAGTKLEIKR</u>
SEQ ID NO:172: TF1413-03e004 scFv
<u>QVQLKQSGAELVKPGAPVKLSCKASGYTFTSYWMNWVKQRPGRGLEWIGRIDPSDSETHYNQK</u> <u>FKDKATLTVDKSSSTAYIQLSSLTSEDSAVYYCARGYYGSNYWGGQTTLTVS</u> <u>GGGGSGGGSGGG</u> <u>GS</u> <u>DIKMTQSPKFMSTSVGDRVSVTCKASQNVGTNVAWYQQKPGQSPKALIYSASYRSGVPDRF</u> <u>TGSGSGTDFTLTISNVQSEDLAEYFCQQYNSYPLTFGAGTKLELKR</u>
SEQ ID NO:173: TF1413-03e005 scFv
<u>QVQLKESGAELVRSGASVKLSCTASGFNIKDYMHVVKQRPQGLEWIGWIDPENGDEYAPKF</u> <u>QGKATMTADTSSNTAYLQLSSLTSEDYAVYYCNAFYDYDGYAMDYWGGQTSVTVS</u> <u>GGGGSGG</u> <u>GGSGGGGS</u> <u>DVVMQTPTSSLSASLGERVSLTCRASQEISGYLSWLQQKPDGTIKRLIYAASLDSC</u> <u>VPKRFSGRSGSDYSLTISSEDFADYYCLQYASYPLTFGAGTKLELKR</u>
SEQ ID NO:174: TF1413-03e015 scFv
<u>EVQLQQSGPELVKPGASMKISCKASGYSTGYTMNWVKQSHGKNLEWIGLINPYNGGTSYNQK</u> <u>FKGKATLTVDKSSSTAYMELLSLTSEDSAVYYCARGDYPPYAMDYWGGQTSVTVS</u> <u>GGGGSGGG</u> <u>GSGGGGS</u> <u>DIVMSQSPKFMSTSVGDRVSVTCKASQNVGTNVAWYQQKPGQSPKPLIYSASYRSG</u> <u>VPDRFTGSGSGTDFTLTISNVQSEDLAEYFCQQYNRYPLTFGVGKLEIKR</u>
SEQ ID NO:175: TF1413-03e034 scFv
<u>EVQLQQSGPELEKPGASVKISCKASGYSTGYNMNWVKQSNNGKSLEWIGNIDPYYGGTSYNQKF</u> <u>KGKATLTVDKSSSTAYMQLKSLTSEDSAVYYCARGNYGYAMDYWGGQTSVTVS</u> <u>GGGGSGGGG</u> <u>SGGGGS</u> <u>DIVMSQSPKFMSTSVGDRVSITCKASQNVRTAVAWYQQKPGQSPKALIYLASNRTGV</u> <u>PDRFTGSGSGTDFTLTISNVQSEDLADYFCLQHWNYPLTFGAGTKLELKR</u>

В таблицах, линкер показан в рамке из двойной линии, VH подчеркнут одной линией, а VL подчеркнут двумя линиями.

[0108] Нуклеотидную последовательность, кодирующую каждый scFv анти-GPC3 из Таблицы 5, синтезировали путем оптимизации для кодонов человека и встраивали в вектор экспрессии CAR. Используемый ген CAR имел ген, кодирующий слитый пептид (пептид, состоящий из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 185), состоящий из трансмембранной области CD8 человека и области активации сигнальной трансдукции иммунными клетками CD28/4-1BB/CD3 дзета, саморасщепляющейся последовательности 2A, ген IL-7 человека, саморасщепляющейся последовательности 2A, гена CCL19 человека, саморасщепляющейся последовательности 2A и гена HSV-TK, расположенного в направлении 5'-3' гена scFv, и все это было включено в ретровирусный вектор MSGV1 (см. международную

публикацию WO 2016/056228).

[0109] [Получение GPC3 CAR-T клеток]

Векторы CAR GPC3, полученные из 11 типов клонов scFv, описанных выше, каждый временно вводили в упаковочные клетки GP2 с получением ретровирусных векторов. Т-клетки инфицировали этими векторами для переноса гена с целью индукции GPC3 CAR-T-клеток. Соотношение CARC-экспрессирующих GPC3 клеток к ген-переносимым Т-клеткам изменялось от 5,3 до 39,2%. Соответственно, следующий функциональный анализ осуществляли с использованием клеток CAR-T GPC3, полученных из 5 типов клонов scFv (TF1413-02d028, TF1413-02d039, TF1413-02e014, TF1413-02e030 и TF1413-03e005) с соотношением 25% или более.

[0110] [Разрушающая активность GPC3 CAR-T-клеток в отношении GPC3-экспрессирующей клеточной линии]

Для изучения разрушающей активности GPC3 CAR-T-клеток в отношении злокачественных клеток проводили анализ одновременного культивирования GPC3 CAR-T-клеток и GPC3-экспрессирующей клеточной линии, то есть линии Sk-HEP-1 клеток гепатоцеллюлярной карциномы, активированной на экспрессию GPC3 (клеточная линия GPC3 Sk-HEP-1), или клеточную линию, не экспрессирующую GPC3 (ложная клеточная линия Sk-HEP-1). GPC3 CAR-T-клетки смешивали со злокачественными клетками-мишенями (линия клеток GPC3 Sk-HEP-1 или линия ложных клеток Sk-HEP-1) в пропорции 1:1 (1×10^5 клеток/лунка) и культивировали в 24-луночной планшете. Через 48 часов клетки восстанавливали, окрашивали анти-CD45 антителом и анализировали FCM с CD45-позитивными клетками в качестве GPC3 CAR-T-клеток и CD45-негативными клетками в качестве остальных злокачественных клеток [клетки GPC3 Sk-HEP-1]. По результатам, все GPC3 CAR-T-клетки, полученные из 5 типов клонов scFv, описанных выше, почти полностью уничтожали клетки GPC3 Sk-HEP-1, но не проявили разрушающей активности в отношении ложных клеток Sk-HEP-1 (см. Фиг.5 и 6). При использовании клеток, неинфицированных вирусным вектором (клетки без генного переноса [«Не инфицированы» на Фиг.5 и 6]), в качестве отрицательного контроля для GPC3 CAR-T-клеток, эти клетки не проявляли

разрушающей активности ни в отношении Sk-HEP-1 GPC3 клеток, ни в отношении ложных клеток Sk-HEP-1.

[0111] На основании этих результатов было показано, что GPC3 CAR-T-клетки, полученные из выбранных 5 типов клонов scFv против GPC3 (TF1413-02d028, TF1413-02d039, TF1413-02e014, TF1413-02e030 и TF1413-03e005), проявляют специфическую цитотоксическую активность против злокачественных GPC3-экспрессирующих клеток.

[0112] [Способность GP-3 CAR-T-клеток продуцировать IFN- γ при распознавании клеток, экспрессирующих GPC3]

Кроме разрушающей активности в отношении GPC3-экспрессирующих (позитивных) злокачественных клеток, анализировали способность GPC3 CARC-T-клеток продуцировать IFN- γ . GPC3 CAR-T-клетки смешивали со злокачественными клетками-мишенями (клеточная линия GPC3 Sk-HEP-1 или ложная клеточная линия Sk-HEP-1) в пропорции 1:1 (1×10^5 клеток/лунка) и культивировали в течение 48 часов в 24-луночной планшете, и измеряли концентрацию IFN- γ , продуцируемого в культуральном супернатанте, с помощью ELSIA. В результате все GPC3 CAR-T-клетки, полученные из 5 типов клонов scFv, описанных выше, проявляли способность продуцировать IFN- γ зависимым от экспрессии GPC3 способом. В частности, GPC3 CAR-T-клетки, полученные из клона TF1413-02d028, продемонстрировали самую высокую способность продуцировать IFN- γ (см. Фиг.7).

Пример 4

[0113] 4. Получение гуманизированного антитела

Гуманизированные антитела scFv конструировали на основе двух типов клонов scFv (TF1413-02d028 и 02d039), полученных в примере 1 (см. Таблицу 6). Использовали линкер, состоящий из 15 аминокислотных остатков с 3 повторами полипептида «GGGGS». К N-концу VH добавляли сигнальную последовательность H-цепи иммуноглобулина человека SEQ ID NO:188.

[0114]

[Таблица 6-1]

SEQ ID NO:178: #5 VH1-15-VL1 (TF1413-02d028 scFv гуманизированное антитело 1)
<u>QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSFTGYNMNWVRQAPGQGLEWIGNIDPYYGGTSYNQK</u> <u>FKGRATLTVDSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARGDYRAYYFDYWGGQTITVTVSS</u> <u>GGGGSGGG</u> <u>GSGGGGS</u> <u>DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNVRTAVAWYQQKPGKAPKALIYLASNRHTGV</u> <u>PSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCLQHWNYPITFGGGGTKVEIK</u>
SEQ ID NO:179: #5 VH2-15-VL1 (TF1413-02d028 scFv гуманизированное антитело 2)
<u>QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSFTGYNMNWVRQAPGQGLEWIGNIDPYYGGTSYNQK</u> <u>FKGRVTLTVDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARGDYRAYYFDYWGGQTITVTVSS</u> <u>GGGGSGGG</u> <u>GSGGGGS</u> <u>DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNVRTAVAWYQQKPGKAPKALIYLASNRHTGV</u> <u>PSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCLQHWNYPITFGGGGTKVEIK</u>
SEQ ID NO:180: #5 VH3-15-VL1 (TF1413-02d028 scFv гуманизированное антитело 3)
<u>QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYNMNWVRQAPGQGLEWIGNIDPYYGGTSYNQK</u> <u>FKGRVTLTVDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARGDYRAYYFDYWGGQTITVTVSS</u> <u>GGGGSGGG</u> <u>GSGGGGS</u> <u>DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNVRTAVAWYQQKPGKAPKALIYLASNRHTGV</u> <u>PSRFSGSGSGTDFTLTISSLQ PEDFATYYCLQHWNYPITFGGGGTKVEIK</u>
SEQ ID NO:181: #6 VH1-15-VL1 (TF1413-02d039 scFv гуманизированное антитело 1)
<u>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFAFSSYDMSWVRQAPGKGLEWVAYISSGGGSTYYPDTVK</u> <u>GRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARRGLRRAMDYWGQGMVTVSS</u> <u>GGGGSGGGGS</u> <u>GGGGS</u> <u>DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLVHSNGNTYLHWYLQKPGQSPQLLIYKVSNRF</u> <u>SGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCSQSTHVPLTFGGGTKVEIK</u>
SEQ ID NO:182: #6 VH1-15-VL2 (TF1413-02d039 scFv гуманизированное антитело 2)
<u>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFAFSSYDMSWVRQAPGKGLEWVAYISSGGGSTYYPDTVK</u> <u>GRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARRGLRRAMDYWGQGMVTVSS</u> <u>GGGGSGGGGS</u> <u>GGGGS</u> <u>DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLVHSSGNTYLHWYLQKPGQSPQLLIYKVSNRF</u> <u>SGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVE AEDVGVYYCSQSTHVPLTFGGGTKVEIK</u>
SEQ ID NO:183: #6 VH2-15-VL1 (TF1413-02d039 scFv гуманизированное антитело 3)
<u>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFAFSSYDMSWVRQAPGKRLEWVAYISSGGGSTYYPDTVK</u> <u>GRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARRGLRRAMDYWGQGMVTVSS</u> <u>GGGGSGGGGS</u> <u>GGGGS</u> <u>DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLVHSNGNTYLHWYLQKPGQSPQLLIYKVSNRF</u> <u>SGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVE AEDVGVYYCSQSTHVPLTFGGGTKVEIK</u>

В таблицах, линкер показан в рамке из двойной линии, VH подчеркнут одной линией, а VL подчеркнут двумя линиями.

Промышленная применимость

[0116] Настоящее изобретение вносит вклад в область иммунотерапии злокачественных опухолей.

СПИСОК ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ

<110> ЯМАГУТИ ЮНИВЕРСИТИ
НЭШНЛ КЭНСЕР СЕНТЕР
НОЙЛ-ИММЬОН БАЙОТЕК, ИНК.

<120> Анти-GPC3 антитело

<130> FH29-004TW

<150> JP 2017-1732

<151> 2017-01-10

<160> 188

<170> PatentIn version 3.1

<210> 1

<211> 5

<212> Белок

<213> Искусственный

<220>

<223> TF1413-02d028 Н цепь CDR 1

<220>

<221> MISC_FEATURE

<223> Изобретатели: ТАМАДА, Кодзи; САКОДА, Юкими; НАКАЦУРА, Тецуя; НАКАЦУРА, Тецуя

<400> 1

Gly Tyr Asn Met Asn
1 5

<210> 2

<211> 17

<212> Белок

<213> Искусственный

<220>

<223> TF1413-02d028 Н цепь CDR 2

<400> 2

Asn Ile Asp Pro Tyr Tyr Gly Gly Thr Ser Tyr Asn Gln Lys Phe Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 3

<211> 10

<212> Белок

<213> Искусственный

<220>

<223> TF1413-02d028 Н цепь CDR 3

<400> 3

Gly Asp Tyr Arg Ala Tyr Tyr Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 4
<211> 11
<212> Белок
<213> Искусственный

<220>
<223> TF1413-02d028 L цепь CDR 1

<400> 4

Lys Ala Ser Gln Asn Val Arg Thr Ala Val Ala
1 5 10

<210> 5
<211> 7
<212> Белок
<213> Искусственный

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

<400> 5

Leu Ala Ser Asn Arg His Thr
1 5

<210> 6
<211> 9
<212> Белок
<213> Искусственный

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

<400> 6

Leu Gln His Trp Asn Tyr Pro Leu Thr
1 5

<210> 7
<211> 118
<212> Белок
<213> Искусственный

<220>
<223> TF1413-02d028 H цепь V область

<400> 7

Gln Val Gln Leu Lys Glu Ser Gly Pro Glu Leu Glu Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Gly Tyr
20 25 30

Asn Met Asn Trp Val Lys Gln Ser Asn Gly Lys Ser Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Asn Ile Asp Pro Tyr Tyr Gly Gly Thr Ser Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60

Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Gln Leu Lys Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Gly Asp Tyr Arg Ala Tyr Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Thr Leu Thr Val Ser
115

<210> 8

<211> 108

<212> Белок

<213> Искусственный

<220>

<223> TF1413-02d028 L цепь V область

<400> 8

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Lys Phe Met Ser Thr Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Ser Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asn Val Arg Thr Ala
20 25 30

Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Ala Leu Ile
35 40 45

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

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Asn Val Gln Ser
65 70 75 80

Glu Asp Leu Ala Asp Tyr Phe Cys Leu Gln His Trp Asn Tyr Pro Leu
85 90 95

Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys Arg
100 105

<210> 9

<211> 449
<212> Белок
<213> Искусственный

<220>
<223> TF1413-02d028 Н цепь

<400> 9

Gln Val Gln Leu Lys Glu Ser Gly Pro Glu Leu Glu Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Gly Tyr
20 25 30

Asn Met Asn Trp Val Lys Gln Ser Asn Gly Lys Ser Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Asn Ile Asp Pro Tyr Tyr Gly Gly Thr Ser Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60

Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Gln Leu Lys Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Gly Asp Tyr Arg Ala Tyr Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser Ala Lys Thr Thr Ala Pro Ser Val Tyr
115 120 125

Pro Leu Ala Pro Val Cys Gly Asp Thr Thr Gly Ser Ser Val Thr Leu
130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Gly Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Leu Thr Trp
145 150 155 160

Asn Ser Gly Ser Leu Ser Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175

Gln Ser Asp Leu Tyr Thr Leu Ser Ser Ser Val Thr Val Thr Ser Ser
180 185 190

Thr Trp Pro Ser Gln Ser Ile Thr Cys Asn Val Ala His Pro Ala Ser
195 200 205

Ser Thr Lys Val Asp Lys Lys Ile Glu Pro Arg Gly Pro Thr Ile Lys
210 215 220

Pro Cys Pro Pro Cys Lys Cys Pro Ala Pro Asn Leu Leu Gly Gly Pro
225 230 235 240

Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Lys Ile Lys Asp Val Leu Met Ile Ser
245 250 255

Leu Ser Pro Ile Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Glu Asp Asp
260 265 270

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

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

Val Ser Ala Leu Pro Ile Gln His Gln Asp Trp Met Ser Gly Lys Glu
305 310 315 320

Phe Lys Cys Lys Val Asn Asn Lys Asp Leu Pro Ala Pro Ile Glu Arg
325 330 335

Thr Ile Ser Lys Pro Lys Gly Ser Val Arg Ala Pro Gln Val Tyr Val
340 345 350

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

Cys Met Val Thr Asp Phe Met Pro Glu Asp Ile Tyr Val Glu Trp Thr
370 375 380

Asn Asn Gly Lys Thr Glu Leu Asn Tyr Lys Asn Thr Glu Pro Val Leu
385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Tyr Phe Met Tyr Ser Lys Leu Arg Val Glu Lys
405 410 415

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

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

Lys

<210> 10
<211> 214
<212> Белок

<213> Искусственный

<220>

<223> TF1413-02d028 L цепь

<400> 10

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Lys Phe Met Ser Thr Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Ser Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asn Val Arg Thr Ala
20 25 30

Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Ala Leu Ile
35 40 45

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

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Asn Val Gln Ser
65 70 75 80

Glu Asp Leu Ala Asp Tyr Phe Cys Leu Gln His Trp Asn Tyr Pro Leu
85 90 95

Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys Arg Ala Asp Ala Ala
100 105 110

Pro Thr Val Ser Ile Phe Pro Pro Ser Ser Glu Gln Leu Thr Ser Gly
115 120 125

Gly Ala Ser Val Val Cys Phe Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Lys Asp Ile
130 135 140

Asn Val Lys Trp Lys Ile Asp Gly Ser Glu Arg Gln Asn Gly Val Leu
145 150 155 160

Asn Ser Trp Thr Asp Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Met Ser
165 170 175

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

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

Phe Asn Arg Asn Glu Cys
210

<210> 11

<211> 5
<212> Белок
<213> Искусственный

<220>
<223> TF1413-02d039 Н цепь CDR 1

<400> 11

Ser Tyr Asp Met Ser
1 5

<210> 12
<211> 17
<212> Белок
<213> Искусственный

<220>
<223> TF1413-02d039 Н цепь CDR 2

<400> 12

Tyr Ile Ser Ser Gly Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Pro Asp Thr Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 13
<211> 9
<212> Белок
<213> Искусственный

<220>
<223> TF1413-02d039 Н цепь CDR 3

<400> 13

Arg Gly Leu Arg Arg Ala Met Asp Tyr
1 5

<210> 14
<211> 16
<212> Белок
<213> Искусственный

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

<400> 14

Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu His
1 5 10 15

<210> 15
<211> 7
<212> Белок
<213> Искусственный

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

<400> 15

Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser
1 5

<210> 16
<211> 9
<212> Белок
<213> Искусственный

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

<400> 16

Ser Gln Ser Thr His Val Pro Leu Thr
1 5

<210> 17
<211> 117
<212> Белок
<213> Искусственный

<220>
<223> TF1413-02d039 H цепь V область

<400> 17

Glu Val Lys Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ala Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Asp Met Ser Trp Val Arg Gln Thr Pro Glu Lys Arg Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ala Tyr Ile Ser Ser Gly Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Pro Asp Thr Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Ser Ser Leu Lys Ser Glu Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Arg Gly Leu Arg Arg Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Ser Val Thr Val Ser
115

<210> 18
<211> 113
<212> Белок
<213> Искусственный

<220>
<223> TF1413-02d039 L цепь V область

<400> 18

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

Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser
20 25 30

Asn Gly Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45

Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Phe Cys Ser Gln Ser
85 90 95

Thr His Val Pro Leu Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys
100 105 110

Arg

<210> 19
<211> 448
<212> Белок
<213> Искусственный

<220>
<223> TF1413-02d039 H цепь

<400> 19

Glu Val Lys Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ala Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Asp Met Ser Trp Val Arg Gln Thr Pro Glu Lys Arg Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ala Tyr Ile Ser Ser Gly Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Pro Asp Thr Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Ser Ser Leu Lys Ser Glu Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Arg Gly Leu Arg Arg Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Ser Val Thr Val Ser Ser Ala Lys Thr Thr Ala Pro Ser Val Tyr Pro
115 120 125

Leu Ala Pro Val Cys Gly Asp Thr Thr Gly Ser Ser Val Thr Leu Gly
130 135 140

Cys Leu Val Lys Gly Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Leu Thr Trp Asn
145 150 155 160

Ser Gly Ser Leu Ser Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln
165 170 175

Ser Asp Leu Tyr Thr Leu Ser Ser Ser Val Thr Val Thr Ser Ser Thr
180 185 190

Trp Pro Ser Gln Ser Ile Thr Cys Asn Val Ala His Pro Ala Ser Ser
195 200 205

Thr Lys Val Asp Lys Lys Ile Glu Pro Arg Gly Pro Thr Ile Lys Pro
210 215 220

Cys Pro Pro Cys Lys Cys Pro Ala Pro Asn Leu Leu Gly Gly Pro Ser
225 230 235 240

Val Phe Ile Phe Pro Pro Lys Ile Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Leu
245 250 255

Ser Pro Ile Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Glu Asp Asp Pro
260 265 270

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

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

Ser Ala Leu Pro Ile Gln His Gln Asp Trp Met Ser Gly Lys Glu Phe
305 310 315 320

Lys Cys Lys Val Asn Asn Lys Asp Leu Pro Ala Pro Ile Glu Arg Thr
325 330 335

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

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

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

Asn Gly Lys Thr Glu Leu Asn Tyr Lys Asn Thr Glu Pro Val Leu Asp
385 390 395 400

Ser Asp Gly Ser Tyr Phe Met Tyr Ser Lys Leu Arg Val Glu Lys Lys
405 410 415

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

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

<210> 20

<211> 219

<212> Белок

<213> ИСКУССТВЕННЫЙ

<220>

<223> TF1413-02d039 L цепь

<400> 20

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

Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser
20 25 30

Asn Gly Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45

Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

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

65						70						75						80
Ser	Arg	Val	Glu	Ala	Glu	Asp	Leu	Gly	Val	Tyr	Phe	Cys	Ser	Gln	Ser			
				85					90					95				
Thr	His	Val	Pro	Leu	Thr	Phe	Gly	Ala	Gly	Thr	Lys	Leu	Glu	Leu	Lys			
			100					105					110					
Arg	Ala	Asp	Ala	Ala	Pro	Thr	Val	Ser	Ile	Phe	Pro	Pro	Ser	Ser	Glu			
		115					120					125						
Gln	Leu	Thr	Ser	Gly	Gly	Ala	Ser	Val	Val	Cys	Phe	Leu	Asn	Asn	Phe			
	130					135					140							
Tyr	Pro	Lys	Asp	Ile	Asn	Val	Lys	Trp	Lys	Ile	Asp	Gly	Ser	Glu	Arg			
145					150					155					160			
Gln	Asn	Gly	Val	Leu	Asn	Ser	Trp	Thr	Asp	Gln	Asp	Ser	Lys	Asp	Ser			
				165					170					175				
Thr	Tyr	Ser	Met	Ser	Ser	Thr	Leu	Thr	Leu	Thr	Lys	Asp	Glu	Tyr	Glu			
			180					185					190					
Arg	His	Asn	Ser	Tyr	Thr	Cys	Glu	Ala	Thr	His	Lys	Thr	Ser	Thr	Ser			
		195					200					205						
Pro	Ile	Val	Lys	Ser	Phe	Asn	Arg	Asn	Glu	Cys								
	210					215												
<210>	21																	
<211>	5																	
<212>	Белок																	
<213>	Искусственный																	
<220>																		
<223>	TF1413-02e004	Н	цепь	CDR	1													
<400>	21																	
Ser	Tyr	Trp	Met	Asn														
1				5														
<210>	22																	
<211>	17																	
<212>	Белок																	
<213>	Искусственный																	
<220>																		
<223>	TF1413-02e004	Н	цепь	CDR	2													
<400>	22																	
Arg	Ile	Asp	Pro	Ser	Asp	Ser	Glu	Thr	His	Tyr	Asn	Gln	Lys	Phe	Lys			

1

5

10

15

Asp

<210> 23

<211> 7

<212> Белок

<213> Искусственный

<220>

<223> TF1413-02e004 Н цепь CDR 3

<400> 23

Gly Tyr Tyr Ala Met Asp Tyr

1

5

<210> 24

<211> 11

<212> Белок

<213> Искусственный

<220>

<223> TF1413-02e004 L цепь CDR 1

<400> 24

Lys Ala Ser Gln Asp Val Ser Thr Ala Val Ala

1

5

10

<210> 25

<211> 7

<212> Белок

<213> Искусственный

<220>

<223> TF1413-02e004 L цепь CDR 2

<400> 25

Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Thr

1

5

<210> 26

<211> 8

<212> Белок

<213> Искусственный

<220>

<223> TF1413-02e004 L цепь CDR 3

<400> 26

Gln Gln His Tyr Ser Thr Pro Thr

1

5

<210> 27

<211> 115
<212> Белок
<213> Искусственный

<220>
<223> TF1413-02e004 Н цепь V область

<400> 27

Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Pro Val Lys Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30

Trp Met Asn Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Arg Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Arg Ile Asp Pro Ser Asp Ser Glu Thr His Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60

Lys Asp Glu Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Ile Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Gly Tyr Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val
100 105 110

Thr Val Ser
115

<210> 28
<211> 107
<212> Белок
<213> Искусственный

<220>
<223> TF1413-02e004 Л цепь V область

<400> 28

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

Asp Arg Val Ser Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asp Val Ser Thr Ala
20 25 30

Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

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

50

55

60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser Ser Val Gln Ala
 65 70 75 80

Glu Asp Leu Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln His Tyr Ser Thr Pro Thr
 85 90 95

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg
 100 105

<210> 29

<211> 446

<212> Белок

<213> Искусственный

<220>

<223> TF1413-02e004 Н цепь

<400> 29

Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15

Pro Val Lys Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
 20 25 30

Trp Met Asn Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Arg Gly Leu Glu Trp Ile
 35 40 45

Gly Arg Ile Asp Pro Ser Asp Ser Glu Thr His Tyr Asn Gln Lys Phe
 50 55 60

Lys Asp Glu Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80

Ile Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Ala Arg Gly Tyr Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val
 100 105 110

Thr Val Ser Ser Ala Lys Thr Thr Ala Pro Ser Val Tyr Pro Leu Ala
 115 120 125

Pro Val Cys Gly Asp Thr Thr Gly Ser Ser Val Thr Leu Gly Cys Leu
 130 135 140

Val Lys Gly Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Leu Thr Trp Asn Ser Gly
 145 150 155 160

Ser Leu Ser Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Asp
 165 170 175

Leu Tyr Thr Leu Ser Ser Ser Val Thr Val Thr Ser Ser Thr Trp Pro
 180 185 190

Ser Gln Ser Ile Thr Cys Asn Val Ala His Pro Ala Ser Ser Thr Lys
 195 200 205

Val Asp Lys Lys Ile Glu Pro Arg Gly Pro Thr Ile Lys Pro Cys Pro
 210 215 220

Pro Cys Lys Cys Pro Ala Pro Asn Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe
 225 230 235 240

Ile Phe Pro Pro Lys Ile Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Leu Ser Pro
 245 250 255

Ile Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Glu Asp Asp Pro Asp Val
 260 265 270

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

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

Leu Pro Ile Gln His Gln Asp Trp Met Ser Gly Lys Glu Phe Lys Cys
 305 310 315 320

Lys Val Asn Asn Lys Asp Leu Pro Ala Pro Ile Glu Arg Thr Ile Ser
 325 330 335

Lys Pro Lys Gly Ser Val Arg Ala Pro Gln Val Tyr Val Leu Pro Pro
 340 345 350

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

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

Lys Thr Glu Leu Asn Tyr Lys Asn Thr Glu Pro Val Leu Asp Ser Asp
 385 390 395 400

Gly Ser Tyr Phe Met Tyr Ser Lys Leu Arg Val Glu Lys Lys Asn Trp
 405 410 415

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

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

<210> 30
<211> 213
<212> Белок
<213> Искусственный

<220>
<223> TF1413-02e004 L цепь

<400> 30

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

Asp Arg Val Ser Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asp Val Ser Thr Ala
20 25 30

Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

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

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser Ser Val Gln Ala
65 70 75 80

Glu Asp Leu Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln His Tyr Ser Thr Pro Thr
85 90 95

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Ala Asp Ala Ala Pro
100 105 110

Thr Val Ser Ile Phe Pro Pro Ser Ser Glu Gln Leu Thr Ser Gly Gly
115 120 125

Ala Ser Val Val Cys Phe Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Lys Asp Ile Asn
130 135 140

Val Lys Trp Lys Ile Asp Gly Ser Glu Arg Gln Asn Gly Val Leu Asn
145 150 155 160

Ser Trp Thr Asp Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Met Ser Ser
165 170 175

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

180

185

190

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

Asn Arg Asn Glu Cys
 210

<210> 31
 <211> 5
 <212> Белок
 <213> Искусственный

<220>
 <223> TF1413-02e014 Н цепь CDR 1

<400> 31

Asp Tyr Tyr Met His
 1 5

<210> 32
 <211> 17
 <212> Белок
 <213> Искусственный

<220>
 <223> TF1413-02e014 Н цепь CDR 2

<400> 32

Trp Ile Asp Pro Glu Asn Gly Asp Thr Glu Tyr Ala Pro Lys Phe Gln
 1 5 10 15

Gly

<210> 33
 <211> 11
 <212> Белок
 <213> Искусственный

<220>
 <223> TF1413-02e014 Н цепь CDR 3

<400> 33

Tyr Tyr Asp Tyr Asp Gly Tyr Ala Met Asp Tyr
 1 5 10

<210> 34
 <211> 11
 <212> Белок
 <213> Искусственный

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

<400> 34

Lys Ala Ser Gln Asp Val Gly Thr Ala Val Ala
1 5 10

<210> 35

<211> 7

<212> Белок

<213> Искусственный

<220>

<223> TF1413-02e014 L цепь CDR 2

<400> 35

Trp Ala Ser Thr Arg His Thr
1 5

<210> 36

<211> 9

<212> Белок

<213> Искусственный

<220>

<223> TF1413-02e014 L цепь CDR 3

<400> 36

Gln Gln Tyr Ser Ser Tyr Pro Leu Thr
1 5

<210> 37

<211> 120

<212> Белок

<213> Искусственный

<220>

<223> TF1413-02e014 H цепь V область

<400> 37

Gln Val Gln Leu Lys Gln Ser Gly Ala Glu Leu Val Arg Ser Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Leu Ser Cys Thr Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Tyr
20 25 30

Tyr Met His Trp Val Lys Gln Arg Pro Glu Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Trp Ile Asp Pro Glu Asn Gly Asp Thr Glu Tyr Ala Pro Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Lys Ala Thr Met Thr Ala Asp Thr Ser Ser Asn Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Asn Ala Gly Tyr Tyr Asp Tyr Asp Gly Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser
115 120

<210> 38

<211> 108

<212> Белок

<213> Искусственный

<220>

<223> TF1413-02e014 L цепь V область

<400> 38

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

Asp Arg Val Ser Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asp Val Gly Thr Ala
20 25 30

Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Trp Ala Ser Thr Arg His Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Asn Val Gln Ser
65 70 75 80

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

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg
100 105

<210> 39

<211> 451

<212> Белок

<213> Искусственный

<220>

<223> TF1413-02e014 H цепь

<400> 39

Gln Val Gln Leu Lys Gln Ser Gly Ala Glu Leu Val Arg Ser Gly Ala
1 5 10 15

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

Asp Asp Pro Asp Val Gln Ile Ser Trp Phe Val Asn Asn Val Glu Val
275 280 285

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

Arg Val Val Ser Ala Leu Pro Ile Gln His Gln Asp Trp Met Ser Gly
305 310 315 320

Lys Glu Phe Lys Cys Lys Val Asn Asn Lys Asp Leu Pro Ala Pro Ile
325 330 335

Glu Arg Thr Ile Ser Lys Pro Lys Gly Ser Val Arg Ala Pro Gln Val
340 345 350

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

Leu Thr Cys Met Val Thr Asp Phe Met Pro Glu Asp Ile Tyr Val Glu
370 375 380

Trp Thr Asn Asn Gly Lys Thr Glu Leu Asn Tyr Lys Asn Thr Glu Pro
385 390 395 400

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Tyr Phe Met Tyr Ser Lys Leu Arg Val
405 410 415

Glu Lys Lys Asn Trp Val Glu Arg Asn Ser Tyr Ser Cys Ser Val Val
420 425 430

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

Pro Gly Lys
450

<210> 40
<211> 214
<212> Белок
<213> Искусственный

<220>
<223> TF1413-02e014 L цепь

<400> 40

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

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

20

25

30

Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45

Tyr Trp Ala Ser Thr Arg His Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly
 50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Asn Val Gln Ser
 65 70 75 80

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

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Ala Asp Ala Ala
 100 105 110

Pro Thr Val Ser Ile Phe Pro Pro Ser Ser Glu Gln Leu Thr Ser Gly
 115 120 125

Gly Ala Ser Val Val Cys Phe Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Lys Asp Ile
 130 135 140

Asn Val Lys Trp Lys Ile Asp Gly Ser Glu Arg Gln Asn Gly Val Leu
 145 150 155 160

Asn Ser Trp Thr Asp Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Met Ser
 165 170 175

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

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

Phe Asn Arg Asn Glu Cys
 210

<210> 41

<211> 5

<212> Белок

<213> Искусственный

<220>

<223> TF1413-02e030 Н цепь CDR 1

<400> 41

Asp Tyr Tyr Met His
 1 5

<210> 42
<211> 17
<212> Белок
<213> Искусственный

<220>

<223> TF1413-02e030 Н цепь CDR 2

<400> 42

Trp	Ile	Asp	Pro	Glu	Asn	Gly	Asn	Thr	Ile	Tyr	Asp	Pro	Lys	Phe	Gln
1				5					10					15	

Gly

<210> 43
<211> 8
<212> Белок
<213> Искусственный

<220>

<223> TF1413-02e030 Н цепь CDR 3

<400> 43

Thr	Met	Ile	Thr	Thr	Leu	Asp	Tyr
1				5			

<210> 44
<211> 17
<212> Белок
<213> Искусственный

<220>

<223> TF1413-02e030 L цепь CDR 1

<400> 44

Lys	Ser	Ser	Gln	Ser	Leu	Leu	Asn	Ser	Ser	Asn	Gln	Lys	Asn	Tyr	Leu
1				5					10					15	

Ala

<210> 45
<211> 7
<212> Белок
<213> Искусственный

<220>

<223> TF1413-02e030 L цепь CDR 2

<400> 45

Phe	Ala	Ser	Thr	Arg	Glu	Ser
1				5		

<210> 46
<211> 9
<212> Белок
<213> Искусственный

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

<400> 46

Gln Gln His Tyr Ser Thr Pro Leu Thr
1 5

<210> 47
<211> 117
<212> Белок
<213> Искусственный

<220>
<223> TF1413-02e030 H цепь V область

<400> 47

Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Val Arg Pro Gly Ala
1 5 10 15

Leu Val Lys Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Tyr
20 25 30

Tyr Met His Trp Val Lys Gln Arg Pro Glu Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Trp Ile Asp Pro Glu Asn Gly Asn Thr Ile Tyr Asp Pro Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Lys Ala Ser Ile Thr Ala Asp Thr Ser Ser Asn Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Ile Ser Thr Met Ile Thr Thr Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Thr Leu Thr Val Ser
115

<210> 48
<211> 114
<212> Белок
<213> Искусственный

<220>
<223> TF1413-02e030 L цепь V область

<400> 48

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

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

Ser Asn Gln Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
35 40 45

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

Pro Asp Arg Phe Ile Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
65 70 75 80

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

His Tyr Ser Thr Pro Leu Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu
100 105 110

Lys Arg

<210> 49

<211> 448

<212> Белок

<213> Искусственный

<220>

<223> TF1413-02e030 Н цепь

<400> 49

Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Val Arg Pro Gly Ala
1 5 10 15

Leu Val Lys Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Tyr
20 25 30

Tyr Met His Trp Val Lys Gln Arg Pro Glu Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Trp Ile Asp Pro Glu Asn Gly Asn Thr Ile Tyr Asp Pro Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Lys Ala Ser Ile Thr Ala Asp Thr Ser Ser Asn Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

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

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

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

Asn Gly Lys Thr Glu Leu Asn Tyr Lys Asn Thr Glu Pro Val Leu Asp
385 390 395 400

Ser Asp Gly Ser Tyr Phe Met Tyr Ser Lys Leu Arg Val Glu Lys Lys
405 410 415

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

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

<210> 50

<211> 220

<212> Белок

<213> ИСКУССТВЕННЫЙ

<220>

<223> TF1413-02e030 L цепь

<400> 50

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

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

Ser Asn Gln Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
35 40 45

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

Pro Asp Arg Phe Ile Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
65 70 75 80

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

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

<211> 8
<212> Белок
<213> Искусственный

<220>
<223> TF1413-02e040 Н цепь CDR 3

<400> 53

Gly Tyr Tyr Gly Arg Phe Asp Tyr
1 5

<210> 54
<211> 11
<212> Белок
<213> Искусственный

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

<400> 54

Lys Ala Ser Gln Asn Val Arg Thr Ala Val Ala
1 5 10

<210> 55
<211> 7
<212> Белок
<213> Искусственный

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

<400> 55

Leu Ala Ser Asn Arg His Thr
1 5

<210> 56
<211> 9
<212> Белок
<213> Искусственный

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

<400> 56

Leu Gln His Trp Asn Tyr Pro Leu Thr
1 5

<210> 57
<211> 116
<212> Белок
<213> Искусственный

<220>
<223> TF1413-02e040 Н цепь V область

<400> 57

Glu Val Met Leu Val Glu Ser Gly Pro Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Met Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Gly Tyr
20 25 30

Thr Met Asn Trp Val Lys Gln Ser His Gly Lys Asn Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Leu Ile Asn Pro Tyr Asn Gly Gly Thr Ser Tyr Asn Gln Asn Phe
50 55 60

Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Leu Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Gly Tyr Tyr Gly Arg Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr
100 105 110

Leu Thr Val Ser
115

<210> 58

<211> 108

<212> Белок

<213> Искусственный

<220>

<223> TF1413-02e040 L цепь V область

<400> 58

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

Asp Arg Val Ser Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asn Val Arg Thr Ala
20 25 30

Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Ala Leu Ile
35 40 45

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

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Asn Val Gln Ser
65 70 75 80

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

85

90

95

Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys Arg
 100 105

<210> 59

<211> 447

<212> Белок

<213> Искусственный

<220>

<223> TF1413-02e040 Н цепь

<400> 59

Glu Val Met Leu Val Glu Ser Gly Pro Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15

Ser Met Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Gly Tyr
 20 25 30

Thr Met Asn Trp Val Lys Gln Ser His Gly Lys Asn Leu Glu Trp Ile
 35 40 45

Gly Leu Ile Asn Pro Tyr Asn Gly Gly Thr Ser Tyr Asn Gln Asn Phe
 50 55 60

Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80

Met Glu Leu Leu Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Ala Arg Gly Tyr Tyr Gly Arg Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr
 100 105 110

Leu Thr Val Ser Ser Ala Lys Thr Thr Ala Pro Ser Val Tyr Pro Leu
 115 120 125

Ala Pro Val Cys Gly Asp Thr Thr Gly Ser Ser Val Thr Leu Gly Cys
 130 135 140

Leu Val Lys Gly Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Leu Thr Trp Asn Ser
 145 150 155 160

Gly Ser Leu Ser Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
 165 170 175

Asp Leu Tyr Thr Leu Ser Ser Ser Val Thr Val Thr Ser Ser Thr Trp
 180 185 190

Pro Ser Gln Ser Ile Thr Cys Asn Val Ala His Pro Ala Ser Ser Thr
195 200 205

Lys Val Asp Lys Lys Ile Glu Pro Arg Gly Pro Thr Ile Lys Pro Cys
210 215 220

Pro Pro Cys Lys Cys Pro Ala Pro Asn Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val
225 230 235 240

Phe Ile Phe Pro Pro Lys Ile Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Leu Ser
245 250 255

Pro Ile Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Glu Asp Asp Pro Asp
260 265 270

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

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

Ala Leu Pro Ile Gln His Gln Asp Trp Met Ser Gly Lys Glu Phe Lys
305 310 315 320

Cys Lys Val Asn Asn Lys Asp Leu Pro Ala Pro Ile Glu Arg Thr Ile
325 330 335

Ser Lys Pro Lys Gly Ser Val Arg Ala Pro Gln Val Tyr Val Leu Pro
340 345 350

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

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

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

Asp Gly Ser Tyr Phe Met Tyr Ser Lys Leu Arg Val Glu Lys Lys Asn
405 410 415

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

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

<210> 60
<211> 214
<212> Белок
<213> Искусственный

<220>
<223> TF1413-02e040 L цепь

<400> 60

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

Asp Arg Val Ser Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asn Val Arg Thr Ala
20 25 30

Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Ala Leu Ile
35 40 45

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

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Asn Val Gln Ser
65 70 75 80

Glu Asp Leu Ala Asp Tyr Phe Cys Leu Gln His Trp Asn Tyr Pro Leu
85 90 95

Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys Arg Ala Asp Ala Ala
100 105 110

Pro Thr Val Ser Ile Phe Pro Pro Ser Ser Glu Gln Leu Thr Ser Gly
115 120 125

Gly Ala Ser Val Val Cys Phe Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Lys Asp Ile
130 135 140

Asn Val Lys Trp Lys Ile Asp Gly Ser Glu Arg Gln Asn Gly Val Leu
145 150 155 160

Asn Ser Trp Thr Asp Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Met Ser
165 170 175

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

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

Phe Asn Arg Asn Glu Cys

210

<210> 61
<211> 5
<212> Белок
<213> Искусственный

<220>
<223> TF1413-03e001 Н цепь CDR 1

<400> 61

Gly Tyr Tyr Met His
1 5

<210> 62
<211> 17
<212> Белок
<213> Искусственный

<220>
<223> TF1413-03e001 Н цепь CDR 2

<400> 62

Arg Ile Asn Pro Tyr Asn Gly Ala Thr Ser Tyr Asn Gln Asn Phe Lys
1 5 10 15

Asp

<210> 63
<211> 7
<212> Белок
<213> Искусственный

<220>
<223> TF1413-03e001 Н цепь CDR 3

<400> 63

Asn Tyr Gly Tyr Phe Asp Tyr
1 5

<210> 64
<211> 11
<212> Белок
<213> Искусственный

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

<400> 64

Glu Ala Ser Gln Asn Val Asp Asn Asn Val Val
1 5 10

<210> 65

<211> 7
<212> Белок
<213> Искусственный

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

<400> 65

Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Ser
1 5

<210> 66
<211> 9
<212> Белок
<213> Искусственный

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

<400> 66

Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Leu Thr
1 5

<210> 67
<211> 115
<212> Белок
<213> Искусственный

<220>
<223> TF1413-03e001 H цепь V область

<400> 67

Gln Val Gln Leu Lys Gln Ser Gly Pro Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Gly Tyr
20 25 30

Tyr Met His Trp Val Lys Gln Ser His Val Lys Ser Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Arg Ile Asn Pro Tyr Asn Gly Ala Thr Ser Tyr Asn Gln Asn Phe
50 55 60

Lys Asp Lys Ala Ser Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu His Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Asn Tyr Gly Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu
100 105 110

Thr Val Ser
115

<210> 68
<211> 108
<212> Белок
<213> Искусственный

<220>
<223> TF1413-03e001 L цепь V область

<400> 68

Asp Ile Lys Met Thr Gln Ser Pro Lys Phe Met Ser Thr Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Ser Val Thr Cys Glu Ala Ser Gln Asn Val Asp Asn Asn
20 25 30

Val Val Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Ala Leu Ile
35 40 45

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

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Asn Val Gln Ser
65 70 75 80

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

Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg
100 105

<210> 69
<211> 446
<212> Белок
<213> Искусственный

<220>
<223> TF1413-03e001 H цепь

<400> 69

Gln Val Gln Leu Lys Gln Ser Gly Pro Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Gly Tyr
20 25 30

Tyr Met His Trp Val Lys Gln Ser His Val Lys Ser Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly	Arg	Ile	Asn	Pro	Tyr	Asn	Gly	Ala	Thr	Ser	Tyr	Asn	Gln	Asn	Phe	50	55	60	
Lys	Asp	Lys	Ala	Ser	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Ser	Ser	Thr	Ala	Tyr	65	70	75	80
Met	Glu	Leu	His	Ser	Leu	Thr	Ser	Glu	Asp	Ser	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	85	90	95	
Ala	Arg	Asn	Tyr	Gly	Tyr	Phe	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Thr	Leu	100	105	110	
Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Lys	Thr	Thr	Ala	Pro	Ser	Val	Tyr	Pro	Leu	Ala	115	120	125	
Pro	Val	Cys	Gly	Asp	Thr	Thr	Gly	Ser	Ser	Val	Thr	Leu	Gly	Cys	Leu	130	135	140	
Val	Lys	Gly	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Leu	Thr	Trp	Asn	Ser	Gly	145	150	155	160
Ser	Leu	Ser	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Asp	165	170	175	
Leu	Tyr	Thr	Leu	Ser	Ser	Ser	Val	Thr	Val	Thr	Ser	Ser	Thr	Trp	Pro	180	185	190	
Ser	Gln	Ser	Ile	Thr	Cys	Asn	Val	Ala	His	Pro	Ala	Ser	Ser	Thr	Lys	195	200	205	
Val	Asp	Lys	Lys	Ile	Glu	Pro	Arg	Gly	Pro	Thr	Ile	Lys	Pro	Cys	Pro	210	215	220	
Pro	Cys	Lys	Cys	Pro	Ala	Pro	Asn	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	225	230	235	240
Ile	Phe	Pro	Pro	Lys	Ile	Lys	Asp	Val	Leu	Met	Ile	Ser	Leu	Ser	Pro	245	250	255	
Ile	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	Glu	Asp	Asp	Pro	Asp	Val	260	265	270	
Gln	Ile	Ser	Trp	Phe	Val	Asn	Asn	Val	Glu	Val	His	Thr	Ala	Gln	Thr	275	280	285	
Gln	Thr	His	Arg	Glu	Asp	Tyr	Asn	Ser	Thr	Leu	Arg	Val	Val	Ser	Ala	290	295	300	

Leu Pro Ile Gln His Gln Asp Trp Met Ser Gly Lys Glu Phe Lys Cys
305 310 315 320

Lys Val Asn Asn Lys Asp Leu Pro Ala Pro Ile Glu Arg Thr Ile Ser
325 330 335

Lys Pro Lys Gly Ser Val Arg Ala Pro Gln Val Tyr Val Leu Pro Pro
340 345 350

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

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

Lys Thr Glu Leu Asn Tyr Lys Asn Thr Glu Pro Val Leu Asp Ser Asp
385 390 395 400

Gly Ser Tyr Phe Met Tyr Ser Lys Leu Arg Val Glu Lys Lys Asn Trp
405 410 415

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

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

<210> 70

<211> 214

<212> Белок

<213> ИСКУССТВЕННЫЙ

<220>

<223> TF1413-03e001 L цепь

<400> 70

Asp Ile Lys Met Thr Gln Ser Pro Lys Phe Met Ser Thr Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Ser Val Thr Cys Glu Ala Ser Gln Asn Val Asp Asn Asn
20 25 30

Val Val Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Ala Leu Ile
35 40 45

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

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

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

<210> 71
 <211> 5
 <212> Белок
 <213> Искусственный

 <220>
 <223> TF1413-03e004 Н цепь CDR 1

 <400> 71

Ser	Tyr	Trp	Met	Asn
1				5

<210> 72
 <211> 17
 <212> Белок
 <213> Искусственный

 <220>
 <223> TF1413-03e004 Н цепь CDR 2

 <400> 72

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

1

5

10

15

Asp

<210> 73

<211> 7

<212> Белок

<213> Искусственный

<220>

<223> TF1413-03e004 Н цепь CDR 3

<400> 73

Gly Tyr Tyr Gly Ser Asn Tyr

1

5

<210> 74

<211> 11

<212> Белок

<213> Искусственный

<220>

<223> TF1413-03e004 L цепь CDR 1

<400> 74

Lys Ala Ser Gln Asn Val Gly Thr Asn Val Ala

1

5

10

<210> 75

<211> 7

<212> Белок

<213> Искусственный

<220>

<223> TF1413-03e004 L цепь CDR 2

<400> 75

Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Ser

1

5

<210> 76

<211> 9

<212> Белок

<213> Искусственный

<220>

<223> TF1413-03e004 L цепь CDR 3

<400> 76

Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Leu Thr

1

5

<210> 77

<211> 115
<212> Белок
<213> Искусственный

<220>
<223> TF1413-03e004 Н цепь V область

<400> 77

Gln Val Gln Leu Lys Gln Ser Gly Ala Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Pro Val Lys Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30

Trp Met Asn Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Arg Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Arg Ile Asp Pro Ser Asp Ser Glu Thr His Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60

Lys Asp Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Ile Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Gly Tyr Tyr Gly Ser Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu
100 105 110

Thr Val Ser
115

<210> 78
<211> 108
<212> Белок
<213> Искусственный

<220>
<223> TF1413-03e004 Л цепь V область

<400> 78

Asp Ile Lys Met Thr Gln Ser Pro Lys Phe Met Ser Thr Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Ser Val Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asn Val Gly Thr Asn
20 25 30

Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Ala Leu Ile
35 40 45

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

50

55

60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Asn Val Gln Ser
65 70 75 80

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

Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys Arg
100 105

<210> 79

<211> 403

<212> Белок

<213> Искусственный

<220>

<223> TF1413-03e004 Н цепь

<400> 79

Gln Val Gln Leu Lys Gln Ser Gly Ala Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Pro Val Lys Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30

Trp Met Asn Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Arg Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Arg Ile Asp Pro Ser Asp Ser Glu Thr His Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60

Lys Asp Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Ile Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Gly Tyr Tyr Gly Ser Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu
100 105 110

Thr Val Ser Ser Ala Lys Thr Thr Ala Pro Ser Val Tyr Pro Leu Ala
115 120 125

Pro Val Cys Gly Asp Thr Thr Gly Ser Ser Val Thr Leu Gly Cys Leu
130 135 140

Val Lys Gly Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Leu Thr Trp Asn Ser Gly
145 150 155 160

Ser Leu Ser Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Asp
165 170 175

Leu Tyr Thr Leu Ser Ser Ser Val Thr Val Thr Ser Ser Thr Trp Pro
180 185 190

Ser Gln Ser Ile Thr Cys Asn Val Ala His Pro Ala Ser Ser Thr Lys
195 200 205

Val Asp Lys Lys Ile Glu Pro Arg Gly Pro Thr Ile Lys Pro Cys Pro
210 215 220

Pro Cys Lys Cys Pro Ala Pro Asn Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe
225 230 235 240

Ile Phe Pro Pro Lys Ile Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Leu Ser Pro
245 250 255

Ile Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Glu Asp Asp Pro Asp Val
260 265 270

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

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

Leu Pro Ile Gln His Gln Asp Trp Met Ser Gly Lys Glu Phe Lys Cys
305 310 315 320

Lys Val Asn Asn Lys Asp Leu Pro Ala Pro Ile Glu Arg Thr Ile Ser
325 330 335

Lys Pro Lys Gly Ser Val Arg Ala Pro Gln Val Tyr Val Leu Pro Pro
340 345 350

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

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

Lys Thr Glu Leu Asn Tyr Lys Asn Thr Glu Pro Val Leu Asp Ser Asp
385 390 395 400

Gly Ser Tyr

<210> 80
<211> 214
<212> Белок
<213> ИСКУССТВЕННЫЙ

<220>
<223> TF1413-03e004 L цепь

<400> 80

Asp Ile Lys Met Thr Gln Ser Pro Lys Phe Met Ser Thr Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Ser Val Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asn Val Gly Thr Asn
20 25 30

Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Ala Leu Ile
35 40 45

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

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Asn Val Gln Ser
65 70 75 80

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

Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys Arg Ala Asp Ala Ala
100 105 110

Pro Thr Val Ser Ile Phe Pro Pro Ser Ser Glu Gln Leu Thr Ser Gly
115 120 125

Gly Ala Ser Val Val Cys Phe Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Lys Asp Ile
130 135 140

Asn Val Lys Trp Lys Ile Asp Gly Ser Glu Arg Gln Asn Gly Val Leu
145 150 155 160

Asn Ser Trp Thr Asp Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Met Ser
165 170 175

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

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

Phe Asn Arg Asn Glu Cys

210

<210> 81
<211> 5
<212> Белок
<213> Искусственный

<220>
<223> TF1413-03e005 Н цепь CDR 1

<400> 81

Asp Tyr Tyr Met His
1 5

<210> 82
<211> 17
<212> Белок
<213> Искусственный

<220>
<223> TF1413-03e005 Н цепь CDR 2

<400> 82

Trp Ile Asp Pro Glu Asn Gly Asp Thr Glu Tyr Ala Pro Lys Phe Gln
1 5 10 15

Gly

<210> 83
<211> 11
<212> Белок
<213> Искусственный

<220>
<223> TF1413-03e005 Н цепь CDR 3

<400> 83

Tyr Tyr Asp Tyr Asp Gly Tyr Ala Met Asp Tyr
1 5 10

<210> 84
<211> 11
<212> Белок
<213> Искусственный

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

<400> 84

Arg Ala Ser Gln Glu Ile Ser Gly Tyr Leu Ser
1 5 10

<210> 85

<211> 7
<212> Белок
<213> Искусственный

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

<400> 85

Ala Ala Ser Thr Leu Asp Ser
1 5

<210> 86
<211> 9
<212> Белок
<213> Искусственный

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

<400> 86

Leu Gln Tyr Ala Ser Tyr Pro Leu Thr
1 5

<210> 87
<211> 120
<212> Белок
<213> Искусственный

<220>
<223> TF1413-03e005 H цепь V область

<400> 87

Gln Val Gln Leu Lys Glu Ser Gly Ala Glu Leu Val Arg Ser Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Leu Ser Cys Thr Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Tyr
20 25 30

Tyr Met His Trp Val Lys Gln Arg Pro Glu Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Trp Ile Asp Pro Glu Asn Gly Asp Thr Glu Tyr Ala Pro Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Lys Ala Thr Met Thr Ala Asp Thr Ser Ser Asn Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Asn Ala Phe Tyr Tyr Asp Tyr Asp Gly Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser
115 120

<210> 88
<211> 108
<212> Белок
<213> Искусственный

<220>
<223> TF1413-03e005 L цепь V область

<400> 88

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

Glu Arg Val Ser Leu Thr Cys Arg Ala Ser Gln Glu Ile Ser Gly Tyr
20 25 30

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

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

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

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

Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys Arg
100 105

<210> 89
<211> 451
<212> Белок
<213> Искусственный

<220>
<223> TF1413-03e005 H цепь

<400> 89

Gln Val Gln Leu Lys Glu Ser Gly Ala Glu Leu Val Arg Ser Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Leu Ser Cys Thr Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Tyr
20 25 30

Tyr Met His Trp Val Lys Gln Arg Pro Glu Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Trp Ile Asp Pro Glu Asn Gly Asp Thr Glu Tyr Ala Pro Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Lys Ala Thr Met Thr Ala Asp Thr Ser Ser Asn Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Asn Ala Phe Tyr Tyr Asp Tyr Asp Gly Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Arg Ala Lys Thr Thr Ala Pro Ser
115 120 125

Val Tyr Pro Leu Ala Pro Val Cys Gly Asp Thr Thr Gly Ser Ser Val
130 135 140

Thr Leu Gly Cys Leu Val Lys Gly Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Leu
145 150 155 160

Thr Trp Asn Ser Gly Ser Leu Ser Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
165 170 175

Val Leu Gln Ser Asp Leu Tyr Thr Leu Ser Ser Ser Val Thr Val Thr
180 185 190

Ser Ser Thr Trp Pro Ser Gln Ser Ile Thr Cys Asn Val Ala His Pro
195 200 205

Ala Ser Ser Thr Lys Val Asp Lys Lys Ile Glu Pro Arg Gly Pro Thr
210 215 220

Ile Lys Pro Cys Pro Pro Cys Lys Cys Pro Ala Pro Asn Leu Leu Gly
225 230 235 240

Gly Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Lys Ile Lys Asp Val Leu Met
245 250 255

Ile Ser Leu Ser Pro Ile Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Glu
260 265 270

Asp Asp Pro Asp Val Gln Ile Ser Trp Phe Val Asn Asn Val Glu Val
275 280 285

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

Arg Val Val Ser Ala Leu Pro Ile Gln His Gln Asp Trp Met Ser Gly
305 310 315 320

Lys Glu Phe Lys Cys Lys Val Asn Asn Lys Asp Leu Pro Ala Pro Ile
325 330 335

Glu Arg Thr Ile Ser Lys Pro Lys Gly Ser Val Arg Ala Pro Gln Val
340 345 350

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

Leu Thr Cys Met Val Thr Asp Phe Met Pro Glu Asp Ile Tyr Val Glu
370 375 380

Trp Thr Asn Asn Gly Lys Thr Glu Leu Asn Tyr Lys Asn Thr Glu Pro
385 390 395 400

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Tyr Phe Met Tyr Ser Lys Leu Arg Val
405 410 415

Glu Lys Lys Asn Trp Val Glu Arg Asn Ser Tyr Ser Cys Ser Val Val
420 425 430

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

Pro Gly Lys
450

<210> 90

<211> 214

<212> Белок

<213> Искусственный

<220>

<223> TF1413-03e005 L цепь

<400> 90

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

Glu Arg Val Ser Leu Thr Cys Arg Ala Ser Gln Glu Ile Ser Gly Tyr
20 25 30

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

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

50

55

60

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

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

Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys Arg Ala Asp Ala Ala
100 105 110

Pro Thr Val Ser Ile Phe Pro Pro Ser Ser Glu Gln Leu Thr Ser Gly
115 120 125

Gly Ala Ser Val Val Cys Phe Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Lys Asp Ile
130 135 140

Asn Val Lys Trp Lys Ile Asp Gly Ser Glu Arg Gln Asn Gly Val Leu
145 150 155 160

Asn Ser Trp Thr Asp Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Met Ser
165 170 175

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

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

Phe Asn Arg Asn Glu Cys
210

<210> 91

<211> 5

<212> Белок

<213> Искусственный

<220>

<223> TF1413-03e015 Н цепь CDR 1

<400> 91

Gly Tyr Thr Met Asn
1 5

<210> 92

<211> 17

<212> Белок

<213> Искусственный

<220>

<223> TF1413-03e015 Н цепь CDR 2

<400> 92

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

Gly

<210> 93

<211> 11

<212> Белок

<213> Искусственный

<220>

<223> TF1413-03e015 Н цепь CDR 3

<400> 93

Gly Asp Tyr Tyr Pro Pro Tyr Ala Met Asp Tyr
1 5 10

<210> 94

<211> 11

<212> Белок

<213> Искусственный

<220>

<223> TF1413-03e015 L цепь CDR 1

<400> 94

Lys Ala Ser Gln Asn Val Gly Thr Asn Val Ala
1 5 10

<210> 95

<211> 7

<212> Белок

<213> Искусственный

<220>

<223> TF1413-03e015 L цепь CDR 2

<400> 95

Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Ser
1 5

<210> 96

<211> 9

<212> Белок

<213> Искусственный

<220>

<223> TF1413-03e015 L цепь CDR 3

<400> 96

Gln Gln Tyr Asn Arg Tyr Pro Leu Thr

1

5

<210> 97

<211> 119

<212> Белок

<213> Искусственный

<220>

<223> TF1413-03e015 Н цепь V область

<400> 97

Glu	Val	Gln	Leu	Gln	Gln	Ser	Gly	Pro	Glu	Leu	Val	Lys	Pro	Gly	Ala
1				5					10					15	

Ser	Met	Lys	Ile	Ser	Cys	Lys	Ala	Ser	Gly	Tyr	Ser	Phe	Thr	Gly	Tyr
			20					25					30		

Thr	Met	Asn	Trp	Val	Lys	Gln	Ser	His	Gly	Lys	Asn	Leu	Glu	Trp	Ile
		35					40					45			

Gly	Leu	Ile	Asn	Pro	Tyr	Asn	Gly	Gly	Thr	Ser	Tyr	Asn	Gln	Lys	Phe
	50					55					60				

Lys	Gly	Lys	Ala	Thr	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Ser	Ser	Thr	Ala	Tyr
65					70					75					80

Met	Glu	Leu	Leu	Ser	Leu	Thr	Ser	Glu	Asp	Ser	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys
				85					90					95	

Ala	Arg	Gly	Asp	Tyr	Tyr	Pro	Pro	Tyr	Ala	Met	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln
			100					105					110		

Gly	Thr	Ser	Val	Thr	Val	Ser
			115			

<210> 98

<211> 108

<212> Белок

<213> Искусственный

<220>

<223> TF1413-03e015 L цепь V область

<400> 98

Asp	Ile	Val	Met	Ser	Gln	Ser	Pro	Lys	Phe	Met	Ser	Thr	Ser	Val	Gly
1				5					10					15	

Asp	Arg	Val	Ser	Val	Thr	Cys	Lys	Ala	Ser	Gln	Asn	Val	Gly	Thr	Asn
			20					25					30		

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

35

40

45

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

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Asn Val Gln Ser
65 70 75 80

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

Thr Phe Gly Val Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg
100 105

<210> 99

<211> 450

<212> Белок

<213> Искусственный

<220>

<223> TF1413-03e015 Н цепь

<400> 99

Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Met Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Gly Tyr
20 25 30

Thr Met Asn Trp Val Lys Gln Ser His Gly Lys Asn Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Leu Ile Asn Pro Tyr Asn Gly Gly Thr Ser Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60

Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Leu Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Gly Asp Tyr Tyr Pro Pro Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser Ala Lys Thr Thr Ala Pro Ser Val
115 120 125

Tyr Pro Leu Ala Pro Val Cys Gly Asp Thr Thr Gly Ser Ser Val Thr
130 135 140

Leu Gly Cys Leu Val Lys Gly Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Leu Thr
145 150 155 160

Trp Asn Ser Gly Ser Leu Ser Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
165 170 175

Leu Gln Ser Asp Leu Tyr Thr Leu Ser Ser Ser Val Thr Val Thr Ser
180 185 190

Ser Thr Trp Pro Ser Gln Ser Ile Thr Cys Asn Val Ala His Pro Ala
195 200 205

Ser Ser Thr Lys Val Asp Lys Lys Ile Glu Pro Arg Gly Pro Thr Ile
210 215 220

Lys Pro Cys Pro Pro Cys Lys Cys Pro Ala Pro Asn Leu Leu Gly Gly
225 230 235 240

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Lys Ile Lys Asp Val Leu Met Ile
245 250 255

Ser Leu Ser Pro Ile Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Glu Asp
260 265 270

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

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

Val Val Ser Ala Leu Pro Ile Gln His Gln Asp Trp Met Ser Gly Lys
305 310 315 320

Glu Phe Lys Cys Lys Val Asn Asn Lys Asp Leu Pro Ala Pro Ile Glu
325 330 335

Arg Thr Ile Ser Lys Pro Lys Gly Ser Val Arg Ala Pro Gln Val Tyr
340 345 350

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

Thr Cys Met Val Thr Asp Phe Met Pro Glu Asp Ile Tyr Val Glu Trp
370 375 380

Thr Asn Asn Gly Lys Thr Glu Leu Asn Tyr Lys Asn Thr Glu Pro Val
385 390 395 400

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Tyr Phe Met Tyr Ser Lys Leu Arg Val Glu
405 410 415

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

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

Gly Lys
450

<210> 100
<211> 214
<212> Белок
<213> Искусственный

<220>
<223> TF1413-03e015 L цепь

<400> 100

Asp Ile Val Met Ser Gln Ser Pro Lys Phe Met Ser Thr Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Ser Val Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asn Val Gly Thr Asn
20 25 30

Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Pro Leu Ile
35 40 45

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

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Asn Val Gln Ser
65 70 75 80

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

Thr Phe Gly Val Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Ala Asp Ala Ala
100 105 110

Pro Thr Val Ser Ile Phe Pro Pro Ser Ser Glu Gln Leu Thr Ser Gly
115 120 125

Gly Ala Ser Val Val Cys Phe Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Lys Asp Ile
130 135 140

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

145		150		155		160									
Asn	Ser	Trp	Thr	Asp	Gln	Asp	Ser	Lys	Asp	Ser	Thr	Tyr	Ser	Met	Ser
				165					170					175	
Ser	Thr	Leu	Thr	Leu	Thr	Lys	Asp	Glu	Tyr	Glu	Arg	His	Asn	Ser	Tyr
			180					185					190		
Thr	Cys	Glu	Ala	Thr	His	Lys	Thr	Ser	Thr	Ser	Pro	Ile	Val	Lys	Ser
		195					200					205			
Phe	Asn	Arg	Asn	Glu	Cys										
	210														

<210> 101
 <211> 5
 <212> Белок
 <213> Искусственный

<220>
 <223> TF1413-03e034 Н цепь CDR 1
 <400> 101

Gly	Tyr	Asn	Met	Asn
1				5

<210> 102
 <211> 17
 <212> Белок
 <213> Искусственный

<220>
 <223> TF1413-03e034 Н цепь CDR 2
 <400> 102

Asn	Ile	Asp	Pro	Tyr	Tyr	Gly	Gly	Thr	Ser	Tyr	Asn	Gln	Lys	Phe	Lys
1				5					10					15	

Gly

<210> 103
 <211> 10
 <212> Белок
 <213> Искусственный

<220>
 <223> TF1413-03e034 Н цепь CDR 3
 <400> 103

Gly	Asn	Tyr	Gly	Tyr	Tyr	Ala	Met	Asp	Tyr
1				5					10

<210> 104
<211> 11
<212> Белок
<213> Искусственный

<220>
<223> TF1413-03e034 L цепь CDR 1

<400> 104

Lys Ala Ser Gln Asn Val Arg Thr Ala Val Ala
1 5 10

<210> 105
<211> 7
<212> Белок
<213> Искусственный

<220>
<223> TF1413-03e034 L цепь CDR 2

<400> 105

Leu Ala Ser Asn Arg His Thr
1 5

<210> 106
<211> 9
<212> Белок
<213> Искусственный

<220>
<223> TF1413-03e034 L цепь CDR 3

<400> 106

Leu Gln His Trp Asn Tyr Pro Leu Thr
1 5

<210> 107
<211> 118
<212> Белок
<213> Искусственный

<220>
<223> TF1413-03e034 H цепь V область

<400> 107

Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Glu Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Gly Tyr
20 25 30

Asn Met Asn Trp Val Lys Gln Ser Asn Gly Lys Ser Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Asn Ile Asp Pro Tyr Tyr Gly Gly Thr Ser Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60

Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Gln Leu Lys Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Gly Asn Tyr Gly Tyr Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Ser Val Thr Val Ser
115

<210> 108
<211> 108
<212> Белок
<213> Искусственный

<220>
<223> TF1413-03e034 L цепь V область

<400> 108

Asp Ile Val Met Ser Gln Ser Pro Lys Phe Met Ser Thr Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Ser Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asn Val Arg Thr Ala
20 25 30

Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Ala Leu Ile
35 40 45

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

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Asn Val Gln Ser
65 70 75 80

Glu Asp Leu Ala Asp Tyr Phe Cys Leu Gln His Trp Asn Tyr Pro Leu
85 90 95

Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys Arg
100 105

<210> 109
<211> 449
<212> Белок
<213> Искусственный

<220>

<223> TF1413-03e034 Н цепь

<400> 109

Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Glu Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Gly Tyr
20 25 30

Asn Met Asn Trp Val Lys Gln Ser Asn Gly Lys Ser Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Asn Ile Asp Pro Tyr Tyr Gly Gly Thr Ser Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60

Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Gln Leu Lys Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Gly Asn Tyr Gly Tyr Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Ser Val Thr Val Ser Ser Ala Lys Thr Thr Ala Pro Ser Val Tyr
115 120 125

Pro Leu Ala Pro Val Cys Gly Asp Thr Thr Gly Ser Ser Val Thr Leu
130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Gly Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Leu Thr Trp
145 150 155 160

Asn Ser Gly Ser Leu Ser Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175

Gln Ser Asp Leu Tyr Thr Leu Ser Ser Ser Val Thr Val Thr Ser Ser
180 185 190

Thr Trp Pro Ser Gln Ser Ile Thr Cys Asn Val Ala His Pro Ala Ser
195 200 205

Ser Thr Lys Val Asp Lys Lys Ile Glu Pro Arg Gly Pro Thr Ile Lys
210 215 220

Pro Cys Pro Pro Cys Lys Cys Pro Ala Pro Asn Leu Leu Gly Gly Pro
225 230 235 240

Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Lys Ile Lys Asp Val Leu Met Ile Ser
245 250 255

Leu Ser Pro Ile Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Glu Asp Asp
260 265 270

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

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

Val Ser Ala Leu Pro Ile Gln His Gln Asp Trp Met Ser Gly Lys Glu
305 310 315 320

Phe Lys Cys Lys Val Asn Asn Lys Asp Leu Pro Ala Pro Ile Glu Arg
325 330 335

Thr Ile Ser Lys Pro Lys Gly Ser Val Arg Ala Pro Gln Val Tyr Val
340 345 350

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

Cys Met Val Thr Asp Phe Met Pro Glu Asp Ile Tyr Val Glu Trp Thr
370 375 380

Asn Asn Gly Lys Thr Glu Leu Asn Tyr Lys Asn Thr Glu Pro Val Leu
385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Tyr Phe Met Tyr Ser Lys Leu Arg Val Glu Lys
405 410 415

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

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

Lys

<210> 110

<211> 214

<212> Белок

<213> Искусственный

<220>

<223> TF1413-03e034 L цепь

<400> 110

Asp Ile Val Met Ser Gln Ser Pro Lys Phe Met Ser Thr Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Ser Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asn Val Arg Thr Ala
20 25 30

Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Ala Leu Ile
35 40 45

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

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Asn Val Gln Ser
65 70 75 80

Glu Asp Leu Ala Asp Tyr Phe Cys Leu Gln His Trp Asn Tyr Pro Leu
85 90 95

Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys Arg Ala Asp Ala Ala
100 105 110

Pro Thr Val Ser Ile Phe Pro Pro Ser Ser Glu Gln Leu Thr Ser Gly
115 120 125

Gly Ala Ser Val Val Cys Phe Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Lys Asp Ile
130 135 140

Asn Val Lys Trp Lys Ile Asp Gly Ser Glu Arg Gln Asn Gly Val Leu
145 150 155 160

Asn Ser Trp Thr Asp Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Met Ser
165 170 175

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

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

Phe Asn Arg Asn Glu Cys
210

<210> 111

<211> 354

<212> ДНК

<213> Искусственный

<220>
 <223> TF1413-02d028 Н цепь V область ген

<400> 111
 caggtgcagc tgaaggagtc aggacctgag ctggagaagc ctggtgcttc agtgaagata 60
 tcctgcaagg cttctgggta ctcatctact ggctacaaca tgaactgggt gaagcagagc 120
 aatggaaaga gccttgagtg gattggaaat attgatacctt actatggtgg tactagctac 180
 aaccagaagt tcaagggcaa ggccacattg actgtagaca aatcctccag cacagcctac 240
 atgcagctca agagcctgac atctgaggac tctgcagtctt attactgtgc aagaggagac 300
 tatagggcgt actactttga ctactggggc caaggcacca ctctcacagt ctcg 354

<210> 112
 <211> 324
 <212> ДНК
 <213> Искусственный

<220>
 <223> TF1413-02d028 L цепь V область ген

<400> 112
 gacattcaga tgaccagtc tccaaaattc atgtccacat cagtaggaga cagggtcagc 60
 atcacctgca aggccagtca gaatgttcgt actgctgtag cctgggtatca acagaaacca 120
 gggcagtctc ctaaagcact gatttacttg gcatccaacc ggcacactgg agtccttgat 180
 cgcttcacag gcagtggatc tgggacagat ttactctca ccattagcaa tgtgcaatct 240
 gaagacctgg cagattatct ctgtctgcaa cattggaatt atcctctcac gttcggtgct 300
 gggaccaagc tggagctgaa acgg 324

<210> 113
 <211> 1347
 <212> ДНК
 <213> Искусственный

<220>
 <223> TF1413-02d028 Н цепь ген

<400> 113
 caggtgcagc tgaaggagtc aggacctgag ctggagaagc ctggtgcttc agtgaagata 60
 tcctgcaagg cttctgggta ctcatctact ggctacaaca tgaactgggt gaagcagagc 120
 aatggaaaga gccttgagtg gattggaaat attgatacctt actatggtgg tactagctac 180
 aaccagaagt tcaagggcaa ggccacattg actgtagaca aatcctccag cacagcctac 240
 atgcagctca agagcctgac atctgaggac tctgcagtctt attactgtgc aagaggagac 300
 tatagggcgt actactttga ctactggggc caaggcacca ctctcacagt ctcgagcgcc 360
 aaaacaacag ccccatcggt ctatccactg gccctgtgt gtggagatac aactggctcc 420
 tcggtgactc taggatgcct ggtcaagggt tatttcctctg agccagtgc cttgacctgg 480

aactctggat ccctgtccag tgggtgtgcac accttcccag ctgtcctgca gtctgacctc	540
tacacctca gcagctcagt gactgtaacc tcgagcacct ggcccagcca gtccatcacc	600
tgcaatgtgg cccacccggc aagcagcacc aagggtggaca agaaaattga gccccgggga	660
cccacaatca agccctgtcc tccatgcaaa tgcccagcac ctaacctctt ggggtggacca	720
tccgtcttca tcttccctcc aaagatcaag gatgtactca tgatctccct gagccccata	780
gtcacatgtg tgggtggtgga tgtgagcgag gatgaccag atgtccagat cagctggttt	840
gtgaacaacg tggaagtaca cacagctcag acacaaaccc atagagagga ttacaacagt	900
actctccggg tggtcagtgc cctccccatc cagcaccagg actggatgag tggcaaggag	960
ttcaaatagca aggtcaacaa caaagacctc ccagcgccca tcgagagAAC catctcaaaa	1020
cccaaagggg cagtaagagc tccacaggta tatgtcttgc ctccaccaga agaagagatg	1080
actaagaaac aggtcactct gacctgcatg gtcacagact tcatgcctga agacatttac	1140
gtggagtgga ccaacaacgg gaaaacagag ctaaactaca agaaactga accagtcttg	1200
gactctgatg gttcttactt catgtacagc aagctgagag tggaaaagaa gaactgggtg	1260
gaaagaaata gctactcctg ttcagtggtc cagcaggggtc tgcacaatca ccacacgact	1320
aagagcttct cccggactcc gggtaaa	1347

<210> 114
 <211> 642
 <212> ДНК
 <213> Искусственный

<220>
 <223> TF1413-02d028 Н цепь ген

<400> 114	
gacattcaga tgaccagtc tccaaaattc atgtccacat cagtaggaga cagggtcagc	60
atcacctgca aggccagtca gaatgttcgt actgctgtag cctggatatca acagaaacca	120
gggcagtctc ctaaagcact gatttacttg gcatccaacc ggcacactgg agtccctgat	180
cgcttcacag gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccattagcaa tgtgcaatct	240
gaagacctgg cagattattt ctgtctgcaa cattggaatt atcctctcac gttcgggtgct	300
gggaccaagc tggagctgaa acgggctgat gctgcaccaa ctgtatccat ctccccacca	360
tccagtgagc agttaacatc tggaggtgcc tcagtcgtgt gcttcttgaa caacttctac	420
cccaaagaca tcaatgtcaa gtggaagatt gatggcagtg aacgacaaaa tggcgtcctg	480
aacagttgga ctgatcagga cagcaaagac agcacctaca gcatgagcag caccctcacg	540
ttgaccaagg acgagtatga acgacataac agctatacct gtgaggccac tcacaagaca	600
tcaacttcac ccattgtcaa gagcttcaac aggaatgagt gt	642

<210> 115

<211> 351
<212> ДНК
<213> Искусственный

<220>

<223> TF1413-02d039 Н цепь V область ген

<400> 115
gaagtgaagc tgggtggagtc tgggggaggc ttagtgaagc ctggagggtc cctgaaactc 60
tcctgtgcag cctctggatt cgcttttcagt agctatgaca tgtcttgggt tcgccagact 120
ccggagaaga ggctggagtg ggtcgcatac attagtagtg gtggtggtag cacctactat 180
ccagacactg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca atgccaagaa caccctgtac 240
ctgcaaata gcaagtctgaa gtctgaggac acagccatgt attactgtgc aagaagagga 300
ttacgacgag ctatggacta ctgggggtcaa ggaacctcag tcaccgtctc g 351

<210> 116
<211> 339
<212> ДНК
<213> Искусственный

<220>

<223> TF1413-02d039 L цепь V область ген

<400> 116
gatgttgatga tgacccaaac tccactctcc ctgcctgtca gtcttggaga tcaagcctcc 60
atctcttgca gatctagtca gagccttgta cacagtaatg gaaacaccta ttacattgg 120
tacctgcaga agccaggcca gtctccaaag ctctgatct acaaagtctc caaccgattt 180
tctgggggtcc cagacagggt cagtggcagt ggatcaggga cagatttcac actcaagatc 240
agcagagtgg aggctgagga tctgggagtt tatttctgct ctcaaagtac acatgttccg 300
ctcacgttcg gtgctgggac caagctggag ctgaaacgg 339

<210> 117
<211> 1344
<212> ДНК
<213> Искусственный

<220>

<223> TF1413-02d039 Н цепь ген

<400> 117
gaagtgaagc tgggtggagtc tgggggaggc ttagtgaagc ctggagggtc cctgaaactc 60
tcctgtgcag cctctggatt cgcttttcagt agctatgaca tgtcttgggt tcgccagact 120
ccggagaaga ggctggagtg ggtcgcatac attagtagtg gtggtggtag cacctactat 180
ccagacactg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca atgccaagaa caccctgtac 240
ctgcaaata gcaagtctgaa gtctgaggac acagccatgt attactgtgc aagaagagga 300
ttacgacgag ctatggacta ctgggggtcaa ggaacctcag tcaccgtctc gagcgccaaa 360

acaacagccc catcggtcta tccactggcc cctgtgtgtg gagatacaac tggctcctcg	420
gtgactctag gatgcctggt caagggttat ttccctgagc cagtgcctt gacctggaac	480
tctggatccc tgtccagtgg tgtgcacacc ttcccagctg tcctgcagtc tgacctctac	540
accctcagca gctcagtgac tgtaacctcg agcacctggc ccagccagtc catcacctgc	600
aatgtggccc acccggcaag cagcaccaag gtggacaaga aaattgagcc ccggggaccc	660
acaatcaagc cctgtcctcc atgcaaatgc ccagcaccta acctcttggg tggaccatcc	720
gtcttcatct tccctccaaa gatcaaggat gtactcatga tctccctgag ccccatagtc	780
acatgtgtgg tgggtgatgt gagcgaggat gaccagatg tccagatcag ctggtttgtg	840
aacaacgtgg aagtacacac agctcagaca caaaccata gagaggatta caacagtact	900
ctccgggtgg tcagtgcctt ccccatccag caccaggact ggatgagtgg caaggagttc	960
aaatgcaagg tcaacaacaa agacctcca gcgcccctcg agagaaccat ctcaaaaccc	1020
aaagggtcag taagagctcc acaggtatat gtcttgcttc caccagaaga agagatgact	1080
aagaaacagg tcaactctgac ctgcatggtc acagacttca tgcctgaaga catttacgtg	1140
gagtggacca acaacgggaa aacagagcta aactacaaga aactgaacc agtcctggac	1200
tctgatgggtt cttacttcat gtacagcaag ctgagagtgg aaaagaagaa ctgggtggaa	1260
agaaatagct actcctgttc agtgggtccac gagggctctgc acaatcacca cagactaag	1320
agcttctccc ggactccggg taaa	1344

<210> 118
 <211> 657
 <212> ДНК
 <213> ИСКУССТВЕННЫЙ

<220>
 <223> TF1413-02d039 L цепь ген

<400> 118	
gatgttgtga tgacccaaac tccactctcc ctgcctgtca gtcttggaga tcaagcctcc	60
atctcttgca gatctagtca gagccttgta cacagtaatg gaaacaccta ttacattgg	120
tacctgcaga agccaggcca gtctccaaag ctctgatctt acaaagtttc caaccgattt	180
tctgggggtcc cagacagggt cagtggcagt ggatcaggga cagatttcac actcaagatc	240
agcagagtgg aggctgagga tctgggagtt tatttctgct ctcaaagtac acatgttccg	300
ctcacgttcg gtgctgggac caagctggag ctgaaacggg ctgatgctgc accaactgta	360
tccatcttcc caccatccag tgagcagtta acatctggag gtgcctcagt cgtgtgcttc	420
ttgaacaact tctaccccaa agacatcaat gtcaagtgga agattgatgg cagtgaacga	480
caaaatggcg tcctgaacag ttggactgat caggacagca aagacagcac ctacagcatg	540
agcagcacc ctcagttgac caaggacgag tatgaacgac ataacagcta tacctgtgag	600

gccactcaca agacatcaac ttcacccatt gtcaagagct tcaacaggaa tgagtgt 657

<210> 119
<211> 345
<212> ДНК
<213> Искусственный

<220>
<223> TF1413-02e004 Н цепь V область ген

<400> 119
caggtccagc tgcagcagtc tggggctgag cttgtgaagc ctggggctcc agtgaagctg 60
tcctgcaagg cttctggcta caccttcacc agctactgga tgaactgggt gaagcagagg 120
cctggacgag gcctcgagtg gattggaagg attgatacctt ccgatagtga aactcactac 180
aatcaaaagt tcaaggacga ggccacactg actgtagaca aatcctccag cacagcctac 240
atccaactca gcagcctgac atctgaggac tctgcggtct attactgtgc aagaggggtac 300
tatgctatgg actactgggg tcaaggaacc tcagtcaccg tctcg 345

<210> 120
<211> 321
<212> ДНК
<213> Искусственный

<220>
<223> TF1413-02e004 L цепь V область ген

<400> 120
gacattgtgc tgaccaatc tcccaaattc atgtccacat cagtaggaga cagggtcagc 60
atcacctgca aggccagtca ggatgtgagt actgctgtag cctggtatca acagaaacca 120
ggacaatctc ctaaactact gatttactca gcatacctacc ggtacactgg agtcctctgat 180
cgcttcactg gcagtggatc tgggacggat ttcactttca ccatcagcag tgtgcaggct 240
gaagacctgg cagtttatta ctgtcagcaa cattatagta ctccgacgtt cggtggaggc 300
accaagctgg aaatcaaagc g 321

<210> 121
<211> 1338
<212> ДНК
<213> Искусственный

<220>
<223> TF1413-02e004 Н цепь ген

<400> 121
caggtccagc tgcagcagtc tggggctgag cttgtgaagc ctggggctcc agtgaagctg 60
tcctgcaagg cttctggcta caccttcacc agctactgga tgaactgggt gaagcagagg 120
cctggacgag gcctcgagtg gattggaagg attgatacctt ccgatagtga aactcactac 180
aatcaaaagt tcaaggacga ggccacactg actgtagaca aatcctccag cacagcctac 240

atccaactca gcagcctgac atctgaggac tctgcggtct attactgtgc aagaggggtac	300
tatgctatgg actactgggg tcaaggaacc tcagtcaccg tctcgagcgc caaaacaaca	360
gccccatcgg tctatccact ggccccctgtg tgtggagata caactggctc ctcggtgact	420
ctaggatgcc tgggtcaaggg ttatttccct gagccagtga ccttgacctg gaactctgga	480
tccctgtcca gtggtgtgca caccttccca gctgtcctgc agtctgacct ctacaccctc	540
agcagctcag tgactgtaac ctcgagcacc tggcccagcc agtccatcac ctgcaatgtg	600
gcccacccgg caagcagcac caaggtggac aagaaaattg agccccgggg acccacaatc	660
aagccctgtc ctccatgcaa atgcccagca cctaacctct tgggtggacc atccgtcttc	720
atcttccctc caaagatcaa ggatgtactc atgatctccc tgagcccat agtcacatgt	780
gtggtggtgg atgtgagcga ggatgacca gatgtccaga tcagctgggt tgtgaacaac	840
gtggaagtac acacagctca gacacaaacc catagagagg attacaacag tactctccgg	900
gtggtcagtg cctccccat ccagcaccag gactggatga gtggcaagga gttcaaatgc	960
aaggtcaaca acaaagacct ccagcgcgcc atcgagagaa ccatctcaaa acccaaaggg	1020
tcagtaagag ctccacaggt atatgtcttg cctccaccag aagaagagat gactaagaaa	1080
caggtcactc tgacctgcat ggtcacagac ttcatgcctg aagacattta cgtggagtgg	1140
accaacaacg ggaaaacaga gctaaactac aagaacactg aaccagtcct ggactctgat	1200
ggttcttact tcatgtacag caagctgaga gtggaaaaga agaactgggt ggaaagaaat	1260
agctactcct gttcagtggg ccacgagggg ctgcacaatc accacacgac taagagcttc	1320
tcccggactc cgggtaaa	1338

<210> 122
 <211> 639
 <212> ДНК
 <213> Искусственный

<220>
 <223> TF1413-02e004 L цепь ген

<400> 122	
gacattgtgc tgaccaatc tcccaaattc atgtccacat cagtaggaga cagggtcagc	60
atcacctgca aggccagtca ggatgtgagt actgctgtag cctggatatca acagaaacca	120
ggacaatctc ctaaactact gatttactca gcacacctacc ggtacactgg agtccctgat	180
cgcttactg gcagtggatc tgggacggat ttcactttca ccatcagcag tgtgcaggct	240
gaagacctgg cagtttatta ctgtcagcaa cattatagta ctccgacgtt cgggtggaggc	300
accaagctgg aaatcaaacg ggctgatgct gcaccaactg tatccatctt cccaccatcc	360
agtgagcagt taacatctgg aggtgcctca gtcgtgtgct tcttgaacaa cttctacccc	420
aaagacatca atgtcaagtg gaagattgat ggcagtgaac gacaaaatgg cgtcctgaac	480

agttggactg atcaggacag caaagacagc acctacagca tgagcagcac cctcacgttg	540
accaaggacg agtatgaacg acataacagc tatacctgtg agggcactca caagacatca	600
acttcaccca ttgtcaagag cttcaacagg aatgagtgt	639

<210> 123
 <211> 360
 <212> ДНК
 <213> Искусственный

<220>
 <223> TF1413-02e014 Н цепь V область ген

<400> 123	
caggtgcagc tgaagcagtc aggggcagag cttgtgaggt caggggcctc agtcaagttg	60
tcctgcacag cttctggctt caacattaaa gactactata tgcactgggt gaagcagagg	120
cctgaacagg gcctggagtg gattggatgg attgatcctg agaatggtga tactgaatat	180
gccccgaagt tccagggcaa ggccactatg actgcagaca catcctccaa cacagcctac	240
ctgcagctca gcagcctgac atctgaggac actgccgtct attactgtaa tgcaggctac	300
tatgattacg acggctatgc tatggactac tggggtcag gaacctcagt caccgtctcg	360

<210> 124
 <211> 324
 <212> ДНК
 <213> Искусственный

<220>
 <223> TF1413-02e014 L цепь V область ген

<400> 124	
gacattgtgc tgacacagtc tcccaaattc atgtccacat cagtaggaga cagggtcagc	60
atcacctgca aggccagtc g gatgtgggt actgctgtag cctggatatca acagaaacca	120
gggcaatctc ctaaaactact gatttactgg gcatccaccc ggcacactgg agtccccgat	180
cgcttcacag gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccattagcaa tgtgcagtct	240
gaagacttgg cagattatct ctgtcagcaa tatagcagct atcctctgac gttcgggtgga	300
ggcaccaagc tggaatatcaa acgg	324

<210> 125
 <211> 1353
 <212> ДНК
 <213> Искусственный

<220>
 <223> TF1413-02e014 Н цепь ген

<400> 125	
caggtgcagc tgaagcagtc aggggcagag cttgtgaggt caggggcctc agtcaagttg	60
tcctgcacag cttctggctt caacattaaa gactactata tgcactgggt gaagcagagg	120

cctgaacagg gcctggagtg gattggatgg attgatcctg agaatggtga tactgaatat	180
gccccgaagt tccagggcaa ggccactatg actgcagaca catcctccaa cacagcctac	240
ctgcagctca gcagcctgac atctgaggac actgccgtct attactgtaa tgcaggctac	300
tatgattacg acggctatgc tatggactac tgggggtcaag gaacctcagt caccgtctcg	360
agcgccaaaa aaacagcccc atcgggtctat ccactggccc ctgtgtgtgg agatacaact	420
ggctcctcgg tgactctagg atgcctggtc aaggggttatt tccctgagcc agtgaccttg	480
acctggaact ctggatccct gtccagtggg gtgcacacct tcccagctgt cctgcagtct	540
gacctctaca ccctcagcag ctcagtgact gtaacctcga gcacctggcc cagccagtcc	600
atcacctgca atgtggccca cccggcaagc agtaccaagg tggacaagaa aattgagccc	660
cggggacca caatcaagcc ctgtcctcca tgcaaagtc cagcacctaa cctcttgggt	720
ggaccatccg tcttcatctt ccctccaaag atcaaggatg tactcatgat ctccctgagc	780
cccatagtca catgtgtggg ggtggatgtg agcgaggatg acccagatgt ccagatcagc	840
tggtttgtga acaacgtgga agtacacaca gctcagacac aaacccatag agaggattac	900
aacagtactc tccgggtggg cagtgcctc cccatccagc accaggactg gatgagtggc	960
aaggagtcca aatgcaaggt caacaacaaa gacctccag cgcccatcga gagaaccatc	1020
tcaaaacca aagggtcagt aagagctcca caggtatatg tcttgctcc accagaagaa	1080
gagatgacta agaaacaggt cactctgacc tgcattggtca cagacttcat gcctgaagac	1140
atttacgtgg agtggaccaa caacgggaaa acagagctaa actacaagaa cactgaacca	1200
gtcctggact ctgatggttc ttacttcatg tacagcaagc tgagagtgga aaagaagaac	1260
tgggtggaaa gaaatagcta ctctgttca gtgggtccag agggctctgca caatcaccac	1320
acgactaaga gcttctcccg gactccgggt aaa	1353

<210> 126
 <211> 642
 <212> ДНК
 <213> Искусственный

<220>
 <223> TF1413-02e014 L цепь ген

<400> 126	
gacattgtgc tgacacagtc tcccaaattc atgtccacat cagtaggaga cagggtcagc	60
atcacctgca aggccagtca ggatgtgggt actgctgtag cctgggtatca acagaaacca	120
gggcaatctc ctaaactact gatttactgg gcatccaccc ggcacactgg agtccccgat	180
cgcttcacag gcagtggatc tgggacagat ttactctca ccattagcaa tgtgcagtct	240
gaagacttgg cagattatct ctgtcagcaa tatagcagct atcctctgac gttcgggtgga	300
ggcaccaagc tggaaatcaa acgggctgat gctgcaccaa ctgtatccat cttcccacca	360

tccagtgcgc agttaacatc tggaggtgcc tcagtcgtgt gcttcttgaa caacttctac	420
cccaaagaca tcaatgtcaa gtggaagatt gatggcagtg aacgacaaaa tggcgtcctg	480
aacagttgga ctgatcagga cagcaaagac agcacctaca gcatgagcag caccctcacg	540
ttgaccaagg acgagtatga acgacataac agctatacct gtgaggccac tcacaagaca	600
tcaacttcac ccattgtcaa gagcttcaac aggaatgagt gt	642

<210> 127
 <211> 351
 <212> ДНК
 <213> Искусственный

<220>
 <223> TF1413-02e030 Н цепь V область ген

<400> 127	
gaggttcagc ttcagcagtc tggggctgag cttgtgaggc caggggcctt agtcaagttg	60
tcctgcaaag cttctggctt caacattaata gactactata tgcactgggt gaagcagagg	120
cctgaacagg gcctggagtg gattggatgg attgatcctg agaatggtaa cactatatat	180
gacccgaagt tccagggcaa ggccagtata acagcagaca catcctcaa cacagcctac	240
ctgcagctca gcagcctgac atctgaggac actgccgtct attactgtgc tatacttact	300
atgattacga cccttgacta ctggggccaa ggcaccactc tcacagtctc g	351

<210> 128
 <211> 342
 <212> ДНК
 <213> Искусственный

<220>
 <223> TF1413-02e030 L цепь V область ген

<400> 128	
gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctggctatgt cagtagggca gaaggctact	60
atgagctgca agtccagtc gagcctttta aatagtagca atcaaaagaa ctatttggcc	120
tggtaccagc agaaaccagg acagtctcct aaacttctgg tatactttgc atccactagg	180
gaatctgggg tccctgatcg cttcataggc agtggatctg ggacagattt cactcttacc	240
atcagcagtg tgcaggctga agacctggca gattacttct gtcagcaaca ttatagcact	300
ccgctcacgt tcgggtgctgg gaccaagctg gagctgaaac gg	342

<210> 129
 <211> 1344
 <212> ДНК
 <213> Искусственный

<220>
 <223> TF1413-02e030 Н цепь ген

<400> 129

gaggttcagc ttcagcagtc tggggctgag cttgtgaggc caggggcctt agtcaagttg	60
tcctgcaaag cttctggctt caacattaaa gactactata tgcactgggt gaagcagagg	120
cctgaacagg gcctggagtg gattggatgg attgatcctg agaatggtaa cactatatat	180
gacccgaagt tccagggcaa ggccagtata acagcagaca catcctccaa cacagcctac	240
ctgcagctca gcagcctgac atctgaggac actgccgtct attactgtgc tatatctact	300
atgattacga cccttgacta ctggggccaa ggcaccactc tcacagtctc gagcgccaaa	360
acaacagccc catcgggtcta tccactggcc cctgtgtgtg gagatacaac tggctcctcg	420
gtgactctag gatgcctggc caagggttat ttccctgagc cagtgcctt gacctggaac	480
tctggatccc tgtccagtgg tgtgcacacc ttcccagctg tcctgcagtc tgacctctac	540
accctcagca gctcagtgc tgtaacctcg agcacctggc ccagccagtc catcacctgc	600
aatgtggccc acccggaag cagcaccaag gtggacaaga aaattgagcc ccggggaccc	660
acaatcaagc cctgtcctcc atgcaaagtc ccagcaccta acctcttggg tggaccatcc	720
gtcttcatct tccctccaaa gatcaaggat gtactcatga tctccctgag ccccatagtc	780
acatgtgtgg tgggtgatgt gagcgaggat gaccagatg tccagatcag ctggtttgtg	840
aacaacgtgg aagtacacac agctcagaca caaaccata gagaggatta caacagtact	900
ctccgggtgg tcagtgcct ccccatccag caccaggact ggatgagtgg caaggagttc	960
aaatgcaagg tcaacaacaa agacctcca gcgcccctcg agagaaccat ctcaaaaccc	1020
aaagggtcag taagagctcc acaggtatat gtcttgccct caccagaaga agagatgact	1080
aagaaacagg tcaactctgac ctgcatggtc acagacttca tgctgaaga catttacgtg	1140
gagtggacca acaacgggaa aacagagcta aactacaaga aactgaacc agtcctggac	1200
tctgatggtt cttacttcat gtacagcaag ctgagagtgg aaaagaagaa ctgggtggaa	1260
agaaatagct actcctgttc agtgggtccac gagggctctgc acaatcacca cactactaag	1320
agcttctccc ggactccggg taaa	1344

<210> 130
 <211> 660
 <212> ДНК
 <213> Искусственный

<220>
 <223> TF1413-02e030 L цепь ген

<400> 130	
gacatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctggctatgt cagtagggca gaaggtcact	60
atgagctgca agtccagtca gagcctttta aatagtagca atcaaaagaa ctatttggcc	120
tggtagcagc agaaaccagg acagtctcct aaacttctgg tatactttgc atccactagg	180
gaatctgggg tccctgatcg cttcataggc agtggatctg ggacagattt cactcttacc	240

atcagcagtg tgcaggctga agacctggca gattacttct gtcagcaaca ttatagcact	300
ccgctcacgt tcggtgctgg gaccaagctg gagctgaaac gggctgatgc tgcaccaact	360
gtatccatct tcccaccatc cagtgcagcag ttaacatctg gaggtgcctc agtcgtgtgc	420
ttcttgaaca acttctaccc caaagacatc aatgtcaagt ggaagattga tggcagtgaa	480
cgacaaaatg gcgtcctgaa cagttggact gatcaggaca gcaaagacag cacctacagc	540
atgagcagca ccctcacgtt gaccaaggac gagtatgaac gacataacag ctatacctgt	600
gaggccactc acaagacatc aacttcaccc attgtcaaga gcttcaacag gaatgagtgt	660

<210> 131
 <211> 348
 <212> ДНК
 <213> Искусственный

<220>
 <223> TF1413-02e040 Н цепь V область ген

<400> 131	
gaagtgatgc tgggtggagtc tggacctgag ctggtgaagc ctggagcttc aatgaagata	60
tcctgcaagg cttctgggta ctcatctact ggctacacca tgaactgggt gaagcagagc	120
catggaaaga accttgagtgc gattggactt attaatcctt acaatgggtgg tactagctac	180
aaccagaatt ttaagggcaa ggccacatta actgtagaca agtcatccag cacagcctac	240
atggagctcc tcagtctgac atctgaggac tctgcagtct attactgtgc aagaggggtac	300
tacggtcgct ttgactactg gggccaaggc accactctca cagtctcg	348

<210> 132
 <211> 324
 <212> ДНК
 <213> Искусственный

<220>
 <223> TF1413-02e040 L цепь V область ген

<400> 132	
gacatcttgc tgactcagtc tccaaaattc atgtccacat cagtaggaga cagggtcagc	60
atcacctgca aggccagtca gaatgttcgt actgctgtag cctgggtatca acagaaacca	120
gggcagtctc ctaaagcact gatttacttg gcatccaacc ggcacactgg agtcacctgat	180
cgcttcacag gcagtggatc tgggacagat ttactctca ccattagcaa tgtgcaatct	240
gaagacctgg cagattatct ctgtctgcaa cattggaatt atcctctcac gttcgggtgct	300
gggaccaagc tggagctgaa acgg	324

<210> 133
 <211> 1341
 <212> ДНК
 <213> Искусственный

<220>

<223> TF1413-02e040 Н цепь ген

<400> 133

gaagtgatgc tgggtggagtc tggacctgag ctggtgaagc ctggagcttc aatgaagata	60
tcctgcaagg cttctgggta ctcattcact ggctacacca tgaactgggt gaagcagagc	120
catggaaaga accttgagtg gattggactt attaatcctt acaatgggtg tactagctac	180
aaccagaatt ttaagggcaa ggccacatta actgtagaca agtcatccag cacagcctac	240
atggagctcc tcagtctgac atctgaggac tctgcagtct attactgtgc aagaggggtac	300
tacggtcgct ttgactactg gggccaaggc accactctca cagtctcgag cgccaaaaca	360
acagcccat cggtctatcc actggcccct gtgtgtggag atacaactgg ctccctcggtg	420
actctaggat gcctgggtcaa gggttatttc cctgagccag tgaccttgac ctggaactct	480
ggatccctgt ccagtgggtg gcacaccttc ccagctgtcc tgcagtctga cctctacacc	540
ctcagcagct cagtgactgt aacctcgagc acctggccca gccagtccat cacctgcaat	600
gtggcccacc cggcaagcag caccaagggtg gacaagaaaa ttgagccccg gggaccacaca	660
atcaagccct gtccctccatg caaatgccca gcacctaac tcttgggtgg accatccgtc	720
ttcatcttcc ctccaaagat caaggatgta ctcatgatct ccctgagccc catagtcaca	780
tgtgtgggtg tggatgtgag cgaggatgac ccagatgtcc agatcagctg gtttgtgaac	840
aacgtggaag tacacacagc tcagacacaa acccatagag aggattacaa cagtactctc	900
cgggtgggtca gtgccctccc catccagcac caggactgga tgagtggcaa ggagttcaaa	960
tgcaagggtca acaacaaaga cctcccagcg cccatcgaga gaaccatctc aaaacccaaa	1020
gggtcagtaa gagctccaca ggtatatgtc ttgcctccac cagaagaaga gatgactaag	1080
aaacagggtca ctctgacctg catggtcaca gacttcatgc ctgaagacat ttacgtggag	1140
tggaccaaca acgggaaaac agagctaaac tacaagaaca ctgaaccagt cctggactct	1200
gatggttctt acttcatgta cagcaagctg agagtggaaa agaagaactg ggtggaaaga	1260
aatagctact cctgttcagt ggtccacgag ggtctgcaca atcaccacac gactaagagc	1320
ttctcccgga ctccgggtaa a	1341

<210> 134

<211> 642

<212> ДНК

<213> Искусственный

<220>

<223> TF1413-02e040 L цепь ген

<400> 134

gacatcttgc tgactcagtc tccaaaattc atgtccacat cagtaggaga cagggtcagc	60
atcacctgca aggccagtca gaatgttcgt actgctgtag cctgggtatca acagaaacca	120

gggcagtctc ctaaagcact gatttacttg gcatccaacc ggcacactgg agtccctgat	180
cgcttcacag gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccattagcaa tgtgcaatct	240
gaagacctgg cagattatct ctgtctgcaa cattggaatt atcctctcac gttcgggtgct	300
gggaccaagc tggagctgaa acgggctgat gctgcaccaa ctgtatccat cttcccacca	360
tccagtggagc agttaacatc tggaggtgcc tcagtcgtgt gcttcttgaa caacttctac	420
cccaaagaca tcaatgtcaa gtggaagatt gatggcagtg aacgacaaaa tggcgtcctg	480
aacagttgga ctgatcagga cagcaaagac agcacctaca gcatgagcag caccctcacg	540
ttgaccaagg acgagtatga acgacataac agctatacct gtgaggccac tcacaagaca	600
tcaacttcac ccattgtcaa gagcttcaac aggaatgagt gt	642

<210> 135
 <211> 345
 <212> ДНК
 <213> Искусственный

<220>
 <223> TF1413-03e001 Н цепь V область ген

<400> 135	
caggtgcagc tgaagcagtc aggacctgag ctggtgaagc ctggggcttc agtgaagata	60
tcctgcaagg cttctgggta ctcatctact ggctactaca tgcactgggt gaagcaaagc	120
catgtaaaga gccttgagtg gattggacgt attaatcctt acaatgggtgc tactagctac	180
aaccagaatt tcaaggacaa ggccagcttg actgtagata agtcctccag cacagcctac	240
atggagctcc acagcctgac atctgaggac tctgcagtct attactgtgc aagaaactac	300
ggctactttg actactgggg ccaaggcacc actctcacag tctcg	345

<210> 136
 <211> 324
 <212> ДНК
 <213> Искусственный

<220>
 <223> TF1413-03e001 Л цепь V область ген

<400> 136	
gacatcaaga tgaccagtc tccaaaattc atgtccacat cagtaggaga cagggtcagc	60
gtcacctgcg aggccagtca gaatgtggat aataatgtag tctgggtatca acagaaacca	120
gggcaatctc ctaaagcact gatttactcg gcatcctacc ggtacagtgg agtccctgat	180
cgcttcacag gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcaa tgtgcagtct	240
gaagacttgg cagagtatct ctgtcagcaa tataacagct atcctctcac gttcgggtgct	300
gggaccaagt tggaaataaa acgg	324

<210> 137

<211> 1338
<212> ДНК
<213> Искусственный

<220>

<223> TF1413-03e001 Н цепь ген

<400> 137
caggtgcagc tgaagcagtc aggacctgag ctggtgaagc ctggggcttc agtgaagata 60
tcctgcaagg cttctgggta ctcatctact ggctactaca tgcactgggt gaagcaaagc 120
catgtaaaga gccttgagtg gattggacgt attaatcctt acaatgggtgc tactagctac 180
aaccagaatt tcaaggacaa ggccagcttg actgtagata agtcctccag cacagcctac 240
atggagctcc acagcctgac atctgaggac tctgcagtct attactgtgc aagaaactac 300
ggctactttg actactgggg ccaaggcacc actctcacag tctcgagcgc caaaacaaca 360
gccccatcgg tctatccact ggccccctgtg tgtggagata caactggctc ctcggtgact 420
ctaggatgcc tgggtcaaggg ttatttcctt gagccagtga ccttgacctg gaactctgga 480
tccctgtcca gtggtgtgca caccttccca gctgtcctgc agtctgacct ctacaccctc 540
agcagctcag tgactgtaac ctcgagcacc tggcccagcc agtccatcac ctgcaatgtg 600
gccaccccg caagcagcac caaggtggac aagaaaattg agccccgggg acccacaatc 660
aagccctgtc ctccatgcaa atgccagca cctaacctct tgggtggacc atccgtcttc 720
atcttcctc caaagatcaa ggatgtactc atgatctccc tgagcccat agtcacatgt 780
gtggtggtgg atgtgagcga ggatgacca gatgtccaga tcagctgggt tgtgaacaac 840
gtggaagtac acacagctca gacacaaacc catagagagg attacaacag tactctccgg 900
gtggtcagtg ccctcccat ccagcaccag gactggatga gtggcaagga gttcaaatgc 960
aaggtcaaca acaaagacct ccagcgcgc atcgagagaa ccatctcaa acccaaaggg 1020
tcagtaagag ctccacaggt atatgtcttg cctccaccag aagaagagat gactaagaaa 1080
caggtcactc tgacctgcat ggtcacagac ttcatgcttg aagacattta cgtggagtgg 1140
accaacaacg ggaaaacaga gctaaactac aagaacactg aaccagtcct ggactctgat 1200
ggttcttact tcatgtacag caagctgaga gtggaaaaga agaactgggt ggaaagaaat 1260
agctactcct gttcagtggg ccacgagggt ctgcacaatc accacacgac taagagcttc 1320
tcccggactc cgggtaaa 1338

<210> 138
<211> 642
<212> ДНК
<213> Искусственный

<220>

<223> TF1413-03e001 Л цепь ген

<400> 138

gacatcaaga tgaccagtc tccaaaattc atgtccacat cagtaggaga cagggtcagc	60
gtcacctgcg aggccagtca gaatgtggat aataatgtag tctggtatca acagaaacca	120
gggcaatctc ctaaagcact gatttactcg gcacccctacc ggtacagtgg agtccctgat	180
cgcttcacag gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcaa tgtgcagtct	240
gaagacttgg cagagtatct ctgtcagcaa tataacagct atcctctcac gttcgggtgct	300
gggaccaagt tggaaataaa acgggctgat gctgcaccaa ctgtatccat cttcccacca	360
tccagtgagc agttaacatc tggaggtgcc tcagtcgtgt gcttcttgaa caacttctac	420
cccaaagaca tcaatgtcaa gtggaagatt gatggcagtg aacgacaaaa tggcgtcctg	480
aacagttgga ctgatcagga cagcaaagac agcacctaca gcacgagcag caccctcacg	540
ttgaccaagg acgagtatga acgacataac agctatacct gtgaggccac tcacaagaca	600
tcaacttcac ccattgtcaa gagcttcaac aggaatgagt gt	642

<210> 139
 <211> 345
 <212> ДНК
 <213> Искусственный

<220>
 <223> TF1413-03e004 Н цепь V область ген

<400> 139	
caggtgcagc tgaagcagtc aggggctgag cttgtgaagc ctggggctcc agtgaagctg	60
tcctgcaagg cttctggcta caccttcacc agctactgga tgaactgggt gaagcagagg	120
cctggacgag gcctcgagtg gattggaagg attgatcctt ccgatagtga aactcactac	180
aatcaaaagt tcaaggacaa ggccacactg actgtagaca aatcctccag cacagcctac	240
atccaactca gcagcctgac atctgaggac tctgcggtct attactgtgc aagagggtag	300
tacggtagta actactgggg ccaaggcacc actctcacag tctcg	345

<210> 140
 <211> 324
 <212> ДНК
 <213> Искусственный

<220>
 <223> TF1413-03e004 L цепь V область ген

<400> 140	
gacatcaaga tgaccagtc tccaaaattc atgtccacat cagtaggaga cagggtcagc	60
gtcacctgca aggccagtca gaatgtgggt actaatgtag cctggtatca acagaaacca	120
gggcaatctc ctaaagcact gatttactcg gcacccctacc ggtacagtgg agtccctgat	180
cgcttcacag gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcaa tgtgcagtct	240
gaagacttgg cagagtatct ctgtcagcaa tataacagct atcctctcac gttcgggtgct	300

gggaccaagc tggagctgaa acgg

324

<210> 141

<211> 1338

<212> ДНК

<213> Искусственный

<220>

<223> TF1413-03e004 Н цепь ген

<400> 141

caggtgcagc tgaagcagtc aggggctgag cttgtgaagc ctggggctcc agtgaagctg	60
tcctgcaagg cttctggcta caccttcacc agctactgga tgaactgggt gaagcagagg	120
cctggacgag gcctcgagtg gattggaagg attgatcctt ccgatagtga aactcactac	180
aatcaaaagt tcaaggacaa ggccacactg actgtagaca aatcctccag cacagcctac	240
atccaactca gcagcctgac atctgaggac tctgcggtct attactgtgc aagaggggtac	300
tacggtagta actactgggg ccaaggcacc actctcacag tctcgagcgc caaaacaaca	360
gccccatcgg tctatccact ggccccctgtg tgtggagata caactggctc ctcggtgact	420
ctaggatgcc tgggtcaaggg ttatttccct gagccagtga ccttgacctg gaactctgga	480
tcctgtcca gtggtgtgca caccttccca gctgtcctgc agtctgacct ctacaccctc	540
agcagctcag tgactgtaac ctcgagcacc tggcccagcc agtccatcac ctgcaatgtg	600
gccaccccg caagcagcac caaggtggac aagaaaattg agccccgggg acccacaatc	660
aagccctgtc ctccatgcaa atgccagca cctaacctct tgggtggacc atccgtcttc	720
atcttccctc caaagatcaa ggatgtactc atgatctccc tgagcccat agtcacatgt	780
gtggtggtgg atgtgagcga ggatgacca gatgtccaga tcagctggtt tgtgaacaac	840
gtggaagtac acacagctca gacacaaacc catagagagg attacaacag tactctccgg	900
gtggtcagtg ccctcccat ccagcaccag gactggatga gtggcaagga gttcaaatgc	960
aaggtcaaca acaaagacct ccagcgccc atcgagagaa ccatctcaaa acccaaaggg	1020
tcagtaagag ctccacaggt atatgtcttg cctccaccag aagaagagat gactaagaaa	1080
caggtcactc tgacctgcat ggtcacagac ttcatgcctg aagacattta cgtggagtgg	1140
accaacaacg ggaaaacaga gctaaactac aagaacactg aaccagtcct ggactctgat	1200
ggttcttact tcatgtacag caagctgaga gtggaaaaga agaactgggt ggaaagaaat	1260
agctactcct gttcagtggt ccacgagggt ctgcacaatc accacacgac taagagcttc	1320
tcccggactc cgggtaaa	1338

<210> 142

<211> 642

<212> ДНК

<213> Искусственный

<220>

<223> TF1413-03e004 L цепь ген

<400> 142

gacatcaaga tgacccagtc tccaaaattc atgtccacat cagtaggaga cagggtcagc	60
gtcacctgca aggccagtca gaatgtgggt actaatgtag cctgggtatca acagaaacca	120
gggcaatctc ctaaagcact gatttactcg gcacccctacc ggtacagtgg agtccctgat	180
cgcttcacag gcagtggatc tgggacagat ttactctca ccatcagcaa tgtgcagtct	240
gaagacttgg cagagtattt ctgtcagcaa tataacagct atcctctcac gttcgggtgct	300
gggaccaagc tggagctgaa acgggctgat gctgcaccaa ctgtatccat cttcccacca	360
tccagtgagc agttaacatc tggaggagcc tcagtcgtgt gcttcttgaa caacttctac	420
cccaaagaca tcaatgtcaa gtggaagatt gatggcagtg aacgacaaaa tggcgctctg	480
aacagttgga ctgacagga cagcaaagac agcacctaca gcatgagcag caccctcacg	540
ttgaccaagg acgagtatga acgacataac agctatacct gtgaggccac tcacaagaca	600
tcaacttcac ccattgtcaa gagcttcaac aggaatgagt gt	642

<210> 143

<211> 360

<212> ДНК

<213> Искусственный

<220>

<223> TF1413-03e005 H цепь V область ген

<400> 143

caggtgcagc tgaaggagtc aggggcagag cttgtgaggt caggggcctc agtcaagttg	60
tcctgcacag cttctggctt caacattaaa gactactata tgcactgggt gaagcagagg	120
cctgaacagg gcctggagtg gattggatgg attgatcctg agaatggtga tactgaatat	180
gccccgaagt tccagggcaa ggccactatg actgcagaca catcctcaa cacagcctac	240
ctgcagctca gcagcctgac atctgaggac actgccgtct attactgtaa tgccttctac	300
tatgattacg acgggtatgc tatggactac tgggggtcaag gaacctcagt caccgtctcg	360

<210> 144

<211> 324

<212> ДНК

<213> Искусственный

<220>

<223> TF1413-03e005 L цепь V область ген

<400> 144

gatgttgtag tgacccaaac tccatcctcc ttatctgcct ctctgggaga aagagtcagt	60
ctcacttgct gggcaagtca ggaaattagt ggttacttaa gctggcttca gcagaaacca	120
gatggaacta ttaaagcctt gatctacgcc gcacccactt tagattctgg tgtcccaaaa	180

aggttcagtg gcagtaggtc tgggtcagat tattctctca ccatcagcag ccttgagtct	240
gaagattttg cagactatta ctgtctacaa tatgctagtt atccgctcac gttcgggtgct	300
gggaccaagc tggagctgaa acgg	324

<210> 145
 <211> 1353
 <212> ДНК
 <213> Искусственный

<220>
 <223> TF1413-03e005 Н цепь ген

<400> 145	
caggtgcagc tgaaggagtc aggggcagag cttgtgaggt caggggcctc agtcaagttg	60
tcctgcacag cttctggctt caacattaaa gactactata tgcactgggt gaagcagagg	120
cctgaacagg gcctggagtg gattggatgg attgatcctg agaatgggtga tactgaatat	180
gccccgaagt tccagggcaa ggccactatg actgcagaca catcctccaa cacagcctac	240
ctgcagctca gcagcctgac atctgaggac actgccgtct attactgtaa tgccttctac	300
tatgattacg acgggtatgc tatggactac tggggtcag gaacctcagt caccgtctcg	360
agggccaaaa caacagcccc atcgggtctat cactggccc ctgtgtgtgg agatacaact	420
ggctcctcgg tgactctagg atgcctggtc aagggttatt tccctgagcc agtgaccttg	480
acctggaact ctggatccct gtccagtggg gtgcacacct tcccagctgt cctgcagtct	540
gacctctaca ccctcagcag ctcagtgact gtaacctcga gcacctggcc cagccagtcc	600
atcacctgca atgtggccca cccggcaagc agcaccaagg tggacaagaa aattgagccc	660
cggggaccca caatcaagcc ctgtcctcca tgcaaatgcc cagcacctaa cctcttgggt	720
ggaccatccg tcttcatctt ccctccaaag atcaaggatg tactcatgat ctccctgagc	780
cccatagtca catgtgtggg ggtggatgtg agcgaggatg acccagatgt ccagatcagc	840
tggtttgtga acaacgtgga agtacacaca gctcagacac aaaccatag agaggattac	900
aacagtactc tccgggtggg cagtgccctc cccatccagc accaggactg gatgagtggc	960
aaggagttca aatgcaaggt caacaacaaa gacctccag cgcccatcga gagaaccatc	1020
tcaaaacca aagggtcagt aagagctcca caggtatatg tcttgcctcc accagaagaa	1080
gagatgacta agaaacaggt cactctgacc tgcattggta cagacttcat gcctgaagac	1140
atttacgtgg agtggaccaa caacgggaaa acagagctaa actacaagaa cactgaacca	1200
gtcctggact ctgatggttc ttacttcatg tacagcaagc tgagagtgga aaagaagaac	1260
tgggtggaag gaaatagcta ctctgttca gtgggtccacg agggctctgca caatcaccac	1320
acgactaaga gcttctcccc gactccgggt aaa	1353

<210> 146

<211> 642
<212> ДНК
<213> Искусственный

<220>
<223> TF1413-03e005 L цепь ген

<400> 146
gatgttgatga tgacccaaac tccatcctcc ttatctgcct ctctgggaga aagagtcagt 60
ctcacttgtc gggcaagtca ggaaattagt ggttacttaa gctggcttca gcagaaacca 120
gatggaacta ttaaacgcct gatctacgcc gcatccactt tagattctgg tgtcccaaaa 180
aggttcagtg gcagtaggtc tgggtcagat tattctctca ccatcagcag ccttgagtct 240
gaagattttg cagactatta ctgtctacaa tatgctagtt atccgctcac gttcgggtgct 300
gggaccaagc tggagctgaa acgggctgat gctgcaccaa ctgtatccat cttcccacca 360
tccagtgagc agttaacatc tggaggtgcc tcagtcgtgt gcttcttgaa caacttctac 420
cccaaagaca tcaatgtcaa gtggaagatt gatggcagtg aacgacaaaa tggcgtcctg 480
aacagttgga ctgatcagga cagcaaagac agcacctaca gcatgagcag caccctcacg 540
ttgaccaagg acgagtatga acgacataac agctatacct gtgaggccac tcacaagaca 600
tcaacttcac ccattgtcaa gagcttcaac aggaatgagt gt 642

<210> 147
<211> 357
<212> ДНК
<213> Искусственный

<220>
<223> TF1413-03e015 H цепь V область ген

<400> 147
gaggtccagc tgcagcagtc tggacctgag ctggtgaagc ctggagcttc aatgaagata 60
tcctgcaagg cttctgggta ctcatcact ggctacacca tgaactgggt gaagcagagc 120
catggaaaga accttgagtg gattggactt attaatcctt acaatgggtg tactagctac 180
aaccagaagt tcaagggcaa ggccacatta actgtagaca agtcatccag cacagcctac 240
atggagctcc tcagtctgac atctgaggac tctgcagtct attactgcgc aagaggggat 300
tactaccccc cctatgctat ggactactgg ggtcaaggaa cctcagtcac cgtctcg 357

<210> 148
<211> 324
<212> ДНК
<213> Искусственный

<220>
<223> TF1413-03e015 L цепь V область ген

<400> 148
gacattgtga tgtcacagtc tccaaaattc atgtccacat cagtaggaga cagggtcagc 60

gtcacctgca aggccagtca gaatgtgggt actaatgtag cctgggtatca acagaaaccg	120
gggcaatctc ctaaaccact gattttattcg gcgtcctacc ggtatagtgg agtccctgat	180
cgcttcacag gcagtggatc tgggacagat ttcaactctca ccatcagcaa tgtgcagtct	240
gaagacttgg cagagtatct ctgtcagcaa tataacagat atcctctcac gttcgggtgtt	300
gggaccaagc tggaaatcaa acgg	324

<210> 149
 <211> 1350
 <212> ДНК
 <213> ИСКУССТВЕННЫЙ

<220>
 <223> TF1413-03e015 Н цепь ген

<400> 149	
gaggtccagc tgcagcagtc tggacctgag ctggtgaagc ctggagcttc aatgaagata	60
tcctgcaagg cttctgggta ctcatcact ggctacacca tgaactgggt gaagcagagc	120
catggaaaga accttgagtg gattggactt attaatcctt acaatgggtgg tactagctac	180
aaccagaagt tcaagggcaa ggccacatta actgtagaca agtcatccag cacagcctac	240
atggagctcc tcagtctgac atctgaggac tctgcagtct attactgcgc aagaggggat	300
tactaccccc cctatgctat ggactactgg ggtcaaggaa cctcagtcac cgtctcgagc	360
gccaaaacaa cagccccatc ggtctatcca ctggcccctg tgtgtggaga tacaactggc	420
tcctcgggtga ctctaggatg cctgggtcaag ggttatttcc ctgagccagt gaccttgacc	480
tggaaactctg gatccctgtc cagtgggtgtg cacaccttcc cagctgtcct gcagtctgac	540
ctctacaccc tcagcagctc agtgactgta acctcgagca cctggcccag ccagtccatc	600
acctgcaatg tggcccaccc ggcaagcagc accaagggtgg acaagaaaat tgagccccgg	660
ggaccacaaa tcaagccctg tcctccatgc aaatgccag cacctaacct cttgggtgga	720
ccatccgtct tcattcttccc tccaaagatc aaggatgtac tcatgatctc cctgagcccc	780
atagtcacat gtgtgggtgtt ggatgtgagc gaggatgacc cagatgtcca gatcagctgg	840
tttgtgaaca acgtggaagt acacacagct cagacacaaa cccatagaga ggattacaac	900
agtactctcc ggggtggctag tgcctctccc atccagcacc aggactggat gagtggcaag	960
gagttcaaat gcaagggtcaa caacaaagac ctcccagcgc ccatcgagag aaccatctca	1020
aaacccaaag ggtcagtaag agctccacag gtatatgtct tgccctccacc agaagaagag	1080
atgactaaga aacaggtcac tctgacctgc atgggtcacag acttcatgcc tgaagacatt	1140
tacgtggagt ggaccaacaa cgggaaaaca gagctaaact acaagaacac tgaaccagtc	1200
ctggactctg atggttctta cttcatgtac agcaagctga gagtggaaaa gaagaactgg	1260
gtggaaagaa atagctactc ctgttcagtg gtccacgagg gtctgcacaa tcaccacagc	1320

actaagagct tctcccggac tccgggtaaa

1350

<210> 150

<211> 642

<212> ДНК

<213> Искусственный

<220>

<223> TF1413-03e015 L цепь ген

<400> 150

gacattgtga tgtcacagtc tccaaaattc atgtccacat cagtaggaga cagggtcagc 60

gtcacctgca aggccagtc gaatgtgggt actaatgtag cctgggtatca acagaaaccg 120

gggcaatctc ctaaaccact gatttattcg gcgtcctacc ggtatagtgg agtccctgat 180

cgcttcacag gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcaa tgtgcagtct 240

gaagacttgg cagagtatct ctgtcagcaa tataacagat atcctctcac gttcgggtgtt 300

gggaccaagc tggaaatcaa acgggctgat gctgcaccaa ctgtatccat cttcccacca 360

tccagtggagc agttaacatc tggaggtgcc tcagtcgtgt gcttcttgaa caacttctac 420

cccaaagaca tcaatgtcaa gtggaagatt gatggcagtg aacgacaaaa tggcgctctg 480

aacagttgga ctgatcagga cagcaaagac agcacctaca gcatgagcag caccctcacg 540

ttgaccaagg acgagtatga acgacataac agctatacct gtgaggccac tcacaagaca 600

tcaacttcac ccattgtcaa gagcttcaac aggaatgagt gt 642

<210> 151

<211> 354

<212> ДНК

<213> Искусственный

<220>

<223> TF1413-03e034 H цепь V область ген

<400> 151

gaggtccagc tgcagcagtc tggacctgag ctggagaagc ctggcgcttc agtgaagata 60

tcctgcaagg cttctgggta ctcatctact ggctacaaca tgaactgggt gaagcagagc 120

aatggaaaga gccttgagtg gattggaaat attgatcctt actatgggtg tactagctac 180

aaccagaagt tcaagggcaa ggccacattg actgtagaca aatcctccag cacagcctac 240

atgcagctca agagcctgac atctgaggac tctgcagtct attactgtgc aagaggggaac 300

tacgggtact atgctatgga ctactgggggt caaggaacct cagtcaccgt ctcg 354

<210> 152

<211> 324

<212> ДНК

<213> Искусственный

<220>

<223> TF1413-03e034 L цепь V область ген

<400> 152
gacattgtga tgtcacagtc tccaaaattc atgtccacat cagtaggaga cagggtcagc 60
atcacctgca aggccagtca gaatgttcgt actgctgtag cctgggtatca acagaaacca 120
gggcagtctc ctaaagcact gatttacttg gcatccaacc ggcacactgg agtccctgat 180
cgcttcacag gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccattagcaa tgtgcaatct 240
gaagacctgg cagattatct ctgtctgcaa cattggaatt atccgctcac gttcgggtgct 300
gggaccaagc tggagctgaa acgg 324

<210> 153
<211> 1347
<212> ДНК
<213> Искусственный

<220>
<223> TF1413-03e034 Н цепь ген

<400> 153
gaggtccagc tgcagcagtc tggacctgag ctggagaagc ctggcgcttc agtgaagata 60
tcctgcaagg cttctgggta ctcatcact ggctacaaca tgaactgggt gaagcagagc 120
aatggaaaga gccttgagtg gattggaaat attgatacctt actatgggtgg tactagctac 180
aaccagaagt tcaagggcaa ggccacattg actgtagaca aatcctccag cacagcctac 240
atgcagctca agagcctgac atctgaggac tctgcagtct attactgtgc aagaggggaac 300
tacgggtact atgctatgga ctactgggggt caaggaacct cagtcaccgt ctcgagcgcc 360
aaaacaacag ccccatcgggt ctatccactg gcccctgtgt gtggagatac aactgggtcc 420
tcggtgactc taggatgcct ggtcaagggt tatttccttg agccagtgc cttgacctgg 480
aactctggat ccctgtccag tgggtgtgcac accttcccag ctgtcctgca gtctgacctc 540
tacaccctca gcagctcagt gactgtaacc tcgagcacct ggcccagcca gtccatcacc 600
tgcaatgtgg ccacccggc aagcagcacc aagggtggaca agaaaattga gcccggggga 660
cccacaatca agccctgtcc tccatgcaaa tgcccagcac ctaacctctt ggggtggacca 720
tccgtcttca tcttcctcc aaagatcaag gatgtactca tgatctccct gagccccata 780
gtcacatgtg tgggtgggtgga tgtgagcgag gatgaccag atgtccagat cagctgggtt 840
gtgaacaacg tggaagtaca cacagctcag acacaaacc atagagagga ttacaacagt 900
actctccggg tggtcagtgc cctccccatc cagcaccagg actggatgag tggcaaggag 960
ttcaaatgca aggtcaacaa caaagacctc ccagcgccca tcgagagAAC catctcaaaa 1020
cccaaagggt cagtaagagc tccacaggta tatgtcttgc ctccaccaga agaagagatg 1080
actaagaaac aggtcactct gacctgcatg gtcacagact tcatgcctga agacatttac 1140
gtggagtgga ccaacaacgg gaaaacagag ctaaaactaca agaactga accagtcttg 1200

gactctgatg gttcttactt catgtacagc aagctgagag tggaaaagaa gaactgggtg 1260
gaaagaaata gctactcctg ttcagtgggc cagcaggggc tgcacaatca ccacacgact 1320
aagagcttct cccggactcc gggtaaa 1347

<210> 154
<211> 642
<212> ДНК
<213> Искусственный

<220>
<223> TF1413-03e034 L цепь ген

<400> 154
gacattgtga tgtcacagtc tccaaaattc atgtccacat cagtaggaga cagggtcagc 60
atcacctgca aggccagtca gaatgttcgt actgctgtag cctgggtatca acagaaacca 120
gggcagtctc ctaaagcact gatttacttg gcatccaacc ggcacactgg agtcacctgat 180
cgcttcacag gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccattagcaa tgtgcaatct 240
gaagacctgg cagattatct ctgtctgcaa cattggaatt atccgctcac gttcgggtgct 300
gggaccaagc tggagctgaa acgggctgat gctgcaccaa ctgtatccat cttcccacca 360
tccagtggagc agttaacatc tggaggtgcc tcagtcgtgt gcttcttgaa caacttctac 420
cccaaagaca tcaatgtcaa gtggaagatt gatggcagtg aacgacaaaa tggcgtcctg 480
aacagttgga ctgatcagga cagcaaagac agcacctaca gcatgagcag caccctcacg 540
ttgaccaagg acgagtatga acgacataac agctatacct gtgaggccac tcacaagaca 600
tcaacttcac ccattgtcaa gagcttcaac aggaatgagt gt 642

<210> 155
<211> 440
<212> Белок
<213> Homo sapiens

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> Human GPC3 N концевой фрагмент

<400> 155

Asp Ala Thr Cys His Gln Val Arg Ser Phe Phe Gln Arg Leu Gln Pro
1 5 10 15

Gly Leu Lys Trp Val Pro Glu Thr Pro Val Pro Gly Ser Asp Leu Gln
20 25 30

Val Cys Leu Pro Lys Gly Pro Thr Cys Cys Ser Arg Lys Met Glu Glu
35 40 45

Lys Tyr Gln Leu Thr Ala Arg Leu Asn Met Glu Gln Leu Leu Gln Ser

50

55

60

Ala Ser Met Glu Leu Lys Phe Leu Ile Ile Gln Asn Ala Ala Val Phe
65 70 75 80

Gln Glu Ala Phe Glu Ile Val Val Arg His Ala Lys Asn Tyr Thr Asn
85 90 95

Ala Met Phe Lys Asn Asn Tyr Pro Ser Leu Thr Pro Gln Ala Phe Glu
100 105 110

Phe Val Gly Glu Phe Phe Thr Asp Val Ser Leu Tyr Ile Leu Gly Ser
115 120 125

Asp Ile Asn Val Asp Asp Met Val Asn Glu Leu Phe Asp Ser Leu Phe
130 135 140

Pro Val Ile Tyr Thr Gln Leu Met Asn Pro Gly Leu Pro Asp Ser Ala
145 150 155 160

Leu Asp Ile Asn Glu Cys Leu Arg Gly Ala Arg Arg Asp Leu Lys Val
165 170 175

Phe Gly Asn Phe Pro Lys Leu Ile Met Thr Gln Val Ser Lys Ser Leu
180 185 190

Gln Val Thr Arg Ile Phe Leu Gln Ala Leu Asn Leu Gly Ile Glu Val
195 200 205

Ile Asn Thr Thr Asp His Leu Lys Phe Ser Lys Asp Cys Gly Arg Met
210 215 220

Leu Thr Arg Met Trp Tyr Cys Ser Tyr Cys Gln Gly Leu Met Met Val
225 230 235 240

Lys Pro Cys Gly Gly Tyr Cys Asn Val Val Met Gln Gly Cys Met Ala
245 250 255

Gly Val Val Glu Ile Asp Lys Tyr Trp Arg Glu Tyr Ile Leu Ser Leu
260 265 270

Glu Glu Leu Val Asn Gly Met Tyr Arg Ile Tyr Asp Met Glu Asn Val
275 280 285

Leu Leu Gly Leu Phe Ser Thr Ile His Asp Ser Ile Gln Tyr Val Gln
290 295 300

Lys Asn Ala Gly Lys Leu Thr Thr Thr Ile Gly Lys Leu Cys Ala His

305 310 315 320
 Ser Gln Gln Arg Gln Tyr Arg Ser Ala Tyr Tyr Pro Glu Asp Leu Phe
 325 330 335
 Ile Asp Lys Lys Val Leu Lys Val Ala His Val Glu His Glu Glu Thr
 340 345 350
 Leu Ser Ser Arg Arg Arg Glu Leu Ile Gln Lys Leu Lys Ser Phe Ile
 355 360 365
 Ser Phe Tyr Ser Ala Leu Pro Gly Tyr Ile Cys Ser His Ser Pro Val
 370 375 380
 Ala Glu Asn Asp Thr Leu Cys Trp Asn Gly Gln Glu Leu Val Glu Arg
 385 390 395 400
 Tyr Ser Gln Lys Ala Ala Arg Asn Gly Met Lys Asn Gln Phe Asn Leu
 405 410 415
 His Glu Leu Lys Met Lys Gly Pro Glu Pro Val Val Ser Gln Ile Ile
 420 425 430
 Asp Lys Leu Lys His Ile Asn Gln
 435 440

 <210> 156
 <211> 109
 <212> Бeлoк
 <213> Homo sapiens

 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> Human GPC3 C кoнцeвoй фpaгмeнт

 <400> 156

 Leu Leu Arg Thr Met Ser Met Pro Lys Gly Arg Val Leu Asp Lys Asn
 1 5 10 15

 Leu Asp Glu Glu Gly Phe Glu Ser Gly Asp Cys Gly Asp Asp Glu Asp
 20 25 30

 Glu Cys Ile Gly Gly Ser Gly Asp Gly Met Ile Lys Val Lys Asn Gln
 35 40 45

 Leu Arg Phe Leu Ala Glu Leu Ala Tyr Asp Leu Asp Val Asp Asp Ala
 50 55 60

 Pro Gly Asn Ser Gln Gln Ala Thr Pro Lys Asp Asn Glu Ile Ser Thr

65 70 75 80
 Phe His Asn Leu Gly Asn Val His Ser Pro Leu Lys Leu Leu Thr Ser
 85 90 95
 Met Ala Ile Ser Val Val Cys Phe Phe Phe Leu Val His
 100 105

 <210> 157
 <211> 580
 <212> Бeлoк
 <213> Homo sapiens

 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> Human GPC3

 <400> 157
 Met Ala Gly Thr Val Arg Thr Ala Cys Leu Val Val Ala Met Leu Leu
 1 5 10 15

 Ser Leu Asp Phe Pro Gly Gln Ala Gln Pro Pro Pro Pro Pro Pro Asp
 20 25 30

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

 Leu Lys Trp Val Pro Glu Thr Pro Val Pro Gly Ser Asp Leu Gln Val
 50 55 60

 Cys Leu Pro Lys Gly Pro Thr Cys Cys Ser Arg Lys Met Glu Glu Lys
 65 70 75 80

 Tyr Gln Leu Thr Ala Arg Leu Asn Met Glu Gln Leu Leu Gln Ser Ala
 85 90 95

 Ser Met Glu Leu Lys Phe Leu Ile Ile Gln Asn Ala Ala Val Phe Gln
 100 105 110

 Glu Ala Phe Glu Ile Val Val Arg His Ala Lys Asn Tyr Thr Asn Ala
 115 120 125

 Met Phe Lys Asn Asn Tyr Pro Ser Leu Thr Pro Gln Ala Phe Glu Phe
 130 135 140

 Val Gly Glu Phe Phe Thr Asp Val Ser Leu Tyr Ile Leu Gly Ser Asp
 145 150 155 160

 Ile Asn Val Asp Asp Met Val Asn Glu Leu Phe Asp Ser Leu Phe Pro

165

170

175

Val Ile Tyr Thr Gln Leu Met Asn Pro Gly Leu Pro Asp Ser Ala Leu
180 185 190

Asp Ile Asn Glu Cys Leu Arg Gly Ala Arg Arg Asp Leu Lys Val Phe
195 200 205

Gly Asn Phe Pro Lys Leu Ile Met Thr Gln Val Ser Lys Ser Leu Gln
210 215 220

Val Thr Arg Ile Phe Leu Gln Ala Leu Asn Leu Gly Ile Glu Val Ile
225 230 235 240

Asn Thr Thr Asp His Leu Lys Phe Ser Lys Asp Cys Gly Arg Met Leu
245 250 255

Thr Arg Met Trp Tyr Cys Ser Tyr Cys Gln Gly Leu Met Met Val Lys
260 265 270

Pro Cys Gly Gly Tyr Cys Asn Val Val Met Gln Gly Cys Met Ala Gly
275 280 285

Val Val Glu Ile Asp Lys Tyr Trp Arg Glu Tyr Ile Leu Ser Leu Glu
290 295 300

Glu Leu Val Asn Gly Met Tyr Arg Ile Tyr Asp Met Glu Asn Val Leu
305 310 315 320

Leu Gly Leu Phe Ser Thr Ile His Asp Ser Ile Gln Tyr Val Gln Lys
325 330 335

Asn Ala Gly Lys Leu Thr Thr Thr Ile Gly Lys Leu Cys Ala His Ser
340 345 350

Gln Gln Arg Gln Tyr Arg Ser Ala Tyr Tyr Pro Glu Asp Leu Phe Ile
355 360 365

Asp Lys Lys Val Leu Lys Val Ala His Val Glu His Glu Glu Thr Leu
370 375 380

Ser Ser Arg Arg Arg Glu Leu Ile Gln Lys Leu Lys Ser Phe Ile Ser
385 390 395 400

Phe Tyr Ser Ala Leu Pro Gly Tyr Ile Cys Ser His Ser Pro Val Ala
405 410 415

Glu Asn Asp Thr Leu Cys Trp Asn Gly Gln Glu Leu Val Glu Arg Tyr

420

425

430

Ser Gln Lys Ala Ala Arg Asn Gly Met Lys Asn Gln Phe Asn Leu His
 435 440 445

Glu Leu Lys Met Lys Gly Pro Glu Pro Val Val Ser Gln Ile Ile Asp
 450 455 460

Lys Leu Lys His Ile Asn Gln Leu Leu Arg Thr Met Ser Met Pro Lys
 465 470 475 480

Gly Arg Val Leu Asp Lys Asn Leu Asp Glu Glu Gly Phe Glu Ser Gly
 485 490 495

Asp Cys Gly Asp Asp Glu Asp Glu Cys Ile Gly Gly Ser Gly Asp Gly
 500 505 510

Met Ile Lys Val Lys Asn Gln Leu Arg Phe Leu Ala Glu Leu Ala Tyr
 515 520 525

Asp Leu Asp Val Asp Asp Ala Pro Gly Asn Ser Gln Gln Ala Thr Pro
 530 535 540

Lys Asp Asn Glu Ile Ser Thr Phe His Asn Leu Gly Asn Val His Ser
 545 550 555 560

Pro Leu Lys Leu Leu Thr Ser Met Ala Ile Ser Val Val Cys Phe Phe
 565 570 575

Phe Leu Val His
 580

<210> 158
 <211> 1320
 <212> ДНК
 <213> Homo sapiens

<220>
 <221> misc_feature
 <223> Human GPC3 N концевой фрагмент ген

<400> 158
 gacgccacct gtcaccaagt ccgctccttc ttccagagac tgcagcccgg actcaagtgg 60
 gtgccagaaa ctcccgtgcc aggatcagat ttgcaagtat gtctccctaa gggcccaaca 120
 tgctgctcaa gaaagatgga agaaaaatac caactaacag cacgattgaa catggaacag 180
 ctgcttcagt ctgcaagtat ggagctcaag ttcttaatta ttcagaatgc tgcggttttc 240
 caagaggcct ttgaaattgt tgttcgccat gccagaact acaccaatgc catgtttcaag 300

aacaactacc caagcctgac tccacaagct tttgagtttg tgggtgaatt tttcacagat	360
gtgtctctct acatcttggg ttctgacatc aatgtagatg acatggtcaa tgaattgttt	420
gacagcctgt ttccagtcac ctatacccag ctaatgaacc caggcctgcc tgattcagcc	480
ttggacatca atgagtgcct ccgaggagca agacgtgacc tgaaagtatt tgggaatttc	540
cccaagctta ttatgaccca ggtttccaag tcaactgcaag tcaactaggat cttccttcag	600
gctctgaatc ttggaattga agtgatcaac acaactgac acctgaagtt cagtaaggac	660
tgtggccgaa tgctcaccag aatgtggtac tgctcttact gccagggact gatgatgggt	720
aaaccctgtg gcggttactg caatgtggtc atgcaaggct gtatggcagg tgtggtggag	780
attgacaagt actggagaga atacattctg tcccttgaag aacttgtgaa tggcatgtac	840
agaatctatg acatggagaa cgtactgctt ggtctctttt caacaatcca tgattctatc	900
cagtatgtcc agaagaatgc aggaaagctg accaccacta ttggcaagtt atgtgcccac	960
tctcaacaac gccaatatag atctgcttat tctcctgaag atctctttat tgacaagaaa	1020
gtattaaaag ttgctcatgt agaacatgaa gaaaccttat ccagccgaag aagggaacta	1080
attcagaagt tgaagtcttt catcagcttc tatagtgtct tgcttggtta catctgcagc	1140
catagccctg tggcggaaaa cgacaccctt tgctggaatg gacaagaact cgtggagaga	1200
tacagccaaa aggagcaag gaatggaatg aaaaaccagt tcaatctcca tgagctgaaa	1260
atgaagggcc ctgagccagt ggtcagtcac attattgaca aactgaagca cattaaccag	1320

<210> 159
 <211> 327
 <212> ДНК
 <213> Homo sapiens

<220>
 <221> misc_feature
 <223> Human GPC3 С концевой фрагмент ген

<400> 159	
ctcctgagaa ccatgtctat gcccaaaggt agagtctctg ataaaaacct ggatgaggaa	60
gggtttgaaa gtggagactg cggatgatgat gaagatgagt gcattggagg ctctgggtgat	120
ggaatgataa aagtgaagaa tcagctccgc ttccttgacg aactggccta tgatctggat	180
gtggatgatg cgcttggaag cagtcagcag gcaactccga aggacaacga gataagcacc	240
tttcacaacc tcgggaacgt tcattccccg ctgaagcttc tcaccagcat ggccatctcg	300
gtggtgtgct tcttcttcct ggtgcac	327

<210> 160
 <211> 1743
 <212> ДНК
 <213> Homo sapiens

<400> 160
 atggccggga ccgtgcgcac cgcgtgcttg gtgggtggcga tgctgctcag cttggacttc 60
 ccgggacagg cgcagccccc gccgccgccg ccggacgcc a cctgtcacca agtccgctcc 120
 ttcttccaga gactgcagcc cggactcaag tgggtgccag aaactcccgt gccaggatca 180
 gatttgcaag tatgtctccc taagggccca acatgctgct caagaaagat ggaagaaaaa 240
 taccaactaa cagcacgatt gaacatggaa cagctgcttc agtctgcaag tatggagctc 300
 aagttcttaa ttattcagaa tgctgcgggtt ttccaagagg cctttgaaat tgttggttcgc 360
 catgccaa ga actacaccaa tgccatgttc aagaacaact acccaagcct gactccacaa 420
 gcttttgagt ttgtgggtga atttttcaca gatgtgtctc tctacatctt gggttctgac 480
 atcaatgtag atgacatggt caatgaattg tttgacagcc tgtttccagt catctatacc 540
 cagctaata ga acccaggcct gcctgattca gccttgga ca tcaatgagtg cctccgagga 600
 gcaagacgtg acctgaaagt atttgggaat ttccccaagc ttattatgac ccaggtttcc 660
 aagtcactgc aagtcactag gatcttctt caggctctga atcttggaat tgaagtgatc 720
 aacacaactg atcacctgaa gttcagtaag gactgtggcc gaatgctcac cagaatgtgg 780
 tactgctctt actgccaggg actgatgatg gttaaaccct gtggcggtta ctgcaatgtg 840
 gtcatgcaag gctgtatggc aggtgtggtg gagattgaca agtactggag agaatacatt 900
 ctgtcccttg aagaacttgt gaatggcatg tacagaatct atgacatgga gaacgtactg 960
 cttggtctct tttcaacaat ccatgattct atccagtatg tccagaagaa tgcaggaaag 1020
 ctgaccacca ctattggcaa gttatgtgcc cattctcaac aacgccaata tagatctgct 1080
 tattatcctg aagatctctt tattgacaag aaagtattaa aagttgctca tgtagaacat 1140
 gaagaaacct tatccagccg aagaaggga ctaattcaga agttgaagtc tttcatcagc 1200
 ttctatagtg ctttgcctgg ctacatctgc agccatagcc ctgtggcgga aaacgacacc 1260
 ctttgctgga atggacaaga actcgtggag agatacagcc aaaaggcagc aaggaatgga 1320
 atgaaaaacc agttcaatct ccatgagctg aaaatgaagg gccctgagcc agtgggtcagt 1380
 caaattattg acaaactgaa gcacattaac cagctcctga gaaccatgtc tatgccccaa 1440
 ggtagagttc tggataaaaa cctggatgag gaagggtttg aaagtggaga ctgcggtgat 1500
 gatgaagatg agtgcattgg aggctctggt gatggaatga taaaagtga gaatcagctc 1560
 cgcttccttg cagaactggc ctatgatctg gatgtggatg atgcgcctgg aaacagtcag 1620
 caggcaactc cgaaggacaa cgagataagc acctttcaca acctcgggaa cgttcattcc 1680
 ccgctgaagc ttctcaccag catggccatc tcgggtggtg gcttcttctt cctggtgcac 1740
 tga 1743

<210> 161

<211> 33

<212> ДНК
 <213> Искусственный
 <220>
 <223> F-1 праймер
 <400> 161
 tcccccgagg gacgssacst gtcaccaagt ccg 33

<210> 162
 <211> 33
 <212> ДНК
 <213> Искусственный
 <220>
 <223> R-7 праймер
 <400> 162
 tccccgcggc tggttaatgt gcttcagttt gtc 33

<210> 163
 <211> 28
 <212> ДНК
 <213> Искусственный
 <220>
 <223> F-8 праймер
 <400> 163
 tcccccgagg ctctgagaa ccatgtct 28

<210> 164
 <211> 33
 <212> ДНК
 <213> Искусственный
 <220>
 <223> R-9 праймер
 <400> 164
 tccccgcggg tgcaccagga agaagaagca cac 33

<210> 165
 <211> 241
 <212> Белок
 <213> Искусственный
 <220>
 <223> TF1413-02d028 scFv
 <400> 165

Gln Val Gln Leu Lys Glu Ser Gly Pro Glu Leu Glu Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15

Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Gly Tyr
 20 25 30

Asn Met Asn Trp Val Lys Gln Ser Asn Gly Lys Ser Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Asn Ile Asp Pro Tyr Tyr Gly Gly Thr Ser Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60

Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Gln Leu Lys Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Gly Asp Tyr Arg Ala Tyr Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Thr Leu Thr Val Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
115 120 125

Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Lys Phe Met
130 135 140

Ser Thr Ser Val Gly Asp Arg Val Ser Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln
145 150 155 160

Asn Val Arg Thr Ala Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser
165 170 175

Pro Lys Ala Leu Ile Tyr Leu Ala Ser Asn Arg His Thr Gly Val Pro
180 185 190

Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile
195 200 205

Ser Asn Val Gln Ser Glu Asp Leu Ala Asp Tyr Phe Cys Leu Gln His
210 215 220

Trp Asn Tyr Pro Leu Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys
225 230 235 240

Arg

<210> 166

<211> 245

<212> Белок

<213> Искусственный

<220>

<223> TF1413-02d039 scFv

<400> 166

Glu Val Lys Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ala Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Asp Met Ser Trp Val Arg Gln Thr Pro Glu Lys Arg Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ala Tyr Ile Ser Ser Gly Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Pro Asp Thr Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Ser Ser Leu Lys Ser Glu Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Arg Gly Leu Arg Arg Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Ser Val Thr Val Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
115 120 125

Gly Gly Gly Ser Asp Val Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Pro
130 135 140

Val Ser Leu Gly Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser
145 150 155 160

Leu Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Leu Gln Lys
165 170 175

Pro Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe
180 185 190

Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe
195 200 205

Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Phe
210 215 220

Cys Ser Gln Ser Thr His Val Pro Leu Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys
225 230 235 240

Leu Glu Leu Lys Arg
245

<210> 167
<211> 237
<212> Белок
<213> Искусственный

<220>
<223> TF1413-02e004 scFv

<400> 167

Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Pro Val Lys Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30

Trp Met Asn Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Arg Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Arg Ile Asp Pro Ser Asp Ser Glu Thr His Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60

Lys Asp Glu Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Ile Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Gly Tyr Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val
100 105 110

Thr Val Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
115 120 125

Gly Ser Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Lys Phe Met Ser Thr Ser
130 135 140

Val Gly Asp Arg Val Ser Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asp Val Ser
145 150 155 160

Thr Ala Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Leu
165 170 175

Leu Ile Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe
180 185 190

Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser Ser Val
195 200 205

Gln Ala Glu Asp Leu Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln His Tyr Ser Thr
210 215 220

Pro Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg
225 230 235

<210> 168
<211> 243
<212> Белок
<213> Искусственный

<220>
<223> TF1413-02e014 scFv

<400> 168

Gln Val Gln Leu Lys Gln Ser Gly Ala Glu Leu Val Arg Ser Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Leu Ser Cys Thr Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Tyr
20 25 30

Tyr Met His Trp Val Lys Gln Arg Pro Glu Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Trp Ile Asp Pro Glu Asn Gly Asp Thr Glu Tyr Ala Pro Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Lys Ala Thr Met Thr Ala Asp Thr Ser Ser Asn Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Asn Ala Gly Tyr Tyr Asp Tyr Asp Gly Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
115 120 125

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Lys
130 135 140

Phe Met Ser Thr Ser Val Gly Asp Arg Val Ser Ile Thr Cys Lys Ala
145 150 155 160

Ser Gln Asp Val Gly Thr Ala Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly
165 170 175

Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg His Thr Gly
180 185 190

Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu
195 200 205

Thr Ile Ser Asn Val Gln Ser Glu Asp Leu Ala Asp Tyr Phe Cys Gln
210 215 220

Gln Tyr Ser Ser Tyr Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu
225 230 235 240

Ile Lys Arg

<210> 169
<211> 246
<212> Белок
<213> Искусственный

<220>
<223> TF1413-02e030 scFv

<400> 169

Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Val Arg Pro Gly Ala
1 5 10 15

Leu Val Lys Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Tyr
20 25 30

Tyr Met His Trp Val Lys Gln Arg Pro Glu Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Trp Ile Asp Pro Glu Asn Gly Asn Thr Ile Tyr Asp Pro Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Lys Ala Ser Ile Thr Ala Asp Thr Ser Ser Asn Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Ile Ser Thr Met Ile Thr Thr Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Thr Leu Thr Val Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
115 120 125

Gly Gly Gly Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ala
130 135 140

Met Ser Val Gly Gln Lys Val Thr Met Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser
145 150 155 160

Leu Leu Asn Ser Ser Asn Gln Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln
165 170 175

Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Val Tyr Phe Ala Ser Thr Arg
180 185 190

Glu Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ile Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp
195 200 205

Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Val Gln Ala Glu Asp Leu Ala Asp Tyr
210 215 220

Phe Cys Gln Gln His Tyr Ser Thr Pro Leu Thr Phe Gly Ala Gly Thr
225 230 235 240

Lys Leu Glu Leu Lys Arg
245

<210> 170
<211> 239
<212> Бeлoк
<213> Иcкyccтвeнный

<220>
<223> TF1413-02e040 scFv

<400> 170

Glu Val Met Leu Val Glu Ser Gly Pro Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Met Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Gly Tyr
20 25 30

Thr Met Asn Trp Val Lys Gln Ser His Gly Lys Asn Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Leu Ile Asn Pro Tyr Asn Gly Gly Thr Ser Tyr Asn Gln Asn Phe
50 55 60

Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Leu Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Gly Tyr Tyr Gly Arg Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr
100 105 110

Leu Thr Val Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
115 120 125

Gly Gly Ser Asp Ile Leu Leu Thr Gln Ser Pro Lys Phe Met Ser Thr
130 135 140

Ser Val Gly Asp Arg Val Ser Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asn Val
145 150 155 160

Arg Thr Ala Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys
165 170 175

Ala Leu Ile Tyr Leu Ala Ser Asn Arg His Thr Gly Val Pro Asp Arg
180 185 190

Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Asn
195 200 205

Val Gln Ser Glu Asp Leu Ala Asp Tyr Phe Cys Leu Gln His Trp Asn
210 215 220

Tyr Pro Leu Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys Arg
225 230 235

<210> 171
<211> 238
<212> Белок
<213> Искусственный

<220>
<223> TF1413-03e001 scFv

<400> 171

Gln Val Gln Leu Lys Gln Ser Gly Pro Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Gly Tyr
20 25 30

Tyr Met His Trp Val Lys Gln Ser His Val Lys Ser Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Arg Ile Asn Pro Tyr Asn Gly Ala Thr Ser Tyr Asn Gln Asn Phe
50 55 60

Lys Asp Lys Ala Ser Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met	Glu	Leu	His	Ser	Leu	Thr	Ser	Glu	Asp	Ser	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	85	90	95	
Ala	Arg	Asn	Tyr	Gly	Tyr	Phe	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Thr	Leu	100	105	110	
Thr	Val	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	115	120	125	
Gly	Ser	Asp	Ile	Lys	Met	Thr	Gln	Ser	Pro	Lys	Phe	Met	Ser	Thr	Ser	130	135	140	
Val	Gly	Asp	Arg	Val	Ser	Val	Thr	Cys	Glu	Ala	Ser	Gln	Asn	Val	Asp	145	150	155	160
Asn	Asn	Val	Val	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Gln	Ser	Pro	Lys	Ala	165	170	175	
Leu	Ile	Tyr	Ser	Ala	Ser	Tyr	Arg	Tyr	Ser	Gly	Val	Pro	Asp	Arg	Phe	180	185	190	
Thr	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr	Leu	Thr	Ile	Ser	Asn	Val	195	200	205	
Gln	Ser	Glu	Asp	Leu	Ala	Glu	Tyr	Phe	Cys	Gln	Gln	Tyr	Asn	Ser	Tyr	210	215	220	
Pro	Leu	Thr	Phe	Gly	Ala	Gly	Thr	Lys	Leu	Glu	Ile	Lys	Arg			225	230	235	
<210> 172																			
<211> 238																			
<212> Белок																			
<213> Искусственный																			
<220>																			
<223> TF1413-03e004 scFv																			
<400> 172																			
Gln	Val	Gln	Leu	Lys	Gln	Ser	Gly	Ala	Glu	Leu	Val	Lys	Pro	Gly	Ala	1	5	10	15
Pro	Val	Lys	Leu	Ser	Cys	Lys	Ala	Ser	Gly	Tyr	Thr	Phe	Thr	Ser	Tyr	20	25	30	
Trp	Met	Asn	Trp	Val	Lys	Gln	Arg	Pro	Gly	Arg	Gly	Leu	Glu	Trp	Ile	35	40	45	
Gly	Arg	Ile	Asp	Pro	Ser	Asp	Ser	Glu	Thr	His	Tyr	Asn	Gln	Lys	Phe	50	55	60	

Lys Asp Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Ile Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Gly Tyr Tyr Gly Ser Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu
100 105 110

Thr Val Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
115 120 125

Gly Ser Asp Ile Lys Met Thr Gln Ser Pro Lys Phe Met Ser Thr Ser
130 135 140

Val Gly Asp Arg Val Ser Val Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asn Val Gly
145 150 155 160

Thr Asn Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Ala
165 170 175

Leu Ile Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe
180 185 190

Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Asn Val
195 200 205

Gln Ser Glu Asp Leu Ala Glu Tyr Phe Cys Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr
210 215 220

Pro Leu Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys Arg
225 230 235

<210> 173
<211> 243
<212> Белок
<213> Искусственный

<220>
<223> TF1413-03e005 scFv

<400> 173

Gln Val Gln Leu Lys Glu Ser Gly Ala Glu Leu Val Arg Ser Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Leu Ser Cys Thr Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Tyr
20 25 30

<210>	174
<211>	242
<212>	Белок
<213>	Искусственный
<220>	
<223>	TF1413-03e015 scFv

<400> 174

Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Met Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Gly Tyr
20 25 30

Thr Met Asn Trp Val Lys Gln Ser His Gly Lys Asn Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Leu Ile Asn Pro Tyr Asn Gly Gly Thr Ser Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60

Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Leu Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Gly Asp Tyr Tyr Pro Pro Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
115 120 125

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Val Met Ser Gln Ser Pro Lys Phe
130 135 140

Met Ser Thr Ser Val Gly Asp Arg Val Ser Val Thr Cys Lys Ala Ser
145 150 155 160

Gln Asn Val Gly Thr Asn Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
165 170 175

Ser Pro Lys Pro Leu Ile Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Ser Gly Val
180 185 190

Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
195 200 205

Ile Ser Asn Val Gln Ser Glu Asp Leu Ala Glu Tyr Phe Cys Gln Gln
210 215 220

Tyr Asn Arg Tyr Pro Leu Thr Phe Gly Val Gly Thr Lys Leu Glu Ile
225 230 235 240

Lys Arg

<210> 175
<211> 241
<212> Белок
<213> Искусственный

<220>
<223> TF1413-03e034 scFv

<400> 175

Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Glu Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Gly Tyr
20 25 30

Asn Met Asn Trp Val Lys Gln Ser Asn Gly Lys Ser Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Asn Ile Asp Pro Tyr Tyr Gly Gly Thr Ser Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60

Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Gln Leu Lys Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Gly Asn Tyr Gly Tyr Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Ser Val Thr Val Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
115 120 125

Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Val Met Ser Gln Ser Pro Lys Phe Met
130 135 140

Ser Thr Ser Val Gly Asp Arg Val Ser Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln
145 150 155 160

Asn Val Arg Thr Ala Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser
165 170 175

Pro Lys Ala Leu Ile Tyr Leu Ala Ser Asn Arg His Thr Gly Val Pro
180 185 190

Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile
195 200 205

Ser Asn Val Gln Ser Glu Asp Leu Ala Asp Tyr Phe Cys Leu Gln His
210 215 220

Trp Asn Tyr Pro Leu Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys
225 230 235 240

Arg

<210> 176
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственный

<220>
<223> T7 праймер

<400> 176
taatacgact cactataggg 20

<210> 177
<211> 21
<212> ДНК
<213> Искусственный

<220>
<223> cp3R праймер

<400> 177
gccagcattg acaggagggtt g 21

<210> 178
<211> 241
<212> Белок
<213> Искусственный

<220>
<223> #5 VH1-15-VL1

<400> 178

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Gly Tyr
20 25 30

Asn Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Asn Ile Asp Pro Tyr Tyr Gly Gly Thr Ser Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60

Lys Gly Arg Ala Thr Leu Thr Val Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Arg Ser Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Gly Asp Tyr Arg Ala Tyr Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
115 120 125

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser
130 135 140

Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser
145 150 155 160

Gln Asn Val Arg Thr Ala Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys
165 170 175

Ala Pro Lys Ala Leu Ile Tyr Leu Ala Ser Asn Arg His Thr Gly Val
180 185 190

Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
195 200 205

Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln
210 215 220

His Trp Asn Tyr Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile
225 230 235 240

Lys

<210> 179
<211> 241
<212> Белок
<213> Искусственный

<220>
<223> #5 VH2-15-VL1

<400> 179

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Gly Tyr
20 25 30

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

Lys

<210> 180
 <211> 241
 <212> Белок
 <213> Искусственный

<220>
 <223> #5 VH3-15-VL1

<400> 180

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Gly Tyr
20 25 30

Asn Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Asn Ile Asp Pro Tyr Tyr Gly Gly Thr Ser Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60

Lys Gly Arg Val Thr Leu Thr Val Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Arg Ser Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Gly Asp Tyr Arg Ala Tyr Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
115 120 125

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser
130 135 140

Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser
145 150 155 160

Gln Asn Val Arg Thr Ala Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys
165 170 175

Ala Pro Lys Ala Leu Ile Tyr Leu Ala Ser Asn Arg His Thr Gly Val
180 185 190

Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
195 200 205

Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln
210 215 220

His Trp Asn Tyr Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile
225 230 235 240

Lys

<210> 181
<211> 245
<212> Белок
<213> Искусственный

<220>
<223> #6 VH1-15-VL1

<400> 181

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ala Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Asp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ala Tyr Ile Ser Ser Gly Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Pro Asp Thr Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Arg Gly Leu Arg Arg Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Met Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
115 120 125

Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu
130 135 140

Pro Val Thr Pro Gly Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln
145 150 155 160

Ser Leu Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Leu Gln
165 170 175

Lys Pro Gly Gln Ser Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg
180 185 190

Phe Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp
195 200 205

Phe Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr
210 215 220

Tyr Cys Ser Gln Ser Thr His Val Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr
225 230 235 240

Lys Val Glu Ile Lys
245

<210> 182
<211> 245
<212> Белок
<213> Искусственный

<220>
<223> #6 VH1-15-VL2

<400> 182

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ala Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Asp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ala Tyr Ile Ser Ser Gly Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Pro Asp Thr Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Arg Gly Leu Arg Arg Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Met Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
115 120 125

Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu
130 135 140

Pro Val Thr Pro Gly Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln
145 150 155 160

Ser Leu Val His Ser Ser Gly Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Leu Gln
165 170 175

Lys Pro Gly Gln Ser Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg
180 185 190

Phe Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp
195 200 205

Phe Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr
210 215 220

Tyr Cys Ser Gln Ser Thr His Val Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr
225 230 235 240

Lys Val Glu Ile Lys
245

<210> 183
<211> 245
<212> Белок
<213> Искусственный

<220>
<223> #6 VH2-15-VL1

<400> 183

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ala Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Asp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Arg Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ala Tyr Ile Ser Ser Gly Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Pro Asp Thr Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Arg Gly Leu Arg Arg Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Met Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
115 120 125

Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu
130 135 140

Pro Val Thr Pro Gly Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln
145 150 155 160

Ser Leu Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Leu Gln
165 170 175

Lys Pro Gly Gln Ser Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg
180 185 190

Phe Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp
195 200 205

Phe Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr
210 215 220

Tyr Cys Ser Gln Ser Thr His Val Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr
225 230 235 240

Lys Val Glu Ile Lys
245

<210> 184
<211> 245
<212> Белок
<213> Искусственный

<220>
<223> #6 VH2-15-VL2

<400> 184

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ala Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Asp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Arg Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ala Tyr Ile Ser Ser Gly Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Pro Asp Thr Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Arg Gly Leu Arg Arg Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Met Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
115 120 125

Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu
130 135 140

Pro Val Thr Pro Gly Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln
145 150 155 160

Ser Leu Val His Ser Ser Gly Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Leu Gln
165 170 175

Lys Pro Gly Gln Ser Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg
180 185 190

Phe Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp
195 200 205

Phe Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr
210 215 220

Tyr Cys Ser Gln Ser Thr His Val Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr
225 230 235 240

Lys Val Glu Ile Lys
245

<210> 185
<211> 283
<212> Белок
<213> Искусственный

<220>
<223> hCD8-hCD28-h4-1BB-hCD3

<400> 185

Phe Val Pro Val Phe Leu Pro Ala Lys Pro Thr Thr Thr Pro Ala Pro
1 5 10 15

Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu
20 25 30

Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg
35 40 45

Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly
50 55 60

Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys Asn
65 70 75 80

His Arg Asn Arg Ser Lys Arg Ser Arg Leu Leu His Ser Asp Tyr Met
85 90 95

Asn Met Thr Pro Arg Arg Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro
100 105 110

Tyr Ala Pro Pro Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Ser Arg Phe Ser Val
115 120 125

Val Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe
130 135 140

Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg
145 150 155 160

Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser
165 170 175

Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr
180 185 190

Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys
195 200 205

Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn
210 215 220

Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu
225 230 235 240

Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly
245 250 255

His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr
260 265 270

Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
275 280

<210> 186

<211> 277

<212> Белок

<213> Искусственный

<220>

<223> hCD8-hCD28-h4-1BB-hCD3

<400> 186

Phe Val Pro Val Phe Leu Pro Ala Lys Pro Thr Thr Thr Pro Ala Pro
1 5 10 15

Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu
20 25 30

Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg
35 40 45

Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly
50 55 60

Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Arg Ser Lys
65 70 75 80

Arg Ser Arg Leu Leu His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro Arg Arg
85 90 95

Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro Pro Arg Asp
100 105 110

Phe Ala Ala Tyr Arg Ser Arg Phe Ser Val Val Lys Arg Gly Arg Lys
115 120 125

Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr
130 135 140

Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu
145 150 155 160

Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro
165 170 175

Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly
180 185 190

Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro
195 200 205

Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr
210 215 220

Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly
225 230 235 240

Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln
245 250 255

Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln
260 265 270

Ala Leu Pro Pro Arg
275

<210> 187
<211> 276
<212> Белок
<213> Искусственный

<220>
<223> hCD8-hCD28-h4-1BB-hCD3

<400> 187

Phe Val Pro Val Phe Leu Pro Ala Lys Pro Thr Thr Thr Pro Ala Pro
1 5 10 15

Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu
20 25 30

Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg
35 40 45

Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly
50 55 60

Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Arg Ser Lys Arg
65 70 75 80

Ser Arg Leu Leu His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro Arg Arg Pro
85 90 95

Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro Pro Arg Asp Phe
100 105 110

Ala Ala Tyr Arg Ser Arg Phe Ser Val Val Lys Arg Gly Arg Lys Lys
115 120 125

Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr
130 135 140

Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly
145 150 155 160

Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala
165 170 175

Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg
180 185 190

Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu
195 200 205

Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn
210 215 220

Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met
225 230 235 240

Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly
245 250 255

Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala
260 265 270

Leu Pro Pro Arg
275

<210> 188
<211> 19
<212> Белок
<213> Homo sapiens

<400> 188

Met Asp Trp Thr Trp Arg Ile Leu Phe Leu Val Ala Ala Ala Thr Gly
1 5 10 15

Ala His Ser

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Антитело, специфически связывающееся с GPC3 (глипикан-3)-полученным полипептидом человека, состоящее из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:155, где антитело

(1-1) содержит область, определяющую комплементарность (CDR)1 тяжелой цепи, состоящую из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:1, CDR2 тяжелой цепи, состоящую из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:2, и CDR3 тяжелой цепи, состоящую из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:3, и

CDR1 легкой цепи, состоящую из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:4, CDR2 легкой цепи, состоящую из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:5, и CDR3 легкой цепи, состоящую из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:6; или

(2-1) содержит CDR1 тяжелой цепи, состоящую из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:11, CDR2 тяжелой цепи, состоящую из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:12, и CDR3 тяжелой цепи, состоящую из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:13, и

CDR1 легкой цепи, состоящую из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:14, CDR2 легкой цепи, состоящую из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:15, и CDR3 легкой цепи, состоящую из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:16; или

(3-1) содержит CDR1 тяжелой цепи, состоящую из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:21, CDR2 тяжелой цепи, состоящую из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:22, и CDR3 тяжелой цепи, состоящую из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:23, и

CDR1 легкой цепи, состоящую из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:24, CDR2 легкой цепи, состоящую из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:25, и CDR3 легкой цепи, состоящую из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:26; или

(4-1) содержит CDR1 тяжелой цепи, состоящую из

NO:102, и CDR3 тяжелой цепи, состоящую из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:103, и

CDR1 легкой цепи, состоящую из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:104, CDR2 легкой цепи, состоящую из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:105, и CDR3 легкой цепи, состоящую из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:106.

2. Антитело по п.1, где антитело

(1-2) содержит переменную область тяжелой цепи, состоящую из аминокислотной последовательности, которая по меньшей мере на 80% или больше идентична по последовательности аминокислотной последовательности SEQ ID NO:7, и переменную область легкой цепи, состоящую из аминокислотной последовательности, которая по меньшей мере на 80% или больше идентична по последовательности аминокислотной последовательности SEQ ID NO:8; или

(2-2) содержит переменную область тяжелой цепи, состоящую из аминокислотной последовательности, которая по меньшей мере на 80% или больше идентична по последовательности аминокислотной последовательности SEQ ID NO:17, и переменную область легкой цепи, состоящую из аминокислотной последовательности, которая по меньшей мере на 80% или больше идентична по последовательности аминокислотной последовательности SEQ ID NO:18; или

(3-2) содержит переменную область тяжелой цепи, состоящую из аминокислотной последовательности, которая по меньшей мере на 80% или больше идентична по последовательности аминокислотной последовательности SEQ ID NO:27, и переменную область легкой цепи, состоящую из аминокислотной последовательности, которая по меньшей мере на 80% или больше идентична по последовательности аминокислотной последовательности SEQ ID NO:28; или

(4-2) содержит переменную область тяжелой цепи, состоящую из аминокислотной последовательности, которая по меньшей мере на 80% или больше идентична по последовательности аминокислотной последовательности SEQ ID NO:37, и переменную область легкой цепи, состоящую из аминокислотной последовательности, которая по меньшей мере на 80% или больше идентична по последовательности аминокислотной последовательности SEQ ID NO:38; или

состоящую из аминокислотной последовательности, которая по меньшей мере на 80% или больше идентична по последовательности аминокислотной последовательности SEQ ID NO:97, и переменную область легкой цепи, состоящую из аминокислотной последовательности, которая по меньшей мере на 80% или больше идентична по последовательности аминокислотной последовательности SEQ ID NO:98; или

(11-2) содержит переменную область тяжелой цепи, состоящую из аминокислотной последовательности, которая по меньшей мере на 80% или больше идентична по последовательности аминокислотной последовательности SEQ ID NO:107, и переменную область легкой цепи, состоящую из аминокислотной последовательности, которая по меньшей мере на 80% или больше идентична по последовательности аминокислотной последовательности SEQ ID NO:108.

3. Антитело по п.1 или 2, где антитело является одноцепочечным антителом.

4. Антитело по п.3, где одноцепочечное антитело

(1-3) содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80% или больше идентична по последовательности аминокислотной последовательности SEQ ID NO:165; или

(2-3) содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80% или больше идентична по последовательности аминокислотной последовательности SEQ ID NO:166; или

(3-3) содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80% или больше идентична по последовательности аминокислотной последовательности SEQ ID NO:167; или

(4-3) содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80% или больше идентична по последовательности аминокислотной последовательности SEQ ID NO:168; или

(5-3) содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80% или больше идентична по

последовательности аминокислотной последовательности SEQ ID NO:169; или

(6-3) содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80% или больше идентична по последовательности аминокислотной последовательности SEQ ID NO:170; или

(7-3) содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80% или больше идентична по последовательности аминокислотной последовательности SEQ ID NO:171; или

(8-3) содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80% или больше идентична по последовательности аминокислотной последовательности SEQ ID NO:172; или

(9-3) содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80% или больше идентична по последовательности аминокислотной последовательности SEQ ID NO:173; или

(10-3) содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80% или больше идентична по последовательности аминокислотной последовательности SEQ ID NO:174; или

(11-3) содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80% или больше идентична по последовательности аминокислотной последовательности SEQ ID NO:175.

5. Антитело по п.3, где одноцепочечное антитело

(1-3'-1) содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80% или больше идентична по последовательности аминокислотной последовательности SEQ ID NO:178; или

(1-3'-2) содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80% или больше идентична по последовательности аминокислотной последовательности SEQ ID NO:179; или

(1-3'-3) содержит аминокислотную последовательность,

которая по меньшей мере на 80% или больше идентична по последовательности аминокислотной последовательности SEQ ID NO:180; или

(2-3'-1) содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80% или больше идентична по последовательности аминокислотной последовательности SEQ ID NO:181; или

(2-3'-2) содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80% или больше идентична по последовательности аминокислотной последовательности SEQ ID NO:182; или

(2-3'-3) содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80% или больше идентична по последовательности аминокислотной последовательности SEQ ID NO:183; или

(2-3'-4) содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80% или больше идентична по последовательности аминокислотной последовательности SEQ ID NO:184.

6. Антитело по п.1 или 2, где антитело

(1-4) содержит тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, которая по меньшей мере на 80% или больше идентична по последовательности аминокислотной последовательности SEQ ID NO:9, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, которая по меньшей мере на 80% или больше идентична по последовательности аминокислотной последовательности SEQ ID NO:10; или

(2-4) содержит тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, которая по меньшей мере на 80% или больше идентична по последовательности аминокислотной последовательности SEQ ID NO:19, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, которая по меньшей мере на 80% или больше идентична по последовательности аминокислотной последовательности SEQ ID NO:20; или

(3-4) содержит тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, которая по меньшей мере на 80% или больше

последовательности SEQ ID NO:79, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, которая по меньшей мере на 80% или больше идентична по последовательности аминокислотной последовательности SEQ ID NO:80; или

(9-4) содержит тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, которая по меньшей мере на 80% или больше идентична по последовательности аминокислотной последовательности SEQ ID NO:89, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, которая по меньшей мере на 80% или больше идентична по последовательности аминокислотной последовательности SEQ ID NO:90; или

(10-4) содержит тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, которая по меньшей мере на 80% или больше идентична по последовательности аминокислотной последовательности SEQ ID NO:99, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, которая по меньшей мере на 80% или больше идентична по последовательности аминокислотной последовательности SEQ ID NO:100; или

(11-4) содержит тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, которая по меньшей мере на 80% или больше идентична по последовательности аминокислотной последовательности SEQ ID NO:109, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, которая по меньшей мере на 80% или больше идентична по последовательности аминокислотной последовательности SEQ ID NO:110.

7. Химерный антигенный рецептор (CAR), содержащий антитело по любому из пп.3-5, трансмембранную область, слитую с карбоксильным концом антитела, и область активации сигнальной трансдукции иммунокомпетентной клетки, слитую с карбоксильным концом трансмембранной области.

8. CAR по п.7, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO:185-187.

9. Иммунокомпетентная клетка, экспрессирующая CAR по п.7 или 8.

10. Иммунокомпетентная клетка по п.9, также экспрессирующая интерлейкин 7 (IL-7) и лиганд хемокина 19 (CCL19).

11. Ген антитела, кодирующий антитело по любому из пп.1-6, или ген CAR, кодирующий CAR по п.7 или 8.

12. Ген антитела, кодирующий антитело по любому из пп.1-4 и 6.

13. Вектор, содержащий промотор, и ген антитела по п.11 или ген CAR, кодирующий CAR по п.11, функционально связанный с промотором, расположенному ниже в сигнальном пути.

14. Вектор, содержащий промотор, и ген антитела по п.12, функционально связанный с промотором, расположенным ниже в сигнальном пути.

15. Клетка-хозяин, в которую введен вектор по п.13 или 14.

16. Способ детекции GPC3 (глипикан-3), включающий стадию детекции GPC3, используя антитело по любому из пп.1-6.

17. Набор для детекции GPC3 (глипикан-3), содержащий антитело по любому из пп.1-6, или ее меченный вариант.

По доверенности

СЕРИИ А

НАЗВАНИЕ ЦИКЛА	АНТИГЕН/ОСНОВА	СТАДИЯ С КОНКУРЕНЦИЕЙ
a1st	РЕКОМБИНАТНО-СВЯЗАННЫЕ БУСЫ	КОНКУРЕНЦИЯ С G33 & G199
a2nd	РЕКОМБИНАТНО-СВЯЗАННЫЕ БУСЫ	КОНКУРЕНЦИЯ С G33 & G199
a3rd	РЕКОМБИНАТНО-СВЯЗАННЫЕ БУСЫ	КОНКУРЕНЦИЯ С G33 & G199
a4th	ГРС3-ЭКСПРЕССИРУЮЩАЯ КЛЕТКА	КОНКУРЕНЦИЯ С G33 & G199
a5th (ТОЛЬКО ДЛЯ 03)	ГРС3-ЭКСПРЕССИРУЮЩАЯ КЛЕТКА	БЕЗ КОНКУРЕНЦИИ

СЕРИИ В

НАЗВАНИЕ ЦИКЛА	АНТИГЕН/ОСНОВА	СТАДИЯ С КОНКУРЕНЦИЕЙ
b3rd	ГРС3-ЭКСПРЕССИРУЮЩАЯ КЛЕТКА	КОНКУРЕНЦИЯ С G33 & G199

СЕРИИ Е

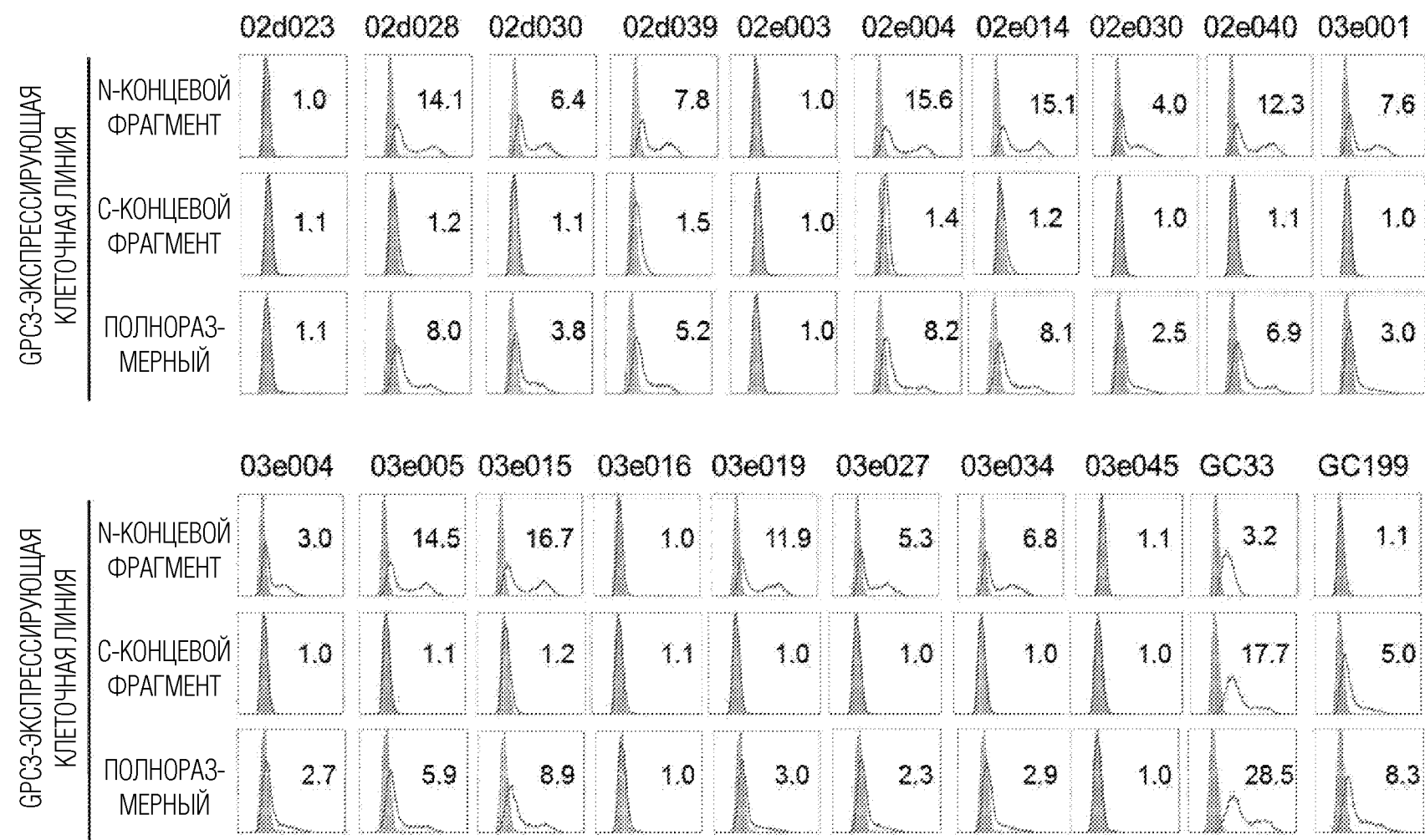
НАЗВАНИЕ ЦИКЛА	АНТИГЕН/ОСНОВА	СТАДИЯ С КОНКУРЕНЦИЕЙ
e4th	РЕКОМБИНАТНО-СВЯЗАННЫЕ БУСЫ	БЕЗ КОНКУРЕНЦИИ

СЕРИИ С

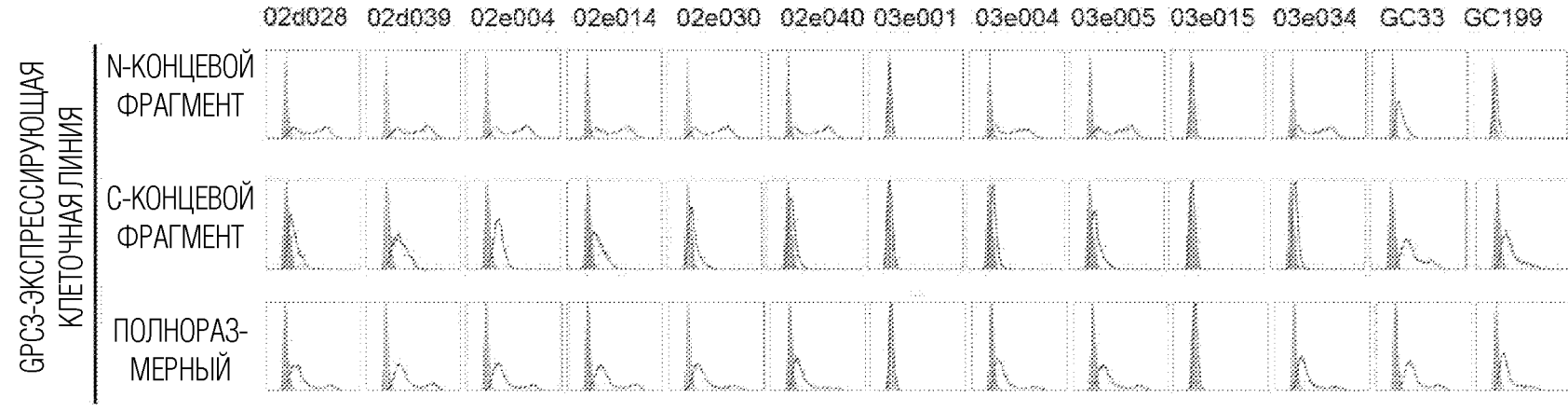
НАЗВАНИЕ ЦИКЛА	АНТИГЕН/ОСНОВА	СТАДИЯ С КОНКУРЕНЦИЕЙ
c1st	ГРС3-ЭКСПРЕССИРУЮЩАЯ КЛЕТКА	БЕЗ КОНКУРЕНЦИИ
c2nd	ГРС3-ЭКСПРЕССИРУЮЩАЯ КЛЕТКА	БЕЗ КОНКУРЕНЦИИ
c3rd	РЕКОМБИНАТНО-СВЯЗАННЫЕ БУСЫ	БЕЗ КОНКУРЕНЦИИ
c4th	РЕКОМБИНАТНО-СВЯЗАННЫЕ БУСЫ	БЕЗ КОНКУРЕНЦИИ

СЕРИИ D

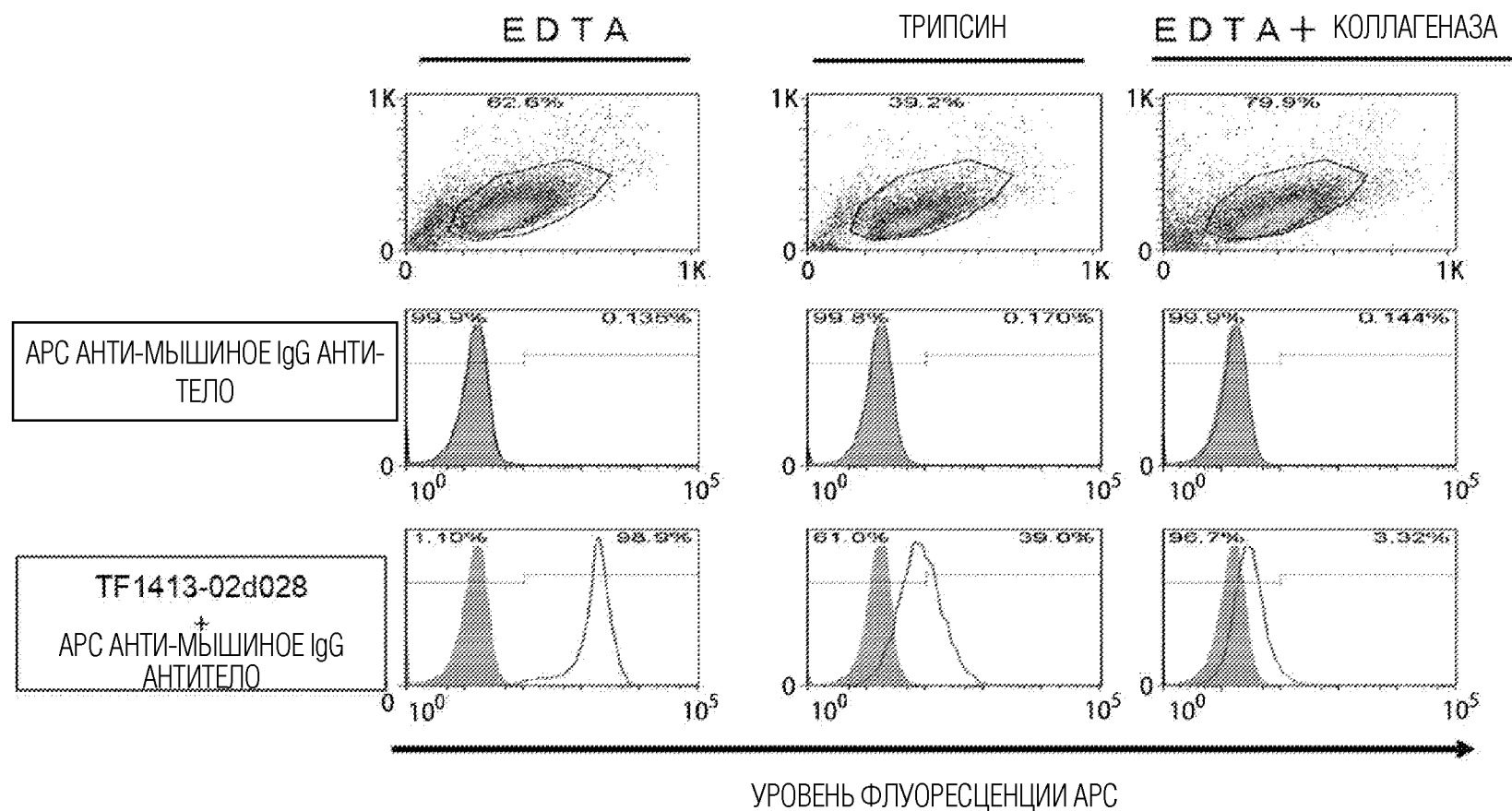
НАЗВАНИЕ ЦИКЛА	АНТИГЕН/ОСНОВА	СТАДИЯ С КОНКУРЕНЦИЕЙ
d1st	РЕКОМБИНАТНО-СВЯЗАННЫЕ БУСЫ	БЕЗ КОНКУРЕНЦИИ
d2nd	РЕКОМБИНАТНО-СВЯЗАННЫЕ БУСЫ	БЕЗ КОНКУРЕНЦИИ
d3rd	РЕКОМБИНАТНО-СВЯЗАННЫЕ БУСЫ	БЕЗ КОНКУРЕНЦИИ
d4th	ГРС3-ЭКСПРЕССИРУЮЩАЯ КЛЕТКА	БЕЗ КОНКУРЕНЦИИ
d5th	ГРС3-ЭКСПРЕССИРУЮЩАЯ КЛЕТКА	БЕЗ КОНКУРЕНЦИИ

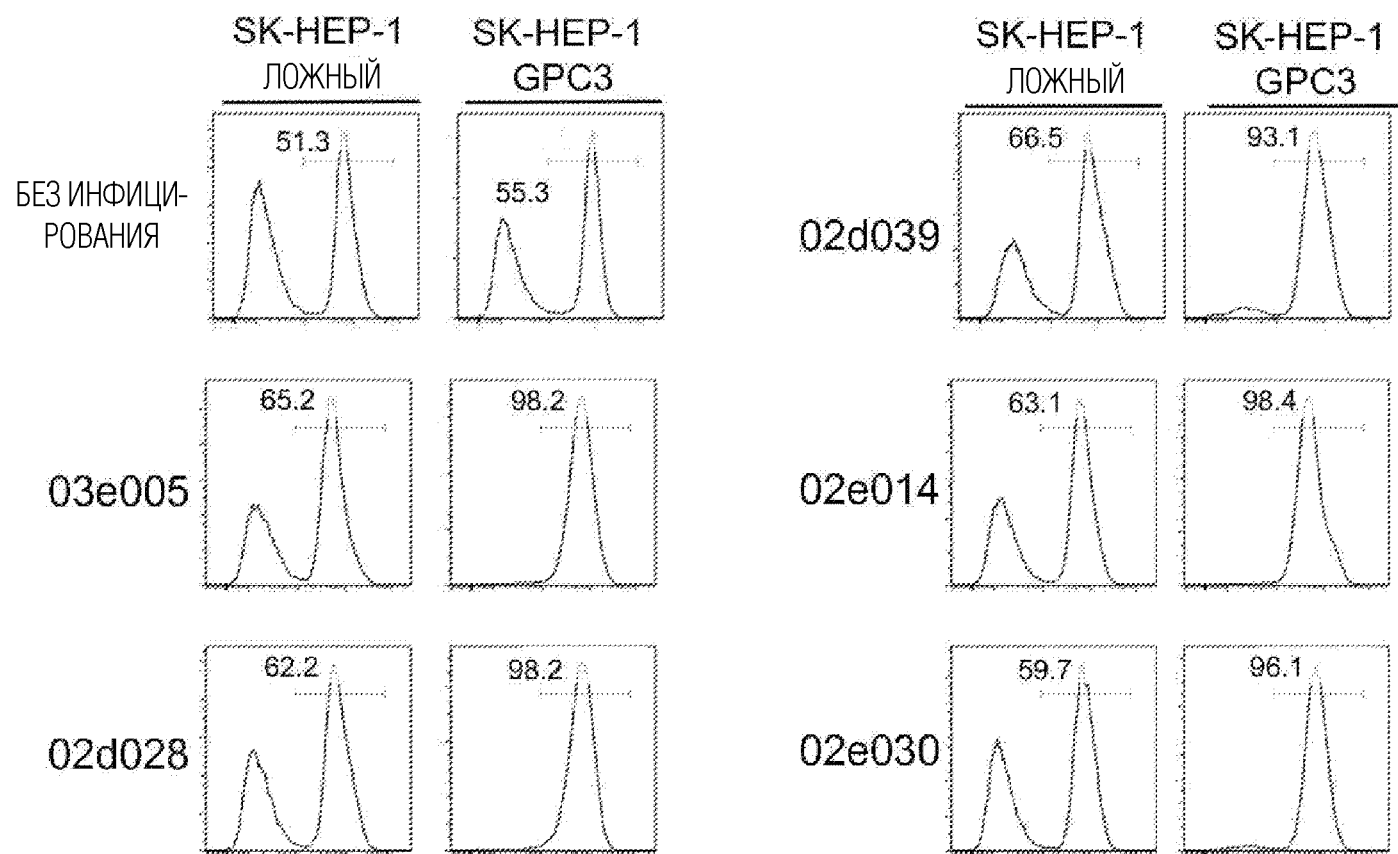


ФИГ. 2



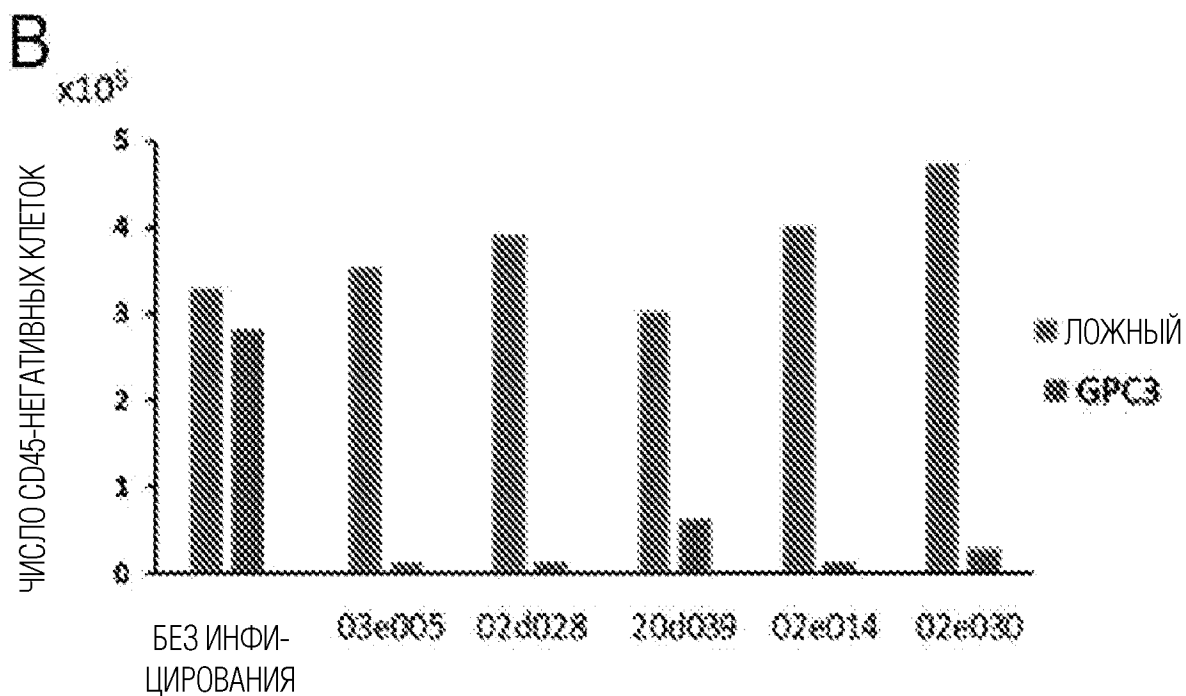
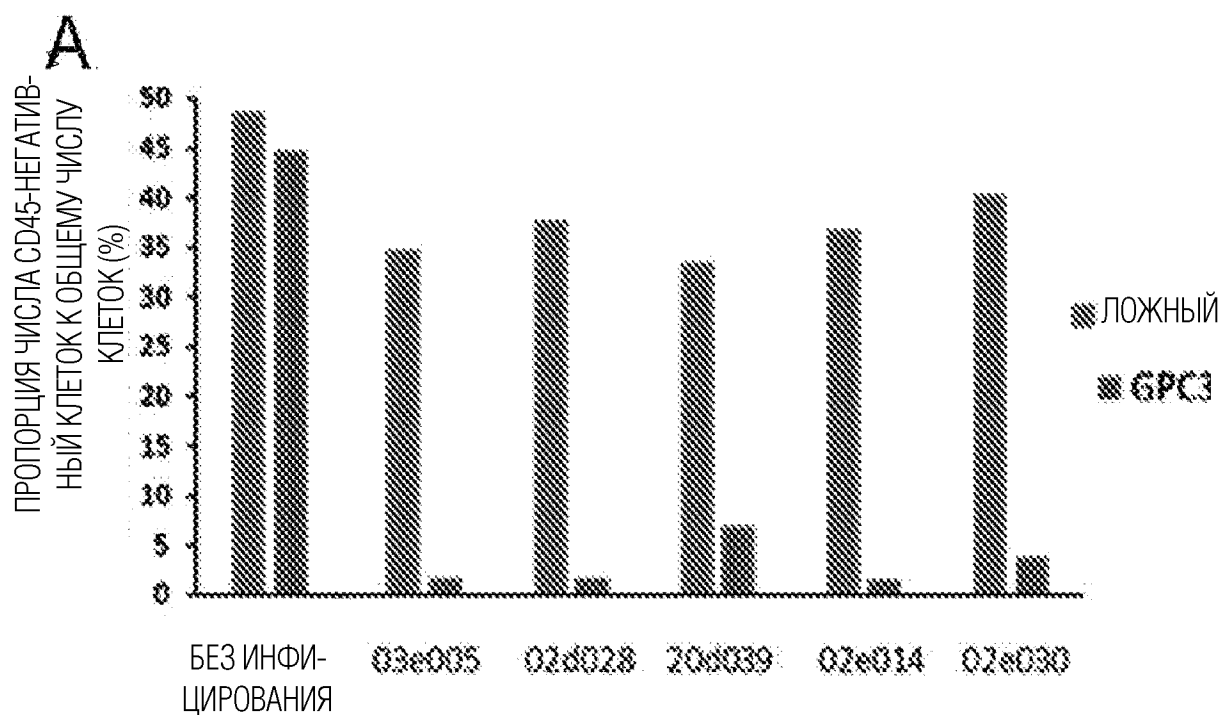
ФИГ. 3

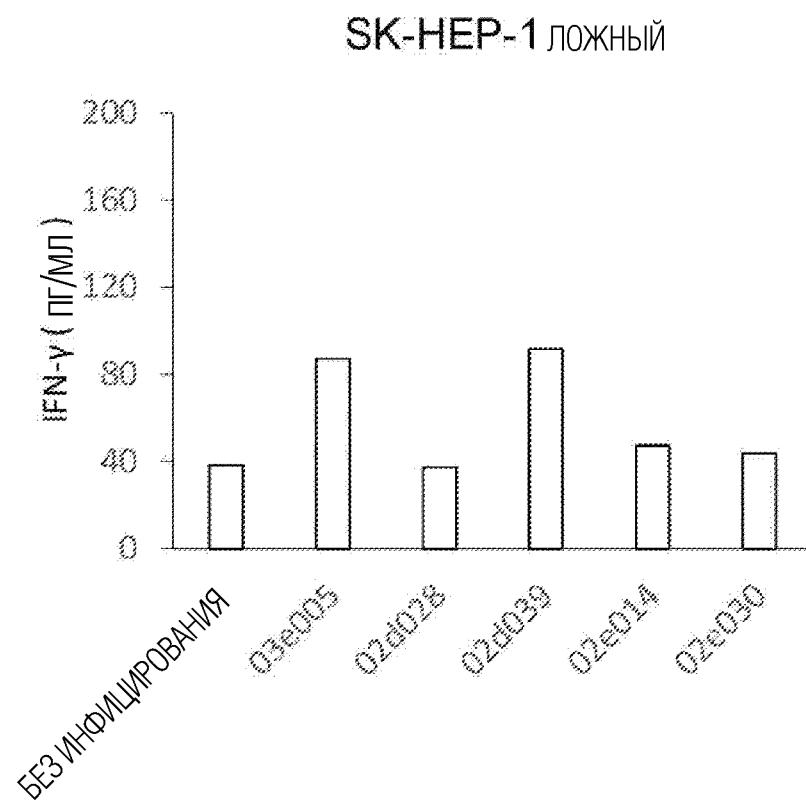
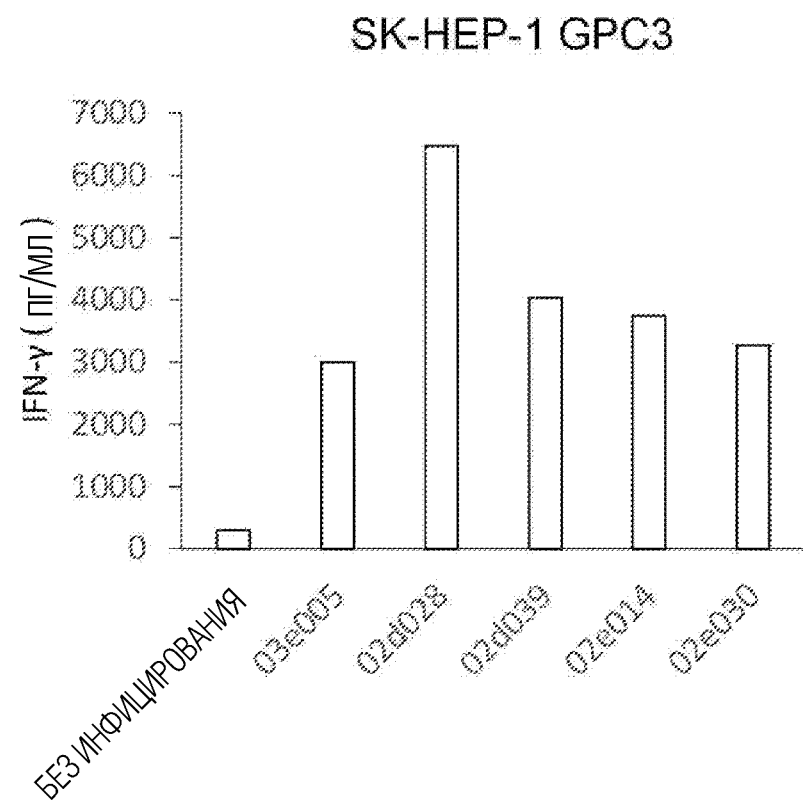




ФИГ. 5

ФИГ. 6





ФИГ. 7