



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2018-0057720
(43) 공개일자 2018년05월30일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07K 16/28 (2006.01)
(52) CPC특허분류
C07K 16/2803 (2013.01)
C07K 16/283 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2018-7013310
(22) 출원일자(국제) 2016년10월13일
심사청구일자 없음
(85) 번역문제출일자 2017년05월10일
(86) 국제출원번호 PCT/EP2016/074642
(87) 국제공개번호 WO 2017/064221
국제공개일자 2017년04월20일
(30) 우선권주장
15189665.1 2015년10월13일
유럽특허청(EPO)(EP)

(71) 출원인
아피메트 게엠베하
독일 69120 하이델베르크 임 노이엔하이머 펠트 582
(72) 발명자
엘방거 크리스티나
독일 69120 하이델베르크 훔볼츠슈트라세 24
푸체크 이피카
독일 60489 프랑크푸르트/마인 첸트마크베크 13
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
리엔목특허법인

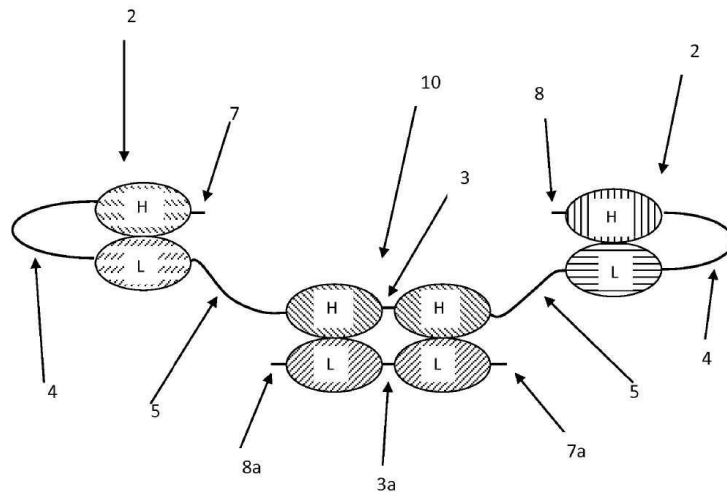
전체 청구항 수 : 총 25 항

(54) 발명의 명칭 다가 Fv 항체

(57) 요약

서로 연결된 여섯 개 이상의 가변 도메인을 포함하는 폴리펩티드 사슬로 통합된 이중항체-유닛을 포함하는 삼중 특이적 항체 분자가 기술된다. 특정 예에서, 두 개의 단쇄 Fv(scFv) 단편이 두 개의 추가 항원 결합 부위를 제공하는 상기 이중항체 유닛과 원위적으로 연결된다.

대표도 - 도2



(52) CPC특허분류

C07K 16/2878 (2013.01)
C07K 2317/31 (2013.01)
C07K 2317/35 (2013.01)
C07K 2317/56 (2013.01)
C07K 2317/62 (2013.01)
C07K 2317/622 (2013.01)
C07K 2317/626 (2013.01)

(72) 발명자

로스 토르슈텐

독일 68535 에딩겐-네카르하우젠 하웁트슈트라세
77

뮐러 토마스

독일 68723 플랑크슈타트 슈베르트슈트라세 1

라이코피크 에리히

독일 69198 슈리스하임 디알.-헤르만-브룬-슈트라
세 12

로이슈 우베

독일 67487 마이카머 디테르비젠스트르. 13

트레더 마르틴

독일 69120 하이델베르크 파노라마슈트라세 40

바이헬 미하엘

독일 65474 비쇼프스하임 마인처 슈트라세 32

명세서

청구범위

청구항 1

두 쌍의 가변 도메인으로 이루어진 이중항체-유닛(diabody-unit)을 포함하는 다가(multivalent) Fv 항체로서, 상기 하나의 쌍은 하나의 폴리펩티드에서 서로 연결된 가변 경쇄 도메인의 쌍 (V_L-V_L)이고, 다른 하나의 쌍은 하나의 폴리펩티드에서 서로 연결된 가변 중쇄 도메인의 쌍 (V_H-V_H)이고,

상기 V_L-V_L 쌍 및 V_H-V_H 쌍은 결합(associate)되어 두 개의 항원 결합 부위를 이루고, 하나 이상의 가변 도메인 쌍은 네 개 이상의 가변 도메인을 포함하는 폴리펩티드에서 두 개 이상의 추가 가변 도메인에 연결된 것이고,

상기 폴리펩티드에서 상기 추가 가변 도메인 중 하나는 상기 가변 도메인 쌍에 대해 N-말단에 위치하고, 다른 추가 가변 도메인은 상기 가변 도메인 쌍에 대해 C-말단에 위치하는 것인 다가 Fv 항체.

청구항 2

청구항 1에 있어서, 상기 Fv 항체는 4가 (tetravalent) 이상인 것인 다가 Fv 항체.

청구항 3

청구항 2에 있어서, 상기 이중항체-유닛의 V_L-V_L 쌍 및 V_H-V_H 쌍은 결합하여 두 개의 항원 결합 부위를 이루고, 상기 추가로 N-말단에 위치한 가변 도메인은 상응하는 가변 도메인과 결합하여 제3 항원 결합 부위를 이루고, 상기 C-말단에 위치한 가변 도메인은 상응하는 가변 도메인과 결합하여 제4 항원 결합 부위를 이루는 것인 다가 Fv 항체.

청구항 4

청구항 2에 있어서, 서로 연결된 여섯 개 이상의 가변 도메인을 갖는 폴리펩티드를 포함하는 것으로서, 상기 이중항체-유닛의 가변 도메인 쌍(1, 1c, 10, 10a)은 상기 폴리펩티드에 통합되는 것인 다가 Fv 항체.

청구항 5

청구항 1 내지 4 중 어느 한 항에 있어서, 상기 가변 도메인 V_L-V_L 쌍 및 가변 도메인 V_H-V_H 쌍에서 두 가변 도메인은 12 개 이하의 아미노산 잔기로 이루어진 펩티드 링커 (3, 3a)로 연결되는 것인 다가 Fv 항체.

청구항 6

청구항 1 내지 5 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항체는 7가 (heptavalent) 또는 6가 (hexavalent)인 것인 다가 Fv 항체.

청구항 7

청구항 1 내지 6 중 어느 한 항에 있어서, 상기 여섯 개 이상의 가변 도메인을 갖는 폴리펩티드에서 상기 이중항체-유닛의 두 개의 가변 도메인 쌍은 상기 폴리펩티드의 다른 두 개의 가변 도메인 쌍과 결합된 것인 다가 Fv 항체 분자.

청구항 8

청구항 1 내지 7 중 어느 한 항에 있어서, 상기 폴리펩티드에서 상기 이중항체-유닛의 가변 도메인 쌍은 다른 폴리펩티드의 다른 가변 도메인 쌍에 비-공유적으로 결합된 것인 다가 Fv 항체 분자.

청구항 9

청구항 8에 있어서, 상기 다른 폴리펩티드는 두 개 이상의 가변 도메인을 포함하는 것인 다가 Fv 항체 분자.

청구항 10

청구항 1 내지 9 중 어느 한 항에 있어서, 상기 6 개 이상의 가변 도메인을 갖는 폴리펩티드는 이의 N-말단에 scFv-유닛 및 이의 C-말단에 scFv-유닛을 포함하는 것인 다가 Fv 항체 분자.

청구항 11

청구항 1 내지 9 중 어느 한 항에 있어서, 상기 여섯 개 이상의 가변 도메인을 갖는 폴리펩티드는 이의 N-말단에 단쇄 이중항체-유닛 및 이의 C-말단에 단쇄 이중항체-유닛을 포함하는 것인 다가 Fv 항체 분자.

청구항 12

청구항 10에 있어서, 상기 Fv 항체 분자는 단일 폴리펩티드로 이루어진 것인 다가 Fv 항체 분자.

청구항 13

청구항 11에 있어서, 상기 Fv 항체 분자는 열 개의 가변 도메인을 포함하는 제1 폴리펩티드 및 두 개의 가변 도메인을 포함하는 제2 폴리펩티드로 이루어지고, 상기 제1 폴리펩티드는 N-말단에 단쇄 이중항체 유닛 및 C-말단에 단쇄 이중항체 유닛을 포함하고, 상기 제2 폴리펩티드는 상기 제1 폴리펩티드와 결합되어 이중항체 유닛을 이루는 것인 다가 Fv 항체 분자.

청구항 14

청구항 8 또는 9에 있어서, 상기 폴리펩티드는 N-말단에서 C-말단으로 서로 연결된 여섯 개의 가변 도메인, 상기 N-말단에서 scFv-유닛을 형성하는 제1 및 제2 가변 도메인을 갖고, 상기 N-말단의 scFv-유닛은 C-말단이 제3 가변 도메인에 연결되고, 상기 제3 가변 도메인은 12 개 이하의 잔기로 이루어진 펩티드 링커에 의해서 제4 가변 도메인에 연결되고, 상기 제4 가변 도메인은 C-말단이 상기 C-말단의 scFv-유닛에 연결되고, 상기 scFv-유닛은 제5 및 제6 가변 도메인에 의해서 형성된 것인 다가 Fv 항체 분자.

청구항 15

청구항 7에 있어서, 상기 폴리펩티드는 N-말단에서 C-말단으로 서로 연결된 여덟 개의 가변 도메인, 상기 N-말단에서 scFv-유닛을 형성하는 제1 및 제2 가변 도메인을 갖고, 상기 N-말단의 scFv-유닛은 C-말단이 제3 가변 도메인에 연결되고, 상기 제3 가변 도메인은 12 개 이하의 아미노산 잔기로 이루어진 펩티드 링커에 의해 제4 가변 도메인에 연결되고, 상기 제4 가변 도메인은 C-말단이 제5 가변 도메인에 연결되고, 상기 제5 가변 도메인은 C-말단이 12 개 이하의 아미노산 잔기로 이루어진 링커에 의해서 제6 가변 도메인에 연결되고, 상기 제6 가변 도메인은 C-말단이 상기 C-말단의 scFv-유닛에 연결되고, 상기 scFv-유닛은 제7 및 제8 가변 도메인에 의해서 형성되는 것인 다가 Fv 항체 분자.

청구항 16

청구항 1에 있어서, 상기 경쇄 도메인의 쌍 (V_L-V_L)은 네 개 이상의 가변 도메인을 포함하는 제1 폴리펩티드에서 N-말단이 다른 가변 도메인으로 및 C-말단이 다른 가변 도메인으로 연결되고, 상기 가변 중쇄 도메인의 쌍 (V_H-V_H)은 네 개 이상의 가변 도메인을 포함하는 제2 폴리펩티드에서 N-말단이 다른 가변 도메인으로 및 C-말단이 다른 가변 도메인으로 연결되는 것인 다가 Fv 항체 분자.

청구항 17

청구항 16에 있어서, 상기 제1 및 제2 폴리펩티드는 여섯 개의 가변 도메인을 포함하고, 상기 각각의 폴리펩티드는 C-말단 또는 N-말단에 scFv 유닛을 포함하는 것인 다가 Fv 항체.

청구항 18

청구항 1 내지 17 중 어느 한 항에 있어서, 상기 이중항체-유닛에서 상기 가변 도메인은 동일한 에피토프 특이성 또는 상이한 에피토프 특이성을 갖는 것인 다가 Fv 항체 분자.

청구항 19

청구항 1 내지 18 중 어느 한 항에 있어서, 상기 Fv 항체 분자는 면역 효과자 세포 상에 존재하는 항원에 대해서 특이성을 갖는 것인 다가 Fv 항체 분자.

청구항 20

청구항 19에 있어서, 상기 Fv 항체는 동일 종류의 면역 효과자 세포에 특이성을 갖는 두 개의 항원 결합 부위를 포함하는 것인 다가 Fv 항체 분자.

청구항 21

청구항 1 내지 20 중 어느 한 항에 있어서, 상기 Fv 항체는 종양 항원에 대해 하나 이상의 특이성을 포함하는 것인 다가 Fv 항체 분자.

청구항 22

청구항 21에 있어서, 상기 Fv 항체는 두 개의 종양 항원에 특이성을 포함하는 것인 다가 Fv 항체 분자.

청구항 23

청구항 19 내지 22 중 어느 한 항에 있어서, 상기 Fv 항체는 바이러스 항원에 대해 하나 이상의 특이성을 포함하는 것인 다가 Fv 항체 분자.

청구항 24

청구항 7에 있어서, 상기 6 개 이상의 가변 도메인을 갖는 폴리펩티드는 6 개 이상의 가변 도메인을 갖는 다른 폴리펩티드와 결합되는 것인 다가 Fv 항체 분자.

청구항 25

약제로서 사용하기 위한 청구항 1 내지 24 중 어느 한 항에 따른 다가 Fv 항체 분자.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 다가 및 다중 특이적 Fv-항체 유도체, 구체적으로 이중항체-유닛을 포함하는 Fv 항체 분자에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 이중 특이적 항체는 두 개의 상이한 치료적 표적과 관계(engage)되거나 또는 두 가지 별개의 기능을 수행하는데 사용되어 왔다. 그러한 항체는 예를 들어 특정 표적 세포로 면역 효과자 세포, 예를 들어 T- 또는 NK-세포를 모집하는데 사용될 수 있다. 분자에 기반된 다양한 항체-단편이 알려져 있고, 예를 들어 암 치료에서 연구 중에 있다.

[0003] 이중 특이적 항체는 항체 가변 도메인만을 이용하여 구축될 수 있다. 예를 들어, V_H 및 V_L 도메인 사이의 링커 서열은 분자 내 방식으로 접히거나 쌍을 이루어 결합할 수 없는 정도로 단축될 수 있다. 예를 들어 2 내지 12 개 잔기의 그러한 짧은 링커는 상기 단량체적 단쇄 가변 단편 (scFv) 분자의 형성을 방지하고 이량체적 (dimeric) "이중항체(diabody)"를 형성하는 상이한 폴리펩티드 사슬의 상보적 가변 도메인 간의 분자 간 V_H/V_L 페어링(pairing)을 유리하게 한다 (Holliger et al., 1993, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90, 6444-6448). 그러한 이중항체는 이중 특이적 항체를 구축하는데 사용될 수 있고, 이는 각각 짧은 링커에 의해서 다른 항체의 V_L 도메인에 연결된 하나의 항체로부터의 V_H 도메인으로 이루어진 (또는 그 반대) 2 개의 단쇄 폴리펩티드 융합 생성물의 비-공유적 결합에 의해서 획득된다.

[0004] WO 03/025018는 4 개의 결합 도메인을 갖는 동일한 단쇄 폴리펩티드에 의해서 형성된 구조를 갖는 이중 특이적 항원-결합 분자를 개시한다. 각 폴리펩티드 사슬의 말단 부분의 V_H 및 V_L 도메인은 짧은 링커에 의해서 연결되고 다른 폴리펩티드 사슬의 상응하는 V_H 및 V_L 도메인과 분자 간(inter)에서 결합되는 반면, 각 폴리펩티드 사슬의

다른 V_H 및 V_L 도메인은 상기 동일한 사슬 내에서 서로 분자 내(intra)적으로 결합하여 항원-결합 scFv 유닛을 생성한다. 그러한 구조물은 동종이량체로서, 즉 이들은 쌍으로 서로 결합하는 동일한 단쇄 폴리펩티드로 이루어진다.

[0005] 게다가, 암세포에 대한 더 큰 선택성을 허여하고, 건강한 조직을 보존하여, 약물이 암세포를 박멸하는데 효과적인 더 넓은 용량 범위 및 치료적 적용성을 가능하게 하는 두 개의 종양 항원을 표적하는 삼중 특이적 항체가 요구된다. 예를 들어, 하나의 삼중 특이적 항체는 두 개의 상이한 종양 항원을 표적하는데 사용될 수 있고, 제3 특이성과 함께 사용되어 T-세포 또는 NK-세포가 세포 독성 효과를 발휘할 수 있도록 한다.

[0006] WO 2009/007124는 "삼중항체(triplebody)"로서 지정되고 일렬(tandem)-배열로 세 개의 상이한 특이성(종양 마커에 대한 CD123 및 CD3 및 NK 세포 상의 CD16에 대한 것)을 갖는 세 개의 scFv 단편으로 이루어진 단쇄 Fv(scFv)의 삼중 특이적 융합을 개시한다. 상기 분자는 추가적으로 중심에 위치한 scFv에서 이황화 결합에 의해서 안정화된다. 그러한 분자는 이중 양성 종양 세포의 이중-표적화를 가능하게 하고 NK 세포 상의 CD16에 대해 단일가적(monovalently)으로 결합한다.

발명의 내용

해결하려는 과제

과제의 해결 수단

[0007] 본원발명은 결합하여 두 개의 항원 결합 부위를 이루는 두 쌍의 가변 도메인으로 이루어진 이중항체-유닛을 포함하는 다가 Fv 항체와 관련된다. "항원 결합 부위(antigen binding site)"는 VH/VL 도메인 쌍의 Fv 항원 결합 부위, 즉 VH/VL 항원 결합 부위, 또는 단일 도메인 항원 결합 부위를 의미한다. 각 가변 도메인 쌍은 하나의 폴리펩티드에서 서로 연결된다. 상기 이중항체-유닛은 하나의 폴리펩티드(단쇄 이중항체-유닛) 또는 두 개의 폴리펩티드(이중항체-유닛)로 이루어진다. 하나 이상의 가변 도메인 쌍은 상기 폴리펩티드에서 이 가변 도메인 쌍에 대해 N-말단에 위치한 다른 가변 도메인 및 C-말단에 다른 가변 도메인으로 연결된다. 따라서, 그러한 폴리펩티드는 서로 연결된 네 개 이상의 가변 도메인을 포함하고, 서로 연결된 두 개의 병치(juxtapose)된 가변 도메인은 상기 이중항체-유닛의 하나의 가변 도메인 쌍이고, 하나의 다른 가변 도메인은 상기 이중항체-유닛의 가변 도메인 쌍에 대해 N-말단에 위치하고, 다른 추가 가변 도메인은 상기 이중항체-유닛의 상기 가변 도메인 쌍에 대해 C-말단에 위치한다. 상기 이중항체 유닛의 상기 가변 도메인 쌍에 대해 N-말단에 연결된 가변 도메인은 가변 경쇄(V_L) 도메인 또는 가변 중쇄(V_H) 도메인 일 수 있고, 또한 상기 이중항체 유닛의 상기 가변 도메인 쌍에 대해 C-말단에 연결된 도메인은 가변 경쇄 도메인(V_L) 또는 가변 중쇄 도메인(V_H)일 수 있다. 그러한 폴리펩티드는 서로 연결된 네 개 이상의 가변 도메인, 즉 C-말단이 다른 가변 도메인에 연결된 상기 이중항체-유닛의 상기 가변 도메인 쌍과 연결된 N-말단 측으로 연결된 가변 도메인을 포함하는 Fv 폴리펩티드일 수 있다. 구체예에서, 여섯 개, 여덟 개 또는 열 개의 가변 도메인이 그러한 Fv 폴리펩티드에서 서로 연결된다.

[0008] 상기 다가 Fv 항체는 4가 이상이고 네 개 이상의 항원 결합 부위를 포함한다. 따라서, 네 개 이상의 가변 도메인 중 두 개는 이중항체-유닛의 다른 가변 도메인 쌍과 결합하여 두 개의 항원 결합 부위(제1 및 제2)를 이루는 상기 이중항체-유닛의 두 개의 병치된 가변 도메인 쌍인 네 개 이상의 가변 도메인을 포함하는 Fv 항체의 Fv 폴리펩티드는 상응하는 가변 도메인과 결합하여 추가(제3) 항원 결합 부위를 이루는 Fv 폴리펩티드의 N-말단에서의 하나 이상의 추가(제3) 가변 도메인 및 상응하는 가변 도메인과 결합하여 추가(제4) 항원 결합 부위를 이루는 Fv 폴리펩티드의 C-말단에서의 하나 이상의 추가(제4) 가변 도메인을 갖는다. 특정 구체예에서, 상기 다가 Fv 항체의 4 개 이상의 항원 결합 부위가 두 개의 Fv 폴리펩티드 간에 형성되고 다른 구체예에서 상기 4 개 이상의 항원 결합 부위가 단일 Fv 폴리펩티드의 분자 내 접합에 의해서 형성된다.

[0009] 따라서, 특정 구체예에서 동일한 폴리펩티드에서 이중항체-유닛의 가변 도메인 쌍에 대해 N-말단 및 C-말단에 연결된 각 다른 가변 도메인은 추가 항원 결합 부위 부분이다. 따라서, 상기 이중항체-유닛의 하나의 가변 도메인 쌍(제1 쌍)은 상기 이중항체-유닛의 다른 가변 도메인 쌍과 결합하여 두 개의 항원 결합 부위(제1 및 제2 항원 결합 부위)를 이루고, 추가로 N-말단에 위치한 가변 도메인은 상응하는 가변 도메인과 결합하여 제3 항원 결합 부위를 이루고, C-말단에 위치한 추가 가변 도메인은 상응하는 가변 도메인과 결합하여 제4 항원 결합 부위를 이룬다. 따라서, 그러한 다가 Fv 항체는 4가 이상이다. 특정 구체예에서 상기 이중항체-유닛의 가변 도메

인 쌍에 대해 N-말단 및/또는 C-말단에 연결된 상기 추가 가변 도메인을 포함하는 이 항원 결합 부위는 scFv-유닛 또는 단쇄 이중항체-유닛 (scDb)이다. 다른 구체예에서 동일한 폴리펩티드 (제1 폴리펩티드)에서 상기 이중항체-유닛의 가변 도메인 쌍에 대해 N-말단 및 C-말단에 연결된 상기 추가 가변 도메인은 상기 이중항체-유닛의 제2 (다른) 가변 도메인 쌍을 포함하여 다른 폴리펩티드(제2 폴리펩티드)의 상응하는 V_H 또는 V_L 과 결합되어 두 (제1 및 제2) 폴리펩티드의 가변 도메인 간에 다른 두 개의 V_H/V_L (제3 및 제4) 항원 결합 부위를 형성한다.

[0010] 특정 구체예에서 상기 이중항체-유닛의 두 쌍의 가변 도메인은 하나의 폴리펩티드에서 서로 연결된 가변 경쇄 도메인 (V_L-V_L) 쌍 및 하나의 폴리펩티드에서 서로 연결된 가변 중쇄 (V_H-V_H) 쌍이고, 상기 V_L-V_L 쌍 및 V_H-V_H 쌍은 결합하여 두 개의 V_L/V_H (제1 및 제2) 항원 결합 부위를 이룬다.

[0011] 특정 구체예에서 상기 다가 항체 분자는 이중항체-유닛, 즉 예를 들어, 여섯 개, 여덟 개 또는 열 개의 서로 연결된 여섯 개 이상의 가변 도메인을 갖는 하나의 폴리펩티드 사슬에 통합된 이중항체-유닛의 가변 도메인 쌍을 포함한다.

[0012] 상기 이중항체-유닛은 서로 연결된 두 개의 가변 도메인 쌍으로 이루어져 그러한 도메인은 분자 내에서 기능적 Fv 유닛, 즉 V_H/V_L 항원 결합 유닛으로 접히지 못하고, 대신 서로 연결된 두 개의 가변 도메인의 다른 쌍과 결합하여 두 개의 항원 결합 부위를 제공하기 위한 2가 이량체, 즉 이중항체를 형성한다. 가변 경쇄 도메인 (V_L-V_L) 쌍 서로 간 및 가변 중쇄 도메인 (V_H-V_H) 쌍 서로 간을 연결함으로써 각 쌍 내에서 상기 도메인의 분자 내적 페어링은 동일한 종류의 도메인, 즉 V_H-V_H 또는 V_L-V_L 때문에 예방된다. 상기 이중항체-유닛의 단단하고 컴팩트한 구조는 다가 항체의 제조, 바른 접힘을 용이하게 하고, 항체의 안정성을 증가시킨다. 그러한 이중항체-유닛은 더 컴팩트한 분자가 되도록 하여 상기 항체 분자의 안정성에 유익한 두 개의 비-공유적으로 결합된 V_H 및 V_L 도메인에 의해서 상기 항체 분자 내에 두 개의 V_H/V_L 항원 결합 부위를 생성한다. 특정 구체예에서 상기 두 개의 가변 도메인 쌍은 짧은 링커에 의해서 연결된다.

[0013] 특정 예에서 두 개의 단쇄 Fv (scFv) 단편은 이중항체-유닛에 원위치(distally)로 연결되어 두 개의 추가적인 V_H/V_L 항원 결합 부위를 제공한다(도 1 및 2). 따라서, 그러한 다가 항체 분자는 4 개 이상의 항원 결합 부위; 이중항체-유닛에 의해서 두 개 및 두 개의 scFv-유닛에 의해서 두 개를 제공하므로 4가 이상이다. 상기 각 원위치로 연결된 scFv 단편은 상기 폴리펩티드에서 V_H-V_L 또는 V_L-V_H 순으로 배열될 수 있다.

[0014] 그러한 4가 항체 분자는 4가, 5가 또는 6가 삼중 특이적 항체를 생성하는데 이점이 있다. 이러한 신규한 삼중 특이적 항체는, 예를 들어, 종양 세포 또는 바이러스에 감염된 세포와 같은, 표적 세포를 죽이기 위한 면역 효과자 세포를 모집하는데 사용될 수 있다. 그러한 본 발명에 따른 삼중 특이적 항체가 4가 이상이어서, 이들은 3가 및 삼중 특이적 단쇄 단편에 비해 증가된 기능적 활성을 제공한다. 본 발명에 따른 삼중 특이적 및 4가인 항체는 표적 세포뿐 아니라 면역 효과자 세포 모두에 대한 4 개의 결합 부위 중 2 개에 의해서 2 가적으로 결합한다. 예를 들어, 상기 표적 세포에 대한 2가 결합은 결합력(avidity)을 증가시킬 뿐 아니라, 상기 세 개의 항원 특이성 중 두 개가 표적 세포의 세포 표면 상에 두 개의 상이한 항원, 예를 들어 두 개의 상이한 종양 항원에 대한 것일 때, 상기 표적화 특이성은 증가된다. 반면, 상기 모집된 면역 효과자 세포의 세포독성 효율은 조절될 수 있고, 구체적으로 상기 항체가 면역 효과자 세포에 2가적으로 결합할 때 증가된다. 다른 예에서, 그러한 삼중 특이적 항체는 상기 효과자 세포에 대한 상이한 항원에 대한 두 가지 특이성 및 종양 세포, 뉴런, 또는 바이러스에 감염된 세포에 대한 제3 특이성을 가질 수 있고, 성장-인자, 시토킨 또는 다른 비-세포-결합 리간드와 같은 가용성 단백질과 결합하여 결과적으로 중화시킨다.

[0015] 특정 예에서 상기 분자 내 페어링을 예방하는 짧은 링커에 의해 연결된 이중항체-유닛의 가변 도메인은 가변 경쇄 도메인 (V_L-V_L) 또는 가변 중쇄 도메인 (V_H-V_H)이다 (도 1 및 2). 이러한 특정 도메인 배열은 본 발명에 따른 다중 특이적 및 다가 항체 분자의 올바른 폴딩을 촉진시킴이 발견되었다. 구체적으로 4가, 삼중 특이적 또는 사중 특이적 Fv 항체 분자의 경우, 이러한 조치(measure)는 세 개 이상의 상이한 특이성에 대한 가변 도메인을 갖는 Fv 항체 분자의 올바른 결합을 가능하게 하고, 단일 폴리펩티드 내 부정확한 결합 (단량체) 또는 제1과 제2 폴리펩티드의 올바른 이중이량체화 대신 두 개의 동일한 Fv 폴리펩티드 내 이중이량체화를 예방하기 위해 채용될 수 있다 (실시예 2). 본 발명자들은 짧은 링커에 의해서 연결된 두 개의 상응하는 가변 경 도메인 제2 쌍과 연결된 짧은 링커에 의해서 연결된 두 개의 가변 중 도메인 제1 쌍에 의해서 형성된 이중항체-유닛과 같은 삼중 특이적 항체 분자로 통합함으로써 세 개의 특이성에 대한 가변 도메인 간의 올바른 결합 및 상기 가변 도메인을

제공하는 두 개의 상이한 폴리펩티드를 얻었다. 따라서, 이중항체-유닛에서 그러한 가변 도메인 배열, 즉, 가변 도메인의 제1 폴리펩티드에서 V_L-V_L 및 가변 도메인의 제2 폴리펩티드에서 V_H-V_H 는 4가 및 삼중 특이적 또는 사중-특이적 Fv 항체의 올바른 결합 및 접합을 가능하도록 한다. 본 발명자들 그러한 이중항체 유닛 또는 단쇄 이중항체 유닛에서의 V_L-V_L/V_H-V_H 배열은 서로 연결된 여섯 개의 가변 도메인을 포함하는 긴 폴리펩티드를 Fv 항체 분자로의 올바른 접합 (예를 들어, 도 1) 또는 상이한 길이를 갖는 두 개의 폴리펩티드의 기능적 이량체적 Fv 항체 분자로의 올바른 접합 및 이중이량체화 (예를 들어, 도 2, 5, 6a, 6b)를 강제함을 발견하였다.

[0016] 다른 구체예에서 하나 이상의 단쇄 이중항체-유닛 (scDb)은 원거리로 하나 이상의 추가 항원 결합 부위를 제공하는 이중항체-유닛에 연결된다. 따라서, 상기 이중항체 유닛의 하나 이상의 폴리펩티드는 상기 폴리펩티드에서 하나 이상의 scDb에 연결된 이중항체-유닛의 하나의 가변 도메인 쌍을 포함한다. 예를 들어, 두 개의 scDb 유닛은 상기 이중항체-유닛에 원거리로 연결되어 각 단쇄 이중항체-유닛 당 추가의 두 개의 항원 결합 부위를 제공한다 (도 4 및 5). 따라서, 그러한 다가 항체 분자는 4 개 이상의 항원 결합 부위를 제공하므로 4가 이상이다. 일 구체예에서 두 개 이상의 scDb 유닛이 이중항체-유닛으로 연결되는 경우, 네 개의 항원 결합 부위를 제공하는 두 개의 원거리 방향의 scDb 유닛 및 상기 이중항체-유닛에 의해 제공된 두 개의 항원 결합 부위 때문에 그러한 다가 항체는 6가 이상이다. 상기 각 원거리의 scDb-유닛에서, 상기 가변 도메인은 상기 폴리펩티드에서 $V_H-V_L-V_H-V_L$, $V_L-V_H-V_L-V_H$, $V_L-V_L-V_H-V_H$ 또는 $V_H-V_H-V_L-V_L$ 의 순으로 배열될 수 있다.

[0017] 특정 구체예에서 상기 이중항체-유닛은 서로 결합되어 두 개의 항원-결합 부위를 형성하는 두 개의 폴리펩티드 상에 배열된 두 쌍의 가변 도메인으로 이루어지고, 상기 두 개의 폴리펩티드 각각은 상기 이중항체 유닛의 두 쌍의 가변 도메인 각각에 대해 원거리로 위치한 하나 이상의 다른 단쇄 단편 및/또는 단쇄 이중항체 단편을 포함한다. (도 6A, 6b, 7, 8a 및 8b). 따라서, 그러한 다가 항체 분자는 5 개 이상의 항원 결합 부위; 이중항체-유닛에 의한 두 개의 결합 부위, 상기 이중항체 유닛의 가변 도메인 제1 쌍에 대한 N-말단 및 C-말단의 두 개의 scFv-유닛 또는 scDb-유닛에 의한 두 개 이상의 결합 부위 및 상기 이중항체 유닛의 다른 폴리펩티드의 이중항체 유닛의 다른 쌍의 가변 도메인에 대한 N-말단 또는 C-말단의 하나 이상의 결합 부위를 제공하므로 7가 이상이다.

[0018] 특정 예에서 본 발명은 서로 연결된 여섯 개 이상의 가변 도메인을 포함하는 폴리펩티드를 포함하는 다가 항체 분자를 의미하고, 상기 여섯 개 이상의 가변 도메인 중 제1의 두 개의 가변 도메인을 포함하는 이중항체-유닛은 상기 폴리펩티드에 통합되고 상기 이중항체-유닛의 제1의 두 개의 가변 도메인은 상기 이중항체-유닛의 다른 두 개의 가변 도메인, 즉 제2의 두 개의 가변 도메인에 결합되어 두 개의 항원 결합 부위를 형성한다. 상기 제2의 두 개의 가변 도메인은 제1의 두 개의 가변 도메인을 갖는 동일한 폴리펩티드에 위치하거나 제1 폴리펩티드와 결합된 분리된 제2 폴리펩티드에 위치할 수 있다. 상기 이중항체 유닛에 의해 제공되는 상기 두 개의 항원 결합 부위는 제1 및 제2 가변 도메인 간에 형성되고, 상기 제1쌍의 가변 도메인의 각 가변 도메인은 제2 쌍의 가변 도메인의 다른 가변 도메인과 함께 항원-결합 부위를 형성한다. 따라서, 상기 이중항체-유닛은 상기 제1 및 제2의 두 개의 가변 도메인에 의해서 형성되고, 상기 두 개의 가변 도메인은 제1뿐 아니라 제2의 두 개의 가변 도메인에서 분자 내 페어링을 예방하는 짧은 펩티드 링커에 의해 연결된다.

[0019] 따라서, 특정 구체예에서 본 발명은 서로 연결된 여섯 개 이상의 가변 도메인을 갖는, 즉 포함하는 폴리펩티드를 포함하는 다가 항체 분자를 의미하고, 상기 폴리펩티드의 두 개의 가변 도메인은 분자 내 페어링을 예방하는 펩티드 링커에 의해서 연결되고 상기 두 개의 가변 도메인은 펩티드 링커에 의해서 연결된 두 개의 다른 상응하는 가변 도메인과 결합하여 분자 내 페어링을 예방하고, 상기 네 개의 가변 도메인은 상기 네 개의 가변 도메인 간에 두 개의 항원 결합부위를 형성한다. 예를 들어, 그러한 항체는 Fv 항체, 구체적으로 4가이고 삼중 특이적인 Fv 항체이다.

[0020] 상기 항체 분자는 다가, 즉, 하나 이상의 항원 결합 부위를 갖는다. 이는 네 개의 항원 결합 부위를 가질 때 4가이고; 다섯 개의 항원 결합 부위를 가질 때 5가이고 및 여섯 개의 항원 결합 부위를 가질 때 6가이다. "4가 (tetravalent)"는 네 개의 Fv 항원-결합 부위를 포함하는, 구체적으로 이루어진 항체 분자를 의미하고, 상기 각 Fv 항원-결합 부위는 서로 결합된 동일한 항원 에피토프 특이성의 가변 중쇄 (V_H) 도메인 및 가변 경쇄 (V_L) 도메인을 갖는 V_H/V_L 쌍을 포함한다. 따라서, 그러한 4가 항체 분자는 여덟 개의 가변 항체 도메인, 즉 네 개의 가변 중쇄 (V_H) 도메인 및 네 개의 가변 경쇄 (V_L) 도메인을 포함한다. 상기 4가 항원-결합 분자가 여덟 개 이상의 항체 가변 도메인을 포함하므로, 이의 분자량은 100 kDa을 초과하고, 3가 및 삼중 특이적 단쇄 Fv 분자와 비교하여 그러한 분자의 더 긴 반감기를 유발한다.

- [0021] 특정 예에서 상기 항체 분자는 다중 특이적, 즉 상이한 항원 에피토프에 대한 특이성을 갖는다. 특정 예에서 상기 항체 분자는 삼중 특이적이다.
- [0022] 삼중 특이적 및 4가 항체 분자는 제1 항원 에피토프에 대한 특이성을 갖는 항원-결합 부위, 제2 항원 에피토프에 대한 특이성을 갖는 항원-결합 부위 및 제3 항원 에피토프에 대한 특이성을 갖는 두 개의 항원-결합부위를 포함한다. 따라서, 그러한 삼중 특이적 및 4가 항체 분자는 3 개의 상이한 항원 에피토프에 대해 상이한 특이성을 가지는, 즉 포함한다. 예를 들어, 그러한 항원-결합 분자는 제1 항원 에피토프에 특이성을 갖는 제1 항원-결합 부위, 제2 항원 에피토프에 대한 특이성을 갖는 제2 항원-결합 부위, 제3 항원 에피토프에 대한 특이성을 갖는 제3 및 제4 항원-결합부위를 포함한다. 5가 및 삼중 특이적 항체 분자는 제1 항원 에피토프에 대한 특이성을 갖는 두 개의 항원-결합 부위, 제2 항원 에피토프에 대한 특이성을 갖는 두 개의 항원-결합 부위 및 제3 항원 에피토프에 대한 특이성을 갖는 하나의 항원-결합부위를 포함한다. 대안적으로, 5가 및 삼중 특이적 항체 분자는 제1 항원 에피토프에 대한 세 개의 항원-결합 부위 및 제2 및 제3 항원 에피토프 각각에 대한 하나의 항원-결합 부위를 포함할 수 있다. 6가 및 삼중 특이적 항체 분자는 특정 구체예에서 상기 세 개의 항원 에피토프 각각에 대해 두 개의 항원-결합 부위, 또는 대안적으로 상기 세 개의 항원 에피토프 각각에 대한 하나 내지 세 개의 항원 결합 부위를 포함한다.
- [0023] 특정 예에서 상기 항체 분자는 Fv 항체 분자이다. "Fv 항체(Fv antibody)"는 단지 가변 (V) 항체 도메인을 포함하지만 불변 항체 영역 또는 그 단편이 결합된 면역글로불린의 Fv-유도체를 의미한다. 각 가변 경쇄 도메인 (V_L)은 상응하는 가변 중쇄 도메인 (V_H)과 결합되어 Fv 항원 결합 부위 (VH/VL 항원 결합 부위)를 형성한다. 상기 가변 항체 도메인은 펩티드 링커 또는 펩티드 결합에 의해 서로 연결되어 융합 폴리펩티드를 이룬다. 본 발명에 따른 상기 Fv 항체, 즉, 항원-결합 분자는 단일 폴리펩티드의 단량체 또는 다량체적 폴리펩티드가 될 수 있다. 다량체적 항원-결합 분자, 즉 Fv 항체, 구체적으로 다가 Fv 항체는, 예를 들어, 두 개의 폴리펩티드를 갖는 이량체, 세 개의 폴리펩티드를 갖는 삼량체 또는 네 개의 폴리펩티드를 갖는 사량체일 수 있다. 상기 이량체는 상이한 아미노산 조성을 갖는 두 개의 폴리펩티드로 이루어진 경우 이종이량체이거나, 두 개의 동일한 폴리펩티드로 이루어진 경우 동종이량체이다.
- [0024] 용어 "폴리펩티드(polyptide)"는 아마이드 결합으로 연결된 아미노산 잔기의 폴리머를 의미한다. 상기 폴리펩티드는, 바람직하게는, 분지되지 않은 단쇄 융합 단백질이다. 상기 폴리펩티드 내에서 상기 항체 가변 (Fv) 도메인은 서로 연결된다. "Fv 폴리펩티드(Fv polyptide)"는 항체 가변 (Fv) 도메인이 서로 연결된 융합 폴리펩티드를 의미한다. 상기 폴리펩티드는 추가적으로 N-말단 및/또는 C-말단에 연속적인 아미노산 잔기를 가질 수 있다. 예를 들어, 상기 폴리펩티드는 바람직하게는 C-말단에 상기 폴리펩티드의 정제뿐 아니라 검출에도 유용할 수 있는 태그 서열을 포함할 수 있다. 태그 서열의 예는 여섯 개의 His-잔기로 이루어진 His-태그와 같은 His-태그, DYKDDDDK 옥타펩티드 (서열번호 38)와 같은 FLAG-태그 또는 WSHPPQFEK 옥타펩티드 (서열번호 39)와 같은 STREP[®] II-Tag 또는 EPEA 테트라펩티드 (서열번호 40)와 같은 C-Tag이다. 다량체적 항원-결합 분자를 위하여, 상이한 태그 서열이 상이한 폴리펩티드에 대해, 예를 들어, 이량체적 분자의 제1 폴리펩티드에 대해서는 His-태그 및 제2 폴리펩티드에 대해서는 FLAG-태그가 사용될 수 있다. 특정 구체예에서 상기 폴리펩티드는 항원-결합 부위 및 추가의 불변 항체 도메인, 예를 들어 C_L , C_H 및/또는 Fc-도메인을 제공하는 가변 도메인을 포함할 수 있다. 예를 들어, 그러한 구체예는 하나 이상의 불변 항체 도메인, 예를 들어 Fc 도메인과 융합된 Fv 폴리펩티드 또는 Fv 항체를 포함할 수 있다. 다른 구체예에서 상기 가변 도메인을 포함하는 폴리펩티드는 다른 시약, 예를 들어, 독소, 면역-조절제 또는 신호 발생제와 결합(couple)될 수 있다.
- [0025] "링커(linker)"는 하나의 도메인의 C-말단 및 다른 병치된 도메인의 N-말단 사이 또는 그 반대로 상기 폴리펩티드에서 두 개의 병치된 가변 도메인을 연결하는 펩티드를 의미한다. 상기 아미노산 조성물과 관련하여 펩티드는 Fv, 즉 VH/VL 항원 결합 부위의 형성을 방해하지 않고 삼중 특이적과 같은 다중-특이적 분자의 이량체화와 같은 다량체화를 방해하지 않는 것으로 선택된다. 예를 들어, 글리신 및 세린 잔기를 포함하는 링커는 일반적으로 프로테아제 저항성을 제공한다. 어떤 구체예에서 $(G_2S)_x$ 펩티드 링커가 예를 들어, $x = 1$ 내지 20, 예를 들어, (G_2S) , $(G_2S)_2$, $(G_2S)_3$, $(G_2S)_4$, $(G_2S)_5$, $(G_2S)_6$, $(G_2S)_7$ 또는 $(G_2S)_8$ 로 사용되거나, 또는 $(G_3S)_x$ 가 예를 들어, $x = 1$ 내지 15로 사용되거나, 또는 $(G_4S)_x$ 펩티드 링커가 예를 들어, $x = 1$ 내지 10, 바람직하게는 1 내지 6으로 사용된다. 상기 링커의 아미노산 서열은 예를 들어 파지-디스플레이(display)법에 의해서 최적화되어 항원 결합 및 상기 폴리펩티드의 생산 수득률을 개선시킬 수 있다.
- [0026] 상기 링커의 길이는 상기 항원-결합 폴리펩티드 이량체의 유연성에 영향을 미친다. 상기 항원-결합 폴리펩티드

이량체의 요구되는 유연성은 표적 항원 밀도 및 표적 항원의 접근성, 즉 상기 표적 항원 상의 에피토프에 의존한다. 더 긴 링커는 더 민첩한(agile) 항원-결합 부위와 함께 더욱 유연한 항원-결합 폴리펩티드를 제공한다. 상기 이량체적 항원-결합 폴리펩티드의 형성에 대한 링커 길이의 영향은 예를 들어, Todorovska 등, 2001 Journal of Immunological Methods 248:47-66; Perisic 등, 1994 Structure 2:1217-1226; Le Gall 등, 2004, Protein Engineering 17:357-366 및 WO 94/13804에 기술되어 있다.

[0027] 이중항체-유닛은 상기 항체 분자의 폴리펩티드에 통합된다. "이중항체 유닛(diabody unit)"은 두 개의 VL/VH 항원 결합 부위에 연결된 두 쌍의 가변 도메인인 제1 쌍 및 제2 쌍으로 이루어진 2가 Fv-모듈을 의미한다. 각 가변 도메인쌍은 하나의 폴리펩티드에서 서로 연결된다. 특정 구체예에서 상기 2가 Fv-모듈은 두 개의 병치된 가변 도메인의 제1 및 제2 쌍으로 이루어지고, 상기 각 쌍에서 두 개의 가변 도메인은 짧은 링커에 의해서 연결된 가변 도메인 간에 분자 내 결합을 배제하는 짧은 펩티드 링커에 의해서 융합된다. 상기 제1 쌍의 가변 도메인은 제2 쌍의 가변 도메인과 결합하여 두 쌍의 가변 도메인으로 두 개의 Fv 항원 결합 부위를 형성하도록 한다. 따라서, 두 개의 Fv 항원 결합 부위 각각은 상기 제1 쌍 가변 도메인의 하나의 가변 도메인 및 제2 쌍의 가변 도메인의 하나의 가변 도메인에 의해서 형성된다. 따라서, 그러한 이중항체-유닛은 짧은 펩티드 링커 3, 3a에 의해서 직접적으로 연결되지 않는 두 개의 가변 도메인의 하나 이상의 항원 결합 부위를 포함한다 (도 1 및 2). 상기 두 쌍의 병치된 가변 도메인은 이량체적 이중항체 유닛을 형성하는 두 개의 분리된 폴리펩티드에 위치하거나 (도 2, 3, 5-8) 또는 상기 두 쌍의 병치된 가변 도메인은 단쇄 이중항체 유닛을 형성하는 동일한 폴리펩티드 상에 위치한다 (도 1, 4). 각 가변 도메인 쌍에서 상기 짧은 링커 3, 3a은 하나의 가변 도메인의 C-말단을 다른 가변 도메인의 N-말단 또는 그 반대로 연결한다. 각 쌍에서 상기 가변 도메인은 N-말단에서 C-말단으로, 예를 들어, V_L-V_H , V_H-V_L , V_H-V_H 또는 V_L-V_L 로 배향될 수 있고, 상기 쌍의 두 가변 도메인은 상이한 항원 에피토프 특이성 또는 동일한 항원 에피토프 특이성을 갖는다. 특정 예에서 상기 두 개의 가변 도메인은 하나의 가변 도메인의 N-말단 및 상기 쌍의 다른 가변 도메인의 C-말단 사이에 펩티드 결합에 의해서 직접적으로 연결된다. 상기 이중항체-유닛의 제1 및 제2 쌍 가변 도메인 각각에서 두 개의 가변 도메인을 연결하는 짧은 펩티드 링커의 길이는 상기 링커에 의해 연결된 가변 도메인 간의 분자 내 결합을 배제한다. 그러한 링커는 "짧은(short)", 즉 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 또는 약 12 개의 아미노산 잔기로 이루어진다. 아미노산 잔기가 0 개인 경우 상기 링커는 펩티드 결합이다. 그러한 짧은 링커는 상기 두 쌍의 가변 도메인 간의 올바른 이량체화 및 두 개의 Fv 항원 결합 부위의 형성을 선호한다. 상기 링커를 약 12 개 이하의 아미노산 잔기로 짧게 하는 것은 일반적으로 동일한 폴리펩티드 사슬의 인접한 도메인이 서로 상호 작용하는 것을 방지한다. 본 발명의 일 구체예에서 이러한 링커는 약 3 내지 약 12 개, 예를 들어 5 내지 10 개, 구체적으로 7 내지 9 개의 연속된 아미노산 잔기로 이루어진다. 상기 링커의 길이는 상기 이중항체-유닛 내 특정 도메인 배향으로 조절될 수 있다. 예를 들어, $(G_2S)_2$ 링커는 이중항체 유닛에서 V_H-V_L 쌍 또는 V_L-V_H 쌍에 대해 사용될 수 있고 및 $(G_2S)_3$ 링커는 V_H-V_H 쌍 또는 V_L-V_L 쌍에 대해 사용될 수 있고 또는 $(G_2S)_2$ 링커는 V_H-V_H 쌍에 대해 사용될 수 있고 및 $(G_2S)_3$ 링커는 이중항체 유닛의 V_L-V_L 쌍에 대해 사용될 수 있다 (또는 그 반대로). 게다가, 상기 쌍의 가변 항체 도메인 간에 12 개 이상의 아미노산 잔기를 포함하는 링커를 갖는 두 개의 폴리펩티드가 올바르게 서로 이량체화하는 것은 원칙적으로 가능하다 (예를 들어 Le Gall 등, 2004, Protein Engineering 17:357-366 참조).

[0028] 특정 구체예에서 상기 이중항체-유닛은 단쇄 이중항체-유닛이다 (도 1). "단쇄 이중항체-유닛(single chain diabody-unit)"은 긴 링커에 의해 제2 쌍의 가변 도메인으로 연결된 제1 쌍의 가변 도메인으로 이루어져, scFv 유닛에서 사용된 "긴 링커(long linker)"로 정의되고 다음 단락에 기술된 바와 같은 제1 및 제2 쌍의 가변 도메인의 분자 내 결합을 허용한다. 예를 들어, 그러한 긴 링커는 12 개 이상, 구체적으로 약 15 내지 약 50 개, 바람직하게는 약 15 내지 약 35 개, 구체적으로 약 15 내지 약 25 개의 연속적인 아미노산 잔기로 이루어질 수 있다.

[0029] 특정 구체예에서 하나의 폴리펩티드에서 서로 연결된 단쇄 이중항체의 도메인은 상기 단쇄 이중항체-유닛의 N-말단에서 C-말단으로 $V_L-V_H-V_L-V_H$, $V_L-V_L-V_H-V_H$, $V_H-V_H-V_L-V_L$ 또는 $V_H-V_L-V_H-V_L$ 의 순서로 배열될 수 있다.

[0030] 특정 구체예에서 본 발명의 상기 항체 분자는 단쇄 이중항체-유닛을 포함하는 단일 폴리펩티드로 이루어진다 (도 1, 4). 특정 구체예에서 상기 항체 분자는 하나의 폴리펩티드에서 서로 연결된 세 개 이상의 단쇄 이중항체-유닛을 포함한다 (도 4). 다른 구체예에서 본 발명의 항체 분자는 하나의 이중항체-유닛으로 원거리로 연결된 하나 이상의 단쇄 이중항체-유닛을 포함한다(도 5).

[0031] "단쇄 Fv (scFv) 유닛(single-chain Fv (scFv) unit)"은 가변 경쇄 도메인 (V_L) 및 가변 중쇄 도메인 (V_H)으로

이루어진 단일 폴리펩티드의 단편에 의해서 형성된 Fv 항원 결합 부위를 나타낸다. 상기 가변 도메인 상기 scFv 유닛의 N-말단에서 C-말단으로 V_L-V_H 또는 V_H-V_L 로서 배향될 수 있다. 상기 가변 도메인은 하나의 가변 도메인의 C-말단 및 다른 가변 도메인의 N-말단 사이 또는 그 반대로 펩티드 링커에 의해서 연결된다. 상기 펩티드 링커는 분자 내적으로 접히고 Fv 항원 결합 부위를 형성하도록 길고 유연하다 (일반적으로 약 12 개 이상의 아미노산 잔기로 이루어짐). 추가적인 아미노산 잔기는 추가의 유연성을 제공한다. 예를 들어, 그러한 긴 링커는 12 개 이상, 구체적으로 약 15 내지 약 50 개, 바람직하게는 약 15 내지 약 35 개, 구체적으로 약 15 내지 약 25 개의 연속적인 아미노산 잔기로 이루어질 수 있다. 상기 링커 길이는 상기 scFv 유닛 내 N-말단에서 C-말단으로의 특정 도메인 배향으로 조정될 수 있다. 예를 들어, $(G_2S)_6$ 링커는 V_H-V_L scFv 유닛에 대해 사용될 수 있고 $(G_2S)_7$ 링커는 V_L-V_H scFv 유닛에 대해 사용될 수 있다.

[0032] 상기 scFv 유닛은 scFv 유닛의 가변 도메인 및 상기 이중항체 유닛의 가변 도메인 간의 펩티드 링커에 의해서 상기 이중항체-유닛에 연결된다. 상기 펩티드 링커의 길이는 병치된 가변 도메인 간의 입체 장애를 피하고 상기 분자의 안정성을 유지하기 위해서 선택되고 예를 들어, 5 내지 50 개, 구체적으로 5 내지 35 개, 바람직하게는, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 또는 15 개 이상의 연속적인 아미노산 잔기일 수 있다.

[0033] 특정 예에서 상기 이중항체-유닛은 상기 항체 분자의 접힘을 유용하게 하고 안정성을 개선시키기 위해 항체 분자 내의 중심에 위치한다. 그러한 예에서, 상기 이중항체-유닛은 N-말단 및 C-말단이 추가의 원위 가변 도메인과 연결된다. 특정 구체예에서 상기 이중항체-유닛은 두 개 (도 1, 2, 8a, 8b), 세 개 (도 6a, 6b) 또는 네 개 (도 7)의 scFv-유닛과 연결된다. 특정 예에서 상기 항체 분자, 구체적으로 삼중 특이적 Fv 항체 분자는 여섯 개 이상의 가변 도메인을 갖는 폴리펩티드를 포함하고, 상기 폴리펩티드는 N-말단에 scFv 유닛, C-말단에 scFv 유닛 및 두 개의 scFv 유닛 사이에 위치한 이중항체-유닛의 두 개의 가변 도메인 제1 쌍을 포함한다 (도 1 및 2). 이러한 상기 이중항체-유닛의 두 개의 가변 도메인 제1 쌍은 Fv 항원-결합 부위를 이루기 위하여 결합하지 않는다. 예를 들어, 상기 이중항체-유닛이 이량체적 이중항체-유닛이면 상기 병치된 가변 도메인 제1 쌍의 두 개의 가변 도메인 각각은 추가의 가변 도메인에 연결된다. 구체적으로, 상기 병치된 가변 도메인 제1 쌍의 두 개의 가변 도메인 각각은 scFv 유닛의 추가 가변 도메인과 연결된다 (도 2). 추가적 예에서 병치된 가변 도메인 제2 쌍의 하나 또는 둘 모두의 가변 도메인은 추가적으로 추가 가변 도메인에 연결될 수 있다 (도 6a, 6b, 7). 상기 이중항체-유닛이 단쇄 이중항체 유닛이면 상기 제1 쌍의 병치된 가변 도메인은 N-말단이 추가 가변 도메인에 연결되고 제2 쌍의 병치된 가변 도메인은 C 말단이 추가 가변 도메인에 연결된다. 구체적으로, 상기 제1 쌍의 병치된 가변 도메인은 N-말단이 scFv 유닛의 추가 가변 도메인에 연결되고 제2 쌍의 병치된 가변 도메인은 C-말단이 다른 scFv 유닛의 추가 가변 도메인에 연결된다 (도 1). 다른 구체예에서 상기 제1 단쇄 이중항체 유닛의 제1 쌍의 가변 도메인은 N-말단이 제2 단쇄 이중항체 유닛의 추가 가변 도메인에 연결되고 상기 제1 단쇄 이중항체의 제2 쌍의 가변 도메인은 C-말단이 제3 단쇄 이중항체 유닛의 추가 가변 도메인에 연결되어 서로 연결된 세 개의 단쇄 이중항체 유닛을 포함하는 하나의 폴리펩티드를 생성한다 (도 4). 추가적 예에서 하나 이상의 추가 가변 도메인은 상기 제1 및 제2 쌍의 병치된 가변 도메인 사이에 위치할 수 있다.

[0034] 특정 예에서 상기 이중항체-유닛이 단쇄 이중항체 유닛이면, 상기 다가 항체는 이 폴리펩티드의 두 개의 다른 병치된 가변 도메인, 즉 제2 쌍의 가변 도메인과 결합된 두 개의 병치된 가변 도메인, 즉 제1 쌍의 병치된 가변 도메인을 포함하는 단일 폴리펩티드로 이루어진다 (도 1). 그러한 항체 구조물은 다중 특이적, 구체적으로 이중-, 삼중-, 또는 사중 특이적 항체를 제공하는데 유리하다. 특정 구체예에서 그러한 다가의, 구체적으로 삼중 특이적 Fv 항체는 N-말단에서 C-말단으로 서로 연결된 여덟 개 이상의 가변 도메인, N-말단에 scFv-유닛을 형성하는 제1 및 제2 가변 도메인을 갖고, 상기 N-말단의 scFv-유닛은 C-말단이 제3 가변 도메인 및 제4 가변 도메인을 포함하는 이중항체-유닛의 제1 쌍의 가변 도메인의 제3 가변 도메인에 연결되고, 상기 제4 가변 도메인은 C-말단이 제5 및 제6 가변 도메인을 포함하는 이중항체-유닛의 제2 쌍 가변 도메인의 제5 가변 도메인으로 연결되고, 상기 제6 가변 도메인은 C-말단이 상기 C-말단의 scFv-유닛의 제7 가변 도메인으로 연결되고, 상기 scFv-유닛은 제7 및 제8 가변 도메인에 의해서 형성된다 (도 1). 상기 가변 도메인은 상기 폴리펩티드의 N-말단에서 C-말단으로, 하기의 배향 중 하나로 배열될 수 있다: $V_H-V_L-V_L-V_H-V_L-V_L-V_H$, $V_H-V_L-V_H-V_H-V_L-V_L-V_H$, $V_L-V_H-V_L-V_H-V_L-V_H-V_L$ 또는 $V_H-V_L-V_L-V_L-V_H-V_H-V_L-V_H$. 특정 구체예에서 상기 이중항체-유닛의 한 쌍의 가변 도메인은 V_H-V_H 배향을 갖고 상기 이중항체 유닛의 다른 쌍의 가변 도메인은 V_L-V_L 배향을 갖는다 (도 1).

[0035] 전술한 바와 같은 8 개의 가변 도메인을 갖는 단일 폴리펩티드로 이루어진 항체 분자의 4가 구체예는 삼중 특이적 항체에 유리하다. 예를 들어, 그러한 삼중 특이적 항체는 종양 세포와 같은 표적 세포에 대해 제1 및 제2 항원 특이성을 제공할 수 있고, T- 또는 NK-세포와 같은 면역 효과자 세포에 대해 제3 특이성을 제공할 수 있다.

다른 구체예에서, 그러한 삼중 특이적 항체는 효과자 세포 상의 상이한 항원에 대한 두 개의 특이성 및 종양 세포 상의 하나의 항원에 대한 제3 특이성을 가질 수 있다. 어떤 구체예에서, 상기 두 개의 원위 scFv 유닛은 상기 표적 세포에 대한 제1 및 제2 특이성을 가질 수 있고, 상기 두 개의 scFv 유닛 사이에 이중항체 유닛은 면역 효과자 세포에 대한 특이성을 가질 수 있다; 즉, N-말단에서 C-말단으로 제1 및 제2 가변 도메인은 표적 세포에 대한 제1 특이성을 갖고; 제3 및 제5 가변 도메인은 면역 효과자 세포에 대해 제3 특이성을 갖고, 제4 및 제6 가변 도메인은 상기 면역 효과자 세포에 대해 제3 특이성을 갖고 제7 및 제8 가변 도메인은 표적 세포에 대해 제2 특이성을 갖는다 (도 1). 다른 구체예에서 상기 두 개의 원위 scFv 유닛은 상기 면역 효과자 세포에 대한 특이성을 가질 수 있고, 상기 이중항체-유닛에 의해 형성된 두 개의 항원 결합 부위는 상기 표적 세포에 대해 두 가지 상이한 특이성을 가질 수 있다; 즉 N-말단에서 C-말단으로 제1 및 제2 뿐 아니라 제7 및 제8 가변 도메인은 상기 면역 효과자 세포에 대해 제3 특이성을 갖고, 제3 및 제5 가변 도메인은 상기 표적 세포에 대해 제1 특이성을 갖고 제4 및 제6 가변 도메인은 상기 표적 세포에 대해 제2 특이성을 갖는다. 추가의 대안적 구체예에서 상기 폴리펩티드는 여덟 개 이상의, 예를 들어, 10, 12 이상의 가변 도메인을 가질 수 있고, 두 개 이상의 scFv 유닛 및/또는 하나 이상의 이중항체 유닛을 포함할 수 있다.

[0036] 다른 구체예에서 상기 하나의 폴리펩티드로 이루어진 다가 항체 분자는 서로 연결된 세 개의 단쇄 이중항체 유닛을 포함한다 (도 4). 그러한 항체 분자는 N-말단에서 C-말단으로 서로 연결된 12 개 이상의 가변 도메인을 갖는다. 하나의 특정 구체예에서, 제2 단쇄 이중항체-유닛의 한 쌍의 가변 도메인은 V_H-V_H 배향을 갖고, 제2 단쇄 이중항체 유닛의 다른 쌍의 가변 도메인은 V_L-V_L 배향을 갖는다 (도 4). 그러한 항체 분자는 6 가이고, 하나 내지 여섯 개의 상이한 항원 특이성, 구체적으로 두 개 또는 세 개의 상이한 항원 특이성에 대한 항원 결합 부위를 포함할 수 있다.

[0037] 특정 예에서 상기 항체, 구체적으로 Fv 항체 분자는 이량체적 이중항체 유닛 형태로 이중항체 유닛을 포함한다. 그러한 예에서 상기 항체 분자는 두 개의 폴리펩티드의 이량체이고, 상기 이중항체 유닛의 두 개의 병치된 가변 도메인의 제1 쌍은 서로 연결된 여섯 개 이상의 가변 도메인을 갖는 제1 폴리펩티드에 통합되고, 상기 병치된 가변 도메인의 제1 쌍은 제2 폴리펩티드에서 병치된 두 개의 가변 도메인의 다른 제2 쌍과 결합된다. 바람직하게는, 상기 제1 및 제2 폴리펩티드는 비-공유적으로 결합된다 (도 2, 3, 5, 6a, 6b, 7, 8a 및 8b8b). 그러나, 일부 구체예에서, 상기 제1 및 제2 폴리펩티드는 예를 들어, 이황화 결합 또는 화학적 링커에 의해서 공유적으로 결합될 수 있다.

[0038] 일부 구체예에서 상기 제1 폴리펩티드는 6 개의 가변 도메인을 포함하고, 제2 폴리펩티드는 두 개 이상의 가변 도메인을 포함한다 (도 2). 그러한 구체예에서 상기 제2 폴리펩티드는 이중항체 유닛의 일부이고, 바람직하게는 비-공유적으로, 상기 제1 폴리펩티드로 통합된 두 개의 병치된 가변 도메인의 다른 쌍과 결합된다. 구체예에서 상기 제1 폴리펩티드 사슬이 6 개의 가변 도메인으로 이루어지고, 상기 제2 폴리펩티드가 두 개의 가변 도메인으로 이루어지는 경우, 상기 가변 도메인은 상기 폴리펩티드의 N-말단에서 C-말단으로, 예를 들어, 하기의 배열로 배열될 수 있다: $V_H-V_L-V_H-V_H-V_L-V_H$ (제1 폴리펩티드) 및 V_L-V_L (제2 폴리펩티드); $V_L-V_H-V_H-V_H-V_H-V_L$ (제1 폴리펩티드) 및 V_L-V_L (제2 폴리펩티드); $V_H-V_L-V_L-V_L-V_H-V_L$ (제1 폴리펩티드) 및 V_H-V_H (제2 폴리펩티드); $V_L-V_H-V_L-V_L-V_H-V_L$ (제1 폴리펩티드) 및 V_H-V_H (제2 폴리펩티드) 또는 $V_H-V_L-V_L-V_L-V_L-V_H$ (제1 폴리펩티드) 및 V_H-V_H (제2 폴리펩티드). 상기 V_H-V_H 순서로 한 쌍의 두 개의 가변 도메인을 갖고 상기 V_L-V_L 배향으로 다른 쌍의 두 개의 가변 도메인을 갖는 이중항체 유닛은 구체적으로 다중-특이적, 예를 들어 삼중 특이적인 항체 분자의 올바른 접합을 선호한다.

[0039] 전술한 바와 같은 6 개 이상의 가변 도메인을 갖는 제1 폴리펩티드 및 두 개 이상의 가변 도메인을 갖는 제2 폴리펩티드를 포함하는 항체 분자의 4가 구체예는 삼중 특이적 항체에 유리하다. 제1 및 제2 폴리펩티드의 상이한 크기 때문에, 상기 폴리펩티드는 상등액으로부터 용이하게 분리될 수 있다. 예를 들어, 그러한 삼중 특이적 항체는 종양 세포와 같은 표적 세포에 대해 제1 및 제2 특이적이고, T- 또는 NK-세포와 같은 면역 효과자 세포에 대해 제3 특이적이다. 다른 구체예에서 상기 삼중 특이적 항체 분자는 제1 및 제2 바이러스적 항원 또는 바이러스적 항원 에피토프에 대한 제1 및 제2 특이성 및 T- 또는 NK-세포와 같은 효과자 세포에 대한 제3 특이성을 제공한다. 다른 구체예에서 상기 삼중 특이적 항체 분자는 바이러스적 항원에 대한 제1 특이성, 표적 세포 상의 항원에 대한 제2 특이성 및 T- 또는 NK-세포와 같은 효과자 세포에 대해 제3 특이성을 제공한다. 다른 예에서, 그러한 삼중 특이적 항체는 T- 또는 NK-세포와 같은 효과자 세포에 대해 제1 및 제2 특이성, 및 종양 세포 상의 종양 항원과 같은 표적 세포 또는 바이러스적 항원에 대해 제3 특이성을 가질 수 있다. 상기 효과자 세포에 대한 제1 및 제2 특이성은 동일한 유형의 효과자 세포에 대한 동일한 항원의 상이한 항원 또는 에피토프일 수 있

다.

[0040] 일부 구체예에서 상기 제1 폴리펩티드에 형성된 두 개의 원위적 scFv 유닛은 상기 표적 세포에 대한 제1 및 제2 특이성을 가질 수 있고, 제1 및 제2 폴리펩티드 사이에 형성된 두 개의 scFv 유닛 간의 이중항체-유닛은 면역 효과자 세포에 대한 특이성을 가질 수 있다; 즉, 제1 폴리펩티드에서 N-말단에서 C-말단으로 상기 제1 및 제2 가변 도메인은 표적 세포에 대한 제1 특이성을 갖고; 상기 제3 및 제4 가변 도메인은 면역 효과자에 대한 제3 특이성을 갖고, 제5 및 제6 가변 도메인은 표적 세포에 대한 제2 특이성을 갖고, 제2 폴리펩티드에서 상기 제1 및 제2 가변 도메인은 면역 효과자 세포에 대한 제3 특이성을 갖는다 (도 2). 다른 구체예에서 상기 6 개의 가변 도메인을 갖는 제1 폴리펩티드에서 두 개의 원위적 scFv 유닛은 면역 효과자 세포에 대한 특이성을 가질 수 있고, 제1 폴리펩티드의 이중항체 유닛 뿐 아니라 제2 폴리펩티드의 두 개의 가변 도메인에 의해서 형성된 두 개의 항원 결합 부위는 표적 세포에 대해 두 개의 상이한 특이성을 갖는다; 즉, 제1 폴리펩티드에서 N-말단에서 C-말단으로 상기 제1 및 제2 뿐 아니라 제5 및 제6 가변 도메인은 면역 효과자 세포에 대한 제3 특이성을 갖고, 제3 가변 도메인은 표적 세포에 대한 제1 특이성을 갖고, 제4 가변 도메인은 표적 세포에 대한 제2 특이성을 갖고, 제2 폴리펩티드에서 상기 제1 가변 도메인은 표적 세포의 제2 특이성에 대한 특이성을 갖고 상기 제2 가변 도메인은 상기 표적 세포에 대한 제1 특이성을 갖는다.

[0041] 다른 구체예에서 상기 제1 폴리펩티드는 여섯 개 이상의 가변 도메인을 포함하고 및 상기 제2 폴리펩티드는 네 개 (도 6a, 6b) 또는 여섯 개의 (도 7) 가변 도메인을 포함한다. 그러한 구체예에서 상기 제1 폴리펩티드는 이중항체-유닛의 제1 쌍의 가변 도메인을 포함하고 상기 제2 폴리펩티드는 바람직하게는 서로 비-공유적으로 결합되어 상기 제1 및 제2 폴리펩티드 간에 두 개의 항원 결합 부위를 형성하는 이중항체-유닛의 제2 쌍의 가변 도메인을 포함한다. 구체예에서 상기 제1 폴리펩티드 사슬이 여섯 개의 가변 도메인으로 이루어지고 상기 제2 폴리펩티드가 네 개의 가변 도메인으로 이루어지는 경우 상기 제2 폴리펩티드에서 이중항체 유닛의 병치된 가변 도메인 쌍은 제2 폴리펩티드의 N-말단 또는 C-말단에 추가의 항원 결합 부위를 제공하는 scFv 유닛으로 연결된다 (도 6a, 6b). 그러한 구체예는 5가이고 한 개 내지 다섯 개의 상이한 항원 특성, 구체적으로 두 개 또는 세 개의 상이한 항원 특성에 대한 항원 결합 부위를 포함할 수 있다. 제1 폴리펩티드에서 V_H - V_H 배향으로 한 쌍인 두 개의 가변 도메인 및 제2 폴리펩티드에서 V_L - V_L 배향으로 다른 쌍인 두 개의 가변 도메인을 갖는 이중항체-유닛은 구체적으로 다중특이적, 예를 들어 삼중 특이적의 항체 분자의 올바른 접합을 선호한다.

[0042] 다른 구체예에서 상기 제1 폴리펩티드 사슬이 여섯 개의 가변 도메인으로 이루어지고 상기 제2 폴리펩티드가 네 개의 가변 도메인으로 구성되는 경우, 상기 제2 폴리펩티드에서 이중항체 유닛의 병치된 가변 도메인 쌍은 N-말단 또는 C-말단이 두 개의 추가 항원 결합 부위를 제공하는 scFv 유닛으로 연결된다 (도 7). 그러한 구체예는 6가이고 하나 내지 여섯 개의 상이한 항원 특이성, 구체적으로 두 개 또는 세 개의 상이한 항원 특이성에 대한 항원 결합 부위를 포함할 수 있다. 특정 구체예에서 상기 이중항체 유닛은 상기 제1 폴리펩티드에서 V_H - V_H 배향으로 한 쌍의 가변 도메인 및 상기 제2 폴리펩티드에서 V_L - V_L 배향으로 다른 쌍의 가변 도메인을 갖는다. 다른 대안적인 구체예에서 다가, 예를 들어 삼중 특이적인 Fv 항체 분자는 하나 이상의 이량체적 이중항체 유닛을 포함할 수 있다. 그러한 대안적인 구체예에서 상기 제1 폴리펩티드는 여섯 개 이상의 가변 도메인을 포함할 수 있고 상기 제2 폴리펩티드는 네 개 (도 3) 또는 여섯 개의 (도 8a, 8b) 가변 도메인을 포함할 수 있다. 구체예에서 상기 제1 폴리펩티드가 여섯 개 이상의 가변 도메인을 포함하고 상기 제2 폴리펩티드가 네 개의 가변 도메인을 포함하는 경우, 상기 제2 폴리펩티드의 네 개의 병치된 가변 도메인은 상기 제1 폴리펩티드에 통합된 상응하는 네 개의 병치된 가변 도메인과 결합되어 일렬(tandem)의 두 개의 병치된 이중항체-유닛을 형성한다. 상기 남아있는 제1 폴리펩티드의 두 개 이상의 추가 가변 도메인은 상기 일렬의 이중항체 유닛으로부터 원위적으로 위치하고, scFv 유닛을 형성한다 (도 8a, 9b). 다른 구체예에서, 상기 제1 폴리펩티드가 여섯 개의 가변 도메인을 포함하고 상기 제2 폴리펩티드가 여섯 개의 가변 도메인을 포함하는 경우, 상기 제1 폴리펩티드의 여섯 개의 가변 도메인은 제2 폴리펩티드의 상응하는 여섯 개의 가변 도메인과 결합되어 세 개의 병치된 이중항체-유닛을 형성한다 (도 3). 각 폴리펩티드가 여섯 개의 가변 도메인을 포함하는 제1 및 제2 폴리펩티드로 구성된 후자의 구체예는 동종이량체의 형태로 삼중 특이적, 즉 동일한 두 개의 폴리펩티드가 서로 결합되어 세 개의 항원 특이성 각각에 대해 2가적 결합을 제공하는 항체를 제공할 수 있는 이점을 갖는다.

[0043] 특정 예에서 4가, 삼중 특이적 Fv 항체는 일렬의 이중항체에 의해서 제공된다. 그러한 삼중 특이적 Fv 항체 분자는 제1 및 제2 폴리펩티드로 이루어지고, 각 폴리펩티드는 서로 연결된 네 개의 가변 도메인을 포함한다. 그러한 Fv 항체 분자에서 상기 링커 길이는 가변 도메인의 분자 내 페어링을 배제하여 상기 분자가 그 자체로 접힐 수 없지만, 다른 폴리펩티드의 상보적 도메인과 쌍을 이루도록, 즉, 결합되도록 한다. 상기 도메인은 상응하

는 V_H 및 V_L 도메인이 이량체화하는 동안 서로 결합되도록 배열된다. 분자 간 공유 결합의 부재에도 불구하고, 상기 이량체는 한 번 형성되면 매우 안정하고, 손상되지 않도록 남아 있어 단량체 형태로 되돌아가지 않는다. 일부 구체예에서 상기 삼중 특이적 Fv 항체 분자는 이량체적 이중항체 유닛을 포함하고, 한 쌍의 두 개의 병치된 가변 도메인은 V_H - V_H 배향을 갖고 다른 쌍의 두 개의 병치된 가변 도메인은 V_L - V_L 배향을 갖는다. 상기 이중항체 유닛에서 그러한 가변 도메인 배향은 두 개의 삼중 특이적 폴리펩티드의 올바른 결합을 촉진시킨다. 구체적으로, 그러한 배향은 일렬의 이중항체의 형태로 삼중 특이적 Fv 항체 분자를 가능하도록 하는데, 두 개의 상이한 폴리펩티드의 이중이량체이기 때문이다. 따라서, 그러한 배향은 바람직하게는 삼중 특이적 일렬의 이중항체의 올바른 이중이량체화를 가능하게 한다. 따라서, 일부 구체예에서 상기 삼중 특이적 Fv 항체 분자는 일렬의 이중항체이다 (도 3). 그러한 삼중 특이적 일렬의 이중항체에서 상기 제1 및 제2 폴리펩티드의 가변 도메인은 상기 폴리펩티드의 N-말단에서 C-말단으로, 예를 들어 하기의 배향으로 배열될 수 있다: V_L - V_H - V_H - V_L (제1 폴리펩티드) 및 V_H - V_L - V_L - V_H (제2 폴리펩티드) 또는 그 반대 (도 3). 일렬의 이중항체의 형태인 그러한 삼중 특이적 항체는 종양 세포와 같은 표적 세포에 대해 제1 및 제2 특이성 및 T- 또는 NK-세포와 같은 면역 효과자 세포에 대한 제3 특이성을 제공할 수 있다. 다른 예에서, 그러한 삼중 특이적 항체는 상기 효과자 세포 상의 상이한 항원에 대해 두 개의 특이성 및 종양 세포 상의 항원에 대해 제3 특이성을 가질 수 있다. 일부 구체예에서 상기 폴리펩티드에서 외부적으로 위치한 가변 도메인은 표적 세포에 대한 제1 및 제2 특이성을 가질 수 있고 상기 외부적으로 위치한 가변 도메인 간의 상기 폴리펩티드에서 중심에 위치한 두 개의 가변 도메인은 면역 효과자 세포에 대한 제3 특이성을 갖는다; 즉, 상기 폴리펩티드에서 N-말단에서 C-말단으로, 상기 제1 가변 도메인은 상기 표적 세포에 대한 제1 특이성을 갖고; 상기 제2 및 제3 가변 도메인은 상기 면역 효과자 세포에 대한 제3 특이성을 갖고, 제4 가변 도메인은 상기 표적 세포에 대한 제2 특이성을 갖고, 및 제2 폴리펩티드에서 상기 제1 가변 도메인은 상기 표적 세포에 대한 제2 특이성을 갖고, 상기 제2 및 제3 가변 도메인은 상기 면역 효과자 세포에 대해 제3 특이성을 갖고 및 제4 가변 도메인은 상기 표적 세포에 대한 제1 특이성을 갖는다 (도 3). 다른 구체예에서 상기 폴리펩티드에 외부적으로 위치한 가변 도메인은 면역 효과자 세포에 대한 제3 특이성을 가질 수 있고 상기 외부적으로 위치한 가변 도메인 간의 폴리펩티드에서 중심에 위치한 두 개의 가변 도메인은 표적 세포에 대한 제1 및 제2 특이성을 가진다; 즉, 상기 제1 폴리펩티드의 N-말단에서 C-말단으로, 상기 제1 가변 도메인은 상기 면역 효과자 세포에 대한 제3 에피토프 특이성을 갖고; 상기 제2 가변 도메인은 상기 표적 세포에 대한 제1 특이성을 갖고, 상기 제3 가변 도메인은 상기 표적 세포에 대한 제2 특이성을 갖고, 상기 제4 가변 도메인은 상기 면역 효과자 세포에 대한 제3 특이성을 갖고, 상기 제2 폴리펩티드에서 제1 가변 도메인은 상기 면역 효과자 세포에 대한 제3 특이성을 갖고, 상기 제2 가변 도메인은 상기 표적 세포에 대한 제2 특이성을 갖고, 상기 제3 가변 도메인은 상기 표적 세포에 대한 제1 특이성을 갖고 및 상기 제4 가변 도메인은 상기 면역 효과자 세포에 대한 제3 특이성을 갖는다. 다른 구체예에서 상기 면역 효과자 세포에 대한 제3 특이성을 갖는 가변 도메인은 항체 분자에서 측방향(laterally)으로 위치한다; 즉 상기 제1 폴리펩티드에서 N-말단에서 C-말단으로, 상기 제1 및 제2 가변 도메인은 상기 면역 효과자 세포에 대해 제3 특이성을 갖고; 상기 제3 가변 도메인은 상기 표적 세포에 대해 제1 특이성을 갖고, 상기 제4 가변 도메인은 상기 표적 세포에 대해 제2 특이성을 갖고, 및 상기 제2 폴리펩티드에서 상기 제1 가변 도메인은 상기 표적 세포에 대해 제2 특이성을 갖고, 상기 제2 가변 도메인은 상기 표적 세포에 대해 제1 특이성을 갖고 상기 제3 및 제4 가변 도메인은 상기 면역 효과자 세포에 대해 제3 특이성을 갖는다.

[0044] 다른 구체예에서 상기 일렬의 이중항체는 하나 이상의 추가의 항원 결합 도메인, 구체적으로 상기 폴리펩티드의 N-말단 또는 C-말단에 하나 이상의 scFv-유닛에 접합(conjugate)된다. 바람직한 구체예에서 상기 일렬의 이중항체는 펩티드 링커에 의해서 상기 하나 이상의 scFv-유닛에 접합된다. 구체적으로 그러한 항체 분자는 제1 및 제2 폴리펩티드로 이루어지고, 폴리펩티드 둘 모두 여섯 개의 가변 도메인으로 이루어지고, 상기 각 제1 폴리펩티드 및 제2 폴리펩티드는 각 폴리펩티드의 N-말단 또는 각 폴리펩티드의 C-말단(도 8a)에 scFv-유닛을 포함한다 (도 8b). 그러한 항체 분자는 6가이고 한 개 내지 여섯 개의 상이한 항원 특이성, 구체적으로 두 개 또는 세 개의 상이한 항원 특이성에 대한 항원 결합 부위를 포함할 수 있다. 특정 구체예에서 상기 항체 분자 내에서 중심에 위치한 이중항체-유닛은 상기 제1 폴리펩티드에서 V_H - V_H 배향으로 한 쌍의 가변 도메인 및 제2 폴리펩티드에서 V_L - V_L 배향으로 다른 쌍의 가변 도메인을 갖는다. 특정 예에서 상기 다가 항체 분자, 구체적으로 여기서 기술된 Fv 항체 분자는 삼중 이상으로 특이적이고 4가 이상인 항체 분자이다. 그러한 항체 분자는 동일한 항원 에피토프에 대한 특이성을 갖는 두 개 이상의 항원-결합 부위를 포함한다. 이에 따라, 결합력, 즉, 상기 항원 에피토프와 항원-결합 분자간의 상호 작용의 강도가 증가된다. 상기 삼중 특이적 항체 분자의 결합력은 본 발명의 5가 및 6가 구체예에 의해서 더 증가될 수 있다. 5가 분자는 삼중 특이적 항체의 세 개의 에피토프 특이성 중 두

개에 대한 두 개 이상의 결합 부위를 제공할 수 있고, 6가 구체에는 세 개의 에피토프 특이성 각각에 대한 2 개의 항원-결합 부위를 제공할 수 있다. 대안적으로, 상기 다중 특이성, 즉, 특이성(specifitisspecificities)의 수는 4가, 5가 및 6가 구체에 의해서 증가될 수 있다. 예를 들어, 상기 항체 분자는 사중-특이적일 수 있다. 더 높은 결합력의 이점은 표적에 대한 상호작용 및 유지의 안정성의 증가이다. 예를 들어, 상기 표적이 T-세포 또는 NK-세포와 같은 세포 독성적 면역 효과자 세포인 경우, 더 높은 결합력은 상기 항체 분자의 증가된 세포 독성적 잠재력을 유발할 수 있다. 다른 예에서, 상기 표적이 종양 세포인 경우, 더 높은 결합력은 상기 표적에 대한 유지 시간을 개선시키고 상기 표적에 대한 분리율(off-rate)을 감소시킨다. 본 발명의 특정 구체에서, 상기 삼중 특이적 및 4가 Fv 항체 분자는 동일한 종류의 종양 세포의 두 개의 상이한 항원 에피토프에 대한 제1 및 제2 항원-결합 부위 특이성 및 T-세포 또는 NK-세포와 같은 면역 효과자 세포 상의 항원 에피토프에 대한 제3 및 제4 항원 결합 부위 특이성을 포함한다. 그러한 항체 분자는 특정 종류의 종양 세포에 대한 특이성뿐 아니라 결합력도 증가시키고, 면역 효과자 세포에 대한 활성화 또는 억제에 대한 결합력을 증가시켜, 항원-결합 분자의 유리하게 증가된 특이적 세포 독성 잠재성을 유발한다. 두 개의 별개의 항원 에피토프에 대한 결합은 표적화 특이성에 대한 증가 및 비-표적(off-target) 세포독성을 감소시킴으로써 치료 창(therapeutic window)을 연장시킨다. 따라서, 본 발명은 하나 이상의 에피토프 특이성에 대한 2 개 이상의 항원-결합 부위, 예를 들어, 한 개, 두 개 또는 세 개의 에피토프 특이성, 즉, 표적에 대한 두 개의 결합 부위를 제공하기 때문에 결합력 및/또는 생물학적 활성을 유리하게 증가시킨 다중-특이적 항체 분자를 제공한다.

- [0045] 중요하게는, 구조적 복잡성에도 불구하고, 그러한 다중-특이적, 예를 들어, 삼중 특이적 및 다가, 예를 들어, 본 발명의 4가, 항체 분자는 안정하다.
- [0046] 다른 예에서, 그러한 다중-특이적, 예를 들어, 삼중 특이적, 항체는 효과자 세포 세포, 예를 들어, NK-세포 또는 T-세포에 대해 2 개의 특이성 및 종양 세포 상의 하나의 항원에 대한 제3 특이성을 가질 수 있다.
- [0047] 따라서, 본 발명에 따른 항체 분자는 종양 세포 또는 예를 들어, 바이러스에 감염된 세포와 같은 감염체를 파괴시키기 위해 면역 효과자 세포의 세포 독성 잠재력으로 전용(redirect)하기 위한 상이한 방식으로 이용될 수 있다. 일부 구체에서 상기 다중-특이적, 예를 들어, 삼중 특이적 항체 분자는 표적에 대해 두 개 상이한 항원 에피토프에 결합할 수 있다. 예를 들어, 상기 두 개 상이한 에피토프는 동일한 항원 상에 있어 탈출 돌연변이 (escape mutant)를 방지하거나 효능을 증진시킬 수 있거나, 또는 상기 2 개의 에피토프가 상기 표적의 두 개의 상이한 항원 상에 있을 수 있다. 다른 구체에서 상기 삼중 특이적 항체 분자는 면역 효과자 세포 상의 두 개의 상이한 항원 에피토프에 결합할 수 있다. 예를 들어, 제1 항원-결합 부위는 예를 들어, CD16, CD16A 또는 CD3의 활성화 수용체에 대한 특이성을 갖고 제2 항원-결합 부위는 예를 들어 CD137, OX-40 또는 CD28의 공동-자극적 수용체에 대한 특이성을 갖는다. 다른 예에서, 제1 항원-결합 부위는 CD16 또는 CD16A에 대한 특이성을 갖고 제2 항원-결합 부위는 NK-세포 상의 다른 활성화 수용체, 예를 들어, NKG2D, DNAM, NCR에 대한 특이성을 가질 수 있다.
- [0048] 다른 구체에서 상기 삼중 특이적, 구체적으로 Fv, 항체 분자는 종양 세포 상의 항원 에피토프에 대한 특이성을 갖는 제1 항원-결합 부위, 면역 효과자 세포 상의 항원 에피토프에 대한 특이성을 갖는 제2 항원-결합 부위 및 성장 인자, 시토킨, 케모킨, 미토젠 및 알부민의 군으로부터 선택된 가용성 단백질 상의 항원 에피토프에 대한 특이성을 갖는 제3 항원-결합 부위를 갖는다. 그러한 가용성 단백질의 예는 IL-6, BAFF, APRIL, TGF-베타, IL-10, VEGF-A, TGF-알파, EGF, HB-EGF, 헤레굴린(Heregulin), 안지오프로테틴-2 및 인간 혈청 알부민(HSA)이다.
- [0049] 대안적인 구체에서 상기 항체 분자는 한 유형의 세포에 존재하는 항원의 항원 에피토프에 대한 특이성을 갖는 하나의 항원-결합 부위 및 하나 이상의 다른 유형의 세포 상의 항원 에피토프에 대한 특이성을 갖는 세 개의 항원-결합 부위를 갖는다.
- [0050] "효과자 세포(effector cell)"는 세포 독성, 식균 작용, 항원 제시 또는 시토킨 방출을 자극하거나 유발할 수 있는 면역계의 세포이다. 그러한 효과자 세포는 예를 들어 T-세포, 자연 살해 (NK)-세포, 감마 델타(gd) T-세포, 자연 살해 T (NKT)-세포, 과립구, 단핵구(monocyte), 대식세포, 수지상 세포, 선천성 림프구 세포 (innate lymphoid cell; ILC) 및 항원-제시 세포이고, 이에 제한되지 않는다. 효과자 세포에 대한 적절한 특이성의 예는 CD2, CD3 및 CD3 ϵ 과 같은 CD3 서브유닛, CD5, CD28 및 T-세포의 T-세포 수용체 (TCR) 또는 CD134 (OX40); NK-세포의 CD16A, CD25, CD38, CD44, CD56, CD69, CD94, CD335 (NKp46), CD336 (NKp44), CD337 (NKp30), NKp80, NKG2A, NKG2C 및 NKG2D, DNAM, NCR; 과립구의 CD18, CD64 및 CD89; 단핵구 및 대식세포의 CD18, CD32, CD47, CD64, CD89 및 만노스 수용체; 수지상 세포의 CD64 및 만노스 수용체; 및 CD35의 다른 구성

을 포함하나 이에 제한되지 않는다. 본 발명의 특정 구체예에서 이러한 효과자 세포의 특이성, 즉 세포 표면 분자는 다중 특이적, 예를 들어 삼중 특이적인 항체 분자와 결합 시 세포 용해 또는 세포 사멸을 유도하여 세포 살해를 매개하기에 적합하다.

- [0051] CD3 항원은 T-세포 상의 T-세포 수용체 복합체의 구성이다. 효과자 세포에 대한 특이성이 CD3인 경우, 본 발명에 따른 상기 항원-결합 분자의 CD3에 대한 결합은 T-세포의 세포 독성 활성을 유발한다. 항체 분자가 CD3 및 종양 세포와 같은 표적 세포에 결합함으로써, 상기 표적 세포의 세포 용해가 유도될 수 있다.
- [0052] 상기 CD16A (Fc γ RIIA) 항원은 NK-세포의 표면 상에 발현된 수용체이다. NK-세포는 고유의 세포 유리 활성을 가지며, 본 발명에 따른 항체 분자의 CD16 또는 CD16A에 결합함으로써 NK 세포의 표적에 대한 세포 독성 활성이 유발될 수 있다.
- [0053] "표적(target)"은 항원 에피토프가 위치하고 항체 분자가 결합할 부위이다. 표적의 예는 가용제, 세포 상의 항원, 예를 들어 뎅기 바이러스, 헤르페스 심플렉스, 인플루엔자 바이러스, HIV, HCV, CMV로부터 유래된 바이러스 또는 박테리아 항원과 같은 감염제, 또는 바이러스 및 박테리아의 침입을 용이하게 하는 세포 상의 항원 또는 예를 들어 뉴론, 표지 항원, 또는 IL-2/IL2R과 같은 자가 면역 표적을 운반하는 세포, 자가면역 마커 또는 자가 면역 항원 또는 종양 세포와 같은 세포이다. 하나 이상의 항원-결합 부위가 효과자 세포에 대한 특이성을 갖는 구체예에서, 상기 표적은 효과자 세포가 예를 들면, 면역과 같은 개별적인 생물적 반응을 유도하거나 또는 유발하도록 전용되어야 하는 종양 세포가 될 수 있다.
- [0054] 종양 세포에 대해 적합한 특이성은 개별적인 종양 세포 상의 종양 항원 및 세포 표면 항원, 예를 들어 특이적 종양 마커일 수 있다. 본 명세서에서 사용된 용어 "종양 항원(tumor antigen)"은 종양 결합된 항원 (TAA) 및 종양 특이적 항원 (TSA)을 포함한다. 본 명세서에서 사용된 "종양 결합된 항원(tumor associated antigen)" (TAA)은 태아 생존(종양태아(onco-fetal) 항원) 동안 및 선택된 기관에서 출생 후 종양 세포 및 정상 세포 상에 존재하나 종양 세포에 비해 훨씬 낮은 농도인 단백질을 의미한다. TAA는 또한 종양 세포 부근의 간질에 존재할 수 있으나 신체의 다른 곳의 간질에서 더 적은 양으로 발현된다. 반대로, 용어 "종양 특이적 항원(tumor specific antigen)" (TSA)은 종양 세포에 의해서 발현된 단백질을 의미한다. 용어 "세포 표면 항원(cell surface antigen)"은 세포의 표면 상에서 항체 의해 인지될 수 있는 임의의 항원 또는 이의 단편 분자를 의미한다.
- [0055] 종양 세포의 특이성의 예는 CD19, CD20, CD26, CD29, CD30, CD33, CD52, CD200, CD267, EGFR, EGFR2, EGFR3, EGFRvIII, HER2, HER3, IGFR, IGF-1R, Ep-CAM, PLAP, Thomsen-Friedenreich (TF) 항원, TNFRSF17, gpA33, MUC-1 (뮤신(mucin)), IGFR, CD5, IL4-R 알파, IL13-R, Fc ϵ RI, MHC 클래스 I/펩티드 복합체 및 IgE를 포함하나 이에 제한되지 않는다.
- [0056] 상기 종양 특이성이 CD19 항원에 대한 것인 본 발명에 따른 항체 분자는 CD19 항원이 림프구성 백혈병 (lymphoblastic leukemia; ALL) 부터 비-호지킨성 림프종(non-Hodgkin's lymphoma; NHL)에 이르기까지 실질적으로 모든 B-계통 악성 종양에서 발현되지 때문에 B-세포 악성 종양의 면역 치료로 사용될 수 있다.
- [0057] 종양 특이성이 CD30에 대한 것인 본 발명에 따른 항체 분자는 구체적으로 호지킨성 질환 및 T-세포성 림프종을 치료하는데 사용될 수 있다.
- [0058] 종양 특이성이 표피 성장 인자 수용체 (EGFR) 또는 EGFRvIII 돌연변이에 대한 것인 본 발명에 따른 항체 분자는 신경 교종, 유방암, 난소암, 전립선암, 폐암, 두암 및 목암; 예를 들어, 간세포 암, 간경화 또는 만성 간염과 같은 간 질환을 치료하는데 사용될 수 있다.
- [0059] 신체에서 본 발명에 따른 항체 분자의 혈청-반감기를 증가시키기 위해, 상기 항체 분자는 필요에 따라 인간 혈청 알부민(HSA), 또는 폐길화, 사일릴화, 과실레이트화 또는 글리코실화된 알부민과 융합될 수 있다 (예를 들어, Stork et al., 2008, J. Biol. Chem., 283:7804-7812 참조). 일부 구체예에서 상기 항체 분자는 삼중 이상 특이적이고 알부민, 예를 들어 HAS에 대해 하나 이상, 예를 들어 하나 또는 두 개의 특이성을 갖는 항원-결합 부위를 포함한다. 그러한 삼중 이상 특이적인 항체 분자는 예를 들어, 4가, 5가 또는 6가 항체 분자일 수 있다.
- [0060] 표적 세포 또는 효과자 세포 상에 특이성을 갖는 가변 도메인은 의도하는 항원에 대한 특이성을 갖는 가변 단편 (Fv)를 선택함으로써 얻을 수 있다. 이는 예를 들어, 단쇄 Fv (scFv) 파지 디스플레이 라이브러리를 스크리닝하거나 또는 하이브리도마 기술을 통해 성취될 수 있다. 예를 들어, 인간 scFv 서열의 IgM-기반된 파지 디스플레이 라이브러리는 원하는 항원에 대해 특이적인 결합제를 풍부하게 하기 위해 여러 차례의 인비트로 선택을 가할

수 있다. 선택된 scFv의 친화도는 친화성 성숙에 의해 더 증가될 수 있다.

- [0061] 본 발명의 일부 구체예에서 하나 이상의, 바람직하게는 모든 항체 가변 도메인이 완전히 인간성이거나, 인간화되거나, 또는 키메라인 도메인이다. 인간화된 항체는 예를 들어 CDR-접목과 같은 잘-설립된 방법에 의해서 생산될 수 있다 (예를 들어, Antibody engineering: methods and protocols / edited by Benny K.C. Lo; Benny K.C. II Series: Methods in molecular biology (Totowa, N.J.) 참조). 따라서, 통상의 기술자는 인간화되거나 또는 완전히 인간성인 버전의 항원-결합 분자 및 설치류 또는 비-영장류와 같은 비-인간 소스로부터 이 분야에 알려진 표준적 분자 생물학적 기술을 이용하여 가변 도메인을 쉽게 만들어 인간 면역계에서 면역원성을 감소시키고 항원-결합 분자의 효율을 개선시킬 수 있다. 본 발명의 바람직한 구체예에서, 모든 항체 가변 도메인 및 인간화되거나 또는 완전히 인간성인; 가장 바람직하게는, 본 발명에 따른 항체 분자는 인간화되거나 또는 완전히 인간성이다. 본 명세서에서 사용된 용어 "완전히 인간성 (fully human)"은 가변 도메인 및 상기 폴리펩티드에서 가변 도메인을 연결하는 펩티드의 아미노산 서열이 인간으로부터 유래하거나 찾을 수 있는 것을 의미한다. 본 발명의 특정 구체예에서 상기 가변 도메인은 인간성이거나 인간화되지만 상기 항체 가변 도메인을 연결하는 펩티드가 아닐 수 있다.
- [0062] 통상의 기술자는 이 분야에 알려진 설립된 기술 및 표준 방법을 이용하여 본 명세서에 기술된 항체 분자를 과도한 부담 없이 용이하게 구축하거나 얻을 수 있을 것이다 (예를 들어, Sambrook, Molecular Cloning A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory (1989) N.Y.; The Protein Protocols Handbook, edited by John M. Walker, Humana Press Inc. (2002); 또는 Antibody engineering: methods and protocols / edited by Benny K.C. Lo; Benny K.C. II Series: Methods in molecular biology (Totowa, N.J.); Antibody Engineering / edited by Rol and E. Kontermann and Stefan Dübél, Springer Verlag Berlin Heidelberg (2010) 참조).
- [0063] 본 명세서에 기술된 일 구체예에 따른 항체 분자는 상기 항체 분자를 형성하는 개별적인 폴리펩티드 사슬을 인코딩하는 폴리뉴클레오티드를 발현시킴으로써 생산될 수 있다. 따라서, 본 발명의 다른 구체예는 본 명세서에서 상기에 기술된 항체 분자의 폴리펩티드를 인코딩하는 폴리뉴클레오티드, 예를 들어, DNA 또는 RNA이다.
- [0064] 상기 폴리뉴클레오티드는 통상의 기술자에게 알려진 방법, 예를 들어 펩티드 링커에 의해서 분리되거나 상기 폴리펩티드의 펩티드 결합에 의해서 직접적으로 연결된 항체 가변 도메인을 인코딩하는 유전자를 적절한 프로모터 및 선택적으로 적절한 전사 종결자에 작동적으로 연결된 유전적 구조물에 결합시키고, 이를 박테리아 또는 예를 들어 CHO 세포와 같은 다른 적절한 발현 시스템에 발현시켜서 구축될 수 있다. 벡터 시스템 및 사용된 숙주에 의존하여, 구성적이고 유도성인 프로모터를 포함하는 적합한 수의 전사 및 번역 요소가 사용될 수 있다. 상기 프로모터는 개별적인 숙주 세포에서 폴리뉴클레오티드의 발현을 유도하도록 선택된다.
- [0065] 상기 폴리뉴클레오티드는 벡터, 바람직하게는 발현 벡터로 삽입되어 본 발명의 다른 구체예를 보여줄 수 있다. 이러한 재조합 벡터는 이 분야의 통상의 기술자에게 잘 알려진 방법에 따라 구축될 수 있다.
- [0066] 다양한 발현 벡터/숙주 시스템이 본 발명의 폴리펩티드 사슬을 인코딩하는 폴리뉴클레오티드를 얻고 발현하는데 사용될 수 있다. 대장균(E.coli)에서의 발현을 위한 발현 벡터의 예는 pSKK (LeGall 등, J Immunol Methods. (2004) 285(1):111-27)이고 또는 포유류 세포에서 발현을 위한 pcDNA5 (Invitrogen) 가 있다.
- [0067] 따라서, 본 명세서에서 기술된 항체 분자는 상기 기술된 바와 같은 폴리펩티드를 인코딩하는 벡터를 숙주 세포로 도입하고 상기 숙주 세포를 상기 폴리펩티드가 발현되는 조건 하에 배양하여 생산할 수 있고, 단리하거나, 선택적으로 정제할 수 있다.
- [0068] 본 발명의 조성물의 다른 구체예에서, 예를 들어, 본 명세서에서 상기 기술된 바와 같은 항체 분자 및 하나 이상의 추가 구성을 포함하는 약학적 조성물이 제공된다.
- [0069] 다른 구체예에서 상기 항체 분자는 약제 또는 진단용으로 사용된다. 구체적으로, 상기 항체 분자는 면역 치료용이다. 예를 들어, 상기 항체 분자는 종양, 바이러스 또는 퇴행성 신경성 질환의 치료용이다. 따라서, 본 발명에 따른 항체 분자를 투여하는 단계를 포함하는, 개인을 면역 치료로 치료하는 방법을 추가로 포함하고, 구체적으로 상기 개인은 종양, 바이러스, 또는 퇴행성 신경성 질환으로 고통받는 것이다.
- [0070] 본 발명은 상기 항체 분자, 구체적으로 본 명세서에서 상기 기술된 바와 같은 항체 분자 및 하나 이상의 추가 구성을 포함하는 조성물을 유효량으로 개체, 예를 들어 환자에게 암 (예를 들어, 비-호지킨성 림프종; 만성 림프구성 백혈병)을 치료하기 위한 방법을 제공한다. 상기 본 발명에 따른 항원-결합 분자는 약제로 사용될 수 있

다.

도면의 간단한 설명

[0071]

도 1은 폴리펩티드의 N-말단 7에서 C-말단 8으로 $V_H-V_L-V_H-V_H-V_L-V_L-V_L-V_H$ 배향으로 서로 연결된 여덟 개의 가변 도메인을 갖는 단일 폴리펩티드로 이루어진 4개의 삼중 특이적 Fv 항원-결합 분자를 보여준다. 이러한 도메인 배향은 단지 하나의 예시이고 다른 배열이 상기 기술된 바와 같이 가능하다. 두 개의 단쇄 Fv (scFv) 유닛 2는 펩티드 링커 5에 의해서 단쇄 이중항체 유닛 1에 원거리로 연결되고, 하나의 scFv 유닛 2의 가변 경쇄 (V_L) 도메인은 C-말단이 펩티드 링커 5에 의해서 상기 이중항체 유닛 1의 제1 쌍의 가변 도메인 중 가변 중쇄 (V_H) 도메인의 N-말단에 연결된다. 상기 scFv 유닛 2의 V_L 는 N-말단이 상기 scFv 유닛의 V_H 에 펩티드 링커 4에 의해서 연결된다. 상기 제1 쌍의 가변 도메인의 V_H 는 짧은 펩티드 링커 3에 의해서 상기 제1 쌍의 가변 도메인의 다른 V_H 도메인에 연결된다. 상기 제1 쌍의 가변 도메인은 C-말단이 긴 펩티드 링커 4에 의해서 둘 모두 V_L 도메인인 상기 이중항체의 제2 쌍의 가변 도메인의 N-말단에 연결된다. 상기 제2 쌍의 가변 도메인의 두 V_L 도메인은 짧은 펩티드 링커 3에 의해서 연결된다. 상기 이중항체의 제2 쌍의 가변 도메인은 C-말단이 상기 폴리펩티드의 C-말단에 위치한 다른 scFv 유닛의 V_L 도메인의 N-말단에 연결된다. 상기 폴리펩티드의 C-말단에 scFv 유닛 2는 긴 링커 4에 의해서 V_H 도메인과 연결된 V_L 도메인으로 이루어진다. 상기 두 scFvs 유닛 2는 상이한 특이성을 갖는 항원 결합 부위를 갖고 상기 이중항체 유닛 1은 동일한 특이성에 대한 두 개의 항원 결합 부위를 갖는다.

도 2는 제1 폴리펩티드의 N-말단 7에서 C-말단 8으로 $V_H-V_L-V_H-V_H-V_L-V_H$ 배향으로 서로 연결된 여섯 개의 가변 도메인을 갖는 제1 폴리펩티드 및 제2 폴리펩티드의 N-말단 7a에서 C-말단 8a으로 V_L-V_L 배향으로 서로 연결된 두 개의 가변 도메인을 갖는 제2 폴리펩티드로 이루어진 4개의 삼중 특이적 Fv 항원-결합 분자를 보여준다. 이러한 도메인 배향은 단지 하나의 예시이고 다른 배열이 상기 기술된 바와 같이 가능하다. 상기 Fv 항원 결합 분자는 상기 제2 폴리펩티드에서 제2 쌍의 두 개의 가변 도메인과 결합된 상기 제1 폴리펩티드에 통합된 제1 쌍의 두 개의 가변 도메인으로부터 형성된 이량체인 이중항체 유닛을 포함한다. 상기 제1 폴리펩티드에 통합된 제1 쌍의 두 개의 가변 도메인의 상기 두 개의 가변 도메인 각각은 scFv 유닛 2에 연결된다. 상기 각각의 scFv 유닛 2에서 상기 가변 도메인은 긴 펩티드 링커 4에 의해서 연결된다. N-말단의 scFv 유닛 2는 C-말단이 펩티드 링커 5에 의해서 상기 이중항체 유닛 1의 제1 쌍의 가변 도메인의 N-말단으로 연결된다. 이 제1 쌍의 가변 도메인은 짧은 펩티드 링커 3에 의해 연결된 두 개의 V_H 도메인으로 이루어진다. 상기 이중항체 유닛 1의 제1 쌍의 가변 도메인은 C-말단이 펩티드 링커 5에 의해서 상기 제1 폴리펩티드의 C-말단에 위치한 scFv 유닛 2의 N-말단으로 연결된다. 상기 두 개의 scFvs 유닛 2는 상이한 특이성을 갖는 항원 결합 부위를 갖고 상기 이중항체 유닛 1은 동일한 특이성에 대한 두 개의 항원 결합 부위를 갖는다.

도 3은 비-공유적으로 결합된 이종이량체(heterodimer)를 형성하는 제1 및 제2 폴리펩티드로 이루어진 삼중 특이적 일렬(tandem)의 이중항체 형태인 4개의 삼중 특이적 Fv 항원-결합 분자를 보여준다. 상기 일렬의 이중항체는 상기 제2 폴리펩티드의 중앙에 위치한 한 쌍의 V_L-V_L 도메인과 상기 제1 폴리펩티드의 중앙에 위치한 한 쌍의 V_H-V_H 도메인에 의해 형성된 이량체인 이중항체 유닛 1을 포함한다. 상기 제1 및 제2 폴리펩티드 내 가변 도메인은 짧은 펩티드 링커 3, 3a에 의해서 제1 폴리펩티드에서 N-말단 7에서 C-말단 8으로 $V_L-V_H-V_H-V_L$ 배향으로 및 제2 폴리펩티드에서 N-말단 7a에서 C-말단 8a으로 $V_H-V_L-V_L-V_H$ 배향으로 서로 연결된다. 상기 N-말단 및 C-말단에 위치한 가변 도메인은 상기 N-말단 및 C-말단에서 상이한 특이성을 갖는 항원 결합 부위를 갖고 상기 중앙의 이중항체 유닛 1은 동일한 특이성에 대한 두 개의 항원 결합 부위를 갖는다.

도 4는 상기 폴리펩티드의 N-말단 7에서 C-말단 8으로 서로 연결된 12 개의 가변 도메인을 갖는 단일 폴리펩티드 이루어진 6가 Fv 항원-결합 분자를 보여준다. 상기 배향은 단지 하나의 예시이고 병치된(juxtaposed) 가변 도메인의 각 쌍에 대해 나타난 다른 배열이 가능하다. 두 개의 단쇄 이중항체 유닛 1a, 1b는 펩티드 링커 5에 의해서 단쇄 이중항체 유닛 1c으로 원거리로 연결되고, 여기서 하나의 단쇄 이중항체 유닛 1a의 가변 도메인은 C-말단이 펩티드 링커 5에 의해서 이중항체 유닛 1c의 제1 쌍의 가변 도메인 중 한 가변 도메인의 N-말단으로 연결되고 상기 단쇄 이중항체 유닛 1b의 가변 도메인은 N-말단이 링커 5에 의해서 단쇄 이중항체 유닛 1c의 제2 쌍의 가변 도메인 중 한 가변 도메인의 C-말단으로 연결된다. 상기 세 개의 단쇄 이중항체 유닛 1a, 1b, 1c 각각의 제1 및 제2 쌍의 가변 도메인은 긴 펩티드 링커 4에 의해서 연결된다. 상기 단쇄 이중항체 유닛 1a, 1b,

1c 각각에서, 제1 쌍의 가변 도메인 중 하나의 가변 도메인은 짧은 펩티드 링커 3에 의해서 상기 제1 쌍의 가변 도메인 중 다른 가변 도메인으로 연결되고 상기 제2 쌍의 가변 도메인 중 두 개의 가변 도메인은 짧은 펩티드 링커 3에 의해서 연결된다.

도 5는 제1 폴리펩티드의 N-말단 7에서 C-말단 8으로 서로 연결된 10 개의 가변 도메인을 갖는 제1 폴리펩티드 및 제2 폴리펩티드의 N-말단 7a에서 C-말단 8a으로 서로 연결된 두 개의 가변 도메인을 갖는 제2 폴리펩티드 이루어진 6가 Fv 항원-결합 분자를 보여준다. 상기 도면에서 구체적인 도메인 배향은 단지 하나의 예시이고 병치된 가변 도메인의 각 쌍에 대해 나타낸 다른 배열이 가능하다. 상기 Fv 항원 결합 분자는 상기 제2 폴리펩티드에서 제2 쌍의 두 개의 가변 도메인과 결합된 제1 폴리펩티드의 제1 쌍의 두 개의 가변 도메인에 의해서 형성된 이량체인 이중항체 유닛 10을 포함한다. 제1 폴리펩티드의 제1 쌍의 두 개의 가변 도메인 중 두 개의 가변 도메인 각각은 단쇄 이중항체 유닛 1a, 1b에 연결된다. 상기 단쇄 이중항체 유닛 1a, 1b 각각에서 두 쌍의 병치된 가변 도메인은 긴 펩티드 링커 4에 의해서 연결된다. 상기 N-말단의 단쇄 이중항체 유닛 1a는 C-말단이 펩티드 링커 5에 의해서 상기 이중항체 유닛 10의 제1 쌍의 가변 도메인의 N-말단으로 연결된다. 이 제1 쌍의 가변 도메인은 짧은 펩티드 링커 3에 의해서 연결된 두 개의 V_H 도메인으로 이루어진다. 상기 이중항체 유닛 10의 제1 쌍의 가변 도메인은 C-말단이 펩티드 링커 5에 의해서 상기 제1 폴리펩티드의 C-말단에 위치한 단쇄 이중항체 유닛 1b의 N-말단으로 연결된다.

도 6은 제1 폴리펩티드의 N-말단 7에서 C-말단 8으로 서로 연결된 여섯 개의 가변 도메인을 갖는 제1 폴리펩티드 및 제2 폴리펩티드의 N-말단 7a에서 C-말단 8a으로 서로 연결된 네 개의 가변 도메인을 갖는 제2 폴리펩티드로 이루어진 5가 Fv 항원-결합 분자를 보여준다. 상기 도메인 배향은 단지 하나의 예시이고 병치된 가변 도메인의 각 쌍에 대한 다른 배열이 상기 도면에 나타낸 바와 같이 가능하다. 상기 Fv 항원 결합 분자는 상기 제2 폴리펩티드에서 제2 쌍의 두 가변 도메인과 결합된 제1 폴리펩티드의 제1 쌍의 두 가변 도메인에 의해 형성된 이량체인 이중항체 유닛 10을 포함한다. 상기 제1 폴리펩티드의 제1 쌍의 두 가변 도메인 중 두 가변 도메인 각각은 scFv 유닛 2에 연결된다. 상기 각 scFv 유닛 2에서, 상기 가변 도메인은 긴 펩티드 링커 4에 의해 연결된다. N-말단의 상기 scFv 유닛 2는 C-말단이 상기 이중항체 유닛 10의 상기 제1 쌍의 가변 도메인의 N-말단에 펩티드 링커 5에 의해서 연결된다. 상기 제1 쌍의 가변 도메인은 짧은 펩티드 링커 3에 의해서 연결된 두 가변 도메인으로 구성된다. 상기 이중항체 유닛 10의 제1 쌍의 가변 도메인은 C-말단이 상기 제1 폴리펩티드의 C-말단에 위치한 scFv 유닛 2의 N-말단으로 펩티드 링커 5에 의해서 연결된다. A) 네 개의 도메인을 포함하는 상기 제2 폴리펩티드는 C-말단이 scFv 유닛 2와 연결된 이중항체 유닛 10의 제2 쌍의 가변 도메인으로 구성되고 B) 네 개의 도메인을 포함하는 상기 제2 폴리펩티드는 N-말단이 scFv 유닛의 2와 연결된 이중항체 유닛 10의 제2 쌍의 가변 도메인으로 구성된다.

도 7은 제1 폴리펩티드의 N-말단 7에서 C-말단 8으로 서로 연결된 여섯 개의 가변 도메인을 갖는 제1 폴리펩티드 및 제2 폴리펩티드의 N-말단 7a에서 C-말단 8a으로 서로 연결된 여섯 개의 가변 도메인을 갖는 제2 폴리펩티드로 이루어진 6가 Fv 항원-결합 분자를 보여준다. 상기 도메인 배향은 단지 하나의 예시이고 병치된 가변 도메인의 각 쌍에 대한 다른 배열이 상기 도면에 나타낸 바와 같이 가능하다. 상기 Fv 항원 결합 분자는 상기 제2 폴리펩티드에서 제2 쌍의 두 가변 도메인과 결합된 제1 폴리펩티드의 제1 쌍의 두 가변 도메인에 의해 형성된 이량체인 이중항체 유닛 10을 포함한다. 상기 이중항체 유닛 10의 각 가변 도메인은 상기 제1 및 제2 폴리펩티드에서 scFv 유닛 2로 연결된다. 상기 각 scFv 유닛 2에서, 상기 가변 도메인은 긴 펩티드 링커 4에 의해 연결된다. 상기 네 개의 scFv 유닛 2 각각은 이중항체 유닛 10의 가변 도메인에 펩티드 링커 5에 의해서 연결된다. 이 제1 쌍의 가변 도메인은 짧은 펩티드 링커 3에 의해 연결된 두 개의 가변 도메인으로 이루어지고, 상기 이중항체 유닛의 제2 쌍의 가변 도메인은 짧은 링커 3a에 의해서 연결된 두 개의 가변 도메인으로 이루어진다.

도 8은 비-공유적으로 결합된 이량체를 형성하는 제1 및 제2 폴리펩티드로 이루어진 일련의 이중항체 유닛을 포함하는 6 가 Fv 항원-결합 분자를 보여준다. 상기 일련의 이중항체는 제2 폴리펩티드에서 중심에 위치한 가변 도메인 쌍과 제1 폴리펩티드에서 중심에 위치한 가변 도메인 쌍에 의해 형성된 이량체인 이중항체 유닛 10a를 포함한다. 상기 제1 및 제2 폴리펩티드에서 가변 도메인은 각 폴리펩티드의 N-말단 7에서 C-말단 8으로 짧은 펩티드 링커 3, 3a에 의해 서로 연결된다. 상기 도메인 배향은 단지 하나의 예시이고 병치된 가변 도메인의 각 쌍에 대한 다른 배열이 상기 도면에 나타낸 바와 같이 가능하다. 제1 및 제2 폴리펩티드 각각은 일련의 이중항체 유닛에 링커 5에 의해서 연결된 scFv 유닛 2를 포함한다. A) 제1 및 제2 폴리펩티드의 C-말단에 연결된 scFv 유닛 2. B) 제1 및 제2 폴리펩티드의 N-말단에 연결된 scFv 유닛 2.

그림 9는 aTriFlex-생성물의 SDS-PAGE 분석을 보여준다. 길고 짧은 폴리펩티드가 잘 발현되었다 (화살표). a)

aTriFlex_140 및 aTriFlex_142, b) aTriFlex_138 및 c) aTriFlex_139.

도 10은 aTriFlex-생성물의 IMAC 정제를 보여준다: a) aTriFlex_140, b) aTriFlex_138 및 c) 및 aTriFlex_142 및 d) aTriFlex_139.

그림 11은 aTriFlex-생성물의 SDS-PAGE 분석을 보여준다. 길고 짧은 폴리펩티드가 잘 발현되었다. A) aTriFlex_101, B) aTriFlex_102, C) aTriFlex_103 및 D) aTriFlex_104.

도 12는 단일 또는 이중-양성 세포주에 대한 삼중 특이적 항체 분자의 결합을 보여준다. 이중-양성인 CD19+/CD30+ MEC 1 뿐 아니라 단일-양성인 CD19+/CD30- Raji 및 CD19-/CD30+ KARPAS-299 세포도 상기 삼중 특이적 항체 분자의 연속적 희석(serial dilution)으로 염색되었고, 세포 표면에 결합된 항체를 항-His mAb, 다음 FITC-결합된(conjugated) 염소 항-마우스 IgG로 검출하였다. 유세포분석에 의해서 결정된 평균 형광 세기를 비-선형 회귀 분석에 의해 K_D 값을 계산하는데 사용하였다. 삼중 특이적 항체 분자의 K_D 값을 두 개의 독립적인 시험으로 결정하였다.

도 13은 단일- 또는 이중-양성인 표적 세포주에 대한 삼중 특이적 항체 분자의 세포독성 활성을 보여준다. 표시된 삼중 특이적 항체 분자의 연속적 희석의 존재 하에 이중-양성인 CD19+/CD30+ MEC-1 표적 세포 뿐 아니라 단일-양성인 CD19+/CD30-Raji 및 CD19-/CD30+ KARPAS-299 세포에도 효과적 세포로서 농축된 NK-세포와 함께 4 시간 칼세인(calcein)-방출 세포독성 분석을 수행하였다. 상기 용해된 표적 세포로부터 방출된 형광 칼세인을 사용하여 항체-매개된 표적 세포 용해 및 비-선형 회귀에 의한 EC_{50} 값의 결정을 위한 S자형 용량-반응 곡선의 모델링을 계산하였다. aTriFlex 구조물에 대한 EC_{50} 값을 두 개의 독립적인 시험에서 결정하여, 플롯팅하였다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0072] 하기의 실시예는 본 발명의 범위를 제한하지 않으면서 본 발명을 추가적으로 설명한다.

[0073] 실시예 1

[0074] 삼중 특이적 Fv 항원-결합 분자를 인코딩하는 DNA 발현 구조물의 클로닝

[0075] CHO 세포에서 삼중 특이적 구조물의 발현을 위해, 모든 분자의 코딩 서열을 pcDNA5/FRT 벡터로부터 유래된 적절하게 변형된 발현 시스템으로 단일-유전자 또는 이중 유전자 구조물로서 클로닝하였다. 두 개의 프로모터 벡터를 두 유전자 구조물(이중이량체적 삼중 특이적 구조물)의 클로닝 및 발현에 사용하였다. 삼중 특이적인 하나의 유전자 구조물을 위해 상기 일반적인 pcDNA5/FRT 발현 벡터를 사용하였다. 간단하게, 상이한 링커(길고 짧은 링커)에 의해서 분리된 V_H 및 V_L 도메인을 인코딩하는 유전자 서열을 Life Technologies GeneArt (레젠스부르크, 독일)에 의해서 합성하고 서브 클로닝 하였다. 생성된 구조물을 상이한 제한 효소(BamHI, HindIII, XhoI, EcoRV, PacI) 또는 상이한 V_H/V_L 효과자를 통해 소화시키고 표적 결합 도메인을 상응하는 프라이머로 PCR을 통해 증폭시켰다. 이후 서로 중첩되는 상이한 DNA-조각 및 선형화된 백본(backbone) 2 프로모터 벡터 또는 pcDNA5/FRT 벡터를 하나의 등온 반응에서 깃슨 어셈블리(Gibson Assembly)를 통해 서로 연결하였다. 모든 발현 구조물을 항체 분비 및 정제를 용이하게 하기 위해 각각 제1 유전자 카세트에 대한 N-말단의 단일 펩티드 및 C-말단의 6개 히스티딘 (6xHis)-태그 또는 제2 유전자 카세트에 대한 C-말단의 FLAG-태그에 대한 코딩 서열을 포함하도록 고안하였다. 모든 구조물의 서열을 유전자 카세트 1에 대한 5'-AGAGCTCGTTTAGTGAACCG-3' 및 5'-TCATGCTCGGATCCGGCCTTG-3' 및 유전자 카세트 2에 대한 5'-GCCTGGAGACGCCATCC-3' 및 5'-GCAGAATTCACCACTGG-3'의 프라이머 쌍을 이용하여 GATC (콘스탄츠, 독일)에서 DNA 시퀀싱에 의해 결정하였다.

[0076] 숙주 세포 배양

[0077] CHO-K1 Chinese Hamster 난소 세포의 유도체 (ATCC, CCL-61) (Kao and Puck, 1968)인 Flp-In CHO 세포 (Life Technologies)를 L-글루타민, 10 % FCS 및 100 μ g/mL 제오신으로 보충된 Ham's F-12 Nutrient Mix에서 배양하였다. 부착 세포를 0.25 % 트립신-EDTA로 분리하고, Life Technologies에 의해서 제공된 표준 세포 배양 프로토콜에 따라 계대 배양(subculture)하였다.

[0078] 현탁액에서의 성장에 적응시키기 위해, 세포를 조직 배양 플라스크로부터 분리하고 37 °C, 5 % CO₂ 및 120 rpm에서 진탕 플라스크 중에 후속 배양을 위한 무-혈청 HyClone CDM4 CHO 배지에 두었다. 상기 현탁액-적응된 Flp-In CHO 숙주 세포의 배양물에 대한 표준 배지는 L-글루타민, HT 보충제, 페니실린/스트렙토마이신 및 100 μ g/mL

제오신으로 보충된 HyClone CDM4 CHO였다. 현탁액-적응된 세포를 10 % DMSO를 포함하는 배지에서 동결 보존시키고 MycoAlert Mycoplasma 검출 키트 (Lonza)를 사용하여 마이코플라스마에 대한 음성을 시험하였다.

[0079] 안정적으로 형질주입된(stably transfected) 세포 풀의 형성

[0080] 분비된 단일-유전자 또는 이중-유전자의 삼중 특이적 항체를 안정적으로 발현하는 재조합 Flp-In CHO 세포주를 현탁액-적응된 숙주 세포의 형질주입에 의해서 생성하였다. 이를 위해, 폴리에틸렌이민 (PEI)을 사용하여 대상이 되는 단백질 (pcDNA5/FRT) 및 Flp 재조합효소 (pOG44, Life Technologies)를 코딩하는 발현 플라스미드 (2.5 μ g)를 공동- 형질주입시키기 하루 전에 제오신 없이 표준 배지에 세포를 넣었다. 간단하게, 벡터 DNA 및 형질주입 시약을 총 100 μ L의 OptiMEM I 배지에서 DNA:PEI 비율 1:3 (μ g/ μ g)으로 혼합하고 10 분 동안 인큐베이션 한 후 1 mL의 CHO-S-SFMII 배지(Life Technologies)에 현탁된 $2 \cdot 10^6$ 개의 Flp-In CHO 세포에 첨가하였다. 24 시간 인큐베이션한 후, 500 μ g/mL 히그로마이신 B를 첨가하고 배양물을 CHO-S-SFMII 배지 중에 $0.1 \cdot 10^6$ 개의 생존 세포/mL의 밀도로 희석하고 T75 배양 플라스크에 접종하여 안정적으로 형질주입된 세포의 선별을 시작하였다. Flp 재조합효소는 부위-특이적 DNA 재조합을 통해 통합된 FRT 부위에서 Flp-In CHO 세포의 계능으로 상기 발현 구조물의 삽입을 매개한다 (O' Gorman 등, 1991). 선별 동안 생존 세포의 밀도를 일주일에 두 번 측정하고, 세포를 원심 분리하고 최대 밀도 $0.1 \cdot 10^6$ 개 생존 세포/mL로 신선한 선별 배제에 현탁하였다. 재조합 단백질 생성물을 안정적으로 발현하는 세포 풀을 2 내지 3 주간 선별한 후 회수(recover)하여 각 시점의 세포를 진탕 플라스크 내 표준 배양 배지로 옮겼다. 재조합 분비된 단백질의 발현을 Criterion Stain-Free (Bio-Rad) 기술을 이용하여 세포 배양 상등액의 단백질 젤 전기영동에 의해서 확인하였다. 안정화 세포 풀을 50 % ProFreeze (Lonza) 및 7.5 % DMSO를 함유하는 배지에서 동결 보존 하였다.

[0081] 페드-배치(fed-batch) CHO 세포 현탁 배양물에서 재조합 단백질의 생산

[0082] 재조합 단백질을 안정하게 형질주입된 CHO 세포주의 10-일 페드-배치 배양물에서 상기 세포 배양물 상등액으로의 분비에 의해서 생산하였다. 이를 위해서, 삼중 특이적 항체를 안정하게 발현시키는 세포 풀을 가스 투과성 캡(Corning)을 갖는 폴리카르보네이트 삼각 플라스크(Erlenmeyer flask)에서 표준 배양 배지 중에 $6 \cdot 10^5$ 세포/mL의 시작 밀도로 시딩하고 140 rpm에서 교반하면서 37 °C 및 5 % CO₂에서 배양하였다. 페드-배치 배양동안, 배지를 0일에 40 mL/L ActiCHO Feed A (GE Healthcare) 및 4 mL/L ActiCHO Feed B (GE Healthcare)로 보충하고 3, 5, 및 7일에 두 배로 보충하였다. 세포 배양물 상등액을 전형적으로 >75 % 배양 생존율에서 10 일 후 수확하였다. 시료를 공급(feeding)하기 전에 격일로 생산 배지로부터 수집하고, 생존력을 평가하였다. 수확하는 날엔, 세포 배양물 상등액을 추가 사용 전에 원심분리 및 Millipore Express PLUS 멤브레인 필터 (Millipore)를 사용하여 진공 필터 (0.22 μ m) 함으로써 제거하였다.

[0083] 삼중 특이적 Fv 항체의 정제

[0084] 삼중 특이적 항체를 IMAC 및 예비 SEC를 포함하는 두 단계 과정에서 정화된 CHO 세포 배양물 상등액으로부터 정제하였다. 필요에 따라, 3차 크로마토그래피적 단계 (FLAG-친화성 크로마토그래피)를 추가 연마를 위해 적용하였다. IMAC를 위해서, 상기 정화된 상등액을 HisTrap 세파로오스 컬럼에 로드하였다. Tris/NaCl 완충액 pH 7.5으로 세척한 후, 단백질을 각각 15 mM, 125 mM, 및 500 mM의 삼-단계 구배의 이미다졸로 용출하였다. 상기 분획의 순도는 SE-HPLC 및 SDS-PAGE를 사용하여 분석하였다. 수용가능한 순도를 나타내는 분획을 모으고 Superdex 200 prep grade 컬럼을 사용하여 예비 겔 여과를 가하였다. FLAG 친화성 크로마토그래피는 경우에 따라 추가 연마를 위한 것이다. 따라서, 상기 단백질을 FLAG 친화성 컬럼에 로드하고, PBS로 세척하고, pH 3.5에서 글리신/HCl 완충액을 이용하여 용출하였다. 정제된 삼중 특이적 항체를 함유하는 용출 분획을 붓고, 10 mM 소듐 아세테이트 pH 5.0에 대해 투석하고, 한외여과에 의해 약 1 mg/mL의 전형적인 농도로 농축하였다. 최종 시료의 순도 및 균질성 (약 90 %)을 환원 및/또는 비-환원 조건 하에 SDS-PAGE 후, 분석적 SE-HPLC에 의해서도 FLAG-태그 뿐만 아니라 His-태그에도 특이적인 항체로 면역블롯팅을 하여 평가하였다. 정제된 단백질을 추가 사용 전까지 -80 °C에서 분취하여 보관하였다.

[0085] 실시예 3에 기술된 삼중 특이적 Fv 항체 분자에 대한 생물물리학적 데이터의 예; aTriFlex_101 (실시예 3a), aTriFlex_102 (실시예 3b), aTriFlex_103 (실시예 3c) 및 aTriFlex_104 (실시예 3d)를 표 1에 나타내었다. 상기 분획의 SDS-PAGES를 도 11에 나타내었다: 모든 삼중 특이적, 4가 Fv 항체 분자를 수용 가능한 역가(titer)로 독립적인 도메인 순서, 예를 들어, V_H-V_L-V_H-V_H-V_L-V_H (aTriFlex_101) 또는 V_L-V_H-V_H-V_H-V_L (aTriFlex_102)로 발현시켰다. 상기 삼중 특이적, 4가 Fv 항체 분자는 저장뿐 아니라 열 안정성도 매우 우수하고 필적하였다.

표 1

이름	대략적 발현 역가 [mg/L]	정제 (IMAC/FLAG/SEC)	% 순도 (SE-HPLC)	T _M (DSF) [°C]	% 순도 T=7d; 5 °C (SE-HPLC)	% 순도 T=7d; 25 °C (SE-HPLC)	% 순도 3 x FT (SE-HPLC)
aTriFlex_101	135	IMAC / SEC	92.2	46.7	91.2	94.9	69.7
aTriFlex_102	103	IMAC / SEC / FLAG	94.7	52.7	94.8	95.5	92.5
aTriFlex_103	130	IMAC / SEC	94.8	47.5	94.7	95.5	86.4
aTriFlex_104	125	IMAC / SEC	87.8	48.7	92.3	93.8	77.8

표 1: 삼중 특이적 Fv 항체 분자의 생물물리학적 데이터

실시예 2

이중항체 유닛의 상이한 도메인 순서를 갖는 삼중 특이적 항체 분자의 제조

도 2에 따른 형태의 네 개의 상이한 Fv 항체 분자를 상기 이중항체 유닛 내 두 개의 가변 도메인 쌍의 상이한 도메인 배열 (N → C 말단)을 갖는 실시예 1에 기재된 바에 따라 구축하였다. 상기 이중항체 유닛의 가변 도메인은 하기의 표에 굵은 글씨로 나타낸 바와 같다:

aTriFlex_138: V_H-V_L / V_H-V_L 이중항체 유닛:

폴리펩티드	서열번호	도메인 특이성 (N → C)	도메인 순서 (N → C)
1	32	CD30 - CD30 - CD16 - EGFRvIII - CD30 - CD30 - His	VH-VL-VH-VL-VH-VL
2	33	EGFRvIII - CD16A - FLAG	VH-VL

aTriFlex_139: V_L-V_H / V_L-V_H 이중항체 유닛:

폴리펩티드	서열번호	도메인 특이성 (N → C)	도메인 순서 (N → C)
1	30	CD30 - CD30 - CD16 - EGFRvIII - CD30 - CD30 - His	VH-VL-VL-VH-VH-VL
2	31	EGFRvIII - CD16A - FLAG	VL-VH

aTriFlex_140: V_L-V_L / V_H-V_H 이중항체 유닛:

폴리펩티드	서열번호	도메인 특이성 (N → C)	도메인 순서 (N → C)
1	36	CD30 - CD30 - CD16 - EGFRvIII - CD30 - CD30 - His	VH-VL-VL-VL-VH-VL
2	37	EGFRvIII - CD16A - FLAG	VH-VH

[0097] aTriFlex₁₄₂: V_H-V_H / V_L-V_L 이중항체 유닛:

폴리펩티드	서열번호	도메인 특이성 (N → C)	도메인 순서 (N → C)
1	34	CD30 - CD30 - CD16 - EGFRvIII - CD30 - CD30 - His	VH-VL-VH-VH-VH-VL
2	35	EGFRvIII - CD16A - FLAG	VL-VL

[0098]

[0099] 상기 Fv 항체 분자를 CHO 세포에서 발현시켰고 생산된 세포 배양물 상등액의 SDS-PAGE 분석은 상기 긴 폴리펩티드 1 및 짧은 폴리펩티드 2가 잘 발현되어 변성 조건 하에 분리된 밴드로서 작동(run)함을 보여준다 (도 9a, 9b, 9c).

[0100] 실시예 1에 기재된 바와 같이 단일 IMAC-단계에 의해서 정제한 후, aTriFlex₁₄₀ (도 10a) 에 대해서 순도 76%가 수득되었고, aTriFlex₁₄₂ (도 10c)에 대해서 순도 78%가 수득되었다. 따라서, V_L-V_L / V_H-V_H 이중항체 유닛 (aTriFlex₁₄₀) 또는 V_H-V_H / V_L-V_L 이중항체 유닛 (aTriFlex₁₄₂)을 갖는 다중-특이적 Fv 항체 분자는 바르게 접힌 Fv 항체 분자의 현저하게 높은 비율을 보여준다. 그러나, 몇 개의 서로 중첩된 분자 종이 수득되었고 이들 이중항체 유닛에서 V_H-V_L / V_H-V_L 및 V_L-V_H / V_L-V_H 교대(alternating) 도메인 순서를 갖는 aTriFlex₁₃₈ 및 aTriFlex₁₃₉ 각각으로부터 분리된 이중-이량체인 항체 분자는 없었다 (도 10b, 10d). 따라서, 상기 이중항체 유닛에서 상기 가변 도메인의 V_L-V_L / V_H-V_H 배향은 두 개의 상이한 폴리펩티드 1 및 2가 서로 결합하여 4가, 삼중 특이적 항체 분자로 이중-이량체화 하도록 한다.

[0101] 실시예 3

[0102] 하기의 항-CD16A, 항-CD19 및 항-CD30 항체 가변 도메인을 포함하는 다중 항체 분자를 생산하였다.

[0103] 링커:

[0104] 하기의 펩티드 링커를 상기 실시예에서 사용하였다:

[0105] scFv-유닛 내 링커 (4) : V_H-V_L 에 대한 (G₂S)₆ 및 V_L-V_H에 대한 (G₂S)₇

[0106] 이중항체-유닛 내 링커 (3, 3a) : (G₂S)₃

[0107] 이중항체-유닛과 scFv-유닛을 연결하는 링커 (5): (G₂S)₃

[0108] a) 여섯 개의 가변 도메인 및 C-말단의 His-태그를 갖는 제 1폴리펩티드; 및 두 개의 가변 도메인 및 C-말단의 FLAG-태그를 포함하는 제2 폴리펩티드 이루어진, CD30, CD19 및 CD16A에 대해 특이성을 갖는, 4가, 삼중 특이적 Fv 항체 분자(도 2에 나타난 바와 같은 aTriFlex₁₀₁). 상기 중심에 위치한 이량체인 이중항체 유닛은 상기 제1 폴리펩티드 내 V_H-V_H 도메인 쌍 및 상기 제2 폴리펩티드 내 V_L-V_L 도메인 쌍에 의해서 형성되고, 이는 폴리펩티드 1 및 폴리펩티드 2의 올바른 이중이량체화를 보장한다.

폴리펩티드	도메인 특이성 (N → C)	도메인 순서(N → C)
1	CD30 - CD30 - CD16A - CD16A - CD19 - CD19 - His	V _H -V _L -V _H -V _H -V _L -V _H
2	CD16A - CD16A - FLAG	V _L -V _L

[0109]

[0110] 아미노산 서열:

[0121] 폴리펩티드 2:

SYVLTQPSSVSVAPGQTATISCGGHNIGSKNVHWYQQRPGQSPVLVIYQDNKRPSGIPERFSGSNSGN
TATLTISGTQAMDEADYYCQVWDNYSVLFGGGTKLTVLGGSGGSGGSSYVLTQPSSVSVAPGQTATIS
CGGHNIGSKNVHWYQQRPGQSPVLVIYQDNKRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISGTQAMDEADYYCQ
VWDNYSVLFGGGTKLTVLAAAGSDYKDDDDK (서열번호 4)

[0122]

[0123] c) 여섯 개의 가변 도메인 및 C-말단의 FLAG-태그를 갖는 제1 폴리펩티드; 및 두 개의 가변 도메인 및 C-말단의 His-태그를 갖는 제2 폴리펩티드로 이루어진, CD30, CD19 및 CD16A에 특이성을 갖는, 4가, 삼중 특이적 Fv 항체 분자 (aTriFlex_103). 상기 중심에 위치한 이량체인 이중항체 유닛은 상기 제1 폴리펩티드 내 V_H - V_H 도메인 쌍 및 상기 제2 폴리펩티드 내 V_L - V_L 도메인 쌍에 의해서 형성된다.

[0124]

폴리펩티드	도메인 특이성 (N -> C)	도메인 순서(N -> C)
1	CD19 - CD19 - CD16A - CD16A - CD30 - CD30 - FLAG	V_L - V_H - V_L - V_L - V_H - V_L
2	CD16A - CD16A - His	V_H - V_H

[0125] 아미노산 서열:

[0126] 폴리펩티드 1:

SYVLTQPPSVSVAPGQTARITCGGNNIGSKTVHWYQQKPGQAPVLVYDDSDRPSGIPERFSGSNSG
NTATLTISRVEAGDEADYYCQVGTDWSDHLQVFGGGTKLTVLGGSGGSGGSGGSGGSGGSGGSEVQ
LVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSNWIGWVRQMPGKGLEWMGMIWPGSDTMYSPSFQGGQ
VTISADESINTAYLQWSSLKASDTAMYYCARRETTTVGRYYYAMDYWGQGTLLTVSSGGSGGSGGSS
YVLTQPSSVSVAPGQTATISCGGHNIGSKNVHWYQQRPGQSPVLVIYQDNKRPSGIPERFSGSNSGNT
ATLTISGTQAMDEADYYCQVWDNYSVLFGGGTKLTVLGGSGGSGGSSYVLTQPSSVSVAPGQTATISC
GGHNIGSKNVHWYQQRPGQSPVLVIYQDNKRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISGTQAMDEADYYCQV
WDNYSVLFGGGTKLTVLGGSGGSGGSGVQLQVQSGAELARPGASVKMSCKASGYTFTTYTIHWVRQ
RPGHDLIEWIGYINPSSGYSYDYNQNFKGKTTLTADKSSNTAYMQLNSLTSEDSAVYYCARRADYGNIEY
TWFAWYGQGTTVTVSSGGSGGSGGSGGSGGSGGSDIVMTQSPKFMSTSVGDRVTVTCKASQNVG
TNVAWFQKPGQSPKVLISASYSYRSGVPDRFTGSGSGTDFTLTISNVQSEDLAEYFCQYHTYPLTFG
GGTKLEINAAAGSHHHHHH (서열번호 5)

[0127]

[0128] 폴리펩티드 2:

QVQLVQSGAEVKKPGESLKVSCKASGYTFTSYMHVVRQAPGQGLEWMGIINPSGGSTSYAQKFQ
GRVTMTTRDTSTSTVYMELSSLRSEDVAVYYCARGSAYYYDFADYWGQGTLLTVSSGGSGGSGGSGV
QLVQSGAEVKKPGESLKVSCKASGYTFTSYMHVVRQAPGQGLEWMGIINPSGGSTSYAQKFQGR
VTMTTRDTSTSTVYMELSSLRSEDVAVYYCARGSAYYYDFADYWGQGTLLTVSSAAAGSDYKDDDDK
(서열번호 6)

[0129]

[0130] d) 여섯 개의 가변 도메인 및 C-말단의 FLAG-태그를 갖는 제1 폴리펩티드; 및 두 개의 가변 도메인 및 C-말단의 His-태그를 갖는 제2 폴리펩티드로 이루어진, CD30, CD19 및 CD16A에 특이성을 갖는, 4가, 삼중 특이적 Fv 항체 분자 (aTriFlex_104). 상기 중심에 위치한 이량체인 이중항체 유닛은 상기 제1 폴리펩티드 내 V_H - V_H 도메인 쌍 및 상기 제2 폴리펩티드 내 V_L - V_L 도메인 쌍에 의해서 형성된다.

[0131]

폴리펩티드	도메인 특이성(N -> C)	도메인 순서(N -> C)
1	CD30 - CD30 - CD16A - CD16A - CD19 - CD19 - FLAG	V_H - V_L - V_L - V_L - V_L - V_H
2	CD16A - CD16A - His	V_H - V_H

[0132] 아미노산 서열:

[0133] 폴리펩티드 1:

QVQLQQSGAELARPGASVKMSCASGYTFTTYTIHWVRQRPBGHDLEWIGYINPSSGYSYDYNQNFKG
KTTLTADKSSNTAYMQLNSLTSEDSAVYYCARRADYGNIEYTWFAFWGQGTTTVTVSSGGSGGSGGS
GGSGGSGGSDIVMTQSPKFMSTSVGDRVTVTCKASQNVGTNVAWFQQKPGQSPKVLIIYSASYRYS
VPDRFTGSGSGTDFTLTISNVQSEDLAEYFCQQYHTYPLTFGGGTKLEINGSGSGGSGGSSVLTQPSV
SVAPGQTATISCGGHNIGSKNVHWYQQRPQGSPVLVIYQDNKRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISGTQ
AMDEADYYCQVWDNYSVLFGGGTKLTVLGGSGGSGGSSVLTQPSVSVAPGQTATISCGGHNIGSK
NVHWYQQRPQGSPVLVIYQDNKRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISGTQAMDEADYYCQVWDNYSV
LFGGGTKLTVLGGSGGSGGSSVLTQPPSVSVAPGQTARITCGGNNIGSKTVHWYQQKPGQAPVLVY
DDSDRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISRVEAGDEADYYCQVGTWSDHLQVFGGGTKLTVLGGSGG
SGSGGSGGSGGSEVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSNWIGWVRQMPGKGLEWMG
MIWPGDSDTMYSPSFQQVTTISADESINTAYLQWSSLKASDTAMYYCARRETTTVGRYYYAMDYWG
QGTLTVTVSSAAAGSDYKDDDDK (서열번호 7)

[0134]

[0135] 폴리펩티드 2:

QVQLVQSGAEVKKPGESLKVSCKASGYTFTSYMHVVRQAPGQGLEWMGIINPSGGSTSYAQKFQ
GRVTMTRDTSTSTVYMESSLRSEDVAVYYCARGSAYYYDFADYWGQGTLTVTVSSGGSGGSGGSGQV
QLVQSGAEVKKPGESLKVSCKASGYTFTSYMHVVRQAPGQGLEWMGIINPSGGSTSYAQKFQGR
VTMTRDTSTSTVYMESSLRSEDVAVYYCARGSAYYYDFADYWGQGTLTVTVSSAAAGSHHHHHH
(서열번호 8)

[0136]

[0137] 폴리펩티드 1 (여섯 개의 가변 도메인) 및 폴리펩티드 2 (두 개의 가변 도메인)의 상이한 크기에도 불구하고, 상기 항체 분자 a), b), c) 및 d)는 만족스럽게 발현될 수 있었다. 정제된 항체 분자 a)-d)의 열 안정성뿐 아니라 저장 안정성은 매우 우수하였다. 모든 구조물 a)-d)가 유동 세포 계측법에서 일차 NK 세포, Raji, Karpas-299 및 MEC-1 세포주와 결합한다.

[0138] e) 도 3에 나타난 바와 같은, 네 개의 가변 도메인 및 C-말단의 His-태그를 갖는 제1 폴리펩티드; 및 네 개의 가변 도메인 및 C-말단 FLAG-태그를 갖는 제2 폴리펩티드로 이루어진, CD30, CD19 및 CD16A에 특이성을 갖는 4가, 삼중 특이적 Fv 항체 분자 (TeTrisAb_1). 상기 중심에 위치한 이량체인 이중항체 유닛은 상기 제1 폴리펩티드 내 V_H - V_H 도메인 쌍 및 상기 제2 폴리펩티드 내 V_L - V_L 도메인 쌍에 의해서 형성되고, 이의 배향은 폴리펩티드 1 및 폴리펩티드 2의 올바른 이중이량체화를 보장한다.

폴리펩티드	도메인 특이성(N -> C)	도메인 순서(N -> C)
1	CD30 - CD16A - CD16A - CD19 - His	V_L - V_H - V_H - V_L
2	CD19 - CD16A - CD16A - CD30 - FLAG	V_H - V_L - V_L - V_H

[0139]

[0140] 아미노산 서열:

[0141] 폴리펩티드 1:

DIVMTQSPKFMSTSVGDRVTVTCKASQNVGTNVAWFQQKPGQSPKVLIIYSASYRYSVGPDRFTGSGSGT
DFTLTISNVQSEDLAEYFCQQYHTYPLTFGGGTKLEINGSGSGGSGGSGQVQLVQSGAEVKKPGESLKVSCKAS
GYTFTSYMHVVRQAPGQGLEWMGIINPSGGSTSYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMESSLRSEDVAVY
YCARGSAYYYDFADYWGQGTLTVTVSSGGSGGSGGSGQVQLVQSGAEVKKPGESLKVSCKASGYTFTSYM
HVVRQAPGQGLEWMGIINPSGGSTSYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMESSLRSEDVAVYYCARGSAYY
YDFADYWGQGTLTVTVSSGGSGGSGGSSVLTQPPSVSVAPGQTARITCGGNNIGSKTVHWYQQKPGQAP
VLVYDDSDRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISRVEAGDEADYYCQVGTWSDHLQVFGGGTKLTVLAAAGS
HHHHHH (서열번호 9)

[0142]

[0152] 폴리펩티드 1:

QVQLQQSGAELARPGASVKMSCKASGYTFTTYTIHWVRQRPGLDLEWIGYINPSSGYSYDYNQNFKGKTTLTADKSS
NTAYMQLNSLTSEDSAVYYCARRADYGNIEYTWFAFWGQGTTVTVSSGGSGGSGGSGGSGGSGGSDIVMTQSPK
FMSTSVGDRVTVTCKASQNVGTNVAWFQKPGQSPKVLISASRYSGVPDRFTGSGSGTDFTLTISNVQSEDLAEY
FCQQYHTYPLTFGGGKLEINGSGSGSGGSSVLTQPSSVSVAPGQTATISCGGHNIGSKNVHWYQQRPGQSPVLVI
YQDNKRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISGTQAMDEADYYCQVWDNYSVLFGGGKLTVLGGSGGSGGSSVLTQPSS
VSVAPGQTATISCGGHNIGSKNVHWYQQRPGQSPVLVIYQDNKRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISGTQAMDEADYY
CQVWDNYSVLFGGGKLTVLGGSGGSGGSEVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSNWIGWVRQMPGKGLE
WMGMIWPGDSDTMYSFQGGVTSADIESINTAYLQWSSLKASDTAMYCARRETTTVGRYYAMDYWGQGT
LTVSSGGSGGSGGSGGSGGSGGSSVLTQPSSVSVAPGQTARITCGGNNIGSKTVHWYQKPGQAPVLVYDDSD
RPSGIPERFSGSNSGNTATLTISRVEAGDEADYYCQVGTWSDHLQVFGGGKLTVLAAAGSHHHHHH

[0153]

[0154] (서열번호 12)

[0155] 폴리펩티드 2:

QVQLVQSGAEVKKPGESLKVCKASGYTFTSYMHVWRQAPGQGLEWMGIINPSGGSTSYAQKFQGRVTMTRDT
STSTVYMELSSLRSEDAVYYCARGSAYYYDFADYWGQGTTLTVSSGGSGGSGGSGVQLVQSGAEVKKPGESLKVSC
KASGYTFTSYMHVWRQAPGQGLEWMGIINPSGGSTSYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDAVYYCA
RGSAYYDFADYWGQGTTLTVSSAAAGSDYKDDDDK (서열번호 13)

[0156]

[0157] h) 여섯 개의 가변 도메인 및 C-말단의 His-태그를 갖는 제1 폴리펩티드; 및 네 개의 가변 도메인 및 C-말단 FLAG-태그를 갖는 제2 폴리펩티드로 이루어진, CD30, CD19, EGFRvIII 및 CD16A에 특이성을 갖는, 5가, 사중-특이적 Fv 항체 분자 (도 6a에 나타난 바와 같은). 상기 CD16A에 대한 두 개의 항원 결합 부위를 갖는 이량체인 이중항체 유닛은 상기 제1 폴리펩티드 내에 V_L - V_L 도메인 쌍 및 제2 폴리펩티드 내에 V_H - V_H 도메인 쌍에 의해서 형성되고, 이는 폴리펩티드 1 및 폴리펩티드 2의 올바른 이중이량체화를 보장한다.

[0158]

폴리펩티드	도메인 특이성 (N → C)	도메인 순서(N → C)
1	CD30 - CD30 - CD16A - CD16A - CD19 - CD19 - His	VH-VL-VL-VL-VH-VL
2	CD16A - CD16A - EGFRvIII - EGFRvIII - FLAG	VH-VH-VL-VH

[0159] 폴리펩티드 1:

QVQLQQSGAELARPGASVKMSCKASGYTFTTYTIHWVRQRPGLDLEWIGYINPSSGYSYDYNQNFKGKTTLTADKSS
NTAYMQLNSLTSEDSAVYYCARRADYGNIEYTWFAFWGQGTTVTVSSGGSGGSGGSGGSGGSGGSDIVMTQSPK
FMSTSVGDRVTVTCKASQNVGTNVAWFQKPGQSPKVLISASRYSGVPDRFTGSGSGTDFTLTISNVQSEDLAEY
FCQQYHTYPLTFGGGKLEINGSGSGSGGSSVLTQPSSVSVAPGQTATISCGGHNIGSKNVHWYQQRPGQSPVLVI
YQDNKRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISGTQAMDEADYYCQVWDNYSVLFGGGKLTVLGGSGGSGGSSVLTQPSS
VSVAPGQTATISCGGHNIGSKNVHWYQQRPGQSPVLVIYQDNKRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISGTQAMDEADYY
CQVWDNYSVLFGGGKLTVLGGSGGSGGSEVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSNWIGWVRQMPGKGLE
WMGMIWPGDSDTMYSFQGGVTSADIESINTAYLQWSSLKASDTAMYCARRETTTVGRYYAMDYWGQGT
LTVSSGGSGGSGGSGGSGGSGGSSVLTQPSSVSVAPGQTARITCGGNNIGSKTVHWYQKPGQAPVLVYDDSD
RPSGIPERFSGSNSGNTATLTISRVEAGDEADYYCQVGTWSDHLQVFGGGKLTVLAAAGSHHHHHH

[0160]

[0161] (서열번호 14)

[0162] 폴리펩티드 2:

QVQLVQSGAEVKKPGESLKVSCKASGYTFTSYMHVVRQAPGQGLEWMGIINPSGGSTSYAQKFQGRVTMTRDT
STSTVYMESSLRSEDATVYYCARGSAAYYDFADYWGQGTTLTVSSGGSGGSGGSQVQLVQSGAEVKKPGESLKVSC
KASGYTFTSYMHVVRQAPGQGLEWMGIINPSGGSTSYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMESSLRSEDATVYYCA
RGSAYYDFADYWGQGTTLTVSSGGSGGSGGSSYELTQPPSVSVSPGQTARITCSGDALPKQYAYWYQQKPGQAPV
LVIYKDSERPSGIPERFSGSSSGTTVTLTISGVQAEDADYYCQSDSSGTPLVFGTGKTLTVLGGSGGSGGSGGSGGS
GGSGGSEVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIGWVRQMPGKGLEWMGIIPGDSSTRYSPSFQGGQVTI
SADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYCARLGSSWTNDAFDIWGQGTMTVTVSSAAAGSDYKDDDDK

[0163]

[0164] (서열번호 15)

[0165] i) 10 개의 가변 도메인 및 C-말단의 His-태그를 갖는 제1 폴리펩티드; 및 두 개의 가변 도메인 및 C-말단의 FLAG-태그를 갖는 제2 폴리펩티드로 이루어진, CD30, CD19 및 CD16A에 특이성을 갖는 6가, 삼중 특이적 Fv 항체 분자 (도 5에 나타난 바와 같은). CD16A에 대해 두 개의 항원 결합 부위를 갖는 상기 중심에 위치한 이중량체인 이중항체 유닛은 상기 제1 폴리펩티드 내 V_L - V_L 도메인 쌍 및 제2 폴리펩티드 내에 V_H - V_H 도메인 쌍에 의해서 형성되고, 이는 폴리펩티드 1 및 폴리펩티드 2의 올바른 이중이량체화를 보장한다.

폴리펩티드	도메인 특이성 (N → C)	도메인 순서(N → C)
1	CD30 - CD30 - CD30 - CD30 - CD16A - CD16A - CD19 - CD19 - CD19 - CD19 - His	VH-VL-VH-VL-VL-VL-VH-VL-VH-VL
2	CD16A - CD16A - FLAG	VH-VH

[0166]

[0167] 폴리펩티드 1:

QVQLQQSGAELARPGASVKMSCKASGYTFTTYTIHWVRQRPGRHDLIEWIGYINPSSGYSYDYNQNFKGKTTLTADKSS
NTAYMQLNSLTSEDSAVYYCARRADYGNIEYTWFAWYGQGTTLTVSSGGSGGSGGSDIVMTQSPKFMSTSVGDR
VTVTCKASQNVGTNVAWFQQKPGQSPKVLIIYSASYRSGVPDRFTGSGSGTDFTLTISNVQSEDLAEYFCQQYHTYP
LTFGGGTKEINGSGSGSGSGSGSGSGSGSGSQVQLQQSGAELARPGASVKMSCKASGYTFTTYTIHWVRQRP
GHDLEWIGYINPSSGYSYDYNQNFKGKTTLTADKSSNTAYMQLNSLTSEDSAVYYCARRADYGNIEYTWFAWYGQGT
TVTVSSGGSGGSGGSDIVMTQSPKFMSTSVGDRVTVTCKASQNVGTNVAWFQQKPGQSPKVLIIYSASYRSGVPD
RFTGSGSGTDFTLTISNVQSEDLAEYFCQQYHTYPLTFGGGTKEINGSGSGSGSGSYVLTQPSVSVAPGQTATISCG
GHNIGSKNVHWYQQRPGQSPVLVIYQDNKRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISGTQAMDEADYYCQVWDNYSVLF
GGTKLTVLGGSGGSGGSSYVLTQPSVSVAPGQTATISCGGHNIGSKNVHWYQQRPGQSPVLVIYQDNKRPSGIPER
FSGSNSGNTATLTISGTQAMDEADYYCQVWDNYSVLFGGTKLTVLGGSGGSGGSEVQLVQSGAEVKKPGESLKISC
KSGYSFTSNWIGWVRQMPGKGLEWMGMIWPGDSDTMYSPPSFQGGQVTISADESINTAYLQWSSLKASDTAMY
CARRETTTVGRYYYAMDYWGQGTTLTVSSGGSGGSGGSSYVLTQPPSVSVAPGQTARITCGGNNIGSKTVHWYQQ
KPGQAPVLVYDDSDRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISRVEAGDEADYYCQVGTDWSDHLQVFGGGTKLTVLGGSG
GSGGSGGSGGSGGSGGSEVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSNWIGWVRQMPGKGLEWMGMIWPGD
SDTMYSPPSFQGGQVTISADESINTAYLQWSSLKASDTAMYCARRETTTVGRYYYAMDYWGQGTTLTVSSGGSGGSG
GSSYVLTQPPSVSVAPGQTARITCGGNNIGSKTVHWYQQKPGQAPVLVYDDSDRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISR
VEAGDEADYYCQVGTDWSDHLQVFGGGTKLTVLAAAGSHHHHHH (서열번호 16)

[0168]

[0169] 폴리펩티드 2:

QVQLVQSGAEVKKPGESLKVSCKASGYTFTSYMHVVRQAPGQGLEWMGIINPSGGSTSYAQKFQGRVTMTRDT
STSTVYMESSLRSEDATVYYCARGSAAYYDFADYWGQGTTLTVSSGGSGGSGGSGSQVQLVQSGAEVKKPGESLKVSC
KASGYTFTSYMHVVRQAPGQGLEWMGIINPSGGSTSYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMESSLRSEDATVYYCA
RGSAYYDFADYWGQGTTLTVSSAAAGSDYKDDDDK (서열번호 17)

[0170]

[0171] j) 여섯 개의 가변 도메인 및 C-말단의 His-태그를 갖는 제1 폴리펩티드; 및 여섯 개의 가변 도메인 및 C-말단의 FLAG-태그를 갖는 제2 폴리펩티드로 이루어진, CD30, CD19, EGFRvIII 및 CD16A에 특이성을 갖는 6가, 사중-특이적 Fv 항체 분자 (도 7에 나타난 바와 같은).

폴리펩티드	도메인 특이성 (N -> C)	도메인 순서 (N -> C)
1	CD30 - CD30 - CD16A - CD16A - CD19 - CD19 - His	VH-VL-VL-VL-VH-VL
2	CD30 - CD30 - CD16A - CD16A - EGFRvIII - EGFRvIII - FLAG	VH-VL-VH-VH-VL-VH

폴리펩티드 1:

QVQLQQSGAELARPGASVKMSCKASGYTFTTYTIHWVRQRPGLDLEWIGYINPSSGYSIDYNQNFKGKTTLTADKSS
NTAYMQLNSLTSEDSAVYYCARRADYGNIEYTWFAWYWGQGTITVTVSSGGSGGSGGSGGSGGSGGSDIVMTQSPK
FMSTSVGDRVTCTCKASQNVGTNVAWFQKPGQSPKVLISASRYSGVPDRFTGSGSGTDFLTISNVQSEDLAEY
FCQQYHTYPLTFGGGKLEINGSGSGGSSSYVLTQPSVSVAPGQTATISCGGHNIGSKNVHWYQQRPGQSPVLVI
YQDNKRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISGTQAMDEADYYCQVWDNYSVLFGGGKTLTVLGGSGGSGGSSSYVLTQPS
VSVAPGQTATISCGGHNIGSKNVHWYQQRPGQSPVLVIYQDNKRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISGTQAMDEADYY
CQVWDNYSVLFGGGKTLTVLGGSGGSGGSEVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSNWIGWVRQMPGKGL
WMGMIWPGDSDTMYSPSFQGGVTSADIESINTAYLQWSSLKASDTAMYYCARRETTTVGRYYYAMDYWGQGT
ITVTVSSGGSGGSGGSGGSGGSGGSSSYVLTQPPSVSVAPGQTARITCGGNNIGSKTVHWYQKPGQAPVLLVYDDSD
RPSGIPERFSGSNSGNTATLTISRVEAGDEADYYCQVGTWSDHLQVFGGKTLTVLAAAGSHHHHHH

(서열번호 18)

폴리펩티드 2:

QVQLQQSGAELARPGASVKMSCKASGYTFTTYTIHWVRQRPGLDLEWIGYINPSSGYSIDYNQNFKGKTTLTADKSS
NTAYMQLNSLTSEDSAVYYCARRADYGNIEYTWFAWYWGQGTITVTVSSGGSGGSGGSGGSGGSGGSDIVMTQSPK
FMSTSVGDRVTCTCKASQNVGTNVAWFQKPGQSPKVLISASRYSGVPDRFTGSGSGTDFLTISNVQSEDLAEY
FCQQYHTYPLTFGGGKLEINGSGSGGSSQVQLVQSGAEVKKPGESLKVSCKASGYTFTSYIMHWVRQAPGQGL
EWMGIINPSGGSTSYAQKFQGRVTMTDSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARGSAYYYDFADYWGQGTITVTVSSG
SGSGSGGSGVQLVQSGAEVKKPGESLKVSCKASGYTFTSYIMHWVRQAPGQGLEWMGIINPSGGSTSYAQKFQ
RVTMTDSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARGSAYYYDFADYWGQGTITVTVSSGGSGGSGGSSYELTQPPSVSVSP
GQTARITCSGDALPKQYAYWYQKPGQAPVLLVIYKDSERPSGIPERFSGSSGTTVTLISGVQAEDEADYYCQSADSS
GTPLIVFGTGKTLTVLGGSGGSGGSGGSGGSGGSEVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIGWVRQ
MPGKGLEWMGIIPGDSITRYSFQGGVTSADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARLGSSWTNDAFDIWGQG
TMVTVSSAAAGSDYKDDDDK (서열번호 19)

k) 여섯 개의 가변 도메인 및 C-말단의 His-태그를 갖는 제1 폴리펩티드; 및 네 개의 가변 도메인 및 C-말단의 FLAG-태그를 갖는 제2 폴리펩티드로 이루어진, CD30, CD19 및 CD16A에 특이성을 갖는 5가, 삼중 특이적 Fv 항체 분자 (도 6b에 나타난 바와 같은). CD16A에 대해 두 개의 항원 결합 부위를 갖는 상기 중심에 위치한 이량체인 이중항체 유닛은 상기 제1 폴리펩티드 내 VL-VL 도메인 쌍 및 제2 폴리펩티드 내에 VH-VH 도메인 쌍에 의해서 형성되고, 이는 폴리펩티드 1 및 폴리펩티드 2의 올바른 이중이량체화를 보장한다.

폴리펩티드	도메인 특이성 (N -> C)	도메인 순서(N -> C)
1	CD30 - CD30 - CD16A - CD16A - CD19 - CD19 - His	VH-VL-VL-VL-VH-VL
2	CD30 - CD30 - CD16A - CD16A - FLAG	VH-VL-VH-VH

[0180] 폴리펩티드 1:

QVQLQQSGAELARPGASVKMSCKASGYTFTTYTIHWVRQRPBGHDLEWIGYINPSSGYSYDYNQNFKGKTTLTADKSS
NTAYMQLNSLTSEDSAVYYCARRADYGNIEYTWFAIWGQGTTVTVSSGGSGGSGGSGGSGGSGGSDIVMTQSPK
FMSTSVGDRVTVTCKASQNVGTNVAWFQQKPGQSPKVLISASRYSGVPDRFTGSGSGTDFTLTISNVQSEDLAEY
FCQQYHTYPLTFGGGKLEINGGSGGSGGSSVLTQPSSVSAPGQTATISCGGHNIGSKNVHWYQQRPGQSPVLVI
YQDNKRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISGTQAMDEADYYCQVWDNYSVLFGGGTKLTVLGGSGGSGGSSVLTQPSS
VSVAPGQTATISCGGHNIGSKNVHWYQQRPGQSPVLVIYQDNKRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISGTQAMDEADYY
CQVWDNYSVLFGGGTKLTVLGGSGGSGGSEVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSNWIGWVRQMPGKGLE
WMGMIWPGDSDTMYSFQGGQVTISADESINTAYLQWSSLKASDTAMYYCARRETTTVGRYYYAMDYWGQGT
LTVTVSSGGSGGSGGSGGSGGSGGSSVLTQPSSVSAPGQTARITCGGNNIGSKTVHWYQKPGQAPVLVYDDSD
RPSGIPERFSGSNSGNTATLTISRVEAGDEADYYCQVGTDWSDHLQVFGGGTKLTVLAAAGSHHHHHH

[0181]

[0182] (서열번호 20)

[0183] 폴리펩티드 2:

QVQLQQSGAELARPGASVKMSCKASGYTFTTYTIHWVRQRPBGHDLEWIGYINPSSGYSYDYNQNFKGKTTLTADKSS
NTAYMQLNSLTSEDSAVYYCARRADYGNIEYTWFAIWGQGTTVTVSSGGSGGSGGSGGSGGSGGSDIVMTQSPK
FMSTSVGDRVTVTCKASQNVGTNVAWFQQKPGQSPKVLISASRYSGVPDRFTGSGSGTDFTLTISNVQSEDLAEY
FCQQYHTYPLTFGGGKLEINGGSGGSGGSSVQLVQSGAEVKKPGESLKVSKASGYTFTSYMHVVRQAPGQGL
EWMGIINPSGGSTSYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMESSLRSEDVAVYCARGSAYYYDFADYWGQGTLVTVSSG
GSGGSGGSSQVQLVQSGAEVKKPGESLKVSKASGYTFTSYMHVVRQAPGQGLEWMGIINPSGGSTSYAQKFQ
G
RVTMTRDTSTSTVYMESSLRSEDVAVYCARGSAYYYDFADYWGQGTLVTVSSAAAGSDYKDDDDK

[0184]

[0185]

[0186] (서열번호 21)

[0187] 1) 네 개의 가변 도메인 및 C-말단의 His-태그를 갖는 제1 폴리펩티드; 및 네 개의 가변 도메인 및 C-말단의 FLAG-태그를 갖는 제2 폴리펩티드로 이루어진, CD30, CD19 및 CD16A에 특이성을 갖는 도 3에 나타낸 바와 같은 4가, 삼중 특이적 Fv 항체 분자. 상기 중심에 위치한 이량체인 이중항체 유닛은 상기 제1 폴리펩티드 내 V_L - V_L 도메인 쌍 및 제2 폴리펩티드 내에 V_H - V_H 도메인 쌍에 의해서 형성되고, 이 배향은 폴리펩티드 1 및 폴리펩티드 2의 올바른 이중이량체화를 보장한다.

[0188]

[0189] 폴리펩티드 1:

QVQLQQSGAELARPGASVKMSCKASGYTFTTYTIHWVRQRPBGHDLEWIGYINPSSGYSYDYNQNFKGKTTLTADKSS
NTAYMQLNSLTSEDSAVYYCARRADYGNIEYTWFAIWGQGTTVTVSSGGSGGSGGSSVLTQPSSVSAPGQTATI
SCGGHNIGSKNVHWYQQRPGQSPVLVIYQDNKRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISGTQAMDEADYYCQVWDNYSV
LFGGGTKLTVLGGSGGSGGSSVLTQPSSVSAPGQTATISCGGHNIGSKNVHWYQQRPGQSPVLVIYQDNKRPSGI
PERFSGSNSGNTATLTISGTQAMDEADYYCQVWDNYSVLFGGGTKLTVLGGSGGSGGSEVQLVQSGAEVKKPGESL
KISCKGSGYSFTSNWIGWVRQMPGKGLEWMGMIWPGDSDTMYSFQGGQVTISADESINTAYLQWSSLKASDTA
MYYCARRETTTVGRYYYAMDYWGQGTLVTVSSAAAGSHHHHHH (서열번호 22)

[0190]

폴리펩티드	도메인 특이성 (N -> C)	도메인 순서(N -> C)
1	CD30 - CD16A - CD16A - CD19 - His	VH-VL-VL-VH
2	CD19 - CD16A - CD16A - CD30 - FLAG	VL-VH-VH-VL

[0191] 폴리펩티드 2:

SYVLTQPPSVSVAPGQTARITCGGNNIGSKTVHWYQQKPGQAPVLVYDDSDRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISRVE
AGDEADYYCQVGTDWSDHLQVFGGGTKLTVLGGSGGSQVQLVQSGAEVKKPGESLKVSCKASGYTFTSYMHVWV
RQAPGQGLEWMGIINPSGGSTSYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMESSLRSEDATVYYCARGSAYYYDFADYWGQ
GTLVTVSSGGSGGSQVQLVQSGAEVKKPGESLKVSCKASGYTFTSYMHVWVRQAPGQGLEWMGIINPSGGST
TSYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMESSLRSEDATVYYCARGSAYYYDFADYWGQGTLVTVSSGGSGGSQVQLVQSGAEVKKPGESLKVSCKASGYTFTSYMHVWVRQAPGQGLEWMGIINPSGGST
TQSPKFMSTSVGDRVTVTCKASQNVGTNVAWFQKPGQSPKVLIIYSASYRYSYGVDPDRFTGSGSGTDFTLTISNVQSE
DLAEYFCQQYHTYPLTFGGGTTKLEINAAAGSDYKDDDDK (서열번호 23)

[0192]

[0193] m) 도 8a에 나타난 바와 같은, 여섯 개의 가변 도메인 및 C-말단의 His-태그를 갖는 제1 폴리펩티드; 및 여섯 개의 가변 도메인 및 C-말단의 FLAG-태그를 갖는 제2 폴리펩티드로 이루어진, CD30, CD19, EGFRvIII 및 CD16A에 특이성을 갖는 6가, 사중-특이적 Fv 항체 분자. 각 제1 및 제2 폴리펩티드는 C-말단에 scFv 유닛을 포함한다.

폴리펩티드	도메인 특이성 (N -> C)	도메인 순서(N -> C)
1	CD30 - CD16A - CD16A - CD19 - EGFRvIII - EGFRvIII - His	VH-VL-VL-VH-VL-VH
2	CD19 - CD16A - CD16A - CD30 - EGFRvIII - EGFRvIII - FLAG	VL-VH-VH-VL-VL-VH

[0194]

[0195] 폴리펩티드 1:

QVQLQQSGAELARPGASVKMSCKASGYTFTTYTIHWVRQRPGLDLEWIGYINPSSGYSYDYNQNFKGKTTLTADKSS
NTAYMQLNSLTSEDSAVYYCARRADYGNYEYTWFAWYWGQGTITVTVSSGGSGGSQVQLVQSGAEVKKPGESLKVSCKASGYTFTSYMHVWVRQAPGQGLEWMGIINPSGGST
SCGGHNIGSKNVHWYQQRPQGSPVLVIYQDNKRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISGTQAMDEADYYCQVWDNYSV
LFGGGTKLTVLGGSGGSQVQLVQSGAEVKKPGESLKVSCKASGYTFTSYMHVWVRQAPGQGLEWMGIINPSGGST
PERFSGSNSGNTATLTISGTQAMDEADYYCQVWDNYSVLFGGGTTKTLTVLGGSGGSQVQLVQSGAEVKKPGESLKVSCKASGYTFTSYMHVWVRQAPGQGLEWMGIINPSGGST
KISCKGSGYSFTSNWIGWVRQMPGKGLEWMGIWPGDSDTMYSYSPFQGGVTISADESINTAYLQWSSLKASDTA
MYCARRETTTVGRYYYAMDYWGQGTITVTVSSGGSGGSQVQLVQSGAEVKKPGESLKVSCKASGYTFTSYMHVWVRQAPGQGLEWMGIINPSGGST
QQKPGQAPVLVIYKDSERPSGIPERFSGSSSGTITVLTISGVQAEDEADYYCQSDSSGTPLVFGTGTCLTVLGGSGG
SGSGSGGSQVQLVQSGAEVKKPGESLKVSCKASGYTFTSYMHVWVRQMPGKGLEWMGIINPSGGST
YSPSFQGGVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARLGSSWTNDAFDIWGQGTMTVTVSSAAAGSHHHHHH

[0196]

[0197] (서열번호 24)

[0198] 폴리펩티드 2:

SYVLTQPPSVSVAPGQTARITCGGNNIGSKTVHWYQQKPGQAPVLVYDDSDRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISRVE
AGDEADYYCQVGTDWSDHLQVFGGGTKLTVLGGSGGSQVQLVQSGAEVKKPGESLKVSCKASGYTFTSYMHVWV
RQAPGQGLEWMGIINPSGGSTSYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMESSLRSEDATVYYCARGSAYYYDFADYWGQ
GTLVTVSSGGSGGSQVQLVQSGAEVKKPGESLKVSCKASGYTFTSYMHVWVRQAPGQGLEWMGIINPSGGST
TSYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMESSLRSEDATVYYCARGSAYYYDFADYWGQGTLVTVSSGGSGGSQVQLVQSGAEVKKPGESLKVSCKASGYTFTSYMHVWVRQAPGQGLEWMGIINPSGGST
TQSPKFMSTSVGDRVTVTCKASQNVGTNVAWFQKPGQSPKVLIIYSASYRYSYGVDPDRFTGSGSGTDFTLTISNVQSE
DLAEYFCQQYHTYPLTFGGGTTKLEINGSGSGGSQVQLVQSGAEVKKPGESLKVSCKASGYTFTSYMHVWVRQAPGQGLEWMGIINPSGGST
PVLVIYKDSERPSGIPERFSGSSSGTITVLTISGVQAEDEADYYCQSDSSGTPLVFGTGTCLTVLGGSGGSGSGSGG
SGSGSGGSQVQLVQSGAEVKKPGESLKVSCKASGYTFTSYMHVWVRQMPGKGLEWMGIINPSGGST
VTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARLGSSWTNDAFDIWGQGTMTVTVSSAAAGSDYKDDDDK

[0199]

[0200] (서열번호 25)

[0201] n) 도 8b에 나타난 바와 같은, 여섯 개의 가변 도메인 및 C-말단 His-태그를 갖는 제1 폴리펩티드; 및 여섯 개의 가변 도메인 및 C-말단 FLAG-태그를 갖는 제2 폴리펩티드로 이루어진, CD30, CD19, EGFRvIII 및 CD16A에 특이성을 갖는 6가, 사중-특이적 Fv 항체 분자. 각 제1 및 제2 폴리펩티드는 N-말단에 scFv 유닛을 포함한다.

폴리펩티드	도메인 특이성 (N -> C)	도메인 순서(N -> C)
1	EGFRvIII - EGFRvIII - CD30 - CD16A - CD16A - CD19 - His	VH-VL-VH-VL-VL-VH
2	EGFRvIII - EGFRvIII - CD19 - CD16A - CD16A - CD30 - FLAG	VH-VL-VL-VH-VH-VL

폴리펩티드 1:

EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIGWVRQMPGKGLEWMGIIYPGDS DTRYSPSFQGGQVTISADKSI
TAYLQWSSSLKASDTAMYYCARLGSSWTNDAFDIWGQGTMTVTVSSGGSGGSGGSGGSGGSGGSSYELTQPPSVSVS
PGQTARITCSGDALPKQYAYWYQQKPGQAPVLVIYKDSERPSGIPERFSGSSSGTTVTLTISGVQAEDEADYYCQSAD
SSGTPLIVFGTGTCLTVLGGSGGSGGSSQVQLQSGAEELARPGASVKMSCKASGYTFTTYTIHWVRQRPGLDLEWIG
YINPSSGYS DYNQNFKGKTTLTADKSSNTAYMQLNSLTSEDSAVYYCARRADYGNIEYTWFAWYGQGTTVTVSSGG
SGGSGGSSYVLTQPPSVSVAPGQTATISCGGHNIGSKNVHWYQQRPGQSPVLVIYQDNKRPSGIPERFSGSNSGNTA
TLTISGTQAMDEADYYCQVWDNYSVLFGGGTCLTVLGGSGGSGGSSYVLTQPPSVSVAPGQTATISCGGHNIGSKNV
HWYQQRPGQSPVLVIYQDNKRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISGTQAMDEADYYCQVWDNYSVLFGGGTCLTVLGG
SGGSGGSEVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSNWIGWVRQMPGKGLEWMGMIWPGDSDTMYSFQGG
QVTISADESINTAYLQWSSSLKASDTAMYYCARRETTTVGRYYYAMDYWGQGT LTVTVSSAAAGSHHHHHH

(서열번호 26)

폴리펩티드 2:

EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIGWVRQMPGKGLEWMGIIYPGDS DTRYSPSFQGGQVTISADKSI
TAYLQWSSSLKASDTAMYYCARLGSSWTNDAFDIWGQGTMTVTVSSGGSGGSGGSGGSGGSGGSSYELTQPPSVSVS
PGQTARITCSGDALPKQYAYWYQQKPGQAPVLVIYKDSERPSGIPERFSGSSSGTTVTLTISGVQAEDEADYYCQSAD
SSGTPLIVFGTGTCLTVLGGSGGSGGSSYVLTQPPSVSVAPGQTARITCGGNNIGSKTVHWYQQKPGQAPVLVYDD
SDRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISRVEAGDEADYYCQVGT DWSHLQVFGGTCLTVLGGSGGSGQVQLVQSGAEV
KKPGESLKVSCASGYTFTSYMHVWRQAPGQGLEWMGIINPSGGSTSYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSL
RSED TAVYYCARGSAYYYDFADYWGQGT LTVTVSSGGSGGSGGSSQVQLVQSGAEVKKPGESLKVSCASGYTFTSY
MHVWRQAPGQGLEWMGIINPSGGSTSYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSED TAVYYCARGSAYYYDFAD
YWGQGT LTVTVSSGGSGGSGGSDIVMTQSPKFMSTSVGDRVTVTCKASQNVGTNVAWFQKPGQSPKVLISASY
RYSGVPRDFTGSGSGTDFTLTISNVQSEDLAEYFCQYHTYPLTFGGGT KLEINAAAGSDYKDDDDK

(서열번호 27)

o) 도 1에 나타난 바와 같은, CD30, CD19 및 CD16A에 특이성을 갖고, 여덟 개의 가변 도메인 및 C-말단의 His-태그를 갖는 단일 폴리펩티드로 이루어진, 4가, 삼중 특이적 Fv 항체 분자. 상기 중심에 위치한 이량체인 이중 항체 유닛은 상기 동일한 폴리펩티드 내에서 제2 쌍의 병치된 V_L-V_L 도메인에 결합된 제1 쌍의 V_H-V_H 도메인에 의해서 형성된다. 상기 V_H-V_H 쌍은 상기 링커 (G_2S)₆에 의해서 V_L-V_L 쌍에 연결된다.

폴리펩티드	도메인 특이성 (N -> C)	도메인 순서(N -> C)
1	CD30 - CD30 - CD16A - CD16A - CD16A - CD19 - CD19 - His	VH-VL-VH-VH-VL-VL-VL-VH

[0212] 폴리펩티드 1:

QVQLQQSGAELARPGASVKMSCKASGYTFTTYTIHWVRQRPGLDLEWIGYINPSSGYSYDYNQNFKGKTTLTADKSS
NTAYMQLNSLTSEDSAVYYCARRADYGNIEYTWFAFWGQGTTTVTVSSGGSGGSGGSGGSGGSGGSDIVMTQSPK
FMSTSVGDRVTCTCKASQNVGTNVAWFQQKPGQSPKVLIIYSASYRYSQVPRFTGSGSGTDFTLTISNVQSEDLAEY
FCQQYHTYPLTFGGGKLEINGSGSGGSGSQVQLVQSGAEVKKPGESLKVSCASGYTFTSYMHVWRQAPGQGL
EWMGIINPSGGSTSYAQKFQGRVTMTTRDTSTSTVYMELSSLRSEDAVYYCARGSAYYYDFADYWGQGLTVTVSSG
SGSGSGSGSQVQLVQSGAEVKKPGESLKVSCASGYTFTSYMHVWRQAPGQGLEWMGIINPSGGSTSYAQKFQGR
VTMTTRDTSTSTVYMELSSLRSEDAVYYCARGSAYYYDFADYWGQGLTVTVSSGGSGGSGGSGGSGGSGGSSYVL
TQPSVSVAPGQTATISCGGHNIGSKNVHWYQQRPGQSPVLVIYQDNKRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISGTQAMD
EADYYCQVWDNYSVLFGGGKTLTVLGGSGGSGGSSYVLTQPSVSVAPGQTATISCGGHNIGSKNVHWYQQRPGQ
SPVLVIYQDNKRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISGTQAMDEADYYCQVWDNYSVLFGGGKTLTVLGGSGGSGGSEVQ
LVQSGAEVKKPGESLKISCKSGSYFTSNWIGWVRQMPGKLEWMGMIVPGDSDTMYSPIFQGQVTISADESIN
TAYLQWSSLKASDTAMYYCARRETTTVGRYYYYAMDYWGQGLTVTVSSGGSGGSGGSGGSGGSGGSSYVLTQPPSV
SVAPGQTARITCGGNNIGSKTVHWYQKPGQAPVLVYDDSDRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISRVEAGDEADYYC
QVGTDWSDDLQVFGGGKTLTVLAAAGSHHHHHH (서열번호 28)

[0213]

[0214]

p) 도 4에 나타난 바와 같은, CD30, CD19 및 CD16A에 특이성을 갖고, 12 개의 가변 도메인 및 C-말단 His-태그를 갖는 단일 폴리펩티드로 이루어진, 6가4가4가(hexavalenttetravalenttetravalent), 삼중 특이적 Fv 항체 분자. 상기 폴리펩티드는 서로 연결된 세 개의 단쇄 이중항체 유닛을 포함한다.

폴리펩티드	도메인 특이성 (N->C)	도메인 순서 (N->C)
1	CD30 - CD30 - CD30 - CD30 - CD16A - CD16A - CD16A - CD16A - CD19 - CD19 - CD19 - CD19 - His	VH-VL-VH-VL-VH-VH-VL-VL-VH-VH-VL-VL

[0215]

[0216]

폴리펩티드 1:

QVQLQQSGAELARPGASVKMSCKASGYTFTTYTIHWVRQRP
GHDLLEWIGYINPSSGYS
DYNQNFKGKTTLTADKSSNTAYMQLNSLTSEDSAVYYCARRADYGN
YEYTWFAFWGQGT
TVTVSSGGSGGSGGSDIVMTQSPKFMSTSVGDRVT
VTCKASQNVGT
NVAWFQKPGQSPKVLII
SASRYSGV
PDRFTGSGSGTDFTLTISNVQSEDLAEYFCQ
QYHTYPLTFGGG
TKLEINGSGSGSGSGSGSGSQVQLQQSGAELARPGASVKMSCKASGYTFTTYTIHWVRQRP
GHDLLEWIGYINPSSGYS
DYNQNFKGKTTLTADKSSNTAYMQLNSLTSEDSAVYYCARRADYGN
YEYTWFAFWGQGT
TVTVSSGGSGGSGGSDIVMTQSPKFMSTSVGDRVT
VTCKASQNVGT
NVAWFQKPGQSPKVLII
SASRYSGV
PDRFTGSGSGTDFTLTISNVQSEDLAEYFCQ
QYHTYPLTFGGG
TKLEINGSGSGSGSGSQVQLVQSGAEVKKPGESLKVSC
KASGYTFTSYMHVWRQAPGQGLEWMGIINPSGGSTSYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVY
MELSSLRSEDTAVYYCARGSA
YYYDFADYWGQGT
LTVSSGGSGGSGGSGSQVQLVQSGAEVKKPGESLKVSC
KASGYTFTSYMHVWRQAPGQGLEWMGIINPSGGSTSYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVY
MELSSLRSEDTAVYYCARGSA
YYYDFADYWGQGT
LTVSSGGSGGSGGSGGSSYVLTQPSVSVAPGQTATISCGGHNIGSKNVH
WYQQRPGQSPVLVIYQDNKRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISGTQAMDEADY
YCQVWDNYSVLFGGG
TKLTVLGGSGGSGGSSYVLTQPSVSVAPGQTATISCGGHNIGSKNVH
WYQQRPGQSPVLVIYQDNKRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISGTQAMDEADY
YCQVWDNYSVLFGGG
TKLTVLGGSGGSGGSEVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSNWIGWVRQ
MPGKGLEWMGMIWPGDSDTMYS
PSFQGGQVTISADESINTAYLQWSSLKASDTAMYYCARRETTTVGRYYYAMDYWGQGT
LTVTVSSGGSGGSGGSSYVLTQPPSVSVAPGQTARITCGGNNIGSKTVH
WYQKQKPGQAPVLVYDDSDRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISRVEAGDEADY
YCQVGTDWSDHLQVFGGG
TKLTVLGGSGGSGGSGGSGGSGGSEVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSNWIGWVRQ
MPGKGLEWMGMIWPGDSDTMYS
PSFQGGQVTISADESINTAYLQWSSLKASDTAMYYCARRETTTVGRYYYAMDYWGQGT
LTVTVSSGGSGGSGGSSYVLTQPPSVSVAPGQTARITCGGNNIGSKTVH
WYQKQKPGQAPVLVYDDSDRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISRVEAGDEADY
YCQVGTDWSDHLQVFGGG
TKLTVLAAAGSHHHHHH (서열번호 29)

[0217]

[0218]

실시예 4

[0219]

삼중 특이적 항체 분자에 의해 매개되는 세포-결합 및 세포독성 활성의 평가

- [0220] 연구 과정
- [0221] 세포 및 세포 배양
- [0222] CD19⁺/CD30⁺ MEC-1 (DSMZ, cat.: ACC 497), CD19⁺/CD30⁻ Raji (DSMZ, cat.: ACC 319), 및 CD19⁻/CD30⁺ KARPAS-299 (DSMZ, cat.: ACC 31) 세포를 본 명세서에서 세포주 공급자에 의해 권장된 바와 같은 완전한 RPMI 배지라고 언급되는 10% 열-불활성화된 태아 소 혈청 (FCS) (cat.: 10270-106), 100 U/mL 페니실린 G, 100 µg/mL 스트렙토마이신 (cat.: 1540-122), 및 2 mM L-글루타민 (cat.: 25030-024; 모두 Invitrogen, Karlsruhe, Germany) 으로 보충된 RPMI 1640 (cat.: 21875-034) 또는 IMDM (cat.: 12440-053) 배지에서 표준 조건 하에 배양하였다. PBMC를 밀도 구배 원심분리에 의해 건강한 지원자의 연막 (buffy coat)으로 부터 분리되었다 (German Red Cross, Mannheim, Germany). 상기 연막 시료를 2 x 3 배 부피의 PBS(Invitrogen, cat.: 14190-169)로 희석하고, Histopaque-1077 (Stemcell Technologies, 상품명 : 07861)의 쿠션 상에 놓고, 800 x g에서 25 분 간 실온에서 쉼 없이 원심분리 하였다. 계면에 위치한 PBMC를 수집하여 NK 세포 농축을 위해 사용하기 전 PBS로 3회 세척하였다. 제조업체의 지침에 따라, 훼손되지 않은 인간 NK 세포의 면역자기 단리를 위한 EasySepTM 인간 NK 세포 농축 키트 (Stemcell Technologies, cat.: 19055) 및 Big Easy EasySepTM 마그넷을 이용하여 PBMCs 집단 으로부터 NK 세포를 농축하였다.
- [0223] 세포-결합 분석 및 유동 세포계측 분석
- [0224] 표시된 세포주의 분취량을 2% 열-불활성화된 FCS (Invitrogen, cat.: 10270-106), 0.1% 소듐 아자이드 (Roth, Karlsruhe, Germany, cat.: A1430.0100)를 함유하는 FACS 완충액 (PBS, Invitrogen, cat.: 14190-169)에서 단 계적 희석된 His-태그된 항체 100 µl와 함께 얼음에서 45 분 간 인큐베이션 하였다. NK 세포의 염색을 1 mg/mL 다클론 인간 항체 (Gammanorm, Octapharma, Langenfeld, Germany, cat.: PZN-2451445)로 보충된 FACS 완충액에 서 수행하여 Fc 수용체에 대한 항체의 결합을 차단하였다.
- [0225] FACS 완충액으로 반복해서 세척한 후, 세포-결합된 항체를 10 µg/mL 항-His mAb 13/45/31-2 (Dianova, Hamburg, Germany, cat.: DIA910-1MG), 그 다음 15 µg/mL FITC-결합된 염소 항-마우스 항체 (Dianova, cat.: 115-095-062)로 검출하였다. 그런 다음 상기 세포를 다시 세척하고, 죽은 세포를 제외하기 위해 2 µg/mL 프로 피디움 이오디드 (PI) (Sigma, cat.: P4170)를 함유하는 FACS 완충액 0.2 mL에 재현탁시켰다. MXP 소프트웨어 (Beckman-Coulter, Krefeld, Germany)를 이용한 Beckman-Coulter FC500 MPL 유동 세포계측기를 이용하거나, 또 는 Millipore Guava EasyCyte 유동 세포계측기 (Merck Millipore, Schwalbach, Germany)를 이용해서 2-5 x 10³ 개의 생존 세포의 형광을 측정하였다. 상기 세포 시료의 평균 형광 세기 평균은 CXP 소프트웨어 (Beckman-Coulter) 또는 Incyte 소프트웨어 (Merck Millipore, Schwalbach, Germany)를 이용해서 계산하였다. 2차 및 3 차 시약만으로 염색된 세포의 형광 세기 값을 뺀 후, 그 값을 GraphPad Prism (GraphPad Prism version 6.00 for Windows, GraphPad Software, La Jolla California USA)을 이용하여 분석하는데 사용하였다. K_D의 계산을 위해, 일-부위-결합 (쌍곡선)에 대한 방정식을 사용하였다.
- [0226] 세포독성 분석
- [0227] 칼세인-방출 세포독성 분석을 위해, 표적 세포를 10 µM 칼세인 AM (Invitrogen, cat.: C3100MP)으로 30 분 간 RPMI 1640 배지 중에 37 °C에서 라벨링하고, 세척하고, 96 웰 마이크로 플레이트의 개별적인 웰에서 증가하 는 항체 농도의 존재 하에 총 부피 200 µL 중 효과자-대-표적 (E:T) 비율 5:1로 효과자 세포와 함께 1 x 10⁴ 세포를 시딩하였다. 습한 5% CO₂ 분위기의 37 °C에서 표시된 시간 동안 인큐베이션 한 후, 상등액으로 방출 된 칼세인의 형광 (F)을 520 nm에서 플레이트 리더(Victor 3, Perkin Elmer, Turku Finland, cat.: 1420-012)로 측정하였다. 특이적인 세포 용해를 [F(시료)-F(자발적)]/[F(최대)-F(자발적)]x100%로 계산하였다. F(자 발적)은 효과자 세포 및 항체의 부재 중 표적 세포로부터 방출되는 형광을 나타내고, F(최대)는 1% Triton X 100 (Roth, Karlsruhe, Germany, cat.: 3051.2)에 의해서 유도된 총 세포 용해 후 방출된 것을 나타낸다. 회귀 곡선이 EC₅₀을 계산하기에 적합하였다 (GraphPad Prism 버전 6.00, GraphPad Software, La Jolla California USA).
- [0228] 삼중 특이적 항체 분자의 활성
- [0229] 상이한 배향으로 배열된 동일한 항체 가변 도메인을 포함하는 도 2에 설명된 바와 같이 삼중 특이적 항체 분자

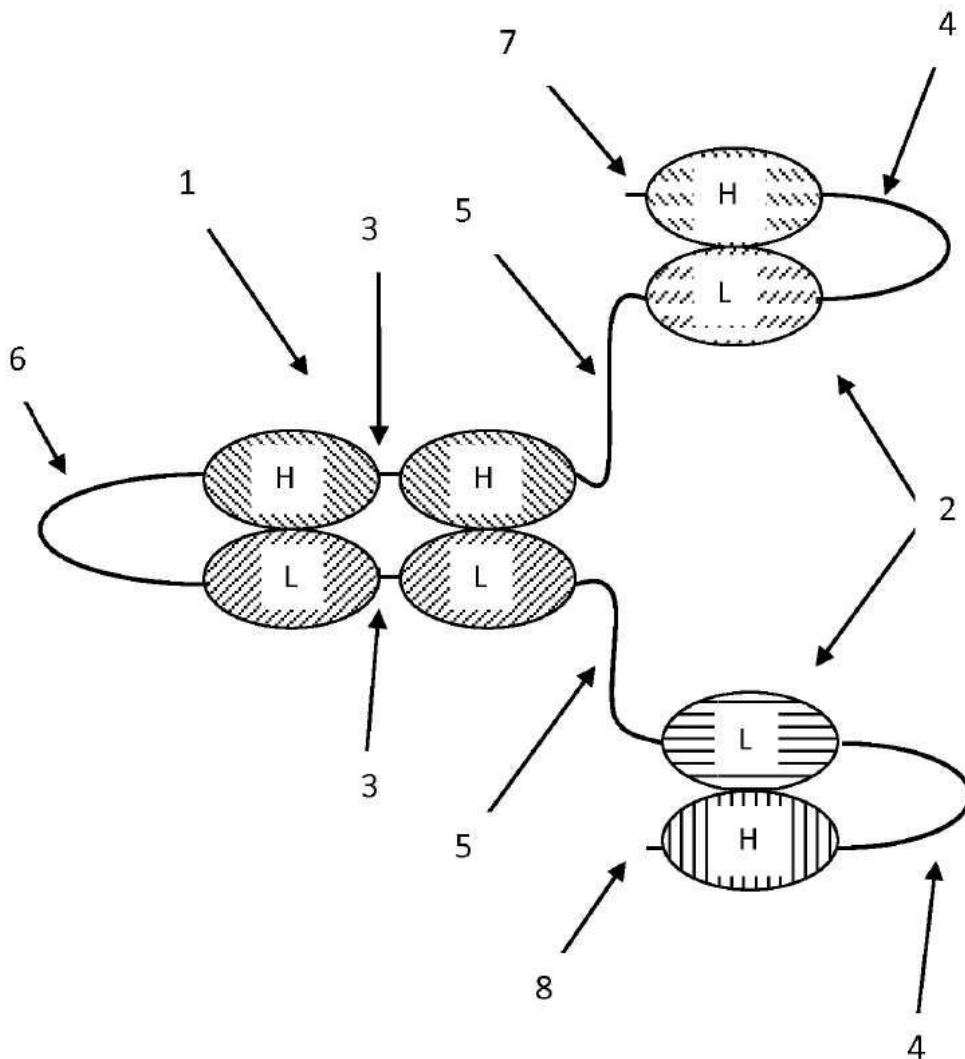
를 대표하는 삼중 특이적 항체 분자인, 실시예 3에 기재된 바와 같은 aTriFlex_101, aTriFlex_102, aTriFlex_103 및 aTriFlex_104 (실시예 3a), 3b), 3c) 및 3d) 참조)의 결합을 단일 양성 CD19+/CD30- Raji 및 CD19-/CD30+ KARPAS-299 세포뿐 아니라 이중-양성인 CD19+/CD30+ MEC-1 세포에 대해 유동 세포계측을 이용하여 입증하였다. CD19에 대한 해리 상수는 6 내지 64 nM의 범위이고, CD30에 대해서는 16 내지 45 nM이다 (도 12). 이중-양성 MEC-1 세포에서 9 내지 47 nM 범위의 해리 상수가 관찰되었고, 일반적으로 각각 단일-양성 Raji 및 KARPAS-299 세포에 대해 수득된 데이터를 확장하였다.

[0230] 세포 독성 분석에서, 단일 양성 CD30+/CD19-Raji 상의 89 내지 580 pM 범위 및 CD19-/CD30+ KARPAS-299 세포 상의 155 내지 952 pM 범위의 EC_{50} 값이 관찰되었다. 이중-양성 CD19+/CD30+ MEC-1 세포 상에서, 67 내지 235 pM 범위의 EC_{50} 값이 관찰되어 활성이 11 배 개선되었음을 나타내었다 (도 13).

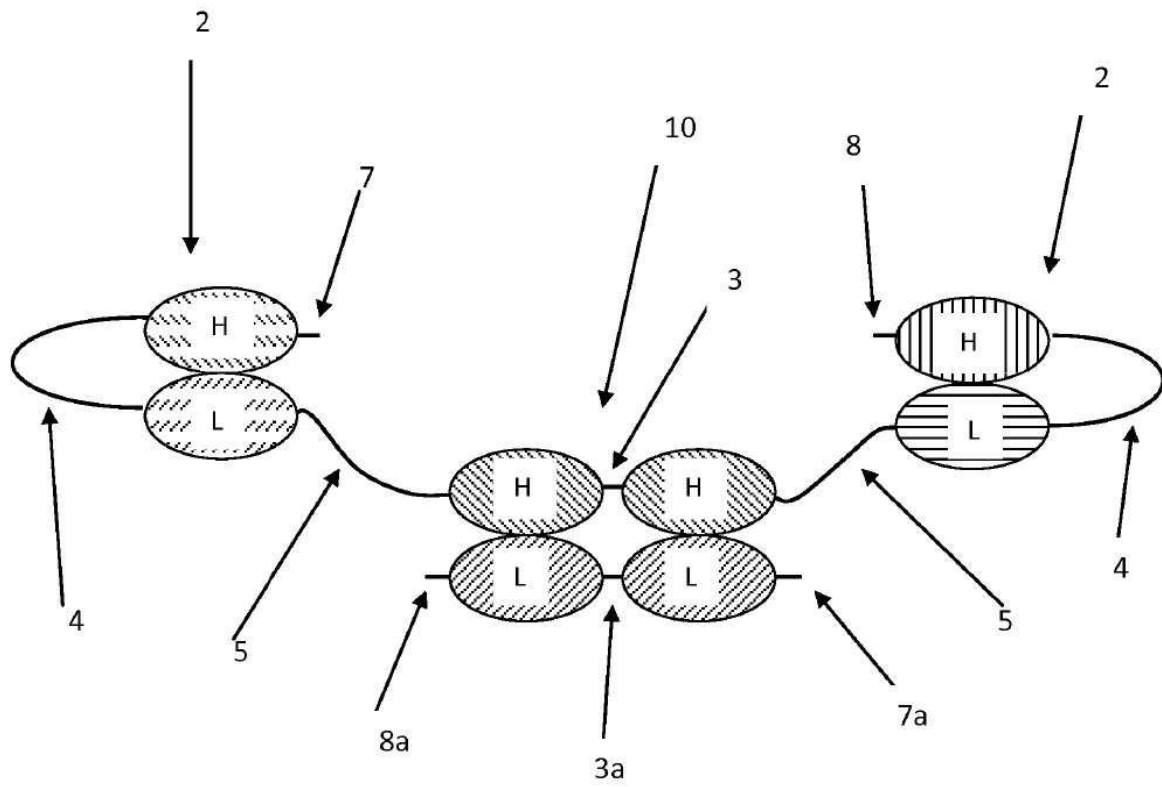
[0231] 전체적으로, 삼중 특이적 항체 분자는 본 연구에서 시험된 세포주 상에서 유사한 활성을 보였다; 그러나, 다른 항원 쌍에 대해 상기 세포 표면 상의 항원 밀도 및 기하학의 영향은 단일-양성 세포와 비교하여 이중-양성 세포에 대한 겔보기 친화도에서의 더 뚜렷한 증가를 유도하는 구조체의 활성화에 강한 영향을 미칠 수 있다.

도면

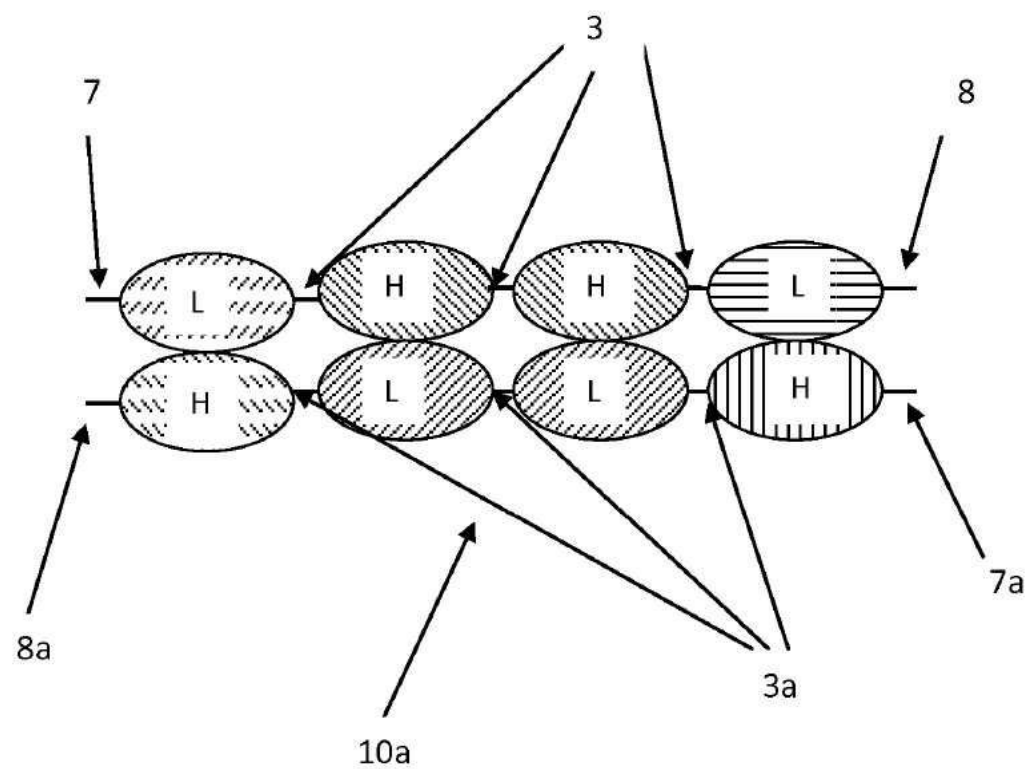
도면1



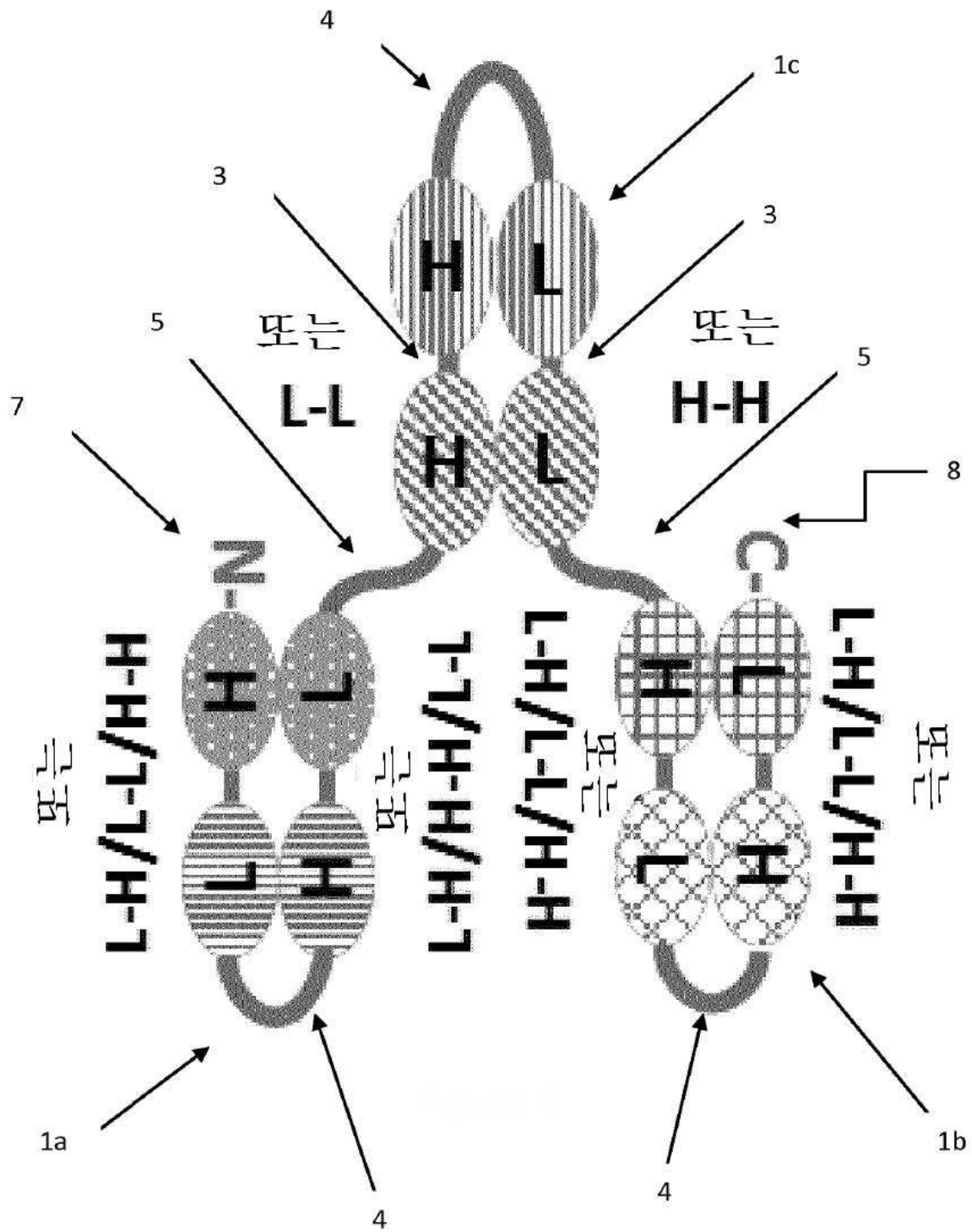
도면2



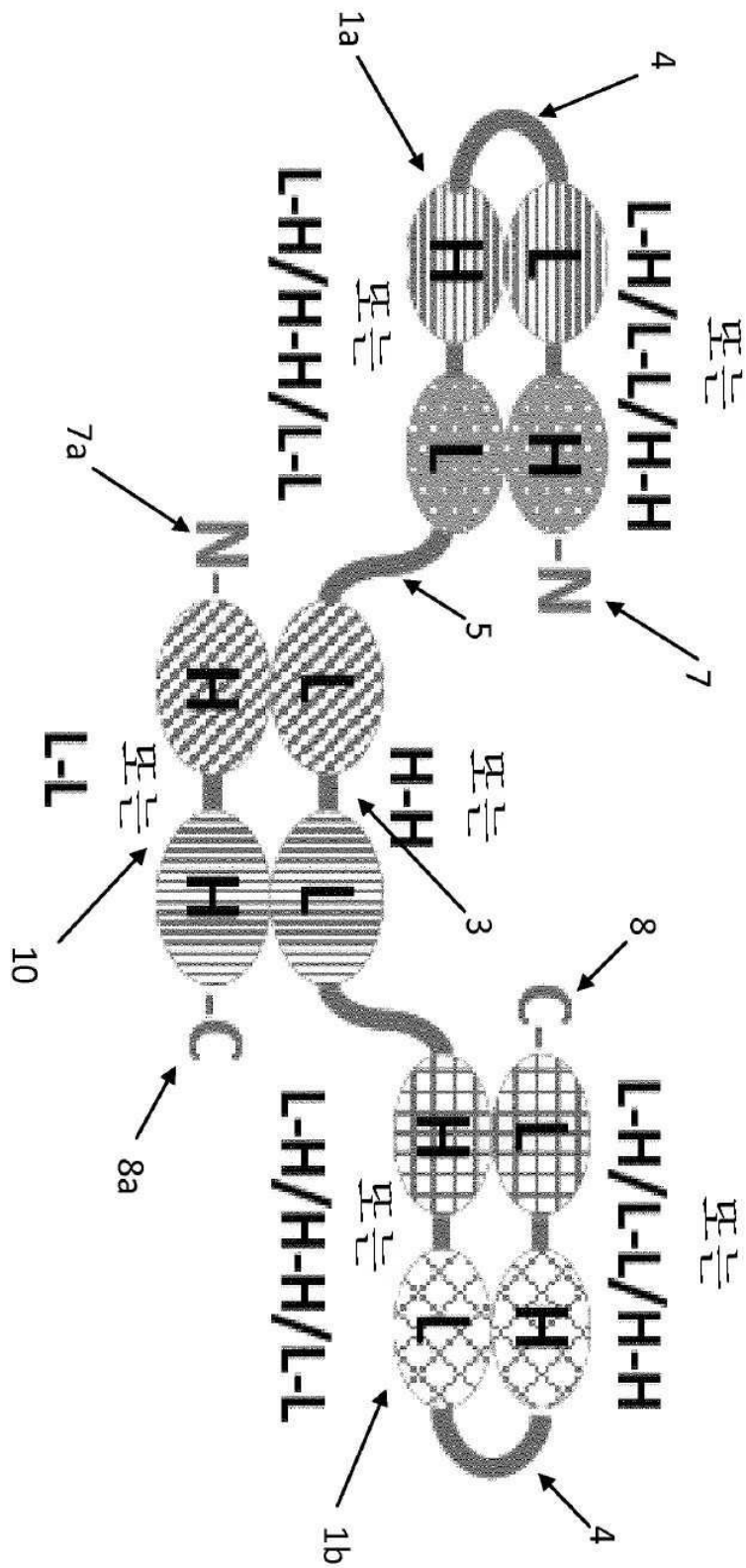
도면3



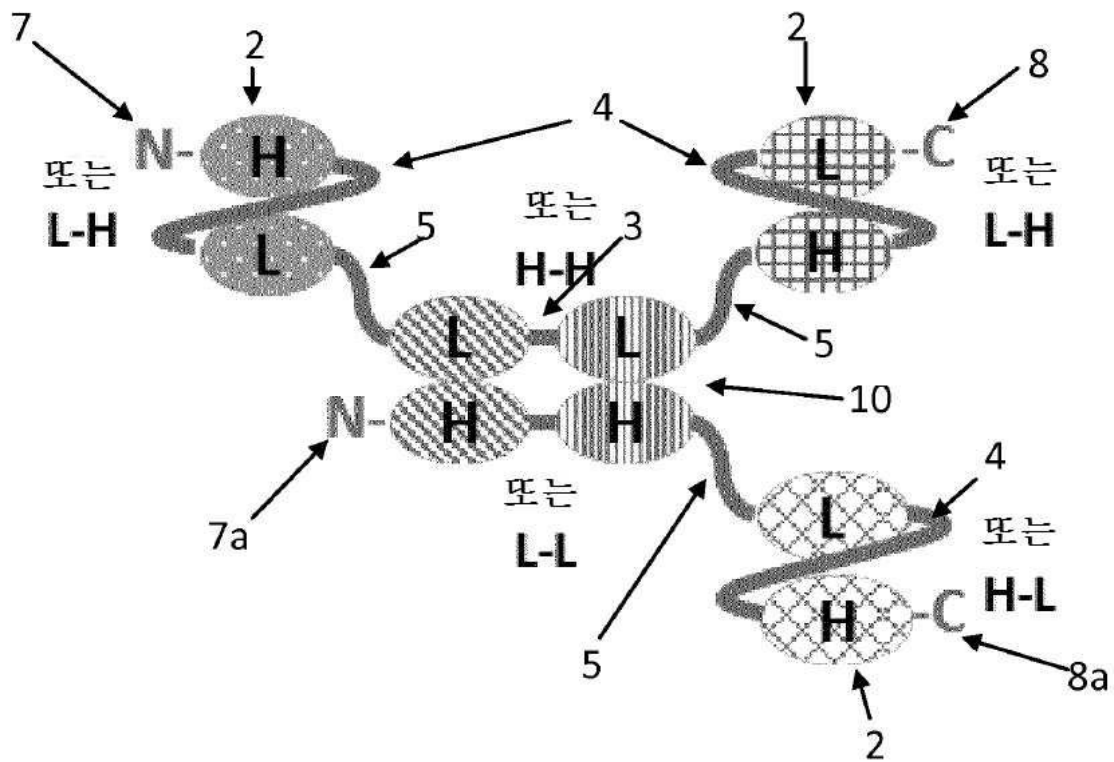
도면4



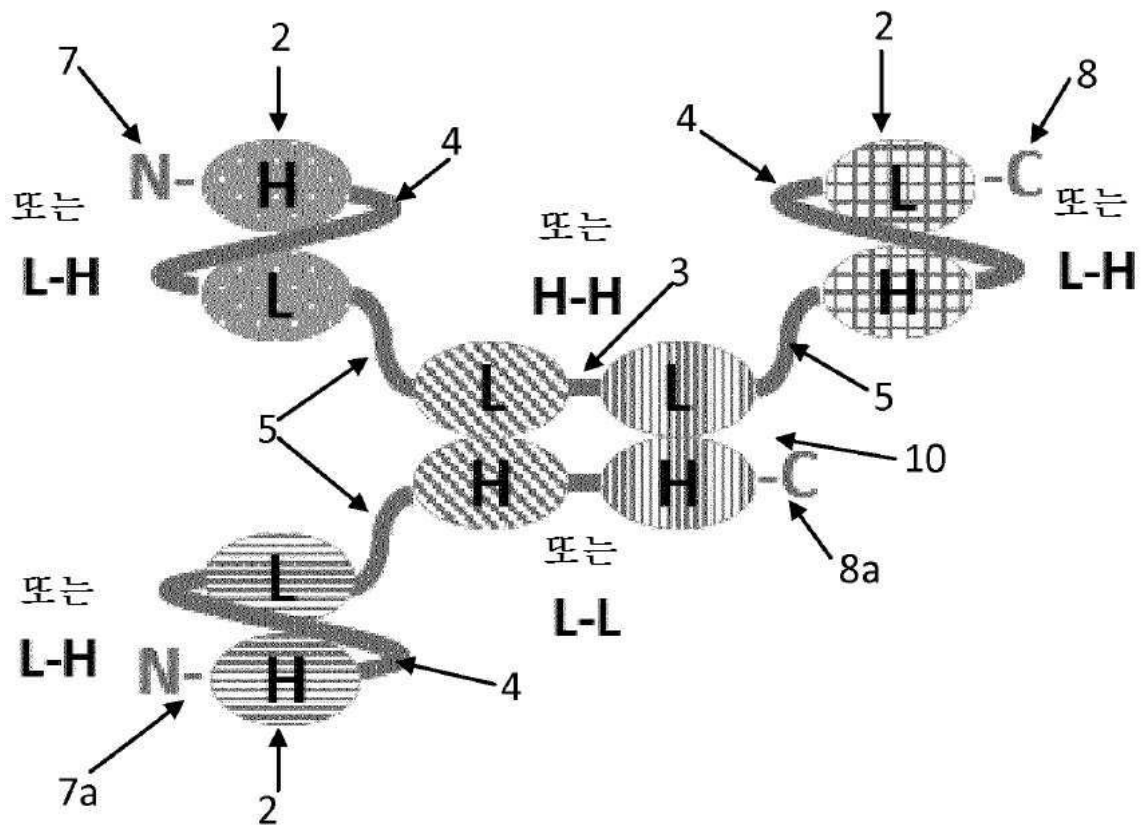
도면5



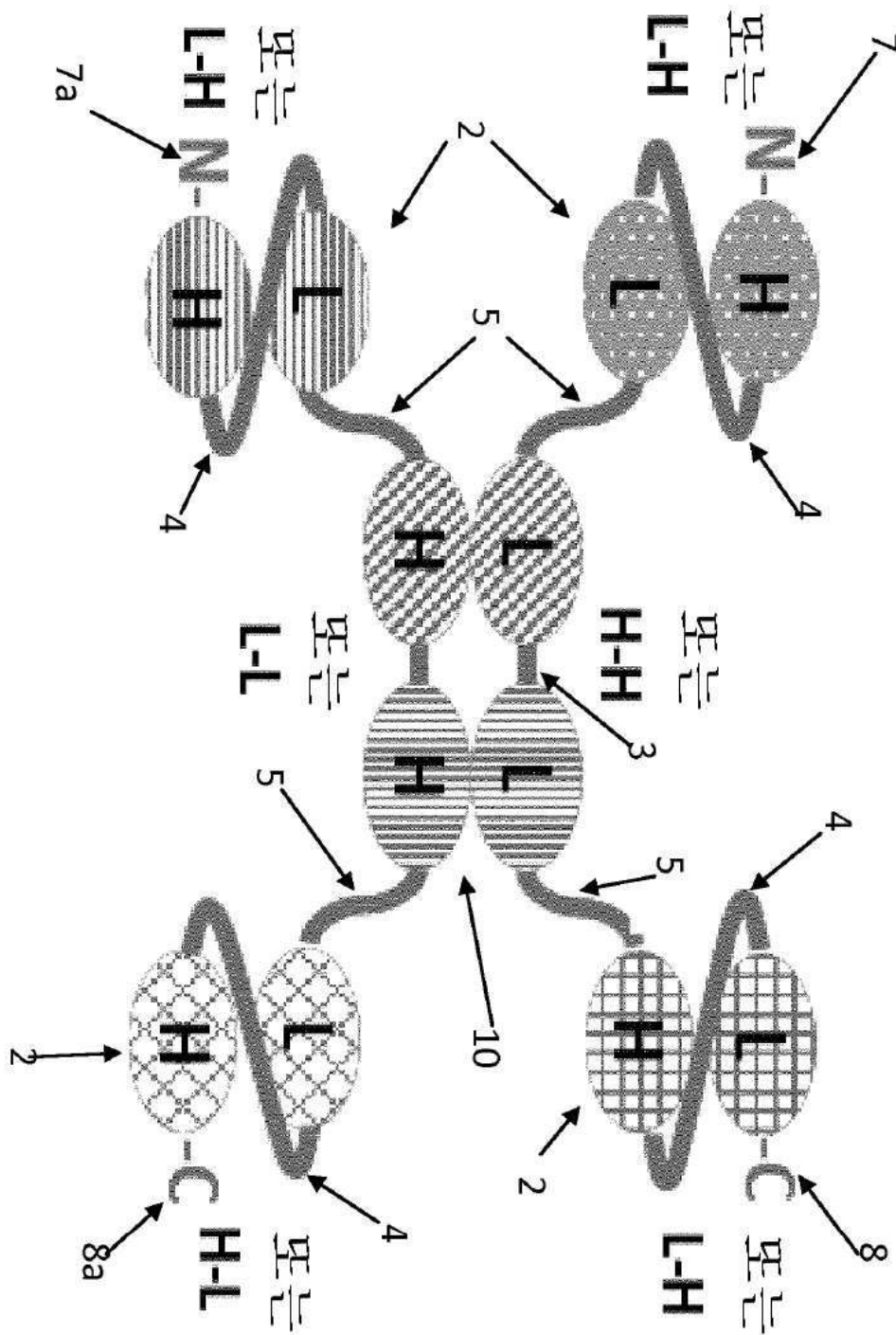
도면6a



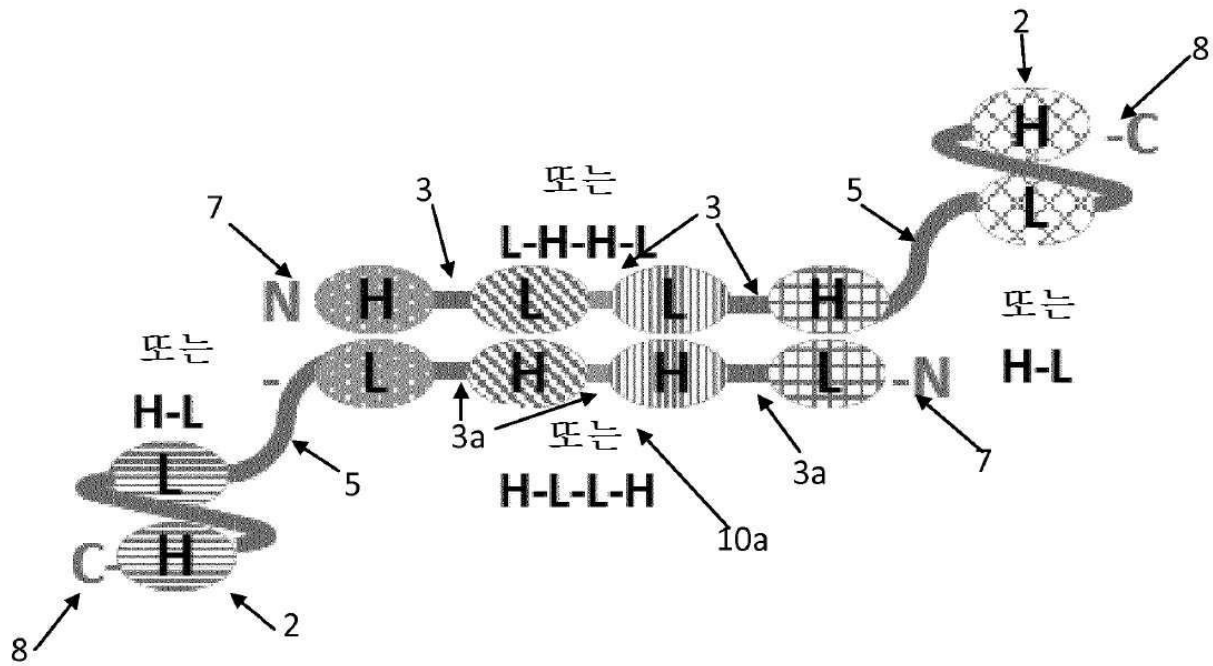
도면6b



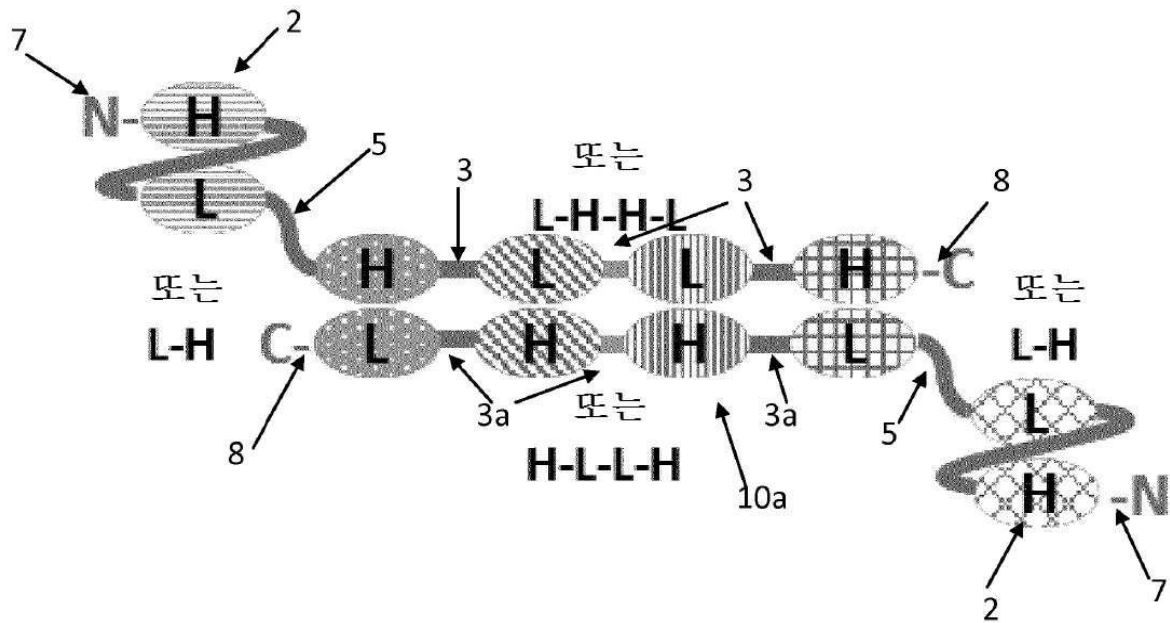
도면7



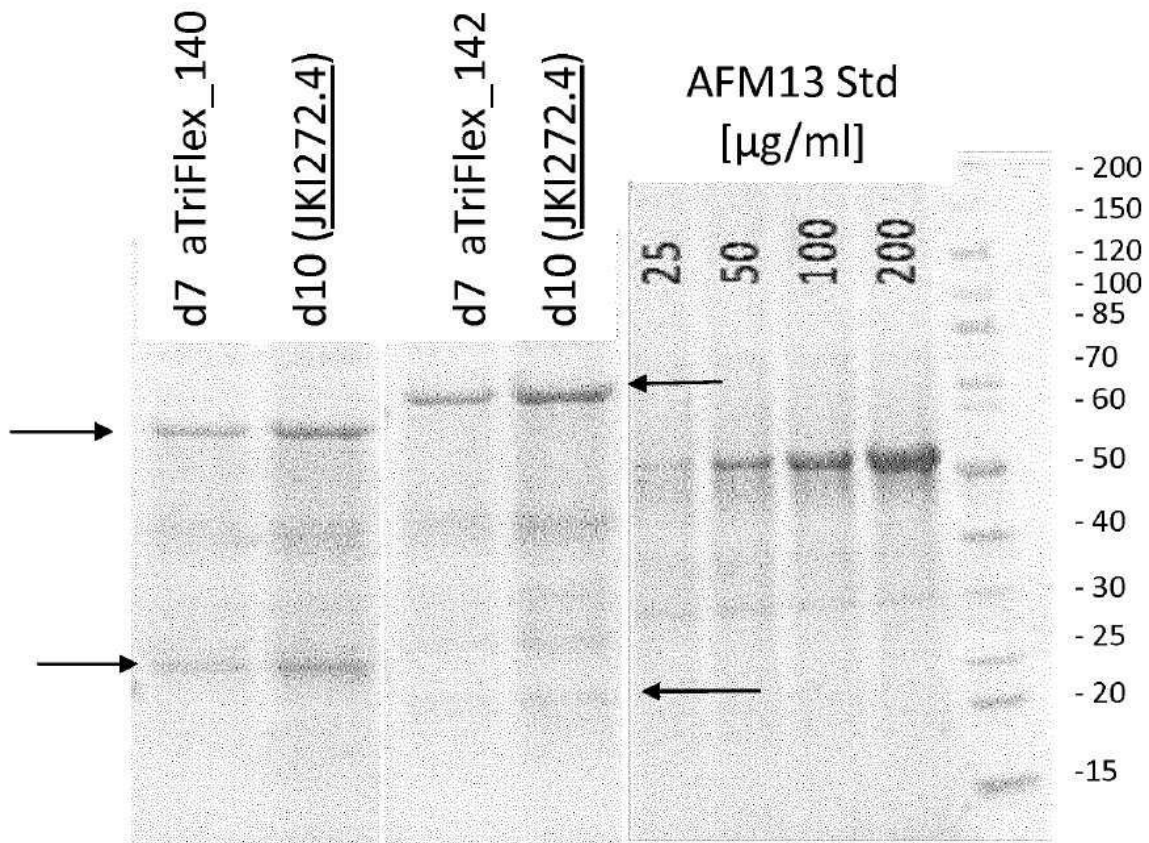
도면8a



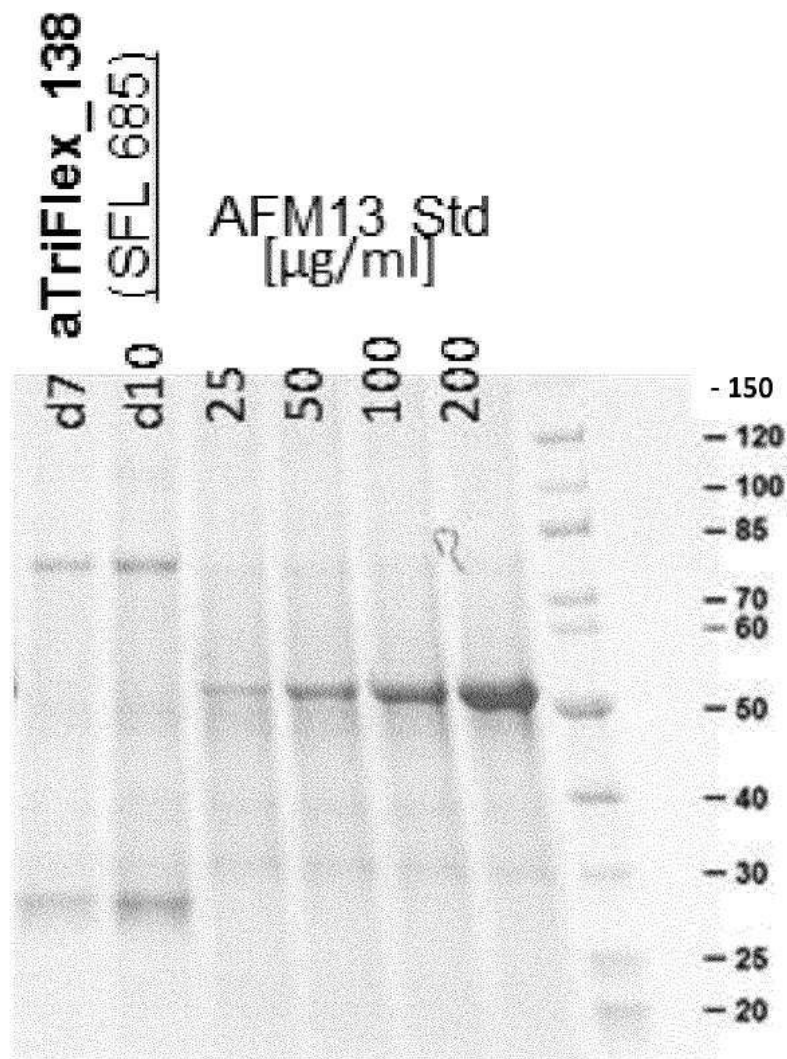
도면8b



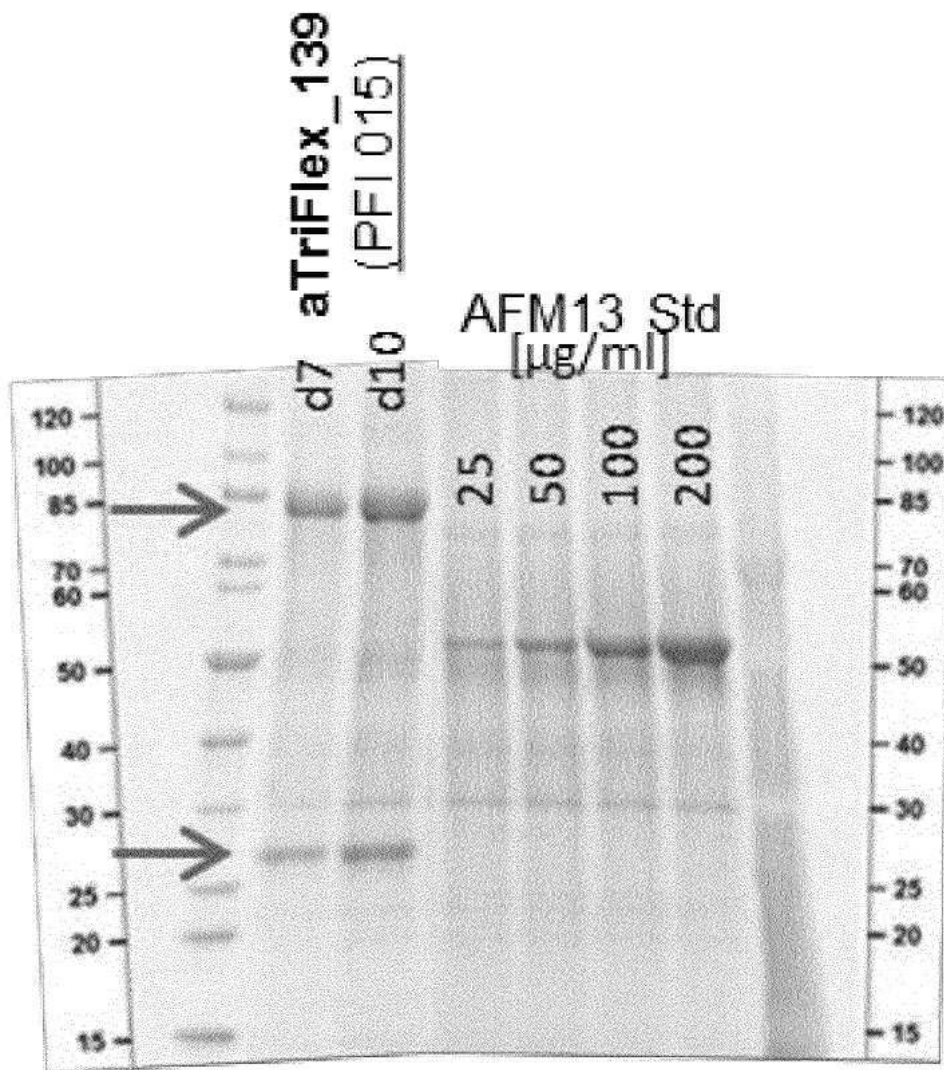
도면9a



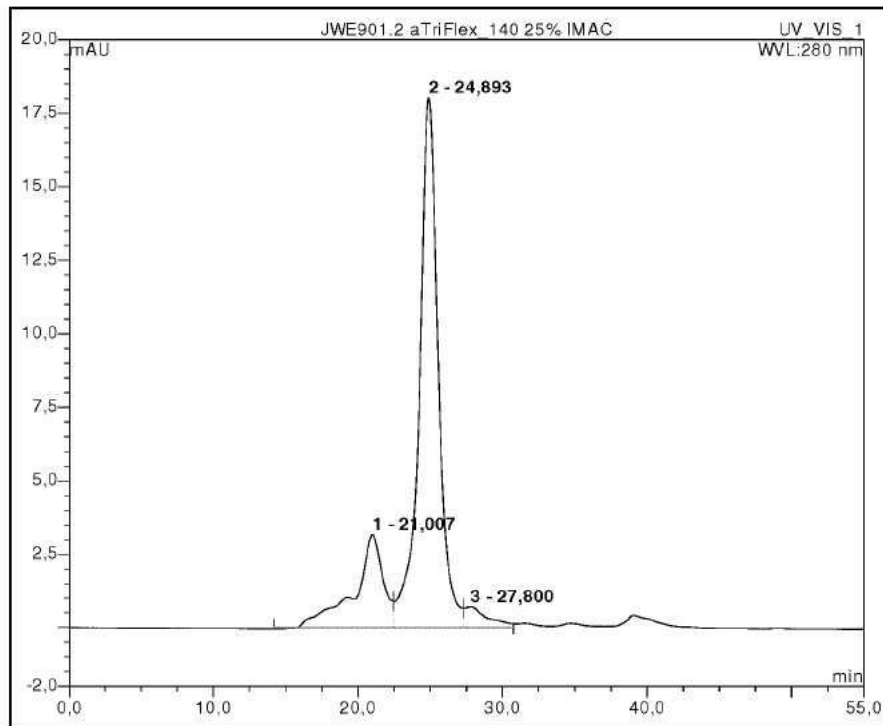
도면9b



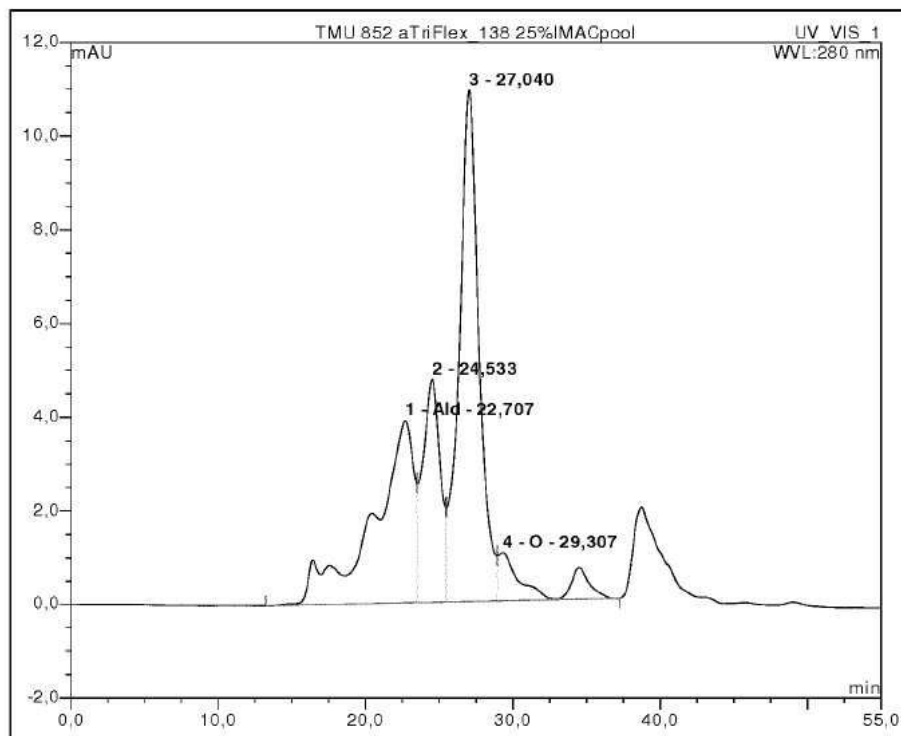
도면9c



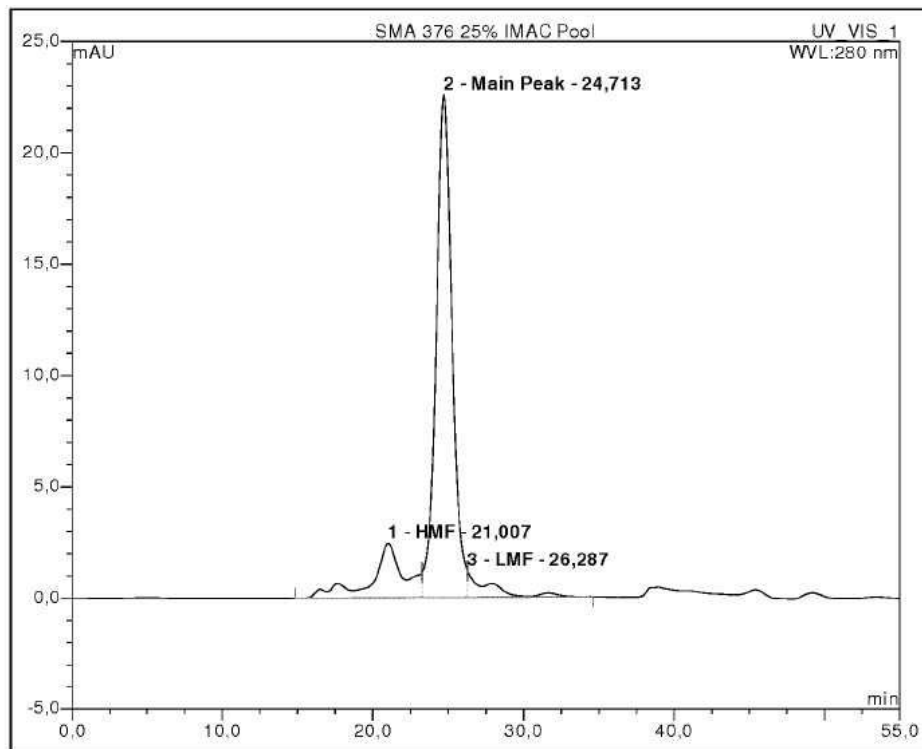
도면10a



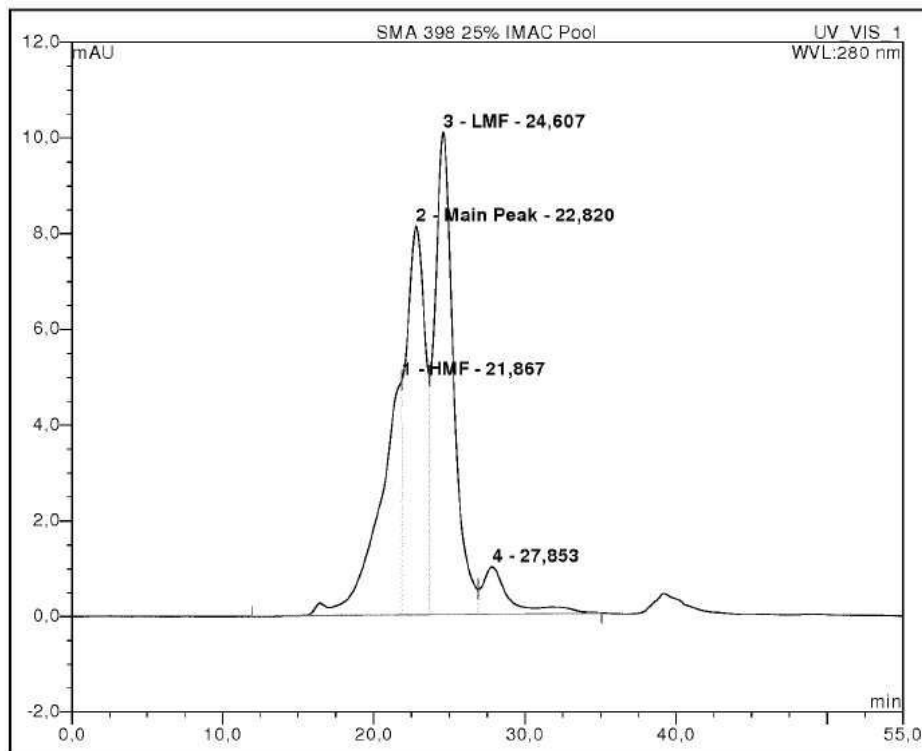
도면10b



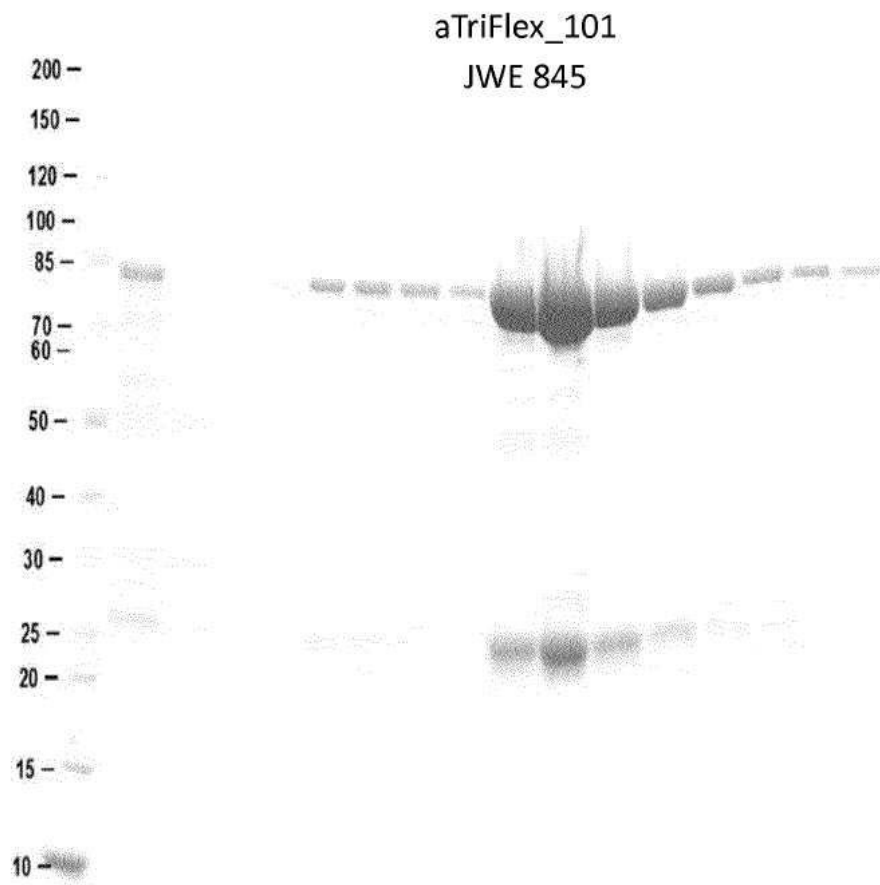
도면10c



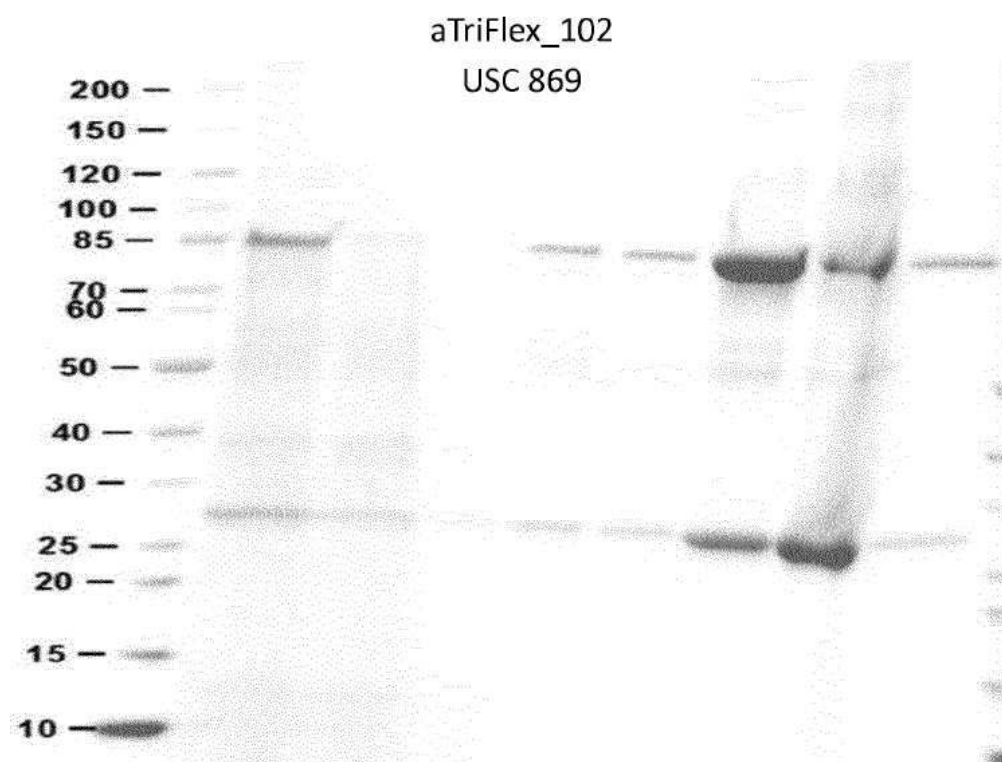
도면10d



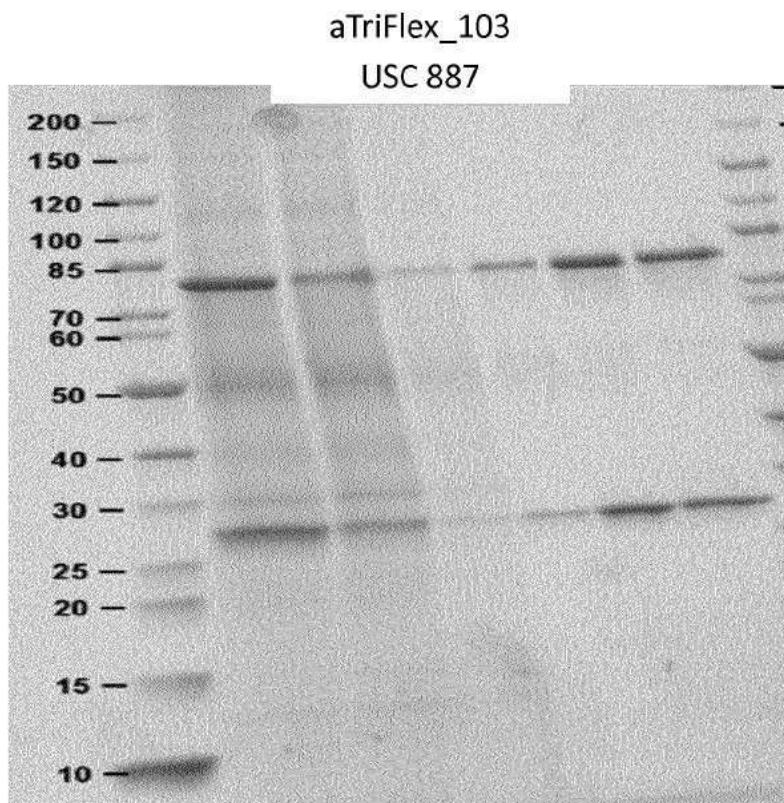
도면11a



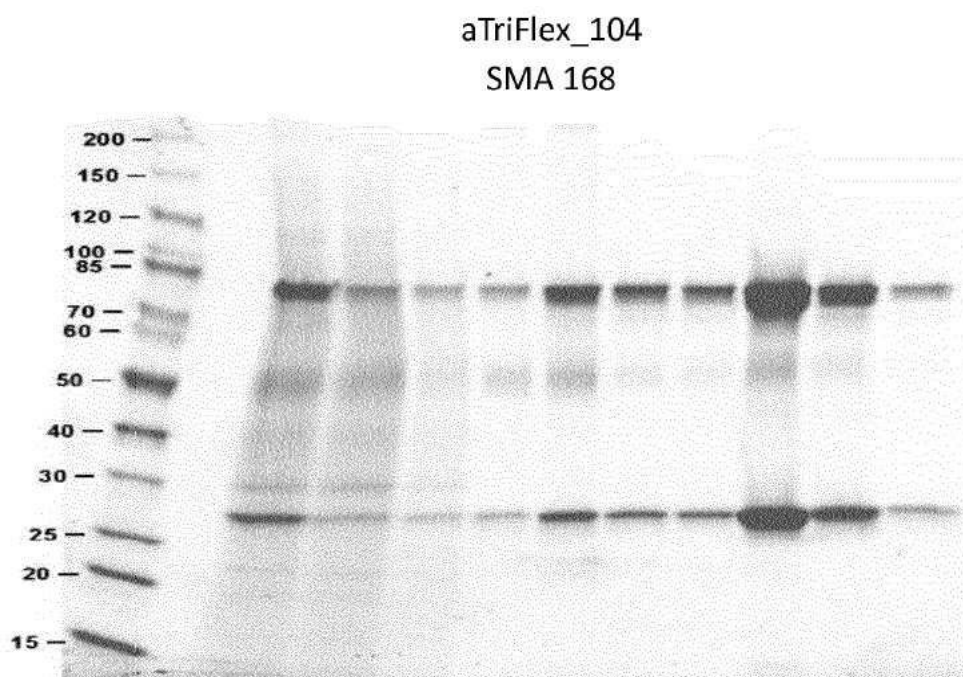
도면11b



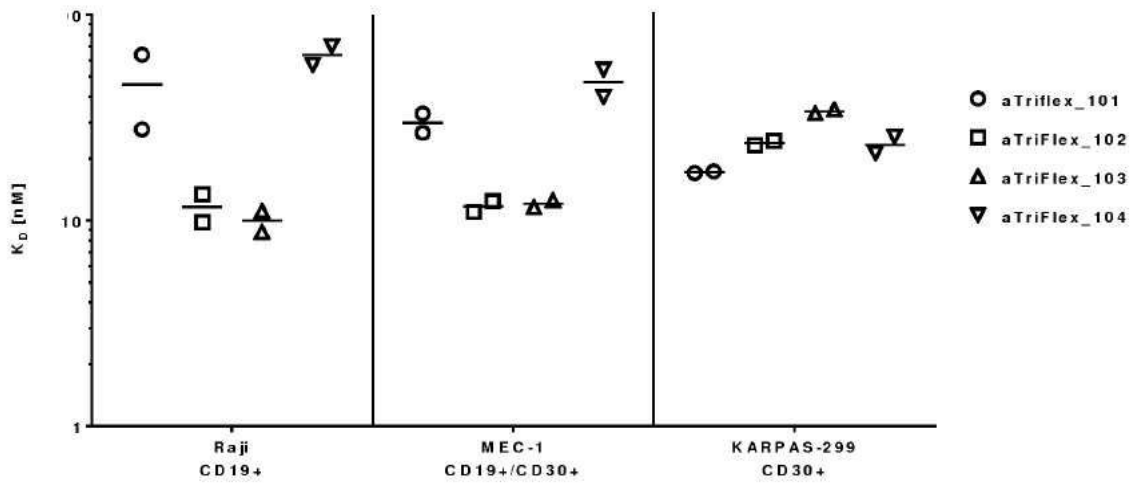
도면11c



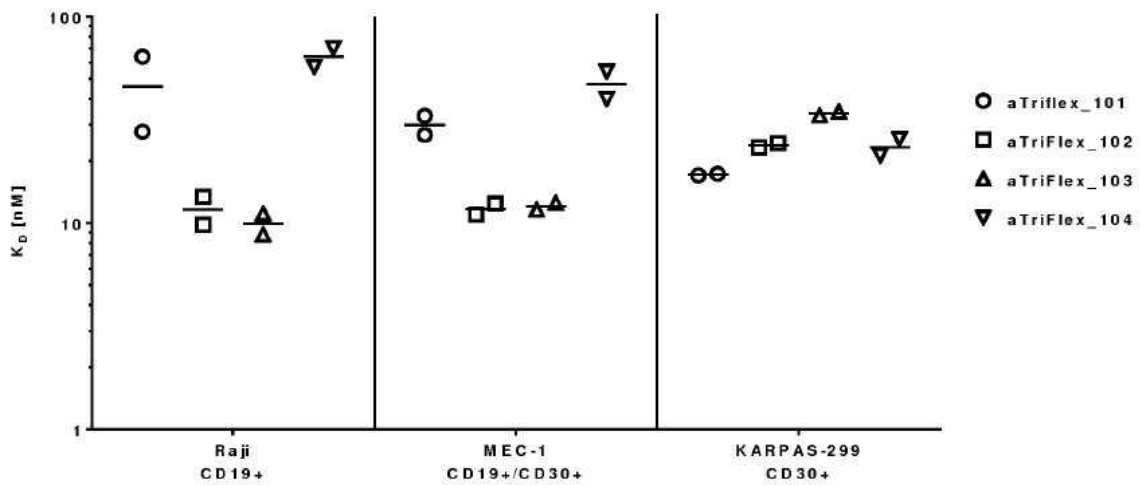
도면11d



도면12



도면13



서열 목록

SEQUENCE LISTING

<110> Affimed GmbH

<120> Novel Multivalent Fv Antibodies

<130> A 3305PCT

<150> EP 15189665.1

<151> 2015-10-13

<160> 40

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 780

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220><223> Fv polypeptide

<400> 1

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Thr Ile His Trp Val Arg Gln Arg Pro Gly His Asp Leu Glu Trp Ile

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Arg Ala Asp Tyr Gly Asn Tyr Glu Tyr Thr Trp Phe Ala Tyr

100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Ser Gly Gly

115 120 125

Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Asp Ile Val

130 135 140

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

145 150 155 160

Thr Val Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asn Val Gly Thr Asn Val Ala Trp

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

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

 275 280 285
 Tyr Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp
 290 295 300
 Met Gly Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys
 305 310 315 320
 Phe Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val
 325 330 335
 Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr

 340 345 350
 Cys Ala Arg Gly Ser Ala Tyr Tyr Tyr Asp Phe Ala Asp Tyr Trp Gly
 355 360 365
 Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly
 370 375 380
 Gly Ser Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro
 385 390 395 400
 Gly Glu Ser Leu Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr

 405 410 415
 Ser Tyr Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu
 420 425 430
 Trp Met Gly Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln
 435 440 445
 Lys Phe Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr
 450 455 460

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

465 470 475 480

Tyr Cys Ala Arg Gly Ser Ala Tyr Tyr Tyr Asp Phe Ala Asp Tyr Trp

485 490 495

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser

500 505 510

Gly Gly Ser Ser Tyr Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ala

515 520 525

Pro Gly Gln Thr Ala Arg Ile Thr Cys Gly Gly Asn Asn Ile Gly Ser

530 535 540

Lys Thr Val His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu

545 550 555 560

Val Val Tyr Asp Asp Ser Asp Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe

565 570 575

Ser Gly Ser Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Arg Val

580 585 590

Glu Ala Gly Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Gly Thr Asp Trp

595 600 605

Ser Asp His Leu Gln Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu

610 615 620

Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly

625 630 635 640

Gly Ser Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val

645 650 655

Lys Lys Pro Gly Glu Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr

660 665 670

Ser Phe Thr Ser Asn Trp Ile Gly Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys

675 680 685

Gly Leu Glu Trp Met Gly Met Ile Trp Pro Gly Asp Ser Asp Thr Met

690 695 700

Tyr Ser Pro Ser Phe Gln Gly Gln Val Thr Ile Ser Ala Asp Glu Ser

705 710 715 720
 Ile Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr

 725 730 735
 Ala Met Tyr Tyr Cys Ala Arg Arg Glu Thr Thr Thr Val Gly Arg Tyr
 740 745 750
 Tyr Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser
 755 760 765
 Ser Ala Ala Ala Gly Ser His His His His His His
 770 775 780
 <210> 2
 <211> 234
 <212> PRT
 <213> artificial sequence
 <220><223> Fv polypeptide

 <400> 2
 Ser Tyr Val Leu Thr Gln Pro Ser Ser Val Ser Val Ala Pro Gly Gln
 1 5 10 15
 Thr Ala Thr Ile Ser Cys Gly Gly His Asn Ile Gly Ser Lys Asn Val
 20 25 30
 His Trp Tyr Gln Gln Arg Pro Gly Gln Ser Pro Val Leu Val Ile Tyr
 35 40 45
 Gln Asp Asn Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser
 50 55 60

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

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

Gln Ala Met Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Asp Asn Tyr
 195 200 205
 Ser Val Leu Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Ala Ala Ala
 210 215 220
 Gly Ser Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys
 225 230

<210> 3

<211> 780

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220><223> Fv polypeptide

<400> 3

Ser Tyr Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ala Pro Gly Gln

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

65 70 75 80
 Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Gly Thr Asp Trp Ser Asp His
 85 90 95

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

340 345 350
 Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Ser Ala Tyr Tyr Tyr Asp
 355 360 365
 Phe Ala Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly
 370 375 380
 Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly

 385 390 395 400
 Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Glu Ser Leu Lys Val Ser Cys Lys Ala
 405 410 415
 Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala
 420 425 430
 Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met Gly Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly
 435 440 445
 Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg

 450 455 460
 Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser
 465 470 475 480
 Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Ser Ala Tyr Tyr Tyr
 485 490 495
 Asp Phe Ala Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 500 505 510
 Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser

 515 520 525
 Gly Ala Glu Leu Ala Arg Pro Gly Ala Ser Val Lys Met Ser Cys Lys
 530 535 540
 Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Thr Tyr Thr Ile His Trp Val Arg Gln
 545 550 555 560
 Arg Pro Gly His Asp Leu Glu Trp Ile Gly Tyr Ile Asn Pro Ser Ser
 565 570 575
 Gly Tyr Ser Asp Tyr Asn Gln Asn Phe Lys Gly Lys Thr Thr Leu Thr

 580 585 590

Ala Asp Lys Ser Ser Asn Thr Ala Tyr Met Gln Leu Asn Ser Leu Thr
595 600 605
Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Arg Ala Asp Tyr Gly
610 615 620
Asn Tyr Glu Tyr Thr Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val
625 630 635 640
Thr Val Ser Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser
645 650 655
Gly Gly Ser Gly Gly Ser Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Lys Phe
660 665 670
Met Ser Thr Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Val Thr Cys Lys Ala Ser
675 680 685
Gln Asn Val Gly Thr Asn Val Ala Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Gln
690 695 700
Ser Pro Lys Val Leu Ile Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Ser Gly Val
705 710 715 720
Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
725 730 735
Ile Ser Asn Val Gln Ser Glu Asp Leu Ala Glu Tyr Phe Cys Gln Gln
740 745 750
Tyr His Thr Tyr Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile
755 760 765
Asn Ala Ala Ala Gly Ser His His His His His His

770 775 780

<210> 4

<211> 234

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220><223> Fv polypeptide

<400> 4

Ser Tyr Val Leu Thr Gln Pro Ser Ser Val Ser Val Ala Pro Gly Gln
1 5 10 15

Thr Ala Thr Ile Ser Cys Gly Gly His Asn Ile Gly Ser Lys Asn Val
20 25 30

His Trp Tyr Gln Gln Arg Pro Gly Gln Ser Pro Val Leu Val Ile Tyr
35 40 45

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

Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Gly Thr Gln Ala Met
65 70 75 80

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

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gly Ser Gly Gly Ser
100 105 110

Gly Gly Ser Ser Tyr Val Leu Thr Gln Pro Ser Ser Val Ser Val Ala
115 120 125

Pro Gly Gln Thr Ala Thr Ile Ser Cys Gly Gly His Asn Ile Gly Ser
130 135 140

Lys Asn Val His Trp Tyr Gln Gln Arg Pro Gly Gln Ser Pro Val Leu
145 150 155 160

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

Ser Gly Ser Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Gly Thr
180 185 190

Gln Ala Met Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Asp Asn Tyr
195 200 205

Ser Val Leu Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Ala Ala Ala
210 215 220

Gly Ser Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys
225 230

<210> 5

<211> 752

<212>

PRT

<213> artificial sequence

<220><223> Fv polypeptide

<400> 5

Ser Tyr Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ala Pro Gly Gln

1 5 10 15

Thr Ala Arg Ile Thr Cys Gly Gly Asn Asn Ile Gly Ser Lys Thr Val

20 25 30

His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu Val Val Tyr

35 40 45

Asp Asp Ser Asp Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser

50 55 60

Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Arg Val Glu Ala Gly

65 70 75 80

Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Gly Thr Asp Trp Ser Asp His

85 90 95

Leu Gln Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gly Ser

100 105 110

Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly

115 120 125

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

130 135 140

Gly Glu Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Ser Phe Thr

145 150 155 160

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

165 170 175

Trp Met Gly Met Ile Trp Pro Gly Asp Ser Asp Thr Met Tyr Ser Pro

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

Tyr Cys Ala Arg Arg Glu Thr Thr Thr Val Gly Arg Tyr Tyr Tyr Ala

225 230 235 240
 Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly

 245 250 255
 Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Ser Tyr Val Leu Thr Gln Pro Ser Ser
 260 265 270
 Val Ser Val Ala Pro Gly Gln Thr Ala Thr Ile Ser Cys Gly Gly His
 275 280 285
 Asn Ile Gly Ser Lys Asn Val His Trp Tyr Gln Gln Arg Pro Gly Gln
 290 295 300
 Ser Pro Val Leu Val Ile Tyr Gln Asp Asn Lys Arg Pro Ser Gly Ile

 305 310 315 320
 Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr
 325 330 335
 Ile Ser Gly Thr Gln Ala Met Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Val
 340 345 350
 Trp Asp Asn Tyr Ser Val Leu Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val
 355 360 365
 Leu Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Ser Tyr Val Leu Thr Gln

 370 375 380
 Pro Ser Ser Val Ser Val Ala Pro Gly Gln Thr Ala Thr Ile Ser Cys
 385 390 395 400
 Gly Gly His Asn Ile Gly Ser Lys Asn Val His Trp Tyr Gln Gln Arg
 405 410 415
 Pro Gly Gln Ser Pro Val Leu Val Ile Tyr Gln Asp Asn Lys Arg Pro
 420 425 430
 Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser Asn Ser Gly Asn Thr Ala

 435 440 445
 Thr Leu Thr Ile Ser Gly Thr Gln Ala Met Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr
 450 455 460
 Cys Gln Val Trp Asp Asn Tyr Ser Val Leu Phe Gly Gly Gly Thr Lys
 465 470 475 480

Leu Thr Val Leu Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gln Val Gln
 485 490 495
 Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Ala Arg Pro Gly Ala Ser Val Lys
 500 505 510
 Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Thr Tyr Thr Ile His
 515 520 525
 Trp Val Arg Gln Arg Pro Gly His Asp Leu Glu Trp Ile Gly Tyr Ile
 530 535 540
 Asn Pro Ser Ser Gly Tyr Ser Asp Tyr Asn Gln Asn Phe Lys Gly Lys
 545 550 555 560
 Thr Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Asn Thr Ala Tyr Met Gln Leu
 565 570 575
 Asn Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Arg
 580 585 590
 Ala Asp Tyr Gly Asn Tyr Glu Tyr Thr Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln
 595 600 605
 Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly
 610 615 620
 Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Asp Ile Val Met Thr Gln
 625 630 635 640
 Ser Pro Lys Phe Met Ser Thr Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Val Thr
 645 650 655
 Cys Lys Ala Ser Gln Asn Val Gly Thr Asn Val Ala Trp Phe Gln Gln
 660 665 670
 Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Val Leu Ile Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg
 675 680 685
 Tyr Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp
 690 695 700
 Phe Thr Leu Thr Ile Ser Asn Val Gln Ser Glu Asp Leu Ala Glu Tyr
 705 710 715 720
 Phe Cys Gln Gln Tyr His Thr Tyr Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr

725 730 735
Lys Leu Glu Ile Asn Ala Ala Ala Gly Ser His His His His His His

740 745 750

<210> 6

<211> 262

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220><223> Fv polypeptide

<400> 6

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

Tyr Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp

165 170 175

Met Gly Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys

180 185 190

Phe Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val

195 200 205

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

210 215 220

Cys Ala Arg Gly Ser Ala Tyr Tyr Tyr Asp Phe Ala Asp Tyr Trp Gly

225 230 235 240

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

245 250 255

Lys Asp Asp Asp Asp Lys

260

<210> 7

<211> 754

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220><223> Fv polypeptide

<400> 7

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Thr Ile His Trp Val Arg Gln Arg Pro Gly His Asp Leu Glu Trp Ile

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Arg Ala Asp Tyr Gly Asn Tyr Glu Tyr Thr Trp Phe Ala Tyr

100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Ser Gly Gly
115 120 125

Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Asp Ile Val
130 135 140

Met Thr Gln Ser Pro Lys Phe Met Ser Thr Ser Val Gly Asp Arg Val
145 150 155 160

Thr Val Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asn Val Gly Thr Asn Val Ala Trp
165 170 175

Phe Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Val Leu Ile Tyr Ser Ala
180 185 190

Ser Tyr Arg Tyr Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser
195 200 205

Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Asn Val Gln Ser Glu Asp Leu
210 215 220

Ala Glu Tyr Phe Cys Gln Gln Tyr His Thr Tyr Pro Leu Thr Phe Gly
225 230 235 240

Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Asn Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly
245 250 255

Ser Ser Tyr Val Leu Thr Gln Pro Ser Ser Val Ser Val Ala Pro Gly
260 265 270

Gln Thr Ala Thr Ile Ser Cys Gly Gly His Asn Ile Gly Ser Lys Asn
275 280 285

Val His Trp Tyr Gln Gln Arg Pro Gly Gln Ser Pro Val Leu Val Ile
290 295 300

Tyr Gln Asp Asn Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly
305 310 315 320

Ser Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Gly Thr Gln Ala
325 330 335

Met Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Asp Asn Tyr Ser Val
340 345 350

Leu Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gly Ser Gly Gly

355 Ser Gly Gly Ser Ser Tyr Val Leu Thr Gln Pro Ser Ser Val Ser Val
 370 375 380
 Ala Pro Gly Gln Thr Ala Thr Ile Ser Cys Gly Gly His Asn Ile Gly
 385 390 395 400
 Ser Lys Asn Val His Trp Tyr Gln Gln Arg Pro Gly Gln Ser Pro Val
 405 410 415
 Leu Val Ile Tyr Gln Asp Asn Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg
 420 425 430

 Phe Ser Gly Ser Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Gly
 435 440 445
 Thr Gln Ala Met Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Asp Asn
 450 455 460
 Tyr Ser Val Leu Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gly
 465 470 475 480
 Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Ser Tyr Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser
 485 490 495

 Val Ser Val Ala Pro Gly Gln Thr Ala Arg Ile Thr Cys Gly Gly Asn
 500 505 510
 Asn Ile Gly Ser Lys Thr Val His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
 515 520 525
 Ala Pro Val Leu Val Val Tyr Asp Asp Ser Asp Arg Pro Ser Gly Ile
 530 535 540
 Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr
 545 550 555 560

 Ile Ser Arg Val Glu Ala Gly Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Val
 565 570 575
 Gly Thr Asp Trp Ser Asp His Leu Gln Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys
 580 585 590
 Leu Thr Val Leu Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser
 595 600 605

Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Gln Ser
610 615 620

Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Glu Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys
625 630 635 640

Gly Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Asn Trp Ile Gly Trp Val Arg Gln
645 650 655

Met Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met Gly Met Ile Trp Pro Gly Asp
660 665 670

Ser Asp Thr Met Tyr Ser Pro Ser Phe Gln Gly Gln Val Thr Ile Ser
675 680 685

Ala Asp Glu Ser Ile Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys
690 695 700

Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys Ala Arg Arg Glu Thr Thr Thr
705 710 715 720

Val Gly Arg Tyr Tyr Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
725 730 735

Val Thr Val Ser Ser Ala Ala Ala Gly Ser Asp Tyr Lys Asp Asp Asp
740 745 750

Asp Lys

<210> 8

<211> 260

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220><223> Fv polypeptide

<400> 8

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

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

Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

35 40 45
 Gly Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe
 50 55 60
 Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr
 65 70 75 80
 Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Gly Ser Ala Tyr Tyr Tyr Asp Phe Ala Asp Tyr Trp Gly Gln
 100 105 110

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

 Met Gly Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys
 180 185 190
 Phe Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val
 195 200 205
 Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
 210 215 220
 Cys Ala Arg Gly Ser Ala Tyr Tyr Tyr Asp Phe Ala Asp Tyr Trp Gly
 225 230 235 240

 Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ala Ala Gly Ser His His
 245 250 255
 His His His His
 260
 <210> 9
 <211> 494

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220><223> Fv polypeptide

<400> 9

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Val Ala Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Val 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 His Thr Tyr Pro Leu

85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Asn Gly Gly Ser Gly Gly

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

Phe Thr Ser Tyr Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly

145 150 155 160

Leu Glu Trp Met Gly Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr

165 170 175

Ala Gln Lys Phe Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr

180 185 190

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

195 200 205

Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Ser Ala Tyr Tyr Tyr Asp Phe Ala Asp

210				215				220							
Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Gly	Gly	Ser	Gly
225				230				235				240			
Gly	Ser	Gly	Gly	Ser	Gln	Val	Gln	Leu	Val	Gln	Ser	Gly	Ala	Glu	Val
245				250				255							
Lys	Lys	Pro	Gly	Glu	Ser	Leu	Lys	Val	Ser	Cys	Lys	Ala	Ser	Gly	Tyr
260				265				270							
Thr	Phe	Thr	Ser	Tyr	Tyr	Met	His	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Gln
275				280				285							
Gly	Leu	Glu	Trp	Met	Gly	Ile	Ile	Asn	Pro	Ser	Gly	Gly	Ser	Thr	Ser
290				295				300							
Tyr	Ala	Gln	Lys	Phe	Gln	Gly	Arg	Val	Thr	Met	Thr	Arg	Asp	Thr	Ser
305				310				315				320			
Thr	Ser	Thr	Val	Tyr	Met	Glu	Leu	Ser	Ser	Leu	Arg	Ser	Glu	Asp	Thr
325				330				335							
Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Ala	Arg	Gly	Ser	Ala	Tyr	Tyr	Tyr	Asp	Phe	Ala
340				345				350							
Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Gly	Gly	Ser
355				360				365							
Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Ser	Ser	Tyr	Val	Leu	Thr	Gln	Pro	Pro	Ser	Val
370				375				380							
Ser	Val	Ala	Pro	Gly	Gln	Thr	Ala	Arg	Ile	Thr	Cys	Gly	Gly	Asn	Asn
385				390				395				400			
Ile	Gly	Ser	Lys	Thr	Val	His	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Gln	Ala
405				410				415							
Pro	Val	Leu	Val	Val	Tyr	Asp	Asp	Ser	Asp	Arg	Pro	Ser	Gly	Ile	Pro
420				425				430							
Glu	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Asn	Ser	Gly	Asn	Thr	Ala	Thr	Leu	Thr	Ile
435				440				445							
Ser	Arg	Val	Glu	Ala	Gly	Asp	Glu	Ala	Asp	Tyr	Tyr	Cys	Gln	Val	Gly
450				455				460							

Thr Asp Trp Ser Asp His Leu Gln Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu
465 470 475 480

Thr Val Leu Ala Ala Ala Gly Ser His His His His His His
485 490

<210> 10

<211> 499

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220><223> Fv polypeptide

<400> 10

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

1 5 10 15

Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Asn

20 25 30

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

35 40 45

Gly Met Ile Trp Pro Gly Asp Ser Asp Thr Met Tyr Ser Pro Ser Phe

50 55 60

Gln Gly Gln Val Thr Ile Ser Ala Asp Glu Ser Ile Asn Thr Ala Tyr

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Arg Glu Thr Thr Thr Val Gly Arg Tyr Tyr Tyr Ala Met Asp

100 105 110

Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Ser Gly

115 120 125

Gly Ser Gly Gly Ser Ser Tyr Val Leu Thr Gln Pro Ser Ser Val Ser

130 135 140

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

145 150 155 160

Gly Ser Lys Asn Val His Trp Tyr Gln Gln Arg Pro Gly Gln Ser Pro

165	170	175	
Val Leu Val Ile Tyr Gln Asp Asn Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu			
180	185	190	
Arg Phe Ser Gly Ser Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser			
195	200	205	
Gly Thr Gln Ala Met Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Asp			
210	215	220	
Asn Tyr Ser Val Leu Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly			
225	230	235	240
Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Ser Tyr Val Leu Thr Gln Pro Ser			
245	250	255	
Ser Val Ser Val Ala Pro Gly Gln Thr Ala Thr Ile Ser Cys Gly Gly			
260	265	270	
His Asn Ile Gly Ser Lys Asn Val His Trp Tyr Gln Gln Arg Pro Gly			
275	280	285	
Gln Ser Pro Val Leu Val Ile Tyr Gln Asp Asn Lys Arg Pro Ser Gly			
290	295	300	
Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu			
305	310	315	320
Thr Ile Ser Gly Thr Gln Ala Met Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln			
325	330	335	
Val Trp Asp Asn Tyr Ser Val Leu Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr			
340	345	350	
Val Leu Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Gln			
355	360	365	
Gln Ser Gly Ala Glu Leu Ala Arg Pro Gly Ala Ser Val Lys Met Ser			
370	375	380	
Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Thr Tyr Thr Ile His Trp Val			
385	390	395	400
Arg Gln Arg Pro Gly His Asp Leu Glu Trp Ile Gly Tyr Ile Asn Pro			
405	410	415	

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

420 425 430

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

435 440 445

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

450 455 460

Tyr Gly Asn Tyr Glu Tyr Thr Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr

465 470 475 480

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

485 490 495

Asp Asp Lys

<210> 11

<211> 1019

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220><223> Fv polypeptide

<400> 11

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Thr Ile His Trp Val Arg Gln Arg Pro Gly His Asp Leu Glu Trp Ile

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Arg Ala Asp Tyr Gly Asn Tyr Glu Tyr Thr Trp Phe Ala Tyr

100 105 110
 Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Ser Gly Gly
 115 120 125
 Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Asp Ile Val
 130 135 140
 Met Thr Gln Ser Pro Lys Phe Met Ser Thr Ser Val Gly Asp Arg Val
 145 150 155 160
 Thr Val Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asn Val Gly Thr Asn Val Ala Trp

 165 170 175
 Phe Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Val Leu Ile Tyr Ser Ala
 180 185 190
 Ser Tyr Arg Tyr Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser
 195 200 205
 Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Asn Val Gln Ser Glu Asp Leu
 210 215 220
 Ala Glu Tyr Phe Cys Gln Gln Tyr His Thr Tyr Pro Leu Thr Phe Gly

 225 230 235 240
 Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Asn Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly
 245 250 255
 Ser Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly
 260 265 270
 Glu Ser Leu Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser
 275 280 285
 Tyr Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp

 290 295 300
 Met Gly Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys
 305 310 315 320
 Phe Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val
 325 330 335
 Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
 340 345 350

Cys Ala Arg Gly Ser Ala Tyr Tyr Tyr Asp Phe Ala Asp Tyr Trp Gly

355 360 365

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly

370 375 380

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

385 390 395 400

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

405 410 415

Ser Tyr Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu

420 425 430

Trp Met Gly Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln

435 440 445

Lys Phe Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr

450 455 460

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

465 470 475 480

Tyr Cys Ala Arg Gly Ser Ala Tyr Tyr Tyr Asp Phe Ala Asp Tyr Trp

485 490 495

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser

500 505 510

Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Ser Tyr Val Leu

515 520 525

Thr Gln Pro Ser Ser Val Ser Val Ala Pro Gly Gln Thr Ala Thr Ile

530 535 540

Ser Cys Gly Gly His Asn Ile Gly Ser Lys Asn Val His Trp Tyr Gln

545 550 555 560

Gln Arg Pro Gly Gln Ser Pro Val Leu Val Ile Tyr Gln Asp Asn Lys

565 570 575

Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser Asn Ser Gly Asn

580 585 590

Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Gly Thr Gln Ala Met Asp Glu Ala Asp

595 600 605
Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Asp Asn Tyr Ser Val Leu Phe Gly Gly Gly

610 615 620
Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Ser
625 630 635 640

Tyr Val Leu Thr Gln Pro Ser Ser Val Ser Val Ala Pro Gly Gln Thr
645 650 655

Ala Thr Ile Ser Cys Gly Gly His Asn Ile Gly Ser Lys Asn Val His
660 665 670

Trp Tyr Gln Gln Arg Pro Gly Gln Ser Pro Val Leu Val Ile Tyr Gln

675 680 685
Asp Asn Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser Asn
690 695 700

Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Gly Thr Gln Ala Met Asp
705 710 715 720

Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Asp Asn Tyr Ser Val Leu Phe
725 730 735

Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly

740 745 750
Gly Ser Ser Tyr Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ala Pro
755 760 765

Gly Gln Thr Ala Arg Ile Thr Cys Gly Gly Asn Asn Ile Gly Ser Lys
770 775 780

Thr Val His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu Val
785 790 795 800

Val Tyr Asp Asp Ser Asp Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser

805 810 815
Gly Ser Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Arg Val Glu
820 825 830

Ala Gly Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Gly Thr Asp Trp Ser
835 840 845

Asp His Leu Gln Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly
850 855 860

Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly

865 870 875 880

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

885 890 895

Lys Pro Gly Glu Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Ser

900 905 910

Phe Thr Ser Asn Trp Ile Gly Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys Gly

915 920 925

Leu Glu Trp Met Gly Met Ile Trp Pro Gly Asp Ser Asp Thr Met Tyr

930 935 940

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

945 950 955 960

Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala

965 970 975

Met Tyr Tyr Cys Ala Arg Arg Glu Thr Thr Thr Val Gly Arg Tyr Tyr

980 985 990

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

995 1000 1005

Ala Ala Ala Gly Ser His His His His His His

1010 1015

<210> 12

<211> 749

<212> PRT

<213> artificial

<220><223> Fv polypeptide

<400> 12

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

1 5 10 15

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

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

Gln Thr Ala Thr Ile Ser Cys Gly Gly His Asn Ile Gly Ser Lys Asn
275 280 285

Val His Trp Tyr Gln Gln Arg Pro Gly Gln Ser Pro Val Leu Val Ile
290 295 300

Tyr Gln Asp Asn Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly
305 310 315 320

Ser Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Gly Thr Gln Ala
325 330 335

Met Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Asp Asn Tyr Ser Val
340 345 350

Leu Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gly Ser Gly Gly
355 360 365

Ser Gly Gly Ser Ser Tyr Val Leu Thr Gln Pro Ser Ser Val Ser Val
370 375 380

Ala Pro Gly Gln Thr Ala Thr Ile Ser Cys Gly Gly His Asn Ile Gly
385 390 395 400

Ser Lys Asn Val His Trp Tyr Gln Gln Arg Pro Gly Gln Ser Pro Val
405 410 415

Leu Val Ile Tyr Gln Asp Asn Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg
420 425 430

Phe Ser Gly Ser Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Gly
435 440 445

Thr Gln Ala Met Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Asp Asn
450 455 460

Tyr Ser Val Leu Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gly
465 470 475 480

Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala
485 490 495

Glu Val Lys Lys Pro Gly Glu Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser
500 505 510

Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Asn Trp Ile Gly Trp Val Arg Gln Met Pro

515 520 525
 Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met Gly Met Ile Trp Pro Gly Asp Ser Asp
 530 535 540

Thr Met Tyr Ser Pro Ser Phe Gln Gly Gln Val Thr Ile Ser Ala Asp
 545 550 555 560
 Glu Ser Ile Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser
 565 570 575
 Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys Ala Arg Arg Glu Thr Thr Thr Val Gly
 580 585 590
 Arg Tyr Tyr Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
 595 600 605

Val Ser Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly
 610 615 620
 Gly Ser Gly Gly Ser Ser Tyr Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser
 625 630 635 640
 Val Ala Pro Gly Gln Thr Ala Arg Ile Thr Cys Gly Gly Asn Asn Ile
 645 650 655
 Gly Ser Lys Thr Val His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro
 660 665 670

Val Leu Val Val Tyr Asp Asp Ser Asp Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu
 675 680 685
 Arg Phe Ser Gly Ser Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser
 690 695 700
 Arg Val Glu Ala Gly Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Gly Thr
 705 710 715 720
 Asp Trp Ser Asp His Leu Gln Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr
 725 730 735

Val Leu Ala Ala Ala Gly Ser His His His His His His
 740 745

<210> 13

<211> 262

<212> PRT

<213> artificial

<220><223> Fv polypeptide

<400> 13

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

Tyr Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp

165 170 175

Met Gly Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys

180 185 190

Phe Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val

195 200 205

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

210 215 220

Cys Ala Arg Gly Ser Ala Tyr Tyr Tyr Asp Phe Ala Asp Tyr Trp Gly

225 230 235 240

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

245 250 255

Lys Asp Asp Asp Asp Lys

260

<210> 14

<211> 749

<212> PRT

<213> artificial

<220><223> Fv polypeptide

<400> 14

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Thr Ile His Trp Val Arg Gln Arg Pro Gly His Asp Leu Glu Trp Ile

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Arg Ala Asp Tyr Gly Asn Tyr Glu Tyr Thr Trp Phe Ala Tyr

100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Ser Gly Gly

115 120 125

Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Asp Ile Val

130 135 140

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

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

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

 275 280 285
 Val His Trp Tyr Gln Gln Arg Pro Gly Gln Ser Pro Val Leu Val Ile
 290 295 300
 Tyr Gln Asp Asn Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly
 305 310 315 320
 Ser Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Gly Thr Gln Ala
 325 330 335
 Met Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Asp Asn Tyr Ser Val

 340 345 350
 Leu Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gly Ser Gly Gly
 355 360 365
 Ser Gly Gly Ser Ser Tyr Val Leu Thr Gln Pro Ser Ser Val Ser Val
 370 375 380
 Ala Pro Gly Gln Thr Ala Thr Ile Ser Cys Gly Gly His Asn Ile Gly
 385 390 395 400

Ser Lys Asn Val His Trp Tyr Gln Gln Arg Pro Gly Gln Ser Pro Val

405 410 415

Leu Val Ile Tyr Gln Asp Asn Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg

420 425 430

Phe Ser Gly Ser Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Gly

435 440 445

Thr Gln Ala Met Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Asp Asn

450 455 460

Tyr Ser Val Leu Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gly

465 470 475 480

Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala

485 490 495

Glu Val Lys Lys Pro Gly Glu Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser

500 505 510

Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Asn Trp Ile Gly Trp Val Arg Gln Met Pro

515 520 525

Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met Gly Met Ile Trp Pro Gly Asp Ser Asp

530 535 540

Thr Met Tyr Ser Pro Ser Phe Gln Gly Gln Val Thr Ile Ser Ala Asp

545 550 555 560

Glu Ser Ile Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser

565 570 575

Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys Ala Arg Arg Glu Thr Thr Thr Val Gly

580 585 590

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

595 600 605

Val Ser Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly

610 615 620

Gly Ser Gly Gly Ser Ser Tyr Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser

625 630 635 640

Val Ala Pro Gly Gln Thr Ala Arg Ile Thr Cys Gly Gly Asn Asn Ile

645 650 655
Gly Ser Lys Thr Val His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro

660 665 670
Val Leu Val Val Tyr Asp Asp Ser Asp Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu

675 680 685
Arg Phe Ser Gly Ser Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser

690 695 700
Arg Val Glu Ala Gly Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Gly Thr

705 710 715 720
Asp Trp Ser Asp His Leu Gln Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr

725 730 735
Val Leu Ala Ala Ala Gly Ser His His His His His His

740 745

<210> 15

<211> 522

<212> PRT

<213> artificial

<220><223> Fv polypeptide

<400> 15

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly
115 120 125

Ser Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly
130 135 140

Glu Ser Leu Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser
145 150 155 160

Tyr Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp
165 170 175

Met Gly Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys
180 185 190

Phe Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val
195 200 205

Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
210 215 220

Cys Ala Arg Gly Ser Ala Tyr Tyr Tyr Asp Phe Ala Asp Tyr Trp Gly
225 230 235 240

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly
245 250 255

Gly Ser Ser Tyr Glu Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ser Pro
260 265 270

Gly Gln Thr Ala Arg Ile Thr Cys Ser Gly Asp Ala Leu Pro Lys Gln
275 280 285

Tyr Ala Tyr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu Val
290 295 300

Ile Tyr Lys Asp Ser Glu Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser
305 310 315 320

Gly Ser Ser Ser Gly Thr Thr Val Thr Leu Thr Ile Ser Gly Val Gln
325 330 335

Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Ala Asp Ser Ser Gly

	340						345						350					
Thr	Pro	Leu	Ile	Val	Phe	Gly	Thr	Gly	Thr	Lys	Leu	Thr	Val	Leu	Gly			
	355					360					365							
Gly	Ser	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly			
	370				375				380									
Ser	Gly	Gly	Ser	Glu	Val	Gln	Leu	Val	Gln	Ser	Gly	Ala	Glu	Val	Lys			
385			390			395			400									
Lys	Pro	Gly	Glu	Ser	Leu	Lys	Ile	Ser	Cys	Lys	Gly	Ser	Gly	Tyr	Ser			
	405					410					415							
Phe	Thr	Ser	Tyr	Trp	Ile	Gly	Trp	Val	Arg	Gln	Met	Pro	Gly	Lys	Gly			
	420					425					430							
Leu	Glu	Trp	Met	Gly	Ile	Ile	Tyr	Pro	Gly	Asp	Ser	Asp	Thr	Arg	Tyr			
	435				440				445									
Ser	Pro	Ser	Phe	Gln	Gly	Gln	Val	Thr	Ile	Ser	Ala	Asp	Lys	Ser	Ile			
	450			455			460											
Ser	Thr	Ala	Tyr	Leu	Gln	Trp	Ser	Ser	Leu	Lys	Ala	Ser	Asp	Thr	Ala			
465		470			475			480										
Met	Tyr	Tyr	Cys	Ala	Arg	Leu	Gly	Ser	Ser	Trp	Thr	Asn	Asp	Ala	Phe			
	485					490					495							
Asp	Ile	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Met	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ala	Ala			
	500				505				510									
Gly	Ser	Asp	Tyr	Lys	Asp	Asp	Asp	Asp	Lys									
	515			520														
<210>	16																	
<211>	1264																	
<212>	PRT																	
<213>	artificial																	
<220><223>	Fv polypeptide																	
<400>	16																	
Gln	Val	Gln	Leu	Gln	Gln	Ser	Gly	Ala	Glu	Leu	Ala	Arg	Pro	Gly	Ala			

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

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

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

 195 200 205
 Asn Val Gln Ser Glu Asp Leu Ala Glu Tyr Phe Cys Gln Gln Tyr His
 210 215 220
 Thr Tyr Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Asn Gly
 225 230 235 240
 Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly
 245 250 255
 Ser Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Ala

260 265 270
 Arg Pro Gly Ala Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr
 275 280 285
 Phe Thr Thr Tyr Thr Ile His Trp Val Arg Gln Arg Pro Gly His Asp
 290 295 300
 Leu Glu Trp Ile Gly Tyr Ile Asn Pro Ser Ser Gly Tyr Ser Asp Tyr
 305 310 315 320
 Asn Gln Asn Phe Lys Gly Lys Thr Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser

 325 330 335
 Asn Thr Ala Tyr Met Gln Leu Asn Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala
 340 345 350
 Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Arg Ala Asp Tyr Gly Asn Tyr Glu Tyr Thr
 355 360 365
 Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly
 370 375 380
 Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro

 385 390 395 400
 Lys Phe Met Ser Thr Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Val Thr Cys Lys
 405 410 415
 Ala Ser Gln Asn Val Gly Thr Asn Val Ala Trp Phe Gln Gln Lys Pro
 420 425 430
 Gly Gln Ser Pro Lys Val Leu Ile Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Ser
 435 440 445
 Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr

 450 455 460
 Leu Thr Ile Ser Asn Val Gln Ser Glu Asp Leu Ala Glu Tyr Phe Cys
 465 470 475 480
 Gln Gln Tyr His Thr Tyr Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu
 485 490 495
 Glu Ile Asn Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Ser Tyr Val Leu
 500 505 510

Thr Gln Pro Ser Ser Val Ser Val Ala Pro Gly Gln Thr Ala Thr Ile

515 520 525

Ser Cys Gly Gly His Asn Ile Gly Ser Lys Asn Val His Trp Tyr Gln

530 535 540

Gln Arg Pro Gly Gln Ser Pro Val Leu Val Ile Tyr Gln Asp Asn Lys

545 550 555 560

Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser Asn Ser Gly Asn

565 570 575

Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Gly Thr Gln Ala Met Asp Glu Ala Asp

580 585 590

Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Asp Asn Tyr Ser Val Leu Phe Gly Gly Gly

595 600 605

Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Ser

610 615 620

Tyr Val Leu Thr Gln Pro Ser Ser Val Ser Val Ala Pro Gly Gln Thr

625 630 635 640

Ala Thr Ile Ser Cys Gly Gly His Asn Ile Gly Ser Lys Asn Val His

645 650 655

Trp Tyr Gln Gln Arg Pro Gly Gln Ser Pro Val Leu Val Ile Tyr Gln

660 665 670

Asp Asn Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser Asn

675 680 685

Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Gly Thr Gln Ala Met Asp

690 695 700

Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Asp Asn Tyr Ser Val Leu Phe

705 710 715 720

Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly

725 730 735

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

740 745 750

Gly Glu Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Ser Phe Thr

755 760 765
Ser Asn Trp Ile Gly Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys Gly Leu Glu

770 775 780
Trp Met Gly Met Ile Trp Pro Gly Asp Ser Asp Thr Met Tyr Ser Pro
785 790 795 800
Ser Phe Gln Gly Gln Val Thr Ile Ser Ala Asp Glu Ser Ile Asn Thr
805 810 815
Ala Tyr Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr
820 825 830
Tyr Cys Ala Arg Arg Glu Thr Thr Thr Val Gly Arg Tyr Tyr Tyr Ala

835 840 845
Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly
850 855 860
Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Ser Tyr Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser
865 870 875 880
Val Ser Val Ala Pro Gly Gln Thr Ala Arg Ile Thr Cys Gly Gly Asn
885 890 895
Asn Ile Gly Ser Lys Thr Val His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln

900 905 910
Ala Pro Val Leu Val Val Tyr Asp Asp Ser Asp Arg Pro Ser Gly Ile
915 920 925
Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr
930 935 940
Ile Ser Arg Val Glu Ala Gly Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Val
945 950 955 960
Gly Thr Asp Trp Ser Asp His Leu Gln Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys

965 970 975
Leu Thr Val Leu Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser
980 985 990
Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Gln Ser
995 1000 1005

Gly Ala	Glu Val Lys Lys Pro	Gly Glu Ser Leu Lys	Ile Ser Cys
1010	1015	1020	
Lys Gly	Ser Gly Tyr Ser Phe	Thr Ser Asn Trp Ile	Gly Trp Val
1025	1030	1035	
Arg Gln	Met Pro Gly Lys Gly	Leu Glu Trp Met Gly	Met Ile Trp
1040	1045	1050	
Pro Gly	Asp Ser Asp Thr Met	Tyr Ser Pro Ser Phe	Gln Gly Gln
1055	1060	1065	
Val Thr	Ile Ser Ala Asp Glu	Ser Ile Asn Thr Ala	Tyr Leu Gln
1070	1075	1080	
Trp Ser	Ser Leu Lys Ala Ser	Asp Thr Ala Met Tyr	Tyr Cys Ala
1085	1090	1095	
Arg Arg	Glu Thr Thr Thr Val	Gly Arg Tyr Tyr Tyr	Ala Met Asp
1100	1105	1110	
Tyr Trp	Gly Gln Gly Thr Leu	Val Thr Val Ser Ser	Gly Gly Ser
1115	1120	1125	
Gly Gly	Ser Gly Gly Ser Ser	Tyr Val Leu Thr Gln	Pro Pro Ser
1130	1135	1140	
Val Ser	Val Ala Pro Gly Gln	Thr Ala Arg Ile Thr	Cys Gly Gly
1145	1150	1155	
Asn Asn	Ile Gly Ser Lys Thr	Val His Trp Tyr Gln	Gln Lys Pro
1160	1165	1170	
Gly Gln	Ala Pro Val Leu Val	Val Tyr Asp Asp Ser	Asp Arg Pro
1175	1180	1185	
Ser Gly	Ile Pro Glu Arg Phe	Ser Gly Ser Asn Ser	Gly Asn Thr
1190	1195	1200	
Ala Thr	Leu Thr Ile Ser Arg	Val Glu Ala Gly Asp	Glu Ala Asp
1205	1210	1215	
Tyr Tyr	Cys Gln Val Gly Thr	Asp Trp Ser Asp His	Leu Gln Val
1220	1225	1230	
Phe Gly	Gly Gly Thr Lys Leu	Thr Val Leu Ala Ala	Ala Gly Ser

1235 1240 1245
His His His His His His Ala Arg Thr Ile Phe Ile Cys Ile Ala
1250 1255 1260
Leu

<210> 17

<211> 262

<212> PRT

<213

> artificial

<220><223> Fv polypeptide

<400> 17

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

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

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

165 170 175
Met Gly Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys

180 185 190
Phe Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val

195 200 205
Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr

210 215 220
Cys Ala Arg Gly Ser Ala Tyr Tyr Tyr Asp Phe Ala Asp Tyr Trp Gly

225 230 235 240
Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ala Ala Gly Ser Asp Tyr

245 250 255
Lys Asp Asp Asp Asp Lys

260

<210> 18

<211> 749

<212> PRT

<213> artificial

<220><223> Fv polypeptide

<400> 18

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Thr Ile His Trp Val Arg Gln Arg Pro Gly His Asp Leu Glu Trp Ile

35 40 45
Gly Tyr Ile Asn Pro Ser Ser Gly Tyr Ser Asp Tyr Asn Gln Asn Phe

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Arg Ala Asp Tyr Gly Asn Tyr Glu Tyr Thr Trp Phe Ala Tyr

100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Ser Gly Gly

115 120 125

Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Asp Ile Val

130 135 140

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

145 150 155 160

Thr Val Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asn Val Gly Thr Asn Val Ala Trp

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

Ala Glu Tyr Phe Cys Gln Gln Tyr His Thr Tyr Pro Leu Thr Phe Gly

225 230 235 240

Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Asn Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly

245 250 255

Ser Ser Tyr Val Leu Thr Gln Pro Ser Ser Val Ser Val Ala Pro Gly

260 265 270

Gln Thr Ala Thr Ile Ser Cys Gly Gly His Asn Ile Gly Ser Lys Asn

275 280 285

Val His Trp Tyr Gln Gln Arg Pro Gly Gln Ser Pro Val Leu Val Ile

290 295 300

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

305 310 315 320

Ser Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Gly Thr Gln Ala

325 330 335

Met Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Asp Asn Tyr Ser Val

340 345 350
 Leu Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gly Ser Gly Gly

 355 360 365
 Ser Gly Gly Ser Ser Tyr Val Leu Thr Gln Pro Ser Ser Val Ser Val
 370 375 380
 Ala Pro Gly Gln Thr Ala Thr Ile Ser Cys Gly Gly His Asn Ile Gly
 385 390 395 400
 Ser Lys Asn Val His Trp Tyr Gln Gln Arg Pro Gly Gln Ser Pro Val
 405 410 415
 Leu Val Ile Tyr Gln Asp Asn Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg

 420 425 430
 Phe Ser Gly Ser Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Gly
 435 440 445
 Thr Gln Ala Met Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Asp Asn
 450 455 460
 Tyr Ser Val Leu Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gly
 465 470 475 480
 Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala

 485 490 495
 Glu Val Lys Lys Pro Gly Glu Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser
 500 505 510
 Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Asn Trp Ile Gly Trp Val Arg Gln Met Pro
 515 520 525
 Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met Gly Met Ile Trp Pro Gly Asp Ser Asp
 530 535 540
 Thr Met Tyr Ser Pro Ser Phe Gln Gly Gln Val Thr Ile Ser Ala Asp

 545 550 555 560
 Glu Ser Ile Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser
 565 570 575
 Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys Ala Arg Arg Glu Thr Thr Thr Val Gly
 580 585 590

Arg Tyr Tyr Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
595 600 605
Val Ser Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly
610 615 620
Gly Ser Gly Gly Ser Ser Tyr Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser
625 630 635 640
Val Ala Pro Gly Gln Thr Ala Arg Ile Thr Cys Gly Gly Asn Asn Ile
645 650 655
Gly Ser Lys Thr Val His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro
660 665 670
Val Leu Val Val Tyr Asp Asp Ser Asp Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu
675 680 685
Arg Phe Ser Gly Ser Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser
690 695 700
Arg Val Glu Ala Gly Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Gly Thr
705 710 715 720
Asp Trp Ser Asp His Leu Gln Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr
725 730 735
Val Leu Ala Ala Ala Gly Ser His His His His His His
740 745
<210> 19
<211> 778
<212> PRT
<213> artificial
<220><223> Fv polypeptide
<400> 19
Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Ala Arg Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Thr Tyr
20 25 30
Thr Ile His Trp Val Arg Gln Arg Pro Gly His Asp Leu Glu Trp Ile

35 40 45
 Gly Tyr Ile Asn Pro Ser Ser Gly Tyr Ser Asp Tyr Asn Gln Asn Phe
 50 55 60
 Lys Gly Lys Thr Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Asn Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Met Gln Leu Asn Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Arg Ala Asp Tyr Gly Asn Tyr Glu Tyr Thr Trp Phe Ala Tyr
 100 105 110

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

 Phe Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Val Leu Ile Tyr Ser Ala
 180 185 190
 Ser Tyr Arg Tyr Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser
 195 200 205
 Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Asn Val Gln Ser Glu Asp Leu
 210 215 220
 Ala Glu Tyr Phe Cys Gln Gln Tyr His Thr Tyr Pro Leu Thr Phe Gly
 225 230 235 240

 Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Asn Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly
 245 250 255
 Ser Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly
 260 265 270
 Glu Ser Leu Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser
 275 280 285

Tyr Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp
 290 295 300

 Met Gly Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys
 305 310 315 320
 Phe Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val
 325 330 335
 Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
 340 345 350
 Cys Ala Arg Gly Ser Ala Tyr Tyr Tyr Asp Phe Ala Asp Tyr Trp Gly
 355 360 365

 Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly
 370 375 380
 Gly Ser Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro
 385 390 395 400
 Gly Glu Ser Leu Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr
 405 410 415
 Ser Tyr Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu
 420 425 430

 Trp Met Gly Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln
 435 440 445
 Lys Phe Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr
 450 455 460
 Val Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr
 465 470 475 480
 Tyr Cys Ala Arg Gly Ser Ala Tyr Tyr Tyr Asp Phe Ala Asp Tyr Trp
 485 490 495

 Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser
 500 505 510
 Gly Gly Ser Ser Tyr Glu Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ser
 515 520 525
 Pro Gly Gln Thr Ala Arg Ile Thr Cys Ser Gly Asp Ala Leu Pro Lys

530 535 540
 Gln Tyr Ala Tyr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu
 545 550 555 560

 Val Ile Tyr Lys Asp Ser Glu Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe
 565 570 575
 Ser Gly Ser Ser Ser Gly Thr Thr Val Thr Leu Thr Ile Ser Gly Val
 580 585 590
 Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Ala Asp Ser Ser
 595 600 605
 Gly Thr Pro Leu Ile Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
 610 615 620

 Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly
 625 630 635 640
 Gly Ser Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val
 645 650 655
 Lys Lys Pro Gly Glu Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr
 660 665 670
 Ser Phe Thr Ser Tyr Trp Ile Gly Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys
 675 680 685

 Gly Leu Glu Trp Met Gly Ile Ile Tyr Pro Gly Asp Ser Asp Thr Arg
 690 695 700
 Tyr Ser Pro Ser Phe Gln Gly Gln Val Thr Ile Ser Ala Asp Lys Ser
 705 710 715 720
 Ile Ser Thr Ala Tyr Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr
 725 730 735
 Ala Met Tyr Tyr Cys Ala Arg Leu Gly Ser Ser Trp Thr Asn Asp Ala
 740 745 750

 Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser Ala Ala
 755 760 765
 Ala Gly Ser Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp
 770 775

<210> 20

<211> 749

<212> PRT

<213> artificial

<220><223> Fv polypeptide

<400> 20

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Thr Ile His Trp Val Arg Gln Arg Pro Gly His Asp Leu Glu Trp Ile

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Arg Ala Asp Tyr Gly Asn Tyr Glu Tyr Thr Trp Phe Ala Tyr

100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Ser Gly Gly

115 120 125

Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Asp Ile Val

130 135 140

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

145 150 155 160

Thr Val Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asn Val Gly Thr Asn Val Ala Trp

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

Ala Glu Tyr Phe Cys Gln Gln Tyr His Thr Tyr Pro Leu Thr Phe Gly

225 230 235 240

Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Asn Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly

245 250 255

Ser Ser Tyr Val Leu Thr Gln Pro Ser Ser Val Ser Val Ala Pro Gly

260 265 270

Gln Thr Ala Thr Ile Ser Cys Gly Gly His Asn Ile Gly Ser Lys Asn

275 280 285

Val His Trp Tyr Gln Gln Arg Pro Gly Gln Ser Pro Val Leu Val Ile

290 295 300

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

305 310 315 320

Ser Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Gly Thr Gln Ala

325 330 335

Met Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Asp Asn Tyr Ser Val

340 345 350

Leu Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gly Ser Gly Gly

355 360 365

Ser Gly Gly Ser Ser Tyr Val Leu Thr Gln Pro Ser Ser Val Ser Val

370 375 380

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

385 390 395 400

Ser Lys Asn Val His Trp Tyr Gln Gln Arg Pro Gly Gln Ser Pro Val

405 410 415

Leu Val Ile Tyr Gln Asp Asn Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg

420 425 430

Phe Ser Gly Ser Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Gly

435 440 445

Thr Gln Ala Met Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Asp Asn

450 455 460
 Tyr Ser Val Leu Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gly

 465 470 475 480
 Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala

 485 490 495
 Glu Val Lys Lys Pro Gly Glu Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser

 500 505 510
 Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Asn Trp Ile Gly Trp Val Arg Gln Met Pro

 515 520 525
 Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met Gly Met Ile Trp Pro Gly Asp Ser Asp

 530 535 540
 Thr Met Tyr Ser Pro Ser Phe Gln Gly Gln Val Thr Ile Ser Ala Asp

 545 550 555 560
 Glu Ser Ile Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser

 565 570 575
 Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys Ala Arg Arg Glu Thr Thr Thr Val Gly

 580 585 590
 Arg Tyr Tyr Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr

 595 600 605
 Val Ser Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly

 610 615 620
 Gly Ser Gly Gly Ser Ser Tyr Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser

 625 630 635 640
 Val Ala Pro Gly Gln Thr Ala Arg Ile Thr Cys Gly Gly Asn Asn Ile

 645 650 655
 Gly Ser Lys Thr Val His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro

 660 665 670
 Val Leu Val Val Tyr Asp Asp Ser Asp Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu

 675 680 685
 Arg Phe Ser Gly Ser Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser

 690 695 700

Arg Val Glu Ala Gly Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Gly Thr
705 710 715 720
Asp Trp Ser Asp His Leu Gln Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr

725 730 735
Val Leu Ala Ala Ala Gly Ser His His His His His His
740 745

<210> 21

<211> 519

<212> PRT

<213> artificial

<220><223> Fv polypeptide

<400> 21

Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Ala Arg Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Thr Tyr
20 25 30

Thr Ile His Trp Val Arg Gln Arg Pro Gly His Asp Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Tyr Ile Asn Pro Ser Ser Gly Tyr Ser Asp Tyr Asn Gln Asn Phe
50 55 60
Lys Gly Lys Thr Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Asn Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Gln Leu Asn Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

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

145	150								155								160			
Thr	Val	Thr	Cys	Lys	Ala	Ser	Gln	Asn	Val	Gly	Thr	Asn	Val	Ala	Trp					
				165				170				175								
Phe	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Gln	Ser	Pro	Lys	Val	Leu	Ile	Tyr	Ser	Ala					
				180				185				190								
Ser	Tyr	Arg	Tyr	Ser	Gly	Val	Pro	Asp	Arg	Phe	Thr	Gly	Ser	Gly	Ser					
				195				200				205								
Gly	Thr	Asp	Phe	Thr	Leu	Thr	Ile	Ser	Asn	Val	Gln	Ser	Glu	Asp	Leu					
				210				215				220								
Ala	Glu	Tyr	Phe	Cys	Gln	Gln	Tyr	His	Thr	Tyr	Pro	Leu	Thr	Phe	Gly					
225				230				235				240								
Gly	Gly	Thr	Lys	Leu	Glu	Ile	Asn	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly					
				245				250				255								
Ser	Gln	Val	Gln	Leu	Val	Gln	Ser	Gly	Ala	Glu	Val	Lys	Lys	Pro	Gly					
				260				265				270								
Glu	Ser	Leu	Lys	Val	Ser	Cys	Lys	Ala	Ser	Gly	Tyr	Thr	Phe	Thr	Ser					
				275				280				285								
Tyr	Tyr	Met	His	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Gln	Gly	Leu	Glu	Trp					
290				295				300												
Met	Gly	Ile	Ile	Asn	Pro	Ser	Gly	Gly	Ser	Thr	Ser	Tyr	Ala	Gln	Lys					
305				310				315				320								
Phe	Gln	Gly	Arg	Val	Thr	Met	Thr	Arg	Asp	Thr	Ser	Thr	Ser	Thr	Val					
				325				330				335								
Tyr	Met	Glu	Leu	Ser	Ser	Leu	Arg	Ser	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr					
				340				345				350								
Cys	Ala	Arg	Gly	Ser	Ala	Tyr	Tyr	Tyr	Asp	Phe	Ala	Asp	Tyr	Trp	Gly					
355				360				365												
Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Ser	Gly					
370				375				380												
Gly	Ser	Gln	Val	Gln	Leu	Val	Gln	Ser	Gly	Ala	Glu	Val	Lys	Lys	Pro					
385				390				395				400								

Gly Glu Ser Leu Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr
405 410 415

Ser Tyr Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu
420 425 430

Trp Met Gly Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln
435 440 445

Lys Phe Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr
450 455 460

Val Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr
465 470 475 480

Tyr Cys Ala Arg Gly Ser Ala Tyr Tyr Tyr Asp Phe Ala Asp Tyr Trp
485 490 495

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ala Ala Gly Ser Asp
500 505 510

Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys
515

<210> 22

<211> 497

<212> PRT

<213> artificial

<220><223> Fv polypeptide

<400> 22

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

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

Thr Ile His Trp Val Arg Gln Arg Pro Gly His Asp Leu Glu Trp Ile
35 40 45

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

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

65					70				75				80			
Met	Gln	Leu	Asn	Ser	Leu	Thr	Ser	Glu	Asp	Ser	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	
				85				90				95				
Ala	Arg	Arg	Ala	Asp	Tyr	Gly	Asn	Tyr	Glu	Tyr	Thr	Trp	Phe	Ala	Tyr	
				100				105				110				
Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Thr	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	
				115				120				125				
Ser	Gly	Gly	Ser	Ser	Tyr	Val	Leu	Thr	Gln	Pro	Ser	Ser	Val	Ser	Val	
130				135				140								
Ala	Pro	Gly	Gln	Thr	Ala	Thr	Ile	Ser	Cys	Gly	Gly	His	Asn	Ile	Gly	
145				150				155				160				
Ser	Lys	Asn	Val	His	Trp	Tyr	Gln	Gln	Arg	Pro	Gly	Gln	Ser	Pro	Val	
				165				170				175				
Leu	Val	Ile	Tyr	Gln	Asp	Asn	Lys	Arg	Pro	Ser	Gly	Ile	Pro	Glu	Arg	
				180				185				190				
Phe	Ser	Gly	Ser	Asn	Ser	Gly	Asn	Thr	Ala	Thr	Leu	Thr	Ile	Ser	Gly	
195				200				205								
Thr	Gln	Ala	Met	Asp	Glu	Ala	Asp	Tyr	Tyr	Cys	Gln	Val	Trp	Asp	Asn	
210				215				220								
Tyr	Ser	Val	Leu	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Leu	Thr	Val	Leu	Gly	Gly	
225				230				235				240				
Ser	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Ser	Ser	Tyr	Val	Leu	Thr	Gln	Pro	Ser	Ser	
				245				250				255				
Val	Ser	Val	Ala	Pro	Gly	Gln	Thr	Ala	Thr	Ile	Ser	Cys	Gly	Gly	His	
260				265				270								
Asn	Ile	Gly	Ser	Lys	Asn	Val	His	Trp	Tyr	Gln	Gln	Arg	Pro	Gly	Gln	
275				280				285								
Ser	Pro	Val	Leu	Val	Ile	Tyr	Gln	Asp	Asn	Lys	Arg	Pro	Ser	Gly	Ile	
290				295				300								
Pro	Glu	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Asn	Ser	Gly	Asn	Thr	Ala	Thr	Leu	Thr	
305				310				315				320				

Ile Ser Gly Thr Gln Ala Met Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Val
325 330 335

Trp Asp Asn Tyr Ser Val Leu Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val
340 345 350

Leu Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Gln
355 360 365

Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Glu Ser Leu Lys Ile Ser Cys
370 375 380

Lys Gly Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Asn Trp Ile Gly Trp Val Arg
385 390 395 400

Gln Met Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met Gly Met Ile Trp Pro Gly
405 410 415

Asp Ser Asp Thr Met Tyr Ser Pro Ser Phe Gln Gly Gln Val Thr Ile
420 425 430

Ser Ala Asp Glu Ser Ile Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Trp Ser Ser Leu
435 440 445

Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys Ala Arg Arg Glu Thr Thr
450 455 460

Thr Val Gly Arg Tyr Tyr Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
465 470 475 480

Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ala Ala Gly Ser His His His His His
485 490 495

His

<210> 23

<211> 493

<212> PRT

<213> artificial

<220><223> Fv polypeptide

<400> 23

Ser Tyr Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ala Pro Gly Gln
1 5 10 15

Thr Ala Arg Ile Thr Cys Gly Gly Asn Asn Ile Gly Ser Lys Thr Val

20 25 30

His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu Val Val Tyr

35 40 45

Asp Asp Ser Asp Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser

50 55 60

Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Arg Val Glu Ala Gly

65 70 75 80

Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Gly Thr Asp Trp Ser Asp His

85 90 95

Leu Gln Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gly Ser

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

Thr Ser Tyr Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu

145 150 155 160

Glu Trp Met Gly Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala

165 170 175

Gln Lys Phe Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser

180 185 190

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

195 200 205

Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Ser Ala Tyr Tyr Tyr Asp Phe Ala Asp Tyr

210 215 220

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Ser Gly Gly

225 230 235 240

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

245 250 255

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

260 265 270
Phe Thr Ser Tyr Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly

275 280 285
Leu Glu Trp Met Gly Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr

290 295 300

Ala Gln Lys Phe Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr

305 310 315 320

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

325 330 335

Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Ser Ala Tyr Tyr Tyr Asp Phe Ala Asp

340 345 350

Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Ser Gly

355 360 365

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

370 375 380

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

385 390 395 400

Asn Val Gly Thr Asn Val Ala Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser

405 410 415

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

420 425 430

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

435 440 445

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

450 455 460

His Thr Tyr Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Asn

465 470 475 480

Ala Ala Ala Gly Ser Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys

485 490

<210> 24

<211> 757

<212> PRT

<213> artificial

<220><223> Fv polypeptide

<400> 24

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Thr Ile His Trp Val Arg Gln Arg Pro Gly His Asp Leu Glu Trp Ile

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Arg Ala Asp Tyr Gly Asn Tyr Glu Tyr Thr Trp Phe Ala Tyr

100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Ser Gly Gly

115 120 125

Ser Gly Gly Ser Ser Tyr Val Leu Thr Gln Pro Ser Ser Val Ser Val

130 135 140

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

145 150 155 160

Ser Lys Asn Val His Trp Tyr Gln Gln Arg Pro Gly Gln Ser Pro Val

165 170 175

Leu Val Ile Tyr Gln Asp Asn Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg

180 185 190

Phe Ser Gly Ser Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Gly

195 200 205

Thr Gln Ala Met Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Asp Asn

210					215					220									
Tyr	Ser	Val	Leu	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Leu	Thr	Val	Leu	Gly	Gly				
225					230					235					240				
Ser	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Ser	Ser	Tyr	Val	Leu	Thr	Gln	Pro	Ser	Ser				
245					250					255									
Val	Ser	Val	Ala	Pro	Gly	Gln	Thr	Ala	Thr	Ile	Ser	Cys	Gly	Gly	His				
260					265					270									
Asn	Ile	Gly	Ser	Lys	Asn	Val	His	Trp	Tyr	Gln	Gln	Arg	Pro	Gly	Gln				
275					280					285									
Ser	Pro	Val	Leu	Val	Ile	Tyr	Gln	Asp	Asn	Lys	Arg	Pro	Ser	Gly	Ile				
290					295					300									
Pro	Glu	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Asn	Ser	Gly	Asn	Thr	Ala	Thr	Leu	Thr				
305					310					315					320				
Ile	Ser	Gly	Thr	Gln	Ala	Met	Asp	Glu	Ala	Asp	Tyr	Tyr	Cys	Gln	Val				
325					330					335									
Trp	Asp	Asn	Tyr	Ser	Val	Leu	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Leu	Thr	Val				
340					345					350									
Leu	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Ser	Glu	Val	Gln	Leu	Val	Gln				
355					360					365									
Ser	Gly	Ala	Glu	Val	Lys	Lys	Pro	Gly	Glu	Ser	Leu	Lys	Ile	Ser	Cys				
370					375					380									
Lys	Gly	Ser	Gly	Tyr	Ser	Phe	Thr	Ser	Asn	Trp	Ile	Gly	Trp	Val	Arg				
385					390					395					400				
Gln	Met	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Met	Gly	Met	Ile	Trp	Pro	Gly				
405					410					415									
Asp	Ser	Asp	Thr	Met	Tyr	Ser	Pro	Ser	Phe	Gln	Gly	Gln	Val	Thr	Ile				
420					425					430									
Ser	Ala	Asp	Glu	Ser	Ile	Asn	Thr	Ala	Tyr	Leu	Gln	Trp	Ser	Ser	Leu				
435					440					445									
Lys	Ala	Ser	Asp	Thr	Ala	Met	Tyr	Tyr	Cys	Ala	Arg	Arg	Glu	Thr	Thr				
450					455					460									

Thr Val Gly Arg Tyr Tyr Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
465 470 475 480

Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Ser
485 490 495

Tyr Glu Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ser Pro Gly Gln Thr
500 505 510

Ala Arg Ile Thr Cys Ser Gly Asp Ala Leu Pro Lys Gln Tyr Ala Tyr
515 520 525

Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu Val Ile Tyr Lys
530 535 540

Asp Ser Glu Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser Ser
545 550 555 560

Ser Gly Thr Thr Val Thr Leu Thr Ile Ser Gly Val Gln Ala Glu Asp
565 570 575

Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Ala Asp Ser Ser Gly Thr Pro Leu
580 585 590

Ile Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gly Ser Gly
595 600 605

Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly
610 615 620

Ser Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly
625 630 635 640

Glu Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Ser
645 650 655

Tyr Trp Ile Gly Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
660 665 670

Met Gly Ile Ile Tyr Pro Gly Asp Ser Asp Thr Arg Tyr Ser Pro Ser
675 680 685

Phe Gln Gly Gln Val Thr Ile Ser Ala Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala
690 695 700

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

705 710 715 720
Cys Ala Arg Leu Gly Ser Ser Trp Thr Asn Asp Ala Phe Asp Ile Trp
725 730 735

Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser Ala Ala Ala Gly Ser His
740 745 750

His His His His His

755

<210> 25

<211> 753

<212> PRT

<213> artificial

<220><223> Fv polypeptide

<400> 25

Ser Tyr Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ala Pro Gly Gln

1 5 10 15

Thr Ala Arg Ile Thr Cys Gly Gly Asn Asn Ile Gly Ser Lys Thr Val

20 25 30

His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu Val Val Tyr

35 40 45

Asp Asp Ser Asp Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser

50 55 60

Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Arg Val Glu Ala Gly

65 70 75 80

Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Gly Thr Asp Trp Ser Asp His

85 90 95

Leu Gln Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gly Ser

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

Thr Ser Tyr Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu

145	150								155								160														
Glu	Trp	Met	Gly	Ile	Ile	Asn	Pro	Ser	Gly	Gly	Ser	Thr	Ser	Tyr	Ala																
				165								170								175											
Gln	Lys	Phe	Gln	Gly	Arg	Val	Thr	Met	Thr	Arg	Asp	Thr	Ser	Thr	Ser																
				180								185								190											
Thr	Val	Tyr	Met	Glu	Leu	Ser	Ser	Leu	Arg	Ser	Glu	Asp	Thr	Ala	Val																
				195								200								205											
Tyr	Tyr	Cys	Ala	Arg	Gly	Ser	Ala	Tyr	Tyr	Tyr	Asp	Phe	Ala	Asp	Tyr																
				210								215								220											
Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly																
				225								230								235								240			
Ser	Gly	Gly	Ser	Gln	Val	Gln	Leu	Val	Gln	Ser	Gly	Ala	Glu	Val	Lys																
				245								250								255											
Lys	Pro	Gly	Glu	Ser	Leu	Lys	Val	Ser	Cys	Lys	Ala	Ser	Gly	Tyr	Thr																
				260								265								270											
Phe	Thr	Ser	Tyr	Tyr	Met	His	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Gln	Gly																
				275								280								285											
Leu	Glu	Trp	Met	Gly	Ile	Ile	Asn	Pro	Ser	Gly	Gly	Ser	Thr	Ser	Tyr																
				290								295								300											
Ala	Gln	Lys	Phe	Gln	Gly	Arg	Val	Thr	Met	Thr	Arg	Asp	Thr	Ser	Thr																
				305								310								315								320			
Ser	Thr	Val	Tyr	Met	Glu	Leu	Ser	Ser	Leu	Arg	Ser	Glu	Asp	Thr	Ala																
				325								330								335											
Val	Tyr	Tyr	Cys	Ala	Arg	Gly	Ser	Ala	Tyr	Tyr	Tyr	Asp	Phe	Ala	Asp																
				340								345								350											
Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Gly	Gly	Ser	Gly																
				355								360								365											
Gly	Ser	Gly	Gly	Ser	Asp	Ile	Val	Met	Thr	Gln	Ser	Pro	Lys	Phe	Met																
				370								375								380											
Ser	Thr	Ser	Val	Gly	Asp	Arg	Val	Thr	Val	Thr	Cys	Lys	Ala	Ser	Gln																
				385								390								395								400			

Asn Val Gly Thr Asn Val Ala Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser
405 410 415

Pro Lys Val Leu Ile Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Ser Gly Val Pro
420 425 430

Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile
435 440 445

Ser Asn Val Gln Ser Glu Asp Leu Ala Glu Tyr Phe Cys Gln Gln Tyr
450 455 460

His Thr Tyr Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Asn
465 470 475 480

Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Ser Tyr Glu Leu Thr Gln Pro
485 490 495

Pro Ser Val Ser Val Ser Pro Gly Gln Thr Ala Arg Ile Thr Cys Ser
500 505 510

Gly Asp Ala Leu Pro Lys Gln Tyr Ala Tyr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro
515 520 525

Gly Gln Ala Pro Val Leu Val Ile Tyr Lys Asp Ser Glu Arg Pro Ser
530 535 540

Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser Ser Ser Gly Thr Thr Val Thr
545 550 555 560

Leu Thr Ile Ser Gly Val Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys
565 570 575

Gln Ser Ala Asp Ser Ser Gly Thr Pro Leu Ile Val Phe Gly Thr Gly
580 585 590

Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly
595 600 605

Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val
610 615 620

Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Glu Ser Leu Lys Ile Ser
625 630 635 640

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

645 650 655
 Arg Gln Met Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met Gly Ile Ile Tyr Pro
 660 665 670

Gly Asp Ser Asp Thr Arg Tyr Ser Pro Ser Phe Gln Gly Gln Val Thr
 675 680 685

Ile Ser Ala Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr Leu Gln Trp Ser Ser
 690 695 700

Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys Ala Arg Leu Gly Ser
 705 710 715 720

Ser Trp Thr Asn Asp Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met Val
 725 730 735

Thr Val Ser Ser Ala Ala Ala Gly Ser Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp
 740 745 750

Lys

<210> 26

<211> 754

<212> PRT

<213> artificial

<220><223> Fv polypeptide

<400> 26

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

Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Tyr
 20 25 30

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

35 40 45
 Gly Ile Ile Tyr Pro Gly Asp Ser Asp Thr Arg Tyr Ser Pro Ser Phe

50 55 60
 Gln Gly Gln Val Thr Ile Ser Ala Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80
 Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys

85 90 95
Ala Arg Leu Gly Ser Ser Trp Thr Asn Asp Ala Phe Asp Ile Trp Gly

100 105 110
Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly

115 120 125
Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Ser Tyr Glu Leu Thr

130 135 140
Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ser Pro Gly Gln Thr Ala Arg Ile Thr

145 150 155 160
Cys Ser Gly Asp Ala Leu Pro Lys Gln Tyr Ala Tyr Trp Tyr Gln Gln

165 170 175
Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu Val Ile Tyr Lys Asp Ser Glu Arg

180 185 190
Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser Ser Ser Gly Thr Thr

195 200 205
Val Thr Leu Thr Ile Ser Gly Val Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr

210 215 220
Tyr Cys Gln Ser Ala Asp Ser Ser Gly Thr Pro Leu Ile Val Phe Gly

225 230 235 240
Thr Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly

245 250 255
Ser Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Ala Arg Pro Gly

260 265 270
Ala Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Thr

275 280 285
Tyr Thr Ile His Trp Val Arg Gln Arg Pro Gly His Asp Leu Glu Trp

290 295 300
Ile Gly Tyr Ile Asn Pro Ser Ser Gly Tyr Ser Asp Tyr Asn Gln Asn

305 310 315 320
Phe Lys Gly Lys Thr Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Asn Thr Ala

325 330 335

Tyr Met Gln Leu Asn Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr
 340 345 350
 Cys Ala Arg Arg Ala Asp Tyr Gly Asn Tyr Glu Tyr Thr Trp Phe Ala
 355 360 365
 Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Ser Gly
 370 375 380
 Gly Ser Gly Gly Ser Ser Tyr Val Leu Thr Gln Pro Ser Ser Val Ser
 385 390 395 400
 Val Ala Pro Gly Gln Thr Ala Thr Ile Ser Cys Gly Gly His Asn Ile
 405 410 415
 Gly Ser Lys Asn Val His Trp Tyr Gln Gln Arg Pro Gly Gln Ser Pro
 420 425 430
 Val Leu Val Ile Tyr Gln Asp Asn Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu
 435 440 445
 Arg Phe Ser Gly Ser Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser
 450 455 460
 Gly Thr Gln Ala Met Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Asp
 465 470 475 480
 Asn Tyr Ser Val Leu Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly
 485 490 495
 Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Ser Tyr Val Leu Thr Gln Pro Ser
 500 505 510
 Ser Val Ser Val Ala Pro Gly Gln Thr Ala Thr Ile Ser Cys Gly Gly
 515 520 525
 His Asn Ile Gly Ser Lys Asn Val His Trp Tyr Gln Gln Arg Pro Gly
 530 535 540
 Gln Ser Pro Val Leu Val Ile Tyr Gln Asp Asn Lys Arg Pro Ser Gly
 545 550 555 560
 Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu
 565 570 575
 Thr Ile Ser Gly Thr Gln Ala Met Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln

580 585 590
Val Trp Asp Asn Tyr Ser Val Leu Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr

595 600 605
Val Leu Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val

610 615 620
Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Glu Ser Leu Lys Ile Ser

625 630 635 640
Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Asn Trp Ile Gly Trp Val

645 650 655
Arg Gln Met Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met Gly Met Ile Trp Pro

660 665 670
Gly Asp Ser Asp Thr Met Tyr Ser Pro Ser Phe Gln Gly Gln Val Thr

675 680 685
Ile Ser Ala Asp Glu Ser Ile Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Trp Ser Ser

690 695 700
Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys Ala Arg Arg Glu Thr

705 710 715 720
Thr Thr Val Gly Arg Tyr Tyr Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly

725 730 735
Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ala Ala Gly Ser His His His His

740 745 750
His His

<210> 27

<211> 750

<212> PRT

<213> artificial

<220><223> Fv polypeptide

<400> 27

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

Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Tyr

20 25 30
 Trp Ile Gly Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met

 35 40 45
 Gly Ile Ile Tyr Pro Gly Asp Ser Asp Thr Arg Tyr Ser Pro Ser Phe
 50 55 60
 Gln Gly Gln Val Thr Ile Ser Ala Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Leu Gly Ser Ser Trp Thr Asn Asp Ala Phe Asp Ile Trp Gly

 100 105 110
 Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly
 115 120 125
 Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Ser Tyr Glu Leu Thr
 130 135 140
 Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ser Pro Gly Gln Thr Ala Arg Ile Thr
 145 150 155 160
 Cys Ser Gly Asp Ala Leu Pro Lys Gln Tyr Ala Tyr Trp Tyr Gln Gln

 165 170 175
 Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu Val Ile Tyr Lys Asp Ser Glu Arg
 180 185 190
 Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser Ser Ser Gly Thr Thr
 195 200 205
 Val Thr Leu Thr Ile Ser Gly Val Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr
 210 215 220
 Tyr Cys Gln Ser Ala Asp Ser Ser Gly Thr Pro Leu Ile Val Phe Gly

 225 230 235 240
 Thr Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly
 245 250 255
 Ser Ser Tyr Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ala Pro Gly
 260 265 270

Gln Thr Ala Arg Ile Thr Cys Gly Gly Asn Asn Ile Gly Ser Lys Thr
275 280 285

Val His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu Val Val
290 295 300

Tyr Asp Asp Ser Asp Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly
305 310 315 320

Ser Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Arg Val Glu Ala
325 330 335

Gly Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Gly Thr Asp Trp Ser Asp
340 345 350

His Leu Gln Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gly
355 360 365

Ser Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys
370 375 380

Lys Pro Gly Glu Ser Leu Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr
385 390 395 400

Phe Thr Ser Tyr Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly
405 410 415

Leu Glu Trp Met Gly Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr
420 425 430

Ala Gln Lys Phe Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr
435 440 445

Ser Thr Val Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala
450 455 460

Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Ser Ala Tyr Tyr Tyr Asp Phe Ala Asp
465 470 475 480

Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Ser Gly
485 490 495

Gly Ser Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val
500 505 510

Lys Lys Pro Gly Glu Ser Leu Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr

515 520 525
 Thr Phe Thr Ser Tyr Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln
 530 535 540
 Gly Leu Glu Trp Met Gly Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser

 545 550 555 560
 Tyr Ala Gln Lys Phe Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser
 565 570 575
 Thr Ser Thr Val Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr
 580 585 590
 Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Ser Ala Tyr Tyr Tyr Asp Phe Ala
 595 600 605
 Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Ser

 610 615 620
 Gly Gly Ser Gly Gly Ser Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Lys Phe
 625 630 635 640
 Met Ser Thr Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Val Thr Cys Lys Ala Ser
 645 650 655
 Gln Asn Val Gly Thr Asn Val Ala Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Gln
 660 665 670
 Ser Pro Lys Val Leu Ile Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Ser Gly Val

 675 680 685
 Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
 690 695 700
 Ile Ser Asn Val Gln Ser Glu Asp Leu Ala Glu Tyr Phe Cys Gln Gln
 705 710 715 720
 Tyr His Thr Tyr Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile
 725 730 735
 Asn Ala Ala Ala Gly Ser Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys

 740 745 750

<210> 28

<211> 1016

<212> PRT

<213> artificial

<220><223> Fv polypeptide

<400> 28

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Thr Ile His Trp Val Arg Gln Arg Pro Gly His Asp Leu Glu Trp Ile

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Arg Ala Asp Tyr Gly Asn Tyr Glu Tyr Thr Trp Phe Ala Tyr

100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Ser Gly Gly

115 120 125

Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Asp Ile Val

130 135 140

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

145 150 155 160

Thr Val Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asn Val Gly Thr Asn Val Ala Trp

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

Ala Glu Tyr Phe Cys Gln Gln Tyr His Thr Tyr Pro Leu Thr Phe Gly
225 230 235 240

Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Asn Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly
245 250 255

Ser Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly
260 265 270

Glu Ser Leu Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser
275 280 285

Tyr Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp
290 295 300

Met Gly Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys
305 310 315 320

Phe Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val
325 330 335

Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
340 345 350

Cys Ala Arg Gly Ser Ala Tyr Tyr Tyr Asp Phe Ala Asp Tyr Trp Gly
355 360 365

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly
370 375 380

Gly Ser Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro
385 390 395 400

Gly Glu Ser Leu Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr
405 410 415

Ser Tyr Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu
420 425 430

Trp Met Gly Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln
435 440 445

Lys Phe Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr
450 455 460

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

465 470 475 480
 Tyr Cys Ala Arg Gly Ser Ala Tyr Tyr Tyr Asp Phe Ala Asp Tyr Trp
 485 490 495

 Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser
 500 505 510
 Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Ser Tyr Val Leu
 515 520 525
 Thr Gln Pro Ser Ser Val Ser Val Ala Pro Gly Gln Thr Ala Thr Ile
 530 535 540
 Ser Cys Gly Gly His Asn Ile Gly Ser Lys Asn Val His Trp Tyr Gln
 545 550 555 560

 Gln Arg Pro Gly Gln Ser Pro Val Leu Val Ile Tyr Gln Asp Asn Lys
 565 570 575
 Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser Asn Ser Gly Asn
 580 585 590
 Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Gly Thr Gln Ala Met Asp Glu Ala Asp
 595 600 605
 Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Asp Asn Tyr Ser Val Leu Phe Gly Gly Gly
 610 615 620

 Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Ser
 625 630 635 640
 Tyr Val Leu Thr Gln Pro Ser Ser Val Ser Val Ala Pro Gly Gln Thr
 645 650 655
 Ala Thr Ile Ser Cys Gly Gly His Asn Ile Gly Ser Lys Asn Val His
 660 665 670
 Trp Tyr Gln Gln Arg Pro Gly Gln Ser Pro Val Leu Val Ile Tyr Gln
 675 680 685

 Asp Asn Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser Asn
 690 695 700
 Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Gly Thr Gln Ala Met Asp
 705 710 715 720

Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Asp Asn Tyr Ser Val Leu Phe
725 730 735

Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly
740 745 750

Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro
755 760 765

Gly Glu Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Ser Phe Thr
770 775 780

Ser Asn Trp Ile Gly Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys Gly Leu Glu
785 790 795 800

Trp Met Gly Met Ile Trp Pro Gly Asp Ser Asp Thr Met Tyr Ser Pro
805 810 815

Ser Phe Gln Gly Gln Val Thr Ile Ser Ala Asp Glu Ser Ile Asn Thr
820 825 830

Ala Tyr Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr
835 840 845

Tyr Cys Ala Arg Arg Glu Thr Thr Thr Val Gly Arg Tyr Tyr Tyr Ala
850 855 860

Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly
865 870 875 880

Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser
885 890 895

Ser Tyr Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ala Pro Gly Gln
900 905 910

Thr Ala Arg Ile Thr Cys Gly Gly Asn Asn Ile Gly Ser Lys Thr Val
915 920 925

His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu Val Val Tyr
930 935 940

Asp Asp Ser Asp Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser
945 950 955 960

Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Arg Val Glu Ala Gly

965 970 975
 Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Gly Thr Asp Trp Ser Asp His
 980 985 990
 Leu Gln Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Ala Ala Ala
 995 1000 1005

Gly Ser His His His His His His
 1010 1015

<210> 29

<211> 1521

<212> PRT

<213> artificial

<220><223> Fv polypeptide

<400> 29

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

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

Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Ser Gly Gly
 115 120 125
 Ser Gly Gly Ser Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Lys Phe Met Ser
 130 135 140
 Thr Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Val Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asn

145 150 155 160
 Val Gly Thr Asn Val Ala Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro
 165 170 175

 Lys Val Leu Ile Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Ser Gly Val Pro Asp
 180 185 190
 Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
 195 200 205
 Asn Val Gln Ser Glu Asp Leu Ala Glu Tyr Phe Cys Gln Gln Tyr His
 210 215 220
 Thr Tyr Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Asn Gly
 225 230 235 240

 Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly
 245 250 255
 Ser Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Ala
 260 265 270
 Arg Pro Gly Ala Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr
 275 280 285
 Phe Thr Thr Tyr Thr Ile His Trp Val Arg Gln Arg Pro Gly His Asp
 290 295 300

 Leu Glu Trp Ile Gly Tyr Ile Asn Pro Ser Ser Gly Tyr Ser Asp Tyr
 305 310 315 320
 Asn Gln Asn Phe Lys Gly Lys Thr Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser
 325 330 335
 Asn Thr Ala Tyr Met Gln Leu Asn Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala
 340 345 350
 Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Arg Ala Asp Tyr Gly Asn Tyr Glu Tyr Thr
 355 360 365

 Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly
 370 375 380
 Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro
 385 390 395 400

Lys Phe Met Ser Thr Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Val Thr Cys Lys
 405 410 415
 Ala Ser Gln Asn Val Gly Thr Asn Val Ala Trp Phe Gln Gln Lys Pro
 420 425 430

 Gly Gln Ser Pro Lys Val Leu Ile Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Ser
 435 440 445
 Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
 450 455 460
 Leu Thr Ile Ser Asn Val Gln Ser Glu Asp Leu Ala Glu Tyr Phe Cys
 465 470 475 480
 Gln Gln Tyr His Thr Tyr Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu
 485 490 495

 Glu Ile Asn Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu
 500 505 510
 Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Glu Ser Leu Lys Val
 515 520 525
 Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr Tyr Met His Trp
 530 535 540
 Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met Gly Ile Ile Asn
 545 550 555 560

 Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe Gln Gly Arg Val
 565 570 575
 Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr Met Glu Leu Ser
 580 585 590
 Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Ser
 595 600 605
 Ala Tyr Tyr Tyr Asp Phe Ala Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
 610 615 620

 Thr Val Ser Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gln Val Gln
 625 630 635 640
 Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Glu Ser Leu Lys

645	650	655	
Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr Tyr Met His			
660	665	670	
Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met Gly Ile Ile			
675	680	685	
Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe Gln Gly Arg			
690	695	700	
Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr Met Glu Leu			
705	710	715	720
Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly			
725	730	735	
Ser Ala Tyr Tyr Tyr Asp Phe Ala Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu			
740	745	750	
Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly			
755	760	765	
Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Ser Tyr Val Leu Thr Gln Pro Ser Ser			
770	775	780	
Val Ser Val Ala Pro Gly Gln Thr Ala Thr Ile Ser Cys Gly Gly His			
785	790	795	800
Asn Ile Gly Ser Lys Asn Val His Trp Tyr Gln Gln Arg Pro Gly Gln			
805	810	815	
Ser Pro Val Leu Val Ile Tyr Gln Asp Asn Lys Arg Pro Ser Gly Ile			
820	825	830	
Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr			
835	840	845	
Ile Ser Gly Thr Gln Ala Met Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Val			
850	855	860	
Trp Asp Asn Tyr Ser Val Leu Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val			
865	870	875	880
Leu Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Ser Tyr Val Leu Thr Gln			
885	890	895	

Pro Ser Ser Val Ser Val Ala Pro Gly Gln Thr Ala Thr Ile Ser Cys
900 905 910

Gly Gly His Asn Ile Gly Ser Lys Asn Val His Trp Tyr Gln Gln Arg
915 920 925

Pro Gly Gln Ser Pro Val Leu Val Ile Tyr Gln Asp Asn Lys Arg Pro
930 935 940

Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser Asn Ser Gly Asn Thr Ala
945 950 955 960

Thr Leu Thr Ile Ser Gly Thr Gln Ala Met Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr
965 970 975

Cys Gln Val Trp Asp Asn Tyr Ser Val Leu Phe Gly Gly Gly Thr Lys
980 985 990

Leu Thr Val Leu Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Glu Val Gln
995 1000 1005

Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Glu Ser Leu
1010 1015 1020

Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Asn Trp
1025 1030 1035

Ile Gly Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met
1040 1045 1050

Gly Met Ile Trp Pro Gly Asp Ser Asp Thr Met Tyr Ser Pro Ser
1055 1060 1065

Phe Gln Gly Gln Val Thr Ile Ser Ala Asp Glu Ser Ile Asn Thr
1070 1075 1080

Ala Tyr Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met
1085 1090 1095

Tyr Tyr Cys Ala Arg Arg Glu Thr Thr Thr Val Gly Arg Tyr Tyr
1100 1105 1110

Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser
1115 1120 1125

Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Ser Tyr Val Leu Thr

1130	1135	1140
Gln Pro Pro Ser Val Ser Val	Ala Pro Gly Gln Thr	Ala Arg Ile
1145	1150	1155
Thr Cys Gly Gly Asn Asn Ile	Gly Ser Lys Thr Val	His Trp Tyr
1160	1165	1170
Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala	Pro Val Leu Val Val	Tyr Asp Asp
1175	1180	1185
Ser Asp Arg Pro Ser Gly Ile	Pro Glu Arg Phe Ser	Gly Ser Asn
1190	1195	1200
Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu	Thr Ile Ser Arg Val	Glu Ala Gly
1205	1210	1215
Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys	Gln Val Gly Thr Asp	Trp Ser Asp
1220	1225	1230
His Leu Gln Val Phe Gly Gly	Gly Thr Lys Leu Thr	Val Leu Gly
1235	1240	1245
Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly	Ser Gly Gly Ser Gly	Gly Ser Gly
1250	1255	1260
Gly Ser Gly Gly Ser Glu Val	Gln Leu Val Gln Ser	Gly Ala Glu
1265	1270	1275
Val Lys Lys Pro Gly Glu Ser	Leu Lys Ile Ser Cys	Lys Gly Ser
1280	1285	1290
Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Asn	Trp Ile Gly Trp Val	Arg Gln Met
1295	1300	1305
Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp	Met Gly Met Ile Trp	Pro Gly Asp
1310	1315	1320
Ser Asp Thr Met Tyr Ser Pro	Ser Phe Gln Gly Gln	Val Thr Ile
1325	1330	1335
Ser Ala Asp Glu Ser Ile Asn	Thr Ala Tyr Leu Gln	Trp Ser Ser
1340	1345	1350
Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala	Met Tyr Tyr Cys Ala	Arg Arg Glu
1355	1360	1365

Thr Thr Thr Val Gly Arg Tyr Tyr Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly
 1370 1375 1380
 Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser
 1385 1390 1395
 Gly Gly Ser Ser Tyr Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val
 1400 1405 1410
 Ala Pro Gly Gln Thr Ala Arg Ile Thr Cys Gly Gly Asn Asn Ile
 1415 1420 1425

Gly Ser Lys Thr Val His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
 1430 1435 1440
 Pro Val Leu Val Val Tyr Asp Asp Ser Asp Arg Pro Ser Gly Ile
 1445 1450 1455
 Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu
 1460 1465 1470
 Thr Ile Ser Arg Val Glu Ala Gly Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys
 1475 1480 1485

Gln Val Gly Thr Asp Trp Ser Asp His Leu Gln Val Phe Gly Gly
 1490 1495 1500
 Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Ala Ala Ala Gly Ser His His His
 1505 1510 1515
 His His His
 1520

<210> 30

<211> 767

<212> PRT

<213> artificial

<220><223> Fv polypeptide

<400> 30

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

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

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

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

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

275	280	285
Ser Lys Asn Val His Trp Tyr Gln Gln Arg Pro Gly Gln Ser Pro Val		
290	295	300
Leu Val Ile Tyr Gln Asp Asn Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg		
305	310	315
Phe Ser Gly Ser Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Gly		
325	330	335
Thr Gln Ala Met Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Asp Asn		
340	345	350
Tyr Ser Val Leu Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gly		
355	360	365
Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala		
370	375	380
Glu Val Lys Lys Pro Gly Glu Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser		
385	390	395
Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Tyr Trp Ile Gly Trp Val Arg Gln Met Pro		
405	410	415
Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met Gly Ile Ile Tyr Pro Gly Asp Ser Asp		
420	425	430
Thr Arg Tyr Ser Pro Ser Phe Gln Gly Gln Val Thr Ile Ser Ala Asp		
435	440	445
Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser		
450	455	460
Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys Ala Arg Leu Gly Ser Ser Trp Thr Asn		
465	470	475
Asp Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser		
485	490	495
Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser		
500	505	510
Gly Ala Glu Leu Ala Arg Pro Gly Ala Ser Val Lys Met Ser Cys Lys		
515	520	525

Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Thr Tyr Thr Ile His Trp Val Arg Gln
530 535 540

Arg Pro Gly His Asp Leu Glu Trp Ile Gly Tyr Ile Asn Pro Ser Ser
545 550 555 560

Gly Tyr Ser Asp Tyr Asn Gln Asn Phe Lys Gly Lys Thr Thr Leu Thr
565 570 575

Ala Asp Lys Ser Ser Asn Thr Ala Tyr Met Gln Leu Asn Ser Leu Thr
580 585 590

Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Arg Ala Asp Tyr Gly
595 600 605

Asn Tyr Glu Tyr Thr Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val
610 615 620

Thr Val Ser Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser
625 630 635 640

Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Asp Ile Val Met Thr Gln Ser
645 650 655

Pro Lys Phe Met Ser Thr Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Val Thr Cys
660 665 670

Lys Ala Ser Gln Asn Val Gly Thr Asn Val Ala Trp Phe Gln Gln Lys
675 680 685

Pro Gly Gln Ser Pro Lys Val Leu Ile Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr
690 695 700

Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe
705 710 715 720

Thr Leu Thr Ile Ser Asn Val Gln Ser Glu Asp Leu Ala Glu Tyr Phe
725 730 735

Cys Gln Gln Tyr His Thr Tyr Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys
740 745 750

Leu Glu Ile Asn Ala Ala Ala Gly Ser His His His His His His
755 760 765

<210> 31

<211> 251

<212> PRT

<213> artificial

<220><223> Fv polypeptide

<400> 31

Ser Tyr Glu Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ser Pro Gly Gln

1 5 10 15
Thr Ala Arg Ile Thr Cys Ser Gly Asp Ala Leu Pro Lys Gln Tyr Ala

20 25 30
Tyr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu Val Ile Tyr

35 40 45
Lys Asp Ser Glu Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser

50 55 60
Ser Ser Gly Thr Thr Val Thr Leu Thr Ile Ser Gly Val Gln Ala Glu

65 70 75 80
Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Ala Asp Ser Ser Gly Thr Pro

85 90 95
Leu Ile Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gly Ser

100 105 110
Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu

115 120 125
Val Lys Lys Pro Gly Glu Ser Leu Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly

130 135 140
Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly

145 150 155 160
Gln Gly Leu Glu Trp Met Gly Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr

165 170 175
Ser Tyr Ala Gln Lys Phe Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr

180 185 190
Ser Thr Ser Thr Val Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp

195 200 205
Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Ser Ala Tyr Tyr Tyr Asp Phe

210 215 220
Ala Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ala
225 230 235 240
Ala Gly Ser Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys
245 250
<210> 32
<211> 769
<212> PRT
<213> artificial
<220><223> Fv polypeptide
<
400> 32
Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Ala Arg Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Thr Tyr
20 25 30
Thr Ile His Trp Val Arg Gln Arg Pro Gly His Asp Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Tyr Ile Asn Pro Ser Ser Gly Tyr Ser Asp Tyr Asn Gln Asn Phe
50 55 60
Lys Gly Lys Thr Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Asn Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Gln Leu Asn Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Arg Ala Asp Tyr Gly Asn Tyr Glu Tyr Thr Trp Phe Ala Tyr
100 105 110
Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Ser Gly Gly
115 120 125
Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser
130 135 140
Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Lys Phe Met Ser Thr Ser Val Gly
145 150 155 160
Asp Arg Val Thr Val Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asn Val Gly Thr Asn

165 170 175
 Val Ala Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Val Leu Ile
 180 185 190

 Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly
 195 200 205
 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Asn Val Gln Ser
 210 215 220
 Glu Asp Leu Ala Glu Tyr Phe Cys Gln Gln Tyr His Thr Tyr Pro Leu
 225 230 235 240
 Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Asn Gly Gly Ser Gly Gly
 245 250 255

 Ser Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys
 260 265 270
 Lys Pro Gly Glu Ser Leu Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr
 275 280 285
 Phe Thr Ser Tyr Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly
 290 295 300
 Leu Glu Trp Met Gly Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr
 305 310 315 320

 Ala Gln Lys Phe Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr
 325 330 335
 Ser Thr Val Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala
 340 345 350
 Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Ser Ala Tyr Tyr Tyr Asp Phe Ala Asp
 355 360 365
 Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Ser Gly
 370 375 380

 Gly Ser Gly Gly Ser Ser Tyr Glu Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser
 385 390 395 400
 Val Ser Pro Gly Gln Thr Ala Arg Ile Thr Cys Ser Gly Asp Ala Leu
 405 410 415

Pro Lys Gln Tyr Ala Tyr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro
420 425 430

Val Leu Val Ile Tyr Lys Asp Ser Glu Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu
435 440 445

Arg Phe Ser Gly Ser Ser Ser Gly Thr Thr Val Thr Leu Thr Ile Ser
450 455 460

Gly Val Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Ala Asp
465 470 475 480

Ser Ser Gly Thr Pro Leu Ile Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Leu Thr
485 490 495

Val Leu Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Gln
500 505 510

Gln Ser Gly Ala Glu Leu Ala Arg Pro Gly Ala Ser Val Lys Met Ser
515 520 525

Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Thr Tyr Thr Ile His Trp Val
530 535 540

Arg Gln Arg Pro Gly His Asp Leu Glu Trp Ile Gly Tyr Ile Asn Pro
545 550 555 560

Ser Ser Gly Tyr Ser Asp Tyr Asn Gln Asn Phe Lys Gly Lys Thr Thr
565 570 575

Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Asn Thr Ala Tyr Met Gln Leu Asn Ser
580 585 590

Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Arg Ala Asp
595 600 605

Tyr Gly Asn Tyr Glu Tyr Thr Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
610 615 620

Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly
625 630 635 640

Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Asp Ile Val Met Thr
645 650 655

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

660 665 670
 Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asn Val Gly Thr Asn Val Ala Trp Phe Gln
 675 680 685
 Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Val Leu Ile Tyr Ser Ala Ser Tyr
 690 695 700

Arg Tyr Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr
 705 710 715 720
 Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Asn Val Gln Ser Glu Asp Leu Ala Glu
 725 730 735
 Tyr Phe Cys Gln Gln Tyr His Thr Tyr Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly
 740 745 750
 Thr Lys Leu Glu Ile Asn Ala Ala Ala Gly Ser His His His His His
 755 760 765

His

<210> 33

<211> 249

<212> PRT

<213> artificial

<220><223> Fv polypeptide

<400> 33

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

50 55 60
 Gln Gly Gln Val Thr Ile Ser Ala Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys

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

<210> 34

<211> 781

<212> PRT

<213> artificial

<220><223> Fv polypeptide

<400> 34

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

35 40 45
 Gly Tyr Ile Asn Pro Ser Ser Gly Tyr Ser Asp Tyr Asn Gln Asn Phe

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

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

 180 185 190
 Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly
 195 200 205
 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Asn Val Gln Ser
 210 215 220
 Glu Asp Leu Ala Glu Tyr Phe Cys Gln Gln Tyr His Thr Tyr Pro Leu
 225 230 235 240
 Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Asn Gly Gly Ser Gly Gly

 245 250 255
 Ser Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys
 260 265 270
 Lys Pro Gly Glu Ser Leu Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr
 275 280 285

Phe Thr Ser Tyr Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly
 290 295 300
 Leu Glu Trp Met Gly Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr

 305 310 315 320
 Ala Gln Lys Phe Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr
 325 330 335
 Ser Thr Val Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala
 340 345 350
 Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Ser Ala Tyr Tyr Tyr Asp Phe Ala Asp
 355 360 365
 Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Ser Gly

 370 375 380
 Gly Ser Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val
 385 390 395 400
 Lys Lys Pro Gly Glu Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr
 405 410 415
 Ser Phe Thr Ser Tyr Trp Ile Gly Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys
 420 425 430
 Gly Leu Glu Trp Met Gly Ile Ile Tyr Pro Gly Asp Ser Asp Thr Arg

 435 440 445
 Tyr Ser Pro Ser Phe Gln Gly Gln Val Thr Ile Ser Ala Asp Lys Ser
 450 455 460
 Ile Ser Thr Ala Tyr Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr
 465 470 475 480
 Ala Met Tyr Tyr Cys Ala Arg Leu Gly Ser Ser Trp Thr Asn Asp Ala
 485 490 495
 Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser Gly Gly

 500 505 510
 Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala
 515 520 525
 Glu Leu Ala Arg Pro Gly Ala Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser

530 535 540
 Gly Tyr Thr Phe Thr Thr Tyr Thr Ile His Trp Val Arg Gln Arg Pro
 545 550 555 560
 Gly His Asp Leu Glu Trp Ile Gly Tyr Ile Asn Pro Ser Ser Gly Tyr

 565 570 575
 Ser Asp Tyr Asn Gln Asn Phe Lys Gly Lys Thr Thr Leu Thr Ala Asp
 580 585 590
 Lys Ser Ser Asn Thr Ala Tyr Met Gln Leu Asn Ser Leu Thr Ser Glu
 595 600 605
 Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Arg Ala Asp Tyr Gly Asn Tyr
 610 615 620
 Glu Tyr Thr Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val

 625 630 635 640
 Ser Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly
 645 650 655
 Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Lys
 660 665 670
 Phe Met Ser Thr Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Val Thr Cys Lys Ala
 675 680 685
 Ser Gln Asn Val Gly Thr Asn Val Ala Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly

 690 695 700
 Gln Ser Pro Lys Val Leu Ile Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Ser Gly
 705 710 715 720
 Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu
 725 730 735
 Thr Ile Ser Asn Val Gln Ser Glu Asp Leu Ala Glu Tyr Phe Cys Gln
 740 745 750
 Gln Tyr His Thr Tyr Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu

 755 760 765
 Ile Asn Ala Ala Ala Gly Ser His His His His His His
 770 775 780

<210> 35

<211> 237

<212> PRT

<213> artificial

<220><223> Fv polypeptide

<400> 35

Ser Tyr Glu Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ser Pro Gly Gln

1 5 10 15

Thr Ala Arg Ile Thr Cys Ser Gly Asp Ala Leu Pro Lys Gln Tyr Ala

20 25 30

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

35 40 45

Lys Asp Ser Glu Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser

50 55 60

Ser Ser Gly Thr Thr Val Thr Leu Thr Ile Ser Gly Val Gln Ala Glu

65 70 75 80

Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Ala Asp Ser Ser Gly Thr Pro

85 90 95

Leu Ile Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gly Ser

100 105 110

Gly Gly Ser Gly Gly Ser Ser Tyr Val Leu Thr Gln Pro Ser Ser Val

115 120 125

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

130 135 140

Ile Gly Ser Lys Asn Val His Trp Tyr Gln Gln Arg Pro Gly Gln Ser

145 150 155 160

Pro Val Leu Val Ile Tyr Gln Asp Asn Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro

165 170 175

Glu Arg Phe Ser Gly Ser Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile

180 185 190

Ser Gly Thr Gln Ala Met Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Trp

195 200 205

Asp Asn Tyr Ser Val Leu Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
 210 215 220

 Ala Ala Ala Gly Ser Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys
 225 230 235
 <210> 36
 <211> 755
 <212> PRT
 <213> artificial
 <220><223> Fv polypeptide
 <400> 36
 Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Ala Arg Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Thr Tyr
 20 25 30
 Thr Ile His Trp Val Arg Gln Arg Pro Gly His Asp Leu Glu Trp Ile

 35 40 45
 Gly Tyr Ile Asn Pro Ser Ser Gly Tyr Ser Asp Tyr Asn Gln Asn Phe
 50 55 60
 Lys Gly Lys Thr Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Asn Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Met Gln Leu Asn Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Arg Ala Asp Tyr Gly Asn Tyr Glu Tyr Thr Trp Phe Ala Tyr

 100 105 110
 Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Ser Gly Gly
 115 120 125
 Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser
 130 135 140
 Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Lys Phe Met Ser Thr Ser Val Gly
 145 150 155 160
 Asp Arg Val Thr Val Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asn Val Gly Thr Asn

165 170 175
 Val Ala Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Val Leu Ile
 180 185 190
 Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly
 195 200 205
 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Asn Val Gln Ser
 210 215 220
 Glu Asp Leu Ala Glu Tyr Phe Cys Gln Gln Tyr His Thr Tyr Pro Leu

 225 230 235 240
 Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Asn Gly Gly Ser Gly Gly
 245 250 255
 Ser Gly Gly Ser Ser Tyr Val Leu Thr Gln Pro Ser Ser Val Ser Val
 260 265 270
 Ala Pro Gly Gln Thr Ala Thr Ile Ser Cys Gly Gly His Asn Ile Gly
 275 280 285
 Ser Lys Asn Val His Trp Tyr Gln Gln Arg Pro Gly Gln Ser Pro Val

 290 295 300
 Leu Val Ile Tyr Gln Asp Asn Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg
 305 310 315 320
 Phe Ser Gly Ser Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Gly
 325 330 335
 Thr Gln Ala Met Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Asp Asn
 340 345 350
 Tyr Ser Val Leu Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gly

 355 360 365
 Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Ser Tyr Glu Leu Thr Gln Pro Pro Ser
 370 375 380
 Val Ser Val Ser Pro Gly Gln Thr Ala Arg Ile Thr Cys Ser Gly Asp
 385 390 395 400
 Ala Leu Pro Lys Gln Tyr Ala Tyr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
 405 410 415

Ala Pro Val Leu Val Ile Tyr Lys Asp Ser Glu Arg Pro Ser Gly Ile

420 425 430
Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser Ser Ser Gly Thr Thr Val Thr Leu Thr
435 440 445
Ile Ser Gly Val Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser
450 455 460
Ala Asp Ser Ser Gly Thr Pro Leu Ile Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys
465 470 475 480
Leu Thr Val Leu Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gln Val Gln

485 490 495
Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Ala Arg Pro Gly Ala Ser Val Lys
500 505 510
Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Thr Tyr Thr Ile His
515 520 525
Trp Val Arg Gln Arg Pro Gly His Asp Leu Glu Trp Ile Gly Tyr Ile
530 535 540
Asn Pro Ser Ser Gly Tyr Ser Asp Tyr Asn Gln Asn Phe Lys Gly Lys

545 550 555 560
Thr Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Asn Thr Ala Tyr Met Gln Leu
565 570 575
Asn Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Arg
580 585 590
Ala Asp Tyr Gly Asn Tyr Glu Tyr Thr Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln
595 600 605
Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly

610 615 620
Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Asp Ile Val
625 630 635 640
Met Thr Gln Ser Pro Lys Phe Met Ser Thr Ser Val Gly Asp Arg Val
645 650 655
Thr Val Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asn Val Gly Thr Asn Val Ala Trp

660 665 670
Phe Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Val Leu Ile Tyr Ser Ala

675 680 685
Ser Tyr Arg Tyr Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser

690 695 700
Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Asn Val Gln Ser Glu Asp Leu

705 710 715 720
Ala Glu Tyr Phe Cys Gln Gln Tyr His Thr Tyr Pro Leu Thr Phe Gly

725 730 735
Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Asn Ala Ala Ala Gly Ser His His His

740 745 750
His His His

755

<210> 37

<211> 263

<212> PRT

<213> artificial

<220><223> Fv polypeptide

<400> 37

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

Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Tyr
20 25 30

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

35 40 45
Gly Ile Ile Tyr Pro Gly Asp Ser Asp Thr Arg Tyr Ser Pro Ser Phe

50 55 60
Gln Gly Gln Val Thr Ile Ser Ala Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80
Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Leu Gly Ser Ser Trp Thr Asn Asp Ala Phe Asp Ile Trp Gly

100 105 110

Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

Ser Tyr Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu

165 170 175

Trp Met Gly Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln

180 185 190

Lys Phe Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr

195 200 205

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

210 215 220

Tyr Cys Ala Arg Gly Ser Ala Tyr Tyr Tyr Asp Phe Ala Asp Tyr Trp

225 230 235 240

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

245 250 255

Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys

260

<210> 38

<211> 8

<212> PRT

<213> artificial

<220><223> FLAG tag

<400> 38

Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys

1 5

<210> 39

<211> 8

<212> PRT

<213> artificial

<220><223> STREP II Tag

<400> 39

Trp Ser His Pro Gln Phe Glu Lys

1 5

<210> 40

<211> 4

<212> PRT

<213> artificial

<220><223> C Tag

<400> 40

Glu Pro Glu Ala

1