

**(19) 대한민국특허청(KR)**  
**(12) 공개특허공보(A)**

(51) . Int. Cl.<sup>8</sup>*C07K 16/30* (2006.01)

(11) 공개번호 10-2006-0015602

*C07K 16/28* (2006.01)

(43) 공개일자 2006년02월17일

*A61K 39/395* (2006.01)

(21) 출원번호 10-2005-7021529

(22) 출원일자 2005년11월11일

번역문 제출일자 2005년11월11일

(86) 국제출원번호 PCT/EP2004/005687

(87) 국제공개번호 WO 2004/106383

국제출원일자 2004년05월26일

국제공개일자 2004년12월09일

(30) 우선권주장 03012133.9 2003년05월31일 유럽특허청(EPO)(EP)  
03012134.7 2003년05월31일 유럽특허청(EPO)(EP)(71) 출원인 마이크로메트 에이지  
독일 뮌헨, 스타펠지스트리트 2,81477(72) 발명자 쿠퍼, 페터  
독일, 무스부르크, 암 카펠레나커 13  
베리, 미라  
독일, 울름, 쉬타인가세 10  
오프너, 손자  
독일, 뮌헨, 잠보니니스트라세 23  
브리쉬바인, 클라우스  
독일, 뮤니크, 리히텐펠세르스트라세 18  
볼프, 안드레아스  
독일, 플라네크, 아인쉬타인스트라세 10  
라움, 토비아스  
독일, 뮤니크, 젠트네르스트라세 20  
코라이센, 비르기트  
독일, 뮌헨, 쉬타펠지스트라세 2  
렌케리-쉬쯔, 올라  
독일, 에칭, 넬肯스트라세 23  
보이에를, 파트리크  
독일, 가우팅, 발트프로메나데 15세

(74) 대리인 한양특허법인

심사청구 : 없음

(54) E p C A M 에 대한 이중 특이성 항체를 포함하는약학조성물

요약

본 발명은 이중특이성 단일 쇄 항체 구조체를 포함하는 약리학적 조성물을 제공한다. 상기 이중특이성 단일 쇄 항체 구조체는 두 개 이상의 도메인을 포함하는 것을 특징으로 하는데, 이에 의해 두 개 이상의 도메인 중 하나는 인간의 EpCAM에 특이적으로 결합하고, 아미노산 서열 NXD 항원을 포함하는 하나 이상의 CDR-H3을 포함하며, 두번째 도메인은 인간의 CD3 항원에 결합한다. 본 발명은 또한 본 발명의 약리학적 조성물의 생산을 위한 공정, 종양 질병의 예방, 치료 또는 개선 방법, 및 기술된 이중특이성 구조체 및 종양 질병의 예방, 치료 또는 개선에 상응하는 방법을 제공한다.

## 대표도

도 1A

## 색인어

이중 특이성 구조체, 단일 쇄 항체 구조체

## 명세서

### 기술분야

본 발명은 이중특이성 단일 쇄 항체 구조체를 포함하는 약학조성물에 관한 것이다. 상기 이중특이성 단일 쇄 항체 구조체는 두개 이상의 도메인을 포함하거나 또는 이루어지며, 여기서 그 두개 이상의 도메인의 하나는 인간의 EpCAM 항원에 특이적으로 결합하며 또한 아미노산 서열 NXD를 포함하는 적어도 하나의 CDR-H3 부위를 포함하며 또한 제2 도메인은 인간의 CD3 항원에 결합하는 것을 특징으로 한다. 본 발명은 또한 발명의 약학조성물의 제조방법, 종양 질환의 예방, 치료 또는 개선 방법, 및 종양 질환의 예방, 치료 또는 개선에서 상기 기술된 이중특이성 단일 쇄 항체 구조체 및 상응하는 수단의 용도에 관한 것이다.

### 배경기술

다양한 문헌들이 본 명세서 전반에 걸쳐 인용된다. 상기 문헌의 기술내용은 여기에 참고로 인용된다.

상피세포 부착분자 (EpCAM, 또한 17-1A 항원, KSA, EPG40, GA733-2, ks1-4 또는 esa로 호칭됨)는 특정한 상피 및 많은 사람 암종에서 특이성 발현을 하는 314개 아미노산의 40-kDa 막(membrane)-통합 당단백질이다 (참고: Balzar, J. Mol. Med. 1999, 77, 699-712). EpCAM은 생쥐의 모노클로날 항체 17-1A/에드레콜로맵에 의한 인식을 통해 발견되었고 클로닝 되었다 (Goettlinger, Int J Cancer. 1986; 38, 47-53 및 Simon, Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1990; 87, 2755-2759). 모노클로날 항체 17-1A는 사람 결장 암세포를 갖는 마우스의 면역화에 의해 생산된다 (Koprowski, Somatic Cell Genet. 1979, 5, 957-971).

EpCAM의 EGF-유사 반복은 동종친화성 세포 부착에서 측면 및 상반 상호 반응을 매개하는 것으로 나타났으며 (Balzar, Mol. Cell. Biol. 2001, 21, 2570-2580), 또한 이 때문에 상피 세포들 사이에 주로 위치한다 (Litvinov, J Cell Biol. 1997, 139, 1337-1348, Balzar, J Mol Med. 1999, 77, 699-712 및 Trebak, J Biol Chem. 2001, 276, 2299-2309). EpCAM은 일정한 배향을 갖고 매우 정돈된 방식으로 상피세포들을 부착시키는 작용을 한다 (Litvinov, J Cell Biol. 1997, 139, 1337-1348). 그렇지만 상피에 인간의 EpCAM을 발현하는 유전자 도입 마우스 및 래트의 실험 데이터는 정상조직의 EpCAM이 전신적으로 투여된 항체에 접근할 수 없다는 것을 시사한다 (McLaughlin, Cancer Immunol. Immunother., 1999, 48, 303-311). 상피세포의 악성 세포 전환시, 빠르게 성장하는 종양세포는 상피의 높은 세포 질서를 이탈한다. 따라서 EpCAM의 표면 분포는 덜 제한되고 또한 분자는 종양 세포에 더 잘 노출된다. 이들의 상피세포 기원 때문에, 대부분의 암종으로부터의 종양세포는 이들의 표면상에 EpCAM을 발현한다.

생체내에서, EpCAM의 발현은 증가된 상피 증식과 관련되어 있으며 또한 세포 분화와 역으로 상호관련되어 있다 (참고: Balzar, 1999, J. Mol. Med. 77, 699-712). 항-EpCAM 모노클로날 항체를 사용하여 면역조직화학에 의해 탐지한 바와 같은 EpCAM의 발현은 모든 주요 암종에서 본질적으로 나타낸다 (참고: Balzar, J Mod Med. 1999, 77, 699-712). 가장 좋은 EpCAM 발현은 비-소형 세포 폐암(De Bree, Nucl Med Commun. 1994, 15, 613-27) 및 전립선암 (Zhang, Clin Cancer Res. 1998, 4, 295-302)에서 관찰되었으며, 여기서 종양 환자 샘플의 100%는 양성(positive) EpCAM 염색을 나타냈다. 이들 연구에서 EpCAM은 또한 항원이 소정의 종양의 세포의 상당 부분에 발현되는 것을 나타내는 균일하게 염색된 종양 조직에서 보고된다. 널리 퍼진 발현 때문에, EpCAM은 "범 암종"(pancarcinoma) 항원으로 불린다.

EpCAM은 다양한 암종의 진단 및 치료에 유익한 것으로 여러 가지 연구에서 나타났다. 더욱이, 많은 경우에, 종양 세포는 이들의 기원(parental) 상피 또는 상기 암의 덜 공격성 형태보다 훨씬 더 높은 정도로 EpCAM을 발현하는 것으로 관찰되었다. 예를 들면, EpCAM 발현은 정상 전립선 상피 ( $n=76$ ;  $p < 0.0001$ )에서 보다 종양성 조직 및 샘암종 (adenocarcinoma)에서 상당히 더 높은 것으로 나타났는데, 이는 증가된 EpCAM 발현이 전립선암의 발달에서 초기 단계를 나타내는 것을 암시한다 (Poczatek, J Urol., 1999, 162, 1462-1644). 그 외에, 자궁경부의 편평상피 및 샘암종의 대부분에서, 강한 EpCAM 발현은 증가된 증식과 상호 관련되며 또한 말단 분화의 마커의 소멸과도 상호관련된다 (Litvinov, Am. J. Pathol. 1996, 148, 865-75). 하나의 예는 종양세포에의 EpCAM의 과잉 발현이 생존의 예측자인 유방암이다 (Gastl, Lancet. 2000, 356, 1981-1982). 더욱이, EpCAM은 머리, 목, 및 폐의 편평상피(扁平上皮)세포 암종을 겪고 있는 환자의 퍼져 있는 종양 세포의 검색을 위한 마커(marker)로 기술되어 왔다 (Chaubal, Anticancer Res 1999, 19, 2237-2242, Piyathilake, Hum Pathol. 2000, 31, 482-487). 외피, 구강, 후두개, 인두, 후두 및 식도에서 발견되는 정상 편평상피는 EpCAM을 현저하게 발현하지 않았다.

상술한 암종 이외에, EpCAM은 대부분의 일차, 전이성 및 범발성 NSCLC (비-소형 세포 폐 세포)에 대해 (Passlick, Int J Cancer, 2000, 87, 548-552), 위 및 위-식도 접합부 샘암종에 대해 (Martin, J Clin Pathol 1999, 52, 701-4) 또한 결장, 췌장 암종 및 유방암종으로부터 유도된 세포주에서 (Szala, Proc Natl Acad Sci USA 1990, 87, 3542-6, Packeisen, Hydridoma, 1999, 18, 37-40) 발현하는 것으로 나타났다.

임상시험은 결장암을 외과적으로 완전히 절단한 환자의 치료를 위한 17-1A (EpCAM)에 대한 항체의 사용이 전체 생존 및 원격 전이의 빈도에 관하여 현저한 이점을 유도하는 것으로 나타났다 (Riethmuller, Lancet, 1994, 343, 1177-1183). EpCAM에 대한 생쥐의 모노클로날 항체는 환자의 5년 사망률 (Riethmuller, Lancet, 1994, 343, 1177-1183) 및 7년 사망률 (Riethmuller, Proceedings of the American Society of Clinical Oncology, 1996, 15, 444)을 감소시키고 잔여 질환도 최소로 갖는 것으로 나타났다. EpCAM을 인식하는 생쥐의 모노클로날 항체의 예는 에드레콜로맙 (파노렉스)이다 (Koprowski, Somatic Cell Genet. 1979, 5, 957-971 및 Herlyn, Cancer Res., 1980, 40, 717-721). 그러나 결장암의 보조 면역치료법 도중에 파노렉스 (Panorex)의 일차 투여는 베게너육아종증의 발달 및 악화를 가져왔는데, 이것은 mAb 17-1A가 자가 면역 질환의 환자에게 조심스럽게 적용해야 한다는 것을 암시한다 (Franz, Onkologie, 2000, 23, 472-474). 파노렉스의 제약 (limitation)은 인간의 항-마우스 항체 (HAMA)의 급격한 형성, 사람 면역 효과 메카니즘의 생쥐의 IgG2a Fc-부분에 의해 상호작용하는 제한된 능력, 및 순환에서의 짧은 반감기이다 (Frodin, Cancer Res., 1990, 50, 4866-4871). 더욱이, 생쥐의 항체는 환자에게 반복 주사 시 즉각적인 유형의 알러지 반응 및 과민증의 원인이 되었다 (Riethmuller, Lancet. 1994, 343, 1177-1183, Riethmuller, J Clin Oncol., 1998, 16, 1788-1794 및 Mellstedt, Annals New York Academy of Sciences. 2000, 910, 254-261).

3622W94로 불리우는 인간에 적용되는 항-EpCAM 항체는 췌장염을 생기게 하였으며 아밀라제의 혈청농도를 증가시켰는데, 이는 췌장 상피의 손상을 나타내는 것이고, 이들은 높은 친화성의 항-EpCAM 모노클로날 항체의 용량을 제한하는 독성이다 (LoBuglio, Proceedings of the American Society of Clinical Oncology (Abstract). 1997, 1562 및 Khor, Proceedings of the American Society of Clinical Oncology (Abstract), 1997, 847).

EpCAM을 인지하는 부위 및 CD3을 인지하는 부위를 포함하는 이중특이성 항체가 또한 기술되어 있다. Moller & Reisfeld 1991 Cancer Immunol. Immunother. 33:210-216의 저자는 두 개의 하이브리도마 OKT3 및 9.3의 어느 것과 EpCAM에 대한 모노클로날 항체를 생성하는 하이브리도마를 융합시켜 두 개의 상이한 이중특이성 항체의 구성을 기술하고 있다. 더욱이, Kroesen, Cancer Research, 1995, 55:4409-4415는 CD3 (BIS-1) 및 EpCAM에 대한 쿼드로마 이중특이성 모노클로날 항체를 기술하고 있다.

EpCAM에 대한 이중특이성 항체의 다른 예는 이중특이성 항체, BiUII, Fc-부위를 통한 Fc-수용체 양성 보조 세포 (단핵세포/큰포식세포, NK세포 및 수지상 세포)에 결합하고 활성화시키는 (항-CD3 (래트 IgG2b)x 항-EpCAM (마우스 IgG2a)) 완전 면역 글로불린 분자 (Zeidler, J. Immunol., 1999, 163:1247-1252), 및 배열  $V_{L17-1A}-V_{H17-1A}-V_{H\text{항-}CD3}-V_{L\text{항-}CD3}$ 를 갖는 항-EpCAMx항-CD3 이중특이성 항체를 포함한다 (Mack, Proc. Natl. Acad. Sci., 1995, 92:7021-7025).

그 외에, EpCAM을 포함하는 항체 구조의 다른 형태는 예를 들어 구조  $V_{H\text{항-}CD-3}-V_{L\text{항-}EpCAM}-V_{H\text{-}\text{항-}EpCAM}-V_{L\text{항-}CD_3}$ 을 갖는 이중특이성 다이어바디 (diabody) (Helfrich, Int. J. Cancer, 1998, 76:232-239) 및 두 개의 상이한 종양 항원 특이성 (종양세포 상에 두 개의 상이한 항원을 결합하는 두 개의 항원 결합 부위)을 갖는 삼중특이성 항체가 기술되어 왔으며 이들은 효과세포에 국소화된 항원에 대해 추가의 특이성을 가질 수 있다 (DE 195 31 348).

항체 또는 그것의 단편을 동정하기 위한 파지 디스플레이 기술을 사용하는 선행기술에는 다양한 설명이 있으며, 그 항체 또는 그것의 단편은 인간의 EpCAM 항원에 특이적으로 결합한다 (De Kruif JMP, 1995, 248:97-105, WO 99/25818). 그러나 이중 특이성 형태로 치료 적용에 충분한 세포독성 활성을 보여주는, EpCAM에 대한 항체를 동정하는데 극히 어려움이 있었다.

### 발명의 상세한 설명

따라서 본 발명의 목적은 T세포의 표적 특이성 활성화에 의해 매개된 강한 세포독성 활성을 갖는 EpCAM에 특이성인 결합도메인을 갖는 이중특이성 단일 쇄 분자를 제공한다.

따라서 본 발명의 기술적 과제는 종양 질환의 치료 및/또는 개선을 위한 잘 허용되는 편리한 약제의 생산 수단 및 방법을 제공하는 것이다.

상기 기술적 과제에 대한 해결책은 특히 청구범위에서 특정된 실시태양을 제공함으로써 달성된다.

따라서 본 발명은 이중특이성 단일 쇄 항체 구조체를 함유하는 조성물, 바람직하게는 약학 조성물에 관한 것이며, 여기서 상기 구조체는 두개 이상의 결합 도메인을 포함하거나 또는 그 도메인으로 구성되며, 그 도메인 중의 하나는 인간의 EpCAM 항원에 결합하며 또한 두번째 도메인은 인간의 CD3 항원에 결합하며, 여기서 EpCAM에 특이성인 상기 결합 도메인은 아미노산 서열 NXD을 바람직하게는 서열 번호: 80, 88 및 96의 위치 102 내지 104, 또는 바람직하게는 서열 번호: 84 및 92의 위치 106-108에서 함유하는 적어도 하나의 CDR-H3 부위를 포함하는데, 여기서 X는 방향족 아미노산이다.

바람직하게 또는 선택적으로, 본 발명은 이중 특이성 단일 쇄 항체 구조체를 함유하며, 여기서 상기 구조는 두개 이상의 도메인을 포함하거나 또는 이로 구성되며, 상기 두개 이상의 도메인의 하나는 인간의 EpCAM 항원에 결합하며 또한 두번째 도메인은 인간의 CD3 항원에 결합하며, 여기서 EpCAM에 특이성인 상기 결합 부위는 9개 이상의 아미노산 잔기의 하나 이상의 CDR-H3 부위를 포함하며 또한 EpCAM에 특이성인 상기 결합도메인은  $5 \times 10^{-9} M$  이상의  $K_D$  값을 갖는다.

본 발명에 따라, 용어 "약학 조성물"은 환자, 바람직하게는 인간 환자에게 투여하기 위한 조성물에 관한 것이다. 바람직한 실시태양에서, 약학 조성물은 비경구, 경피성, 관강내(intraluminal), 동맥내(intra arterial), 경막내(intrathecal), 또는 정맥내 투여 또는 종양내에 직접 주사를 위한 조성물을 포함한다. 특히 상기 약학 조성물은 주입 또는 주사를 통해 환자에게 투여된다. 적절한 조성물의 투여는 상이한 방법으로, 예를 들어 정맥내, 피하, 복강내, 근육내, 국소 또는 피내 투여에 의해 수행할 수 있다. 본 발명의 약학 조성물은 약제학적으로 허용되는 운반체를 추가로 포함할 수 있다. 적절한 약제학적 운반체의 예는 당 업계에 잘 알려져 있으며 또한 인산염 완충 염수액, 물, 유화액, 예를 들어 오일/물 유화액, 다양한 유형의 습윤제, 멸균액 등을 포함한다. 이러한 운반체를 포함하는 조성물은 잘 공지된 통상의 방법으로 제형화 할 수 있다. 이들 약학 조성물은 대상에게 적절한 용량으로 투여할 수 있다. 용량 요법은 주치의 및 임상 요소에 의해 결정할 수 있다. 의약 기술에서 잘 알려진 바와 같이, 특정한 하나의 환자를 위한 투여량은 환자 크기, 몸 표면적, 나이, 투여할 특정 화합물, 성, 시간 및 투여경로, 및 일반적 건강을 포함한 많은 인자에 따라 달라지며, 또한 다른 약제가 동시에 투여된다. 바람직한 투여 용량은 체중 킬로그램당 하루에  $0.24\mu g$  내지  $48mg$ , 바람직하게는  $0.24\mu g$  내지  $24mg$ , 더욱 바람직하게는  $0.24\mu g$  내지  $2.4mg$ , 훨씬 더 바람직하게는  $0.24\mu g$  내지  $1.2mg$  및 가장 바람직하게는  $0.24\mu g$  내지  $240\mu g$  단위의 범위일 수 있다. 특히 바람직한 투여량은 아래에 기술된다. 진행은 주기적인 평가에 의해 모니터 될 수 있다. 투여량은 변할 것이지만 DNA의 정맥내 투여의 바람직한 투여량은 대략  $10^6$  내지  $10^{12}$ 개 카피의 DNA 분자이다. 본 발명의 조성물은 국소적으로 또는 전신적으로 투여할 수 있다. 투여는 일반적으로 비경구, 예를 들어 정맥내일 것이며; DNA는 또한 예를 들어 내부 또는 외부 표적부위로 비올리스틱 전달(biolistic delivery)에 의해 또는 동맥 내의 어느 부위로 도관(catheter)에 의해 표적 부위에 직접적으로 투여할 수 있다. 바람직한 실시태양에서, 약학 조성물은 피하로 투여되며 또한 더욱 바람직한 실시태양에서는 정맥내로 투여된다. 비경구 투여용 제제는 멸균 수성 또는 비수성 용액, 혼탁액, 및 유화액을 포함한다. 비수성 용매의 예는 프로필렌 글리콜, 폴리에틸렌 글리콜, 식물성 오일 예를 들어 올리브 오일, 및 주사 가능한 유기 에스테르 예를 들어 에틸 올리에이트이다. 수성 운반체는 염수 및 완충 매체를 비롯하여, 물, 알콜/수성 용액, 유화액 또는 혼탁액을 포함한다. 비경구 매개체(vehicle)는 염화 나트륨 용액, 링거 텍스트로스, 텍스트로스 및 염화 나트륨, 락트화 링거 또는 고정 오일을 포함한다. 정맥내 매개체는 유체 및 영양 보충물, 전해질 보충물 (예를 들어 링거 텍스트로스 계통) 등을 포함한다. 보존제 및 다른 첨가제는 또한 예를 들어 항미생물제, 항산화제, 퀄레이팅 제, 및 불활성 기체 등일 수 있다. 그 외에, 본 발명의 약학 조성물은 혈청 알부민 또는 면역 글로빈과 같은 단백질계 운반체, 바람직하게는 인간 기원의 인것을 포함할 수 있다. 본 발명의 약학 조성물은, 단백질 계 이중 특이성 단일 쇄 항체 구조체 또는 이를 엔코딩하는 핵산 분자 또는 벡터(본 발명에서 기술된 바와 같음) 이외에, 약학 조성물의 의도한 용도에 따라 생물학적 활성제를 추가로 포함할 수 있음을 고안할 수 있

다. 이러한 약제는 위장계에 작용하는 약제, 세포증식 억제제로 작용하는 약제, 고요산 혈증을 예방하는 약제, T-세포 공-자극성(co-stimulatory) 분자 또는 사이트카인(cytokine) 등의 약제, 면역반응을 억제하는 약제 (예, 코르티코스테로이드) 및/또는 순환계에 작용하는, 예를 들어 혈압에 작용하는 약제일 수 있는데, 당업계에 알려져 있다.

본 발명의 조성물(들)의 투여를 위한 가능한 정후는 종양질환 특히 상피 암/암종 예를 들어 유방암, 대장암, 전립선암, 머리 및 목 암, 피부암, 요생식기관 암, 예를 들어 난소암, 자궁내막 암, 자궁경부 암 및 신장 암, 폐암, 위암, 소장 암, 간암, 췌장암, 담낭 암, 단관 암, 식도암, 수액선 암, 및 갑상선 암이다. 본 발명의 조성물의 투여는 최소 잔류 질환 바람직하게 초기 고형 암, 진행된 고형 암 또는 전이성 고형 암에 나타나며, 이것은 단일 세포의 생존에 의해 원인이 된 종양의 국소 및 비-국소 재발에 의해 특징으로 한다.

본 발명은 추가로 다른 화합물, 예를 들어 이중특이성 항체 구조물, 표적 독소 또는 T-세포를 거쳐 작용하는 다른 화합물과 공동-투여 프로토콜을 고안한다. 본 발명 화합물(들)의 공동-투여를 위한 임상 요법은 다른 성분의 투여 전, 투여후, 또는 동시에 공동-투여를 포함할 수 있다.

본 발명 구조체의 효능/활성을 입증하기 위해 가능한 접근법은 마우스와 같은 생체내 모델이다. 적절한 모델은 유전자 이전 마우스 및 키메라 마우스 모델일 수 있다. 인간의 CD3 및 인간의 EpCAM을 발현하는 마우스 모델, 생쥐의 CD3을 발현하는 키메라 마우스 모델, 및 그 내부에 인간의 EpCAM을 발현하는 종양 세포가 형질변환(transfected) 될 수 있으며, 또한 EpCAM을 발현하는 사람 종양이 이식될 수 있는 누드 마우스를 포함하는 키메라 마우스 모델, 인간의 EpCAM을 발현하는 종양세포가 주입될 수 있으며, 또한 추가로 사람 PBMCs가 주입된다. 용어 "이중 특이성 단일 쇄 항체 구조체"은 두 개의 항체 유래 결합 도메인을 포함하는 구조에 관한 것이다. 상기 결합 도메인 중의 하나는 인간의 EpCAM 항원(표적 분자 1)에 특이적으로 결합/상호작용 할 수 있는 항체, 항체 단편 또는 그의 유도체의 가변 부위 (또는 그의 일부)로 이루어진다. 두번째 결합도메인은 인간의 CD3 항원(표적 분자 2)에 특이적으로 결합/상호작용 할 수 있는 항체, 항체 단편 또는 그의 유도체의 가변 부위 (또는 그의 일부)으로 이루어진다. 하기 상세히 기술하는 바와 같이, 가변 부위의 일부는 적어도 하나의 CDR ("보충 결정 부위"), 가장 바람직하게 적어도 CDR3 부위일 수 있다. 단일 쇄 항체 구조물에서 상기 두개의 도메인/부위는 바람직하게는 단일 쇄로 서로 공유 결합된다. 이 결합은 직접적으로 (도메인1[CD3 항원에 특이성임]-도메인2[EpCAM 항원에 특이성임] 또는 도메인1[EpCAM 항원에 특이성임]- 도메인2[CD3 항원에 특이성임]) 또는 추가의 폴리펩티드 결합 서열 (도메인 1-링커 서열-도메인 2)를 통하여 수행될 수 있다. 링커가 사용되는 경우에, 이 링커는 제1 및 제2 도메인의 각각이 서로 독립적으로 그의 차등 결합 특이성을 유지함을 보장하는데 충분한 길이 및 서열이 바람직하다. 가장 바람직하게 및 첨부된 실시예에 기록된 바와 같이, 본 발명의 약학 조성물에 사용할 "이중 특이성 단일 쇄 항체 구조체"은 이중 특이성 단일 쇄 Fv (scFv)이다. 이중 특이성 단일 쇄 분자는 당해 분야에 공지되어 있으며 또한 WO 99/54440, Mack, J. Immunol. (1997), 158, 3965-3970, Mack, PNAS, (1995), 92, 7021-7025, Kufer, Cancer Immunol. Immunother., (1997), 45, 193-197, Loffler, Blood, (2000), 95, 6, 2098-2103 및 Bruhl, J. Immunol., (2001), 166, 2420-2426에 기술되어 있다. 본 발명의 특히 바람직한 분자형태는 항체-유래 부위가 하나의 V<sub>H</sub> 및 하나의 V<sub>L</sub>부위를 포함하는 폴리펩티드 구조체를 제공한다. scFV 형태에서, 링커-도메인에 의해 서로 결합된, V<sub>H</sub>-도메인 및 V<sub>L</sub>-도메인의 분자내 배향은 기술된 이중 특이성 단일 쇄 구조체에 결정적이지 않다. 따라서 두개의 가능한 배열 (V<sub>H</sub>-도메인-링커 도메인 - V<sub>L</sub>-도메인; V<sub>L</sub>-도메인-링커 도메인-V<sub>H</sub>-도메인)을 갖는 scFv는 기술된 이중 특이성 단일 쇄 구조체의 특수한 실시태양이다.

항체 구조체는 또한 예를 들어 재조합적으로 생산된 구조체의 분리 및/또는 제조를 위한 추가적인 도메인을 포함할 수 있다.

이중 특이성 단일 쇄 항체 구조체를 위한 상응하는 형태는 첨부된 실시예 1에 기술되어 있다.

본 발명에 따라 사용되는 용어 "단일 쇄"는 이중 특이성 단일 쇄 구조체의 상기 제1 및 제2 도메인이 바람직하게는 단일 핵산 분자에 의해 엔코딩 가능한 공-선형 아미노산 서열 형태로 공유 결합되는 것을 의미한다.

본 발명의 명세서에서 사용되는 용어 "결합/상호작용"은 서로 적어도 두개의 "항원-상호작용-장소"의 결합/상호작용을 정의한다. 본 발명에 따라, 용어 "항원-상호작용-장소"는 특이성 항원 또는 특이성 그룹의 항원과 특이한 상호작용의 능력을 보여주는 폴리펩티드의 모티프를 정의한다. 상기 결합/상호작용은 또한 "특이성 인식"을 정의하는 것으로 이해된다. 용어 "특이적으로 인식"은 본 발명에 따라 항원분자가 여기에 정의되는 바와 같은 인간 표적 분자 각각의 적어도 두개의 아미노산과 특이적으로 상호작용/결합할 수 있다는 것을 의미한다. 상기 용어는 항체분자의 특이성, 즉 여기에 정의된 바와 같은 사람 표적 분자의 특이성 도메인 사이에 구별할 수 있는 능력에 관한 것이다. 특이성 항원과 항원-상호작용-장소의 특이

성 상호작용은 항원의 부합의 변화, 항원의 올리고머화 등의 유발로 인하여 신호의 개시를 생기게 한다. 추가로, 상기 결합은 "열쇠-자물쇠-원칙"의 특이성에 의해 예시될 수 있다. 따라서 항원-상호작용-장소의 아미노산 서열 및 항원에서 특이성 모티프는 그의 일차, 이차 또는 삼차 구조의 결과로서는 물론 상기 구조의 이차 변형의 결과로서 서로 결합한다. 그의 특이성 항원과 항원-상호작용-장소의 특이성 상호작용은 상기 장소의 항원에의 단순한 결합을 생기게 할 수 있다.

본 발명에 따라 사용되는 용어 "특이성 상호작용"은 이중 특이성 단일 쇄 구조체가 유사 구조물의 (폴리)펩티드와 교차 반응하지 않거나 또는 거의 하지 않는다는 것을 의미한다. 조사 중인 이중 특이성 단일 쇄 구조체의 패널의 교차 반응성은 예를 들어 (폴리)펩티드는 물론 다수의 다소 (구조적으로 및/또는 기능적으로) 밀접하게 관련된 (폴리)펩티드에 통상적인 조건하에 (참조, Harlow and Lane, Antibodies; A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1999) 이 중 특이성 단일 쇄 구조체의 상기 패널의 결합을 분석하여 시험할 수 있다. (폴리)펩티드/단백질에 결합하지만 다른 (폴리)펩티드의 어느 것에 결합하지 않거나 필수적으로 결합하지 않는 항체만이 관심있는 (폴리)펩티드/단백질에 특이적인 것으로 간주된다. 특이성 항원과 항원-상호작용-장소의 특이적 상호반응에 대한 예는 그의 수용체에 대한 리간드의 특이성을 포함한다. 상기 정의는 특히 그의 특이성 수용체에 결합시 신호를 유발하는 리간드의 상호작용을 포함한다. 상응하는 리간드의 예는 특이성 사이토카인-수용체와 상호작용하거나/이에 결합하는 사이토카인을 포함한다. 또한 상기 정의에는 선택 패밀리, 인테그린(integrin) 및 EGF 같은 성장인자의 패밀리의 항원 같은 항체에 항원-상호작용-장소의 결합이 포함된다. 또한 특히 상기 정의에 포함되는 상기 상호작용의 예는 항체의 항원 결합 장소와 항원 결정인자(에피토프)의 상호작용이다.

용어 "결합/상호작용"은 또한 입체형체(conformational) 에피토프, 구조적 에피토프 또는 사람 표적 분자 또는 그의 일부 중 두개의 부위로 이루어진 불연속 에티토프에 관한 것이다. 본 발명의 명세서에서, 입체형체 에피토프는 폴리펩티드가 원래의 단백질로 접히는(folded) 경우에 분자의 표면상에서 가까워지는 일차 서열에서 분리된 두 개 이상의 불연속(discrete) 아미노산 서열로 정의된다 (Sela, (1969) Science 166, 1365 및 Laver, (1990) Cell 61, 553-6).

용어 "불연속 에피토프"는 본 발명의 명세서에서 폴리펩티드 쇄의 원격 부분의 잔기들로 조합되는 비-선형 에피토프를 의미한다. 이들 잔기는 폴리펩티드가 삼차원 구조로 접혀서 입체형체/구조적 에티토프를 구성하는 경우에 분자의 표면상에서 가까워진다.

본 발명의 구조체는 또한 하기에 기술되는 바와 같이 상술한 인간의 CD3 복합물 또는 그의 일부의 두가지 도메인으로 이루어지거나 및/또는 이를 포함하는 입체형체/구조적 에피토프(들)에 특이적으로 결합하거나/이와 상호작용하도록 고안된다.

따라서 특이성은 당해 분야에 공지된 방법 및 본 명세서에 기술된 바와 같은 방법에 의해 실험적으로 측정할 수 있다. 이러한 방법은 제한되지 않지만 웨스턴 블롯, ELISA-, RIA-, ECL-, IRMA-, EIA-시험 및 펩티드 스캔을 포함한다.

용어 "항체 단편 또는 그의 유도체"는 단일쇄 항체, 또는 그의 단편, 합성 항체, 항체 단편, 예를 들어 Fab, aF(ab<sub>2</sub>)', Fv 또는 scFv 단편 등, 또는 이들의 화학적으로 변형된 유도체에 관한 것이다. 본 발명에 따라 사용될 항체 또는 그들의 상응하는 면역 글로불린 쇄(들)은 당해 분야에 공지된 통상적인 기술을 사용하여, 예를 들어 아미노산 삭제(들), 삽입(들), 치환(들), 부가(들), 및/또는 재조합(들) 및/또는 단독으로 또는 결합되게 당해 분야에 공지된 임의의 변형(들) (예, 해독 후 및 화학적 변형, 예를 들어 글리코실화 및 포스포릴화)을 사용하여 더욱 변형할 수 있다. 면역 글로불린 쇄의 아미노산 서열을 기본으로 하는 DNA 서열에 이러한 변형을 도입하는 방법은 당해 분야의 기술자에게 잘 알려져 있다 (참조, Sambrook (1989), loc. cit).

본 명세서에서 사용되는 용어 "(폴리)펩티드"는 펩티드의 그룹은 물론 폴리펩티드의 그룹을 포함하는 분자의 그룹을 기술한다. 펩티드의 그룹은 30개 까지의 아미노산을 갖는 분자들로 구성되어 있으며, 폴리펩티드의 그룹은 30개를 초과하는 아미노산을 갖는 분자들로 구성되어 있다.

용어 "항체 단편 또는 그의 유도체"는 특히 하나 이상의 CDR을 포함하는 (폴리)펩티드 구조체에 관한 것이다.

기술된 항체 분자의 단편 또는 유도체는 상기 항체 분자의 일부이며 및/또는 화학적/생화학적 또는 분자 생물학적 방법에 의해 변형된 (폴리)펩티드를 정의한다. 상응하는 방법은 당해 분야에 공지되어 있으며 또한 특히 실험실 매뉴얼에 기술되어 있다 (참조, Sambrook 등; 분자 클로닝: 실험실 매뉴얼; Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2nd edition 1989 및

3nd edition 2001; Gerhardt 등; Methods for General and Molecular Bacteriology; ASM Press, 1994; Lefkovits; 면역학 방법 매뉴얼: The Comprehensive Sourcebook of Techniques; Academic Press, 1997; Golemis; 단백질-단백질 상호작용: 분자 클로닝 매뉴얼; Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2002).

EpCAM 항원 및 CD3 항원을 특이적으로 인식하는 이중특이성 항체는 선행기술, 예를 들어 Mack (Proc. Natl. Acad. Sci., 1995, 92:7021-7025)에 기술되어 있다.

상술한 바와 같이, 상술된 이중특이성 단일쇄 구조를 포함하는 상기 가변 도메인은 추가적인 링커 서열에 의해 결합되어 있다. 용어 "펩티드 링커"는 본 발명에 따라 상기 정의된 구조의 제1 도메인 및 제2 도메인의 아미노산 서열을 서로 결합되도록 하는 아미노산 서열을 정의한다. 이러한 웨პ티드 링커의 필수적인 기술 특징은 상기 웨პ티드 링커가 특정한 중합 활성을 포함하지 않는다는 것이다. 특히 바람직한 웨პ티드 링커는 아미노산 서열 Gly-Gly-Gly-Gly-Ser, 즉 (Gly)4Ser, 또는 그의 고분자, 즉 ((Gly)4Ser)<sub>x</sub>를 특징으로 한다. 이차 구조의 촉진의 부재를 포함하는 상기 웨პ티드 링커의 특징은 당해 분야에 공지되어 있으며 또한 예를 들어 Dall'Acqua 등 (Biochem. (1998) 37, 9266-9273), Cheadle 등 (Mol Immunol (1992) 29, 21-30) 및 Raag and Whitlow (FASEB (1995) 9(1), 73-80)에 기술되어 있다. 또한 아미노산 잔기를 덜 포함하는 웨პ티드 링커가 특히 바람직하다. 5개 미만의 아미노산을 갖는 고안된 웨პ티드 링커는 4, 3, 2 또는 하나의 아미노산을 포함할 수 있다. 상기 "펩티드 링커"의 내용에서 특히 바람직한 "단일" 아미노산은 Gly이다. 따라서 상기 웨პ티드 링커는 단일 아미노산 Gly로 이루어질 수 있다. 더욱이 어떠한 이차 구조를 촉진하지 않는 웨პ티드 링커가 바람직하다. 상기 도메인들의 서로 결합은 예를 들어 실시예에 기술된 바와 같은 유전공학에 의해 제공할 수 있다. 융합되고 또한 움직이게 결합된 이중 특이성 단일쇄 구조체물을 제조하고 또한 이들을 포유동물 세포 또는 박테리아에 발현하는 방법이 당해 분야에 공지되어 있다 (예, WO 99/54440, Ausubel, Current Protocols in Molecular Biology, Green Publishing Associates and Wiley Interscience, N.Y. 1989 및 1994 또는 Sambrook 등, 분자 클로닝: 실험실 매뉴얼, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor. 뉴욕, 2001).

상기 및 이하에 기술된 이중 특이성 단일쇄 항체 구조체는 인간형 또는 탈면역형 항체 구조체일 수 있다. (폴리)펩티드 및 특히 항체 구조체의 인간화 및/또는 탈면역화 방법은 당해 분야의 기술자에게 공지되어 있다.

바람직하게는 서열 번호: 80, 88 및 96의 위치 102 내지 104, 또는 바람직하게는 서열 번호: 84 및 92의 위치 106-108에서 아미노산 서열 NXD (아스파라긴-X-아스파프트산) (여기서 X는 방향족 아미노산임)을 포함하는 하나 이상의 CDR-H3 부위를 포함하는 EpCAM 항원에 대해 특이성을 갖는 도메인들은 이중특이성 단일쇄 항체 구조체의 특이성 형태에 특히 유용한 것으로 놀랍게도 밝혀졌다. 이들 이중 특이성 단일쇄 항체 구조체는 이들 구조가 상기 아미노산을 함유하지 않는 구조체에 대해 유리하기 때문에 약학 조성물로서 특히 유용하다.

더욱이 적어도 9개 아미노산 잔기의 적어도 하나의 CDR-H3 부위를 포함하며 또한  $5 \times 10^{-9} M$ 를 초과하는  $K_D$ 값을 갖는 EpCAM 항원에 특이성을 갖는 도메인은 이중특이성 단일쇄 항체 구조체의 특이성 형태에 특히 유용한 것으로 놀랍게도 밝혀졌다. 이들 이중특이성 단일쇄 항체 구조체는 이들 구조가 9개 미만의 아미노산 잔기에 대해 유리하기 때문에 약학 조성물에 특히 유용하며, 여기서 EpCAM에 특이성인 상기 결합도메인은  $5 \times 10^{-9} M$  미만의  $K_D$ 값을 갖는다.

선행기술 구조체는 첨부된 실시예에 나타낸 바와 같이 덜 유리한  $EC_{50}$ 값 및/또는 덜 효율적 또는 완전한 정제를 특징으로 한다. 본 발명에 따라 사용될 CD3 항원에 특이성을 갖는 단일쇄 구조의 도메인은 N-는 물론 C-말단 위치에서 고도로 생활성이며, 여기서 특히 배열  $V_{H(\text{항-CD3})}-V_{L(\text{항-CD3})}$ 가 바람직하다. 본 발명의 약학 조성물에 사용할 구조체는 유리한 생산 및 정제 특성은 물론 그의 높은 생활성, 즉 그의 원하는 세포독성 활성을 특징으로 한다. 본 발명의 구조의 세포독성 활성을 통상적인 MX79X항-CD3 및 HD70X항-CD3 구조체의 세포독성 활성과 비교하는 경우, 본 발명의 구조체가 분명히 더 높은 생활성을 나타냈다 (도 11B). 상응하는 높은 생활성은 세포독성 시험에서 측정하는 바와 같이 낮은 내지 매우 낮은  $EC_{50}$ 값을 반영한다. 분자의  $EC_{50}$ 값이 낮을수록 구조체의 세포독성, 즉 세포용해에서 효과는 더 높아진다. 다른 한편,  $EC_{50}$ 값이 높을수록, 분자는 세포용해에 유도하는데 덜 효과적이다. 용어 " $EC_{50}$ 값"은 본 발명의 명세서에서 당해 분야에 공지된 방법에 따라 측정한 바와 같은 또한 첨부된 실시예에 예시된 바와 같은  $EC_{50}$ 값에 상응한다. 표준 용량-반응 곡선은 4개의 매개변수로: 기선 반응(baseline response)(하부), 최대 반응(상부), 경사, 및 기선과 최대 ( $EC_{50}$ ) 사이의 반응 절반을 일으키는 약물 농도로 정의된다.  $EC_{50}$ 은 기선(하부) 및 최대 반응(상부) 사이의 반응 절반을 일으키는 약제 또는

분자의 농도로서 정의된다. 본 발명의 구조체의 더 낮은  $K_D$ 값은 더 높은 결합 친화성을 나타낸다. 예를 들어,  $10^{-9}M$ 의 낮은  $K_D$ 는 결합 구조체의 높은 결합 친화성을 나타낸다. 다른 한편 예를 들어  $10^{-6}M$ 의 높은  $K_D$ 값은 구조체의 결합도메인의 더 낮은 결합 친화성에 관한 것이다.

세포용해의 백분율(즉 세포독성 활성)은 상술한 특히 방출분석, 예를 들어  $^{51}\text{Cr}$  방출 분석, LDH-방출분석 등에 의해 측정할 수 있다. 가장 바람직하게 본 발명의 명세서에서 형광색소 방출 분석은 첨부된 실시예에 예시된 바와 같이 사용된다. 여기에 기술된 이중 특이성 단일 쇄 구조체의 EpCAM-양성 세포(참조, 첨부된 실시예 3에서 CHO-EpCAM 세포)에 대한 강한 세포독성 활성은  $\text{EC}_{50}$ 값 바람직하게는  $\leq 500\text{pg/ml}$ , 더욱 바람직하게는  $\leq 400\text{pg/ml}$ , 훨씬 더 바람직하게는  $\leq 300\text{pg/ml}$ , 훨씬 더 바람직하게는  $\leq 250\text{pg/ml}$ , 가장 바람직하게는  $\leq 200\text{pg/ml}$   $\leq 100\text{pg/ml}$ ,  $\leq 50\text{pg/ml}$ 을 포함하는 분자에 관한 것이다.

본 발명의 약학 조성물에 포함된 이중특이성 구조는 선행기술 ( $\text{VL}_{17-1A}-\text{VH}_{17-1A}-\text{VH}_{\text{CD}3}-\text{VL}_{\text{CD}3}$ ; 8628pg/ml)에 비하여 놀라울 정도로 높은 세포독성 활성(바람직하게는 약  $10\text{pg/ml}$  내지  $170\text{pg/ml}$  범위)을 보여준다. 기술자들은  $\text{EC}_{50}$ 값이 생활성 분석에 따라 변할 수 있음을 알고 있다.  $\text{EC}_{50}$ 값에 영향을 미치는 인자는 작동세포의 유형, 작동세포의 활성, 표적 세포의 유형, E:T 비, 배양시간, 배양온도, 및 다른 외부 환경을 포함할 수 있다. 상이한 실험에서 동일한 구조체의 상이한  $\text{EC}_{50}$ 은 대조군의  $\text{EC}_{50}$ 값과 비교할 수 있다. 본 발명에 따른 높은 세포독성 활성을 갖는 구조체는 대조군보다 적어도 2.5배 더 낮은  $\text{EC}_{50}$ 값(대조군보다 적어도 2.5배 더 높은 세포독성), 바람직하게는 적어도 3배 더 낮은  $\text{EC}_{50}$ 값 및 더욱 바람직하게는 적어도 5배 더 낮은  $\text{EC}_{50}$ 값을 갖는다.

더욱이, 본 발명의 구조는 표면 플라스몬 공명(BIAcore<sup>®</sup>)으로 측정한 놀랄정도로 높은 친화성으로 EpCAM을 결합한다. EpCAM 및 CD3에 결합하는 선행기술 구조체 M79x항-CD3은  $4 \times 10^{-6}M$ 의  $K_D$ 를 가지며 또한 본 발명의 구조체는  $2.3 \times 10^{-7}$ - $2.5 \times 10^{-7}M$ 의  $K_D$ 를 갖는다.

바람직하게 상기 NXD 모티프에서 X는 W(트립토판) 또는 Y(티로신)이다.

추가로 본 발명의 약학 조성물은 이중특이성 단일쇄 항체 구조체를 포함하며, 여기서 상기 EpCAM 특이성 도메인의 CDR-H3은 9개 이상의 아미노산 잔기, 바람직하게 14개 이상의 아미노산을 포함하도록 고안된다. 바람직하게 CDR-H3은 18개 미만의 아미노산, 더욱 바람직하게 15개 미만의 아미노산을 포함한다. 따라서 바람직하게 CDR-H3은 9 내지 17개 아미노산, 더욱 바람직하게 9 내지 15개 아미노산 및 가장 바람직하게 10 또는 14개 아미노산을 포함한다.

상용하는 EpCAM 특이성 도메인을 포함하는 이중 특이성 단일쇄 항체 구조체는 당해 분야에 공지된 다른 EpCAM 특이성 도메인보다 상술한 구조체의 형태에서 유리한 것으로 놀랍게도 밝혀졌다. 이러한 효과는 첨부된 실시예 3, 4 및 5에서 입증된다. EpCAM 결합 항체 M79는 CDR-H3 부위에서 8개 아미노산을 포함하며 또한 서열 NXD(도 11A)를 포함하지 않는다.

본 발명에 따른 약학조성물은 또한 EpCAM에 특이성인 상기 결합 도메인이  $5 \times 10^{-9}M$ 을 초과하는  $K_D$ 값을 갖는 구조체를 포함한다.

약학 조성물은 CD3 항원에 특이성인 상기 결합도메인이  $10^{-7}M$  이상의  $K_D$ 값을 갖는 특징을 추가로 나타낼 수 있다.

$K_D$ 값은 복합체의 분리하는 경향을 정의하는 물리적 값이다. 결합 평형  $A + B \leftrightarrow AB$ 의 경우, 해리상수는 두개의 운동속도 상수  $k_{\text{off}}$  및  $k_{\text{on}}$ 의 비:  $[A][B] (\text{kon})/[AB] (\text{koff})$ 로서 표시된다. 해리상수가 작을수록, A 및 B가 서로 더욱 강하게 결합 한다. 생물학적 시스템에서, 양호한 특이성 결합제는  $10^{-9}$ - $10^{-7} M$  범위의 해리상수를 갖는다.  $K_D$ 는 당해 분야의 기술자에게 공지된 다수의 방법, 예를 들어 표면 플라스몬 공명(SPR, 예, BIAcore<sup>®</sup>), 분석적 초원심분리, 등온 역가측정(titration) 열량측정, 형광 비등방성, 형광 분광 또는 방사표지 리간드 결합 분석에 의해 측정할 수 있다.

본 발명의 구성체의  $K_D$ 는 표면 플라스몬 공명 (SPR) 분광계를 사용하여 측정하였다. 리간드는 고정상 항원 칩 표면상에 주입하며 또한 결합시 칩 표면상의 광학 밀도의 변화를 측정한다. 반사각의 변화에 의해 검색된 광밀도의 변화는 칩 표면에 결합하는 리간드의 량과 직접적으로 상호관련하며, 사용된 생물리학적 현상은 표면 플라스몬 공명으로 불리운다.

상호작용 파트너중의 하나는 표면 플라스몬 공면 (예, BiAcute®)을 기본으로 하는 장치의 센서 칩의 표면상에 고정되어야 한다. 칩 표면상에서 고정 항원과 리간드의 결합 및 해리의 운동력학은 실시간으로 관찰한다. 결합 곡선은 겉보기 평형 해리 상수 (KD)에서 생기는 운동속도 상수  $K_{on}$  및  $K_{off}$ 에 피팅(fitted)되었다.

EpCAM에 특이성인 상기 결합 도메인은  $1 \times 10^{-7}$  내지  $5 \times 10^{-9} M$  범위의  $K_D$ 값을 가지며 또한 CD3에 특이성인 상기 결합 도메인은  $1 \times 10^{-6}$  내지  $5 \times 10^{-9} M$  범위의  $K_D$ 값을 갖는 것이 특히 바람직하다.

특히 바람직한 실시태양에서, 본 약학 조성물은 CD3항원에 특이성인 상기 결합 도메인이  $> 1 \times 10^{-7} M$ (이상)의  $K_D$ 값을 갖는 특징을 추가로 나타낼 수 있다.

본 발명의 구조체는 EpCAM 결합 부분이  $5 \times 10^{-9} M$  이상의  $K_D$ 값으로 친화성을 갖기 때문에 종양세포를 사멸하는 회수를 여러번 사용할 수 있다는 이점을 갖는다. EpCAM-발현 종양세포를 결합하기 위한 이중 특이성 구조체의 친화성이 너무 높으면, 구조체가 하나의 EpCAM 발현 종양 세포를 결합하며 또한 사멸되어 또 다른 종양세포를 계속 사멸할 수 있는 경우에도 그의 표면상에 잔류한다. 본 발명의 구조체의 추가의 이점은 EpCAM에 특이성인 결합 부위가 높은 친화성 (더 낮은  $K_D$ 값에 상응함)으로 결합하며 따라서 순환하는 T-세포를 이중 특이성 구조체로 마크된 종양세포로 유도하는 것이다. 따라서 이중 특이성 구조의 EpCAM에 특이성인 결합도메인의  $K_D$ 는 바람직하게는  $10^{-7}$ - $5 \times 10^{-9} M$  범위이며 또한 CD3에 특이성인 결합도메인의  $K_D$ 는 바람직하게는  $10^{-6}$ - $5 \times 10^{-9} M$  범위이다. 바람직한 실시태양에서 EpCAM 결합 도메인의 KD값은 CD3 결합 도메인에 비하여 EpCAM 결합도메인의 더 높은 친화성에 상응하는 CD3 결합도메인의 KD값보다 더 낮다.

추가로 본 발명의 약학 조성물은 이중 특이성 단일 쇄 항체 구조체를 포함하며, 여기서 EpCAM 특이성 도메인의 CDR-H3은 9개 이상의 아미노산, 더욱 바람직하게 14개 이상의 아미노산을 포함한다. 바람직하게는 CDR-H3은 18개 미만의 아미노산, 더욱 바람직하게 15개 미만의 아미노산을 포함한다. 따라서 바람직하게 CDR-H3은 9 내지 17개 아미노산, 더욱 바람직하게 9 내지 15개 아미노산 및 가장 바람직하게 10 또는 14개 아미노산을 포함한다.

본 발명의 약학조성물의 바람직한 실시태양에서, 인간의 EpCAM 항원에 특이성인 도메인의  $V_H$  체인은 다음 (a) 내지 (d)로 이루어진 그룹 중에서 선택된다:

- (a) 서열 번호: 80, 서열 번호: 84, 서열 번호: 88, 서열 번호: 92, 및 서열 번호: 96중 어느 하나에 나타낸 바와 같은 아미노산 서열;
- (b) 서열 번호: 79, 서열 번호: 83, 서열 번호: 87, 서열 번호: 91, 및 서열 번호: 95에 나타낸 바와 같은 핵산 서열에 의해 코딩되는 아미노산 서열;
- (c) 업격한 하이브리드 조건하에 (b)에 정의한 바와 같은 핵산 서열의 상보적 가닥으로 하이브리드되는 핵산 서열에 의해 코딩되는 아미노산 서열; 및
- (d) (b) 및 (c)중 어느 하나의 뉴클레오티드 서열에 대한 유전부호의 결과로서 디제너레이티드되는(degenerated) 핵산 서열에 의해 코딩되는 아미노산 서열.

여기서 사용되는 용어 "하이브리다이징"(hybridizing)은 여기에 정의된 이중특이성 단일 쇄 구조체 또는 그의 일부를 엔코딩하는 폴리뉴클레오티드에 하이브리드할 수 있는 폴리뉴클레오티드/핵산 서열을 말한다. 따라서 상기 폴리뉴클레오티드는 RNA 또는 DNA 제제의 노던 또는 써던 블롯(Blot) 분석에서 프로브(probe)로서 각각 유용할 수 있거나 또는 각각의 크기에 따른 PCR 분석에서 올리고뉴클레오티드 프라이머로서 사용할 수 있다. 바람직하게, 상기 하이브리드 뉴클레오티드

는 길이 적어도 10개, 더욱 바람직하게 적어도 15개 뉴클레오티드를 포함하는 반면, 프로브로서 사용된 본 발명의 하이브리드 폴리뉴클레오티드는 길이 적어도 100개, 더욱 바람직하게 적어도 200개 또는 가장 바람직하게 적어도 500개 뉴클레오티드를 포함한다.

핵산분자로 하이브리드 실험을 수행하는 방법이 당해 분야에 공지되어 있다. 즉 당해 분야의 기술자는 본 발명에 따라 어떠한 하이브리드 조건을 사용해야 하는지를 이해한다. 이러한 하이브리드 조건은 표준 교과서 (예, 분자 클로닝 A 실험실 매뉴얼, Cold Spring Harbor Laboratory (2001) 뉴욕)에 언급되어 있다. 본 발명에 따라 염격한 하이브리드 조건 하에 본 발명의 폴리뉴클레이오티드 또는 그의 일부에 하이브리드할 수 있는 폴리뉴클레오티드가 바람직하다.

"엄격한 하이브리드 조건"은 예를 들어 50% 포름아마이드, 5x SSC (750 nM NaCl, 75mM 구연산 나트륨), 50mM 소디움 포스페이트 (pH 7.6), 5x 덴하드르트 용액, 10% 텍스트란 설페이트, 및 20 $\mu$ g/ml 변성, 절단 연어 정액 DNA를 함유하는 용액중에 42°C에서 하룻밤 배양한 다음 약 65°C에서 0.1 x SSC중에 여과기를 세척하는 것을 언급한다. 또한 더 낮은 염격 하이브리드 조건에서 본 발명의 폴리뉴클레이티드로 하이브리드하는 핵산 분자가 고안되었다. 하이브리드화 및 신호 검색의 염격함의 변화는 포름아마이드 농도 (포름아마이드의 더 낮은 백분율은 저하된 염격함의 원인이 된다); 염 조건, 또는 온도의 조정을 통하여 주로 달성된다. 예를 들면 더 낮은 염격함 조건은 6x SSPE (20 X SSPE = 3M NaCl; 0.2 NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>; 0.02M EDTA, pH 7.4), 0.5% SDS, 30% 포름아마이드, 100 $\mu$ g/ml 연어 정액 차단 DNA를 포함하는 용액 중에 37°C에서 하룻밤 배양한 다음 약 50°C에서 1 x SSPE로 세척함을 포함한다. 그 외에, 훨씬 덜한 염격함을 달성하기 위하여, 염격한 하이브리드화후에 수행된 세척은 더 높은 염 농도 (예, 5X SSC)에서 행할 수 있다. 상기 조건에서 변화는 하이브리드 실험에서 배경을 억제하는데 사용되는 교대(alternate) 차단제의 도입 및/또는 치환을 통하여 달성할 수 있다. 전형적인 차단제는 덴하드르트 제(Denhardt's reagent, BLOTTO, 헤파린, 변성 연어 정액 DNA, 및 상업적으로 이용 가능한 전매 제형을 포함한다. 특이성 차단제의 도입은 적합성의 문제로 인하여 상술한 하이브리드 조건의 변형을 필요로 할 수 있다.

기술된 핵산 분자는 예를 들어 DNA, cDNA, RNA 또는 합성적으로 생산된 DNA 또는 RNA, 또는 단독으로 또는 조합으로 이들 폴리뉴클레오타이드의 어느 것을 포함하는 재조합적으로 생산되는 키메르 핵산 분자일 수 있다. 바람직하게 본 발명의 상기 약학조성물은 이중 특이성 단일 쇄 구조체를 함유할 수 있으며, 여기서 인간의 EpCAM 항원에 특이성인 상기 V<sub>H</sub> 쇄 도메인은 다음 (a) 내지 (d)로 이루어진 그룹 중에서 선택된다:

- (a) 서열 번호: 82, 서열 번호: 86, 서열 번호: 90, 서열 번호: 94, 및 서열 번호: 98중 어느 하나에 나타낸 바와 같은 아미노산 서열;
- (b) 서열 번호: 81, 서열 번호: 85, 서열 번호: 89, 서열 번호: 93, 및 서열 번호: 97에 나타낸 바와 같은 핵산 서열에 의해 코딩되는 아미노산 서열;
- (c) 염격한 하이브리드 조건하에 (b)에 정의한 바와 같은 핵산 서열의 상보적 가닥으로 하이브리드되는 핵산 서열에 의해 코딩되는 아미노산 서열; 및
- (d) (b) 및 (c)중 어느 하나의 뉴클레오티드 서열에 대한 유전부호의 결과로서 디제너레이트되는 핵산 서열에 의해 코딩되는 아미노산 서열.

본 발명의 약학 조성물의 바람직한 실시태양에서, 상기 인간의 CD3 특이성 도메인의 V<sub>H</sub> 및 V<sub>L</sub> 부위는 X35-3, VIT3, BMA030 (BW264/56), CLB-T3/3, CRIS7, YTH12.5, F111-409, CLB-T3.42, TR-66, WT32, SPv-T3b, 11D8, XIII-141, XIII-46, XIII-87, 12F6, T3/RW2-8C8, T3/RW2-4B6, OKT3D, M-T301, SMC2, WT31 및 F101.01로 이루어진 그룹 중에서 선택된 CD3 특이성 항체로부터 유도된다. 이들 CD3-특이성 항체들은 당해 분야에 잘 알려져 있으며 특히 Tunnacliffe (1989), Int. Immunol. 1, 546-550에 기술되어 있다. 더욱 바람직한 실시태양에서, 상기 CD3 특이성 도메인의 V<sub>H</sub> 및 V<sub>L</sub> 부위는 OKT-3(상기 정의 및 기술된 바와 같음)로부터 유도된다. 더욱 바람직하게는 (또한 첨부된 실시예에 예시된 바와 같이) 상기 V<sub>H</sub> 및 V<sub>L</sub> 부위는 Traunecker (1991), EMBO J. 10, 3655-3659에 기술된 CD3 분자에 대해 특이성을 갖는 항체/항체 유도체로부터 유도된다. 본 발명에 따라, 상기 V<sub>H</sub> 및 V<sub>L</sub> 부위는 다른 TCR 서브유닛의 내용에서, 예를 들어 인간의 CD3- $\epsilon$ 쇄가 유전자 도입된 마우스 세포에서 인간의 CD3- $\epsilon$ 쇄를 특이적으로 인식할 수 있는 항체/항체 유도체로부터 유도된다. 이들 유전자 도입된 마우스 세포는 천연 또는 거의 천연 입체형태로 인간의 CD3- $\epsilon$ 체인을 발현한다. 따라서 CD3- $\epsilon$ 체인 특이성 항체로부터 유도된 V<sub>H</sub> 및 V<sub>L</sub> 부위는 본 발명에 따라 가장 바람직하며 또한 상기 (모친) 항

체는 TCR 복합물의 내용중에 존재하는 인간의 CD3의 입체형태 에피토프 또는 천연 또는 거의 천연 구조를 반영하는 에피토프를 특이적으로 결합할 수 있어야 한다. 이러한 항체는 "그룹 II" 항체로서 Tunnacliffe (1989)에 의해 분류되었다. Tunnacliffe (1989)에서 추가 분류는 CD3를 지시하는 "그룹 I" 및 "그룹 III" 항체의 정의를 포함한다. UCHT1과 같은 "그룹 I" 항체는 재조합 단백질로서 또한 세포 표면상에 TCR의 일부로서 발현된 CD3- $\epsilon$ 쇄을 인식한다. 따라서 "그룹 I" 항체는 CD3- $\epsilon$ 쇄에 고도로 특이적이다. 반면, 여기서 바람직한 "그룹 II 항체"는 다른 TCR 서브 유닛과 결합되게 천연 TCR 복합물에서만 CD3- $\epsilon$ 쇄을 인식한다. 이론으로 제한되지 않지만, "그룹 II" 항체에서 TCR 본체는 CD3- $\epsilon$ 쇄의 인식을 위해 필요한 것으로 본 발명의 명세서에서 추측된다.  $\epsilon$ 쇄와 결합되는 CD3- $\gamma$ 쇄 및  $\delta$ 쇄는 또한 "그룹 II 항체"의 결합에 수반된다. 모든 세 개 서브유닛은 단백질 티로신계 키나제에 의해 인산화된 티로신일 수 있는 면역 수용체-티로신 활성화 모티프 (ITAMs)를 발현한다. 이러한 이유 때문에 그룹 II 항체는 CD3- $\epsilon$ 쇄,  $\gamma$ 쇄 및  $\delta$ 쇄를 통해 T 세포 신호를 유발하는데, CD3- $\epsilon$ 쇄를 거쳐 T-세포 신호를 선택적으로 유도하는 그룹 I 항체에 비하여 더 강한 신호를 유도한다. 치료 적용의 경우 강한 T 세포의 유도가 필요로 한 경우, 본 발명의 약학조성물에서 포함된 이중특이성 단일 쇄 구조에서 사용되는  $V_{H(\text{항-CD3})}/V_{L(\text{항-CD3})}$ -부위 (또는 그의 일부)는 바람직하게는 인간의 CD3를 지시하고 또한 Tunnacliffe (1989), loc.cit에 의해 "그룹 II"로 분류되는 항체로부터 유래된다.

하나의 실시태양에서 본 발명은 상기 이중 특이성 단일 쇄 항체 구조체가 다음 (a) 내지 (d)로 이루어진 그룹 중에서 선택된 아미노산 서열을 포함하는 약학 조성물에 관한 것이다:

- (a) 서열 번호: 2, 4, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 30, 36, 39, 42, 44, 46, 48, 50, 52, 54, 56, 58 및 60의 어느 하나에 나타낸 바와 같은 아미노산 서열;
- (b) 서열 번호: 1, 3, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 29, 35, 38, 41, 43, 45, 47, 49, 51, 53, 55, 57 및 59의 어느 하나에 나타낸 바와 같은 핵산 서열에 의해 코딩되는 아미노산 서열;
- (c) 엄격한 하이브리드 조건하에 (b)에 정의한 바와 같은 핵산 서열의 상보적 가닥으로 하이브리드되는 핵산 서열에 의해 코딩되는 아미노산 서열;
- (d) (b) 및 (c)의 어느 하나의 뉴클레이티드 서열에 대한 유전 부호의 결과로서 디제너레이티드되는 핵산 서열에 의해 코딩되는 아미노산 서열.

본 발명은 또한 상기 정의된 바와 같은 이중 특이성 단일 쇄 항체 구조체를 엔코딩 하는 핵산서열을 포함하는 약학 조성을 제공한다.

상기 핵산분자는 천연핵산 분자는 물론 재조합 핵산분자일 수 있다. 따라서 핵산분자는 천연 기원, 합성 또는 반합성일 수 있다. DNA, RNA는 물론 PNA (펩티드 핵산)을 포함할 수 있으며 또한 이것은 그의 하이브리드(hybrid)일 수 있다.

따라서 본 발명은 다음 (a) 내지 (f)로 이루어진 그룹 중에서 선택된 뉴클레이티드 서열을 포함하는 핵산 분자를 포함하는 약학조성물에 관한 것이다.

- (a) 여기에 정의된, 바람직하게는 서열 번호: 2, 4, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 30, 36, 39, 42, 44, 46, 48, 50, 52, 54, 56, 58 및 60에 주어진 것과 같은 이중 특이성 단일 쇄 항체 구조체의 아미노산 서열을 포함하는 단백질의 숙성 형태를 엔코딩 하는 뉴클레이티드 서열;
- (b) 서열 번호: 1, 3, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 29, 35, 38, 41, 43, 45, 47, 49, 51, 53, 55, 57 및 59에 주어진 것과 같은 DNA서열을 포함하거나 또는 이로 이루어진 뉴클레오티드 서열;
- (c) 엄격한 하이브리드 조건하에 (b)에 정의한 바와 같은 뉴클레오티드 서열의 상보적 가닥으로 하이브리드되는 뉴클레오티드 서열;
- (d) (a) 또는 (b)의 뉴클레오티드 서열에 의해 엔코딩되는 아미노산 서열의 하나 또는 여러 개 아미노산의 치환, 삭제 및/또는 부가에 의하여 (a) 또는 (b)의 뉴클레오티드 서열에 의해 엔코딩 되는 단백질로부터 유도된 단백질을 엔코딩 하는 뉴클레오티드 서열;

(e) (a) 또는 (b)의 뉴클레오티드 서열에 의해 엔코딩되는 아미노산 서열과 60% 이상이 동일한 아미노산 서열을 갖는 단백질을 엔코딩하는 뉴클레오티드 서열;

(f) (a) 내지 (e)의 어느 하나의 뉴클레오티드 서열에 대한 유전 부호의 결과로서 디제너레이트(degenerate)된 뉴클레오티드 서열.

용어 "단백질의 성숙형태"는 본 발명의 명세서에서 그의 상응하는 mRNA로부터 해독한 다음 임의로 변형되는 단백질로 정의한다.

용어 "하이브리드"은 상술한 본 발명의 명세서에서 정의되어 있다.

조절 서열이 본 발명의 약학조성물에 포함된 핵산 분자에 첨가될 수 있음은 당해분야의 기술자에게 명백하다. 예를 들면, 본 발명의 폴리뉴클레오티드의 유도 발현을 허용하는 프로모터, 전사 증강제 및/또는 본 발명의 폴리뉴클레오티드의 유도 발현을 시키는 서열이 사용될 수 있다. 적절한 유도 시스템은 예를 들어 Gossen and Bujard (Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89(1992), 5547-5551) 및 Gossen 등 (Trends Biotech. 12(1994), 58-62)에 기술된 바와 같은 테트라사이클린-조절 유전자 발현, 또는 예를 들어 Crook (1989) EMBO J. 5:13-519에 기술된 바와 같은 텍사메타손-유도 유전자 발현 시스템이다.

더욱이, 추가의 목적을 위하여 핵산 분자가 예를 들어 티오에스테르 결합 및/또는 뉴클레오티드 동족체를 함유할 수 있도록 고안된다. 상기 변형은 세포내의 엔도- 및/또는 엑소뉴클레아제에 대한 핵산 분자의 안정화에 유용할 수 있다. 상기 핵산분자는 세포내의 상기 핵산 분자의 전사를 행하는 키메라 유전자를 함유하는 적절한 벡터에 의해 전사될 수 있다. 이 점에서, 상기 폴리뉴클레이티드는 "유전자 표적" 또는 "유전자 치료" 방법을 위해 사용할 수 있는 것으로 이해된다. 또 하나의 실시태양에서 상기 핵산 분자가 표지된다. 핵산의 검출방법은 예를 들어 써던 및 노던 블로팅(blotting), PCR 또는 프라이머 확장(primer extension)으로 당해 분야에 공지되어 있다. 이 실시태양은 유전자 치료과정 중에 상술한 핵산분자의 성공적인 도입을 입증하는 방법을 스크리닝하는데 유용할 수 있다.

상기 핵산 분자(들)은 단독으로 또는 결합되게 전술한 핵산 분자의 어느 것을 함유하는 재조합 생산 키메라 핵산분자일 수 있다. 바람직하게는, 핵산분자는 벡터의 일부이다.

따라서 본 발명은 본 발명에서 기술된 핵산분자를 함유하는 벡터를 포함하는 약학조성물에 관한 것이다.

많은 적절한 벡터는 분자생물학의 기술자들에게 공지되어 있으며, 이들의 선택은 원하는 기능에 따라 달라진다. 이들은 플라스미드, 코스미드, 바이러스, 박테리오파지 및 유전공학에 통상적으로 사용되는 다른 벡터를 포함한다. 당해 분야의 기술자들에게 공지된 방법들은 다양한 플라스미드 및 벡터를 구성하는데 사용할 수 있다; 예를 들면 Sambrook 등 (loc. cit) 및 Ausubel, Current Protocols in Molecular Biology, Green Publishing Associates and Wiley Interscience, 뉴욕 (1989), (1994)에 개시된 기술. 이와는 달리, 본 발명의 폴리뉴클레오티드 및 벡터는 표적세포에 전달하기 위한 리포좀으로 재구성할 수 있다. 하기에 더욱 상세하게 논의한 바와 같이, 클로닝 벡터는 DNA의 개개 서열을 분리하는데 사용되었다. 관련된 서열은 특별한 폴리펩ти드의 발현이 필요한 발현벡터로 전달할 수 있다. 전형적인 클로닝 벡터는 pBluescript SK, pGEM, pUC9, pBR322 및 pGBT9를 포함한다. 전형적인 발현 벡터는 pTRE, pCAL-n-EK, pESP-1, pOP13CAT를 포함한다.

바람직하게 상기 벡터는 여기에 정의된 이중 특이성 단일 쇄 항체 구조체를 엔코딩 하는 상기 핵산 서열에 작동적으로 (operably) 결합된 조절서열인 핵산 서열을 포함한다.

이러한 조절서열 (조절 요소)는 기술자에게 공지되어 있으며 또한 인서트를 벡터 내에 도입하기 위한 프로모터, 스플라이스 카셋트, 해독개시 코돈, 해독 및 삽입 부위를 포함할 수 있다. 바람직하게는, 상기 핵산분자는 진핵 또는 원핵세포에서 발현시키는 상기 발현 조절 서열에 작동적으로(operably) 결합된다.

상기 벡터는 여기에 기술된 이중 특이성 단일 쇄 항체 구조체를 엔코딩하는 핵산분자를 포함하는 발현 벡터인 것으로 생각된다.

용어 "조절 서열"은 결착되어 있는(ligated) 코딩서열의 발현을 수행하는데 필요한 DNA 서열을 말한다. 상기 조절서열의 성질은 숙주 유기체에 따라 다르다. 원핵생물에서 조절서열은 일반적으로 프로모터, 리보좀 결합 부위, 및 종료자를 포함

한다. 진핵 생물에서 일반적으로 조절서열은 프로모터, 종료자 및 약간의 경우에 인핸서, 전사 활성제 또는 전사 인자를 포함한다. 상기 용어 "조절서열"은 최소한 그의 존재가 발현에 필요한 모든 성분들을 포함하는 것으로 의도되며, 또한 추가의 유리한 성분들을 포함할 수 있다.

용어 "작동적으로 결합된"(operably linked)은 전술한 성분들이 그들의 의도한 방식으로 기능하도록 하는 관계에 있는 병렬에 관한 것이다. 코딩서열에 "작동적으로 결합된" 조절 서열은 코딩서열의 발현이 조절서열에 부합하는 조건하에 달성되는 방식으로 결착(ligated)된다. 조절서열이 프로모터인 경우에, 이중-가닥 핵산이 바람직하게 사용되는 것은 당업자에게 자명하다.

따라서 인용된 벡터는 바람직하게는 발현 벡터이다. "발현 벡터"는 선택된 숙주를 변형시키기 위해 사용할 수 있는 구조체이며 또한 선택된 숙주에서 코딩 서열의 발현을 제공한다. 발현 벡터는 예를 들면 클로닝 벡터, 이원 벡터(binary vector) 또는 통합 벡터(integrating vector)일 수 있다. 발현은 바람직하게는 해독 가능한 mRNA로의 핵산분자의 전사를 포함한다. 원핵 및/또는 진핵 세포에서 발현을 보장하는 조절 요소는 당해 기술자들에게 잘 알려져 있다. 진핵 세포의 경우에 이들은 보통 전사의 개시를 보장하는 프로모터 및 선택적으로 전사의 종료 및 전사의 안정화를 보장하는 폴리-A 신호를 포함한다. 원핵 숙주세포에서 발현시키는 가능한 조절 요소는 예를 들어 *E. coli*에서 *P<sub>L</sub>*, *lac*, *trp* 또는 *tac* 프로모터를 포함하며 또한 진핵 숙주세포에서 발현시키는 조절요소의 예는 효모에서 *AOX1* 또는 *GAL1* 프로모터 또는 포유동물 및 기타 동물세포에서 CMV-, SV40-, RSV-프로모터 (라우스 육종 바이러스), CMV-인핸서, SV40-인핸서 또는 글로빈 인트론이다.

전사의 개시에 관여하는 요소 외에도, 이러한 조절 요소는 또한 전사 종료 신호, 예를 들어 SV40-폴리-A 장소 또는 tk-폴리-A 장소, 폴리뉴클레오티드의 하류를 포함할 수 있다. 또한, 사용된 발현 시스템에 따라, 폴리펩티드를 세포 구획에 향하게하거나 또는 이를 매체내에 분비할 수 있는 리더 서열(leader sequence)은 기술된 핵산 서열의 코딩 서열에 첨가할 수 있으며 또한 당해 분야에 잘 알려져 있다; 예를 들어 첨부된 실시예를 보라. 리더 서열(들)은 세포질 공간 또는 세포외 매체내로, 바람직하게는 해독된 단백질 또는 그의 일부의 분비를 지시할 수 있는 리더 서열, 및 해독, 개시 및 정지 서열과 함께 적절한 상으로 조합된다. 임의로, 이종 서열(heterologous sequence)은 원하는 특성, 예를 들어 발현된 재조합 생물의 안정화 또는 단순한 정체를 부여하는 N-말단 식별(identification) 웹티드를 포함한 융합단백질을 엔코딩 할 수 있다; 상기 참조. 본 명세서에서 적절한 발현 벡터는 당해 분야에 공지되어 있는데, 예를 들어 Okayama-Berg cDNA 발현 벡터 pcDV1 (Pharmacia), pEF-Neo, pCDM8, pRc/CMV, pcDNA1, pcDNA3 (인-비트로겐), pEF-DHFR 및 pEF-ADA, (Raum 등, Cancer Immunol Immunother (2001) 50(3), 141-150) 또는 pSPORT1 (GIBCO BRL).

바람직하게는, 발현 조절 서열은 진핵 숙주 세포를 형질전환 또는 형질변환(transfecting) 할 수 있는 벡터에서 진핵 프로모터 시스템일 것이다. 그러나 원핵 숙주에 대한 조절 서열이 또한 사용될 수 있다. 벡터가 적절한 숙주내로 도입되면, 숙주는 뉴클레오티드 서열의 높은 수준 발현에 적합한 조건하에 유지되며 또한 본 발명의 폴리펩티드의 수집 및 정제를 수반 할 수 있다; 참조 첨부된 실시예.

세포 사이클 상호작용 단백질을 발현하는데 사용될 수 있는 또 다른 발현 시스템은 곤충 시스템이다. 하나의 이러한 시스템에서, *Autographa californica* 핵 폴리헤드로시스 바이러스(AcNPV)는 *Spodoptera frugiperda* 세포 또는 *Trichoplusia* 유충에서 외래 유전자를 발현하기 위한 벡터로 사용된다. 기술된 핵산 분자의 코딩 서열은 다면형 유전자와 같은 바이러스의 비필수 도메인내로 클론화하며 또한 폴리헤드린 프로모터의 조절하에 위치시킬 수 있다. 상기 코딩 서열의 성공적인 삽입은 폴리헤드린 유전자를 비활성으로 만들며 또한 피복 단백질 피복이 부족한 재조합 바이러스를 생산한다. 다음에 재조합 바이러스는 본 발명의 단백질이 발현되는 *S. frugiperda* 세포 또는 *Trichoplusia* 유충을 감염시키는데 사용된다 (Smith, J. Virol. 46(1983), 584; Engelhard, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 91 (1994), 3224-3227).

추가의 조절 요소는 전사는 물론 해독 인핸서를 포함할 수 있다. 유리하게는, 본 발명의 상술한 벡터는 선별 가능한 및/또는 계수 가능한 마커를 포함할 수 있다.

형질 전환된 세포 및 예를 들어 식물조직 및 식물의 선별에 유용한 선별 가능한 마커 유전자는 당해 분야의 기술자에게 잘 알려져 있으며 또한 예를 들어 메토트렉세이트(methotrexate)에 대한 내성을 부여하는 dhfr (Reiss, Plant Physiol. (Life Sci. Adv.) 13 (1994), 143-149); 아미노글리코시드 네오마이신, 카나마이신 및 파로마이신에 내성을 부여하는 npt (Herrera-Estrella, EMBO J. 2 (1983), 987-995), 및 히그로마이신에 대한 내성을 부여하는 hygro (Marsh, 유전자 32 (1984), 481-485)에 대한 선별을 기반으로 하는, 항대사를 질 내성을 포함한다. 추가의 선별성 유전자, 즉 세포가 트립토판 대신에 인돌을 이용하는 trpB; 세포가 히스티딘 대신에 히스티놀을 사용하는 hisD (Hartman, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85 (1988), 8047); 세포가 만노스를 이용하는 만노스-6-포스페이트 아이소메라제 (WO 94/20627) 및 오르니틴 데

카르복실라제 억제제, 2-(디플루오로메틸)-D1-오르니틴에 대한 내성을 부여하는 ODC (오르니틴 데카르복실라제), DFMO (McConlogue, 1987, In: Current Communication in Molecular Biology, Cold Spring Harbor Laboratory ed.) 또는 블라스티시딘 에스에 대한 내성을 부여하는 아스퍼길루서 테레우스로부터 탈아미노효소 (Tamura, Biosci. Biotechnol. Biochem. 59 (1995), 2336-2338)가 기술되어 있다.

유용한 계수 가능한 마커는 또한 당해 분야의 기술자에게 알려져 있으며 또한 상업적으로 입수가능하다. 유리하게는, 상기 마커는 루시페라제 (Giacomin, Pl. Sci. 116 (1996), 59-72; Scikantha, J. Bact. 178 (1996), 121), 그린 형광 단백질 (Gerdes, FEBS Lett. 389 (1996), 44-47) 또는  $\beta$ -글루크로니다제 (Jefferson, EMBO J. 6 (1987), 3901-3907)를 코딩하는 유전자이다. 이 실시태양은 기술된 벡터를 함유하는 세포, 조직 및 유기물의 간단하고 빠른 스크리닝에 특히 유용하다.

상술한 바와 같이, 기술된 핵산분자는 단독으로 또는 벡터의 일부로서 사용하여 예를 들어 유전자 요법의 경우 세포 내에서 엔코딩된 폴리펩티드를 발현할 수 있다. 상술한 이중 특이성 단일 쇄 항체 구조체의 어느 하나를 엔코딩하는 DNA 서열(들)을 함유하는 핵산 분자 또는 벡터들은 세포내로 도입되어 관심있는 폴리펩티드를 생산한다. 생체내 또는 생체외 기술에 의해 세포 내로 치료 유전자를 도입하는 것을 기본으로 하는 유전자 요법은 유전자 전달의 가장 중요한 적용중의 하나이다. 생체내 또는 생체외 유전자 요법을 위한 적절한 벡터, 방법, 또는 유전자-전달 시스템은 문헌에 기술되어 있으며 또한 당해 분야의 기술자에게 공지되어 있다. 참조: Giordano, Nature Medicine 2 (1996), 534-539; Schaper, Circ. Res. 79 (1996), 911-919; 앤더슨, Science 256 (1992), 808-813; 베르마, Nature 389 (1994), 239; Isner, Lancet 348 (1996), 370-374; Muhlhauser, Circ. Res. 77 (1995), 1077-1086; Onodera, Blood 91 (1998), 30-36; Verma, 유전자 Ther. 5 (1998), 692-699; Nabel, Ann. N.Y. Acad. Sci. 811 (1997), 289-292; Verzeletti, Hum. 유전자 Ther. 9 (1998), 2243-51; Wang, Nature Medicine 2 (1996), 714-716; WO 94/29469; WO 97/00957, US 5,580,859; US 5,589,466; 또는 Schaper, Current Opinion in Biotechnology 7 (1996), 635-640. 기술된 핵산분자 및 벡터는 세포내로 직접 도입하거나 또는 리포좀을이나 바이러스성 벡터 (예, 아데노바이러스, 레트로바이러스)를 통한 주입을 위해 고안될 수 있다. 바람직하게는, 상기 세포는 병원균 세포주, 배아세포 또는 난세포이거나 또는 그로부터 유도된 것이며, 가장 바람직하게 상기 세포는 줄기세포이다. 배아줄기세포의 예는 특히 Nagy, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90 (1993), 8424-8428에 기술된 바와 같은 줄기세포일 수 있다.

상기에 따라, 본 발명은 여기에 정의된 이중 특이성 단일 쇄 항체 구조체의 폴리펩티드 서열을 엔코딩하는 핵산분자를 포함하는 유전공학에서 통상적으로 사용되는 벡터, 바람직하게는 플라스미드, 코스미드, 바이러스 및 박테리오파지를 유도하는 방법에 관한 것이다. 바람직하게, 상기 벡터는 발현 벡터 및/또는 유전자 전달 또는 표적화 벡터이다. 레트로바이러스, 백시니아 바이러스, 아데노-관련 바이러스, 헤르페스 바이러스, 또는 보바인 파릴로마 바이러스와 같은 바이러스로부터 유도된 발현벡터는 표적 세포 모집단에게 기술된 폴리뉴클레오티드 또는 벡터의 전달을 위해 사용할 수 있다. 당해 분야의 기술자에게 잘 공지된 방법은 재조합 벡터를 구성하는데 사용할 수 있다; 참조 예를 들어, Sambrook 등 (loc. cit), Ausubel (1989, loc cit) 또는 다른 표준 교과서에 기재된 기술들. 이와는 달리, 기술된 핵산 분자 및 벡터는 표적세포로의 전달을 위해 리포좀 내로 재구성할 수 있다. 본 발명의 핵산분자를 함유하는 벡터는 잘 공지된 방법에 의해 숙주 세포내로 전달하며, 이는 세포 숙주의 유형에 따라 달라진다. 예를 들면, 염화칼슘 형질변환(transfection)은 원핵세포를 위해 통상적으로 사용되는 반면, 인산칼슘 처리 또는 전기천공은 다른 세포 숙주를 위해 사용할 수 있다; 참조 Sambrook, supra.

기술된 벡터는 pEF-DHFR, pEF-ADA 또는 pEF-neo일 수 있다.

벡터 pEF-DHFR 및 pEF-ADA는 당업계에, 예를 들어 Mack 등 (PANAS (1995) 92, 7021-7025) 및 Raum 등 (Cancer Immunol Immunother (2001) 50 (3), 141-150)에 기술되어 있다.

본 발명의 약학 조성물은 여기에 정의된 벡터로 형질전환 또는 형질변환된 숙주를 포함하는 것으로 더욱 고안된다.

상기 숙주는 상술한 벡터의 하나 이상 또는 상술한 핵산 분자의 하나 이상을 숙주내로 도입하여 생산할 수 있다. 숙주내에 상기 하나 이상의 벡터 또는 하나 이상의 핵산 분자는 상술한 이중 특이성 단일 쇄 항체구조를 엔코딩하는 유전자의 발현을 매개할 수 있다.

숙주 내에 도입되는 상술한 핵산 분자 또는 벡터는 숙주의 계놈내에 통합하거나 또는 염색체외로 유지할 수 있다.

숙주는 원핵 또는 진핵세포일 수 있다.

용어 "원핵생물"은 본 발명의 단백질의 발현을 위한 DNA 또는 RNA 분자로 형질전환 또는 형질변환될 수 있는 모든 박테리아를 포함한다. 원핵 숙주는 그람 양성은 물론 그람 음성 박테리아 예를 들어 *E. coli*, *Serratia marcescens* 및 *Bacillus subtilis*를 포함할 수 있다. 용어 "진핵생물"은 효모, 고등 식물, 곤충 및 바람직하게 포유동물 세포를 포함하는 것을 의미한다. 재조합 생산 절차에서 사용된 숙주에 따라, 본 발명의 폴리뉴클레오티드에 의해 엔코딩된 단백질은 글리코실화 되거나 또는 비-글리코실화 될 수 있다. 특히 바람직한 것은 본 발명의 폴리펩티드의 코딩 서열을 함유하는 바이러스 또는 플라스미드의 사용이며 또한 여기에 N-말단 FLAS-tag 및/또는 C-말단 His-tag가 유전학적으로 융합된다. 바람직하게, 상기 FLAG-tag의 길이는 약 4 내지 8개 아미노산, 가장 바람직하게 8개 아미노산이다. 상술한 폴리뉴클레오티드는 당해 분야의 기술자들에게 통상적으로 공지된 기술의 어느 것을 사용하여 숙주를 형질전환 또는 형질변형 하는데 사용할 수 있다. 더욱이 융합, 작동적으로 연결된(operably linked) 유전자를 제조하고 이들을 포유동물 세포 및 균에 발현하는 방법은 당해 분야에 공지되어 있다 (Sambrook, loc cit).

바람직하게는, 상기 숙주는 균, 곤충, 진균, 식물 또는 동물 세포이다.

기술된 숙주는 포유동물 세포, 더욱 바람직하게 사람세포 또는 사람 세포주일 수 있도록 특별히 고안된다.

특히 바람직한 숙주세포는 CHO 세포, COS세포, SP2/0 또는 NS/0같은 골수종 세포주를 포함한다.

본 발명의 약학 조성물은 또한 세포 증식 또는 세포 자극에 유용한 면역 효과세포에 활성 신호를 제공할 수 있는 단백질계화합물을 포함할 수 있다.

단백질계 화합물은 상기 정의된 이중특이성 단일쇄 항체 구조체의 추가 도메인으로 이해되지 않고, 본 발명의 약학조성물의 적어도 하나의 추가 성분으로 이해된다.

본 발명에 비추어 보아, 면역효과 세포에 활성신호를 제공하는 상기 "단백질계 화합물"은 예를 들어 T세포의 추가 활성화 신호(즉 추가 분자: B7-페밀리, Ox40L, 4.1BBL의 분자), 또는 추가의 사이토카인: 인터루킨 (예, IL-2), 또는 NKG-2D 매개(engaging) 화합물일 수 있다. 단백질계 화합물의 바람직한 형태는 추가의 이중특이성 항체 및 단편 또는 그의 유도체, 예를 들어 이중특이성 scFv를 함유한다. 단백질계 화합물은 제한되지 않지만 T세포 수용체 또는 초항원에 특이성인 scFv 단편을 포함한다. 초항원은 MHC-독립적 방식으로 T세포 수용체 가변 부위의 특정한 서브 페밀리에 직접 결합하며 따라서 일차 T세포 활성화 신호를 매개한다. 단백질계 화합물은 또한 비-T세포인 면역 효과세포에 활성화 신호를 제공할 수 있다. 비-T세포인 면역효과 세포의 예는 특히 NK 세포를 포함한다.

본 발명의 약학조성물의 추가 기술적 특징은 상기 약학 조성물이  $\geq 37^{\circ}\text{C}$ 에서 열안정하다는 것이다.

본 발명의 또 하나의 실시태양은 본 발명의 약학 조성물의 제조방법에 관한 것이며, 상기 방법은 구조체를 발현시키는 조건하에 상기 정의된 숙주를 배양하고 상기 배양물로부터 생산된 이중특이성 단일 쇄 항체 구조체를 회수하는 것을 포함한다.

형질전환된 숙주는 발효조에서 성장하고 최적 세포성장을 달성하기 위해 당해 분야에 공지된 기술에 따라 배양한다. 이어서 본 발명의 폴리펩티드는 성장 배지, 세포 용해질, 또는 세포막 분획으로부터 분리할 수 있다. 예들 들어 본 발명의 미생물로 발현된 폴리펩티드는 임의의 기존의 수단 예를 들어 제조용 크로마토그래피법 분리(preparative chromatographic separations), 및 면역학적 분리 예를 들어 첨부된 실시예에 기술된 바와 같이 또는 본 발명의 폴리펩티드의 tag을 지시하는 모노클로날 또는 폴리클로날 항체의 사용을 수반하는 것일 수 있다.

발현시키는 숙주의 배양조건은 당해 분야에 공지되어 있으며 또한 상기에 논의되었다. 이것은 상기 구조체의 정제/회수 절차도 마찬가지이다.

본 발명의 또 다른 실시태양은 상기 정의한 바와 같은 이중특이성 단일쇄 항체 구조체, 상기 정의한 바와 같은 핵산 서열, 상기 정의한 바와 같은 벡터, 상기 정의한 바와 같은 숙주의 용도 및/또는 종양질환의 예방, 치료 또는 개선용 약학조성물의 제조를 위한 상술한 방법에 관한 것이다. 특히 본 발명의 약학 조성물은 암을 예방, 개선 및/또는 치료하는데 특히 유용 할 수 있다. 바람직하게는 상기 종양 질환은 상피 암 또는 최소 잔류 암이다.

상기 정의된 이중특이성 단일 쇄 항체 구조체, 핵산 분자 및 벡터는 단독으로 또는 임의의 조합으로 표준 벡터 및/또는 유전자 전달시스템을 사용하여, 또한 선택적으로 약제학적으로 허용되는 운반체 또는 부형제와 함께 투여된다. 투여 다음에, 상기 핵산 분자 또는 벡터는 대상의 세포에 안정하게 통합할 수 있다.

다른 한편, 바이러스 벡터는 특정한 세포 또는 조직에 특이성이며 또한 상기 세포에서 지속되는 것을 사용할 수 있다. 적절한 약학 운반체 및 부형제는 당해 분야에 잘 알려져 있다. 본 발명에 따라 제조된 약학 조성물은 상기 확인된 질병의 예방 또는 치료 또는 자연을 위해 사용할 수 있다.

더욱이 유전자 요법에서 상술한 핵산 분자 또는 벡터를 포함하는 본 발명의 약학 조성물을 사용할 수 있다. 적절한 유전자 전달 시스템은 다른 것 중에서 리포좀, 수용체-매개 전달 시스템, 네이키드(naked) DNA, 및 바이러스 벡터 예를 들어 헤르페스 바이러스, 레트로바이러스, 아데노바이러스, 및 아데노-관련 바이러스를 포함할 수 있다. 유전자 요법을 위한 몸체에서 특정 장소에 핵산의 전달은 또한 비비올리스틱(biolistic) 전달 시스템, 예를 들어 Williams (Proc. Natl. Acad. Sci. USA 88 (1991), 2726-2729)에 기술된 것을 사용하여 달성할 수 있다. 핵산의 전달을 위한 추가의 방법은 예를 들어 Verma. Gene Ther. 15 (1998), 692-699에 기술된 바와 같은 입자-매개 유전자 전달체를 포함한다.

더욱이, 본 발명은 상기 정의된 이중특이성 단일 쇄 항체 구조체, 상기 정의된 핵산 서열, 상기 정의된 벡터, 상기 정의된 및/또는 상기 정의된 방법에 의해 생산된 숙주를 유효량으로 필요로 하는 대상에게 투여하는 단계를 포함하는 종양질환의 예방, 치료 또는 개선 방법에 관한 것이다. 바람직하게 상기 대상은 사람이다.

본 발명의 예방, 치료 또는 개선 방법은 대상에게 면역효과 세포에 활성화 신호를 제공할 수 있는 상기 정의된 단백질계 화합물의 공동투여를 포함할 수 있다. 공동 투여는 동시 공동 투여 또는 비-동시 공동투여일 수 있다.

상기 종양 질환이 상피암, 바람직하게는 선암, 또는 최소 잔류 암, 바람직하게 초기 고형암, 진행된 고형암 또는 전이성 고형암인 본 발명의 용도 및 방법이 특히 바람직하다.

끝으로, 본 발명은 상기 정의된 이중특이성 단일 쇄 항체 구조체, 상기 정의된 핵산 서열, 상기 정의된 벡터, 및/또는 상기 정의된 숙주를 포함하는 키트에 관한 것이다. 또한 본 발명의 키트는 상술한 약학 조성물을 단독으로 또는 의약 치료 또는 간접을 필요로 하는 환자에게 투여할 추가의 약제와 조합으로 상기 기술된 약학조성물을 포함한다.

## 도면의 간단한 설명

도면들은 다음을 나타낸다.

도 1:

항-CD3-항-EpCAM 구조체의 DNA 및 아미노산 서열 A) 항-CD3 VHVL stL x 3-1 VHVL (서열 번호:11,12), B) 항-CD3 VHVL aL x 4-7 VHVL (서열 번호:1,2), C) 항-CD3 VHVL aL Ser x 4-7 VHVL (서열 번호:7, 8), D) 항-CD3 VHVL stL x 4-7 VHVL (서열 번호:13,14), E) 항-CD3 VHVL stL x 4-7 VLVH (서열 번호:15,16), F) 항-CD3 VHVL aL x 5-10 VHVL (서열 번호:3,4), G) 항-CD3 VHVL aL Ser x 5-10 VHVL (서열 번호:9, 10), H) 항-CD3 VHVL stL x 5-10 VHVL (서열 번호:17,18), I) 항-CD3 VHVL stL x 5-10 VLVH (서열 번호:19,20), J) 항-CD3 VHVL aL x 3-1 VHVL (서열 번호:45, 46), K) 항-CD3 VHVL aL Ser x 3-1 VHVL (서열 번호:47,48), L) 항-CD3 VHVL aL x 3-5 VHVL (서열 번호:49,50), M) 항-CD3 VHVL aL Ser x 3-5 VHVL (서열 번호:51,52), N) 항-CD3 VHVL stL x 3-5 VHVL (서열 번호:53,54), O) 항-CD3 VHVL aL x 4-1 VHVL (서열 번호:55,56), P) 항-CD3 VHVL aL Ser x 4-1 VHVL (서열 번호:57,58) 및 Q) 항-CD3 VHVL stL x 4-1 VHVL (서열 번호:59,60).

도 2:

CD3 양성 쥐르카트(Jurkat) 및 EpCAM-양성 카토(Kato) III 세포에서의 구조체의 FACS 분석 A) 항-CD3 VHVL stL x 5-10 VHVL (서열 번호:18), B) 항-CD3 VHVL stL x 4-7 VHVL (서열 번호:14), C) 항-CD3 VHVL aL x 5-10 VHVL (서열 번호:4), D) 항-CD3 VHVL aL x 4-7 VHVL (서열 번호:2), E) 항-CD3 VHVL aL Ser x 5-10 VHVL (서열 번호:10), F) 항-CD3 VHVL aL Ser x 4-7 VHVL (서열 번호:8), G) 항-CD3 VHVL stL x 3-1 VHVL (서열 번호:12), H) 항-CD3 VHVL stL x 5-10 VLVH (서열 번호:20) 및 I) 항-CD3 VHVL stL x 4-7 VLVH (서열 번호:16).

오른쪽으로의 변위(shift)는 결합을 나타낸다. 쥬르카트 및 카토 III 세포에서 점선은 음성 대조군(오직 이차 항체)의 변위를 나타내고, 대시 선(dashed line)은 항-EpCAM-항-CD3 대조 항체의 결합을 나타내고, 굵은 선은 관심대상의 이중특이성을 나타낸다.

### 도 3:

항-EpCAM-항-CD3- 구조체의 DNA 및 아미노산 서열 A) 4-7 VLVHx 항-CD3 VHVL (서열 번호:41,42), B) 3-5 VLVHx 항-CD3 VHVL (서열 번호:29,30), C) 3-1 VLVHx 항-CD3 VHVL (서열 번호:35,36), D) 4-1 VLVHx 항-CD3 VHVL (서열 번호:38,39) 및 E) 5-10 VLVHx 항-CD3 VHVL (서열 번호:43,44).

도 4: CD3 양성 쥬르카트 및 EpCAM-양성 카토 III 세포내의 구조체에서의 구조체의 FACS 분석 A) 4-7 VLVHx 항-CD3 VHVL (서열 번호:42), B) 3-5 VLVHx 항-CD3 VHVL (서열 번호:30), C) 3-1 VLVHx 항-CD3 VHVL (서열 번호:36), D) 4-1 VLVHx 항-CD3 VHVL (서열 번호:39) 및 E) 5-10 VLVHx 항-CD3 VHVL (서열 번호: 44). 오른쪽으로의 변위는 결합을 나타낸다.

### 도 5:

280 nm에서의 Zn-킬레이팅 Fractogel® 컬럼으로부터의 단백질 분획을 포함하는 EpCAM 이중특이성 항체의 대표적인 용출 패턴. 50-450 ml의 머무름 시간으로부터 280 nm에서의 높은 흡착은 통과한 컬럼내의 비 결합 단백질에 기인한다. 530.09 ml의 피크에서의 화살표는 사용된 또는 더 정제된 단백질 분획을 포함하는 EpCAM 이중특이성 구조체를 나타낸다.

### 도 6:

280 nm에서의 Sephadex®S200 겔여과 컬럼으로부터의 대표적인 용출 패턴. CD3 및 EpCAM에 대한 이중특이성 항체를 포함하는 82.66 ml에서의 단백질 피크는 분자량 ca. 52 kD에 해당한다. 분획은 40-140 ml 머무름 시간으로부터 수집되었다.

### 도 7

A) 3-1 x 항-CD3 (서열 번호:36)의 양이온 교환 크로마토그램은 단백질의 전체적인 전하 이소폼(isoform)을 나타낸다. 양이온교환크로마토그래피 MiniS®(Amersham) 컬럼에서 수행되었다. 20 mM MES 버퍼 pH 5.5로 세척한 후에, 단백질은 60 컬럼 부피에 1 M NaCl: 0-30%를 포함하는 용리 버퍼의 그래디언트로 용출되었다. 이중특이성 구조체는 23, 58 ml에서 용출되었다. 비특이성 단백질은 50 ml부터 시작하는 1 M NaCl로 용출되었다.

B) 5-10 x 항-CD3 (서열 번호:44)의 양이온교환크로마토그램은 단백질의 전체적인 전하 이소폼(isoform)을 나타낸다. 양이온교환크로마토그래피는 도 7A에서와 같이 수행되었다. 이중특이성 구조체는 35, 77 ml에서 숄더(shoulder)에서 용출되었다. 비특이성 단백질은 50 ml부터 시작하는 1 M NaCl로 용출되었다.

### 도 8:

A) EpCAM 이중특이성 단일 쇄 항체 단백질 분획의 대표적인 SDS-PAGE 분석. 레인 M: 분자량 마커 레인 1: 세포 배양 상청액; 레인 2: IMAC 흐름 통과; 레인 3: IMAC 세척; 레인 4: IMAC 용출물; 레인 5: 겔 여과로부터 얻은 EpCAM 및 CD3에 대한 정제된 항체.

B) 정제된 EpCAM 이중특이성 단일 쇄 항체 단백질 분획의 대표적인 웨스턴 븍Lot 분석 레인 1: 세포 배양 상청액; 레인 2: IMAC 흐름 통과; 레인 3: IMAC 세척; 레인 4: IMAC 용출물; 레인 5: 겔 여과로부터 얻은 EpCAM 및 CD3에 대한 정제된 항체.

### 도 9:

C-말단 EpCAM 결합체 항-CD3x3-1 (서열 번호:46), 항-CD3 x-5-10 (서열 번호:4), 및 항-CD3 x4-7 (서열 번호:2)의 세포독성 분석. CB15 T 세포 클론 및 CHO-EpCAM 세포가 E:T 비율 5:1에서 사용되었다. CHO-EpCAM 세포는 PKH26 염료로 염색되었고, 세포는 이중특이성 단일 쇄 항체 배양(incubation) 후에 FACS 분석으로 계수되었다.

## 도 10:

N-말단 EpCAM 결합체 3-1x항-CD3 (서열 번호:36), 및 5-10x항-CD3 (서열 번호:44)의 세포독성 분석. CB15 T 세포 클론 및 CHO-EpCAM 세포가 E:T 비율 5:1에서 사용되었다. CHO-EpCAM 세포는 PKH26 염료로 염색되었고, 세포는 이중특이성 단일 쇄 항체 배양(incubation) 후에 FACS 분석으로 계수되었다.

## 도 11:

A) EpCAM M79, HD70 및 3B10 의 VH 쇄의 CDR3와 비교된 EpCAM 3-1 (서열 번호:80), EpCAM 4-1 (서열 번호: 88), EpCAM 5-10 (서열 번호: 96), EpCAM 3-5 (서열 번호: 84), EpCAM 4-7 (서열 번호:92)의 VH 쇄의 CDR3의 서열 배열. NXD 모티프는 굵은 글자로 표시되었다.

B) 3-1x항-CD3 (서열 번호: 36), 5-10x항-CD3 (서열 번호:44), 항-CD3x4-7 (서열 번호:2) 및 항-CD3x5-10 (서열 번호:18)의 세포독성 활성도와 M79X항-CD3 및 HD70x항-CD3 대조군의 세포독성 활성도와의 비교. PBMC 세포 및 카토 III 세포는 E:T 비율 10:1에서 사용되었다. 카토 III 세포는 프로피디움 아이오다이드로 염색되었고, 이중특이성 단일 쇄 항체 배양(incubation) 후에 FACS 분석으로 계수되었다.

## 실시예

본 발명은 하기 생물학적 실시예의 인용에 의해 기술될 것이고, 이는 단지 설명하는 것뿐이지 본 발명의 범위를 제한하는 것으로 해석되어서는 않된다.

### 실시예 1: EpCAM 구조체의 클로닝 및 발현

다양한 구조 및 도메인 배열을 갖는 항-CD3 및 항-EpCAM을 포함하는 많은 구조체들이 생성되었다. 항체 3-1의 항-EpCAM VH 및 VL 가변 도메인들이 서열 번호:79, 80, 81, 82에서, 3-5은 서열 번호:83, 84, 85, 86에서, 4-1은 서열 번호:87, 88, 89, 90에서, 4-7은 서열 번호:91, 92, 93, 94에서 그리고 5-10은 서열 번호:95, 96, 97, 98에서 나타났다. 구조체들은 표1에 요약되었다.

**[표 1]**  
**항-CD3-항-EpCAM 및 항-EpCAM-항-CD3 구조체**

서열 번호: 구조체 No.	구조체	도메인 배열	특징
<b>항-CD3x항-EpCAM 구조체</b>			
서열 번호: 1,2	항-CD3x4-7	VH-VLXVH-VL	
서열 번호: 3, 4	항-CD3x5-10	VH-VLXVH-VL	
서열 번호: 45, 46	항-CD3x3-1	VH-VLXVH-VL	
서열 번호: 49, 50	항-CD3x3-5	VH-VLXVH-VL	
서열 번호: 55, 56	항-CD3x4-1	VH-VLXVH-VL	
서열 번호: 7, 8	항-CD3x 4-7Cys-Ser	VH-VLXVH-VL	Cys-Ser 돌연변이
서열 번호: 9, 10	항-CD3x 5-10Cys-Ser	VH-VLXVH-VL	Cys-Ser 돌연변이
서열 번호: 47, 48	항-CD3x3-1	VH-VLXVH-VL	Cys-Ser 돌연변이
서열 번호: 51, 52	항-CD3x3-5	VH-VLXVH-VL	Cys-Ser 돌연변이
서열 번호: 57, 58	항-CD3x4-1	VH-VLXVH-VL	Cys-Ser 돌연변이
서열 번호: 11, 12	항-CD3x3-1	VH-VLXVH-VL	(G <sub>4</sub> S) <sub>3</sub> -링커

서열 번호: 13, 14	항-CD3x4-7	VH-VLXVH-VL	(G <sub>4</sub> S) <sub>3</sub> -링커
서열 번호: 15, 16	항-CD3x4-7	VH-VLXVL-VH	(G <sub>4</sub> S) <sub>3</sub> -링커
서열 번호: 17, 181	항-CD3x5-10	VH-VLXVH-VL	(G <sub>4</sub> S) <sub>3</sub> -링커
서열 번호: 19, 20	항-CD3x5-10	VH-VLXVL-VH	(G <sub>4</sub> S) <sub>3</sub> -링커
서열 번호: 53, 54	항-CD3x3-5	VH-VLXVH-VL	(G <sub>4</sub> S) <sub>3</sub> -링커
서열 번호: 59, 60	항-CD3x4-1	VH-VLXVH-VL	(G <sub>4</sub> S) <sub>3</sub> -링커
<b>항-EpCAM- 항-CD3 구조체</b>			
서열 번호: 29, 30	3-5x항-CD3	VL-VHxVH-VL	
서열 번호: 35, 36	3-1x항-CD3	VL-VHxVH-VL	
서열 번호: 38, 39	4-1x항-CD3	VL-VHxVH-VL	
서열 번호: 41, 42	4-7x항-CD3	VL-VHxVH-VL	
서열 번호: 43, 44	5-10x항-CD3	VL-VHxVH-VL	

## 1.1 C-말단 EpCAM-결합체의 클로닝

### 1.1.1 항-CD3 PCR 생산물의 제조

#### a) 고유의 18 아미노산 링커를 갖는 항-CD3 구조체 (서열 번호:1, 2, 3 및 4)

18 아미노산 링커 (서열 번호:70)를 포함하는 N-말단 고유의 항-CD3 가 CD19xCD3 구조체(Loefler A et al., Blood 2000 95:2098-103)를 주형으로 사용하고 하기 프라이머를 사용하는 PCR에 의해 얻어졌다 (CD3 VH *BsrGI*: AGGTGTACACTCCGATATCAAACCTGCAGCAG (서열 번호:5), CD3 VL *BspEI*: AATCCGGATTTCAGCTCCAGCTTGG(서열 번호:6)).

#### b) CDRH3에서 고유의 18 아미노산 링커 및 Cys에서 Ser으로의 돌연변이를 갖는 항-CD3 구조체 (서열 번호 7,8, 9 및 10)

18 아미노산 링커 (서열 번호:70) 및 Cys에서 Ser으로의 돌연변이를 포함하는 N-말단 고유의 항-CD3 가 CD19x항-CD3 (C->S 돌연변이) 구조체를 주형으로 사용하고 프라이머 CD3 VH *BsrGI* 및 CD3 VL *BspEI* (서열 번호 5 및 6)를 사용하는 PCR에 의해 얻어졌다. Cys-Ser 돌연변이를 갖는 CDRH3 서열은 서열 번호:78에서 보인다.

#### c) (G4S)3 링커를 갖는 항-CD3-항-EpCAM 구조체 (서열 번호 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 및 20)

15 아미노산 표준 (G<sub>4</sub>S)<sub>3</sub> 링커 (서열 번호:99)를 갖는 N-말단 항-CD3 가 CD19xCD3 구조체(Loefler A et al., Blood 2000 95:2098-103)를 주형으로 사용한 PCR에 의해 얻어졌다. 항-CD3 VH 부위 및 항-CD3 VL 부위는 별개로 하기 프라이머에 의해 증폭되었다 (CD3 VH: CD3 VH *BsrGI*/AGGTGTACACTCCGATATCAAACCTGCAGCAG (서열 번호:5), 3'CD3 VH GS15 GGAGCCGCCGCCAGAACCAACCACCTGAGGAGACTGTGA GAGTGGTGCGCTTG (서열 번호:21); CD3 VL: 5'CD3 VL GS15 GGCGCGGCCGCTCCGGTGGTGGTCTGACATTCAAGCTGACCCAGTCTCC (서열 번호:22), CD3 VL *BspEI* AATCCGGATTTCAGCTCCAGCTTGG (서열 번호:6)). PCR 생산물에 도입된 중복 상보 염기서열이 사용되어 뒤이은 융합 PCR 동안에 15-아미노산 (G<sub>4</sub>S)<sub>3</sub> (단일 글자 아미노산 코드) (서열 번호:99) 링커의 코딩 서열을 형성하였다. 이 증폭단계는 프라이머 쌍 CD3 VH *BsrGI*(서열 번호:5) 및 CD3 VL *BspEI* (서열 번호:6)로 수행되었다.

### 1.1.2 VH항-CD3-VL항-CD3 x VH항-EpCAM-VL항-EpCAM 배향에서의 항-CD3x 항 EpCAM 구조체의 클로닝 (서열 번호:1,2, 서열 번호:3,4, 서열 번호:7,8, 서열 번호:9,10, 서열 번호:11,12, 서열 번호:13,14 및 서열 번호:17,18)

18 아미노산 링커 (서열 번호:70)를 포함하는 N-말단 고유의 항-CD3 또는 15 아미노산 표준 (G<sub>4</sub>S)<sub>3</sub> 링커 (서열 번호:99)를 포함하는 N-말단 고유의 항-CD3 가 제한 효소 *BsrGI* 및 *BspEI*로 절단되었고 뒤이어서 블루스크립트 KS 벡터 (Stratagene, La Jolla, CA)에 클로닝되었는데, 이는 진핵생물의 분비 신호(선도 웹티드)의 아미노산 서열을 EcoRI/

BsrGI-단편으로 포함한다. 이 구조체를 EcoRI 및 *Bsp*EI로 절단한 후에 이로 인한 각각의 선도 펩티드를 갖는 항-CD3 scFv를 포함하는 DNA 단편이, C-말단 EpCAM 결합체 3-1(서열 번호:79-82), 4-7(서열 번호:91-94), 또는 5-10(서열 번호:95-98)를 pEFDHFR내에 포함하는 EcoRI/*Bsp*EI 절단된 플라스미드에 클로닝되었다. pEFDHFR는 Mack et al. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 92 (1995) 7021-7025)에 기술되어 있다.

### 1.1.3. VH 항-CD3-VL 항-CD3 x VL 항-EpCAM-VH 항-EpCAM 배향에서의 항-CD3x 항 EpCAM 구조체의 클로닝(서열 번호: 15, 16, 19 및 20)

15 개의 아미노산 표준 링커(서열 번호:99)를 포함하는 VLVH 배향에서의 C-말단 항-EpCAM 항체 4-7(서열 번호:91-94)는 PCR에 의해 얻어졌다. 4-7 VH 부위 및 4-7 VL 부위는 별개로 하기 브라이머에 의해 증폭되었다(4-7 VL: 4-7 VL *Bsp*EI FOR CTGAAATCCGGAGGTGGATCCGAGCTCGTGATGACCCAGACTCC(서열 번호:100), 4-7 VL GS15 REV GGAGCCGCCGCCAGAACCAACCA CCACCTTGATCTCAAGCTTGGTCCCC(서열 번호:101); 4-7 VH: 4-7 VH GS15 FOR GGCGGCGGCGGCTCCGGTGGTGGTCTGAGGTGCAGCTGCTCGAGCAG(서열 번호:23), 4-7 VH *Sa*I REV TTTTAAGTCGACCTAATGATGATGAT-GATGATGTGAGGAGACGGTGACCGTGG(서열 번호:24)). 뒤이은 융합 PCR 동안 PCR 생산물에 도입된 중복된 상보적 서열(overlapping complementary sequences)이 사용되어 15-아미노산 ( $G_4S)_3$ (당일-문자 아미노산 부호) 링커(서열 번호:99)의 코딩 서열을 형성하였다. 이 증폭 단계는 브라이머 쌍 4-7 VL *Bsp*EI FOR 및 4-7 VH *Sa*I REV(서열 번호:100, 서열 번호:24)로 수행되었다.

15 아미노산 표준 링커(서열 번호:99)를 포함하는 VLVH 배향에서의 C-말단 항-EpCAM 항체 5-10(서열 번호:95-98)이 PCR에 의해 얻어졌다. 5-10 VH 부위 및 5-10 VL 부위는 별개로 하기 브라이머에 의해 증폭되었다(5-10 VL: 5-10 VL *Bsp*EI FOR CTGAAATCCGGAGGTGGATCCGAGCTCGTGATGACACAGTCTCCAT(서열 번호:25), 5-10 VL GS15 REV GGAGCCGCCGCCAGAACCAACCAACCTTGATCTCAAGCTTGGTCCCCAG(서열 번호:26); 5-10 VH: 5-10 VH GS15 FOR GGCGGCGGCGGCTCCGGTGGTGGTGGTCTGAGGTGCAGCTGCTCGAGC(서열 번호:27), 5-10 VH *Sa*I REV TTTTAAGTCGACCTAATGATGATGATGATGTGAGGAGACGGTGACCGTGG(서열 번호:28)). 뒤이은 융합 PCR 동안 PCR 생산물에 도입된 중복된 상보적 서열이 사용되어 15-아미노산 ( $G_4S)_3$  링커(서열 번호:99)의 코딩 서열을 형성하였다. 이 증폭 단계는 브라이머 쌍 5-10 VL *Bsp*EI FOR 및 5-10 VH *Sa*I REV(서열 번호:25, 서열 번호:28)로 수행되었다.

이들 PCR 생산물(5-10 VLVH 및 4-7 VLVH)은 *Bsp*EI 및 *Sa*I으로 절단되었고, pEFDHFR 내의 *Bsp*EI/*Sa*I 절단된 항-CD3 VHVL stLx5-10 VHVL(서열 번호:17, 18) 또는 항-CD3 VHVL stL x 4-7(서열 번호:13, 14) VHVL로 접합되어 5-10 VHVL DNA 단편을 대체하였다.

### 1.1.4. 항-CD3-EpCAM 구조체의 발현 및 결합

서열분석(sequencing)에 의해 이중특이성 단일 쇄를 코딩하는 서열을 확정한 후에, 진핵 발현을 위해 플라스미드를 DHFR 결핍 CHO 세포에 형질변환시켰다. DHFR 결핍 CHO 세포에서 진핵 단백질 발현은 Kaufmann R.J. (1990) Methods Enzymol. 185, 537-566)에 설명된 데로 수행되었다. 상기 형질변환된 세포는 그 다음에 확장되어, 1 리터의 상청액이 생산되었다. 이중특이성 단일 쇄 분자의 발현 및 결합은 FACS 분석에 의해 확인되었다. 이 목적을 위해 EpCAM 양성 인간 위암 세포주 카토 III(American Type Culture Collection (ATCC) Manassas, VA 20108 USA, ATCC number: HTB-103에서 구함)가 사용되었다. 항-CD3 부분의 결합은 쥐르카트 세포(ATCC TIB 152)에서 보여졌다.

세포는 공급자의 권고에 따라 배양되었고, 2%FCS가 첨가된 50 $\mu$ l PBS에서 ca. 200000 세포가 10 $\mu$ g/ml의 구조체와 함께 배양되었다. 구조체의 결합은 2%FCS가 첨가된 50 $\mu$ l PBS에서 2 $\mu$ g/ml의 항-His 항체(Penta-His 항체, BSA 없음, Qiagen GmbH, Hilden, FRG에서 구입)로 검출되었다. 두 번째 단계로, 2% FCS가 첨가된 50 $\mu$ l의 PBS 내에 1:100으로 회색된, 시약 R-피코에리트린-접합(R-Phycoerythrin-conjugated) 친화성 정제된 F(ab')<sub>2</sub> 단편, 염소 항-마우스 IgG, Fc-감마 단편 특이성 항체가 사용되었다(Dianova, Hamburg, FRG에서 구입). 샘플은 FACSscan(BD biosciences, Heidelberg, FRG)으로 측정되었다. 항-CD3 및 항-EpCAM을 포함하는 모든 구조체에서 선행기술의 항-EpCAM(M79)x항-CD3 이중특이성 항체에서보다 CD3 및 EpCAM에 대해 더 높은 결합 친화도를 보였다(도 2).

## 1.2 N-말단 EpCAM 결합체

### 1.2. 항-EpCAMx항-CD3 구조체의 클로닝

구조체 3-5x항-CD3 의 클로닝(서열 번호29, 30):

VH-VL 배향에서 C-말단 3-5는 3-5 x항-CD3 (서열 번호:29) 분자의 구성을 위해 PCR에 의해 얻어졌다. 단편 I 및 II는 각각 프라이머 쌍 me 81 (서열 번호:31) /me 90 (서열 번호:34) 및 me 83 (서열 번호:32) /me 84 (서열 번호:33)을 이용하여 PCR에 의해 증폭되었다. 핫 스타트 PCR (Hot Start PCR)이 Roche Diagnostics사의 Expand High Fidelity System을 사용하여 수행되었다. 20 주기 (94°C/30초; 60°C/1분; 72°C/1분) 가 증폭을 위해 사용되었고, 이어서 72°C에서 3분동안의 일 주기가 수행되었다..

PCR 단편 I 및 II는 1.5% 아가로스겔에서 전기영동을 수행하였다. 단편은 혼합되어 (각각 1 ng) 단편 III의 증폭을 위한 프라이머 쌍 me 81 (서열 번호:31) 및 me 84 (서열 번호:33)으로 수행되는 다음번 PCR 반응을 위한 주형으로 사용되었다. PCR은 상기 기술된 데로 수행되었다. 단편 III는 아가로오스 젤에서 정제되었고 BssHII 및 BspEI (Biolabs)으로 절단되었고, 정제되고 뒤이어서 pEF-dHFR-시그널 웨티드 (77/78) 항-CD3 클로닝 벡터의 상응하는 위치에 클로닝되었는데, 이 벡터는 항-CD3 부위 앞쪽의 항-목표 가변부위의 클로닝을 용이하게 한다. 이 벡터는 독특한 BssHII 장소를 시그널 웨티드 바로 뒤에 갖고 BspEI 장소인 링커 ( $G_4S$ ) 및 항-CD3 부위가 뒤를 잇는다. 클로닝된 부위는 제한 절단 및 DNA 서열분석으로 확인되었다.

사용된 프라이머의 서열은:

Me 81: 5'- GGA TGC GCG CGA GCT CGT GAT GAC CCA GAC TCCA CTC TCC -3' (서열 번호:31)

Me 83: 5'- GGT TCT GGC GGC GGC TCC GGT GGT GGT TCT GAG GTG CAG CTG CTC GA CAG TCT G -3' (서열 번호:32)

Me 84: 5' GTG CTC CGG AGG AGA CGG TGA CCG TGG TCC CTT GGC CCC AG -3' (서열 번호:33)

Me 90: 5' CCG GAG CCG CCG CCA GAA CCA CCA CCT TTG ATC TCA AGC TTG GTC CC -3'(서열 번호:34)

구조체 3-1x항-CD3 의 클로닝(서열 번호:35, 36):

VH-VL 배향에서 C-말단 3-1은 3-1 x항-CD3 (서열 번호:35) 분자의 구성을 위해 PCR에 의해 얻어졌다. 단편 I 및 II는 각각, 프라이머 쌍 me 91a (서열 번호:37) /me 90 (서열 번호:34) 및 me 83 (서열 번호:32) /me 84 (서열 번호:33)을 이용하여 PCR에 의해 증폭되었다. PCR은 상기와 같이 수행되었다.

PCR 단편 I 및 II를 포함하는 아가로스 젤은 단편 III의 증폭을 위한 프라이머 쌍 me 91a (서열 번호:37) 및 me 84 (서열 번호:33)로 수행되는 다음번 PCR 반응을 위한 주형으로 사용되었다. PCR은 상기 기술된 데로 수행되었으나, 다만 붙임 (annealing)은 60°C 대신 68°C에서 수행되었다. 단편 III는 아가로스 젤에서 정제되었고, BsrGI 및 BspEI (Biolabs)으로 절단되었고, 정제되고 뒤이어서 pEF-dHFR-M79 X 항-CD3 클로닝 벡터의 상응하는 위치에 클로닝되었다. 클로닝된 부위는 제한 절단 및 DNA 서열분석으로 확인되었다.

Me 91a: 5' GGA TTG TAC A CTCC GA GCT CGT CAT GAC CCA GTC TCC ATC TTA TCT TGC TGC -3'(서열 번호:37)

구조체 4-1x항-CD3 의 클로닝(서열 번호:38, 39):

VH-VL 배향에서 C-말단 4-1는 4-1 x항-CD3 (서열 번호:38, 39) 분자의 구성을 위해 PCR에 의해 얻어졌다. 단편 I 및 II는 각각, 프라이머 쌍 me 92a (서열 번호:40) /me 90 (서열 번호:34) 및 me 83 (서열 번호:32) /me 84 (서열 번호:33)을 이용하여 PCR에 의해 증폭되었다. PCR은 붙임 온도 60°C에서 상기 기술한 데로 수행되었다.

PCR 단편 I 및 II를 포함하는 아가로스 젤 단편은 단편 III의 증폭을 위한 프라이머 쌍 me 92a (서열 번호:40) 및 me 84 (서열 번호:33)로 수행되는 다음번 PCR 반응을 위한 주형으로 사용되었다. PCR은 상기 기술된 데로 수행되었으나, 다만

붙임(annealing)은 60°C 대신 68°C에서 수행되었다. 단편 III는 아가로스 겔에서 정제되었고, BsrGI 및 BspEI (Biolabs)으로 절단되었고, 정제되고 뒤이어서 pEF-dHFR-M79 X 항-CD3 클로닝 벡터의 상응하는 위치에 클로닝되었다. 클로닝된 부위는 제한 절단 및 DNA 서열분석으로 확인되었다.

Me 92a: 5' GGA TTG TAC A CTCC GA GCT CGT GAT GAC ACA GTCTCC ATC CTC C -3' (서열 번호:40)

#### 구조체 4-7x항-CD3의 클로닝(서열 번호:41,42)

VH-VL 배향에서 C-말단 4-7는 4-7 x항-CD3 (서열 번호:41,42) 분자의 구성을 위해 PCR에 의해 얻어졌다. 단편 I 및 II는 각각 프라이머 쌍 me 81 (서열 번호:31) /me 90 (서열 번호:34) 및 me 83 (서열 번호:32) /me 84 (서열 번호:33)을 이용하여 PCR에 의해 증폭되었다. PCR은 불임 온도 60°C에서 상기 기술한 데로 수행되었다.

PCR 단편 I 및 II를 포함하는 아가로스 겔 단편은 단편 III의 증폭을 위해 프라이머 쌍 me 81 (서열 번호:31) 및 me 84 (서열 번호:33)로 수행되는 다음번 PCR 반응을 위한 주형으로 사용되었다. PCR은 상기 기술된 데로 수행되었다. 단편 III는 아가로스 겔에서 정제되었고, BssHII 및 BspEI (Biolabs)으로 절단되었고, 정제되고 뒤이어서 pEF-dhfr-시그널 펩티드 (77/78)-항-CD3 클로닝 벡터의 상응하는 위치에 클로닝되었다. 클로닝된 부위는 제한 절단 및 DNA 서열분석으로 확인되었다.

#### 구조체 5-10x항-CD3 의 클로닝(서열 번호:43, 44):

VH-VL 배향에서 C-말단 5-10는 5-10 x항-CD3 (서열 번호:43, 44) 분자의 구성을 위해 PCR에 의해 얻어졌다. 단편 I 및 II는 각각, 프라이머 쌍 me 92a (서열 번호:40) /me 90 (서열 번호:34) 및 me 83 (서열 번호:32) /me 84 (서열 번호:33)을 이용하여 PCR에 의해 증폭되었다. PCR은 불임 온도 60°C에서 상기 기술한 데로 수행되었다.

PCR 단편 I 및 II를 포함하는 아가로스 겔 단편은 단편 III의 증폭을 위해 프라이머 쌍 me 92a (서열 번호:40) 및 me 84 (서열 번호:33)로 수행되는 다음번 PCR 반응을 위한 주형으로 사용되었다. PCR은 상기 기술된 데로 수행되었는데, 다만 불임(annealing)은 60°C 대신 68°C에서 수행되었다. 단편 III는 아가로스 겔에서 정제되었고, BsrGI 및 BspEI (Biolabs)으로 절단되었고, 정제되고 뒤이어서 pEF-dhfr-M79 X 항-CD3 클로닝 벡터의 상응하는 위치에 클로닝되었다. 클로닝된 부위는 제한 절단 및 DNA 서열분석으로 확인되었다.

#### 1.2.2 항-EpCAMx항-CD3 이중특이성 분자의 발현

DHFR 유전자가 결핍된 CHO-세포는 10% 태아 송아지 혈청 (Life Technologies, 65°C에서 30분동안 열 비활성화) 및 HT (하이포잔틴 및 티미딘(hypoxanthin and Thymidine); Life Technologies, cat. no: 41065-012)를 보충한 알파 MEM 배지 (Life Technologies, cat.no: 32561)에서 유지되었다. 그 세포는 pEF-dHFR-3-1x항-CD3 (서열 번호:35, 36), pEF-dHFR-3-5x항-CD3 (서열 번호:29, 30), pEF-dHFR-4-1x항-CD3 (서열 번호:38, 39), pEF-dHFR-4-7x항-CD3 (서열 번호:41, 42) 및 pEF-dHFR-5-10x항-CD3 (서열 번호:43, 44)로 Lipofectamine 2000 kit (Invitrogen; cat. no:11668-019)를 사용하여 제작자의 지시에 의해 형질 변환되었다. 48시간후에, 세포는 형질변환된 세포를 열에 의해 비활성된 10% 투석된 태아의 송아지 혈청 (Life Technologies)을 포함하는 선택 배지(알파 MEM 배지 (cat. no:32561)로 옮김으로써 선택되었다. 선택 2-3주후, 세포는 2리터 Tissue culture Roller Bottles (Falcon (cat. no: 353068:Becton Dickinson Labware)에서 이중특이성 분자를 생산하기 위해 8내지 9일 (선택배지의 500 ml에서)동안 키웠다. 조직 배양 배지는 4°C, 10분간 300g (1300rpm)에서 원심분리하여 세포 및 세포 찌꺼기를 제거하였다. 분비된 이중특이성 분자를 포함하고 있는 상청액은 더 이상의 분석이 있을 때까지 0°C에서 보관하였다.

#### 1.2.3 이중특이성 항 EpCAMx 항 CD3 변이체의 결합 분석

본 발명의 이중특이성 항-EpCAMx항-CD3 단일 쇄 구조체의 결합력을 분석하기 위하여, 하기 결합 분석이 수행되었다.

250000 쥐르카트 세포 (CD3 결합을 위함) 및 카토 세포 (EpCAM 결합을 위함)가 독립적으로 이중특이성 구조체를 포함하는 조 상청액 (50 μl)와 함께 45분간 4°C에서 배양되었다. 그후에, 세포는 FACS 버퍼 (포스페이트-버퍼의 식염수 1% 태아의 송아지 혈청 (FCS) 및 0.05% 소디움 아자이드)로 두번 세척되었고, 마우스 항-His 항체 (Dianova,DIA910)과 함께 60분동안 4°C에서 항온 보관되었다. 세척단계는 상기와 같이 수행되었다.

세포는 최종적으로 염소 항-마우스-FITC-결합 항체 (BD 550003) 또는 항-마우스-PE 결합 항체 (IgG) (Sigma, P8547) 과 함께 항온 보관되었다. 세척 단계 후에, FACS Calibur (B&D)를 이용하여 10,000 번의 경우가 분석되었다. 모든 EpCAM 구조체가 강한 결합을 나타냈다 (도 4).

## 실시예 2. EpCAM 구조체의 정제

항-EpCAM 및 항-CD3를 포함하는 이중특이성 단일 쇄 구조체를 정제하기 위해, CHO-EpCAM 세포를 회전병(roller bottles)에서 HiClone® CHO 변형된 DMEM 배지 (HiQ)로 7 일간 배양후 수확하였다. 세포는 원심분리에 의해 제거되고, 발현된 단백질을 포함하는 상청액은 -20°C에서 보관되었다.

Aekta FPLC 시스템® (Pharmacia) 및 Unicorn 소프트웨어®가 크로마토그래피를 위해 사용되었다. 모든 화학제품은 연구 등급이고 Sigma (Deisenhofen) 또는 Merck (Darmstadt)로부터 구입하였다.

IMAC이 수행되었는데, 제작자의 프로토콜에 의해 ZnCl<sub>2</sub> 를 적재한 Fractogel® 컬럼 (Pharmacia)을 사용하였다. 컬럼은 버퍼 A2 (20 mM NaPP pH 7.5, 0.4 M NaCl)으로 평형화되었고, 세포 배양 상청액 (500ml)을 3 ml/분의 유속으로 컬럼 (10ml)에 적용하였다. 컬럼은 버퍼 A2로 세척하여 결합되지 않은 샘플을 제거하였다. 결합된 단백질은 버퍼 B2 (20 mM NaPP pH 7.5, 0.4 M NaCl, 0.5 M 이미다졸)의 2-단계 그래디언트로 용출되었다.

단계 1에서 10 컬럼 부피의 20%의 버퍼 B2가 사용되었고 단계 2에서는 10 컬럼 부피의 100% 버퍼 B2가 사용되었다. 100% 단계로부터 용출된 단백질 분획은 추가의 정제를 위해 모여졌다.

겔 여과 크로마토그래피가 PBS (Gibco)로 평형화된 Sephadex S200 HiPrep® 컬럼 (Pharmacia)에서 수행되었다. 용출된 단백질 샘플 (유속 1ml/분)에 대해 검출을 위해 SDS-파지(SDS-Page) 및 웨스턴 블롯을 수행하였다.

컬럼은 문자량 결정(문자량 마커 키트, Sigma MW GF-200)을 위해 미리 눈금조정되었다.

단백질 농도는 단백질 분석 염료 (MicroBCA, Pierce) 및 IgG (Biorad)를 사용하여 표준 단백질로 측정하였다. 단백질의 수율은 표 2에 보인다. 모든 구조체는 생산가능했다.

**[표 2]**  
**항-EpCAM 및 항-CD3를 포함하는 단일-쇄 이중특이성 구조체의 수율**

구조체	수율 [배양 리터당 정제된 단백질 μg]
4-1 x 항-CD3 (서열 번호:39)	172.5
3-5 x 항-CD3 (서열 번호:30)	265
4-7 x 항-CD3 (서열 번호:42)	37
항-CD3 x 4-7. (서열 번호:2)	112.5
항-CD3 Cys-Ser x 4-7 (서열 번호:8)	140
3-1 x 항-CD3 (서열 번호:36)	265
5-10 x 항-CD3 (서열 번호:44)	400
항-CD3 x 5-10 (서열 번호:4)	195

추가의 고 해상도 양이온교환크로마토그래피가 MiniS® 컬럼 (Amersham)에서 수행되었고, 20mM MES 버퍼 pH 5.5로 평형되었다. 샘플은 동일한 버퍼를 사용하여 컬럼에 적재하기 전에 1:3으로 희석하였다. 결합된 단백질은 60 컬럼 부피내의 1M NaCl: 0-30%의 평형 버퍼를 사용하여 용출되었다. 남아있는 단백질은 3 컬럼 부피의 1M NaCl로 용출되었다(도 7).

EpCAM 이중특이성 단일 쇄 구조체 단백질은 고정된 금속 친화성 크로마토그래피 (IMAC) (**도 5**) 및 겔 여과 (**도 6**)를 포함하는 두 단계 정제에 의해 분리되었다. 주요 생산물은 PBS에서 겔 여과에 의해 측정된 것이 본래 조건에서 분자량이 52 kDa 이었다.

정제된 이중특이성 단백질은 환원조건하에서 SDS PAGE에서 분석되었고 미리주조된 4~12% Bis Tris 겔 (Invitrogen)에서 수행되었다. 샘플 제조 및 응용은 제작자의 프로토콜에 의하였다. 분자량은 MultiMark® 단백질 표준 (Invitrogen)에 의해 측정되었다. 겔은 콜로이드 Coomassie (Invitrogen protocol)에 의해 염색되었다. 분리된 단백질의 순도는 >95% 이상이었다 (**도 8A**). 웨스턴 블롯이 제작자의 프로토콜에 따라 Optitran BA-S83® 막 및 Invitrogen Blot Module에 의해 수행되었다. 사용된 항체는 Penta His (Qiagen) 및 알칼리 포스포테이즈 (AP) (Sigma)로 표지된 염소-항-마우스-Ig 이고, 발색성의 기질 용액은 BCIP/NBT 액체 (Sigma)이었다. EpCAM 이중특이성 단백질은 웨스턴 블롯에 의해 특이적으로 탐지될 수 있었다 (**도 8B**). 주 신호는 정제된 이중특이성 분자에 상응하는 SDS PAGE에서의 52 kD의 주 밴드에 상응한다.

### 실시예 3. 항-CD3 and 항-EpCAM를 포함하는 구조체의 세포독성 분석

항-EpCAM 및 항-CD3 를 포함하는 구조체의 생활성을 측정하기 위해 FACS 기반의 세포독성 테스트가 수행되었다.

세포독성 테스트를 위해, American Type Cell Culture Collection (ATCC, Manassas, USA)으로부터의 CHO 세포가 상피세포 부착 분자 (EpCAM)로 형질변환되었다. 이 형질변환으로부터 유래된 A 세포 클론은 CHO-EpCAM 이라고 불리는 데, 이 실험을 위해 사용되었다. CHO-EpCAM ( $1.5 \times 10^7$ ) 세포는 혈청이 없도록 PBS로 두 번 세척하였고, 제작자의 지시에 따라 PKH26 염료(Sigma-Aldrich Co.)로 항온 보관되었다. 그 후 염색된 세포는 RPMI/10% FCS로 두번 세척하였다.

세포는 계수되었고 CB15 작동 세포와 섞여졌다. CD4-양성 T 세포 클론 CB15은 독일의 Erlangen/Nuernberg 대학의 피肯셔 박사(Dr. Fickenscher)에 의해 제공되었다. 세포는 공급자의 권고에 따라서 배양되었다. 결과물인 세포 혼탁액은 ML 당 400,000 표적 및  $2 \times 10^6$  작동 세포를 포함하였다. 둥근 바닥 플레이트의 96웰에 웰당 혼합물 50  $\mu\text{l}$ 가 사용되었다.

항체는 RPMI/10% FCS에서 요구되는 농도로 희석되었고, 이용액의 50  $\mu\text{l}$  가 세포 혼탁액에 첨가되었다. 표준 반응은 16시간동안 37°C/ 5% CO<sub>2</sub>에서 항온 보관되었다. 프로피디움 아이오디움이 최종농도 1  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 로 첨가되었다. 10분의 상온에서의 항온 보관후 세포는 FACS에 의해 분석되었다. PKH26 형광이 표적 세포의 양성 식별을 위해 사용되었다. S자꼴 만곡의 분량 반응 커브는 전형적으로 Prism Software (GraphPad Software Inc., San Diego, 미국)에 의해 결정된바 대로  $R^2$  값 >0.97을 가지고 있었다. (**도 9 및 10**). 분석 프로그램에 의해 계산된 EC<sub>50</sub> 값은 생활성의 비교를 위해 사용되었다. 본 발명의 모든 구조체는 선행 기술 구조체 M79x항-CD3 (8628 pg/ml)보다 적어도 50배의 더 나은 세포독성(최대 EC50-값 169 pg/ml)을 보였다.

### 실시예 4. 항-EpCAM 및 항-CD3를 포함하는 구조체의 BIACore™ 2000에 의한 EpCAM에 대한 결합 친화도의 측정

본 발명의 구조체의 우수한 결합 친화도를 보이기 위해, 구조체의 KD 값 및 선행기술 항-EpCAM 구조체 (M79)x항-CD3의 값이 측정되었다.

동적 결합 실험이 BIACore™ 2000의 표면 플라즈몬 공명(surface plasmon resonance), 유속 5  $\mu\text{l}/\text{분}$ 의 Biacore AB (Uppsala, 스웨덴), 및 작동 버퍼(running buffer)로서 HBS-EP (0.01 M HEPES, pH 7.4, 0.15 M NaCl, 3 mM EDTA, 0.005% 표면활성제 P20)를 사용하여 25 °C에서 수행되었다. EpCAM 항원(잔기 17~265)의 세포외 도메인은 CM5 센서 칩에 있는 흐름실(flow cell) 2~4에 고정되었다. 칩 표면은 80  $\mu\text{l}$  의 0.1 M 소디움-하이드록시숙시니미드, 0.4 M N-에틸-N'(3-디메틸아민프로필)-카르보디이미드 (NHS/EDC)를 주입함으로써 활성화되었다. 항원은 0.01 M 소디움-아세테이트, pH 4.7 내의 60  $\mu\text{g}/\text{mL}$  EpCAM를 수동 주입함에 의해 커플되었다. 상이한 농도의 항원이 흐름실 2~4에 고정되어서 수동 주입 시간의 양을 조정하였다. 흐름실1은 흐름실2가 가장 높은 농도의 EpCAM (4100 RU)으로 피복되는 동안 비워놓았다. 흐름실3은 흐름실2에 고정된 항원의 양의 1/4 (974RU)로 피복되었고 흐름실4는 가장 적은 농도의 Ep-CAM 항원 (265 RU)으로 피복되었다. 센서칩의 활성화된 표면은 막았고 85  $\mu\text{l}$ 의 1M 에탄올아민을 주입하고, 칩은 하루밤동안 HBS-EP 의 5  $\mu\text{l}/\text{분}$ 의 일정한 흐름으로 평형화시켰다.

이중특이성 구조체의 결합 역학은  $10\mu\text{l}$ 의 단백질 용액을  $4 \mu\text{M}$  내지  $0.07 \mu\text{M}$ 의 농도로 주입하였고, 100초동안 해리를 감시함으로써 측정하였다. 단백질은 HBS-EP에서 완충되었다. 데이터는 BIAevalution™ 소프트웨어를 사용하여 적합화되었고, 해리 및 연합 역학은 1:1 랑무르 결합 방정식(Langmuir binding equation) (1,2)을 사용하여 결정하였다. 여기서, A는 주입된 피분석물의 농도이고 B[0]는 Rmax이다.

$$\frac{dA}{dt} = -(ka * [A] * [B] - kd * [AB]) \quad (1)$$

$$\frac{dB}{dt} = -(ka * [A] * [B] - kd * [AB]) \quad (2)$$

역학 결합 커브는 분석된 각각의 이중특이성 구조체의 네 개의 농도에서 결정하였다. 원시 데이터의 독립적인 피팅은 평형 해리 상수(KD) 계산에 사용되는 해리 및 연합 속도 상수를 낳았다. 계산된 KD 값은 신뢰할만한 데이터 분석을 나타내는 농도에 대해 무편향을 보였다. 표준 편차뿐 아니라 독립적으로 결정된 해리 상수의 평균이 표3에 요약되었다.

분석된 이중특이성 구조체는 잘 정의된 친화성 범위 내의 침 표면에 고정된 Ep-CAM 항원에 결합한다. 계산된 평균 해리 상수의 표준 편차는 기대치와 같았다.

**[표 3]**  
EpCAM에 결합하는 이중특이성 구조체의 해리 상수.

	KD (M)
M79 x 항-CD3 (대조군)	$4.0 \times 10^{-6}$
4-1 x 항-CD3 (서열 번호:39)	$2.5 \times 10^{-7}$
3-5 x 항-CD3 (서열 번호:30)	$2.3 \times 10^{-7}$

선행기술의 항-EpCAM x 항-CD3 구조체 M79xCD3 는  $4.0 \times 10^{-6}$  M 의 KD 값을 가진 반면 놀랍게도 본 발명의 구조체는  $2.3 \times 10^{-7}$ - $2.5 \times 10^{-7}$  M 의 KD 값을 보였다. 그래서, 본 발명의 구조체는 선행 기술의 구조체보다 15배 이상의 강한 결합 친화도를 가졌다.

#### 실시예 5. 본 발명의 구조체와 선행 발명의 구조체의 세포 독성 활성의 비교

NXD 모티프를 갖는 구조체의 생-활성(bioactivity)을 기준의 M79xCD3 및 HD70xCD3 구조체와 비교하기 위해 하기 세포 독성 분석이 수행되었다.

카토 III 세포 (ATCC HTB-103)는 표적 세포로 사용되었고, 5% CO<sub>2</sub> 가습된 항온기내에서, 10%의 태아 송아지 혈청을 추가한 RPMI에서 키웠다. 아합류성 (Subconfluent) 배양은 0.25%의 트립신으로 처리되었고, 노이바우어실 슬라이드 (Neubauer chamber slide)에서 계수되었으며 트리판 블루 배제(trypans blue exclusion)에 의해 생명력이 검사되었다. 95% 이상의 생명력을 보인 배양만이 세포독성 분석에 사용되었다. 표적 세포는 PKH26 형광 막 염료로 제작자의 지시대로 염색되었다(Sigma-Aldrich GmbH, 독일, PKH26-GL). 세포수는 RPMI 완전 배지(complete medium)에서  $8 \times 10^5$  cells/ml로 조정되었다.

인간의 말초 혈액 세포 (PBMCs)는 작동 세포로서 사용되었고 건강한 제공자로부터 피콜 밀도 구배 원심분리(ficoll density gradient centrifugation)를 사용하여 분리하였고 뒤이은 100 x g 원심분리로 혈소판을 제거하였다. 침전물은 10 볼륨의 적혈구 용해 버퍼에 다시 혼탁하였고 실온에서 10분간 항온 보관하였다. 용해 반응은 PBS의 침가로 중지되었다.

PBMC는 RPMI 1640 완전 배지에 다시 혼탁되었고 세포수는  $8 \times 10^6$  cells/ml로 조정하였다.

동일한 분량의 표적 및 작동 세포 혼탁액이 혼합되었고 50  $\mu\text{l}$ 의 이 혼탁액이 96웰 둑근 바닥 플레이트의 각 웰에 옮겨졌고, 50  $\mu\text{l}$ 의 EpCAM 이중특이성 항체 계단 회색 또는 RPMI 완전 배지가 음성 대조군으로 첨가되었다. 플레이트는 가습 항온기내에서, 37°C, 5% CO<sub>2</sub>에서 16 내지 20시간동안 항온 보관되었다. 50  $\mu\text{l}$ 의 프로피디움 아이오다이드가 최종 농도 1  $\mu\text{g/ml}$ 로 첨가되었고 15분간 실온에서 항온보관되었다. 샘플은 흐름 세포 측정기 (FACSCalibur, Becton Dickinson)에 의해 분석되었다. 2x10<sup>4</sup> 번의 경우가 계수되었다.

표적 세포는 그들의 PKH26 형광 표지로 식별되었고, 뒤이어서 이 모집단내의 세포독성을 측정하였다. 생세포수는 죽은 세포로부터 프로피디움 아이오다이드 염색에 의해 분리되었고 죽은 표적 세포의 백분율이 세포독성을 위한 치수로서 사용되었다. 중앙값은 로그눈금에서 이중특이성 항체의 농도에 대해 플롯하였고, 용량 반응 커브를 얻었다 (도 11B). 상응하는 EC<sub>50</sub> 값이 GraphPad Prism 소프트웨어를 사용하여 데이터의 비선형 꾸팅(fitting)후에 얻어졌다.

NXD 모티프를 갖는 구조체의 (서열 번호:36, 44, 2 및 18) 세포독성 활성을 기준의 구조체 M79x항-CD3 및 HD70-x항-CD3와 비교하였다 (Fig. 11B). 3-1, 5-10, 4-7, 3-5 및 4-1의 VH쇄의 CDR3 부위의 서열 배열이 M79, HD70 및 3B10 와 함께 도 11A에 나타냈다. 오직 3-1, 5-10, 4-7, 3-5 및 4-1 가 NXD를 가졌고, 게다가 CDR3 부위의 길이가 다르다. 도 11A에서 보는 바와 같이, 3-1, 4-1 및 5-10은 10개의 아미노산의 CDR-H3부위를 가지고 있고, 3-5 및 4-7은 14 아미노산을 가지고 있는 반면, 선행기술 M79는 8 아미노산을, 3B10는 6 아미노산을, 그리고 HD70은 18 아미노산을 가지고 있다.

서열 번호: 36, 44, 2 및 18 은 기준의 79 및 HD70 구조체 (선행기술 구조체의 71460 및 11327 pg/ml와 각각 비교하여 2250 pg/ml 이하)와 비교하여 확실히 더 나은 생활성을 보이는 것은 본 발명의 구조체의 유리한 효과를 나타낸다.

### (57) 청구의 범위

#### 청구항 1.

이중특이성 단일 쇄 항체 구조체를 포함하는 약리학적 조성물로서, 상기 구조체는 도메인 두 개 이상을 포함하거나 두 개 이상으로 이루어지고, 상기 도메인들 중 하나는 인간의 EpCAM 항원에, 그리고 두번째 도메인은 인간의 CD3 항원에 결합하고, 그리고 그 EpCAM에 특이성을 갖는 결합 도메인은 바람직하게는 서열 번호: 80, 88 및 96 의 102 내지 104 위치에, 또는 바람직하게는 서열 번호: 84 및 92 의 106 내지 108 위치에 아미노산 서열 NXD를 포함하는 하나 이상의 CDR-H3 부위를 포함하고, 이때 X 는 방향족 아미노산인 약리학적 조성물.

#### 청구항 2.

제1항에 있어서, X 가 W 또는 Y 인 약리학적 조성물.

#### 청구항 3.

제1항 또는 제2항에 있어서, CDR-H3가 9개 이상의 아미노산 잔기를 포함하는 약리학적 조성물.

#### 청구항 4.

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 EpCAM에 특이성을 갖는 결합 도메인이  $5 \times 10^{-9} \text{ M}$  을 초과하는 K<sub>D</sub> 값을 갖는 약리학적 조성물.

#### 청구항 5.

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 EpCAM에 특이성을 갖는 결합 도메인이  $1 \times 10^{-7}$  내지  $5 \times 10^{-9}$  M의  $K_D$  값을 갖고 상기 CD3에 특이성을 갖는 결합 도메인이  $1 \times 10^{-6}$  내지  $5 \times 10^{-9}$  M의  $K_D$  값을 갖는 약리학적 조성물.

### 청구항 6.

이중특이성 단일 쇄 항체 구조체를 포함하는 약리학적 조성물로서, 상기 구조체는 도메인 두 개 이상을 포함하거나 두 개 이상으로 이루어지고, 상기 도메인들 중 하나는 인간의 EpCAM 항원에 특이적으로 결합하고, 두번째 도메인은 인간의 CD3 항원에 결합하고, 그리고 그 EpCAM에 특이성을 갖는 결합 도메인은 9개 이상의 아미노산 잔기의 CDR-H3 부위를 하나 이상 포함하고, 상기 EpCAM에 특이성을 갖는 결합 도메인은  $5 \times 10^{-9}$  M 이상의  $K_D$  값을 갖는 약리학적 조성물.

### 청구항 7.

제1항 내지 제6항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 CD3에 특이성을 갖는 결합 도메인이  $10^{-7}$  M을 초과하는  $K_D$  값을 갖는 약리학적 조성물.

### 청구항 8.

제1항 내지 제7항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 CDR-H3 부위가 14개 이상의 아미노산을 포함하는 약리학적 조성물.

### 청구항 9.

제1항 내지 제8항 중 어느 한 항에 있어서, 인간의 EpCAM 항원에 특이성을 갖는  $V_H$  쇄 도메인이:

- (a) 서열 번호: 80, 서열 번호: 84, 서열 번호: 88, 서열 번호: 92, 및 서열 번호: 96에서 나타나는 것과 같은 아미노산 서열;
- (b) 서열 번호: 79, 서열 번호: 83, 서열 번호: 87, 서열 번호: 91 및 서열 번호: 95에 나타나는 것과 같은 핵산 서열에 의해 코딩되는 아미노산 서열;
- (c) 엄격한 하이드리드 형성 조건(stringent hybridization conditions)하에서 (b)에 기술된 핵산 서열의 상보성 가닥과 하이브리드를 형성하는 핵산 서열에 의해 코딩되는 아미노산 서열; 및
- (d) (b) 또는 (c)의 뉴클레오티드 서열에 대한 유전 부호의 결과로서 디제너레이티된(degenerated) 핵산 서열에 의해 코딩되는 아미노산 서열

로 이루어지는 그룹으로부터 선택되는 약리학적 조성물.

### 청구항 10.

제1항 내지 제9항 중 어느 한 항에 있어서, 인간의 EpCAM 항원에 특이성을 갖는  $V_H$  쇄 도메인이:

- (a) 서열 번호: 82, 서열 번호: 86, 서열 번호: 90, 서열 번호: 94 및 서열 번호: 98에서 나타나는 것과 같은 아미노산 서열;
- (b) 서열 번호: 81, 서열 번호: 85, 서열 번호: 89, 서열 번호: 93 및 서열 번호: 97에 나타나는 것과 같은 핵산 서열에 의해 코딩되는 아미노산 서열;

(c) 염격한 하이드리드 형성 조건하에서 (b)에 기술된 핵산 서열의 상보성 가닥과 하이브리드를 형성하는 핵산 서열에 의해 코딩되는 아미노산 서열; 및

(d) (b) 또는 (c) 의 뉴클레오티드 서열에 대한 유전 부호의 결과로서 디제너레이티된(degenerated) 핵산 서열에 의해 코딩되는 아미노산 서열

로 이루어지는 그룹으로부터 선택되는 약리학적 조성물.

### 청구항 11.

제1항 내지 제10항 중 어느 한 항에 있어서, CD3 항원에 대해 특이성을 갖는 결합 도메인이 X35-3, VIT3, BMA030 (BW264/56), CLB-T3/3, CRIS7, YTH12.5, F111-409, CLB-T3.4.2, TR-66, WT32, SPV-T3b, 11D8, XIII-141, XIII-46, XIII-87, 12F6, T3/RW2-8C8, T3/RW2-4B6, OKT3D, M-T301, SMC2, WT31 및 F101.01로 이루어지는 그룹으로부터 선택되는 항체로부터 유래하는 약리학적 조성물.

### 청구항 12.

제1항 내지 제11항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 이중특이성 단일 쇄 항체 구조체가:

(a) 서열 번호: 2, 4, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 30, 36, 39, 42, 44, 46, 48, 50, 52, 54, 56, 58 및 60에서 나타나는 것과 같은 아미노산 서열;

(b) 서열 번호: 1, 3, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 29, 35, 38, 41, 43, 45, 47, 49, 51, 53, 55, 57 및 59에 나타나는 것과 같은 핵산 서열에 의해 코딩되는 아미노산 서열;

(c) 염격한 하이드리드 형성 조건하에서 (b)에 기술된 핵산 서열의 상보성 가닥과 하이브리드를 형성하는 핵산 서열에 의해 코딩되는 아미노산 서열; 및

(d) (b) 또는 (c) 의 뉴클레오티드 서열에 대한 유전 부호의 결과로서 디제너레이티된(degenerated) 핵산 서열에 의해 코딩되는 아미노산 서열

로 이루어지는 그룹으로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함하는 약리학적 조성물.

### 청구항 13.

제1항 내지 12항 중 어느 한 항에 의해 정의된 이중특이성 단일 쇄 항체 구조체를 코딩하는 핵산 서열을 포함하는 약리학적 조성물.

### 청구항 14.

제13항에서 정의된 핵산 서열을 포함하는 벡터를 포함하는 약리학적 조성물.

### 청구항 15.

제14항에 있어서, 상기 벡터는 제13항에 기술된 핵산 서열에 작동적으로(operably) 연결된 조절 서열을 더 포함하는 약리학적 조성물.

### 청구항 16.

제14항 또는 제15항에 있어서, 상기 벡터가 발현 벡터(expression vector)인 약리학적 조성물.

### 청구항 17.

제14항 내지 제16항 중 어느 한 항에 기술된 벡터로 형질전환되거나 또는 형질변환된 숙주를 포함하는 약리학적 조성물.

### 청구항 18.

제1항 내지 제17항 중 어느 한 항에 있어서, 면역 작동 세포(immune effector cells)에 대한 활성 신호를 제공할 수 있는 단백질의 화합물을 더 포함하는 약리학적 조성물.

### 청구항 19.

제1항 내지 제18항 중 어느 한 항에 있어서, 약리학적 조성물이 37°C 이상에서 열안정을 갖는(thermostable) 약리학적 조성물.

### 청구항 20.

제1항 내지 제19항 중 어느 한 항에 기술된 약리학적 조성물의 생산 방법으로서, 그 방법이 제1항 내지 제12항 중 어느 한 항에 기술된 이중특이성 단일 쇄 항체 구조체의 발현을 허용하는 조건하에서 제17항에 기술된 숙주를 배양하는 단계와, 그 배양으로부터 생산된 이중특이성 단일 쇄 항체 구조체를 회수하는 단계를 포함하는 생산 방법.

### 청구항 21.

제1항 내지 제12항 중 어느 한 항에 기술된 이중특이성 단일 쇄 항체 구조체, 제13항에 기술된 핵산 서열, 제14항 내지 제16항 중 어느 한 항에 기재된 벡터, 제17항에 기재된 숙주 및/또는 제20항에 기재된 방법에 의해 생산된 숙주의 용도로서, 종양 질병의 예방, 치료 또는 개선을 위한 약리학적 조성물의 제조를 위한 용도.

### 청구항 22.

종양 질병의 예방, 치료 또는 개선을 위한 방법으로서, 그러한 예방, 치료 또는 경감이 필요한 객체에 대해 제1항 내지 제19항 중 어느 한 항에 기술된 약리학적 조성물을 투여하는 단계를 포함하는 방법.

### 청구항 23.

제22항에 있어서, 상기 객체가 인간인 방법.

### 청구항 24.

제21항의 용도 또는 제22항 또는 제23항의 방법에 있어서, 상기 종양 질병이 상피 암 또는 최소 잔류 암인 용도 또는 방법.

청구항 25.

제1항 내지 제12항 중 어느 한 항에 기술된 이중특이성 단일 쇄 항체 구조체, 제13항에 기술된 핵산 서열, 제14항 내지 제16항에 기술된 벡터, 제17항에 기술된 숙주 및/또는 제20항에 기술된 방법에 의해 생산된 숙주를 포함하는 키트.

## 도면

## 도면 1A

A) 항-CD3 VHVL stL x 3-1 VHVL (K 엘 번호 : 11)

도면1A계속

ATTTTGCAATGTATTACTGTCACAGCATAATGAAATATCCGGTACACGTTGGAGGGGGACCAAGCTTGAGATC  
AAACATCATCACCATCATTTAG

(서열 번호 : 12)

DIKLQOSGAELARGASVKMSCKTISGYTFTRYTMHWVKORPGQGLEWIGYINPSRGYTNYNQKFKDKA  
SSSTAYMQLSSLTSEDSAVVYCARYDDHYCLDYWGQGTTLVSSGGGSGGGGSGGGSDIQLTQSPA  
IMSAS PGEKVMTMTCRASSSVSYMNWQQKSGTSPKRWIVYDTSKYAVSGVPYRFSGSGSGTYS  
SLTIS SMEAEDATYYCQ QWSSNPLTFGAGTKLEIKSGGGSEVQOLLEQSGAELVKPGASV  
KISCKASGYAFTNYWLGVWKORPGHGLEWIG DLFPGSQNTHYNERFRGKATLTADKSSSTA  
FMQLSSLTSEDAVYFCARLRNWDEAMDYWGQGTTVTVSSGGGG SGGGGGGGSELVMTQSPSYLA  
ASPGETITINCRASKSISKYLLAWYQERPGKTNKLIIYSGSTLQSGIPSRFS GSGSGTDDFTLT  
ISSLEPEDFAMYCQQHNEYPYTFGGGTKEIKHHHHHH

## 도면 1B

B)  $\bar{\text{H}}\text{t}$ -CD3 VHVL al x 4-7 VHVL (K열 번호 : 1)

GATATCAAAC TGCAAGCAGTCAAGGGCTGAAC TGGCAAGACCTGGGCCTCAGTGAAAGATGTCCCTGCAAGACTTC  
TGGCTACACCTTA CTTACTAGGTACACGATGCCACTGGGTA AAAACAGGGCCTGGACAGGGCTGGATGGATTGGAT  
ACATTAATCCTAGGCCGTTATACTAATTCAAATCAGAAGTTCAAGGACAAGGCCACATTGACTACAGACAAAA  
TCCTCCAGCACGCCCTACATGCCAACTGAGCAGCTGACATCTGAGGACTCTGGCAGTCTGAACTTGCTATTACTGTGCAAGATA  
TTATGATGATCATTA CTGCTT GACTACTGGGCCAAGGCCACACTC TCACAGCTCCCTCAGTCAGCTGAACTTGCT  
GTGGAGGTTCTGGTGGAAAGTGGAGGTTCAGGTGGAGTTCAGGTGACCGACATTCAAGCTGACCCAGTCTCCAGCAATCATG  
TCTGCATCTCCAGGGAGAAGGTCAACATGACCTGGCAGAGCCAGTTCAAGTGTAAAGTTACATGAACTTGTTACCA  
GCAGAAGTCAGGCACCTCCCCAAAAGATGGATTATGACZACATCCAAAGTGGCCTTCTGGAGTGTCCCTTATCGCT  
TCAGTGGCAGTGGTCTGGGACCTCATACTCTCACAAATCAGCAGCATGGGGCTGAAGATGTGCCACTTAT  
TACTGCCAACAGTGGAGTAGTAACCCGCTCACGTTCGGTGTGGGACCAAGCTGGAGCTGAAATC CGGAGGGGG  
TGGATCCGAGGTGAGCTGGCAGGTGCTGAGCTGAGCTGAGCTGAGCTGAGCTGAGCTGAGCTGAGCTGAGCT  
GCAAGGGTTCTGGCTACACCTTCACAAACTATGGTTAA GTCTTACTACATGAGAAGTTCAAGGGCAAGGCCACACTGAC  
TGGATTGGAGAGGGTTATCCTAGAATGGTAATGGCTTACTACATGAGAAGTTCAAGGGCAAGGCCACACTGAC  
TGCAGACAAATCCTCCAGCACAGCGTCCATGGAGCTCCGGCAGCTGACCTCTGAGGACTCTGGGTCTATTCT  
GTGCAAGACGGGGATCCTAGATACTA ACTACGACTGGTACTTCGATGTTCTGGGGGGCTCCGGGGGGTCTGGGTG  
GTCTCCCTCAGGTGGTGGGGTCTGGAGATCAAGGCTCCATCTCTTGAGCTGGTGTGACCTGAGCT  
TCCACTCTCCCTGCTGCTGAGCTTGGAGATCAAGGCTCCATCTCTTGAGATCTAGTCAGAGCCCTTGACACA  
GTAATGAAAACACCTTACATTACATTGGTACCTGCAAGGCCAGGGCAGTCTCCAAG

도면1B계속

CTCCCTGATCTACAAGTTCCAACCGATTCTGGGTCCCAGACAGGTTCAAGTGGCAGTCAGTGGGATCAGGGACAGA  
TTTCACACTCAAGATCAGCAGAGTGGAGGCTGAGGATCTGGGAGTTATTCTGCCTCTCAAAGTACACATGTT  
CGTACACGTTGGAGGGGACCAAGCTTGAGATCAAACATCATCACCATTAG

(서열 번호 : 2)

DIKIQQSGAELARP GASVKMSCKTSGYTFTTRYTMHWVKOREGQGLEWIGYINPSRGYTNYNQKEFKDKATLTTDK  
SSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCARYDDHYCLDYWGQGTTILTVSSVEGGSGGGSGGGVDDIQLTQSPAIM  
SASPGEKVIMTCRASSSVSYMMWYQQKSQTSPKRWLYDTSKVVASGVPYRFSGSGTSYSLTISSMEEADAATY  
YCQQWSNSNPLTFGAGTKLELKSGGGSEVQOLLEQSGAELARP GASVKLSCASGYTFTNYGLSWVKORPGQVLE  
WIGEVYPRIGNAYNEKFKGKATLTADKSSTASMEILRSLTSEDSAVYFCARRGSYDTNYDWYFDVWGGTTVT  
VSSGGGGGGGGGGSELVMTQTPSLPVSLGDQASISCRSSQSLVHSNGNTYLHWYLQKPGQSPKLLIYKV  
SNRFSGVVPDRFSGSGSGTDFTLIKISRVEAEDLGVYFCQSOTHVPYTFGGGTKLEIKHHHHHH

## 도면 1C

C)  $\bar{\text{Hg}}\text{-CD3 VHVL}$  al Ser x 4-7 VHVL (서열 번호 : 7)

GATATACTGAGCAGTCAGGGCTGAACCTGGCAAGACTGGCTCAGTGAAAGATGTCCCTGCAGAACCTTC  
TGGCTACACCTTAATAGGTAACCGATCTGGACTGGTAAACAGGGCTGGACAGGGCTGGATGGATGGAT  
ACATTATCCTAGCCGTTATACTATTACAATCTGAAGGTCAGAAGGCAAGGCCACATTGACTACAGACAAA  
TCCCTCCAGCACGCCCTACATGCCACTGGGACTCTGAGCTGACATCTGAGGACTCTGGAGTCTGAATGGAGATA  
TTATGATGATCATTAATCTCCCTGACTACTGGGCCAAGGCACACTCAGCTCAGTCCAGTCCAGCAATCATG  
GTGGAGGTTCTGGTGGAAAGTGGAGGTTCAGTGGAGTGCACGACATTAGTGAACCCAGTGAAGTCAAGTGT  
TCTGGCATCTCCAGGGAGAAGGTCAACCATTGACCTGCAAGGCCAGTCAAGTGTAAAGTTACATGAACTGGTACCA  
GCAGAAAGTCAGGCCACCTCCCCAAAGATGGATTATGACACATCCAAAGTGGCTTCTGGAGTGCCTTATCGCT  
TCAGTGGCAGTGGCTGGGACCTCATTACTCTCACAAATCAGCAGGATGGAGGTGAAGATGCTGCACATT  
TACTGCAACAGTGGAGTAGTAAACCCGCTCACGTTGGTGGGACCAAGCTGGAGCTGAAGATCGGAGGTGG  
TGGATTCGAGGTGAGCTGCTCGAGCAGTGGCTGAGCTGGGAGGCTGGGGCTTCAAGTGAAGCTGTCC  
GCAAGGGTTGGCTACACCTTCACAAACTATGGTTAACGGTGGGAGCAGGGCTGGACAGGGTCTGTGAG  
TGGATTGGAGGGTTTATCCTAGAATTGGTAATGGCTTAATGAGAAGTTCAGGGCAAGGCCACACTGAC  
TGCAGACAAATCCTCCAGCACAGCGTCCATGGAGCTGGCTGACCTCTGAGGACTCTGGGTCTATTCT  
GTGCAAGACGGGGATCCTACAGATACTACAGACTGGTACTTCAGTGGTGGGCTGGGGCTGGGGTCTGG  
GTCTCCCTCAGGTGGTGGTTCTGGGGGGCTGGTCTGGGGGGCTGGGGGGCTGGGGGGCTGGGGGG  
TCCACTCTCCCTGCTGTCACTGGAGATCAAGGCTCCATCTTGGAGATCTAGTCAGAGGCCCTTGACACA  
GTAATGAAACACTATTACATGGTACCTGCAAGGCCAGGGCCACTCTCCAAAGGCTCCAGTACAAAGTT  
TCCAACCCGATTTCTGGGGGGCCAGACAGGGTCACTGGGAGGATCAGGGACAG

도면1C계속

ATTCACACTAAGATCAGCAGAGTGGAGGCTGAGGATCTGGAGTTATTCTGCTCAAAGTACACATGTT  
 CCGTACACGTTGGAGGGGACCAAGCTTGAGATCAAACATCATACCATTAG

(서열 번호 : 8)

- DIKLQQSGAELARP GASVKMSCKTSGYTFTRYTMHWVKORPGQGLEWIGYINPSRGYTNYNQKFKD KATLTTDK  
 SSSTAYMOLSSLTSEDSAVYYCARYDDHYSLDYWGQGTTLLTVSSVEGGGGSGGGSGGGVDDIOLTQSPAIM  
 SASPGEKVMTCRASSSVSYMNWYQQKSGTSPKRWIYDTSKVAVGVYRFSGSGGTYSLSLTISSMEEADAATY  
 YCQQWSNPLTFGAGTKLEIKSGGGGSEVQLEQSGAEELARPGASVKILSCKASGYFTFTNYGLSSWVKQRPGQVLE  
 WIGEVYPRIGNAYNEKFKGKATLTADKSSTASME LRSLTSEDSAVYFCARRGSYD TNYDWYFDW MGQGTIVT  
 VSSGGGGSGGGGGGGSELVMTQTPSLPVSLGDQASISCRSSQSOLVHSNGNTYLHWYLQKPGQSPKLLIYKV  
 SNRFGSVPDRFSGSGSGTIDETLKISRVEAEDLGVYFCSQSTHV PYTFGGGT KLEIKHHHHHH

## 도면 1D

D) 항-CD3 VHVL stL x 4-7 VHVL (서열 번호 : 13)

GATATCAAACGTGAGCAGTCAGGGCTGAACCTGGCAAGACCTGGGCCCTCAGTGAAGATGTCTTGCAGACTTC  
TGGCTACACCTTACTAGGTACACGATGGCACTGGTAAACAGGGCTGGACAGGGTCTGGAATGGATTGGAT  
ACATTAATCCTAGCCGTGGTTATACTAATTACAATCAGAAGTCAAGGACAAGGCCACATTGACTACAGACAAA  
TCCTCCAGCACGGCTACATGCAACTGAGCAGCCCTGACATCTGAGGACTCTGCACTGCTATTACTGTGCAAGATA  
TTCAGTCTCAGGCAACCCTCAGCTGACCATTCAGCTGACCCAGTCTCAGGCACTGGTACCATGAACTGGTACCGAGAAC  
TCTGGGGAGAACGGTACCATGACCTGAGGCCAGTTCAAGTGTAACTGAACTGGTACCGAAC  
AGGGACCTCCCCAAAAGATGGATTAGACACATTCAAGCAGCATGGAGCTGGAGGCTTGAAAGATGCCACTTATTACTTGCCAA  
GTGGGTCTGGACCTCTACAATCAGGGCTACAGTTCGGTCTACGTTACCCGGTCAAGTGGGACCAAGCTGGAGCTGA  
CAGTGGGAGTAGTAAACCCGGTCAAGTGGGACCAAGCTGGAGCTGGGGCTTCAGTGAAGGCTGTCCCTGCAGGGCT  
GGTGCAGCTGCTCGAGCAGTCTGGAGGCTGAGCTGGGGCTGGGAGCTGGGGCTGGGGCTGGGGCTGGGGCT  
CTGGGTAACACCTCACAAACTATGGTTAAGCTGGGTGAAGCAGGGCTGGACAGGGCTGGTCAAGGGCAACACTGAGACAA  
GAGGTTTATCCTAGAATTGGTAATGCTACTACAATGAGAAGTCAAGGACTCTGGGGCTATTTCTGTGCAAGAC  
ATCCTCCAGCACAGCGTCCATGGAGCTCCGAGCTGACCTGAGCTGGTACTTCGATGTCTGGGGCCAAAGGGAC  
GGGGATTCAGGATAACTACAGACTGGTACTGGTACTTCGATGTCTGGGGCCAAAGGGAC  
GGTGGTGGTTCTGGGGGGGGCTGGGGCTGGGGTCTGAGCTCGTGA  
CCTGCCTGTCAAGTCTGGAGATCAAGCCTCCATCTTGCAGATCTAGTCAGGCTTGTACAGTCAAGCT  
ACACCTATTACATTGTTACTGTGAGAAGCCAGGCCAGTCTCCAAAGCTCCTGATCTACAAAGTTCAGGACAGATTCA  
TTTCTGGGGTCCAGACAGGTTCAAGTGGCAGTGGGCTAGTGGCAGTGGGCTACAC

도면1D계속

TCAAGATCAGCAGGAGTGGAGGCTGAGGAATCTGGAGTTATTCTGCTCAAAGTACACATGTTCCGTACACG  
TTCGGAGGGGGACCAAGCTGAGATCAAACATCATCACCATCATCATAG

(서열 번호 : 14)

DIKLQQSGAELARPAGASVKSCKTSGYTFTRYTMHWVKQRPGQGLEWIGYINPSRGYTNYNQKFKDZATLTTDK  
SSSTAYMQLSSLTSEDSAVYICARYDDHYCLDYWGQGTTLTIVSSGGGSGGGGSDIQLTQSPAIRMSAS  
PGERVVTMTCRASSSVSYMNWYQQKSGTSPKRWIYDTSKVASGVPYRFSGSGSGTSYSLTISSMEEADEATYYCQ  
QWSSNPLTEFAGGTKEIKSGGGSEVOLLEQSGAEELARPAGASVKLSSCKASGTYFTNYGLSWVKQRPGQVLEWIG  
EVYPRIGNAYYNEKEFKGKATLTADKSSSTASMEIRSITSED SAVYFCARRGSYDTNYDWYFDVWQGQTTVTVSS  
GGGSGGGSGGGSELYMTOPLSLPVSLQGDOASISCRSSQSLVHSNGNTYLHWYLQKPGQSPKLLIYKVSNR  
FSGVPDRSGSGGTDFTLKISRVEAADLGVYFCSQSTHVPTFGGTKLEIKHHHHHH

도면 1E

E) 항-CD3 VHVL stL x 4-7 VLVI (A열 번호 : 15)

GATATCAAACCTGAGCCAGTCAGGGCTGAACCTGCCAAGACCTGGGCCCTCAGTGAAGATGTCTGCAGAACCTTC  
TGGCTACACCTTAACCTAGGTACACGATGCCACTGGTAAACAGAGGCCCTGGACAGGGCTGGATAATGGATTGGAT  
ACATTAATCCTAGCCGTGGTTATACATAATTACAATTCAGAAGTCAAGGACAAGGCCACATTGACTACAGACAAA  
TCCTCCAGCACGCCATGCCAACTGAGCAGCCATGAGGACTCTGCACTTGAGGACTCTGCACTTACTGTGCAAGATA  
TTATGATGATCATTACTGCCCTGACTACTGGGCCAAGGCACCACTCTCACAGTCTCCTCAGGTGGTGTGGTT  
CTGGGGGGGGGGCTCGGGTGTGTTCTGACATTCACTGACCTGACCCAGTCTCCAGCAATCATGTCATCTGCATCT  
CCAGGGGGAGAAGGTCAACCAGACCTGAGGCCAGTTCAAGTGTAAAGTTACATGAACACTGGTACCCAGGAAGTC  
AGGGACCCCTCCCCAAAGATGGATTATGACACATCCAATGGCTCTGGAGTCCCTTATCGCTTCAGTGGCA  
GTGGGTCTGGGACCTCATACTCTCACAAATCAGCAGCATCGAGGTGAAGATGCTGCCACTTATTACTGCCAA  
CAGTGGAGTAGTAACCCGCTCACGTTGGCTGGGACCAAGCTGGAGGCTGAATACTGGAGGGGGGGATCCGA  
GCTCGTGTGATGACCCAGACTCACAATTACATGGTACAGTCTGGAGATAAAGCTCCATCTGGAGATCTCAAGTCT  
AGGGCCAGGGCCAGGTTCAAGGATTAATGGTACACAGTTCAACCCATTACATGGTACACAGTTCAAGTACACATGTT  
GTCAGAGGCCTGTACACAGTTCAAAAGTTCAACCGATTCTGGGGTCCCAAGACAGGTTCAAGTACACATGGT  
CTCCCTGATCTACAAAGTTCAACCCATTACATGGTACACAGTTCAAGTACACAGTTCAAGTACACATGGT  
TTTCAACACTCAAGATCAGGAGTGGGGCTGAGGATCTGGGAGTTTCTGGGGTCAAGGATCAAGTACACATGGT  
CGTACACGGTCTGGAGGGGACCAAGCTGGAGTCAAGGTTGAGCTGCTGGGGGCTGGGGCTCTGGGGT  
GGTGGTTCTGAGGTGAGCTGCTGGGAGGCTGGCTGAGCTGAGGCTGGGAGGGCTGGGAGGGCTGGGACAGGGT  
CTGCAAGGGCTCTGGCTACACCTTCACAAACTATGGTTAACCTGCTGGGTTAACATGGGTTAACATGGGTT  
AGTGGATGGAGAGGTTATCCCTAGAAATTGGTAATGGCTTACATCAAAACTATGGTTAACCTGCTGGGTTAACATGGG  
ACTGGCAGACAAAATTCTCCAGGACACAGGGTCCCATGGAGCTCCGCAGGCCACACTG

도면1E계속

AGGACTCTGGGTCTATTTCTGTGCAAAGACGGGATCCTACGATACTAACGACTGGTACTTCGATGTCTGG  
GCCAAGGGACCAACGGTCACCGTCTCCACATCATCACCATCATATTAG

(서열 번호 : 16)

DIKLQQSGAELARP GASVKMSCKTSGYTFTRYTMHWVKORPGQGLEWIGYINPSRGYTNYNQFKDKATLTTDK  
SSSTAYMOLSSLTSEDSAVYYCARYDDHYCLDYWGQGTTILTVSSGGGGSGGGSDIQLTQSPAIMSAS  
PGEKVVTMTCRASSSVSYMNWYQQKSGTSPKRWIYDTSKVAVSGVPYRFSGSGSGTSSYSLTISSMEAEDAATYYCQ  
QWSSSNPLTFGAGTKLELKSGGGGSELVMTQTPLSLPVSLGDQASISCRSSQSLVHSNGNTYLHWYLQKPGQSPK  
LLIYKVSNRFSGVPDFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGVYFCQSOTHVPTFGGGTKLEIKGGGGSGGGGG  
GGSEVQILLEQSGAELARP GASVKLSCSKASGYFTNYGLSWVKQRPGQVLEWIGEVYPRIGNAYNEKEFKGKATL  
TADKSSSTASMELRLSLTSEDAVYFCARRGSYDTNYDWYFDWQGQTIVTVSSHHHHH

도면1F

F)  $\bar{\eta}$ -CD3 VHVL al x 5-10 VHVL (서열 번호 : 3)

GATATCAAAC TG CAGG CAG T CAGGG CAG T CAGGG CAG T GAACT GGC AAG ACCT GGG CCT CAG TG AAAG AT GT CAG TG CA AGA GACT TC  
 TGG CT A CAC CT TA CTA CGG ACT GCA CT GG GT TATA CT TA CAA AT CAG AAG CT CA AGG GCA AG CC AC AT TG GAA AT GG AT TG GAT  
 AC AT TA AT C C T AG CCG GT GG TT TATA CT TA CAA AT CAG AAG CT CA AGG GCA AG CC AC AT TG GAA AT GG AT TG GAT  
 TC CT CC AG CAC AG CC TA CAT GCA ACT CG AGG CCT AC AT GCA ACT CG AGG ACT CT CAG TG CAG TG CAG TG CAG TG CAG TG  
 TT AT GAT GAT C AT TACT G C C T AC AT GCA ACT CG AGG CCT AC AT GCA ACT CG AGG ACT CT CAG TG CAG TG CAG TG CAG TG  
 GT GG AG GT TCT GG TGG AAG GT GG AG GT TCA CGT GG AG GT TCA CG ACG AC AT TG CAG TG CAG TG CAG TG CAG TG CAG TG  
 TCT GG C AT TCT CC AG GG AG AAG GT TCA CCT AT GAC CT TG CAG AG CC AG GT TCA ZA GT GT TA AG TT TAC AT GA ACT GT TA CC  
 GC AG AAG GT CAG GG AC AC CT CCC CAA AAG AT GG ATT TAT GAC AC AT CCA AA AG GT GG CTT CT GG AG GT CC CT TAT CG CT  
 TCA GGT GG CAG TGG GT CT GG GAC CT CATA CT CTC ACA AT CAG CAG C AT TG GAG GT TGA AG AT GT GCT G C C ACT T AT  
 TACT GG C CA AAC AGT GG AG GT TGA AAC CC GG CT CAC GT TCG GT GAG CT GG AG GT TGA AG GG CT TGG GAC AT TG GAA AT CC  
 TGG AT CCG AG GT G CAG GT G CAG GT G CAG AG GT G CAG  
 GCA AG GG CT TCT GG AT TAC G G C TT CACT A ACT TACT G G C T A G GT TGG GT TGG TA AG GAG GAG GG CT GG AC AT GG ACT TG AG  
 TGG AT TGG AG A T AT TCC CT GG AA AG TGG TA AT AT CC ACT A CA AT TG GAA AG TT CA AG GG CA AA AG CC AC AT GAC  
 TGC AG AC AA AT CTC TCG AG CAC AG CC TA AT TG CAG C ACT CAG TAG CC TGA CTT GAC AT TT GAG GG ACT CT GCT GT CT AT TT CT  
 GT GG CAA AG ACT TG GAG GAA CT GG GAG GCT AT GG GACT ACT GG GAG CAC AG GT CAC CG GT CAC CG GT CAC CG GT CAC CG GT  
 GGT GG GT TCT GG C GGG C GGG TCC CG GT GG GT GG TT CT GAG C AC AGT CT CC AT CTC CC CT  
 GACT GT GAC AG CAG GAG GAG AAG GT TCA CT AT GAG GT GCA AG GT CC CAG TCA GAG TGT CT GT TAA AC AGT GG AA AT CAA  
 AG AACT ACT TG ACT GT GG TA CAG CAG GAG AACC AGG GCA GAG CAG CTC CCT AA ACT TG TGA TCT ACT GGG C AT TCC ACT AG  
 GA AT CT GG GT CC CT GAT CG TT IC AC AGG CAG T GAG GAT CT GG A AC AG AT TT CACT

도면1F계속

TCACCATCAGCAGTGTGAGGCTGAAGAACCTGGCAGTTATTACTGTAGAAATGATTATAGTTATCCGCTCACG  
TTCGGTGGACCAAGCTTGAGATCAAACATCACCATCATATTAG

(서열 번호 : 4)

DIKLQQSGAELARP GASVKMSCKTSGYTFTRYTMHWVKQRPQGGLEWIGYINPSRGYTNYNQKFKDKA  
SSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCARYDDHYCLDYWGQGTTLTVSSVEGGSGGGTSSYSLTIS  
SASPGEKVMTMTCRASSSVSYMNWYQQRSGTSPKRWIYDTSKVVASGVYRFSGSGSGTSSYLTIS  
YCQQWSNPLTFGAGTKLELKSGGGGSEVOLLEQSGAELVRPGTSVKISCKASGYAFTNYWLGWVKQRPQHGLE  
WIGDIFPGSGNIHYNEKFKGKATLTADKSSTAYMQLSSLTfedSAVYFCARLRNWDEPM  
GGGGGGGGGGSELVMTQSPSSLTVTAGEKVTCMSCKSSQSLNSGNQKNYLTWYQQKPGQPPKLLIYMASTR  
ESGVPDFRTGSGSTDFTLTISVQAEDLAVYYCQNDSYFLTFGAGTKEIKHHHHHH

도면1G

G)  $\bar{\gamma}^t$ -CD3 VHVL al Ser x 5-10 VHVL (A열 번호 : 9)

GATATCAAACCTGCAGCAGTCAGGGCTGAACCTGGCAAGACCTGGCCCTCAGTGAAGATGTCCCTGCAAGACTTC  
 TGGCTACACCTTTACTAGGTACACCGATGCACCTGGTGTATACTAATTACAATCAGAAAGTCAAGGACAAGGCCACATTGACTACAGACAAA  
 ACATTAATCCTAGCCGTGGTTATACTAATTACAATCAGAAAGTCAAGGACAAGGCCACATTGACTACAGACAAA  
 TCCTCCAGCACGCCCTACATGCAACTGAGCAGCCCTGACATCTGAGGACTCTGAGCTCTATTACTGTGCAAGATA  
 TTATGATGATCATACTCCCTTGACTACTGGGCCAAGGCACCCACTCTCACAGTCCTCAGTCAAGTCCAGCAATCATG  
 GTGGAGGTTCTGGTGGAAAGTGGAGGTTCAAGGGTGGAGTCAGACATTCAAGCTGACCCAGTCTCCAGCAATCATG  
 TCTGGCATCTCCAGGGAGAAGGTACCATGACCTGCAGAGCAGTCAGTGAAGTTACATGAACCTGTACATGAACTGTACCA  
 GCAGAAGTCAGGCCACCTCCCCCAAAAGATGGATTATGACACATCCAAAGTGGCTTCTGGAGTCCCTTATCGCT  
 TCAAGTGGCAGTGGTCTGGACCTCATACTCTCTCACAAATAGCAGCATGGAGCTGAAGATGCTGCCACTTAT  
 TACTGGCCAACAGTGGAGTAGTAACCCGCTCACGTTTCGGTGTGGGACCAAGCTGGAGCTGAAATCCGGAGGTGG  
 TGGATCCGAGGTGAGCTGGCTGAGCTGGTAAGGGCTGGTAAGGAAAGTGGACTTCAGTGAAGATAATCCT  
 GCAAGGGTTCTGGATAACGCCCTTCACTAACTACTGGCTAGGTGGTAAGGAGGGCTGGACATGGACTTGAG  
 TGGATTGGAGATTTCCCTGGAAAGTGGTAATAATCCACTAACATGAGAAGTCAAGGGCAAAAGCCACACTGAC  
 TGCAGACAAATCTCGAGCACAGCCTATATGCAGCTCAGTAGCTGACATTGAGGACTCTGCTGTCTATTCT  
 GTGCAAGACTGAGGAACCTGGGAGGACTATGGACTACTGGGAGGCTTCAAGGGCCAAAGGGGACCAAGGGTCACCGTCTCCCTCAGGT  
 GGTGGTGGTTCTGGGGGGGGCTGGGGTGGTGGTGTGAGCTGTGATGACACAGTCCATCCCT  
 GACTGTGACAGCAGGAGAGAAGGTCACTATGAGCTGCAAGTCCAGTCAAGTGTGTTAAACAGTGGAAATCAAA  
 AGAACTACTTGAACCTGGTACAGGAGAAACCAGGCAAGCCCTCCTAAACTGTGTGATC

도면1G계속

TACTGGCATCCACTAGGGAAATCTGGGTCCCTGATCGCTTCACAGGCAGTGGATCTGGAACAGATTCACTCT  
CACCATCAGCAGTGTGCAGGCTGAAGAACCTGGCAGTTATTACTGTAGAATGATAATAGTTATCCGCTCACGT  
TCGGTGCTGGACCAAGCTTGAATCAAACATCATCACCATTAG

(서열 번호 : 10)

DIKLQQSGAELARPgasVkmSCKTSGYTFTRYTMHWVKORPGQGLEWIGINPSRGYTNYNQKFKDkATLTTDK  
SSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCARYDDHYSLDYWGQGTTLVSSVEGGSGGGSGGGVDDIQLTQSPAIM  
SASPGEKVMTCRASSSVSYMNWYQQRSGTSPKRWIYDTSKVVASGVYRFSGSGSGTSYSLTISSMEEADAATY  
YCQQWSNSNPLTIFGAGTKEIKSGGGSEVQILLEQSGAEILVRPGTSVKISCKASGYAFTNYWLGVWKQRPGHGLE  
WIGDIFPGSGNIHYNEKFKGKATLTADKSSTAYMQLSSLTAVEDSAVYFCARLRNWDEPMDYWGQGTTVTVSSG  
GGGGGGGGGGGGSELVMTOSPSSLTVTAGEKVMSCKSSQNLNSGNQKNYLTVYQQKPGQPPKLLIYWASTR  
ESGVPDFTGSSGSTDFTLTISSVQAEDLAVYYCNDYSYPLTFGAGTKEIKHHHHHH

도면1H

H)  $\bar{\eta}^t$ -CD3 VHVL stL x 5-10 VHVL (서열 번호 : 17)

GATATCAAAC TGCAAGCAGTCAGGGCTGAACTGGCAAGACCTGGGCCCTCAGTGAAGATGTCCCTGCACAGACTTC  
 TGGCTAACCTTA CTTACTAGGTACACGATGCACTGGTAAACAGAGGCCCTGGACAGGGTCTGGAATGGATTGGAT  
 ACATTAAATCCCTAGCCCGTTATACTAATTACAATTCAAGAGTCAAGGACAAGGCCACATTGACTACAGACAAA  
 TCCTCCAGCACGCCCTACATGCAACTGAGCAGCCGTGACATCTGAGGACTCTGCAGTCATTACTGTGCAAGATA  
 TTATGATGATGATCATTA CTTACTGCCCTGACTACTGGGCCAGGCACACTCTCACAGTCTCAGGTGGTGGGGTT  
 CTGGCGGGGGCTCCGGGGTGGTGTGTTGACATTCAAGCTGACCCAGTCTCCAGCAATTCATGTCTGCATCT  
 CCAGGGGAGAAGGTCAACCATGACCTGCAAGGCCAGTTCAAGTGTAAAGTTACATGAACTGGTACCGAGAAGTC  
 AGGCACACTCCCCAAAAGATGGATTATGACACATCCAAAGTTGGCTTCTGGAGTCCCTTATCGCTTCA GTGGCA  
 GTGGGGTCTGGGACCTCATACTCTCACAAATCAGCAGCATGAGGCTGAAGATGCTGCCACTTATTACTGCCAA  
 CAGTGGAGTAGTAACCCGCTCACGTTCGGTGGCTGGACCAAGGCTGGAGCTGTAAGGCTGGGACTTCAGTGAAGATA  
 GGTGCAGCTGGCTGAGCAGCTGGAGCTGAGCTGGTAAAGGCTGGGACTTCAGTGAAGATACTCCTGCAAGGCTT  
 CTGGAAACGCCCTCACTAACTACTGGCTAGGTTGGTAAAGCAGAGGGCTGGACATGGACTTGAGTGGATTGG  
 GATATTCCCTGAAAGTGGTAATATCACAATGAGAAGTTCAAGGCAAGCCACACTGACTGCCAGACAA  
 ATCTTCGAGCACAGGCCCTATATGCAAGCTCAGTAGCTGACATTGAGGACTCTGCTGTCTATTCTGTGCAAGAC  
 TGAGGAACCTGGGAGCCTATGGACTACTGGGCCAAGGGACCAAGGGTCAACGGTCTCAGTGGTGGGGT  
 TCTGGGGGGGGCTCCGGGGTGGTGTGAGCTCGTGTGATGACACAGTCTCCATCCTGACTGTGAC  
 AGCAGGGAGAGGTCACATGAGCTGCAAGTCCAGTCAAGTGTAAACAGTGGAAATCAAAGAACTACT  
 TGACCTGGTACCAAGCAGAAACCAGGGAGCCCTTAAGGCAACTAGGGATCCACTAGGGAAATCTGGG  
 GTCCCCTGATCCGCTCACAGGCACTGGATCTGGAAACAGATTCACTCTACCATCA

도면1H계속

GCAGTGCGAGGCTGAAGACCTGGCAGTTATTACTGTCAAGAATGATTATAGTTATCCGCTCACGTTGGTGCT  
GGGACCAAAGCTTGAGATCAAAATCATCACCACATCATTAG

(서열 번호 : 18)

DIKLQOSGAEELARP GASVKMSCKTSGYTFTRYTMHWVKORPQOGLEWIGYINPSRGYTNYNQKFRDKATLTSDK  
SSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCARYDDHYCLDYWQGTTILTYSGGGGSGGGSDIQLTQSPAIMSAS  
PGEKVMTCRASSVSYMNWYQQKSGTSPKRWIYDTSKVAVSGVPYRFSGSGSGTSYSLTISSMEAEDATYYCQ  
QWSSSNPLTFGAGTKLELKSGGGSEVQLLEQSGAELVRPGTSVKISCKASGYAFTNYWLGVWKQRPGHGLEWIG  
DIFPGSGNITHYNEKFKGKAHTLADKSSSTAYMQLSSLTEDSAVYFCARLRLNWDEPMWDYWGQGTTVTSSGGGG  
SGGGGGGGSELVMTQSPSSLTVTAGEKVTSCKSSQSLINSGNQKNYLTWYQQKPQPPKLLIYWASTRESG  
VPDRFTGSGSGTDFTLTISSVQAEDLAVYYCQNDYSYPLFGAGTKLEIKHHHHH

도면11

I)  $\text{\textcircled{H}}$ -CD3 VHVL stL x 5-10 VHVL (서열 번호 : 19)

GATATCAAAC TG CAG GCA GCT AAG GGG CT TGA ACT GG CA AG AC CT GG GG CC CT CAG TGA AAG AT GT CCT GC AA AG ACT TC  
 TGG CT A CAC CT TA CTT ACT AGG TA AC AG AT GC ACT TGG GT AA AAC AG A GGG CT GG AC AG GG GT CT GG A AT GG AT TT GG AT  
 AC AT TA AT C CT TAG CC GT GG TT ATA CTA ATT ACA AT T CAG A AG T CA AG G CA A AG CC CAC AT T GACT AC AG A CAA  
 TC CT CC AG CAC AG C CTA CAT G CA ACT GAG CAG CC T GAC AT CT GAG GACT CT GAG CT CT GAG CT T GAG CAA GAG AT A  
 TT AT GAT GAT C AT TA CT G C C TT GACT AC T GGG C T GAG C AG G C ACC ACT CT CAG G CT CAG G CAG T C CAG CA AT  
 CT GG CG GG GG GG CT CCG GT GG GT GG TT CT GAC AT T CAG CT GAC CC AG T CAG G CAG AG CC AT T CAG G CAG AG GTC  
 CC AG GG AG A AG GT C ACC AT GAC CT G CAG AG CC AT T CAG G CAG AG CC AT T CAG G CAG AG GAG AT CAG T GAA C  
 AG G CAC CT CCC CAA AG AT GG AT T AT GAC AC AT CCA AA AG TT CAG G AT CC CT T AT CG CT T CAG T GGG CA  
 GT GGG CT TGG GAC CT CATA CT C T CACA AT CAG CAG CT GAG GCT GAG AT GCT G C CACT T AT ACT G C CAA  
 CAG TGG AGT AGT A ACC C CG CT CAC GT T CG GT GG GAC CA AG CT GG ACT GAA AT CCG GAG GT GG AT T CCG G  
 GCT CGT GAT GAC A CAG CT C CAT C C C T GACT GT GAC AG CAG GAG A AG GT CACT AT GAG CT GCA AT G CCA  
 GT CAG AG ST CT GT TAA AC AG TGG AA AT CAA A AG A ACT AT T GAC CT GG TAC CAG CAA ACC AG GG CAG C  
 A AACT GT T GAT CT ACT TGG GAT CCA CT AGG GA AT CT GGG T C C C T GAT CG CT T CAG G CAG T GG GAT CT GG A  
 AG AT T CACT CT CAC CAT CAG CAG T GT G CAG G CT GAG AC CT GG CAG TT GAA GAC CT GG CAG TT ATT ACT GT CAG A  
 AT CCG CT CAC GT T CG GT GG CT GG GAC CA AG CT T GAG AT CAA AG GT GG TGT GGT GGG T C C C G G  
 GGT GGT GGT T CT GAG GT GG CAG T GT G CAG G CT GAG GCT GT TA AGG CT GG ACT T CAG T GAG AT  
 AT CCT GCA AGG CT T CT GG AT T AC G C C T CACT A ACT AT C TGG C T AG GT T GG G TAA AG CAG G G C T GG  
 TT GAG TGG ATT GG AG AT ATT TCC CT GAG A GT GG TAA AT CACT A AT GAG A G T CA AG G T CAG T GAC AT  
 CT GACT TG CAG A CAA AT CTT GAG CAC AG C C T GAG C T GAG C T GAG C T GAC AT

도면11계속

TTGAGGACTCTGCTGTCTATTTCGTGCAAGACTGAGGAACCTGGGACCGAGCCTATGGACTACTGGGGCAAGGG  
ACACGGTACCCGTCCTCACATCACCATCATCATTAG

(서열 번호 : 20)

DIRLQQSGAELARGASVKMSCKTSGYTFTRYTMHWVKQRFQGLEWIGYINPSRGYTNNQKFKDRAFLTTDK  
SSSTAYMQLSSILTSEDSAVYCARYYDDHYCLDYWGQGTTLTIVSSGGGGSGGGSDIQLTOSPAIMSAS  
PGEKVVTMTCRASSSVSYMNWYQQKSGTSPKRWIYDTSKVASGVPYRFSGSGSGTSYSLTISSMEAEDAAATYYCQ  
QWSSNPLTFGAGTKLELKSGGGSELVMTQSPSSLTVTAGEKVMTMSCKSSQSLLNSGNQKNYLTVYQQKPGQPP  
KLLIYWASTRESGVPDRFTGSGSTDFLTITISSVQAEDLAVYYCONDYSYPLTFGAGTKLEIKGGGGSGGGSG  
GGGSEVQOLEQSGAELVRPGTSVKLISKASGYAFTNYWLGWVKQRPGHGLEWIGDIFPGSGNIHYNEKFKGKAT  
LTADKSSSTAYMQLSSLTFEDSAVYFCARLRNWDERMDYWGQGTTVSSHHHHH

도면1J

J)  $\bar{\gamma}$ -CD3 VHVL al x 3-1 VHVL (서열 번호 : 45)

GATATCAAAC TG CAG CG ACT CAG GG CT TGA ACT GG CA AG AC CT GG GG CC CT CAG TG AA AG AT GT CC TG CA AG AC TT C  
 TGG CT AC CCT TTA C TACT AG GT AC AC CG AT GG C ACT TG GG TAA AAC AG AG GG CT GG AC AG GG CC AT TG GA AT GG AT TT GG AT  
 AC AT TA AT CCT A TAG CC GT GG TT AT ACT A ATT CA AA AT TC GA AA AG TT CA AG GA CC AT TG CA AG AC AA  
 TC CT CC AG AC AG CCT AC AT GC AA CT GA CG AC GG CG CT GA CA T CT GAG G ACT CT GAG T CC AG T GCA AT CAT G  
 TT AT GA TG AT CA T TA CT AG CC TT GA CT ACT TG GG CC TA AG GG C ACC AT CT CAC AG CT C C C T CAG TG GA AG GT GG AA  
 GT GG AG GT T CT GG TT GG AA AG GT GG AG GT T CAG GT GG AG CT CG AC GA C AT TC AG CT GAC CC AG T C C C AG T C C C AT  
 TCT GG CA T CT CC AG GG GG AA AG GT C ACC AT TG AC C TG CAG AG CG C AG TT CA AG GT TA AG TT AC AT GA FA CT GG TA CCA  
 GC AG AA GT CAG GG AC AC CT CCC C CAA A AG AT GG AT TT AT GA CA AT CC AA AG TG GG CT T CT GG AG TG CC CT TA TG C G CT  
 TC AG TG GG CAG TG GG GT CT GG GA CCT CA TA CT CT CACA AT CAG CAG CT GAG G CT GA AAG AT GT GG C ACT TT AT  
 TACT TG CCA AC AC AG TG GG AG TG TA AAC CC GG CT CAC GT TG CG GT GG AG CT GG AT GA AA AC CT GG GG CC CT CAG TG AA AG AT TA C C T  
 TGG AT CC GG AG GT GC AG TG CT GG AG CA GT TG CT GG AG CT GT GG AG CT GG AT TA AG CG AG GG CC TG GAC AT GG AC TT GAG  
 GCA AG GG CT TCT GG AT TA CG CC TT CA CT TA ACT TG CT AG GT TA GG TT TGG GT AA AG CG AG GG CC TG GAC AT GG AC TT GAG  
 TGG AT TG GG AG AT CT TT CCT TG GA AG TG TA AT ACT CACT CA AT TG AG GG TT CAG TG CC TT GA C AT CT TG AG GG ACT CT TG CT G T CT ATT TT C T  
 TGC AG AC AA AT CCT CG AG CC AC AG CC TT AT TG CAG CT CAG TG GG CC TA AG GG G ACC AC GG CT CACC GG CT C C C T CAG GT  
 GT GG CA AG AT TG GAG G AACT TG GAG G CT AT GG GACT AT GG GAG CT AT GG GAG G AACT TG GAG G CT CAG TG CC AT CCT TG CT ATT TT C T  
 GGT GG TGG TT CT GG GG GG GG CT CC GG TT CT GG GT GG TT CT GAG CT CAG TG AG G G C AT TG CAG CC AG T C G T CT ATT TT C T  
 TG CT GCA T CT CCT GG AG AA AC CA TT ACT TA AT TG CAG GG CA AG TA AG GG CA AT TG CAA AT AT TT TAG C T GT GG  
 AT CA AG AG AA AC CT GG AA AA ACT TA AT AG CT TT CT TA TCT ACT CT TG GAT CC CACT TT GCA AT CT GG AAT CT GG AAT CC AT CA  
 AG GT TCA GT GG CAG TG GG AT CT GG TAC AG AT TT CACT CT CAC CAT AT CAG TA AG AT TT CAG TA AG CC TT

도면1J계속

AGCCTGAAAGATTGCAATGTATTACTGTCAAACAGCATATAATGAATAATCCGTACACGTTCGGAGGGGGACCAAG  
CTTGAGATCAAACATCATACCACATCATTAG

(서열 번호 : 46)

DIKLQOSGAELLARP GASVKMSCKTSGYTFTRYTMHWVKORPGQGLEWIGYINPSRGYTNYNOKFKDKATLTTDK  
SSSTAYMQLSSSLTSEDSAVYYCARYDDHYCLDYWGQGTTLTVSSVEGGSGGGSGTSYSLTISMEADAATY  
SASPGEKVMTMTCRASSSVSYMNWYQQKS GTSPKRWIYDTSKVASGVYRFSGSGSGTSYSLTISSMEADAATY  
YCQQWSNNPLTFGAGTKLEIKSGGGSEVOLLEQSGAELVKPGASVUKISCKASGYAFTNYWLGVVKORPGHGLE  
WIGDLFPGSGNTHYNERFRGKATLTADKSSTA FMQLSSLTISEDSA VYFCARLRNWDEAMDYWGQGTTVTVSSG  
GGGGGGGGGGSELVMTQSPSYLAASPGETITINCRASKSISKYLAWYQEKP GKTNKL LIYSGSTLQSGIPS  
RFSGSGSGTDFLTLSLEPEDFAMYCQQNEYPYTFFGGT KLEIKHHHHHH

도면1K

K)  $\bar{\gamma}$ -CD3 VHVL al Ser x 3-1 VHVL (서열 번호 : 47)

GATACTCAAACCTGCAGCGAGTCAGGGGCTGAACCTGGCAAGACCTGGCCCTCAGTGAAGATGTCCCTGCAAGACTCTGGCTACACCTTTACTAGTGTACACGATGCACTGGTAAAGAACAGAGGGCTGGACAGGGCACATTGGATACATTAATCCTAGGGTGGTTATACTAATTACAATCAGAAGTTCAAGGACAAGGCCACATTGACTACAGACAAA  
TCCTCCAGCACAGCCTACATGCAACTGAGCAGCCGCTGACATCTGAGGACTCTGAGCTCATTAATCTGTGCAAGATA  
TTATGATGATCATTAATCCTCTGACTACTGGGCCAAGGCACCACTCTCACAGTCTCAGTCAGTCACTGAGCTGA  
GTGGAGGTTCTGGTGGAAAGTGGAGGTTCAGGTGGAGTCGAGACATTCAAGTGA  
TCTGCATCTCCAGGGAGAAGGTCAACCATGACCTGCAGAGCAGCTCAAGTGA  
GCAGAAGTCAGGCCACCTCCCCCAAAGATGGATTATGACACATCCAAGTGGCTCTGGAGTCCCTTATCGCT  
TCAGTGGCAGTGGGTCTGGACCTCATACTCTCAAAATCAGCAGCTGAGGCTGAAGATGCTGCCACTTAT  
TACTGCCAACAGTGGAGTAGTAACCCGCTCACGTTGGGTGCTGGGACCAAGCTGGAGCTGA  
TGGATCCGGAGGTCAGCTGGAGCTGGAGCTGGAGCTGGTGAACACCTGGGCCCTCAGTGAAGATATCCT  
GCAAGGGCTCTGGATAACGCCCTCACTAACTACTGGCTAGGTGGTAAAGCAGAGGCCATGGACTTGAG  
TGGATTGGAGATCTTCCCTGGAAAGTGGTAATACTCACTACAATGAGAGGTTCAAGGGCAAAAGCCACACTGAC  
TGCAGACAAATCCCTCGAGCACAGCCTTATGCAGCTCAAGTAGCTGAGACTCTGCTGTCTATTCT  
GTGCAAGATTGAGGAACGGAGGGTATGGACTACTGGGCAAGGGGACCCGGTACCCGCTCCTCAGGT  
GGTGGTGGTCTGGGGGGCTGGGGGGCTGGTGGTTCTGAGCTCGTCATGACCCAGTCCTCATCTTATCT  
TGCTGCATCTCTGGAGAACCTAACTATAATGAGGGCAAGTAAGGCAATTAGCAAAATATTAGCCTGGT  
ATCAAGAGAACCTGGAAAACCTAACTATAAGCTTCTTATCTGAGTCCACTTIG

도면1K계속

CAATCTGGAAATTCCATCAAGTTCACTGGCAGTGGATCTGGTACAGATTCACTCAGTAGGCCTGGA  
GCCTGAAGATTGGCAATGATTACTGTCACAGCATAATGAAATATCCGTACACGTTGGAGGGGGACCAAGC  
TTGAGATCAAACATCATCACATATTAG

(서열 번호 : 48)

DIKLQOSGAELARPGASVKMSCKTSGYTFTRYTMHWVKQRPGQGLEWIGYINPSRGYTNYNQKFKDKA  
TTLTDKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYCARYYDDHYSLDYWGQGTTLTVSSVEGGSGGGGGGGVDDDIQLTQSPAIM  
SASPGEKVMTICRASSSVSYMNWYQQKSGTSPKRWIYDTSKVASGVPYRFSGSGSGTYSYLTISSMEA  
DAATY YCQOWSSSNPLTFFGAGTKLELKSGGGSEVOLLEQSGAELVKPGASVKISCKASGYAFTNYWLGVWKQRP  
GHGLE WIGDLFPGSGNTHYNERFRGKATLTA  
DKSSSTA  
FMQLSSLTSEDSAVYFCARLRNWDEAMDYWGQGTTTVSSG  
GGGGGGGGGGSELVMTQSPSYLAASPGETITINCRA  
SKSISKYLAWYQEKP  
GKTNKL  
LYSGSTLQSGIPS  
RFSGSGSGTDFLTISSEPEDFAMYCQQHNEYPTFGGT  
KLEIKHHHHHH

## 도면 1L

L) 항-CD3 VHVL antibody 3-5 VHVL (주얼 번호 : 49)

도면1L계속

ATTTACACTCAAGATCAGGAGGTGGAGCTGAGGATCTGGAGTTATTCTGCTCTAAAGTACACATGTT  
CCGTACACGTTGGAGGGGGACCAAGCTTGAGATCAAACATCATACCACATTAG  
  
(서열 번호 : 50)  
  
DIRLQQSGAELARP GASV RMSCKTSGYTFTRYTMHWVKQRPGQGLEWIGYINPSRGYTNYNQKFKDKA TLTTDK  
SSSTAYMQLSSLTSEDSA VYCCARYDDHYCLDYWGQGTTLTVSSVEGGSGGGSGGGVDDIQLTQS P A I M  
SASPGEKVTMTCRASSSVSYMNWYQ QKS GTSPKR WIYDT SKV ASGV PYRFSGSGSGTSYSLTIS S M E A D A A T Y  
YCQ QWS SNPLTFGA GTKLELKSGGGSEVQ LLEQSGAELV RPT SVKLSCKASGYFTSYGLSWVKQ RTG Q G L E  
WIGEVYPRIGNAYNEKFKGKATLTA DKSS STAS MELRSLT SEDSA VYFCARRGSYGS NYD WYFDW WGQ G T V T  
VSSGGGGGGGGGGSELVMTQTPLSLPVSLGDQASI S CRSS QSLVHSNGNTYLH WYLQ KPGQSPKL LIY KV  
SNRFSGVPDRSGSGSGTDFTLKI SRVEAEDLGVYFCSQSTHV PYTFGGGT KLEIKHHHHHH

도면 1M

M) 항-CD3 VHVL aL Ser x 3-5 VHVL (서열 번호 : 51)

GATATCAAAC TGCAAGCAGTCAAGGGCTGAACTGGCAAGACCTGGGCCTCAGTGAAAGATGTGCCAAGACTTC  
TGGCTACACCTTAACTAGGTACACGATGCACTGGTAAACAGAGGCCCTGGACAGGGCTGGAATGGATTGGAT  
ACATAATCCCTAGCCCGTTATACTTAATTACAATCAGAAGTCAAGGACAAGCCACATTGACTACAGACAAA  
TCTCTCAGCACAGCCTACATGCAACTGAGCAGCCCTGACATCTGAGGACTCTGCACTTGCAAGAGATA  
TATGATGATCATTACTCCCTTGACTACTGGGCCAAGGCCACACTCAGCTCCTCACAGTCTCCAGCAATCATG  
TCTGCATCTCCAGGGGAGAAGGTACCATGACCTGAGGCCAGTTCAAGTGTAAAGTTACATGAACACTGTACCA  
GCAGAAGTCAAGGCCACCTGGGACCTCATACTCTCACAAATCAGCAGCZATGGGGCTGAAGATGCTCCCTTATCGCT  
TCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACCTCACGTTAACCCGCTCACGTTGGGACCCAAAGCTGGAGCTGAAGATCCTGG  
TACTGGCCAACAGTGGAGTAGTGAACCTGAGCTGGGACTCTGGGACTCTGGGACTTCAGTGAAGCTGTCCCT  
TGGATCCGAGGGTCAAGGCTGCTCGAGCAGCTGGGACTCTGGGACTCTGGGACTCTGGGACTTCAGTGAAGCTGTCC  
GCAAGGGCTCTGGCTACACCTTACAAGCTATGGTTAACGTTAGCTGGGACTCTGGGACTCTGGGACTTCAGTGAAGCTGTG  
TGGATTGGAGAGGTTATCCTAGAATTTGTAATGCTTAATGAGAAGTTCAGGGCAAGGCTGACATCTGGGACTCTGGG  
TGCAGACAAATCCCTCAGGCCAGGGTCAATGGGACTCTGGGACTCTGGGACTCTGGGACTTCAGTGAAGCTGTCC  
GTGCAAGACGGGGATCCTACGGTAGTAACTGAGCTGGTACTCTGGTACTCTGGGACTCTGGGACTCTGGGACTTCAG  
GTCTCCTCAGGTGGTGGTTCTGGCGGGCTCCTGGGGTCTGAGCTGTGATGACCCAGAC  
TCCACTCTCCCTGGCTGTCACTGGAGATCAAGGCTCCATCTCTGGAGATCTAGTCAGGCCTGTACACA  
GTAATGGAAACACCTTACATTACATTGGTACCTGCAAGGCCAGTTCAAGTGGCAGTGGGACTCAGGACAG  
TCCAACCGATTTCAGACAGCTTCAGGGTCCAGAGACAGCTTCACTGGCAGTGGGACTCAGGACAG

도면1M계속

ATTTCACACTCAAAGATCAGCAGAGTGGAGGCTGAGGATCTGGAGTTATTCTGCTCTCAAAGTACACATGTT  
CCGTACACGTTGGAGGGGACCAAGCTTGAGATCAAACATCATACCATCATATTAG

(서열 번호 : 52)

DIKLQQSGAELARPgasVkmSCKTSGYTFTRYTMHWVKQRPgQGLEWIGYINPSRGYTNYNQKFKDkATLTTDK  
SSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCARYDDHYSLDyWQGQGTTILTVSSVEGGGGGGGGGGVDDIQLTQSPAIM  
SASPGEKVMTCRASSSVSYMNWQQKSGTSPKRWIYDTSKVASGVYRFSGSGSGTSYSLTISMSMEAADAATY  
YCQOWSNPLTfGAGTIKLEIKSGAELVRPGTSVRISSCKASGYFTSYGLSWVKQRTGQGLE  
WIGEVYPRIGNAYNEKEKGKATLTAOKSSSTAEMELRSLTSEDAVYFCARRGSYGSNYDWYFDVWGGQTIVT  
VSSGGGGGGGGGGSELVMTOPLSLPVSLGDOASIICRSQQSLVHSNGNTYLHWYLQKPGQSPKLLIYKV  
SNRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEADLGVYFCQSOTHVPTFGGTKEIKHHHHHH

## 도면 1N

N) 헹-CD3 VHVL stL x 3-5 VHVL (서열 번호 : 53)

GATATCAAAC TGCAAGCAGTCAAGGGCT GAAC TGGCAAGAC CTGGGCT CAGTGAGATGTCCTGCAAGA GACT  
TGGCTACACCTTA CTTACTAGGTACACGATGGACTGGTAA AACAGGGCTGGACAGGGTCTGGAAATGGATTGGAT  
ACATTATCCCTAGCCGTTATACTAATTACAATCAGAAGTTCAAGGACAAGGCCACATTGACTACAGACAAA  
TCCTCCAGCACGCCCTACATGCCAAC TGCAACTGAGCAGCTGACATCTGAGGA CTCAGCTCAGTGCAGTCTGCA  
TTATGATGATCATTA CTTGCTTGACTACTGGGCAAGGCACCCTCACAGTCTCAGCTCAGGCTCAGCAATCATGTC  
CTGGCGGGGGCTCCGGTGGTTCTGACATTCAAGCTGACCTGACAGTCAAGTCAAGTCAAGTCAAGTCAAGTCAAGT  
CCAGGGGAGAAGGTCAACCATGACCTGCAAGAGCCAGTCAAGCTTCAAGCTTCAAGTCAAGTCAAGTCAAGTCAAGT  
AGGCACCTCCCCAAAAGATGGATTATGACACCTTCAAAAGTGCTTCTGGAGTCCCTTATGCTTCAAGTGGCA  
GTGGGTCTGGACCTCATACTCTCACAAATCAGCAGGATGGGGCTGAAGATGTCGCACATTAACTGCCAA  
CAGTGGAGTAGTAAACCCGCTCACGTTGGCTGGGACCAAGCTGGAGCTGAATCCGGAGGGGGATCCGA  
GGTGCAGCTGCTGAGCAGTCTGGAGCTGAGCTGGTAAGGGCTGGGACTTCAGTGAAGCTGTCCCTGCAAGGGCTT  
CTGGCTACACCTTACAAGCTTATGGTTAAGCTGGGTGAAGCAGAGAACTGGACAGGGCTTGAAGCTGGGACT  
GAGGT'TATCCTAGAATTGGTAATGCTTACTACATGAGAA GTTCAAGGGCAAGGCCACACTGACTGCAGACAA  
ATCCTCAGCACAGC GTCCATGGAGCTGGCAGGCTGACATCTGAGGACTCTGCGGTCTATTCTGTGCAAGAC  
GGGGATCCTACGGTAGTAACTAGGACTGGTACTCTGAGCTGGGCAAGGGACCAAGGGTACCGGTCTCCCTCA  
GGGGTGGGGTTCTGGGGGGCTCCTGAGCTGGGTTCTGAGCTGGGCTGGGCTGGGCTGGGCTGGGCTGGGCTGGG  
CCTGCCTGTCAGTCTGGAGATCAAGCTCCATCTTGCAAGATCTAGTCAGGGCTTGTACAGCTAACAGTAATGGAA  
ACACCTAATTACATTGGTACCTGGCAGAGCCAGGCTCCTGAGAAGCCAGTCTCCAAGGCTTCAAAAGTTCCAAACCGA  
TTTTTCTGGGGTCCCAGACAGGTTCAAGTGGCAAGTGGATCAGGGACAGATTCACAC

도면1N계속

TCAAGATCAGCAGAGTGGAGGTGAGGATCTGGAGTTATTCTGCTCTAAAGTACACATGTTCCGTACACG  
TTCGGAGGGGGACCAAGCTTGAGATCAAACATCACCATCATCATTAG

(서열 번호 : 54)

DIKLQOSGAELARP GASVKMSCKTSGYTFTRYTMHWVKORPGQGLEWIGYINPSRGYTNYNQKFKDKA  
SSSTAYMQLSSLTSEDAVYYCARYDDHYCLDYWGQGTTLVSSGGGSGGGSDIQLTQSPALMSAS  
PGEKVMTCRASSVSYMNWYQQKSGTSPKRWLYDTSKVAVSGVPYRFSGSGSGTSYSLTISMEAE  
OWSSNPITFAGTIKLELKSQGGSEVQILLEQSGAEILVRPGTSVKLSCKASCGTYFTSYGLSWV  
EVYPRIGNAYNEKFKGKAIIADKSSTASMEILRSLTSEDSAVYFCARRGSYGSNYDWYFDV  
GGGGSGGGGGGGSELVMTQTPLSLVEVSLGDQASISCRSSQSLVHSNQNTYLHWYLQKPGQSP  
FSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAFLGVYFCQSOSTHVEYTFFGGTKLEIKHHHHHH

도면10

## O) 헝-CD3 VHVL al x 4-1 VHVL (서열 번호 : 55)

GATATCAAAC TG CAGG CAGT CAGGG CTG CA ACT TGG CAA AG ACCT GGG CCT CAG TGA AAG AT GT CCT GCA AG A GACT TC  
 TGG CT ACAC CT TA CTT ACT TAG GT ACAC GAT GCA CT GGG TAA AAC AGAG GGC CT GG ACAG GGG TCT GGA AT GG AT TG GG AT  
 AC AT TA AT CC TA AGG CG GT GG TT ATA CT AA T CAG AAG T CA AG AAG T CA AG GCA AGG CC AC AT TG GACT AC AG A CAAA  
 TC CT CC AGG CAC AG C CTA C AT GCA ACT GAG CAG CC GT GAC AT CT GAG GAC CT TG CAG CT ATT ACT GT GCA AG A GATA  
 TT AT GAT GAT C AT TACT GGC TT GACT ACT GGG CT GCA AGG CAC ACT CTC ACAG GTC CC TCA GGT CGA A GCT CAG CT GCA AG GGT GG AA  
 GT GG AG GT TCT GG GT GG AA AG GT GG AG GT TCA GG GT GG AG GT CG AC GAC AT TC AG CT GAC CT GAC CC AG TCC CAG CA AT CAT G  
 TCT GC AT C TCC AGGG CAC CT CCC CAA AAA AG AT GG AT TT AT GAC AC AT CCA AA AGT GG CT TCT GG AG GT CC CT TAT CG CT  
 GC AG AAG T CAG G CAC CT CCC CAA AAA AG AT GG AT TT AT GAC AC AT CCA AA AGT GG CT TCT GG AG GT CC CT TAT CG CT  
 TCA G TGG CAG TGG GT CT GGG AC CT CA TACT CT CACA AT CAG CAG C AT GG AG GT CT GA AG AT GT CT GCC ACT TAT  
 TACT GC CA AC AG TGG AG GT TGA ACC CG CT CA CG TGT CG GT GG AC TGT GG AG CT GCA AT CC GG AG GT GG  
 TGG AT CCG AG GT GCA GT CG AG CT CG AGG CAG TGT GG AG CT GAG CT TGG TA AG GG CAG TGG AC TCA GAT G AAG AT AT C C T  
 GCA AG GG CT TCT GG AT TAC AG CC TT CACT A TACT GGT GCA TACT GGT TGG GT GG AT TGG GT GG AT TGG AC AT GG AC TT G G A  
 TGG GT TGG AG AT AT TCC TGG AAG TGG TA AT GCT CACT AC AT GAG AAG TT CAG GCA AT GG GCA AA AG CC AC AT GAC  
 TGC AG AC AA AG TCC TCG TA CAC AG CC TA TAT GCA GGT CAG TGG CCT GAC AT CT GAG GACT CT GGT GT CT ATT TT CT  
 GT GG CA AG AT TGG GGA ACT TGG GAC GAG GT AT GG GACT AT GG GACT AT GG GCA AG GG GAC CAC GG TCA CC TCG AG GT  
 GGT GGT GGT TCT GG C GGG GGT CC GGT GG TT CT GAG CT GAG GACT CT GGT GT CT ATT CC AT CCT CC CT  
 GAG TGT GT CAG CAG GAG AAG GT CACT AT GAG CT GG CA AG TCC AG TGT GAG GT CTT AA AC AG TGG AA AT CAA  
 AG AACT ACT TGG CCT GGT ACAG CAG AA ACC AGGG CAG GC TT CCT AA ACT GT GAT CT AC GGG CAT CC ACT AGG  
 GA AT CT TGG GT CC CT GAT CG CT TCA CAG G CAG TGT GAT CT GG AA CAG AT TT CACT

도면10계속

TCACCATCAGCAGTGTGCAGGCTGAAGACCTGGCAGTTATTACTGTAGAATGATTATAGTTATCCGTACACG  
TTCGGAGGGGGACCAAGCTTGAGATCAAACATCACCATCATCATAG

(서열 번호 : 56)

DIRLQQSGAEELARP GASVKMSCKTSGYTFTRYTMHWVKQRPGGLEWIGYINPSRGYTNYNQKFKDRAKLTTDK  
SSSTAYMQLSSLTSEDSAVYCARYYDDHYCLDYWGQGTTITVSSVEGGSGGGSGGGSYSLTISSMEEADAATY  
SASPGEKVMTCRASSSVSYMNNWYQQRSGTSPKRWLYDTSKVVASGVPYRFSGSGTSYSLTISQLTQSPAIM  
YCQQWSSSNPLTFGAGTKLELKSGGGSEVOLLEQSGAELVRPGTSVKISCKASGYAFTNYWLGWVKQRPGHGLE  
WVGDIIFPGSGNAHYNEKFKGKATLTADKSSYTAYMQLSSLTISEDSAVYFCARLRNWDEAMDYWQGTTTVSSG  
GGGGGGGGGGSELIVMTQSPSSLSVSAGEKVMTMSCKSSQSLNSGNQKNYLAWSQQKPGQPPKLLIYGASTR  
ESGVPDFRTGSGSGTDFTLTISSVQAEDLAVYYCQNDYSYPYTFGGGTKEIKHHHHH

## 도면 1P

P) 항-CD3 VHVL aL Ser x 4-1 VHVL (K형 번호 : 57)

GATATCAAACCTGAGCAGTCAGGGCTGAACCTGGCAAGACCTGGCCCTCAGTGAAGAATGTCCTGCAAGACTTC  
TGGCTACACCTTACTAGGTACACGATGCCACTGGTAAACAGAGGCCCTGGACAGGGTCTGGAATGGATTGGAT  
ACATTAATCCTAGCCGTGGTTATACTATTACAATTCAGAAGTCAAGGACAAGGCCACATTGACTACAGACAAA  
TCCTCCAGCACAGCCTACATGCAACTGAGCAGCCCTGACATCTGAGGACTCTGCACTGAGTCAGTCTATTA  
TTATGATGATCATTTACTCCCTTGACTACTGGGCCAAGGCACCACTCTCACAGTCTCAGTCAAGGTGGAA  
GTGGAGGTTCTGGTGGAAAGTGGAGGTTAGGTGGAGCTCGAGCAGACATTAGCTGACCCAGTCAGTCAGTCA  
TCTGCATCTCCAGGGAGAAGGTACCATGACCTGCAAGGCAGTCAGTCAAGTGTAAAGTTACATGAACACTGTA  
GCAGAAGTCAGGCCACCTCCCTGGTCTGGGACCTCATACTCTCACAAATCAGCAGCTGGAGGCTGAAGATTC  
TCAGTGGCAGTGGCTGGTCTGGGACCTCATACTCTCACAAATCAGCAGCTGGAGGCTGAAGATGCTGCCACTTAT  
TACTGCCAACAGTGGAGTAGTAACCCGGCTCACGTTGGGACCAAGCTGGAGCTGAAGTGGACTTCAGTGAAGATA  
TGGATCCAGGGTGCAGCTGGTCTGAGCAGTCTGGAGCTGAGCTGGTAAGGGCTGGAGCTCAGTGAAGATA  
GCAAGGGCTCTGGATAAGCCTTCACTAACTACTGCTAGGTTGGTTAAGCAGAGGGCTGGACATGGACTTGAA  
TGGGTTGGAGATACTTCCCTGGAAAGTGGTAATGCTCACTACAATGAGAAGTTCAAGGGCAAAGGCCACACTGAC  
TGGCAGAACAGTCAGCCTATATGCACTGAGGACTCTGAGGCTGACATCTGAGGACTCTGCTGTCTATTCT  
GTGCAAGAATTGGGAACCTGGCAGGAGCTATGGACTACTGGGCAAGGGGCAAGGGGACAGGGTCAAGGTCT  
GGTGGTGGTTCTGGGGGGCTCCGGGGTCTGAGCTGGTGTGAGCTGATGACAGTCTCCATCTCCCT  
GAGTGTGTCAAGGGAGAAGGTCACTATGAGCTGCAAGTCCAGTCAAGTGTAAACAGTGGAAATCAAAA  
AGAAACTACTGGCTGGTACAGCAGAAACCAGGGCAGCTGGTCACTGCAAGGACTCTGGAAACAGATTCACT  
GAATCTGGGTTCCCTGATCAGGGCAGTGGATCTGGAAACAGATTCACT

도면1P계속

TCACCATCAGCAGTGTGCAGGCTGAAGACCTGGCAGTTATTACTGTAGAATGATTATAGTTATCCGGTACACG  
TCGGAGGGGGACCAAGCTTGAGATCAAACATCATCACCATTAG

(서열 번호 : 58)

DIKLQQSGAELARP GASVKM SCKTSGYTFTRYTMHWVKORPGQGLEWIGYINPSRGYTYNNQKFKDKATLTTDK  
SSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCARYDDHYSLDYWGQGTTILTVSSVEGGSGGGSGGGVYDTSKRYASGVYRFSGSGETSYLTISSMEEADAATY  
SASPGEKVMTMTCRASSSVSYMNWYQQKS GTSPKRWIYDTSSKGAFITNYWLGWVKQRPGHGLE  
YCQQWSNPLTFGAGTIKEIKSGGGSEVOLLEQSGAELVRPGTSVKISCRASGYAFTNYWLGWVKQRPGHGLE  
WVGDIIFPGSGNAHYNEKFKGKATLTA DKSSYTAYMOLSSLTSEDSAVYFCARLRNWDEAMDYWQGTTVTVSSG  
GGGGGGGGGGSELVMTQSPSSLVSAGEKV TMSCKSSQSLNSGNQKNYLAWYQQKPGQPPKLLIYGASTR  
ESGV PDRFTGSGSGTDFLTISSVQAEDLAVYQOND SYFYT FGGGT KLEIKHHHHHH

도면 1Q

Q 항-CD3 VHVL stL x 4-1 VHVL (서열 번호 : 59)

GATATCAAAC TGCGAGCTCAGGGCTGAACTGCAAGACCTGGGCCTCAGTGAAAGATGTCCTGCAAGACTTC  
TGGCTACACCTTAACTAGGTACACGAGCAGCTGGTAAACAGAGGCCCTGGACAGGGCTGGAAATGGATTGGAT  
ACATTATCCCTAGCCGTTATACTAATCAGAAGTCAAGGACAAGGCCACATTGACTACAGACAAA  
TCCCTCAGCACGCCCTACATGCAACTGAGCAGCTGACATCTGAGGACTCTGGCAGTCTATTACTGTGCAAGATA  
TTATGATGATCATTAATCTGGCTTGACTZACTGGGCCAACCTCAGCTCAGGTGGCTGGTT  
CTGGCGGGGGCTCCGGTCTGACATTCAAGCTGACCTGACCTGACCTGACATCTGCAAGTCTCAGCAATCATGTCTGCATCT  
CCAGGGAGAACGTCACCATGACCTGCAAGGCCAGTCAAGTTACATGAACTGGTACAGTGAAGATA  
AGGCACCTCCCCAAAAGATGGATTATGACACATCCAAGGTGGCTTCTGGAGCTCCCTTATCGCTTCAGTGGCA  
GTGGGTCTGGACTCATACTCTCAACATCAGCAGCATGGAGCTGAAGATGCTGCCACTTATTACTGCCAA  
CAGTGGAGTAGTAACCCGCTCACGTTCGTGTGGACCAAGCTGGAGCTGAATCCGGAGGTTGGATCCGA  
GGTGCAGCTGCTGAGGAGLCTGGAGCTGAGCTGGTAAGGCTGGACTTCAGTGAAAGATA  
CTGGATACGCCCTCACTAACTACTGGCTAGGTTAGGTGAACTGGACTCTGGACTCTGGACATGGTCAAGATGGTTGGA  
GATATTTCCTGAAAGTGGTAATGCTCACTACATGAGAAGTCAAGGGCAAAGGCCACACTGACTGCAGACAA  
GTCCTCGTACACAGCCTATGAGCTCAGTAGCCTGACATCTGAGGACTCTGCTGTCTATTCTGTGCAAGAT  
TGCGGAACCTGGACGAGGTATGGACTACTGGGGCAAGGGGACCCAGGTACCCGTCCTCAGGTGGGGT  
TCTGGCGGGGGCTCCGGTGTGGTCTGAGCTGTCAGTGAACAGTCTCCATCCCTGAGTGTGTC  
AGCAGGAGAGAACGTCACATGAGCTGCAAGTCCAGTCAAGTGGAAATCAAAGAACTACT  
TGGCTGGTACAGCAGAAACCAGGGAGCCTCCCTAAACTGTTGATCTACGGGCATCCACTAGGAAATCTGGG  
GTCCTCGCTGATCGCTTACAGGGCAGTGGATCTGGAAACAGATTCACTCCACCATCA

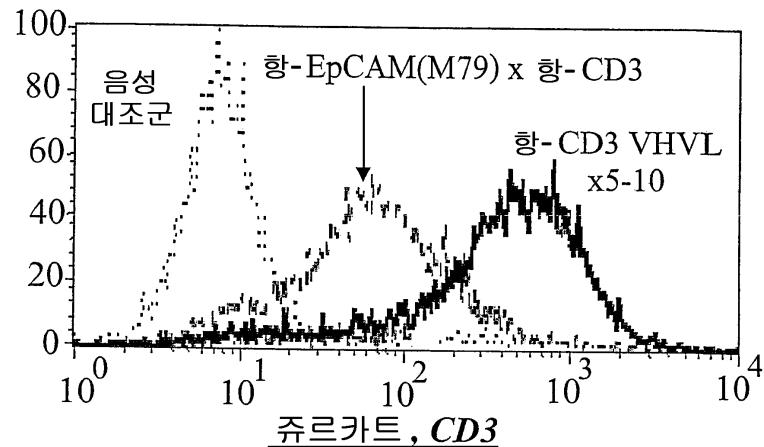
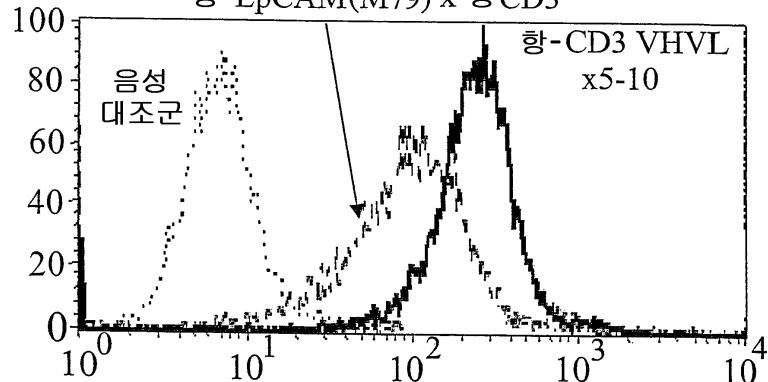
도면1Q계속

GCAGTGTGCAGGCTGAAGACCTGGCAGTTATTACTGTCAAGAATGATTATACCGTACACGTTCGGAGGG  
GGGACCAAGCTTGAGATCAAACATCATCACCATCATAG

(서열 번호 : 60)

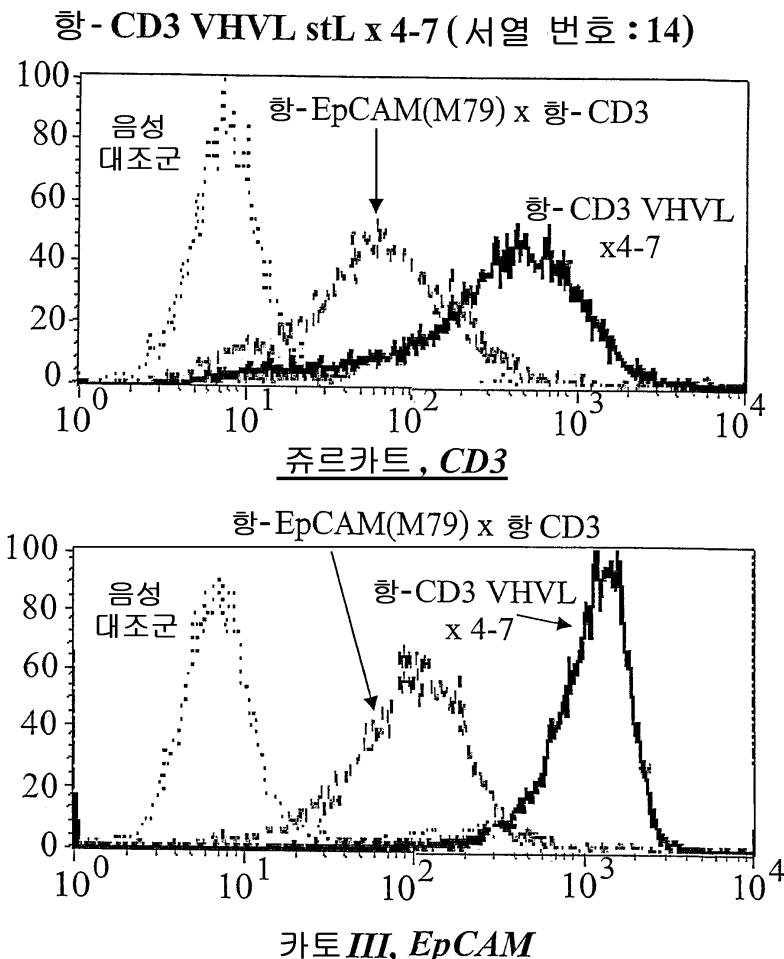
DIKLQQSGAELARPASVKSCKTSGYTFRTRYMHWKORPGOGLEWIGYINPSRGYTYNQKFKDKAATLTTDK  
SSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCARYDDHYCLDYWGQGTTLTYSSGGGGGGSDIQLTQSPAIMSAS  
PGEKVMTICRASSSVSYMNWYQOKSGTSPKRWIYDTSKVASGVYPRFSGSGSGTSYSLTISMSAEADAATYYCQ  
QWSSNPFLIFGAGTKLELKSGGGSEVQLLFQSAGELVVRGTSVKISCKASGYAFTINYWLGWVKQRPGHGLEWVG  
DIFPGSGNAHYNEKFKGKATLTADKSSYTAYMQLSSLTSEDASAVYFCARLRNWDEAMDYWGQGTTVTSSGGGG  
SGGGGGGGSELVMTQSPSSLSVSAGEKVMSCKSSQSLINSGNQKNYLAWYQQKPGQPPLLIYGASTRESG  
VPDRFTGSGSGTDFITLTISSVQAEDLAVYYCQNDYSYPTEGGGTKLEIKHHHHHH

## 도면2A

**항- CD3 VHVL stL x 5-10 (서열 번호 :18)****항- EpCAM(M79) x 항 CD3**

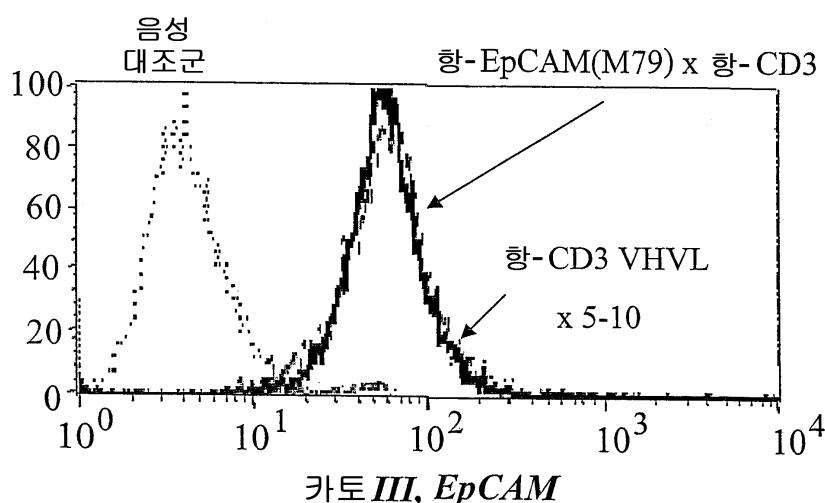
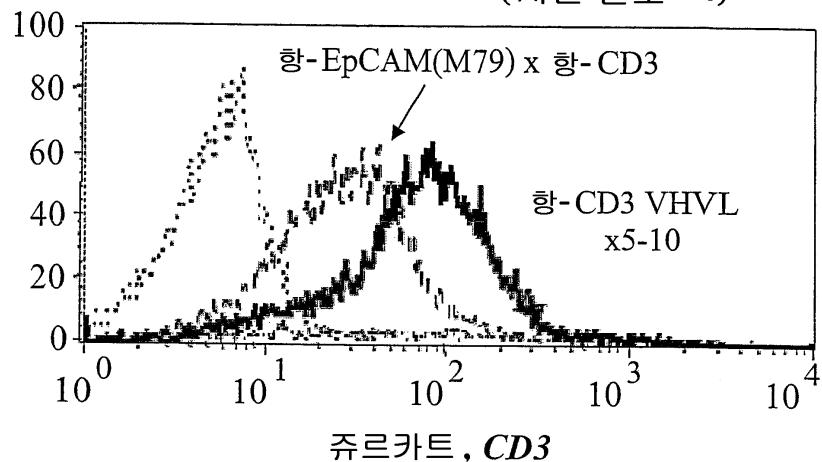
- 64 -

도면2B



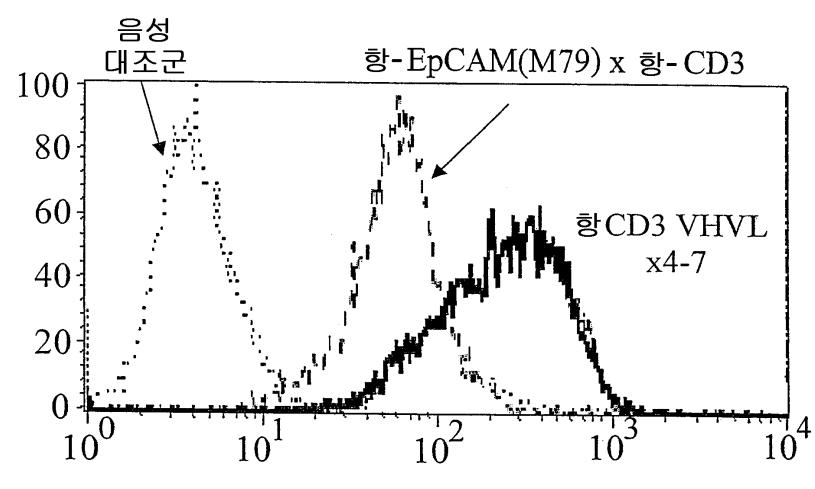
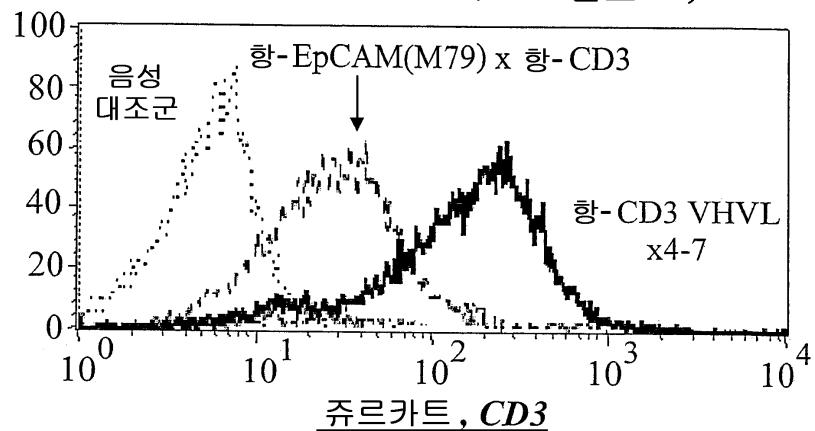
도면2C

## 항-CD3 VHVL aL x 5-10 (서열 번호 : 4)



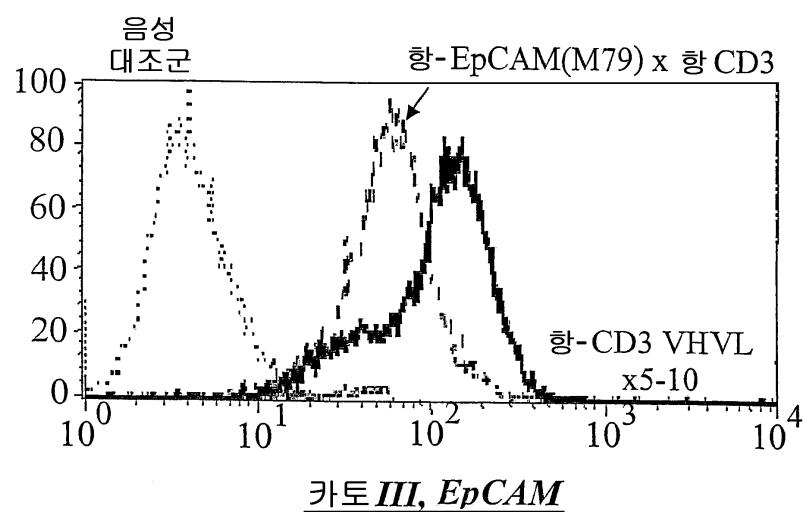
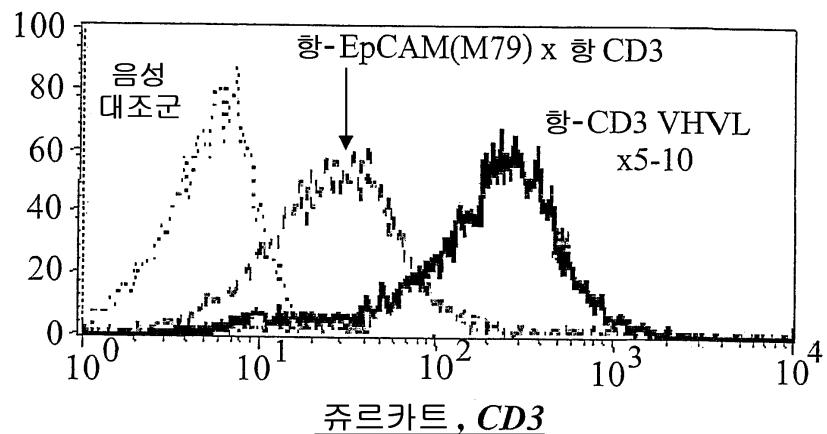
도면2D

## 항-CD3 VHVL aL x 4-7 (서열 번호 : 2)

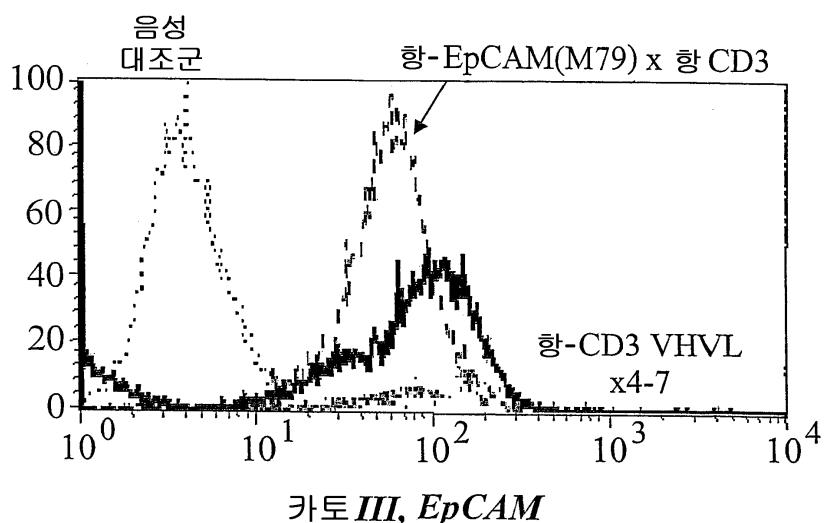
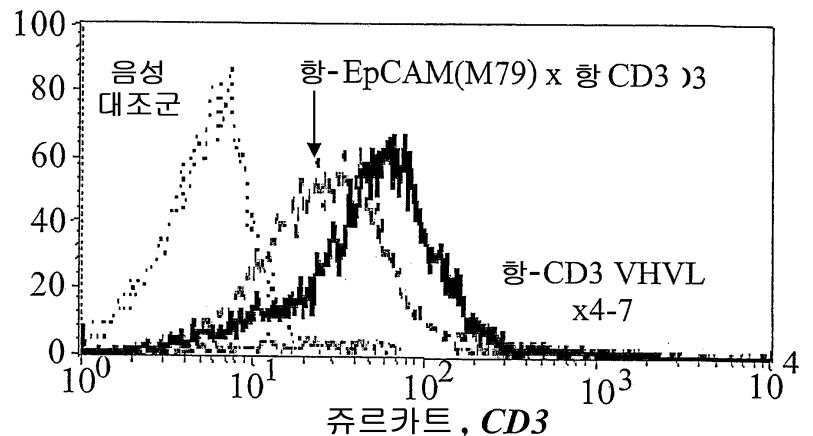


도면2E

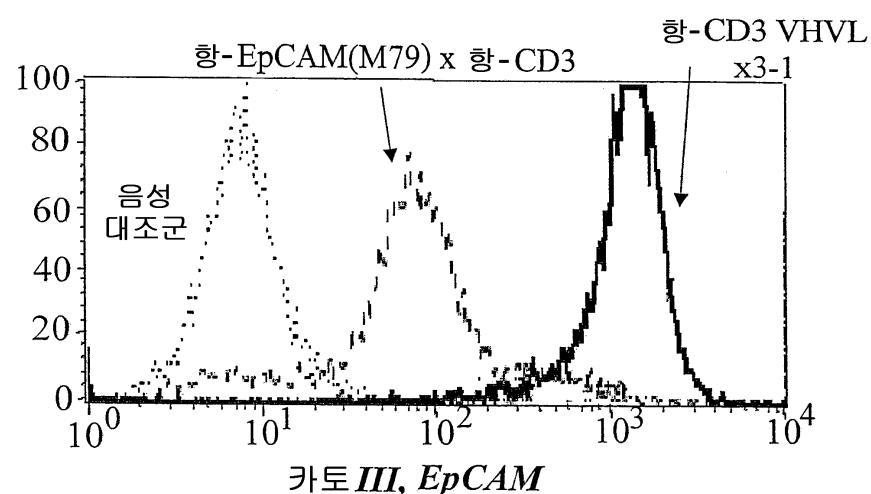
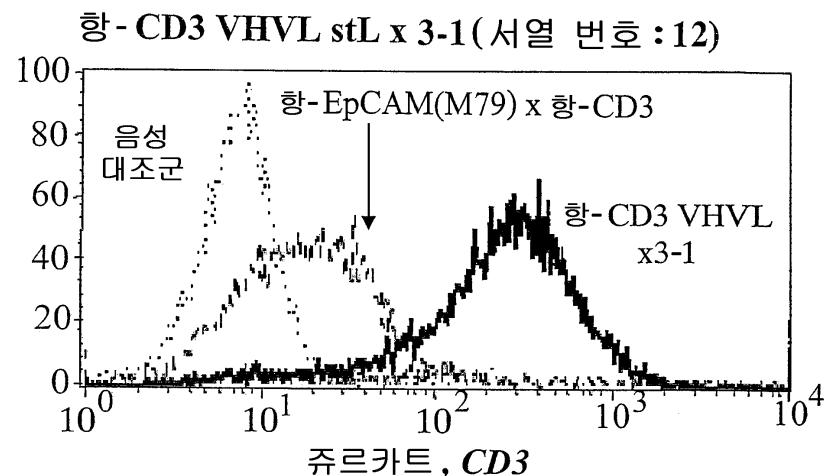
## 항-CD3 VHVL aL Ser x 5-10 (서열 번호 : 10)



도면2F

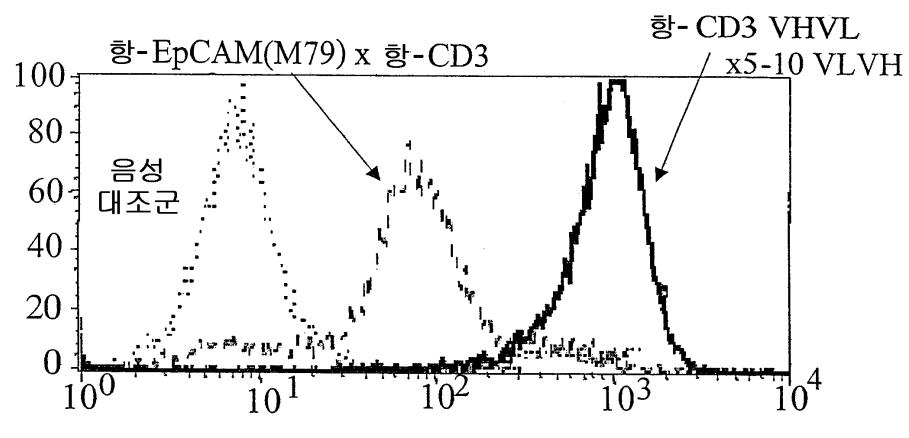
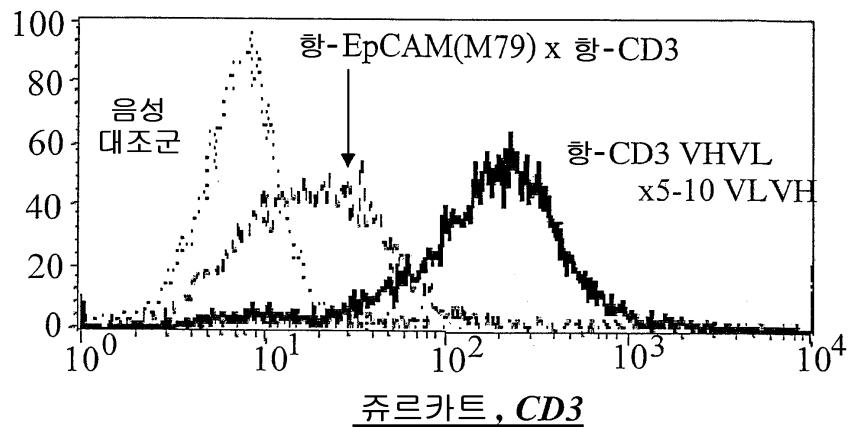
**항-CD3 VHVL aL Ser x 4-7 (서열 번호 : 8)**

도면2G

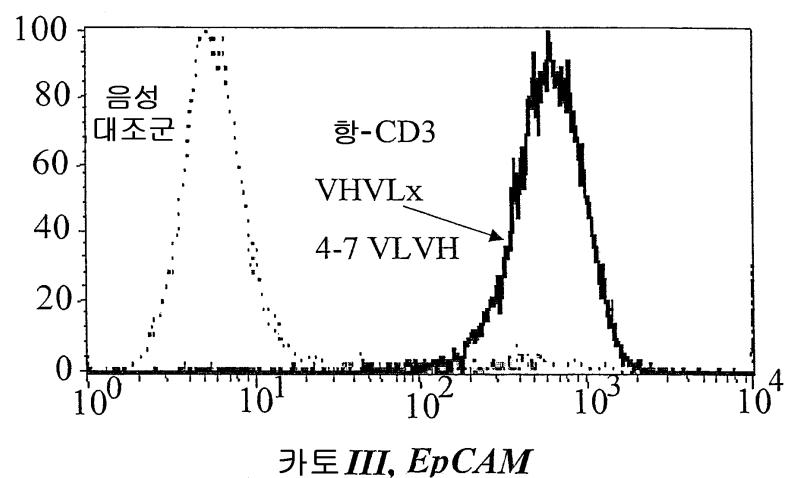
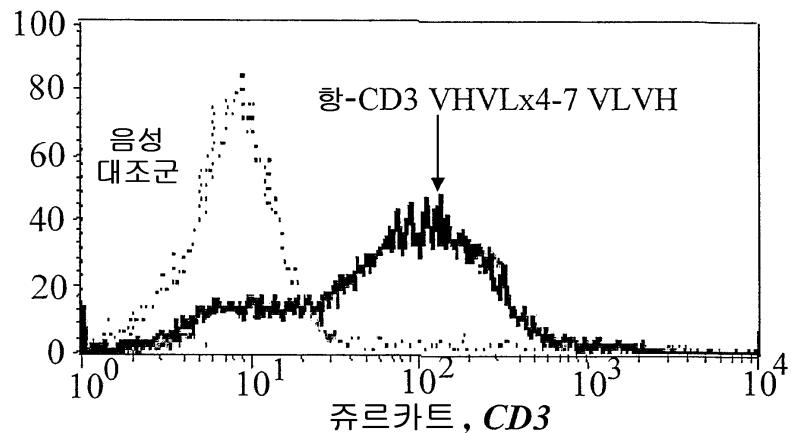


도면2H

## 항-CD3 VHVL stL x 5-10 VLVH (서열 번호 : 20)



## 도면2I

**항-CD3 VHVL stL x 4-7 VLVH (서열 번호 : 16)**

도면3A

## 4-7 (vLvH) \* 헬-CD3 (서열 번호 : 42)

1	MGWSCIIIFL	VATATGVHSA	RELVMTQTPL	SLPVSLGDQA	SISCRSSQSL
51	VHSNGNTYIH	WYLQKPGQSP	KLLIYKVSNR	FSGVPDRFSG	SGSGTDFTLK
101	ISRVVEADLG	VYFCOSOTHV	PYTEGGGTLK	EIKGGGGSGG	GGGGGGSEV
151	QLEQSGAEL	ARPGASVHL	CKASGYTFIN	YGLSWVKQRP	GQVLEWIGEV
201	YPRIGNAYYN	EKFKGKATLT	ADKSSTASM	ELRSILTSEDS	AVYFCARRGS
251	YDTNYDWYED	VWGQGTTVTV	SSGGGGSDIK	LQQSGAELLAR	PGASVCKMSCK
301	TSGYTFTRYT	MHWVKQRPQ	GLEWIGYINP	SRGYTNYNQK	FKDKATLTTD
351	KSSSTAYMQL	SSLTSEDSA	YYCARYYDDH	YCLDYWGQGT	TLTVSSVEGG
401	SGGGGGSGGS	GGVDDIQLTQ	SPAIMSASPQ	EKVMTCRAS	SSVSYMNWYQ
451	QKSGTSPKRW	IYDTSKVASG	VPYRFSGSGS	GTSYSLTISS	MEAEDAATYY
501	CQQWSSNPLT	FGAGTKLELK	HHHHHH*		

## 도면3A 계속1

서열 번호 : 41

1 ATGGGATGGA GCTGTATCAT CCTCTTCTTG GTAGCAACAG CTACAGGTGT  
 51 ACACTCCGCG CGCAGGCTCG TGATGACCCA GACTCCACTC TCCCTGCCTG  
 101 TCAGTCTTGG AGATCAAGCC TCCATCTCTT GCAGATCTAG TCAGAGCCTT  
 151 GTACACAGTA ATGAAACAC CTATTACAT TGGTACCTGC AGAACGCCAGG  
 201 CCAGTCTCCA AAGCTCCTGA TCTACAAAAGT TTCCAAACGA TTTCCTGGGG  
 251 TCCCAGACAG GTTCAGTGGC AGTGGATCAG GGACAGATT CACACTCAAG  
 301 ATCAGCAGAG TGGAGGCTGA GGATCTGGGA GTTTATTTCT GCTCTCAAAG  
 351 TACACATGTT CCGTACACGT TCGGAGGGGG GACCAAGCTT GAGATCAAAG  
 401 GTGGTGGTGG TTCTGGGGC GGGGGCTCCG GTGGTGGTGG TTCTGAGGTG  
 451 CAGCTGCTCG AGCAAGTCTG AGCTGAGCTG GCGAGGCCTG GGGCTTCAGT  
 501 GAAGCTGTCC TGCAAGGGCTT CTGGCTACAC CTTCACAAAC TATGGTTAA  
 551 GCTGGTGAAGCAGAGGGCCCT GGACAGGTCC TTGAGTGGAT TGGAGAGGTT  
 601 TATCCTAGAA TTGTAATGC TTACTACAAT GAGAAGTTCA AGGGCAAGGC  
 651 CACACTGACT GCAGACAAT CCTCAGCAC AGCGTCCATG GAGCTCCGCA  
 701 GCCTGACCTC TGAGGACTCT GCGGTCTATT TCTGTGCAAG ACGGGGATCC  
 751 TAGGATACTA ACTACGACTG GTACTTCGAT GTCTGGGCC AAGGGACCAC  
 801 GGTCAACCGTC TCCTCCGGAG GTGGTGGATC CGATATCAAAT CTGCAGCAGT  
 851 CAGGGGCTGA ACTGGCAAGA CCTGGGGCCT CAGTGAAGAT GTCCCTGCAAG

## 도면3A 계속2

**3A**

901	ACTTCTGGCT	ACACCTTTAC	TAGGTACACCG	ATGCACTGGG	TAAAACAGAG
951	GCCTGGACAG	GGTCTGGAAAT	GGATTGGATA	CATTAATCCT	AGCCGTGGTT
1001	ATACTAATTAA	CAATCAGAAAG	TTCAAGGACA	AGGCCACATT	GACTACAGAC
1051	AAATCCTCCA	GCACAGCCTA	CATGCAACTG	AGCAGCCTGA	CATCTGAGGA
1101	CTCTGCAGTC	TATTACTGTG	CAAGATATTAA	TGATGATCAT	TACTGCCTTG
1151	ACTACTGGGG	CCAAGGCACC	ACTCTCACAG	TCTCTCAGT	CGAAAGGTGGA
1201	AGTGGAGGTT	CTGGTGGAAAG	TGGAGGTTCA	GGTGGAGTTCG	ACGACATTCA
1251	GCTGACCCAG	TCTCCAGCAA	TCATGTCCTGC	ATCTCCAGGG	GAGAAGGTCA
1301	CCATGACCTG	CAGAGCCAGT	TCAAGGTAA	GTTACATGAA	CTGGTACCAAG
1351	CAGAAAGTCAG	GCACCTCCCC	CAAAGATGG	ATTATATGACA	CATCCAAAGT
1401	GGCTTCTGGA	GTCCTTATC	GCTTCAGTGG	CAGTGGGTCT	GGGACCTCAT
1451	ACTCTCTCAC	AATCAGCAGC	ATGGAGGCTG	AAGATGCTGC	CACTTATTAC
1501	TGCCAACAGT	GGAGTAGTAA	CCCGCTCAGG	TTCGGGTGGCTG	GGACCAAAGCT
1551	GGAGCTGAAA	CATCATCACC	ATCATCATTA	G	

도면3B

## 3-5 (vLvh) κ-CD3 (서열 번호 : 30)

1 MGWSCIIIFL VATATGVHSA RELVMTQTPL SLPVSLGDOA SISCRSSQSL  
 51 VHNSNGNTYLN WYLQKPGQSP KLLIYKVSNR FSGVPDRFSG SGSGTDFTLK  
 101 ISRVEAEDLG VYFCSQSTHV PYTEGGTKL EIKGGGGSGG GGSGGGSEV  
 151 OLEQSGAEL VRPGTSVKLS CKASGYFTS YGLSWVKORT QGGLEWIGEV  
 201 YPRIGNAYN EKFKGKATLT ADKSSSTASM ELRSILTEDS AVYFCARRGS  
 251 YGSNYDWYFD VWGQGTTVTV SSGGGSDIK LQQSGAELAR PGASVMSCK  
 301 TSGYTFTRYT MHWVKQRPGQ GLEWIGYINP SRGYTNYNQK FKDKATLTTD  
 351 KSSSTAYMQL SSLTSEDSAV YYCARYYDDH YCLDYWGQGT TLTVSSVEGG  
 401 SGSGGGSGS GGVDDIQLTQ SPAIMSASPQ EKVMTCRAS SSVSYMNWYQ  
 451 QKSGTSPKRW IYDTSKVASG VPYRFSGSGS GTSYSLTISS MEAEDAATYY  
 501 CQQWSSNPLT FGAGTKLELK HHHHHH\*

도면3B계속1

서열 번호 : 29:

1 ATGGGATGGA GCTGTATCAT CCTCTTCTTG GTAGCAAACAG CTACAGGTGT  
 51 ACACCTCCGCG CGCGAGCTCG TGATGACCCA GACTCCACTC TCCCTGCCTG  
 101 TCAAGTCTTGG AGATCAAGCC TCCCATCTCTT GCAGATCTAG TCAGAGCCTT  
 151 GTACACAGTA ATGGAAACAC CTATTACAT TGGTACCTGC AGAAGGCCAGG  
 201 CCAAGTCTCCA AAGCTCCTGA TCTZACAAAGT TTCCAACCGA TTTTCCTGGG  
 251 TCCCAGACAG GTTCAGTGGC AGTGGATCAG GGACAGATTT CACACTCAAG  
 301 ATCAGCAGAG TGGAGGCTGA GGATCTGGGA GTTATTCT GCTCTCAAAG  
 351 TACACATGTT CCGTACACGT TCGGAGGGG GACCAAAGCTT GAGATCAAAG  
 401 GTGGTGGTGG TTCTGGGGC GGCGGCTCCG GTGGTGGTGG TTCTGGGGT  
 451 CAGCTGCTCG AGCAAGTCTGG AGCTGAGCTG GTAAGGCCCTG GGACTTCAGT  
 501 GAAGCTGTCC TGCAAGGCTT CTGGCTACAC CTTACAACG TATGGTTAA  
 551 GCTGGGTGAA GCAGAGAAC TTGAGTGGAT TTGAGTGGAT TGGAGGGTT  
 601 TATCCTAGAA TTGTAATGC TTACTACAAT GAGAAGTTCA AGGGCAAAGGC  
 651 CACACTGACT GCAGACAAAT CCTCCAGCAC AGCGTCCATG GAGCTCCGCA  
 701 GCCTGACATC TGAGGACTCT GCGGTCTATT TCTGTGCAAG ACGGGGATCC  
 751 TACGGTAGTA ACTACGACTG GTACTTCGAT GTCTGGGGCC AAGGGACCAC  
 801 GGTCAACCGTC TCCTCCGGAG GTGGTGGATC CGATATCAAAT CGATATCAA  
 851 CAGGGGCTGA ACTGGCAAGA CCTGGGGCCT CAGTGAAGAT GTCCCTGCAAG  
 901 ACTTCTGGCT ACACCTTTAC TAGGTACACG ATGCCACTGGG TAAAACAGAG

## 도면3B계속2

951 GCTCTGGACAG GGTCTGGAAAT GGATTGGATA CATTAATCCT AGCCCGTGGTT  
 1001 ATACTAAATTA CAATCAGAAAG TTCAAGGACA AGGCCACATT GACTACAGAC  
 1051 AAATCCTCCA GCACAGCCTA CATGCAAATG AGCAGCCTGA CATCTGAGGA  
 1101 CTCTGCAGTC TATTAATCTG CAAGATATTA TGATGATCAT TACTGCCCTTG  
 1151 ACTACTGGGG CCAAGGCACC ACTCTCACAG TCTCTCAGT CGAAGGTGGA  
 1201 AGTGGAGGTT CTGGTGGAAAG TGGAGGTTCA GGTGGAGTCG ACGACATTCA  
 1251 GCTGACCCAG TCTCCAGCAA TCATGTCTGC ATCTCCAGGG GAGAAGGTCA  
 1301 CCATGACCTG CAGAGCCAGT TCAAGTGTAA GTTACATGAA CTGGTACCAAG  
 1351 CAGAAAGTCAG GCACCTCCCC CAAAAAGATGG ATTATATGACA CATCCAAAGT  
 1401 GGCTTCTGGA GTCCCTTATC GCTTCAGTGG CAGTGGGTCT GGGACCTCAT  
 1451 ACTCTCTCAC AATCAGCAGC ATGGAGGCTG AAGATGCTGC CACTTATTAC  
 1501 TGCCAAACAGT GGAGTAGTAA CCCGGTCACG TTCGGTGCTG GGACCAAAGCT  
 1551 GGAGCTGAAA CATCATCACC ATCACATTA G

도면3C

## 3-1 (VLVH) κ 향-CD3 (서열 번호 : 36)

1 MGWSCIIILFL VATATGVHSE LVMTQSPSYL AASPGETITI NCRASKSJSK  
 51 YIAWYQEKG KTNKLIIYSG STLQSGIPS R FSGSGSGTDF TLTISLEPE  
 101 DEAMYYCQQH NEYPYTFGGG TKLEIKGGG SGGGGSGGG SEVQQLLEQSG  
 151 AELVKPGAVS KISCKASGYA FTNYWLGWVK QRPGHGLEWI GDLFPGSGNT  
 201 HYNERFRGKA TLADKSSST AFMQLSSLTS EDSAVYFCAR LRNWDEAMDY  
 251 WGQGTTVTVS SGGGSDIKL QQSGAELARP GASVAKMSCKT SGYTFTTRYTM  
 301 HWVKQRPGQG LEWIGYINPS RGYTNNYNQKF KDKATLTTDK SSSTAYMQLS  
 351 SITSEDSAVY YCARYYDDHY CLDYWGQGTT LTVSSVEGGS GGSGGGSGSG  
 401 GVDDIQLTQS PAIMSASPGE KVMTMTCRASS SVSYMNWYQQ KSGTSPKRWI  
 451 YDTSKVASGV PYREFSGSG SYSLTISSM EAEDAATYYC QQWSSNPLTF  
 501 GAGTKLEIKH HHHHH\*

도면3C계속1

## 서열 번호 : 35

1	ATGGGATGGA	GCTGTATCAT	CCTCTTCTTG	GTAGCAACAG	CTACAGGTGT
51	ACACTCCGAG	CTCGTCATGA	CCCAGTCTCC	ATCTTATCTT	GCTGCATCTC
101	CTGGAGAAC	CATTACTATT	AATTGCAGGG	CAAGTAAGAG	CATTAGAAA
151	TATTTAGCCT	GGTATCAAGA	GAAACCTGGG	AAAACTAATA	AGCTTCTTAT
201	CTACTCTGGA	TCCACTTTGC	AATCTGGAAT	TCCATCAAGG	TTCAGTGGCA
251	GTGGATCTGG	TACAGATTTC	ACTCTCACCA	TCAGTAGCCT	GGAGCCTGAA
301	GATTTGCAA	TGTATTACTG	TCAACAGCAT	ATGAAATATC	CGTACACGTT
351	CGGAGGGGG	ACCAAGCTTG	AGATCAAAGG	TGGTGGTGGT	TCTGGGGCG
401	GCGGCTCCGG	TGGTGGTGGT	TCTGAGGTGC	AGCTGCTCGA	GCAGTCTGGA
451	GCTGAGCTGG	TGAAACCTGG	GGCCTCAGTG	AAGATATCCT	GCAAGGCTTC
501	TGGATACGCC	TTCACTAACT	ACTGGCTAGG	TTGGTAAAG	CAGAGGCTG
551	GACATGGACT	TGAGTGGATT	GGAGATCITT	ICCCCTGGAAG	TGGTAAATAC
601	CACTACAATG	AGAGGTTCAAG	GGGCAAAGCC	ACACTGAATC	CAGACAAATC
651	CTCGAGCZACA	GCCTTTATGC	AGCTCAGTAG	CCTGACATCT	GAGGACTCTG
701	CTGTCATTT	CTGTGCAAGA	TTGAGGAAC	GGGACGGAGG	TATGGACTAC
751	TGGGGCCAAG	GGACCACGGT	CACCGTCTCC	TCCGGAGGTG	GTGGATCCGA
801	TATCAAACGT	CAGCAGTCAG	GGGCTGAAC	GGCAAGACCT	GGGGCCTCAG
851	TGAAGATGTC	CTGCAAGACT	TCTGGCTIACA	CCTTTACTAG	GTACACGGATG
901	CACTGGTAA	AACAGAGGCC	TGGACAGGGT	CTGGAAATGGA	TTGGATACAT

## 도면3C계속2

**3C**

951	TAATCCTAGC	CGTGGTTATA	CTAATTACAA	TCAGGAAGTTC	AAGGACAAGG
1001	CCACATTGAC	TACAGACAAA	TCCTCCAGCA	CAGCCTACAT	GCAAACGTGAGC
1051	AGCCTGACAT	CTGAGGACTC	TGCAGTCTAT	TACTGTGCAA	GATATTATGA
1101	TGATCATTAC	TGCCTTGACT	ACTGGGGCCA	AGGCACCCT	CTCACAGTCT
1151	CCTCAGTCGA	AGGTGGAAGT	GGAGGTTCTG	GTGGAAGTGG	AGGTTAGGT
1201	GGAGTCGAGC	ACATTAGCT	GACCCAGTCT	CCAGGAATCA	TGTCTGCATC
1251	TCCAGGGGAG	AAGGTACCA	TGACCTGCAG	AGCCAGTTCA	AGTGTAAAGTT
1301	ACATGAACCTG	GTZACCAGCAG	AAGTCAGGCCA	CCTCCCCCAA	AAGATGGATT
1351	TATGACACAT	CCFAAAGTGGC	TTCTGGAGTC	CCTTATCGCT	TCAGTGGCAG
1401	TGGGTCTGG	ACCTCTACT	CTCTCACAAAT	CAGCAGCATG	GAGGCTGAAG
1451	ATGGCTGCCAC	TTTATTACTGC	CAACAGTGGA	GTAGTAACCC	GCTCACGTTC
1501	GGTGCTGGGA	CCAAGCTGGA	GCTGAAACAT	CATCACCACAT	ATCATTTAG

도면3D

## 4-1 (VLVH) x 헥-CD3 (서열 번호 : 39)

1 MGWSCIIILFL VATATGVHSE LVMTQSPSSL SVSAGEKVTM SCKSSQSILN  
 51 SGNQKNYLAW YQQKPGQPQPK LLIYGASTRE SGVPDRFTGS GSGTDFTLTI  
 101 SSVQAEDIAV YYCQNDYSYP YTFFGGTKLE IKGGGSGGG GSAGGGSEVQ  
 151 LIEQSGAELV RPGTSVKISC KASGYAFTNY WLGWVKQRPQ HGLEWVGDF  
 201 PGSGNAHYNE KFKGKATLTA DKSSYTAYMQ LSSLTSEDSA VYFCARLRNW  
 251 DEAMDYWQG TTVTVSSGG GSDIKLQQSG AELARPGASV KMSCKTSGYT  
 301 FTRYTMHWVK QRPGQGLEWI GYINPSRGYT NYNQKFKDKA TLTTDKSSST  
 351 AYMQLSSITS EDSAVYYCAR YYDDHYCLDY WGQGTTLTVS SVEGGGGSG  
 401 GSGGSGGVDD IQLTQSPAIM SASPGEKVTM TCRASSSVSY MNWYQOKSGT  
 451 SPKRWIYDTS KVASGVPYRF SGSGSGTYSYS LTISSMEAED AATYYCQQWS  
 501 SNPITFGAGT KLELKHHHHH H\*

도면3D계속1

## 3D

서열번호 : 38:

1	ATGGGATGGA	GCTGTATCAT	CCTCTTCTTG	GTAGCCAACAG	CTACAGGTGT
51	ACACTCCGAG	CTCGTGTATGA	CACAGTCTCC	ATCCTCCCTG	AGTGTGTCAAG
101	CAGGAGAAA	GGTCACTATG	AGCTGCAAGT	CCAGTCAGAG	TCTGTAAAC
151	AGTGGAAATC	AAAAGAACTA	CTTGGCCTGG	TACCAAGCAGA	AACCAGGGCA
201	GCCTCCTAA	CTGTTGATCT	ACGGGCATC	CACTAGGAA	TCTGGGTCC
251	CTGATCGCTT	CACAGGCAGT	GGATCTGGAA	CAGATTTCAC	TCTCACCAC
301	AGCAGTGTGC	AGGCCTGAAGA	CCTGGCAGTT	TATTACTGTC	AGAAATGATTA
351	TAGTTATCCG	TACACGTTCG	GAGGGGGAC	CAAGCTTGAG	ATCAAAGGTG
401	GTGGGGTTC	TGGGGGGCC	GGCTCCGGGT	GTGGTGGTTC	TGAGGTGCAG
451	CTGGCTCGAGC	AGTCTGGAGC	TGAGCTGGTA	AGGCCCTGGGA	CTTCAGTGAA
501	GATATCCTGC	AAGGGTTCTG	GATA CGCCCTT	CACTA ACTAC	TGGCTAGGTT
551	GGGTTAACCA	GAGGCCCTGGA	CATGGACTTG	AATGGGTTGG	AGATA TTTC
601	CCTGGAAGTG	GTAATGCTCA	CTACAAATGAG	AAGTTCAAGG	GCAAAGCCAC
651	ACTGACTGCA	GACAAGTCC	CGTACACAGC	CTATATGCAG	CTCAGTAGCC
701	TGACATCTGA	GGACTCTGCT	GTCTATTTC	GTGCAAGATT	GCGGA ACTGG
751	GACGAGGGCTA	TGGACTACTG	GGGCCAAGGG	ACCACGGTCA	CCGTCCTCCTC
801	CGGAGGGTGGT	GGATCCGATA	TCAA ACTGCA	GCAGTCAGGG	GCTGA ACTGG
851	CAAGACCTGG	GGCCTCAGTG	AAGATGTCCCT	GCAAGACTTC	TGGCTACACC
901	TTTACTAGGT	ACACGATGCA	CTGGGTAAAA	CAGAGGCCTG	GACAGGGTCT

## 도면3D계속2

**3D**

951	GGAATGGATT	GGATAACATTA	ATCCTAGCCG	TGGTTATACT	AATTACAATC
1001	AGAAAGTTCAA	GGACAAGGCC	ACATTTGACTA	CAGACAAATC	CTCCAGGCACA
1051	GCCTACATGC	AACTTGAGCG	CCTGACATCT	GAGGACTCTG	CAGTCTTATA
1101	CTGTGCAAGA	TATTTATGATG	ATCATTACTG	CCTTGACTAC	TGGGGCCAAG
1151	GCACCCACTCT	CACAGTCTCC	TCAGTCCGAAG	GTGGAAGTGG	AGTTTCTGGT
1201	GGAAAGTGGAG	GTTTCAAGGTG	AGTCAGGGAC	ATTCAAGTGA	CCCAGTCTCC
1251	AGCAATCATG	TCTGCATCTC	CAGGGGAGAA	GGTCACCATG	ACCTGCAGAG
1301	CCAGTTCAAG	TGTAAAGTTAC	ATGAAACTGGT	ACCAGCAGAA	GTCAGGCACC
1351	TCCCCAAAAA	GATGGATTAA	TGACACATCC	AAAGTGGCTT	CTGGAGTCCC
1401	TTATCGCTTC	AGTGGCAGTG	GGTCTGGGAC	CTCATACTCT	CTCACAAATCA
1451	GCAGGCATGGA	GGCTGAAGAT	GCTGCCACTT	ATTACTGCCA	ACAGTGGAGT
1501	AGTAACCAGC	TCACAGTTCGG	TGCTGGGAC	AAGCTGGAGC	TGAAACATCA
1551	TCACCATCAT	CATTAG			

도면3E

## 5-10 (vLvh) x 헥-CD3 (서열 번호 : 44)

1 MGWSCILLFL VATATGVHSE LVMTQSPSSL TVTAGEKVTM SCKSSQSLLN  
 51 SGNQKNYLTW YQQKPGQOPPK LLIYWASTRE SGVPDRFTGS GSGTDFTLTI  
 101 SSVQAEDILAV YYCQNDYSYP LTFGAGTKLE IKGGGGSQQ GSGGGSEVQ  
 151 LLEQSGAELV RPGTSVKISC KASGYAFTNY WLGVWKQRPG HGLEWIGDIF  
 201 PGSGNIHYNE KFKGKATLTA DKSSSTAYMQ LSSLTFFEDSA VYFCARLRNW  
 251 DEPMDYWGQG TTVTVSSGG GSDIKLQQSG AELARPGASV KMSCKTSGYT  
 301 FTRYTMHWVK QRPGQGLEWI GYINPSRGYT NYNQKFKDKA TLTTDKSSST  
 351 AYMQLSSILTS EDSAVYYCAR YYDDHYCLDY WGQGTTLTVS SVEGGGGSG  
 401 GGGGGGVDD IQLTQSPANM SASPGEKVTM TCRASSSSVSY MNWYQQKSGT  
 451 SPKRWIYDTS KVASGVPYRF SGSGSGTSYS LTISSMEAED AATYYCQQWS  
 501 SNPPLTFGAGT KLELKHHHHHH H\*

도면3E계속1

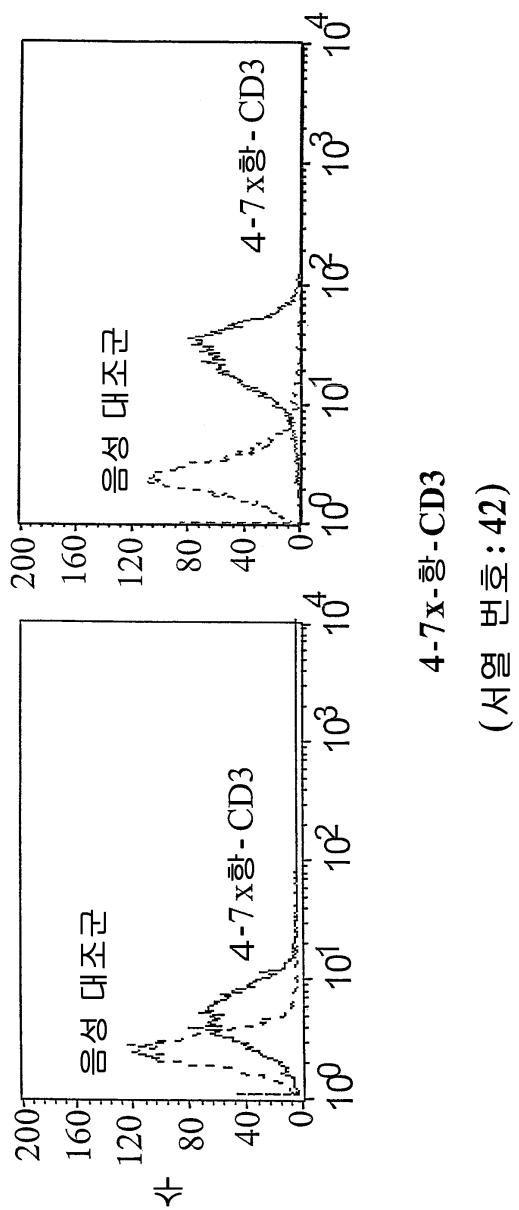
서열 번호 : 43

1	ATGGGATGGA	GCTGTATCAT	CCTCTTCTTG	GTAGCAACAG	CTACAGGTGT
51	ACACTCCGAG	CTCGTGTGAA	CACAGTCTCC	ATCCTCCCTG	ACTGTGACAG
101	CAGGAGAGAA	GGTCACTATG	AGCTGCAAGT	CCAGTCAGAG	TCTGTTAAC
151	AGTGGAAATC	AAAAGAACTA	CTTGACCTGG	TACCAAGCAGA	AACCAGGGCA
201	GCCTCCTAAA	CTGTTGATCT	ACTGGGCATC	CACTAGGAA	TCTGGGTCC
251	CTGATCGCTT	CACAGGCAGT	GGATCTGGAA	CAAGCTTCAA	TCTCACCATC
301	AGCACTGTGC	AGGCTGAAGA	CCTGGCAGT	TATTACTGTC	AGAAATGATTA
351	TAGTTATCG	CTCACGTTCG	GTGCTGGGAC	CAAGCTTGAG	ATCAAAGGTG
401	GTGGTGGTTC	TGGCGGGGCC	GGCTCCGGTG	GTGGTGGTTC	TGAGGTGCAG
451	CTGCTCGAGC	AGTCTGGAGC	TGAGCTGGTA	AGGCCTGGGA	CTTCAGTGAA
501	GATATCCTGC	AAGGCTTCTG	GATAAGCCTT	CACTAACTAC	TGGCTAGGTT
551	GGGTAAGCA	GAGGCCTGGA	CATGGACTTG	AGTGGATTGG	AGATATTTTC
601	CCTGGAAGTG	GTAATATCCA	CTACAAATGAG	AAGTTCAAGG	GCAAAGCCAC
651	ACTGACTGCA	GACAAATCTT	CGAGCACAGC	CTATATGCAG	CTCAGTAGCC
701	TGACATTTGA	GGACTCTGCT	GTCTATTCT	GTGCAAGACT	GAGGAACTGG
751	GACGAGCCTA	TGGACTACTG	GGGCCAAGGG	ACCACGGTCA	CCGTCCTCCTC
801	CGGAGGTGGT	GGATCCGATA	TCAAACATGCA	GCAGTCAGGG	GCTGAACTGG
851	CAAAGACCTGG	GGCCTCAGTG	AAGATGTCCCT	GCAAGACTTC	TGGCTACACC
901	TTTACTAGGT	ACACGATGCA	CTGGGTAAAA	CAGAGGCCTG	GACAGGGTCT

## 도면3E계속2

951	GGAATGGATT	GGATAACATTA	ATCCCTAGCCG	TGGTTATACT	AATTACAATC
1001	AGAAAGTCAA	GGACAAGGCC	ACATTGACTA	CAGACAAATC	CTCCAGGCACA
1051	GCCTACATGC	AACTGAGCAG	CCTGACATCT	GAGGACTCTG	CAGTCTATTA
1101	CTGTGCAAGA	TATTATGATG	ATCATTACTG	CCTTGACTAC	TGGGGCCAAG
1151	GCACCACTCT	CACAGTCTCC	TCAGTCGAAG	GTGGAAGTGG	AGGTTCTGGT
1201	GGAAGTGGAG	GTTCAAGGTGG	AGTCGACGAC	ATTCAGCTGA	CCCAGTCTCC
1251	AGCAATCATG	TCTGGCATCTC	CAGGGGAGAA	GGTCACCATG	ACCTGCAGAG
1301	CCAGTTCAAG	TGTAAGTTAC	ATGAACTGGT	ACCAGCAGAA	GTCAGGGCAC
1351	TCCCCCAAAA	GATGGATTAA	TGACACATCC	AAAGTGGCTT	CTGGAGTCCC
1401	TTATCGCTTC	AGTGGCAGTG	GGTCTGGGAC	CTCATRACTCT	CTCACAAATCA
1451	GCAGGCATGGA	GGCTGAAAGAT	GCTGCCACTT	ATTACTGCCA	ACAGTGGAGT
1501	AGTAACCCGC	TCACGTTCGG	TGCTGGGACC	AAGCTGGAGC	TGAAACATCA
1551	TCACCATCAT	CATTAG			

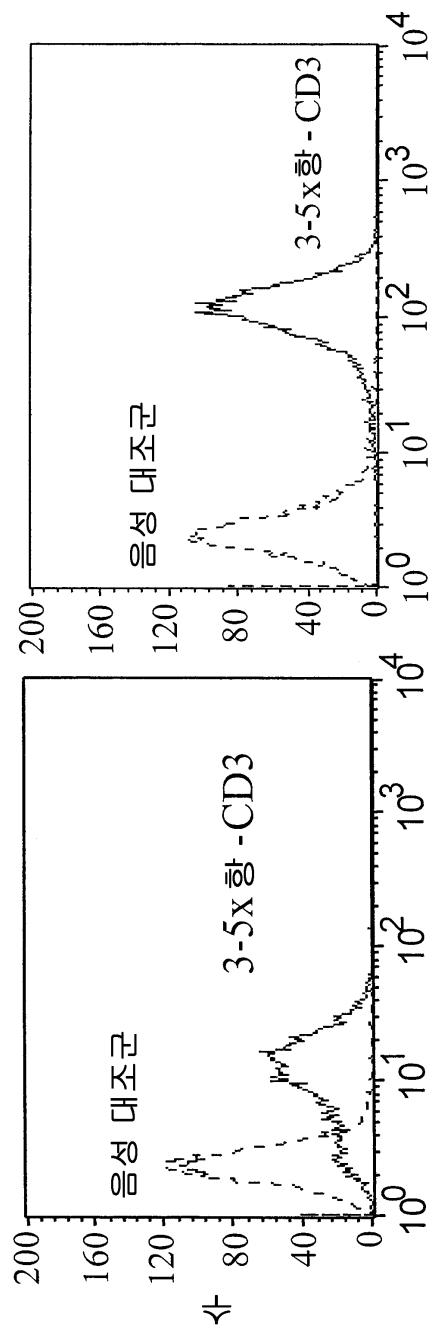
도면4A

CD3 결합 (쥬르카트 세포)EpCAM 결합 (카토 세포)4-7x $\bar{\gamma}$ -CD3

(서열 번호: 42)

도면4B

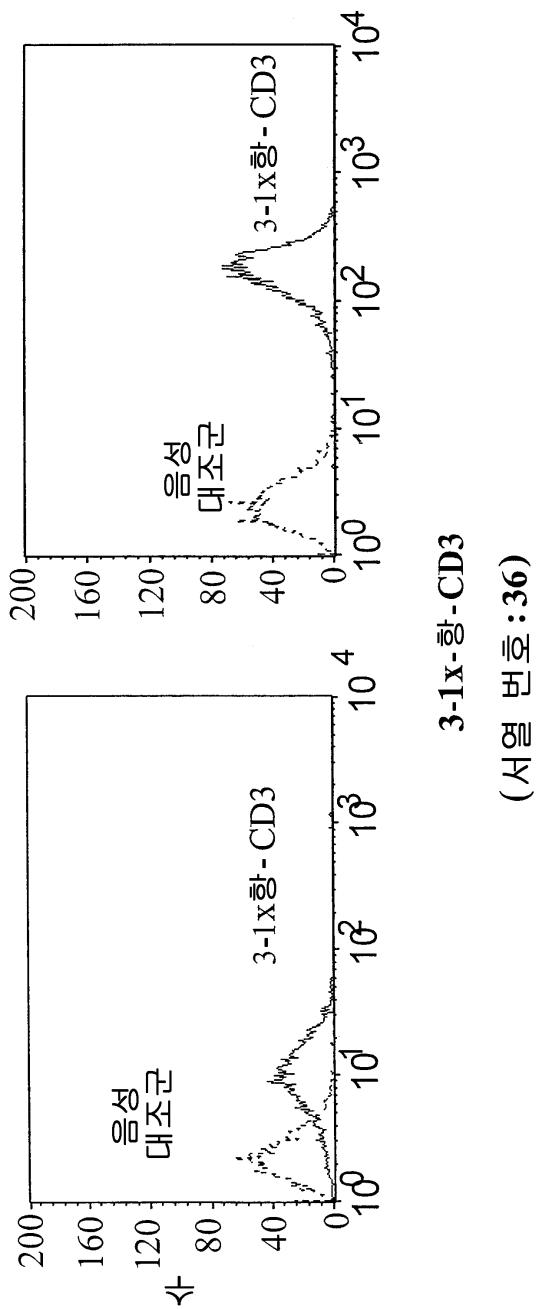
CD3 결합 (주르카트 세포)



**3-5x-항-CD3**  
(서열 번호: 30)

도면4C

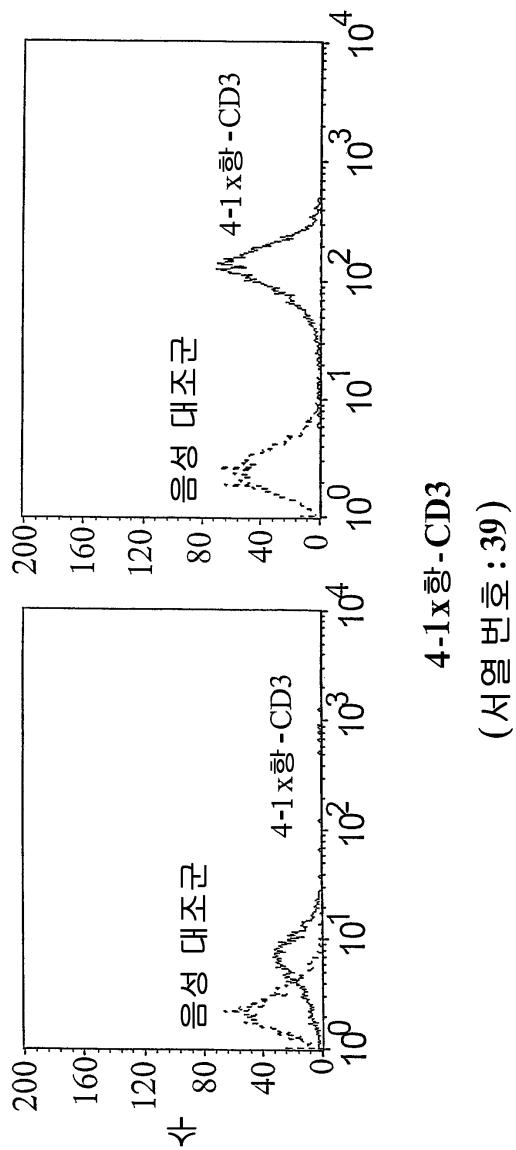
CD3 결합 (쥬르카트 세포)



3-1x-항-CD3  
(서열 번호 : 36)

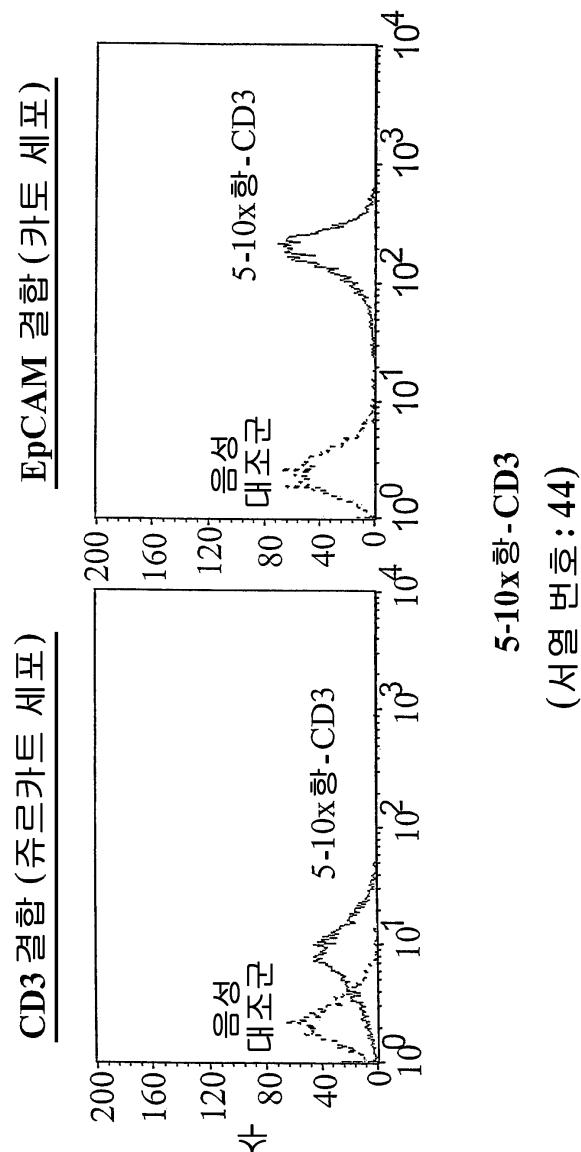
도면4D

CD3 결합 (쥬르카트 세포)

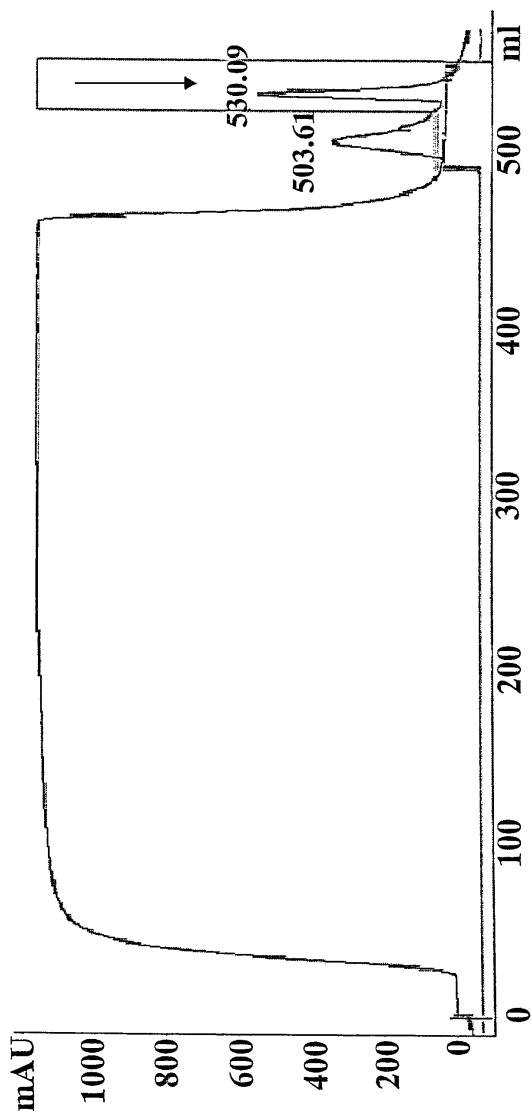


4-1x&gt;-CD3  
(서열 번호 : 39)

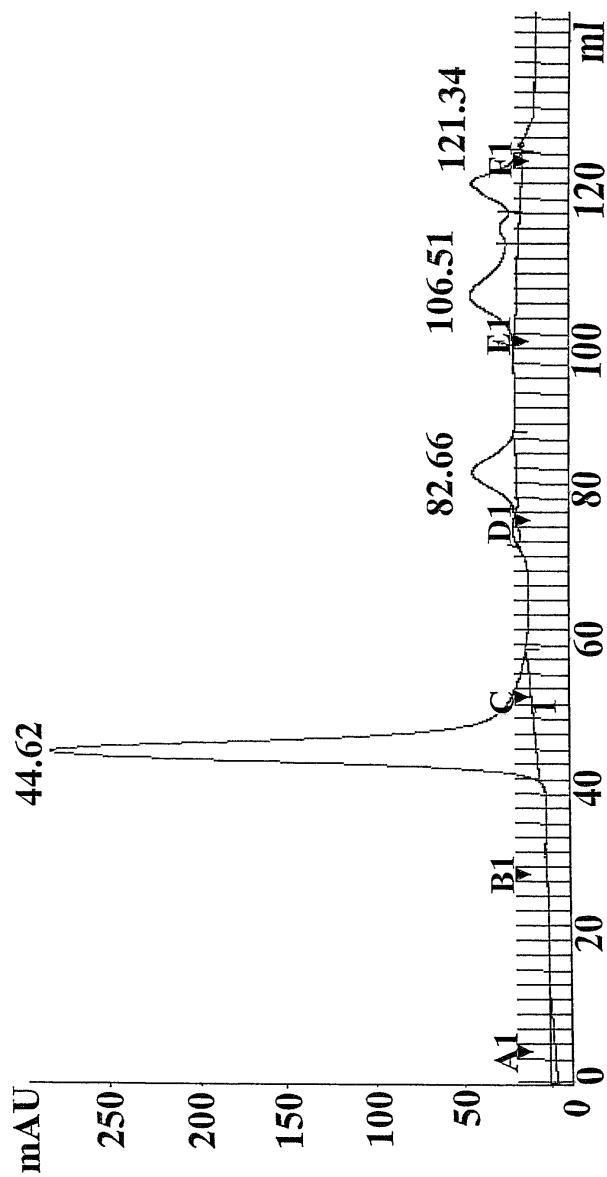
도면4E



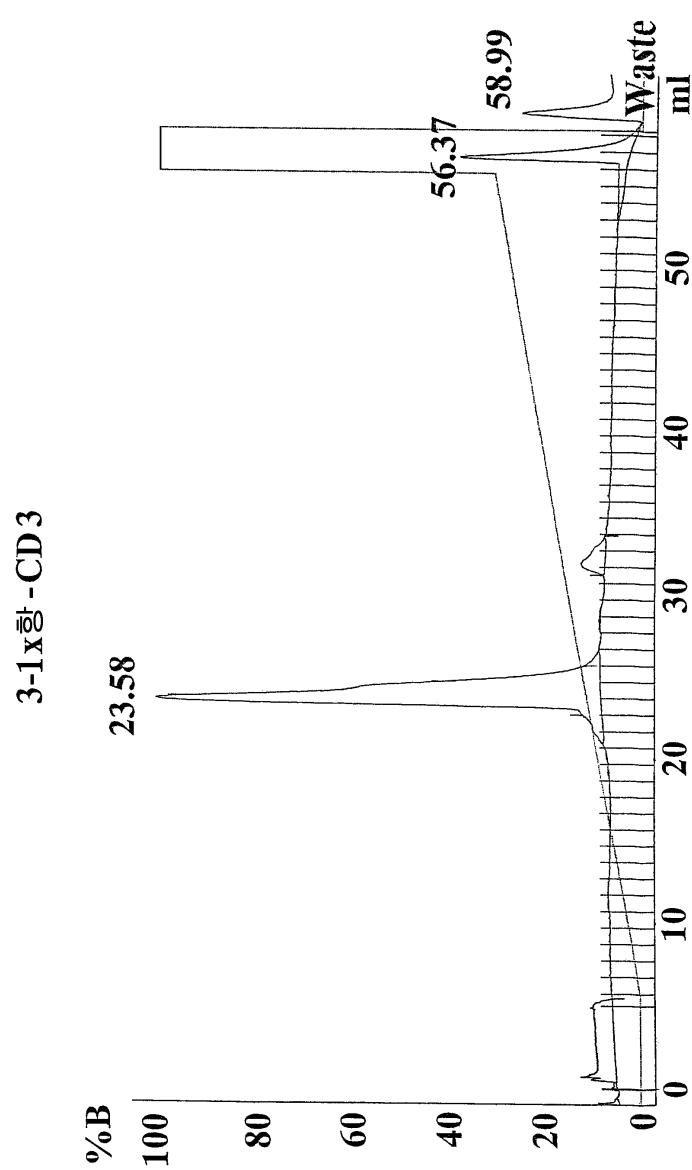
도면5



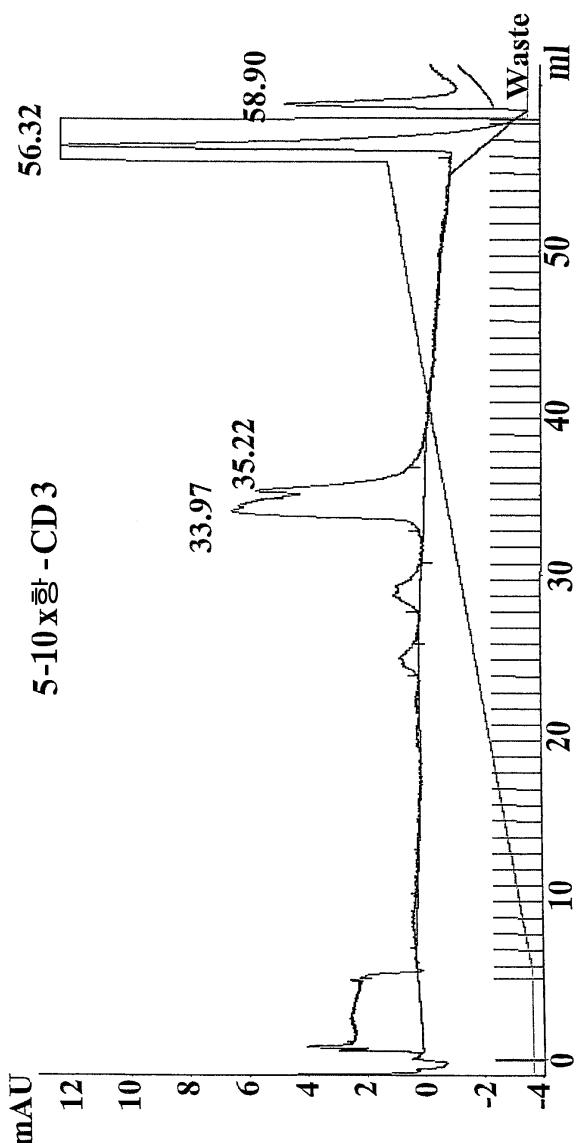
도면6



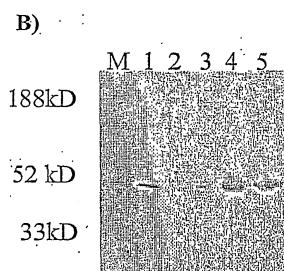
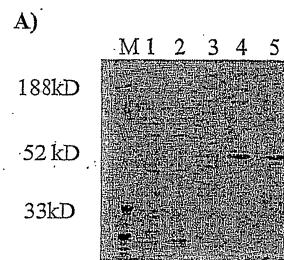
도면7A



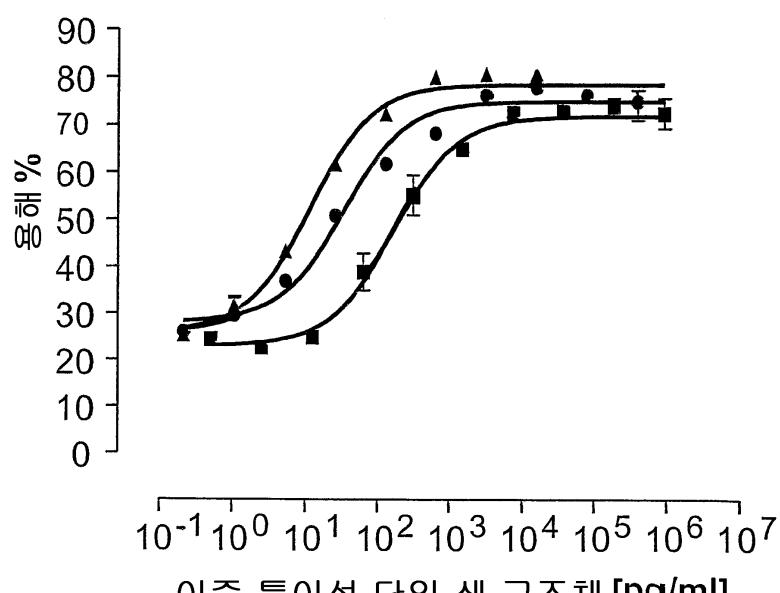
도면7B



도면8

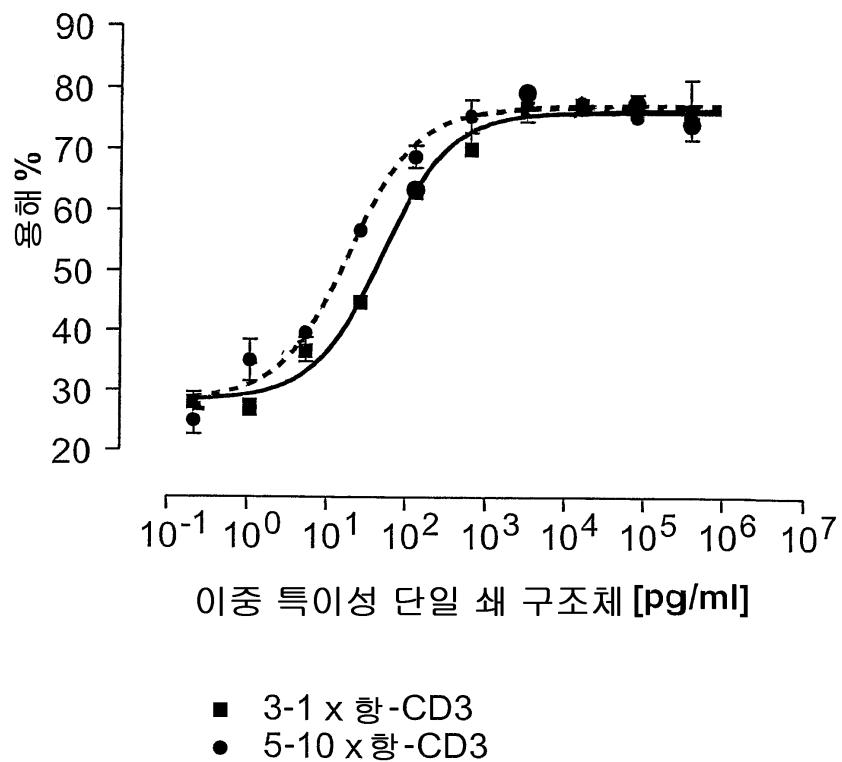


도면9



- 항-CD3x3-1
- 항-CD3 x 5-10
- ▲ 항-CD3 x 4-7

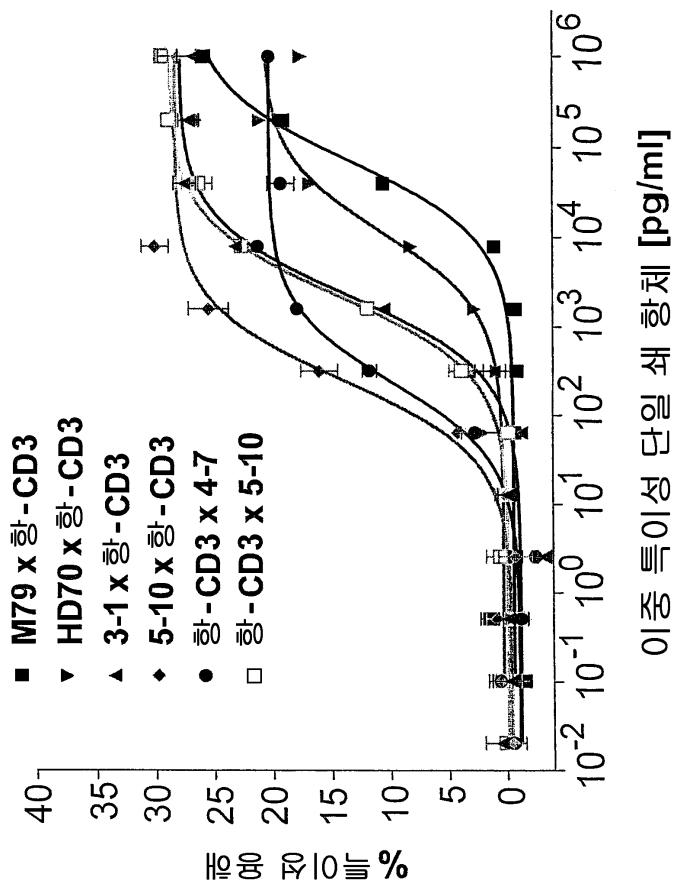
도면10



도면11A

3-1	LR <b>NWD</b> EAMDY
4-1	LR <b>NWD</b> EAMDY
5-10	LR <b>NWD</b> EPMDY
3-5	RGSYGS <b>NYD</b> WYFDV
4-7	RGSYDT <b>NYD</b> WYFDV
M79	MENWSFAY
HD70	DMGWGSGWRPYYYYGMDV
3B10	FTSPDY

## 도면11B



## 서열목록

## SEQUENCE LISTING

&lt;110&gt; Micromet AG

&lt;120&gt; Pharmaceutical composition comprising a construct specific for EpCAM

&lt;130&gt; H1656 PCT

&lt;150&gt; EP 03012133.9

&lt;151&gt; 2003-05-31

&lt;150&gt; EP 03012134.7

&lt;151&gt; 2003-05-31

&lt;160&gt; 101

&lt;170&gt; PatentIn version 3.1

&lt;210&gt; 1

&lt;211&gt; 1521

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; artificial sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; CD3 VHVL aL x 4-7 VHVL

&lt;400&gt; 1

gatatatcaaac tgcagcagtc aggggctgaa ctggcaagac ctggggcctc agtgaagatg 60

tcctgcaaga cttctggcta caccttact aggtacacga tgcactgggt aaaacagagg 120

cctggacagg gtctggaatg gattggatac attaatccta gccgtggta tactaattac 180

aatcagaagt tcaaggacaa ggccacattg actacagaca aatcctccag cacagcctac 240

atgcaactga gcagcctgac atctgaggac tctgcagtct attactgtgc aagatattat 300

gatgatcatt actgccttga ctactggggc caaggcacca ctctcacagt ctcctcagtc 360

gaagggtggaa gtggagggttc tggtggaagt ggaggttcag gtggagtcga cgacattcag 420

ctgaccagg ctccagcaat catgtctgca tctccagggg agaaggtcac catgacctgc 480

agagccaggta caagtgtaaat ttacatgaac tggtaccagc agaagtcaagg cacctcccc 540

aaaagatgga tttatgacac atccaaagtg gcttctggag tcccttatcg cttagtggc 600

agtgggtctg ggacctcata ctctctcaca atcagcagca tggaggctga agatgctgcc 660

acttattact gccaacagtg gagtagtaac ccgctcacgt tcggtgctgg gaccaagctg 720

gagctgaaat ccggagggtgg tggatccgag gtgcagctgc tcgagcagtc tggagcttag	780
ctggcgaggc ctggggcttc agtgaagctg tcctgcaagg cttctggcta caccttcaca	840
aactatggtt taagctgggt gaagcagagg cctggacagg tccttgagtg gattggagag	900
gtttatccta gaattggtaa tgcttactac aatgagaagt tcaaggcaa ggccacactg	960
actgcagaca aatcctccag cacagcgtcc atggagctcc gcagcctgac ctctgaggac	1020
tctgcggtct atttctgtgc aagacgggaa tcctacgata ctaactacga ctggtacttc	1080
gatgtctggg gccaaggac cacggtcacc gtctcctcag gtgggtgggg ttctggcggc	1140
gccccctccg gtgggtgggg ttctgagctc gtgatgaccc agactccact ctcctgcct	1200
gtcagtcttg gagatcaagc ctccatctct tgcaaatcta gtcagaccc tgtacacagt	1260
aatggaaaca cctatttaca ttggtacctg cagaagccag gccagtctcc aaagctcctg	1320
atctacaaag tttccaaaccg attttctggg gtcccaagaca ggttcagtgg cagtgatca	1380
gggacagatt tcacactcaa gatcagcaga gtggaggctg aggatctggg agtttatttc	1440
tgctctcaaa gtacacatgt tccgtacacg ttgggggggg ggaccaagct tgagatcaaa	1500
catcatcacc atcatcatta g	1521

&lt;210&gt; 2

&lt;211&gt; 506

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; artificial sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; CD3 VHVL aL x 4-7 VHVL

&lt;400&gt; 2

Asp Ile Lys Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Ala Arg Pro Gly Ala			
1	5	10	15

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

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

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

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

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

Ala Arg Tyr Tyr Asp Asp His Tyr Cys Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly  
 100 105 110

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

Gly Ser Gly Gly Ser Gly Val Asp Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser  
 130 135 140

Pro Ala Ile Met Ser Ala Ser Pro Gly Glu Lys Val Thr Met Thr Cys  
 145 150 155 160

Arg Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Ser  
 165 170 175

Gly Thr Ser Pro Lys Arg Trp Ile Tyr Asp Thr Ser Lys Val Ala Ser  
 180 185 190

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

Leu Thr Ile Ser Ser Met Glu Ala Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys  
 210 215 220

Gln Gln Trp Ser Ser Asn Pro Leu Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu  
 225 230 235 240

Glu Leu Lys Ser Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Leu Glu Gln  
 245 250 255

Ser Gly Ala Glu Leu Ala Arg Pro Gly Ala Ser Val Lys Leu Ser Cys  
 260 265 270

Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr Gly Leu Ser Trp Val Lys  
 275 280 285

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

Ile Gly Asn Ala Tyr Tyr Asn Glu Lys Phe Lys Gly Lys Ala Thr Leu  
 305 310 315 320

Thr Ala Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Ser Met Glu Leu Arg Ser Leu  
 325 330 335

Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys Ala Arg Arg Gly Ser Tyr  
 340 345 350

Asp Thr Asn Tyr Asp Trp Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr  
 355 360 365

Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly  
 370 375 380

Gly Gly Gly Ser Glu Leu Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Pro  
 385 390 395 400

Val Ser Leu Gly Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser  
 405 410 415

Leu Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Leu Gln Lys  
 420 425 430

Pro Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe  
 435 440 445

Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe  
 450 455 460

Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Phe  
 465 470 475 480

Cys Ser Gln Ser Thr His Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Thr Lys  
 485 490 495

Leu Glu Ile Lys His His His His His His  
 500 505

<210> 3

<211> 1512

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> CD3 VHVL aL x 5-10 VHVL

<400> 3

gatatatcaaac tgcagcagtc aggggctgaa ctggcaagac ctggggcctc agtgaagatg 60

tcctgcaaga cttctggcta caccttact aggtacacga tgcactgggt aaaacagagg 120

cctggacagg gtctggaatg gattggatac attaatccta gccgtggta tactaattac 180

aatcagaagt tcaaggacaa ggccacattg actacagaca aatcctccag cacagcctac 240

atgcaactga gcagcctgac atctgaggac tctgcagtct attactgtgc aagatattat 300

gatgatcatt actgccttga ctactggggc caaggcacca ctctcacagt ctcctcagtc 360

gaaggtggaa gtggagggttc tggtggaagt ggaggttcag gtggagtcga cgacattcag 420

ctgaccagg ctccagcaat catgtctgca tctccagggg agaaggtcac catgacctgc 480

agagccagtt caagtgtaa ttacatgaac tggtaccagc agaagtcagg cacctcccc 540

aaaagatgga tttatgacac atccaaagtg gcttctggag tcccttatcg cttcagtggc 600

agtgggtctg ggacctcata ctcttcaca atcagcagca tggaggctga agatgctgcc	660
acttattact gccaacagtg gagtagtaac ccgcacgt tcggtgctgg gaccaagctg	720
gagctgaaat ccggaggtgg tggatccgag gtgcagctgc tcgagcagtc tggagctgag	780
ctggtaaggc ctgggacttc agtgaagata tcctgcaagg cttctggata cgccctcact	840
aactactggc taggttgggt aaagcagagg cctggacatg gacttgagtg gatggagat	900
atttccctg gaagtggtaa tatccactac aatgagaagt tcaagggcaa agccacactg	960
actgcagaca aatcttcgag cacagcctat atgcagctca gtagcctgac atttgaggac	1020
tctgctgtct atttctgtgc aagactgagg aactgggacg agcctatgga ctactggggc	1080
caagggacca cggtcaccgt ctcctcaggt ggtggtggtt ctggcggcgg cggctccgg	1140
ggtgtgggtt ctgagctcgat gatgacacag tctccatcct ccctgactgt gacagcagga	1200
gagaaggta caatgagctg caagtccagt cagagtctgt taaacagtgg aaatcaaaag	1260
aactacttga cctggtagcca gcagaaacca gggcagcctc ctaaactgtt gatctactgg	1320
gcatccacta gggaatctgg ggtccctgat cgcttcacag gcagtggatc tggaacagat	1380
ttcactctca ccatcagcag tgtgcaggtt gaagacctgg cagtttatta ctgtcagaat	1440
gattatagtt atccgctcac gttcggtgct gggaccaagc ttgagatcaa acatcatcac	1500
catcatcatt ag	1512

&lt;210&gt; 4

&lt;211&gt; 503

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; artificial sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; CD3 VHVL aL x 5-10 VHVL

&lt;400&gt; 4

Asp Ile Lys Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Ala Arg Pro Gly Ala			
1	5	10	15

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

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

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

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

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

Ala Arg Tyr Tyr Asp Asp His Tyr Cys Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly  
 100 105 110

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

Gly Ser Gly Gly Ser Gly Val Asp Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser  
 130 135 140

Pro Ala Ile Met Ser Ala Ser Pro Gly Glu Lys Val Thr Met Thr Cys  
 145 150 155 160

Arg Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Ser  
 165 170 175

Gly Thr Ser Pro Lys Arg Trp Ile Tyr Asp Thr Ser Lys Val Ala Ser  
 180 185 190

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

Leu Thr Ile Ser Ser Met Glu Ala Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys  
 210 215 220

Gln Gln Trp Ser Ser Asn Pro Leu Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu  
225 230 235 240

Glu Leu Lys Ser Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Leu Glu Gln  
245 250 255

Ser Gly Ala Glu Leu Val Arg Pro Gly Thr Ser Val Lys Ile Ser Cys  
260 265 270

Lys Ala Ser Gly Tyr Ala Phe Thr Asn Tyr Trp Leu Gly Trp Val Lys  
275 280 285

Gln Arg Pro Gly His Gly Leu Glu Trp Ile Gly Asp Ile Phe Pro Gly  
290 295 300

Ser Gly Asn Ile His Tyr Asn Glu Lys Phe Lys Gly Lys Ala Thr Leu  
305 310 315 320

Thr Ala Asp Lys Ser Ser Thr Ala Tyr Met Gln Leu Ser Ser Leu  
325 330 335

Thr Phe Glu Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys Ala Arg Leu Arg Asn Trp  
340 345 350

Asp Glu Pro Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser  
355 360 365

Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser  
370 375 380

Glu Leu Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Thr Val Thr Ala Gly  
385 390 395 400

Glu Lys Val Thr Met Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser  
405 410 415

Gly Asn Gln Lys Asn Tyr Leu Thr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln  
420 425 430

Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val  
 435 440 445

Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr  
 450 455 460

Ile Ser Ser Val Gln Ala Glu Asp Leu Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Asn  
 465 470 475 480

Asp Tyr Ser Tyr Pro Leu Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Ile  
 485 490 495

Lys His His His His His  
 500

<210> 5

<211> 31

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> CD3 VH BsrGI primer

<400> 5

agggtgtacac tccgatatac aactgcagca g 31

<210> 6

<211> 25

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> CD3 VL BspEI primer

<400>	6					
aatccggatt	tcagctccag	cttgg	25			
<210> 7						
<211> 1521						
<212> DNA						
<213> artificial sequence						
<220>						
<223> CD3 VHVL aL Ser x 4-7 VHVL						
<400>	7					
gatatacaaac	tgcagcagtc	aggggctgaa	ctggcaagac	ctggggcctc	agtgaagatg	60
tcctgcaaga	cttctggcta	caccttact	aggtacacga	tgcactgggt	aaaacagagg	120
cctggacagg	gtctggaatg	gattggatac	attaatccta	gccgtggta	tactaattac	180
aatcagaagt	tcaaggacaa	ggccacattg	actacagaca	aatcctccag	cacagcctac	240
atgcaactga	gcagcctgac	atctgaggac	tctgcagtct	attactgtgc	aagatattat	300
gatgatcatt	actcccttga	ctactggggc	caaggcacca	ctctcacagt	ctcctcagtc	360
gaaggtggaa	gtggaggttc	tggtggaagt	ggaggttcag	gtggagtcga	cgacattcag	420
ctgaccagg	ctccagcaat	catgtctgca	tctccagggg	agaaggtcac	catgacctgc	480
agagccagg	caagtgtaa	ttacatgaac	tggtaccagc	agaagtca	cacctcccc	540
aaaagatgga	tttatgacac	atccaaagtg	gcttctggag	tcccttatcg	cttcagtggc	600
agtgggtctg	ggacctcata	ctctctcaca	atcagcagca	tggaggctga	agatgctgcc	660
acttattact	gccaacagtg	gagtagtaac	ccgctcacgt	tcggtgctgg	gaccaagctg	720
gagctgaaat	ccggaggtgg	tggatccgag	gtgcagctgc	tcgagcagtc	tggagctgag	780
ctggcgaggc	ctggggcttc	agtgaagctg	tcctgcaagg	cttctggcta	cacccata	840
aactatggtt	taagctgggt	gaagcagagg	cctggacagg	tccttgagtg	gattggagag	900
gtttatccta	gaattggtaa	tgcttactac	aatgagaagt	tcaagggcaa	ggccacactg	960

actgcagaca aatcctccag cacagcggtcc atggagctcc gcagcctgac ctctgaggac	1020
tctgcggtct atttctgtgc aagacgggga tcctacgata ctaactacga ctggtacttc	1080
gatgtctggg gccaaggac cacggtcacc gtctcctcag gtggtggtgg ttctggcggc	1140
ggcggctccg gtggtggtgg ttctgagctc gtgatgaccc agactccact ctccctgcct	1200
gtcagtcttg gagatcaagc ctccatctct tgcagatcta gtcagagcct tgtacacagt	1260
aatggaaaca cctatttaca ttgg tacctg cagaagccag gccagtctcc aaagctcctg	1320
atctacaaag tttccaaccg attttctggg gtcccagaca ggttcagtgg cagtggatca	1380
gggacagatt tcacactcaa gatcagcaga gtggaggctg aggatctgg agtttatttc	1440
tgctctcaaa gtacacatgt tccgtacacg ttccggagggg ggaccaagct tgagatcaaa	1500
catcatcacc atcatcatta g	1521

&lt;210&gt; 8

&lt;211&gt; 506

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; artificial sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; CD3 VHVL aL Ser x 4-7 VHVL

&lt;400&gt; 8

Asp Ile Lys Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Ala Arg Pro Gly Ala			
1	5	10	15

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

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

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

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

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

Ala Arg Tyr Tyr Asp Asp His Tyr Ser Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly  
 100 105 110

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

Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Val Asp Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser  
 130 135 140

Pro Ala Ile Met Ser Ala Ser Pro Gly Glu Lys Val Thr Met Thr Cys  
 145 150 155 160

Arg Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Ser  
 165 170 175

Gly Thr Ser Pro Lys Arg Trp Ile Tyr Asp Thr Ser Lys Val Ala Ser  
 180 185 190

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

Leu Thr Ile Ser Ser Met Glu Ala Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys  
 210 215 220

Gln Gln Trp Ser Ser Asn Pro Leu Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu  
 225 230 235 240

Glu Leu Lys Ser Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Leu Glu Gln  
 245 250 255

Ser Gly Ala Glu Leu Ala Arg Pro Gly Ala Ser Val Lys Leu Ser Cys  
 260 265 270

Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr Gly Leu Ser Trp Val Lys  
 275                    280                    285

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

Ile Gly Asn Ala Tyr Tyr Asn Glu Lys Phe Lys Gly Lys Ala Thr Leu  
 305                    310                    315                    320

Thr Ala Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Ser Met Glu Leu Arg Ser Leu  
 325                    330                    335

Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys Ala Arg Arg Gly Ser Tyr  
 340                    345                    350

Asp Thr Asn Tyr Asp Trp Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr  
 355                    360                    365

Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly  
 370                    375                    380

Gly Gly Gly Ser Glu Leu Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Pro  
 385                    390                    395                    400

Val Ser Leu Gly Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser  
 405                    410                    415

Leu Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Leu Gln Lys  
 420                    425                    430

Pro Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe  
 435                    440                    445

Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe  
 450                    455                    460

Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Phe  
 465                    470                    475                    480

Cys Ser Gln Ser Thr His Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys  
 485 490 495

Leu Glu Ile Lys His His His His His His  
 500 505

<210> 9

<211> 1512

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> CD3 VHVL aL Ser x 5-10 VHVL

<400> 9

gatatacaaac tgcagcagtc aggggctgaa ctggcaagac ctggggcctc agtgaagatg	60
tccctgcaaga cttctggcta caccttact aggtacacga tgcactgggt aaaacagagg	120
cctggacagg gtctggaatg gattggatac attaattccta gccgtggta tactaattac	180
aatcagaagt tcaaggacaa ggccacattg actacagaca aatcctccag cacagcctac	240
atgcaactga gcagcctgac atctgaggac tctgcagtct attactgtgc aagatattat	300
gatgatcatt actcccttga ctactggggc caagggacca ctctcacagt ctcctcagtc	360
gaaggtggaa gtggagggttc tggtgaaat ggagggttcag gtggagtcga cgacattcag	420
ctgaccctcgt ctccagcaat catgtctgca tctccagggg agaaggtcac catgacctgc	480
agagccagtt caagtgttaag ttacatgaac tggtaccagc agaagtcagg cacccccccc	540
aaaagatgga tttatgacac atccaaagtg gcttctggag tcccttatcg cttcagtggc	600
agtgggtctg ggacctcata ctctctcaca atcagcagca tggaggctga agatgctgcc	660
acttattact gccaacagtg gagtagtaac ccgctcacgt tcgggtgctgg gaccaagctg	720
gagctgaaat ccggagggtgg tggatccgag gtgcagctgc tcgagcagtc tggagctgag	780
ctggtaaggc ctgggacttc agtgaagata tcctgcaagg cttctggata cgccctcact	840

aactactggc taggttgggt aaagcagagg cctggacatg gacttgagtg gattggagat 900  
 atttccctg gaagtggtaa tatccactac aatgagaagt tcaaggcca a gccacactg 960  
 actgcagaca aatcttcgag cacagcctat atgcagctca gtagcctgac atttgaggac 1020  
 tctgctgtct atttctgtgc aagactgagg aactgggacg agcctatgga ctactggggc 1080  
 caagggacca cggtcaccgt ctcctcaggt ggtggtggtt ctggcggcg cggtcccggt 1140  
 ggtggtggtt ctgagctcgt gatgacacag tctccatcct ccctgactgt gacagcagga 1200  
 gagaaggtca ctatgagctg caagtccagt cagagtctgt taaacagtgg aaatcaaaag 1260  
 aactacttga cctggtagcca gcagaaaacca gggcagcctc ctaaactggtt gatctactgg 1320  
 gcatccacta gggaatctgg ggtccctgat cgcttcacag gcagtggatc tggaacagat 1380  
 ttcactctca ccatcagcag tgtgcaggct gaagacctgg cagtttatta ctgtcagaat 1440  
 gattatagtt atccgctcac gttcggtgct gggaccaagc ttgagatcaa acatcatcac 1500  
 catcatcatt ag 1512

&lt;210&gt; 10

&lt;211&gt; 503

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; artificial sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; CD3 VHVL aL Ser x 5-10 VHVL

&lt;400&gt; 10

Asp	Ile	Lys	Leu	Gln	Gln	Ser	Gly	Ala	Glu	Leu	Ala	Arg	Pro	Gly	Ala
1															

Ser	Val	Lys	Met	Ser	Cys	Lys	Thr	Ser	Gly	Tyr	Thr	Phe	Thr	Arg	Tyr
20															

Thr	Met	His	Trp	Val	Lys	Gln	Arg	Pro	Gly	Gln	Gly	Leu	Glu	Trp	Ile
35															

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

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

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

Ala Arg Tyr Tyr Asp Asp His Tyr Ser Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly  
 100 105 110

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

Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Val Asp Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser  
 130 135 140

Pro Ala Ile Met Ser Ala Ser Pro Gly Glu Lys Val Thr Met Thr Cys  
 145 150 155 160

Arg Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Ser  
 165 170 175

Gly Thr Ser Pro Lys Arg Trp Ile Tyr Asp Thr Ser Lys Val Ala Ser  
 180 185 190

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

Leu Thr Ile Ser Ser Met Glu Ala Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys  
 210 215 220

Gln Gln Trp Ser Ser Asn Pro Leu Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu  
 225 230 235 240

Glu Leu Lys Ser Gly Gly Ser Gly Val Gln Leu Leu Glu Gln  
 245 250 255

Ser Gly Ala Glu Leu Val Arg Pro Gly Thr Ser Val Lys Ile Ser Cys  
 260 265 270

Lys Ala Ser Gly Tyr Ala Phe Thr Asn Tyr Trp Leu Gly Trp Val Lys  
 275 280 285

Gln Arg Pro Gly His Gly Leu Glu Trp Ile Gly Asp Ile Phe Pro Gly  
 290 295 300

Ser Gly Asn Ile His Tyr Asn Glu Lys Phe Lys Gly Lys Ala Thr Leu  
 305 310 315 320

Thr Ala Asp Lys Ser Ser Thr Ala Tyr Met Gln Leu Ser Ser Leu  
 325 330 335

Thr Phe Glu Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys Ala Arg Leu Arg Asn Trp  
 340 345 350

Asp Glu Pro Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser  
 355 360 365

Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser  
 370 375 380

Glu Leu Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Thr Val Thr Ala Gly  
 385 390 395 400

Glu Lys Val Thr Met Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser  
 405 410 415

Gly Asn Gln Lys Asn Tyr Leu Thr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln  
 420 425 430

Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val  
 435 440 445

Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr  
 450 455 460

Ile Ser Ser Val Gln Ala Glu Asp Leu Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Asn  
 465 470 475 480

Asp Tyr Ser Tyr Pro Leu Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Ile  
 485 490 495

Lys His His His His His  
 500

<210> 11

<211> 1485

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> CD3 VHVL stL x 3-1 VHVL

<400> 11

gatatacaaac tgcagcagtc aggggctgaa ctggcaagac ctggggcctc agtgaagatg 60

tcctgcaaga cttctggcta caccttact aggtacacga tgcactgggt aaaacagagg 120

cctggacagg gtctggaatg gattggatac attaattccta gccgtggta tactaattac 180

aatcagaagt tcaaggacaa ggccacattg actacagaca aatcctccag cacagcctac 240

atgcaactga gcagcctgac atctgaggac tctgcagtct attactgtgc aagatattat 300

gatgatcatt actgccttga ctactggggc caaggcacca ctctcacagt ctcctcaggt 360

ggtgtgggtt ctggcgccgg cggctccgg ggtggtggtt ctgacattca gctgacccag 420

tctccagcaa tcatgtctgc atctccaggg gagaaggtaa ccatgacctg cagagccagt 480

tcaagtgtaa gttacatgaa ctggtaccag cagaagtcag gcacccccc caaaaagatgg 540

atttatgaca catccaaagt ggcttctgga gtcccttatac gcttcagtgg cagtggtct 600

gggacctcat actctctcac aatcagcagc atggaggctg aagatgctgc cacttattac 660

tgccaacagt ggagtagtaa cccgctcacg ttcggtgctg ggaccaagct ggagctgaaa 720

tccggaggtg gtggatccga ggtgcagctg ctcgagcagt ctggagctga gctggtgaaa	780
cctggggcct cagtgaagat atcctgcaag gcttctggat acgccttcac taactactgg	840
ctaggttggg taaagcagag gcctggacat ggacttgagt ggattggaga tctttccct	900
ggaagtggta atactcacta caatgagagg ttcagggca aagccacact gactgcagac	960
aaatcctcg a gcacagcctt tatgcagctc agtagcctga catctgagga ctctgctg	1020
tatttctgtg caagattgag gaactggac gaggctatgg actactgggg ccaagggacc	1080
acggtcaccc tctcctcagg tggtggttgt tctggcggcg gcggctccgg tggtggttgt	1140
tctgagctcg tcataccca gtctccatct tatcttgctg catctccctgg agaaaccatt	1200
actattaatt gcagggcaag taagagcatt agcaaataatt tagcctggta tcaagagaaa	1260
cctgggaaaa ctaataagct tcttatctac tctggatcca ctttgcaatc tggaattcca	1320
tcaagggttca gtggcagtgg atctggtaca gatttcactc tcaccatcag tagcctggag	1380
cctgaagatt ttgcaatgtt tactgtcaa cagcataatg aatatccgta cacgttcgga	1440
ggggggacca agcttgagat caaacatcat caccatcatc attag	1485

&lt;210&gt; 12

&lt;211&gt; 494

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; artificial sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; CD3 VHVL stL x 3-1 VHVL

&lt;400&gt; 12

Asp Ile Lys Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Ala Arg Pro Gly Ala			
1	5	10	15

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

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

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

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

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

Ala Arg Tyr Tyr Asp Asp His Tyr Cys Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly  
 100 105 110

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

Ser Gly Gly Gly Ser Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ile  
 130 135 140

Met Ser Ala Ser Pro Gly Glu Lys Val Thr Met Thr Cys Arg Ala Ser  
 145 150 155 160

Ser Ser Val Ser Tyr Met Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Ser Gly Thr Ser  
 165 170 175

Pro Lys Arg Trp Ile Tyr Asp Thr Ser Lys Val Ala Ser Gly Val Pro  
 180 185 190

Tyr Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Ser Tyr Ser Leu Thr Ile  
 195 200 205

Ser Ser Met Glu Ala Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp  
 210 215 220

Ser Ser Asn Pro Leu Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys  
 225 230 235 240

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

Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser  
 260 265 270

Gly Tyr Ala Phe Thr Asn Tyr Trp Leu Gly Trp Val Lys Gln Arg Pro  
 275 280 285

Gly His Gly Leu Glu Trp Ile Gly Asp Leu Phe Pro Gly Ser Gly Asn  
 290 295 300

Thr His Tyr Asn Glu Arg Phe Arg Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp  
 305 310 315 320

Lys Ser Ser Ser Thr Ala Phe Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu  
 325 330 335

Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys Ala Arg Leu Arg Asn Trp Asp Glu Ala  
 340 345 350

Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Gly  
 355 360 365

Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Ser Glu Leu Val  
 370 375 380

Met Thr Gln Ser Pro Ser Tyr Leu Ala Ala Ser Pro Gly Glu Thr Ile  
 385 390 395 400

Thr Ile Asn Cys Arg Ala Ser Lys Ser Ile Ser Lys Tyr Leu Ala Trp  
 405 410 415

Tyr Gln Glu Lys Pro Gly Lys Thr Asn Lys Leu Leu Ile Tyr Ser Gly  
 420 425 430

Ser Thr Leu Gln Ser Gly Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser  
 435 440 445

Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe  
 450 455 460

Ala Met Tyr Tyr Cys Gln Gln His Asn Glu Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly  
 465 470 475 480

Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys His His His His His His  
 485 490

<210> 13

<211> 1512

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> CD3 VHVL stL x 4-7 VHVL

<400> 13

gatatacaaac tgcagcagtc aggggctgaa ctggcaagac ctggggcctc agtgaagatg 60

tcctgcaaga cttctggcta caccttact aggtacacga tgcactgggt aaaacagagg 120

cctggacagg gtctggaatg gattggatac attaattccta gccgtggta tactaattac 180

aatcagaagt tcaaggacaa ggccacattg actacagaca aatcctccag cacagcctac 240

atgcaactga gcagcctgac atctgaggac tctgcagtct attactgtgc aagatattat 300

gatgatcatt actgccttga ctactggggc caaggcacca ctctcacagt ctccctaggt 360

ggtgtgggtt ctggcgccgg cggctccggg ggtggtggtt ctgacattca gctgacccag 420

tctccagcaa tcatgtctgc atctccaggg gagaaggtaa ccatgacctg cagagccagt 480

tcaagtgtaa gttacatgaa ctgggtaccag cagaagtcag gcacacctccc caaaagatgg 540

atttatgaca catccaaagt ggcttctgga gtcccttatac gcttcagtgg cagtgggtct 600

gggacctcat actctctcac aatcagcagc atggaggctg aagatgctgc cacttattac 660

tgccaacagt ggagtagtaa cccgctcactt ttcggtgctg ggaccaagct ggagctgaaa 720

tccggaggtg gtggatccga ggtgcagctg ctcgagcagt ctggagctga gctggcgagg 780

cctggggctt cagtgaagct gtcctgcaag gcttctggct acaccttcac aaactatgg 840

ttaagctggg tgaagcagag gcctggacag gtccttgagt ggattggaga ggtttatacct	900
agaattggta atgcttacta caatgagaag ttcaaggca aggccacact gactgcagac	960
aaatcctcca gcacagcgac catggagctc cgccgcctga cctctgagga ctctgcggc	1020
tatttctgtg caagacgggg atcctacgt actaactacg actggtactt cgatgtctgg	1080
ggccaaggga ccacggcac cgtctcctca ggtggtggtg gttctggcg cgccggctcc	1140
gggtggtggtg gttctgagct cgtgatgacc cagactccac tctccctgcc tgtcagtctt	1200
ggagatcaag cctccatctc ttgcagatct agtcagagcc ttgtacacag taatggaaac	1260
acctatttac attggtacct gcagaagcca ggccagtctc caaagctcct gatctacaaa	1320
gtttccaacc gattttctgg ggtcccagac aggttcagtg gcagtggatc agggacagat	1380
ttcacactca agatcagcag agtggaggct gaggatctgg gagtttattt ctgctctcaa	1440
agtacacatg ttccgtacac gttcggaggg gggaccaagc ttgagatcaa acatcatcac	1500
catcatcatt ag	1512

&lt;210&gt; 14

&lt;211&gt; 503

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; artificial sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; CD3 VHVL stL x 4-7 VHVL

&lt;400&gt; 14

Asp Ile Lys Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Ala Arg Pro Gly Ala			
1	5	10	15

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

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

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

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

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

Ala Arg Tyr Tyr Asp Asp His Tyr Cys Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly  
 100 105 110

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

Ser Gly Gly Gly Ser Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ile  
 130 135 140

Met Ser Ala Ser Pro Gly Glu Lys Val Thr Met Thr Cys Arg Ala Ser  
 145 150 155 160

Ser Ser Val Ser Tyr Met Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Ser Gly Thr Ser  
 165 170 175

Pro Lys Arg Trp Ile Tyr Asp Thr Ser Lys Val Ala Ser Gly Val Pro  
 180 185 190

Tyr Arg Phe Ser Gly Ser Gly Thr Ser Tyr Ser Leu Thr Ile  
 195 200 205

Ser Ser Met Glu Ala Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp  
 210 215 220

Ser Ser Asn Pro Leu Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys  
 225 230 235 240

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

Glu Leu Ala Arg Pro Gly Ala Ser Val Lys Leu Ser Cys Lys Ala Ser  
 260 265 270

Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr Gly Leu Ser Trp Val Lys Gln Arg Pro  
 275 280 285

Gly Gln Val Leu Glu Trp Ile Gly Glu Val Tyr Pro Arg Ile Gly Asn  
 290 295 300

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

Lys Ser Ser Ser Thr Ala Ser Met Glu Leu Arg Ser Leu Thr Ser Glu  
 325 330 335

Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys Ala Arg Arg Gly Ser Tyr Asp Thr Asn  
 340 345 350

Tyr Asp Trp Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val  
 355 360 365

Ser Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly  
 370 375 380

Ser Glu Leu Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Pro Val Ser Leu  
 385 390 395 400

Gly Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His  
 405 410 415

Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln  
 420 425 430

Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val  
 435 440 445

Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys  
 450 455 460

Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Phe Cys Ser Gln  
 465 470 475 480

Ser Thr His Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile  
 485 490 495

Lys His His His His His  
 500

<210> 15

<211> 1512

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> CD3 VHVL stL x 4-7 VLVH

<400> 15

gatatacaaac tgcagcagtc aggggctgaa ctggcaagac ctggggcctc agtgaagatg 60

tcctgcaaga cttctggcta caccttact aggtacacga tgcactgggt aaaacagagg 120

cctggacagg gtctggaatg gattggatac attaattccta gccgtggta tactaattac 180

aatcagaagt tcaaggacaa ggccacattg actacagaca aatcctccag cacagcctac 240

atgcaactga gcagcctgac atctgaggac tctgcagtct attactgtgc aagatattat 300

gatgatcatt actgccttga ctactggggc caaggcacca ctctcacagt ctcctcaggt 360

ggtgtgggtt ctggcgccgg cggctccgggt ggtggtggtt ctgacattca gctgacccag 420

tctccagcaa tcatgtctgc atctccaggg gagaaggtaa ccatgacctg cagagccagt 480

tcaagtgtaa gttacatgaa ctggtaccag cagaagtcag gcacccccc caaaaagatgg 540

atttatgaca catccaaagt ggcttctgga gtcccttatac gcttcagtgg cagtggtct 600

gggacctcat actctctcac aatcagcagc atggaggctg aagatgctgc cacttattac 660

tgccaacagt ggagtagtaa cccgctcacg ttcggtgctg ggaccaagct ggagctgaaa 720

tccggaggtg	gtggatccga	gctcgtatgc	acccagactc	cacttcctt	gcctgtcagt	780
cttggagatc	aaggctccat	ctcttgca	tcttagtcaga	gccttgtaca	cagtaatgg	840
aacacctatt	tacattggta	cctgcagaag	ccaggccagt	ctccaaagct	cctgatctac	900
aaagttcca	accgatttc	tgggttcca	gacaggttca	gtggcagtgg	atcaggaca	960
gatttcacac	tcaagatcg	cagagtggag	gctgaggatc	tgggagttt	tttctgctct	1020
caaagtacac	atgttccgta	cacgttcgga	ggggggacca	agctttagat	caaagggtgg	1080
ggtggttctg	gcggcggcgg	ctccgggtgt	ggtggttctg	aggtgcagct	gctcgagcag	1140
tctggagctg	agctggcgag	gcctgggct	tcagtgaagc	tgtcctgca	ggttctggc	1200
tacaccttca	caaactatgg	tttaagctgg	gtgaagcaga	ggcctggaca	ggtccttgag	1260
tggattggag	aggtttatcc	tagaattgg	aatgcttact	acaatgagaa	gttcaaggc	1320
aaggccacac	tgactgcaga	caaatcctcc	agcacagcgt	ccatggagct	ccgcagcctg	1380
acctctgagg	actctgcggt	ctatttctgt	gcaagacggg	gatcctacga	tactaactac	1440
gactggtact	tcgatgtctg	gggccaagg	accacggta	ccgtctcctc	acatcatcac	1500
catcatcatt	ag					1512

&lt;210&gt; 16

&lt;211&gt; 503

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; artificial sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; CD3 VHVL stL x 4-7 VLH

&lt;400&gt; 16

Asp	Ile	Lys	Leu	Gln	Gln	Ser	Gly	Ala	Glu	Leu	Ala	Arg	Pro	Gly	Ala	
1																15

Ser	Val	Lys	Met	Ser	Cys	Lys	Thr	Ser	Gly	Tyr	Thr	Phe	Thr	Arg	Tyr	
20																30

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

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

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

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

Ala Arg Tyr Tyr Asp Asp His Tyr Cys Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly  
 100 105 110

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

Ser Gly Gly Gly Ser Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ile  
 130 135 140

Met Ser Ala Ser Pro Gly Glu Lys Val Thr Met Thr Cys Arg Ala Ser  
 145 150 155 160

Ser Ser Val Ser Tyr Met Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Ser Gly Thr Ser  
 165 170 175

Pro Lys Arg Trp Ile Tyr Asp Thr Ser Lys Val Ala Ser Gly Val Pro  
 180 185 190

Tyr Arg Phe Ser Gly Ser Gly Thr Ser Tyr Ser Leu Thr Ile  
 195 200 205

Ser Ser Met Glu Ala Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp  
 210 215 220

Ser Ser Asn Pro Leu Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys  
 225 230 235 240

Ser Gly Gly Gly Ser Glu Leu Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser  
 245 250 255

Leu Pro Val Ser Leu Gly Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser  
 260 265 270

Gln Ser Leu Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Leu  
 275 280 285

Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn  
 290 295 300

Arg Phe Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Thr  
 305 310 315 320

Asp Phe Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val  
 325 330 335

Tyr Phe Cys Ser Gln Ser Thr His Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly  
 340 345 350

Thr Lys Leu Glu Ile Lys Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser  
 355 360 365

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

Leu Ala Arg Pro Gly Ala Ser Val Lys Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly  
 385 390 395 400

Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr Gly Leu Ser Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly  
 405 410 415

Gln Val Leu Glu Trp Ile Gly Glu Val Tyr Pro Arg Ile Gly Asn Ala  
 420 425 430

Tyr Tyr Asn Glu Lys Phe Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Lys  
 435 440 445

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

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

Asp Trp Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser  
 485 490 495

Ser His His His His His His  
 500

<210> 17

<211> 1503

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> CD3 VHVL stL x 5-10 VHVL

<400> 17

gatatatcaaac tgcagcagtc aggggctgaa ctggcaagac ctggggcctc agtgaagatg 60

tcctgcaaga cttctggcta caccttact aggtacacga tgcactgggt aaaacagagg 120

cctggacagg gtctggaatg gattggatac attaatccta gccgtggta tactaattac 180

aatcagaagt tcaaggacaa ggccacattg actacagaca aatcctccag cacagcctac 240

atgcaactga gcagcctgac atctgaggac tctgcagtct attactgtgc aagatattat 300

gatgatcatt actgccttga ctactggggc caaggcacca ctctcacagt ctcctcaggt 360

ggtggtggtt ctggcgccgg cggctccgg ggtggtggtt ctgacattca gctgacccag 420

tctccagcaa tcatgtctgc atctccaggg gagaaggtca ccatgacctg cagagccagt 480

tcaagtgtaa gttacatgaa ctggtaccag cagaagtcag gcacacctcc caaaagatgg 540

atttatgaca catccaaagt ggcttctgga gtcccttatac gcttcagtg cagtgggtct 600

gggacctcat	actctctcac	aatcagcagc	atggaggctg	aagatgctgc	cacttattac	660	
tgc	ccaacagt	ggagtagtaa	cccgctcacg	ttcggtgctg	ggaccaagct	ggagctgaaa	720
tccggaggtg	gtggatccga	ggtgcagctg	ctcgagcagt	ctggagctga	gctggtaagg	780	
cctgggactt	cagtgaagat	atcctgcaag	gcttctggat	acgccttcac	taactactgg	840	
ctaggttggg	taaagcagag	gcctggacat	ggacttgagt	ggattggaga	tat	ttccct	900
ggaagtggta	atatccacta	aatgagaag	ttcaagggca	aagccacact	gactgcagac	960	
aaatcttcga	gcacagccta	tatgcagctc	agtagcctga	catttgagga	ctctgctgtc	1020	
tat	ttctgtg	caagactgag	gaactggac	gagcctatgg	actactgggg	ccaagggacc	1080
acggtcaccc	tctcctcagg	tggtgtggt	tctggcggcg	gcggctccgg	tggtgtggt	1140	
tctgagctcg	tgtacaca	gtctccatcc	tccctgactg	tgacagcagg	agagaagg	tc	1200
actatgagct	gcaagtccag	tca	gactctg	ttaaacagtg	gaaatcaaa	gaactactg	1260
acctggtacc	agcagaaacc	agggcagcct	cctaaactgt	tgtact	gcatccact	1320	
agggaatctg	gggtccctga	tcgcttcaca	ggcagtggat	ctggAACAGA	tttca	tctc	1380
accatcagca	gtgtcaggc	tgaagacctg	gcagtttatt	actgtcagaa	tgattata	gt	1440
tatccgctca	cgttcggtgc	tggaccaag	cttgagatca	aacatcatca	ccatcatcat	1500	
tag						1503	

&lt;210&gt; 18

&lt;211&gt; 500

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; artificial sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; CD3 VHVL stL x 5-10 VHVL

&lt;400&gt; 18

Asp	Ile	Lys	Leu	Gln	Gln	Ser	Gly	Ala	Glu	Leu	Ala	Arg	Pro	Gly	Ala
1				5				10				15			

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

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

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

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

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

Ala Arg Tyr Tyr Asp Asp His Tyr Cys Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly  
 100 105 110

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

Ser Gly Gly Gly Ser Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ile  
 130 135 140

Met Ser Ala Ser Pro Gly Glu Lys Val Thr Met Thr Cys Arg Ala Ser  
 145 150 155 160

Ser Ser Val Ser Tyr Met Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Ser Gly Thr Ser  
 165 170 175

Pro Lys Arg Trp Ile Tyr Asp Thr Ser Lys Val Ala Ser Gly Val Pro  
 180 185 190

Tyr Arg Phe Ser Gly Ser Gly Thr Ser Tyr Ser Leu Thr Ile  
 195 200 205

Ser Ser Met Glu Ala Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp  
 210 215 220

Ser Ser Asn Pro Leu Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys  
225 230 235 240

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

Glu Leu Val Arg Pro Gly Thr Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser  
260 265 270

Gly Tyr Ala Phe Thr Asn Tyr Trp Leu Gly Trp Val Lys Gln Arg Pro  
275 280 285

Gly His Gly Leu Glu Trp Ile Gly Asp Ile Phe Pro Gly Ser Gly Asn  
290 295 300

Ile His Tyr Asn Glu Lys Phe Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp  
305 310 315 320

Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Phe Glu  
325 330 335

Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys Ala Arg Leu Arg Asn Trp Asp Glu Pro  
340 345 350

Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Gly  
355 360 365

Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Glu Leu Val  
370 375 380

Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Thr Val Thr Ala Gly Glu Lys Val  
385 390 395 400

Thr Met Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser Gly Asn Gln  
405 410 415

Lys Asn Tyr Leu Thr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys  
420 425 430

Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val Pro Asp Arg  
 435 440 445

Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser  
 450 455 460

Val Gln Ala Glu Asp Leu Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Asn Asp Tyr Ser  
 465 470 475 480

Tyr Pro Leu Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys His His  
 485 490 495

His His His His  
 500

<210> 19

<211> 1503

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> CD3 VHVL stL x 5-10 VLH

<400> 19	
gatatatcaaac tgcagcagtc aggggctgaa ctggcaagac ctggggcctc agtgaagatg	60
tcctgcaaga cttctggcta caccttact aggtacacga tgcactgggt aaaacagagg	120
cctggacagg gtctggaatg gattggatac attaatccta gccgtggta tactaattac	180
aatcagaagt tcaaggacaa ggccacattg actacagaca aatcctccag cacagcctac	240
atgcaactga gcagcctgac atctgaggac tctgcagtct attactgtgc aagatattat	300
gatgatcatt actgccttga ctactggggc caaggcacca ctctcacagt ctcctcaggt	360
ggtggtggtt ctggcgccgg cggctccggt ggtggtggtt ctgacattca gctgacccag	420
tctccagcaa tcatgtctgc atctccaggg gagaaggtca ccatgacctg cagagccagt	480

tcaagtgtaa	gttacatgaa	ctggtaaccag	cagaagtcag	gcacccccc	caaaagatgg	540
atttatgaca	catccaaagt	ggcttctgga	gtcccttatac	gcttcagtg	cagtgggtct	600
gggacctcat	actctctcac	aatcagcagc	atggaggctg	aagatgctgc	cacttattac	660
tgccaacagt	ggagtagtaa	cccgctcacf	ttcggtgctg	ggaccaagct	ggagctgaaa	720
tccggaggtg	gtggatccga	gctcgtgatg	acacagtctc	catcctccct	gactgtgaca	780
gcaggagaga	aggtcactat	gagctgcaag	tccagtcaga	gtctgttaaa	cagtggaaat	840
caaaaagaact	acttgacctg	gtaccagcag	aaaccaggc	agcctcctaa	actgttgatc	900
tactgggcat	ccactaggg	atctgggtc	cctgatcgct	tcacaggcag	tggatctgga	960
acagatttca	ctctcaccat	cagcagtgtg	caggctgaag	acctggcagt	ttattactgt	1020
cagaatgatt	atagttatcc	gctcacgttc	ggtgctggga	ccaagctga	gatcaaaggt	1080
ggtgggtgg	ctggcggcgg	cggctccgg	ggtgggtgg	ctgagggtgca	gctgctcgag	1140
cagtctggag	ctgagctggt	aaggcctgg	acttcagtga	agatatcctg	caaggcttct	1200
ggatacgcct	tcactaacta	ctggctaggt	tggtaaagc	agaggcctgg	acatggactt	1260
gagtggattg	gagatattt	ccctggaagt	ggtaatatcc	actacaatga	gaagttcaag	1320
ggcaaagcca	cactgactgc	agacaaatct	tcgagcacag	cctatatgca	gctcagtagc	1380
ctgacatttg	aggactctgc	tgtctatttc	tgtgcaagac	tgaggaactg	ggacgagcct	1440
atggactact	ggggccaagg	gaccacggc	accgtctcct	cacatcatca	ccatcatcat	1500
tag						1503

&lt;210&gt; 20

&lt;211&gt; 500

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; artificial sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; CD3 VHVL stL x 5-10 VLVH

&lt;400&gt; 20

Asp Ile Lys Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Ala Arg Pro Gly Ala  
 1 5 10 15

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

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

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

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

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

Ala Arg Tyr Tyr Asp Asp His Tyr Cys Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly  
 100 105 110

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

Ser Gly Gly Gly Ser Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ile  
 130 135 140

Met Ser Ala Ser Pro Gly Glu Lys Val Thr Met Thr Cys Arg Ala Ser  
 145 150 155 160

Ser Ser Val Ser Tyr Met Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Ser Gly Thr Ser  
 165 170 175

Pro Lys Arg Trp Ile Tyr Asp Thr Ser Lys Val Ala Ser Gly Val Pro  
 180 185 190

Tyr Arg Phe Ser Gly Ser Gly Thr Ser Tyr Ser Leu Thr Ile  
 195 200 205

Ser Ser Met Glu Ala Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp  
 210 215 220

Ser Ser Asn Pro Leu Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys  
 225 230 235 240

Ser Gly Gly Gly Ser Glu Leu Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser  
 245 250 255

Leu Thr Val Thr Ala Gly Glu Lys Val Thr Met Ser Cys Lys Ser Ser  
 260 265 270

Gln Ser Leu Leu Asn Ser Gly Asn Gln Lys Asn Tyr Leu Thr Trp Tyr  
 275 280 285

Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser  
 290 295 300

Thr Arg Glu Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly  
 305 310 315 320

Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Val Gln Ala Glu Asp Leu Ala  
 325 330 335

Val Tyr Tyr Cys Gln Asn Asp Tyr Ser Tyr Pro Leu Thr Phe Gly Ala  
 340 345 350

Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly  
 355 360 365

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

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

Gly Tyr Ala Phe Thr Asn Tyr Trp Leu Gly Trp Val Lys Gln Arg Pro  
 405 410 415

Gly His Gly Leu Glu Trp Ile Gly Asp Ile Phe Pro Gly Ser Gly Asn  
 420 425 430

Ile His Tyr Asn Glu Lys Phe Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp  
 435 440 445

Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Phe Glu  
 450 455 460

Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys Ala Arg Leu Arg Asn Trp Asp Glu Pro  
 465 470 475 480

Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser His His  
 485 490 495

His His His His  
 500

<210> 21

<211> 57

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> 3' CD3 VH GS15 primer

<400> 21

ggagccgccc ccgccagaac caccaccacc tgaggagact gtgagagtgg tgccttg 57

<210> 22

<211> 53

<212> DNA

<213> artificial sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 5' CD3 VL GS15 primer

&lt;400&gt; 22

ggcggcgccg gctccgggtgg tggtggttct gacattcagc tgaccaggc tcc 53

&lt;210&gt; 23

&lt;211&gt; 51

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; artificial sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 4-7 VH GS15 FOR

&lt;400&gt; 23

ggcggcgccg gctccgggtgg tggtggttct gaggtgcagc tgctcgagca g 51

&lt;210&gt; 24

&lt;211&gt; 53

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; artificial sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 4-7 VH SalI REV primer

&lt;400&gt; 24

tttaagtctg acctaattatgat gatgatgatg atgtgaggag acgggtgaccg tgg 53

&lt;210&gt; 25

&lt;211&gt; 49

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; artificial sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 5-10 VLBspEI38 primer

&lt;400&gt; 25

ctgaaatccg gaggtggtgg atccgagctc gtgatgacac agtctccat

49

&lt;210&gt; 26

&lt;211&gt; 53

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; artificial sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 5-10 VLGS15REV primer

&lt;400&gt; 26

ggagccgccc cgcgcagaac caccaccacc tttgatctca agcttggtcc cag

53

&lt;210&gt; 27

&lt;211&gt; 49

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; artificial sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 5-10 VH GS15 FOR primer

&lt;400&gt; 27

ggcgccggcg gctccggtgg tggtggtct gaggtgcagc tgctcgagc

49

&lt;210&gt; 28

&lt;211&gt; 53

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; artificial sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 5-10 VHSalIREV primer

&lt;400&gt; 28

ttttaagtgc acctaattatgat gatgtatgtatg atgtgaggag acgggtgaccg tgg 53

&lt;210&gt; 29

&lt;211&gt; 1581

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; artificial sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 3-5 (VL-VH) xanti-CD3

&lt;400&gt; 29

atgggatgga gctgttatcat cctcttcttg gtagcaacag ctacaggtgt acactccgcg 60

cgcgagctcg ttagtgcacca gactccactc tccctgcctg tcagtcttgg agatcaagcc 120

tccatctttt gcagatcttag tcagagcctt gtacacagta atggaaacac ctatttacat 180

tggtaacctgc agaagccagg ccagtctcca aagctcctga tctacaatgtt ttccaaccga 240

ttttctgggg tccccagacag gttcagtggc agtggatcag ggacagattt cacactcaag 300

atcagcagag tggaggctga ggatctggga gtttatttct gctctcaaag tacacatgtt 360

ccgtacacgt tcggagggggg gaccaagctt gagatcaaag gtgggtgggg ttctggcggc 420

ggcggtctccg gtgggtgggg ttctgaggtg cagctgctcg agcagtcgtt agctgagctg 480

gtaaggcctg ggacttcagt gaagctgtcc tgcaaggctt ctggctacac cttcacaagc 540

tatggtttaa gctgggtgaa gcagagaact ggacaggccc ttgagtgat tggagagggtt 600

tatcctagaa ttggtaatgc ttactacaat gagaagttca agggcaaggc cacactgact 660

gcagacaaat cctccagcac agcgtccatg gagctccgca gcctgacatc tgaggactct 720

gcgggtctatt tctgtgcaag acggggatcc tacggtagta actacgactg gtacttcgat 780

gtctggggcc aagggaccac ggtcaccgtc tcctccggag gtgggtggatc cgatataaaa 840

ctgcagcagt caggggctga actggcaaga cctggggcct cagtgaagat gtcctgcaag	900
acttctggct acaccttac taggtacacg atgcactggg taaaacagag gcctggacag	960
ggtctggaat ggattggata cattaatcct agccgtggtt atactaatta caatcagaag	1020
ttcaaggaca aggccacatt gactacagac aaatcctcca gcacagccta catgcaactg	1080
agcagcctga catctgagga ctctgcagtc tattactgtg caagatatta tgatgatcat	1140
tactgccttg actactgggg ccaaggcacc actctcacag tctcctcagt cgaaggtgga	1200
agtggaggtt ctgggttca tggaggttca ggtggagtcg acgacattca gctgacccag	1260
tctccagcaa tcatgtctgc atctccaggg gagaaggtca ccatgacctg cagagccagt	1320
tcaagtgtaa gttacatgaa ctggtaccag cagaagtcag gcacacctccc caaaagatgg	1380
atttatgaca catccaaagt ggcttctgga gtcccttatac gcttcagtg cagtggtct	1440
gggacctcat actctctcac aatcagcagc atggaggctg aagatgctgc cacttattac	1500
tgccaacagt ggagtagtaa cccgctcacg ttcggtgctg ggaccaagct ggagctgaaa	1560
catcatcacc atcatcatta g	1581

&lt;210&gt; 30

&lt;211&gt; 526

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; artificial sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 3-5 (VL-VH) xanti-CD3

&lt;400&gt; 30

Met	Gly	Trp	Ser	Cys	Ile	Ile	Leu	Phe	Leu	Val	Ala	Thr	Ala	Thr	Gly
1															

Val	His	Ser	Ala	Arg	Glu	Leu	Val	Met	Thr	Gln	Thr	Pro	Leu	Ser	Leu
20															

Pro	Val	Ser	Leu	Gly	Asp	Gln	Ala	Ser	Ile	Ser	Cys	Arg	Ser	Ser	Gln
35															

Ser Leu Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Leu Gln  
 50 55 60

Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg  
 65 70 75 80

Phe Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp  
 85 90 95

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

Phe Cys Ser Gln Ser Thr His Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Thr  
 115 120 125

Lys Leu Glu Ile Lys Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly  
 130 135 140

Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Leu Glu Gln Ser Gly Ala Glu Leu  
 145 150 155 160

Val Arg Pro Gly Thr Ser Val Lys Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr  
 165 170 175

Thr Phe Thr Ser Tyr Gly Leu Ser Trp Val Lys Gln Arg Thr Gly Gln  
 180 185 190

Gly Leu Glu Trp Ile Gly Glu Val Tyr Pro Arg Ile Gly Asn Ala Tyr  
 195 200 205

Tyr Asn Glu Lys Phe Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser  
 210 215 220

Ser Ser Thr Ala Ser Met Glu Leu Arg Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser  
 225 230 235 240

Ala Val Tyr Phe Cys Ala Arg Arg Gly Ser Tyr Gly Ser Asn Tyr Asp  
 245 250 255

Trp Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser  
 260 265 270

Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Lys Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu  
 275 280 285

Ala Arg Pro Gly Ala Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Thr Ser Gly Tyr  
 290 295 300

Thr Phe Thr Arg Tyr Thr Met His Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln  
 305 310 315 320

Gly Leu Glu Trp Ile Gly Tyr Ile Asn Pro Ser Arg Gly Tyr Thr Asn  
 325 330 335

Tyr Asn Gln Lys Phe Lys Asp Lys Ala Thr Leu Thr Asp Lys Ser  
 340 345 350

Ser Ser Thr Ala Tyr Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser  
 355 360 365

Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Tyr Tyr Asp Asp His Tyr Cys Leu Asp  
 370 375 380

Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser Val Glu Gly Gly  
 385 390 395 400

Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Val Asp Asp Ile  
 405 410 415

Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ile Met Ser Ala Ser Pro Gly Glu Lys  
 420 425 430

Val Thr Met Thr Cys Arg Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met Asn Trp  
 435 440 445

Tyr Gln Gln Lys Ser Gly Thr Ser Pro Lys Arg Trp Ile Tyr Asp Thr  
 450 455 460

Ser Lys Val Ala Ser Gly Val Pro Tyr Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser  
 465 470 475 480

Gly Thr Ser Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Ser Met Glu Ala Glu Asp Ala  
 485 490 495

Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Ser Ser Asn Pro Leu Thr Phe Gly  
 500 505 510

Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys His His His His His His  
 515 520 525

<210> 31

<211> 40

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Me81 primer

<400> 31

ggatgcgcgc gagctcgtga tgaccagac tccactctcc 40

<210> 32

<211> 60

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Me83 primer

<400> 32

ggttctggcg gcggcggctc cggtggtggt ggttctgagg tgcagctgct cgacagtctg 60

<210> 33

<211> 41

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Me84 primer

<400> 33

gtgctccgga ggagacggtg accgtggtcc cttggccca g 41

<210> 34

<211> 53

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Me90 primer

<400> 34

ccggagccgc cgccgccaga accaccacca ccttgatct caagcttggc ccc 53

<210> 35

<211> 1548

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> 3-1 (VLVH) xanti-CD3

<400> 35

atgggatgga	gctgttatcat	cctcttcttg	gtagcaacag	ctacagggtgt	acactccgag	60
ctcgtcatga	cccagtctcc	atcttatctt	gctgcacatc	ctggagaaac	cattactatt	120
aattgcaggg	caagtaagag	cattagcaaa	tathtagcct	ggtatcaaga	gaaacctggg	180
aaaactaata	agcttcttat	ctactctgga	tccactttgc	aatctggaat	tccatcaagg	240
ttcagtggca	gtggatctgg	tacagatttc	actctcacca	tcaagtagcct	ggagcctgaa	300
gattttgcaa	tgtattactg	tcaacagcat	aatgaatatc	cgtacacgtt	cggagggggg	360
accaagcttg	agatcaaagg	tggtggtggt	tctggcggcg	gcggctccgg	tggtggtggt	420
tctgaggtgc	agctgctcga	gcagtctgga	gctgagctgg	tgaaacctgg	ggcctcagtg	480
aagatatcct	gcaaggcttc	tggatacgcc	ttcactaact	actggctagg	ttgggtaaag	540
cagaggcctg	gacatggact	tgagtggatt	ggagatctt	tccctggaag	tggtaatact	600
cactacaatg	agaggttcag	gggcaaagcc	acactgactg	cagacaaatc	ctcgagcaca	660
gccttatgc	agctcagtag	cctgacatct	gaggactctg	ctgtctattt	ctgtgcaaga	720
ttgaggaact	gggacgaggc	tatggactac	tggggccaag	ggaccacggt	caccgtctcc	780
tccggaggtg	gtggatccga	tatcaaactg	cagcagtcag	gggctgaact	ggcaagacct	840
ggggcctcag	tgaagatgtc	ctgcaagact	tctggctaca	cctttactag	gtacacgatg	900
cactggtaa	aacagaggcc	tggacaggg	ctggaatgga	ttggatacat	taatcctagc	960
cgtggttata	ctaattacaa	tcagaagttc	aaggacaagg	ccacattgac	tacagacaaa	1020
tcctccagca	cagcctacat	gcaactgagc	agcctgacat	ctgaggactc	tgcagtctat	1080
tactgtgcaa	gatattatga	tgatcattac	tgccttgact	actggggca	aggcaccact	1140
ctcacagtct	cctcagtcga	aggtggaagt	ggaggttctg	gtggaagtgg	agttcaggt	1200
ggagtcgacg	acattcagct	gaccaggct	ccagcaatca	tgtctgcac	tccagggag	1260
aaggtcacca	tgacctgcag	agccagttca	agtgttaagtt	acatgaactg	gtaccagcag	1320
aagtcaggca	cctcccccaa	aagatggatt	tatgacacat	ccaaagtggc	ttctggagtc	1380
ccttatcgct	tcagtgccag	tgggtctggg	acctcatact	ctctcacaat	cagcagcatg	1440
gaggctgaag	atgctgccac	ttattactgc	caacagtgg	gtagtaaccc	gctcacgttc	1500
ggtgctggga	ccaagctgga	gctgaaacat	catcaccatc	atcattag		1548

&lt;210&gt; 36

&lt;211&gt; 515

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; artificial sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 3-1 (VLVH) xanti-CD3

&lt;400&gt; 36

Met	Gly	Trp	Ser	Cys	Ile	Ile	Leu	Phe	Leu	Val	Ala	Thr	Ala	Thr	Gly
1															15

Val	His	Ser	Glu	Leu	Val	Met	Thr	Gln	Ser	Pro	Ser	Tyr	Leu	Ala	Ala
															30
20															

Ser	Pro	Gly	Glu	Thr	Ile	Thr	Ile	Asn	Cys	Arg	Ala	Ser	Lys	Ser	Ile
															45
35															

Ser	Lys	Tyr	Leu	Ala	Trp	Tyr	Gln	Glu	Lys	Pro	Gly	Lys	Thr	Asn	Lys
															60
50															

Leu	Leu	Ile	Tyr	Ser	Gly	Ser	Thr	Leu	Gln	Ser	Gly	Ile	Pro	Ser	Arg
															80
65															

Phe	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr	Leu	Thr	Ile	Ser	Ser
															95
85															

Leu	Glu	Pro	Glu	Asp	Phe	Ala	Met	Tyr	Tyr	Cys	Gln	Gln	His	Asn	Glu
															110
100															

Tyr	Pro	Tyr	Thr	Phe	Gly	Gly	Thr	Lys	Leu	Glu	Ile	Lys	Gly	Gly	
															125
115															

Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Ser	Glu	Val	Gln			
130															

Leu	Leu	Glu	Gln	Ser	Gly	Ala	Glu	Leu	Val	Lys	Pro	Gly	Ala	Ser	Val
															160
145															

Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ala Phe Thr Asn Tyr Trp Leu  
 165 170 175

Gly Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly His Gly Leu Glu Trp Ile Gly Asp  
 180 185 190

Leu Phe Pro Gly Ser Gly Asn Thr His Tyr Asn Glu Arg Phe Arg Gly  
 195 200 205

Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Phe Met Gln  
 210 215 220

Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys Ala Arg  
 225 230 235 240

Leu Arg Asn Trp Asp Glu Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr  
 245 250 255

Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Ser Asp Ile Lys Leu Gln Gln  
 260 265 270

Ser Gly Ala Glu Leu Ala Arg Pro Gly Ala Ser Val Lys Met Ser Cys  
 275 280 285

Lys Thr Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Arg Tyr Thr Met His Trp Val Lys  
 290 295 300

Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile Gly Tyr Ile Asn Pro Ser  
 305 310 315 320

Arg Gly Tyr Thr Asn Tyr Asn Gln Lys Phe Lys Asp Lys Ala Thr Leu  
 325 330 335

Thr Thr Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr Met Gln Leu Ser Ser Leu  
 340 345 350

Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Tyr Tyr Asp Asp  
 355 360 365

His Tyr Cys Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu Thr Val Ser  
 370                   375                   380

Ser Val Glu Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Ser Gly  
 385                   390                   395                   400

Gly Val Asp Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ile Met Ser Ala  
 405                   410                   415

Ser Pro Gly Glu Lys Val Thr Met Thr Cys Arg Ala Ser Ser Ser Val  
 420                   425                   430

Ser Tyr Met Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Ser Gly Thr Ser Pro Lys Arg  
 435                   440                   445

Trp Ile Tyr Asp Thr Ser Lys Val Ala Ser Gly Val Pro Tyr Arg Phe  
 450                   455                   460

Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Ser Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Ser Met  
 465                   470                   475                   480

Glu Ala Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Ser Ser Asn  
 485                   490                   495

Pro Leu Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys His His His  
 500                   505                   510

His His His  
 515

<210> 37

<211> 52

<212> DNA

<213> artificial sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Me91a primer

&lt;400&gt; 37

ggattgtaca ctccgagctc gtcatgaccc agtctccatc ttatcttgct gc 52

&lt;210&gt; 38

&lt;211&gt; 1566

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; artificial sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 4-1 (VLVH) xanti-CD3

&lt;400&gt; 38

atgggatgga gctgttatcat cctcttcttg gtagcaacag ctacagggtgt acactccgag 60

ctcgtgatga cacagtctcc atcctccctg agtgtgtcag caggagagaa ggtcactatg 120

agctgcaagt ccagtcagag tctgttaaac agtgaaatc aaaagaacta cttggcctgg 180

taccagcaga aaccagggca gcctcctaaa ctgttgatct acggggcatac cactagggaa 240

tctgggtcc ctgatcgctt cacaggcagt ggatctggaa cagattcac tctcaccatc 300

agcagtgtgc aggctgaaga cctggcagtt tattactgtc agaatgatta tagttatccg 360

tacacgttcg gaggggggac caagcttgag atcaaagggtg gtggtggttc tggcggcggc 420

ggctccggtg gtggtggttc tgaggtgcag ctgctcgagc agtctggagc tgagctggta 480

aggcctggga cttcagtgaa gatatcctgc aaggcttctg gatacgccct cactaactac 540

tggcttaggtt gggtaagca gaggcctgga catggacttg aatgggttgg agatatttc 600

cctggaagtg gtaatgctca ctacaatgag aagttcaagg gcaaagccac actgactgca 660

gacaagtcct cgtacacagc ctatatgcag ctcagtagcc tgacatctga ggactctgct 720

gtctatttct gtgcaagatt gcggaaactgg gacgaggcta tggactactg gggccaagg 780

accacggtca ccgtctcctc cggaggtgg gatatccgata tcaaactgca gcagtcaggg 840

gctgaactgg caagacctgg ggcctcagtg aagatgtcct gcaagacttc tggctacacc 900

tttacttaggt acacgatgca ctgggtaaaa cagaggcctg gacagggctc ggaatggatt	960
ggatacatta atcctagccg tggttatact aattacaatc agaagttcaa ggacaaggcc	1020
acattgacta cagacaaatc ctccagcaca gcctacatgc aactgagcag cctgacatct	1080
gaggactctg cagtcttatta ctgtgcaaga tattatgatg atcattactg ctttgactac	1140
tggggccaag gcaccactct cacagtctcc tcagtcgaag gtggaaagtgg aggttctggt	1200
ggaagtggag gttcaggtgg agtcgacgac attcagctga cccagtcctcc agcaatcatg	1260
tctgcatctc caggggagaa ggtcaccatg acctgcagag ccagttcaag tgtaagttac	1320
atgaactggt accagcagaa gtcaggcacc tcccccaaaa gatggattta tgacacatcc	1380
aaagtggctt ctggagtccc ttatcgcttc agtggcagtg ggtctggac ctcatactct	1440
ctcacaatca gcagcatgga ggctgaagat gctgccactt attactgccaa acagtggagt	1500
agtaacccgc tcacgttcgg tgctggacc aagctggagc tgaaacatca tcaccatcat	1560
cattag	1566

&lt;210&gt; 39

&lt;211&gt; 521

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; artificial sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 4-1 (VLVH) xanti-CD3

&lt;400&gt; 39

Met	Gly	Trp	Ser	Cys	Ile	Ile	Leu	Phe	Leu	Val	Ala	Thr	Ala	Thr	Gly
1															

Val	His	Ser	Glu	Leu	Val	Met	Thr	Gln	Ser	Pro	Ser	Ser	Leu	Ser	Val
20															

Ser	Ala	Gly	Glu	Lys	Val	Thr	Met	Ser	Cys	Lys	Ser	Ser	Gln	Ser	Leu
35															

Leu Asn Ser Gly Asn Gln Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys  
 50 55 60

Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Gly Ala Ser Thr Arg Glu  
 65 70 75 80

Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe  
 85 90 95

Thr Leu Thr Ile Ser Ser Val Gln Ala Glu Asp Leu Ala Val Tyr Tyr  
 100 105 110

Cys Gln Asn Asp Tyr Ser Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys  
 115 120 125

Leu Glu Ile Lys Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly  
 130 135 140

Gly Ser Glu Val Gln Leu Leu Glu Gln Ser Gly Ala Glu Leu Val  
 145 150 155 160

Arg Pro Gly Thr Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ala  
 165 170 175

Phe Thr Asn Tyr Trp Leu Gly Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly His Gly  
 180 185 190

Leu Glu Trp Val Gly Asp Ile Phe Pro Gly Ser Gly Asn Ala His Tyr  
 195 200 205

Asn Glu Lys Phe Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser  
 210 215 220

Tyr Thr Ala Tyr Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala  
 225 230 235 240

Val Tyr Phe Cys Ala Arg Leu Arg Asn Trp Asp Glu Ala Met Asp Tyr  
 245 250 255

Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Ser  
 260 265 270

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

Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Thr Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Arg Tyr  
 290 295 300

Thr Met His Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile  
 305 310 315 320

Gly Tyr Ile Asn Pro Ser Arg Gly Tyr Thr Asn Tyr Asn Gln Lys Phe  
 325 330 335

Lys Asp Lys Ala Thr Leu Thr Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr  
 340 345 350

Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys  
 355 360 365

Ala Arg Tyr Tyr Asp Asp His Tyr Cys Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly  
 370 375 380

Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser Val Glu Gly Ser Gly Ser Gly  
 385 390 395 400

Gly Ser Gly Gly Ser Gly Val Asp Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser  
 405 410 415

Pro Ala Ile Met Ser Ala Ser Pro Gly Glu Lys Val Thr Met Thr Cys  
 420 425 430

Arg Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Ser  
 435 440 445

Gly Thr Ser Pro Lys Arg Trp Ile Tyr Asp Thr Ser Lys Val Ala Ser  
 450 455 460

Gly Val Pro Tyr Arg Phe Ser Gly Ser Gly Thr Ser Tyr Ser  
 465 470 475 480

Leu Thr Ile Ser Ser Met Glu Ala Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys  
 485 490 495

Gln Gln Trp Ser Ser Asn Pro Leu Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu  
 500 505 510

Glu Leu Lys His His His His His His  
 515 520

<210> 40

<211> 44

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Me92a primer

<400> 40

ggattgtaca ctccgagctc gtgatgacac agtctccatc ctcc 44

<210> 41

<211> 1581

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> 4-7 (VL-VH) xanti CD3

<400> 41

atgggatgga gctgttatcat cctcttcttg gtagcaacag ctacagggtgt acactccgcg 60

cgcgagctcg tcatgaccca gactccactc tccctgcctg tcagtcttgg agatcaagcc	120
tccatctttt gcagatcttag tcagagccctt gtacacagta atggaaacac ctatttacat	180
tggtaacctgc agaaggcagg ccagtctcca aagctcctga tctacaagg ttccaaccga	240
ttttctgggg tcccagacag gttcagtggc agtggatcg ggacagattt cacactcaag	300
atcagcagag tggaggctga ggatctggga gtttatttct gctctcaaag tacacatgtt	360
ccgtacacgt tcggaggggg gaccaagctt gagatcaaag gtggtggtgg ttctggcggc	420
ggcggctccg gtggtggtgg ttctgaggtg cagctgctcg agcagtctgg agctgagctg	480
gcgaggcctg gggcttcagt gaagctgtcc tgcaaggctt ctggctacac cttcacaaac	540
tatggtttaa gctgggtgaa gcagaggcct ggacagggtcc ttgagtggat tggagaggtt	600
tatcctagaa ttggtaatgc ttactacaat gagaagttca agggcaaggc cacactgact	660
gcagacaaat cctccagcac agcgtccatg gagctccgca gcctgaccc tcgaggactct	720
gcggtctatt tctgtgcaag acggggatcc tacgatacta actacgactg gtacttcgat	780
gtctggggcc aagggaccac ggtcaccgtc tcctccggag gtggtggttc cgatatcaaa	840
ctgcagcagt caggggctga actggcaaga cctggggcct cagtgaagat gtccctgcaag	900
acttctggct acaccttac taggtacacg atgcacttgg taaaacagag gcctggacag	960
ggtctgaaat ggattggata cattaatcct agccgtggtt atactaatta caatcagaag	1020
ttcaaggaca aggccacatt gactacagac aaatcctcca gcacagccta catgcaactg	1080
agcagcctga catctgagga ctctgcagtc tattactgtg caagatatta tgatgatcat	1140
tactgccttg actactgggg ccaaggcacc actctcacag tctcctcagt cgaaggtgg	1200
agtggaggtt ctgggtgaa tggaggttca ggtggagtcg acgacattca gctgacccag	1260
tctccagcaa tcatgtctgc atctccaggg gagaaggtca ccatgacccg cagagccagt	1320
tcaagtgtaa gttacatgaa ctggattaccag cagaagtcag gcacactcccc caaaagatgg	1380
atttatgaca catccaaagt ggcttctgga gtcccttatac gcttcagtgg cagtggtct	1440
gggacctcat actctctcac aatcagcagc atggaggctg aagatgctgc cacttattac	1500
tgccaaacagt ggagtagtaa cccgctcactt ttcgggtctg ggaccaagct ggagctgaaa	1560
catcatcacc atcatcatta g	1581

&lt;210&gt; 42

&lt;211&gt; 526

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; artificial sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 4-7 (VL-VH) xanti CD3

&lt;400&gt; 42

Met	Gly	Trp	Ser	Cys	Ile	Ile	Leu	Phe	Leu	Val	Ala	Thr	Ala	Thr	Gly
1															
															15

Val	His	Ser	Ala	Arg	Glu	Leu	Val	Met	Thr	Gln	Thr	Pro	Leu	Ser	Leu
															30
20								25							

Pro	Val	Ser	Leu	Gly	Asp	Gln	Ala	Ser	Ile	Ser	Cys	Arg	Ser	Ser	Gln
															45
35							40								

Ser	Leu	Val	His	Ser	Asn	Gly	Asn	Thr	Tyr	Leu	His	Trp	Tyr	Leu	Gln
															60
50							55								

Lys	Pro	Gly	Gln	Ser	Pro	Lys	Leu	Leu	Ile	Tyr	Lys	Val	Ser	Asn	Arg
															80
65							70								

Phe	Ser	Gly	Val	Pro	Asp	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp		
85							90								95

Phe	Thr	Leu	Lys	Ile	Ser	Arg	Val	Glu	Ala	Glu	Asp	Leu	Gly	Val	Tyr
															110
100															

Phe	Cys	Ser	Gln	Ser	Thr	His	Val	Pro	Tyr	Thr	Phe	Gly	Gly	Thr	
															125
115															

Lys	Leu	Glu	Ile	Lys	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly			
130				135											140

Gly	Gly	Gly	Ser	Glu	Val	Gln	Leu	Leu	Glu	Gln	Ser	Gly	Ala	Glu	Leu
															160
145				150					155						

Ala Arg Pro Gly Ala Ser Val Lys Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr  
 165 170 175

Thr Phe Thr Asn Tyr Gly Leu Ser Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln  
 180 185 190

Val Leu Glu Trp Ile Gly Glu Val Tyr Pro Arg Ile Gly Asn Ala Tyr  
 195 200 205

Tyr Asn Glu Lys Phe Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser  
 210 215 220

Ser Ser Thr Ala Ser Met Glu Leu Arg Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser  
 225 230 235 240

Ala Val Tyr Phe Cys Ala Arg Arg Gly Ser Tyr Asp Thr Asn Tyr Asp  
 245 250 255

Trp Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser  
 260 265 270

Gly Gly Gly Ser Asp Ile Lys Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu  
 275 280 285

Ala Arg Pro Gly Ala Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Thr Ser Gly Tyr  
 290 295 300

Thr Phe Thr Arg Tyr Thr Met His Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln  
 305 310 315 320

Gly Leu Glu Trp Ile Gly Tyr Ile Asn Pro Ser Arg Gly Tyr Thr Asn  
 325 330 335

Tyr Asn Gln Lys Phe Lys Asp Lys Ala Thr Leu Thr Thr Asp Lys Ser  
 340 345 350

Ser Ser Thr Ala Tyr Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser  
 355 360 365

Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Tyr Tyr Asp Asp His Tyr Cys Leu Asp  
 370 375 380

Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser Val Glu Gly Gly  
 385 390 395 400

Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Val Asp Asp Ile  
 405 410 415

Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ile Met Ser Ala Ser Pro Gly Glu Lys  
 420 425 430

Val Thr Met Thr Cys Arg Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met Asn Trp  
 435 440 445

Tyr Gln Gln Lys Ser Gly Thr Ser Pro Lys Arg Trp Ile Tyr Asp Thr  
 450 455 460

Ser Lys Val Ala Ser Gly Val Pro Tyr Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser  
 465 470 475 480

Gly Thr Ser Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Ser Met Glu Ala Glu Asp Ala  
 485 490 495

Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Ser Ser Asn Pro Leu Thr Phe Gly  
 500 505 510

Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys His His His His His His  
 515 520 525

<210> 43

<211> 1566

<212> DNA

<213> artificial sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 5-10 (VLVH) xanti-CD3

&lt;400&gt; 43

atgggatgga	gctgttatcat	cctcttcttg	gtagcaacag	ctacagggt	acactccgag	60
ctcgtgatga	cacagtctcc	atcctccctg	actgtgacag	caggagagaa	ggtcactatg	120
agctgcaagt	ccagtcagag	tctgttaaac	agtggaaatc	aaaagaacta	cttgacctgg	180
taccagcaga	aaccagggca	gcctcctaaa	ctgtgatct	actgggcata	cactagggaa	240
tctggggtcc	ctgatcgctt	cacaggcagt	ggatctggaa	cagatttcac	tctcaccatc	300
agcagtgtgc	aggctgaaga	cctggcagtt	tattactgtc	agaatgatta	tagttatccg	360
ctcacgttcg	gtgctggac	caagctttag	atcaaagggt	gtggtgttcc	tggcggcggc	420
ggctccggtg	gtgggtggtc	tgaggtgcag	ctgctcgagc	agtctggagc	tgagctggta	480
aggcctggga	cttcagtgaa	gatatcctgc	aaggcttctg	gatacgcctt	cactaactac	540
tggctaggtt	gggttaaagca	gaggcctgga	catggacttg	agtggattgg	agatatttc	600
cctggaagtg	gtaatatcca	ctacaatgag	aagttcaagg	gcaaagccac	actgactgca	660
gacaaatctt	cgagcacagc	ctatatgcag	ctcagtagcc	tgacatttga	ggactctgct	720
gtctatttct	gtgcaagact	gaggaactgg	gacgagccta	tggactactg	ggccaagggg	780
accacggtca	ccgtctcctc	cggaggtgg	ggatccgata	tcaaactgca	gcagtcaggg	840
gctgaactgg	caagacctgg	ggcctcagtg	aagatgtcct	gcaagacttc	tggctacacc	900
tttacttaggt	acacgatgca	ctggtaaaa	cagaggcctg	gacagggct	ggaatggatt	960
ggatacatta	atcctagccg	tggttatact	aattacaatc	agaagttcaa	ggacaaggcc	1020
acattgacta	cagacaaatc	ctccagcaca	gcctacatgc	aactgaggcag	cctgacatct	1080
gaggactctg	cagtctatta	ctgtgcaaga	tattatgatg	atcattactg	ctttgactac	1140
tggggccaag	gcaccactct	cacagtctcc	tcagtcgaag	gtggaagtgg	agttctgggt	1200
ggaagtggag	gttcagggtgg	agtcgacgac	attcagctga	cccagtctcc	agcaatcatg	1260
tctgcatctc	caggggagaa	ggtcaccatg	acctgcagag	ccagttcaag	tgtaagttac	1320
atgaactgggt	accagcagaa	gtcaggcacc	tccccaaaa	gatggattta	tgacacatcc	1380
aaagtggctt	ctggagtccc	ttatcgcttc	agtggcagtg	ggtctgggac	ctcatactct	1440

ctcacaatca gcagcatgga ggctgaagat gctgccactt attactgcc aacgtggagt 1500

agtaacccgc tcacgttcg tgctgggacc aagctggagc taaaacatca tcaccatcat 1560

cattag 1566

<210> 44

<211> 521

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220>

<223> 5-10 (VLVH) xanti-CD3

<400> 44

Met	Gly	Trp	Ser	Cys	Ile	Ile	Leu	Phe	Leu	Val	Ala	Thr	Ala	Thr	Gly
1															15

Val	His	Ser	Glu	Leu	Val	Met	Thr	Gln	Ser	Pro	Ser	Ser	Leu	Thr	Val
20															30

Thr	Ala	Gly	Glu	Lys	Val	Thr	Met	Ser	Cys	Lys	Ser	Ser	Gln	Ser	Leu
35															45

Leu	Asn	Ser	Gly	Asn	Gln	Lys	Asn	Tyr	Leu	Thr	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys
50															60

Pro	Gly	Gln	Pro	Pro	Lys	Leu	Leu	Ile	Tyr	Trp	Ala	Ser	Thr	Arg	Glu
65															80

Ser	Gly	Val	Pro	Asp	Arg	Phe	Thr	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe
85															95

Thr	Leu	Thr	Ile	Ser	Ser	Val	Gln	Ala	Glu	Asp	Leu	Ala	Val	Tyr	Tyr
100															110

Cys	Gln	Asn	Asp	Tyr	Ser	Tyr	Pro	Leu	Thr	Phe	Gly	Ala	Gly	Thr	Lys
115															125

Leu Glu Ile Lys Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly  
 130 135 140

Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Leu Glu Gln Ser Gly Ala Glu Leu Val  
 145 150 155 160

Arg Pro Gly Thr Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ala  
 165 170 175

Phe Thr Asn Tyr Trp Leu Gly Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly His Gly  
 180 185 190

Leu Glu Trp Ile Gly Asp Ile Phe Pro Gly Ser Gly Asn Ile His Tyr  
 195 200 205

Asn Glu Lys Phe Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser  
 210 215 220

Ser Thr Ala Tyr Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Phe Glu Asp Ser Ala  
 225 230 235 240

Val Tyr Phe Cys Ala Arg Leu Arg Asn Trp Asp Glu Pro Met Asp Tyr  
 245 250 255

Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Ser  
 260 265 270

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

Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Thr Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Arg Tyr  
 290 295 300

Thr Met His Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile  
 305 310 315 320

Gly Tyr Ile Asn Pro Ser Arg Gly Tyr Thr Asn Tyr Asn Gln Lys Phe  
 325 330 335

Lys Asp Lys Ala Thr Leu Thr Thr Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr  
 340 345 350

Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys  
 355 360 365

Ala Arg Tyr Tyr Asp Asp His Tyr Cys Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly  
 370 375 380

Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser Val Glu Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly  
 385 390 395 400

Gly Ser Gly Gly Ser Gly Val Asp Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser  
 405 410 415

Pro Ala Ile Met Ser Ala Ser Pro Gly Glu Lys Val Thr Met Thr Cys  
 420 425 430

Arg Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Ser  
 435 440 445

Gly Thr Ser Pro Lys Arg Trp Ile Tyr Asp Thr Ser Lys Val Ala Ser  
 450 455 460

Gly Val Pro Tyr Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Ser Tyr Ser  
 465 470 475 480

Leu Thr Ile Ser Ser Met Glu Ala Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys  
 485 490 495

Gln Gln Trp Ser Ser Asn Pro Leu Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu  
 500 505 510

Glu Leu Lys His His His His His  
 515 520

<210> 45

&lt;211&gt; 1494

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; artificial sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; CD3 VHVL aL x 3-1 VHVL

&lt;400&gt; 45

gatatacaaac	tgcagcagtc	aggggctgaa	ctggcaagac	ctggggcctc	agtgaagatg	60
tcctgcaaga	cttctggcta	caccttact	aggtacacga	tgcactgggt	aaaacagagg	120
cctggacagg	gtctggaatg	gattggatac	attaatccta	gccgtggta	tactaattac	180
aatcagaagt	tcaaggacaa	ggccacattg	actacagaca	aatcctccag	cacagcctac	240
atgcaactga	gcagcctgac	atctgaggac	tctcagtc	attactgtgc	aagatattat	300
gatgatcatt	actgccttga	ctactggggc	caaggcacca	ctctcacagt	ctcctcagtc	360
gaaggtgtgaa	gtggaggttc	tggtggaagt	ggaggttcag	gtggagtcga	cgacattcag	420
ctgaccagg	ctccagcaat	catgtctgca	tctccagggg	agaaggcac	catgacctgc	480
agagccagtt	caagtgttaag	ttacatgaac	tggtaccagc	agaagtcagg	caccccccc	540
aaaagatgga	tttatgacac	atccaaagtg	gcttctggag	tcccttatcg	cttcagtggc	600
agtgggtctg	ggacctcata	ctctctcaca	atcagcagca	tggaggctga	agatgctgcc	660
acttattact	gccaacagtg	gagtagtaac	ccgctcacgt	tcggtgctgg	gaccaagctg	720
gagctgaaat	ccggagggtgg	tggatccgag	gtgcagctgc	tcgagcagtc	tggagctgag	780
ctgggtgaaac	ctggggcctc	agtgaagata	tcctgcaagg	cttctggata	cgccttca	840
aactactggc	taggtgggt	aaagcagagg	cctggacatg	gacttgagtg	gattggagat	900
ctttccctg	gaagtggtaa	tactcactac	aatgagaggt	tcagggcaa	agccacactg	960
actgcagaca	aatcctcgag	cacagcctt	atgcagctca	gtagcctgac	atctgaggac	1020
tctgctgtct	atttctgtgc	aagattgagg	aactggacg	aggctatgga	ctactggggc	1080
caaggacca	cggtcaccgt	ctcctcaggt	ggtggtggtt	ctggcggcgg	cggctccggt	1140
ggtgtgggtt	ctgagctcgt	catgaccag	tctccatctt	atcttgctgc	atctcctgga	1200

gaaaccatta ctattaattt cagggcaagt aagagcatta gcaaataattt agcctggat 1260  
 caagagaaaac ctgggaaaac taataagctt cttatctact ctggatccac tttgcaatct 1320  
 ggaattccat caaggttcag tggcagtgg a tctggtacag atttcactct caccatcagt 1380  
 agcctggagc ctgaagattt tgcaatgtat tactgtcaac agcataatga atatccgtac 1440  
 acgttcggag gggggaccaa gcttgagatc aaacatcatc accatcatca ttag 1494

&lt;210&gt; 46

&lt;211&gt; 497

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; artificial sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; CD3 VHVL aL x 3-1 VHVL

&lt;400&gt; 46

Asp Ile Lys Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Ala Arg Pro Gly Ala			
1	5	10	15

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

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

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

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

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

Ala Arg Tyr Tyr Asp Asp His Tyr Cys Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly			
100	105	110	

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

Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Val Asp Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser  
 130 135 140

Pro Ala Ile Met Ser Ala Ser Pro Gly Glu Lys Val Thr Met Thr Cys  
 145 150 155 160

Arg Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Ser  
 165 170 175

Gly Thr Ser Pro Lys Arg Trp Ile Tyr Asp Thr Ser Lys Val Ala Ser  
 180 185 190

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

Leu Thr Ile Ser Ser Met Glu Ala Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys  
 210 215 220

Gln Gln Trp Ser Ser Asn Pro Leu Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu  
 225 230 235 240

Glu Leu Lys Ser Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Leu Glu Gln  
 245 250 255

Ser Gly Ala Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Ile Ser Cys  
 260 265 270

Lys Ala Ser Gly Tyr Ala Phe Thr Asn Tyr Trp Leu Gly Trp Val Lys  
 275 280 285

Gln Arg Pro Gly His Gly Leu Glu Trp Ile Gly Asp Leu Phe Pro Gly  
 290 295 300

Ser Gly Asn Thr His Tyr Asn Glu Arg Phe Arg Gly Lys Ala Thr Leu  
 305 310 315 320

Thr Ala Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Phe Met Gln Leu Ser Ser Leu  
 325 330 335

Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys Ala Arg Leu Arg Asn Trp  
 340 345 350

Asp Glu Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser  
 355 360 365

Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser  
 370 375 380

Glu Leu Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Tyr Leu Ala Ala Ser Pro Gly  
 385 390 395 400

Glu Thr Ile Thr Ile Asn Cys Arg Ala Ser Lys Ser Ile Ser Lys Tyr  
 405 410 415

Leu Ala Trp Tyr Gln Glu Lys Pro Gly Lys Thr Asn Lys Leu Leu Ile  
 420 425 430

Tyr Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser Gly Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly  
 435 440 445

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro  
 450 455 460

Glu Asp Phe Ala Met Tyr Tyr Cys Gln Gln His Asn Glu Tyr Pro Tyr  
 465 470 475 480

Thr Phe Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys His His His His His  
 485 490 495

His

&lt;211&gt; 1494

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; artificial sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; CD3 VHVL aL Ser x 3-1 VHVL

&lt;400&gt; 47

gatatacaaac	tgcagcagtc	aggggctgaa	ctggcaagac	ctggggcctc	agtgaagatg	60
tcctgcaaga	cttctggcta	caccttact	aggtacacga	tgcactgggt	aaaacagagg	120
cctggacagg	gtctggaatg	gattggatac	attaatccta	gccgtggta	tactaattac	180
aatcagaagt	tcaaggacaa	ggccacattg	actacagaca	aatcctccag	cacagcctac	240
atgcaactga	gcagcctgac	atctgaggac	tctcagtc	attactgtgc	aagatattat	300
gatgatcatt	actcccttga	ctactggggc	caaggcacca	ctctcacagt	ctcctcagtc	360
gaaggtgtgaa	gtggaggttc	tggtggaagt	ggaggttcag	gtggagtcga	cgacattcag	420
ctgaccagg	ctccagcaat	catgtctgca	tctccagggg	agaaggcac	catgacctgc	480
agagccagtt	caagtgttaag	ttacatgaac	tggtaccagc	agaagtcagg	caccccccc	540
aaaagatgga	tttatgacac	atccaaagtg	gcttctggag	tcccttatcg	cttcagtggc	600
agtgggtctg	ggacctcata	ctctctcaca	atcagcagca	tggaggctga	agatgctgcc	660
acttattact	gccaacagtg	gagtagtaac	ccgctcacgt	tcggtgctgg	gaccaagctg	720
gagctgaaat	ccggagggtgg	tggatccgag	gtgcagctgc	tcgagcagtc	tggagctgag	780
ctgggtgaaac	ctggggcctc	agtgaagata	tcctgcaagg	cttctggata	cgccttca	840
aactactggc	taggtgggt	aaagcagagg	cctggacatg	gacttgagtg	gattggagat	900
ctttccctg	gaagtggtaa	tactcactac	aatgagaggt	tcagggcaa	agccacactg	960
actgcagaca	aatcctcgag	cacagcctt	atgcagctca	gtagcctgac	atctgaggac	1020
tctgctgtct	atttctgtgc	aagattgagg	aactggacg	aggctatgga	ctactggggc	1080
caaggacca	cggtcaccgt	ctcctcaggt	ggtggtggtt	ctggcggcgg	cggctccggt	1140
ggtgtgggtt	ctgagctcgt	catgaccag	tctccatctt	atcttgctgc	atctcctgga	1200

gaaaccatta ctattaattt cagggcaagt aagagcatta gcaaataattt agcctggat 1260  
 caagagaaac ctgggaaaac taataagctt cttatctact ctggatccac tttgcaatct 1320  
 ggaattccat caaggttcag tggcagtgg a tctggtacag atttcactct caccatcag 1380  
 agcctggagc ctgaagattt tgcaatgtat tactgtcaac agcataatga atatccgtac 1440  
 acgttcggag gggggaccaa gcttgagatc aaacatcatc accatcatca ttag 1494

&lt;210&gt; 48

&lt;211&gt; 497

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; artificial sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; CD3 VHVL aL Ser x 3-1 VHVL

&lt;400&gt; 48

Asp Ile Lys Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Ala Arg Pro Gly Ala			
1	5	10	15

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

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

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

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

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

Ala Arg Tyr Tyr Asp Asp His Tyr Ser Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly			
100	105	110	

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

Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Val Asp Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser  
 130 135 140

Pro Ala Ile Met Ser Ala Ser Pro Gly Glu Lys Val Thr Met Thr Cys  
 145 150 155 160

Arg Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Ser  
 165 170 175

Gly Thr Ser Pro Lys Arg Trp Ile Tyr Asp Thr Ser Lys Val Ala Ser  
 180 185 190

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

Leu Thr Ile Ser Ser Met Glu Ala Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys  
 210 215 220

Gln Gln Trp Ser Ser Asn Pro Leu Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu  
 225 230 235 240

Glu Leu Lys Ser Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Leu Glu Gln  
 245 250 255

Ser Gly Ala Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Ile Ser Cys  
 260 265 270

Lys Ala Ser Gly Tyr Ala Phe Thr Asn Tyr Trp Leu Gly Trp Val Lys  
 275 280 285

Gln Arg Pro Gly His Gly Leu Glu Trp Ile Gly Asp Leu Phe Pro Gly  
 290 295 300

Ser Gly Asn Thr His Tyr Asn Glu Arg Phe Arg Gly Lys Ala Thr Leu  
 305 310 315 320

Thr Ala Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Phe Met Gln Leu Ser Ser Leu  
325 330 335

Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys Ala Arg Leu Arg Asn Trp  
                  340                   345                   350

Asp Glu Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser  
                  355                   360                   365

Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser  
370 375 380

Glu Leu Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Tyr Leu Ala Ala Ser Pro Gly  
385 390 395 400

Glu Thr Ile Thr Ile Asn Cys Arg Ala Ser Lys Ser Ile Ser Lys Tyr  
405 410 415

Leu Ala Trp Tyr Gln Glu Lys Pro Gly Lys Thr Asn Lys Leu Leu Ile  
420 425 430

Tyr Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser Gly Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly  
 435 440 445

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro  
450 455 460

Glu Asp Phe Ala Met Tyr Tyr Cys Gln Gln His Asn Glu Tyr Pro Tyr  
 465 470 475 480

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys His His His His His  
485 490 495

His

&lt;211&gt; 1521

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; artificial sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; CD3 VHVL aL x 3-5 VHVL

&lt;400&gt; 49

gatatacaaac	tgcagcagtc	aggggctgaa	ctggcaagac	ctggggcctc	agtgaagatg	60
tcctgcaaga	cttctggcta	caccttact	aggtacacga	tgcactgggt	aaaacagagg	120
cctggacagg	gtctggaatg	gattggatac	attaatccta	gccgtggta	tactaattac	180
aatcagaagt	tcaaggacaa	ggccacattg	actacagaca	aatcctccag	cacagcctac	240
atgcaactga	gcagcctgac	atctgaggac	tctgcagtct	attactgtgc	aagatattat	300
gatgatcatt	actgccttga	ctactggggc	caaggcacca	ctctcacagt	ctcctcagtc	360
gaaggtgtgaa	gtggaggttc	tggtggaagt	ggaggttcag	gtggagtcga	cgacattcag	420
ctgaccagg	ctccagcaat	catgtctgca	tctccagggg	agaaggcac	catgacctgc	480
agagccagtt	caagtgttaag	ttacatgaac	tggtaccagc	agaagtcagg	caccccccc	540
aaaagatgga	tttatgacac	atccaaagtg	gcttctggag	tcccttatcg	cttcagtggc	600
agtgggtctg	ggacctcata	ctctctcaca	atcagcagca	tggaggctga	agatgctgcc	660
acttattact	gccaacagtg	gagtagtaac	ccgctcacgt	tcggtgctgg	gaccaagctg	720
gagctgaaat	ccggaggtgg	tggatccgag	gtgcagctgc	tcgagcagtc	tggagctgag	780
ctggtaaggc	ctgggacttc	agtgaagctg	tcctgcaagg	cttctggcta	cacccatcaca	840
agctatggtt	taagctgggt	gaagcagaga	actggacagg	gccttgagtg	gattggagag	900
gtttatccta	gaattggtaa	tgcttactac	aatgagaagt	tcaaggcaca	ggccacactg	960
actgcagaca	aatcctccag	cacagcgtcc	atggagctcc	gcagcctgac	atctgaggac	1020
tctgcggtct	atttctgtgc	aagacgggg	tcctacggta	gtaactacga	ctggtaacttc	1080
gatgtctggg	gccaaaggac	cacggtcacc	gtctcctcag	gtggtggtgg	ttctggcggc	1140
ggcggctccg	gtggtggtgg	ttctgagctc	gtgatgaccc	agactccact	ctccctgcct	1200

gtcagtcttg gagatcaagc ctccatctct tgcagatcta gtcagagcct tgtacacagt	1260
aatggaaaca cctatttaca ttggcacctg cagaagccag gccagtctcc aaagctcctg	1320
atctacaaag tttccaaccg attttctggg gtcccagaca ggttcagtgg cagtggatca	1380
gggacagatt tcacactcaa gatcagcaga gtggaggctg aggatctggg agtttatttc	1440
tgctctcaaa gtacacatgt tccgtacacg ttccggaggg ggaccaagct tgagatcaaa	1500
catcatcacc atcatcatta g	1521

&lt;210&gt; 50

&lt;211&gt; 506

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; artificial sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; CD3 VHVL aL x 3-5 VHVL

&lt;400&gt; 50

Asp Ile Lys Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Ala Arg Pro Gly Ala			
1	5	10	15

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

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

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

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

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

Ala Arg Tyr Tyr Asp Asp His Tyr Cys Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly  
 100 105 110

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

Gly Ser Gly Gly Ser Gly Val Asp Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser  
 130 135 140

Pro Ala Ile Met Ser Ala Ser Pro Gly Glu Lys Val Thr Met Thr Cys  
 145 150 155 160

Arg Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Ser  
 165 170 175

Gly Thr Ser Pro Lys Arg Trp Ile Tyr Asp Thr Ser Lys Val Ala Ser  
 180 185 190

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

Leu Thr Ile Ser Ser Met Glu Ala Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys  
 210 215 220

Gln Gln Trp Ser Ser Asn Pro Leu Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu  
 225 230 235 240

Glu Leu Lys Ser Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Leu Glu Gln  
 245 250 255

Ser Gly Ala Glu Leu Val Arg Pro Gly Thr Ser Val Lys Leu Ser Cys  
 260 265 270

Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr Gly Leu Ser Trp Val Lys  
 275 280 285

Gln Arg Thr Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile Gly Glu Val Tyr Pro Arg  
 290 295 300

Ile Gly Asn Ala Tyr Tyr Asn Glu Lys Phe Lys Gly Lys Ala Thr Leu  
 305 310 315 320

Thr Ala Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Ser Met Glu Leu Arg Ser Leu  
 325 330 335

Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys Ala Arg Arg Gly Ser Tyr  
 340 345 350

Gly Ser Asn Tyr Asp Trp Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr  
 355 360 365

Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly  
 370 375 380

Gly Gly Gly Ser Glu Leu Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Pro  
 385 390 395 400

Val Ser Leu Gly Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser  
 405 410 415

Leu Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Leu Gln Lys  
 420 425 430

Pro Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe  
 435 440 445

Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe  
 450 455 460

Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Phe  
 465 470 475 480

Cys Ser Gln Ser Thr His Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Thr Lys  
 485 490 495

Leu Glu Ile Lys His His His His His  
 500 505

&lt;210&gt; 51

&lt;211&gt; 1521

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; artificial sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; CD3 VHVL aL Ser x 3-5 VHVL

&lt;400&gt; 51

gatatatcaaac	tgcagcagtc	aggggctgaa	ctggcaagac	ctggggcctc	agtgaagatg	60
tcctgcaaga	cttctggcta	cacctttact	aggtacacga	tgcactgggt	aaaacagagg	120
cctggacagg	gtctggaatg	gattggatac	attaatccta	gccgtggta	tactaattac	180
aatcagaagt	tcaaggacaa	ggccacattg	actacagaca	aatcctccag	cacagcctac	240
atgcaactga	gcagcctgac	atctgaggac	tctgcagtct	attactgtgc	aagatattat	300
gatgatcatt	actcccttg	ctactggggc	caaggcacca	ctctcacagt	ctcctcagtc	360
gaaggtggaa	gtggaggttc	tggtggaagt	ggaggttcag	gtggagtcga	cgacattcag	420
ctgaccagg	ctccagcaat	catgtctgca	tctccagggg	agaaggtcac	catgacctgc	480
agagccagtt	caagtgttaag	ttacatgaac	tggtaccagc	agaagtcagg	cacctcccc	540
aaaagatgga	tttatgacac	atccaaagtg	gcttctggag	tcccttatcg	cttcagtggc	600
agtgggtctg	ggacctcata	ctctctcaca	atcagcagca	tggaggctga	agatgctgcc	660
acttattact	gccaacagtg	gagtagtaac	ccgctcacgt	tcggtgctgg	gaccaagctg	720
gagctgaaat	ccggaggtgg	tggatccgag	gtgcagctgc	tcgagcagtc	tggagctgag	780
ctggtaaggc	ctgggacttc	agtgaagctg	tcctgcaagg	cttctggcta	cacccata	840
agctatggtt	taagctgggt	gaagcagaga	actggacagg	gccttgagtg	gattggagag	900
gtttatccta	gaattggtaa	tgcttactac	aatgagaagt	tcaaggccaa	ggccacactg	960
actgcagaca	aatcctccag	cacagcgtcc	atggagctcc	gcagcctgac	atctgaggac	1020
tctgcggct	atttctgtgc	aagacgggaa	tcctacggta	gtaactacga	ctggtaacttc	1080
gatgtctggg	gccaaggac	cacggtcacc	gtctcctcag	gtggtggtgg	ttctggcggc	1140

ggcggctccg gtgggtgg ttctgagctc gtgatgaccc agactccact ctccctgcct 1200  
 gtcagtctt gagatcaagc ctccatctct tgcagatcta gtcagaggct tgtacacagt 1260  
 aatggaaaca cctatttaca ttggtacctg cagaagccag gccagtctcc aaagctcctg 1320  
 atctacaaag tttccaaccg attttctggg gtcccagaca ggttcagtgg cagtggatca 1380  
 gggacagatt tcacactcaa gatcagcaga gtggaggctg aggatctggg agtttatttc 1440  
 tgctctcaaa gtacacatgt tccgtacacg ttcgagggg ggaccaagct tgagatcaaa 1500  
 catcatcacc atcatcatta g 1521

&lt;210&gt; 52

&lt;211&gt; 506

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; artificial sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; CD3 VHVL aL Ser x 3-5 VHVL

&lt;400&gt; 52

Asp	Ile	Lys	Leu	Gln	Gln	Ser	Gly	Ala	Glu	Leu	Ala	Arg	Pro	Gly	Ala
1				5				10				15			

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

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

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

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

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

Ala Arg Tyr Tyr Asp Asp His Tyr Ser Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly  
 100 105 110

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

Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Val Asp Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser  
 130 135 140

Pro Ala Ile Met Ser Ala Ser Pro Gly Glu Lys Val Thr Met Thr Cys  
 145 150 155 160

Arg Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Ser  
 165 170 175

Gly Thr Ser Pro Lys Arg Trp Ile Tyr Asp Thr Ser Lys Val Ala Ser  
 180 185 190

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

Leu Thr Ile Ser Ser Met Glu Ala Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys  
 210 215 220

Gln Gln Trp Ser Ser Asn Pro Leu Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu  
 225 230 235 240

Glu Leu Lys Ser Gly Gly Ser Gly Val Gln Leu Leu Glu Gln  
 245 250 255

Ser Gly Ala Glu Leu Val Arg Pro Gly Thr Ser Val Lys Leu Ser Cys  
 260 265 270

Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr Gly Leu Ser Trp Val Lys  
 275 280 285

Gln Arg Thr Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile Gly Glu Val Tyr Pro Arg  
 290 295 300

Ile Gly Asn Ala Tyr Tyr Asn Glu Lys Phe Lys Gly Lys Ala Thr Leu  
 305 310 315 320

Thr Ala Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Ser Met Glu Leu Arg Ser Leu  
 325 330 335

Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys Ala Arg Arg Gly Ser Tyr  
 340 345 350

Gly Ser Asn Tyr Asp Trp Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr  
 355 360 365

Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly  
 370 375 380

Gly Gly Gly Ser Glu Leu Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Pro  
 385 390 395 400

Val Ser Leu Gly Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser  
 405 410 415

Leu Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Leu Gln Lys  
 420 425 430

Pro Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe  
 435 440 445

Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe  
 450 455 460

Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Phe  
 465 470 475 480

Cys Ser Gln Ser Thr His Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys  
 485 490 495

Leu Glu Ile Lys His His His His His  
 500 505

<210> 53  
<211> 1512  
<212> DNA  
<213> artificial sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; CD3 VHVL stL x 3-5 VHVI

<400> 53	
gatatacaaac tgcagcagtc aggggctgaa ctggcaagac ctggggcctc agtgaagatg	60
tcctgcaaga cttctggcta caccttact aggtacacga tgcactgggt aaaacagagg	120
cctggacagg gtctggaatg gattggatac attaatccta gccgtggta tactaattac	180
aatcagaagt tcaaggacaa ggccacattg actacagaca aatcctccag cacagcctac	240
atgcaactga gcagcctgac atctgaggac tctgcagtct attactgtgc aagatattat	300
gatgatcatt actgccttga ctactggggc caaggcacca ctctcacagt ctcctcaggt	360
ggtgtgggtt ctggcgccgg cggctccggt ggtggtggtt ctgacattca gctgaccagg	420
tctccagcaa tcatgtctgc atctccaggg gagaaggtca ccatgacactg cagagccagt	480
tcaagtgtaa gttacatgaa ctggtaccag cagaagtcag gcacacctcc caaaagatgg	540
atttatgaca catccaaagt ggcttctgga gtccttatac gcttcagtgg cagtgggtct	600
gggacctcat actctctcac aatcagcagc atggaggctg aagatgctgc cacttattac	660
tgccaacagt ggagtagtaa cccgctcacg ttccggtgctg ggaccaagct ggagctgaaa	720
tccggaggtg gtggatccga ggtgcagctg ctgcagcagt ctggagctga gctggtaagg	780
cctgggactt cagtgaagct gtcctgcaag gcttctggct acaccttcac aagctatgg	840
ttaagctggg tgaagcagag aactggacag ggccttgagt ggattggaga ggtttattcct	900
agaattggta atgcttacta caatgagaag ttcaagggca aggccacact gactgcagac	960
aaatcctcca gcacagcgtc catggagctc cgccagcctga catctgagga ctctgcggtc	1020
tatttctgtg caagacgggg atcctacggt agtaactacg actggtaactt cgatgtctgg	1080

ggccaaggga ccacggcac cgttcctca ggtggtggtg gttctggcg cgccggctcc	1140
ggtggtggtg gttctgagct cgtgatgacc cagactccac tctccctgcc tgtcagtctt	1200
ggagatcaag cctccatctc ttgcagatct agtcagagcc ttgtacacag taatggaaac	1260
acctatttac attggtacct gcagaagcca ggccagtctc caaagctcct gatctacaaa	1320
gtttccaacc gatttctgg ggtcccagac aggttcagtg gcagtggatc agggacagat	1380
ttcacactca agatcagcag agtggaggct gaggatctgg gagtttattt ctgctctcaa	1440
agtacacatg ttccgtacac gttcggaggg gggaccaagc ttgagatcaa acatcatcac	1500
catcatcatt ag	1512

&lt;210&gt; 54

&lt;211&gt; 503

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; artificial sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; CD3 VHVL stL x 3-5 VHVL

&lt;400&gt; 54

Asp Ile Lys Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Ala Arg Pro Gly Ala			
1	5	10	15

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

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

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

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

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

Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile Gly Glu Val Tyr Pro Arg Ile Gly Asn  
 290 295 300

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

Lys Ser Ser Ser Thr Ala Ser Met Glu Leu Arg Ser Leu Thr Ser Glu  
 325 330 335

Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys Ala Arg Arg Gly Ser Tyr Gly Ser Asn  
 340 345 350

Tyr Asp Trp Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val  
 355 360 365

Ser Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly  
 370 375 380

Ser Glu Leu Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Pro Val Ser Leu  
 385 390 395 400

Gly Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His  
 405 410 415

Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln  
 420 425 430

Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val  
 435 440 445

Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys  
 450 455 460

Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Phe Cys Ser Gln  
 465 470 475 480

Ser Thr His Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile  
 485 490 495

Lys His His His His His His  
500

<210> 55

<211> 1512

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> CD3 VHVL aL x 4-1 VHVL

<400> 55

gatatacaaac	tgcagcagtc	aggggctgaa	ctggcaagac	ctggggcctc	agtgaagatg	60
tcctgcaaga	cttctggcta	caccttact	aggtacacga	tgcactgggt	aaaacagagg	120
cctggacagg	gtctggaatg	gattggatac	attaatccta	gccgtggta	tactaattac	180
aatcagaagt	tcaaggacaa	ggccacattg	actacagaca	aatcctccag	cacagcctac	240
atgcaactga	gcagcctgac	atctgaggac	tctgcagtct	attactgtgc	aagatattat	300
gatgatcatt	actgccttga	ctactggggc	caaggcacca	ctctcacagt	ctcctcagtc	360
gaaggtggaa	gtggaggttc	tggtggaagt	ggaggttcag	gtggagtcga	cgacattcag	420
ctgaccagg	ctccagcaat	catgtctgca	tctccagggg	agaaggtcac	catgacctgc	480
agagccagg	caagtgtaa	ttacatgaac	tggtaccagc	agaagtca	cacctcccc	540
aaaagatgga	tttatgacac	atccaaagtg	gcttctggag	tcccttatcg	cttcagtggc	600
agtgggtctg	ggacctcata	ctctctcaca	atcagcagca	tggaggctga	agatgctgcc	660
acttattact	gccaaacagtg	gagtagtaac	ccgctcacgt	tcggtgctgg	gaccaagctg	720
gagctgaaat	ccggaggtgg	tggatccgag	gtgcagctgc	tcgagcagtc	tggagctgag	780
ctggtaaggc	ctgggacttc	agtgaagata	tcctgcaagg	cttctggata	cgccttcact	840
aactactggc	taggttgggt	taagcagagg	cctggacatg	gacttgaatg	ggttggagat	900
atttccctg	gaagtggtaa	tgctcactac	aatgagaagt	tcaagggcaa	agccacactg	960

actgcagaca agtcctcgta cacagcctat atgcagctca gtagcctgac atctgaggac	1020
tctgctgtct atttctgtgc aagattgcgg aactgggacg aggctatgga ctactggggc	1080
caagggacca cggtcaccgt ctcctcaggt ggtggtggtt ctggcggcgg cggctccgg	1140
ggtgtgggtt ctgagctcgt gatgacacag tctccatcct ccctgagtgt gtcagcagga	1200
gagaaggtca ctatgagctg caagtccagt cagagtctgt taaacagtgg aaatcaaaag	1260
aactacttgg cctggtagcca gcagaaacca gggcagcctc ctaaactgtt gatctacggg	1320
gcatccacta gggaaatctgg ggtccctgat cgcttcacag gcagtggatc tggaacagat	1380
ttcactctca ccatcagcag tgtgcaggtt gaagacactgg cagtttattt ctgtcagaat	1440
gattatagtt atccgtacac gttcggaggg gggaccaagc ttgagatcaa acatcatcac	1500
catcatcatt ag	1512

&lt;210&gt; 56

&lt;211&gt; 503

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; artificial sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; CD3 VHVL aL x 4-1 VHVL

&lt;400&gt; 56

Asp Ile Lys Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Ala Arg Pro Gly Ala			
1	5	10	15

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

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

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

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

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

Ala Arg Tyr Tyr Asp Asp His Tyr Cys Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly  
 100 105 110

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

Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Val Asp Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser  
 130 135 140

Pro Ala Ile Met Ser Ala Ser Pro Gly Glu Lys Val Thr Met Thr Cys  
 145 150 155 160

Arg Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Ser  
 165 170 175

Gly Thr Ser Pro Lys Arg Trp Ile Tyr Asp Thr Ser Lys Val Ala Ser  
 180 185 190

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

Leu Thr Ile Ser Ser Met Glu Ala Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys  
 210 215 220

Gln Gln Trp Ser Ser Asn Pro Leu Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu  
 225 230 235 240

Glu Leu Lys Ser Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Leu Glu Gln  
 245 250 255

Ser Gly Ala Glu Leu Val Arg Pro Gly Thr Ser Val Lys Ile Ser Cys  
 260 265 270

Lys Ala Ser Gly Tyr Ala Phe Thr Asn Tyr Trp Leu Gly Trp Val Lys  
 275                    280                    285

Gln Arg Pro Gly His Gly Leu Glu Trp Val Gly Asp Ile Phe Pro Gly  
 290                    295                    300

Ser Gly Asn Ala His Tyr Asn Glu Lys Phe Lys Gly Lys Ala Thr Leu  
 305                    310                    315                    320

Thr Ala Asp Lys Ser Ser Tyr Thr Ala Tyr Met Gln Leu Ser Ser Leu  
 325                    330                    335

Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys Ala Arg Leu Arg Asn Trp  
 340                    345                    350

Asp Glu Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser  
 355                    360                    365

Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser  
 370                    375                    380

Glu Leu Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Val Ser Ala Gly  
 385                    390                    395                    400

Glu Lys Val Thr Met Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser  
 405                    410                    415

Gly Asn Gln Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln  
 420                    425                    430

Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Gly Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val  
 435                    440                    445

Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr  
 450                    455                    460

Ile Ser Ser Val Gln Ala Glu Asp Leu Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Asn  
 465                    470                    475                    480

Asp Tyr Ser Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile  
485 490 495

Lys His His His His His His  
500

<210> 57

<211> 1512

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> CD3 VHVL aL Ser x 4-1 VHVL

<400> 57

gatatcaaac tgcagcagtc aggggctgaa ctggcaagac ctggggcctc agtgaagatg 60

tcctgcagaaga ctctctggcta cacctttact aggtacacgta tgcaactgggt aaaacagagg 120

cctggacagg gtctgaaatg gattggatac attaatccta gccgtggta tactaattac 180

aatcagaagt tcaaggacaa ggccacattg actacagaca aatcctccag cacagcctac 240

atgcaactga gcagcctgac atctgaggac tctgcagtct attactgtgc aagatattat 300

gatgatcatt actcccttga ctactggggc caaggcacca ctctcacagt ctccctcagtc 360

gaaggtggaa gtggaggttc tggtggaagt ggaggtttagt gtggagtcga cgacatttcag 420

ctgaccagg ctccagcaat catgtctgca tctccagggg agaaggcac catgacacctgc 480

agagccagtt caagtgtaa ttacatgaac tggtaccagg agaagtcaagg cacctcccccc 540

aaaagatgga tttatgacac atccaaagtg gcttctggag tcccttatcg cttcagtggc 600

agtgggtctg ggacctata ctcttcaca atcagcagca tggaggctga agatgctgcc 660

acttattact gccaacagtg gagtagtaac ccgctcacgt tcgggtctgg gaccaggctg 720

gagctgaaat ccggagggtgg tggatccgag gtgcagctgc tcgagcagtc tggagctgag 780

ctggtaaggc ctgggacttc agtgaagata tcctgcaagg cttctggata cgccttcaact 840

aactactggc taggttgggt taagcagagg cctggacatg gacttgaatg ggttggagat 900  
 atttccctg gaagtggtaa tgctcactac aatgagaagt tcaaggcca a gccacactg 960  
 actgcagaca agtcctcgta cacagcctat atgcagctca gtgcctgac atctgaggac 1020  
 tctgctgtct atttctgtgc aagattgcgg aactgggacg aggctatgga ctactggggc 1080  
 caagggacca cggtcaccgt ctcctcaggt ggtggtggtt ctggcggcgg cggtccgg 1140  
 ggtggtggtt ctgagctcgt gatgacacag tctccatcct ccctgagtgt gtcagcagga 1200  
 gagaaggtca ctatgagctg caagtccagt cagagtctgt taaacagtgg aaatcaaaag 1260  
 aactacttgg cctggtagcca gcagaaacca gggcagcctc ctaaactgtt gatctacggg 1320  
 gcatccacta gggaatctgg ggtccctgat cgcttcacag gcagtggatc tggAACAGAT 1380  
 ttcaactctca ccatcagcag tgtgcaggct gaagacctgg cagtttatta ctgtcagaat 1440  
 gattatagtt atccgtacac gttcggaggg gggaccaagc ttgagatcaa acatcatcac 1500  
 catcatcatt ag 1512

&lt;210&gt; 58

&lt;211&gt; 503

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; artificial sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; CD3 VHVL aL Ser x 4-1 VHVL

&lt;400&gt; 58

Asp	Ile	Lys	Leu	Gln	Gln	Ser	Gly	Ala	Glu	Leu	Ala	Arg	Pro	Gly	Ala
1															

Ser	Val	Lys	Met	Ser	Cys	Lys	Thr	Ser	Gly	Tyr	Thr	Phe	Thr	Arg	Tyr
20															

Thr	Met	His	Trp	Val	Lys	Gln	Arg	Pro	Gly	Gln	Gly	Leu	Glu	Trp	Ile
35															

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

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

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

Ala Arg Tyr Tyr Asp Asp His Tyr Ser Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly  
 100 105 110

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

Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Val Asp Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser  
 130 135 140

Pro Ala Ile Met Ser Ala Ser Pro Gly Glu Lys Val Thr Met Thr Cys  
 145 150 155 160

Arg Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Ser  
 165 170 175

Gly Thr Ser Pro Lys Arg Trp Ile Tyr Asp Thr Ser Lys Val Ala Ser  
 180 185 190

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

Leu Thr Ile Ser Ser Met Glu Ala Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys  
 210 215 220

Gln Gln Trp Ser Ser Asn Pro Leu Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu  
 225 230 235 240

Glu Leu Lys Ser Gly Gly Ser Gly Val Gln Leu Leu Glu Gln  
 245 250 255

Ser Gly Ala Glu Leu Val Arg Pro Gly Thr Ser Val Lys Ile Ser Cys  
 260 265 270

Lys Ala Ser Gly Tyr Ala Phe Thr Asn Tyr Trp Leu Gly Trp Val Lys  
 275 280 285

Gln Arg Pro Gly His Gly Leu Glu Trp Val Gly Asp Ile Phe Pro Gly  
 290 295 300

Ser Gly Asn Ala His Tyr Asn Glu Lys Phe Lys Gly Lys Ala Thr Leu  
 305 310 315 320

Thr Ala Asp Lys Ser Ser Tyr Thr Ala Tyr Met Gln Leu Ser Ser Leu  
 325 330 335

Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys Ala Arg Leu Arg Asn Trp  
 340 345 350

Asp Glu Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser  
 355 360 365

Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser  
 370 375 380

Glu Leu Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Val Ser Ala Gly  
 385 390 395 400

Glu Lys Val Thr Met Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser  
 405 410 415

Gly Asn Gln Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln  
 420 425 430

Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Gly Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val  
 435 440 445

Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr  
 450 455 460

Ile Ser Ser Val Gln Ala Glu Asp Leu Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Asn  
 465 470 475 480

Asp Tyr Ser Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile  
 485 490 495

Lys His His His His His His  
 500

<210> 59

<211> 1503

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> CD3 VHVL stL x 4-1 VHVL

<400> 59

gatatacaaac tgcagcagtc aggggctgaa ctggcaagac ctggggcctc agtgaagatg 60

tcctgcaaga cttctggcta caccttact aggtacacga tgcactgggt aaaacagagg 120

cctggacagg gtctggaatg gattggatac attaattccta gccgtggta tactaattac 180

aatcagaagt tcaaggacaa ggccacattg actacagaca aatcctccag cacagcctac 240

atgcaactga gcagcctgac atctgaggac tctgcagtct attactgtgc aagatattat 300

gatgatcatt actgccttga ctactggggc caaggcacca ctctcacagt ctcctcaggt 360

ggtgtgggtt ctggcgccgg cggctccgggt ggtggtggtt ctgacattca gctgacccag 420

tctccagcaa tcatgtctgc atctccaggg gagaaggtaa ccatgacctg cagagccagt 480

tcaagtgtaa gttacatgaa ctggtaccag cagaagtcag gcacccccc caaaaagatgg 540

atttatgaca catccaaagt ggcttctgga gtcccttatac gcttcagtgg cagtggtct 600

gggacctcat actctctcac aatcagcagc atggaggctg aagatgctgc cacttattac 660

tgccaacagt ggagtagtaa cccgctcacg ttcggtgctg ggaccaagct ggagctgaaa 720

tccggaggtg	gtggatccga	ggtgcagctg	ctcgagcagt	ctggagctga	gctggtaagg	780
cctggggactt	cagtgaagat	atcctgcaag	gcttctggat	acgccttcac	taactactgg	840
ctagggttggg	ttaagcagag	gcctggacat	ggacttgaat	gggttggaga	tatttccct	900
ggaagtggta	atgctcacta	caatgagaag	ttcaaggca	aagccacact	gactgcagac	960
aagtccctcg	acacagccta	tatgcagctc	agtagcctga	catctgagga	ctctgctgtc	1020
tatttctgtg	caagattgcg	gaactgggac	gaggctatgg	actactgggg	ccaagggacc	1080
acggtcacccg	tctcctcagg	tggtggtggt	tctggcggcg	gcggctccgg	tggtggtggt	1140
tctgagctcg	tgatgacaca	gtctccatcc	tccctgagtg	tgtcagcagg	agagaaggc	1200
actatgagct	gcaagtccag	tcagagtctg	ttaaacagtg	gaaatcaaaa	gaactacttg	1260
gcctggtacc	agcagaaacc	agggcagcct	cctaaactgt	tgatctacgg	ggcatccact	1320
agggaatctg	gggtccctga	tcgcttcaca	ggcagtggat	ctggaacaga	tttcactctc	1380
accatcagca	gtgtgcaggc	tgaagacctg	gcagtttatt	actgtcagaa	tgattatagt	1440
tatccgtaca	cgttcggagg	ggggaccaag	cttgagatca	aacatcatca	ccatcatcat	1500
tag						1503

&lt;210&gt; 60

&lt;211&gt; 500

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; artificial sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; CD3 VHVL stL x 4-1 VHVL

&lt;400&gt; 60

Asp	Ile	Lys	Leu	Gln	Gln	Ser	Gly	Ala	Glu	Leu	Ala	Arg	Pro	Gly	Ala	
1																15

Ser	Val	Lys	Met	Ser	Cys	Lys	Thr	Ser	Gly	Tyr	Thr	Phe	Thr	Arg	Tyr	
20																30

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

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

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

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

Ala Arg Tyr Tyr Asp Asp His Tyr Cys Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly  
 100 105 110

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

Ser Gly Gly Gly Ser Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ile  
 130 135 140

Met Ser Ala Ser Pro Gly Glu Lys Val Thr Met Thr Cys Arg Ala Ser  
 145 150 155 160

Ser Ser Val Ser Tyr Met Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Ser Gly Thr Ser  
 165 170 175

Pro Lys Arg Trp Ile Tyr Asp Thr Ser Lys Val Ala Ser Gly Val Pro  
 180 185 190

Tyr Arg Phe Ser Gly Ser Gly Thr Ser Tyr Ser Leu Thr Ile  
 195 200 205

Ser Ser Met Glu Ala Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp  
 210 215 220

Ser Ser Asn Pro Leu Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys  
 225 230 235 240

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

Glu Leu Val Arg Pro Gly Thr Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser  
 260 265 270

Gly Tyr Ala Phe Thr Asn Tyr Trp Leu Gly Trp Val Lys Gln Arg Pro  
 275 280 285

Gly His Gly Leu Glu Trp Val Gly Asp Ile Phe Pro Gly Ser Gly Asn  
 290 295 300

Ala His Tyr Asn Glu Lys Phe Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp  
 305 310 315 320

Lys Ser Ser Tyr Thr Ala Tyr Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu  
 325 330 335

Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys Ala Arg Leu Arg Asn Trp Asp Glu Ala  
 340 345 350

Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Gly  
 355 360 365

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Leu Val  
 370 375 380

Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Val Ser Ala Gly Glu Lys Val  
 385 390 395 400

Thr Met Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser Gly Asn Gln  
 405 410 415

Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys  
 420 425 430

Leu Leu Ile Tyr Gly Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val Pro Asp Arg  
 435 440 445

Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser  
 450 455 460

Val Gln Ala Glu Asp Leu Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Asn Asp Tyr Ser  
 465 470 475 480

Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys His His  
 485 490 495

His His His His  
 500

<210> 61

<211> 10

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220>

<223> CDRH3 M1 mutant

<400> 61

His Tyr Asp Asp His Tyr Cys Leu Asp Tyr  
 1 5 10

<210> 62

<211> 10

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220>

<223> CDRH3 M4 mutant

<400> 62

Tyr Ser Asp Asp His Tyr Cys Leu Asp Tyr  
1 5 10

<210> 63

<211> 10

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220>

<223> CDRH3 M7 mutant

<400> 63

Tyr Tyr Asp Ala His Tyr Cys Leu Asp Tyr  
1 5 10

<210> 64

<211> 10

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220>

<223> CDRH3 M9 mutant

<400> 64

Tyr Tyr Asp Asp Gln Tyr Cys Leu Asp Tyr  
1 5 10

<210> 65

<211> 10

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220>

<223> CDRH3 M10 mutant

<400> 65

Tyr Tyr Asp Asp Pro Tyr Cys Leu Asp Tyr  
1 5 10

<210> 66

<211> 10

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220>

<223> CDRH3 M11 mutant

<400> 66

Tyr Phe Asn Asp His Tyr Cys Leu Asp Tyr  
1 5 10

<210> 67

<211> 10

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220>

<223> CDRH3 M13 mutant

<400> 67

Tyr Tyr Asn Asp Gln Tyr Cys Leu Asp Tyr  
1 5 10

<210> 68

<211> 10

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220>

<223> CDRH3 M20 mutant

<400> 68

Tyr His Asp Asp Pro Tyr Cys Leu Asp Tyr  
1                       5                           10

<210> 69

<211> 10

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220>

<223> CDRH3 M76 mutant

<400> 69

Tyr Tyr Asp Asp Asn Tyr Cys Leu Asp Tyr  
1                       5                           10

<210> 70

<211> 18

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220>

<223> original linker

<400> 70

Val	Glu	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly
1				5			10			15		

Val Asp

<210> 71

<211> 357

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> anti-CD3 VH

<400> 71

gatataaaac	tgcagcagtc	aggggctgaa	ctggcaagac	ctggggcctc	agtgaagatg	60
------------	------------	------------	------------	------------	------------	----

tcctgcaaga	cttctggcta	caccttact	aggtacacga	tgcactgggt	aaaacagagg	120
------------	------------	-----------	------------	------------	------------	-----

cctggacagg	gtctggaatg	gattggatac	attaatccta	gccgtggta	tactaattac	180
------------	------------	------------	------------	-----------	------------	-----

aatcagaagt	tcaaggacaa	ggccacattg	actacagaca	aatcctccag	cacagcctac	240
------------	------------	------------	------------	------------	------------	-----

atgcaactga	gcagcctgac	atctgaggac	tctgcagtct	attactgtgc	aagatattat	300
------------	------------	------------	------------	------------	------------	-----

gatgatcatt	actgccttga	ctactggggc	caaggcacca	ctctcacagt	ctcctca	357
------------	------------	------------	------------	------------	---------	-----

<210> 72

<211> 119

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220>

&lt;223&gt; anti-CD3VH

&lt;400&gt; 72

Asp Ile Lys Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Ala Arg Pro Gly Ala		
1	5	10
		15

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

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

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

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

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

Ala Arg Tyr Tyr Asp Asp His Tyr Cys Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly		
100	105	110

Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser

115

&lt;210&gt; 73

&lt;211&gt; 318

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; artificial sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; anti-CD3 VL

&lt;400&gt; 73

gacattcagtc tgaccaggc tccagcaatc atgtctgcat ctccaggggga gaaggtcacc 60

atgacctgca gagccagttc aagtgttaagt tacatgaact ggtaccagca gaagtcaggc	120
acctccccca aaagatggat ttatgacaca tccaaagtgg cttctggagt cccttatcg	180
ttcagtgccca gtgggtctgg gacctcatac tctctcacaa tcagcagcat ggaggctgaa	240
gatgctgccca cttattactg ccaacagtgg agtagtaacc cgctcacgtt cggtgctggg	300
accaagctgg agctgaaa	318

&lt;210&gt; 74

&lt;211&gt; 106

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; artificial sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; anti-CD3 VL

&lt;400&gt; 74

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

Glu Lys Val Thr Met Thr Cys Arg Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met		
20	25	30

Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Ser Gly Thr Ser Pro Lys Arg Trp Ile Tyr		
35	40	45

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

Gly Ser Gly Thr Ser Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Ser Met Glu Ala Glu			
65	70	75	80

Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Ser Ser Asn Pro Leu Thr		
85	90	95

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

<210> 75

<211> 10

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220>

<223> vH CDR1 anti-CD3

<400> 75

Gly	Tyr	Thr	Phe	Thr	Arg	Tyr	Thr	Met	His
1									
									10

<210> 76

<211> 357

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> vH anti-CD3 cys->ser

<400> 76

gatatacaaac	tgcagcagtc	aggggctgaa	ctggcaagac	ctggggcctc	agtgaagatg	60
-------------	------------	------------	------------	------------	------------	----

tcctgcaaga	cttctggcta	caccttact	aggtacacga	tgcactgggt	aaaacagagg	120
------------	------------	-----------	------------	------------	------------	-----

cctggacagg	gtctggaatg	gattggatac	attaatccta	gccgtggtta	tactaattac	180
------------	------------	------------	------------	------------	------------	-----

aatcagaagt	tcaaggacaa	ggccacattg	actacagaca	aatcctccag	cacagcctac	240
------------	------------	------------	------------	------------	------------	-----

atgcaactga	gcagcctgac	atctgaggac	tctgcagtct	attactgtgc	aagatattat	300
------------	------------	------------	------------	------------	------------	-----

gatgatcatt	actcccttga	ctactggggc	caaggcacca	ctctcacagt	ctcctca	357
------------	------------	------------	------------	------------	---------	-----

<210> 77

&lt;211&gt; 119

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; artificial sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; vH anti-CD3 cys-&gt;ser

&lt;400&gt; 77

Asp	Ile	Lys	Leu	Gln	Gln	Ser	Gly	Ala	Glu	Leu	Ala	Arg	Pro	Gly	Ala
1															15

Ser	Val	Lys	Met	Ser	Cys	Lys	Thr	Ser	Gly	Tyr	Thr	Phe	Thr	Arg	Tyr
20															30

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

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

Lys	Asp	Lys	Ala	Thr	Leu	Thr	Asp	Lys	Ser	Ser	Ser	Thr	Ala	Tyr	
65															80

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

Ala	Arg	Tyr	Tyr	Asp	Asp	His	Tyr	Ser	Leu	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly
100															110

Thr	Thr	Leu	Thr	Val	Ser	Ser
115						

&lt;210&gt; 78

&lt;211&gt; 10

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; artificial sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; VH CDR3 anti-CD3 cys-&gt;ser

&lt;400&gt; 78

Tyr	Tyr	Asp	Asp	His	Tyr	Ser	Leu	Asp	Tyr
1				5				10	

&lt;210&gt; 79

&lt;211&gt; 360

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; artificial sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; EpCAM 3-1 VH

&lt;400&gt; 79

gaggtgcagc tgctcgagca gtctggagct gagctggta aacctgggc ctcagtgaag 60

atattcctgca aggcttctgg atacgccttc actaactact ggcttagttg ggtaaaggcag 120

aggcctggac atggacttga gtggatttga gatctttcc ctggaaagtgg taatactcac 180

tacaatgaga gtttcagggg caaagccaca ctgactgcag acaaattcctc gagcacagcc 240

tttatgcagc tcagtagcct gacatctgag gactctgctg tctatttctg tgcaagattg 300

aggaactggg acgaggctat ggactactgg ggccaaggga ccacggtcac cgttcctca 360

&lt;210&gt; 80

&lt;211&gt; 120

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; artificial sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; EpCAM 3-1 VH

&lt;400&gt; 80

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

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

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

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

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

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

Cys	Ala	Arg	Leu	Arg	Asn	Trp	Asp	Glu	Ala	Met	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln
									100			105		110	

Gly	Thr	Thr	Val	Thr	Val	Ser	Ser								
								115				120			

&lt;210&gt; 81

&lt;211&gt; 321

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; artificial sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; EpCAM 3-1 VL

&lt;400&gt; 81

gagctcgta tgacccagtc tccatcttat cttgctgcat ctcctggaga aaccattact 60

attaattgca gggcaagtaa gagcattagc aaatatttag cctggtatca agagaaacct	120
gggaaaacta ataagcttct tatctactct ggatccactt tgcaatctgg aattccatca	180
aggttcagtg gcagtggatc tggtacagat ttcactctca ccatcagtag cctggagcct	240
gaagattttg caatgtatta ctgtcaacag cataatgaat atccgtacac gttcggaggg	300
gggaccaagc ttgagatcaa a	321

&lt;210&gt; 82

&lt;211&gt; 107

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; artificial sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; EpCAM 3-1 VL

&lt;400&gt; 82

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

Glu Thr Ile Thr Ile Asn Cys Arg Ala Ser Lys Ser Ile Ser Lys Tyr		
20	25	30

Leu Ala Trp Tyr Gln Glu Lys Pro Gly Lys Thr Asn Lys Leu Leu Ile		
35	40	45

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

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

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

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

&lt;210&gt; 83

&lt;211&gt; 372

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; artificial sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; EpCAM 3-5 VH

&lt;400&gt; 83

gaggtgcagc tgctcgagca gtctggagct gagctggtaa ggcctggac ttcagtgaag 60

ctgtcctgca aggcttctgg ctacacccttc acaagctatg gtttaagctg ggtgaaggcag 120

agaactggac agggccttga gtggattgga gaggtttatc ctagaattgg taatgcttac 180

tacaatgaga agttcaaggg caaggccaca ctgactgcag acaaattcctc cagcacagcg 240

tccatggagc tccgcagcct gacatctgag gactctgcgg tctatttctg tgcaagacgg 300

ggatcctacg gtagtaacta cgactggtac ttcgatgtct ggggccaagg gaccacggc 360

accgtctcct ca 372

&lt;210&gt; 84

&lt;211&gt; 124

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; artificial sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; EpCAM 3-5 VH

&lt;400&gt; 84

Glu	Val	Gln	Leu	Leu	Glu	Gln	Ser	Gly	Ala	Glu	Leu	Val	Arg	Pro	Gly
1															

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

Tyr Gly Leu Ser Trp Val Lys Gln Arg Thr Gly Gln Gly Leu Glu Trp  
 35                          40                          45

Ile Gly Glu Val Tyr Pro Arg Ile Gly Asn Ala Tyr Tyr Asn Glu Lys  
 50                          55                          60

Phe Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala  
 65                          70                          75                          80

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

Cys Ala Arg Arg Gly Ser Tyr Gly Ser Asn Tyr Asp Trp Tyr Phe Asp  
 100                        105                        110

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

<210> 85

<211> 336

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> EpCAM 3-5 VL

<400> 85  
 gagctcgtga tgacccagac tccactctcc ctgcctgtca gtcttgaga tcaaggctcc      60

atctcttgca gatctagtca gagccttgta cacagtaatg gaaacaccta tttacattgg      120

tacctgcaga agccaggcca gtctccaaag ctcctgatct acaaagttc caaccgattt      180

tctggggtcc cagacagggtt cagtggcagt ggatcaggga cagattcac actcaagatc      240

agcagagttgg aggctgagga tctgggagtt tatttctgct ctc当地agtag acatgttccg      300

tacacgttgc gaggggggac caagcttgag atcaa      336

<210> 86

<211> 112

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220>

<223> EpCAM 3-5 VL

<400> 86

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

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

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

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

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

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

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

<210> 87

<211> 360

<212> DNA

<213> artificial sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; EpCAM 4-1 VH

&lt;400&gt; 87

gaggtgcagc tgctcgagca gtctggagct gagctggtaa ggccctggac ttcagtgaag 60

atatcctgca aggcttctgg atacgccttc actaactact ggcttaggttg ggttaagcag 120

aggcctggac atggacttga atgggttggaa gatatttcc ctggaagtgg taatgctcac 180

tacaatgaga agttcaaggg caaagccaca ctgactgcag acaagtccctc gtacacagcc 240

tatatgcagc tcagtagcct gacatctgag gactctgctg tctatttctg tgcaagattg 300

cggaactggg acgaggctat ggactactgg ggccaaggga ccacggtcac cgtctcctca 360

&lt;210&gt; 88

&lt;211&gt; 120

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; artificial sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; EpCAM 4-1 VH

&lt;400&gt; 88

Glu	Val	Gln	Leu	Leu	Glu	Gln	Ser	Gly	Ala	Glu	Leu	Val	Arg	Pro	Gly
1															

Thr	Ser	Val	Lys	Ile	Ser	Cys	Lys	Ala	Ser	Gly	Tyr	Ala	Phe	Thr	Asn
20															

Tyr	Trp	Leu	Gly	Trp	Val	Lys	Gln	Arg	Pro	Gly	His	Gly	Leu	Glu	Trp
35															

Val	Gly	Asp	Ile	Phe	Pro	Gly	Ser	Gly	Asn	Ala	His	Tyr	Asn	Glu	Lys
50															

Phe	Lys	Gly	Lys	Ala	Thr	Leu	Thr	Ala	Asp	Lys	Ser	Ser	Tyr	Thr	Ala
65															

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

Cys Ala Arg Leu Arg Asn Trp Asp Glu Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln  
                  100             105             110

Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser  
                  115             120

<210> 89

<211> 339

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> EpCAM 4-1 VL

<400> 89

gagctcgta tgacacagtc tccatcctcc ctgagtgtgt cagcaggaga gaaggtcact      60

atgagctgca agtccagtca gagtctgtta aacagtggaa atcaaaaagaa ctacttggcc      120

tggtaccagc agaaaccagg gcagcctcct aaactgttga tctacggggc atccactagg      180

gaatctgggg tccctgatcg cttcacaggc agtggatctg gaacagattt cactctcacc      240

atcagcagtg tgcaggctga agacctggca gtttattact gtcagaatga ttatagttat      300

ccgtacacgt tcggagggggg gaccaagctt gagatcaa      339

<210> 90

<211> 113

<212> PRT

<213> artificial sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; EpCAM 4-1 VL

&lt;400&gt; 90

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

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

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

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

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

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

Asp	Tyr	Ser	Tyr	Pro	Tyr	Thr	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Leu	Glu	Ile
			100							105					110

Lys

&lt;210&gt; 91

&lt;211&gt; 372

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; artificial sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; EpCAM 4-7 VH

&lt;400&gt; 91

gaggtgcagc tgctcgagca gtctggagct gagctggcga ggcctgggc ttcagtgaag	60
ctgtcctgca aggcttctgg ctacacccttc acaaactatg gtttaagctg ggtgaaggcag	120
aggcctggac aggtccttga gtggattgga gaggtttatc ctagaattgg taatgcttac	180
tacaatgaga agttcaaggg caaggccaca ctgactgcag acaaatcctc cagcacagcg	240
tccatggagc tccgcagcct gacctctgag gactctgcgg tctatttctg tgcaagacgg	300
ggatcctacg atactaacta cgactggtac ttcatgtct ggggccaagg gaccacggc	360
accgtctcct ca	372

&lt;210&gt; 92

&lt;211&gt; 124

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; artificial sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; EpCAM 4-7 VH

&lt;400&gt; 92

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

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

Tyr Gly Leu Ser Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Val Leu Glu Trp			
35	40	45	

Ile Gly Glu Val Tyr Pro Arg Ile Gly Asn Ala Tyr Tyr Asn Glu Lys			
50	55	60	

Phe Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala			
65	70	75	80

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

Cys Ala Arg Arg Gly Ser Tyr Asp Thr Asn Tyr Asp Trp Tyr Phe Asp  
                  100                                 105                         110

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

<210> 93

<211> 336

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> EpCAM 4-7 VL

<400> 93

gagctcgtga tgacccagac tccactctcc ctgcctgtca gtcttggaga tcaaggctcc       60

atctcttgca gatctagtca gagccttgta cacagtaatg gaaacaccta tttacattgg       120

tacctgcaga agccaggcca gtctccaaag ctcctgatct acaaagtttc caaccgattt       180

tctgggtcc cagacagggtt cagtggcagt ggatcaggga cagattcac actcaagatc       240

agcagagtgg aggctgagga tctgggagtt tatttctgct ctcaaagtac acatgttccg       300

tacacgttcg gaggggggac caagcttgag atcaaa                                   336

<210> 94

<211> 112

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220>

<223> EpCAM 4-7 VL

&lt;400&gt; 94

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

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

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

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

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

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

Thr	His	Val	Pro	Tyr	Thr	Phe	Gly	Gly	Thr	Lys	Leu	Glu	Ile	Lys	
											100			110	

&lt;210&gt; 95

&lt;211&gt; 360

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; artificial sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; EpCAM 5-10 VH

&lt;400&gt; 95

gaggtgcagc tgctcgagca gtctggagct gagctggtaa ggcctggac ttcagtgaag 60

atatcctgca aggcttctgg atacgccttc actaactact ggcttagttg ggtaaaggcag 120

aggcctggac atggacttga gtggattgga gatatttcc ctggaagtgg taatatccac 180

tacaatgaga agttcaaggg caaagccaca ctgactgcag acaaatctc gagcacagcc 240

tatatgcagc tcagtagcct gacatttgag gactctgctg tctatttctg tgcaagactg 300

aggaactggg acgaggctat ggactactgg ggccaaggga ccacggtcac cgtctcctca 360

<210> 96

<211> 120

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220>

<223> EpCAM 5-10 VH

<400> 96

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

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

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

Ile	Gly	Asp	Ile	Phe	Pro	Gly	Ser	Gly	Asn	Ile	His	Tyr	Asn	Glu	Lys
															60
50															

Phe	Lys	Gly	Lys	Ala	Thr	Leu	Thr	Ala	Asp	Lys	Ser	Ser	Ser	Thr	Ala
															80
65															

Tyr	Met	Gln	Leu	Ser	Ser	Leu	Thr	Phe	Glu	Asp	Ser	Ala	Val	Tyr	Phe
															95
85															

Cys	Ala	Arg	Leu	Arg	Asn	Trp	Asp	Glu	Pro	Met	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln
															110
100															

Gly	Thr	Thr	Val	Thr	Val	Ser	Ser								
115															

&lt;210&gt; 97

&lt;211&gt; 339

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; artificial sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; EpCAM 5-10 VL

&lt;400&gt; 97

gagctcgtga tgacacagtc tccatcctcc ctgactgtga cagcaggaga gaaggtcact 60

atgagctgca agtccagtca gagtctgtta aacagtggaa atcaaaaagaa ctacttgacc 120

tggtaccaggc agaaaccagg gcagcctcct aaactgttga tctactgggc atccactagg 180

gaatctgggg tccctgatcg cttcacaggc agtggatctg gaacagattt cacttcacc 240

atcagcagtg tgcaggctga agacctggca gtttattact gtcagaatga ttatagttat 300

ccgctcacgt tcggtgctgg gaccaagctt gagatcaaa 339

&lt;210&gt; 98

&lt;211&gt; 113

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; artificial sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; EpCAM 5-10 VL

&lt;400&gt; 98

Glu	Leu	Val	Met	Thr	Gln	Ser	Pro	Ser	Ser	Leu	Thr	Val	Thr	Ala	Gly
1															

5

10

15

Glu	Lys	Val	Thr	Met	Ser	Cys	Lys	Ser	Ser	Gln	Ser	Leu	Leu	Asn	Ser

20

25

30

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

35

40

45

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

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

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

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

Lys

<210> 99

<211> 15

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220>

<223> standard linker

<400> 99

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser  
 1 5 10 15

<210> 100

<211> 47

<212> DNA

<213> artificial sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 4-7 VL BspEI FOR

&lt;400&gt; 100

ctgaaatccg gaggtggtgg atccgagctc gtgatgaccc agactcc

47

&lt;210&gt; 101

&lt;211&gt; 52

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; artificial sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 4-7 VL GS15 REVs148

&lt;400&gt; 101

ggagccgccc cgcgcagaac caccaccacc tttgatctca agcttgggcc cc

52