

(19)대한민국특허청(KR)

(12) 공개특허공보(A)

(51) Int. Cl.⁸

C07K 16/30 (2006.01)
C07K 16/28 (2006.01)
A61K 39/395 (2006.01)

(11) 공개번호 10-2006-0015602
(43) 공개일자 2006년02월17일

(21) 출원번호 10-2005-7021529
(22) 출원일자 2005년11월11일
 번역문 제출일자 2005년11월11일
(86) 국제출원번호 PCT/EP2004/005687
 국제출원일자 2004년05월26일

(87) 국제공개번호 WO 2004/106383
 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, 뮌헨, 리히텐펠세르스트라세 18
볼프, 안드레아스
독일, 플라네크, 아인쉬타인스트라세 10
라움, 토비아스
독일, 뮌헨, 켄트네르스트라세 20
코라이젠, 비르기트
독일, 뮌헨, 쉬타펠지스트라세 2
렌케리-쉬썬, 올라
독일, 에칭, 넬켄스트라세 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 단일쇄 항체 구조체를 포함하는 약리학적 조성물을 제공한다. 상기 이중특이성 단일쇄 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-H3를 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, 단일쇄 항체 구조체

명세서

기술분야

본 발명은 이중특이성 단일쇄 항체 구조체를 포함하는 약학조성물에 관한 것이다. 상기 이중특이성 단일쇄 항체 구조체는 두 개 이상의 도메인을 포함하거나 또는 이루어지며, 여기서 그 두 개 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 단일쇄 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 표면에 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 상피 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 종양세포의 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 에드레콜로맵 (파노렉스)이다 (Koprowski, Somatic Cell Genet. 1979, 5, 957-971 및 Herlyn, Cancer Res., 1980, 40, 717-721). 그러나 결장암의 보조 면역치료요법 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 메커니즘의 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 두개의 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 (랫트 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 구조체의 다른 형태는 예를 들어 구조 $V_{H\text{항-CD3}}-V_{L\text{항-EpCAM}}-V_{H\text{항-EpCAM}}-V_{L\text{항-CD3}}$ 을 갖는 이중특이성 다이아바디(diabody) (Helfrich, Int. J. Cancer, 1998, 76:232-239) 및 두개의 상이한 종양 항원 특이성 (종양세포 상에 두개의 상이한 항원을 결합하는 두개의 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 단일쇄 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 특허청구범위에서 특정된 실시태양을 제공함으로써 달성된다.

따라서 본 발명은 이중특이성 단일쇄 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 NXD를 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 단일쇄 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 5×10^{-9} M 이상의 K_D 값을 갖는다.

본 발명에 따라, 용어 "약학 조성물"은 환자, 바람직하게는 인간 환자에게 투여하기 위한 조성물에 관한 것이다. 바람직할 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 insan 염수, 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. 의학 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 $0.24\mu\text{g}$ 내지 48mg, 바람직하게는 $0.24\mu\text{g}$ 내지 24mg, 더욱 바람직하게는 $0.24\mu\text{g}$ 내지 2.4mg, 훨씬 더 바람직하게는 $0.24\mu\text{g}$ 내지 1.2mg 및 가장 바람직하게는 $0.24\mu\text{g}$ 내지 $240\mu\text{g}$ 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(biolytic 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, 현탁액, 및 유화액을 포함한다. 비수성 용매의 예는 프로필렌 글리콜, 폴리에틸렌 글리콜, 식물성 오일 예를 들어 올리브 오일, 및 주사 가능한 유기 에스테르 예를 들어 에틸올리레이트이다. 수성 운반체는 염수 및 완충 매체를 비롯하여, 물, 알콜/수성 용액, 유화액 또는 현탁액을 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, 킬레이팅 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 단일쇄 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 들면 혈압에 작용하는 약제일 수 있는데, 당업계에 알려져 있다.

본 발명의 조성물(들)의 투여를 위한 가능한 징후는 중앙질환 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, 췌장 암, 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 이종 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 단일쇄 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)로 이루어진다. 하기 상세히 기술하는 바와 같이, 가변 부위의 일부는 적어도 하나의 CDR ("보충 결정 부위"), 가장 바람직하게 적어도 CDR3 부위일 수 있다. 단일쇄 항체 구조물에서 상기 두개의 도메인/부위는 바람직하게는 단일쇄로 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 단일쇄 항체 구조체"은 이중 특이성 단일쇄 Fv (scFv)이다. 이중 특이성 단일쇄 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_H 및 하나의 V_L 부위를 포함하는 폴리펩티드 구조체를 제공한다. scFV 형태에서, 링커-도메인에 의해 서로 결합된, V_H -도메인 및 V_L -도메인의 분자내 배향은 기술된 이중 특이성 단일쇄 구조체에 결정적이지 않다. 따라서 두개의 가능한 배열 (V_H -도메인-링커 도메인- V_L -도메인; V_L -도메인-링커 도메인- V_H -도메인)을 갖는 scFv는 기술된 이중 특이성 단일쇄 구조체의 특수한 실시태양이다.

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

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

본 발명에 따라 사용되는 용어 "단일쇄"는 이중 특이성 단일쇄 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 단일쇄 구조체가 유사 구조물의 (폴리)펩티드와 교차 반응하지 않거나 또는 거의 하지 않는다는 것을 의미한다. 조사 중인 이중 특이성 단일쇄 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) 이중 특이성 단일쇄 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 패밀리를, 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 에피토프에 관한 것이다. 본 발명의 명세서에서, 입체형체 에피토프는 폴리펩티드가 원래의 단백질로 접히는(folded) 경우에 분자의 표면상에서 가까와지는 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 폴리펩티드쇄의 원격 부분의 잔기들로 조합되는 비-선형 에피토프를 의미한다. 이들 잔기는 폴리펩티드가 삼차원 구조로 접혀서 입체형체/구조적 에피토프를 구성하는 경우에 분자의 표면상에서 가까와진다.

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(ab₂)', Fv 또는 scFv 단편 등, 또는 이들의 화학적으로 변형된 유도체에 관한 것이다. 본 발명에 따라 사용될 항체 또는 그들의 상응하는 면역 글로불린쇄(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)를 사용하여 더욱 변형할 수 있다. 면역 글로불린쇄의 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

3rd 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 펩티드 링커의 필수적인 기술 특징은 상기 펩티드 링커가 특정한 중합 활성을 포함하지 않는다는 것이다. 특히 바람직한 펩티드 링커는 아미노산 서열 Gly-Gly-Gly-Gly-Ser, 즉 (Gly)₄Ser, 또는 그의 고분자, 즉 ((Gly)₄Ser)_x를 특징으로 한다. 이차 구조의 축진의 부재를 포함하는 상기 펩티드 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 펩티드 링커가 특히 바람직하다. 5개 미만의 아미노산을 갖는 고안된 펩티드 링커는 4, 3, 2 또는 하나의 아미노산을 포함할 수 있다. 상기 "펩티드 링커"의 내용에서 특히 바람직한 "단일" 아미노산은 Gly이다. 따라서 상기 펩티드 링커는 단일 아미노산 Gly로 이루어질 수 있다. 더욱이 어떠한 이차 구조를 축진하지 않는 펩티드 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-아스파르트산) (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 $5 \times 10^{-9} \text{M}$ 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 $5 \times 10^{-9} \text{M}$ 미만의 K_D 값을 갖는다.

선행기술 구조체는 첨부된 실시예에 나타난 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 생-활성, 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 측정된 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}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 단일쇄 구조체의 EpCAM-양성 세포 (참조, 첨부된 실시예 3에서 CHO-EpCAM 세포)에 대한 강한 세포독성 활성은 EC_{50} 값 바람직하게는 $\leq 500pg/ml$, 더욱 바람직하게는 $\leq 400pg/ml$, 훨씬 더 바람직하게는 $\leq 300pg/ml$, 훨씬 더 바람직하게는 $\leq 250pg/ml$, 가장 바람직하게는 $\leq 200pg/ml \leq 100pg/ml, \leq 50pg/ml$ 을 포함하는 분자에 관한 것이다.

본 발명의 약학 조성물에 포함된 이중특이성 구조는 선행기술 ($VL_{17-1A}-VH_{17-1A}-VH_{CD3}-VL_{CD3}$; $8628pg/ml$)에 비하여 놀라울 정도로 높은 세포독성 활성 (바람직하게는 약 $10pg/ml$ 내지 $170pg/ml$ 범위)을 보여준다. 기술자들은 EC_{50} 값이 생활성 분석에 따라 변할 수 있음을 알고 있다. 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 EC_{50} 은 대조군의 EC_{50} 값과 비교할 수 있다. 본 발명에 따른 높은 세포독성 활성을 갖는 구조체는 대조군보다 적어도 2.5 배 더 낮은 EC_{50} 값 (대조군보다 적어도 2.5배 더 높은 세포독성), 바람직하게는 적어도 3배 더 낮은 EC_{50} 값 및 더욱 바람직하게는 적어도 5배 더 낮은 EC_{50} 값을 갖는다.

더욱이, 본 발명의 구조는 표면 플라스몬 공명(BIAcore®)으로 측정된 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.

상응하는 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_{off} 및 k_{on} 의 비: $[A][B] (kon)/[AB] (koff)$ 로서 표시된다. 해리상수가 작을수록, A 및 B가 서로 더욱 강하게 결합한다. 생물학적 시스템에서, 양호한 특이성 결합체는 $10^{-9} - 10^{-7} M$ 범위의 해리상수를 갖는다. K_D 는 당해 분야의 기술자에게 공지된 다수의 방법, 예를 들어 표면 플라스몬 공명 (SPR, 예, BIAcore®), 분석적 초원심분리, 등은 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 표면에 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 공명 (예, BIAcore®)을 기본으로 하는 장치의 센서 칩의 표면에 고정되어 야 한다. 칩 표면상에서 고정 항원과 리간드의 결합 및 해리의 운동력학은 실시간으로 관찰한다. 결합 곡선은 겔보기 평형 해리 상수 (KD)에서 생기는 운동속도 상수 K_{on} 및 K_{off} 에 피팅(fitted)되었다.

EpCAM에 특이성인 상기 결합 도메인은 1×10^{-7} 내지 5×10^{-9} M 범위의 K_D 값을 가지며 또한 CD3에 특이성인 상기 결합 도메인은 1×10^{-6} 내지 5×10^{-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 5×10^{-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 표면에 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} - 5×10^{-9} M 범위이며 또한 CD3에 특이성인 결합도메인의 K_D 는 바람직하게는 10^{-6} - 5×10^{-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 단일쇄 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) 엄격한 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 단일쇄 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 엄격한 하이브리드 조건 하에 본 발명의 폴리뉴클레오티드 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 소듐 포스페이트 (pH 7.6), 5x 덴하르트트 용액, 10% 텍스트란 설페이트, 및 20 μ 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 엄격 하이브리드 조건에서 본 발명의 폴리뉴클레오티드로 하이브리드하는 핵산 분자가 고안되었다. 하이브리드화 및 신호 검색의 엄격함의 변화는 포름아마이드 농도 (포름아마이드의 더 낮은 백분율은 저하된 엄격함의 원인이 된다); 염 조건, 또는 온도의 조정을 통하여 주로 달성된다. 예를 들면 더 낮은 엄격함 조건은 6x SSPE (20 X SSPE = 3M NaCl; 0.2 NaH₂PO₄; 0.02M EDTA, pH 7.4), 0.5% SDS, 30% 포름아마이드, 100 μ 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 엄격함을 달성하기 위하여, 엄격한 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 덴하르트트 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 폴리뉴클레오티드의 어느 것을 포함하는 재조합적으로 생산되는 키메라 핵산 분자일 수 있다. 바람직하게 본 발명의 상기 약화조성물은 이중 특이성 단일 체 구조체를 함유할 수 있으며, 여기서 인간의 EpCAM 항원에 특이적인 상기 V_H 체 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 나타난 바와 같은 아미노산 서열;

(b) 서열 번호: 81, 서열 번호: 85, 서열 번호: 89, 서열 번호: 93, 및 서열 번호: 97에 나타난 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; 및

(d) (b) 및 (c)중 어느 하나의 뉴클레오티드 서열에 대한 유전부호의 결과로서 디제너레이트되는 핵산 서열에 의해 코딩되는 아미노산 서열.

본 발명의 약화 조성물의 바람직한 실시태양에서, 상기 인간의 CD3 특이성 도메인의 V_H 및 V_L 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_H 및 V_L 부위는 OKT-3(상기 정의 및 기술된 바와 같음)로부터 유도된다. 더욱 바람직하게는 (또한 첨부된 실시예에 예시된 바와 같이) 상기 V_H 및 V_L 부위는 Traunecker (1991), EMBO J. 10, 3655-3659에 기술된 CD3 분자에 대해 특이성을 갖는 항체/항체 유도체로부터 유도된다. 본 발명에 따라, 상기 V_H 및 V_L 부위는 다른 TCR 서브유닛의 내용에서, 예를 들어 인간의 CD3- ϵ 쇄가 유전자 도입된 마우스 세포에서 인간의 CD3- ϵ 쇄를 특이적으로 인식할 수 있는 항체/항체 유도체로부터 유도된다. 이들 유전자 도입된 마우스 세포는 천연 또는 거의 천연 입체형태로 인간의 CD3- ϵ 체인을 발현한다. 따라서 CD3- ϵ 체인 특이성 항체로부터 유도된 V_H 및 V_L 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 표면에 TCR의 일부로서 발현된 CD3-ε쇄를 인식한다. 따라서 "그룹 I" 항체는 CD3-ε쇄에 고도로 특이적이다. 반면, 여기서 바람직한 "그룹 II 항체"는 다른 TCR 서브 유닛과 결합되게 천연 TCR 복합물에서만 CD3-ε쇄를 인식한다. 이론으로 제한되지 않지만, "그룹 II"항체에서 TCR 본체는 CD3-ε쇄의 인식을 위해 필요한 것으로 본 발명의 명세서에서 추측된다. ε쇄와 결합되는 CD3-γ쇄 및 δ쇄는 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-ε쇄, γ쇄 및 δ쇄를 통해 T 세포 신호를 유발하는데, CD3-ε쇄를 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 단일쇄 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 단일쇄 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 나타난 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 나타난 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 뉴클레오타이드 서열에 대한 유전 부호의 결과로서 디제너레이티드되는 핵산 서열에 의해 코딩되는 아미노산 서열.

본 발명은 또한 상기 정의된 바와 같은 이중 특이성 단일쇄 항체 구조체를 엔코딩 하는 핵산서열을 포함하는 약학 조성물을 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 뉴클레오타이드 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 단일쇄 항체 구조체의 아미노산 서열을 포함하는 단백질의 숙성 형태를 엔코딩 하는 뉴클레오타이드 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 뉴클레오타이드 서열;

(c) 엄격한 하이브리드 조건하에 (b)에 정의한 바와 같은 뉴클레오타이드 서열의 상보적 가닥으로 하이브리드되는 뉴클레오타이드 서열;

(d) (a) 또는 (b)의 뉴클레오타이드 서열에 의해 엔코딩되는 아미노산 서열의 하나 또는 여러 개 아미노산의 치환, 삭제 및/또는 부가에 의하여 (a) 또는 (b)의 뉴클레오타이드 서열에 의해 엔코딩 되는 단백질로부터 유도된 단백질을 엔코딩 하는 뉴클레오타이드 서열;

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

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

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

용어 "하이드리드"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 폴리뉴클레오타이드의 유도 발현을 허용하는 프로모터, 전사 증강제 및/또는 본 발명의 폴리뉴클레오타이드의 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. 513-519에 기술된 바와 같은 텍사메타손-유도 유전자 발현 시스템이다.

더욱이, 추가의 목적을 위하여 핵산 분자가 예를 들어 티오에스테르 결합 및/또는 뉴클레오타이드 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 폴리뉴클레오타이드는 "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 블롯(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 폴리뉴클레오타이드 및 벡터는 표적세포에 전달하기 위한 리포솜으로 재구성할 수 있다. 하기에 더욱 상세하게 논의한 바와 같이, 클로닝 벡터는 DNA의 개개 서열을 분리하는데 사용되었다. 관련된 서열은 특별한 폴리펩티드의 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 단일쇄 항체 구조체를 엔코딩 하는 상기 핵산 서열에 작동적으로(operably) 결합된 조절서열인 핵산 서열을 포함한다.

이러한 조절서열(조절 요소)은 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 단일쇄 항체 구조체를 엔코딩하는 핵산분자를 포함하는 발현 벡터인 것으로 생각된다.

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

한다. 진핵생물에서 일반적으로 조절서열은 프로모터, 종료자 및 약간의 경우에 인헨서, 전사 활성화제 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 진술한 성분들이 그들의 의도한 방식으로 기능하도록 하는 관계에 있는 병렬에 관한 것이다. 코딩서열에 "작동적으로 결합된" 조절 서열은 코딩서열의 발현이 조절서열에 부합하는 조건하에 달성되는 방식으로 결합(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_L , *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-인헨서, SV40-인헨서 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 향하게 하거나 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, 이중 서열(heterologous sequence)은 원하는 특성, 예를 들어 발현된 재조합 생성물의 안정화 또는 단순한 정제를 부여하는 N-말단 식별(identification) 펩티드를 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-비트로젠), 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 수반할 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. Nat. Acad. Sci. USA 91 (1994), 3224-3227).

추가적 조절 요소는 전사는 물론 해독 인헨서를 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 hyg (Marsh, 유전자 32 (1984), 481-485)에 대한 선별을 기반으로 하는, 항대사물질 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 입수가 가능하다. 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 β -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 단일쇄 항체 구조체의 어느 하나를 엔코딩하는 DNA 서열(들)을 함유하는 핵산 분자 또는 벡터들은 세포내로 도입되어 관심있는 폴리펩티드를 생산한다. 생체내 또는 생체의 기술에 의해 세포 내로 치료 유전자를 도입하는 것을 기본으로 하는 유전자 요법은 유전자 전달의 가장 중요한 적용중의 하나이다. 생체내 또는 생체의 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 리포솜이나 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 단일쇄 항체 구조체의 폴리펩티드 서열을 엔코딩 하는 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 파틸로마 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 리포솜 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 당업계, 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 단일쇄 항체구조를 엔코딩하는 유전자의 발현을 매개할 수 있다.

숙주 내에 도입되는 상술한 핵산 분자 또는 벡터는 숙주의 게놈내에 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 양성 또는 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 글리코실화되거나 또는 비-글리코실화 될 수 있다. 특히 바람직한 것은 본 발명의 폴리펩티드의 코딩 서열을 함유하는 바이러스 또는 플라스미드의 사용이며 또한 여기에 N-말단 FLAG-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 단백질계 화합물을 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-패밀리, 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 특이적인 scFv 단편을 포함한다. 초항원은 MHC-독립적 방식으로 T세포 수용체 가변 부위의 특정한 서브 패밀리에 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 단일쇄 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. 예를 들어 본 발명의 미생물로 발현된 폴리펩티드는 임의의 기존의 수단 예를 들어 제조용 크로마토그래피법 분리(preparative chromatographic separations), 및 면역학적 분리 예를 들어 침부된 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 유용할 수 있다. 바람직하게는 상기 종양 질환은 상피 암 또는 최소 잔류 암이다.

상기 정의된 이중특이성 단일쇄 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 게놈에 안정하게 통합할 수 있다.

다른 한편, 바이러스 벡터는 특정한 세포 또는 조직에 특이성이며 또한 상기 세포에서 지속 되는 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 지연을 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 리포솜, 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 단일쇄 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 단일쇄 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 간섭을 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 JURKAT(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. 주르카트 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 주르카트 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 nm 에서의 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 ml 의 피크에서의 화살표는 사용된 또는 더 정제된 단백질 분획을 포함하는 EpCAM 이중특이성 구조체를 나타낸다.

도 6:

280 nm 에서의 Sephadex®S200 겔여과 컬럼으로부터의 대표적인 용출 패턴. CD3 및 EpCAM에 대한 이중특이성 항체를 포함하는 82.66 ml 에서의 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 5.5 로 세척한후에, 단백질은 60 컬럼 부피에 1 M NaCl: 0-30% 를 포함하는 용리 버퍼의 그라디언트로 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 7A 에서와 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 쇠 항체 단백질 분획의 대표적인 SDS-PAGE 분석. 라인 **M**: 분자량 마커 라인 **1**: 세포 배양 상청액; 라인 **2**: IMAC 흐름 통과; 라인 **3**: IMAC 세척; 라인 **4**: IMAC 용출물; 라인 **5**: 겔 여과로부터 얻은 EpCAM 및 CD3 에 대한 정제된 항체.

B) 정제된 EpCAM 이중특이성 단일 쇠 항체 단백질 분획의 대표적인 웨스턴 블롯 분석 라인 **1**: 세포 배양 상청액; 라인 **2**: IMAC 흐름 통과; 라인 **3**: IMAC 세척; 라인 **4**: IMAC 용출물; 라인 **5**: 겔 여과로부터 얻은 EpCAM 및 CD3 에 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 단일쇄 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 단일쇄 항체 배양(incubation) 후에 FACS 분석으로 계수되었다.

도 11:

A) EpCAM M79, HD70 및 3B10의 VH 채의 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 채의 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 활성도와 비교. PBMC 세포 및 카토 III 세포는 E:T 비율 10:1에서 사용되었다. 카토 III 세포는 프로피디움 아이오다이드로 염색되었고, 이중특이성 단일쇄 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
항-CD3x항-EpCAM 구조체			
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 ₄ S) ₃ -링커

서열 번호: 13,14	항-CD3x4-7	VH-VLXVH-VL	(G ₄ S) ₃ -링커
서열 번호: 15,16	항-CD3x4-7	VH-VLXVL-VH	(G ₄ S) ₃ -링커
서열 번호: 17,181	항-CD3x5-10	VH-VLXVH-VL	(G ₄ S) ₃ -링커
서열 번호: 19,20	항-CD3x5-10	VH-VLXVL-VH	(G ₄ S) ₃ -링커
서열 번호: 53,54	항-CD3x3-5	VH-VLXVH-VL	(G ₄ S) ₃ -링커
서열 번호: 59,60	항-CD3x4-1	VH-VLXVH-VL	(G ₄ S) ₃ -링커
항-EpCAM- 항-CD3 구조체			
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 Cys 에서 Ser으로의 돌연변이를 갖는 항-CD3 구조체 (서열 번호 7,8, 9 및 10)

18 아미노산 링커 (서열 번호:70) 및 Cys 에서 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 (G₄S)₃ 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 GGAGCCGCCGCCGAGAACACCACCACCTGAGGAGACTGTGA GAGTGGTGCCTTG (서열 번호:21); CD3 VL: 5'CD3 VL GS15 GCGGCGGCGGCTCCGGTGGTGGTGGTTCTGACATTCAGC TGACCCAGTCTCC (서열 번호:22), CD3 VL *BspEI* AATCCGGATTTCAGCTCCAGCTTGG (서열 번호:6)). PCR 생산물에 도입된 중복 상보 염기서열이 사용되어 뒤이은 융합 PCR 동안에 15-아미노산 (G₄S)₃ (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 (G₄S)₃ 링커 (서열 번호:99)를 포함하는 N-말단 고유의 항-CD3 가 제한 효소 *BsrGI* 및 *BspEI* 로 절단되었고 뒤이어서 블루스크립트 KS 벡타 (Stratagene, La Jolla, CA) 에 클로닝되었는데, 이는 진핵생물의 분비 신호(선도 펩티드)의 아미노산 서열을 EcoRI/

BsrGI-단편으로 포함한다. 이 구조체를 EcoRI 및 *BspEI* 로 절단한후에 이로 인한 각각의 선도 캡티드를 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/BspEI* 절단된 플라스미드에 클로닝되었다. pEFDHFR 는 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 VL항-EpCAM-VH항-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 프라이머에 의해 증폭되었다 (4-7 VL: 4-7 VL *BspEI* FOR CTGAAATCCGGAGGTGGTGGATCCGAGCTCGTGATGACCCAGACTCC (서열 번호:100), 4-7 VL GS15 REV GGAGCCGCCGCCGCGCCAGAACCAACCA CCACCTTTGATCTCAAGCTTGGTCCCC (서열 번호:101); 4-7 VH: 4-7 VH GS15 FOR GGCGGCGGCGGCTCCGGTGGTGGTGGTTCTGAGGTGCAGCTGCTCGAGCAG (서열 번호:23), 4-7 VH *SaI* 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 프라이머 쌍 4-7 VL *BspEI* FOR 및 4-7 VH *SaI* REV (서열 번호100, 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 프라이머에 의해 증폭되었다 (5-10 VL: 5-10 VL *BspEI* FOR CTGAAATCCGGAGGTGGTGGATCCGAGCTCGTGATGACACAGTCTCCAT (서열 번호:25), 5-10 VL GS15 REV GGAGCCGCCGCCGCGCCAGAACCAACCAACCAACCTTTGATCTCAAGCTTGGTCCCAG (서열 번호: 26); 5-10 VH: 5-10 VH GS15 FOR GGCGGCGGCGGCTCCGGTGGTGGTGGTTCTGAGGTGCAGCTGCTCGAGC (서열 번호:27), 5-10 VH *SaI* REV TTTTAAGTCGACCTAATGATGATGATGATGATGTGAGGAGACGGTGACCGTGG (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 프라이머 쌍 5-10 VL *BspEI* FOR 및 5-10 VH *SaI* REV (서열 번호:25, 서열 번호:28) 로 수행되었다.

이들 PCR 생산물(5-10 VLVH 및 4-7 VLVH)은 *BspEI* 및 *SaI* 으로 절단되었고, pEFDHFR 내의 *BspEI/SaI* 절단된 항-CD3 VHVL stLx5-10 VHVL (서열 번호:17,18) 또는 항-CD3 VHVL stL x 4-7 (서열 번호:13, 14) VHVL 로 접합되어 5-10 VHVL DNA 단편을 대체하였다.

1.1.4. 항-CD3-EpCAM 구조체의 발현 및 결합

서열분석(sequencing)에 의해 이중특이성 단일쇄를 코딩하는 서열을 확인한후에, 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 대로 수행되었다. 상기 형질변환된 세포는 그 다음에 확장되어, 1 리터의 상청액이 생산되었다. 이중특이성 단일쇄 분자의 발현 및 결합은 FACS 분석에 의해 확인되었다. 이 목적을 위해 EpCAM 양성 인간 위 암 세포주 카토 III(American Type Culture Collection (ATCC) Manassas, VA 20108 USA, ATCC number: HTB-103 에서 구함)가 사용되었다. 항-CD3 부분의 결합은 주르카트 세포 (ATCC TIB 152)에서 보여졌다.

세포는 공급자의 권고에 따라 배양되었고, 2%FCS 가 첨가된 50 μ l PBS에서 ca. 200000 세포가 10 μ g/ml 의 구조체와 함께 배양되었다. 구조체의 결합은 2%FCS 가 첨가된 50 μ l PBS에서 2 μ g/ml의 항-His 항체 (Penta-His 항체, BSA 없음, Qiagen GmbH, Hilden, FRG에서 구입)로 검출되었다. 두번째 단계로, 2% FCS가 첨가된 50 μ l의 PBS 내에 1:100으로 희석된, 시약 R-피코에리트린-접합(R-Phycoerythrin-conjugated) 친화성 정제된 F(ab')₂ 단편, 염소 항-마우스 IgG, Fc-감마 단편 특이성 항체가 사용되었다 (Dianova, Hamburg, FRG에서 구입). 샘플은FACSscan (BD biosciences, Heidelberg, FRG) 으로 측정되었다. 항-CD3 및 항-EpCAM 을 포함하는 모든 구조체에서 선행기술의 항-EpCAM (M79)x항-CD3 이중특이성 항체에서보다 CD3 및 EpCAM 에 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 PCR 에 의해 얻어졌다. 단편 I 및 II 는 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℃/30초; 60℃/1분; 72℃/1분) 가 증폭을 위해 사용되었고, 이어서 72℃에서 3분동안의 일 주기가 수행되었다..

PCR 단편 I 및 II는 1.5% 아가로스겔에서 전기영동을 수행하였다. 단편은 혼합되어 (각각 1 ng) 단편 III 의 증폭을 위한 프라이머 쌍 me 81 (서열 번호:31) 및 me 84 (서열 번호:33)으로 수행되는 다음번 PCR 반응을 위한 주형으로 사용되었다. PCR 은 상기 기술된 데로 수행되었다. 단편 III 는 아가로스 겔에서 정제되었고 BssHII 및 BspEI (Biolabs)으로 절단되었고, 정제되고 뒤이어서 pEF-dHFR-시그널 펩티드 (77/78) 항-CD3 클로닝 벡터의 상응하는 위치에 클로닝되었는데, 이 벡터는 항-CD3 부위 앞쪽의 항-목표 가변부위의 클로닝을 용이하게한다. 이 벡터는 독특한 BssHII 장소를 시그널 펩티드 바로 뒤에 갖고 BspEI 장소인 링커 (G₄S) 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 GGC TCC GGT 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 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 PCR 에 의해 얻어졌다. 단편 I 및 II 는 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 II 를 포함하는 아가로스 겔은 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. PCR 은 상기 기술된 데로 수행되었으나, 다만 붙임 (annealing)은 60℃대신 68℃에서 수행되었다. 단편 III 는 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 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 PCR 에 의해 얻어졌다. 단편 I 및 II 는 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℃ 에서 상기 기술한 데로 수행되었다.

PCR 단편 I 및 II 를 포함하는 아가로스 겔 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. PCR 은 상기 기술된 데로 수행되었으나, 다만

불임(annealing)은 60℃대신 68℃에서 수행되었다. 단편 III 는 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 PCR 에 의해 얻어졌다. 단편 I 및 II 는 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℃ 에서 상기 기술한 대로 수행되었다.

PCR 단편 I 및 II 를 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. PCR 은 상기 기술된 대로 수행되었다. 단편 III 는 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 PCR 에 의해 얻어졌다. 단편 I 및 II 는 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℃ 에서 상기 기술한 대로 수행되었다.

PCR 단편 I 및 II 를 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. PCR 은 상기 기술된 대로 수행되었는데, 다만 불임(annealing)은 60℃대신 68℃에서 수행되었다. 단편 III 는 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℃ 에서 30 분동안 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 2 리터 Tissue culture Roller Bottles (Falcon (cat. no: 353068;Becton Dickinson Labware)에서 이중특이성 분자를 생산하기 위해 8 내지 9일 (선택배지의 500 ml에서)동안 키웠다. 조직 배양 배지는 4℃, 10 분간 300g (1300rpm)에서 원심분리하여 세포 및 세포 찌꺼기를 제거하였다. 분리된 이중특이성 분자를 포함하고 있는 상청액은 더 이상의 분석이 있을 때까지 0℃ 에서 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 주르카트 세포 (CD3 결합을 위함) 및 카토 세포 (EpCAM 결합을 위함) 가 독립적으로 이중특이성 구조체를 포함하는 조 상청액 (50 μ l)와 함께 45분간 4℃ 에서 배양되었다. 그후에, 세포는 FACS 머피 (포스페이트-머피의 식염수 1% 태아의 송아지 혈청 (FCS) 및 0.05% 소듐 아자이드) 로 두번 세척되었고, 마우스 항-His 항체 (Dianova,DIA910)과 함께 60 분동안 4℃에서 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 항은 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 단일쇄 구조체를 정제하기 위해, CHO-EpCAM 세포를 회전병(roller bottles)에서 HiClone® CHO 변형된 DMEM 배지 (HiQ)로 7 일간 배양후 수확하였다. 세포는 원심분리에 의해 제거되었고, 발현된 단백질을 포함하는 상청액은 -20℃에서 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 $ZnCl_2$ 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 1 에서 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 분자량 결정(분자량 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

추가로 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 단일쇄 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 Module 에 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 불리는데, 이 실험을 위해 사용되었다. CHO-EpCAM (1.5×10^7) 세포는 혈청이 없도록 PBS로 두 번 세척하였고, 제작자의 지시에 따라 PKH26 염료(Sigma-Aldrich Co.)로 항은 보관되었다. 그 후 염색된 세포는 RPMI/10% FCS로 두 번 세척하였다.

세포는 계수되었고 CB15 작동 세포와 섞여졌다. CD4-양성 T 세포 클론 CB15는 독일의 Erlangen/Nuernberg 대학의 피켄셔 박사(Dr. Fickenscher)에 의해 제공되었다. 세포는 공급자의 권고에 따라서 배양되었다. 결과물인 세포 현탁액은 ML 당 400,000 표적 및 2×10^6 작동 세포를 포함하였다. 둥근 바닥 플레이트의 96웰에 웰당 혼합물 50 μ l가 사용되었다.

항체는 RPMI/10% FCS에서 요구되는 농도로 희석되었고, 이용액의 50 μ l 가 세포 현탁액에 첨가되었다. 표준 반응은 16 시간동안 37°C / 5% CO₂ 에서 항은 보관되었다. 프로피디움 아이오디움이 최종농도 1 μ g/ml 로 첨가되었다. 10분의 상온에서의 항은 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 R² 값 >0.97 을 가지고 있었다. (도 9 및 10). 분석 프로그램에 의해 계산된 EC₅₀ 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-CD3 의 값이 측정되었다.

동적 결합 실험이 BIAcore™ 2000의 표면 플라즈몬 공명(surface plasmon resonance), 유속 5 μ l/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 μ l 의 0.1 M 소듐-하이드록시숙시니미드, 0.4 M N-에틸-N'(3-디메틸아민프로필)-카르보디이미드 (NHS/EDC)를 주입함으로써 활성화되었다. 항원은 0.01 M 소듐-아세테이트, pH 4.7 내의 60 μ g/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 μ l의 1M 에탄올아민을 주입하고, 칩은 하루밤동안 HBS-EP 의 5 μ l/분 의 일정한 흐름으로 평형화시켰다.

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

$$dB/dt = -(ka * [A] * [B] - kd * [AB]) \quad (1)$$

$$dAB/dt = -(ka * [A] * [B] - kd * [AB]) \quad (2)$$

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 칩 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)	4.0x10 ⁻⁶
4-1 x 항-CD3 (서열 번호:39)	2.5x10 ⁻⁷
3-5 x 항-CD3 (서열 번호:30)	2.3 x10 ⁻⁷

선행기술의 항-EpCAM x 항-CD3 구조체 M79xCD3는 4.0x10⁻⁶ M의 KD 값을 가진 반면 놀랍게도 본 발명의 구조체는 2.3 x10⁻⁷-2.5 x10⁻⁷ M의 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 기존의 M79xCD3 및 HD70xCD3 구조체와 비교하기 위해 하기 세포 독성 분석이 수행되었다.

카토 III 세포(ATCC HTB-103)는 표적 세포로 사용되었고, 5% CO2 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(trypsin 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 8x10⁵ 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 현탁하였고 실온에서 10분간 항온 보관하였다. 용해 반응은 PBS의 첨가로 중지되었다. PBMC는 RPMI 1640 완전 배지에 다시 현탁되었고 세포수는 8x10⁶ cells/ml로 조정하였다.

동일한 분량의 표적 및 작동 세포 현탁액이 혼합되었고 50 μl 의 이 현탁액이 96웰 둥근 바닥 플레이트의 각 웰에 옮겨졌고, 50 μl 의 EpCAM 이중특이성 항체 계단 희석 또는 RPMI 완전 배지가 음성 대조군으로 첨가되었다. 플레이트는 가습 항온기내에서, 37°C, 5% CO₂에서 16 내지 20시간동안 항온 보관되었다. 50 μl 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. 2×10^4 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 EC₅₀ 값이 GraphPad Prism 소프트웨어를 사용하여 데이터의 비선형 피팅(fitting)후에 얻어졌다.

NXD 모티프를 갖는 구조체의 (서열 번호:36, 44, 2 및 18) 세포독성 활성을 기존의 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 3B10와 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 기존의 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 EpCAM 에 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 EpCAM 에 특이성을 갖는 결합 도메인이 5×10^{-9} M 을 초과하는 K_D 값을 갖는 약리학적 조성물.

청구항 5.

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 EpCAM 에 특이성을 갖는 결합 도메인이 1×10^{-7} 내지 5×10^{-9} M 의 K_D 값을 갖고 상기 CD3에 특이성을 갖는 결합 도메인이 1×10^{-6} 내지 5×10^{-9} M 의 K_D 값을 갖는 약리학적 조성물.

청구항 6.

이중특이성 단일쇄 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 EpCAM 에 특이성을 갖는 결합 도메인은 9개 이상의 아미노산 잔기의 CDR-H3 부위를 하나 이상 포함하고, 상기 EpCAM 에 특이성을 갖는 결합 도메인은 5×10^{-9} M 이상의 K_D 값을 갖는 약리학적 조성물.

청구항 7.

제1항 내지 제6항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 CD3 에 특이성을 갖는 결합 도메인이 10^{-7} M 을 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: 96 에서 나타나는 것과 같은 아미노산 서열;
- (b) 서열 번호: 79, 서열 번호: 83, 서열 번호: 87, 서열 번호: 91 및 서열 번호: 95 에 나타나는 것과 같은 핵산 서열에 의해 코딩되는 아미노산 서열;
- (c) 엄격한 하이브리드 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 뉴클레오타이드 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: 98 에서 나타나는 것과 같은 아미노산 서열;
- (b) 서열 번호: 81, 서열 번호: 85, 서열 번호: 89, 서열 번호: 93 및 서열 번호: 97 에 나타나는 것과 같은 핵산 서열에 의해 코딩되는 아미노산 서열;

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

(d) (b) 또는 (c) 의 뉴클레오타이드 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 F101.01 로 이루어지는 그룹으로부터 선택되는 항체로부터 유래하는 약리학적 조성물.

청구항 12.

제1항 내지 제11항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 이중특이성 단일쇄 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 60 에서 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 59 에 나타나는 것과 같은 핵산 서열에 의해 코딩되는 아미노산 서열;

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

(d) (b) 또는 (c) 의 뉴클레오타이드 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 단일쇄 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 활성화 신호를 제공할 수 있는 단백질의 화합물을 더 포함하는 약리학적 조성물.

청구항 19.

제1항 내지 제18항 중 어느 한 항에 있어서, 약리학적 조성물이 37℃ 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 단일쇄 항체 구조체의 발현을 허용하는 조건하에서 제17항에 기술된 숙주를 배양하는 단계와, 그 배양으로부터 생산된 이중특이성 단일쇄 항체 구조체를 회수하는 단계를 포함하는 생산 방법.

청구항 21.

제1항 내지 제12항 중 어느 한 항에 기술된 이중특이성 단일쇄 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 상피암 또는 최소 잔류암인 용도 또는 방법.

청구항 25.

제1항 내지 제12항 중 어느 한 항에 기술된 이중특이성 단일 체 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

도면1A

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

GATATCAAACTGCAGCAGTCAGGGGCTGAACCTGGCAAGACCTGGGGCTCAGTGAAGATGTCTGCAAGACTTC
TGGCTACACACCTTTACTAGGTACACGATGCACCTGGGTAAACACAGAGGCTGGACAGGGTCTGGAATGGATTGGAT
ACATTAATCCTAGCCGTGGTTATACATAATTACATAATCAGAAGTTCAAGGACAAGGCCACATTGACTACAGACAAA
TCCTCCAGCACAGCCTACATGCAACTGAGCAGCCTGACATCTGAGGACTCTGCAGTCTATTAATGTCAGAGATA
TTATGATGATCATTAATGCTGCTGACTACTGGGGCCAAAGGCCACTCTCACAGTCTCCAGCAATCATGTCTGCATCT
CTGGCGGGCGGGCTCCGGTGGTGGTGGTTCTGACATTCAGCTGACCCAGTCTCCAGCAATCATGTCTGCATCT
CCAGGGAGAAAGGTCACCATGACCTGCAGAGCCAGTTCAAAGTAAAGTTACATGAAGTGGTACCCAGCAGAAAGTC
AGGCACCTCCCCAAAAGATGGATTTATGACACATCCAAAGTGGCTTCTGGAGTCCCTTATCGCTTCAGTGGCA
GTGGGTCTGGGACCTCATACTCTCTCAAAATCAGCAGCATGGAGCTGAGGCTGAAATCCGGAGGTGGTGGATCCGA
CAGTGGAGTAGTAACCGCTCACGTTCCGTGCTGGACCAAGCTGGAGCTGAAATCCAGTGAAGATATCCTGCAAGGCTT
GGTGCAGCTGCTCGAGCAGTCTGGAGCTGAGCTGGTGAACCTGGGGCTCAGTGAAGATATCCTGCAAGGCTT
CTGGATACGCCCTTCACTAACTACTGGCTAGGTTGGTTAAAGCAGAGGCCCTGGACATGGACTTGAGTGGATTGGA
GATCTTTCCCTGGAAGTGGTAATCACTACAAATGAGAGGTTCAAGGGCAAGCCACACTGACTGCAGACAA
ATCCTCGAGCACAGCCTTTATGCAGCTCAGTAGCCTGACATCTGAGGACTCTGCTGTCTATTTCTGTGCAAGAT
TGAGGAACTGGGACGAGGCTATGGACTACTGGGGCCAAAGGACCAAGTCCAGGTCACCGTCTCCCTCAGGTGGTGGTGGT
TCTGGCGGGCGGGCTCCGGTGGTGGTGGTTCTGAGCTCGTCAATGACCCAGTCCATCTTATCTTGTGCTGCATC
TCCTGGAGAAACCATTAATAAGCTTCTTATCTACTCTGGATCCACTTGGCAATCTGGAATCTCCATCAAGGTTCAGT
AACCTGGGAAACCTAATAAGCTTCTTATCTACTCTGGATCCACTTGGCAATCTGGAATCTCCATCAAGGTTCAGT
GGCAGTGGATCTGGTACAGATTTCACTCTCACCATCAGTAGCCTGGAGCCTGAAAG

도면1A 계속

ATTTTGCAATGTATTACTGTCAACAGCATAATGAATATCCGTACACGTTCCGAGGGGGACCAAGCTTGAGATC
AAACATCATCACCATCATCATTAG

(서열 번호 : 12)

DIKLQQSGAELARPGASVKMSCKTSGYTFTRYTMHWVKQRPQGLEWIGYINPSRGYTNYNQKFKDKATLTTDK
SSSTAYMQLSSLTSEDSAVYICARYDDHYCLDYWGQGTTLTVSSGGGGGGGGGGSDIQLTQSPALMSAS
PGEKVTMTCRASSSVSYMNWYQOKSGTSPKRWIYDTSKVASGVPYRFSGSGSTSYSLTSSMEADAATYYCQ
QWSSNPLTFGAGTKLELKSGGGGSEVQLLEQSGAELVKPGASVKISCKASGYAFITNYWIGWVKQRPQGHLEWIG
DLFPGSGNTHYNERFRGKATLTADKSSSTAFMQLSLTSSEDSAVYFCARLRNWDEAMDYWGQGTITVSSGGGG
SGGGSGGGSELVMTQSPSYLAASPGETITINCRASKSISKYLAWYQEKPGKTNKLLIYSGSTLQSGIPSRFS
GSGSGTDFTLTISLLEPEDFAMYQCQHNEYPTTFGGGTKLEIKHHHHH

도면1B

B) 항 - CD3 VHVL aL x 4-7 VHVL (시열 번호 : 1)

GATATCAAACCTGCAGCAGTCAGGGGCTGAACCTGGCAAGACCTGGGGCCCTCAGTGAAGATGTCTCTGCAAGACTTC
TGGCTACACCTTTACTAGGTACACGATGCACTGGGTAAACACAGAGGCCCTGGACAGGGTCTGGAAATGGATTTGGAT
ACATTAAATCCCTAGCCGTGGTTATACATAATTACAATCAGAAGTTCAGAGGACCTGAGGACTCTGCAGTCTATTACTGTGCAAGATA
TCCGCCAGCACAGCCTACATGCAACTGAGCAGCCTGACATCTGAGGACTCTGCAGTCTCTCAGTCCGAAGGTGGAA
TTATGATGATCATTAATGCTTGAAGTGGAGGTTCAAGGTGGAGTCGACGACATTCAGCTGACCCAGTCTCCAGCAATCATG
GTGGAGGTTCTGGTGAAGTGGAGGTTCAAGGTGGAGTCGACGACATTCAGCTGACCCAGTCTCCAGCAATCATG
TCTGCCATCTCCAGGGGAGAAGTCAACCATGACCTGCAGAGCCAGTTCAGGTGTAAGTTACATGAATGTAAGTTCATCGCT
GCAGAACTCAGGCACCTCCCCCAAAAGATGGATTTATGACACATCCAAAGTGGCTTCTGGAGTCCCTTATCGCT
TCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACCTCATACTCTCTCACAATCAGCAGCATGGAGGCTGAAGATGCTGCCACTTAT
TACTGCCAACACAGTGGAGTAGTAACCCGCTCACGTTCCGTTGCTGGGACCAAGCTGGAGCTGAAATCCGGAGGTGG
TGGATCCGAGGTGCAGCTGCTCGAGCAGTCTGGAGCTGAGCTGGCGAGGCCCTGGGGCTTCAGTGAAGCTGTCTCT
GCAAGGCTTCTGGCTACACCTTCACAAACTATGGTTAAAGCTGGGTGAAGCAGAGGCCCTGGACAGGTCTCTTGAG
TGGATTGGAGAGGTTTATCCTAGAAATGGTAAATGCTTACTACAATGAGAAGTTCAGGGCAAGGCCACACTGAC
TGCAGACAAATCCTCCAGCACAGCGTCCATGGAGCTCCGAGCCTGACCTCTGAGGACTCTGCGGTCTATTCT
GTGCAAGACCGGGATCCTACGATACATACTACGACTGGTACTTCGATGTCTGGGGCCAAAGGACCCAGGTCAAC
GTCTCCTCAGGTGGTGGTTCTGGCGGGCGGGCTCCGGTGGTGGTGGTCTGAGCTCGTGAAGACCCAGAC
TCCACTCTCCCTGCCTGTCACTCTTGGAGATCAAGCCTCCATCTCTTGCAGATCTAGTCAGAGCCTTGTACACA
GTAATGGAAACACCTATTATCAATTTGGTACCTTGCAAGACCAGGCCAGTCTCCAAAG

도면1B계속

CTCCTGATCTACAAAGTTTCCAACCGATTTCTGCGGTCCAGACAGGTTCA GTGGCAGTGGATCAGGGACAGA
TTTCACACTCAAGATCAGCAGAGTGGAGGCTGAGGATCTGGGAGTTATTTCTGCTCTCAAAGTACACATGTTC
CGTACACGTTCGGAGGGGGACCAAGCTTGAGATCAAAACATCATCCATCATATTAG

(서열 번호 : 2)

DIKLQQSGAELARPGASVKMSCKTSGYTFTRYTMHWVKQRPQQGLEWIGYINPSRGYTNYNQKFKDKATLTIDK
SSSTAYMQLSLTSSEDSAVYYCARYYDDHYCLDYWGQGTTLTVSSVEGGSGSGSGGVDDIQLTQSPAIM
SASPGEKVMTCRASSSVSYMNYQQKSGTSPKRWIYDTSKVASGVYRFSGSGTSYSLTSSMEAEADAATY
YCQWSSNPLTFGAGTKLELKSGGGSEVQLLEQSGAELARPGASVKLSCKASGYFTNIGLSWVKQRPQQVLE
WIGEVYPRIGNAYYNEKFKGKATLTADKSSSTASMEIRSLTSEDSAVYFCARRGSYDYNIDWYFDVWGQGTIVT
VSSGGGGSGGGGGSELVMTQTPLSLPVSLGDAQASISCRSSQSLVHSNGNTYLHWYLQKPGQSPKLLIYKV
SNRFGVFPDRFSGSGGTDFTLKISRVEAEDLGVFCSQSTHVPYTFGGGTKEIKHHHHH

도면1C

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

GATATCAAACCTGCAGCAGTCAGGGGCTGAACCTGGCAAGACCTGGGGCCCTCAGTGAAGATGTCCTGCAAGACTTC
 TGGCTACACCTTTACTAGGTACACGATGCACCTGGGTAAACACAGAGGCCCTGGACAGGGTCTGGAAATGGATGGAT
 ACATTAACTCCTAGCCGTGGTTATACTAATTACAATCAGAAGTTCAAGGACAAGGCCACATTGACTACAGACAAA
 TCCGCCAGCACAGCCACATGCAACTGAGCAGCCTGACATCTGAGGACTCTGCAGTCTATTACTGTGCAAGATA
 TTATGATGATCATTAATCTCCCTTGACTACTGGGGCCAAAGGCACCACCTCTCACAGTCTCCTCAGTCGAAGGTGGAA
 GTGGAGGTCTCTGGTGAAGTGGAGGTTCAGGTGGAGTCGACGACATTCAGCTGACCCAGTCTCCAGCAATCATG
 TCTGCATCTCCAGGGGAGAAGTCAACCATGACCTGCAGAGCCAGTTCAAGTGTAAAGTTACATGAACCTGGTACCA
 GCAGAACTCAGGCACCTCCCCCAAAAGATGGATTTATGACACATCCAAAGTGGCTTCTGGAGTCCCTTATCGCT
 TCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACCTCATACTCTCTCACAATCAGCAGCATGGAGGCTGAAGATGCTGCCACTTAT
 TACTGCCAAACAGTGGAGTAGTAACCCGCTCACGTTCGGTGTGGACCAAGCTGGAGCTGAAATCCGGAGGTGG
 TGGATCCGAGGTGCAGCTGCTCGAGCAGTCTGGAGCTGAGCTGGCGAGGCCCTGGGGCTTCAGTGAAGCTGTCTCT
 GCAAGGCTTCTGGCTACACCTTCACAAACTATGGTTTAAAGTGGGTGAAGCAGAGGCCCTGGACAGGTCTCTTGAG
 TGGATTGGAGAGGTTTATCCTAGAAATGGTAAATGCTTACTACAATGAGAAGTTCAAGGGCAAGGCCACACTGAC
 TGCAGACAAAATCCTCCAGCACAGCGTCCATGGAGCTCCGACGCTGACCTCTGAGGACTCTGCCGTCTATTCTCT
 GTGCAAGACGGGGATCCTACGATACTAACTACGACTGGTACTTCGATGTCTGGGGCCAAAGGACCCACGGTCAACC
 GTCTCCTCAGGTGGTGGTGTCTGGCGGGCGGGCTCCGGTGGTGGTGGTCTGAGCTCGTGTGATGACCCAGAC
 TCCACTCTCCCTGCCCTGTGAGTCTTGGAGATCAAGCCTCCATCTCTTGCAGATCTAGTCAGAGCCTTGTACACA
 GTAATGGAAAACACCTATTATACATTTGGTACCCTGCAGAAGCCAGGCCAGTCTCCAAAGCTCCTGTATCTACAAAGTT
 TCCAAACCGATTTTCTGGGGTCCAGACAGGTTTCAGTGGCAGTGGATCAGGGACAG

도면1C계속

ATTTCACACTCAAGATCAGCAGAGTGGAGGCTGAGGATCTGGGAGTTTATTCTGCTCTCAAAGTACACATGTT
CCGTACACGTTCGGAGGGGGACCAAGCTTGAGATCAAAACATCATCACCATCATCATTAG

(서열 번호 : 8)

DIKLQQSGAELARPGASVKMSCKTSGYTFTRYTMHWVKQRPQGLEWIGYINPSRGYTNYNQKFKDKATLTITDK
SSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCARYDDHYSLDYWGQGTTLTVSSVEGGSGGGGGVDDIQLTQSPAIM
SASPGEKVMTCRASSSVSYMNWYQQKSGTSPKRWIYDTSKVASGVYRFSGSGTSYSLTSSMEAEADAATY
YCQWSSNPLTFGAGTKLELKSGGGGSEVQLLEQSGAELARPGASVKLSCKASGYFTTNYGLSWVKQRPQGVLE
WIGEVYPRIGNAYYNEKFKGKATLTADKSSSTASMEILRSLTSEDSAVYFCARRGSYDNYDWYFDVWGQGTIVT
VSSGGGGGGGGGSEIVMTQTPLSLPVSLGDQASISCRSSQSLVHSNGNTYLHWYLQKPGQSPKLLIYKV
SNRFGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGVYFCSQSTHPVYTFGGGTKEIKHHHHH

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

GATATCAAAACTGCAGCAGTCAGGGGCTGAACTGGCAAGACCTGGGGCCCTCAGTGAAGATGTCTCTGCAAGACTTC
TGGCTACACCTTTATCTAGGTACACGATGCATCTGGGTAAAAACAGAGGCCCTGGACAGGGTCTGGAATGGATTTGGAT
ACATTAATCTCTAGCCGTGGTTATCTAAATACAATCAGAACTTCAGAGCAAGGCCACATTGACTACAGACAAA
TCCCTCAGACAGCCATACATGCAACTGAGCAGCCTGACATCTGAGGACTCTGCGACTTATTAATCTGTGCAAGATA
TTATGATGATCACTATCGCTTGACTTACTCTGGGGCCAAAGGCCACTCTCACAGTCTCTCAGGTGGTGGTGGTT
CTGGCGGGCGGCTCCGGTGGTGGTGGTTCTTGACATTCAGCTGACCCAGTCTCCAGCAATCATGTCTGCACTCT
CCAGGGGAGAAAGTCAACATGACCTGCAGAGCCAGTTCAAAGTAACTACATGAACCTGGTACCAGCAGCAAGTC
AGGCACCTCCCCAAAAGATGGATTTATGACACATCCAAAGTGGCTCTGGAGTCCCTTATCGCTTCAGTGGCA
GTGGGTCTGGGACCTCACTACTCTCACAATCAGCAGCATGGAGCTGAAGATGCTGCCACTTATTAATGCCCCA
CAGTGGAGTAGTAACCGCTCACGTTCCGTGGGACCAAGCTGGAGCTGAAATCCGGAGGTGGTGGATCCGA
GGTGCAGCTGTCGAGCAGTCTGGAGCTGAGCTGGCGAGGCCCTGGGGCTTCAGTGAAGCTGTCTCTGCAAGGCTTT
CTGGCTACACCTTCAAAACATAAGTTTAAAGCTGGGTGAAGCAGAGGCCCTGGACAGGTCTTGAGTGGATTGGA
GAGGTTTATCTTAGAATTTGGTAATGCTTACTACAATGAGAAGTTCAAGGGCAAGGCCACACTGACTGCAGACAA
ATCTCTCAGACACAGGTTCCATGGAGCTCCGACGCTGACCTCTGAGGACTCTGCGGTCTATTTCTGTGCAAGAC
GGGATCTTACGATCACTAACTACGACTGGTACTTTCGATGTCTGGGGCCAAAGGACCACGGTCACCGTCTCCTCA
GGTGGTGGTGGTTCTGGGGGGGGGGCTCCGGTGGTGGTGGTTCTGAGCTCGTGATGACCCAGACTCCCACTCTC
CCTGCCTGTCACTCTGGAGATCAAGCCCTCCATCTCTTGAGATCTAGTCAGAGCCTTGACACAGTAATGGAA
ACACCTATTTACATTTGGTACCTGCAGAAAGCCAGGCCAGTCTCCAAAGCTCTCATCAAAAGTTTCCAAACCGA
TTTTTCTGGGGTCCAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGATCAGGGACAGATTTTCACAC

도면1D

도면1D계속

TCAAGATCAGCAGAGTGGAGGCTGAGGATCTGGGAGTTATTCTGTCTCTCAAAGTACACATGTTCCGTACACG
TTCGGAGGGGGACCAAGCTTGAGATCAACATCATCACCATCATCATAG

(서열 번호 : 14)

DIKLQQSGAELARPGASVKMSCKTSGYTFTRYTMHWVKQRPQGLEWIGYINPSRGYTNYNQKFKDKATLTTDK
SSSTAYMQLSSLTSEDSAVYICARYYDDHYCLDYWGQGTTLTVSSGGGGGGGGGGSDIQLTQSPAIMSAS
PGEKVTMTCRASSSVSYMNWYQQKSGTSPKRWIYDTSKVASGVPYRFSGSGGTSYSLTSSMEAFDAATYYCQ
QWSSNPLTFGAGTKLELKS GGGSEVQLLEQSGAELARPGASVKLSCKASGYTFITNYGLSWVKQRPQGQVLEWIG
EVYPRIGNAYYNEKFKGKATLTADKSSSTASMELRSLTSEDSAVYFCARRGSYDTNYDWYFDVWGQGTTVTVSS
GGGGGGGGGGGGSELVMTQTPLSLPVSLGDQASISCRSSQSLVHSNGNTYLHWYLQKPGQSPKLLIYKVSNR
FSGVPDRFSGSGGTDFITLKISRVEAEDLGVYFCSGQSTHPVPTFGGGTKLEIKHHHHH

도면1E

E) 항-CD3 VHV stL x 4-7 VLVH (서열 번호: 15)

GATATCAAACTGCAGCAGT'CAGGGGCT'GAAC'TGGCAAGACCT'GGGGCT'CAGT'GAAGAT'GT'CCTGCAAGACTT
TGGCT'ACACCT'TTACTAGGT'ACACGAT'GCAT'GGGT'AAAAACAGAGGCT'GGACAGGCT'CTGGAAT'GGAT'TGGAT
ACAT'TAAT'CCT'AGCGT'GGT'TAT'ACT'AA'TT'ACAAT'CAGAAGT'T'CAAGGACAAGGCCACAT'TGACT'ACAGACAAA
TCTTCCAGCACAGCCT'ACAT'GCAACT'GAGCAGCCT'GACAT'CTGAGGACT'CTGAGTCT'AT'TACT'GT'GCAAGATA
TTAT'GAT'GAT'CAT'TACT'GCT'TGACT'ACT'GGGGCCAAGGCACCACT'CTCACAGTCT'CCTCAGGT'GGT'GGT'GGT
CT'GGGGCGGGCGCT'CCGGT'GGT'GGT'CTTGACAT'TCAGCT'GACCCAGTCT'CCAGCAAT'CAT'GT'CTGCATCT
CCAGGGGAGAAGGT'CACCAT'GACCT'GCAGAGCCAGT'T'CAAGT'GTAAGT'TACAT'GAACT'GGT'ACCAGCAGAAATC
AGGCACCT'CCCCAAAAGAT'GGAT'TTAT'GACACAT'CCAAAAGT'GGCT'T'CT'GGAGT'CCCT'TAT'CGCT'TCAGT'GGCA
GT'GGGTCT'GGGACCT'CAT'ACT'CT'CAACA'TCAGCAGCAT'GGAGGT'GAAGAT'GCT'GCCACT'TAT'TACT'GCCAA
CAGT'GGAGT'AGT'AAACCGT'CACGTT'CGGT'GCT'GGGACCAAGCT'GGAGCT'GAAAT'CCGGAGGT'GGT'GGAT'CCGA
GCT'CGT'GAT'ACCCAGACT'CCACT'CT'CCCT'GCC'T'GTCAGT'CT'GGAGAT'CAAGCCT'CCAT'CT'CT'GCGACT'CTA
GT'CAGAGCCT'TGT'ACACAGT'AAT'GGAACACACCT'AT'TTACAT'TTGT'ACCT'GCAGAAGCCAGGCCAGT'CT'CCAAAG
CT'CTGATCT'ACAAAGT'TT'CCAAACCGAT'TT'CTGGGT'CCACAGACAGGT'TCAGT'GGCAGT'GGAT'CAGGCACAGA
TTTT'CAACT'CAAGAT'CAGCAGAGT'GGAGGT'GAGGAT'CTGGAGT'TTAT'TTCTGCTCT'CAAAAGTACACAT'GTTC
CGTACACGTT'CGGAGGGGGACCAAGCTTGAGAT'CAAAAGT'GGT'GGT'CT'GGCGCGCGGCT'CCGGT'GGT
GGT'GGT'CT'GAGGT'GCAGCTGCT'CGAGCAGT'CT'GGAGCT'GAGCT'GGCAGGCC'T'GGGGCT'T'CAGT'GAAGCT'GTC
CTGCAAGGCT'CT'GGCTACACCT'T'CACAAACT'AT'GGT'TT'AAAGT'GGGT'GAAGCAGAGGCCCT'GGACAGGT'CTT'G
AGT'GGAT'TGGAGAGT'TTAT'CT'AGAA'TT'GGT'AAAT'GCT'TACT'ACAAT'GAGAA'GTT'CAAGGGCAAGGCCACACT'G
ACT'GCAGACAAA'TCCT'CCAGCACAGCGT'CCAT'GGAGCT'CCGCGACGCT'GACCT'CTG

도면1E계속

AGGACTCTGCGGCTATATTCTGTGCAAGACGGGGATCCTACGATACATACTACGACTGGTACTTCGATGTCCTGG
GGCCAAGGGACCAACGGTCACCGTCTCCTCACATCATCACCATCATCATTAG

(서열 번호 : 16)

DIKLQQSGAEIARPGASVKMSCKTSGYTFTRYTMHWVKQRPQGQLEWIGYINPSRGYTNYNQKFKDKATLTIDK
SSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCARYDDHYCLDYWGQGTTLTVSSGGGGGGGGGGSDIQLTQSPAIMSAS
PGEKVTMTCRASSSVSYMNWYQQKSGTSPKRWIYDTSKVASGVPRFSGSGGTSLTSSMEAEADAATYYCQ
QWSSNPLTFGAGTKLELKSGGGSELVMTQTPLSLPVSLGDQASISCRSSQSLVHSNGNTYLNHWYLNQKPGQSPK
LLIYKVSNRFSGVPRFSGSGGTDFTLKISRVEAEDLGVIYFCSQSTHVPYTFGGGTGLEIKGGGGGGGGGGGG
GGSEVQLLEQSGAEIARPGASVKLSCKASGYTFNIGLSWVKQRPQGVLEWIGEVYPRIGNAYYNEKFKGKATL
TADKSSSTASMELRSLTSEDSAVYFCARRGSDTNYDWYFDVWGQGTITVTVSSHHHHHH

도면1F

F) 항-CD3 VHVL aL x 5-10 VHVL (서열 번호 : 3)

GATATCAAACATGCAGCAGTCAGGGGCTGAACCTGGCAAGACCTGGGGCCTCAGTGAAGATGTCTGCAAGACTTC
 TGGCTACACCTTTACTAGGTACACGATGCATGGGTAAACAGAGGCCCTGGACAGGGTCTGGAATGGATTGGAT
 ACATTAATCCTAGCCGTGGTTATACTAAATACAAATCAGAACTTCAAGGACAAGGCCACATTTGACTACAGACAAA
 TTCTCCAGCACAGCCTACATGCAACTGAGCAGCCTGACATCTGAGGACTCTGCAGTCTATTACTGTGCAAGATA
 TTATGATGATCATTAATGCTTGAAGTGGAGGTTCAAGTGGGGCCAAAGCACCACTCTCACAGTCTCCTCAGTGAAGGTGAA
 GTGGAGGTTCTGGTGAAGTGGAGGTTCAAGTGGGGCCAAAGCACCACTCTCACAGTCTCCTCAGTGAAGGTGAA
 TCTGCATCTCCAGGGGAGAAGGTCACCATGACCTGACAGCCAGTCAAGTGAAGTAAAGTTACATGAACCTGATGACCA
 GCAGAAAGTCAGGCACCTCCCCCAAAGATGGATTTATGACACATCCAAAGTGGCTTCTGGAGTCCCTTATCGCT
 TCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACCTCATACTCTCACAAATCAGCAGCATGGAGGCTGAAGATGCTGCCACTTAT
 TACTGCCAACAGTGGAGTAGTAACCCGCTCACGTTCCGTGCTGGGACCAAGCTGGAGCTGAAATCCGGAGGTGG
 TGGATCCGAGGTGCAGCTGCTCGAGCAGTCTGGAGCTGAGCTGGTAAAGCCTGGACTTCAGTGAAGATATCCT
 GCAAGGCTTCTGGATACGCCCTTCACTAACTACTGGCTAGGTGGTAAAGCAGAGGCCCTGGACATGGACTTGAG
 TGGATTGGAGATATTTCCCTGGAAGTGGTAATCCACTACAATGAGAACTTCAAGGCAAAAGCCACACTGAC
 TGCAGACAAATCTTCGAGCACAGCCTATATGCAGCTCAGTAGCCTGACATTTGAGGACTCTGCTGTCTATTCT
 GTGCAAGACTGAGGAACCTGGACGAGCCTATGGACTACTGGGGCCAAAGGACCCAGGTACCCGTCTCCTCAGGT
 GGTGGTGGTTCTGGCGCGCGGCTCCGGTGGTGGTCTGAGCTCGTGATGACACAGTCTCCATCCCTCCCT
 GACTGTGACAGCAGGAGAAGGTCACTATGAGCTGCAAGTCCAGTCAGAGTCTGTTAAACAGTGGAAATCAAA
 AGAACTACTTGACCTGGTACCAGCAGAAACCAGGGCAGCCTCCTAACTGTTGATCTACTGGGCATCCACTAGG
 GAATCTGGGGTCCCTGATCGCTTCACAGGCAGTGGATCTGGAACAGATTTCACTC

도면1F계속

TCACCATCAGCAGTGTGCAGGCTGAAGACCTGGCAGTTTATTACTGTCAGAATGATTATAGTTATCCGCTCAG
TTTCGGTGCTGGGACCAAGCTTGAGATCAAAACATCATCACCATCATCATTAG

(서열 번호 : 4)

DIKLQQSGAEIARPGASVKMSCKTSGYTFTRYTMHWVKQRPQGQLEWIGYINPSRGYTNYNQKFKDKATLTDDK
SSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCARYDDHYCLDYWGQGTTLTVSSVEGGSGGSGGVDIQLTQSPAIM
SASPGEKVMTCRASSVSVMNWIQQKSGTSPKRWIYDTSKVASGVPRFSGSGTSYSLTSSMEADAATY
YCQWSSNPLTFGAGTKLELKS GGGSEVQLLEQSGAELVRPGTSVKISCKASGYAFNWLGWVKQRPGHGLE
WIGDIFPGSGNIHYNEKFKGKATLTADKSSSTAYMQLSSLTFEDSAVYFCARLRNWDEPMDYWGQGTITTVSSG
GGSGGGGGGGSELVMTQSPSSLTIVTAGEKVTMSCKSSQSLNLSGNQKNYLTWYQQKPGQPPKLLIYWASTR
ESGVPDRFTGSGGTDFTLTITSSVQAEDLAVYYCQNDYSYPLTFGAGTKLEIKHHHHH

도면1G

G) 항-CD3 VHVL aL Ser x 5-10 VHVL (서열 번호 : 9)

GATACAAACCTGCAGCAGTCAGGGGCTGAACCTGGCAAGACCTGGGGCCCTCAGTGAAGATGTCTGCAAGACTTC
TGGCTACACCTTTACTAGGTACACGATGCACCTGGGTAAACAGAGGCCCTGGACAGGGTCTGGAATGGATTGGAT
ACATTAATCCTAGCCGTGGTTTACTAATTAACATCAGAACTTCAAGGACAAAGGCCACATTAACACAGACAAA
TCCTCCAGCACAGCCTACATGCAACTGAGCAGCCTGACATCTGAGGACTCTGCAGTCTATTAATGTGCAAGATA
TTATGATGATCATTAATCCCTTGACTACTGGGGCCAAAGCACCACTCTCACAGTCTCCTCAGTCGAAGGTGGAA
GTGGAGGTCTGGTGGAAAGTGGAGGTCAAGTGGAGTGCAGGACATTCAGCTGACCCAGTCTCCAGCAATCATG
TCTGCATCTCCAGGGGAGAAGGTCAACATGACCTGCAGAGCCAGTTCAAGTGAAGTACATGAACCTGGTACCA
GCAGAACTCAGGCACCTCCCCAAAAGATGGATTTATGACACATCCAAAGTGGCTTCTGGAGTCCCCTTATCGCT
TCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACCTCATACTCTCTCACAATCAGCAGCATGGAGGTGAAGATGCTGCCACTTAT
TACTGCCAACAGTGGAGTAGTAACCCGCTCACGTTGGTCTGGGACCAAGCTGGAGCTGAAATCCGGAGGTGG
TGGATCCGAGGTGCAGTGTCTCGAGCAGTCTGGAGCTGAGCTGGTAAGCCCTGGGACTTCAAGTGAAGATATCCT
GCAAGGCTTCTGGATACGCCCTTCACTAACTACTGGCTAGGTGGGTAAGCAGAGGCCCTGGACATGGACTTGAG
TGGATTGGAGATATTTCCCTGGAAGTGGTAATCCACTACAATGAGAAGTTCAAGGGCAAAAGCCACACTGAC
TGCAGACAAATCTTCGAGCACAGCCTATATGCAGCTCAGTAGCCTGACATTTGAGGACTCTGCTGTCTATTCT
GTGCAAGACTGAGGAACTGGGACGAGCCTATGGACTACTGGGGCCAAAGGACCCAGGTCAAGTCTCCTCAGGT
GGTGGTGGTTCTGGCGGGCGGGCTCCGGTGGTGGTGGTCTGAGCTCGTGATGACACAGTCTCCATCCTCCCT
GACTGTGACAGCAGGAGAGAAGGTCACTATGAGCTGCAAGTCCAGTCAGAGTCTGTTAAACAGTGGAAATCAAA
AGAACTACTTGAACCTGGTACCAGCAGAAACCAGGGCAGCCTCCTAAACTGTTGATC

도면1G 계속

TACTGGGCATCCACTAGGGAATCTGGGGTCCCTGATCGCTTCACAGGCAGTGGATCTGGAACAGATTTCAC'TCT
CACCATCAGCAGTGTGCAGGCTGAAGACCTGGCAGTTATTACTGTGAGATGATTATAGTTATCCGCTCACGT
TCGGTGCTGGGACCAAGCTTGAGATCAAAACATCATCACCATCATCATTAG

(서열 번호 : 10)

DIKLQQSGAELARPGASVKMSCKTSGYTFTRYTMHWVKQRPQGQLEWIGYINPSRGYTNYNQKFKDKATLT'TDK
SSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCARYYDDHYSLDYWGQGTTLTVSSVEGGSGSGSGGVDIQLTQSPAIM
SASPGEKV'TMTCRASSSVSYMNWYQQKSGTSPKRWIYDTSKVASGVYRFSGSGTSYSLT'ISSMEAEDAATY
YCQWSSNPLTFGAGTKLELKS GGGSEVQLLEQSGAELVRP'GTSVKISCKASGYAF'NWLGWVKQRP'GHGLE
WIGDIFPGSGNIHYNEKFKGKATLTADKSSSTAYMQLSSLTFEDSAVYFCARLRNWDPEPMDYWGQGT'TTVSSG
GGSGGGGGGGSELVMTQSPSSLT'VTAGEKVTMSCKSSQSLNSGNQKNYLTWYQQKPGQPPKLLIYWASTR
ESGVPDRFT'GSGSGTDF'TLT'ISSVQAEDLAVYYCQNDYSYPLTFGAGTKLEIKHHHHH

도면1H

H) 항-CD3 VHVL stL x 5-10 VHVL (서열 번호 : 17)

GATATCAAACTGCAGCAGTTCAGGGGCTGAACTGGCAAGACCTGGGGCTCAGTGAAGATGTCTGCAAGACTTCTGGCTACACCTTTACTAGGTAACAGATGCATGGGTAAACACAGAGGCTGGACAGGTCGTGGAATGGATGGATACATTAATCCTAGCCGTGTTATATTAATTAACAACAGAACTCAAGGACAAGGCCACATGACTACAGACAAAATCCTCCAGCACAGCCTACATGCAACTGAGCAGCCTGACATCTGAGGACTCTGCACTTATTAATGTGCAAGATAATATGATGATCACTGCTGCTTGAATACATGGGGCCAAAGCACCACTCTCACAGTCTCCTCAGGTGGTGGTGGTCTGGCGGGCGGCTCCGGTGGTGGTCTGACATTCAGCTGACCCAGTCTCCAGCAATCATGTCTGCACTCTCCAGGGAGAAGTCAACCATGACCTGCAGAGCCAGTTCAAGTGTAAGTTACATGAATGGTACCAGCAGAAATCAGGACCTCCCCCAAAAGATGGATTTATGACACATCCAAAAGTGGCTCTGGAGTCCCTTATCGCTTCAGTGGCAAGTGGGTCTGGGACCTCATACTCTCTACAAATCAGCAGCATGGAGGCTGAAGATGCTGCCACTTATTACTGCCAAACAGTGGAGTGAATAACCCGCTCACGTTCCGTGGTGGGACCAAGCTGGAGCTGAAATCCGGAGGTGGTGGATCCGAGGTGCAGCTGCTCGAGCAGTCTGGAGCTGAGCTGGTAAAGGCTGGGACTTCAGTGAAGATATCCTGCAAGGCTTCTGGATACGCTTCACTAACATCTGGCTAGGTTGGTTAAAGCAGAGGCTGGACATGGACTTGAGTGGATTTGGAATATTTCCCTGGAAAGTGGTAATAATCCACTACAATGAGAACTTCAAGGGCAAGCCACACTGACTGCAGACAAATCTCGAGCACAGCCATAATGCAGCTCAGTAGCCTGACATTTGAGGACTCTGCTGTCTATTTCTGTGCAAGACTGAGGAACTGGACAGCCATAATGGACTACTGGGGCCAAAGGACCCAGCTCACCGTCTCCTCAGGTGGTGGTGGTCTGGCGGGCGGCTCCGGTGGTGGTCTTGAGCTCGTGTATGACACAGTCTCCATCCTCCCTGACTGTGACAGCAGGAGAAAGTCACTAATGAGCTGCAAGTCCAGTCCAGTCTGTAAACAGTGGAAATCAAAAGAACTACTTGACCTGGTACCAGCAAAACAGGGCAGCCTCCTAAACTGTGATCTACTGGGCATCCACTAGGGAATCTGGGTCCCTGATCCGCTTCAAGGAGTGGATCTGGAAACAGATTCACCTCACCATCA

도면1H계속

GCAGTGTGCAGGCTGAAGACCTGGCAGTTTATTACTGTGAGATGATTATAGTTATCCGCTCACGTTCGGTGCT
GGGACCAAGCTTGAGATCAAAACATCATCACCATCATTAG

(서열 번호 : 18)

DIKLQQSGAEIARPGASVKMSCKTSGYTFTRYTMHWVKORPGQGLEWIGYINPSRGYTNYNQKFKDKATLTTDK
SSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCARYDDHYCLDYWGQGTTLTVSSGGGGGGGGGGSDIQLTQSPAIMSAS
PGEKVMTCRASSSVSYMNWYQQKSGTSPKRWIYDTSKVASGVPRFSGSGSTSYSLTSSMEAEADAATYYCQ
QWSSNPLTFGAGTKLELKSGGGSEVQLLEQSGAELVRPGTSVKISCKASGYFTNWLGWVKQRPQGHGLEWIG
DIFPGSGNIHYNEKFKGKATLTADKSSSTAYMQLSSLTFEDSAVYFCARLRNWDPEMDYWGQGTITVTVSSGGGG
SGGGGGGGSELVMTQSPSSLTVTAGEKVTMSCKSSQSLNSGNQKNYLTWYQQKPGQPPKLLIYWASTRESG
VPDRFTGSGGTDFTLTITSSVQAEDLAVYYCQNDYSYPLTFGAGTKLEIKHHHHH

도면11

D) 항-CD3 VHVL stL x 5-10 VHVL (서열 번호 : 19)

GATATCAAACTGCAGCAGTCAGGGGCTGAACCTGGCAAGACCTGGGGCCTCAGTGAAGATGTCTGCAAGACTTC
TGGCTACACCTTTACTAGGTACACGATGCACCTGGGTAAAAACAGAGGCCCTGGACAGGGTCTGGAATGGATTGGAT
ACATTAATCCTAGCCGTGGTTATACTAATTAACAATCAGAAAGTTCAAGGACAAAGGCCACATTGACTACAGACAAA
TCCTCCAGCACAGCCTACATGCAACTGAGCAGCCTGACATCTGAGGACTCTGCAGTCTATTACTGTGCAAGATA
TTATGATGATCATTAATGCTTGAATGCTGACTACTGGGGCCAAAGCACCACTCTCACAGTCTCCTCAGGTGGTGGTT
CTGGCGGGCGGGCTCCGGTGGTGGTGGTTCTGACATTCAGCTGACCCAGTCTCCAGCAATCATGTCTGCATCT
CCAGGGGAGAAGGTCAACATGACCTGCAGAGCCAGTTCAAGTGAAGTTACATGAACTGGTACCCAGCAGAAGTC
AGGCACCTCCCCCAAAGATGGATTATGACACATCCAAAGTGGCTTCTGGAGTCCCTTATCGCTTCAGTGGCA
GTGGGTCTGGGACCTCATACTCTCTCACAATCAGCAGCATGGAGGCTGAAGATGCTGCCACTTATTACTGCCAA
CAGTGGAGTAGTAACCCGCTCACGTTCGGTCTGGGACCAAGCTGGAGTGAAATCCGGAGGTGGTGGATCCGA
GCTCGTGTGACACAGTCTCCATCCCTCCCTGACTGTGACAGCAGGAGAGAAGTCACTATGAGCTGCAAGTCCA
GTCAGAGTCTGTTAAACAGTGGAAATCAAAAGAACTACTTGACCTGGTACCAGCAGAAAACAGGGCAGCCTCCT
AACTGTTGATCTACTAGGCAATCCACTAGGGAATCTGGGGTCCCTGATCGCTTACAGGCAGTGGATCTGGAAC
AGATTTCACCTCACCATCAGCAGTGTGCAGGCTGAAGACCTGGCAGTTATTACTGTCAAGATGATTATAGTT
ATCCGCTCACGTTCGGTGTGGGACCAAGCTTGAGATCAAAGTGGTGGTCTTGGCGGGCGGGCTCCGGT
GGTGGTGGTTCTGAGGTGCAGTGTCTCGAGCAGTCTGGAGCTGAGCTGGTAAGGCTGGGACTTCAGTGAAGAT
ATCCTGCAAGGCTTCTGGATACGCCCTTCACTAACTACTGGCTAGGTTGGTTAAAGCAGAGGCCCTGGACATGGAC
TTGAGTGGATTGGAGATATTTCCCTGGAAGTGGTAATATCCACTACAATGAGAAGTCAAGGGCAAGGCCACA
CTGACTCCAGACAAAATCTTCGAGCACAGCCTATATGCAGCTCAGTAGCCTGACAT

도면11계속

TTGAGGACTCTGCTGCTATTTCTGTGCAAGACTGAGGAAGTGGGACGAGCCCTATGGACTACTGGGGGCCAAGGG
ACCACGGTCACCGTCTCCTCACATCATCACCATCATCATTAG

(서열 번호 : 20)

DIKLOQSGAELARPGASVKMSCKTSGYTFTRYTMHWVKQRPQGQLEWIGYINPSRGYTNYNQKFKDKATLTIDK
SSSTAYMQLSSLTSEDSAVYICARYDDHYCLDYWGQGTTLTVSSGGGGGGGGGGSDIQLTQSPAIMSAS
PGEKVMTCRASSSVSYMNWYQQKSGTSPKRWIYDTSKVASGVPRFSGSGSTSYSLTSSMEAEADAATYYCQ
QWSSNPLTFGAGTKLELKSGGGGSELVMTQSPSSLTVTAGEKVTMSCKSSQSLNSGNQKNYLTWYQQKPGQPP
KLLIYWASTRESGVPDRFTGSGGTDFTLTISVQAEDLAVYYCQNDIYSPYPLTFAGATKLEIKGGGGSGGGSG
GGSEVQLLEQSGAELVRPQTSVKISCKASGYFTNWLGWVKQRPQGHLEWIGDIFPGSGNIHYNEKFKGKAT
LTADKSSSTAYMQLSSLTFEDSAVYFCARLRNWDEPMDYWGQGTTVTVSSHHHHHH

J) 항-CD3 VHVL aL x 3-1 VHVL (서열 번호 : 45)

GATA TCAAAC TGCAGCAGT CAGGGGCT GAACT GGCAAGACCT GGGGCCCT CAGT GAAGAT GTCTCT GCAAGACTTCT
TGGCTACACCTTTACTAGGTACAGATGCATGGGTGAAACAGAGGCCCTGGACAGGGTCTGGAATGGATTTGGAT
ACATTAATCTTAGCCGTGGTTATACTAATACAATCAGAAGTTCAAGGACAAGGCCACATTGACTACAGACAAA
TCTTCCAGCACAGCCTACATGCAACTGAGCAGCCTGACATCTGAGGACTCTGCAGTCTATTACTGTGCAAGATA
TTATGATGATCAITACTGCTTGACTACTGGGCCAAGGCACCACTCTCACAGTCTCCTCAGTCTGAAAGGTGGAA
GTGGAGGTTCTGGTGGAAAGTGGAGGTTCAGGTGGAGTCGACGACATTCAGCTGACCCAGTCTCCAGCAATCATG
TCTGCATCTCCAGGGGAGAAGTCAACATGACCTGCAGAGCCAGTTCAAGTTAAGTTACATGAAC TGGTACCA
GCAGAACTCAGGCACCTCCCCAAAAGATGGATTTATGACACATCCAAAAGTGGCTTCTGGAGTCCCTTATTCGCT
TCAGTGGCAGTGGTCTGGACCTCAVACTCTCAAAATCAGCAGCTGGAGCTGAAGATGCTGCCACTTAT
TACTGCCAAAGTGGATAGTAAACCCGCTCAGCTTCGGTGCTGGGACCAAAGCTGGAGCTGAAATCCGGAGGTGG
TGGATCCGAGGTGCAGTCTCGAGCAGTCTGGAGCTGAGCTGGTGAACCTGGGGCCTCAGTGAAGATATCCT
GCAAGGCTCTGGATACGCTTCACTAACACTACTGGTGGTGGTAAAGCAGAGGCCCTGGACATGGACTTGAG
TGGATTGGAGATCTTTTCCCTGGAAGTGGTAAATACTCACTACAATGAGAGGTTCAGGGGCCAAAGCCACACTGAC
TG CAGACAAATCCTCGAGCACAGCCTTTATGCAGCTCAGTAGCCTGACATCTGAGGACTCTGCTGTCTATTCT
GTGCAAGATTGAGGAAC TGGGACGAGGCTATGGACTACTGGGGCCAAGGACCAAGCTCACCCTCTCCTCAGGT
GGTGGTGGTCTGGCGGGCGGGCTCCGGTGGTGGTGGTCTGAGCTCGTCA TGACCCAGTCTCCATCTTATCT
TGCTGCATCTCCTGGAGAAACCAATTAATAATAATTCAGGGCAAGTAAGAGCAATTAGCAAAATATTTAGCCTGGT
ATCAAGAGAAAAACCTGGGAAAACATAAAGCTTCTTAATCTTGGATCCACTTTTGCAATCTGGAAATCTCCATCA
GGGTTCAGTGGCAGTGGATCTGGTACAGATTTCACTTCAACCAATCAGTAGCCTGG

도면1J

도면1J계속

AGCCTGAAGATTTTGCAATGTATTACTGTCAACAGCATAATGAATATCCGTACACGTTCCGAGGGGGGACCAAG
CTTGAGATCAAACATCATCACCATCATCATTAG

(서열 번호 : 46)

DIKLQOSGAELARPGASVKMSCKTSGYTFTRYTMHWVKORPGQGLEWIGYINPSRGYTNYNQKFKDKATLTIDK
SSSTAYMQLSSLTSEDSAVYICARYYDDHYCLDYWGQGTTLTVSSVEGGSGSGGGVDDIQLTQSPAIM
SASPGEKVTMTCRASSSVSYMNWYQQKSGTSPKRWIYDTSKVASGVPIRFSGGSGTSYSLTISSMEAEADAATY
YCQOWSSNPLTFGAGTKLELKS GGGGSEVQLLEQSGAELVPGASVKISCKASGYFTNFWLGVKQRPFGHGLE
WIGDLFPGSGNTHYNERFRGKATLTADKSSSTAFMQLSSLTSEDSAVYFCARLRNWDAMDYWGQGTTVTVSSG
GGSGGGSGGGSELVMTQSPSYLAASPGETITINCRASKSISKYLAWYQEKPGTKNKLLIYSGSTLQSGIPS
RFSGSGSGTDFTLTITSSLEPEDFAMYICQQHNEYPTFFGGGTKLEIKHHHHH

도면 1K

K) 항-CD3 VHVL aL Ser x 3-1 VHVL (서열 번호 : 47)

GATAACAACTGCAGCAGTCAGGGGCTGAACTGGCAAGACCTGGGGCTCAGTGAAGATGTCCTGCAAGACTTC
TGGCTACACCTTTACTAGGTACACGATGCATGGGTAAAAACAGAGGCCCTGGACAGGGTCTGGAATGGATTGGAT
ACATTAATCCTAGCCGTGGTTATACTAATTAACAATCAGAAGTTCAAGGACAAGGCCACATTGACTACAGACAAA
TCCTCCAGCACAGCCACATGCAACTGAGCAGCCTGACATCTGAGGACTCTGCAGTCTATTACTGTGCAAGATA
TTATGATGATCATTAATCTCCCTTGACTACTGGGGCCAAAGCACCATCTCACAGTCTCCTCAGTCGAAGGTGAA
GTGGAGGTTCTGGTGGAACTGGAGGTTCAAGTGGAGTCGACGACATTCAGCTGACCCAGTCTCCAGCAATCATG
TCTGCACTCCAGGGGGAAGGTCACCATGACCTGCAGAGCCAGTTCAAGTGTAAAGTTACATGAACTGGTACCA
GCAGAACTCAGGCACCTCCCCCAAAGATGGATTTATGACACATCCAAAGTGGCTTTGGAGTCCCTTATCGCT
TCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACCTCATACTCTCTCACAAACAGCAGCATGGAGGCTGAAGATGCTGCCACTTAT
TACTGCCAACAGTGGAGTAGTAACCCGCTCACGTTCCGTGCTGGACCAAGCTGGAGCTGAAATCCGGAGGTGG
TGGATCCGAGGTGCAGCTGCTCGAGCAGTCTGGAGCTGAGCTGGTGAACCTGGGGCTCAGTGAAGATATCCT
GCAAGGCTCTGGATACGCCCTTCACTAACTACTGGCTAGGTGGGTAAAGCAGAGGCTGGACATGGACTTGAG
TGGATTGGAGATCTTTTCCCTGGAAGTGGTAACTCACTACAATGAGAGGTTCAAGGGCAAGCCACACTGAC
TGCAGACAAATCCTCGAGCACAGCCTTTATGCAGCTCAGTAGCCTGACATCTGAGGACTCTGCTGTCTATTCT
GTGCAAGATTGAGGAACCTGGGACGAGGCTATGGACTACTGGGGCCAAAGGACCCAGGTCACCGTCTCCTCAGGT
GGTGGTGGTCTTGGGGGGGGGCTCCGGTGGTGGTCTGAGCTCGTCATGACCCAGTCTCCATCTTATCT
TGCTGCATCTCCTGGAGAAACCAATTAATTAATTCAGGGCAAGTAAGCATTAGCAAAATATTAGCCTGGT
ATCAAGAGAAAACCTGGGAAAACATAATAAGCTTCTTATCTACTCTGGATCCACTTTG

도면1K계속

CAATCTGGAATTCCATCAAGGTTCAAGTGGCAGTGGATCTGGTACAGATTTCACCTCTCACCATCAGTAGCCTGGA
GCCTGAAGATTTTGCAATGTATTACTGTCAACAGCATAATGAATATCCGTACACGTTCCGAGGGGGGACCAAGC
TTGAGATCAAAACATCATCACCATCATCATTAG

(서열 번호 : 48)

DIKLOQSGAELARPGASVKMSCKTSGYTFTRYTMHWVKORPGQGLEWIGYINPSRGYTNYNQKFKDKATLT'TDK
SSSTAYMQLSSLTSEDSAVYICARYDDHYSLDYWGQGT'TLTVSSVEGGSGSGSGGVDIQLTQSPAIM
SASPGEKV'TMTCRASSSVSYMNIYQQKSGTSPKRWIYDTSKVASGVPIRFSGSGSTSYSLTISMEAEADAATY
YCQWSSNPLTTFGAGTKLELKS GGGGSEVQLLEQSGAELVKPGASVKISCKASGYAF'N'YWLGVKQRP'GHGLE
WIGDLFPGSGNTHYNERFRGKATLTADKSSSTAFMQLSLTSSEDSAVYFCARLRNWDEAMDYWGQGT'TVTVSSG
GGSGGGGGGGSELVMTQSPSYLAASPGETITINCRASKSISKYLAWYQEKPGKTNKLLIYSGSTLQSGIPS
RFSGSGSGTDF'TLTITISSEPEDFAMYICQQHNEYPTTFGGG'KLEIKHHHHHH

도면 1L

L) 항-CD3 VHVL aL x 3-5 VHVL (서열 번호 : 49)

GATAACAACTGCAGCAGTCAGGGGCTGAACCTGGCAAGACCTGGGGCCTCAGTGAAGATGTCTGCAAGACTTC
 TGGCTACACCTTTACTAGGTACACGATGCACCTGGGTAAAAACAGAGGCCCTGGACAGGCTCTGGAATGGATTGGAT
 ACATTAATCCTAGCCGTGGTTATACTAATTACAATCAGAACTTCAAGGACAAAGGCCACATTGACTACAGACAAA
 TCCTCCAGCACAGCCTACATGCAACTGAGCAGCCTGACATCTGAGGACTCTGCAGTCTATTACTGTGCAAGATA
 TTATGATGATCATTACTGCCCTTGACTACTGGGGCCAAAGCACCATCTCACAGTCTCCTCAGTCTGAAAGGTGGAA
 GTGGAGGTCTGGTGGAAGTGGAGGTCAACATGACCTGCAGAGCCAGTTCAGTGAACATCAATGAACTGGTACCA
 TCTGCATCTCCAGGGGAGAAGGTCAACATGACCTGCAGAGCCAGTTCAGTGAACATCAATGAACTGGTACCA
 GCAGAAGTCAGGCACCTCCCCCAAAGATGGATTATGACACATCCAAAGTGGCTTCTGGAGTCCCTTATCGCT
 TCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACCTCATACTCTCTACAATCAGCAGCATGGAGGTGAAGTGTCCCTTATCGCT
 TACTGCCAACAGTGGAGTAGTAACCCGCTCAGTTCGGTGGTGGACCAAGCTGGAGCTGAAATCCGGAGGTGG
 TGGATCCGAGGTGCAGCTGCTCGAGCAGTCTGGAGCTGAGCTGGTAAAGCCTGGGACTTCAGTGAAGCTGTCTT
 GCAAGGCTTCTGGCTACACCTTCAAAAGCTATGGTTAAGCTGGTGAAGCAGAGAACTGAAGGCAAGGCCCTTGAG
 TGGATTGGAGAGGTTTATCCTAGAAATGGTAATGCTTACTACAATGAGAAGTCAAGGCAAGGCCCTTGAGTCTTCT
 TGCAGACAAATCCTCCAGCACAGCCTCCATGGAGCTCCGAGCCTGACATCTGAGGACTCTGCGGTCTATTCT
 GTGCAAGACGGGGATCCTACGGTAGTAACAGCTGGAGCTCCGAGCCTGACATCTGAGGCTCTGAGGCTCTGAGGCTCACC
 GTCTCCTCAGGTGGTGGTTCTGGCGGGCGGGCTCCGGTGGTGGTCTGAGCTCGTGAAGCCACCGTCAAC
 TCCACTCTCCCTGCCTGTCACTCTTGGAGATCAAGCCTCCATCTCTTGCAGATCTAGTCAGAGCCTTGTACACA
 GTAATGGAAACACCTATTTACATTGGTACCTGCAGAAGCCAGGCCAGTCTCCAAAGCTCCTGATCTACAAAGTT
 TCCAAACCGATTTTCTGGGGTCCCAGACAGGTTCACTGGCAGTGGATCAGGGACAG

도면1L계속

ATTTCACACTCAAGATCAGCAGAGTGGAGGCTGAGGATCTGGGAGTTTATTTCTGCTCTCAAAGTACACATGTT
CCGTACACGTTCGGAGGGGGACCAAGCTTGAGATCAAAACATCATCACCATCATTTAG

(서열 번호 : 50)

DIKLQSGAEELARPGASVKMSCKTSGYTFTRYTMHWVKQRPGQGLEWIGYINPSRGYTNYNQKFKDKATLTIDK
SSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCARYDDHYCLDYWGQGTTLTVSSVEGGSGSGSGGVDDIQLTQSPAIM
SASPGEKVMTCRASSSVSYMNWYQQKSGTSPKRWIYDTSKVASGVPYRFSGSGTSYSLTSSMEAEADAATY
YCQOWSSNPLTFGAGTKLELKS GGGSEVQLLEQSGAELVRPGTSVKLSCKASGYTFTSYGLSWVKQRTGQGLE
WIGEVYPRIGNAYYNEKFKGKATLTADKSSSTASMELRSLTSEDSAVYFCARRGSYGSDYDWFVWGQGTIVT
VSSGGGGSGGGGGGSELVMTQTPLSLPVSLGDQASISCRSSQSLVHSNGNTYLHWYLQKPGQSPKLLIYKV
SNRFGVPPDRFSGSGGTDFTLKISRVEAEDLGVYFCSQSTHVPYTFGGGTKEIKHHHHH

도면1M

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

GATATCAAACTGCAGCAGTCAGGGGCTGAACCTGGCAAGACCTGGGGCCTCAGTGAAGATGTCTGCAAGACTTC
TGGCTACACCTTTACTAGGTACACGATGCACCTGGGTAAAAACAGAGGGCTGGACAGGGTCTGGAATGGATTGGAT
ACATTAATCCTAGCCGTGGTTATACTAATTAACAATCAGAACTTCAAGGACAAAGGCCACATTGACTACAGACAAA
TCCCTCCAGCACAGCCTACATGCAACTGAGCAGCCTGACATCTGAGGACTCTGCAGTCTATTACTGTGCAAGATA
TTATGATGATCATTAATCCCTTGACTACTGGGGCCAAAGCACCACTCTCACAGTCTCCTCAGTCGAAGGTGGAA
GTGGAGGTCTTGGTGAAGTGGAGGTCAACCTGAGGTGGAGTCGACGACATTCAGCTGACCCAGTCTCCAGCAATCATG
TCTGCACTCCAGGGGAGAAGGTCAACCTGACCTGCAGAGCCAGTTCAAGTGTAAAGTTACATGAAGTGGTACCA
GCAGAACTCAGGCACCTCCCCCAAAGATGGATTTATGACACATCCAAAGTGGCTTCTGGAGTCCCTTATCGCT
TCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACCTCATACTCTCTCACAATCAGCAGCATGGAGGTGAAGATGCTGCCACTTAT
TACTGCCAACAGTGGAGTAGTAACCCGCTCACGTTGGTGTGGGACCAAGCTGGAGCTGAAATCCGGAGGTGG
TGGATCCGAGGTGCAGCTGCTCGAGCAGTCTGGAGCTGAGCTGGTAAAGCCTGGGACTTCAAGTGAAGCTGTCT
GCAAGGCTTCTGGCTACACCTTCAAAAGCTATGGTTAAAGTGGTGAAGCAGAGAACTGGAAGGCCACACTGAC
TGGATTGGAGAGGTTTATCCTAGAAATGGTAAATGCTTACTACAATGAGAAGTTCAAGGCCAAGGCCACACTGAC
TGCAGACAAATCCTCCAGCACAGCGTCCATGGAGCTCCGAGCCTGACATCTGAGGACTCTGCGGTCTATTCT
GTGCAAGACGGGGATCCTACGGTAGTAACCTACGACTGGTACTTCGATGTCTGGGGCCAAAGGCCACCGTCAAC
GTCTCCTCAGGTGGTGGTTCTGGCGCGCGGCTCCGGTGGTGGTCTGAGCTCGTATGACCCAGAC
TCCACTCTCCCTGCCTGTCACTCTTGGAGATCAAGCCTCCATCTCTTGCAGATCTAGTCAGAGCCTTGTACACA
GTAAATGGAAACACCTATTTACATTTGTTACCTGCAGAAAGCCAGGCCAGTCTCCAAAGCTCCTGATCTACAAAGTT
TCCAAACCGATTTTCTGGGGTCCCAGACAGGTTTCAAGTGGCAGTGGATCAGGGACAG

도면1M계속

ATTTCACACTCAAGATCAGCAGAGTGGAGGCTGAGGATCTGGGAGTTTATTCTGCTCTCAAAGTACACATGTT
CCGTACACGTTCGGAGGGGGACCAAGCTTGAGATCAACATCATCACCATCATTTAG

(서열 번호 : 52)

DIKLQSGAEIARPGASVKMSCKTSGYTFTRYTMHWVKQRPQGQLEWIGYINPSRGYTNYNQKFKDKATLTIDK
SSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCARYYDDHYSLDYWGQGTTLTVSSVEGGSGGSGGVDIQLTQSPAIM
SASPGEKVMTCRASSSVSYMNWYQQKSGTSPKRWIYDTSKVASGVYRFSGSGTSYSLTSSMEADAATY
YCQWSSNPLTFGAGTKLELKS GGGSEVQLLEQSGAEIVRPGETSVKLSCKASGYFTSYGLSWVKQRTGQGLE
WIGEVYPRIGNAYYNEKFKGKATLTADKSSSTASMELRSLTSEDSAVYFCARRGSYGSNYDWYFDVWGQGTVT
VSSGGGGGGGGGGSELVMTQTPLSLPVSLGDQASISCRSSQSLVHSNGNTYILHWYLQKPGQSPKLLIYKV
SNRFSGV PDRFSGSGGTDFTLKISRVEAEDLGVIYFCSQSTHVPYTFGGGTKEIKHHHHH

도면1N

N) 항-CD3 V_HV_L stL x 3-5 V_HV_L (서열 번호: 53)

GATAATCAAACCTGCAGCAGTTCAGGGGCTTGAACCTGGCAAGACCTGGGGCTTCAGTGAAGATGTCTTGCAGAGACTTC
TGGCTACACCTTTTACTAGGTACACGATGCACTGGTTAAACAGAGGCTTGGACAGGTCCTGGAATGGATGGAT
ACATTAATCTTAGCGGTGTATCTAATTAACATCAGAAGTTCAAGACAAGGCCACATTGACTACAGACAAA
TCTCCAGCACAGCCTACATGCAACTGAGCAGCCTGACATCTGAGGACTCTGCAGTCTATTACTGTGCAAGATA
TTATGATGATCAATTACTGCCTTGACTACTGGGGCCAAGGCCACTCTCACAGTCTCTCAGGTGGTGGTT
CTGGCGGGCGGCTCCGCTGGTGGTCTTGACATTCAGCTGACCCAGTCTCCAGCAATCATGTCTGCATCT
CCAGGGGAGAAAGGTCAACATGACCTGCAGAGCCAGTTCAAGTGTAACTTACATGAACCTGGTACCAGCAGAAGTC
AGGCACCTCCCCAAAAGATGGATTTATGACACATCCAAAGTGGCTCTGGAGTCCCTTATCGCTTCAGTGGCA
GTGGTCTGGGACCTCATATCTCTCACAAACAGCAGCATGGAGGCTGAAGATGCTGCCACTATTACTTGCCAA
CAGTGGAGTAGTAAACCGCTCACGTTCCGTTCGGTGCTGGGACCAAGCTGGAGCTGAAATCCGAGGTTGGTGGATCCGA
GGTGCAGTGTCTGACAGCTCTGGAGCTTGAGCTGGTTAAGGCTTGGGACTTCAAGTGAAGCTGTCTTCAAGGCTT
CTGGCTACACCTTACAAAGCTATGGTTTAAAGCTGGTGAAGCAGAGAACTGGACAGGGCTTGAAGGATGGAG
GAGGTTTATCCTAGAAATGGTTAATGCTTTACTACAATGAGAAGTTCAAGGGCAAGGCCACACTGACTGCAGACAA
ATCTCCAGCACAGCCTCCATGGAGCTCCGCAAGCTTGACATCTGAGGACTCTGGGTCTATTTCTGTGCAAGAC
GGGGATCCTACGGTAGTAACACGACTGGTACTTCGATGTCTGGGGCCAAGGACCAAGTCAACCGTCTCCTCA
GGTGGTGGTGGTCTGGGGGGGGGCTCCGTTGGTGGTGGTCTGAGCTCGTGATGACCCAGACTCCACTCTC
CCTTGCTGTGAGATCAAGCCTCCATCTCTTGCAGATCTAGTCAGAGCCTGTACACAGTAATGGAA
ACACCTATTACATTTGATCTGCAGAAACGAGCCAGTCTCCAAAGCTCTTGATCTACAAAGTTTCCAAACCGA
TTTTTTCTGGGGTCCAGACAGTTTCACTGGCAGTGGATCAGGGACAGATTTACAC

도면1N계속

TCAAGATCAGCAGAGTGGAGGCTGAGGATCTGGGAGTTTATTTCTGCTCTCAAAGTACACATGTTCGGTACACG
TTTCGGAGGGGGACCAAGCTTGAGATCAAAACATCATCACCATCATCATTAG

(서열 번호 : 54)

DIKLQQSGAELARPGASVKMSCKTSGYTFTRYTMHWVKQRPQGQLEWIGYINPSRGYTNYNQKFKDKATLTTDK
SSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCARYDDHYCLDYWGQGTTLTVSSGGGGGGGGGGSDIQLTQSPAIMAS
PGEKVMTTCRASSSVSYMNWYQQKSGTSPKRWIYDTSKVASGVPYRFSGSGTSYSLTISSMEAEDAATYYCQ
QWSSNPLTFGAGTKLELKS GGGGSEVQLLEQSGAELVRPGTSVKLSCKASGYFTSYGLSWVKQRTGQGLEWIG
EYIPRIGNAYYNEKFKGKATLTADKSSSTASMEIIRSLTSEDSAVYFCARRGSYGSNDWYFDVWGQGTTVTVSS
GGGGGGGGGGSELVMTQTPLSLPVSLGDQASISCRSSQSLVHSNGNTYLHWYLQKPGQSPKLLIYKVSNR
FSGVPDRFSGSGGTDFTLKISRVEAEDLGVYFCSQSTHPYTFGGGTKLEIKHHHHH

도면10

O) 항-CD3 VHVL aL x 4-1 VHVL (서열 번호 : 55)

GATA'CAAACTGCAGCAGT'CAGGGGCT'GAACTGGCAAGACCTGGGGCCCTCAGTGAAGATGTCCTGCAAGACTTC
 TGGCTACACCTTTACTAGGTACACGAT'GCACTGGGTAAACACAGAGCCCTGGACAGGCTCTGGAATGGATTGGAT
 ACATTAAT'CCTAGCCGTGGTTATACTAAT'ACAAT'CAGAAGTTCAGAGTCAAGGACAAAGGCCACATTGACTACAGACAAA
 TCCTCCAGCACAGCCTACATGCAACTGAGCAGCCTGACAT'CTGAGGACTCTGCAGTCTATTAATCTGTGCAAGATA
 TTATGATGATCATTAATGCTT'GACTACTGGGGCCCAAGCACCACTCTCACAGTCTCCTCAGT'CGAAGGTGGAA
 GTGGAGGTCTGGTGAAGTGGAGGT'CAAGTGGAGT'CGACGACAT'CAAGTGAAGTCAATGAACCTGGTACCA
 TCTGCATCTCCAGGGGAGAAGT'CAACATGACCTGCAGAGCCAGT'CAAGTGAAGTCAATGAACCTGGTACCA
 GCAGAAGT'CAGGCACCTCCCCCAAAAGATGGATTATGACACAT'CCAAAGTGGCTTCTGGAGTCCCTTATCGCT
 TCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACCTCATACTCTCTACAATCAGCAGCATGGAGGCTGAAGATGCTGCCACTTAT
 TACTGCCAACAGTGGAGTAGTAACCGCTCACGTTCGGTGTGGGACCAAGCTGGAGCTGAAATCCGGAGGTGG
 TGGATCCGAGGTGCAGTGTCTCGAGCAGTCTGGAGT'GAGTGGTAAGGCTGGACTTCAGTGAAGATATCCT
 GCAAGGCTCTGGATACGCCCTCACTAACTACTGGTAGGTGGGTAAGCAGAGGCCCTGGACATGGACTTGAA
 TGGGTGGAGATATTTCCCTGGAAGTGGTAATGCTCACTACAATGAGAAGTTCAGGACTCTGCTGTCTATTTCT
 TGCAGACAAGTCCCTCGTACACAGCCTATATGCAGT'CACTAGCCTGACAT'CTGAGGACTCTGCTGTCTATTTCT
 GTGCAAGATTGCGGAAC'TGGGACGAGGCTATGGACTACTGGGGCCCAAGGACCAAGGTCACCGTCTCCTCAGGT
 GGTGGTGGTTCTGGCGGGCGGGCTCCGGTGGTGGTGGTCTGAGCTCGTGATGACACAGTCTCCATCCTCCCT
 GAGTGTCTCAGCAGGAGAGAAGGTCACTATGAGCTGCAAGTCCAGT'CAAGT'CTGTTAAACAGTGGAAATCAAA
 AGAACTACTTGGCCTGGTACCAGCAGAAACCAAGGCGAGCCTCCTAAACTGTGTATCTACGGGGCATCCCACTAGG
 CAATCTGGGGTCCCTGATCGCTTCACAGGCGAGTGGATCTGGAACAGATTTCATCTC

도면10 계속

TCACCATCAGCAGTGTGCAGGCTGAAGACCTGGCAGTTTATTACTGTCTCAGAATGATTATAGTTATCCGTACACG
TTTCGGAGGGGGACCAAGCTTGAGATCAAAACATCATCACCATCATCATTAG

(서열 번호 : 56)

DIKLQQSGAELARPGASVKMSCKTSGYTFTRYTMHWVKQRPQGQGLEWIGYINPSRGYTNYNQKFKDKATLTTDK
SSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCARYYDDHYCLDYWGQGTTLTVSSVEGGSGSGSGGVDIQLTQSPAIM
SASPGEKVMTCRASSVSVMNWIYQKSGTSPKRWIYDTSKVASGVPYRFSGSGSGTSYSLTSSMEAEDAATY
YCQWSSNPLTFGAGTKLELKSGGGSEVQLLEQSGAELVRPGTSVKISCKASGYAFNYYLWLVKQRPQGHGLE
WVGDIFFPGSGNAHYNEKFKGKATLTADKSSYTAQMQLSSLTSEDSAVYFCARLRNWDAMDYWGQGTITVTVSSG
GGSGGGGGGGGSELVMTQSPSSLVSAGEKVTMSCKSSQSLINSGNQKNYLAWYQQKPGQPPKLLIYGASTR
ESGVPDRFTGSGSGTDFTLTISSVQAEDLAVYYCQNDYSYPYTFGGGKLEIKHHHHH

도면1P

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

GATATCAAACTGCAGCAGTCAAGGGCTGAACTGGCAAGACCTGGGGCTCAGTGAGATGTCCTGCAAGACTTC
TGGCTACACCTTTACTAGGTACACGATGCACTGGGTAAAACAGAGGCTTGACAGGCTCTGGAATGGATTGGAT
ACATTAATCCTAGCCGTGGTTATACTAATTAACAATCAGAAGTTCAAGGACAAGGCCACATTGACTACAGACAAA
TCCGCCAGCACAGCCTACATGCAACTGAGCAGCCTGACATCTGAGGACTCTGCAGTCTATTACTGTGCAAGATA
TTATGATGATCATTAATCCCTTGACTACTGGGGCCCAAGCACCACTCTCACAGTCTCCTCAGTCAAGGTGGAA
GTGGAGGTTCTGGTGAAGTGGAGGTTCAAGTGGAGTCGACGACATTCAGTGAACCACTCCAGCAATCATG
TCTGCATCTCCAGGGGAGAAGTCAACATGACCTGCAGAGCCAGTTCAAGTGTAAAGTTACATGAACCTGGTACCA
GCAGAAGTCAGGCACCTCCCCCAAAAGATGGATTATGACACATCCAAAGTGGCTTCTGGAGTCCCTTATCGCT
TCACTGGCAGTGGGTCTGGGACCTCATACTCTCTACAATCAGCAGCATGGAGCTGAAAGTCCCTTATCGCT
TACTGCCAACAGTGGAGTAGTAACCCGCTCACGTTCCGTGCTGGGACCAAGCTGGAGCTGAAATCCGGAGGTGG
TGGATCCGAGGTGCAGCTGCTCGAGCAGTCTGGAGCTGAGCTGGTGGTAAAGGCTGGACTTCAGTGAAGATATCCT
GCAAGGCTTCTGGATACGCCTTCACTAACTACTGGCTAGGTGGTTAAGCAGAGGCTTGACATGGACTTGAA
TGGGTTGGAGATAATTTCCCTGGAAGTGGTAATGCTCACTACATGAGAAGTTCAAGGGCAAGCCACACTGAC
TGCAGACAAGTCCCTCGTACACAGCCTATATGCAGCTCAGTAGCCTGACATCTGAGGACTCTGCTGTCTATTCT
GTGCAAGATTGCGGAACCTGGGACGAGGCTATGGACTACTGGGGCCCAAGGACCAAGCTCACCGTCTCCTCAGGT
GGTGGTGGTTCTGGCGGGCGGGCTCCGGTGGTGGTCTGAGCTCGTGATGACACAGTCTCCATCCTCCCT
GAGTGTGTCAGCAGGAGAGAAGTCACTATGAGCTGCAAGTCCAGTCCAGTCTGTTAAACAGTGGAAATCAAA
AGAACTACTTGGCCCTGGTACCAGCAGAAACCAAGGCGAGCTCTTAACCTGTTGATCTACGGGGCATCCCACTAGG
GAATCTGGGGTCCCTGATCGCTTCACAGGCAGTGGATCTGGAACAGATTTCATCTC

도면1P계속

TCACCATCAGCAGTGTGCAGGCTGAAGACCTGGCAGTTTATTACTGTCAATGATTATAGTTATCCGTACACG
TTTCGGAGGGGGACCAAGCTTGAGATCAAAACATCATCACCATCATCATTAG

(서열 번호 : 58)

DIKLOQSGAELARPGASVKMSCKTSGYTFTRYTMHWVKQRPQGQLEWIGYINPSRGYTNYNQKFKDKATLTTDK
SSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCARYDDHYSLDYWGQGTTLTVSSVEGGSGGGGGVDDIQLTQSPAIM
SASPGEKVTMTCRASSSVSYMNWYQQKSGTSPKRWIYDTSKVASGVYRFSGSGTSYSLTSSMEADAATY
YCQWSSNPLTFGAGTKLELKSGGGSEVQLLEQSGAELVRPGTSVKISCKASGYFTNFWLWVKQRPQGHGLE
WVGDI FPGSGNAHYNEKFKGKATLTADKSSYTA YMQLSSLTSEDSAVYFCARLRNWDEAMDYWGQGTTVTVSSG
GGSGGGGGGGSELVMTQSPSSLSVSAGEKVTMSCKSSQSLNLSGNQKNYLAWYQQKPGQPPKLLIYGASTR
ESGVPDRFTGSGSGTDFTLTITSSVQAEDLAVYYCQNDYSYPYTFGGGTKEIKHHHHH

도면1Q

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

GATATCAAACTGCAGCAGTCAGGGGCTGAACCTGGCAAGACCTGGGGCCCTCAGTCAAGATGTCTCTGCAAGACTTC
TGGCTACACCTTTACTAGGTACACGATGCACCTGGGTAAACACAGAGGCCCTGGACAGGGTCTGGAATGGATTGGAT
ACATTAATCCTAGCCGTGGTTATACTAATTAACAATCAGAAGTTCAAGGACAAGGCCACATTGACTACAGACAAA
TCCTCCAGCACAGCCTACATGCAACTGAGCAGCCTGACATCTGAGGACTCTGCAAGTCTATTACTGTGCAAGATA
TTATGATGATCATTAATGCTTGAATGCTGAGTCTGAGGCTGAGGCTGAGGCTGAGGCTGAGGCTGAGGCTGAGGCT
CTGGCGGGGGGGCTCCGGTGGTGGTGGTCTGACATTCAGCTGACCCAGTCTCCAGGCTCTCCAGGCTGAGTCTGCACT
CCAGGGGAGAAGGTCACCATGACCTGCAGAGCCAGTCAAGTGAAGTTACATGAAGTGGTACCAGCAGAAGTC
AGGCACCTCCCCCAAAGATGGATTTATGACACATCCAAAGTGGCTTCTGGAGTCCCTTATCGCTTCAGTGGCA
GTGGTCTGGGACCTCATACTCTCTACAATCAGCAGCATGGAGCTGAAGATGCTGCCACTATTACTGCCAA
CAGTGGAGTAGTAACCCGCTCACGTCGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGT
GGTGGAGCTGCTCGAGCAGTCTGGAGCTGAGCTGGTAAAGCTGGAGCTGAAATCCGGAGGTGGTGGTGGTGGT
CTGGATACGCCCTTCACTAACTACTGGCTAGGTGGTTAAGCAGAGGCCCTGGACATGGACTTGAATGGGTGGGA
GATAATTTCCCTGGAAGTGGTAATGCTCACTACAATGAGAAGTTCAAGGCAAGCCACACTGACTGCAGACAA
GTCTCGTACACAGCCTATATGCAGCTCAGTAGCCTGACATCTGAGGACTCTGTGTCTATTCTGTGCAAGAT
TGGGAACTGGGACGAGGCTATGGACTACTGGGGCCAAGGACCGGTCAACGCTCTCCCTCAGGTGGTGGTGGT
TCTGGCGGGGGGGCTCCGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGT
AGCAGGAGAGAAGGTCATATGAGCTGCAAGTCCAGTCAGAGTCTGTAAACAGTGGAAATCAAAAGAACTACT
TGGCCTGGTACCAGCAGAAACCCAGGGCAGCCTCCTAAACTGTTGATCTACGGGGCATCCACTAGGGAAATCTGGG
GTCCCTGATCGCTTCACAGGCAGTGGATCTGGAACAGATTTCACTCTCACCATCA

도면1Q계속

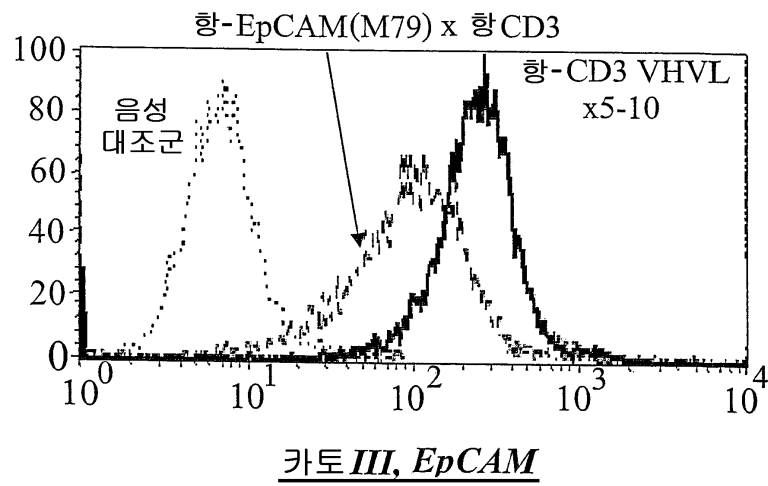
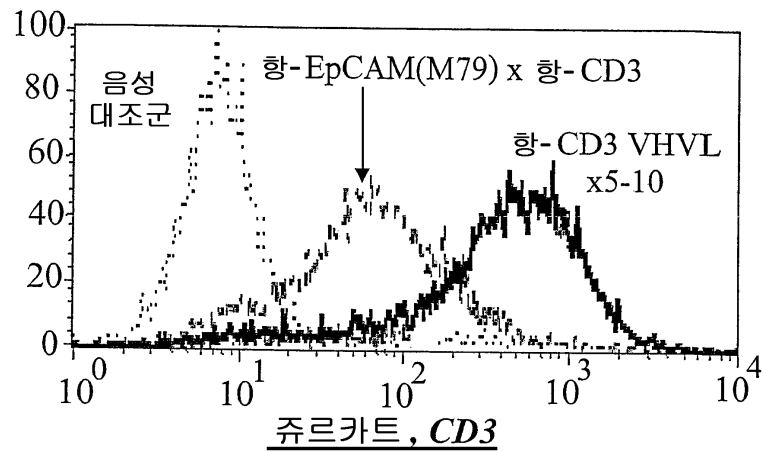
GCAGTGTGCAGGCTGAAGACCTGGCAGTTTATTTACTGTGAGAATGATTATAGTTATCCGTACACGTTCCGGAGGG
GGGACCAAGCTTGAGATCAAAACATCATCACCATCATCATTAG

(서열 번호 : 60)

DIKLOQSGAELARPGASVKMSCKTSGYTFTRYTMHWVKQRPQGQGLEWIGYINPSRGYTNYNQKFKDKATLTTDK
SSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCARYDDHYCLDYWGQGTTLTVSSGGGGGGGGGGSDIQLTQSPAIMAS
PGEKVMTTCRASSSVSYMNWYQQKSGTSPKRWIYDTSKVASGVPRFSGSGSTSYSLTSSMEAEADAATYYCQ
QWSSNPLTFGAGTKLELKSGGGGSEVQLLEQSGAELVRPGTSVKISCKASGYFTNWLGVKQRPQGHGLEWVG
DIFPGSGNAHYNEKFKGKATLTADKSSYTAQMQLSSLTSEDSAVYFCARLRNWDEAMDYWGQGTITVTVSSGGGG
SGGGGGGGGSELVMTQSPSSLVSAGEKVTMSCKSSQSLNSGNQKNYLAWYQQKPKPPKLLIYGASTRESG
VPDRFTGSGSGTDFTLTISSVQAEDIAVYYCQNDYSYPYTFGGGTKEIKHHHHH

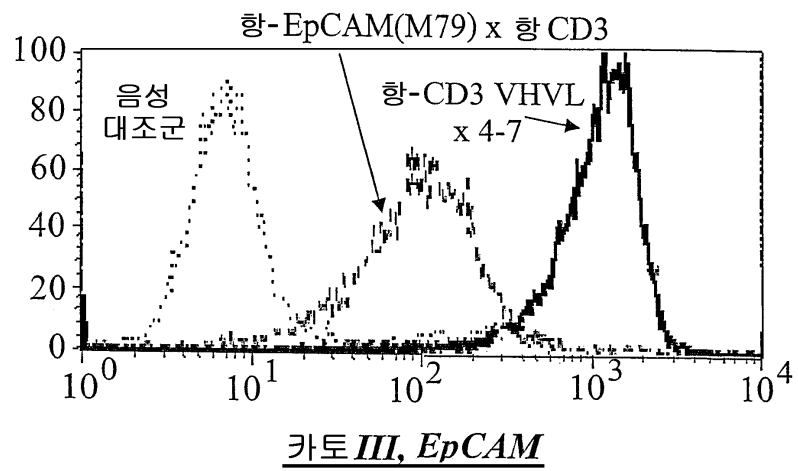
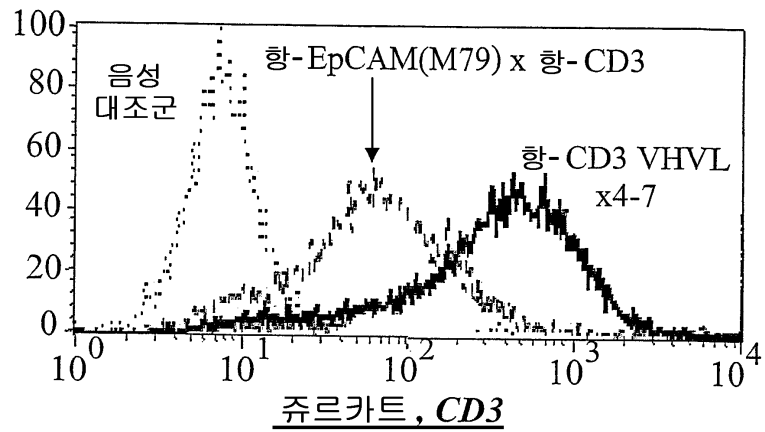
도면2A

항-CD3 VHVL stL x 5-10 (서열 번호 :18)

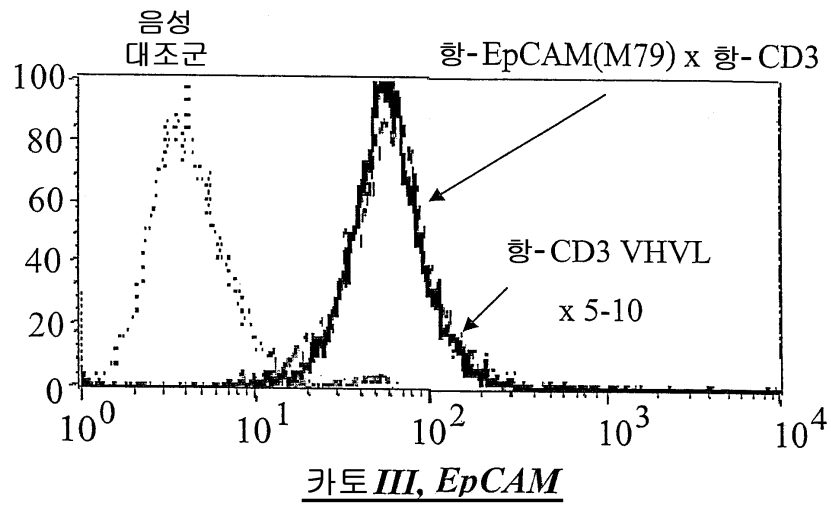
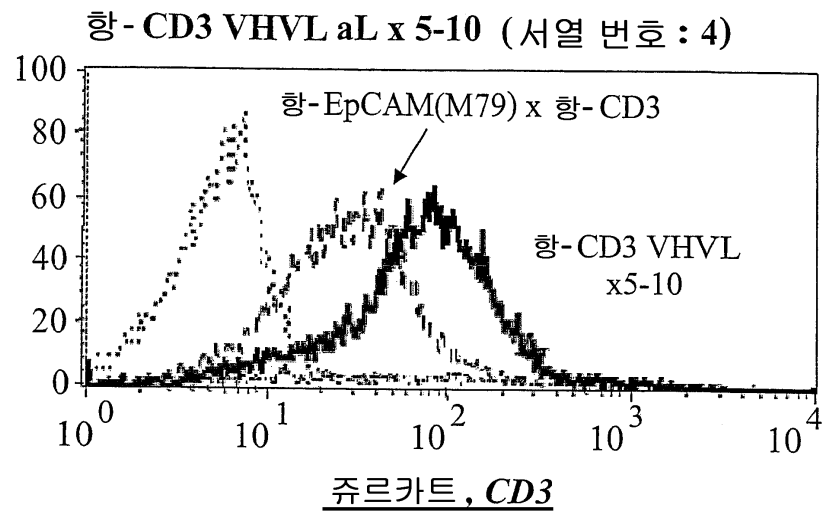


도면2B

항-CD3 VHVL stL x 4-7 (서열 번호 : 14)

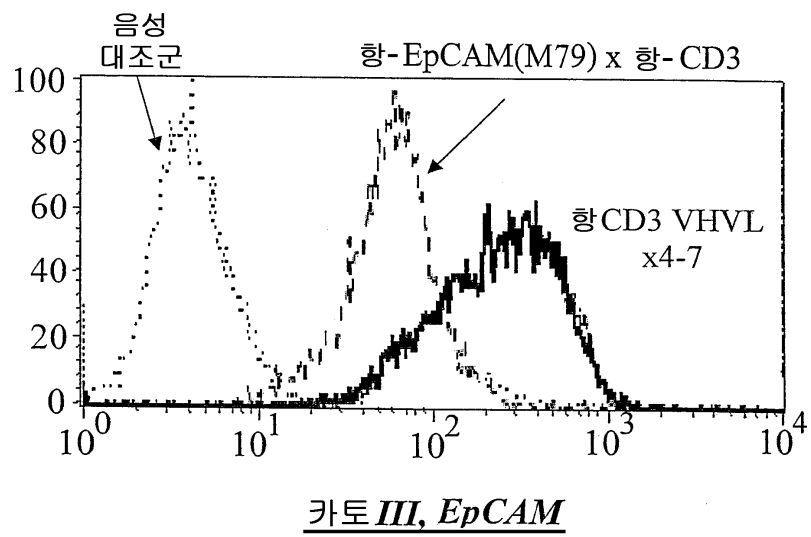
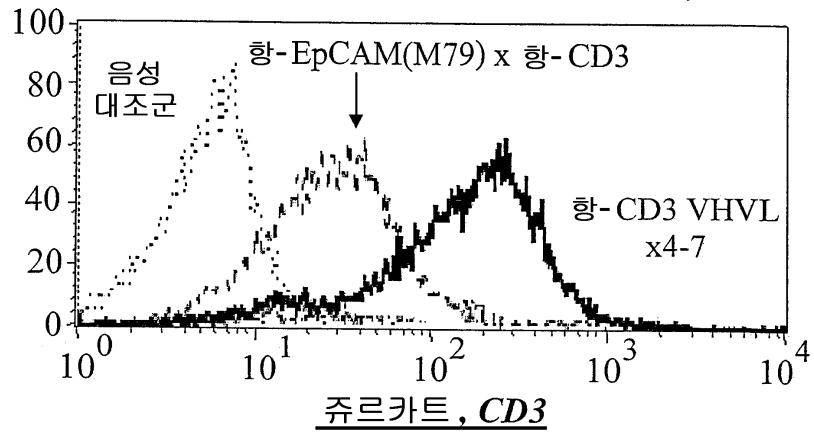


도면2C



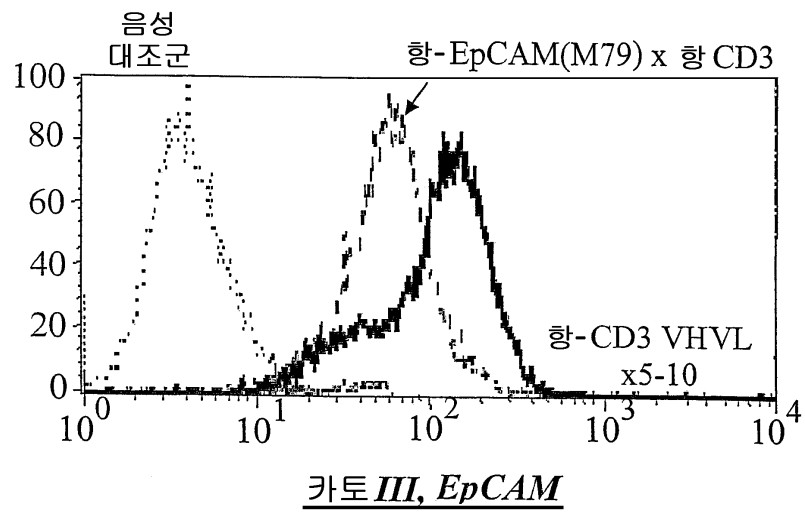
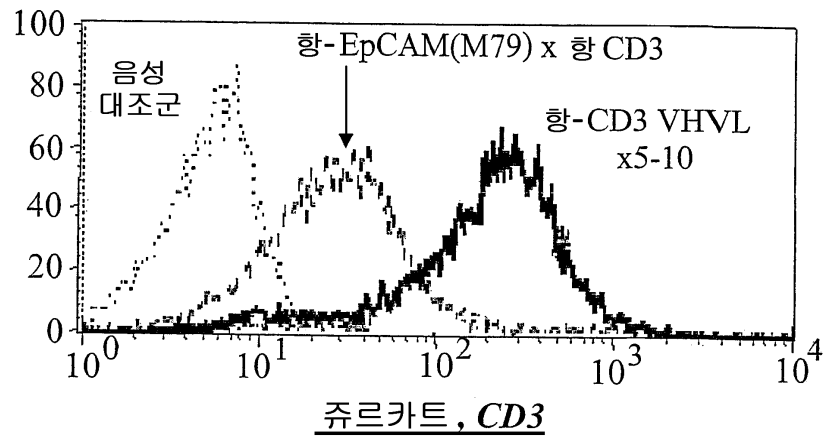
도면2D

항-CD3 VHVL aL x 4-7 (서열 번호 : 2)



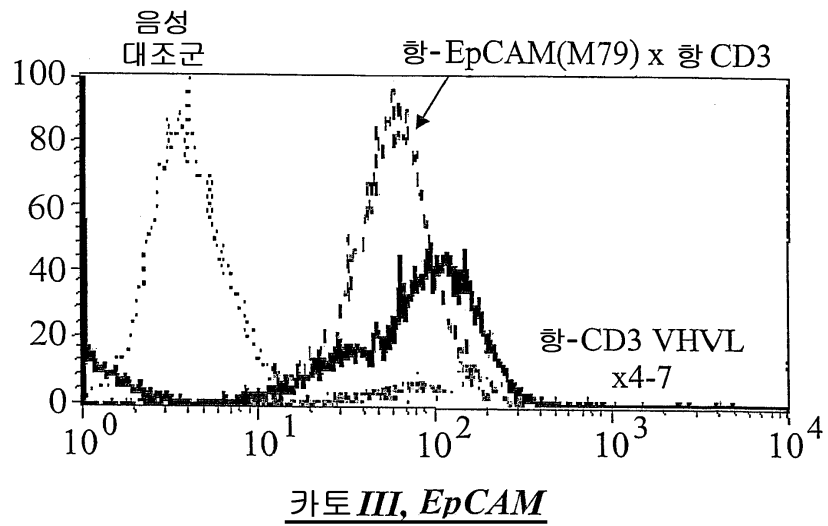
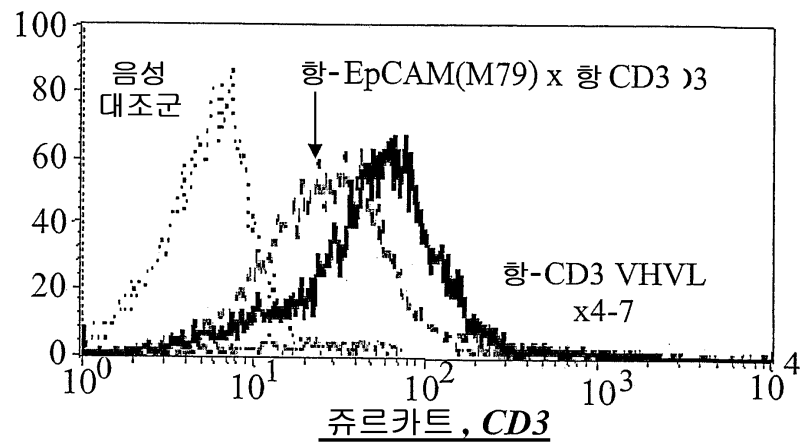
도면2E

항-CD3 VHVL aL Ser x 5-10 (서열 번호 : 10)



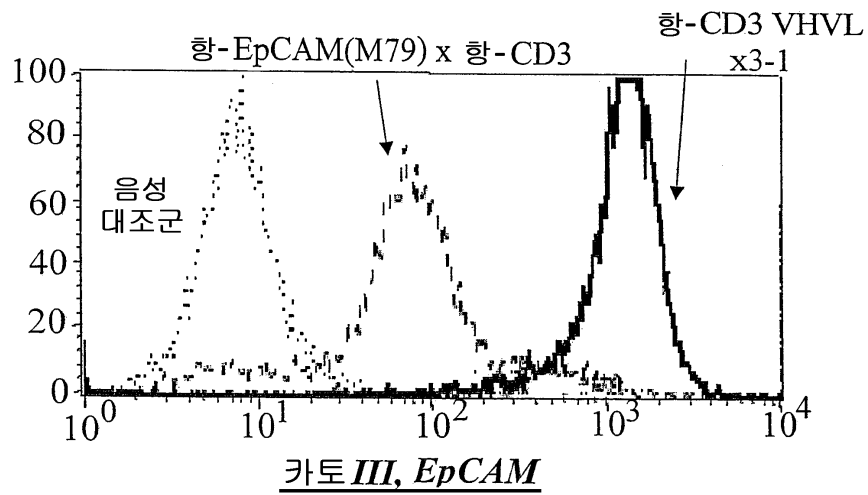
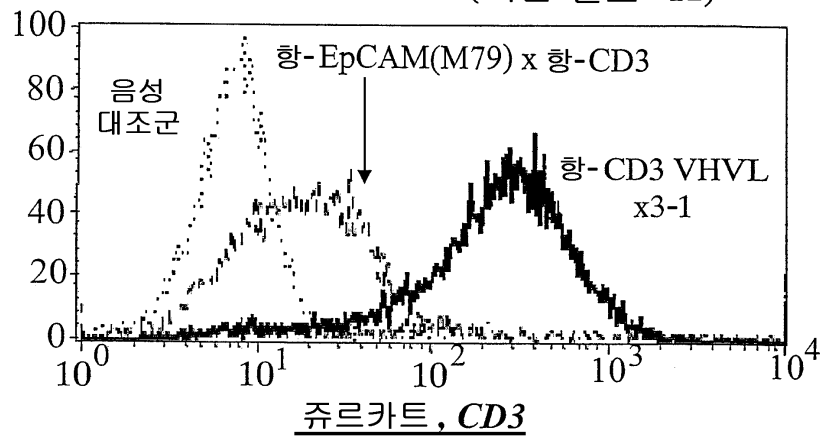
도면2F

항-CD3 VHVL aL Ser x 4-7 (서열 번호 : 8)



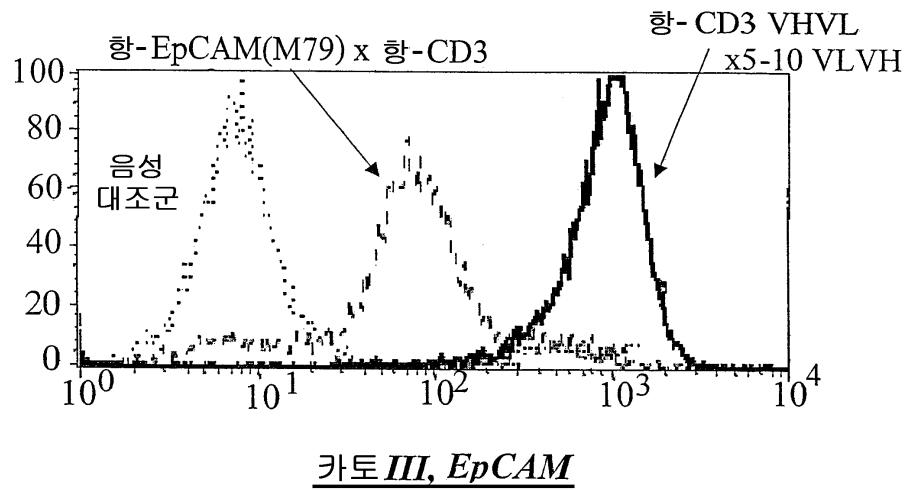
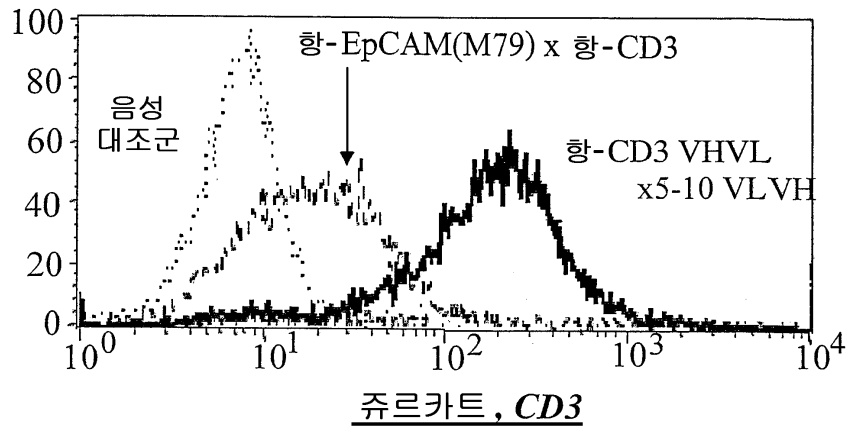
도면2G

항-CD3 VHVL stL x 3-1(서열 번호 :12)



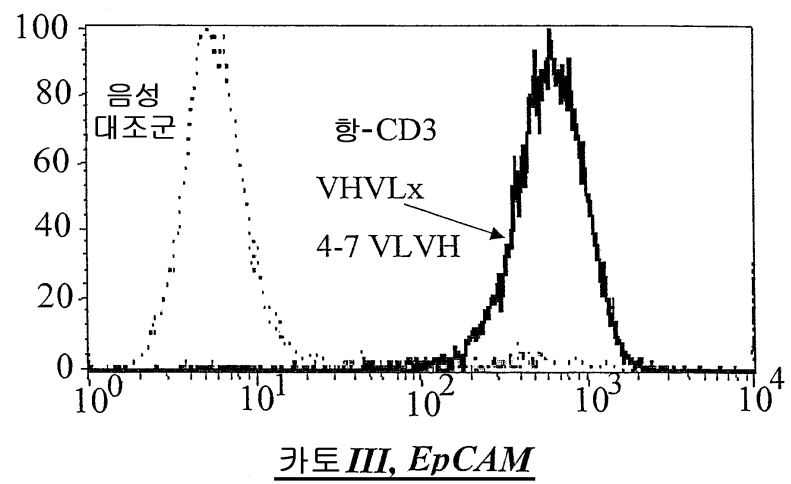
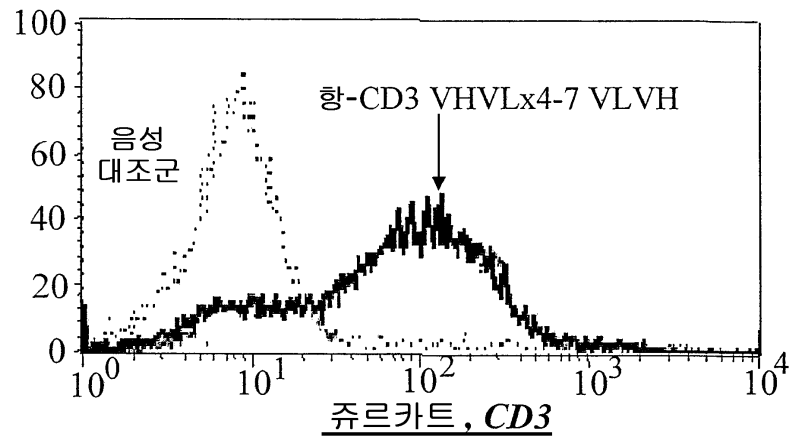
도면2H

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) x 항 - CD3 (서열 번호 : 42)

1	MGWSCIIILFL	VATATGVHSA	RELVMTQTPL	SLPVSIGDQA	SISCRSSQSL
51	VHSNGNTYLH	WYLQKPGQSP	KLIIYKVSNR	FSGVPDRFSG	SGSGTDFTLK
101	ISRVEAEDLG	VYFCSQSTHV	PYTFGGGTKL	EIKGGGGSGG	GGSGGGGSEV
151	QLLEQSGAEL	ARPGASVKLS	CKASGYTFN	YGLSWVKQRP	GQVLEWIGEV
201	YPRIGNAYYN	EKFKGKATLT	ADKSSSTASM	ELRSLTSEDS	AVYFCARRGS
251	YDTNYDWYFD	VWGQGTITTV	SSGGGGGSDIK	LQSGAEELAR	PGASVKMSCK
301	TSGYTFTRYT	MHWVKQRPQ	GLEWIGYINP	SRGYTNYNQK	FKDKATLTID
351	KSSSTAYMQL	SSLTSEDSAV	YYCARYYDDH	YCLDYWGQGT	TLTVSSVEGG
401	SGSGGGSGGS	GGVDDIQLTQ	SPAIMSASPG	EKVTMTCRAS	SSVSVMNWIYQ
451	QKSGTSPKRW	IYDTSKVASG	VPYRFSGSGS	GTSYSLTISS	MEAEDAATYY
501	CQQWSSNPLT	FGAGTKLELK	HHHHHH*		

도면3A 계속1

서열 번호 : 41

```

1  ATGGGATGGA  GCTGTATCAT  CCTCTTCTTG  GTAGCAACAG  CTACAGGTGT
51  AACTCCGCG  CGGAGCTCG  TGATGACCCA  GACTCCACTC  TCCCTGCCCTG
101 TCAGTCTTGG  AGATCAAGCC  TCCATCTCTT  GCAGATCTAG  TCAGAGCCTT
151 GTACACAGTA  ATGGAACAC  CTATTTACAT  TGGTACCTGC  AGAAGCCAGG
201 CCAGTCTCCA  AAGTCCTGA  TCTACAAAGT  TTCCAACCGA  TTTTCTGGGG
251 TCCAGACAG  GTTCAGTGG  AGTGGATCAG  GGACAGATTT  CACACTCAAG
301 ATCAGCAGAG  TGGAGGCTGA  GGATCTGGGA  GTTTATTTCT  GCTCTCAAAAG
351 TACACATGTT  CCGTACACGT  TCGGAGGGGG  GACCAAGCTT  GAGATCAAAAG
401 GTGGTGGTGG  TTCTGGCGGC  GGCGGCTCCG  GTGGTGGTGG  TTCTGAGGTG
451 CAGCTGCTCG  AGCAGTCTGG  AGCTGAGCTG  GCGAGGCCCTG  GGGCTTCAGT
501 GAAGCTGTCC  TGCAAGGCTT  CTGGCTACAC  CTTCACAAAC  TATGGTTTAA
551 GCTGGGTGAA  GCAGAGGCCT  GGACAGGTCC  TTGAGTGGAT  TGGAGAGGTT
601 TATCCTAGAA  TTGGTAATGC  TTAATAACAAT  GAGAAATTCA  AGGCAAGGC
651 CACACTGACT  GCAGACAAAT  CCTCCAGCAC  AGCTCCCATG  GAGCTCCGCA
701 GCCTGACCTC  TGAGGACTCT  GCGGTCTATT  TCTGTGCAAG  ACGGGGATCC
751 TACGATACTA  ACTACGACTG  GTACTTCGAT  GTCTGGGGCC  AAGGGACCAC
801 GGTCAACCGT  TCCTCCGGAG  GTGGTGGATC  CGATATCAAA  CTGCAGCAGT
851 CAGGGGCTGA  ACTGGCAAGA  CCTGGGGCCT  CAGTGAAGAT  GTCTTGCAAG

```

도면3A 계속2

3A

901 ACTTCTGGCT ACACCTTTAC TAGGTACACG ATGCACTGGG TAAAACAGAG
 951 GCCTGGACAG GGTCTGGAAT GGATTGGATA CATTAATCCT AGCCGTGGTT
 1001 ATACTAATTA CAATCAGAAG TTCAAGGACA AGGCCACATT GACTACAGAC
 1051 AAATCCTCCA GCACAGCCTA CATGCCAATG AGCAGCCTGA CATCTGAGGA
 1101 CTCTGCAGTC TATTACTGTG CAAAGATATTA TGATGATCAT TACTGCCCTTG
 1151 ACTACTGGGG CCAAGGCACC ACTCTCACAG TCTCCTCAGT CGAAGGTGGA
 1201 AGTGGAGGTT CTGGTGGAAG TGGAGGTTCA GGTGGAGTCG ACGACATTCA
 1251 GCTGACCCAG TCTCCAGCAA TCAATGTCTGC ATCTCCAGGG GAGAAGGTCA
 1301 CCATGACCTG CAGAGCCAGT TCAAAGTGTA TTAACATGAA CTGCTACCAG
 1351 CAGAAAGTCAG GCACCTCCCC CAAAAGATGG ATTTATGACA CATCCAAAAGT
 1401 GGCTTCTGGA GTCCCTTATC GCTTCAGTGG CAGTGGGTCT GGGACCTCAT
 1451 ACTCTCTCAC AATCAGCAGC ATGGAGGCTG AAGATGCTGC CACTTATTAC
 1501 TGCCAACAGT GGAGTAGTAA CCCGCTCACG TTCGGTGTG GACCAAGCT
 1551 GGAGCTGAAA CATCATCACC ATCATCATTA G

도면3B

3-5 (vLvH) x 항-CD3 (서열 번호 : 30)

1	MGWSCIIILFL	VATATGVHSA	RELVMTQTPL	SLPVSIGDQA	SISCRSSQSL
51	VHSNGNTYLH	WYLQKPGQSP	KLIIYKVSNR	FSGVPDRFSG	SGSGTDFTLK
101	ISRVEAEDLG	VYFCSQSTHV	PYTFGGGTKL	EIKGGGGSGG	GGSGGGGSEV
151	QLLEQSGAEL	VRPGTSVKLS	CKASGYTFTS	YGLSWVKQRT	GQGLEWIGEV
201	YPRIGNAYYN	EKFKGKATLT	ADKSSSTASM	ELRSLTSEDS	AVYFCARRGS
251	YGSNYDWYFD	VWGQGT'TVTV	SSGGGGSDIK	LQQSGAELAR	PGASVKMSCK
301	TSGYTFTRYT	MHWVKQRPQG	GLEWIGYINP	SRGYTNNQK	FKDKATLTID
351	KSSSTAYMQL	SSLTSEDSAV	YYCARYYDDH	YCLDYWGQGT	TLTVSSVEGG
401	SGSGGGSGGS	GGVDDIQLTQ	SPAIMSASPG	EKVTMTCRAS	SSVSVMNWYQ
451	QKSGTSPKRW	IYDTSKVASG	VPYRFSGSGS	GTSYSLTISS	MEAEADAATYY
501	CQQWSSNPLT	FGAGTKLELK	HHHHH*		

도면3B계속1

서열 번호 : 29 :

1 ATGGGATGGA GCTGTATCAT CCTCTTCTTG GTAGCAACAG CTACAGGTGT
 51 ACACCTCCGG CGCAGCTCG TGATGACCCA GACTCCACTC TCCCTGCCCTG
 101 TCAGTCTTGG AGATCAAGCC TCCATCTCTT GCAGATCTAG TCAGAGCCCTT
 151 GTACACAGTA ATGGAACAC CTATTTACAT TGGTACCTGC AGAAGCCAGG
 201 CCAGTCTCCA AAGCTCCTGA TCTACAAAGT TTCCAACCGA TTTTCTGGGG
 251 TCCCAGACAG GTTCAGTGGC AGTGGATCAG GGACAGATTT CACACTCAAG
 301 ATCAGCAGAG TGGAGGCTGA GGATCTGGGA GTTTATTCTT GCTCTCAAAG
 351 TACACATGTT CCGTACACGT TCGGAGGGGG GACCAAGCTT GAGATCAAAG
 401 GTGGTGGTGG TTCTGGCGGC GCGGCTCCG GTGGTGGTGG TTCTGAGGTG
 451 CAGCTGCTCG AGCAGTCTGG AGCTGAGCTG GTAAGGCCCTG GGACTTCAGT
 501 GAAGCTGTCC TGCAAGGCTT CTGGCTACAC CTTCAACAAG TATGGTTTAA
 551 GCTGGGTGAA GCAGAGAACT GGACAGGGCC TTGAGTGGAT TGGAGAGGTT
 601 TATCCTAGAA TTGGTAATGC TTACTACAAT GAGAAATTCA AGGCAAGGC
 651 CACACTGACT GCAGACAAAT CCTCCAGCAC AGCGTCCATG GAGCTCCGCA
 701 GCCTGACATC TGAGGACTCT GCGGTCTATT TCTGTGCAAG ACGGGGATCC
 751 TACGGTAGTA ACTACGACTG GTACTTCGAT GTCTGGGGCC AAGGGACCAC
 801 GGTCAACCGTC TCCTCCGGAG GTGGTGGATC CGATATCAA CTGCAGCAGT
 851 CAGGGGCTGA ACTGGCAAGA CCTGGGGCCT CAGTGAAGAT GTCCCTGCAAG
 901 ACTTCTGGCT ACACCTTTAC TAGGTACACG ATGCACTGGG TAAACACAGAG

도면3B계속2

951 GCCTGGACAG GGTCTGGAAT GGATTGGATA CATTAAATCCT AGCCGTGGTT
 1001 ATACTAATTA CAATCAGAAG TTCAAGGACA AGCCACATT GACTACAGAC
 1051 AAATCCTCCA GCACAGCCTA TATTACTGTG CAAGATATTA TGATGATCAT TACTGCCTTG
 1101 CTCTGCAGTC TATTACTGTG CCAAGGCACC ACTCTCACAG TCTCCTCAGT CGAAGGTGGA
 1151 ACTACTGGG AGTGGAGGTT CTGGTGAAG TGGAGGTTCA GGTGGAGTCG ACGACATTCA
 1201 AGTGGAGGTT CTGGTGAAG TCTCCAGCAA TCATGTCTGC ATCTCCAGG GAGAAGGTCA
 1251 GGTGACCCAG CCATGACCTG CAGAGCCAGT TCAAGTGTA GTTACATGAA CTGGTACCAG
 1301 CCATGACCTG CAGAGCCAGT GCACCTCCCT CAAAAGATGG ATTTATGACA CATCCAAAAGT
 1351 CAGAAAGTCAG GGCTTCTGGA GTCCCTTATC GCTTCAGTGG CAGTGGTCTT GGGACCTCAT
 1401 GGCTTCTGGA ACTCTCTCAC AATCAGCAGC ATGGAGGCTG AAGATGCTGC CACTTATTAC
 1451 ACTCTCTCAC AATCAGCAGC ATGGAGGCTG AAGATGCTGC CACTTATTAC
 1501 TGCCAACAGT GGAGTAGTAA CCGCTCACC TTCGGTGCTG GGACCAAGCT
 1551 GGAGCTGAAA CATCATCACC ATCACATTA G

도면3C

3-1 (vLvH) x 항-CD3 (서열 번호 : 36)

1	MGWSCIIILFL	VATATGVHSE	LVMTQSPSYL	AASPGETITI	NCRASKSISK
51	YLAWYQEKPG	KTNKLLIYSG	STLQSGIPSR	FSGSGGTDF	TLTISSLEPE
101	DFAMYQCQOH	NEYPYTFGGG	TKLEIKGGG	SGGGSGGGG	SEVQLLEQSG
151	AELVKPGASV	KISCKASGYA	FTNYWLGWVK	QRPBGLEWI	GDLPFGSGNT
201	HYNERFRGKA	TLTADKSSST	AFMQLSSLTS	EDSAVYFCAR	LRNWDEAMDY
251	WGQGTTVTVS	SGGGGSDIKL	QQSGAELARP	GASVKMSCKT	SGYTFTRYTM
301	HWVKQRPQG	LEWIGYINPS	RGYTNYNQKF	KDKATLTDDK	SSSTAYMQLS
351	SLTSEDSAVY	YCARYYDDHY	CLDYWGQGT	LTVSSVEGGS	GGSGSGSGSG
401	GVDDIQLTQS	PAIMSASPGE	KVTMTCRASS	SVSYMNWYQQ	KSGTSPKRWI
451	YDTSKVASGV	PYRFSGSGSG	TSYSLTISSM	EAEDAATYYC	QQWSSSNPLTF
501	GAGTKLELKH	HHHHH*			

도면3C계속1

서열 번호 : 35

1 ATGGGATGGA GCTGTATCAT CCTCTTCTTG GTAGCAACAG CTACAGGTGT
 51 ACACTCCGAG CTCGTATGA CCCAGTCTCC ATCTTATCTT GCTGCATCTC
 101 CTGGAGAAAC CATTACTATT AATTGCAGGG CAAGTAAGAG CATTAGCAAA
 151 TATTTAGCCT GGTATCAAGA GAAACCTGGG AAAACTAATA AGCTTCTTAT
 201 CTACTCTGGA TCCACTTTGC AATCTGGAAT TCCATCAAGG TTCAGTGGCA
 251 GTGGATCTGG TACAGATTTC ACTCTCACCA TCAGTAGCCT GGAGCCTGAA
 301 GATTTTGCAA TGATTACTG TCAACAGCAT AATGAATATC CGTACACGTT
 351 CGGAGGGGG ACCAAGCTTG AGATCAAAGG TGGTGGTGGT TCTGGCGGCG
 401 GCGGCTCCGG TGGTGGTGGT TCTGAGGTGC AGCTGCTCGA GCAGTCTGGA
 451 GCTGAGCTGG TGAACCTGG GGCCTCAGTG AAGATATCCT GCAAGGCTTC
 501 TGGATACGCC TTCACTAACT ACTGGCTAGG TTGGGTAAAG CAGAGGCCCTG
 551 GACATGGACT TGAGTGGATT GGAGATCTTT FCCCTGGAAG TGGTAATACT
 601 CACTACAATG AGAGGTTTCA GGGCAAAGCC ACACTGACTG CAGACAAATC
 651 CTCGAGCACA GCCTTTATGC AGCTCAGTAG CCTGACATCT GAGGACTCTG
 701 CTGTCTATTT CTGTGCAAGA TTGAGGAACT GGGACGAGGC TATGGACTAC
 751 TGGGGCCAAG GGACCACGGT CACCGTCTCC TCCGGAGGTG GTGGATCCGA
 801 TATCAAACTG CAGCAGTCAG GGGCTGAACT GGCAAGACCT GGGGCTCAG
 851 TGAAGATGTC CTGCAAGACT TCTGGCTACA CCTTTACTAG GTACACGATG
 901 CACTGGGTAA AACAGAGGCC TGGACAGGGT CTGGAATGGA TTGGATACAT

도면3C계속2

3C

951 TAATCCTAGC CGTGGTTATA CTAATTACAA TCAGAAAGTTC AAGGACAAGG
 1001 CCACATTGAC TACAGACAAA TCCTCCAGCA CAGCCTACAT GCAACTGAGC
 1051 AGCCTGACAT CTGAGGACTC TGCAGTCTAT TACTGTGCAA GATATTATGA
 1101 TGATCATTAC TGCCTTGACT ACTGGGGCCA AGGCACCACT CTCACAGTCT
 1151 CCTCAGTCGA AGGTGGAAGT GGAGGTTCTG GTGGAAGTGG AGGTTCAAGT
 1201 GGAGTCGACG ACATTCAGCT GACCCAGTCT CCAGCAATCA TGTCTGCATC
 1251 TCCAGGGGAG AAGTCAACA TGACCTGCAG AGCCAGTTCA AGTGTAAGTT
 1301 ACATGAACTG GTACCAGCAG AAGTCAGGCA CCTCCCCCAA AAGATGGATT
 1351 TATGACACAT CCAAAGTGGC TTCTGGAGTC CCTTATCGCT TCAGTGGCAG
 1401 TGGGTCTGGG ACCTCATACT CTCTCACAAAT CAGCAGCATG GAGGCTGAAG
 1451 ATGCTGCCAC TTATTACTGC CAACAGTGA GTAGTAACCC GCTCACGTTT
 1501 GGTGCTGGGA CCAAGCTGGA GCTGAAACAT CATCACCATC ATCATTAG

도면3D

4-1 (vLvH) x 항-CD3 (서열 번호 : 39)

1	MGWSCIIILFL	VATATGVHSE	LVMTQSPSSL	SVSAGEKVTM	SCKSSQSLLN
51	SGNQKNYLAW	YQKPGQPPK	LLIYGASTRE	SGVDDRFTGS	GSGETDFTLTI
101	SSVQAEDLAV	YYCQNDYSYP	YTFGGGKLE	IKGGGGGGG	GGGGGGSEVQ
151	LLEQSGAELV	RPGTSVKISC	KASGYAFTNY	WLGWVKQRP	HGLEWVGDI
201	PGSGNAHYNE	KFKGKATLTA	DKSSYTAYMQ	LSSLTSEDSA	VYFCARLRNW
251	DEAMDYWGQG	TTVTVSSGG	GSDIKLQSG	AELARPGASV	KMSCKTSGYT
301	FTRYTMHWVK	QRPQGLEWI	GYINPSRGYT	NYNQKFKDKA	TLTTDKSSST
351	AYMQLSSLTS	EDSAVYYCAR	YYDDHYCLDY	WGQGTTLTVS	SVEGGSGGSG
401	GGGGGGVDD	IQLTQSPAIM	SASPGKVTM	TCRASSSVSY	MNWIYQKSGT
451	SPKRWIYDTS	KVASGVPYRF	SGSGGTSYS	LTSSMEAE	AATYICQQWS
501	SNPLTFGAGT	KLELKHSHHH	H*		

도면3D계속1

3D

서열번호 : 38 :

```

1  ATGGGATGGA  GCTGTATCAT  CCTCTTCTTG  GTAGCAACAG  CTACAGGTGT
51  ACACTCCGAG  CTCGTGATGA  CACAGTCTCC  ATCCTCCCCTG  AGTGTGTCAG
101 CAGGAGAGAA  GGTCACTATG  AGCTGCAAGT  CCAGTCAGAG  TCTGTAAAC
151 AGTGGAATC  AAAAGAACTA  CTTGGCCTGG  TACCAGCAGA  AACCAAGGCA
201 GCCTCCTAAA  CTGTTGATCT  ACGGGGCATC  CACTAGGGAA  TCTGGGGTCC
251 CTGATCGCTT  CACAGGCAGT  GGATCTGGAA  CAGATTTCAC  TCTCACCATC
301 AGCAGTGTG  AGGCTGAAGA  CCTGGCAGTT  TATTACTGTC  AGAATGATTA
351 TAGTTATCCG  TACACGTTTG  GAGGGGGAC  CAAGCTTGAG  ATCAAAGGTG
401 GTGGTGGTTC  TGGCGCGGCG  GGCTCCGGTG  GTGGTGGTTC  TGAGGTGCAG
451 CTGCTCGAG  AGTCTGGAGC  TGAGCTGGTA  AGGCCTGGGA  CTTCAGTGAA
501 GATATCCTGC  AAGCCTTCTG  GATACGCCCT  CACTAACTAC  TGGCTAGGTT
551 GGGTTAAGCA  GAGGCTTGG  CATGGACTTG  AATGGGTTGG  AGATAATTTT
601 CCTGGAAGTG  GTAATGCTCA  CTACAAATGAG  AAGTTCAAGG  GCAAAGCCAC
651 ACTGACTGCA  GACAAGTCCT  CGTACACAGC  CTATATGCAG  CTCAGTAGCC
701 TGACATCTGA  GGAATCTGCT  GTCTATTTCT  GTGCAAGATT  GCGGAAGTGG
751 GACGAGGCTA  TGGACTACTG  GGGCCAAAGG  ACCACGGTCA  CCGTCTCCTC
801 CGGAGGTGGT  GGATCCGATA  TCAAACCTGCA  GCAGTCAGGG  GCTGAACCTG
851 CAAGACCTGG  GGCCTCAGTG  AAGATGTCCT  GCAAGACTTC  TGGCTACACC
901 TTTACTAGGT  ACACGATGCA  CTGGGTAAAA  CAGAGGCCCTG  GACAGGGTCT

```

도면3D계속2

3D

951	GGAATGGATT	GGATACATTA	ATCCTAGCCG	TGGTTATACT	AATTACAAATC
1001	AGAAGTTCAA	GGACAAAGCC	ACATTGACTA	CAGACAAATC	CTCCAGCACACA
1051	GCCTACATGC	AACTGAGCAG	CCTGACATCT	GAGGACTCTG	CAGTCTATTA
1101	CTGTGCAAGA	TATTATGATG	ATCATTACTG	CCTTGACTAC	TGGGGCCCAAG
1151	GCACCACTCT	CACAGTCTCC	TCAGTCGAAG	GTGGAAGTGG	AGGTTCTGGT
1201	GGAAGTGGAG	GTTCAGGTGG	AGTCGACGAC	ATTCAGCTGA	CCCAGTCTCC
1251	AGCAATCATG	TCTGCATCTC	CAGGGGAGAA	GGTCACCATG	ACCTGCAGAG
1301	CCAGTCAAG	TGTAAGTTAC	ATGAACTGGT	ACCAGCAGAA	GTCAAGGCACC
1351	TCCCCCAAAA	GATGGATTTA	TGACACATCC	AAAGTGGCTT	CTGGAGTCCC
1401	TTATCGCTTC	AGTGGCAGTG	GGTCTGGGAC	CTCATACTCT	CTCACAAATCA
1451	GCAGCATGGA	GGCTGAAGAT	GCTGCCACTT	ATTACTGCCA	ACAGTGGAGT
1501	AGTAACCCGC	TCACGTTCCG	TGCTGGGACC	AAGCTGGAGC	TGAAACATCA
1551	TCACCATCAT	CATTAG			

도면3E

5-10 (vLvH) x 항- CD3 (서열 번호 : 44)

1	MGWSCIIILFL	VATATGVHSE	LVMTQSPSSL	TVTAGEKVTM	SCKSSQSLLN
51	SGNQKNYLTW	YQKPGQPPK	LLIYWASTRE	SGVPDRFTGS	GSCTDFTLTI
101	SSVQAEIDLAV	YYCQNDYSYP	LTFGAGTKLE	IKGGGGGGG	GGGGGGSEVQ
151	LLEQSGAELV	RPGTSVKISC	KASGYAFTNY	WLGWVKQRP	HGLEWIGDIF
201	PGSGNIHYNE	KFKGKATILTA	DKSSSTAYMQ	LSSLTFEDSA	VYFCARLRNW
251	DEPMDYWGQG	TTVTVSSGGG	GSDIKLQOSG	AELARPGASV	KMSCKTSGYT
301	FTRYTMHWVK	QRPQGGLWEI	GYINPSRGYT	NYNQKFKDKA	TLTTDKSSST
351	AYMQLSSLTS	EDSAVYYCAR	YYDDHYCLDY	WGQGTTLTVS	SVEGGSGGSG
401	GGGGGGGVDD	IQLTQSPAIM	SASPGKVTM	TCRASSSVSY	MNWYQQKSGT
451	SPKRWIYDTS	KVASGVPIRF	SGSGSGTSYS	LTSSMEAED	AATYYCQQWS
501	SNPLTFGAGT	KLELKHHHHH	H*		

도면3E계속1

서열 번호 : 43

1	ATGGGATGGA	GCTGTATCAT	CCTCTTCTTG	GTAGCAACAG	CTACAGGTGT
51	ACACTCCGAG	CTCGTGATGA	CACAGTCTCC	ATCCTCCCTG	ACTGTGACAG
101	CAGGAGAGAA	GGTCACTATG	AGCTGCAAGT	CCAGTCAGAG	TCTGTTAAAC
151	AGTGGAATC	AAAAGAACTA	CTTGACCTGG	TACCAGCAGA	AACCAGGGCA
201	GCCTCCTAAA	CTGTTGATCT	ACTGGGCATC	CAC TAGGGAA	TCTGGGGTCC
251	CTGATCGCTT	CACAGGCAGT	GGATCTGGAA	CAGATTTTAC	TCTCACCATC
301	AGCAGTGTGC	AGGCTGAAGA	CCTGGCAGTT	TATTACTGTC	AGAAATGATTA
351	TAGTTATCCG	CTCACGTTTC	GTGCTGGGAC	CAAGCTTGAG	ATCAAAGGTG
401	GTGGTGGTTC	TGGCGGGCGC	GGCTCCGGTG	GTGGTGGTTC	TGAGGTGCAG
451	CTGCTCGAGC	AGTCTGGAGC	TGAGCTGGTA	AGGCCTGGGA	CTTCAGTGAA
501	GATATCCTGC	AAGGCTTCTG	GATACGCCTT	CAC TAACTAC	TGGCTAGGTT
551	GGTAAAAGCA	GAGGCCCTGA	CATGGACTTG	AGTGGATTGG	AGATATTTTC
601	CCTGGAAAGT	GTAATATCCA	CTACAAATGAG	AAGTTCAAGG	GCAAAGCCAC
651	ACTGACTGCA	GACAAATCTT	CGAGCACAGC	CTATATGCAG	CTCAGTAGCC
701	TGACATTGA	GGACTCTGCT	GTCTATTCT	GTGCAAGACT	GAGGAAC TGG
751	GACGAGCCTA	TGGACTACTG	GGGCCAAGGG	ACCACGGTCA	CCGTCTCCTC
801	CGGAGGTGGT	GGATCCGATA	TCAAAC TGCA	GCAGTCAGGG	GCTGAACTGG
851	CAAGACCTGG	GGCCTCAGTG	AAGATGTCCT	GCAAGACTTC	TGGCTACACC
901	TTTACTAGGT	ACACGATGCA	CTGGGTAAAA	CAGAGGCCCTG	GACAGGGTCT

도면3E계속2

```

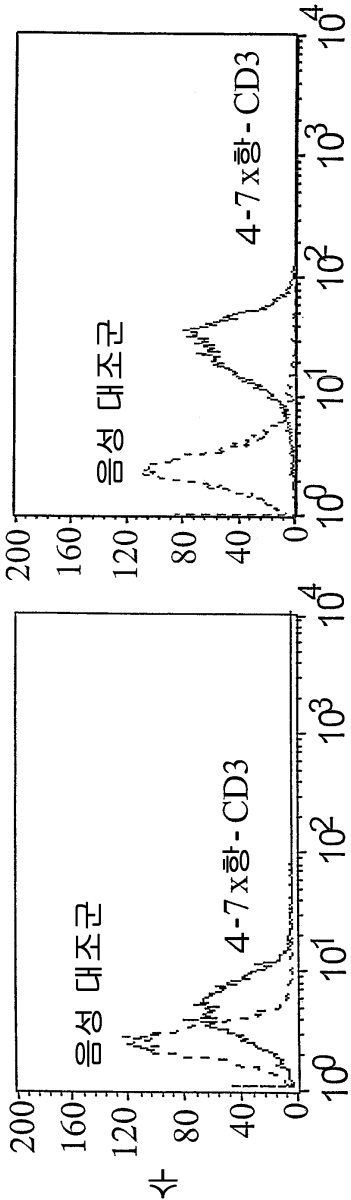
951 GGAATGGATT GGATACATTG ATCCTAGCCG TGGTTATACT AATTACAATC
1001 AGAAGTTCAA GGACAAGGCC ACATTGACTA CAGACAAATC CTCCAGCACA
1051 GCCTACATGC AACTGAGCAG CCTGACATCT GAGGACTCTG CAGTCTATTA
1101 CTGTGCAAGA TATTATGATG ATCATTACTG CCTTGACTAC TGGGGCCCAAG
1151 GCACCACTCT CACAGTCTCC TCAGTCGAAG GTGGAAGTGG AGGTTCTGGT
1201 GGAAGTGGAG GTTCAGGTGG AGTCGACGAC ATTCAGCTGA CCCAGTCTCC
1251 AGCAATCATG TCTGCATCTC CAGGGGAGAA GGTCAACCATG ACCTGCAGAG
1301 CCAGTTC AAG TGTAAGTTAC ATGAAC TGGT ACCAGCAGAA GTCAGGCACC
1351 TCCCCCAAAA GATGGATTGA TGACACATCC AAAGTGGCTT CTGGAGTCCC
1401 TTATCGCTTC AGTGGCAGTG GGTCTGGGAC CTCATACTCT CTCACAATCA
1451 GCAGCATGGA GGCTGAAGAT GCTGCCACTT ATTACTGCCA ACAGTGGAGT
1501 AGTAACCCGC TCACGTTCCG TGCTGGGACC AAGCTGGAGC TGAAACATCA
1551 TCACCATCAT CATTAG

```

도면4A

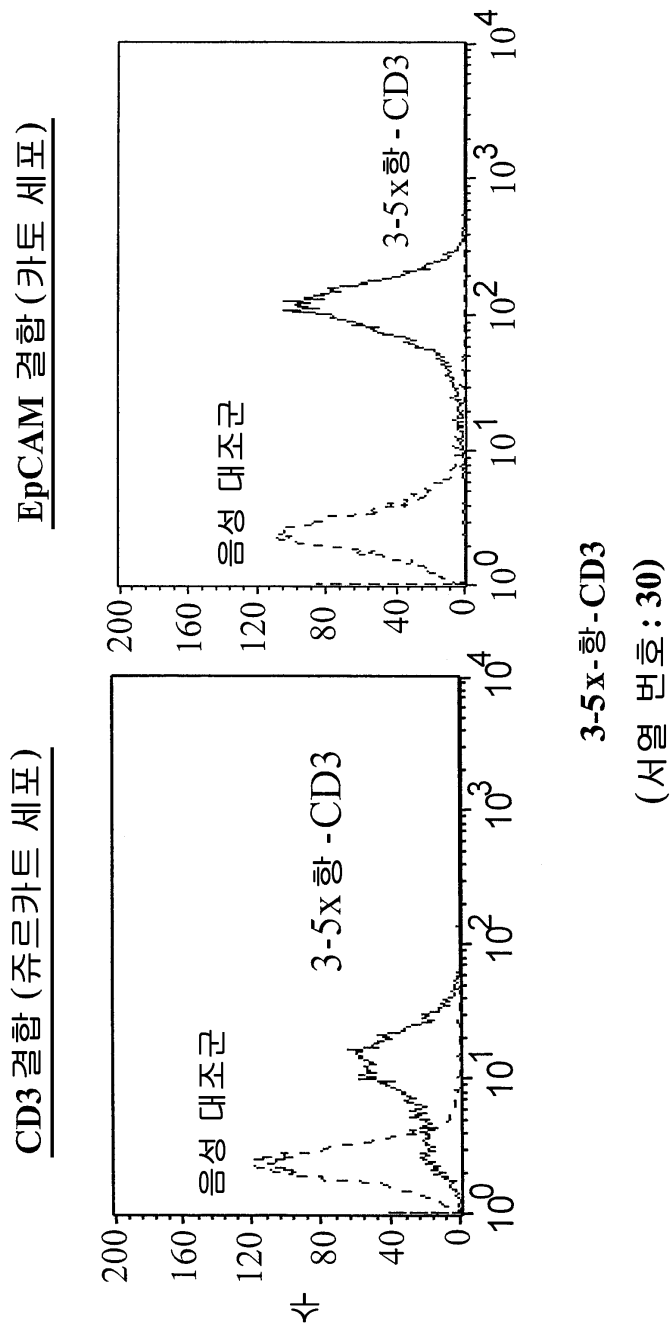
CD3 결합 (쥘리카트 세포)

EpCAM 결합 (카토 세포)

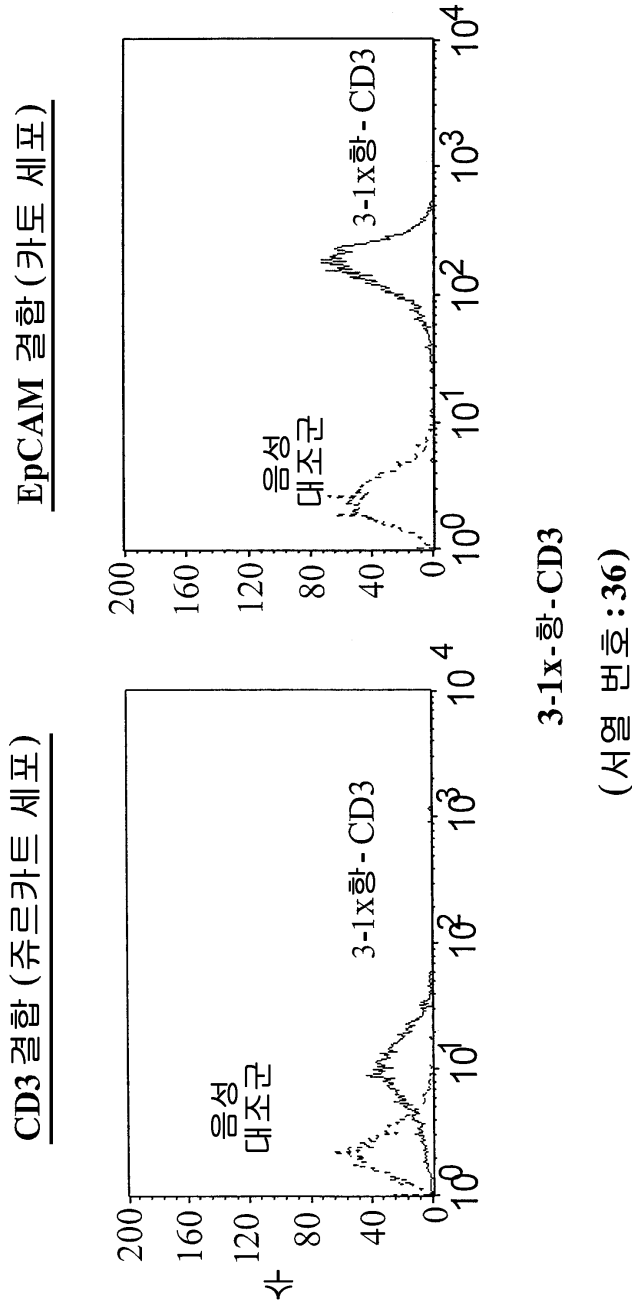


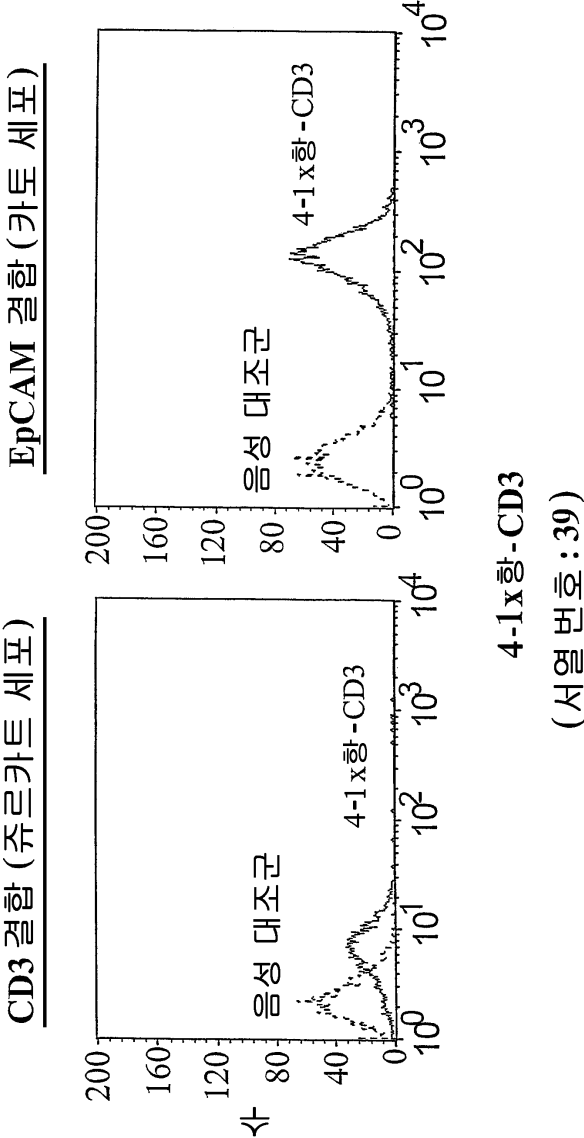
4-7x-항-CD3
(서열 번호: 42)

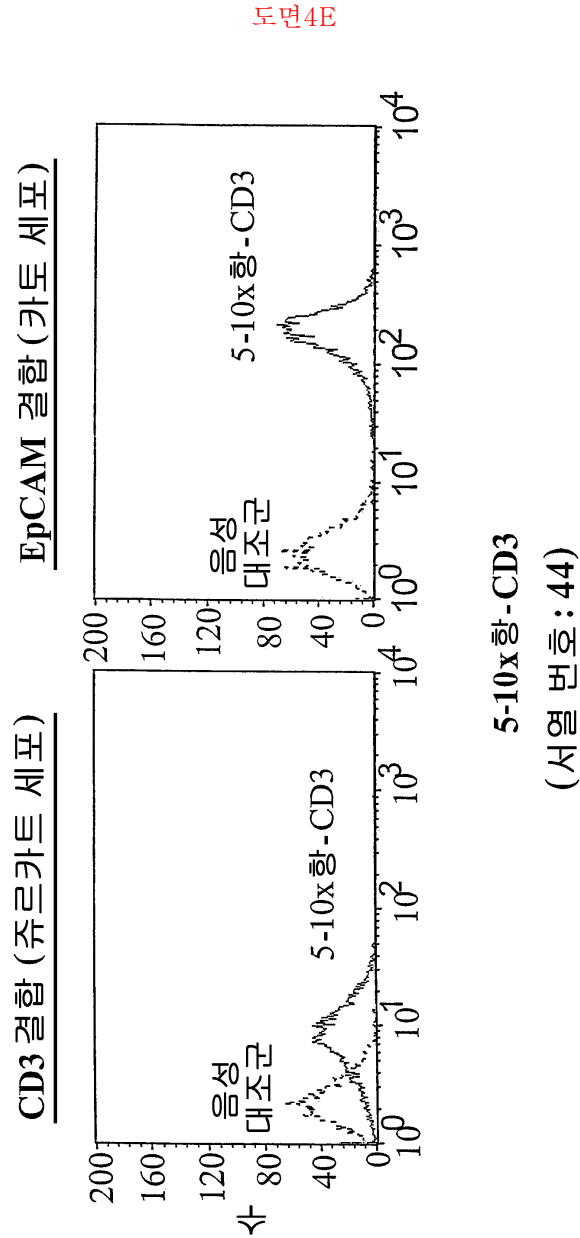
도면4B



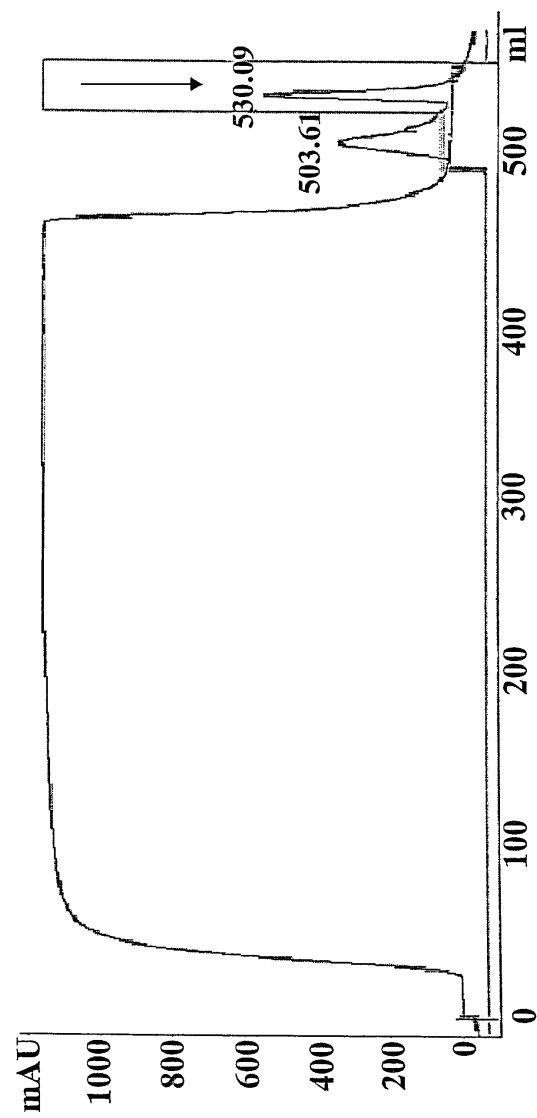
도면4C



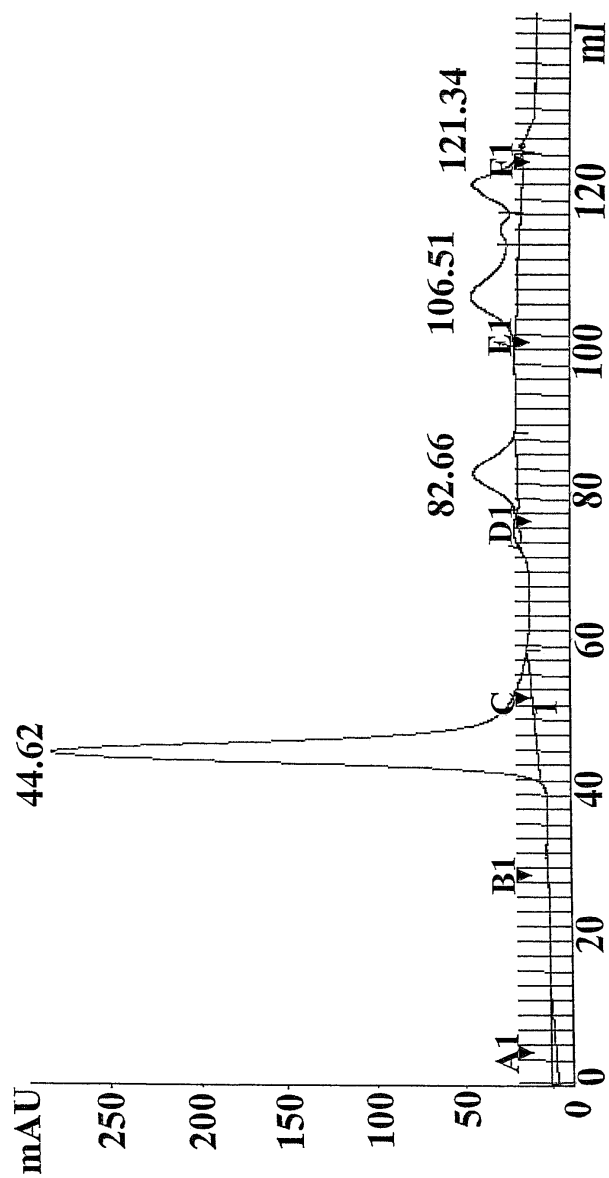




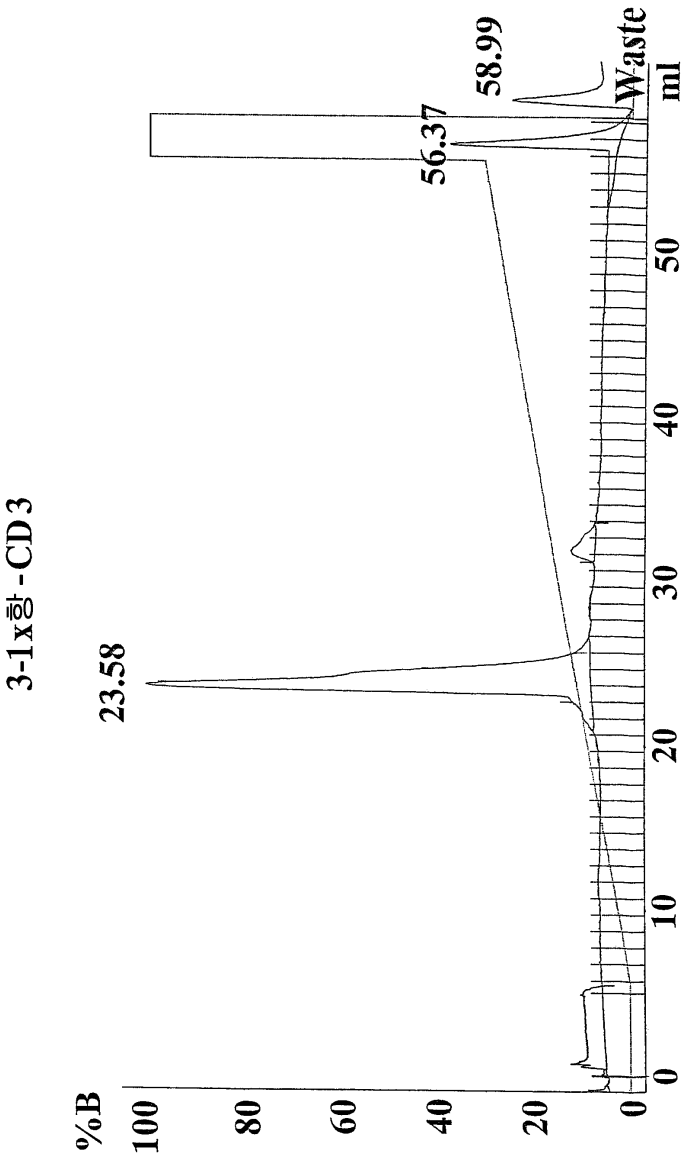
도면5



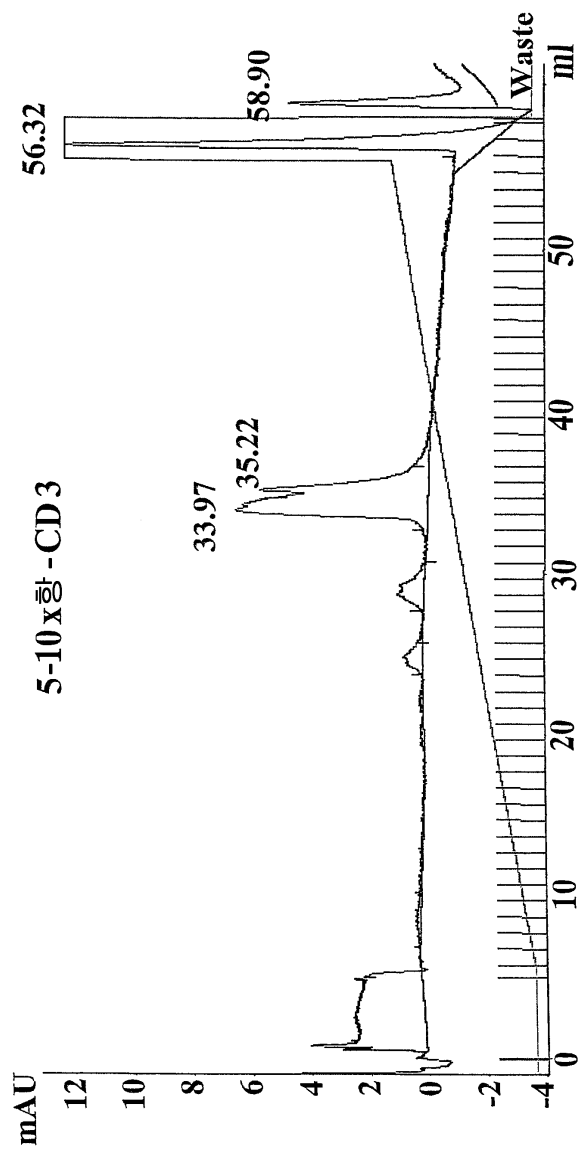
도면6



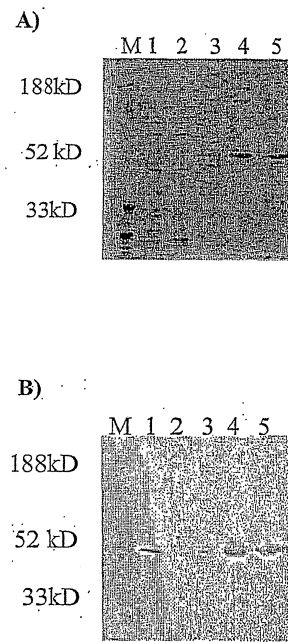
도면7A



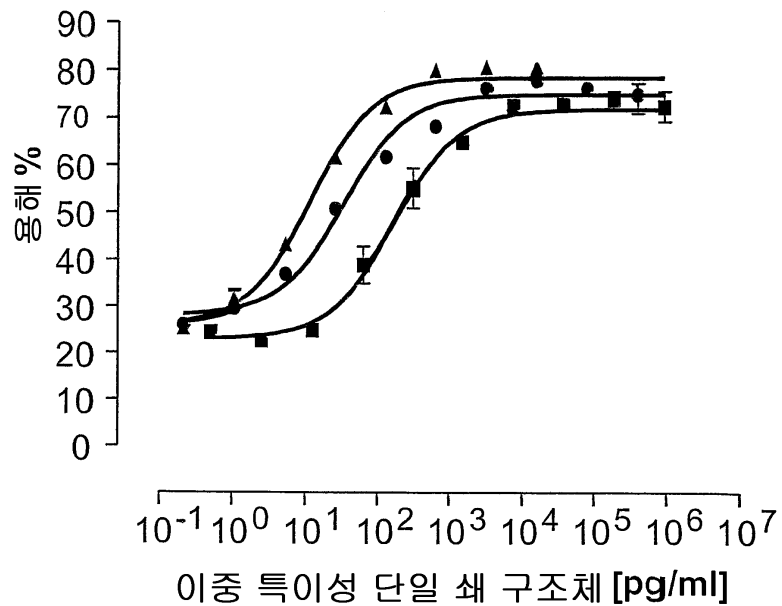
도면7B



도면8

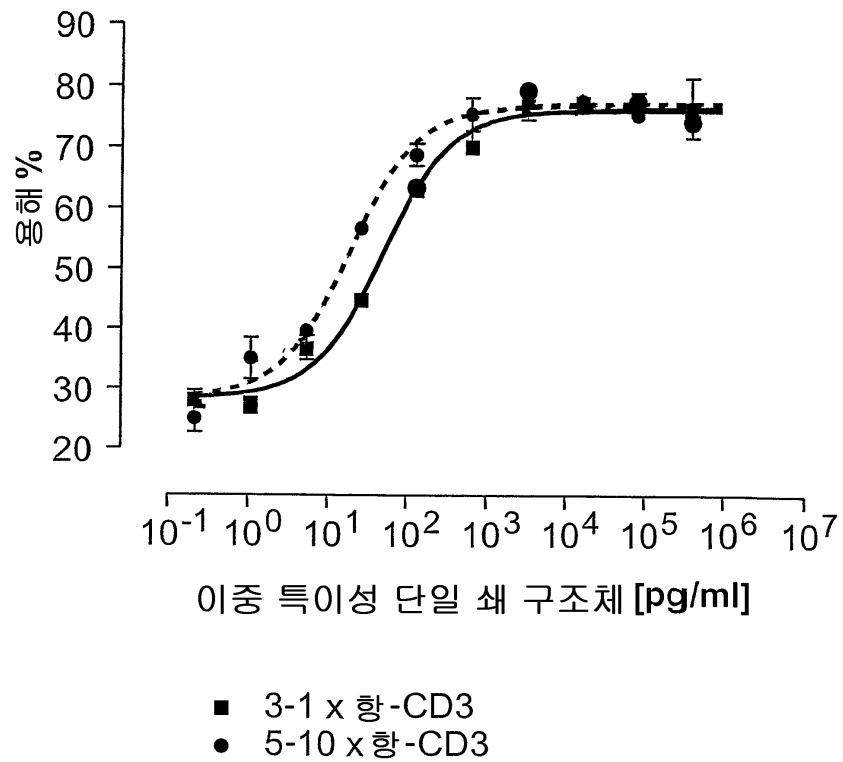


도면9



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

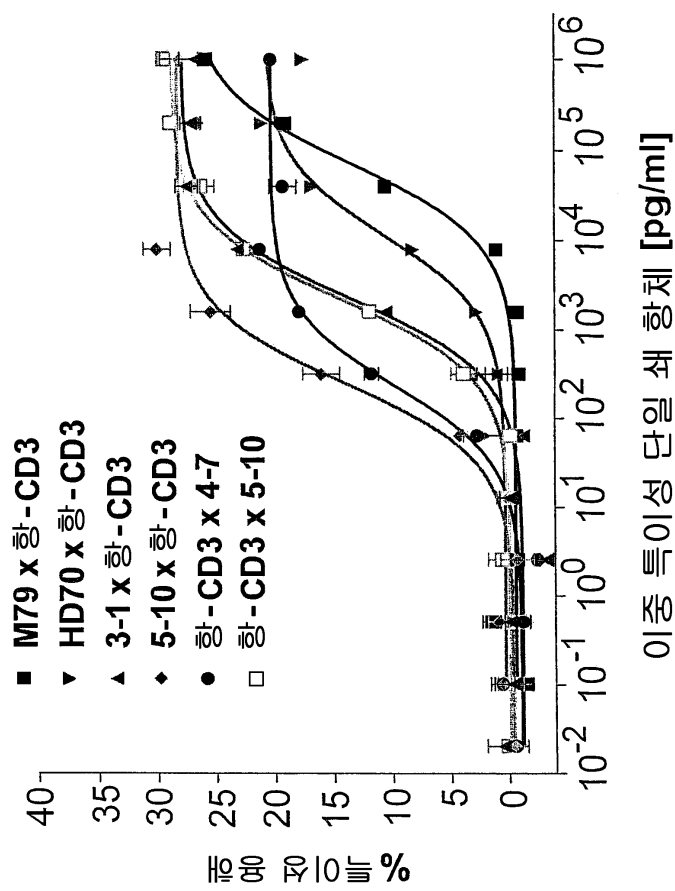
도면10



도면11A

3-1	LR NW DEAMDY
4-1	LR NW DEAMDY
5-10	LR NW DEPMDY
3-5	RGSYGS NYD WYFDV
4-7	RGSYDT NYD WYFDV
M79	MENWSFAY
HD70	DMGWGSGWRPYYYYGMDV
3B10	FTSPDY

도면11B



서열목록

SEQUENCE LISTING

- <110> Micromet AG
- <120> Pharmaceutical composition comprising a construct specific for EpCAM
- <130> H1656 PCT
- <150> EP 03012133.9
- <151> 2003-05-31

<150> EP 03012134.7

<151> 2003-05-31

<160> 101

<170> PatentIn version 3.1

<210> 1

<211> 1521

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> CD3 VHVL aL x 4-7 VHVL

<400> 1

gatatcaaac tgcagcagtc aggggctgaa ctggcaagac ctggggcctc agtgaagatg	60
tcctgcaaga cttctggcta cacctttact aggtacacga tgcactgggt aaaacagagg	120
cctggacagg gtctggaatg gattggatac attaatccta gccgtgggtta tactaattac	180
aatcagaagt tcaaggacaa ggccacattg actacagaca aatcctccag cacagcctac	240
atgcaactga gcagcctgac atctgaggac tctgcagtct attactgtgc aagatattat	300
gatgatcatt actgccttga ctactggggc caaggcacca ctctcacagt ctctcagtc	360
gaagggtgaa gtggagggttc tgggtggaagt ggagggttcag gtggagtcga cgacattcag	420
ctgacccagt ctccagcaat catgtctgca tctccagggg agaaggtcac catgacctgc	480
agagccagtt caagtgtgaa ttacatgaac tgggtaccagc 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
 ctggcgaggc ctggggcttc agtgaagctg tcctgcaagg cttctggcta caccttcaca 840
 aactatggtt taagctgggt gaagcagagg cctggacagg tccttgagtg gattggagag 900
 gtttatccta gaattggtta tgcttactac aatgagaagt tcaagggcaa ggccacactg 960
 actgcagaca aatcctccag cacagcgtcc atggagctcc gcagcctgac ctctgaggac 1020
 tctgcggtct atttctgtgc aagacgggga tcctacgata ctaactacga ctggtacttc 1080
 gatgtctggg gccaaaggac cacggtcacc gtctcctcag gtggtggtgg ttctggcggc 1140
 ggcggctccg gtggtggtgg ttctgagctc gtgatgaccc agactccact ctccctgcct 1200
 gtcagtcttg gagatcaagc ctccatctct tgcagatcta gtcagagcct 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 ttcggagggg ggaccaagct tgagatcaaa 1500
 catcatcacc atcatcatta g 1521

<210> 2

<211> 506

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220>

<223> CD3 VHVL aL x 4-7 VHVL

<400> 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 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 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 Gly Ser Gly 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 His
500 505

<210> 3

<211> 1512

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> CD3 VHVL aL x 5-10 VHVL

<400> 3

gatatacaaac tgcagcagtc aggggctgaa ctggcaagac ctggggcctc agtgaagatg	60
tcctgcaaga cttctggcta cacctttact aggtacacga tgcactgggt aaaacagagg	120
cctggacagg gtctggaatg gattggatac attaatccta gccgtgggta tactaattac	180
aatcagaagt tcaaggacaa ggccacattg actacagaca aatcctccag cacagcctac	240
atgcaactga gcagcctgac atctgaggac tctgcagtct attactgtgc aagatattat	300
gatgatcatt actgccttga ctactggggc caaggcacca ctctcacagt ctctcagtc	360
gaaggtggaa gtggagggtc tgggtggaagt ggagggttcag gtggagtcga cgacattcag	420
ctgaccagtc ctccagcaat catgtctgca tctccagggg agaaggtcac catgacctgc	480
agagccagtt caagtgtaag ttacatgaac tgggtaccagc 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
 ctggtgaaggc ctgggacttc agtgaagata tcctgcaagg cttctggata cgccttcact 840
 aactactggc taggttgggt aaagcagagg cctggacatg gacttgagtg gattggagat 900
 attttccctg gaagtggtaa tatccactac aatgagaagt tcaagggcaa agccacactg 960
 actgcagaca aatcttcgag cacagcctat atgcagctca gtagcctgac atttgaggac 1020
 tctgctgtct atttctgtgc aagactgagg aactgggacg agcctatgga ctactggggc 1080
 caagggacca cggtcacctg ctccctcaggt ggtggtggtt ctggcggcgg cggctccggt 1140
 ggtggtggtt ctgagctcgt gatgacacag tctccatcct ccctgactgt gacagcagga 1200
 gagaaggtca ctatgagctg caagtccagt cagagtctgt taaacagtgg aaatcaaaag 1260
 aactacttga cctggtacca gcagaaacca gggcagcctc ctaaactgtt gatctactgg 1320
 gcatccacta gggaatctgg ggtccctgat cgcttcacag gcagtggatc tggaacagat 1380
 ttcactctca ccatcagcag tgtgcaggct gaagacctgg cagtttatta ctgtcagaat 1440
 gattatagtt atccgctcac gttcgggtgct gggaccaagc ttgagatcaa acatcatcac 1500
 catcatcatt ag 1512

<210> 4

<211> 503

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220>

<223> CD3 VHVL aL x 5-10 VHVL

<400> 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 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 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 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 Gly Ser Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly 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 His
500

<210> 5

<211> 31

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> CD3 VH BsrGI primer

<400> 5

aggtgtacac tccgatatca 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

gatatcaaac tgcagcagtc aggggctgaa ctggcaagac ctggggcctc agtgaagatg	60
tcctgcaaga cttctggcta cacctttact aggtacacga tgcactgggt aaaacagagg	120
cctggacagg gtctggaatg gattggatac attaatccta gccgtgggta tactaattac	180
aatcagaagt tcaaggacaa ggccacattg actacagaca aatcctccag cacagcctac	240
atgcaactga gcagcctgac atctgaggac tctgcagtct attactgtgc aagatattat	300
gatgatcatt actcccttga ctactggggc caaggcacca ctctcacagt ctctcagtc	360
gaagggtgaa gtggaggttc tgggtggaagt ggagggttcag gtggagtcga cgacattcag	420
ctgaccagtc ctccagcaat catgtctgca tctccagggg agaaggtcac catgacctgc	480
agagccagtt caagtgtaag ttacatgaac tgggtaccagc 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
ctggcgaggc ctggggcctc agtgaagctg tcctgcaagg cttctggcta caccttcaca	840
aactatggtt taagctgggt gaagcagagg cctggacagg tccttgagtg gattggagag	900
gtttatccta gaattggtaa tgcttactac aatgagaagt tcaagggcaa ggccacactg	960

actgcagaca aatcctccag cacagcgtcc atggagctcc gcagcctgac ctctgaggac 1020
tctgcggtct atttctgtgc aagacgggga tcttacgata ctaactacga ctggtacttc 1080
gatgtctggg gccaaaggac cacggtcacc gtctcctcag gtggtggtgg ttctggcggc 1140
ggcggctccg gtggtggtgg ttctgagctc gtgatgaccc agactccact ctccctgcct 1200
gtcagtcttg gagatcaagc ctccatctct tgcagatcta gtcagagcct tgtacacagt 1260
aatggaaaca cctatattaca ttggtacctg cagaagccag gccagtctcc aaagctcctg 1320
atctacaaaag tttccaaccg attttctggg gtcccagaca ggttcagtgg cagtggatca 1380
gggacagatt tcacactcaa gatcagcaga gtggaggctg aggatctggg agtttatttc 1440
tgctctcaaa gtacacatgt tccgtacaag ttcgaggagg ggaccaagct tgagatcaaa 1500
catcatcacc atcatcatta g 1521

<210> 8

<211> 506

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220>

<223> CD3 VHVL aL Ser x 4-7 VHVL

<400> 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 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 Gly Ser Gly 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 His
500 505

<210> 9

<211> 1512

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

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

<400> 9

gatatcaaac tgcagcagtc aggggctgaa ctggcaagac ctggggcctc agtgaagatg	60
tcctgcaaga cttctggcta cacctttact aggtacacga tgcactgggt aaaacagagg	120
cctggacagg gtctggaatg gattggatac attaatccta gccgtgggta tactaattac	180
aatcagaagt tcaaggacaa ggccacattg actacagaca aatcctccag cacagcctac	240
atgcaactga gcagcctgac atctgaggac tctgcagtct attactgtgc aagatattat	300
gatgatcatt actcccttga ctactggggc caaggcacca ctctcacagt ctctcagtc	360
gaaggtggaa gtggagggtc tgggtggaagt ggagggttcag gtggagtcga cgacattcag	420
ctgaccagtc ctccagcaat catgtctgca tctccagggg agaaggtcac catgacctgc	480
agagccagtt caagtgtaag ttacatgaac tgggtaccagc 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 agtgaagata tcctgcaagg cttctggata cgccttcact	840

aactactggc taggttgggt aaagcagagg cctggacatg gacttgagtg gattggagat 900
 attttccctg gaagtggtaa tatccactac aatgagaagt tcaagggcaa agccacactg 960
 actgcagaca aatcttcgag cacagcctat atgcagctca gtagcctgac atttgaggac 1020
 tctgctgtct atttctgtgc aagactgagg aactgggacg agcctatgga ctactggggc 1080
 caagggacca cggtcaccgt ctccctcaggt ggtggtgggt ctggcggcgg cggctccggt 1140
 ggtggtgggt ctgagctcgt gatgacacag tctccatcct ccctgactgt gacagcagga 1200
 gagaaggtca ctatgagctg caagtccagt cagagtctgt taaacagtgg aaatcaaaaag 1260
 aactacttga cctggtacca gcagaaacca gggcagcctc ctaaactgtt gatctactgg 1320
 gcatccacta gggaatctgg ggtccctgat cgcttcacag gcagtggatc tggaacagat 1380
 ttcactctca ccatcagcag tgtgcaggct gaagacctgg cagtttatta ctgtcagaat 1440
 gattatagtt atccgctcac gttcgggtgct gggaccaagc ttgagatcaa acatcatcac 1500
 catcatcatt ag 1512

<210> 10

<211> 503

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220>

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

<400> 10

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 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 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 Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly 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 His
500

<210> 11

<211> 1485

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> CD3 VHVL stL x 3-1 VHVL

<400> 11

gatatcaaac tgcagcagtc aggggctgaa ctggcaagac ctggggcctc agtgaagatg	60
tcctgcaaga cttctggcta cacctttact aggtacacga tgcactgggt aaaacagagg	120
cctggacagg gtctggaatg gattggatac attaatccta gccgtgggta tactaattac	180
aatcagaagt tcaaggacaa ggccacattg actacagaca aatcctccag cacagcctac	240
atgcaactga gcagcctgac atctgaggac tctgcagtct attactgtgc aagatattat	300
gatgatcatt actgccttga ctactggggc caaggcacca ctctcacagt ctctcaggt	360
ggtaggtggt ctggcggcgg cggtccgggt ggtggtggt ctgacattca gctgaccag	420
tctccagcaa tcatgtctgc atctccaggg gagaagggtca ccatgacctg cagagccagt	480
tcaagtgtaa gttacatgaa ctggtaccag cagaagtcag gcacctcccc caaaagatgg	540
atttatgaca catccaaagt ggcttctgga gtcccttata gcttcagtgg cagtgggtct	600
gggacctcat actctctcac aatcagcagc atggaggctg aagatgctgc cacttattac	660
tgccaacagt ggagtagtaa cccgctcacg ttcgggtgctg ggaccaagct ggagctgaaa	720

tccggaggtg gtggatccga ggtgcagctg ctcgagcagt ctggagctga gctggtgaaa 780
cctggggcct cagtgaagat atcctgcaag gcttctggat acgccttcac taactactgg 840
ctagggttggg taaagcagag gcctggacat ggacttgagt ggattggaga tcttttccct 900
ggaagtggta atactcacta caatgagagg ttcaggggca aagccacact gactgcagac 960
aaatcctcga gcacagcctt tatgcagctc agtagcctga catctgagga ctctgctgtc 1020
tatttctgtg caagattgag gaactgggac gaggctatgg actactgggg ccaagggacc 1080
acggtcaccg tctcctcagg tgggtggtggt tctggcgggc gcggctccgg tgggtggtggt 1140
tctgagctcg tcatgacca gtctccatct tatcttgctg catctcctgg agaaaccatt 1200
actattaatt gcagggcaag taagagcatt agcaaatatt tagcctggta tcaagagaaa 1260
cctgggaaaa ctaataagct tcttatctac tctggatcca ctttgcaatc tggaattcca 1320
tcaaggttca gtggcagtgg atctggtaca gatttcactc tcaccatcag tagcctggag 1380
cctgaagatt ttgcaatgta ttactgtcaa cagcataatg aatatccgta cacgttcgga 1440
ggggggacca agcttgagat caaacatcat caccatcatc attag 1485

<210> 12

<211> 494

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220>

<223> CD3 VHVL stL x 3-1 VHVL

<400> 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 Gly Ser Gly Gly Gly Gly
115 120 125

Ser Gly 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 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 Gly Gly Ser Gly Gly Gly 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

gatatcaaac tgcagcagtc aggggctgaa ctggcaagac ctggggcctc agtgaagatg	60
tcctgcaaga cttctggcta cacctttact aggtacacga tgcactgggt aaaacagagg	120
cctggacagg gtctggaatg gattggatac attaatccta gccgtgggta tactaattac	180
aatcagaagt tcaaggacaa ggccacattg actacagaca aatcctccag cacagcctac	240
atgcaactga gcagcctgac atctgaggac tctgcagtct attactgtgc aagatattat	300
gatgatcatt actgccttga ctactggggc caaggcacca ctctcacagt ctctcaggt	360
ggtggtggtt ctggcggcgg cggtccgggt ggtggtggtt ctgacattca gctgaccag	420
tctccagcaa tcatgtctgc atctccaggg gagaagggtca ccatgacctg cagagccagt	480
tcaagtgtaa gttacatgaa ctggtaccag cagaagtcag gcacctcccc caaaagatgg	540
atztatgaca catccaaagt ggcttctgga gtcccttata gcttcagtgg cagtgggtct	600
gggacctcat actctctcac aatcagcagc atggaggctg aagatgctgc cacttattac	660
tgccaacagt ggagtagtaa cccgctcacg ttcggtgctg ggaccaagct ggagctgaaa	720
tccggagggtg gtggatccga ggtgcagctg ctcgagcagt ctggagctga gctggcgagg	780
cctggggctt cagtgaagct gtccctgcaag gcttctggct acaccttcac aaactatggt	840

ttaagctggg tgaagcagag gcctggacag gtccttgagt ggattggaga ggtttatcct 900
 agaattggta atgcttacta caatgagaag ttcaagggca aggccacact gactgcagac 960
 aaatcctcca gcacagcgtc catggagctc cgcagcctga cctctgagga ctctgcggtc 1020
 tatttctgtg caagacgggg atcctacgat actaactacg actggtactt cgatgtctgg 1080
 ggccaaggga ccacggtcac cgtctcctca ggtggtggtg gttctggcgg cggcggctcc 1140
 ggtggtggtg gttctgagct cgtgatgacc cagactccac tctccctgcc tgtcagtctt 1200
 ggagatcaag cctccatctc ttgcagatct agtcagagcc ttgtacacag taatggaaac 1260
 acctatttac attggtacct gcagaagcca ggccagtctc caaagctcct gatctacaaa 1320
 gttccaacc gattttctgg ggtcccagac aggttcagtg gcagtggatc agggacagat 1380
 ttcacactca agatcagcag agtggaggct gaggatctgg gagtttattt ctgctctcaa 1440
 agtacacatg ttccgtacac gttcggaggg gggaccaagc ttgagatcaa acatcatcac 1500
 catcatcatt ag 1512

<210> 14

<211> 503

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220>

<223> CD3 VHVL stL x 4-7 VHVL

<400> 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 Gly Ser Gly Gly Gly Gly
115 120 125

Ser Gly 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 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 Gly Ser Gly 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 Gly Thr Lys Leu Glu Ile
485 490 495

Lys His 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

gatatcaaac tgcagcagtc aggggctgaa ctggcaagac ctggggcctc agtgaagatg	60
tcctgcaaga cttctggcta cacctttact aggtacacga tgcactgggt aaaacagagg	120
cctggacagg gtctggaatg gattggatac attaatccta gccgtgggtta tactaattac	180
aatcagaagt tcaaggacaa ggccacattg actacagaca aatcctccag cacagcctac	240
atgcaactga gcagcctgac atctgaggac tctgcagtct attactgtgc aagatattat	300
gatgatcatt actgccttga ctactggggc caaggcacca ctctcacagt ctctcaggt	360
ggtggtggtt ctggcggcgg cggtccgggt ggtggtggtt ctgacattca gctgaccag	420
tctccagcaa tcatgtctgc atctccaggg gagaagggtca ccatgacctg cagagccagt	480
tcaagtgtaa gttacatgaa ctggtaccag cagaagtcag gcacctcccc caaaagatgg	540
atttatgaca catccaaagt ggcttctgga gtcccttata gcttcagtgg cagtgggtct	600
gggacctcat actctctcac aatcagcagc atggaggctg aagatgctgc cacttattac	660
tgccaacagt ggagtagtaa cccgctcacg ttcgggtgctg ggaccaagct ggagctgaaa	720

tccggagggtg gtggatccga gctcgtgatg acccagactc cactctccct gcctgtcagt 780
 cttggagatc aagcctccat ctcttcgaga tctagtcaga gccttgtaga cagtaatgga 840
 aacacctatt tacattggta cctgcagaag ccaggccagt ctccaaagct cctgatctac 900
 aaagtttcca accgattttc tgggggtccca gacagggttca gtggcagtgg atcagggaca 960
 gatttcacac tcaagatcag cagagtggag gctgaggatc tgggagttta tttctgctct 1020
 caaagtacac atgttccgta cacgttcgga gggggggacca agcttgagat caaaggtggg 1080
 ggtggttctg gcggcggcgg ctccggtggg ggtggttctg aggtgcagct gctcgagcag 1140
 tctggagctg agctggcgag gcctggggct tcagtgaagc tgtcctgcaa ggcttctggc 1200
 tacaccttca caaactatgg tttaagctgg gtgaagcaga ggcctggaca ggtccttgag 1260
 tggattggag aggtttatcc tagaattggg aatgcttact acaatgagaa gttcaagggc 1320
 aaggccacac tgactgcaga caaatcctcc agcacagcgt ccatggagct ccgcagcctg 1380
 acctctgagg actctgcggg ctatttctgt gcaagacggg gatcctacga tactaactac 1440
 gactggtact tcgatgtctg gggccaaggg accacgggtca ccgtctcctc acatcatcac 1500
 catcatcatt ag 1512

<210> 16

<211> 503

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220>

<223> CD3 VHVL stL x 4-7 VLVH

<400> 16

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 Gly Ser Gly Gly Gly Gly
115 120 125

Ser Gly 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 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 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 Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
355 360 365

Gly 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
gatatcaaac tgcagcagtc aggggctgaa ctggcaagac ctggggcctc agtgaagatg 60
tcctgcaaga cttctggcta cacctttact aggtacacga tgcactgggt aaaacagagg 120
cctggacagg gtctggaatg gattggatac attaatccta gccgtgggta tactaattac 180
aatcagaagt tcaaggacaa ggccacattg actacagaca aatcctccag cacagcctac 240
atgcaactga gcagcctgac atctgaggac tctgcagtct attactgtgc aagatattat 300
gatgatcatt actgccttga ctactggggc caaggcacca ctctcacagt ctctcaggt 360
ggtggtgggt ctggcggcgg cggtccgggt ggtggtgggt ctgacattca gctgaccag 420
tctccagcaa tcatgtctgc atctccaggg gagaagggtca ccatgacctg cagagccagt 480
tcaagtgtaa gttacatgaa ctggtaccag cagaagtcag gcacctcccc caaaagatgg 540
atztatgaca catccaaagt ggcttctgga gtcccttata gcttcagtgg cagtgggtct 600

```

gggacctcat actctctcac aatcagcagc atggaggctg aagatgctgc cacttattac    660
tgccaacagt ggagtagtaa cccgctcacg ttcggtgctg ggaccaagct ggagctgaaa    720
tccggagggtg gtggatccga ggtgcagctg ctcgagcagt ctggagctga gctggtaagg    780
cctgggactt cagtgaagat atcctgcaag gcttctggat acgccttcac taactactgg    840
ctaggttggg taaagcagag gcctggacat ggacttgagt ggattggaga tattttccct    900
ggaagtggta atatccacta caatgagaag ttcaagggca aagccacact gactgcagac    960
aaatcttcga gcacagccta tatgcagctc agtagcctga catttgagga ctctgctgtc   1020
tatttctgtg caagactgag gaactgggac gagcctatgg actactgggg ccaagggacc   1080
acggtcaccg tctcctcagg tgggtggtggt tctggcgggc gcggctccgg tgggtggtggt   1140
tctgagctcg tgatgacaca gtctccatcc tccctgactg tgacagcagg agagaaggtc   1200
actatgagct gcaagtccag tcagagtctg ttaaacagtg gaaatcaaaa gaactacttg   1260
acctggtacc agcagaaacc agggcagcct cctaaactgt tgatctactg ggcatccact   1320
agggaaatctg ggggtccctga tcgcttcaca ggagtggtgat ctggaacaga tttcactctc   1380
accatcagca gtgtgcaggc tgaagacctg gcagtttatt actgtcagaa tgattatagt   1440
tatccgctca cgttcgggtgc tgggaccaag cttgagatca aacatcatca ccatcatcat   1500
tag                                                                    1503

```

<210> 18

<211> 500

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220>

<223> CD3 VHVL stL x 5-10 VHVL

<400> 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 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 Gly Ser Gly Gly Gly Gly
115 120 125

Ser Gly 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 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 Gly Gly Ser Gly Gly 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 VLVH

<400> 19

gatatcaaac tgcagcagtc aggggctgaa ctggcaagac ctggggcctc agtgaagatg	60
tcctgcaaga cttctggcta cacctttact 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 actgccttga ctactggggc caaggcacca ctctcacagt ctctcaggt	360
ggtggtggtt ctggcggcgg cggtccgggt ggtggtggtt ctgacattca gctgaccag	420
tctccagcaa tcatgtctgc atctccaggg gagaagggtca ccatgacctg cagagccagt	480

tcaagtgtaa gttacatgaa ctggtaccag cagaagtcag gcacctcccc caaaagatgg	540
atztatgaca catccaaagt ggcttctgga gtcccttata gcttcagtgg cagtgggtct	600
gggacctcat actctctcac aatcagcagc atggaggctg aagatgctgc cacttattac	660
tgccaacagt ggagtagtaa cccgctcacg ttcgggtgctg ggaccaagct ggagctgaaa	720
tccggagggtg gtggatccga gctcgtgatg acacagtctc catcctccct gactgtgaca	780
gcaggagaga aggtcactat gagctgcaag tccagtcaga gtctgttaaa cagtggaaat	840
caaaagaact acttgacctg gtaccagcag aaaccagggc agcctcctaa actgttgatc	900
tactgggcat ccactaggga atctggggtc cctgatcgct tcacaggcag tggatctgga	960
acagatttca ctctcaccat cagcagtgtg caggctgaag acctggcagt ttattactgt	1020
cagaatgatt atagttatcc gctcacgttc ggtgctggga ccaagcttga gatcaaaggt	1080
ggtggtggtt ctggcggcgg cggctccggt ggtggtggtt ctgagggtga gctgctcgag	1140
cagtctggag ctgagctggt aaggcctggg acttcagtga agatatactg caaggcttct	1200
ggatacgcct tcaactaacta ctggctaggt tgggtaaagc agaggcctgg acatggactt	1260
gagtggattg gagatatattt ccttgaagt ggtaatatcc actacaatga gaagttcaag	1320
ggcaaagcca cactgactgc agacaaatct tcgagcacag cctatatgca gctcagtagc	1380
ctgacatttg aggactctgc tgtctatttc tgtgcaagac tgaggaactg ggacgagcct	1440
atggactact ggggccaaagg gaccacggtc accgtctcct cacatcatca ccatcatcat	1500
tag	1503

<210> 20

<211> 500

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220>

<223> CD3 VHVL stL x 5-10 VLVH

<400> 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 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 Gly Ser Gly Gly Gly Gly
115 120 125

Ser Gly 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 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 Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
355 360 365

Ser Gly 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
ggagccgccg ccgccagaac caccaccacc tgaggagact gtgagagtgg tgccttg 57

<210> 22

<211> 53

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> 5' CD3 VL GS15 primer

<400> 22

ggcggcggcg gctccggtgg tggtggttct gacattcagc tgaccagtc tcc 53

<210> 23

<211> 51

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> 4-7 VH GS15 FOR

<400> 23

ggcggcggcg gctccggtgg tggtggttct gaggtgcagc tgctcgagca g 51

<210> 24

<211> 53

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> 4-7 VH SalI REV primer

<400> 24

ttttaagtcg acctaatgat gatgatgatg atgtgaggag acggtgaccg tgg 53

<210> 25

<211> 49

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> 5-10 VLBspEI38 primer

<400> 25

ctgaaatccg gaggtggtgg atccgagctc gtgatgacac agtctccat

49

<210> 26

<211> 53

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> 5-10 VLGS15REV primer

<400> 26

ggagccgccc cgcgcagaac caccaccacc ttgatctca agcttggtcc cag

53

<210> 27

<211> 49

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> 5-10 VH GS15 FOR primer

<400> 27

ggcggcggcg gctccggtgg tgggtggttct gaggtgcagc tgctcgagc

49

<210> 28

<211> 53

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> 5-10 VHSalIREV primer

<400> 28

ttttaagtcg acctaataatgat gatgatgatg atgtgaggag acggtgaccg tgg 53

<210> 29

<211> 1581

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> 3-5 (VL-VH) xanti-CD3

<400> 29

atgggatgga gctgtatcat cctcttcttg gtagcaacag ctacaggtgt acactccgcg	60
cgcgagctcg tgatgaccca gactccactc tccctgcctg tcagtcttgg agatcaagcc	120
tccatctctt gcagatctag tcagagcctt gtacacagta atggaaacac ctatttacat	180
tggtagctgc agaagccagg ccagtctcca aagctcctga tctacaaagt ttccaaccga	240
ttttctgggg tcccagacag gttcagtggc agtggatcag ggacagattt cacactcaag	300
atcagcagag tggaggctga ggatctggga gtttatttct gctctcaaag tacacatggt	360
ccgtacacgt tcggaggggg gaccaagctt gagatcaaag gtggtggtgg ttctggcggc	420
ggcggctccg gtggtggtgg ttctgaggtg cagctgctcg agcagtctgg agctgagctg	480
gtaaggcctg ggacttcagt gaagctgtcc tgcaaggcct ctggctacac cttcacaagc	540
tatggtttaa gctgggtgaa gcagagaact ggacagggcc ttgagtggat tggagaggtt	600
tatcctagaa ttggtaatgc ttactacaat gagaagttca agggcaaggc cacactgact	660
gcagacaaat cctccagcac agcgtccatg gagctccgca gcctgacatc tgaggactct	720
gcggtctatt tctgtgcaag acggggatcc tacggtagta actacgactg gtacttcgat	780
gtctggggcc aagggaccac ggtcaccgtc tcctccggag gtggtggatc cgatatcaaa	840

ctgcagcagt caggggctga actggcaaga cctggggcct cagtgaagat gtcctgcaag 900
 acttctggct acacctttac taggtacacg atgcactggg taaaacagag gcctggacag 960
 ggtctggaat ggattggata cattaatcct agccgtgggt 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 ctggtggaag tggaggttca ggtggagtcg acgacattca gctgaccag 1260
 tctccagcaa tcatgtctgc atctccaggg gagaaggtca ccatgacctg cagagccagt 1320
 tcaagtgtaa gttacatgaa ctggtaccag cagaagtcag gcacctcccc caaaagatgg 1380
 atttatgaca catccaaagt ggcttctgga gtcccttata gcttcagtgg cagtgggtct 1440
 gggacctcat actctctcac aatcagcagc atggaggctg aagatgctgc cacttattac 1500
 tgccaacagt ggagtagtaa cccgctcacg ttcggtgctg ggaccaagct ggagctgaaa 1560
 catcatcacc atcatcatta g 1581

<210> 30

<211> 526

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220>

<223> 3-5 (VL-VH) xanti-CD3

<400> 30

Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly
 1 5 10 15

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

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

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 Gly Thr
115 120 125

Lys Leu Glu Ile Lys Gly Gly Gly Gly Ser Gly 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 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> 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 gcggcggtc cggtggtggt ggttctgagg tgcagctgct cgacagtctg 60

<210> 33

<211> 41

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Me84 primer

<400> 33

gtgctccgga ggagacggtg accgtggtcc cttggcccca g

41

<210> 34

<211> 53

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Me90 primer

<400> 34

ccggagccgc cgccgccaga accaccacca cctttgatct caagcttggt ccc

53

<210> 35

<211> 1548

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

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

<400> 35

atgggatgga gctgtatcat cctcttcttg gtagcaacag ctacaggtgt acactccgag	60
ctcgtcatga cccagtctcc atcttatctt gctgcatctc ctggagaaac cattactatt	120
aattgcaggg caagtaagag cattagcaaa tatttagcct ggtatcaaga gaaacctggg	180
aaaactaata agcttcttat ctactctgga tccactttgc aatctggaat tccatcaagg	240
ttcagtggca gtggatctgg tacagatttc actctcacca tcagtagcct ggagcctgaa	300
gattttgcaa tgtattactg tcaacagcat aatgaatatc cgtacacgtt cggagggggg	360
accaagcttg agatcaaagg tgggtggtggt tctggcgggc gcggctccgg tgggtggtggt	420
tctgaggtgc agctgctcga gcagtctgga gctgagctgg tgaaacctgg ggcctcagtg	480
aagatatacct gcaaggcttc tggatacgcc ttcactaact actggctagg ttgggtaaag	540
cagaggcctg gacatggact tgagtggatt ggagatcttt tccctggaag tggtaatact	600
cactacaatg agaggttcag gggcaaagcc aactgactg cagacaaatc ctcgagcaca	660
gcctttatgc agctcagtag cctgacatct gaggactctg ctgtctatct ctgtgcaaga	720
ttgaggaact gggacgaggc tatggactac tggggccaag ggaccacggt caccgtctcc	780
tccggaggtg gtggatccga tatcaaactg cagcagtcag gggctgaact ggcaagacct	840
ggggcctcag tgaagatgtc ctgcaagact tctggctaca cctttactag gtacacgatg	900
cactgggtaa aacagaggcc tggacagggg ctggaatgga ttggatacat taatcctagc	960
cgtgggtata ctaattacaa tcagaagttc aaggacaagg ccacattgac tacagacaaa	1020
tctccagca cagcctacat gcaactgagc agcctgacat ctgaggactc tgcagtctat	1080
tactgtgcaa gatattatga tgatcattac tgccctgact actggggcca aggcaccact	1140
ctcacagtct cctcagtcga aggtggaagt ggaggttctg gtggaagtgg aggttcaggt	1200
ggagtcgacg acattcagct gacccagtct ccagcaatca tgtctgcac tccaggggag	1260
aaggtcacca tgacctgcag agccagttca agtgtaagtt acatgaactg gtaccagcag	1320
aagtcaggca cctcccccaa aagatggatt tatgacacat ccaaagtggc ttctggagtc	1380
ccttatcgct tcagtggcag tgggtctggg acctcatact ctctcacaat cagcagcatg	1440
gaggctgaag atgctgccac ttattactgc caacagtgga gtagtaacct gctcacgttc	1500
ggtgctggga ccaagctgga gctgaaacat catcaccatc atcattag	1548

<210> 36

<211> 515

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220>

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

<400> 36

Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly
1 5 10 15

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

Ser Pro Gly Glu Thr Ile Thr Ile Asn Cys Arg Ala Ser Lys Ser Ile
35 40 45

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

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

Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser
85 90 95

Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Met Tyr Tyr Cys Gln Gln His Asn Glu
100 105 110

Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Gly Gly
115 120 125

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln
130 135 140

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

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 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 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

<220>

<223> Me91a primer

<400> 37

ggattgtaca ctccgagctc gtcattgaccc agtctccatc ttatcttgct gc 52

<210> 38

<211> 1566

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> 4-1 (VLVH) xanti-CD3

<400> 38

atgggatgga gctgtatcat cctcttcttg gtagcaacag ctacaggtgt acactccgag	60
ctcgtgatga cacagtctcc atcctccctg agtgtgtcag caggagagaa ggtcactatg	120
agctgcaagt ccagtcagag tctgttaaac agtggaatc aaaagaacta cttggccttg	180
taccagcaga aaccagggca gcctcctaaa ctgttgatct acggggcatc cactagggaa	240
tctggggtcc ctgatcgctt cacaggcagt ggatctggaa cagatttcac tctcaccatc	300
agcagtgtgc aggctgaaga cctggcagtt tattactgtc agaatgatta tagttatccg	360
tacacgttcg gaggggggac caagcttgag atcaaagggtg gtggtgggttc tggcggcggc	420
ggctccggtg gtggtgggttc tgagggtgcag ctgctcgagc agtctggagc tgagctggta	480
aggcctggga cttcagtgaa gatatactgc aaggcttctg gatacgctt cactaactac	540
tggctaggtt ggggttaagca gaggcctgga catggacttg aatgggttg agatattttc	600
cctggaagtg gtaatgctca ctacaatgag aagttcaagg gcaaagccac actgactgca	660
gacaagtcct cgtacacagc ctatatgcag ctcatgagc tgacatctga ggactctgct	720
gtctattttct gtgcaagatt gcggaactgg gacgaggcta tggactactg gggccaaggg	780
accacggtca ccgtctcctc cggaggtggg ggatccgata tcaaactgca gcagtcaggg	840
gctgaactgg caagacctgg ggcctcagtg aagatgtcct gcaagacttc tggctacacc	900

tttactaggt acacgatgca ctgggtaaaa cagaggcctg gacagggctt ggaatggatt 960
 ggatacatta atcctagccg tggttatact aattacaatc agaagttcaa ggacaaggcc 1020
 acattgacta cagacaaatc ctccagcaca gcctacatgc aactgagcag cctgacatct 1080
 gaggactctg cagtctatta ctgtgcaaga tattatgatg atcattactg ccttgactac 1140
 tggggccaag gcaccactct cacagtctcc tcagtcgaag gtggaagtgg aggttctggt 1200
 ggaagtggag gttcagggtg agtcgacgac attcagctga cccagtctcc agcaatcatg 1260
 tctgcatctc caggggagaa ggtcaccatg acctgcagag ccagttcaag tgtaagttac 1320
 atgaactggt accagcagaa gtcaggcacc tcccccaaaa gatggattta tgacacatcc 1380
 aaagtggctt ctggagtccc ttatcgcttc agtggcagtg ggtctgggac ctcatactct 1440
 ctcaaatca gcagcatgga ggctgaagat gctgccactt attactgcca acagtggagt 1500
 agtaaccgcg tcacgttcgg tgctgggacc aagctggagc tgaaacatca tcaccatcat 1560
 cattag 1566

<210> 39

<211> 521

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220>

<223> 4-1 (VLVH) xanti-CD3

<400> 39

Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly
 1 5 10 15

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

Ser Ala Gly Glu Lys Val Thr Met Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu
 35 40 45

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 Gly Gly Ser Gly 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 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 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 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 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 gctgtatcat cctcttcttg gtagcaacag ctacaggtgt acactccgcg 60

cgcgagctcg tgatgaccca gactccactc tccctgcctg tcagtcttgg agatcaagcc	120
tccatctctt gcagatctag tcagagcctt gtacacagta atggaaacac ctattttacat	180
tggtagctgc agaagccagg ccagtctcca aagctcctga tctacaaagt ttccaaccga	240
ttttctgggg tcccagacag gttcagtggc agtggatcag 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 ggacaggctc ttgagtggat tggagaggtt	600
tatcctagaa ttggtaatgc ttactacaat gagaagttca agggcaaggc cacactgact	660
gcagacaaat cctccagcac agcgtccatg gagctccgca gcctgacctc tgaggactct	720
gcggtctatt tctgtgcaag acggggatcc tacgatacta actacgactg gtacttcgat	780
gtctggggcc aaggggaccac ggtcaccgtc tcctccggag gtggtggatc cgatatcaaa	840
ctgcagcagt caggggctga actggcaaga cctggggcct cagtgaagat gtcttgcaag	900
acttctggct acacctttac taggtacacg atgcactggg taaaacagag gcctggacag	960
ggtctggaat ggattggata cattaatcct agccgtgggt atactaatta caatcagaag	1020
ttcaaggaca aggccacatt gactacagac aaatcctcca gcacagccta catgcaactg	1080
agcagcctga catctgagga ctctgcagtc tattactgtg caagatatta tgatgatcat	1140
tactgccttg actactgggg ccaaggcacc actctcacag tctcctcagt cgaagggtgga	1200
agtggaggtt ctggtggaag tggaggttca ggtggagtcg acgacattca gctgaccag	1260
tctccagcaa tcatgtctgc atctccaggg gagaagggtca ccatgacctg cagagccagt	1320
tcaagtgtaa gttacatgaa ctggtaccag cagaagtcag gcacctcccc caaaagatgg	1380
atttatgaca catccaaaagt ggcttctgga gtcccttata gcttcagtgg cagtgggtct	1440
gggacctcat actctctcac aatcagcagc atggaggctg aagatgctgc cacttattac	1500
tgccaacagt ggagtagtaa cccgctcacg ttcggtgctg ggaccaagct ggagctgaaa	1560
catcatcacc atcatcatta g	1581

<210> 42

<211> 526

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220>

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

<400> 42

Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly
1 5 10 15

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

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

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 Gly Thr
115 120 125

Lys Leu Glu Ile Lys Gly Gly Gly Gly Ser Gly 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

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 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

<220>

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

<400> 43

atgggatgga gctgtatcat cctcttcttg gtagcaacag ctacaggtgt acactccgag	60
ctcgtgatga cacagtctcc atcctccctg actgtgacag caggagagaa ggtcactatg	120
agctgcaagt ccagtcagag tctgttaaac agtggaaatc aaaagaacta cttgacctgg	180
taccagcaga aaccagggca gcctcctaaa ctgttgatct actgggcac cactagggaa	240
tctgggggtcc ctgatcgctt cacaggcagt ggatctggaa cagatttcac tctcaccatc	300
agcagtgtgc aggctgaaga cctggcagtt tattactgtc agaatgatta tagttatccg	360
ctcacgttcg gtgctgggac caagcttgag atcaaagggtg gtgggtgggtc tggcggcggc	420
ggctccggtg gtgggtgggtc tgagggtgcag ctgctcgagc agtctggagc tgagctggta	480
aggcctggga cttcagtgaa gatatactgc aaggcttctg gatacgctt cactaactac	540
tggctaggtt gggtaaagca gaggcctgga catggacttg agtggattgg agatattttc	600
cctggaagtg gtaatatcca ctacaatgag aagttcaagg gcaaagccac actgactgca	660
gacaaatctt cgagcacagc ctatatgcag ctcaagtagc tgacatttga ggactctgct	720
gtctatttct gtgcaagact gaggaactgg gacgagccta tggactactg gggccaaggg	780
accacggtca cagtctcctc cggagggtgg ggatccgata tcaaactgca gcagtcaggg	840
gctgaactgg caagacctgg ggcctcagtg aagatgtcct gcaagacttc tggctacacc	900
tttactaggt acacgatgca ctgggtaaaa cagaggcctg gacagggctt ggaatggatt	960
ggatacatta atcctagccg tgggtataact aattacaatc agaagttcaa ggacaaggcc	1020
acattgacta cagacaaatc ctccagcaca gcctacatgc aactgagcag cctgacatct	1080
gaggactctg cagtctatta ctgtgcaaga tattatgatg atcattactg ccttgactac	1140
tggggccaag gcaccactct cacagtctcc tcagtcgaag gtggaagtgg aggttctgggt	1200
ggaagtggag gttcagggtg 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 attactgcca acagtggagt 1500
 agtaacccgc tcacgttcgg tgctgggacc aagctggagc tgaaacatca 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 5 10 15

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

Thr Ala Gly Glu Lys Val Thr Met Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu
 35 40 45

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

Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp 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 Leu Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys
 115 120 125

Leu Glu Ile Lys Gly Gly Gly Gly Ser Gly 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 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 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 His
515 520

<210> 45

<211> 1494

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> CD3 VHVL aL x 3-1 VHVL

<400> 45

gatatcaaac tgcagcagtc aggggctgaa ctggcaagac ctggggcctc agtgaagatg	60
tcctgcaaga cttctggcta cacctttact aggtacacga tgcactgggt aaaacagagg	120
cctggacagg gtctggaatg gattggatac attaatccta gccgtgggta tactaattac	180
aatcagaagt tcaaggacaa ggccacattg actacagaca aatcctccag cacagcctac	240
atgcaactga gcagcctgac atctgaggac tctgcagtct attactgtgc aagatattat	300
gatgatcatt actgccttga ctactggggc caaggcacca ctctcacagt ctctcagtc	360
gaagggtgaa gtggagggttc tgggtggaagt ggagggttcag gtggagtcga cgacattcag	420
ctgacccagt ctccagcaat catgtctgca tctccagggg agaaggtcac catgacctgc	480
agagccagtt caagtgtaag ttacatgaac tgggtaccagc 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 ccggagggtg tggatccgag gtgcagctgc tcgagcagtc tggagctgag	780
ctggtgaaac ctggggcctc agtgaagata tcctgcaagg cttctggata cgccttcact	840
aactactggc taggttgggt aaagcagagg cctggacatg gacttgagtg gattggagat	900
cttttccctg gaagtggtaa tactcactac aatgagaggt tcaggggcaa agccacactg	960
actgcagaca aatcctcgag cacagccttt atgcagctca gtagcctgac atctgaggac	1020
tctgctgtct atttctgtgc aagattgagg aactgggacg aggctatgga ctactggggc	1080
caagggacca cggtcacctg ctccctcaggt ggtgggtggt ctggcggcgg cggtccggt	1140
ggtgggtggt ctgagctcgt catgacccag tctccatctt atcttgctgc atctcctgga	1200

gaaaccatta ctattaattg cagggcaagt aagagcatta gcaaataattt agcctggtat 1260
 caagagaaac ctgggaaaac taataagctt cttatctact ctggatccac tttgcaatct 1320
 ggaattccat caaggttcag tggcagtggg tctggtacag atttcactct caccatcagt 1380
 agcctggagc ctgaagattt tgcaatgtat tactgtcaac agcataatga atatccgtac 1440
 acgttcggag gggggaccaa gcttgagatc aaacatcatc accatcatca ttag 1494

<210> 46

<211> 497

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220>

<223> CD3 VHVL aL x 3-1 VHVL

<400> 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 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 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 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

<210> 47

<211> 1494

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> CD3 VHVL aL Ser x 3-1 VHVL

<400> 47

gatatcaaac tgcagcagtc aggggctgaa ctggcaagac ctggggcctc agtgaagatg	60
tcctgcaaga cttctggcta cacctttact aggtacacga tgcactgggt aaaacagagg	120
cctggacagg gtctggaatg gattggatac attaatccta gccgtgggta tactaattac	180
aatcagaagt tcaaggacaa ggccacattg actacagaca aatcctccag cacagcctac	240
atgcaactga gcagcctgac atctgaggac tctgcagtct attactgtgc aagatattat	300
gatgatcatt actcccttga ctactggggc caaggcacca ctctcacagt ctctcagtc	360
gaagggtgaa gtggagggttc tgggtggaagt ggagggttcag gtggagtcga cgacattcag	420
ctgacccagt ctccagcaat catgtctgca tctccagggg agaaggtcac catgacctgc	480
agagccagtt caagtgtaag ttacatgaac tgggtaccagc 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 ccggagggtg tggatccgag gtgcagctgc tcgagcagtc tggagctgag	780
ctggtgaaac ctggggcctc agtgaagata tcctgcaagg cttctggata cgccttcact	840
aactactggc taggttgggt aaagcagagg cctggacatg gacttgagtg gattggagat	900
cttttccctg gaagtggtaa tactcactac aatgagaggt tcaggggcaa agccacactg	960
actgcagaca aatcctcgag cacagccttt atgcagctca gtagcctgac atctgaggac	1020
tctgctgtct atttctgtgc aagattgagg aactgggacg aggctatgga ctactggggc	1080
caagggacca cggtcacctg ctccctcaggt ggtgggtggt ctggcggcgg cggtccggt	1140
ggtgggtggt ctgagctcgt catgacccag tctccatctt atcttgctgc atctcctgga	1200

gaaaccatta ctattaattg cagggcaagt aagagcatta gcaaataattt agcctggtat 1260
 caagagaaac ctgggaaaac taataagctt cttatctact ctggatccac tttgcaatct 1320
 ggaattccat caaggttcag tggcagtgga tctggtacag atttcactct caccatcagt 1380
 agcctggagc ctgaagattt tgcaatgtat tactgtcaac agcataatga atatccgtac 1440
 acgttcggag gggggaccaa gcttgagatc aaacatcatc accatcatca ttag 1494

<210> 48

<211> 497

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220>

<223> CD3 VHVL aL Ser x 3-1 VHVL

<400> 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 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 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 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

<210> 49

<211> 1521

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> CD3 VHVL aL x 3-5 VHVL

<400> 49

gatatcaaac tgcagcagtc aggggctgaa ctggcaagac ctggggcctc agtgaagatg	60
tcctgcaaga cttctggcta cacctttact aggtacacga tgcactgggt aaaacagagg	120
cctggacagg gtctggaatg gattggatac attaatccta gccgtgggta tactaattac	180
aatcagaagt tcaaggacaa ggccacattg actacagaca aatcctccag cacagcctac	240
atgcaactga gcagcctgac atctgaggac tctgcagtct attactgtgc aagatattat	300
gatgatcatt actgccttga ctactggggc caaggcacca ctctcacagt ctctcagtc	360
gaagggtgaa gtggagggttc tgggtggaagt ggagggttcag gtggagtcga cgacattcag	420
ctgacccagt ctccagcaat catgtctgca tctccagggg agaaggtcac catgacctgc	480
agagccagtt caagtgtaag ttacatgaac tgggtaccagc 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 ccggagggtg tggatccgag gtgcagctgc tcgagcagtc tggagctgag	780
ctggtaaggc ctgggacttc agtgaagctg tcctgcaagg cttctggcta caccttcaca	840
agctatggtt taagctgggt gaagcagaga actggacagg gccttgagtg gattggagag	900
gtttatccta gaattggtaa tgcttactac aatgagaagt tcaagggcaa ggccacactg	960
actgcagaca aatcctccag cacagcgtcc atggagctcc gcagcctgac atctgaggac	1020
tctgcggtct atttctgtgc aagacgggga tcctacggta gtaactacga ctggtacttc	1080
gatgtctggg gccaaaggac cacggtcacc gtctcctcag gtgggtgggtg ttctggcggc	1140
ggcggctccg gtgggtgggtg ttctgagctc gtgatgacct agactccact ctccctgcct	1200

gtcagtcttg gagatcaagc ctccatctct tgcagatcta gtcagagcct tgtacacagt 1260
aatggaaaca cctatattaca ttggtacctg cagaagccag gccagtctcc aaagctcctg 1320
atctacaaaag tttccaaccg attttctggg gtcccagaca ggttcagtgg cagtggatca 1380
gggacagatt tcacactcaa gatcagcaga gtggaggctg aggatctggg agtttatttc 1440
tgctctcaaa gtacacatgt tccgtacacg ttcggagggg ggaccaagct tgagatcaaa 1500
catcatcacc atcatcatta g 1521

<210> 50

<211> 506

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220>

<223> CD3 VHVL aL x 3-5 VHVL

<400> 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 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 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 Gly Ser Gly 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 His
500 505

<210> 51

<211> 1521

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> CD3 VHVL aL Ser x 3-5 VHVL

<400> 51

gatataaac tgcagcagtc aggggctgaa ctggcaagac ctggggcctc agtgaagatg	60
tcctgcaaga cttctggcta cacctttact aggtacacga tgcactgggt aaaacagagg	120
cctggacagg gtctggaatg gattggatac attaatccta gccgtgggta tactaattac	180
aatcagaagt tcaaggacaa ggccacattg actacagaca aatcctccag cacagcctac	240
atgcaactga gcagcctgac atctgaggac tctgcagtct attactgtgc aagatattat	300
gatgatcatt actcccttga ctactggggc caaggcacca ctctcacagt ctctcagtc	360
gaagggtgaa gtggagggtc tgggtggaagt ggagggttcag gtggagtcga cgacattcag	420
ctgaccagtc ctccagcaat catgtctgca tctccagggg agaaggtcac catgacctgc	480
agagccagtt caagtgtgaa ttacatgaac tgggtaccagc 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 ccggagggtg tggatccgag gtgcagctgc tcgagcagtc tggagctgag	780
ctggtaaggc ctgggacttc agtgaagctg tcctgcaagg cttctggcta caccttcaca	840
agctatggtt taagctgggt gaagcagaga actggacagg gccttgagtg gattggagag	900
gtttatccta gaattggtaa tgcttactac aatgagaagt tcaagggcaa ggccacactg	960
actgcagaca aatcctccag cacagcgtcc atggagctcc gcagcctgac atctgaggac	1020
tctgcggtct atttctgtgc aagacgggga tcctacggta gtaactacga ctggtacttc	1080
gatgtctggg gccaaaggac cacggtcacc gtctcctcag gtggtgggtg ttctggcggc	1140

ggcggctccg gtggtggtgg ttctgagctc gtgatgaccc agactccact ctccctgcct 1200
 gtcagtcttg gagatcaagc ctccatctct tgcagatcta gtcagagcct tgtacacagt 1260
 aatggaaaca cctatttaca ttggtacctg cagaagccag gccagtctcc aaagctcctg 1320
 atctacaaaag tttccaaccg attttctggg gtcccagaca ggttcagtgg cagtggatca 1380
 gggacagatt tcacactcaa gatcagcaga gtggaggctg aggatctggg agtttatttc 1440
 tgctctcaaa gtacacatgt tccgtacacg ttcggagggg ggaccaagct tgagatcaaa 1500
 catcatcacc atcatcatta g 1521

<210> 52

<211> 506

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220>

<223> CD3 VHVL aL Ser x 3-5 VHVL

<400> 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 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 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 Gly Ser Gly 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 His
500 505

<210> 53

<211> 1512

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> CD3 VHVL stL x 3-5 VHVL

<400> 53

gatatcaaac tgcagcagtc aggggctgaa ctggcaagac ctggggcctc agtgaagatg	60
tcctgcaaga cttctggcta cacctttact aggtacacga tgcactgggt aaaacagagg	120
cctggacagg gtctggaatg gattggatac attaatccta gccgtgggta tactaattac	180
aatcagaagt tcaaggacaa ggccacattg actacagaca aatcctccag cacagcctac	240
atgcaactga gcagcctgac atctgaggac tctgcagtct attactgtgc aagatattat	300
gatgatcatt actgccttga ctactggggc caaggcacca ctctcacagt ctctcaggt	360
ggtggtggtt ctggcggcgg cggctccggt ggtggtggtt ctgacattca gctgaccag	420
tctccagcaa tcatgtctgc atctccaggg gagaagggtca ccatgacctg cagagccagt	480
tcaagtgtaa gttacatgaa ctggtaccag cagaagtcag gcacctcccc caaaagatgg	540
atztatgaca catccaaagt ggcttctgga gtcccttata gcttcagtgg cagtgggtct	600
gggacctcat actctctcac aatcagcagc atggaggctg aagatgctgc cacttattac	660
tgccaacagt ggagtagtaa cccgctcacg ttcggtgctg ggaccaagct ggagctgaaa	720
tccggagggtg gtggatccga ggtgcagctg ctcgagcagt ctggagctga gctggtaagg	780
cctgggactt cagtgaagct gtccctgcaag gcttctggct acaccttcac aagctatgg	840
ttaagctggg tgaagcagag aactggacag ggccttgagt ggattggaga ggtttatcct	900
agaattggta atgcttacta caatgagaag ttcaagggca aggccacact gactgcagac	960
aaatcctcca gcacagcgtc catggagctc cgcagcctga catctgagga ctctgcggtc	1020
tatttctgtg caagacgggg atcctacggt agtaactacg actggtactt cgatgtctgg	1080

ggccaaggga ccacggtcac cgtctcctca ggtggtggtg gttctggcgg cggcggctcc 1140
 ggtggtggtg gttctgagct cgtgatgacc cagactccac tctccctgcc tgtcagtctt 1200
 ggagatcaag cctccatctc ttgcagatct agtcagagcc ttgtacacag taatggaaac 1260
 acctattttac attggtacct gcagaagcca ggccagtctc caaagctcct gatctacaaa 1320
 gtttccaacc gatttttctgg ggtcccagac aggttcagtg gcagtggatc agggacagat 1380
 ttcacactca agatcagcag agtggaggct gaggatctgg gagtttattt ctgctctcaa 1440
 agtacacatg ttccgtacac gttcggagggg gggaccaagc ttgagatcaa acatcatcac 1500
 catcatcatt ag 1512

<210> 54

<211> 503

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220>

<223> CD3 VHVL stL x 3-5 VHVL

<400> 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 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 Gly Ser Gly Gly Gly Gly
115 120 125

Ser Gly 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 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 Gly Ser Gly 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 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

gatatcaaac tgcagcagtc aggggctgaa ctggcaagac ctggggcctc agtgaagatg	60
tcctgcaaga cttctggcta cacctttact aggtacacga tgcactgggt aaaacagagg	120
cctggacagg gtctggaatg gattggatac attaatccta gccgtgggta tactaattac	180
aatcagaagt tcaaggacaa ggccacattg actacagaca aatcctccag cacagcctac	240
atgcaactga gcagcctgac atctgaggac tctgcagtct attactgtgc aagatattat	300
gatgatcatt actgccttga ctactggggc caaggcacca ctctcacagt ctctcagtc	360
gaagggtgaa gtggaggttc tgggtggaagt ggaggttcag gtggagtcga cgacattcag	420
ctgaccagtc ctccagcaat catgtctgca tctccagggg agaaggtcac catgacctgc	480
agagccagtt caagtgtaag ttacatgaac tgggtaccagc 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 ccggaggttg tggatccgag gtgcagctgc tcgagcagtc tggagctgag	780
ctggtaaagg ctgggacttc agtgaagata tcctgcaagg cttctggata cgccttcact	840
aactactggc taggttgggt taagcagagg cctggacatg gacttgaatg ggttggagat	900
attttccctg gaagtggtaa tgctcactac aatgagaagt tcaagggcaa agccacactg	960

actgcagaca agtcctcgta cacagcctat atgcagctca gtagcctgac atctgaggac 1020
tctgctgtct atttctgtgc aagattgcgg aactgggacg aggctatgga ctactggggc 1080
caagggacca cggtcaccgt ctccctcaggt ggtggtggtt ctggcggcgg cggctccggt 1140
ggtggtggtt ctgagctcgt gatgacacag tctccatcct ccctgagtgt gtcagcagga 1200
gagaaggta ctagagctg caagtccagt cagagtctgt taaacagtgg aaatcaaaag 1260
aactacttgg cctggtacca gcagaaacca gggcagcctc ctaaactggt gatctacggg 1320
gcatccacta gggaatctgg ggtccctgat cgcttcacag gcagtggatc tggaacagat 1380
ttcactctca ccatcagcag tgtgcaggct gaagacctgg cagtttatta ctgtcagaat 1440
gattatagtt atccgtacac gtccggaggg gggaccaagc ttgagatcaa acatcatcac 1500
catcatcatt ag 1512

<210> 56

<211> 503

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220>

<223> CD3 VHVL aL x 4-1 VHVL

<400> 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 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 Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly 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
tcctgcaaga cttctggcta cacctttact aggtacacga tgcactgggt aaaacagagg	120
cctggacagg gtctggaatg gattggatac attaatccta gccgtgggta tactaattac	180
aatcagaagt tcaaggacaa ggccacattg actacagaca aatcctccag cacagcctac	240
atgcaactga gcagcctgac atctgaggac tctgcagtct attactgtgc aagatattat	300
gatgatcatt actcccttga ctactggggc caaggcacca ctctcacagt ctctcagtc	360
gaaggtggaa gtggagggtc tgggtggaagt ggagggttcag gtggagtcga cgacattcag	420
ctgaccagtc ctccagcaat catgtctgca tctccagggg agaaggtcac catgacctgc	480
agagccagtt caagtgtaag ttacatgaac tgggtaccagc 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 ccggagggtg tggatccgag gtgcagctgc tcgagcagtc tggagctgag	780
ctggtaaggc ctgggacttc agtgaagata tcctgcaagg cttctggata cgccttcact	840

aactactggc taggttgggt taagcagagg cctggacatg gacttgaatg ggttggagat 900
 attttccctg gaagtggtaa tgctcactac aatgagaagt tcaagggcaa agccacactg 960
 actgcagaca agtcctcgta cacagcctat atgcagctca gtagcctgac atctgaggac 1020
 tctgctgtct atttctgtgc aagattgcgg aactgggacg aggctatgga ctactggggc 1080
 caagggacca cggtcaccgt ctccctcaggt ggtggtgggt ctggcggcgg cggctccggt 1140
 ggtggtgggt ctgagctcgt gatgacacag tctccatcct ccctgagtgt gtcagcagga 1200
 gagaaggtca ctatgagctg caagtccagt cagagtctgt taaacagtgg aaatcaaaaag 1260
 aactacttgg cctggtacca gcagaaacca gggcagcctc ctaaactgtt gatctacggg 1320
 gcatccacta gggaatctgg ggtccctgat cgcttcacag gcagtggatc tggaacagat 1380
 ttcactctca ccatcagcag tgtgcaggct gaagacctgg cagtttatta ctgtcagaat 1440
 gattatagtt atccgtacac gttcggaggg gggaccaagc ttgagatcaa acatcatcac 1500
 catcatcatt ag 1512

<210> 58

<211> 503

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220>

<223> CD3 VHVL aL Ser x 4-1 VHVL

<400> 58

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 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 Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly 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> 59

<211> 1503

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> CD3 VHVL stL x 4-1 VHVL

<400> 59

gatatcaaac tgcagcagtc aggggctgaa ctggcaagac ctggggcctc agtgaagatg	60
tcctgcaaga cttctggcta cacctttact aggtacacga tgcactgggt aaaacagagg	120
cctggacagg gtctggaatg gattggatac attaatccta gccgtgggta tactaattac	180
aatcagaagt tcaaggacaa ggccacattg actacagaca aatcctccag cacagcctac	240
atgcaactga gcagcctgac atctgaggac tctgcagtct attactgtgc aagatattat	300
gatgatcatt actgccttga ctactggggc caaggcacca ctctcacagt ctctcaggt	360
ggtggtgggt ctggcggcgg cggtccgggt ggtggtgggt ctgacattca gctgaccag	420
tctccagcaa tcatgtctgc atctccaggg gagaagggtca ccatgacctg cagagccagt	480
tcaagtgtaa gttacatgaa ctggtaccag cagaagtcag gcacctcccc caaaagatgg	540
atttatgaca catccaaagt ggcttctgga gtcccttata gcttcagtgg cagtgggtct	600
gggacctcat actctctcac aatcagcagc atggaggctg aagatgctgc cacttattac	660
tgccaacagt ggagtagtaa cccgctcacg ttcgggtgctg ggaccaagct ggagctgaaa	720

tccggaggtg gtggatccga ggtgcagctg ctcgagcagt ctggagctga gctggtaagg 780
cctgggactt cagtgaagat atcctgcaag gcttctggat acgccttcac taactactgg 840
ctagggttggg ttaagcagag gcctggacat ggacttgaat gggttggaga tattttccct 900
ggaagtggta atgctcacta caatgagaag ttcaagggca aagccacact gactgcagac 960
aagtcctcgt acacagccta tatgcagctc agtagcctga catctgagga ctctgctgtc 1020
tattttctgtg caagattgcg gaactgggac gaggctatgg actactgggg ccaagggacc 1080
acggtcaccg tctcctcagg tgggtgggtggt tctggcgggcg gcggctccgg tgggtgggtggt 1140
tctgagctcg tgatgacaca gtctccatcc tccctgagtg tgtcagcagg agagaaggtc 1200
actatgagct gcaagtccag tcagagtctg ttaaacagtg gaaatcaaaa gaactacttg 1260
gcctggtacc agcagaaacc agggcagcct cctaaactgt tgatctacgg ggcattccact 1320
agggaaatctg ggggtccctga tcgcttcaca ggcaagtggat ctggaacaga tttcactctc 1380
accatcagca gtgtgcaggc tgaagacctg gcagtttatt actgtcagaa tgattatagt 1440
tatccgtaca cgttcggagg ggggaccaag cttgagatca aacatcatca ccatcatcat 1500
tag 1503

<210> 60

<211> 500

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220>

<223> CD3 VHVL stL x 4-1 VHVL

<400> 60

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 Gly Ser Gly Gly Gly Gly
115 120 125

Ser Gly 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 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 Gly Ser Gly 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 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 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

gatatcaaac tgcagcagtc aggggctgaa ctggcaagac ctggggcctc agtgaagatg	60
tcttgcaaga cttctggcta cacctttact aggtacacga tgcactgggt aaaacagagg	120
cctggacagg gtctggaatg gattggatac attaataccta gccgtgggtta tactaattac	180
aatcagaagt tcaaggacaa ggccacattg actacagaca aatcctccag cacagcctac	240
atgcaactga gcagcctgac atctgaggac tctgcagtct attactgtgc aagatattat	300
gatgatcatt actgccttga ctactggggc caaggcacca ctctcacagt ctctctca	357

<210> 72

<211> 119

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220>

<223> anti-CD3VH

<400> 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 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

<210> 73

<211> 318

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> anti-CD3 VL

<400> 73

gacattcagc tgaccagtc tccagcaatc atgtctgcat ctccagggga gaaggtcacc 60

atgacctgca gagccagttc aagtgtaagt tacatgaact ggtaccagca gaagtcaggc 120
acctccccca aaagatggat ttatgacaca tccaaagtgg cttctggagt cccttatcgc 180
ttcagtggca gtgggtcttg gacctcatat tctctcacia tcagcagcat ggaggctgaa 240
gatgctgcca cttattactg ccaacagtgg agtagtaacc cgctcacgtt cggtgctggg 300
accaagctgg agctgaaa 318

<210> 74

<211> 106

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220>

<223> anti-CD3 VL

<400> 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				5					10

<210> 76

<211> 357

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> vH anti-CD3 cys->ser

<400> 76

gatatcaaac tgcagcagtc aggggctgaa ctggcaagac ctggggcctc agtgaagatg	60
tcctgcaaga cttctggcta cacctttact aggtacacga tgcactgggt aaaacagagg	120
cctggacagg gtctggaatg gattggatac attaatccta gccgtgggta tactaattac	180
aatcagaagt tcaaggacaa ggccacattg actacagaca aatcctccag cacagcctac	240
atgcaactga gcagcctgac atctgaggac tctgcagtct attactgtgc aagatattat	300
gatgatcatt actcccttga ctactggggc caaggcacca ctctcacagt ctctca	357

<210> 77

<211> 119

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220>

<223> vH anti-CD3 cys->ser

<400> 77

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
115

<210> 78

<211> 10

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220>

<223> VH CDR3 anti-CD3 cys->ser

<400> 78

Tyr Tyr Asp Asp His Tyr Ser Leu Asp Tyr
1 5 10

<210> 79

<211> 360

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> EpCAM 3-1 VH

<400> 79

gaggtgcagc tgctcgagca gtctggagct gagctggtga aacctggggc ctcagtgaag	60
atatacctgca aggccttctgg atacgccttc actaactact ggctagggtg ggtaaagcag	120
aggcctggac atggacttga gtggattgga gatcttttcc ctggaagtgg taatactcac	180
tacaatgaga ggttcagggg caaagccaca ctgactgcag acaaatcctc gagcacagcc	240
tttatgcagc tcagtagcct gacatctgag gactctgctg tctatttctg tgcaagattg	300
aggaactggg acgaggctat ggactactgg ggccaaggga ccacggtcac cgtctcctca	360

<210> 80

<211> 120

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220>

<223> EpCAM 3-1 VH

<400> 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
20 25 30

Tyr Trp Leu Gly Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly His Gly Leu Glu Trp
35 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

<210> 81

<211> 321

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> EpCAM 3-1 VL

<400> 81

gagctcgatca tgaccagtc tccatcttat cttgctgcat ctctggaga aaccattact 60

attaattgca gggcaagtaa gagcattagc aaatatttag cctgggtatca agagaaacct 120
 gggaaaaacta ataagcttct tatctactct ggatccactt tgcaatctgg aattccatca 180
 aggttcagtg gcagtggatc tggtagacat ttcactctca ccatcagtag cctggagcct 240
 gaagattttg caatgtatta ctgtcaacag cataatgaat atccgtacac gttcggaggg 300
 gggaccaagc ttgagatcaa a 321

<210> 82

<211> 107

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220>

<223> EpCAM 3-1 VL

<400> 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 Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105

<210> 83

<211> 372

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> EpCAM 3-5 VH

<400> 83

gaggtgcagc tgctcgagca gtctggagct gagctggtaa ggcctgggac ttcagtgaag	60
ctgtcctgca aggccttctgg ctacaccttc acaagctatg gtttaagctg ggtgaagcag	120
agaactggac agggccttga gtggattgga gaggtttatc ctagaattgg taatgcttac	180
tacaatgaga agttcaaggg caaggccaca ctgactgcag acaaatcctc cagcacagcg	240
tccatggagc tccgcagcct gacatctgag gactctgcgg tctatttctg tgcaagacgg	300
ggatcctacg gtagtaacta cgactggtac ttgatgtct ggggccaagg gaccacggtc	360
accgtctcct ca	372

<210> 84

<211> 124

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220>

<223> EpCAM 3-5 VH

<400> 84

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

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

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 tgaccagac tccactctcc ctgcctgtca gtcttgaga tcaagcctcc	60
atctcttgca gatctagtca ggccttgta cacagtaatg gaaacaccta ttacattgg	120
tacctgcaga agccaggcca gtctccaaag ctctgatct acaaagtttc caaccgattt	180
tctgggggtcc cagacagggt cagtggcagt ggatcaggga cagatttcac actcaagatc	240
agcagagtgg aggctgagga tctgggagtt tatttctgct ctcaaagtac acatgttccg	300
tacacgttcg gaggggggac caagcttgag atcaaa	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
			20					25					30		

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

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

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

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

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

<210> 87

<211> 360

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> EpCAM 4-1 VH

<400> 87

```

gaggtgcagc tgctcgagca gtctggagct gagctggtaa ggctgggac ttcagtgaag      60
atatacctgca aggcttcttg atacgccttc actaactact ggctagggtg ggtaagcag      120
aggcctggac atggacttga atgggttggg gatattttcc ctggaagtgg taatgctcac      180
tacaatgaga agttcaaggg caaagccaca ctgactgcag acaagtcctc gtacacagcc      240
tatatgcagc tcagtagcct gacatctgag gactctgctg tctatttctg tgcaagattg      300
cggaactggg acgaggctat ggactactgg ggccaaggga ccacggtcac cgtctcctca      360
  
```

<210> 88

<211> 120

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220>

<223> EpCAM 4-1 VH

<400> 88

```

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

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

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

Val Gly Asp Ile Phe Pro Gly Ser Gly Asn Ala His Tyr Asn Glu Lys
          50           55           60

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

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

gagctcgtga tgacacagtc tccatcctcc ctgagtgtgt cagcaggaga gaaggtcact	60
atgagctgca agtccagtca gagtctgtta aacagtggaa atcaaaagaa ctacttggcc	120
tgggtaccagc agaaaccagg gcagcctcct aaactgttga tctacggggc atccactagg	180
gaatctgggg tccctgatcg cttcacaggc agtggatctg gaacagattt cactctcacc	240
atcagcagtg tgcaggctga agacctggca gtttattact gtcagaatga ttatagttat	300
ccgtacacgt tcggaggggg gaccaagctt gagatcaaa	339

<210> 90

<211> 113

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220>

<223> EpCAM 4-1 VL

<400> 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 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 Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile
100 105 110

Lys

<210> 91

<211> 372

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> EpCAM 4-7 VH

<400> 91

gaggtgcagc tgctcgagca gtctggagct gagctggcga ggcctggggc ttcagtgaag 60
 ctgtcctgca aggcttctgg ctacaccttc acaaactatg gtttaagctg ggtgaagcag 120
 aggctgggac aggtccttga gtggattgga gaggtttatc ctagaattgg taatgcttac 180
 tacaatgaga agttcaaggg caaggccaca ctgactgcag acaaatcctc cagcacagcg 240
 tccatggagc tccgcagcct gacctctgag gactctgcgg tctatttctg tgcaagacgg 300
 ggatcctacg atactaacta cgactggtac ttcgatgtct ggggccaagg gaccacggtc 360
 accgtctcct ca 372

<210> 92

<211> 124

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220>

<223> EpCAM 4-7 VH

<400> 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 tcaagcctcc 60
 atctcttgca gatctagtca gagccttgta cacagtaatg gaaacaccta ttacattgg 120
 tacctgcaga agccaggcca gtctccaaag ctctgatct acaaagtttc caaccgattt 180
 tctgggggtcc cagacagggt cagtggcagt ggatcaggga cagatttcac 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

<400> 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 25 30

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

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

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

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

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

<210> 95

<211> 360

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> EpCAM 5-10 VH

<400> 95

gagggtgcagc tgctcgagca gtctggagct gagctggtaa ggctctgggac ttcagtgaag	60
atatacctgca aggccttctgg atacgccttc actaactact ggctaggttg ggtaaagcag	120
aggcctggac atggacttga gtggattgga gatattttcc ctggaagtgg taatatccac	180
tacaatgaga agttcaaggg caaagccaca ctgactgcag acaaattctc gagcacagcc	240

tatatgcagc tcagtagcct gacatttgag gactctgctg tctatttctg tgcaagactg 300

aggaactggg acgagcctat ggactactgg ggccaaggga ccacgggtcac 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 5 10 15

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

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

Ile Gly Asp Ile Phe Pro Gly Ser Gly Asn Ile His 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

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

Cys Ala Arg Leu Arg Asn Trp Asp Glu Pro Met Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 97

<211> 339

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> EpCAM 5-10 VL

<400> 97

gagctcgtga tgacacagtc tccatcctcc ctgactgtga cagcaggaga gaaggtcact	60
atgagctgca agtccagtca gagtctgtta aacagtggaa atcaaaagaa ctacttgacc	120
tgggtaccagc agaaaccagg gcagcctcct aaactgttga tctactgggc atccactagg	180
gaatctgggg tccctgatcg cttcacaggc agtggatctg gaacagattt cactctcacc	240
atcagcagtg tgcaggctga agacctggca gtttattact gtcagaatga ttatagttat	300
ccgctcacgt tcggtgctgg gaccaagctt gagatcaaa	339

<210> 98

<211> 113

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220>

<223> EpCAM 5-10 VL

<400> 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 Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
1 5 10 15

<210> 100

<211> 47

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> 4-7 VL BspEI FOR

<400> 100

ctgaaatccg gaggtggtgg atccgagctc gtgatgaccc agactcc

47

<210> 101

<211> 52

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> 4-7 VL GS15 REVs148

<400> 101

ggagccgccg ccgccagaac caccaccacc tttgatctca agcttggtcc cc

52