

ÖZET

YENİ İMMÜNOKONJUGATLAR

5 Mevcut buluş genel olarak hücresel aktiviteyi etkileyen efektör parçalarını seçici olarak aktarabilmeye yönelik antijen spesifik immünokonjugatlarla ilgilidir. Daha spesifik olarak, buluş, bir birinci antijen bağlayıcı parça, bir Fc domeni ve bir tek efektör parça içeren yeni immünokonjugatlar sağlar. Mevcut buluş ayrıca, 10 söz konusu immünokonjugatları kodlayan polinükleotitler, bu polinükleotitleri içeren konak hücreler ve vektörler ile ilgilidir. Mevcut buluş aynı zamanda mevcut buluşun immünokonjugatlarının üretmeye yönelik yöntemler ve bu immünokonjugatların hastalık tedavisinde kullanımına yönelik 15 yöntemler ile ilgilidir.

İSTEMLER

1. (i) Bir birinci ve bir ikinci antijen bağlayıcı Fab molekülünü ve iki alt birimden oluşan bir Fc domenini içeren bir immünoglobulin molekülünü ve (ii) bir efektör parça içeren bir immünokonjugat olup, özelliği; söz konusu immünokonjugatta birden fazla efektör parça bulunmaması ve

söz konusu birinci ve söz konusu ikinci Fab molekülünün, CEA'ya yönlendirilmesi ve SEQ ID NO: 191'in bir ağır zincir değişken bölge sekansını ve SEQ ID NO: 189'un bir hafif zincir değişken bölge sekansını içermesi ve

söz konusu efektör parçanın, T3A, F42A, Y45A, L72G (SEQ ID NO: 2'de insan IL-2 sekansına göre numaralandırma) amino asit ornatımlarını içeren bir mutant insan interlökin-2 (IL-2) polipeptit olması ve

söz konusu Fc domeninin, alt birimlerinin her birinde L234A, L235A ve P329G (AB numaralandırması) amino asit ornatımlarını içermesidir.

2. İstem 1'e göre immünokonjugat olup, özelliği; söz konusu Fc domeninin, bir IgG Fc domeni, özellikle bir insan IgG₁ Fc domeni olmasıdır.

3. İstem 1 veya 2'ye göre immünokonjugat olup, özelliği; söz konusu Fc domeninin, iki özdeş olmayan polipeptit zincirinin heterodimerizasyonunu kolaylaştıran bir modifikasyon içermesidir.

4. İstem 3'e göre immünokonjugat olup, özelliği; söz konusu modifikasyonun, Fc domenin söz konusu iki alt biriminden birinde bir topuz modifikasyonu ve Fc domenin söz konusu iki alt biriminin diğerinde bir delik modifikasyonunu içeren bir

delik içine topuz modifikasyonu olması ve söz konusu topuz modifikasyonunun, T366W amino asit ornatımını içermesi ve söz konusu delik modifikasyonunun, T366S, L368A ve Y407V (AB numaralandırması) amino asit ornatımlarını içermesidir.

5

5. İstem 1 ila 4'ten herhangi birine göre immünokonjugat olup, özelliği; söz konusu Fc domeninin, Fc domeninin bir Fc reseptörüne, özellikle bir Fcγ reseptörüne bağlanmasını indirgeyen bir veya daha fazla amino asit mutasyonu içermesidir.

10

6. İstem 5'e göre immünokonjugat olup, özelliği; söz konusu amino asit mutasyonunun, P329 (AB numaralandırması) pozisyonunda bir amino asit ornatımı olmasıdır.

15

7. İstem 1 ila 6'dan herhangi birine göre immünokonjugat olup, özelliği; söz konusu immünoglobulin molekülünün, bir IgG sınıfı immünoglobulin olmasıdır.

20

8. İstem 1 ila 7'den herhangi birine göre immünokonjugat olup, özelliği; söz konusu efektör parçanın, immünoglobulin ağır zincirlerinden birinin karboksi terminalindeki amino aside, isteğe bağlı olarak bir bağlayıcı peptit aracılığıyla kaynaştırılmasıdır.

25

9. İstem 1 ila 8'den herhangi birine göre immünokonjugat olup, özelliği; söz konusu mutant insan interlökin-2 (IL-2) polipeptitinin ayrıca C125A amino asit ornatımını içermesidir.

30

10. İstem 1 ila 9'dan herhangi birine göre immünokonjugat olup, özelliği; söz konusu mutant insan interlökin-2 (IL-2) polipeptitinin ayrıca SEQ ID NO: 3'ün polipeptit sekansını içermesidir.

11. İstem 1 ila 10'dan herhangi birine immünokonjugat olup, özelliği; SEQ ID NO: 277, SEQ ID NO: 281 ve SEQ ID NO: 283 veya bunların işlevselliğini muhafaza eden varyantlarının polipeptit sekanslarını içermesidir.

5

12. İzole edilmiş bir polinükleotit olup, özelliği; istem 1 ila 11'den herhangi birine göre immünokonjugatı kodlamasıdır.

13. Bir konakçı hücre olup, özelliği; istem 12'ye göre izole edilmiş polinükleotiti içermesidir.

10

14. Bir immünokonjugat üretmeye yönelik bir yöntem olup, özelliği; İstem 13'e göre konakçı hücrenin, immünokonjugatın ekspresyonu için uygun koşullar altında kültürlenmesini ve isteğe bağlı olarak immünokonjugatın geri kazanılmasını içermesidir.

15

15. (i) Bir birinci ve bir ikinci antijen bağlayıcı Fab molekülünü ve iki alt birimden oluşan bir Fc domenini içeren bir immünoglobulin molekülünü ve (ii) bir efektör parça içeren bir immünokonjugat olup, özelliği; söz konusu immünokonjugatta birden fazla efektör parça bulunmaması ve söz konusu immünokonjugatın, istem 14'e göre yöntem ile üretilmesidir.

20

16. Farmasötik bir bileşim olup, özelliği; istem 1 ila 11 veya istem 15'ten herhangi birine göre immünokonjugat ve farmasötik olarak kabul edilebilir bir taşıyıcıyı içermesidir.

25

17. İstem 1 ila 11'den herhangi birine veya istem 15'e göre immünokonjugat veya istem 16'ya göre farmasötik bileşim olup, özelliği; ihtiyacı olan bir bireydeki bir hastalığın tedavisinde kullanıma yönelik olmasıdır.

30

18. İstem 17'ye göre bir hastalığının tedavisinde kullanıma yönelik immünokonjugat veya farmasötik bileşim olup, özelliği; söz konusu hastalığın kanser olmasıdır.

35

TARİFNAME

YENİ İMMÜNOKONJUGATLAR

5 Buluşun Alanı

Mevcut buluş genel olarak hücresel aktiviteyi etkileyen efektör parçalarını seçici olarak aktarabilmeye yönelik antijen spesifik immünokonjugatlarla ilgilidir. Mevcut buluş ayrıca, söz konusu

10 immünokonjugatları kodlayan polinükleotitler, bu polinükleotitleri içeren konakçı hücreler ve vektörler ile ilgilidir. Mevcut buluş aynı zamanda mevcut buluşun immünokonjugatlarının üretmeye yönelik yöntemler ve bu immünokonjugatların hastalık tedavisinde kullanımı ile ilgilidir.

15

Buluşun Arka Planı

Tek bir hücrenin veya spesifik hücre türünün selektif destrüksiyonu, çok çeşitli klinik ortamlarda genellikle arzu

20 edilir. Örneğin, bir kanser tedavisinde, sağlıklı hücreler ve dokular dokunulmamış ve zarar görmemiş olarak kalırken tümör hücrelerinin spesifik olarak yok edilmesi birincil amaçtır. Hücredeki bir çok sinyal iletim yolağı, hücrenin sağkalımına ve/veya ölümüne bağlıdır. Dolayısıyla hücre sağkalımına veya

25 ölümüne dahil olan bir yolağın doğrudan aktarımı, hücrenin idamesi veya tahribatına katkıda bulunmak için kullanılabilir. Benzer şekilde, tümör hücrelerine saldırmak ve yok etmek için doğal katil (NK) hücreleri veya sitotoksik T lenfositleri (CTL'ler) gibi bir tümör mikroortamında immün efektör hücrelerini uyaran spesifik

30 faktörler aktarılabilir.

Sitokinler, immün sisteminin regülasyonuna katılan hücre sinyalleme molekülleridir. Sitokinler, kanser tedavisinde kullanıldığında, anti-tümör etkilere sahip ve bazı tümör

35 türlerinin immünojenikliğini artırabilen immünomodülatör ajanlar

olarak hareket edebilir. Ancak kandan hızlı atılması ve tümör spesifikliğinin olmaması, bir immün yanıtını aktive etmesi veya bir anti-tümör etkisine sahip olması için tümör alanında bir sitokin konsantrasyonunu elde etmek üzere yüksek dozlarda sitokinin sistemik olarak uygulanmasını gerektirir. Söz konusu yüksek sistemik sitokin seviyeleri ciddi toksisiteye ve istenmeyen reaksiyonlara yol açabilir.

Tedavide kullanılmak üzere *in vivo* spesifik bir alana (örneğin kanser tedavisi durumunda bir tümör veya tümör mikroçevresine) sitokin gibi bir sinyal transdüksiyon yolağı faktörünün spesifik olarak aktarılması arzu edilir. Bu, faktörün alana özgü bir hedefleyici bir parçaya, örneğin bir antikora veya bir antikor fragmanına konjuge edilmesiyle gerçekleştirilebilir. *In vivo* spesifik bir alana sitokinler gibi sinyal transdüksiyon yolağı faktörlerinin aktarılmasını amaçlayan ilk stratejiler, lenfotoksin, tümör nekroz faktörü- α (TNF- α), interlökin-2 (IL-2) ve granülosit makrofaj-koloni stimülasyon faktörü (GM-CSF) dahil olmak üzere çeşitli sitokinlere konjuge edilmiş immünoglobulin ağır zincirlerini içerir (örneğin Lode ve diğ. Pharmacol Ther 80, 277-292 (1998) yayınında incelenmiştir).

Araştırmacılar, bunların, sitokinleri *in vivo* spesifik alanlara hedefleyebilmekle kalmayıp ayrıca monoklonal antikorların çoğu proteinden daha uzun serum yarı ömrüne sahip olmalarından da yararlanabildiklerini gözlemlemişlerdir. Belirli konjuge edilmemiş sitokinlerin, örneğin IL-2'nin yüksek dozları ile ilişkili sistemik toksisite göz önüne alındığında, bir immünoglobulin-sitokin füzyon proteininin, istenilen bir alanda, örneğin bir tümörde yararlı biyolojik aktiviteleri terapötik olarak en üst seviyeye çıkarırken düşük dozlarda sistemik yan etkileri en alt seviyede tutabilme özelliği, araştırmacıların immünoglobulin-sitokin immünokonjugatlarının optimal terapötik ajanlar olduğunu kabul etmesine neden olmuştur.

Bununla birlikte teknikte bilinen immünoglobulin-sitokin immünokonjugatları ile ilişkili bazı dezavantajlar bulunur. Örneğin bu immünokonjugatlarda, iki immünoglobulin ağır zincirinin her birine kenetlenmiş en az bir sitokin bulunur ve böylece iki değerli hedef bağlanma ve iki veya daha fazla sitokin parçasına sahip bir immünokonjugat ortaya çıkar (örneğin Chang ve diğ. Expert Opin Drug Discovery 4, 181-194 (2009) veya Ortiz-Sanchez ve diğ. Expert Opin Biol Ther 8, 609-632 (2008) yayınında incelenmiştir). Şekil 1, iki antikor ağır zincirinin her birinin C ucuna bir sitokin kaynaştırıldığı, teknikte bilindiği şekliyle bir konvansiyonel immünoglobulin-sitokin immünokonjugatını gösterir. İki veya daha fazla sitokin parçasının varlığı nedeniyle, böyle bir immünokonjugat, ilgili sitokin reseptörüne yüksek bir aviditeye (örneğin IL-2 söz konusu olduğunda pikomolar afiniteye) sahiptir ve bu nedenle sitokinin bağlandığı immünoglobulinin (nM afinitesi) hedef antijeninden ziyade sitokin reseptörünü eksprese eden immün efektör hücrelerine hedeflenir. Ayrıca konvansiyonel immünokonjugatların, en azından kısmen immünokonjugatın sitokin parçaları tarafından periferik kandaki immün efektör hücreler üzerindeki sitokin reseptörlerinin aktivasyonundan kaynaklanan infüzyon reaksiyonları ile ilişkili olduğu bilinir (bkz. örn. King ve diğ. J Clin Oncol 22, 4463-4473 (2004)).

Bunlara ek olarak, immünoglobulin-sitokin immünokonjugatları, Fc domenleriyle, tamamlayıcıyı aktive edebilir ve Fc reseptörleri ile etkileşime girebilir. Bu doğal immünoglobulin özelliği, terapötik immünokonjugatların, tercih edilen antijen taşıyan hücrelerden ziyade Fc reseptörlerini eksprese eden hücrelere hedeflenmesinden dolayı elverişsiz olarak görülmüştür. Ayrıca, özellikle immünoglobulin füzyon proteinlerinin uzun yarıömrü ile kombinasyon halinde sitokin salımına neden olan sitokin reseptörleri ve Fc reseptör sinyalleme yollarının eşzamanlı aktivasyonu, sistemik toksisite nedeniyle terapötik bir ortamda uygulanmasını zorlaştırır.

Bu problemin üstesinden gelinmesine yönelik bir yaklaşım, immünokonjugatlarda bir Fc domeni bulunmayan immünoglobulin fragmanlarının, örneğin scFv veya Fab fragmanlarının kullanılmasıdır. İmmünoglobulin fragmanı-sitokin immünokonjugatlarının örnekleri arasında, PCT yayını WO 2001/062298'de belirtilen scFv-IL-2 immünokonjugatı, PCT yayını WO 2006/119897'de belirtilen scFv-IL-12-scFv immünokonjugatı (burada iki scFv fragmanından her biri, disülfür bağ(lar)ı ile bir arada tutulan IL-12 heterodimerinin bir alt birimine bağlanır) ve PCT yayın WO 2011/020783'te belirtilen Fab-IL-2-Fab immünokonjugatları bulunur. İmmünoglobulin ana molekülünün tümör bağlayıcı reaktivitesi ve sitokin fonksiyon aktivitesinin her ikisi de, bu immünokonjugat tiplerinin çoğunda muhafaza edilir, ancak bu yapıların yarı ömrü, immünoglobulin füzyon proteinlerinin yarı ömründen önemli ölçüde daha kısadır.

Bu nedenle, daha iyi terapötik etkililik ve bu ürünlerin yan etkilerinin (örn. toksisite, tümör olmayan hücrelerin yıkımı vb.) sayısında ve şiddetinde bir azalma için gelişmiş özelliklere sahip immünokonjugatlara ihtiyaç vardır.

Mevcut açıklama, bilinen immünokonjugatlara göre gelişmiş etkililik, yüksek etki spesifikliği, indirgenmiş toksisite ve kanda gelişmiş yarı ömür ve kararlılık sergileyen immünoglobulin benzeri immünokonjugatlar sağlar.

Buluşun Özeti

Mevcut buluş, aşağıdaki immünokonjugatlar, polinükleotitler, konakçı hücreler ve immünokonjugatların ve farmasötik bileşimlerin üretilmesine yönelik yöntemler ile ilgilidir:

[1] (i) bir birinci ve bir ikinci antijen bağlayıcı Fab molekülünü ve iki alt birimden oluşan bir Fc domenini içeren bir

immünoglobulin molekülünü ve (ii) bir efektör parça içeren bir immünokonjugat olup, söz konusu immünokonjugatta birden fazla efektör parça bulunmaz ve

5 söz konusu birinci ve söz konusu ikinci Fab molekülü, CEA'ya yönlendirilir ve SEQ ID NO: 191'in bir ağır zincir değişken bölge sekansını ve SEQ ID NO: 189'un bir hafif zincir değişken bölge sekansını içerir; ve

10 söz konusu efektör parça, T3A, F42A, Y45A, L72G (SEQ ID NO: 2'de insan IL-2 sekansına göre numaralandırma) amino asit ornatımlarını içeren bir mutant insan interlökin-2 (IL-2) polipeptitidir; ve

söz konusu Fc domeni, alt birimlerinin her birinde L234A, L235A
15 ve P329G (AB numaralandırması) amino asit ornatımlarını içerir.

[2] [1]'e göre immünokonjugat olup, burada söz konusu Fc domeni, bir IgG Fc domeni, özellikle bir insan IgG₁ Fc domenidir.

20 [3] [1] veya [2]'ye göre immünokonjugat olup, burada söz konusu Fc domeni, iki özdeş olmayan polipeptit zincirinin heterodimerizasyonunu kolaylaştıran bir modifikasyon içerir.

[4] [3]'e göre immünokonjugat olup, burada söz konusu
25 modifikasyon, Fc domenin iki alt biriminden birinde bir topuz modifikasyonu ve Fc domenin söz konusu iki alt biriminin diğerinde bir delik modifikasyonunu içeren bir delik içine topuz modifikasyonudur ve söz konusu topuz modifikasyonu, T366W amino asit ornatımını içerir ve söz konusu delik modifikasyonu, T366S,
30 L368A ve Y407V (AB numaralandırması) amino asit ornatımlarını içerir.

[5] [1] ila [4] 'ten herhangi birine göre immünokonjugat olup, burada söz konusu Fc domeni, Fc domeninin bir Fc reseptörüne,

özellikle bir Fcγ reseptörüne bağlanmasını indirgeyen bir veya daha fazla amino asit mutasyonu içerir.

[6] [5]'e göre immünokonjugat olup, burada söz konusu amino asit mutasyonu, P329 (AB numaralandırması) pozisyonunda bir amino asit ornatımıdır.

[7] [1] ila [6]'dan herhangi birine göre immünokonjugat olup, burada söz konusu immünoglobulin molekülü, bir IgG sınıfı immünoglobulindir.

[8] [1] ila [7]'den herhangi birine göre immünokonjugat olup, burada söz konusu efektör parça, immünoglobulin ağır zincirlerinden birinin karboksi terminalindeki amino aside, isteğe bağlı olarak bir bağlayıcı peptit aracılığıyla kaynaştırılır.

[9] [1] ila [8]'den herhangi birine göre immünokonjugat olup, burada söz konusu mutant insan interlökin-2 (IL-2) polipeptiti ayrıca C125A amino asit ornatımını içerir.

[10] [1] ila [9]'dan herhangi birine göre immünokonjugat olup, burada söz konusu mutant insan interlökin-2 (IL-2) polipeptiti ayrıca SEQ ID NO: 3'ün polipeptit sekansını içerir.

[11] [1] ila [10]'dan herhangi birine göre immünokonjugat olup, SEQ ID NO: 277, SEQ ID NO: 281 ve SEQ ID NO: 283'ün polipeptit sekanslarını içerir.

[12] İzole edilmiş bir polinükleotit olup, [1] ila [11]'den herhangi birine göre immünokonjugatı kodlar.

[13] Bir konakçı hücre olup, [12]'ye göre izole edilmiş polinükleotiti içerir.

[14] Bir immünokonjugat üretmeye yönelik bir yöntem olup, [13]'e göre konakçı hücrenin, immünokonjugatın ekspresyonu için uygun koşullar altında kültürlenmesini ve isteğe bağlı olarak immünokonjugatın geri kazanılmasını içerir.

5

[15] (i) bir birinci ve bir ikinci anti en bağlayıcı Fab molekülünü ve iki alt birimden oluşan bir Fc domenini içeren bir immünoglobulin molekülünü ve (ii) bir efektör parça içeren bir immünokonjugat olup, söz konusu immünokonjugatta birden fazla efektör parça bulunmaz ve söz konusu immünokonjugat, [14]'e göre yöntem ile üretilir.

10

[16] Bir farmasötik bileşim olup, [1] ila [11]'den herhangi birine veya [15]'e göre immünokonjugat ve farmasötik olarak kabul edilebilir bir taşıyıcı içerir.

15

[17] [1] ila [11]'den herhangi birine veya [15]'e göre immünokonjugat veya [16]'ya göre farmasötik bileşim olup, ihtiya ı olan bir bireydeki bir hastalığın tedavisinde kullanıma yöneliktir.

20

[18] [17]'ye göre bir hastalığının tedavisinde kullanıma yönelik immünokonjugat veya farmasötik bileşim olup, burada söz konusu hastalık kanserdir.

25

Mevcut bulu  kısmen bulu  sahiplerinin, örneğin bir sitokin gibi birden fazla efektör parça içeren immünokonjugatların, immünokonjugatın anti en bağlayıcı parçasının hedef anti eninden ziyada ilgili efektör parça reseptörüne hedeflenebilece ini kabul etmesine dayanır. Bu nedenle, bir yönüyle mevcut açıklama, bir birinci anti en bağlayıcı parça, iki alt birimden oluşan bir Fc domeni ve bir efektör parça içeren bir immünokonjugat sa lar ve söz konusu immünokonjugatta birden fazla efektör parça bulunmaz. Bir uygulamada efektör parça, Fc domeninin iki alt birimden birinin amino veya karboksi terminalindeki amino aside, isteğe bağlı

35

olarak bir bağlayıcı peptit aracılığıyla kaynaştırılır. Bir uygulamada birinci antijen bağlayıcı parça, Fc domeninin iki alt biriminden birinin amino terminalindeki amino aside, isteğe bağlı olarak bir bağlayıcı peptit veya bir immünoglobulin menteşe 5 bölgesi aracılığıyla kaynaştırılır.

Bir uygulamada birinci antijen bağlayıcı parça, bir antikorun bir antijen bağlayıcı domenini içerir. Belirli bir uygulamada birinci antijen bağlayıcı parça, bir Fab molekülüdür. Belirli 10 uygulamalarda Fc domeni, iki özdeş olmayan polipeptit zincirinin heterodimerizasyonunu kolaylaştıran bir modifikasyon içerir. Spesifik bir uygulamada söz konusu modifikasyon, Fc domenin iki alt biriminden birinde bir topuz modifikasyonu ve Fc domenin söz konusu iki alt biriminin diğerinde bir delik modifikasyonunu 15 içeren bir delik içine topuz modifikasyonudur. Belirli bir uygulamada efektör parça, topuz modifikasyonunu içeren Fc domeninin alt biriminin amino veya karboksi terminalindeki amino aside kaynaştırılır.

20 Bir uygulamada Fc domeni, bir IgG Fc domeni, özellikle bir IgG₁ Fc domenidir. Belirli bir uygulamada Fc domeni insandır.

Mevcut açıklamanın belirli uygulamalarında Fc domeni, bir Fc reseptörüne değiştirilmiş bağlanmaya, spesifik olarak bir Fc γ 25 reseptörüne değiştirilmiş bağlanmaya ve/veya değiştirilmiş efektör fonksiyonuna, spesifik olarak değiştirilmiş antikor bağımlı hücre aracılı sitotoksiteye (ADCC) sahip olacak şekilde işlenir.

30 Bir Fc domeninin varlığı, immünokonjugatın yarı ömrünü uzatmak için gerekli olmasına rağmen, buluş sahipleri, bazı durumlarda Fc domeni tarafından Fc reseptörlerinin katılımı ile ilişkili efektör fonksiyonlarının ortadan kaldırılmasının yararlı olacağını kabul eder. Bu nedenle belirli uygulamalarda bir Fc reseptörüne 35 değiştirilmiş bağlanma ve/veya değiştirilmiş efektör fonksiyonu,

indirgenmiş bağlanma ve/veya efektör fonksiyonudur. Böyle bir spesifik uygulamada Fc domeni, Fc domeninin bir Fc reseptörüne, özellikle bir Fc γ reseptörüne bağlanmasını indirgeyen bir veya daha fazla amino asit mutasyonu içerir. Söz konusu amino asit mutasyonu tercihen FcRn reseptörlerine bağlanmayı indirgemez. Bir uygulamada Fc domeni, P329 pozisyonunda bir amino asit ornatımını içerir. Belirli bir uygulamada Fc domeni, alt birimlerinin her birinde L234A, L235A ve P329G amino asit ornatımlarını içerir.

Diğer taraftan, immünokonjugatların efektör fonksiyonlarının arttırılmasının arzu edildiği durumlar olabilir. Bu nedenle belirli uygulamalarda, burada tarif edilen immünokonjugatın Fc domeni, bir Fc reseptörüne, spesifik olarak bir Fc γ reseptörüne, daha spesifik olarak bir Fc γ IIIa reseptörüne değiştirilmiş bağlanmaya ve/veya değiştirilmiş efektör fonksiyonuna sahip olacak şekilde işlenir ve burada söz konusu değiştirilmiş bağlanma ve/veya efektör fonksiyonu, artmış bağlanma ve/veya efektör fonksiyonudur. Böyle bir uygulamada Fc domeni, işlenmemiş bir Fc domenine, kıyasla değiştirilmiş bir oligosakkarit yapısına sahip olacak şekilde işlenir. Belirli bir uygulamada Fc domeni, işlenmemiş bir Fc domenine kıyasla artmış bir oranda fukozile edilmemiş oligosakkarit içerir. Daha spesifik bir uygulamada Fc domeni, en az %20, özellikle en az %50, daha özel olarak en az %70 fukozile edilmemiş oligosakkarit içerir. Başka bir spesifik uygulamada Fc domeni, işlenmemiş bir Fc domenine kıyasla artmış bir oranda bisekte edilmiş oligosakkarit içerir. Başka bir spesifik uygulamada Fc domeni, işlenmemiş bir Fc domenine kıyasla artmış bir oranda bisekte edilmiş, fukozile edilmemiş oligosakkarit içerir. Bazı uygulamalarda söz konusu değiştirilmiş oligosakkarit yapısı, immünokonjugatın ekspresyonu için kullanılan bir konakçı hücrede artmış $\beta(1,4)$ -N-asetilglukozaminiltransferaz III (GnTIII) aktivitesinden kaynaklanır.

Belirli bir yönüyle mevcut açıklama, bir birinci ve bir ikinci antijen bağlayıcı parça, iki alt birimden oluşan bir Fc domeni ve bir efektör parça içeren bir immünokonjugat sağlar ve söz konusu immünokonjugatta birden fazla efektör parça bulunmaz. Bir uygulamada birinci ve ikinci antijen bağlayıcı parça ve Fc domeni, bir immünoglobülin molekülünün parçasıdır. Belirli uygulamalarda immünokonjugat esas olarak bir immünoglobulin molekülü ve bir efektör parça ve isteğe bağlı olarak bir veya daha fazla bağlayıcı sekanstan oluşur. Belirli bir uygulamada immünoglobülin molekülü, bir IgG sınıfı immünoglobülinidir. Daha belirli bir uygulamada immünoglobülin, bir IgG₁ alt sınıf immünoglobülinidir. Bir uygulamada efektör parça, immünoglobulin ağır zincirlerinden birinin karboksi terminalindeki amino aside, isteğe bağlı olarak bir bağlayıcı peptit aracılığıyla kaynaştırılır.

Belirli bir uygulamada burada tarif edilen bir immünokonjugat, iki antijen bağlayıcı parça ve bir Fc domenini ve immünoglobulin ağır zincirlerinden birinin karboksi terminalindeki amino aside kaynaştırılmış bir efektör parça içeren bir immünoglobulin molekülünü içerir ve söz konusu immünokonjugatta birden fazla efektör parça bulunmaz ve Fc domeni, bir Fc reseptörüne indirgenmiş bağlanma, spesifik olarak bir Fc γ reseptörüne değiştirilmiş bağlanma ve/veya indirgenmiş efektör fonksiyonuna sahip olacak şekilde işlenir.

Belirli uygulamalarda söz konusu birinci antijen bağlayıcı parça veya söz konusu birinci veya söz konusu ikinci antijen bağlayıcı parça, bir patolojik durumla ilişkili bir antijene, örneğin bir tümör hücrelerinde veya bir tümör hücresi ortamında, bir inflamasyon alanında veya virüs bulaşmış bir hücrede sunulan bir antijene yönlendirilir. Daha spesifik bir uygulamada söz konusu antijen, Fibroblast Aktivasyon Proteini (FAP), Tenasin-C'nin A1 domeni (TNC A1), Tenasin-C'nin A2 domeni (TNC A2), Fibronektin'in Ekstra Domen B'si (EDB), Karsinoembriyonik Antijen (CEA) ve Melanoma ile

ilişkili Kondroitin Sülfat Proteoglikanı (MCSP) grubundan seçilir.

Belirli uygulamalarda efektör parça, tek zincirli bir efektör parçadır. Belirli bir uygulamada efektör parça, bir sitokindir. Bir uygulamada söz konusu sitokin, IL-2, IL-7, IL-10, IL-12, IL-15, IFN- α ve IFN- γ grubundan seçilir. Belirli bir uygulamada söz konusu sitokin, IL-2'dir. Daha belirli bir uygulamada söz konusu sitokin, IL-2 reseptörünün α alt birimine indirgenmiş bağlanma afinitesine sahip bir mutant IL-2 polipeptitidir. Spesifik bir uygulamada söz konusu mutant IL-2 polipeptit, insan IL-2'nin 42, 45 ve 72 numaralı kalıntılarına karşılık gelen pozisyonlar arasından seçilen bir veya daha fazla pozisyonda bir amino asit ornatımı içerir. Belirli başka bir uygulamada sitokin, IL-10'dur. Başka bir uygulamada sitokin, IL-15, özellikle IL-15 reseptörünün α alt birimine indirgenmiş bağlanma afinitesine sahip bir mutant IL-15 polipeptitidir. Başka bir uygulamada sitokin, IFN- α 'dır.

Mevcut açıklamanın başka bir yönüne göre, burada tarif edildiği gibi bir immünokonjugatı veya bunun bir fragmanını kodlayan izole edilmiş bir polinükleotit sağlanır. Mevcut açıklama ayrıca burada tarif edilen izole edilmiş polinükleotiti içeren bir ekspresyon vektörünü ve izole edilmiş polinükleotiti içeren bir konakçı hücreyi veya burada tarif edilen ekspresyon vektörünü sağlar. Bazı uygulamalarda konakçı hücre, bir ökaryotik bir hücre, özellikle bir memeli hücresidir. Bazı uygulamalarda konakçı hücreler, β (1,4) -N-asetilglukozaminiltransferaz III (GnTIII) aktivitesine sahip artmış seviyelerde bir veya daha fazla polipeptiti eksprese etmek üzere manipüle edilmiştir. Bu tür uygulamalarda konakçı hücreler, α -mannosidaz II (ManII) aktivitesine sahip artmış seviyelerde bir veya daha fazla polipeptiti eksprese etmek üzere ayrıca manipüle edilmiştir.

Başka bir yönde, burada tarif edilen immünokonjugatların üretilmesine yönelik bir yöntem sağlanır ve söz konusu yöntem, a)

immünokonjugatın ekspresyonu için uygun koşullar altında buluşun konakçı hücresinin kültürlenmesi ve b) immünokonjugatın geri kazanılması adımlarını içerir. Mevcut açıklama ayrıca, burada tarif edilen yöntem ile üretilen bir immünokonjugatı da kapsar.

5

Mevcut açıklama ayrıca, burada tarif edilen şekilde bir immünokonjugat içeren bir farmasötik bileşim ve farmasötik olarak kabul edilebilir bir taşıyıcı sağlar.

- 10 Mevcut açıklama ayrıca, burada tarif edilen immünokonjugatların ve farmasötik bileşimlerin kullanılmasına yönelik yöntemleri de sağlar. Bir yönüyle mevcut açıklama, bir ilaç olarak kullanılmaya yönelik burada tarif edilen şekilde bir immünokonjugat veya farmasötik bir bileşim sağlar. Bir yönüyle mevcut açıklama,
- 15 ihtiyacı olan bir bireyde bir hastalığın tedavisinde kullanılmaya yönelik bir immünokonjugat veya farmasötik bir bileşim sağlar. Spesifik bir uygulamada hastalık kanserdir. Başka uygulamalarda hastalık, inflamatuvar bozukluğudur. Belirli bir uygulamada immünokonjugat, bir IL-10 efektör parçasını içerir.

20

- Ayrıca, ihtiyacı olan bir bireyde bir hastalığın tedavisine yönelik bir ilacın üretimine yönelik burada tarif edilen şekilde bir immünokonjugat kullanımı ve aynı zamanda bir bireyde bir hastalığın tedavi edilmesine yönelik bir yöntem sağlanır ve söz
- 25 konusu yöntem, söz konusu hastaya, farmasötik olarak kabul edilebilir bir formda burada tarif edilen immünokonjugatı içeren bir bileşimin terapötik olarak etkili bir miktarının uygulanmasını içerir. Spesifik bir uygulamada hastalık kanserdir. Başka uygulamalarda hastalık, inflamatuvar bozukluğudur. Belirli bir
- 30 uygulamada immünokonjugat, bir IL-10 efektör parçasını içerir.

Yukarıdaki uygulamalarında herhangi birinde, birey tercihen bir memeli, özellikle bir insandır.

Başka bir yönüyle mevcut açıklama, herhangi bir antiijene spesifik olarak bağlanmayan bir birinci Fab molekülü, iki alt birimden oluşan bir Fc domeni ve bir efektör parça içeren bir konjugat sağlar ve söz konusu konjugatta, birden fazla efektör parça bulunmaz.

- 5 Belirli bir uygulamada birinci Fab molekülü, SEQ ID NO: 299'un ağır zincir değişken bölge sekansını ve SEQ ID NO: 297'nin hafif zincir değişken bölge sekansını içerir. Bir uygulamada konjugat, (i) spesifik olarak herhangi bir antiijene bağlanmayan bir birinci ve bir ikinci Fab molekülü ve bir Fc domeni içeren bir immünoglobulin
- 10 molekülü ve (ii) bir efektör parça içerir ve söz konusu konjugatta, birden fazla efektör parça bulunmaz. Bir uygulamada immünoglobulin molekülü, bir IgG sınıfı immünoglobulin, özellikle bir IgG1 alt sınıfı immünoglobulindir. Belirli bir uygulamada immünoglobulin molekülü, SEQ ID NO: 299'un ağır zincir değişken bölge sekansını
- 15 ve SEQ ID NO: 297'nin hafif zincir değişken bölge sekansını içerir. Spesifik olarak SEQ ID NO: 299'un ağır zincir değişken bölge sekansı ve SEQ ID NO: 297'nin hafif zincir değişken bölge sekansı, immünoglobulin molekülünün birinci ve ikinci Fab molekülünde yer alır. Bir uygulamada efektör parça, immünoglobulin ağır
- 20 zincirlerinden birinin karboksi terminalindeki amino aside, isteğe bağlı olarak bir bağlayıcı peptit aracılığıyla kaynaştırılır. Bazı uygulamalarda konjugatın Fc domeni, bir Fc reseptörüne indirgenmiş bağlanma, spesifik olarak bir Fc reseptörüne indirgenmiş bağlanma ve/veya indirgenmiş efektör
- 25 fonksiyonu, spesifik olarak indirgenmiş ADCC'ye sahip olacak şekilde işlenir. Belirli bir uygulamada konjugatın Fc domeni, alt birimlerinin her birinde L234A, L235A ve P329G amino asit ornatımlarını içerir. Belirli uygulamalarda konjugatın Fc domeni, özdeş olmayan polipeptit zincirlerinin heterodimerizasyonunu
- 30 kolaylaştıran bir modifikasyon içerir. Spesifik bir uygulamada söz konusu modifikasyon, Fc domenin iki alt biriminden birinde bir topuz modifikasyonu ve Fc domenin söz konusu iki alt biriminin diğerinde bir delik modifikasyonunu içeren bir delik içine topuz modifikasyonudur. Belirli bir uygulamada efektör parça, topuz
- 35 modifikasyonunu içeren Fc domeninin alt biriminin amino veya

karboksi terminalindeki amino aside kaynaştırılır. Bir uygulamada efektör parça, bir sitokin, özellikle IL-2'dir. Bunlara ek olarak söz konusu konjugat, buluşun immünokonjugatlarının formatları, Fc domeni veya efektör parçası ile ilgili olarak burada tarif edilen 5 özelliklere tek başına veya kombinasyon halinde sahiptir.

Mevcut açıklama ayrıca, buluşun konjugatını kodlayan izole edilmiş bir polinükleotit veya bunun bir fragmanını sağlar. Spesifik bir uygulamada izole edilmiş polinükleotit, SEQ ID NO: 298 veya SEQ 10 ID NO: 300'ün sekansı ile en az yaklaşık %80, %85, %90, %95, %96, %97, %98, %99 veya %100 özdeş olan bir sekansı içerir. Mevcut açıklama ayrıca izole edilmiş polinükleotiti içeren bir ekspresyon vektörünü ve izole edilmiş polinükleotiti içeren bir konakçı hücreyi veya buluşun ekspresyon vektörünü sağlar. Başka bir yönde, 15 açıklamanın konjugatının üretilmesine yönelik bir yöntem sağlanır ve söz konusu yöntem, a) konjugatın ekspresyonu için uygun koşullar altında buluşun konakçı hücresinin kültürlenmesi ve b) konjugatın geri kazanılması adımlarını içerir. Mevcut açıklama ayrıca, açıklamanın yöntemi ile üretilen bir konjugatı da kapsar.

20

Mevcut açıklama ayrıca, burada tarif edilen şekilde konjugatı içeren bir farmasötik bileşim ve farmasötik olarak kabul edilebilir bir taşıyıcı sağlar. Konjugat ayrıca, burada tarif edilen immünokonjugatlar için burada tarif edilen kullanım 25 yöntemlerinde kullanılabilir.

Şekillerin Kısa Açıklaması

ŞEKİL 1. İki antikör ağır zincirinin her birinin C ucuna bir 30 sitokinin (noktalı) kaynaştırıldığı, teknikte bilinen şekilde tipik bir immüoglobulin-sitokin immünokonjugatının şematik temsili.

ŞEKİL 2. Birden fazla efektör parça (noktalı) içermeyen, burada 35 tarif edilen yeni immünokonjugatların şematik temsili. Efektör

parça, isteğe bağlı olarak bir bağlayıcı peptit (gri kutular) aracılığıyla Fc domeninin karboksi terminalindeki (Format A ve B) veya amino terminalindeki (Format C) amino aside kaynaştırılır. İmmünokonjugat, antikor ağır ve hafif zincir değişken domenlerini (taralı) içeren Fab fragmanları olabilen bir (format B ve C) veya daha fazla (tipik olarak iki, format A) antijen bağlayıcı parça içerir. Fc domeni, iki özdeş olmayan polipeptit zincirinin heterodimerizasyonu kolaylaştıran bir modifikasyon (siyah nokta) veya Fc reseptör bağlanma ve/veya efektör fonksiyonunu değiştiren bir modifikasyon (siyah yıldız) içerebilir.

ŞEKİL 3. FAP hedefli 4G8 bazlı IgG-IL-2 dörtlü mutant (qm) immünokonjugatının saflaştırılması. A) Protein A afinite kromatografisi adımının elüsyon profili. B) Boyut dışlamalı kromatografi adımının elüsyon profili. C) Nihai ürünün analitik SDS-PAGE'i (NuPAGE Novex Bis-Tris Mini Gel, Invitrogen, MOPS yürütme tamponu). D) Nihai ürünün bir Superdex 200 kolonu (%97 monomer içeriği) üzerindeki analitik boyut dışlamalı kromatografisi.

20

ŞEKİL 4. FAP hedefli 28H1 bazlı IgG-IL-2 qm immünokonjugatının saflaştırılması. A) Protein A afinite kromatografisi adımının elüsyon profili. B) Boyut dışlamalı kromatografi adımının elüsyon profili. C) Nihai ürünün analitik SDS-PAGE'i (indirgenmiş: NuPAGE Novex Bis-Tris Mini Gel, Invitrogen, MOPS yürütme tamponu; indirgenmemiş: NuPAGE Tris-asetat, Invitrogen, Tris-Asetat yürütme tamponu). D) Nihai ürünün bir Superdex 200 kolonu (%100 monomer içeriği) üzerindeki analitik boyut dışlamalı kromatografisi.

30

ŞEKİL 5. FAP hedefli 28H1 bazlı IgG-IL-2 qm immünokonjugatının NK hücrelerinden saflaştırılması. A) Protein A afinite kromatografisi adımının elüsyon profili. B) Boyut dışlamalı kromatografi adımının elüsyon profili. C) Nihai ürünün analitik SDS-PAGE'i (NuPAGE Novex Bis-Tris Mini Gel, Invitrogen, MOPS

35

yürütme tamponu). D) Nihai ürünün bir Superdex 200 kolonu (%100 monomer içeriği) üzerindeki analitik boyut dışlamalı kromatografisi.

5 ŞEKİL 6. FAP hedefli 4B9 bazlı IgG-IL-2 qm immünokonjugatının saflaştırılması. A) Protein A afinite kromatografisi adımının elüsyon profili. B) Boyut dışlamalı kromatografi adımının elüsyon profili. C) Nihai ürünün analitik SDS-PAGE'i (NuPAGE Novex Bis-Tris Mini Gel, Invitrogen, MOPS yürütme tamponu). D) Nihai
10 ürünün bir Superdex 200 kolonu (%100 monomer içeriği) üzerindeki analitik boyut dışlamalı kromatografisi.

ŞEKİL 7. CEA hedefli CH1A1A 98/99 2F1 bazlı IgG-IL-2 qm immünokonjugatının saflaştırılması. A) Protein A afinite
15 kromatografisi adımının elüsyon profili. B) Boyut dışlamalı kromatografi adımının elüsyon profili. C) Nihai ürünün analitik kapiler elektroforezi SDS (Caliper). D) Nihai ürünün bir TSKgel G3000 SW XL kolonu (%98,8 monomer içeriği) üzerindeki analitik boyut dışlamalı kromatografisi.

20

ŞEKİL 8. TNC A2 hedefli 2B10 bazlı IgG-IL-2 qm immünokonjugatının saflaştırılması. A) Protein A afinite kromatografisi adımının elüsyon profili. B) Boyut dışlamalı kromatografi adımının elüsyon profili. C) Nihai ürünün analitik kapiler elektroforezi SDS
25 (Caliper). D) Nihai ürünün bir TSKgel G3000 SW XL kolonu (%100 monomer içeriği) üzerindeki analitik boyut dışlamalı kromatografisi.

ŞEKİL 9. Hedeflenmemiş DP47GS bazlı IgG-IL-2 qm immünokonjugatının
30 saflaştırılması. A) Protein A afinite kromatografisi adımının elüsyon profili. B) Boyut dışlamalı kromatografi adımının elüsyon profili. C) Nihai ürünün analitik SDS-PAGE'i (NuPAGE Novex Bis-Tris Mini Gel, Invitrogen, MOPS yürütme tamponu). D) Nihai ürünün bir Superdex 200 kolonu (%100 monomer içeriği) üzerindeki
35 analitik boyut dışlamalı kromatografisi.

ŞEKİL 10. FAP hedefli 4G8 bazlı IgG-IL-2 qm immünokonjugatının, uygun Fab-IL-2 qm-Fab yapısına kıyasla FACS ile ölçülen stabil olarak transfekte edilmiş HEK 293 hücreleri üzerinde eksprese edilen insan FAP'ına bağlanması.

ŞEKİL 11. 28H1 bazlı Fab-IL-2 qm-Fab yapısına kıyasla çözelti içindeki FAP hedefli 4G8-bazlı IgG-IL-2 qm immünokonjugat tarafından indüklenen NK92 hücreleri üzerindeki interferon (IFN)- γ salımı.

ŞEKİL 12. FAP hedefli 4G8 bazlı IgG-IL-2 qm immünokonjugat ile 20 dakika boyunca stimülasyondan sonra, Proleukin'in yanı sıra 28H1 bazlı Fab-IL-2-Fab ve Fab-IL-2 qm-Fab yapıları ile karşılaştırıldığında, farklı hücre tiplerinde fosforilize STAT5'in FACS ile saptanması. A) NK hücreleri (CD3-CD56⁺); B) CD8⁺ T cells (CD3⁺CD8⁺); C) CD4⁺ T hücreleri (CD3⁺CD4⁺CD25⁻CD127⁺); D) düzenleyici T hücreleri (CD4⁺CD25⁺FOXP3⁺).

ŞEKİL 13. FACS ile ölçülen TNC A2 hedefli 2B10 IgG-IL-2 qm ve karşılık gelen konjuge edilmemiş IgG'nin TNC A2 eksprese eden U87MG hücrelere bağlanması.

ŞEKİL 14. TNC A2 hedefli 2B10 IgG-IL-2 qm, CEA hedefli CH1A1A 98/99 2F1 IgG-IL-2 qm ve CH1A1A 98/99 2F1 IgG-IL-2 wt immünokonjugatları tarafından NK92 hücre proliferasyonunun inhibisyonu.

ŞEKİL 15. FAP hedefli 4B9 IgG-IL-2 qm ve 4B9 IgG-IL-2 wt immünokonjugatları tarafından NK92 hücre proliferasyonunun inhibisyonu.

ŞEKİL 16. Aşırı CEA eksprese eden A549 tümör hücrelerinin, konjuge edilmemiş glikoileşlenmiş CH1A1A IgG'ye kıyasla glikoileşlenmiş (ge) ve yabancı tip (wt) CH1A1A IgG-IL-2 qm immünokonjugatlar tarafından

aracılık edilen ADCC yoluyla PBMC'ler tarafından (LDH salımı ile ölçülen) öldürülmesi.

5 ŞEKİL 17. Hedeflenmemiş DP47GS IgG-IL-2 wt immünokonjugatının saflaştırılması. A) Protein A afinite kromatografisi adımının elüsyon profili. B) Boyut dışlamalı kromatografi adımının elüsyon profili. C) Nihai ürünün analitik SDS-PAGE'i (NuPAGE Novex Bis-Tris Mini Gel, Invitrogen, MOPS yürütme tamponu). D) Nihai ürünün bir Superdex 200 kolonu (%99,6 monomer içeriği) üzerindeki
10 analitik boyut dışlamalı kromatografisi.

ŞEKİL 18. 28H1 bazlı FAP hedefli 28H1 IgG-IL-2 wt immünokonjugatının saflaştırılması. A) Protein A afinite kromatografisi adımının elüsyon profili. B) Boyut dışlamalı
15 kromatografi adımının elüsyon profili. C) Nihai ürünün analitik SDS-PAGE'i (NuPAGE Novex Bis-Tris Mini Gel, Invitrogen, MOPS yürütme tamponu). D) Nihai ürünün bir Superdex 200 kolonu (%99,6 monomer içeriği) üzerindeki analitik boyut dışlamalı kromatografisi.

20

ŞEKİL 19. CEA hedefli CH1A1A 98/99 2F1 bazlı IgG-IL-2 wt immünokonjugatının saflaştırılması. A) Protein A afinite kromatografisi adımının elüsyon profili. B) Boyut dışlamalı kromatografi adımının elüsyon profili. C) Nihai ürünün analitik
25 kapiler elektroforezi SDS (Caliper). D) Nihai ürünün bir TSKgel G3000 SW XL kolonu (%100 monomer içeriği) üzerindeki analitik boyut dışlamalı kromatografisi.

ŞEKİL 20. FAP hedefli 4B9 bazlı IgG-IL-2 wt immünokonjugatının
30 saflaştırılması. A) Birleştirilen Protein A afinite ve boyut dışlamalı kromatografinin elüsyon profili. B) A'da yer alan boyut dışlamalı kromatografi adımının elüsyon profilinin yakınlaştırılmış hali. C) Nihai ürünün analitik SDS-PAGE'i (NuPAGE Novex Bis-Tris Mini Gel, Invitrogen, MOPS yürütme tamponu). D)

Nihai ürünün bir TSKgel G3000 SW XL kolonu (%98,5 monomer içeriği) üzerindeki analitik boyut dışlamalı kromatografisi.

ŞEKİL 21. A) Analitik SDS-PAGE (NuPAGE Novex Bis-Tris Mini Gel (Invitrogen), NuPAGE LDS numune tamponu (4x), 10 dakika boyunca 70°C'de ısıtılmış, MOPS tamponu, 160 V, 60 dk, MW markörü Mark 12, indirgenmemiş (1) ve indirgenmiş (2) 2B10 IgG-IL-10M1'in boyanmamış standardı (Invitrogen, M). B) 1:1 etkileşim modeline global şekilde girilen 2B10 IgG-IL-10M1'in insan TNC A2'ye SPR bazlı afinite tayini (ProteOn XPR36).

(çip: NLC; ligant: TNCA2 (250 RU); analit: TNCA2 2B10 IgG-IL-10M1 164 kDa; konsantrasyon aralığı analit: 50, 10, 2, 0,4, 0,08, 0 nM; birleşme süresi: 180sn; ayrışma süresi: 600sn; akış hızı: 50 µl/dk; k_{on} $1,80 \times 10^6$ 1/Ms; k_{off} : $9,35 \times 10^{-5}$ 1/s; K_D : 52 pM). C) 1:1 etkileşim modeline global şekilde girilen 2B10 IgG-IL-10M1'in insan IL-10R1'ye SPR bazlı afinite tayini (ProteOn XPR36) (çip: NLC; ligant: IL-10R1 (1600RU); analit: TNCA2 2B10 IgG-IL-10M1 164 kDa; konsantrasyon aralığı analit: 50, 10, 2, 0,4, 0,08, 0 nM; birleşme süresi: 180sn; ayrışma süresi: 600sn; akış hızı: 50 µl/dk; k_{on} $5,56 \times 10^5$ 1/Ms; k_{off} : $2,89 \times 10^{-4}$ 1/s; K_D : 520 pM).

ŞEKİL 22. A) Analitik SDS-PAGE (NuPAGE Novex Bis-Tris Mini Gel (Invitrogen), NuPAGE LDS numune tamponu (4x), 10 dakika boyunca 70°C'de ısıtılmış, MOPS tamponu, 160 V, 60 dk, MW markörü Mark 12, indirgenmemiş (1) ve indirgenmiş (2) 4G8 IgG-IL-10M1'in boyanmamış standardı (Invitrogen, M). B) 1:1 etkileşim modeline global şekilde girilen 4G8 IgG-IL-10M1'in insan FAP'ye SPR bazlı afinite tayini (ProteOn XPR36) (çip: GLM; ligant: huFAP (500RU); analit: FAP 4G8 IgG-IL-10M1 164 kDa; konsantrasyon aralığı analit: 10, 2, 0,4, 0,08, 0 nM; ayrışma süresi: 180sn; ayrışma süresi: 600sn; akış hızı: 50 µl/dk; k_{on} $6,68 \times 10^5$ 1/Ms; k_{off} : $1,75 \times 10^{-5}$ 1/s; K_D : 26 pM). C) 1:1 etkileşim modeline global şekilde girilen 4G8 IgG-IL-10M1'in insan IL-10R1'ye SPR bazlı afinite tayini (ProteOn XPR36) (çip: NLC; ligant: IL 10R1 (1600RU); analit: FAP 4G8

IgG-IL-10M1 164 kDa; konsantrasyon aralığı analit: 50, 10, 2, 0,4, 0,08, 0 nM; birleşme süresi: 180sn; ayrışma süresi: 600sn; akış hızı: 50 µl/dk; k_{on} : $3,64 \times 10^5$ 1/Ms; k_{off} : $2,96 \times 10^{-4}$ 1/s; K_D : 815 pM) .

5

ŞEKİL 23. FAP hedefli 4B9 bazlı "1+1" IgG-IL-2 qm immünokonjugatının saflaştırılması. A) Birleştirilen Protein A afinite ve boyut dışlamalı kromatografinin elüsyon profili. B) Nihai ürünün analitik SDS-PAGE'i (NuPAGE Novex Bis-Tris Mini Gel, Invitrogen, MOPS yürütme tamponu). C) Nihai ürünün bir TSKgel G3000 SW XL kolonu (%99,2 monomer içeriği) üzerindeki analitik boyut dışlamalı kromatografisi.

10

ŞEKİL 24. FAP hedefli 28H1 bazlı "1+1" IgG-IL-2 qm immünokonjugatının saflaştırılması. A) Birleştirilen Protein A afinite ve boyut dışlamalı kromatografinin elüsyon profili. B) Nihai ürünün analitik SDS-PAGE'i (NuPAGE Novex Bis-Tris Mini Gel, Invitrogen, MOPS yürütme tamponu). C) Nihai ürünün bir TSKgel G3000 SW XL kolonu (%100 monomer içeriği) üzerindeki analitik boyut dışlamalı kromatografisi.

15

20

ŞEKİL 25. FAP hedefli 4B9 bazlı "1+1" IgG-IL-7 immünokonjugatının saflaştırılması. A) Birleştirilen Protein A afinite ve boyut dışlamalı kromatografinin elüsyon profili. B) Nihai ürünün analitik kapiler elektroforezi SDS (Caliper). C) Nihai ürünün bir TSKgel G3000 SW XL kolonu (%98,6 monomer içeriği) üzerindeki analitik boyut dışlamalı kromatografisi.

25

ŞEKİL 26. FAP hedefli 4B9 bazlı "1+1" IgG-IFN- α immünokonjugatının saflaştırılması. A) Protein A afinite kromatografisi adımının elüsyon profili. B) Boyut dışlamalı kromatografi adımının elüsyon profili. C) Nihai ürünün analitik kapiler elektroforezi SDS (Caliper). D) Nihai ürünün bir TSKgel G3000 SW XL kolonu (%92,8 monomer içeriği) üzerindeki analitik boyut dışlamalı kromatografisi.

30

35

ŞEKİL 27. NK92 hücre proliferasyonunun karşılık gelen IgG-IL-2 yapılarına kıyasla FAP hedefli 4B9 "1+1" IgG-IL-2 qm ve 28H1 "1+1" IgG-IL-2 wt immünokonjugatları tarafından indüksiyonu.

5

ŞEKİL 28. IgG-IL-2 qm ve IgG-IL-2 wt yapılarına kıyasla 4B9 "1+1" IgG-IL-7 ve 4B9 "1+1" IgG-IL-2 qm immünokonjugatları tarafından indüklenen PHA ile aktive edilmiş (A) CD4 ve (B) CD8 T hücrelerinin proliferasyonu.

10

ŞEKİL 29. Roferon A'ya kıyasla Daudi hücre proliferasyonunun 4B9 "1+1" IgG-IFN- α tarafından indüksiyonu.

ŞEKİL 30. Yabani tip (wt) veya dörtlü mutant (qm) IL-2'yi içeren FAP hedefli (A) ve hedeflenmemiş (B) IgG-IL-2 yapılarının tek bir i.v. uygulamasından sonra IL-2 immünokonjugatlarının serum konsantrasyonları.

15

ŞEKİL 31. 24 saatlik i.v. enjeksiyonun ardından konjuge edilmemiş FAP hedefli 28H1 IgG ve 4B9 IgG ve ayrıca hedeflenmemiş DP47GS IgG'ye kıyasla FAP hedefli 28H1 IgG-IL qm'nin doku dağılımı.

20

ŞEKİL 32. FACS ile ölçülen 28H1 IgG-IL-2 qm ve 28H1 IgG-(IL-2 qm)₂ immünokonjugatların NK92 hücrelerine bağlanması.

25

ŞEKİL 33. Farklı FAP hedefli 28H1 IL-2 immünokonjugatları veya Proleukin ile 4 (A), 5 (B) veya 6 (C) gün süreyle inkübasyon sonrasında NK hücrelerinin proliferasyonu.

ŞEKİL 34. Farklı FAP hedefli 28H1 IL-2 immünokonjugatları veya Proleukin ile 4 (A), 5 (B) veya 6 (C) gün süreyle inkübasyon sonrasında CD4 T hücrelerinin proliferasyonu.

30

ŞEKİL 35. Farklı FAP hedefli 28H1 IL-2 immünokonjugatları veya Proleukin ile 4 (A), 5 (B) veya 6 (C) gün süreyle inkübasyon sonrasında CD8 T hücrelerinin proliferasyonu.

5 ŞEKİL 36. Farklı IL-2 immünokonjugatları ile inkübasyonundan altı gün sonra önceden aktive edilmiş CD8 (A) ve CD4 (B) T hücrelerinin proliferasyonu.

10 ŞEKİL 37. Farklı IL-2 immünokonjugatları ile altı gün inkübasyon ve anti-Fas antikoru ile gece boyunca tedavinin ardından CD3⁺ T hücrelerinin aktivasyon ile indüklenen hücre ölümü.

15 ŞEKİL 38. Yabani tip (A) veya dörtlü mutant IL-2'yi (B) içeren hedeflenmemiş DP47GS IgG-IL-2 yapılarının tek bir i.v. uygulamasından sonra IL-2 immünokonjugatlarının serum konsantrasyonları.

20 ŞEKİL 39. DP47GS IgG'nin farklı antijenlere bağlanması. Bağlanma, plaka üzerinde yakalanan antijenler ile ELISA bazlı bir analizde saptanmıştır. Kaplanan antijenlerin neredeyse tümüne spesifik olmayan bağlanma sergileyen bir insan IgG1 antikoru, pozitif kontrol olarak kullanılmıştır ve boş örnekler, herhangi bir antikor içermemiştir.

25 ŞEKİL 40. FACS analizi ile belirlenen, Fc domeninde LALA P329G mutasyonu olan veya olmayan DP47GS IgG'nin taze (A), PHA-L ile aktive edilmiş (B) ve yeniden uyarılmış (C) insan PBMC'lerinin alt kümelerine bağlanması. Sol üst panel: B hücreleri (A, B) veya CD4⁺ T hücreleri (C); sağ üst panel: CD8⁺ T hücreleri; sol alt panel: 30 NK hücreleri; sağ alt panel: CD14⁺ hücreleri (monositler/nötrofiller).

Uygulamaların Detaylı Açıklaması

35 Tanımlar

Terimler burada genel olarak, aşağıda aksi belirtilmedikçe teknikte kullanılan şekliyle kullanılır.

- 5 Burada kullanıldığı şekliyle "konjugat" terimi, bir efektör parça ve bir ilave peptit molekülünü, özellikle bir immünoglobulin molekülünü içeren bir füzyon polipeptit molekülünü ifade eder.

Burada kullanıldığı şekliyle "immünokonjugat" terimi, birden
10 fazla olmaması koşuluyla bir efektör parça, en az bir antijen bağlayıcı parça ve bir Fc domenini içeren bir füzyon polipeptit molekülü içerir. Belirli uygulamalarda immünokonjugat, bir efektör parça, iki antijen bağlayıcı parça ve bir Fc domeni içerir. Burada tarif edilen belirli immünokonjugatlar esas olarak bir veya
15 daha fazla bağlayıcı sekans ile bağlanan bir efektör parça, iki antijen bağlayıcı parça ve bir Fc domeninden oluşur. Antijen bağlayıcı parça ve efektör parça, Fc domenine çeşitli etkileşimler ve burada tarif edilen çeşitli konfigürasyonlarla bağlanabilir. Belirli bir uygulamada, iki antijen bağlayıcı parça ve Fc domeni,
20 bir tam immünoglobulin molekülü oluşturacak şekilde bir konfigürasyonda birbirine bağlanır. Burada belirtildiği gibi bir immünokonjugat, bir füzyon proteindir ve immünokonjugat bileşenleri, doğrudan veya bağlayıcı peptitler aracılığıyla peptit bağları ile birbirine bağlıdır.

25

Burada kullanılan şekliyle, "antijen bağlayıcı parça" terimi, bir antijenik determinanta spesifik olarak bağlanan bir polipeptiti ifade eder. Bir uygulamada bir antijen bağlayıcı parça, eklenmiş olduğu antiteyi (örneğin bir efektör parça veya bir ikinci antijen
30 bağlayıcı parça) bir hedef alana, örneğin antijenik determinant taşıyan spesifik bir tümör hücresi veya tümör stroma türüne yönlendirebilir. Antijen bağlayıcı parçalar, burada ayrıca tanımlanan şekilde antikorları ve bunların fragmanlarını içerir. Belirli antijen bağlayıcı parçalar, bir antikoru bir antijen
35 bağlayıcı domenini içerir ve söz konusu domen, bir antikor ağır

zincir değişken bölgesi ve bir antikor hafif zincir değişken bölgesi içerir. Belirli uygulamalarda, antijen bağlayıcı parçalar, burada ayrıca tanımlanan ve teknikte bilinen şekilde antikor sabit bölgelerini içerebilir. Yararlı ağır zincir sabit bölgeleri, beş izotipten herhangi birini içerir: α , δ , ϵ , γ veya μ . Yararlı hafif zincir sabit bölgeleri, iki izotipten herhangi birini içerir: κ ve λ .

Burada kullanılan şekliyle, "antijenik determinant" terimi, "antijen" ve "epitop" ile eşanlamlıdır ve bir antijen bağlayıcı parça-antijen kompleksi oluşturan, bir antijen bağlayıcı parçasının bağlandığı bir polipeptit makromolekül üzerindeki bir yeri (örneğin, amino asitlerin bir bitişik uzantısı veya bitişik olmayan amino asitlerin farklı bölgelerinden oluşturulan bir konformasyonel konfigürasyonu) ifade eder. Yararlı antijenik determinantlar, örneğin, tümör hücrelerinin yüzeylerinde, virüs bulaştırılmış hücrelerin yüzeylerinde, diğer hastalıklı hücrelerin yüzeylerinde, kan serumunda serbest şekilde ve/veya hücre dışı matriste (ECM) bulunabilir. Belirli bir uygulamada antijenik determinant, bir insan antijenidir.

"Spesifik olarak bağlanır" ifadesi ile bağlanmanın antijen için selektif olduğu ve istenmeyen ya da spesifik olmayan etkileşimlerden ayırt edilebilir olduğu kastedilir. Antijen bağlayıcı parçanın spesifik bir antijenik determinanta bağlanma kabiliyeti, ya bir enzime bağlı bağışıklık analizi (ELISA) ya da teknikte uzman kişilerce bilinen diğer tekniklerle, örneğin yüzey plazmon rezonansı (SPR) tekniği (bir BIAcore enstrümanı üzerinde analiz edilmiş) (Liljeblad ve diğ. Glyco J 17, 323-329 (2000)) ve geleneksel bağlanma analizleri (Heeley, Endocr Res 28, 217-229 (2002)) ile ölçülebilir. Bir uygulamada, bir antijen bağlayıcı parçanın, ilişkisiz bir proteine bağlanma düzeyi, örneğin SPR yoluyla ölçüldüğü üzere, antijen bağlayıcı parçanın antijene bağlanmasının yaklaşık %10'undan daha azdır. Belirli uygulamalarda, antijene bağlanan bir antijen bağlayıcı parça veya

antiijen bağlayıcı parça içeren bir immünokonjugat, $\leq 1 \mu\text{M}$, $\leq 100 \text{ nM}$, $\leq 10 \text{ nM}$, $\leq 1 \text{ nM}$, $\leq 0,1 \text{ nM}$, $\leq 0,01 \text{ nM}$ veya $\leq 0,001 \text{ nM}$ ( rneğin 10^{-8} M veya daha az,  rneğin 10^{-8} M ila 10^{-13} M ,  rneğin 10^{-9} M ila 10^{-13} M)'lik bir ayrışma sabitine (K_D) sahiptir.

5

"Afinite", bir molekülün ( rneğin bir reseptör) tek bir bağlanma alanı ile bunun bağlanma partneri ( rneğin bir ligant) arasındaki kovalent olmayan etkileşimlerin toplamının gücünü ifade eder. Aksi belirtilmediği sürece, burada kullanıldığı şekliyle, "bağlanma afinitesi", bir bağlanma çiftinin ( rneğin reseptöre ve bir ligand) tarafları arasındaki 1:1 etkileşimi yansıtan intrinsik bağlanma afinitesini ifade eder. Bir X molekülünün partneri Y'ye olan afinitesi, genellikle ayrışma ve birleştirme hızı sabitlerinin (sırasıyla k_{off} ve k_{on}) oranı olan ayrışma sabiti (K_D) ile temsil edilir. Bu nedenle eşdeğer afiniteler, hız sabitleri oranı aynı kaldığı sürece farklı hız sabitlerini içerebilir. Afinite, burada tarif edilenler de dahil olmak üzere, teknikte yaygın olarak bilinen yöntemler ile ölçülebilir. Yüzey Plazmon Rezonansı (SPR), afiniteyi ölçmede kullanılan özel bir yöntemdir.

20

"İndirgenmiş bağlanma", örneğin bir Fc reseptörüne veya CD25'e indirgenmiş bağlanma, SPR ile ölçülen ilgili etkileşimin afinitesindeki bir düşüşü ifade eder. Açık olması açısından terim, afinitenin sıfıra (veya analitik yöntemin saptama sınırının altına) indirgenmesini, baēka bir deyişle etkileşimin tamamen ortadan kaldırılmasını da içerir. Buna karēılık, "artmış bağlanma", ilgili etkileşimin afinitesindeki bir artışı ifade eder.

25

Burada kullanılan şekliyle, antiijen bağlayıcı parçalar vb. ile ilgili olarak "birinci" ve "ikinci" terimleri, her bir tür parçadan birden fazla olması durumunda daha kolay ayırım yapılabilmesi açısından kullanılır. Bu terimlerin kullanımı ile, açıkça belirtilmediği sürece, immünokonjugatın spesifik bir sırasının veya yöneliminin sunulması amaçlanmaz.

30

35

Burada kullanıldığı şekliyle "efektör parça" terimi, bir protein veya glikoprotein gibi örneğin sinyal iletimi veya diğer hücresel yollar aracılığıyla hücresel aktiviteyi etkileyen bir polipeptiti ifade eder. Dolayısıyla burada tarif edilen efektör parça, efektör parça için bir veya daha fazla reseptörü taşıyan bir hücrede bir yanıtı modüle etmek için hücre zarının dışından bir sinyal ileten reseptör aracılı sinyalleme ile ilişkili olabilir. Bir uygulamada bir efektör parça, efektör parça için bir veya daha fazla reseptör taşıyan hücrelerde bir sitotoksik yanıt ortaya çıkarabilir. Başka bir uygulamada bir efektör parça, efektör parça için bir veya daha fazla reseptör taşıyan hücrelerde bir proliferatif yanıt ortaya çıkarabilir. Başka bir uygulamada bir efektör parça, efektör parça için reseptörler taşıyan hücrelerde farklılaşma ortaya çıkarabilir. Başka bir uygulamada bir efektör parça, efektör parça için reseptörler taşıyan hücrelerde bir endojen hücresel proteinin ekspresyonunu değiştirebilir (yukarıya veya aşağıya doğru regüle edebilir). Efektör parçaların sınırlayıcı olmayan örnekleri arasında sitokinler, büyüme faktörleri, hormonlar, enzimler, substratlar ve kofaktörler bulunur. Efektör parça, bir immünokonjugatının oluşturulması için çeşitli konfigürasyonlarda bir antijen bağlayıcı parça veya bir Fc domeni ile birleştirilebilir.

Burada kullanıldığı şekliyle "sitokin" terimi, bir biyolojik veya hücresel fonksiyon veya prosese (örn. bağışıklık, inflamasyon ve hematopoez) aracılık eden ve/veya bir biyolojik veya hücresel fonksiyon veya prosesi regüle eden bir molekülü ifade eder. Burada kullanıldığı şekliyle "sitokin" terimi, "lenfokinler", "kemokinler", "monokinler" ve "interlökinler"i içerir. Yararlı sitokinlerin örnekleri arasında, bunlarla sınırlı olmamak üzere GM-CSF, IL-1 α , IL-1 β , IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-10, IL-12, IFN- α , IFN- β , IFN- γ , MIP-1 α , MIP-1 β , TGF- β , TNF- α ve TNF- β bulunur. Belirli sitokinler, IL-2, IL-7, IL-10, IL-12, IL-15, IFN- α ve IFN- γ 'dır. Belirli uygulamalarda sitokin, bir

insan sitokinidir. Burada kullanıldığı şekliyle "sitokin" terimi ayrıca, Sauv  ve diğ. Proc Natl Acad Sci USA 88, 4636-40 (1991); Hu ve diğ. Blood 101, 4853-4861 (2003) ve US Pat. Yayın No. 2003/0124678; Shanafelt ve diğ. Nature Biotechnol 18, 1197-1202 (2000); Heaton ve diğ. Cancer Res 53, 2597-602 (1993) ve US Pat. No. 5,229,109; US Pat. Yayın No. 2007/0036752; WO 2008/0034473; WO 2009/061853 veya PCT patent başvurusu yayın no. WO 2012/107417 yayınlarında veya yukarıda ve aşağıda tarif edildiği üzere ilgili yabani tip sitokinlerin amino asit sekanslarında bir veya daha fazla amino asit mutasyonunu içeren sitokin varyantlarını, örneğin IL-2 varyantlarını içerir. Diğer sitokin varyantları, örneğin IL-15 varyantları burada tarif edilmiştir. Belirli uygulamalarda sitokinler, glikozilasyonu ortadan kaldırmak için mutasyona uğratılmıştır.

Burada kullanıldığı şekliyle "tek zincir" terimi, peptit bağları ile lineer bir şekilde bağlanmış amino asit monomerlerini içeren bir molekülü ifade eder. Bir uygulamada efektör parça, tek zincirli bir efektör parçadır. Tek zincirli efektör parçalarının sınırlayıcı olmayan örnekleri arasında sitokinler, büyüme faktörleri, hormonlar, enzimler, substratlar ve kofaktörler bulunur. Efektör parçanın bir sitokin olması ve ilgili sitokinin doğada normal olarak bir multimer olarak bulunması durumunda, multimerik sitokin her bir alt birimi, efektör parçanın tek zinciri ile ardışık olarak kodlanır. Dolayısıyla yararlı tek zincirli efektör parçaların sınırlayıcı olmayan örnekleri arasında GM-CSF, IL-1 α , IL-1 β , IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-10, IL-12, IL-15, IFN- α , IFN- β , IFN- γ , M1P-1 α , MIP-1 β , TGF- β , TNF- α , ve TNF- β bulunur.

Burada kullanıldığı şekliyle "kontrol efektör parçası" terimi, konjuge edilmemiş bir efektör parçasını ifade eder. Örneğin burada tarif edilen şekilde bir IL-2 immünokonjugatı, bir kontrol efektör parça ile karşılaştırıldığında, söz konusu kontrol efektör parça, serbest, konjuge edilmemiş IL-2'dir. Benzer şekilde örneğin bir

IL-12 immünokonjugatı, bir kontrol efektör parça ile karşılaştırıldığında, söz konusu kontrol efektör parça serbest, ( rneğın p40 ve p35 alt birimlerinin sadece disülfür bağıını (bağlarını) paylaştığı bir heterodimerik protein olarak bulunan) 5 konjuge edilmemiş IL-12'dir.

Burada kullanıldığı şekliyle "efektör parça reseptörü" terimi, bir efektör parçaya spesifik olarak bağlanabilen bir polipeptit molekülünü ifade eder. Örneğın IL-2'nin efektör parça olması 10 durumunda, bir IL-2 molekülünü ( rn. IL-2 içeren bir immünokonjugatı) bağlayan efektör parça reseptörü, IL-2 reseptörüdür. Benzer şekilde  rneğın IL-12'nin bir immünokonjugatın efektör parçası olması durumunda, efektör parça reseptörü, IL-12 reseptörüdür. Bir efektör parçanın birden fazla 15 reseptöre bağlanması durumunda, efektör parçaya spesifik olarak bağlanan tüm reseptörler, söz konusu efektör parçası için "efektör parça reseptörü"d r.

"İmmünoglobülin molekülü" terimi, doğıal olarak oluşan bir 20 antikoruın yapısına sahip bir proteini ifade eder. Örneğın, IgG sınıfının imm noglob linleri, yaklaşık 150.000 daltonluk heterotetramerik glikoproteinler olup, disülfür bağıyla bağlanan iki hafif zincir ve iki ağır zincirden oluşur. N ucundan C ucuna doğıru, her bir ağır zincirin bir değışken bölgesi (VH) bulunur ve 25 buna ayrıca bir değışken ağır domen veya ağır zincir değışken domeni adı verilir ve bunun ardından ağır zincir sabit bölgesi adı verilen üç sabit domen (CH1, CH2 ve CH3) gelir. Benzer şekilde, N ucundan C ucuna doğıru, her bir hafif zincirin bir değışken bölgesi (VL) bulunur ve buna ayrıca bir değışken hafif domen veya bir hafif 30 zincir değışken domeni adı verilir ve bunun ardından bir hafif zincir sabit bölgesi olarak da adlandırılan bir sabit hafif (CL) domen gelir. Bir immünoglobülinin ağır zinciri, α (IgA), δ (IgD), ϵ (IgE), γ (IgG), veya μ (IgM) şeklinde adlandırılan beş türden birine atanabilir, bunlardan bazıları daha sonra γ_1 (IgG₁), γ_2 35 (IgG₂), γ_3 (IgG₃), γ_4 (IgG₄), α_1 (IgA₁) ve α_2 (IgA₂) şeklinde alt

türlere ayrılabilir. Bir immüoglobülinin hafif zinciri, sabit domeninin amino asit sekansına göre kappa (κ) ve lambda (λ) olarak adlandırılan iki türden birine atanabilir. Bir immüoglobülin esas olarak immüoglobülin menteşe bölgesi ile bağlı iki adet Fab molekülünden ve bir Fc domeninden oluşur.

"Antikor" terimi, burada en geniş anlamıyla kullanılır ve bunlarla sınırlı olmamak kaydıyla, monoklonal antikorları, poliklonal antikorları ve istenen antijen bağlanma aktivitesini göstermeleri kaydıyla antikor fragmanlarını içeren çeşitli antikor yapılarını kapsar.

Bir "antikor fragmanı", bir bütün antikor haricindeki bir molekül belirtmekte olup, bu molekül bir bütün antikorun, bütün antikorun bağlandığı antijeni bağlayan bir kısmını içerir. Antikor fragmanlarının örnekleri arasında, bunlarla sınırlı olmamak kaydıyla, Fv, Fab, Fab', Fab'-SH, F(ab')₂, diyakorlar, doğrusal antikorlar, tek zincirli antikor molekülüleri (örneğin, scFv) ve tek domenli antikorlar bulunur. Belirli antikor fragmanları ile ilgili bir inceleme için bkz. Hudson ve diğ. Nat Med 9, 129-134 (2003). scFv fragmanları ile ilgili bir inceleme için bkz. örn., Pluckthün, The Pharmacology of Monoclonal Antibodies, cilt 113, Rosenberg ve Moore eds., Springer-Verlag, New York, s. 269-315 (1994); ayrıca bkz. WO 93/16185; ve U.S. Patent No'lar 5,571,894 ve 5,587,458. Kurtarma (salvage) reseptörünü bağlayan epitop kalıntıları içeren ve in vivo yarı ömrü artmış Fab ve F(ab')₂ fragmanlarıyla ilgili tartışma için bkz. U.S. Patent No 5,869,046. Diyakorlar, iki değerli veya bispesifik olabilen iki antijen bağlanma bölgesine sahip antikor fragmanlarıdır. Bkz. örneğin EP 404,097; WO 1993/01161; Hudson ve diğ. Nat Med 9, 129-134 (2003) ve Hollinger ve diğ. Proc Natl Acad Sci USA 90, 6444-6448 (1993). Triakorlar ve tetrakorlar ayrıca, Hudson ve diğ. Nat Med 9, 129-134 (2003) yayınında tarif edilir. Tek domenli antikorlar, ağır zincir değişken domeninin tamamını veya bir kısmını veya bir antikorun hafif zincir değişken domeninin tamamını veya bir kısmını içeren

antikor fragmanlarıdır. Belirli uygulamalarda, tek domenli antikor bir insan tek domenli antikorudur (Domantis, Inc., Waltham, MA; bkz. örn. U.S. Patent No. 6,248,516 B1). Antikor fragmanları, burada tarif edildiği üzere, bunlarla sınırlı olmamak
5 kaydıyla bir bütün antikorun proteolitik kesimi ve ayrıca rekombinant konakçı hücrelerle (örneğin E. coli veya faj) üretim de dahil olmak üzere çeşitli tekniklerle üretilir.

"Antijen bağlayıcı domen" terimi, spesifik olarak bağlandığı ve
10 bir antijenin parçasına veya tamamına tamamlayıcı olan alanı içeren bir antikor parçası anlamına gelir. Bir antijen bağlayıcı domen, örneğin bir veya daha fazla antikor değişken domeniyle (aynı zamanda antikor değişken bölgesi olarak da adlandırılır) sağlanabilir. Özellikle antijen bağlayıcı domen, bir antijen hafif
15 zincir değişken bölgesi (VL) ve bir antikor ağır zincir değişken bölgesini (VH) içerir.

"Değişken bölge" veya "değişken domen" ifadeleri, bir antikor ağır veya hafif zincirinin, antikorun antijene bağlanmasında rol
20 oynayan domenini ifade eder. Bir doğal antikorun ağır zincir ve hafif zincirinin (sırasıyla VH ve VL) değişken domenleri genellikle benzer yapılara sahiptir ve her bir domen dört konzervatif çerçeve bölge (FR) ve üç aşırı değişken bölge (HVR) içerir. Bkz. örn. Kindt ve diğ. Kuby Immunology, 6. baskı, W.H.
25 Freeman and Co., sayfa 91 (2007). Tek bir VH veya VL domeni antijen bağlanma spesifikliği sağlamak için yeterli olabilir.

"Aşırı değişken bölge" veya "HVR" terimi, burada kullanıldığı
30 şekliyle, bir antikor değişken domeninin, sekansta aşırı değişken olan ve/veya yapısal olarak tanımlı ilmekler ("aşırı değişken ilmekler") oluşturan bölgelerin her birini ifade eder. Genellikle, doğal dört zincirli antikorlar altı HVR içermekte olup; bunların üçü VH'de (H1, H2, H3) ve üçü VL'de (L1, L2, L3) bulunur. HVR'ler genellikle aşırı değişken ilmeklere ve/veya "tamamlayıcılık
35 belirleme bölgelerine" (CDR'ler) ait amino asit kalıntıları

içermekte olup, bunların içinden CDR'ler, en yüksek sekans değişkenliğine sahiptir ve/veya antijen tanımasında rol oynar. VH'deki CDR1 hariç olmak üzere, CDR'ler, genellikle aşırı değişken ilmekler oluşturan amino asit kalıntıları içerir. Aşırı değişken bölgeler (HVR'ler) ayrıca, "tamamlayıcılık belirleyici bölgeler" (CDR'ler) olarak ifade edilir ve bu terimler burada, antijen bağlayıcı bölgeleri oluşturan değişken bölgenin kısımları ile ilgili olarak birbirinin yerine kullanılabilir. Bu belirli bölge, Kabat ve diğ. U.S. Dept, of Health and Human Services, Sequences of Proteins of Immunological Interest (1983) ve Chothia et. al., J. Mol Biol 196:901-917 (1987) yayınlarında tarif edilmiştir ve burada tanımlar, birbirleriyle karşılaştırıldığında amino asit kalıntılarının çakışmasını veya alt kümelerini içerir. Bununla birlikte, bir antikorun CDR'sine veya bunların varyantlarına atfen yapılan her iki tanımın uygulaması, terimin burada tanımlanan ve kullanılan kapsamı dahilindedir. Yukarıda bahsedilen referansların her biri ile tanımlanan şekliyle CDR'leri kapsayan uygun amino asit kalıntıları, bir karşılaştırma olarak aşağıdaki Tablo 1'de karşılaştırmalı olarak gösterilir. Belirli bir CDR'yi kapsayan tam kalıntı numaraları, CDR'nin sekansına ve boyutuna bağlı olarak değişiklik gösterir. Teknikte yetkin kişiler, antikorun değişken bölge amino asit sekansı söz konusu olduğunda hangi kalıntıların belirli bir CDR'yi içerdiğini her zaman belirleyebilir.

25

TABLO 1. CDR Tanımları¹

CDR	Kabat	Chothia	AbM ²
V _H CDR1	31-35	26-32	26-35
V _H CDR2	50-65	52-58	50-58
V _H CDR3	95-102	95-102	95-102
V _L CDR1	24-34	26-32	24-34
V _L CDR2	50-56	50-52	50-56
V _L CDR3	89-97	91-96	89-97

¹Tablo 1'deki tüm CDR tanımlarının

numaralandırılması, Kabat ve diğerleri tarafından belirlenen numaralandırma kurallarına göredir (aşağıya bakınız).

² Tablo 1’de kullanılan şekliyle küçük “b” harfli “AbM”, Oxford Molecular’ a ait “AbM” antikör modelleme yazılımı tarafından tanımlanan şekliyle CDR’leri belirtir.

Kabat ve ark. aynı zamanda, herhangi bir antikora uygulanabilen değişken bölge sekansları için bir numaralandırma sistemi belirlemişlerdir. Teknikte yetkin bir kimse, sekansın kendisinin ötesindeki herhangi bir deneysel veriye bağımlı olmaksızın herhangi bir değişken domen sekansına, bu “Kabat numaralandırma” sistemini açık bir şekilde tayin edebilir. Burada kullanıldığı şekliyle “Kabat numaralandırması”, Kabat ve diğ. U.S. Dept. of Health and Human Services, “Sequence of Proteins of Immunological Interest” (1983) yayınında ortaya konulmuş numaralandırma sistemini ifade eder. Aksi belirtilmedikçe, bir antikör değişken bölgesindeki spesifik amino asit kalıntısı konumlarının numaralandırılmasına yapılan referanslar, Kabat numaralandırma sistemine göre yapılır.

Sekans listesindeki polipeptit sekansları (SEQ ID NO 23, 25, 27, 29, 31 vb.), Kabat numaralandırma sistemine göre numaralandırılmamıştır. Ancak teknikte sıradan uzmanlığa sahip kişi, Sekans Listesi’ndeki sekansları Kabat numaralandırmasına dönüştürmeyi iyi bilmektedir.

“Çerçeve” veya “FR”, aşırı değişken bölge (HVR) kalıntıları haricindeki değişken domen kalıntılarını ifade eder. Bir değişken domenin FR’si genellikle dört FR domeninden oluşur: FR1, FR2, FR3 ve FR4. Buna göre, HVR ve FR sekansları genellikle VH (veya VL) içinde aşağıdaki sekansla görülür: FR1-H1 (L1) -FR2-H2 (L2) -FR3-H3 (L3) -FR4.

Bir antikorun veya immünoglobülinin "sınıfı", ağır zincirinin sahip olduğu sabit domen veya sabit bölgenin türünü ifade eder. Beş ana antikor sınıfı bulunur: IgA, IgD, IgE, IgG, ve IgM; ve bunlardan birkaçı alt sınıflara (izotiplere), örneğin IgG₁, IgG₂,
5 IgG₃, IgG₄, IgA₁, ve IgA₂'ye ayrılabilir. Farklı immünoglobülin sınıflarına karşılık gelen ağır zincir sabit domenleri, sırasıyla α , δ , ϵ , γ ve μ olarak adlandırılır.

"Fc domeni" veya "Fc bölgesi" terimi, burada, bir immünoglobülin
10 ağır zincirinin, sabit bölgenin en azından bir kısmını barındıran bir C terminal bölgesini tanımlamak için kullanılır. Bu terim, doğal sekansın Fc bölgelerini ve varyant Fc bölgelerini içerir. Bir IgG ağır zincirinin Fc bölgesinin sınırları nispeten değişiklik gösterebilse de, insan IgG ağır zincir Fc bölgesi,
15 genellikle, Cys226 veya Pro230 pozisyonundan ağır zincirin karboksil ucuna kadar uzanacak şekilde tanımlanır. Ancak, Fc bölgesinin C terminal lizini (Lys447) mevcut olabilir veya olmayabilir. Burada aksi belirtilmediği sürece, Fc bölgesinde veya sabit bölgedeki amino asit kalıntılarının numaralandırılması AB
20 numaralandırma sistemine veya diğer adıyla AB indeksine göre olup, Kabat ve diğ. Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5. baskı, Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD, 1991 yayınında tarif edilen şekildedir. Burada kullanılan şekliyle bir Fc domeninin bir "alt birimi", dimerik Fc
25 domenini oluşturan iki polipeptitten birini, başka bir deyişle kendiliğinden birleşmeyi stabil hale getirebilen bir immünoglobülin ağır zincirinin C terminal sabit bölgelerini içeren bir polipeptiti ifade eder, Örneğin, bir IgG Fc domeninin bir alt birimi, bir IgG CH2 ve bir IgG CH3 sabit domenini içerir.

30

Bir "heterodimerizasyonu kolaylaştıran modifikasyon" ifadesi, bir polipeptitin bir homodimer oluşturmak üzere özdeş bir polipeptit ile birleşmesini indirgeyen veya önleyen bir polipeptitin transdüksiyon sonrası modifikasyonlarının veya peptit omurgasının
35 manipülasyonudur. Burada kullanıldığı şekliyle bir

heterodimerizasyonu kolaylaştıran bir modifikasyon özellikle bir dimer oluşturmak için istenen iki polipeptitin her birine yapılan ayrı modifikasyonları içerir ve burada modifikasyonlar, iki polipeptitin birleşmesini kolaylaştırmak için birbirini tamamlayıcıdır. Örneğin, heterodimerizasyonu kolaylaştıran bir modifikasyon, sırasıyla, birleşmelerini sterikal veya elektrostatik olarak elverişli hale getirecek şekilde bir dimer oluşturmak için istenen polipeptitlerin birinin veya her ikisinin yapısını veya yükünü değiştirebilir. Heterodimerizasyon, Fc domeninin iki alt birimi gibi iki özdeş olmayan polipeptit arasında meydana gelir ve söz konusu alt birimlerin her birine kaynaştırılan diğer immünokonjugat bileşenleri aynı değildir. Burada tarif edilen immünokonjugatlarda, heterodimerizasyonu kolaylaştıran modifikasyon, Fc domenindedir. Bazı uygulamalarda heterodimerizasyonu kolaylaştıran modifikasyon, bir amino asit mutasyonu, spesifik olarak bir amino asit ornatımı içerir. Belirli bir uygulamada, heterodimerizasyonu kolaylaştıran modifikasyon, Fc domeninin iki alt biriminin her birinde ayrı bir amino asit mutasyonu, spesifik olarak bir amino asit ornatımı içerir.

20

"Efektör fonksiyonlar" terimi, bir antikorun Fc bölgesine atfedilebilen ve antikor izotipi ile birlikte değişiklik gösteren biyolojik aktiviteleri ifade eder. Antikor efektör fonksiyonlarının örnekleri arasında aşağıdakiler bulunur: Clq bağlanması ve tamamlayıcıya bağımlı sitotoksosite (CDC), Fc reseptör bağlanması, antikora bağımlı hücre aracılı sitotoksosite (ADCC), antikora bağımlı hücrel fagositoz (ADCP), sitokin sekresyonu, antijen sunucu hücreler tarafından immün kompleks aracılı antijen alımı, hücre yüzeyi reseptörlerinin aşağı regülasyonu (örneğin B hücresi reseptörü) ve B hücresi aktivasyonu.

30

Burada kullanılan şekliyle, "işlemek, işlenmiş, işleme" terimlerinin peptit omurgasının veya doğal olarak oluşan ya da rekombinant bir polipeptitin veya bunun fragmanının translasyon

35

sonrası modifikasyonlarının herhangi bir manipölasyonunu içerdiği düşünülür. İşleme, amino asit sekansının, glikozilasyon paterninin, ya da tek amino asitlerin yan zincir grubunun modifikasyonları ile birlikte bu yaklaşımların kombinasyonlarını da içerir. "Glikozilasyon işleme" teriminin yanı sıra özellikle "gliko" ön ekiyle birlikte "işleme" terimi, hücrelerde eksprese edilen glikoproteinlerin değiştirilmiş glikozilasyonunu elde etmek için oligosakkarit sentez yollarının genetik manipölasyonları da dahil olmak üzere bir hücrenin glikozilasyon mekanizmasının metabolik olarak işlenmesini içerir. Ayrıca glikozilasyon işleme, mutasyon ve hücre ortamının glikozilasyon üzerindeki etkilerini içerir. Bir uygulamada glikozilasyon işleme, glikotransferaz aktivitesindeki bir değişikliktir. Özel bir uygulamada söz konusu işleme, değiştirilmiş glukozaminiltransferaz aktivitesi ve/veya fukoziltransferaz aktivitesiyle sonuçlanır. Glikozilasyon işleme, bir "artmış GnTIII aktivitesine sahip konakçı hücre", bir "artmış ManII aktivitesine sahip konakçı hücre" veya bir "azalmış $\alpha(1,6)$ fukoziltransferaz aktivitesine sahip konakçı hücre" elde etmek üzere kullanılabilir.

Burada kullanılan şekliyle "amino asit mutasyonu" terimi, amino asit ornatımlarını, delesyonlarını, yerleştirmelerini ve modifikasyonlarını kapsar. Ornatım, delesyon, yerleştirme ve modifikasyon işlemlerinin herhangi bir kombinasyonu nihai yapıya ulaşmak için yapılabilir; ancak, nihai yapının istenen özelliklere, örneğin bir Fc reseptörüne indirgenmiş bağlanma veya CD25'e indirgenmiş bağlanma özelliğine sahip olması koşulu vardır. Amino asit sekansı delesyonları ve yerleştirmeleri, amino asitlerin amino ve/veya karboksi terminal delesyonlarını ve yerleştirmelerini içerir. Özel amino asit mutasyonları amino asit ornatımlarıdır. Örneğin bir Fc bölgesinin veya IL-2 gibi bir sitokinin bağlanma özelliklerini değiştirmek amacıyla, konzervatif olmayan amino asit ornatımları, başka bir deyişle bir amino asidin farklı yapısal ve/veya kimyasal özelliklere sahip

başka bir amino asit ile değiştirilmesi özellikle tercih edilir. Amino asit ornatımları, doğal olmayan bir şekilde oluşan amino asitler veya yirmi standart amino asitin doğal olarak oluşan amino asit türevleri (örneğin 4-hidroksiprolin, 3-metilhistidin, ornitin, homoserin, 5-hidroksilizin) ile gerçekleştirilen 5 değiştirmeyi içerir. Amino asit mutasyonları, teknikte iyi bilinen genetik veya kimyasal yöntemler kullanılarak meydana getirilebilir. Alan hedefli mutagenез, PCR, gen sentezi ve benzerleri genetik yöntemler arasında sayılabilir. Bir amino 10 asitin yan zincir grubunun genetik işleme haricindeki yöntemler tarafından değiştirilme yöntemlerinin de, örneğin kimyasal modifikasyon gibi, yararlı olabileceği düşünülür. Burada, aynı amino asit mutasyonunu belirtmek amacıyla çeşitli gösterimler kullanılabilir. Örneğin, Fc domeninin 329 konumundaki prolinden 15 glisine doğru bir ornatım, 329G, G329, G329, P329G veya Pro329Gly şeklinde gösterilebilir.

Burada kullanılan şekliyle, "polipeptit" terimi, amit bağları (peptit bağları olarak da bilinir) ile lineer bir şekilde bağlanan 20 monomerlerden (amino asitler) oluşan bir molekülü ifade eder. "Polipeptit" terimi, iki ya da daha fazla amino asitin herhangi bir zincirini ifade eder, ancak ürünün spesifik uzunluğunu belirtmez. Bu nedenle peptitler, dipeptitler, tripeptitler, oligopeptitler, "protein", "amino asit zinciri" veya iki ya da daha 25 fazla amino asidin bir zincirini ifade etmek için kullanılan herhangi bir terim, "polipeptit" teriminin tanımı içinde yer alır ve "polipeptit" terimi, bu terimlerin herhangi birinin yerine veya birbirlerinin alternatifi olarak kullanılabilir. "Polipeptit" teriminin ayrıca, bunlarla sınırlı olmamak kaydıyla 30 glikozilasyon, asetilasyon, fosforilasyon, amidasyon, bilinen koruyucu/engelleyici gruplar tarafından türevlendirme, proteolitik yarıma veya doğal olmayan bir şekilde oluşan amino asitler tarafından modifikasyon da dahil olmak üzere polipeptitin ekspresyon sonrası modifikasyonlarının ürünlerini ifade ettiği de 35 kastedilir. Bir polipeptit, doğal bir biyolojik kaynaktan

türetilebilir veya rekombinant teknoloji ile üretilebilir, ancak belirlenmiş bir nükleik asit sekansından transle edilmesi gerekmez. Kimyasal sentez de dahil olmak üzere herhangi bir şekilde meydana getirilebilir. Burada tarif edilen şekilde bir polipeptit, 5 yaklaşık 3 veya daha fazla, 5 veya daha fazla, 10 veya daha fazla, 20 veya daha fazla, 25 veya daha fazla, 50 veya daha fazla, 75 veya daha fazla, 100 veya daha fazla, 200 veya daha fazla, 500 veya daha fazla, 1.000 veya daha fazla veya 2.000 veya daha fazla amino asit büyüklüğünde olabilir. Böyle bir yapıya sahip olmaları gerekli 10 olmamasına rağmen polipeptitler tanımlanmış bir üç boyutlu yapıya sahip olabilir. Tanımlanmış bir üç boyutlu yapıya sahip polipeptitler katlanmış olarak ifade edilir ve tanımlanmış üç boyutlu bir yapıya sahip olmayan ancak çok sayıda farklı konformasyona sahip olabilen polipeptitler ise katlanmamış olarak 15 ifade edilir.

"İzole edilmiş" bir polipeptit veya varyant ya da bunların türevi ile, doğal ortamında olmayan bir polipeptit kastedilir. Özel bir saflaştırma seviyesine gerek yoktur. Örneğin izole edilmiş bir 20 polipeptit, natif ve doğal ortamından uzaklaştırılabilir. Rekombinant bir şekilde üretilmiş polipeptitlerin ve konakçı hücrelerde eksprese edilen proteinlerin, mevcut açıklamanın amacına uygun olarak, herhangi bir uygun teknikle ayrılmış, fraksiyonlara ayrılmış ya da kısmen veya büyük ölçüde 25 saflaştırılmış natif ya da rekombinant polipeptitler olarak izole edildiği kabul edilir.

Bir referans polipeptit sekansına göre "amino asit sekansı özdeşlik yüzdesi (%)" ifadesi, bir aday sekansta, maksimum sekans 30 özdeşliği yüzdesini elde etmek üzere gerektiği takdirde sekansların hizalanması ve boşlukların eklenmesinin ardından ve herhangi bir konzervatif ornatımın sekans özdeşliğinin bir parçası olarak dikkate alınmamasıyla, referans polipeptit sekansındaki amino asit kalıntıları ile özdeş olan amino asit kalıntısı yüzdesi 35 olarak tanımlanır. Amino asit sekans özdeşliği yüzdesinin

belirlenmesi amacıyla yapılacak olan hizalama, örneğin, BLAST, BLAST-2, ALIGN veya Megalign (DNASTAR) yazılımı gibi genel kullanıma açık bilgisayar yazılımları kullanılarak, teknikte yetkin kişilerce bilinen yollarla gerçekleştirilebilir. İlgili

5 tekniğin uzmanları, karşılaştırılan sekansların tam uzunluğu boyunca maksimum hizalamayı sağlamak için gerekli olan herhangi bir algoritma da dahil olmak üzere, sekansların hizalanması için uygun parametreleri belirleyebilirler. Bununla birlikte buradaki amaçlar doğrultusunda, % amino asit sekansı özdeşliği değerleri,

10 sekans karşılaştırma amaçlı bilgisayar programı ALIGN-2 kullanılarak elde edilir. ALIGN-2 sekans karşılaştırma amaçlı bilgisayar programı, Genentech, Inc. tarafından yazılmıştır ve kaynak kodu ABD Telif Hakkı Kaydı No TXU510087 altında kayıtlı olduğu ABD Telif Hakları Ofisi, Washington D.C., 20559'da

15 kullanıcı belgeleriyle birlikte dosyalanmıştır. ALIGN-2 programı Genentech, Inc., South San Francisco, California'dan genel kullanıma açılmıştır ya da kaynak kodundan derlenebilir. ALIGN-2 programı, örneğin dijital UNIX V4.0D olmak üzere bir UNIX işletim sistemi üzerinde kullanılmak üzere derlenmelidir. Tüm sekans

20 karşılaştırma parametreleri ALIGN-2 programı ile belirlenir ve değişkenlik göstermez. Amino asit sekansı karşılaştırmaları için ALIGN-2 programının kullanıldığı durumlarda, belirli bir amino asit sekansı A'nın, belirli bir amino asit sekansı B ile veya buna karşı amino asit sekansı özdeşlik yüzdesi (%) (alternatif olarak,

25 belirli bir amino asit sekansı B ile veya buna karşı belirli bir amino asit sekansı özdeşlik yüzdesine (%) sahip olan veya içeren belirli bir amino asit sekansı A olarak da ifade edilebilir) aşağıdaki gibi hesaplanmakta olup:

30
$$X/Y \text{ kesiri } \times 100$$

X, bu programın A ve B hizalaması sırasındaki ALIGN-2 sekans hizalama programı ile özdeş eşleşme olarak puanlanan amino asit kalıntılarının sayısındır ve Y, B'deki toplam amino asit

35 kalıntılarının sayısındır. Amino asit sekansı A'nın uzunluğunun,

amino asit sekansı B'nin uzunluğuna eşit olmaması durumunda, A'nın B'ye olan amino asit sekansı özdeşliği yüzdesinin, B'nin A'ya olan amino asit sekansı özdeşliği yüzdesine eşit olmayacağı anlaşılabacaktır. Aksi belirtilmediği sürece, burada kullanılan tüm
5 % amino asit sekansı özdeşlik değerleri ALIGN-2 bilgisayar programı kullanılarak hemen önceki paragrafta açıklandığı gibi elde edilir.

"Polinükleotit" terimi, örneğin RNA (mRNA), viral türevli RNA veya
10 plazmid DNA (pDNA) gibi izole edilmiş bir nükleik asit molekülü veya yapısını ifade eder. Bir polinükleotit, konvansiyonel bir fosfodiester bağı veya konvansiyonel olmayan bir bağ (örneğin peptit nükleik asitlerinde (PNA) bulunan bir amit bağı) içerebilir. "Nükleik asit molekülü" terimi, bir polinükleotitte
15 bulunan herhangi bir veya daha fazla nükleik asit segmentini, örneğin DNA veya RNA fragmanlarını ifade eder.

"İzole edilmiş" nükleik asit molekülü veya polinükleotit ile, natif ortamından uzaklaştırılmış bir nükleik asit molekülü, DNA
20 veya RNA kastedilir. Örneğin, bir vektörün içindeki bir terapötik polipeptiti kodlayan rekombinant bir polinükleotitin mevcut açıklamanın amacına uygun olarak izole edildiği kabul edilir. İzole edilmiş bir polinükleotitin diğer örnekleri arasında heterolog konakçı hücrelerde muhafaza edilen rekombinant
25 polinükleotitler ya da çözelti içinde saflaştırılmış (kısmen veya büyük ölçüde) polinükleotitler bulunur. İzole edilmiş bir polinükleotit, normalde polinükleotit molekülünü içeren hücrelerde bulunan bir polinükleotit molekülünü içerir; ancak polinükleotit molekülü, kromozom dışında veya doğal kromozomal
30 konumundan farklı bir kromozomal konumda bulunur. İzole edilmiş RNA molekülleri, burada tarif edilen *in vivo* veya *in vitro* RNA transkriptlerinin yanı sıra pozitif ve negatif iplikçik formlarını ve çift iplikçikli formları içerir. Burada tarif edilen izole edilmiş polinükleotitler veya nükleik asitler ayrıca sentetik
35 olarak üretilmiş bu tür molekülleri de içerir. Bunlara ek olarak,

bir polinükleotit veya bir nükleik asit, bir promotör gibi bir düzenleyici element, ribozom bağlanma alanı veya bir transkripsiyon sonlandırıcı olabilir veya içerebilir.

5 Burada tarif edilen bir referans nükleotit sekansı ile örneğin en az %95 "özdeş" olan bir nükleotit sekansına sahip bir nükleik asit veya polinükleotit ile, polinükleotit sekansının, referans nükleotit sekansının her 100 nükleotiti için en fazla beş nokta mutasyonu içerebilmesi dışında, polinükleotitin nükleotit
10 sekansının, referans sekans ile özdeş olduğu kastedilir. Başka bir deyişle, bir referans nükleotit sekansı ile en az %95 özdeş olan bir nükleotit sekansına sahip bir polinükleotit elde etmek için referans sekansındaki nükleotitlerin %5'ine kadar olanları silinebilir ya da başka bir nükleotit ile ornatılabilir veya
15 referans sekansındaki toplam nükleotitlerin %5'ine kadar olan birkaç nükleotit referans sekansına yerleştirilebilir. Referans sekanslarının bu alterasyonları, referans nükleotit sekansının 5' veya 3' konumlarında ya da referans sekansının kalıntıları arasına teker teker veya referans sekansı içindeki bir veya daha fazla
20 bitişik grupta serpiştirilen bu terminal konumları arasındaki bir yerde gerçekleşebilir. Pratik anlamda, herhangi bir belirli polinükleotit sekansına burada tarif edilen bir nükleotit sekansı ile en az %80, %85, %90, %95, %96, %97, %98 veya %99 özdeş olup olmadığı polipeptitler için yukarıda tartışılan programlar gibi
25 (örneğin ALIGN-2) bilinen bilgisayar programları kullanılarak konvansiyonel olarak belirlenebilir.

"Ekspresyon kaseti" terimi, bir hedef hücrede belirli bir nükleik asit transkripsiyonuna izin veren bir dizi belirlenmiş nükleik
30 asit elementleri ile rekombinant bir şekilde veya sentetik olarak meydana getirilen bir polinükleotiti ifade eder. Rekombinant ekspresyon kaseti, bir plazmit, kromozom, mitokondriyal DNA, plastit DNA, virüs veya nükleik asit fragmanına dahil edilebilir. Tipik olarak, bir ekspresyon vektörünün rekombinant ekspresyon
35 kaseti kısmı, diğer sekansların arasında transkribe edilecek bir

nükleik asit sekansı ve bir promotör içerir. Belirli uygulamalarda, burada tarif edilen ekspresyon kaseti, burada tarif edilen immünokonjugatlar veya bunların fragmanlarını kodlayan polinükleotit sekanslarını içerir.

5

"Vektör" veya "ekspresyon vektörü" terimi, "ekspresyon yapısı" ile eşanlamlıdır ve bir hedef hücrede uygulanabilir bir şekilde birleştirildiği spesifik bir genin ekspresyonunu başlatmak ve yönlendirmek için kullanılan bir DNA molekülünü ifade eder. Bu terim, vektörü, kendiliğinden çoğalan bir nükleik asit yapısı olarak ve aynı zamanda yerleştirildiği konakçı hücrenin genomuna dahil edilen vektör olarak kapsar. Burada tarif edilen ekspresyon vektörü bir ekspresyon kasetini içerir. Ekspresyon vektörleri, büyük miktarlardaki stabil mRNA'nın transkripsiyonuna olanak sağlar. Ekspresyon vektörü hedef hücre içinde bir kez bulunduğunda ribonükleik asit molekülü veya gen tarafından kodlanan protein, hücresel transkripsiyon ve/veya translasyon makinesi ile üretilir. Bir uygulamada, burada tarif edilen ekspresyon vektörü, burada tarif edilen şekilde immünokonjugatları veya bunların fragmanlarını kodlayan polinükleotit sekanslarını içeren bir ekspresyon kaseti içerir.

10

15

20

25

"Yapay" terimi, bir sentetik veya konakçı olmayan hücre türevli bileşime, örneğin kimyasal olarak sentezlenmiş bir oligonükleotiti ifade eder.

"Konakçı hücre", "konakçı hücre hattı" ve "konakçı hücre kültürü" terimleri birbirlerinin yerine kullanılabilir ve ekzojen nükleik asidin dahil edildiği hücreleri ve bu tür hücrelerin soylarını ifade eder. konakçı hücreler "transformantları" ve "transforme edilmiş hücreleri" içermekte olup, bunlar, primer transforme edilmiş hücreyi ve pasaj sayısından bağımsız olarak bunlardan türetilen soyları içerir. Soy, nükleik asit içeriği bakımından bir ana hücreyle tamamen özdeş olmayabilir ancak mutasyonlar içerebilir. Orijinal olarak transforme edilmiş hücrede taranan ve

30

35

seçilen ile aynı fonksiyon veya biyolojik aktiviteye sahip olan mutant soy da burada dahil edilir. Bir konakçı hücre, burada tarif edilen immünokonjugatların oluşturulmasında kullanılabilecek herhangi bir tür hücresel sistemdir. Bir uygulamada konakçı hücre, 5 Fc bölgesindeki modifiye edilmiş oligosakkaritler bulunan bir immünokonjugatın üretilmesini sağlayacak şekilde işlenir. Belirli uygulamalarda konakçı hücreler, artmış seviyelerde β (1,4) -N-asetilglukosaminiltransferaz III (GnTIII) aktivitesine sahip bir veya daha fazla polipeptit eksprese etmek üzere manipüle edilmiştir. Belirli uygulamalarda konakçı hücreler, artmış 10 seviyelerde α -mannosidaz II (ManII) aktivitesine sahip bir veya daha fazla polipeptit eksprese etmek üzere ayrıca manipüle edilmiştir. konakçı hücreler arasında, birkaçını saymak gerekirse, örneğin CHO hücreleri, BHK hücreleri, NS0 hücreleri, 15 SP2/0 hücreleri, YO miyelom hücreleri, P3X63 fare miyelom hücreleri, PER hücreleri, PER.C6 hücreleri veya hibridoma hücreleri, maya hücreleri, insekt hücreleri ve bitki hücreleri gibi memeli kültürlenmiş hücreler ile ayrıca transgenik hayvan, transgenik bitki veya kültürlenmiş bitki ya da hayvan dokusu içinde 20 oluşturulan hücreleri bulunur.

Burada kullanıldığı şekliyle "GnTIII aktivitesine sahip polipeptit", β -1,4 bağlantısındaki N-asetilglukosamin (GlcNAc) kalıntısının N bağlı oligosakkaritlerin trimannosil çekirdeğinin 25 β bağlı mannozidine eklenmesini katalize edebilen polipeptitleri ifade eder. Buna, Uluslararası Biyokimya ve Moleküler Biyoloji Birliği Adlandırma Komitesine (Nomenclature Committee of the International Union of Biochemistry and Molecular Biology: NC-IUBMB) göre bir biyolojik analizde ölçüldüğü üzere, doz 30 bağımlılığı olsun veya olmasın, β -1,4-mannozil-glikoprotein 4-beta-N-asetilglukozaminil-transferaz (bkz. EC 2.4.1.144) olarak da bilinen β (1,4)-N-asetilglukozaminiltransferaz III'ün aktivitesine benzer, fakat her zaman özdeş olmayan enzimatik aktivite sergileyen füzyon polipeptitleri dahildir. Doz 35 bağımlılığının bulunduğu durumlarda, GnTIII ile özdeş olması

gerekmez, fakat belirli bir etkinlikte GnTIII ile karşılaştırıldığında doz bağımlılığına oldukça benzer olması gerekir (başka bir deyişle aday polipeptit, GnTIII'ye göre daha fazla aktivite veya yaklaşık 25 kat daha az, tercihen yaklaşık on 5 kat daha az, daha tercihen üç kat daha azdan fazla olmayan bir aktivite sergileyecektir). Belirli uygulamalarda, GnTIII aktivitesine sahip polipeptit, bir heterolog Golgi yerleşik polipeptitin Golgi lokalizasyon domenini ve GnTIII katalitik domenini içeren bir füzyon polipeptitidir. Özellikle, Golgi 10 lokalizasyon domeni, mannosidaz II veya GnTI lokalizasyon domeni, özellikle mannosidaz II lokalizasyon domenidir. Alternatif olarak, Golgi lokalizasyon domeni; mannosidaz I lokalizasyon domeni, GnTII lokalizasyon domeni ve α 1,6 çekirdek fukoziltransferazın lokalizasyon domeninden oluşan gruptan 15 seçilir. Bu tür füzyon polipeptitlerini üretmek ve bunları artmış efektör fonksiyonlarına sahip antikorlar üretmek üzere kullanılmaya yönelik yöntemler, WO 2004/065540 ve U.S. Patent Başvurusu No. 2004/0241817 yayınlarında tarif edilmiştir.

20 Burada kullanıldığı şekliyle "Golgi lokalizasyon domeni" terimi, polipeptitin Golgi kompleksindeki bir konuma bağlanmasından sorumlu bir Golgi yerleşik polipeptit amino asit sekansını ifade eder. Genel olarak lokalizasyon domenleri, bir enzimin amino terminal "kuyruklarını" içerir.

25

Burada kullanıldığı şekliyle "ManII aktivitesine sahip polipeptit" terimi, N bağlı oligosakkaritlerin dallı GlcNAcMan₅GlcNAc₂ mannoz ara ürününde terminal 1,3 ve 1,6 bağlı α -D-mannoz kalıntılarının hidrolizini katalize edebilen 30 polipeptitleri ifade eder. Bunlara, Uluslararası Biyokimya ve Moleküler Biyoloji Birliği Adlandırma Komitesine (Nomenclature Committee of the International Union of Biochemistry and Molecular Biology: NC-IUBMB) göre aynı zamanda oligosakkarit 1,3-1,6- α -mannosidaz II (EC 3.2.1.114) olarak da bilinen bir Golgi

α -mannosidaz II aktivitesine benzer, fakat her zaman özdeş olmayan enzimatik aktivite sergileyen polipeptitler de dahildir.

Bir "aktive edici Fc reseptörü", bir antikorun (veya immünokonjugatın) Fc bölgesi ile birleştirilmesinden sonra efektör fonksiyonlarını yerine getirmek amacıyla reseptör taşıyan hücreyi uyaran sinyalleme etkinliklerini ortaya çıkaran bir Fc reseptörüdür. Aktive edici Fc reseptörleri arasında Fc γ RIIIa (CD16a), Fc γ RI (CD64), Fc γ RIIa (CD32) ve Fc α RI (CD89) bulunur.

10

Antikora bağımlı hücre aracılı sitotoksiste (ADCC), immün efektör hücreleri ile antikor kaplı hedef hücrelerin lizisine yol açan bir immün mekanizmasıdır. Hedef hücreler, bir Fc bölgesi içeren antikorların, immünokonjugatların veya bunların fragmanlarının genellikle N terminalinden Fc bölgesine kadar olan protein kısmı aracılığıyla spesifik olarak bağlandığı hücrelerdir. Burada kullanılan şekliyle, "artmış ADCC" terimi, belirli bir zamanda, hedef hücreleri çevreleyen ortamdaki antikorun belirli bir konsantrasyonunda, yukarıda tarif edilen ADCC mekanizması tarafından lize edilen hedef hücrelerin sayısındaki bir artışı ve/veya belirli bir zamanda, ADCC mekanizması tarafından, belirli bir sayıdaki hedef hücrelerin lizizinin gerçekleştirilmesi için gerekli olan, hedef hücreleri çevreleyen ortamdaki immünokonjugatın konsantrasyonundaki bir düşük olarak tanımlanır.

20

ADCC'deki artış, (teknikte uzman kişilerce bilinen) aynı standart üretim, saflaştırma, formülasyon ve saklama yöntemleri kullanılarak aynı türdeki konakçı hücreler tarafından üretilen, aynı immünokonjugat tarafından aracılık edilen, ancak işlenmemiş ADCC'ye göredir. Örneğin burada tarif edilen yöntemlerle (örneğin glikotransferaz, GnTIII veya diğer glikoziltransferazların eksprese edilmesi için) değiştirilmiş bir glikozilasyon paternine sahip olacak şekilde işlenen bir immünokonjugat tarafından aracılık edilen ADCC'deki artış, aynı tür işlenmemiş konakçı hücreler tarafından üretilen aynı immünokonjugat tarafından aracılık edilen ADCC'ye göredir.

30

35

"Artmış antikor bağımlı hücre aracılı sitotoksositeye (ADCC) sahip immünokonjugat" terimi ile, teknikte uzman kişilerce bilinen herhangi uygun bir yöntemle belirlenen artmış ADCC'ye sahip olan
5 bir immünokonjugat kastedilir. Kabul görmüş bir in vitro ADCC analizi aşağıdaki gibidir:

1) analizde, immünokonjugatın antijen bağlayıcı parçası tarafından tanınan hedef antijeni eksprese ettiği bilinen
10 hedef hücreler kullanılır;

2) analizde, rastgele seçilmiş sağlıklı bir donörün kanından izole edilen insan periferik mononükleer kan hücreleri (PBMC'ler), efektör hücreler olarak kullanılır;

15 3) analiz aşağıdaki protokole uygun olarak yürütülür:

i) PBMC'ler, standart yoğunlukta santrifüj prosedürleri kullanılarak izole edilir ve RPMI hücre kültürü ortamı içinde
20 5×10^6 hücre/ml'de süspanse edilir;

ii) hedef hücreler, standart doku kültürü yöntemleri ile yetiştirilir, %90'dan daha yüksek bir canlılık oranına sahip üstel büyüme evresinden hasat edilerek toplanır, RPMI hücre
25 kültürü ortamı içinde yıkanır, 100 mikro kürilik ^{51}Cr ile etiketlenir, hücre kültürü ortamı ile iki kez yıkanır ve 10^5 hücre/ml'lik bir yoğunluğa sahip hücre kültürü ortamı içinde tekrar süspanse edilir;

30 iii) 96 kuyucuklu bir mikrotitre plakanın her bir kuyucuğuna, yukarıdaki nihai hedef hücre süspansiyonundan 100 mikrolitre aktarılır;

iv) immünokonjugat, hücre kültürü ortamı içinde 4000
35 ng/ml'den başlayarak 0,04 ng/ml'ye kadar seri olarak

seyreltilir ve elde edilen immünokonjugat çözeltilerinin 50 mikrolitresi, 96 kuyucuklu mikrotitre plaka içindeki hedef hücrelere eklenir, yukarıdaki konsantrasyon aralığının tamamını kapsayacak şekilde çeşitli immünokonjugat konsantrasyonları üçer kez test edilir;

v) maksimum salım (MR) kontrolleri için, etiketli hedef hücreler içeren 3 ilave kuyucuğa, immünokonjugat çözeltisinin (yukarıda madde iv) yerine, iyonik olmayan deterjanın (Nonidet, Sigma, St. Louis) %2'lik (V/V) sulu çözeltisinden 50 mikrolitre konulur;

vi) spontan salım (SR) kontrolleri için, etiketli hedef hücreleri içeren plaka içindeki 3 ilave kuyucuğa, immünokonjugat çözeltisinin (yukarıda madde iv) yerine, RPMI hücre kültürü ortamından 50 mikrolitre konulur;

vii) 96 kuyucuklu mikrotitre plaka, daha sonra 1 dakika süreyle 50 x g'de santrifüj edilir ve 4°C'de 1 saat süreyle inkübe edilir;

viii) 50 mikrolitre PBMC süspansiyonu (yukarıda madde i) her bir kuyucuğa eklenir ve böylece 25:1'lik bir efektör:hedef hücre oranı elde edilir ve plakalar, 4 saat boyunca 37°C'de %5 CO₂ atmosferi altında bir inkübatör içine yerleştirilir;

ix) her bir kuyucuktan hücresiz üst faz toplanır ve analizde salınan radyoaktivite (ER), bir gama sayacı kullanılarak ölçülür;

x) spesifik liziz yüzdesi, $(ER-MR) / (MR-SR) \times 100$ formülüne uygun olarak her bir immünokonjugat konsantrasyonu için hesaplanmakta olup, burada ER ifadesi, ilgili immünokonjugat konsantrasyonu için ölçülen ortalama radyoaktiviteyi (yukarıdaki madde ix'a bakınız); MR ifadesi, MR kontrolleri

için (yukarıdaki madde v'e bakınız) ölçülen ortalama radyoaktiviteyi (yukarıdaki madde ix'a bakınız) ve SR ifadesi, Sr kontrolleri için (yukarıdaki madde vi'ya bakınız) ölçülen ortalama radyoaktiviteyi (yukarıdaki madde ix'a bakınız) gösterir;

4) "artmış ADCC", yukarıda test edilen immünokonjugat konsantrasyon aralığında gözlemlenen spesifik lizisin maksimum yüzdesindeki bir artış olarak ve/veya yukarıda test edilen immünokonjugat konsantrasyon aralığında gözlemlenen spesifik lizisin maksimum yüzdesinin yarısını elde etmek için gerekli immünokonjugat konsantrasyonundaki bir artış olarak tanımlanır. ADCC'deki artış, yukarıda yer alan analiz ile ölçüldüğü üzere, teknikte uzman kişilerce bilinen aynı standart üretim, saflaştırma, formülasyon ve saklama yöntemleri kullanılarak aynı türdeki konakçı hücreler tarafından üretilen aynı immünokonjugat tarafından aracılık edilen, ancak işlenmemiş ADCC'ye göredir.

Bir ajanın "etkili miktarı", verildiği hücre ya da dokuda fizyolojik bir değişikliğe yol açmak için gerekli olan miktarı ifade eder.

Bir ajanın örneğin bir farmasötik bir bileşimin "terapötik olarak etkili bir miktarı", istenen terapötik veya profilaktik sonucu elde etmek için gereken dozajlar ve sürelerde etkili olan bir miktarı ifade eder. Bir ajanın terapötik olarak etkili bir miktarı, örneğin, bir hastalığın advers etkilerini ortadan kaldırır, azaltır, geciktirir, en az düzeye indirir ya da önler.

Bir "birey" veya "denek" bir memelidir. Memeliler, bunlarla sınırlı olmamak üzere, ehlileştirilmiş hayvanları (örneğin inekler, koyun, kediler, köpekler ve atlar), primatları (örneğin insanlar ve maymunlar gibi insan olmayan primatlar), tavşanları

ve kemirgenleri (örneğin fareler ve sıçanlar) kapsar. Özellikle, birey veya denek bir insandır.

“Farmasötik bileşim” terimi, içinde bulunan aktif içerik maddesinin biyolojik aktivitesinin etkili olmasına olanak tanıyacak bir biçimde bulunan ve formülasyonun uygulanacağı bir denek için kabul edilemeyecek düzeyde toksik olan hiçbir ilave bileşen içermeyen bir preparatı ifade eder.

“Farmasötik olarak kabul edilebilir bir taşıyıcı” terimi, farmasötik bir bileşimin içinde bulunan, bir denek için toksik olmayan, bir aktif içerik maddesi haricindeki bir içerik maddesini ifade eder. Farmasötik olarak kabul edilebilir taşıyıcı örnekleri arasında bunlarla sınırlı olmamak üzere bir tampon, bir ekspiyan, stabilizör veya koruyucu bulunur.

Burada kullanılan şekliyle, tedavi terimi (ve bunun “tedavi etmek” veya “tedavi eden” gibi gramatik varyasyonları), tedavi edilen bireydeki hastalığın doğal seyrini değiştirmek amacıyla yapılan klinik bir girişimi belirtir ve profilaksi amacıyla ya da klinik patolojinin seyri sırasında gerçekleştirilebilir. Tedavinin istenen etkileri arasında, bunlarla sınırlı olmamak üzere, hastalığın ortaya çıkışının veya nüksetmesinin önlenmesi, semptomların hafifletilmesi, hastalığın doğrudan veya dolaylı herhangi bir patolojik sonucunun azaltılması, metastazın önlenmesi, hastalığın ilerleme hızının azaltılması, hastalık durumunun iyileştirilmesi ya da palyasyonu ve remisyon ve iyileştirilmiş prognoz bulunur. Bazı uygulamalarda burada tarif edilen immünokonjugatlar, bir hastalığın gelişimini geciktirmek veya bir hastalığın ilerleyişini yavaşlatmak için kullanılır.

“Prospektüs” terimi, terapötik ürünlerin ticari ambalajlarına alışıldığı üzere dahil edilen ve endikasyonlar, kullanım, dozaj, uygulama, kombinasyon terapisi, kontraendikasyonlar ve/veya bu

gibi terapötik ürünlerin kullanımına yönelik uyarılarla ilgili bilgiler içeren talimatları ifade eder.

Uygulamaların Detaylı Açıklaması

5

Bir birinci yönüyle mevcut açıklama, bir birinci antijen bağlayıcı parça, iki alt birimden oluşan bir Fc domeni ve bir efektör parça içeren bir immünokonjugat sağlar ve söz konusu immünokonjugatta birden fazla efektör parça bulunmaz. Başka efektör parçaların yokluğu, immünokonjugatın ilgili efektör parça reseptörünün bulunduğu alanlara hedeflenmesini indirgeyebilir ve böylece immünokonjugatın antijen bağlayıcı parça tarafından tanınan gerçek hedef antijeninin bulunduğu alanlara hedeflemeyi ve bu alanlarda birikmeyi geliştirir. Ayrıca, ilgili efektör parça reseptörü için bir avidite etkisinin yokluğu, intravenöz immünokonjugat uygulamasının ardından periferik kanda efektör parça reseptörü pozitif hücrelerin aktivasyonunu indirgeyebilir. Ayrıca, sadece bir tek efektör parça içeren immünokonjugatların serum yarıömrü, iki veya daha fazla efektör parça içeren immünokonjugatlara kıyasla daha uzun olduğu görülür.

İmmünokonjugat Formatları

İmmünokonjugatın bileşenleri, çok çeşitli konfigürasyonlarda birbirlerine kaynaştırılabilir. Örnek niteliğinde konfigürasyonlar Şekil 2’de gösterilmiştir. Bir uygulamada efektör parça, Fc domeninin iki alt birimden birinin amino veya karboksi terminal amino asidine kaynaştırılır. Bir uygulamada efektör parça, Fc domeninin iki alt birimden birinin karboksi terminal amino asidine kaynaştırılır. Efektör parça, bir ya da daha fazla amino asit, tipik olarak ise yaklaşık 2-20 amino asit içeren, Fc domene doğrudan ya da bir bağlayıcı peptit aracılığıyla kaynaştırılabilir. Bağlayıcı peptitler teknikte bilinir ve burada tarif edilmiştir. Uygun, immünojenik olmayan bağlayıcı peptitler arasında örneğin $(G_4S)_n$, $(SG_4)_n$ veya $G_4(SG_4)_n$ bağlayıcı peptitleri

bulunur. "n", genellikle 1 ve 10 arasında, tipik olarak 2 ve 4 arasında bir sayıdır. Alternatif olarak, efektör parçanın bir Fc domeni alt biriminin N terminaline bağlandığı bir durumda, ilave bir bağlayıcı peptit ile veya olmaksızın bir immünoglobülin menteşe bölgesi veya bunun bir kısmı aracılığıyla bağlanabilir.

Benzer şekilde birinci antijen bağlayıcı parça, Fc domeninin iki alt birimden birinin amino veya karboksi terminal amino asidine kaynaştırılabilir. Bir uygulamada birinci antijen bağlayıcı parça, Fc domeninin iki alt biriminin amino terminal amino asidine doğrudan ya da bir bağlayıcı peptit aracılığıyla kaynaştırılabilir. Belirli bir uygulamada birinci antijen bağlayıcı parça, Fc domenine bir immünoglobülin menteşe bölgesi aracılığıyla kaynaştırılır. Spesifik bir uygulamada, immünoglobülin menteşe bölgesi, bir insan IgG₁ menteşe bölgesidir.

Bir uygulamada birinci antijen bağlayıcı parça, bir antikorun bir antijen bağlayıcı domenini içermekte olup, bu domen bir antikor ağır zincir değişken bölgesi ve bir antikor hafif zincir değişken bölgesi içerir. Belirli bir uygulamada birinci antijen bağlayıcı parça, bir Fab molekülüdür. Bir uygulamada Fab molekülü, ağır zincir veya hafif zincir karboksi terminalinden Fc domeninin iki alt birimden birinin amino terminal amino asidine kaynaştırılır. Belirli bir uygulamada Fab molekülü, ağır zincir karboksi terminalinden Fc domeninin iki alt birimden birinin amino terminal amino asidine kaynaştırılır. Belirli bir uygulamada Fab molekülü, bir immünoglobülin menteşe bölgesi aracılığıyla Fc domenine kaynaştırılır. Spesifik bir uygulamada, immünoglobülin menteşe bölgesi, bir insan IgG₁ menteşe bölgesidir.

Bir uygulamada immunokonjugat, esas olarak bir antijen bağlayıcı parça, iki alt birimden oluşan bir Fc domeni, bir efektör parça ve isteğe bağlı olarak bir veya daha fazla bağlayıcı peptitten oluşur ve söz konusu antijen bağlayıcı domen, bir Fab molekülüdür

ve ağır zincir karboksi terminalinden Fc domeninin iki alt biriminden birinin amino terminal amino asidine kaynaştırılır ve söz konusu efektör parça, (i) Fc domeninin iki alt biriminden birinin amino terminal amino asidine veya (ii) Fc domeninin iki alt biriminden diğerine karboksi terminal amino asidine kaynaştırılır. İkinci durumda efektör parça ve birinci antijen bağlayıcı parçanın her ikisi de, Fc domeninin aynı alt birimine kaynaştırılır veya her biri, Fc domeninin iki alt biriminden farklı birine kaynaştırılır.

10

Tek bir antijen bağlayıcı parçaya sahip bir immünokonjugat (örneğin Şekil 2B ve 2C'de gösterilen şekilde), hedef antijenin internalizasyonun, yüksek afiniteli bir antijen bağlayıcı parçanın bağlanmasıyla ardından bekleneneceği durumlarda yararlıdır. Böyle durumlarda, immünokonjugat başına birden fazla antijen bağlayıcı parçanın varlığı, internalizasyonunu geliştirebilir, bu sebeple de kullanılabilirliğini düşürebilir.

15

Ancak diğer bir çok durumda, iki veya daha antijen bağlayıcı parça ve hedef antijeni efektör parça reseptörüne karşı hedeflemeyi optimize etmek için bir tek efektör parça içeren bir immünokonjugata ve immünokonjugatın farmasötik penceresine sahip olması avantajlı olacaktır.

20

Bu nedenle belirli bir uygulamada burada tarif edilen immünokonjugat, bir birinci ve bir ikinci antijen bağlayıcı parça içerir. Bir uygulamada söz konusu birinci ve ikinci antijen bağlayıcı parçanın her biri, Fc domeninin iki alt biriminin amino terminal amino asidine kaynaştırılabilir. Birinci ve ikinci antijen bağlayıcı parça, Fc domene doğrudan ya da bir bağlayıcı peptit aracılığıyla kaynaştırılabilir. Belirli bir uygulamada birinci ve ikinci antijen bağlayıcı parçanın her biri, Fc domeninin bir alt birimine bir immünoglobülin menteşe bölgesi aracılığıyla kaynaştırılır. Spesifik bir uygulamada, immünoglobülin menteşe bölgesi, bir insan IgG₁ menteşe bölgesidir.

25

30

35

Bir uygulamada birinci ve ikinci antijen bağlayıcı parçanın her biri, bir antikorun bir antijen bağlayıcı domenini içermekte olup, bu domen bir antikor ağır zincir değişken bölgesi ve bir antikor hafif zincir değişken bölgesini içerir. Belirli bir uygulamada söz konusu birinci ve ikinci antijen bağlayıcı parçaların her biri bir Fab molekülüdür. Bir uygulamada söz konusu Fab moleküllerin her biri, ağır zincir veya hafif zincir karboksi terminalinden Fc domeninin iki alt birimden birinin amino terminal amino asidine kaynaştırılır. Belirli bir uygulamada söz konusu Fab moleküllerinin her biri, ağır zincir karboksi terminalinden Fc domeninin iki alt birimden birinin amino terminal amino asidine kaynaştırılır. Daha belirli bir uygulamada söz konusu Fab moleküllerinin her biri, bir immünoglobülin menteşe bölgesi aracılığıyla Fc domenine kaynaştırılır. Spesifik bir uygulamada, immünoglobülin menteşe bölgesi, bir insan IgG₁ menteşe bölgesidir.

Bir uygulamada birinci ve ikinci antijen bağlayıcı parça ve Fc domeni, bir immünoglobülin molekülünün parçasıdır. Belirli bir uygulamada immünoglobülin molekülü, bir IgG sınıfı immünoglobülinidir. Daha belirli bir uygulamada immünoglobülin, bir IgG₁ alt sınıf immünoglobülinidir. Başka bir belirli uygulamada immünoglobülin, bir insan immünoglobulinidir. Diğer uygulamalarda immünoglobülin, bir kimerik immünoglobülin veya bir insanlaştırılmış immünoglobülinidir. Bir uygulamada efektör parça, immünoglobulin ağır zincirlerinden birinin karboksi terminalindeki amino aside kaynaştırılır. Efektör parça, doğrudan veya bir bağlayıcı peptit aracılığıyla immünoglobulin ağır zincirine kaynaştırılabilir. Belirli bir uygulamada immünokonjugat, esas olarak bir immünoglobülin molekülü, immünoglobülinin ağır zincirlerinin karboksi terminal amino asidine kaynaştırılmış bir efektör parça ve isteğe bağlı olarak bir veya daha fazla bağlayıcı peptitten oluşur.

Bir uygulamada immünokonjugat, bir Fab ağır zincirinin, bir Fc domeni alt birimi ile bir karboksi terminal peptit bağı paylaştığı bir polipeptit ve bir Fc domeni alt biriminin, bir efektör parça polipeptit ile bir karboksi terminal peptidini paylaştığı bir polipeptit içerir. Başka bir uygulamada immünokonjugat, bir Fab ağır zincirinin, bir Fc domeni alt birimi ile bir karboksi terminal peptit bağı paylaştığı bir polipeptit ve bir ikinci Fab ağır zincirinin, bir efektör parça polipeptit ile bir karboksi terminal peptit bağı paylaşan bir Fc domeni alt birimi ile bir karboksi terminal peptit bağını paylaştığı bir polipeptit içerir. Başka bir uygulamada immünokonjugat, bir Fab ağır zincirinin, bir Fc domeni alt birimi ile bir karboksi terminal peptit bağı paylaştığı bir polipeptit ve bir efektör parça polipeptitin, bir Fc domeni alt birimi ile bir karboksi terminal peptidini paylaştığı bir polipeptit içerir. Bazı uygulamalarda immünokonjugat ayrıca, bir Fab hafif zincir polipeptitini içerir. Belirli uygulamalarda polipeptitler, örneğin bir disülfür bağı ile kovalent olarak bağlanabilir.

Yukarıdaki uygulamalardan herhangi birine göre, immünokonjugatın bileşenleri ( rneğin efektör parça, antijen bağlayıcı parça, Fc domeni), burada tarif edilen veya teknikte bilinen, doğrudan ya da çeşitli bağlayıcı aracılığıyla, özellikle de bir ya da daha fazla amino asit, tipik olarak 2-20 amino asit içeren peptit bağlayıcı aracılığıyla bağlanabilir. Uygun, immünojenik olmayan bağlayıcı peptidler arasında,  rneğin $(G_4S)_n$, $(SG_4)_n$ veya $G_4(SG_4)_n$ bağlayıcı peptitleri bulunur ve burada n, genellikle 1 ve 10 arasında, tipik olarak 2 ve 4 arasında bir sayıdır.

Fc domeni

Imm nokonjugatın Fc domeni, bir immünoglobulin molekülünün ağır zincir domenlerini içeren bir çift polipeptit zincirinden oluşur. Örneğin, bir immünoglobülin G (IgG) molekülünün Fc domeni, bir dimerdir ve bunun her bir alt birimi, CH2 ve CH3 IgG ağır zincir

sabit domenlerini içerir. Fc domeninin iki alt birimi, birbirleriyle stabil olarak birleşebilir. Bir uygulamada burada tarif edilen immünokonjugat, birden fazla Fc domeni içermez.

- 5 Bir uygulamada immünokonjugatın Fc domeni, bir IgG Fc domenidir. Belirli bir uygulamada Fc domeni, bir IgG₁ Fc domenidir. Başka bir uygulamada Fc domeni, bir IgG₄ Fc domenidir. Başka bir belirli uygulamada Fc domeni insandır. İnsan IgG₁ Fc bölgesinin örnek niteliğinde olan bir sekansı, SEQ ID NO: 1'de verilir.

10

Fc domeni, bir Fc domeni olmayan immünokonjugat formatlarına kıyasla immünokonjugata büyük ölçüde uzun süreli bir serum yarı ömrü kazandırır. İmmünokonjugat, nispeten zayıf aktivitenin bir efektör parçasını (ancak örneğin indirgenmiş toksisite) içermesi durumunda, in vivo optimal etkinliği sağlamak için bir uzun yarı ömür gerekli olabilir. Ayrıca Fc domeni, aşağıda ayrıca tartışılacağı gibi efektör fonksiyonlarına aracılık edebilir.

15

Heterodimerizasyonu kolaylaştıran Fc domeni modifikasyonları

20

Burada tarif edilen immünokonjugatlar, Fc domeninin iki alt biriminin her birine kaynaştırılmış sadece bir tek efektör parçasını içerir ve böylece iki özdeş olmayan polipeptit zincirini içerir. Bu polipeptitlerin rekombinant birlikte ekspresyonu ve daha sonraki dimerizasyonu, iki polipeptitin olası birkaç kombinasyonuna yol açar ve bunlar arasından sadece özdeş olmayan iki polipeptidin heterodimerleri burada yararlıdır. Rekombinant üretimde immünokonjugatların veriminin ve saflığının geliştirilmesi için, immünokonjugatın Fc domenine, iki özdeş polipeptitin (bir efektör parça içeren iki polipeptit veya bir efektör parçası bulunmayan iki polipeptit) homodimerlerinin oluşumunu engelleyen ve/veya bir efektör parça içeren bir polipeptitin ve bir efektör parçası bulunmayan bir polipeptitin heterodimerlerinin oluşumunu kolaylaştıran bir modifikasyonun sunulması avantajlıdır.

30

35

Dolayısıyla, belirli uygulamalarda immünokonjugatın Fc domeni, iki özdeş olmayan polipeptit zincirinin heterodimerizasyonunu kolaylaştıran bir modifikasyonu içerir. Fc domeninin CH3 domeni, bir insan IgG Fc domeninin iki polipeptit zinciri arasındaki en geniş protein-protein etkileşiminin gerçekleştiği alandır. Böylece, bir uygulamada, söz konusu modifikasyon, Fc domeninin CH3 domeninde gerçekleşir.

Spesifik bir uygulamada söz konusu modifikasyon, Fc domenin iki alt biriminden birinde bir topuz modifikasyonu ve Fc domenin söz konusu iki alt biriminin diğerinde bir delik modifikasyonunu içeren bir delik içine topuz modifikasyonudur.

Delik-içine-topuz teknolojisi, örneğin US 5,731,168; US 7,695,936; Ridgway ve diğ. Prot Eng 9, 617-621 (1996) ve Carter, J Immunol Meth 248, 7-15 (2001) yayınlarında tarif edilir. Yöntem genellikle, bir protuberansın ("topuz") bir birinci polipeptitin ara yüzeyinde ve karşılık gelen bir boşluğun ("delik") bir ikinci polipeptitin ara yüzeyinde sunulmasını içerir ve böylece protuberans, heterodimer formasyonunu kolaylaştırmak ve homodimer formasyonunu engellemek amacıyla boşlukta konumlandırılabilir. Protuberanslar, birinci polipeptitin ara yüzeyinden küçük amino asit yan zincirlerinin daha büyük yan zincirlerle (örneğin tirozin veya triptofan) yer değiştirilmesi ile oluşturulur. Protuberanslara özdeş veya benzer boyuttaki kompensatuvar boşluklar, ikinci polipeptitin ara yüzeyinde büyük amino asit yan zincirlerinin daha küçük olanlarla (örneğin alanin veya treonin) yer değiştirmesi yoluyla oluşturulur. Protuberans ve boşluk, polipeptitleri kodlayan nükleik asidin değiştirilmesi, örneğin alana özgü mutagenез ya da peptit sentezi ile yapılabilir. Özel bir uygulamada bir topuz modifikasyonu, Fc domeninin iki alt biriminin birinde T366W amino asit ornatımını içerir ve delik modifikasyonu, Fc domeninin iki alt biriminin diğerinde T366S, L368A ve Y407V amino asit ornatımlarını içerir. Daha başka spesifik

bir uygulamada, topuz modifikasyonunu içeren Fc domeninin alt birimi ayrıca S354C amino asit ornatımını içerir ve delik modifikasyonunu içeren Fc domeninin alt birimi ayrıca Y349C amino asit ornatımını içerir. Bu iki sistein kalıntısının sunulması, ayrıca dimeri de stabilize ederek, Fc bölgesinin iki alt birimi arasında bir disülfür köprüsü oluşmasına neden olur (Carter, J Immunol Methods 248, 7-15 (2001)).

Alternatif bir uygulamada, iki özdeş olmayan polipeptit zincirinin heterodimerizasyonunu kolaylaştıran bir modifikasyon, elektrostatik yönlendirme etkilerine aracılık eden, örneğin PCT yayını WO 2009/089004'te tarif edilen şekilde bir modifikasyonu içerir. Genel olarak, bu yöntem, yüklü amino asit kalıntılarıyla iki polipeptit zincirinin ara yüzündeki bir ya da daha fazla amino asit kalıntılarının yer değiştirmesini içerir ve böylelikle homodimer oluşumu elektrostatik olarak elverişsiz olmakla birlikte heterodimerizasyon elektrostatik olarak elverişli durumdadır.

Belirli bir uygulamada efektör parça, topuz modifikasyonunu içeren Fc domeninin alt biriminin amino veya karboksi terminalindeki amino aside kaynaştırılır. Teoriye bağlı kalmak istenmemekle birlikte, efektör parçasının, Fc domeninin topuz içeren alt birimine kaynaştırılması (füzyonu), iki efektör parça içeren homodimerik immünokonjugatların oluşumunu en az indirecektir (topuz içeren iki polipeptitin sterik çarpışması).

Fc reseptör bağlanmasını değiştiren Fc domeni modifikasyonları

Belirli uygulamalarda immünokonjugatın Fc domeni, işlenmemiş bir Fc domenine kıyasla, bir Fc reseptörüne değiştirilmiş bağlanma afinitesi, özellikle bir Fcγ reseptörüne değiştirilmiş bağlanma afinitesine sahip olacak şekilde işlenir.

Fc reseptörlerine bağlanma, örneğin, BIAcore cihazı (GE Healthcare) gibi standart cihazlar kullanılarak ELISA ya da Yüzey Plazmon Rezonansı aracılığıyla kolaylıkla belirlenebilir ve bu tür Fc reseptörleri rekombinant ekspresyon ile elde edilebilir. Böyle

5 uygun bir bağlanma analizi burada tarif edilir. Alternatif olarak, Fc domenlerinin ya da Fc reseptörleri için bir Fc domeni içeren immünokonjugatların bağlanma afinitesi, FcγIIIa reseptörünü ekprese eden NK hücreleri gibi belirli Fc reseptörlerini ekprese ettiği bilinen hücre hatları kullanılarak değerlendirilebilir.

10

Bazı uygulamalarda immünokonjugatın Fc domeni, işlenmemiş bir Fc domenine kıyasla değiştirilmiş efektör fonksiyonlarına, özellikle değiştirilmiş ADCC'ye sahip olacak şekilde işlenir.

15

Bir Fc domeninin efektör fonksiyonu veya bir Fc domeni içeren bir immünokonjugat, teknikte bilinen yöntemlerle ölçülebilir. ADCC'yi ölçmeye yönelik uygun bir analiz burada tarif edilmiştir. İlgili bir molekülün ADCC aktivitesini değerlendirmeye yönelik *in vitro* analizlerin diğer örnekleri, U.S. Patent No. 5,500,362; Hellstrom

20 et al. Proc Natl Acad Sci USA 83, 7059-7063 (1986) ve Hellstrom ve diğ. Proc Natl Acad Sci USA 82, 1499-1502 (1985); U.S. Patent No. 5,821,337; Bruggemann ve diğ. J Exp Med 166, 1351-1361 (1987) yayınlarında tarif edilir. Alternatif olarak, radyoaktif olmayan analiz yöntemleri kullanılabilir (bkz. örneğin ACTI™, akış

25 sitometrisi için radyoaktif olmayan sitotoksosite analizi (CellTechnology, Inc. Mountain View, CA) ve CytoTox 96® radyoaktif olmayan sitotoksosite analizi (Promega, Madison, WI)). Bu tür analizler için yararlı efektör hücreler arasında periferik kan tek çekirdekli hücreler (PBMC) ve doğal öldürücü (NK) hücreler

30 bulunur. Alternatif olarak ya da bunlara ek olarak, ilgili molekülün ADCC aktivitesi, örneğin Clynes ve diğ. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 95, 652-656 (1998) yayınında tarif edilen şekilde bir hayvan modelinde *in vivo* olarak değerlendirilebilir.

Bazı uygulamalarda, Fc domeninin bir tamamlayıcı bileşene, spesifik olarak ise Clq'ya bağlanması değiştirilir. Buna uygun olarak, Fc domeninin değiştirilmiş efektör fonksiyonuna sahip olması amacıyla işlendiği bazı uygulamalarda, söz konusu değiştirilmiş efektör fonksiyonu değiştirilmiş CDC içerir. Clq bağlanma analizleri, immünokonjugatın Clq'yu bağlayıp bağlamayacağını ve dolayısıyla CDC aktivitesinin olup olmadığını belirlemek amacıyla yürütülebilir. Bkz. örn. Clq ve C3c bağlanması ELISA, WO 2006/029879 ve WO 2005/100402. Tamamlayıcı aktivasyonu değerlendirmek amacıyla bir CDC analizi yapılabilir (bkz. örn. Gazzano-Santoro ve diğ. J Immunol Methods 202, 163 (1996); Cragg ve diğ. Blood 101, 1045-1052 (2003) ve Cragg ve Glennie, Blood 103, 2738-2743 (2004)).

a) Azalmış Fc reseptör bağlanması ve/veya efektör fonksiyonu

Fc domeni, immünokonjugat için elverişli farmakokinetik özellikler kazandırır ve bu özellikler, hedef dokuda iyi bir birikime katkıda bulunan uzun bir serum yarı ömrünü ve uygun bir doku-kan dağılım oranını içerir. Ancak bu aynı zamanda, immünokonjugatın tercih edilen antijen taşıyan hücreleri yerine Fc reseptörlerini eksprese eden hücreleri istenmeyen şekilde hedef almasına sebep olabilir. Ayrıca, Fc reseptörü sinyalleme yollarının birlikte aktivasyonu, efektör parça ve immünokonjugatın uzun yarıömrü ile kombinasyon halinde, sitokin reseptörlerinin aşırı aktivasyonu ve sistemik uygulama üzerine ciddi yan etkiler ile sonuçlanan sitokin salımına neden olabilir. Bu doğrultuda, konvansiyonel IgG-IL-2 immünokonjugatlarının infüzyon reaksiyonları ile ilişkili olduğu tarif edilmiştir (örn. bkz. King ve diğ. J Clin Oncol 22, 4463-4473 (2004)).

Buna uygun olarak, belirli uygulamalarda burada immünokonjugatın Fc domeni, bir Fc reseptörüne indirgenmiş bağlanma afinitesine sahip olacak şekilde işlenir. Böyle bir spesifik uygulamada Fc domeni, Fc domeninin bir Fc reseptörüne, bağlanmasını indirgeyen

bir veya daha fazla amino asit mutasyonu içerir. Tipik olarak, aynı bir ya da daha fazla amino asit mutasyonu, Fc domeninin iki alt biriminin her birinde bulunur. Bir uygulamada söz konusu amino asit mutasyonu, Fc domeninin Fc reseptörüne bağlanma afinitesini en az 2 kat, en az 5 kat ya da en az 10 kata kadar indirger. Fc domeninin, Fc reseptörüne bağlanma afinitesini indirgeyen birden fazla amino asit mutasyonunun bulunduğu uygulamalarda, bu amino asit mutasyonlarının kombinasyonu, Fc domeninin bir Fc reseptörüne bağlanma afinitesini en az 10 kat, en az 20 kat ya da en az 50 kata kadar indirgeyebilir. Bir uygulamada işlenmiş bir Fc domeni içeren immünokonjugat, işlenmemiş bir Fc domeni içeren bir immünokonjugata kıyasla bir Fc reseptörüne %20'den az, özellikle %10'dan az, daha özel olarak %5'ten az bağlanma afinitesi sergiler. Bir uygulamada, Fc reseptörü, bir aktive edici Fc reseptörüdür. Spesifik bir uygulamada Fc reseptörü, bir Fcγ reseptörü, daha spesifik olarak bir FcγRIIIa, FcγRI veya FcγRIIa reseptörüdür. Tercihen, bu reseptörlerin her birine olan bağlanma indirgenir. Bazı uygulamalarda ayrıca, bir tamamlayıcı bileşene bağlanma afinitesi, spesifik olarak Clq'ya bağlanma afinitesi indirgenir. Bir uygulamada, neonatal Fc reseptörüne (FcRn) bağlanma afinitesi indirgenmez. Fc domeni (veya söz konusu Fc domenini içeren immünokonjugat), işlenmemiş bir Fc domeni formunun (veya Fc domeninin söz konusu işlenmemiş formunu içeren immünokonjugat), FcRn'ye yaklaşık %70'ten daha fazla bağlanma afinitesi sergilediğinde, FcRn'ye önemli ölçüde benzer bağlanma, başka bir ifadeyle Fc domeninin söz konusu reseptöre bağlanma afinitesinin muhafaza edilmesi sağlanmış olur. Fc domenleri ve söz konusu Fc domenlerini içeren burada tarif edilen immünokonjugatlar, bu afinitenin yaklaşık %80'ninden daha fazla ve hatta yaklaşık %90'nından daha fazla bir afinite sergileyebilir. Bir uygulamada, amino asit mutasyonu, bir amino asit ornatımıdır. Bir uygulamada Fc domeni, P329 pozisyonunda bir amino asit ornatımını içerir. Daha spesifik bir uygulamada amino asit ornatımı, P329A veya P329G, özellikle P329G'dir. Bir uygulamada Fc domeni, S228, E233, L234, L235, N297 ve P331 arasından seçilen bir pozisyonda başka bir amino

asit ornatımı içerir. Daha spesifik bir uygulamada söz konusu başka amino asit ornatımı, S228P, E233P, L234A, L235A, L235E, N297A, N297D veya P331S'dir. Belirli bir uygulamada Fc domeni, P329, L234 ve L235 pozisyonlarında amino asit ornatımları içerir. Daha
5 belirli bir uygulamada Fc domeni, L234A, L235A ve P329G (LALA P329G) amino asit mutasyonlarını içerir. Amino asit ornatımlarının bu kombinasyonu, PCT patent başvurusu yayın no. WO 2012/130831'de tarif edilen şekilde, bir insan IgG Fc domeninin Fcγ reseptör bağlanmasını neredeyse tamamen yok eder. WO 2012/130831'de ayrıca,
10 bu tür mutant Fc domenlerinin hazırlanma yöntemlerini ve Fc reseptör bağlanması ya da efektör fonksiyonları gibi özelliklerini belirlemeye yönelik yöntemler tarif edilir.

Mutant Fc domenleri, teknikte iyi bilinen genetik veya kimyasal
15 yöntemler kullanılarak amino asit delesyonu, ornatımı, yerleştirmesi ve modifikasyonu ile hazırlanabilir. Genetik yöntemler arasında kodlayıcı DNA sekansının alan hedefli mutagenesi, PCR, gen sentezi ve benzerleri bulunur. Doğru nükleotit değişimleri, örneğin sekanslama ile doğrulanabilir.

20 Bir uygulamada Fc domeni, işlenmemiş bir Fc domenine kıyasla indirgenmiş bir efektör fonksiyona sahip olacak şekilde işlenir. Azalmış efektör fonksiyonu, bunlarla sınırlı kalmamak kaydıyla, aşağıdakilerden birini veya daha fazlasını içerebilir: azalmış
25 tamamlayıcı bağımlı sitotoksiste (CDC), azalmış antikor bağımlı hücre aracılı sitotoksiste (ADCC), azalmış antikor bağımlı hücrel fagositoz (ADCP), azalmış sitokin salgılanması, antijen sunan hücreler tarafından azalmış immün kompleksi aracılı antijen alımı, azalmış NK hücrelerine bağlanma, azalmış makrofajlara
30 bağlanma, azalmış monositlere bağlanma, azalmış polimorfonükleer hücrelere bağlanma, azalmış doğrudan sinyal vermeyi indükleyen apoptozis, azalmış hedefe bağlı antikorların çapraz bağlanması, azalmış dendritik hücre matürasyonu ve azalmış T hücresi hazırlama (priming).

Bir uygulamada, azalmış efektör fonksiyonu, azalmış CDC, azalmış ADCC, azalmış ADCP ve azalmış sitokin salgılanmasından oluşan gruptan seçilen bir veya daha fazla faktördür. Belirli bir uygulamada azalmış efektör fonksiyonu, azalmış ADCC'dir. Bir uygulamada azalmış ADCC, işlenmemiş bir Fc domeni (veya işlenmemiş bir Fc domeni içeren bir immünokonjugat) tarafından indüklenmiş ADCC'nin %20'sinden daha azdır.

Yukarıda ve PCT patent başvurusu yayın no. WO 2012/130831'de tarif edilen Fc domenlerine ek olarak, indirgenmiş Fc reseptör bağlanmasına ve/veya efektör fonksiyonu sahip Fc domenleri ayrıca, 238, 265, 269, 270, 297, 327 ve 329 Fc domeni kalıntılarından birinin veya daha fazlasının ornatımına sahip olanları içerir (U.S. Patent No. 6,737,056). Bu tür Fc mutantlar arasında, 265, 269, 270, 297 ve 327 amino asit pozisyonlarından iki veya daha fazlasında ornatıma sahip olan Fc mutantlarını ve 265 ve 297 kalıntılarından alanine ornatıldığı "DANA" adı verilen Fc mutanti bulunur (US Patent No. 7,332,581).

IgG₄ antikorları, IgG₁ antikorlarına kıyasla Fc reseptörlerine indirgenmiş bağlanma afinitesi ve indirgenmiş efektör fonksiyonları sergiler. Bu nedenle bazı uygulamalarda, burada tarif edilen immünokonjugatların Fc domeni, bir IgG₄ Fc domeni, özellikle de bir insan IgG₄ Fc domenidir. Bir uygulamada IgG₄ Fc domeni, S228 pozisyonunda amino asit ornatımlarını, spesifik olarak ise S228P amino asit ornatımını içerir. Bir Fc reseptörüne bağlanma afinitesini ve/veya efektör fonksiyonunu daha fazla indirmek amacıyla, bir uygulamada, IgG₄ Fc domeni, L235 pozisyonunda bir amino asit ornatımı, spesifik olarak ise L235E amino asit ornatımını içerir. Başka bir uygulamada, IgG₄ Fc domeni, P329 pozisyonunda bir amino asit ornatımı, spesifik olarak ise P329G amino asit ornatımını içerir. Belirli bir uygulamada IgG₄ Fc domeni, S228, L235 ve P329 pozisyonlarında amino asit ornatımları, spesifik olarak ise S228P, L235E ve P329G amino asit ornatımlarını içerir. Bu tür IgG₄ Fc domeni mutantları ve bunların Fc γ reseptörü

bağlanma özellikleri, PCT patent başvurusu yayın no. WO 2012/130831'de tarif edilir.

b) Artmış Fc reseptörü bağlanması ve/veya efektör fonksiyonu

5

Bunun tersine, örneğin, immünokonjugatlar yüksek oranda spesifik bir tümör antijenine hedeflendiği zaman, immünokonjugatların Fc reseptörü bağlanması ve/veya efektör fonksiyonlarının muhafaza edilmesi, hatta iyileştirilmesinin arzu edileceği durumlar
10 olabilir. Dolayısıyla, bazı uygulamalarda burada tarif edilen immünokonjugatların Fc domeni, bir Fc reseptörüne bağlanma afinitesine sahip olacak şekilde işlenir. Artmış bağlanma afinitesi, Fc domeninin Fc reseptörüne bağlanma afinitesindeki en az 2 kat, en az 5 kat veya en az 10 kat artış olabilir. Bir
15 uygulamada, Fc reseptörü, bir aktive edici Fc reseptörüdür. Spesifik bir uygulamada Fc reseptörü, bir Fcγ reseptörüdür.

Bir uygulamada Fc reseptörü, FcγRIIIa, FcγRI ve FcγRIIa grubundan seçilir. Belirli bir uygulamada Fc reseptörü, bir FcγRIIIa'dır.

20

Böyle bir uygulamada, Fc domeni, işlenmemiş bir Fc domenine kıyasla değiştirilmiş bir oligosakkarit yapısına sahip olacak şekilde işlenir. Böyle belirli bir uygulamada Fc domeni, işlenmemiş bir Fc domenine kıyasla artmış bir oranda fukozile edilmemiş
25 oligosakkarit içerir. Daha spesifik bir uygulamada, immünokonjugatın Fc domeninde N-bağlı oligosakkaritlerin en az yaklaşık %20, yaklaşık %25, yaklaşık %30, yaklaşık %35, yaklaşık %40, yaklaşık %45, yaklaşık %50, yaklaşık %55, yaklaşık %60, yaklaşık %65, yaklaşık %70, yaklaşık %75, yaklaşık %80, yaklaşık
30 %85, yaklaşık %90, yaklaşık %95 veya yaklaşık %100'ü, özellikle en az yaklaşık %50'si, daha özel olarak en az yaklaşık %70'i fukozile edilmemiştir. Fukozile edilmemiş oligosakkaritler, melez veya kompleks türde olabilir. Bir başka spesifik uygulamada, Fc domeni, işlenmemiş bir Fc domenine kıyasla, daha yüksek oranda
35 bisekte edilmiş oligosakkarit içerir. Daha spesifik bir

uygulamada, immünokonjugatın Fc domeninde N-bağlı oligosakkaritlerin en az yaklaşık %10, yaklaşık %15, yaklaşık %20, yaklaşık %25, yaklaşık %30, yaklaşık %35, yaklaşık %40, yaklaşık %45, yaklaşık %50, yaklaşık %55, yaklaşık %60, yaklaşık %65, yaklaşık %70, yaklaşık %75, yaklaşık %80, yaklaşık %85, yaklaşık %90, yaklaşık %95 veya yaklaşık %100'ü, özellikle en az yaklaşık %50'si, daha özel olarak en az yaklaşık %70'i ikiye bölünmüştür. İkiye bölünmüş oligosakkaritler, melez veya kompleks türde olabilir. Başka bir spesifik uygulamada Fc domeni, işlenmemiş bir Fc domenine kıyasla artmış bir oranda bisekte edilmiş, fukozile edilmemiş oligosakkarit içerir. Daha spesifik bir uygulamada, immünokonjugatın Fc domeninde N-bağlı oligosakkaritlerin en az yaklaşık %10, yaklaşık %15, yaklaşık %20, yaklaşık %25, yaklaşık %30, yaklaşık %35, yaklaşık %40, yaklaşık %45, yaklaşık %50, yaklaşık %55, yaklaşık %60, yaklaşık %65, yaklaşık %70, yaklaşık %75, yaklaşık %80, yaklaşık %85, yaklaşık %90, yaklaşık %95 veya yaklaşık %100'ü, özellikle en az yaklaşık %15'i, daha özel olarak en az yaklaşık %25'i, en az yaklaşık %35'i veya en az yaklaşık %50'si ikiye bölünmüştür ve fukozile edilmemiştir. İkiye bölünmüş, fukozile edilmemiş oligosakkaritler, melez veya kompleks türde olabilir.

İmmünokonjugatın Fc domenindeki oligosakkarit yapıları, teknikte iyi bilinen yöntemlerle, örneğin Umana ve diğ. Nat Biotechnol 17, 176-180 (1999) veya Ferrara ve diğ. Biotechn Bioeng 93, 851-861 (2006) yayınlarında tarif edilen şekilde MALDI TOF kütle spektrometresi ile analiz edilebilir. Fukozile edilmemiş oligosakkaritlerin yüzdesi, Asn 297'ye eklenen ve bir N-glikosidaz F ile muamele edilen numunede MALDI TOF MS tarafından tanımlanan tüm oligosakkaritlere göre (örn. karmaşık, hibrit ve yüksek mannoz yapıları), fukoz kalıntıları içermeyen oligosakkarit miktarıdır. Asn 297, Fc domeninde yaklaşık 297 pozisyonunda bulunan asparajin kalıntısını belirtmekte olup (Fc bölgesi kalıntılarının EU numaralandırması); bununla birlikte, Asn297 ayrıca immünoglobulinlerdeki küçük sekans varyasyonlarından dolayı,

297'nci pozisyonun ± 3 amino asit yukarısında veya aşağısında, yani 294 ve 300'üncü pozisyonlar arasında bulunabilir. İkiye bölünmüş veya ikiye bölünmüş ve fukozile edilmemiş oligosakkarit yüzdesi benzer şekilde belirlenir.

5

İmmünokonjugatın Fc domenindeki glikozilasyonun modifikasyonu, glikosiltransferaz aktivitesine sahip bir veya daha fazla polipeptitin değiştirilmiş seviyelerini ifade etmek üzere manipüle edilen bir konakçı hücredeki immünokonjugatın

10

Bir uygulamada, immünokonjugatın Fc domeni, bir veya daha fazla glikosiltransferazın değiştirilmiş aktivitesine sahip olan bir konakçı hücredeki immünokonjugat üretilmesiyle, işlenmemiş bir Fc

15

domenine kıyasla, değiştirilmiş bir oligosakkarit yapısına sahip olacak şekilde işlenir. Glikosiltransferazlar arasında, örneğin $\beta(1,4)$ -N-asetilglukosaminiltransferaz III (GnTIII), $\beta(1,4)$ -galaktosiltransferaz (GalT), $\beta(1,2)$ -N-asetilglukosaminiltransferaz I (GnTI),

20

$\beta(1,2)$ -N-asetilglukosaminiltransferaz II (GnTII) ve $\alpha(1,6)$ -fukosiltransferaz bulunur. Spesifik bir uygulamada, immünokonjugatın Fc domeni, artmış

25

$\beta(1,4)$ -N-asetilglukosaminiltransferaz III (GnTIII) aktivitesine sahip bir konakçı hücredeki immünokonjugatın üretilmesi yoluyla, işlenmemiş bir Fc domenine kıyasla, artan oranda fukozile edilmemiş oligosakkarit içerecek şekilde işlenir. Daha spesifik bir uygulamada, konakçı hücre ek olarak α -mannosidaz II (ManII) aktivitesini arttırmıştır. Burada tarif edilen immünokonjugatın glikoileşmesi için kullanılabilecek glikoileşleme yöntemi, Umana

30

ve diğ. Nat Biotechnol 17, 176-180 (1999); Ferrara ve diğ. Biotechn Bioeng 93, 851-861 (2006); WO 99/54342 (U.S. Pat. No. 6,602,684; EP 1071700); WO 2004/065540 (U.S. Pat. Başv. Yayın. No. 2004/0241817; EP 1587921), WO 03/011878 (U.S. Pat. Başv. Yayın No. 2003/0175884) referanslı yayında detaylı şekilde tarif

35

edilmiştir.

Genel olarak, burada tartişılan hücre hatları dahil olmak üzere herhangi bir tür kültürlenmiş hücre hattı, değiştirilmiş glikozilasyon desenine sahip immünokonjugatların üretilmesine yönelik hücre hatları oluşturmak üzere kullanılabilir. Belirli hücre hatları arasında CHO hücreleri, BHK hücreleri, NS0 hücreleri, SP2/0 hücreleri, YO miyelom hücreleri, P3X63 fare miyelom hücreleri, PER hücreleri, PER.C6 hücreleri veya hibridom hücreleri ve diğer memeli hücreleri bulunur. Belirli uygulamalarda konakçı hücreler, artmış seviyelerde β (1,4) -N-asetilglukosaminiltransferaz III (GnTIII) aktivitesine sahip bir veya daha fazla polipeptit eksprese etmek üzere manipüle edilmiştir. Belirli uygulamalarda konakçı hücreler, artmış seviyelerde α -mannosidaz II (ManII) aktivitesine sahip bir veya daha fazla polipeptit eksprese etmek üzere ayrıca manipüle edilmiştir. Spesifik bir uygulamada GnTIII aktivitesine sahip polipeptit; bir heterolog Golgi yerleşik polipeptitin Golgi lokalizasyon domenini ve GnTIII katalitik domenini içeren bir füzyon polipeptitidir. Özellikle söz konusu Golgi lokalizasyon domeni, monnosidaz II'nin Golgi lokalizasyon domenidir. Bu tür füzyon polipeptitlerinin üretilmesi ve bunların artmış efektör fonksiyonlarına sahip antikörlerin üretilmesi için kullanılmasına yönelik yöntemler, Ferrara ve diğ. Biotechn Bioeng 93, 851-861 (2006) ve WO 2004/065540 yayınlarda açıklanmıştır.

Burada tarif edilen bir immünokonjugatın bir kodlama sekansını ve/veya glikosiltransferaz aktiviteye sahip bir polipeptitin bir kodlama sekansını içeren ve biyolojik olarak aktif gen ürünlerini eksprese eden konakçı hücreler, örneğin, DNA-DNA veya DNA-RNA hibridizasyonu, "markör" gen fonksiyonlarının varlığı veya yokluğu; konakçı hücrede ilgili mRNA transkriptlerinin ekspresyonu ile ölçülen transkripsiyon seviyesinin değerlendirilmesi veya immünoassay veya biyolojik aktivitesi ile ölçülen gen ürününün tespit edilmesi ile tanımlanabilir ve bahsi geçen metotlar teknikte iyi bilinir. GnTII veya Man II aktivitesi,

sırasıyla GnTIII veya ManII biyosentez ürünlerine bağlanan bir lektin kullanılarak tespit edilebilir. Söz konusu lektin için örnek olarak, tercihen ikiye bölen GlcNAc içeren oligosakkaritlere bağlanan E₄-PHA lektini verilebilir. GnTIII veya ManII

5 aktivitesine sahip polipeptitlerin biyosentez ürünleri (başka bir ifadeyle spesifik oligosakkarit yapıları), söz konusu polipeptitleri eksprese eden hücreler tarafından üretilen glikoproteinlerden salınan oligosakkaritlerin kütle spektrometrik analizi ile tespit edilebilir. Alternatif olarak,

10 GnTIII veya ManII aktivitesine sahip olan polipeptit ile işlenen hücreler tarafından üretilen immünokonjugatların aracılık ettiği artmış efektör fonksiyonu ve/ artmış Fc reseptör bağlanmasını ölçen fonksiyonel bir analiz kullanılabilir.

15 Başka bir uygulamada, Fc domeni, azalmış $\alpha(1,6)$ -fukoziltransferaz aktivitesine sahip bir konakçı hücredeki immünokonjugatın üretilmesi yoluyla, işlenmemiş bir Fc domenine kıyasla, artan oranda fukozile edilmemiş oligosakkarit içerecek şekilde işlenir. Azalmış $\alpha(1,6)$ -fukoziltransferaz aktivitesine sahip bir konakçı

20 hücre, $\alpha(1,6)$ -fukoziltransferaz geninin bozulduğu veya başka bir şekilde deaktive edildiği, örneğin nakavt edildiği bir hücre olabilir (bkz. Yamane-Ohnuki ve diğ. Biotech Bioeng 87, 614 (2004); Kanda ve diğ. Biotechnol Bioeng 94(4), 680-688 (2006); Niwa ve diğ. J Immunol Methods 306, 151-160 (2006)).

25 Defukozile edilmiş immünokonjugatları üretebilen hücre hatlarının diğer örnekleri arasında protein fukozilasyonu bakımından eksik Lec13 CHO hücreleri bulunur (Ripka ve diğ. Arch Biochem Biophys 249, 533-545 (1986); US Pat. Başv. No. US 2003/0157108 ve WO 2004/056312, özellikle Örnek 11'de). Burada tarif edilen immünokonjugatlar alternatif olarak, EP 1 176 195 A1, WO 03/084570, WO 03/085119 ve U.S. Pat. Başv. Yayın No 2003/0115614, 2004/093621, 2004/110282, 2004/110704, 2004/132140, US Pat. No. 6,946,292 (Kyowa) yayınlarında açıklanan tekniklere uygun şekilde Fc

35 domeninde indirgenmiş fukoz kalıntılarına sahip olmak üzere,

örneğin immünokonjugat üretimi için kullanılan konakçı hücrelerdeki bir GDP-fukoz taşıyıcı proteinin aktivitesinin indirgenmesiyle veya ortadan kaldırılmasıyla glikoışlenebilir.

- 5 Mevcut buluşta faydalı glikoışlenmiş immünokonjugatlar ayrıca, örneğin WO 2003/056914 (GlycoFi, Inc.) veya WO 2004/057002 ve WO 2004/024927'de (Greenovation) öğretilenler gibi modifiye glikoprotein üreten ekspresyon sistemlerinde üretilebilir.
- 10 Bir uygulamada immünokonjugatın Fc domeni, işlenmemiş bir Fc domenine kıyasla indirgenmiş bir efektör fonksiyona sahip olacak şekilde işlenir. Artmış efektör fonksiyonu tercihen aşağıdakilerden birini veya daha fazlasını içerebilmektedir: artmış tamamlayıcı bağımlı sitotoksiste (CDC), artmış antikor
- 15 bağımlı hücre aracılı sitotoksiste (ADCC), artmış antikor bağımlı hücrel fagositoz (ADCP), artmış sitokin salgılanması, antijen sunan hücreler tarafından artmış immün kompleksi aracılı antijen alımı, artmış NK hücrelerine bağlanma, artmış makrofajlara bağlanma, artmış monositlere bağlanma, artmış polimorfonükleer
- 20 hücrelere bağlanma, artmış doğrudan sinyal vermeyi indükleyen apoptozis, artmış hedefe bağlı antikorların çapraz bağlanması, artmış dendritik hücre matürasyonu ve artmış T hücresi hazırlama (priming).
- 25 Bir uygulamada, artmış efektör fonksiyonu, artmış CDC, artmış ADCC, artmış ADCP ve artmış sitokin salgılanmasından oluşan gruptan seçilen bir veya daha fazla faktördür. Spesifik bir uygulamada, artmış efektör fonksiyonu, artmış ADCC'dir. Bir uygulamada işlenmiş bir Fc domeni (veya işlenmemiş bir Fc domeni
- 30 içeren bir immünokonjugat) tarafından indüklenen ADCC, işlenmemiş (veya işlenmemiş bir Fc domeni içeren bir immünokonjugat) bir Fc domeni tarafından indüklenen ADCC'ye kıyasla en az 2 kat artmıştır.

Efektör Parçalar

Buradaki kullanıma yönelik efektör parçalar genellikle, hücrel aktiviteyi, örneğin sinyal iletim yolları üzerinden etkileyen polipeptitlerdir. Dolayısıyla burada tarif edilen immünokonjugatın efektör parçası, hücre içinde bir yanıtı modüle etmek için bir sinyali, hücre zarının dışına ileten reseptör aracılığıyla sinyalleme ile ilişkilendirilebilir. Örneğin immünokonjugatın bir efektör parçası, bir sitokin olabilir. Belirli uygulamalarda efektör parça, insandır.

10 Belirli uygulamalarda efektör parça, tek zincirli bir efektör parçadır. Belirli bir uygulamada efektör parça, bir sitokindir. Yararlı sitokinlerin örnekleri arasında, bunlarla sınırlı olmamak üzere, GM-CSF, IL-1 α , IL-1 β , IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-10, IL-12, IL-21, IFN- α , IFN- β , IFN- γ , MIP-1 α , MIP-1 β ,
15 TGF- β , TNF- α ve TNF- β bulunur. Bir uygulamada immünokonjugatın efektör parçası, GM-CSF, IL-2, IL-7, IL-8, IL-10, IL-12, IL-15, IL-21, IFN- α , IFN- γ , MIP-1 α , MIP-1 β ve TGF- β 'dan oluşan gruptan seçilen bir sitokindir. Bir uygulamada immünokonjugatın efektör parçası, IL-2, IL-7, IL-10, IL-12, IL-15, IFN- α , ve IFN- γ 'dan
20 oluşan gruptan seçilen bir sitokindir. Belirli uygulamalarda sitokin efektör parçası, N ve/veya O glikozilasyon alanlarını kaldırmak üzere mutasyona uğratılır. Glikozilasyonun ortadan kaldırılması, rekombinant üretimde elde edilebilen ürünün homojenliğini artırır.

25

Belirli bir uygulamada immünokonjugatın efektör parçası, IL-2'dir. Spesifik bir uygulamada, IL-2 efektör parçası, aşağıdakilerden seçilen bir veya daha fazla hücrel yanıtı ortaya çıkarabilir: aktive edilmiş bir T lenfosit hücresinde
30 proliferasyon, aktive edilmiş bir T lenfosit hücresinde farklılaşma, sitotoksik T hücresi (CTL) aktivitesi, aktive edilmiş bir B hücresinde proliferasyon, aktive edilmiş bir B hücresinde farklılaşma, bir doğal öldürücü (NK) hücrede proliferasyon, bir NK hücresinde farklılaşma, aktive edilmiş bir T hücresi veya bir
35 NK hücresinde farklılaşma ve NK/lenfosit aktivi öldürücü (LAK)

antitümör sitotoksitesisi. Başka belirli bir uygulamada IL-2 efektör parçası, IL-2 reseptörünün α alt birimine indirgenmiş bağlanma afinitesine sahip bir mutant IL-2 polipeptitidir. Sadece β ve γ alt birimlerinden oluşan dimerik reseptör, yüksek afiniteli IL-2 reseptörü olarak adlandırılırken, β ve γ alt birimleri (aynı zamanda sırasıyla CD122 ve CD132 olarak bilinirler) ile birlikte α alt birimi (aynı zamanda CD25 olarak da bilinir), yüksek afiniteli heterodimerik IL-2 reseptörünü oluşturur. PCT patent başvuru yayın no WO 2012/107417'de tarif edildiği üzere, IL-2 reseptörünün α alt birimine indirgenmiş bağlamaya sahip bir mutant IL-2 polipeptiti, bir yabancı tip IL-2 polipeptidine kıyasla, indirgenmiş bir düzenleyici T hücrelerinde IL-2 sinyallemesini indüklemeye kabiliyetine sahiptir, T hücrelerinde daha az aktivasyon ile indüklenen hücre ölümü (AICD) indükler ve indirgenmiş bir in vivo toksisite profiline sahiptir. İndirgenmiş toksisiteye sahip böyle bir efektör parçasının kullanımı, bir Fc domeninin varlığı nedeniyle uzun bir serum yarı ömrüne sahip olduğundan burada tarif edilen şekilde bir immünokonjugatta özellikle avantajlıdır. Bir uygulamada burada tarif edilen immünokonjugatın mutant IL-2 efektör parçası, mutant olmayan IL-2 efektör parçasına kıyasla, mutant IL-2 efektör parçasının IL-2 reseptörünün α alt birimine (CD25) yönelik afinitesini indirgeyen veya ortadan kaldıran ancak mutant IL-2 efektör parçasının orta afiniteli IL-2 reseptörüne (IL-2 reseptörünün β ve γ alt birimlerinden oluşur) yönelik afinitesini koruyan az bir amino asit mutasyonu içerir. Bir uygulamada söz konusu bir veya daha fazla amino asit mutasyonu, amino asit ornatımlarıdır. Spesifik bir uygulamada mutant IL-2 efektör parçası, insan IL-2'nin 42, 45 ve 72 numaralı kalıntılarına karşılık gelen pozisyonlardan seçilen bir, iki veya üç pozisyonda bir, iki veya üç amino asit ornatımını içerir. Daha spesifik bir uygulamada, mutant IL-2 efektör parçası, insan IL-2'nin 42, 45 ve 72 numaralı kalıntılarına karşılık gelen pozisyonlarda üç amino asit ornatımı içerir. Daha spesifik bir uygulamada mutant IL-2 efektör parçası, F42A, Y45A ve L72G amino asit ornatımları içeren insan IL-2'dir. Bir uygulamada mutant IL-2 efektör parçası, ek

olarak IL-2'nin O glikozilasyon alanını ortadan kaldıran insan IL-2'nin 3 numaralı pozisyonuna karşılık gelen bir pozisyonda bir amino asit mutasyonu içerir. Özellikle, söz konusu ek amino asit mutasyonu, bir trieonin kalıntısının bir alanin kalıntısı ile
5 değiştirildiği bir amino asit ornatmasıdır. Burada yararlı belirli bir mutant IL-2 polipeptiti, insan IL-2'sinin 3, 42, 45 ve 72 numaralı kalıntılarına karşılık gelen pozisyonlarda dört amino asit ornatımı içerir. Spesifik amino asit ornatımları T3A, F42A, Y45A ve L72G'dir. PCT patent başvurusu yayın no WO 2012/107417'de
10 ve ekteki Örnekler'de gösterildiği üzere, söz konusu dörtlü mutant IL-2 polipeptiti (IL-2 qm) CD25'e tespit edilebilir bir bağlanma sergilemezken T hücrelerinde indirgenmiş apoptozu indüklemeye kabiliyeti, T_{reg} hücrelerinde indirgenmiş IL-2 sinyallemesini indüklemeye kabiliyeti ve indirgenmiş toksisite profili sergiler.
15 Bununla birlikte, efektör hücrelerde IL-2 sinyallemesini aktive etme, efektör hücrelerin proliferasyonunu indüklemeye ve NK hücreleri tarafından ikincil bir sitokin olarak IFN- γ üretme kabiliyetini korur.

20 Aşağıdaki uygulamalarında herhangi birine göre IL-2 veya mutant IL-2 efektör parçası, artmış ekspresyon veya kararlılık gibi başka avantajlar sağlayan ek mutasyonlar içerebilir. Örneğin, 125. pozisyonda yer alan sistein, disülfür köprülü IL-2 dimerlerinin oluşmasını önlemek için alanin gibi nötr bir amino asit ile
25 değiştirilebilir. Bu yüzden, belirli uygulamalarda burada tarif edilen immünokonjugatın IL-2'si veya mutant IL-2 efektör parçası, insan IL-2'sinin 125 numaralı kalıntısına karşılık gelen bir pozisyonda ek bir amino asit mutasyonu içerir. Bir uygulamada söz konusu ek amino asit mutasyonu, C125A amino asit ornatımıdır.

30

Spesifik bir uygulamada immünokonjugatın IL-2 efektör parçası, SEQ ID NO: 2'nin polipeptit sekansını içerir. Spesifik başka bir uygulamada immünokonjugatın IL-2 efektör parçası, SEQ ID NO: 3'ün polipeptit sekansını içerir.

35

Başka bir uygulamada immünokonjugatın efektör parçası, IL-12'dir. Spesifik bir uygulamada söz konusu IL-12 efektör parçası, tek zincirli bir IL-12 efektör parçasıdır. Daha spesifik bir uygulamada tek zincirli IL-12 efektör parçası, SEQ ID NO: 4'ün
5 polipeptit sekansını içerir. Bir uygulamada IL-12 efektör parçası, bir NK hücreesindeki proliferasyon, bir NK hücreesindeki farklılaşma, bir T hücreesindeki proliferasyon ve bir T hücreesindeki farklılaşmadan oluşan gruptan seçilen bir veya daha fazla hücreyel yanıtı ortaya çıkabilir.

10

Başka bir uygulamada immünokonjugatın efektör parçası, IL-10'dir. Spesifik bir uygulamada söz konusu IL-10 efektör parçası, tek zincirli bir IL-10 efektör parçasıdır. Daha spesifik bir uygulamada tek zincirli IL-10 efektör parçası, SEQ ID NO: 5'ün
15 polipeptit sekansını içerir. Spesifik başka bir uygulamada söz konusu IL-10 efektör parçası, monomerik bir IL-10 efektör parçasıdır. Daha spesifik bir uygulamada monomerik IL-10 efektör parçası, SEQ ID NO: 6'nın polipeptit sekansını içerir. Bir uygulamada IL-10 efektör parçası, aşağıdakilerden oluşan gruptan
20 seçilen bir veya daha fazla hücreyel yanıtı ortaya çıkarabilir: sitokin salgılanmasının inhibisyonu, antijen sunan hücreler tarafından antijen sunumunun inhibisyonu, oksijen radikal salımının indirgenmesi ve T hücresi proliferasyonunun inhibisyonu. Burada tarif edilen şekilde efektör parçasının IL-10
25 olduğu bir immunokonjugat, örneğin bir inflamatuvar bozukluğun tedavisinde inflamasyonun aşağı regülasyonu için özellikle yararlıdır.

Başka bir uygulamada immünokonjugatın efektör parçası, IL-15'dir. Spesifik bir uygulamada söz konusu IL-15 efektör parçası, IL-15 reseptörünün α alt birimine indirgenmiş bağlanma afinitesine sahip bir mutant IL-15 polipeptitidir. Teoriye bağlı kalmak istenmeksizin, IL-15 reseptörünün α alt birimine indirgenmiş bağlanmaya sahip bir mutant IL-15 polipeptiti, indirgenmiş bir
35 vücuttaki fibroblastları bağlama kabiliyetine sahiptir ve bu, bir

yabani tip IL-15 polipeptidine kıyasla gelişmiş farmakokinetiklere ve toksisite profiline neden olur. Tarif edilen mutant IL-2 ve mutant IL-15 efektör parçaları gibi indirgenmiş toksisiteye sahip bir efektör parçanın kullanımı, bir Fc domeninin varlığı nedeniyle uzun bir serum yarı ömrüne sahip olduğundan burada tarif edilen şekilde bir immünokonjugatta özellikle avantajlıdır. Bir uygulamada burada tarif edilen immünokonjugatın mutant IL-15 efektör parçası, mutant olmayan IL-15 efektör parçasına kıyasla, mutant IL-15 efektör parçasının IL-15 reseptörünün α alt birimine yönelik afinitesini indirgeyen veya ortadan kaldıran ancak mutant IL-15 efektör parçasının orta afiniteli IL-15/IL-2 reseptörüne (IL-15/IL-2 reseptörünün β ve γ alt birimlerinden oluşur) yönelik afinitesini koruyan az bir amino asit mutasyonu içerir. Bir uygulamada, amino asit mutasyonu, bir amino asit ornatımıdır. Spesifik bir uygulamada, mutant IL-15 efektör parçası, insan IL-15'nin 53 numaralı kalıntısına karşılık gelen pozisyonlarda bir amino asit ornatımı içerir. Daha spesifik bir uygulamada mutant IL-15 efektör parçası, E53A amino asit ornatımını içeren insan IL-15'dir. Bir uygulamada mutant IL-15 efektör parçası, ek olarak IL-15'in N glikozilasyon alanını ortadan kaldıran insan IL-15'in 79 numaralı pozisyonuna karşılık gelen bir pozisyonda bir amino asit mutasyonu içerir. Özellikle, söz konusu ek amino asit mutasyonu, bir asparajin kalıntısının bir alanin kalıntısı ile değiştirildiği bir amino asit ornatmasıdır. Daha spesifik bir uygulamada IL-15 efektör parçası, SEQ ID NO: 7'nin polipeptit sekansını içerir. Spesifik bir uygulamada, IL-15 efektör parçası, aşağıdakilerden seçilen bir veya daha fazla hücresel yanıtı ortaya çıkarabilir: aktive edilmiş bir T lenfosit hücrelerinde proliferasyon, aktive edilmiş bir T lenfosit hücrelerinde farklılaşma, sitotoksik T hücresi (CTL) aktivitesi, aktive edilmiş bir B hücrelerinde proliferasyon, aktive edilmiş bir B hücrelerinde farklılaşma, bir doğal öldürücü (NK) hücrede proliferasyon, bir NK hücrelerinde farklılaşma, aktive edilmiş bir T hücresi veya bir NK hücrelerinde farklılaşma ve NK/lenfosit aktiveli öldürücü (LAK) antitümör sitotoksitesisi.

İmmünokonjugatlarda efektör parçalar olarak yararlı mutant sitokin molekülleri, teknikte iyi bilinen genetik veya kimyasal yöntemler kullanılarak silme, ornatma, ekleme veya modifikasyon 5 yoluyla hazırlanabilir. Genetik yöntemler arasında kodlayıcı DNA sekansının alan hedefli mutagenezi, PCR, gen sentezi ve benzerleri bulunur. Doğru nükleotit değişimleri, örneğin sekanslama ile doğrulanabilir. Ornatma veya yerleştirme, doğalın yanı sıra doğal olmayan amino asit kalıntıları içerebilir. Amino asit 10 modifikasyonu, glikozilasyon alanlarının veya karbonhidrat eklerinin eklenmesi veya çıkarılması ve benzerleri gibi iyi bilinen kimyasal modifikasyon yöntemlerini içerir.

Bir uygulamada efektör parça, özellikle immünokonjugatın tek 15 zincirli bir efektör parçası, GM-CSF'dir. Spesifik bir uygulamada GM-CSF efektör parçası, bir granülosit, bir monosit veya bir dendritik hücre içinde proliferasyona ve/veya farklılaşmaya neden olabilir. Bir uygulamada efektör parça, özellikle immünokonjugatın tek zincirli bir efektör parçası, IFN- α 'dır. 20 Spesifik bir uygulamada IFN- α efektör parçası, virüs ile enfekte olmuş bir hücrede viral replikasyonunun inhibe edilmesi ve majör histouyumluluk kompleksi I'in (MHC I) ekspresyonunun yukarıya doğru regüle edilmesinden oluşan gruptan seçilen bir veya daha fazla hücreyel yanıtı ortaya çıkarabilir. Başka bir spesifik 25 uygulamada IFN- α efektör parçası, bir tümör hücreindeki proliferasyonu inhibe edebilir. Bir uygulamada efektör parça, özellikle immünokonjugatın tek zincirli bir efektör parçası, IFN- γ 'dır. Spesifik bir uygulamada IFN- γ efektör parçası, aşağıdakilerden oluşan gruptan seçilen bir veya daha fazla 30 hücreyel yanıt ortaya çıkarabilir: artmış makrofaj aktivitesi, MGC moleküllerinin artmış ekspresyonu ve artmış NK hücresi aktivitesi. Bir uygulamada efektör parça, özellikle immünokonjugatın tek zincirli bir efektör parçası, IL-7'dir. Spesifik bir uygulamada IL-7 efektör parçası, T ve/veya B lenfositlerinde proliferasyon 35 ortaya çıkarabilir. Bir uygulamada efektör parça, özellikle

immünokonjugatın tek zincirli bir efektör parçası, IL-8'dir. Spesifik bir uygulamada IL-8 efektör parçası, nötrofillerdeki kemotaksiyi ortaya çıkarabilir. Bir uygulamada efektör parça, özellikle immünokonjugatın tek zincirli bir efektör parçası, 5 MIP-1 α 'dır. Spesifik bir uygulamada MIP-1 α efektör parçası, monositler ve T lenfosit hücrelerinde kemotaksiyi ortaya çıkarabilir. Bir uygulamada efektör parça, özellikle immünokonjugatın tek zincirli bir efektör parçası, MIP-1 β 'dır. Spesifik bir uygulamada MIP-1 β efektör parçası, monositler ve T 10 lenfosit hücrelerinde kemotaksiyi ortaya çıkarabilir. Bir uygulamada efektör parça, özellikle immünokonjugatın tek zincirli bir efektör parçası, TGF- β 'dır. Spesifik bir uygulamada TGF- β efektör parçası, monositlerde kemotaksis, makrofajlarda kemotaksis, aktive edilmiş makrofajlarda IL-1 ekspresyonunun 15 yukarı regülasyonu ve aktive edilmiş B hücrelerinde IgA ekspresyonunun yukarı regülasyonundan oluşan gruptan seçilen bir veya daha fazla hücreyel yanıtı ortaya çıkarabilir.

Bir uygulamada burada tarif edilen immünokonjugat, bir kontrol 20 efektör parçası için olan ayrışma sabitinden (K_D) en az yaklaşık 1, 1,5, 2, 2,5, 3, 3,5, 4, 4,5, 5, 5,5, 6, 6,5, 7, 7,5, 8, 8,5, 9, 9,5 veya 10 kat daha büyük bir ayrışma sabitine sahip bir efektör parça reseptörüne bağlanır. Başka bir uygulamada immünokonjugat, iki veya daha fazla efektör parça içeren bir ilgili immünokonjugat 25 molekül için olandan en az 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 veya 10 kat daha büyük bir K_D değerine sahip bir efektör parça reseptörüne bağlanır. Başka bir uygulamada immünokonjugat, iki veya daha fazla efektör parça içeren bir ilgili immünokonjugat molekül için olandan yaklaşık 10 kat daha büyük bir ayrışma sabiti K_D değerine sahip bir 30 efektör parça reseptörüne bağlanır.

Antijen Bağlayıcı Parçalar

Burada tarif edilen immünokonjugatlar en az bir antijen bağlayıcı 35 parça içerir. Belirli uygulamalarda, immünokonjugatlar, iki

antijen bağlayıcı parça, başka bir ifadeyle bir birinci ve bir ikinci antijen bağlayıcı parça içerir. Bir uygulamada immünokonjugat, ikiden fazla antijen bağlayıcı parça içermez.

5 Burada tarif edilen immünokonjugatın antijen bağlayıcı parçası, genellikle, spesifik bir antijenik determinantı bağlayan bir polipeptit molekülüdür ve bir antijenik determinantı taşıyan spesifik bir tümör hücresi veya tümör stroma tipine, örneğin bir hedef bölgeye bağlandığı antiteyi (örneğin bir efektör parça ve
10 bir Fc domenine) yönlendirebilir. immünokonjugat, örneğin, tümör hücrelerinin yüzeylerinde, virüs bulaştırılmış hücrelerin yüzeylerinde, diğer hastalıklı hücrelerin yüzeylerinde, kan serumunda serbest şekilde, ve/veya hücre dışı matriste (ECM) bulunan antijenik determinantlara bağlanabilir.

15

Belirli uygulamalarda antijen bağlayıcı parça, bir patolojik durumla ilişkili bir antijene, örneğin bir tümör hücresinde veya bir tümör hücresi ortamında, bir inflamasyon alanında veya virüs bulaşmış bir hücrede sunulan bir antijene yönlendirilir.

20

Tümör antijenlerinin sınırlayıcı olmayan örnekleri arasında, MAGE, MART-1/Melan-A, gp100, Dipeptidil peptidaz IV (DPPIV), adenoazin deaminaz-bağlayıcı protein (ADAbp), siklofilin b, Kolorektal ilişkili antijen (CRC)-C017-1A/GA733,
25 Karsinoembriyonik Antijen (CEA) ve bunun immünojenik epitopları CAP-1 ve CAP-2, etv6, aml1, Prostat Spesifik Antijen (PSA) ve bunun immünojenik epitopları PSA-1, PSA-2, ve PSA-3, prostat spesifik membran antijen (PSMA), MAGE familyası tümör antijenleri (örneğin, MAGE-A1, MAGE-A2, MAGE-A3, MAGE-A4, MAGE-A5, MAGE-A6, MAGE-A7,
30 MAGE-A8, MAGE-A9, MAGE-A10, MAGE-A11, MAGE-A12, MAGE-Xp2 (MAGE-B2), MAGE-Xp3 (MAGE-B3), MAGE-Xp4 (MAGE-B4), MAGE-C1, MAGE-C2, MAGE-C3, MAGE-C4, MAGE-C5), GAGE familyası tümör antijenleri (örneğin, GAGE-1, GAGE-2, GAGE-3, GAGE-4, GAGE-5, GAGE-6, GAGE-7, GAGE-8, GAGE-9), BAGE, RAGE, LAGE-1, NAG, GnT-V,
35 MUM-1, CDK4, tirozinaz, p53, MUC familyası, HER2/neu, p21ras,

RCAS1, α -fetoprotein, E-kaderin, α -katenin, β -katenin ve γ -katenin, p120ctn, gp100 Pmel117, PRAME, NY-ESO-1, cdc27, adenomtoz polipoz koli proteini (APC), fodrin, konneksin 37, Ig-idiotip, p15, gp75, GM2 ve GD2 gangliozidler, viral ürünler
5 örneğin insan papilloma virüs proteinleri, Smad familyası tümör antijenleri, lmp-1, P1A, EBV kodlu nükleer antijen (EBNA)-1, beyin glikojen fosforilaz, SSX-1, SSX-2 (HOM-MEL-40), SSX-1, SSX-4, SSX-5, SCP-1 ve CT-7 ve c-erbB-2 bulunur.

10 Viral antijenlerin sınırlayıcı olmayan örnekleri arasında, Grip virüsü hemagglütinini, Epstein-Barr virüsü LMP-1, hepatit C virüsü E2 glikoprotein, HIV gp160, ve HIV gp120 bulunur.

ECM antijenlerinin sınırlayıcı olmayan örnekleri arasında,
15 sendekan, heparanaz, integrinler, osteopontin, link, kaderinler, laminin, laminin tipi EGF, lektin, fibronektin, notch, tenasin ve matrisin bulunur.

Burada tarif edilen immünokonjugatlar, hücre yüzeyi
20 antijenlerinin aşağıdaki spesifik sınırlayıcı olmayan örneklerini bağlayabilir: FAP, Her2, EGFR, IGF-1R, CD22 (B hücresi reseptörü), CD23 (düşük afiniteli IgE reseptörü), CD30 (sitokin reseptörü), CD33 (miyeloid hücre yüzeyi antijeni), CD40 (tümör nekroz faktör reseptörü), IL-6R (IL6 reseptörü), CD20, MCSP ve PDGF β R (β
25 trombosit türevi büyüme faktörü reseptörü). Belirli uygulamalarda antijen, bir insan antijenidir.

Belirli uygulamalarda antijen bağlayıcı parça, bir tümör hücresi üzerinde veya bir tümör hücresi ortamında sunulan bir antijene
30 yöneliktir. Başka uygulamalarda antijen bağlayıcı parça, bir inflamasyon alanında sunulan bir antijene yöneliktir. Spesifik bir uygulamada antijen bağlayıcı parça, Fibroblast Aktivasyon Proteini (FAP), Tenasin-C'nin A1 domeni (TNC A1), Tenasin-C'nin A2 domeni (TNC A2), Fibronektinin Ekstra Domen B'si (EDB),
35 Karsinoembriyonik Antijen (CEA) ve Melanoma ile ilişkili

Kondroitin Sülfat Proteoglikanı (MCSP) grubundan seçilen bir antijene yönlendirilebilir.

Bir uygulamada burada tarif edilen immünokonjugat, iki veya daha fazla antijen bağlayıcı parça içerir ve burada bu antijen bağlayıcı parçaların her biri spesifik olarak aynı antijenik determinanta bağlanır.

Antijen bağlayıcı parça, bir antijenik determinanta spesifik bağlanmayı muhafaza eden herhangi bir antikor türü veya parçası olabilir. Antikor fragmanları arasında, bunlarla sınırlı olmamak üzere, VH fragmanları, VL fragmanları, Fab fragmanları, F(ab')₂ fragmanları, scFv fragmanları, Fv fragmanları, mini antikorlar, diakorlar, triakorlar ve tetraloglar bulunur (bkz. örn. Hudson ve Souriau, Nature Med 9, 129-134 (2003)). Belirli bir uygulamada antijen bağlayıcı parça, bir Fab molekülüdür. Bir uygulamada, söz konusu Fab molekülü insandır. Bir uygulamada, söz konusu Fab molekülü insanlaştırılmıştır. Yine başka bir uygulamada, söz konusu Fab molekülü, insan ağır ve hafif zincir sabit bölgelerini içerir.

Bir uygulamada immünokonjugat, Fibronektin Ek Domen B (EDB) için spesifik olan en az bir, tipik olarak iki veya daha fazla antijen bağlayıcı parça içerir. Başka bir uygulamada immünokonjugat, EDB'nin bir epitopuna bağlanmak için monoklonal antikor L19 ile rekabet edebilen en az bir, tipik olarak iki ya da daha fazla antijen bağlayıcı parça içerir. Bkz. örn. PCT yayını WO 2007/128563 A1.

Yine başka bir uygulamada immünokonjugat, L19 monoklonal antikorundan türetilen bir Fab ağır zincirinin, bir IL-2 polipeptiti ile bir karboksi terminal peptit bağı paylaşan, bir topuz modifikasyonu içeren bir Fc domeni alt birimi ile bir karboksi terminal peptit bağı paylaştığı bir polipeptit sekansını içerir. Daha spesifik bir uygulamada immünokonjugat, SEQ ID NO:

215 veya bunun işlevselliğini muhafaza eden bir varyantının polipeptit sekansını içerir. Bir uygulamada immünokonjugat, L19 monoklonal antikoru türetilen bir Fab ağıır zincirinin, bir delik modifikasyonu içeren bir Fc domeni alt birimi ile bir

5 karboksi terminal peptit bağıı paylaştığı bir polipeptit sekansını içerir. Daha spesifik bir uygulamada immünokonjugat, SEQ ID NO: 213 veya bunun işlevselliğini muhafaza eden bir varyantının polipeptit sekansını içerir. Bir başka uygulamada immünokonjugat, L19 monoklonal antikordan türetilen bir Fab hafif zincirini

10 içerir. Daha spesifik bir uygulamada immünokonjugat, SEQ ID NO: 217 veya bunun işlevselliğini muhafaza eden bir varyantının polipeptit sekansını içerir. Yine bir başka uygulamada immünokonjugat, SEQ ID NO: 213, SEQ ID NO: 215 ve SEQ ID NO: 217 veya bunların i levselliğıı muhafaza eden varyantlarının

15 polipeptit sekanslarını içerir. Başka bir spesifik uygulamada polipeptitler, örneğın bir disülfür bağıı ile kovalent olarak bağlanır. Bazı uygulamalarda Fc domeni alt birimlerinin her biri, L234A, L235A ve P329G amino asit ornatımlarını içerir.

20 Bir spesifik uygulamada immünokonjugat, SEQ ID NO: 216'nın sekansı ile en az yaklaşık %80, %85, %90, %95, %96, %97, %98 veya %99 özdeş olan bir polipeptit sekansı tarafından kodlanan bir polipeptit sekansı içerir. Bir başka spesifik uygulamada immünokonjugat, SEQ ID NO: 216'nın polinükleotit sekansı tarafından kodlanan bir

25 polipeptit sekansı içerir. Bir başka spesifik uygulamada immünokonjugat, SEQ ID NO: 214' n sekansı ile en az yaklaşık %80, %85, %90, %95, %96, %97, %98 veya %99 özdeş olan bir polipeptit sekansı tarafından kodlanan bir polipeptit sekansı içerir. Daha başka bir spesifik uygulamada immünokonjugat, SEQ ID NO: 214' n

30 polinükleotit sekansı tarafından kodlanan bir polipeptit sekansı içerir. Bir başka spesifik uygulamada immünokonjugat, SEQ ID NO: 218'in sekansı ile en az yaklaşık %80, %85, %90, %95, %96, %97, %98 veya %99 özdeş olan bir polipeptit sekansı tarafından kodlanan bir polipeptit sekansı içerir. Daha başka bir spesifik uygulamada

immünokonjugat, SEQ ID NO: 218'ün polinükleotit sekansı tarafından kodlanan bir polipeptit sekansı içerir.

Bir uygulamada, burada tarif edilen immünokonjugat, Tenasin C'nin A1 domeni (TNC-A1) için spesifik olan en az bir, tipik olarak iki veya daha fazla antijen bağlayıcı parça içerir. Başka bir uygulamada immünokonjugat, TNC-A1'in bir epitopuna bağlanmak için monoklonal antikor F16 ile rekabet edebilen en az bir, tipik olarak iki ya da daha fazla antijen bağlayıcı parça içerir. Bkz. örn. PCT yayını WO 2007/128563 A1. Bir uygulamada immünokonjugat, Tenasin C'nin A1 ve/veya A4 domeni (TNC-A1 veya TNC-A4 veya TNC-A1/A4) için spesifik olan en az bir, tipik olarak iki veya daha fazla antijen bağlayıcı parçası içerir.

Spesifik bir uygulamada, immünokonjugatın antijen bağlayıcı parçaları, ya SEQ ID NO: 33 ya da SEQ ID NO: 35 veya bunların işlevselliğini muhafaza eden varyantları ile en az yaklaşık %80, %85, %90, %95, %96, %97, %98, %99 veya %100 özdeş olan bir ağır zincir değişken bölge sekansı içerir. Bir başka spesifik uygulamada, immünokonjugatın antijen bağlayıcı parçaları ya SEQ ID NO: 29 ya da SEQ ID NO: 31 veya bunların işlevselliğini muhafaza eden varyantları ile en az yaklaşık %80, %85, %90, %95, %96, %97, %98, %99 veya %100 özdeş olan bir hafif zincir değişken bölge sekansı içerir. Daha spesifik bir uygulamada, immünokonjugatın antijen bağlayıcı parçaları, ya SEQ ID NO: 33 ya da SEQ ID NO: 35 veya bunların işlevselliğini muhafaza eden varyantları ile en az yaklaşık %80, %85, %90, %95, %96, %97, %98, %99 veya %100 özdeş olan bir ağır zincir değişken bölge sekansı ve ya SEQ ID NO: 29 veya SEQ ID NO: 31 veya bunların işlevselliğini muhafaza eden varyantları ile en az yaklaşık %80, %85, %90, %95, %96, %97, %98, %99 veya %100 özdeş olan bir hafif zincir değişken bölge sekansı içerir. Bir başka spesifik uygulamada, immünokonjugatın antijen bağlayıcı parçalarının ağır zincir değişken bölge sekansı, ya SEQ ID NO: 34 ya da SEQ ID NO: 36 ile en az yaklaşık %80, %85, %90, %95, %96, %97, %98 veya %99 özdeş olan bir polipeptit sekansı

tarafından kodlanır. Daha başka bir spesifik uygulamada, immünokonjugatın antijen bağlayıcı parçalarının ağır zincir değişken bölge sekansı, ya SEQ ID NO: 34 ya da SEQ ID NO: 36'nın polinükleotit sekansı tarafından kodlanır. Bir başka spesifik uygulamada, immünokonjugatın antijen bağlayıcı parçalarının hafif zincir değişken bölge sekansı, ya SEQ ID NO: 30 ya da SEQ ID NO: 32 ile en az yaklaşık %80, %85, %90, %95, %96, %97, %98 veya %99 özdeş olan bir polipeptit sekansı tarafından kodlanır. Daha başka bir spesifik uygulamada, immünokonjugatın antijen bağlayıcı parçalarının hafif zincir değişken bölge sekansı, ya SEQ ID NO: 30 veya SEQ ID NO: 32'nin polinükleotit sekansı tarafından kodlanır.

Bir uygulamada immünokonjugat, Tenasin C'nin A1 domeni için spesifik bir Fab ağır zincirinin, bir IL-2 polipeptiti ile bir karboksi terminal peptit bağı paylaşan, bir topuz modifikasyonu içeren bir Fc domeni alt birimi ile bir karboksi terminal peptit bağı paylaştığı bir polipeptit sekansını içerir. Başka bir uygulamada immünokonjugat, Tenasin C'nin A1 domeni için spesifik bir Fab ağır zincirinin, bir delik modifikasyonu içeren bir Fc domeni alt birimi ile bir karboksi terminal peptit bağı paylaştığı bir polipeptit sekansını içerir. Daha spesifik bir uygulamada immünokonjugat, bu polipeptit sekanslarının her ikisini de içerir. Başka bir uygulamada immünokonjugat ayrıca Tenasin C'nin A1 domeni için spesifik bir Fab hafif zinciri içerir. Başka bir spesifik uygulamada polipeptitler, örneğin bir disülfür bağı aracılığıyla kovalent olarak bağlanır. Bazı uygulamalarda Fc domeni alt birimlerinin her biri, L234A, L235A ve P329G amino asit ornataımlarını içerir.

Belirli bir uygulamada immünokonjugat, Tenasin C'nin A2 domeni (TNC-A2) için spesifik olan en az bir, tipik olarak iki veya daha fazla antijen bağlayıcı parça içerir. Spesifik bir uygulamada, immünokonjugatın antijen bağlayıcı parçaları, SEQ ID NO: 27, SEQ ID NO: 159, SEQ ID NO: 163, SEQ ID NO: 167, SEQ ID NO: 171, SEQ

ID NO:175, SEQ ID NO: 179, SEQ ID NO: 183 ve SEQ ID NO: 187 veya bunların işlevselliğini muhafaza eden varyantları grubundan seçilen bir sekans ile en az yaklaşık %80, %85, %90, %95, %96, %97, %98, %99 veya %100 özdeş olan bir ağır zincir değişken bölge sekansı içerir. Bir başka spesifik uygulamada, immünokonjugatın antijen bağlayıcı parçaları, SEQ ID NO: 23, SEQ ID NO: 25; SEQ ID NO: 157, SEQ ID NO: 161, SEQ ID NO: 165, SEQ ID NO: 169, SEQ ID NO: 173, SEQ ID NO: 177, SEQ ID NO: 181 ve SEQ ID NO: 185 veya bunların işlevselliğini muhafaza eden varyantları grubundan seçilen bir sekans ile en az yaklaşık %80, %85, %90, %95, %96, %97, %98, %99 veya %100 özdeş olan bir hafif zincir değişken bölge sekansı içerir. Daha spesifik bir uygulamada, immünokonjugatın antijen bağlayıcı parçaları SEQ ID NO: 27, SEQ ID NO: 159, SEQ ID NO: 163, SEQ ID NO: 167, SEQ ID NO: 171, SEQ ID NO: 175, SEQ ID NO: 179, SEQ ID NO: 183 ve SEQ ID NO: 187 veya bunların işlevselliğini muhafaza eden varyantları grubundan seçilen bir sekans ile en az yaklaşık %80, %85, %90, %95, %96, %97, %98, %99 veya %100 özdeş olan bir ağır zincir değişken bölge sekansı ve SEQ ID NO: 23, SEQ ID NO: 25; SEQ ID NO: 157, SEQ ID NO: 161, SEQ ID NO: 165, SEQ ID NO: 169, SEQ ID NO: 173, SEQ ID NO: 177, SEQ ID NO: 181 ve SEQ ID NO: 185 veya bunların işlevselliğini muhafaza eden varyantları grubundan seçilen bir sekans ile en az yaklaşık %80, %85, %90, %95, %96, %97, %98, %99 veya %100 ile özdeş olan bir hafif zincir değişken bölge sekansı içerir. Belirli bir uygulamada immünokonjugatın antijen bağlayıcı parçaları, SEQ ID NO: 27'nin ağır zincir değişken bölgesi ve SEQ ID NO: 25'in hafif zincir değişken bölgesini içerir.

Bir başka spesifik uygulamada immünokonjugatın antijen bağlayıcı parçalarının ağır zincir değişken bölge sekansı, SEQ ID NO: 28, SEQ ID NO: 160, SEQ ID NO: 164, SEQ ID NO: 168, SEQ ID NO: 172, SEQ ID NO: 176, SEQ ID NO: 180, SEQ ID NO: 184 ve SEQ ID NO: 188 grubundan seçilen bir sekans ile en az yaklaşık %80, %85, %90, %95, %96, %97, %98 veya %99 özdeş olan bir polinükleotit sekansı tarafından kodlanır. Daha başka bir spesifik uygulamada

immünokonjugatın antijen bağlayıcı parçalarının ağır zincir değişken bölge sekansı, SEQ ID NO: 28, SEQ ID NO: 160, SEQ ID NO: 164, SEQ ID NO: 168, SEQ ID NO: 172, SEQ ID NO: 176, SEQ ID NO: 180, SEQ ID NO: 184 ve SEQ ID NO: 188 grubundan seçilen bir polipeptit sekansı tarafından kodlanır. Bir başka spesifik uygulamada, immünokonjugatın antijen bağlayıcı parçalarının hafif zincir değişken bölge sekansı, SEQ ID NO: 24, SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO: 158, SEQ ID NO: 162, SEQ ID NO: 166, SEQ ID NO: 170, SEQ ID NO: 174, SEQ ID NO: 178, SEQ ID NO: 182 ve SEQ ID NO: 186 grubundan seçilen bir sekans ile en az yaklaşık %80, %85, %90, %95, %96, %97, %98 veya %99 özdeş olan bir polinükleotit sekansı tarafından kodlanır. Daha başka bir spesifik uygulamada immünokonjugatın antijen bağlayıcı parçalarının hafif zincir değişken bölge sekansı, SEQ ID NO: 24, SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO: 158, SEQ ID NO: 162, SEQ ID NO: 166, SEQ ID NO: 170, SEQ ID NO: 174, SEQ ID NO: 178, SEQ ID NO: 182 ve SEQ ID NO: 186 grubundan seçilen bir polipeptit sekansı tarafından kodlanır.

Başka bir uygulamada immünokonjugat, Tenasin C'nin A2 domeni için spesifik bir Fab ağır zincirinin, bir IL-10 polipeptiti ile bir karboksi terminal peptit bağı paylaşan, bir delik modifikasyonu içeren bir Fc domeni alt birimi ile bir karboksi terminal peptit bağı paylaştığı bir polipeptit sekansını içerir. Daha spesifik bir uygulamada immünokonjugat, SEQ ID NO: 235 veya SEQ ID NO: 237 veya bunun işlevselliğini muhafaza eden bir varyantının polipeptit sekansını içerir. Bir uygulamada immünokonjugat, Tenasin C'nin A2 domeni için spesifik bir Fab ağır zincirinin, bir topuz modifikasyonu içeren bir Fc domeni alt birimi ile bir karboksi terminal peptit bağı paylaştığı bir polipeptit sekansını içerir. Daha spesifik bir uygulamada immünokonjugat, SEQ ID NO: 233 veya bunun işlevselliğini muhafaza eden bir varyantının polipeptit sekansını içerir. Başka bir uygulamada immünokonjugat, Tenasin C'nin A2 domeni için spesifik bir Fab hafif zincirini içerir. Daha spesifik bir uygulamada immünokonjugat, SEQ ID NO: 239 veya bunun işlevselliğini muhafaza eden bir varyantını polipeptit sekansını

içerir. Yine bir başka uygulamada immünokonjugat, SEQ ID NO: 233, SEQ ID NO: 235 ve SEQ ID NO: 239 veya bunların işlevselliği muhafaza eden varyantlarının polipeptit sekanslarını içerir. Yine bir başka uygulamada immünokonjugat, SEQ ID NO: 233, SEQ ID NO: 237 ve SEQ ID NO: 239 veya bunların işlevselliği muhafaza eden varyantlarının polipeptit sekanslarını içerir. Başka bir spesifik uygulamada, polipeptitler, örneğin bir disülfür bağı ile kovalent olarak bağlanır. Bazı uygulamalarda Fc domeni alt birimlerinin her biri, L234A, L235A ve P329G amino asit ornatımlarını içerir.

10

Bir başka spesifik uygulamada, immünokonjugat, SEQ ID NO: 236 ya da SEQ ID NO: 238'in sekansına en az yaklaşık %80, %85, %90, %95, %96, %97, %98 veya %99 özdeş olan bir polipeptit sekansı tarafından kodlanan bir polipeptit sekansı içerir. Başka bir spesifik uygulamada immünokonjugat, SEQ ID NO: 236 veya SEQ ID NO: 238'in polinükleotit sekansı tarafından kodlanan bir polipeptit sekansı içerir. Bir başka spesifik uygulamada, immünokonjugat, SEQ ID NO: 234'ün sekansı ile en az yaklaşık %80, %85, %90, %95, %96, %97, %98 veya %99 özdeş olan bir polipeptit sekansı tarafından kodlanan bir polipeptit sekansı içerir. Daha başka bir spesifik uygulamada, immünokonjugat, SEQ ID NO: 234'ün polinükleotit sekansı tarafından kodlanan bir polipeptit sekansı içerir. Bir başka spesifik uygulamada, immünokonjugat, SEQ ID NO: 240'ın sekansı ile en az yaklaşık %80, %85, %90, %95, %96, %97, %98 veya %99 özdeş olan bir polipeptit sekansı tarafından kodlanan bir polipeptit sekansı içerir. Daha başka bir spesifik uygulamada, immünokonjugat, SEQ ID NO: 240'ın polinükleotit sekansı tarafından kodlanan bir polipeptit sekansı içerir.

30

Başka bir uygulamada immünokonjugat, Tenasin C'nin A2 domeni için spesifik bir Fab ağır zincirinin, bir IL-2 polipeptiti ile bir karboksi terminal peptit bağı paylaşan, bir topuz modifikasyonu içeren bir Fc domeni alt birimi ile bir karboksi terminal peptit bağı paylaştığı bir polipeptit sekansını içerir. Daha spesifik bir uygulamada immünokonjugat, SEQ ID NO: 285 veya bunun

35

işlevselliğini muhafaza eden bir varyantının polipeptit sekansını içerir. Bir uygulamada immünokonjugat, Tenasin C'nin A2 domeni için spesifik bir Fab ağır zincirinin, bir delik modifikasyonu içeren bir Fc domeni alt birimi ile bir karboksi terminal peptit 5 bağı paylaştığı bir polipeptit sekansını içerir. Daha spesifik bir uygulamada immünokonjugat, SEQ ID NO: 287 veya bunun işlevselliğini muhafaza eden bir varyantının polipeptit sekansını içerir. Başka bir uygulamada immünokonjugat, Tenasin C'nin A2 domeni için spesifik bir Fab hafif zincirini içerir. Daha spesifik 10 bir uygulamada immünokonjugat, SEQ ID NO: 239 veya bunun işlevselliğini muhafaza eden bir varyantını polipeptit sekansını içerir. Yine bir başka uygulamada immünokonjugat, SEQ ID NO: 285, SEQ ID NO: 287 ve SEQ ID NO: 239 veya bunların işlevselliği muhafaza eden varyantlarının polipeptit sekanslarını içerir. Başka bir 15 spesifik uygulamada, polipeptitler, örneğin bir disülfür bağı ile kovalent olarak bağlanır. Bazı uygulamalarda Fc domeni alt birimlerinin her biri, L234A, L235A ve P329G amino asit ornatımlarını içerir.

20 Bir spesifik uygulamada, immünokonjugat, SEQ ID NO: 286'nın sekansı ile en az yaklaşık %80, %85, %90, %95, %96, %97, %98 veya %99 özdeş olan bir polipeptit sekansı tarafından kodlanan bir polipeptit sekansı içerir. Bir başka spesifik uygulamada, immünokonjugat, SEQ ID NO: 286'nın polinükleotit sekansı 25 tarafından kodlanan bir polipeptit sekansı içerir. Bir başka spesifik uygulamada, immünokonjugat, SEQ ID NO: 288'in sekansı ile en az yaklaşık %80, %85, %90, %95, %96, %97, %98 veya %99 özdeş olan bir polipeptit sekansı tarafından kodlanan bir polipeptit sekansı içerir. Daha başka bir spesifik uygulamada, 30 immünokonjugat, SEQ ID NO: 288'in polinükleotit sekansı tarafından kodlanan bir polipeptit sekansı içerir. Bir başka spesifik uygulamada, immünokonjugat, SEQ ID NO: 240'ın sekansı ile en az yaklaşık %80, %85, %90, %95, %96, %97, %98 veya %99 özdeş olan bir polipeptit sekansı tarafından kodlanan bir polipeptit sekansı 35 içerir. Daha başka bir spesifik uygulamada, immünokonjugat, SEQ

ID NO: 240'ın polinükleotit sekansı tarafından kodlanan bir polipeptit sekansı içerir.

Belirli bir uygulamada, immünokonjugat, Fibroblast Aktive
5 Proteini (FAP) için spesifik olan en az bir, tipik olarak iki veya
daha fazla antijen bağlayıcı parça içerir. Spesifik bir
uygulamada, immünokonjugatın antijen bağlayıcı parçaları, SEQ ID
NO: 41, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 47, SEQ ID NO: 51, SEQ ID NO:
55, SEQ ID NO: 59, SEQ ID NO: 63, SEQ ID NO: 67, SEQ ID NO: 71,
10 SEQ ID NO: 75, SEQ ID NO: 79, SEQ ID NO: 83, SEQ ID NO: 87, SEQ
ID NO: 91, SEQ ID NO: 95, SEQ ID NO: 99, SEQ ID NO: 103, SEQ ID
NO: 107, SEQ ID NO: 111, SEQ ID NO: 115, SEQ ID NO: 119, SEQ ID
NO: 123, SEQ ID NO: 127, SEQ ID NO: 131, SEQ ID NO: 135, SEQ ID
NO: 139, SEQ ID NO: 143, SEQ ID NO: 147, SEQ ID NO: 151 ve SEQ ID
15 NO: 155 veya bunların işlevselliğini muhafaza eden varyantlarından
oluşan gruptan seçilen bir sekans ile en az yaklaşık %80, %85, %90,
%95, %96, %97, %98, %99 veya %100 özdeş olan bir ağır zincir
değişken bölge sekansı içerir. Başka bir spesifik uygulamada
immünokonjugatın antijen bağlayıcı parçaları, aşağıdakilerden
20 oluşan gruptan seçilen bir sekansa en az yaklaşık %80, %85, %90,
%95, %96, %97, %98, %99 veya %100 özdeş olan bir hafif zincir
değişken bölge sekansı içerir: SEQ ID NO: 37, SEQ ID NO: 39, SEQ
ID NO: 43, SEQ ID NO: 49, SEQ ID NO: 53, SEQ ID NO: 57, SEQ ID NO:
61, SEQ ID NO: 65, SEQ ID NO: 69, SEQ ID NO: 73, SEQ ID NO: 77,
25 SEQ ID NO: 81, SEQ ID NO: 85, SEQ ID NO: 89, SEQ ID NO: 93, SEQ
ID NO: 97, SEQ ID NO: 101, SEQ ID NO: 105, SEQ ID NO: 109, SEQ ID
NO: 113, SEQ ID NO: 117, SEQ ID NO: 121, SEQ ID NO: 125, SEQ ID
NO: 129, SEQ ID NO: 133, SEQ ID NO: 137, SEQ ID NO: 141, SEQ ID
NO: 145, SEQ ID NO: 149 ve SEQ ID NO: 153 ve bunların işlevselliğini
30 muhafaza eden varyantları. Daha spesifik bir uygulamada
immünokonjugatın antijen bağlayıcı parçaları, SEQ ID NO: 41, SEQ
ID NO: 45, SEQ ID NO: 47, SEQ ID NO: 51, SEQ ID NO: 55, SEQ ID NO:
59, SEQ ID NO: 63, SEQ ID NO: 67, SEQ ID NO: 71, SEQ ID NO: 75,
SEQ ID NO: 79, SEQ ID NO: 83, SEQ ID NO: 87, SEQ ID NO: 91, SEQ
35 ID NO: 95, SEQ ID NO: 99, SEQ ID NO: 103, SEQ ID NO: 107, SEQ ID

NO: 111, SEQ ID NO: 115, SEQ ID NO: 119, SEQ ID NO: 123, SEQ ID NO: 127, SEQ ID NO: 131, SEQ ID NO: 135, SEQ ID NO: 139, SEQ ID NO: 143, SEQ ID NO: 147, SEQ ID NO: 151 ve SEQ ID NO: 155 veya bunların işlevselliğini muhafaza eden varyantlarından oluşan

5 gruptan seçilen bir sekansa en az yaklaşık %80, %85, %90, %95, %96, %97, %98, %99 veya %100 özdeş olan bir ağır zincir değişken bölge sekansını ve aşağıdakilerden oluşan gruptan seçilen bir sekansa en az yaklaşık %80, %85, %90, %95, %96, %97, %98, %99 veya %100 özdeş olan bir hafif zincir değişken bölge sekansı içerir: SEQ ID

10 NO: 37, SEQ ID NO: 39, SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 49, SEQ ID NO: 53, SEQ ID NO: 57, SEQ ID NO: 61, SEQ ID NO: 65, SEQ ID NO: 69, SEQ ID NO: 73, SEQ ID NO: 77, SEQ ID NO: 81, SEQ ID NO: 85, SEQ ID NO: 89, SEQ ID NO: 93, SEQ ID NO: 97, SEQ ID NO: 101, SEQ ID NO: 105, SEQ ID NO: 109, SEQ ID NO: 113, SEQ ID NO: 117, SEQ ID

15 NO: 121, SEQ ID NO: 125, SEQ ID NO: 129, SEQ ID NO: 133, SEQ ID NO: 137, SEQ ID NO: 141, SEQ ID NO: 145, SEQ ID NO: 149 ve SEQ ID NO: 153 ve bunların işlevselliğini muhafaza eden varyantları. Belirli bir uygulamada immünokonjugatın antijen bağlayıcı parçaları, SEQ ID NO: 111'in ağır zincir değişken bölgesi ve SEQ

20 ID NO: 109'un hafif zincir değişken bölgesini içerir. Belirli başka bir uygulamada immünokonjugatın antijen bağlayıcı parçaları, SEQ ID NO: 143'ün ağır zincir değişken bölgesi ve SEQ ID NO: 141'in hafif zincir değişken bölgesini içerir. Belirli başka bir uygulamada immünokonjugatın antijen bağlayıcı parçaları, SEQ ID

25 NO: 51'in ağır zincir değişken bölgesi ve SEQ ID NO: 49'un hafif zincir değişken bölgesini içerir.

Bir başka spesifik uygulamada, immünokonjugatın antijen bağlayıcı parçalarının ağır zincir değişken bölge sekansı, aşağıdakilerden

30 oluşan gruptan seçilen bir sekans ile en az yaklaşık %80, %85, %90, %95, %96, %97, %98 veya %99 özdeş olan bir polipeptit sekansı tarafından kodlanır: SEQ ID NO: 42, SEQ ID NO: 46, SEQ ID NO: 48, SEQ ID NO: 52, SEQ ID NO: 56, SEQ ID NO: 60, SEQ ID NO: 64, SEQ ID NO: 68, SEQ ID NO: 72, SEQ ID NO: 76, SEQ ID NO: 80, SEQ ID NO:

35 84, SEQ ID NO: 88, SEQ ID NO: 92, SEQ ID NO: 96, SEQ ID NO: 100,

SEQ ID NO: 104, SEQ ID NO: 108, SEQ ID NO: 112, SEQ ID NO: 116, SEQ ID NO: 120, SEQ ID NO: 124, SEQ ID NO: 128, SEQ ID NO: 132, SEQ ID NO: 136, SEQ ID NO: 140, SEQ ID NO: 144, SEQ ID NO: 148, SEQ ID NO: 152 ve SEQ ID NO: 156. Daha başka bir spesifik uygulamada,

5 immünokonjugatın antijen bağlayıcı parçalarının ağır zincir değişken bölge sekansı, aşağıdakilerden oluşan gruptan seçilen bir polinükleotit sekansı tarafından kodlanır: SEQ ID NO: 42, SEQ ID NO: 46, SEQ ID NO: 48, SEQ ID NO: 52, SEQ ID NO: 56, SEQ ID NO: 60, SEQ ID NO: 64, SEQ ID NO: 68, SEQ ID NO: 72, SEQ ID NO: 76,

10 SEQ ID NO: 80, SEQ ID NO: 84, SEQ ID NO: 88, SEQ ID NO: 92, SEQ ID NO: 96, SEQ ID NO: 100, SEQ ID NO: 104, SEQ ID NO: 108, SEQ ID NO: 112, SEQ ID NO: 116, SEQ ID NO: 120, SEQ ID NO: 124, SEQ ID NO: 128, SEQ ID NO: 132, SEQ ID NO: 136, SEQ ID NO: 140, SEQ ID NO: 144, SEQ ID NO: 148, SEQ ID NO: 152 ve SEQ ID NO: 156. Bir başka

15 spesifik uygulamada, immünokonjugatın antijen bağlayıcı parçalarının hafif zincir değişken bölge sekansı, aşağıdakilerden oluşan gruptan seçilen bir sekans ile en az yaklaşık %80, %85, %90, %95, %96, %97, %98 veya %99 özdeş olan bir polipeptit sekansı tarafından kodlanır: SEQ ID NO: 38, SEQ ID NO: 40, SEQ ID NO: 44,

20 SEQ ID NO: 50, SEQ ID NO: 54, SEQ ID NO: 58, SEQ ID NO: 62, SEQ ID NO: 66, SEQ ID NO: 70, SEQ ID NO: 74, SEQ ID NO: 78, SEQ ID NO: 82, SEQ ID NO: 86, SEQ ID NO: 90, SEQ ID NO: 94, SEQ ID NO: 98, SEQ ID NO: 102, SEQ ID NO: 106, SEQ ID NO: 110, SEQ ID NO: 114, SEQ ID NO: 118, SEQ ID NO: 122, SEQ ID NO: 126, SEQ ID NO: 130,

25 SEQ ID NO: 134, SEQ ID NO: 138, SEQ ID NO: 142, SEQ ID NO: 146, SEQ ID NO: 150 ve SEQ ID NO: 154. Daha başka bir spesifik uygulamada, immünokonjugatın antijen bağlayıcı parçalarının hafif zincir değişken bölge sekansı, aşağıdakilerden oluşan gruptan seçilen bir polinükleotit sekansı tarafından kodlanır: SEQ ID NO: 38, SEQ ID

30 NO: 40, SEQ ID NO: 44, SEQ ID NO: 50, SEQ ID NO: 54, SEQ ID NO: 58, SEQ ID NO: 62, SEQ ID NO: 66, SEQ ID NO: 70, SEQ ID NO: 74, SEQ ID NO: 78, SEQ ID NO: 82, SEQ ID NO: 86, SEQ ID NO: 90, SEQ ID NO: 94, SEQ ID NO: 98, SEQ ID NO: 102, SEQ ID NO: 106, SEQ ID NO: 110, SEQ ID NO: 114, SEQ ID NO: 118, SEQ ID NO: 122, SEQ ID

NO: 126, SEQ ID NO: 130, SEQ ID NO: 134, SEQ ID NO: 138, SEQ ID NO: 142, SEQ ID NO: 146, SEQ ID NO: 150 ve SEQ ID NO: 154.

Bir uygulamada immünokonjugat, FAP için spesifik bir Fab ağır zincirinin, bir IL-2 polipeptiti ile bir karboksi terminal peptit bağı paylaştığı, bir topuz modifikasyonu içeren bir Fc domeni alt birimi ile bir karboksi terminal peptit bağı paylaştığı bir polipeptit sekansını içerir. Daha spesifik bir uygulamada immünokonjugat, SEQ ID NO: 195, SEQ ID NO: 197, SEQ ID NO: 203, SEQ ID NO: 209, SEQ ID NO: 269, SEQ ID NO: 271 ve SEQ ID NO: 273 veya bunların işlevselliğini muhafaza eden varyantlarından oluşan gruptan seçilen bir polipeptit sekansı içerir. Bir uygulamada immünokonjugat, FAP için spesifik bir Fab ağır zincirinin, bir IL-15 polipeptiti ile bir karboksi terminal peptit bağı paylaştığı, bir topuz modifikasyonu içeren bir Fc domeni alt birimi ile bir karboksi terminal peptit bağı paylaştığı bir polipeptit sekansını içerir. Daha spesifik bir uygulamada immünokonjugat, SEQ ID NO: 199 veya bunun işlevselliğini muhafaza eden bir varyantının polipeptit sekansını içerir. Bir uygulamada immünokonjugat, FAP için spesifik bir Fab ağır zincirinin, bir delik modifikasyonu içeren bir Fc domeni alt birimi ile bir karboksi terminal peptit bağı paylaştığı bir polipeptit sekansını içerir. Daha spesifik başka bir uygulamada immünokonjugat, SEQ ID NO: 193, SEQ ID NO: 201 ve SEQ ID NO: 207'nin veya bunların işlevselliği muhafaza eden varyantlarından oluşan gruptan seçilen bir polipeptit sekansını içerir. Başka bir uygulamada immünokonjugat, FAP için spesifik bir Fab hafif zinciri içerir. Daha spesifik bir uygulamada immünokonjugat, SEQ ID NO: 205 veya SEQ ID NO: 211 veya bunun işlevselliğini muhafaza eden bir varyantının polipeptit sekansını içerir. Başka bir uygulamada immünokonjugat, SEQ ID NO: 205'in polipeptit sekansını, SEQ ID NO: 193'ün polipeptit sekansını ve SEQ ID NO: 195, SEQ ID NO: 197, SEQ ID NO: 199 ve SEQ ID NO: 269 veya bunların işlevselliğini muhafaza eden varyantlarından oluşan gruptan seçilen bir polipeptit sekansını içerir. Yine bir başka uygulamada immünokonjugat, SEQ ID NO: 201, SEQ ID NO: 203 ve SEQ

ID NO: 205'in veya bunların işlevselliği muhafaza eden varyantlarının polipeptit sekanslarını içerir. Yine bir başka uygulamada immünokonjugat, SEQ ID NO: 207, SEQ ID NO: 209 ve SEQ ID NO: 211'in veya bunların işlevselliği muhafaza eden varyantlarının polipeptit sekanslarını içerir. Yine bir başka uygulamada immünokonjugat, SEQ ID NO: 205, SEQ ID NO: 193 ve SEQ ID NO: 269'un veya bunların işlevselliği muhafaza eden varyantlarının polipeptit sekanslarını içerir. Yine bir başka uygulamada immünokonjugat, SEQ ID NO: 211, SEQ ID NO: 207 ve SEQ ID NO: 271'in veya bunların işlevselliği muhafaza eden varyantlarının polipeptit sekanslarını içerir. Yine bir başka uygulamada immünokonjugat, SEQ ID NO: 211, SEQ ID NO: 207 ve SEQ ID NO: 273'ün veya bunların işlevselliği muhafaza eden varyantlarının polipeptit sekanslarını içerir. Başka bir spesifik uygulamada, polipeptitler, örneğin bir disülfür bağı ile kovalent olarak bağlanır. Bazı uygulamalarda Fc domeni alt birimlerinin her biri, L234A, L235A ve P329G amino asit ornatımlarını içerir.

Başka bir uygulamada immünokonjugat, FAP için spesifik bir Fab ağır zincirinin, bir IL-10 polipeptiti ile bir karboksi terminal peptit bağı paylaşan, bir delik modifikasyonu içeren bir Fc domeni alt birimi ile bir karboksi terminal peptit bağı paylaştığı bir polipeptit sekansını içerir. Daha spesifik bir uygulamada immünokonjugat, SEQ ID NO: 243 veya SEQ ID NO: 245 veya bunun işlevselliğini muhafaza eden bir varyantının polipeptit sekansını içerir. Bir uygulamada immünokonjugat, FAP için spesifik bir Fab ağır zincirinin, bir topuz modifikasyonu içeren bir Fc domeni alt birimi ile bir karboksi terminal peptit bağı paylaştığı bir polipeptit sekansını içerir. Daha spesifik bir uygulamada immünokonjugat, SEQ ID NO: 241 veya bunun işlevselliğini muhafaza eden bir varyantının polipeptit sekansını içerir. Başka bir uygulamada immünokonjugat, FAP için spesifik bir Fab hafif zinciri içerir. Daha spesifik bir uygulamada immünokonjugat, SEQ ID NO: 205 veya bunun işlevselliğini muhafaza eden bir varyantının polipeptit sekansını içerir. Yine bir başka uygulamada

immünokonjugat, SEQ ID NO: 205, SEQ ID NO: 241 ve SEQ ID NO: 243'ün veya bunların işlevselliği muhafaza eden varyantlarının polipeptit sekanslarını içerir. Yine bir başka uygulamada immünokonjugat, SEQ ID NO: 205, SEQ ID NO: 241 ve SEQ ID NO: 245'in veya bunların işlevselliği muhafaza eden varyantlarının polipeptit sekanslarını içerir. Başka bir spesifik uygulamada, polipeptitler, örneğin bir disülfür bağı ile kovalent olarak bağlanır. Bazı uygulamalarda Fc domeni alt birimlerinin her biri, L234A, L235A ve P329G amino asit ornatımlarını içerir.

10

Bir spesifik uygulamada, immünokonjugat, SEQ ID NO: 196, SEQ ID NO: 198, SEQ ID NO: 200, SEQ ID NO: 204, SEQ ID NO: 210, SEQ ID NO: 244, SEQ ID NO: 246, SEQ ID NO: 270, SEQ ID NO: 272 ve SEQ ID NO: 274 grubundan seçilen bir sekans ile en az yaklaşık %80, %85,

15

%90, %95, %96, %97, %98 veya %99 özdeş olan bir polinükleotit sekansı tarafından kodlanan bir polipeptit sekansı içerir. Daha başka bir spesifik uygulamada, immünokonjugat, SEQ ID NO: 196, SEQ ID NO: 198, SEQ ID NO: 200, SEQ ID NO: 204, SEQ ID NO: 210, SEQ ID NO: 244, SEQ ID NO: 246, SEQ ID NO: 270, SEQ ID NO: 272, ve SEQ

20

ID NO: 274 grubundan seçilen bir polipeptit sekansı tarafından kodlanan bir polipeptit sekansı içerir. Bir başka spesifik uygulamada, immünokonjugat, SEQ ID NO: 194, SEQ ID NO: 202, SEQ ID NO: 208 ve SEQ ID NO: 242 grubundan seçilen bir sekans ile en az yaklaşık %80, %85, %90, %95, %96, %97, %98 veya %99 özdeş olan

25

bir polipeptit sekansı tarafından kodlanan bir polipeptit sekansı içerir. Daha başka bir spesifik uygulamada, immünokonjugat, SEQ ID NO: 194, SEQ ID NO: 202, SEQ ID NO: 208 ve SEQ ID NO: 242 grubundan seçilen bir polipeptit sekansı tarafından kodlanan bir polipeptit sekansı içerir. Bir başka spesifik uygulamada, immünokonjugat, SEQ

30

ID NO: 206 ya da SEQ ID NO: 212'nin sekansına en az yaklaşık %80, %85, %90, %95, %96, %97, %98 veya %99 özdeş olan bir polipeptit sekansı tarafından kodlanan bir polipeptit sekansı içerir. Daha başka bir spesifik uygulamada, immünokonjugat, SEQ ID NO: 206 veya SEQ ID NO: 212'nin polinükleotit sekansı tarafından kodlanan bir

35

polipeptit sekansı içerir.

Bir uygulamada, immünokonjugat, Karsinoembriyonik Antijen (CEA) için spesifik olan en az bir, tipik olarak iki veya daha fazla antijen bağlayıcı parça içerir. Spesifik bir uygulamada, 5 immünokonjugatın antijen bağlayıcı parçaları, SEQ ID NO: 191 ya da SEQ ID NO: 295'in sekansı veya bunların işlevselliğini muhafaza eden bir varyantı ile en az yaklaşık %80, %85, %90, %95, %96, %97, %98, %99 veya %100 özdeş olan bir ağır zincir değişken bölge sekansı içerir. Başka bir spesifik uygulamada, immünokonjugatın antijen 10 bağlayıcı parçaları, SEQ ID NO: 189 ya da SEQ ID NO: 293' n sekansı veya bunların işlevselliğini muhafaza eden bir varyantı ile en az yaklaşık %80, %85, %90, %95, %96, %97, %98, %99 veya %100 özdeş olan bir hafif zincir değişken bölge sekansı içerir. Spesifik bir uygulamada, immünokonjugatın antijen bağlayıcı parçaları, SEQ ID 15 NO: 191'in sekansına veya bunun işlevselliğini muhafaza eden bir varyantına en az yaklaşık %80, %85, %90, %95, %96, %97, %98, %99 veya %100 özdeş olan bir ağır zincir değişken bölge sekansı ve SEQ ID NO: 189'un sekansına veya bunun işlevselliğini muhafaza eden bir varyantına en az yaklaşık %80, %85, %90, %95, %96, %97, %98, 20 %99 veya %100 özdeş olan bir hafif zincir değişken bölge sekansı içerir. Başka bir spesifik uygulamada, immünokonjugatın antijen bağlayıcı parçaları, SEQ ID NO: 295'in sekansına veya bunun işlevselliğini muhafaza eden bir varyantına en az yaklaşık %80, %85, %90, %95, %96, %97, %98, %99 veya %100 özdeş olan bir ağır 25 zincir değişken bölge sekansı ve SEQ ID NO: 293' n sekansına veya bunun işlevselliğini muhafaza eden bir varyantına en az yaklaşık %80, %85, %90, %95, %96, %97, %98, %99 veya %100 özdeş olan bir hafif zincir değişken bölge sekansı içerir.

30 Bir başka spesifik uygulamada, immünokonjugatın antijen bağlayıcı parçalarının ağır zincir değişken bölge sekansı, SEQ ID NO: 192 veya SEQ ID NO: 296'nın sekansı ile en az yaklaşık %80, %85, %90, %95, %96, %97, %98 veya %99 özdeş olan bir polipeptit sekansı tarafından kodlanır. Başka bir spesifik uygulamada, immünokonjugatın antijen 35 bağlayıcı parçalarının ağır zincir değişken bölge sekansı, SEQ ID

NO: 192 ya da SEQ ID NO: 296'nın polinükleotit sekansı tarafından kodlanır. Bir başka özel uygulamada, immünokonjugatın antijen bağlayıcı parçalarının hafif zincir değişken bölge sekansı, SEQ ID NO: 190 ya da SEQ ID NO: 294'ün sekansına en az yaklaşık %80, %85, %90, %95, %96, %97, %98 veya %99 özdeş olan bir polipeptit sekansı tarafından kodlanır. Başka bir spesifik uygulamada, immünokonjugatın antijen bağlayıcı parçalarının hafif zincir değişken bölge sekansı, SEQ ID NO: 190 ya da SEQ ID NO: 294'ün polinükleotit sekansı tarafından kodlanır.

10

Bir uygulamada immünokonjugat, CEA için spesifik bir Fab ağır zincirinin, bir IL-2 polipeptiti ile bir karboksi terminal peptit bağı paylaşan, bir topuz modifikasyonu içeren bir Fc domeni alt birimi ile bir karboksi terminal peptit bağı paylaştığı bir polipeptit sekansını içerir. Daha spesifik başka bir uygulamada immünokonjugat, SEQ ID NO: 229, SEQ ID NO: 275, SEQ ID NO: 277 ve SEQ ID NO: 279'un veya bunların işlevselliği muhafaza eden bir varyantından oluşan gruptan seçilen bir polipeptit sekansını içerir. Bir uygulamada immünokonjugat, CEA için spesifik bir Fab ağır zincirinin, bir delik modifikasyonu içeren bir Fc domeni alt birimi ile bir karboksi terminal peptit bağı paylaştığı bir polipeptit sekansını içerir. Daha spesifik bir uygulamada immünokonjugat, SEQ ID NO: 227 veya SEQ ID NO: 281 veya bunun işlevselliğini muhafaza eden bir varyantının polipeptit sekansını içerir. Başka bir uygulamada immünokonjugat, CEA için spesifik bir Fab hafif zinciri içerir. Daha spesifik bir uygulamada immünokonjugat, SEQ ID NO: 231 veya SEQ ID NO: 283 veya bunun işlevselliğini muhafaza eden bir varyantının polipeptit sekansını içerir. Yine bir başka uygulamada immünokonjugat, SEQ ID NO: 227, SEQ ID NO: 229 ve SEQ ID NO: 231'in veya bunların işlevselliği muhafaza eden varyantlarının polipeptit sekanslarını içerir. Yine bir başka uygulamada immünokonjugat, SEQ ID NO: 275, SEQ ID NO: 281 ve SEQ ID NO: 283'ün veya bunların işlevselliği muhafaza eden varyantlarının polipeptit sekanslarını içerir. Yine bir başka uygulamada immünokonjugat, SEQ ID NO: 277, SEQ ID NO: 281 ve SEQ

ID NO: 283'ün veya bunların işlevselliği muhafaza eden varyantlarının polipeptit sekanslarını içerir. Yine bir başka uygulamada immünokonjugat, SEQ ID NO: 279, SEQ ID NO: 281 ve SEQ ID NO: 283'ün veya bunların işlevselliği muhafaza eden varyantlarının polipeptit sekanslarını içerir. Başka bir spesifik uygulamada, polipeptitler, örneğin bir disülfür bağı ile kovalent olarak bağlanır. Bazı uygulamalarda Fc domeni polipeptit zincirleri, L234A, L235A ve P329G amino asit ornatımlarını içerir.

10 Bir spesifik uygulamada, immünokonjugat, SEQ ID NO: 230, SEQ ID NO: 276, SEQ ID NO: 278 ve SEQ ID NO: 280'den oluşan gruptan seçilen bir sekans ile en az yaklaşık %80, %85, %90, %95, %96, %97, %98 veya %99 özdeş olan bir polipeptit sekansı tarafından kodlanan bir polipeptit sekansı içerir. Başka bir spesifik uygulamada, immünokonjugat, SEQ ID NO: 230, SEQ ID NO: 276, SEQ ID NO: 278 ve SEQ ID NO: 280'den oluşan gruptan seçilen polipeptit sekansı tarafından kodlanan bir polipeptit sekansı içerir. Bir başka spesifik uygulamada, immünokonjugat, SEQ ID NO: 228 ya da SEQ ID NO: 282'nin sekansına en az yaklaşık %80, %85, %90, %95, %96, %97, %98 veya %99 özdeş olan bir polipeptit sekansı tarafından kodlanan bir polipeptit sekansı içerir. Daha başka bir spesifik uygulamada, immünokonjugat, SEQ ID NO: 228 veya SEQ ID NO: 282'nin polinükleotit sekansı tarafından kodlanan bir polipeptit sekansı içerir. Bir başka spesifik uygulamada, immünokonjugat, SEQ ID NO: 232 ya da SEQ ID NO: 284'ün sekansına en az yaklaşık %80, %85, %90, %95, %96, %97, %98 veya %99 özdeş olan bir polipeptit sekansı tarafından kodlanan bir polipeptit sekansı içerir. Daha başka bir spesifik uygulamada, immünokonjugat, SEQ ID NO: 232 veya SEQ ID NO: 284'ün polinükleotit sekansı tarafından kodlanan bir polipeptit sekansı içerir.

Bazı uygulamalarda immünokonjugat, bir efektör parça polipeptitinin, bir topuz modifikasyonu içeren bir Fc domeni alt birimi ile bir karboksi terminal peptit bağı paylaştığı bir polipeptit sekansını içerir. Daha spesifik başka bir uygulamada

immünokonjugat, SEQ ID NO: 247, SEQ ID NO: 249 ve SEQ ID NO: 251'in veya bunların işlevselliği muhafaza eden bir varyantından oluşan gruptan seçilen bir polipeptit sekansını içerir. Böyle bir uygulamada immünokonjugat ayrıca, FAP için spesifik bir Fab ağır zincirinin, bir delik modifikasyonu içeren bir Fc domeni alt birimi ile bir karboksi terminal peptit bağı paylaştığı bir polipeptit sekansını içerir. Daha spesifik başka bir uygulamada immünokonjugat, SEQ ID NO: 193, SEQ ID NO: 201 ve SEQ ID NO: 207'nin veya bunların işlevselliği muhafaza eden bir varyantından oluşan gruptan seçilen bir polipeptit sekansını içerir. Böyle başka bir uygulamada immünokonjugat ayrıca, EDB, TNC A1, TNC A2 veya CEA için spesifik bir Fab ağır zincirinin, bir delik modifikasyonu içeren bir Fc domeni alt birimi ile bir karboksi terminal peptit bağı paylaştığı bir polipeptit sekansını içerir. Bazı uygulamalarda Fc domeni alt birimlerinin her biri, L234A, L235A ve P329G amino asit ornatımlarını içerir. Yukarıda yer alan uygulamaların herhangi birine göre immünokonjugat ayrıca, ilgili antijen için spesifik olan bir Fab hafif zinciri içerir.

Burada tarif edilen immünokonjugatlar, işlevsel fragmanları veya varyantları da dahil olmak üzere, SEQ ID NO'ları 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, 47, 49, 51, 53, 55, 57, 59, 61, 63, 65, 67, 69, 71, 73, 75, 77, 79, 81, 83, 85, 87, 89, 91, 93, 95, 97, 99, 101, 103, 105, 107, 109, 111, 113, 115, 117, 119, 121, 123, 125, 127, 129, 131, 133, 135, 137, 139, 141, 143, 145, 147, 149, 151, 153, 155, 157, 159, 161, 163, 165, 167, 169, 171, 173, 175, 177, 179, 181, 183, 185, 187, 189, 191, 193, 195, 197, 199, 201, 203, 205, 207, 209, 211, 213, 215, 217, 227, 229, 231, 233, 235, 237, 239, 241, 243, 245, 247, 249, 251, 269, 271, 273, 275, 277, 279, 281, 283, 285 ve 287'de belirtilen sekanslar ile en az yaklaşık %80, %85, %90, %95, %96, %97, %98, %99 veya %100 özdeş olan sekanslara sahip immünokonjugatları içerir. Mevcut açıklama ayrıca, konzervatif amino asit ornatımlarına sahip bu sekansları içeren immünokonjugatları kapsar.

Polinükleotitler

Mevcut açıklama ayrıca, burada tarif edilen bir immünokonjugat veya bunun bir fragmanını kodlayan izole edilmiş polinükleotitler
5 sağlar.

Burada tarif edilen immünokonjugatlar, işlevsel fragmanları veya varyantları da dahil olmak üzere, SEQ ID NO'ları 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60, 62, 64, 66, 68, 70, 72, 74, 76, 78, 80, 82, 84, 86, 88, 90, 92, 94, 96, 98, 100, 102, 104, 106, 108, 110, 112, 114, 116, 118, 120, 122, 124, 126, 128, 130, 132, 134, 136, 138, 140, 142, 144, 146, 148, 150, 152, 154, 156, 158, 160, 162, 164, 166, 168, 170, 172, 174, 176, 178, 180, 182, 184, 186, 188, 190, 192, 194, 196, 198, 200, 202, 204, 206, 208, 210, 212, 214, 216, 218, 228, 230, 232, 234, 236, 238, 240, 242, 244, 246, 248, 250, 252, 270, 272, 274, 276, 278, 280, 282, 284, 286 ve 288'de belirtilen sekanslar ile en az yaklaşık %80, %85, %90, %95, %96, %97, %98, %99 veya %100 özdeş olan sekanslara sahip immünokonjugatları içerir.

Burada tarif edilen şekilde immünokonjugatları kodlayan polinükleotitler, tüm immünokonjugatı kodlayan tek bir polinükleotit olarak ya da birlikte eksprese edilen çoklu (örneğin iki ya da daha fazla) polinükleotit olarak eksprese edilebilir. Birlikte eksprese edilmiş polinükleotitler tarafından kodlanan polipeptitler, işlevsel bir immünokonjugat oluşturmak üzere, örneğin disülfür bağlar ya da diğer yollar aracılığıyla birleştirilebilir. Örneğin, bir antijen bağlayıcı parçanın hafif zincir kısmı, antijen bağlayıcı parçanın hafif zincir kısmını, bir Fc domeni alt birimini ve isteğe bağlı olarak efektör parçasını içeren immünokonjugat kısmından ayrı bir polinükleotit tarafından kodlanabilir. Birlikte eksprese edildiğinde, ağır zincir polipeptitleri, antijen bağlayıcı parça oluşturmak üzere hafif zincir polipeptitleri ile birleşecektir. Başka bir örnekte bir
35 birinci antijen bağlayıcı parçasını ağır zincir kısmı, iki Fc

domeni alt biriminden birini ve efektör parçayı içeren immünokonjugat kısmı, bir ikinci antijen bağlayıcı parçanın ağır zincir kısmı veya iki Fc domeni alt biriminden diğerini içeren immünokonjugat kısmından ayrı bir polinükleotit tarafından kodlanabilir. Birlikte eksprese edildiğinde, Fc domeni alt birimleri, Fc domeni oluşturmak üzere birleşecektir.

Bir uygulamada burada tarif edilen izole edilmiş bir polinükleotit, bir birinci antijen bağlayıcı parça, iki alt birimden oluşan bir Fc domeni ve bir tek efektör parça içeren bir immünokonjugatın bir fragmanını kodlar ve burada antijen bağlayıcı parça, bir ağır zincir değişken bölge ve bir hafif zincir değişken bölge, özellikle bir Fab molekülü içeren bir antijen bağlayıcı domendir. Bir uygulamada, burada tarif edilen şekilde izole edilmiş bir polinükleotit, bir birinci antijen bağlayıcı parçanın ağır zincirini ve Fc domeninin bir alt birimini ve efektör parçayı kodlar. Başka bir uygulamada, burada tarif edilen izole edilmiş bir polinükleotit, birinci antijen bağlayıcı parçanın ağır zincirini ve Fc domeninin bir alt birimini kodlar. Yine başka bir uygulamada, burada tarif edilen izole edilmiş bir polinükleotit, Fc domeninin bir alt birimini ve efektör parçayı kodlar. Daha spesifik bir uygulamada izole edilmiş polinükleotit, bir Fab ağır zincirinin, bir Fc domeni alt birimi ile bir karboksi terminal peptit bağı paylaştığı bir polipeptiti kodlar. Bir başka spesifik uygulamada izole edilmiş polinükleotit, bir Fc domeni alt biriminin, bir efektör parça polipeptit ile bir karboksi terminal peptit bağı paylaştığı bir polipeptiti kodlar. Yine başka bir spesifik uygulamada, izole edilmiş polinükleotit, bir efektör parça polipeptiti ile bir karboksi terminal peptit bağı paylaşan bir Fab ağır zincirinin, bir Fc domeni alt birimi ile bir karboksi terminal peptit bağı paylaştığı bir polipeptiti kodlar. Yine başka bir spesifik uygulamada izole edilmiş polinükleotit, bir efektör parçanın, bir Fc domeni alt birimi ile bir karboksi terminal peptit bağı paylaştığı bir polipeptiti kodlar.

Bir başka uygulamada, mevcut açıklama, bir immünokonjugatı veya fragmanını kodlayan izole edilmiş bir polinükleotide yöneliktir ve burada polinükleotit, SEQ ID NO 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, 47, 49, 51, 53, 55, 57, 59, 61, 63, 65, 67, 69, 71, 73, 75, 77, 79, 81, 83, 85, 87, 89, 91, 93, 95, 97, 99, 101, 103, 105, 107, 109, 111, 113, 115, 117, 119, 121, 123, 125, 127, 129, 131, 133, 135, 137, 139, 141, 143, 145, 147, 149, 151, 153, 155, 157, 159, 161, 163, 165, 167, 169, 171, 173, 175, 177, 179, 181, 183, 185, 187, 189, 191, 293 veya 295'te gösterilen şekilde bir değişken bölge sekansını kodlayan bir sekansı içerir. Bir başka uygulamada, mevcut açıklama, bir immünokonjugatı veya fragmanını kodlayan izole edilmiş bir polinükleotide yöneliktir ve burada söz konusu polinükleotit, SEQ ID NO: 193, 195, 197, 199, 201, 203, 205, 207, 209, 211, 213, 215, 217, 227, 229, 231, 233, 235, 237, 239, 241, 243, 245, 247, 249, 251, 269, 271, 273, 275, 277, 279, 281, 283, 285 veya 287'de gösterilen şekildeki bir polipeptit sekansını kodlayan bir sekans içerir. Bir başka uygulamada, mevcut açıklama ayrıca, bir immünokonjugatı veya fragmanını kodlayan izole edilmiş bir polinükleotide yöneliktir ve burada söz konusu polinükleotit, SEQ ID NO 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60, 62, 64, 66, 68, 70, 72, 74, 76, 78, 80, 82, 84, 86, 88, 90, 92, 94, 96, 98, 100, 102, 104, 106, 108, 110, 112, 114, 116, 118, 120, 122, 124, 126, 128, 130, 132, 134, 136, 138, 140, 142, 144, 146, 148, 150, 152, 154, 156, 158, 160, 162, 164, 166, 168, 170, 172, 174, 176, 178, 180, 182, 184, 186, 188, 190, 192, 294, 296, 194, 196, 198, 200, 202, 204, 206, 208, 210, 212, 214, 216, 218, 228, 230, 232, 234, 236, 238, 240, 242, 244, 246, 248, 250, 252, 270, 272, 274, 276, 278, 280, 282, 284, 286 veya 288'te gösterilen bir nükleotit sekansına en az yaklaşık %80, %85, %90, %95, %96, %97, %98 veya %99 özdeş olan bir sekans içerir. Bir başka uygulamada, mevcut açıklama, bir immünokonjugatı veya fragmanını kodlayan izole edilmiş bir polinükleotide yöneliktir ve burada söz konusu polinükleotit, SEQ ID NO 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60, 62, 64, 66, 68, 70, 72, 74, 76, 78, 80, 82, 84, 86, 88, 90, 92, 94, 96,

98, 100, 102, 104, 106, 108, 110, 112, 114, 116, 118, 120, 122, 124, 126, 128, 130, 132, 134, 136, 138, 140, 142, 144, 146, 148, 150, 152, 154, 156, 158, 160, 162, 164, 166, 168, 170, 172, 174, 176, 178, 180, 182, 184, 186, 188, 190, 192, 294, 296, 194, 196, 198, 200, 202, 204, 206, 208, 210, 212, 214, 216, 218, 228, 230, 232, 234, 236, 238, 240, 242, 244, 246, 248, 250, 252, 270, 272, 274, 276, 278, 280, 282, 284, 286 veya 288'te gösterilen bir nükleik asit sekansı içerir. Bir başka uygulamada, mevcut açıklama, bir immünokonjugatı veya fragmanını kodlayan izole edilmiş bir polinükleotide yöneliktir ve burada söz konusu polinükleotit, SEQ ID NO 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, 47, 49, 51, 53, 55, 57, 59, 61, 63, 65, 67, 69, 71, 73, 75, 77, 79, 81, 83, 85, 87, 89, 91, 93, 95, 97, 99, 101, 103, 105, 107, 109, 111, 113, 115, 117, 119, 121, 123, 125, 127, 129, 131, 133, 135, 137, 139, 141, 143, 145, 147, 149, 151, 153, 155, 157, 159, 161, 163, 165, 167, 169, 171, 173, 175, 177, 179, 181, 183, 185, 187, 189, 191, 293 veya 295'in bir amino asit sekansı ile en az yaklaşık %80, %85, %90, %95, %96, %97, %98 veya %99 özdeş olan değişken bir bölge sekansını kodlayan bir sekansı içerir. Bir başka uygulamada, mevcut açıklama, bir immünokonjugatı veya fragmanını kodlayan izole edilmiş bir polinükleotide yöneliktir ve burada söz konusu polinükleotit, SEQ ID NO 193, 195, 197, 199, 201, 203, 205, 207, 209, 211, 213, 215, 217, 227, 229, 231, 233, 235, 237, 239, 241, 243, 245, 247, 249, 251, 269, 271, 273, 275, 277, 279, 281, 283, 285 veya 287'nin bir amino asit sekansı ile en az %80, %85, %90, %95, %96, %97, %98 veya %99 özdeş olan bir polipeptit sekansını kodlayan bir sekans içerir. Mevcut açıklama ayrıca, bir immünokonjugatı veya fragmanını kodlayan izole edilmiş bir polinükleotiti kapsar ve burada söz konusu polinükleotit, konzervatif amino asit ornatımlarına sahip SEQ ID NO 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, 47, 49, 51, 53, 55, 57, 59, 61, 63, 65, 67, 69, 71, 73, 75, 77, 79, 81, 83, 85, 87, 89, 91, 93, 95, 97, 99, 101, 103, 105, 107, 109, 111, 113, 115, 117, 119, 121, 123, 125, 127, 129, 131, 133, 135, 137, 139, 141, 143, 145, 147, 149, 151, 153, 155, 157, 159, 161, 163, 165, 167, 169, 171,

173, 175, 177, 179, 181, 183, 185, 187, 189, 191, 293 veya 295'in değişken bölge sekanslarını kodlayan bir sekansı içerir. Mevcut açıklama ayrıca, burada tarif edilen şekilde bir immünokonjugatı ve fragmanını kodlayan izole edilmiş bir polinükleotiti kapsar ve
5 burada söz konusu polinükleotit, konzervatif amino asit ornatımlarına sahip SEQ ID NO 193, 195, 197, 199, 201, 203, 205, 207, 209, 211, 213, 215, 217, 227, 229, 231, 233, 235, 237, 239, 241, 243, 245, 247, 249, 251, 269, 271, 273, 275, 277, 279, 281, 283, 285 veya 287'nin polipeptit sekanslarını kodlayan bir sekansı
10 içerir.

Belirli uygulamalarda, polinükleotit veya nükleik asit, DNA'dır. Diğer uygulamalarda, burada tarif edilen şekilde bir polinükleotit, örneğin mesajcı RNA (mRNA) formunda bir RNA'dır.
15 Burada tarif edilen şekilde RNA, tek iplikçikli veya çift iplikçikli olabilir.

Hedeflenmemiş Konjugatlar

20 Mevcut açıklama sadece spesifik bir antijene (örneğin bir tümör antijenine) hedeflenmiş immünokonjugatlar değil, aynı zamanda spesifik olarak herhangi bir antijene bağlanmayan, özellikle herhangi bir insan antijenine bağlanmayan bir veya daha fazla Fab molekülü içeren hedeflenmemiş konjugatlar sağlar. Bu
25 konjugatların herhangi bir antijene spesifik bağlanmasının bulunmaması (başka bir ifadeyle spesifik olmayan etkileşimlerden ayırt edilebilen herhangi bir bağlanmanın bulunmaması), örneğin burada tarif edilen ELISA veya yüzey plasmon rezonansı ile ölçülebilir. Bu konjugatlar, belirli bir dokuyu hedeflemenin
30 istenmediği durumda, örneğin konjuge edilmemiş efektör parçanın serum yarı ömrüne kıyasla içerdikleri efektör parçasının serum yarı ömrünü arttırmada özellikle yararlıdır.

Spesifik olarak mevcut açıklama, herhangi bir antijene spesifik
35 olarak bağlanmayan bir birinci Fab molekülü, iki alt birimden

oluşan bir Fc domeni ve bir efektör parça içeren bir konjugat sağlar ve söz konusu konjugatta, birden fazla efektör parça bulunmaz. Daha spesifik olarak mevcut açıklama, SEQ ID NO: 299'un ağır zincir bölge sekansını ve SEQ ID NO: 297'nin hafif zincir değişken bölge sekansını içeren bir birinci Fab molekülü, iki alt birimden oluşan bir Fc domeni ve bir efektör parça içeren bir konjugat sağlar ve söz konusu konjugatta, birden fazla efektör parça bulunmaz. Konjugatlar, mevcut açıklamanın immünokonjugatları gibi, yukarıda "İmmünokonjugat Formatları" başlıklı kısımda tarif edildiği üzere çeşitli konfigürasyonlara sahip olabilir (immünokonjugatın herhangi bir antijene spesifik olarak bağlanmayan bir Fab molekülü, örneğin SEQ ID NO:299'un ağır zincir değişken bölge sekansı ve SEQ ID NO: 297'nin hafif zincir değişken bölge sekansını içeren bir Fab molekülü ile değiştirilmiş antijen bağlayıcı kısmı). Benzer şekilde, açıklamanın immünokonjugatları için "Fc domeni" ve "Efektör parçalar" başlıkları altında tarif edilen şekilde Fc domeninin ve ayrıca efektör kısmın özellikleri, tek başına veya kombinasyon halinde, mevcut buluşun hedeflenmemiş konjugatları için eşit şekilde geçerlidir.

Belirli bir uygulamada konjugat, (i) herhangi bir antijene spesifik olarak bağlanmayan bir birinci ve bir ikinci Fab molekülü ve bir Fc domeni içeren bir immünoglobulin molekülü ve (ii) bir efektör parça içerir ve burada birden fazla efektör parçası bulunmaz ve söz konusu immünoglobulin molekülü, bir insan IgG1 alt sınıfı immünoglobulindir; Fc domen, iki alt biriminin birinde bir topuz modifikasyonu ve diğerinde bir delik modifikasyonu ve alt birimlerinin her birinde L234A, L235A ve P329G amino asit ornatımları içerir ve efektör parça, immünoglobulin ağır zincirlerinden birinin karboksi terminal amino asidine, isteğe bağlı olarak bir bağlayıcı peptit aracılığıyla kaynaştırılmış bir IL-2 molekülüdür. Spesifik bir uygulamada konjugat, SEQ ID NO: 299'un ağır zincir değişken bölge sekansını ve SEQ ID NO: 297'nin hafif zincir değişken bölge sekansını içerir.

Belirli uygulamalarda konjugat, (i) SEQ ID NO: 299'un ağır zincir değişken bölge sekansını ve SEQ ID NO: 297'nin hafif zincir değişken bölge sekansını içeren bir immünoglobulin molekülü ve (ii) birden fazla bulunmayan bir efektör parça içerir. Böyle bir uygulamada immünoglobulin molekülü, bir insan IgG1 alt sınıfı immünoglobulindir. Böyle bir uygulamada Fc domeni, iki alt birimin birinde bir topuz modifikasyonu ve diğerinde bir delik modifikasyonu içerir. Böyle spesifik bir uygulamada Fc domeni, alt birimlerinin her birinde L234A, L235A ve P329G amino asit ornatımlarını içerir. Yine böyle başka bir uygulamada efektör parça, immünoglobulin ağır zincirlerinden birinin karboksi terminal amino asidine, isteğe bağlı olarak bir bağlayıcı peptit aracılığıyla kaynaştırılan bir IL-2 molekülüdür.

Bir uygulamada konjugat, herhangi bir antijene spesifik olarak bağlanmayan bir Fab ağır zincirinin, bir IL-2 polipeptiti ile bir karboksi terminal peptit bağı paylaşan, bir topuz modifikasyonu içeren bir Fc domeni alt birimi ile bir karboksi terminal peptit bağı paylaştığı bir polipeptit sekansını içerir. Daha spesifik başka bir uygulamada konjugat, SEQ ID NO: 221, SEQ ID NO: 223, SEQ ID NO: 289 ve SEQ ID NO: 291 veya bunların işlevselliği muhafaza eden bir varyantından oluşan gruptan seçilen bir polipeptit sekansını içerir. Bir uygulamada konjugat, herhangi bir antijene spesifik olarak bağlanmayan bir Fab ağır zincirinin, bir delik modifikasyonu içeren bir Fc domeni alt birimi ile bir karboksi terminal peptit bağı paylaştığı bir polipeptit sekansını içerir. Daha spesifik bir uygulamada konjugat, SEQ ID NO: 219 veya bunun işlevselliğini muhafaza eden bir varyantının polipeptit sekansını içerir. Başka bir uygulamada konjugat, herhangi bir antijene spesifik olarak bağlanmayan bir Fab hafif zinciri içerir. Daha spesifik bir uygulamada konjugat, SEQ ID NO: 225 veya bunun işlevselliğini muhafaza eden bir varyantının polipeptit sekansını içerir. Yine bir başka uygulamada konjugat, SEQ ID NO: 219, SEQ ID NO: 221 ve SEQ ID NO: 225 veya bunların işlevselliği muhafaza eden varyantlarının polipeptit sekanslarını içerir. Yine bir başka

uygulamada konjugat, SEQ ID NO: 219, SEQ ID NO: 223 ve SEQ ID NO: 225 veya bunların işlevselliği muhafaza eden varyantlarının polipeptit sekanslarını içerir. Yine bir başka uygulamada konjugat, SEQ ID NO: 219, SEQ ID NO: 289 ve SEQ ID NO: 225 veya
5 bunların işlevselliği muhafaza eden varyantlarının polipeptit sekanslarını içerir. Yine bir başka uygulamada konjugat, SEQ ID NO: 219, SEQ ID NO: 291 ve SEQ ID NO: 225 veya bunların işlevselliği muhafaza eden varyantlarının polipeptit sekanslarını içerir. Başka bir spesifik uygulamada, polipeptitler, örneğin bir disülfür
10 bağı ile kovalent olarak bağlanır. Bazı uygulamalarda Fc domeni polipeptit zincirleri, L234A, L235A ve P329G amino asit ornatımlarını içerir.

Bir spesifik uygulamada, konjugat, SEQ ID NO: 298, SEQ ID NO: 300,
15 SEQ ID NO: 220, SEQ ID NO: 222, SEQ ID NO: 224, SEQ ID NO: 226, SEQ ID NO: 290 ve SEQ ID NO: 292 grubundan seçilen bir sekans ile en az yaklaşık %80, %85, %90, %95, %96, %97, %98 veya %99 özdeş olan bir polinükleotit sekansı tarafından kodlanan bir polipeptit sekansı içerir. Daha başka bir spesifik uygulamada,
20 immünokonjugat, SEQ ID NO: 298, SEQ ID NO: 300, SEQ ID NO: 220, SEQ ID NO: 222, SEQ ID NO: 224, SEQ ID NO: 226, SEQ ID NO: 290 ve SEQ ID NO: 292 grubundan seçilen bir polipeptit sekansı tarafından kodlanan bir polipeptit sekansı içerir.

25 Mevcut açıklama ayrıca, açıklamanın konjugatını kodlayan izole edilmiş bir polinükleotit veya bunun bir fragmanını sağlar. Bir spesifik uygulamada, izole edilmiş polinükleotit, SEQ ID NO: 298, SEQ ID NO: 300, SEQ ID NO: 220, SEQ ID NO: 222, SEQ ID NO: 224, SEQ ID NO: 226, SEQ ID NO: 290 ve SEQ ID NO: 292 grubundan seçilen
30 bir sekans ile en az yaklaşık %80, %85, %90, %95, %96, %97, %98, %99 veya %100 özdeş olan bir sekans içerir. Mevcut açıklama ayrıca izole edilmiş polinükleotiti içeren bir ekspresyon vektörünü ve izole edilmiş polinükleotiti içeren bir konakçı hücreyi veya açıklamanın ekspresyon vektörünü sağlar. Başka bir yönde,
35 açıklamanın konjugatının üretilmesine yönelik bir yöntem sağlanır

ve söz konusu yöntem, a) konjugatın ekspresyonu için uygun koşullar altında açıklamanın konakçı hücresinin kültürlenmesi ve b) konjugatın geri kazanılması adımlarını içerir. Mevcut açıklama ayrıca, açıklamanın yöntemi ile üretilen bir konjugatı da kapsar.

5 Mevcut açıklamanın immünokonjugatlarının üretilmesine yönelik yöntemlerle ilişkili olarak burada sağlanan mevcut açıklama (bkz. "Rekombinant Yöntemler" başlıklı kısım), açıklamanın konjugatları için eşit şekilde geçerlidir.

10 Mevcut açıklama ayrıca, açıklamanın konjugatını içeren bir farmasötik bileşim ve farmasötik olarak kabul edilebilir bir taşıyıcı sağlar. Mevcut açıklamanın immünokonjugatlarının farmasötik bileşimlerle ilişkili olarak burada sağlanan mevcut açıklama (bkz. "Bileşimler, Formülasyonlar ve Uygulama Yolları"

15 başlıklı kısımlar), açıklamanın konjugatları için eşit şekilde geçerlidir. Konjugat ayrıca, açıklamanın immünokonjugatları için burada tarif edilen kullanım yöntemlerinde kullanılabilir. Hastalık tedavisinde açıklamanın immünokonjugatlarının kullanılmasına yönelik yöntemlerle ilişkili olarak burada

20 sağlanan açıklama (bkz. "Terapötik Yöntemler ve Bileşimler", "Diğer Ajanlar ve Tedaviler" ve "İmalat ürünleri" başlıklı kısımlar), açıklamanın konjugatları için eşit şekilde geçerlidir.

Rekombinant Yöntemler

25

Burada tarif edilen şekilde immünokonjugatlar, örneğin katı hal peptit sentezi (örn. Merrifield katı faz sentezi) veya rekombinant üretimi ile elde edilebilir. Rekombinant üretim için, örneğin yukarıda tarif edilen şekilde, immünokonjugatı (fragmanı)

30 kodlayan bir ya da daha fazla polinükleotit izole edilir ve bir konakçı hücre içinde daha fazla klonlama ve/veya ekspresyon için bir veya daha fazla vektörün içine yerleştirilir. Böyle bir polinükleotit, konvansiyonel prosedürler kullanılarak kolaylıkla izole edilebilir ve sekanslanabilir. Bir uygulamada, burada tarif

35 edilen bir veya daha fazla polinükleotiti içeren bir vektör,

tercihen bir ekspresyon vektörü sağlanır. Teknikte uzman kişilerce iyi bilinen yöntemler, uygun bir transkripsiyonel/translasyonel kontrol sinyalleri ile birlikte immünokonjugatın (fragmanının) kodlayıcı sekansını içeren ekspresyon vektörleri oluşturmak için kullanılabılır. Bu yöntemler arasında *in vitro* rekombinant DNA tekniklerini, sentetik teknikleri ve *in vivo* rekombinasyon/genetik rekombinasyonu bulunur. Teknikler için bkz. Örn. Maniatis ve diğ. MOLECULAR CLONING: A LABORATORY MANUAL, Cold Spring Harbor Laboratory, N.Y. (1989) ve Ausubel ve diğ. CURRENT PROTOCOLS IN MOLECULAR BIOLOGY, Greene Publishing Associates and Wiley Interscience, N.Y (1989). Ekspresyon vektörü, bir plazmitin ya da virüsün bir parçası olabildiği gibi bir nükleik asit fragmanı da olabilir. Ekspresyon vektörü bir ekspresyon kaseti içermekte olup; bu kasetin içerisine immünokonjugatı (fragmanı) kodlayan (başka bir deyişle, kodlama bölgesi) polinükleotit, bir promotör ve/veya diğer transkripsiyon ya da translasyon kontrol elementleri ile uygulanabilir şekilde birleştirilmiş olarak klonlanır. Burada kullanılan şekliyle, bir "kodlama bölgesi", amino asitlere transle edilmiş kodonlardan oluşan bir nükleik asit kısmıdır. Bir "dur kodonu" (TAG, TGA, veya TAA) bir amino asite transle edilmemesine rağmen, eğer mevcutsa, bir kodlama bölgesinin bir parçası olduğu kabul edilebilir ancak herhangi bir yan sekans, örneğin promotörler, ribozom bağlanma yerleri, transkripsiyonel sonlandırıcılar, intronlar, 5' ve 3' transle edilmemiş bölgeleri ve benzerleri bir kodlama bölgesinin parçası değildir. Tek bir polinükleotit yapıda, örneğin, tek bir vektör üzerinde ya da ayrı polinükleotit yapıları içerisinde, örn. ayrı (farklı) vektörler üzerinde, iki ya da daha fazla kodlama bölgesi mevcut olabilir. Ayrıca, herhangi bir vektör tek bir kodlama bölgesi içerebilir ya da iki veya daha fazla kodlama bölgesi içerebilir ve örneğin, burada tarif edilen şekilde bir vektör, proteolitik yarılma aracılığıyla post veya birlikte translasyonel bir şekilde nihai proteinlere ayrılmış bir ya da daha fazla polipeptiti kodlayabilir. Bunlara ek olarak, burada tarif edilen şekilde bir vektör, polinükleotit ya da nükleik asit, burada tarif edilen

immünokonjugatı (fragmanı) ya da bunun varyantını veya türevini kodlayan bir polinükleotide kaynaştırılmış ya da kaynaştırılmamış heterolog kodlama bölgelerini kodlayabilir. Heterolog kodlama bölgeleri, bunlarla sınırlı olmamak kaydıyla, salgılayıcı bir

5 sinyal peptiti ya da heterolog bir fonksiyonel domen gibi özelleştirilmiş elementleri veya motifleri içerir. Uygulanabilir bir birleşme (operable association), gen üretimine yönelik bir kodlama bölgesi, örneğin bir polipeptit, düzenleyici sekans(lar)ın etkisi ya da kontrolü altındaki gen üretimi

10 ekspresyonunu yerleştirecek şekilde bir ya da daha fazla düzenleyici sekansla birleştirildiğinde gerçekleşir. İki adet DNA fragmanı (örneğin bir polipeptit kodlama bölgesi ve bununla birleştirilmiş bir promotör), eğer promotör fonksiyonunun indüksiyonu, istenen gen ürününü kodlayan mRNA'nın

15 transkripsiyonuyla sonuçlanırsa ve iki DNA fragmanını arasındaki bağlantının doğası, ekspresyon düzenleyici sekansların gen ürününün ekspresyonunu yönlendirme yeteneğine engel olmuyorsa ya da DNA şablonunu transkribe edilme yeteneğine engel olmuyorsa "uygulanabilir şekilde birleştirilmiş (operably associated)"tir.

20 Bu yüzden, eğer promotör, nükleik asitin transkripsiyonunu etkileyebilirse bir promotör bölge, polipeptit kodlayan bir nükleik asit ile uygulanabilir şekilde birleştirilebilir. Promotör, DNA'nın önemli transkripsiyonunu yalnızca önceden belirlenmiş hücrelerde yönlendiren hücreye özgü bir promotör

25 olabilir. Promotörün yanı sıra diğer transkripsiyon kontrol elementleri, örneğin güçlendiriciler, operatörler, represörler, ve transkripsiyon sonlandırma sinyalleri, hücreye özgü transkripsiyonu yönlendirmek amacıyla polinükleotit ile uygulanabilir şekilde birleştirilebilir. Uygun promotörler ve

30 diğer transkripsiyon kontrol bölgeleri burada açıklanır. Çeşitli transkripsiyon kontrol bölgeleri teknikte uzman kişilerce bilinir. Bunlar arasında, bunlarla sınırlı olmamak kaydıyla, sitomegalovirüsler (örn. acil erken promotör, intron-A ile bağlantılı olarak), simian virüs 40 (örn. erken promotör) ve

35 retrovirüslerden (örn. Rous sarcoma virüsü gibi) promotör ve

güçlendirici segmentleri gibi omurgalı hücrelerde fonksiyon gösteren transkripsiyon kontrol bölgeleri bulunur. Diğer transkripsiyon kontrol bölgeleri arasında aktin, ısı şok proteini, sığır büyüme hormonu ve tavşan â-globin gibi omurgalı genlerden

5 türetilenler ile birlikte ökaryotik hücrelerde gen ekspresyonunu kontrol edebilen diğer sekanslar bulunur. İlave uygun transkripsiyon kontrol bölgeleri arasında dokuya özgü promotörler ve güçlendiriciler ile birlikte indüklenebilir promotörleri (örneğin promotörler indüklenebilir tetrasiklinler) bulunur.

10 Benzer şekilde, çeşitli translasyon kontrol elementleri, teknikte uzman kişilerce bilinir. Bunlar arasında, bunlarla sınırlı kalmamak kaydıyla, ribozom bağlanma alanları, translasyon başlatma ve sonlandırma kodonu ve viral sistemlerden (özellikle bir iç ribozom giriş alanı veya CITE sekansı olarak da adlandırılan

15 IRES) türetilen elementler bulunur. Ekspresyon kaseti, aynı zamanda, yinelenme kaynağı ve/veya retroviral uzun terminal tekrarları (LTR'ler) ya da adeno-ilişkili viral (AAV) ters çevrilmiş terminal tekrarları (ITR'ler) gibi kromozom entegrasyon elementleri gibi diğer özellikleri de içerebilir.

20 Burada tarif edilen polinükleotit ve nükleik asit kodlama bölgeleri, salgılayıcı ya da sinyal peptitleri kodlayan, burada tarif edilen şekildeki bir polinükleotit tarafından kodlanan bir polipeptitin salgılanmasını yönlendiren ilave kodlama bölgeleri

25 ile birleştirilebilir. Örneğin, eğer immünokonjugatın salgılanması isteniyorsa bir sinyal sekansını kodlayan DNA, burada tarif edilen şekildeki bir immünokonjugatı ya da bunun bir fragmanını kodlayan nükleik asidin yukarısına yerleştirilebilir. Sinyal hipotezine göre, memeli hücreleri tarafından salgılanan

30 proteinler, granüllü endoplazmik retikulum boyunca büyüyen protein zincirinin dışarı aktarımı başlatıldığında olgun proteinden ayrılan bir sinyal peptite veya salgılayıcı lider sekansa sahiptir. Teknikte uzman kişiler, omurgalı hücreler tarafından salgılanan polipeptitlerin genellikle, polipeptitin

35 salgılanmış veya "olgun" bir formunu üretmek amacıyla transle

edilmiş proteinden ayrılmış olan polipeptitin N terminaline kaynaştırılmış bir sinyal peptidine sahip olduklarını bilir. Belirli uygulamalarda, natif sinyal peptiti, örneğin bir immünoglobülin ağır zincir ya da hafif zincir sinyal peptiti ya da uygulanabilir şekilde birleştirilmiş polipeptitin salgılanmasını yönlendirme yeteneğini muhafaza eden bu sekansın fonksiyonel bir türevi kullanılır. Alternatif olarak, heterolog bir memeli sinyal peptiti veya bunun fonksiyonel bir türevi kullanılabilir. Örneğin, yabancı tip lider sekansı, insan doku plazminojen aktivatörünün (TPA) veya fare β -glukuronidazın lider sekansı ile ornatılabilir. Salgılayıcı sinyal peptitlerinin örnek niteliğindeki amino asit ve karşılık gelen polinükleotit sekansları, SEQ ID NO 8-16'da gösterilmiştir.

Sonraki saflaştırmayı (örneğin bir histidin etiketi) kolaylaştırmak ya da immünokonjugatın işaretlenmesine yardımcı olmak amacıyla kullanılabilir kısa bir protein sekansını kodlayan DNA, polinükleotiti kodlayan immünokonjugatın (fragmanın) içine ya da uçlarına dahil edilebilir.

20

Başka bir uygulamada, burada tarif edilen şekilde bir veya daha fazla polinükleotiti içeren bir konakçı hücre sağlanır. Belirli uygulamalarda, burada tarif edilen şekilde bir veya daha fazla vektör içeren bir konakçı hücre sağlanır. Polinükleotitler ve vektörler, sırasıyla polinükleotitler ve vektörler ile ilişkili olarak burada tarif edilen özelliklerin herhangi birini, ayrı ayrı ya da kombinasyon halinde içerebilir. Bu tür bir uygulamada, bir konakçı hücre, burada tarif edilen bir immünokonjugatı (parçasını) kodlayan bir polinükleotit içeren bir vektör (örneğin, ile transforme edilmiş veya transfekte edilmiştir) içerir. Burada kullanılan şekliyle "konakçı hücre" terimi, burada tarif edilen immünokonjugatları veya bunların fragmanlarını meydana getirmek amacıyla işlenen herhangi bir türde hücresel sistemi ifade eder. İmmünokonjugatların ekspresyonunu yinelemek ve desteklemek için uygun konakçı hücreler teknikte iyi bilinir. Bu tür hücreler, özel

ekspresyon vektörü ile uygun olacak şekilde transfekste edilebilir ya da transdüse edilebilir ve büyük miktarlarda vektör içeren hücreler, örneğin klinik uygulamalar için yeterli miktarda immünokonjugat elde etmek amacıyla geniş ölçekli fermentörlerin tohumlanması için yetiştirilebilir. Uygun konakçı hücreler arasında E.coli gibi prokaryotik mikroorganizmaları veya Çin hamsterı yumurtalık hücreleri (CHO), insekt hücreleri veya benzerleri gibi çeşitli ökaryotik hücreleri bulunur. Örneğin, polipeptitler bakteri içinde, özellikle glikozilasyonun gerekmediği durumlarda üretilebilir. Ekspresyonun ardından, polipeptit, bakteriyel hücre macunundan çözünebilir bir fraksiyon içinde izole edilebilir ve daha fazla saflaştırılabilir. Prokaryotların yanı sıra, filamentöz mantarlar ya da mayalar gibi ökaryotik mikroplar da, polipeptit kodlayıcı vektörler için uygun klonlama ya da ekspresyon konakları olup, bunların arasında glikozilasyon yolakları "insanlaştırılmış" olan mantar ve maya suşları bulunmakta ve bunun sonucunda kısmen ya da tamamen insan glikozilasyon paternine sahip bir polipeptitin üretimi sağlanır. Bkz. Gerngross, Nat Biotech 22, 1409-1414 (2004) ve Li ve diğ. Nat Biotech 24, 210-215 (2006). (Glikozile edilmiş) Polipeptitlerin ekspresyonu için uygun konakçı hücreler ayrıca, çok hücreli organizmalardan (omurgasızlar ve omurgalılarından) türetilir. Omurgasız hücrelerinin örnekleri arasında bitki ve böcek hücreleri bulunur. Çok sayıda baküloviral suş tanımlanmış olup, bunlar insekt hücrelerle birlikte, özellikle *Spodoptera frugiperda* hücrelerinin transfeksiyonu için kullanılabilir. Bitki hücre kültürleri de konakçı olarak kullanılabilir. Bkz. örn. US Patent No. 5,959,177, 6,040,498, 6,420,548, 7,125,978, ve 6,417,429 (transgenik bitkilerde antikorların üretimi için PLANTIBODIES™ teknolojisi tarif edilir). Omurgalı hücreleri de konakçı olarak kullanılabilir. Örneğin, süspansiyon içinde yetiştirilecek şekilde uyarlanmış memeli hücre hatları yararlı olabilir. Yararlı memeli konakçı hücre hatlarının diğer örnekleri arasında SV40 (COS-7) ile transforme edilmiş maymun böbrek CV1 hattı, insan embriyonik böbrek hattı (örn., Graham ve diğ. J Gen Virol 36, 59 (1977))'de

tarif edilen şekilde 293 veya 293T hücreleri), bebek hamster böbrek hücreleri (BHK), fare sertoli hücreleri (örneğin Mather, Biol Reprod 23, 243-251 (1980)'de tarif edilen şekilde TM4 hücreleri), maymun böbrek hücreleri (CV1), Afrika yeşil maymun böbrek hücreleri (VERO-76), insan servikal karsinoma hücreleri (HELA), kanin böbrek hücreleri (MDCK), bufalo sıçanı karaciğer hücreleri (BRL 3A), insan akciğer hücreleri (W138), insan karaciğer hücreleri (Hep G2), fare memeli tümör hücreleri (MMT 060562), TRI hücreleri (örn., Mather ve diğ. Annals N.Y. Acad Sci 383, 44-68 (1982) yayınında tarif edilen şekilde), MRC 5 hücreleri ve FS4 hücreleri bulunur. Diğer yararlı memeli konakçı hücre hatları arasında dhfr⁻ CHO hücreleri (Urlaub ve diğ. Proc Natl Acad Sci USA 77, 4216 (1980)) dahil olmak üzere Çin hamsteri yumurtalık (CHO) hücreleri ve YO, NS0, P3X63 ve Sp2/0 gibi miyelom hücre hatları bulunur. Protein üretimine uygun belirli memeli konakçı hücre hatları ile ilgili bir inceleme için bkz. örn. Yazaki ve Wu, Methods in Molecular Biology, Cilt 248 (B.K.C. Lo, ed., Humana Press, Totowa, NJ), s. 255-268 (2003). Konakçı hücreler arasında, birkaçını saymak gerekirse, örneğin memeli kültürlenmiş hücreleri, maya hücreleri, insekt hücreleri, bakteriyel hücreleri ve bitki hücreleri ile ayrıca transgenik hayvan, transgenik bitki veya kültürlenmiş bitki ya da hayvan dokusu içinde oluşturulan hücreler bulunur. Bir uygulamada, konakçı hücre, bir ökaryotik hücre, tercihen ise bir Çin hamsteri yumurtalık (CHO) hücresi, bir insan embriyonik böbrek (HEK) hücresi veya bir lenfoid hücresi (örn., YO, NS0, Sp20 cell) gibi bir memeli hücresidir. Bu sistemlerdeki yabancı genleri eksprese etmeye yönelik standart teknolojiler teknikte bilinmektedir. Antikor gibi bir antijen bağlayıcı domenin ağır ya da hafif zincirini içeren bir polipeptiti ekprese eden hücreler, ayrıca, antikor zincirlerinin diğerini de ekprese etmek amacıyla işleyebilir, böylelikle eksprese edilen ürün hem bir ağır hem de bir hafif zincire sahip bir antikor olur.

Bir uygulamada, burada tarif edilen şekilde bir immünokonjugatın üretilmesine yönelik bir yöntem sağlanır ve burada söz konusu

yöntem, burada sağlandığı şekliyle immünokonjugatı kodlayan bir polinükleotit içeren bir konakçı hücrenin, immünokonjugatın ekspresyonu için uygun koşullar altında kültürlenmesini ve immünokonjugatın konakçı hücrenden (ya da konakçı hücre kültür ortamından) geri kazanılmasını içerir.

İmmünokonjugatın bileşenleri genetik olarak birbirlerine kaynaştırılır. İmmünokonjugatlar, bileşenleri birbirlerine doğrudan ya da dolaylı olarak bir bağlayıcı aracılığıyla kaynaştırılacak şekilde tasarlanabilir. Bağlayıcının bileşimi ve uzunluğu, teknikte iyi bilinen yöntemlere uygun olarak belirlenebilir ve etkililik açısından test edilebilir. Efektör parça ve Fc domeni arasındaki bağlayıcı sekansların örnekleri, SEQ ID NO 195, 197, 199, 203, 209, 215, 229, 235, 237, 243, 245, 247, 249, 251, 269, 271, 273, 275, 277, 279 ve 285'te gösterilen sekanslarda bulunur. İlave sekanslar, ayrıca, eğer istenirse, örneğin bir endopeptidaz tanıma sekansı, füzyonun ayrı bileşenlerini ayırmaya yönelik bir yarılma alanını kapsamaması için dahil edilebilir.

20

Belirli uygulamalarda T hücre aktive edici immünokonjugatın bir veya daha fazla antijen bağlayıcı parçası, bir antijenik determinanta bağlanabilen en az bir antikor değişken bölgesi içerir. Değişken bölgeler, doğal olarak veya doğal olmayan bir şekilde oluşan antikorlar ve bunların fragmanların bir parçasını oluşturabilir ve bunlardan türetilebilir. Poliklonal antikorların ve monoklonal antikorların üretilmesine yönelik yöntemler, teknikte iyi bilinir (bkz. örn. Harlow ve Lane, "Antibodies, a laboratory manual", Cold Spring Harbor Laboratory, 1988). Doğal olmayan bir şekilde oluşan antikorlar, katı faz-peptit sentezi kullanılarak oluşturulabilir, rekombinant bir şekilde üretilir (örneğin, U.S. patent No. 4,186,567'de tarif edilen şekilde) veya örneğin değişken ağır zincirleri ve değişken hafif zincirleri içeren kombinatoryal kütüphaneleri tarayarak elde edilebilir (bkz. örn. U.S. Patent. No. 5,969,108, McCafferty).

35

Antijen bağlayıcı parçalar ve bunların üretilmesine yönelik yöntemler, ayrıca detaylı olarak PCT yayını WO 2011/020783'de tarif edilmiştir.

5 Herhangi bir hayvan türünde bir antikor, antikor fragmanı, antijen bağlayıcı domen veya değişken bölge, burada tarif edilen immünokonjugatlarda kullanılabilir. Burada yararlı, fakat sınırlayıcı olmayan antikorlar, antikor fragmanları, antijen bağlayıcı domenler veya değişken bölgeler, murin, primat, veya
10 insan kökenli olabilir. İmmünokonjugatın insan kullanımı için tasarlanması durumunda, kimerik bir antikor formu kullanılabilir ve burada antikorum sabit bölgeleri bir insandan elde edilir. İnsanlaştırılmış veya tamamen insan formunda bir antikor ayrıca, teknikte iyi bilinen yöntemlere uygun olarak hazırlanabilir (bkz.
15 örn., U.S. Patent No. 5,565,332, Winter). İnsanlaştırma, çeşitli yöntemlerle gerçekleştirilir ve bu yöntemler arasında, bunlarla sınırlı olmamak üzere, (a) insan olmayan (örneğin, verici antikor) CDR'leri kritik çatı kalıntıları (örneğin, iyi antijen bağlanma afinitesini veya antikor fonksiyonlarını muhafaza etmek için
20 önemli olanların) alıkondduğu veya alıkonmadığı insan (örneğin, alıcı antikor) çatı ve sabit bölgelerine greftleme, (b) yalnızca insan olmayan spesifiklik belirleyici bölgeleri, (SDR'ler veya a-CDR'ler; antikor-antijen etkileşimi için kritik olan kalıntılar) insan çatı ve sabit bölgelerine greftleme ya da (c)
25 tüm insan olmayan değişken domenleri nakletme, ancak yüzey kalıntıları (örneğin, değiştiği) yoluyla bunları bir insan benzeri kesitle "gizleme" bulunur. İnsanlaştırılmış antikorlar ve bunların meydana getirilme yöntemleri, örneğin Almagro ve Fransson, Front. Biosci. 13, 1619-1633 (2008) yayınında
30 incelenmekte ve ayrıca örneğin Riechmann ve diğ. Nature 332, 323-329 (1988); Queen ve diğ. Proc Natl Acad Sci USA 86, 10029-10033 (1989); US Patent No. 5,821,337, 7,527,791, 6,982,321, ve 7,087,409; Jones ve diğ. Nature 321, 522-525 (1986); Morrison ve diğ. Proc Natl Acad Sci 81, 6851-6855 (1984); Morrison ve Oi, Adv
35 Immunol 44, 65-92 (1988); Verhoeyen ve diğ. Science 239, 1534-1536

(1988); Padlan, Molec Immun 31(3), 169-217 (1994); Kashmiri ve diğ. Methods 36, 25-34 (2005) (SDR (a-CDR) greftlemesi tarif edilmektedir); Padlan, Mol Immunol 28, 489-498 (1991) ("yüzey değiştirme" tarif edilir); Dall'Acqua ve diğ. Methods 36, 43-60
5 (2005) ("FR karma" tarif edilir); ve Osbourn ve diğ. Methods 36, 61-68 (2005) ve Klimka ve diğ. Br J Cancer 83, 252-260 (2000) (FR karma için "yönlendirilmiş seçim" yaklaşımı tarif edilir) yayınlarında tarif edilir. İnsan antikorları ve insan değişken bölgeleri, teknikte bilinen çeşitli teknikler kullanılarak
10 üretilir. İnsan antikorları genel olarak, van Dijk ve van de Winkel, Curr Opin Pharmacol 5, 368-74 (2001) ve Lonberg, Curr Opin Immunol 20, 450-459 (2008) yayınlarında tarif edilir. İnsan değişken bölgeleri, hibridom yöntemi ile meydana getirilen monoklonal antikorlarının bir parçasını oluşturabilir ve
15 bunlardan türetilir (bkz. örn. Monoclonal Antibody Production Techniques and Applications, s. 51-63 (Marcel Dekker, Inc., New York, 1987)). İnsan antikorları ve insan değişken bölgeleri, antijenik yüklemeye yanıt olarak intakt insan antikorları veya insan değişken bölgelerine sahip intakt antikorlar üretecek
20 şekilde modifiye edilmiş bir transgenik hayvana bir immünojenin uygulanmasıyla hazırlanabilir (bkz. örn. Lonberg, Nat Biotech 23, 1117-1125 (2005)). İnsan antikorları ve insan değişken bölgeleri, insan türevli faj gösterim kütüphanelerinden seçilen Fv klonu değişken bölge sekanslarının izole edilmesiyle meydana
25 getirilebilir (bkz. örn., Hoogenboom et al. Methods in Molecular Biology 178, 1-37 (O'Brien ve diğ. ed., Human Press, Totowa, NJ, 2001); ve McCafferty ve diğ. Nature 348, 552-554; Clackson ve diğ. Nature 352, 624-628 (1991)). Faj tipik olarak antikor fragmanlarını, tek zincirli Fv (scFv) fragmanları veya Fab
30 fragmanları olarak gösterir. Faj gösterimi ile immünokonjugatlar için antijen bağlayıcı parçalarının hazırlanmasının ayrıntılı bir tarifi, PCT yayın no. WO 2011/020783'ün ekindeki Örnekler bölümünde bulunabilir.

Belirli uygulamalarda, mevcut buluşta yararlı antijen bağlayıcı parçalar, örneğin, PCT yayın WO 2011/020783'te (afinite matürasyonuna ilişkin örnekleri inceleyiniz) veya U.S. Pat. Başv. Yayın No. 2004/0132066'da tarif edilen yöntemlere göre gelişmiş

5 bağlanma afinitesine sahip olacak şekilde işlenebilir. Burada tarif edilen immünokonjugatın spesifik bir antijenik determinanta bağlanma kabiliyeti, ya bir enzime bağlı bağışıklık analizi (ELISA) ya da teknikte uzman kişilerce bilinen diğer tekniklerle, örneğin yüzey plazmon rezonansı tekniği (BIAcore T100 sistemi

10 üzerinde analiz edilmiş) (Liljeblad, ve diğ. Glyco J 17, 323-329 (2000)) ve geleneksel bağlanma analizleri (Heeley, Endocr Res 28, 217-229 (2002)) ile ölçülebilir. Rekabet analizleri, belirli bir antijene bağlanmak için bir referans antikorla rekabet eden bir antikor, antikor fragmanını, antijen bağlayıcı domeni veya

15 değişken domeni, örneğin fibronektinin Ekstra B Domeni'ne (EDB) bağlanmak için L19 antikoruyla rekabet eden bir antikor belirlemek için kullanılabilir. Belirli uygulamalarda, bu tür bir rekabet eden antikor, referans antikor tarafından bağlanan epitop ile aynı epitopa (örneğin lineer veya konformasyonel bir epitop)

20 bağlanır. Bir antikoru bağlandığı bir epitopun haritalanması için ayrıntılı örnek niteliğindeki yöntemler, Morris (1996) "Epitope Mapping Protocols," in Methods in Molecular Biology cilt 66 (Humana Press, Totowa, NJ) yayınında sağlanmıştır. Örnek bir rekabet testinde, immobilize edilmiş antijen (örneğin EDB), antijene

25 bağlanan bir birinci işaretli antikor (örneğin L19 antikor) ve antijene bağlanmak için birinci antikorla rekabet etme kabiliyeti açısından test edilmiş bir ikinci işaretlenmemiş antikor içeren bir çözelti içerisinde inkübe edilmiştir. İkinci antikor, bir hibridom üst fazında mevcut olabilir. Bir kontrol olarak

30 immobilize edilmiş antijen, birinci işaretli antikor içeren ancak ikinci işaretlenmemiş antikor içermeyen bir çözelti içinde inkübe edilir. Birinci antikoru antijene bağlanması için permisif olan koşullar altındaki inkübasyondan sonra, fazla olan bağlı olmayan antikor uzaklaştırılır ve immobilize edilmiş antijen ile

35 birleştirilmiş işaretin miktarı ölçülür. Immobilize edilmiş

antijen ile birleştirilmiş işaretin miktarı, kontrol numunesine göre test numunesinde büyük ölçüde azalmışsa bu, ikinci antikorun antijene bağlanmak için birinci antikor ile rekabet ettiğini gösterir. Bkz. Harlow ve Lane (1988) Antibodies: A Laboratory
5 Manual ch.14 (Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, NY).

Burada tarif edilen şekilde hazırlanan immünokonjugatlar, yüksek performanslı sıvı kromatografisi, iyon değişim kromatografisi,
10 jel elektroforezi, afinite kromatografisi, boyut dışlamalı kromatografi ve benzeri gibi teknikte bilinen tekniklerle saflaştırılabilir. Belirli bir proteinin saflaştırılması için kullanılan gerçek koşullar, bazı hususlarda, net yük, hidrofobisite, hidrofilisite vb. gibi faktörlere bağlı olacaktır
15 ve teknikte uzman kişilerce anlaşılabilecektir. Afinite kromatografisi saflaştırması için, immünokonjugatının bağlandığı bir antikor, ligant, reseptör veya antijen kullanılabilir. Örneğin burada tarif edilen immünokonjugatların afinite kromatografisi saflaştırması için, A protein A veya protein G'ye sahip bir matris
20 kullanılabilir. Sıralı Protein A veya G afinite kromatografisi ve boyut dışlama kromatografisi esas olarak Örnekler bölümünde tarif edilen şekilde bir immünokonjugatı izole etmek için kullanılabilir. İmmünokonjugatın saflığı, jel elektroforezi, yüksek basınçlı sıvı kromatografisi ve benzerlerini içeren
25 teknikte iyi bilinen çok çeşitli analitik yöntemlerle belirlenebilir. Örneğin, Örnekler bölümünde tarif edilen şekilde ekspres edilen ağır zincir füzyon proteinlerin, intakt olduğu ve SDS-PAGE'i indirgeyerek gösterildiği gibi düzgün bir şekilde bir araya getirildiği gösterilmiştir (bkz. örn. Şekil 4).
30 İmmünoglobulin hafif zincir ve ağır zincirinin/efektör parça füzyon proteininin tahmin edilen moleküler ağırlıklarına karşılık gelen yaklaşık Mr 25.000, Mr 50.000 ve Mr 60.000 değerinde üç bant çözülmüştür.

35 **Analizler**

Burada sağlanan immünokonjugatlar, teknikte bilinen çeşitli analizler kullanılarak fiziksel/kimyasal özellikleri ve/veya biyolojik aktiviteleri bakımından karakterize edilebilir.

5

Afinite analizleri

Bir efektör parça reseptörü, bir Fc reseptörü ya da bir hedef antijen için immünokonjugatın afinitesi ( rn. IL-10R ve çeşitli
10 IL-2R formları), yüzey plazmon rezonansı (SPR), BIAcore cihazı (GE Healthcare) gibi standart cihazlar kullanılarak, örnekler bölümünde belirtilen yöntemlere göre belirlenebilir ve bu tür reseptörler ve hedef proteinler rekombinant ekspresyonu ile elde edilebilir. Alternatif olarak, immünokonjugatların farklı
15 reseptörler veya hedef antijenlere yönelik bağlanması, belirli reseptörü veya hedef antijeni eksprese eden hücre hatları kullanılarak, örneğin akış sitometrisi (FACS) ile, değerlendirilebilir. Bağlanma afinitesini ölçmeye yönelik açıklayıcı ve örnek niteliğindeki spesifik bir uygulama, buradan
20 sonraki kısımda ve aşağıdaki örneklerde tarif edilir.

Bir uygulamaya göre K_D , bir BIAcore® T100 makinesi (GE Healthcare) kullanılarak 25 C'de CM5  ipleri üzerinde immobilize edilmiş ligant ( rn. efektör parça reseptörü, Fc reseptörü veya hedef
25 antijen) ile yüzey plazmon rezonansı ile ölçülür. Kısaca, karboksimetillenmiş dekstran biyosensör  ipleri (CM5, GE Healthcare), tedarikçinin talimatlarına göre N-etil-N'-(3-dimetilaminopropil)-karbodiimit hidroklorür (EDC) ve N-hidroksis ksinimit (NHS) ile aktifleştirilir. Yaklaşık
30 100-5000 yanıt birimi (RU) kadar bağlanmış protein elde etmek amacıyla rekombinant ligant, 10 mM sodyum asetat, pH 5,5 ila 0,5-30  g/ml'ye seyreltilir ve ardından 10  l/dakikalık bir akış hızında enjekte edilir. Ligant enjeksiyonunun ardından, 1 M etanolamin enjekte edilerek, reaksiyona girmemiş olan gruplar bloke edilir.
35 Kinetik  l  mler için, immünokonjugatın üç ila beş kat seri

dilüsyonları (~0,01 nM ila 300 nM arasında değişmektedir), HBS-EP (GE Healthcare, 10 mM HEPES, 150 mM NaCl, 3 mM EDTA, %0,05 Sürfaktan P20, pH 7,4)'de, 25°C'de, yaklaşık 30-50 µl/dakikalık bir akış hızında enjekte edilir. Birleşme hızları (k_{on}) ve ayrışma hızları (k_{off}), basit bir birebir Langmuir bağlanma modeli (BIAcore® T100 Değerlendirme Yazılımı versiyon 1.1.1) kullanılarak birleşme ve ayrışma sensogramlarının eş zamanlı olarak uydurulmasıyla/oturtulması yoluyla hesaplanır. Denge ayrışma sabiti (K_D), k_{off}/k_{on} oranı biçiminde hesaplanır. Bkz. örn. Chen ve diğ. J Mol Biol 293, 865-881 (1999).

Aktivite analizleri

Burada tarif edilen immünokonjugatların biyolojik aktivitesi, Örnekler'de tarif edildiği şekilde çeşitli analizler ölçülebilir. Biyolojik aktiviteler, örneğin efektör parça reseptörü taşıyan hücrelerin proliferasyonunun indüksiyonunu, efektör parça reseptörü taşıyan hücrelerde sinyalleme indüksiyonunu, efektör parça reseptörü taşıyan hücreler tarafından sitokin salgılamasının indüksiyonunu ve tümör regresyonunun indüksiyonunu ve/veya sağkalımın gelişimini içerir.

Bileşimler, Formülasyonlar ve Uygulama Yolları

Başka bir yönüyle mevcut açıklama, burada sağlanan immünokonjugatların herhangi birini içeren farmasötik bileşimleri, örneğin aşağıdaki terapötik yöntemlerin herhangi birinde kullanıma yönelik olarak sağlar. Bir uygulamada bir farmasötik bileşim, burada sağlanan immünokonjugatların herhangi birini ve farmasötik olarak kabul edilebilir bir taşıyıcı içerir. Başka bir uygulamada bir farmasötik bileşim, burada sağlanan immünokonjugatların herhangi birini ve örneğin aşağıda tarif edilen şekilde en az bir ilave terapötik ajanı içerir.

Ayrıca, bir in vivo uygulama için uygun bir formda burada tarif edilen şekilde bir immünokonjugatın üretilmesine yönelik bir yöntem sağlanır ve söz konusu yöntem, (a) burada tarif edilen şekilde bir immünokonjugatın elde edilmesini ve (b) 5 immünokonjugatın en az bir farmasötik olarak kabul edilebilir taşıyıcı ile formüle edilmesini ve böylece in vivo uygulama için immünokonjugatın bir preparasyonunun formüle edilmesini içerir.

Mevcut açıklamanın farmasötik bileşimleri, farmasötik olarak 10 kabul edilebilir bir taşıyıcıda çözünmüş ve dağıtılmış bir veya daha fazla immünokonjugatın terapötik olarak etkili bir miktarını içerir. "Farmasötik veya farmakolojik olarak kabul edilebilir" ifadeleri, verilen dozajlarda ve konsantrasyonlarda alıcılar için genellikle toksik olmayan, başka bir deyişle, örneğin bir hayvana 15 veya bir insana, uygun şekilde uygulandığında bir advers, alerjik veya diğer istenmeyen reaksiyonu üretmeyen moleküler antitiler ve bileşimler anlamına gelir. En az bir immünokonjugat ile tercihe göre ilave bir aktif içerik maddesini içeren bir farmasötik bileşimin preparasyonu, Remington's Pharmaceutical Sciences, 18. 20 baskı, Mack Printing Company, 1990 yayınında örneklendirilen şekilde, mevcut açıklamanın ışığında teknikte uzman kişilerce bilinir. Bunlara ek olarak, hayvana (örneğin insana) uygulama için, preparasyonların FDA Biyolojik Standartlar Ofisi veya diğer 25 ülkelerde buna karşılık gelen yetkili makamlar tarafından öngörülen sterilite, pirojenite, genel güvenlik ve saflık standartlarını karşılaması gerekir. Tercih edilen bileşimler, liyofilize edilmiş formülasyonlar veya sulu çözeltilerdir. Burada kullanılan şekliyle "farmasötik olarak kabul edilebilir taşıyıcı", teknikte sıradan uzmanlığa sahip kişilerce bilinen ve 30 burada sayılan maddeleri içerir: her türlü çözücüler, tampon maddeler, dispersiyon araçları, kaplamalar, yüzey aktif maddeler, antioksidanlar, koruyucular (örneğin antibakteriyel ajanlar, antifungal ajanlar), izotonik ajanlar, absorpsiyon geciktirici ajanlar, tuzlar, koruyucular, antioksidanlar, proteinler, 35 ilaçlar, ilaç stabilizatörleri, polimerler, jeller, bağlayıcılar,

eksipiyanlar, dezentegrasyon ajanlar, lubrikantlar, tatlandırıcı ajanlar, aroma verici ajanlar, boyalar, bunun gibi maddeler ve bunların kombinasyonları (bkz. örn. Remington's Pharmaceutical Sciences, 18. baskı, Mack Printing Company, 1990, s. 1289-1329).

- 5 Herhangi bir konvansiyonel taşıyıcının aktif içeri maddesi ile uyumsuz olması dışında, terapötik veya farmasötik bileşimlerde kullanımı tasarlanmaktadır.

Bileşim, solid, sıvı veya aerosol formda uygulanıp uygulanmadığına
10 ve enjeksiyon gibi uygulama yolları için steril olmasının gerekip gerekmediğine bağlı olarak farklı türde taşıyıcılar içerebilir. Burada tarif edilen şekilde immünokonjugatlar (ve ilave herhangi bir terapötik ajan), teknikte sıradan uzmanlığa sahip kişilerce bilinen ve burada sayılan şekillerde uygulanabilir: intravenöz
15 olarak, intradermal olarak, intraarteriyel olarak, intraperitoneal olarak, intralezyonel olarak, intrakraniyal olarak, intraartiküler olarak, intraprostatik olarak, intrasplenik olarak, intrarenal olarak, intraplevral olarak, intratrakeal olarak, intranazal olarak, intravitreal olarak,
20 intravajinal olarak, intrarektal olarak, intratümöral olarak, intramasküler olarak, intraperitoneal olarak, subkutanöz olarak, subkonjunktiva olarak, intravesiküler olarak, mukozal olarak, intraperikardiyal olarak, intratraumbilikal olarak, intraoküler olarak, oral olarak, topikal olarak, lokal olarak, inhalasyon
25 yoluyla (örneğin aerosol inhalasyonu), enjeksiyon yoluyla, infüzyon yoluyla, sürekli infüzyon yoluyla, hedef hücreleri doğrudan yıkayan lokalize perfüzyon yoluyla, bir kateter aracılığıyla, bir lavaaj aracılığıyla, kremlerde, lipit bileşimlerde (örneğin lipozomlar) veya başka yöntemlerle ya da
30 yukarıda belirtilenlerin herhangi bir kombinasyonu (bkz. örn. Remington's Pharmaceutical Sciences, 18. baskı, Mack Printing Company, 1990). Parenteral uygulama, özellikle intravenöz enjeksiyon, en yaygın olarak burada tarif edilen immünokonjugatlar gibi polipeptit moleküllerin uygulanmasında kullanılır.

Parenteral bileşimler, enjeksiyon, örneğin subkutanöz, intradermal, intralezyonel, intravenöz, intraarteriyel, intramüsküler, intratekal veya intraperitoneal enjeksiyon yoluyla uygulamaya yönelik tasarlanan yöntemleri içerir . Enjeksiyon için, burada tarif edilen immünokonjugatlar, sulu çözelti-
5 tercihen Hanks çözeltisi, Ringer çözeltisi ya da fizyolojik tuz tamponu gibi fizyolojik olarak geçimli tampon maddelerde formüle edilebilir. Çözelti, süspanse edici, stabilize edici ve/veya dağıtıcı ajanlar gibi formülasyon ile ilgili ajanlar içerebilir. Alternatif olarak immünokonjugatlar, kullanımdan önce örneğin
10 steril pirojensiz su gibi uygun bir araçla ile sulandırılmak üzere toz formda olabilir. Steril enjekte edilebilir çözelti-ler, gereken miktarda burada tarif edilen immünokonjugatların, gerektiği kadar aşağıda numaralandırılmış çeşitli diğer içerik maddeleri ile
15 birlikte uygun çözücüye dahil edilmesiyle hazırlanabilir. Sterillik, örneğin steril filtreleme membranları içerisinde-
filtreleme yoluyla kolaylıkla sağlanabilir. Genellikle, dispersiyonlar, steril edilmiş çeşitli aktif içerik maddeleri, bazik dispersiyon ortamı ve/veya diğer içerik maddeleri içeren
20 steril bir araca dahil edilmesiyle hazırlanır. Steril enjekte edilebilir çözelti-ler, süspansiyonlar veya emülsiyonların hazırlanması için steril tozların kullanılması durumunda, hazırlık için tercih edilen yöntemler, aktif madde tozu ile
birlikte daha önceden steril filtre edilmiş sıvı ortamından alınan
25 herhangi bir istenen ilave içerik sağlayan vakum kurutma veya dondurarak kurutma teknikleridir. Sıvı ortamın, gerekirse uygun bir şekilde tamponlanması ve sıvı seyrelticinin ilk olarak yeterli salin veya glikoz ile enjeksiyondan önce izotonik hale getirilmesi
gerekir. Bileşimin, imalat ve depolama koşulları altında stabil
30 olması ve bakteriler ve mantarlar gibi mikroorganizmaların kontamine edici aksiyonuna karşı korunması gerekir. Endotoksin kontaminasyonunun, minimum olarak güvenli bir seviyede, örneğin 0,5 ng/mg proteinden az şekilde tutulması gerektiği kabul edilir. Uygun farmasötik olarak kabul edilebilir taşıyıcılar, bunlarla
35 sınırlı kalmamak kaydıyla burada sayılanları içerir: fosfat,

sitrat ve diğer organik asitler gibi tamponlar; askorbik asit ve metiyonin içeren antioksidanlar; koruyucular (örneğin oktadesildimetilbenzil amonyum klorür; heksametonyum klorür; benzalkonyum klorür, benzetonyum klorür; fenol, bütil veya benzil alkol; alkil parabenler, örneğin metil veya propil paraben; katekol; resorsinol; sikloheksanol; 3-pentanol; ve m-kresol); düşük molekül ağırlıklı (yaklaşık 10 kalıntının altında) polipeptitler; proteinler, örneğin serum albümin, jelatin veya immünoglobülinler; hidrofilik polimerler, örneğin polivinilpirolidon; amino asitler, örneğin glisin, glutamin, asparajin, histidin, arginin veya lizin; monosakaritler, disakaritler ve diğer karbonhidratlar, örneğin glukoz, mannoz veya dekstrinler; şelatlama ajanları, örneğin EDTA; şekerler, örneğin sukroz, manitol, trehaloz veya sorbitol; tuz oluşturan karşı iyonlar, örneğin sodyum; metal kompleksleri (örn. Zn-protein kompleksleri); ve/veya iyonik olmayan yüzey aktif maddeler, örneğin polietilen glikol (PEG). Sulu enjeksiyon süspansiyonları, örneğin sodyum karboksimetilselüloz, sorbitol ve/veya dekstran ya da benzerleri gibi süspansiyonun viskozitesini arttıran bileşimler içerebilir. İsteğe bağlı olarak, süspansiyon ayrıca, yüksek konsantrasyonlu çözeltilerin hazırlanmasına olanak veren bileşiklerin çözünürlüğünü arttıran uygun stabilizörler veya ajanlar içerebilir. Bunlara ek olarak, aktif bileşiklerin süspansiyonları, uygun yağlı enjeksiyon süspansiyonları olarak hazırlanabilir. Uygun lipofilik çözücüler veya araçlar, susam yağı gibi sabit yağları veya etil kelepçeler (ethyl cleats) veya trigliseritler gibi sentetik yağ asiti esterlerini ya da lipozomları içerir.

Aktif içerik maddeleri, örneğin koaservasyon teknikleriyle ya da interfasiyal polimerizasyonla hazırlanan mikrokapsüller, örneğin sırasıyla hidrokسيمetilselüloz ya da jelatin mikrokapsüller ve poli-(metilmetasilat) mikrokapsüller içinde, kolloidal ilaç dağıtım sistemleri (örneğin lipozomlar, albümin mikrokürecikler, mikroemülsiyonlar, nanopartiküller ve nanokapsüller) ya da

makroemülsiyonlar içinde sıkıştırılabilir. Bu tür teknikler, yukarıda bahsedilen Remington's Pharmaceutical Sciences (18. baskı, Mack Printing Company, 1990) yayınında açıklanmıştır. Sürekli salımlı preparatlar hazırlanabilir. Sürekli salımlı preparasyonların uygun örnekleri arasında, polipeptit içeren katı hidrofobik polimerlerin yarı geçirgen matrisleri bulunur ve bu matrisler, şekilli malzemeler, örneğin filmler veya mikrokapsüller biçimindedir. Belirli uygulamalarda, enjekte edilebilir bir bileşimin uzun süreli absorpsiyonu, örneğin alüminyum monostearat, jelatin veya bunların kombinasyonları gibi absorpsiyonu geciktiren ajanların bileşimlerinde kullanım ile meydana getirilebilir.

Daha önceden tarif edilen bileşimlere ek olarak, immünokonjugatlar ayrıca, depo preparasyonu olarak da formüle edilebilir. Bu tür uzun süreli formülasyonlar, implantasyon aracılığıyla (örneğin subkutanöz olarak veya intramüsküler olarak) ya da intramüsküler enjeksiyon aracılığıyla uygulanabilir. Böylece, örneğin, mevcut kristal formlar, uygun polimerik veya hidrofobik maddelerle (örneğin kabul edilebilir bir yağda emülsiyon olarak) ya da iyon değiştirme reçineleri ile ya da eser miktarda çözünür türevleri olarak, örneğin eser miktarda çözünür tuz olarak formüle edilebilir.

Burada tarif edilen immünokonjugatları içeren farmasötik bileşimler, konvansiyonel karıştırma, çözündürme, emülsiyonlaştırma, kapsülleme, yakalama veya liyofilize etme prosesleri aracılığıyla imal edilebilir. Farmasötik bileşimler, proteinlerin farmasötik olarak kullanılabilecek preparasyonlara prosesini kolaylaştıran bir veya daha fazla fizyolojik olarak kabul edilebilir taşıyıcı, seyreltici, eksipiyan veya yardımcıları kullanılarak konvansiyonel bir şekilde formüle edilebilir. Uygun formülasyon, seçilen uygulama yoluna bağlıdır.

immünokonjugatlar, serbest asit veya baz, nötr veya tuz formunda bir bileşime formüle edilebilir. Farmasötik olarak kabul edilebilir tuzlar, serbest asit veya bazın biyolojik aktivitesini büyük ölçüde muhafaza eden tuzlardır. Bunlar, örneğin proteinli bir bin serbest amino asit grupları ile oluşturulanlar veya örneğin hidroklorik veya fosforik asitler gibi inorganik asitlerle ya da asetik, oksalik, tartarik veya mandelik asit gibi organik asitlerle oluşturulan asit eklenti tuzlarını içerir. Serbest karboksil gruplarıyla oluşturulan tuzlar, örneğin, sodyum, potasyum, amonyum, kalsiyum ve demir hidroksitler gibi inorganik bazlardan ya da izopropilamin, trimetilamin, histidin veya prokain gibi organik bazlardan türetilebilir. Farmasötik tuzlar, sulu ve diğer protik çözücülerde karşılık gelen serbest faz formlarından daha çözünebilir olma eğilimindedir.

Terapötik Yöntemler ve Bileşimler

Burada sağlanan immünokonjugatların herhangi biri terapötik yöntemlerde kullanılabilir. Burada tarif edilen şekilde immünokonjugatlar, örneğin kanserlerin tedavisinde immünoterapötik ajanlar olarak kullanılabilir.

Terapötik yöntemlerde kullanım için, burada tarif edilen immünokonjugatlar formüle edilebilir, dozlanabilir ve iyi tıbbi uygulama ile tutarlı bir şekilde uygulanabilir. Bu bağlamda dikkate alınması gereken faktörler arasında, tedavi edilen belirli bozukluk, tedavi edilen memeli, hasta bireyin klinik durumu, bozukluğun nedeni, ajanların uygulanma alanı, uygulama yöntemi, uygulama planı ve tıp doktorları tarafından bilinen diğer faktörler bulunur.

Bir yönde, bir ilaç olarak kullanılmak üzere burada tarif edilen şekilde immünokonjugatlar sağlanır. Başka yönlerde, bir hastalığı tedavisinde kullanılmak üzere burada tarif edilen şekilde immünokonjugatlar sağlanır. Belirli uygulamalarda, bir tedavi

yönteminde kullanıma yönelik burada tarif edilen şekilde bir immünokonjugat sağlanır. Bir uygulamada, ihtiyacı olan bir bireyde bir hastalığın tedavisinde kullanıma yönelik burada tarif edilen şekilde bir immünokonjugat sağlanır. Belirli uygulamalarda burada
5 tarif edilen bir immünokonjugat, bir hastalığa sahip bireyi tedavi etmeye yönelik olarak bir bireye terapötik olarak etkili bir miktarda immünokonjugat uygulanmasını içeren bir yöntemde kullanılmak üzere sağlanır. Belirli uygulamalarda tedavi edilecek hastalık, proliferatif bir bozukluktur. Belirli bir uygulamada
10 hastalık, kanserdir. Başka uygulamalarda tedavi edilecek hastalık, inflamatuvar bir bozukluktur. Belirli uygulamalarda söz konusu yöntem ayrıca, bireye terapötik olarak etkili bir miktarda en az bir ilave terapötik ajanın, örneğin eğer tedavi edilecek hastalığın kanser olması durumunda bir antikanser ajanın
15 uygulanmasını içerir. Yukarıdaki uygulamalardan herhangi birine göre bir "birey", bir memeli, tercihen bir insandır.

Bir başka yönde mevcut açıklama, burada tarif edilen şekilde bir immünokonjugatın, ihtiyacı olan bir bireyde bir hastalığın
20 tedavisi için bir ilacın imalatında veya hazırlanmasında kullanımını sağlar. Bir uygulamada söz konusu ilaç, bir hastalığa sahip bir bireye terapötik olarak etkili bir miktarda ilaç uygulanmasını gerektiren hastalığı tedavi etmeye yönelik bir yöntemde kullanıma yöneliktir. Belirli uygulamalarda tedavi
25 edilecek hastalık, proliferatif bir bozukluktur. Belirli bir uygulamada hastalık, kanserdir. Başka uygulamalarda tedavi edilecek hastalık, inflamatuvar bir bozukluktur. Bir uygulamada söz konusu yöntem ayrıca, bireye terapötik olarak etkili bir miktarda en az bir ilave terapötik ajanın, örneğin eğer tedavi
30 edilecek hastalığın kanser olması durumunda bir anti-kanser ajanın uygulanmasını içerir. Yukarıdaki uygulamalardan herhangi birine göre bir "birey", bir memeli, tercihen bir insan olabilir.

Bir başka yönünde mevcut açıklama, bir bireyde bir hastalığın
35 tedavi edilmesi için söz konusu biriyeye, burada tarif edilen şekilde

bir immünokonjugatın terapötik olarak etkili bir miktarının uygulanmasını içeren bir yöntem sağlanır. Bir uygulamada, yukarıda tarif edilen şekilde bir immünokonjugatı farmasötik olarak kabul edilebilir bir formda içeren bir bileşim söz konusu bireye uygulanır. Belirli uygulamalarda tedavi edilecek hastalık, proliferatif bir bozukluktur. Belirli bir uygulamada hastalık, kanserdir. Başka uygulamalarda tedavi edilecek hastalık, inflamatuvar bir bozukluktur. Belirli uygulamalarda söz konusu yöntem ayrıca, bireye terapötik olarak etkili bir miktarda en az bir ilave terapötik ajanın, örneğin eğer tedavi edilecek hastalığın kanser olması durumunda bir antikanser ajanın uygulanmasını içerir. Yukarıdaki uygulamalardan herhangi birine göre bir "birey", bir memeli, tercihen bir insan olabilir.

Belirli uygulamalarda tedavi edilecek hastalık, proliferatif bir bozukluk, özellikle de kanserdir. Sınırlayıcı olmayan kanser örnekleri burada sayılanları içerir: mesane kanseri, beyin kanseri, ba  ve boyun kanseri, pankreas kanseri, akciğer kanseri, meme kanseri, yumurtalık kanseri, rahim kanseri, rahim ağzı kanseri, endometriyal kanser, özofagus kanseri, kolon kanseri, kolorektal kanser, kalın bağırsak kanseri, mide kanseri, prostat kanseri, kan kanseri, deri kanseri, skuamöz hücreli karsinom, kemik kanseri ve böbrek kanseri. Burada tarif edilen bir immünokonjugat kullanılarak tedavi edilebilen diğer hücre proliferasyon bozuklukları, bunlarla sınırlı kalmamak kaydıyla, burada sayılanları içerir: karın, kemik, göğüs, sindirim sistemi, karaciğer, pankreas, periton, endokrin bezleri (adrenal, paratiroid, pituiter, testisler, yumurtalık, timus, tiroit), göz, ba  ve boyun, sinir sistemi (merkezi ve çevresel), lenfatik sistem, pelvik, deri, yumuşak doku, dalak, torasik bölge ve ürogenital sistem içinde yerle mi  olan neoplazmalar. Bunlara ayrıca prekanseröz durumlar veya lezyonlar ve kanser metastazları da dahildir. Belirli uygulamalarda, kanser, böbrek hücreli kanser, deri kanseri, akciğer kanseri, kolorektal kanser, meme kanseri, beyin kanseri, ba  ve boyun kanserinden oluşan gruptan seçilir.

Bazı uygulamalarda, özellikle immünokonjugatın efektör parçasının IL-10 olduğu uygulamalarda, tedavi edilecek hastalık, bir inflamatuvar bozukluktur. İnflamatuvar bozuklukların sınırlayıcı olmayan örnekleri arasında romatoid artrit, psoriyazis veya Crohn hastalığı olabilir. Teknikte uzman bir kişi kolaylıkla, birçok durumda immünokonjugatların bir tedavi sağlayamadığını, sadece kısmi bir fayda sağlayabileceğini kolaylıkla fark eder. Bazı uygulamalarda, bazı faydalara sahip bir fizyolojik değişimin de terapötik açıdan faydalı olduğu kabul edilir. Bu yüzden, bazı uygulamalarda, fizyolojik bir değişim sağlayan immünokonjugatın bir miktarının, "etkili miktar" ya da "terapötik olarak etkili miktar" olduğu kabul edilir. Tedaviye ihtiyaç duyan denek, hasta veya birey, tipik olarak bir memeli, daha spesifik olarak ise bir insandır.

Burada tarif edilen immünokonjugatlar ayrıca teşhis ayıraçları olarak da yararlıdır. Bir immünokonjugatın bir antijenik determinanta bağlanması, efektör parça için spesifik bir sekonder antikor kullanılarak kolayca tespit edilebilir. Bir uygulamada, ikincil antikor ve immünokonjugat, immünokonjugatın bir hücre veya doku yüzeyi üzerinde bulunan bir antijenik determinanta bağlanmasının saptanmasını kolaylaştırır.

Bazı uygulamalarda, burada tarif edilen etkili bir miktarda immünokonjugat, bir hücreye uygulanır. Diğer uygulamalarda, burada tarif edilen terapötik olarak etkili bir miktarda immünokonjugat, hastalığın tedavisi için bir bireye uygulanır.

Hastalığın önlenmesi veya tedavisi için, burada tarif edilen bir immünokonjugatın uygun dozajı (tek başına veya diğer bir veya daha fazla ilave terapötik ajan ile kombinasyon halinde kullanıldığında), tedavi edilecek hastalığın türüne, uygulama yoluna, hastanın vücut ağırlığına, immünokonjugat türüne, hastalığın şiddeti ve seyrine, immünokonjugatın önleyici veya terapötik amaçlı olarak uygulanıp uygulanmadığına, önceki veya eş

zamanlı terapötik müdahalelere, hastanın klinik geçmişine immünokonjugata verdiği yanıt, ve uzman doktorun takdir yetkisine bağlıdır. Uygulamadan sorumlu doktor, her durumda, bir bileşimdeki aktif içerik maddesinin (maddelerinin) konsantrasyonuna ve denek 5 birey için uygun dozaj(lar)ına karar verir. Çeşitli doz uygulama planları, örneğin bunlarla sınırlı olmamak kaydıyla, çeşitli zaman noktalarında tekli ya da çoklu uygulamalar, bolus uygulama ve atımlı infüzyon burada düşünülmüştür.

10 İmmünokonjugat, hastaya bir kerede ya da bir dizi tedavi halinde uygun şekilde uygulanır. Hastalığın türüne ve ciddiyetine bağlı olarak, bir veya daha fazla ayrı uygulama biçiminde ya da sürekli infüzyon biçiminde hastaya uygulanacak olan ilk dozaj, yaklaşık 1 µg/kg ile 15 mg/kg (örneğin 0,1 mg/kg - 10 mg/kg) arasında 15 immünokonjugat olabilir. Tipik bir günlük dozaj, yukarıda bahsedilen faktörlere dayalı olarak yaklaşık 1 µg/kg ila 100 mg/kg veya daha fazlası arasında değişebilir. Birkaç gün veya daha uzun süreler boyunca tekrarlanan uygulamalarda, duruma bağlı olarak, tedavi genellikle, hastalık semptomlarının istenen süpresyonu 20 meydana gelene kadar sürdürülür. Örnek niteliğindeki bir immünokonjugat dozajı, yaklaşık 0,005 mg/kg ile yaklaşık 10 mg/kg arasında değişebilir. Diğer sınırlayıcı olmayan örneklerde bir doz ayrıca, uygulama başına yaklaşık 1 mikrogram/kg vücut ağırlığı, yaklaşık 5 mikrogram/kg vücut ağırlığı, yaklaşık 10 mikrogram/kg 25 vücut ağırlığı, yaklaşık 50 mikrogram/kg vücut ağırlığı, yaklaşık 100 mikrogram/kg, yaklaşık 200 miligram/kg vücut ağırlığı, yaklaşık 350 miligram/kg vücut ağırlığı, yaklaşık 500 mikrogram/kg vücut ağırlığı, yaklaşık 1 miligram/kg vücut ağırlığı, yaklaşık 5 miligram/kg vücut ağırlığı, yaklaşık 10 miligram/kg vücut 30 ağırlığı, yaklaşık 50 miligram/kg vücut ağırlığı, yaklaşık 100 miligram/kg vücut ağırlığı, yaklaşık 200 miligram/kg vücut ağırlığı, yaklaşık 350 miligram/kg vücut ağırlığı, yaklaşık 500 miligram/kg vücut ağırlığı ila yaklaşık 1000 mg/kg vücut ağırlığı veya daha fazlasını ve burada türetilen herhangi bir aralığı 35 içerebilir. Burada listelenen sayılardan türetilen bir

aralığın sınırlayıcı olmayan örneklerinde, yaklaşık 5 mg/kg vücut ağırlığı ile yaklaşık 100 mg/kg vücut ağırlığı, yaklaşık 5 mikrogram/kg vücut ağırlığı ile yaklaşık 500 miligram/kg vücut ağırlığı vb. yukarıda tarif edilen sayılara dayanarak uygulanabilir. Bu nedenle, yaklaşık 0,5 mg/kg, 2,0 mg/kg, 5,0 mg/kg ya da 10 mg/kg'lık bir veya daha fazla doz (ya da bunların herhangi bir kombinasyonu) hastaya uygulanabilir. Bu gibi dozlar aralıklı olarak, örneğin her hafta ya da her üç haftada bir uygulanabilir (örneğin hastaya yaklaşık iki ile yaklaşık yirmi doz arasında, 10 örneğin yaklaşık altı doz immünokonjugat uygulanır). Daha yüksek bir başlangıç yükleme dozu ve ardından bir veya daha fazla düşük doz uygulanabilir. Ancak, diğer dozaaj rejimleri de yararlı olabilir. Bu terapinin ilerleyişi, geleneksel teknikler ve analizler yardımıyla kolaylıkla izlenebilir.

15

Burada tarif edilen immünokonjugatları genellikle, planlanan amacı gerçekleştirmek amacıyla etkili bir miktarda kullanılır. Bir hastalık durumunu tedavi etmek veya önlemek için, burada tarif edilen immünokonjugatları veya bunların farmasötik bileşimleri, 20 terapötik olarak etkili bir miktarda verilir veya uygulanır. Terapötik olarak etkili bir miktarın saptanması, özellikle burada sağlanan detaylı açıklamanın ışığında teknikteki uzman kişilerin yetenekleri dahilindedir.

25 Sistemik uygulama için, terapötik olarak etkili bir doz, ilk olarak hücre kültürü analizleri gibi *in vitro* analizlerden tahmin edilebilir. Bir doz, sonrasında, hücre kültüründe belirlenen şekilde IC₅₀ içeren sirküle eden bir konsantrasyon aralığını elde etmek üzere hayvan modellerinde formüle edebilir. Böyle bir bilgi, 30 insanlardaki yararlı dozların daha doğru bir şekilde belirlenmesi için kullanılabilir.

Başlangıç dozaajları, aynı zamanda, teknikte iyi bilinen teknikler kullanılarak, örneğin hayvan modelleri gibi *in vivo* verilerden 35 tahmin edilebilir. Teknikte sıradan uzmanlığa sahip bir kişi,

hayvan verilerine bağlı olarak insanlara uygulamayı kolaylıkla optimize edebilir.

5 Dozaj miktarı ve aralığı, immünokonjugatların terapötik etkinin sürdürülmesi için yeterli olan plazma seviyelerini sağlamak üzere ayrı ayrı ayarlanabilir. Enjeksiyon yoluyla uygulama için normal hasta dozajları, yaklaşık 0,1 ila 50 mg/kg/gün, tipik olarak yaklaşık 0,5 ila 1 mg/kg/gün arasında değişir. Terapötik olarak etkili plazma seviyeleri, her gün birden fazla doz uygulanarak elde
10 edilebilir. Plazmadaki seviyeler, örneğin HPLC ile ölçülebilir.

Lokal uygulama veya selektif alım söz konusu olduğunda, immünokonjugatların etkin lokal konsantrasyonu, plazma konsantrasyonu ile ilgili olmayabilir. Teknikte uzmanlığa sahip
15 bir kişi, terapötik olarak etkili lokal dozajları gereksiz deneyler yapmadan optimize edebilir.

Burada tarif edilen immünokonjugatların terapötik olarak etkili bir dozu, genellikle büyük ölçüde toksisiteye neden olmaksızın
20 terapötik fayda sağlar. Bir immünokonjugatın toksisitesi ve terapötik etkililiği, hücre kültürü ya da deney hayvanları içindeki standart farmasötik prosedürlerle belirlenebilir. Hücre kültürü analizleri ve hayvan çalışmaları, LD₅₀ (bir popülasyonun %50'sinde ölümcül doz) ve ED₅₀'yi (bir popülasyonun %50'sinde terapötik olarak etkili doz) belirlemek için kullanılabilir.
25 Toksik ve terapötik etkiler arasındaki doz oranı terapötik indeks olup, bu LD₅₀/ED₅₀ oranı olarak ifade edilebilir. Büyük terapötik endeksler sergileyen immünokonjugatlar tercih edilir. Bir uygulamada, burada tarif edilen immünokonjugat, yüksek bir
30 terapötik indeks sergiler. Hücre kültürü analizlerinden ve hayvan çalışmalarından elde edilen veriler, insanlarda kullanım için uygun olan bir dizi dozajlamanın formüle edilmesinde kullanılabilir. Dozaj tercihen, hiç toksisiteye sahip olmayan veya çok az toksisite sahip ED₅₀'yi içeren sirküle eden konsantrasyonlar
35 aralığında bulunur. Dozaj, çeşitli faktörlere, örneğin kullanılan

dozaj biçimine, kullanılan uygulama yoluna, deneğin durumuna ve benzerlerine bağlı olarak bu aralıkta değişiklik gösterebilir. Kesin formülasyon, uygulama yolu ve dozaj, hastanın durumu göz önüne alınarak bireysel hekim tarafından seçilebilir (bkz. örn. 5 Fingl ve diğ. 1975: The Pharmacological Basis of Therapeutics, Bölüm 1, s. 1).

Burada tarif edilen şekilde immünokonjugatlar ile tedavi edilen hastalar için uzman doktor, toksisite, organ işlev bozukluğu ve 10 benzeri sebeplerden dolayı uygulamanın nasıl ve ne zaman sonlandırılacağını, ara verileceğini veya ayarlanacağını bilir. Buna karşılık, uzman doktor, klinik yanıt yeterli değilse (toksisiteyi engelleyerek) tedaviyi daha yüksek seviyelere ayarlamayı bilir. İlgili bozukluğun tedavisinde uygulanan bir 15 dozun büyüklüğü, tedavi edilecek durumun ciddiyetine, uygulanma yoluna ve benzerine bağlı olarak değişir. Durumun ciddiyeti, örneğin kısmen standart prognostik değerlendirme yöntemleriyle değerlendirilebilir. Ayrıca, doz ve belki de doz frekansı da hasta bireyin yaşına, vücut ağırlığına ve verdiği yanıtı göre değişir.

20

Diğer Ajanlar ve Tedaviler

Burada tarif edilen immünokonjugatlar, tedavide bir veya daha fazla başka ajan ile kombinasyon halinde uygulanabilir. Örneğin 25 burada tarif edilen bir immünokonjugat, en az bir ilave terapötik ajanla birlikte uygulanabilir. "Terapötik ajan" terimi, böyle bir tedaviye ihtiyaç duyan bir bireyde bir semptomu veya hastalığı tedavi etmek amacıyla uygulanan herhangi bir ajanı kapsar. Bu tür ilave terapötik ajan, tercihen birbirlerini olumsuz şekilde 30 etkilemeyen tamamlayıcı aktivitelere sahip olan, belirli bir endikasyon için uygun herhangi bir aktif içerik maddesi içerebilir. Belirli uygulamalarda, ilave bir terapötik ajan, bir immünomodülatör bir ajan, bir sitostatik ajan, bir hücre adezyonu inhibitörü, bir sitotoksik ajan, bir hücre apoptozu aktivatörü 35 veya hücrelerin apoptotik indükleyicilere duyarlılığını arttıran

bir ajandır. Belirli bir uygulamada, ilave terapötik ajan, bir anti-kanser ajanı, örneğin bir mikro-tübül bozucu, bir antimetabolit, bir topoizomeras inhibitörü, bir DNA ara bağlayıcı, bir alkile edici ajan, bir hormonal tedavi, bir kinaz inhibitörü, bir reseptör antagonisti, bir tümör hücresi apoptozu aktivatörü veya bir anti-anjiyogenik ajandır.

Bu tür diğer ajanlar, tasarlanan amaç için etkili miktarlarda, uygun bir şekilde kombinasyon halinde mevcuttur. Bu gibi diğer ajanların etkili miktarı, kullanılan immünokonjugatın miktarına, bozukluğun türüne veya tedavisine ve yukarıda tartışılan diğer faktörlere bağlıdır. İmmünokonjugatlar genellikle aynı dozajlarda ve burada tarif edilen uygulama yollarıyla ya da burada tarif edilen dozajların yaklaşık %1 ila %99'u arasında ya da deneysel olarak/klinik olarak uygun olduğu belirlenmiş olan herhangi bir dozaj ve herhangi bir yolla kullanılır.

Bu gibi yukarıda belirtilen kombinasyon terapileri birlikte uygulamayı (burada iki veya daha fazla terapötik ajan, aynı ya da farklı bileşimler dahil edilir) ve ayrı uygulamayı içerir ve ayrı uygulama durumunda, immünokonjugatın uygulanması, ilave terapötik ajan ve/veya adjuvanın uygulanmasından önce, eşzamanlı olarak ve/ve ardından gerçekleştirilebilir. Burada tarif edilen immünokonjugatlar, radyasyon terapisi ile birlikte de kullanılabilir.

İmalat Ürünleri

Mevcut açıklamanın başka bir yönünde, yukarıda tarif edilen bozuklukların tedavisi, önlenmesi ve/veya teşhisi için yararlı olacak malzemeler içeren bir imalat ürünü sağlanır. Bu imalat ürünü, bir kap ve kabın üzerinde ya da kapla ilintili olarak bir etiket ya da prospektüs içerir. Uygun kaplar arasında, örneğin, şişeler, viyaller, şırıngalar, IV çözelti torbaları vb. bulunur. Kaplar, örneğin cam ya da plastik gibi çeşitli malzemelerden

oluşturulabilir. Kabın içinde, durumun tedavi edilmesi, önlenmesi ve/veya teşhis edilmesi için tek başına ya da başka bir bileşimle birlikte etkili olan bir bileşim bulunur ve steril bir erişim ağzına sahip olabilir (örneğin kap, bir derialtı enjeksiyon iğnesiyle delinebilen bir tıkaçı bulunan bir intravenöz çözelti torbası ya da bir flakon olabilir). Bileşimdeki en az bir aktif ajan burada tarif edilen bir immünokonjugattır. Etiket ya da prospektüs, bileşimin, seçilen durumun tedavisi için kullanıldığını belirtir. Ürün ayrıca (a) içerisinde burada tarif edilen bir immünokonjugat içeren bir bileşim bulunan bir birinci kaba ve (b) içerisinde başka bir sitotoksik ya da terapötik ajan içeren bir bileşim bulunan bir ikinci kaba sahip olabilir. Mevcut açıklamanın bu uygulamasındaki imalat ürünü ayrıca bileşimlerin belirli bir durumun tedavisinde kullanılabileceğini belirtilen bir prospektüs içerebilir. Alternatif veya ek olarak, imalat ürünü, ayrıca, farmasötik olarak kabul edilebilir bir tampon, örneğin enjeksiyon için bakteriyostatik su (BWFI), fosfat tamponlu salin, Ringer çözeltisi ve dekstroz çözeltisi içeren ikinci (ya da üçüncü) bir kap içerebilir. Ürün ayrıca bir ticari son kullanıcı açısından istenebilecek olan başka malzemeler, örneğin başka tamponlar, seyrelticiler, filtreler, iğneler ve şırıngalar içerebilir.

Örnekler

Örnek 1

Genel yöntemler

Rekombinant DNA Teknikleri

DNA'yı işlemek için standart yöntemler şu yayında tarif edilen şekilde kullanılmıştır: Sambrook ve diğ. Molecular cloning: A laboratory manual; Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York, 1989. Moleküler biyolojik reaktifler

5 üreticinin talimatlarına göre kullanılmıştır. İnsan immünoglobülinlerin hafif ve ağır zincirlerinin nükleotit sekansları ile ilgili genel bilgiler şurada verilmiştir: Kabat, E.A. ve diğ. (1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest, Beşinci Baskı, NIH Yayın No 91-3242.

DNA sekanslama

DNA sekansları, çift iplikçikli sekanslama ile belirlenmiştir.

10

Gen Sentezi

Gerekli olduğu durumda istenilen gen segmentleri, uygun şablonlar kullanılarak PCR ile üretilmiş veya otomatik gen sentezi ile sentetik oligonükleotitler ve PCR ürünlerinden Geneart AG (Regensburg, Almanya) tarafından sentezlenmiştir. Tam bir gen sekansı bulunmayan durumlarda, oligonükleotit primerleri en yakın homologlardan gelen sekanslara dayanılarak tasarlanmış ve genler uygun dokudan kaynaklanan RNA'dan RT-PCR ile izole edilmiştir.

15

20 Tekil kısıtlama endonükleaz yarıma alanları ile çevrelenen gen segmentleri, standart klonlama/sekanslama vektörlerine klonlanmıştır. Plazmit DNA, transforme edilmiş bakterilerden ve UV spektroskopisi ile belirlenmiş konsantrasyondan saflaştırılmıştır. Alt klonlanmış gen fragmanlarının DNA sekansı,

25 DNA sekanslama ile teyit edilmiştir. Gen segmentleri, ilgili ekspresyon vektörlerine alt klonlamaya olanak sağlamak amacıyla uygun kısıtlama yerleri ile tasarlanmıştır. Tüm yapılar, ökaryotik hücrelerde sekresyon için proteinleri hedef alan bir lider peptidi kodlayan bir 5' uçlu DNA sekansı ile tasarlanmıştır. SEQ ID NO

30 8-16'da, bunları kodlayan örnek lider peptitleri ve polinükleotit sekanslarını verir.

IL-2R $\beta\gamma$ alt birimi-Fc füzyonlarının ve IL-2R α alt birimi Fc füzyonunun hazırlanması

35

IL-2 reseptör bağlanma afinitesini incelemek için, bir heterodimerik IL-2 reseptörünün ekspresyonu için izin verilen bir araç üretilmiştir; IL-2 reseptörünün β -alt birimi, (Fc(delik))'i heterodimerize edecek şekilde yapılandırılmış bir Fc molekülüne (bakınız SEQ ID NO 17 ve 18) "deliklerin içine topuzlar" teknolojisi kullanılarak kaynaştırılmıştır (Merchant ve diğ. Nat Biotech. 16, 677-681 (1998)). IL-2 reseptörünün γ alt birimi daha sonra Fc(delik) ile heterodimerize edilen Fc(topuz) varyantına (bkz. SEQ ID NO 19 ve 20) kaynaştırılmıştır. Bu heterodimerik Fc-füzyon proteini daha sonra IL-2/IL-2 reseptör etkileşimini analiz etmek için bir substrat olarak kullanılmıştır. IL-2R α -alt birimi, bir AcTev klevaj alanlı ve bir Avi His etiketli (SEQ ID NO 21 ve 22) monomerik zincir olarak eksprese edilmiştir. İlgili IL-2R alt birimleri, IL-2R $\beta\gamma$ alt birimi yapısı için serum ile ve α alt birimi yapısı için serum olmaksızın, H-EBNA 293 içinde geçici olarak eksprese edilmiştir. IL-2R $\beta\gamma$ alt birim yapısı, protein A (GE Healthcare) üzerinde saflaştırılmış, ardından boyut dışlamalı kromatografi (GE Healthcare, Superdex 200) yapılmıştır. IL-2R α alt birimi, bir NiNTA kolonu (Qiagen) üzerinde His etiketi ile saflaştırılmış ve ardından boyut dışlamalı kromatografi (GE Healthcare, Superdex 75) yapılmıştır. Çeşitli reseptör yapılarının amino asit ve karşılık gelen nükleotit sekansları, SEQ ID NO 17-22 ve 255-268'de verilmiştir.

İmmünokonjugatların hazırlanması

FAP'a yönlendirilen antijen bağlayıcı parçaların oluşturulması ve afinite matürasyonu hakkında detaylar, PCT patent başvurusu yayın no. WO 2012/020006'da ekli Örnekler bölümünde yer alır. Bu belgede tarif edilen şekilde, FAP'a yönlendirilen çeşitli antijen bağlanma domenleri, aşağıdaki örneklerde kullanılan 4G8, 28H1 ve 4B9 olarak adlandırılanlar dahil olmak üzere, faj gösterimi ile oluşturulmuştur. Klon 28H1, parental klon 4G8'e dayanan afinitesi olgunlaştırılmış bir antikör iken, klon 4B9, ana klon 3F2'ye dayanan afinitesi olgunlaştırılmış bir antikördür. Burada

kullanılan 2B10 olarak adlandırılan antijen bağlayıcı domen, Tenasin C'nin A2 domenine (TNC A2) yönlendirilmiştir. TNC A2'ye yönlendirilmiş bu ve diğer antijen bağlayıcı kısımlar hakkındaki detaylar, PCT patent başvurusu yayın no. WO 2012/020038'te bulunabilir. Fibronektinin Ekstra B Domeni'ne (EDB) karşı yönlendirilmiş L19 olarak adlandırılan antijen bağlayıcı domen, PCT yayını WO 2007/128563'te tarif edilen L19 antikorundan türetilmiştir. Burada kullanılan CH1A1A 98/99 2F1 olarak adlandırılan antijen bağlayıcı domen, CEA'ya yönlendirilmiştir ve PCT patent başvurusu yayın no. WO 2012/117002'de daha ayrıntılı olarak tarif edilmiştir.

Aşağıdaki örneklerin bazılarında efektör parça olarak kullanılan IL-2 dörtlü mutant (qm), PCT patent başvurusu yayın no. WO 2012/107417'de ayrıntılı olarak tarif edilmiştir. Kısaca IL-2 qm, aşağıdaki mutasyonlarla karakterize edilir:

1. T3A - tahmini O-glikozilasyon alanının nakavt edilmesi
2. F42A - IL-2/IL-2R α etkileşiminin nakavt edilmesi
3. Y45A - IL-2/IL-2R α etkileşiminin nakavt edilmesi
4. L72G - IL-2/IL-2R α etkileşiminin nakavt edilmesi
5. C125A - disülfür köprülü IL-2 dimerlerini önlemek için mutasyon

IL-2 qm polipeptiti veya bunu içeren bir immünokonjugat, CHO veya HEK293 hücreleri gibi ökaryotik hücrelerde eksprese edildiğinde, T3A mutasyonu, O-glikozilasyon alanının ortadan kaldırmak ve yüksek homojenlik ve saflığa sahip bir protein ürününü elde etmek için seçilmiştir. Üç mutasyon F42A, Y45A ve L72G, IL-2 reseptörünün α alt birimi olan CD25'e bağlanmaya müdahale etmesi için indirgenmiş veya ortadan kaldırılmış CD25

bağlanması, indirgenmiş aktivasyon ile indüklenen hücre ölümüne (AICD), düzenleyici T hücrelerinin tercihli aktivasyonunun bulunmamasına ve aynı zamanda indirgenmiş toksisiteye (WO 2012/107417'de tarif edilen şekilde) neden olur.

5

DNA sekansları, gen sentezi ve/veya klasik moleküler biyoloji teknikleriyle üretilmiş ve bir MPSV promotörünün kontrolü altında ve sentetik bir poliA bölgesinin yukarısında memeli ekspresyon vektörlerine alt klonlanmıştır ve burada her bir vektör bir EBV OriP sekansını taşır. Aşağıdaki örneklerde uygulandığı gibi immünokonjugatlar, kalsiyum fosfat transfeksiyonu kullanılarak, üssel büyüyen HEK293-EBNA hücrelerinin, memeli ekspresyon vektörleri ile birlikte transfekte edilerek üretilmiştir. Alternatif olarak, süspansiyon halinde büyüyen HEK293 hücreleri, ilgili ekspresyon vektörleri ile polietilenimin (PEI) tarafından transfekte edilmiştir. Alternatif olarak, stabil olarak transfekte edilmiş CHO hücre havuzları veya CHO hücre klonları, serumsuz ortamda üretim için kullanılmıştır. Ardından IgG-sitokin füzyon proteinleri, üst fazdan saflaştırılmıştır. Kısaca, IgG-sitokin füzyon proteinleri, 20 mM sodyum fosfat, 20 mM sodyum sitrat pH 7,5 içinde dengelenmiş A proteinli (HiTrap ProtA, GE Healthcare) bir afinite adımıyla saflaştırılmıştır. Üst fazın yüklenmesinden sonra, kolon, öncelikle 20 mM sodyum fosfat, 20 mM sodyum sitrat, pH 7,5 ile yıkanmış ve sonra 13,3 mM sodyum fosfat, 20 mM sodyum sitrat, 500 mM sodyum klorür, pH 5,45 ile yıkanmıştır. IgG-sitokin füzyon proteini, 20 mM sodyum sitrat, 100 mM sodyum klorür, 100 mM glisin pH 3 ile ayrıştırılmıştır. Fraksiyonlar nötrleştirilmiş ve havuzlanmış ve boyut dışlamalı kromatografi marifetiyle (HiLoad 16/60 Superdex 200, GE Healthcare) nihai formülasyon tamponu içinde saflaştırılmıştır: 25 mM potasyum fosfat, 125 mM sodyum klorür, 100 mM glisin pH 6,7. Aşağıdaki seçilmiş yapılar için örnek ayrıntılı saflaştırma prosedürleri ve sonuçları verilmiştir. Saflaştırılmış protein numunelerinin protein konsantrasyonu, amino asit sekansı baz alınarak hesaplanmış molar sönümlleme katsayısı kullanılarak 280 nm'de optik

yoğunluğun (OD) ölçülmesi ile belirlenmiştir. İmmünokonjugatların saflığı ve moleküler ağırlığı, indirgeyici ajanın (5 mM 1,4-ditiotreitol) varlığında ve yokluğunda SDS-PAGE yoluyla ve Coomassie mavisi ile (SimpleBlue™ SafeStain, Invitrogen) boyanarak analiz edilmiştir. NuPAGE® Pre-Cast jel sistemi (Invitrogen), üreticinin talimatlarına göre (%4-20 Tris-glisin jelleri veya %3-12 Bis-Tris) kullanılmıştır. İmmünokonjugat örneklerinin agregat içeriği, 25°C'de 2 mM MOPS, 150 mM NaCl, %0,02 NaN₃, pH 7,3 yürütme tamponunda bir Superdex 200 10/300GL analitik boyut dışlamalı kolon (GE Healthcare) kullanılarak analiz edilmiştir. İndirgenmiş antikor hafif ve ağır zincirlerinin amino asit omurgasının bütünlüğü, Peptit-N Glikozidaz F (Roche Molecular Biochemicals) ile enzimatik muamele yoluyla N-glikanların çıkarılmasından sonra NanoElectrospray Q-TOF kütle spektrometrisi ile doğrulanır. İmmünokonjugatların Fc domenine bağlanan oligosakkaritler aşağıda tarif edilen şekilde MALDI-TOF-MS ile analiz edilmiştir. Oligosakkaritler, PNGaseF sindirimi ile immünokonjugatlardan enzimatik olarak salınır. Salınan oligosakkaritleri içeren sindirim çözeltisi, doğrudan MALDI TOF-MS analizi için hazırlanır ya da MALDI TOF-MS analizi için örnek hazırlamadan önce EndoH glikozidaz ile daha fazla sindirilir.

Örnek 2

FAP hedefli IgG-IL-2 qm füzyon proteinleri, FAP antikorları 4G8, 28H1 ve 4B9 baz alınarak üretilmiştir ve burada, tek bir IL-2 dörtlü mutantı (qm), Şekil 2A'da gösterilen şekilde bir heterodimerik ağır zincirin C terminaline kaynaştırılmıştır. FAP'ın seçici olarak eksprese edildiği tümör stromaya hedefleme, iki değerli antikor Fab bölgesi (avidite etkisi) yoluyla elde edilir. Tek bir IL-2 dörtlü mutantın varlığına neden olan heterodimerizasyon, delik içine topuz teknolojisinin uygulanmasıyla elde edilir. Homodimerik IgG-sitokin füzyonlarının oluşumunu en aza indirmek için sitokin, topuzu içeren IgG ağır zincirinin (C terminali Lys

kalıntısı delesyonuna sahip) C terminaline bir $(G_4S)_3$ veya $G_4-(SG_4)_2$ bağlayıcısı yoluyla kaynaştırılmıştır. Antikor-sitokin füzyonu IgG benzeri özelliklere sahiptir. FcγR bağlanma/efektör fonksiyonunu indirmek ve FcR birlikte aktivasyonunu önlemek için, Fc domenine P329G L234A L235A (LALA) mutasyonları dahil edilmiştir. Bu immünokonjugatların sekansları, SEQ ID NO 193, 269 ve 205 ($(G_4S)_3$ bağlayıcısına sahip 28H1), SEQ ID NO 193, 195 ve 205 ($G_4-(SG_4)_2$ bağlayıcısına sahip 28H1), SEQ ID NO 201, 203 ve 205 ($G_4-(SG_4)_2$ bağlayıcısına sahip 4G8), SEQ ID NO 207, 209 ve 211 ($G_4-(SG_4)_2$ bağlayıcısına sahip 4B9), SEQ ID NO 207, 271 ve 211'de ($(G_4S)_3$ bağlayıcısına sahip 4B9) verilmiştir.

Bunlara ek olarak, anti-CEA antikor CH1A1A 98/99 2F1'i baz alan bir CEA hedefli IgG-IL-2 qm füzyon proteini, IgG'nin spesifik bir hedefe bağlanmadığı bir kontrol DP47GS hedeflenmemiş IgG-IL-2 qm füzyon proteini ve aynı zamanda bir tümör stroma spesifik 2B10 bazlı tenasin C'nin A2 domenine karşı hedeflenmiş IgG-IL-2 qm füzyon proteini oluşturulmuştur. Bu immünokonjugatların sekansları, SEQ ID NO 275, 281 ve 283 ($G_4-(SG_4)_2$ bağlayıcısına sahip CH1A1A 98/99 2F1), SEQ ID NO 277, 281 ve 283 ($(G_4S)_3$ bağlayıcısına sahip CH1A1A 98/99 2F1), SEQ ID NO 219, 221 ve 225 ($G_4-(SG_4)_2$ bağlayıcısına sahip DP47GS), SEQ ID NO 219, 289 ve 225 ($(G_4S)_3$ bağlayıcısına sahip DP47GS), SEQ ID NO 285, 287 ve 239'da ($(G_4S)_3$ bağlayıcısına sahip 2B10) verilmiştir. Yapılar, HEK293 EBNA hücrelerinde geçici ekspresyon yoluyla oluşturulmuştur ve aşağıda tarif edilen şekilde saflaştırılmıştır. Şekiller 3 ila 9, saflaştırmanın örnek niteliğindeki kromatogramlarının ve elüsyon profillerini (A, B) yanı sıra saflaştırılmış nihai yapıların analitik SDS-PAGE'ini ve boyut dışlamalı kromatografilerini (C, D) gösterir. Geçici ekspresyon verimleri, 4G8 bazlı için 42 mg/L, 28H1 bazlı için 20 mg/L, 4B9 bazlı için 10 mg/L, CH1A1A 98/99 2F1 bazlı için 5,3 mg/L, 2B10 bazlı için 36,7 mg/L ve DP47GS bazlı IgG-IL-2 qm immünokonjugat için 13,8 mg/L olmuştur.

Bunlara ek olarak, bir 28H1 bazlı FAP hedefli IgG-IL-15 immünokonjugat oluşturulur ve sekansları, SEQ ID NO 193, 199 ve 205'te verilmiştir. IL-15 polipeptit sekansında, 53. pozisyonda yer alan glutamik asit kalıntısı, IL-15 reseptörünün α alt birimine bağlanmayı indirmek için alanin ile değiştirilir ve 79. pozisyonda yer alan asparajin kalıntısı, glikozilasyonu ortadan kaldırmak için alanin ile değiştirilir. IgG-IL-15 füzyon proteini, geçici ekspresyon ile oluşturulur ve yukarıda tarif edildiği gibi saflaştırılır.

10

FAP bağlanma afinitesi

4G8 ve 28H1 anti-FAP antikorlarını baz alan IgG-IL-2 qm immünokonjugatlarının FAP bağlanma etkinliği, yüzey plazmon rezonansı (SPR) ile karşılık gelen modifiye edilmemiş IgG antikorlarına kıyasla bir Biacore makinesi üzerinde belirlenmiştir. Kısaca, bir anti-His antikor (Penta-His, Qiagen 34660), CM5 çipleri üzerinde, 10 nM His etiketli insan FAP'sini (20 sn) yakalamak üzere immobilize edilmiştir. Sıcaklık 25°C olmuş ve tampon olarak HBS-EP kullanılmıştır. Analit konsantrasyonu, 50 μ l/dk akış hızında 50 nM'den 0,05 nM'ye düşmüştür (birleşme: 300 s, ayrışma: 900 s, rejenerasyon: 60 s 10 mM glisin ile pH 2). Bir 1:1 bağlanma modeli, RI=0, Rmax=lokal (yakalama formatı nedeniyle) baz alınarak uydurma gerçekleştirilmiştir. Aşağıdaki tabloda, 1:1 bağlanma RI = 0, Rmax = lokal ile uydurulmuş SPR tarafından belirlenen şekilde, tahmin edilen iki değerli afiniteler (pM aviditesi) verilmiştir.

	Hu FAP
4G8 IgG-IL-2 qm	100 pM
4G8 IgG	50 pM
28H1 IgG-IL-2 qm	175 pM
28H1 IgG	200 pM

Veriler, yöntemin hatası dahilinde, insan FAP için afinitenin, 28H1 bazlı immünokonjugat için muhafaza edildiğini veya karşılık gelen modifiye edilmemiş antikörlara kıyasla 4G8 bazlı immünokonjugat için sadece biraz azaldığını gösterir.

5

Benzer şekilde 4B9 IgG-IL-2 qm (16 pM), CH1A1A 98/99 2F1 IgG-IL-2 qm (400 pM), CH1A1A 98/99 2F1 IgG-IL-2 wt (bkz. Örnek 4; 470 pM) ve 2B10 IgG-IL-2 qm'nin (konjuge edilmemiş 2B10 IgG için 150 pM'ye karşı 300 pM) sırasıyla insan FAP, CEA ve TNC A2'ye afiniteleri (K_D), 25°C'de SPR ile belirlenmiştir. 4B9 ve 2B10 antikörlarının sırasıyla insan, murin ve sinomolgus FAP veya TNC A2'ye olan çapraz reaktivitesi de doğrulanmıştır.

10

Sonrasında, 4G8 ve 28H1 bazlı IgG-IL-2 qm immünokonjugatlarının IL-2R βγ heterodimerine ve IL-2R α alt birimine afinitesi, yüzey plazmon rezonansı (SPR) ile PCT patenti başvuru yayın no. WO 2012/107417'de tarif edilen Fab-IL-2 qm-Fab immünokonjugat formatıyla doğrudan karşılaştırmayla belirlenmiştir. Kısaca ligantlar, ya insan IL-2R α alt birimi ya da insan IL-2R βγ heterodimeri, bir CM5 çipi üstünde immobilize edilmiştir. Ardından karşılaştırılmak üzere 4G8 ve 28H1 bazlı IgG-IL-2 qm immünokonjugatları veya 4G8 ve 28H1 bazlı Fab-IL-2 qm-Fab immünokonjugatları, 300 nM ila 1,2 nM (1:3 dil.) arasındaki konsantrasyonlarda HBS-EP tamponu içinde 25°C'de analitler olarak çipe uygulanmıştır. Akış hızı, 30 µl/dk olmuş ve birleşme için aşağıdaki şartlar uygulanmıştır: 180s, ayrışma: 300 s ve rejenerasyon: 3 M MgCl₂ ile IL-2R βγ heterodimeri için 2 x 30 s, 50 mM NaOH ile IL-2R α-alt birimi için 10 s. Uydurma için 1:1 bağlayıcı uygulanmıştır (IL-2R βγ için 1:1 bağlanma RI≠0, R_{max}=lokal, IL-2R α için görünen K_D, 1:1 bağlanma RI=0, R_{max}=lokal). İlgili K_D değerleri aşağıdaki tabloda verilmiştir.

20

25

30

Görünen K _D [nM]	Hu IL-2R βγ	Hu IL-2R α
4G8 IgG-IL-2 qm	5,9	Bağlanma

			yok
4G8 Fab-IL-2 qm-Fab	10,4	Bağlanma yok	
28H1 IgG-IL-2 qm	6,2	Bağlanma yok	
28H1 Fab-IL-2 qm-Fab	11,4	Bağlanma yok	

Veriler, 4G8 ve 28H1 bazlı IgG-IL-2 qm immünokonjugatlarının, IL-2R $\beta\gamma$ heterodimerine en az Fab-IL-2 qm-Fab immünokonjugatları kadar iyi bir afinite ile bağlanırken, CD25 bağlanmasına müdahale eden mutasyonların dahil edilmesi nedeniyle IL-2R α alt birimine bağlanmadıklarını gösterir. İlgili Fab-IL-2 qm-Fab immünokonjugatlarına kıyasla, IgG-IL-2 qm füzyon proteinlerinin afinitesinin, yöntemin hatası dahilinde hafif şekilde artmış olduğu görünür.

10

Benzer şekilde, IL-2 wt (bkz. Örnek 4) veya IL-2 qm içeren diğer yapıların (4B9, DP47GS, 2B10, CH1A1A 98/99 2F1) IL-2R $\beta\gamma$ heterodimeri ve IL-2R α alt birimine afinitesi, 25°C'de SPR ile ölçülmüştür. Tüm yapılar için, insan IL-2R $\beta\gamma$ heterodimeri için K_D değeri, (yapının IL-2 wt veya IL-2 qm'nin içerip içermemesine bakılmaksızın) 6 ve 12 nM arasındadır ve sadece IL-2 wt içeren yapılar, IL-2R α alt birimine bağlanma göstermez (yaklaşık 20 nM'de insan IL-2R α için K_D değeri).

15

20 **IgG-sitokin immunokonjugatlar ile Biyolojik Aktivite Analizleri**

FAP hedefli 4G8 bazlı IgG-IL-2 qm füzyonlarının biyolojik aktivitesi, WO 2012/107417'de tarif edilen ticari olarak elde edilebilir IL-2 (Proleukin, Novartis/Chiron) ve/veya Fab-IL-2-Fab immünokonjugatlarına kıyasla çeşitli hücrel analizlerde incelenmiştir.

25

FAP' ı eksprese eden hücrelere bağlanma

FAP hedefli 4G8 bazlı IgG-IL-2 qm immünokonjugatının stabil bir şekilde transfekte edilmiş HEK293 hücreleri üzerinde eksprese edilmiş insan FAP'ye bağlanması FACS ile ölçülmüştür. Kısaca, 5 kuyucuk başına 250.000 hücre, yuvarlak tabanlı 96 kuyucuklu bir plakada belirtilen immünokonjugat konsantrasyonu ile 30 dakika boyunca 4°C'de inkübe edilmiştir ve PBS/%0,1 BSA ile bir kez yıkanmıştır. Bağlı immünokonjugat, FITC ile konjuge edilmiş AffiniPure F(ab')₂ Fragmanı keçi anti-insan F(ab')₂ Spesifik 10 (Jackson Immuno Research Lab #109-096-097, çalışma çözeltisi: 1:20 PBS/%0,1 BSA içinde seyreltilmiş, taze hazırlanmış) ile bir FACS CantoII (Software FACS Diva) kullanılarak 4°C'de 30 dakika süreyle inkübasyondan sonra tespit edilmiştir. Sonuçlar, Şekil 10'da 15 gösterilmiştir. Veriler, IgG-IL-2 qm immünokonjugatının, ilgili 4G8 bazlı Fab-IL-2 qm-Fab yapısınıninkine benzer şekilde (0,7 nM), 0,9 nM'lik bir EC50 değeri ile FAP eksprese eden hücrelere bağlandığını gösterir.

20 NK hücreleri tarafından IFN-γ salınımı (çözelti içinde)

Ardından FAP hedefli 4G8 bazlı IgG-IL-2 qm immünokonjugatı, IL-2R βγ sinyalleme sinin aktivasyonu ile indüklenen NK92 hücreleri tarafından IFN-γ salınımının indüklenmesi için çalışılmıştır. 25 Kısaca IL-2'ye aç bırakılan NK92 hücreleri (96 kuyulu U plakada 100.000 hücre/çukur) dörtlü mutant IL-2'yi içeren farklı konsantrasyonlarda IL-2 immünokonjugatları ile NK ortamında (%10 FCS, %10 at serumu, 0,1 mM 2-merkaptetanol, 0,2 mM inositol ve 0,02 mM folik asit takviyeli MEM alfa, Invitrogen (#22561-021)) 30 24 saat süreyle inkübe edilmiştir. Üst fazlar hasat edilmiş ve IFN-γ salımı, anti-insan IFN-γ ELISA Kit II, Becton Dickinson (#550612) kullanılarak analiz edilmiştir. Proleukin (Novartis) ve 28H1 bazlı Fab-IL-2 qm-Fab, hücrelerin IL-2 aracılı aktivasyonu için pozitif kontrolü görevi görür. Şekil 11, FAP hedefli 4G8 bazlı 35 IgG-IL-2 qm immünokonjugatının, benzer bir şekilde afinitesi

olgunlaştırılmış 28H1 bazlı Fab-IL-2 qm-Fab immünokonjugatı olarak IFN- γ salınımını indüklemeye eşit derecede etkili olduğunu gösterir.

5 STAT5 fosforilasyon analizi

Son bir dizi deneyde, FAP hedefli 4G8 bazlı IgG-IL-2 qm immünokonjugatının, 28H1 bazlı Fab-IL-2 Fab ve Fab-IL-2 qm-Fab immünokonjugatları ile Proleukin'e kıyasla insan PBMC'lerinden elde edilen insan NK hücreleri, CD4⁺ T hücreleri, CD8⁺ T hücreleri ve T_{reg} hücreleri üstünde STAT5 fosforilasyonunun indüklenmesi üzerindeki etkilerini incelemiş bulunuyoruz. Kısaca, heparin içeren şırıngalarda sağlıklı gönüllülerden alınan kan alınmış ve PBMC'ler izole edilmiştir. PBMC'ler, belirtilen konsantrasyonlarda belirtilen immünokonjugatlar ile veya kontrol olarak Proleukin (Novartis) ile tedavi edilmiştir. 37°C'de 20 dakika inkübasyon sonra, PBMC'ler, önceden ısıtılmış Cytofix tamponu (Becton Dickinson #554655) ile 10 dakika süreyle 37°C'de sabitlenmiş, daha sonra Phosflow Perm Buffer III (Becton Dickinson #558050) ile 30 dakika süreyle 4°C'de geçirgenleştirilmiştir. Hücreler %0,1 BSA içeren PBS ile iki kez yıkanmış, daha sonra FACS boyama, farklı hücre popülasyonlarının saptanması ve STAT5'in fosforilasyonu için akış sitometri antikörlerinin karışımları kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Örnekler, Becton Dickinson'dan HTS ile bir FACSCantoII kullanılarak analiz edilmiştir. NK hücreleri, CD3-CD56⁺ olarak tanımlanmış, CD8 pozitif T hücreleri CD3⁺CD8⁺ olarak tanımlanmış, CD4 pozitif T hücreleri, CD4⁺CD25⁻CD127⁺ olarak tanımlanmış ve T_{reg} hücreleri, CD4⁺CD25⁺FoxP3⁺ olarak tanımlanmıştır. Sıfır veya çok düşük CD25 ekspresyonu gösteren NK hücreleri ve CD8⁺ T hücreler için (IL-2R sinyalleme, esas olarak IL-2R $\beta\gamma$ heterodimer aracılığıyla aracılık edilmiştir), sonuçlar, 4G8 bazlı IgG-IL-2 qm immünokonjugatı, Proleukin'den STAT5 fosforilasyonu indüklemeye <10 kat daha az güçlüdür, ancak 28H1 bazlı Fab-IL-2-Fab ve Fab-IL-2 qm-Fab immünokonjugatlarından biraz daha güçlüdür. Uyarılmadan

sonra CD25'in hızlı bir yukarı regülasyonunu gösteren CD4⁺ T hücreleri üzerinde, 4G8 bazlı IgG-IL-2 qm immünokonjugatı, 28H1 Fab-IL-2 Fab immünokonjugatından daha az güçlü olmuş, ancak 28H1 Fab-IL-2 qm-Fab immünokonjugatından biraz daha güçlü olmuş ve yine de Proleukin ve 28H1 Fab-IL-2 Fab ile karşılaştırılabilir doyma konsantrasyonlarında IL-2R sinyallemesinin indüksiyonunu göstermiştir. Bu, T_{reg} hücreleri üzerindeki yüksek CD25 ekspresyonu ve 4G8 bazlı IgG-IL-2 qm immünokonjugatının CD25'e yüksek bağlanma afinitesi nedeniyle, 4G8 bazlı IgG-IL-2 qm'nin gücünün, Fab-IL-2-Fab immünokonjugatına kıyasla önemli ölçüde indirgendiği T_{reg} hücrelerinin tersine bir durumdur. 4G8 bazlı IgG-IL-2 qm immünokonjugatında CD25 bağlanmasının ortadan kaldırılmasının bir sonucu olarak, T_{reg} hücrelerindeki IL-2 sinyallemesi, sadece IL-2R sinyallemesinin, IL-2R $\beta\gamma$ heterodimeri üzerinden CD25 negatif efektör hücreleri üstünde aktifleştirildiği konsantrasyonlarda IL-2R $\beta\gamma$ heterodimeri yoluyla aktifleştirilir. Beraber ele alındığında, burada tarif edilen 4G8 bazlı IgG-IL-2 qm immünokonjugatı, IL-2R $\beta\gamma$ heterodimeri yoluyla IL-2R sinyallemesini aktive edebilir, ancak diğer efektör hücreleri üzerinde T_{reg} hücrelerinin tercihli bir uyarımına neden olmaz. Bu deneylerin sonuçları, Şekil 12'de gösterilmiştir.

2B10 IgG-IL-2 qm'nin TNC A2'yi eksprese eden hücrelere bağlanması

TNC A2 hedefli 2B10 bazlı IgG IL-2 qm immünokonjugatının U87MG hücreleri üzerinde eksprese edilmiş insan TNC A2'yi bağlanması FACS ile ölçülmüştür. Kısaca, kuyucuk başına 200.000 hücre, yuvarlak tabanlı 96 kuyucuklu bir plakada belirtilen immünokonjugat konsantrasyonu ile 30 dakika boyunca 4°C'de inkübe edilmiştir ve PBS/%0,1 BSA ile iki kez yıkanmıştır. Bağlı immünokonjugat, FITC ile konjuge edilmiş AffiniPure F(ab')₂ Fragmanı keçi anti-insan IgG Fc γ Spesifik (Jackson Immuno Research Lab #109-096-098, çalışma çözeltisi: 1:20 PBS/%0,1 BSA içinde seyreltilmiş, taze hazırlanmış) ile bir FACS CantoII (Software FACS Diva) kullanılarak 4°C'de 30 dakika süreyle inkübasyondan

sonra tespit edilmiştir. Sonuçlar, Şekil 13'de gösterilmiştir. Veriler, 2B10 IgG-IL-2 qm immünokonjugatının, ilgili konjuge edilmemiş IgG kadar iyi bir şekilde TNC A2 eksprese eden U87MG hücrelerine bağlandığını gösterir.

5

NK92 hücre proliferasyonunun IgG-IL-2 immünokonjugatları tarafından indüksiyonu

2B10 IgG-IL-2 qm, CH1A1A 98/99 2F1 IgG-IL-2 qm, CH1A1A 98/99 2F1
10 IgG-IL-2 wt, 4B9 IgG-IL-2 qm ve 4B9 IgG-IL-2 wt immünokonjugatları, NK92 hücrelerinin proliferasyonunu indüklemeye kabiliyetleri bakımından test edilmiştir. Proliferasyon analizleri için NK92 hücreleri, IL-2'siz ortamında 2 saat boyunca aç bırakılmıştır, 10000 hücre/kuyucuk, düz tabanlı 96 kuyucuklu plakaya ekilmiştir
15 ve daha sonra IL-2 immünokonjugatlarının () varlığında 37°C, %5 CO2'de nemli bir inkübatörde 3 gün boyunca inkübe edilmiştir. 3 gün sonra, hücre lizatlarının ATP içeriği, Promega'dan CellTiter-Glo Luminesan Hücre Canlılık Testi (# G7571/2/3) kullanılarak ölçülmüştür. Büyümenin yüzdesi, 1,1mg/ml'lik bir
20 Proleukin (Novartis) konsantrasyonunun %100 proliferasyona ve IL-2 uyarımı olmaksızın muamele edilmemiş hücrelerin %0 proliferasyona ayarlanmasıyla hesaplanmıştır. Sonuçlar, Şekil 14 ve 15'te gösterilmiştir. Veriler, tüm yapıların, NK92 hücre proliferasyonunu indükleyebildiği, CH1A1A 98/99 2F1 bazlı
25 yapıların, 2B10 IgG-IL-2 qm immünokonjugatından daha aktif olduğu ve IL-2 wt'yi içeren yapıların, IL-2 qm'ye sahip ilgili yapılardan daha aktif olduğunu göstermiştir.

Örnek 3

30

Genel olarak, insan IgG1 antikorlarının FcγR etkileşimini neredeyse tamamen ortadan kaldıran P329G LALA mutasyonları (bkz. PCT patent başvurusu yayın no. WO 2012/130831), FcγR bağlanma/efektör fonksiyonunun indirgenmesi için dahil edilmiştir
35 ve böylece ilgili sitokin reseptörleri, FcγR sinyalleme ile

birlikte aktive edildiğinde fazla sitokin salımı önlenir. Spesifik durumda, örneğin antikorun, oldukça yüksek bir tümör spesifik antijeni hedeflediğinde, Fc efektör fonksiyonları, bir modifiye edilmemiş IgG Fc domeni kullanılarak muhafaza edilebilir veya IgG Fc domeninin glikoileşmesiyle daha da fazla arttırılabilir.

Bunlara bir örnek olarak, tek bir IL-2 dörtlü mutantının, anti-CEA antikoru klon CH1A1A 98/99 2F1 bazlı bir (SG₄)₃ bağlayıcı yoluyla bir heterodimerik ağır zincirinin C terminaline kaynaştırıldığı bir CEA hedefli IgG-IL-2 qm immünokonjugatı oluşturduk. Bu immünokonjugatta, P329G LALA mutasyonu dahil edilmemiştir (bkz. SEQ ID NO 227, 229 ve 231 sekansları). İmmünokonjugat, aşağıda tarif edilen şekilde insan yabancı IgG veya glikoileşmiş IgG-IL-2 qm füzyon proteinleri olarak eksprese edilmiş ve saflaştırılmıştır.

(Glikoileşmiş) IgG-IL-2 qm immünokonjugatının hazırlanması

CEA hedefli CH1A1A 98/99 2F1 bazlı IgG-IL-2 qm immünokonjugat, HEK293-EBNA hücrelerinin memeli antikor ekspresyon vektörleri ile birlikte transfekte edilmesiyle üretilmiştir. Üssel büyüyen HEK293-EBNA hücreleri, kalsiyum fosfat yöntemiyle transfekte edilmiştir. Alternatif olarak bir süspansiyonda büyüyen HEK293 hücreleri, polietilenimin ile transfekte edilir. Modifiye edilmemiş glikoileşmemiş IgG-IL-2 qm immünokonjugatın üretimi için, hücreler, yalnızca bir 1:1 oranında antikor ağır ve hafif zincir ekspresyon vektörleri ile transfekte edilmiştir (burada antikor ağır zincir vektörü, efektör parçaya sahip ağır zincir için bir vektör ve efektör parçaya sahip olmayan ağır zincir için vektör olmak üzere iki vektöründen oluşan bir 1:1 karışımdır).

Glikoileşmiş CEA hedefli IgG-IL-2 qm immünokonjugatının üretimi için hücreler, sırasıyla bir tanesi bir GnTIII füzyon polipeptitin ekspresyonu için (bir GnT-III ekspresyon vektörü) ve diğeri mannosidaz II ekspresyonu için (bir Golgi mannosidaz II ekspresyon

vektörü) iki ilave plazmit ile birlikte 4:4:1:1 oranında transfekte edilmiştir. Hücreler, %10 FCS ile takviye edilmiş DMEM kültür ortamı kullanılarak T flaskları içinde yapışık tek katmanlı kültürler olarak yetiştirilir ve %50-80 oranında birleştikleri zaman (konflüent hale geldiklerinde) transfekte edilmiştir. Bir T150 flaskının transfeksiyonu için, 15 milyon hücre, transfeksiyondan önce 24 saat FCS (%10 v/v nihai) ile takviye edilmiş 25 ml DMEM kültür ortamında tohumlanmış ve hücreler gece boyunca 37°C'de %5 CO₂ atmosfer ile bir inkübatöre yerleştirilmiştir. Transfekte edilecek her T150 şişesi için, bir DNA, CaCl₂ ve su çözeltisi, hafif ve ağır zincir eksprese vektörleri arasında eşit olarak bölünmüş toplam 94 µg plazmit vektör DNA'sı ve suyun, 469 µl ve 469 µl nihai hacme sahip 1M CaCl₂ çözeltisine karıştırılmasıyla hazırlanmıştır. Bu çözeltiye, pH 7,05'de 938 µl'lik bir 50 mM HEPES, 280 mM NaCl, 1,5 mM Na₂HPO₄ çözeltisi eklenmiş, ardından 10 saniye boyunca karıştırılmış ve oda sıcaklığında 20 saniye beklemeye bırakılmıştır. Süspansiyon, %2 FCS ile takviye edilmiş 10 ml'lik DMEM ile seyreltilmiş ve mevcut ortamın yerine T150 flaskına ilave edilmiştir. Daha sonra ilave 13 ml'lik transfeksiyon ortamı katılmıştır. Hücreler, 37°C'de, %5 CO₂'de yaklaşık 17 ila 20 saat boyunca inkübe edilmiş ve daha sonrasında ortam, 25 ml DMEM, %10 FCS ile değiştirilmiştir. Koşullandırılmış kültür ortamı, 210 x g'de 15 dakika süreyle ortam değişiminden sonra santrifügasyon yoluyla 7 gün hasat edilmiştir. Çözelti, steril filtre (0,22 µm filtre) edilmiştir ve %0,01 w/v'lik nihai konsantrasyondaki sodyum azit eklenmiş ve 4°C'de bekletilmiştir.

Salgılanan yabani tip veya glikoışlenmiş CEA IgG-IL-2 qm immünokonjugatları, Protein A afinite kromatografisi kullanarak afinite kromatografisi yoluyla hücre kültürü üst fazlardan saflaştırılmış ve ardından yukarıda tarif edilen şekilde bir HiLoad Superdex 200 kolonu (GE Healthcare) üzerinde bir boyut dışlamalı kromatografik adım gerçekleştirilmiştir. Protein

konsantrasyonu, saflık, moleküler ağırlık, agregat içeriği ve bütünlük, yukarıda tarif edilen şekilde analiz edilmiştir.

(Glikoışlenmiş) IgG-IL-2 qm immünokonjugatlarının oligosakkarit

5 yapı analizi

Fukoz içeren ve fukolize olmayan oligosakkarit yapılarının nispi oranlarının belirlenmesi için saflaştırılmış immünokonjugatın salınmış glikanları, MALDI TOF kütle spektrometresi ile analiz edilmiştir. İmmünokonjugat örneği (yaklaşık 50 µg) oligosakkaritin protein omurgasından serbest bırakılması için gece boyunca 37°C'de 5 mU N-glikosidaz F (QAbio; PNGaseF: E-PNG01) ile 2 mM Tris, pH 7,0 içinde inkübe edilir. Glikanların deaminasyonu için, 150 mM'lik bir nihai konsantrasyona kadar asetik asit eklenir ve 1 saat boyunca 37°C'de inkübe edilir. MALDI TOF kütle spektrometresi ile yapılan analiz için, 2 µL'lik numune, MALDI hedefi üzerinde 4 mg'lık %50 etanol/5 mM NaCl içinde çözündürülmüş bir 2 µL DHB matris çözeltisi (2,5-dihidroksibenzoik asit [Bruker Daltonics # 201346]mg/ml) ve MALDI TOF Kütle Spektrometresi Autoflex II cihazı (Bruker Daltonics) ile analiz edilmiştir. Rutin olarak, 50-300 atış kaydedilir ve bunlar tek bir deneyde toplanır. Elde edilen spektrumlar flex analiz yazılımı (Bruker Daltonics) ile değerlendirilir ve tespit edilen piklerin her biri için kütleler belirlenir. Daha sonra hesaplanan kitlelerin ve ilgili yapılar (örn. fukozlu veya fukozsuz sırasıyla kompleks, hibrit ve oligo veya yüksek mannoz gibi) için teorik olarak beklenen kitlelerin karşılaştırılmasıyla pikler, karbohidrat yapıları içeren fukoz içeren veya fukolize olmayan karbonhidrat yapılarına atanır.

30

Hibrid yapıların oranının belirlenmesi için antikor örnekleri, N-glikosidaz F ve Endo-glikosidaz H [QAbio; EndoH: E-EH02] ile birlikte eşzamanlı olarak parçalanır. N-glikozidaz F, protein omurgasından gelen tüm N bağlantılı glikan yapılarını (kompleks, hibrid ve oligo ve yüksek mannoz yapıları) ve ek olarak

35

Endo-glikozidaz H, glikanın indirgen ucundaki iki N-asetilglukozamin (GlcNAc) kalıntıları arasındaki tüm hibrit tür glikanları parçalar. Bu sindirim daha sonra, yukarıda N-glikozidaz F ile sindirilmiş numune için tarif edilen şekilde MALDI TOF kütle spektrometresi ile muamele edilir ve analiz edilir. N-glikozidaz F sindiriminden ve toplanan N-glikosidaz F/Endo H sindiriminden elde edilen paternin karşılaştırılmasıyla belirli bir karbonhidrat yapısının sinyallerinin indirgenme derecesi, hibrit yapıların göreceli içeriğini tahmin etmek üzere kullanılır. Her karbohidrat yapısının göreceli miktarı, tek bir yapının pik yüksekliğinin tespit edilen tüm oligosakkaritlerin pik yüksekliklerinin toplamına oranından hesaplanır. Fukoz miktarı, N-glikozidaz F ile muamele edilmiş numunede (örn. kompleks, hibrit ve oligo ve yüksek mannoz yapıları) belirlenen tüm karbonhidrat yapılarıyla ilişkili, fukoz içeren yapıların yüzdesidir. Fukozilleşme miktarı, N-glikozidaz F ile muamele edilmiş örnekte (örn. sırasıyla kompleks, hibrit ve oligo ve yüksek mannoz yapıları) belirlenen tüm karbonhidratlara göre fukoz içermeyen yapıların yüzdesidir.

20

Antikor bağımlı hücre aracılı sitotoksitesite analizi

Yabani tip ve glikosillenmiş CEA hedefli CH1A1A 98/99 2F1 IgG-IL-2 qm immünokonjugatları, antikor aracılı hücre sitotoksitesitesine aracılık etmedeki potansiyelleri bakımından ADCC analizlerinde karşılaştırılmıştır. Kısaca, hedef hücreler olarak CEA'yı aşırı eksprese eden A549 insan tümör hücreleri toplanmış, yıkanmış ve bir kültür ortamında yeniden süspanse edilmiş, taze hazırlanmış Calcein AM (Molecular Probes) ile 37°C'de 30 dakika boyunca boyanmış, üç kez yıkanmış, sayılmış ve 300.000 hücre/ml'ye seyreltilmiştir. Bu süspansiyon yuvarlak tabanlı 96 kuyucuklu bir plakaya aktarılmış (30000 hücre/kuyucuk), ilgili immünokonjugat dilüsyonu ilave edilmiş ve test edilen immünokonjugat efektör hücrelerle temas etmeden önce hücrelere bağlanmasını sağlamak için 10 dakika inkübe edilmiştir. Efektör hedef oranı, taze izole

35

edilmiş PBMC'ler için 25'e 1'dir. Birlikte inkübasyon 4 saat süreyle gerçekleştirilmiştir. İki farklı okuma sistemi kullanılmıştır: saldırıya uğramış hücrelerin ayrışmasından sonra laktat dehidrogenazın (LDH) üst faza salınımı ve kalan canlı hücrelerde Kalsein tutunumu. Ortak kültür üst fazından LDH toplanmış ve bir LDH saptama Kiti (Roche Applied Science) ile analiz edilmiştir. LDH enzimi tarafından substrat dönüşümü bir ELISA absorbans okuyucu (SoftMaxPro yazılımı, referans dalga boyları: 490 nm'ye karşı 650 nm) ile ölçülmüştür. Pellet halindeki hücrelerden üst fazın geri kalanının çıkarılmasından, lizizden önce PBS'de bir yıkama adımı ve hücrelerin borat tampon (50 mM borat, %0,1 Triton) ile sabitlenmesinden sonra, canlı hücrelerde kalan Kalsein, bir floresans okuyucuda (Wallac VICTOR3 1420 Multilabel COUNTER (Perkin Elmer)) analiz edilmiştir.

Şekil 16'da, LDH saptamasına dayanan sonuç gösterilmiştir. Benzer bir sonuç, kalsein tutunumuna dayanılarak elde edilmiştir (gösterilmemiştir). Her iki yapı, ADCC'ye aracılık edebilmiştir ve glikoışlenmiş yapı, ilgili glikoışlenmiş konjuge edilmemiş IgG ile benzer şekilde aktif olmuştur. Beklendiği üzere glikoışlenmemiş yapı, glikoışlenmiş yapıya kıyasla indirgenmiş aktivite göstermiştir.

Örnek 4

FAP hedefli 28H1 veya 4B9 bazlı, CEA hedefli CH1A1A 98/99 2F1 bazlı ve hedeflenmemiş DP47GS bazlı IgG-IL-2 immünokonjugatlar oluşturulmuştur ve burada tek bir yabancı tip IL-2 polipeptiti, heterodimerik ağır zincirin C terminaline kaynaştırılmıştır. Tek bir IL-2 parçasına sahip bir immünokonjugat ile sonuçlanan heterodimerizasyon, delik içine topuz teknolojisinin uygulanmasıyla elde edilir. Homodimerik IgG-IL-2 füzyon proteinlerinin oluşumunu en aza indirmek için sitokin, (C terminali Lys kalıntısı delesyonu bulunan) topuz içeren ağır zincire bir $G_4-(SG_4)_2$ veya $(G_4S)_3$ bağlayıcısı yoluyla

kaynaştırılmıştır. Bu immünokonjugatların sekansları, SEQ ID NO 193, 197 ve 205 (G₄-(SG₄)₂bağlayıcısına sahip 28H1), SEQ ID NO 207, 273 ve 211 ((G₄S)₃ bağlayıcısına sahip 4B9), SEQ ID NO 277, 279 ve 283 ((G₄S)₃ bağlayıcısına sahip CH1A1A 98/99 2F1), SEQ ID NO 219, 223 ve 225 (G₄-(SG₄)₂ bağlayıcısına sahip DP47GS), SEQ ID NO 219, 293 ve 225'de ((G₄S)₃ bağlayıcısına sahip DP47GS) verilmiştir. Antikor-sitokin füzyonu IgG benzeri özelliklere sahiptir. FcγR bağlanma/efektör fonksiyonunu indirmek ve FcR birlikte aktivasyonunu önlemek için, Fc domenine P329G LALA mutasyonları dahil edilmiştir. İki yapı da yukarıda tarif edilen şekilde saflaştırılmıştır. Son saflaştırma, son formülasyon tamponu 20 mM histidin, 140 mM sodyum klorür pH 6'da boyut dışlamalı kromatografi (HiLoad 26/60 Superdex 200, GE Healthcare) ile gerçekleştirilmiştir. Şekiller 17 ila 20, saflaştırmanın ilgili kromatogramlarının ve elüsyon profillerini (A, B) yanı sıra saflaştırılmış nihai yapıların analitik SDS-PAGE'ini ve boyut dışlamalı kromatografilerini (C, D) gösterir. Verim, hedeflenmemiş DP47GS IgG-IL-2 immünokonjugatı için 15,6 mg/L, 28H1 IgG-IL-2 immünokonjugatı için 26,7 mg/ml, CH1A1A 98/99 2F1 IgG-IL-2 immünokonjugatı için 4,6 mg/L ve 4B9 IgG-IL-2 immünokonjugatı için 11 mg/L olmuştur.

Ardından bunların FAP'ye bağlanma özellikleri, sırasıyla bağlanma yoksunluğu ve ayrıca IL-2R βγ ve IL-2R α zincirine bağlanma yukarıda tarif edilen şekilde SPR ile ölçülmüştür (bkz. Örnek 2). İmmün efektör hücre popülasyonları üzerindeki hücresel aktivite ve in vivo farmakodinamik etkiler incelenmiştir.

Örnek 5

30

FAP hedefli 4G8 bazlı ve ayrıca TNC A2 hedefli 2B10 bazlı IgG-IL-10 immünokonjugatları, bir (G₄S)₄ 20-mer bağlayıcısının iki IL-10 molekülü arasında yerleştirildiği bir tek zincirli IL-10 ya da işlenmiş bir monomerik IL-10 olmak üzere iki farklı IL-10 sitokin formatının bir delik modifikasyonu içeren heterodimerik IgG'nin

35

ağır zincirinin C terminaline kaynaştırılmasıyla oluşturulmuştur (Josephson ve diğ. J Biol Chem 275, 13552-7 (2000)). Her iki molekül, bir (G₄S)₃ 15-mer bağlayıcısı aracılığıyla C terminal Lys kalıntısının delesyonu ile birlikte bir delik modifikasyonu içeren ağır zincirin C terminaline kaynaştırılmıştır. Bir IL-10 parçası taşıyan sadece bir ağır zincir ile sonuçlanan heterodimerizasyon, delik içine topuz teknolojisinin uygulanmasıyla elde edilir. IgG-sitokin füzyonu, IgG benzeri özelliklere sahiptir. FcγR bağlanma/efektör fonksiyonunu indirmek ve FcR birlikte aktivasyonunu önlemek için, immünokonjugatın Fc domenine P329G LALA mutasyonları dahil edilmiştir. İlgili yapıların sekansları, SEQ ID NO 233, 235 ve 239 (scIL-10'a sahip 2B10), SEQ ID NOs 233, 237 ve 239 (monomerik IL-10 "IL-10M1"e sahip 2B10), SEQ ID NO 241, 243 ve 205 (scIL-10'a sahip 4G8), SEQ ID NO 241, 245 ve 205'te (IL-10M1'e sahip 4G8) verilmiştir. Bu immünokonjugatların tümü yukarıda tarif edilen şekilde saflaştırılmıştır. Ardından, bunların sırasıyla FAP veya TNC A2'ye bağlanma özellikleri ve ayrıca insan IL-10R1'e afiniteleri, ProteOn XPR36 biyosensör kullanılarak SPR ile belirlenmiştir. Kısaca, FAP veya TNC A2 hedefleri ve aynı zamanda insan IL-10R1, sensör çipinin yüzeyinde dikey bir oryantasyonda immobilize edilmiştir (standart amin bağlama ile FAP, nötravidin yakalama ile TNC A2 ve insan IL-10R1 (her ikisi de bir C terminal avi etiketi ile biyotinlenmiştir)). Ardından IgG-IL-10 immünokonjugatları, yatay oryantasyonda analitler olarak sıfır konsantrasyon da dahil olmak üzere altı farklı konsantrasyonda enjekte edilmiştir. Çift referanslamadan sonra sensogramlar, kinetik hız sabitleri ve afinitelerini belirlemek için bir 1:1 etkileşim modeline uydurulmuştur. Analitik SDS PAGE analizi ve hedef antijenlere ve aynı zamanda IL-10 reseptörüne SPR bazlı afinite tayinlerinden elde edilen sonuçlar, Şekil 21 ve 22'de gösterilmiştir. Veriler, immünokonjugatların, IL-10 reseptörleri için K_D değerleri 520 ve 815 pM iken, sırasıyla 52 veya 26 pM'lik K_D değerleri ile TNC A2 veya FAP'ye bağlandığını gösterir.

Örnek 6

Yukarıda tarif edilen yöntemlere göre, topuz modifikasyonuna sahip IgG ağır zincirinin ikinci Fab bölgesi, bir (G₄S)_n linker (n=1) aracılığıyla bir sitokin parçası ile değiştirilirken bir delik modifikasyonu içeren bir Fc domeni alt biriminin N terminaline kaynaştırılmış FAP'ye yönlendirilmiş bir tek 28H1 bazlı veya 4B9 bazlı Fab bölgesinden oluşan IgG-sitokin füzyon proteinleri oluşturulmuştur ve eksprese edilmiştir. Söz konusu immünokonjugat formatının (aynı zamanda "1+1" formatı olarak da adlandırılır) şematik bir temsili için bkz. Şekil 2C. Kullanılan sitokin parçaları, yukarıda ve PCT patent başvurusu yayın no. WO 2012/107417'de (bkz. SEQ ID NO: 3) tarif edilen IL-2 dördütlü mutanti, IL-7 ve IFN- α 'dır. Bir topuz modifikasyonu içeren bir Fc domeni alt biriminin N terminaline bir bağlayıcı peptit aracılığıyla kaynaştırılmış sitokin parçası içeren füzyon polipeptitlerinin ilgili sekansları, SEQ ID NO 247 (dördütlü mutant IL-2 içerir), 249 (IL-7 içerir) ve 251'de (IFN- α içerir) verilmiştir. Bu yapılarda immünokonjugatın hedeflenmesi, yüksek afiniteli tek değerli Fab bölgesi aracılığıyla gerçekleştirilir. Bu format, antijenin internalizasyonunun, bir tek değerli bağlayıcı kullanılarak indirgenebileceği durumlarda önerilir. İmmünokonjugatlar, yukarıda tarif edilen şekilde üretilmiş, saflaştırılmış ve analiz edilmiştir. IL-2 qm veya IL-7'yi içeren yapılar için, protein A afinite kromatografisi ve boyut dışlamalı kromatografi, tek bir seferde birleştirilmiştir. 20 mM histidin, 140 mM NaCl pH 6,0, boyut dışlamalı kromatografi ve nihai formülasyon tamponu olarak kullanılmıştır. Şekil 23-26, saflaştırmaların elüsyon profillerini ve kromatogramlarını ve ayrıca saflaştırılmış nihai yapıların analitik SDS-PAGE ve boyut dışlamalı kromatografilerini gösterir. Verimler, 4B9 "1+1" IgG-IL-2 qm için 11 mg/L, 28H1 "1+1" IgG-IL-2 qm için 43 mg/L, 4B9 "1+1" IgG-IL-7 için 20,5 mg/L ve 4B9 "1+1" IgG-IFN- α yapıları için 10,5 mg/L olmuştur.

IgG-IL-2 qm immünokonjugatlarına kıyasla IL-2 qm içeren "1+1" yapıların NK hücre proliferasyonunu indükleme kabiliyeti test edilmiştir. NK-92 hücreleri, 96 kuyucuklu, siyah, düz, berrak tabanlı plakalara 10000 hücre/kuyucuk yoğunluğunda ekilmeden önce
5 2 saat a  bırakılmıştır. İmmünokonjugatlar, ekilmiş NK-92 hücreleri üzerine titre edilmiştir. 72 saat sonra, ATP içeriği, üreticinin talimatlarına göre "CellTiter-Glo Luminescent Cell Viability Assay" Kit (Promega) kullanılarak canlı hücrelerin sayısını belirlemek üzere ölçülmüştür. şekil 27, "1+1" yapıların,
10 ilgili IgG-IL-2 qm yapılarına göre biraz daha az aktif olmak üzere NK-92 hücrelerinin proliferasyonunu indükleyebildiğini gösterir.

IL-2 qm veya IL-7 içeren 4B9 bazlı "1+1" yapıları, IgG-IL-2 immünokonjugatlarına kıyasla T hücresi proliferasyonunu indükleme
15 kabiliyeti bakımından test edilmiştir. Periferel kan mononükleer hücreleri (PBMC), Histopaque-1077 (Sigma Diagnostics Inc., St. Louis, MO, ABD) kullanılarak hazırlanmıştır. Kısaca, buffy coat'lerden elde edilen kan, 5:1 oranında kalsiyum ve magnezyum içermeyen PBS ile seyreltilmiştir ve Histopaque-1077  zerine
20 kaplanmıştır. Gradyan, oda sıcaklığında (RT) 30 dakika boyunca ara verilmeden 450 x g'de santrifüj edilmiştir. PBMC'leri içeren interfaz toplanmış ve üç kez PBS ile yıkanmıştır (350 x g, ardından 10 dakika boyunca 300 x g, oda sıcaklığında). PBMC'ler, 1  g/ml PHA-M (Sigma Aldrich #L8902) ile gece boyunca önceden uyarılmıştır
25 ve daha sonra, 100 nM CFSE (karboksifloresein süksinimidil ester) ile 15 dakika süreyle 37 C'de işaretlenmiştir. Hücreler işaretli PBMC'lerin 30 dakika süreyle 37 C'de geri kazanımından önce 20 ml ortam ile yıkanmıştır. Hücreler yıkanmış, sayılmış ve 100000 hücre 96 kuyucuklu U tabanlı plakalara ekilmiştir. İmmünokonjugatlar,
30 6 günlük bir inkübasyon süresi boyunca ekilmiş hücrelere titre edilmiştir. Bunun ardından hücreler yıkanmış, uygun hücre yüzey işaretleri için boyanmış ve bir BD FACSCantoII kullanılarak FACS ile analiz edilmiştir. CD4 T hücreleri, CD3⁺/CD8⁻ olarak ve CD8 T hücreleri CD3⁺/CD8⁺ olarak tanımlanmıştır.

Şekil 28, IL-2 qm veya IL-7 içeren "1+1" yapılarının, PHA ile aktive edilmiş CD4 (A) ve CD8 T hücrelerinin (B) proliferasyonunu indükleyebilmiştir. NK hücreleri söz konusu olduğunda, IL-2 qm içeren "1+1" yapısı, bir IgG-IL-2 qm yapısından biraz daha az aktiftir.

IFN- α içeren 4B9 bazlı "1+1" yapısı, Roferon A'ya (Roche) kıyasla Daudi hücre proliferasyonunu inhibe etme kabiliyeti bakımından test edilmiştir. Kısaca, Daudi hücreleri, 100 nM CFSE ile işaretlenmiştir ve bir 96 kuyucuklu U tabanlı plakaya ekilmiştir (50.000 hücre/kuyucuk). Moleküller, belirtilen konsantrasyonlarda eklenmiş ve ardından 3 gün süreyle 37°C'de inkübasyona tabi tutulmuştur. Proliferasyon, canlı/ölü boyası kullanılarak analizden ölü hücrelerin hariç tutulmasıyla, CFSE dilüsyonunun analiz edilmesiyle ölçülmüştür.

Şekil 29, yapının, Daudi hücrelerinin proliferasyonunu, en az Roferon A kadar kuvvetli bir şekilde inhibe edebildiğini gösterir.

Örnek 7

Tekli doz farmakokinetiği (PK) çalışması, yabani tip veya dörtlü mutant IL-2 içeren FAP hedefli IgG-IL2 immünokonjugatları ve yabani tip veya dörtlü mutant IL-2 içeren hedeflenmemiş IgG-IL-2 immünokonjugatları için tümörsüz immüno etkin 129 farelerinde gerçekleştirilmiştir.

129 dişi fare; deney başlangıcında 8-9 haftalık (Harlan, İngiltere), taahhüt edilen esaslara (GV-Solas; Felasa; TierschG) uygun olarak 12 saat ışık/12 saat karanlık şeklindeki günlük döngülerle, spesifik-patojensiz koşullar altında muhafaza edilmiştir. Deneysel çalışma protokolü yerel devlet tarafından gözden geçirilmiş ve onaylanmıştır (P 2008016). Hayvanlar geldikten sonra, yeni çevreye alışmaları ve gözlem amacıyla bir

hafta süreyle muhafaza altında tutulmuştur. Sağlık durumları sürekli olarak ve düzenli bir şekilde izlenmiştir.

Farelere, bir kez i.v. FAP hedefli 28H1 IgG-IL2 wt (2,5 mg/kg) veya 28H1 IgG-IL2 qm (5 mg/kg) veya hedeflenmemiş DP47GS IgG-IL2 wt (5 mg/kg) veya DP47GS IgG-IL2 qm (5 mg/kg) enjekte edilmiştir. Tüm farelere 200 µl uygun çözelti i.v. olarak enjekte edilmiştir. 200 µl başına uygun miktarda immünokonjugat elde etmek için, stok çözeltileri gerektiği kadar PBS ile seyreltilmiştir.

Fareler 1, 8, 24, 48, 72, 96. saatlerde ve daha sonra 3 hafta boyunca 2 günde bir kanatılmıştır. Serumlar ekstrakte edilmiş ve -20°C'de ELISA analizine kadar saklanmıştır. Serumdaki immünokonjugat konsantrasyonları, IL-2-immünokonjugat antikorunun (Roche-Penzberg) nicelenmesi için bir ELISA kullanılarak belirlenmiştir. Absorpsiyon, 405 nm'lik bir ölçüm dalgaboyu ve 492 nm'lik bir referans dalga boyu (VersaMax ayarlanabilen mikropalak okuyucu, Moleküler Cihazlar) kullanılarak ölçülmüştür.

Şekil 30, bu IL-2 immünokonjugatlarının farmakokinetiğini gösterir. Hem FAP hedefli (A) hem de hedeflenmemiş (B) IgG-IL2 qm yapıları, karşılık gelen IgG-IL-2 wt yapılarından (yaklaşık 15 saat) daha uzun bir serum yarı ömrüne (yaklaşık 30 saat) sahiptir. Deney koşulları doğrudan benzer olmamasına rağmen, burada tarif edilen IL-2 immünokonjugatlarının serum yarı ömrü, örneğin Gillies ve diğ. Clin Cancer Res 8, 210-216 (2002) yayınında bildirilen şekilde teknikte bilinen "2+2" IgG-IL-2 immünokonjugatlarının (bkz. Şekil 1) serum yarı ömründen daha uzun olduğu not olarak düşülebilir.

Bileşik	Doz	Formülasyon tamponu	Konsantrasyon (mg/mL)
28H1-Ig G-IL2 wt	2,5 mg/kg	20 mM Histidin, 140 mM NaCl,	3,84 (= stok çözelti)

		pH 6,0	
28H1-Ig G-IL2 qm	5 mg/kg	20 mM Histidin, 140 mM NaCl, pH 6,0	2,42 (= stok çözelti)
DP47GS- IgG-IL2 wt	5 mg/kg	20 mM Histidin, 140 mM NaCl, pH 6,0	3,74 (= stok çözelti)
DP47GS- IgG-IL2 QM	5 mg/kg	20 mM Histidin, 140 mM NaCl, pH 6,0	5,87 (= stok çözelti)

Örnek 8

Burada tarif edilen immünokonjugatların tümör hedeflemesini
5 değerlendirmek için biyodağılım çalışması gerçekleştirilmiştir.
FAP hedefli 28H1 bazlı IgG-IL-2 qm, FAP hedefli konjuge edilmemiş
28H1 IgG ve 4B9 IgG ve hedeflenmemiş DP47GS IgG ile
karşılaştırılmıştır. Ayrıca, bir SPECT/CT görüntüleme çalışması,
DP47GS IgG-IL-2 qm, 4B9 IgG ve DP47GS IgG'ye kıyasla 4B9 IgG-IL-2
10 qm ile gerçekleştirilmiştir.

DTPA konjugasyonu ve ¹¹¹In işaretleme

28H1 IgG-IL-2 qm, 28H1 IgG₁, 4B9 IgG-IL-2 qm, 4B9 IgG₁ ve DP47 IgG₁
15 çözeltileri, fosfat tamponlu saline (PBS, 15 mM) karşı diyaliz
edilmiştir. Yapıların (5 mg/ml) iki mg'ı, oda sıcaklığında (RT)
bir saat boyunca 5 kat molar ITC-DTPA fazlalık ile inkübasyon
yoluyla katı metallsiz koşullar altında, 0,1 M NaHCO₃, pH 8,2'de
izotiyosiyanatobenzil-dietilentriaminpentaasetik asit
20 (ITC-DTPA, Macrocyclus, Dallas, TX) ile konjuge edilmiştir.
Konjuge edilmemiş ITC-DTPA, 0,1 M 2-(N-morfolino)etansülfonik
asit (MES) tamponu, pH 5,5'e karşı diyaliz yoluyla çıkarılmıştır.

Saflaştırılan konjugatlar, 30 dakika süreyle katı metallsiz koşullar altında %0,05 sığır serumu albümini (BSA) ve %0,05 Tween-80 içeren 0,1 M MES tamponu, pH 5.5'te ¹¹¹In (Covidien BV, Petten, Hollanda) ile inkübasyon yoluyla radyoaktif
5 işaretlenmiştir. Radyoaktif işaretlemeden sonra, bağlı ¹¹¹In'yi şelatlamak için 5 mM'lik bir nihai konsantrasyona kadar etilendiamintetraasetik asit (EDTA) eklenmiştir. ¹¹¹In işaretlenmiş ürünler, tek kullanımlık G25M kolonları (PD10, Amersham Biosciences, Uppsala, İsveç) üzerinde jel filtrasyon ile
10 saflaştırılmıştır. Saflaştırılmış ¹¹¹In işaretli yapıların radyokimyasal saflığı, mobil faz olarak 0,1 M sitrat tamponu, pH 6,0 kullanılarak TEC Kontrol kromatografi şeritleri (Biodex, Shirley, NY) üzerinde anlık ince tabaka kromatografisi (ITLC) ile belirlenmiştir. ¹¹¹In işaretlenmiş preparasyonların spesifik
15 aktivitesi, 0,6-4,6 MBq/µg olmuştur.

Lindmo analizi

¹¹¹In işaretli antikor preparatlarının immünoreaktif fraksiyonu
20 daha önce tarif edildiği gibi belirlenmiştir (Lindmo ve diğ. (1984) J Immunol Methods 72, 77-89). Kısaca, fibroblast aktivasyon proteini (FAP) cDNA (HEK-FAP hücreleri) ile transfekte edilmiş insan embriyonik böbrek (HEK) hücrelerinin bir seri dilüsyon serisi, 200 Bq ¹¹¹In işaretli yapı 37°C'de 1 saat süreyle inkübe
25 edilmiştir. En düşük hücre konsantrasyonunun bir kopyası, spesifik olmayan bağlanmayı düzeltmek için bir işaretlenmemiş bir yapı fazlalığının varlığında inkübe edilmiştir. Inkübasyondan sonra hücreler yıkanmış ve döndürülmüştür ve hücre ile ilişkili radyoaktivite, bir gamma sayacında hücre peletinde belirlenmiştir
30 (Wallac Wizzard 3'' 1480 otomatik γ sayacı, Pharmacia LKB). Preparatların immünoreaktif fraksiyonu, %75-94 arasında değişmiştir.

Hayvanlar

Dişi BALB/c çıplak fareler (8-9 haftalık, +/- 20 g), Janvier'den satın alınmıştır ve yemek ve suya istendiği zaman erişimin olduğu, her biri tek tek havalandırılan kafeslerde 5 hayvanın bulunduğu standart koşullar altında the Central Animal Facility of the Radboud University Nijmegen Medical Centre bünyesinde bakılmıştır. Bir haftalık ortalama alışma sürecinden sonra hayvanlar, sol taraftaki matrigelde (1:3) 10×10^6 HEK-FAP hücreleri ve isteğe bağlı olarak sağ taraftaki matrigelde (1:3) 5×10^6 HEK-293 hücreleri ile s.c. olarak inoküle edilmiştir. Ksenogreft büyümesi, kaliper ölçümü ile izlenmiştir (hacim = $(4/3 \cdot \pi) \cdot (1/2 \cdot \text{uzunluk}) \cdot (1/2 \cdot \text{genişlik}) \cdot (1/2 \cdot \text{yükseklik})$). Ksenogreftler, 100 mm^3 'lük bir hacme ulaştığında, fareler, ^{111}In ile işaretlenmiş yapılar ile i.v. olarak enjekte edilmiştir.

15 **Biyodağılım (28H1 IgG-IL-2 qm, 28H1 IgG₁, 4B9 IgG₁ ve DP47GS IgG₁)**

^{111}In ile işaretlenmiş yapılar (5 MBq, 150 µg, 200 µl), kuyruk damarından i.v. olarak enjekte edilmiştir. Enjeksiyondan yirmi dört saat sonra hayvanlar, CO₂/O₂ atmosferinde sufokasyon yoluyla ötanazi edilmiştir. Kan, kas, ksenogreft, akciğer, dalak, pankreas, böbrek, mide (boş), duodenum (boş) ve karaciğer toplanmış, tartılmış ve bir gamma sayacında (Wallac Wizard) radyoaktivite belirlenmiştir. Enjekte edilen dozun (%1) standartları, eş zamanlı olarak sayılmıştır ve doku alımı, gram doku başına enjekte edilen dozun %'si olarak hesaplanmıştır (%ID/g).

SPECT-CT analizi (4B9 IgG-IL-2 qm, 4B9 IgG₁, DP47GS IgG-IL-2 qm ve DP47GS IgG₁)

30

^{111}In işaretli 4B9-IgG-IL-2 qm, 4B9-IgG₁, DP47GS-IgG-IL-2 qm ve DP47GS-IgG₁ i.v. olarak enjekte edilmiştir (20 MBq, 50, 150, 300 µg, 200 µl). Enjeksiyondan 4, 24, 72 ve 144 saat sonra hayvanlara, izofluran/O₂ ile anestezi uygulanmıştır ve 1,0 mm'lik bir fare kolimatörü bulunan bir U-SPECT II microSPECT/CT kamerasında

35

(MILabs, Utrecht, Hollanda) 30 ila 60 dakika süreyle taranmıştır. Bilgisayarlı tomografi (BT), SPECT sonrasında doğrudan uygulanmıştır. SPECT (0,4 mm'lik voksel boyutu) ve CT taramalarının ikisi de, MILabs yazılımı ile yeniden oluşturulmuştur ve SPECT ve CT taramaları, radyo sinyalinin kesin yerinin belirlenmesi için birlikte kaydedilmiştir. 3D görüntüler, Siemens Inveon Research Workplace yazılımı kullanılarak oluşturulmuştur.

- 10 Şekil 31, 24. saatte 28H1 ve 4B9 IgG1 ve 28H1 IgG-IL-2 qm'nin doku dağılımı ve tümör hedeflenmesi arasında çok anlamlı bir fark olmadığını (bu nedenle sitokin, immünokonjugatların doku dağılımını ve tümör hedeflemesini önemli ölçüde değiştirmemiştir) ve FAP hedefli yapılar için tümör-kan oranlarının, hedeflenmemiş DP47GS kontrol IgG için olan orandan anlamlı ölçüde daha yüksek olduğunu gösterir.

Bu sonuçlar, 4B9 IgG-IL-2 qm immünokonjugatı için SPECT/CT'de doğrulanmıştır (veriler gösterilmemiştir). 4B9 IgG-IL-2 qm, FAP negatif HEK-293 kontrol tümörlerinden ziyade FAP pozitif HEK-FAP'de lokalize olurken hedeflenmemiş DP47GS immünokonjugatı, her iki tümörde de lokalize olmamıştır. Konjuge olmayan IgG'lerden farklı olarak dalakta zayıf bir 4B9 IgG-IL-2 qm alımı gözlenmiştir.

25 Örnek 9

28H1 bazlı IgG-IL-2 qm ve bir 28H1 bazlı IgG-(IL-2 qm)₂'nin (Şekil 1'de gösterilen "2+2" formatlı immünokonjugat; sekanslar, SEQ ID NO 253 ve 205'de gösterilir) NK 92 hücrelerine karşılaştırılmıştır. Her bir kuyucuk başına 200000 NK92 hücre, 96 kuyucuklu plaka içine ekilmiştir. İmmünokonjugatlar, NK92 hücrelerine titre edilmiştir ve bağlanmanın sağlanması için 30 dakika süreyle 4°C'de inkübe edilmiştir. Hücreler, bağlı yapıları çıkarmak için %0,1 BSA içeren PBS ile iki kez yıkanmıştır. İmmünokonjugatların saptanması için bir FITC işaretli anti-insan

Fc spesifik antikor, 30 dakika süreyle 4°C'de eklenmiştir. Hücreler, %0,1 BSA içeren PBS ile iki kez yıkanmış ve bir BD FACSCantoII kullanılarak FACS ile analiz edilmiştir.

- 5 Şekil 32'de gösterildiği üzere "2+2" immünokonjugatı, NK 92 hücrelerine ilgili "2+1" yapılarından daha iyi bir bağlanma gösterir.

Örnek 10

10

IL-2 immünokonjugatları tarafından insan PBMC proliferasyonunun indüksiyonu

Periferal kan mononükleer hücreleri (PBMC), Histopaque-1077
15 (Sigma Diagnostics Inc., St. Louis, MO, ABD) kullanılarak hazırlanmıştır. Kısaca, sağlıklı gönüllülerden ven kanı heparinize edilmiş şırıngalara çekilmiştir. Kan, 2:1 oranında kalsiyum ve magnezyum içermeyen PBS ile seyreltilmiş ve Histopaque-1077 üzerine kaplanmıştır. Gradyan, oda sıcaklığında
20 (RT) 30 dakika boyunca ara verilmeden 450 x g'de santrifüj edilmiştir. PBMC'leri içeren interfaz toplanmış ve üç kez PBS ile yıkanmıştır (350 x g, ardından 10 dakika boyunca 300 x g, oda sıcaklığında).

25 Daha sonra, PBMC'ler 40 nM CFSE (karboksifloresein süksinimidil ester) ile 15 dakika süreyle 37°C'de işaretlenmiştir. Hücreler işaretli PBMC'lerin 30 dakika süreyle 37°C'de geri kazanılmasından önce 20 ml ortam ile yıkanmıştır. Hücreler yıkanmış, sayılmış ve 100000 hücre 96 kuyucuklu U tabanlı plakalara ekilmiştir. Önceden
30 seyreltilmiş Proleukin (ticari temin edilebilir yabancı tip IL-2) veya IL2 immünokonjugatları, belirtilen zaman noktalarında inkübe edilmiş ekilmiş hücrelerin üzerine titre edilmiştir. 4-6 gün sonra hücreler yıkanmış, uygun hücre yüzeyi markörleri için boyanmış ve bir BD FACSCantoII kullanılarak FACS ile analiz edilmiştir. NK

hücreleri, CD3⁻/CD56⁺, CD4 T hücreleri CD3⁺/CD8⁻ olarak ve CD8 T hücreleri CD3⁺/CD8⁺ olarak tanımlanmıştır.

Şekil 33, farklı FAP hedefli 28H1 IL-2 immünokonjugatları ile 4 (A), 5 (B) veya 6 (C) günlük inkübasyondan sonra NK hücrelerinin proliferasyonunu gösterir. Test edilen tüm yapılar, konsantrasyona bağımlı bir şekilde NK hücresi proliferasyonunu uyarmıştır. Proleukin daha düşük konsantrasyonlarda immünokonjugatlardan daha etkili olmuş, ancak bu fark daha yüksek konsantrasyonlarda görülmemiştir. Daha önceki zaman noktalarında (4. gün), IgG-IL2 yapıları Fab-IL2-Fab yapılarından biraz daha kuvvetli görünür. Daha sonraki zaman noktalarında (6. gün), tüm yapılar karşılaştırılabilir bir etkililiğe sahip olmuş, Fab-IL2 qm-Fab yapısı düşük konsantrasyonlarda en az etkili olmuştur.

Şekil 34, farklı FAP hedefli 28H1 IL-2 immünokonjugatları ile 4 (A), 5 (B) veya 6 (C) günlük inkübasyondan sonra CD4 T hücrelerinin proliferasyonunu gösterir. Test edilen tüm yapılar, konsantrasyona bağımlı bir şekilde CD4 T hücresi proliferasyonunu uyarmıştır. Proleukin, immünokonjugatlardan daha yüksek bir aktiviteye sahip olmuş ve yabani tip IL-2'yi içeren immünokonjugatlar, dörtlü mutant IL-2'yi içerenlerden biraz daha kuvvetli olmuştur. NK hücreleri söz konusu olduğunda Fab-IL2 qm-Fab yapısı en düşük aktiviteye sahip olmuştur. Proliferasyon gösteren CD4 T hücreleri, en azından yabani tip IL-2 yapıları için büyük olasılıkla kısmen düzenleyici T hücreleridir.

Şekil 35, farklı FAP hedefli 28H1 IL-2 immünokonjugatları ile 4 (A), 5 (B) veya 6 (C) günlük inkübasyondan sonra CD8 T hücrelerinin proliferasyonunu gösterir. Test edilen tüm yapılar, konsantrasyona bağımlı bir şekilde CD8 T hücresi proliferasyonunu uyarmıştır. Proleukin, immünokonjugatlardan daha yüksek bir aktiviteye sahip olmuş ve yabani tip IL-2'yi içeren immünokonjugatlar, dörtlü mutant IL-2'yi içerenlerden biraz daha

kuvvetli olmuştur. NK ve CD4 T hücreleri söz konusu olduğunda, Fab-IL2 qm-Fab yapısı en düşük aktiviteye sahip olmuştur.

Örnek 11

5

IL-2 ile aktive edilmiş PBMC'lerin proliferasyon ve aktivasyon ile indüklenen hücre ölümü

Sağlıklı donörlerden taze izole edilmiş PBMC'ler, %10 FCS ve %1
10 Glutamin ile RPMI1640 içinde 1 µg/ml'de PHA-M ile gece boyunca
önceden aktive edilmiştir. Ön aktivasyondan sonra PBMC'ler
toplanmış, PBS içinde 40 nM CFSE ile işaretlenmiş ve 100.000
hücre/kuyucukta 96 kuyucuklu plakalara ekilmiştir. Önceden aktive
edilmiş PBMC'ler farklı konsantrasyonlarda IL-2
15 immünokonjugatları ile uyarılmıştır (4B9 IgG-IL-2 wt, 4B9 IgG-IL-2
qm, 4B9 Fab-IL-2 wt-Fab, ve 4B9 Fab-IL-2 qm-Fab). Altı günlük IL-2
tedavisinden sonra PBMC'ler gece boyunca 0,5 µg/ml aktive edici
anti-Fas antikoru ile muamele edilmiştir. CD4 (CD3⁺CD8⁻) ve CD8
(CD3⁺CD8⁺) T hücrelerinin proliferasyonu, altı gün sonra CFSE
20 dilüsyonu yoluyla analiz edilmiştir. Anti-Fas tedavisinden sonra
yaşayan T hücrelerinin yüzdesi, CD3⁺ Annexin V negatif yaşayan
hücreleri üzerinde geçitlenerek belirlenmiştir.

Şekil 36'da gösterilen şekilde, tüm yapılar önceden aktive edilmiş
25 T hücrelerinin proliferasyonunu indüklemiştir. Düşük
konsantrasyonlarda, yabancı tip IL-2 wt içeren yapılar, IL-2 qm
içeren yapılardan daha aktif olmuştur. IgG-IL-2 wt, Fab-IL-2
wt-Fab ve Proleukin, benzer etkinliğe sahip olmuştur. Fab-IL-2
qm-Fab, IgG-IL-2 qm'den biraz daha az aktif olmuştur. Yabancı tip
30 IL-2'yi içeren yapılar, muhtemelen düzenleyici T hücrelerinin
aktivasyonu nedeniyle CD4 T hücreleri üzerinde CD8 T hücrelerinden
daha fazladır. Dörtlü mutant IL-2 içeren yapılar benzer şekilde
CD8 ve CD4 T hücreleri üzerinde aktiftir.

Şekil 37'de gösterilen şekilde, yüksek konsantrasyonlardaki yabancı tip IL-2 ile uyarılan T hücreleri, anti-Fas ile indüklenen apoptoza, dörtlü mutant IL-2 ile tedavi edilen T hücrelerinden daha duyarlıdır.

5

Örnek 12

Hedeflenmemiş DP47GS yapısı (bkz. sırasıyla VH ve VL sekansları için SEQ ID NO: 299 ve 297) ayrıca karakterize edilmiştir. Yukarıda
10 tarif edildiği gibi, yabancı tip ve dörtlü mutant IL-2'ye sahip DP47GS IgG konjugatları yapılmıştır. Bu yapılar, ilgili hedeflenmiş yapılar ile benzer IL-2R'ye bağlanma ve in vitro immün hücre (örn. NK hücresi, CD8⁺ hücresi ve CD4⁺ hücresi) proliferasyonu göstermiştir (veriler gösterilmemiştir). Ancak, bir tümör
15 antijenine hedeflenen immünokonjugatların aksine, bunlar tümör dokusunda birikmemiştir (bkz. Örnek 8).

Başka bir farmakokinetik çalışma (Örnek 7'de gösterilene ek olarak), yabancı tip veya dörtlü mutant IL-2'yi içeren
20 hedeflenmemiş DP47GS IgG-IL-2 yapıları ile gerçekleştirilmiştir. Erkek C57BL/6J farelere (grup başına n = 6), 0,3, 1, 3 veya 10 mg/kg DP47GS IgG-IL-2 wt veya DP47GS IgG-IL-2 qm yapısı i.v. olarak enjekte edilmiştir. Enjeksiyon hacmi, tüm fareler için 1 ml olmuştur. Kan örnekleri, enjeksiyondan 2, 4, 8, 24, 48, 72, 96 ve
25 168 saat sonra (her bir zaman noktasında 3 fareden) alınmış ve analize kadar -20°C'de saklanmıştır. Yapılar, yapıların yakalanması ve saptanması için anti-Fab antikorları kullanılarak ELISA ile serum örneklerinde ölçülmüştür. Tüm örnekler ve kalibrasyon standartları, analizden önce fare serumunda
30 (Bioreclamation'dan temin edilmiştir) 1:25 oranında seyreltilmiştir. Kısaca, streptavidin kaplı 96 kuyucuklu plakalarda (Roche), 1 saat süreyle oda sıcaklığında 100 µl/kuyucuk (0,5 µg/ml) biyotinlenmiş anti insan Fab antikoru (M-1.7.10; Roche Diagnostics) ile inkübasyondan önce PBS/%0,05 Tween 20 ile 10
35 saniye süreyle üç kez yıkanmıştır. Plaka, PBS/%0,05 Tween 20 ile

5 üç kere yıkandıktan sonra, 50 µl/kuyucuk serum örneği ve kalibrasyon standardı ve 50 µl/kuyucuk PBS/%0,5 BSA, 1:50'lik bir nihai örnek dilüsyonu elde edilecek şekilde eklenmiştir. Örnekler, 1 saat süreyle oda sıcaklığında inkübe edilmiş ve ardından plakalar PBS/%0,05 Tween 20 ile üç kez yıkanmıştır. Daha sonra plaka, 100 µl/kuyucuk (0,5 µg/ml) digoksinin ile işaretlenmiş anti-insan Fab antikoru (M-1.19.31; Roche Diagnostics) 1 saat süreyle oda sıcaklığında inkübe edilmiş, yıkanmış, 100 µl/kuyucuk anti-digoksinin POD (Roche Diagnostics Cat# 11633716001) ile 10 saat süreyle oda sıcaklığında inkübe edilmiş ve tekrar yıkanmıştır. Son olarak, substrat reaksiyonu 50 µl/kuyucuk 2N HCl ile durdurulmadan önce, 100 µl/kuyucuk TMB peroksidaz substratı (Roche Diagnostics Cat# 11484281001) yaklaşık 5 dakika süreyle ilave edilmiştir. Plaka, 650 nm'lik bir referans dalga boyu ile 15 450 nm'de reaksiyon durdurulduktan sonra 2 dakika içinde okunmuştur.

Çalışmanın sonucu, Şekil 38'de gösterilmiştir. Dörtlü mutant IL-2 (B) içeren yapı, yabancı tip IL-2 (A) içeren yapıdan daha uzun süre 20 yaşasa da her iki yapı da uzun serum yarı ömrü göstermiştir.

Ek olarak DP47GS IgG'nin çeşitli proteinlere ve aynı zamanda insan hücrelerine (PBMC'ler) bağlanması doğrulanmıştır.

25 DP47GS antikorunun bağlanma spesifikliği (veya bağlanma yoksunluğu), farklı ilişkili olmayan antiijenlerden oluşan bir panel ile bir ELISA bazlı test sisteminde değerlendirilmiştir. Test, 384 kuyucuklu MaxiSorp™ mikrotitre plakalarda (Thermo Scientific Nunc, Cat# 460372) gerçekleştirilmiştir. Plakalar, her 30 inkübasyon aşamasından sonra üç kez PBS/%0,05 Tween-20 ile yıkanmıştır. İlk olarak PBS'de seyreltilmiş farklı antiijenler, gece boyunca 6°C'de plakalar üzerine kaplanmıştır. Kullanılan antiijenler için test konsantrasyonları ve ayrıntılı bilgiler, aşağıdaki tabloda verilmiştir.

Antijen	Kaynak	Tedarikçi	Cat#	Test konsantrasyonu [µg/ml]
Histonlar	buzağı timüsü	Roche Diagnostics	10223565601	2
BSA Fraksiyonu V	siğır	Roche Diagnostics	10735108001	2
İnsülin	insan	Roche Diagnostics	11376497001	2
Kardiyolipin	siğır	Sigma-Aldrich	C1649	2
Heparin	domuz	Sigma-Aldrich	H9902	2
CD40 (hFc)	insan	Sino Biological	1077-H03H	1
Paratiroid hormonu aa 1-34 (PTH) (biyotinlenmiş)	insan	AnaSpec	20690	0,5
dsDNA	buzağı timüsü	Sigma-Aldrich	D4522	0,16
Hemosiyanin	keyhole limpet	Sigma-Aldrich	H7017	0,22
Aktin beta 2	insan	Sitoskeleton	APHL99	0,67
Streptavidin	Streptomyces avidinii	Roche Diagnostics	11721674001	1
Jelatin	siğır	Roche Diagnostics	11111965001	%2 blokaaj tamponu
E. coli lizati	E. coli	kurum içi	-	1:600 oranında

				seyreltilmiş

Daha sonra kuyucuklar, oda sıcaklığında (RT) 1 saat süreyle su içinde %2 jelatin ile bloke edilmiştir. DP47GS antikoru (PBS'de 1 µg/ml), oda sıcaklığında 1,5 saat yakalanan antiijenlerden oluşan panel ile inkübe edilmiştir. Bağlı antikor, anti-insan IgG antikor-HRP konjugatı (GE Healthcare, Cat# 9330V; %0,2 Tween-20 ve %0,5 jelatin ile PBS içinde 1:1000 oranında seyreltilmiştir) kullanılarak saptanmıştır. 1 saatlik inkübasyondan sonra plakalar, PBS/%0,05 Tween-20 ile 6 kez yıkanmıştır ve 30 dakika süreyle oda sıcaklığında taze hazırlanmış BM blue POD substrat çözelti (BM mavisini: 3,3'-5,5'-tetrametilbenzidin, Roche Diagnostics, Cat# 11484281001) ile geliştirilmiştir. Absorbans, 370 nm'de ölçülmüştür. Boş değer, antikor eklenmeden tanımlanmıştır. Yakalanan antiijenlerin hemen hemen hepsine spesifik olmayan bağlanma sergileyen bir kurum içi insan IgG₁ antikor, pozitif kontrol görevi görmüştür.

Deneyin sonucu, Şekil 39'da gösterilmiştir. DP47GS antikoru, yakalanan antiijenlerin hiçbirine bağlanma göstermemiştir. Tespit edilen sinyaller, antikor içermeyen kontrol örneklerinin aralığında olmuştur.

Son olarak DP47GS antikorunun insan PBMC'lerine bağlanması değerlendirilmiştir. Tipik bir bağışıklık tepkisi sırasında hücre yüzeyinde sunulan proteinlerin kombinasyonu önemli ölçüde değiştiği için, bağlanma, sağlıklı yetişkinlerden izole edilmesinin hemen ardından ve iki farklı uyararla in vitro aktivasyondan sonra PBMC'ler üzerinde test edilmiştir.

İnsan PBMC'leri, Histopaque 1077 (Sigma-Aldrich, Almanya) kullanılarak sağlıklı gönüllülerden alınan heparinize edilmiş taze kandan veya buffy coat'lardan Ficoll yoğunluk gradyanı santrifügasyonu yoluyla izole edilmiştir. PBMC'ler doğrudan bağlanma analizlerine (taze PBMC'ler) tabi tutulmuştur veya

kültürlenmiş ve daha fazla uyarılmıştır. PBMC'ler, %10 (v/v) ısı ile etkisizleştirilmiş FBS (PAA Laboratories) ile takviye edilen RPMI 1640 (Gibco), 1 mM sodyum piruvat (Sigma-Aldrich), %1 (v/v) L-alanil-L-glutamin (Biochrom) ve 10 nM β -merkaptotanol'den (Sigma-Aldrich) oluşan T hücre ortamında 37 °C'de 2×10^6 hücre/ml'lik bir hücre yoğunluğunda kültürlenmiştir. In vitro uyarılma için, altı günlük kültivasyon (PHA-L ile aktive edilmiş PBMC) sırasında Proleukin (200 U/ml, Novartis) ve fitohemaglutinin (PHA-L; 2 μ g/mL, Sigma-Aldrich) ilave edilmiştir. In vitro yeniden uyarım için 6 kuyucuklu hücre kültür plakaları, fare anti-insan CD3 (klon KT3, 1 μ g/ml) ve fare anti-insan CD28 antikorları (klon 28,2, 2 μ g/ml, her ikisi de eBioscience'den temin edilmiştir) ile kaplanmıştır ve PHA-L ile aktive edilmiş PBMC ilave 24 saat boyunca ilave edilmiştir (yeniden uyarılmış PBMC). DP47GS antikorumun (Fc domeninde L234A L235A (LALA) P329G mutasyonu ile veya olmaksızın) hücre yüzeyi proteinlerine bağlanması, floresan izotiyosiyanata (FITC) (Jackson Laboratories) konjuge edilmiş bir keçi anti-insan IgG Fc spesifik sekonder antikoru ve akış sitometrik analizi kullanılarak bir beş kat seri dilüsyon serisi (en yüksek konsantrasyon 200 nM) için izlenmiştir. Yüzey proteinlerinin internalizasyonunu önlemek için tüm analizler, 4°C'de gerçekleştirilmiştir. Primer ve sekonder antikorum inkübasyonu, sırasıyla 2 saat ve 1 saat sürmüştür. Lökositlerin aynı anda yazılmasını sağlamak için, florokrom işaretli fare anti-insan CD14, CD15, CD4, CD19 (tümü Biolegend), NKp46, CD3, CD56, CD8 (tümü BD Pharmingen) kombinasyonları sekonder antikora eklenmiştir. Propidyum iyodür (1 μ g/ml), geçirgen ölü hücrelerin hariç tutulması için FACS Diva yazılımının çalıştırıldığı bir FACSCantoII cihazında (her ikisi de BD Bioscience) ölçülmeden hemen önce eklenmiştir. Propidyum iyodür negatif canlı hücreler, T hücreleri (CD14-CD3⁺CD4⁺/CD8⁺), B hücreleri (CD14-CD19⁺), NK hücreleri (CD14-NKp46⁺/CD56⁺) veya monositler/nötrofiller (CD3-CD56-CD14⁺/CD15⁺) için geçitlenmiştir. Çeşitli lökosit tiplerin medyan FITC floresansı, bağlı primer antikoru için bir

gösterge olarak belirlenmiştir ve Prism4 (GraphPad Software) kullanılarak primer antikör konsantrasyonuna karşı blotlanmıştır.

Şekil 40'da gösterildiği üzere, Fc mutasyonuna sahip olmayan DP47GS IgG antikoru, sadece ila Fcγ reseptörü taşıyan hücrelere, örneğin NK hücrelerine ve monositler/nötrofillere bağlanma göstermiştir. Aktivasyon durumları farketmeksizin insan PBMC'lerinde DP47GS (LALA P329G) bağlanma saptanmamıştır. Fc domenindeki LALA P329G mutasyonu, Fcγ reseptörü taşıyan hücrelere bağlanmayı da tamamen ortadan kaldırmıştır.

SEKANS LİSTESİ

<110> Roche Glycart AG

5 <120> Yeni İmmünnokonjugatlar

<130> 27444

<150> EP 11164237.7

10 <151> 29.04.2011

<160> 300

<170> PatentIn versiyon 3.5

15 <210> 1

<211> 227

<212> PRT

<213> Homo sapiens

20 <400> 1

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

25 Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

30 Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

35 Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

40 His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

45 Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

50 Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
 130 135 140
 5

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

10

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
 165 170 175

15

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
 180 185 190

20

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
 195 200 205

25

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
 210 215 220

30

Pro Gly Lys
 225

<210> 2
 <211> 133
 <212> PRT
 <213> Yapay Sekans

35

<220>
 <223> İnsan IL-2 (C125A)

40

<400> 2

Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His
 1 5 10 15

45

Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys
 20 25 30

50

Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys
 35 40 45

	Lys	Ala	Thr	Glu	Leu	Lys	His	Leu	Gln	Cys	Leu	Glu	Glu	Glu	Leu	Lys
	50						55					60				
5	Pro	Leu	Glu	Glu	Val	Leu	Asn	Leu	Ala	Gln	Ser	Lys	Asn	Phe	His	Leu
	65					70					75					80
10	Arg	Pro	Arg	Asp	Leu	Ile	Ser	Asn	Ile	Asn	Val	Ile	Val	Leu	Glu	Leu
					85					90					95	
15	Lys	Gly	Ser	Glu	Thr	Thr	Phe	Met	Cys	Glu	Tyr	Ala	Asp	Glu	Thr	Ala
				100					105					110		
20	Thr	Ile	Val	Glu	Phe	Leu	Asn	Arg	Trp	Ile	Thr	Phe	Ala	Gln	Ser	Ile
			115					120					125			
25	Ile	Ser	Thr	Leu	Thr											
			130													
30	<210>	3														
	<211>	133														
	<212>	PRT														
	<213>	Yapay Sekans														
35	<220>															
	<223>	Dörtlü mutant insan IL-2 (IL-2 qm)														
	<400>	3														
40	Ala	Pro	Ala	Ser	Ser	Ser	Thr	Lys	Lys	Thr	Gln	Leu	Gln	Leu	Glu	His
	1				5					10					15	
45	Leu	Leu	Leu	Asp	Leu	Gln	Met	Ile	Leu	Asn	Gly	Ile	Asn	Asn	Tyr	Lys
				20					25					30		
50	Asn	Pro	Lys	Leu	Thr	Arg	Met	Leu	Thr	Ala	Lys	Phe	Ala	Met	Pro	Lys
			35					40					45			
55	Lys	Ala	Thr	Glu	Leu	Lys	His	Leu	Gln	Cys	Leu	Glu	Glu	Glu	Leu	Lys
	50						55					60				
60	Pro	Leu	Glu	Glu	Val	Leu	Asn	Gly	Ala	Gln	Ser	Lys	Asn	Phe	His	Leu
	65					70					75					80

Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu
 85 90 95
 5
 Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
 100 105 110
 10
 Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ala Gln Ser Ile
 115 120 125
 15 Ile Ser Thr Leu Thr
 130
 <210> 4
 20 <211> 518
 <212> PRT
 <213> Yapay Sekans
 <220>
 25 <223> Tek zincirli IL-12 (p40-bağlayıcı-p35)
 <400> 4
 30 Ile Trp Glu Leu Lys Lys Asp Val Tyr Val Val Glu Leu Asp Trp Tyr
 1 5 10 15
 Pro Asp Ala Pro Gly Glu Met Val Val Leu Thr Cys Asp Thr Pro Glu
 20 25 30
 35
 Glu Asp Gly Ile Thr Trp Thr Leu Asp Gln Ser Ser Glu Val Leu Gly
 35 40 45
 40
 Ser Gly Lys Thr Leu Thr Ile Gln Val Lys Glu Phe Gly Asp Ala Gly
 50 55 60
 45 Gln Tyr Thr Cys His Lys Gly Gly Glu Val Leu Ser His Ser Leu Leu
 65 70 75 80
 50 Leu Leu His Lys Lys Glu Asp Gly Ile Trp Ser Thr Asp Ile Leu Lys
 85 90 95

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

	Cys	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	305	310	315	320
5	Ser	Arg	Asn	Leu	Pro	Val	Ala	Thr	Pro	Asp	Pro	Gly	Met	Phe	Pro	Cys	325	330	335	
10	Leu	His	His	Ser	Gln	Asn	Leu	Leu	Arg	Ala	Val	Ser	Asn	Met	Leu	Gln	340	345	350	
15	Lys	Ala	Arg	Gln	Thr	Leu	Glu	Phe	Tyr	Pro	Cys	Thr	Ser	Glu	Glu	Ile	355	360	365	
20	Asp	His	Glu	Asp	Ile	Thr	Lys	Asp	Lys	Thr	Ser	Thr	Val	Glu	Ala	Cys	370	375	380	
25	Leu	Pro	Leu	Glu	Leu	Thr	Lys	Asn	Glu	Ser	Cys	Leu	Asn	Ser	Arg	Glu	385	390	395	400
30	Thr	Ser	Phe	Ile	Thr	Asn	Gly	Ser	Cys	Leu	Ala	Ser	Arg	Lys	Thr	Ser	405	410	415	
35	Phe	Met	Met	Ala	Leu	Cys	Leu	Ser	Ser	Ile	Tyr	Glu	Asp	Leu	Lys	Met	420	425	430	
40	Tyr	Gln	Val	Glu	Phe	Lys	Thr	Met	Asn	Ala	Lys	Leu	Leu	Met	Asp	Pro	435	440	445	
45	Lys	Arg	Gln	Ile	Phe	Leu	Asp	Gln	Asn	Met	Leu	Ala	Val	Ile	Asp	Glu	450	455	460	
50	Leu	Met	Gln	Ala	Leu	Asn	Phe	Asn	Ser	Glu	Thr	Val	Pro	Gln	Lys	Ser	465	470	475	480
55	Ser	Leu	Glu	Glu	Pro	Asp	Phe	Tyr	Lys	Thr	Lys	Ile	Lys	Leu	Cys	Ile	485	490	495	
60	Leu	Leu	His	Ala	Phe	Arg	Ile	Arg	Ala	Val	Thr	Ile	Asp	Arg	Val	Met	500	505	510	

Ser Tyr Leu Asn Ala Ser
515

5 <210> 5
<211> 340
<212> PRT
<213> Yapay Sekans

10 <220>
<223> Tek zincirli insan IL-10

<400> 5

15 Ser Pro Gly Gln Gly Thr Gln Ser Glu Asn Ser Cys Thr His Phe Pro
1 5 10 15

20 Gly Asn Leu Pro Asn Met Leu Arg Asp Leu Arg Asp Ala Phe Ser Arg
20 25 30

25 Val Lys Thr Phe Phe Gln Met Lys Asp Gln Leu Asp Asn Leu Leu Leu
35 40 45

Lys Glu Ser Leu Leu Glu Asp Phe Lys Gly Tyr Leu Gly Cys Gln Ala
50 55 60

30 Leu Ser Glu Met Ile Gln Phe Tyr Leu Glu Glu Val Met Pro Gln Ala
65 70 75 80

35 Glu Asn Gln Asp Pro Asp Ile Lys Ala His Val Asn Ser Leu Gly Glu
85 90 95

40 Asn Leu Lys Thr Leu Arg Leu Arg Leu Arg Arg Cys His Arg Phe Leu
100 105 110

45 Pro Cys Glu Asn Lys Ser Lys Ala Val Glu Gln Val Lys Asn Ala Phe
115 120 125

Asn Lys Leu Gln Glu Lys Gly Ile Tyr Lys Ala Met Ser Glu Phe Asp
130 135 140

50 Ile Phe Ile Asn Tyr Ile Glu Ala Tyr Met Thr Met Lys Ile Arg Asn
145 150 155 160

	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	
					165					170					175		
5																	
	Gly	Gly	Gly	Ser	Ser	Pro	Gly	Gln	Gly	Thr	Gln	Ser	Glu	Asn	Ser	Cys	
				180					185					190			
10																	
	Thr	His	Phe	Pro	Gly	Asn	Leu	Pro	Asn	Met	Leu	Arg	Asp	Leu	Arg	Asp	
			195					200					205				
15																	
	Ala	Phe	Ser	Arg	Val	Lys	Thr	Phe	Phe	Gln	Met	Lys	Asp	Gln	Leu	Asp	
		210					215					220					
20																	
	Asn	Leu	Leu	Leu	Lys	Glu	Ser	Leu	Leu	Glu	Asp	Phe	Lys	Gly	Tyr	Leu	
	225				230					235							240
25																	
	Gly	Cys	Gln	Ala	Leu	Ser	Glu	Met	Ile	Gln	Phe	Tyr	Leu	Glu	Glu	Val	
				245					250					255			
30																	
	Met	Pro	Gln	Ala	Glu	Asn	Gln	Asp	Pro	Asp	Ile	Lys	Ala	His	Val	Asn	
			260					265					270				
35																	
	Ser	Leu	Gly	Glu	Asn	Leu	Lys	Thr	Leu	Arg	Leu	Arg	Leu	Arg	Arg	Cys	
		275					280					285					
40																	
	His	Arg	Phe	Leu	Pro	Cys	Glu	Asn	Lys	Ser	Lys	Ala	Val	Glu	Gln	Val	
		290					295					300					
45																	
	Lys	Asn	Ala	Phe	Asn	Lys	Leu	Gln	Glu	Lys	Gly	Ile	Tyr	Lys	Ala	Met	
	305				310					315							320
50																	
	Ser	Glu	Phe	Asp	Ile	Phe	Ile	Asn	Tyr	Ile	Glu	Ala	Tyr	Met	Thr	Met	
				325				330					335				
55																	
	Lys	Ile	Arg	Asn													
				340													
60																	
	<210>	6															
	<211>	166															

<212> PRT

<213> Yapay Sekans

<220>

5 <223> İnsan IL-10 monomeri (IL-10M1)

<400> 6

10 Ser Pro Gly Gln Gly Thr Gln Ser Glu Asn Ser Cys Thr His Phe Pro
1 5 10 15

15 Gly Asn Leu Pro Asn Met Leu Arg Asp Leu Arg Asp Ala Phe Ser Arg
20 25 30

20 Val Lys Thr Phe Phe Gln Met Lys Asp Gln Leu Asp Asn Leu Leu Leu
35 40 45

Lys Glu Ser Leu Leu Glu Asp Phe Lys Gly Tyr Leu Gly Cys Gln Ala
50 55 60

25 Leu Ser Glu Met Ile Gln Phe Tyr Leu Glu Glu Val Met Pro Gln Ala
65 70 75 80

30 Glu Asn Gln Asp Pro Asp Ile Lys Ala His Val Asn Ser Leu Gly Glu
85 90 95

35 Asn Leu Lys Thr Leu Arg Leu Arg Leu Arg Arg Cys His Arg Phe Leu
100 105 110

40 Pro Cys Glu Asn Gly Gly Gly Ser Gly Gly Lys Ser Lys Ala Val Glu
115 120 125

Gln Val Lys Asn Ala Phe Asn Lys Leu Gln Glu Lys Gly Ile Tyr Lys
130 135 140

45 Ala Met Ser Glu Phe Asp Ile Phe Ile Asn Tyr Ile Glu Ala Tyr Met
145 150 155 160

50 Thr Met Lys Ile Arg Asn
165

<210> 7
 <211> 114
 <212> PRT
 <213> Yapay Sekans
 5
 <220>
 <223> Mutant insan IL-15 (E53A, N79A)
 <400> 7
 10
 Asn Trp Val Asn Val Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu Ile
 1 5 10 15
 15 Gln Ser Met His Ile Asp Ala Thr Leu Tyr Thr Glu Ser Asp Val His
 20 25 30
 20 Pro Ser Cys Lys Val Thr Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Glu Leu Gln
 35 40 45
 Val Ile Ser Leu Ala Ser Gly Asp Ala Ser Ile His Asp Thr Val Glu
 50 55 60
 25
 Asn Leu Ile Ile Leu Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Ala Val
 65 70 75 80
 30
 Thr Glu Ser Gly Cys Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn Ile
 85 90 95
 35 Lys Glu Phe Leu Gln Ser Phe Val His Ile Val Gln Met Phe Ile Asn
 100 105 110
 Thr Ser
 40
 <210> 8
 <211> 19
 45 <212> PRT
 <213> Yapay Sekans
 <220>
 <223> lider sekans
 50
 <400> 8

Met Asp Trp Thr Trp Arg Ile Leu Phe Leu Val Ala Ala Ala Thr Gly
 1 5 10 15

5 Ala His Ser

<210> 9
 10 <211> 57
 <212> DNA
 <213> Yapay Sekans

<220>
 15 <223> lider sekans

<400> 9
 atggactgga cctggagaat cctcttcttg gtggcagcag ccacaggagc ccactcc
 57
 20

<210> 10
 <211> 57
 <212> DNA
 25 <213> Yapay Sekans

<220>
 <223> lider sekans

30 <400> 10
 atggactgga cctggaggat cctcttcttg gtggcagcag ccacaggagc ccactcc
 57

35 <210> 11
 <211> 22
 <212> PRT
 <213> Yapay Sekans

40 <220>
 <223> lider sekans

<400> 11

45 Met Asp Met Arg Val Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp
 1 5 10 15

50 Phe Pro Gly Ala Arg Cys
 20

```

    <210> 12
    <211> 66
    <212> DNA
    <213> Yapay Sekans
5
    <220>
    <223> lider sekans

    <400> 12
10 atggacatga gggccccgc tcagctcctg ggcctcctgc tgcctctgggt cccaggtgcc
    60

    aggtgt 66

15
    <210> 13
    <211> 19
    <212> PRT
    <213> Yapay Sekans
20
    <220>
    <223> lider sekans

    <400> 13
25
Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly
  1           5           10           15

30 Val His Ser

    <210> 14
35 <211> 57
    <212> DNA
    <213> Yapay Sekans

    <220>
40 <223> lider sekans

    <400> 14
    atgggatgga gctgtatcat cctcttcttg gtagcaacag ctaccggtgt gcattcc
    57

45

    <210> 15
    <211> 57
    <212> DNA
50 <213> Yapay Sekans

    <220>

```

<223> lider sekans

<400> 15
atgggctggg cctgcatcat cctgtttctg gtggctaccg ccactggagt gcattcc
5 57

<210> 16
<211> 57
10 <212> DNA
<213> Yapay Sekans

<220>
<223> lider sekans
15

<400> 16
atgggctggg cctgcatcat cctgtttctg gtcgccacag ccaccggcgt gcactct
57

20

<210> 17
<211> 466
<212> PRT
<213> Yapay Sekans
25

<220>
<223> İnsan IL-2R-beta-Fc(delik) füzyon proteini

<400> 17
30

Met Asp Met Arg Val Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp
1 5 10 15

35 Phe Pro Gly Ala Arg Cys Ala Val Asn Gly Thr Ser Gln Phe Thr Cys
20 25 30

Phe Tyr Asn Ser Arg Ala Asn Ile Ser Cys Val Trp Ser Gln Asp Gly
40 35 40 45

Ala Leu Gln Asp Thr Ser Cys Gln Val His Ala Trp Pro Asp Arg Arg
50 55 60

45

Arg Trp Asn Gln Thr Cys Glu Leu Leu Pro Val Ser Gln Ala Ser Trp
65 70 75 80

50

Ala Cys Asn Leu Ile Leu Gly Ala Pro Asp Ser Gln Lys Leu Thr Thr
85 90 95

	Val	Asp	Ile	Val	Thr	Leu	Arg	Val	Leu	Cys	Arg	Glu	Gly	Val	Arg	Trp	
				100					105					110			
5																	
	Arg	Val	Met	Ala	Ile	Gln	Asp	Phe	Lys	Pro	Phe	Glu	Asn	Leu	Arg	Leu	
			115					120					125				
10																	
	Met	Ala	Pro	Ile	Ser	Leu	Gln	Val	Val	His	Val	Glu	Thr	His	Arg	Cys	
		130					135					140					
15																	
	Asn	Ile	Ser	Trp	Glu	Ile	Ser	Gln	Ala	Ser	His	Tyr	Phe	Glu	Arg	His	
	145					150					155					160	
20																	
	Leu	Glu	Phe	Glu	Ala	Arg	Thr	Leu	Ser	Pro	Gly	His	Thr	Trp	Glu	Glu	
					165					170					175		
25																	
	Ala	Pro	Leu	Leu	Thr	Leu	Lys	Gln	Lys	Gln	Glu	Trp	Ile	Cys	Leu	Glu	
				180					185					190			
30																	
	Thr	Leu	Thr	Pro	Asp	Thr	Gln	Tyr	Glu	Phe	Gln	Val	Arg	Val	Lys	Pro	
			195					200					205				
35																	
	Leu	Gln	Gly	Glu	Phe	Thr	Thr	Trp	Ser	Pro	Trp	Ser	Gln	Pro	Leu	Ala	
		210					215					220					
40																	
	Phe	Arg	Thr	Lys	Pro	Ala	Ala	Leu	Gly	Lys	Asp	Thr	Gly	Ala	Gln	Asp	
	225					230					235					240	
45																	
	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	
					245					250					255		
50																	
	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	
				260					265					270			
55																	
	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	
			275					280					285				
60																	
	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	
		290					295					300					

	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	
	305					310					315					320	
5																	
	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	
					325					330					335		
10																	
	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	
				340					345					350			
15																	
	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Cys	
			355					360					365				
20																	
	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Asp	Glu	Leu	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	
		370					375					380					
25																	
	Ser	Cys	Ala	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	
	385					390					395					400	
30																	
	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	
					405					410					415		
35																	
	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Val	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	
				420					425					430			
40																	
	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	
			435					440					445				
45																	
	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	
		450					455					460					
50																	
	Gly	Lys															
	465																
	<210>	18															
	<211>	1401															
	<212>	DNA															
	<213>	Yapay Sekans															
	<220>																

<223> İnsan IL-2R-beta-Fc(delik) füzyon proteini

<400> 18

5 atggacatga gggteccccgc tcagctcctg ggcctcctgc tgcctctgggtt cccaggtgcc
60
aggtgtgcgg tgaatggcac ttcccagttc acatgcttct acaactcgag agccaacatc
120
10 tcctgtgtct ggagccaaga tggggctctg caggacactt cctgccaagt ccatgcctgg
180
ccggacagac ggcggtggaa ccaaacctgt gagctgctcc ccgtgagtca agcatcctgg
240
15 gcctgcaacc tgatcctcgg agccccagat tctcagaaac tgaccacagt tgacatcgtc
300
accctgaggg tgctgtgccg tgaggggggtg cgatggaggg tgatggccat ccaggacttc
20 360
aagccctttg agaaccttcg cctgatggcc cccatctccc tccaagttgt ccacgtggag
420
25 acccacagat gcaacataag ctgggaaatc tccaagcct cccactactt tgaaagacac
480
ctggagttcg aggcccgac gctgtcccca ggccacacct gggaggaggc cccctgctg
540
30 actctcaagc agaagcagga atggatctgc ctggagacgc tcaccccaga caccagtat
600
gagtttcagg tgcgggtcaa gcctctgcaa ggcgagttca cgacctggag cccctggagc
35 660
cagcccttg ccttcagaac aaagcctgca gcccttgga aggacaccgg agctcaggac
720
40 aaaactcaca catgccacc gtgcccagca cctgaactcc tggggggacc gtcagtcttc
780
ctcttcccc caaaacccaa ggacaccctc atgatctccc ggaccctga ggtcacatgc
840
45 gtgggtggtg acgtgagcca cgaagaccct gaggtcaagt tcaactggta cgtggacggc
900
gtggaggtgc ataatgccaa gacaaagccg cgggaggagc agtacaacag cacgtaccgt
50 960

gtggtcagcg tcttcaccgt cctgcaccag gactggctga atggcaagga gtacaagtgc
1020

aaggtctcca acaaagccct cccagccccc atcgagaaaa ccatctccaa agccaaaggg
5 1080

cagccccgag aaccacaggt gtgcaccctg ccccatccc gggatgagct gaccaagaac
1140

caggtcagcc tctcgtgcgc agtcaaaggc ttctatccca gcgacatcgc cgtggagtgg
10 1200

gagagcaatg ggcagccgga gaacaactac aagaccacgc ctcccgtgct ggactccgac
1260

ggctccttct tctcgtgag caagctcacc gtggacaaga gcaggtggca gcaggggaac
15 1320

gtcttctcat gctccgtgat gcatgaggct ctgcacaacc actacacgca gaagagcctc
20 1380

tccctgtctc cgggtaaattg a 1401

25 <210> 19
<211> 492
<212> PRT
<213> Yapay Sekans

30 <220>
<223> İnsan IL-2R-gamma-Fc(topuz) füzyon proteini
<400> 19

35 Met Leu Lys Pro Ser Leu Pro Phe Thr Ser Leu Leu Phe Leu Gln Leu
1 5 10 15

40 Pro Leu Leu Gly Val Gly Leu Asn Thr Thr Ile Leu Thr Pro Asn Gly
20 25 30

Asn Glu Asp Thr Thr Ala Asp Phe Phe Leu Thr Thr Met Pro Thr Asp
35 40 45

45 Ser Leu Ser Val Ser Thr Leu Pro Leu Pro Glu Val Gln Cys Phe Val
50 55 60

50 Phe Asn Val Glu Tyr Met Asn Cys Thr Trp Asn Ser Ser Ser Glu Pro
65 70 75 80

	Gln	Pro	Thr	Asn	Leu	Thr	Leu	His	Tyr	Trp	Tyr	Lys	Asn	Ser	Asp	Asn	
					85					90					95		
5																	
	Asp	Lys	Val	Gln	Lys	Cys	Ser	His	Tyr	Leu	Phe	Ser	Glu	Glu	Ile	Thr	
				100					105					110			
10																	
	Ser	Gly	Cys	Gln	Leu	Gln	Lys	Lys	Glu	Ile	His	Leu	Tyr	Gln	Thr	Phe	
			115					120					125				
15																	
	Val	Val	Gln	Leu	Gln	Asp	Pro	Arg	Glu	Pro	Arg	Arg	Gln	Ala	Thr	Gln	
		130					135					140					
20																	
	Met	Leu	Lys	Leu	Gln	Asn	Leu	Val	Ile	Pro	Trp	Ala	Pro	Glu	Asn	Leu	
	145					150					155					160	
25																	
	Thr	Leu	His	Lys	Leu	Ser	Glu	Ser	Gln	Leu	Glu	Leu	Asn	Trp	Asn	Asn	
					165					170					175		
30																	
	Arg	Phe	Leu	Asn	His	Cys	Leu	Glu	His	Leu	Val	Gln	Tyr	Arg	Thr	Asp	
				180					185					190			
35																	
	Trp	Asp	His	Ser	Trp	Thr	Glu	Gln	Ser	Val	Asp	Tyr	Arg	His	Lys	Phe	
			195					200					205				
40																	
	Ser	Leu	Pro	Ser	Val	Asp	Gly	Gln	Lys	Arg	Tyr	Thr	Phe	Arg	Val	Arg	
		210					215					220					
45																	
	Ser	Arg	Phe	Asn	Pro	Leu	Cys	Gly	Ser	Ala	Gln	His	Trp	Ser	Glu	Trp	
	225					230					235					240	
50																	
	Ser	His	Pro	Ile	His	Trp	Gly	Ser	Asn	Thr	Ser	Lys	Glu	Asn	Pro	Phe	
					245					250					255		
55																	
	Leu	Phe	Ala	Leu	Glu	Ala	Gly	Ala	Gln	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	
				260					265					270			
60																	
	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	
			275					280					285				

	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	
	290						295					300					
5																	
	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	
	305					310					315					320	
10																	
	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	
					325					330					335		
15																	
	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	
				340					345					350			
20																	
	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	
			355					360					365				
25																	
	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	
	370						375					380					
30																	
	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Cys	Arg	
	385					390					395					400	
35																	
	Asp	Glu	Leu	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Trp	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	
					405					410					415		
40																	
	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	
				420					425					430			
45																	
	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	
			435					440					445				
50																	
	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	
	450						455					460					
55																	
	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	
	465					470					475					480	
60																	
	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys					
					485					490							

<210> 20
 <211> 1479
 5 <212> DNA
 <213> Yapay Sekans

 <220>
 <223> İnsan IL-2R-gamma-Fc(topuz) füzyon proteini
 10
 <400> 20
 atgttgaagc catcattacc attcacatcc ctcttattcc tgcagctgcc cctgctggga
 60
 15 gtggggctga acacgacaat tctgacgccc aatgggaatg aagacaccac agctgatttc
 120
 ttcttgacca ctatgcccac tgactccctc agtggtttcca ctctgcccct cccagagggt
 180
 20 cagtgttttg tgttcaatgt cgagtacatg aattgcactt ggaacagcag ctctgagccc
 240
 cagcctacca acctcactct gcattattgg tacaagaact cggataatga taaagtccag
 25 300
 aagtgcagcc actatctatt ctctgaagaa atcacttctg gctgtcagtt gcaaaaaaag
 360
 30 gagatccacc tctaccaaac atttggtggt cagctccagg acccacggga acccaggaga
 420
 cagggcacac agatgctaaa actgcagaat ctggtgatcc cctgggctcc agagaacct
 480
 35 acatttcaca aactgagtga atcccagcta gaactgaact ggaacaacag attcttgaac
 540
 cactgttttg agcacttggg gcagtaccgg actgactggg accacagctg gactgaacaa
 40 600
 tcagtggatt atagacataa gttctccttg cctagtgtgg atgggcagaa acgctacacg
 660
 45 tttegtgttc ggagccgctt taaccactc tgtggaagtg ctacagcattg gagtgaatgg
 720
 agccacccaa tccactgggg gagcaatact tcaaaagaga atcctttcct gtttgcattg
 780
 50 gaagccggag ctgaggacaa aactcacaca tgcccaccgt gccacgacc tgaactcctg
 840

```

gggggaccgt cagtcttcct cttcccccca aaaccaagg acaccctcat gatctcccg
900

5  acccctgagg tcacatgcgt ggtggtggac gtgagccacg aagaccctga ggtcaagttc
960

aactggtacg tggacggcgt ggaggtgcat aatgccaaga caaagccgcg ggaggagcag
1020
10  tacaacagca cgtaccgtgt ggtcagcgtc ctcaccgtcc tgcaccagga ctggctgaat
1080

ggcaaggagt acaagtgcaa ggtctccaac aaagccctcc cagcccccat cgagaaaacc
15  1140

atctccaaag ccaaagggca gccccgagaa ccacaggtgt acaccctgcc cccatgccgg
1200

20  gatgagctga ccaagaacca ggtcagcctg tgggtgcctgg tcaaaggctt ctatcccagc
1260

gacatcgccg tggagtggga gagcaatggg cagccggaga acaactacaa gaccacgcct
1320
25  cccgtgctgg actccgacgg ctctttcttc ctctacagca agctcaccgt ggacaagagc
1380

aggtggcagc aggggaacgt cttctcatgc tccgtgatgc atgaggctct gcacaaccac
30  1440

tacacgcaga agagcctctc cctgtctccg ggtaaata 1479

35  <210> 21
    <211> 219
    <212> PRT
    <213> Yapay Sekans

40  <220>
    <223> İnsan IL-2R alfa alt birimi + Avi etiketi + His etiketi

    <400> 21

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

50  Val His Ser Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala
    20          25          30

```

	Thr	Phe	Lys	Ala	Met	Ala	Tyr	Lys	Glu	Gly	Thr	Met	Leu	Asn	Cys	Glu
			35					40					45			
5	Cys	Lys	Arg	Gly	Phe	Arg	Arg	Ile	Lys	Ser	Gly	Ser	Leu	Tyr	Met	Leu
		50					55					60				
10	Cys	Thr	Gly	Asn	Ser	Ser	His	Ser	Ser	Trp	Asp	Asn	Gln	Cys	Gln	Cys
	65					70					75					80
15	Thr	Ser	Ser	Ala	Thr	Arg	Asn	Thr	Thr	Lys	Gln	Val	Thr	Pro	Gln	Pro
					85					90					95	
20	Glu	Glu	Gln	Lys	Glu	Arg	Lys	Thr	Thr	Glu	Met	Gln	Ser	Pro	Met	Gln
				100					105						110	
25	Pro	Val	Asp	Gln	Ala	Ser	Leu	Pro	Gly	His	Cys	Arg	Glu	Pro	Pro	Pro
			115					120					125			
30	Trp	Glu	Asn	Glu	Ala	Thr	Glu	Arg	Ile	Tyr	His	Phe	Val	Val	Gly	Gln
		130					135					140				
35	Met	Val	Tyr	Tyr	Gln	Cys	Val	Gln	Gly	Tyr	Arg	Ala	Leu	His	Arg	Gly
	145					150					155					160
40	Pro	Ala	Glu	Ser	Val	Cys	Lys	Met	Thr	His	Gly	Lys	Thr	Arg	Trp	Thr
					165					170					175	
45	Gln	Pro	Gln	Leu	Ile	Cys	Thr	Gly	Val	Asp	Glu	Gln	Leu	Tyr	Phe	Gln
				180					185					190		
50	Gly	Gly	Ser	Gly	Leu	Asn	Asp	Ile	Phe	Glu	Ala	Gln	Lys	Ile	Glu	Trp
			195					200					205			
55	His	Glu	Ala	Arg	Ala	His	His	His	His	His	His	His	His	His	His	His
		210					215									
60	<210>	22														
65	<211>	660														
70	<212>	DNA														
75	<213>	Yapay Sekans														

<220>
 <223> İnsan IL-2R alfa alt birimi + Avi etiketi + His etiketi

5 <400> 22
 atgggatgga gctgtatcat cctcttcttg gtagcaacag ctaccggtgt gcattccgag
 60
 ctctgtgacg atgacccgcc agagatccca cagccacat tcaaagccat ggctacaag
 10 120
 gaaggaacca tgttgaactg tgaatgcaag agaggtttcc gcagaataaa aagcgggtca
 180
 ctctatatgc tctgtacagg aaactctagc cactcgctct gggacaacca atgtcaatgc
 15 240
 acaagctctg ccactcggaa cacaacgaaa caagtgcacac ctcaacctga agaacagaaa
 300
 20 gaaaggaaaa ccacagaaat gcaaagtcca atgcagccag tggaccaagc gagccttcca
 360
 ggtcactgca gggaacctcc accatgggaa aatgaagcca cagagagaat ttatcatttc
 25 420
 gtgggtggggc agatggttta ttatcagtgc gtccagggat acagggtctt acacagaggt
 480
 cctgctgaga gcgtctgcaa aatgaccac gggaagacaa ggtggaccca gcccagctc
 30 540
 atatgcacag gtgtcgacga acagttatat tttcaggggc gctcaggcct gaacgacatc
 600
 35 ttcgaggccc agaagatcga gtggcacgag gctcgagctc accaccatca ccatcactga
 660

40 <210> 23
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> Yapay Sekans

45 <220>
 <223> 2B10; VL
 <400> 23

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

	Asp	Arg	Val	Thr	Ile	Thr	Cys	Arg	Ala	Ser	Gln	Gly	Ile	Arg	Asn	Asp	
				20					25					30			
5	Leu	Gly	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Lys	Ala	Pro	Lys	Arg	Leu	Ile	
			35					40					45				
10	Tyr	Ala	Ala	Ser	Ser	Leu	Gln	Ser	Gly	Val	Pro	Ser	Arg	Phe	Ser	Gly	
		50					55					60					
15	Gly	Gly	Ser	Gly	Thr	Glu	Phe	Thr	Leu	Thr	Ile	Ser	Ser	Leu	Gln	Pro	
	65					70					75				80		
20	Glu	Asp	Phe	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Cys	Leu	Gln	Asn	Gly	Leu	Gln	Pro	Ala	
					85					90					95		
	Thr	Phe	Gly	Gln	Gly	Thr	Lys	Val	Glu	Ile	Lys						
				100					105								
25																	
	<210> 24																
	<211> 321																
	<212> DNA																
	<213> Yapay Sekans																
30																	
	<220>																
	<223> 2B10; VL																
	<400> 24																
35	gatatccaga tgaccacagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtcggaga ccgggtcacc																
	60																
	atcacctgcc gggcaagtca gggcattaga aatgatttag gctggtacca gcagaagcca																
	120																
40	gggaaagccc ctaagcgcct gatctatgct gcattccagtt tgcagagtgg cgtcccatca																
	180																
	aggttcagcg gcggtggatc cgggacagag ttactctca ccatcagcag cttgcagcct																
45	240																
	gaagattttg ccacctatta ctgcttgacg aatgggtctgc agcccgcgac gtttggccag																
	300																
50	ggcaccaaag tcgagatcaa g																321

<210> 25
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> Yapay Sekans
 5
 <220>
 <223> 2B10 (GS); VL
 <400> 25
 10 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 15 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn Asp
 20 25 30
 20 Leu Gly Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Arg Leu Ile
 35 40 45
 Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 25 Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80
 30 Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Asn Gly Leu Gln Pro Ala
 85 90 95
 35 Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105
 <210> 26
 40 <211> 321
 <212> DNA
 <213> Yapay Sekans
 <220>
 45 <223> 2B10 (GS); VL
 <400> 26
 gatatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtcggaga ccgggtcacc
 60
 50 atcacctgcc gggcaagtca gggcattaga aatgatttag gctggtacca gcagaagcca
 120

gggaaagccc ctaagcgcct gatctatgct gcatccagtt tgcagagtgg cgtcccatca
180

5 aggttcagcg gcagtggatc cgggacagag ttcactctca ccatcagcag cttgcagcct
240

gaagattttg ccacctatta ctgcttgacg aatgggtctgc agcccgcgac gtttggccag
300

10 ggcaccaaag tcgagatcaa g 321

<210> 27

15 <211> 121

<212> PRT

<213> Yapay Sekans

<220>

20 <223> 2B10; VH

<400> 27

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
25 1 5 10 15

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

Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 35 40 45

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

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
40 65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
45 85 90 95

Ala Arg Leu Tyr Gly Tyr Ala Tyr Tyr Gly Ala Phe Asp Tyr Trp Gly
50 100 105 110

Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser

115

120

<210> 28
 5 <211> 363
 <212> DNA
 <213> Yapay Sekans

 <220>
 10 <223> 2B10; VH

 <400> 28
 caggtgcaat tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctgggtcctc ggtgaaggtc
 60
 15 tcttgcaagg cctccggagg cacattcagc agctacgcta taagctgggt gcgacaggcc
 120
 cctggacaag ggctcgagtg gatgggaggg atcatcccta tctttggtac agcaaactac
 20 180
 gcacagaagt tccagggcag ggtcaccatt actgcagaca aatccacgag cacagcctac
 240
 25 atggagctga gcagcctgag atctgaggac accgccgtgt attactgtgc gagactgtac
 300
 ggttacgctt actacgggtgc ttttgactac tggggccaag ggaccaccgt gaccgtctcc
 360
 30 tca 363

<210> 29
 35 <211> 108
 <212> PRT
 <213> Yapay Sekans

 <220>
 40 <223> 2F11; VL

 <400> 29

 Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 45 1 5 10 15

 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser
 20 25 30
 50
 Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu

35

40

45

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

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

15 Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Gln Tyr Thr Pro
85 90 95

Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

20 <210> 30
<211> 324
<212> DNA
<213> Yapay Sekans

25 <220>
<223> 2F11; VL

<400> 30
gaaatcgtgt taacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc
30 60

ctctcttgca gggccagtca gagtgttagc agcagctact tagcctggta ccagcagaaa
120

35 cctggccagg ctcccaggct cctcatctat ggagcatcca gcagggccac tggcgtccca
180

gacagggttca gtggcagtgg atccgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag
240

40 cctgaagatt ttgcagtgtg ttactgtcag cagggtcagt ataactcccc cacgttcggc
300

caggggacca aagtggaaat caaa 324
45

<210> 31
<211> 108
<212> PRT
50 <213> Yapay Sekans

<220>

<223> 2F11(VI); VL

<400> 31

5 Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

10 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser
20 25 30

15 Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
35 40 45

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

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

25 Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Gln Tyr Thr Pro
85 90 95

30 Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 32

<211> 324

35 <212> DNA

<213> Yapay Sekans

<220>

<223> 2F11(VI); VL

40

<400> 32

gaaatcgtgt taacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc
60

45 ctctcttgca gggccagtca gagtgttagc agcagctact tagcctggta ccagcagaaa
120

cctggccagg ctcccaggct cctcatctat ggagcatcca gcagggccac tggcatccca
180

50

gacagggttca gtggcagtgg atccgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag
240

cctgaagatt ttgcagtgtgta ttactgtcag caggggtcagt atactccccc cacgttcggc
300

5 caggggacca aagtggaaat caaa 324

<210> 33

<211> 117

10 <212> PRT

<213> Yapay Sekans

<220>

<223> 2F11; VH

15

<400> 33

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

20

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

25

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

30

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

35

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

40

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

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

45

Val Thr Val Ser Ser
115

50

<210> 34

<211> 351

<212> DNA

<213> Yapay Sekans

<220>

<223> 2F11; VH

5

<400> 34

gaggtgcaat tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggggtc cctgagactc
60

10 tcttgtgcag cctccggatt caccttttagc agttatgcca tgagctgggt ccgccaggct
120

ccaggggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtgggtggtag cacatactac
180

15 gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat
240

ctgcagatga acagcctgag agccgaggac atggccgtat attactgtgc gaaatggaga
20 300

tggatgatgt ttgactactg gggccaagga accctgggtca ccgtctcgag t
351

25

<210> 35

<211> 117

<212> PRT

<213> Yapay Sekans

30

<220>

<223> 2F11 (MT); VH

<400> 35

35

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

40 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

45 Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

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

50

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

	65	70	75	80
5	Leu Gln Met Asn Ser	Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys		
		85	90	95
10	Ala Lys Trp Arg Trp Met Met Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu			
		100	105	110
15	Val Thr Val Ser Ser			
		115		
	<210> 36			
	<211> 351			
	<212> DNA			
	<213> Yapay Sekans			
20	<220>			
	<223> 2F11 (MT); VH			
	<400> 36			
25	gaggtgcaat tggtggagtc tgggggagggc ttggtacagc ctgggggggct cctgagactc			
	60			
	tcctgtgcag cctccggatt cacctttagc agttatgcc a tgagctgggt ccgccaggct			
	120			
30	ccaggggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtgggtggtag cacatactac			
	180			
	gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat			
35	240			
	ctgcagatga acagcctgag agccgaggac accgccgtat attactgtgc gaaatggaga			
	300			
40	tggatgatgt ttgactactg gggccaagga accctgggtca ccgtctcgag t			
	351			
	<210> 37			
45	<211> 108			
	<212> PRT			
	<213> Yapay Sekans			
	<220>			
50	<223> 3F2; VL			
	<400> 37			

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Tyr Pro Gly
 1 5 10 15
 5
 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Thr Ser Ser
 20 25 30
 10 Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
 35 40 45
 15 Ile Asn Val Gly Ser Arg Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
 50 55 60
 Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu
 65 70 75 80
 20
 Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Ile Met Leu Pro
 85 90 95
 25
 Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105
 30 <210> 38
 <211> 324
 <212> DNA
 <213> Yapay Sekans
 35 <220>
 <223> 3F2; VL
 <400> 38
 gaaatcgtgt taacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt atccagggga aagagccacc
 40 60
 ctctcttgca gggccagtc gagtggtacc agtagctact tagcctggta ccagcagaaa
 120
 45 cctggccagg ctcccaggct cctcatcaat gtgggctccc gtagggccac tggcatccca
 180
 gacaggttca gtggcagtgg atccgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag
 240
 50 cctgaagatt ttgcagtgtt ttactgtcag cagggtatta tgcttcccc gacgttcggc
 300

caggggacca aagtggaaat caaa

324

5 <210> 39
<211> 108
<212> PRT
<213> Yapay Sekans

10 <220>
<223> 3F2(YS); VL

<400> 39

15 Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

20 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Thr Ser Ser
20 25 30

25 Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
35 40 45

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

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

35 Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Ile Met Leu Pro
85 90 95

40 Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 40
<211> 324
45 <212> DNA
<213> Yapay Sekans

<220>
<223> 3F2(YS); VL
50
<400> 40

```

gaaatcgtgt taacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc
60
ctctcttgca gggccagtc gagtggtacc agtagctact tagcctggta ccagcagaaa
5 120
cctggccagg ctcccaggct cctcatcaat gtgggctccc gtagggccac tggcatccca
180
10 gacaggttca gtggcagtgg atccgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag
240
cctgaagatt ttgcagtgtg ttactgtcag caggggtatta tgcttcccc gacgttcggc
300
15 caggggacca aagtggaaat caaa 324

<210> 41
20 <211> 117
<212> PRT
<213> Yapay Sekans

<220>
25 <223> 3F2; VH

<400> 41

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
30 1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
35 20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
40 35 40 45

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

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
45 65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
50 85 90 95

```

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

5 Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 42
10 <211> 351
<212> DNA
<213> Yapay Sekans

<220>
15 <223> 3F2; VH

<400> 42
gaggtgcaat tggttgagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggggtc cctgagactc
60

20 tcctgtgcag cctccggatt caccttttagc agttatgcca tgagctgggt ccgccaggct
120

ccaggggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtggtggttag cacatactac
25 180

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat
240

30 ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaaggggtgg
300

tttgggtggtt ttaactactg gggccaagga accctgggtca ccgtctcgag t
351

35

<210> 43
<211> 108
<212> PRT
40 <213> Yapay Sekans

<220>
<223> 3D9, VL

45 <400> 43

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

50

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser
20 25 30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
 35 40 45
 5
 Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
 50 55 60
 10
 Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu
 65 70 75 80
 15 Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Gln Leu Ile Pro
 85 90 95
 20 Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105
 <210> 44
 <211> 324
 25 <212> DNA
 <213> Yapay Sekans
 <220>
 <223> 3D9, VL
 30
 <400> 44
 gaaatcgtgt taacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc
 60
 35 ctctcttgca gggccagtc gagtgtagc agcagctact tagcctggta ccagcagaaa
 120
 cctggccagg ctcccaggct cctcatctat ggagcatcca gcagggccac tggcatccca
 180
 40 gacaggttca gtggcagtg atccgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag
 240
 cctgaagatt ttgcagtgt ttactgtcag cagggtcagc ttattcccc tacgttcggc
 45 300
 caggggacca aagtggaaat caaa 324
 50 <210> 45
 <211> 117
 <212> PRT

<213> Yapay Sekans
 <220>
 <223> 3D9, VH
 5 <400> 45
 Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
 15 Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Thr Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 20 Ser Ala Ile Gly Val Ser Thr Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 25 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 30 Ala Lys Gly Trp Leu Gly Pro Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
 100 105 110
 35 Val Thr Val Ser Ser
 115
 40 <210> 46
 <211> 351
 <212> DNA
 <213> Yapay Sekans
 45 <220>
 <223> 3D9, VH
 <400> 46
 gaggtgcaat tggttgagtc tgggggagggc ttggtacagc ctgggggggctc cctgagactc
 50 60

tcctgtgcag cctccggatt caccttttagc agttatgcta tgagctgggt ccgccagact
 120
 ccaggggaagg ggctggagtg ggtctcagct attgggtgta gtactggtag cacatactac
 5 180
 gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat
 240
 ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaagggttg
 10 300
 ctgggtcctt ttgactactg gggccaagga accctggtea ccgtctcgag t
 351
 15
 <210> 47
 <211> 117
 <212> PRT
 20 <213> Yapay Sekans
 <220>
 <223> 3D9(TA); VH
 25 <400> 47
 Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 30 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
 35 Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ser Ala Ile Gly Val Ser Thr Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 40 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80
 45 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 50 Ala Lys Gly Trp Leu Gly Pro Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
 100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
115

5

<210> 48
<211> 351
<212> DNA
10 <213> Yapay Sekans

<220>
<223> 3D9 (TA); VH

15 <400> 48
gaggtgcaat tggtggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggggc cctgagactc
60

tcctgtgcag cctccggatt cacctttagc agttatgcta tgagctgggt ccgccaggct
20 120

ccaggggaagg ggctggagtg ggtctcagct attggtgtta gtactggtag cacatactac
180

25 gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat
240

ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaagggttg
300

30 ctgggtcctt ttgactactg gggccaagga accctggtea ccgtctcgag t
351

35 <210> 49
<211> 108
<212> PRT
<213> Yapay Sekans

40 <220>
<223> 4G8; VL

<400> 49

45 Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Arg Ser
50 20 25 30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
 35 40 45

5 Ile Ile Gly Ala Ser Thr Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
 50 55 60

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

15 Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Gln Val Ile Pro
 85 90 95

Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105

20 <210> 50
 <211> 324
 <212> DNA
 <213> Yapay Sekans

25 <220>
 <223> 4G8; VL

30 <400> 50
 gaaatcgtgt taacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc
 60

35 ctctctttgca gggccagtc gagtggttagc cgcagctact tagcctggta ccagcagaaa
 120

cctggccagg ctcccagggt cctcatcatt ggggcctcca ccagggccac tggcatccca
 180

40 gacaggttca gtggcagtgg atccgggacg gacttcactc tcaccatcag cagactggag
 240

cctgaagatt ttgcagtgt ttactgtcag cagggtcagg ttattcccc tacgttcggc
 300

45 caggggacca aagtggaaat caaa 324

50 <210> 51
 <211> 117
 <212> PRT
 <213> Yapay Sekans

<220>

<223> 4G8; VH

<400> 51

5

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

10

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

15

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

20

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

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

25

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

30

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

35

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 52

<211> 351

40

<212> DNA

<213> Yapay Sekans

<220>

<223> 4G8; VH

45

<400> 52

gaggtgcaat tggttgagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggggct cctgagactc
60

50

tcctgtgcag cctccggatt caccttttagc agttatgccca tgagctgggt ccgccaggct
120

```

ccaggggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtgggtggtag cacatactac
180

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat
5 240

ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaaggggtgg
300

10 ctgggtaatt ttgactactg gggccaagga accctgggtca ccgtctcgag t
351

<210> 53
15 <211> 108
    <212> PRT
    <213> Yapay Sekans

    <220>
20 <223> 4B3; VL

    <400> 53

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
25 1 5 10 15

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

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
35 35 40 45

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

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

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Gln Val Ile Pro
45 85 90 95

Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
50 100 105

<210> 54

```

<211> 324
 <212> DNA
 <213> Yapay Sekans

5 <220>
 <223> 4B3; VL

<400> 54
 gaaatcgtgt taacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc
 10 60
 ctctcttgca gggccagtca gagtgttagc agcaattact tagcctggta ccagcagaaa
 120
 cctggccagg ctcccagggt cctcatctat ggcgccctaca tcagggccac tggcatccca
 15 180
 gacaggttca gtggcagtgg atccgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag
 20 240
 cctgaagatt ttgcagtgtg ttactgtcag cagggtcagg ttattcccc tacgttcggc
 300
 caggggacca aagtggaaat caaa 324
 25

<210> 55
 <211> 117
 <212> PRT
 30 <213> Yapay Sekans

<220>
 <223> 4B3; VH

35 <400> 55

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

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

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

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

Val Thr Val Ser Ser
 115

15

<210> 56
 <211> 351
 <212> DNA
 20 <213> Yapay Sekans

<220>
 <223> 4B3; VH

25 <400> 56
 gaggtgcaat tggtggagtc tgggggagggc ttggtacagc ctgggggggtc cctgagactc
 60

30 tcctgtgcag cctccggatt caccttttagc agttatgccca tgagctgggt ccgccaggct
 120

ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtggtggtag cacatactac
 180

35 gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat
 240

ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaaggggtgg
 300

40 ctgggtaatt ttgactactg gggccaagga accctgggtca ccgtctcgag t
 351

45 <210> 57
 <211> 108
 <212> PRT
 <213> Yapay Sekans

50 <220>
 <223> 4D6; VL

5	Glu 1	Ile	Val	Leu	Thr 5	Gln	Ser	Pro	Gly	Thr 10	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro 15	Gly
10	Glu	Arg	Ala	Thr 20	Leu	Ser	Cys	Arg	Ala 25	Ser	Gln	Ser	Val	Ser 30	Ser	Asn
15	Tyr	Leu	Ala 35	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys 40	Pro	Gly	Gln	Ala	Pro 45	Arg	Leu	Leu
20	Ile	Gln	Gly	Ala	Ser	Ser	Arg 55	Ala	Thr	Gly	Ile	Pro 60	Asp	Arg	Phe	Ser
25	Gly 65	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr 70	Asp	Phe	Thr	Leu	Thr 75	Ile	Ser	Arg	Leu	Glu 80
30	Pro	Glu	Asp	Phe 85	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Gln 90	Gln	Gly	Gln	Val	Ile 95	Pro
35	Pro	Thr	Phe	Gly 100	Gln	Gly	Thr	Lys	Val 105	Glu	Ile	Lys				

35
 <220>
 <223> 4D6; VL

40 gaaatcgtgt taacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc
60

ctctcttgca gggccagtca gagtgttagc agcaactact tagcctggta ccagcagaaa
120

45 cctggccagg ctcccaggct cctcatccag ggcgccctcca gcaggggccac tggcatccca
180

gacaggttca gtggcagtgg atccgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag
50 240

cctgaagatt ttgcagtgtgta ttactgtcag caggggtcagg ttattccccc tacgttcggc
300

caggggacca aagtggaaat caaa

324

5

<210> 59

<211> 117

<212> PRT

10 <213> Yapay Sekans

<220>

<223> 4D6; VH

15 <400> 59

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

20

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

25

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

30

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

35

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

40

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

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

45

Val Thr Val Ser Ser
115

50

<210> 60

<211> 351

<212> DNA

<213> Yapay Sekans

<220>

<223> 4D6; VH

5 <400> 60

gaggtgcaat tgttgaggatc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggggtc cctgagactc
60

10 tctgtgacag cctccggatt caccttttagc agttatgcca tgagctgggt ccgccaggct
120

ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtgggtggtag cacatactac
180

15 gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat
240

ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaaggggtgg
300

20 ctgggtaatt ttgactactg gggccaagga accctgggtca ccgtctcgag t
351

25 <210> 61

<211> 108

<212> PRT

<213> Yapay Sekans

30 <220>

<223> 2C6; VL

<400> 61

35 Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

40 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser
20 25 30

45 Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
35 40 45

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

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

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Gln Gln Ile Pro
 85 90 95
 5

Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105

10

<210> 62
 <211> 324
 <212> DNA
 <213> Yapay Sekans

15

<220>
 <223> 2C6; VL

<400> 62

20 gaaatcgtgt taacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc
 60

ctctcttgca gggccagtca gagtgttagc agcagctact tagcctggta ccagcagaaa
 120

25 cctggccagg ctcccagggt cctcatctat ggagcatcca gcagggccac tggcatccca
 180

gacagggttca gtggcagtgg atccgggaca gaattcaactc tcaccatcag caggctggag
 30 240

cctgaagatt ttgcagtgtg ttactgtcag cagggtcagc agattcccc tacgttcggc
 300

35 caggggacca aagtggaaat caaa 324

<210> 63
 <211> 117
 40 <212> PRT
 <213> Yapay Sekans

<220>
 <223> 2C6; VH

45

<400> 63

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

50

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Thr Phe Ser Ser Tyr

	20	25	30
5	Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val		
	35	40	45
10	Ser Ala Ile Ser Gly Ser Ala Gly Tyr Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val		
	50	55	60
15	Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr		
	65	70	75
20	Ala Lys Gly Trp Phe Gly Asn Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu		
	100	105	110
25	Val Thr Val Ser Ser		
	115		
30	<210> 64		
	<211> 351		
	<212> DNA		
	<213> Yapay Sekans		
35	<220>		
	<223> 2C6; VH		
40	<400> 64		
	gaggtgcaat tgttgaggatc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggggtc cctgagactc		
	60		
45	tcctgtgcag cctccggatc caccttttagc agttatgccca tgagctgggt ccgccaggct		
	120		
	ccaggggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggga gtgctgggta tacatactac		
	180		
50	gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat		
	240		
	ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaagggttg		
	300		

tttgggaatt ttgactactg gggccaagga accctgggtca ccgtctcgag t
351

5 <210> 65
<211> 108
<212> PRT
<213> Yapay Sekans

10 <220>
<223> 5H5; VL

<400> 65

15 Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

20 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser
20 25 30

25 Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
35 40 45

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

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

35 Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Asn Gln Ile Pro
85 90 95

40 Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

45 <210> 66
<211> 324
<212> DNA
<213> Yapay Sekans

<220>
<223> 5H5; VL
50
<400> 66

gaaatcgtgt taacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc
 60
 ctctcttgca gggccagtc gagtgtagc agcagctact tagcctggta ccagcagaaa
 5 120
 cctggccagg ctcccaggct cctcatctat ggagcatcca gcagggccac tggcatccca
 180
 10 gacaggttca gtggcagtgg atccgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag
 240
 cctgaagatt ttgcagtgtt ttactgtcag cagggtaatc agattcccc tacgttcggt
 300
 15 caggggacca aagtggaaat caaa 324

<210> 67
 20 <211> 116
 <212> PRT
 <213> Yapay Sekans

<220>
 25 <223> 5H5; VH

<400> 67
 30 Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
 35 Thr Met Ser Trp Val Arg Arg Ser Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 40 Ser Ala Ile Ser Gly Gly Gly Arg Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 50 55 60
 45 Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu
 65 70 75 80
 50 Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
 85 90 95

Lys Gly Trp Phe Thr Pro Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
100 105 110

5 Thr Val Ser Ser
115

<210> 68
10 <211> 348
<212> DNA
<213> Yapay Sekans

<220>
15 <223> 5H5; VH

<400> 68
gaggtgcaat tggttgagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggggtc cctgagactc
60

20 tcctgtgcag cctccggatt caccttttagc agttatacca tgagctgggt ccgccgggtct
120

ccaggggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtgggtg gtggtaggac atactacgca
25 180

gactccgtga agggccgggt caccatctcc agagacaatt ccaagaacac gctgtatctg
240

30 cagatgaaca gcctgagagc cgaggacacg gccgtatatt actgtgcgaa aggttggttt
300

acgccttttg actactgggg ccaaggaacc ctgggtcaccg tctcgagt 348

35 <210> 69
<211> 108
<212> PRT
<213> Yapay Sekans

40 <220>
<223> 2C4; VL

<400> 69

45 Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

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

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
 35 40 45

5
 Ile Tyr Gly Ala Ser Ile Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
 50 55 60

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

15 Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Asn Gln Ile Pro
 85 90 95

20 Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105

<210> 70
 <211> 324
 <212> DNA
 25 <213> Yapay Sekans

<220>
 <223> 2C4; VL

30 <400> 70
 gaaatcgtgt taacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc
 60

35 ctctcttgca gggccagtca gagtgttagc agtaactact tagcctggta ccagcagaaa
 120

cctggccagg ctcccaggct cctcatctat ggtgcctcca ttagggccac tggcatccca
 180

40 gacaggttca gtggcagtgg atccgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag
 240

cctgaagatt ttgcagtgta ttactgtcag cagggtaatc agattccccc tacgttcggt
 300

45 caggggacca aagtggaaat caaa 324

50 <210> 71
 <211> 117
 <212> PRT
 <213> Yapay Sekans

<220>

<223> 2C4; VH

5 <400> 71

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

10

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

15

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

20

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

25

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

30

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

Ala Lys Gly Trp Phe Thr Pro Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110

35

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 72

40

<211> 351

<212> DNA

<213> Yapay Sekans

<220>

45

<223> 2C4; VH

<400> 72

gaggtgcaat tggttgagtc tgggggagggc ttggtacagc ctgggggggtc cctgagactc
60

50

tcctgtgcag cctccggatt caccttttagc agttatgccca tgagctgggt ccgccaggct
120

ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagcggta gtggtaggtac cacatactac
180

5 gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat
240

ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaagggttg
300

10 tttacgcctt ttgactactg gggccaagga accctgggtca ccgtctcgag t
351

15 <210> 73
<211> 108
<212> PRT
<213> Yapay Sekans

20 <220>
<223> 2D9; VL

<400> 73

25 Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

30 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser
20 25 30

35 Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
35 40 45

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

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

45 Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Asn Gln Ile Pro
85 90 95

50 Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 74
 <211> 324
 <212> DNA
 <213> Yapay Sekans
 5
 <220>
 <223> 2D9; VL
 <400> 74
 10 gaaatcgtgt taacgcagtc tccagggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc
 60
 ctctcttgca gggccagtca gagtgttagc agcagctact tagcctggta ccagcagaaa
 120
 15 cctggccagg ctcccaggct cctcatctat ggagcatcca gcagggccac tggcatccca
 180
 gacaggttca gtggcagtgg atccgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag
 20 240
 cctgaagatt ttgcagtgta ttactgtcag cagggtaatc agattccccc tacgttcggt
 300
 25 caggggacca aagtggaaat caaa 324

<210> 75
 <211> 117
 30 <212> PRT
 <213> Yapay Sekans
 <220>
 <223> 2D9; VH
 35
 <400> 75
 Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 40 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
 45 Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 50 Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60

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

5
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95

10 Ala Lys Gly Trp Phe Thr Pro Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
 100 105 110

15 Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 76
 <211> 351
 20 <212> DNA
 <213> Yapay Sekans

<220>
 <223> 2D9; VH
 25

<400> 76
 gaggtgcaat tgttgagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggggc cctgagactc
 60

30 tctgtgacag cctccggatt cacctttagc agttatgcc a tgagctgggt ccgccaggct
 120

ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagcggta gtggtggtag cacatactac
 180

35 gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat
 240

ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaaggttgg
 40 300

ttacgcctt ttgactactg gggccaagga accctgggtca ccgtctcgag t
 351

45
 <210> 77
 <211> 108
 <212> PRT
 <213> Yapay Sekans

50
 <220>
 <223> 4B8; VL

<400> 77

5 Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 1 5 10 15

10 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser
 20 25 30

15 Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
 35 40 45

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

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

30 Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Gln Val Ile Pro
 85 90 95

 Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105

<210> 78

<211> 324

<212> DNA

35 <213> Yapay Sekans

<220>

<223> 4B8; VL

40 <400> 78

gaaatcgtgt taacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc
60

45 ctctctttgca gggccagtca gagtgttagc agcagctact tagcctggta ccagcagaaa
120

cctggccagg ctcccaggct cctcatctat ggagcatcca gcagggccac tggcatccca
180

50 gacaggttca gtggcagtgg atccgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag
240

cctgaagatt ttgcagtgtgta ttactgtcag caggggtcagg ttattccccc tacgttcggc
300

caggggacca aagtggaaat caaa

324

5

<210> 79

<211> 117

<212> PRT

10 <213> Yapay Sekans

<220>

<223> 4B8; VH

15 <400> 79

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

20

Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Thr	Phe	Ser	Ser	Tyr
			20					25					30		

25

Ala	Met	Ser	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val
		35					40					45			

30

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

35

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

40

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

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

45

Val	Thr	Val	Ser	Ser
			115	

50

<210> 80

<211> 351

<212> DNA

<213> Yapay Sekans

<220>

<223> 4B8; VH

5 <400> 80

gaggtgcaat tgttgaggatc tgggggagggc ttggtacagc ctgggggggtc cctgagactc
60

10 tctgtgacag cctccggatt caccttttagc agttatgcca tgagctgggt ccgccaggct
120

ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtgggtggtag cacatactac
180

15 gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat
240

ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaaggggtgg
300

20 ctgggtaatt ttgactactg gggccaagga accctgggtca ccgtctcgag t
351

25 <210> 81

<211> 108

<212> PRT

<213> Yapay Sekans

30 <220>

<223> 7A1; VL

<400> 81

35 Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

40 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser
20 25 30

45 Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
35 40 45

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

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

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Gln Gln Ile Pro
 85 90 95
 5

Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105

10

<210> 82
 <211> 324
 <212> DNA
 <213> Yapay Sekans

15

<220>
 <223> 7A1; VL

<400> 82

20 gaaatcgtgt taacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc
 60

ctctcttgca gggccagtca gagtgttagc agcagctact tagcctggta ccagcagaaa
 120

25 cctggccagg ctcccagggt cctcatctat ggagcatcca gcagggccac tggcatccca
 180

gacaggttca gtggcagtgg atccgggaca gaattcaactc tcaccatcag cagactggag
 30 240

cctgaagatt ttgcagtgta ttactgtcag cagggtcagc agattcccc tacgttcggc
 300

35 caggggacca aagtggaaat caaa 324

<210> 83
 <211> 117
 40 <212> PRT
 <213> Yapay Sekans

<220>
 <223> 7A1; VH

45

<400> 83

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

50

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr

		20		25		30
5	Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val	35	40	45		
10	Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val	50	55	60		
15	Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr	65	70	75	80	
20	Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys	85	90	95		
25	Ala Lys Gly Trp Phe Gly Asn Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu	100	105	110		
30	Val Thr Val Ser Ser	115				
	<210> 84					
	<211> 351					
	<212> DNA					
	<213> Yapay Sekans					
	<220>					
	<223> 7A1; VH					
35	<400> 84					
	gaggtgcaat tggtggagtc tggggggaggc ttggtacagc ctgggggggct cctgagactc					
	60					
40	tcctgtgcag cctccggatt cacctttagc agttatgcca tgagctgggt ccgccaggct					
	120					
	ccaggggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtggtggtag cacatactac					
	180					
45	gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat					
	240					
50	ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaagggttg					
	300					

tttgggaatt ttgactactg gggccaagga accctgggtca ccgtctcgag t
351

5 <210> 85
<211> 108
<212> PRT
<213> Yapay Sekans

10 <220>
<223> 13C2; VL

<400> 85

15 Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

20 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser
20 25 30

25 Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
35 40 45

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

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

35 Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Gln Leu Ile Pro
85 90 95

40 Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

45 <210> 86
<211> 324
<212> DNA
<213> Yapay Sekans

<220>
<223> 13C2; VL
50
<400> 86

gaaatcgtgt taacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc
 60
 ctctcttgca gggccagtc gagtgtagc agcagctact tagcctggta ccagcagaaa
 5 120
 cctggccagg ctcccaggct cctcatctat ggagcatcca gcagggccac tggcatccca
 180
 10 gacaggttca gtggcagtgg atccgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag
 240
 cctgaagatt ttgcagtgtt ttactgtcag cagggtcagc ttattcccc tacgttcggc
 300
 15 caggggacca aagtggaaat caaa 324

<210> 87
 20 <211> 117
 <212> PRT
 <213> Yapay Sekans

<220>
 25 <223> 13C2; VH

<400> 87

30 Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
 35

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45

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

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

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

Ala Lys Gly Trp Leu Gly Pro Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110

5 Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 88
10 <211> 351
<212> DNA
<213> Yapay Sekans

<220>
15 <223> 13C2; VH

<400> 88
gaggtgcaat tggtggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggggtc cctgagactc
60

20 tcctgtgcag cctccggatt caccttttagc agttatgcca tgagctgggt ccgccaggct
120

ccaggggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtggtggttag cacatactac
25 180

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat
240

30 ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaagggttg
300

ctgggtcctt ttgactactg gggccaagga accctggtea ccgtctcgag t
35 351

<210> 89
<211> 108
<212> PRT
40 <213> Yapay Sekans

<220>
<223> 13E8; VL

45 <400> 89

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

50 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser
20 25 30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
 35 40 45
 5
 Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
 50 55 60
 10
 Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu
 65 70 75 80
 15 Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Leu Asn Ile Pro
 85 90 95
 20 Ser Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105
 <210> 90
 <211> 324
 25 <212> DNA
 <213> Yapay Sekans
 <220>
 <223> 13E8; VL
 30
 <400> 90
 gaaatcgtgt taacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc
 60
 35 ctctcttgca gggccagtca gagtgttagc agcagctact tagcctggta ccagcagaaa
 120
 cctggccagg ctcccaggct cctcatctat ggagcatcca gcagggccac tggcatccca
 180
 40 gacaggttca gtggcagtgg atccgggaca gacttcaetc tcaccatcag cagactggag
 240
 cctgaagatt ttgcagtgtg ttactgtcag caggggtctga atattccctc gacgttcggc
 45 300
 caggggacca aagtggaaat caaa 324
 50 <210> 91
 <211> 117
 <212> PRT

<213> Yapay Sekans
 <220>
 <223> 13E8; VH
 5 <400> 91
 Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
 15 Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 20 Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 25 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 30 Ala Lys Gly Trp Leu Gly Pro Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
 100 105 110
 35 Val Thr Val Ser Ser
 115
 40 <210> 92
 <211> 351
 <212> DNA
 <213> Yapay Sekans
 45 <220>
 <223> 13E8; VH
 <400> 92
 gaggtgcaat tggttgagtc tgggggagggc ttggtacagc ctgggggggtc cctgagactc
 50 60

tcctgtgcag cctccggatt caccttttagc agttatgccca tgagctgggt ccgccaggct
 120
 ccaggggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtgggtggtag cacatactac
 5 180
 gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat
 240
 ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaaggttgg
 10 300
 ttgggtccgt ttgactactg gggccaagga accctggtea ccgtctcgag t
 351
 15
 <210> 93
 <211> 108
 <212> PRT
 20 <213> Yapay Sekans
 <220>
 <223> 14C10; VL
 25 <400> 93
 Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 1 5 10 15
 30
 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser
 20 25 30
 35 Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
 35 40 45
 40 Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
 50 55 60
 Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu
 65 70 75 80
 45
 Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly His Ile Ile Pro
 85 90 95
 50
 Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105

<210> 94
 <211> 324
 5 <212> DNA
 <213> Yapay Sekans

 <220>
 <223> 14C10; VL
 10
 <400> 94
 gaaatcgtgt taacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc
 60
 15 ctctcttgca gggccagtca gagtgttagc agcagctact tagcctggta ccagcagaaa
 120
 cctggccagg ctcccagget cctcatctat ggagcatcca gcagggccac tggcatccca
 180
 20 gacaggttca gtggcagtgg atccgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag
 240
 cctgaagatt ttgcagtgta ttactgtcag cagggtcata ttattccccc gacgttcggc
 25 300
 caggggacca aagtggaaat caaa 324

 30 <210> 95
 <211> 117
 <212> PRT
 <213> Yapay Sekans
 35 <220>
 <223> 14C10; VH
 <400> 95
 40 Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 45 20 25 30
 Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 50 Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val

	50	55	60
5	Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr 65 70 75 80		
10	Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys 85 90 95		
15	Ala Lys Ala Trp Met Gly Pro Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu 100 105 110		
	Val Thr Val Ser Ser 115		
20	<210> 96 <211> 351 <212> DNA <213> Yapay Sekans		
25	<220> <223> 14C10; VH		
30	<400> 96 gaggtgcaat tgttgaggatc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggggct cctgagactc 60		
	tctgtgacag cctccggatt caccttttagc agttatgccca tgagctgggt ccgccaggct 120		
35	ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtggtggttag cacatactac 180		
	gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240		
40	ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaagcttgg 300		
45	atggggcctt ttgactactg gggccaagga accctgggtca ccgtctcgag t 351		
50	<210> 97 <211> 108 <212> PRT <213> Yapay Sekans		

<220>

<223> 17A11; VL

<400> 97

5

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

10

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser
20 25 30

15

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
35 40 45

20

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

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

25

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Leu Asn Ile Pro
85 90 95

30

Ser Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 98

35

<211> 324

<212> DNA

<213> Yapay Sekans

<220>

40

<223> 17A11; VL

<400> 98

gaaatcgtgt taacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc
60

45

ctctcttgca gggccagtca gagtgttagc agcagctact tagcctggta ccagcagaaa
120

50

cctggccagg ctcccagggt cctcatctat ggagcatcca gcagggccac tggcatccca
180

gacaggttca gtggcagtgg atccgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag
240

5 cctgaagatt ttgcagtgtg ttactgtcag caggggtctga atattccctc gacgttcggc
300

caggggacca aagtggaaat caaa 324

10 <210> 99
<211> 117
<212> PRT
<213> Yapay Sekans

15 <220>
<223> 17A11; VH

<400> 99

20 Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

25 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

30 Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

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

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

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

45 Ala Lys Gly Trp Leu Gly Pro Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
115

50

<210> 100

<211> 351
<212> DNA
<213> Yapay Sekans

5 <220>
<223> 17A11; VH

<400> 100
gaggtgcaat tggtggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggggtc cctgagactc
10 60

tcctgtgcag cctccggatt caccttttagc agttatgccca tgagctgggt ccgccaggct
120

15 ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtggtggtag cacatactac
180

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat
240

20 ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaagggttg
300

ttgggtccgt ttgactactg gggccaagga accctgggtca ccgtctcgag t
25 351

<210> 101
<211> 108
30 <212> PRT
<213> Yapay Sekans

<220>
<223> 19G1; VL

35 <400> 101

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

40 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Thr Ser Ser
20 25 30

45 Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
35 40 45

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

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

5

	Pro	Glu	Asp	Phe	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Gln	Gln	Gly	Ile	Met	Leu	Pro
					85					90					95	

10

	Pro	Thr	Phe	Gly	Gln	Gly	Thr	Lys	Val	Glu	Ile	Lys
				100					105			

<210> 102

15 <211> 324

<212> DNA

<213> Yapay Sekans

<220>

20 <223> 19G1; VL

<400> 102

gaaatcgtgt taacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc

60

25

ctctcttgca gggccagtca gagtgttacc agtagctact tagcctggta ccagcagaaa

120

cctggccagg ctcccaggct cctcatcaat gtgggctccc gtagggccac tggcatccca

30 180

gacaggttca gtggcagtgg atccgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag

240

35 cctgaagatt ttgcagtgta ttactgtcag caggggtatta tgcttcccc gacgttcggc

300

caggggacca aagtggaaat caaa 324

40

<210> 103

<211> 117

<212> PRT

<213> Yapay Sekans

45

<220>

<223> 19G1; VH

<400> 103

50

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
 5
 Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 10
 Ser Ala Ile Ile Ser Ser Gly Gly Leu Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 15
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80
 20
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 25
 Ala Lys Gly Trp Phe Gly Gly Phe Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
 100 105 110
 30
 Val Thr Val Ser Ser
 115
 35
 <210> 104
 <211> 351
 <212> DNA
 <213> Yapay Sekans
 40
 gaggtgcaat tggtggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggggtc cctgagactc
 60
 tcctgtgcag cctccggatt cacctttagc agttatgcga tgagctgggt ccgccaggct
 120
 45
 ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagcg attattagta gtggtggtct cacatactac
 180
 50
 gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat
 240

ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaaggggtgg
300

tttgggtgggtt ttaactactg gggccaagga accctgggtca ccgtctcgtc c
351

<210> 105

<211> 108

<212> PRT

<213> Yapay Sekans

<220>

<223> 20G8; VL

<400> 105

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Thr Ser Ser
20 25 30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
35 40 45

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

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

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Ile Met Leu Pro
85 90 95

Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 106

<211> 324

<212> DNA

<213> Yapay Sekans

<220>

<223> 20G8; VL

<400> 106
 gaaatcgtgt taacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc
 60
 5 ctctcttgca gggccagtca gagtgttacc agtagctact tagcctggta ccagcagaaa
 120
 cctggccagg ctcccaggct cctcatcaat gtgggctccc gtagggccac tggcatccca
 10 180
 gacaggttca gtggcagtgg atccgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag
 240
 15 cctgaagatt ttgcagtgtg ttactgtcag caggggtatta tgcttcccc gacgttcggc
 300
 caggggacca aagtggaaat caaa 324
 20
 <210> 107
 <211> 117
 <212> PRT
 <213> Yapay Sekans
 25
 <220>
 <223> 20G8; VH
 <400> 107
 30
 Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 35 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 40 35 40 45
 Ser Ala Ile Ile Gly Ser Gly Ser Arg Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 45
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80
 50
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95

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

5

Val Thr Val Ser Ser
115

10

<210> 108
<211> 351
<212> DNA
<213> Yapay Sekans

15

<220>
<223> 20G8; VH

<400> 108

20 gaggtgcaat tggtggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggggc cctgagactc
60

tctgtgcag cctccggatt cacctttagc agttatgcaa tgagctgggt ccgccaggct
120

25 ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attattggga gtggtagtcg tacatactac
180

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat
30 240

ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaaggggtg
300

35 tttggtggtt ttaactactg gggccaagga accctggtea ccgtctcgtc c
351

<210> 109
40 <211> 108
<212> PRT
<213> Yapay Sekans

<220>
45 <223> 4B9; VL

<400> 109

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
50 1 5 10 15

	Glu	Arg	Ala	Thr	Leu	Ser	Cys	Arg	Ala	Ser	Gln	Ser	Val	Thr	Ser	Ser	
				20					25					30			
5	Tyr	Leu	Ala	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Gln	Ala	Pro	Arg	Leu	Leu	
			35					40					45				
10	Ile	Asn	Val	Gly	Ser	Arg	Arg	Ala	Thr	Gly	Ile	Pro	Asp	Arg	Phe	Ser	
		50					55					60					
15	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr	Leu	Thr	Ile	Ser	Arg	Leu	Glu	
	65					70					75					80	
20	Pro	Glu	Asp	Phe	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Gln	Gln	Gly	Ile	Met	Leu	Pro	
					85					90					95		
25	<210>	110															
	<211>	324															
	<212>	DNA															
	<213>	Yapay Sekans															
30	<220>																
	<223>	4B9; VL															
35	<400>	110															
		gaaatcgtgt taacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc															
		60															
40		ctctctttgca gggccagtca gagtgttacc agtagctact tagcctggta ccagcagaaa															
		120															
45		cctggccagg ctcccaggct cctcatcaat gtgggctccc gtagggccac tggcatccca															
		180															
50		gacaggttca gtggcagtgg atccgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag															
		240															
		cctgaagatt ttgcagtgtg ttactgtcag cagggtatta tgcttcccc gacgttcggc															
		300															
		caggggacca aagtggaaat caaa														324	
	<210>	111															

<211> 117
 <212> PRT
 <213> Yapay Sekans

5 <220>
 <223> 4B9; VH

 <400> 111

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

15 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30

20 Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45

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

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

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

35 Ala Lys Gly Trp Phe Gly Gly Phe Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
 100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
 115

40

<210> 112
 <211> 351
 <212> DNA
 45 <213> Yapay Sekans

<220>
 <223> 4B9; VH

50 <400> 112
 gaggtgcaat tggttgagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggggctc cctgagactc
 60

```

tctgtgcag cctccggatt caccttttagc agttatgcta tgagctgggt ccgccaggct
120

5  ccaggggaagg ggctggagtg ggtctcagct attattggta gtggtgctag cacatactac
180

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat
240
10 ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaaggggtgg
300

tttgggtggtt ttaactactg gggccaagga accctgggtca ccgtctcgtc c
15 351

<210> 113
<211> 108
20 <212> PRT
    <213> Yapay Sekans

<220>
<223> 5B8; VL
25

<400> 113

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1           5           10           15
30

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Thr Ser Ser
          20           25           30

35 Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
          35           40           45

40 Ile Asn Val Gly Ser Arg Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
          50           55           60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu
45 65           70           75           80

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Ile Met Leu Pro
          85           90           95
50

Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

```

```

5  <210> 114
   <211> 324
   <212> DNA
   <213> Yapay Sekans

   <220>
10  <223> 5B8; VL

   <400> 114
   gaaatcgtgt taacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc
   60
15  ctctcttgca gggccagtca gagtgttacc agtagctact tagcctggta ccagcagaaa
   120

   cctggccagg ctcccaggct cctcatcaat gtgggctccc gtagggccac tggcatccca
20  180

   gacaggttca gtggcagtgg atccgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag
   240

25  cctgaagatt ttgcagtgta ttactgtcag caggggtatta tgcttcccc gacgttcggc
   300

   caggggacca aagtggaaat caaa                                     324

30  <210> 115
   <211> 117
   <212> PRT
   <213> Yapay Sekans

35  <220>
   <223> 5B8; VH

   <400> 115
40  Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
   1           5           10           15

45  Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
   20           25           30

   Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
50  35           40           45

```

Ser Ala Ile Trp Gly Gly Gly Arg Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60

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

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

15 Ala Lys Gly Trp Phe Gly Gly Phe Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
 100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
 115

20 <210> 116
 <211> 351
 <212> DNA
 <213> Yapay Sekans

25 <220>
 <223> 5B8; VH

30 <400> 116
 gaggtgcaat tggttgagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggggtc cctgagactc
 60

35 tctgtgacag cctccggatt caccttttagc agttatgcta tgagctgggt ccgccaggct
 120

ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct atttgggggtg gtggtcgtag cacatactac
 180

40 gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat
 240

ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaaggggtg
 300

45 tttgggtggtt ttaactactg gggccaagga accctgggtca ccgtctcgtc c
 351

50 <210> 117
 <211> 108
 <212> PRT
 <213> Yapay Sekans

<220>

<223> 5F1; VL

5 <400> 117

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

10

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Thr Ser Ser
20 25 30

15

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
35 40 45

20

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

25

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

30

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Ile Met Leu Pro
85 90 95

Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

35

<210> 118

<211> 324

<212> DNA

<213> Yapay Sekans

40

<220>

<223> 5F1; VL

<400> 118

45

gaaatcgtgt taacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc
60

ctctcttgca gggccagtca gagtgttacc agtagctact tagcctggta ccagcagaaa
120

50

cctggccagg ctcccaggct cctcatcaat gtgggctccc gtagggccac tggcatccca
180

gacaggttca gtggcagtgg atccgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag
240

5 cctgaagatt ttgcagtgtg ttactgtcag caggggtatta tgcttcccc caggttcggc
300

caggggacca aagtggaaat caaa 324

10 <210> 119
<211> 117
<212> PRT
<213> Yapay Sekans

15 <220>
<223> 5F1; VH

<400> 119

20 Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

25 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
30

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

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

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

45 Ala Lys Gly Trp Phe Gly Gly Phe Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
115

50

<210> 120

<211> 351
 <212> DNA
 <213> Yapay Sekans

5 <220>
 <223> 5F1; VH

<400> 120
 gaggtgcaat tggtggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggggtc cctgagactc
 10 60
 tcctgtgcag cctccggatt caccttttagc agttatgcta tgagctgggt ccgccaggct
 120
 ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attattagta gtggggctag cacatactac
 15 180
 gcgactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat
 20 240
 ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaaggggtgg
 300
 tttggtgggtt ttaactactg gggccaagga accctgggtca ccgtctcgtc c
 25 351

<210> 121
 <211> 108
 30 <212> PRT
 <213> Yapay Sekans

<220>
 <223> 14B3; VL
 35 <400> 121

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

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

5	Pro	Glu	Asp	Phe	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Gln	Gln	Gly	Ile	Met	Leu	Pro
					85					90					95	

10	Pro	Thr	Phe	Gly	Gln	Gly	Thr	Lys	Val	Glu	Ile	Lys
				100					105			

	<210>	122
15	<211>	324
	<212>	DNA
	<213>	Yapay Sekans
	<220>	
20	<223>	14B3; VL
	<400>	122
	gaaatcgtgt taacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc	
	60	
25	ctctcttgca gggccagtca gagtgttacc agtagctact tagcctggta ccagcagaaa	
	120	
	cctggccagg ctcccaggct cctcatcaat gtgggctccc gtagggccac tggcatccca	
30	180	
	gacaggttca gtggcagtgg atccgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag	
	240	
35	cctgaagatt ttgcagtgta ttactgtcag caggggtatta tgcttcccc gacgttcggc	
	300	
	caggggacca aagtggaaat caaa	
		324

40	<210>	123
	<211>	117
	<212>	PRT
	<213>	Yapay Sekans
45	<220>	
	<223>	14B3; VH
	<400>	123

50	Glu	Val	Gln	Leu	Leu	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Gln	Pro	Gly	Gly
	1				5					10					15	

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
 5
 Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 10
 Ser Ala Ile Leu Ala Ser Gly Ala Ile Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 15
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80
 20
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 25
 Ala Lys Gly Trp Phe Gly Gly Phe Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
 100 105 110
 30
 Val Thr Val Ser Ser
 115
 35
 <210> 124
 <211> 351
 <212> DNA
 <213> Yapay Sekans
 40
 gaggtgcaat tggtggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggggtc cctgagactc
 60
 tcctgtgcag cctccggatt caccttttagc agttatgcta tgagctgggt ccgccaggct
 120
 45
 ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attttggcta gtggtgcgat cacatactac
 180
 50
 gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat
 240

ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaaggggtgg
300

tttgggtgggtt ttaactactg gggccaagga accctgggtca ccgtctcgtc c
351

<210> 125

<211> 108

<212> PRT

<213> Yapay Sekans

<220>

<223> 16F1; VL

<400> 125

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Thr Ser Ser
20 25 30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
35 40 45

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

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

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Ile Met Leu Pro
85 90 95

Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 126

<211> 324

<212> DNA

<213> Yapay Sekans

<220>

<223> 16F1; VL

<400> 126
 gaaatcgtgt taacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc
 60
 5 ctctcttgca gggccagtca gagtgttacc agtagctact tagcctggta ccagcagaaa
 120
 cctggccagg ctcccaggct cctcatcaat gtgggctccc gtagggccac tggcatccca
 10 180
 gacaggttca gtggcagtgg atccgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag
 240
 15 cctgaagatt ttgcagtgtg ttactgtcag caggggtatta tgcttcccc gacgttcggc
 300
 caggggacca aagtggaaat caaa 324
 20
 <210> 127
 <211> 117
 <212> PRT
 <213> Yapay Sekans
 25
 <220>
 <223> 16F1; VH
 <400> 127
 30
 Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 35 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 40 35 40 45
 Ser Gly Ile Ile Gly Ser Gly Gly Ile Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 45
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80
 50
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95

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

5

Val Thr Val Ser Ser
115

10

<210> 128
<211> 351
<212> DNA
<213> Yapay Sekans

15

<220>
<223> 16F1; VH

<400> 128

20 gaggtgcaat tggtggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggggc cctgagactc
60

tctgtgcag cctccggatt cacctttagc agttatgcta tgagctgggt ccgccaggct
120

25 ccagggaagg ggctggagtg ggtctcaggt attattggta gtggtgggtat cacatactac
180

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat
30 240

ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaaggggtgg
300

35 tttggtgggt ttaactactg gggccaagga accctggtea ccgtctcgtc c
351

<210> 129
40 <211> 108
<212> PRT
<213> Yapay Sekans

<220>
45 <223> 16F8; VL

<400> 129

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
50 1 5 10 15

	Glu	Arg	Ala	Thr	Leu	Ser	Cys	Arg	Ala	Ser	Gln	Ser	Val	Thr	Ser	Ser	
				20					25					30			
5	Tyr	Leu	Ala	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Gln	Ala	Pro	Arg	Leu	Leu	
			35					40					45				
10	Ile	Asn	Val	Gly	Ser	Arg	Arg	Ala	Thr	Gly	Ile	Pro	Asp	Arg	Phe	Ser	
		50					55					60					
15	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr	Leu	Thr	Ile	Ser	Arg	Leu	Glu	
	65					70					75					80	
20	Pro	Glu	Asp	Phe	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Gln	Gln	Gly	Ile	Met	Leu	Pro	
					85					90					95		
25	<210>	130															
	<211>	324															
	<212>	DNA															
	<213>	Yapay	Sekans														
30	<220>																
	<223>	16F8;	VL														
35	<400>	130															
		gaaatcgtgt	taacgcagtc	tccaggcacc	ctgtctttgt	ctccagggga	aagagccacc										
		60															
40		ctctctttgca	gggccagtca	gagtgttacc	agtagctact	tagcctggta	ccagcagaaa										
		120															
45		cctggccagg	ctcccaggct	cctcatcaat	gtgggctccc	gtagggccac	tggcatccca										
		180															
50		gacaggttca	gtggcagtgg	atccgggaca	gacttcactc	tcaccatcag	cagactggag										
		240															
		cctgaagatt	ttgcagtgt	ttactgtcag	caggggtatta	tgtttcccc	gacgttcggc										
		300															
		caggggacca	aagtggaaat	caaa													324
	<210>	131															

```

    <211> 117
    <212> PRT
    <213> Yapay Sekans

5  <220>
    <223> 16F8; VH

    <400> 131

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

    Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
15          20          25          30

    Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
20          35          40          45

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

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

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

    Ala Lys Gly Trp Phe Gly Gly Phe Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
35          100          105          110

    Val Thr Val Ser Ser
    115

40

    <210> 132
    <211> 351
    <212> DNA
45  <213> Yapay Sekans

    <220>
    <223> 16F8; VH

50  <400> 132
    gaggtgcaat tggttgagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggggctc cctgagactc
    60

```

tcctgtgcag cctccggatt caccttttagc agttatgcca tgagctgggt ccgccaggct
 120

5 ccaggggaagg ggctggagtg ggtctcagct attcttggtg gtgggtggtag cacatactac
 180

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat
 240

10 ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaaggggtg
 300

tttgggtggtt ttaactactg gggccaagga accctgggtca ccgtctcgtc c
 15 351

<210> 133
 <211> 108
 20 <212> PRT
 <213> Yapay Sekans

<220>
 <223> O3C9; VL
 25

<400> 133

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 1 5 10 15
 30

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Thr Ser Ser
 20 25 30

35 Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
 35 40 45

40 Ile Asn Val Gly Ser Arg Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
 50 55 60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu
 45 65 70 75 80

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Ile Met Leu Pro
 85 90 95
 50

Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

5 <210> 134
 <211> 324
 <212> DNA
 <213> Yapay Sekans

 <220>
 10 <223> O3C9; VL

 <400> 134
 gaaatcgtgt taacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc
 60
 15 ctctcttgca gggccagtca gagtgttacc agtagctact tagcctggta ccagcagaaa
 120
 cctggccagg ctcccaggct cctcatcaat gtgggctccc gtagggccac tggcatccca
 20 180
 gacaggttca gtggcagtgg atccgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag
 240
 25 cctgaagatt ttgcagtgtg ttactgtcag caggggtatta tgcttcccc gacgttcggc
 300
 caggggacca aagtggaaat caaa 324

 30 <210> 135
 <211> 117
 <212> PRT
 <213> Yapay Sekans
 35 <220>
 <223> O3C9; VH

 <400> 135
 40 Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 45 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Phe
 20 25 30
 Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ser Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 50 35 40 45

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

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

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

15 Ala Lys Gly Trp Phe Gly Gly Phe Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
 100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
 115

20 <210> 136
 <211> 351
 <212> DNA
 <213> Yapay Sekans

25 <220>
 <223> O3C9; VH

30 <400> 136
 gaggtgcaat tggttgagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggggtc cctgagactc
 60

35 tctgtgagc cctccggatt caccttttagc agttttgcca tgagctgggt ccgtcagtct
 120

ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attattggta gtggtagtaa cacatactac
 180

40 gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat
 240

ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaaggggtgg
 300

45 tttgggtggtt ttaactactg gggccaagga accctgggtca ccgtctcgtc c
 351

50 <210> 137
 <211> 108
 <212> PRT
 <213> Yapay Sekans

<220>

<223> O2D7; VL

5 <400> 137

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

10

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Thr Ser Ser
20 25 30

15

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
35 40 45

20

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

25

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

30

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

Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

35

<210> 138

<211> 324

<212> DNA

<213> Yapay Sekans

40

<220>

<223> O2D7; VL

<400> 138

45

gaaatcgtgt taacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc
60

ctctcttgca gggccagtca gagtgttacc agtagctact tagcctggta ccagcagaaa
120

50

cctggccagg ctcccaggct cctcatcaat gtgggctccc gtagggccac tggcaccaca
180

gacaggttca gtggcagtgg atccgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag
240

5 cctgaagatt ttgcagtgtg ttactgtcag caggctatta tgcttcctcc gacgttcggc
300

caggggacca aagtggaaat caaa 324

10 <210> 139
<211> 117
<212> PRT
<213> Yapay Sekans

15 <220>
<223> O2D7; VH

<400> 139

20 Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

25 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
30

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

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

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

45 Ala Lys Gly Trp Phe Gly Gly Phe Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
115

50

<210> 140

<211> 351
 <212> DNA
 <213> Yapay Sekans

5 <220>
 <223> O2D7; VH

<400> 140
 gaggtgcaat tggtggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggggtc cctgagactc
 10 60
 tcctgtgcag cctccggatt caccttttagc agttatgccca tgagctgggt ccgccaggct
 120
 ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtggtggtag cacatactac
 15 180
 gcgactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat
 20 240
 ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaaggggtgg
 300
 tttggtgggtt ttaactactg gggccaagga accctgggtca ccgtctcgtc c
 25 351

<210> 141
 <211> 108
 30 <212> PRT
 <213> Yapay Sekans

<220>
 <223> 28H1; VL
 35 <400> 141

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

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

5	Pro	Glu	Asp	Phe	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Gln	Gln	Gly	Gln	Val	Ile	Pro
					85					90					95	

10	Pro	Thr	Phe	Gly	Gln	Gly	Thr	Lys	Val	Glu	Ile	Lys
				100				105				

	<210>	142
15	<211>	324
	<212>	DNA
	<213>	Yapay Sekans
	<220>	
20	<223>	28H1; VL
	<400>	142
	gaaatcgtgt taacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc	
	60	
25	ctctcttgca gggccagtca gagtgttagc cgcagctact tagcctggta ccagcagaaa	
	120	
	cctggccagg ctcccaggct cctcatcatt ggggcctcca ccagggccac tggcatccca	
30	180	
	gacagggttca gtggcagtgg atccgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag	
	240	
35	cctgaagatt ttgcagtgta ttactgtcag cagggtcagg ttattcccc tacgttcggc	
	300	
	caggggacca aagtggaaat caaa	
		324

40	<210>	143
	<211>	116
	<212>	PRT
	<213>	Yapay Sekans
45	<220>	
	<223>	28H1; VH
	<400>	143

50	Glu	Val	Gln	Leu	Leu	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Gln	Pro	Gly	Gly
	1				5					10					15	

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser His
 20 25 30
 5
 Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 10
 Ser Ala Ile Trp Ala Ser Gly Glu Gln Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 50 55 60
 15
 Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu
 65 70 75 80
 20
 Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
 85 90 95
 25
 Lys Gly Trp Leu Gly Asn Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
 100 105 110
 30
 Thr Val Ser Ser
 115
 35
 <210> 144
 <211> 348
 <212> DNA
 <213> Yapay Sekans
 40
 gaggtgcaat tggtggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggggtc cctgagactc
 60
 tcctgtgcag cctccggatt caccttttagc agtcatgcta tgagctgggt ccgccaggct
 120
 45
 ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct atttgggcta gtggggagca atactacgca
 180
 50
 gactccgtga agggccgggt caccatctcc agagacaatt ccaagaacac gctgtatctg
 240

cagatgaaca gcctgagagc cgaggacacg gccgtatatt actgtgcgaa aggggtggctg
300

ggtaattttg actactgggg ccaaggaacc ctggtcaccg tctcgagt 348

5

<210> 145

<211> 108

<212> PRT

10 <213> Yapay Sekans

<220>

<223> 22A3; VL

15 <400> 145

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

20

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Thr Ser Ser
20 25 30

25

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
35 40 45

30

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

35

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

40

Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

45

<210> 146

<211> 324

<212> DNA

<213> Yapay Sekans

50

<220>

<223> 22A3; VL

<400> 146

gaaatcgtgt taacgcagtc tccagggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc
60

5 ctctcttgca gggccagtca gagtgttacc agtagctact tagcctggta ccagcagaaa
120

cctggccagg ctcccaggct cctcatcaat gtgggctccc gtagggccac tggcatccca
180

10 gacaggttca gtggcagtgg atccgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag
240

15 cctgaagatt ttgcagtgtg ttactgtcag caggggtatta tgcttcccc caggttcggc
300

caggggacca aagtggaaat caaa 324

20 <210> 147

<211> 117

<212> PRT

<213> Yapay Sekans

25 <220>

<223> 22A3; VH

<400> 147

30 Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

35 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

40 Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

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

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

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

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

5 Val Thr Val Ser Ser
115

10 <210> 148
<211> 351
<212> DNA
<213> Yapay Sekans

15 <220>
<223> 22A3; VH

<400> 148
gaggtgcaat tggtggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggggtc cctgagactc
20 60

tcctgtgcag cctccggatt caccttttagc agttatgccca tgagctgggt ccgccaggct
120

25 ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attattggta gtggtagtat cacatactac
180

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat
240

30 ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaaggggtgg
300

tttgggtggtt ttaactactg gggccaagga accctgggtca ccgtctcgag t
35 351

<210> 149
<211> 108
40 <212> PRT
<213> Yapay Sekans

<220>
<223> 29B11; VL

45 <400> 149

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

50 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Thr Ser Ser

20 25 30
 5 Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
 35 40 45
 10 Ile Asn Val Gly Ser Arg Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
 50 55 60
 Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu
 65 70 75 80
 15 Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Ile Met Leu Pro
 85 90 95
 20 Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105
 <210> 150
 25 <211> 324
 <212> DNA
 <213> Yapay Sekans
 <220>
 30 <223> 29B11; VL
 <400> 150
 gaaatcgtgt taacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc
 60
 35 ctctctttgca gggccagtca gagtgttacc agtagctact tagcctggta ccagcagaaa
 120
 cctggccagg ctcccaggct cctcatcaat gtgggctccc gtagggccac tggcatccca
 40 180
 gacaggttca gtggcagtgg atccgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag
 240
 45 cctgaagatt ttgcagtgtg ttactgtcag caggggtatta tgcttcccc caggttcggc
 300
 caggggacca aagtggaaat caaa 324
 50
 <210> 151
 <211> 117

<212> PRT
 <213> Yapay Sekans

 <220>
 5 <223> 29B11; VH

 <400> 151

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

 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
 15
 Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 20
 Ser Ala Ile Ile Gly Ser Gly Gly Ile Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 25 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80
 30 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 35 Ala Lys Gly Trp Phe Gly Gly Phe Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
 100 105 110
 Val Thr Val Ser Ser
 115
 40
 <210> 152
 <211> 351
 <212> DNA
 <213> Yapay Sekans
 45
 <220>
 <223> 29B11; VH

 <400> 152
 50 gaggtgcaat tggttgagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggggtc cctgagactc
 60

tcctgtgcag cctccggatt cacctttagc agttatgcta tgagctgggt ccgccaggct
 120
 ccaggggaagg ggctggagtg ggtctcagct attattggta gtgggtggat cacatactac
 5 180
 gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat
 240
 ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaaggggtg
 10 300
 tttgggtggtt ttaactactg gggccaagga accctggtea ccgtctcgag t
 351
 15
 <210> 153
 <211> 108
 <212> PRT
 20 <213> Yapay Sekans
 <220>
 <223> 23C10; VL
 25 <400> 153
 Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 1 5 10 15
 30
 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Arg Ser
 20 25 30
 35 Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
 35 40 45
 40 Ile Ile Gly Ala Ser Thr Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
 50 55 60
 Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu
 65 70 75 80
 45
 Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Gln Val Ile Pro
 85 90 95
 50
 Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105

<210> 154
 <211> 324
 5 <212> DNA
 <213> Yapay Sekans

 <220>
 <223> 23C10; VL
 10
 <400> 154
 gaaatcgtgt taacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc
 60
 15 ctctcttgca gggccagtca gagtgttagc cgcagctact tagcctggta ccagcagaaa
 120
 cctggccagg ctcccagget cctcatcatt ggggcctcca ccagggccac tggcatccca
 180
 20 gacaggttca gtggcagtgg atccgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag
 240
 cctgaagatt ttgcagtgtg ttactgtcag cagggtcagg ttattccccc tacgttcggc
 25 300
 caggggacca aagtggaaat caaa 324

 30 <210> 155
 <211> 117
 <212> PRT
 <213> Yapay Sekans
 35 <220>
 <223> 23C10; VH
 <400> 155
 40 Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Ser
 45 20 25 30
 Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 50 Ser Ala Ile Ser Thr Asn Gly Asn Tyr Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val

50

55

60

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

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

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

15 Val Thr Val Ser Ser
 115

20 <210> 156
 <211> 351
 <212> DNA
 <213> Yapay Sekans

25 <220>
 <223> 23C10; VH

30 <400> 156
 gaggtgcaat tggtggagtc tgggggagggc ttggtacagc ctgggggggct cctgagactc
 60

tctgtgagc cctccggatt caccttttagc agttctgcca tgagctgggt ccgccaggct
 120

35 ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtacta atggtaatta tacatactac
 180

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat
 240

40 ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaaggggtgg
 300

45 ctgggtaatt ttgactactg gggccaagga accctgggtca ccgtctcgag t
 351

50 <210> 157
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> Yapay Sekans

<220>

<223> 2B10_C3B6; VL

<400> 157

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

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

15 Leu Gly Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Arg Leu Ile
35 40 45

20 Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

25 Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Asn Gly Leu Gln Pro Ala
85 90 95

30 Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 158

35 <211> 321

<212> DNA

<213> Yapay Sekans

<220>

40 <223> 2B10_C3B6; VL

<400> 158

gatatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtcggaga ccgggtcacc
60

45 atcacctgcc gggcaagtca gggcattaga aatgatttag gctggtacca gcagaagcca
120

gggaaagccc ctaagcgcct gatctatgct gcatccagtt tgcagagtgg cgtcccatca
50 180

aggttcagcg gcagtggatc cgggacagag ttcactctca ccatacagcag cttgcagcct
240

5 gaagattttg ccacctatta ctgcttgacg aatgggtctgc agcccgcgac gtttggccag
300

ggcaccaaag tcgagatcaa g 321

10 <210> 159
<211> 121
<212> PRT
<213> Yapay Sekans

15 <220>
<223> 2B10_C3B6; VH

<400> 159

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

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

30 Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Ala Ile Ile Pro Ile Leu Gly Ile Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

35 Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

45 Ala Arg Leu Tyr Gly Tyr Ala Tyr Tyr Gly Ala Phe Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

50

<210> 160

<211> 363
<212> DNA
<213> Yapay Sekans

5 <220>
<223> 2B10_C3B6; VH

<400> 160
caggtgcaat tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctgggtcctc ggtgaaggtc
10 60

tcctgcaagg cctccggagg cacattcagc agctacgcta taagctgggt gcgacaggcc
120

cctggacaag ggctcgagtg gatgggagct atcatcccgga tccttggtat cgcaaactac
15 180

gcacagaagt tccagggcag ggtcaccatt actgcagaca aatccacgag cacagcctac
20 240

atggagctga gcagcctgag atctgaggac accgccgtgt attactgtgc gagactgtac
300

ggttacgctt actacgggtgc ttttgactac tggggccaag ggaccaccgt gaccgtctcc
25 360

tca 363

30 <210> 161
<211> 107
<212> PRT
<213> Yapay Sekans

35 <220>
<223> 2B10_6A12; VL

<400> 161

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn Asp
45 20 25 30

Leu Gly Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Arg Leu Ile
35 40 45
50

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

```

50                               55                               60
5  Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
   65                               70                               75                               80

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

10  Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
      100                               105

15  <210> 162
   <211> 321
   <212> DNA
   <213> Yapay Sekans

20  <220>
   <223> 2B10_6A12; VL

   <400> 162
25  gatatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtcggaga ccgggtcacc
   60

   atcacctgcc gggcaagtca gggcattaga aatgatttag gctggtacca gcagaagcca
   120

30  gggaaagccc ctaagcgcct gatctatgct gcatccagtt tgcagagtgg cgtcccatca
   180

   aggttcagcg gcagtggatc cgggacagag ttcactctca ccatcagcag cttgcagcct
35  240

   gaagattttg ccacctatta ctgcttgcag aatgggtctgc agcccgcgac gtttggccag
   300

40  ggcaccaaag tcgagatcaa g                                     321

   <210> 163
   <211> 121
45  <212> PRT
   <213> Yapay Sekans

   <220>
   <223> 2B10_6A12; VH

50  <400> 163

```

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

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

10 Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45

15 Gly Val Ile Ile Pro Ile Leu Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
 50 55 60

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

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

25 Ala Arg Leu Tyr Gly Tyr Ala Tyr Tyr Gly Ala Phe Asp Tyr Trp Gly
 100 105 110

30 Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 164
 <211> 363
 35 <212> DNA
 <213> Yapay Sekans

<220>
 <223> 2B10_6A12; VH
 40

<400> 164
 caggtgcaat tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctgggtcctc ggtgaaggtc
 60

45 tcttgcaagg cctccggagg cacattcagc agctatgcta taagctgggt gcgacaggcc
 120

cctggacaag ggctcgagtg gatgggagtg atcatcccta tccttggtac cgcaaactac
 180

50 gcacagaagt tccagggcag ggtcaccatt actgcagaca aatccacgag cacagcctac
 240

atggagctga gcagcctgag atctgaggac accgccgtgt attactgtgc gagactgtac
300

5 ggttacgctt actacgggtgc ttttgactac tggggccaag ggaccaccgt gaccgtctcc
360

tca 363

10

<210> 165
<211> 107
<212> PRT
<213> Yapay Sekans

15

<220>
<223> 2B10_C3A6; VL

<400> 165

20

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

25

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

30

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

35

Tyr Asp Ser Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

40

Gly Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

45

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

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

50

<210> 166
<211> 321
<212> DNA
<213> Yapay Sekans

<220>
 <223> 2B10_C3A6; VL

 5 <400> 166
 gacatccaga tgacccagtc tccttcctcc ctgtctgcat ctgtcggaga ccgggtcacc
 60

 atcacctgcc gggcaagtca gggcattcgt aatgttttag gctggtacca gcagaagcca
 10 120

 gggaaagccc ctaagcgcct gatctatgat tcgtccagtt tgcagagtgg cgtcccatca
 180

 15 aggttcagcg gcggtggatc cgggacagag ttcactctca ccatcagcag cttgcagcct
 240

 gaagattttg ccacctatta ctgcttgag aatgggtctgc agcccgcgac gtttggccag
 300
 20
 ggcaccaaag tcgagatcaa g 321

 <210> 167
 25 <211> 121
 <212> PRT
 <213> Yapay Sekans

 <220>
 30 <223> 2B10_C3A6; VH

 <400> 167

 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
 35 1 5 10 15

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

 50 Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80

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

5	Ala	Arg	Leu	Tyr	Gly	Tyr	Ala	Tyr	Tyr	Gly	Ala	Phe	Asp	Tyr	Trp	Gly
				100					105					110		

10	Gln	Gly	Thr	Thr	Val	Thr	Val	Ser	Ser
			115					120	

	<210>	168
15	<211>	363
	<212>	DNA
	<213>	Yapay Sekans

	<220>	
20	<223>	2B10_C3A6; VH

	<400>	168
	caggtgcaat tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctgggtcctc ggtgaaggtc	
	60	
25	tcttgcaagg cctccggagg cacattcagc agctacgcta taagctgggt gcgacaggcc	
	120	
	cctggacaag ggctcgagtg gatgggaggg atcatcccta tctttggtac agcaaactac	
30	180	
	gcacagaagt tccagggcag ggtcaccatt actgcagaca aatccacgag cacagcctac	
	240	
35	atggagctga gcagcctgag atctgaggac accgccgtgt attactgtgc gagactgtac	
	300	
	ggttacgctt actacggtgc ttttgactac tggggccaag ggaccaccgt gaccgtctcc	
	360	
40	tca	363

	<210>	169
45	<211>	107
	<212>	PRT
	<213>	Yapay Sekans

	<220>	
50	<223>	2B10_D1A2_wt; VL

	<400>	169

```

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

5
    Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn Val
                                20                                25                                30

10
    Leu Gly Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Arg Leu Ile
                                35                                40                                45

15
    Tyr Asp Ala Tyr Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
    50                                55                                60

20
    Gly Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
    65                                70                                75                                80

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

25
    Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
                                100                                105

30
    <210> 170
    <211> 321
    <212> DNA
    <213> Yapay Sekans

35
    <220>
    <223> 2B10_D1A2_wt; VL

    <400> 170
    gatatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtcggaga ccgggtcacc
40 60

    atcacctgcc gggcaagtca ggggattcgt aatgttttag gctggtacca gcagaagcca
    120

45
    gggaaagccc ctaagcgcct gatctatgat gcttacagct tgcagagtgg cgtcccatca
    180

    aggttcagcg gcggtggatc cgggacagag ttactctca ccatcagcag cttgcagcct
    240

50
    gaagattttg ccacctatta ctgcttgcat aatggctctg agcccgcgac gtttggccag
    300

```

ggcaccaaag tcgagatcaa g

321

5 <210> 171
<211> 121
<212> PRT
<213> Yapay Sekans

10 <220>
<223> 2B10_D1A2_wt; VH

<400> 171

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

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

25 Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

30 Gly Gly Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

35 Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

45 Ala Arg Leu Tyr Gly Tyr Ala Tyr Tyr Gly Ala Phe Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

50 <210> 172
<211> 363
<212> DNA
<213> Yapay Sekans

<220>

<223> 2B10_D1A2_wt; VH

<400> 172

5 caggtgcaat tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctgggtcctc ggtgaaggtc
60
tcttgcaagg cctccggagg cacattcagc agctacgcta taagctgggt gcgacaggcc
120
10 cctggacaag ggctcgagtg gatgggaggg atcatcccta tctttgggtac agcaaactac
180
gcacagaagt tccagggcag ggtcaccatt actgcagaca aatccacgag cacagcctac
240
15 atggagctga gcagcctgag atctgaggac accgccgtgt attactgtgc gagactgtac
300
ggttacgctt actacggtgc ttttgactac tggggccaag ggaccaccgt gaccgtctcc
20 360
tca 363

25 <210> 173

<211> 107

<212> PRT

<213> Yapay Sekans

30 <220>

<223> 2B10_D1A2_VD; VL

<400> 173

35 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
40 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn Asp
20 25 30
Leu Gly Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Arg Leu Ile
35 40 45
45 Tyr Asp Ala Tyr Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
50 Gly Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Asn Gly Leu Gln Pro Ala
 85 90 95
 5

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105

10

<210> 174
 <211> 321
 <212> DNA
 <213> Yapay Sekans

15

<220>
 <223> 2B10_D1A2_VD; VL

<400> 174

20 gacatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtcggaga ccgggtcacc
 60

atcacctgcc gggcaagtca ggggattcgt aatgatttag gctggtacca gcagaagcca
 120

25 gggaaagccc ctaagcgcct gatctatgat gcttacagct tgcagagtgg cgtcccatca
 180

aggttcagcg gcggtggatc cgggacagag ttcactctca ccatcagcag cttgcagcct
 30 240

gaagattttg ccacctatta ctgcttgcag aatgggtctgc agcccgcgac gtttggccag
 300

35 ggcaccaaag tcgagatcaa g 321

<210> 175
 <211> 121
 40 <212> PRT
 <213> Yapay Sekans

<220>
 <223> 2B10_D1A2_VD; VH

45

<400> 175

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

50

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

	20	25	30
5	Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met 35 40 45		
10	Gly Gly Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe 50 55 60		
15	Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr 65 70 75 80		
20	Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys 85 90 95		
25	Ala Arg Leu Tyr Gly Tyr Ala Tyr Tyr Gly Ala Phe Asp Tyr Trp Gly 100 105 110		
30	Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser 115 120		
35	<210> 176 <211> 363 <212> DNA <213> Yapay Sekans		
40	<220> <223> 2B10_D1A2_VD; VH		
45	<400> 176 caggtgcaat tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctgggtcctc ggtgaaggtc 60		
50	tcttgcaagg cctccggagg cacattcagc agctacgcta taagctgggt gcgacaggcc 120		
	cctggacaag ggctcgagtg gatgggaggg atcatcccta tctttggtac agcaaactac 180		
	gcacagaagt tccagggcag ggtcaccatt actgcagaca aatccacgag cacagcctac 240		
	atggagctga gcagcctgag atctgaggac accgccgtgt attactgtgc gagactgtac 300		

ggttacgctt actacgggtgc ttttgactac tggggccaag ggaccaccgt gaccgtctcc
360

tca 363

5

<210> 177

<211> 107

<212> PRT

10 <213> Yapay Sekans

<220>

<223> 2B10_O7D8; VL

15 <400> 177

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

20

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

25

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

30

Tyr Asp Val Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

35

Gly Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

40

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

45

<210> 178

<211> 321

<212> DNA

<213> Yapay Sekans

50

<220>

<223> 2B10_O7D8; VL

<400> 178
 gatataccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtcggaga ccgggtcacc
 60

5 atcacctgcc gggcaagtca gagcattcgt aatgttttag gctggtacca gcagaagcca
 120

gggaaagccc ctaagcgcct gatctatgat gtgtccagtt tgcagagtgg cgtcccatca
 180

10 aggttcagcg gcggtggatc cgggacagag ttcactctca ccatcagcag cttgcagcct
 240

gaagattttg ccacctatta ctgcttgcag aatgggtctgc agcccgcgac gtttggccag
 15 300

ggcaccaaag tcgagatcaa g 321

20 <210> 179
 <211> 121
 <212> PRT
 <213> Yapay Sekans

25 <220>
 <223> 2B10_O7D8; VH

<400> 179

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

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
 35 20 25 30

Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 40 35 40 45

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

45 Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80

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

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

5

Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

10 <210> 180
<211> 363
<212> DNA
<213> Yapay Sekans

15 <220>
<223> 2B10_O7D8; VH

<400> 180
caggtgcaat tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctgggtcctc ggtgaaggtc
20 60

tcctgcaagg cctccggagg cacattcagc agctacgcta taagctgggt gcgacaggcc
120

25 cctggacaag ggctcgagtg gatgggaggg atcatcccta tctttggtac agcaaactac
180

gcacagaagt tccagggcag ggtcaccatt actgcagaca aatccacgag cacagcctac
240

30 atggagctga gcagcctgag atctgaggac accgccgtgt attactgtgc gagactgtac
300

ggttacgctt actacggtgc ttttgactac tggggccaag ggaccaccgt gaccgtctcc
35 360

tca 363

40 <210> 181
<211> 107
<212> PRT
<213> Yapay Sekans

45 <220>
<223> 2B10_O1F7; VL

<400> 181

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

<210> 183
 <211> 121
 <212> PRT
 <213> Yapay Sekans
 5
 <220>
 <223> 2B10_O1F7; VH
 <400> 183
 10
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
 1 5 10 15
 15 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
 20 Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Gly Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
 50 55 60
 25
 Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 30
 Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 35 Ala Arg Leu Tyr Gly Tyr Ala Tyr Tyr Gly Ala Phe Asp Tyr Trp Gly
 100 105 110
 40 Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
 115 120
 <210> 184
 <211> 363
 45 <212> DNA
 <213> Yapay Sekans
 <220>
 <223> 2B10_O1F7; VH
 50
 <400> 184


```

caggtgcaat tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctgggtcctc ggtgaaggtc
60
tcttgcaagg cctccggagg cacattcagc agctacgcta taagctgggt gcgacaggcc
5 120
cctggacaag ggctcgagtg gatgggaggg atcatcccta tctttggtac agcaaactac
180
gcacagaagt tccagggcag ggtcaccatt actgcagaca aatccacgag cacagcctac
10 240
atggagctga gcagcctgag atctgaggac accgccgtgt attactgtgc gagactgtac
300
15 ggttacgctt actacgggtgc ttttgactac tggggccaag ggaccaccgt gaccgtctcc
360
tca 363
20
<210> 185
<211> 107
<212> PRT
25 <213> Yapay Sekans
<220>
<223> 2B10_6H10; VL
30 <400> 185
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
35 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn Val
20 25 30
40 Leu Gly Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Arg Leu Ile
35 40 45
45 Gln Ala Ala Thr Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Gly Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
50 Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Asn Gly Leu Gln Pro Ala

```

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 5 100 105

 <210> 186
 <211> 321
 10 <212> DNA
 <213> Yapay Sekans

 <220>
 <223> 2B10_6H10; VL
 15
 <400> 186
 gacatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtcggaga ccgggtcacc
 60
 20 atcacctgcc gggcaagtca gggcattcgt aatgttttag gctggtacca gcagaagcca
 120
 gggaaagccc ctaagcgctt gatccaggct gctaccagtt tgcagagtgg cgtcccatca
 180
 25 aggttcagcg gcggtggatc cgggacagag ttcactctca ccatcagcag cttgcagcct
 240
 gaagattttg ccacctatta ctgcttgcag aatgggtctgc agcccgcgac gtttggccag
 30 300
 ggcaccaaag tcgagatcaa g 321

 35 <210> 187
 <211> 121
 <212> PRT
 <213> Yapay Sekans

 40 <220>
 <223> 2B10_6H10; VH

 <400> 187

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

 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
 50 20 25 30

	Ala	Ile	Ser	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Gln	Gly	Leu	Glu	Trp	Met	
			35					40					45				
5	Gly	Gly	Ile	Ile	Pro	Ile	Phe	Gly	Thr	Ala	Asn	Tyr	Ala	Gln	Lys	Phe	
		50					55					60					
	Gln	Gly	Arg	Val	Thr	Ile	Thr	Ala	Asp	Lys	Ser	Thr	Ser	Thr	Ala	Tyr	
10	65					70					75					80	
	Met	Glu	Leu	Ser	Ser	Leu	Arg	Ser	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	
					85					90					95		
15																	
	Ala	Arg	Leu	Tyr	Gly	Tyr	Ala	Tyr	Tyr	Gly	Ala	Phe	Asp	Tyr	Trp	Gly	
				100					105					110			
20																	
	Gln	Gly	Thr	Thr	Val	Thr	Val	Ser	Ser								
			115					120									
25	<210>	188															
	<211>	363															
	<212>	DNA															
	<213>	Yapay Sekans															
30	<220>																
	<223>	2B10_6H10; VH															
	<400>	188															
	caggtgcaat	tggtgcagtc	tggggctgag	gtgaagaagc	ctgggtcctc	ggtgaaggtc											
35	60																
	tcttgcaagg	cctccggagg	cacattcagc	agctacgcta	taagctgggt	gcgacaggcc											
	120																
40	cctggacaag	ggctcgagtg	gatgggaggg	atcatcccta	tctttggtac	agcaaactac											
	180																
	gcacagaagt	tccagggcag	ggtcaccatt	actgcagaca	aatccacgag	cacagcctac											
	240																
45	atggagctga	gcagcctgag	atctgaggac	accgccgtgt	attactgtgc	gagactgtac											
	300																
	ggttacgctt	actacggtgc	ttttgactac	tggggccaag	ggaccaccgt	gaccgtctcc											
50	360																
	tca																363

```

    <210> 189
    <211> 108
5   <212> PRT
    <213> Yapay Sekans

    <220>
    <223> CH1A1A; VL
10
    <400> 189

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

15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Ala Ala Val Gly Thr Tyr
          20          25          30

20
Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
          35          40          45

25
Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Lys Arg Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
          50          55          60

30
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65          70          75          80

35
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys His Gln Tyr Tyr Thr Tyr Pro Leu
          85          90          95

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

40
    <210> 190
    <211> 324
    <212> DNA
    <213> Yapay Sekans
45
    <220>
    <223> CH1A1A; VL

    <400> 190
50 gatatccaga tgaccacgac tccatcctcc ctgtctgcat ctgtgggaga cagagtcacc
    60

```

atcacttgca aggccagtgc ggctgtgggt acgtatgttg cgtggtatca gcagaaacca
 120
 gggaaagcac ctaagctcct gatctattcg gcatactacc gcaaaagggg agtcccatca
 5 180
 aggttcagtg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag tctgcaacct
 240
 10 gaagatttcg caacttacta ctgtcaccaa tattacacct atcctctatt cacgtttggc
 300
 cagggcacca agctcgagat caag 324
 15
 <210> 191
 <211> 121
 <212> PRT
 <213> Yapay Sekans
 20
 <220>
 <223> CH1A1A; VH
 <400> 191
 25
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 30 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Glu Phe
 20 25 30
 Gly Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 35 40 45
 Gly Trp Ile Asn Thr Lys Thr Gly Glu Ala Thr Tyr Val Glu Glu Phe
 50 55 60
 40
 Lys Gly Arg Val Thr Phe Thr Thr Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 45
 Met Glu Leu Arg Ser Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 50 Ala Arg Trp Asp Phe Ala Tyr Tyr Val Glu Ala Met Asp Tyr Trp Gly
 100 105 110

Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

5

<210> 192
<211> 363
<212> DNA
<213> Yapay Sekans

10

<220>
<223> CH1A1A; VH

<400> 192

15

caggtgcagc tgggtgcagtc tggcgccgaa gtgaagaaac ctggagctag tgtgaagggtg
60

tcctgcaagg ccagcgggcta caccttcacc gagttcggca tgaactgggt ccgacaggct
120

20

ccaggccagg gcctcgaatg gatgggctgg atcaacacca agaccggcga ggccacctac
180

gtggaagagt tcaagggcag agtgaccttc accacggaca ccagcaccag caccgcctac
240

25

atggaactgc ggagcctgag aagcgacgac accgcccgtgt actactgcgc cagatgggac
300

30

ttcgccattt acgtggaagc catggactac tggggccagg gcaccaccgt gaccgtgtct
360

agc 363

35

<210> 193
<211> 446
<212> PRT
<213> Yapay Sekans

40

<220>
<223> 28H1 Fab HC-Fc deliği (LALA P329G)

<400> 193

45

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

50

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser His
20 25 30

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

	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	
					245					250					255		
5	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	
				260					265					270			
10	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	
			275					280					285				
15	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	
		290					295					300					
20	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	
	305					310					315					320	
25	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Gly	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	
				325						330					335		
30	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Cys	Thr	Leu	Pro	Pro	
				340					345					350			
35	Ser	Arg	Asp	Glu	Leu	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Ser	Cys	Ala	Val	
			355					360					365				
40	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	
		370					375					380					
45	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	
	385					390					395					400	
50	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Val	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	
					405					410					415		
55	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	
				420					425					430			
60	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys			
			435					440					445				

<210> 194
 <211> 1338
 <212> DNA
 5 <213> Yapay Sekans

 <220>
 <223> 28H1 Fab HC-Fc deliği (LALA P329G)

 10 <400> 194
 gaagtgcagc tgctggaatc cggcggagggc ctggtgcagc ctggcggatc tctgagactg
 60

 tcttgccgcg cctccggctt caccttctcc tcccacgcca tgtcctgggt ccgacaggct
 15 120

 cctggcaaag gcctggaatg ggtgtccgcc atctgggcct ccggcgagca gtactacgcc
 180

 20 gactctgtga agggccggtt caccatctcc cgggacaact ccaagaacac cctgtacctg
 240

 cagatgaact cctgcgggc cgaggacacc gccgtgtact actgtgccaa gggctggctg
 300
 25
 ggcaacttcg actactgggg acagggcacc ctggtcaccg tgtccagcgc tagcaccaag
 360

 ggcccctccg tgttccccct ggcccccagc agcaagagca ccagcggcgg cacagccgct
 30 420

 ctgggctgcc tggtaagga ctacttcccc gagcccgtga ccgtgtcctg gaacagcggc
 480

 35 gccctgacct ccggcgtgca caccttcccc gccgtgctgc agagttctgg cctgtatagc
 540

 ctgagcagcg tggtaaccgt gccttctagc agcctgggca ccagacctc catctgcaac
 600
 40
 gtgaaccaca agcccagcaa caccaaggtg gacaagaagg tggagcccaa gagctgcgac
 660

 aaaactcaca catgcccacc gtgcccagca cctgaagctg cagggggacc gtcagtcttc
 45 720

 ctcttcccc caaaacccaa ggacaccctc atgatctccc ggaccctga ggtcacatgc
 780

 50 gtggtggtgg acgtgagcca cgaagaccct gaggtcaagt tcaactggta cgtggacggc
 840

gtggaggtgc ataatgccaa gacaaagccg cgggaggagc agtacaacag cacgtaccgt
900

gtgggtcagcg tcttcaccgt cctgcaccag gactggctga atggcaagga gtacaagtgc
5 960

aaggtctcca acaaagccct cggcgccccc atcgagaaaa ccatctccaa agccaaaggg
1020

cagccccgag aaccacaggt gtgcaccctg ccccatccc gggatgagct gaccaagaac
10 1080

caggtcagcc tctcgtgcgc agtcaaaggc ttctatccca gcgacatcgc cgtggagtgg
1140

15 gagagcaatg ggcagccgga gaacaactac aagaccagc ctcccgtgct ggactccgac
1200

ggctccttct tctcgtgag caagctcacc gtggacaaga gcaggtggca gcaggggaac
20 1260

gtctttctcat gctccgtgat gcatgaggct ctgcacaacc actacacgca gaagagcctc
1320

25 tccctgtctc cgggtaaa 1338

<210> 195
<211> 592
30 <212> PRT
<213> Yapay Sekans

<220>
<223> 28H1 Fab HC-Fc topuzu (LALA P329G)-IL-2 qm
35

<400> 195

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

40 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser His
20 25 30

45 Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

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

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

	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr
			275					280					285			
5	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val
		290					295					300				
10	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys
	305					310					315					320
15	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Gly	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser
					325					330					335	
20	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro
				340					345					350		
25	Cys	Arg	Asp	Glu	Leu	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Trp	Cys	Leu	Val
			355					360					365			
30	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly
		370					375					380				
35	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp
	385					390					395					400
40	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp
					405					410					415	
45	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His
				420					425					430		
50	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Gly	Gly	Gly
			435					440					445			
55	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ala	Pro	Ala	Ser	Ser
		450					455					460				
60	Ser	Thr	Lys	Lys	Thr	Gln	Leu	Gln	Leu	Glu	His	Leu	Leu	Leu	Asp	Leu
	465					470					475					480

Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys Asn Pro Lys Leu Thr
 485 490 495

5 Arg Met Leu Thr Ala Lys Phe Ala Met Pro Lys Lys Ala Thr Glu Leu
 500 505 510

10 Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys Pro Leu Glu Glu Val
 515 520 525

15 Leu Asn Gly Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu Arg Pro Arg Asp Leu
 530 535 540

20 Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu Lys Gly Ser Glu Thr
 545 550 555 560

Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala Thr Ile Val Glu Phe
 565 570 575

25 Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ala Gln Ser Ile Ile Ser Thr Leu Thr
 580 585 590

30 <210> 196
 <211> 1776
 <212> DNA
 <213> Yapay Sekans

35 <220>
 <223> 28H1 Fab HC-Fc topuzu (LALA P329G)-IL-2 qm

40 <400> 196
 gaagtgcagc tgctggaatc cggcggaggc ctggtgcagc ctggcggatc tctgagactg
 60
 tcttgcgcgc cctccggctt caccttctcc tcccacgcc tgtcctgggt ccgacaggct
 120
 cctggcaaag gcttgggaatg ggtgtccgcc atctgggcct ccggcgagca gtactacgcc
 180
 gactctgtga agggccggtt caccatctcc cgggacaact ccaagaacac cctgtacctg
 240
 50 cagatgaact ccctgcgggc cgaggacacc gccgtgtact actgtgccaa gggctggctg
 300

ggcaacttcg actactgggg acagggcacc ctggtcaccg tgtccagcgc tagcaccaag
 360

5 ggcccatcgg tcttccccct ggcaccctcc tccaagagca cctctggggg cacagcggcc
 420

ctgggctgcc tggtaagga ctacttcccc gaaccgggtga cgggtgtcgtg gaactcaggc
 480

10 gccctgacca gcggcgtgca caccttcccc gctgtcctac agtcctcagg actctactcc
 540

ctcagcagcg tggtgaccgt gccctccagc agcttgggca cccagaccta catctgcaac
 15 600

gtgaatcaca agcccagcaa caccaaggtg gacaagaaag ttgagcccaa atcttgtgac
 660

20 aaaactcaca catgcccacc gtgcccagca cctgaagctg cagggggacc gtcagtcttc
 720

ctcttcccc caaaacccaa ggacaccctc atgatctccc ggaccctga ggtcacatgc
 780

25 gtgggtgggtg acgtgagcca cgaagaccct gaggtcaagt tcaactggta cgtggacggc
 840

gtggaggtgc ataatgccaa gacaaagccg cgggaggagc agtacaacag cacgtaccgt
 30 900

gtggtcagcg tcttcaccgt cctgcaccag gactggctga atggcaagga gtacaagtgc
 960

35 aaggctctca acaaagccct cggcgccccc atcgagaaaa ccatctccaa agccaaaggg
 1020

cagccccgag aaccacaggt gtacaccctg ccccatgcc gggatgagct gaccaagaac
 1080

40 caggtcagcc tgtgggtgcct ggtcaaaggc ttctatccca gcgacatcgc cgtggagtgg
 1140

gagagcaatg ggcagccgga gaacaactac aagaccacgc ctcccgtgct ggactccgac
 45 1200

ggctccttct tctctacag caagctcacc gtggacaaga gcagggtggca gcaggggaac
 1260

50 gtcttctcat gctccgtgat gcatgaggct ctgcacaacc actacacgca gaagagcctc
 1320

tcctgtctc cgggtggcgg cggaggctcc ggaggcggag gttctggcgg aggtggcgct
 1380
 cctgcctcct ccagcaccaa gaaaaccag ctccagctgg aacatctcct gctggatctg
 5 1440
 cagatgatcc tgaacggcat caacaactac aagaacccca agctgaccgg gatgctgacc
 1500
 gccaaagtctg ccatgcccac gaaggccacc gagctgaaac atctgcagtg cctggaagag
 10 1560
 gaactgaagc ctctggaaga ggtgctgaac ggcgcccagt ccaagaactt ccacctgagg
 1620
 15 cctcgggacc tgatctccaa catcaacgtg atcgtgctgg aactgaaggg ctccgagaca
 1680
 accttcatgt gcgagtacgc cgacgagaca gctaccatcg tggaatttct gaaccggtgg
 20 1740
 atcaccttcg ccagttccat catctccacc ctgacc 1776

 25 <210> 197
 <211> 592
 <212> PRT
 <213> Yapay Sekans
 30 <220>
 <223> 28H1 Fab HC-Fc topuzu (LALA P329G)-IL-2 wt
 <400> 197
 35 Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser His
 40 20 25 30
 Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 45 Ser Ala Ile Trp Ala Ser Gly Glu Gln Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 50 55 60
 50 Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu
 65 70 75 80

	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Ala	
					85					90					95		
5																	
	Lys	Gly	Trp	Leu	Gly	Asn	Phe	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	
				100					105					110			
10																	
	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	
			115					120					125				
15																	
	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	
		130					135					140					
20																	
	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	
	145					150					155					160	
25																	
	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	
					165					170					175		
30																	
	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	
				180					185					190			
35																	
	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	
			195					200					205				
40																	
	Lys	Val	Asp	Lys	Lys	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys	Thr	His	Thr	
		210					215					220					
45																	
	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Ala	Ala	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	
	225					230					235					240	
50																	
	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	
					245					250					255		
55																	
	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	
				260					265					270			
60																	
	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	
			275					280					285				

	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	
	290						295					300					
5																	
	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	
	305					310					315					320	
10																	
	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Gly	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	
					325					330					335		
15																	
	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	
				340					345					350			
20																	
	Cys	Arg	Asp	Glu	Leu	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Trp	Cys	Leu	Val	
			355					360					365				
25																	
	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	
	370						375					380					
30																	
	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	
	385				390					395						400	
35																	
	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	
					405					410					415		
40																	
	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	
				420					425				430				
45																	
	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Gly	Gly	Gly	
			435					440					445				
50																	
	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ala	Pro	Thr	Ser	Ser	
	450						455					460					
55																	
	Ser	Thr	Lys	Lys	Thr	Gln	Leu	Gln	Leu	Glu	His	Leu	Leu	Leu	Asp	Leu	
	465				470					475						480	
60																	
	Gln	Met	Ile	Leu	Asn	Gly	Ile	Asn	Asn	Tyr	Lys	Asn	Pro	Lys	Leu	Thr	
					485					490					495		

Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys Lys Ala Thr Glu Leu
 500 505 510
 5

Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys Pro Leu Glu Glu Val
 515 520 525

10

Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu Arg Pro Arg Asp Leu
 530 535 540

15

Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu Lys Gly Ser Glu Thr
 545 550 555 560

20

Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala Thr Ile Val Glu Phe
 565 570 575

25

Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ala Gln Ser Ile Ile Ser Thr Leu Thr
 580 585 590

<210> 198
 <211> 1776
 <212> DNA
 30 <213> Yapay Sekans

<220>
 <223> 28H1 Fab HC-Fc topuzu (LALA P329G)-IL-2 wt

35 <400> 198
 gaagtgcagc tgctggaatc cggcggaggc ctggtgcagc ctggcggatc tctgagactg
 60

40

tcttgccgcg cctccggctt caccttctcc tcccacgcca tgtcctgggt ccgacaggct
 120

cctggcaaag gcctggaatg ggtgtccgcc atctgggcct ccggcgagca gtactacgcc
 180

45

gactctgtga agggccggtt caccatctcc cgggacaact ccaagaacac cctgtacctg
 240

cagatgaact ccttgccgggc cgaggacacc gccgtgtact actgtgccaa gggctggctg
 300

50

ggcaacttcg actactgggg acagggcacc ctggtcaccg tgtccagcgc tagcaccaag
 360

ggcccatcgg tcttccccct ggcaccctcc tccaagagca cctctggggg cacagcggcc
 420

5 ctgggctgcc tggtaagga ctacttcccc gaaccggtga cgggtgtcgtg gaactcaggc
 480

gccctgacca gcggcgtgca caccttcccc gctgtcctac agtcctcagg actctactcc
 540

10 ctcagcagcg tggtgaccgt gccctccagc agcttgggca cccagaccta catctgcaac
 600

gtgaatcaca agcccagcaa caccaaggtg gacaagaaag ttgagcccaa atcttgtgac
 15 660

aaaactcaca catgccacc gtgcccagca cctgaagctg cagggggacc gtcagtcttc
 720

20 ctcttcccc caaaaccaa ggacaccctc atgatctccc ggaccctga ggtcacatgc
 780

gtgggtgggtg acgtgagcca cgaagaccct gaggtcaagt tcaactggta cgtggacggc
 840

25 gtggaggtgc ataatgccaa gacaaagccg cgggaggagc agtacaacag cacgtaccgt
 900

gtggtcagcg tctcaccgt cctgcaccag gaactggctga atggcaagga gtacaagtgc
 30 960

aaggtctcca acaaagccct cggcgccccc atcgagaaaa ccatctccaa agccaaaggg
 1020

35 cagccccgag aaccacaggt gtacaccctg ccccatgcc gggatgagct gaccaagaac
 1080

caggtcagcc tgtgggtgcct ggtcaaaggc ttctatccca gcgacatcgc cgtggagtgg
 1140

40 gagagcaatg ggcagccgga gaacaactac aagaccacgc ctcccgtgct ggactccgac
 1200

ggctccttct tctctacag caagctcacc gtggacaaga gcaggtggca gcaggggaac
 45 1260

gtcttctcat gctccgtgat gcatgaggct ctgcacaacc actacacgca gaagagcctc
 1320

50 tccctgtctc cgggtggcgg cggaggctcc ggaggcggag gttctggcgg aggtggcgt
 1380

cctacatcct ccagcaccaa gaaaaccag ctccagctgg aacatctcct gctggatctg
1440

cagatgatcc tgaacggcat caacaactac aagaacccca agctgaccgg gatgctgacc
5 1500

ttcaagttct acatgcccac gaaggccacc gagctgaaac atctgcagtg cctggaagag
1560

gaactgaagc ctctggaaga ggtgctgaac ctggcccagt ccaagaactt ccacctgagg
10 1620

cctcggggacc tgatctccaa catcaacgtg atcgtgctgg aactgaaggg ctccgagaca
1680

accttcatgt gcgagtacgc cgacgagaca gctaccatcg tggaatttct gaaccgggtg
15 1740

atcaccttcg ccagttccat catctccacc ctgacc 1776
20

<210> 199
<211> 574
<212> PRT
25 <213> Yapay Sekans

<220>
<223> 28H1 Fab HC-Fc topuzu (LALA P329G)-IL-15 (E53A N79A)

<400> 199
30

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser His
20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ala Ile Trp Ala Ser Gly Glu Gln Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
45 50 55 60

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

Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
50

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

5	Leu 305	Thr	Val	Leu	His	Gln 310	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly 315	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys 320
10	Lys	Val	Ser	Asn	Lys 325	Ala	Leu	Gly	Ala	Pro 330	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile 335	Ser
15	Lys	Ala	Lys	Gly 340	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro 345	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu 350	Pro	Pro
	Cys	Arg	Asp 355	Glu	Leu	Thr	Lys	Asn 360	Gln	Val	Ser	Leu	Trp 365	Cys	Leu	Val
20	Lys	Gly 370	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp 375	Ile	Ala	Val	Glu	Trp 380	Glu	Ser	Asn	Gly
25	Gln 385	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr 390	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro 395	Val	Leu	Asp	Ser	Asp 400
30	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu 405	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr 410	Val	Asp	Lys	Ser	Arg 415	Trp
	Gln	Gln	Gly	Asn 420	Val	Phe	Ser	Cys	Ser 425	Val	Met	His	Glu	Ala 430	Leu	His
35																
	Asn	His	Tyr 435	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu 440	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly 445	Ser	Gly	Gly
40	Gly	Gly 450	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly 455	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly 460	Asn	Trp	Val	Asn
45	Val 465	Ile	Ser	Asp	Leu	Lys 470	Lys	Ile	Glu	Asp	Leu 475	Ile	Gln	Ser	Met	His 480
	Ile	Asp	Ala	Thr	Leu 485	Tyr	Thr	Glu	Ser	Asp 490	Val	His	Pro	Ser	Cys 495	Lys
50																
	Val	Thr	Ala	Met	Lys	Cys	Phe	Leu	Leu	Glu	Leu	Gln	Val	Ile	Ser	Leu

500

505

510

5 Ala Ser Gly Asp Ala Ser Ile His Asp Thr Val Glu Asn Leu Ile Ile
 515 520 525

10 Leu Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Ala Val Thr Glu Ser Gly
 530 535 540

15 Cys Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn Ile Lys Glu Phe Leu
 545 550 555 560

20 Gln Ser Phe Val His Ile Val Gln Met Phe Ile Asn Thr Ser
 565 570

20 <210> 200
 <211> 1722
 <212> DNA
 <213> Yapay Sekans

25 <220>
 <223> 28H1 Fab HC-Fc topuzu (LALA P329G)-IL-15 (E53A N79A)

30 <400> 200
 gaagtgcagc tgctggaatc cggcggaggc ctggtgcagc ctggcggatc tctgagactg
 60

 tcttgccgcg cctccggcctt caccttctcc tcccacgcca tgtcctgggt cgcacaggct
 120

35 cctggcaaag gcctggaatg ggtgtccgcc atctgggcct ccggcgagca gtactacgcc
 180

 gactctgtga agggccggtt caccatctcc cgggacaact ccaagaacac cctgtacctg
 240

40 cagatgaact ccctgcgggc cgaggacacc gccgtgtact actgtgccaa ggcctggctg
 300

45 ggcaacttcg actactgggg acagggcacc ctggtcaccg tgtccagcgc tagcaccaag
 360

 ggcccatcgg tcttccccct ggcacctcc tccaagagca cctctggggg cacagcggcc
 420

50 ctgggctgcc tggtaagga ctacttccc gaaccggtga cgggtgtcgtg gaactcaggc
 480

gccctgacca gcggcgtgca caccttcccc gctgtcctac agtcctcagg actctactcc
 540
 ctcagcagcg tggtagccgt gccctccagc agcttgggca cccagaccta catctgcaac
 5 600
 gtgaatcaca agcccagcaa caccaaggtg gacaagaaag ttgagcccaa atcttgtgac
 660
 10 aaaactcaca catgcccacc gtgcccagca cctgaagctg caggggggacc gtcagtcttc
 720
 ctcttcccc caaaacccaa ggacaccctc atgatctccc ggaccctga ggtcacatgc
 780
 15 gtggtggtgg acgtgagcca cgaagaccct gaggtcaagt tcaactggta cgtggacggc
 840
 gtggaggtgc ataatgccaa gacaaagccg cgggaggagc agtacaacag cacgtaccgt
 20 900
 gtggtcagcg tcttcaccgt cctgcaccag gactggctga atggcaagga gtacaagtgc
 960
 25 aaggtctcca acaaagccct cggcgccccc atcgagaaaa ccatctccaa agccaaaggg
 1020
 cagccccgag aaccacaggt gtacaccctg ccccatgcc gggatgagct gaccaagaac
 1080
 30 caggtcagcc tgtggtgcct ggtcaaaggc ttctatccca gcgacatgc cgtggagtgg
 1140
 gagagcaatg ggcagccgga gaacaactac aagaccacgc ctcccgtgct ggactccgac
 35 1200
 ggctccttct tctctacag caagctcacc gtggacaaga gcaggtggca gcaggggaac
 1260
 40 gtctttctcat gctccgtgat gcatgaggct ctgcacaacc actacacgca gaagagcctc
 1320
 tcctgtctc cgggttccgg cggcggaggc tccggaggcg gaggttctgg cggaggtggc
 1380
 45 aactgggtga atgtaataag tgatttgaag aaaattgaag atcttattca atctatgcat
 1440
 attgatgcta ctttatatac ggaaagtgat gttcacccca gttgcaaagt aacagcaatg
 50 1500

aagtgccttc tcttgaggtt acaagttatt tcaactgcgt ccggagatgc aagtattcat
1560

5 gatacagtag aaaatctgat catcctagca aacaacagtt tgtcttctaa tggggctgta
1620

acagaatctg gatgcaaaga atgtgaggaa ctggaggaaa aaaatattaa agaatttttg
1680

10 cagagttttg tacatattgt ccaaatgttc atcaacactt ct 1722

<210> 201
<211> 447
15 <212> PRT
<213> Yapay Sekans

<220>
<223> 4G8 Fab HC-Fc deliği (LALA P329G)
20 <400> 201

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
25

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

30 Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

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

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

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
45

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

50 Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
115 120 125

5	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	130	135	140	
10	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	145	150	155	160
15	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	165	170	175	
20	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	180	185	190	
25	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro	Ser	Asn	195	200	205	
30	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Lys	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys	Thr	His	210	215	220	
35	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Ala	Ala	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	225	230	235	240
40	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	245	250	255	
45	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	260	265	270	
50	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	275	280	285	
	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	290	295	300	
	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	305	310	315	320
	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Gly	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	325	330	335	

Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Cys Thr Leu Pro
 340 345 350
 5

Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala
 355 360 365
 10

Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
 370 375 380
 15

Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser
 385 390 395 400
 20

Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
 405 410 415
 25

Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
 420 425 430
 30

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 435 440 445
 35

<210> 202
 <211> 1341
 <212> DNA
 <213> Yapay Sekans
 40

<220>
 <223> 4G8 Fab HC-Fc deliği (LALA P329G)
 45

<400> 202
 gaggtgcaat tggtggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggggtc cctgagactc
 60
 tcctgtgcag cctccggatt caccttttagc agttatgcc a tgagctgggt ccgccaggct
 120
 45
 ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtggtggttag cacatactac
 180
 gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat
 240
 50

ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaaggggtgg
 300

5 ctgggtaatt ttgactactg gggccaagga accctgggtca cegtctcgag tgctagcacc
 360

aagggcccct cegtgttccc cctggccccc agcagcaaga gcaccagcgg cggcacagcc
 420

10 gctctgggct gcctgggtcaa ggactacttc cccgagcccg tgaccgtgtc ctggaacagc
 480

ggagccctga cctccggcgt gcacaccttc cccgccgtgc tgcagagttc tggcctgtat
 540

15 agcctgagca gcgtgggtcac cgtgccttct agcagcctgg gcacccagac ctacatctgc
 600

aacgtgaacc acaagcccag caacaccaag gtggacaaga aggtggagcc caagagctgc
 20 660

gacaaaactc acacatgccc accgtgccca gcacctgaag ctgcaggggg accgtcagtc
 720

25 ttctcttcc ccccaaaacc caaggacacc ctcatgatct cccggacccc tgaggtcaca
 780

tgcgtgggtgg tggacgtgag ccacgaagac cctgagggtca agttcaactg gtacgtggac
 840

30 ggcgtggagg tgcataatgc caagacaaag ccgcgggagg agcagtacaa cagcacgtac
 900

cgtgtgggtca gcgtcctcac cgtcctgcac caggactggc tgaatggcaa ggagtacaag
 35 960

tgcaaggtct ccaacaaagc cctcggcgcc cccatcgaga aaaccatctc caaagccaaa
 1020

40 gggcagcccc gagaaccaca ggtgtgcacc ctgcccccat cccgggatga gctgaccaag
 1080

aaccaggtca gcctctcgtg cgcagtcaaa ggcttctatc ccagcgacat cgcctgggag
 1140

45 tgggagagca atgggcagcc ggagaacaac tacaagacca cgcctcccggt gctggactcc
 1200

gacggctcct tcttcctcgt gagcaagctc accgtggaca agagcagggtg gcagcagggg
 50 1260

aacgtcttct catgctccgt gatgcatgag gctctgcaca accactacac gcagaagagc
1320

ctctccctgt ctccgggtaa a 1341

5

<210> 203

<211> 593

<212> PRT

10 <213> Yapay Sekans

<220>

<223> 4G8 Fab HC-Fc topuzu (LALA P329G)-IL-2 qm

15 <400> 203

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

20

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

25

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

30

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

35

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

40

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

45

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

50

Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
115 120 125

Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys
130 135 140

	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	145	150	155	160
5	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	165	170	175	
10	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	180	185	190	
15	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro	Ser	Asn	195	200	205	
20	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Lys	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys	Thr	His	210	215	220	
25	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Ala	Ala	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	225	230	235	240
30	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	245	250	255	
35	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	260	265	270	
40	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	275	280	285	
45	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	290	295	300	
50	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	305	310	315	320
55	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Gly	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	325	330	335	
60	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	340	345	350	

	Pro	Cys	Arg	Asp	Glu	Leu	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Trp	Cys	Leu	
			355					360					365				
5	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	
		370					375					380					
10	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	
	385					390					395					400	
15	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	
					405					410					415		
20	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	
				420					425					430			
25	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Gly	Gly	
			435					440					445				
30	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ala	Pro	Ala	Ser	
		450					455						460				
35	Ser	Ser	Thr	Lys	Lys	Thr	Gln	Leu	Gln	Leu	Glu	His	Leu	Leu	Leu	Asp	
	465					470					475					480	
40	Leu	Gln	Met	Ile	Leu	Asn	Gly	Ile	Asn	Asn	Tyr	Lys	Asn	Pro	Lys	Leu	
					485					490					495		
45	Thr	Arg	Met	Leu	Thr	Ala	Lys	Phe	Ala	Met	Pro	Lys	Lys	Ala	Thr	Glu	
				500					505					510			
50	Leu	Lys	His	Leu	Gln	Cys	Leu	Glu	Glu	Glu	Leu	Lys	Pro	Leu	Glu	Glu	
			515					520					525				
55	Val	Leu	Asn	Gly	Ala	Gln	Ser	Lys	Asn	Phe	His	Leu	Arg	Pro	Arg	Asp	
		530					535					540					
60	Leu	Ile	Ser	Asn	Ile	Asn	Val	Ile	Val	Leu	Glu	Leu	Lys	Gly	Ser	Glu	
	545					550					555					560	

Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala Thr Ile Val Glu
565 570 575

5 Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ala Gln Ser Ile Ile Ser Thr Leu
580 585 590

Thr

10

<210> 204

<211> 1779

15 <212> DNA

<213> Yapay Sekans

<220>

<223> 4G8 Fab HC-Fc topuzu (LALA P329G)-IL-2 qm

20

<400> 204

gaggtgcaat tgttgagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggggtc cctgagactc
60

25 tcctgtgcag cctccggatt cacctttagc agttatgccca tgagctgggt ccgccaggct
120

ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtgggtggtag cacatactac
180

30

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat
240

35 ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaaggggtg
300

ctgggtaatt ttgactactg gggccaagga accctgggtca ccgtctcgag tgctagcacc
360

40 aagggcccat cggtcttccc cctggcacc cctccaaga gcacctctgg gggcacagcg
420

gccctgggct gcctgggtcaa ggactacttc cccgaaccgg tgacgggtgtc gtggaactca
480

45

ggcgccctga ccagcggcgt gcacaccttc ccggctgtcc tacagtcttc aggactctac
540

50 tcctcagca gcgtgggtgac cgtgccctcc agcagcttgg gcaccagac ctacatctgc
600

aacgtgaatc acaagcccag caacaccaag gtggacaaga aagttgagcc caaatcttgt
 660
 gacaaaactc acacatgccc accgtgcccga gcacctgaag ctgcaggggg accgtcagtc
 5 720
 ttctcttcc ccccaaaacc caaggacacc ctcatgatct cccggacccc tgaggtcaca
 780
 10 tgcgtgggtg tggacgtgag ccacgaagac cctgagggtca agttcaactg gtacgtggac
 840
 ggcgtggagg tgcataatgc caagacaaag ccgcgggagg agcagtacaa cagcacgtac
 900
 15 cgtgtgggtc gcgtcctcac cgtcctgcac caggactggc tgaatggcaa ggagtacaag
 960
 tgcaaggtct ccaacaaagc cctcggcgcc cccatcgaga aaaccatctc caaagccaaa
 20 1020
 gggcagcccc gagaaccaca ggtgtacacc ctgcccccat gccgggatga gctgaccaag
 1080
 25 aaccagggtc gcctgtgggtg cctgggtcaaa ggcttctatc ccagcgacat gcccggtggag
 1140
 tgggagagca atgggcagcc ggagaacaac tacaagacca cgcctcccggt gctggactcc
 1200
 30 gacggctcct tcttctctta cagcaagctc accgtggaca agagcagggtg gcagcagggg
 1260
 aacgtcttct catgctccgt gatgcatgag gctctgcaca accactacac gcagaagagc
 35 1320
 ctctccctgt ctccgggtgg cggcggaggc tccggaggcg gaggttcttg cggaggtggc
 1380
 40 gctcctgcct cctccagcac caagaaaacc cagctccagc tggaacatct cctgctggat
 1440
 ctgcagatga tctgaacgg catcaacaac tacaagaacc ccaagctgac ccggatgctg
 1500
 45 accgccaaagt tcgccaatgcc caagaaggcc accgagctga aacatctgca gtgcctggaa
 1560
 gaggaactga agcctctgga agagggtgctg aacggcgccc agtccaagaa ctccacctg
 50 1620

aggcctcggg acctgatctc caacatcaac gtgatcgtgc tggaactgaa gggctccgag
1680

5 acaaccttca tgtgcgagta cgccgacgag acagctacca tcgtggaatt tctgaaccgg
1740

tggatcacct tcgcccagtc catcatctcc accctgacc 1779

10 <210> 205
<211> 215
<212> PRT
<213> Yapay Sekans

15 <220>
<223> 4G8 Fab LC

<400> 205

20 Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

25 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Arg Ser
20 25 30

30 Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
35 40 45

Ile Ile Gly Ala Ser Thr Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60

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

40 Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Gln Val Ile Pro
85 90 95

45 Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala
100 105 110

50 Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser
115 120 125

Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu

140

331

tatcccagag aggcctaaagt acagtgggaag gtggataacg cctccaatc gggtaactcc
480

5 caggagagtg tcacagagca ggacagcaag gacagcacct acagcctcag cagcacctg
540

acgctgagca aagcagacta cgagaaacac aaagtctacg cctgcgaagt caccatcag
600

10 ggcctgagct cgcccgtcac aaagagcttc aacaggggag agtgt 645

<210> 207

15 <211> 447

<212> PRT

<213> Yapay Sekans

<220>

20 <223> 4B9 Fab HC-Fc deliği (LALA P329G)

<400> 207

25 Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30
30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

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

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

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

Ala Lys Gly Trp Phe Gly Gly Phe Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110
50

Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu

	115	120	125
5	Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr 130 135	Ala Ala Leu Gly Cys 140	
10	Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser 145 150 155 160		
15	Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser 165 170 175		
20	Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser 180 185 190		
25	Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn 195 200 205		
30	Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His 210 215 220		
35	Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val 225 230 235 240		
40	Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr 245 250 255		
45	Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu 260 265 270		
50	Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys 275 280 285		
	Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser 290 295 300		
	Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys 305 310 315 320		
	Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile		

325

330

335

5 Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Cys Thr Leu Pro
 340 345 350

10 Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala
 355 360 365

15 Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
 370 375 380

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

20 Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
 405 410 415

25 Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
 420 425 430

30 His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 435 440 445

35 <210> 208
 <211> 1341
 <212> DNA
 <213> Yapay Sekans

40 <220>
 <223> 4B9 Fab HC-Fc deliği (LALA P329G)

45 <400> 208
 gaggtgcagc tgctcgaaag cggcggagga ctggtgcagc ctggcggcag cctgagactg
 60

tcttgcgccg ccagcggctt caccttcagc agctacgcca tgagctgggt ccgccaggcc
 120

cctggcaagg gactggaatg ggtgtccgcc atcatcggct ctggcgccag cacctactac
 180

50 gccgacagcg tgaagggccg gttcaccatc agccgggaca acagcaagaa caccctgtac
 240

ctgcagatga acagcctgcg ggccgaggac accgccgtgt actactgcmc caagggatgg
 300
 ttccggcggt tcaactactg gggacagggc accctgggtca cagtgtccag cgctagcacc
 5 360
 aagggcccct ccgtgttccc cctggccccc agcagcaaga gcaccagcgg cggcacagcc
 420
 gctctgggct gcctgggtcaa ggactacttc cccgagcccg tgaccgtgtc ctggaacagc
 10 480
 ggagccctga cctccggcgt gcacaccttc cccgccgtgc tgcagagttc tggcctgtat
 540
 15 agcctgagca gcgtgggtcac cgtgccttct agcagcctgg gcacccagac ctacatctgc
 600
 aacgtgaacc acaagcccag caacaccaag gtggacaaga aggtggagcc caagagctgc
 20 660
 gacaaaactc acacatgccc accgtgccca gcacctgaag ctgcaggggg accgtcagtc
 720
 25 ttctcttcc ccccaaaacc caaggacacc ctcatgatct cccggacccc tgaggtcaca
 780
 tgcgtgggtg tggacgtgag ccacgaagac cctgagggtca agttcaactg gtacgtggac
 840
 30 ggcgtggagg tgcataatgc caagacaaag ccgcgggagg agcagtacaa cagcacgtac
 900
 cgtgtgggtca gcgtcctcac cgtcctgcac caggactggc tgaatggcaa ggagtacaag
 35 960
 tgcaagggtct ccaacaaagc cctcggcgcc cccatcgaga aaaccatctc caaagccaaa
 1020
 40 gggcagcccc gagaaccaca ggtgtgcacc ctgcccccat cccgggatga gctgaccaag
 1080
 aaccaggtca gcctctcgtg cgcagtcaaa ggcttctatc ccagcgacat cgcctgggag
 1140
 45 tgggagagca atgggcagcc ggagaacaac tacaagacca cgcctcccggt gctggactcc
 1200
 gacggctcct tcttcctcgt gagcaagctc accgtggaca agagcagggtg gcagcagggg
 50 1260

aacgtcttct catgctccgt gatgcatgag gctctgcaca accactacac gcagaagagc
1320

ctctccctgt ctccgggtaa a 1341

5

<210> 209

<211> 593

<212> PRT

10 <213> Yapay Sekans

<220>

<223> 4B9 Fab HC-Fc topuzu (LALA P329G)-IL-2 qm

15 <400> 209

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

20

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

25

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

30

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

35

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

40

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

45

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

50

Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
115 120 125

Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys
130 135 140

	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	145	150	155	160
5	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	165	170	175	
10	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	180	185	190	
15	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro	Ser	Asn	195	200	205	
20	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Lys	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys	Thr	His	210	215	220	
25	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Ala	Ala	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	225	230	235	240
30	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	245	250	255	
35	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	260	265	270	
40	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	275	280	285	
45	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	290	295	300	
50	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	305	310	315	320
55	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Gly	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	325	330	335	
60	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	340	345	350	

	Pro	Cys	Arg	Asp	Glu	Leu	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Trp	Cys	Leu
			355					360					365			
5	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn
		370					375					380				
10	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser
	385					390					395					400
15	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg
				405						410					415	
20	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu
				420					425					430		
25	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Gly	Gly
			435					440					445			
30	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ala	Pro	Ala	Ser
		450					455						460			
35	Ser	Ser	Thr	Lys	Lys	Thr	Gln	Leu	Gln	Leu	Glu	His	Leu	Leu	Leu	Asp
	465					470					475					480
40	Leu	Gln	Met	Ile	Leu	Asn	Gly	Ile	Asn	Asn	Tyr	Lys	Asn	Pro	Lys	Leu
				485						490					495	
45	Thr	Arg	Met	Leu	Thr	Ala	Lys	Phe	Ala	Met	Pro	Lys	Lys	Ala	Thr	Glu
				500					505					510		
50	Leu	Lys	His	Leu	Gln	Cys	Leu	Glu	Glu	Glu	Leu	Lys	Pro	Leu	Glu	Glu
			515					520					525			
55	Val	Leu	Asn	Gly	Ala	Gln	Ser	Lys	Asn	Phe	His	Leu	Arg	Pro	Arg	Asp
		530					535					540				
60	Leu	Ile	Ser	Asn	Ile	Asn	Val	Ile	Val	Leu	Glu	Leu	Lys	Gly	Ser	Glu
	545					550					555					560

Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala Thr Ile Val Glu
565 570 575

5 Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ala Gln Ser Ile Ile Ser Thr Leu
580 585 590

Thr

10

<210> 210

<211> 1779

15 <212> DNA

<213> Yapay Sekans

<220>

<223> 4B9 Fab HC-Fc topuzu (LALA P329G)-IL-2 qm

20

<400> 210

gaggtgcagc tgctcgaaag cggcggagga ctggtgcagc ctggcggcag cctgagactg
60

25 tcttgcgcgc ccagcggcctt caccttcagc agctacgcca tgagctgggt ccgccaggcc
120

cctggcaagg gactggaatg ggtgtccgcc atcatcggct ctggcgccag cacctactac
180

30

gccgacagcg tgaagggccg gttcaccatc agccgggaca acagcaagaa caccctgtac
240

35 ctgcagatga acagcctgcg ggccgaggac accgccgtgt actactgcgc caagggatgg
300

ttcggcggct tcaactactg gggacagggc accctgggtca cagtgtccag cgctagcacc
360

40 aagggcccat cggtcttccc cctggcacc cctccaaga gcacctctgg gggcacagcg
420

gccctgggct gcctggtcaa ggactacttc cccgaaccgg tgacgggtgtc gtggaactca
480

45

ggcgccctga ccagcggcgt gcacaccttc ccggctgtcc tacagtccctc aggactctac
540

50 tccctcagca gcgtgggtgac cgtgccctcc agcagcttgg gcacccagac ctacatctgc
600

aacgtgaatc acaagcccag caacaccaag gtggacaaga aagttgagcc caaatcttgt
 660
 gacaaaactc acacatgccc accgtgcccga gcacctgaag ctgcaggggg accgtcagtc
 5 720
 ttctcttccc ccccaaaacc caaggacacc ctcatgatct cccggacccc tgaggtcaca
 780
 10 tgcgtgggtg tggacgtgag ccacgaagac cctgagggtca agttcaactg gtacgtggac
 840
 ggcgtggagg tgcataatgc caagacaaag ccgcgggagg agcagtacaa cagcacgtac
 900
 15 cgtgtgggtc gcgtcctcac cgtcctgcac caggactggc tgaatggcaa ggagtacaag
 960
 tgcaaggtct ccaacaaagc cctcggcgcc cccatcgaga aaaccatctc caaagccaaa
 20 1020
 gggcagcccc gagaaccaca ggtgtacacc ctgcccccat gccgggatga gctgaccaag
 1080
 25 aaccaggtca gcctgtgggtg cctgggtcaaa ggcttctatc ccagcgacat gcccggtggag
 1140
 tgggagagca atgggcagcc ggagaacaac tacaagacca cgcctcccgt gctggactcc
 1200
 30 gacggctcct tcttctctta cagcaagctc accgtggaca agagcaggtg gcagcagggg
 1260
 aacgtcttct catgctccgt gatgcatgag gctctgcaca accactacac gcagaagagc
 35 1320
 ctctccctgt ctccgggtgg cggcggaggc tccggaggcg gaggttcttg cggaggtggc
 1380
 40 gctcctgcct cctccagcac caagaaaacc cagctccagc tggaacatct cctgctggat
 1440
 ctgcagatga tctgaacgg catcaacaac tacaagaacc ccaagctgac ccggatgctg
 1500
 45 accgccaaagt tcgccaatgcc caagaaggcc accgagctga aacatctgca gtgcctggaa
 1560
 gaggaactga agcctctgga agaggtgctg aacggcgccc agtccaagaa ctccacctg
 50 1620

aggcctcggg acctgatctc caacatcaac gtgatcgtgc tggaactgaa gggctccgag
1680

5 acaaccttca tgtgcgagta cgccgacgag acagctacca tcgtggaatt tctgaaccgg
1740

tggatcacct tcgcccagtc catcatctcc accctgacc 1779

10 <210> 211
<211> 215
<212> PRT
<213> Yapay Sekans

15 <220>
<223> 3F2 Fab LC

<400> 211

20 Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

25 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Thr Ser Ser
20 25 30

30 Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
35 40 45

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

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

40 Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Ile Met Leu Pro
85 90 95

45 Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala
100 105 110

50 Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser
115 120 125

Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu

130

135

140

5 Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser
 145 150 155 160

10 Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu
 165 170 175

15 Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val
 180 185 190

20 Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys
 195 200 205

25 Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210 215

30 <210> 212
 <211> 645
 <212> DNA
 <213> Yapay Sekans

35 <220>
 <223> 3F2 Fab LC

40 <400> 212
 gagatcgtgc tgaccacagtc ccccggcacc ctgtctctga gccctggcga gagagccacc
 60

45 ctgtcctgca gagcctccca gtccgtgacc tctcctacc tcgcctggta tcagcagaag
 120

50 cccggccagg cccctcggct gctgatcaac gtgggcagtc ggagagccac cggcatccct
 180

 gaccggttct ccggtctctgg ctccggcacc gacttcaccc tgaccatctc ccggtctgaa
 240

 cccgaggact tcgccgtgta ctactgccag cagggcatca tgetgcccc cacttttggc
 300

 cagggcacca aggtggaaat caagcgtacg gtggccgctc cctccgtgtt catcttccca
 360

 ccctccgacg agcagctgaa gtccggcacc gccctccgtcg tgtgcctgct gaacaacttc
 420

tacccccgog aggccaaggt gcagtggaag gtggacaacg cctgcagtc cggcaactcc
480

5 caggaatccg tcaccgagca ggactccaag gacagcacct actccctgtc ctccaccctg
540

accctgtcca aggccgacta cgagaagcac aaggtgtacg cctgcgaagt gaccaccag
600

10 ggcctgtcca gccccgtgac caagtccttc aaccggggcg agtgc 645

<210> 213

15 <211> 446

<212> PRT

<213> Yapay Sekans

<220>

20 <223> L19 Fab HC-Fc deliği (LALA P329G)

<400> 213

25 Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Phe
20 25 30

30

Ser Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

35

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

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

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

Ala Lys Pro Phe Pro Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
100 105 110

50

Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala

	115	120	125	
5	Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu	130	135	140
10	Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly	145	150	155
15	Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser	165	170	175
20	Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu	180	185	190
25	Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr	210	215	220
30	Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe	225	230	235
35	Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro	245	250	255
40	Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val	260	265	270
45	Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr	275	280	285
50	Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val	290	295	300
	Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys	305	310	315
	Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser			

325

330

335

5 Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Cys Thr Leu Pro Pro
 340 345 350

10 Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala Val
 355 360 365

15 Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
 370 375 380

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

20 Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
 405 410 415

25 Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
 420 425 430

30 Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 435 440 445

<210> 214
 <211> 1338
 <212> DNA
 35 <213> Yapay Sekans

<220>
 <223> L19 Fab HC-Fc deliği (LALA P329G)

40 <400> 214
 gaggtgcagc tggttgagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggggtc cctgagactc
 60

45 tcctgtgcag cctctggatt caccttttagc agttttttcga tgagctgggt ccgccaggct
 120

ccagggaagg ggctggagtg ggtctcatct atttccggta gttcgggtac cacatactac
 180

50 gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat
 240

ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaaccgttt
 300

5 ccgtattttg actactgggg ccagggaacc ctggtcaccg tctcgagtgc tagcaccaag
 360

ggccccctcgg tgttccccct ggccccccagc agcaagagca ccagcggcgg cacagccgct
 420

10 ctgggctgcc tggtaagga ctacttcccc gagcccgatga ccgtgtcctg gaacagcggg
 480

gccctgacct ccggcgtgca caccttcccc gccgtgctgc agagtctctg cctgtatagc
 540

15 ctgagcagcg tggtcaccgt gccttctagc agcctgggca ccagaccta catctgcaac
 600

20 gtgaaccaca agcccagcaa caccaaggtg gacaagaagg tggagcccaa gagctgagac
 660

aaaactcaca catgcccacc gtgcccagca cctgaagctg cagggggacc gtcagtcttc
 720

25 ctcttcccc caaaacccaa ggacaccctc atgatctccc ggaccctga ggtcacatgc
 780

gtggtggtgg acgtgagcca cgaagaccct gaggtcaagt tcaactggta cgtggacggc
 840

30 gtggaggtgc ataatgcaa gacaaagccg cgggaggagc agtacaacag cacgtaccgt
 900

gtggtcagcg tcttcaccgt cctgcaccag gactggctga atggcaagga gtacaagtgc
 960

35 aaggtctcca acaaagccct cggcgccccc atcgagaaaa ccatctccaa agccaaaggg
 1020

40 cagccccgag aaccacaggt gtgcaccctg ccccatccc gggatgagct gaccaagaac
 1080

caggtcagcc tctcgtgcgc agtcaaaggc ttctatccca gcgacatgc cgtggagtgg
 1140

45 gagagcaatg ggcagccgga gaacaactac aagaccagc ctcccgtgct ggactccgac
 1200

50 ggctccttct tctcgtgag caagctcacc gtggacaaga gcagggtggc gcagggggaaac
 1260

gtctttctcat gctccgtgat gcatgaggct ctgcacaacc actacacgca gaagagcctc
1320

tccctgtctc cgggtaaa 1338

5

<210> 215

<211> 592

<212> PRT

10 <213> Yapay Sekans

<220>

<223> L19 Fab HC-Fc topuzu (LALA P329G)-IL-2 qm

15 <400> 215

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

20

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Phe
20 25 30

25

Ser Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

30

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

35

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

40

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

45

Ala Lys Pro Phe Pro Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
100 105 110

50

Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala
115 120 125

Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu
130 135 140

	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	145	150	155	160
5	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	165	170	175	
10	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	180	185	190	
15	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	195	200	205	
20	Lys	Val	Asp	Lys	Lys	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys	Thr	His	Thr	210	215	220	
25	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Ala	Ala	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	225	230	235	240
30	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	245	250	255	
35	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	260	265	270	
40	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	275	280	285	
45	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	290	295	300	
50	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	305	310	315	320
	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Gly	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	325	330	335	
	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	340	345	350	

	Cys	Arg	Asp	Glu	Leu	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Trp	Cys	Leu	Val
			355					360					365			
5	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly
		370					375					380				
10	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp
	385					390					395					400
15	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp
					405					410					415	
20	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His
				420					425					430		
25	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Gly	Gly	Gly
			435					440					445			
30	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ala	Pro	Ala	Ser	Ser
		450					455					460				
35	Ser	Thr	Lys	Lys	Thr	Gln	Leu	Gln	Leu	Glu	His	Leu	Leu	Leu	Asp	Leu
	465					470					475					480
40	Gln	Met	Ile	Leu	Asn	Gly	Ile	Asn	Asn	Tyr	Lys	Asn	Pro	Lys	Leu	Thr
					485					490					495	
45	Arg	Met	Leu	Thr	Ala	Lys	Phe	Ala	Met	Pro	Lys	Lys	Ala	Thr	Glu	Leu
				500					505					510		
50	Lys	His	Leu	Gln	Cys	Leu	Glu	Glu	Glu	Leu	Lys	Pro	Leu	Glu	Glu	Val
		515					520					525				
55	Leu	Asn	Gly	Ala	Gln	Ser	Lys	Asn	Phe	His	Leu	Arg	Pro	Arg	Asp	Leu
		530					535					540				
60	Ile	Ser	Asn	Ile	Asn	Val	Ile	Val	Leu	Glu	Leu	Lys	Gly	Ser	Glu	Thr
	545					550					555					560

Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala Thr Ile Val Glu Phe
565 570 575

5 Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ala Gln Ser Ile Ile Ser Thr Leu Thr
580 585 590

<210> 216

10 <211> 1776

<212> DNA

<213> Yapay Sekans

<220>

15 <223> L19 Fab HC-Fc topuzu (LALA P329G)-IL-2 qm

<400> 216

gaggtgcagc tggtggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggggtc cctgagactc
60

20

tcctgtgcag cctctggatt caccttttagc agtttttcga tgagctgggt ccgccaggct
120

ccagggaagg ggctggagtg ggtctcatct atttccggta gttcgggtac cacatactac
25 180

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tcagagaca attccaagaa cacgctgtat
240

30 ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaaccgttt
300

ccgtattttg actactgggg ccagggaacc ctggtcaccg tctcgagtgc tagcaccaag
360

35

ggcccatcgg tcttccccct ggcacctcc tccaagagca cctctggggg cacagcggcc
420

ctgggctgcc tggtaagga ctacttccc gaaccgggtga cgggtgtcgtg gaactcaggc
40 480

gccctgacca gcggcgtgca caccttccc gctgtcctac agtcctcagg actctactcc
540

45 ctcagcagcg tggtgaccgt gccctccagc agcttgggca cccagaccta catctgcaac
600

gtgaatcaca agcccagcaa caccaagggtg gacaagaaag ttgagcccaa atcttgtgac
660

50

aaaactcaca catgcccacc gtgcccagca cctgaagctg caggggggacc gtcagtcttc
720

ctctttcccc caaaacccaa ggacaccctc atgatctccc ggaccctga ggtcacatgc
780

5 gtggtggtgg acgtgagcca cgaagaccct gaggtcaagt tcaactggta cgtggacggc
840

gtggaggtgc ataatgccaa gacaaagccg cgggaggagc agtacaacag cacgtaccgt
900

10 gtggtcagcg tcttcaccgt cctgcaccag gactggctga atggcaagga gtacaagtgc
960

aaggtctcca acaaagccct cggcgccccc atcgagaaaa ccatctccaa agccaaaggg
15 1020

cagcccgag aaccacaggt gtacaccctg ccccatgcc gggatgagct gaccaagaac
1080

20 caggtcagcc tgtggtgcct ggtcaaaggc ttctatccca gcgacatgc cgtggagtgg
1140

gagagcaatg ggcagccgga gaacaactac aagaccacgc ctcccgctgt ggactccgac
1200

25 ggctccttct tctctacag caagctcacc gtggacaaga gcaggtggca gcaggggaac
1260

gtcttctcat gctccgtgat gcatgaggct ctgcacaacc actacacgca gaagagcctc
30 1320

tcctgtctc cgggtggcgg cggaggctcc ggaggcggag gttctggcgg aggtggcgt
1380

35 cctgcctcct ccagcaccaa gaaaaccag ctccagctgg aacatctcct gctggatctg
1440

cagatgatcc tgaacggcat caacaactac aagaacccca agctgaccgg gatgctgacc
1500

40 gccaaagtct ccatgcccaa gaaggccacc gagctgaaac atctgcagtg cctggaagag
1560

gaactgaagc ctctggaaga ggtgctgaac ggcgcccagt ccaagaactt ccacctgagg
45 1620

cctcgggacc tgatctccaa catcaacgtg atcgtgctgg aactgaaggg ctccgagaca
1680

50 accttcatgt gcgagtacgc cgacgagaca gctaccatcg tggaatttct gaaccggtgg
1740

atcaccttcg cccagttccat catctccacc ctgacc

1776

```

5  <210> 217
   <211> 215
   <212> PRT
   <213> Yapay Sekans

   <220>
10  <223> L19 Fab LC

   <400> 217

15  Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
    1             5             10             15

    Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser
    20             20             25             30

    Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
    25             35             40             45

    Ile Tyr Tyr Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
    30             50             55             60

    Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu
    35             65             70             75             80

    Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Thr Gly Arg Ile Pro
    40             85             90             95

    Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala
    45             100            105            110

    Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser
    50             115            120            125

    Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu
    55             130            135            140

    Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser
    60             145            150            155            160

```


Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu
 165 170 175

5 Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val
 180 185 190

10 Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys
 195 200 205

15 Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210 215

<210> 218
 <211> 645
 20 <212> DNA
 <213> Yapay Sekans

<220>
 <223> L19 Fab LC

25 <400> 218
 gaaattgtgt tgacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc
 60

30 ctctcctgca gggccagtca gagtgttagc agcagctact tagcctggta ccagcagaaa
 120

cctggccagg ctcccaggct cctcatctat tatgcatcca gcagggccac tggcatccca
 180

35 gacagggttca gtggcagtgg gtctgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag
 240

cctgaagatt ttgcagtgta ttactgtcag cagacgggtc gtattcctcc gacgttcggc
 40 300

caagggacca aggtggaaat caaacgtacg gtggctgcac catctgtctt catcttcccg
 360

45 ccattctgatg agcagttgaa atctggaact gcctctgttg tgtgcctgct gaataacttc
 420

tatcccagag aggccaaagt acagtggaag gtggataacg cctccaatc gggtaactcc
 480

50 caggagagtg tcacagagca ggacagcaag gacagcacct acagcctcag cagcaccctg
 540

acgctgagca aagcagacta cgagaaacac aaagtctacg cctgcgaagt caccatcag
600

5 ggcctgagct cgcccgtcac aaagagcttc aacaggggag agtgt 645

<210> 219

<211> 445

10 <212> PRT

<213> Yapay Sekans

<220>

15 <223> DP47 GS Fab HC-Fc deliği (LALA P329G)

<400> 219

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

20

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

25

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

30

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

35

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

40

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

Ala Lys Gly Ser Gly Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
100 105 110

45

Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro
115 120 125

50

Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val
130 135 140

	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	145	150	155								160	
5	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly		165	170								175	
10	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly		180	185								190	
15	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys		195	200								205	
20	Val	Asp	Lys	Lys	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys		210	215								220	
25	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Ala	Ala	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu		225	230								235	240
30	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu		245	250								255	
35	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys		260	265								270	
40	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys		275	280								285	
45	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu		290	295								300	
50	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys		305	310								315	320
55	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Gly	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys		325	330								335	
60	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Cys	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser		340	345								350	

Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala Val Lys
 355 360 365

5 Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
 370 375 380

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

15 Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
 405 410 415

20 Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
 420 425 430

His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 435 440 445

25 <210> 220
 <211> 1335
 <212> DNA
 <213> Yapay Sekans

30 <220>
 <223> DP47 GS Fab HC-Fc deliği (LALA P329G)

<400> 220
 35 gaggtgcaat tggtggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggggtc cctgagactc
 60

tcctgtgcag cctccggatt cacctttagc agttatgcc a tgagctgggt ccgccaggct
 120

40 ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtggtggtag cacatactac
 180

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat
 45 240

ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaaggcagc
 300

50 ggatttgact actggggcca aggaaccctg gtcaccgtct cgagtgctag caccaagggc
 360

cctccgtgt tccccctggc cccagcagc aagagcacca gcggcggcac agccgctctg
 420
 ggctgcctgg tcaaggacta cttccccgag ccggtgaccg tgtcctggaa cagcggagcc
 5 480
 ctgacctccg gcgtgcacac cttccccgcc gtgctgcaga gttctggcct gtatagcctg
 540
 agcagcgtgg tcaccgtgcc ttctagcagc ctgggcaccc agacctacat ctgcaacgtg
 10 600
 aaccacaagc ccagcaacac caaggtggac aagaaggtgg agcccaagag ctgcgacaaa
 660
 15 actcacacat gccaccgtg cccagcacct gaagctgcag ggggaccgtc agtcttctc
 720
 tccccccaa aaccaagga caccctcatg atctcccgga cccctgaggt cacatgcgtg
 20 780
 gtggtggacg tgagccacga agacctgag gtcaagttca actggtacgt ggacggcgtg
 840
 25 gaggtgcata atgccaagac aaagccgcgg gaggagcagt acaacagcac gtaccgtgtg
 900
 gtcagcgtcc tcaccgtcct gcaccaggac tggctgaatg gcaaggagta caagtgcaag
 960
 30 gtctccaaca aagccctcgg cccccccatc gagaaaacca tctccaaagc caaagggcag
 1020
 ccccgagaac cacaggtgtg caccctgcc ccattccggg atgagctgac caagaaccag
 35 1080
 gtcagcctct cgtgcgcagt caaaggettc tatcccagcg acatcgccgt ggagtgggag
 1140
 40 agcaatgggc agccggagaa caactacaag accacgcctc ccgtgctgga ctccgacggc
 1200
 tcctttcttc tcgtgagcaa gctcaccgtg gacaagagca ggtggcagca ggggaacgtc
 1260
 45 ttctcatgct ccgtgatgca tgaggetctg cacaaccact acacgcagaa gagcctctcc
 1320
 ctgtctccgg gtaaa 1335
 50
 <210> 221

<211> 591
 <212> PRT
 <213> Yapay Sekans

5 <220>
 <223> DP47 GS Fab HC-Fc topuzu (LALA P329G)-IL-2 qm

<400> 221

10	Glu	Val	Gln	Leu	Leu	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Gln	Pro	Gly	Gly	
	1				5					10					15		
15	Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Thr	Phe	Ser	Ser	Tyr	
				20					25					30			
20	Ala	Met	Ser	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val	
			35					40					45				
25	Ser	Ala	Ile	Ser	Gly	Ser	Gly	Gly	Ser	Thr	Tyr	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val	
		50					55					60					
30	Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn	Ser	Lys	Asn	Thr	Leu	Tyr	
	65					70					75				80		
35	Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	
				85						90					95		
40	Ala	Lys	Gly	Ser	Gly	Phe	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	
				100					105					110			
45	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	
			115					120					125				
50	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	
		130					135					140					
55	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	
	145					150					155				160		
60	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	
				165						170					175		

	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	
				180					185						190		
5	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	
			195					200					205				
10	Val	Asp	Lys	Lys	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	
		210					215					220					
15	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Ala	Ala	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	
	225					230					235					240	
20	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	
					245					250					255		
25	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	
				260					265					270			
30	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	
			275					280					285				
35	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	
		290					295					300					
40	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	
	305					310					315					320	
45	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Gly	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	
					325					330					335		
50	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Cys	
				340					345					350			
55	Arg	Asp	Glu	Leu	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Trp	Cys	Leu	Val	Lys	
			355					360					365				
60	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	
		370					375					380					

	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	385		390		395		400			
5	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln		405		410		415				
10	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn		420		425		430				
15	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Gly	Gly	Gly	Gly		435		440		445				
20	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ala	Pro	Ala	Ser	Ser	Ser		450		455		460				
25	Thr	Lys	Lys	Thr	Gln	Leu	Gln	Leu	Glu	His	Leu	Leu	Leu	Asp	Leu	Gln		465		470		475	480			
30	Met	Ile	Leu	Asn	Gly	Ile	Asn	Asn	Tyr	Lys	Asn	Pro	Lys	Leu	Thr	Arg		485		490		495				
35	His	Leu	Gln	Cys	Leu	Glu	Glu	Glu	Leu	Lys	Pro	Leu	Glu	Glu	Val	Leu		500		505		510				
40	Asn	Gly	Ala	Gln	Ser	Lys	Asn	Phe	His	Leu	Arg	Pro	Arg	Asp	Leu	Ile		515		520		525				
45	Ser	Asn	Ile	Asn	Val	Ile	Val	Leu	Glu	Leu	Lys	Gly	Ser	Glu	Thr	Thr		530		535		540	545	550	555	560
50	Phe	Met	Cys	Glu	Tyr	Ala	Asp	Glu	Thr	Ala	Thr	Ile	Val	Glu	Phe	Leu		565		570		575				
	Asn	Arg	Trp	Ile	Thr	Phe	Ala	Gln	Ser	Ile	Ile	Ser	Thr	Leu	Thr			580		585		590				

<210> 222
 <211> 1773
 <212> DNA
 5 <213> Yapay Sekans

 <220>
 <223> DP47 GS Fab HC-Fc topuzu (LALA P329G)-IL-2 qm

 10 <400> 222
 gaggtgcaat tggttgagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggggtc cctgagactc
 60

 tcctgtgcag cctccggatt caccttttagc agttatgcc a tgagctgggt ccgccaggct
 15 120

 ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtggtggtag cacatactac
 180

 20 gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat
 240

 ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaaggcagc
 300
 25
 ggatttgact actggggcca aggaaccctg gtcaccgtct cgagtgctag caccaagggc
 360

 ccacgggtct tccccctggc accctcctcc aagagcacct ctggggggcac agcggccctg
 30 420

 ggctgcctgg tcaaggacta cttccccgaa ccggtgacgg tgcgtggaa ctcaggcgcc
 480

 35 ctgaccagcg gcgtgcacac cttccccggc gtccctacagt cctcaggact ctactccctc
 540

 agcagcgtgg tgaccgtgcc ctccagcagc ttgggcaccc agacctacat ctgcaacgtg
 600
 40
 aatcacaagc ccagcaacac caaggtggac aagaaagttg agcccaaata ttgtgacaaa
 660

 actcacacat gccaccgtg cccagcacct gaagctgcag ggggaccgtc agtcttcctc
 45 720

 ttccccccaa aaccaagga caccctcatg atctcccgga cccctgaggt cacatgcgtg
 780

 50 gtggtggacg tgagccacga agaccctgag gtcaagttca actggtacgt ggacggcggtg
 840

gaggtgcata atgccaagac aaagccgcgg gaggagcagt acaacagcac gtaccgtgtg
 900
 gtcagcgtcc tcaccgtcct gcaccaggac tggctgaatg gcaaggagta caagtgcaag
 5 960
 gtctccaaca aagccctcgg cgcccccatc gagaaaacca tctccaaagc caaagggcag
 1020
 ccccgagaac cacaggtgta caccctgccc ccatgccggg atgagctgac caagaaccag
 10 1080
 gtcagcctgt ggtgcctggg caaaggettc tatcccagcg acatcgccgt ggagtgggag
 1140
 15 agcaatgggc agccggagaa caactacaag accacgcctc ccgtgctgga ctccgacggc
 1200
 tcctttcttc tctacagcaa gctcaccgtg gacaagagca ggtggcagca ggggaacgtc
 20 1260
 ttctcatgct ccgtgatgca tgaggctctg cacaaccact acacgcagaa gagcctctcc
 1320
 ctgtctccgg gtggcggcgg aggctccgga ggcggagggt ctggcggagg tggcgctcct
 25 1380
 gcctcctcca gcaccaagaa aaccagctc cagctggaac atctcctgct ggatctgcag
 1440
 30 atgatactga acggcatcaa caactacaag aaccccaagc tgaccgggat gctgaccgcc
 1500
 aagttcgcca tgccaagaa ggccaccgag ctgaaacatc tgcagtgcct ggaagaggaa
 35 1560
 ctgaagcctc tggaagaggt gctgaacggc gccagtgcca agaacttcca cctgaggcct
 1620
 cgggacctga tctccaacat caacgtgac gtgctggaac tgaagggctc cgagacaacc
 40 1680
 ttcatgtgcg agtacgccga cgagacagct accatcgtgg aatttctgaa ccggtggatc
 1740
 45 accttcgccc agtccatcat ctccaccctg acc 1773

 <210> 223
 50 <211> 591
 <212> PRT
 <213> Yapay Sekans

<220>

<223> DP47GL Fab HC-Fc topuzu (LALA P329G)- IL-2 wt

5 <400> 223

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

10

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

15

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

20

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

25

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

30

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

Ala Lys Gly Ser Gly Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
100 105 110

35

Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro
115 120 125

40

Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val
130 135 140

45

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

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

50

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

	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys
			195					200					205			
5																
	Val	Asp	Lys	Lys	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys
		210					215					220				
10																
	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Ala	Ala	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu
	225					230					235					240
15																
	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu
					245					250					255	
20																
	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys
				260					265					270		
25																
	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys
			275					280					285			
30																
	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu
		290					295					300				
35																
	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys
	305					310					315					320
40																
	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Gly	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys
					325					330					335	
45																
	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Cys
				340					345					350		
50																
	Arg	Asp	Glu	Leu	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Trp	Cys	Leu	Val	Lys
			355					360					365			
55																
	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln
		370					375					380				
60																
	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly
	385					390					395					400

	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	
					405					410					415		
5																	
	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	
				420					425					430			
10																	
	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Gly	Gly	Gly	Gly	
			435					440					445				
15																	
	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ala	Pro	Thr	Ser	Ser	Ser	
		450					455					460					
20																	
	Thr	Lys	Lys	Thr	Gln	Leu	Gln	Leu	Glu	His	Leu	Leu	Leu	Asp	Leu	Gln	
	465					470					475					480	
25																	
	Met	Ile	Leu	Asn	Gly	Ile	Asn	Asn	Tyr	Lys	Asn	Pro	Lys	Leu	Thr	Arg	
					485					490					495		
30																	
	Met	Leu	Thr	Phe	Lys	Phe	Tyr	Met	Pro	Lys	Lys	Ala	Thr	Glu	Leu	Lys	
				500					505					510			
35																	
	His	Leu	Gln	Cys	Leu	Glu	Glu	Glu	Leu	Lys	Pro	Leu	Glu	Glu	Val	Leu	
			515					520					525				
40																	
	Asn	Leu	Ala	Gln	Ser	Lys	Asn	Phe	His	Leu	Arg	Pro	Arg	Asp	Leu	Ile	
		530					535					540					
45																	
	Ser	Asn	Ile	Asn	Val	Ile	Val	Leu	Glu	Leu	Lys	Gly	Ser	Glu	Thr	Thr	
	545					550					555					560	
50																	
	Phe	Met	Cys	Glu	Tyr	Ala	Asp	Glu	Thr	Ala	Thr	Ile	Val	Glu	Phe	Leu	
					565					570					575		
55																	
	Asn	Arg	Trp	Ile	Thr	Phe	Ala	Gln	Ser	Ile	Ile	Ser	Thr	Leu	Thr		
				580					585					590			
60																	
	<210>																224
	<211>																1773

<212> DNA

<213> Yapay Sekans

<220>

5 <223> DP47GS Fab HC-Fc topuzu (LALA P329G)- IL-2 wt

<400> 224

gaggtgcaat tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggggtc cctgagactc
60

10

tcctgtgcag cctccggatt cacctttagc agttatgcc a tgagctgggt ccgccaggct
120

15

ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtgggtggtag cacatactac
180

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat
240

20

ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaaggcagc
300

ggatttgact actggggcca aggaaccctg gtcaccgtct cgagtgctag caccaagggc
360

25

ccatcggtct tccccctggc accctcctcc aagagcacct ctggggggcac agcggccctg
420

30

ggctgcctgg tcaaggacta cttccccgaa ccggtgacgg tgtcgtggaa ctcaggcgcc
480

ctgaccagcg gcgtgcacac cttccccggc gtccctacagt cctcaggact ctactccctc
540

35

agcagcgtgg tgaccgtgcc ctccagcagc ttgggcaccc agacctacat ctgcaacgtg
600

aatcacaagc ccagcaacac caaggtggac aagaaagttg agcccaaatac ttgtgacaaa
660

40

actcacacat gccacccgtg cccagcacct gaagctgcag ggggaccgtc agtcttctc
720

45

ttccccccaa aaccaagga caccctcatg atctccccga cccctgaggt cacatgcgtg
780

gtgggtggacg tgagccacga agaccctgag gtcaagttca actggtacgt ggacggcgtg
840

50

gaggtgcata atgccaagac aaagccgcgg gaggagcagt acaacagcac gtaccgtgtg
900

gtcagcgtcc tcaccgtcct gcaccaggac tggctgaatg gcaaggagta caagtgcaag
960

gtctccaaca aagccctcgg cgcccccatc gagaaaacca tctccaaagc caaagggcag
5 1020

ccccgagaac cacaggtgta caccctgccc ccatgccggg atgagctgac caagaaccag
1080

gtcagcctgt ggtgcctggg caaaggcttc tatcccagcg acatgcccggt ggagtgggag
10 1140

agcaatgggc agccggagaa caactacaag accacgcctc ccgtgctgga ctccgacggc
1200

tcctttcttc tctacagcaa gctcaccgtg gacaagagca ggtggcagca ggggaacgtc
15 1260

ttctcatgct ccgtgatgca tgaggctctg cacaaccact acacgcagaa gagectctcc
20 1320

ctgtctccgg gtggcggcgg aggctccgga ggcggagggt ctggcggagg tggcgctcct
1380

acatcctcca gcaccaagaa aaccagctc cagctggaac atctcctgct ggatctgcag
25 1440

atgatcctga acggcatcaa caactacaag aaccccaagc tgaccgcgat gctgaccttc
1500

aagttctaca tgcccaagaa ggccaccgag ctgaaacatc tgcagtgcct ggaagaggaa
30 1560

ctgaagcctc tggaagaggt gctgaacctg gcccagtcca agaacttcca cctgaggcct
35 1620

cgggacctga tctccaacat caacgtgato gtgctggaac tgaagggctc cgagacaacc
1680

ttcatgtgcg agtacgccga cgagacagct accatcgtgg aatttctgaa ccggtggatc
40 1740

accttcgccc agtccatcat ctccaccctg acc 1773

45

<210> 225
<211> 215
<212> PRT
<213> Yapay Sekans

50

<220>
<223> DP47GS Fab LC

<400> 225

5	Glu	Ile	Val	Leu	Thr	Gln	Ser	Pro	Gly	Thr	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly
	1				5					10					15	
10	Glu	Arg	Ala	Thr	Leu	Ser	Cys	Arg	Ala	Ser	Gln	Ser	Val	Ser	Ser	Ser
				20					25					30		
15	Tyr	Leu	Ala	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Gln	Ala	Pro	Arg	Leu	Leu
			35					40					45			
20	Ile	Tyr	Gly	Ala	Ser	Ser	Arg	Ala	Thr	Gly	Ile	Pro	Asp	Arg	Phe	Ser
	50						55					60				
25	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr	Leu	Thr	Ile	Ser	Arg	Leu	Glu
	65					70					75					80
30	Pro	Glu	Asp	Phe	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Gln	Gln	Tyr	Gly	Ser	Ser	Pro
					85					90					95	
35	Leu	Thr	Phe	Gly	Gln	Gly	Thr	Lys	Val	Glu	Ile	Lys	Arg	Thr	Val	Ala
				100					105					110		
40	Ala	Pro	Ser	Val	Phe	Ile	Phe	Pro	Pro	Ser	Asp	Glu	Gln	Leu	Lys	Ser
			115					120					125			
45	Gly	Thr	Ala	Ser	Val	Val	Cys	Leu	Leu	Asn	Asn	Phe	Tyr	Pro	Arg	Glu
		130					135					140				
50	Ala	Lys	Val	Gln	Trp	Lys	Val	Asp	Asn	Ala	Leu	Gln	Ser	Gly	Asn	Ser
	145					150					155					160
55	Gln	Glu	Ser	Val	Thr	Glu	Gln	Asp	Ser	Lys	Asp	Ser	Thr	Tyr	Ser	Leu
					165					170					175	
60	Ser	Ser	Thr	Leu	Thr	Leu	Ser	Lys	Ala	Asp	Tyr	Glu	Lys	His	Lys	Val
				180					185					190		
65	Tyr	Ala	Cys	Glu	Val	Thr	His	Gln	Gly	Leu	Ser	Ser	Pro	Val	Thr	Lys

195

200

205

Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

5 210 215

<210> 226

<211> 645

10 <212> DNA

<213> Yapay Sekans

<220>

<223> DP47GS Fab LC

15

<400> 226

gaaatcgtgt taacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc
6020 ctctcttgca gggccagtca gagtgttagc agcagctact tagcctggta ccagcagaaa
120cctggccagg ctcccaggct cctcatctat ggagcatcca gcagggccac tggcatccca
180

25

gacaggttca gtggcagtgg atccgggaca gacttcaetc tcaccatcag cagactggag
24030 cctgaagatt ttgcagtgtg ttactgtcag cagtatggta gctcaccgct gacgttcggc
300caggggacca aagtggaaat caaacgtacg gtggctgcac catctgtctt catcttcccg
36035 ccactctgatg agcagttgaa atctggaact gcctctgttg tgtgcctgct gaataacttc
420tatcccagag aggccaaagt acagtggaag gtggataacg cctccaatc gggtaactcc
480

40

caggagagtg tcacagagca ggacagcaag gacagcacct acagcctcag cagcaccctg
54045 acgctgagca aagcagacta cgagaaacac aaagtctacg cctgcgaagt caccatcag
600

ggcctgagct cgcccgtcac aaagagcttc aacaggggag agtgt 645

50 <210> 227

<211> 451

<212> PRT

<213> Yapay Sekans

<220>

<223> CH1A1A Fab HC-Fc deliği (wt)

5

<400> 227

10	Gln	Val	Gln	Leu	Val	Gln	Ser	Gly	Ala	Glu	Val	Lys	Lys	Pro	Gly	Ala
	1				5					10					15	
	Ser	Val	Lys	Val	Ser	Cys	Lys	Ala	Ser	Gly	Tyr	Thr	Phe	Thr	Glu	Phe
				20					25					30		
15	Gly	Met	Asn	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Gln	Gly	Leu	Glu	Trp	Met
			35					40					45			
20	Gly	Trp	Ile	Asn	Thr	Lys	Thr	Gly	Glu	Ala	Thr	Tyr	Val	Glu	Glu	Phe
		50					55					60				
	Lys	Gly	Arg	Val	Thr	Phe	Thr	Thr	Asp	Thr	Ser	Thr	Ser	Thr	Ala	Tyr
25	65					70					75					80
	Met	Glu	Leu	Arg	Ser	Leu	Arg	Ser	Asp	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys
					85					90					95	
30	Ala	Arg	Trp	Asp	Phe	Ala	Tyr	Tyr	Val	Glu	Ala	Met	Asp	Tyr	Trp	Gly
				100					105					110		
35	Gln	Gly	Thr	Thr	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser
			115					120					125			
40	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala
		130					135					140				
	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val
45	145					150					155					160
	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala
					165					170					175	
50	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val

180

185

190

5	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His
			195					200					205			
10	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Lys	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys
		210					215					220				
15	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly
	225					230					235					240
20	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met
					245					250					255	
25	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His
				260					265					270		
30	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val
			275					280					285			
35	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr
		290					295					300				
40	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly
	305					310					315					320
45	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile
					325					330					335	
50	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val
				340					345					350		
55	Cys	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Asp	Glu	Leu	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser
			355					360					365			
60	Leu	Ser	Cys	Ala	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu
		370					375					380				
65	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro

	385		390		395		400

5	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Val	Ser	Lys	Leu	Thr	Val
					405					410					415	

10	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met
				420					425					430		

15	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser
			435					440					445			

20	Pro	Gly	Lys													
			450													

20 <210> 228
 <211> 1353
 <212> DNA
 <213> Yapay Sekans

25 <220>
 <223> CH1A1A Fab HC-Fc deliği (wt)

<400> 228
 caggtgcagc tgggtgcagtc tggcgccgaa gtgaagaaac ctggagctag tgtgaagggtg
 30 60

tcttgcaagg ccagcgggcta caccttcacc gagttcggca tgaactgggt ccgacaggct
 120

35 ccaggccagg gcctcgaatg gatgggctgg atcaacacca agaccggcga ggccacctac
 180

gtggaagagt tcaagggcag agtgaccttc accacggaca ccagcaccag caccgcctac
 240

40 atggaactgc ggagcctgag aagcgacgac accgccgtgt actactgcgc cagatgggac
 300

ttcgcctatt acgtggaagc catggactac tggggccagg gcaccaccgt gaccgtgtct
 45 360

agcgctagca ccaagggccc aagcgtgttc cctctggccc ccagcagcaa gagcacaagc
 420

50 ggcggaacag ccgcctggg ctgcctggtc aaggactact tccccgagcc cgtgacagtg
 480

tcctggaaca gcggagccct gaccagcggc gtgcacacct ttccagccgt gctgcagagc
 540
 agcggcctgt acagcctgag cagcgtggtc acagtgccta gcagcagcct gggcaccag
 5 600
 acctacatct gcaacgtgaa ccacaagccc agcaacacca aggtggacaa gaaggtggag
 660
 10 cccaagagct gcgacaagac ccacacctgt cccccttgtc ctgcccctga gctgctgggc
 720
 ggaccagcgc tgttctgtt cccccaaag cccaaggaca cctgatgat cagccggacc
 780
 15 cccgaagtga cctgcgtggt ggtggacgtg tcccacgagg accctgaagt gaagttcaat
 840
 tggtagctgg acggcgtgga ggtgcacaat gccaaagacca agccccggga ggaacagtac
 20 900
 aacagcacct accgggtggt gtccgtgctg accgtgctgc accaggactg gctgaacggc
 960
 25 aaagagtaca agtgcaaggt ctccaacaag gccctgcctg ccccatcga gaaaaccatc
 1020
 agcaaggcca agggccagcc cagagaacc caggtgtgca cctgcccc cagcagagat
 1080
 30 gagctgacca agaaccaggt gtccctgagc tgtgccgtca agggcttcta cccagcgat
 1140
 atgccgtgg agtgggagag caacggccag cctgagaaca actacaagac cccccccct
 35 1200
 gtgctggaca gcgacggcag cttcttctctg gtgtccaaac tgaccgtgga caagagccgg
 1260
 40 tggcagcagg gcaacgtgtt cagctgcagc gtgatgcacg aggccctgca caaccactac
 1320
 acccagaagt cctgagcct gagccccggc aag 1353
 45
 <210> 229
 <211> 599
 <212> PRT
 <213> Yapay Sekans
 50
 <220>
 <223> CH1A1A Fab HC-Fc topuzu (wt)-IL-2 qm

<400> 229

5	Gln	Val	Gln	Leu	Val	Gln	Ser	Gly	Ala	Glu	Val	Lys	Lys	Pro	Gly	Ala
	1				5					10					15	
	Ser	Val	Lys	Val	Ser	Cys	Lys	Ala	Ser	Gly	Tyr	Thr	Phe	Thr	Glu	Phe
10				20					25					30		
	Gly	Met	Asn	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Gln	Gly	Leu	Glu	Trp	Met
			35					40					45			
15	Gly	Trp	Ile	Asn	Thr	Lys	Thr	Gly	Glu	Ala	Thr	Tyr	Val	Glu	Glu	Phe
		50					55					60				
20	Lys	Gly	Arg	Val	Thr	Phe	Thr	Thr	Asp	Thr	Ser	Thr	Ser	Thr	Ala	Tyr
	65					70					75					80
	Met	Glu	Leu	Arg	Ser	Leu	Arg	Ser	Asp	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys
25					85					90					95	
	Ala	Arg	Trp	Asp	Phe	Ala	Tyr	Tyr	Val	Glu	Ala	Met	Asp	Tyr	Trp	Gly
30				100					105					110		
	Gln	Gly	Thr	Thr	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser
			115					120					125			
35	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala
		130					135					140				
40	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val
	145					150					155					160
	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala
45					165					170					175	
	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val
				180					185					190		
50																
	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His

	195	200	205
5	Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys 210 215 220		
10	Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly 225 230 235 240		
15	Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met 245 250 255		
20	Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His 260 265 270		
25	Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val 275 280 285		
30	His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr 290 295 300		
35	Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly 305 310 315 320		
40	Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile 325 330 335		
45	Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val 340 345 350		
50	Tyr Thr Leu Pro Pro Cys Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser 355 360 365		
	Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu 370 375 380		
	Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro 385 390 395 400		
	Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val		

	405	410	415
5	Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met 420 425 430		
10	His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser 435 440 445		
15	Pro Gly Lys Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly 450 455 460		
	Gly Gly Ala Pro Ala Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu 465 470 475 480		
20	Glu His Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn 485 490 495		
25	Tyr Lys Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Ala Lys Phe Ala Met 500 505 510		
30	Pro Lys Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu 515 520 525		
	Leu Lys Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Gly Ala Gln Ser Lys Asn Phe 530 535 540		
35	His Leu Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu 545 550 555 560		
40	Glu Leu Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu 565 570 575		
45	Thr Ala Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ala Gln 580 585 590		
50	Ser Ile Ile Ser Thr Leu Thr 595		
	<210> 230		

<211> 1797
<212> DNA
<213> Yapay Sekans

5 <220>
<223> CH1A1A Fab HC-Fc topuzu (wt)-IL-2 qm

<400> 230
caggtgcagc tgggtgcagtc tggcgccgaa gtgaagaaac ctggagctag tgtgaagggtg
10 60

tcctgcaagg ccagcggcta caccttcacc gagttcggca tgaactgggt ccgacaggct
120

15 ccaggccagg gctcgaatg gatgggctgg atcaacacca agaccggcga ggccacctac
180

gtggaagagt tcaagggcag agtgaccttc accacggaca ccagcaccag caccgcctac
240

20 atggaactgc ggagcctgag aagcgacgac accgccgtgt actactgcgc cagatgggac
300

ttcgctatt acgtggaagc catggactac tggggccagg gcaccaccgt gaccgtgtct
25 360

agcgctagca ccaagggccc aagcgtgttc cctctggccc ccagcagcaa gagcacaagc
420

30 ggcggaacag ccgccctggg ctgcctggtc aaggactact tccccgagcc cgtgacagtg
480

tcctggaaca gcggagccct gaccagcggc gtgcacacct ttccagccgt gctgcagagc
540

35 agcggcctgt acagcctgag cagcgtggtc acagtgccta gcagcagcct gggcaccag
600

acctacatct gcaacgtgaa ccacaagccc agcaacacca aggtggacaa gaaggtggag
40 660

cccaagagct gcgacaagac ccacacctgt ccccttgctc ctgccctga gctgctgggc
720

45 ggaccagcgt tgttcctgtt cccccaaag cccaaggaca cctgatgat cagccggacc
780

cccgaagtga cctgcgtggg ggtggacgtg tcccacgagg accotgaagt gaagttcaat
840

50 tggtagctgg acggcgtgga ggtgcacaat gccaaagacca agccccggga ggaacagtac
900

aacagcacct accgggtggt gtccgtgctg accgtgctgc accaggactg gctgaacggc
 960

5 aaagagtaca agtgcaaggt ctccaacaag gccctgcctg ccccatoga gaaaaccatc
 1020

agcaaggcca agggccagcc cagagaaccc caggtgtaca cctgcccc ctgcagagat
 1080

10 gagctgacca agaaccaggt gtccctgtgg tgtctgggtca agggcttcta cccagcgat
 1140

atcgccgtgg agtgggagag caacggccag cctgagaaca actacaagac cccccccct
 15 1200

gtgctggaca gcgacggcag cttcttcctg tactccaaac tgaccgtgga caagagccgg
 1260

20 tggcagcagg gcaacgtggt cagctgcagc gtgatgcacg aggccttgca caaccactac
 1320

accagaagt cctgagcct gagccccggc aagtccggag gcggaggctc cggcggcgga
 1380

25 ggttctggcg gaggtggcgc tctgcctcc tccagcacca agaaaaccca gctccagctg
 1440

gaacatctcc tgctggatct gcagatgato ctgaacggca tcaacaacta caagaacccc
 30 1500

aagctgaccc ggatgctgac cgccaagttc gccatgcca agaaggccac cgagctgaaa
 1560

35 catctgcagt gcctggaaga ggaactgaag cctctggaag aggtgctgaa cggcgcccag
 1620

tccaagaact tccacctgag gcctcgggac ctgatctcca acatcaacgt gatcgtgctg
 1680

40 gaactgaagg gctccgagac aaccttcattg tgcgagtacg ccgacgagac agctaccatc
 1740

gtggaatttc tgaaccggtg gatcaccttc gccagtgcca tcatctccac cctgacc
 45 1797

<210> 231
 <211> 215
 50 <212> PRT
 <213> Yapay Sekans

<220>

<223> 2F1 Fab LC

<400> 231

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

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

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

20 Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Lys Arg Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

25 Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys His Gln Tyr Tyr Thr Tyr Pro Leu
85 90 95

30 Phe Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala
100 105 110

35 Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser
115 120 125

40 Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu
130 135 140

45 Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser
145 150 155 160

Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu
165 170 175

50 Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val
180 185 190

Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys
 195 200 205

5

Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210 215

10

<210> 232
 <211> 645
 <212> DNA
 <213> Yapay Sekans

15

<220>
 <223> 2F1 Fab LC

20

<400> 232
 gatatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtgggaga cagagtcacc
 60

atcacttgca aggccagtgc ggctgtgggt acgtatgttg cgtggtatca gcagaaacca
 120

25

gggaaagcac ctaagctcct gatctattcg gcatcctacc gcaaaagggg agtcccatca
 180

aggttcagtg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag tctgcaacct
 240

30

gaagatttcg caacttacta ctgtcaccaa tattacacct atcctctatt cacgtttggc
 300

35

cagggcacca agctcgagat caagcgtacg gtggctgcac catctgtctt catcttcccg
 360

ccatctgatg agcagttgaa atctggaact gcctctgttg tgtgcctgct gaataacttc
 420

40

tatcccagag aggccaaagt acagtggaag gtggataacg cctccaatc gggtaactcc
 480

caggagagtg tcacagagca ggacagcaag gacagcacct acagcctcag cagcaccttg
 540

45

acgctgagca aagcagacta cgagaaacac aaagtctacg cctgcgaagt caccatcag
 600

50

ggcctgagct cgcccgtcac aaagagcttc aacaggggag agtgt 645

<210> 233

<211> 451
 <212> PRT
 <213> Yapay Sekans

5 <220>
 <223> 2B10 Fab HC-Fc topuzu (LALA P329G)

<400> 233

10	Gln	Val	Gln	Leu	Val	Gln	Ser	Gly	Ala	Glu	Val	Lys	Lys	Pro	Gly	Ser	1	5	10	15
15	Ser	Val	Lys	Val	Ser	Cys	Lys	Ala	Ser	Gly	Gly	Thr	Phe	Ser	Ser	Tyr	20	25	30	
20	Ala	Ile	Ser	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Gln	Gly	Leu	Glu	Trp	Met	35	40	45	
	Gly	Gly	Ile	Ile	Pro	Ile	Phe	Gly	Thr	Ala	Asn	Tyr	Ala	Gln	Lys	Phe	50	55	60	
25	Gln	Gly	Arg	Val	Thr	Ile	Thr	Ala	Asp	Lys	Ser	Thr	Ser	Thr	Ala	Tyr	65	70	75	80
30	Met	Glu	Leu	Ser	Ser	Leu	Arg	Ser	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	85	90	95	
35	Ala	Arg	Leu	Tyr	Gly	Tyr	Ala	Tyr	Tyr	Gly	Ala	Phe	Asp	Tyr	Trp	Gly	100	105	110	
40	Gln	Gly	Thr	Thr	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	115	120	125	
	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	130	135	140	
45	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	145	150	155	160
50	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	165	170	175	

	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val
				180					185					190		
5	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His
			195					200					205			
10	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Lys	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys
		210					215					220				
15	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Ala	Ala	Gly
	225					230					235					240
20	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met
					245					250					255	
	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His
				260					265					270		
25	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val
			275					280					285			
30	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr
		290					295					300				
35	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly
	305					310					315					320
40	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Gly	Ala	Pro	Ile
					325					330					335	
	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val
				340					345					350		
45	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Cys	Arg	Asp	Glu	Leu	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser
			355					360					365			
50	Leu	Trp	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu
		370					375					380				

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

5 Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
 405 410 415

10 Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
 420 425 430

15 His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
 435 440 445

Pro Gly Lys
 450

20

<210> 234
 <211> 1353
 <212> DNA
 25 <213> Yapay Sekans

<220>
 <223> 2B10 Fab HC-Fc topuzu (LALA P329G)

30 <400> 234
 caggtgcaat tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctgggtcctc ggtgaaggtc
 60

35 tcttgcaagg cctccggagg cacattcagc agctacgcta taagctgggt gcgacaggcc
 120

cctggacaag ggctcgagtg gatgggaggg atcatccta tctttggtac agcaaactac
 180

40 gcacagaagt tccagggcag ggtcaccatt actgcagaca aatccacgag cacagcctac
 240

atggagctga gcagcctgag atctgaggac accgccgtgt attactgtgc gagactgtac
 300

45 ggttacgctt actacggtgc ttttgactac tggggccaag ggaccaccgt gaccgtctcc
 360

50 tcagctagca ccaagggccc atcggtcttc cccctggcac cctcctccaa gagcacctct
 420

gggggcacag cggccctggg ctgcctggtc aaggactact tccccgaacc ggtgacgggtg
 480
 tcgtggaact caggcgccct gaccagcggc gtgcacacct tcccggtgt cctacagtcc
 5 540
 tcaggactct actccctcag cagcgtgggtg accgtgccct ccagcagctt gggcaccag
 600
 10 acctacatct gcaacgtgaa tcacaagccc agcaacacca aggtggacaa gaaagttgag
 660
 cccaaatctt gtgacaaaac tcacacatgc ccaccgtgcc cagcacctga agctgcaggg
 720
 15 ggaccgtcag tcttctctt cccccaaaa cccaaggaca cctcatgat ctcccggacc
 780
 cctgaggtea catgcgtggg ggtggacgtg agccacgaag accctgaggt caagttcaac
 20 840
 tggtagctgg acggcgtgga ggtgcataat gccaaagacaa agccgcggga ggagcagtac
 900
 25 aacagcacgt accgtgtggg cagcgtcctc accgtcctgc accaggactg gctgaatggc
 960
 aaggagtaca agtgcaaggt ctccaacaaa gccctcggcg ccccatcga gaaaaccatc
 1020
 30 tccaaagcca aagggcagcc ccgagaacca caggtgtaca cctgcccc atgccgggat
 1080
 gagctgacca agaaccaggt cagcctgtgg tgcttggtea aaggcttcta tcccagcgac
 35 1140
 atcgccgtgg agtgggagag caatgggcag ccggagaaca actacaagac cagcctccc
 1200
 40 gtgctggaact ccgacggctc cttcttctc tacagcaagc tcaccgtgga caagagcagg
 1260
 tggcagcagg ggaacgtctt ctcatgctcc gtgatgcatg aggtcttgca caaccactac
 1320
 45 acgcagaaga gcctctccct gtctccgggt aaa 1353

 <210> 235
 50 <211> 805
 <212> PRT
 <213> Yapay Sekans

<220>

<223> 2B10 Fab HC-Fc deliği (LALA P329G)-scIL-10

5 <400> 235

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

10

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

15

Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

20

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

25

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

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

30

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

35

Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
115 120 125

40

Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala
130 135 140

45

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

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

50

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

	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	
			195					200					205				
5																	
	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Lys	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	
		210					215					220					
10																	
	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Ala	Ala	Gly	
	225					230					235					240	
15																	
	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	
					245					250					255		
20																	
	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	
				260					265					270			
25																	
	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	
			275					280					285				
30																	
	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	
		290					295					300					
35																	
	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	
	305					310					315					320	
40																	
	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Gly	Ala	Pro	Ile	
					325					330					335		
45																	
	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	
				340					345					350			
50																	
	Cys	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Asp	Glu	Leu	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	
			355					360					365				
55																	
	Leu	Ser	Cys	Ala	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	
		370					375					380					
60																	
	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	
	385					390					395					400	

	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Val	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	
					405					410					415		
5																	
	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	
				420					425					430			
10																	
	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	
			435					440					445				
15																	
	Pro	Gly	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	
		450					455					460					
20																	
	Ser	Ser	Pro	Gly	Gln	Gly	Thr	Gln	Ser	Glu	Asn	Ser	Cys	Thr	His	Phe	
	465					470					475					480	
25																	
	Pro	Gly	Asn	Leu	Pro	Asn	Met	Leu	Arg	Asp	Leu	Arg	Asp	Ala	Phe	Ser	
				485						490					495		
30																	
	Arg	Val	Lys	Thr	Phe	Phe	Gln	Met	Lys	Asp	Gln	Leu	Asp	Asn	Leu	Leu	
				500					505					510			
35																	
	Leu	Lys	Glu	Ser	Leu	Leu	Glu	Asp	Phe	Lys	Gly	Tyr	Leu	Gly	Cys	Gln	
			515					520					525				
40																	
	Ala	Leu	Ser	Glu	Met	Ile	Gln	Phe	Tyr	Leu	Glu	Glu	Val	Met	Pro	Gln	
		530					535					540					
45																	
	Ala	Glu	Asn	Gln	Asp	Pro	Asp	Ile	Lys	Ala	His	Val	Asn	Ser	Leu	Gly	
	545					550					555					560	
50																	
	Glu	Asn	Leu	Lys	Thr	Leu	Arg	Leu	Arg	Leu	Arg	Arg	Cys	His	Arg	Phe	
					565					570					575		
55																	
	Leu	Pro	Cys	Glu	Asn	Lys	Ser	Lys	Ala	Val	Glu	Gln	Val	Lys	Asn	Ala	
				580					585					590			
60																	
	Phe	Asn	Lys	Leu	Gln	Glu	Lys	Gly	Ile	Tyr	Lys	Ala	Met	Ser	Glu	Phe	
			595					600					605				

5	Asp	Ile	Phe	Ile	Asn	Tyr	Ile	Glu	Ala	Tyr	Met	Thr	Met	Lys	Ile	Arg	610	615	620	
10	Asn	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	625	630	635	640
15	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Ser	Pro	Gly	Gln	Gly	Thr	Gln	Ser	Glu	Asn	Ser	645	650	655	
20	Cys	Thr	His	Phe	Pro	Gly	Asn	Leu	Pro	Asn	Met	Leu	Arg	Asp	Leu	Arg	660	665	670	
25	Asp	Ala	Phe	Ser	Arg	Val	Lys	Thr	Phe	Phe	Gln	Met	Lys	Asp	Gln	Leu	675	680	685	
30	Asp	Asn	Leu	Leu	Leu	Lys	Glu	Ser	Leu	Leu	Glu	Asp	Phe	Lys	Gly	Tyr	690	695	700	
35	Leu	Gly	Cys	Gln	Ala	Leu	Ser	Glu	Met	Ile	Gln	Phe	Tyr	Leu	Glu	Glu	705	710	715	720
40	Val	Met	Pro	Gln	Ala	Glu	Asn	Gln	Asp	Pro	Asp	Ile	Lys	Ala	His	Val	725	730	735	
45	Asn	Ser	Leu	Gly	Glu	Asn	Leu	Lys	Thr	Leu	Arg	Leu	Arg	Leu	Arg	Arg	740	745	750	
50	Cys	His	Arg	Phe	Leu	Pro	Cys	Glu	Asn	Lys	Ser	Lys	Ala	Val	Glu	Gln	755	760	765	
	Val	Lys	Asn	Ala	Phe	Asn	Lys	Leu	Gln	Glu	Lys	Gly	Ile	Tyr	Lys	Ala	770	775	780	
	Met	Ser	Glu	Phe	Asp	Ile	Phe	Ile	Asn	Tyr	Ile	Glu	Ala	Tyr	Met	Thr	785	790	795	800
	Met	Lys	Ile	Arg	Asn												805			

<210> 236
 <211> 2415
 5 <212> DNA
 <213> Yapay Sekans

 <220>
 <223> 2B10 Fab HC-Fc deliği (LALA P329G)-scIL-10
 10
 <400> 236
 caggtgcaat tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctgggtcctc ggtgaaggtc
 60
 15 tcctgcaagg cctccggagg cacattcagc agctacgcta taagctgggt gcgacaggcc
 120
 cctggacaag ggctcgagtg gatgggaggg atcatcccta tctttggtac agcaaactac
 180
 20 gcacagaagt tccagggcag ggtcaccatt actgcagaca aatccacgag cacagcctac
 240
 atggagctga gcagcctgag atctgaggac accgccgtgt attactgtgc gagactgtac
 25 300
 ggttacgctt actacggtgc ttttgactac tggggccaag ggaccaccgt gaccgtctcc
 360
 30 tcagctagca ccaagggccc atcgggtcttc cccctggcac cctcctccaa gagcacctct
 420
 gggggcacag cggccctggg ctgcctggtc aaggactact tccccgaacc ggtgacggtg
 480
 35 tcgtggaact caggcgcctt gaccagcggc gtgcacacct tcccggctgt cctacagtcc
 540
 tcaggactct actccctcag cagcgtgggt accgtgccct ccagcagctt gggcaccag
 40 600
 acctacatct gcaacgtgaa tcacaagccc agcaacacca aggtggacaa gaaagttgag
 660
 45 cccaaatctt gtgacaaaac tcacacatgc ccaccgtgcc cagcacctga agctgcaggg
 720
 ggaccgtcag tcttctcttt ccccccaaaa cccaaggaca cctcatgat ctcccggacc
 780
 50 cctgaggtca catgcgtggg ggtggacgtg agccacgaag accctgaggt caagttcaac
 840

tggtagctgg acggcgtgga ggtgcataat gccaaagaaa agccgcggga ggagcagtag
 900

5 aacagcacgt accgtgtggt cagcgtcctc accgtcctgc accaggactg gctgaatggc
 960

aaggagtaca agtgcaagggt ctccaacaaa gccctcggcg ccccatcga gaaaaccatc
 1020

10 tccaaagcca aagggcagcc ccgagaacca caggtgtgca ccttgcccc atcccgggat
 1080

gagctgacca agaaccagggt cagcctctcg tgcgcagtca aaggcttcta tcccagcgac
 15 1140

atcgccgtgg agtgggagag caatgggcag ccggagaaca actacaagac cagcctccc
 1200

20 gtgctggact ccgacggctc cttcttcctc gtgagcaagc tcaccgtgga caagagcagg
 1260

tggcagcagg ggaacgtctt ctcatgctcc gtgatgcatg aggctctgca caaccactac
 1320

25 acgcagaaga gcctctccct gtctccgggt ggccggcgag gctccggagg cggaggatct
 1380

gggggaggcg gaagtagccc gggccagggc acccagagcg agaacagctg caccacttc
 30 1440

cccggcaacc tgcccaacat gctgcgggac ctgagggacg ccttcagcag agtgaaaacc
 1500

35 ttcttccaga tgaaggacca gctggacaac ctgctgctga aagagagcct gctggaagat
 1560

ttcaagggtt acctgggctg tcaggccctg agcgagatga tccagttcta cctggaagaa
 1620

40 gtgatgcccc aggcgagaaa ccaggacccc gacatcaagg cccacgtgaa cagcctgggc
 1680

gagaacctga aaacctgcg gctgagactg cggcggtgcc acagatttct gccctgcgag
 45 1740

aacaagagca aggcctgga acaggtgaag aacgccttca acaagctgca ggaaaagggc
 1800

50 atctacaagg ccattgtccga gttcgacatc ttcattcaact acatcgaagc ttacatgacc
 1860

atgaagatca gaaacggcgg aggcggatct ggcggcgggtg gaagtggagg cggaggatct
 1920

5 gggggaggcg gaagtagccc gggccagggc acccagagcg agaacagctg caccacttc
 1980

cccggcaacc tgcccaacat gctgcgggac ctgagggacg ccttcagcag agtgaaaacc
 2040

10 ttcttccaga tgaaggacca gctggacaac ctgctgctga aagagagcct gctggaagat
 2100

ttcaagggct acctgggctg tcaggccctg agcgagatga tccagttcta cctggaagaa
 2160

15 gtgatgcccc aggccgagaa ccaggacccc gacatcaagg cccacgtgaa cagcctgggc
 2220

20 gagaacctga aaacctgcg gctgagactg cggcggtgcc acagatttct gcctgcgag
 2280

aacaagagca aggccgtgga acaggtgaag aacgccttca acaagctgca ggaaaagggc
 2340

25 atctacaagg ccatgtccga gttcgacatc ttcatcaact acatcgaggc ctacatgaca
 2400

atgaaaatcc gcaat 2415

30

<210> 237
 <211> 631
 <212> PRT
 <213> Yapay Sekans

35

<220>
 <223> 2B10 Fab HC-Fc deliği (LALA P329G)-IL-10M1

<400> 237

40

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

45

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

50

Ala	Ile	Ser	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Gln	Gly	Leu	Glu	Trp	Met
		35					40					45			

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

	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	
				260					265					270			
5	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	
			275					280					285				
10	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	
		290					295					300					
15	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	
	305					310					315					320	
20	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Gly	Ala	Pro	Ile	
					325					330					335		
25	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	
				340					345					350			
30	Cys	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Asp	Glu	Leu	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	
			355					360					365				
35	Leu	Ser	Cys	Ala	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	
		370					375					380					
40	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	
	385					390					395					400	
45	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Val	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	
					405					410					415		
50	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	
				420					425					430			
55	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	
			435					440					445				
60	Pro	Gly	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	
		450					455					460					

	Ser	Ser	Pro	Gly	Gln	Gly	Thr	Gln	Ser	Glu	Asn	Ser	Cys	Thr	His	Phe	465	470	475	480
5	Pro	Gly	Asn	Leu	Pro	Asn	Met	Leu	Arg	Asp	Leu	Arg	Asp	Ala	Phe	Ser		485	490	495
10	Arg	Val	Lys	Thr	Phe	Phe	Gln	Met	Lys	Asp	Gln	Leu	Asp	Asn	Leu	Leu		500	505	510
15	Leu	Lys	Glu	Ser	Leu	Leu	Glu	Asp	Phe	Lys	Gly	Tyr	Leu	Gly	Cys	Gln		515	520	525
20	Ala	Leu	Ser	Glu	Met	Ile	Gln	Phe	Tyr	Leu	Glu	Glu	Val	Met	Pro	Gln		530	535	540
25	Glu	Asn	Leu	Lys	Thr	Leu	Arg	Leu	Arg	Leu	Arg	Arg	Cys	His	Arg	Phe		565	570	575
30	Leu	Pro	Cys	Glu	Asn	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Lys	Ser	Lys	Ala	Val		580	585	590
35	Glu	Gln	Val	Lys	Asn	Ala	Phe	Asn	Lys	Leu	Gln	Glu	Lys	Gly	Ile	Tyr		595	600	605
40	Lys	Ala	Met	Ser	Glu	Phe	Asp	Ile	Phe	Ile	Asn	Tyr	Ile	Glu	Ala	Tyr		610	615	620
45	Met	Thr	Met	Lys	Ile	Arg	Asn										625	630		
50	<210>	238																		
	<211>	1893																		
	<212>	DNA																		
	<213>	Yapay Sekans																		
	<220>																			
	<223>	2B10 Fab HC-Fc deliği (LALA P329G)-IL-10M1																		

<400> 238
caggtgcaat tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctgggtcctc ggtgaaggtc
60

5 tcttgcaagg cctccggagg cacattcagc agctacgcta taagctgggt gcgacaggcc
120

cctggacaag ggctcgagtg gatgggaggg atcatccta tctttggtac agcaaactac
180

10 gcacagaagt tccagggcag ggtcaccatt actgcagaca aatccacgag cacagcctac
240

atggagctga gcagcctgag atctgaggac accgccgtgt attactgtgc gagactgtac
15 300

ggttacgctt actacggtgc ttttgactac tggggccaag ggaccaccgt gaccgtctcc
360

20 tcagctagca ccaagggccc atcggtcttc cccctggcac cctcctccaa gagcacctct
420

gggggcacag cggccctggg ctgcctggtc aaggactact tccccgaacc ggtgacggtg
480

25 tcgtggaact caggcgccct gaccagcggc gtgcacacct tcccggctgt cctacagtcc
540

tcaggactct actcctcag cagcgtggtg accgtgccct ccagcagctt gggcaccag
30 600

acctacatct gcaacgtgaa tcacaagccc agcaacacca aggtggacaa gaaagttgag
660

35 cccaaatctt gtgacaaaac tcacacatgc ccaccgtgcc cagcacctga agctgcaggg
720

ggaccgtcag tcttcctctt cccccaaaa cccaaggaca cctcatgat ctcccggacc
780

40 cctgaggtca catgcgtggt ggtggacgtg agccacgaag accctgaggt caagttcaac
840

tggtagctgg acggcgtgga ggtgcataat gccaaagaaa agccgcggga ggagcagtac
45 900

aacagcacgt accgtgtggt cagcgtcctc accgtcctgc accaggactg gctgaatggc
960

50 aaggagtaca agtgcaaggc ctccaacaaa gccctcggcg ccccatcga gaaaaccatc
1020

tccaaagcca aagggcagcc ccgagaacca caggtgtgca cctgcccc atcccgggat
 1080

5 gagctgacca agaaccaggt cagcctctcg tgcgcagtca aaggcttcta tcccagcgac
 1140

atcgccgtgg agtgggagag caatgggcag ccgagaaca actacaagac cagcctccc
 1200

10 gtgctggact ccgacggctc cttcttcctc gtgagcaagc tcaccgtgga caagagcagg
 1260

tggcagcagg ggaacgtctt ctcatgctcc gtgatgcatg aggctctgca caaccactac
 1320

15 acgcagaaga gcctctccct gtctccgggt ggcggcggag gctccggagg cggaggaagt
 1380

20 ggcggcgggtg gcagctctcc aggccagggc acccagagcg agaacagctg caccacttc
 1440

cccggcaacc tgcccaacat gctgcgggac ctgagggacg ccttcagcag agtgaaaacc
 1500

25 ttcttccaga tgaaggacca gctggacaac ctgctgctga aagagagcct gctggaagat
 1560

ttcaagggct acctgggctg tcaggccctg agcgagatga tccagttcta cctggaagaa
 1620

30 gtgatgcccc aggcgagaaa ccaggacccc gacatcaagg cccacgtgaa cagcctgggc
 1680

gagaacctga aaacctgcg gctgagactg cggcggtgcc acagatttct gccctgcgag
 35 1740

aacggcggag gctctggcgg aaagtccaag gccgtggaac aggtgaagaa cgccttcaac
 1800

40 aagctgcagg aaaagggcat ctacaaggcc atgagcgagt tcgacatctt catcaactac
 1860

atcgaagctt acatgacaat gaagatacga aac 1893

45

<210> 239
 <211> 214
 <212> PRT
 <213> Yapay Sekans

50

<220>
 <223> 2B10 Fab LC

<400> 239

5	Asp	Ile	Gln	Met	Thr	Gln	Ser	Pro	Ser	Ser	Leu	Ser	Ala	Ser	Val	Gly
	1				5					10					15	
10	Asp	Arg	Val	Thr	Ile	Thr	Cys	Arg	Ala	Ser	Gln	Gly	Ile	Arg	Asn	Asp
				20					25					30		
15	Leu	Gly	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Lys	Ala	Pro	Lys	Arg	Leu	Ile
			35					40					45			
20	Tyr	Ala	Ala	Ser	Ser	Leu	Gln	Ser	Gly	Val	Pro	Ser	Arg	Phe	Ser	Gly
		50					55					60				
25	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Glu	Phe	Thr	Leu	Thr	Ile	Ser	Ser	Leu	Gln	Pro
	65					70					75				80	
30	Glu	Asp	Phe	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Cys	Leu	Gln	Asn	Gly	Leu	Gln	Pro	Ala
					85					90					95	
35	Thr	Phe	Gly	Gln	Gly	Thr	Lys	Val	Glu	Ile	Lys	Arg	Thr	Val	Ala	Ala
				100					105					110		
40	Pro	Ser	Val	Phe	Ile	Phe	Pro	Pro	Ser	Asp	Glu	Gln	Leu	Lys	Ser	Gly
			115					120					125			
45	Thr	Ala	Ser	Val	Val	Cys	Leu	Leu	Asn	Asn	Phe	Tyr	Pro	Arg	Glu	Ala
		130					135					140				
50	Lys	Val	Gln	Trp	Lys	Val	Asp	Asn	Ala	Leu	Gln	Ser	Gly	Asn	Ser	Gln
	145					150					155					160
55	Glu	Ser	Val	Thr	Glu	Gln	Asp	Ser	Lys	Asp	Ser	Thr	Tyr	Ser	Leu	Ser
					165					170					175	
60	Ser	Thr	Leu	Thr	Leu	Ser	Lys	Ala	Asp	Tyr	Glu	Lys	His	Lys	Val	Tyr
				180					185					190		
65	Ala	Cys	Glu	Val	Thr	His	Gln	Gly	Leu	Ser	Ser	Pro	Val	Thr	Lys	Ser

195

200

205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys

5 210

<210> 240

<211> 642

10 <212> DNA

<213> Yapay Sekans

<220>

<223> 2B10 Fab LC

15

<400> 240

gatatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtcggaga ccgggtcacc
6020 atcacctgcc gggcaagtca gggcattaga aatgatttag gctggtacca gcagaagcca
120gggaaagccc ctaagcgctt gatctatgct gcatccagtt tgcagagtgg cgtcccatca
180

25

aggttcagcg gcggtggatc cgggacagag ttcactctca ccatcagcag cttgcagcct
24030 gaagattttg ccacctatta ctgcttgcat aatggtctgc agcccgcgac gtttggccag
300ggcaccaaag tcgagatcaa gcgtacggtg gctgcacat ctgtcttcat cttcccgcca
36035 tctgatgagc agttgaaatc tggaactgcc tctgttgtgt gcctgctgaa taacttctat
420cccagagagg ccaaagtaca gtggaaggtg gataacgccc tccaatcggg taactcccag
480

40

gagagtgtca cagagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctcagcag caccctgacg
54045 ctgagcaaag cagactacga gaaacacaaa gtctacgcct gcgaagtcac ccatcagggc
600

ctgagctcgc ccgtcacaaa gagcttcaac aggggagagt gt 642

50 <210> 241

<211> 447

<212> PRT

<213> Yapay Sekans

<220>

<223> 4G8 Fab HC-Fc topuzu (LALA P329G)

5

<400> 241

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

15 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

15 Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

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

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

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

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

40 Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
115 120 125

40 Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys
130 135 140

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

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

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

180

185

190

5	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro	Ser	Asn
			195					200					205			
10	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Lys	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys	Thr	His
		210					215					220				
15	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Ala	Ala	Gly	Gly	Pro	Ser	Val
	225					230					235					240
20	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr
					245					250					255	
25	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu
				260					265					270		
30	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys
			275					280					285			
35	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser
		290					295					300				
40	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys
	305					310					315					320
45	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Gly	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile
					325					330					335	
50	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro
				340					345					350		
55	Pro	Cys	Arg	Asp	Glu	Leu	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Trp	Cys	Leu
			355					360					365			
60	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn
		370					375					380				
65	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser

385 390 395 400

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

10 Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
420 425 430

15 His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
435 440 445

<210> 242
<211> 1341
<212> DNA
<213> Yapay Sekans

20 <220>
<223> 4G8 Fab HC-Fc topuzu (LALA P329G)

25 <400> 242
gaggtgcaat tgttgagtc tgggggagggc ttggtacagc ctgggggggtc cctgagactc
60

30 tcctgtgcag cctccggatt caccttttagc agttatgccca tgagctgggt ccgccaggct
120

ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtgggtggtag cacatactac
180

35 gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat
240

ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaaggggtg
300

40 ctgggtaatt ttgactactg gggccaagga accctgggtca ccgtctcgag tgctagcacc
360

aagggcccat cggctctccc cctggcacc cctccaaga gcacctctgg gggcacagcg
420

45 gccctgggct gcctgggtcaa ggactacttc cccgaaccgg tgacgggtgtc gtggaactca
480

50 ggcgcctga ccagcggcgt gcacaccttc ccggctgtcc tacagtcctc aggactctac
540

tccctcagca gcggtggtgac cgtgccctcc agcagcttgg gcacccagac ctacatctgc
 600
 aacgtgaatc acaagcccag caacaccaag gtggacaaga aagttgagcc caaatcttgt
 5 660
 gacaaaactc acacatgccc accgtgcccga gcacctgaag ctgcaggggg accgtcagtc
 720
 ttctcttcc ccccaaaacc caaggacacc ctcatgatct cccggacccc tgaggtcaca
 10 780
 tgcgtggtgg tggacgtgag ccacgaagac cctgagggtca agttcaactg gtacgtggac
 840
 15 ggcgtggagg tgcataatgc caagacaaag ccgcgggagg agcagtacaa cagcacgtac
 900
 cgtgtggtca gcgtcctcac cgtcctgcac caggactggc tgaatggcaa ggagtacaag
 20 960
 tgcaagggtct ccaacaaagc cctcggcgcc cccatcgaga aaaccatctc caaagccaaa
 1020
 25 gggcagcccc gagaaccaca ggtgtacacc ctgcccccat gccgggatga gctgaccaag
 1080
 aaccagggtca gcctgtggtg cctggtcaaa ggcttctatc ccagcgacat cgcctggag
 1140
 30 tgggagagca atgggcagcc ggagaacaac tacaagacca cgcctcccgt gctggactcc
 1200
 gacggctcct tcttctctta cagcaagctc accgtggaca agagcagggtg gcagcagggg
 35 1260
 aacgtcttct catgctccgt gatgcatgag gctctgcaca accactacac gcagaagagc
 1320
 40 ctctccctgt ctccgggtaa a 1341

 <210> 243
 <211> 801
 45 <212> PRT
 <213> Yapay Sekans

 <220>
 <223> 4G8 Fab HC-Fc deliği (LALA P329G)-scIL-10
 50
 <400> 243

	Glu	Val	Gln	Leu	Leu	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Gln	Pro	Gly	Gly	
	1				5					10					15		
5	Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Thr	Phe	Ser	Ser	Tyr	
				20					25					30			
	Ala	Met	Ser	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val	
10			35					40					45				
	Ser	Ala	Ile	Ser	Gly	Ser	Gly	Gly	Ser	Thr	Tyr	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val	
	50						55					60					
15																	
	Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn	Ser	Lys	Asn	Thr	Leu	Tyr	
	65					70					75					80	
20																	
	Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	
					85					90					95		
25	Ala	Lys	Gly	Trp	Leu	Gly	Asn	Phe	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	
				100					105					110			
	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	
30			115					120					125				
	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	
	130						135					140					
35																	
	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	
	145					150					155					160	
40																	
	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	
					165					170					175		
45	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	
				180					185					190			
	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro	Ser	Asn	
50			195					200					205				

	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Lys	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys	Thr	His	
	210						215					220					
5	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Ala	Ala	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	
	225					230					235					240	
10	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	
					245					250					255		
15	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	
				260					265					270			
20	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	
			275					280					285				
25	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	
	290						295					300					
30	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	
	305					310					315					320	
35	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Gly	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	
					325					330					335		
40	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Cys	Thr	Leu	Pro	
				340					345					350			
45	Pro	Ser	Arg	Asp	Glu	Leu	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Ser	Cys	Ala	
			355					360					365				
50	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	
	370					375						380					
55	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	
	385					390					395					400	
60	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Val	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	
					405					410					415		

	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu
				420					425					430		
5	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Gly	Gly
			435					440					445			
10	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Ser	Pro	Gly
		450					455					460				
15	Gln	Gly	Thr	Gln	Ser	Glu	Asn	Ser	Cys	Thr	His	Phe	Pro	Gly	Asn	Leu
	465					470					475					480
20	Pro	Asn	Met	Leu	Arg	Asp	Leu	Arg	Asp	Ala	Phe	Ser	Arg	Val	Lys	Thr
					485					490					495	
25	Phe	Phe	Gln	Met	Lys	Asp	Gln	Leu	Asp	Asn	Leu	Leu	Leu	Lys	Glu	Ser
				500					505					510		
30	Leu	Leu	Glu	Asp	Phe	Lys	Gly	Tyr	Leu	Gly	Cys	Gln	Ala	Leu	Ser	Glu
			515					520					525			
35	Met	Ile	Gln	Phe	Tyr	Leu	Glu	Glu	Val	Met	Pro	Gln	Ala	Glu	Asn	Gln
		530					535					540				
40	Asp	Pro	Asp	Ile	Lys	Ala	His	Val	Asn	Ser	Leu	Gly	Glu	Asn	Leu	Lys
	545					550					555					560
45	Thr	Leu	Arg	Leu	Arg	Leu	Arg	Arg	Cys	His	Arg	Phe	Leu	Pro	Cys	Glu
					565					570					575	
50	Asn	Lys	Ser	Lys	Ala	Val	Glu	Gln	Val	Lys	Asn	Ala	Phe	Asn	Lys	Leu
				580					585				590			
55	Gln	Glu	Lys	Gly	Ile	Tyr	Lys	Ala	Met	Ser	Glu	Phe	Asp	Ile	Phe	Ile
			595					600					605			
60	Asn	Tyr	Ile	Glu	Ala	Tyr	Met	Thr	Met	Lys	Ile	Arg	Asn	Gly	Gly	Gly
		610					615					620				

	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	625	630	635	640
5	Ser	Ser	Pro	Gly	Gln	Gly	Thr	Gln	Ser	Glu	Asn	Ser	Cys	Thr	His	Phe		645	650	655
10	Pro	Gly	Asn	Leu	Pro	Asn	Met	Leu	Arg	Asp	Leu	Arg	Asp	Ala	Phe	Ser		660	665	670
15	Arg	Val	Lys	Thr	Phe	Phe	Gln	Met	Lys	Asp	Gln	Leu	Asp	Asn	Leu	Leu		675	680	685
20	Leu	Lys	Glu	Ser	Leu	Leu	Glu	Asp	Phe	Lys	Gly	Tyr	Leu	Gly	Cys	Gln		690	695	700
25	Ala	Leu	Ser	Glu	Met	Ile	Gln	Phe	Tyr	Leu	Glu	Glu	Val	Met	Pro	Gln		705	710	715
30	Ala	Glu	Asn	Gln	Asp	Pro	Asp	Ile	Lys	Ala	His	Val	Asn	Ser	Leu	Gly		725	730	735
35	Glu	Asn	Leu	Lys	Thr	Leu	Arg	Leu	Arg	Leu	Arg	Arg	Cys	His	Arg	Phe		740	745	750
40	Leu	Pro	Cys	Glu	Asn	Lys	Ser	Lys	Ala	Val	Glu	Gln	Val	Lys	Asn	Ala		755	760	765
45	Phe	Asn	Lys	Leu	Gln	Glu	Lys	Gly	Ile	Tyr	Lys	Ala	Met	Ser	Glu	Phe		770	775	780
50	Asp	Ile	Phe	Ile	Asn	Tyr	Ile	Glu	Ala	Tyr	Met	Thr	Met	Lys	Ile	Arg		785	790	795
	Asn																			
	<210>	244																		
	<211>	2403																		
	<212>	DNA																		
	<213>	Yapay Sekans																		

<220>

<223> 4G8 Fab HC-Fc deliği (LALA P329G)-scIL-10

5 <400> 244

gaggtgcaat tgttgagtc tgggggagggc ttggtacagc ctgggggggct cctgagactc
60

10 tctgtgcag cctccggatt caccttttagc agttatgccca tgagctgggt ccgccaggct
120

ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtggtggtag cacatactac
180

15 gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat
240

20 ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaaggggtg
300

ctgggtaatt ttgactactg gggccaagga accctgggtca ccgtctcgag tgctagcacc
360

25 aagggcccat cgtcttccc cctggcacc cctccaaga gcacctctgg gggcacagcg
420

gccctgggct gcctgggtcaa ggactacttc cccgaaccgg tgacgggtgtc gtggaactca
480

30 ggccgacctga ccagcggcgt gcacaccttc ccggctgtcc tacagtcttc aggactctac
540

35 tccctcagca gcgtgggtgac cgtgccctcc agcagcttgg gcaccagac ctacatctgc
600

aacgtgaatc acaagcccag caacaccaag gtggacaaga aagttgagcc caaatcttgt
660

40 gacaaaactc acacatgccc accgtgccc gcacctgaag ctgcaggggg accgtcagtc
720

ttctcttcc cccaaaacc caaggacacc ctcatgatct ccggacccc tgaggtcaca
780

45 tgctgtgggtg tggacgtgag ccacgaagac cctgagggtca agttcaactg gtacgtggac
840

ggcgtggagg tgcataatgc caagacaaag ccgcgggagg agcagtacaa cagcacgtac
900

50 cgtgtgggtca gcgtcctcac cgtcctgcac caggactggc tgaatggcaa ggagtacaag
960

tgcaaggtct ccaacaaagc cctcggcgcc cccatcgaga aaaccatctc caaagccaaa
 1020

5 gggcagcccc gagaaccaca ggtgtgcacc ctgcccccat ccggggatga gctgaccaag
 1080

aaccaggtea gcctctcgtg cgcagtcaaa ggcttctatc ccagcgacat cgccgtggag
 1140

10 tgggagagca atgggcagcc ggagaacaac tacaagacca cgcctcccggt gctggactcc
 1200

gacggctcct tcttctcgt gagcaagctc accgtggaca agagcagggtg gcagcagggg
 15 1260

aacgtcttct catgctccgt gatgcatgag gctctgcaca accactacac gcagaagagc
 1320

20 ctctccctgt ctccgggtgg cggcggaggc tccggaggcg gaggatctgg gggaggcgga
 1380

agtagcccg gccagggcac ccagagcgag aacagctgca cccacttccc cggcaacctg
 1440

25 cccaacatgc tgcgggacct gagggacgcc ttcagcagag tgaaaacctt cttccagatg
 1500

aaggaccagc tggacaacct gctgctgaaa gagagcctgc tggaagatct caagggctac
 30 1560

ctgggctgtc aggccttgag cgagatgac cagttctacc tggaagaagt gatgccccag
 1620

35 gccgagaacc aggaccccg catcaaggcc cagctgaaca gcctgggcga gaacctgaaa
 1680

accctgcggc tgagactgcg gcggtgccac agatttctgc cctgcgagaa caagagcaag
 1740

40 gccgtggaac aggtgaagaa cgccttcaac aagctgcagg aaaagggcat ctacaaggcc
 1800

atgtccgagt tcgacatctt catcaactac atcgaagctt acatgaccat gaagatcaga
 45 1860

aacggcggag gcgcatctgg cggcgggtgga agtggaggcg gaggatctgg gggaggcgga
 1920

50 agtagcccg gccagggcac ccagagcgag aacagctgca cccacttccc cggcaacctg
 1980


```

cccaacatgc tgcgggacct gagggacgcc ttcagcagag tgaaaacctt cttccagatg
2040

aaggaccagc tggacaacct gctgctgaaa gagagcctgc tggaagattt caagggctac
5 2100

ctgggctgtc aggccctgag cgagatgata cagttctacc tggaagaagt gatgccccag
2160

gccgagaacc aggaccccgga catcaaggcc cacgtgaaca gcctggggcga gaacctgaaa
10 2220

accctgcggc tgagactgcg gcggtgccac agatttctgc cctgcgagaa caagagcaag
2280

gccgtggaac aggtgaagaa cgccttcaac aagctgcagg aaaagggcat ctacaaggcc
15 2340

atgtccgagt tcgacatctt catcaactac atcgaggcct acatgacaat gaaaatccgc
20 2400

aat 2403

25 <210> 245
    <211> 627
    <212> PRT
    <213> Yapay Sekans

30 <220>
    <223> 4G8 Fab HC-Fc deliği (LALA P329G)-IL-10M1

    <400> 245

35 Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
   1          5          10          15

40 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
   20          25          30

    Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
   35          40          45

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

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

```

	Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys
					85					90					95	
5																
	Ala	Lys	Gly	Trp	Leu	Gly	Asn	Phe	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu
				100					105					110		
10																
	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu
			115					120					125			
15																
	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys
		130					135					140				
20																
	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser
	145					150					155					160
25																
	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser
					165					170					175	
30																
	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser
				180					185					190		
35																
	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro	Ser	Asn
			195					200					205			
40																
	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Lys	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys	Thr	His
		210					215					220				
45																
	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Ala	Ala	Gly	Gly	Pro	Ser	Val
	225					230					235					240
50																
	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr
					245					250					255	
55																
	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu
				260					265					270		
60																
	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys
			275					280					285			

	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser
	290						295					300				
5																
	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys
	305					310					315					320
10																
	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Gly	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile
					325					330					335	
15																
	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Cys	Thr	Leu	Pro
				340					345					350		
20																
	Pro	Ser	Arg	Asp	Glu	Leu	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Ser	Cys	Ala
			355					360					365			
25																
	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn
	370						375					380				
30																
	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser
	385				390						395					400
35																
	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Val	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg
				405						410					415	
40																
	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu
				420				425						430		
45																
	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Gly	Gly
		435						440					445			
50																
	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Ser	Pro	Gly
	450					455						460				
55																
	Gln	Gly	Thr	Gln	Ser	Glu	Asn	Ser	Cys	Thr	His	Phe	Pro	Gly	Asn	Leu
	465					470					475					480
60																
	Pro	Asn	Met	Leu	Arg	Asp	Leu	Arg	Asp	Ala	Phe	Ser	Arg	Val	Lys	Thr
					485					490					495	

Phe Phe Gln Met Lys Asp Gln Leu Asp Asn Leu Leu Leu Lys Glu Ser
 500 505 510
 5

Leu Leu Glu Asp Phe Lys Gly Tyr Leu Gly Cys Gln Ala Leu Ser Glu
 515 520 525
 10

Met Ile Gln Phe Tyr Leu Glu Glu Val Met Pro Gln Ala Glu Asn Gln
 530 535 540
 15

Asp Pro Asp Ile Lys Ala His Val Asn Ser Leu Gly Glu Asn Leu Lys
 545 550 555 560
 20

Thr Leu Arg Leu Arg Leu Arg Arg Cys His Arg Phe Leu Pro Cys Glu
 565 570 575
 25

Asn Gly Gly Gly Ser Gly Gly Lys Ser Lys Ala Val Glu Gln Val Lys
 580 585 590
 30

Asn Ala Phe Asn Lys Leu Gln Glu Lys Gly Ile Tyr Lys Ala Met Ser
 595 600 605
 35

Ile Arg Asn
 625
 40

<210> 246
 <211> 1881
 <212> DNA
 <213> Yapay Sekans
 <220>
 45 <223> 4G8 Fab HC-Fc deliği (LALA P329G)-IL-10M1
 <400> 246
 gaggtgcaat tggttgagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggggtc cctgagactc
 60
 50

tcctgtgcag cctccggatt caccttttagc agttatgccca tgagctgggt ccgccaggct
 120

ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtggtaggtg cacatactac
180

5 gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat
240

ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaagggtag
300

10 ctgggtaatt ttgactactg gggccaagga accctgggtc cgtctcagag tgctagcacc
360

aagggcccat cgttcttccc cctggcacc cctccaaga gcacctctgg gggcacagcg
15 420

gccctgggct gcctgggtcaa ggactacttc cccgaaccgg tgacgggtgc gtggaactca
480

20 ggcgcctga ccagcggcgt gcacaccttc ccggtgttc tacagtcctc aggactctac
540

tccctcagca gcgtgggtgac cgtgcccttc agcagcttgg gcacccagac ctacatctgc
600

25 aacgtgaatc acaagcccag caacaccaag gtggacaaga aagttgagcc caaatcttgt
660

gacaaaactc acacatgccc accgtgccc gcacctgaag ctgcaggggg accgtcagtc
30 720

ttctcttcc ccccaaaacc caaggacacc ctcatgatct cccggacccc tgaggtcaca
780

35 tgcgtggtag tggacgtgag ccacgaagac cctgaggtca agttcaactg gtacgtggac
840

ggcgtggagg tgcataatgc caagacaaag ccgaggagg agcagtacaa cagcacgtac
900

40 cgtgtgggtc gcgtcctcac cgtcctgac caggactggc tgaatggcaa ggagtacaag
960

tgcaaggtct ccaacaaagc cctcggcgcc cccatcgaga aaacctctc caaagccaaa
45 1020

gggcagcccc gagaaccaca ggtgtgcacc ctgccccat cccgggatga gctgaccaag
1080

50 aaccaggtca gcctctcgtg cgcagtcaaa ggcttctatc ccagcgacat cgcgtggag
1140

tgggagagca atgggcagcc ggagaacaac tacaagacca cgcctcccgt gctggactcc
 1200
 5 gacggctcct tcttctctgt gagcaagctc accgtggaca agagcagggtg gcagcagggg
 1260
 aacgtcttct catgctccgt gatgcatgag gctctgcaca accactacac gcagaagagc
 1320
 10 ctctccctgt ctccgggtgg cggcggaggc tccggaggcg gaggaagtgg cggcgggtggc
 1380
 agctctccag gccagggcac ccagagcgag aacagctgca cccacttccc cggcaacctg
 1440
 15 cccaacatgc tgcgggacct gagggacgcc ttcagcagag tgaaaacctt cttccagatg
 1500
 aaggaccagc tggacaacct gctgctgaaa gagagcctgc tggaagattt caagggctac
 20 1560
 ctgggctgtc aggccctgag cgagatgata cagttctacc tggaagaagt gatgccccag
 1620
 25 gccgagaacc aggaccccga catcaaggcc cacgtgaaca gcctggggcg gaacctgaaa
 1680
 acctgctggc tgagactgct gcggtgccac agatttctgc cctgctgagaa cggcggaggc
 1740
 30 tctggcggaa agtccaaggc cgtggaacag gtgaagaacg ccttcaacaa gctgcaggaa
 1800
 aaggcatct acaaggccat gagcaggttc gacatcttca tcaactacat cgaagcttac
 35 1860
 atgacaatga agatacgaaa c 1881
 40 <210> 247
 <211> 366
 <212> PRT
 <213> Yapay Sekans
 45 <220>
 <223> IL-2 qm-Fc topuzu (LALA P329G) (IL-2 N-terminal)
 <400> 247
 50 Ala Pro Ala Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His
 1 5 10 15

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

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
 225 230 235 240

5 Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser
 245 250 255

10 Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
 260 265 270

15 Cys Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val
 275 280 285

20 Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
 290 295 300

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
 305 310 315 320

25 Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
 325 330 335

30 Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
 340 345 350

35 Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 355 360 365

40 <210> 248
 <211> 1098
 <212> DNA
 <213> Yapay Sekans

<220>
 <223> IL-2 qm-Fc topuzu (LALA P329G) (IL-2 N-terminal)

45 <400> 248
 gctcctgcct cctccagcac caagaaaacc cagctccagc tggaacatct cctgctggat
 60

50 ctgcagatga tcctgaacgg catcaacaac tacaagaacc ccaagctgac ccggatgctg
 120

accgccaagt tcgccaatgcc caagaaggcc accgagctga aacatctgca gtgcctggaa
 180
 gaggaactga agcctctgga agaggtgctg aacggcgccc agtccaagaa ctccacctg
 5 240
 aggccctggg acctgatctc caacatcaac gtgatcgtgc tggaactgaa gggctccgag
 300
 10 acaaccttca tgtgcgagta cgccgacgag acagctacca tcgtggaatt tctgaaccgg
 360
 tggatcacct tcgcccagtc catcatctcc accctgacct ccggtgggtgg cggatccgac
 420
 15 aaaactcaca catgcccacc gtgcccagca cctgaagctg cagggggacc gtcagtcttc
 480
 ctcttcccc caaaacccaa ggacaccctc atgatctccc ggaccctga ggtcacatgc
 20 540
 gtgggtgggtgg acgtgagcca cgaagaccct gaggtcaagt tcaactggta cgtggacggc
 600
 25 gtggaggtgc ataatgccaa gacaaagccg cgggaggagc agtacaacag cacgtaccgt
 660
 gtggtcagcg tcctcaccgt cctgcaccag gactggctga atggcaagga gtacaagtgc
 720
 30 aaggtctcca acaaagccct cggcgccccc atcgagaaaa ccattctcaa agccaaaggg
 780
 cagcccccag aaccacaggt gtacaccctg ccccatgcc gggatgagct gaccaagaac
 35 840
 caggtcagcc tgtgggtgcct ggtcaaaggc ttctatccca gcgacatgc cgtggagtgg
 900
 40 gagagcaatg ggcagccgga gaacaactac aagaccacgc ctcccgtgct ggactccgac
 960
 ggctccttct tcctctacag caagctcacc gtggacaaga gcaggtggca gcaggggaac
 1020
 45 gtcttctcat gctccgtgat gcatgaggct ctgcacaacc actacacgca gaagagcctc
 1080
 tcctgtctc cgggtaaa 1098
 50
 <210> 249

<211> 384
 <212> PRT
 <213> Yapay Sekans

5 <220>
 <223> IL-7-Fc topuzu (LALA P329G) (IL-7 N-terminal)

<400> 249

10 Asp Cys Asp Ile Glu Gly Lys Asp Gly Lys Gln Tyr Glu Ser Val Leu
 1 5 10 15

15 Met Val Ser Ile Asp Gln Leu Leu Asp Ser Met Lys Glu Ile Gly Ser
 20 25 30

20 Asn Cys Leu Asn Asn Glu Phe Asn Phe Phe Lys Arg His Ile Cys Asp
 35 40 45

Ala Asn Lys Glu Gly Met Phe Leu Phe Arg Ala Ala Arg Lys Leu Arg
 50 55 60

25 Gln Phe Leu Lys Met Asn Ser Thr Gly Asp Phe Asp Leu His Leu Leu
 65 70 75 80

30 Lys Val Ser Glu Gly Thr Thr Ile Leu Leu Asn Cys Thr Gly Gln Val
 85 90 95

35 Lys Gly Arg Lys Pro Ala Ala Leu Gly Glu Ala Gln Pro Thr Lys Ser
 100 105 110

40 Leu Glu Glu Asn Lys Ser Leu Lys Glu Gln Lys Lys Leu Asn Asp Leu
 115 120 125

Cys Phe Leu Lys Arg Leu Leu Gln Glu Ile Lys Thr Cys Trp Asn Lys
 130 135 140

45 Ile Leu Met Gly Thr Lys Glu His Gly Gly Gly Gly Ser Asp Lys Thr
 145 150 155 160

50 His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser
 165 170 175

	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	
				180					185					190			
5	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	
			195					200					205				
10	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	
		210					215					220					
15	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	
	225					230					235					240	
20	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	
					245					250					255		
25	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Gly	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	
				260					265					270			
30	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	
			275					280					285				
35	Pro	Pro	Cys	Arg	Asp	Glu	Leu	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Trp	Cys	
		290					295					300					
40	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	
	305					310					315					320	
45	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	
					325					330					335		
50	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	
				340					345					350			
55	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	
			355					360					365				
60	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys	
		370					375					380					

<210> 250
 <211> 1152
 <212> DNA
 5 <213> Yapay Sekans

 <220>
 <223> IL-7-Fc topuzu (LALA P329G) (IL-7 N-terminal)

 10 <400> 250
 gattgtgata ttgaaggtaa agatggcaaa caatatgaga gtgttctaataa ggtcagcatc
 60

 gatcaattat tggacagcat gaaagaaatt ggtagcaatt gcctgaataa tgaatttaac
 15 120

 ttttttaaaa gacatatctg tgatgctaataa aaggaaggta tgtttttatt ccgtgctgct
 180

 20 cgcaagttga ggcaatttct taaaatgaat agcactgggtg attttgatct ccacttatta
 240

 aaagtttcag aaggcacaac aatactggtg aactgcactg gccagggttaa aggaagaaaa
 300
 25
 ccagctgccc tgggtgaagc ccaaccaaca aagagtttgg aagaaaataa atcttttaaag
 360

 gaacagaaaa aactgaatga cttgtgtttc ctaaagagac tattacaaga gataaaaaact
 30 420

 tgttggaata aaattttgat gggcactaaa gaacacgggtg gtggcggatc cgacaaaact
 480

 35 cacacatgcc caccgtgccc agcacctgaa gctgcagggg gaccgtcagt ctctctcttc
 540

 cccccaaaac ccaaggacac cctcatgata tcccggaccc ctgaggtcac atgcgtgggtg
 600
 40
 gtggacgtga gccacgaaga ccctgaggtc aagttcaact ggtacgtgga cggcgtggag
 660

 gtgcataatg ccaagacaaa gccgcgggag gagcagtaca acagcacgta ccgtgtggtc
 45 720

 agcgtcctca ccgtcctgca ccaggactgg ctgaatggca aggagtacaa gtgcaaggtc
 780

 50 tccaacaaag ccctcggcgc ccccatcgag aaaaccatct ccaaagccaa agggcagccc
 840

cgagaaccac aggtgtacac cctgccccca tgccgggatg agctgaccaa gaaccaggtc
 900
 agcctgtggt gcctgggtcaa aggcttctat cccagcgaca tcgccgtgga gtgggagagc
 5 960
 aatgggcagc cggagaacaa ctacaagacc acgcctcccg tgctggactc cgaaggctcc
 1020
 10 ttcttctct acagcaagct caccgtggac aagagcaggt ggcagcaggg gaacgtcttc
 1080
 tcatgctccg tgatgcatga ggctctgcac aaccactaca cgcagaagag cctctccctg
 1140
 15 tctccgggta aa 1152

 <210> 251
 20 <211> 398
 <212> PRT
 <213> Yapay Sekans

 <220>
 25 <223> IFN-a-Fc topuzu (LALA P329G) (IFN-a N-terminal)

 <400> 251

 Ser Cys Asp Leu Pro Gln Thr His Ser Leu Gly Ser Arg Arg Thr Leu
 30 1 5 10 15

 Met Leu Leu Ala Gln Met Arg Lys Ile Ser Leu Phe Ser Cys Leu Lys
 20 25 30
 35
 Asp Arg His Asp Phe Gly Phe Pro Gln Glu Glu Phe Gly Asn Gln Phe
 35 40 45
 40
 Gln Lys Ala Glu Thr Ile Pro Val Leu His Glu Met Ile Gln Gln Ile
 50 55 60
 45 Phe Asn Leu Phe Ser Thr Lys Asp Ser Ser Ala Ala Trp Asp Glu Thr
 65 70 75 80
 50 Leu Leu Asp Lys Phe Tyr Thr Glu Leu Tyr Gln Gln Leu Asn Asp Leu
 85 90 95

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

	Cys	Arg	Asp	Glu	Leu	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Trp	Cys	Leu	Val	
	305					310					315					320	
5	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	
					325					330					335		
10	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	
				340					345					350			
15	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	
			355					360					365				
20	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	
		370					375					380					
25	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys			
	385					390					395						
30	<210>	252															
	<211>	1194															
	<212>	DNA															
	<213>	Yapay Sekans															
35	<220>																
	<223>	IFN-a-Fc topuzu (LALA P329G) (IFN-a N-terminal)															
	<400>	252															
	agctgtgacc	tgcctcagac	acacagcctg	ggcagccggc	ggaccctgat	gctgctggcc											
40	60																
	cagatgcgga	agatcagcct	gttcagctgc	ctgaaggacc	ggcaggaatt	cggtttccct											
	120																
45	caggaagagt	tcggcaacca	gttccagaag	gccgagacaa	tccccgtgct	gcacgagatg											
	180																
	atccagcaga	ttttcaacct	gttcagcacc	aaggacagca	gcgccgcttg	ggacgagaca											
	240																
50	ctgctggaca	agttctacac	cgagctgtac	cagcagctga	acgacctgga	agcctgcgtg											
	300																
	atccagggcg	tgggcgtgac	cgagacaccc	ctgatgaagg	aagatagcat	cctggccgtg											
	360																

cggaagtatt tccagcggat caccctgtac ctgaaagaga agaagtacag ccctgcgcc
 420

5 tgggaggteg tgcgggccga gatcatgcgg agcttcagcc tgagcaccaa cctgcaggaa
 480

agcctgcgga gcaaagaggg tgggtggcgga tccgacaaaa ctcacacatg cccaccgtgc
 540

10 ccagcacctg aagctgcagg gggaccgtca gtcttctct tcccccaaa acccaaggac
 600

accctcatga tctcccggac cctgaggtc acatgcgtgg tgggtggacgt gagccacgaa
 660

15 gaccctgagg tcaagttcaa ctggtacgtg gacggcgtgg aggtgcataa tgccaagaca
 720

aagccgcggg aggagcagta caacagcacg taccgtgtgg tcagcgtcct caccgtcctg
 780

20 caccaggact ggctgaatgg caaggagtac aagtgcaagg tctccaacaa agccctcggc
 840

25 gcccccatcg agaaaaccat ctccaaagcc aaagggcagc cccgagaacc acaggtgtac
 900

accctgcccc catgccggga tgagctgacc aagaaccagg tcagcctgtg gtgcctggtc
 960

30 aaaggcttct atcccagcga catgcccggtg gagtgggaga gcaatgggca gccggagAAC
 1020

aactacaaga ccacgcctcc cgtgctggac tccgacggct ccttcttct ctacagcaag
 1080

35 ctcaccgtgg acaagagcag gtggcagcag gggaacgtct tctcatgctc cgtgatgcac
 1140

40 gaggtctctg acaaccaata cacgcagaag agcctctccc tgtctccggg taaa
 1194

45 <210> 253
 <211> 593
 <212> PRT
 <213> Yapay Sekans

<220>
 50 <223> 28H1 Fab HC-Fc (LALA P329G)-IL-2 qm

<400> 253

	Glu	Val	Gln	Leu	Leu	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Gln	Pro	Gly	Gly	
	1				5					10					15		
5	Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Thr	Phe	Ser	Ser	His	
				20					25					30			
10	Ala	Met	Ser	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val	
			35					40					45				
15	Ser	Ala	Ile	Trp	Ala	Ser	Gly	Glu	Gln	Tyr	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val	Lys	
	50						55					60					
20	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn	Ser	Lys	Asn	Thr	Leu	Tyr	Leu	
	65				70						75					80	
25	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Ala	
					85					90					95		
30	Lys	Gly	Trp	Leu	Gly	Asn	Phe	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	
				100					105					110			
35	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	
			115					120					125				
40	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	
	130						135					140					
45	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	
	145					150					155					160	
50	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	
					165					170					175		
55	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	
				180					185					190			
60	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	
			195					200					205				

	Lys	Val	Asp	Lys	Lys	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys	Thr	His	Thr
	210						215					220				
5	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Ala	Ala	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe
	225					230					235					240
10	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro
					245					250					255	
15	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val
				260					265					270		
20	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr
			275					280					285			
25	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val
	290						295					300				
30	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys
	305					310					315					320
35	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Gly	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser
				325						330					335	
40	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro
				340					345					350		
45	Ser	Arg	Asp	Glu	Leu	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val
			355					360					365			
50	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly
	370						375					380				
55	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp
	385					390					395					400
60	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp
					405					410					415	

	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His
				420					425					430		
5	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Gly	Gly	Gly
			435					440					445			
10	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Ala	Pro	Ala	Ser
		450					455					460				
15	Ser	Ser	Thr	Lys	Lys	Thr	Gln	Leu	Gln	Leu	Glu	His	Leu	Leu	Leu	Asp
	465					470					475					480
20	Leu	Gln	Met	Ile	Leu	Asn	Gly	Ile	Asn	Asn	Tyr	Lys	Asn	Pro	Lys	Leu
				485						490					495	
25	Thr	Arg	Met	Leu	Thr	Ala	Lys	Phe	Ala	Met	Pro	Lys	Lys	Ala	Thr	Glu
			500						505					510		
30	Leu	Lys	His	Leu	Gln	Cys	Leu	Glu	Glu	Glu	Leu	Lys	Pro	Leu	Glu	Glu
			515					520					525			
35	Val	Leu	Asn	Gly	Ala	Gln	Ser	Lys	Asn	Phe	His	Leu	Arg	Pro	Arg	Asp
	530						535					540				
40	Leu	Ile	Ser	Asn	Ile	Asn	Val	Ile	Val	Leu	Glu	Leu	Lys	Gly	Ser	Glu
	545					550					555					560
45	Thr	Thr	Phe	Met	Cys	Glu	Tyr	Ala	Asp	Glu	Thr	Ala	Thr	Ile	Val	Glu
				565						570					575	
50	Phe	Leu	Asn	Arg	Trp	Ile	Thr	Phe	Ala	Gln	Ser	Ile	Ile	Ser	Thr	Leu
			580						585					590		
55	Thr															
60	<210>	254														
65	<211>	1779														
70	<212>	DNA														

<213> Yapay Sekans

<220>

<223> 28H1 Fab HC-Fc (LALA P329G)-IL-2 qm

5

<400> 254

gaagtgcagc tgctggaatc cggcggaggc ctggtgcagc ctggcggatc tctgagactg
60

10 tcttgccgcg cctccggctt caccttctcc tcccacgcca tgtcctgggt ccgacaggct
120

cctggcaaag gcttggaatg ggtgtccgcc atctgggcct ccggcgagca gtactacgcc
180

15

gactctgtga agggccggtt caccatctcc cgggacaact ccaagaacac cctgtacctg
240

20 cagatgaact ccttgccggc cgaggacacc gccgtgtact actgtgccaa gggctggctg
300

ggcaacttcg actactgggg acagggcacc ctggtcaccg tgtccagcgc tagcaccaag
360

25 ggcccatcgg tcttccccct ggcaccctcc tccaagagca cctctggggg cacagcggcc
420

ctgggctgcc tggtaagga ctacttcccc gaaccggtga cgggtgtcgtg gaactcaggc
480

30

gccctgacca gcggcgtgca caccttcccc gctgtcctac agtcctcagg actctactcc
540

35 ctcagcagcg tggtgaccgt gccctccagc agcttgggca ccagaccta catctgcaac
600

gtgaatcaca agcccagcaa caccaagggtg gacaagaaag ttgagcccaa atcttgtgac
660

40 aaaactcaca catgccacc gtgcccagca cctgaagctg cagggggacc gtcagtcttc
720

ctcttcccc caaaacccaa ggacaccctc atgatctccc ggaccctga ggtcacatgc
780

45

gtgggtggtg acgtgagcca cgaagaccct gaggtcaagt tcaactggta cgtggacggc
840

50 gtggaggtgc ataatgccaa gacaaagccg cgggaggagc agtacaacag cacgtaccgt
900

gtggtcagcg tcttcaccgt cctgcaccag gactggctga atggcaagga gtacaagtgc
960

aaggtctcca acaaagccct cggcgccccc atcgagaaaa ccatctccaa agccaaaggg
5 1020

cagccccgag aaccacaggt gtacaccctg ccccatccc gggatgagct gaccaagaac
1080

caggtcagcc tgacctgcct ggtcaaaggc ttctatccca gcgacatcgc cgtggagtgg
10 1140

gagagcaatg ggcagccgga gaacaactac aagaccacgc ctcccgtgct ggactccgac
1200

ggctccttct tctctacag caagctcacc gtggacaaga gcaggtggca gcaggggaac
15 1260

gtcttctcat gtcctgtgat gcatgaggct ctgcacaacc actacacgca gaagagcctc
20 1320

tccctgtctc cgggtggcgg cggaggetcc ggaggcggag gttctggcgg aggtggctcc
1380

gcacctgcct caagttctac aaagaaaaca cagctacaac tggagcattt actgctggat
25 1440

ttacagatga ttttgaatgg aattaataat tacaagaatc ccaaactcac caggatgctc
1500

acagccaagt ttgccatgcc caagaaggcc acagaactga aacatcttca gtgtctagaa
30 1560

gaagaactca aacctctgga ggaagtgcta aatggcgctc aaagcaaaaa ctttcactta
35 1620

agaccaggg acttaatcag caatatcaac gtaatagttc tggaactaaa gggatctgaa
1680

acaacattca tgtgtgaata tgctgatgag acagcaacca ttgtagaatt tctgaacaga
40 1740

tggattacct ttgccccaaag catcatctca acactgact 1779

45

<210> 255
<211> 473
<212> PRT
<213> Yapay Sekans

50

<220>
<223> Murin IL-2R-beta-Fc(delik) füzyon proteini

<400> 255

5	Met	Asp	Met	Arg	Val	Pro	Ala	Gln	Leu	Leu	Gly	Leu	Leu	Leu	Leu	Trp
	1				5					10					15	
10	Phe	Pro	Leu	Leu	Leu	Leu	Trp	Phe	Pro	Gly	Ala	Arg	Cys	Ala	Val	Lys
				20					25					30		
15	Asn	Cys	Ser	His	Leu	Glu	Cys	Phe	Tyr	Asn	Ser	Arg	Ala	Asn	Val	Ser
			35					40					45			
20	Cys	Met	Trp	Ser	His	Glu	Glu	Ala	Leu	Asn	Val	Thr	Thr	Cys	His	Val
		50					55					60				
25	His	Ala	Lys	Ser	Asn	Leu	Arg	His	Trp	Asn	Lys	Thr	Cys	Glu	Leu	Thr
	65					70					75					80
30	Leu	Val	Arg	Gln	Ala	Ser	Trp	Ala	Cys	Asn	Leu	Ile	Leu	Gly	Ser	Phe
					85					90					95	
35	Pro	Glu	Ser	Gln	Ser	Leu	Thr	Ser	Val	Asp	Leu	Leu	Asp	Ile	Asn	Val
				100					105					110		
40	Val	Cys	Trp	Glu	Glu	Lys	Gly	Trp	Arg	Arg	Val	Lys	Thr	Cys	Asp	Phe
			115					120					125			
45	His	Pro	Phe	Asp	Asn	Leu	Arg	Leu	Val	Ala	Pro	His	Ser	Leu	Gln	Val
							135					140				
50	Leu	His	Ile	Asp	Thr	Gln	Arg	Cys	Asn	Ile	Ser	Trp	Lys	Val	Ser	Gln
	145					150				155						160
55	Val	Ser	His	Tyr	Ile	Glu	Pro	Tyr	Leu	Glu	Phe	Glu	Ala	Arg	Arg	Arg
					165					170				175		
60	Leu	Leu	Gly	His	Ser	Trp	Glu	Asp	Ala	Ser	Val	Leu	Ser	Leu	Lys	Gln
				180					185					190		
65	Arg	Gln	Gln	Trp	Leu	Phe	Leu	Glu	Met	Leu	Ile	Pro	Ser	Thr	Ser	Tyr

	195	200	205
5	Glu Val Gln Val Arg Val Lys Ala Gln Arg Asn Asn Thr Gly Thr Trp 210 215 220		
10	Ser Pro Trp Ser Gln Pro Leu Thr Phe Arg Thr Arg Pro Ala Asp Pro 225 230 235 240		
15	Met Lys Glu Gly Ala Gln Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro 245 250 255		
20	Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys 260 265 270		
25	Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val 275 280 285		
30	Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr 290 295 300		
35	Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu 305 310 315 320		
40	Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His 325 330 335		
45	Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys 340 345 350		
50	Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln 355 360 365		
	Pro Arg Glu Pro Gln Val Cys Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu 370 375 380		
	Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro 385 390 395 400		
	Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn		

405

410

415

5 Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
 420 425 430

10 Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
 435 440 445

15 Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln
 450 455 460

20 Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 465 470

20 <210> 256
 <211> 1422
 <212> DNA
 <213> Yapay Sekans

25 <220>
 <223> Murin IL-2R-beta-Fc(delik) füzyon proteini

30 <400> 256
 atggacatga gggccccgc tcagctcctg ggccctcctgc tgcctctgggt cccctcctg
 60

ctgcctctgggt tcccaggtgc caggtgtgca gtgaaaaact gttcccatct tgaatgcttc
 120

35 tacaactcaa gagccaatgt ctcttgcatg tggagccatg aagaggctct gaatgtcaca
 180

40 acctgccacg tccatgccaa gtcgaacctg cgacactgga acaaaacctg tgagctaact
 240

45 cttgtgaggc aggcatacctg ggccctgcaac ctgatecctcg ggtcggtccc agagtcccag
 300

tcactgacct ccgtggacct ccttgacata aatgtgggtgt gctgggaaga gaagggttgg
 360

50 cgtagggtaa agacctgcga cttccatccc ttgacaacc ttgccttggg ggccctcat
 420

50 tccctccaag ttctgcacat tgatacccag agatgtaaca taagctggaa ggtctcccag
 480

gtctctcact acattgaacc atacttggaa tttgaggccc gtagacgtct tctgggccac
540

agctgggagg atgcatccgt attaagcctc aagcagagac agcagtgggt cttcttggag
5 600

atgctgatcc ctagtacctc atatgaggtc caggtgaggg tcaaagctca acgaaacaat
660

accgggacct ggagtccttg gagccagccc ctgacctttc ggacaaggcc agcagatccc
10 720

atgaaggagg gagctcagga caaaactcac acatgcccac cgtgcccagc acctgaactc
780

15 ctgggggggac cgtcagtctt cctcttcccc ccaaaaccca aggacacctt catgatctcc
840

cggacctctg aggtcacatg cgtgggtggtg gacgtgagcc acgaagaccc tgagggtcaag
20 900

ttcaactggg acgtggacgg cgtggaggtg cataatgcc aagacaaagcc gcgggaggag
960

25 cagtacaaca gcacgtaccg tgtgggtcagc gtcttcaccg tcttgcacca ggactgggtg
1020

aatggcaagg agtacaagtg caaggtctcc aacaaagccc tcccagcccc catcgagaaa
1080

30 accatctcca aagccaaagg gcagccccga gaaccacagg tgtgcacctt gcccccatcc
1140

cgggatgagc tgaccaagaa ccaggtcagc ctctcgtgcg cagtcaaagg cttctatccc
35 1200

agcgacatcg ccgtggagtg ggagagcaat gggcagccgg agaacaacta caagaccacg
1260

40 cctcccgtgc tggactccga cggctccttc ttctcgtga gcaagctcac cgtggacaag
1320

agcaggtggc agcaggggaa cgtcttctca tgctccgtga tgcattgaggc tctgcacaac
1380

45 cactacacgc agaagagcct ctccctgtct ccgggtaaat ga 1422

<210> 257
50 <211> 500
<212> PRT
<213> Yapay Sekans

<220>

<223> Murin IL-2R-gamma-Fc(topuz) füzyon proteini

5 <400> 257

Met Asp Met Arg Val Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp
1 5 10 15

10

Phe Pro Leu Leu Leu Leu Trp Phe Pro Gly Ala Arg Cys Trp Ser Ser
20 25 30

15

Lys Val Leu Met Ser Ser Ala Asn Glu Asp Ile Lys Ala Asp Leu Ile
35 40 45

20

Leu Thr Ser Thr Ala Pro Glu His Leu Ser Ala Pro Thr Leu Pro Leu
50 55 60

25

Pro Glu Val Gln Cys Phe Val Phe Asn Ile Glu Tyr Met Asn Cys Thr
65 70 75 80

Trp Asn Ser Ser Ser Glu Pro Gln Ala Thr Asn Leu Thr Leu His Tyr
85 90 95

30

Arg Tyr Lys Val Ser Asp Asn Asn Thr Phe Gln Glu Cys Ser His Tyr
100 105 110

35

Leu Phe Ser Lys Glu Ile Thr Ser Gly Cys Gln Ile Gln Lys Glu Asp
115 120 125

40

Ile Gln Leu Tyr Gln Thr Phe Val Val Gln Leu Gln Asp Pro Gln Lys
130 135 140

45

Pro Gln Arg Arg Ala Val Gln Lys Leu Asn Leu Gln Asn Leu Val Ile
145 150 155 160

Pro Arg Ala Pro Glu Asn Leu Thr Leu Ser Asn Leu Ser Glu Ser Gln
165 170 175

50

Leu Glu Leu Arg Trp Lys Ser Arg His Ile Lys Glu Arg Cys Leu Gln
180 185 190

5	Tyr	Leu	Val	Gln	Tyr	Arg	Ser	Asn	Arg	Asp	Arg	Ser	Trp	Thr	Glu	Leu
			195					200					205			
10	Ile	Val	Asn	His	Glu	Pro	Arg	Phe	Ser	Leu	Pro	Ser	Val	Asp	Glu	Leu
		210					215					220				
15	Lys	Arg	Tyr	Thr	Phe	Arg	Val	Arg	Ser	Arg	Tyr	Asn	Pro	Ile	Cys	Gly
	225					230					235					240
20	Ser	Ser	Gln	Gln	Trp	Ser	Lys	Trp	Ser	Gln	Pro	Val	His	Trp	Gly	Ser
					245					250					255	
25	His	Thr	Val	Glu	Glu	Asn	Pro	Ser	Leu	Phe	Ala	Leu	Glu	Ala	Gly	Ala
				260					265					270		
30	Gln	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu
			275					280					285			
35	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu
		290					295					300				
40	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser
	305					310					315					320
45	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu
					325					330					335	
50	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr
				340					345					350		
55	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn
			355					360					365			
60	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro
		370					375					380				
65	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln
	385					390					395					400

Val Tyr Thr Leu Pro Pro Cys Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val
 405 410 415
 5
 Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
 420 425 430
 10
 Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
 435 440 445
 15 Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
 450 455 460
 20 Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
 465 470 475 480
 Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
 485 490 495
 25
 Ser Pro Gly Lys
 500
 30
 <210> 258
 <211> 1503
 <212> DNA
 <213> Yapay Sekans
 35
 <220>
 <223> Murin IL-2R-gamma-Fc(topuz) füzyon proteini
 <400> 258
 40 atggacatga gggteccccgc tcagctcctg ggccctcctgc tgcctctgggt cccctcctg
 60
 ctgctctgggt tcccaggtgc caggtgttgg agttccaagg tctcatgtc cagtgcgaat
 120
 45 gaagacatca aagctgattt gatcctgact tctacagccc ctgaacacct cagtgcctct
 180
 actctgcccc ttccagaggt tcagtgcctt gtgttcaaca tagagtacat gaattgcact
 50 240

tggaaatagca gttctgagcc tcaggcaacc aacctcacgc tgcactatag gtacaaggta
 300
 tctgataata atacattcca ggagtgcagt cactatttgt tctccaaaga gattacttct
 5 360
 ggctgtcaga tacaaaaaga agatatccag ctctaccaga catttggtgt ccagctccag
 420
 gacccccaga aaccccagag gcgagctgta cagaagctaa acctacagaa tcttgtgatc
 10 480
 ccacgggctc cagaaaatct aacactcagc aatctgagtg aatcccagct agagctgaga
 540
 15 tggaaaagca gacatattaa agaacgctgt ttacaatact tgggtgcagta ccggagcaac
 600
 agagatcgaa gctggacgga actaatagtg aatcatgaac ctagattctc cctgcctagt
 20 660
 gtggatgagc tgaaacggta cacatttcgg gttcggagcc gctataaacc aatctgtgga
 720
 25 agttctcaac agtggagtaa atggagccag cctgtccact gggggagtc tactgtagag
 780
 gagaatcctt ccttgtttgc actggaagct ggagctcagg acaaaactca cacatgcca
 840
 30 ccgtgcccag cacctgaact cctgggggga ccgtcagtct tctcttccc cccaaaacc
 900
 aaggacacc tcatgatctc ccggaccct gaggtcacat gcgtggtggt ggacgtgagc
 35 960
 cacgaagacc ctgaggtcaa gttcaactgg tacgtggacg gcgtggaggt gcataatgcc
 1020
 40 aagacaaagc cgcgggagga gcagtacaac agcacgtacc gtgtggtcag cgtcctcacc
 1080
 gtctgcacc aggactggct gaatggcaag gagtacaagt gcaaggtctc caacaaagcc
 1140
 45 ctcccagccc ccatcgagaa aaccatctcc aaagccaaag ggcagccccg agaaccacag
 1200
 gtgtacacc tgccccatg ccgggatgag ctgaccaaga accaggtcag cctgtggtgc
 50 1260

ctggtcaaag gcttctatcc cagcgacatc gccgtggagt gggagagcaa tgggcagccg
 1320
 gagaacaact acaagaccac gcctcccgtg ctggactccg acggctcctt ctctctctac
 5 1380
 agcaagctca ccgtggacaa gagcaggtgg cagcagggga acgtcttctc atgctccgtg
 1440
 atgcatgagg ctctgcacaa ccactacacg cagaagagcc tctccctgtc tccgggtaaa
 10 1500
 tga 1503
 15
 <210> 259
 <211> 213
 <212> PRT
 <213> Yapay Sekans
 20
 <220>
 <223> Murin IL-2R alfa alt birimi + Avi etiketi + His etiketi
 <400> 259
 25
 Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly
 1 5 10 15
 30 Val His Ser Glu Leu Cys Leu Tyr Asp Pro Pro Glu Val Pro Asn Ala
 20 25 30
 Thr Phe Lys Ala Leu Ser Tyr Lys Asn Gly Thr Ile Leu Asn Cys Glu
 35 35 40 45
 Cys Lys Arg Gly Phe Arg Arg Leu Lys Glu Leu Val Tyr Met Arg Cys
 50 55 60
 40
 Leu Gly Asn Ser Trp Ser Ser Asn Cys Gln Cys Thr Ser Asn Ser His
 65 70 75 80
 45
 Asp Lys Ser Arg Lys Gln Val Thr Ala Gln Leu Glu His Gln Lys Glu
 85 90 95
 50 Gln Gln Thr Thr Thr Asp Met Gln Lys Pro Thr Gln Ser Met His Gln
 100 105 110

Glu Asn Leu Thr Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Lys His Glu
 115 120 125

5 Asp Ser Lys Arg Ile Tyr His Phe Val Glu Gly Gln Ser Val His Tyr
 130 135 140

10 Glu Cys Ile Pro Gly Tyr Lys Ala Leu Gln Arg Gly Pro Ala Ile Ser
 145 150 155 160

15 Ile Cys Lys Met Lys Cys Gly Lys Thr Gly Trp Thr Gln Pro Gln Leu
 165 170 175

20 Thr Cys Val Asp Glu Gln Leu Tyr Phe Gln Gly Gly Ser Gly Leu Asn
 180 185 190

Asp Ile Phe Glu Ala Gln Lys Ile Glu Trp His Glu Ala Arg Ala His
 195 200 205

25 His His His His His
 210

30 <210> 260
 <211> 642
 <212> DNA
 <213> Yapay Sekans

35 <220>
 <223> Murin IL-2R alfa alt birimi + Avi etiketi + His etiketi

<400> 260
 atgggatgga gctgtatcat cctcttcttg gtagcaacag ctaccggtgt gcattccgaa
 40 60

ctgtgtctgt atgaccacc cgaggtcccc aatgccacat tcaaagccct ctctacaag
 120

45 aacggcacca tcttaaactg tgaatgcaag agaggtttcc gaagactaaa ggaattggtc
 180

tatatgcggt gcttaggaaa ctctggagc agcaactgcc agtgcaccag caactcccat
 240

50 gacaaatcga gaaagcaagt tacagctcaa cttgaacacc agaaagagca acaaaccaca
 300

acagacatgc agaagccaac acagtctatg caccaagaga accttacagg tcaactgcagg
360

5 gagccacctc cttggaaaca tgaagattcc aagagaatct atcatttcgt ggaaggacag
420

agtgttcact acgagtgtat tccgggatac aaggctctac agagaggtcc tgctattagc
480

10 atctgcaaga tgaagtgtgg gaaaacgggg tggactcagc cccagctcac atgtgtcgac
540

gaacagttat attttcaggg cggctcaggc ctgaacgaca tcttcgaggg ccagaagatc
15 600

gagtggcacg aggctcgagc tcaccaccat caccatcact ga 642

20 <210> 261
<211> 480
<212> PRT
<213> Yapay Sekans

25 <220>
<223> Sinomolgus IL-2R-beta-Fc(topuz) füzyon proteini + Avi
etiketi

<400> 261

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

35 Val His Ser Ala Val Asn Gly Thr Ser Arg Phe Thr Cys Phe Tyr Asn
20 25 30

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

Asp Thr Ser Cys Gln Val His Ala Trp Pro Asp Arg Arg Arg Trp Asn
50 55 60

45 Gln Thr Cys Glu Leu Leu Pro Val Ser Gln Ala Ser Trp Ala Cys Asn
65 70 75 80

50 Leu Ile Leu Gly Thr Pro Asp Ser Gln Lys Leu Thr Ala Val Asp Ile
85 90 95

	Val	Thr	Leu	Arg	Val	Met	Cys	Arg	Glu	Gly	Val	Arg	Trp	Arg	Met	Met	
				100					105					110			
5																	
	Ala	Ile	Gln	Asp	Phe	Lys	Pro	Phe	Glu	Asn	Leu	Arg	Leu	Met	Ala	Pro	
			115					120					125				
10																	
	Ile	Ser	Leu	Gln	Val	Val	His	Val	Glu	Thr	His	Arg	Cys	Asn	Ile	Ser	
		130					135					140					
15																	
	Trp	Lys	Ile	Ser	Gln	Ala	Ser	His	Tyr	Phe	Glu	Arg	His	Leu	Glu	Phe	
	145					150					155					160	
20																	
	Glu	Ala	Arg	Thr	Leu	Ser	Pro	Gly	His	Thr	Trp	Glu	Glu	Ala	Pro	Leu	
					165					170					175		
25																	
	Met	Thr	Leu	Lys	Gln	Lys	Gln	Glu	Trp	Ile	Cys	Leu	Glu	Thr	Leu	Thr	
				180					185					190			
30																	
	Pro	Asp	Thr	Gln	Tyr	Glu	Phe	Gln	Val	Arg	Val	Lys	Pro	Leu	Gln	Gly	
			195					200					205				
35																	
	Glu	Phe	Thr	Thr	Trp	Ser	Pro	Trp	Ser	Gln	Pro	Leu	Ala	Phe	Arg	Thr	
		210					215					220					
40																	
	Lys	Pro	Ala	Ala	Leu	Gly	Lys	Asp	Thr	Gly	Ala	Gln	Asp	Lys	Thr	His	
	225					230					235					240	
45																	
	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	
					245					250					255		
50																	
	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	
				260					265					270			
55																	
	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	
			275					280					285				
60																	
	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	
		290					295					300					

Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser
 305 310 315 320
 5
 Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
 325 330 335
 10
 Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile
 340 345 350
 15
 Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
 355 360 365
 20
 Pro Cys Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu
 370 375 380
 25
 Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
 385 390 395 400
 30
 Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser
 405 410 415
 35
 Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
 420 425 430
 40
 Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
 435 440 445
 45
 His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys Ser
 450 455 460
 50
 Gly Gly Leu Asn Asp Ile Phe Glu Ala Gln Lys Ile Glu Trp His Glu
 465 470 475 480
 <210> 262
 <211> 1443
 <212> DNA
 <213> Yapay Sekans
 <220>

<223> Sinomolgus IL-2R-beta-Fc(topuz) füzyon proteini + Avi etiketi

<400> 262

5 atgggatgga gctgtatcat cctcttcttg gtagcaacag ctaccggtgt gcattccgcg
60

gtcaacggca ctccccggtt cacatgcttc tacaactcga gagccaacat ctctgtgtc
120

10 tggagccaag atggggctct gcaggacact tcctgccaaag tccacgcctg gccggacaga
180

cggcggtgga accaaacctg tgagctgctc cctgtgagtc aagcatcctg ggccctgcaac
15 240

ctgatcctcg gaaccccaga ttctcagaaa ctgaccgcag tggatatcgt caccctgagg
300

20 gtgatgtgcc gtgaaggggt gcgatggagg atgatggcca tccaggactt caaacccctt
360

gagaaccttc gctgatggc ccccatctcc ctccaagtcg tccacgtgga gaccacaga
420

25 tgcaacataa gctggaaaat ctcccaagcc tcccactact ttgaaagaca cctggagttt
480

gagggccgga cgctgtcccc aggccacacc tgggaggagg cccccctgat gaccctcaag
30 540

cagaagcagg aatggatctg cctggagacg ctaccccag acaccagta tgagtttcag
600

35 gtgcgggtca agcctctgca aggcgagttc acgacctgga gccccctggag ccagccctg
660

gccttcagga caaagcctgc agcccttggg aaggacaccg gagctcagga caaaactcac
720

40 acatgccac cgtgccacgc acctgaactc ctggggggac cgtcagtctt cctcttcccc
780

ccaaaacca aggacaccct catgatctcc cggaccctg aggtcacatg cgtggtggtg
45 840

gacgtgagcc acgaagacce tgaggtcaag ttcaactggt acgtggacgg cgtggagggtg
900

50 cataatgcca agacaaagcc gcgggaggag cagtacaaca gcacgtaccg tgtggtcagc
960

gtcctcaccg tcttgaccca ggactggctg aatggcaagg agtacaagtg caaggtctcc
1020

aacaaagccc tcccagcccc catcgagaaa accatctcca aagccaaagg gcagcccccga
5 1080

gaaccacagg tgtacaccct gcccccatgc cgggatgagc tgaccaagaa ccaggtcagc
1140

ctgtgggtgcc tgggtcaaagg cttctatccc agcgacatcg ccgtggagtg ggagagcaat
10 1200

gggcagccgg agaacaacta caagaccacg cctcccgtgc tggactccga cggctccttc
1260

ttcctctaca gcaagctcac cgtggacaag agcaggtggc agcaggggaa cgtcttctca
15 1320

tgctccgtga tgcattgagc tctgcacaac cactacacgc agaagagcct ctccctgtct
20 1380

ccgggtaaat ccggaggcct gaacgacatc ttcgaggccc agaagattga atggcacgag
1440

25 tga 1443

<210> 263
<211> 489
30 <212> PRT
<213> Yapay Sekans

<220>
<223> Sinomolgus IL-2R-gamma-Fc(delik) füzyon proteini
35

<400> 263

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

40 Val His Ser Leu Asn Thr Thr Ile Leu Thr Pro Asn Gly Asn Glu Asp
20 25 30

45 Ala Thr Thr Asp Phe Phe Leu Thr Ser Met Pro Thr Asp Ser Leu Ser
35 40 45

50 Val Ser Thr Leu Pro Leu Pro Glu Val Gln Cys Phe Val Phe Asn Val
50 55 60

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

	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys
			275					280					285			
5	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val
		290					295					300				
10	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr
	305					310					315					320
15	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu
					325					330					335	
20	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His
				340					345					350		
25	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys
		355						360					365			
30	Ala	Leu	Gly	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln
	370						375					380				
35	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Cys	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Asp	Glu	Leu
	385					390					395					400
40	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Ser	Cys	Ala	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro
					405					410					415	
45	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn
				420					425					430		
50	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu
		435						440				445				
55	Val	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val
	450						455					460				
60	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln
	465					470					475					480

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
485

5
<210> 264
<211> 1470
<212> DNA
<213> Yapay Sekans

10
<220>
<223> Sinomolgus IL-2R-gamma-Fc(delik) füzyon proteini

<400> 264

15 atgggatgga gctgtatcat cctcttcttg gtagcaacag ctaccggtgt gcattccctg
60

aacacgacaa ttctgacgcc caatgggaat gaagacgcc caactgattt ctctctgacc
120

20 tctatgcccc ctgactccct cagtgtttcc actctgcccc tcccagaggt tcagtgtttt
180

gtgttcaatg tcgagtacat gaattgcact tggaacagca gctctgagcc ccagcctacc
25 240

aacctcactc tgcattattg gtacaagaat tcggataatg ataaagtcca gaagtgcagc
300

30 cactatctat tctctgaaga aatcacttct ggctgtcagt tgcaaaaaaa ggagatccac
360

ctctacaaa cgtttgttgt tcagctccag gacccacggg aaccaggag acaggccaca
420

35 cagatgctaa aactgcagaa tctggtgatc cctgggctc cggagaacct aacacttcgc
480

aaactgagtg aatcccagct agaactgaac tggaacaaca gattcttgaa ccaactgttg
40 540

gagcacttgg tgcagtaccg gactgactgg gaccacagct ggactgaaca atcagtggat
600

45 tatagacata agttctcctt gcctagtgtg gatgggcaga aacgctacac gtttcgtgtc
660

cggagccgct ttaaccact ctgtggaagt gctcagcatt ggagtgaatg gagccacca
720

50 atccactggg ggagcaatag ttcaaaagag aatcctttcc tgtttgcatt ggaagccgga
780

gctcaggaca aaactcacac atgcccaccg tgcccagcac ctgaactcct ggggggaccg
840

5 tcagtcttcc tcttcccccc aaaacccaag gacaccctca tgatctcccg gaccctgag
900

gtcacatgcg tgggtggtgga cgtgagccac gaagaccctg aggtcaagtt caactggtac
960

10 gtggacggcg tggaggtgca taatgccaaag acaaagccgc gggaggagca gtacaacagc
1020

acgtaccgtg tggtcagcgt cctcaccgtc ctgcaccagg actggctgaa tggcaaggag
15 1080

tacaagtgca aggtctccaa caaagccctc ggcgccccca tcgagaaaac catctccaaa
1140

20 gccaaagggc agccccgaga accacaggtg tgcaccctgc ccccatcccg ggatgagctg
1200

accaagaacc aggtcagcct ctctgtgcga gtcaaaggct tctatcccag cgacatcgcc
1260

25 gtggagtggg agagcaatgg gcagccggag aacaactaca agaccacgcc tcccgtgctg
1320

gactccgacg gctccttctt cctcgtgagc aagctcaccg tggacaagag caggtggcag
30 1380

caggggaacg tcttctcatg ctccgtgatg catgaggctc tgcacaacca ctacacgcag
1440

35 aagagcctct cctgtctcc gggtaaata 1470

<210> 265
<211> 217
40 <212> PRT
<213> Yapay Sekans

<220>
<223> Sinomolgus IL-2R alfa alt birimi + Avi etiketi + His etiketi
45

<400> 265

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

50 Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Lys Ile Thr His Ala Thr Phe Lys

	20	25	30
5	Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys Arg 35 40 45		
10	Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Pro Tyr Met Leu Cys Thr Gly 50 55 60		
15	Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser Ser 65 70 75 80		
20	Ala Ala Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu Gln 85 90 95		
25	Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Gln Met Gln Leu Ala Asp 100 105 110		
30	Gln Val Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu Asn 115 120 125		
35	Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Thr Val Tyr 130 135 140		
40	Tyr Gln Cys Val Gln Gly Tyr Arg Ala Leu His Arg Gly Pro Ala Glu 145 150 155 160		
45	Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro Gln 165 170 175		
50	Leu Ile Cys Thr Gly Glu Val Asp Glu Gln Leu Tyr Phe Gln Gly Gly 180 185 190		
	Ser Gly Leu Asn Asp Ile Phe Glu Ala Gln Lys Ile Glu Trp His Glu 195 200 205		
	Ala Arg Ala His His His His His His 210 215		
	<210> 266		

<211> 654
 <212> DNA
 <213> Yapay Sekans

5 <220>
 <223> Sinomolgus IL-2R alfa alt birimi + Avi etiketi + His etiketi

<400> 266
 atgggatgga gctgtatcat cctcttcttg gtagcaacag ctaccggtga gctctgtgac
 10 60
 gatgacccgc caaaaatcac acatgccaca ttcaaagcca tggcctacaa ggaaggaacc
 120
 atgttgaact gtgaatgcaa gagaggtttc cgcagaataa aaagcgggtc accctatatg
 15 180
 ctctgtacag gaaactctag ccactcgtcc tgggacaacc aatgtcaatg cacaagctct
 20 240
 gctgctcgga acacaacaaa acaagtgaca cctcaacctg aagaacagaa agaaagaaaa
 300
 accacagaaa tgcaaagtca aatgcagctg gcggaccaag tgagccttcc aggtcactgc
 25 360
 agggaacctc caccgtggga aaatgaagcc acagaaagaa ttatcattt cgtgggtggg
 420
 cagacggttt actaccagtg cgtccaggga tacagggtc tacacagagg tcttgctgag
 30 480
 agcgtctgca aaatgaccca cggaagaca agatggaccc agccccagct catatgcaca
 540
 35 ggtgaagtcg acgaacagtt atattttcag ggcggctcag gcttgaacga catcttcgag
 600
 gcccagaaga tcgagtggca cgaggctcga gctcaccacc atcaccatca ctga
 40 654

<210> 267
 <211> 474
 45 <212> PRT
 <213> Yapay Sekans

<220>
 <223> İnsan IL-10R1-Fc fusion + Avi etiketi

50 <400> 267

	His	Gly	Thr	Glu	Leu	Pro	Ser	Pro	Pro	Ser	Val	Trp	Phe	Glu	Ala	Glu	
	1				5					10					15		
5	Phe	Phe	His	His	Ile	Leu	His	Trp	Thr	Pro	Ile	Pro	Asn	Gln	Ser	Glu	
				20					25					30			
10	Ser	Thr	Cys	Tyr	Glu	Val	Ala	Leu	Leu	Arg	Tyr	Gly	Ile	Glu	Ser	Trp	
			35					40					45				
15	Asn	Ser	Ile	Ser	Asn	Cys	Ser	Gln	Thr	Leu	Ser	Tyr	Asp	Leu	Thr	Ala	
		50					55					60					
20	Val	Thr	Leu	Asp	Leu	Tyr	His	Ser	Asn	Gly	Tyr	Arg	Ala	Arg	Val	Arg	
	65					70					75					80	
25	Ala	Val	Asp	Gly	Ser	Arg	His	Ser	Asn	Trp	Thr	Val	Thr	Asn	Thr	Arg	
					85					90					95		
30	Phe	Ser	Val	Asp	Glu	Val	Thr	Leu	Thr	Val	Gly	Ser	Val	Asn	Leu	Glu	
				100					105					110			
35	Ile	His	Asn	Gly	Phe	Ile	Leu	Gly	Lys	Ile	Gln	Leu	Pro	Arg	Pro	Lys	
			115					120					125				
40	Met	Ala	Pro	Ala	Asn	Asp	Thr	Tyr	Glu	Ser	Ile	Phe	Ser	His	Phe	Arg	
		130					135					140					
45	Glu	Tyr	Glu	Ile	Ala	Ile	Arg	Lys	Val	Pro	Gly	Asn	Phe	Thr	Phe	Thr	
	145					150					155					160	
50	His	Lys	Lys	Val	Lys	His	Glu	Asn	Phe	Ser	Leu	Leu	Thr	Ser	Gly	Glu	
					165					170					175		
55	Val	Gly	Glu	Phe	Cys	Val	Gln	Val	Lys	Pro	Ser	Val	Ala	Ser	Arg	Ser	
				180					185					190			
60	Asn	Lys	Gly	Met	Trp	Ser	Lys	Glu	Glu	Cys	Ile	Ser	Leu	Thr	Arg	Gln	
			195					200					205				

	Tyr	Phe	Thr	Val	Thr	Asn	Val	Asp	Glu	Gln	Leu	Tyr	Phe	Gln	Gly	Gly
	210						215					220				
5	Ser	Pro	Lys	Ser	Ala	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala
	225					230					235					240
10	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro
					245					250					255	
15	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val
				260					265					270		
20	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val
		275						280					285			
25	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln
	290						295					300				
30	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln
	305					310					315					320
35	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala
					325					330					335	
40	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro
				340					345					350		
45	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Asp	Glu	Leu	Thr
			355					360					365			
50	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser
	370						375					380				
55	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr
	385					390					395					400
60	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr
					405					410					415	

Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe
 420 425 430

5 Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys
 435 440 445

10 Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Gly Gly Ser Gly Gly Leu Asn Asp Ile
 450 455 460

15 Phe Glu Ala Gln Lys Ile Glu Trp His Glu
 465 470

<210> 268
 <211> 1422
 <212> DNA
 20 <213> Yapay Sekans

<220>
 <223> İnsan IL-10R1-Fc fusion + Avi etiketi

25 <400> 268
 catgggacag agctgcccag cctccgtct gtgtggtttg aagcagaatt tttccaccac
 60

30 atcctccact ggacacccat cccaaatcag tctgaaagta cctgctatga agtggcactc
 120

ctgaggtatg gaatagagtc ctggaactcc atctccaact gtagccagac cctgtcctat
 180

35 gaccttaccg cagtgcactt ggacctgtac cacagcaatg gctaccgggc cagagtgcgg
 240

gctgtggacg gcagccggca ctccaactgg accgtcacca acaccgctt ctctgtggat
 300

40 gaagtgactc tgacagttgg cagtgtgaac ctagagatcc acaatggctt catcctcggg
 360

45 aagattcagc taccaggcc caagatggcc cccgcaaattg acacatatga aagcatcttc
 420

agtcacttcc gagagtatga gattgccatt cgcaagggtgc cgggaaactt cacgttcaca
 480

50 cacaagaaag taaaacatga aaacttcagc ctctaact ctggagaagt gggagagttc
 540

tgtgtccagg tgaaaccatc tgtcgcttcc cgaagtaaca aggggatgtg gtctaaagag
 600
 5 gagtgcattc cctcaccag gcagtatttc accgtgacca acgtcgacga acagttatat
 660
 tttcagggcg gctcacccaa atctgcagac aaaactcaca catgcccacc gtgcccagca
 720
 10 cctgaactcc tgggggggacc gtcagtcttc ctcttcccc caaaacccaa ggacaccctc
 780
 atgatctccc ggaccctga ggtcacatgc gtggtggtgg acgtgagcca cgaagacct
 840
 15 gaggtcaagt tcaactggta cgtggacggc gtggaggtgc ataatgccaa gacaaagccg
 900
 cgggaggagc agtacaacag cacgtaccgt gtggtcagcg tctcaccgt cctgcaccag
 20 960
 gactggctga atggcaagga gtacaagtgc aaggtctcca acaaagccct cccagcccc
 1020
 25 atcgagaaaa ccatctccaa agccaaaggg cagccccgag aaccacaggt gtacaccctg
 1080
 ccccatccc gggatgagct gaccaagaac caggtcagcc tgacctgcct ggtcaaaggc
 1140
 30 ttctatccca gcgacatgc cgtggagtgg gagagcaatg ggcagccgga gaacaactac
 1200
 aagaccagc ctcccggtgt ggactccgac ggctccttct tctctacag caagctcacc
 35 1260
 gtggacaaga gcaggtggca gcaggggaac gtcttctcat gctccgtgat gcatgaggt
 1320
 40 ctgcacaacc actacacgca gaagagcctc tccctgtctc cgggtggcgg gtccggaggc
 1380
 ctgaacgaca tcttcgaggc ccagaagatt gaatggcacg ag 1422
 45
 <210> 269
 <211> 593
 <212> PRT
 <213> Yapay Sekans
 50
 <220>
 <223> 28H1 Fab HC-Fc topuzu (LALA P329G)-IL-2 qm (2)

<400> 269

5	Glu	Val	Gln	Leu	Leu	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Gln	Pro	Gly	Gly
	1			5						10					15	
	Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Thr	Phe	Ser	Ser	His
10				20					25					30		
	Ala	Met	Ser	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val
			35					40					45			
15	Ser	Ala	Ile	Trp	Ala	Ser	Gly	Glu	Gln	Tyr	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val	Lys
	50						55					60				
20	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn	Ser	Lys	Asn	Thr	Leu	Tyr	Leu
	65					70					75					80
	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Ala
25					85					90					95	
	Lys	Gly	Trp	Leu	Gly	Asn	Phe	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val
30				100					105					110		
	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala
			115					120					125			
35	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu
		130					135					140				
40	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly
	145					150					155					160
	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser
45					165					170					175	
	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu
50				180					185					190		
	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr

	195	200	205
5	Lys Val Asp Lys Lys Val	Glu Pro Lys Ser Cys	Asp Lys Thr His Thr
	210	215	220
10	Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe		
	225	230	235 240
15	Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro		
		245	250 255
20	Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val		
		260	265 270
25	Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr		
		275	280 285
30	Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val		
		290	295 300
35	Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys		
		305	310 315 320
40	Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser		
		325	330 335
45	Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro		
		340	345 350
50	Cys Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val		
		355	360 365
55	Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly		
		370	375 380
60	Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp		
		385	390 395 400
65	Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp		

415

 $\langle 210 \rangle$ 270

<211> 1779
<212> DNA
<213> Yapay Sekans

5 <220>
<223> 28H1 Fab HC-Fc topuzu (LALA P329G)-IL-2 qm (2)

<400> 270
gaagtgcagc tgctggaatc cggcggagggc ctggtgcagc ctggcggatc tctgagactg
10 60

tcctgcgcgcg cctccggctt caccttctcc tcccacgcca tgtcctgggt ccgacaggct
120

cctggcaaag gcttgggaatg ggtgtccgcc atctgggcct ccggcgagca gtactacgcc
15 180

gactctgtga agggccggtt caccatctcc cgggacaact ccaagaacac cctgtacctg
240
20
cagatgaact ccttgcgggc cgaggacacc gccgtgtact actgtgccaa gggctggctg
300

ggcaacttcg actactgggg acagggcacc ctggtcaccg tgtccagcgc tagcaccaag
25 360

ggcccatcgg tcttccccct ggcacctcc tccaagagca cctctggggg cacagcggcc
420

ctgggctgcc tgggtcaagga ctacttcccc gaaccggtga cgggtgtcgtg gaactcaggc
30 480

gccctgacca gcggcgtgca caccttcccc gctgtcctac agtcctcagg actctactcc
540
35
ctcagcagcg tggtgaccgt gccctccagc agcttgggca ccagaccta catctgcaac
600

gtgaatcaca agcccagcaa caccaagggtg gacaagaaag ttgagcccaa atcttgtgac
40 660

aaaactcaca catgcccacc gtgcccagca cctgaagctg cagggggacc gtcagtcttc
720

ctcttcccc caaaacccaa ggacacctc atgatctccc ggacctctga ggtcacatgc
45 780

gtggtggtgg acgtgagcca cgaagacct gaggtcaagt tcaactggta cgtggacggc
840
50
gtggaggtgc ataatgccaa gacaaagccg cgggaggagc agtacaacag cacgtaccgt
900

gtggtcagcg tcttcaccgt cctgcaccag gactgggtga atggcaagga gtacaagtgc
960

5 aaggtctcca acaaagccct cggcgccccc atcgagaaaa ccatctccaa agccaaaggg
1020

cagccccgag aaccacaggt gtacaccctg ccccatgcc gggatgagct gaccaagaac
1080

10 caggtcagcc tgtgggtgcct ggtcaaaggc ttctatccca gcgacatcgc cgtggagtgg
1140

gagagcaatg ggcagccgga gaacaactac aagaccacgc ctcccgtgct ggaactccgac
15 1200

ggctccttct tctctacag caagctcacc gtggacaaga gcaggtggca gcaggggaac
1260

20 gtctttctcat gctccgtgat gcatgaggct ctgcacaacc actacacgca gaagagcctc
1320

tccctgtctc cgggtggcgg cggaggctcc ggaggcggag gttctggcgg aggtggctcc
1380

25 gcacctgcct caagttctac aaagaaaaca cagctacaac tggagcattt actgctggat
1440

ttacagatga ttttgaatgg aattaataat tacaagaatc ccaaactcac caggatgctc
30 1500

acagccaagt ttgccatgcc caagaaggcc acagaactga aacatcttca gtgtctagaa
1560

35 gaagaactca aacctctgga ggaagtgcta aatggcgctc aaagcaaaaa ctttactta
1620

agaccaggg acttaatcag caatatcaac gtaatagttc tggaactaaa gggatctgaa
1680

40 acaacattca tgtgtgaata tgctgatgag acagcaacca ttgtagaatt tctgaacaga
1740

tggattacct ttgccc aaag catcatctca acactgact 1779

45

<210> 271
<211> 594
<212> PRT
50 <213> Yapay Sekans

<220>

<223> 4B9 Fab HC-Fc topuzu (LALA P329G)-IL-2 qm (2)

<400> 271

5	Glu	Val	Gln	Leu	Leu	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Gln	Pro	Gly	Gly	
	1				5					10					15		
10	Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Thr	Phe	Ser	Ser	Tyr	
				20					25					30			
15	Ala	Met	Ser	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val	
			35					40					45				
20	Ser	Ala	Ile	Ile	Gly	Ser	Gly	Ala	Ser	Thr	Tyr	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val	
		50					55					60					
25	Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn	Ser	Lys	Asn	Thr	Leu	Tyr	
	65					70					75					80	
30	Ala	Lys	Gly	Trp	Phe	Gly	Gly	Phe	Asn	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	
				100					105					110			
35	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	
			115					120					125				
40	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	
		130					135					140					
45	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	
	145					150					155					160	
50	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	
					165					170					175		
55	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	
			180						185					190			

	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro	Ser	Asn
			195					200					205			
5	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Lys	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys	Thr	His
		210					215					220				
10	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Ala	Ala	Gly	Gly	Pro	Ser	Val
	225					230					235					240
15	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr
					245					250					255	
20	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu
				260					265					270		
25	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys
			275					280					285			
30	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser
		290					295					300				
35	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys
	305					310					315					320
40	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Gly	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile
					325					330					335	
45	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro
				340					345					350		
50	Pro	Cys	Arg	Asp	Glu	Leu	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Trp	Cys	Leu
			355					360					365			
55	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn
		370					375					380				
60	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser
	385					390					395					400

	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg
					405					410					415	
5	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu
				420					425					430		
10	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Gly	Gly
			435					440					445			
15	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Ala	Pro	Ala
		450					455					460				
20	Ser	Ser	Ser	Thr	Lys	Lys	Thr	Gln	Leu	Gln	Leu	Glu	His	Leu	Leu	Leu
	465					470					475					480
25	Asp	Leu	Gln	Met	Ile	Leu	Asn	Gly	Ile	Asn	Asn	Tyr	Lys	Asn	Pro	Lys
					485					490					495	
30	Leu	Thr	Arg	Met	Leu	Thr	Ala	Lys	Phe	Ala	Met	Pro	Lys	Lys	Ala	Thr
				500					505					510		
35	Glu	Leu	Lys	His	Leu	Gln	Cys	Leu	Glu	Glu	Glu	Leu	Lys	Pro	Leu	Glu
			515					520					525			
40	Glu	Val	Leu	Asn	Gly	Ala	Gln	Ser	Lys	Asn	Phe	His	Leu	Arg	Pro	Arg
		530					535					540				
45	Asp	Leu	Ile	Ser	Asn	Ile	Asn	Val	Ile	Val	Leu	Glu	Leu	Lys	Gly	Ser
	545					550					555					560
50	Glu	Thr	Thr	Phe	Met	Cys	Glu	Tyr	Ala	Asp	Glu	Thr	Ala	Thr	Ile	Val
					565					570					575	
55	Glu	Phe	Leu	Asn	Arg	Trp	Ile	Thr	Phe	Ala	Gln	Ser	Ile	Ile	Ser	Thr
				580					585					590		
60	Leu	Thr														

<210> 272
<211> 1782
<212> DNA
<213> Yapay Sekans

5

<220>
<223> 4B9 Fab HC-Fc topuzu (LALA P329G)-IL-2 qm (2)

<400> 272

10 gaggtgcagc tgctcgaaag cggcggagga ctggtgcagc ctggcggcag cctgagactg
60

tcttgcgccg ccagcggctt caccttcagc agctacgcca tgagctgggt ccgccaggcc
120

15

cctggcaagg gactggaatg ggtgtccgcc atcatcggct ctggcgccag cacctactac
180

20 gccgacagcg tgaagggccg gttcaccatc agccgggaca acagcaagaa caccctgtac
240

ctgcagatga acagcctgcg ggccgaggac accgccgtgt actactgcgc caagggatgg
300

25 ttccggcggt tcaactactg gggacagggc accctgggtca cagtgtccag cgctagcacc
360

aagggcccat cggctcttccc cctggcacc cctccaaga gcacctctgg gggcacagcg
420

30

gccctgggct gcctgggtcaa ggactacttc cccgaaccgg tgacgggtgtc gtggaactca
480

35 ggcgcctga ccagcggcgt gcacaccttc ccggctgtcc tacagtcttc aggactctac
540

tccctcagca gcgtgggtgac cgtgcctctc agcagcttgg gcacccagac ctacatctgc
600

40 aacgtgaatc acaagcccag caacaccaag gtggacaaga aagttgagcc caaatcttgt
660

gacaaaactc acacatgccc accgtgccc gcacctgaag ctgcaggggg accgtcagtc
720

45

ttcctcttcc ccccaaaacc caaggacacc ctcatgatct cccggacccc tgaggtcaca
780

50 tgcgtgggtgg tggacgtgag ccacgaagac cctgagggtca agttcaactg gtacgtggac
840

ggcgtggagg tgcataatgc caagacaaag ccgcgggagg agcagtacaa cagcacgtac
 900
 5 cgtgtgggtca gcgtcctcac cgtcctgcac caggactggc tgaatggcaa ggagtacaag
 960
 tgcaaggtct ccaacaaagc cctcggcgcc cccatcgaga aaaccatctc caaagccaaa
 1020
 10 gggcagcccc gagaaccaca ggtgtacacc ctgcccccat gccgggatga gctgaccaag
 1080
 aaccaggtca gcctgtgggtg cctgggtcaaa ggcttctatc ccagcgacat cgccgtggag
 1140
 15 tgggagagca atgggcagcc ggagaacaac tacaagacca cgcctcccgt gctggactcc
 1200
 gacggctcct tcttctctta cagcaagctc accgtggaca agagcagggtg gcagcagggg
 20 1260
 aacgtcttct catgctccgt gatgcatgag gctctgcaca accactacac gcagaagagc
 1320
 25 ctctccctgt ctccgggtgg cggcggaggc tccggaggcg gaggttcttg cggagggtggc
 1380
 tccgcacctg cctcaagttc taaaagaaa acacagctac aactggagca tttactgctg
 1440
 30 gatttacaga tgattttgaa tggaattaat aattacaaga atcccaaact caccaggatg
 1500
 ctcacagcca agtttgccat gcccaagaag gccacagaac tgaaacatct tcagtgtcta
 35 1560
 gaagaagaac tcaaacctct ggaggaagtg ctaaattggcg ctcaaagcaa aaactttcac
 1620
 40 ttaagacca gggacttaat cagcaatatc aacgtaatag ttctggaact aaagggatct
 1680
 gaaacaacat tcattgtgtga atatgctgat gagacagcaa ccattgtaga atttctgaac
 1740
 45 agatggatta cctttgcccc aagcatcatc tcaaacctga ct 1782

 <210> 273
 50 <211> 594
 <212> PRT
 <213> Yapay Sekans

<220>

<223> 4B9 Fab HC-Fc topuzu (LALA P329G)-IL-2 wt

5 <400> 273

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

10

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

15

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

20

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

25

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

30

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

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

35

Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
115 120 125

40

Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys
130 135 140

45

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

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

50

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

	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro	Ser	Asn	
			195					200					205				
5																	
	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Lys	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys	Thr	His	
		210					215					220					
10																	
	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Ala	Ala	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	
	225					230					235					240	
15																	
	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	
					245					250					255		
20																	
	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	
				260					265					270			
25																	
	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	
			275					280					285				
30																	
	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	
		290					295					300					
35																	
	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	
	305					310					315					320	
40																	
	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Gly	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	
					325					330					335		
45																	
	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	
				340					345					350			
50																	
	Pro	Cys	Arg	Asp	Glu	Leu	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Trp	Cys	Leu	
			355					360					365				
55																	
	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	
		370					375					380					
60																	
	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	
	385					390					395					400	

	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	
					405					410					415		
5																	
	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	
				420					425					430			
10																	
	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Gly	Gly	
			435					440					445				
15																	
	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Ala	Pro	Thr	
		450					455					460					
20																	
	Ser	Ser	Ser	Thr	Lys	Lys	Thr	Gln	Leu	Gln	Leu	Glu	His	Leu	Leu	Leu	
	465					470					475					480	
25																	
	Asp	Leu	Gln	Met	Ile	Leu	Asn	Gly	Ile	Asn	Asn	Tyr	Lys	Asn	Pro	Lys	
					485					490					495		
30																	
	Leu	Thr	Arg	Met	Leu	Thr	Phe	Lys	Phe	Tyr	Met	Pro	Lys	Lys	Ala	Thr	
				500					505					510			
35																	
	Glu	Leu	Lys	His	Leu	Gln	Cys	Leu	Glu	Glu	Glu	Leu	Lys	Pro	Leu	Glu	
			515					520					525				
40																	
	Glu	Val	Leu	Asn	Leu	Ala	Gln	Ser	Lys	Asn	Phe	His	Leu	Arg	Pro	Arg	
		530					535					540					
45																	
	Asp	Leu	Ile	Ser	Asn	Ile	Asn	Val	Ile	Val	Leu	Glu	Leu	Lys	Gly	Ser	
	545					550					555					560	
50																	
	Glu	Thr	Thr	Phe	Met	Cys	Glu	Tyr	Ala	Asp	Glu	Thr	Ala	Thr	Ile	Val	
					565					570					575		
55																	
	Glu	Phe	Leu	Asn	Arg	Trp	Ile	Thr	Phe	Ala	Gln	Ser	Ile	Ile	Ser	Thr	
				580					585					590			
60																	
	Leu	Thr															

<210> 274
 <211> 1782
 5 <212> DNA
 <213> Yapay Sekans

 <220>
 <223> 4B9 Fab HC-Fc topuzu (LALA P329G)-IL-2 wt
 10
 <400> 274
 gaggtgcagc tgctcgaaag cggcggagga ctggtgcagc ctggcggcag cctgagactg
 60
 15 tcttgcgccg ccagcggctt caccttcagc agctacgcca tgagctgggt ccgccaggcc
 120
 cctggcaagg gactggaatg ggtgtccgcc atcatcggtt ctggcgccag cacctactac
 180
 20 gccgacagcg tgaagggccg gttcaccatc agccgggaca acagcaagaa caccctgtac
 240
 ctgcagatga acagcctgcg ggccgaggac accgccgtgt actactgcgc caagggatgg
 25 300
 ttccggcggt tcaactactg gggacagggc accctgggtc cagtgtccag cgctagcacc
 360
 30 aagggcccat cggctcttccc cctggcacc cctccaaga gcacctctgg gggcacagcg
 420
 gccctggggt gcctggtcaa ggactacttc cccgaaccgg tgacgggtgtc gtggaactca
 480
 35 ggcgcctga ccagcggcgt gcacaccttc ccggctgtcc tacagtcttc aggactctac
 540
 tccctcagca gcgtggtgac cgtgcctctc agcagcttgg gcacccagac ctacatctgc
 40 600
 aacgtgaatc acaagcccag caacaccaag gtggacaaga aagttgagcc caaatcttgt
 660
 45 gacaaaactc acacatgccc accgtgccca gcacctgaag ctgcaggggg accgtcagtc
 720
 ttctcttcc ccccaaaacc caaggacacc ctcatgatct cccggacccc tgaggtcaca
 780
 50 tgcgtggtgg tggacgtgag ccacgaagac cctgagggtc agttcaactg gtacgtggac
 840

ggcgtggagg tgcataatgc caagacaaag ccgcgggagg agcagtacaa cagcacgtac
 900

5 cgtgtgggtca gcgtcctcac cgtcctgcac caggactggc tgaatggcaa ggagtacaag
 960

tgcaaggtct ccaacaaagc cctcggcgcc cccatcgaga aaaccatctc caaagccaaa
 1020

10 gggcagcccc gagaaccaca ggtgtacacc ctgcccccat gccgggatga gctgaccaag
 1080

aaccagggtca gcctgtggtg cctgggtcaaa ggcttctatc ccagcgacat cgccgtggag
 15 1140

tgggagagca atgggcagcc ggagaacaac tacaagacca cgctcccgt gctggactcc
 1200

20 gacggctcct tcttctcta cagcaagctc accgtggaca agagcagggtg gcagcagggg
 1260

aacgtcttct catgctccgt gatgcatgag gctctgcaca accactacac gcagaagagc
 1320

25 ctctccctgt ctccgggtgg cggcggaggc tccggaggcg gaggttcttg aggcggaggc
 1380

tccgcaccta cttcaagttc taaaagaaa acacagctac aactggagca tttactgctg
 30 1440

gatttacaga tgattttgaa tggaattaat aattacaaga atcccaaact caccaggatg
 1500

35 ctcacattta agttttacat gcccaagaag gccacagaac tgaaacatct tcagtgtcta
 1560

gaagaagaac tcaaacctct ggaggaagtg ctaaatttag ctcaaagcaa aaactttcac
 1620

40 ttaagacca gggacttaat cagcaatata aacgtaatag ttctggaact aaagggatct
 1680

gaaacaacat tcatgtgtga atatgctgat gagacagcaa ccattgtaga atttctgaac
 45 1740

agatggatta cctttgccca aagcatcatc tcaacactga ct 1782

50 <210> 275
 <211> 599
 <212> PRT

<213> Yapay Sekans

<220>

<223> CH1A1A 98/99 2F1 Fab HC-Fc topuzu (LALA P329G)-IL-2 qm

5

<400> 275

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

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

15 Gly Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

20 Gly Trp Ile Asn Thr Lys Thr Gly Glu Ala Thr Tyr Val Glu Glu Phe
50 55 60

25 Lys Gly Arg Val Thr Phe Thr Thr Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

35 Ala Arg Trp Asp Phe Ala Tyr Tyr Val Glu Ala Met Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

40 Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
115 120 125

40 Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala
130 135 140

45 Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
145 150 155 160

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

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

180

185

190

5	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His
			195					200					205			
10	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Lys	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys
		210					215					220				
15	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly
	225					230					235					240
20	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met
					245					250					255	
25	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His
				260					265					270		
30	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val
			275					280					285			
35	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr
		290					295					300				
40	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly
	305					310					315					320
45	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile
					325					330					335	
50	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val
				340					345					350		
55	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Cys	Arg	Asp	Glu	Leu	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser
			355					360					365			
60	Leu	Trp	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu
		370					375					380				
65	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro

	385		390		395		400									
5	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val
					405					410					415	
10	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met
				420					425					430		
15	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser
			435					440					445			
20	Pro	Gly	Lys	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly
		450					455						460			
25	Gly	Gly	Ala	Pro	Ala	Ser	Ser	Ser	Thr	Lys	Lys	Thr	Gln	Leu	Gln	Leu
	465					470					475					480
30	Glu	His	Leu	Leu	Leu	Asp	Leu	Gln	Met	Ile	Leu	Asn	Gly	Ile	Asn	Asn
					485					490					495	
35	Tyr	Lys	Asn	Pro	Lys	Leu	Thr	Arg	Met	Leu	Thr	Ala	Lys	Phe	Ala	Met
				500					505					510		
40	Pro	Lys	Lys	Ala	Thr	Glu	Leu	Lys	His	Leu	Gln	Cys	Leu	Glu	Glu	Glu
			515					520					525			
45	Leu	Lys	Pro	Leu	Glu	Glu	Val	Leu	Asn	Gly	Ala	Gln	Ser	Lys	Asn	Phe
		530					535					540				
50	His	Leu	Arg	Pro	Arg	Asp	Leu	Ile	Ser	Asn	Ile	Asn	Val	Ile	Val	Leu
	545					550					555					560
55	Glu	Leu	Lys	Gly	Ser	Glu	Thr	Thr	Phe	Met	Cys	Glu	Tyr	Ala	Asp	Glu
					565					570					575	
60	Thr	Ala	Thr	Ile	Val	Glu	Phe	Leu	Asn	Arg	Trp	Ile	Thr	Phe	Ala	Gln
				580					585					590		
65	Ser	Ile	Ile	Ser	Thr	Leu	Thr									

<210> 276
 5 <211> 1797
 <212> DNA
 <213> Yapay Sekans

 <220>
 10 <223> CH1A1A 98/99 2F1 Fab HC-Fc topuzu (LALA P329G)-IL-2 qm

 <400> 276
 caggtgcagc tgggtgcagtc tggcgccgaa gtgaagaaac ctggagctag tgtgaagggtg
 60
 15 tcttgcaagg ccagcggcta caccttcacc gagttcggca tgaactgggt ccgacaggct
 120
 ccaggccagg gcctogaatg gatgggctgg atcaacacca agaccggcga ggcacacctac
 20 180
 gtggaagagt tcaagggcag agtgaccttc accacggaca ccagcaccag caccgcctac
 240
 25 atggaactgc ggagcctgag aagcgacgac accgccgtgt actactgcgc cagatgggac
 300
 ttgcctatt acgtggaagc catggactac tggggccagg gcaccaccgt gaccgtgtct
 360
 30 agcgctagca ccaagggccc aagcgtgttc cctctggccc ccagcagcaa gagcacaagc
 420
 ggcggaacag ccgccctggg ctgcctggtc aaggactact tccccgagcc cgtgacagtg
 35 480
 tcttggaaca gcggagccct gaccagcggc gtgcacacct ttccagccgt gctgcagagc
 540
 40 agcggcctgt acagcctgag cagcgtggtc acagtgccta gcagcagcct gggcaccag
 600
 acctacatct gcaacgtgaa ccacaagccc agcaacacca aggtggacaa gaaggtggag
 660
 45 cccaagagct gcgacaagac ccacacctgt cccccttgtc ctgccctga gctgctgggc
 720
 ggaccagcgt tgttcctggt ccccccaaag cccaaggaca cctgatgat cagccggacc
 50 780

cccgaagtga cctgcgtggt ggtggacgtg tcccacgagg accctgaagt gaagttcaat
840

5 tggtagctgg acggcgtgga ggtgcacaat gccaaagacca agccccggga ggaacagtac
900

aacagcacct accgggtggt gtccgtgctg accgtgctgc accaggactg gctgaacggc
960

10 aaagagtaca agtgcaaggt ctccaacaag gccctgcctg ccccatcga gaaaaccatc
1020

agcaaggcca agggccagcc cagagaaccc caggtgtaca cctgcccc ctgcagagat
1080

15 gagctgacca agaaccaggt gtccctgtgg tgtctgggtca agggcttcta cccagcgat
1140

atcgccgtgg agtgggagag caacggccag cctgagaaca actacaagac cccccccct
1200

20 gtgctggaca gcgacggcag cttcttctctg tactccaaac tgaccgtgga caagagccgg
1260

25 tggcagcagg gcaacgtggt cagctgcagc gtgatgcacg aggccctgca caaccactac
1320

accagaagt cctgagcct gagccccggc aagtccggag gcggaggctc cggcggcggc
1380

30 ggttctggcg gaggtggcgc tcttgcctcc tccagcacca agaaaaccca gctccagctg
1440

gaacatctcc tgctggatct gcagatgac ctgaacggca tcaacaacta caagaacccc
1500

35 aagctgaccc ggatgctgac cgccaagtcc gccatgccca agaaggccac cgagctgaaa
1560

40 catctgcagt gcctggaaga ggaactgaag cctctggaag aggtgctgaa cggcgcccag
1620

tccaagaact tccacctgag gcctcgggac ctgatctcca acatcaacgt gatcgtgctg
1680

45 gaactgaagg gctccgagac aaccttcatg tgcgagtacg ccgacgagac agctaccatc
1740

gtggaatttc tgaaccggtg gatcaccttc gcccagttca tcctctccac cctgacc
1797

50

<210> 277
 <211> 598
 <212> PRT
 <213> Yapay Sekans

5

<220>
 <223> CH1A1A 98/99 2F1 Fab HC-Fc topuzu (LALA P329G)-IL-2 qm (2)

<400> 277

10

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

15

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

20

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

25

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

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

30

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

35

Ala Arg Trp Asp Phe Ala Tyr Tyr Val Glu Ala Met Asp Tyr Trp Gly
 100 105 110

40

Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
 115 120 125

45

Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala
 130 135 140

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

50

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

	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val
				180					185					190		
5																
	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His
			195					200					205			
10																
	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Lys	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys
		210					215					220				
15																
	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Ala	Ala	Gly
	225					230					235					240
20																
	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met
					245					250					255	
25																
	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His
				260					265					270		
30																
	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val
			275					280					285			
35																
	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr
		290					295					300				
40																
	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly
	305					310					315					320
45																
	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Gly	Ala	Pro	Ile
					325					330					335	
50																
	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val
				340					345					350		
55																
	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Cys	Arg	Asp	Glu	Leu	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser
			355					360					365			
60																
	Leu	Trp	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu
		370					375					380				

	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	
	385					390					395					400	
5																	
	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	
					405					410					415		
10																	
	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	
				420					425					430			
15																	
	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	
			435					440					445				
20																	
	Pro	Gly	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	
		450					455					460					
25																	
	Ser	Ala	Pro	Ala	Ser	Ser	Ser	Thr	Lys	Lys	Thr	Gln	Leu	Gln	Leu	Glu	
	465					470					475					480	
30																	
	His	Leu	Leu	Leu	Asp	Leu	Gln	Met	Ile	Leu	Asn	Gly	Ile	Asn	Asn	Tyr	
					485					490					495		
35																	
	Lys	Asn	Pro	Lys	Leu	Thr	Arg	Met	Leu	Thr	Ala	Lys	Phe	Ala	Met	Pro	
				500					505					510			
40																	
	Lys	Lys	Ala	Thr	Glu	Leu	Lys	His	Leu	Gln	Cys	Leu	Glu	Glu	Glu	Leu	
			515					520					525				
45																	
	Lys	Pro	Leu	Glu	Glu	Val	Leu	Asn	Gly	Ala	Gln	Ser	Lys	Asn	Phe	His	
		530					535					540					
50																	
	Leu	Arg	Pro	Arg	Asp	Leu	Ile	Ser	Asn	Ile	Asn	Val	Ile	Val	Leu	Glu	
	545					550					555					560	
55																	
	Leu	Lys	Gly	Ser	Glu	Thr	Thr	Phe	Met	Cys	Glu	Tyr	Ala	Asp	Glu	Thr	
					565					570					575		
60																	
	Ala	Thr	Ile	Val	Glu	Phe	Leu	Asn	Arg	Trp	Ile	Thr	Phe	Ala	Gln	Ser	
				580					585					590			

Ile Ile Ser Thr Leu Thr
595

5

<210> 278

<211> 1794

<212> DNA

10 <213> Yapay Sekans

<220>

<223> CH1A1A 98/99 2F1 Fab HC-Fc topuzu (LALA P329G)-IL-2 qm (2)

15 <400> 278

caggtgcagc tgggtgcagtc tggcgccgaa gtgaagaaac ctggagctag tgtgaagggtg
60

20 tcttgcaagg ccagcggcta caccttcacc gagttcggca tgaactgggt cgcacaggct
120

ccaggccagg gcctcgaaatg gatggggtgg atcaacacca agaccggcga ggccacctac
180

25 gtggaagagt tcaagggcag agtgaccttc accacggaca ccagcaccag caccgcctac
240

atggaactgc ggagcctgag aagcgacgac accgccgtgt actactgcgc cagatgggac
300

30

ttcgcctatt acgtggaagc catggactac tggggccagg gcaccaccgt gaccgtgtct
360

35 agcgctagca ccaagggccc atcggtcttc cccctggcac cctcctccaa gagcacctct
420

gggggcacag cggccctggg ctgcctggtc aaggactact tccccgaacc ggtgacgggtg
480

40 tcgtggaact caggcgccct gaccagcggc gtgcacacct tcccggctgt cctacagtcc
540

tcaggactct actccctcag cagcgtgggtg accgtgccct ccagcagctt gggcaccag
600

45

acctacatct gcaacgtgaa tcacaagccc agcaacacca aggtggacaa gaaagttgag
660

50 cccaaatctt gtgacaaaac tcacacatgc ccaccgtgcc cagcacctga agctgcaggg
720

ggaccgtcag tcttctcttt ccccccaaaa cccaaggaca cctcatgat ctcccggacc
 780

5 cctgaggtea catgcgtggt ggtggacgtg agccacgaag acctgaggt caagttcaac
 840

tggtagctgg acggcgtgga ggtgcataat gccaaagaaa agccgcggga ggagcagtac
 900

10 aacagcacgt accgtgtggt cagcgtcctc accgtcctgc accaggactg gctgaatggc
 960

aaggagtaca agtgcaaggt ctccaacaaa gccctcggcg ccccatcga gaaaaccatc
 1020

15 tccaaagcca aagggcagcc ccgagaacca caggtgtaca cctgcccc atgccgggat
 1080

gagctgacca agaaccaggt cagcctgtgg tgccctggta aaggcttcta tcccagcgac
 20 1140

atcgccgtgg agtgggagag caatgggcag ccggagaaca actacaagac cagcctccc
 1200

25 gtgctggact ccgaaggctc cttcttcctc tacagcaagc tcaccgtgga caagagcagg
 1260

tggcagcagg ggaacgtctt ctcatgctcc gtgatgcatg aggctctgca caaccactac
 1320

30 acgcagaaga gcctctccct gtctccgggt ggcggcggag gctccggagg cggaggttct
 1380

ggccggaggtg gctccgcacc tgcccaagt tctacaaaga aaacacagct acaactggag
 35 1440

catttactgc tggatttaca gatgattttg aatggaatta ataattacaa gaatcccaa
 1500

40 ctcaccagga tgctcacagc caagtttgcc atgcccaaga aggccacaga actgaaacat
 1560

cttcagtgtc tagaagaaga actcaaacct ctggaggaag tgctaaatgg cgctcaaagc
 1620

45 aaaaactttc acttaagacc cagggaacta atcagcaata tcaacgtaat agttctggaa
 1680

ctaaagggat ctgaaacaac attcatgtgt gaatatgctg atgagacagc aaccattgta
 50 1740

gaattttctga acagatggat taccttttgcc caaagcatca tctcaacact gact
1794

5 <210> 279
<211> 598
<212> PRT
<213> Yapay Sekans

10 <220>
<223> CH1A1A 98/99 2F1 Fab HC-Fc topuzu (LALA P329G)-IL-2 wt

<400> 279

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

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

25 Gly Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

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

30 Lys Gly Arg Val Thr Phe Thr Thr Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

40 Ala Arg Trp Asp Phe Ala Tyr Tyr Val Glu Ala Met Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
115 120 125

45 Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala
130 135 140

50 Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
145 150 155 160

	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	
					165					170					175		
5																	
	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	
				180					185					190			
10																	
	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	
			195					200					205				
15																	
	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Lys	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	
		210					215					220					
20																	
	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Ala	Ala	Gly	
	225					230					235					240	
25																	
	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	
					245					250					255		
30																	
	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	
				260					265					270			
35																	
	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	
			275					280					285				
40																	
	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	
		290					295					300					
45																	
	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	
	305					310					315					320	
50																	
	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Gly	Ala	Pro	Ile	
					325					330					335		
55																	
	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	
				340					345					350			
60																	
	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Cys	Arg	Asp	Glu	Leu	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	
			355					360					365				

	Leu	Trp	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu
	370						375					380				
5																
	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro
	385					390					395					400
10																
	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val
					405					410					415	
15																
	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met
				420					425					430		
20																
	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser
			435					440					445			
25																
	Pro	Gly	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly
	450						455					460				
30																
	Ser	Ala	Pro	Thr	Ser	Ser	Ser	Thr	Lys	Lys	Thr	Gln	Leu	Gln	Leu	Glu
	465					470					475					480
35																
	His	Leu	Leu	Leu	Asp	Leu	Gln	Met	Ile	Leu	Asn	Gly	Ile	Asn	Asn	Tyr
					485					490					495	
40																
	Lys	Asn	Pro	Lys	Leu	Thr	Arg	Met	Leu	Thr	Phe	Lys	Phe	Tyr	Met	Pro
				500					505					510		
45																
	Lys	Lys	Ala	Thr	Glu	Leu	Lys	His	Leu	Gln	Cys	Leu	Glu	Glu	Glu	Leu
			515					520					525			
50																
	Lys	Pro	Leu	Glu	Glu	Val	Leu	Asn	Leu	Ala	Gln	Ser	Lys	Asn	Phe	His
	530						535					540				
55																
	Leu	Arg	Pro	Arg	Asp	Leu	Ile	Ser	Asn	Ile	Asn	Val	Ile	Val	Leu	Glu
	545					550					555					560
60																
	Leu	Lys	Gly	Ser	Glu	Thr	Thr	Phe	Met	Cys	Glu	Tyr	Ala	Asp	Glu	Thr
					565					570					575	

Ala Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ala Gln Ser
580 585 590

5

Ile Ile Ser Thr Leu Thr
595

10

<210> 280
<211> 1794
<212> DNA
<213> Yapay Sekans

15

<220>
<223> CH1A1A 98/99 2F1 Fab HC-Fc topuzu (LALA P329G)-IL-2 wt

<400> 280

20 caggtgcagc tgggtgcagtc tggcgccgaa gtgaagaaac ctggagctag tgtgaagggtg
60

tcttgcaagg ccagcggcta caccttcacc gagttcggca tgaactgggt ccgacaggct
120

25

ccaggccagg gcctcgaatg gatggggtgg atcaacacca agaccggcga ggccacctac
180

30

gtggaagagt tcaagggcag agtgacctc accacggaca ccagcaccag caccgcctac
240

atggaactgc ggagcctgag aagcgacgac accgccgtgt actactgcgc cagatgggac
300

35

ttcgcctatt acgtggaagc catggactac tggggccagg gcaccaccgt gaccgtgtct
360

agcgctagca ccaagggccc atcggtcttc cccctggcac cctcctccaa gagcacctct
420

40

gggggcacag cggccctggg ctgcctggtc aaggactact tccccgaacc ggtgacgggtg
480

45

tcgtggaact caggcgccct gaccagcggc gtgcacacct tcccggctgt cctacagtcc
540

tcaggactct actcctcag cagcgtgggtg accgtgccct ccagcagctt gggcaccag
600

50

acctacatct gcaacgtgaa tcacaagccc agcaacacca aggtggacaa gaaagttgag
660

cccaaatctt gtgacaaaac tcacacatgc ccaccgtgcc cagcacctga agctgcaggg
 720

5 ggaccgtcag tcttctcttt cccccaaaa cccaaggaca cctcatgat ctcccggacc
 780

cctgagggtca catgcgtggg ggtggacgtg agccacgaag accctgaggt caagttcaac
 840

10 tggtagctgg acggcgtgga ggtgcataat gccaaagaca agccgcggga ggagcagtac
 900

aacagcacgt accgtgtggg cagcgtcttc accgtcttc accaggactg gctgaatggc
 960

15 aaggagtaca agtgcaaggt ctccaacaaa gccctcggcg ccccatcga gaaaaccatc
 1020

tccaaagcca aagggcagcc ccgagaacca caggtgtaca cctgcccc atgccgggat
 20 1080

gagctgacca agaaccaggt cagcctgtgg tgcttgggtca aaggcttcta tcccagcgac
 1140

25 atgccgtgg agtgggagag caatgggcag ccggagaaca actacaagac cagcctccc
 1200

gtgctggact ccgacggctc cttcttcttc tacagcaagc tcaccgtgga caagagcagg
 1260

30 tggcagcagg ggaacgtctt ctcatgctcc gtgatgcatg aggctctgca caaccactac
 1320

acgcagaaga gcctctccct gtctccgggt ggccggcgag gctccggagg cggaggttct
 35 1380

ggaggcggag gctccgcacc tacttcaagt totacaaaga aaacacagct acaactggag
 1440

40 catttactgc tggatttaca gatgattttg aatggaatta ataattacaa gaatcccaa
 1500

ctaccagga tgctcacatt taagttttac atgcccaaga aggccacaga actgaaacat
 1560

45 cttcagtgtc tagaagaaga actcaaacct ctggaggaag tgctaaattt agctcaaagc
 1620

aaaaactttc acttaagacc cagggaacta atcagcaata tcaacgtaat agttctggaa
 50 1680

ctaaagggat ctgaaacaac attcatgtgt gaatatgctg atgagacagc aaccattgta
1740

5 gaatttctga acagatggat tacctttgcc caaagcatca tctcaacact gact
1794

<210> 281
<211> 451
10 <212> PRT
<213> Yapay Sekans

<220>
<223> CH1A1A 98/99 2F1 Fab HC-Fc deliği (LALA P329G)
15
<400> 281

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

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

25 Gly Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

30 Gly Trp Ile Asn Thr Lys Thr Gly Glu Ala Thr Tyr Val Glu Glu Phe
50 55 60

35 Lys Gly Arg Val Thr Phe Thr Thr Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Trp Asp Phe Ala Tyr Tyr Val Glu Ala Met Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

45 Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
115 120 125

50 Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala
130 135 140

	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	145	150	155	160
5	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	165	170	175	
10	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	180	185	190	
15	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	195	200	205	
20	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Lys	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	210	215	220	
25	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Ala	Ala	Gly	225	230	235	240
	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	245	250	255	
30	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	260	265	270	
35	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	275	280	285	
40	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	290	295	300	
45	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	305	310	315	320
	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Gly	Ala	Pro	Ile	325	330	335	
50	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	340	345	350	

Cys Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
 355 360 365

5
 Leu Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
 370 375 380

10 Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
 385 390 395 400

15 Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val
 405 410 415

20 Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
 420 425 430

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
 435 440 445

25 Pro Gly Lys
 450

30 <210> 282
 <211> 1353
 <212> DNA
 <213> Yapay Sekans

35 <220>
 <223> CH1A1A 98/99 2F1 Fab HC-Fc deliği (LALA P329G)

40 <400> 282
 caggtgcagc tgggtgcagtc tggcgccgaa gtgaagaaac ctggagctag tgtgaaggtg
 60
 tcctgcaagg ccagcggcta caccttcacc gagttcggca tgaactgggt ccgacaggct
 120
 ccaggccagg gcttcgaatg gatgggctgg atcaacacca agaccggcga ggccacctac
 180
 gtggaagagt tcaagggcag agtgaccttc accacggaca ccagcaccag caccgcctac
 240
 50 atggaactgc ggagcctgag aagcgacgac accgccgtgt actactgcgc cagatgggac
 300

ttgcctatt acgtggaagc catggactac tggggccagg gcaccaccgt gaccgtgtct
 360

5 agcgctagca ccaagggccc ctccgtgttc cccctggccc ccagcagcaa gagcaccagc
 420

ggcggcacag ccgctctggg ctgcctggtc aaggactact tccccgagcc cgtgaccgtg
 480

10 tcttgaaca gcgagccct gacctccggc gtgcacacct tccccgccgt gctgcagagt
 540

tctggcctgt atagcctgag cagcgtggtc accgtgcctt ctagcagcct gggcaccag
 15 600

acctacatct gcaacgtgaa ccacaagccc agcaacacca aggtggacaa gaaggtggag
 660

20 cccaagagct gcgacaaaac tcacacatgc ccaccgtgcc cagcacctga agctgcaggg
 720

ggaccgtcag tcttctctt cccccaaaa cccaaggaca cctcatgat ctcccgacc
 780

25 cctgaggtca catgcgtggt ggtggacgtg agccacgaag accctgaggt caagttcaac
 840

tggtagctgg acggcgtgga ggtgcataat gccaaagaaa agccgcggga ggagcagtag
 30 900

aacagcacgt accgtgtggt cagcgtcctc accgtcctgc accaggactg gctgaatggc
 960

35 aaggagtaca agtgcaaggt ctccaacaaa gccctcggcg ccccatcga gaaaaccatc
 1020

tccaaagcca aagggcagcc ccgagaacca caggtgtgca cctgcccc atcccgggat
 1080

40 gagctgacca agaaccaggt cagcctctcg tgcgcagtca aaggcttcta tcccagcgac
 1140

atcgccgtgg agtgggagag caatgggcag ccggagaaca actacaagac cagcctccc
 45 1200

gtgctggact ccgacggctc cttcttctc gtgagcaagc tcaccgtgga caagagcagg
 1260

50 tggcagcagg ggaacgtctt ctcatgctcc gtgatgcatg aggctctgca caaccactac
 1320

acgcagaaga gcctctccct gtctccgggt aaa

1353

<210> 283

5 <211> 215

<212> PRT

<213> Yapay Sekans

<220>

10 <223> CH1A1A 98/99 2F1 Fab LC

<400> 283

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

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

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

30 Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Lys Arg Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

40 Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys His Gln Tyr Tyr Thr Tyr Pro Leu
85 90 95

45 Phe Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala
100 105 110

50 Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser
115 120 125

55 Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu
130 135 140

60 Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser
145 150 155 160

Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu
 165 170 175

5 Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val
 180 185 190

10 Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys
 195 200 205

15 Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210 215

<210> 284
 <211> 645
 20 <212> DNA
 <213> Yapay Sekans

<220>
 <223> CH1A1A 98/99 2F1 Fab LC

25 <400> 284
 gatatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtgggaga cagagtcacc
 60

30 atcacttgca aggccagtgc ggctgtgggt acgtatgttg cgtggtatca gcagaaacca
 120

gggaaagcac ctaagctcct gatctattcg gcatectacc gcaaaagggg agtcccatca
 180

35 aggttcagtg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag tctgcaacct
 240

gaagatttcg caacttacta ctgtcaccaa tattacacct atcctctatt cacgtttggc
 40 300

cagggcacca agctcgagat caagcgtacg gtggctgcac catctgtctt catcttcccg
 360

45 ccatctgatg agcagttgaa atctggaact gcctctgttg tgtgcctgct gaataacttc
 420

tatcccagag aggccaaagt acagtggaag gtggataacg cctccaatc gggtaactcc
 480

50 caggagagtg tcacagagca ggacagcaag gacagcacct acagcctcag cagcaccctg
 540

acgctgagca aagcagacta cgagaaacac aaagtctacg cctgcgaagt caccatcag
600

5 ggcctgagct cgcccgtcac aaagagcttc aacaggggag agtgt 645

<210> 285

<211> 598

10 <212> PRT

<213> Yapay Sekans

<220>

15 <223> 2B10 Fab HC-Fc topuzu (LALA P329G)-IL-2 qm

<400> 285

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

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

25 Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

30 Gly Gly Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

35 Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

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

45 Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
115 120 125

50 Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala
130 135 140

	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	145	150	155	160
5	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	165	170	175	
10	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	180	185	190	
15	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	195	200	205	
20	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Lys	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	210	215	220	
25	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Ala	Ala	Gly	225	230	235	240
	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	245	250	255	
30	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	260	265	270	
35	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	275	280	285	
40	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	290	295	300	
45	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	305	310	315	320
	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Gly	Ala	Pro	Ile	325	330	335	
50	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	340	345	350	

	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Cys	Arg	Asp	Glu	Leu	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser
			355					360					365			
5	Leu	Trp	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu
		370					375					380				
10	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro
	385					390					395					400
15	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val
					405					410					415	
20	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met
				420					425					430		
25	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser
			435					440					445			
30	Pro	Gly	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly
		450					455					460				
35	Ser	Ala	Pro	Ala	Ser	Ser	Ser	Thr	Lys	Lys	Thr	Gln	Leu	Gln	Leu	Glu
	465					470					475					480
40	His	Leu	Leu	Leu	Asp	Leu	Gln	Met	Ile	Leu	Asn	Gly	Ile	Asn	Asn	Tyr
					485					490					495	
45	Lys	Asn	Pro	Lys	Leu	Thr	Arg	Met	Leu	Thr	Ala	Lys	Phe	Ala	Met	Pro
				500					505					510		
50	Lys	Lys	Ala	Thr	Glu	Leu	Lys	His	Leu	Gln	Cys	Leu	Glu	Glu	Glu	Leu
			515					520					525			
55	Lys	Pro	Leu	Glu	Glu	Val	Leu	Asn	Gly	Ala	Gln	Ser	Lys	Asn	Phe	His
		530					535					540				
60	Leu	Arg	Pro	Arg	Asp	Leu	Ile	Ser	Asn	Ile	Asn	Val	Ile	Val	Leu	Glu
	545					550					555					560

Leu Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr
 565 570 575

5
 Ala Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ala Gln Ser
 580 585 590

10 Ile Ile Ser Thr Leu Thr
 595

<210> 286
 15 <211> 1794
 <212> DNA
 <213> Yapay Sekans

<220>
 20 <223> 2B10 Fab HC-Fc topuzu (LALA P329G)-IL-2 qm

<400> 286
 caggtgcaat tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctgggtcctc ggtgaaggtc
 60

25 tcttgcaagg cctccggagg cacattcagc agctacgcta taagctgggt gcgacaggcc
 120

cctggacaag ggctcgagtg gatgggaggg atcatcccta tctttggtac agcaaactac
 30 180

gcacagaagt tccagggcag ggtcaccatt actgcagaca aatccacgag cacagcctac
 240

35 atggagctga gcagcctgag atctgaggac accgccgtgt attactgtgc gagactgtac
 300

ggttacgctt actacggtgc ttttgactac tggggccaag ggaccaccgt gaccgtctcc
 360

40 tcagctagca ccaagggccc atcggtcttc cccctggcac cctcctccaa gagcacctct
 420

gggggcacag cggccctggg ctgcctggtc aaggactact tccccgaacc ggtgacggtg
 45 480

tcgtggaact cagggccctt gaccagcggc gtgcacacct tcccggctgt cctacagtcc
 540

50 tcaggactct actccctcag cagcgtggtg accgtgccct ccagcagctt gggcaccag
 600

acctacatct gcaacgtgaa tcacaagccc agcaacacca aggtggacaa gaaagttgag
660

cccaaattctt gtgacaaaac tcacacatgc ccaccgtgcc cagcacctga agctgcaggg
5 720

ggaccgtcag tcttcctctt ccccccaaaa cccaaggaca cctcatgat ctcccggacc
780

cctgaggtca catgcgtggg ggtggacgtg agccacgaag accctgaggt caagttcaac
10 840

tggtagctgg acggcgtgga ggtgcataat gccaaagacaa agccgcggga ggagcagtac
900

aacagcacgt accgtgtggg cagcgtcctc accgtcctgc accaggactg gctgaatggc
15 960

aaggagtaca agtgcaaggt ctccaacaaa gccctcggcg ccccatcga gaaaaccatc
20 1020

tccaaagcca aagggcagcc ccgagaacca caggtgtaca cctgcccc atgccgggat
1080

gagctgacca agaaccaggt cagcctgtgg tgcttgggtca aaggcttcta tcccagcgac
25 1140

atcgccgtgg agtgggagag caatgggcag ccggagaaca actacaagac cagcctccc
1200

gtgctggact ccgacggctc cttcttcctc tacagcaagc tcaccgtgga caagagcagg
30 1260

tggcagcagg ggaacgtctt ctcatgctcc gtgatgcatg aggctctgca caaccactac
35 1320

acgcagaaga gcctctccct gtctccgggt ggcggcggag gctccggagg cggaggttct
1380

ggcggaggtg gctccgcacc tgctcaagt ttacaaaga aaacacagct acaactggag
40 1440

catttactgc tggatttaca gatgattttg aatggaatta ataattacaa gaatcccaa
1500

ctcaccagga tgctcacagc caagtttgcc atgcccaaga aggccacaga actgaaacat
45 1560

cttcagtgtc tagaagaaga actcaaacct ctggaggaag tgctaaatgg cgctcaaagc
50 1620

aaaaactttc acttaagacc cagggactta atcagcaata tcaacgtaat agttctggaa
1680

5 ctaaagggat ctgaaacaac attcatgtgt gaatatgctg atgagacagc aaccattgta
1740

gaatttctga acagatggat tacctttgcc caaagcatca tctcaacact gact
1794

10

<210> 287
<211> 451
<212> PRT
<213> Yapay Sekans

15

<220>
<223> 2B10 Fab HC-Fc deliği (LALA P329G)

<400> 287

20

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

25

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

30

Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

35

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

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

40

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

45

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

50

Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
115 120 125

	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	
	130						135					140					
5	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	
	145					150					155					160	
10	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	
					165					170					175		
15	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	
				180					185					190			
20	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	
			195					200					205				
25	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Lys	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	
	210					215						220					
30	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	
					245					250					255		
35	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	
				260					265					270			
40	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	
			275					280					285				
45	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	
	305					310					315					320	
50	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Gly	Ala	Pro	Ile	
					325					330					335		

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

5 Cys Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
 355 360 365

10 Leu Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
 370 375 380

15 Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
 385 390 395 400

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val
 405 410 415

20 Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
 420 425 430

25 His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
 435 440 445

30 Pro Gly Lys
 450

<210> 288
 <211> 1353
 35 <212> DNA
 <213> Yapay Sekans

<220>
 <223> 2B10 Fab HC-Fc deliği (LALA P329G)
 40

<400> 288
 caggtgcaat tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctgggtcctc ggtgaaggtc
 60

45 tcttgcaagg cctccggagg cacattcagc agctacgcta taagctgggt gcgacaggcc
 120

cctggacaag ggctcgagtg gatgggaggg atcatcccta tctttggtac agcaaactac
 180

50 gcacagaagt tccagggcag ggtcaccatt actgcagaca aatccacgag cacagcctac
 240

atggagctga gcagcctgag atctgaggac accgccgtgt attactgtgc gagactgtac
 300

5 ggttacgctt actacggtgc ttttgactac tggggccaag ggaccacggt gaccgtctcc
 360

tcagctagca ccaagggccc ctccgtgttc cccctggccc ccagcagcaa gagcaccagc
 420

10 ggcggcacag ccgctctggg ctgcctggtc aaggactact tccccgagcc cgtgaccgtg
 480

tcctggaaca gcggagccct gacctccggc gtgcacacct tccccgccgt gctgcagagt
 15 540

tctggcctgt atagcctgag cagcgtggtc accgtgcctt ctagcagcct gggcaccag
 600

20 acctacatct gcaacgtgaa ccacaagccc agcaacacca aggtggacaa gaaggtggag
 660

cccaagagct gcgacaaaac tcacacatgc ccaccgtgcc cagcacctga agctgcaggg
 720

25 ggaccgtcag tcttcctctt cccccaaaa cccaaggaca cctcatgat ctcccggacc
 780

cctgaggtea catgcgtggg ggtggacgtg agccacgaag accctgaggt caagttcaac
 30 840

tggtagctgg acggcgtgga ggtgcataat gccaaagaaa agccgcggga ggagcagtac
 900

35 aacagcacgt accgtgtggg cagcgtcctc accgtcctgc accaggactg gctgaatggc
 960

aaggagtaca agtgcaaggt ctccaacaaa gccctcggcg ccccatcga gaaaaccatc
 1020

40 tccaaagcca aagggcagcc ccgagaacca caggtgtgca cctgcccc atcccgggat
 1080

gagctgacca agaaccaggt cagcctctcg tgcgcagtca aaggcttcta tcccagcgac
 45 1140

atcgccgtgg agtgggagag caatgggcag ccggagaaca actacaagac cagcctccc
 1200

50 gtgctggact ccgacggctc cttcttctc gtgagcaagc tcaccgtgga caagagcagg
 1260

tggcagcagg ggaacgtctt ctcatgctcc gtgatgcatg aggctctgca caaccactac
1320

acgcagaaga gcctctccct gtctccgggt aaa 1353

5

<210> 289

<211> 592

<212> PRT

10 <213> Yapay Sekans

<220>

<223> DP47GS Fab HC-Fc topuzu (LALA P329G)-IL-2 qm

15 <400> 289

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

20

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

25

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

30

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

35

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

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

40

Ala Lys Gly Ser Gly Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
100 105 110

45

Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro
115 120 125

50

Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val
130 135 140

	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	145	150	155		160
5	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly		165	170		175
10	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	180		185		190
15	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	195	200		205	
20	Val	Asp	Lys	Lys	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	210	215		220	
25	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Ala	Ala	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	225	230		235	240
30	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	245	250		255	
35	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	260	265		270	
40	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	275	280		285	
45	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	290	295		300	
50	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	305	310		315	320
	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Gly	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	325	330		335	
	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Cys	340	345		350	

	Arg	Asp	Glu	Leu	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Trp	Cys	Leu	Val	Lys
			355					360					365			
5	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln
		370					375					380				
10	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly
	385					390					395					400
15	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln
				405						410					415	
20	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn
				420					425					430		
25	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Gly	Gly	Gly	Gly
			435					440					445			
30	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Ala	Pro	Ala	Ser	Ser
		450					455					460				
35	Ser	Thr	Lys	Lys	Thr	Gln	Leu	Gln	Leu	Glu	His	Leu	Leu	Leu	Asp	Leu
	465					470					475					480
40	Gln	Met	Ile	Leu	Asn	Gly	Ile	Asn	Asn	Tyr	Lys	Asn	Pro	Lys	Leu	Thr
					485					490					495	
45	Arg	Met	Leu	Thr	Ala	Lys	Phe	Ala	Met	Pro	Lys	Lys	Ala	Thr	Glu	Leu
				500					505					510		
50	Lys	His	Leu	Gln	Cys	Leu	Glu	Glu	Glu	Leu	Lys	Pro	Leu	Glu	Glu	Val
			515				520						525			
55	Leu	Asn	Gly	Ala	Gln	Ser	Lys	Asn	Phe	His	Leu	Arg	Pro	Arg	Asp	Leu
		530					535					540				
60	Ile	Ser	Asn	Ile	Asn	Val	Ile	Val	Leu	Glu	Leu	Lys	Gly	Ser	Glu	Thr
	545					550					555					560

Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala Thr Ile Val Glu Phe
565 570 575

5 Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ala Gln Ser Ile Ile Ser Thr Leu Thr
580 585 590

<210> 290

10 <211> 1776

<212> DNA

<213> Yapay Sekans

<220>

15 <223> DP47GS Fab HC-Fc topuzu (LALA P329G)-IL-2 qm

<400> 290

gaggtgcaat tggtggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggggtc cctgagactc
60

20

tcctgtgcag cctccggatt caccttttagc agttatgcca tgagctgggt ccgccaggct
120

ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtggtggtag cacatactac
25 180

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat
240

30

ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaaggcagc
300

ggatttgact actggggcca aggaaccctg gtcaccgtct cgagtgctag caccaagggc
360

35

ccatcgggtct tccccctggc accctcctcc aagagcacct ctggggggcac agcggccctg
420

ggctgcctgg tcaaggacta cttccccgaa ccggtgacgg tgcgtgggaa ctcaggcgcc
40 480

ctgaccagcg gcgtgcacac cttcccggct gtccacagc cctcaggact ctactccctc
540

45

agcagcgtgg tgaccgtgcc ctccagcagc ttgggcaccc agacctacat ctgcaacgtg
600

aatcacaagc ccagcaacac caaggtggac aagaaagttg agcccaaadc ttgtgacaaa
660

50

actcacacat gccacccgtg cccagcacct gaagctgcag ggggaccgtc agtcttcctc
720

ttccccccaa aacccaagga caccctcatg atctcccgga cccctgaggt cacatgcgtg
 780

5 gtggtggacg tgagccacga agaccctgag gtcaagttca actggtacgt ggacggcgtg
 840

gaggtgcata atgccaagac aaagccgcgg gaggagcagt acaacagcac gtaccgtgtg
 900

10 gtcagcgtcc tcaccgtcct gcaccaggac tggctgaatg gcaaggagta caagtgcaag
 960

gtctccaaca aagccctcgg cgcccccatc gagaaaacca tctccaaagc caaagggcag
 15 1020

ccccgagaac cacaggtgta caccctgccc ccatgccggg atgagctgac caagaaccag
 1080

20 gtcagcctgt ggtgcctggt caaaggcttc tatcccagcg acatcgccgt ggagtgggag
 1140

agcaatgggc agccggagaa caactacaag accacgcctc ccgtgctgga ctccgacggc
 1200

25 tcctttcttc tctacagcaa gctcaccgtg gacaagagca ggtggcagca ggggaacgtc
 1260

ttctcatget ccgtgatgca tgaggctctg cacaaccact acacgcagaa gagcctctcc
 30 1320

ctgtctccgg gtggcggcgg aggctccgga ggcggagggt ctggcggagg tggctccgca
 1380

35 cctgcctcaa gttctacaaa gaaaacacag ctacaactgg agcatttact gctggattta
 1440

cagatgattt tgaatggaat taataattac aagaatccca aactcaccag gatgctcaca
 1500

40 gccaaagtttg ccatgcccaa gaaggccaca gaactgaaac atcttcagtg tctagaagaa
 1560

gaactcaaac ctctggagga agtgctaaat ggcgctcaaa gcaaaaactt tcaactaaga
 45 1620

ccagggact taatcagcaa tatcaacgta atagttctgg aactaaaggg atctgaaaca
 1680

50 acattcatgt gtgaatatgc tgatgagaca gcaaccattg tagaatttct gaacagatgg
 1740

attacctttg cccaaagcat catctcaaca ctgact

1776

<210> 291
5 <211> 592
<212> PRT
<213> Yapay Sekans

<220>
10 <223> DP47GS Fab HC-Fc topuzu (LALA P329G)-IL-2 wt (2)

<400> 291

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
25 35 40 45

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

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
30 65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
35 85 90 95

Ala Lys Gly Ser Gly Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
40 100 105 110

Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro
115 120 125

Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val
45 130 135 140

Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala
50 145 150 155 160

	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	
					165					170						175	
5	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	
				180					185					190			
10	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	
			195					200					205				
15	Val	Asp	Lys	Lys	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	
		210					215					220					
20	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Ala	Ala	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	
	225					230					235					240	
25	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	
				245						250					255		
30	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	
			260					265					270				
35	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	
		275						280					285				
40	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	
		290					295					300					
45	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	
	305					310					315					320	
50	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Gly	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	
					325					330					335		
55	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Cys	
				340					345					350			
60	Arg	Asp	Glu	Leu	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Trp	Cys	Leu	Val	Lys	
		355						360					365				

	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln
	370						375					380				
5	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly
	385					390					395					400
10	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln
					405					410					415	
15	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn
				420					425					430		
20	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Gly	Gly	Gly	Gly
			435					440					445			
25	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Ala	Pro	Thr	Ser	Ser
	450						455					460				
30	Ser	Thr	Lys	Lys	Thr	Gln	Leu	Gln	Leu	Glu	His	Leu	Leu	Leu	Asp	Leu
	465					470					475					480
35	Gln	Met	Ile	Leu	Asn	Gly	Ile	Asn	Asn	Tyr	Lys	Asn	Pro	Lys	Leu	Thr
					485					490					495	
40	Arg	Met	Leu	Thr	Phe	Lys	Phe	Tyr	Met	Pro	Lys	Lys	Ala	Thr	Glu	Leu
				500					505					510		
45	Lys	His	Leu	Gln	Cys	Leu	Glu	Glu	Glu	Leu	Lys	Pro	Leu	Glu	Glu	Val
			515					520					525			
50	Leu	Asn	Leu	Ala	Gln	Ser	Lys	Asn	Phe	His	Leu	Arg	Pro	Arg	Asp	Leu
	530						535					540				
55	Ile	Ser	Asn	Ile	Asn	Val	Ile	Val	Leu	Glu	Leu	Lys	Gly	Ser	Glu	Thr
	545					550					555					560
60	Thr	Phe	Met	Cys	Glu	Tyr	Ala	Asp	Glu	Thr	Ala	Thr	Ile	Val	Glu	Phe
					565					570					575	

Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ala Gln Ser Ile Ile Ser Thr Leu Thr
580 585 590

5

<210> 292
<211> 1776
<212> DNA
<213> Yapay Sekans

10

<220>
<223> DP47GS Fab HC-Fc topuzu (LALA P329G)-IL-2 wt (2)

<400> 292

15 gaggtgcaat tgttgaggatc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggggtc cctgagactc
60

tcctgtgcag cctccggatt caccttttagc agttatgcc a tgagctgggt ccgccaggct
120

20

ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtgggtggtag cacatactac
180

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat
25 240

ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaaggcagc
300

30 ggatttgact actggggcca aggaaccctg gtcaccgtct cgagtgctag caccaagggc
360

ccatcggtct tccccctggc accctcctcc aagagcacct ctggggggcac agcggccctg
420

35

ggctgcctgg tcaaggacta cttccccgaa ccggtgacgg tgtcgtggaa ctcaggcgcc
480

ctgaccagcg gcggtcacac cttcccggct gtccctacagt cctcaggact ctactccctc
40 540

agcagcgtgg tgaccgtgcc ctccagcagc ttgggcaccc agacctacat ctgcaacgtg
600

45 aatcacaagc ccagcaacac caaggtggac aagaaagttg agcccaaatac ttgtgacaaa
660

actcacacat gccacacgtg cccagcacct gaagctgcag ggggaccgtc agtcttctctc
720

50

ttccccccaa aaccaagga caccctcatg atctcccggc cccctgaggt cacatgcgtg
780

gtggtggaag tgagccacga agaccctgag gtcaagttca actggtacgt ggacggcgtg
 840

5 gaggtgcata atgccaagac aaagccgcgg gaggagcagt acaacagcac gtaccgtgtg
 900

gtcagcgtcc tcaccgtcct gcaccaggac tggctgaatg gcaaggagta caagtgcaag
 960

10 gtctccaaca aagccctcgg cgcccccatc gagaaaacca tctccaaagc caaagggcag
 1020

ccccgagaac cacaggtgta caccctgccc coatgcgggg atgagctgac caagaaccag
 15 1080

gtcagcctgt ggtgcctggc caaaggttc tatcccagcg acatcgccgt ggagtgggag
 1140

20 agcaatgggc agccggagaa caactacaag accacgcctc ccgtgctgga ctccgacggc
 1200

tcctttcttc tctacagcaa gctcaccgtg gacaagagca ggtggcagca ggggaacgtc
 1260

25 ttctcatgct ccgtgatgca tgaggctctg cacaaccact acacgcagaa gagcctctcc
 1320

ctgtctccgg gtggcggcgg aggtcccgga ggcggagggt ctggaggcgg aggtccgca
 30 1380

cctacttcaa gttctacaaa gaaaacacag ctacaactgg agcatttact gctggattta
 1440

35 cagatgattt tgaatggaat taataattac aagaatccca aactcaccag gatgctcaca
 1500

tttaagtttt acatgcccaa gaaggccaca gaactgaaac atcttcagtg tctagaagaa
 1560

40 gaactcaaac ctctggagga agtgctaaat ttagctcaaa gcaaaaaact tcaactaaga
 1620

cccagggact taatcagcaa tatcaacgta atagttctgg aactaaaggg atctgaaaca
 45 1680

acattcatgt gtgaatatgc tgatgagaca gcaaccattg tagaatttct gaacagatgg
 1740

50 attacctttg cccaaagcat catctcaaca ctgact 1776

<210> 293
 <211> 108
 <212> PRT
 <213> Yapay Sekans
 5
 <220>
 <223> CH1A1A 98/99 2F1; VL

 <400> 293
 10
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 15 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Ala Ala Val Gly Thr Tyr
 20 25 30
 Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
 20 35 40 45
 Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Lys Arg Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 25
 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80
 30
 Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys His Gln Tyr Tyr Thr Tyr Pro Leu
 85 90 95
 35 Phe Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105

 <210> 294
 40 <211> 324
 <212> DNA
 <213> Yapay Sekans

 <220>
 45 <223> CH1A1A 98/99 2F1; VL

 <400> 294
 gatatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtgggaga cagagtcacc
 60
 50 atcacttgca aggccagtgc ggctgtgggt acgtatgttg cgtgggtatca gcagaaacca
 120

gggaaagcac ctaagctcct gatctattcg gcatcctacc gcaaaagggg agtcccatca
180

5 aggttcagtg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag tctgcaacct
240

gaagatttcg caacttacta ctgtcaccaa tattacacct atcctctatt cacgtttggc
300

10 cagggcacca agctcgagat caag 324

<210> 295

15 <211> 121

<212> PRT

<213> Yapay Sekans

<220>

20 <223> CH1A1A 98/99 2F1; VH

<400> 295

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
25 1 5 10 15

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

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

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

Lys Gly Arg Val Thr Phe Thr Thr Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
40 65 70 75 80

Met Glu Leu Arg Ser Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
45 85 90 95

Ala Arg Trp Asp Phe Ala Tyr Tyr Val Glu Ala Met Asp Tyr Trp Gly
50 100 105 110

Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser

115

120

<210> 296
 5 <211> 363
 <212> DNA
 <213> Yapay Sekans

 <220>
 10 <223> CH1A1A 98/99 2F1; VH

 <400> 296
 caggtgcagc tgggtgcagtc tggcgccgaa gtgaagaaac ctggagctag tgtgaagggtg
 60
 15 tcttgcaagg ccagcggcta caccttcacc gagttcggca tgaactgggt ccgacaggct
 120
 ccaggccagg gcctcgaatg gatgggctgg atcaacacca agaccggcga ggcacacctac
 20 180
 gtggaagagt tcaagggcag agtgaccttc accacggaca ccagcaccag caccgcctac
 240
 25 atggaactgc ggagcctgag aagcgacgac accgccgtgt actactgcgc cagatgggac
 300
 ttgcctatt acgtggaagc catggactac tggggccagg gcaccaccgt gaccgtgtct
 360
 30 agc 363

<210> 297
 35 <211> 108
 <212> PRT
 <213> Yapay Sekans

 <220>
 40 <223> DP47GS VL

 <400> 297

 Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 45 1 5 10 15

 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser
 20 25 30
 50
 Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu

35

40

45

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

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

15 Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Pro
85 90 95
Leu Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

20 <210> 298
<211> 324
<212> DNA
<213> Yapay Sekans

25 <220>
<223> DP47GS VL

<400> 298
gaaatcgtgt taacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc
30 60

ctctctttgca gggccagtca gagtgttagc agcagctact tagcctggta ccagcagaaa
120

35 cctggccagg ctcccaggct cctcatctat ggagcatcca gcagggccac tggcatccca
180

gacaggttca gtggcagtgg atccgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag
240

40 cctgaagatt ttgcagtgtg ttactgtcag cagtatggta gctcaccgct gacgttcggc
300

caggggacca aagtggaaat caaa 324
45

<210> 299
<211> 115
<212> PRT
50 <213> Yapay Sekans

<220>

<223> DP47GS VH

<400> 299

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

10 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

15 Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

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

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

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

35 Ala Lys Gly Ser Gly Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
100 105 110

Val Ser Ser
115

35

<210> 300

<211> 345

<212> DNA

40 <213> Yapay Sekans

<220>

<223> DP47GS VH

45 <400> 300

gaggtgcaat tggtggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggggtc cctgagactc
60

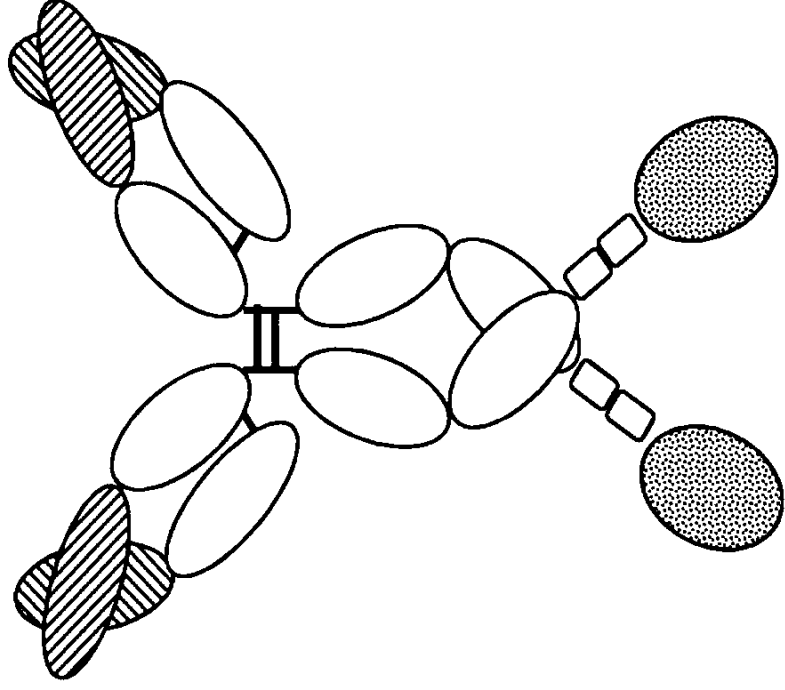
50 tctgtgcag cctccggatt cacctttagc agttatgccca tgagctgggt ccgccaggct
120

ccaggggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtggtggttag cacatactac
180

5 gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat
240

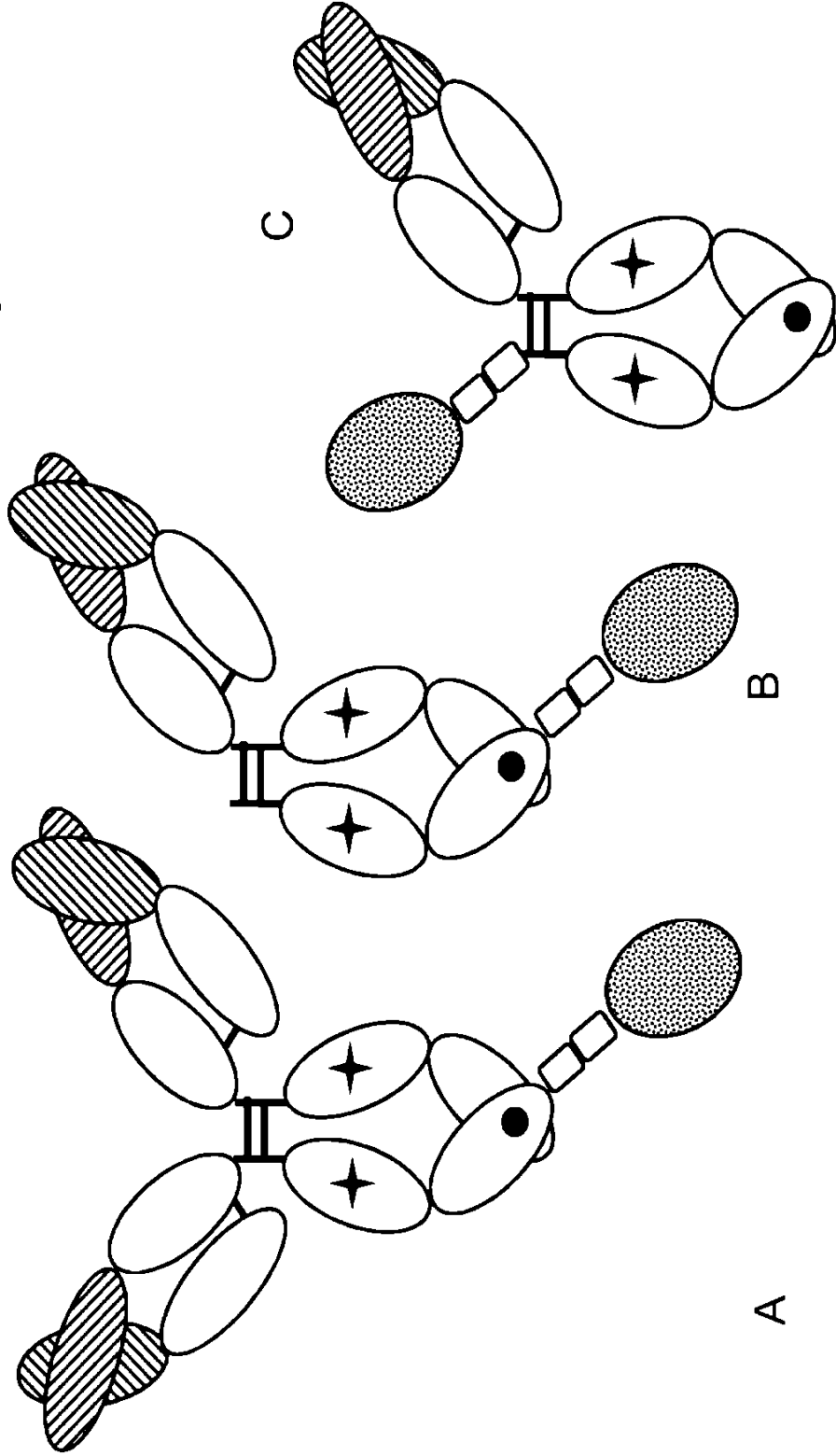
ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaaggcagc
300

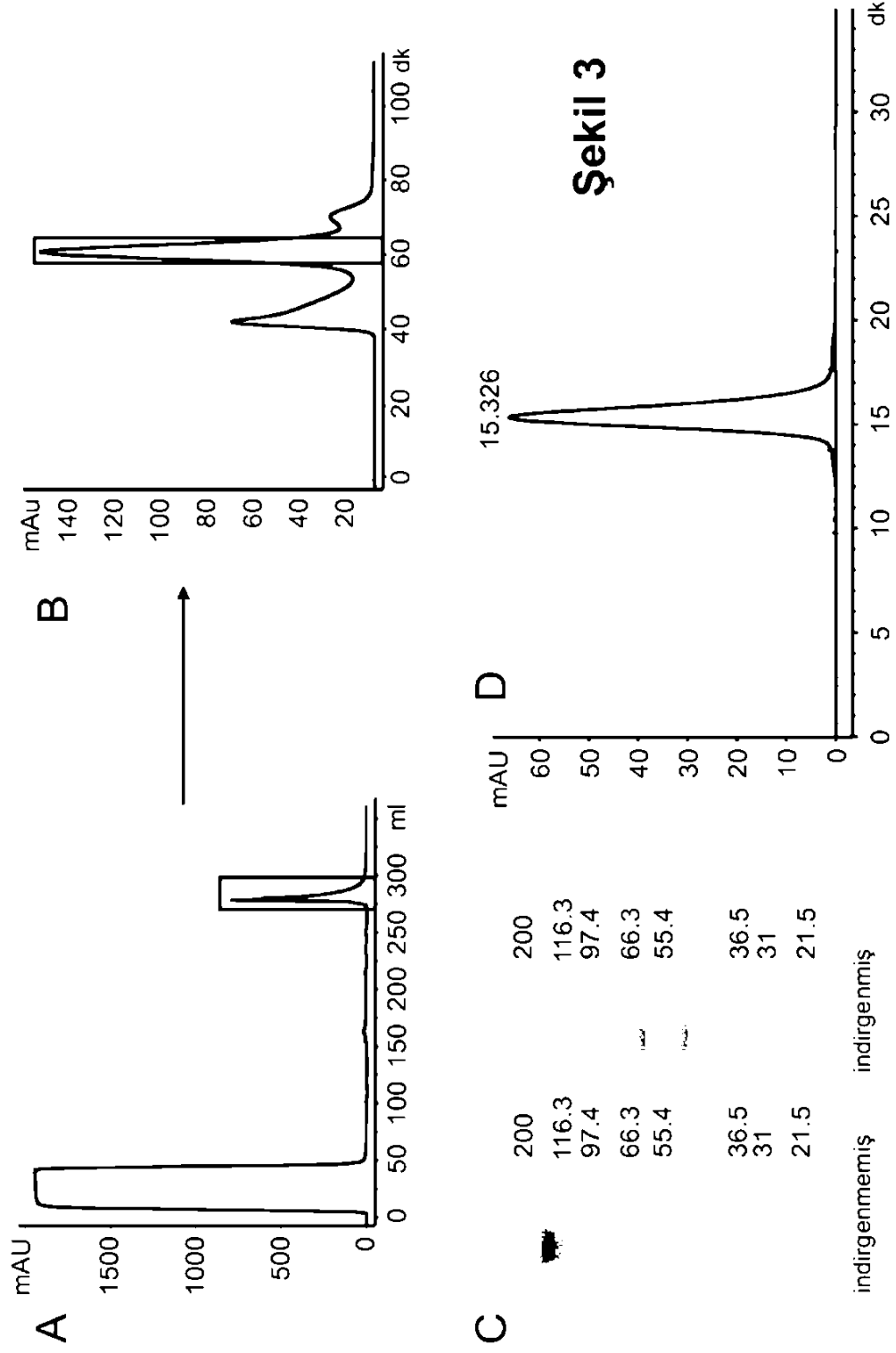
10 ggatttgact actggggcca aggaaccctg gtcaccgtct cgagt 345

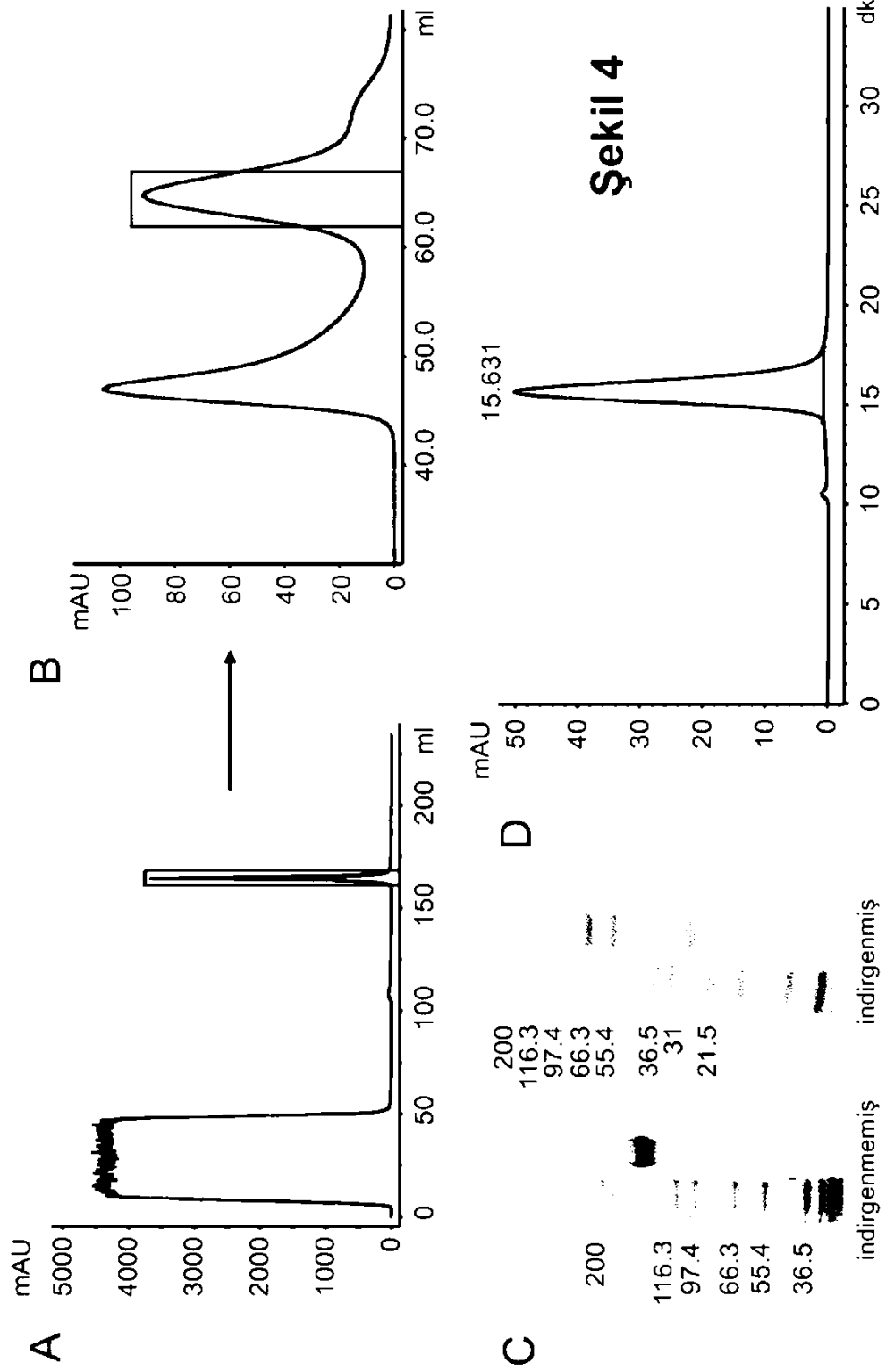


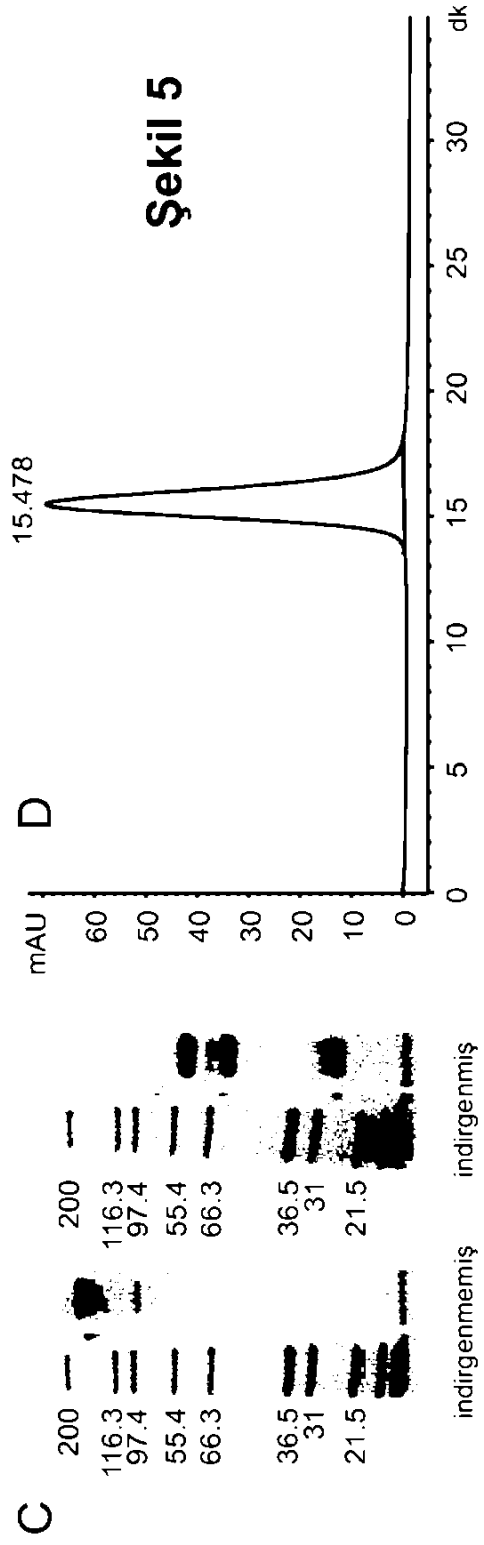
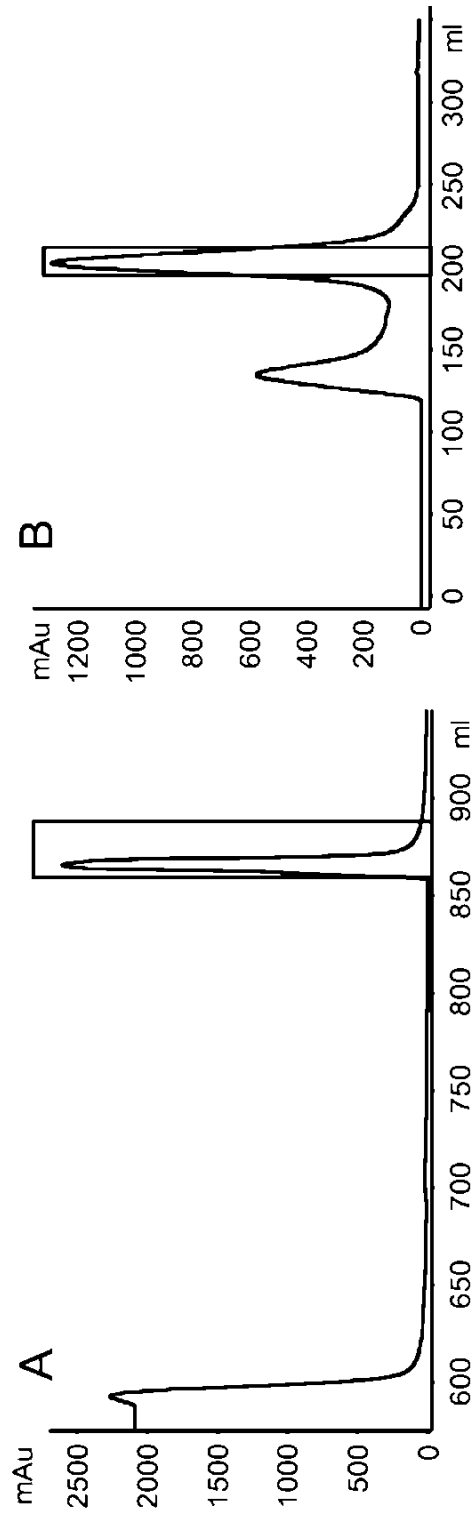
Şekil 1

Şekil 2

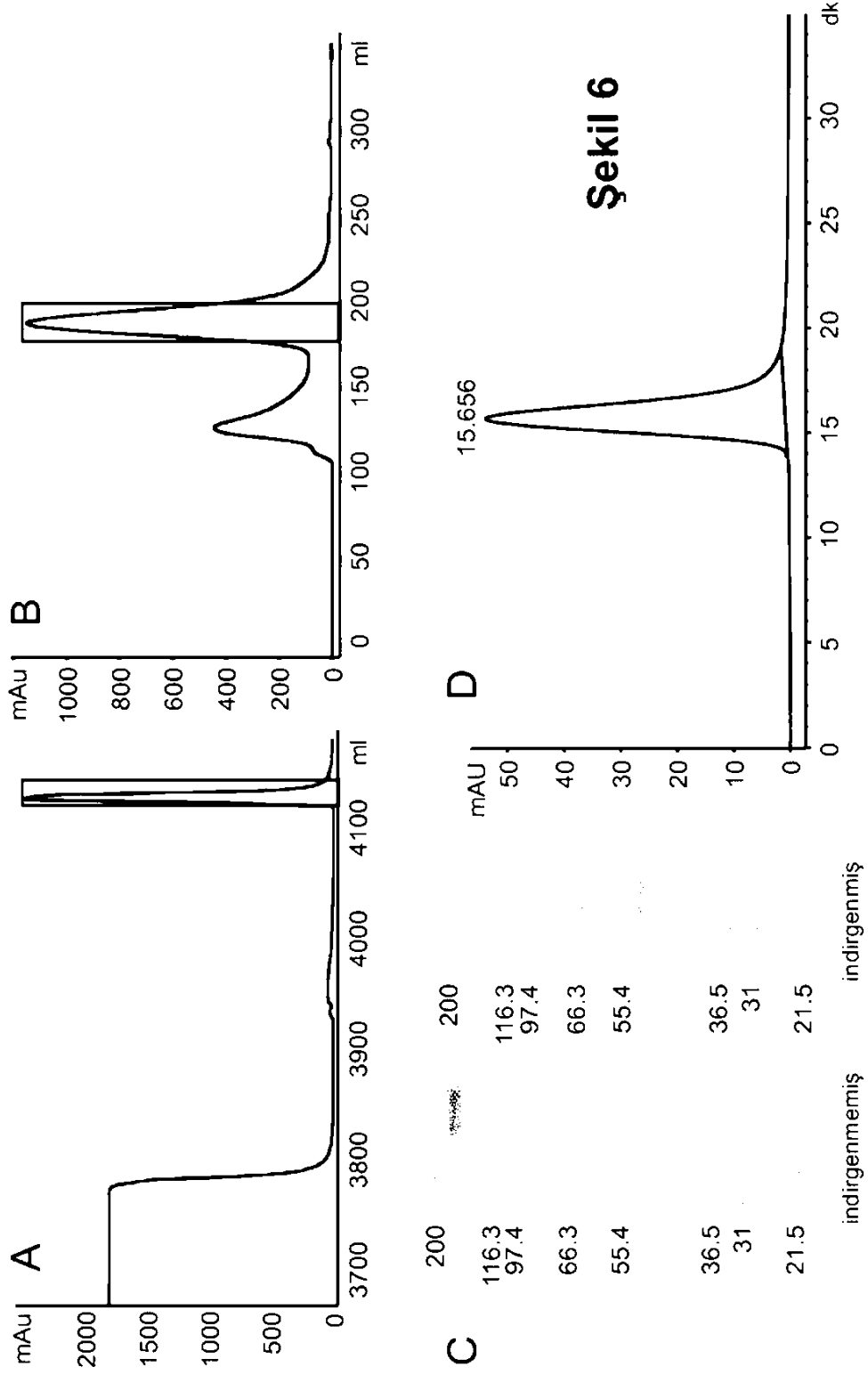


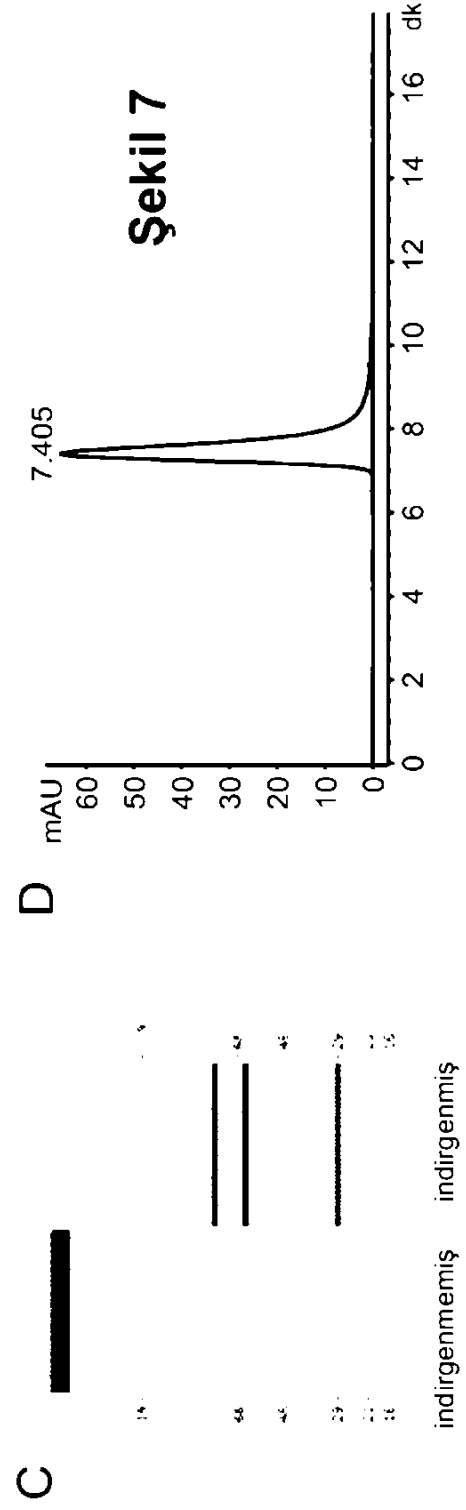
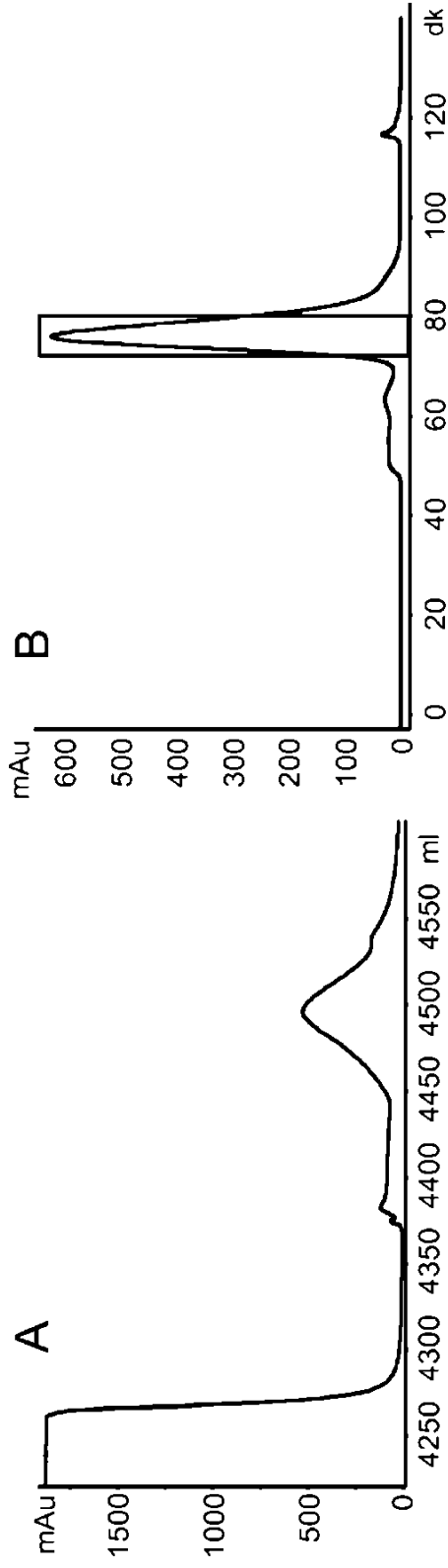




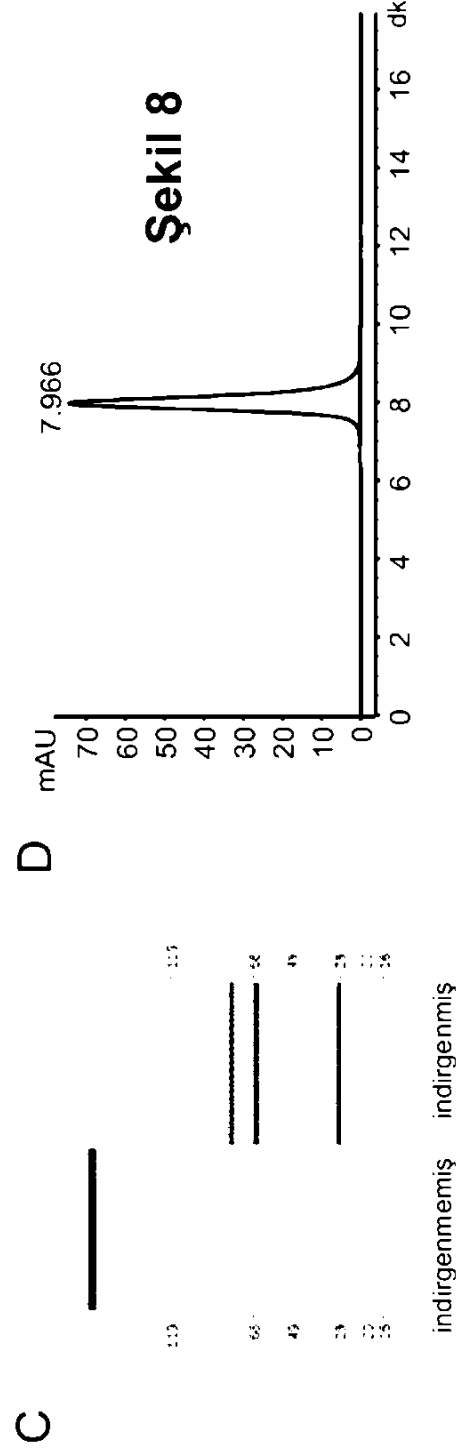
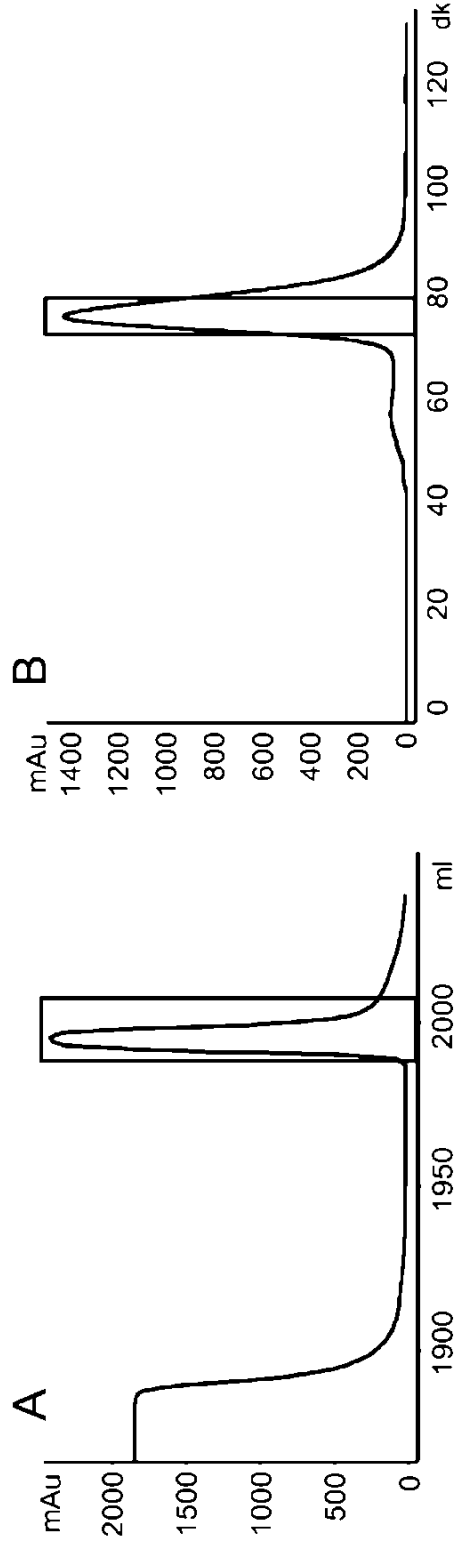


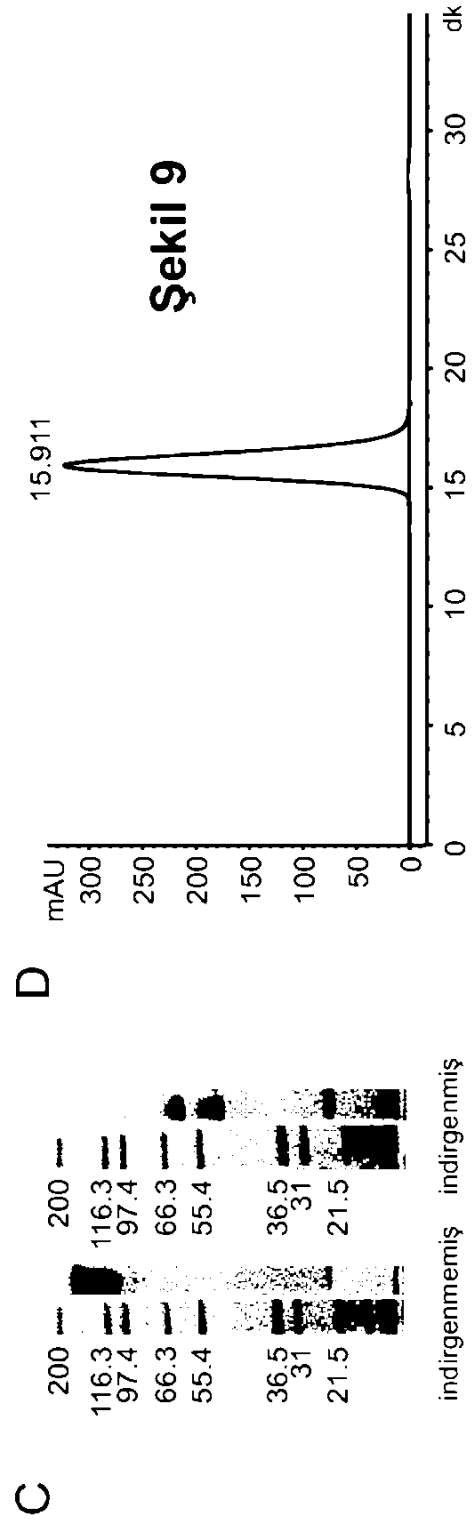
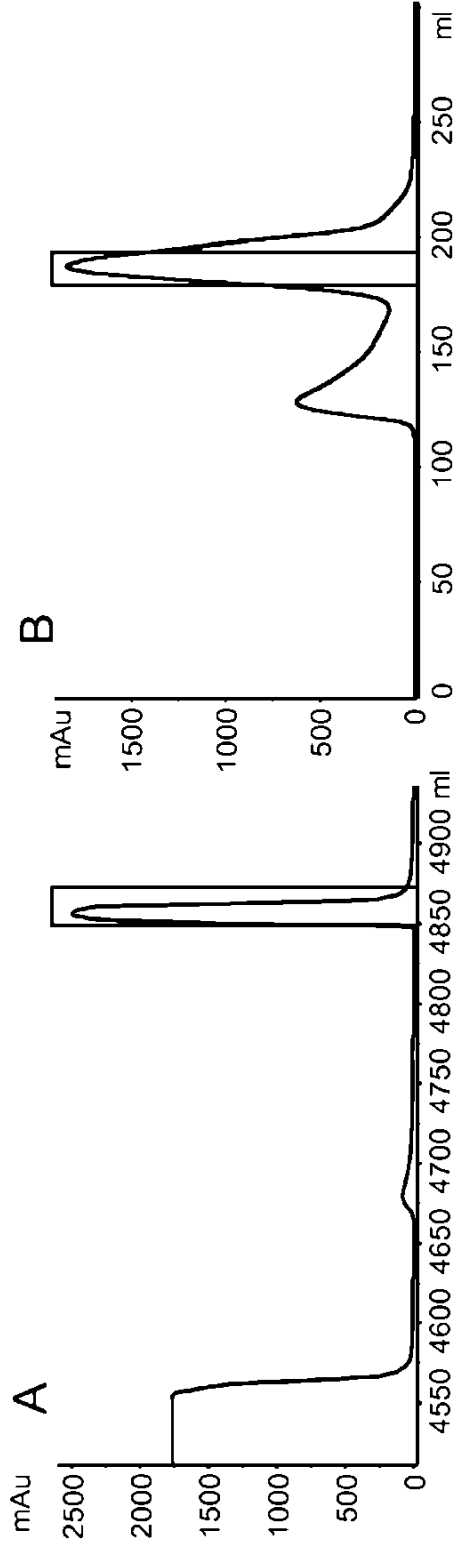
Şekil 5





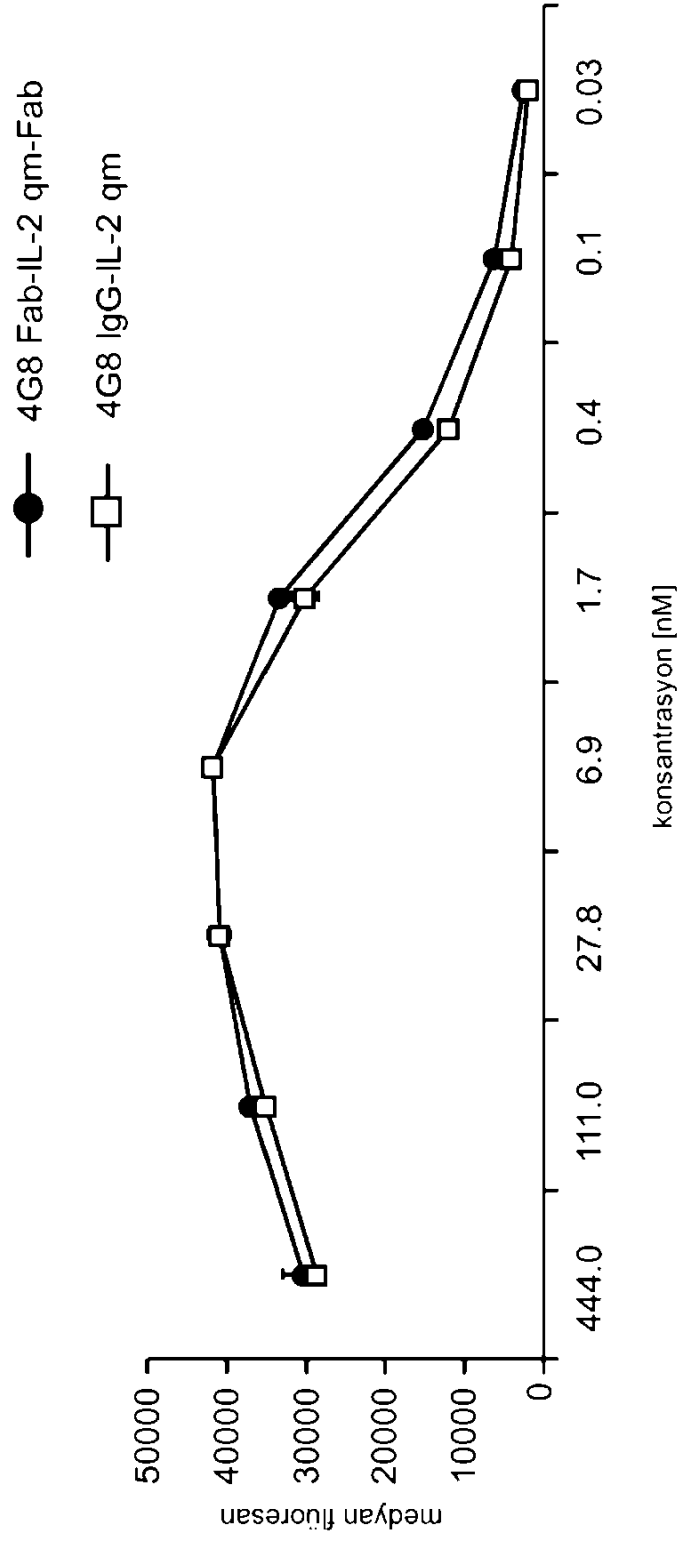
Şekil 7



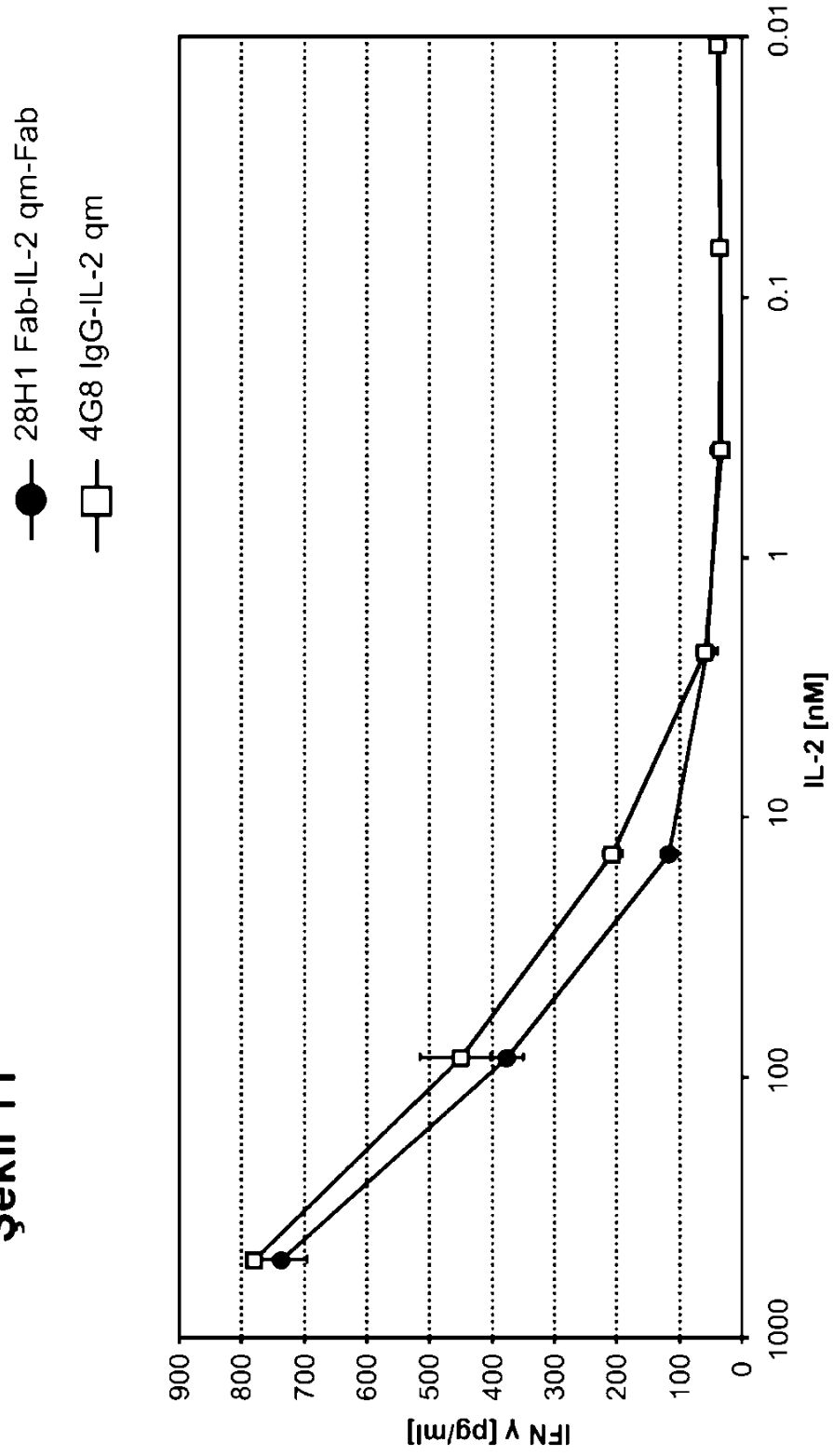


Şekil 9

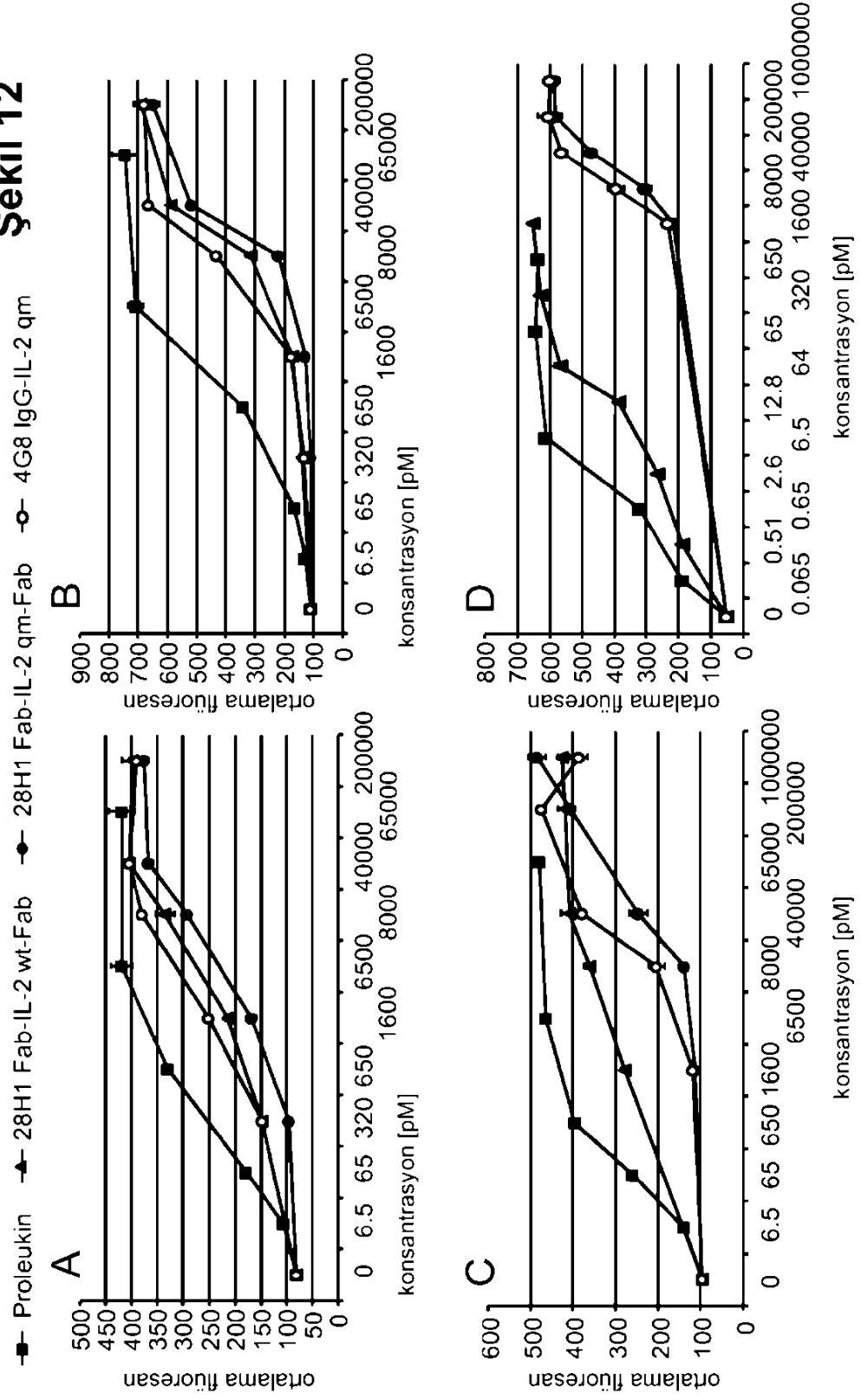
Şekil 10



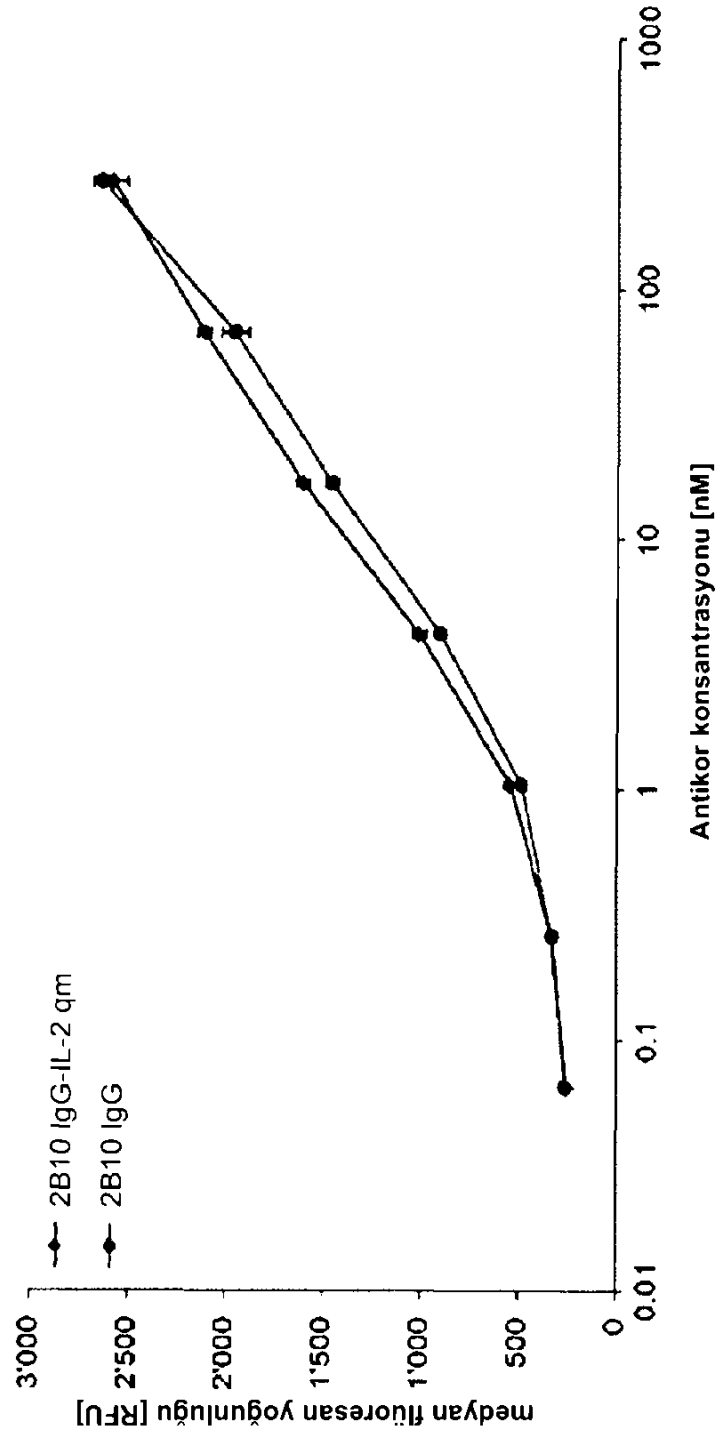
Şekil 11

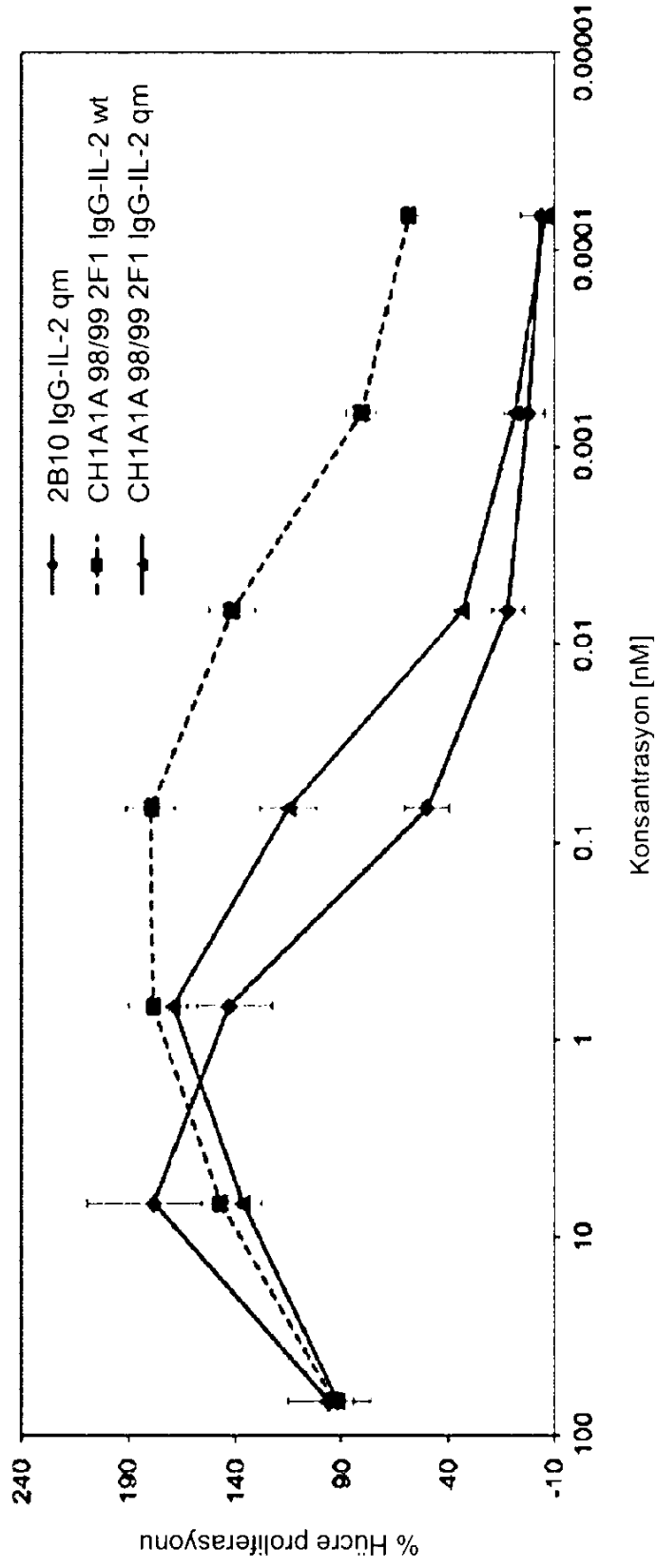


Şekil 12

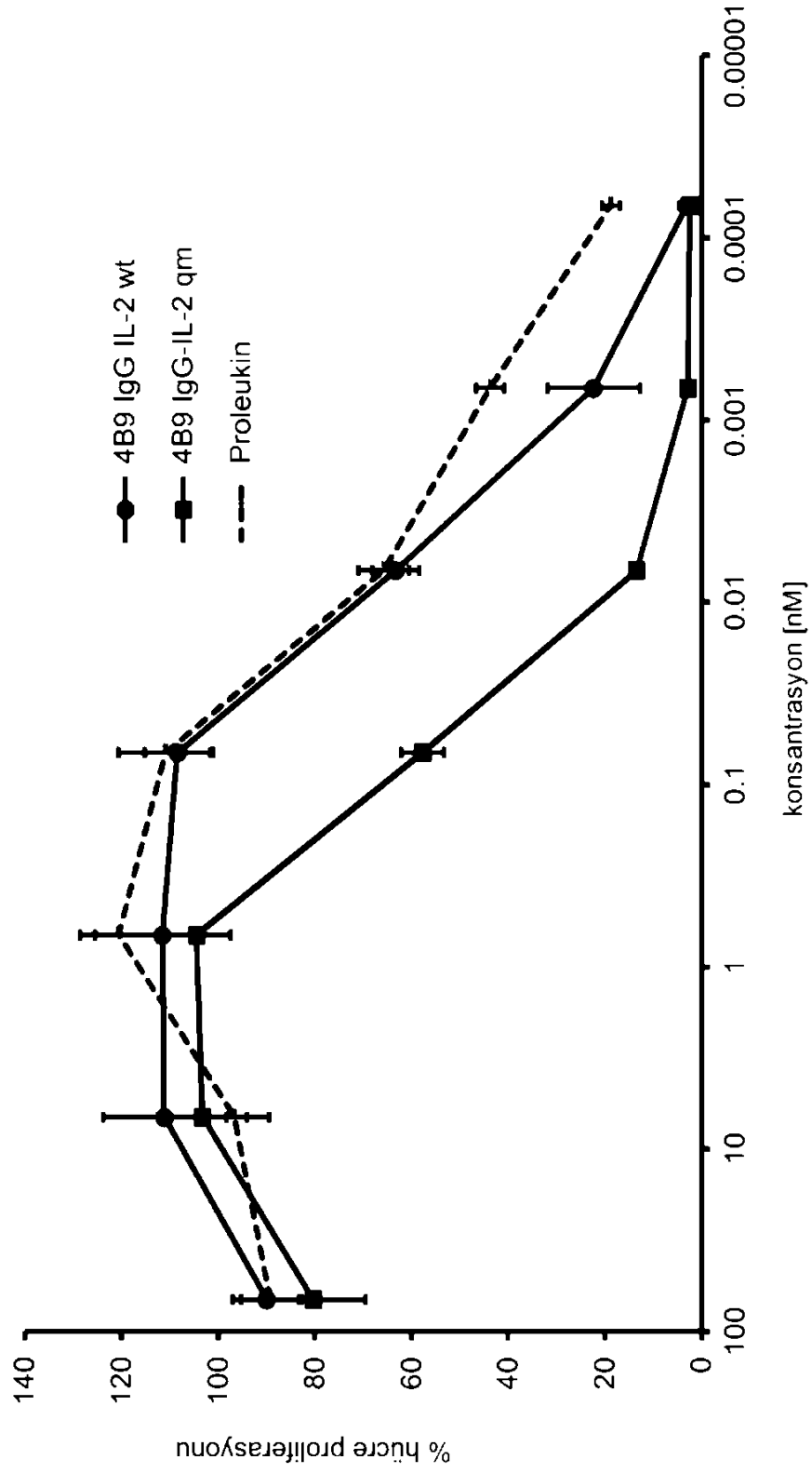


Şekil 13

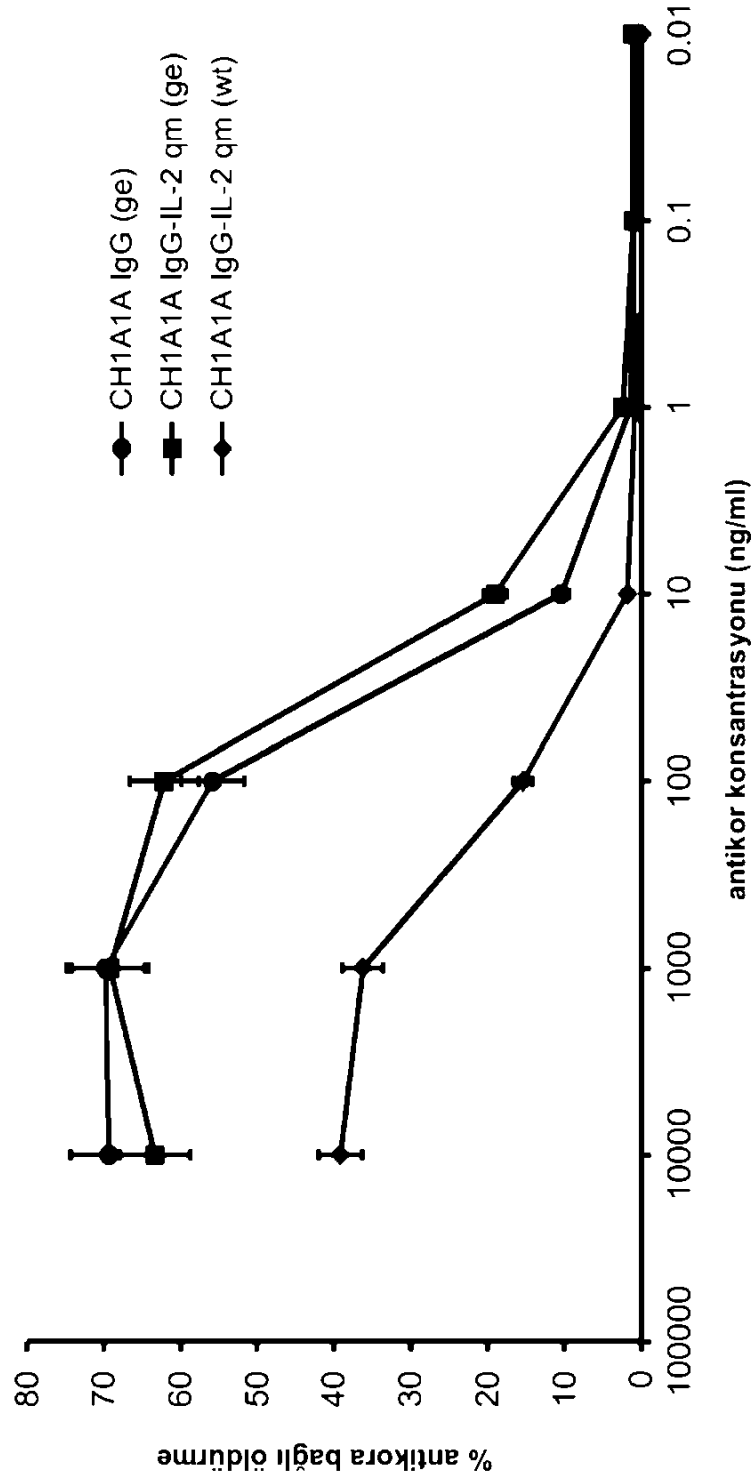




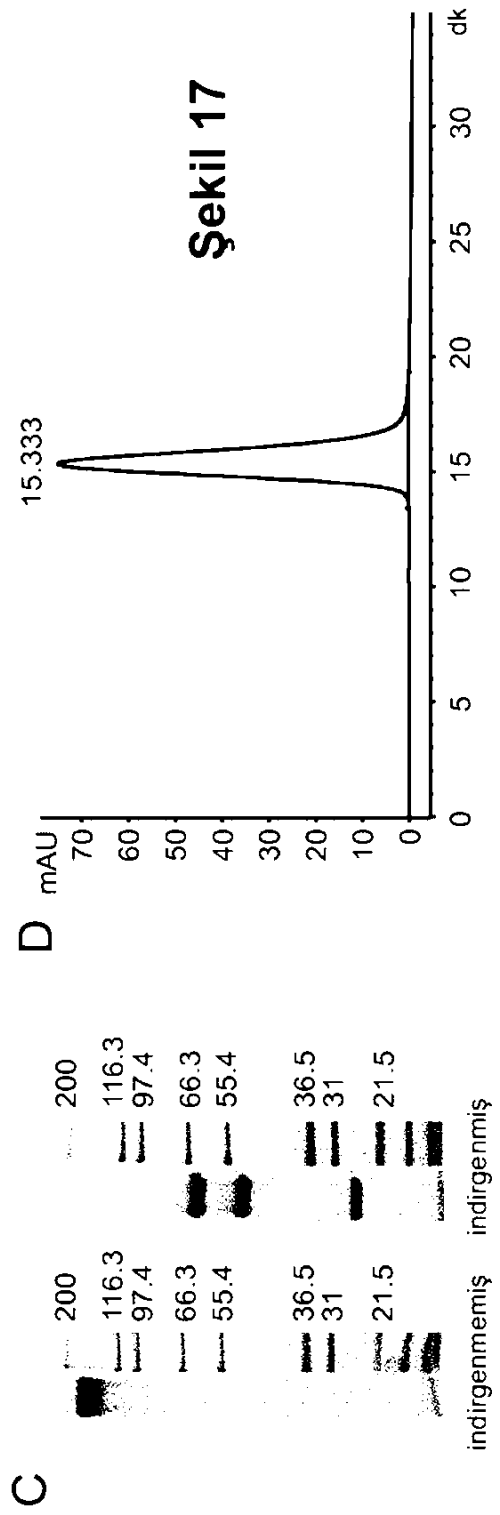
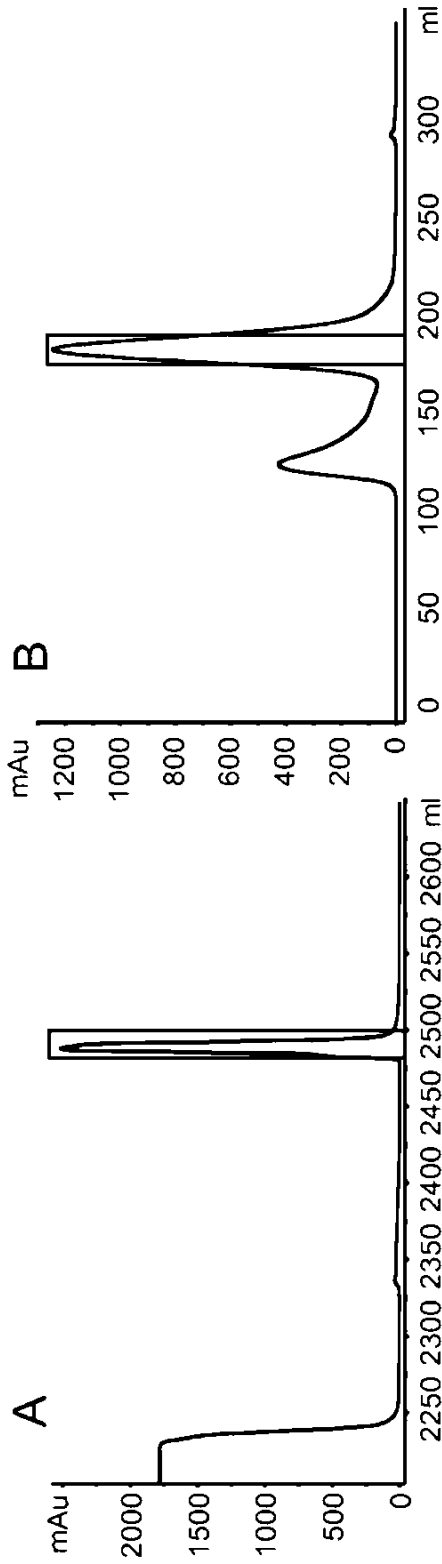
Şekil 14



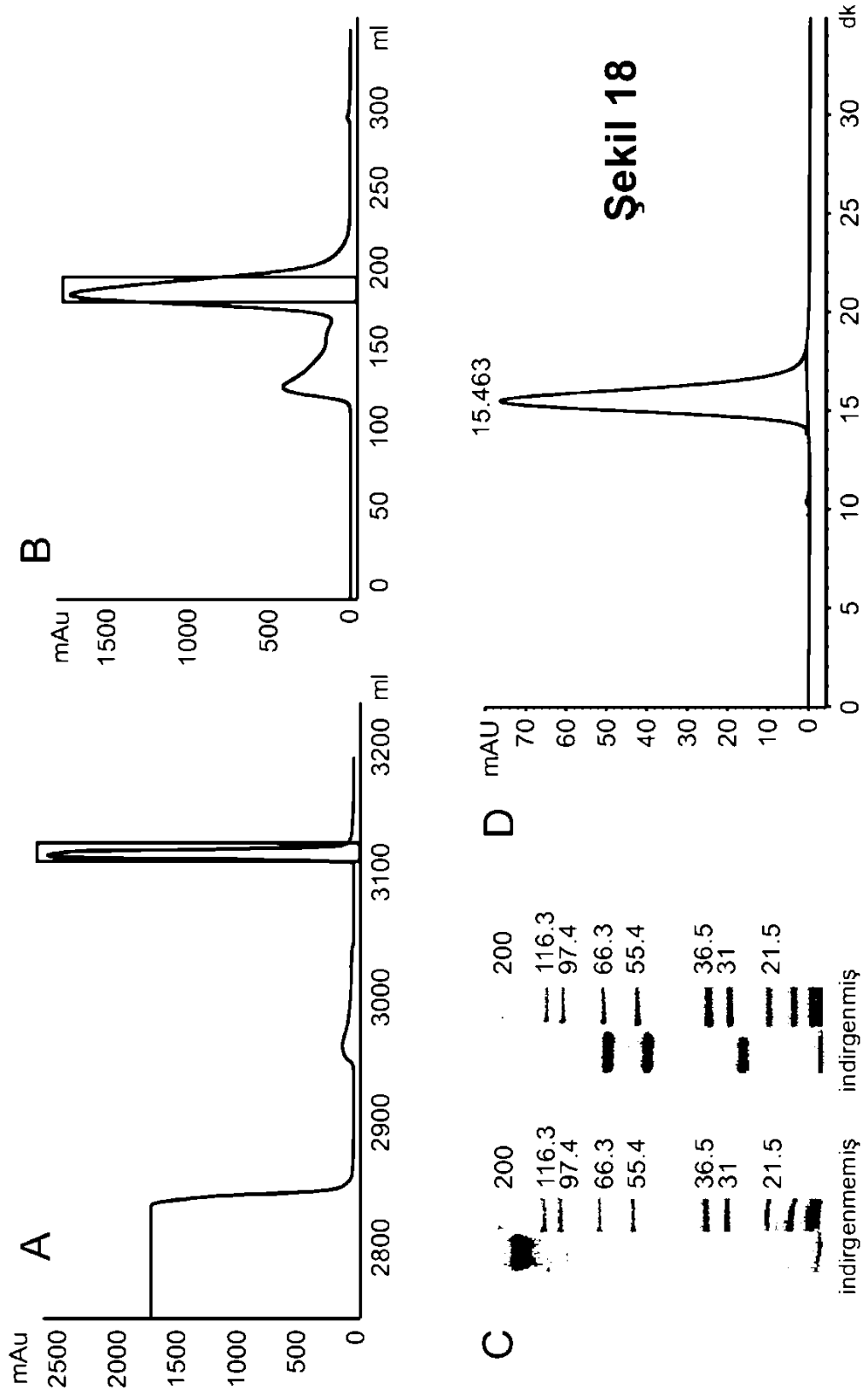
Şekil 15

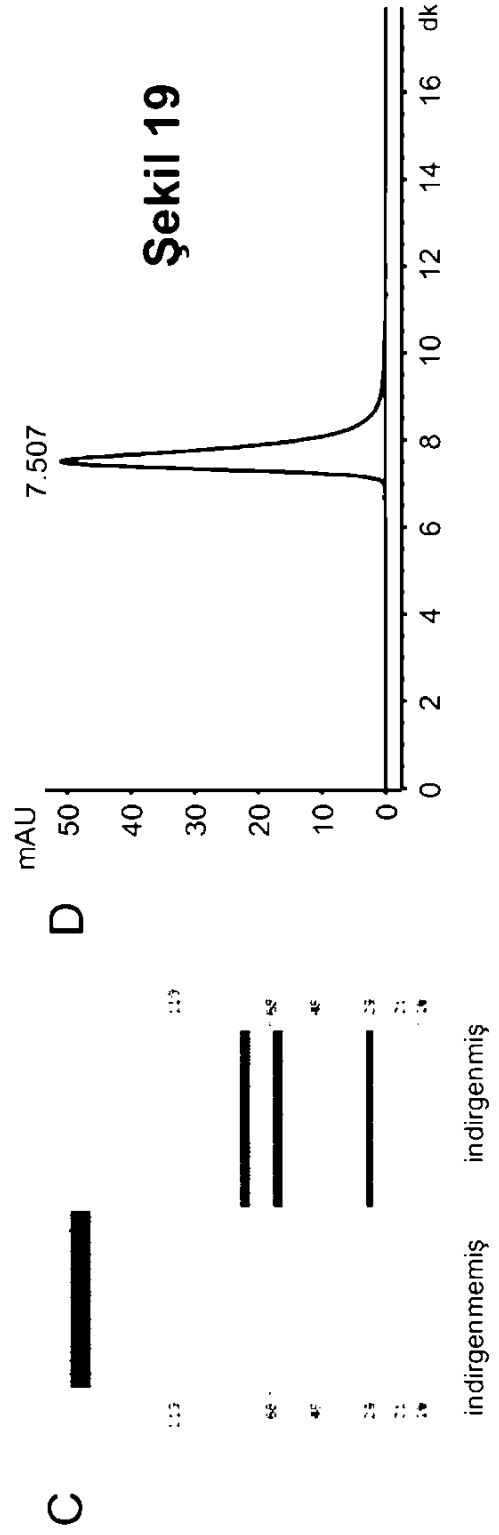
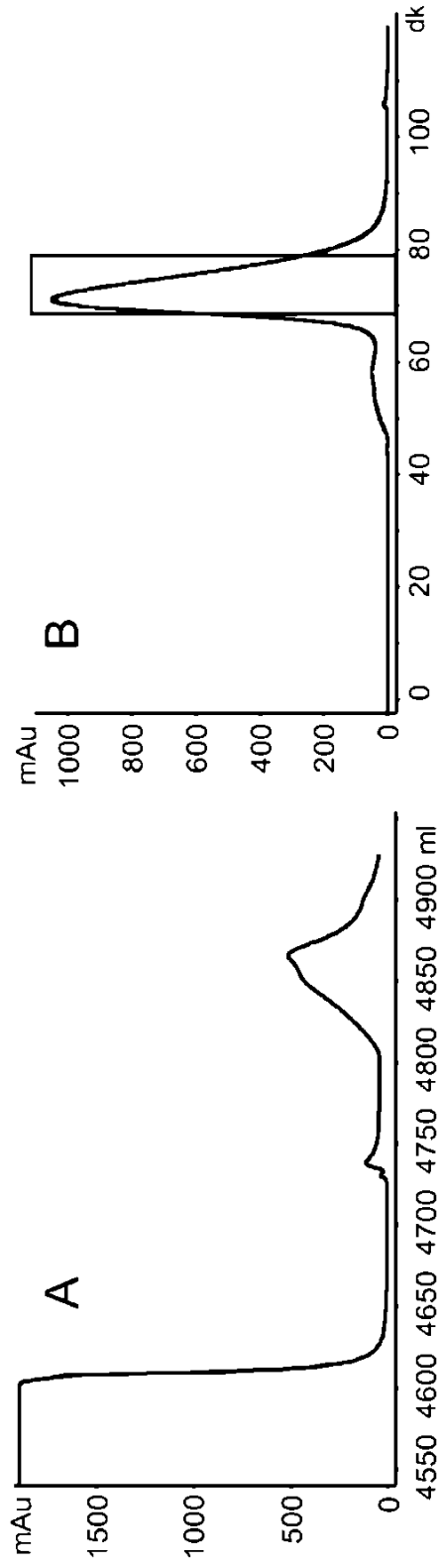


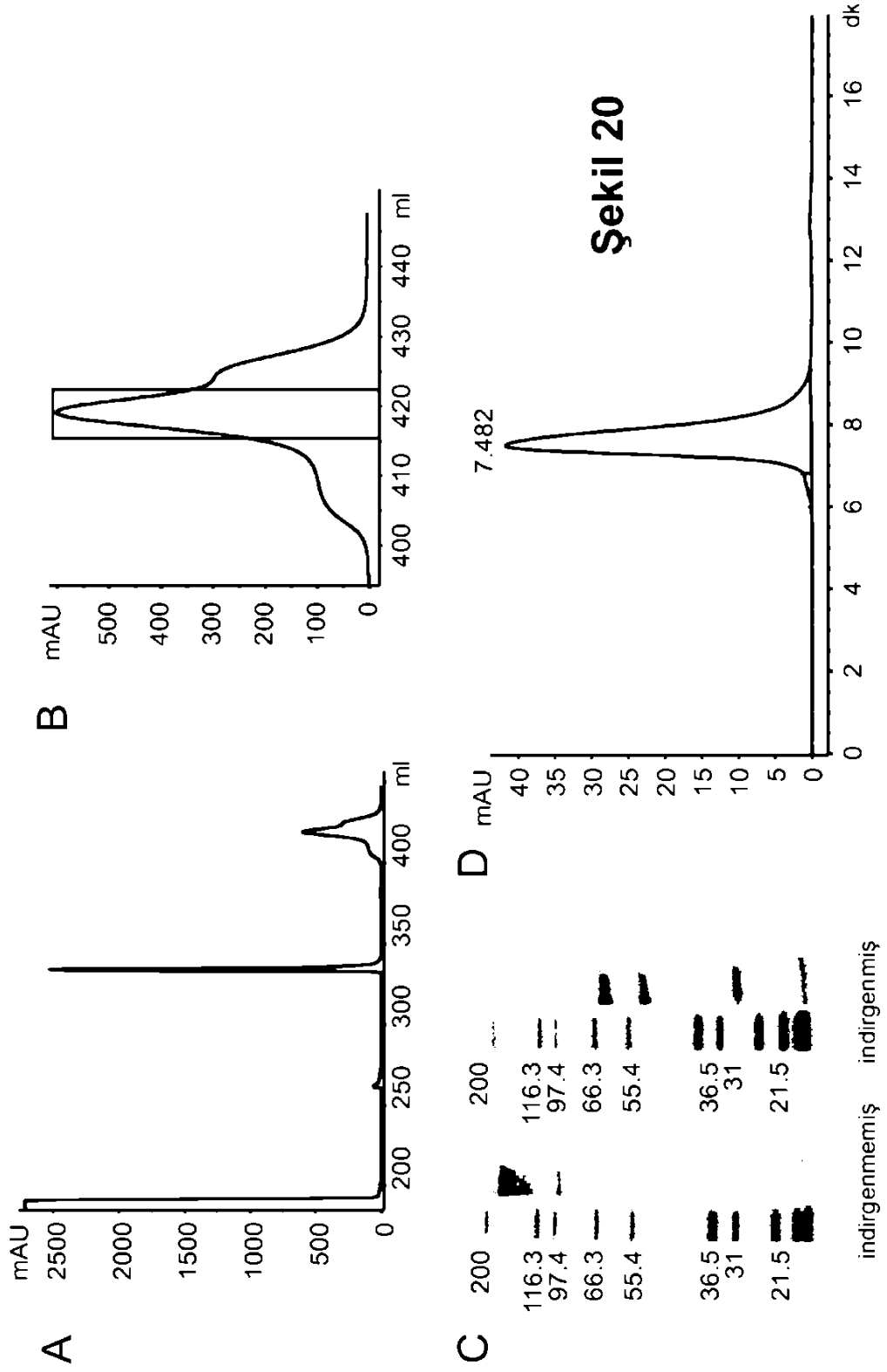
Şekil 16



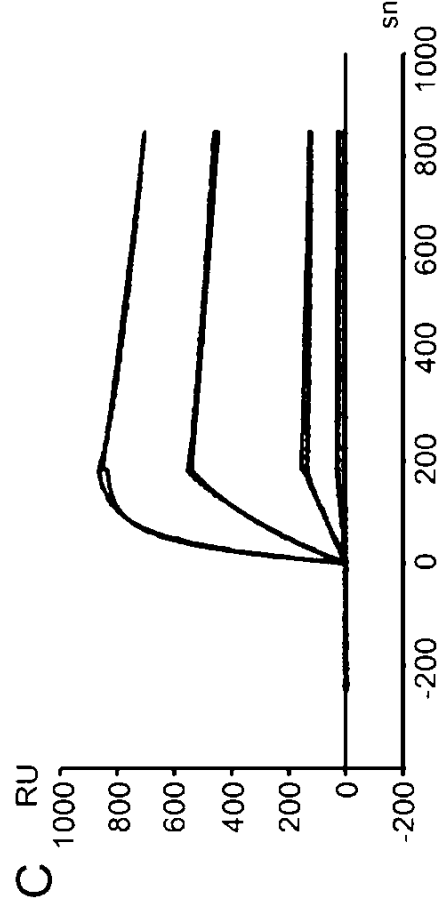
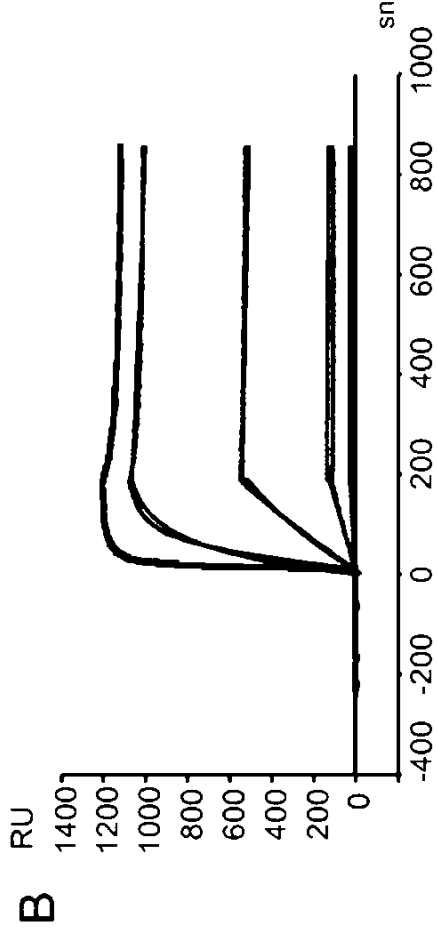
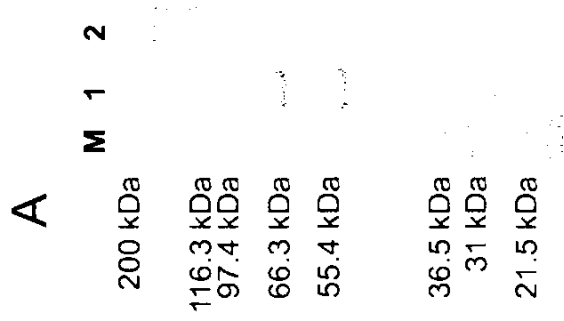
Şekil 17



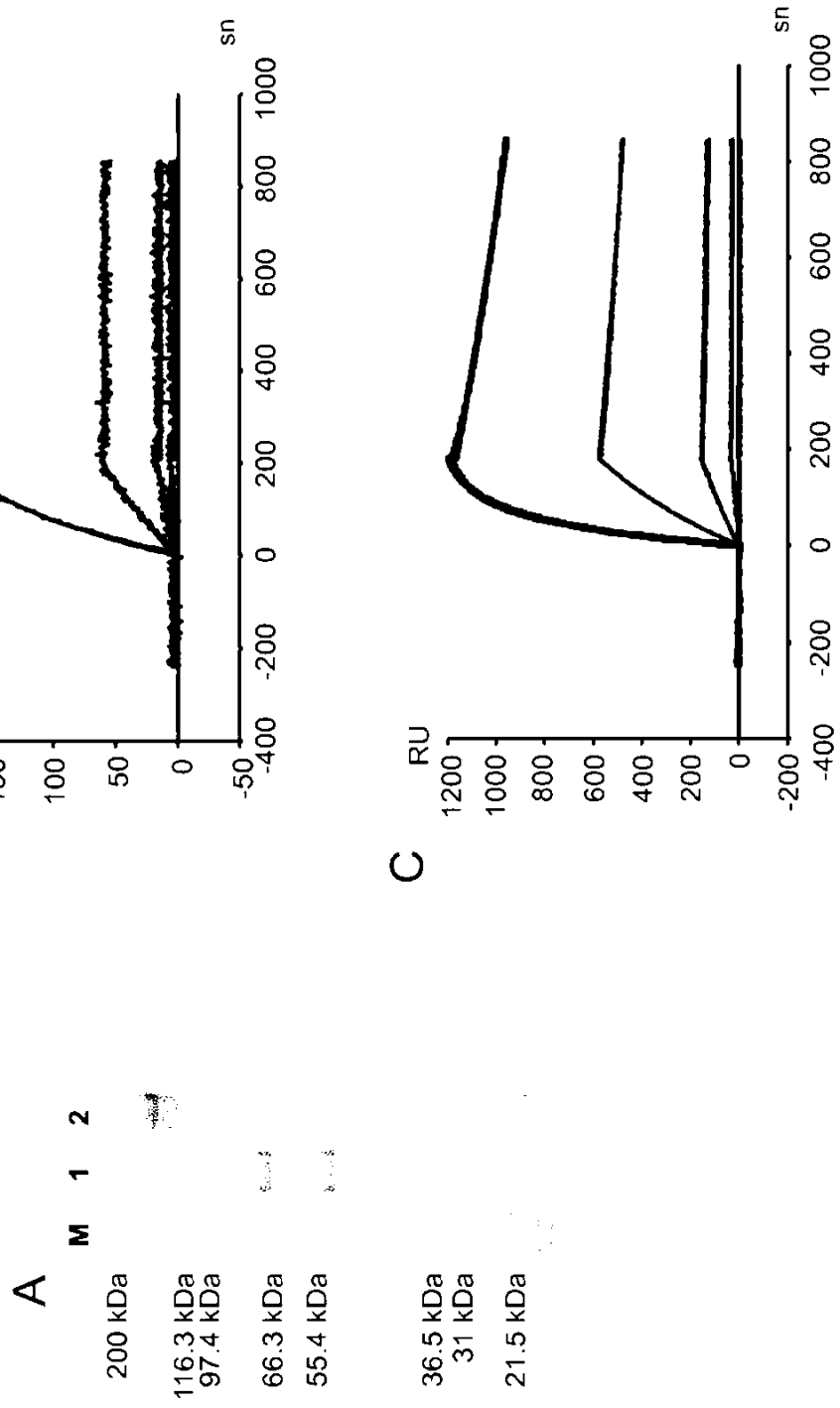




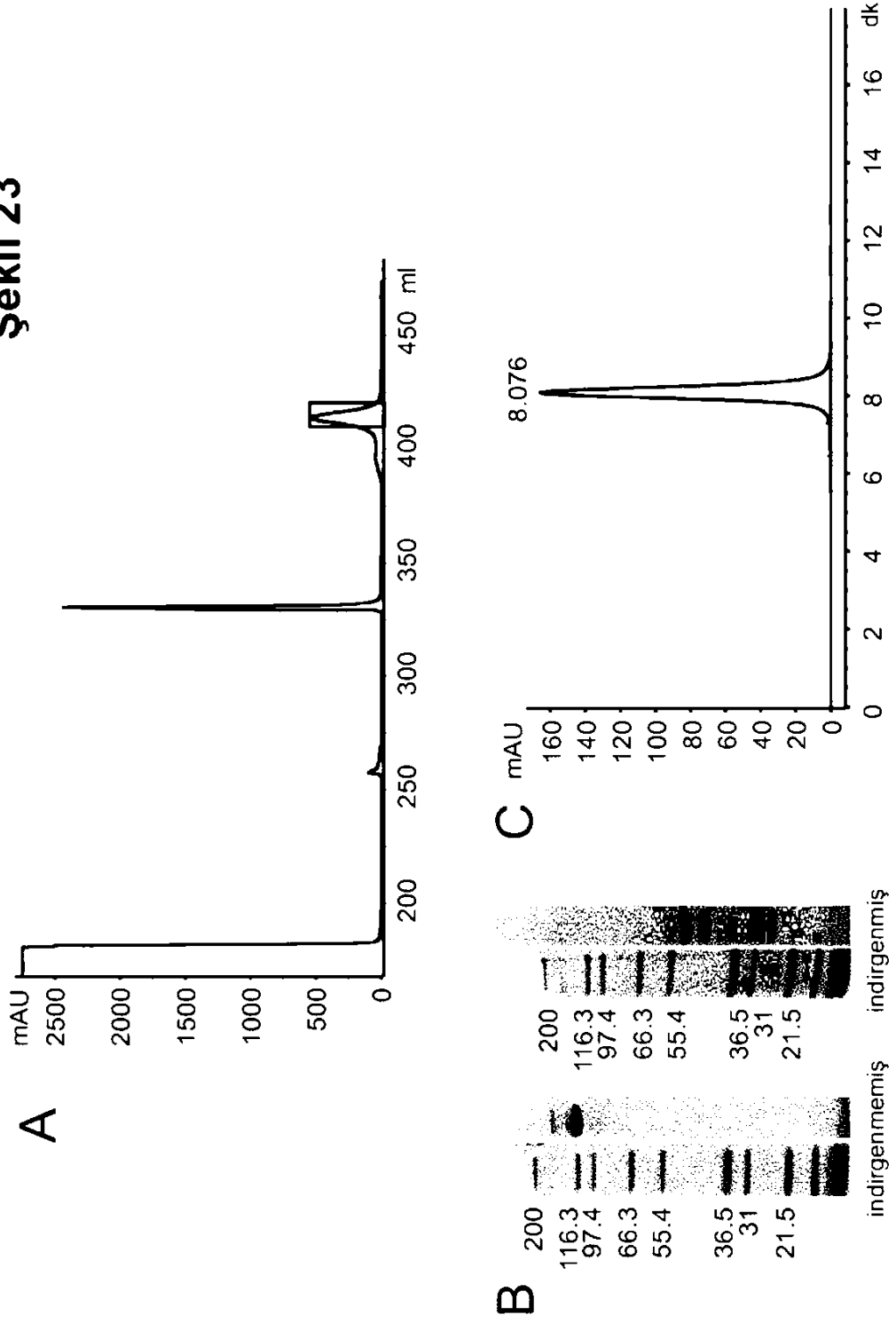
Şekil 21



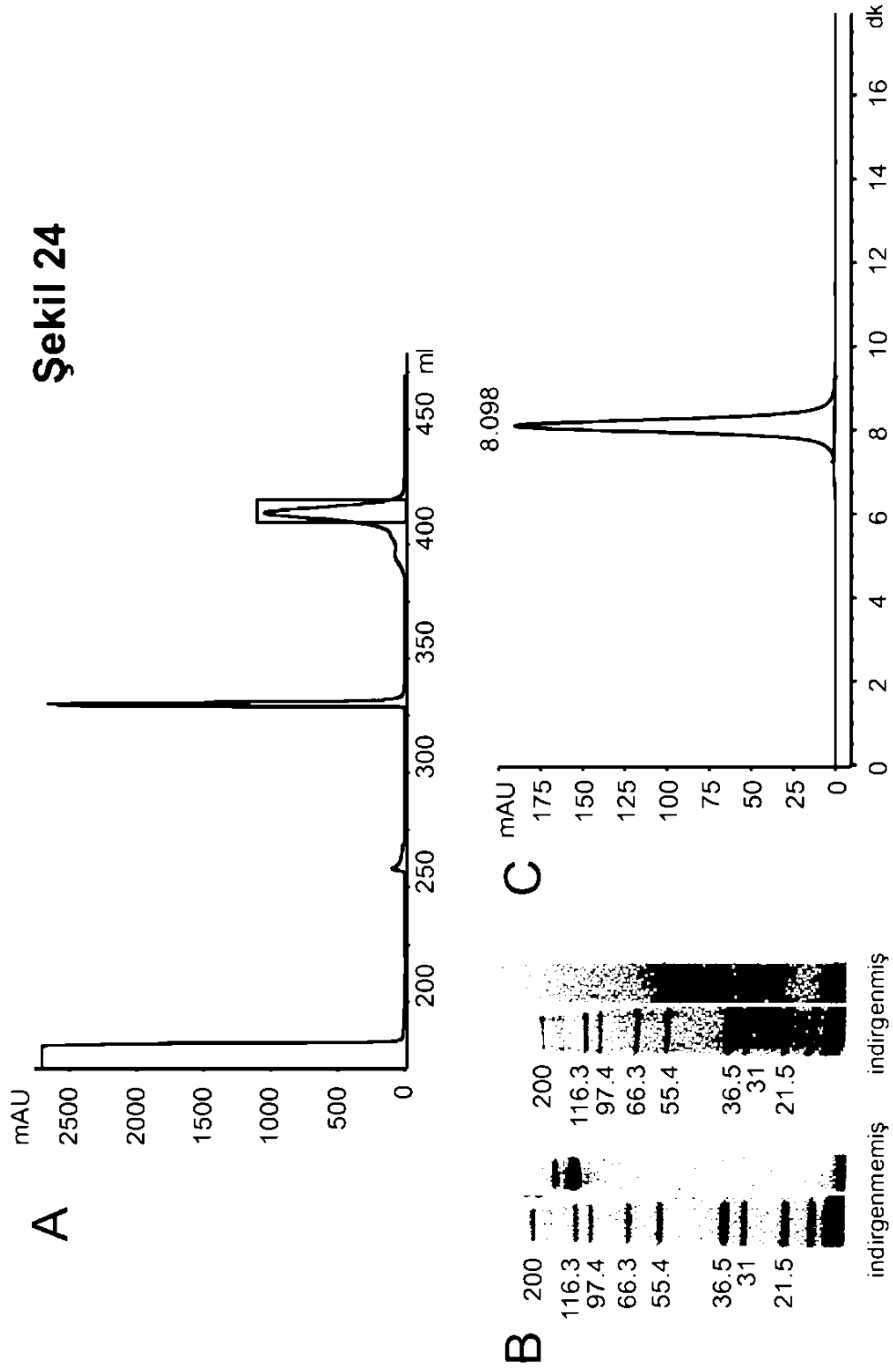
Şekil 22



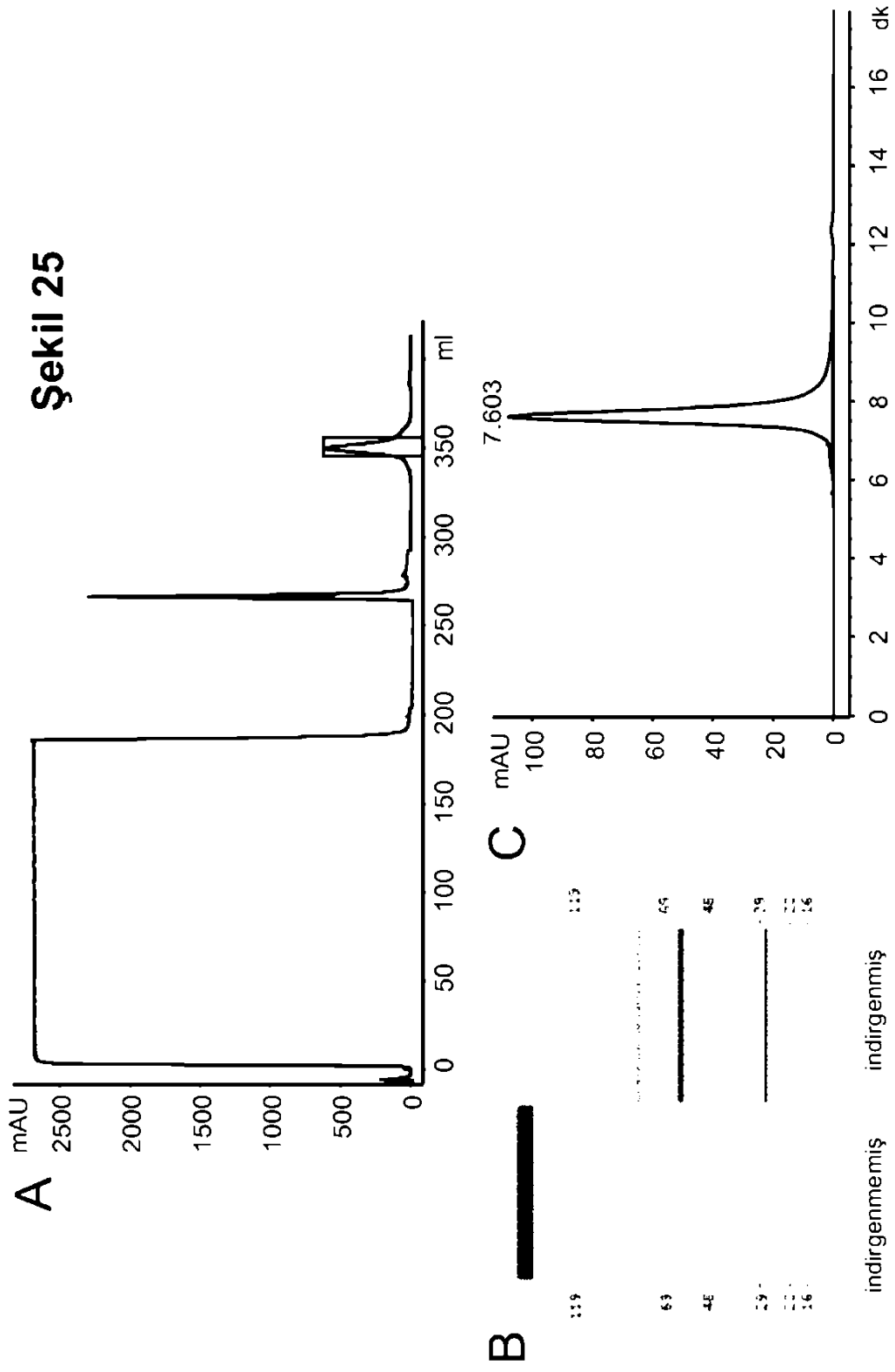
Şekil 23

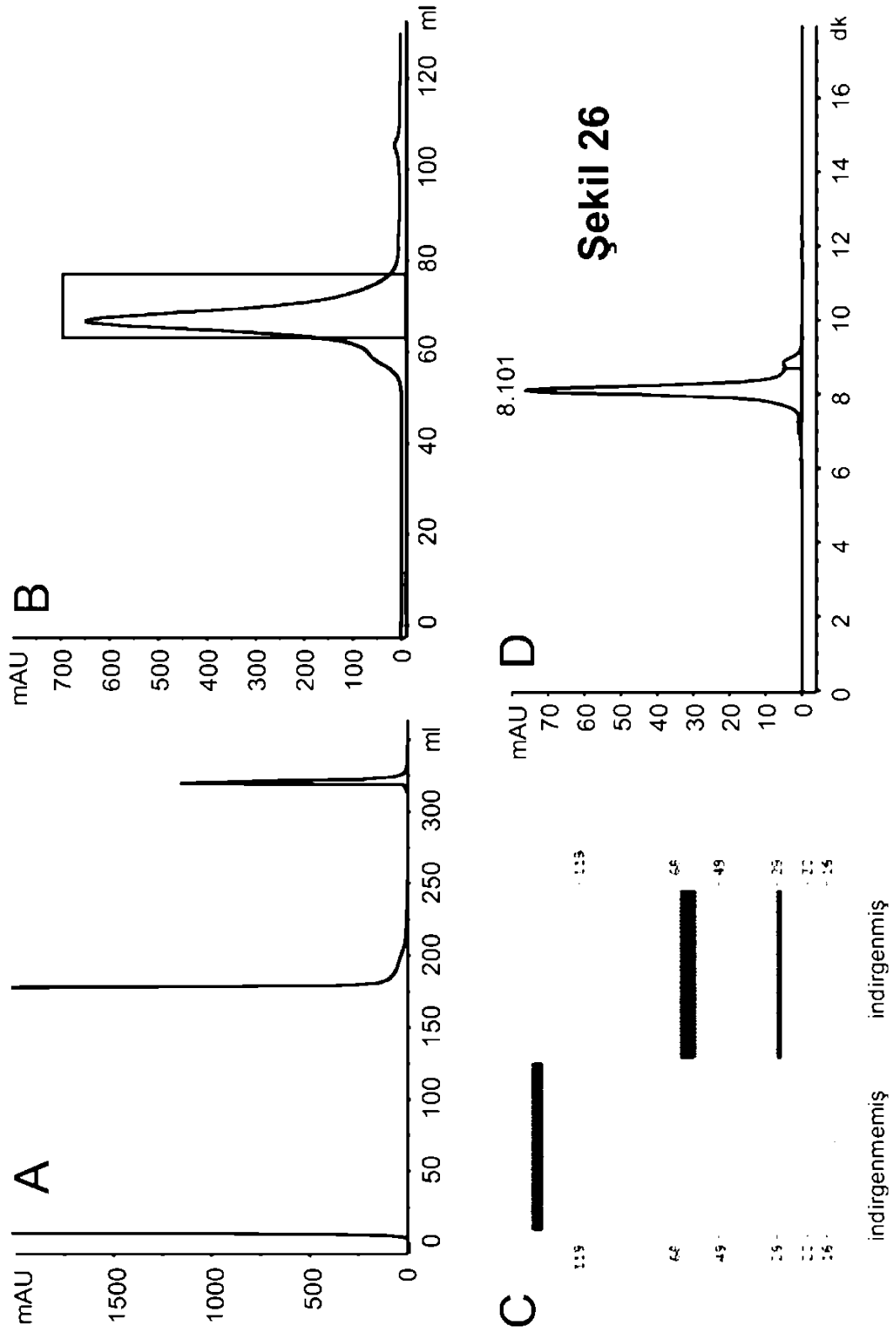


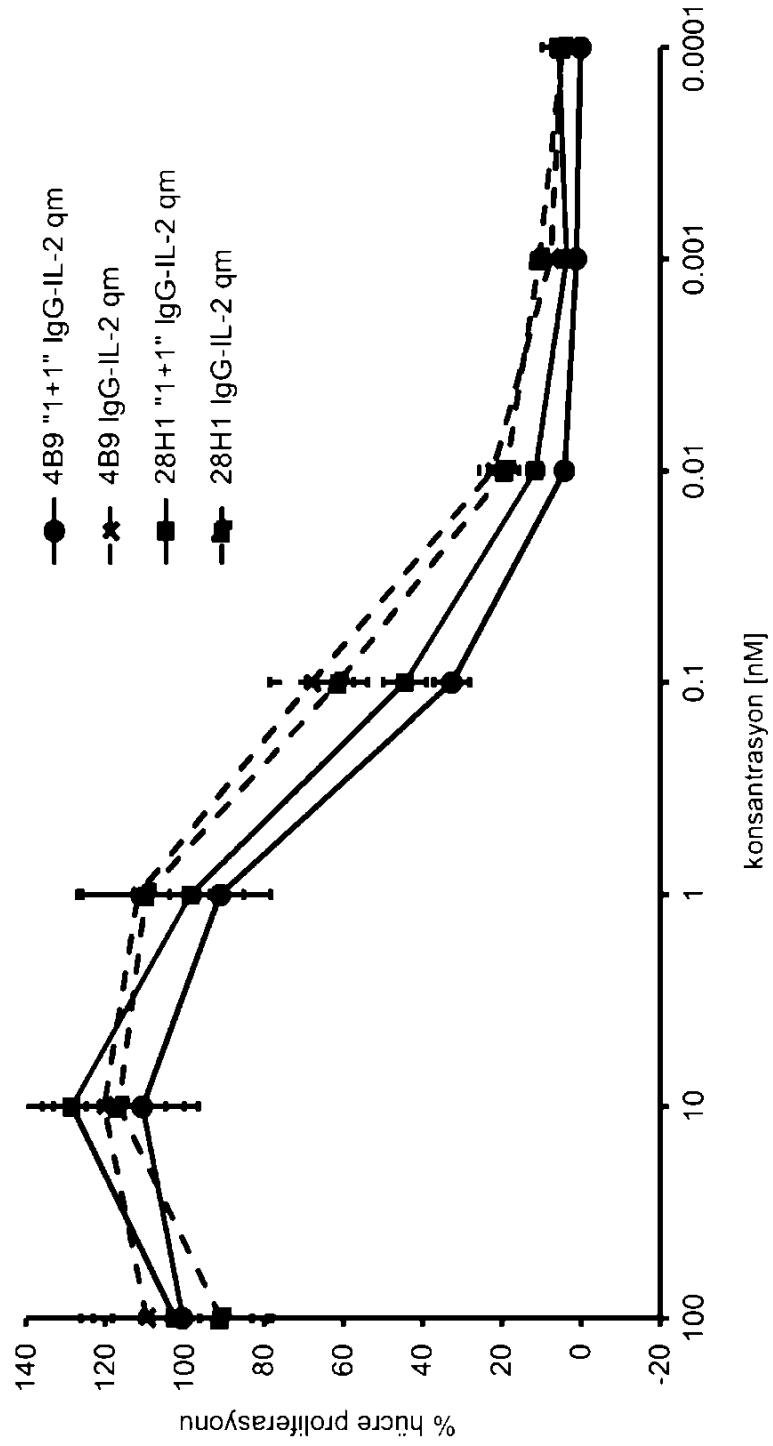
Şekil 24



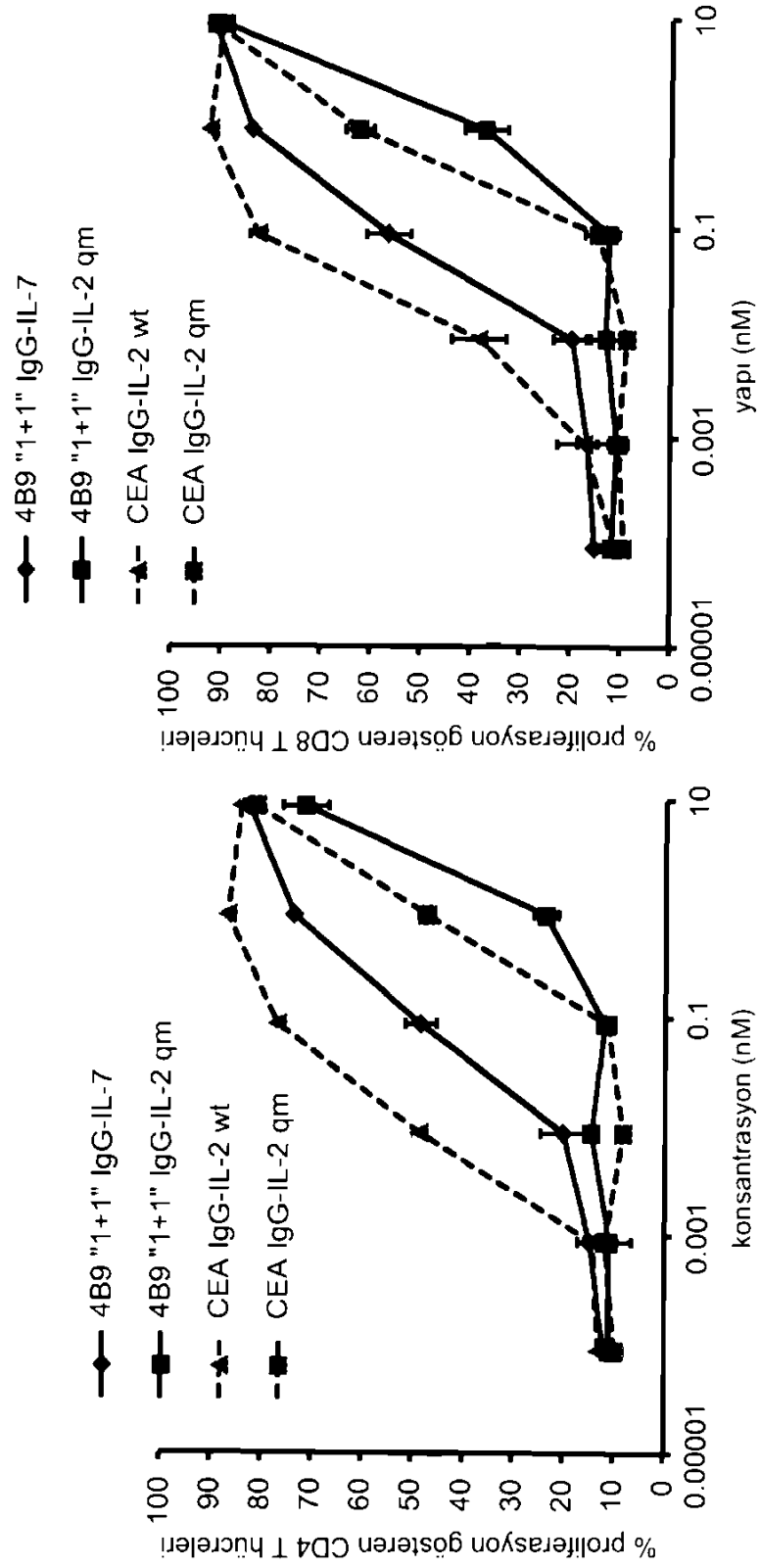
Şekil 25



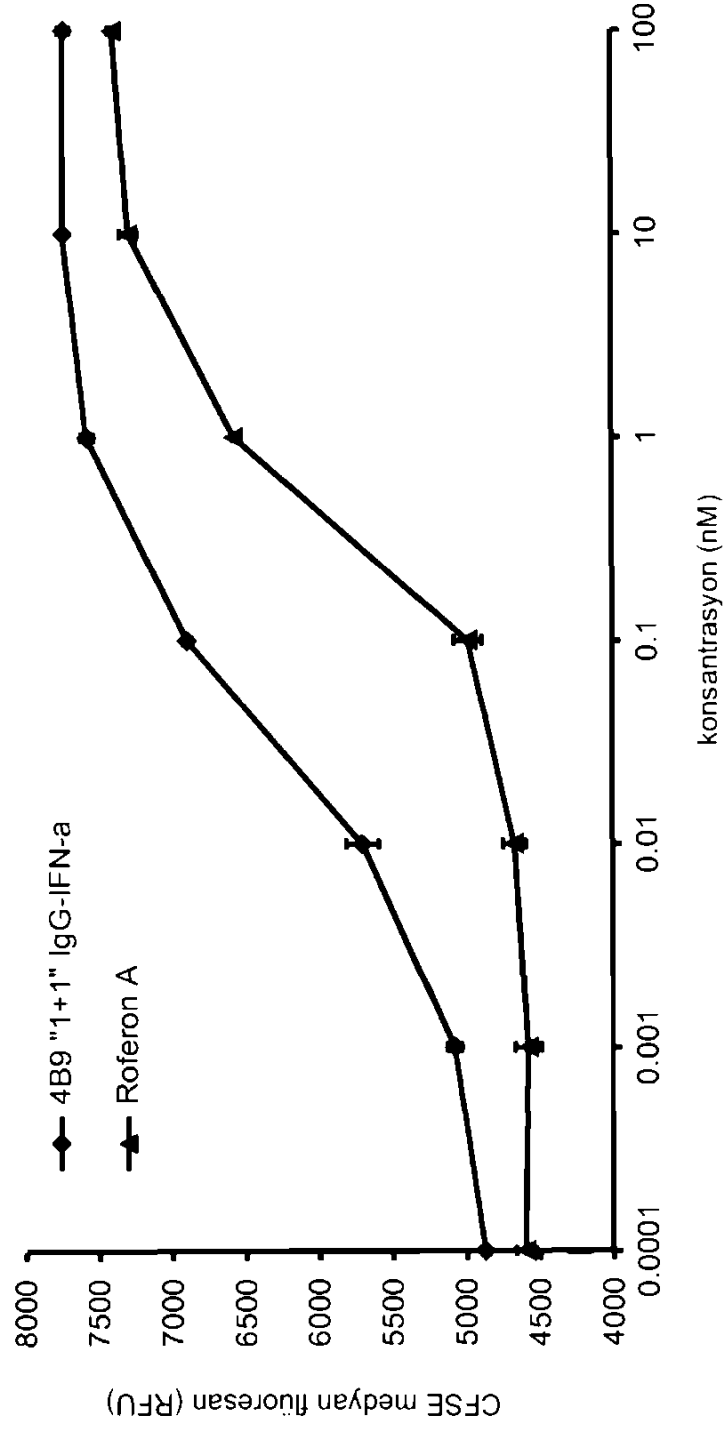




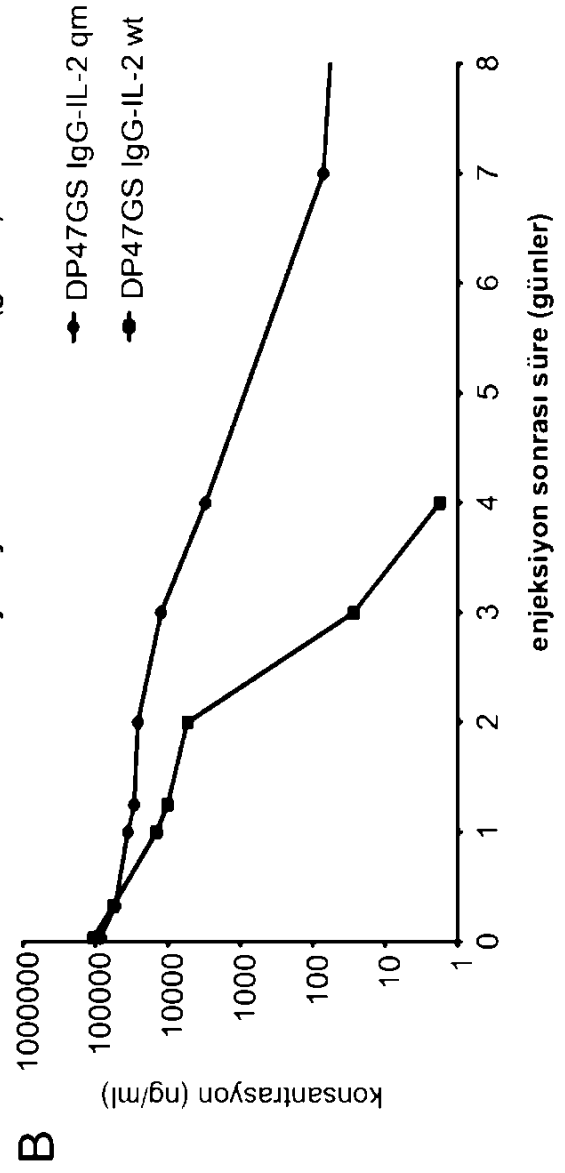
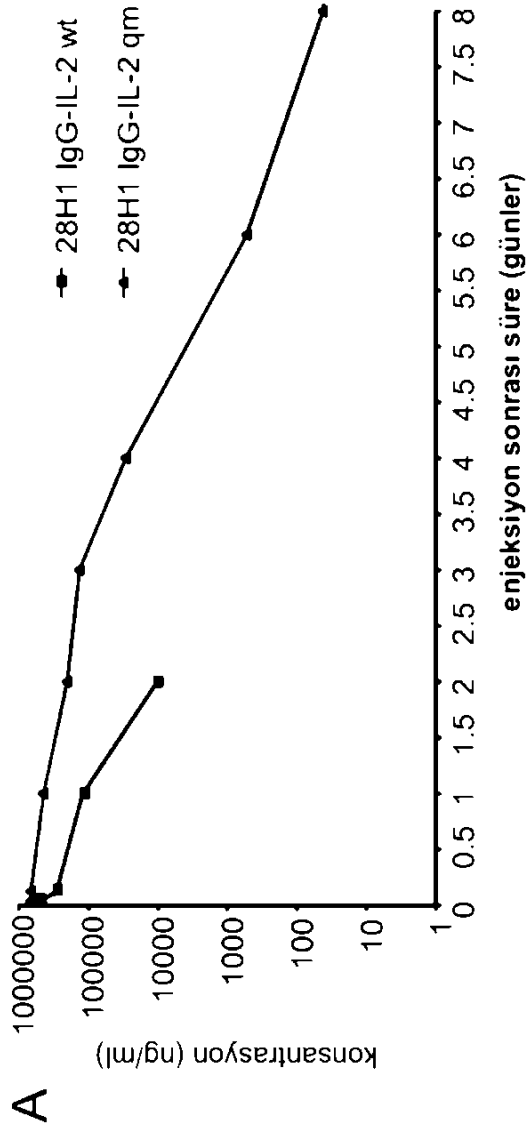
Şekil 27



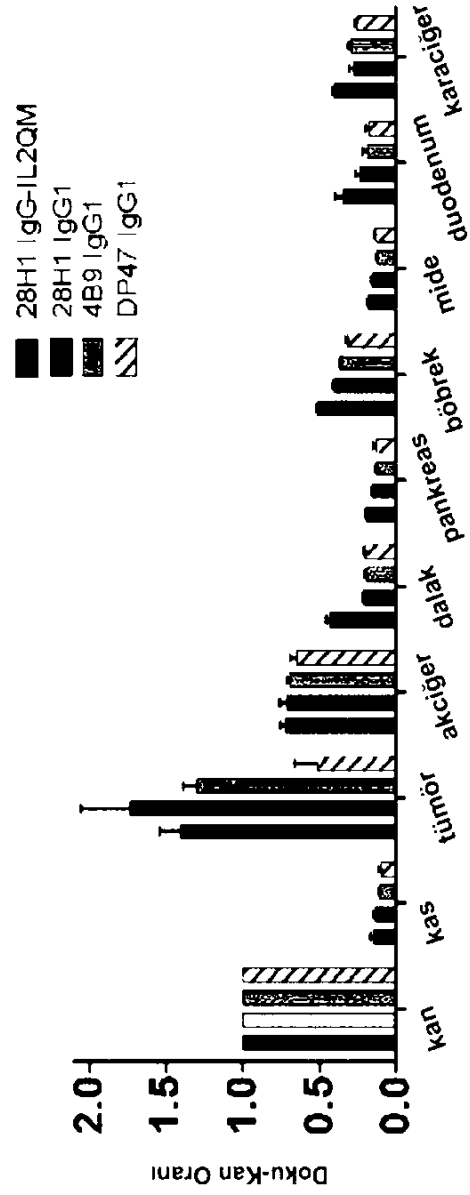
Şekil 28



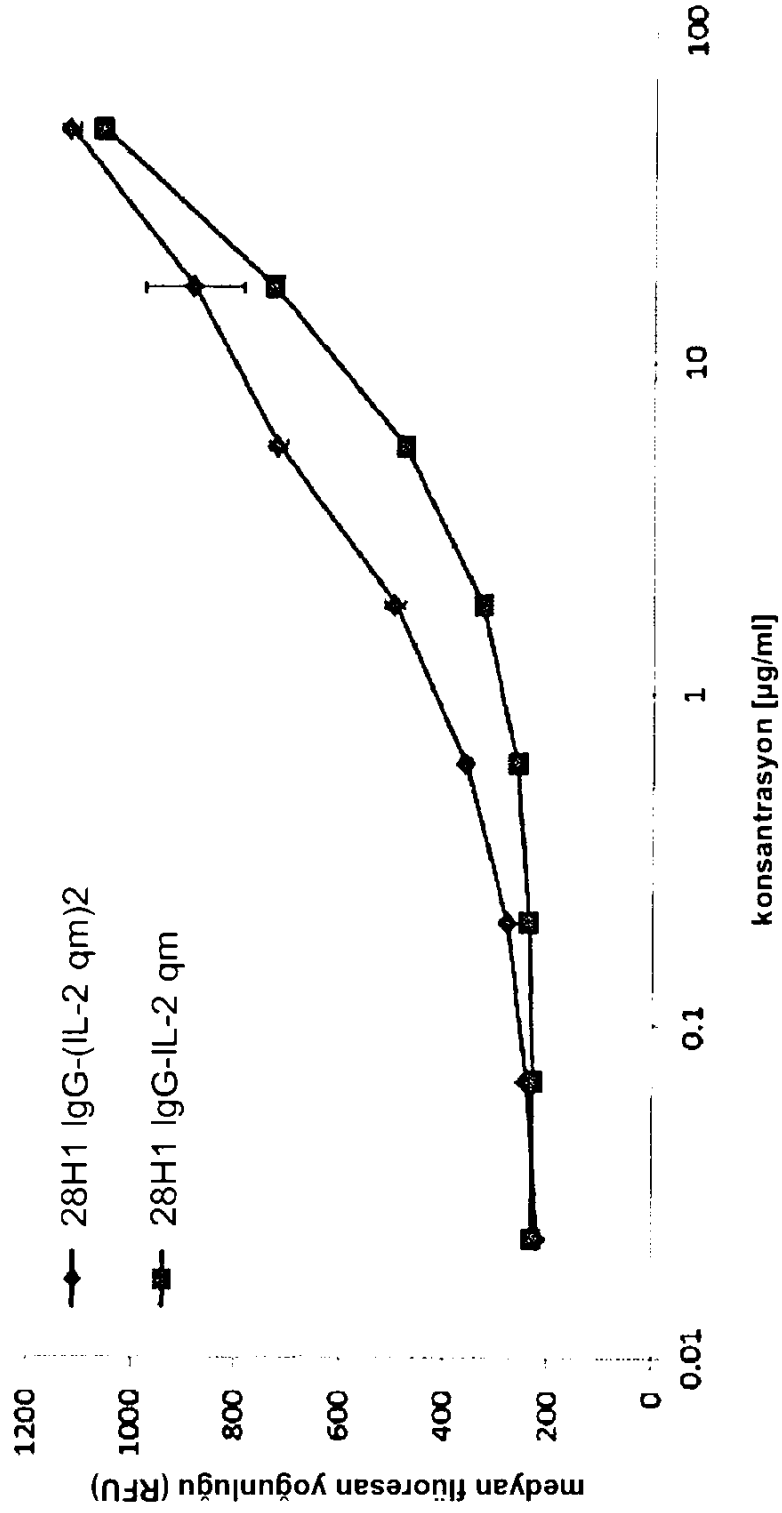
Şekil 29



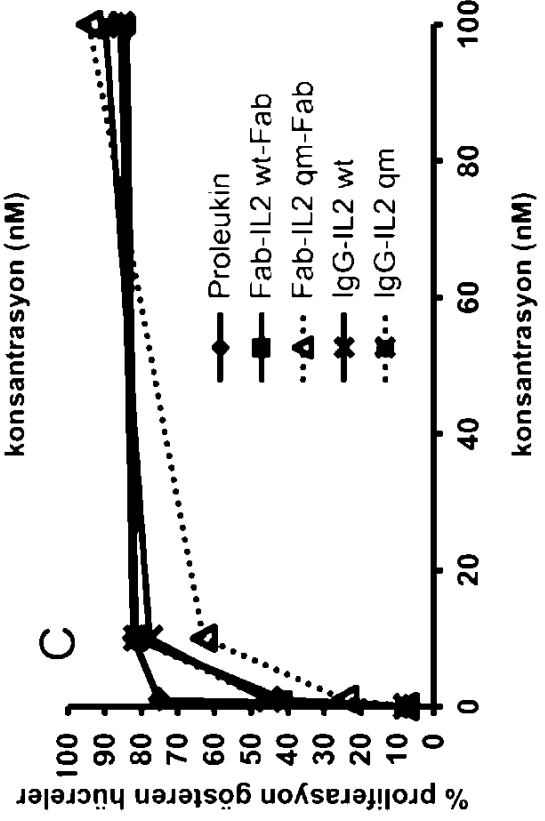
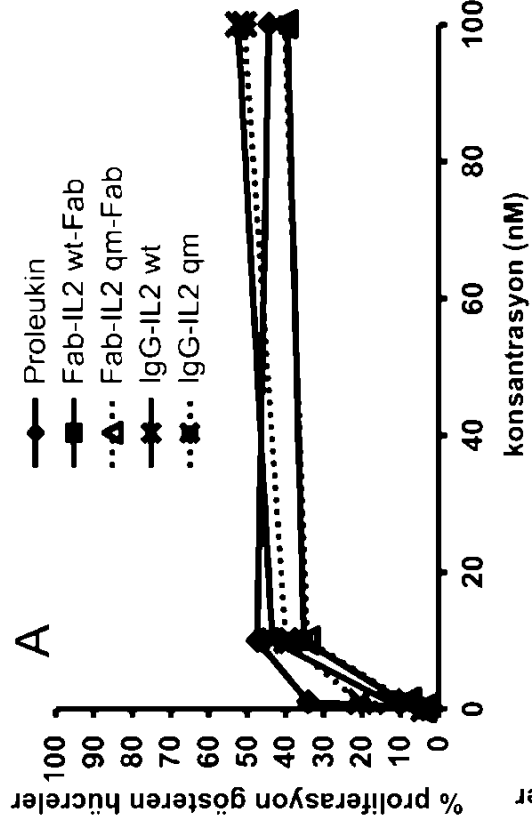
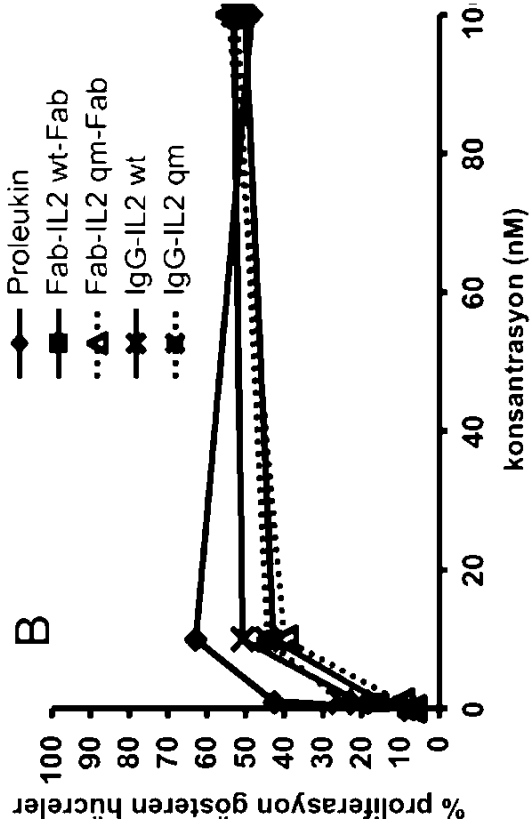
Şekil 30



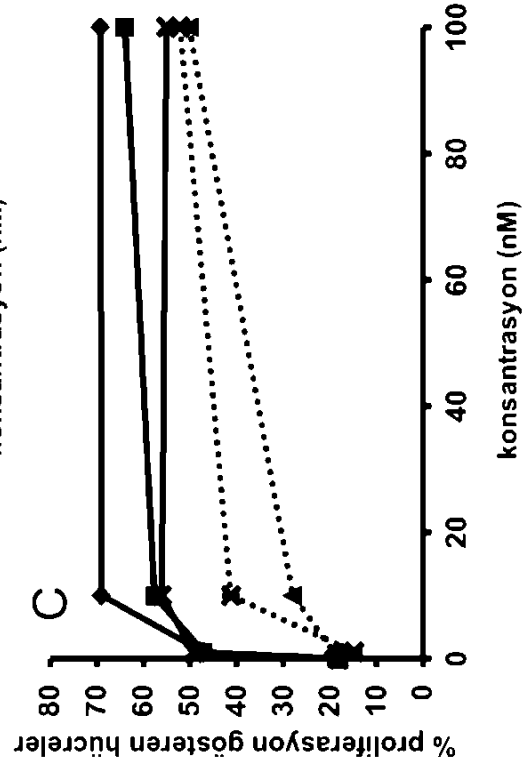
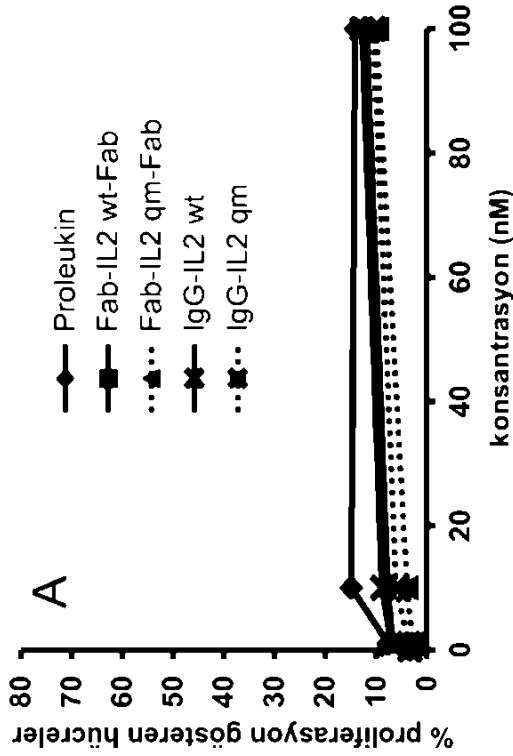
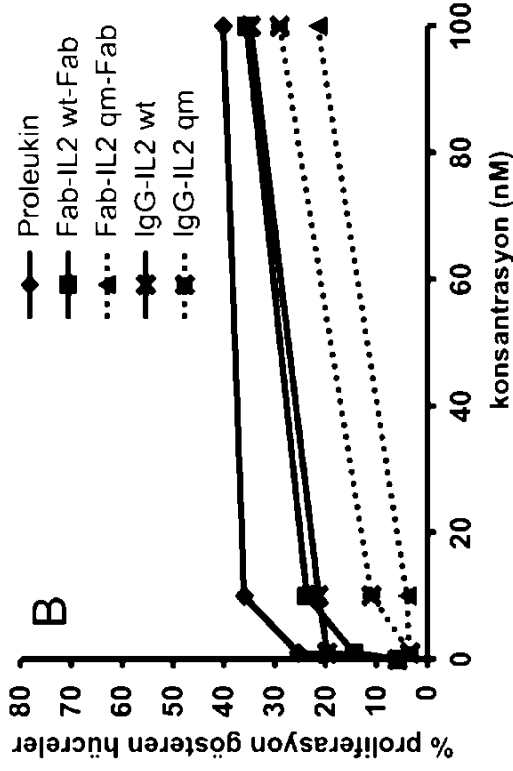
Şekil 31



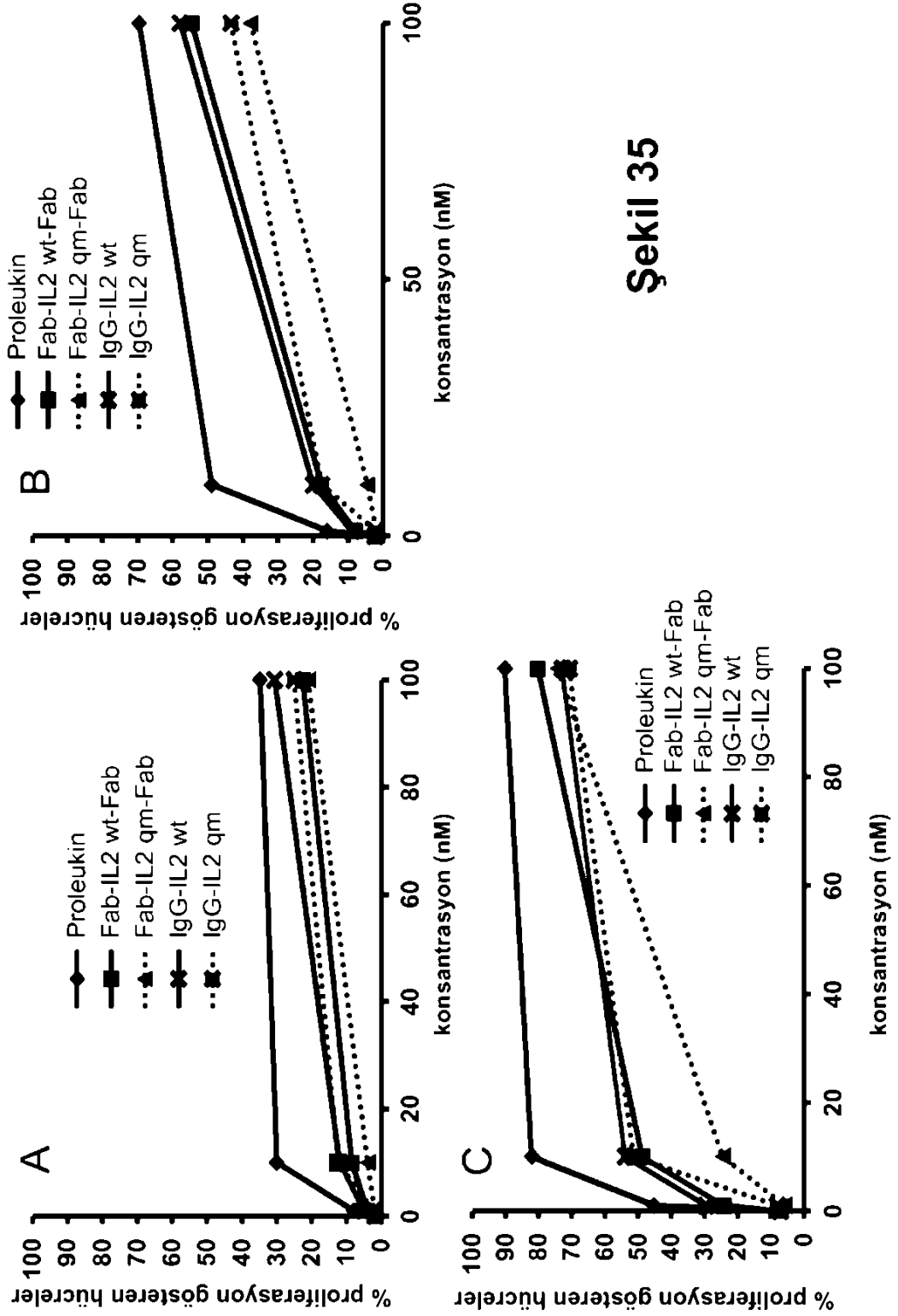
Şekil 32



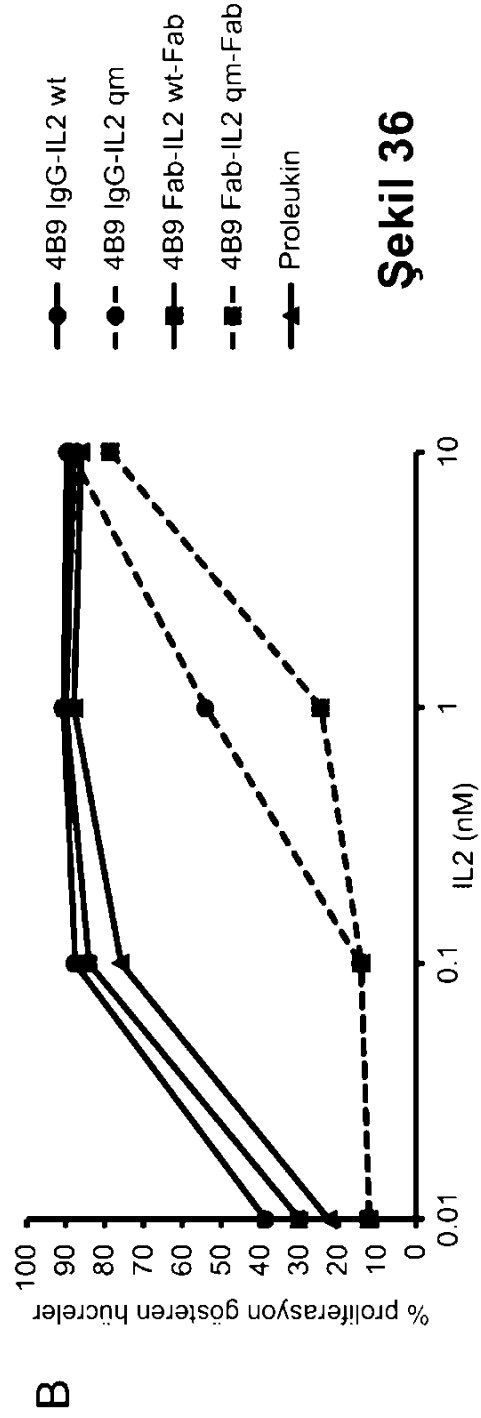
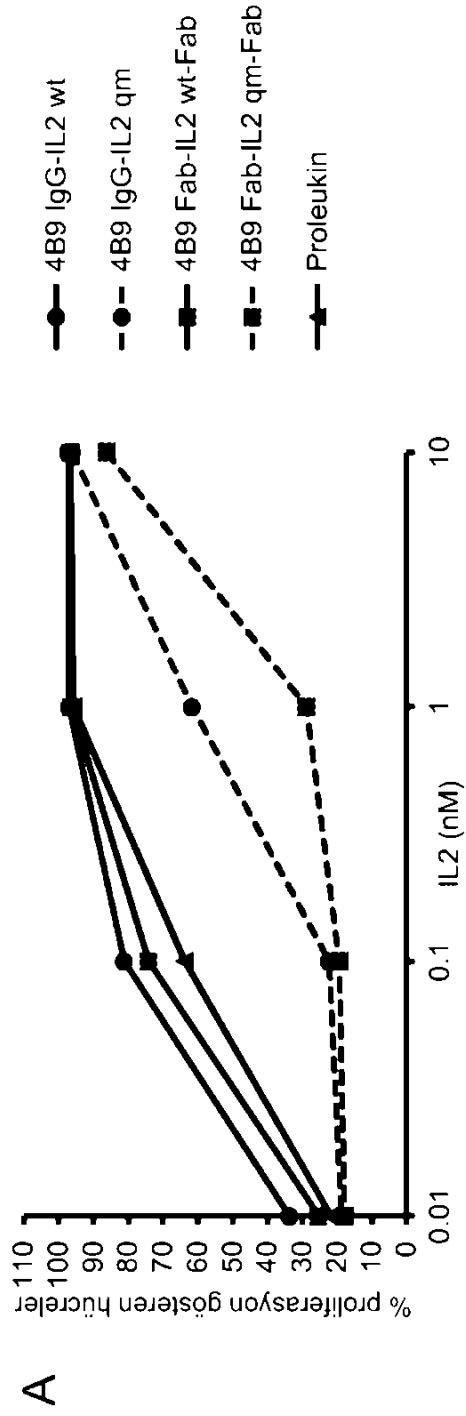
Şekil 33



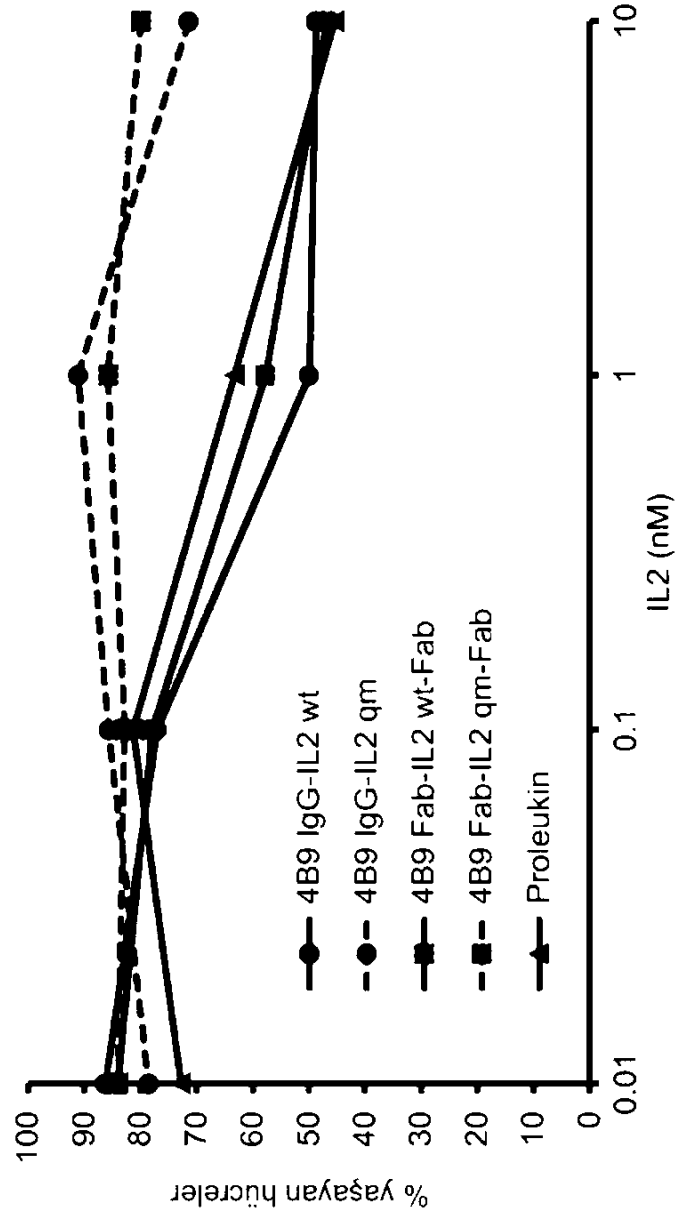
Şekil 34



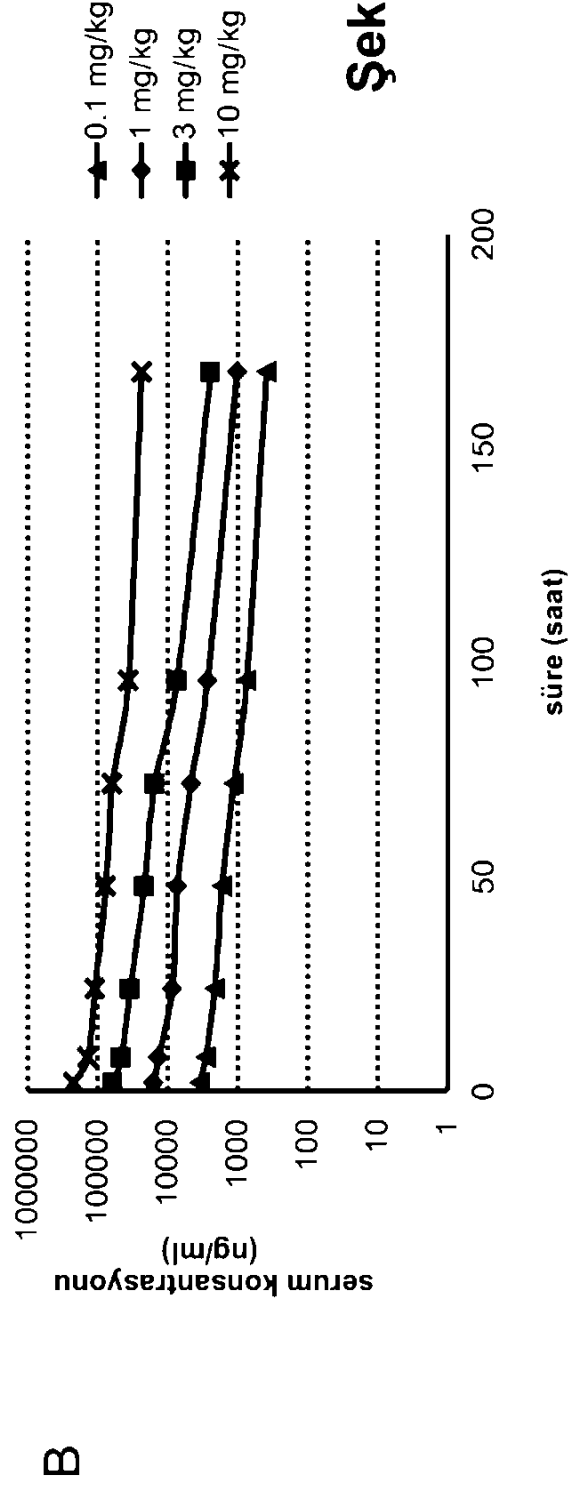
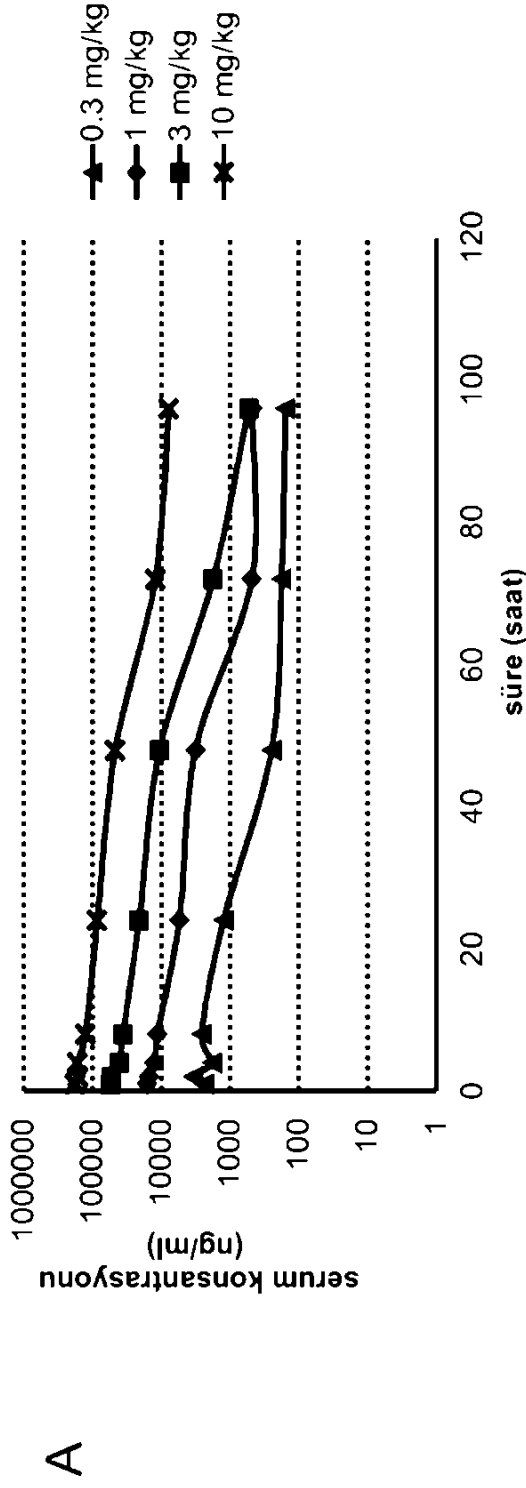
Şekil 35



Şekil 36

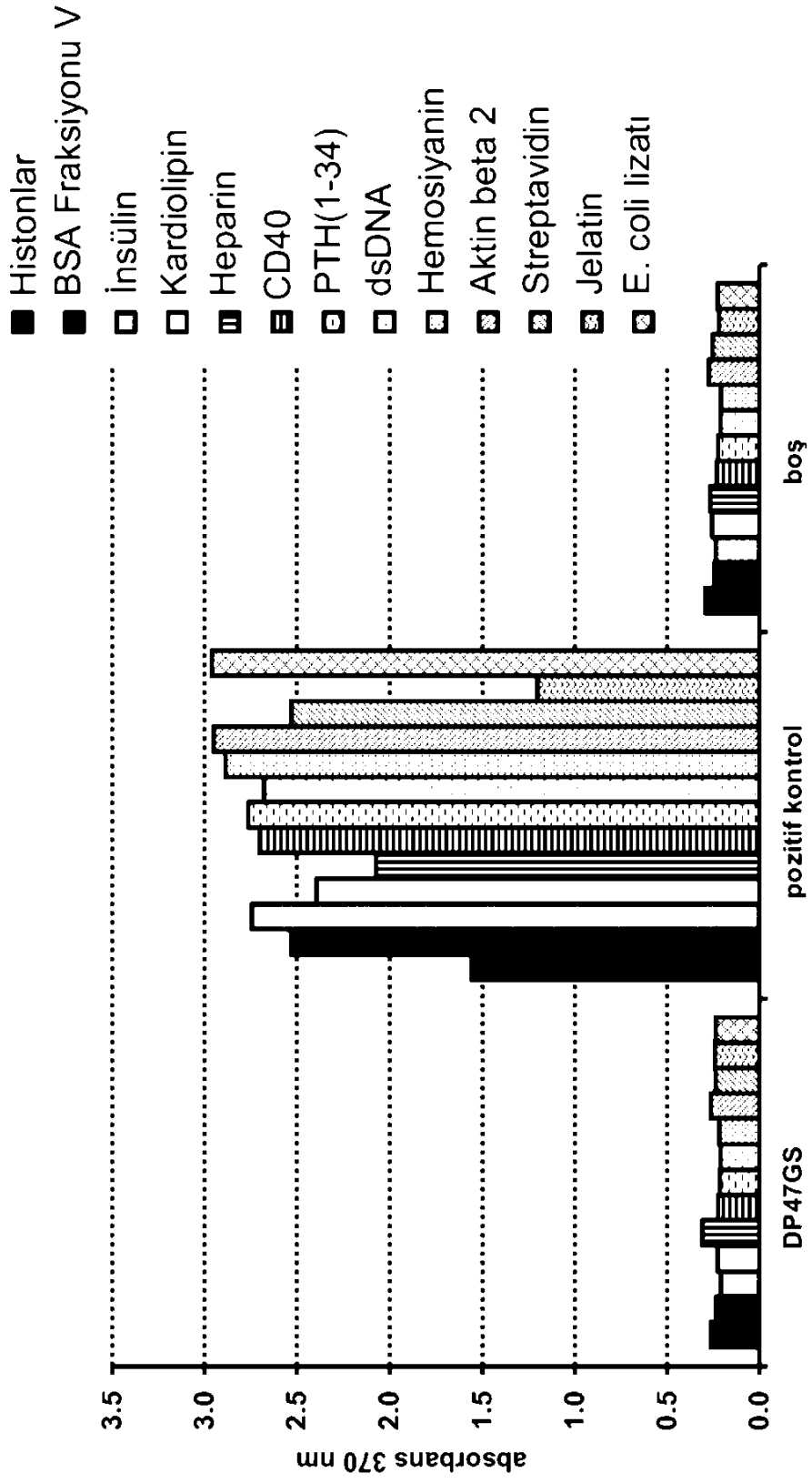


Şekil 37



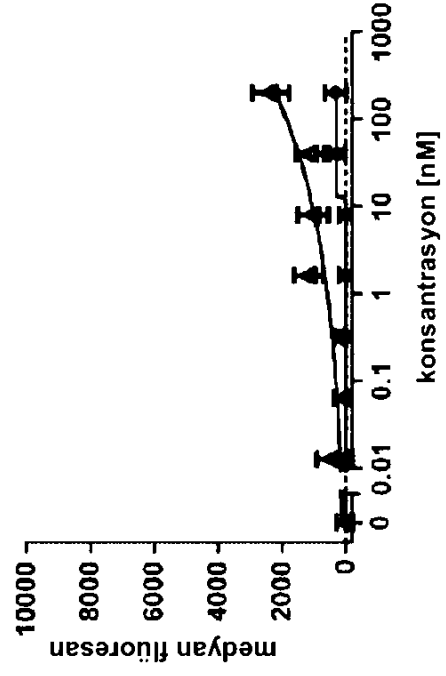
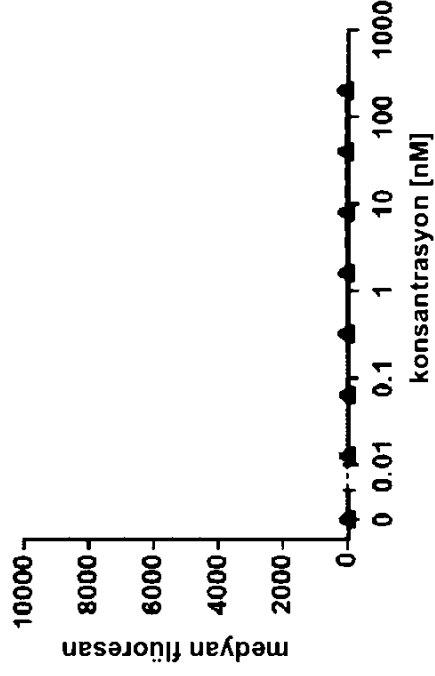
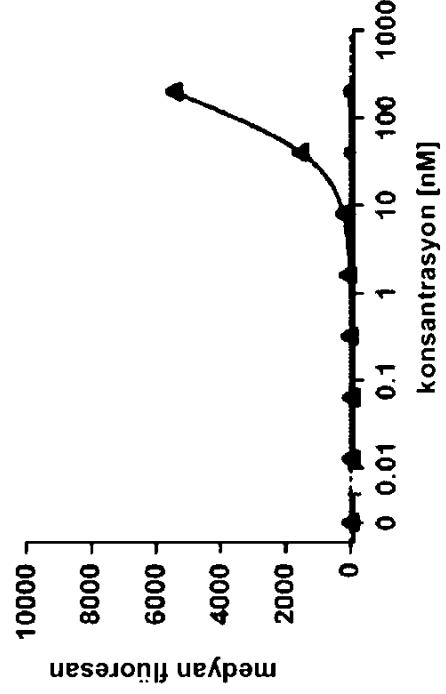
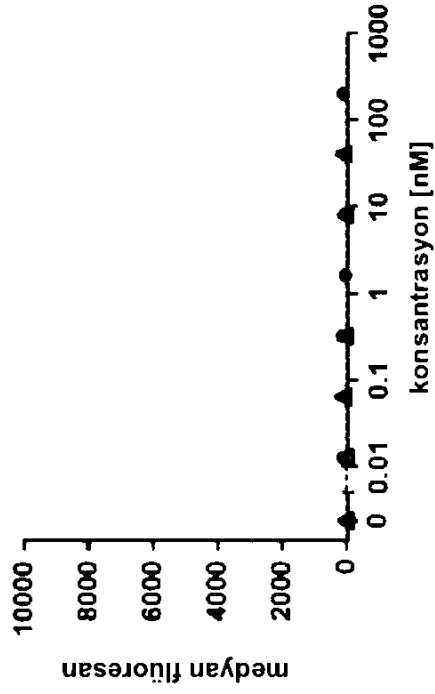
Şekil 38

Şekil 39

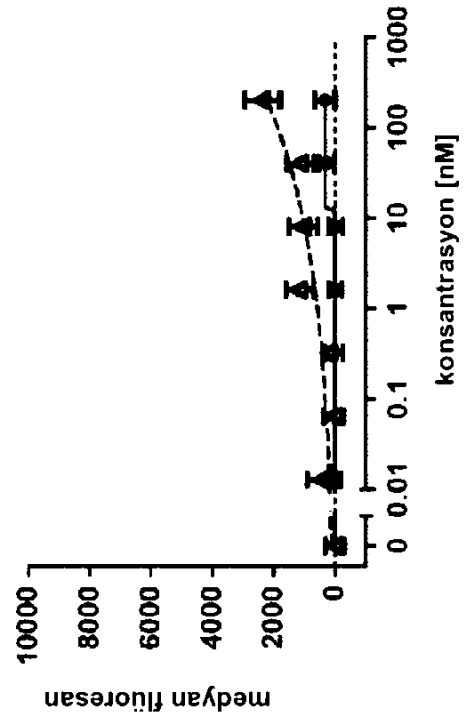
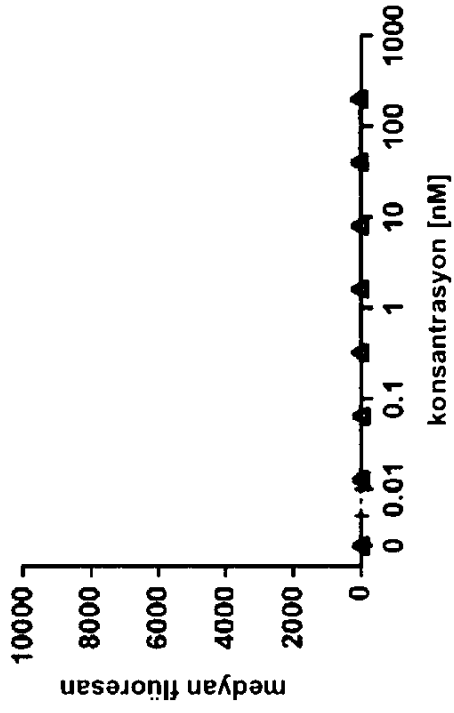
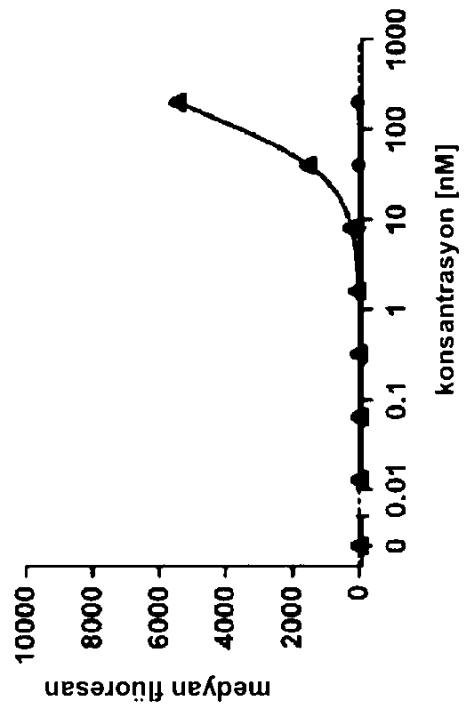
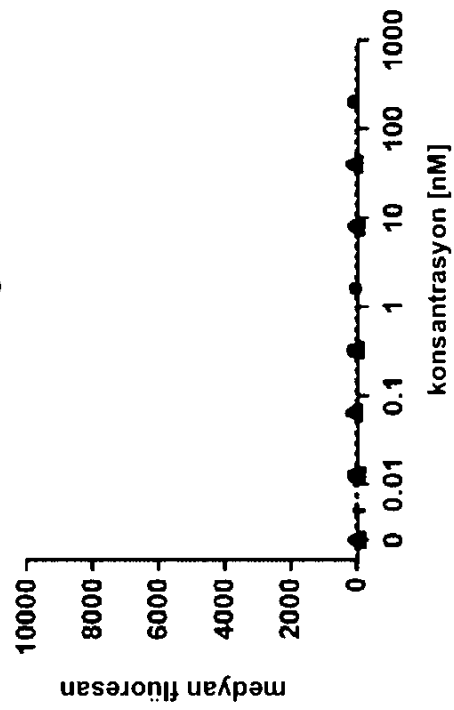


Şekil 40A

- DP47GS IgG (LALA P329G)
- ▲ DP47GS IgG



- DP47GS IgG (LALA P329G)
- ▲ DP47GS IgG



—●— DP47GS IgG (LALA P329G)
—▲— DP47GS IgG

