(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2018-0005753
(43) 공개일자 2018년01월16일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07K 16/22 (2006.01) *A61K 39/395* (2006.01)
C07K 16/00 (2006.01) *C07K 16/46* (2006.01)
(52) CPC특허분류
C07K 16/22 (2013.01)
A61K 39/395 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2018-7000324(분할)
(22) 출원일자(국제) 2009년06월25일
심사청구일자 2018년01월04일
(62) 원출원 특허 10-2017-7012884
원출원일자(국제) 2009년06월25일
심사청구일자 2017년06월09일
(85) 번역문제출일자 2018년01월04일
(86) 국제출원번호 PCT/CH2009/000220
(87) 국제공개번호 WO 2009/155724
국제공개일자 2009년12월30일
(30) 우선권주장
61/075,697 2008년06월25일 미국(US)
(뒷면에 계속)

(71) 출원인
에스바테크 - 어 노바티스 컴파니 엘엘씨
스위스 체하-8952 슐리렌 바기스트라쎄 21
(72) 발명자
보라스 레오나르도
스위스 체하-8952 슐리렌 분덴탈슈트라쎄 1
우레히 다비트
스위스 체하-8708 맨네도르프 슈라이너베크 5
군데 테아
스위스 체하-8005 츄리히 오토슈트라쎄 15
(74) 대리인
특허법인한성

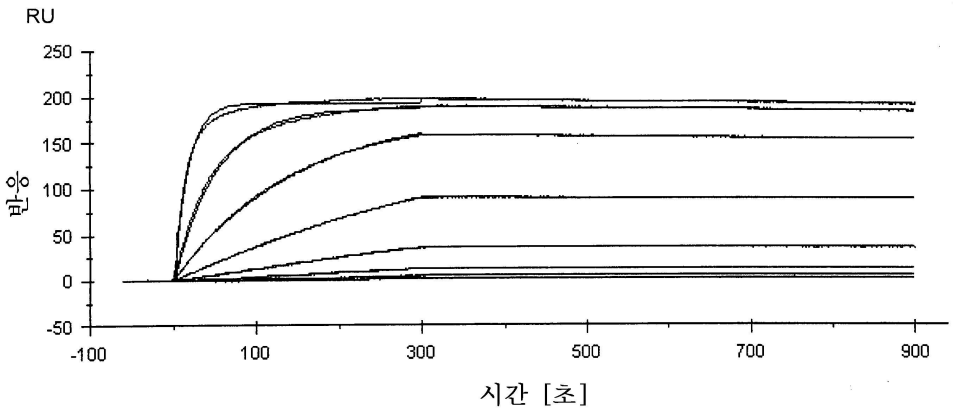
전체 청구항 수 : 총 12 항

(54) 발명의 명칭 **ＶＥＧＦ를 억제하는 안정하고 가용성인 항체**

(57) 요 약

본 발명은 래빗 모노클로날 항체의 CDR을 포함하는 가용성이고 안정한 안티-VEGF 면역결합제에 관한 것이다. 상기 항체는 VEGF와 매개된 장애를 진단 및/또는 치료하기 위해 설계되었다. 또한, 본 발명의 재조합 항체의 발현을 위한 하이브리도마, 핵산, 벡터 및 숙주 세포, 이들을 단리하는 방법 및 상기 항체의 약물로서의 용도를 기술하고 있다.

대 표 도



(52) CPC특허분류
C07K 16/46 (2013.01)
C07K 2317/31 (2013.01)
C07K 2317/54 (2013.01)
C07K 2317/56 (2013.01)
C07K 2317/565 (2013.01)
C07K 2317/567 (2013.01)
C07K 2317/622 (2013.01)
C07K 2317/73 (2013.01)
C07K 2317/92 (2013.01)

(30) 우선권주장
61/075,692 2008년06월25일 미국(US)
61/133,212 2008년06월25일 미국(US)
61/155,041 2009년02월24일 미국(US)

명 세 서

청구범위

청구항 1

가변 중쇄 (VH) 및 가변 경쇄 (VL)를 포함하는 재조합 항체로서, 여기서

a. 가변 중쇄가 SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 15 및 SEQ ID NO: 27로 이루어지는 군의 상보성 결정 영역 (CDR)을 포함하고, 가변 경쇄가 SEQ ID NO: 38, SEQ ID NO: 50 및 SEQ ID NO: 61로 이루어지는 군의 CDR을 포함하거나;

b. 가변 중쇄가 SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 15 및 SEQ ID NO: 27로 이루어지는 군의 CDR을 포함하고, 가변 경쇄가 SEQ ID NO: 38, SEQ ID NO: 50 및 SEQ ID NO: 61로 이루어지는 군의 CDR을 포함하거나;

c. 가변 중쇄가 SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 16 및 SEQ ID NO: 28로 이루어지는 군의 CDR을 포함하고, 가변 경쇄가 SEQ ID NO: 39, SEQ ID NO: 51 및 SEQ ID NO: 62로 이루어지는 군의 CDR을 포함하거나;

d. 가변 중쇄가 SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 17 및 SEQ ID NO: 29로 이루어지는 군의 CDR을 포함하고, 가변 경쇄가 SEQ ID NO: 40, SEQ ID NO: 52 및 SEQ ID NO: 63로 이루어지는 군의 CDR을 포함하거나;

e. 가변 중쇄가 SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 18 및 SEQ ID NO: 30 로 이루어지는 군의 CDR을 포함하고, 가변 경쇄가 SEQ ID NO: 41, SEQ ID NO: 53 및 SEQ ID NO: 64로 이루어지는 군의 CDR을 포함하거나;

f. 가변 중쇄가 SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 19 및 SEQ ID NO: 31로 이루어지는 군의 CDR을 포함하고, 가변 경쇄가 SEQ ID NO: 42, SEQ ID NO: 54 및 SEQ ID NO: 65로 이루어지는 군의 CDR을 포함하거나;

g. 가변 중쇄가 SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 21 및 SEQ ID NO: 33로 이루어지는 군의 CDR을 포함하고, 가변 경쇄가 SEQ ID NO: 44, SEQ ID NO: 56 및 SEQ ID NO: 67로 이루어지는 군의 CDR을 포함하거나;

h. 가변 중쇄가 SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 22 및 SEQ ID NO: 34로 이루어지는 군의 CDR을 포함하고, 가변 경쇄가 SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 57 및 SEQ ID NO: 68로 이루어지는 군의 CDR을 포함하거나;

i. 가변 중쇄가 (i) SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 23 및 SEQ ID NO: 35로 이루어지는 군; (ii) SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 25 및 SEQ ID NO: 35로 이루어지는 군; (iii) SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 23 및 SEQ ID NO: 35로 이루어지는 군; 또는 (iv) SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 25 및 SEQ ID NO: 35로 이루어지는 군의 CDR을 포함하고, 가변 경쇄가 SEQ ID NO: 46, SEQ ID NO: 58 및 SEQ ID NO: 69로 이루어지는 군의 CDR을 포함하거나; 또는

j. 가변 중쇄가 SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 24 및 SEQ ID NO: 36로 이루어지는 군의 CDR을 포함하고, 가변 경쇄가 (i) SEQ ID NO: 47, SEQ ID NO: 59 및 SEQ ID NO: 70로 이루어지는 군의 CDR; 또는 (ii) SEQ ID NO: 48, SEQ ID NO: 59 및 SEQ ID NO: 70로 이루어지는 군의 CDR을 포함하는, 재조합 항체.

청구항 2

제 1 항의 재조합 항체의 항원-결합 단편으로서, 상기 단편이 scFv, Fab, $F(ab')_2$ 또는 Fab'인, 항원-결합 단편.

청구항 3

제 2 항에 있어서, 상기 단편이 scFv이고 여기서 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역이 SEQ ID NO: 181의 서열에 의해 연결된 것인, 항원-결합 단편.

청구항 4

제 1 항의 재조합 항체를 포함하는 약학 조성물.

청구항 5

제 2 항의 항원-결합 단편을 포함하는 약학 조성물.

청구항 6

제 3 항의 항원-결합 단편을 포함하는 약학 조성물.

청구항 7

대상에서 VEGF-매개 질환이 치료되도록 제 1 항의 항체의 치료적 유효량을 대상에 투여하는 것을 포함하는, 대상에서 인간 VEGF-매개 질환을 치료하는 방법.

청구항 8

제 7 항에 있어서, VEGF-매개 질환이 연령과 관련된 황반 퇴화, 신생혈관 녹내장, 당뇨망막병증, 미숙아 망막증, 후수정체 섬유증식증, 유방암, 폐암, 위암, 식도암, 대장암, 간암, 난소암, 혼수, 남성화세포종, 자궁경부암, 자궁내막암, 자궁내막증식, 자궁내막증, 섬유육종, 융모암, 머리와 목의 암, 상인두암, 후두암, 간아세포종, 카포시 육종, 악성 흑색종, 피부암, 혈관종, 해면상 혈관종, 혈관모 세포종, 췌장암, 망막아세포종, 성상세포종, 교모세포종, 슈반종, 핍지교종, 수모세포종, 신경아세포종, 횡문근육종, 골육종, 평활근육종, 요로암, 갑상선암, 빌름스 종양, 신세포암, 전립선암, 모반증과 연관된 비정상 혈관 증식, 부종 (뇌종양과 연관된 부종 등), 메이그 신드롬, 류마티스 관절염, 건선 및 동맥경화증으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 것인, 방법.

청구항 9

대상에서 VEGF-매개 질환이 치료되도록 제 2 항의 항원-결합 단편의 치료적 유효량을 대상에 투여하는 것을 포함하는, 대상에서 인간 VEGF-매개 질환을 치료하는 방법.

청구항 10

제 9 항에 있어서, VEGF-매개 질환이 연령과 관련된 황반 퇴화, 신생혈관 녹내장, 당뇨망막병증, 미숙아 망막증, 후수정체 섬유증식증, 유방암, 폐암, 위암, 식도암, 대장암, 간암, 난소암, 혼수, 남성화세포종, 자궁경부암, 자궁내막암, 자궁내막증식, 자궁내막증, 섬유육종, 융모암, 머리와 목의 암, 상인두암, 후두암, 간아세포종, 카포시 육종, 악성 흑색종, 피부암, 혈관종, 해면상 혈관종, 혈관모 세포종, 췌장암, 망막아세포종, 성상세포종, 교모세포종, 슈반종, 핍지교종, 수모세포종, 신경아세포종, 횡문근육종, 골육종, 평활근육종, 요로암, 갑상선암, 빌름스 종양, 신세포암, 전립선암, 모반증과 연관된 비정상 혈관 증식, 부종 (뇌종양과 연관된 부종 등), 메이그 신드롬, 류마티스 관절염, 건선 및 동맥경화증으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 것인, 방법.

청구항 11

제 1 항의 항체 또는 제 2 항의 항원-결합 단편을 포함하는 이중특이성 분자.

청구항 12

제 11 항에 있어서, 다중특이성인, 이중특이성 분자.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 관련 정보

[0002] 본 출원은 2008년 6월 25일자로 출원된 미국 특허출원 제61/133,212호, 2008년 6월 25일자로 출원된 미국 특허출원 제61/075,697호, 2009년 2월 24일자로 출원된 미국 특허출원 제61/155,041호 및 2008년 6월 25일자로 출원된 미국 특허출원 제61/075,692호를 우선권으로 주장한다.

[0003] 본 명세서에서 인용된 특허, 특허출원 및 참고문헌의 내용은 그 전체가 참조로 여기에 통합되어 있다.

배 경 기 술

[0004] 발명의 배경

[0005] 신생혈관 형성(Angiogenesis)은 다양한 질환의 발병과 연관되어 있으며, 이러한 질환의 예로는, 고형 종양, 증식성 망막증 또는 연령과 관련된 황반퇴화(AMD)와 같은 눈의 신생혈관성 증상, 류마티스 관절염 및 건선 등이

있다(Folkman et al. J. Biol. Chem. 267: 10931-10934 (1992); KIagsbrun et al. Annu. Rev. Physiol. 53:217-239 (1991); and Garner A, Vascular diseases. In: Pathobiology of ocular disease. A dynamic approach. Garner A, Klintworth G K, Eds. 2nd Edition Marcel Dekker, NY, pp 1625-1710 (1994)). 고형 종양에서는, 신생혈관 형성과 새로운 vasculture의 성장이 종양의 생존을 허용하여, 종양 섹션에서의 미세혈관 밀도와 폐암 환자 및 다른 암 환자의 생존률 간에 연관성을 나타냈다(Weidner et al., N Engl J Med 324:1-6 (1991); Horak et al. Lancet 340:1120-1124 (1992); and Macchiarini et al. Lancet 340: 145-146 (1992)).

[0006] 혈관 내피세포 성장인자(VEGF)는 신생혈관 형성과 신혈관화(neovascularization)의 공지된 조절제이며, 종양 및 안 질환과 연관된 신혈관화의 주요 매개체인 것으로 확인되었다(Ferrara et al. Endocr. Rev. 18:4-25 (1997)). VEGF mRNA는 사람의 수많은 종양에서 과발현되며, 안액 내 VEGF 농도는 당뇨 및 허혈과 연관된 망막변증 환자의 혈관 활성 증식과 밀접하게 연관되어 있다(Berkman et al, J Clin Invest 91:153-159 (1993); Brown et al. Human Pathol. 26:86-91 (1995); Brown et al. Cancer Res. 53:4727-4735 (1993); Mattern et al. Brit. J. Cancer. 73:931-934 (1996); and Dvorak et al. Am J. Pathol. 146:1029-1039(1995); Aiello et al. N. Engl. J. Med. 331:1480-1487 (1994)). 또한, 최근의 연구에서는 AMD 환자의 맥락막 신형혈관막 내에서 국소화된 VEGF의 존재가 확인되었다(Lopez et al. Invest. Ophtalmo. Vis. Sci. 37:855-868 (1996)). 안티-VEGF 중화 항체는 누드 마우스에서 다양한 사람 종양 세포주의 성장을 억제하고 허혈성 망막질환의 모델에서 눈의 신생혈관 형성을 억제하는데 사용될 수 있다(Kim et al. Nature 362:841-844 (1993); Warren et al. J. Clin. Invest 95:1789-1797 (1995); Borgstrom et al. Cancer Res. 56:4032-4039 (1996); and Melnyk et al. Cancer Res. 56:921-924 (1996)) (Adamis et al. Arch. Opthalmol. 114:66-71 (1996)).

[0007] 그러므로, 고형 종양과 다양한 신생혈관 안 질환의 치료에 사용될 수 있는 안티-VEGF 모노클로날 항체가 필요하다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0008] <u>발명의 요약</u>

[0009] 본 발명은 래빗 모노클로날 항체에서 유래하는 CDR을 포함하는 가용성의 안정한 안티-VEGF 면역결합제를 제공한다. 상기 항체는 VEGF가 매개된 질환의 진단 및/또는 치료를 위해 설계되었다. 또한 본 발명의 재조합 항체의 발현을 위한 하이브리도마, 핵산, 벡터 및 숙주 세포, 이들을 분리하는 방법 및 상기 항체들의 약물 내에서의 용도를 기술한다.

과제의 해결 수단

[0010] <u>상세한 설명</u>

[0011] 본 발명은 래빗 모노클로날 항체에서 유래한 CDR을 포함하는 가용성이고 안정한 안티-VEGF 면역결합제를 제공한다. 상기 면역결합제는 VEGF가 매개된 질환의 진단 및/또는 치료를 위해 설계되었다. 본 발명의 재조합 항체의 발현을 위한 하이브리도마, 핵산, 벡터 및 숙주 세포, 이들을 분리하는 방법 및 상기 항체들의 약물에서의 용도를 기술하였다.

[0012] ***정 의***

[0013] 본 발명을 보다 용이하게 이해할 수 있도록 임의의 용어들을 다음과 같이 정의한다. 추가의 정의는 상세한 설명에 열거하였다.

[0014] "VEGF"란 165-아미노산의 혈관 내피세포 성장인자, 및 Leung et al, Science 246:1306 (1989), and Houck et al, Mol. Endocrin. 5:1806 (1991)에 기술되어 있는, 관련된 121-, 189-, 및 206-아미노산 혈관 내피세포 성장인자, 및 이들 성장인자의 자연적으로 발생하는 대립형질과 가공된 형태를 지칭한다.

[0015] "VEGF 리셉터" 또는 "VEGFr"이란 VEGF에 대한 세포 리셉터, 통상적으로 혈관내피세포에서 발견되는 세포 표면 리셉터 및 hVEGF와 결합하는 능력을 가지는 이들의 변이체를 지칭한다. VEGF 리셉터의 일 예로는 티로신키나제 종류의 막투과 리셉터인 fms-유사 티로신 키나제(flt)가 있다. DeVries et al, Science 255:989 (1992); Shibuya et al, Oncogene 5:519 (1990). flt 리셉터는 세포외 도메인, 막투과 도메인 및 티로신 키나제 활성을 가지는 세포내 도메인을 포함한다. 세포외 도메인은 VEGF의 결합과 연관되어 있는 반면, 세포내 도메인은 시그

널 형질도입(transduction)과 연관되어 있다. VEGF 리셉터의 다른 예로는 flk-1 리셉터(KDR로 지칭됨.)가 있다. Matthews et al., Proc. Nat. Acad. Sci. 88:9026 (1991); Terman et al., Oncogene 6:1677 (1991); Terman et al., Biochem. Biophys. Res. Commun. 187:1579 (1992). VEGF가 flt 리셉터에 결합하면 2개 이상의 높은 분자량을 가지는 복합체가 생성되며 205,000 및 300,000 Dalton의 겉보기 분자량을 가지는, 300,000 Dalton의 복합체는 VEGF의 단일 분자에 결합된 2개의 리셉터 분자를 포함하는 다이머인 것으로 추정된다.

[0016] 여기에서 사용된 "rabbit"이란 토끼과(leporidae)에 속하는 동물을 지칭한다.

[0017] 여기에서 사용된 "항체"라는 용어는 "면역글로불린"의 동의어이다. 본 발명에 따른 항체는, 예를 들면 단일 가변 도메인, Fv(Skerra A. and Pluckthun, A. (1988) *Science* 240:1038-41), scFv (Bird, R.E. et al. (1988) *Science* 242:423-26; Huston, J.S. et al. (1988) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 85:5879-83), Fab, (Fab')2 또는 당업자에게 공지된 다른 절편 등의 면역글로불린의 하나 이상의 가변 도메인을 포함하는 전체 면역글로불린 또는 그의 절편일 수 있다.

[0018] "CDR"이란 주로 항원 결합에 기여하는 항체의 가변 도메인 내의 6개 초가변영역 중 하나를 지칭한다. 6개 CDR에 대하여 가장 통상적으로 사용되는 정의 중 하나는 Kabat E.A. et al., (1991) Sequences of proteins of immunological interest. NIH Publication 91-3242에 의해 제공되었다. 여기서 사용된, Kabat의 CDR 정의만이 중쇄 가변 도메인의 CDR2 및 CDR3(CDR H2, CDR H3, 또는 H2, H3)뿐만 아니라 경쇄 가변 도메인의 CDR1, CDR2 및 CDR3(CDR L1, CDR L2, CDR L3, 또는 L1, L2, L3)에 적용한다. 그러나 여기에서 사용된 중쇄 가변 도메인의 CDR1(CDR H1 또는 H1)은 다음 잔기들(Kabat 넘버링)에 의해 정의된다: 위치 26에서 개시되고 위치 36 이전에 종료. 이것은 기본적으로 Kabat와 Chotia에 의해 상이하게 정의된 CDR H1의 융합이다(예시를 위한 도 15 참조).

[0019] 여기에서 사용된 "항체 프레임워크", 또는 종종 "프레임워크"로 표시된 용어는 가변 도메인의 일부, VL 또는 VH를 지칭하며, 상기 가변 도메인의 항원 결합 루프(CDR)에 대해 스캐폴드(scaffold)로서 작용한다. 기본적으로 이것은 CDR이 없는 가변도메인이다.

[0020] "단일 사슬 항체", "단일 사슬 Fv" 또는 "scFv"는 링커에 의해 연결된 항체 중쇄 가변 도메인(또는 영역; V_H) 및 항체 경쇄 가변 도메인(또는 영역; V_L)을 포함하는 분자를 지칭한다. 이러한 scFv 분자는 다음과 같은 일반 구조를 가질 수 있다: NH_2-V_L-링커-V_H-COOH 또는 NH_2-V_H-링커-V_L-COOH.

[0021] 여기에서 사용된 "동일성"이란 2개 폴리펩티드, 분자간 또는 2개 핵산 간의 서열 매칭(matching)을 지칭한다. 2개의 비교 서열 모두에서 한 위치에 동일한 염기 또는 아미노산 모노머 서브유니트가 있으면(예를 들면, 2개의 DNA 분자 각각에서 한 위치에 아데닌이 있거나 또는 2개의 폴리펩티드 각각에서 한 위치에 라이신이 있다면), 각각의 분자는 그 위치에서 동일하다. 2개 서열 간의 "동일성 백분율"은 2개 서열에 의해 공유된 일치하는 위치의 수/비교 위치의 수 X 100의 함수이다. 예를 들면, 2개 서열에서 10개 위치 중 6이 일치되면, 2개 서열의 동일성은 60 %이다. 예를 들면, DNA 서열 CTGACT와 CAGGTT는 50 %의 동일성을 가진다(총 6개 위치 중 3개가 일치). 일반적으로 2개 서열이 나란히 정렬된 경우의 비교에서 동일성이 최대가 된다. 이러한 정렬은, 예를 들면 Needleman 등, (1970) *J Mol. Biol.* 48: 443-453의 방법을 사용하여 제공되며, Align program (DNAstar, Inc.)과 같은 컴퓨터 프로그램으로 편리하게 시행될 수 있다. 2개 아미노산 서열간의 동일성 비율은 E. Meyers와 W. Miller의 알고리즘(*Comput. Appl. Biosci.*, 4:11-17 (1988))을 사용하여 결정할 수 있으며, 상기 알고리즘은 PAM120 중량 잔기 표, 12의 갭 길이 페널티와 4의 갭 페널티를 사용하는 ALIGN 프로그램(버젼 2.0)에 연결되어 있다. 또한, 2개 아미노산 서열 간의 동일성 비율은 Needleman과 Wunsch의 알고리즘 (*J. Mol. Biol.* 48:444-453 (1970)) 알고리즘을 사용하여 결정할 수 있으며, 상기 알고리즘은 Blossum 62 매트릭스 또는 PAM250 매트릭스, 및 16, 14, 12, 10, 8, 6, 또는 4의 갭 중량 및 1, 2, 3, 4, 5, 또는 6의 길이 중량을 사용하는 GCG.소프트웨어 패키지(www.gcg.com에서 판매)의 GAP 프로그램에 포함되어 있다.

[0022] "유사한" 서열이란 나란히 정렬되었을 때, 동일하고 유사한 아미노산 잔기를 공유하는 서열이며, 여기에서 유사한 잔기는 정렬된 참조 서열 내에 상응하는 아미노산 잔기에 대한 보존적(conservative) 치환이다. 이와 관련하여, 참조 서열 내 잔기의 "보존적 치환"이란 상응하는 참조 잔기와 물리적 또는 작용적으로 유사한, 예를 들면, 공유결합 또는 수소결합을 형성하는 작용을 포함하여 유사한 크기, 형태, 전하, 화학적 특성을 가지는 잔기에 의한 치환이다. 따라서 "보존적 치환 변성된" 서열은 하나 이상의 보존적 치환이 있는 참조 서열 또는 야생형 서열과는 다른 것이다. 2개 서열 간의 "유사성 백분율"은 2개 서열에 의해 공유된 일치하는 잔기 또는 보존적 치환을 포함하는 위치의 수를 비교되는 위치의 수로 나누고 100을 곱한 함수이다. 예를 들면 2개의 서열에서 10개 중 6개가 일치하고 10개 중 2개가 보존적 치환을 포함하면 2개 서열은 80 %의 포지티브 유사성을 가진다.

[0023] 여기에서 사용된, "보존적 서열 변성"이란 아미노산 서열을 포함하는 항체의 결합 특성을 변경하거나 부정적으로 영향을 미치지 않는 아미노산 변성을 지칭한다. 이러한 보존적 서열 변성은 뉴클레오티드와 아미노산의 치환, 첨가 및 삭제를 포함한다. 예를 들면, 부위특이적 돌연변이와 PCR과 매개된 돌연변이 등과 같은 당분야에서 공지된 표준 기술에 의해 변성을 삽일할 수 있다. 보존적 아미노산 치환은 아미노산 잔기가 유사한 측쇄를 가지는 아미노산 잔기로 대체되는 것을 포함한다. 유사한 측쇄를 가지는 아미노산 잔기들의 종류는 당 분야에서 정의되어 있다. 상기한 종류들로는 염기성 측쇄를 가지는 아미노산(예를 들면, 라이신, 아르기닌, 히스티딘), 산성 측쇄를 가지는 아미노산(예를 들면, 아스파르트산, 글루탐산), 극성의 비전하 측쇄를 가지는 아미노산(예를 들면, 글리신, 아스파라긴, 글루타민, 세린, 트레오닌, 티로신, 시스테인, 트립토판), 비극성 측쇄를 가지는 아미노산(예를 들면, 알라닌, 발린, 루이신, 이소루이신, 프롤린, 페닐알라닐, 메티오닌), 베타-분지형 측쇄를 가지는 아미노산(예를 들면, 트레오닌, 발린, 이소루이신) 및 방향족 측쇄를 가지는 아미노산(예를 들면, 티로신, 페닐알라닌, 트립토판, 히스티딘)이 있다. 그러므로, 사람 안티-VEGF 항체 내의 추정되는 비필수 아미노산 잔기는 바람직하게 동일한 측쇄 종류의 다른 아미노산 잔기로 대체된다. 뉴클레오티드와 아미노산 보존 치환을 확인하는 방법은 항원 결합을 제거하지 않으며 당분야에 공지되어 있다(예를 들면, Brummell et al, *Biochem.* 32:1180-1187 (1993); Kobayashi et al. *Protein Eng.* 12(10):879-884 (1999); and Burks et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 94:412-417 (1997) 참조).

[0024] 여기에서 사용된 "아미노산 컨센서스 서열"은 둘 이상, 바람직하게는 더많은 정렬된 아미노산 서열의 매트릭스를 사용하고 정렬 내에 갭을 형성하여 각각 위치에서 가장 빈번한 아미노산 잔기를 결정할 수 있도록 제조될 수 있는 아미노산 서열을 지칭한다. 상기 컨센서스 서열은 각 위치에서 가장 자주 나타나는 아미노산을 포함하는 서열이다. 두개 이상의 아미노산이 하나의 위치에 동등하게 나타나는 경우에, 컨센서스 서열은 이들 아미노산 둘다 또는 모두를 포함한다.

[0025] 단백질의 아미노산 서열은 다양한 레벨로 분석될 수 있다. 예를 들면, 보존성 또는 변이성은 단일 잔기 레벨, 다중 잔기 레벨, 갭을 가지는 다중 잔기로 나타낼 수 있다. 잔기들은 동일한 잔기의 보존을 나타내거나 또는 분류 레벨에서 보존될 수 있다. 아미노산 분류의 예로는 극성이지만 전하를 띠지 않는 R 그룹을 가지는 아미노산(세린, 트레오닌, 아스파라긴 및 글루타민); 양전하를 띠는 R 그룹을 가지는 아미노산(라이신, 아르기닌 및 히스티딘); 음전하를 띠는 R 그룹을 가지는 아미노산(글루탐산 및 아스파르트산); 소수성 R 그룹을 가지는 아미노산(알라닌, 이소루이신, 루이신, 메티오닌, 페닐알라닌, 트립토판, 발린 및 티로신); 및 특정한 아미노산(시스테인, 글리신 및 프롤린) 등이 있다. 다른 분류들은 당업자에게 공지되어 있으며 구조적 결정이나 치환성을 평가하는 다른 데이터를 사용하여 정의될 수 있다. 이런 면에서, 치환가능한 아미노산이란 그 위치에서 치환될 수 있고 작용적 보존을 유지할 수 있는 아미노산으로 지칭할 수 있다.

[0026] 그러나 동일한 분류의 아미노산은 그들의 생체물리적 특성에 의한 정도에 따라 변화될 수 있음을 인지하여야 한다. 예를 들면, 임의의 소수성 R 그룹(예를 들면, 알라닌, 세린 또는 트레오닌)은 다른 소수성 R 그룹(예를 들면, 발린 또는 루이신) 보다 더 친수성(즉, 더 높은 친수성 또는 더 낮은 소수성의)인 것을 인식하여야 한다. 상대적 친수성 또는 소수성을 공지된 방법을 사용하여 결정할 수 있다(예를 들면, Rose et al., *Science*, 229: 834-838 (1985) and Cornette et al., *J Mol. Biol*, 195: 659-685 (1987) 참조).

[0027] 여기에서 사용된 바와 같이, 하나의 아미노산 서열(예를 들면, 첫 번째 V_H 또는 V_L 서열)이 하나 이상의 추가 아미노산 서열(예를 들면, 데이터베이스 중의 하나 이상의 VH 또는 VL 서열)과 정렬되었을 때, 하나의 서열(예를 들면, 상기 첫 번째 V_H 또는 V_L 서열) 내의 아미노산는 위치 하나 이상의 추가의 아미노산 서열 중에서 "상응하는 위치"와 비교될 수 있다. 여기에서 사용된 "상응하는 위치"란 서열들이 최적으로 정렬되었을 때, 즉 서열들이 최고의 동일성 백분율 또는 유사성 백분율을 얻도록 정렬되었을 때 비교되는 서열 내의 동등한 위치를 나타낸다.

[0028] 여기에서 사용된 "항체 데이터베이스"는 2개 이상의 항체 아미노산 서열("다중성" 서열)의 집합체를 지칭하며, 전형적으로 10개, 100개 또는 1000개까지의 항체 아미노산 서열의 집합체를 지칭한다. 항체 데이터베이스는, 예를 들면 항체 V_H 영역, 항체 V_L 영역 또는 둘 다의 집합체의 아미노산 서열을 저장하거나, 또는 V_H 및 V_L 영역으로 이루어진 scFv 서열의 집합체를 저장할 수 있다. 바람직하게, 상기 데이터 베이스는 검색가능한 컴퓨터 프로그램 내의 컴퓨터에서와 같은, 검색가능한 고정된 미디어에 저장된다. 한 구현예에서, 항체 데이터베이스는 생식계열 항체 서열을 포함하는 또는 이것으로 이루어지는 데이터베이스이다. 다른 구현예에서, 항체 데이터베이스는 성숙한(즉, 발현된) 항체 서열(예를 들면, 성숙한 항체 서열의 Kabat 데이터베이스, 예를 들면 KBD 데이터베이스)을 포함하는 또는 이것으로 이루어지는 데이터베이스이다. 또다른 구현예에서, 항체 데이터베이스는 작

용적으로 선택된 서열(예를 들면, QC 에세이에서 선택된 서열)을 포함하는 또는 이것으로 이루어지는 데이터베이스이다.

[0029] "면역결합제(immunobinder)"는 항체의 항원 결합부위의 일부 또는 전체, 예를 들면, 중쇄 및/또는 경쇄 가변 도메인의 전체 또는 일부를 포함하는 분자를 지칭하며, 이러한 면역결합제는 특이적으로 목적 항원을 인식한다. 면역결합제의 비제한적 실시예는 항체 절편뿐만 아니라 전체 길이의 면역글로불린 분자 및 scFv를 포함하며, 예를 들면 제한적인 것은 아니나 (i) V_L, V_H, C_L 및 C_H1 도메인으로 이루어지는 일가 절편인 Fab 절편; (ii) 힌지 영역에서 디설파이드 결합에 의해 연결되는 2개의 Fab를 포함하는 2가 절편인 $F(ab')_2$ 절편; (iii) 힌지 영역의 일부를 가지는 본질적으로 Fab인 Fab' 절편(Fundamental Immunology (Paul ed., 3.sup.rd ed. 1993) 참조); (iv) V_H 및 C_H1 도메인으로 이루어진 Fd 절편; (v) 항체의 싱글 암(single arm)의 V_L 및 V_H 도메인을 포함하는 Fv 절편; (vi) V_H 또는 V_L 도메인으로 이루어지는 Dab 절편(Ward et al, (1989) Nature 341 :544-546), Camelid(Hamers-Casterman, et al., Nature 363:446-448 (1993), and Dumoulin, et al., Protein Science 11:500-515 (2002)), 또는 Shark 항체(예를 들면, shark Ig-NARs Nanobodies®) 등의 단일 도메인 항체; 및 (vii) 가변 도메인과 2개의 정상 도메인을 함유하는 중쇄 영역인 나노바디(nanobody) 등이 있다.

[0030] 여기에서 사용된 "작용 특성"이란, 예를 들면 폴리펩티드의 제조 특성 또는 치료 효능을 개선하기 위해서 당업자들에게 개선(예를 들면, 종래의 폴리펩티드와 관련하여)이 바람직하거나 및/또는 유리한 폴리펩티드(예를 들면, 면역결합제)의 특성이다. 일 구현예에서, 작용 특성은 안정성(예를 들면, 열적 안정성)이다. 다른 구현예에서, 작용 특성은 용해도(예를 들면, 세포 조건 하)이다. 다른 구현예에서, 작용 특성은 비응집성이다. 또다른 구현예에서, 작용 특성은 단백질 발현(예를 들면, 원핵 세포 내)이다. 또다른 구현예에서, 작용 특성은 상응하는 정제공정에서 봉입체 용해 이후의 리폴딩 효능이다. 임의의 구현예에서, 항원 결합 친화도는 개선이 필요한 작용 특성이 아니다.

[0031] "에피토프" 또는 "항원성 결정인자"는 면역글로불린 또는 항체가 특이적으로 결합하는 항원(예를 들면 VEGF 상)의 부위를 지칭한다. 에피토프는 전형적으로 독특한 공간적 입체구조 내에 적어도 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 또는 15의 연속 또는 비연속 아미노산을 포함한다. *Epitope Mapping Protocols in Methods in Molecular Biology*, Vol. 66, G. E. Morris, Ed. (1996) 참조.

[0032] "특이적 결합", "선택적 결합", "선택적으로 결합하다" 및 "특이적으로 결합하다"라는 용어는 미리 결정된 항원 상의 에피토프에 결합하는 항체를 지칭한다. 전형적으로, 항체는 약 10^{-7} M 미만의 친화도(K_D), 예를 들면 약 10^{-8} M 미만, 10^{-9} M 또는 10^{-10} M 이하의 친화도로 결합한다.

[0033] "K_D" 또는 "K_d"는 특정한 항체-항원 상호작용의 해리 평형상수를 지칭한다. 전형적으로, 본 발명의 항체는, 예를 들면 BIACORE 장치에서 표면 플라스몬 공명(SPR) 방법을 사용하여 측정하였을 때 약 10^{-7} M 미만, 예를 들면 약 10^{-8} M 미만, 10^{-9} M 또는 10^{-10} M 이하의 해리 평형상수(KD)를 가지는 VEGF와 결합한다.

[0034] "VEGF 중화", "VEGF 억제" 및 "VEGF 차단"이라는 용어는 상호교환적으로 사용되며, VEGF가 VEGFR-1 및/또는 VEGFR-2와 같은 하나 이상의 VEGF 리셉터와 상호작용하고, 예를 들면 신호 전달을 유발하는 것을 억제하는 본 발명의 항체의 능력을 지칭한다.

[0035] 여기에서 사용된 "재조합 면역결합제"는 재조합 DNA로부터의 발현에 의해 제조되는 면역결합제를 지칭한다.

[0036] 여기에서 사용된 "키메릭" 면역결합제는 특정한 종에서 유도된 또는 특정한 항체 클래스 또는 서브클래스에 속하는 항체 내의 상응하는 서열과 일치하거나 또는 상동인 중쇄 및/또는 경쇄의 일부를 가지며, 그 사슬의 나머지는 다른 종에서 유도되거나 또는 다른 항체 클래스 또는 서브클래스에 속하는 항체뿐만 아니라 상기 항체의 절편 내의 상응하는 서열과 일치하거나 상동이다.

[0037] 여기에서 사용된 "인간화된 항체"란 외부 항원에 대한 면역반응을 피하기 위해서 재조합 DNA 기술을 사용하여 합성된 면역결합제이다. 인간화는 이종 (xenogenic) 공급원의 모노클로날 항체의 면역원성을 감소시키는 잘 알려진 기술이다. 이 기술은 수용체 프레임워크, 바람직하게는 사람 수용체 프레임워크의 선택, 수용체 프레임워크에 삽입될 공여체 면역결합제로부터의 CDR의 범위, 및 공여체 프레임워크에서 수용체 프레임워크 내로의 잔기의 치환 등을 포함한다. CDR을 사람의 수용체 프레임워크에 그래프팅하는 일반적인 방법은 그 전체가 참조로 여기에 통합되어 있는 Winter의 미국 특허 제5,225,539호에 기술되어 있다. 미국 특허 제6,407,213호는 참조로 그

전체 내용이 통합되어 있으며, 공여체 면역결합제로부터의 치환이 바람직한 프레임워크의 아미노산 위치의 번호를 기술하고 있다.

[0038] "핵산 분자"는 DNA 분자와 RNA 분자를 지칭한다. 핵산 분자는 단일가닥 또는 이중가닥일 수 있으며, 바람직하게는 이중가닥 DNA이다. 핵산은 다른 핵산 서열과 작용적인 관계에 있을 때 "작동가능하게 연결"된다. 예를 들면, 프로모터 또는 인핸서는 서열의 전사에 영향을 줄 경우 코딩 서열에 작동가능하게 연결된다.

[0039] "벡터"는 연결되어 있는 다른 핵산을 수송할 수 있는 핵산 분자를 지칭한다. "플라스미드"는 일종의 벡터이며, 추가의 DNA 세그먼트가 결찰될 수 있는 원형 이중가닥 DNA 루프를 지칭한다. 다른 종류의 벡터로는 바이러스성 벡터가 있으며, 여기에서 추가 DNA 세그먼트는 바이러스 게놈에 결찰될 수 있다. 어떤 벡터들은 이들이 삽입된 숙주 세포 내에서 자가복제할 수 있다(예를 들면, 복제의 박테리아 기원을 가지는 박테리아 벡터와 에피솜 포유동물 벡터). 다른 벡터들(예를 들면, 에피솜이 아닌 포유동물 벡터)도 숙주 세포에 삽입되어서 숙주 세포의 게놈에 결합되어 숙주 게놈과 함께 복제될 수 있다.

[0040] "숙주 세포"란 발현 벡터가 삽입되어 있는 세포를 지칭한다. 숙주 세포는 박테리아, 미생물, 식물 또는 동물 세포를 포함할 수 있다. 박테리아는 형질전환에 민감하며, 예를 들면 대장균(*Escherichia coli*) 또는 살모넬라 균주와 같은 장내세균과(enterobacteriaceae); 바실러스 서브틸리스(*Bacillus subtilis*)와 같은 간균과(Bacillaceae); 폐렴쌍구균(Pneumococcus); 스트렙토코커스(Streptococcus); *Haemophilus influenzae* 등이 있다. 적합한 미생물은 *Saccharomyces cerevisiae*와 *Pichia pastoris*이다. 적합한 동물 숙주 세포주로는 CHO(Chinese Hamster Ovary lines)와 NSO 세포를 들 수 있다.

[0041] "치료", "치료하는" 및 "처치"라는 용어는 여기에 기술된 치료수단 또는 예방수단을 지칭한다. "치료" 방법은, 이러한 처치를 필요로 하는 대상, 예를 들면 VEGF가 매개된 질환이 있는 대상 또는 결과적으로 이러한 질환을 얻을 수 있는 대상에게 상기 질환 또는 재발 질환의 증증도를 예방, 치유, 지연, 경감하거나, 또는 상기 질환의 하나 이상의 증상 또는 질환의 재발을 개선하기 위해서, 또는 상기한 치료가 없을 때의 예상을 넘어서 환자의 생존을 지속하기 위해서 본 발명의 항체를 투여하는 것을 적용한다.

[0042] "VEGF가 매개된 질환"이란 VEGF의 관여를 필요로 하는 질환, 증상 또는 질병상태의 개시, 진행 또는 지속을 지칭한다. VEGF가 매개된 질환의 예는, 제한적인 것은 아니나, 연령과 관련된 황반 퇴화, 신생혈관 녹내장, 당뇨망막병증, 미숙아 망막증, 후수정체 섬유증식증, 유방암, 폐암, 위암, 식도암, 대장암, 간암, 난소암, 혼수, 남성화세포종, 자궁경부암, 자궁내막암, 자궁내막증식, 자궁내막증, 섬유육종, 융모암, 머리와 목의 암, 상인두암, 후두암, 간아세포종, 카포시 육종, 악성 흑색종, 피부암, 혈관종, 해면상 혈관종, 혈관모 세포종, 췌장암, 망막아세포종, 성상세포종, 교모세포종, 슈반종, 핍지교종, 수모세포종, 신경아세포종, 횡문근육종, 골육종, 평활근육종, 요로암, 갑상선암, 빌름스 종양, 신세포암, 전립선암, 모반증과 연관된 비정상 혈관 증식, 부종(뇌종양과 연관된 부종 등), 메이그(Meig) 신드롬, 류마티스 관절염, 건선 및 동맥경화증 등이 있다.

[0043] "효과적인 투약" 또는 "효과적인 투약량"이란 목적하는 효과를 얻거나 적어도 부분적으로 얻는데 충분한 양을 지칭한다. "치료학적으로 유효한 투약"은 상기 질병과 그의 합병증을 이미 이 질병을 앓고 있는 환자에게서 치유하거나 또는 적어도 부분적으로 정지시키는데 충분한 양으로 정의된다. 이러한 용도를 위한 유효량은 치료되는 질환의 심각성과 환자의 면역계의 일반적 상태에 따라 다르다.

[0044] "대상"이란 사람 또는 사람 이외의 동물을 지칭한다. 예를 들면, 본 발명의 방법과 조성물은 VEGF가 매개된 질환을 가지는 대상을 치료하는데 사용될 수 있다.

[0045] 여기에서 사용된 "Min-그래프트(graft)" 또는 "min"이란 래빗 가변 도메인의 래빗 CDR을 천연적으로 발생하는 사람 수용체 프레임워크(FW 1.4, 서열 번호 172)에 그래프트하여 생성되는 인간화된 가변 도메인을 지칭한다. 프레임워크 영역 내의 변화는 없다. 프레임워크 자체를 목적하는 작용 특성(용해도 및 안정성)에 대해 미리 선택하였다.

[0046] 여기에서 사용된 "Max-그래프트" 또는 "max"란 래빗 가변 도메인으로부터의 래빗 CDR을 "래빗화된", 사람 수용체 프레임워크 "RabTor" (rFW1.4, 서열 번호 173), 또는 rFW1.4(v2) (서열 번호 174)로 지칭되는 이들의 유도체로 그래프트하여 생성되는 인간화된 가변 도메인을 지칭한다. 추정가능한 전구(progenitor) 서열이 다른, 예를 들면 체세포 과돌연변이 동안 변경되는 위치 이외의 공여체 프레임워크 잔기를 그래프트할 필요가 없는 실질적으로 래빗 CDR 세트를 수용하는 일반적으로 적용가능한 프레임워크를 생성하여 항원 결합에 기여하는 것을 목표로, "Rabtor" 프레임워크를 일반적으로 래빗 가변 도메인 구조와 안정성에 연관된 프레임워크 위치에서 보존된 래빗 잔기(다른 한편으로 다른 종에서 더 가변적인)를 통합하여 제조하였다. 추정가능한 전구 서열은 가장

근접한 래빗 생식계열 대응물인 것으로 정의되며, 가장 근접한 생식계열 대응물이 알려져 있지 않으면, 래빗 서브그룹 컨센서스 또는 높은 비율의 유사성을 가지는 래빗 서열의 컨센서스인 것으로 정의된다.

[0047] 여기에서 사용된 "Min-Max" 또는 "minmax"란 용어는 "Max-그래프트" 가변 중쇄와 결합된 "Min-그래프트" 가변 경쇄를 포함하는 인간화된 가변 도메인을 지칭한다.

[0048] 여기에서 사용된 "Max-Min" 또는 "maxmin"이란 용어는 "Min-그래프트" 가변 중쇄와 결합된 "Max-그래프트" 가변 경쇄를 포함하는 인간화된 가변 도메인을 지칭한다.

[0049] 상이한 명명법이 생성된 면역결합제에 대해 사용되었다. 이들은 전형적으로 숫자(예를 들면 #578)에 의해 구별된다. EP 또는 EPi와 같은 접두사가 사용되는 경우(예를 들면, EPi578과 동일한 EP578)에, 그에 따라 동일한 면역결합제를 표시한다. 때때로, 면역결합제는 접두사 "ESBA"에 의해 구별되는 제2의 표시를 가진다. 예를 들면, ESBA903은 578minmax 또는 EP578minmax 또는 Epi578minmax와 같은 면역결합제를 표시한다.

[0050] 달리 정의되지 않는 한, 여기에서 사용된 모든 기술적 및 과학적 용어는 본 발명이 속하는 분야의 일반적인 기술의 하나로 통상적으로 이해되는 것과 같은 의미를 가진다. 여기에 기술된 것과 유사하거나 동등한 방법과 물질이 본 발명의 실제 또는 시험에서 사용될 수 있으나 적합한 방법과 물질을 이하에 기술하였다. 충돌이 있을 경우, 정의들을 포함하는 본 명세서가 조절하게 된다. 또한, 물질, 방법 및 실시예는 예시일 뿐으로 제한을 의미하지는 않는다.

[0051] 본 발명의 다양한 양태을 이하에서 보다 상세하게 기술하였다. 다양한 구현예, 참조 및 범위가 임의로 결합될 수 있음을 이해하여야 한다. 또한, 특정한 구현예에 따라서 선택된 정의, 구현예 또는 범위를 적용하지 않는다.

[0053] *안티-VEGF 면역결합제*

[0054] 일 양태에서, 본 발명은 VEGF와 결합하여 생체내에서 VEGF의 작용을 차단하는데 적합한 면역결합제를 제공한다. 상기한 면역결합제의 CDR은 사람의 VEGF 및/또는 그의 절편(서열 번호 1)으로 면역된 래빗에서 얻어진 래빗 안티-VEGF 모노클로날 항체로부터 유도된다. 본 발명자들에 따르면, 이것은 모노클로날 안티-VEGF 항체가 래빗에서 얻어져서 상세하게 특성화된 최초이다. 놀라웁게도, 친화도(Kd)가 탁월하게 높은 것으로 확인되었다.

[0055] 임의의 구현예에서, 본 발명은 면역결합제를 제공하며, 상기 면역결합제는 VEGF와 특이적으로 결합하고, CDRH1, CDRH2, CDRH3, CDRL1, CDRL2, 또는 CDRL3 아미노산 서열 중 하나 이상을 포함한다. 본 발명의 면역결합제에서 사용하는 CDR 아미노산 서열의 예를 서열 번호: 2-72 (표 1 내지 6)에 열거하였다.

표 1 본발명의 안티-VEGF 면역결합제의 CDR H1 아미노산 서열

서열 식별표시	CDR-H1	SEQ ID No.
60-11-4	GFPFSSGYWVC	2
60-11-6	GFSFSSGYWIC	3
435	GFSLNTNYWMC	4
453	GFSFSRSYYIY	5
375	GFSFTTTDYMC	6
610	GIDFSGAYYMG	7
578	GFSLTDYYYMT	8
534	GFSLSYYYMS	9
567	GFSLSDYYMC	10
509	GFSLSSYYMC	11
511	GFSLNTYYMN	12
509maxII	GFSLSSYYMS	13
컨센서스	GFSLSSGYYMC	14

[0056]

표 2 본발명의 안티-VEGF 면역결합제의 CDR H2 아미노산 서열

서열 식별표시	CDR-H2	SEQ ID No.
60	CIYAGSSGSTYYASWAKG	15
435	CMYTGSYNRAYYASWAKG	16
453	CIDAGSSGILVYANWAKG	17
375	CILAGDGSTYYANWAKG	18
610	YIDYDGDRYYASWAKG	19
578	FIDPDDDPYYATWAKG	20
534	IIGPGDYTDYASWAKG	21
567	CLDYFGSTDDASWAKG	22
509	CLDYVGDTDYASWAKG	23
511	IIAPDDTTYYASWAKS	24
509maxII	ILDYVGDTDYASWAKG	25
컨센서스	CIDAGSDGDTYYASWAKG	26

[0057]

표 3 본발명의 안티-VEGF 면역결합제의 CDR H3 아미노산 서열

서열 식별표시	CDR-H3	SEQ ID No.
60	GNNYYIYTDGGYAYAGLEL	27
435	GSNWYSDL	28
453	GDASYGVDSFMLPL	29
375	SDPASSWSFAL	30
610	SDYSSGWGTDI	31
578	GDHNSGWGLDI	32
534	GDDNSGWGEDI	33
567	TDDSRGWGLNI	34
509	TDDSRGWGLNI	35
511	SGDTTAWGADI	36
컨센서스	GDDSSGYTDGGYAYWGLDI	37

[0058]

표 4 본발명의 안티-VEGF 면역결합제의 CDR L1 아미노산 서열

서열 식별표시	CDR-L1	SEQ ID No.
60	QASQSISSYLS	38
435	QASQSIGSSLA	39
453	QSSQSVWNNNRLA	40
375	QASENINIWLS	41
610	QASQSISSWLS	42
578	QASEIIHSWLA	43
534	QASQSINIWLS	44
567	QADQSIYIWLS	45
509	QASQNIRIWLS	46
511	QASQSINIWCS	47
511max	QASQSINIWLS	48
컨센서스	QASQSININNWLS	49

[0059]

표 5 본발명의 안티-VEGF 면역결합제의 CDR L2 아미노산 서열

서열 식별표시	CDR-L2	SEQ ID No.
60	KASTLAS	50
435	TAANLAS	51
453	YASTLAS	52
375	QASKLAS	53
610	QASTLAS	54
578	LASTLAS	55
534	KESTLAS	56
567	KASTLES	57
509	KASTLES	58
511	RASTLAS	59
컨센서스	KASTLAS	60

[0060]

표 6 본발명의 안티-VEGF 면역결합제의 CDR L3 아미노산 서열

서열 식별표시	CDR-L3	SEQ ID No.
60	QSNYGGSSSDYGNP	61
435	QNFATSDTVT	62
453	AGGYSSTSDNT	63
375	QNNYSYNRYGAP	64
610	QNNYGFRSYGGA	65
578	QNVYLASTNGAN	66
534	QNNYDSGNNGFP	67
567	QNNAHYSTNGGT	68
509	QNNAHYSTNGGT	69
511	QANYAYSAGYGAA	70
컨센서스	QNNYHYSSSTNGGT	71

[0061]

[0062] 일 구현예에서, 본 발명은, 서열 번호 14, 서열 번호 26, 서열 번호 37, 서열 번호 49, 서열 번호 60 및 서열 번호 71로 이루어진 군의 컨센서스 서열과 75% 이상의 유사성, 바람직하게는 75% 이상의 동일성, 더욱 바람직하게는 80%, 85%, 90%, 95% 이상, 보다 더 바람직하게는 100%의 동일성을 가지는 하나 이상의 CDR을 포함하는 면역결합제를 제공한다. 바람직하게는, 상기 면역결합제의 VH는 서열 번호 14, 서열 번호 26 및 서열 번호 37로 이루어진 군의 CDR을 포함하고, 및/또는 상기 면역결합제의 VL의 CDR은 서열 번호 49, 서열 번호 60 및 서열 번호 71로 이루어진 군의 CDR을 포함한다. 바람직하게는, 상기 CDR은 서열 번호 2 내지 서열 번호 13, 서열 번호 15 내지 서열 번호 25, 서열 번호 27 내지 서열 번호 36, 서열 번호 38 내지 서열 번호 48, 서열 번호 50 내지 서열 번호 59 및 서열 번호 61 내지 서열 번호 70으로 이루어진 군에서 선택된다.

[0063] 다른 구현예에서, 본 발명은, 서열 번호 2, 서열 번호 3, 서열 번호 15, 서열 번호 27, 서열 번호 38, 서열 번호 50 및 서열 번호 61로 이루어진 군의 서열과 75% 이상의 유사성, 바람직하게는 75% 이상의 동일성, 더욱 바람직하게는 80%, 85%, 90%, 95% 이상, 보다 더 바람직하게는 100%의 동일성을 가지는 하나 이상의 CDR을 포함하는 면역결합제를 제공한다. 바람직하게는, 상기 면역결합제의 VH는 서열 번호 2, 서열 번호 15 및 서열 번호 27로 이루어진 군의 CDR을 포함하고, 및/또는 상기 면역결합제의 VL의 CDR은 서열 번호 38, 서열 번호 50 및 서열 번호 61로 이루어진 군의 CDR을 포함한다. 다른 바람직한 구현예에서, 상기 면역결합제의 VH는 서열 번호 3, 서열 번호 15 및 서열 번호 27로 이루어진 군의 CDR을 포함하고, 및/또는 상기 면역결합제의 VL의 CDR은 서열 번호 38, 서열 번호 50 및 서열 번호 61로 이루어진 군의 CDR을 포함한다.

[0064] 다른 구현예에서, 본 발명은, 서열 번호 4, 서열 번호 16, 서열 번호 28, 서열 번호 39, 서열 번호 51, 및 서열 번호 62로 이루어진 군의 서열에 대하여 75% 이상의 유사성, 바람직하게는 75% 이상의 동일성, 더욱 바람직하게

는 80%, 85%, 90%, 95% 이상, 보다 더 바람직하게는 100%의 동일성을 가지는 하나 이상의 CDR을 포함하는 면역결합제를 제공한다. 바람직하게는, 상기 면역결합제의 VH는 서열 번호 4, 서열 번호 16 및 서열 번호 28로 이루어진 군의 CDR을 포함하고, 및/또는 상기 면역결합제의 VL의 CDR은 서열 번호 39, 서열 번호 51 및 서열 번호 62로 이루어진 군의 CDR을 포함한다.

[0065] 다른 구현예에서, 본 발명은, 서열 번호 5, 서열 번호 17, 서열 번호 29, 서열 번호 40, 서열 번호 52, 및 서열 번호 63으로 이루어진 군의 서열에 대하여 75% 이상의 유사성, 바람직하게는 75% 이상의 동일성, 더욱 바람직하게는 80%, 85%, 90%, 95% 이상, 보다 더 바람직하게는 100%의 동일성을 가지는 하나 이상의 CDR을 포함하는 면역결합제를 제공한다. 바람직하게는, 상기 면역결합제의 VH는 서열 번호 5, 서열 번호 17 및 서열 번호 29로 이루어진 군의 CDR을 포함하고, 및/또는 상기 면역결합제의 VL의 CDR은 서열 번호 40, 서열 번호 52 및 서열 번호 63으로 이루어진 군의 CDR을 포함한다.

[0066] 다른 구현예에서, 본 발명은, 서열 번호 6, 서열 번호 18, 서열 번호 30, 서열 번호 41, 서열 번호 53, 및 서열 번호 64로 이루어진 군의 서열에 대하여 75% 이상의 유사성, 바람직하게는 75% 이상의 동일성, 더욱 바람직하게는 80%, 85%, 90%, 95% 이상, 보다 더 바람직하게는 100%의 동일성을 가지는 하나 이상의 CDR을 포함하는 면역결합제를 제공한다. 바람직하게는, 상기 면역결합제의 VH는 서열 번호 6, 서열 번호 18 및 서열 번호 30으로 이루어진 군의 CDR을 포함하고, 및/또는 상기 면역결합제의 VL의 CDR은 서열 번호 41, 서열 번호 53 및 서열 번호 64로 이루어진 군의 CDR을 포함한다.

[0067] 다른 구현예에서, 본 발명은, 서열 번호 7, 서열 번호 19, 서열 번호 31, 서열 번호 42, 서열 번호 54, 및 서열 번호 65로 이루어진 군의 서열에 대하여 75% 이상의 유사성, 바람직하게는 75% 이상의 동일성, 더욱 바람직하게는 80%, 85%, 90%, 95% 이상, 보다 더 바람직하게는 100%의 동일성을 가지는 하나 이상의 CDR을 포함하는 면역결합제를 제공한다. 바람직하게는, 상기 면역결합제의 VH는 서열 번호 7, 서열 번호 19 및 서열 번호 31로 이루어진 군의 CDR을 포함하고, 및/또는 상기 면역결합제의 VL의 CDR은 서열 번호 42, 서열 번호 54 및 서열 번호 65로 이루어진 군의 CDR을 포함한다.

[0068] 다른 구현예에서, 본 발명은, 서열 번호 8, 서열 번호 20, 서열 번호 32, 서열 번호 43, 서열 번호 55, 및 서열 번호 66으로 이루어진 군의 서열에 대하여 75% 이상의 유사성, 바람직하게는 75% 이상의 동일성, 더욱 바람직하게는 80%, 85%, 90%, 95% 이상, 보다 더 바람직하게는 100%의 동일성을 가지는 하나 이상의 CDR을 포함하는 면역결합제를 제공한다. 바람직하게는, 상기 면역결합제의 VH는 서열 번호 8, 서열 번호 20 및 서열 번호 32로 이루어진 군의 CDR을 포함하고, 및/또는 상기 면역결합제의 VL의 CDR은 서열 번호 43, 서열 번호 55 및 서열 번호 66으로 이루어진 군의 CDR을 포함한다.

[0069] 다른 구현예에서, 본 발명은, 서열 번호 9, 서열 번호 21, 서열 번호 33, 서열 번호 44, 서열 번호 56, 및 서열 번호 67로 이루어진 군의 서열에 대하여 75% 이상의 유사성, 바람직하게는 75% 이상의 동일성, 더욱 바람직하게는 80%, 85%, 90%, 95% 이상, 보다 더 바람직하게는 100%의 동일성을 가지는 하나 이상의 CDR을 포함하는 면역결합제를 제공한다. 바람직하게는, 상기 면역결합제의 VH는 서열 번호 9, 서열 번호 21 및 서열 번호 33으로 이루어진 군의 CDR을 포함하고, 및/또는 상기 면역결합제의 VL의 CDR은 서열 번호 44, 서열 번호 56 및 서열 번호 67로 이루어진 군의 CDR을 포함한다.

[0070] 다른 구현예에서, 본 발명은, 서열 번호 10, 서열 번호 22, 서열 번호 34, 서열 번호 45, 서열 번호 57, 및 서열 번호 68로 이루어진 군의 서열에 대하여 75% 이상의 유사성, 바람직하게는 75% 이상의 동일성, 더욱 바람직하게는 80%, 85%, 90%, 95% 이상, 보다 더 바람직하게는 100%의 동일성을 가지는 하나 이상의 CDR을 포함하는 면역결합제를 제공한다. 바람직하게는, 상기 면역결합제의 VH는 서열 번호 10, 서열 번호 22 및 서열 번호 34로 이루어진 군의 CDR을 포함하고, 및/또는 상기 면역결합제의 VL의 CDR은 서열 번호 45, 서열 번호 57 및 서열 번호 68로 이루어진 군의 CDR을 포함한다.

[0071] 다른 구현예에서, 본 발명은, 서열 번호 11, 서열 번호 13, 서열 번호 23, 서열 번호 25, 서열 번호 35, 서열 번호 46, 서열 번호 58 및 서열 번호 69로 이루어진 군의 서열에 대하여 75% 이상의 유사성, 바람직하게는 75% 이상의 동일성, 더욱 바람직하게는 80%, 85%, 90%, 95% 이상, 보다 더 바람직하게는 100%의 동일성을 가지는 하나 이상의 CDR을 포함하는 면역결합제를 제공한다. 바람직하게는, 상기 면역결합제의 VH는 서열 번호 11, 서열 번호 23 및 서열 번호 35로 이루어진 군의 CDR을 포함하고, 및/또는 상기 면역결합제의 VL의 CDR은 서열 번호 46, 서열 번호 58 및 서열 번호 69로 이루어진 군의 CDR을 포함한다. 선택적으로, 상기 면역결합제의 VH는 서열 번호 13, 서열 번호 25 및 서열 번호 35로 이루어진 군의 CDR을 포함하고, 및/또는 상기 면역결합제의 VL의 CDR은 서열 번호 46, 서열 번호 58 및 서열 번호 69로 이루어진 군의 CDR을 포함한다.

[0072] 다른 구현예에서, 본 발명은, 서열 번호 12, 서열 번호 24, 서열 번호 36, 서열 번호 47, 서열 번호 48, 서열 번호 59 및 서열 번호 70으로 이루어진 군의 서열에 대하여 75% 이상의 유사성, 바람직하게는 75% 이상의 동일성, 더욱 바람직하게는 80%, 85%, 90%, 95% 이상, 보다 더 바람직하게는 100%의 동일성을 가지는 하나 이상의 CDR을 포함하는 면역결합제를 제공한다. 바람직하게는, 상기 면역결합제의 VH는 서열 번호 12, 서열 번호 24 및 서열 번호 36으로 이루어진 군의 CDR을 포함한다. 선택적으로 또는 추가적으로, 상기 면역결합제의 VL의 CDR은 서열 번호 47, 서열 번호 48, 서열 번호 59 및 서열 번호 70, 예를 들면, 서열 번호 47, 서열 번호 59 및 서열 번호 70; 또는 서열 번호 48, 서열 번호 59 및 서열 번호 70으로 이루어진 군의 CDR을 포함한다.

[0073] 매우 바람직한 구현예에서, 여기에 기술된 면역결합제는 사람의 VEGF를 중화하고, 래트/마우스 VEGF 또는 그의 일부와 교차 반응한다.

[0074] 상기 면역결합제는 항체 또는 CDR을 수용할 수 있는 임의의 결합 스캐폴드를 포함할 수 있다. 서열 번호 2 내지 72에 나열된 CDR은 적합한 결합 스캐폴드에 종래에 알려진 방법을 사용하여 그래프트시킬 수 있다[예를 들면, Riechmann, L. et al. (1998) *Nature* 332:323-327; Jones, P. et al. (1986) *Nature* 321 :522- 525; Queen, C. et al. (1989) *Proc. Natl. Acad. See. U.S.A.* 86:10029-10033; 미국 특허 제5,225,539호(Winter), 및 미국 특허 제5,530,101호; 제5,585,089호; 제5,693,762호 및 제6,180,370호(Queen et al.) 참조]. 그러나, 여기에 기술된 면역결합제는 인간화되는 것이 바람직하며, 따라서 치료학적 적용에 적합하다.

[0075] 항체의 경우에, 서열 번호 2 내지 72에 나열된 래빗 CDR은 어떤 종에서 유래한 항체의 프레임워크 영역에도 그래프트될 수 있다. 그러나, 소위 "품질 관리" 스크린(PCT 공개 제WO0148017호)에서 식별된 프레임워크를 포함하는 항체 또는 항체 유도체는 일반적으로 높은 안정성 및/또는 용해도를 특징으로 하고, 따라서 사람 VEGF를 중화하는 등의 세포외 적용 상황에 유용한 사실이 이전에 발견되었다. 또한, VL(가변적 경쇄) 및 VH(가변적 중쇄) 용해가능하고 안정한 프레임워크의 특정한 조합이 래빗 CDR을 수용하는데 특히 적합하다는 사실도 발견되었다. 따라서, 일 구현예에서, 서열 번호 2 내지 72에 나열된 CDR은 유럽 특허 제1479694호에 기술된 "품질 관리" 스크리닝에 의해 유도된 사람 항체 프레임워크에 그래프트된다. 본 발명에서 사용하기 위한 예시 프레임워크의 아미노산 서열을 서열 번호 172 내지 174에 나열하였다. 놀라웁게도, 상기 프레임워크 또는 그의 유도체를 그래프팅 시에 매우 다양한 래빗 CDR의 루프 구조가 완전히 유지될 수 있고, 공여체 프레임워크의 서열에 독립적인 것을 발견하였다. 또한, 상이한 래빗 CDR을 함유하는 상기 프레임워크 또는 그의 유도체는 래빗 야생형 단일 사슬보다 잘 발현되고 제조되며, 원래의 공여체 래빗 항체의 친화도를 거의 완벽하게 보유한다.

[0076] 따라서, 바람직한 구현예에 있어서, 여기에 기술된 CDR 및/또는 CDR 모티프는 서열 번호 169의 서열과 80% 이상의 서열 동일성, 더욱 바람직하게는 85%, 90%, 95% 이상, 보다 더 바람직하게는 100%의 동일성을 가지는 중쇄 가변영역 프레임워크 서열 내에 존재한다. 바람직한 구현예에서, 상기 중쇄 가변영역 프레임워크 서열은 서열 번호 170 또는 서열 번호 171을 포함한다.

[0077] 바람직한 구현예에 있어서, 여기에 기술된 CDR 및/또는 CDR 모티프는 서열 번호 167의 서열과 85% 이상의 서열 동일성, 더욱 바람직하게는 90%, 95% 이상, 보다 더 바람직하게는 100%의 동일성을 가지는 경쇄 가변영역 프레임워크 서열 내에 존재하며, 더욱 바람직하게는 서열 번호 167 또는 서열 번호 168을 포함한다.

[0078] 래빗 항체에서, CDR은 항체 프레임워크에서 시스테인 잔기에 디설파이드 결합되는 시스테인 잔기를 포함할 수 있다. 따라서, 시스테인 잔기를 함유하는 래빗 CDR을 래빗에서 유래하지 않은 프레임워크 영역에 그래프팅할 때, 디설파이드 결합을 통해 래빗 CDR의 안정화를 촉진하기 위해 돌연변이 등에 의해 시스테인 잔기를 래빗에서 유래하지 않은 프레임워크에 삽입하여야 한다.

[0079] 다른 구현예에서, 본 발명은 VEGF와 특이적으로 결합하고, VL 또는 VH 아미노산 서열 중 하나 이상을 포함하는 면역결합제를 제공한다. 본 발명의 면역결합제에 사용하기 위한 VL 또는 VH 아미노산 서열은 서열 번호: 72-106 및 107-166 각각에 예시하였다.

[0080] 바람직한 구현예에서, 본 발명은 서열 번호 107, 서열 번호 108, 서열 번호 118, 서열 번호 119, 서열 번호 130 및 서열 번호 131 (VH 60-11-4, VH 60-11-6, VH 60-11-4min, VH 60-11-6min, VH 60-11-4max 및 VH 60-11-6max, 각각)로 이루어진 군에서 선택된 서열과 80% 이상, 더욱 바람직하게는 85%, 90%, 95% 이상, 가장 바람직하게는 100% 동일성을 가지는 VH를 포함하고; 및/또는

[0081] 서열 번호 72, 서열 번호 82 및 서열 번호 93 (VL 60, VL 60min, VL 60max, 각각)으로 이루어진 군에서 선택되는 서열에 대하여 80% 이상, 더욱 바람직하게는 85%, 90%, 95% 이상, 가장 바람직하게는 100% 동일성을 가지는 VL을 포함하는 면역결합제를 제공한다.

[0082] 다른 바람직한 구현예에서, 본 발명은 서열 번호 109, 서열 번호 120 및 서열 번호 132 (VH 435, VH 435min 및 VH 435max, 각각)로 이루어진 군에서 선택된 서열에 대하여 80% 이상, 더욱 바람직하게는 85%, 90%, 95% 이상, 가장 바람직하게는 100% 동일성을 가지는 VH를 포함하고; 및/또는

[0083] 서열 번호 73, 서열 번호 83 및 서열 번호 94 (VL 435, VL 435min 및 VL 435max, 각각)로 이루어진 군에서 선택되는 서열에 대하여 80% 이상, 더욱 바람직하게는 85%, 90%, 95% 이상, 가장 바람직하게는 100% 동일성을 가지는 VL을 포함하는 면역결합제를 제공한다.

[0084] 바람직하게는 상기 면역결합제는 서열 번호 175 (435max)에 대하여 80% 이상, 더욱 바람직하게는 85%, 90%, 95% 이상, 가장 바람직하게는 100% 동일성을 가진다.

[0085] 다른 바람직한 구현예에서, 본 발명은 서열 번호 110, 서열 번호 121 및 서열 번호 133 (VH 453, VH 453min 및 VH 453max, 각각)으로 이루어진 군에서 선택된 서열에 대하여 80% 이상, 더욱 바람직하게는 85%, 90%, 95% 이상, 가장 바람직하게는 100% 동일성을 가지는 VH를 포함하고; 및/또는

[0086] 서열 번호 74, 서열 번호 84 및 서열 번호 95 (VL 453, VL 453min 및 VL 453max, 각각)로 이루어진 군에서 선택되는 서열에 대하여 80% 이상, 더욱 바람직하게는 85%, 90%, 95% 이상, 가장 바람직하게는 100% 동일성을 가지는 VL을 포함하는 면역결합제를 제공한다.

[0087] 다른 바람직한 구현예에서, 본 발명은 서열 번호 111, 서열 번호 122 및 서열 번호 134 (VH 375, VH 375min 및 VH 375max, 각각)로 이루어진 군에서 선택된 서열에 대하여 80% 이상, 더욱 바람직하게는 85%, 90%, 95% 이상, 가장 바람직하게는 100% 동일성을 가지는 VH를 포함하고; 및/또는

[0088] 서열 번호 75, 서열 번호 85 및 서열 번호 96 (VL 375, VL 375min 및 VL 375max, 각각)으로 이루어진 군에서 선택되는 서열에 대하여 80% 이상, 더욱 바람직하게는 85%, 90%, 95% 이상, 가장 바람직하게는 100% 동일성을 가지는 VL을 포함하는 면역결합제를 제공한다.

[0089] 다른 바람직한 구현예에서, 본 발명은 서열 번호 112, 서열 번호 123 및 서열 번호 135 (VH 610, VH 610min 및 VH 610max, 각각)로 이루어진 군에서 선택된 서열에 대하여 80% 이상, 더욱 바람직하게는 85%, 90%, 95% 이상, 가장 바람직하게는 100% 동일성을 가지는 VH를 포함하고; 및/또는

[0090] 서열 번호 76, 서열 번호 86 및 서열 번호 97 (VL 610, VL 610min 및 VL 610max, 각각)으로 이루어진 군에서 선택되는 서열에 대하여 80% 이상, 더욱 바람직하게는 85%, 90%, 95% 이상, 가장 바람직하게는 100% 동일성을 가지는 VL을 포함하는 면역결합제를 제공한다.

[0091] 다른 바람직한 구현예에서, 본 발명은 서열 번호 113, 서열 번호 124, 서열 번호 129, 서열 번호 136, 서열 번호 142, 서열 번호 144, 서열 번호 146, 서열 번호 147, 서열 번호 148, 서열 번호 149, 서열 번호 150, 서열 번호 151, 서열 번호 152, 서열 번호 153, 서열 번호 154, 서열 번호 155, 서열 번호 156, 서열 번호 157, 서열 번호 158, 서열 번호 159, 서열 번호 160, 서열 번호 161, SEQ ID NO: 162, 서열 번호 163, 서열 번호 164, 서열 번호 165 및 서열 번호 166 (VH 578 및 그의 변이체)으로 이루어진 군에서 선택된 서열에 대하여 80% 이상, 더욱 바람직하게는 85%, 90%, 95% 이상, 가장 바람직하게는 100% 동일성을 가지는 VH를 포함하고; 및/또는

[0092] 서열 번호 77, 서열 번호 87, 서열 번호 92, 서열 번호 98, 서열 번호 103, 서열 번호 104 및 서열 번호 105 (VL 578 및 그의 변이체)로 이루어진 군에서 선택되는 서열에 대하여 80% 이상, 더욱 바람직하게는 85%, 90%, 95% 이상, 가장 바람직하게는 100% 동일성을 가지는 VL을 포함하는 면역결합제를 제공한다.

[0093] 바람직하게는 상기 면역결합제는 서열 번호 178 (578min), 서열 번호 179 (578max) 또는 서열 번호 180 (578minmax)에 대하여 80% 이상, 더욱 바람직하게는 85%, 90%, 95% 이상, 가장 바람직하게는 100% 동일성을 가진다.

[0094] 다른 바람직한 구현예에서, 본 발명은 서열 번호 114, 서열 번호 125 및 서열 번호 137 (VH 534, VH 534min 및 VH 534max, 각각)로 이루어진 군에서 선택된 서열에 대하여 80% 이상, 더욱 바람직하게는 85%, 90%, 95% 이상, 가장 바람직하게는 100% 동일성을 가지는 VH를 포함하고; 및/또는

[0095] 서열 번호 78, 서열 번호 88 및 서열 번호 99 (VL 534, VL 534min 및 VL 534max, 각각)으로 이루어진 군에서 선택되는 서열에 대하여 80% 이상, 더욱 바람직하게는 85%, 90%, 95% 이상, 가장 바람직하게는 100% 동일성을 가지는 VL을 포함하는 면역결합제를 제공한다.

[0096] 다른 바람직한 구현예에서, 본 발명은 서열 번호 115, 서열 번호 126, 서열 번호 138 및 서열 번호 143(VH 567, VH 567min 및 VH 567max, 각각)으로 이루어진 군에서 선택된 서열에 대하여 80% 이상, 더욱 바람직하게는 85%, 90%, 95% 이상, 가장 바람직하게는 100% 동일성을 가지는 VH를 포함하고; 및/또는

[0097] 서열 번호 79, 서열 번호 89 및 서열 번호 100 (VL 567, VL 567min 및 VL 567max, 각각)으로 이루어진 군에서 선택되는 서열에 대하여 80% 이상, 더욱 바람직하게는 85%, 90%, 95% 이상, 가장 바람직하게는 100% 동일성을 가지는 VL을 포함하는 면역결합제를 제공한다.

[0098] 바람직하게는 상기 면역결합제는 서열 번호 177 (567min)에 대하여 80% 이상, 더욱 바람직하게는 85%, 90%, 95% 이상, 가장 바람직하게는 100% 동일성을 가진다.

[0099] 다른 바람직한 구현예에서, 본 발명은 서열 번호 116, 서열 번호 127, 서열 번호 139 및 서열 번호 140 (VH 509, VH 509min, VH 509max 및 VH 509maxII, 각각)으로 이루어진 군에서 선택된 서열에 대하여 80% 이상, 더욱 바람직하게는 85%, 90%, 95% 이상, 가장 바람직하게는 100% 동일성을 가지는 VH를 포함하고; 및/또는

[0100] 서열 번호 80, 서열 번호 90 및 서열 번호 101 (VL 509, VL 509min 및 VL 509max, 각각)으로 이루어진 군에서 선택되는 서열에 대하여 80% 이상, 더욱 바람직하게는 85%, 90%, 95% 이상, 가장 바람직하게는 100% 동일성을 가지는 VL을 포함하는 면역결합제를 제공한다.

[0101] 다른 바람직한 구현예에서, 본 발명은 서열 번호 117, 서열 번호 128, 서열 번호 141 및 서열 번호 145 (VH 511, VH 511min, VH 511max 및 VH 511maxDHP, 각각)으로 이루어진 군에서 선택된 서열에 대하여 80% 이상, 더욱 바람직하게는 85%, 90%, 95% 이상, 가장 바람직하게는 100% 동일성을 가지는 VH를 포함하고; 및/또는

[0102] 서열 번호 81, 서열 번호 91, 서열 번호 102 및 서열 번호 106 (VL 511, VL 511min, VL 511max 및 VL 511minC41L, 각각)으로 이루어진 군에서 선택되는 서열에 대하여 80% 이상, 더욱 바람직하게는 85%, 90%, 95% 이상, 가장 바람직하게는 100% 동일성을 가지는 VL을 포함하는 면역결합제를 제공한다.

[0103] 바람직하게는 상기 면역결합제는 서열 번호 176 (511max)에 대하여 80% 이상, 더욱 바람직하게는 85%, 90%, 95% 이상, 가장 바람직하게는 100% 동일성을 가진다.

[0104] 임의의 구현예에서, 본 발명은 또한 특이적으로 VEGF와 결합하는, 서열 번호 2-166 및 서열 번호 175-180에 예시된 아미노산 서열에 대하여 실질적인 유사성을 가지는 아미노산 서열을 포함하는 면역결합제를 제공하며, 여기에서 상기 면역결합제는 본질적으로 본 발명의 안티-VEGF 면역결합제의 목적하는 작용 특성을 보유하거나 개선한다. 바람직한 유사성 비율은, 제한적인 것은 아니나 50%, 60%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90% 또는 95% 이상의 동일성이다.

[0105] 임의의 구현예에서, 본 발명은 또한 특이적으로 VEGF와 결합하는, 서열 번호 2-166 및 서열 번호 175-180에 예시된 아미노산 서열에 대하여 실질적인 동일성을 가지는 아미노산 서열을 포함하는 면역결합제를 제공하며, 여기에서 상기 면역결합제는 본 발명의 안티-VEGF 면역결합제의 목적하는 작용 특성을 보유하거나 개선한다. 바람직한 동일성 비율은, 제한적인 것은 아니나 50%, 60%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90% 또는 95% 이상의 동일성이다.

[0106] 임의의 구현예에서, 본 발명은 또한 특이적으로 VEGF와 결합하는, 서열 번호 2-166 및 서열 번호 175-180에 예시된 아미노산 서열과 관련한 보존적 치환을 가지는 아미노산 서열을 포함하는 면역결합제를 제공하며, 여기에서 상기 면역결합제는 본 발명의 안티-VEGF 면역결합제의 목적하는 작용 특성을 보유하거나 개선한다.

[0107] 일부 구현예에서, 본 발명은 사람 VEGF와 특이적으로 결합하고 다른 종의 VEGF 분자, 예를 들면 마우스 VEGF, 래트 VEGF, 래빗 VEGF 또는 기니아 피그 VEGF와 교차반응하는 면역결합제를 제공한다. 특정한 구현예에서 안티 VEGF 면역결합제는 사람 및 래트/마우스 VEGF와 특이적으로 결합할 수 있다.

[0108] 일부 구현예에서, 본 발명은 사람 VEGF와 특이적으로 결합하고 다른 종의 VEGF 분자, 예를 들면 마우스 VEGF, 래트 VEGF, 래빗 VEGF 또는 기니아 피그 VEGF와 교차반응하지 않는 면역결합제를 제공한다.

[0109] 일부 구현예에서, 본 발명은 사람 VEGF와 특이적으로 결합하는 면역결합제를 제공하며, 여기에서 상기 면역결합제는 친화성 성숙된다.

[0110] 일 구현예에서, 본 발명의 항체와 항체 절편은 단일사슬 항체(scFv) 또는 Fab 절편이다. scFv 항체의 경우, 선택된 VL 도메인은 어느 하나의 배향 내에서 선택된 VH 도메인에 신축성(flexible) 링커에 의해 결합될 수 있다. 공지된 링커(art linker)의 적합한 상태는 반복 GGGGS 아미노산 서열 (서열번호 182) 또는 이들의 변이체로 이

루어진다. 본 발명의 바람직한 구현예에서, 서열 번호 181에 예시된 아미노산 서열의 $(GGGGS)_4$ 링커는 1 내지 3회 반복의 변이체는 아니지만 또한 가능하다(Holliger et al. (1993), Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:6444-6448). 본 발명에서 사용가능한 다른 링커들은 Alfthan et al. (1995), Protein Eng. 8:725-731, Choi et al. (2001), Eur. J. Immunol. 31:94-106, Hu et al. (1996), Cancer Res. 56:3055-3061, Kipriyanov et al. (1999), J. Mol. Biol. 293:41-56 및 Roovers et al. (2001), Cancer Immunol. Immunother. 50:51-59에 의해 기술되었다. 배열은 VL-링커-VH이거나 또는 VH-링커-VL일 수 있으며, 전자의 배열이 더 바람직하다. 그러나, 단일 VH 또는 VL 도메인 항체도 고려될 수 있다. Fab 절편의 경우, 선택된 경쇄 가변 도메인 VL은 사람의 Ig 카파(kappa) 사슬의 정상 영역에 융합되는 반면, 적합한 중쇄 가변 도메인 VH는 사람 IgG의 최초(N-터미널) 정상 도메인 CH1에 융합된다. 정상 도메인의 C-터미널 또는, 가변 또는 정상 도메인의 다른 부위에서 사슬간 디설파이드 결합이 형성될 수 있다. 선택적으로, 2개의 사슬은 또한 신축성 링커에 의해 결합되어 단일 사슬 Fab 항체를 생성할 수 있다.

[0111] 본 발명의 항체 또는 항체 유도체는 해리 상수 K_d가 10^{-14} M to 10^{-5} M 범위인 사람 VEGF에 대한 친화도를 가질 수 있다. 본 발명의 바람직한 구현예에서 K_d는 ≤1 nM이다. 항원에 대한 항체의 친화도는 적합한 방법(Berzofsky et al. "Antibody-Antigen Interactions", in *Fundamental Immunology*, Paul, W.E., Ed, Raven Press: New York, NY (1992); Kuby, *J. Immunology*, W.H. Freeman and Company: New York, NY)과 거기에 기술된 방법들을 사용하여 실험적으로 결정될 수 있다.

[0112] Epitomics사는 래빗 모노클로날 항체인 안티 VEGF 항체(VEGF (C-term) Rabbit Antibody, 카달로그 번호 1909-1)를 판매한다. 상기 항체는 사람 VEGF의 C-터미널 상의 잔기에 대해 특이적이므로 VEGF를 중화할 수 없다. 그러므로, 상기 항체는 치료학적으로 적용하는데 적합하지 않다. 또한 상기 모노클로날 IgG는 인간화된 항체가 아니라, 자연적인 래빗 전장 면역글로불린이다. 또한, 이 항체는 천연 형태의 VEGF를 인식하지 못하는 것이 확인되었다.

[0114] *VEGF 상에서 동일한 에피토프와 결합하는 면역결합제*

[0115] 또다른 양태에서, 본 발명은 서열 번호 2-211에 열거된 아미노산 서열 중 어느 하나를 포함하는 항체에 의해 인식되는 VEGF 상의 에피토프와 결합하는 항체를 제공한다. 이러한 항체는, 제한적인 것은 아니나 ELISA 등의 표준 VEGF 결합 에세이에서 서열 번호 2-211의 아미노산 서열 중 하나 이상을 포함하는 항체와 교차 경쟁하는 항체의 능력에 기초하여 식별될 수 있다. 서열 번호 2-211의 아미노산 서열 중 하나 이상을 포함하는 항체의 사람 VEGF에 대한 결합을 억제하는 시험 항체의 능력은 상기 시험 항체를 교차 경쟁하여 서열 번호 2-211의 아미노산 서열 하나 이상을 포함하는 항체인 사람 VEGF 상의 오버래핑 에피토프와 상호작용할 수 있는 것을 보여준다.

[0116] 추가로 또는 선택적으로, 상기한 항체를 이들이 동일한 펩티드 항원에 결합하는지를 결정하는 표준 에피토프 맵핑(mapping) 방법을 사용하여 식별할 수 있다. 또한 구조적 모델링 방법을 항체/VEGF 상호작용에 대한 정확한 분자 결정인자를 더 규명하는데 사용할 수 있으며, 상기 방법으로는 예를 들면, 제한적인 것은 아니나 NMR, X-레이 결정학, 컴퓨터에 기초한 모델링 또는 단백질 단층촬영(tomography) (Banyay et al, 2004 ASSAY and Drug Development Technologies (2), 5, Page 516-567) 등이 있다. 실제로, VEGF의 결정 구조가 해석되었고 VEGFr 결합과 연관된 그 표면 아미노산 잔기가 알려졌다(Fuh, et al , 2006, J. Biol. Chem., 281 , 6625-6631). 따라서, 펩티드 면역원의 아미노산 서열과 당 분야에서 입수가능한 VEGF의 구조적 지식이 제공되면, 서열 번호 2-211의 아미노산 서열 하나 이상을 포함하는 항체에 의해 인식되는 VEGF 상의 에피토프와 결합하는 항체를 식별하는 것이 당 분야의 기술 내에서 가능하다.

[0117] 일부 구현예에서, 서열 번호 2-211의 아미노산 서열 하나 이상을 포함하는 항체에 의해 인식되는 VEGF 상의 에피토프와 결합하는 항체는 VEGF와 10^7 M^{-1} 이상, 예를 들면 10^7 M^{-1} 이상, 10^8 M^{-1} 이상, 10^9 M^{-1} 이상, 10^{10} M^{-1} 이상, 10^{11} M^{-1} 이상, 10^{12} M^{-1} 이상, 또는 10^{13} M^{-1} 이상의 친화도로 결합한다.

[0118] 일부 구현예에서, 서열 번호 2-211의 아미노산 서열 하나 이상을 포함하는 항체에 의해 인식되는 VEGF 상의 에피토프와 결합하는 항체는 사람 VEGF와 특이적으로 결합하고, 마우스 VEGF, 래트 VEGF, 래빗 VEGF 또는 기니아피그 VEGF 등과 같은 다른 종의 VEGF 분자와는 교차 반응하지 않는다.

[0119] 일부 구현예에서, 서열 번호 2-211의 아미노산 서열 하나 이상을 포함하는 항체에 의해 인식되는 VEGF 상의 에

피토프와 결합하는 항체는 마우스 VEGF, 래트 VEGF 또는 래빗 VEGF 등과 같은 다른 종의 VEGF 분자와 교차 반응한다.

[0121] *최적화된 변이체*

[0122] 본 발명의 항체는 증강된 작용 특성, 예를 들면 증강된 용해도 및/또는 안정성을 위해 추가로 최적화될 수 있다.

[0123] 임의의 구현예에서, 본 발명의 항체는 2008년 3월 12일자로 출원된, 참조를 위해 여기에 통합되어 있는, "단일 사슬 항체의 서열에 기초한 조작방법 및 최적화(Sequence Based Engineering and Optimization of Single Chain Antibodies)"를 발명의 명칭으로 하는 PCT 출원 제PCT/EP2008/001958호에 기술된 "작용성 컨센서스" 방법에 따라 최적화될 수 있다. 예를 들면, 본 발명의 VEGF 면역결합제는 작용적으로 선택된 scFv의 데이터베이스와 비교될 수 있으며 VEGF 면역결합제에서 상응하는 위치 보다 변이성에 대한 내성이 더 많거나 적은 아미노산 잔기 위치를 식별하므로, 이러한 식별된 잔기 위치가 안정성 및/또는 용해도와 같은 작용성을 개선하는 조작방법에 적합한 것을 의미하였다.

[0124] 치환을 위한 모범적인 프레임워크 위치는 2008년 6월 25일자로 출원된 "항체를 변성하는 방법 및 개선된 작용 특성을 가지는 변성된 항체(Methods of Modifying Antibodies, and Modified Antibodies with Improved Functional Properties)"를 발명의 명칭으로 하는 PCT 출원 제PCT/CH2008/000285호와 2008년 6월 25일자로 출원된 "단일 사슬 항체의 서열에 기초한 조작방법 및 최적화(Sequence Based Engineering and Optimization of Single Chain Antibodies)"를 발명의 명칭으로 하는 PCT 출원 제PCT/CH2008/000284호에 기술되어 있다. 예를 들면, 하나 이상의 하기 치환을 본 발명의 면역결합제의 중쇄 가변영역의 아미노산 위치(하기에 열거한 각각의 아미노산 위치는 AHo 넘버링이 참고되었다.)에 삽입할 수 있다:

[0125] (a) 아미노산 위치 1의 Q 또는 E;

[0126] (b) 아미노산 위치 6의 Q 또는 E;

[0127] (c) 아미노산 위치 7의 T, S 또는 A, 더욱 바람직하게는 T 또는 A, 보다 더 바람직하게는 T;

[0128] (d) 아미노산 위치 10의 A, T, P, V 또는 D, 더욱 바람직하게는 T, P, V 또는 D;

[0129] (e) 아미노산 위치 12의 L 또는 V, 더욱 바람직하게는 L;

[0130] (f) 아미노산 위치 13의 V, R, Q, M 또는 K, 더욱 바람직하게는 V, R, Q 또는 M;

[0131] (g) 아미노산 위치 14의 R, M, E, Q 또는 K, 더욱 바람직하게는 R, M, E 또는 Q, 보다 더 바람직하게는 R 또는 E;

[0132] (h) 아미노산 위치 19의 L 또는 V, 더욱 바람직하게는 L;

[0133] (i) 아미노산 위치 20의 R, T, K 또는 N, 더욱 바람직하게는 R, T 또는 N, 보다 더 바람직하게는 N;

[0134] (j) 아미노산 위치 21의 I, F, L 또는 V, 더욱 바람직하게는 I, F 또는 L, 보다 더 바람직하게는 I 또는 L;

[0135] (k) 아미노산 위치 45의 R 또는 K, 더욱 바람직하게는 K;

[0136] (l) 아미노산 위치 47의 T, P, V, A 또는 R, 더욱 바람직하게는 T, P, V 또는 R, 보다 더 바람직하게는 R;

[0137] (m) 아미노산 위치 50의 K, Q, H 또는 E, 더욱 바람직하게는 K, H 또는 E, 보다 더 바람직하게는 K;

[0138] (n) 아미노산 위치 55의 M 또는 I, 더욱 바람직하게는 I;

[0139] (o) 아미노산 위치 77의 K 또는 R, 더욱 바람직하게는 K;

[0140] (p) 아미노산 위치 78의 A, V, L 또는 I, 더욱 바람직하게는 A, L 또는 I, 보다 더 바람직하게는 A;

[0141] (q) 아미노산 위치 82의 E, R, T 또는 A, 더욱 바람직하게는 E, T 또는 A, 보다 더 바람직하게는 E;

[0142] (r) 아미노산 위치 86의 T, S, I 또는 L, 더욱 바람직하게는 T, S 또는 L, 보다 더 바람직하게는 T;

[0143] (s) 아미노산 위치 87의 D, S, N 또는 G, 더욱 바람직하게는 D, N 또는 G, 보다 더 바람직하게는 N;

[0144] (t) 아미노산 위치 89의 A, V, L 또는 F, 더욱 바람직하게는 A, V 또는 F, 보다 더 바람직하게는 V;

[0145] (u) 아미노산 위치 90의 F, S, H, D 또는 Y, 더욱 바람직하게는 F, S, H 또는 D;

[0146] (v) 아미노산 위치 92의 D, Q 또는 E, 더욱 바람직하게는 D 또는 Q, 보다 더 바람직하게는 D;

[0147] (w) 아미노산 위치 95의 G, N, T 또는 S, 더욱 바람직하게는 G, N 또는 T, 보다 더 바람직하게는 G;

[0148] (x) 아미노산 위치 98의 T, A, P, F 또는 S, 더욱 바람직하게는 T, A, P 또는 F, 보다 더 바람직하게는 F;

[0149] (y) 아미노산 위치 103의 R, Q, V, I, M, F, 또는 L, 더욱 바람직하게는 R, Q, I, M, F 또는 L, 보다 더 바람직하게는 Y, 보다 더 바람직하게는 L; 및

[0150] (z) 아미노산 위치 107의 N, S 또는 A, 더욱 바람직하게는 N 또는 S, 보다 더 바람직하게는 N.

[0151] 추가로 또는 선택적으로, 하나 이상의 다음 치환을 본 발명의 면역결합제의 경쇄 가변영역에 삽입할 수 있다:

[0152] (aa) 아미노산 위치 1의 Q, D, L, E, S, 또는 I, 더욱 바람직하게는 L, E, S 또는 I, 보다 더 바람직하게는 L 또는 E;

[0153] (bb) 아미노산 위치 2의 S, A, Y, I, P 또는 T, 더욱 바람직하게는 A, Y, I, P 또는 T, 보다 더 바람직하게는 P 또는 T;

[0154] (cc) 아미노산 위치 3의 Q, V, T 또는 I, 더욱 바람직하게는 V, T 또는 I, 보다 더 바람직하게는 V 또는 T;

[0155] (dd) 아미노산 위치 4의 V, L, I 또는 M, 더욱 바람직하게는 V 또는 L;

[0156] (ee) 아미노산 위치 7의 S, E 또는 P, 더욱 바람직하게는 S 또는 E, 보다 더 바람직하게는 S;

[0157] (ff) 아미노산 위치 10의 T 또는 I, 더욱 바람직하게는 I;

[0158] (gg) 아미노산 위치 11의 A 또는 V, 더욱 바람직하게는 A;

[0159] (hh) 아미노산 위치 12의 S 또는 Y, 더욱 바람직하게는 Y;

[0160] (ii) 아미노산 위치 14의 T, S 또는 A, 더욱 바람직하게는 T 또는 S, 보다 더 바람직하게는 T;

[0161] (jj) 아미노산 위치 18의 S 또는 R, 더욱 바람직하게는 S;

[0162] (kk) 아미노산 위치 20의 T 또는 R, 더욱 바람직하게는 R;

[0163] (ll) 아미노산 위치 24의 R 또는 Q, 더욱 바람직하게는 Q;

[0164] (mm) 아미노산 위치 46의 H 또는 Q, 더욱 바람직하게는 H;

[0165] (nn) 아미노산 위치 47의 K, R 또는 I, 더욱 바람직하게는 R 또는 I, 보다 더 바람직하게는 R;

[0166] (oo) 아미노산 위치 50의 R, Q, K, E, T, 또는 M, 더욱 바람직하게는 Q, K, E, T 또는 M;

[0167] (pp) 아미노산 위치 53의 K, T, S, N, Q 또는 P, 더욱 바람직하게는 T, S, N, Q 또는 P;

[0168] (qq) 아미노산 위치 56의 I 또는 M, 더욱 바람직하게는 M;

[0169] (rr) 아미노산 위치 57의 H, S, F 또는 Y, 더욱 바람직하게는 H, S 또는 F;

[0170] (ss) 아미노산 위치 74의 I, V 또는 T, 더욱 바람직하게는 V 또는 T, R, 보다 더 바람직하게는 T;

[0171] (tt) 아미노산 위치 82의 R, Q 또는 K, 더욱 바람직하게는 R 또는 Q, 보다 더 바람직하게는 R;

[0172] (uu) 아미노산 위치 91의 L 또는 F, 더욱 바람직하게는 F;

[0173] (vv) 아미노산 위치 92의 G, D, T 또는 A, 더욱 바람직하게는 G, D 또는 T, 보다 더 바람직하게는 T;

[0174] (xx) 아미노산 위치 94의 S 또는 N, 더욱 바람직하게는 N;

[0175] (yy) 아미노산 위치 101의 F, Y 또는 S, 더욱 바람직하게는 Y 또는 S, 보다 더 바람직하게는 S; 및

[0176] (zz) 아미노산 위치 103의 D, F, H, E, L, A, T, V, S, G 또는 I, 더욱 바람직하게는 H, E, L, A, T ,V, S, G 또는 I, 보다 더 바람직하게는 A 또는 V.

[0177] AHo 넘버링 시스템은 Honegger, A. 및 Pluckthun, A. (2001) *J Mol. Biol.* 309:657-670에 보다 상세히 기술되어 있다. 선택적으로, Kabat *et al.*(Kabat, E. A., *et al.* (1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest, Fifth Edition, U.S. Department of Health and Human Services, NIH Publication No. 91-3242)에 상세히 기술되어 있는 Kabat 넘버링 시스템을 사용할 수 있다. 항체의 중쇄와 경쇄 가변영역에서 아미노산 잔기 위치를 식별하는데 사용되는 두 개의 상이한 넘버링 시스템의 변환표는 A. Honegger, J.Mol.Biol. 309 (2001) 657-670에 기재되어 있다.

[0178] 다른 구현예에서, 본 발명의 면역결합제는 2008년 6월 25일자로 출원된, "면역결합제의 용해도 최적화(Solubility Optimization of Immunobinders)"를 발명의 명칭으로 하는 미국 가특허출원 제61/075,692호에 기술된 용해도 및/또는 안정성 을 증강하는 돌연변이 중 하나 이상을 포함한다. 임의의 바람직한 구현예에서, 상기 면역결합제는 중쇄 아미노산 위치 12, 103 및 144(AHo 넘버링 협약)로 구성되는 군에서 선택된 아미노산 위치에서의 용해도를 증가시키는 돌연변이를 포함한다. 바람직한 일 구현예에서, 상기 면역결합제는 (a) 중쇄 아미노산 위치 12의 세린(S); (b) 중쇄 아미노산 위치 103의 세린(S) 또는 트레오닌(T); 및 (c) 중쇄 아미노산 위치 144의 세린(S) 또는 트레오닌(T)으로 구성되는 군에서 선택된 하나 이상의 치환을 포함한다. 다른 구현예에서, 상기 면역결합제는 다음의 치환을 포함한다: (a) 중쇄 아미노산 위치 12의 세린(S); (b) 중쇄 아미노산 위치 103의 세린(S) 또는 트레오닌(T); 및 (c) 중쇄 아미노산 위치 144의 세린(S) 또는 트레오닌(T).

[0180] *래빗 안티-VEGF 항체를 발현하는 하이브리도마*

[0181] 다른 양태에서, 본 발명은 서열 번호 72-81 및 서열 번호 107-117에 열거된 아미노산 서열 하나 이상을 포함하는 모노클로날 항체를 발현하는 하이브리도마를 제공한다. 래빗 B-세포로부터 하이브리도마를 제조하는 방법은 당분야에서 이미 알려져 있으며, 예를 들면 미국 특허출원 공개 제2005/0033031호에 기술되어 있다.

[0183] *안티-VEGF 면역결합제의 제조*

[0184] 본 발명의 항체 또는 항체 유도체는 재조합 유전학 분야의 일반적인 기술을 사용하여 제조할 수 있다. 폴리펩티드의 서열을 알고 있으면, 이들을 코딩하는 cDNA를 유전자 합성(www.genscript.com)으로 제조할 수 있다. 이러한 cDNA는 적합한 벡터 플라스미드에 클론될 수 있다. VL 및/또는 VH 도메인을 코딩하는 DNA가 얻어지면 돌연변이 유발성 프라이머를 사용하는 PCR 등에 의해 부위특이적 돌연변이를 수행하여 다양한 유도체를 얻을 수 있다. 가장 우수한 "개시" 서열은 VL 및/또는 VH 서열에서 목적하는 변경 수에 따라 선택될 수 있다.

[0185] CDR을 프레임워크 영역에 삽입하거나 그래프팅하는 방법은, 예를 들면 "통상의 항체 프레임워크를 사용하는 래빗 항체의 인간화(Humanization of Rabbit Antibodies Using Universal Antibody Frameworks)"를 발명의 명칭으로 하여 2008년 6월 25일자로 출원된 미국 가특허출원 제61/075,697호 이외에 Riechmann, L. et al. (1998) *Nature* 332:323-327; Jones, P. et al. (1986) *Nature* 321:522-525; Queen, C. et al. (1989) *Proc. Natl. Acad. See. U.S.A.* 86:10029-10033; 미국 특허 제5,225,539호(Winter), 및 미국 특허 제5,530,101호; 제5,585,089호; 제5,693,762호 및 제6,180,370호(Queen et al)에 기술된 방법들이 있다.

[0186] 당업자에게 잘 알려진 표준 클로닝 방법과 돌연변이 생성 방법을 사용하여 링커, 셔플 도메인 또는 Fab 절편을 제조하기 위한 구조 융합물을 부가할 수 있다. 본 발명의 기본 프로토콜을 기재하고 있는 일반적인 방법은 *Molecular Cloning, A Laboratory Manual*(Sambrook & Russell, 3rd ed. 2001)과 *Current Protocols in Molecular Biology*(Ausubel et al, 1999)에 기술되어 있다.

[0187] scFv 폴리펩티드를 코딩하거나, 또는 Fab 절편의 경우에 2개의 별도 유전자 또는 VL-Cκ 및 VH-CH1 융합물에 대한 2개 유전자를 포함하는 비-시스트론성 오페론(bi-cistronic operon) 중 하나를 코딩하는 유전자를 포함하는 DNA 서열은 적합한 발현벡터, 바람직하게는 유도성 프로모터를 가지는 벡터에 클론된다. 각각의 유전자 앞에 적절한 리보좀 결합부위가 존재하여 번역이 확실시되도록 관리하여야 한다. 본 발명의 항체는 상기 항체가 그들을 구성하는 것보다 기재된 서열을 포함하는 것임을 이해하여야 한다. 예를 들면, 클로닝 전략은 N-터미널에 하나 또는 몇 개의 추가 잔기를 가지는 항체가 있는 구조물이 필요할 수 있다. 특히, 개시 코돈에서 유도된 메티오닌은 번역이후에 분해되지 않는 경우에 최종 단백질에 존재할 수 있다. scFv 항체의 구조물 대부분은 N-터미널 말단에 추가 알라닌을 발생한다. 본 발명의 바람직한 구현예에서, *E. coli*에서의 주변세포질 발현을 위한 발현벡터가 선택된다(Krebber, 1997). 상기 벡터는 분해가능한 시그널 서열의 앞에 프로모터를 포함한다. 그런 다음,

항체 펩티드의 코딩 서열을 분해가능한 시그널 서열에 프레임 내에서 융합한다. 이렇게 하므로써 발현된 폴리펩티드가 시그널 서열이 분해된 박테리아 주변세포질을 표적화한다. 이후, 상기 항체가 폴드된다. Fab 절편의 경우에, VL-Cκ 및 VH-CH1 융합물 펩티드는 수송(export) 시그널에 결합되어야 한다. 상기 펩티드가 주변세포질에 도달한 후에 S-S 공유 결합이 C-터미널 시스테인에 생성된다. 항체의 세포질 발현이 바람직하면, 상기 항체는 대개 봉입체에서 고수율로 얻어질 수 있으며, 다른 세포의 절편 및 단백질에서 용이하게 분리된다. 이 경우, 봉입체는 구아니딘 염산염(GndHCl)과 같은 변성제에 용해되어 당업자들에게 잘 알려진 원형회복(renaturation) 방법에 의해 리폴딩된다.

[0188] scFv 또는 Fab 폴리펩티드를 발현하는 플라스미드를 적합한 숙주, 바람직하게는 박테리아, 효모 또는 포유동물 세포, 더욱 바람직하게는 주변세포질 발현을 위한 JM83 또는 봉입체 내에서의 발현을 위한 BL21 등의 적합한 *E. coli* 균주에 삽입한다. 상기 폴리펩티드는 주변세포질로부터 또는 봉입체를 형성하여 수확되어 이온 교환 크로마토그래피, 역상 크로마토그래피, 친화성 크로마토그래피 및/또는 겔 여과 등의 당업자에게 잘 알려진 표준 방법을 사용하여 정제될 수 있다.

[0189] 본 발명의 항체 또는 항체 유도체를 수율, 용해도 및 시험관내 안정성과 관련하여 특성화할 수 있다. VEGF, 바람직하게는 사람 VEGF에 대한 결합능은 ELISA 또는 표면 플라스몬 공명(BIACore)을 PCT 공개번호 제WO9729131호에 기술된 재조합 사람 VEGF를 이용하여 시험관 내에서 시험할 수 있고, 후자의 방법은 또한 k_{off} 속도 상수를 결정할 수 있으며, 상기 k_{off} 속도 상수는 바람직하게는 $10^{-3}s^{-1}$ 미만이어야 하고, Kd값은 ≤10 nM가 바람직하다.

[0190] 사람 VEGF에 대한 강력한 결합 친화도를 가지는 항체와는 별도로, 치료 관점에서 다른 유리한 특성을 가지는 안티-VEGF 항체를 선택하는 것이 또한 바람직하다. 예를 들면 상기 항체는 VEGF에 대한 반응에서 HUVEC 세포 성장을 억제하는 항체일 수 있다(실시예 3 참조). 일 구현예에서, 상기 항체는 거의 최대 유효 농도의 VEGF(0.08 nM)에 대한 반응에서 HUVEC 세포 증식을 억제할 수 있다. 바람직하게는, 상기 항체는 "내피세포 성장 에세이"에서 내피세포의 VEGF로 유발된 증식을 억제하는데 있어서 약 5 nM 이하, 바람직하게는 약 1 nM 이하, 바람직하게는 약 1 nM 이하, 바람직하게는 약 0.5 nM 이하, 가장 바람직하게는 약 0.06 nM 이하의 유효량(ED50)을 가지며, 즉 상기한 농도에 있어서 항체는 VEGF로 유발된 내피세포 성장을 시험관 내에서, 예를 들면 50% 이상까지 억제할 수 있다.

[0192] ***이중특이성 분자***

[0193] 다른 양태에서, 본 발명은 본 발명의 안티-VEGF 항체 또는 그의 절편을 포함하는 이중특이성 분자를 특징으로 한다. 본 발명의 항체 또는 그의 항원 결합 부위를 다른 작용성 분자, 예를 들면 다른 펩티드 또는 단백질(예를 들면, 다른 항체 또는 리셉터에 대한 리간드)로 유도하거나 결합시켜서 2개 이상의 상이한 결합 부위 또는 표적 분자에 결합하는 이중특이성 분자를 생성한다. 본 발명의 항체는 하나 이상의 다른 작용성 분자로 유도되거나 결합되어 2개 이상의 상이한 결합 부위 및/또는 표적 분자와 결합하는 다중특이성 분자를 생성하며; 이러한 다중특이성 분자는 또한 여기에서 사용된 "이중특이성(bispecific) 분자"에 포함된다. 본 발명의 이중특이성 분자를 만들기 위해서, 본 발명의 항체를, 예를 들면 다른 항체, 항체 절편, 종양 특이적 또는 병원성 특이적 항원, 펩티드 또는 결합 모방체 등의 하나 이상의 다른 결합 분자와 작용적으로 연결(예를 들면, 화학적 커플링, 유전적 융합, 비공유결합 등)시켜서 이중특이성 분자를 생성한다. 따라서, 본 발명은 VEGF에 대하여 특이성을 가지는 하나 이상의 제1 결합 분자와 하나 이상의 추가 표적 에피토프에 대하여 특이성을 가지는 제2 결합 분자를 포함하는 이중특이성 분자를 포함한다.

[0194] 일 구현예에서, 본 발명의 이중특이성 분자는 결합 특이성 항체 하나 이상, 또는, 예를 들면 Fab, Fab', $F(ab')_2$, Fv, 또는 단일 사슬 Fv 등과 같은 그의 항체 절편을 포함한다. 상기 항체는 또한 경쇄 또는 중쇄 다이머이거나, 또는 Ladner et al의 미국 특허 제4,946,778호에 기술된 Fv 또는 단일 사슬 구조물과 같은 그의 미니멀 절편일 수 있으며, 상기 특허의 내용은 참조용으로 포함되었다.

[0195] 사람 모노클로날 항체가 바람직하지만, 본 발명의 이중특이성 분자에서 사용될 수 있는 다른 항체로는 마우스, 키메릭 및 인간화된 모노클로날 항체가 있다.

[0196] 본 발명의 이중특이성 분자는 당분야의 공지된 방법을 사용하여 구성성분 결합 특이성을 컨쥬게이트하여 제조할 수 있다. 예를 들면, 이중특이성 분자의 결합 특이성 각각을 별도로 생성한 다음, 서로에게 컨쥬게이트시킨다.

결합 특이성들이 단백질 또는 펩티드일 경우, 다양한 커플링제 또는 가교제를 공유 컨쥬게이트에 사용할 수 있다. 가교제의 예로는, 프로테인 A, 카르보디이미드, N-숙신이미딜-S-아세틸-티오아세테이트(SATA), 5,5'-디티오비스(2-니트로벤조산)(DTNB), o-페닐렌디말레이미드(oPDM), N-숙신이미딜-3-(2-피리딜디티오)프로피오네이트(SPDP), 및 설포숙신이미딜 4-(N-말레이미도메틸)시클로헥산-1-카르복실레이트(sulfo-SMCC)(예를 들면, Karpovsky et al. (1984) *J. Exp. Med.* 160:1686; Liu, MA et al. (1985) *Proc. Natl. Acad. ScL USA* 82:8648 참조) 등이 있다. 다른 방법으로는 Paulus (1985) Behring Ins. Mitt. No. 78, 118-132; Brennan et al. (1985) *Science* 229:81-83, 및 Glennie et al. (1987) *J. Immunol.* 139: 2367-2375에 기술된 방법들이 있다. 바람직한 컨쥬게이팅제로는 SATA와 sulfo-SMCC가 있으며, 이들은 모두 Pierce Chemical Co.(Rockford, IL, USA)가 판매하고 있다.

[0197] 결합 특이성이 항체일 때, 이들은 설프히드릴 결합, 예를 들면 자연적으로 발생한 것이나 인공적으로 삽입된 것에 상관 없이, 2개의 중쇄 또는 다른 부위의 C-터미널 힌지영역에 의해 컨쥬게이트될 수 있다. 특히 바람직한 구현예에서는, 힌지영역을 변성하여 컨쥬게이션하기 전에 홀수의 설프히드릴 잔기, 바람직하게는 하나를 포함시킬 수 있다.

[0198] 선택적으로, 2개의 결합 특이성 모두를 동일한 벡터에서 코딩하여 동일한 숙주세포에서 발현시키고 조립하였다. 이 방법은 이중특이성 분자가 mAb x mAb, mAb x Fab, Fab x $F(ab')_2$ 또는 리간드 x Fab 융합 단백질일 때 특히 유용하다. 본 발명의 이중특이성 분자는 하나의 단일 사슬 항체와 결합 결정인자를 포함하는 단일 사슬 분자이거나, 또는 2개의 결합 결정인자를 포함하는 단일 사슬 이중특이성 분자일 수 있다. 이중특이성 분자는 2개 이상의 단일 사슬 분자를 포함할 수 있다. 또한, 이중특이성 분자는 제1 표적에 특이적으로 결합하는 scFv일 수 있으며, 여기에서 상기 scFv의 VH와 VL은 제2 표적에 특이적 결합을 제공하는 도메인을 포함하는 신축성 링커와 결합된다. 적합한 링커는 미국 가특허출원 제60/937,820호에 기술되어 있다. 이중특이성 분자를 제조하는 방법은, 예를 들면 미국 특허 제5,260,203호; 미국 특허 제5,455,030호; 미국 특허 제4,881,175호; 미국 특허 제5,132,405호; 미국 특허 제5,091,513호; 미국 특허 제5,476,786호; 미국 특허 제5,013,653호; 미국 특허 제5,258,498호; 및 미국 특허 제5,482,858호 등에 기술되어 있다.

[0199] 이중특이성 분자와 이들의 특이적 표적의 결합은 다음과 같은 방법에 의해 확인할 수 있다: 효소결합 면역흡착에세이(ELISA), 방사면역측정법(RIA), FACS 분석, 생체분석(예를 들면, 성장 억제), 또는 면역블로트 에세이. 이러한 분석법 각각은 일반적으로 특별히 관심있는 단백질-항체 복합체의 존재를 관심있는 복합체에 특이적인, 표지된 시료(예를 들면, 항체)를 사용하여 검출한다. 예를 들면, VEGF-항체 복합체는, 항체-VEGF 복합체를 인식하여 특이적으로 결합하는 효소결합 항체 또는 항체 절편 등을 사용하여 검출할 수 있다. 선택적으로, 상기 복합체는 다양한 다른 면역에세이를 사용하여 검출할 수 있다. 예를 들면, 상기 항체를 방사능적으로 표지시켜서 방사면역측정법(RIA)에서 사용한다(예를 들면, 참조를 위해 여기에 통합된, Weintraub, B., *Principles of Radioimmunoassays*, Seventh Training Course on Radioligand Assay Techniques, The Endocrine Society, March, 1986 참조). 방사능 동위원소는 γ-카운터 또는 섬광 카운터 또는 방사능사진촬영을 사용하는 장치에 의해 검출될 수 있다.

[0201] *면역컨쥬게이트(Immunoconjugates)*

[0202] 다른 양태에서, 본 발명은 세포독소, 약물(면역억제제 등) 또는 방사성 독물 등의 치료 물질에 컨쥬게이트된, 안티-VEGF 또는 그의 절편을 특징으로 한다. 이러한 접합물들을 여기에서는 "면역컨쥬게이트"라 지칭한다. 하나 이상의 세포독소를 포함하는 면역컨쥬게이트를 "면역독소(immunotoxin)"라 지칭한다. 세포독소 또는 세포독성제는 세포에 해로운(예를 들면, 죽이는) 제제를 포함한다. 예를 들면, 탁솔, 사이토칼라신 B, 그래미시딘 D, 에티듐 브로마이드, 에메틴, 미토마이신, 에토포사이드, 테노포사이드, 빈크리스틴, 빈블라스틴, 콜키신, 독소루비신, 다우노루비신, 디히드록시 안트라신 디온, 미톡산트론, 미트라마이신, 액티노마이신 D, 1-데히드로테스토스테론, 글루코코르티코이드, 프로카인, 테트라카인, 리도카인, 프로프라놀롤, 푸로마이신 및 이들의 유사체 또는 동족체 등이 있다. 또한, 치료제로는, 예를 들면 대사길항물질(예를 들면, 메토트렉세이트, 6-머캅토퓨린, 6-티오구아닌, 시타라빈, 5-플루오로유라실 데카바진), 알킬화제(예를 들면, 메클로레타민, 티오에파 클로람부실, 멜팔란, 카무스틴(BSNU) 및 로무스틴(CCNU), 사이클로토스파미드, 부설판, 디브로모만니톨, 스트렙토조톡신, 미토마이신 C, 및 시스-디클로로디아민 플래티넘(II)(DDP) 시스플라틴), 안트라사이클린(예를 들면, 다우노루비신(이전의 다우노마이신) 및 독소루비신), 항생제(예를 들면, 닥티노마이신(이전의 액티노마이신), 블레오마이신, 미트라마이신 및 안트라마이신(AMC)), 및 항유사분열제(예를 들면, 빈크리스틴 및 빈블라스틴) 등이 있다.

[0203] 본 발명의 항체와 컨쥬게이트될 수 있는 치료용 세포독소의 다른 바람직한 실시예로는 듀오카마이신, 칼리케마이신, 메이탄신 및 오리스타틴, 및 이들의 유도체가 있다. 칼리케마이신 항체 컨쥬게이트의 예는 시판되고 있다(Mylotarg™; Wyeth-Ayerst).

[0204] 세포독소는 본 발명의 항체에 당분야에서 입수할 수 있는 링커 방법을 사용하여 컨쥬게이트시킬 수 있다. 세포독소를 항체에 컨쥬게이트하는데 사용되는 링커 종류의 예로는, 제한적인 것은 아니나, 히드라존, 티오에테르, 에스테르, 디설파이드 및 펩티드를 함유하는 링커 등이 있다. 링커는, 예를 들면 리소좀 구역 내에서 낮은 pH에 의한 분해에 감수성이 있거나, 또는 카텝신(예를 들면, 카텝신 B, C, D)과 같은, 종양 조직 내에서 유리하게 발현되는 프로테아제 등의, 프로테아제에 의한 분해에 감수성이 있는 것을 선택할 수 있다.

[0205] 치료제를 항체에 컨쥬게이팅하기 위한 세포독소의 종류, 링커 및 방법에 대한 추가 논의는 다음 문헌을 참조할 수 있다: Saito, G. et al. (2003) *Adv. Drug Deliv. Rev.* 55:199-215; Trail, P.A. et al. (2003) *Cancer Immunol. Immunother*. 52:328-337; Payne, G. (2003) *Cancer Cell* 3:207-212; Allen, T.M. (2002) *Nat. Rev. Cancer* 2:750-763; Pastan, I. and Kreitman, R. J. (2002) *Curr. Opin. Investig. Drugs* 3:1089-1091; Senter, P.D. and Springer, CJ. (2001) *Adv. Drug Deliv. Rev.* 53:247-264.

[0206] 본 발명의 항체는 또한 방사능 동위원소와 컨쥬게이트되어, 방사능면역컨쥬게이트(radioimmunoconjugate)라고 지칭되는, 세포독소 방사능의약품을 생성할 수 있다. 진단적으로 또는 치료적으로 사용되는 항체에 컨쥬게이트시킬 수 있는 방사능 동위원소의 예로는, 제한적인 것은 아니나 요오드^{131}, 인듐^{111}, 이트륨^{90} 및 루테튬^{177} 등이 있다. 방사능면역컨쥬게이트를 제조하는 방법은 당분야에서 공지되어 있다. 방사능면역컨쥬게이트의 예는 시판되고 있으며, 예를 들면 Zevalin™(IDEC Pharmaceuticals) 및 Bexxar™ (Corixa Pharmaceuticals) 등이 있고, 유사한 방법을 사용하여 본 발명의 항체를 사용하는 방사능면역컨쥬게이트를 제조할 수 있다.

[0207] 본 발명의 항체 컨쥬게이트를 사용하여 주어진 생물학적 반응을 변성할 수 있으며, 그 약물 부분은 종래의 화학적 치료제에 제한되는 것은 아니다. 예를 들면, 상기 약물 부분은 단백질 또는 바람직한 생물학적 활성을 포함하는 폴리펩티드일 수 있다. 이러한 단백질은, 예를 들면 효소적으로 활성인 독소 또는 그의 활성 절편(예를 들면, 아브린, 리신 A, 슈도모나스 외독소, 또는 디프테리아 독소 등); 종양괴사인자 또는 인터페론-γ 등의 단백질; 또는 림포카인, 인터루킨-1("IL-1"), 인터루킨-2("IL-2"), 인터루킨-6("IL-6"), 과립구대식세포 콜로니자극인자 ("GM-CSF"), 과립구 콜로니 자극인자("G-CSF") 또는 다른 성장 인자와 같은 생물학적반응 조절제 등이 있다.

[0208] 상기한 치료용 부분을 항체에 컨쥬게이팅하는 방법들은 이미 알려져 있으며, 다음 문헌들을 참고할 수 있다: Arnon et al, "Monoclonal Antibodies For Immunotargeting Of Drugs In Cancer Therapy", in *Monoclonal Antibodies And Cancer Therapy*, Reisfeld et al. (eds.), pp. 243-56 (Alan R. Liss, Inc. 1985); Hellstrom et al, "Antibodies For Drug Delivery", in *Controlled Drug Delivery* (2nd Ed.), Robinson et al. (eds.), pp. 623-53 (Marcel Dekker, Inc. 1987); Thorpe, "Antibody Carriers Of Cytotoxic Agents In Cancer Therapy: A Review", in *Monoclonal Antibodies '84: Biological And Clinical Applications*, Pinchera et al. (eds.), pp. 475-506 (1985); "Analysis, Results, And Future Prospective Of The Therapeutic Use Of Radiolabeled Antibody In Cancer Therapy", in *Monoclonal Antibodies For Cancer Detection And Therapy*, Baldwin et al. (eds.), pp. 303-16 (Academic Press 1985), and Thorpe et al, "The Preparation And Cytotoxic Properties Of Antibody-Toxin Conjugates", *Immunol. Rev.*, 62:119-58 (1982).

[0210] *안티-VEGF 항체의 사용*

[0211] 치료적 사용에 있어서, 본 발명의 안티-VEGF 항체를 포유동물에게, 바람직하게는 사람에게 여기에서 언급된 바와 같은 약학적으로 허용가능한 투약 형태로 투여할 수 있으며, 이러한 약학적으로 허용가능한 투약 형태는, 예를 들면 정맥 내로, 볼러스로서 또는 일정 기간 동안 연속 주입에에 의해서, 국소, 안구내, 근육내, 복강내, 뇌척수액내, 피하, 관절내, 활액막내, 경구 또는 흡입 경로에 의해 사람에게 투여할 수 있는 것들이다. 또한 상기 항체는 종양내, 종양주위, 병변내, 또는 병변주위 경로로 적합하게 투여되어 국소적 및 전신적 치료효과를 나타낼 수 있다. 복강내 경로는, 예를 들면 난소 종양의 치료에 특히 유용한 것으로 기대된다.

[0212] 질병의 예방 또는 치료에 있어서, 항체의 적절한 투여량은 상기에서 정의된 바와 같이 치료되는 질병의 종류, 질병의 심각성과 경로, 항체가 예방 목적 또는 치료 목적으로 투여되는지와 상관 없이, 이전의 요법, 환자의 임상 기록과 항체에 대한 반응, 및 주치의의 소견에 따라 달라진다. 항체는 환자에게 일회 또는 연속 치료에 따라

적합하게 투여된다.

[0213] 안티-VEGF 항체는 여기에 기술된 VEGF와 매개된 질병의 치료에 유용하다. 예를 들면, 연령과 관련된 황반퇴화(AMD)는 노령층의 심각한 시력 상실을 이끄는 원인이다. AMD의 삼출 형태는 맥락막 신혈관형성과 망막 색소 상피세포 탈리를 특징으로 한다. 맥락막 신혈관형성은 예후의 급격한 악화와 연관되므로, 본 발명의 VEGF 항체는 AMD의 심각성을 감소시키는데 특히 유용하다. 이 치료의 과정은 opthtalmoscopy, 안구 기저 현미경 및 안내 컴퓨터 단층촬영 등의 종래의 기술로 용이하게 관찰된다.

[0214] FDA가 승인한 모든 투약과 Lucentis와 함께 사용하는데 적합한 요법이 고려될 수 있다. 다른 투약과 요법은 여기에 참조를 위해 포함된, 2008년 6월 25일자로 출원된, "개선된 면역결합제 제제와 투여방법 (Improved Immunobinder Formulations And Methods For Adminstration)"을 발명의 명칭으로 하는 미국 가특허출원 제61/075,641호와 제61/058,504호에 기술되어 있다.

[0215] 본 발명의 또다른 구현예에 따르면, 질병을 예방하거나 치료하는 항체의 효능은 항체를 연속적으로, 또는 다른 목적에 유효한 다른 제제, 예를 들면 종양괴사인자(TNF), 산성 또는 염기성 피브로블라스트 성장인자(FGF) 또는 간세포 성장인자(HGF)의 혈관신생 활성을 억제 또는 중화할 수 있는 항체, 조직인자, 단백질 S 또는 단백질 S의 응집활성을 억제하거나 중화할 수 있는 항체(Esmon et al, PCT 공개 번호 제WO91/01753호, 1991년 2월 21일 공개), HER2 리셉터에 결합할 수 있는 항체(Hudziak et al, PCT 공개 번호 제WO 89/06692호, 1989년 7월 27일 공개), 또는 알킬화제, 광응고제(예를 들면, verteporfin), 엽산 길항제, 핵산 대사의 대사길항물질, 항생제, 피리미딘 유사물, 5-플루오로우라실, 시스플라틴, 퓨린 뉴클레오시드, 아민, 아미노산, 트리아졸 뉴클레오시드 또는 코르티코스테로이드 등의 일반적인 치료제 하나 이상과 병용 투여하여 개선할 수 있다. 이러한 기타 제제는 투여되는 조성물 중에 존재하거나 별도로 투여될 수 있다. 또한, 항체는 방사능 물질의 조사 또는 투여와 상관없이, 방사능 치료와 연속적으로 또는 병용하여 적합하게 투여된다.

[0216] 본 발명의 항체는 친화성 정제용 제제로서 사용될 수 있다. 이 방법에서 상기 항체는 Sephadex 수지 또는 여과지 등의 고체상에 당분야에서 이미 알려진 방법을 사용하여 고정화된다. 고정화된 항체는 정제될 VEGF 단백질(또는 그의 절편)을 함유하는 샘플과 접촉된 다음, 지지체를 고정화된 항체에 결합되어 있는 VEGF 단백질을 제외하고 모든 물질을 샘플 중에서 실질적으로 제거하는 적합한 용매로 세척한다. 마지막으로, 상기 지지체를, 예를 들면 항체에서 VEGF 단백질을 유리시키는 글리신 완충액 pH 5.0과 같은 다른 적합한 용매로 세척한다.

[0217] 안티-VEGF 항체는 VEGF 단백질에 대한 진단 에세이, 예를 들면 특정한 세포, 조직 또는 혈청 내에서 그의 발현을 검출하는데 사용될 수 있다. 이러한 진단 방법은 암 진단에 유용하다.

[0218] 진단적 사용에 있어서, 상기 항체는 전형적으로 검출가능한 잔기(moiety)로 표지된다. 다양한 표지물을 구입할 수 있으며, 이들은 일반적으로 다음과 같은 범주로 분류될 수 있다:

[0219] (a) ^{111}In, ^{99}Tc, ^{14}C, ^{131}I, ^{125}I, ^{3}H, ^{32}P 또는 ^{35}S 등의 방사성 동위원소. 상기 항체는, 예를 들면 Current Protocols in Immunology, Volumes 1 and 2, Coligen et al, Ed. Wiley-Interscience, New York, N. Y., Pubs. (1991)에 기술된 방법을 사용하여 방사성동위원소로 표지화될 수 있으며, 방사능은 섬광 계수기로 측정될 수 있다.

[0220] (b) 희토류 킬레이트(유로피움 킬레이트) 또는 플로레세인(fluorescein)과 그의 유도체, 로다민과 그의 유도체, 단실, 리사민, 파이코에리트린(phycoerythrin) 및 텍사스 레드(Texas Red) 등의 형광성 표지물을 사용할 수 있다. 상기 형광성 표지물은 상기한 Current Protocols in Immunology 등에 기술된 방법을 사용하여 항체에 컨쥬게이트 될 수 있다. 형광발광은 형광분석기를 사용하여 정량할 수 있다.

[0221] (c) 다양한 효소-기질 표지물을 사용할 수 있으며, 미국 특허 제4,275,149호는 이들 중 일부를 기술하고 있다. 상기 효소는 일반적으로 다양한 방법으로 측정될 수 있는 발색성(chromogenic) 기질의 화학적 변성을 촉매한다. 예를 들면, 상기 효소는 기질에서 색상 변화를 촉매하고, 이 변화를 분광광도법으로 측정할 수 있다. 선택적으로, 상기 효소는 기질의 형광 또는 화학발광을 변성할 수 있다. 형광의 변화를 정량하는 방법은 상기에 기술하였다. 화학발광 기질이 화학적 반응에 의해 전기적으로 여기되면 (예를 들면, 화학발광 계측기를 사용하여)측정 가능한 빛을 발산하거나 또는 에너지를 형광성 수용체에 제공한다. 효소적 표지물은, 예를 들면 루시퍼라제(반딧불이 루시퍼라제 및 박테리아 루시퍼라제 등; 미국 특허 제4,737,456호), 루시페린, 2,3-디히드로프탈아진디온, 말레이트 데히드로게나제, 우레아제, 고추냉이 퍼옥시다제(HRPO)와 같은 퍼옥시다제, 알칼린 포스파타제, .베타.-갈락토시다제, 글루코아밀라제, 리소자임, 사카라이드 옥시다제(글루코스 옥시다제, 갈락토스 옥시다제 및 글루코스-6-포스페이트 데히드로게나제 등), 헤테로시클릭 옥시다제(유리케이즈 및 잔틴 옥시다제 등), 락토

퍼옥시다제, 마이크로퍼옥시다제 등이 있다. 효소를 항체에 컨쥬게이트하는 방법은 O'Sullivan et al., Methods for the Preparation of Enzyme-Antibody Conjugates for use in Enzyme Immunoassay, in Methods in Enzym. (ed J. Langone & H. Van Vunakis), Academic press, New York, 73:147-166 (1981) 등에 기술되어 있다. 효소와 기질 조합물의 예는 다음과 같다:

[0222] (i) 고추냉이 퍼옥시다제(HRPO)와 기질인 하이드로겐 퍼옥시다제, 여기에서 하이드로겐 퍼옥시다제는 염료 전구체(오쏘페닐렌 디아민(OPD) 또는 3,3'5,5'-테트라메틸 벤지딘 하이드로클로라이드(TMB))를 산화한다;

[0223] (ii) 알칼린 포스파타제(AP)와 발색성 기질인 ρ-니트로페닐 포스페이트; 및

[0224] (iii) .베타.-D-갈락토시다제(.베타.-D-Gal)와 발색원성 기질(P-니트로페닐-.베타.-D-갈락토시다제 등) 또는 형광발광원성 기질 4-메틸움벨리퍼릴-.베타.-D-갈락토시다제.

[0225] 본 발명의 다른 구현예에서, 안티-VEGF 항체는 표지를 필요로 하지 않으며, 이들의 존재는 VEGF 항체에 결합하는 표지된 항체를 사용하여 검출될 수 있다.

[0226] 본 발명의 항체는, 예를 들면 경쟁적 결합 에세이, 직·간접 샌드위치 에세이 및 면역침전 에세이 등의 종래에 알려진 에세이 방법에 사용할 수 있다. Zola, Monoclonal Antibodies: A Manual of Techniques, pp.147-158 (CRC Press, Inc. 1987).

[0227] 경쟁적 결합 에세이는 시험 샘플 분석물과 경쟁하는 표지된 표준물질의 제한된 양의 항체와 결합하는 능력에 의존한다. 시험 샘플 중에서 VEGF 단백질의 양은 항체에 결합되는 표준물질의 양에 반비례한다. 결합되는 표준물질 양의 측정을 용이하도록 하기 위해서, 일반적으로 항체를 경쟁 전 또는 후에 불용화하여 항체에 결합되는 표준물과 분석물이 결합하지 않고 남아있는 표준물과 분석물에서 편리하게 분리될 수 있다.

[0228] 샌드위치 에세이는 2개의 항체를 사용하는 것으로, 각각은 검출되는 단백질의 상이한 면역원성 분율, 또는 에피토프에 결합할 수 있다. 샌드위치 에세이에서, 시험 샘플 분석물은 고체 지지체 상에 고정화된 제1 항체에 의해 결합되고, 이후 제2 항체가 분석물에 결합하여 불용성 3개-부분 복합체를 형성한다(미국 특허 제4,376,110호 참조). 상기 제2 항체는 그 자체가 검출가능한 잔기로 표지화되거나(직접 샌드위치 에세이) 또는 검출가능한 잔기로 표지화된 안티-면역글로불린 항체를 사용하여 측정될 수 있다(간접 샌드위치 에세이). 예를 들면, ELISA 에세이는 샌드위치 에세이의 한 종류이며, ELISA 에세이에서 검출가능한 잔기는 효소이다.

[0229] 면역조직화학에서, 예를 들면 종양 샘플은 신선하거나 동결되거나 또는 파라핀에 매몰되고 포르말린과 같은 보존제로 고정될 수 있다.

[0230] 상기 항체는 또한 생체내 진단 에세이에 사용될 수 있다. 일반적으로, 항체는 방사성 핵종(^{111}In, ^{99}Tc, ^{14}C, ^{131}I, ^{125}I, ^{3}H, ^{32}P 또는 ^{35}S 등)으로 표지되어, 종양을 면역신티오그래피(immunoscintiography)를 이용하여 국소화시킬 수 있다.

[0231] 본 발명의 항체는 키트로 제공될 수 있으며, 이 키트는 미리 측정된 양의 시약과 진단 에세이를 수행하기 위한 지시서를 패키지한 조합물이다. 상기 항체를 효소로 표지화시키는데 있어서, 상기 키트는 효소가 필요로 하는 기질과 보조인자(cofactor)(예를 들면, 검출가능한 발색단 또는 형광단을 제공하는 기질 전구체)를 포함하게 된다. 또한, 다른 부가물로는 안정화제, 완충제(예를 들면, 블록 완충제 또는 용균 완충제 등) 등을 포함할 수 있다. 다양한 시약의 상대적 양은 넓은 범위에서 변화될 수 있으며, 에세이의 감수성을 실질적으로 최적화하는 시약 용액의 농도를 제공한다. 특히, 상기 시약은 통상적으로 동결건조된, 건조 분말로 제공되며, 용해될 때 적절한 농도를 가지는 시약 용액을 제공하는 첨가제를 포함할 수 있다.

[0233] ***약학적 조제물***

[0234] 일 양태에서, 본 발명은 VEGF-매개된 질병의 치료를 위한 안티-VEGF 항체를 포함하는 약학적 제제를 제공한다. "약학적 제제"란 용어는 상기 항체 또는 항체 유도체의 생물학적 활성이 명백하게 유효하도록 하는 형태이고, 상기 제제가 투여되는 대상에게 독성인 추가 성분을 함유하지 않는 조제물을 지칭한다. "약학적으로 허용가능한" 첨가제(비히클, 부가물)는 사용된 활성 성분의 유효량을 제공하기 위해서 대상 포유동물에게 합리적으로 투여될 수 있는 것들이다.

[0235] "안정한" 제제는 포함된 항체 또는 항체 유도체가 본질적으로 그의 물리적 안정성 및/또는 화학적 안정성 및/또

는 생물학적 활성을 저장시에 유지하는 것이다. 단백질 안정성을 측정하기 위한 다양한 분석방법은 당분야에서 얻어질 수 있으며, 예를 들면 Peptide and Protein Drug Delivery, 247-301, Vincent Lee Ed., Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y., Pubs. (1991) and Jones, A. Adv. Drug Delivery Rev. 10: 29-90 (1993)에서 확인된다. 안정성은 선택된 온도에서 선택된 시간(기간) 동안 측정할 수 있다. 바람직하게, 상기 제제는 실온(약 30 ℃) 또는 40 ℃에서 1주 이상 안정하고 및/또는 약 2 내지 8 ℃에서 적어도 3개월 내지 2년 동안 안정하다. 또한, 상기 제제는 바람직하게 제제의 동결(예를 들면 -70 ℃까지) 및 융해 후에 안정하다.

[0236] 항체 또는 항체 유도체가 색상 및/또는 투명성의 시각적 검사, 또는 UV 광 산란 또는 크기 배제 크로마토그래피, 또는 다른 적당한 공지된 방법에 의해 측정되었을 때 응집, 분해, 침전 및/또는 변성에 대한 정의된 유리 명세를 만족할 경우, 항체 또는 항체 유도체는 약학적 제제 내에서 "그의 물리학적 안정성을 유지한다."

[0237] 주어진 시간에서 화학적 안정성이 단백질이 하기에 정의된 바와 같이 그의 생물학적 활성을 여전히 유지한 것으로 간주되는 정도라면 항체 또는 항체 유도체는 약학적 제제 내에서 "그의 물리학적 안정성을 유지한다." 화학적 안정성은 화학적으로 변성된 형태의 단백질을 검출하고 정량하여 평가될 수 있다. 화학적 변성은 크기 변형(클리핑 등)과 관련될 수 있으며, 예를 들면 크기 변형은 크기 배제 크로마토 그래피, SDS-PAGE 및/또는 매트릭스로 보조되는 레이저 탈착(desorption)/흐름시간(time-of-flight) 질량 분광법(MALDI/TOP MS)을 사용하여 평가될 수 있다. 다른 종류의 화학적 변성은, 예를 들면 이온-교환 크로마토그래피에 의해 평가될 수 있는 전하 변경(예를 들면, 탈아미드화(deamidation)의 결과로서 일어남)을 포함한다.

[0238] 주어진 시간에서 항체의 생물학적 활성이, 예를 들면 항원 결합 에세이에서 측정된 바와 같이 약학적 제제가 제조된 시점에 나타난 생물학적 활성의 약 10% 이내(상기 에세이의 오차 이내)라면, 항체 또는 항체 유도체는 약학적 제제 중에서 "그의 생물학적 활성을 보유한다." 항체에 대한 다른 "생물학적 활성" 에세이는 여기에서 이하에 상세히 설명하였다.

[0239] "등장성"이란 관심 제제가 사람 혈액과 본질적으로 동일한 삼투압을 가지는 것을 의미한다. 등장성 제제는 일반적으로 약 250 내지 350 mOsm의 삼투압을 가진다. 등장성은, 예를 들면 증기압 또는 얼음-동결 타입의 삼투압계를 사용해서 측정할 수 있다.

[0240] "폴리올"은 다수의 히드록실기를 갖는 물질이며, 당(환원 및 비환원 당), 당 알코올 및 당 산을 포함한다. 여기에서 바람직한 폴리올은 약 600 kD (예를 들어 약 120 내지 약 400 kD의 범위) 미만의 분자량을 갖는다. "환원 당"은 금속 이온을 환원시키거나 단백질에서 라이신 및 다른 아미노기와 공유적으로 반응할 수 있는 헤미아세탈기를 함유하는 당이며, "비환원 당"은 환원 당의 이러한 성질을 갖지 않는 당이다. 환원 당의 예로는 프룩토스, 만노스, 말토스, 락토스, 아라비노스, 자일로스, 리보스, 람노스, 갈락토스 및 글루코스가 있다. 비-환원 당으로는 수크로스, 트레할로스, 소르보스, 멜레지토스 및 라피노스를 들 수 있다. 만니톨, 자일리톨, 에리쓰리톨, 쓰레이톨, 소르비톨 및 글리세롤은 당 알코올의 예이다. 당 산의 경우, 이들은 L-글루코네이트 및 그의 금속 염을 포함한다. 제제가 동결-해동에 대해 안정적인 것이 바람직한 경우, 폴리올은 그가 제제 중의 항체를 불안정화하도록 동결 온도 (예를 들어 -20℃)에서 결정화하지 않는 것이 바람직하다. 본원에서 비-환원 당, 예를 들면 수크로스 및 트레할로스가 바람직한 폴리올이며, 트레할로스는 수크로스에 비해 트레할로스의 용액 안정성이 더 우수하기 때문에 바람직하다.

[0241] 여기에서 사용된 바와 같이, "완충제"는 그의 산-염기 컨쥬게이트 성분의 작용에 의해 pH에서의 변화에 저항하는 완충된 용액을 지칭한다. 본 발명의 완충제는 약 4.5 내지 약 8.0, 바람직하게는 약 5.5 내지 약 7 범위의 pH를 갖는다. pH를 상기 범위에서 조절하는 완충제의 예로는 아세테이트 (예를 들면, 아세트산나트륨), 숙시네이트 (예를 들면, 소듐 숙시네이트), 글루코네이트, 히스티딘, 시트레이트 및 다른 유기산 완충제를 들 수 있다. 동결-해동 안정적 제제가 바람직한 경우, 완충제는 바람직하게는 포스페이트가 아니다.

[0242] 약리학적 의미로, 본 발명의 상황에서, 항체 또는 항체 유도체의 "치료 유효량"은 항체 또는 항체 유도체가 치료상 효과적인 장애의 예방 또는 치료에 있어서 효과적인 양을 지칭한다. "질환/장애"는 항체 또는 항체 유도체를 사용한 치료가 유익한 임의의 상태이다. 이는 포유동물을 해당 장애에 걸리기 쉽게 만드는 병리 상태를 비롯한 만성 및 급성 장애 또는 질환을 포함한다.

[0243] "보존제"는 제제 내의 박테리아 작용을 본질적으로 감소시킴으로써 예를 들어 다수회-사용 제제의 제조를 용이하게 하는 제제에 포함될 수 있는 화합물이다. 잠재적인 보존제의 예로는 옥타데실디메틸벤질 암모늄 클로라이드, 헥사메토늄 클로라이드, 벤즈알코늄 클로라이드 (알킬기가 장쇄 화합물인 알킬벤질디메틸암모늄 클로라이드

의 혼합물), 및 벤즈에토늄 클로라이드를 들 수 있다. 다른 유형의 보존제로는 방향족 알코올, 예를 들면 페놀, 부틸 및 벤질 알코올, 알킬 파라벤, 예를 들면 메틸 또는 프로필 파라벤, 카테콜, 레소르시놀, 시클로헥산올, 3-펜탄올, 및 m-크레졸을 들 수 있다. 여기에서 가장 바람직한 보존제는 벤질 알코올이다.

[0244] 본 발명은 또한 하나 이상의 항체 또는 항체 유도체 화합물을 하나 이상의 생리적으로 허용가능한 담체 또는 첨가제와 함께 포함하는 약학 조성물을 제공한다. 약학 조성물은 예를 들어 물, 완충제 (예를 들면, 중성 완충 염수 또는 포스페이트 완충 염수), 에탄올, 미네랄 오일, 식물성 오일, 디메틸술폭시드, 탄수화물 (예를 들면, 글루코스, 만노스, 수크로스 또는 덱스트란), 만니톨, 단백질, 보조제, 폴리펩티드 또는 아미노산, 예를 들면 글리신, 항산화제, 킬레이트화제, 예를 들면 EDTA 또는 글루타티온 및/또는 보존제 중 하나 이상을 포함할 수 있다. 상기 언급된 바와 같이, 다른 활성 성분이 여기에 제공된 약학 조성물 중에 포함될 수 있다 (꼭 필요하지는 않음).

[0245] 담체는 환자에게 투여하기에 앞서 흔히 화합물의 안정성 또는 생체이용성을 조절할 목적으로 항체 또는 항체 유도체와 결합될 수 있는 물질이다. 이러한 제제 내에 사용하기 위한 담체는 일반적으로 생체적합성이며, 또한 생분해성일 수 있다. 담체로는 예를 들어 1가 또는 다가 분자, 예를 들면 혈청 알부민 (예를 들어 사람 또는 소), 난 알부민, 펩티드, 폴리라이신 및 폴리사카라이드, 예를 들면 아미노덱스트란 및 폴리아미도아민을 들 수 있다. 또한 담체로는 예를 들면 폴리락테이트 폴리글리콜레이트, 폴리(락티드-코-글리콜리드), 폴리아크릴레이트, 라텍스, 전분, 셀룰로스 또는 덱스트란을 포함하는 비드 및 미세입자와 같은 고체 지지 물질을 들 수 있다. 담체는 공유 결합 (직접 공유 결합 또는 링커기를 통한 공유 결합), 비공유 상호작용 또는 혼합물을 비롯한 다양한 방식으로 화합물을 보유할 수 있다.

[0246] 약학 조성물은 예를 들면 국소, 안내(眼內), 경구, 비강, 직장 또는 비경구 투여를 비롯한 임의의 적절한 투여 방식을 위해 제제화될 수 있다. 특정 구현예에서, 국소 사용에 적합한 형태의 조성물, 예를 들면 점안액이 바람직하다. 다른 형태로는 예를 들어 환제, 정제, 트로키제, 로젠지제, 수성 또는 유성 현탁액제, 분산성 분말 또는 과립제, 에멀젼제, 경질 또는 연질 캡슐제, 또는 시럽제 또는 엘릭서제를 들 수 있다. 또 다른 구현예 내에서, 여기에서 제공된 조성물은 동결건조물로서 제제화될 수 있다. 여기에서 사용된 바와 같은 비경구라는 용어는 피하, 피내, 혈관내 (예를 들어 정맥내), 근육내, 척추, 두개내, 경막내 및 복강내 주사, 및 임의의 유사한 주사 또는 주입 기술을 포함한다.

[0247] 상기 약학 조성물은 사용된 비히클 및 농도에 따라 조절제가 비히클 중에 현탁 또는 용해된 멸균의 주사가능한 수성 또는 유성 현탁액으로 제조할 수 있다. 이러한 조성물은 적합한 분산제, 습윤제 및/또는 현탁화제, 예를 들면 상기 언급된 것들을 사용해서 공지된 기술에 따라 제제화할 수 있다. 사용될 수 있는 허용가능한 비히클 및 용매 중에는 물, 1,3-부탄디올, 링거(Ringer)액 및 등장성 염화나트륨 용액이 있다. 또한, 멸균의 고정 오일을 용매 또는 현탁화 매질로서 사용할 수 있다. 이러한 목적을 위해 합성 모노- 또는 디-글리세라이드를 비롯한 임의의 온화한 고정 오일을 사용할 수 있다. 또한, 올레산과 같은 지방산을 주사가능한 조성물의 약제 중에 사용할 수 있으며, 보조제, 예를 들면 국소 마취제, 보존제 및/또는 완충제를 비히클 중에 용해시킬 수 있다.

[0248] 약학 조성물은 지연 방출 제제 (즉, 투여 후 조절제의 느린 방출을 수행하는 캡슐제와 같은 제제)로서 제제화될 수 있다. 이러한 제제는 일반적으로 잘 알려진 기술을 이용해서 제제화할 수 있으며, 예를 들어 경구, 직장 또는 피하 이식에 의해 또는 원하는 표적 부위에서의 이식에 의해 투여할 수 있다. 이러한 제제 중에 사용하기 위한 담체는 생체적합성이며 또한 생분해성일 수 있으며, 바람직하게는 제제는 상대적으로 일정한 수준의 조절제를 방출한다. 지연 방출 제제 중에 함유된 항체 또는 항체 유도체의 양은 예를 들어 이식 부위, 방출 속도 및 예상 방출 기간, 및 치료 또는 예방될 질환/장애의 특성에 따라 달라진다.

[0249] 여기에서 제공된 항체 또는 항체 유도체는 일반적으로, VEGF와 검출가능하게 결합하여 VEGF-관련 질환/장애를 예방 또는 억제하기에 충분한 체액 (예를 들어 혈액, 혈장, 혈청, CSF, 활액, 림프, 세포내 간질 유액, 눈물 또는 뇨) 중의 농도를 얻기위한 양으로 투여된다. 투여량은 여기에 기재된 인식가능한 환자 이점을 나타내는 경우 효과적인 것으로 고려된다. 바람직한 전신적 투여량은 하루에 체중 1 kg 당 약 0.1 mg 내지 약 140 mg 범위(하루에 환자 당 약 0.5 mg 내지 약 7 g)이며, 경구 투여량은 일반적으로 정맥내 투여량보다 약 5 내지 20 배 더 높다. 단일 투여 형태를 제조하기 위한 담체 물질과 조합될 수 있는 항체 또는 항체 유도체의 양은 치료될 숙주 및 특정 투여 방식에 따라 달라질 것이다. 투여 단위 형태는 일반적으로 약 1 mg 내지 약 500 mg의 활성 성분을 함유할 것이다.

[0250] 약학 조성물은 VEGF에 특이적인 항체 또는 항체 유도체에 반응성인 상태를 치료하기 위해 패키지화될 수 있다. 패키지화된 약학 조성물은 여기에 기술된 유효량의 하나 이상의 항체 또는 항체 유도체를 보유하는 용기 및 함

유된 조성물이 환자에서의 투여 후에 하나의 항체 또는 항체 유도체에 반응성인 질환/장애를 치료하기 위해 사용되는 것임을 나타내는 지시서(예를 들면, 라벨)를 포함할 수 있다.

[0251] 본 발명의 항체 또는 항체 유도체는 또한 화학적으로 변성될 수 있다. 바람직한 변성 그룹은 폴리머이며, 예를 들면 임의로 치환된 직쇄 또는 분지쇄 폴리알켄, 폴리알케닐렌 또는 폴리옥시알킬렌 폴리머 또는 분지된 또는 분지되지 않은 폴리사카라이드이다. 이러한 이펙터(effector) 그룹은 생체 내에서 항체의 반감기를 증가시킬 수 있다. 합성 폴리머의 특정한 예로는, 임의로 치환된 직쇄 또는 분지쇄 폴리(에틸렌글리콜)(PEG),폴리(프로필렌글리콜), 폴리(비닐알코올) 또는 그의 유도체 등이 있다. 특히 자연적으로 발생하는 폴리머는 락토스, 아밀로스, 덱스트란, 글리코겐 또는 이들의 유도체 등이 있다. 폴리머의 크기는 원하는 바대로 변화시킬 수 있지만 일반적으로 500 Da 내지 5000 Da 범위의 평균 분자량 내에 있게 된다. 항체가 조직을 투과하도록 설계되는 국소 용도에 있어서, 폴리머의 바람직한 분자량은 약 5000 Da이다. 폴리머 분자는 항체에 결합될 수 있으며, 특히 PCT 공개번호 제WO0194585호에 기재된 바와 같은 공유 결합된 힌지 펩티드를 통해 Fab 절편 중쇄의 C-말단부에 부착될 수 있다. PEG 잔기의 부착에 대해서는, 문헌 ["Poly (ethyleneglycol) Chemistry, Biotechnological and Biomedical Applications", 1992, J. MiltonHarris (ed), Plenum Press, New York] 및 ["Bioconjugation Protein Coupling Techniques for the Biomedical Sciences", 1998, M. Aslam and A. Dent, Grove Publishers, New York]을 참조한다.

[0252] 상기 기재된 바와 같은 관심 항체 또는 항체 유도체의 제조 후, 이를 포함하는 약학 제제를 제조한다. 제제화될 항체는 사전 동결건조 처리를 하지 않았으며, 여기에서 관심 제제는 수성 제제이다. 바람직하게는 제제 중의 항체 또는 항체 유도체는 항체 절편, 예를 들면 scFv이다. 제제 중에 존재하는 항체의 치료 유효량은 예를 들면 원하는 투여 부피 및 투여 방식(들)을 고려해서 결정한다. 제제 중의 예시적인 항체 농도는 약 0.1 mg/mL 내지 약 50 mg/mL, 바람직하게는 약 0.5 mg/mL 내지 약 40 mg/mL, 가장 바람직하게는 약 10 mg/mL 내지 약 20 mg/mL 이다.

[0253] pH 완충 용액 중에 항체 또는 항체 유도체를 포함하는 수성 제제를 제조한다. 본 발명의 완충제는 약 4.5 내지 약 8.0, 바람직하게는 약 5.5 내지 약 7 범위의 pH를 가진다. 상기 범위 내에서 pH를 조절하는 완충제의 예로는 아세테이트 (예를 들어 아세트산나트륨), 숙시네이트(예를 들면, 소듐 숙시네이트), 글루코네이트, 히스티딘, 시트레이트 및 다른 유기산 완충제를 들 수 있다. 완충제 농도는, 예를 들면 제제의 원하는 등장성 및 완충제에 따라 달라지며 약 1 mM 내지 약 50 mM, 바람직하게는 약 5 mM 내지 약 30 mM일 수 있다.

[0254] 등장화제(tonicifier)로 작용하며 항체를 안정화시킬 수 있는 폴리올이 제제 중에 포함된다. 바람직한 구현예에서, 제제는 등장화 양의 염, 예를 들면 염화나트륨을 함유하지 않는데, 이는 상기 염이 항체 또는 항체 유도체의 침전을 유발할 수 있고/있거나 낮은 pH에서 산화를 일으킬 수 있기 때문이다. 바람직한 구현예에서, 폴리올은 비환원 당, 예를 들면 수크로스 또는 트레할로스이다. 폴리올은 제제의 원하는 등장성에 따라 달라질 수 있는 양으로 제제에 첨가된다. 바람직하게는 수성 제제는 등장성이며, 이 경우 제제 중 폴리올의 적합한 농도는 예를 들면 약 1% 내지 약 15% (w/v)의 범위, 바람직하게는 약 2% 내지 약 10% (w/v)의 범위이다. 그러나, 고등장성 또는 저등장성 제제가 적합할 수도 있다. 폴리올의 양은 폴리올의 분자량에 따라 변경될 수 도 있다. 예를 들어 디사카라이드 (예를 들면 트레할로스)에 비해 적은 양의 모노사카라이드 (예를 들어 만니톨)를 첨가할 수 있다.

[0255] 계면활성제가 또한 항체 또는 항체 유도체 제제에 첨가된다. 예시적인 계면활성제로는 비이온성 계면활성제, 예를 들면 폴리소르베이트(폴리소르베이트 20, 80 등) 또는 폴록사머 (폴록사머 188 등)를 들 수 있다. 첨가되는 계면활성제의 양은 계면활성제가 제제화된 항체/항체 유도체의 응집을 감소시키고/시키거나 제제 중의 미립자의 형성을 최소화하고/하거나 흡수를 감소시키는 양이다. 예를 들어 계면활성제는 제제 중에 약 0.001% 내지 약 0.5%, 바람직하게는 약 0.005% 내지 약 0.2%, 가장 바람직하게는 약 0.01% 내지 약 0.1%의 양으로 존재할 수 있다.

[0256] 일 구현예에서, 제제는 상기 언급된 물질 (즉, 항체 또는 항체 유도체, 완충제, 폴리올 및 계면활성제)을 함유하며, 하나 이상의 보존제, 예를 들면 벤질 알코올, 페놀, m-크레졸, 클로로부탄올 및 벤즈에토늄 Cl을 본질적으로 함유하지 않는다. 또다른 구현예에서, 특히 제제가 다중투여 제제인 경우에 보존제가 제제 중에 포함될 수 있다. 보존제의 농도는 약 0.1% 내지 약 2%, 가장 바람직하게는 약 0.5% 내지 약 1%의 범위일 수 있다. 하나 이상의 다른 제약상 허용가능한 담체, 첨가제 또는 안정화제, 예를 들면, Remington's Pharmaceutical Sciences 21st edition, Osol, A. Ed. (2006)에 기재된 것들이 제제 중에 포함될 수 있으며, 단 이들은 제제의 원하는 특성에 불리한 영향을 주지 않는다. 허용가능한 담체, 첨가제 또는 안정화제는 사용되는 투여량 및 농도

에서 수용자에게 비독성이며, 추가의 완충제, 공용매, 아스코르브산 및 메티오닌을 비롯한 항산화제, EDTA와 같은 킬레이트화제, 금속 복합체 (예를 들어 Zn-단백질 복합체), 생분해성 중합체, 예를 들면 폴리에스테르, 및/또는 염-형성 카운터이온, 예를 들면 나트륨이 포함된다.

[0257] 생체내 투여에 사용될 제제는 멸균된 것이어야 한다. 이는 제제의 제조 이전 또는 이후에 멸균 여과막을 통한 여과에 의해 쉽게 달성된다.

[0258] 제제는 항체를 사용한 치료를 필요로 하는 포유동물, 바람직하게는 사람에게, 공지된 방법, 예를 들면 볼러스로서의 정맥내 투여에 따라 또는 소정의 시간 동안 지속적인 주입에 의해, 근육내, 복강내, 뇌척수내, 피하, 관절내, 윤활막내, 경막내, 경구, 국소 또는 흡입 경로에 의해 투여된다. 바람직한 구현예에서, 제제는 포유동물에게 눈 표면에 점안액의 국소 적용에 의해 투여된다. 이러한 목적을 위해, 예를 들면 상기 제제를 점안용 어플리케이터를 사용하여 적용할 수 있다.

[0259] 항체의 적절한 투여량 ("치료 유효량")은 예를 들어 치료될 증상, 증상의 중증도 및 경과, 항체가 예방 또는 치료 목적을 위해 투여되는지와 상관 없이, 선행 요법, 환자의 임상적 이력 및 항체에 대한 반응, 사용되는 항체의 유형 및 주치의의 고려에 따라 달라질 것이다. 항체 또는 항체 유도체는 한 시점 또는 일련의 치료 동안 환자에게 적합하게 투여되며, 진단 이후로부터 임의의 시점에서 환자에게 투여될 수 있다. 항체 또는 항체 유도체는 단일 치료로서 또는 당해 증상을 치료하는 데 있어서 유용한 다른 약물 또는 요법과 함께 투여될 수 있다.

[0260] 일반적인 제안으로서, 투여되는 항체 또는 항체 유도체의 치료 유효량은 1회 이상의 투여에 의해 환자의 체중 kg 당 약 0.1 내지 약 50 mg의 범위이고, 사용되는 항체의 전형적인 범위는 예를 들어 매일 투여로서 약 0.3 내지 약 20 mg/kg이며, 더욱 바람직하게는 약 0.3 내지 약 15 mg/kg이다. 그러나, 다른 투여 요법이 유용할 수 있다. 이러한 요법의 진행은 통상의 기술에 의해 쉽게 관찰된다.

[0261] FDA가 승인한 복용량과 루센티스(Lucentis)와 함께 사용하는데 적합한 요법이 고려될 수 있다.

[0262] 다른 복용량과 요법은 2008년 6월 25일자로 출원된, "개선된 면역결합제 제제 및 투여방법(Improved Immunobinder Formulations And Methods For Adminstration)"을 발명의 명칭으로 하는, 여기에 통합되어 있는 미국 가특허출원 제61/075.641호에 기술되어 있다.

[0264] *제조 용품*

[0265] 본 발명의 또다른 구현예에서, 본 발명의 수성 약학 제제를 보유하며 임의로 그의 사용 지시서를 제공하는 용기를 포함하는 제조 용품이 제공된다. 적합한 용기로는 예를 들면 병, 바이알, 점안 어플리케이터 및 주사기를 들 수 있다. 용기는 다양한 물질, 예를 들면 유리 또는 플라스틱으로부터 형성될 수 있다. 예시적인 용기는 3 내지 20 cc 1회용 유리 바이알 또는 플라스틱 바이알이다. 선택적으로, 다중투여 제제의 경우, 용기는 3 내지 100 cc 유리 바이알일 수 있다. 용기는 제제, 및 용기 상의 또는 용기와 결합된 라벨을 보유하며, 용기는 사용 지시사항을 나타낼 수 있다. 제조 용품은 상업적 및 사용자 입장에서 바람직한 다른 물질, 예를 들면 다른 완충제, 희석제, 필터, 바늘, 주사기, 및 사용 지침을 갖는 패키지 삽입물을 비롯한 다른 물질을 추가로 포함할 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0266] 도 1은 Biacore(hVEGF165)를 사용한 선택된 scFv의 $hVEGF_{165}$에 대한 결합 반응속도를 나타낸 것이다. 도 1a는 511max에 대해 얻어진 데이터를 나타낸다: Ka (1/Ms): 6,59E+05; SE (ka): 1,10E+03; kd(1/s):4,40E-05; SE(kd):6,30E-07; KD(M): 6,67E-11. 도 1b는 578max에 대해 얻어진 데이터를 나타낸다: Ka (1/Ms): 7,00E+05; SE (ka): 1,40E+03; kd(1/s): 3,07E-04; SE(kd): 8,50E-07; KD(M): 4,39E-10.

도 2는 578max의 사람, 마우스 및 래트 VEGF에 대한 결합 반응속도를 확인하여 종 특이성을 나타낸 것이다. 도 2a는 사람 VEGF165에 대해 얻어진 데이터를 나타낸다: Ka(1/Ms): 7,00E+05; SE (ka): 1.40E+03; kd(1/s): 3,07E-04; SE(kd): 8,50E-07; KD(M): 4,39E-IO. 도 2b는 마우스 VEGF164에 대해 얻어진 데이터를 나타낸다: Ka(1/Ms): 1,03E+06; SE (ka): 2,30E+03; kd(1/s): 4,40E-04; SE(kd): 9,40E-07; KD(M): 4,29E-IO. 도 2c는 래트 VEGF164에 대해 얻어진 데이터를 나타낸다: Ka(1/Ms): 8,83E+05; SE (ka): 2,50E+03; kd(1/s): 5,28E-04; SE(kd): 1,20E-06; KD(M): 5,98E-10.

도 3은 578max의 VEGF 아이소폼(isoforms) (hVEGF121 및 hVEGF110)에 대한 결합 반응속도를 나타낸 것이다. 도 3a는 사람 VEGF 165에 대해 얻어진 데이터를 나타낸다: Ka(1/Ms): 7,00E+05; SE (ka): 1.4E+03; kd(1/s):

3,07E-04; SE(kd): 8,50E-07; KD(M): 4,39E-10. 도 3b는 사람 VEGF121에 대해 얻어진 데이터를 나타낸다: Ka(1/Ms): 5,87E+05; SE (ka): 1.20E+03; kd(1/s): 5,58E-04; SE(kd): 9,60E-07; KD(M): 9,50E-11. 도 3c는 사람 VEGF110에 대해 얻어진 데이터를 나타낸다: Ka (I/Ms): 5,23E+05; SE (ka): 1.30E+03; kd(1/s): 7,22E-04; SE(kd): 8,10E-07; KD(M): 1.38E-09.

도 4는 578max, 578minmax 및 578wt의 hVEGF165에 대한 결합 반응속도를 나타낸 것이다. 도 4a는 578max에 대해 얻어진 데이터를 나타낸다: Ka(1/Ms): 7,00E+05; SE (ka): 1.40E+03; kd(1/s): 3,07E-04; SE(kd): 8,50E-07; KD(M): 4,39E-10. 도 4b는 578minmax에 대해 얻어진 데이터를 나타낸다: Ka(1/Ms): 8,06E+05; SE (ka): 2,10E+03; kd(1/s): 5,04E-04; SE(kd): 1,10E-06; KD(M): 6,25E-10. 도 4c는 578wt-His에 대해 얻어진 데이터를 나타낸다: Ka(1/Ms): 8,45E+05; SE (ka): 1.60E+03; kd(1/s): 1,69E-04; SE(kd): 7,60E-07; KD(M): 2,00E-10.

도 5는 578max, 578minmax 및 578minmax_DHP의 열 안정성을 나타낸 것이다(FT-IR에 의해 측정된 언폴딩). 도 5a: 578minmax (ESBA903): Tm = 71.1 ℃; 도 5b: 578minmax_DHP (#961): Tm = 70.2 ℃; 도 5c: 578max (#821): Tm = 70.4 ℃.

도 6은 30분 동안의 열적 스트레스(도 6a: 50 ℃, 도 6b: 60 ℃, 도 6c: 70 ℃) 후 578 유도체의 변성 및 침전을 나타낸 것이다.

도 7은 578max, 578minmax 및 578minmax_DHP의 용해도(암모늄 설페이트 침전에 의해 측정)를 나타낸 것이다. 도 7a: 578max (#821). V50은 27,24 %였다. 도 7b: 578minmax (ESBA903). V50은 28,13 %였다. 도 7c: 578minmax_DHP (#961). V50은 32,36 %였다.

도 8은 VEGFR2 경쟁적 ELISA 대 포텐시(potency)를 측정하는 방법인 HUVEC 에세이를 나타낸 것이다. 도 8a: VEGFR2 경쟁적 ELISA에서 Lucentis와 511max (#802)의 비교. Lucentis의 R^2: 0,9417; ESBA802의 R^2: 0,9700. Lucentis의 EC50: 7,137 nM; #802의 EC50: 0.8221 nM. 도 8b: VEGFR2 경쟁적 ELISA에서 Lucentis와 578max (#821)의 비교. 도 8c: HUVEC 에세이에서 Lucentis, 511maxC-his 및 534max의 비교. Lucentis의 R^2: 0.9399; EP511maxC-his의 R^2: 0.9313, EP534max의 R^2: 0.7391. Lucetins의 EC50: 0.08825 nM, 511maxC-his의 EC50: 0,7646 nM, 534max의EC50: 63.49 nM. 도 8d: HUVEC 에세이에서 Lucentis, 578min 및 578max의 비교. Lucentis의 R^2: 0,9419, EP578min의 R^2: 0,8886, EP578max의 R^2: 0,9274. Lucentis 의 EC50: 0,1529 nM, 578min의 EC50: 1,528 nM, 578max의 EC50: 0,1031 nM.

도 9는 hVEGF165에 의해 유도된 HUVEC 증식에 대한 578minmax 의 효과를 나타낸 것이다. 이 에세이의 매개변수들은 다음과 같다: hVEGF165 농도: 0,08nM (3ng/ml); VEGF와 테스트 항목과의 인큐베이션: 96h. Lucentis에 대한 EC50은 0,08959 nM였고 578minmax에 대하여는 0,05516 nM였으며, Lucentis의 R^2는 0,9066 이었고 578minmax의 R^2는 0,9622였다.

도 10은 마우스 VEGF 164와 래트 VEGF 164에 의해 유도된 HUVEC 증식에 대한 578minmax의 효과를 나타낸 것이다. 이 에세이의 매개변수들은 다음과 같다: 마우스 VEGF 164의 농도: 0,08nM (3ng/ml); 래트 VEGF 164의 농도: 0,3nM (11.3 ng/ml). 2개의 농도는 모두 VEGF로 유도된 HUVEC 증식에 대한 EC90에서 선택되었다. VEGF와 테스트 항목과의 인큐베이션: 96h. 도 10a는 마우스 VEGF에 대해 얻어진 데이터를 나타낸 것이다. EC50은 V1253에 대하여는 0,1196 nM였고 578minmax에 대하여는 0,06309 nM였으며, R^2는 Lucetins에 대하여는 0.02744, V1253에 대하여는 0.9348 및 EP578minmax에 대하여는 0.9767이었다. Lucentis는 마우스 VEGF로 유도된 HUVEC 증식을 억제하지 않았다. 도 10b는 래트 VEGF에 대해 얻어진 데이터를 나타낸 것이다. EC50은 V1253에 대하여는 1,597nM였고 578minmax에 대하여는 0,06974였으며, R^2는 V1253에 대하여는 0,7664였고 578minmax에 대하여는 0,6635였다.

도 11은 누드 기니아 피그에서 Miles 에세이를 사용한 효능 시험을 나타낸 것이다(파트 I). 알마 블루 1 염료를 누드 기니아 피그의 정맥 내로 투여하였다. 염료를 주사하고 1시간 후에 hVEGF (2,61nM)와 Lucentis, ESBA903 또는 #802 각각의 예비혼합물 2를 기니아 피그 3의 피부에 주사하였다. 용액을 주사한 1시간 후에 상기 동물 3을 안락사시키고 가죽을 수집하여 세척한 다음, 입사 및 투과광을 사용하여 디지털사진을 촬영하였다. 주사 부위 내로 혈관외 유출된 Evans Blue 염료의 면적을 이미지 J를 사용하여 평가하고 투약 면적 정체를 표시하였다.

도 12는 누드 기니아 피그에서 Miles 에세이를 사용한 효능 시험을 나타낸 것이다(파트 I). 도 12a는 #803 (511max)에 대해 얻어진 결과를 나타낸다. EC50은 5,990 nM였고 2,060과 17,41 nM 사이에서 통계적 분포를 나타내었고 R^2는 0.5800이었다. 도 12b는 ESBA903 (578minmax)에 대한 결과를 나타낸다. EC50은 3,989였고 1,456과 10,93 nM 사이에서 통계적 분포를 나타내었고 R^2는 0.3920이었다. 도 12c는 Lucentis의 염료 유출 영역을 나타낸다. 명확하지 않은 곡선으로 인하여 Lucentis에 대한 EC50은 계산할 수 없었다.

도 13은 래트에서 수정된 Miles 에세이를 사용한 효능 시험을 나타낸 것이다(hVEGF 165와 578minmax (ESBA903)를 미리 혼합). 도 13a는 래트-투약 반응에서 VEGF로 유도된 망막혈관누출에 대한 Avastin의 항투과성 효과를 나타낸 것이다. Avastin은 hVEGF로 유도된 망막 혈관 투과성을 억제한다. 주사 전에 미리 혼합. 대략 등몰(equimolar), 3배 또는 10배 과량. *p<0,05 (VEGF s. BSA), ** p<0,05 (Avastin 처리 대 VEGF). 도 13b는 래트에서 VEGF로 유도된 망막혈관누출에 대한 ESBA903의 항투과성 효과를 나타낸다. 투약 반응(예비혼합, ivt). ESBA903에 의한 hVEGF로 유도된 망막혈관투과성의 완전한 억제. 주사 전 예비혼합. 대략 등몰, 3배 또는 10배 과량. *p<0,05 (VEGF s. BSA), ** p<0,05 (ESBA903 처리 대 VEGF).

도 14는 래트에서 수정된 Miles 에세이를 사용한 효능 시험을 나타낸 것이다 (578minmax (ESBA903)의 국소 투여). 래트에서 VEGF로 유도된 망막혈관누출에 대한 AL-51287 (ESBA903)의 항투과성 효능을 국소 투여에 대하여 시험하였다. 5일의 예비처리, 10 ng/ml ESBA903 제제 4 drops/일. *p<0,05 (VEGF s. BSA), ** p<0,05 (VEGF 대 AL-51287), ***p=0,060 (AL-51287 대 AL-52667), ****(VEGF 대 AL-39324); p<0,05 (AL-39324 대 비히클 참조 대조군). AL-51287: ESBA903; AL-52657: 국소 비히클 참조 대조군; AL-39324: 소형 분자 RTK 억제제.

도 15는 여기에서 사용된 VH의 CDR1의 정의를 나타낸 것이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0267] ***실시예***

[0268] 본 발명은 다음 실시예에 의해 보다 상세히 예시되었으며, 이들 실시예는 제한적인 것으로 이해되지 않아야 한다. 본원에서 인용된 모든 도면과 모든 참조문헌, 특허 및 공개된 특허출원의 내용은 그 전체가 참조를 위해 여기에 포함되어 있다.

[0269] 실시예에 있어서, 다른 언급이 없는 한 다음과 같은 재료와 방법이 사용되었다.

[0271] *일반적인 재료와 방법*

[0272] 일반적으로, 본 발명의 실시는, 다른 지시가 없는 한, 화학, 분자 생물학, 재조합 DNA 기술, 면역학(특히, 예를 들면, 항체 기술)의 공지된 방법, 및 폴리펩티드 제조의 표준 기술을 적용한다. 예를 들면, Sambrook, Fritsch and Maniatis, Molecular Cloning: Cold Spring Harbor Laboratory Press (1989); Antibody Engineering Protocols (Methods in Molecular Biology), 510, Paul, S., Humana Pr (1996); Antibody Engineering: A Practical Approach (Practical Approach Series, 169), McCafferty, Ed., Irl Pr (1996); Antibodies: A Laboratory Manual, Harlow et al, C.S.H.L. Press, Pub. (1999); 및 Current Protocols in Molecular Biology, eds. Ausubel et al, John Wiley & Sons (1992) 등의 문헌을 참조할 수 있다.

[0274] *열 안정성 측정*

[0275] 감쇠전반사 Fourier transform IR(FTIR-ATR) 스펙트럼을 다양한 단일 사슬 및 유도체 분자에 대해 Tensor Bruker에서 FT-IR Bio-ATR 세포를 사용하여 얻었다. 이 분자들을 3mg/ml로 농축하고 밤새 4 ℃에서 PBS(pH 6.5)에 대해 투석하고 통과된 완충액을 공액으로 수집하였다. 분자들을 5 ℃ 간격의 넓은 범위(25 내지 95 ℃)의 온도로 열에 의해 시험하여 변성 프로필을 얻었다. 모든 스펙트럼의 조작은 OPUS 소프트웨어를 사용하여 수행하였다. 메인 완충액과 전이 대기(CO_2 및 H_2O) 배경을 단백질 스펙트럼에서 감산하였다. 이 후, 얻어진 단백질 스펙트럼을 기준선 보정하고 단백질 아미드 I 스펙트럼을 예상된 영역에서 가장 넓은 분석가능한 피크의 너비로부터 측정하였다. 2차 유도체 스펙트럼을 아미드 I 밴드 스펙트럼에 대해 평활함수로 3차 다항식 함수를 사용하여 얻었다. 단백질 구조 내의 변화를 아미드 I 2차 유도체 분석에 의해 3개의 더 낮은 측정값에 대해 0% 변성 및 3개의 더 높은 측정값에 대해 100% 변성을 추정하는 초기 커브 피트 계산법에 대한 선형 검량선을 사용하여

예측하였다. 변성 프로필은 Boltzmann 시그모이달(sigmoidal) 모델을 적용한 모든 변이체에 대한 열적 언폴딩 전이(TM)의 중간점을 근사하는데 사용되었다.

[0277] *용해도 측정*

[0278] 다양한 scFv 분자의 상대적 용해도를 단백질 응집과 침전을 암모늄 설페이트의 존재 하에서 증강한 후 측정하였다. 암모늄 설페이트를 수용액 중의 단백질에 첨가하여 최종 혼합물 염-단백질 중에서 5% 증가분의 포화를 얻었다. 역학적 범위에서의 침전을 실험적으로 결정하였고, 포화 간격을 이 범위 내에서 최종 혼합물 중 2.5% 간격 포화로 감소시켰다. 암모늄 설페이트 침전 후, 샘플을 서서히 혼합하고 30분 동안 6000 rpm으로 원심분리하였다. 상징액 중에 남아있는 단백질을 포화된 각각의 암모늄 설페이트 비율에 대해 회수하였다. 용해도 곡선을 UV-VIS 측정에 의해 NanoDropTM-1000 분광광도계를 사용하여 상징액 중의 단백질 농도를 측정하여 결정하였다. 상징액 중의 남아있는 가용성 단백질의 측정값을 정상화하여 Boltzmann 시그모이달(sigmoidal) 모델을 적용한 모든 변이체에 대한 상대적 용해도의 중간점을 예상하는데 사용하였다.

[0280] *단기 안정성 시험*

[0281] scFv 분자를 2주 동안 40 ℃에서 인큐베이션한 후에 가용성 응집물과 분해 산물의 존재에 대해 시험하였다. 10mg/ml 농도의 단백질을 밤새 4℃에서 넓은 범위의 pH(3.5, 4.5, 5.5, 6.5, 7.0, 7.5 및 8.5)를 가지는 PBS에 대해 투석하였다. 표준 완충액 PBS(pH 6.5)에 용해된 동일한 농도의 대조 분자를 -80 ℃에서 2주 동안 저장하였다. SDS-PAGE에 의한 분해 밴드를 t=0과 t=14d 시점에서 측정하고 가용성 응집물을 SEC-HPLC로 평가하였다. 40 ℃에서 2주 후에 남아있는 활성을 Biacore를 사용하여 측정하였다.

[0283] **실시예 1**

[0284] **안티-VEGF 항체를 생성하는 면역화 전략**

[0285] 본 실시예에서는, 신규한 항원성 VEGF-유도 펩티드를 사용하여 사람, 마우스 및 래빗 VEGF를 인식할 수 있는 항체를 생성하는 면역화 전략을 기술하였다.

[0286] Genentech에서 수행된 알라닌-스캐닝 돌연변이 시험에서 VEGFr과의 고친화성 상호작용에 결정적인 VEGFA의 잔기가 알려졌다(Fuh, G. et al, (2006) *J. Biol Chem.* 281, 6625-6631). 리셉터 결합 부위는 아마도 입체구조적(conformational) 에피토프를 나타내지만 결정적 잔기 대부분은 α-나선구조 상, 성숙한 VEGFA의 최초 10개 아미노산 상에 있다.

[0287] 사람의 서열과 비교하여 래빗 VEGFA는 이러한 α-나선구조 내에 3개 아미노산 변화를 포함하며, 대조적으로 마우스 VEGFA는 이 영역에서 사람과 동일하다. 따라서 마우스-사람 교차 반응성 항체를 생산하는데 있어서, 래빗이 면역을 위한 적합한 종인 것으로 나타났다. 또한, 래빗 면역화는 마우스의 면역화 보다 친화도가 더 높은 Abs를 유도할 수 있다.

[0288] 위에서 요약한 바와 같이, VEGFA의 N-터미널 α-나선구조 상의 잔기와의 상호작용은 VEGFR1에 대한 결합에 매우 결정적인 것으로 보인다. 그러므로, 상기 10개 아미노산의 긴 스트레치를 면역화를 위한 에피토프로 사용할 수 있다. 선택적으로, 전체 길이의 VEGFA를 주사할 수 있지만, VEGFA 상의 다른 펩티드 스트레치가 더 면역원성이며, 따라서 항체 중성화를 상승시키는 기회를 저하시킨다. 이러한 가설은 Johnson 및 Wolf의 방법에 의해 예측된 바와 같이 VEGFA의 C-터미널에 근접해 있는 2개의 상이한 펩티드가 강력하게 면역원성이라는 사실에 의해 뒷받침된다. 이 방법은 N-터미널 α-나선구조에 대한 작은 면역원성 포텐셜만을 예측한다. 그러므로, α-나선구조만을 구성하는 펩티드를 사용한 면역화는 전제 길이의 VEGFA를 사용하는 면역화보다 훨씬 간단할 수 있다. 강한 면역 반응을 유발할 가능성은 상기 펩티드를 케이홀 림펫 헤모사이아닌(Keyhole Limpet Hemocyanin, KLH)에 융합 또는 화학적 커플링하여 더 증가될 수 있다.

[0289] 4개의 면역화 전략이 다음과 같이 수행되었다:

[0290] A. 입체구조적 결합제를 수득할 가능성을 증가시키기 위한 전장 사람 $VEGFA_{165}$를 사용한 래빗의 예비면역화. aa

스트레치 16-KFMDVYQRSYCHP-28 (서열번호 183)(밑줄: 리셉터 상호작용; 이중선, 래빗 내의 분기, Cys는 결정 구조에 따른 디설파이드 결합과 연관되어 있다.)의 펩티드로 2차 부스트. 펩티드화 서열내에 함유된 Cys는 KLH와의 결합에 사용될 수 있으며, 따라서 유리 Cys로 노출되지는 않는다. 최종 펩티드는 다음과 같이 나타나게 된다: KFMDVYQRSY-Cys-KLH (서열번호 184).

[0291] B. 입체구조적 결합제를 수득할 가능성을 증가시키기 위한 전장 $VEGFA_{165}$를 사용한 마우스의 예비면역화. aa 스트레치 16-KFMDVYQRSYCHP-28 (서열번호 183)(Cys는 결정 구조에 따른 디설파이드 결합과 연관되어 있다.)의 펩티드로 2차 부스트. 펩티드화 서열내에 함유된 Cys는 KLH와의 결합에 사용될 수 있으며, 따라서 유리 Cys로 노출되지는 않는다. 최종 펩티드는 다음과 같이 나타나게 된다: KFMDVYQRSY-Cys-KLH (서열번호 184).

[0292] C. aa 스트레치 16-KFMDVYQRSYCHP-28 (서열번호 183)(최종 펩티드: KFMDVYQRSY-Cys-KLH (서열번호 184))로부터의 펩티드를 사용한 래빗/마우스의 예비면역화. 입체구조적 결합제를 수득할 가능성을 증가시키기 위해 전장 $VEGFA_{165}$를 사용하여 2차 부스트.

[0293] D. 래빗에서 전장 $VEGFA_{165}$를 사용한 면역화.

[0295] **실시예 2**

[0296] **모노클로날 래빗 안티-VEGF 항체의 CDR 그래프팅 및 작용성 인간화**

[0297] *래빗 CDR의 그래프팅*

[0298] 비인간 공여체 항체와 가장 큰 서열 상동성을 공유하는 사람 항체 수용체를 사용하는 종래의 면역화 방법과 달리, 래빗 CDR을 프레임워크 FW1.4(서열 번호 172)에 그래프트하여 Min-그래프트를 생성하거나, 또는 "래빗화된" 프레임워크 rFW1.4(서열 번호 173) 또는 그의 변이체 rFW1.4(v2) (서열 번호 174)에 그래프트하여 Max-그래프트를 생성하였다. 2개의 프레임워크를 먼저 목적하는 작용 특성(용해도와 안정성), 다양한 래빗 CDR과 래빗 가변 도메인 컨센서스 서열에 대한 이상적인 상동성을 수용하는 구조적 적합성에 대해 선택하였다. 프레임워크 rFW1.4는 실질적으로 어떠한 래빗 CDR 세트에 대해서도 보편적인 수용체 프레임워크로서 작용하기 위한 목적으로 추가로 가공된 FW1.4의 유도체이다. 안정하고 가용성인 프레임워크 서열 FW1.4가 래빗 항체에 대하여 높은 상동성을 나타내지만, 가장 상동성인 서열을 얻을 수는 없다.

[0299] *결합과 잠재적으로 연관된 잔기의 식별*

[0300] 래빗 가변 도메인 서열 각각에서, 가장 근접한 래빗 생식계열 대응물을 식별하였다. 가장 가까운 생식계열을 확립할 수 없을 경우, 이 서열을 서브그룹 컨센서스 또는 높은 비율의 유사성을 가지는 래빗 서열의 컨센서스와 비교하였다. 희귀 프레임워크 잔기를 체세포 초돌연변이의 가능한 결과로 간주하였으므로, 항원 결합에서 작용하였다. 따라서, 이러한 잔기들은 수용체 프레임워크 rFW1.4 또는 rFW1.4(v2) 상에 그래프팅하여 Max-그래프트를 생성하는 것으로 생각된다. 특히 직접 항원 접촉에 잠재적으로 연관되거나 VL과 VH의 배치에 영향을 미치는 잔기를 그래프트하였다. 또한 CDR 구조에 영향을 주는 것으로 기술된 잔기는 필요하다면 치환시켰다. CDR을 FW1.4(Min-그래프트) 상에 그래프트할 때는 프레임워크 치환은 하지 않았다. 예를 들면, 578minmax 잔기를 생성하기 위해서 rFW1.4의 VH 94 (H94)를 공여체 서열 중의 상응하는 잔기에 돌연변이시켰다. 상기 래빗 항체 578은 H94에 Gly를 함유하지만 가장 상동성인 생식계열과 래빗 컨센서스는 둘다 H94에 Arg를 함유한다. Gly은 다른 아미노산에서 발견되지 않는 매우 예외적인 신축성(포지티브 *phi*각)을 가지고 있다. 이것은 주쇄 비틀림각(torsion angle)에서의 역할 및 활성과 연관성이 있는 루프 구조의 강력한 영향 가능성을 암시한다. 또한 여기에 기술된 Max-그래프트를 얻기 위해 그래프트된 프레임워크 위치의 예는 rFW1.4, rFW1.4(v2) 및 여기에 제공된 관심있는 scFv 서열의 프레임워크 영역을 서열 정렬시켜서 식별할 수 있다. 예를 들면, 당분야에서 알려진 웹툴(Webtool)을 상기한 목적으로 사용할 수 있다(예를 들면, http://www.ebi.ac.uk/Tools/clustalw2/index. html 에서 2009년 6월 23일자로 구입한 ClustalW 또는 http://bioinfo.genotoul.fr/ multalin에서 2009년 6월 23일자로 구입한 MultiAlin). rFW 1.4 및 rFW 1.4(v2)가 동일한 잔기를 함유하고 관심있는 scFv가 상이한 잔기를 나타내는 모든 프레임워크의 위치는 Max-그래프트를 얻기 위해 그래프트된 프레임워크 위치이다.

[0301] *도메인 셔플링*

[0302] Min-그래프트의 가변 경쇄를 가변 중쇄 Max-그래프트와 조합하여 생체물리학적 특성(용해도와 안정성)과 활성에 대하여 최적의 조합물을 식별하였다.

[0303] *scFv의 클로닝과 발현*

[0304] 여기에 기술되고 특성화된 scFv는 다음과 같이 제조되었다. 인간화된 VL 서열(서열 번호:82-106)을 인간화된 VH 서열(서열 번호: 118-166)에 서열 번호 181의 링커에 의해 연결하여 다음과 같은 배열의 scFv를 얻었다: NH_2-VL-링커-VH-COOH. 대부분의 경우, 다양한 scFv를 코딩하는 DNA 서열은 관련업체인 Entelechon GmbH (www.entelechon.com)에서 새로 합성하였다. 얻어진 DNA 삽입물을 박테리아 발현벡터 pGMP002 내에 scFv DNA 서열의 5'와 3' 말단에 각각 삽입된 NcoI과 HindIII 제한부위에 의해 클론하였다. VL 도메인과 VH 도메인의 DNA 서열 사이에 BamHI 제한부위가 위치한다. 일부에서, scFv를 코딩하는 DNA를 새로 합성하지 않았지만 scFv를 발현하는 구조물은 도메인 셔플링에 의해 클론되었다. 따라서, VL 도메인을 절단하여 NcoI과 BamHI 제한부위에 의해 새로운 구조물에 삽입하고, VH 도메인은 BamHI과 HindIII 제한부위에 의해 삽입하였다. 다른 경우에서, 포인트 돌연변이는 최첨단 어셈블링 PCR 방법을 사용하여 VH 및/또는 VL 도메인에 삽입되었다. GMP002의 클로닝은 PCT 공개 번호 제WO2008006235호의 실시예 1에 기술되어 있다. scFv는 PCT 공개 번호 제WO2008006235호의 실시예 1의 ESBA105와 유사한 방법으로 제조되었다.

[0306] **실시예 3**

[0307] **안티 VEGF scFv의 바이아코어(BIACORE) 결합 분석**

[0308] 본 실시예에서는, scFv의 바이아코어-결합능을 시험하고 결합 친화성을 예시적인 표면 플라스몬 공명방법을 사용하여 BIAcore™-T100으로 측정하였다. 이들 scFv 캔디데이트에 의한 결합에 대해 시험된 VEGF 단백질은, 본 실시예와 이후의 실시예에서, 정제된 *Escherichia coli*로 발현된 재조합 사람 $VEGF_{165}$(PeproTech EC Ltd.), 재조합 사람 $VEGF_{121}$(PeproTech EC Ltd.), 재조합 사람 $VEGF_{110}$(ESBATech AG), 재조합 마우스 $VEGF_{164}$(PeproTech EC Ltd.), 재조합 래트 $VEGF_{164}$(Biovision), 재조합 래빗 $VEGF_{110}$(ESBATech AG), 및 재조합 사람 PLGF (PeproTech EC Ltd.) 등이다. 표면 플라스몬 공명 실험에서, 카복시메틸레이트된 덱스트란 바이오센서 칩(CM4, GE Healthcare)은 제조업체의 지침에 따라 N-에틸-N'-(3-디메틸아미노프로필) 카보디이미드 하이드로클로라이드와 N-히드록시숙신이미드로 활성화된다. 6개의 상이한 VEGF 형태 각각은, 상기에서 예시된 바와 같이, 4개의 상이한 플로우 셀 중 하나에 CM4 센서 칩 상에서 표준 아민-커플링 방법에 의해 결합되었다. 커플링하고 블로킹한 후 상기한 고정화된 VEGF 분자로 얻어진 반응 범위는 $hVEGF_{165}$에 대하여는 ~250-500 반응 단위(RU), $hVEGF_{110}$, $hVEGF_{121}$, 마우스 $VEGF_{164}$, 래트 $VEGF_{164}$, 및 래빗 $VEGF_{110}$에 대하여는 ~200 RU, 그리고 PLGF에 대하여는 400 RU였다. 각 칩의 4번째 플로우 셀은 단백질을 블로킹 전에 고정화하지 않는 것을 제외하고 유사하게 처리되었으며, 플로우 셀은 인라인(in-line) 대조군으로 사용되었다. HBS-EP 완충액(0.01 M HEPES, pH 7.4 또는 5, 0.15 M NaCl, 3 mM EDTA, 0.005% 계면활성제 P20) 중의 다양한 농도의 안티-VEGF scFv (예를 들면, 90 nM, 30 nM, 10 nM, 3.33 nM, 1.11 nM, 0.37 nM, 0.12 nM 및 0.04 nM)를 플로우 셀에 30μl/분의 유속으로 5분 동안 주사하였다. CM4 칩 상에서 VEGF에서 안티-VEGF scFv의 해리를 10분 동안 25 ℃에서 진행하였다. 센서그램(Sensorgram)을 인라인 대조 셀 보정 후에 각각의 안티-VEGF scFv 샘플에 대해 생성하고 완충액 샘플을 감산하였다. 겉보기 해리속도 상수(k_d), 겉보기 결합속도 상수(k_a), 및 겉보기 해리 평형상수(K_D)를 일 대 일 Langmuir 결합 모델을 사용하여 BIAcore T100 평가 소프트웨어 1.1 버젼으로 계산하였다.

[0309] 하나의 예시적인 결과로서, 일부 리드(lead) 안티-VEGF scFv 캔디데이트를 표 7에 기재하였으며, $hVEGF_{165}$에 대한 이들의 결합 친화성을 나타낸다. 이들의 VEGF 억제제로서의 가능성은 VEGFR 경쟁 ELISA 및/또는 HUVEC 에세이로 측정되었고 이후의 실시예에 기술되었으며, 표 7에 나타내었다. 일부 예시적인 리드 캔디데이트, 예를 들면 511max 및 578max의 $hVEGF_{165}$와 이들의 결합에 대한 운동 곡선을 도 1에 나타내었다. 이들의 친화도 상수(k_d, k_a 및 K_D)도 측정하였다. 일부 리드 캔디데이트는 또한 상이한 공급원의 다양한 VEGF 단백질에 대한 이들의 결합에서 종 특이성을 나타내었다. 예를 들면, pH 5에서 마우스와 래트 $VEGF_{164}$를 결합 파트너로서 사용하여 측정된 친화성 데이터 일부를 표 8a와 b에 나타내었다. 예시적인 리드 scFv 캔디데이트, 578minmax의 K_D는 pH 5(표 8a와 b)에서 마우스와 래트 $VEGF_{164}$ 각각에 대한 그의 결합에서 5.76E-10 M와 7.48E-10 M이며, pH 7.4에서는

2,73E-11과 2,19E-11(데이터를 표시하지 않음)이다. 이러한 종 특이성을 또한 도 4에 운동 곡선과 578minmax와 사람, 마우스 또는 래트 VEGF 단백질 간의 결합에 대한 친화성 데이터로 나타내었다.

[0310] 상이한 개체로부터 유래한 VEGF와 이들 결합의 종 특이성 이외에, 많은 리드 scFv 캔디데이트들은 또한 다양한 VEGF 이소폼에 대하여 차별화된 결합 특이성을 나타내었다. 예를 들면, pH 5.0에서 측정된 사람 $VEGF_{165}$, $VEGF_{121}$ 및 $VEGF_{110}$과 결합하는 일부 scFv 캔디데이트의 친화성 데이터를 표 9에서 비교하였다. 동일한 실험에서 PIGF 단백질은 또한 상기한 scFv 캔디데이트에 대한 결합능이 없는 음성 대조용으로 사용되었다. 또한 일 예로서 578Max와 VEGF 이소폼 간의 결합에 대한 차별화된 운동 곡선과 친화성 데이터를 도 3에 나타내었다.

[0311] 본 발명은 리드 안티-VEGF scFv 캔디데이트에서 유래하는 유도체를 기술하고 있으며, 상기에서 언급하였다. 표 10에 열거된, 캔디데이트 578과 511의 일부 리드 유도체를 이들의 친화성과 역가(pH 5.0에서 측정)에 대해 예시하였다. 이 실험에서는, Biacore 측정법을 $hVEGF_{165}$에 대한 이들 유도체의 친화성에 사용하였으며, hVEGFR2 경쟁 ELISA 및/또는 HUVEC 에세이를 VEGF를 억제하는 이들의 역가를 확인하는데 사용하였다(표 10). 3개의 유도체, 578max, 578minmax 및 578 wt-His를 또한 도 4에서 $hVEGF_{165}$와의 결합에 대한 이들의 운동 곡선과 친화성으로 예시하였다.

[0312] 리드 캔디데이트의 유도체들에 대하여는, 이들의 생체물리적 특성화를 측정하여 도 5 내지 7과 표 11에 예시하였다. 이러한 특징들은, 표 11에 예시된 바와 같이 FTIR에 의해 측정된 Tm, 60 ℃에서 30분 동안 인큐베이션한 후의 β-시이트 또는 단백질의 손실 비율, 암모늄 설페이트 침전에 의해 측정된 용해도, 제조과정 동안의 리폴딩 수율 및 *E. coli*에서의 발현수준 등이다. 3개의 유도체, 578max, 578minmax 및 578minmax_DHP를 FT-IR로 측정된 상이한 온도에 대한 이들의 언폴딩 곡선에서 이들의 열적 안정성에 대해 특성화하였다(도 5).

표 7 리드 캔디데이트의 친화성 및 효능

ID	단백질 번호	Rel. activity hVEGR2 comp. ELISA ($EC50_{Luc}$[nM]/$EC50_{test}$[nM])	Rel. activity hVEGR1 comp. ELISA ($EC50_{Luc}$[nM]/$EC50_{test}$[nM])	Rel. activity in HUVEC assay ($EC50_{Luc}$[nM]/$EC50_{test}$[nM])
375-min	857	0.3	ND	ND
375-max	873	0.6	ND	ND
509-min	854	1.0	2.9	ND
509-max	855	4.1	13	0.003
509-maxII	856	0.6	0.09	0.0009
511-min	801	4.9	0.7	0.0011
511-max	802	8.7	8	0.0179
534-min C-His	807	0.1	ND	ND
534-max	793	1.1	ND	0.0014
567-min	884	9.7	14.9/57	ND
567-max	874	4.1	15.7/ 54.5	0.0086
578-min	820	4.1	4.8	0.1001
578-max	821	9.6	35.5/ 51.6	1.483
610-min	882	0.1	ND	ND
610-max	883	0.4	ND	ND
435-min	944	0.03	ND	ND
435-max	945	7.6	0.00039	ND

(다음 페이지 계속)

[0313]

ID	Biacore 측정 (pH 5)			Biacore 측정 (pH 7.4)		
	$hVEGF_{165}$			$hVEGF_{165}$		
	ka (1/Ms)	kd (1/s)	KD (M)	ka (1/Ms)	kd (1/s)	KD (M)
375-min	9.27E+05	5.01E-03	5.41E-09	> E+08	3.86E+00	NA
375-max	2.44E+06	6.55E-03	2.68E-09	5.09E+07	2.42E-01	4.74E-09
509-min	6.23E+05	1.14E-03	1.82E-09	3.52E+06	1.08E-02	3.06E-09
509-max	2.26E+06	2.72E-03	1.21E-09	1.42E+06	5.37E-04	3.78E-10
509-maxII	8.38E+05	2.82E-03	3.37E-09	7.59E+06	1.98E-02	2.61E-09
511-min	5.05E+05	1.28E-03	2.53E-09	6.75E+05	8.85E-04	1.31E-09
511-max	6.59E+05	4.40E-05	6.67E-11	8.00E+05	6.85E-05	8.56E-11
534-min C-His	2.71E+05	9.21E-03	3.41E-08	ND	ND	ND
534-max	1.88E+06	1.73E-02	9.21E-09	1.06E+06	2.62E-03	2.47E-09
567-min	2.01E+06	4.61E-04	2.30E-10	1.11E+06	7.00E-04	6.31E-10
567-max	1.20E+06	2.26E-04	1.88E-10	1.17E+06	1.67E-04	1.43E-10
578-min	1.14E+06	1.03E-02	9.01E-09	1.11E+06	2.02E-04	1.81E-10
578-max	7.00E+05	3.07E-04	4.39E-10	1.58E+06	3.76E-05	2.37E-11
610-min	2.51E+05	2.65E-03	1.06E-08	결합 없음	No 결합	No 결합
610-max	5.09E+05	6.01E-04	1.18E-09	> E+08	3.57E+01	NA
435-min	결합 없음	결합 없음	결합 없음	4.95E+05	1.43E-02	2.89E-08
435-max	1.67E+05	7.55E-04	4.53E-09	1.13E+06	1.04E-04	9.22E-11

[0314] (표 7, 계속)

표 8a 선택된 리드 캔디데이트의 종 특이성 (마우스 및 래트 VEGF 164)

ID	단백질 번호	마우스 $VEGF_{164}$			래트 VEGF		
		ka (1/Ms)	kd (1/s)	KD (M)	ka (1/Ms)	kd (1/s)	KD (M)
509-min	854	6.14E+05	1.00E-03	1.63E-09	3.51E+05	8.44E-04	2.41E-09
509-max	855	4.09E+06	5.90E-03	1.45E-09	3.90E+06	6.45E-03	1.65E-09
509-maxII	***856***	***3.47E+07***	***6.01E-02***	***1.73E-09***	***1.47E+07***	***2.66E-02***	***1.81E-09***
511-min	801	6.25E+05	1.03E-03	1.64E-09	5.50E+05	1.12E-03	2.04E-09
511-max	802	7.53E+05	4.61E-05	6.13E-11	6.26E+05	6.63E-05	1.06E-10
567-min	884	2.06E+06	3.50E-04	1.70E-10	1.72E+06	4.80E-04	2.79E-10
567-max	874	1.64E+06	1.52E-04	9.29E-11	1.36E+06	2.03E-04	1.49E-10
578-min	820	1.40E+06	1.51E-02	1.07E-08	1.70E+06	1.82E-02	1.07E-08
578-max	821	1.03E+06	4.40E-04	4.29E-10	8.83E+05	5.28E-04	5.98E-10

[0316]

표 8b 선택된 발생 캔디데이트의 종 특이성

ID	단백질 번호	Biacore 측정 마우스 $VEGF_{164}$			상대값 마우스 $VEGF_{164}$	
		ka (1/Ms)	kd (1/s)	KD (M)	(kd $h_{VEGF165}/kd_{mVEGF164}$)	(Kd $_{hVEGF165}/Kd_{mVEGF164}$)
578minmax	903	1,14E+06	6,57E-04	5,67E-10	0,8	1,1
578 minmax_FW1.4:DHP	961	1,10E+06	6,69E-04	6,08E-10	0,6	0,9
578minmaxT84N_V89L	1008	1,23E+06	1,88E-03	1.53E-09	1,0	1,0
578min_max T84N_V89L_DHP	1017	1,47E+06	2,16E-03	1.46E-09	1,4	1,8

[0318]

(계속)

ID	단백질 번호	Biacore 측정 래트 $VEGF_{164}$			상대값 마우스 $VEGF_{164}$	
		ka (1/Ms)	kd (1/s)	KD (M)	(kd $h_{VEGF165}/kd_{mVEGF164}$)	(Kd $_{hVEGF165}/Kd_{mVEGF164}$)
578minmax	903	8,58E+05	6,41E-04	7,48E-10	0,8	0,8
578 minmax_FW1.4:DHP	961	8,00E+05	6,76E-04	8,45E-10	0,6	0,7
578minmaxT84N_V89L	1008	8,02E+05	1,52E-03	1.89E-09	1,2	0,8
578min_max T84N_V89L_DHP	1017	1,04E+05	1,90E-03	1.82E-09	1,6	1,5

[0319]

표 9 VEGF 이소폼에 대한 선택 리드 캔디데이트의 결합 (인간 VEGF121 과 hVEGF110)

ID	단백질 번호	$hVEGF_{165}$			$hVEGF_{110}$		
		ka (1/Ms)	kd (1/s)	KD (M)	ka (1/Ms)	kd (1/s)	KD (M)
509-min	854	6.23E+05	1.14E-03	1.82E-09	2.87E+05	4.74E-04	1.65E-09
509-max	855	2.26E+06	2.72E-03	1.21E-09	6.48E+05	2.35E-04	3.63E-10
509-maxII	856	8.38E+05	2.82E-03	3.37E-09	9.01E+05	1.33E-03	1.48E-09
511-min	801	5.05E+05	1.28E-03	2.53E-09	6.19E+05	8.98E-04	1.45E-09
511-max	802	6.59E+05	4.40E-05	6.67E-11	4.05E+05	7.96E-05	1.97E-10
567-min	884	2.01E+06	4.61E-04	2.30E-10	1.52E+06	3.82E-05	2.51E-11
567-max	874	1.20E+06	2.26E-04	1.88E-10	1.00E+06	3.27E-05	3.27E-11
578-min	820	1.14E+06	1.03E-02	9.01E-09	9.15E+05	1.04E-02	1.14E-08
578-max	821	7.00E+05	3.07E-04	4.39E-10	5.23E+05	7.22E-04	1.38E-09

(계속)

ID	$hVEGF_{121}$			PlGF
	ka (1/Ms)	kd (1/s)	KD (M)	
509-min	3.54E+05	4.53E-04	1.28E-09	결합 없음
509-max	7.42E+05	2.49E-04	3.35E-10	결합 없음
509-maxII	8.97E+05	1.23E-03	1.37E-09	결합 없음
511-min	7.78E+05	9.63E-04	1.24E-09	결합 없음
511-max	4.67E+05	9.97E-05	2.14E-10	결합 없음
567-min	1.89E+06	4.54E-05	2.41E-11	결합 없음
567-max	1.13E+06	5.76E-05	5.11E-11	결합 없음
578-min	9.61E+05	8.80E-03	9.16E-09	결합 없음
578-max	5.87E+05	5.58E-04	9.50E-10	결합 없음

[0321]

표 10 리드 유도체 (578과 511)의 친화성 및 효능

ID	단백질 번호	Rel. activity hVEGR2 comp. ELISA ($EC50_{Luc}$[nM]/$EC50_{test}$[nM])	Rel. activity in HUVEC assay ($EC50_{Luc}$[nM]/ $EC50_{test}$[nM]) hVEGF	Biacore 측정 $hVEGF_{165}$		
				ka (1/Ms)	kd (1/s)	KD (M)
578 야생형 C-His	798	ND	ND	8.34E+05	1.69E-04	2.00E-10
578-min	820	4.1	0.1001	1.14E+06	1.03E-02	9.01E-09
578-max	821	9.6	0.94/1.0/1.2/1.2 (new setup)	7.00E+05	3.07E-04	4.39E-10
578-max FW1.4_DHP	960	ND	ND	9.30E+05	2.48E-04	2.66E-10
578-minmax	903	8.4	1.6/1.4 (new setup)	8.06E+05	5.04E-04	6.25E-10
578minmax FW1.4_DHP	961	16.5	0.78/1.9	7.11E+05	4.09E-04	5.76E-10
578-max-min	902	6.5	ND	1.35E+06	8.83E-03	6.55E-09
578min_max T84N	991	ND	ND	7.21E+05	7.00E-04	9.71E-10
578min_max V89A	978	ND	ND	5.09E+05	6.12E-04	1.20E-09
578min_max V89L	980	ND	ND	8.75E+05	1.87E-03	2.13E-09
578min_max T84N_V89L	1008	8.4	ND	1.13E+06	1.80E-03	1.59E-09
578min_max T84N_V89A	1009	7.5	ND	8.01E+05	4.93E-04	6.15E-10
578min_max T84N_V89L_DHP	1017	ND	ND	ND	ND	ND
578min_max T84N_V89A_DHP		ND	ND	ND	ND	ND
578max synth FW opt	950	ND	ND	1.35E+06	5.86E-04	4.33E-10
578min_max_synthFW	997	7.2	ND	1.23E+06	9.89E-04	8.03E-10
578max_min_synthFW	990	ND	ND	1.55E+06	5.31E-03	3.42E-09
578min_max_FW1.synth	1016	ND	ND	7.08E+05	7.02E-04	9.91E-10
511-min	801	4.9	0.0011	5.05E+05	1.28E-03	2.53E-09
511-max	802	8.7	0.0179	6.59E+05	4.40E-05	6.67E-11
511min_max	904	5.4	ND	3.66E+05	1.02E-04	2.78E-10
511max_min	905	ND	ND	5.11E+05	7.54E-04	1.48E-09

[0323]

표 11 리드 유도체 (578과 511)의 생체물리적 특성

ID	단백질 번호	TM in Bio-ATR [°C]	베타-시이트 손실 % (Aquaspec 60°C)	단백질 손실 % (60°C에서 침전)
578-min	820	66.85	ND	ND
578-max	821	70.36	-1.93%	16.20%
578-max FW1.4_DHP	960	ND	ND	ND
578-minmax	903	71.12	-0.52%	10.99%
578minmax FW1.4_DHP	961	70.18	-0.15%	14.82%
578-max-min	902	ND	ND	ND
578min_max T84N	991	70.78	0.11%	20.30%
578min_max V89A	978	63.23	-2.28%	48.22%
578min_max V89L	980	68.15	-0.79%	38.99%
578min_max T84N_V89L	1008	69	-0.80%	28.30%
578min_max T84N_V89A	1009	ND	ND	ND
578min_max T84N_V89L_DHP	1017	67.8	ND	ND
578min_max T84N_V89A_DHP	1080	66.3	ND	ND
578max synth FW opt	950	63.62	54.06%	97.85%
578min_max_synthFW	997	63.25	50.89%	98.02%
578max_min_synthFW	990	ND	ND	ND
578min_max_FW1. synth	1016	65.7	-0.20%	21.30%
511-min	801	ND	ND	ND
511-max	802	70.5	-1.53%	4.50%
511min_max	904	ND	ND	ND
511max_min	905	ND	ND	ND
567min	884	54	100.00%	100.00%

[0325]

(계속)

ID	암모늄 설페이트 침전에 의한 용해도 [EC_{50} in % of $NH_4(SO_4)_2$ 포화]	제조: 리폴딩 수율 [mg/L]	E. coli에서의 발현 수준 [임의 단위]
578-min	ND	1.5	++
578-max	27.24	12.5	+
578-max FW1.4_DHP	ND	11.6	+
578-minmax	28.13	23.93	+++
578minmax FW1.4_DHP	32.36	50.5	+++
578-max-min	ND	4.5	+
578min_max T84N	ND	7.5	+++
578min_max V89A	ND	16	+++
578min_max V89L	ND	30	+++
578min_max T84N_V89L	27.88	24	+++
578min_max T84N_V89A	ND	22	+++
578min_max T84N_V89L_DHP	30.80	36	+++
578min_max T84N_V89A_DHP	30.70	30	+++
578max synth FW opt	28.30	19.4	++
578min_max_synthFW	30.05	24	+++
578max_min_synthFW	ND	0.5	++
578min_max_FW1. synth	25.10	28	+++
511-min	ND	13.5	+++
511-max	8.62	6.47	+++
511min_max	ND	3.75	+++
511max_min	ND	7	+++
567min	20.70	16.5	+++

[0326]

[0327] 일부 유도체들을 도 6에 열거하였으며, 30분 동안 열 스트레스(예를 들면, 50 ℃, 60 ℃ 또는 70 ℃) 후에 이들의 변성과 침전을 비교하였다. 578max, 578minmax 및 578minmax_DHP를 추가로 이들의 용해도에 대해 시험하고, 암모늄 설페이트 침전에 의해 측정하였다. 도 7에서와 같이, 암모늄 설페이트의 다양한 농도 하에서 상기한 유도체들의 가용성 단백질 비율을 비교하였다.

[0328]

표 12a 30분 동안 50°C에서 인큐베이션한 후의 안티-VEGF 결합제

샘플명	베타 시이트%	Nanodrop (mg/ml)
950	100,8	81,2
978	100,9	85,1
980	99,9	100,3
991	99,4	99,2
802	100,4	96,7
821	100,6	93,5
903	99,5	99,4
961	98,7	101,7
997	99,9	76,39

[0329]

표 12a 30분 동안 60°C에서 인큐베이션한 후의 안티-VEGF 결합제

샘플명	베타 시이트%	Nanodrop (mg/ml)
950	45,9	2
978	102,3	52
980	100,8	61
991	99,9	80
802	101,5	96
821	101,9	84
903	100,5	89
961	100,1	85
997	49,1	2

[0330]

표 12a 30분 동안 70°C에서 인큐베이션한 후의 안티-VEGF 결합제

샘플명	베타 시이트%	Nanodrop (mg/ml)
950	43,1	1,0
978	13,4	2,7
980	4,5	0,2
991	21,5	1,4
802	100,4	80,8
821	58,4	3,3
903	81,9	0,7
961	46,3	1,1
997	0,0	0,3

[0332] **실시예 4**

[0333] **VEGF 리셉터 블로킹 에세이**

[0334] 본 발명에서 기술된 안티-VEGF scFv 캔디데이트 또는 그의 유도체에 대하여 VEGF 억제제로서 이들의 역가를 실시예 3의 VEGF에 대한 결합 친화력에 추가하여 측정하였다. 이러한 역가를 측정하는 방법으로는, 예를 들면 본 실시예에서 예시된 VEGFR 경쟁 ELISA와 HUVEC 에세이(도 8)가 있다.

[0335] VEGFR 경쟁 ELISA 에세이는, 예를 들면 VEGFR2 리셉터 블로킹 에세이와 VEGFR1 리셉터 블로킹 에세이가 있다. VEGFR2 리셉터 블로킹 에세이에 있어서는, 사람 $VEGF_{165}$를 PBS 0.05 μg/ml의 96-웰 Maxisorp ELISA 플레이트

(Nunc)에 피복하고 0.1% BSA와 0.2% 트윈 20 (PBST)을 포함하는 PBS를 사용하여 블로킹하였다. 사람 IgG_1의 6x 히스티딘 태그된 Fc에 융합된 사람 VEGFR2의 세포외 도메인의 아미노산 잔기 I-764로 이루어진 500 ng/ml 재조합 사람 VEGFR2/Fc 키메라 (R&D Systems Inc.)를 PBST 중의 연속적으로 3-배 희석된 안티-VEGF scFv와 먼저 인큐베이션하였다. 실온에서 30 내지 60분 동안 인큐베이션한 후, 이 혼합물을 사람 $VEGF_{165}$가 고정화된 플레이트로 옮겨서 90분 동안 인큐베이션하였다. VEGFR2/Fc 키메라의 고정된 $VEGF_{165}$에 대한 결합을 고추냉이 퍼옥시다제(Jackson ImmunoResearch)에 결합된 염소(Fab_2) 안티-사람 IgG Fcγ에 이어서 기질(BM Blue POD 기질, Roche Diagnostics)로 검출하였다. 450 nm에서의 흡광도(OD 450 nm)를 Sunrise 마이크로플레이트 판독기(Tecan)를 사용하여 측정하였다. 4-매개변수 로지스틱 커브 피트를 사용하여 데이터를 분석하고, EC_{50}값을 scFv의 투약-반응 커브로부터 계산하였다. VEGFR2 리셉터 블로킹 에세이에 의해 측정된, 리드 캔디데이트 또는 그 유도체의 예시적인 효능을 표 7과 9에 기재하였다.

[0336] VEGFR1 리셉터 블로킹 에세이에 있어서는, 사람 $VEGF_{165}$를 PBS 0.0125 μg/ml의 96-웰 Maxisorp ELISA 플레이트(Nunc)에 피복하고 0.4% BSA와 0.1% 트윈 20을 포함하는 PBS를 사용하여 블로킹하였다. 사람 IgG_1의 6x 히스티딘 태그된 Fc에 융합된 사람 VEGFR1의 세포외 도메인의 아미노산 잔기 I-687로 이루어진 100 ng/ml 재조합 사람 VEGFR1/Fc 키메라 (R&D Systems Inc.)를 PBST 중의 연속적으로 3-배 희석된 안티-VEGF scFv와 먼저 인큐베이션하였다. 실온에서 30 내지 60분 동안 인큐베이션한 후, 이 혼합물을 사람 $VEGF_{165}$가 고정화된 플레이트로 옮겨서 90분 동안 인큐베이션하였다. VEGFR1/Fc 키메라의 고정된 $VEGF_{165}$에 대한 결합을 고추냉이 퍼옥시다제(Jackson ImmunoResearch)에 결합된 염소(Fab_2) 안티-사람 IgG Fcγ에 이어서 기질(BM Blue POD 기질, Roche Diagnostics)로 검출하였다. 450 nm에서의 흡광도(OD 450 nm)를 Sunrise 마이크로플레이트 판독기(Tecan)를 사용하여 측정하였다. 데이터를 상기한 바와 같이 분석하고, EC_{50}값을 scFv의 투약-반응 커브로부터 계산하였다. VEGFR1 리셉터 블로킹 에세이에 의해 측정된, 리드 캔디데이트의 예시적인 역가를 표 7에 기재하였다.

[0338] **실시예 5**

[0339] **VEGF 억제의 HUVEC 에세이**

[0340] 본 실시예에서는 VEGF 억제제인, 기술된 안티-VEGF scFv 캔디데이트 또는 그의 유도체들의 역가를 측정하는 다른 방법인 HUVEC 에세이를 예시하였다.

[0341] 사람의 탯줄정맥 내피세포(HUVECs) (Promocell)를 수 개의 공여체로부터 모아서 패시지 2 내지 패시지 14에서 사용하였다. 세포를 50 μl 완전한 내피세포 성장 배지(ECGM) (Promocell)에 1000 세포/웰 농도로 씨드(seed)하였으며, 상기 배지는 0.4% ECGS/H, 2% 소 태아 혈청, 0.1 ng/ml 표피성장인자, 1 μg/ml 하이드로코르티손(Hydrocortison), 1 ng/ml 베이직 피브로블라스트 인자 및 1% 페니실린/스트렙토마이신(Gibco)을 함유하였다. 7 내지 8시간 후에, 50 μl의 절식 배지(0.5%의 열 불활성화된 FCS와 1%의 페니실린/스트렙토마이신을 함유하는 보충물이 없는 ECGM)를 상기 세포에 첨가하고 이 세포를 15 내지 16 시간 동안 절식시켰다. 안티-VEGF scFvs (0.023-150 nM)와 다음 중 하나-재조합 사람 $VEGF_{165}$ (0.08 nM), 재조합 마우스 $VEGF_{164}$ (0.08 nM), 또는 재조합 래트 $VEGF_{164}$ (0.3 nM)-의 3배 연속 희석물을 절식 배지에서 제조하여 실온에서 30 내지 60분 동안 미리 인큐베이션하였다. VEGF의 상이한 농도를 사용하여 이들의 상이한 상대적 생물학적 활성을 보상하였다. 최대하(submaximal) VEGF로 유발된 증식을 자극하는 농도(EC_{90})를 사용하였다. 상기 혼합물 100 μl를 HUVEC 현탁액을 함유하는 96-웰 조직 배양물 플레이트에 첨가하고 37 ℃/5% CO_2의 부식토화된 인큐베이터에서 4일 동안 인큐베이션하였다. 20 μl/웰 WST-I 세포 증식 시료(Roche)를 첨가하고 Sunrise 마이크로플레이트 판독기(Tecan)를 사용하여 HUVEC의 증식을 450 nm (620 nm 대조 파장으로 사용)에서 흡광도를 측정하여 평가하였다. 4-매개변수 로지스틱 커브 피트를 사용하여 데이터를 분석하였고, HUVEC 증식을 50%까지 억제하는데 필요한 안티-VEGF scFv의 농도(EC_{50})를 억제 곡선으로부터 유도하였다.

[0342] HUVEC 에세이로 측정된, 리드 캔디데이트 또는 그 유도체들의 예시적인 역가를 표 7에 기재하였다. 또한, 리드 캔디데이트들의 일 유도체, 578minmax에 의한$hVEGF_{165}$로 유발된 HUVEC 증식 억제를 도 9에 예시하였다. $hVEGF_{165}$로 유발된 세포 증식의 억제에 대한 578minmax의 EC50은 0.06 nM인 것으로 결정되었다(도 9). VEGF 억제제로서

의 578minmax의 역가를 Lucentis와 비교하여 약 1.6배 더 우수하였다. 578minmax에 의한 마우스 또는 래트 $VEGF_{164}$로 유발된 HUVEC 증식의 억제를 도 10에 예시하였다. 마우스와 래트 $VEGF_{164}$로 유발된 세포 증식의 억제에 대한 578minmax의 EC50은 각각 0.06 nM와 0.07 nM였다(도 10). 따라서, 마우스와 래트 VEGF는 예시 유도체(578minmax)에 의해 억제되는데 있어서 사람 VEGF와 대등하다. 또한, 이 실험에서 Lucentis는 설치류 VEGF에 의해 유발된 증식을 억제하지 않았다.

[0344] **실시예 6**

[0345] **무모 기니아 피그에서 사람 $VEGF_{165}$로 유발된 혈관 투과성에 대한 안티-VEGF** scFv의 효과

[0346] 본 실시예에서는, 사람 $VEGF_{165}$로 유발된 혈관 투과성에 대한 안티-VEGF scFv의 효과를 기니아 피그에서 Miles 에세이를 사용하여 평가하였다. 동물 마다 30개의 도포 부위를 무모의 수컷 기니아 피크의 등 부분에 영구적 마커를 사용하여 표시하였다. 처리 날짜에 각 동물에게 일반적 마취 하에서 1% 에반스 블루 염색용액 1 ml를 정맥 내로 투여하였다. 염색용액을 주사한 1시간 후에, 2.61 nM 재조합 사람 $VEGF_{165}$ (PeproTech EC Ltd.)와 다양한 농도의 안티-VEGF scFvs (0 nM, 0.085 nM, 0.256 nM, 0.767 nM, 2.3 nM, 6.9 nM, 20.7 nM, 62.1 nM; 시험 항목 당 n = 7 마리)를 함유하는 시험 용액 0.1 ml를 등 부위의 표시에 3회 주사하였다(시험 항목의 농도 당 3회 주사). PBS 주사는 모든 동물에서 음성 대조군으로 사용되었다. 추가 대조군으로, 6.9 nM Lucentis (Novartis)를 모든 동물에게 주사하였다.

[0347] 시험 용액을 주사하고 1시간 후에, 상기 동물들을 안락사시키고, 가죽을 수집하여 세척하고, 입사 투과광을 사용하여 디지털 사진을 촬영하였다. 주사 부위에 혈관외유출된 에반스 블루 염료의 면적을 ImageJ를 사용하여 평가하였다. 각각의 동물에 대하여 안티-VEGF scFv 농도 대 염료 누출 면적을 4-매개변수 로지스틱 커브 피트를 사용하여 분석하였다. 혈관 누출을 50%까지 억제하는데 필요한 안티-VEGF scFvs의 농도(EC_{50})를 억제 곡선으로부터 유도하였다.

[0348] 실험 전략을 도 11에 예시하였다. 또한 hVEGF를 억제하는데 있어서 scFv 캔디데이트, ESBA903 (578minmax) 및 802 (511max)의 효능을 도 11에 나타내었으며, 혈관계에서 피부에 유출된 에반스 블루 염료를 함유하는 면적의 상이한 크기에 의해 표시되었다. 903 및 802에 대한 효능 데이터를 도 12에 나타내었다. 6.9 nM에서 903과 802는 시험된 모든 동물에서 Lucentis와 비교하여 VEGF로 유발된 피부 내로의 혈관 유출에 대해 더 강력한 억제를 나타냈다(도 12).

[0350] **실시예 7**

[0351] **래트에서 사람 $VEGF_{165}$로 유발된 망막 혈관 누출에 대한 국소 안티-VEGF scFv** 처리 효과

[0352] 본 실시예에서는 578minmax의 국소 효능을 변형된 Miles 에세이를 사용하여 입증하였다. 이러한 변형은, 예를 들면 scFv의 안내 주사 및 국소 도포를 사용하는 예혼합(premixed) 시험이다.

[0353] 안티-VEGF scFv (VEGF에 대하여 10, 3, 및 1 배 몰 과량) 및 VEGF (500 ng)의 예혼합된 상이한 농도를 일회 안내 주사에 의해 도포하였다. Avastin (Roche)(VEGF에 대하여 10, 3, 및 1 배 몰 과량)을 양성 대조군으로 사용하였다. 578minmax에 대한 비히클(시트르산염 완충액, 20 mM Na-시트레이트, 125 mM NaCl, pH 7)을 음성 대조군으로 사용하였다. 도 13에 나타낸 바와 같이, $hVEGF_{165}$와의 예혼합은 578minmax (ESBA903)를 촉진하여 hVEGF로 유발된 망막 혈관 투과성을 완벽하게 억제한다. 본 실험에서, 578minmax (ESBA903)의 억제 효과는 Avastin과 비교하여 훨씬 더 현저하였다.

[0354] 국소 적용에 있어서, VEGF 자극 5일 전에 다자란 Sprague-Dawley 래트에게 578minmax (1% = 10 mg/ml)를 1일 4회 양측 국소 투약(4 drops/일)에 의해 관류일(6일 째)까지 제공하였다. 578minmax (국소 투약) 및 Alcon RTKi (10 mg/kg/d, 경구 위관 영양)에 대한 비히클을 음성 및 양성 대조군으로 사용하였다. 5일 째에 래트를 마취하고 이들의 동공을 확장시켰다. 모든 시험동물의 양쪽 눈에 500 ng hrVEGF (10 μl)를 안내(intravitreal) 주사하였다. VEGF를 주사하고 24시간 후에 일반적인 마취 하에서 모든 동물에게 3% 에반스 블루 염료 주입을 실시하였다. 염료를 90분 동안 순환시킨 후, 래트를 안락사시켰다. 혈액 샘플을 취한 다음, 래트를 멸균 식염수로 관류하고, 각 래트의 양쪽 눈을 즉시 적출하여 망막을 외과 현미경을 사용하여 수집하였다. 망막과 플라즈마 샘플

에 대해 상징액 60 μL를 사용하여 에반스 블루 염료 흡광도(ABS)를 분광광도계로 620/740 nm에서 측정하였다. 혈액-망막 배리어 분해와 염료 흡광도에 의해 측정된 후속 망막 혈관 투과성을 net ABS/습윤 중량/플라즈마 ABS의 평균값 ± s.e.m.으로 계산하였다. 일방 ANOVA를 사용하여 처리 평균값 사이의 전체 차이를 결정하였으며, 여기에서 $P \leq 0.05$ 는 의미있는 것으로 간주되었다. 도 14에 예시된 바와 같이, 578minmax (903)의 국소 투여(예비처리 5일, 4 drops/일)는 hVEGF로 유발된 망막 혈관 투과성을 상당히 억제하였다. 이것은 안 질환의 치료에 유용한 국소적으로 효과적인 항체를 최초로 입증한 것이다.

[0356] **동등한 구현예**

[0357] 본 발명에 대한 다양한 변형과 선택적 구현예가 당업자들에게는 이전의 설명에 따라 명백할 것이다. 따라서, 상기한 설명은 예시일 뿐으로 이해되어야 하며 당업자들에게 본 발명을 실시하기 위한 최선의 방법을 제시하는 목적이다. 구조의 상세는 본 발명의 사상을 벗어나지 않고 실질적으로 변경될 수 있으며 첨부된 특허청구범위 내에서의 모든 변형의 배타적 사용은 보호된다. 본 발명은 첨부된 청구항들과 적용 법률에 의해 요구된 범위까지만 한정한다.

[0358] 본 원에서 인용된 모든 문헌과 유사물, 예를 들면 특허, 특허출원, 기사, 서적, 논문, 학위논문, 웹 페이지, 그림 및/또는 부록 등은 이러한 문헌과 유사물들의 형식과 상관 없이 그 전체가 참조를 위해 통합되었다. 통합된 문헌과 유사물 중 하나 이상이, 예를 들면 정의된 용어, 용어 사용, 기술된 방법 등에서 본 명세서와 다르거나 모순되는 경우, 본 명세서를 따른다.

[0359] 여기에서 사용된 부문별 제목은 구성을 위한 목적일 뿐으로 기술된 목적을 어떤 방법으로든 제한하는 것으로 이해되지 않아야 한다.

[0360] 본 발명을 다양한 구현예 및 실시예와 함께 기술하였지만 이들에 의해 본 발명이 제한되지는 않는다. 한편, 본 발명은 당업자들에게 이해가능한 다양한 대체예, 변형예 및 등가예를 포함한다.

[0361] 첨부된 특허청구범위는 그 효과에 대해 언급하지 않았다면 기술된 순서 또는 요소에 제한되어 이해되지 않아야 한다. 형태와 상세에 있어서 다양한 변화가 첨부된 청구항들의 범위를 벗어나지 않고 수행될 수 있음을 이해하여야 한다. 그러므로, 다음 청구항과 그에 대한 동등한 구현예의 범위와 사상 내에 있는 모든 구현예를 청구한다.

서열 목록

SEQ ID NO:1
Peptide Immunogen
KFMDVYQRSYC

VL 서열:
SEQ ID NO. 72: 60
EVVMAQTPASVEAAVGGTVTIKCQASQSISSYLSWYQQKPGQPPKLLIYKASTLASGVPSRFKGSRS
GTEYTLTISDLECADAATYYCQSNYGGSSSDYGNPFGGGTEAVVK

SEQ ID NO. 73: 435
AFELTQTPSSVEAAVGGTVTIKCQASQSIGSSLAWYQQKPGQRPKLLIYTAANLASGVPSRFRGSRSG
AAFTLTISDLECADAATYYCQNFATSDTVTFGGGTEVVVT

SEQ ID NO. 74: 453
AVVLTQTPSPVSAAVGGTVSISCQSSQSVWNNNRLAWFQQKSGQPPKLLIYYASTLASGVPSRFKG
SGSGTEFTLTISDVQCDDAATYYCAGGYSSTSDNTFGGGTEVVVK

SEQ ID NO. 75: 375
DIVMTQTPASVEATVGGTITINCQASENINIWLSWYQQKPGQPPKLLIYQASKLASGVPSRFKGSGS
GTQFTLTISDLECADAATYYCQNNYSYNRYGAPFGGGTEVVVK

SEQ ID NO. 76: 610
DVVMTQTPASVSEPVGGTVTIKCQASQSISSWLSWYQQKPGQPPKLLIYQASTLASGVPPRSSGSG
SGTEYTLTISDLECADAATYFCQNNYGFRSYGGAFGGGTEVVVK

SEQ ID NO.77: 578
DVVMTQTPSSVSAAVGDTVTINCQASEIIHSWLAWYQQKPGQPPKLLIYLASTLASGVPSRFKGSGS
GTQFTLTISDLECADAAIYYCQNVYLASTNGANFGGGTEVVVK

SEQ ID NO. 78: 534
DVVMTQTPSSVSAAVGDTVTIKCQASQSINIWLSWYQQKSGQPPKLLVYKESTLASGVPSRFRGSG
SGTQFTLTISDLECADAATYYCQNNYDSGNNGFPFGGGTEVVVK

SEQ ID NO. 79: 567
DVVMTQTPSSVSAAVGDTVTINCQADQSIYIWLSWYQQKPGQPPKLLIYKASTLESGVPSRFKGSGS
GTQFTLTISDLECADAATYYCQNNAHYSTNGGTFGGGTEVVVK

SEQ ID NO. 80: 509
DVVMTQTPSSVSAAVGDTVTIKCQASQNIRIWLSWYQQKPGQPPKLLIYKASTLESGVPSRFKGSGS
GTEFTLTISDLECADAATYYCQNNAHYSTNGGTFGGGTEVVVK

[0362]

SEQ ID NO. 81: 511
EVVMTQTPASVEAAVGGTVTIKCQASQSINIWCSWYQQKPGHPPKLLIYRASTLASGVSSRFKGSGS
GTEFTLTISDLECADAATYYCQANYAYSAGYGAAFGGGTEVVVK

SEQ ID NO. 82: 60min
EIVMTQSPSTLSASVGDRVIITCQASQSISSYLSWYQQKPGKAPKLLIYKASTLASGVPSRFSGSGSGA
EFTLTISSLQPDDFATYYCQSNYGGSSSDYGNPFGQGTKLTVLG

SEQ ID NO. 83: 435min
EIVMTQSPSTLSASVGDRVIITCQASQSIGSSLAWYQQKPGKAPKLLIYTAANLASGVPSRFSGSGSG
AEFTLTISSLQPDDFATYYCQNFATSDTVTFGQGTKLTVLG

SEQ ID NO. 84: 453min
EIVMTQSPSTLSASVGDRVIITCQSSQSVWNNNRLAWYQQKPGKAPKLLIYYASTLASGVPSRFSGS
GSGAEFTLTISSLQPDDFATYYCAGGYSSTSDNTFGQGTKLTVLG

SEQ ID NO. 85: 375min
EIVMTQSPSTLSASVGDRVIITCQASENINIWLSWYQQKPGKAPKLLIYQASKLASGVPSRFSGSGSG
AEFTLTISSLQPDDFATYYCQNNYSYNRYGAPFGQGTKLTVLG

SEQ ID NO. 86: 610min
EIVMTQSPSTLSASVGDRVIITCQASQSISSWLSWYQQKPGKAPKLLIYQASTLASGVPSRFSGSGSG
AEFTLTISSLQPDDFATYYCQNNYGFRSYGGAFGQGTKLTVLG

SEQ ID NO. 87: 578min
EIVMTQSPSTLSASVGDRVIITCQASEIIHSWLAWYQQKPGKAPKLLIYLASTLASGVPSRFSGSGSGA
EFTLTISSLQPDDFATYYCQNVYLASTNGANFGQGTKLTVLG

SEQ ID NO. 88: 534min
EIVMTQSPSTLSASVGDRVIITCQASQSINIWLSWYQQKPGKAPKLLIYKESTLASGVPSRFSGSGSGA
EFTLTISSLQPDDFATYYCQNNYDSGNNGFPFGQGTKLTVLG

SEQ ID NO. 89: 567min
EIVMTQSPSTLSASVGDRVIITCQADQSIYIWLSWYQQKPGKAPKLLIYKASTLESGVPSRFSGSGSGA
EFTLTISSLQPDDFATYYCQNNAHYSTNGGTFGQGTKLTVLG

SEQ ID NO. 90: 509min
EIVMTQSPSTLSASVGDRVIITCQASQNIRIWLSWYQQKPGKAPKLLIYKASTLESGVPSRFSGSGSG
AEFTLTISSLQPDDFATYYCQNNAHYSTNGGTFGQGTKLTVLG

SEQ ID NO. 91: 511min
EIVMTQSPSTLSASVGDRVIITCQASQSINIWCSWYQQKPGKAPKLLIYRASTLASGVPSRFSGSGSG
AEFTLTISSLQPDDFATYYCQANYAYSAGYGAAFGQGTKLTVLG

[0363]

SEQ ID NO. 92: 578min_Pref subst
EIVLTQSPSSLSASVGDRVTITCQASEIIHSWLAWYQQRPGKAPKLLISLASTLASGVPSRFSGSGSGT
DFTFTISSLQPEDFAVYYCQNVYLASTNGANFGQGTKVEIKR

SEQ ID NO. 93: 60max
EIVMTQSPSTLSASVGDRVIITCQASQSISSYLSWYQQKPGKAPKLLIYKASTLASGVPSRFSGSGSGT
EFTLTISSLQPDDFATYYCQSNYGGSSSDYGNPFGQGTKLTVLG

SEQ ID NO. 94: 435max
EIVMTQSPSTLSASVGDRVIIKCQASQSIGSSLAWYQQKPGKAPKLLIYTAANLASGVPSRFSGSGSG
AEFTLTISSLQPDDFATYYCQNFATSDTVTFGQGTKLTVLG

SEQ ID NO. 95: 453max
EIVMTQSPSTLSASVGDRVIITCQSSQSVWNNNRLAWYQQKPGKAPKLLIYYASTLASGVPSRFSGS
GSGTEFTLTISSLQPDDFATYYCAGGYSSTSDNTFGQGTKLTVLG

SEQ ID NO. 96: 375max
EIVMTQSPSTLSASVGDRVIITCQASENINIWLSWYQQKPGKAPKLLIYQASKLASGVPSRFSGSGSG
TQFTLTISSLQPDDFATYYCQNNYSYNRYGAPFGQGTKLTVLG

SEQ ID NO. 97: 610max
EIVMTQSPSTLSASVGDRVIITCQASQSISSWLSWYQQKPGKAPKLLIYQASTLASGVPSRFSGSGSG
TEFTLTISSLQPDDFATYYCQNNYGFRSYGGAFGQGTKLTVLG

SEQ ID NO. 98: 578max
EIVMTQSPSTLSASVGDRVIITCQASEIIHSWLAWYQQKPGKAPKLLIYLASTLASGVPSRFSGSGSGT
QFTLTISSLQPDDFATYYCQNVYLASTNGANFGQGTKLTVLG

SEQ ID NO. 99: 534max
EIVMTQSPSTLSASVGDRVIITCQASQSINIWLSWYQQKPGKAPKLLIYKESTLASGVPSRFSGSGSGT
EFTLTISSLQPDDFATYYCQNNYDSGNNGFPFGQGTKLTVLG

SEQ ID NO. 100: 567max
EIVMTQSPSTLSASVGDRVIITCQADQSIYIWLSWYQQKPGKAPKLLIYKASTLESGVPSRFSGSGSGT
QFTLTISSLQPDDFATYYCQNNAHYSTNGGTFGQGTKLTVLG

SEQ ID NO. 101: 509max
EIVMTQSPSTLSASVGDRVIITCQASQNIRIWLSWYQQKPGKAPKLLIYKASTLESGVPSRFSGSGSGT
EFTLTISSLQPDDFATYYCQNNAHYSTNGGTFGQGTKLTVLG

SEQ ID NO. 102: 511max
EIVMTQSPSTLSASVGDRVIITCQASQSINIWLSWYQQKPGKAPKLLIYRASTLASGVPSRFSGSGSGT
EFTLTISSLQPDDFATYYCQANYAYSAGYGAAFGQGTKLTVLG

[0364]

SEQ ID NO. 103: 578max_Pref subst
EIVMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASEIIHSWLAWYQQRPGKAPKLLISLASTLASGVPSRFSGSGSGT
QFTFTISSLQPEDFAVYYCQNVYLASTNGANFGQGTKVEIKR

SEQ ID NO. 104: 578min VL: E1D
DIVMTQSPSTLSASVGDRVIITCQASEIIHSWLAWYQQKPGKAPKLLIYLASTLASGVPSRFSGSGSGA
EFTLTISSLQPDDFATYYCQNVYLASTNGANFGQGTKLTVLG

SEQ ID NO. 105: 578min VL: I2V
EVVMTQSPSTLSASVGDRVIITCQASEIIHSWLAWYQQKPGKAPKLLIYLASTLASGVPSRFSGSGSG
AEFTLTISSLQPDDFATYYCQNVYLASTNGANFGQGTKLTVLG

SEQ ID NO. 106: 511min VL: C41L
EIVMTQSPSTLSASVGDRVIITCQASQSINIWLSWYQQKPGKAPKLLIYRASTLASGVPSRFSGSGSG
AEFTLTISSLQPDDFATYYCQANYAYSAGYGAAFGQGTKLTVLG

VH 서열**:**
SEQ ID NO. 107: 60-11-4
QSLEESGGDLVKPGASLTLTCTASGFPFSSGYWVCWVRQAPGKGLEWIACIYAGSSGSTYYASWAK
GRFTISKTSSTTVTLQMTSLTAADTATYFCARGNNYYIYTDGGYAYAGLELWGPGILVTVSS

SEQ ID NO. 108: 60-11-6
QSLEESGGDLVKPGASLTLTCTASGFSFSSGYWICWVRQAPGKGLEWIACIYAGSSGSTYYASWAKG
RFTISKTSSTTVTLQMTSLTAADTATYFCARGNNYYIYTDGGYAYAGLELWGPGILVTVSS

SEQ ID NO. 109: 435
QSLEESGGDLVQPGASLTLTCKVSGFSLNTNYWMCWVRQAPGKGLEWIGCMYTGSYNRAYYASW
AKGRFTSSKTSSTTVTLEMTSLTAADTATYFCAKGSNWYSDLWGPGTLVTVSS

SEQ ID NO. 110: 453
QERLVESGGGLVQPEGSLTLTCKASGFSFSRSYYIYWVRQAPGKGLEWIACIDAGSSGILVYANWAK
GRFTISKTSSTTVTLQMTSLTAADTATYFCARGDASYGVDSFMLPLWGPGTLVTVSS

SEQ ID NO. 111: 375
QSLEESGGGLVQPEGSLTLTCKASGFSFTTTDYMCWVRQAPGKGLEWIGCILAGDGSTYYANWAK
GRFTGSKTSSTTVDLKMTGLTAADTATYFCARSDPASSWSFALWGPGTLVTVSS

SEQ ID NO. 112: 610
QSLEESGGRLVTPGTPLTLTCTASGIDFSGAYYMGWVRQAPGKGLEWIGYIDYDGDRYYASWAKG
RFTISKTSTTVDLKITSPTTEDTATYFCARSDYSSGWGTDIWGPGTLVTVSL

[0365] SEQ ID NO. 113: 578

QSVEESGGRLVTPGTPLTLTCTASGFSLTDYYYMTWVRLAPGKGLEYIGFIDPDDDPYYATWAKGRF
TISRTSTTVNLKMTSPTTEDTATYFCAGGDHNSGWGLDIWGPGTLVTVSL

SEQ ID NO. 114: 534
QSLEESGGRLVTPGTPLTLTCTASGFSLSYYYMSWVRQAPGKGLEWIGIIGPGDYTDYASWAKGRFT
ISKTSTTVDLKITSPTTEDTATYFCGRGDDNSGWGEDIWGPGTLVTVSL

SEQ ID NO. 115: 567
QSVEESGGRLVTPGAPLTLTCSVSGFSLSDYYMCWVRQAPGKGLQWIGCLDYFGSTDDASWAKGR
FTISKTSTAVDLKITSPTTEDTATYFCARTDDSRGWGLNIWGPGTLVTVSL

SEQ ID NO. 116: 509
QSLEESGGRLVTPGTPLTLTCTASGFSLSSYYMCWVRQAPGKGLEWIGCLDYVGDTDYASWAKGRF
TISKASTTVDLKITSLTTEDTATYFCARTDDSRGWGLNIWGPGTLVTVSL

SEQ ID NO. 117: 511
QSVEESGGRLVTPGTPLTLTCTVSGFSLNTYYMNWVRQAPGKGLEWIGIIAPDDTTYYASWAKSRST
ITRDTNENTVTLKMTSLTTEDTATYFCARSGDTTAWGADIWGPGTLVTVSL

SEQ ID NO. 118: 60-11-4min
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFPFSSGYWVCWVRQAPGKGLEWVSCIYAGSSGSTYYASW
AKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKGNNYYIYTDGGYAYAGLELWGQGTLVTVSS

SEQ ID NO. 119: 60-11-6min
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSFSSGYWICWVRQAPGKGLEWVSCIYAGSSGSTYYASW
AKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKGNNYYIYTDGGYAYAGLELWGQGTLVTVSS

SEQ ID NO. 120: 435min
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSLNTNYWMCWVRQAPGKGLEWVSCMYTGSYNRAYYA
SWAKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKGSNWYSDLWGQGTLVTVSS

SEQ ID NO. 121: 453min
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSFSRSYYIYWVRQAPGKGLEWVSCIDAGSSGILVYANWA
KGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKGDASYGVDSFMLPLWGQGTLVTVSS

SEQ ID NO. 122: 375min
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSFTTTDYMCWVRQAPGKGLEWVSCILAGDGSTYYANW
AKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKSDPASSWSFALWGQGTLVTVSS

SEQ ID NO. 123: 610min
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGIDFSGAYYMGWVRQAPGKGLEWVSYIDYDGDRYYASWA
KGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKSDYSSGWGTDIWGQGTLVTVSS

[0366] SEQ ID NO. 124: 578min

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSLTDYYYMTWVRQAPGKGLEWVSFIDPDDDPYYATWAK
GRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKGDHNSGWGLDIWGQGTLVTVSS

SEQ ID NO. 125: 534min
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSLSYYYMSWVRQAPGKGLEWVSIIGPGDYTDYASWAKG
RFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKGDDNSGWGEDIWGQGTLVTVSS

SEQ ID NO. 126: 567min
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSLSDYYMCWVRQAPGKGLEWVSCLDYFGSTDDASWAK
GRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKTDDSRGWGLNIWGQGTLVTVSS

SEQ ID NO. 127: 509min
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSLSSYYMCWVRQAPGKGLEWVSCLDYVGDTDYASWAK
GRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKTDDSRGWGLNIWGQGTLVTVSS

SEQ ID NO. 128: 511min
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSLNTYYMNWVRQAPGKGLEWVSIIAPDDTTYYASWAKS
RFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKSGDTTAWGADIWGQGTLVTVSS

SEQ ID NO. 129: 578min_Pref subst
substQVQLVQTGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSLTDYYYMTWVRQAPGKGLEWVSFIDPDDDPYY
ATWAKGRFTISRDNSKNTVYLQMNSLRAEDTALYYCAKGDHNSGWGLDIWGQGTLVTVSS

SEQ ID NO. 130: 60-11-4max
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCTASGFPFSSGYWVCWVRQAPGKGLEWVGCIYAGSSGSTYYASW
AKGRFTISKDTSKNTVYLQMNSLRAEDTAVYYCARGNNYYIYTDGGYAYAGLELWGQGTLVTVSS

SEQ ID NO. 131: 60-11-6max
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCTASGFSFSSGYWICWVRQAPGKGLEWVGCIYAGSSGSTYYASW
AKGRFTISKDTSKNTVYLQMNSLRAEDTAVYYCARGNNYYIYTDGGYAYAGLELWGQGTLVTVSS

SEQ ID NO. 132: 435max
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCKVSGFSLNTNYWMCWVRQAPGKGLEWVGCMYTGSYNRAYYA
SWAKGRFTSSKDTSKNTVYLQMNSLRAEDTAVYYCAKGSNWYSDLWGQGTLVTVSS

SEQ ID NO. 133: 453max
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCKASGFSFSRSYYIYWVRQAPGKGLEWVGCIDAGSSGILVYANWA
KGRFTISKDTSKNTVYLQMNSLRAEDTAVYYCARGDASYGVDSFMLPLWGQGTLVTVSS

SEQ ID NO. 134: 375max
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCKASGFSFTTTDYMCWVRQAPGKGLEWVGCILAGDGSTYYANW
AKGRFTGSKDTSKNTVYLQMNSLRAEDTAVYYCARSDPASSWSFALWGQGTLVTVSS

[0367] SEQ ID NO. 135: 610max

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCTASGIDFSGAYYMGWVRQAPGKGLEWVGYIDYDGDRYYASWA
KGRFTISKDTSKNTVYLQMNSLRAEDTAVYYCARSDYSSGWGTDIWGQGTLVTVSS

SEQ ID NO. 136: 578max
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCTASGFSLTDYYYMTWVRQAPGKGLEWVGFIDPDDDPYYATWA
KGRFTISRDTSKNTVYLQMNSLRAEDTAVYYCAGGDHNSGWGLDIWGQGTLVTVSS

SEQ ID NO. 137: 534max
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCTASGFSLSYYYMSWVRQAPGKGLEWVGIIGPGDYTDYASWAKG
RFTISKDTSKNTVYLQMNSLRAEDTAVYYCARGDDNSGWGEDIWGQGTLVTVSS

SEQ ID NO. 138: 567max
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCSVSGFSLSDYYMCWVRQAPGKGLEWVGCLDYFGSTDDASWAK
GRFTISKDTSKNTVYLQMNSLRAEDTAVYYCARTDDSRGWGLNIWGQGTLVTVSS

SEQ ID NO. 139: 509max
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCTASGFSLSSYYMCWVRQAPGKGLEWVGCLDYVGDTDYASWAK
GRFTISKDASKNTVYLQMNSLRAEDTAVYYCARTDDSRGWGLNIWGQGTLVTVSS

SEQ ID NO. 140: 509maxII
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCTASGFSLSSYYMSWVRQAPGKGLEWVGILDYVGDTDYASWAKG
RFTISKDASKNTVYLQMNSLRAEDTAVYYCARTDDSRGWGLNIWGQGTLVTVSS

SEQ ID NO. 141: 511max
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCTVSGFSLNTYYMNWVRQAPGKGLEWVGIIAPDDTTYYASWAKS
RSTISRDTSKNTVYLQMNSLRAEDTAVYYCARSGDTTAWGADIWGQGTLVTVSS

SEQ ID NO. 142: 578max_Pref subst
substQVQLVQTGGGLVQPGGSLRLSCTASGFSLTDYYYMTWVRQAPGKGLEWVGFIDPDDDPYY
ATWAKGRFTISRDTSKNTVYLQMNSLRAEDTALYYCAGGDHNSGWGLDIWGQGTLVTVSS

SEQ ID NO. 143: 567minDHP
EVQLVESGGGSVQPGGSLRLSCAASGFSLSDYYMCWVRQAPGKGLEWVSCLDYFGSTDDASWAK
GRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTATYYCAKTDDSRGWGLNIWGQGTTVTVSS

SEQ ID NO. 144: 578maxDHP
EVQLVESGGGSVQPGGSLRLSCTASGFSLTDYYYMTWVRQAPGKGLEWVGFIDPDDDPYYATWA
KGRFTISRDTSKNTVYLQMNSLRAEDTATYYCAGGDHNSGWGLDIWGQGTTVTVSS

SEQ ID NO. 145: 511maxDHP
EVQLVESGGGSVQPGGSLRLSCTVSGFSLNTYYMNWVRQAPGKGLEWVGIIAPDDTTYYASWAKS
RSTISRDTSKNTVYLQMNSLRAEDTATYYCARSGDTTAWGADIWGQGTTVTVSS

[0368] SEQ ID NO. 146: 578max_Pref subst_DHP

QVQLVQTGGGSVQPGGSLRLSCTASGFSLTDYYYMTWVRQAPGKGLEWVGFIDPDDDPYYATWA
KGRFTISRDTSKNTVYLQMNSLRAEDTATYYCAGGDHNSGWGLDIWGQGTTVTVSS

SEQ ID NO. 147: 578max VH: E1_
VQLVESGGGLVQPGGSLRLSCTASGFSLTDYYYMTWVRQAPGKGLEWVGFIDPDDDPYYATWAK
GRFTISRDTSKNTVYLQMNSLRAEDTAVYYCAGGDHNSGWGLDIWGQGTLVTVSS

SEQ ID NO. 148: 578max VH: V2Q
EQQLVESGGGLVQPGGSLRLSCTASGFSLTDYYYMTWVRQAPGKGLEWVGFIDPDDDPYYATWA
KGRFTISRDTSKNTVYLQMNSLRAEDTAVYYCAGGDHNSGWGLDIWGQGTLVTVSS

SEQ ID NO. 149: 578max VH: Q46L
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCTASGFSLTDYYYMTWVRLAPGKGLEWVGFIDPDDDPYYATWAK
GRFTISRDTSKNTVYLQMNSLRAEDTAVYYCAGGDHNSGWGLDIWGQGTLVTVSS

SEQ ID NO. 150: 578max VH: W54Y
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCTASGFSLTDYYYMTWVRQAPGKGLEYVGFIDPDDDPYYATWAK
GRFTISRDTSKNTVYLQMNSLRAEDTAVYYCAGGDHNSGWGLDIWGQGTLVTVSS

SEQ ID NO. 151: 578max VH: V55I
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCTASGFSLTDYYYMTWVRQAPGKGLEWIGFIDPDDDPYYATWAK
GRFTISRDTSKNTVYLQMNSLRAEDTAVYYCAGGDHNSGWGLDIWGQGTLVTVSS

SEQ ID NO. 152: 578max VH: D83A
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCTASGFSLTDYYYMTWVRQAPGKGLEWVGFIDPDDDPYYATWA
KGRFTISRATSKNTVYLQMNSLRAEDTAVYYCAGGDHNSGWGLDIWGQGTLVTVSS

SEQ ID NO. 153: 578max VH: N87A
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCTASGFSLTDYYYMTWVRQAPGKGLEWVGFIDPDDDPYYATWA
KGRFTISRDTSKATVYLQMNSLRAEDTAVYYCAGGDHNSGWGLDIWGQGTLVTVSS

SEQ ID NO. 154: 578max VH: Y105F
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCTASGFSLTDYYYMTWVRQAPGKGLEWVGFIDPDDDPYYATWA
KGRFTISRDTSKNTVYLQMNSLRAEDTAVYFCAGGDHNSGWGLDIWGQGTLVTVSS

SEQ ID NO. 155: 578max VH: D83_
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCTASGFSLTDYYYMTWVRQAPGKGLEWVGFIDPDDDPYYATWA
KGRFTISRTSKNTVYLQMNSLRAEDTAVYYCAGGDHNSGWGLDIWGQGTLVTVSS

SEQ ID NO. 156: 578max VH: N87_
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCTASGFSLTDYYYMTWVRQAPGKGLEWVGFIDPDDDPYYATWA
KGRFTISRDTSKTVYLQMNSLRAEDTAVYYCAGGDHNSGWGLDIWGQGTLVTVSS

[0369] SEQ ID NO. 157: 578max VH: T84N

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCTASGFSLTDYYYMTWVRQAPGKGLEWVGFIDPDDDPYYATWA
KGRFTISRDNSKNTVYLQMNSLRAEDTAVYYCAGGDHNSGWGLDIWGQGTLVTVSS

SEQ ID NO. 158: 578max VH: V89L
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCTASGFSLTDYYYMTWVRQAPGKGLEWVGFIDPDDDPYYATWA
KGRFTISRDTSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAGGDHNSGWGLDIWGQGTLVTVSS

SEQ ID NO. 159: 578max VH: V89A
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCTASGFSLTDYYYMTWVRQAPGKGLEWVGFIDPDDDPYYATWA
KGRFTISRDTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAGGDHNSGWGLDIWGQGTLVTVSS

SEQ ID NO. 160: 578maxDHP VH: T84N
EVQLVESGGGSVQPGGSLRLSCTASGFSLTDYYYMTWVRQAPGKGLEWVGFIDPDDDPYYATWA
KGRFTISRDNSKNTVYLQMNSLRAEDTATYYCAGGDHNSGWGLDIWGQGTTVTVSS

SEQ ID NO. 161: 578maxDHP VH: V89L
EVQLVESGGGSVQPGGSLRLSCTASGFSLTDYYYMTWVRQAPGKGLEWVGFIDPDDDPYYATWA
KGRFTISRDTSKNTLYLQMNSLRAEDTATYYCAGGDHNSGWGLDIWGQGTTVTVSS

SEQ ID NO. 162: 578maxDHP VH: V89A
EVQLVESGGGSVQPGGSLRLSCTASGFSLTDYYYMTWVRQAPGKGLEWVGFIDPDDDPYYATWA
KGRFTISRDTSKNTAYLQMNSLRAEDTATYYCAGGDHNSGWGLDIWGQGTTVTVSS

SEQ ID NO. 163: 578max VH:T84N, V89A
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCTASGFSLTDYYYMTWVRQAPGKGLEWVGFIDPDDDPYYATWA
KGRFTISRDNSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAGGDHNSGWGLDIWGQGTLVTVSS

SEQ ID NO. 164: 578max VH:T84N, V89L
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCTASGFSLTDYYYMTWVRQAPGKGLEWVGFIDPDDDPYYATWA
KGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAGGDHNSGWGLDIWGQGTLVTVSS

SEQ ID NO. 165: 578maxDHP VH: T84N, V89A
EVQLVESGGGSVQPGGSLRLSCTASGFSLTDYYYMTWVRQAPGKGLEWVGFIDPDDDPYYATWA
KGRFTISRDNSKNTAYLQMNSLRAEDTATYYCAGGDHNSGWGLDIWGQGTTVTVSS

SEQ ID NO. 166: 578maxDHP VH: T84N, V89L
EVQLVESGGGSVQPGGSLRLSCTASGFSLTDYYYMTWVRQAPGKGLEWVGFIDPDDDPYYATWA
KGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTATYYCAGGDHNSGWGLDIWGQGTTVTVSS

[0370]

[0371] 프레임워크 서열(X 잔기는 CDR 삽입 부위이며 자연적으로 발생하는 아미노산이다. 3개 이상 50개 이하의 아미노산이 존재할 수 있다):

SEQ ID NO. 167: Variable light chain FW1.4 and rFW1.4
EIVMTQSPSTLSASVGDRVIITC$(X)_{n=3-50}$ WYQQKPGKAPKLLIY$(X)_{n=3-50}$
GVPSRFSGSGSGAEFTLTISSLQPDDFATYYC$(X)_{n=3-50}$ FGQGTKLT VLG

SEQ ID NO. 168: Variable light chain rFW1.4 variant 2 (v2)
EIVMTQSPSTLSASVGDRVIITC$(X)_{n=3-50}$ WYQQKPGKAPKLLIY$(X)_{n=3-50}$
GVPSRFSGSGSGAEFTLTISSLQPDDFATYYC$(X)_{n=3-50}$ FGQGTKLT VLG

SEQ ID NO. 169: Variable heavy chain FW1.4
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS$(X)_{n=3-50}$ WVRQAPGKGLEWVS $(X)_{n=3-50}$
RFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAK$(X)_{n=3-50}$ WGQGTL VTVSS

SEQ ID NO. 170: Variable heavy chain rFW1.4
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCTAS$(X)_{n=3-50}$ WVRQAPGKGLEWVG$(X)_{n=3-50}$
RFTISRDTSKNTVYLQMNSLRAEDTAVYYCAR$(X)_{n=3-50}$ WGQGTLV TVS

SEQ ID NO. 171: Variable heavy chain rFW1.4 variant 2 (v2)
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCTVS$(X)_{n=3-50}$ WVRQAPGKGLEWVG$(X)_{n=3-50}$
RFTISKDTSKNTVYLQMNSLRAEDTAVYYCAR$(X)_{n=3-50}$ WGQGTLVTVSS

ScFv 프레임워크 서열:

SEQ ID NO. 172: FW1.4
EIVMTQSPSTLSASVGDRVIITC$(X)_{n=3-50}$ WYQQKPGKAPKLLIY$(X)_{n=3-50}$
GVPSRFSGSGSGAEFTLTISSLQPDDFATYYC$(X)_{n=3-50}$ FGQGTKLTVLG
GGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS$(X)_{n=3-50}$
WVRQAPGKGLEWVS$(X)_{n=3-50}$ RFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTA VYYCAK$(X)_{n=3-50}$
WGQGTLVTVSS

SEQ ID NO. 173: rFW1.4
EIVMTQSPSTLSASVGDRVIITC$(X)_{n=3-50}$ WYQQKPGKAPKLLIY$(X)_{n=3-50}$
GVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPDDFATYYC$(X)_{n=3-50}$ FGQGTKLTVLG
GGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCTAS$(X)_{n=3-50}$
WVRQAPGKGLEWVG$(X)_{n=3-50}$ RFTISRDTSKNTVYLQMNS LRAEDTAVYYCAR$(X)_{n=3-50}$
WGQGTLVTVSS

SEQ ID NO. 174: rFW1.4 variant 2 (v2)
EIVMTQSPSTLSASVGDRVIITC$(X)_{n=3-50}$ WYQQKPGKAPKLLIY$(X)_{n=3-50}$
GVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPDDFATYYC$(X)_{n=3-50}$ FGQGTKLTVLG
GGGGSGGGGSGGGGSGGGGS EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCTVS$(X)_{n=3-50}$
WVRQAPGKGLEWVG$(X)_{n=3-50}$ RFTISKDTSKNTVYLQMNSLR AEDTAVYYCAR$(X)_{n=3-50}$
WGQGTLVTVSS

[0372]

ScFv 안티-VEGF 서열:

SEQ ID NO. 175: 435_max
EIVMTQSPSTLSASVGDRVIITCQASQSIGSSLAWYQQKPGKAPKLLIYTAANLASGVPSRFSGSRSG
AEFTLTISSLQPDDFATYYCQNFATSDTVTFGQGTKLTVLGGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQL
VESGGGLVQPGGSLRLSCKASGFSLNTNYWMCWVRQAPGKGLEWVGCMYTGSYNRAYYASWA
KGRFTSSKDTSKNTVYLQMNSLRAEDTAVYYCAKGSNWYSDLWGQGTLVTVSS

SEQ ID NO. 176: 511_max
EIVMTQSPSTLSASVGDRVIITCQASQSINIWLSWYQQKPGKAPKLLIYRASTLASGVPSRFSGSGSGT
EFTLTISSLQPDDFATYYCQANYAYSAGYGAAFGQGTKLTVLGGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEV
QLVESGGGLVQPGGSLRLSCTVSGFSLNTYYMNWVRQAPGKGLEWVGIIAPDDTTYYASWAKSRS
TISRDTSKNTVYLQMNSLRAEDTAVYYCARSGDTTAWGADIWGQGTLVTVSS

SEQ ID NO. 177: 567_min
EIVMTQSPSTLSASVGDRVIITCQADQSIYIWLSWYQQKPGKAPKLLIYKASTLESGVPSRFSGSGSGA
EFTLTISSLQPDDFATYYCQNNAHYSTNGGTFGQGTKLTVLGGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQ
LVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSLSDYYMCWVRQAPGKGLEWVSCLDYFGSTDDASWAKGRFT
ISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKTDDSRGWGLNIWGQGTLVTVSS

SEQ ID NO. 178: 578min
EIVMTQSPSTLSASVGDRVIITCQASEIIHSWLAWYQQKPGKAPKLLIYLASTLASGVPSRFSGSGSGA
EFTLTISSLQPDDFATYYCQNVYLASTNGANFGQGTKLTVLGGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQ
LVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSLTDYYYMTWVRQAPGKGLEWVSFIDPDDDPYYATWAKGRF
TISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKGDHNSGWGLDIWGQGTLVTVSS

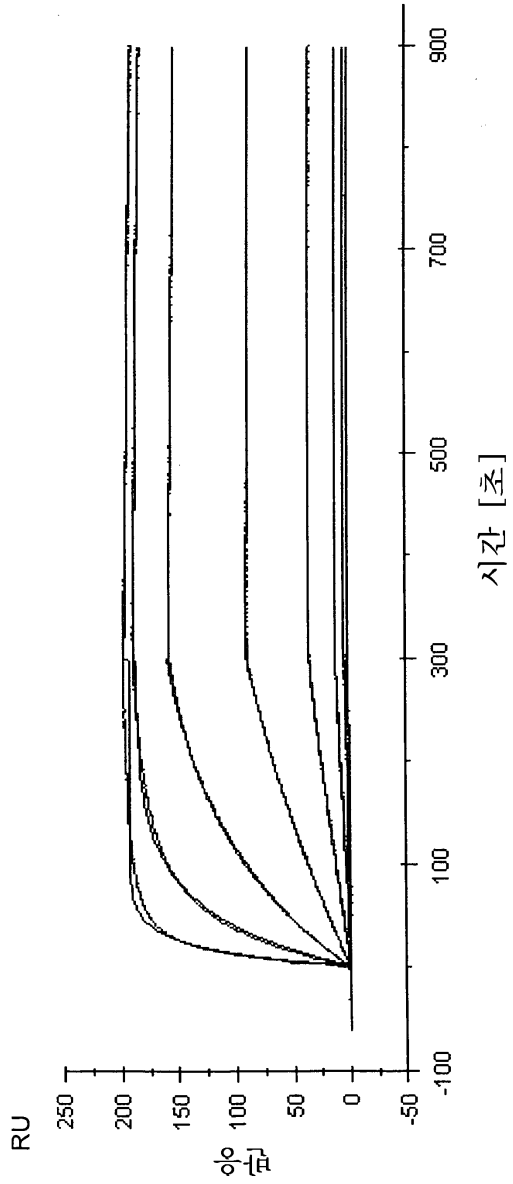
SEQ ID NO. 179: 578max
EIVMTQSPSTLSASVGDRVIITCQASEIIHSWLAWYQQKPGKAPKLLIYLASTLASGVPSRFSGSGSGT
QFTLTISSLQPDDFATYYCQNVYLASTNGANFGQGTKLTVLGGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQ
LVESGGGLVQPGGSLRLSCTASGFSLTDYYYMTWVRQAPGKGLEWVGFIDPDDDPYYATWAKGRF
TISRDTSKNTVYLQMNSLRAEDTAVYYCAGGDHNSGWGLDIWGQGTLVTVSS

SEQ ID NO. 180: 578minmax (ESBA903)
EIVMTQSPSTLSASVGDRVIITCQASEIIHSWLAWYQQKPGKAPKLLIYLASTLASGVPSRFSGSGSGA
EFTLTISSLQPDDFATYYCQNVYLASTNGANFGQGTKLTVLGGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQ
LVESGGGLVQPGGSLRLSCTASGFSLTDYYYMTWVRQAPGKGLEWVGFIDPDDDPYYATWAKGRF
TISRDTSKNTVYLQMNSLRAEDTAVYYCAGGDHNSGWGLDIWGQGTLVTVSS

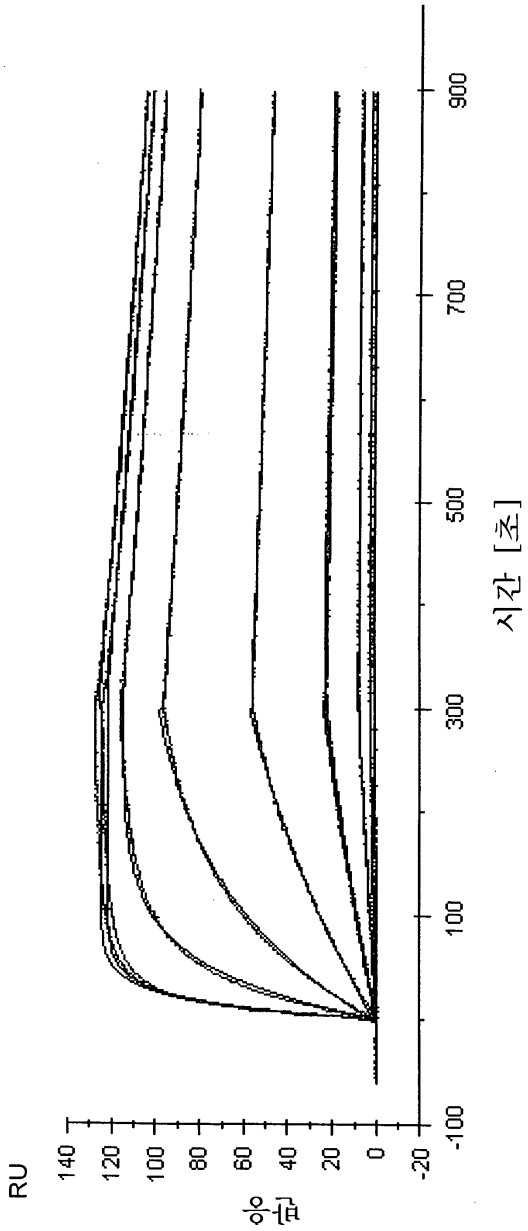
SEQ ID No. 181 linker
[0373] GGGGSGGGGSGGGGSGGGGS

도면

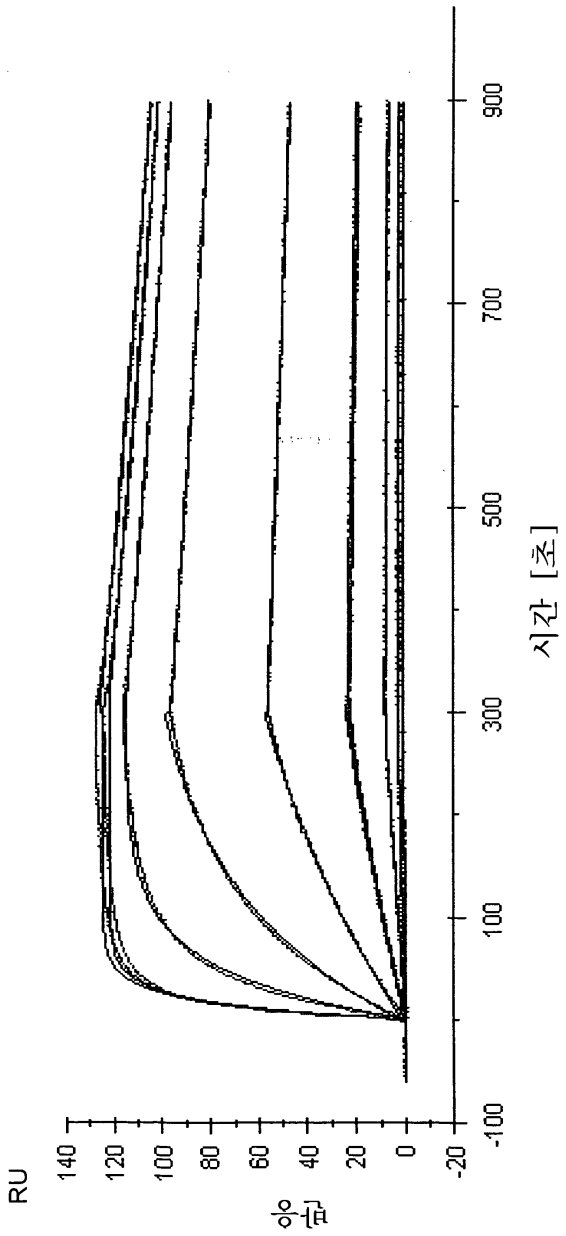
도면1a



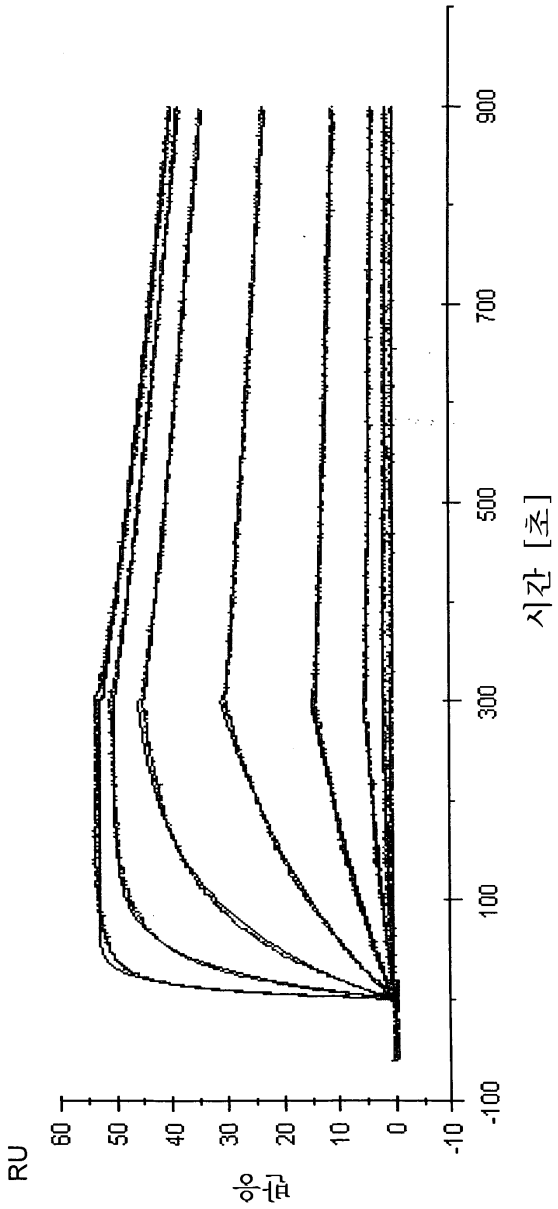
도면1b



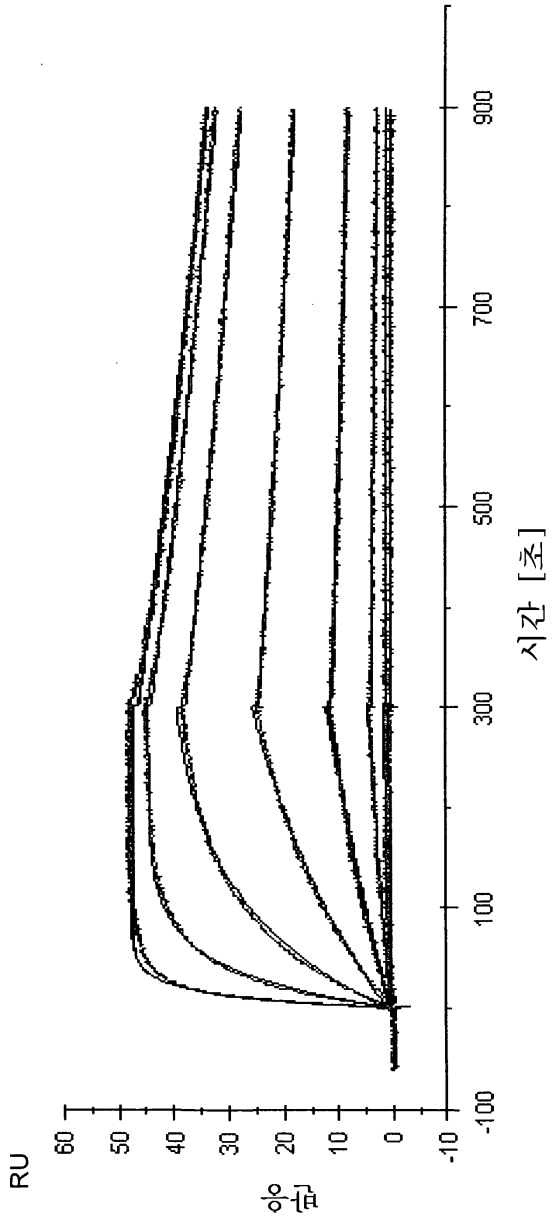
도면2a



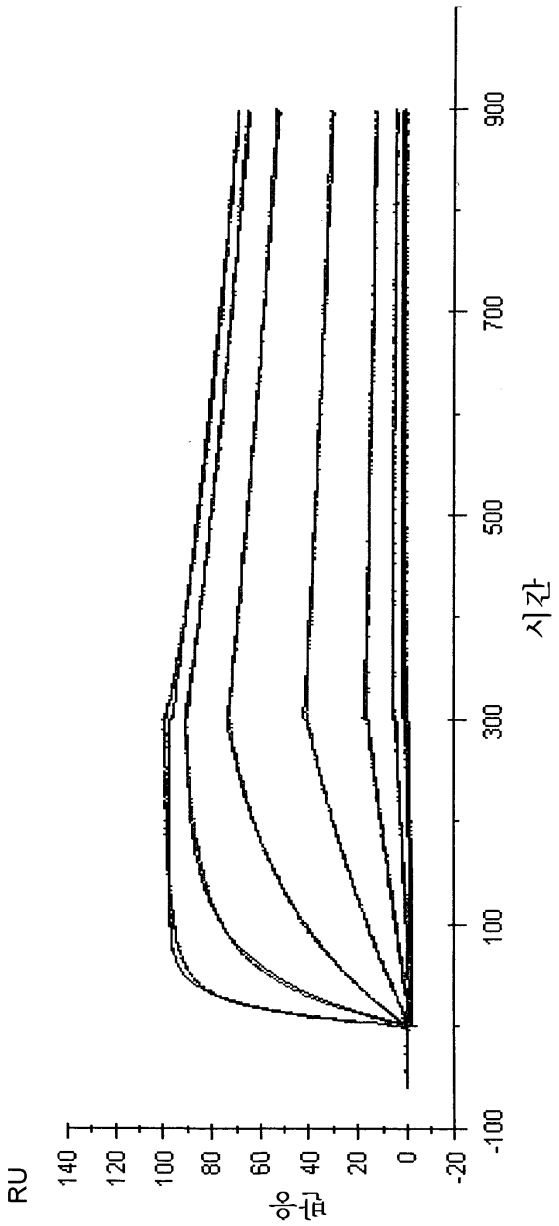
도면2b



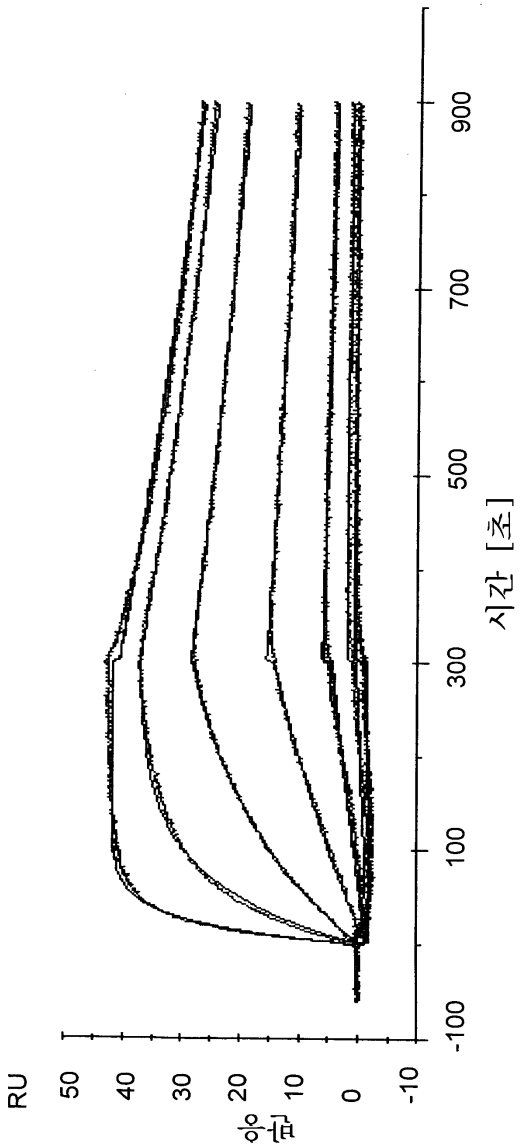
도면2c



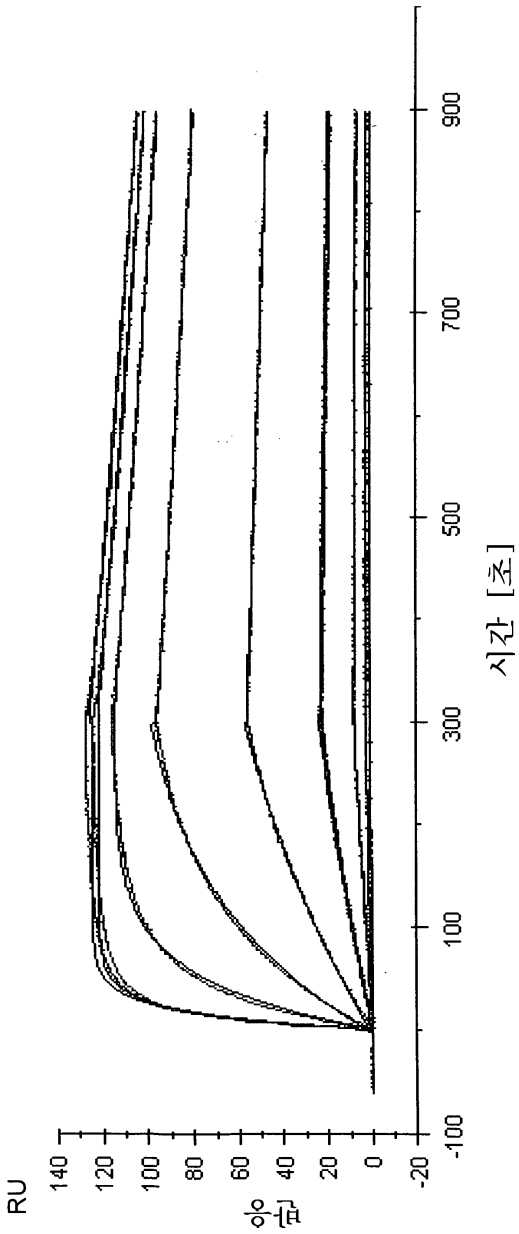
도면3a



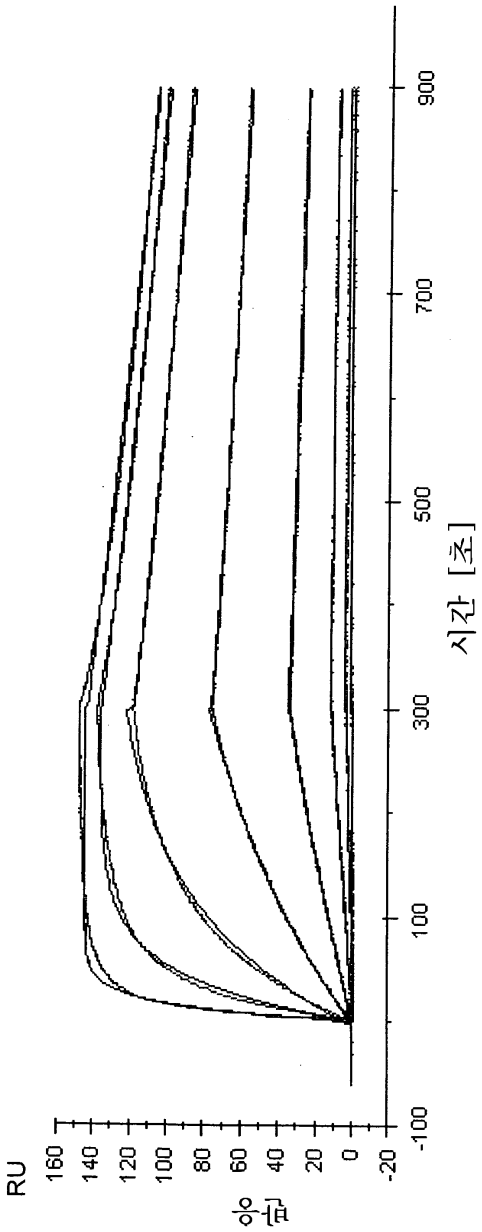
도면3b



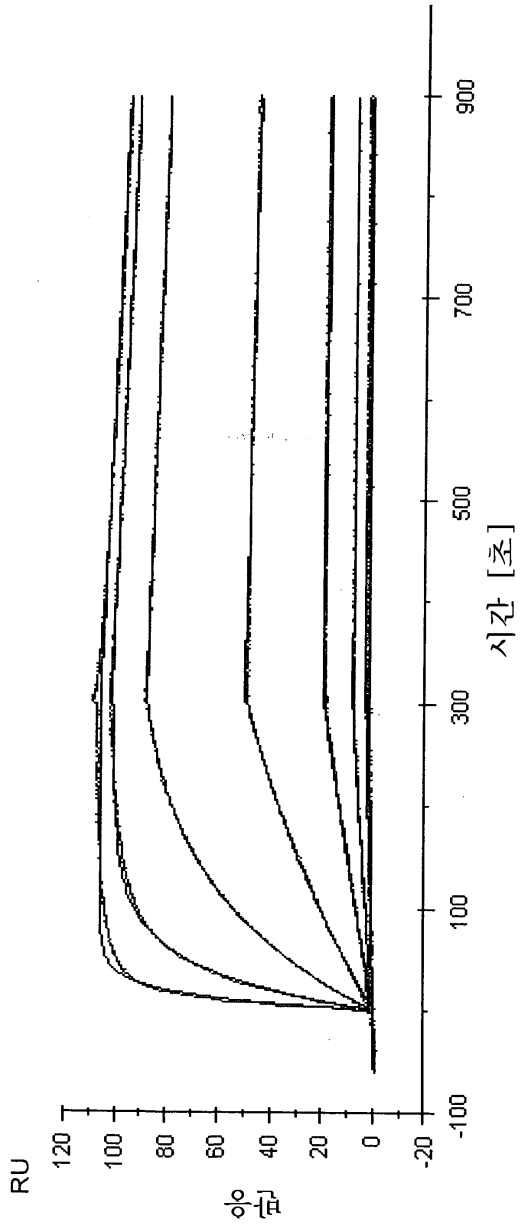
도면4a



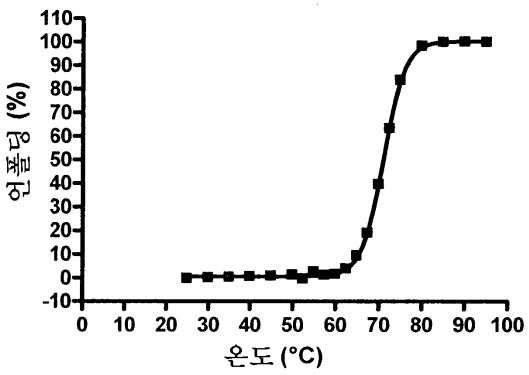
도면4b



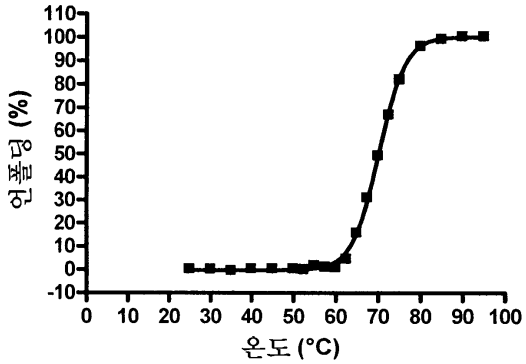
도면4c


RU
120
100
80
60
40
20
0
-20
응답
-100
100
300
500
700
900
시간 [초]

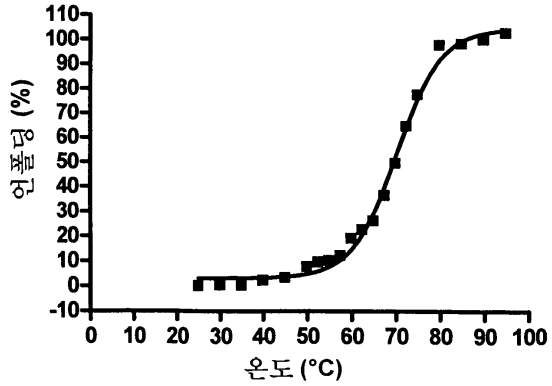
도면5a


언폴딩 (%)
110
100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0
-10
0
10
20
30
40
50
60
70
80
90
100
온도 (°C)

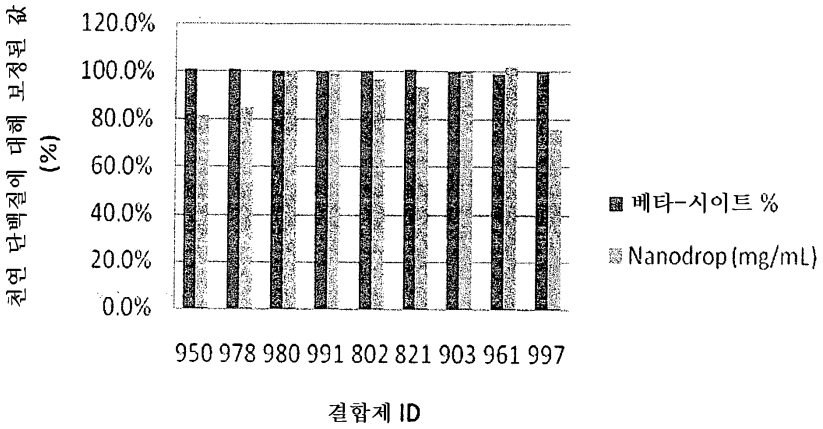
도면5b



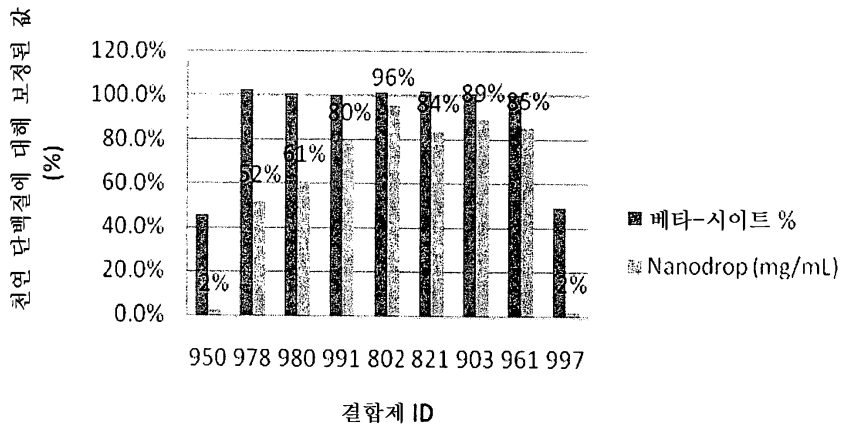
도면5c



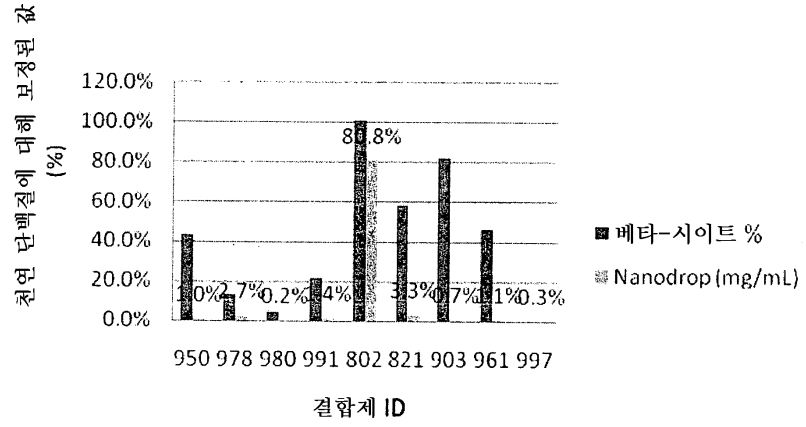
도면6a



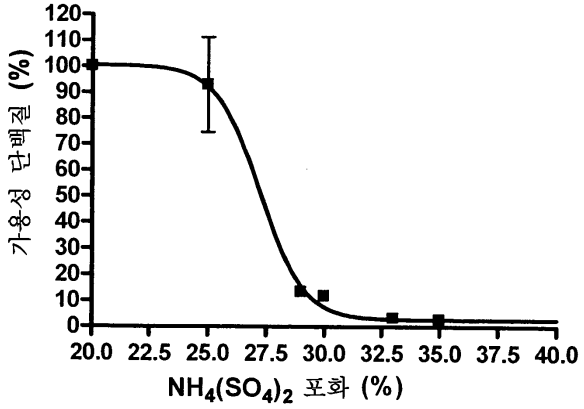
도면6b



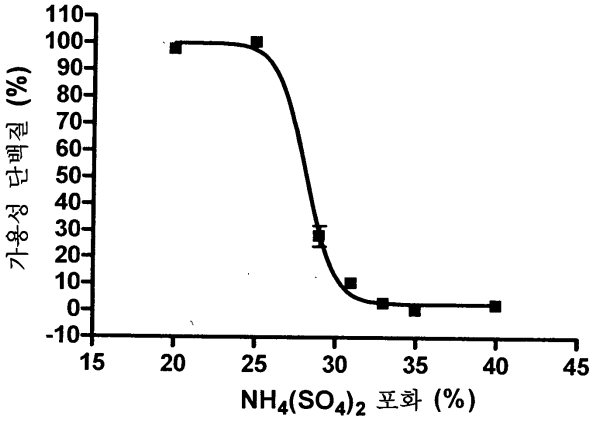
도면6c



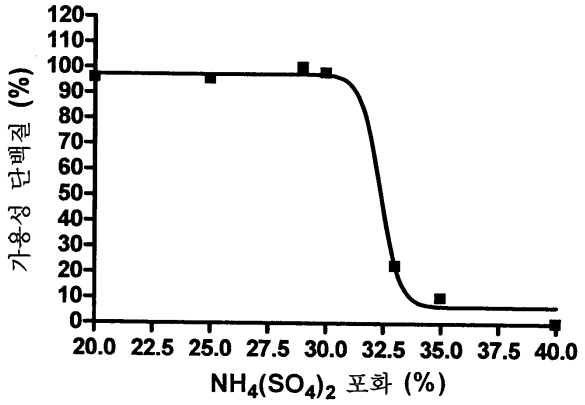
도면7a



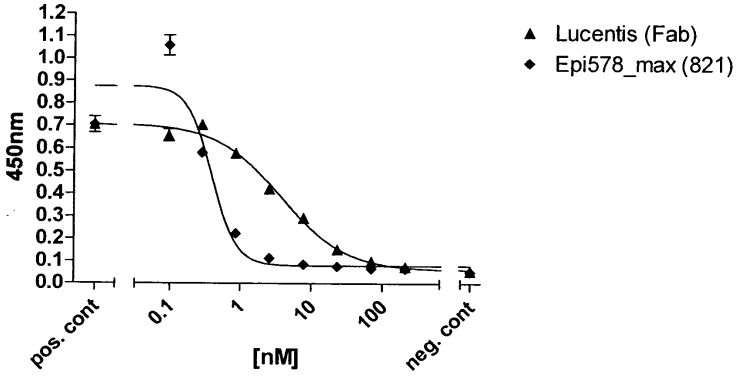
도면7b



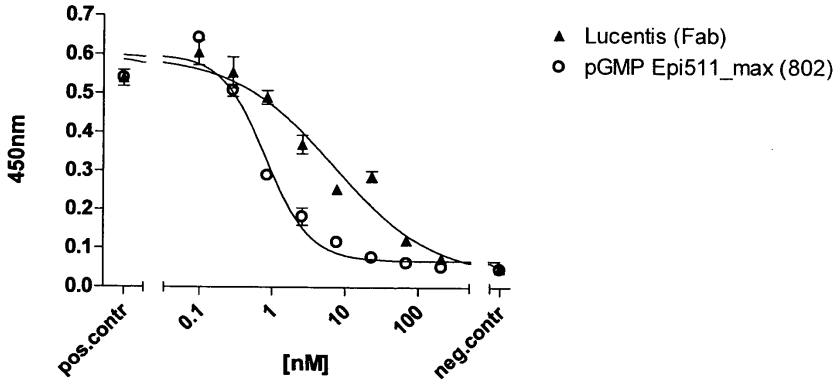
도면7c



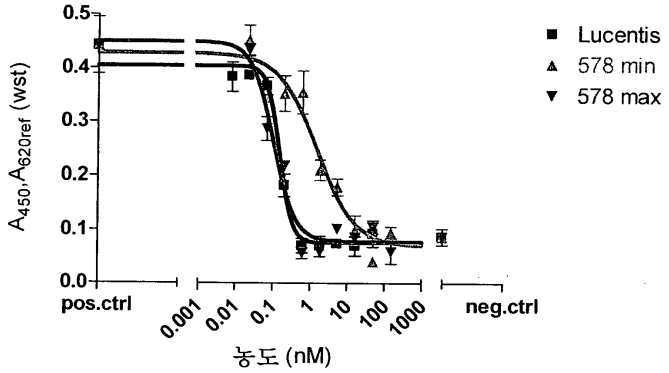
도면8a



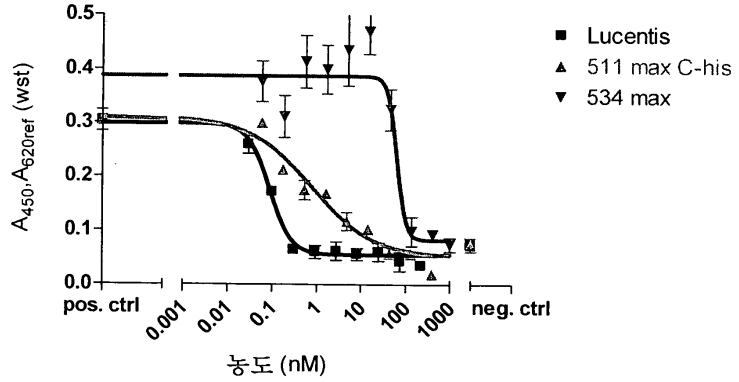
도면8b



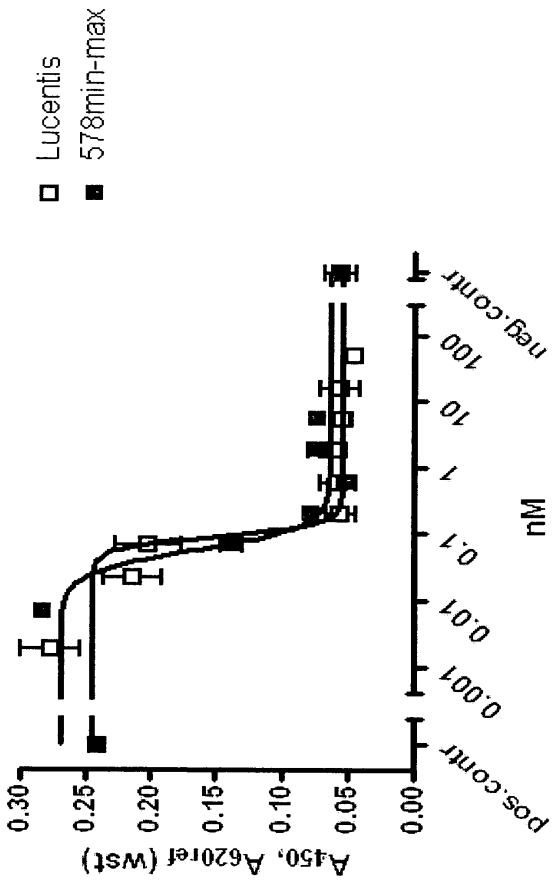
도면8c



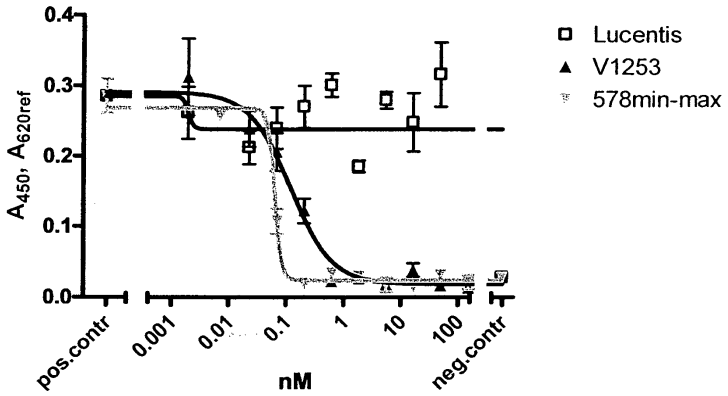
도면8d



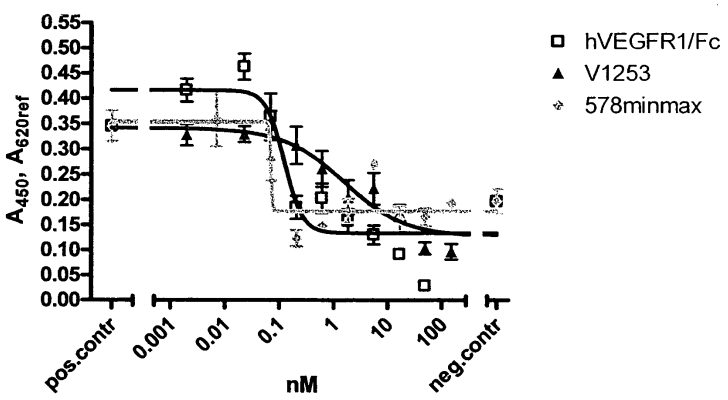
도면9


Lucentis
578min-max
A450, A620ref (wst)
0.30
0.25
0.20
0.15
0.10
0.05
0.00
pos.contr
0.001
0.01
0.1
1
10
100
neg.contr
nM

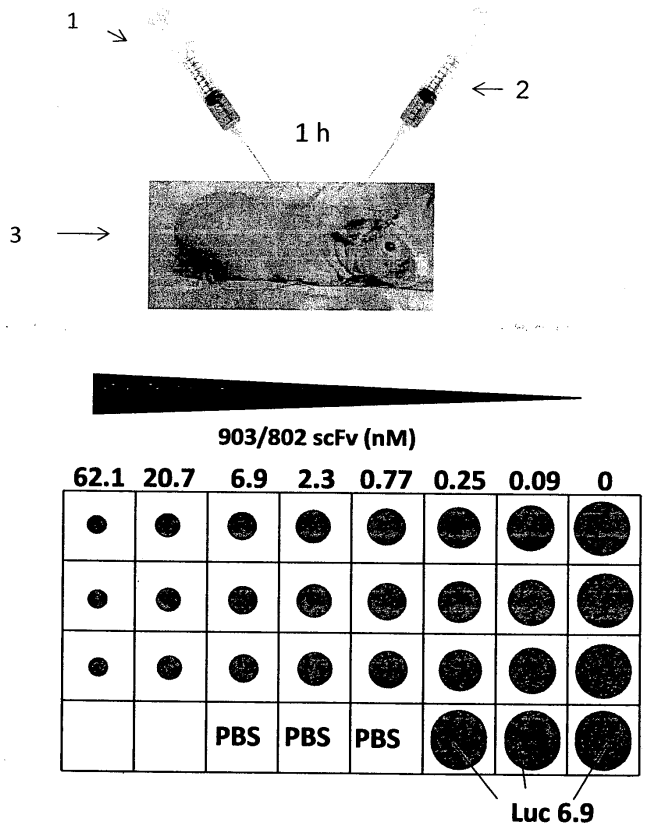
도면10a


Lucentis
V1253
578min-max
A450, A620ref
0.4
0.3
0.2
0.1
0.0
pos.contr
0.001
0.01
0.1
1
10
100
neg.contr
nM

도면10b

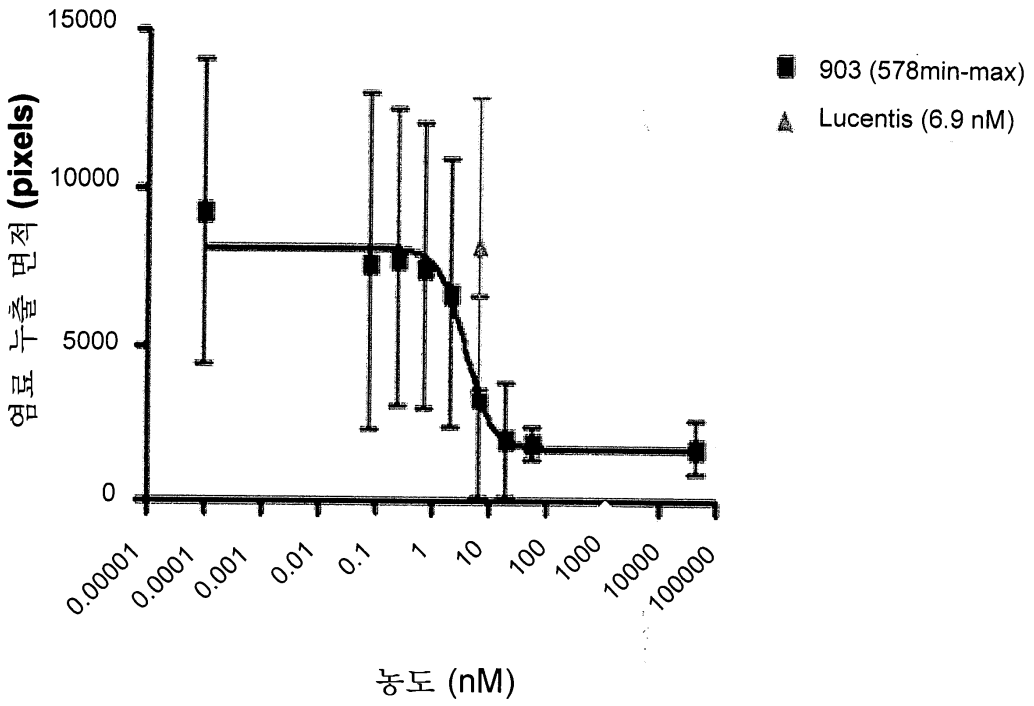


도면11

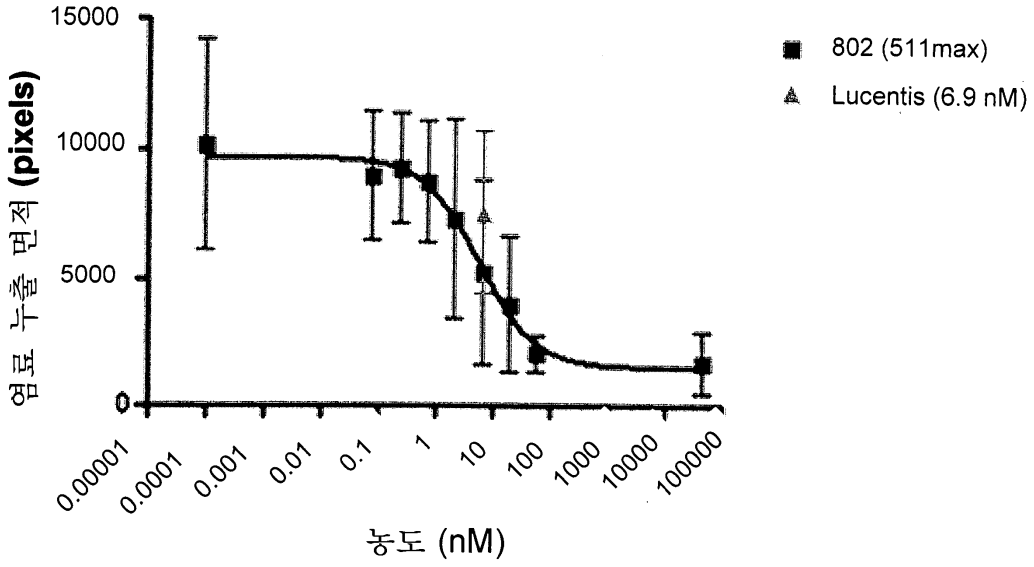


피부에 현관 누출

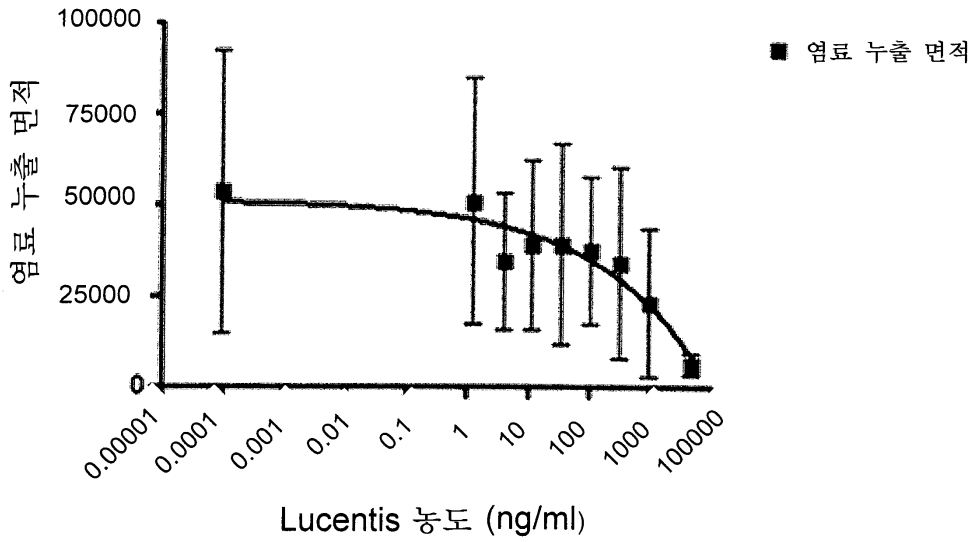
도면12a


15000
10000
5000
0
염료 누출 면적 (pixels)
0.00001
0.0001
0.001
0.01
0.1
1
10
100
1000
10000
100000
농도 (nM)
903 (578min-max)
Lucentis (6.9 nM)

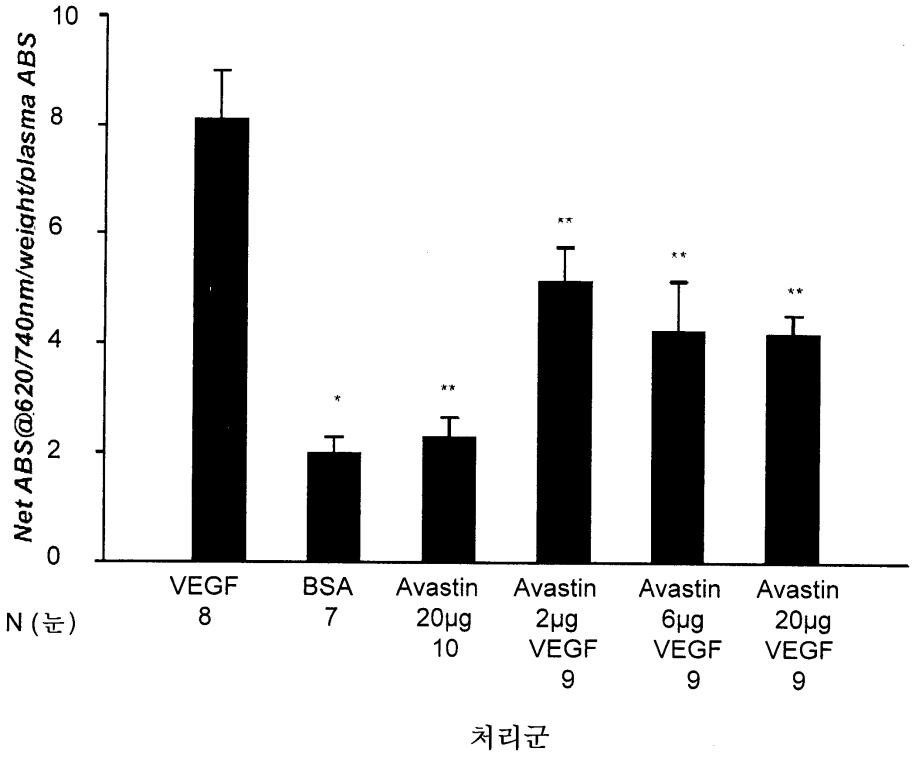
도면12b


15000
10000
5000
0
염료 누출 면적 (pixels)
0.00001
0.0001
0.001
0.01
0.1
1
10
100
1000
10000
100000
농도 (nM)
802 (511max)
Lucentis (6.9 nM)

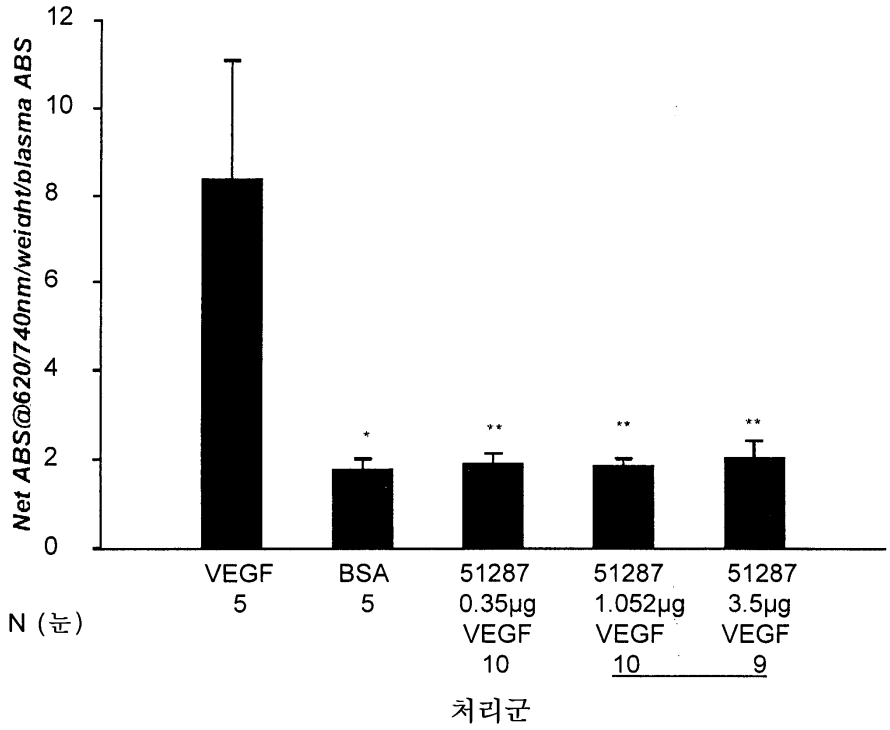
도면12c


염료 누출 면적
100000
75000
50000
25000
0
0.00001
0.0001
0.001
0.01
0.1
1
10
100
1000
100000
Lucentis 농도 (ng/ml)
염료 누출 면적

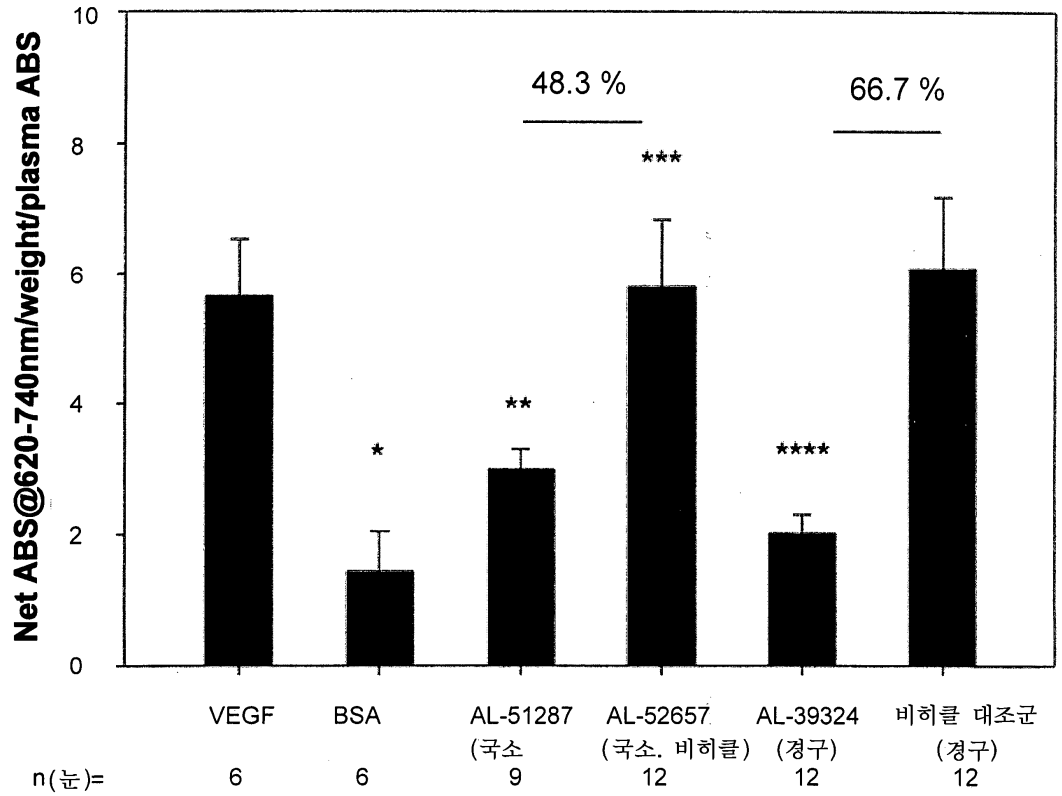
도면13a


Net ABS@620/740nm/weight/plasma ABS
10
8
6
4
2
0
*
**
**
**
**
N (눈)
VEGF 8
BSA 7
Avastin 20μg 10
Avastin 2μg VEGF 9
Avastin 6μg VEGF 9
Avastin 20μg VEGF 9
처리군

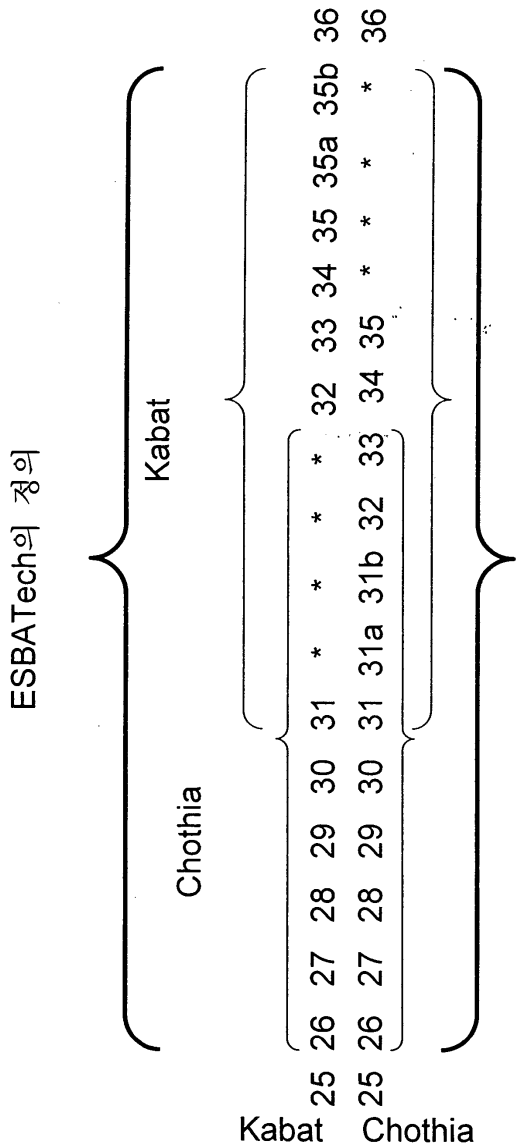
도면13b


Net ABS@620/740nm/weight/plasma ABS
12
10
8
6
4
2
0
*
**
**
**
VEGF
5
BSA
5
51287
0.35μg
VEGF
10
51287
1.052μg
VEGF
10
51287
3.5μg
VEGF
9
N (눈)
처리군

도면14


Net ABS@620-740nm/weight/plasma ABS
10
8
6
4
2
0
48.3 %
66.7 %
***
**
*
****
VEGF
BSA
AL-51287
(국소
AL-52657
(국소. 비히클)
AL-39324
(경구)
비히클 대조군
(경구)
n(눈)=
6
6
9
12
12
12

도면15



서 열 목 록

SEQUENCE LISTING

<110> ESBATEch AG

<120> Stable and soluble antibodies inhibiting VEGF

<130> VEGF binders

<140> Us61/133,212

<141> 2008-06-25

<160> 180

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 1

Lys Phe Met Asp Val Tyr Gln Arg Ser Tyr Cys

1 5 10

<210> 2

<211> 11

<212> PRT

<213> Unknown

<220><223> CDR stemming from rabbit antibody

<400> 2

Gly Phe Pro Phe Ser Ser Gly Tyr Trp Val Cys

1 5 10

<210> 3

<211> 11

<212> PRT

<213> Unknown

<220><223> CDR stemming from rabbit antibody

<400> 3

Gly Phe Ser Phe Ser Ser Gly Tyr Trp Ile Cys

1 5 10

<210> 4

<211> 11

<212> PRT

<213> Unknown

<220><223> CDR stemming from rabbit antibody

<400> 4

Gly Phe Ser Leu Asn Thr Asn Tyr Trp Met Cys

1 5 10

<210> 5

<211> 11

<212> PRT

<213> Unknown

<220

><223> CDR stemming from rabbit antibody

<400> 5

Gly Phe Ser Phe Ser Arg Ser Tyr Tyr Ile Tyr

1 5 10

<210> 6

<211> 11

<212> PRT

<213> Unknown

<220><223> CDR stemming from rabbit antibody

<400> 6

Gly Phe Ser Phe Thr Thr Thr Asp Tyr Met Cys

1 5 10

<210> 7

<211> 11

<212> PRT

<213> Unknown

<220><223> CDR stemming from rabbit antibody

<400> 7

Gly Ile Asp Phe Ser Gly Ala Tyr Tyr Met Gly

1 5 10

<210> 8

<211> 11

<212> PRT

<213> Unknown

<220><223> CDR stemming from rabbit antibody

<400> 8

Gly Phe Ser Leu Thr Asp Tyr Tyr Tyr Met Thr

1 5 10

<210> 9

<211> 10

<212> PRT

<213> Unknown

<220><223> CDR stemming from rabbit antibody

<400> 9

Gly Phe Ser Leu Ser Tyr Tyr Tyr Met Ser

1 5 10

<210> 10

<211> 10

<212> PRT

<213> Unknown

<220><223> CDR stemming from rabbit antibody

<400> 10

Gly Phe Ser Leu Ser Asp Tyr Tyr Met Cys

1 5 10

<210> 11

<211> 10

<212> PRT

<213> Unknown

<220><223> CDR stemming from rabbit antibody

<400> 11

Gly Phe Ser Leu Ser Ser Tyr Tyr Met Cys

1 5 10

<210> 12

<211> 10

<212> PRT

<213> Unknown

<220><223> CDR stemming from rabbit antibody

<400> 12

Gly Phe Ser Leu Asn Thr Tyr Tyr Met Asn

1 5 10

<210> 13

<211> 10

<212> PRT

<213> Unknown

<220><223> CDR stemming from rabbit antibody

<400> 13

Gly Phe Ser Leu Ser Ser Tyr Tyr Met Ser

1 5 10

<210> 14

<211> 11

<212> PRT

<213> Unknown

<220><223> CDR stemming from rabbit antibody

<400> 14

Gly Phe Ser Leu Ser Ser Gly Tyr Tyr Met Cys

1 5 10

<210> 15

<211> 18

<212> PRT

<213> Unknown

<220><223> CDR stemming from rabbit antibody

<400> 15

Cys Ile Tyr Ala Gly Ser Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala

1 5 10 15

Lys Gly

<210> 16

<211> 18

<212> PRT

<213> Unknown

<220><223> CDR stemming from rabbit antibody

<400> 16

Cys Met Tyr Thr Gly Ser Tyr Asn Arg Ala Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala

1 5 10 15

Lys Gly

<210> 17

<211> 18

<212> PRT

<213> Unknown

<220><223> CDR stemming from rabbit antibody

<400> 17

Cys Ile Asp Ala Gly Ser Ser Gly Ile Leu Val Tyr Ala Asn Trp Ala

1 5 10 15

Lys Gly

<210> 18

<211> 17

<212> PRT

<213> Unknown

<220><223> CDR stemming from rabbit antibody

<400> 18

Cys Ile Leu Ala Gly Asp Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asn Trp Ala Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 19

<211> 16

<212> PRT

<213> Unknown

<220><223> CDR stemming from rabbit antibody

<400> 19

Tyr Ile Asp Tyr Asp Gly Asp Arg Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala Lys Gly

1 5 10 15

<210> 20

<211> 16

<212> PRT

<213> Unknown

<220><223> CDR stemming from rabbit antibody

<400> 20

Phe Ile Asp Pro Asp Asp Asp Pro Tyr Tyr Ala Thr Trp Ala Lys Gly

1 5 10 15

<210> 21

<211> 16

<212> PRT

<213> Unknown

<220><223> CDR stemming from rabbit antibody

<400> 21

Ile Ile Gly Pro Gly Asp Tyr Thr Asp Tyr Ala Ser Trp Ala Lys Gly

1 5 10 15

<210> 22

<211> 16

<212> PRT

<213> Unknown

<220><223> CDR stemming from rabbit antibody

<400> 22

Cys Leu Asp Tyr Phe Gly Ser Thr Asp Asp Ala Ser Trp Ala Lys Gly

1 5 10 15

<210> 23

<211> 16

<212> PRT

<213> artifical sequence

<400> 23

Cys Leu Asp Tyr Val Gly Asp Thr Asp Tyr Ala Ser Trp Ala Lys Gly

1 5 10 15

<210> 24

<211> 16

<212> PRT

<213> Unknown

<220

><223> CDR stemming from rabbit antibody

<400> 24

Ile Ile Ala Pro Asp Asp Thr Thr Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala Lys Ser

1 5 10 15

<210> 25

<211> 16

<212> PRT

<213> Unknown

<220><223> CDR stemming from rabbit antibody

<400> 25

Ile Leu Asp Tyr Val Gly Asp Thr Asp Tyr Ala Ser Trp Ala Lys Gly

1 5 10 15

<210> 26

<211> 18

<212> PRT

<213> Unknown

<220><223> CDR stemming from rabbit antibody

<400> 26

Cys Ile Asp Ala Gly Ser Asp Gly Asp Thr Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala

1 5 10 15

Lys Gly

<210> 27

<211> 19

<212> PRT

<213> Unknown

<220><223> CDR stemming from rabbit antibody

<400> 27

Gly Asn Asn Tyr Tyr Ile Tyr Thr Asp Gly Gly Tyr Ala Tyr Ala Gly

1 5 10 15

Leu Glu Leu

<210> 28

<211> 8

<212> PRT

<213> Unknown

<220><223> CDR stemming from rabbit antibody

<400> 28

Gly Ser Asn Trp Tyr Ser Asp Leu

1 5

<210> 29

<211> 14

<212> PRT

<213> Unknown

<220><223> CDR stemming from rabbit antibody

<400> 29

Gly Asp Ala Ser Tyr Gly Val Asp Ser Phe Met Leu Pro Leu

1 5 10

<210> 30

<211> 11

<212> PRT

<213> Unknown

<220><223> CDR stemming from rabbit antibody

<400> 30

Ser Asp Pro Ala Ser Ser Trp Ser Phe Ala Leu

1 5 10

<210> 31

<211> 11

<212> PRT

<213> Unknown

<220><223> CDR stemming from rabbit antibody

<400> 31

Ser Asp Tyr Ser Ser Gly Trp Gly Thr Asp Ile

1 5 10

<210> 32

<211> 11

<212> PRT

<213> Unknown

<220><223> CDR stemming from rabbit antibody

<400> 32

Gly Asp His Asn Ser Gly Trp Gly Leu Asp Ile

1 5 10

<210> 33

<211> 11

<212> PRT

<213> Unknown

<220><223> CDR stemming from rabbit antibody

<400> 33

Gly Asp Asp Asn Ser Gly Trp Gly Glu Asp Ile

1 5 10

<210> 34

<211> 11

<212> PRT

<213> Unknown

<220><223> CDR stemming from rabbit antibody

<400> 34

Thr Asp Asp Ser Arg Gly Trp Gly Leu Asn Ile

1 5 10

<210> 35

<211> 11

<212> PRT

<213> Unknown

<220><223> CDR stemming from rabbit antibody

<400> 35

Thr Asp Asp Ser Arg Gly Trp Gly Leu Asn Ile

1 5 10

<210> 36

<211> 11

<212> PRT

<213> Unknown

<220><223> CDR stemming from rabbit antibody

<400> 36

Ser Gly Asp Thr Thr Ala Trp Gly Ala Asp Ile

1 5 10

<210> 37

<211> 19

<212> PRT

<213> Unknown

<220><223> CDR stemming from rabbit antibody

<400> 37

Gly Asp Asp Ser Ser Gly Tyr Thr Asp Gly Gly Tyr Ala Tyr Trp Gly

1 5 10 15

Leu Asp Ile

<210> 38

<211> 11

<212> PRT

<213> Unknown

<220><223> CDR stemming from rabbit antibody

<400> 38

Gln Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr Leu Ser

1 5 10

<210> 39

<211> 11

<212> PRT

<213> Unknown

<220><223> CDR stemming from rabbit antibody

<400> 39

Gln Ala Ser Gln Ser Ile Gly Ser Ser Leu Ala

1 5 10

<210> 40

<211> 13

<212> PRT

<213> Unknown

<220><223> CDR stemming from rabbit antibody

<400> 40

Gln Ser Ser Gln Ser Val Trp Asn Asn Asn Arg Leu Ala

1 5 10

<210> 41

<211> 11

<212> PRT

<213> Unknown

<220><223> CDR stemming from rabbit antibody

<400> 41

Gln Ala Ser Glu Asn Ile Asn Ile Trp Leu Ser

1 5 10

<210> 42

<211> 11

<212> PRT

<213> Unknown

<220><223> CDR stemming from rabbit antibody

<400> 42

Gln Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Trp Leu Ser

1 5 10

<210> 43

<211> 11

<212> PRT

<213> Unknown

<220><223> CDR stemming from rabbit antibody

<400> 43

Gln Ala Ser Glu Ile Ile His Ser Trp Leu Ala

1 5 10

<210> 44

<211> 11

<212> PRT

<213> Unknown

<220><223> CDR stemming from rabbit antibody

<400> 44

Gln Ala Ser Gln Ser Ile Asn Ile Trp Leu Ser

1 5 10

<210> 45

<211> 11

<212> PRT

<213> Unknown

<220><223> CDR stemming from rabbit antibody

<400> 45

Gln Ala Asp Gln Ser Ile Tyr Ile Trp Leu Ser

1 5 10

<210> 46

<211> 11

<212> PRT

<213> Unknown

<220><223> CDR stemming from rabbit antibody

<400> 46

Gln Ala Ser Gln Asn Ile Arg Ile Trp Leu Ser

1 5 10

<210> 47

<211> 11

<212> PRT

<213> Unknown

<220><223> CDR stemming from rabbit antibody

<400> 47

Gln Ala Ser Gln Ser Ile Asn Ile Trp Cys Ser

1 5 10

<210> 48

<211> 11

<212> PRT

<213> Unknown

<220><223> CDR stemming from rabbit antibody

<400> 48

Gln Ala Ser Gln Ser Ile Asn Ile Trp Leu Ser

1 5 10

<210> 49

<211> 13

<212> PRT

<213> Unknown

<220><223> CDR stemming from rabbit antibody

<400> 49

Gln Ala Ser Gln Ser Ile Asn Ile Asn Asn Trp Leu Ser

1 5 10

<210> 50

<211> 7

<212> PRT

<213> Unknown

<220><223> CDR stemming from rabbit antibody

<400> 50

Lys Ala Ser Thr Leu Ala Ser

1 5

<210> 51

<211> 7

<212> PRT

<213> Unknown

<220><223> CDR stemming from rabbit antibody

<400> 51

Thr Ala Ala Asn Leu Ala Ser

1 5

<210> 52

<211> 7

<212> PRT

<213> Unknown

<220><223> CDR stemming from rabbit antibody

<400> 52

Tyr Ala Ser Thr Leu Ala Ser

1 5

<210> 53

<211> 7

<212> PRT

<213> Unknown

<220><223> CDR stemming from rabbit antibody

<400> 53

Gln Ala Ser Lys Leu Ala Ser

1 5

<210> 54

<211> 7

<212> PRT

<213> Unknown

<220><223> CDR stemming from rabbit antibody

<400> 54

Gln Ala Ser Thr Leu Ala Ser

1 5

<210> 55

<211> 7

<212> PRT

<213> Unknown

<220><223> CDR stemming from rabbit antibody

<400> 55

Leu Ala Ser Thr Leu Ala Ser

1 5

<210> 56

<211> 7

<212> PRT

<213> Unknown

<220><223> CDR stemming from rabbit antibody

<400> 56

Lys Glu Ser Thr Leu Ala Ser

1 5

<210> 57

<211> 7

<212> PRT

<213> Unknown

<220><223> CDR stemming from rabbit antibody

<400> 57

Lys Ala Ser Thr Leu Glu Ser

1 5

<210> 58

<211> 7

<212> PRT

<213> Unknown

<220><223> CDR stemming from rabbit antibody

<400> 58

Lys Ala Ser Thr Leu Glu Ser

1 5

<210> 59

<211> 7

<212> PRT

<213> Unknown

<220><223> CDR stemming from rabbit antibody

<400> 59

Arg Ala Ser Thr Leu Ala Ser

1 5

<210> 60

<211> 7

<212> PRT

<213> Unknown

<220><223> CDR stemming from rabbit antibody

<400> 60

Lys Ala Ser Thr Leu Ala Ser

1 5

<210> 61

<211> 14

<212> PRT

<213> Unknown

<220><223> CDR stemming from rabbit antibody

<400> 61

Gln Ser Asn Tyr Gly Gly Ser Ser Ser Asp Tyr Gly Asn Pro

1 5 10

<210> 62

<211> 10

<212> PRT

<213> Unknown

<220><223> CDR stemming from rabbit antibody

<400> 62

Gln Asn Phe Ala Thr Ser Asp Thr Val Thr

1 5 10

<210> 63

<211> 11

<212> PRT

<213> Unknown

<220><223> CDR stemming from rabbit antibody

<400> 63

Ala Gly Gly Tyr Ser Ser Thr Ser Asp Asn Thr

1 5 10

<210> 64

<211> 12

<212> PRT

<213> Unknown

<220><223> CDR stemming from rabbit antibody

<400> 64

Gln Asn Asn Tyr Ser Tyr Asn Arg Tyr Gly Ala Pro

1 5 10

<210> 65

<211> 12

<212> PRT

<213> Unknown

<220><223> CDR stemming from rabbit antibody

<400> 65

Gln Asn Asn Tyr Gly Phe Arg Ser Tyr Gly Gly Ala

1 5 10

<210> 66

<211> 12

<212> PRT

<213> Unknown

<220><223> CDR stemming from rabbit antibody

<400> 66

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

1 5 10

<210> 67

<211> 12

<212> PRT

<213> Unknown

<220><223> CDR stemming from rabbit antibody

<400> 67

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

1 5 10

<210> 68

<211> 12

<212> PRT

<213> Unknown

<220><223> CDR stemming from rabbit antibody

<400> 68

Gln Asn Asn Ala His Tyr Ser Thr Asn Gly Gly Thr

1 5 10

<210> 69

<211> 12

<212> PRT

<213> Unknown

<220><223> CDR stemming from rabbit antibody

<400> 69

Gln Asn Asn Ala His Tyr Ser Thr Asn Gly Gly Thr

1 5 10

<210> 70

<211> 13

<212> PRT

<213> Unknown

<220><223> CDR stemming from rabbit antibody

<400> 70

Gln Ala Asn Tyr Ala Tyr Ser Ala Gly Tyr Gly Ala Ala

1 5 10

<210> 71

<211> 14

<212> PRT

<213> Unknown

<220><223> CDR stemming from rabbit antibody

<400> 71

Gln Asn Asn Tyr His Tyr Ser Ser Ser Thr Asn Gly Gly Thr

1 5 10

<210> 72

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> recombinant scFv - VL sequence

<400> 72

Glu Val Val Met Ala Gln Thr Pro Ala Ser Val Glu Ala Ala Val Gly

1 5 10 15

Gly Thr Val Thr Ile Lys Cys Gln Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr

20 25 30

Leu Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

Tyr Lys Ala Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Lys Gly

50 55 60

Ser Arg Ser Gly Thr Glu Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Asp Leu Glu Cys

65 70 75 80

Ala Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Ser Asn Tyr Gly Gly Ser Ser

85 90 95

Ser Asp Tyr Gly Asn Pro Phe Gly Gly Gly Thr Glu Ala Val Val Lys

100 105 110

<210> 73

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> recombinant scFv - VL sequence

<400> 73

Ala Phe Glu Leu Thr Gln Thr Pro Ser Ser Val Glu Ala Ala Val Gly

1 5 10 15

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

20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Arg Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

Tyr Thr Ala Ala Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Arg Gly

50 55 60

Ser Arg Ser Gly Ala Ala Phe Thr Leu Thr Ile Ser Asp Leu Glu Cys

65 70 75 80

Ala Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Asn Phe Ala Thr Ser Asp Thr

85 90 95

Val Thr Phe Gly Gly Gly Thr Glu Val Val Val Thr

100 105

<210> 74

<211> 111

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> recombinant scFv - VL sequence

<400> 74

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

1 5 10 15

Gly Thr Val Ser Ile Ser Cys Gln Ser Ser Gln Ser Val Trp Asn Asn

20 25 30

Asn Arg Leu Ala Trp Phe Gln Gln Lys Ser Gly Gln Pro Pro Lys Leu

35 40 45

Leu Ile Tyr Tyr Ala Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe

50 55 60

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

<210> 75
<211> 110
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> recombinant scFv - VL sequence
<400> 75

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

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

<210> 76
<211> 110
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> recombinant scFv - VL sequence

<400> 76

Asp Val Val Met Thr Gln Thr Pro Ala Ser Val Ser Glu Pro Val Gly

1 5 10 15

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

20 25 30

Leu Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

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

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Asp Leu Glu Cys

65 70 75 80

Ala Asp Ala Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Asn Asn Tyr Gly Phe Arg Ser

85 90 95

Tyr Gly Gly Ala Phe Gly Gly Gly Thr Glu Val Val Val Lys

100 105 110

<210> 77

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> recombinant scFv - VL sequence

<400> 77

Asp Val Val Met Thr Gln Thr Pro Ser Ser Val Ser Ala Ala Val Gly

1 5 10 15

Asp Thr Val Thr Ile Asn Cys Gln Ala Ser Glu Ile Ile His Ser Trp

20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

Tyr Leu Ala Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Lys Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Gln Phe Thr Leu Thr Ile Ser Asp Leu Glu Cys

65 70 75 80

Ala Asp Ala Ala Ile Tyr Tyr Cys Gln Asn Val Tyr Leu Ala Ser Thr

85 90 95

Asn Gly Ala Asn Phe Gly Gly Gly Thr Glu Val Val Val Lys

100 105 110

<210> 78

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> recombinant scFv - VL sequence

<400> 78

Asp Val Val Met Thr Gln Thr Pro Ser Ser Val Ser Ala Ala Val Gly

1 5 10 15

Asp Thr Val Thr Ile Lys Cys Gln Ala Ser Gln Ser Ile Asn Ile Trp

20 25 30

Leu Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Ser Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Val

35 40 45

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

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Gln Phe Thr Leu Thr Ile Ser Asp Leu Glu Cys

65 70 75 80

Ala Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Asn Asn Tyr Asp Ser Gly Asn

85 90 95

Asn Gly Phe Pro Phe Gly Gly Gly Thr Glu Val Val Val Lys

100 105 110

<210> 79

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> recombinant scFv - VL sequence

<400> 79

Asp Val Val Met Thr Gln Thr Pro Ser Ser Val Ser Ala Ala Val Gly

1 5 10 15

Asp Thr Val Thr Ile Asn Cys Gln Ala Asp Gln Ser Ile Tyr Ile Trp

20 25 30

Leu Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

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

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Gln Phe Thr Leu Thr Ile Ser Asp Leu Glu Cys

65 70 75 80

Ala Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Asn Asn Ala His Tyr Ser Thr

85 90 95

Asn Gly Gly Thr Phe Gly Gly Gly Thr Glu Val Val Val Lys

100 105 110

<210> 80

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> recombinant scFv - VL sequence

<400> 80

Asp Val Val Met Thr Gln Thr Pro Ser Ser Val Ser Ala Ala Val Gly

1 5 10 15

Asp Thr Val Thr Ile Lys Cys Gln Ala Ser Gln Asn Ile Arg Ile Trp

20 25 30

Leu Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

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

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Asp Leu Glu Cys

65 70 75 80

Ala Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Asn Asn Ala His Tyr Ser Thr

85 90 95

Asn Gly Gly Thr Phe Gly Gly Gly Thr Glu Val Val Val Lys

100 105 110

<210> 81

<211> 111

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> recombinant scFv - VL sequence

<400> 81

Glu Val Val Met Thr Gln Thr Pro Ala Ser Val Glu Ala Ala Val Gly

1 5 10 15

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

20 25 30

Cys Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly His Pro Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

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

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Asp Leu Glu Cys

65 70 75 80

Ala Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Ala Asn Tyr Ala Tyr Ser Ala

85 90 95

Gly Tyr Gly Ala Ala Phe Gly Gly Gly Thr Glu Val Val Val Lys

100 105 110

<210> 82

<211> 113

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> recombinant scFv - VL sequence

<400> 82

Glu Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Ile Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr

20 25 30

Leu Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

Tyr Lys Ala Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Ala Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

Asp Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Ser Asn Tyr Gly Gly Ser Ser

85 90 95

Ser Asp Tyr Gly Asn Pro Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu

100 105 110

Gly

<210> 83

<211> 109

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> recombinant scFv - VL sequence

<400> 83

Glu Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

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

20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

Tyr Thr Ala Ala Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Ala Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

Asp Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Asn Phe Ala Thr Ser Asp Thr

85 90 95

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

100 105

<210> 84

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> recombinant scFv - VL sequence

<400> 84

Glu Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Ile Ile Thr Cys Gln Ser Ser Gln Ser Val Trp Asn Asn

20 25 30

Asn Arg Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu

35 40 45

Leu Ile Tyr Tyr Ala Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Ser Gly Ala Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu

65 70 75 80

Gln Pro Asp Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala Gly Gly Tyr Ser Ser

85 90 95

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

100 105 110

<210> 85

<211> 111

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> recombinant scFv - VL sequence

<400> 85

Glu Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Ile Ile Thr Cys Gln Ala Ser Glu Asn Ile Asn Ile Trp

20 25 30

Leu Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

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

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Ala Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

Asp Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Asn Asn Tyr Ser Tyr Asn Arg

85 90 95

Tyr Gly Ala Pro Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly

100 105 110

<210> 86

<211> 111

<212> PRT

<213> artifical sequence

<400> 86

Glu Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Ile Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Trp

20 25 30

Leu Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

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

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Ala Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

Asp Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Asn Asn Tyr Gly Phe Arg Ser

85 90 95

Tyr Gly Gly Ala Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly

100 105 110

<210> 87

<211> 111

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> recombinant scFv - VL sequence

<400> 87

Glu Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Ile Ile Thr Cys Gln Ala Ser Glu Ile Ile His Ser Trp

20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

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

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Ala Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

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

85 90 95

Asn Gly Ala Asn Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly

100 105 110

<210> 88

<211> 111

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> recombinant scFv - VL sequence

<400> 88

Glu Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Ile Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Ser Ile Asn Ile Trp

20 25 30

Leu Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

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

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Ala Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

Asp Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Asn Asn Tyr Asp Ser Gly Asn

85 90 95

Asn Gly Phe Pro Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly

100 105 110

<210> 89

<211> 111

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> recombinant scFv - VL sequence

<400> 89

Glu Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Ile Ile Thr Cys Gln Ala Asp Gln Ser Ile Tyr Ile Trp

20 25 30

Leu Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

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

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Ala Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

Asp Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Asn Asn Ala His Tyr Ser Thr

85 90 95

Asn Gly Gly Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly

100 105 110

<210> 90

<211> 111

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> recombinant scFv - VL sequence

<400> 90

Glu Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Ile Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Asn Ile Arg Ile Trp

20 25 30

Leu Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

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

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Ala Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

Asp Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Asn Asn Ala His Tyr Ser Thr

85 90 95

Asn Gly Gly Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly

100 105 110

<210> 91

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> recombinant scFv - VL sequence

<400> 91

Glu Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Ile Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Ser Ile Asn Ile Trp

20 25 30

Cys Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

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

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Ala Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

Asp Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Ala Asn Tyr Ala Tyr Ser Ala

85 90 95

Gly Tyr Gly Ala Ala Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly

100 105 110

<210> 92

<211> 111

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> recombinant scFv - VL sequence

<400> 92

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

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Glu Ile Ile His Ser Trp

20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Arg Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

Ser Leu Ala Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

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

85 90 95

Asn Gly Ala Asn Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg

100 105 110

<210> 93

<211> 113

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> recombinant scFv - VL sequence

<400> 93

Glu Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Ile Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr

20 25 30

Leu Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

Tyr Lys Ala Ser Thr Leu Ala 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

Asp Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Ser Asn Tyr Gly Gly Ser Ser

85 90 95

Ser Asp Tyr Gly Asn Pro Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu

100 105 110

Gly

<210> 94

<211> 109

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> recombinant scFv - VL sequence

<400> 94

Glu Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

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

20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

Tyr Thr Ala Ala Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Ala Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

Asp Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Asn Phe Ala Thr Ser Asp Thr

85 90 95

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

100 105

<210> 95

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220

><223> recombinant scFv - VL sequence

<400> 95

Glu Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Ile Ile Thr Cys Gln Ser Ser Gln Ser Val Trp Asn Asn

20 25 30

Asn Arg Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu

35 40 45

Leu Ile Tyr Tyr Ala Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu

65 70 75 80

Gln Pro Asp Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala Gly Gly Tyr Ser Ser

85 90 95

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

100 105 110

<210> 96

<211> 111

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> recombinant scFv - VL sequence

<400> 96

Glu Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Ile Ile Thr Cys Gln Ala Ser Glu Asn Ile Asn Ile Trp

20 25 30

Leu Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

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

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Gln Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

Asp Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Asn Asn Tyr Ser Tyr Asn Arg

85 90 95

Tyr Gly Ala Pro Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly

100 105 110

<210> 97

<211> 111

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> recombinant scFv - VL sequence

<400> 97

Glu Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Ile Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Trp

20 25 30

Leu Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

Tyr Gln Ala Ser Thr Leu Ala 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

Asp Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Asn Asn Tyr Gly Phe Arg Ser

85 90 95

Tyr Gly Gly Ala Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly

100 105 110

<210> 98

<211> 111

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> recombinant scFv - VL sequence

<400> 98

Glu Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Ile Ile Thr Cys Gln Ala Ser Glu Ile Ile His Ser Trp

20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

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

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Gln Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

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

85 90 95

Asn Gly Ala Asn Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly

100 105 110

<210> 99

<211> 111

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> recombinant scFv - VL sequence

<400> 99

Glu Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Ile Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Ser Ile Asn Ile Trp

20 25 30

Leu Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

Tyr Lys Glu Ser Thr Leu Ala 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

Asp Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Asn Asn Tyr Asp Ser Gly Asn

85 90 95

Asn Gly Phe Pro Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly

100 105 110

<210> 100

<211> 111

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> recombinant scFv - VL sequence

<400> 100

Glu Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Ile Ile Thr Cys Gln Ala Asp Gln Ser Ile Tyr Ile Trp

20 25 30

Leu Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

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

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Gln Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

Asp Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Asn Asn Ala His Tyr Ser Thr

85 90 95

Asn Gly Gly Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly

100 105 110

<210> 101

<211> 111

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> recombinant scFv - VL sequence

<400> 101

Glu Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Ile Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Asn Ile Arg Ile Trp

20 25 30

Leu Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

Tyr Lys Ala Ser Thr Leu Glu 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

Asp Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Asn Asn Ala His Tyr Ser Thr

85 90 95

Asn Gly Gly Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly

100 105 110

<210> 102

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> recombinant scFv - VL sequence

<400> 102

Glu Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Ile Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Ser Ile Asn Ile Trp

20 25 30

Leu Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

Tyr Arg Ala Ser Thr Leu Ala 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

Asp Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Ala Asn Tyr Ala Tyr Ser Ala

85 90 95

Gly Tyr Gly Ala Ala Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly

100 105 110

<210> 103

<211> 111

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> recombinant scFv - VL sequence

<400> 103

Glu Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Glu Ile Ile His Ser Trp

20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Arg Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

Ser Leu Ala Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Gln Phe Thr Phe Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

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

85 90 95

Asn Gly Ala Asn Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg

100 105 110

<210> 104

<211> 111

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> recombinant scFv - VL sequence

<400> 104

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Ile Ile Thr Cys Gln Ala Ser Glu Ile Ile His Ser Trp

20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

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

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Ala Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

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

85 90 95

Asn Gly Ala Asn Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly

100 105 110

<210> 105

<211> 111

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> recombinant scFv - VL sequence

<400> 105

Glu Val Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Ile Ile Thr Cys Gln Ala Ser Glu Ile Ile His Ser Trp

20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

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

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Ala Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

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

85 90 95

Asn Gly Ala Asn Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly

100 105 110

<210> 106

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> recombinant scFv - VL sequence

<400> 106

Glu Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Ile Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Ser Ile Asn Ile Trp

20 25 30

Leu Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

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

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Ala Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

Asp Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Ala Asn Tyr Ala Tyr Ser Ala

85 90 95

Gly Tyr Gly Ala Ala Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly

100 105 110

<210> 107

<211> 128

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> recombinant scFv - VH sequence

<400> 107

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

1 5 10 15

Leu Thr Leu Thr Cys Thr Ala Ser Gly Phe Pro Phe Ser Ser Gly Tyr

20 25 30

Trp Val Cys Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile

35 40 45

Ala Cys Ile Tyr Ala Gly Ser Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Ser Trp

50 55 60

Ala Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Lys Thr Ser Ser Thr Thr Val Thr

65 70 75 80

Leu Gln Met Thr Ser Leu Thr Ala Ala Asp Thr Ala Thr Tyr Phe Cys

85 90 95

Ala Arg Gly Asn Asn Tyr Tyr Ile Tyr Thr Asp Gly Gly Tyr Ala Tyr

100 105 110

Ala Gly Leu Glu Leu Trp Gly Pro Gly Ile Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120 125

<210> 108

<211> 128

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> recombinant scFv - VH sequence

<400> 108

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Trp Ile Cys Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile

35 40 45

Ala Cys Ile Tyr Ala Gly Ser Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Ser Trp

50 55 60

Ala Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Lys Thr Ser Ser Thr Thr Val Thr

65 70 75 80

Leu Gln Met Thr Ser Leu Thr Ala Ala Asp Thr Ala Thr Tyr Phe Cys

85 90 95

Ala Arg Gly Asn Asn Tyr Tyr Ile Tyr Thr Asp Gly Gly Tyr Ala Tyr

100 105 110

Ala Gly Leu Glu Leu Trp Gly Pro Gly Ile Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120 125

<210> 109

<211> 117

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> recombinant scFv - VH sequence

<400> 109

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Gly Cys Met Tyr Thr Gly Ser Tyr Asn Arg Ala Tyr Tyr Ala Ser Trp

50 55 60

Ala Lys Gly Arg Phe Thr Ser Ser Lys Thr Ser Ser Thr Thr Val Thr

65 70 75 80

Leu Glu Met Thr Ser Leu Thr Ala Ala Asp Thr Ala Thr Tyr Phe Cys

85 90 95

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

100 105 110

Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 110

<211> 124

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> recombinant scFv - VH sequence

<400> 110

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

1 5 10 15

Ser Leu Thr Leu Thr Cys Lys Ala Ser Gly Phe Ser Phe Ser Arg Ser

20 25 30

Tyr Tyr Ile Tyr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp

35 40 45

Ile Ala Cys Ile Asp Ala Gly Ser Ser Gly Ile Leu Val Tyr Ala Asn

50 55 60

Trp Ala Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Lys Thr Ser Ser Thr Thr Val

65 70 75 80

Thr Leu Gln Met Thr Ser Leu Thr Ala Ala Asp Thr Ala Thr Tyr Phe

85 90 95

Cys Ala Arg Gly Asp Ala Ser Tyr Gly Val Asp Ser Phe Met Leu Pro

100 105 110

Leu Trp Gly Pro Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 111

<211> 119

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> recombinant scFv - VH sequence

<400> 111

Gln Ser Leu Glu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Glu Gly Ser

1 5 10 15

Leu Thr Leu Thr Cys Lys Ala Ser Gly Phe Ser Phe Thr Thr Thr Asp

20 25 30

Tyr Met Cys Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile

35 40 45

Gly Cys Ile Leu Ala Gly Asp Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asn Trp Ala

50 55 60

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

65 70 75 80

Lys Met Thr Gly Leu Thr Ala Ala Asp Thr Ala Thr Tyr Phe Cys Ala

85 90 95

Arg Ser Asp Pro Ala Ser Ser Trp Ser Phe Ala Leu Trp Gly Pro Gly

100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 112

<211> 117

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> recombinant scFv - VH sequence

<400> 112

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

1 5 10 15

Leu Thr Leu Thr Cys Thr Ala Ser Gly Ile Asp Phe Ser Gly Ala Tyr

20 25 30

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

35 40 45

Gly Tyr Ile Asp Tyr Asp Gly Asp Arg Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala Lys

50 55 60

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

65 70 75 80

Thr Ser Pro Thr Thr Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Phe Cys Ala Arg Ser

85 90 95

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

100 105 110

Val Thr Val Ser Leu

115

<210> 113

<211> 117

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> recombinant scFv - VH sequence

<400> 113

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

1 5 10 15

Leu Thr Leu Thr Cys Thr Ala Ser Gly Phe Ser Leu Thr Asp Tyr Tyr

20 25 30

Tyr Met Thr Trp Val Arg Leu Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Tyr Ile

35 40 45

Gly Phe Ile Asp Pro Asp Asp Asp Pro Tyr Tyr Ala Thr Trp Ala Lys

50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Thr Ser Thr Thr Val Asn Leu Lys Met

65 70 75 80

Thr Ser Pro Thr Thr Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Phe Cys Ala Gly Gly

85 90 95

Asp His Asn Ser Gly Trp Gly Leu Asp Ile Trp Gly Pro Gly Thr Leu

100 105 110

Val Thr Val Ser Leu

115

<210> 114

<211> 116

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> recombinant scFv - VH sequence

<400> 114

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Ile Ile Gly Pro Gly Asp Tyr Thr Asp Tyr Ala Ser Trp Ala Lys Gly

50 55 60

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

65 70 75 80

Ser Pro Thr Thr Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Phe Cys Gly Arg Gly Asp

85 90 95

Asp Asn Ser Gly Trp Gly Glu Asp Ile Trp Gly Pro Gly Thr Leu Val

100 105 110

Thr Val Ser Leu

115

<210> 115

<211> 116

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> recombinant scFv - VH sequence

<400> 115

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

1 5 10 15

Leu Thr Leu Thr Cys Ser Val Ser Gly Phe Ser Leu Ser Asp Tyr Tyr

20 25 30

Met Cys Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Gln Trp Ile Gly

35 40 45

Cys Leu Asp Tyr Phe Gly Ser Thr Asp Asp Ala Ser Trp Ala Lys Gly

50 55 60

Arg Phe Thr Ile Ser Lys Thr Ser Thr Ala Val Asp Leu Lys Ile Thr

65 70 75 80

Ser Pro Thr Thr Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Phe Cys Ala Arg Thr Asp

85 90 95

Asp Ser Arg Gly Trp Gly Leu Asn Ile Trp Gly Pro Gly Thr Leu Val

100 105 110

Thr Val Ser Leu

115

<210> 116

<211> 116

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> recombinant scFv - VH sequence

<400> 116

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Cys Leu Asp Tyr Val Gly Asp Thr Asp Tyr Ala Ser Trp Ala Lys Gly

50 55 60

Arg Phe Thr Ile Ser Lys Ala Ser Thr Thr Val Asp Leu Lys Ile Thr

65 70 75 80

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

85 90 95

Asp Ser Arg Gly Trp Gly Leu Asn Ile Trp Gly Pro Gly Thr Leu Val

100 105 110

Thr Val Ser Leu

115

<210> 117

<211> 118

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> recombinant scFv - VH sequence

<400> 117

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

1 5 10 15

Leu Thr Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Asn Thr Tyr Tyr

20 25 30

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

35 40 45

Ile Ile Ala Pro Asp Asp Thr Thr Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala Lys Ser

50 55 60

Arg Ser Thr Ile Thr Arg Asp Thr Asn Glu Asn Thr Val Thr Leu Lys

65 70 75 80

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

85 90 95

Ser Gly Asp Thr Thr Ala Trp Gly Ala Asp Ile Trp Gly Pro Gly Thr

100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Leu

115

<210> 118

<211> 130

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> recombinant scFv - VH sequence

<400> 118

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Pro Phe Ser Ser Gly

20 25 30

Tyr Trp Val Cys Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp

35 40 45

Val Ser Cys Ile Tyr Ala Gly Ser Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Ser

50 55 60

Trp Ala Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr

65 70 75 80

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

85 90 95

Tyr Cys Ala Lys Gly Asn Asn Tyr Tyr Ile Tyr Thr Asp Gly Gly Tyr

100 105 110

Ala Tyr Ala Gly Leu Glu Leu Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val

115 120 125

Ser Ser

130

<210> 119

<211> 130

<

212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> recombinant scFv - VH sequence

<400> 119

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ser Phe Ser Ser Gly

20 25 30

Tyr Trp Ile Cys Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp

35 40 45

Val Ser Cys Ile Tyr Ala Gly Ser Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Ser

50 55 60

Trp Ala Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr

65 70 75 80

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

85 90 95

Tyr Cys Ala Lys Gly Asn Asn Tyr Tyr Ile Tyr Thr Asp Gly Gly Tyr

100 105 110

Ala Tyr Ala Gly Leu Glu Leu Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val

115 120 125

Ser Ser

130

<210> 120

<211> 119

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> recombinant scFv - VH sequence

<400> 120

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ser Leu Asn Thr Asn

20 25 30

Tyr Trp Met Cys Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp

35 40 45

Val Ser Cys Met Tyr Thr Gly Ser Tyr Asn Arg Ala Tyr Tyr Ala Ser

50 55 60

Trp Ala Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr

65 70 75 80

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

85 90 95

Tyr Cys Ala Lys Gly Ser Asn Trp Tyr Ser Asp Leu Trp Gly Gln Gly

100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 121

<211> 125

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> recombinant scFv - VH sequence

<400> 121

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ser Phe Ser Arg Ser

20 25 30

Tyr Tyr Ile Tyr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp

35 40 45

Val Ser Cys Ile Asp Ala Gly Ser Ser Gly Ile Leu Val Tyr Ala Asn

50 55 60

Trp Ala Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr

65 70 75 80

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

85 90 95

Tyr Cys Ala Lys Gly Asp Ala Ser Tyr Gly Val Asp Ser Phe Met Leu

100 105 110

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

115 120 125

<210> 122

<211> 121

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> recombinant scFv - VH sequence

<400> 122

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ser Phe Thr Thr Thr

20 25 30

Asp Tyr Met Cys Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp

35 40 45

Val Ser Cys Ile Leu Ala Gly Asp Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asn Trp

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Cys Ala Lys Ser Asp Pro Ala Ser Ser Trp Ser Phe Ala Leu Trp Gly

100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 123

<211> 120

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> recombinant scFv - VH sequence

<400> 123

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ile Asp Phe Ser Gly Ala

20 25 30

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

35 40 45

Val Ser Tyr Ile Asp Tyr Asp Gly Asp Arg Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala

50 55 60

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

Ala Lys Ser Asp Tyr Ser Ser Gly Trp Gly Thr Asp Ile Trp Gly Gln

100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 124

<211> 120

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> recombinant scFv - VH sequence

<400> 124

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

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

20 25 30

Tyr Tyr Met Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp

35 40 45

Val Ser Phe Ile Asp Pro Asp Asp Asp Pro Tyr Tyr Ala Thr Trp Ala

50 55 60

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

Ala Lys Gly Asp His Asn Ser Gly Trp Gly Leu Asp Ile Trp Gly Gln

100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 125

<211> 119

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> recombinant scFv - VH sequence

<400> 125

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ser Leu Ser Tyr Tyr

20 25 30

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

35 40 45

Ser Ile Ile Gly Pro Gly Asp Tyr Thr Asp Tyr Ala Ser Trp Ala Lys

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

85 90 95

Lys Gly Asp Asp Asn Ser Gly Trp Gly Glu Asp Ile Trp Gly Gln Gly

100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 126

<211> 119

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> recombinant scFv - VH sequence

<400> 126

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

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

20 25 30

Tyr Met Cys Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

Ser Cys Leu Asp Tyr Phe Gly Ser Thr Asp Asp Ala Ser Trp Ala Lys

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

85 90 95

Lys Thr Asp Asp Ser Arg Gly Trp Gly Leu Asn Ile Trp Gly Gln Gly

100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 127

<211> 119

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> recombinant scFv - VH sequence

<400> 127

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ser Leu Ser Ser Tyr

20 25 30

Tyr Met Cys Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

Ser Cys Leu Asp Tyr Val Gly Asp Thr Asp Tyr Ala Ser Trp Ala Lys

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

85 90 95

Lys Thr Asp Asp Ser Arg Gly Trp Gly Leu Asn Ile Trp Gly Gln Gly

100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 128

<211> 119

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> recombinant scFv - VH sequence

<400> 128

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ser Leu Asn Thr Tyr

20 25 30

Tyr Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

Ser Ile Ile Ala Pro Asp Asp Thr Thr Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala Lys

50 55 60

Ser 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

Lys Ser Gly Asp Thr Thr Ala Trp Gly Ala Asp Ile Trp Gly Gln Gly

100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 129

<211> 120

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> recombinant scFv - VH sequence

<400> 129

Gln Val Gln Leu Val Gln Thr Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

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

20 25 30

Tyr Tyr Met Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp

35 40 45

Val Ser Phe Ile Asp Pro Asp Asp Asp Pro Tyr Tyr Ala Thr Trp Ala

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Lys Gly Asp His Asn Ser Gly Trp Gly Leu Asp Ile Trp Gly Gln

100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 130

<211> 130

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> recombinant scFv - VH sequence

<400> 130

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Thr Ala Ser Gly Phe Pro Phe Ser Ser Gly

20 25 30

Tyr Trp Val Cys Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp

35 40 45

Val Gly Cys Ile Tyr Ala Gly Ser Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Ser

50 55 60

Trp Ala Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Thr

65 70 75 80

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

85 90 95

Tyr Cys Ala Arg Gly Asn Asn Tyr Tyr Ile Tyr Thr Asp Gly Gly Tyr

100 105 110

Ala Tyr Ala Gly Leu Glu Leu Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val

115 120 125

Ser Ser

130

<210> 131

<211> 130

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> recombinant scFv - VH sequence

<400> 131

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Thr Ala Ser Gly Phe Ser Phe Ser Ser Gly

20 25 30

Tyr Trp Ile Cys Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp

35 40 45

Val Gly Cys Ile Tyr Ala Gly Ser Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Ser

50 55 60

Trp Ala Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Thr

65 70 75 80

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

85 90 95

Tyr Cys Ala Arg Gly Asn Asn Tyr Tyr Ile Tyr Thr Asp Gly Gly Tyr

100 105 110

Ala Tyr Ala Gly Leu Glu Leu Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val

115 120 125

Ser Ser

130

<210> 132

<211> 119

<

212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> recombinant scFv - VH sequence

<400> 132

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Lys Val Ser Gly Phe Ser Leu Asn Thr Asn

20 25 30

Tyr Trp Met Cys Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp

35 40 45

Val Gly Cys Met Tyr Thr Gly Ser Tyr Asn Arg Ala Tyr Tyr Ala Ser

50 55 60

Trp Ala Lys Gly Arg Phe Thr Ser Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Thr

65 70 75 80

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

85 90 95

Tyr Cys Ala Lys Gly Ser Asn Trp Tyr Ser Asp Leu Trp Gly Gln Gly

100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 133

<211> 125

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> recombinant scFv - VH sequence

<400> 133

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Phe Ser Phe Ser Arg Ser

20 25 30

Tyr Tyr Ile Tyr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp

35 40 45

Val Gly Cys Ile Asp Ala Gly Ser Ser Gly Ile Leu Val Tyr Ala Asn

50 55 60

Trp Ala Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Thr

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

<210> 134

<211> 121

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> recombinant scFv - VH sequence

<400> 134

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Phe Ser Phe Thr Thr Thr

20 25 30

Asp Tyr Met Cys Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp

35 40 45

Val Gly Cys Ile Leu Ala Gly Asp Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asn Trp

50 55 60

Ala Lys Gly Arg Phe Thr Gly Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Thr Val

65 70 75 80

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

85 90 95

Cys Ala Arg Ser Asp Pro Ala Ser Ser Trp Ser Phe Ala Leu Trp Gly

100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 135

<211> 120

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> recombinant scFv - VH sequence

<400> 135

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Val Gly Tyr Ile Asp Tyr Asp Gly Asp Arg Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Ser Asp Tyr Ser Ser Gly Trp Gly Thr Asp Ile Trp Gly Gln

100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 136

<211> 120

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> recombinant scFv - VH sequence

<400> 136

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

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

20 25 30

Tyr Tyr Met Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp

35 40 45

Val Gly Phe Ile Asp Pro Asp Asp Asp Pro Tyr Tyr Ala Thr Trp Ala

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Gly Gly Asp His Asn Ser Gly Trp Gly Leu Asp Ile Trp Gly Gln

100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 137

<211> 119

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> recombinant scFv - VH sequence

<400> 137

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Thr Ala Ser Gly Phe Ser Leu Ser Tyr Tyr

20 25 30

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

35 40 45

Gly Ile Ile Gly Pro Gly Asp Tyr Thr Asp Tyr Ala Ser Trp Ala Lys

50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Thr Val 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

Arg Gly Asp Asp Asn Ser Gly Trp Gly Glu Asp Ile Trp Gly Gln Gly

100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 138

<211> 119

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> recombinant scFv - VH sequence

<400> 138

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

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

20 25 30

Tyr Met Cys Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

Gly Cys Leu Asp Tyr Phe Gly Ser Thr Asp Asp Ala Ser Trp Ala Lys

50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Thr Val 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

Arg Thr Asp Asp Ser Arg Gly Trp Gly Leu Asn Ile Trp Gly Gln Gly

100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 139

<211> 119

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> recombinant scFv - VH sequence

<400> 139

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Thr Ala Ser Gly Phe Ser Leu Ser Ser Tyr

20 25 30

Tyr Met Cys Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

Gly Cys Leu Asp Tyr Val Gly Asp Thr Asp Tyr Ala Ser Trp Ala Lys

50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Lys Asp Ala Ser Lys Asn Thr Val 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

Arg Thr Asp Asp Ser Arg Gly Trp Gly Leu Asn Ile Trp Gly Gln Gly

100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 140

<211> 119

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> recombinant scFv - VH sequence

<400> 140

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Thr Ala Ser Gly Phe Ser Leu Ser Ser Tyr

20 25 30

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

35 40 45

Gly Ile Leu Asp Tyr Val Gly Asp Thr Asp Tyr Ala Ser Trp Ala Lys

50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Lys Asp Ala Ser Lys Asn Thr Val 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

Arg Thr Asp Asp Ser Arg Gly Trp Gly Leu Asn Ile Trp Gly Gln Gly
100 105 110
Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 141
<211> 119
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> recombinant scFv - VH sequence
<400> 141
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Asn Thr Tyr
20 25 30
Tyr Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Gly Ile Ile Ala Pro Asp Asp Thr Thr Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala Lys
50 55 60
Ser Arg Ser Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Asn Thr Val 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
Arg Ser Gly Asp Thr Thr Ala Trp Gly Ala Asp Ile Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115
<210> 142
<211> 120
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> recombinant scFv - VH sequence
<400> 142

Gln Val Gln Leu Val Gln Thr Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

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

20 25 30

Tyr Tyr Met Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp

35 40 45

Val Gly Phe Ile Asp Pro Asp Asp Asp Pro Tyr Tyr Ala Thr Trp Ala

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Gly Gly Asp His Asn Ser Gly Trp Gly Leu Asp Ile Trp Gly Gln

100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 143

<211> 119

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> recombinant scFv - VH sequence

<400> 143

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Ser Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

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

20 25 30

Tyr Met Cys Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

Ser Cys Leu Asp Tyr Phe Gly Ser Thr Asp Asp Ala Ser Trp Ala Lys

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 Thr Tyr Tyr Cys Ala

85 90 95

Lys Thr Asp Asp Ser Arg Gly Trp Gly Leu Asn Ile Trp Gly Gln Gly

100 105 110

Thr Thr Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 144

<211> 120

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> recombinant scFv - VH sequence

<400> 144

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Ser Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

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

20 25 30

Tyr Tyr Met Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp

35 40 45

Val Gly Phe Ile Asp Pro Asp Asp Asp Pro Tyr Tyr Ala Thr Trp Ala

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Gly Gly Asp His Asn Ser Gly Trp Gly Leu Asp Ile Trp Gly Gln

100 105 110

Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 145

<211> 119

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> recombinant scFv - VH sequence

<400> 145

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Ser Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Asn Thr Tyr

20 25 30

Tyr Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

Gly Ile Ile Ala Pro Asp Asp Thr Thr Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala Lys

50 55 60

Ser Arg Ser Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Asn Thr Val Tyr Leu

65 70 75 80

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

85 90 95

Arg Ser Gly Asp Thr Thr Ala Trp Gly Ala Asp Ile Trp Gly Gln Gly

100 105 110

Thr Thr Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 146

<211> 120

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> recombinant scFv - VH sequence

<400> 146

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Tyr Tyr Met Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp

35 40 45

Val Gly Phe Ile Asp Pro Asp Asp Asp Pro Tyr Tyr Ala Thr Trp Ala

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Gly Gly Asp His Asn Ser Gly Trp Gly Leu Asp Ile Trp Gly Gln

100 105 110

Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 147

<211> 119

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> recombinant scFv - VH sequence

<400> 147

Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser

1 5 10 15

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

20 25 30

Tyr Met Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

Gly Phe Ile Asp Pro Asp Asp Asp Pro Tyr Tyr Ala Thr Trp Ala Lys

50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Asn Thr Val 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

Gly Gly Asp His Asn Ser Gly Trp Gly Leu Asp Ile Trp Gly Gln Gly

100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 148

<211> 120

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> recombinant scFv - VH sequence

<400> 148

Glu Gln Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

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

20 25 30

Tyr Tyr Met Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp

35 40 45

Val Gly Phe Ile Asp Pro Asp Asp Asp Pro Tyr Tyr Ala Thr Trp Ala

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Gly Gly Asp His Asn Ser Gly Trp Gly Leu Asp Ile Trp Gly Gln

100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 149

<211> 120

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> recombinant scFv - VH sequence

<400> 149

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

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

20 25 30

Tyr Tyr Met Thr Trp Val Arg Leu Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp

35 40 45

Val Gly Phe Ile Asp Pro Asp Asp Asp Pro Tyr Tyr Ala Thr Trp Ala

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Gly Gly Asp His Asn Ser Gly Trp Gly Leu Asp Ile Trp Gly Gln

100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 150

<211> 120

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> recombinant scFv - VH sequence

<400> 150

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

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

20 25 30

Tyr Tyr Met Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Tyr

35 40 45

Val Gly Phe Ile Asp Pro Asp Asp Asp Pro Tyr Tyr Ala Thr Trp Ala

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Gly Gly Asp His Asn Ser Gly Trp Gly Leu Asp Ile Trp Gly Gln

100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 151

<211> 120

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> recombinant scFv - VH sequence

<400> 151

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

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

20 25 30

Tyr Tyr Met Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp

35 40 45

Ile Gly Phe Ile Asp Pro Asp Asp Asp Pro Tyr Tyr Ala Thr Trp Ala

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Gly Gly Asp His Asn Ser Gly Trp Gly Leu Asp Ile Trp Gly Gln

100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 152

<211> 120

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> recombinant scFv - VH sequence

<400> 152

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

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

20 25 30

Tyr Tyr Met Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp

35 40 45

Val Gly Phe Ile Asp Pro Asp Asp Asp Pro Tyr Tyr Ala Thr Trp Ala

50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Ala Thr Ser Lys Asn Thr Val Tyr

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Gly Gly Asp His Asn Ser Gly Trp Gly Leu Asp Ile Trp Gly Gln

100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 153

<211> 120

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> recombinant scFv - VH sequence

<400> 153

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

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

20 25 30

Tyr Tyr Met Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp

35 40 45

Val Gly Phe Ile Asp Pro Asp Asp Asp Pro Tyr Tyr Ala Thr Trp Ala

50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Ala Thr Val Tyr

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Gly Gly Asp His Asn Ser Gly Trp Gly Leu Asp Ile Trp Gly Gln

100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 154

<211> 120

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> recombinant scFv - VH sequence

<400> 154

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

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

20 25 30

Tyr Tyr Met Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp

35 40 45

Val Gly Phe Ile Asp Pro Asp Asp Asp Pro Tyr Tyr Ala Thr Trp Ala

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Gly Gly Asp His Asn Ser Gly Trp Gly Leu Asp Ile Trp Gly Gln

100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 155

<211> 119

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> recombinant scFv - VH sequence

<400> 155

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

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

20 25 30

Tyr Tyr Met Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp

35 40 45

Val Gly Phe Ile Asp Pro Asp Asp Asp Pro Tyr Tyr Ala Thr Trp Ala

50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Thr Ser Lys Asn Thr Val 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

Gly Gly Asp His Asn Ser Gly Trp Gly Leu Asp Ile Trp Gly Gln Gly

100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 156

<211> 119

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> recombinant scFv - VH sequence

<400> 156

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

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

20 25 30

Tyr Tyr Met Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp

35 40 45

Val Gly Phe Ile Asp Pro Asp Asp Asp Pro Tyr Tyr Ala Thr Trp Ala

50 55 60

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

Gly Gly Asp His Asn Ser Gly Trp Gly Leu Asp Ile Trp Gly Gln Gly

100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 157

<211> 120

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> recombinant scFv - VH sequence

<400> 157

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

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

20 25 30

Tyr Tyr Met Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp

35 40 45

Val Gly Phe Ile Asp Pro Asp Asp Asp Pro Tyr Tyr Ala Thr Trp Ala

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Gly Gly Asp His Asn Ser Gly Trp Gly Leu Asp Ile Trp Gly Gln

100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 158

<211> 120

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> recombinant scFv - VH sequence

<400> 158

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

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

20 25 30

Tyr Tyr Met Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp

35 40 45

Val Gly Phe Ile Asp Pro Asp Asp Asp Pro Tyr Tyr Ala Thr Trp Ala

50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Thr 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

Ala Gly Gly Asp His Asn Ser Gly Trp Gly Leu Asp Ile Trp Gly Gln

100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 159

<211> 120

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> recombinant scFv - VH sequence

<400> 159

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

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

20 25 30

Tyr Tyr Met Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp

35 40 45

Val Gly Phe Ile Asp Pro Asp Asp Asp Pro Tyr Tyr Ala Thr Trp Ala

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Gly Gly Asp His Asn Ser Gly Trp Gly Leu Asp Ile Trp Gly Gln

100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 160

<211> 120

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> recombinant scFv - VH sequence

<400> 160

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Ser Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

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

20 25 30

Tyr Tyr Met Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp

35 40 45

Val Gly Phe Ile Asp Pro Asp Asp Asp Pro Tyr Tyr Ala Thr Trp Ala

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Gly Gly Asp His Asn Ser Gly Trp Gly Leu Asp Ile Trp Gly Gln

100 105 110

Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 161

<211> 120

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> recombinant scFv - VH sequence

<400> 161

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Ser Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

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

20 25 30

Tyr Tyr Met Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp

35 40 45

Val Gly Phe Ile Asp Pro Asp Asp Asp Pro Tyr Tyr Ala Thr Trp Ala

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Gly Gly Asp His Asn Ser Gly Trp Gly Leu Asp Ile Trp Gly Gln

100 105 110

Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 162

<211> 120

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> recombinant scFv - VH sequence

<400> 162

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Ser Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

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

20 25 30

Tyr Tyr Met Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp

35 40 45

Val Gly Phe Ile Asp Pro Asp Asp Asp Pro Tyr Tyr Ala Thr Trp Ala

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Gly Gly Asp His Asn Ser Gly Trp Gly Leu Asp Ile Trp Gly Gln

100 105 110

Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 163

<211> 120

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> recombinant scFv - VH sequence

<400> 163

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

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

20 25 30

Tyr Tyr Met Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp

35 40 45

Val Gly Phe Ile Asp Pro Asp Asp Asp Pro Tyr Tyr Ala Thr Trp Ala

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Gly Gly Asp His Asn Ser Gly Trp Gly Leu Asp Ile Trp Gly Gln

100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 164

<211> 120

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> recombinant scFv - VH sequence

<400> 164

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

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

20 25 30

Tyr Tyr Met Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp

35 40 45

Val Gly Phe Ile Asp Pro Asp Asp Asp Pro Tyr Tyr Ala Thr Trp Ala

50 55 60

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

Ala Gly Gly Asp His Asn Ser Gly Trp Gly Leu Asp Ile Trp Gly Gln

100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 165

<211> 120

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> recombinant scFv - VH sequence

<400> 165

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Ser Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

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

20 25 30

Tyr Tyr Met Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp

35 40 45

Val Gly Phe Ile Asp Pro Asp Asp Asp Pro Tyr Tyr Ala Thr Trp Ala

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Gly Gly Asp His Asn Ser Gly Trp Gly Leu Asp Ile Trp Gly Gln

100 105 110

Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 166

<211> 120

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> recombinant scFv - VH sequence

<400> 166

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Ser Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

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

20 25 30

Tyr Tyr Met Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp

35 40 45

Val Gly Phe Ile Asp Pro Asp Asp Asp Pro Tyr Tyr Ala Thr Trp Ala

50 55 60

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 Thr Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Gly Gly Asp His Asn Ser Gly Trp Gly Leu Asp Ile Trp Gly Gln

100 105 110

Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 167

<211> 381

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> recombinant scFv - VL acceptor sequence

<220><221> CDR

<222> (24)..(123)

<223> At least 3 and up to 50 amino acids can be present

<220><221> CDR

<222> (139)..(238)

<223> At least 3 and up to 50 amino acids can be present

<220><221> CDR

<222> (271)..(370)

<223> At least 3 and up to 50 amino acids can be present

<400> 167

Glu Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Ile Ile Thr Cys Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

20 25 30

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

35 40 45

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

50 55 60

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

65 70 75 80

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

85 90 95

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

100 105 110

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Trp Tyr Gln Gln Lys

115 120 125

Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

130 135 140

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

145 150 155 160

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

165 170 175

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

180 185 190

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

195 200 205

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

210 215 220

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Gly Val

225 230 235 240

Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Ala Glu Phe Thr Leu Thr

245 250 255

Ile Ser Ser Leu Gln Pro Asp Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Xaa Xaa

260 265 270

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

275 280 285

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

290 295 300

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

305 310 315 320

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

325 330 335

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

340 345 350

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

355 360 365

Xaa Xaa Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly

370 375 380

<210>

168

<211> 381

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> recombinant scFv - VL acceptor sequence

<220><221> CDR

<222> (24)..(123)

<223> At least 3 and up to 50 amino acids can be present

<220><221> CDR

<222> (139)..(238)

<223> At least 3 and up to 50 amino acids can be present

<220><221> CDR

<222> (271)..(370)

<223> At least 3 and up to 50 amino acids can be present

<400> 168

Glu Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Ile Ile Thr Cys Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

20 25 30

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

35 40 45

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

50 55 60

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

65 70 75 80

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

85 90 95

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

100 105 110

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Trp Tyr Gln Gln Lys

115 120 125

Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

130 135 140

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

145 150 155 160

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

165 170 175

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

180 185 190

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

195 200 205

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

210 215 220

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Gly Val

225 230 235 240

Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Ala Glu Phe Thr Leu Thr

245 250 255

Ile Ser Ser Leu Gln Pro Asp Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Xaa Xaa

260 265 270

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

275 280 285

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

290 295 300

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

305 310 315 320

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

325 330 335

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

340 345 350

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

355 360 365

Xaa Xaa Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly

370 375 380

<210> 169

<211> 382

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> recombinant scFv - VH acceptor sequence

<220><221> CDR

<222> (26)..(125)

<223> At least 3 and up to 50 amino acids can be present.

<220><221> CDR

<222> (140)..(239)

<223> At least 3 and up to 50 amino acids can be present.

<220><221> CDR

<222> (272)..(371)

<223> At least 3 and up to 50 amino acids can be present.

<400> 169

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

20 25 30

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

35 40 45

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

50 55 60

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

65 70 75 80

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

85 90 95

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

100 105 110

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Trp Val Arg

115 120 125

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

130 135 140

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

145 150 155 160

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

165 170 175

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

180 185 190

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

195 200 205

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

210 215 220

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Arg

225 230 235 240

Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met

245 250 255

Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Lys Xaa

260 265 270

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

275 280 285

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

290 295 300

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

305 310 315 320

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

325 330 335

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

340 345 350

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

355 360 365

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

370 375 380

<210> 170

<211> 381

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> recombinant scFv - VH acceptor sequence

<220><221> CDR

<222> (26)..(125)

<223> At least 3 and up to 50 amino acids can be present.

<220><221> CDR

<222> (140)..(239)

<

223> At least 3 and up to 50 amino acids can be present.

<220><221> CDR

<222> (272)..(371)

<223> At least 3 and up to 50 amino acids can be present.

<400> 170

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Thr Ala Ser Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

20 25 30

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

35 40 45

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

50 55 60

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

65 70 75 80

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

85 90 95

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

100 105 110

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Trp Val Arg
115 120 125
Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Gly Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
130 135 140
Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
145 150 155 160
Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
165 170 175

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
180 185 190
Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
195 200 205
Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
210 215 220
Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Arg
225 230 235 240

Phe Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met
245 250 255
Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Xaa
260 265 270
Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
275 280 285
Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
290 295 300

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
305 310 315 320
Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
325 330 335
Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
340 345 350

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

355 360 365

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

370 375 380

<210> 171

<211> 382

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> recombinant scFv - VH acceptor sequence

<220><221> CDR

<222> (26)..(125)

<223> At least 3 and up to 50 amino acids can be present.

<220><221> CDR

<222> (140)..(239)

<223> At least 3 and up to 50 amino acids can be present.

<220><221> CDR

<222> (272)..(371)

<223> At least 3 and up to 50 amino acids can be present.

<400> 171

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Thr Val Ser Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

20 25 30

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

35 40 45

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

50 55 60

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

65 70 75 80

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

85 90 95

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

100 105 110

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Trp Val Arg

115 120 125

Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Gly Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

130 135 140

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

145 150 155 160

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

165 170 175

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

180 185 190

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

195 200 205

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

210 215 220

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Arg

225 230 235 240

Phe Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met

245 250 255

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

260 265 270

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

275 280 285

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

290 295 300

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

305 310 315 320

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

325 330 335

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

340 345 350

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

355 360 365

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

370 375 380

<210> 172

<211> 783

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> recombinant scFv - acceptor sequence

<220><221> CDR

<222> (24)..(123)

<223> At least 3 and up to 50 amino acids can be present.

<220><221> CDR

<222> (139)..(238)

<223> At least 3 and up to 50 amino acids can be present.

<220><221> CDR

<222> (271)..(370)

<223> At least 3 and up to 50 amino acids can be present.

<220><221> CDR

<222> (427)..(526)

<223> At least 3 and up to 50 amino acids can be present.

<220><221> CDR

<222> (541)..(640)

<223> At least 3 and up to 50 amino acids can be present.

<220><221> CDR

<222> (673)..(772)

<223> At least 3 and up to 50 amino acids can be present.

<400> 172

Glu Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Ile Ile Thr Cys Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

20 25 30

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

35 40 45

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

50 55 60

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

65 70 75 80

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

85 90 95

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

100 105 110

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Trp Tyr Gln Gln Lys

115 120 125

Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

130 135 140

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

145 150 155 160

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

165 170 175

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

180 185 190

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

195 200 205

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

210 215 220

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Gly Val

225 230 235 240

Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Ala Glu Phe Thr Leu Thr

245 250 255

Ile Ser Ser Leu Gln Pro Asp Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Xaa Xaa

260 265 270

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

275 280 285

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

290 295 300

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

305 310 315 320

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

325 330 335

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

340 345 350

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

355 360 365

Xaa Xaa Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gly Gly Gly

370 375 380

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

385 390 395 400

Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly

405 410 415

Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

420 425 430

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

435 440 445

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

450 455 460

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

465 470 475 480

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

485 490 495

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

500 505 510

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Trp Val

515 520 525

Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Xaa Xaa Xaa Xaa

530 535 540

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

545 550 555 560

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

565 570 575

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

580 585 590

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

595 600 605

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

610 615 620

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

625 630 635 640

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

645 650 655

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

660 665 670

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

675 680 685

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

690 695 700

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

705 710 715 720

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

725 730 735

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

740 745 750

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

755 760 765

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

770 775 780

<210> 173

<211> 783

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> recombinant scFv - acceptor sequence

<220><221> CDR

<222> (24)..(123)

<223> At least 3 and up to 50 amino acids can be present.

<220><221> CDR

<222> (139)..(238)

<223> At least 3 and up to 50 amino acids can be present.

<220><221> CDR

<222> (271)..(370)

<223> At least 3 and up to 50 amino acids can be present.

<220><221> CDR

<222> (427)..(526)

<223> At least 3 and up to 50 amino acids can be present.

<220><221> CDR

<222> (541)..(640)

<223> At least 3 and up to 50 amino acids can be present.

<220><221> CDR

<222> (673)..(772)

<223> At least 3 and up to 50 amino acids can be present.

<400> 173

Glu Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Ile Ile Thr Cys Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

20 25 30

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

35 40 45

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

50 55 60

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
65 70 75 80
Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
85 90 95
Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
100 105 110
Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Trp Tyr Gln Gln Lys
115 120 125

Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
130 135 140
Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
145 150 155 160
Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
165 170 175
Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
180 185 190

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
195 200 205
Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
210 215 220
Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Gly Val
225 230 235 240
Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr
245 250 255

Ile Ser Ser Leu Gln Pro Asp Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Xaa Xaa
260 265 270
Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
275 280 285
Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
290 295 300

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
305 310 315 320

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
325 330 335
Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
340 345 350
Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
355 360 365
Xaa Xaa Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gly Gly Gly
370 375 380

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
385 390 395 400
Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly
405 410 415
Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Thr Ala Ser Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
420 425 430
Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
435 440 445

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
450 455 460
Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
465 470 475 480
Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
485 490 495
Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
500 505 510

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Trp Val
515 520 525
Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Gly Xaa Xaa Xaa Xaa
530 535 540
Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

545 550 555 560

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

565 570 575

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

580 585 590

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

595 600 605

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

610 615 620

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

625 630 635 640

Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln

645 650 655

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

660 665 670

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

675 680 685

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

690 695 700

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

705 710 715 720

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

725 730 735

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

740 745 750

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

755 760 765

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

770 775 780

<210> 174

<211> 783

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> recombinant scFv - acceptor sequence

<220><221> CDR

<222> (24)..(123)

<223> Al least 3 and up to 50 amino acids can be present.

<220><221> CDR

<222> (139)..(238)

<223> Al least 3 and up to 50 amino acids can be present.

<220><221> CDR

<222> (271)..(370)

<223> Al least 3 and up to 50 amino acids can be present.

<220><221> CDR

<222> (427)..(526)

<223> Al least 3 and up to 50 amino acids can be present.

<220><221> CDR

<222> (541)..(640)

<223> Al least 3 and up to 50 amino acids can be present.

<220><221> CDR

<222> (673)..(772)

<223> Al least 3 and up to 50 amino acids can be present.

<400> 174

Glu Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Ile Ile Thr Cys Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

20 25 30

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

35 40 45

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

50 55 60

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

65 70 75 80

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

85 90 95

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

100 105 110

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Trp Tyr Gln Gln Lys

115 120 125

Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

130 135 140

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

145 150 155 160

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

165 170 175

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

180 185 190

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

195 200 205

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

210 215 220

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Gly Val

225 230 235 240

Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr

245 250 255

Ile Ser Ser Leu Gln Pro Asp Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Xaa Xaa

260 265 270

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

275 280 285

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

290 295 300

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

305 310 315 320

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

325 330 335

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

340 345 350

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

355 360 365

Xaa Xaa Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gly Gly Gly

370 375 380

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

385 390 395 400

Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly

405 410 415

Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Thr Val Ser Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

420 425 430

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

435 440 445

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

450 455 460

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

465 470 475 480

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

485 490 495

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

500 505 510

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Trp Val

515 520 525

Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Gly Xaa Xaa Xaa Xaa

530 535 540

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

545 550 555 560

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

565 570 575

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

580 585 590

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

595 600 605

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

610 615 620

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

625 630 635 640

Arg Phe Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln

645 650 655

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

660 665 670

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

675 680 685

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

690 695 700

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

705 710 715 720

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

725 730 735

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

740 745 750

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

755 760 765

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

770 775 780

<210> 175

<211> 248

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> recombinant scFv

<400> 175

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

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

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

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

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

Asp Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Asn Phe Ala Thr Ser Asp Thr
85 90 95

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

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
115 120 125

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

Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Phe Ser Leu Asn Thr
145 150 155 160

Asn Tyr Trp Met Cys Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu
165 170 175

Trp Val Gly Cys Met Tyr Thr Gly Ser Tyr Asn Arg Ala Tyr Tyr Ala
180 185 190

Ser Trp Ala Lys Gly Arg Phe Thr Ser Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn
195 200 205

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

Tyr Tyr Cys Ala Lys Gly Ser Asn Trp Tyr Ser Asp Leu Trp Gly Gln
225 230 235 240

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

245

<210> 176

<211> 251

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> recombinant scFv

<400> 176

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

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

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

Tyr Arg Ala Ser Thr Leu Ala 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

Asp Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Ala Asn Tyr Ala Tyr Ser Ala
85 90 95

Gly Tyr Gly Ala Ala Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly
100 105 110

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
115 120 125

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

Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser
145 150 155 160

Leu Asn Thr Tyr Tyr Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly
165 170 175

Leu Glu Trp Val Gly Ile Ile Ala Pro Asp Asp Thr Thr Tyr Tyr Ala
180 185 190

Ser Trp Ala Lys Ser Arg Ser Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Asn

195 200 205

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

210 215 220

Tyr Tyr Cys Ala Arg Ser Gly Asp Thr Thr Ala Trp Gly Ala Asp Ile

225 230 235 240

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

245 250

<210> 177

<211> 250

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> recombinant scFv

<400> 177

Glu Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Ile Ile Thr Cys Gln Ala Asp Gln Ser Ile Tyr Ile Trp

20 25 30

Leu Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

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

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Ala Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

Asp Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Asn Asn Ala His Tyr Ser Thr

85 90 95

Asn Gly Gly Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gly

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ser Leu
145 150 155 160
Ser Asp Tyr Tyr Met Cys Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu
165 170 175
Glu Trp Val Ser Cys Leu Asp Tyr Phe Gly Ser Thr Asp Asp Ala Ser

180 185 190
Trp Ala Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr
195 200 205
Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr
210 215 220
Tyr Cys Ala Lys Thr Asp Asp Ser Arg Gly Trp Gly Leu Asn Ile Trp
225 230 235 240
Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
245 250

<210> 178
<211> 251
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> recombinant scFv
<400> 178
Glu Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Ile Ile Thr Cys Gln Ala Ser Glu Ile Ile His Ser Trp
20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Leu Ala Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60
Ser Gly Ser Gly Ala Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Asp Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Asn Val Tyr Leu Ala Ser Thr
85 90 95

Asn Gly Ala Asn Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gly

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ser Leu

145 150 155 160

Thr Asp Tyr Tyr Tyr Met Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly

165 170 175

Leu Glu Trp Val Ser Phe Ile Asp Pro Asp Asp Asp Pro Tyr Tyr Ala

180 185 190

Thr Trp Ala Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn

195 200 205

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

210 215 220

Tyr Tyr Cys Ala Lys Gly Asp His Asn Ser Gly Trp Gly Leu Asp Ile

225 230 235 240

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

245 250

<210> 179

<211> 251

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> recombinant scFv

<400> 179

Glu Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Ile Ile Thr Cys Gln Ala Ser Glu Ile Ile His Ser Trp

20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

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

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Gln Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

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

85 90 95

Asn Gly Ala Asn Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gly

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Thr Ala Ser Gly Phe Ser Leu

145 150 155 160

Thr Asp Tyr Tyr Tyr Met Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly

165 170 175

Leu Glu Trp Val Gly Phe Ile Asp Pro Asp Asp Asp Pro Tyr Tyr Ala

180 185 190

Thr Trp Ala Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Asn

195 200 205

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

210 215 220

Tyr Tyr Cys Ala Gly Gly Asp His Asn Ser Gly Trp Gly Leu Asp Ile

225 230 235 240

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

245 250

<210> 180

<211> 251

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> recombinant scFv

<400> 180

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

Asp Arg Val Ile Ile Thr Cys Gln Ala Ser Glu Ile Ile His Ser Trp
20 25 30

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

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

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Ala Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

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

Asn Gly Ala Asn Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gly
100 105 110

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

115 120 125

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

Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Thr Ala Ser Gly Phe Ser Leu
145 150 155 160

Thr Asp Tyr Tyr Tyr Met Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly
165 170 175

Leu Glu Trp Val Gly Phe Ile Asp Pro Asp Asp Asp Pro Tyr Tyr Ala

180 185 190

Thr Trp Ala Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Asn
195 200 205

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

Tyr Tyr Cys Ala Gly Gly Asp His Asn Ser Gly Trp Gly Leu Asp Ile
225 230 235 240

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

245 250