

ÖZET**DİSÜLFÜRLE STABİLİZE EDİLMİŞ ÇOK DEĞERLİKLİ ANTİKORLAR**

5 Mevcut buluş yeni çift spesifikliğı sahip antikor füzyon proteinlerine ilişkindir. Bu tür antikorlar bir ilgili antijene yönelik bir ilk spesifikliğı ve bir ikinci antijene yönelik bir ikinci spesifikliğı, örneğın bunların in vivo serum yarılanma ömürlerinin uzatılmasında kullanım için bir serum taşıyıcı proteini içerir. Bu tür moleküllerin ve bunları içeren farmasötik bileşimlerin üretimine ilişkin usuller de sağlanmaktadır.

ÖZET**DİSÜLFÜRLE STABİLİZE EDİLMİŞ ÇOK DEĞERLİKLİ ANTİKORLAR**

5 Mevcut buluş yeni çift spesifikliğı sahip antikor füzyon proteinlerine ilişkindir. Bu tür antikorlar bir ilgili antijene yönelik bir ilk spesifikliğı ve bir ikinci antijene yönelik bir ikinci spesifikliğı, örneğın bunların in vivo serum yarılanma ömürlerinin uzatılmasında kullanım için bir serum taşıyıcı proteini içerir. Bu tür moleküllerin ve bunları içeren farmasötik bileşimlerin üretimine ilişkin usuller de sağlanmaktadır.

ÖZET**DİSÜLFÜRLE STABİLİZE EDİLMİŞ ÇOK DEĞERLİKLİ ANTİKORLAR**

5 Mevcut buluş yeni çift spesifikliğı sahip antikor füzyon proteinlerine ilişkindir. Bu tür antikorlar bir ilgili antijene yönelik bir ilk spesifikliğı ve bir ikinci antijene yönelik bir ikinci spesifikliğı, örneğın bunların in vivo serum yarılanma ömürlerinin uzatılmasında kullanım için bir serum taşıyıcı proteini içerir. Bu tür moleküllerin ve bunları içeren farmasötik bileşimlerin üretimine ilişkin usuller de sağlanmaktadır.

İSTEMLER

1. Bir ilgili antijen için bir ilk spesifikliğı olan bir Fab veya Fab' fragmanından ve bir ikinci ilgili antijen için spesifikliğı olan bir VH/VL çifti şeklinde iki tek domenli antikordan (dAb) oluşan bir çok değerlikli antikor füzyon proteini sağlanmakta olup, burada iki tek domenli antikor, biri VH'da ve diğeri VL'de olmak üzere iki sistein kalıntısı arasında bir disülfür bağla
5 bağlanır, burada iki sistein kalıntısının konumu Kabat numaralandırmasına göre VH44 ve VL100'dür ve burada V_H dAb genetik füzyon yoluyla doğrudan veya dolaylı olarak Fab veya Fab' ağır zincirinin C terminaline bağlanır ve V_LdAb genetik füzyon yoluyla doğrudan veya dolaylı olarak Fab veya Fab' hafif zincirinin C terminaline bağlanır.
- 10 2. İstem 1'deki gibi bir çok değerlikli antikor füzyon proteini olup, burada iki tek domenli antikor ikinci antijene işbirliğiyle bağlanan bir tamamlayıcı VH/VL çiftidir.
3. İstem 1-2'den herhangi birindeki gibi bir çok değerlikli antikor füzyon proteini olup, burada birinci antijen ve ikinci antijen farklı oluşumlardır.
4. İstem 1-3'ten herhangi birindeki gibi bir çok değerlikli antikor füzyon proteini olup, burada
15 VH ve/veya VL domeni bir bağlayıcı vasıtasıyla DİZİ İD. NO: 224'te veya DİZİ İD. NO: 225'te verilen diziye sahip Fab veya Fab' fragmanına bağlanır.
5. İstem 1 ila 4'ten herhangi birindeki gibi bir çok değerlikli antikor füzyon proteini olup, burada ikinci antijen albümindir.
6. İstem 1 ila 5'ten herhangi birindeki gibi bir çok değerlikli antikor füzyon proteini olup,
20 burada ikinci antijen insan serum albümindir.
7. İstem 6'daki gibi bir çok değerlikli antikor füzyon proteini olup, burada söz konusu VH tek domenli antikor CDR-H1 için Şekil 5 (e) DİZİ İD. NO: 56'da veya Şekil 5 (k) DİZİ İD. NO:62'de verilen diziye sahip bir CDR'yi, CDR-H2 için Şekil 5(f) DİZİ İD. NO: 57'de veya Şekil 5 (l) DİZİ İD. NO:63'te verilen diziye sahip bir CDR'yi ve CDR-H3 için Şekil 5 (g)
25 DİZİ İD. NO: 58'de veya Şekil 5 (m) DİZİ İD. NO:64'te verilen diziye sahip bir CDR'yi içerir.
8. İstem 6'daki gibi bir çok değerlikli antikor füzyon proteini olup, burada söz konusu VL tek domenli antikor CDR-L1 için Şekil 5 (h) DİZİ İD. NO: 59'da veya Şekil 5 (n) DİZİ İD. NO:65'te verilen diziye sahip bir CDR'yi, CDR-L2 için Şekil 5(i) DİZİ İD. NO:60'ta veya
30 Şekil 5 (o) DİZİ İD. NO:66'da verilen diziye sahip bir CDR'yi ve CDR-L3 için Şekil 5 (j) DİZİ İD. NO:61'de veya Şekil 5 (p) DİZİ İD. NO:67'de verilen diziye sahip bir CDR'yi

İSTEMLER

1. Bir ilgili antijen için bir ilk spesifikliği olan bir Fab veya Fab' fragmanından ve bir ikinci ilgili antijen için spesifikliği olan bir VH/VL çifti şeklinde iki tek domenli antikordan (dAb) oluşan bir çok değerlikli antikor füzyon proteini sağlanmakta olup, burada iki tek domenli antikor, biri VH'da ve diğeri VL'de olmak üzere iki sistein kalıntısı arasında bir disülfür bağla
5 bağlanır, burada iki sistein kalıntısının konumu Kabat numaralandırmasına göre VH44 ve VL100'dür ve burada V_H dAb genetik füzyon yoluyla doğrudan veya dolaylı olarak Fab veya Fab' ağır zincirinin C terminaline bağlanır ve V_LdAb genetik füzyon yoluyla doğrudan veya dolaylı olarak Fab veya Fab' hafif zincirinin C terminaline bağlanır.
- 10 2. İstem 1'deki gibi bir çok değerlikli antikor füzyon proteini olup, burada iki tek domenli antikor ikinci antijene işbirliğiyle bağlanan bir tamamlayıcı VH/VL çiftidir.
3. İstem 1-2'den herhangi birindeki gibi bir çok değerlikli antikor füzyon proteini olup, burada birinci antijen ve ikinci antijen farklı oluşumlardır.
4. İstem 1-3'ten herhangi birindeki gibi bir çok değerlikli antikor füzyon proteini olup, burada
15 VH ve/veya VL domeni bir bağlayıcı vasıtasıyla DİZİ İD. NO: 224'te veya DİZİ İD. NO: 225'te verilen diziye sahip Fab veya Fab' fragmanına bağlanır.
5. İstem 1 ila 4'ten herhangi birindeki gibi bir çok değerlikli antikor füzyon proteini olup, burada ikinci antijen albümindir.
6. İstem 1 ila 5'ten herhangi birindeki gibi bir çok değerlikli antikor füzyon proteini olup,
20 burada ikinci antijen insan serum albümindir.
7. İstem 6'daki gibi bir çok değerlikli antikor füzyon proteini olup, burada söz konusu VH tek domenli antikor CDR-H1 için Şekil 5 (e) DİZİ İD. NO: 56'da veya Şekil 5 (k) DİZİ İD. NO:62'de verilen diziye sahip bir CDR'yi, CDR-H2 için Şekil 5(f) DİZİ İD. NO: 57'de veya Şekil 5 (l) DİZİ İD. NO:63'te verilen diziye sahip bir CDR'yi ve CDR-H3 için Şekil 5 (g)
25 DİZİ İD. NO: 58'de veya Şekil 5 (m) DİZİ İD. NO:64'te verilen diziye sahip bir CDR'yi içerir.
8. İstem 6'daki gibi bir çok değerlikli antikor füzyon proteini olup, burada söz konusu VL tek domenli antikor CDR-L1 için Şekil 5 (h) DİZİ İD. NO: 59'da veya Şekil 5 (n) DİZİ İD. NO:65'te verilen diziye sahip bir CDR'yi, CDR-L2 için Şekil 5(i) DİZİ İD. NO:60'ta veya
30 Şekil 5 (o) DİZİ İD. NO:66'da verilen diziye sahip bir CDR'yi ve CDR-L3 için Şekil 5 (j) DİZİ İD. NO:61'de veya Şekil 5 (p) DİZİ İD. NO:67'de verilen diziye sahip bir CDR'yi

İSTEMLER

1. Bir ilgili antijen için bir ilk spesifikliği olan bir Fab veya Fab' fragmanından ve bir ikinci ilgili antijen için spesifikliği olan bir VH/VL çifti şeklinde iki tek domenli antikordan (dAb) oluşan bir çok değerlikli antikor füzyon proteini sağlanmakta olup, burada iki tek domenli antikor, biri VH'da ve diğeri VL'de olmak üzere iki sistein kalıntısı arasında bir disülfür bağla
5 bağlanır, burada iki sistein kalıntısının konumu Kabat numaralandırmasına göre VH44 ve VL100'dür ve burada V_H dAb genetik füzyon yoluyla doğrudan veya dolaylı olarak Fab veya Fab' ağır zincirinin C terminaline bağlanır ve V_LdAb genetik füzyon yoluyla doğrudan veya dolaylı olarak Fab veya Fab' hafif zincirinin C terminaline bağlanır.
- 10 2. İstem 1'deki gibi bir çok değerlikli antikor füzyon proteini olup, burada iki tek domenli antikor ikinci antijene işbirliğiyle bağlanan bir tamamlayıcı VH/VL çiftidir.
3. İstem 1-2'den herhangi birindeki gibi bir çok değerlikli antikor füzyon proteini olup, burada birinci antijen ve ikinci antijen farklı oluşumlardır.
4. İstem 1-3'ten herhangi birindeki gibi bir çok değerlikli antikor füzyon proteini olup, burada
15 VH ve/veya VL domeni bir bağlayıcı vasıtasıyla DİZİ İD. NO: 224'te veya DİZİ İD. NO: 225'te verilen diziye sahip Fab veya Fab' fragmanına bağlanır.
5. İstem 1 ila 4'ten herhangi birindeki gibi bir çok değerlikli antikor füzyon proteini olup, burada ikinci antijen albümindir.
6. İstem 1 ila 5'ten herhangi birindeki gibi bir çok değerlikli antikor füzyon proteini olup,
20 burada ikinci antijen insan serum albümindir.
7. İstem 6'daki gibi bir çok değerlikli antikor füzyon proteini olup, burada söz konusu VH tek domenli antikor CDR-H1 için Şekil 5 (e) DİZİ İD. NO: 56'da veya Şekil 5 (k) DİZİ İD. NO:62'de verilen diziye sahip bir CDR'yi, CDR-H2 için Şekil 5(f) DİZİ İD. NO: 57'de veya Şekil 5 (l) DİZİ İD. NO:63'te verilen diziye sahip bir CDR'yi ve CDR-H3 için Şekil 5 (g)
25 DİZİ İD. NO: 58'de veya Şekil 5 (m) DİZİ İD. NO:64'te verilen diziye sahip bir CDR'yi içerir.
8. İstem 6'daki gibi bir çok değerlikli antikor füzyon proteini olup, burada söz konusu VL tek domenli antikor CDR-L1 için Şekil 5 (h) DİZİ İD. NO: 59'da veya Şekil 5 (n) DİZİ İD. NO:65'te verilen diziye sahip bir CDR'yi, CDR-L2 için Şekil 5(i) DİZİ İD. NO:60'ta veya
30 Şekil 5 (o) DİZİ İD. NO:66'da verilen diziye sahip bir CDR'yi ve CDR-L3 için Şekil 5 (j) DİZİ İD. NO:61'de veya Şekil 5 (p) DİZİ İD. NO:67'de verilen diziye sahip bir CDR'yi

içerir.

9. İstem 6'daki gibi bir çok değerlikli antikor füzyon proteini olup, burada VH tek domenli antikor DİZİ İD. NO: 202'de verilen diziyi içerir ve VL tek domenli antikor DİZİ İD. NO: 203'te verilen diziyi içerir.

- 5 10. İstem 6'daki gibi bir çok değerlikli antikor füzyon proteini olup, burada VH tek domenli antikor DİZİ İD. NO: 204'te verilen diziyi içerir ve VL tek domenli antikor DİZİ İD. NO: 205'te verilen diziyi içerir.

içerir.

9. İstem 6'daki gibi bir çok değerlikli antikor füzyon proteini olup, burada VH tek domenli antikor DİZİ İD. NO: 202'de verilen diziyi içerir ve VL tek domenli antikor DİZİ İD. NO: 203'te verilen diziyi içerir.

- 5 10. İstem 6'daki gibi bir çok değerlikli antikor füzyon proteini olup, burada VH tek domenli antikor DİZİ İD. NO: 204'te verilen diziyi içerir ve VL tek domenli antikor DİZİ İD. NO: 205'te verilen diziyi içerir.

içerir.

9. İstem 6'daki gibi bir çok değerlikli antikor füzyon proteini olup, burada VH tek domenli antikor DİZİ İD. NO: 202'de verilen diziyi içerir ve VL tek domenli antikor DİZİ İD. NO: 203'te verilen diziyi içerir.

- 5 10. İstem 6'daki gibi bir çok değerlikli antikor füzyon proteini olup, burada VH tek domenli antikor DİZİ İD. NO: 204'te verilen diziyi içerir ve VL tek domenli antikor DİZİ İD. NO: 205'te verilen diziyi içerir.

TARİFNAME

DİSÜLFÜRLE STABİLİZE EDİLMİŞ ÇOK DEĞERLİKLİ ANTİKORLAR

Mevcut buluş yeni çift spesifikliğe sahip antikor füzyon proteinlerine ilişkindir. Bu tür antikorlar bir ilgili antijene yönelik bir ilk spesifikliği ve bir ikinci antijene yönelik bir ikinci spesifikliği, örneğin bunların *in vivo* serum yarılanma ömürlerinin uzatılmasında kullanım için bir serum taşıyıcı proteini içerir. Bu tür moleküllerin ve bunları içeren farmasötik bileşimlerin üretimine ilişkin usuller de sağlanmaktadır.

Antikorların yüksek spesifikliği ve afinitesi, bunları özellikle protein:protein etkileşimlerinin modülasyonu için ideal tanısal ve terapötik maddeler haline getirir. Rekombinant antikor teknolojisi alanında kaydedilen gelişmeler Fv, Fab, Fab' ve F(ab')₂ fragmanları gibi antikor fragmanlarının ve başka antikor fragmanlarının üretilmesine yol açmıştır. Bu daha küçük moleküller bütün antikorların antijene bağlanma etkinliğini korurlar ve bütün immünoglobulin molekülleri ile karşılaştırıldıklarında gelişmiş doku penetrasyonu ve farmakokinetik özellikler de sergileyebilirler. Gerçekten de, ReoPro® ve Lucentis® gibi ürünlerle son zamanlarda kaydedilen başarıların gösterdiği gibi antikor fragmanlarının çok yönlü terapötik maddeler oldukları belli olmuştur. Bu fragmanlar bütün immünoglobulinlere kıyasla çeşitli avantajlar sergiliyor gibi durmalarına rağmen, *in vivo* uzun bir yaşam ömrü sağlayan Fc domenleri ('domain' farklı fonksiyonu olan antikor bölgesi) olmadığı için serumdan yüksek bir atılım hızına sahip olma sorunları da vardır (Medasan ve diğerleri, 1997, J. Immunol. 158:2211-2217).

Çift spesifikliği olan, *yani* iki farklı antijene bağlanan antikorlar daha önceden açıklanmıştır (inceleme için bakınız, Segal ve diğerleri, 1999, Curr. Opin. Immunol. 11:558-562; Plückthun & Pack, 1997, Immunotechnology, 3:83-105; Fischer ve Leger, 2007, Pathobiology, 74, 3-14). Çift spesifikliğe sahip antikorlar WO 02/02773, US 2007065440, US 2006257406, US 2006106203 ve US 2006280734'te de açıklanmıştır. Hetero-bispesifik antikor bazlı moleküllerin yapımına ilişkin önceki yaklaşımlarda genellikle kimyasal çapraz bağlama veya protein mühendisliği teknikleri kullanılmıştır. Kimyasal çapraz bağlamanın sorunu hetero- ve homo-dimer oluşumunun düşük verimli olması ve sonradan bunların kromatografik ayırmayı gerektirmesidir. Protein mühendisliği yaklaşımları ya oldukça çetrefilli olmuş (örneğin deliklere toplanan topuzlar tasarımı; Ridgway ve diğerleri, 1996, Protein Eng. 9(7):617-621) ya da yetersiz stabilite özellikleri olan moleküller (örneğin di-antikorlar, scFv) kullanılmıştır. Bazı durumlarda bispesifik antikordaki sterik engelleme sorunları da yaşanabilmekte, bu durumda her iki antijen her antikor koluna eşzamanlı bağlanamayabilmektedir.

TARİFNAME

DİSÜLFÜRLE STABİLİZE EDİLMİŞ ÇOK DEĞERLİKLİ ANTİKORLAR

Mevcut buluş yeni çift spesifikliğe sahip antikor füzyon proteinlerine ilişkindir. Bu tür antikorlar bir ilgili antijene yönelik bir ilk spesifikliği ve bir ikinci antijene yönelik bir ikinci spesifikliği, örneğin bunların *in vivo* serum yarılanma ömürlerinin uzatılmasında kullanım için bir serum taşıyıcı proteini içerir. Bu tür moleküllerin ve bunları içeren farmasötik bileşimlerin üretimine ilişkin usuller de sağlanmaktadır.

Antikorların yüksek spesifikliği ve afinitesi, bunları özellikle protein:protein etkileşimlerinin modülasyonu için ideal tanısal ve terapötik maddeler haline getirir. Rekombinant antikor teknolojisi alanında kaydedilen gelişmeler Fv, Fab, Fab' ve F(ab')₂ fragmanları gibi antikor fragmanlarının ve başka antikor fragmanlarının üretilmesine yol açmıştır. Bu daha küçük moleküller bütün antikorların antijene bağlanma etkinliğini korurlar ve bütün immünoglobulin molekülleri ile karşılaştırıldıklarında gelişmiş doku penetrasyonu ve farmakokinetik özellikler de sergileyebilirler. Gerçekten de, ReoPro® ve Lucentis® gibi ürünlerle son zamanlarda kaydedilen başarıların gösterdiği gibi antikor fragmanlarının çok yönlü terapötik maddeler oldukları belli olmuştur. Bu fragmanlar bütün immünoglobulinlere kıyasla çeşitli avantajlar sergiliyor gibi durmalarına rağmen, *in vivo* uzun bir yaşam ömrü sağlayan Fc domenleri ('domain' farklı fonksiyonu olan antikor bölgesi) olmadığı için serumdan yüksek bir atılım hızına sahip olma sorunları da vardır (Medasan ve diğerleri, 1997, J. Immunol. 158:2211-2217).

Çift spesifikliği olan, *yani* iki farklı antijene bağlanan antikorlar daha önceden açıklanmıştır (inceleme için bakınız, Segal ve diğerleri, 1999, Curr. Opin. Immunol. 11:558-562; Plückthun & Pack, 1997, Immunotechnology, 3:83-105; Fischer ve Leger, 2007, Pathobiology, 74, 3-14). Çift spesifikliğe sahip antikorlar WO 02/02773, US 2007065440, US 2006257406, US 2006106203 ve US 2006280734'te de açıklanmıştır. Hetero-bispesifik antikor bazlı moleküllerin yapımına ilişkin önceki yaklaşımlarda genellikle kimyasal çapraz bağlama veya protein mühendisliği teknikleri kullanılmıştır. Kimyasal çapraz bağlamanın sorunu hetero- ve homo-dimer oluşumunun düşük verimli olması ve sonradan bunların kromatografik ayırmayı gerektirmesidir. Protein mühendisliği yaklaşımları ya oldukça çetrefilli olmuş (örneğin deliklere toplanan topuzlar tasarımı; Ridgway ve diğerleri, 1996, Protein Eng. 9(7):617-621) ya da yetersiz stabilite özellikleri olan moleküller (örneğin di-antikorlar, scFv) kullanılmıştır. Bazı durumlarda bispesifik antikordaki sterik engelleme sorunları da yaşanabilmekte, bu durumda her iki antijen her antikor koluna eşzamanlı bağlanamayabilmektedir.

TARİFNAME

DİSÜLFÜRLE STABİLİZE EDİLMİŞ ÇOK DEĞERLİKLİ ANTİKORLAR

Mevcut buluş yeni çift spesifikliğe sahip antikor füzyon proteinlerine ilişkindir. Bu tür antikorlar bir ilgili antijene yönelik bir ilk spesifikliği ve bir ikinci antijene yönelik bir ikinci spesifikliği, örneğin bunların *in vivo* serum yarılanma ömürlerinin uzatılmasında kullanım için bir serum taşıyıcı proteini içerir. Bu tür moleküllerin ve bunları içeren farmasötik bileşimlerin üretimine ilişkin usuller de sağlanmaktadır.

Antikorların yüksek spesifikliği ve afinitesi, bunları özellikle protein:protein etkileşimlerinin modülasyonu için ideal tanısal ve terapötik maddeler haline getirir. Rekombinant antikor teknolojisi alanında kaydedilen gelişmeler Fv, Fab, Fab' ve F(ab')₂ fragmanları gibi antikor fragmanlarının ve başka antikor fragmanlarının üretilmesine yol açmıştır. Bu daha küçük moleküller bütün antikorların antijene bağlanma etkinliğini korurlar ve bütün immünoglobulin molekülleri ile karşılaştırıldıklarında gelişmiş doku penetrasyonu ve farmakokinetik özellikler de sergileyebilirler. Gerçekten de, ReoPro® ve Lucentis® gibi ürünlerle son zamanlarda kaydedilen başarıların gösterdiği gibi antikor fragmanlarının çok yönlü terapötik maddeler oldukları belli olmuştur. Bu fragmanlar bütün immünoglobulinlere kıyasla çeşitli avantajlar sergiliyor gibi durmalarına rağmen, *in vivo* uzun bir yaşam ömrü sağlayan Fc domenleri ('domain' farklı fonksiyonu olan antikor bölgesi) olmadığı için serumdan yüksek bir atılım hızına sahip olma sorunları da vardır (Medasan ve diğerleri, 1997, J. Immunol. 158:2211-2217).

Çift spesifikliği olan, *yani* iki farklı antijene bağlanan antikorlar daha önceden açıklanmıştır (inceleme için bakınız, Segal ve diğerleri, 1999, Curr. Opin. Immunol. 11:558-562; Plückthun & Pack, 1997, Immunotechnology, 3:83-105; Fischer ve Leger, 2007, Pathobiology, 74, 3-14). Çift spesifikliğe sahip antikorlar WO 02/02773, US 2007065440, US 2006257406, US 2006106203 ve US 2006280734'te de açıklanmıştır. Hetero-bispesifik antikor bazlı moleküllerin yapımına ilişkin önceki yaklaşımlarda genellikle kimyasal çapraz bağlama veya protein mühendisliği teknikleri kullanılmıştır. Kimyasal çapraz bağlamanın sorunu hetero- ve homo-dimer oluşumunun düşük verimli olması ve sonradan bunların kromatografik ayırmayı gerektirmesidir. Protein mühendisliği yaklaşımları ya oldukça çetrefilli olmuş (örneğin deliklere toplanan topuzlar tasarımı; Ridgway ve diğerleri, 1996, Protein Eng. 9(7):617-621) ya da yetersiz stabilite özellikleri olan moleküller (örneğin di-antikorlar, scFv) kullanılmıştır. Bazı durumlarda bispesifik antikordaki sterik engelleme sorunları da yaşanabilmekte, bu durumda her iki antijen her antikor koluna eşzamanlı bağlanamayabilmektedir.

WO 2007/109254'te bir disülfür bağla stabilize edilmiş tek zincirli Fv'ler ve bunları içeren moleküller açıklanmaktadır. WO 2009/040562'de iki tek domenli antikora bağlanmış bir Fab molekülü açıklanmıştır.

Tek domenli antikorlar veya dAb'ler olarak da bilinen tek değişken domenli antikorlar bir antikorun gerek ağır (VH), gerek hafif (VL) zincir değişken bölgelerine karşılık gelirler.

Murin (faregil) tek domenli antikorları Ward ve diğerleri, 1989, Nature, 341, 544-546 referansında açıklanmaktadır. İnsan ve 'deve özellikleri katılmış' insan tek domenli antikorları da açıklanmıştır (Holt ve diğerleri, 2003, Trends in Biotechnology, 21, 484-490). Tek domenli antikorlar devegillerden (develer ve lamalar) ve kıkırdak iskeletli balıklardan da (halı ve hemşire köpek balıkları) elde edilir. Bu organizmalar, immün sistemlerinin bütünleyici ve çok önemli bir bileşeni olarak Fc eşdeğeri bir sabit domen çerçevesi üzerine monte edilmiş halde yüksek afiniteli tek V benzeri domenler (devegillerde V_HH, köpek balıklarında ise V-NAR olarak isimlendirilir) geliştirmiştir (inceleme için bakınız, Holliger & Hudson; 2005, Nature Biotechnology, 23(9): 1126-1136).

Tek domenli antikor-enzim füzyonları EP 0368684'te açıklanmıştır. Tek bir değişken domen içeren tek domenli efektör grup füzyonları da WO 2004/058820'de açıklanmıştır. Çift değişken domenli immünoglobulinler WO 2007/024715'te açıklanmıştır. Farklı spesifiklikleri olan iki tek domenli antikor içeren çift spesifik ligandlar EP 1517921'de açıklanmıştır.

Fv, Fab, Fab', F(ab')₂ gibi antikor fragmanlarının ve başka antikor fragmanlarının yarılanma ömrünü artırma yolları bilinmektedir. Bir yaklaşım fragmanın polimer moleküllere konjuge edilmesi olmuştur. Sonuç olarak, Fab', F(ab')₂ fragmanlarının hayvanlarda dolaşımda kısa olan yarılanma ömrü polietilen glikole (PEG; bakınız örneğin, WO 98/25791, WO 99/64460 ve WO 98/37200) konjugasyonla iyileştirilmiştir. Bir başka yaklaşım antikor fragmanının FcRn reseptörü ile etkileşen bir maddeye konjugasyonla modifiye edilmesi olmuştur (bakınız örneğin, WO 97/34631). Yarılanma ömrünü uzatmak için yine bir başka yaklaşım serum albümine bağlanan polipeptitleri kullanmak olmuştur (bakınız örneğin, Smith ve diğerleri, 2001, Bioconjugate Chem. 12: 750-756; EP 0486525; US 6267964; WO 04/001064; WO 02/076489; ve WO 01/45746). Bununla birlikte, FcRn reseptörü ile etkileştikleri için uzun bir yarılanma ömrüne sahip olanlara alternatif olarak, PEG'ye konjugasyonla kimyasal olarak modifiye edilmeksizin veya insan serum albümine konjuge edilmeden uzun bir *in vivo* yarılanma ömrüne sahip antijen bağlayıcı immünoglobulin proteinlerinin üretilmesine hala ihtiyaç duyulmaktadır.

Plazmada bir dizi protein mevcuttur ve bunlar tiroksin bağlayıcı protein, transtiretin, α 1-asit

WO 2007/109254'te bir disülfür bağla stabilize edilmiş tek zincirli Fv'ler ve bunları içeren moleküller açıklanmaktadır. WO 2009/040562'de iki tek domenli antikora bağlanmış bir Fab molekülü açıklanmıştır.

Tek domenli antikorlar veya dAb'ler olarak da bilinen tek değişken domenli antikorlar bir antikorun gerek ağır (VH), gerek hafif (VL) zincir değişken bölgelerine karşılık gelirler.

Murin (faregil) tek domenli antikorları Ward ve diğerleri, 1989, Nature, 341, 544-546 referansında açıklanmaktadır. İnsan ve 'deve özellikleri katılmış' insan tek domenli antikorları da açıklanmıştır (Holt ve diğerleri, 2003, Trends in Biotechnology, 21, 484-490). Tek domenli antikorlar devegillerden (develer ve lamalar) ve kıkırdak iskeletli balıklardan da (halı ve hemşire köpek balıkları) elde edilir. Bu organizmalar, immün sistemlerinin bütünleyici ve çok önemli bir bileşeni olarak Fc eşdeğeri bir sabit domen çerçevesi üzerine monte edilmiş halde yüksek afiniteli tek V benzeri domenler (devegillerde V_HH, köpek balıklarında ise V-NAR olarak isimlendirilir) geliştirmiştir (inceleme için bakınız, Holliger & Hudson; 2005, Nature Biotechnology, 23(9): 1126-1136).

Tek domenli antikor-enzim füzyonları EP 0368684'te açıklanmıştır. Tek bir değişken domen içeren tek domenli efektör grup füzyonları da WO 2004/058820'de açıklanmıştır. Çift değişken domenli immünoglobulinler WO 2007/024715'te açıklanmıştır. Farklı spesifiklikleri olan iki tek domenli antikor içeren çift spesifik ligandlar EP 1517921'de açıklanmıştır.

Fv, Fab, Fab', F(ab')₂ gibi antikor fragmanlarının ve başka antikor fragmanlarının yarılanma ömrünü artırma yolları bilinmektedir. Bir yaklaşım fragmanın polimer moleküllere konjuge edilmesi olmuştur. Sonuç olarak, Fab', F(ab')₂ fragmanlarının hayvanlarda dolaşımında kısa olan yarılanma ömrü polietilen glikole (PEG; bakınız örneğin, WO 98/25791, WO 99/64460 ve WO 98/37200) konjugasyonla iyileştirilmiştir. Bir başka yaklaşım antikor fragmanının FcRn reseptörü ile etkileşen bir maddeye konjugasyonla modifiye edilmesi olmuştur (bakınız örneğin, WO 97/34631). Yarılanma ömrünü uzatmak için yine bir başka yaklaşım serum albümine bağlanan polipeptitleri kullanmak olmuştur (bakınız örneğin, Smith ve diğerleri, 2001, Bioconjugate Chem. 12: 750-756; EP 0486525; US 6267964; WO 04/001064; WO 02/076489; ve WO 01/45746). Bununla birlikte, FcRn reseptörü ile etkileştikleri için uzun bir yarılanma ömrüne sahip olanlara alternatif olarak, PEG'ye konjugasyonla kimyasal olarak modifiye edilmeksizin veya insan serum albümine konjuge edilmeden uzun bir *in vivo* yarılanma ömrüne sahip antijen bağlayıcı immünoglobulin proteinlerinin üretilmesine hala ihtiyaç duyulmaktadır.

Plazmada bir dizi protein mevcuttur ve bunlar tiroksin bağlayıcı protein, transtiretin, α 1-asit

WO 2007/109254'te bir disülfür bağla stabilize edilmiş tek zincirli Fv'ler ve bunları içeren moleküller açıklanmaktadır. WO 2009/040562'de iki tek domenli antikora bağlanmış bir Fab molekülü açıklanmıştır.

Tek domenli antikorlar veya dAb'ler olarak da bilinen tek değişken domenli antikorlar bir antikorun gerek ağır (VH), gerek hafif (VL) zincir değişken bölgelerine karşılık gelirler.

Murin (faregil) tek domenli antikorları Ward ve diğerleri, 1989, Nature, 341, 544-546 referansında açıklanmaktadır. İnsan ve 'deve özellikleri katılmış' insan tek domenli antikorları da açıklanmıştır (Holt ve diğerleri, 2003, Trends in Biotechnology, 21, 484-490). Tek domenli antikorlar devegillerden (develer ve lamalar) ve kıkırdak iskeletli balıklardan da (halı ve hemşire köpek balıkları) elde edilir. Bu organizmalar, immün sistemlerinin bütünleyici ve çok önemli bir bileşeni olarak Fc eşdeğeri bir sabit domen çerçevesi üzerine monte edilmiş halde yüksek afiniteli tek V benzeri domenler (devegillerde V_HH, köpek balıklarında ise V-NAR olarak isimlendirilir) geliştirmiştir (inceleme için bakınız, Holliger & Hudson; 2005, Nature Biotechnology, 23(9): 1126-1136).

Tek domenli antikor-enzim füzyonları EP 0368684'te açıklanmıştır. Tek bir değişken domen içeren tek domenli efektör grup füzyonları da WO 2004/058820'de açıklanmıştır. Çift değişken domenli immünoglobulinler WO 2007/024715'te açıklanmıştır. Farklı spesifiklikleri olan iki tek domenli antikor içeren çift spesifik ligandlar EP 1517921'de açıklanmıştır.

Fv, Fab, Fab', F(ab')₂ gibi antikor fragmanlarının ve başka antikor fragmanlarının yarılanma ömrünü artırma yolları bilinmektedir. Bir yaklaşım fragmanın polimer moleküllere konjuge edilmesi olmuştur. Sonuç olarak, Fab', F(ab')₂ fragmanlarının hayvanlarda dolaşımında kısa olan yarılanma ömrü polietilen glikole (PEG; bakınız örneğin, WO 98/25791, WO 99/64460 ve WO 98/37200) konjugasyonla iyileştirilmiştir. Bir başka yaklaşım antikor fragmanının FcRn reseptörü ile etkileşen bir maddeye konjugasyonla modifiye edilmesi olmuştur (bakınız örneğin, WO 97/34631). Yarılanma ömrünü uzatmak için yine bir başka yaklaşım serum albümine bağlanan polipeptitleri kullanmak olmuştur (bakınız örneğin, Smith ve diğerleri, 2001, Bioconjugate Chem. 12: 750-756; EP 0486525; US 6267964; WO 04/001064; WO 02/076489; ve WO 01/45746). Bununla birlikte, FcRn reseptörü ile etkileştikleri için uzun bir yarılanma ömrüne sahip olanlara alternatif olarak, PEG'ye konjugasyonla kimyasal olarak modifiye edilmeksizin veya insan serum albümine konjuge edilmeden uzun bir *in vivo* yarılanma ömrüne sahip antijen bağlayıcı immünoglobulin proteinlerinin üretilmesine hala ihtiyaç duyulmaktadır.

Plazmada bir dizi protein mevcuttur ve bunlar tiroksin bağlayıcı protein, transtiretin, α 1-asit

glikoprotein, transferrin, fibrinojen ve albümini veya bunların herhangi birinin bir fragmanını içerir. Serum taşıyıcı proteinler vücut içinde gün olarak ölçülen yarılanma ömürleriyle dolaşmakta olup, bunun örnekleri tiroksin bağlayıcı protein için 5 gün veya transtiretin için 2 gün (Bartalena & Robbins, 1993, Clinics in Lab. Med. 13:583-598) veya iyotlu α 1-asit glikoprotein döngüsünün ikinci fazında 65 saattir (Bree ve diğerleri, 1986, Clin. Pharmacokin. 11:336-342). Gitlin ve diğerlerine (1964, J. Clin. Invest. 10:1938-1951) ait veriler gebe kadınlarda α 1-asit glikoprotein yarılanma ömrünün 3.8 gün olduğunu, bunun transferrin için 12 gün ve fibrinojen için 2.5 gün olduğunu ortaya koymaktadır. Serum albümin erkeklerde yaklaşık 19 günlük bir yarılanma ömrü olan hem vasküler hem ekstrasvasküler

5 kompartmanlarda bolca bulunan bir proteindir (Peters, 1985, Adv Protein Chem. 37:161-245). Bu, yaklaşık 21 gün olan IgG1 yarılanma ömrü ile benzerlik gösterir (Waldeman & Strober, 1969, Progr. Allergy, 13:1-110).

Mevcut açıklamada rekombinant yolla üretilebilecek ve iki antijene, özellikle iki ayrı/farklı antijene eşzamanlı bağlanma kapasitesine sahip gelişmiş çift spesifik antikör füzyon

15 proteinleri sağlanmaktadır.

Dolayısıyla, mevcut buluşta bir ilgili antijen için bir ilk spesifikliği olan bir Fab veya Fab' fragmanından ve bir ikinci ilgili antijen için spesifikliği olan bir VH/VL çifti şeklinde iki tek domenli antikordan (dAb) oluşan bir çok değerlikli antikör füzyon proteini sağlanmakta olup, burada iki tek domenli antikör biri VH'da ve diğeri VL'de olmak üzere iki sistein kalıntısı

20 arasında bir disülfür bağla bağlanır, burada iki sistein kalıntısının konumu Kabat numaralandırmasına göre VH44 ve VL100'dür ve burada V_H dAb genetik füzyon yoluyla doğrudan veya dolaylı olarak Fab veya Fab' ağır zincirinin C terminaline bağlanır ve V_LdAb genetik füzyon yoluyla doğrudan veya dolaylı olarak Fab veya Fab' hafif zincirinin C terminaline bağlanır.

25 Burada kullanıldığı şekliyle tek domenli bir antikör tek zincirli bir Fv'ye karşılık gelmez. Tek zincirli bir Fv iki değişken domenle tanımlanmakta olup, bunlar bir bağımsız birim oluşturmak üzere birbirine bağlanır veya buradaki değişken domenlerden sadece biriyle bir başka birime bağlanır.

Burada kullanıldığı şekliyle çok değerlikli iki veya daha fazla bağlanma alanına, örneğin iki

30 veya üç bağlanma alanına, örneğin iki bağlanma alanına sahip bir birime karşılık gelecek anlamdadır. Her bağlanma alanı aynı antijende aynı epitopa veya farklı epitoplara bağlanabilir veya farklı (ayrı) antijenlere bağlanabilir.

glikoprotein, transferrin, fibrinojen ve albümini veya bunların herhangi birinin bir fragmanını içerir. Serum taşıyıcı proteinler vücut içinde gün olarak ölçülen yarılanma ömürleriyle dolaşmakta olup, bunun örnekleri tiroksin bağlayıcı protein için 5 gün veya transtiretin için 2 gün (Bartalena & Robbins, 1993, Clinics in Lab. Med. 13:583-598) veya iyotlu α 1-asit glikoprotein döngüsünün ikinci fazında 65 saattir (Bree ve diğerleri, 1986, Clin. Pharmacokin. 11:336-342). Gitlin ve diğerlerine (1964, J. Clin. Invest. 10:1938-1951) ait veriler gebe kadınlarda α 1-asit glikoprotein yarılanma ömrünün 3.8 gün olduğunu, bunun transferrin için 12 gün ve fibrinojen için 2.5 gün olduğunu ortaya koymaktadır. Serum albümin erkeklerde yaklaşık 19 günlük bir yarılanma ömrü olan hem vasküler hem ekstrasvasküler

5 kompartmanlarda bolca bulunan bir proteindir (Peters, 1985, Adv Protein Chem. 37:161-245). Bu, yaklaşık 21 gün olan IgG1 yarılanma ömrü ile benzerlik gösterir (Waldeman & Strober, 1969, Progr. Allergy, 13:1-110).

Mevcut açıklamada rekombinant yolla üretilebilecek ve iki antijene, özellikle iki ayrı/farklı antijene eşzamanlı bağlanma kapasitesine sahip gelişmiş çift spesifik antikör füzyon

15 proteinleri sağlanmaktadır.

Dolayısıyla, mevcut buluşta bir ilgili antijen için bir ilk spesifikliği olan bir Fab veya Fab' fragmanından ve bir ikinci ilgili antijen için spesifikliği olan bir VH/VL çifti şeklinde iki tek domenli antikordan (dAb) oluşan bir çok değerlikli antikör füzyon proteini sağlanmakta olup, burada iki tek domenli antikör biri VH'da ve diğeri VL'de olmak üzere iki sistein kalıntısı

20 arasında bir disülfür bağla bağlanır, burada iki sistein kalıntısının konumu Kabat numaralandırmasına göre VH44 ve VL100'dür ve burada V_H dAb genetik füzyon yoluyla doğrudan veya dolaylı olarak Fab veya Fab' ağır zincirinin C terminaline bağlanır ve V_L dAb genetik füzyon yoluyla doğrudan veya dolaylı olarak Fab veya Fab' hafif zincirinin C terminaline bağlanır.

25 Burada kullanıldığı şekliyle tek domenli bir antikör tek zincirli bir Fv'ye karşılık gelmez. Tek zincirli bir Fv iki değişken domenle tanımlanmakta olup, bunlar bir bağımsız birim oluşturmak üzere birbirine bağlanır veya buradaki değişken domenlerden sadece biriyle bir başka birime bağlanır.

Burada kullanıldığı şekliyle çok değerlikli iki veya daha fazla bağlanma alanına, örneğin iki

30 veya üç bağlanma alanına, örneğin iki bağlanma alanına sahip bir birime karşılık gelecek anlamdadır. Her bağlanma alanı aynı antijende aynı epitopa veya farklı epitoplara bağlanabilir veya farklı (ayrı) antijenlere bağlanabilir.

glikoprotein, transferrin, fibrinojen ve albümini veya bunların herhangi birinin bir fragmanını içerir. Serum taşıyıcı proteinler vücut içinde gün olarak ölçülen yarılanma ömürleriyle dolaşmakta olup, bunun örnekleri tiroksin bağlayıcı protein için 5 gün veya transtiretin için 2 gün (Bartalena & Robbins, 1993, Clinics in Lab. Med. 13:583-598) veya iyotlu α 1-asit glikoprotein döngüsünün ikinci fazında 65 saattir (Bree ve diğerleri, 1986, Clin. Pharmacokin. 11:336-342). Gitlin ve diğerlerine (1964, J. Clin. Invest. 10:1938-1951) ait veriler gebe kadınlarda α 1-asit glikoprotein yarılanma ömrünün 3.8 gün olduğunu, bunun transferrin için 12 gün ve fibrinojen için 2.5 gün olduğunu ortaya koymaktadır. Serum albümin erkeklerde yaklaşık 19 günlük bir yarılanma ömrü olan hem vasküler hem ekstrasvasküler

5 kompartmanlarda bolca bulunan bir proteindir (Peters, 1985, Adv Protein Chem. 37:161-245). Bu, yaklaşık 21 gün olan IgG1 yarılanma ömrü ile benzerlik gösterir (Waldeman & Strober, 1969, Progr. Allergy, 13:1-110).

Mevcut açıklamada rekombinant yolla üretilebilecek ve iki antijene, özellikle iki ayrı/farklı antijene eşzamanlı bağlanma kapasitesine sahip gelişmiş çift spesifik antikör füzyon

15 proteinleri sağlanmaktadır.

Dolayısıyla, mevcut buluşta bir ilgili antijen için bir ilk spesifikliği olan bir Fab veya Fab' fragmanından ve bir ikinci ilgili antijen için spesifikliği olan bir VH/VL çifti şeklinde iki tek domenli antikordan (dAb) oluşan bir çok değerlikli antikör füzyon proteini sağlanmakta olup, burada iki tek domenli antikör biri VH'da ve diğeri VL'de olmak üzere iki sistein kalıntısı

20 arasında bir disülfür bağla bağlanır, burada iki sistein kalıntısının konumu Kabat numaralandırmasına göre VH44 ve VL100'dür ve burada V_H dAb genetik füzyon yoluyla doğrudan veya dolaylı olarak Fab veya Fab' ağır zincirinin C terminaline bağlanır ve V_LdAb genetik füzyon yoluyla doğrudan veya dolaylı olarak Fab veya Fab' hafif zincirinin C terminaline bağlanır.

25 Burada kullanıldığı şekliyle tek domenli bir antikör tek zincirli bir Fv'ye karşılık gelmez. Tek zincirli bir Fv iki değişken domenle tanımlanmakta olup, bunlar bir bağımsız birim oluşturmak üzere birbirine bağlanır veya buradaki değişken domenlerden sadece biriyle bir başka birime bağlanır.

Burada kullanıldığı şekliyle çok değerlikli iki veya daha fazla bağlanma alanına, örneğin iki

30 veya üç bağlanma alanına, örneğin iki bağlanma alanına sahip bir birime karşılık gelecek anlamdadır. Her bağlanma alanı aynı antijende aynı epitopa veya farklı epitoplara bağlanabilir veya farklı (ayrı) antijenlere bağlanabilir.

Buluşa ait çift spesifik bir antikor füzyonu ilgili iki antijene selektif bağlanabilecektir.

Bir düzenlemede birinci ve ikinci antijen aynı antijendir.

Bir düzenlemede, Fab veya Fab' fragmanı ile bağlanan bir ilgili antijen hücreye birleşik bir protein, örneğin bakteriyel hücreler, maya hücreleri, T hücreleri, endotelyal hücreler veya

- 5 tümör hücreleri gibi hücrelerde bulunan bir hücre yüzeyi proteini olabilir veya bir çözünür protein olabilir. İlgili antijenler tıpla ilişkili herhangi bir protein, örneğin hastalık veya enfeksiyon sırasında yukarı regüle olan proteinler, örneğin reseptörler ve/veya bunların karşılık gelen ligandları da olabilir. Hücre yüzeyi proteinlerinin belli başlı örnekleri adezyon molekülüleri, örneğin integrinler, örneğin $\beta 1$ integrinler, örneğin VLA-4, E-selektin, P selektin
- 10 veya L-selektin, CD2, CD3, CD4, CD5, CD7, CD8, CD11a, CD11b, CD18, CD19, CD20, CD23, CD25, CD33, CD38, CD40, CD45, CDW52, CD69, CD134 (OX40), ICOS, BCMP7, CD137, CD27L, CDCP1, DPCR1, DPCR1, dudulin2, FLJ20584, FLJ40787, HEK2, KIAA0634, KIAA0659, KIAA1246, KIAA1455, LTBP2, LTK, MAL2, MRP2, nektin-benzeri 2, NKCC1, PTK7, RAIG1, TCAM1, SC6, BCMP101, BCMP84, BCMP11, DTD,
- 15 karsinoembriyonik antijen (CEA), insan süt yağı globulin (HMFG1 ve 2), MHC Klas I ve MHC Klas II antijenleri ve VEGF'yi ve uygun olduğunda bunların reseptörlerini içerir.

- Çözünür antijenler IL-1, IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-8, IL-12, IL-16 veya IL-17 gibi interlökinleri, viral antijenleri, örneğin solunum sinsitiyal virüs veya sitomegalovirüs antijenlerini, immünoglobulinleri, örneğin IgE'yi, interferon α , interferon β veya interferon γ
- 20 gibi interferonları, tümör nekroz faktörü-a, tümör nekroz faktörü- β 'yi, G-CSF veya GM-CSF gibi koloni uyarıcı faktörleri ve PDGF- α ve PDGF- β gibi trombosit türevi büyüme faktörlerini ve uygun olduğunda bunların reseptörlerini içerir. Diğer antijenler bakteriyel hücre yüzeyi antijenlerini, bakteriyel toksinleri, influenza, EBV, HepA, B ve C gibi virüsleri, biyoterörizm maddelerini, radyonüklitleri ve ağır metalleri ve yılan ve örümcek zehirlerini ve toksinlerini
- 25 içerir.

Bir örnekte, açıklamaya ait antikor füzyon proteini ilgili antijenin etkinliğini işlevsel bakımdan farklılaştırmakta kullanılabilir. Örneğin, antikor füzyon proteini söz konusu antijenin etkinliğini doğrudan veya dolaylı yolla nötralize, antagonize veya agonize edebilir.

- Bir örnekte, açıklamaya ait çift spesifik antikor füzyon proteinlerinde tek domenli antikorla
- 30 veya antikorlarla bağlanmış bir ikinci ilgili antijen hücreye birleşik bir protein, örneğin bakteriyel hücreler, maya hücreleri, T hücreleri, endotelyal hücreler veya tümör hücreleri gibi hücrelerde bulunan bir hücre yüzeyi proteini olabilir veya bir çözünür protein olabilir. İlgili

Buluşa ait çift spesifik bir antikor füzyonu ilgili iki antijene selektif bağlanabilecektir.

Bir düzenlemede birinci ve ikinci antijen aynı antijendir.

Bir düzenlemede, Fab veya Fab' fragmanı ile bağlanan bir ilgili antijen hücreye birleşik bir protein, örneğin bakteriyel hücreler, maya hücreleri, T hücreleri, endotelyal hücreler veya

- 5 tümör hücreleri gibi hücrelerde bulunan bir hücre yüzeyi proteini olabilir veya bir çözünür protein olabilir. İlgili antijenler tıpla ilişkili herhangi bir protein, örneğin hastalık veya enfeksiyon sırasında yukarı regüle olan proteinler, örneğin reseptörler ve/veya bunların karşılık gelen ligandları da olabilir. Hücre yüzeyi proteinlerinin belli başlı örnekleri adezyon molekül-
10 leri, örneğin integrinler, örneğin $\beta 1$ integrinler, örneğin VLA-4, E-selektin, P selektin veya L-selektin, CD2, CD3, CD4, CD5, CD7, CD8, CD11a, CD11b, CD18, CD19, CD20, CD23, CD25, CD33, CD38, CD40, CD45, CDW52, CD69, CD134 (OX40), ICOS, BCMP7, CD137, CD27L, CDCP1, DPCR1, DPCR1, dudulin2, FLJ20584, FLJ40787, HEK2, KIAA0634, KIAA0659, KIAA1246, KIAA1455, LTBP2, LTK, MAL2, MRP2, nektin-
benzeri 2, NKCC1, PTK7, RAIG1, TCAM1, SC6, BCMP101, BCMP84, BCMP11, DTD,
15 karsinoembriyonik antijen (CEA), insan süt yağı globulin (HMFG1 ve 2), MHC Klas I ve MHC Klas II antijenleri ve VEGF'yi ve uygun olduğunda bunların reseptörlerini içerir.

- Çözünür antijenler IL-1, IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-8, IL-12, IL-16 veya IL-17 gibi interlökinleri, viral antijenleri, örneğin solunum sinsitiyal virüs veya sitomegalovirüs antijenlerini, immünoglobulinleri, örneğin IgE'yi, interferon α , interferon β veya interferon γ
20 gibi interferonları, tümör nekroz faktörü- α , tümör nekroz faktörü- β 'yi, G-CSF veya GM-CSF gibi koloni uyarıcı faktörleri ve PDGF- α ve PDGF- β gibi trombosit türevi büyüme faktörlerini ve uygun olduğunda bunların reseptörlerini içerir. Diğer antijenler bakteriyel hücre yüzeyi antijenlerini, bakteriyel toksinleri, influenza, EBV, HepA, B ve C gibi virüsleri, biyoterörizm maddelerini, radyonüklitleri ve ağır metalleri ve yılan ve örümcek zehirlerini ve toksinlerini
25 içerir.

Bir örnekte, açıklamaya ait antikor füzyon proteini ilgili antijenin etkinliğini işlevsel bakımdan farklılaştırmakta kullanılabilir. Örneğin, antikor füzyon proteini söz konusu antijenin etkinliğini doğrudan veya dolaylı yolla nötralize, antagonize veya agonize edebilir.

- Bir örnekte, açıklamaya ait çift spesifik antikor füzyon proteinlerinde tek domenli antikorla
30 veya antikorlarla bağlanmış bir ikinci ilgili antijen hücreye birleşik bir protein, örneğin bakteriyel hücreler, maya hücreleri, T hücreleri, endotelyal hücreler veya tümör hücreleri gibi hücrelerde bulunan bir hücre yüzeyi proteini olabilir veya bir çözünür protein olabilir. İlgili

Buluşa ait çift spesifik bir antikor füzyonu ilgili iki antijene selektif bağlanabilecektir.

Bir düzenlemede birinci ve ikinci antijen aynı antijendir.

Bir düzenlemede, Fab veya Fab' fragmanı ile bağlanan bir ilgili antijen hücreye birleşik bir protein, örneğin bakteriyel hücreler, maya hücreleri, T hücreleri, endotelyal hücreler veya

- 5 tümör hücreleri gibi hücrelerde bulunan bir hücre yüzeyi proteini olabilir veya bir çözünür protein olabilir. İlgili antijenler tıpla ilişkili herhangi bir protein, örneğin hastalık veya enfeksiyon sırasında yukarı regüle olan proteinler, örneğin reseptörler ve/veya bunların karşılık gelen ligandları da olabilir. Hücre yüzeyi proteinlerinin belli başlı örnekleri adezyon molekülüleri, örneğin integrinler, örneğin $\beta 1$ integrinler, örneğin VLA-4, E-selektin, P selektin
- 10 veya L-selektin, CD2, CD3, CD4, CD5, CD7, CD8, CD11a, CD11b, CD18, CD19, CD20, CD23, CD25, CD33, CD38, CD40, CD45, CDW52, CD69, CD134 (OX40), ICOS, BCMP7, CD137, CD27L, CDCP1, DPCR1, DPCR1, dudulin2, FLJ20584, FLJ40787, HEK2, KIAA0634, KIAA0659, KIAA1246, KIAA1455, LTBP2, LTK, MAL2, MRP2, nektin-benzeri 2, NKCC1, PTK7, RAIG1, TCAM1, SC6, BCMP101, BCMP84, BCMP11, DTD,
- 15 karsinoembriyonik antijen (CEA), insan süt yağı globulin (HMFG1 ve 2), MHC Klas I ve MHC Klas II antijenleri ve VEGF'yi ve uygun olduğunda bunların reseptörlerini içerir.

- Çözünür antijenler IL-1, IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-8, IL-12, IL-16 veya IL-17 gibi interlökinleri, viral antijenleri, örneğin solunum sinsitiyal virüs veya sitomegalovirüs antijenlerini, immünoglobulinleri, örneğin IgE'yi, interferon α , interferon β veya interferon γ
- 20 gibi interferonları, tümör nekroz faktörü-a, tümör nekroz faktörü- β 'yi, G-CSF veya GM-CSF gibi koloni uyarıcı faktörleri ve PDGF- α ve PDGF- β gibi trombosit türevi büyüme faktörlerini ve uygun olduğunda bunların reseptörlerini içerir. Diğer antijenler bakteriyel hücre yüzeyi antijenlerini, bakteriyel toksinleri, influenza, EBV, HepA, B ve C gibi virüsleri, biyoterörizm maddelerini, radyonüklitleri ve ağır metalleri ve yılan ve örümcek zehirlerini ve toksinlerini
- 25 içerir.

Bir örnekte, açıklamaya ait antikor füzyon proteini ilgili antijenin etkinliğini işlevsel bakımdan farklılaştırmakta kullanılabilir. Örneğin, antikor füzyon proteini söz konusu antijenin etkinliğini doğrudan veya dolaylı yolla nötralize, antagonize veya agonize edebilir.

- Bir örnekte, açıklamaya ait çift spesifik antikor füzyon proteinlerinde tek domenli antikorla
- 30 veya antikorlarla bağlanmış bir ikinci ilgili antijen hücreye birleşik bir protein, örneğin bakteriyel hücreler, maya hücreleri, T hücreleri, endotelyal hücreler veya tümör hücreleri gibi hücrelerde bulunan bir hücre yüzeyi proteini olabilir veya bir çözünür protein olabilir. İlgili

antijenler tıpla ilişkili herhangi bir protein, örneğin hastalık veya enfeksiyon sırasında yukarı regüle olan proteinler, örneğin reseptörler ve/veya bunların karşılık gelen ligandları da olabilir. Hücre yüzeyi proteinlerinin belli başlı örnekleri adezyon molekülleri, örneğin integrinler, örneğin $\beta 1$ integrinler, örneğin VLA-4, E-selektin, P selektin veya L-selektin, 5 CD2, CD3, CD4, CD5, CD7, CD8, CD11a, CD11b, CD18, CD19, CD20, CD23, CD25, CD33, CD38, CD40, CD45, CDW52, CD69, CD134 (OX40), ICOS, BCMP7, CD137, CD27L, CDCP1, DPCR1, DPCR1, dudulin2, FLJ20584, FLJ40787, HEK2, KIAA0634, KIAA0659, KIAA1246, KIAA1455, LTBP2, LTK, MAL2, MRP2, nektin-benzeri 2, NKCC1, PTK7, RAIG1, TCAM1, SC6, BCMP101, BCMP84, BCMP11, DTD, karsinoembriyonik 10 antijen (CEA), insan süt yağı globulin (HMFG1 ve 2), MHC Klas I ve MHC Klas II antijenleri ve VEGF'yi ve uygun olduğunda bunların reseptörlerini içerir.

Çözünür antijenler IL-1, IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-8, IL-12, IL-16 veya IL-17 gibi interlökinleri, viral antijenleri, örneğin solunum sinsitiyal virüs veya sitomegalovirüs antijenlerini, immünoglobulinleri, örneğin IgE'yi, interferon α , interferon β veya interferon γ 15 gibi interferonları, tümör nekroz faktörü-a, tümör nekroz faktörü- β 'yi, G-CSF veya GM-CSF gibi koloni uyarıcı faktörleri ve PDGF- α ve PDGF- β gibi trombosit türevi büyüme faktörlerini ve uygun olduğunda bunların reseptörlerini içerir. Diğer antijenler bakteriyel hücre yüzeyi antijenlerini, bakteriyel toksinleri, influenza, EBV, HepA, B ve C gibi virüsleri, biyoterörizm maddelerini, radyonüklitleri ve ağır metalleri ve yılan ve örümcek zehirlerini ve toksinlerini 20 içerir.

Tek domenli antikörler veya antikörlerle bağlanabilecek diğer antijenler serum taşıyıcı proteinleri, hücre aracılı efektör işlevin toplanmasını mümkün kılan polipeptitleri ve nükleit şelatlayıcı proteinleri içerir.

Sonuç olarak, bir örnekte mevcut açıklamada bir ilgili antijen için bir ilk spesifikliğı olan bir 25 immünoglobulin parçasını içeren ve ayrıca bir ikinci protein için spesifikliğı olan tek domenli bir antikoru içeren, ikincisinin tamamlayıcı yolak etkinleşmesi ve/veya efektör hücre toplama gibi efektör işlevleri toplama kapasitesini mümkün kıldığı çift spesifik antikör füzyon proteinleri sağlanmaktadır. Ayrıca mevcut açıklamaya ait füzyon proteinleri nükleit şelatlayıcı bir proteine bağlanan tek domenli bir antikör vasıtasıyla radyonüklitlerin şelatlanmasında 30 kullanılabilir. Bu tür füzyon proteinleri görüntülemeye veya tedaviye yönelik radyonükleit hedefleyici yaklaşımlarda işe yaramaktadır.

Dolayısıyla, bir örnekte bir ilgili antijen için spesifikliğı olan bir antikör Fab veya Fab' fragmanını içeren ayrıştırılmış bir çift spesifik antikör füzyon proteini sağlanmakta olup, söz

antijenler tıpla ilişkili herhangi bir protein, örneğin hastalık veya enfeksiyon sırasında yukarı regüle olan proteinler, örneğin reseptörler ve/veya bunların karşılık gelen ligandları da olabilir. Hücre yüzeyi proteinlerinin belli başlı örnekleri adezyon molekülleri, örneğin integrinler, örneğin $\beta 1$ integrinler, örneğin VLA-4, E-selektin, P selektin veya L-selektin, 5 CD2, CD3, CD4, CD5, CD7, CD8, CD11a, CD11b, CD18, CD19, CD20, CD23, CD25, CD33, CD38, CD40, CD45, CDW52, CD69, CD134 (OX40), ICOS, BCMP7, CD137, CD27L, CDCP1, DPCR1, DPCR1, dudulin2, FLJ20584, FLJ40787, HEK2, KIAA0634, KIAA0659, KIAA1246, KIAA1455, LTBP2, LTK, MAL2, MRP2, nektin-benzeri 2, NKCC1, PTK7, RAIG1, TCAM1, SC6, BCMP101, BCMP84, BCMP11, DTD, karsinoembriyonik 10 antijen (CEA), insan süt yağı globulin (HMFG1 ve 2), MHC Klas I ve MHC Klas II antijenleri ve VEGF'yi ve uygun olduğunda bunların reseptörlerini içerir.

Çözünür antijenler IL-1, IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-8, IL-12, IL-16 veya IL-17 gibi interlökinleri, viral antijenleri, örneğin solunum sinsitiyal virüs veya sitomegalovirüs antijenlerini, immünoglobulinleri, örneğin IgE'yi, interferon α , interferon β veya interferon γ 15 gibi interferonları, tümör nekroz faktörü-a, tümör nekroz faktörü- β 'yi, G-CSF veya GM-CSF gibi koloni uyarıcı faktörleri ve PDGF- α ve PDGF- β gibi trombosit türevi büyüme faktörlerini ve uygun olduğunda bunların reseptörlerini içerir. Diğer antijenler bakteriyel hücre yüzeyi antijenlerini, bakteriyel toksinleri, influenza, EBV, HepA, B ve C gibi virüsleri, biyoterörizm maddelerini, radyonüklitleri ve ağır metalleri ve yılan ve örümcek zehirlerini ve toksinlerini 20 içerir.

Tek domenli antikorla veya antikorlarla bağlanabilecek diğer antijenler serum taşıyıcı proteinleri, hücre aracılı efektör işlevin toplanmasını mümkün kılan polipeptitleri ve nükleit şelatlayıcı proteinleri içerir.

Sonuç olarak, bir örnekte mevcut açıklamada bir ilgili antijen için bir ilk spesifikliğı olan bir 25 immünoglobulin parçasını içeren ve ayrıca bir ikinci protein için spesifikliğı olan tek domenli bir antikor içeren, ikincisinin tamamlayıcı yolak etkinleşmesi ve/veya efektör hücre toplama gibi efektör işlevleri toplama kapasitesini mümkün kıldığı çift spesifik antikor füzyon proteinleri sağlanmaktadır. Ayrıca mevcut açıklamaya ait füzyon proteinleri nükleit şelatlayıcı bir proteine bağlanan tek domenli bir antikor vasıtasıyla radyonüklitlerin şelatlanmasında 30 kullanılabilir. Bu tür füzyon proteinleri görüntülemeye veya tedaviye yönelik radyonükleit hedefleyici yaklaşımlarda işe yaramaktadır.

Dolayısıyla, bir örnekte bir ilgili antijen için spesifikliğı olan bir antikor Fab veya Fab' fragmanını içeren ayrıştırılmış bir çift spesifik antikor füzyon proteini sağlanmakta olup, söz

antijenler tıpla ilişkili herhangi bir protein, örneğin hastalık veya enfeksiyon sırasında yukarı regüle olan proteinler, örneğin reseptörler ve/veya bunların karşılık gelen ligandları da olabilir. Hücre yüzeyi proteinlerinin belli başlı örnekleri adezyon molekülleri, örneğin integrinler, örneğin $\beta 1$ integrinler, örneğin VLA-4, E-selektin, P selektin veya L-selektin, 5 CD2, CD3, CD4, CD5, CD7, CD8, CD11a, CD11b, CD18, CD19, CD20, CD23, CD25, CD33, CD38, CD40, CD45, CDW52, CD69, CD134 (OX40), ICOS, BCMP7, CD137, CD27L, CDCP1, DPCR1, DPCR1, dudulin2, FLJ20584, FLJ40787, HEK2, KIAA0634, KIAA0659, KIAA1246, KIAA1455, LTBP2, LTK, MAL2, MRP2, nektin-benzeri 2, NKCC1, PTK7, RAIG1, TCAM1, SC6, BCMP101, BCMP84, BCMP11, DTD, karsinoembriyonik 10 antijen (CEA), insan süt yağı globulin (HMFG1 ve 2), MHC Klas I ve MHC Klas II antijenleri ve VEGF'yi ve uygun olduğunda bunların reseptörlerini içerir.

Çözünür antijenler IL-1, IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-8, IL-12, IL-16 veya IL-17 gibi interlökinleri, viral antijenleri, örneğin solunum sinsitiyal virüs veya sitomegalovirüs antijenlerini, immünoglobulinleri, örneğin IgE'yi, interferon α , interferon β veya interferon γ 15 gibi interferonları, tümör nekroz faktörü-a, tümör nekroz faktörü- β 'yi, G-CSF veya GM-CSF gibi koloni uyarıcı faktörleri ve PDGF- α ve PDGF- β gibi trombosit türevi büyüme faktörlerini ve uygun olduğunda bunların reseptörlerini içerir. Diğer antijenler bakteriyel hücre yüzeyi antijenlerini, bakteriyel toksinleri, influenza, EBV, HepA, B ve C gibi virüsleri, biyoterörizm maddelerini, radyonüklitleri ve ağır metalleri ve yılan ve örümcek zehirlerini ve toksinlerini 20 içerir.

Tek domenli antikorla veya antikorlarla bağlanabilecek diğer antijenler serum taşıyıcı proteinleri, hücre aracılı efektör işlevin toplanmasını mümkün kılan polipeptitleri ve nükleit şelatlayıcı proteinleri içerir.

Sonuç olarak, bir örnekte mevcut açıklamada bir ilgili antijen için bir ilk spesifikliğı olan bir 25 immünoglobulin parçasını içeren ve ayrıca bir ikinci protein için spesifikliğı olan tek domenli bir antikor içeren, ikincisinin tamamlayıcı yolak etkinleşmesi ve/veya efektör hücre toplama gibi efektör işlevleri toplama kapasitesini mümkün kıldığı çift spesifik antikor füzyon proteinleri sağlanmaktadır. Ayrıca mevcut açıklamaya ait füzyon proteinleri nükleit şelatlayıcı bir proteine bağlanan tek domenli bir antikor vasıtasıyla radyonüklitlerin şelatlanmasında 30 kullanılabilir. Bu tür füzyon proteinleri görüntülemeye veya tedaviye yönelik radyonükleit hedefleyici yaklaşımlarda işe yaramaktadır.

Dolayısıyla, bir örnekte bir ilgili antijen için spesifikliğı olan bir antikor Fab veya Fab' fragmanını içeren ayrıştırılmış bir çift spesifik antikor füzyon proteini sağlanmakta olup, söz

konusu fragman bir toplayıcı polipeptit için spesifikliğı olan en az bir dAb ile füzyon yapmıştır, söz konusu dAb söz konusu toplayıcı polipeptide bağlanarak doğrudan veya dolaylı yolla hücre aracılı efektör işlevinin(işlevlerinin) toplanabilmesini sağlar.

Efektör işlevinin toplanması, efektör işlevinin bir hücreyle birleşik olması, söz konusu

- 5 hücrenin kendi yüzeyinde bir toplayıcı molekül taşımasıyla doğrudan olabilir. Dolaylı toplama bir dAb'nin bir toplayıcı moleküle bağlanması, örneğin doğrudan veya dolaylı yolla efektör işlevini toplayabilecek bir faktörün salımına neden olduğunda oluşabilir veya bir sinyalleşme yolağının etkinleşmesi yoluyla olabilir. Örnekleri TNF α , IL2, IL6, IL8, IL17, IFN γ , histamin, C1q, opsonin ve klasik ve alternatif tamamlayıcı etkinleştirme kademelerinin
- 10 diğer üyelerini, örneğin C2, C4, C3-konvertazı ve C5 ile C9'u içerir.

Burada kullanıldığı şekliyle, 'bir toplayıcı polipeptit' Fc γ RI, Fc γ RII ve Fc γ RIII gibi bir Fc γ R'yi, bir tamamlayıcı yolağı proteinini, örneğin bunlarla sınırlı kalmamak kaydıyla C1q ve C3'ü, bir CD markör proteinini (Farklılaşma markörü Grubu), örneğin bunlarla sınırlı kalmamak kaydıyla CD68, CD115, CD16, CD80, CD83, CD86, CD56, CD64, CD3, CD4,

15 CD8, CD28, CD45, CD19, CD20 ve CD22'yi içerir. CD markör proteinleri olan diğer toplayıcı polipeptitler CD1, CD1d, CD2, CD5, CD8, CD9, CD10, CD11, CD11a, CD11b, CD11c, CD13, CD14, CD15, CD16, CD18, CD19, CD20, CD21, CD22, CD23, CD24, CD25, CD26, CD27, CD28, CD29, CD30, CD31, CD32, CD33, CD34, CD35, CD36, CD37, CD38, CD40, CD43, CD44, CD45, CD46, CD49, CD49a, CD49b, CD49c, CD49d, CD52, CD53,

20 CD54, CD55, CD56, CD58, CD59, CD61, CD62, D62E, CD62L, CD62P, CD63, CD64, CD66e, CD68, CD70, CD71, CD72, CD79, CD80, CD81, CD82, CD83, CD84, CD85, CD86, CD88, CD89, CD90, CD94, CD95, CD98, CD106, CD114, CD116, CD117, CD118, CD120, CD122, CD130, CD131, CD132, CD133, CD134, CD135, CD137, CD138, CD141, CD142, CD143, CD146, CD147, CD151, CD152, CD153, CD154, CD155, CD162, CD164, CD169,

25 CD184, CD206, CD209, CD257, CD278, CD281, CD282, CD283 ve CD304'ü veya bunlardan herhangi birinin, gerek doğrudan gerek dolaylı yolla hücre aracılı efektör işlevi toplama kapasitesini koruyan bir fragmanını içerir. Bir toplayıcı polipeptit, efektör işlevine sahip IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgE ve IgA gibi immünoglobulin moleküllerini de içerir.

Bir örnekte, dAb'nin spesifik olduğu ikinci protein bir tamamlayıcı yolağı proteini olup,

- 30 özellikle tercih edilen C1q'dur.

Tercih edilen bir örnekte, dAb'nin spesifik olduğu ikinci protein bir CD markör proteini olup, özellikle tercih edilen CD68, CD80, CD86, CD64, CD3, CD4, CD8 CD45, CD16 ve CD35'tir.

konusu fragman bir toplayıcı polipeptit için spesifikliğı olan en az bir dAb ile füzyon yapmıştır, söz konusu dAb söz konusu toplayıcı polipeptide bağlanarak doğrudan veya dolaylı yolla hücre aracılı efektör işlevinin(işlevlerinin) toplanabilmesini sağlar.

Efektör işlevinin toplanması, efektör işlevinin bir hücreyle birleşik olması, söz konusu

- 5 hücrenin kendi yüzeyinde bir toplayıcı molekül taşımasıyla doğrudan olabilir. Dolaylı toplama bir dAb'nin bir toplayıcı moleküle bağlanması, örneğin doğrudan veya dolaylı yolla efektör işlevini toplayabilecek bir faktörün salımına neden olduğunda oluşabilir veya bir sinyalleşme yolağının etkinleşmesi yoluyla olabilir. Örnekleri TNF α , IL2, IL6, IL8, IL17, IFN γ , histamin, C1q, opsonin ve klasik ve alternatif tamamlayıcı etkinleştirme kademelerinin
- 10 diğer üyelerini, örneğin C2, C4, C3-konvertazı ve C5 ile C9'u içerir.

Burada kullanıldığı şekliyle, 'bir toplayıcı polipeptit' Fc γ RI, Fc γ RII ve Fc γ RIII gibi bir Fc γ R'yi, bir tamamlayıcı yolağı proteinini, örneğin bunlarla sınırlı kalmamak kaydıyla C1q ve C3'ü, bir CD markör proteinini (Farklılaşma markörü Grubu), örneğin bunlarla sınırlı kalmamak kaydıyla CD68, CD115, CD16, CD80, CD83, CD86, CD56, CD64, CD3, CD4,

15 CD8, CD28, CD45, CD19, CD20 ve CD22'yi içerir. CD markör proteinleri olan diğer toplayıcı polipeptitler CD1, CD1d, CD2, CD5, CD8, CD9, CD10, CD11, CD11a, CD11b, CD11c, CD13, CD14, CD15, CD16, CD18, CD19, CD20, CD21, CD22, CD23, CD24, CD25, CD26, CD27, CD28, CD29, CD30, CD31, CD32, CD33, CD34, CD35, CD36, CD37, CD38, CD40, CD43, CD44, CD45, CD46, CD49, CD49a, CD49b, CD49c, CD49d, CD52, CD53,

20 CD54, CD55, CD56, CD58, CD59, CD61, CD62, D62E, CD62L, CD62P, CD63, CD64, CD66e, CD68, CD70, CD71, CD72, CD79, CD80, CD81, CD82, CD83, CD84, CD85, CD86, CD88, CD89, CD90, CD94, CD95, CD98, CD106, CD114, CD116, CD117, CD118, CD120, CD122, CD130, CD131, CD132, CD133, CD134, CD135, CD137, CD138, CD141, CD142, CD143, CD146, CD147, CD151, CD152, CD153, CD154, CD155, CD162, CD164, CD169,

25 CD184, CD206, CD209, CD257, CD278, CD281, CD282, CD283 ve CD304'ü veya bunlardan herhangi birinin, gerek doğrudan gerek dolaylı yolla hücre aracılı efektör işlevi toplama kapasitesini koruyan bir fragmanını içerir. Bir toplayıcı polipeptit, efektör işlevine sahip IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgE ve IgA gibi immünoglobulin moleküllerini de içerir.

Bir örnekte, dAb'nin spesifik olduğu ikinci protein bir tamamlayıcı yolağı proteini olup,

- 30 özellikle tercih edilen C1q'dur.

Tercih edilen bir örnekte, dAb'nin spesifik olduğu ikinci protein bir CD markör proteini olup, özellikle tercih edilen CD68, CD80, CD86, CD64, CD3, CD4, CD8 CD45, CD16 ve CD35'tir.

konusu fragman bir toplayıcı polipeptit için spesifikliğı olan en az bir dAb ile füzyon yapmıştır, söz konusu dAb söz konusu toplayıcı polipeptide bağlanarak doğrudan veya dolaylı yolla hücre aracılı efektör işlevinin(işlevlerinin) toplanabilmesini sağlar.

Efektör işlevinin toplanması, efektör işlevinin bir hücreyle birleşik olması, söz konusu

- 5 hücrenin kendi yüzeyinde bir toplayıcı molekül taşımasıyla doğrudan olabilir. Dolaylı toplama bir dAb'nin bir toplayıcı moleküle bağlanması, örneğin doğrudan veya dolaylı yolla efektör işlevini toplayabilecek bir faktörün salımına neden olduğunda oluşabilir veya bir sinyalleşme yolağının etkinleşmesi yoluyla olabilir. Örnekleri TNF α , IL2, IL6, IL8, IL17, IFN γ , histamin, C1q, opsonin ve klasik ve alternatif tamamlayıcı etkinleştirme kademelerinin
- 10 diğer üyelerini, örneğin C2, C4, C3-konvertazı ve C5 ile C9'u içerir.

Burada kullanıldığı şekliyle, 'bir toplayıcı polipeptit' Fc γ RI, Fc γ RII ve Fc γ RIII gibi bir Fc γ R'yi, bir tamamlayıcı yolağı proteinini, örneğin bunlarla sınırlı kalmamak kaydıyla C1q ve C3'ü, bir CD markör proteinini (Farklılaşma markörü Grubu), örneğin bunlarla sınırlı kalmamak kaydıyla CD68, CD115, CD16, CD80, CD83, CD86, CD56, CD64, CD3, CD4,

15 CD8, CD28, CD45, CD19, CD20 ve CD22'yi içerir. CD markör proteinleri olan diğer toplayıcı polipeptitler CD1, CD1d, CD2, CD5, CD8, CD9, CD10, CD11, CD11a, CD11b, CD11c, CD13, CD14, CD15, CD16, CD18, CD19, CD20, CD21, CD22, CD23, CD24, CD25, CD26, CD27, CD28, CD29, CD30, CD31, CD32, CD33, CD34, CD35, CD36, CD37, CD38, CD40, CD43, CD44, CD45, CD46, CD49, CD49a, CD49b, CD49c, CD49d, CD52, CD53,

20 CD54, CD55, CD56, CD58, CD59, CD61, CD62, D62E, CD62L, CD62P, CD63, CD64, CD66e, CD68, CD70, CD71, CD72, CD79, CD80, CD81, CD82, CD83, CD84, CD85, CD86, CD88, CD89, CD90, CD94, CD95, CD98, CD106, CD114, CD116, CD117, CD118, CD120, CD122, CD130, CD131, CD132, CD133, CD134, CD135, CD137, CD138, CD141, CD142, CD143, CD146, CD147, CD151, CD152, CD153, CD154, CD155, CD162, CD164, CD169,

25 CD184, CD206, CD209, CD257, CD278, CD281, CD282, CD283 ve CD304'ü veya bunlardan herhangi birinin, gerek doğrudan gerek dolaylı yolla hücre aracılı efektör işlevi toplama kapasitesini koruyan bir fragmanını içerir. Bir toplayıcı polipeptit, efektör işlevine sahip IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgE ve IgA gibi immünoglobulin moleküllerini de içerir.

Bir örnekte, dAb'nin spesifik olduğu ikinci protein bir tamamlayıcı yolağı proteini olup,

30 özellikle tercih edilen C1q'dur.

Tercih edilen bir örnekte, dAb'nin spesifik olduğu ikinci protein bir CD markör proteini olup, özellikle tercih edilen CD68, CD80, CD86, CD64, CD3, CD4, CD8 CD45, CD16 ve CD35'tir.

Dolayısıyla, bir ilgili antijene spesifikliğı olan bir antikor fragmanını içeren, söz konusu fragmanın ise CD68, CD80, CD86, CD64, CD3, CD4, CD8 CD45, CD16 ve CD35'ten oluşan gruptan seçilen bir CD molekülü için spesifikliğı olan en az bir dAb ile füzyon yaptığı bir ayırıştırılmış çift spesifik antikor füzyon proteini de sağlanmaktadır.

- 5 Bir örnekte tek domenli antikor veya antikorlar birinci spesifikliğı sahip immünoglobulin parçasında uzun bir yarılanma ömrü sağlar.

Dolayısıyla, bir örnekte bir ilgili antijen için spesifikliğı olan bir antikor Fab veya Fab' fragmanını içeren, söz konusu fragmanın bir serum taşıyıcı protein, dolaşımdaki bir immünoglobulin molekülü veya CD35/CR1 için spesifikliğı olan en az bir tek domenli

- 10 antikorla füzyon yaptığı, söz konusu tek domenli antikorun söz konusu serum taşıyıcı proteine, dolaşımdaki immünoglobulin molekülüne veya CD35/CR1'e bağlanarak söz konusu ilgili antijen için spesifikliğı olan antikor fragmanında uzun bir yarılanma ömrünü sağladığı çift spesifik bir antikor füzyon proteini sağlanmaktadır.

Bir örnekte bir ilgili antijen için spesifikliğı olan bir antikor Fab veya Fab' fragmanını içeren, söz konusu fragmanın bir serum taşıyıcı protein, dolaşımdaki bir immünoglobulin molekülü veya CD35/CR1 için spesifikliğı olan en az bir tek domenli antikorla füzyon yaptığı, söz konusu tek domenli antikorun söz konusu serum taşıyıcı proteine, dolaşımdaki immünoglobulin molekülüne veya CD35/CR1'e bağlanarak söz konusu ilgili antijen için spesifikliğı olan antikor fragmanında uzun bir yarılanma ömrünü sağladığı bir ayırıştırılmış

- 20 çift spesifik antikor füzyon proteini sağlanmaktadır.

Burada kullanıldığı şekliyle, 'serum taşıyıcı proteinler' tiroksin bağlayıcı protein, transtiretin, α 1-asit glikoprotein, transferrin, fibrinojen ve albümini veya bunlardan herhangi birinin bir fragmanını içerir.

Burada kullanıldığı şekliyle, 'dolaşımdaki bir immünoglobulin molekülü' IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, sIgA, IgM ve IgD'yi veya bunlardan herhangi birinin bir fragmanını içerir.

- 25

CD35/CR1 36 gün bir yarılanma ömrüne sahip kırmızı kan hücrelerinde bulunan bir proteindir (normal aralık 28 ila 47 gün; Lanaro ve diğerleri, 1971, Cancer, 28(3):658-661).

Tercih edilen bir örnekte, dAb'nin spesifik olduğu ikinci protein bir serum taşıyıcı protein olup, özellikle tercih edilen bir insan serum taşıyıcı proteindir. En fazla tercih edilen bir

- 30 örnekte serum taşıyıcı protein insan serum albümindir.

Dolayısıyla bir ilgili antijen için spesifikliğı olan bir antikor Fab veya Fab' fragmanını içeren,

Dolayısıyla, bir ilgili antijene spesifikliğı olan bir antikor fragmanını içeren, söz konusu fragmanın ise CD68, CD80, CD86, CD64, CD3, CD4, CD8 CD45, CD16 ve CD35'ten oluşan gruptan seçilen bir CD molekülü için spesifikliğı olan en az bir dAb ile füzyon yaptığı bir ayırıştırılmış çift spesifik antikor füzyon proteini de sağlanmaktadır.

- 5 Bir örnekte tek domenli antikor veya antikorlar birinci spesifikliğı sahip immünoglobulin parçasında uzun bir yarılanma ömrü sağlar.

Dolayısıyla, bir örnekte bir ilgili antijen için spesifikliğı olan bir antikor Fab veya Fab' fragmanını içeren, söz konusu fragmanın bir serum taşıyıcı protein, dolaşımdaki bir immünoglobulin molekülü veya CD35/CR1 için spesifikliğı olan en az bir tek domenli

- 10 antikorla füzyon yaptığı, söz konusu tek domenli antikorun söz konusu serum taşıyıcı proteine, dolaşımdaki immünoglobulin molekülüne veya CD35/CR1'e bağlanarak söz konusu ilgili antijen için spesifikliğı olan antikor fragmanında uzun bir yarılanma ömrünü sağladığı çift spesifik bir antikor füzyon proteini sağlanmaktadır.

Bir örnekte bir ilgili antijen için spesifikliğı olan bir antikor Fab veya Fab' fragmanını içeren, söz konusu fragmanın bir serum taşıyıcı protein, dolaşımdaki bir immünoglobulin molekülü veya CD35/CR1 için spesifikliğı olan en az bir tek domenli antikorla füzyon yaptığı, söz konusu tek domenli antikorun söz konusu serum taşıyıcı proteine, dolaşımdaki immünoglobulin molekülüne veya CD35/CR1'e bağlanarak söz konusu ilgili antijen için spesifikliğı olan antikor fragmanında uzun bir yarılanma ömrünü sağladığı bir ayırıştırılmış

- 20 çift spesifik antikor füzyon proteini sağlanmaktadır.

Burada kullanıldığı şekliyle, 'serum taşıyıcı proteinler' tiroksin bağlayıcı protein, transtiretin, α 1-asit glikoprotein, transferrin, fibrinojen ve albümini veya bunlardan herhangi birinin bir fragmanını içerir.

Burada kullanıldığı şekliyle, 'dolaşımdaki bir immünoglobulin molekülü' IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, sIgA, IgM ve IgD'yi veya bunlardan herhangi birinin bir fragmanını içerir.

- 25

CD35/CR1 36 gün bir yarılanma ömrüne sahip kırmızı kan hücrelerinde bulunan bir proteindir (normal aralık 28 ila 47 gün; Lanaro ve diğerleri, 1971, Cancer, 28(3):658-661).

Tercih edilen bir örnekte, dAb'nin spesifik olduğu ikinci protein bir serum taşıyıcı protein olup, özellikle tercih edilen bir insan serum taşıyıcı proteindir. En fazla tercih edilen bir

- 30 örnekte serum taşıyıcı protein insan serum albümindir.

Dolayısıyla bir ilgili antijen için spesifikliğı olan bir antikor Fab veya Fab' fragmanını içeren,

Dolayısıyla, bir ilgili antijene spesifikliğı olan bir antikor fragmanını içeren, söz konusu fragmanın ise CD68, CD80, CD86, CD64, CD3, CD4, CD8 CD45, CD16 ve CD35'ten oluşan gruptan seçilen bir CD molekülü için spesifikliğı olan en az bir dAb ile füzyon yaptığı bir ayırıştırılmış çift spesifik antikor füzyon proteini de sağlanmaktadır.

- 5 Bir örnekte tek domenli antikor veya antikorlar birinci spesifikliğı sahip immünoglobulin parçasında uzun bir yarılanma ömrü sağlar.

Dolayısıyla, bir örnekte bir ilgili antijen için spesifikliğı olan bir antikor Fab veya Fab' fragmanını içeren, söz konusu fragmanın bir serum taşıyıcı protein, dolaşımdaki bir immünoglobulin molekülü veya CD35/CR1 için spesifikliğı olan en az bir tek domenli

- 10 antikorla füzyon yaptığı, söz konusu tek domenli antikorun söz konusu serum taşıyıcı proteine, dolaşımdaki immünoglobulin molekülüne veya CD35/CR1'e bağlanarak söz konusu ilgili antijen için spesifikliğı olan antikor fragmanında uzun bir yarılanma ömrünü sağladığı çift spesifik bir antikor füzyon proteini sağlanmaktadır.

Bir örnekte bir ilgili antijen için spesifikliğı olan bir antikor Fab veya Fab' fragmanını içeren, söz konusu fragmanın bir serum taşıyıcı protein, dolaşımdaki bir immünoglobulin molekülü veya CD35/CR1 için spesifikliğı olan en az bir tek domenli antikorla füzyon yaptığı, söz konusu tek domenli antikorun söz konusu serum taşıyıcı proteine, dolaşımdaki immünoglobulin molekülüne veya CD35/CR1'e bağlanarak söz konusu ilgili antijen için spesifikliğı olan antikor fragmanında uzun bir yarılanma ömrünü sağladığı bir ayırıştırılmış

- 20 çift spesifik antikor füzyon proteini sağlanmaktadır.

Burada kullanıldığı şekliyle, 'serum taşıyıcı proteinler' tiroksin bağlayıcı protein, transtiretin, α 1-asit glikoprotein, transferrin, fibrinojen ve albümini veya bunlardan herhangi birinin bir fragmanını içerir.

Burada kullanıldığı şekliyle, 'dolaşımdaki bir immünoglobulin molekülü' IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, sIgA, IgM ve IgD'yi veya bunlardan herhangi birinin bir fragmanını içerir.

- 25

CD35/CR1 36 gün bir yarılanma ömrüne sahip kırmızı kan hücrelerinde bulunan bir proteindir (normal aralık 28 ila 47 gün; Lanaro ve diğerleri, 1971, Cancer, 28(3):658-661).

Tercih edilen bir örnekte, dAb'nin spesifik olduğu ikinci protein bir serum taşıyıcı protein olup, özellikle tercih edilen bir insan serum taşıyıcı proteindir. En fazla tercih edilen bir

- 30 örnekte serum taşıyıcı protein insan serum albümindir.

Dolayısıyla bir ilgili antijen için spesifikliğı olan bir antikor Fab veya Fab' fragmanını içeren,

söz konusu fragmanın ise insan serum albümin için spesifikliğı olan en az bir tek domenli antikorla füzyon yaptığı çift spesifik bir antikor füzyon proteini sağlanmaktadır.

Bir yönü itibarıyla mevcut buluşta bir ilgili antijen için spesifikliğı olan bir antikor Fab veya Fab' fragmanını içeren, söz konusu fragmanın ise insan serum albümin için spesifikliğı olan en az bir tek domenli antikorla füzyon yaptığı bir ayrıştırılmış çift spesifik antikor füzyon proteini sağlanmaktadır.

Bir yönü itibarıyla, bir ilgili antijene spesifikliğı olan antikor fragmanı bir Fab fragmanıdır. Bir başka yönü itibarıyla, bir ilgili antijene spesifikliğı olan antikor fragmanı bir Fab' fragmanıdır.

- 10 Dolayısıyla, en fazla tercih edilen bir örnekte buluşa ait antikor füzyon proteinleri her birinin dizisi bir ekspresyon vektörü tarafından kodlanan translasyon füzyonu proteinleri, *yani* genetik füzyonlardır.

- Bir örnekte, antikor fragmanları doğal veya modifiye edilmiş bir menteşe bölgesine sahip Fab' fragmanlarıdır. Buluşa ait çift spesifik bir antikor füzyon proteininin hazırlanmasında kullanılan antikor fragmanı bir Fab' fragmanı olduğunda, söz konusu fragman genellikle ağır zincirin C terminalinde bir veya daha fazla amino asitle uzatılmış haldedir. Dolayısıyla, açıklamaya ait bir antikor füzyonu doğrudan veya bir bağlayıcı vasıtasıyla bir dAb'yle translasyonla füzyon yapan (veya kimyasal yolla füzyon yapan) bir Fab' fragmanı içerebilir. Uygun antikor Fab' fragmanlarının diğer örnekleri WO 2005/003170 ve WO 2005/003171'de açıklananları içerir.

- Bir başka örnekte, antikor fragmanları Fab fragmanlarıdır. Dolayısıyla, açıklamaya ait bir antikor füzyonu bir bağlayıcı diziyle translasyonla füzyon yapan (veya kimyasal yolla füzyon yapan), bunun da bir dAb'yle translasyonla füzyon yaptığı (veya kimyasal yolla füzyon yapan) bir Fab fragmanıdır. Tercihen, Fab fragmanı WO 2005/003169'da açıklanan şekilde zincirler arası sisteinlerde sonlanan bir Fab fragmanıdır. Dolayısıyla, bir örnekte Fab fragmanı IgG1'in konum 233'ünde sonlanır.

- Mevcut buluşta kullanışlı antikor Fab veya Fab' fragmanları herhangi bir türe ait olabilir ancak tercihen bir monoklonal antikordan, bir insan antikorundan türetilir veya hümanize (insan özellikleri katılmış) fragmanlardır. Mevcut buluşta kullanılan bir antikor fragmanı herhangi bir immünoglobulin molekülü sınıfından (örneğin IgG, IgE, IgM, IgD veya IgA) veya alt sınıfından türetilir ve örneğin fare, sıçan, köpekbalığı, tavşan, domuz, hamster, deve, lama, keçi veya insan dahil olmak üzere herhangi bir türden elde edilebilir.

söz konusu fragmanın ise insan serum albümin için spesifikliğı olan en az bir tek domenli antikorla füzyon yaptığı çift spesifik bir antikor füzyon proteini sağlanmaktadır.

Bir yönü itibarıyla mevcut buluşta bir ilgili antijen için spesifikliğı olan bir antikor Fab veya Fab' fragmanını içeren, söz konusu fragmanın ise insan serum albümin için spesifikliğı olan en az bir tek domenli antikorla füzyon yaptığı bir ayrıştırılmış çift spesifik antikor füzyon proteini sağlanmaktadır.

Bir yönü itibarıyla, bir ilgili antijene spesifikliğı olan antikor fragmanı bir Fab fragmanıdır. Bir başka yönü itibarıyla, bir ilgili antijene spesifikliğı olan antikor fragmanı bir Fab' fragmanıdır.

- 10 Dolayısıyla, en fazla tercih edilen bir örnekte buluşa ait antikor füzyon proteinleri her birinin dizisi bir ekspresyon vektörü tarafından kodlanan translasyon füzyonu proteinleri, *yani* genetik füzyonlardır.

- Bir örnekte, antikor fragmanları doğal veya modifiye edilmiş bir menteşe bölgesine sahip Fab' fragmanlarıdır. Buluşa ait çift spesifik bir antikor füzyon proteininin hazırlanmasında kullanılan antikor fragmanı bir Fab' fragmanı olduğunda, söz konusu fragman genellikle ağır zincirin C terminalinde bir veya daha fazla amino asitle uzatılmış haldedir. Dolayısıyla, açıklamaya ait bir antikor füzyonu doğrudan veya bir bağlayıcı vasıtasıyla bir dAb'yle translasyonla füzyon yapan (veya kimyasal yolla füzyon yapan) bir Fab' fragmanı içerebilir. Uygun antikor Fab' fragmanlarının diğer örnekleri WO 2005/003170 ve WO 2005/003171'de açıklananları içerir.

- Bir başka örnekte, antikor fragmanları Fab fragmanlarıdır. Dolayısıyla, açıklamaya ait bir antikor füzyonu bir bağlayıcı diziyle translasyonla füzyon yapan (veya kimyasal yolla füzyon yapan), bunun da bir dAb'yle translasyonla füzyon yaptığı (veya kimyasal yolla füzyon yapan) bir Fab fragmanıdır. Tercihen, Fab fragmanı WO 2005/003169'da açıklanan şekilde zincirler arası sisteinlerde sonlanan bir Fab fragmanıdır. Dolayısıyla, bir örnekte Fab fragmanı IgG1'in konum 233'ünde sonlanır.

- Mevcut buluşta kullanışlı antikor Fab veya Fab' fragmanları herhangi bir türe ait olabilir ancak tercihen bir monoklonal antikordan, bir insan antikorundan türetilir veya hümanize (insan özellikleri katılmış) fragmanlardır. Mevcut buluşta kullanılan bir antikor fragmanı herhangi bir immünoglobulin molekülü sınıfından (örneğin IgG, IgE, IgM, IgD veya IgA) veya alt sınıfından türetilir ve örneğin fare, sıçan, köpekbalığı, tavşan, domuz, hamster, deve, lama, keçi veya insan dahil olmak üzere herhangi bir türden elde edilebilir.

söz konusu fragmanın ise insan serum albümin için spesifikliğı olan en az bir tek domenli antikörle füzyon yaptığı çift spesifik bir antikör füzyon proteini sağlanmaktadır.

Bir yönü itibarıyla mevcut buluşta bir ilgili antijen için spesifikliğı olan bir antikör Fab veya Fab' fragmanını içeren, söz konusu fragmanın ise insan serum albümin için spesifikliğı olan en az bir tek domenli antikörle füzyon yaptığı bir ayrıştırılmış çift spesifik antikör füzyon proteini sağlanmaktadır.

Bir yönü itibarıyla, bir ilgili antijene spesifikliğı olan antikör fragmanı bir Fab fragmanıdır. Bir başka yönü itibarıyla, bir ilgili antijene spesifikliğı olan antikör fragmanı bir Fab' fragmanıdır.

- 10 Dolayısıyla, en fazla tercih edilen bir örnekte buluşa ait antikör füzyon proteinleri her birinin dizisi bir ekspresyon vektörü tarafından kodlanan translasyon füzyonu proteinleri, *yani* genetik füzyonlardır.

- Bir örnekte, antikör fragmanları doğal veya modifiye edilmiş bir menteşe bölgesine sahip Fab' fragmanlarıdır. Buluşa ait çift spesifik bir antikör füzyon proteininin hazırlanmasında kullanılan antikör fragmanı bir Fab' fragmanı olduğunda, söz konusu fragman genellikle ağır zincirin C terminalinde bir veya daha fazla amino asitle uzatılmış haldedir. Dolayısıyla, açıklamaya ait bir antikör füzyonu doğrudan veya bir bağlayıcı vasıtasıyla bir dAb'yle translasyonla füzyon yapan (veya kimyasal yolla füzyon yapan) bir Fab' fragmanı içerebilir. Uygun antikör Fab' fragmanlarının diğer örnekleri WO 2005/003170 ve WO 2005/003171'de açıklananları içerir.

- Bir başka örnekte, antikör fragmanları Fab fragmanlarıdır. Dolayısıyla, açıklamaya ait bir antikör füzyonu bir bağlayıcı diziyle translasyonla füzyon yapan (veya kimyasal yolla füzyon yapan), bunun da bir dAb'yle translasyonla füzyon yaptığı (veya kimyasal yolla füzyon yapan) bir Fab fragmanıdır. Tercihen, Fab fragmanı WO 2005/003169'da açıklanan şekilde zincirler arası sisteinlerde sonlanan bir Fab fragmanıdır. Dolayısıyla, bir örnekte Fab fragmanı IgG1'in konum 233'ünde sonlanır.

- Mevcut buluşta kullanışlı antikör Fab veya Fab' fragmanları herhangi bir türe ait olabilir ancak tercihen bir monoklonal antikörden, bir insan antiköründen türetilir veya hümanize (insan özellikleri katılmış) fragmanlardır. Mevcut buluşta kullanılan bir antikör fragmanı herhangi bir immünoglobulin molekülü sınıfından (örneğin IgG, IgE, IgM, IgD veya IgA) veya alt sınıfından türetilir ve örneğin fare, sıçan, köpekbalığı, tavşan, domuz, hamster, deve, lama, keçi veya insan dahil olmak üzere herhangi bir türden elde edilebilir.

Bir örnekte, antikor Fab veya Fab' fragmanı monoklonal, tamamen insan, hümanize veya kimerik bir antikor fragmanıdır. Bir örnekte antikor Fab veya Fab' fragmanları tamamen insan veya hümanizedir.

Monoklonal antikorlar hibridom tekniği (Kohler & Milstein, Nature, 1975, 256, 495-497), trioma tekniği, insan B hücresi hibridom tekniği (Kozbor ve diğerleri, Immunology Today, 1983, 4, 72) ve EBV-hibridom tekniği (Cole ve diğerleri, "Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy", s. 77-96, Alan R. Liss, Inc., 1985) gibi teknikte bilinen herhangi bir usulle hazırlanabilir.

Buluştta kullanılacak antikorlar, örneğin Babcook, J. ve diğerleri, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1996, 93(15), 7843-7848 referansında, WO 92/02551, WO 2004/051268 ve WO 2004/106377'de açıklanan usullerle spesifik antikorların üretimi için seçilen tek lenfositlerden üretilen immünoglobulin değişken bölge cDNA'larının klonlanıldığı ve eksprese edildiği tek lenfosit antikorları usullerini kullanarak da üretilebilir.

Hümanize antikorlar insan dışı türlerden bir veya daha fazla tamamlayıcılığı belirleme bölgesine (CDR'ler) ve bir insan immünoglobulin molekülünden bir çerçeve bölgesine sahip insan dışı türlere ait antikor molekülleridir (bakınız örneğin, US 5,585,089).

Mevcut buluştta kullanılacak antikorlar teknikte bilinen çeşitli faj gösterimi usullerini kullanarak da üretilebilir ve bunlar Brinkman ve diğerleri, J. Immunol. Methods, 1995, 182, 41-50; Ames ve diğerleri, J. Immunol. Methods, 1995, 184, 177-186; Kettleborough ve diğerleri Eur. J. Immunol., 1994, 24, 952-958; Persic ve diğerleri, Gene, 1997 187, 9-18; ve Burton ve diğerleri, Advances in Immunology, 1994, 57, 191-280; WO 90/02809; WO 91/10737; WO 92/01047; WO 92/18619; WO 93/11236; WO 95/15982; ve WO 95/20401; ve US 5,698,426; US 5,223,409; US 403,484; US 5,580,717; US 5,427,908; US 5,750,753; US 5,821,047; US 5,571,698; US 5,427,908; US 5,516,637; US 5,780,225; US 5,658,727; US 5,733,743; ve US 5,969,108'de açıklananları içerir. Ayrıca hümanize antikorların üretilmesinde transgenik fareler veya başka memeliler dahil başka organizmalar da kullanılabilir.

Tamamen insan antikorlar hem ağır hem hafif zincirlerin değişken bölgelerinin ve sabit bölgelerinin (mevcut olduğunda) tamamının insan kökenli veya aynı antikordan olması şart değilse de insan kökenli dizilerle büyük ölçüde özdeş olduğu antikorlardır. Tamamen insan antikorların örnekleri örneğin yukarıda açıklanan faj gösterimi usulleriyle üretilen antikorları ve örneğin genel olarak EP 0546073, US 5,545,806, US 5,569,825, US 5,625,126, US

Bir örnekte, antikor Fab veya Fab' fragmanı monoklonal, tamamen insan, hümanize veya kimerik bir antikor fragmanıdır. Bir örnekte antikor Fab veya Fab' fragmanları tamamen insan veya hümanizedir.

Monoklonal antikorlar hibridom tekniği (Kohler & Milstein, Nature, 1975, 256, 495-497), trioma tekniği, insan B hücresi hibridom tekniği (Kozbor ve diğerleri, Immunology Today, 1983, 4, 72) ve EBV-hibridom tekniği (Cole ve diğerleri, "Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy", s. 77-96, Alan R. Liss, Inc., 1985) gibi teknikte bilinen herhangi bir usulle hazırlanabilir.

Buluştta kullanılacak antikorlar, örneğin Babcook, J. ve diğerleri, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1996, 93(15), 7843-7848 referansında, WO 92/02551, WO 2004/051268 ve WO 2004/106377'de açıklanan usullerle spesifik antikorların üretimi için seçilen tek lenfositlerden üretilen immünoglobulin değişken bölge cDNA'larının klonlanıldığı ve eksprese edildiği tek lenfosit antikorları usullerini kullanarak da üretilebilir.

Hümanize antikorlar insan dışı türlerden bir veya daha fazla tamamlayıcılığı belirleme bölgesine (CDR'ler) ve bir insan immünoglobulin molekülünden bir çerçeve bölgesine sahip insan dışı türlere ait antikor molekülleridir (bakınız örneğin, US 5,585,089).

Mevcut buluştta kullanılacak antikorlar teknikte bilinen çeşitli faj gösterimi usullerini kullanarak da üretilebilir ve bunlar Brinkman ve diğerleri, J. Immunol. Methods, 1995, 182, 41-50; Ames ve diğerleri, J. Immunol. Methods, 1995, 184, 177-186; Kettleborough ve diğerleri Eur. J. Immunol., 1994, 24, 952-958; Persic ve diğerleri, Gene, 1997 187, 9-18; ve Burton ve diğerleri, Advances in Immunology, 1994, 57, 191-280; WO 90/02809; WO 91/10737; WO 92/01047; WO 92/18619; WO 93/11236; WO 95/15982; ve WO 95/20401; ve US 5,698,426; US 5,223,409; US 403,484; US 5,580,717; US 5,427,908; US 5,750,753; US 5,821,047; US 5,571,698; US 5,427,908; US 5,516,637; US 5,780,225; US 5,658,727; US 5,733,743; ve US 5,969,108'de açıklananları içerir. Ayrıca hümanize antikorların üretilmesinde transgenik fareler veya başka memeliler dahil başka organizmalar da kullanılabilir.

Tamamen insan antikorlar hem ağır hem hafif zincirlerin değişken bölgelerinin ve sabit bölgelerinin (mevcut olduğunda) tamamının insan kökenli veya aynı antikordan olması şart değilse de insan kökenli dizilerle büyük ölçüde özdeş olduğu antikorlardır. Tamamen insan antikorların örnekleri örneğin yukarıda açıklanan faj gösterimi usulleriyle üretilen antikorları ve örneğin genel olarak EP 0546073, US 5,545,806, US 5,569,825, US 5,625,126, US

Bir örnekte, antikor Fab veya Fab' fragmanı monoklonal, tamamen insan, hümanize veya kimerik bir antikor fragmanıdır. Bir örnekte antikor Fab veya Fab' fragmanları tamamen insan veya hümanizedir.

Monoklonal antikorlar hibridom tekniği (Kohler & Milstein, Nature, 1975, 256, 495-497), trioma tekniği, insan B hücresi hibridom tekniği (Kozbor ve diğerleri, Immunology Today, 1983, 4, 72) ve EBV-hibridom tekniği (Cole ve diğerleri, "Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy", s. 77-96, Alan R. Liss, Inc., 1985) gibi teknikte bilinen herhangi bir usulle hazırlanabilir.

Buluştta kullanılacak antikorlar, örneğin Babcook, J. ve diğerleri, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1996, 93(15), 7843-7848 referansında, WO 92/02551, WO 2004/051268 ve WO 2004/106377'de açıklanan usullerle spesifik antikorların üretimi için seçilen tek lenfositlerden üretilen immünoglobulin değişken bölge cDNA'larının klonlanıldığı ve eksprese edildiği tek lenfosit antikorları usullerini kullanarak da üretilebilir.

Hümanize antikorlar insan dışı türlerden bir veya daha fazla tamamlayıcılığı belirleme bölgesine (CDR'ler) ve bir insan immünoglobulin molekülünden bir çerçeve bölgesine sahip insan dışı türlere ait antikor molekülleridir (bakınız örneğin, US 5,585,089).

Mevcut buluştta kullanılacak antikorlar teknikte bilinen çeşitli faj gösterimi usullerini kullanarak da üretilebilir ve bunlar Brinkman ve diğerleri, J. Immunol. Methods, 1995, 182, 41-50; Ames ve diğerleri, J. Immunol. Methods, 1995, 184, 177-186; Kettleborough ve diğerleri Eur. J. Immunol., 1994, 24, 952-958; Persic ve diğerleri, Gene, 1997 187, 9-18; ve Burton ve diğerleri, Advances in Immunology, 1994, 57, 191-280; WO 90/02809; WO 91/10737; WO 92/01047; WO 92/18619; WO 93/11236; WO 95/15982; ve WO 95/20401; ve US 5,698,426; US 5,223,409; US 403,484; US 5,580,717; US 5,427,908; US 5,750,753; US 5,821,047; US 5,571,698; US 5,427,908; US 5,516,637; US 5,780,225; US 5,658,727; US 5,733,743; ve US 5,969,108'de açıklananları içerir. Ayrıca hümanize antikorların üretilmesinde transgenik fareler veya başka memeliler dahil başka organizmalar da kullanılabilir.

Tamamen insan antikorlar hem ağır hem hafif zincirlerin değişken bölgelerinin ve sabit bölgelerinin (mevcut olduğunda) tamamının insan kökenli veya aynı antikordan olması şart değilse de insan kökenli dizilerle büyük ölçüde özdeş olduğu antikorlardır. Tamamen insan antikorların örnekleri örneğin yukarıda açıklanan faj gösterimi usulleriyle üretilen antikorları ve örneğin genel olarak EP 0546073, US 5,545,806, US 5,569,825, US 5,625,126, US

5,633,425, US 5,661,016, US 5,770,429, EP 0438474 ve EP 0463151'de açıklanan şekilde murin immünooglobulin değişken ve/veya sabit bölge genleri insan emsalleri ile değiştirilmiş farelerle üretilen antikorları içerebilir.

Mevcut buluşta kullanılan antikor Fab veya Fab' fragmanı başlangıç maddesi herhangi bir uygun enzimatik parçalama ve/veya sindirim tekniğini kullanarak, örneğin pepsinle işleme tabi tutarak herhangi bir bütün antikordan, özellikle bir bütün monoklonal antikordan elde edilebilir. Alternatif olarak veya ilaveten antikor başlangıç maddesi antikor değişken ve/veya sabit bölgelerini kodlayan DNA'nın manipülasyonunu ve yeniden ekspresyonunu içeren rekombinant DNA tekniklerini kullanarak hazırlanabilir. Amino asitlerin veya domenlerin istenen şekilde modifiye edilmesinde, eklenmesinde veya silinmesinde standart moleküler biyoloji teknikleri kullanılabilir. Değişken veya sabit bölgelerdeki alterasyonların tamamı yine de burada kullanıldığı şekliyle 'değişken' ve 'sabit' bölgeler terimlerinin kapsamına girer.

Antikor fragmanı başlangıç maddesi örneğin fare, sıçan, tavşan, hamster, deve, lama, keçi veya insan dahil olmak üzere herhangi bir türden elde edilebilir. Antikor fragmanı parçaları birden fazla türden elde edilebilir, örneğin antikor fragmanları kimerik olabilir. Bir örnekte, sabit bölgeler bir türden değişken bölgeler ise bir başkasındadır. Antikor fragmanı başlangıç maddesi modifiye edilmiş de olabilir. Bir başka örnekte, antikor fragmanının değişken bölgesi rekombinant DNA mühendisliği tekniklerini kullanarak yaratılmıştır. Bu tasarlanan çeşitlemeler örneğin doğal antikorların amino asit dizilerinde veya dizilerine insersiyonlar, delesyonlar veya değişimler uygulayarak doğal antikor değişken bölgelerinden yaratılanları içerir. Bu türün belli başlı örnekleri bir antikordan en az bir CDR ve isteğe bağlı olarak bir veya daha fazla çerçeve amino asit içeren ve değişken bölge domeninin geri kalanının bir ikinci antikora ait olduğu tasarlanmış değişken bölge domenlerini içerir. Bu antikor fragmanlarını yaratma ve imal etme usulleri teknikte gayet iyi bilinmektedir (bakınız örneğin, Boss ve diğerleri, US 4,816,397; Cabilly ve diğerleri, US 6,331,415; Shrader ve diğerleri, WO 92/02551; Ward ve diğerleri, 1989, Nature, 341, 544; Orlandi ve diğerleri, 1989, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 86, 3833; Riechmann ve diğerleri, 1988, Nature, 322, 323; Bird ve diğerleri, 1988, Science, 242, 423; Queen ve diğerleri, US 5,585,089; Adair, WO 91/09967; Mountain ve Adair, 1992, Biotechnol. Genet. Eng. Rev, 10, 1-142; Verma ve diğerleri, 1998, Journal of Immunological Methods, 216, 165-181).

Mevcut buluşta Fab veya Fab' fragmanı ile füzyon yapan her tek domenli antikor doğrudan veya bir bağlayıcı vasıtasıyla bağlanabilir.

Burada kullanıldığı şekliyle doğrudan bağlanmış "son" Fab veya Fab' amino asidinin bir

5,633,425, US 5,661,016, US 5,770,429, EP 0438474 ve EP 0463151'de açıklanan şekilde murin immünoglobulin değişken ve/veya sabit bölge genleri insan emsalleri ile değiştirilmiş farelerle üretilen antikoları içerebilir.

Mevcut buluşta kullanılan antikor Fab veya Fab' fragmanı başlangıç maddesi herhangi bir uygun enzimatik parçalama ve/veya sindirim tekniğini kullanarak, örneğin pepsinle işleme tabi tutarak herhangi bir bütün antikordan, özellikle bir bütün monoklonal antikordan elde edilebilir. Alternatif olarak veya ilaveten antikor başlangıç maddesi antikor değişken ve/veya sabit bölgelerini kodlayan DNA'nın manipülasyonunu ve yeniden ekspresyonunu içeren rekombinant DNA tekniklerini kullanarak hazırlanabilir. Amino asitlerin veya domenlerin istenen şekilde modifiye edilmesinde, eklenmesinde veya silinmesinde standart moleküler biyoloji teknikleri kullanılabilir. Değişken veya sabit bölgelerdeki alterasyonların tamamı yine de burada kullanıldığı şekliyle 'değişken' ve 'sabit' bölgeler terimlerinin kapsamına girer.

Antikor fragmanı başlangıç maddesi örneğin fare, sıçan, tavşan, hamster, deve, lama, keçi veya insan dahil olmak üzere herhangi bir türden elde edilebilir. Antikor fragmanı parçaları birden fazla türden elde edilebilir, örneğin antikor fragmanları kimerik olabilir. Bir örnekte, sabit bölgeler bir türden değişken bölgeler ise bir başkasındadır. Antikor fragmanı başlangıç maddesi modifiye edilmiş de olabilir. Bir başka örnekte, antikor fragmanının değişken bölgesi rekombinant DNA mühendisliği tekniklerini kullanarak yaratılmıştır. Bu tasarlanan çeşitlemeler örneğin doğal antikoların amino asit dizilerinde veya dizilerine insersiyonlar, delesyonlar veya değişimler uygulayarak doğal antikor değişken bölgelerinden yaratılanları içerir. Bu türün belli başlı örnekleri bir antikordan en az bir CDR ve isteğe bağlı olarak bir veya daha fazla çerçeve amino asit içeren ve değişken bölge domeninin geri kalanının bir ikinci antikora ait olduğu tasarlanmış değişken bölge domenlerini içerir. Bu antikor fragmanlarını yaratma ve imal etme usulleri teknikte gayet iyi bilinmektedir (bakınız örneğin, Boss ve diğerleri, US 4,816,397; Cabilly ve diğerleri, US 6,331,415; Shrader ve diğerleri, WO 92/02551; Ward ve diğerleri, 1989, Nature, 341, 544; Orlandi ve diğerleri, 1989, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 86, 3833; Riechmann ve diğerleri, 1988, Nature, 322, 323; Bird ve diğerleri, 1988, Science, 242, 423; Queen ve diğerleri, US 5,585,089; Adair, WO 91/09967; Mountain ve Adair, 1992, Biotechnol. Genet. Eng. Rev, 10, 1-142; Verma ve diğerleri, 1998, Journal of Immunological Methods, 216, 165-181).

Mevcut buluşta Fab veya Fab' fragmanı ile füzyon yapan her tek domenli antikor doğrudan veya bir bağlayıcı vasıtasıyla bağlanabilir.

Burada kullanıldığı şekliyle doğrudan bağlanmış "son" Fab veya Fab' amino asidinin bir

5,633,425, US 5,661,016, US 5,770,429, EP 0438474 ve EP 0463151'de açıklanan şekilde murin immünoglobulin değişken ve/veya sabit bölge genleri insan emsalleri ile değiştirilmiş farelerle üretilen antikorları içerebilir.

Mevcut buluşta kullanılan antikor Fab veya Fab' fragmanı başlangıç maddesi herhangi bir uygun enzimatik parçalama ve/veya sindirim tekniğini kullanarak, örneğin pepsinle işleme tabi tutarak herhangi bir bütün antikordan, özellikle bir bütün monoklonal antikordan elde edilebilir. Alternatif olarak veya ilaveten antikor başlangıç maddesi antikor değişken ve/veya sabit bölgelerini kodlayan DNA'nın manipülasyonunu ve yeniden ekspresyonunu içeren rekombinant DNA tekniklerini kullanarak hazırlanabilir. Amino asitlerin veya domenlerin istenen şekilde modifiye edilmesinde, eklenmesinde veya silinmesinde standart moleküler biyoloji teknikleri kullanılabilir. Değişken veya sabit bölgelerdeki alterasyonların tamamı yine de burada kullanıldığı şekliyle 'değişken' ve 'sabit' bölgeler terimlerinin kapsamına girer.

Antikor fragmanı başlangıç maddesi örneğin fare, sıçan, tavşan, hamster, deve, lama, keçi veya insan dahil olmak üzere herhangi bir türden elde edilebilir. Antikor fragmanı parçaları birden fazla türden elde edilebilir, örneğin antikor fragmanları kimerik olabilir. Bir örnekte, sabit bölgeler bir türden değişken bölgeler ise bir başkasındadır. Antikor fragmanı başlangıç maddesi modifiye edilmiş de olabilir. Bir başka örnekte, antikor fragmanının değişken bölgesi rekombinant DNA mühendisliği tekniklerini kullanarak yaratılmıştır. Bu tasarlanan çeşitlemeler örneğin doğal antikorların amino asit dizilerinde veya dizilerine insersiyonlar, delesyonlar veya değişimler uygulayarak doğal antikor değişken bölgelerinden yaratılanları içerir. Bu türün belli başlı örnekleri bir antikordan en az bir CDR ve isteğe bağlı olarak bir veya daha fazla çerçeve amino asit içeren ve değişken bölge domeninin geri kalanının bir ikinci antikora ait olduğu tasarlanmış değişken bölge domenlerini içerir. Bu antikor fragmanlarını yaratma ve imal etme usulleri teknikte gayet iyi bilinmektedir (bakınız örneğin, Boss ve diğerleri, US 4,816,397; Cabilly ve diğerleri, US 6,331,415; Shrader ve diğerleri, WO 92/02551; Ward ve diğerleri, 1989, Nature, 341, 544; Orlandi ve diğerleri, 1989, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 86, 3833; Riechmann ve diğerleri, 1988, Nature, 322, 323; Bird ve diğerleri, 1988, Science, 242, 423; Queen ve diğerleri, US 5,585,089; Adair, WO 91/09967; Mountain ve Adair, 1992, Biotechnol. Genet. Eng. Rev, 10, 1-142; Verma ve diğerleri, 1998, Journal of Immunological Methods, 216, 165-181).

Mevcut buluşta Fab veya Fab' fragmanı ile füzyon yapan her tek domenli antikor doğrudan veya bir bağlayıcı vasıtasıyla bağlanabilir.

Burada kullanıldığı şekliyle doğrudan bağlanmış "son" Fab veya Fab' amino asidinin bir

peptit bağı vasıtasıyla tek domenli antikorun "birinci" amino asidine bağlı olması (veya aslında tam tersi) durumuna karşılık gelir.

Bir dAb'nin bir Fab veya Fab' ile bağlanması için uygun bağlayıcı bölgelerin örnekleri, bunlarla sınırlı kalmamak kaydıyla esnek bağlayıcı dizileri ve esnemeyen bağlayıcı dizileri içerir. Esnek bağlayıcı diziler Huston ve diğerleri, 1988, PNAS 85:5879-5883; Wright & Deonarain, Mol. Immunol., 2007, 44(11):2860-2869; Alfthan ve diğerleri, Prot. Eng., 1995, 8(7):725-731; Luo ve diğerleri, J. Biochem., 1995, 118(4):825-831; Tang ve diğerleri, 1996, J. Biol. Chem. 271(26):15682-15686; ve Turner ve diğerleri, 1997, JIMM 205, 42-54 referanslarında açıklananları içerir (temsili örnekleri için bakınız Tablo 1).

10

Tablo 1. Esnek Bağlayıcı Diziler

DİZİ İD. NO:	DİZİ
1	SGGGGSE
2	DKTHTS
3	(S)GGGGS
45	(S)GGGGSGGGGS
46	(S)GGGGSGGGGS
47	(S)GGGGSGGGGS
48	(S)GGGGSGGGGS
4	AAAGSG-GASAS
5	AAAGSG-XGGGS-GASAS
49	AAAGSG-XGGGSXGGGS -GASAS
50	AAAGSG- XGGGSXGGGSXGGGS -GASAS
51	AAAGSG- XGGGSXGGGSXGGGSXGGGS-GASAS
6	AAAGSG-XS-GASAS
7	PGGNRGTTTTRRPATTTGSSPGPTQSHY
8	ATTTGSSPGPT
9	ATTTGS
-	GS
10	EPSGPISITNSPPSKESHKSP
11	GTVAAPSVFIFPPSD
12	GGGGIAPSMVGGGGS
13	GGGGKVEGAGGGGGS
14	GGGGSMKSHDGGGGS
15	GGGGNLITIVGGGGS

peptit bağı vasıtasıyla tek domenli antikorun "birinci" amino asidine bağlı olması (veya aslında tam tersi) durumuna karşılık gelir.

Bir dAb'nin bir Fab veya Fab' ile bağlanması için uygun bağlayıcı bölgelerin örnekleri, bunlarla sınırlı kalmamak kaydıyla esnek bağlayıcı dizileri ve esnemeyen bağlayıcı dizileri içerir. Esnek bağlayıcı diziler Huston ve diğerleri, 1988, PNAS 85:5879-5883; Wright & Deonarain, Mol. Immunol., 2007, 44(11):2860-2869; Alfthan ve diğerleri, Prot. Eng., 1995, 8(7):725-731; Luo ve diğerleri, J. Biochem., 1995, 118(4):825-831; Tang ve diğerleri, 1996, J. Biol. Chem. 271(26):15682-15686; ve Turner ve diğerleri, 1997, JIMM 205, 42-54 referanslarında açıklananları içerir (temsili örnekleri için bakınız Tablo 1).

10

Tablo 1. Esnek Bağlayıcı Diziler

DİZİ İD. NO:	DİZİ
1	SGGGGSE
2	DKTHTS
3	(S)GGGGS
45	(S)GGGGSGGGGS
46	(S)GGGGSGGGGS
47	(S)GGGGSGGGGS
48	(S)GGGGSGGGGS
4	AAAGSG-GASAS
5	AAAGSG-XGGGS-GASAS
49	AAAGSG-XGGGSXGGGS -GASAS
50	AAAGSG- XGGGSXGGGSXGGGS -GASAS
51	AAAGSG- XGGGSXGGGSXGGGSXGGGS-GASAS
6	AAAGSG-XS-GASAS
7	PGGNRGTTTTRRPATTTGSSPGPTQSHY
8	ATTTGSSPGPT
9	ATTTGS
-	GS
10	EPSGPISTINSPPSKESHKSP
11	GTVAAPSVFIFPPSD
12	GGGGIAPSMVGGGGS
13	GGGGKVEGAGGGGGS
14	GGGGSMKSHDGGGGS
15	GGGGNLITIVGGGGS

peptit bağı vasıtasıyla tek domenli antikorun "birinci" amino asidine bağlı olması (veya aslında tam tersi) durumuna karşılık gelir.

Bir dAb'nin bir Fab veya Fab' ile bağlanması için uygun bağlayıcı bölgelerin örnekleri, bunlarla sınırlı kalmamak kaydıyla esnek bağlayıcı dizileri ve esnemeyen bağlayıcı dizileri içerir. Esnek bağlayıcı diziler Huston ve diğerleri, 1988, PNAS 85:5879-5883; Wright & Deonarain, Mol. Immunol., 2007, 44(11):2860-2869; Alfthan ve diğerleri, Prot. Eng., 1995, 8(7):725-731; Luo ve diğerleri, J. Biochem., 1995, 118(4):825-831; Tang ve diğerleri, 1996, J. Biol. Chem. 271(26):15682-15686; ve Turner ve diğerleri, 1997, JIMM 205, 42-54 referanslarında açıklananları içerir (temsili örnekleri için bakınız Tablo 1).

10

Tablo 1. Esnek Bağlayıcı Diziler

DİZİ İD. NO:	DİZİ
1	SGGGGSE
2	DKTHTS
3	(S)GGGGS
45	(S)GGGGSGGGGS
46	(S)GGGGSGGGGS
47	(S)GGGGSGGGGS
48	(S)GGGGSGGGGS
4	AAAGSG-GASAS
5	AAAGSG-XGGGS-GASAS
49	AAAGSG-XGGGSXGGGS -GASAS
50	AAAGSG- XGGGSXGGGSXGGGS -GASAS
51	AAAGSG- XGGGSXGGGSXGGGSXGGGS-GASAS
6	AAAGSG-XS-GASAS
7	PGGNRGTTTTRRPATTTGSSPGPTQSHY
8	ATTTGSSPGPT
9	ATTTGS
-	GS
10	EPSGPISTINSPPSKESHKSP
11	GTVAAPSVFIFPPSD
12	GGGGIAPSMVGGGGS
13	GGGGKVEGAGGGGGS
14	GGGGSMKSHDGGGGS
15	GGGGNLITIVGGGGS

DİZİ İD. NO:	DİZİ
16	GGGGVVPSPGGGGS
17	GGEKSIPGGGGS
18	RPLSYRPPFPFGFPSVRP
19	YPRSIYIRRRHPSPLTT
20	TPSHLSHILPSFGLPTFN
21	RPVSPFTFPRLSNSWLP A
22	SPA AHFPR SIPRPGPIRT
23	APGPSAPSHRSLPSRAFG
24	PRNSIHFLHPLLVA PLGA
25	MPSLSGVLQVRYLSPPDL
26	SPQYPSPLTLTLPPHPSL
27	NPSLNPPSYLHRAPSRIS
28	LPWRTSLLPSLPLRRRP
29	PPLFAKGPVGLLSRSFPP
30	VPPAPVVSLRSAHARPPY
31	LRPTPPRVRSYTCCPTP-
32	PNVAHVLPLLTVPWDNLR
33	CNPLLPLCARSPAVRTEP
(S) dizi 3'te ve 45 ila 48'de isteğe bağlıdır.	

Dolayısıyla bir düzenlemede bağlayıcı GGGGSGGGGS dizisine (DİZİ İD. NO: 224) sahiptir. Bir düzenlemede bağlayıcı GGGGSGGGSGGGGS dizisine sahiptir (DİZİ İD. NO: 225).

Esnemez bağlayıcıların örnekleri GAPAPAAPAPA (DİZİ İD. NO: 34), PPPP (DİZİ İD. NO: 35) ve PPP peptit dizilerini içerir.

- 5 Diğer bağlayıcılar ASTKGP (DİZİ İD. NO: 228), TVAAP'yı (DİZİ İD. NO: 229) içerir.

Bir düzenlemede peptit bağlayıcı albümin bağlayıcı bir peptittir. Albümin bağlayıcı peptitlerin örnekleri WO 2007/106120'de sağlanmaktadır ve aşağıdakileri içerir:

Tablo 2

DİZİ İD. NO:	DİZİ
208	DLCLRDWGCLW
209	DICLPRWGCLW
210	MEDICLPRWGCLWGD

DİZİ İD. NO:	DİZİ
16	GGGGVVPSPGGGGS
17	GGEKSIPGGGGS
18	RPLSYRPPFPFGFPSVRP
19	YPRSIYIRRRHPSPLTT
20	TPSHLSHILPSFGLPTFN
21	RPVSPFTFPRLSNSWLP A
22	SPA AHFPR SIPRPGPIRT
23	APGPSAPSHRSLPSRAFG
24	PRNSIHFLHPLLVA PLGA
25	MPSLSGVLQVRYLSPPDL
26	SPQYPSPLTLTLPPHPSL
27	NPSLNPPSYLHRAPSRIS
28	LPWRTSLLPSLPLRRRP
29	PPLFAKGPVGLLSRSFPP
30	VPPAPVVSLRSAHARPPY
31	LRPTPPRVRSYTCCPTP-
32	PNVAHVLPLLTVPWDNLR
33	CNPLLPLCARSPAVRTEP
(S) dizi 3'te ve 45 ila 48'de isteğe bağlıdır.	

Dolayısıyla bir düzenlemede bağlayıcı GGGGSGGGGS dizisine (DİZİ İD. NO: 224) sahiptir. Bir düzenlemede bağlayıcı GGGGSGGGSGGGGS dizisine sahiptir (DİZİ İD. NO: 225).

Esnemez bağlayıcıların örnekleri GAPAPAAPAPA (DİZİ İD. NO: 34), PPPP (DİZİ İD. NO: 35) ve PPP peptit dizilerini içerir.

- 5 Diğer bağlayıcılar ASTKGP (DİZİ İD. NO: 228), TVAAP'yı (DİZİ İD. NO: 229) içerir.

Bir düzenlemede peptit bağlayıcı albümin bağlayıcı bir peptittir. Albümin bağlayıcı peptitlerin örnekleri WO 2007/106120'de sağlanmaktadır ve aşağıdakileri içerir:

Tablo 2

DİZİ İD. NO:	DİZİ
208	DLCLRDWGCLW
209	DICLPRWGCLW
210	MEDICLPRWGCLWGD

DİZİ İD. NO:	DİZİ
16	GGGGVVPSPGGGGS
17	GGEKSIPGGGGS
18	RPLSYRPPFPFGFPSVRP
19	YPRSIYIRRRHPSPLTT
20	TPSHLSHILPSFGLPTFN
21	RPVSPFTFPRLSNSWLP A
22	SPA AHFPR SIPRPGPIRT
23	APGPSAPSHRSLPSRAFG
24	PRNSIHFLHPLLVA PLGA
25	MPSLSGVLQVRYLSPPDL
26	SPQYPSPLTLTLPPHPSL
27	NPSLNPPSYLHRAPSRIS
28	LPWRTSLLPSLPLRRRP
29	PPLFAKGPVGLLSRSFPP
30	VPPAPVVSLRSAHARPPY
31	LRPTPPRVRSYTCCPTP-
32	PNVAHVLPLLTVPWDNLR
33	CNPLLPLCARSPAVRTEP
(S) dizi 3'te ve 45 ila 48'de isteğe bağlıdır.	

Dolayısıyla bir düzenlemede bağlayıcı GGGGSGGGGS dizisine (DİZİ İD. NO: 224) sahiptir. Bir düzenlemede bağlayıcı GGGGSGGGSGGGGS dizisine sahiptir (DİZİ İD. NO: 225).

Esnemez bağlayıcıların örnekleri GAPAPAAPAPA (DİZİ İD. NO: 34), PPPP (DİZİ İD. NO: 35) ve PPP peptit dizilerini içerir.

- 5 Diğer bağlayıcılar ASTKGP (DİZİ İD. NO: 228), TVAAP'yı (DİZİ İD. NO: 229) içerir.

Bir düzenlemede peptit bağlayıcı albümin bağlayıcı bir peptittir. Albümin bağlayıcı peptitlerin örnekleri WO 2007/106120'de sağlanmaktadır ve aşağıdakileri içerir:

Tablo 2

DİZİ İD. NO:	DİZİ
208	DLCLRDWGCLW
209	DICLPRWGCLW
210	MEDICLPRWGCLWGD

DİZİ İD. NO:	DİZİ
211	QRLMEDICLPRWGCLWEDDE
212	QGLIGDICLPRWGCLWGRSV
213	QGLIGDICLPRWGCLWGRSVK
214	EDICLPRWGCLWEDD
215	RLMEDICLPRWGCLWEDD
216	MEDICLPRWGCLWEDD
217	MEDICLPRWGCLWED
218	RLMEDICLARWGCLWEDD
219	EVRSFCTRWP AEK SCKPLRG
220	RAPESFVCYWETICFERSEQ
221	EMCYFPGICWM

Bir örnekte mevcut buluşa ait moleküller albümin bağlayıcı bir peptit bağlayıcıya ilaveten veya bir alternatif olarak bir lokasyonda albümin bağlayıcı bir peptit içerir. *In vivo* peptit albümine bağlanır, ki bu da molekülün yarılanma ömrünü artırır.

5 Albümin bağlayıcı peptit bir veya daha fazla değişken bölgeden (örneğin Fab ve/veya domen antikor/antikorlar içinde), bir menteşeden, bağlayıcıdan, molekülün N terminalinden veya C terminalinden veya bunların bir kombinasyonundan veya moleküllerin antijen bağlayıcı özelliklerini bozmayan herhangi bir bölgeden eklenebilir.

Bir örnekte, bir antikor menteşe dizisi veya bunun bir kısmı, örneğin üst menteşe dizisi bir bağlayıcı olarak kullanılır. Tipik olarak, mevcut buluşta kullanılan antikor Fab' fragmanları 10 doğal veya modifiye edilmiş bir menteşe bölgesine sahiptir. Bu menteşe bölgeleri dAb parçasına doğal bağlayıcı olarak kullanılır. Doğal menteşe bölgesi normal olarak antikor molekülünün C_H1 domeniyle bağlantılı menteşe bölgesidir. Modifiye bir menteşe bölgesi uzunluk ve/veya bileşim bakımından doğal menteşe bölgesinden farklılık gösteren herhangi bir menteşedir. Bu menteşeler başka herhangi bir türe ait menteşe bölgelerini, örneğin insan, 15 fare, sıçan, tavşan, hamster, deve, lama veya keçi menteşe bölgelerini içerebilir. Diğer modifiye menteşe bölgeleri C_H1 domeninkinden farklı bir sınıftan veya alt sınıftan bir antikordan türetilen bir tam menteşe bölgesini içerebilir. Dolayısıyla, örneğin, $\gamma 1$ sınıfından bir C_H1 domeni $\gamma 4$ sınıfından bir menteşe bölgesine bağlanabilir. Alternatif olarak, modifiye menteşe bölgesi bir doğal menteşe parçasını veya tekrardaki her birimin bir doğal menteşe 20 bölgesinden türetilmiş olduğu bir tekrar birimini içerebilir. Bir başka alternatifte, doğal menteşe bölgesi bir veya daha fazla sisteinin veya diğer kalıntıların alanin gibi nötral

DİZİ İD. NO:	DİZİ
211	QRLMEDICLPRWGCLWEDDE
212	QGLIGDICLPRWGCLWGRSV
213	QGLIGDICLPRWGCLWGRSVK
214	EDICLPRWGCLWEDD
215	RLMEDICLPRWGCLWEDD
216	MEDICLPRWGCLWEDD
217	MEDICLPRWGCLWED
218	RLMEDICLARWGCLWEDD
219	EVRSFCTRWP AEK SCKPLRG
220	RAPESFVCYWETICFERSEQ
221	EMCYFPGICWM

Bir örnekte mevcut buluşa ait moleküller albümin bağlayıcı bir peptit bağlayıcıya ilaveten veya bir alternatif olarak bir lokasyonda albümin bağlayıcı bir peptit içerir. *In vivo* peptit albümine bağlanır, ki bu da molekülün yarılanma ömrünü artırır.

5 Albümin bağlayıcı peptit bir veya daha fazla değişken bölgeden (örneğin Fab ve/veya domen antikor/antikorlar içinde), bir menteşeden, bağlayıcıdan, molekülün N terminalinden veya C terminalinden veya bunların bir kombinasyonundan veya moleküllerin antijen bağlayıcı özelliklerini bozmayan herhangi bir bölgeden eklenebilir.

Bir örnekte, bir antikor menteşe dizisi veya bunun bir kısmı, örneğin üst menteşe dizisi bir bağlayıcı olarak kullanılır. Tipik olarak, mevcut buluşta kullanılan antikor Fab' fragmanları 10 doğal veya modifiye edilmiş bir menteşe bölgesine sahiptir. Bu menteşe bölgeleri dAb parçasına doğal bağlayıcı olarak kullanılır. Doğal menteşe bölgesi normal olarak antikor molekülünün C_H1 domainiyle bağlantılı menteşe bölgesidir. Modifiye bir menteşe bölgesi uzunluk ve/veya bileşim bakımından doğal menteşe bölgesinden farklılık gösteren herhangi bir menteşedir. Bu menteşeler başka herhangi bir türe ait menteşe bölgelerini, örneğin insan, 15 fare, sıçan, tavşan, hamster, deve, lama veya keçi menteşe bölgelerini içerebilir. Diğer modifiye menteşe bölgeleri C_H1 domeninkinden farklı bir sınıftan veya alt sınıftan bir antikordan türetilen bir tam menteşe bölgesini içerebilir. Dolayısıyla, örneğin, $\gamma 1$ sınıfından bir C_H1 domaini $\gamma 4$ sınıfından bir menteşe bölgesine bağlanabilir. Alternatif olarak, modifiye menteşe bölgesi bir doğal menteşe parçasını veya tekrardaki her birimin bir doğal menteşe 20 bölgesinden türetilmiş olduğu bir tekrar birimini içerebilir. Bir başka alternatifte, doğal menteşe bölgesi bir veya daha fazla sisteinin veya diğer kalıntıların alanin gibi nötral

DİZİ İD. NO:	DİZİ
211	QRLMEDICLPRWGCLWEDDE
212	QGLIGDICLPRWGCLWGRSV
213	QGLIGDICLPRWGCLWGRSVK
214	EDICLPRWGCLWEDD
215	RLMEDICLPRWGCLWEDD
216	MEDICLPRWGCLWEDD
217	MEDICLPRWGCLWED
218	RLMEDICLARWGCLWEDD
219	EVRSFCTRWP AEKSCKPLRG
220	RAPESFVCYWETICFERSEQ
221	EMCYFPGICWM

Bir örnekte mevcut buluşa ait moleküller albümin bağlayıcı bir peptit bağlayıcıya ilaveten veya bir alternatif olarak bir lokasyonda albümin bağlayıcı bir peptit içerir. *In vivo* peptit albümine bağlanır, ki bu da molekülün yarılanma ömrünü artırır.

Albümin bağlayıcı peptit bir veya daha fazla değişken bölgeden (örneğin Fab ve/veya domen 5 antikor/antikorlar içinde), bir menteşeden, bağlayıcıdan, molekülün N terminalinden veya C terminalinden veya bunların bir kombinasyonundan veya moleküllerin antijen bağlayıcı özelliklerini bozmayan herhangi bir bölgeden eklenebilir.

Bir örnekte, bir antikör menteşe dizisi veya bunun bir kısmı, örneğin üst menteşe dizisi bir bağlayıcı olarak kullanılır. Tipik olarak, mevcut buluşta kullanılan antikör Fab' fragmanları 10 doğal veya modifiye edilmiş bir menteşe bölgesine sahiptir. Bu menteşe bölgeleri dAb parçasına doğal bağlayıcı olarak kullanılır. Doğal menteşe bölgesi normal olarak antikör molekülünün C_H1 domainiyle bağlantılı menteşe bölgesidir. Modifiye bir menteşe bölgesi uzunluk ve/veya bileşim bakımından doğal menteşe bölgesinden farklılık gösteren herhangi bir menteşedir. Bu menteşeler başka herhangi bir türe ait menteşe bölgelerini, örneğin insan, 15 fare, sıçan, tavşan, hamster, deve, lama veya keçi menteşe bölgelerini içerebilir. Diğer modifiye menteşe bölgeleri C_H1 domeninkinden farklı bir sınıftan veya alt sınıftan bir antikordan türetilen bir tam menteşe bölgesini içerebilir. Dolayısıyla, örneğin, $\gamma 1$ sınıfından bir C_H1 domaini $\gamma 4$ sınıfından bir menteşe bölgesine bağlanabilir. Alternatif olarak, modifiye menteşe bölgesi bir doğal menteşe parçasını veya tekrardaki her birimin bir doğal menteşe 20 bölgesinden türetilmiş olduğu bir tekrar birimini içerebilir. Bir başka alternatifte, doğal menteşe bölgesi bir veya daha fazla sisteinin veya diğer kalıntıların alanin gibi nötral

kalıntılara çevrilmesiyle veya uygun şekilde yerleştirilmiş kalıntıların sistein kalıntılarına çevrilmesiyle başkalaştırılabilir. Bu şekilde menteşe bölgesindeki sistein kalıntılarının sayısı artırılabilir veya azaltılabilir. İlâveten, menteşenin diğer belirleyici özellikleri, örneğin menteşe sisteininin(sisteinlerinin) hafif zincirde zincirler arasında bulunan sisteinden

5 mesafesi, menteşe sisteinleri arasındaki mesafe ve menteşedeki diğer amino asitlerin menteşenin esneklik gibi özelliklerini etkileyebilecek bileşimi kontrol altına alınabilir, örneğin dönüş esnekliğini artırmak için menteşeye glisinler yerleştirilebilir veya esnekliği azaltmak için prolinler yerleştirilebilir. Alternatif olarak, multimerizasyon özellikleri katmak için menteşeye yüklü veya hidrofobik kalıntıların kombinasyonları yerleştirilebilir; örneğin

10 bağlayıcı olarak yüklü veya iyonik uçların, *örneğin* asidik uçların kullanımı için Richter ve diğerleri, 2001, Prot. Eng. 14(10):775-783 referansına ve lösin fermuar dizileri için Kostelny ve diğerleri, 1992, J. Immunol. 5(1):1547-1553 referansına bakılabilir. Diğer modifiye menteşe bölgeleri tamamen sentetik olabilir ve uzunluk, bileşim ve esneklik gibi arzu edilen özelliklere sahip olacak şekilde tasarlanabilir.

15 Bazı modifiye menteşe bölgeleri daha önce örneğin US 5,677,425, US 6642356, WO 9915549, WO 2005003170, WO 2005003169, WO 2005003170, WO 9825971 ve WO 2005003171’de açıklanmıştır. Bu menteşeler genellikle CH1 bölgesinden itibaren devam eder ancak bir hafif zincir kappa veya lambda fragmanının sabit bölgesinin ucuna da eklenebilirler; örnekler için bakınız Tablo 3.

Tablo 3. Menteşe Bağlayıcı Dizileri

DİZİ İD. NO:	DİZİ
36	DKTHTCAA
37	DKHTCPPCPA
38	DKHTCPPCPATCPPCPA
39	DKHTCPPCPATCPPCPATCPPCPA
40	DKHTCPPCPAGKPTLYNSLVMSDTAGTCY
41	DKHTCPPCPAGKPTHVNVSVVMAEVDGTCY
42	DKHTCCVECPCPA
43	DKHTCPRCPEPKSCDTPPPCPRCPA
44	DKHTCPSCPA

Mevcut buluşta kullanılan ve tek domenli antikorlar veya dAb’ler olarak da bilinen tekli değişken domenler teknikte bilinen usulleri kullanarak üretilbilirler ve WO 2005/118642’de,

kalıntılara çevrilmesiyle veya uygun şekilde yerleştirilmiş kalıntıların sistein kalıntılarına çevrilmesiyle başkalaştırılabilir. Bu şekilde menteşe bölgesindeki sistein kalıntılarının sayısı artırılabilir veya azaltılabilir. İlâveten, menteşenin diğer belirleyici özellikleri, örneğin menteşe sisteininin(sisteinlerinin) hafif zincirde zincirler arasında bulunan sisteinden

5 mesafesi, menteşe sisteinleri arasındaki mesafe ve menteşedeki diğer amino asitlerin menteşenin esneklik gibi özelliklerini etkileyebilecek bileşimi kontrol altına alınabilir, örneğin dönüş esnekliğini artırmak için menteşeye glisinler yerleştirilebilir veya esnekliği azaltmak için prolinler yerleştirilebilir. Alternatif olarak, multimerizasyon özellikleri katmak için menteşeye yüklü veya hidrofobik kalıntıların kombinasyonları yerleştirilebilir; örneğin

10 bağlayıcı olarak yüklü veya iyonik uçların, *örneğin* asidik uçların kullanımı için Richter ve diğerleri, 2001, Prot. Eng. 14(10):775-783 referansına ve lösin fermuar dizileri için Kostelny ve diğerleri, 1992, J. Immunol. 5(1):1547-1553 referansına bakılabilir. Diğer modifiye menteşe bölgeleri tamamen sentetik olabilir ve uzunluk, bileşim ve esneklik gibi arzu edilen özelliklere sahip olacak şekilde tasarlanabilir.

15 Bazı modifiye menteşe bölgeleri daha önce örneğin US 5,677,425, US 6642356, WO 9915549, WO 2005003170, WO 2005003169, WO 2005003170, WO 9825971 ve WO 2005003171’de açıklanmıştır. Bu menteşeler genellikle CH1 bölgesinden itibaren devam eder ancak bir hafif zincir kappa veya lambda fragmanının sabit bölgesinin ucuna da eklenebilirler; örnekler için bakınız Tablo 3.

Tablo 3. Menteşe Bağlayıcı Dizileri

DİZİ İD. NO:	DİZİ
36	DKTHTCAA
37	DKHTCPPCPA
38	DKHTCPPCPATCPPCPA
39	DKHTCPPCPATCPPCPATCPPCPA
40	DKHTCPPCPAGKPTLYNSLVMSDTAGTCY
41	DKHTCPPCPAGKPTHVNVSVVMAEVDGTCY
42	DKHTCCVECPCPA
43	DKHTCPRCPEPKSCDTPPPCPRCPA
44	DKHTCPSCPA

Mevcut buluşta kullanılan ve tek domenli antikorlar veya dAb’ler olarak da bilinen tekli değişken domenler teknikte bilinen usulleri kullanarak üretilbilirler ve WO 2005/118642’de,

kalıntılara çevrilmesiyle veya uygun şekilde yerleştirilmiş kalıntıların sistein kalıntılarına çevrilmesiyle başkalaştırılabilir. Bu şekilde menteşe bölgesindeki sistein kalıntılarının sayısı artırılabilir veya azaltılabilir. İlâveten, menteşenin diğer belirleyici özellikleri, örneğin menteşe sisteininin(sisteinlerinin) hafif zincirde zincirler arasında bulunan sisteinden

5 mesafesi, menteşe sisteinleri arasındaki mesafe ve menteşedeki diğer amino asitlerin menteşenin esneklik gibi özelliklerini etkileyebilecek bileşimi kontrol altına alınabilir, örneğin dönüş esnekliğini artırmak için menteşeye glisinler yerleştirilebilir veya esnekliği azaltmak için prolinler yerleştirilebilir. Alternatif olarak, multimerizasyon özellikleri katmak için menteşeye yüklü veya hidrofobik kalıntıların kombinasyonları yerleştirilebilir; örneğin

10 bağlayıcı olarak yüklü veya iyonik uçların, *örneğin* asidik uçların kullanımı için Richter ve diğerleri, 2001, Prot. Eng. 14(10):775-783 referansına ve lösin fermuar dizileri için Kostelny ve diğerleri, 1992, J. Immunol. 5(1):1547-1553 referansına bakılabilir. Diğer modifiye menteşe bölgeleri tamamen sentetik olabilir ve uzunluk, bileşim ve esneklik gibi arzu edilen özelliklere sahip olacak şekilde tasarlanabilir.

15 Bazı modifiye menteşe bölgeleri daha önce örneğin US 5,677,425, US 6642356, WO 9915549, WO 2005003170, WO 2005003169, WO 2005003170, WO 9825971 ve WO 2005003171’de açıklanmıştır. Bu menteşeler genellikle CH1 bölgesinden itibaren devam eder ancak bir hafif zincir kappa veya lambda fragmanının sabit bölgesinin ucuna da eklenebilirler; örnekler için bakınız Tablo 3.

Tablo 3. Menteşe Bağlayıcı Dizileri

DİZİ İD. NO:	DİZİ
36	DKTHTCAA
37	DKHTCPPCPA
38	DKHTCPPCPATCPPCPA
39	DKHTCPPCPATCPPCPATCPPCPA
40	DKHTCPPCPAGKPTLYNSLVMSDTAGTCY
41	DKHTCPPCPAGKPTHVNVSVVMAEVDGTCY
42	DKHTCCVECPCPA
43	DKHTCPRCPEPKSCDTPPPCPRCPA
44	DKHTCPSCPA

Mevcut buluşta kullanılan ve tek domenli antikorlar veya dAb’ler olarak da bilinen tekli değişken domenler teknikte bilinen usulleri kullanarak üretilbilirler ve WO 2005/118642’de,

Ward ve diğerleri, 1989, Nature, 341, 544-546 ve Holt ve diğerleri, 2003, Trends in Biotechnology, 21, 484-490 referanslarında açıklananları içerirler. Her hafif zincir domeni ya kappa ya da lambda alt grubundan olabilir. VH ve VL domenlerini ayırıştırma usulleri teknikte açıklanmıştır, bakınız örneğin EP 0368684 ve Ward ve diğerleri, bkz. yukarıda. Bu domenler uygun herhangi bir türden veya antikor başlangıç maddesinden elde edilebilir. Tek domenli antikor bir kemirgenden, insandan veya diğer türlerden elde edilebilir. Bir örnekte tek domenli antikor hümanize edilmiştir.

Bir örnekte tek domenli antikor örneğin WO 2005/118642'de, Jespers ve diğerleri, 2004, Nature Biotechnology, 22, 1161-1165 ve Holt ve diğerleri, 2003, Trends in Biotechnology, 21, 484-490 referanslarında açıklanan usulleri kullanarak bir faj gösterimi kütüphanesinden elde edilir. Tercihen, bu tek domenli antikorlar tamamen insandır ancak başka türlerden de elde edilebilirler. Bir örnekte tek değişken domen çerçevesinin köken itibarıyla insan veya büyük ölçüde insan olması ve CDR'nin(CDR'lerin) insan dışı kökenden olması nedeniyle kimeriktir. Takdir edileceği üzere tek domenli antikor dizisi, ayırıştırıldığında tek domenli antikorun, örneğin çözünürlük gibi özelliklerini geliştirmek üzere Holt ve diğerleri, bkz. yukarıda referansında açıklanan şekilde modifiye edilebilecektir.

Burada kullanıldığı şekliyle büyük ölçüde insan ifadesi orijinal malzemenin, immünojenisite ile ilişkili olabilecek insan özelliğinin korunmuş olması anlamına gelir. Büyük ölçüde insan madde çerçeve dizisindeki bir amino asidin eklenmiş, silinmiş veya bir başka amino asitle değiştirilmiş olduğu bir maddeyi içerecektir.

Bir örnekte dAb scFv faj gösteriminden veya bir transgenik Humouse™ veya Velocimouse™ veya bir hümanize kemirgenden elde edilen bir insan dizisidir.

Bir örnekte, dAb bir insandan veya hümanize kemirgenden, bir devegilden veya bir köpekbalgından elde edilir. Bu tür bir dAb tercihen hümanize edilecektir. Bir örnekte tek domenli antikor EP 0656946'da açıklanan şekilde devegil immünoglobulinlerine dayanan bir VHH domenidir. Bir örnekte, bir deve veya lama bir ilgili antijenle aşılır ve titre uygun olduğunda kan toplanır. dAb'yi kodlayan gen tek hücreli PCR ile klonlanabilir veya dAb'yi kodlayan B hücresi(hücreleri) EBV transformasyonu ile veya ölümsüz bir hücre hattına füzyonla ölümsüz kılınabilir.

Burada yukarıda açıklandığı üzere, mevcut açıklamada bir ilgili antijene spesifikliği olan bir antikor Fab veya Fab' fragmanını içeren, söz konusu fragmanın doğrudan veya bir bağlayıcı vasıtasıyla bir ikinci ilgili antijen için spesifikliği olan en az bir tek domenli antikorla füzyon

Ward ve diğerleri, 1989, Nature, 341, 544-546 ve Holt ve diğerleri, 2003, Trends in Biotechnology, 21, 484-490 referanslarında açıklananları içerirler. Her hafif zincir domeni ya kappa ya da lambda alt grubundan olabilir. VH ve VL domenlerini ayırıştırma usulleri teknikte açıklanmıştır, bakınız örneğin EP 0368684 ve Ward ve diğerleri, bkz. yukarıda. Bu domenler uygun herhangi bir türden veya antikor başlangıç maddesinden elde edilebilir. Tek domenli antikor bir kemirgenden, insandan veya diğer türlerden elde edilebilir. Bir örnekte tek domenli antikor hümanize edilmiştir.

Bir örnekte tek domenli antikor örneğin WO 2005/118642'de, Jespers ve diğerleri, 2004, Nature Biotechnology, 22, 1161-1165 ve Holt ve diğerleri, 2003, Trends in Biotechnology, 21, 484-490 referanslarında açıklanan usulleri kullanarak bir faj gösterimi kütüphanesinden elde edilir. Tercihen, bu tek domenli antikorlar tamamen insandır ancak başka türlerden de elde edilebilirler. Bir örnekte tek değişken domen çerçevesinin köken itibarıyla insan veya büyük ölçüde insan olması ve CDR'nin(CDR'lerin) insan dışı kökenden olması nedeniyle kimeriktir. Takdir edileceği üzere tek domenli antikor dizisi, ayırıştırıldığında tek domenli antikorun, örneğin çözünürlük gibi özelliklerini geliştirmek üzere Holt ve diğerleri, bkz. yukarıda referansında açıklanan şekilde modifiye edilebilecektir.

Burada kullanıldığı şekliyle büyük ölçüde insan ifadesi orijinal malzemenin, immünojenisite ile ilişkili olabilecek insan özelliğinin korunmuş olması anlamına gelir. Büyük ölçüde insan madde çerçeve dizisindeki bir amino asidin eklenmiş, silinmiş veya bir başka amino asitle değiştirilmiş olduğu bir maddeyi içerecektir.

Bir örnekte dAb scFv faj gösteriminden veya bir transgenik Humouse™ veya Velocimouse™ veya bir hümanize kemirgenden elde edilen bir insan dizisidir.

Bir örnekte, dAb bir insandan veya hümanize kemirgenden, bir devegilden veya bir köpekbalgından elde edilir. Bu tür bir dAb tercihen hümanize edilecektir. Bir örnekte tek domenli antikor EP 0656946'da açıklanan şekilde devegil immünoglobulinlerine dayanan bir VHH domenidir. Bir örnekte, bir deve veya lama bir ilgili antijenle aşılır ve titre uygun olduğunda kan toplanır. dAb'yi kodlayan gen tek hücreli PCR ile klonlanabilir veya dAb'yi kodlayan B hücresi(hücreleri) EBV transformasyonu ile veya ölümsüz bir hücre hattına füzyonla ölümsüz kılınabilir.

Burada yukarıda açıklandığı üzere, mevcut açıklamada bir ilgili antijene spesifikliği olan bir antikor Fab veya Fab' fragmanını içeren, söz konusu fragmanın doğrudan veya bir bağlayıcı vasıtasıyla bir ikinci ilgili antijen için spesifikliği olan en az bir tek domenli antikorla füzyon

Ward ve diğerleri, 1989, Nature, 341, 544-546 ve Holt ve diğerleri, 2003, Trends in Biotechnology, 21, 484-490 referanslarında açıklananları içerirler. Her hafif zincir domeni ya kappa ya da lambda alt grubundan olabilir. VH ve VL domenlerini ayırıştırma usulleri teknikte açıklanmıştır, bakınız örneğin EP 0368684 ve Ward ve diğerleri, bkz. yukarıda. Bu domenler uygun herhangi bir türden veya antikör başlangıç maddesinden elde edilebilir. Tek domenli antikör bir kemirgenden, insandan veya diğer türlerden elde edilebilir. Bir örnekte tek domenli antikör hümanize edilmiştir.

Bir örnekte tek domenli antikör örneğin WO 2005/118642'de, Jespers ve diğerleri, 2004, Nature Biotechnology, 22, 1161-1165 ve Holt ve diğerleri, 2003, Trends in Biotechnology, 21, 484-490 referanslarında açıklanan usulleri kullanarak bir faj gösterimi kütüphanesinden elde edilir. Tercihen, bu tek domenli antikörler tamamen insandır ancak başka türlerden de elde edilebilirler. Bir örnekte tek değişken domen çerçevesinin köken itibarıyla insan veya büyük ölçüde insan olması ve CDR'nin(CDR'lerin) insan dışı kökenden olması nedeniyle kimeriktir. Takdir edileceği üzere tek domenli antikör dizisi, ayırıştırıldığında tek domenli antikörün, örneğin çözünürlük gibi özelliklerini geliştirmek üzere Holt ve diğerleri, bkz. yukarıda referansında açıklanan şekilde modifiye edilebilecektir.

Burada kullanıldığı şekliyle büyük ölçüde insan ifadesi orijinal malzemenin, immünojenisite ile ilişkili olabilecek insan özelliğinin korunmuş olması anlamına gelir. Büyük ölçüde insan madde çerçeve dizisindeki bir amino asidin eklenmiş, silinmiş veya bir başka amino asitle değiştirilmiş olduğu bir maddeyi içerecektir.

Bir örnekte dAb scFv faj gösteriminden veya bir transgenik Humouse™ veya Velocimouse™ veya bir hümanize kemirgenden elde edilen bir insan dizisidir.

Bir örnekte, dAb bir insandan veya hümanize kemirgenden, bir devegilden veya bir köpekbalığından elde edilir. Bu tür bir dAb tercihen hümanize edilecektir. Bir örnekte tek domenli antikör EP 0656946'da açıklanan şekilde devegil immünoglobulinlerine dayanan bir VHH domenidir. Bir örnekte, bir deve veya lama bir ilgili antijenle aşılır ve titre uygun olduğunda kan toplanır. dAb'yi kodlayan gen tek hücreli PCR ile klonlanabilir veya dAb'yi kodlayan B hücresi(hücreleri) EBV transformasyonu ile veya ölümsüz bir hücre hattına füzyonla ölümsüz kılınabilir.

Burada yukarıda açıklandığı üzere, mevcut açıklamada bir ilgili antijene spesifikliği olan bir antikör Fab veya Fab' fragmanını içeren, söz konusu fragmanın doğrudan veya bir bağlayıcı vasıtasıyla bir ikinci ilgili antijen için spesifikliği olan en az bir tek domenli antikörle füzyon

yaptığı çift spesifik antikor füzyon proteinleri sağlanmaktadır.

Antikor Fab veya Fab' fragmanı ağır veya hafif zincirin C terminalinde doğrudan veya bir bağlayıcı vasıtasıyla bir dAb ile füzyon yapar. Bir başka yönü itibarıyla antikor Fab veya Fab' fragmanının ağır ve hafif zincirlerinin her biri C terminalinde doğrudan veya bir bağlayıcı vasıtasıyla bir dAb ile füzyon yapar. Bağlantı bir kimyasal konjugasyon olabilir ancak en fazla tercihen bir translasyon füzyonu, *yani* her birinin dizisinin dizide bir ekspresyon vektörüyle kodlandığı bir genetik füzyondur.

Tipik olarak tek domenli antikorun N terminali doğrudan veya bir bağlayıcı vasıtasıyla Fab veya Fab' fragmanının ağır veya hafif zincirinin C terminaline füzyon yapacaktır ve tek domenli antikor Fab veya Fab' N terminaline füzyon yaptığında isteğe bağlı olarak bir bağlayıcı vasıtasıyla C terminali yoluyla füzyon yapacaktır.

Bir örnekte açıklamada bir ilgili antijen için spesifikliği olan bir antikor Fab veya Fab' fragmanını içeren veya bundan oluşan, söz konusu fragmanın ağır veya hafif zincirin C terminalinde bir ikinci ilgili antijen için spesifikliği olan tek domenli bir antikorla füzyon yaptığı çift spesifik bir antikor füzyon proteini sağlanmaktadır.

Mevcut açıklamada bir ilgili antijen için spesifikliği olan bir antikor Fab veya Fab' fragmanını içeren veya bundan oluşan, söz konusu fragmanın ağır veya hafif zincirin C terminalinde bir ikinci ilgili antijen için spesifikliği olan en az bir tek domenli antikorla füzyon yaptığı çift spesifik bir antikor füzyon proteini sağlanmaktadır.

Bir yönü itibarıyla mevcut buluşta bir ilgili antijen için spesifikliği olan bir antikor Fab veya Fab' fragmanını içeren veya bundan oluşan, söz konusu fragmanın iki tek domenli antikorla füzyon yaptığı çift spesifik bir antikor füzyon proteini sağlanmakta olup, burada bir tek domenli antikor Fab veya Fab' fragmanı hafif zincirinin C terminaline füzyon yapar ve diğer tek domenli antikor Fab veya Fab' fragmanı ağır zincirinin C terminaline füzyon yapar, söz konusu tek domenli antikorlar birlikte bir ikinci ilgili antijen için spesifikliğe sahiptir.

Bir yönü itibarıyla, Fab veya Fab' fragmanı ağır ve hafif zincirlerinin her biri C terminalinde tek domenli bir antikor içerdiğinde iki tek domenli antikor özdeştir, yani aynı antijen için aynı bağlanma spesifikliğine sahiptir. Bir örnekte, aynı antijende aynı epitopa bağlanırlar. Mevcut açıklamada tek domenli antikorların her ikisi aynı VH dAb, aynı VHH dAb veya aynı VL dAb olabilir.

Fab veya Fab' fragmanı ağır ve hafif zincirlerinin her biri C terminalinde tek domenli bir antikor içerir. İki tek domenli antikor antijene işbirliğiyle bağlanan bir tamamlayıcı VH/VL

yaptığı çift spesifik antikor füzyon proteinleri sağlanmaktadır.

Antikor Fab veya Fab' fragmanı ağır veya hafif zincirin C terminalinde doğrudan veya bir bağlayıcı vasıtasıyla bir dAb ile füzyon yapar. Bir başka yönü itibarıyla antikor Fab veya Fab' fragmanının ağır ve hafif zincirlerinin her biri C terminalinde doğrudan veya bir bağlayıcı vasıtasıyla bir dAb ile füzyon yapar. Bağlantı bir kimyasal konjugasyon olabilir ancak en fazla tercihen bir translasyon füzyonu, *yani* her birinin dizisinin dizide bir ekspresyon vektörüyle kodlandığı bir genetik füzyondur.

Tipik olarak tek domenli antikorun N terminali doğrudan veya bir bağlayıcı vasıtasıyla Fab veya Fab' fragmanının ağır veya hafif zincirinin C terminaline füzyon yapacaktır ve tek domenli antikor Fab veya Fab' N terminaline füzyon yaptığında isteğe bağlı olarak bir bağlayıcı vasıtasıyla C terminali yoluyla füzyon yapacaktır.

Bir örnekte açıklamada bir ilgili antijen için spesifikliği olan bir antikor Fab veya Fab' fragmanını içeren veya bundan oluşan, söz konusu fragmanın ağır veya hafif zincirin C terminalinde bir ikinci ilgili antijen için spesifikliği olan tek domenli bir antikorla füzyon yaptığı çift spesifik bir antikor füzyon proteini sağlanmaktadır.

Mevcut açıklamada bir ilgili antijen için spesifikliği olan bir antikor Fab veya Fab' fragmanını içeren veya bundan oluşan, söz konusu fragmanın ağır veya hafif zincirin C terminalinde bir ikinci ilgili antijen için spesifikliği olan en az bir tek domenli antikorla füzyon yaptığı çift spesifik bir antikor füzyon proteini sağlanmaktadır.

Bir yönü itibarıyla mevcut buluşta bir ilgili antijen için spesifikliği olan bir antikor Fab veya Fab' fragmanını içeren veya bundan oluşan, söz konusu fragmanın iki tek domenli antikorla füzyon yaptığı çift spesifik bir antikor füzyon proteini sağlanmakta olup, burada bir tek domenli antikor Fab veya Fab' fragmanı hafif zincirinin C terminaline füzyon yapar ve diğer tek domenli antikor Fab veya Fab' fragmanı ağır zincirinin C terminaline füzyon yapar, söz konusu tek domenli antikorlar birlikte bir ikinci ilgili antijen için spesifikliğe sahiptir.

Bir yönü itibarıyla, Fab veya Fab' fragmanı ağır ve hafif zincirlerinin her biri C terminalinde tek domenli bir antikor içerdiğinde iki tek domenli antikor özdeştir, yani aynı antijen için aynı bağlanma spesifikliğine sahiptir. Bir örnekte, aynı antijende aynı epitopa bağlanırlar. Mevcut açıklamada tek domenli antikorların her ikisi aynı VH dAb, aynı VHH dAb veya aynı VL dAb olabilir.

Fab veya Fab' fragmanı ağır ve hafif zincirlerinin her biri C terminalinde tek domenli bir antikor içerir. İki tek domenli antikor antijene işbirliğiyle bağlanan bir tamamlayıcı VH/VL

yaptığı çift spesifik antikor füzyon proteinleri sağlanmaktadır.

Antikor Fab veya Fab' fragmanı ağır veya hafif zincirin C terminalinde doğrudan veya bir bağlayıcı vasıtasıyla bir dAb ile füzyon yapar. Bir başka yönü itibarıyla antikor Fab veya Fab' fragmanının ağır ve hafif zincirlerinin her biri C terminalinde doğrudan veya bir bağlayıcı vasıtasıyla bir dAb ile füzyon yapar. Bağlantı bir kimyasal konjugasyon olabilir ancak en fazla tercihen bir translasyon füzyonu, *yani* her birinin dizisinin dizide bir ekspresyon vektörüyle kodlandığı bir genetik füzyondur.

Tipik olarak tek domenli antikorun N terminali doğrudan veya bir bağlayıcı vasıtasıyla Fab veya Fab' fragmanının ağır veya hafif zincirinin C terminaline füzyon yapacaktır ve tek domenli antikor Fab veya Fab' N terminaline füzyon yaptığında isteğe bağlı olarak bir bağlayıcı vasıtasıyla C terminali yoluyla füzyon yapacaktır.

Bir örnekte açıklamada bir ilgili antijen için spesifikliği olan bir antikor Fab veya Fab' fragmanını içeren veya bundan oluşan, söz konusu fragmanın ağır veya hafif zincirin C terminalinde bir ikinci ilgili antijen için spesifikliği olan tek domenli bir antikorla füzyon yaptığı çift spesifik bir antikor füzyon proteini sağlanmaktadır.

Mevcut açıklamada bir ilgili antijen için spesifikliği olan bir antikor Fab veya Fab' fragmanını içeren veya bundan oluşan, söz konusu fragmanın ağır veya hafif zincirin C terminalinde bir ikinci ilgili antijen için spesifikliği olan en az bir tek domenli antikorla füzyon yaptığı çift spesifik bir antikor füzyon proteini sağlanmaktadır.

Bir yönü itibarıyla mevcut buluşta bir ilgili antijen için spesifikliği olan bir antikor Fab veya Fab' fragmanını içeren veya bundan oluşan, söz konusu fragmanın iki tek domenli antikorla füzyon yaptığı çift spesifik bir antikor füzyon proteini sağlanmakta olup, burada bir tek domenli antikor Fab veya Fab' fragmanı hafif zincirinin C terminaline füzyon yapar ve diğer tek domenli antikor Fab veya Fab' fragmanı ağır zincirinin C terminaline füzyon yapar, söz konusu tek domenli antikorlar birlikte bir ikinci ilgili antijen için spesifikliğe sahiptir.

Bir yönü itibarıyla, Fab veya Fab' fragmanı ağır ve hafif zincirlerinin her biri C terminalinde tek domenli bir antikor içerdiğinde iki tek domenli antikor özdeştir, *yani* aynı antijen için aynı bağlanma spesifikliğine sahiptir. Bir örnekte, aynı antijende aynı epitopa bağlanırlar. Mevcut açıklamada tek domenli antikorların her ikisi aynı VH dAb, aynı VHH dAb veya aynı VL dAb olabilir.

Fab veya Fab' fragmanı ağır ve hafif zincirlerinin her biri C terminalinde tek domenli bir antikor içerir. İki tek domenli antikor antijene işbirliğiyle bağlanan bir tamamlayıcı VH/VL

çiftidir, yani aynı bağlanma spesifikliğine sahip bir tamamlayıcı VH/VL çiftidir. Bir örnekte VH/VL çifti monospesifiktir. Tipik olarak, bunlar aynı antikorden elde edilen bir VH/VL çifti olacaktır. Bir örnekte VH/VL çifti bir 'çiftler kütüphanesinden', örneğin bir Fab faj gösterimi kütüphanesinden bir çift olarak ayrıştırılmış bir değişken domenler çiftidir.

- 5 Mevcut buluşa ait çift spesifik antikor füzyon proteini bir tamamlayıcı VH/VL çifti olan iki tek domenli antikor içermekte olup, burada VH tek domenli antikor ağır zincir sabit bölgesi C terminaline (CH1) füzyon yapar ve VL tek domenli antikor hafif zincir sabit bölgesi C terminaline (C kappa veya C lambda) füzyon yapar. Açıklamada ayrıca mevcut buluşa ait çift spesifik antikor füzyon proteini, bir tamamlayıcı VH/VL çifti olan iki tek domenli antikor
- 10 içerir ve VL tek domenli antikor ağır zincir sabit bölgesi C terminaline (CH1) füzyon yapar ve VH tek domenli antikor hafif zincir sabit bölgesi C terminaline (C kappa veya C lambda) füzyon yapar.

- Mevcut buluşa ait çift spesifik antikor füzyon proteini istemlerde tanımlanan şekilde bir veya daha fazla disülfür bağla bağlanmış iki tek domenli antikor içermekte olup, burada bir
- 15 tamamlayıcı VH/VL çifti olan iki tek domenli antikor bir veya daha fazla (örneğin 1 veya 2) disülfür bağla bağlanır, böylece VH tek domenli antikor ağır zincir sabit bölgesi C terminaline (CH1) füzyon yapar ve VL tek domenli antikor hafif zincir sabit bölgesi C terminaline (C kappa veya C lambda) füzyon yapar ve burada söz konusu VH/VL çifti arasında bir disülfür bağın mevcut olması özelliği vardır. Alternatif olarak VL tek domenli antikor ağır zincir sabit
- 20 bölgesi C terminaline (CH1) füzyon yapabilir ve VH tek domenli antikor hafif zincir sabit bölgesi C terminaline (C kappa veya C lambda) füzyon yapabilir ve burada söz konusu VH/VL çifti arasında bir disülfür bağın mevcut olması özelliği vardır.

- Bir düzenlemede VH tek domenli antikor ağır zincirin N terminaline füzyon yapar ve VL tek domenli antikor hafif zincirin N terminaline füzyon yapar ve burada söz konusu VH/VL çifti
- 25 arasında bir disülfür bağın mevcut olması özelliği vardır. Alternatif olarak, VL tek domenli antikor ağır zincirin N terminaline füzyon yapabilir ve VH tek domenli antikor hafif zincirin N terminaline füzyon yapabilir ve burada söz konusu VH/VL çifti arasında bir disülfür bağın mevcut olması özelliği vardır.

- Mevcut buluşta bir ilgili antijen için bir ilk spesifikliği olan bir Fab veya Fab' fragmanını
- 30 içeren ve ayrıca bir ikinci ilgili antijen için spesifikliği olan bir VH/VL çiftini içeren çok değerlikli bir antikor füzyon proteini sağlamakta olup, burada VH/VL çifti istemlerde tanımlanan şekilde biri VH'de diğeri VL'de iki sistein kalıntısı arasında bir disülfür bağla bağlanır.

çiftidir, yani aynı bağlanma spesifikliğine sahip bir tamamlayıcı VH/VL çiftidir. Bir örnekte VH/VL çifti monospesifiktir. Tipik olarak, bunlar aynı antikorden elde edilen bir VH/VL çifti olacaktır. Bir örnekte VH/VL çifti bir 'çiftler kütüphanesinden', örneğin bir Fab faj gösterimi kütüphanesinden bir çift olarak ayrıştırılmış bir değişken domenler çiftidir.

- 5 Mevcut buluşa ait çift spesifik antikor füzyon proteini bir tamamlayıcı VH/VL çifti olan iki tek domenli antikor içermekte olup, burada VH tek domenli antikor ağır zincir sabit bölgesi C terminaline (CH1) füzyon yapar ve VL tek domenli antikor hafif zincir sabit bölgesi C terminaline (C kappa veya C lambda) füzyon yapar. Açıklamada ayrıca mevcut buluşa ait çift spesifik antikor füzyon proteini, bir tamamlayıcı VH/VL çifti olan iki tek domenli antikor
- 10 içerir ve VL tek domenli antikor ağır zincir sabit bölgesi C terminaline (CH1) füzyon yapar ve VH tek domenli antikor hafif zincir sabit bölgesi C terminaline (C kappa veya C lambda) füzyon yapar.

- Mevcut buluşa ait çift spesifik antikor füzyon proteini istemlerde tanımlanan şekilde bir veya daha fazla disülfür bağla bağlanmış iki tek domenli antikor içermekte olup, burada bir
- 15 tamamlayıcı VH/VL çifti olan iki tek domenli antikor bir veya daha fazla (örneğin 1 veya 2) disülfür bağla bağlanır, böylece VH tek domenli antikor ağır zincir sabit bölgesi C terminaline (CH1) füzyon yapar ve VL tek domenli antikor hafif zincir sabit bölgesi C terminaline (C kappa veya C lambda) füzyon yapar ve burada söz konusu VH/VL çifti arasında bir disülfür bağın mevcut olması özelliği vardır. Alternatif olarak VL tek domenli antikor ağır zincir sabit
- 20 bölgesi C terminaline (CH1) füzyon yapabilir ve VH tek domenli antikor hafif zincir sabit bölgesi C terminaline (C kappa veya C lambda) füzyon yapabilir ve burada söz konusu VH/VL çifti arasında bir disülfür bağın mevcut olması özelliği vardır.

- Bir düzenlemede VH tek domenli antikor ağır zincirin N terminaline füzyon yapar ve VL tek domenli antikor hafif zincirin N terminaline füzyon yapar ve burada söz konusu VH/VL çifti
- 25 arasında bir disülfür bağın mevcut olması özelliği vardır. Alternatif olarak, VL tek domenli antikor ağır zincirin N terminaline füzyon yapabilir ve VH tek domenli antikor hafif zincirin N terminaline füzyon yapabilir ve burada söz konusu VH/VL çifti arasında bir disülfür bağın mevcut olması özelliği vardır.

- Mevcut buluşta bir ilgili antijen için bir ilk spesifikliği olan bir Fab veya Fab' fragmanını
- 30 içeren ve ayrıca bir ikinci ilgili antijen için spesifikliği olan bir VH/VL çiftini içeren çok değerlikli bir antikor füzyon proteini sağlamakta olup, burada VH/VL çifti istemlerde tanımlanan şekilde biri VH'de diğeri VL'de iki sistein kalıntısı arasında bir disülfür bağla bağlanır.

çiftidir, yani aynı bağlanma spesifikliğine sahip bir tamamlayıcı VH/VL çiftidir. Bir örnekte VH/VL çifti monospesifiktir. Tipik olarak, bunlar aynı antikorden elde edilen bir VH/VL çifti olacaktır. Bir örnekte VH/VL çifti bir 'çiftler kütüphanesinden', örneğin bir Fab faj gösterimi kütüphanesinden bir çift olarak ayrıştırılmış bir değişken domenler çiftidir.

- 5 Mevcut buluşa ait çift spesifik antikor füzyon proteini bir tamamlayıcı VH/VL çifti olan iki tek domenli antikor içermekte olup, burada VH tek domenli antikor ağır zincir sabit bölgesi C terminaline (CH1) füzyon yapar ve VL tek domenli antikor hafif zincir sabit bölgesi C terminaline (C kappa veya C lambda) füzyon yapar. Açıklamada ayrıca mevcut buluşa ait çift spesifik antikor füzyon proteini, bir tamamlayıcı VH/VL çifti olan iki tek domenli antikor
- 10 içerir ve VL tek domenli antikor ağır zincir sabit bölgesi C terminaline (CH1) füzyon yapar ve VH tek domenli antikor hafif zincir sabit bölgesi C terminaline (C kappa veya C lambda) füzyon yapar.

- Mevcut buluşa ait çift spesifik antikor füzyon proteini istemlerde tanımlanan şekilde bir veya daha fazla disülfür bağla bağlanmış iki tek domenli antikor içermekte olup, burada bir
- 15 tamamlayıcı VH/VL çifti olan iki tek domenli antikor bir veya daha fazla (örneğin 1 veya 2) disülfür bağla bağlanır, böylece VH tek domenli antikor ağır zincir sabit bölgesi C terminaline (CH1) füzyon yapar ve VL tek domenli antikor hafif zincir sabit bölgesi C terminaline (C kappa veya C lambda) füzyon yapar ve burada söz konusu VH/VL çifti arasında bir disülfür bağın mevcut olması özelliği vardır. Alternatif olarak VL tek domenli antikor ağır zincir sabit
- 20 bölgesi C terminaline (CH1) füzyon yapabilir ve VH tek domenli antikor hafif zincir sabit bölgesi C terminaline (C kappa veya C lambda) füzyon yapabilir ve burada söz konusu VH/VL çifti arasında bir disülfür bağın mevcut olması özelliği vardır.

- Bir düzenlemede VH tek domenli antikor ağır zincirin N terminaline füzyon yapar ve VL tek domenli antikor hafif zincirin N terminaline füzyon yapar ve burada söz konusu VH/VL çifti
- 25 arasında bir disülfür bağın mevcut olması özelliği vardır. Alternatif olarak, VL tek domenli antikor ağır zincirin N terminaline füzyon yapabilir ve VH tek domenli antikor hafif zincirin N terminaline füzyon yapabilir ve burada söz konusu VH/VL çifti arasında bir disülfür bağın mevcut olması özelliği vardır.

- Mevcut buluşta bir ilgili antijen için bir ilk spesifikliği olan bir Fab veya Fab' fragmanını
- 30 içeren ve ayrıca bir ikinci ilgili antijen için spesifikliği olan bir VH/VL çiftini içeren çok değerlikli bir antikor füzyon proteini sağlamakta olup, burada VH/VL çifti istemlerde tanımlanan şekilde biri VH'de diğeri VL'de iki sistein kalıntısı arasında bir disülfür bağla bağlanır.

Disülfür bağın yapıda ilave stabilizasyon sağladığı, ki bunun da avantajlı olabileceği düşünülmüştür. Tercihen VH/VL çifti tek bir disülfür bağla bağlanır.

Tipik olarak, VH/VL çifti biri VH'de diğeri VL'de iki tasarlanmış sistein arasında tek bir disülfür bağla birbirine bağlanacaktır.

- 5 Mevcut buluş bağlamında, değişken domen çifti (VH/VL) iki tasarlanmış sistein kalıntısı arasında bir disülfür bağla bağlanmakta olup, burada Kabat numaralandırmasına göre VH'nin tasarlanmış sistein kalıntısı konum 44'te ve VL'nin tasarlanmış sistein kalıntısı konum 100'dedir.

- 10 Tasarlanmış sisteinlerin eklenmesi için uygun konumlar teknikte bilinmekte olup, bunların bir kısmı aşağıda sıralanmaktadır. Takdir edileceği üzere başka uygun konumlar da mevcut olabilir.

Mevcut açıklamada disülfür bağ aşağıda belirtilenler arasından olabilir (bağlam aksini belirtmediği sürece aşağıdaki listede Kabat numaralandırması (Kabat ve diğerleri, 1987, Sequences of Proteins of Immunological Interest, US Department of Health and Human

- 15 Services, NIH, ABD) kullanılmaktadır):

- VH37 + VL95C, bakınız örneğin Protein Science 6, 781-788 Zhu ve diğerleri (1997);
- VH44 + VL100, bakınız örneğin Biochemistry 33 5451-5459 Reiter ve diğerleri (1994); veya Journal of Biological Chemistry Cilt 269 No. 28 s.18327-18331 Reiter ve diğerleri (1994); veya Protein Engineering, Cilt 10 No.12 s.1453-1459 Rajagopal ve diğerleri (1997);
- 20 • VH44 + VL105, bakınız örneğin J Biochem. 118, 825-831 Luo ve diğerleri (1995);
- VH45 + VL87, bakınız örneğin Protein Science 6, 781-788 Zhu ve diğerleri (1997);
- VH55 + VL101, bakınız örneğin FEBS Letters 377 135-139 Young ve diğerleri (1995);
- 25 • VH100 + VL50, bakınız örneğin Biochemistry 29 1362-1367 Glockshuber ve diğerleri (1990);
- VH100b + VL49;
- VH98 + VL 46, bakınız örneğin Protein Science 6, 781-788 Zhu ve diğerleri (1997);
- VH101+ VL 46 veya
- 30 • VH105 + VL43, bakınız örneğin; Proc. Natl. Acad. Sci. USA Cilt 90 s.7538-7542

Disülfür bağın yapıda ilave stabilizasyon sağladığı, ki bunun da avantajlı olabileceği düşünülmüştür. Tercihen VH/VL çifti tek bir disülfür bağla bağlanır.

Tipik olarak, VH/VL çifti biri VH'de diğeri VL'de iki tasarlanmış sistein arasında tek bir disülfür bağla birbirine bağlanacaktır.

- 5 Mevcut buluş bağlamında, değişken domen çifti (VH/VL) iki tasarlanmış sistein kalıntısı arasında bir disülfür bağla bağlanmakta olup, burada Kabat numaralandırmasına göre VH'nin tasarlanmış sistein kalıntısı konum 44'te ve VL'nin tasarlanmış sistein kalıntısı konum 100'dedir.

- 10 Tasarlanmış sisteinlerin eklenmesi için uygun konumlar teknikte bilinmekte olup, bunların bir kısmı aşağıda sıralanmaktadır. Takdir edileceği üzere başka uygun konumlar da mevcut olabilir.

Mevcut açıklamada disülfür bağ aşağıda belirtilenler arasından olabilir (bağlam aksini belirtmediği sürece aşağıdaki listede Kabat numaralandırması (Kabat ve diğerleri, 1987, Sequences of Proteins of Immunological Interest, US Department of Health and Human

- 15 Services, NIH, ABD) kullanılmaktadır):

- VH37 + VL95C, bakınız örneğin Protein Science 6, 781-788 Zhu ve diğerleri (1997);
- VH44 + VL100, bakınız örneğin Biochemistry 33 5451-5459 Reiter ve diğerleri (1994); veya Journal of Biological Chemistry Cilt 269 No. 28 s.18327-18331 Reiter ve diğerleri (1994); veya Protein Engineering, Cilt 10 No.12 s.1453-1459 Rajagopal ve diğerleri (1997);
- 20 • VH44 + VL105, bakınız örneğin J Biochem. 118, 825-831 Luo ve diğerleri (1995);
- VH45 + VL87, bakınız örneğin Protein Science 6, 781-788 Zhu ve diğerleri (1997);
- VH55 + VL101, bakınız örneğin FEBS Letters 377 135-139 Young ve diğerleri (1995);
- 25 • VH100 + VL50, bakınız örneğin Biochemistry 29 1362-1367 Glockshuber ve diğerleri (1990);
- VH100b + VL49;
- VH98 + VL 46, bakınız örneğin Protein Science 6, 781-788 Zhu ve diğerleri (1997);
- VH101+ VL 46 veya
- 30 • VH105 + VL43, bakınız örneğin; Proc. Natl. Acad. Sci. USA Cilt 90 s.7538-7542

Disülfür bağın yapıda ilave stabilizasyon sağladığı, ki bunun da avantajlı olabileceği düşünülmüştür. Tercihen VH/VL çifti tek bir disülfür bağla bağlanır.

Tipik olarak, VH/VL çifti biri VH'de diğeri VL'de iki tasarlanmış sistein arasında tek bir disülfür bağla birbirine bağlanacaktır.

- 5 Mevcut buluş bağlamında, değişken domen çifti (VH/VL) iki tasarlanmış sistein kalıntısı arasında bir disülfür bağla bağlanmakta olup, burada Kabat numaralandırmasına göre VH'nin tasarlanmış sistein kalıntısı konum 44'te ve VL'nin tasarlanmış sistein kalıntısı konum 100'dedir.

- 10 Tasarlanmış sisteinlerin eklenmesi için uygun konumlar teknikte bilinmekte olup, bunların bir kısmı aşağıda sıralanmaktadır. Takdir edileceği üzere başka uygun konumlar da mevcut olabilir.

Mevcut açıklamada disülfür bağ aşağıda belirtilenler arasından olabilir (bağlam aksini belirtmediği sürece aşağıdaki listede Kabat numaralandırması (Kabat ve diğerleri, 1987, Sequences of Proteins of Immunological Interest, US Department of Health and Human

- 15 Services, NIH, ABD) kullanılmaktadır):

- VH37 + VL95C, bakınız örneğin Protein Science 6, 781-788 Zhu ve diğerleri (1997);
- VH44 + VL100, bakınız örneğin Biochemistry 33 5451-5459 Reiter ve diğerleri (1994); veya Journal of Biological Chemistry Cilt 269 No. 28 s.18327-18331 Reiter ve diğerleri (1994); veya Protein Engineering, Cilt 10 No.12 s.1453-1459 Rajagopal ve diğerleri (1997);
- 20 • VH44 + VL105, bakınız örneğin J Biochem. 118, 825-831 Luo ve diğerleri (1995);
- VH45 + VL87, bakınız örneğin Protein Science 6, 781-788 Zhu ve diğerleri (1997);
- VH55 + VL101, bakınız örneğin FEBS Letters 377 135-139 Young ve diğerleri (1995);
- 25 • VH100 + VL50, bakınız örneğin Biochemistry 29 1362-1367 Glockshuber ve diğerleri (1990);
- VH100b + VL49;
- VH98 + VL 46, bakınız örneğin Protein Science 6, 781-788 Zhu ve diğerleri (1997);
- VH101+ VL 46 veya
- 30 • VH105 + VL43, bakınız örneğin; Proc. Natl. Acad. Sci. USA Cilt 90 s.7538-7542

Brinkmann ve diğerleri (1993); veya Proteins 19, 35-47 Jung ve diğerleri (1994).

- VH106 + VL57, bakınız örneğin FEBS Letters 377 135-139 Young ve diğerleri (1995)

Yukarıda sıralanan amino asit çiftleri sisteinlerle yer değiştirmeye olanak sağlayan, böylece
5 disülfür bağların oluşabilmesini sağlayan konumlardadır. Sisteinler bilinen tekniklerle bu konumlarda tasarlanabilir.

Bir veya daha fazla yön itibarıyla, örneğin bağı oluşturan bir veya daha fazla sistein
değiştirilmiş olduğu için ağır ve hafif zincir arasında, örneğin CH domeni ve CL veya CK
domeni arasında disülfür bağı mevcut değildir. Söz konusu bir veya daha fazla sistein örneğin
10 serinle değiştirilmiş olabilir.

Bir veya daha fazla yön itibarıyla ağır ve hafif zincir arasında CH domeni ve CL veya CK
domeni arasında zincirler arası bir disülfür bağı mevcuttur.

Bir yönü itibarıyla bir, iki, üç veya dört tek domenli antikor, örneğin aynı veya farklı
antijenlere yönlendirilmiş olabilecek iki ayrı VH/VL çiftini içeren bir F(ab)₂ fragmanı
15 sağlanmaktadır.

Bir örnekte buluşa ait antikor füzyon proteinleri bir Fc domeni içermez. Bir örnekte buluşa ait
antikor füzyon proteinleri bir CH2 veya CH3 domeni içermez.

Mevcut buluşa ait çift spesifik füzyon proteinlerinde tek domenli antikor veya antikorlar Fab
veya Fab' fragmanı parçası tarafından bağlanandan farklı bir ikinci antijene bağlanır.

- 20 Bir örnekte mevcut buluşta kullanılacak dAb'ler bir tamamlayıcı yolağı protein, bir CD markör protein veya bir FcγR için spesifiklik sergiler. Bu durumda dAb tercihen bir CD molekülü için spesifiktir. En fazla tercihen, dAb CD68, CD80, CD86, CD64, CD3, CD4, CD8 CD45, CD16 ve CD35'ten oluşan gruptan seçilen bir CD molekülü için spesifiklik sergiler.

- 25 Tercih edilen bir örnekte mevcut buluşta kullanılacak dAb'ler bir serum taşıyıcı protein, dolaşımdaki bir immünoglobulin molekülü veya CD35/CR1 için spesifiklik sergilemekte olup, serum taşıyıcı protein tercihen bir insan serum taşıyıcı protein, örneğin tiroksin bağlayıcı protein, transtiretin, α1-asit glikoprotein, transferrin, fibrinojen veya serum albümindir. En fazla tercihen, dAb insan serum albümin için spesifiklik sergiler. Dolayısıyla, bir örnekte bir tavşan, fare, sıçan, deve veya lama bir serum taşıyıcı proteinle, dolaşımdaki bir
30 immünoglobulin molekülüyle veya CD35/CR1'le (örneğin insan serum albümin) aşılır ve titre uygun olduğunda kan toplanır. dAb'yi kodlayan gen tek hücreli PCR ile klonlanabilir

Brinkmann ve diğerleri (1993); veya Proteins 19, 35-47 Jung ve diğerleri (1994).

- VH106 + VL57, bakınız örneğin FEBS Letters 377 135-139 Young ve diğerleri (1995)

Yukarıda sıralanan amino asit çiftleri sisteinlerle yer değiştirmeye olanak sağlayan, böylece
5 disülfür bağların oluşabilmesini sağlayan konumlardadır. Sisteinler bilinen tekniklerle bu konumlarda tasarlanabilir.

Bir veya daha fazla yön itibarıyla, örneğin bağı oluşturan bir veya daha fazla sistein
değiştirilmiş olduğu için ağır ve hafif zincir arasında, örneğin CH domeni ve CL veya CK
domeni arasında disülfür bağı mevcut değildir. Söz konusu bir veya daha fazla sistein örneğin
10 serinle değiştirilmiş olabilir.

Bir veya daha fazla yön itibarıyla ağır ve hafif zincir arasında CH domeni ve CL veya CK
domeni arasında zincirler arası bir disülfür bağı mevcuttur.

Bir yönü itibarıyla bir, iki, üç veya dört tek domenli antikor, örneğin aynı veya farklı
antijenlere yönlendirilmiş olabilecek iki ayrı VH/VL çiftini içeren bir F(ab)₂ fragmanı
15 sağlanmaktadır.

Bir örnekte buluşa ait antikor füzyon proteinleri bir Fc domeni içermez. Bir örnekte buluşa ait
antikor füzyon proteinleri bir CH2 veya CH3 domeni içermez.

Mevcut buluşa ait çift spesifik füzyon proteinlerinde tek domenli antikor veya antikorlar Fab
veya Fab' fragmanı parçası tarafından bağlanandan farklı bir ikinci antijene bağlanır.

- 20 Bir örnekte mevcut buluşta kullanılacak dAb'ler bir tamamlayıcı yolağı protein, bir CD markör protein veya bir FcγR için spesifiklik sergiler. Bu durumda dAb tercihen bir CD molekülü için spesifiktir. En fazla tercihen, dAb CD68, CD80, CD86, CD64, CD3, CD4, CD8 CD45, CD16 ve CD35'ten oluşan gruptan seçilen bir CD molekülü için spesifiklik sergiler.

- 25 Tercih edilen bir örnekte mevcut buluşta kullanılacak dAb'ler bir serum taşıyıcı protein, dolaşımdaki bir immünoglobulin molekülü veya CD35/CR1 için spesifiklik sergilemekte olup, serum taşıyıcı protein tercihen bir insan serum taşıyıcı protein, örneğin tiroksin bağlayıcı protein, transtiretin, α1-asit glikoprotein, transferrin, fibrinojen veya serum albümindir. En fazla tercihen, dAb insan serum albümin için spesifiklik sergiler. Dolayısıyla, bir örnekte bir tavşan, fare, sıçan, deve veya lama bir serum taşıyıcı proteinle, dolaşımdaki bir
30 immünoglobulin molekülüyle veya CD35/CR1'le (örneğin insan serum albümin) aşılır ve titre uygun olduğunda kan toplanır. dAb'yi kodlayan gen tek hücreli PCR ile klonlanabilir

Brinkmann ve diğerleri (1993); veya Proteins 19, 35-47 Jung ve diğerleri (1994).

- VH106 + VL57, bakınız örneğin FEBS Letters 377 135-139 Young ve diğerleri (1995)

Yukarıda sıralanan amino asit çiftleri sisteinlerle yer değiştirmeye olanak sağlayan, böylece
5 disülfür bağların oluşabilmesini sağlayan konumlardadır. Sisteinler bilinen tekniklerle bu konumlarda tasarlanabilir.

Bir veya daha fazla yön itibarıyla, örneğin bağı oluşturan bir veya daha fazla sistein
değiştirilmiş olduğu için ağır ve hafif zincir arasında, örneğin CH domeni ve CL veya CK
domeni arasında disülfür bağı mevcut değildir. Söz konusu bir veya daha fazla sistein örneğin
10 serinle değiştirilmiş olabilir.

Bir veya daha fazla yön itibarıyla ağır ve hafif zincir arasında CH domeni ve CL veya CK
domeni arasında zincirler arası bir disülfür bağı mevcuttur.

Bir yönü itibarıyla bir, iki, üç veya dört tek domenli antikor, örneğin aynı veya farklı
antijenlere yönlendirilmiş olabilecek iki ayrı VH/VL çiftini içeren bir F(ab)₂ fragmanı
15 sağlanmaktadır.

Bir örnekte buluşa ait antikor füzyon proteinleri bir Fc domeni içermez. Bir örnekte buluşa ait
antikor füzyon proteinleri bir CH2 veya CH3 domeni içermez.

Mevcut buluşa ait çift spesifik füzyon proteinlerinde tek domenli antikor veya antikorlar Fab
veya Fab' fragmanı parçası tarafından bağlanandan farklı bir ikinci antijene bağlanır.

- 20 Bir örnekte mevcut buluşta kullanılacak dAb'ler bir tamamlayıcı yolağı protein, bir CD markör protein veya bir FcγR için spesifiklik sergiler. Bu durumda dAb tercihen bir CD molekülü için spesifiktir. En fazla tercihen, dAb CD68, CD80, CD86, CD64, CD3, CD4, CD8 CD45, CD16 ve CD35'ten oluşan gruptan seçilen bir CD molekülü için spesifiklik sergiler.

- 25 Tercih edilen bir örnekte mevcut buluşta kullanılacak dAb'ler bir serum taşıyıcı protein, dolaşımdaki bir immünoglobulin molekülü veya CD35/CR1 için spesifiklik sergilemekte olup, serum taşıyıcı protein tercihen bir insan serum taşıyıcı protein, örneğin tiroksin bağlayıcı protein, transtiretin, α1-asit glikoprotein, transferrin, fibrinojen veya serum albümindir. En fazla tercihen, dAb insan serum albümin için spesifiklik sergiler. Dolayısıyla, bir örnekte bir tavşan, fare, sıçan, deve veya lama bir serum taşıyıcı proteinle, dolaşımdaki bir
30 immünoglobulin molekülüyle veya CD35/CR1'le (örneğin insan serum albümin) aşılır ve titre uygun olduğunda kan toplanır. dAb'yi kodlayan gen tek hücreli PCR ile klonlanabilir

veya dAb'yi kodlayan B hücresi(hücreleri) EBV transformasyonu ile veya ölümsüz bir hücre hattına füzyonla ölümsüz kılınabilir. Alternatif olarak, tek domenli antikor burada yukarıda açıklanan şekilde faj gösterimiyle elde edilebilir.

Bir düzenlemede mevcut buluşta kullanılacak tek domenli antikor veya antikorlar insan serum albümine bağlanır. Bir düzenlemede mevcut buluşta kullanılacak tek domenli antikor veya antikorlar insan serum albümin, murin serum albümin ve sıçan serum albümine bağlanır.

Bir düzenlemede serum albümine bağlanan tek domenli antikor WO 2005/118642'de sağlanan bir dAb (bakınız örneğin Şekil 1c ve 1d) veya WO 2004/041862'de sağlanan bir VHH veya örneğin WO 2006/122787'de Tablo III'te açıklanan bir hümanize nanokordur ('nanobody').

Bir düzenlemede mevcut buluşta kullanım için insan serum albümine bağlanan tek domenli bir antikor bir ağır zincir VH tek domenli antikor olup, CDR-H1 için Şekil 5 (e) DİZİ İD. NO: 56'da veya Şekil 5 (k) DİZİ İD. NO:62'de verilen diziye sahip bir CDR, CDR-H2 için Şekil 5(f) DİZİ İD. NO: 57'de veya Şekil 5 (l) DİZİ İD. NO:63'te verilen diziye sahip bir CDR ve CDR-H3 için Şekil 5 (g) DİZİ İD. NO: 58'de veya Şekil 5 (m) DİZİ İD. NO:64'te verilen diziye sahip bir CDR'den en az birini içerir.

Bir başka düzenlemede mevcut buluşta kullanım için insan serum albümine bağlanan tek domenli bir antikor bir ağır zincir VH antikor olup, burada VH domenine ait CDR-H1, CDR-H2 ve CDR-H3'ten en az ikisi CDR-H1 için DİZİ İD. NO: 56 veya DİZİ İD. NO:62'de verilen dizi, CDR-H2 için DİZİ İD. NO: 57 veya DİZİ İD. NO:63'te verilen dizi ve CDR-H3 için DİZİ İD. NO: 58 veya DİZİ İD. NO:64'te verilen dizi arasından seçilir. Örneğin, tek domenli antikor CDR-H1'in DİZİ İD. NO: 56'da verilen diziye sahip olduğu ve CDR-H2'nin DİZİ İD. NO: 57'de verilen diziye sahip olduğu bir VH domeni içerebilir. Alternatif olarak, tek domenli antikor CDR-H1'in DİZİ İD. NO: 56'da verilen diziye sahip olduğu ve CDR-H3'ün DİZİ İD. NO: 58'de verilen diziye sahip olduğu bir VH domeni içerebilir. Şüpheye mahal bırakmamak için tüm permütasyonların dahil olduğu anlaşılmalıdır.

Bir başka düzenlemede mevcut buluşta kullanım için insan serum albümine bağlanan tek domenli bir antikor bir ağır zincir VH tek domenli antikor olup, burada VH domeni CDR-H1 için DİZİ İD. NO: 56'da verilen diziyi, CDR-H2 için DİZİ İD. NO: 57'de verilen diziyi ve CDR-H3 için DİZİ İD. NO: 58'de verilen diziyi içerir.

Bir başka düzenlemede mevcut buluşta kullanım için insan serum albümine bağlanan tek domenli bir antikor bir ağır zincir VH tek domenli antikor olup, burada VH domeni domeni

veya dAb'yi kodlayan B hücresi(hücreleri) EBV transformasyonu ile veya ölümsüz bir hücre hattına füzyonla ölümsüz kılınabilir. Alternatif olarak, tek domenli antikor burada yukarıda açıklanan şekilde faj gösterimiyle elde edilebilir.

Bir düzenlemede mevcut buluşta kullanılacak tek domenli antikor veya antikorlar insan serum albümine bağlanır. Bir düzenlemede mevcut buluşta kullanılacak tek domenli antikor veya antikorlar insan serum albümin, murin serum albümin ve sıçan serum albümine bağlanır.

Bir düzenlemede serum albümine bağlanan tek domenli antikor WO 2005/118642'de sağlanan bir dAb (bakınız örneğin Şekil 1c ve 1d) veya WO 2004/041862'de sağlanan bir VHH veya örneğin WO 2006/122787'de Tablo III'te açıklanan bir hümanize nanokordur ('nanobody').

Bir düzenlemede mevcut buluşta kullanım için insan serum albümine bağlanan tek domenli bir antikor bir ağır zincir VH tek domenli antikor olup, CDR-H1 için Şekil 5 (e) DİZİ İD. NO: 56'da veya Şekil 5 (k) DİZİ İD. NO:62'de verilen diziye sahip bir CDR, CDR-H2 için Şekil 5(f) DİZİ İD. NO: 57'de veya Şekil 5 (l) DİZİ İD. NO:63'te verilen diziye sahip bir CDR ve CDR-H3 için Şekil 5 (g) DİZİ İD. NO: 58'de veya Şekil 5 (m) DİZİ İD. NO:64'te verilen diziye sahip bir CDR'den en az birini içerir.

Bir başka düzenlemede mevcut buluşta kullanım için insan serum albümine bağlanan tek domenli bir antikor bir ağır zincir VH antikor olup, burada VH domenine ait CDR-H1, CDR-H2 ve CDR-H3'ten en az ikisi CDR-H1 için DİZİ İD. NO: 56 veya DİZİ İD. NO:62'de verilen dizi, CDR-H2 için DİZİ İD. NO: 57 veya DİZİ İD. NO:63'te verilen dizi ve CDR-H3 için DİZİ İD. NO: 58 veya DİZİ İD. NO:64'te verilen dizi arasından seçilir. Örneğin, tek domenli antikor CDR-H1'in DİZİ İD. NO: 56'da verilen diziye sahip olduğu ve CDR-H2'nin DİZİ İD. NO: 57'de verilen diziye sahip olduğu bir VH domeni içerebilir. Alternatif olarak, tek domenli antikor CDR-H1'in DİZİ İD. NO: 56'da verilen diziye sahip olduğu ve CDR-H3'ün DİZİ İD. NO: 58'de verilen diziye sahip olduğu bir VH domeni içerebilir. Şüpheye mahal bırakmamak için tüm permütasyonların dahil olduğu anlaşılmalıdır.

Bir başka düzenlemede mevcut buluşta kullanım için insan serum albümine bağlanan tek domenli bir antikor bir ağır zincir VH tek domenli antikor olup, burada VH domeni CDR-H1 için DİZİ İD. NO: 56'da verilen diziyi, CDR-H2 için DİZİ İD. NO: 57'de verilen diziyi ve CDR-H3 için DİZİ İD. NO: 58'de verilen diziyi içerir.

Bir başka düzenlemede mevcut buluşta kullanım için insan serum albümine bağlanan tek domenli bir antikor bir ağır zincir VH tek domenli antikor olup, burada VH domeni domeni

veya dAb'yi kodlayan B hücresi(hücreleri) EBV transformasyonu ile veya ölümsüz bir hücre hattına füzyonla ölümsüz kılınabilir. Alternatif olarak, tek domenli antikor burada yukarıda açıklanan şekilde faj gösterimiyle elde edilebilir.

Bir düzenlemede mevcut buluşta kullanılacak tek domenli antikor veya antikorlar insan serum albümine bağlanır. Bir düzenlemede mevcut buluşta kullanılacak tek domenli antikor veya antikorlar insan serum albümin, murin serum albümin ve sıçan serum albümine bağlanır.

Bir düzenlemede serum albümine bağlanan tek domenli antikor WO 2005/118642'de sağlanan bir dAb (bakınız örneğin Şekil 1c ve 1d) veya WO 2004/041862'de sağlanan bir VHH veya örneğin WO 2006/122787'de Tablo III'te açıklanan bir hümanize nanokordur ('nanobody').

Bir düzenlemede mevcut buluşta kullanım için insan serum albümine bağlanan tek domenli bir antikor bir ağır zincir VH tek domenli antikor olup, CDR-H1 için Şekil 5 (e) DİZİ İD. NO: 56'da veya Şekil 5 (k) DİZİ İD. NO:62'de verilen diziye sahip bir CDR, CDR-H2 için Şekil 5(f) DİZİ İD. NO: 57'de veya Şekil 5 (l) DİZİ İD. NO:63'te verilen diziye sahip bir CDR ve CDR-H3 için Şekil 5 (g) DİZİ İD. NO: 58'de veya Şekil 5 (m) DİZİ İD. NO:64'te verilen diziye sahip bir CDR'den en az birini içerir.

Bir başka düzenlemede mevcut buluşta kullanım için insan serum albümine bağlanan tek domenli bir antikor bir ağır zincir VH antikor olup, burada VH domenine ait CDR-H1, CDR-H2 ve CDR-H3'ten en az ikisi CDR-H1 için DİZİ İD. NO: 56 veya DİZİ İD. NO:62'de verilen dizi, CDR-H2 için DİZİ İD. NO: 57 veya DİZİ İD. NO:63'te verilen dizi ve CDR-H3 için DİZİ İD. NO: 58 veya DİZİ İD. NO:64'te verilen dizi arasından seçilir. Örneğin, tek domenli antikor CDR-H1'in DİZİ İD. NO: 56'da verilen diziye sahip olduğu ve CDR-H2'nin DİZİ İD. NO: 57'de verilen diziye sahip olduğu bir VH domeni içerebilir. Alternatif olarak, tek domenli antikor CDR-H1'in DİZİ İD. NO: 56'da verilen diziye sahip olduğu ve CDR-H3'ün DİZİ İD. NO: 58'de verilen diziye sahip olduğu bir VH domeni içerebilir. Şüpheye mahal bırakmamak için tüm permütasyonların dahil olduğu anlaşılmalıdır.

Bir başka düzenlemede mevcut buluşta kullanım için insan serum albümine bağlanan tek domenli bir antikor bir ağır zincir VH tek domenli antikor olup, burada VH domeni CDR-H1 için DİZİ İD. NO: 56'da verilen diziyi, CDR-H2 için DİZİ İD. NO: 57'de verilen diziyi ve CDR-H3 için DİZİ İD. NO: 58'de verilen diziyi içerir.

Bir başka düzenlemede mevcut buluşta kullanım için insan serum albümine bağlanan tek domenli bir antikor bir ağır zincir VH tek domenli antikor olup, burada VH domeni domeni

CDR-H1 için DİZİ İD. NO:62'de verilen diziyi, CDR-H2 için DİZİ İD. NO:63'te verilen diziyi ve CDR-H3 için DİZİ İD. NO:64'te verilen diziyi içerir.

Bir düzenlemede mevcut buluşta kullanım için insan serum albümine bağlanan tek domenli bir antikor bir hümanize ağır zincir VH tek domenli antikor, dAbH1 olup, Şekil 5 (a)'da verilen diziyi (DİZİ İD. NO: 52) sahiptir. Bir G₄S bağlayıcı içeren bir uygun CH1-dAbH1 füzyonu örneği Şekil 6'da (DİZİ İD. NO:68) verilmektedir.

Bir düzenlemede mevcut buluşta kullanım için insan serum albümine bağlanan tek domenli antikor bir hümanize ağır zincir VH tek domenli antikor, dAbH2 olup, Şekil 5 (c)'de verilen diziyi (DİZİ İD. NO: 54) sahiptir. Bir G₄S bağlayıcı içeren bir uygun CH1-dAbH2 füzyonu örneği Şekil 6'da (DİZİ İD. NO:69) verilmektedir.

Antikor değişken domenlerindeki kalıntılar geleneksel olarak Kabat ve diğerleri tarafından tasarlanmış bir sisteme göre numaralandırılır. Bu sistem Kabat ve diğerleri, 1987, Sequences of Proteins of Immunological Interest, US Department of Health and Human Services, NIH, ABD (buradan itibaren "Kabat ve diğerleri (bkz. yukarıda)") referansında açıklanmaktadır.

Aksi belirtilmediği sürece mevcut tarifnamede bu numaralandırma sistemi kullanılmaktadır.

Kabat kalıntı gösterimleri her zaman doğrudan amino asit kalıntılarının doğrusal numaralandırılmasına karşılık gelmez. Mevcut doğrusal amino asit dizisi kurala uygun Kabat numaralandırmasında bulunandan daha az veya buna ilave amino asit içerebilir ve bunlar temel değişken domen yapısına ait, gerek çerçeve gerek tamamlayıcılığı belirleme bölgesi (CDR) olsun bir yapısal bileşenin kısalmasına veya burada bir eklentiye karşılık gelir. Belli bir antikor için kalıntılara ilişkin doğru Kabat numaralandırması antikor dizisindeki homoloji kalıntılarının "standart" Kabat numaralı bir dizi ile hizalanmasıyla belirlenebilir.

Ağır zincir değişken domenine ait CDR'ler Kabat numaralandırma sistemine göre kalıntı 31-35 (CDR-H1), kalıntı 50-65 (CDR-H2) ve kalıntı 95-102'de (CDR-H3) bulunur. Bununla birlikte, Chothia'ya göre (Chothia, C. ve Lesk, A.M. J. Mol. Biol., 196, 901-917 (1987)), CDR-H1'in ilmi eşdeğeri kalıntı 26'dan kalıntı 32'ye uzanır. Dolayısıyla, burada kullanıldığı şekliyle 'CDR-H1' Kabat numaralandırma sistemi ve Chothia topolojik ilmi tanımla kombinasyonu ile açıklandığı gibi kalıntı 26 ila 35'i içerir.

Hafif zincir değişken domenine ait CDR'ler Kabat numaralandırma sistemine göre kalıntı 24-34 (CDR-L1), kalıntı 50-56 (CDR-L2) ve kalıntı 89-97'de (CDR-L3) bulunur.

Bir düzenlemede mevcut buluşta kullanım için insan serum albümine bağlanan tek domenli bir antikor bir hafif zincir VL tek domenli antikor olup, CDR-L1 için Şekil 5 (h) DİZİ İD.

CDR-H1 için DİZİ İD. NO:62'de verilen diziyi, CDR-H2 için DİZİ İD. NO:63'te verilen diziyi ve CDR-H3 için DİZİ İD. NO:64'te verilen diziyi içerir.

Bir düzenlemede mevcut buluşta kullanım için insan serum albümine bağlanan tek domenli bir antikor bir hümanize ağır zincir VH tek domenli antikor, dAbH1 olup, Şekil 5 (a)'da verilen diziyi (DİZİ İD. NO: 52) sahiptir. Bir G₄S bağlayıcı içeren bir uygun CH1-dAbH1 füzyonu örneği Şekil 6'da (DİZİ İD. NO:68) verilmektedir.

Bir düzenlemede mevcut buluşta kullanım için insan serum albümine bağlanan tek domenli antikor bir hümanize ağır zincir VH tek domenli antikor, dAbH2 olup, Şekil 5 (c)'de verilen diziyi (DİZİ İD. NO: 54) sahiptir. Bir G₄S bağlayıcı içeren bir uygun CH1-dAbH2 füzyonu örneği Şekil 6'da (DİZİ İD. NO:69) verilmektedir.

Antikor değişken domenlerindeki kalıntılar geleneksel olarak Kabat ve diğerleri tarafından tasarlanmış bir sisteme göre numaralandırılır. Bu sistem Kabat ve diğerleri, 1987, Sequences of Proteins of Immunological Interest, US Department of Health and Human Services, NIH, ABD (buradan itibaren "Kabat ve diğerleri (bkz. yukarıda)") referansında açıklanmaktadır.

Aksi belirtilmediği sürece mevcut tarifnamede bu numaralandırma sistemi kullanılmaktadır.

Kabat kalıntı gösterimleri her zaman doğrudan amino asit kalıntılarının doğrusal numaralandırılmasına karşılık gelmez. Mevcut doğrusal amino asit dizisi kurala uygun Kabat numaralandırmasında bulunandan daha az veya buna ilave amino asit içerebilir ve bunlar temel değişken domen yapısına ait, gerek çerçeve gerek tamamlayıcılığı belirleme bölgesi (CDR) olsun bir yapısal bileşenin kısalmasına veya burada bir eklentiye karşılık gelir. Belli bir antikor için kalıntılara ilişkin doğru Kabat numaralandırması antikor dizisindeki homoloji kalıntılarının "standart" Kabat numaralı bir dizi ile hizalanmasıyla belirlenebilir.

Ağır zincir değişken domenine ait CDR'ler Kabat numaralandırma sistemine göre kalıntı 31-35 (CDR-H1), kalıntı 50-65 (CDR-H2) ve kalıntı 95-102'de (CDR-H3) bulunur. Bununla birlikte, Chothia'ya göre (Chothia, C. ve Lesk, A.M. J. Mol. Biol., 196, 901-917 (1987)), CDR-H1'in ilmi eşdeğeri kalıntı 26'dan kalıntı 32'ye uzanır. Dolayısıyla, burada kullanıldığı şekliyle 'CDR-H1' Kabat numaralandırma sistemi ve Chothia topolojik ilmi tanımla kombinasyonu ile açıklandığı gibi kalıntı 26 ila 35'i içerir.

Hafif zincir değişken domenine ait CDR'ler Kabat numaralandırma sistemine göre kalıntı 24-34 (CDR-L1), kalıntı 50-56 (CDR-L2) ve kalıntı 89-97'de (CDR-L3) bulunur.

Bir düzenlemede mevcut buluşta kullanım için insan serum albümine bağlanan tek domenli bir antikor bir hafif zincir VL tek domenli antikor olup, CDR-L1 için Şekil 5 (h) DİZİ İD.

CDR-H1 için DİZİ İD. NO:62'de verilen diziyi, CDR-H2 için DİZİ İD. NO:63'te verilen diziyi ve CDR-H3 için DİZİ İD. NO:64'te verilen diziyi içerir.

Bir düzenlemede mevcut buluşta kullanım için insan serum albümine bağlanan tek domenli bir antikor bir hümanize ağır zincir VH tek domenli antikor, dAbH1 olup, Şekil 5 (a)'da verilen diziyi (DİZİ İD. NO: 52) sahiptir. Bir G₄S bağlayıcı içeren bir uygun CH1-dAbH1 füzyonu örneği Şekil 6'da (DİZİ İD. NO:68) verilmektedir.

Bir düzenlemede mevcut buluşta kullanım için insan serum albümine bağlanan tek domenli antikor bir hümanize ağır zincir VH tek domenli antikor, dAbH2 olup, Şekil 5 (c)'de verilen diziyi (DİZİ İD. NO: 54) sahiptir. Bir G₄S bağlayıcı içeren bir uygun CH1-dAbH2 füzyonu örneği Şekil 6'da (DİZİ İD. NO:69) verilmektedir.

Antikor değişken domenlerindeki kalıntılar geleneksel olarak Kabat ve diğerleri tarafından tasarlanmış bir sisteme göre numaralandırılır. Bu sistem Kabat ve diğerleri, 1987, Sequences of Proteins of Immunological Interest, US Department of Health and Human Services, NIH, ABD (buradan itibaren "Kabat ve diğerleri (bkz. yukarıda)") referansında açıklanmaktadır.

Aksi belirtilmediği sürece mevcut tarifnamede bu numaralandırma sistemi kullanılmaktadır.

Kabat kalıntı gösterimleri her zaman doğrudan amino asit kalıntılarının doğrusal numaralandırılmasına karşılık gelmez. Mevcut doğrusal amino asit dizisi kurala uygun Kabat numaralandırmasında bulunandan daha az veya buna ilave amino asit içerebilir ve bunlar temel değişken domen yapısına ait, gerek çerçeve gerek tamamlayıcılığı belirleme bölgesi (CDR) olsun bir yapısal bileşenin kısalmasına veya burada bir eklentiye karşılık gelir. Belli bir antikor için kalıntılara ilişkin doğru Kabat numaralandırması antikor dizisindeki homoloji kalıntılarının "standart" Kabat numaralı bir dizi ile hizalanmasıyla belirlenebilir.

Ağır zincir değişken domenine ait CDR'ler Kabat numaralandırma sistemine göre kalıntı 31-35 (CDR-H1), kalıntı 50-65 (CDR-H2) ve kalıntı 95-102'de (CDR-H3) bulunur. Bununla birlikte, Chothia'ya göre (Chothia, C. ve Lesk, A.M. J. Mol. Biol., 196, 901-917 (1987)), CDR-H1'in ilmi eşdeğeri kalıntı 26'dan kalıntı 32'ye uzanır. Dolayısıyla, burada kullanıldığı şekliyle 'CDR-H1' Kabat numaralandırma sistemi ve Chothia topolojik ilmi tanımla kombinasyonu ile açıklandığı gibi kalıntı 26 ila 35'i içerir.

Hafif zincir değişken domenine ait CDR'ler Kabat numaralandırma sistemine göre kalıntı 24-34 (CDR-L1), kalıntı 50-56 (CDR-L2) ve kalıntı 89-97'de (CDR-L3) bulunur.

Bir düzenlemede mevcut buluşta kullanım için insan serum albümine bağlanan tek domenli bir antikor bir hafif zincir VL tek domenli antikor olup, CDR-L1 için Şekil 5 (h) DİZİ İD.

NO: 59'da veya Şekil 5 (n) DİZİ İD. NO:65'te verilen diziye sahip bir CDR, CDR-L2 için Şekil 5(i) DİZİ İD. NO:60'ta veya Şekil 5 (o) DİZİ İD. NO:66'da verilen diziye sahip bir CDR ve CDR-L3 için Şekil 5 (j) DİZİ İD. NO:61'de veya Şekil 5 (p) DİZİ İD. NO:67'de verilen diziye sahip bir CDR'den en az birini içerir.

- 5 Bir başka düzenlemede mevcut buluşta kullanım için insan serum albümine bağlanan tek domenli bir antikor bir hafif zincir VL antikor olup, burada VL domenine ait CDR-L1, CDR-L2 ve CDR-L3'ün en az ikisi: CDR-L1 için DİZİ İD. NO: 59 veya DİZİ İD. NO:65'te verilen dizi, CDR-L2 için DİZİ İD. NO:60 veya DİZİ İD. NO:66'da verilen dizi ve CDR-L3 için DİZİ İD. NO:61 veya DİZİ İD. NO:67'de verilen dizi arasından seçilir. Örneğin, domen
- 10 antikoru CDR-L1'in DİZİ İD. NO: 59'da verilen diziye sahip olduğu ve CDR-L2'nin DİZİ İD. NO:60'ta verilen diziye sahip olduğu bir VL domeni içerebilir. Alternatif olarak, domen antikoru CDR-L1'in DİZİ İD. NO: 59'da verilen diziye sahip olduğu ve CDR-L3'ün DİZİ İD. NO:61'de verilen diziye sahip olduğu bir VL domeni içerebilir. Şüpheyi mahal vermemek için tüm permütasyonların dahil edildiği bilinmelidir.

- 15 Bir başka düzenlemede mevcut buluşta kullanım için insan serum albümine bağlanan tek domenli bir antikor bir hafif zincir VL domenli antikor olup, burada VL domeni CDR-L1 için DİZİ İD. NO: 59'da verilen diziyi, CDR-L2 için DİZİ İD. NO:60'ta verilen diziyi ve CDR-L3 için DİZİ İD. NO:61'de verilen diziyi içerir.

- 20 Bir başka düzenlemede mevcut buluşta kullanım için insan serum albümine bağlanan tek domenli bir antikor bir hafif zincir VL domenli antikor olup, burada VL domeni CDR-L1 için DİZİ İD. NO:65'te verilen diziyi, CDR-L2 için DİZİ İD. NO:66'da verilen diziyi ve CDR-L3 için DİZİ İD. NO:67'de verilen diziyi içerir.

- 25 Bir düzenlemede mevcut buluşta kullanım için insan serum albümine bağlanan tek domenli bir antikor bir hümanize hafif zincir VL tek domenli antikor, dAbL1 olup, Şekil 5 (b)'de verilen diziye (DİZİ İD. NO: 53) sahiptir. Her ikisi de bir G₄S bağlayıcı içeren bir uygun CH1-dAbL1 füzyonu ve Ck1-dAbL1 füzyonu örneği Şekil 6'da verilmektedir (DİZİ İD. NO:70 ve DİZİ İD. NO:72).

- 30 Bir düzenlemede mevcut buluşta kullanım için insan serum albümine bağlanan tek domenli bir antikor bir hümanize hafif zincir VL tek domenli antikor, dAbL2 olup, Şekil 5 (d)'de verilen diziye (DİZİ İD. NO: 55) sahip'dir. Her ikisi de bir G₄S bağlayıcı içeren bir uygun CH1-dAbL2 füzyonu ve Ck1-dAbL2 füzyonu örneği Şekil 6'da verilmektedir (DİZİ İD. NO:71 ve DİZİ İD. NO:73).

NO: 59'da veya Şekil 5 (n) DİZİ İD. NO:65'te verilen diziye sahip bir CDR, CDR-L2 için Şekil 5(i) DİZİ İD. NO:60'ta veya Şekil 5 (o) DİZİ İD. NO:66'da verilen diziye sahip bir CDR ve CDR-L3 için Şekil 5 (j) DİZİ İD. NO:61'de veya Şekil 5 (p) DİZİ İD. NO:67'de verilen diziye sahip bir CDR'den en az birini içerir.

- 5 Bir başka düzenlemede mevcut buluşta kullanım için insan serum albümine bağlanan tek domenli bir antikor bir hafif zincir VL antikor olup, burada VL domenine ait CDR-L1, CDR-L2 ve CDR-L3'ün en az ikisi: CDR-L1 için DİZİ İD. NO: 59 veya DİZİ İD. NO:65'te verilen dizi, CDR-L2 için DİZİ İD. NO:60 veya DİZİ İD. NO:66'da verilen dizi ve CDR-L3 için DİZİ İD. NO:61 veya DİZİ İD. NO:67'de verilen dizi arasından seçilir. Örneğin, domen
- 10 antikoru CDR-L1'in DİZİ İD. NO: 59'da verilen diziye sahip olduğu ve CDR-L2'nin DİZİ İD. NO:60'ta verilen diziye sahip olduğu bir VL domeni içerebilir. Alternatif olarak, domen antikoru CDR-L1'in DİZİ İD. NO: 59'da verilen diziye sahip olduğu ve CDR-L3'ün DİZİ İD. NO:61'de verilen diziye sahip olduğu bir VL domeni içerebilir. Şüpheyi mahal vermemek için tüm permütasyonların dahil edildiği bilinmelidir.

- 15 Bir başka düzenlemede mevcut buluşta kullanım için insan serum albümine bağlanan tek domenli bir antikor bir hafif zincir VL domenli antikor olup, burada VL domeni CDR-L1 için DİZİ İD. NO: 59'da verilen diziyi, CDR-L2 için DİZİ İD. NO:60'ta verilen diziyi ve CDR-L3 için DİZİ İD. NO:61'de verilen diziyi içerir.

- 20 Bir başka düzenlemede mevcut buluşta kullanım için insan serum albümine bağlanan tek domenli bir antikor bir hafif zincir VL domenli antikor olup, burada VL domeni CDR-L1 için DİZİ İD. NO:65'te verilen diziyi, CDR-L2 için DİZİ İD. NO:66'da verilen diziyi ve CDR-L3 için DİZİ İD. NO:67'de verilen diziyi içerir.

- 25 Bir düzenlemede mevcut buluşta kullanım için insan serum albümine bağlanan tek domenli bir antikor bir hümanize hafif zincir VL tek domenli antikor, dAbL1 olup, Şekil 5 (b)'de verilen diziye (DİZİ İD. NO: 53) sahiptir. Her ikisi de bir G₄S bağlayıcı içeren bir uygun CH1-dAbL1 füzyonu ve Ck1-dAbL1 füzyonu örneği Şekil 6'da verilmektedir (DİZİ İD. NO:70 ve DİZİ İD. NO:72).

- 30 Bir düzenlemede mevcut buluşta kullanım için insan serum albümine bağlanan tek domenli bir antikor bir hümanize hafif zincir VL tek domenli antikor, dAbL2 olup, Şekil 5 (d)'de verilen diziye (DİZİ İD. NO: 55) sahip'dir. Her ikisi de bir G₄S bağlayıcı içeren bir uygun CH1-dAbL2 füzyonu ve Ck1-dAbL2 füzyonu örneği Şekil 6'da verilmektedir (DİZİ İD. NO:71 ve DİZİ İD. NO:73).

NO: 59'da veya Şekil 5 (n) DİZİ İD. NO:65'te verilen diziye sahip bir CDR, CDR-L2 için Şekil 5(i) DİZİ İD. NO:60'ta veya Şekil 5 (o) DİZİ İD. NO:66'da verilen diziye sahip bir CDR ve CDR-L3 için Şekil 5 (j) DİZİ İD. NO:61'de veya Şekil 5 (p) DİZİ İD. NO:67'de verilen diziye sahip bir CDR'den en az birini içerir.

- 5 Bir başka düzenlemede mevcut buluşta kullanım için insan serum albümine bağlanan tek domenli bir antikor bir hafif zincir VL antikor olup, burada VL domenine ait CDR-L1, CDR-L2 ve CDR-L3'ün en az ikisi: CDR-L1 için DİZİ İD. NO: 59 veya DİZİ İD. NO:65'te verilen dizi, CDR-L2 için DİZİ İD. NO:60 veya DİZİ İD. NO:66'da verilen dizi ve CDR-L3 için DİZİ İD. NO:61 veya DİZİ İD. NO:67'de verilen dizi arasından seçilir. Örneğin, domen
- 10 antikoru CDR-L1'in DİZİ İD. NO: 59'da verilen diziye sahip olduğu ve CDR-L2'nin DİZİ İD. NO:60'ta verilen diziye sahip olduğu bir VL domeni içerebilir. Alternatif olarak, domen antikoru CDR-L1'in DİZİ İD. NO: 59'da verilen diziye sahip olduğu ve CDR-L3'ün DİZİ İD. NO:61'de verilen diziye sahip olduğu bir VL domeni içerebilir. Şüpheyi mahal vermemek için tüm permütasyonların dahil edildiği bilinmelidir.

- 15 Bir başka düzenlemede mevcut buluşta kullanım için insan serum albümine bağlanan tek domenli bir antikor bir hafif zincir VL domenli antikor olup, burada VL domeni CDR-L1 için DİZİ İD. NO: 59'da verilen diziyi, CDR-L2 için DİZİ İD. NO:60'ta verilen diziyi ve CDR-L3 için DİZİ İD. NO:61'de verilen diziyi içerir.

- 20 Bir başka düzenlemede mevcut buluşta kullanım için insan serum albümine bağlanan tek domenli bir antikor bir hafif zincir VL domenli antikor olup, burada VL domeni CDR-L1 için DİZİ İD. NO:65'te verilen diziyi, CDR-L2 için DİZİ İD. NO:66'da verilen diziyi ve CDR-L3 için DİZİ İD. NO:67'de verilen diziyi içerir.

- 25 Bir düzenlemede mevcut buluşta kullanım için insan serum albümine bağlanan tek domenli bir antikor bir hümanize hafif zincir VL tek domenli antikor, dAbL1 olup, Şekil 5 (b)'de verilen diziye (DİZİ İD. NO: 53) sahiptir. Her ikisi de bir G₄S bağlayıcı içeren bir uygun CH1-dAbL1 füzyonu ve Ck1-dAbL1 füzyonu örneği Şekil 6'da verilmektedir (DİZİ İD. NO:70 ve DİZİ İD. NO:72).

- 30 Bir düzenlemede mevcut buluşta kullanım için insan serum albümine bağlanan tek domenli bir antikor bir hümanize hafif zincir VL tek domenli antikor, dAbL2 olup, Şekil 5 (d)'de verilen diziye (DİZİ İD. NO: 55) sahip'dir. Her ikisi de bir G₄S bağlayıcı içeren bir uygun CH1-dAbL2 füzyonu ve Ck1-dAbL2 füzyonu örneği Şekil 6'da verilmektedir (DİZİ İD. NO:71 ve DİZİ İD. NO:73).

Fab veya Fab' fragmanına ait ağır ve hafif zincirlerin her birinin C terminalde tek domenli bir antikor içerdiği ve iki tek domenli antikorun yukarıda açıklanan şekilde antijene işbirliğiyle bağlanan bir tamamlayıcı VH/VL çifti olduğu bir düzenlemede, VH dAb dAbH1'dir (DİZİ İD. NO: 52) ve VL dAb dAbL1'dir (DİZİ İD. NO: 53).

- 5 Fab veya Fab' fragmanına ait ağır ve hafif zincirlerin her birinin C terminalde tek domenli bir antikor içerdiği ve iki tek domenli antikorun yukarıda açıklanan şekilde antijene işbirliğiyle bağlanan bir tamamlayıcı VH/VL çifti olduğu bir düzenlemede, VH dAb dAbH2'dir (DİZİ İD. NO: 54) ve VL dAb dAbL2'dir (DİZİ İD. NO: 55).

- 10 Fab veya Fab' fragmanına ait ağır ve hafif zincirlerin her birinin C terminalde tek domenli bir antikor içerdiği ve iki tek domenli antikorun yukarıda açıklanan şekilde antijene işbirliğiyle bağlanan bir tamamlayıcı VH/VL çifti olduğu bir düzenlemede, VH dAb DİZİ İD. NO: 202'de verilen diziye sahiptir ve VL dAb DİZİ İD. NO: 203'te verilen diziye sahiptir.

- 15 Fab veya Fab' fragmanına ait ağır ve hafif zincirlerin her birinin C terminalde tek domenli bir antikor içerdiği ve iki tek domenli antikorun yukarıda açıklanan şekilde antijene işbirliğiyle bağlanan bir tamamlayıcı VH/VL çifti olduğu bir düzenlemede, VH dAb DİZİ İD. NO: 204'te verilen diziye sahiptir ve VL dAb DİZİ İD. NO: 205'te verilen diziye sahiptir.

- 20 Fab veya Fab' fragmanına ait ağır ve hafif zincirlerin her birinin N terminalde tek domenli bir antikor içerdiği ve iki tek domenli antikorun yukarıda açıklanan şekilde antijene işbirliğiyle bağlanan bir tamamlayıcı VH/VL çifti olduğu bir düzenlemede, VH dAb DİZİ İD. NO: 202'de verilen diziye sahiptir ve VL dAb DİZİ İD. NO: 203'te verilen diziye sahiptir.

- Fab veya Fab' fragmanına ait ağır ve hafif zincirlerin her birinin N terminalde tek domenli bir antikor içerdiği ve iki tek domenli antikorun yukarıda açıklanan şekilde antijene işbirliğiyle bağlanan bir tamamlayıcı VH/VL çifti olduğu bir düzenlemede, VH dAb DİZİ İD. NO: 204'te verilen diziye sahiptir ve VL dAb DİZİ İD. NO: 205'te verilen diziye sahiptir.

- 25 Bir başka yönü itibarıyla, mevcut açıklamada burada yukarıda ve Şekil 5 (e-p)'de sunulan CDR'lerden birini veya daha fazlasını, özellikle DİZİ İD. NO: 56'da gösterilen diziye sahip bir CDRH1'i, DİZİ İD. NO: 57'de gösterilen diziye sahip bir CDRH2'yi, DİZİ İD. NO: 58'de gösterilen diziye sahip bir CDRH3'ü, DİZİ İD. NO: 59'da gösterilen diziye sahip bir CDRL1'i, DİZİ İD. NO: 60'da gösterilen diziye sahip bir CDRL2'yi ve/veya DİZİ İD. NO: 61'de gösterilen diziye sahip bir CDRL3'ü içeren içeren albümin bağlayıcı antikorlar veya bunların fragmanları sağlanmaktadır. Bir örnekte albümin bağlayıcı antikorlar veya fragmanlar DİZİ İD. NO: 62'de gösterilen diziye sahip bir CDRH1'i, DİZİ İD. NO: 63'te

Fab veya Fab' fragmanına ait ağır ve hafif zincirlerin her birinin C terminalde tek domenli bir antikor içerdiği ve iki tek domenli antikorun yukarıda açıklanan şekilde antijene işbirliğiyle bağlanan bir tamamlayıcı VH/VL çifti olduğu bir düzenlemede, VH dAb dAbH1'dir (DİZİ İD. NO: 52) ve VL dAb dAbL1'dir (DİZİ İD. NO: 53).

- 5 Fab veya Fab' fragmanına ait ağır ve hafif zincirlerin her birinin C terminalde tek domenli bir antikor içerdiği ve iki tek domenli antikorun yukarıda açıklanan şekilde antijene işbirliğiyle bağlanan bir tamamlayıcı VH/VL çifti olduğu bir düzenlemede, VH dAb dAbH2'dir (DİZİ İD. NO: 54) ve VL dAb dAbL2'dir (DİZİ İD. NO: 55).

- 10 Fab veya Fab' fragmanına ait ağır ve hafif zincirlerin her birinin C terminalde tek domenli bir antikor içerdiği ve iki tek domenli antikorun yukarıda açıklanan şekilde antijene işbirliğiyle bağlanan bir tamamlayıcı VH/VL çifti olduğu bir düzenlemede, VH dAb DİZİ İD. NO: 202'de verilen diziye sahiptir ve VL dAb DİZİ İD. NO: 203'te verilen diziye sahiptir.

- 15 Fab veya Fab' fragmanına ait ağır ve hafif zincirlerin her birinin C terminalde tek domenli bir antikor içerdiği ve iki tek domenli antikorun yukarıda açıklanan şekilde antijene işbirliğiyle bağlanan bir tamamlayıcı VH/VL çifti olduğu bir düzenlemede, VH dAb DİZİ İD. NO: 204'te verilen diziye sahiptir ve VL dAb DİZİ İD. NO: 205'te verilen diziye sahiptir.

- 20 Fab veya Fab' fragmanına ait ağır ve hafif zincirlerin her birinin N terminalde tek domenli bir antikor içerdiği ve iki tek domenli antikorun yukarıda açıklanan şekilde antijene işbirliğiyle bağlanan bir tamamlayıcı VH/VL çifti olduğu bir düzenlemede, VH dAb DİZİ İD. NO: 202'de verilen diziye sahiptir ve VL dAb DİZİ İD. NO: 203'te verilen diziye sahiptir.

- Fab veya Fab' fragmanına ait ağır ve hafif zincirlerin her birinin N terminalde tek domenli bir antikor içerdiği ve iki tek domenli antikorun yukarıda açıklanan şekilde antijene işbirliğiyle bağlanan bir tamamlayıcı VH/VL çifti olduğu bir düzenlemede, VH dAb DİZİ İD. NO: 204'te verilen diziye sahiptir ve VL dAb DİZİ İD. NO: 205'te verilen diziye sahiptir.

- 25 Bir başka yönü itibarıyla, mevcut açıklamada burada yukarıda ve Şekil 5 (e-p)'de sunulan CDR'lerden birini veya daha fazlasını, özellikle DİZİ İD. NO: 56'da gösterilen diziye sahip bir CDRH1'i, DİZİ İD. NO: 57'de gösterilen diziye sahip bir CDRH2'yi, DİZİ İD. NO: 58'de gösterilen diziye sahip bir CDRH3'ü, DİZİ İD. NO: 59'da gösterilen diziye sahip bir CDRL1'i, DİZİ İD. NO: 60'da gösterilen diziye sahip bir CDRL2'yi ve/veya DİZİ İD. NO: 61'de gösterilen diziye sahip bir CDRL3'ü içeren içeren albümin bağlayıcı antikorlar veya bunların fragmanları sağlanmaktadır. Bir örnekte albümin bağlayıcı antikorlar veya fragmanlar DİZİ İD. NO: 62'de gösterilen diziye sahip bir CDRH1'i, DİZİ İD. NO: 63'te

Fab veya Fab' fragmanına ait ağır ve hafif zincirlerin her birinin C terminalde tek domenli bir antikor içerdiği ve iki tek domenli antikorun yukarıda açıklanan şekilde antijene işbirliğiyle bağlanan bir tamamlayıcı VH/VL çifti olduğu bir düzenlemede, VH dAb dAbH1'dir (DİZİ İD. NO: 52) ve VL dAb dAbL1'dir (DİZİ İD. NO: 53).

- 5 Fab veya Fab' fragmanına ait ağır ve hafif zincirlerin her birinin C terminalde tek domenli bir antikor içerdiği ve iki tek domenli antikorun yukarıda açıklanan şekilde antijene işbirliğiyle bağlanan bir tamamlayıcı VH/VL çifti olduğu bir düzenlemede, VH dAb dAbH2'dir (DİZİ İD. NO: 54) ve VL dAb dAbL2'dir (DİZİ İD. NO: 55).

- 10 Fab veya Fab' fragmanına ait ağır ve hafif zincirlerin her birinin C terminalde tek domenli bir antikor içerdiği ve iki tek domenli antikorun yukarıda açıklanan şekilde antijene işbirliğiyle bağlanan bir tamamlayıcı VH/VL çifti olduğu bir düzenlemede, VH dAb DİZİ İD. NO: 202'de verilen diziye sahiptir ve VL dAb DİZİ İD. NO: 203'te verilen diziye sahiptir.

- 15 Fab veya Fab' fragmanına ait ağır ve hafif zincirlerin her birinin C terminalde tek domenli bir antikor içerdiği ve iki tek domenli antikorun yukarıda açıklanan şekilde antijene işbirliğiyle bağlanan bir tamamlayıcı VH/VL çifti olduğu bir düzenlemede, VH dAb DİZİ İD. NO: 204'te verilen diziye sahiptir ve VL dAb DİZİ İD. NO: 205'te verilen diziye sahiptir.

- 20 Fab veya Fab' fragmanına ait ağır ve hafif zincirlerin her birinin N terminalde tek domenli bir antikor içerdiği ve iki tek domenli antikorun yukarıda açıklanan şekilde antijene işbirliğiyle bağlanan bir tamamlayıcı VH/VL çifti olduğu bir düzenlemede, VH dAb DİZİ İD. NO: 202'de verilen diziye sahiptir ve VL dAb DİZİ İD. NO: 203'te verilen diziye sahiptir.

- Fab veya Fab' fragmanına ait ağır ve hafif zincirlerin her birinin N terminalde tek domenli bir antikor içerdiği ve iki tek domenli antikorun yukarıda açıklanan şekilde antijene işbirliğiyle bağlanan bir tamamlayıcı VH/VL çifti olduğu bir düzenlemede, VH dAb DİZİ İD. NO: 204'te verilen diziye sahiptir ve VL dAb DİZİ İD. NO: 205'te verilen diziye sahiptir.

- 25 Bir başka yönü itibarıyla, mevcut açıklamada burada yukarıda ve Şekil 5 (e-p)'de sunulan CDR'lerden birini veya daha fazlasını, özellikle DİZİ İD. NO: 56'da gösterilen diziye sahip bir CDRH1'i, DİZİ İD. NO: 57'de gösterilen diziye sahip bir CDRH2'yi, DİZİ İD. NO: 58'de gösterilen diziye sahip bir CDRH3'ü, DİZİ İD. NO: 59'da gösterilen diziye sahip bir CDRL1'i, DİZİ İD. NO: 60'da gösterilen diziye sahip bir CDRL2'yi ve/veya DİZİ İD. NO: 61'de gösterilen diziye sahip bir CDRL3'ü içeren içeren albümin bağlayıcı antikorlar veya bunların fragmanları sağlanmaktadır. Bir örnekte albümin bağlayıcı antikorlar veya fragmanlar DİZİ İD. NO: 62'de gösterilen diziye sahip bir CDRH1'i, DİZİ İD. NO: 63'te

gösterilen diziye sahip bir CDRH2'yi, DİZİ İD. NO: 64'te gösterilen diziye sahip bir CDRH3'ü, DİZİ İD. NO: 65'ta gösterilen diziye sahip bir CDRL1'i, DİZİ İD. NO: 66'da gösterilen diziye sahip bir CDRL2'yi ve/veya DİZİ İD. NO: 67'de gösterilen diziye sahip bir CDRL3'ü içerir. Söz konusu CDR'ler uygun herhangi bir antikor çerçevesine ve uygun herhangi bir antikor formatına eklenebilir. Bu antikorlar bütün antikorları ve bunların işlevsel olarak etkin fragmanlarını veya türevlerini içermekte olup, bunlarla sınırlı kalmamak kaydıyla monoklonal, hümanize, tamamen insan veya kimerik antikorlar olabilirler. Dolayısıyla, bu tür albümin bağlayıcı antikorlar tam boy ağır ve hafif zincirlere sahip bir bütün antikor molekülünü veya bunun bir fragmanını içerebilirler ve bunlarla sınırlı kalmamak kaydıyla Fab, modifiye Fab, Fab', F(ab')₂, Fv, tek domenli antikorlar, scFv, iki, üç veya dört değerlikli antikorlar, Bis-scFv, dia-antikorlar, tria- antikorlar, tri- antikorlar, tetra- antikorlar, (çok işlevli rekombinant antikor türevleri) ve yukarıda belirtilenlerden herhangi birinin epitop bağlayıcı fragmanları olabilir (bakınız örneğin, Holliger ve Hudson, 2005, Nature Biotech. 23(9):1126-1136; Adair ve Lawson, 2005, Drug Design Reviews - Online 2(3), 209-217). Bu antikor fragmanlarının yaratılmasına ve imalatına ilişkin usuller teknikte gayet iyi bilinmektedir (bakınız örneğin, Verma ve diğerleri, 1998, Journal of Immunological Methods, 216, 165-181). Çok değerlikli antikorlar çok sayıda spesiflik içerebilir veya monospesifik olabilirler (bakınız örneğin, WO 92/22853 ve WO 05/113605). Takdir edileceği gibi bu yön bu albümin bağlayıcı antikorların varyantlarını da kapsar.

Takdir edileceği gibi bu albümin bağlayıcı antikorlar, özellikle de tek domenli antikorlar arzu edilen şekilde herhangi bir başka antikora veya proteine veya bir başka moleküle konjuge edilebilecek veya uygun bir başka bağlamda kullanılabilecektir. Bir örnekte yukarıda açıklanan ve Şekil 5 (a-d) ve Şekil 24'te gösterilen tek domenli dAbH1, dAbL1, dAbH2, dAbL2 antikorları uygun herhangi bir antikor formatına eklenebilir veya herhangi bir uygun bağlamda, örneğin bir füzyon veya konjugat şeklinde tek domenli antikorlar olarak kullanılabilirler.

Bir örnekte açıklamanın bu yönüne ait antikorlar CDR-H1 için Şekil 5(e)'de verilen diziyi, CDR-H2 için Şekil 5(f)'de verilen diziyi ve CDR-H3 Şekil 5(g)'de verilen diziyi içerir.

Bir örnekte açıklamanın bu yönüne ait antikorlar CDR-H1 için Şekil 5(k)'de verilen diziyi, CDR-H2 için Şekil 5(l)'de verilen diziyi ve CDR-H3 Şekil 5(m)'de verilen diziyi içerir.

Bir örnekte açıklamanın bu yönüne ait antikorlar CDR-L1 için Şekil 5(h)'de verilen diziyi, CDR-L2 için Şekil 5(i)'de verilen diziyi ve CDR-L3 Şekil 5(j)'de verilen diziyi içerir.

gösterilen diziye sahip bir CDRH2'yi, DİZİ İD. NO: 64'te gösterilen diziye sahip bir CDRH3'ü, DİZİ İD. NO: 65'ta gösterilen diziye sahip bir CDRL1'i, DİZİ İD. NO: 66'da gösterilen diziye sahip bir CDRL2'yi ve/veya DİZİ İD. NO: 67'de gösterilen diziye sahip bir CDRL3'ü içerir. Söz konusu CDR'ler uygun herhangi bir antikor çerçevesine ve uygun herhangi bir antikor formatına eklenebilir. Bu antikorlar bütün antikorları ve bunların işlevsel olarak etkin fragmanlarını veya türevlerini içermekte olup, bunlarla sınırlı kalmamak kaydıyla monoklonal, hümanize, tamamen insan veya kimerik antikorlar olabilirler. Dolayısıyla, bu tür albümin bağlayıcı antikorlar tam boy ağır ve hafif zincirlere sahip bir bütün antikor molekülünü veya bunun bir fragmanını içerebilirler ve bunlarla sınırlı kalmamak kaydıyla Fab, modifiye Fab, Fab', F(ab')₂, Fv, tek domenli antikorlar, scFv, iki, üç veya dört değerlikli antikorlar, Bis-scFv, dia-antikorlar, tria- antikorlar, tri- antikorlar, tetra- antikorlar, (çok işlevli rekombinant antikor türevleri) ve yukarıda belirtilenlerden herhangi birinin epitop bağlayıcı fragmanları olabilir (bakınız örneğin, Holliger ve Hudson, 2005, Nature Biotech. 23(9):1126-1136; Adair ve Lawson, 2005, Drug Design Reviews - Online 2(3), 209-217). Bu antikor fragmanlarının yaratılmasına ve imalatına ilişkin usuller teknikte gayet iyi bilinmektedir (bakınız örneğin, Verma ve diğerleri, 1998, Journal of Immunological Methods, 216, 165-181). Çok değerlikli antikorlar çok sayıda spesiflik içerebilir veya monospesifik olabilirler (bakınız örneğin, WO 92/22853 ve WO 05/113605). Takdir edileceği gibi bu yön bu albümin bağlayıcı antikorların varyantlarını da kapsar.

Takdir edileceği gibi bu albümin bağlayıcı antikorlar, özellikle de tek domenli antikorlar arzu edilen şekilde herhangi bir başka antikora veya proteine veya bir başka moleküle konjuge edilebilecek veya uygun bir başka bağlamda kullanılabilecektir. Bir örnekte yukarıda açıklanan ve Şekil 5 (a-d) ve Şekil 24'te gösterilen tek domenli dAbH1, dAbL1, dAbH2, dAbL2 antikorları uygun herhangi bir antikor formatına eklenebilir veya herhangi bir uygun bağlamda, örneğin bir füzyon veya konjugat şeklinde tek domenli antikorlar olarak kullanılabilirler.

Bir örnekte açıklamanın bu yönüne ait antikorlar CDR-H1 için Şekil 5(e)'de verilen diziyi, CDR-H2 için Şekil 5(f)'de verilen diziyi ve CDR-H3 Şekil 5(g)'de verilen diziyi içerir.

Bir örnekte açıklamanın bu yönüne ait antikorlar CDR-H1 için Şekil 5(k)'de verilen diziyi, CDR-H2 için Şekil 5(l)'de verilen diziyi ve CDR-H3 Şekil 5(m)'de verilen diziyi içerir.

Bir örnekte açıklamanın bu yönüne ait antikorlar CDR-L1 için Şekil 5(h)'de verilen diziyi, CDR-L2 için Şekil 5(i)'de verilen diziyi ve CDR-L3 Şekil 5(j)'de verilen diziyi içerir.

gösterilen diziye sahip bir CDRH2'yi, DİZİ İD. NO: 64'te gösterilen diziye sahip bir CDRH3'ü, DİZİ İD. NO: 65'ta gösterilen diziye sahip bir CDRL1'i, DİZİ İD. NO: 66'da gösterilen diziye sahip bir CDRL2'yi ve/veya DİZİ İD. NO: 67'de gösterilen diziye sahip bir CDRL3'ü içerir. Söz konusu CDR'ler uygun herhangi bir antikor çerçevesine ve uygun herhangi bir antikor formatına eklenebilir. Bu antikorlar bütün antikorları ve bunların işlevsel olarak etkin fragmanlarını veya türevlerini içermekte olup, bunlarla sınırlı kalmamak kaydıyla monoklonal, hümanize, tamamen insan veya kimerik antikorlar olabilirler. Dolayısıyla, bu tür albümin bağlayıcı antikorlar tam boy ağır ve hafif zincirlere sahip bir bütün antikor molekülünü veya bunun bir fragmanını içerebilirler ve bunlarla sınırlı kalmamak kaydıyla Fab, modifiye Fab, Fab', F(ab')₂, Fv, tek domenli antikorlar, scFv, iki, üç veya dört değerlikli antikorlar, Bis-scFv, dia-antikorlar, tria- antikorlar, tri- antikorlar, tetra- antikorlar, (çok işlevli rekombinant antikor türevleri) ve yukarıda belirtilenlerden herhangi birinin epitop bağlayıcı fragmanları olabilir (bakınız örneğin, Holliger ve Hudson, 2005, Nature Biotech. 23(9):1126-1136; Adair ve Lawson, 2005, Drug Design Reviews - Online 2(3), 209-217). Bu antikor fragmanlarının yaratılmasına ve imalatına ilişkin usuller teknikte gayet iyi bilinmektedir (bakınız örneğin, Verma ve diğerleri, 1998, Journal of Immunological Methods, 216, 165-181). Çok değerlikli antikorlar çok sayıda spesiflik içerebilir veya monospesifik olabilirler (bakınız örneğin, WO 92/22853 ve WO 05/113605). Takdir edileceği gibi bu yön bu albümin bağlayıcı antikorların varyantlarını da kapsar.

Takdir edileceği gibi bu albümin bağlayıcı antikorlar, özellikle de tek domenli antikorlar arzu edilen şekilde herhangi bir başka antikora veya proteine veya bir başka moleküle konjuge edilebilecek veya uygun bir başka bağlamda kullanılabilecektir. Bir örnekte yukarıda açıklanan ve Şekil 5 (a-d) ve Şekil 24'te gösterilen tek domenli dAbH1, dAbL1, dAbH2, dAbL2 antikorları uygun herhangi bir antikor formatına eklenebilir veya herhangi bir uygun bağlamda, örneğin bir füzyon veya konjugat şeklinde tek domenli antikorlar olarak kullanılabilirler.

Bir örnekte açıklamanın bu yönüne ait antikorlar CDR-H1 için Şekil 5(e)'de verilen diziyi, CDR-H2 için Şekil 5(f)'de verilen diziyi ve CDR-H3 Şekil 5(g)'de verilen diziyi içerir.

Bir örnekte açıklamanın bu yönüne ait antikorlar CDR-H1 için Şekil 5(k)'de verilen diziyi, CDR-H2 için Şekil 5(l)'de verilen diziyi ve CDR-H3 Şekil 5(m)'de verilen diziyi içerir.

Bir örnekte açıklamanın bu yönüne ait antikorlar CDR-L1 için Şekil 5(h)'de verilen diziyi, CDR-L2 için Şekil 5(i)'de verilen diziyi ve CDR-L3 Şekil 5(j)'de verilen diziyi içerir.

Bir örnekte açıklamanın bu yönüne ait antikorlar CDR-L1 için Şekil 5(n)'de verilen diziyi, CDR-L2 için Şekil 5(o)'da verilen diziyi ve CDR-L3 Şekil 5(p)'de verilen diziyi içerir.

Açıklamada Şekil 5(a) ile (d)'de veya Şekil 24'te verilen bir diziyi sahip bir VH domenini ve/veya bir VL domenini içeren bir Fv veya scFv de sağlanmaktadır. Bir yönü itibarıyla Fv veya scFv DİZİ İD. NO: 202'de verilen diziyi sahip bir VH ve DİZİ İD. NO: 203'te verilen diziyi sahip bir VH içerir. Bir yönü itibarıyla Fv veya scFv DİZİ İD. NO: 204'te verilen diziyi sahip bir VH ve DİZİ İD. NO: 205'te verilen diziyi sahip bir VL içerir.

scFv'ye ait VH ve VL, örneğin VHVL yönündedir (N terminalden C terminale). Bir yönü itibarıyla VH ve VL VLVH yönündedir (N terminalden C terminale).

- 10 Yukarıda açıklandığı gibi, scFv veya Fv fragmanları ayrıca uygun herhangi bir antikor formatına eklenebilir. Örneğin, bir veya daha fazla başka antikor fragmanı ile füzyon veya konjugasyon yapabilirler.

- Aşağıdaki antikor formatlarında burada verilen dizi listesindeki dizilerin her biri doğal konuma veya doğal olmayan bir konuma karşılık gelen konumda yer alabilir. Doğal konum
- 15 CDRH1 başlıklı listede ilgili dizi için konum H1, CDRH2 başlıklı listede ilgili dizi için konum H2, CDRH3 başlıklı listede ilgili dizi için konum H3, CDRL1 başlıklı listede ilgili dizi için konum L1, CDRL2 başlıklı listede ilgili dizi için konum L2 ve CDRL3 başlıklı listede ilgili dizi için konum L3 olacaktır. Bunların kombinasyonları da, örneğin H1 ve H2, H1 ve H3, H1 ve L1, H1 ve L2, H1 ve L3, H2 ve L1, H2 ve L2, H2 ve L3, H2 ve H3, H3 ve L1, H3 ve L2, H3 ve L3, H1 ve H2 ve H3, H1 ve H2 ve L1, H1 ve H2 ve L2, H1 ve H2 ve L3, H2 ve H3 ve L1, H2 ve H3 ve L2, H2 ve H3 ve L3, H3 ve L1 ve L2, H3 ve L1 ve L3, H3 ve L2 ve L3, L1 ve L2 ve L3, H1 ve H2 ve H3 ve L1, H1 ve H2 ve H3 ve L2, H1 ve H2 ve H3 ve L3, H2 ve H3 ve L1 ve L2, H2 ve H3 ve L1 ve L3 ve H2 ve H3 ve L2 ve L3, H3 ve L1 ve L2 ve L3, H1 ve H2 ve H3 ve L1 ve L2, H1 ve H2 ve H3 ve L2 ve L3, H1 ve H2 ve H3 ve L1 ve L2 ve L3, L1 ve L2 ve L3 ve H1 ve H2, L1 ve L2 ve L3 ve H1 ve H3, L1 ve L2 ve L3 ve H2 ve H3, H1 ve H2 ve H3 ve L1 ve L2 ve L3 de tasarlanmıştır.
- 25

Bir yönü itibarıyla açıklamaya ait antikor füzyon proteini DİZİ İD. NO: 222, 223, 90 ile 93'den seçilen bir diziyi, örneğin 1, 2, 3, 4, 5 veya 6 diziyi içerir.

- 30 Bir yönü itibarıyla açıklamaya ait antikor füzyon proteini DİZİ İD. NO: 94 ile 99'dan seçilen bir diziyi, örneğin 1, 2, 3, 4, 5 veya 6 diziyi içerir.

Bir yönü itibarıyla açıklamaya ait antikor füzyon proteini DİZİ İD. NO: 100 ile 105'ten seçilen bir diziyi, örneğin 1, 2, 3, 4, 5 veya 6 diziyi içerir.

Bir örnekte açıklamanın bu yönüne ait antikorlar CDR-L1 için Şekil 5(n)'de verilen diziyi, CDR-L2 için Şekil 5(o)'da verilen diziyi ve CDR-L3 Şekil 5(p)'de verilen diziyi içerir.

Açıklamada Şekil 5(a) ile (d)'de veya Şekil 24'te verilen bir diziyi sahip bir VH domenini ve/veya bir VL domenini içeren bir Fv veya scFv de sağlanmaktadır. Bir yönü itibarıyla Fv veya scFv DİZİ İD. NO: 202'de verilen diziyi sahip bir VH ve DİZİ İD. NO: 203'te verilen diziyi sahip bir VH içerir. Bir yönü itibarıyla Fv veya scFv DİZİ İD. NO: 204'te verilen diziyi sahip bir VH ve DİZİ İD. NO: 205'te verilen diziyi sahip bir VL içerir.

scFv'ye ait VH ve VL, örneğin VHVL yönündedir (N terminalden C terminale). Bir yönü itibarıyla VH ve VL VLVH yönündedir (N terminalden C terminale).

- 10 Yukarıda açıklandığı gibi, scFv veya Fv fragmanları ayrıca uygun herhangi bir antikor formatına eklenebilir. Örneğin, bir veya daha fazla başka antikor fragmanı ile füzyon veya konjugasyon yapabilirler.

- Aşağıdaki antikor formatlarında burada verilen dizi listesindeki dizilerin her biri doğal konuma veya doğal olmayan bir konuma karşılık gelen konumda yer alabilir. Doğal konum
- 15 CDRH1 başlıklı listede ilgili dizi için konum H1, CDRH2 başlıklı listede ilgili dizi için konum H2, CDRH3 başlıklı listede ilgili dizi için konum H3, CDRL1 başlıklı listede ilgili dizi için konum L1, CDRL2 başlıklı listede ilgili dizi için konum L2 ve CDRL3 başlıklı listede ilgili dizi için konum L3 olacaktır. Bunların kombinasyonları da, örneğin H1 ve H2, H1 ve H3, H1 ve L1, H1 ve L2, H1 ve L3, H2 ve L1, H2 ve L2, H2 ve L3, H2 ve H3, H3 ve L1, H3 ve L2, H3 ve L3, H1 ve H2 ve H3, H1 ve H2 ve L1, H1 ve H2 ve L2, H1 ve H2 ve L3, H2 ve H3 ve L1, H2 ve H3 ve L2, H2 ve H3 ve L3, H3 ve L1 ve L2, H3 ve L1 ve L3, H3 ve L2 ve L3, L1 ve L2 ve L3, H1 ve H2 ve H3 ve L1, H1 ve H2 ve H3 ve L2, H1 ve H2 ve H3 ve L3, H2 ve H3 ve L1 ve L2, H2 ve H3 ve L1 ve L3 ve H2 ve H3 ve L2 ve L3, H3 ve L1 ve L2 ve L3, H1 ve H2 ve H3 ve L1 ve L2, H1 ve H2 ve H3 ve L2 ve L3, H1 ve H2 ve H3 ve L1 ve L2 ve L3, L1 ve L2 ve L3 ve H1 ve H2, L1 ve L2 ve L3 ve H1 ve H3, L1 ve L2 ve L3 ve H2 ve H3, H1 ve H2 ve H3 ve L1 ve L2 ve L3 de tasarlanmıştır.
- 25

Bir yönü itibarıyla açıklamaya ait antikor füzyon proteini DİZİ İD. NO: 222, 223, 90 ile 93'den seçilen bir diziyi, örneğin 1, 2, 3, 4, 5 veya 6 diziyi içerir.

- 30 Bir yönü itibarıyla açıklamaya ait antikor füzyon proteini DİZİ İD. NO: 94 ile 99'dan seçilen bir diziyi, örneğin 1, 2, 3, 4, 5 veya 6 diziyi içerir.

Bir yönü itibarıyla açıklamaya ait antikor füzyon proteini DİZİ İD. NO: 100 ile 105'ten seçilen bir diziyi, örneğin 1, 2, 3, 4, 5 veya 6 diziyi içerir.

Bir örnekte açıklamanın bu yönüne ait antikorlar CDR-L1 için Şekil 5(n)'de verilen diziyi, CDR-L2 için Şekil 5(o)'da verilen diziyi ve CDR-L3 Şekil 5(p)'de verilen diziyi içerir.

Açıklamada Şekil 5(a) ile (d)'de veya Şekil 24'te verilen bir diziyi sahip bir VH domenini ve/veya bir VL domenini içeren bir Fv veya scFv de sağlanmaktadır. Bir yönü itibarıyla Fv veya scFv DİZİ İD. NO: 202'de verilen diziyi sahip bir VH ve DİZİ İD. NO: 203'te verilen diziyi sahip bir VH içerir. Bir yönü itibarıyla Fv veya scFv DİZİ İD. NO: 204'te verilen diziyi sahip bir VH ve DİZİ İD. NO: 205'te verilen diziyi sahip bir VL içerir.

scFv'ye ait VH ve VL, örneğin VHVL yönündedir (N terminalden C terminale). Bir yönü itibarıyla VH ve VL VLVH yönündedir (N terminalden C terminale).

- 10 Yukarıda açıklandığı gibi, scFv veya Fv fragmanları ayrıca uygun herhangi bir antikor formatına eklenebilir. Örneğin, bir veya daha fazla başka antikor fragmanı ile füzyon veya konjugasyon yapabilirler.

- Aşağıdaki antikor formatlarında burada verilen dizi listesindeki dizilerin her biri doğal konuma veya doğal olmayan bir konuma karşılık gelen konumda yer alabilir. Doğal konum
- 15 CDRH1 başlıklı listede ilgili dizi için konum H1, CDRH2 başlıklı listede ilgili dizi için konum H2, CDRH3 başlıklı listede ilgili dizi için konum H3, CDRL1 başlıklı listede ilgili dizi için konum L1, CDRL2 başlıklı listede ilgili dizi için konum L2 ve CDRL3 başlıklı listede ilgili dizi için konum L3 olacaktır. Bunların kombinasyonları da, örneğin H1 ve H2, H1 ve H3, H1 ve L1, H1 ve L2, H1 ve L3, H2 ve L1, H2 ve L2, H2 ve L3, H2 ve H3, H3 ve L1, H3 ve L2, H3 ve L3, H1 ve H2 ve H3, H1 ve H2 ve L1, H1 ve H2 ve L2, H1 ve H2 ve L3, H2 ve H3 ve L1, H2 ve H3 ve L2, H2 ve H3 ve L3, H3 ve L1 ve L2, H3 ve L1 ve L3, H3 ve L2 ve L3, L1 ve L2 ve L3, H1 ve H2 ve H3 ve L1, H1 ve H2 ve H3 ve L2, H1 ve H2 ve H3 ve L3, H2 ve H3 ve L1 ve L2, H2 ve H3 ve L1 ve L3 ve H2 ve H3 ve L2 ve L3, H3 ve L1 ve L2 ve L3, H1 ve H2 ve H3 ve L1 ve L2, H1 ve H2 ve H3 ve L2 ve L3, H1 ve H2 ve H3 ve L1 ve L2 ve L3, L1 ve L2 ve L3 ve H1 ve H2, L1 ve L2 ve L3 ve H1 ve H3, L1 ve L2 ve L3 ve H2 ve H3, H1 ve H2 ve H3 ve L1 ve L2 ve L3 de tasarlanmıştır.
- 25

Bir yönü itibarıyla açıklamaya ait antikor füzyon proteini DİZİ İD. NO: 222, 223, 90 ile 93'den seçilen bir diziyi, örneğin 1, 2, 3, 4, 5 veya 6 diziyi içerir.

- 30 Bir yönü itibarıyla açıklamaya ait antikor füzyon proteini DİZİ İD. NO: 94 ile 99'dan seçilen bir diziyi, örneğin 1, 2, 3, 4, 5 veya 6 diziyi içerir.

Bir yönü itibarıyla açıklamaya ait antikor füzyon proteini DİZİ İD. NO: 100 ile 105'ten seçilen bir diziyi, örneğin 1, 2, 3, 4, 5 veya 6 diziyi içerir.

Bir yönü itibarıyla açıklamaya ait antikor füzyon proteini DİZİ İD. NO: 106 ila 111'den seçilen bir diziyi, örneğin 1, 2, 3, 4, 5 veya 6 diziyi içerir.

Bir yönü itibarıyla açıklamaya ait antikor füzyon proteini DİZİ İD. NO: 112 ila 117'den seçilen bir diziyi, örneğin 1, 2, 3, 4, 5 veya 6 diziyi içerir.

- 5 Bir yönü itibarıyla açıklamaya ait antikor füzyon proteini DİZİ İD. NO: 118 ila 123'ten seçilen bir diziyi, örneğin 1, 2, 3, 4, 5 veya 6 diziyi içerir.

Bir yönü itibarıyla açıklamaya ait antikor füzyon proteini DİZİ İD. NO: 124 ila 129'dan seçilen bir diziyi, örneğin 1, 2, 3, 4, 5 veya 6 diziyi içerir.

- 10 Bir yönü itibarıyla açıklamaya ait antikor füzyon proteini DİZİ İD. NO: 130 ila 135'ten seçilen bir diziyi, örneğin 1, 2, 3, 4, 5 veya 6 diziyi içerir.

Bir yönü itibarıyla açıklamaya ait antikor füzyon proteini DİZİ İD. NO: 136 ila 141'ten seçilen bir diziyi, örneğin 1, 2, 3, 4, 5 veya 6 diziyi içerir.

Bir yönü itibarıyla açıklamaya ait antikor füzyon proteini DİZİ İD. NO: ... seçilen bir diziyi, örneğin 1, 2, 3, 4, 5 veya 6 diziyi içerir

- 15 Bir yönü itibarıyla açıklamaya ait antikor füzyon proteini DİZİ İD. NO: 148 ila 153'ten seçilen bir diziyi, örneğin 1, 2, 3, 4, 5 veya 6 diziyi içerir.

Bir yönü itibarıyla açıklamaya ait antikor füzyon proteini DİZİ İD. NO: 154 ila 159'dan seçilen bir diziyi, örneğin 1, 2, 3, 4, 5 veya 6 diziyi içerir.

- 20 Bir yönü itibarıyla açıklamaya ait antikor füzyon proteini DİZİ İD. NO: 160 ila 165'ten seçilen bir diziyi, örneğin 1, 2, 3, 4, 5 veya 6 diziyi içerir.

Bir yönü itibarıyla açıklamaya ait antikor füzyon proteini DİZİ İD. NO: 166 ila 171'den seçilen bir diziyi, örneğin 1, 2, 3, 4, 5 veya 6 diziyi içerir.

Bir yönü itibarıyla açıklamaya ait antikor füzyon proteini DİZİ İD. NO: 172 ila 177'den seçilen bir diziyi, örneğin 1, 2, 3, 4, 5 veya 6 diziyi içerir.

- 25 Bir yönü itibarıyla açıklamaya ait antikor füzyon proteini DİZİ İD. NO: 178 ila 183'ten seçilen bir diziyi, örneğin 1, 2, 3, 4, 5 veya 6 diziyi içerir.

Bir yönü itibarıyla açıklamaya ait antikor füzyon proteini DİZİ İD. NO: 184 ila 189'dan seçilen bir diziyi, örneğin 1, 2, 3, 4, 5 veya 6 diziyi içerir.

- 30 Bir yönü itibarıyla açıklamaya ait antikor füzyon proteini DİZİ İD. NO: 190 ila 195'ten seçilen bir diziyi, örneğin 1, 2, 3, 4, 5 veya 6 diziyi içerir.

Bir yönü itibarıyla açıklamaya ait antikor füzyon proteini DİZİ İD. NO: 106 ila 111'den seçilen bir diziyi, örneğin 1, 2, 3, 4, 5 veya 6 diziyi içerir.

Bir yönü itibarıyla açıklamaya ait antikor füzyon proteini DİZİ İD. NO: 112 ila 117'den seçilen bir diziyi, örneğin 1, 2, 3, 4, 5 veya 6 diziyi içerir.

- 5 Bir yönü itibarıyla açıklamaya ait antikor füzyon proteini DİZİ İD. NO: 118 ila 123'ten seçilen bir diziyi, örneğin 1, 2, 3, 4, 5 veya 6 diziyi içerir.

Bir yönü itibarıyla açıklamaya ait antikor füzyon proteini DİZİ İD. NO: 124 ila 129'dan seçilen bir diziyi, örneğin 1, 2, 3, 4, 5 veya 6 diziyi içerir.

- 10 Bir yönü itibarıyla açıklamaya ait antikor füzyon proteini DİZİ İD. NO: 130 ila 135'ten seçilen bir diziyi, örneğin 1, 2, 3, 4, 5 veya 6 diziyi içerir.

Bir yönü itibarıyla açıklamaya ait antikor füzyon proteini DİZİ İD. NO: 136 ila 141'ten seçilen bir diziyi, örneğin 1, 2, 3, 4, 5 veya 6 diziyi içerir.

Bir yönü itibarıyla açıklamaya ait antikor füzyon proteini DİZİ İD. NO: ... seçilen bir diziyi, örneğin 1, 2, 3, 4, 5 veya 6 diziyi içerir

- 15 Bir yönü itibarıyla açıklamaya ait antikor füzyon proteini DİZİ İD. NO: 148 ila 153'ten seçilen bir diziyi, örneğin 1, 2, 3, 4, 5 veya 6 diziyi içerir.

Bir yönü itibarıyla açıklamaya ait antikor füzyon proteini DİZİ İD. NO: 154 ila 159'dan seçilen bir diziyi, örneğin 1, 2, 3, 4, 5 veya 6 diziyi içerir.

- 20 Bir yönü itibarıyla açıklamaya ait antikor füzyon proteini DİZİ İD. NO: 160 ila 165'ten seçilen bir diziyi, örneğin 1, 2, 3, 4, 5 veya 6 diziyi içerir.

Bir yönü itibarıyla açıklamaya ait antikor füzyon proteini DİZİ İD. NO: 166 ila 171'den seçilen bir diziyi, örneğin 1, 2, 3, 4, 5 veya 6 diziyi içerir.

Bir yönü itibarıyla açıklamaya ait antikor füzyon proteini DİZİ İD. NO: 172 ila 177'den seçilen bir diziyi, örneğin 1, 2, 3, 4, 5 veya 6 diziyi içerir.

- 25 Bir yönü itibarıyla açıklamaya ait antikor füzyon proteini DİZİ İD. NO: 178 ila 183'ten seçilen bir diziyi, örneğin 1, 2, 3, 4, 5 veya 6 diziyi içerir.

Bir yönü itibarıyla açıklamaya ait antikor füzyon proteini DİZİ İD. NO: 184 ila 189'dan seçilen bir diziyi, örneğin 1, 2, 3, 4, 5 veya 6 diziyi içerir.

- 30 Bir yönü itibarıyla açıklamaya ait antikor füzyon proteini DİZİ İD. NO: 190 ila 195'ten seçilen bir diziyi, örneğin 1, 2, 3, 4, 5 veya 6 diziyi içerir.

Bir yönü itibarıyla açıklamaya ait antikor füzyon proteini DİZİ İD. NO: 106 ila 111'den seçilen bir diziyi, örneğin 1, 2, 3, 4, 5 veya 6 diziyi içerir.

Bir yönü itibarıyla açıklamaya ait antikor füzyon proteini DİZİ İD. NO: 112 ila 117'den seçilen bir diziyi, örneğin 1, 2, 3, 4, 5 veya 6 diziyi içerir.

- 5 Bir yönü itibarıyla açıklamaya ait antikor füzyon proteini DİZİ İD. NO: 118 ila 123'ten seçilen bir diziyi, örneğin 1, 2, 3, 4, 5 veya 6 diziyi içerir.

Bir yönü itibarıyla açıklamaya ait antikor füzyon proteini DİZİ İD. NO: 124 ila 129'dan seçilen bir diziyi, örneğin 1, 2, 3, 4, 5 veya 6 diziyi içerir.

- 10 Bir yönü itibarıyla açıklamaya ait antikor füzyon proteini DİZİ İD. NO: 130 ila 135'ten seçilen bir diziyi, örneğin 1, 2, 3, 4, 5 veya 6 diziyi içerir.

Bir yönü itibarıyla açıklamaya ait antikor füzyon proteini DİZİ İD. NO: 136 ila 141'ten seçilen bir diziyi, örneğin 1, 2, 3, 4, 5 veya 6 diziyi içerir.

Bir yönü itibarıyla açıklamaya ait antikor füzyon proteini DİZİ İD. NO: ... seçilen bir diziyi, örneğin 1, 2, 3, 4, 5 veya 6 diziyi içerir

- 15 Bir yönü itibarıyla açıklamaya ait antikor füzyon proteini DİZİ İD. NO: 148 ila 153'ten seçilen bir diziyi, örneğin 1, 2, 3, 4, 5 veya 6 diziyi içerir.

Bir yönü itibarıyla açıklamaya ait antikor füzyon proteini DİZİ İD. NO: 154 ila 159'dan seçilen bir diziyi, örneğin 1, 2, 3, 4, 5 veya 6 diziyi içerir.

- 20 Bir yönü itibarıyla açıklamaya ait antikor füzyon proteini DİZİ İD. NO: 160 ila 165'ten seçilen bir diziyi, örneğin 1, 2, 3, 4, 5 veya 6 diziyi içerir.

Bir yönü itibarıyla açıklamaya ait antikor füzyon proteini DİZİ İD. NO: 166 ila 171'den seçilen bir diziyi, örneğin 1, 2, 3, 4, 5 veya 6 diziyi içerir.

Bir yönü itibarıyla açıklamaya ait antikor füzyon proteini DİZİ İD. NO: 172 ila 177'den seçilen bir diziyi, örneğin 1, 2, 3, 4, 5 veya 6 diziyi içerir.

- 25 Bir yönü itibarıyla açıklamaya ait antikor füzyon proteini DİZİ İD. NO: 178 ila 183'ten seçilen bir diziyi, örneğin 1, 2, 3, 4, 5 veya 6 diziyi içerir.

Bir yönü itibarıyla açıklamaya ait antikor füzyon proteini DİZİ İD. NO: 184 ila 189'dan seçilen bir diziyi, örneğin 1, 2, 3, 4, 5 veya 6 diziyi içerir.

- 30 Bir yönü itibarıyla açıklamaya ait antikor füzyon proteini DİZİ İD. NO: 190 ila 195'ten seçilen bir diziyi, örneğin 1, 2, 3, 4, 5 veya 6 diziyi içerir.

Bir yönü itibarıyla açıklamaya ait antikor füzyon proteini DİZİ İD. NO: 196 ila 201'den seçilen bir diziyi, örneğin 1, 2, 3, 4, 5 veya 6 diziyi içerir.

Bir yönü itibarıyla açıklamaya ait antikor füzyon proteini DİZİ İD. NO: 202'yi içerir.

Bir yönü itibarıyla açıklamaya ait antikor füzyon proteini DİZİ İD. NO: 203'ü içerir.

5 Bir yönü itibarıyla açıklamaya ait antikor füzyon proteini DİZİ İD. NO: 202 ve 203'ü içerir.

Bir yönü itibarıyla açıklamaya ait antikor füzyon proteini DİZİ İD. NO: 204'ü içerir.

Bir yönü itibarıyla açıklamaya ait antikor füzyon proteini DİZİ İD. NO: 205'i içerir.

Bir yönü itibarıyla açıklamaya ait antikor füzyon proteini DİZİ İD. NO: 204 ve 205'i içerir.

Bir yönü itibarıyla açıklamaya ait antikor füzyon proteini DİZİ İD. NO: 206'ı içerir.

10 Bir yönü itibarıyla açıklamaya ait antikor füzyon proteini DİZİ İD. NO: 207'yi içerir.

Bir yönü itibarıyla açıklamaya ait antikor füzyon proteini DİZİ İD. NO: 206 ve 207'yi içerir.

Bir yönü itibarıyla açıklamaya ait antikor füzyon proteini DİZİ İD. NO: 202'de verilen diziyi içermekte olup, burada konum 84'teki A D ile süstitüe edilmiştir.

15 Bir yönü itibarıyla açıklamaya ait antikor füzyon proteini DİZİ İD. NO: 204'te verilen diziyi içermekte olup, burada konum 84'teki A D ile süstitüe edilmiştir.

Mevcut açıklamaya ait çift spesifik füzyon proteininin tek domenli antikoru veya antikorları albümine bağlandığında, tek domenli antikorun albümin için bağlanma afinitesi *in vivo* Fab veya Fab' yarılanma ömrünü uzatmak için yeterli olacaktır. Albümin için 2.5 μ M afiniteden daha düşük veya buna eşit bir afinitenin *in vivo* yarılanma ömrünü uzatacağı bildirilmiştir

20 (Nguyen, A. ve diğerleri, (2006) Protein Engineering, Design & Selection, 19(7), 291-297).

Tek domenli antikor moleküller tercihen amaçlarına ve bağlandıkları antijene uygun bir bağlanma afinitesine sahiptir. Bir örnekte tek domenli antikorlar yüksek, örneğin pikomolar bir bağlanma afinitesine sahiptir. Bir örnekte tek domenli antikorlar antijen için nanomolar veya mikromolar bir bağlanma afinitesine sahiptir. Afinite teknikte bilinen uygun bir usulü kullanarak, örneğin doğal veya rekombinant antijen kullanarak burada Örnekler bölümünde açıklanan şekilde BIAcore kullanarak ölçülebilir.

25 Tercihen albümine bağlanan tek domenli antikor molekülleri yaklaşık 2 μ M veya daha iyi bir bağlanma afinitesine sahiptir. Bir yönü itibarıyla tek domenli antikor molekülü yaklaşık 1 μ M veya daha iyi bir bağlanma afinitesine sahiptir. Bir yönü itibarıyla tek domenli antikor
30 molekülü yaklaşık 500 nM veya daha iyi bir bağlanma afinitesine sahiptir. Bir yönü itibarıyla

Bir yönü itibarıyla açıklamaya ait antikor füzyon proteini DİZİ İD. NO: 196 ila 201'den seçilen bir diziyi, örneğin 1, 2, 3, 4, 5 veya 6 diziyi içerir.

Bir yönü itibarıyla açıklamaya ait antikor füzyon proteini DİZİ İD. NO: 202'yi içerir.

Bir yönü itibarıyla açıklamaya ait antikor füzyon proteini DİZİ İD. NO: 203'ü içerir.

5 Bir yönü itibarıyla açıklamaya ait antikor füzyon proteini DİZİ İD. NO: 202 ve 203'ü içerir.

Bir yönü itibarıyla açıklamaya ait antikor füzyon proteini DİZİ İD. NO: 204'ü içerir.

Bir yönü itibarıyla açıklamaya ait antikor füzyon proteini DİZİ İD. NO: 205'i içerir.

Bir yönü itibarıyla açıklamaya ait antikor füzyon proteini DİZİ İD. NO: 204 ve 205'i içerir.

Bir yönü itibarıyla açıklamaya ait antikor füzyon proteini DİZİ İD. NO: 206'ı içerir.

10 Bir yönü itibarıyla açıklamaya ait antikor füzyon proteini DİZİ İD. NO: 207'yi içerir.

Bir yönü itibarıyla açıklamaya ait antikor füzyon proteini DİZİ İD. NO: 206 ve 207'yi içerir.

Bir yönü itibarıyla açıklamaya ait antikor füzyon proteini DİZİ İD. NO: 202'de verilen diziyi içermekte olup, burada konum 84'teki A D ile süstitüe edilmiştir.

15 Bir yönü itibarıyla açıklamaya ait antikor füzyon proteini DİZİ İD. NO: 204'te verilen diziyi içermekte olup, burada konum 84'teki A D ile süstitüe edilmiştir.

Mevcut açıklamaya ait çift spesifik füzyon proteininin tek domenli antikor veya antikorları albümine bağlandığında, tek domenli antikorun albümin için bağlanma afinitesi *in vivo* Fab veya Fab' yarılanma ömrünü uzatmak için yeterli olacaktır. Albümin için 2.5 μ M afiniteden daha düşük veya buna eşit bir afinitenin *in vivo* yarılanma ömrünü uzatacağı bildirilmiştir

20 (Nguyen, A. ve diğerleri, (2006) Protein Engineering, Design & Selection, 19(7), 291-297).

Tek domenli antikor moleküller tercihen amaçlarına ve bağlandıkları antijene uygun bir bağlanma afinitesine sahiptir. Bir örnekte tek domenli antikorlar yüksek, örneğin pikomolar bir bağlanma afinitesine sahiptir. Bir örnekte tek domenli antikorlar antijen için nanomolar veya mikromolar bir bağlanma afinitesine sahiptir. Afinite teknikte bilinen uygun bir usulü

25 kullanarak, örneğin doğal veya rekombinant antijen kullanarak burada Örnekler bölümünde açıklanan şekilde BIAcore kullanarak ölçülebilir.

Tercihen albümine bağlanan tek domenli antikor molekülleri yaklaşık 2 μ M veya daha iyi bir bağlanma afinitesine sahiptir. Bir yönü itibarıyla tek domenli antikor molekülü yaklaşık 1 μ M veya daha iyi bir bağlanma afinitesine sahiptir. Bir yönü itibarıyla tek domenli antikor

30 molekülü yaklaşık 500 nM veya daha iyi bir bağlanma afinitesine sahiptir. Bir yönü itibarıyla

Bir yönü itibarıyla açıklamaya ait antikor füzyon proteini DİZİ İD. NO: 196 ila 201'den seçilen bir diziyi, örneğin 1, 2, 3, 4, 5 veya 6 diziyi içerir.

Bir yönü itibarıyla açıklamaya ait antikor füzyon proteini DİZİ İD. NO: 202'yi içerir.

Bir yönü itibarıyla açıklamaya ait antikor füzyon proteini DİZİ İD. NO: 203'ü içerir.

5 Bir yönü itibarıyla açıklamaya ait antikor füzyon proteini DİZİ İD. NO: 202 ve 203'ü içerir.

Bir yönü itibarıyla açıklamaya ait antikor füzyon proteini DİZİ İD. NO: 204'ü içerir.

Bir yönü itibarıyla açıklamaya ait antikor füzyon proteini DİZİ İD. NO: 205'i içerir.

Bir yönü itibarıyla açıklamaya ait antikor füzyon proteini DİZİ İD. NO: 204 ve 205'i içerir.

Bir yönü itibarıyla açıklamaya ait antikor füzyon proteini DİZİ İD. NO: 206'yı içerir.

10 Bir yönü itibarıyla açıklamaya ait antikor füzyon proteini DİZİ İD. NO: 207'yi içerir.

Bir yönü itibarıyla açıklamaya ait antikor füzyon proteini DİZİ İD. NO: 206 ve 207'yi içerir.

Bir yönü itibarıyla açıklamaya ait antikor füzyon proteini DİZİ İD. NO: 202'de verilen diziyi içermekte olup, burada konum 84'teki A D ile süstitüe edilmiştir.

15 Bir yönü itibarıyla açıklamaya ait antikor füzyon proteini DİZİ İD. NO: 204'te verilen diziyi içermekte olup, burada konum 84'teki A D ile süstitüe edilmiştir.

Mevcut açıklamaya ait çift spesifik füzyon proteininin tek domenli antikoru veya antikorları albümine bağlandığında, tek domenli antikorun albümin için bağlanma afinitesi *in vivo* Fab veya Fab' yarılanma ömrünü uzatmak için yeterli olacaktır. Albümin için 2.5 μ M afiniteden daha düşük veya buna eşit bir afinitenin *in vivo* yarılanma ömrünü uzatacağı bildirilmiştir

20 (Nguyen, A. ve diğerleri, (2006) Protein Engineering, Design & Selection, 19(7), 291-297).

Tek domenli antikor moleküller tercihen amaçlarına ve bağlandıkları antijene uygun bir bağlanma afinitesine sahiptir. Bir örnekte tek domenli antikorlar yüksek, örneğin pikomolar bir bağlanma afinitesine sahiptir. Bir örnekte tek domenli antikorlar antijen için nanomolar veya mikromolar bir bağlanma afinitesine sahiptir. Afinite teknikte bilinen uygun bir usulü kullanarak, örneğin doğal veya rekombinant antijen kullanarak burada Örnekler bölümünde açıklanan şekilde BIAcore kullanarak ölçülebilir.

25 Tercihen albümine bağlanan tek domenli antikor molekülleri yaklaşık 2 μ M veya daha iyi bir bağlanma afinitesine sahiptir. Bir yönü itibarıyla tek domenli antikor molekülü yaklaşık 1 μ M veya daha iyi bir bağlanma afinitesine sahiptir. Bir yönü itibarıyla tek domenli antikor
30 molekülü yaklaşık 500 nM veya daha iyi bir bağlanma afinitesine sahiptir. Bir yönü itibarıyla

tek domenli antikor molekülü yaklaşık 200 nM veya daha iyi bir bağlanma afinitesine sahiptir. Bir yönü itibarıyla domen antikor molekülü yaklaşık 1 nM veya daha iyi bir bağlanma afinitesine sahiptir. Takdir edileceği üzere mevcut buluşta kullanılan ve teknikte bilinen tek domenli antikorların afinitesi teknikte bilinen uygun herhangi bir usulü kullanarak farklılaştırılabilecektir. Dolayısıyla mevcut açıklama albümin için gelişmiş bir afiniteye sahip domen antikor moleküllerinin varyantlarına da ilişkindir. Bu varyantlar çeşitli afinite matürasyonu protokolü ile elde edilebilmekte olup, bunlar CDR'lerin mutasyona tabi tutulması (Yang ve diğerleri, J. Mol. Biol., 254, 392-403, 1995), zincir karma (Marks ve diğerleri, Bio/Technology, 10, 779-783, 1992), mutasyona neden olan *E. coli* suşlarını kullanılması (Low ve diğerleri, J. Mol. Biol., 250, 359-368, 1996), DNA karma (Patten ve diğerleri, Curr. Opin. Biotechnol., 8, 724-733, 1997), faj gösterimi (Thompson ve diğerleri, J. Mol. Biol., 256, 77-88, 1996) ve eşey PCR'yi (Crameri ve diğerleri, Nature, 391, 288-291, 1998) içerir. Vaughan ve diğerleri (bkz. yukarıda) referansında bu afinite matürasyonu usulleri açıklanmaktadır.

- 15 Çift spesifik füzyon proteini tek domenli antikor veya antikorları gerektiği gibi monomerler, dimerler veya trimerler şeklinde sağlanabilir. İstenilen ürün materyalin tabi tutulduğu sonraki işlem aşamalarını ayarlayarak elde edilebilir. Bir yönü itibarıyla işlenmiş materyal büyük ölçüde homojen bir monomer şeklinde sağlanır. Bir yönü itibarıyla işlenmiş materyal büyük ölçüde homojen bir dimer şeklinde sağlanır. Bir yönü itibarıyla işlenmiş materyal büyük ölçüde homojen bir trimer şeklinde sağlanır.

Mevcut açıklamada mevcut buluşa ait çift spesifik bir antikor füzyon proteinini kodlayan ayrıştırılmış bir DNA dizisi de sağlanmaktadır. DNA dizileri sentetik DNA, örneğin kimyasal işlemle üretilmiş cDNA, genomik DNA veya bunların bir kombinasyonunu içerebilir.

- 25 Mevcut buluşa ait çift spesifik antikor füzyon proteinini kodlayan DNA dizileri teknikte uzman olanlarca gayet iyi bilinen usullerle üretilebilir. Örneğin, antikor fragmanlarının, bağlayıcıların ve/veya dAb'lerin bir kısmını veya tamamını kodlayan DNA dizileri istenilen şekilde belirlenmiş DNA dizilerinden veya karşılık gelen amino asit dizilerine dayanarak sentezlenebilir.

- 30 Mevcut buluşa ait çift spesifik antikor füzyon proteinini kodlayan DNA dizilerinin hazırlanmasında standart moleküler biyoloji teknikleri kullanılabilir. İstenilen DNA dizileri oligonükleotit sentezi tekniklerini kullanarak tamamen veya kısmen sentezlenebilir. Uygun görüldüğü takdirde bölgeye yönlendirilmiş mutajenez ve polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) teknikleri kullanılabilir.

tek domenli antikor molekülü yaklaşık 200 nM veya daha iyi bir bağlanma afinitesine sahiptir. Bir yönü itibarıyla domen antikor molekülü yaklaşık 1 nM veya daha iyi bir bağlanma afinitesine sahiptir. Takdir edileceği üzere mevcut buluşta kullanılan ve teknikte bilinen tek domenli antikorların afinitesi teknikte bilinen uygun herhangi bir usulü kullanarak farklılaştırılabilecektir. Dolayısıyla mevcut açıklama albümin için gelişmiş bir afiniteye sahip domen antikor moleküllerinin varyantlarına da ilişkindir. Bu varyantlar çeşitli afinite matürasyonu protokolü ile elde edilebilmekte olup, bunlar CDR'lerin mutasyona tabi tutulması (Yang ve diğerleri, J. Mol. Biol., 254, 392-403, 1995), zincir karma (Marks ve diğerleri, Bio/Technology, 10, 779-783, 1992), mutasyona neden olan *E. coli* suşlarını kullanılması (Low ve diğerleri, J. Mol. Biol., 250, 359-368, 1996), DNA karma (Patten ve diğerleri, Curr. Opin. Biotechnol., 8, 724-733, 1997), faj gösterimi (Thompson ve diğerleri, J. Mol. Biol., 256, 77-88, 1996) ve eşey PCR'yi (Crameri ve diğerleri, Nature, 391, 288-291, 1998) içerir. Vaughan ve diğerleri (bkz. yukarıda) referansında bu afinite matürasyonu usulleri açıklanmaktadır.

- 15 Çift spesifik füzyon proteini tek domenli antikor veya antikorları gerektiği gibi monomerler, dimerler veya trimerler şeklinde sağlanabilir. İstenilen ürün materyalin tabi tutulduğu sonraki işlem aşamalarını ayarlayarak elde edilebilir. Bir yönü itibarıyla işlenmiş materyal büyük ölçüde homojen bir monomer şeklinde sağlanır. Bir yönü itibarıyla işlenmiş materyal büyük ölçüde homojen bir dimer şeklinde sağlanır. Bir yönü itibarıyla işlenmiş materyal büyük ölçüde homojen bir trimer şeklinde sağlanır.

Mevcut açıklamada mevcut buluşa ait çift spesifik bir antikor füzyon proteinini kodlayan ayırıştırılmış bir DNA dizisi de sağlanmaktadır. DNA dizileri sentetik DNA, örneğin kimyasal işlemle üretilmiş cDNA, genomik DNA veya bunların bir kombinasyonunu içerebilir.

- 25 Mevcut buluşa ait çift spesifik antikor füzyon proteinini kodlayan DNA dizileri teknikte uzman olanlarca gayet iyi bilinen usullerle üretilebilir. Örneğin, antikor fragmanlarının, bağlayıcıların ve/veya dAb'lerin bir kısmını veya tamamını kodlayan DNA dizileri istenilen şekilde belirlenmiş DNA dizilerinden veya karşılık gelen amino asit dizilerine dayanarak sentezlenebilir.

- 30 Mevcut buluşa ait çift spesifik antikor füzyon proteinini kodlayan DNA dizilerinin hazırlanmasında standart moleküler biyoloji teknikleri kullanılabilir. İstenilen DNA dizileri oligonükleotit sentezi tekniklerini kullanarak tamamen veya kısmen sentezlenebilir. Uygun görüldüğü takdirde bölgeye yönlendirilmiş mutajenez ve polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) teknikleri kullanılabilir.

tek domenli antikor molekülü yaklaşık 200 nM veya daha iyi bir bağlanma afinitesine sahiptir. Bir yönü itibarıyla domen antikor molekülü yaklaşık 1 nM veya daha iyi bir bağlanma afinitesine sahiptir. Takdir edileceği üzere mevcut buluşta kullanılan ve teknikte bilinen tek domenli antikorların afinitesi teknikte bilinen uygun herhangi bir usulü kullanarak farklılaştırılabilecektir. Dolayısıyla mevcut açıklama albümin için gelişmiş bir afiniteye sahip domen antikor moleküllerinin varyantlarına da ilişkindir. Bu varyantlar çeşitli afinite matürasyonu protokolü ile elde edilebilmekte olup, bunlar CDR'lerin mutasyona tabi tutulması (Yang ve diğerleri, J. Mol. Biol., 254, 392-403, 1995), zincir karma (Marks ve diğerleri, Bio/Technology, 10, 779-783, 1992), mutasyona neden olan *E. coli* suşlarını kullanılması (Low ve diğerleri, J. Mol. Biol., 250, 359-368, 1996), DNA karma (Patten ve diğerleri, Curr. Opin. Biotechnol., 8, 724-733, 1997), faj gösterimi (Thompson ve diğerleri, J. Mol. Biol., 256, 77-88, 1996) ve eşey PCR'yi (Crameri ve diğerleri, Nature, 391, 288-291, 1998) içerir. Vaughan ve diğerleri (bkz. yukarıda) referansında bu afinite matürasyonu usulleri açıklanmaktadır.

- 15 Çift spesifik füzyon proteini tek domenli antikor veya antikorları gerektiği gibi monomerler, dimerler veya trimerler şeklinde sağlanabilir. İstenilen ürün materyalin tabi tutulduğu sonraki işlem aşamalarını ayarlayarak elde edilebilir. Bir yönü itibarıyla işlenmiş materyal büyük ölçüde homojen bir monomer şeklinde sağlanır. Bir yönü itibarıyla işlenmiş materyal büyük ölçüde homojen bir dimer şeklinde sağlanır. Bir yönü itibarıyla işlenmiş materyal büyük ölçüde homojen bir trimer şeklinde sağlanır.

Mevcut açıklamada mevcut buluşa ait çift spesifik bir antikor füzyon proteinini kodlayan ayırıştırılmış bir DNA dizisi de sağlanmaktadır. DNA dizileri sentetik DNA, örneğin kimyasal işlemle üretilmiş cDNA, genomik DNA veya bunların bir kombinasyonunu içerebilir.

- 25 Mevcut buluşa ait çift spesifik antikor füzyon proteinini kodlayan DNA dizileri teknikte uzman olanlarca gayet iyi bilinen usullerle üretilebilir. Örneğin, antikor fragmanlarının, bağlayıcıların ve/veya dAb'lerin bir kısmını veya tamamını kodlayan DNA dizileri istenilen şekilde belirlenmiş DNA dizilerinden veya karşılık gelen amino asit dizilerine dayanarak sentezlenebilir.

- 30 Mevcut buluşa ait çift spesifik antikor füzyon proteinini kodlayan DNA dizilerinin hazırlanmasında standart moleküler biyoloji teknikleri kullanılabilir. İstenilen DNA dizileri oligonükleotit sentezi tekniklerini kullanarak tamamen veya kısmen sentezlenebilir. Uygun görüldüğü takdirde bölgeye yönlendirilmiş mutajenez ve polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) teknikleri kullanılabilir.

Mevcut açıklama ayrıca bir veya daha fazla DNA dizisi içeren bir klonlama veya ekspresyon vektörüne ilişkindir. Dolayısıyla, mevcut buluşa ait çift spesifik bir antikor füzyon proteinini kodlayan bir veya daha fazla DNA dizisini içeren bir klonlama veya ekspresyon vektörü sağlanmaktadır. Tercih edilen bir yönde, klonlama veya ekspresyon vektörü çift spesifik

5 antikor füzyon proteininin tamamını kodlayan tek bir DNA dizisini içerir. Dolayısıyla, klonlama veya ekspresyon vektörü dizide DNA'nın kodladığı transkripsiyon birimlerini içerir, böylece bir translasyon füzyonu proteini üretilir.

Aslında, teknikte uzman olanlar buluşa ait bir füzyon proteininin N terminal veya C terminalde dAb'ye sahip olabileceğini ve dolayısıyla dAb DNA'nın kodladığı transkripsiyon

10 biriminin translasyon füzyonunu kodlayan DNA dizisi içinde sırasıyla birinci veya sonuncu olacağını bilecektir. Dolayısıyla, bir translasyon füzyonu bir N terminal dAb ve bir C terminal Fab veya Fab' içerebilecektir. Ayrıca, bir translasyon füzyonu bir N terminal Fab veya Fab' ve bir C terminal dAb içerebilecektir.

Takdir edileceği üzere Fab veya Fab' ağır zinciri ve hafif zinciri aynı veya farklı vektörlere

15 eklenebilir. Bir yönü itibarıyla bir vektör bir Fab veya Fab' ağır zinciri ve bir C terminal dAb içeren bir translasyon füzyonu içerebilir ve bir başka vektör bir Fab veya Fab' hafif zinciri ve bir C terminal dAb içeren bir translasyon füzyonu içerebilir.

Örneğin, antikor fragmanının N terminal ucunda dAb parçası olan bir çift spesifik antikor füzyon proteininin üretilmesi istendiğinde, vektör aşağıda belirtilen dizi sırasında DNA

20 transkripsiyonu birimlerini içerecektir; dAb parçasını kodlayan bir DNA transkripsiyonu birimi, isteğe bağlı olarak bir bağlayıcı diziyi kodlayan bir DNA transkripsiyonu birimi ve bir antikor fragmanını kodlayan bir DNA transkripsiyonu birimi. Antikor fragmanının C terminal ucunda dAb parçası olan bir çift spesifik antikor füzyon proteininin üretilmesi istendiğinde, vektör aşağıda belirtilen dizi sırasında DNA transkripsiyonu birimlerini içerecektir; bir

25 antikor fragmanını kodlayan bir DNA transkripsiyonu birimi, isteğe bağlı olarak bir bağlayıcı diziyi kodlayan bir DNA transkripsiyonu birimi ve bir serum taşıyıcı protein, dolaşımdaki bir immünoglobulin molekülü veya CD35/CR1, örneğin insan serum albümin için spesifikliği olan dAb parçasını kodlayan bir DNA transkripsiyonu birimi. Dolayısıyla, bir translasyon füzyonu örneğin bunlarla sınırlı kalmamak kaydıyla dAb-bağlayıcı-Fab, Fab-bağlayıcı-dAb, dAb-Fab, Fab-dAb, Fab'-dAb, dAb-Fab', dAb-bağlayıcı Fab', Fab'-bağlayıcı-dAb dahil olmak

30 üzere farklı konfigürasyonlarda olabilir. İki vektörün kullanılması durumunda, örneğin birincisi bir dAb ile füzyon yapan bir Fab veya Fab' ağır zincirini içerebilir, ikincisi ise bir dAb ile füzyon yapan bir Fab veya Fab' hafif zincirini içerebilir.

Mevcut açıklama ayrıca bir veya daha fazla DNA dizisi içeren bir klonlama veya ekspresyon vektörüne ilişkindir. Dolayısıyla, mevcut buluşa ait çift spesifik bir antikor füzyon proteinini kodlayan bir veya daha fazla DNA dizisini içeren bir klonlama veya ekspresyon vektörü sağlanmaktadır. Tercih edilen bir yönde, klonlama veya ekspresyon vektörü çift spesifik

5 antikor füzyon proteininin tamamını kodlayan tek bir DNA dizisini içerir. Dolayısıyla, klonlama veya ekspresyon vektörü dizide DNA'nın kodladığı transkripsiyon birimlerini içerir, böylece bir translasyon füzyonu proteini üretilir.

Aslında, teknikte uzman olanlar buluşa ait bir füzyon proteininin N terminal veya C terminalde dAb'ye sahip olabileceğini ve dolayısıyla dAb DNA'nın kodladığı transkripsiyon

10 biriminin translasyon füzyonunu kodlayan DNA dizisi içinde sırasıyla birinci veya sonuncu olacağını bilecektir. Dolayısıyla, bir translasyon füzyonu bir N terminal dAb ve bir C terminal Fab veya Fab' içerebilecektir. Ayrıca, bir translasyon füzyonu bir N terminal Fab veya Fab' ve bir C terminal dAb içerebilecektir.

Takdir edileceği üzere Fab veya Fab' ağır zinciri ve hafif zinciri aynı veya farklı vektörlere

15 eklenebilir. Bir yönü itibarıyla bir vektör bir Fab veya Fab' ağır zinciri ve bir C terminal dAb içeren bir translasyon füzyonu içerebilir ve bir başka vektör bir Fab veya Fab' hafif zinciri ve bir C terminal dAb içeren bir translasyon füzyonu içerebilir.

Örneğin, antikor fragmanının N terminal ucunda dAb parçası olan bir çift spesifik antikor füzyon proteininin üretilmesi istendiğinde, vektör aşağıda belirtilen dizi sırasında DNA

20 transkripsiyonu birimlerini içerecektir; dAb parçasını kodlayan bir DNA transkripsiyonu birimi, isteğe bağlı olarak bir bağlayıcı diziyi kodlayan bir DNA transkripsiyonu birimi ve bir antikor fragmanını kodlayan bir DNA transkripsiyonu birimi. Antikor fragmanının C terminal ucunda dAb parçası olan bir çift spesifik antikor füzyon proteininin üretilmesi istendiğinde, vektör aşağıda belirtilen dizi sırasında DNA transkripsiyonu birimlerini içerecektir; bir

25 antikor fragmanını kodlayan bir DNA transkripsiyonu birimi, isteğe bağlı olarak bir bağlayıcı diziyi kodlayan bir DNA transkripsiyonu birimi ve bir serum taşıyıcı protein, dolaşımdaki bir immünoglobulin molekülü veya CD35/CR1, örneğin insan serum albümin için spesifikliği olan dAb parçasını kodlayan bir DNA transkripsiyonu birimi. Dolayısıyla, bir translasyon füzyonu örneğin bunlarla sınırlı kalmamak kaydıyla dAb-bağlayıcı-Fab, Fab-bağlayıcı-dAb, dAb-Fab, Fab-dAb, Fab'-dAb, dAb-Fab', dAb-bağlayıcı Fab', Fab'-bağlayıcı-dAb dahil olmak

30 üzere farklı konfigürasyonlarda olabilir. İki vektörün kullanılması durumunda, örneğin birincisi bir dAb ile füzyon yapan bir Fab veya Fab' ağır zincirini içerebilir, ikincisi ise bir dAb ile füzyon yapan bir Fab veya Fab' hafif zincirini içerebilir.

Mevcut açıklama ayrıca bir veya daha fazla DNA dizisi içeren bir klonlama veya ekspresyon vektörüne ilişkindir. Dolayısıyla, mevcut buluşa ait çift spesifik bir antikor füzyon proteinini kodlayan bir veya daha fazla DNA dizisini içeren bir klonlama veya ekspresyon vektörü sağlanmaktadır. Tercih edilen bir yönde, klonlama veya ekspresyon vektörü çift spesifik

5 antikor füzyon proteininin tamamını kodlayan tek bir DNA dizisini içerir. Dolayısıyla, klonlama veya ekspresyon vektörü dizide DNA'nın kodladığı transkripsiyon birimlerini içerir, böylece bir translasyon füzyonu proteini üretilir.

Aslında, teknikte uzman olanlar buluşa ait bir füzyon proteininin N terminal veya C terminalde dAb'ye sahip olabileceğini ve dolayısıyla dAb DNA'nın kodladığı transkripsiyon

10 biriminin translasyon füzyonunu kodlayan DNA dizisi içinde sırasıyla birinci veya sonuncu olacağını bilecektir. Dolayısıyla, bir translasyon füzyonu bir N terminal dAb ve bir C terminal Fab veya Fab' içerebilecektir. Ayrıca, bir translasyon füzyonu bir N terminal Fab veya Fab' ve bir C terminal dAb içerebilecektir.

Takdir edileceği üzere Fab veya Fab' ağır zinciri ve hafif zinciri aynı veya farklı vektörlere

15 eklenebilir. Bir yönü itibarıyla bir vektör bir Fab veya Fab' ağır zinciri ve bir C terminal dAb içeren bir translasyon füzyonu içerebilir ve bir başka vektör bir Fab veya Fab' hafif zinciri ve bir C terminal dAb içeren bir translasyon füzyonu içerebilir.

Örneğin, antikor fragmanının N terminal ucunda dAb parçası olan bir çift spesifik antikor füzyon proteininin üretilmesi istendiğinde, vektör aşağıda belirtilen dizi sırasında DNA

20 transkripsiyonu birimlerini içerecektir; dAb parçasını kodlayan bir DNA transkripsiyonu birimi, isteğe bağlı olarak bir bağlayıcı diziyi kodlayan bir DNA transkripsiyonu birimi ve bir antikor fragmanını kodlayan bir DNA transkripsiyonu birimi. Antikor fragmanının C terminal ucunda dAb parçası olan bir çift spesifik antikor füzyon proteininin üretilmesi istendiğinde, vektör aşağıda belirtilen dizi sırasında DNA transkripsiyonu birimlerini içerecektir; bir

25 antikor fragmanını kodlayan bir DNA transkripsiyonu birimi, isteğe bağlı olarak bir bağlayıcı diziyi kodlayan bir DNA transkripsiyonu birimi ve bir serum taşıyıcı protein, dolaşımdaki bir immünoglobulin molekülü veya CD35/CR1, örneğin insan serum albümin için spesifikliği olan dAb parçasını kodlayan bir DNA transkripsiyonu birimi. Dolayısıyla, bir translasyon füzyonu örneğin bunlarla sınırlı kalmamak kaydıyla dAb-bağlayıcı-Fab, Fab-bağlayıcı-dAb, dAb-Fab, Fab-dAb, Fab'-dAb, dAb-Fab', dAb-bağlayıcı Fab', Fab'-bağlayıcı-dAb dahil olmak

30 üzere farklı konfigürasyonlarda olabilir. İki vektörün kullanılması durumunda, örneğin birincisi bir dAb ile füzyon yapan bir Fab veya Fab' ağır zincirini içerebilir, ikincisi ise bir dAb ile füzyon yapan bir Fab veya Fab' hafif zincirini içerebilir.

Bir translasyon füzyonunda bulunan bir antikor fragmanına ilişkin DNA kodu teknikte uzman kişinin bildiği konfigürasyonlarda bir transkripsiyon birimi olarak bir vektöre eklenebilir, örneğin bir transkripsiyon birimi hafif zincir için kod ardından ağır zincir kodunu veya tam tersini içerebilir; bu hususta özellikle Humphreys ve diğerleri, 2002, Protein Expression and Purification, 26:309-320 referansına bakılabilir.

Tercihen, bir vektör uygun bir öncü dizi, örneğin bir antikor öncü dizisi içerebilir. Bu tür öncü diziler teknikte gayet iyi bilinmektedir.

Vektörlerin yapılabileceği genel usuller, transfeksiyon ve transformasyon usulleri ve kültür usulleri teknikte uzman olanlarca oldukça iyi bilinir. Bu konuda "Current Protocols in Molecular Biology", 1999, F. M. Ausubel (ed), Wiley Interscience, New York ve Cold Spring Harbor Publishing tarafından yayınlanan Maniatis Manual'e gönderme yapılmaktadır.

Mevcut buluşa ait çift spesifik bir antikor füzyon proteinini kodlayan bir veya daha fazla DNA dizisinin bulunduğu bir veya daha fazla klonlama veya ekspresyon vektörünü içeren bir konak hücre de sağlanmaktadır. Çift spesifik antikor füzyon proteinini kodlayan DNA dizilerinin ekspresyonu için uygun herhangi bir konak hücre/vektör sistemi kullanılabilir.

Bakteriyel, örneğin *E. coli* ve başka mikrobiyal sistemler kullanılabilir veya ökaryotik, örneğin memeli konak hücre ekspresyon sistemleri de kullanılabilir. Uygun memeli konak hücreleri NS0, CHO, miyelom veya hibridom hücrelerini içerir. Dolayısıyla bir örnekte mevcut buluşa ait füzyon proteini *E.coli* içinde eksprese edilir. Bir başka örnekte mevcut buluşa ait füzyon proteini memeli hücrelerinde eksprese edilir.

Mevcut açıklamada çift spesifik bir antikor füzyon proteininin üretilmesi için bir işlem de sağlanmakta olup, söz konusu işlem mevcut açıklamaya ait bir vektörü içeren bir konak hücrenin söz konusu çift spesifik antikor füzyon proteinini kodlayan DNA dizisinden proteinin ekspresyonu için uygun koşullar altında kültürlenmesini içerir. Açıklamada ayrıca çift spesifik antikor füzyon proteinini ayrıştırma usulleri de sağlanmaktadır.

Üretim sırasında, gerekli olduğunda mevcut buluşa ait çift spesifik bir antikor füzyon proteini teknikte bilinen uygun herhangi bir usulü kullanarak saflaştırılabilir. Bunlarla sınırlı kalmamak kaydıyla, örneğin iyon değiştirme, boyut dışlama, protein G veya hidrofobik etkileşim kromatografisi gibi kromatografi teknikleri kullanılabilir.

Çift spesifik bir antikor füzyon proteininin boyutu teknikte bilinen geleneksel usullerle, örneğin boyut dışlama kromatografisi ve indirgeyici olmayan SDS-PAGE ile doğrulanabilir. Bu teknikler, örneğin proteinin dimerleşmemiş olduğunun ve/veya bir kısmının, örneğin dAb

Bir translasyon füzyonunda bulunan bir antikor fragmanına ilişkin DNA kodu teknikte uzman kişinin bildiği konfigürasyonlarda bir transkripsiyon birimi olarak bir vektöre eklenebilir, örneğin bir transkripsiyon birimi hafif zincir için kod ardından ağır zincir kodunu veya tam tersini içerebilir; bu hususta özellikle Humphreys ve diğerleri, 2002, Protein Expression and Purification, 26:309-320 referansına bakılabilir.

Tercihen, bir vektör uygun bir öncü dizi, örneğin bir antikor öncü dizisi içerebilir. Bu tür öncü diziler teknikte gayet iyi bilinmektedir.

Vektörlerin yapılabileceği genel usuller, transfeksiyon ve transformasyon usulleri ve kültür usulleri teknikte uzman olanlarca oldukça iyi bilinir. Bu konuda "Current Protocols in Molecular Biology", 1999, F. M. Ausubel (ed), Wiley Interscience, New York ve Cold Spring Harbor Publishing tarafından yayınlanan Maniatis Manual'e gönderme yapılmaktadır.

Mevcut buluşa ait çift spesifik bir antikor füzyon proteinini kodlayan bir veya daha fazla DNA dizisinin bulunduğu bir veya daha fazla klonlama veya ekspresyon vektörünü içeren bir konak hücre de sağlanmaktadır. Çift spesifik antikor füzyon proteinini kodlayan DNA dizilerinin ekspresyonu için uygun herhangi bir konak hücre/vektör sistemi kullanılabilir.

Bakteriyel, örneğin *E. coli* ve başka mikrobiyal sistemler kullanılabilir veya ökaryotik, örneğin memeli konak hücre ekspresyon sistemleri de kullanılabilir. Uygun memeli konak hücreleri NS0, CHO, miyelom veya hibridom hücrelerini içerir. Dolayısıyla bir örnekte mevcut buluşa ait füzyon proteini *E.coli* içinde eksprese edilir. Bir başka örnekte mevcut buluşa ait füzyon proteini memeli hücrelerinde eksprese edilir.

Mevcut açıklamada çift spesifik bir antikor füzyon proteininin üretilmesi için bir işlem de sağlanmakta olup, söz konusu işlem mevcut açıklamaya ait bir vektörü içeren bir konak hücrenin söz konusu çift spesifik antikor füzyon proteinini kodlayan DNA dizisinden proteinin ekspresyonu için uygun koşullar altında kültürlenmesini içerir. Açıklamada ayrıca çift spesifik antikor füzyon proteinini ayrıştırma usulleri de sağlanmaktadır.

Üretim sırasında, gerekli olduğunda mevcut buluşa ait çift spesifik bir antikor füzyon proteini teknikte bilinen uygun herhangi bir usulü kullanarak saflaştırılabilir. Bunlarla sınırlı kalmamak kaydıyla, örneğin iyon değiştirme, boyut dışlama, protein G veya hidrofobik etkileşim kromatografisi gibi kromatografi teknikleri kullanılabilir.

Çift spesifik bir antikor füzyon proteininin boyutu teknikte bilinen geleneksel usullerle, örneğin boyut dışlama kromatografisi ve indirgeyici olmayan SDS-PAGE ile doğrulanabilir. Bu teknikler, örneğin proteinin dimerleşmemiş olduğunun ve/veya bir kısmının, örneğin dAb

Bir translasyon füzyonunda bulunan bir antikor fragmanına ilişkin DNA kodu teknikte uzman kişinin bildiği konfigürasyonlarda bir transkripsiyon birimi olarak bir vektöre eklenebilir, örneğin bir transkripsiyon birimi hafif zincir için kod ardından ağır zincir kodunu veya tam tersini içerebilir; bu hususta özellikle Humphreys ve diğerleri, 2002, Protein Expression and Purification, 26:309-320 referansına bakılabilir.

Tercihen, bir vektör uygun bir öncü dizi, örneğin bir antikor öncü dizisi içerebilir. Bu tür öncü diziler teknikte gayet iyi bilinmektedir.

Vektörlerin yapılabileceği genel usuller, transfeksiyon ve transformasyon usulleri ve kültür usulleri teknikte uzman olanlarca oldukça iyi bilinir. Bu konuda "Current Protocols in Molecular Biology", 1999, F. M. Ausubel (ed), Wiley Interscience, New York ve Cold Spring Harbor Publishing tarafından yayınlanan Maniatis Manual'e gönderme yapılmaktadır.

Mevcut buluşa ait çift spesifik bir antikor füzyon proteinini kodlayan bir veya daha fazla DNA dizisinin bulunduğu bir veya daha fazla klonlama veya ekspresyon vektörünü içeren bir konak hücre de sağlanmaktadır. Çift spesifik antikor füzyon proteinini kodlayan DNA dizilerinin ekspresyonu için uygun herhangi bir konak hücre/vektör sistemi kullanılabilir.

Bakteriyel, örneğin *E. coli* ve başka mikrobiyal sistemler kullanılabilir veya ökaryotik, örneğin memeli konak hücre ekspresyon sistemleri de kullanılabilir. Uygun memeli konak hücreleri NS0, CHO, miyelom veya hibridom hücrelerini içerir. Dolayısıyla bir örnekte mevcut buluşa ait füzyon proteini *E.coli* içinde eksprese edilir. Bir başka örnekte mevcut buluşa ait füzyon proteini memeli hücrelerinde eksprese edilir.

Mevcut açıklamada çift spesifik bir antikor füzyon proteininin üretilmesi için bir işlem de sağlanmakta olup, söz konusu işlem mevcut açıklamaya ait bir vektörü içeren bir konak hücrenin söz konusu çift spesifik antikor füzyon proteinini kodlayan DNA dizisinden proteinin ekspresyonu için uygun koşullar altında kültürlenmesini içerir. Açıklamada ayrıca çift spesifik antikor füzyon proteinini ayrıştırma usulleri de sağlanmaktadır.

Üretim sırasında, gerekli olduğunda mevcut buluşa ait çift spesifik bir antikor füzyon proteini teknikte bilinen uygun herhangi bir usulü kullanarak saflaştırılabilir. Bunlarla sınırlı kalmamak kaydıyla, örneğin iyon değiştirme, boyut dışlama, protein G veya hidrofobik etkileşim kromatografisi gibi kromatografi teknikleri kullanılabilir.

Çift spesifik bir antikor füzyon proteininin boyutu teknikte bilinen geleneksel usullerle, örneğin boyut dışlama kromatografisi ve indirgeyici olmayan SDS-PAGE ile doğrulanabilir. Bu teknikler, örneğin proteinin dimerleşmemiş olduğunun ve/veya bir kısmının, örneğin dAb

kısının kaybolmadığının doğrulanmasında kullanılabilir. Eğer dimerler tespit edilirse ve bir homojen monomerik ürün gerekliyse, bu durumda monomerik çift spesifik antikor füzyon proteini yukarıda açıklanan geleneksel kromatografi tekniklerini kullanarak dimerik türlerden arındırılabilir.

- 5 Buluşa ait çift spesifik antikor füzyon proteinleri enflamatuvar hastalıkları ve bozuklukları, immün hastalıkları ve bozukları, fibrotik bozuklukları ve kanserleri içeren hastalıkların veya bozuklukların tedavisinde kullanışlıdır.

"Enflamatuvar hastalık veya "bozukluk" ve "immün hastalık veya bozukluk" romatoid artrit, psöriyatik artrit, Still hastalığı, Muckle Wells hastalığı, psöriyazis, Crohn hastalığı, ülseratif
10 kolit, SLE (Sistemik Lupus Eritematoz), astım, alerjik rinit, atopik dermatit, multipl skleroz, vaskülit, Tip I diabetes mellitus, transplantasyon ve greft-versus-host hastalığını içerir.

"Fibrotik bozukluk" terimi idiyopatik pulmoner fibroz (IPF), sistemik skleroz (veya skleroderma), böbrek fibrozu, diyabetik nefropati, IgA nefropatisi, hipertansiyon, son evre renal hastalık, peritonal fibroz (sürekli ayaktan peritonal diyaliz), karaciğer sirozu, yaşa bağlı
15 maküler dejenerasyon (ARMD), retinopati, kardiyak reaktif fibroz, skarlaşma, keloitler, yanıklar, deri ülserleri, anjiyoplasti, koroner bypass ameliyatı, artroplastik ve katarakt ameliyatını içerir.

"Kanser" terimi deride veya daha yaygın olarak vücut organlarının, örneğin meme, over, prostat, akciğer, böbrek, pankreas, mide, mesane veya bağırsak duvarında bulunan
20 epitelyumdan kaynaklanan malign bir yeni büyümeyi içerir. Kanserler bitişik dokuya nüfuz etme ve uzak organlara, örneğin kemik, karaciğer, akciğer veya beyine yayılma (metastaz yapma) eğilimi gösterir.

Dolayısıyla, açıklamanın bir başka yönü itibarıyla farmasötik olarak kabul edilebilir taşıyıcılar, eksipyanlar veya seyrelticilerden biri veya daha fazlasıyla birlikte buluşa ait bir
25 antikor füzyonunu içeren bir farmasötik bileşim sağlanmaktadır. Ayrıca buluşa ait bir antikor füzyon proteininin bir hastalığın veya bozukluğun tedavisine ilişkin bir ilacın imalatında kullanımı da açıklanmaktadır. En fazla tercihen hastalık veya bozukluk bir enflamatuvar hastalık veya bozukluktur.

Farmasötik bileşimler oral, bukkal, parenteral, subkutane, nazal, topikal, oftalmik veya rektal
30 yoldan veriliş için uygun bir formda veya inhalasyon veya insüflasyon yoluyla veriliş için uygun bir formda olabilir.

Uygun olduğunda, örneğin antikor füzyon proteinine ait tek domenli antikor veya antikorlar

kısının kaybolmadığının doğrulanmasında kullanılabilir. Eğer dimerler tespit edilirse ve bir homojen monomerik ürün gerekliyse, bu durumda monomerik çift spesifik antikor füzyon proteini yukarıda açıklanan geleneksel kromatografi tekniklerini kullanarak dimerik türlerden arındırılabilir.

- 5 Buluşa ait çift spesifik antikor füzyon proteinleri enflamatuvar hastalıkları ve bozuklukları, immün hastalıkları ve bozukları, fibrotik bozuklukları ve kanserleri içeren hastalıkların veya bozuklukların tedavisinde kullanışlıdır.

"Enflamatuvar hastalık veya "bozukluk" ve "immün hastalık veya bozukluk" romatoid artrit, psöriyatik artrit, Still hastalığı, Muckle Wells hastalığı, psöriyazis, Crohn hastalığı, ülseratif
10 kolit, SLE (Sistemik Lupus Eritematoz), astım, alerjik rinit, atopik dermatit, multipl skleroz, vaskülit, Tip I diabetes mellitus, transplantasyon ve greft-versus-host hastalığını içerir.

"Fibrotik bozukluk" terimi idiyopatik pulmoner fibroz (IPF), sistemik skleroz (veya skleroderma), böbrek fibrozu, diyabetik nefropati, IgA nefropatisi, hipertansiyon, son evre renal hastalık, peritonal fibroz (sürekli ayaktan peritonal diyaliz), karaciğer sirozu, yaşa bağlı
15 maküler dejenerasyon (ARMD), retinopati, kardiyak reaktif fibroz, skarlaşma, keloitler, yanıklar, deri ülserleri, anjiyoplasti, koroner bypass ameliyatı, artroplastik ve katarakt ameliyatını içerir.

"Kanser" terimi deride veya daha yaygın olarak vücut organlarının, örneğin meme, over, prostat, akciğer, böbrek, pankreas, mide, mesane veya bağırsak duvarında bulunan
20 epitelyumdan kaynaklanan malign bir yeni büyümeyi içerir. Kanserler bitişik dokuya nüfuz etme ve uzak organlara, örneğin kemik, karaciğer, akciğer veya beyine yayılma (metastaz yapma) eğilimi gösterir.

Dolayısıyla, açıklamanın bir başka yönü itibarıyla farmasötik olarak kabul edilebilir taşıyıcılar, eksipiyenler veya seyrelticilerden biri veya daha fazlasıyla birlikte buluşa ait bir
25 antikor füzyonunu içeren bir farmasötik bileşim sağlanmaktadır. Ayrıca buluşa ait bir antikor füzyon proteininin bir hastalığın veya bozukluğun tedavisine ilişkin bir ilacın imalatında kullanımı da açıklanmaktadır. En fazla tercihen hastalık veya bozukluk bir enflamatuvar hastalık veya bozukluktur.

Farmasötik bileşimler oral, bukkal, parenteral, subkutane, nazal, topikal, oftalmik veya rektal
30 yoldan veriliş için uygun bir formda veya inhalasyon veya insüflasyon yoluyla veriliş için uygun bir formda olabilir.

Uygun olduğunda, örneğin antikor füzyon proteinine ait tek domenli antikor veya antikorlar

kısının kaybolmadığının doğrulanmasında kullanılabilir. Eğer dimerler tespit edilirse ve bir homojen monomerik ürün gerekliyse, bu durumda monomerik çift spesifik antikor füzyon proteini yukarıda açıklanan geleneksel kromatografi tekniklerini kullanarak dimerik türlerden arındırılabilir.

- 5 Buluşa ait çift spesifik antikor füzyon proteinleri enflamatuvar hastalıkları ve bozuklukları, immün hastalıkları ve bozukları, fibrotik bozuklukları ve kanserleri içeren hastalıkların veya bozuklukların tedavisinde kullanışlıdır.

"Enflamatuvar hastalık veya "bozukluk" ve "immün hastalık veya bozukluk" romatoid artrit, psöriyatik artrit, Still hastalığı, Muckle Wells hastalığı, psöriyazis, Crohn hastalığı, ülseratif
10 kolit, SLE (Sistemik Lupus Eritematoz), astım, alerjik rinit, atopik dermatit, multipl skleroz, vaskülit, Tip I diabetes mellitus, transplantasyon ve greft-versus-host hastalığını içerir.

"Fibrotik bozukluk" terimi idiyopatik pulmoner fibroz (IPF), sistemik skleroz (veya skleroderma), böbrek fibrozu, diyabetik nefropati, IgA nefropatisi, hipertansiyon, son evre renal hastalık, peritonal fibroz (sürekli ayaktan peritonal diyaliz), karaciğer sirozu, yaşa bağlı
15 maküler dejenerasyon (ARMD), retinopati, kardiyak reaktif fibroz, skarlaşma, keloitler, yanıklar, deri ülserleri, anjiyoplasti, koroner bypass ameliyatı, artroplastik ve katarakt ameliyatını içerir.

"Kanser" terimi deride veya daha yaygın olarak vücut organlarının, örneğin meme, over, prostat, akciğer, böbrek, pankreas, mide, mesane veya bağırsak duvarında bulunan
20 epitelyumdan kaynaklanan malign bir yeni büyümeyi içerir. Kanserler bitişik dokuya nüfuz etme ve uzak organlara, örneğin kemik, karaciğer, akciğer veya beyine yayılma (metastaz yapma) eğilimi gösterir.

Dolayısıyla, açıklamanın bir başka yönü itibarıyla farmasötik olarak kabul edilebilir taşıyıcılar, eksipyanlar veya seyrelticilerden biri veya daha fazlasıyla birlikte buluşa ait bir
25 antikor füzyonunu içeren bir farmasötik bileşim sağlanmaktadır. Ayrıca buluşa ait bir antikor füzyon proteininin bir hastalığın veya bozukluğun tedavisine ilişkin bir ilacın imalatında kullanımı da açıklanmaktadır. En fazla tercihen hastalık veya bozukluk bir enflamatuvar hastalık veya bozukluktur.

Farmasötik bileşimler oral, bukkal, parenteral, subkutane, nazal, topikal, oftalmik veya rektal
30 yoldan veriliş için uygun bir formda veya inhalasyon veya insüflasyon yoluyla veriliş için uygun bir formda olabilir.

Uygun olduğunda, örneğin antikor füzyon proteinine ait tek domenli antikor veya antikorlar

albümine bağlandığında, teknikte bilinen uygun herhangi bir usulü kullanarak çift spesifik füzyon proteininin insan veya rekombinant serum albüminle önceden formüle edilmesi istenebilir.

Farmasötik formülasyon bir sıvı, örneğin bir çözelti veya süspansiyon olduğunda,

- 5 formülasyon ayrıca albümin, örneğin insan serum albümin, bilhassa rekombinant albümin örneğin rekombinant insan serum albümin içerebilir. Uygun miktarlar formülasyon toplamına göre ağ/ağ olarak %2'den daha az, özellikle ağ/ağ olarak %1, %0.5 veya %0.1'den daha az aralığında olabilir. Bu, formülasyondaki antikor bileşenin stabilize edilmesine yardımcı olabilir. Farmasötik bileşim daha sonra sulu bir çözücü ile sulandırılıp hazırlanmak üzere
- 10 liyofilize edilebilir.

Bir yön itibarıyla buluşa uygun bir liyofilize "antikor" içeren bir birim doz kabı, örneğin bir flakon sağlanır.

Oral veriliş için farmasötik bileşimler farmasötik olarak kabul edilebilir ekşiپیانlarla,

- 15 örneğin bağlayıcı maddeler (örneğin prejelatinize mısır nişastası, polivinilpirrolidon veya hidroksipropil metil selüloz); dolgu maddeleri (örneğin laktoz, mikrokristalli selüloz veya kalsiyum hidrojenfosfat); yağlayıcı maddeler (örneğin magnezyum stearat, talk veya silika); dağıtıcı maddeler (örneğin patates nişastası veya sodyum glikolat); veya ıslatıcı maddeler (örneğin sodyum lauril sülfat) ile birlikte geleneksel yollarla hazırlanmış örneğin tabletler, pastiller veya kapsüller formunda olabilir. Tabletler teknikte gayet iyi bilinen usullerle
- 20 kaplanabilir. Oral verilise yönelik sıvı preparasyonlar, örneğin çözeltiler, şuruplar veya süspansiyonlar formunda olabilir veya kullanım öncesinde su veya bir başka uygun vasıta ile hazırlanan bir kuru ürün şeklinde sunulabilirler. Bu tür sıvı preparasyonlar farmasötik olarak kabul edilebilir katkı maddeleriyle, örneğin süspansiyon oluşturan maddeler, emülsifiye edici maddeler, susuz vasıtalara veya koruyucu maddelerle birlikte geleneksel yollarla
- 25 hazırlanabilirler. Uygun bulunduğunda preparasyonlar tampon tuzları, lezzet katıcı maddeler, renklendirici maddeler veya tatlandırıcı maddeler de içerebilir.

Oral verilise yönelik preparasyonlar etkin bileşiğin kontrollü salımını sağlamak için uygun şekilde formüle edilebilir.

Bukkal veriliş için bileşimler geleneksel tarzda formüle edilen tabletler veya pastiller

- 30 formunda olabilir.

Buluşa ait bispesifik antikorlar enjeksiyonla, örneğin bolus enjeksiyonla veya infüzyonla parenteral veriliş için formüle edilebilir. Enjeksiyon formülasyonları birim dozaj formunda,

albümine bağlandığında, teknikte bilinen uygun herhangi bir usulü kullanarak çift spesifik füzyon proteininin insan veya rekombinant serum albüminle önceden formüle edilmesi istenebilir.

Farmasötik formülasyon bir sıvı, örneğin bir çözelti veya süspansiyon olduğunda,

- 5 formülasyon ayrıca albümin, örneğin insan serum albümin, bilhassa rekombinant albümin örneğin rekombinant insan serum albümin içerebilir. Uygun miktarlar formülasyon toplamına göre ağ/ağ olarak %2'den daha az, özellikle ağ/ağ olarak %1, %0.5 veya %0.1'den daha az aralığında olabilir. Bu, formülasyondaki antikor bileşenin stabilize edilmesine yardımcı olabilir. Farmasötik bileşim daha sonra sulu bir çözücü ile sulandırılıp hazırlanmak üzere
- 10 liyofilize edilebilir.

Bir yön itibarıyla buluşa uygun bir liyofilize "antikor" içeren bir birim doz kabı, örneğin bir flakon sağlanır.

Oral veriliş için farmasötik bileşimler farmasötik olarak kabul edilebilir ekşiپیانlarla,

- 15 örneğin bağlayıcı maddeler (örneğin prejelatinize mısır nişastası, polivinilpirrolidon veya hidroksipropil metil selüloz); dolgu maddeleri (örneğin laktoz, mikrokristalli selüloz veya kalsiyum hidrojenfosfat); yağlayıcı maddeler (örneğin magnezyum stearat, talk veya silika); dağıtıcı maddeler (örneğin patates nişastası veya sodyum glikolat); veya ıslatıcı maddeler (örneğin sodyum lauril sülfat) ile birlikte geleneksel yollarla hazırlanmış örneğin tabletler, pastiller veya kapsüller formunda olabilir. Tabletler teknikte gayet iyi bilinen usullerle
- 20 kaplanabilir. Oral verilise yönelik sıvı preparasyonlar, örneğin çözeltiler, şuruplar veya süspansiyonlar formunda olabilir veya kullanım öncesinde su veya bir başka uygun vasıta ile hazırlanan bir kuru ürün şeklinde sunulabilirler. Bu tür sıvı preparasyonlar farmasötik olarak kabul edilebilir katkı maddeleriyle, örneğin süspansiyon oluşturan maddeler, emülsifiye edici maddeler, susuz vasıta veya koruyucu maddelerle birlikte geleneksel yollarla
- 25 hazırlanabilirler. Uygun bulunduğunda preparasyonlar tampon tuzları, lezzet katıcı maddeler, renklendirici maddeler veya tatlandırıcı maddeler de içerebilir.

Oral verilise yönelik preparasyonlar etkin bileşiğin kontrollü salımını sağlamak için uygun şekilde formüle edilebilir.

Bukkal veriliş için bileşimler geleneksel tarzda formüle edilen tabletler veya pastiller

- 30 formunda olabilir.

Buluşa ait bispesifik antikorlar enjeksiyonla, örneğin bolus enjeksiyonla veya infüzyonla parenteral veriliş için formüle edilebilir. Enjeksiyon formülasyonları birim dozaj formunda,

albümine bağlandığında, teknikte bilinen uygun herhangi bir usulü kullanarak çift spesifik füzyon proteininin insan veya rekombinant serum albüminle önceden formüle edilmesi istenebilir.

Farmasötik formülasyon bir sıvı, örneğin bir çözelti veya süspansiyon olduğunda,

- 5 formülasyon ayrıca albümin, örneğin insan serum albümin, bilhassa rekombinant albümin örneğin rekombinant insan serum albümin içerebilir. Uygun miktarlar formülasyon toplamına göre ağ/ağ olarak %2'den daha az, özellikle ağ/ağ olarak %1, %0.5 veya %0.1'den daha az aralığında olabilir. Bu, formülasyondaki antikor bileşenin stabilize edilmesine yardımcı olabilir. Farmasötik bileşim daha sonra sulu bir çözücü ile sulandırılıp hazırlanmak üzere
- 10 liyofilize edilebilir.

Bir yön itibarıyla buluşa uygun bir liyofilize "antikor" içeren bir birim doz kabı, örneğin bir flakon sağlanır.

Oral veriliş için farmasötik bileşimler farmasötik olarak kabul edilebilir ekşiپیانlarla,

- 15 örneğin bağlayıcı maddeler (örneğin prejelatinize mısır nişastası, polivinilpirrolidon veya hidroksipropil metil selüloz); dolgu maddeleri (örneğin laktoz, mikrokristalli selüloz veya kalsiyum hidrojenfosfat); yağlayıcı maddeler (örneğin magnezyum stearat, talk veya silika); dağıtıcı maddeler (örneğin patates nişastası veya sodyum glikolat); veya ıslatıcı maddeler (örneğin sodyum lauril sülfat) ile birlikte geleneksel yollarla hazırlanmış örneğin tabletler, pastiller veya kapsüller formunda olabilir. Tabletler teknikte gayet iyi bilinen usullerle
- 20 kaplanabilir. Oral verilise yönelik sıvı preparasyonlar, örneğin çözeltiler, şuruplar veya süspansiyonlar formunda olabilir veya kullanım öncesinde su veya bir başka uygun vasıta ile hazırlanan bir kuru ürün şeklinde sunulabilirler. Bu tür sıvı preparasyonlar farmasötik olarak kabul edilebilir katkı maddeleriyle, örneğin süspansiyon oluşturan maddeler, emülsifiye edici maddeler, susuz vasıta veya koruyucu maddelerle birlikte geleneksel yollarla
- 25 hazırlanabilirler. Uygun bulunduğunda preparasyonlar tampon tuzları, lezzet katıcı maddeler, renklendirici maddeler veya tatlandırıcı maddeler de içerebilir.

Oral verilise yönelik preparasyonlar etkin bileşiğin kontrollü salımını sağlamak için uygun şekilde formüle edilebilir.

Bukkal veriliş için bileşimler geleneksel tarzda formüle edilen tabletler veya pastiller

- 30 formunda olabilir.

Buluşa ait bispesifik antikorlar enjeksiyonla, örneğin bolus enjeksiyonla veya infüzyonla parenteral veriliş için formüle edilebilir. Enjeksiyon formülasyonları birim dozaj formunda,

örneğin cam ampullerde veya çok dozlu kaplarda, örneğin cam flakonlarda sunulabilir.

Enjeksiyon bileşimleri süspansiyonlar, çözelti veya yağlı veya sulu vasıtalarda emülsiyonlar gibi formlarda olabilir ve formülasyona yardımcı maddeler, örneğin süspansiyon yapıcı maddeler, stabilize edici maddeler, koruyucu maddeler veya dağıtıcı maddeler içerebilirler. Alternatif olarak, etken madde kullanım öncesinde uygun bir vasıta ile, örneğin steril pirojensiz suyla hazırlanan toz formunda olabilir.

Buluşa ait bispesifik antikörler, yukarıda açıklanan formülasyonlara ilaveten bir depo preparasyon şeklinde de formüle edilebilir. Bu tür uzun etkili formülasyonlar implantasyon veya intramüsküler enjeksiyon yoluyla verilebilirler.

- 10 Nazal veriliş veya inhalasyon yoluyla veriliş söz konusu olduğunda mevcut buluşa ait bileşikler uygun bir itici gaz, örneğin diklorodiflorometan, florotriklorometan, diklorotetrafloroetan, karbondiyoksit veya bir başka uygun gaz veya gaz karışımı kullanarak basınçlı paketler veya bir nebülizatör için bir aerosol sprey formunda kolaylıkla uygulanabilir.

- 15 Eğer istenirse bileşimler etken madde içeren bir veya daha fazla birim dozaj formunu bulundurabilecek bir paket veya dağıtıcı alet içinde sunulabilir. Paketin veya dağıtıcı aletin beraberinde verilise ilişkin talimatlar bulunabilir.

- Topikal veriliş için mevcut buluşa ait bileşikler bir veya daha fazla farmasötik olarak kabul edilebilir taşıyıcı içinde süspanse edilmiş veya çözündürülmüş halde etkin bileşen içeren uygun bir merhem şeklinde kolaylıkla formüle edilebilir. Belli başlı taşıyıcılar, örneğin 20 mineral yağ, sıvı petrol, propilen glikol, polioksietilen, polioksipropilen, emülsifiye edici vaks ve suyu içerir. Alternatif olarak, mevcut buluşa ait bileşikler bir veya daha fazla farmasötik olarak kabul edilebilir taşıyıcı içinde süspansiyon halinde veya çözündürülmüş halde etkin bileşen içeren uygun bir losyon şeklinde formüle edilebilir. Belli başlı taşıyıcılar, örneğin mineral yağ, sorbitan monostearat, polisorbata 60, setil esterlerin vaksı, setearil alkol, benzil 25 alkol, 2-oktildodekanol ve suyu içerir.

Bir örnekte formülasyon inhalasyon dahil olmak üzere topikal verilişler için bir formülasyon şeklinde sağlanır.

- Uygun solunabilir preparasyonlar solunabilir tozları, itici gazlar içeren ölçülü aerosoller veya itici gazlardan muaf solunabilir çözelti içerir. Etkin madde içeren açıklamaya uygun 30 solunabilir tozlar sadece yukarıda bahsedilen etken maddelerden veya yukarıda bahsedilen etken maddelerin fizyolojik olarak kabul edilebilir ekşiyanla bir karışımından oluşabilir.

Bu solunabilir tozlar monosakaritleri (örneğin glukoz veya arabinoz), disakaritleri (örneğin

örneğin cam ampullerde veya çok dozlu kaplarda, örneğin cam flakonlarda sunulabilir.

Enjeksiyon bileşimleri süspansiyonlar, çözelti veya yağlı veya sulu vasıtalarda emülsiyonlar gibi formlarda olabilir ve formülasyona yardımcı maddeler, örneğin süspansiyon yapıcı maddeler, stabilize edici maddeler, koruyucu maddeler veya dağıtıcı maddeler içerebilirler. Alternatif olarak, etken madde kullanım öncesinde uygun bir vasıta ile, örneğin steril pirojeniz suyla hazırlanan toz formunda olabilir.

Buluşa ait bispesifik antikörler, yukarıda açıklanan formülasyonlara ilaveten bir depo preparasyon şeklinde de formüle edilebilir. Bu tür uzun etkili formülasyonlar implantasyon veya intramüsküler enjeksiyon yoluyla verilebilirler.

- 10 Nazal veriliş veya inhalasyon yoluyla veriliş söz konusu olduğunda mevcut buluşa ait bileşikler uygun bir itici gaz, örneğin diklorodiflorometan, florotriklorometan, diklorotetrafloroetan, karbondiyoksit veya bir başka uygun gaz veya gaz karışımı kullanarak basınçlı paketler veya bir nebulizatör için bir aerosol sprey formunda kolaylıkla uygulanabilir.

- 15 Eğer istenirse bileşimler etken madde içeren bir veya daha fazla birim dozaj formunu bulundurabilecek bir paket veya dağıtıcı alet içinde sunulabilir. Paketin veya dağıtıcı aletin beraberinde verilise ilişkin talimatlar bulunabilir.

- Topikal veriliş için mevcut buluşa ait bileşikler bir veya daha fazla farmasötik olarak kabul edilebilir taşıyıcı içinde süspanse edilmiş veya çözündürülmüş halde etkin bileşen içeren uygun bir merhem şeklinde kolaylıkla formüle edilebilir. Belli başlı taşıyıcılar, örneğin 20 mineral yağ, sıvı petrol, propilen glikol, polioksietilen, polioksipropilen, emülsifiye edici vaks ve suyu içerir. Alternatif olarak, mevcut buluşa ait bileşikler bir veya daha fazla farmasötik olarak kabul edilebilir taşıyıcı içinde süspansiyon halinde veya çözündürülmüş halde etkin bileşen içeren uygun bir losyon şeklinde formüle edilebilir. Belli başlı taşıyıcılar, örneğin mineral yağ, sorbitan monostearat, polisorbata 60, setil esterlerin vaksı, setearil alkol, benzil 25 alkol, 2-oktildodekanol ve suyu içerir.

Bir örnekte formülasyon inhalasyon dahil olmak üzere topikal verilişler için bir formülasyon şeklinde sağlanır.

- Uygun solunabilir preparasyonlar solunabilir tozları, itici gazlar içeren ölçülü aerosoller veya itici gazlardan muaf solunabilir çözelti içerir. Etkin madde içeren açıklamaya uygun 30 solunabilir tozlar sadece yukarıda bahsedilen etken maddelerden veya yukarıda bahsedilen etken maddelerin fizyolojik olarak kabul edilebilir ekşiyanla bir karışımından oluşabilir.

Bu solunabilir tozlar monosakaritleri (örneğin glukoz veya arabinoz), disakaritleri (örneğin

örneğin cam ampullerde veya çok dozlu kaplarda, örneğin cam flakonlarda sunulabilir.

Enjeksiyon bileşimleri süspansiyonlar, çözelti veya yağlı veya sulu vasıtalarda emülsiyonlar gibi formlarda olabilir ve formülasyona yardımcı maddeler, örneğin süspansiyon yapıcı maddeler, stabilize edici maddeler, koruyucu maddeler veya dağıtıcı maddeler

- 5 içerebilirler. Alternatif olarak, etken madde kullanım öncesinde uygun bir vasıta ile, örneğin steril pirojeniz suyla hazırlanan toz formunda olabilir.

Buluşa ait bispesifik antikörler, yukarıda açıklanan formülasyonlara ilaveten bir depo preparasyon şeklinde de formüle edilebilir. Bu tür uzun etkili formülasyonlar implantasyon veya intramüsküler enjeksiyon yoluyla verilebilirler.

- 10 Nazal veriliş veya inhalasyon yoluyla veriliş söz konusu olduğunda mevcut buluşa ait bileşikler uygun bir itici gaz, örneğin diklorodiflorometan, florotriklorometan, diklorotetrafloroetan, karbondiyoksit veya bir başka uygun gaz veya gaz karışımı kullanarak basınçlı paketler veya bir nebulizatör için bir aerosol sprey formunda kolaylıkla uygulanabilir.

- Eğer istenirse bileşimler etken madde içeren bir veya daha fazla birim dozaj formunu
15 bulundurabilecek bir paket veya dağıtıcı alet içinde sunulabilir. Paketin veya dağıtıcı aletin beraberinde verilise ilişkin talimatlar bulunabilir.

- Topikal veriliş için mevcut buluşa ait bileşikler bir veya daha fazla farmasötik olarak kabul edilebilir taşıyıcı içinde süspanse edilmiş veya çözündürülmüş halde etkin bileşen içeren uygun bir merhem şeklinde kolaylıkla formüle edilebilir. Belli başlı taşıyıcılar, örneğin
20 mineral yağ, sıvı petrol, propilen glikol, polioksietilen, polioksipropilen, emülsifiye edici vaks ve suyu içerir. Alternatif olarak, mevcut buluşa ait bileşikler bir veya daha fazla farmasötik olarak kabul edilebilir taşıyıcı içinde süspansiyon halinde veya çözündürülmüş halde etkin bileşen içeren uygun bir losyon şeklinde formüle edilebilir. Belli başlı taşıyıcılar, örneğin mineral yağ, sorbitan monostearat, polisorbata 60, setil esterlerin vaksı, setearil alkol, benzil
25 alkol, 2-oktildodekanol ve suyu içerir.

Bir örnekte formülasyon inhalasyon dahil olmak üzere topikal verilişler için bir formülasyon şeklinde sağlanır.

- Uygun solunabilir preparasyonlar solunabilir tozları, itici gazlar içeren ölçülü aerosoller veya itici gazlardan muaf solunabilir çözelti içerir. Etkin madde içeren açıklamaya uygun
30 solunabilir tozlar sadece yukarıda bahsedilen etken maddelerden veya yukarıda bahsedilen etken maddelerin fizyolojik olarak kabul edilebilir ekspananla bir karışımından oluşabilir.

Bu solunabilir tozlar monosakaritleri (örneğin glukoz veya arabinoz), disakaritleri (örneğin

laktoz, sakaroz, maltoz), oligo ve polisakaritleri (örneğin dekstranlar), polialkoller (örneğin sorbitol, mannitol, ksilitol), tuzları (örneğin sodyum klorür, kalsiyum karbonat) veya bunların bir diğeri ile karışımlarını içerebilir. Mono veya disakaritlerin kullanılması, sadece bu şekilde olmasa da özellikle hidratları formunda laktoz veya glukozun kullanılması uygun olur.

- 5 Akciğerde biriken parçacıkların 10 mikronun altında, örneğin 1-9 mikron, örneğin 0.1 ila 5 µm, özellikle 1 ila 5 µm bir parçacık boyutuna sahip olmaları gereklidir. Etken maddenin (antikor veya fragman gibi) parçacık boyutu çok önemlidir.

Solunabilir aerosollerin hazırlanmasında kullanılabilecek itici gazlar teknikte bilinmektedir.

- 10 Uygun itici gazlar n-propan, n-bütan veya izobütan gibi hidrokarbonlar ve klorlanmış veya florlanmış metan, etan, propan, bütan, siklopropan veya siklobütan türevleri gibi halohidrokarbonlar arasından seçilir. Yukarıda bahsedilen itici gazlar tek başlarına veya bunların karışımları şeklinde kullanılabilir.

- 15 Özellikle uygun itici gazlar TG 11, TG 12, TG 134a ve TG227 arasından seçilen halojenli alkan türevleridir. Yukarıda bahsedilen halojenli hidrokarbonlar arasında TG134a (1,1,1,2-tetrafloroetan) ve TG227 (1,1,1,2,3,3,3-heptafloropropan) ve bunların karışımları özellikle uygundur.

İtici gaz içeren solunabilir aerosoller yardımcı çözücüler, stabilizatörler, yüzey aktif maddeler (sümfaktanlar), antioksidanlar, yağlayıcı maddeler ve pH düzenleyici maddeler gibi başka içerik maddeler de içerebilirler. Bütün bu içerik maddeler teknikte bilinmektedir.

- 20 İtici gaz içeren solunabilir aerosoller ağırlıkça %5'e dek etken madde içerebilir. Aerosoller, örneğin ağırlıkça %0.002 ila %5, ağırlıkça %0.01 ila %3, ağırlıkça %0.015 ila %2, ağırlıkça %0.1 ila %2, ağırlıkça %0.5 ila %2 veya ağırlıkça %0.5 ila %1 etken madde içerir.

Alternatif olarak akciğerlere topikal verilişler bir sıvı çözelti veya süspansiyon formülasyonunun, örneğin bir nebülizatör, örneğin bir kompresöre bağlı bir nebülizatör

- 25 (örneğin, Pari Respiratory Equipment, Inc. (Richmond, Va.) tarafından imal edilen bir Pari Master(R) kompresöre bağlı Pari LC-Jet Plus(R) nebülizatör) gibi bir alet kullanarak verilmesi yoluyla da olabilir.

Buluşa ait antikor formatları bir çözücü içinde dağıtılmış halde, örneğin bir çözelti veya bir süspansiyon formunda uygulanabilir. Uygun bir fizyolojik çözelti, örneğin salin veya bir

- 30 başka farmakolojik olarak kabul edilebilir çözücü veya tamponlanmış çözelti içinde süspansiyon yapılabilir. Teknikte bilinen tamponlanmış çözeltiler, yaklaşık 4.0 ila 5.0 bir pH elde etmek için 1 ml su başına 0.05 mg ila 0.15 mg disodyum edetat, 8.0 mg ila 9.0 mg NaCl,

laktoz, sakaroz, maltoz), oligo ve polisakaritleri (örneğin dekstranlar), polialkolleri (örneğin sorbitol, mannitol, ksilitol), tuzları (örneğin sodyum klorür, kalsiyum karbonat) veya bunların bir diğeri ile karışımlarını içerebilir. Mono veya disakaritlerin kullanılması, sadece bu şekilde olmasa da özellikle hidratları formunda laktoz veya glukozun kullanılması uygun olur.

- 5 Akciğerde biriken parçacıkların 10 mikronun altında, örneğin 1-9 mikron, örneğin 0.1 ila 5 µm, özellikle 1 ila 5 µm bir parçacık boyutuna sahip olmaları gereklidir. Etken maddenin (antikor veya fragman gibi) parçacık boyutu çok önemlidir.

Solunabilir aerosollerin hazırlanmasında kullanılabilecek itici gazlar teknikte bilinmektedir.

- 10 Uygun itici gazlar n-propan, n-bütan veya izobütan gibi hidrokarbonlar ve klorlanmış veya florlanmış metan, etan, propan, bütan, siklopropan veya siklobütan türevleri gibi halohidrokarbonlar arasından seçilir. Yukarıda bahsedilen itici gazlar tek başlarına veya bunların karışımları şeklinde kullanılabilir.

- 15 Özellikle uygun itici gazlar TG 11, TG 12, TG 134a ve TG227 arasından seçilen halojenli alkan türevleridir. Yukarıda bahsedilen halojenli hidrokarbonlar arasında TG134a (1,1,1,2-tetrafloroetan) ve TG227 (1,1,1,2,3,3,3-heptafloropropan) ve bunların karışımları özellikle uygundur.

İtici gaz içeren solunabilir aerosoller yardımcı çözücüler, stabilizatörler, yüzey aktif maddeler (sümfaktanlar), antioksidanlar, yağlayıcı maddeler ve pH düzenleyici maddeler gibi başka içerik maddeler de içerebilirler. Bütün bu içerik maddeler teknikte bilinmektedir.

- 20 İtici gaz içeren solunabilir aerosoller ağırlıkça %5'e dek etken madde içerebilir. Aerosoller, örneğin ağırlıkça %0.002 ila %5, ağırlıkça %0.01 ila %3, ağırlıkça %0.015 ila %2, ağırlıkça %0.1 ila %2, ağırlıkça %0.5 ila %2 veya ağırlıkça %0.5 ila %1 etken madde içerir.

Alternatif olarak akciğerlere topikal verilişler bir sıvı çözelti veya süspansiyon formülasyonunun, örneğin bir nebülizatör, örneğin bir kompresöre bağlı bir nebülizatör

- 25 (örneğin, Pari Respiratory Equipment, Inc. (Richmond, Va.) tarafından imal edilen bir Pari Master(R) kompresöre bağlı Pari LC-Jet Plus(R) nebülizatör) gibi bir alet kullanarak verilmesi yoluyla da olabilir.

Buluşa ait antikor formatları bir çözücü içinde dağıtılmış halde, örneğin bir çözelti veya bir süspansiyon formunda uygulanabilir. Uygun bir fizyolojik çözelti, örneğin salin veya bir

- 30 başka farmakolojik olarak kabul edilebilir çözücü veya tamponlanmış çözelti içinde süspansiyon yapılabilir. Teknikte bilinen tamponlanmış çözeltiler, yaklaşık 4.0 ila 5.0 bir pH elde etmek için 1 ml su başına 0.05 mg ila 0.15 mg disodyum edetat, 8.0 mg ila 9.0 mg NaCl,

laktoz, sakaroz, maltoz), oligo ve polisakaritleri (örneğin dekstranlar), polialkoller (örneğin sorbitol, mannitol, ksilitol), tuzları (örneğin sodyum klorür, kalsiyum karbonat) veya bunların bir diğeri ile karışımlarını içerebilir. Mono veya disakaritlerin kullanılması, sadece bu şekilde olmasa da özellikle hidratları formunda laktoz veya glukozun kullanılması uygun olur.

- 5 Akciğerde biriken parçacıkların 10 mikronun altında, örneğin 1-9 mikron, örneğin 0.1 ila 5 µm, özellikle 1 ila 5 µm bir parçacık boyutuna sahip olmaları gereklidir. Etken maddenin (antikor veya fragman gibi) parçacık boyutu çok önemlidir.

Solunabilir aerosollerin hazırlanmasında kullanılabilecek itici gazlar teknikte bilinmektedir.

- 10 Uygun itici gazlar n-propan, n-bütan veya izobütan gibi hidrokarbonlar ve klorlanmış veya florlanmış metan, etan, propan, bütan, siklopropan veya siklobütan türevleri gibi halohidrokarbonlar arasından seçilir. Yukarıda bahsedilen itici gazlar tek başlarına veya bunların karışımları şeklinde kullanılabilir.

- 15 Özellikle uygun itici gazlar TG 11, TG 12, TG 134a ve TG227 arasından seçilen halojenli alkan türevleridir. Yukarıda bahsedilen halojenli hidrokarbonlar arasında TG134a (1,1,1,2-tetrafloroetan) ve TG227 (1,1,1,2,3,3,3-heptafloropropan) ve bunların karışımları özellikle uygundur.

İtici gaz içeren solunabilir aerosoller yardımcı çözücüler, stabilizatörler, yüzey aktif maddeler (sümfaktanlar), antioksidanlar, yağlayıcı maddeler ve pH düzenleyici maddeler gibi başka içerik maddeler de içerebilirler. Bütün bu içerik maddeler teknikte bilinmektedir.

- 20 İtici gaz içeren solunabilir aerosoller ağırlıkça %5'e dek etken madde içerebilir. Aerosoller, örneğin ağırlıkça %0.002 ila %5, ağırlıkça %0.01 ila %3, ağırlıkça %0.015 ila %2, ağırlıkça %0.1 ila %2, ağırlıkça %0.5 ila %2 veya ağırlıkça %0.5 ila %1 etken madde içerir.

Alternatif olarak akciğerlere topikal verilişler bir sıvı çözelti veya süspansiyon formülasyonunun, örneğin bir nebülizatör, örneğin bir kompresöre bağlı bir nebülizatör

- 25 (örneğin, Pari Respiratory Equipment, Inc. (Richmond, Va.) tarafından imal edilen bir Pari Master(R) kompresöre bağlı Pari LC-Jet Plus(R) nebülizatör) gibi bir alet kullanarak verilmesi yoluyla da olabilir.

Buluşa ait antikor formatları bir çözücü içinde dağıtılmış halde, örneğin bir çözelti veya bir süspansiyon formunda uygulanabilir. Uygun bir fizyolojik çözelti, örneğin salin veya bir

- 30 başka farmakolojik olarak kabul edilebilir çözücü veya tamponlanmış çözelti içinde süspansiyon yapılabilir. Teknikte bilinen tamponlanmış çözeltiler, yaklaşık 4.0 ila 5.0 bir pH elde etmek için 1 ml su başına 0.05 mg ila 0.15 mg disodyum edetat, 8.0 mg ila 9.0 mg NaCl,

0.15 mg ila 0.25 mg polisorbat, 0.25 mg ila 0.30 mg susuz sitrik asit ve 0.45 mg ila 0.55 mg sodyum sitrat içerebilir. Bir süspansiyonda örneğin liyofilize antikor kullanılabilir.

5 Terapötik süspansiyonlar veya çözelti formülasyonları bir veya daha fazla ekşiپیان da içerebilir. Ekşiپیانlar teknikte gayet iyi bilinmektedir ve tamponları (örneğin, sitrat tampon, fosfat tampon, asetat tampon ve bikarbonat tampon), amino asitleri, üreyi, alkoller, askorbik asidi, fosfolipitleri, proteinleri (örneğin, serum albümin), EDTA'yı, sodyum klorürü, lipozomları, mannitolü, sorbitolü ve gliserolü içerirler. Çözeltiler veya süspansiyonlar lipozomlarda veya biyobozunur mikro kürelerde kapsüllenebilirler. Formülasyon genellikle steril imalat işlemlerini kullanarak büyük ölçüde steril bir formda sağlanacaktır.

10 Bu üretimi ve teknikte genel bilgi sahibi olanların aşına olduğu usullerle formülasyonda kullanılan tamponlanmış çözücünün/çözeltinin filtre edilmesi, antikorun steril tamponlanmış çözücü çözeltisinde aseptik süspansiyon haline getirilmesi ve formülasyonun steril kaplara dağıtılması yoluyla sterilizasyonu içerebilir.

15 Mevcut açıklamaya ait nebulizasyon formülasyonu, örneğin folyo muhafazalarda ambalajlanmış tek dozluk birimler şeklinde (örneğin, kapalı plastik kaplar veya flakonlar) sunulabilir. Her flakon, örneğin 2 ml çözücü/çözelti tampon bir hacimde bir birim doz içerir.

Mevcut açıklamaya ait antikor formatlarının nebulizasyon yoluyla verilmek için uygun oldukları düşünülmüştür.

20 Oftalmik veriliş için mevcut buluşa ait bileşikler izotonik, pH'ı ayarlanmış steril salin içinde, bir koruyucu madde, örneğin bakterisidal veya fungisidal madde, örneğin fenilmerkürük nitrat, benzilalkonyum klorür veya klorheksidin asetat mevcudiyetinde veya yokluğunda mikroiyonize süspansiyonlar şeklinde kolaylıkla formüle edilebilir. Alternatif olarak, oftalmik veriliş için bileşikler saf vazelin gibi bir merhem içinde formüle edilebilir.

25 Rektal veriliş için mevcut buluşa ait bileşikler fitiller şeklinde kolaylıkla formüle edilebilir. Bunlar, etkin bileşenin oda sıcaklığında katı, rektal sıcaklıkta ise sıvı olan ve dolayısıyla etkin bileşeni açığa çıkartmak üzere rektum içinde eriyecek tahriş edici olmayan uygun bir ekşiپیانla karıştırılmasıyla hazırlanabilirler. Bu tür maddeler, örneğin kakao yağını, balmumunu ve polietilen glikolleri içerir.

30 Buluşa ait bir bileşiğin belli bir rahatsızlığın profilaksisi veya tedavisi için gerekli olan miktarı seçilen bileşiğe ve tedavi edilecek hastanın durumuna bağlı olarak çeşitlilik gösterecektir. Bununla birlikte, genel olarak günlük dozajlar oral veya bukkal yoldan veriliş için vücut ağırlığına yaklaşık 10 ng/kg ila 1000 mg/kg, tipik olarak 100 ng/kg ila 100 mg/kg, örneğin

0.15 mg ila 0.25 mg polisorbat, 0.25 mg ila 0.30 mg susuz sitrik asit ve 0.45 mg ila 0.55 mg sodyum sitrat içerebilir. Bir süspansiyonda örneğin liyofilize antikor kullanılabilir.

Terapötik süspansiyonlar veya çözelti formülasyonları bir veya daha fazla ekşiپیان da içerebilir. Ekşiپیانlar teknikte gayet iyi bilinmektedir ve tamponları (örneğin, sitrat tampon, fosfat tampon, asetat tampon ve bikarbonat tampon), amino asitleri, üreyi, alkoller, askorbik asidi, fosfolipitleri, proteinleri (örneğin, serum albümin), EDTA'yı, sodyum klorürü, lipozomları, mannitolü, sorbitolü ve gliserolü içerirler. Çözeltiler veya süspansiyonlar lipozomlarda veya biyobozunur mikro kürelerde kapsüllenebilirler. Formülasyon genellikle steril imalat işlemlerini kullanarak büyük ölçüde steril bir formda sağlanacaktır.

- 10 Bu üretimi ve teknikte genel bilgi sahibi olanların aşına olduğu usullerle formülasyonda kullanılan tamponlanmış çözücünün/çözeltinin filtre edilmesi, antikorun steril tamponlanmış çözücü çözeltisinde aseptik süspansiyon haline getirilmesi ve formülasyonun steril kaplara dağıtılması yoluyla sterilizasyonu içerebilir.

- 15 Mevcut açıklamaya ait nebulizasyon formülasyonu, örneğin folyo muhafazalarda ambalajlanmış tek dozluk birimler şeklinde (örneğin, kapalı plastik kaplar veya flakonlar) sunulabilir. Her flakon, örneğin 2 ml çözücü/çözelti tampon bir hacimde bir birim doz içerir.

Mevcut açıklamaya ait antikor formatlarının nebulizasyon yoluyla verilmek için uygun oldukları düşünülmüştür.

- 20 Oftalmik veriliş için mevcut buluşa ait bileşikler izotonik, pH'ı ayarlanmış steril salin içinde, bir koruyucu madde, örneğin bakterisidal veya fungisidal madde, örneğin fenilmerkürük nitrat, benzilalkonyum klorür veya klorheksidin asetat mevcudiyetinde veya yokluğunda mikroiyonize süspansiyonlar şeklinde kolaylıkla formüle edilebilir. Alternatif olarak, oftalmik veriliş için bileşikler saf vazelin gibi bir merhem içinde formüle edilebilir.

- 25 Rektal veriliş için mevcut buluşa ait bileşikler fitiller şeklinde kolaylıkla formüle edilebilir. Bunlar, etkin bileşenin oda sıcaklığında katı, rektal sıcaklıkta ise sıvı olan ve dolayısıyla etkin bileşeni açığa çıkartmak üzere rektum içinde eriyecek tahriş edici olmayan uygun bir ekşiپیانla karıştırılmasıyla hazırlanabilirler. Bu tür maddeler, örneğin kakao yağını, balmumunu ve polietilen glikolleri içerir.

- 30 Buluşa ait bir bileşiğin belli bir rahatsızlığın profilaksisi veya tedavisi için gerekli olan miktarı seçilen bileşiğe ve tedavi edilecek hastanın durumuna bağlı olarak çeşitlilik gösterecektir. Bununla birlikte, genel olarak günlük dozajlar oral veya bukkal yoldan veriliş için vücut ağırlığına yaklaşık 10 ng/kg ila 1000 mg/kg, tipik olarak 100 ng/kg ila 100 mg/kg, örneğin

0.15 mg ila 0.25 mg polisorbat, 0.25 mg ila 0.30 mg susuz sitrik asit ve 0.45 mg ila 0.55 mg sodyum sitrat içerebilir. Bir süspansiyonda örneğin liyofilize antikor kullanılabilir.

5 Terapötik süspansiyonlar veya çözelti formülasyonları bir veya daha fazla ekşiپیان da içerebilir. Ekşiپیانlar teknikte gayet iyi bilinmektedir ve tamponları (örneğin, sitrat tampon, fosfat tampon, asetat tampon ve bikarbonat tampon), amino asitleri, üreyi, alkoller, askorbik asidi, fosfolipitleri, proteinleri (örneğin, serum albümin), EDTA'yı, sodyum klorürü, lipozomları, mannitolü, sorbitolü ve gliserolü içerirler. Çözeltiler veya süspansiyonlar lipozomlarda veya biyobozunur mikro kürelerde kapsüllenebilirler. Formülasyon genellikle steril imalat işlemlerini kullanarak büyük ölçüde steril bir formda sağlanacaktır.

10 Bu üretimi ve teknikte genel bilgi sahibi olanların aşına olduğu usullerle formülasyonda kullanılan tamponlanmış çözücünün/çözeltinin filtre edilmesi, antikorun steril tamponlanmış çözücü çözeltisinde aseptik süspansiyon haline getirilmesi ve formülasyonun steril kaplara dağıtılması yoluyla sterilizasyonu içerebilir.

15 Mevcut açıklamaya ait nebulizasyon formülasyonu, örneğin folyo muhafazalarda ambalajlanmış tek dozluk birimler şeklinde (örneğin, kapalı plastik kaplar veya flakonlar) sunulabilir. Her flakon, örneğin 2 ml çözücü/çözelti tampon bir hacimde bir birim doz içerir.

Mevcut açıklamaya ait antikor formatlarının nebulizasyon yoluyla verilmek için uygun oldukları düşünülmüştür.

20 Oftalmik veriliş için mevcut buluşa ait bileşikler izotonik, pH'ı ayarlanmış steril salin içinde, bir koruyucu madde, örneğin bakterisidal veya fungisidal madde, örneğin fenilmerkürük nitrat, benzilalkonyum klorür veya klorheksidin asetat mevcudiyetinde veya yokluğunda mikroiyonize süspansiyonlar şeklinde kolaylıkla formüle edilebilir. Alternatif olarak, oftalmik veriliş için bileşikler saf vazelin gibi bir merhem içinde formüle edilebilir.

25 Rektal veriliş için mevcut buluşa ait bileşikler fitiller şeklinde kolaylıkla formüle edilebilir. Bunlar, etkin bileşenin oda sıcaklığında katı, rektal sıcaklıkta ise sıvı olan ve dolayısıyla etkin bileşeni açığa çıkartmak üzere rektum içinde eriyecek tahriş edici olmayan uygun bir ekşiپیانla karıştırılmasıyla hazırlanabilirler. Bu tür maddeler, örneğin kakao yağını, balmumunu ve polietilen glikolleri içerir.

30 Buluşa ait bir bileşiğin belli bir rahatsızlığın profilaksisi veya tedavisi için gerekli olan miktarı seçilen bileşiğe ve tedavi edilecek hastanın durumuna bağlı olarak çeşitlilik gösterecektir. Bununla birlikte, genel olarak günlük dozajlar oral veya bukkal yoldan veriliş için vücut ağırlığına yaklaşık 10 ng/kg ila 1000 mg/kg, tipik olarak 100 ng/kg ila 100 mg/kg, örneğin

yaklaşık 0.01 mg/kg ila 40 mg/kg, parenteral veriliş için vücut ağırlığınca yaklaşık 10 ng/kg ila 50 mg/kg ve nazal yoldan veriliş veya inhalasyon ve/ya insüflasyon yoluyla veriliş için yaklaşık 0.05 mg ila yaklaşık 1000 mg, örneğin yaklaşık 0.5 mg ila yaklaşık 1000 mg aralığında olabilir.

5 Mevcut tarifname bağlamında "bulundurma" "içerme" anlamına gelir.

Teknik açıdan uygun olduğunda buluşun düzenlemeleri birleştirilebilir.

Burada düzenlemeler bazı özellikleri/parçaları bulunduran şekilde tarif edilmiştir. Açıklama, söz konusu özelliklerden/parçalardan oluşan veya esas itibarıyla bunlardan oluşan ayrı düzenlemeleri de kapsamaktadır.

10 Buluş şimdi aşağıdaki örneklere gönderme yaparak açıklanmakta olup, bunlar sadece örnek oluşturmak için verilmektedir ve hiçbir şekilde mevcut buluşun en geniş anlamıyla istemlerde tanımlanan şekilde olan kapsamının bunlarla sınırlı olduğu düşünülmemelidir.

Şekillerin Listesi:

Şekil 1: dAb'nin C terminalde olduğu Fab-dAb'lerin şematik sunumu.

15 **Şekil 2A:** Fab-didAb'lerin şematik sunumu.

Şekil 2B: dAb'ler arasında ilave disülfür stabilizasyonu olan Fab-didAb'lerin şematik sunumu.

Şekil 3: FabA-dAbL3 (CK-SG₄SE) (1) ve FabA-dAbL3 (CK-G[APAPA]₂) (2) SDS PAGE analizi.

20 **Şekil 4:** FabA-dAbL3 (CK-SG₄SE) (1) ve FabA-dAbL3 (CK-G[APAPA]₂) (2) Western blot analizi.

Şekil 4a: FabB-didAb'lere ilişkin SDS PAGE

Şerit M = SeeBlue markörler

Şerit 1 & 2 = IgG kontrol

25 Şerit 3 = FabB

Şerit 4 = FabB-didAb, -dAbL1 (CK-G₄Sx₂) & dAbH1 (CH1-G₄Sx₂)

Şerit 5 = FabB-didAb, -dAbL2 (CK-G₄Sx₂) & dAbH2 (CH1-G₄Sx₂)

Şekil 5: Domen antikorları dAbH1, dAbH2, dAbL1 ve dAbL2'ye ait diziler ve bu antikorların her birinden türetilen CDR'ler.

30 **Şekil 6:** Bir başka domen antikoruyla füzyon yapan FabB ağır veya hafif zincir

yaklaşık 0.01 mg/kg ila 40 mg/kg, parenteral veriliş için vücut ağırlığınca yaklaşık 10 ng/kg ila 50 mg/kg ve nazal yoldan veriliş veya inhalasyon ve/ya insüflasyon yoluyla veriliş için yaklaşık 0.05 mg ila yaklaşık 1000 mg, örneğin yaklaşık 0.5 mg ila yaklaşık 1000 mg aralığında olabilir.

5 Mevcut tarifname bağlamında "bulundurma" "içerme" anlamına gelir.

Teknik açıdan uygun olduğunda buluşun düzenlemeleri birleştirilebilir.

Burada düzenlemeler bazı özellikleri/parçaları bulunduran şekilde tarif edilmiştir. Açıklama, söz konusu özelliklerden/parçalardan oluşan veya esas itibarıyla bunlardan oluşan ayrı düzenlemeleri de kapsamaktadır.

10 Buluş şimdi aşağıdaki örneklere gönderme yaparak açıklanmakta olup, bunlar sadece örnek oluşturmak için verilmektedir ve hiçbir şekilde mevcut buluşun en geniş anlamıyla istemlerde tanımlanan şekilde olan kapsamının bunlarla sınırlı olduğu düşünülmemelidir.

Şekillerin Listesi:

Şekil 1: dAb'nin C terminalde olduğu Fab-dAb'lerin şematik sunumu.

15 **Şekil 2A:** Fab-didAb'lerin şematik sunumu.

Şekil 2B: dAb'ler arasında ilave disülfür stabilizasyonu olan Fab-didAb'lerin şematik sunumu.

Şekil 3: FabA-dAbL3 (CK-SG₄SE) (1) ve FabA-dAbL3 (CK-G[APAPA]₂) (2) SDS PAGE analizi.

20 **Şekil 4:** FabA-dAbL3 (CK-SG₄SE) (1) ve FabA-dAbL3 (CK-G[APAPA]₂) (2) Western blot analizi.

Şekil 4a: FabB-didAb'lere ilişkin SDS PAGE

Şerit M = SeeBlue markörler

Şerit 1 & 2 = IgG kontrol

25 Şerit 3 = FabB

Şerit 4 = FabB-didAb, -dAbL1 (CK-G₄Sx₂) & dAbH1 (CH1-G₄Sx₂)

Şerit 5 = FabB-didAb, -dAbL2 (CK-G₄Sx₂) & dAbH2 (CH1-G₄Sx₂)

Şekil 5: Domen antikorları dAbH1, dAbH2, dAbL1 ve dAbL2'ye ait diziler ve bu antikorların her birinden türetilen CDR'ler.

30 **Şekil 6:** Bir başka domen antikoruyla füzyon yapan FabB ağır veya hafif zincir

yaklaşık 0.01 mg/kg ila 40 mg/kg, parenteral veriliş için vücut ağırlığınca yaklaşık 10 ng/kg ila 50 mg/kg ve nazal yoldan veriliş veya inhalasyon ve/ya insüflasyon yoluyla veriliş için yaklaşık 0.05 mg ila yaklaşık 1000 mg, örneğin yaklaşık 0.5 mg ila yaklaşık 1000 mg aralığında olabilir.

5 Mevcut tarifname bağlamında "bulundurma" "içerme" anlamına gelir.

Teknik açıdan uygun olduğunda buluşun düzenlemeleri birleştirilebilir.

Burada düzenlemeler bazı özellikleri/parçaları bulunduran şekilde tarif edilmiştir. Açıklama, söz konusu özelliklerden/parçalardan oluşan veya esas itibarıyla bunlardan oluşan ayrı düzenlemeleri de kapsamaktadır.

10 Buluş şimdi aşağıdaki örneklere gönderme yaparak açıklanmakta olup, bunlar sadece örnek oluşturmak için verilmektedir ve hiçbir şekilde mevcut buluşun en geniş anlamıyla istemlerde tanımlanan şekilde olan kapsamının bunlarla sınırlı olduğu düşünülmemelidir.

Şekillerin Listesi:

Şekil 1: dAb'nin C terminalde olduğu Fab-dAb'lerin şematik sunumu.

15 **Şekil 2A:** Fab-didAb'lerin şematik sunumu.

Şekil 2B: dAb'ler arasında ilave disülfür stabilizasyonu olan Fab-didAb'lerin şematik sunumu.

Şekil 3: FabA-dAbL3 (CK-SG₄SE) (1) ve FabA-dAbL3 (CK-G[APAPA]₂) (2) SDS PAGE analizi.

20 **Şekil 4:** FabA-dAbL3 (CK-SG₄SE) (1) ve FabA-dAbL3 (CK-G[APAPA]₂) (2) Western blot analizi.

Şekil 4a: FabB-didAb'lere ilişkin SDS PAGE

Şerit M = SeeBlue markörler

Şerit 1 & 2 = IgG kontrol

25 Şerit 3 = FabB

Şerit 4 = FabB-didAb, -dAbL1 (CK-G₄Sx₂) & dAbH1 (CH1-G₄Sx₂)

Şerit 5 = FabB-didAb, -dAbL2 (CK-G₄Sx₂) & dAbH2 (CH1-G₄Sx₂)

Şekil 5: Domen antikorları dAbH1, dAbH2, dAbL1 ve dAbL2'ye ait diziler ve bu antikorların her birinden türetilen CDR'ler.

30 **Şekil 6:** Bir başka domen antikoruyla füzyon yapan FabB ağır veya hafif zincir

değişken domenini içeren FabB-dAb yapıları.

Şekil 7 Fab'A ağır ve hafif zincir dizileri ve FabA ağır zincir dizisi.

Şekil 8a, 8b & 8c Murin özellikleri katılmış Fab-didAb amino asit dizileri.

Şekil 8a Çeşitli murin dAb'lerindeki CDR'lerin amino asit dizisi
5 gösterilmektedir.

Şekil 8b mFabD-mdidAb:
dAbL1(CK-G4Sx2)
dAbH1(CH1-G4Sx2)
dAbL2(CK-G4Sx2) &
10 dAbH2(CH1-G4Sx2) amino asit dizisi gösterilmektedir.

Şekil 8c mFabD-mdidAb:dAbL1(CK-G4Sx2) &
dAbH1(CH1-G4Sx2)mFabC-mdAbH1
dAbL2(CK-G4Sx2) &
dAbH2(CH1-G4Sx2) amino asit dizisi gösterilmektedir.

15 **Şekil 9** FabB-didAb'lere ilişkin SDS PAGE gösterilmektedir.
Şerit 1 & 4 Fab'B'dir
Şerit 2 & 5 FabB-didAb, -dAbL1(CK-G4Sx2) & -dAbH1(CH1-
G4Sx2)'dir
Şerit 3 & 6 FabB-didAb, -dAbL2(CK-G4Sx2) & -dAbH2(CH1-
20 G4Sx2)'dir

Şekil 10 bir ThermoFluor termal stabilite analizinin şematik sunumu
gösterilmektedir.

Şekil 11 etkinleştirilmiş fare T hücrelerine bağlı bir HAS-FITC sinyali/HAS-
FITC karışımları grafiği gösterilmektedir.

25 **Şekil 12** bir agregasyon stabilitesi analizi grafiği gösterilmektedir.

Şekil 13 subkutane ve intravenöz dozlama sonrasında zamana göre *in vivo*
konsantrasyon profilleri gösterilmektedir.

Şekil 14A, B ve C bazı CD4+ hücresi ve CD8+ hücresi kayıtları gösterilmektedir.

Şekil 15 FabB-645Fv SDS-PAGE analizi gösterilmektedir.

30 **Şekil 16** FabB-645Fv boyut dışlama analizi gösterilmektedir.

değişken domenini içeren FabB-dAb yapıları.

Şekil 7 Fab'A ağır ve hafif zincir dizileri ve FabA ağır zincir dizisi.

Şekil 8a, 8b & 8c Murin özellikleri katılmış Fab-didAb amino asit dizileri.

Şekil 8a Çeşitli murin dAb'lerindeki CDR'lerin amino asit dizisi
5 gösterilmektedir.

Şekil 8b mFabD-mdidAb:
dAbL1(CK-G4Sx2)
dAbH1(CH1-G4Sx2)
dAbL2(CK-G4Sx2) &
10 dAbH2(CH1-G4Sx2) amino asit dizisi gösterilmektedir.

Şekil 8c mFabD-mdidAb:dAbL1(CK-G4Sx2) &
dAbH1(CH1-G4Sx2)mFabC-mdAbH1
dAbL2(CK-G4Sx2) &
dAbH2(CH1-G4Sx2) amino asit dizisi gösterilmektedir.

Şekil 9 FabB-didAb'lere ilişkin SDS PAGE gösterilmektedir.
Şerit 1 & 4 Fab'B'dir
Şerit 2 & 5 FabB-didAb, -dAbL1(CK-G4Sx2) & -dAbH1(CH1-
G4Sx2)'dir
Şerit 3 & 6 FabB-didAb, -dAbL2(CK-G4Sx2) & -dAbH2(CH1-
20 G4Sx2)'dir

Şekil 10 bir ThermoFluor termal stabilite analizinin şematik sunumu
gösterilmektedir.

Şekil 11 etkinleştirilmiş fare T hücrelerine bağlı bir HAS-FITC sinyali/HAS-
FITC karışımları grafiği gösterilmektedir.

Şekil 12 bir agregasyon stabilitesi analizi grafiği gösterilmektedir.

Şekil 13 subkutane ve intravenöz dozlama sonrasında zamana göre *in vivo*
konsantrasyon profilleri gösterilmektedir.

Şekil 14A, B ve C bazı CD4+ hücresi ve CD8+ hücresi kayıtları gösterilmektedir.

Şekil 15 FabB-645Fv SDS-PAGE analizi gösterilmektedir.

Şekil 16 FabB-645Fv boyut dışlama analizi gösterilmektedir.

değişken domenini içeren FabB-dAb yapıları.

Şekil 7 Fab'A ağır ve hafif zincir dizileri ve FabA ağır zincir dizisi.

Şekil 8a, 8b & 8c Murin özellikleri katılmış Fab-didAb amino asit dizileri.

Şekil 8a Çeşitli murin dAb'lerindeki CDR'lerin amino asit dizisi
5 gösterilmektedir.

Şekil 8b mFabD-mdidAb:
dAbL1(CK-G4Sx2)
dAbH1(CH1-G4Sx2)
dAbL2(CK-G4Sx2) &
10 dAbH2(CH1-G4Sx2) amino asit dizisi gösterilmektedir.

Şekil 8c mFabD-mdidAb:dAbL1(CK-G4Sx2) &
dAbH1(CH1-G4Sx2)mFabC-mdAbH1
dAbL2(CK-G4Sx2) &
dAbH2(CH1-G4Sx2) amino asit dizisi gösterilmektedir.

Şekil 9 FabB-didAb'lere ilişkin SDS PAGE gösterilmektedir.
Şerit 1 & 4 Fab'B'dir
Şerit 2 & 5 FabB-didAb, -dAbL1(CK-G4Sx2) & -dAbH1(CH1-
G4Sx2)'dir
Şerit 3 & 6 FabB-didAb, -dAbL2(CK-G4Sx2) & -dAbH2(CH1-
20 G4Sx2)'dir

Şekil 10 bir ThermoFluor termal stabilite analizinin şematik sunumu
gösterilmektedir.

Şekil 11 etkinleştirilmiş fare T hücrelerine bağlı bir HAS-FITC sinyali/HAS-
FITC karışımları grafiği gösterilmektedir.

Şekil 12 bir agregasyon stabilitesi analizi grafiği gösterilmektedir.

Şekil 13 subkutane ve intravenöz dozlama sonrasında zamana göre *in vivo*
konsantrasyon profilleri gösterilmektedir.

Şekil 14A, B ve C bazı CD4+ hücresi ve CD8+ hücresi kayıtları gösterilmektedir.

Şekil 15 FabB-645Fv SDS-PAGE analizi gösterilmektedir.

Şekil 16 FabB-645Fv boyut dışlama analizi gösterilmektedir.

- Şekil 17** Çeşitli bağlayıcı uzunluklarıyla FabB-645Fv termogramları gösterilmektedir.
- Şekil 18** Bazı FabB yapılarının SDS-PAGE analizi gösterilmektedir
- Şekil 19** Çeşitli FabB-645Fv yapılarının boyut dışlama analizi gösterilmektedir.
- 5 **Şekil 20-24** Bazı formatlara ilişkin diziler gösterilmektedir.
- Şekil 25** Bir Fab-645dsFV yapısı için SDS-PAGE analizi gösterilmektedir; burada VH/VL çifti Fab C terminalinde bulunur ve disülfürle stabilize edilmiştir.
- Şekil 26** Şekil 25'teki bir yapıya ait boyut dışlama analizi gösterilmektedir.
- 10 **Şekil 27A** Mevcut açıklamaya uygun bir yapı için bir Thermofluor analizi gösterilmektedir.
- Şekil 27B** pH'a göre Tm grafiği gösterilmektedir.
- Şekil 28** mevcut açıklamaya uygun bir yapı için insan OX40 ligandının insan PCMB'lerine bağlanmasının inhibisyonuna dayanan bir *in vitro* analiz
- 15 **Şekil 29A-D** mevcut açıklamaya uygun bir yapının *in vivo* etkinliği ve özellikle CD4+ ve CD8+, kan, peritonal ve dalak hücreleri üzerindeki etki gösterilmektedir.
- Şekil 30A-D** açıklamaya uygun bazı formatlar için diziler gösterilmektedir.
- 20 **Şekil 31** bazı yapılara ilişkin ekspresyon verisi gösterilmektedir.
- Şekil 32A-C** bazı yapılara ilişkin bağlanma verisi gösterilmektedir.

KISALTMALAR

- 645Fv** didAbL1 ve H1'e karşılık gelir (her dAB için kullanılan bağlayıcı aksi belirtilmediği sürece aynıdır).
- 25 **648Fv** didAbL2 ve H2'ye karşılık gelir (her dAB için kullanılan bağlayıcı aksi belirtilmediği sürece aynıdır).
- 645dsFv** didAbL1 ve H1'e karşılık gelir (her dAB için kullanılan bağlayıcı aksi belirtilmediği sürece aynıdır), burada L1 ve H1 bir disülfür bağla stabilize edilmiştir.

	Şekil 17	Çeşitli bağlayıcı uzunluklarıyla FabB-645Fv termogramları gösterilmektedir.
	Şekil 18	Bazı FabB yapılarının SDS-PAGE analizi gösterilmektedir
	Şekil 19	Çeşitli FabB-645Fv yapılarının boyut dışlama analizi gösterilmektedir.
5	Şekil 20-24	Bazı formatlara ilişkin diziler gösterilmektedir.
	Şekil 25	Bir Fab-645dsFV yapısı için SDS-PAGE analizi gösterilmektedir; burada VH/VL çifti Fab C terminalinde bulunur ve disülfürle stabilize edilmiştir.
	Şekil 26	Şekil 25'teki bir yapıya ait boyut dışlama analizi gösterilmektedir.
10	Şekil 27A	Mevcut açıklamaya uygun bir yapı için bir Thermofluor analizi gösterilmektedir.
	Şekil 27B	pH'a göre Tm grafiği gösterilmektedir.
	Şekil 28	mevcut açıklamaya uygun bir yapı için insan OX40 ligandının insan PCMB'lerine bağlanmasının inhibisyonuna dayanan bir <i>in vitro</i> analiz gösterilmektedir.
15	Şekil 29A-D	mevcut açıklamaya uygun bir yapının <i>in vivo</i> etkinliği ve özellikle CD4+ ve CD8+, kan, peritonal ve dalak hücreleri üzerindeki etki gösterilmektedir.
	Şekil 30A-D	açıklamaya uygun bazı formatlar için diziler gösterilmektedir.
20	Şekil 31	bazı yapılara ilişkin ekspresyon verisi gösterilmektedir.
	Şekil 32A-C	bazı yapılara ilişkin bağlanma verisi gösterilmektedir.
KISALTMALAR		
	-645Fv	didAbL1 ve H1'e karşılık gelir (her dAB için kullanılan bağlayıcı aksi belirtilmediği sürece aynıdır).
25	648Fv	didAbL2 ve H2'ye karşılık gelir (her dAB için kullanılan bağlayıcı aksi belirtilmediği sürece aynıdır).
	-645dsFv	didAbL1 ve H1'e karşılık gelir (her dAB için kullanılan bağlayıcı aksi belirtilmediği sürece aynıdır), burada L1 ve H1 bir disülfür bağla stabilize edilmiştir.

	Şekil 17	Çeşitli bağlayıcı uzunluklarıyla FabB-645Fv termogramları gösterilmektedir.
	Şekil 18	Bazı FabB yapılarının SDS-PAGE analizi gösterilmektedir
	Şekil 19	Çeşitli FabB-645Fv yapılarının boyut dışlama analizi gösterilmektedir.
5	Şekil 20-24	Bazı formatlara ilişkin diziler gösterilmektedir.
	Şekil 25	Bir Fab-645dsFV yapısı için SDS-PAGE analizi gösterilmektedir; burada VH/VL çifti Fab C terminalinde bulunur ve disülfürle stabilize edilmiştir.
	Şekil 26	Şekil 25'teki bir yapıya ait boyut dışlama analizi gösterilmektedir.
10	Şekil 27A	Mevcut açıklamaya uygun bir yapı için bir Thermofluor analizi gösterilmektedir.
	Şekil 27B	pH'a göre T _m grafiği gösterilmektedir.
	Şekil 28	mevcut açıklamaya uygun bir yapı için insan OX40 ligandının insan PCMB'lerine bağlanmasının inhibisyonuna dayanan bir <i>in vitro</i> analiz gösterilmektedir.
15	Şekil 29A-D	mevcut açıklamaya uygun bir yapının <i>in vivo</i> etkinliği ve özellikle CD4+ ve CD8+, kan, peritonal ve dalak hücreleri üzerindeki etki gösterilmektedir.
	Şekil 30A-D	açıklamaya uygun bazı formatlar için diziler gösterilmektedir.
20	Şekil 31	bazı yapılara ilişkin ekspresyon verisi gösterilmektedir.
	Şekil 32A-C	bazı yapılara ilişkin bağlanma verisi gösterilmektedir.
KISALTMALAR		
	-645Fv	didAbL1 ve H1'e karşılık gelir (her dAB için kullanılan bağlayıcı aksi belirtilmediği sürece aynıdır).
25	648Fv	didAbL2 ve H2'ye karşılık gelir (her dAB için kullanılan bağlayıcı aksi belirtilmediği sürece aynıdır).
	-645dsFv	didAbL1 ve H1'e karşılık gelir (her dAB için kullanılan bağlayıcı aksi belirtilmediği sürece aynıdır), burada L1 ve H1 bir disülfür bağla stabilize edilmiştir.

-648dsFv didAbL2 ve H2'ye karşılık gelir (her dAB için kullanılan bağlayıcı aksi belirtilmediği sürece aynıdır), burada L2 ve H3 bir disülfür bağla stabilize edilmiştir.

FabΔ zincirler arası (yani CH ve CL veya CK arasında) sistein bağı
5 olmadığı Fab'lerdir

Deneyler:

Kısaltmalar: Bağlam aksini belirtmediği sürece bir örnek olarak "m" murine karşılık gelir.

Bağlam aksini belirtmediği sürece bir örnek olarak "h" insana karşılık gelir. Fab A, Fab B, Fab C ve Fab D parçaları aşağıda farklı formatlarda verilebilir.

10 ÖRNEK 1. İnsan Serum Albümin İçin Spesifik Bir dAb Üretimi

İnsan serum albümin için spesifikliği olan bir dAb'yi kodlayan çevreçeve içi bir DNA'nın kodladığı transkripsiyon birimi rekombinant DNA teknolojisi kullanarak üretildi.

İstenirse bir toplayıcı protein için spesifikliği olan bir dAb'yi kodlayan çevreçeve içi bir DNA'nın kodladığı transkripsiyon birimi rekombinant DNA teknolojisi kullanarak üretildi.

15 ÖRNEK 2. Antikor Fragmanı Üretimi

Bir dAb'nin hafif zincir C terminaline füzyonu için bir insan kappa hafif zincir sabit bölgesini (kappa sabit bölgesi Km3 allotipi ile), bir peptit bağlayıcıyı ve bir dAb'yi kodlayan DNA sentezlendi ve bir SacI-PvuII restriksiyon fragmanı olarak insan gamma-1 CH1 sabit bölgesini kodlayan DNA'yı içeren UCB Celltech kurumunda geliştirilmiş ekspresyon vektörü

20 pTTOD(Fab) (bir pTTO-1 türevi, Popplewell ve diğerleri, Methods Mol. Biol. 2005; 308: 17-30 referansında açıklanmaktadır) içine klonlandı. Bu şekilde, her ikisi de tac promotör kontrolü altında bir bağlayıcı vasıtasıyla bir dAb ile füzyon yapan hümanize hafif zincir geninden, ardından hümanize ağır zincir Fab fragmanı geninden oluşan disistronik bir gen düzenlemesi ortaya çıktı. Ayrıca Gly4Ser bağlayıcının yukarısında özgün bir BspE1 alanı
25 veya Ala-Pro açısından zengin bağlayıcının yukarısında bir AscI alanı da kodlandı.

Bir dAb'nin ağır zincir C terminaline füzyonu için bir insan CH1 fragmanını (γ1 izotipinden), ardından bağlayıcı kodlayan bir diziyi ve bir dAb'yi kodlayan DNA sentezlendi. Bu bir ApaI-EcoRI restriksiyon fragmanı şeklinde insan gamma-1 CH1 sabit bölgesini kodlayan DNA'yı içeren UCB Celltech kurumunda geliştirilmiş ekspresyon vektörü pTTOD(Fab) (bir pTTO-1
30 türevi, yukarıda Popplewell ve diğerleri referansında açıklanmaktadır) içine alt klonlandı. Bu, her ikisi de tac promotör kontrolü altında hümanize hafif zincir kodlayıcı olmayan bir

-648dsFv didAbL2 ve H2'ye karşılık gelir (her dAB için kullanılan bağlayıcı aksi belirtilmediği sürece aynıdır), burada L2 ve H3 bir disülfür bağla stabilize edilmiştir.

FabΔ zincirler arası (yani CH ve CL veya CK arasında) sistein bağı
5 olmadığı Fab'lerdir

Deneyler:

Kısaltmalar: Bağlam aksini belirtmediği sürece bir örnek olarak "m" murine karşılık gelir.

Bağlam aksini belirtmediği sürece bir örnek olarak "h" insana karşılık gelir. Fab A, Fab B, Fab C ve Fab D parçaları aşağıda farklı formatlarda verilebilir.

10 **ÖRNEK 1. İnsan Serum Albümin İçin Spesifik Bir dAb Üretimi**

İnsan serum albümin için spesifikliği olan bir dAb'yi kodlayan çevreçeve içi bir DNA'nın kodladığı transkripsiyon birimi rekombinant DNA teknolojisi kullanarak üretildi.

İstenirse bir toplayıcı protein için spesifikliği olan bir dAb'yi kodlayan çevreçeve içi bir DNA'nın kodladığı transkripsiyon birimi rekombinant DNA teknolojisi kullanarak üretildi.

15 **ÖRNEK 2. Antikor Fragmanı Üretimi**

Bir dAb'nin hafif zincir C terminaline füzyonu için bir insan kappa hafif zincir sabit bölgesini (kappa sabit bölgesi Km3 allotipi ile), bir peptit bağlayıcıyı ve bir dAb'yi kodlayan DNA sentezlendi ve bir SacI-PvuII restriksiyon fragmanı olarak insan gamma-1 CH1 sabit bölgesini kodlayan DNA'yı içeren UCB Celltech kurumunda geliştirilmiş ekspresyon vektörü

20 pTTOD(Fab) (bir pTTO-1 türevi, Popplewell ve diğerleri, Methods Mol. Biol. 2005; 308: 17-30 referansında açıklanmaktadır) içine klonlandı. Bu şekilde, her ikisi de tac promotör kontrolü altında bir bağlayıcı vasıtasıyla bir dAb ile füzyon yapan hümanize hafif zincir geninden, ardından hümanize ağır zincir Fab fragmanı geninden oluşan disistronik bir gen düzenlemesi ortaya çıktı. Ayrıca Gly4Ser bağlayıcının yukarısında özgün bir BspE1 alanı
25 veya Ala-Pro açısından zengin bağlayıcının yukarısında bir AscI alanı da kodlandı.

Bir dAb'nin ağır zincir C terminaline füzyonu için bir insan CH1 fragmanını (γ1 izotipinden), ardından bağlayıcı kodlayan bir diziyi ve bir dAb'yi kodlayan DNA sentezlendi. Bu bir ApaI-EcoRI restriksiyon fragmanı şeklinde insan gamma-1 CH1 sabit bölgesini kodlayan DNA'yı içeren UCB Celltech kurumunda geliştirilmiş ekspresyon vektörü pTTOD(Fab) (bir pTTO-1
30 türevi, yukarıda Popplewell ve diğerleri referansında açıklanmaktadır) içine alt klonlandı. Bu, her ikisi de tac promotör kontrolü altında hümanize hafif zincir kodlayıcı olmayan bir

-648dsFv didAbL2 ve H2'ye karşılık gelir (her dAB için kullanılan bağlayıcı aksi belirtilmediği sürece aynıdır), burada L2 ve H3 bir disülfür bağla stabilize edilmiştir.

FabΔ zincirler arası (yani CH ve CL veya CK arasında) sistein bağı
5 olmadığı Fab'lerdir

Deneyler:

Kısaltmalar: Bağlam aksini belirtmediği sürece bir örnek olarak "m" murine karşılık gelir.

Bağlam aksini belirtmediği sürece bir örnek olarak "h" insana karşılık gelir. Fab A, Fab B, Fab C ve Fab D parçaları aşağıda farklı formatlarda verilebilir.

10 **ÖRNEK 1. İnsan Serum Albümin İçin Spesifik Bir dAb Üretimi**

İnsan serum albümin için spesifikliği olan bir dAb'yi kodlayan çevreçeve içi bir DNA'nın kodladığı transkripsiyon birimi rekombinant DNA teknolojisi kullanarak üretildi.

İstenirse bir toplayıcı protein için spesifikliği olan bir dAb'yi kodlayan çevreçeve içi bir DNA'nın kodladığı transkripsiyon birimi rekombinant DNA teknolojisi kullanarak üretildi.

15 **ÖRNEK 2. Antikor Fragmanı Üretimi**

Bir dAb'nin hafif zincir C terminaline füzyonu için bir insan kappa hafif zincir sabit bölgesini (kappa sabit bölgesi Km3 allotipi ile), bir peptit bağlayıcıyı ve bir dAb'yi kodlayan DNA sentezlendi ve bir SacI-PvuII restriksiyon fragmanı olarak insan gamma-1 CH1 sabit bölgesini kodlayan DNA'yı içeren UCB Celltech kurumunda geliştirilmiş ekspresyon vektörü

20 pTTOD(Fab) (bir pTTO-1 türevi, Popplewell ve diğerleri, Methods Mol. Biol. 2005; 308: 17-30 referansında açıklanmaktadır) içine klonlandı. Bu şekilde, her ikisi de tac promotör kontrolü altında bir bağlayıcı vasıtasıyla bir dAb ile füzyon yapan hümanize hafif zincir geninden, ardından hümanize ağır zincir Fab fragmanı geninden oluşan disistronik bir gen düzenlemesi ortaya çıktı. Ayrıca Gly4Ser bağlayıcının yukarısında özgün bir BspE1 alanı
25 veya Ala-Pro açısından zengin bağlayıcının yukarısında bir AscI alanı da kodlandı.

Bir dAb'nin ağır zincir C terminaline füzyonu için bir insan CH1 fragmanını (γ1 izotipinden), ardından bağlayıcı kodlayan bir diziyi ve bir dAb'yi kodlayan DNA sentezlendi. Bu bir ApaI-EcoRI restriksiyon fragmanı şeklinde insan gamma-1 CH1 sabit bölgesini kodlayan DNA'yı içeren UCB Celltech kurumunda geliştirilmiş ekspresyon vektörü pTTOD(Fab) (bir pTTO-1
30 türevi, yukarıda Popplewell ve diğerleri referansında açıklanmaktadır) içine alt klonlandı. Bu, her ikisi de tac promotör kontrolü altında hümanize hafif zincir kodlayıcı olmayan bir

intergenik diziden ve ardından bir bağlayıcı vasıtasıyla bir dAb ile füzyon yapan bir ağır zincirden oluşan bir disistronik gen düzenlemesi ortaya çıkartır. Rekombinant ekspresyon plazmiti, içinde IPTG ilavesiyle ekspresyon indüklenmiş *E. coli* suşu W3110'a transforme edilir. Ekspresyon deneyleri yaklaşık 0.5 OD'de (600nm) 200 uM IPTG ilave ederek

- 5 başlangıçta küçük ölçekte (5 ml kültür hacimleri) gerçekleştirildi, indüksiyondan 2 saat sonra hücreler toplandı ve gece boyunca 30°C'de Tris/EDTA içinde özütlendi. Berraklaşan özütler Biacore ile afinite analizi için kullanıldı. Umut veren ekspresyon verimleri ve etkinlikleri gösteren yapılar fermentasyon için seçildi.

Aşağıdaki Örneklerde ve Karşılaştırma Verilerinde Uygulanabilir Usuller

- 10 Aşağıdaki örneklerde dAb'nin füzyon yaptığı antikör zinciri cKappa hafif zincir için ya CK ya da LC olarak ve ağır zincir sabit domeni, CH1 için CH1 veya HC olarak isimlendirildi.

***E.coli*'de Ekspresyon İçin FabA-dAb Füzyon Plazmitlerinin Yapımı**

Fab-dAb füzyon proteinleri, dAbL3 veya dAbH4 ve FabA'nin ya hafif ya da ağır zincir sabit bölgesinin C terminali arasında füzyon oluşturarak yapıldı. dAb'yi cKappa bölgesine (DİZİ ID. NO:75) bağlamak için bir esnek (SGGGGSE (DİZİ ID. NO: 1)) veya bir esnemez (G(APAPA)₂ (DİZİ ID. NO: 34)) bağlayıcı kullanıldı, dAb'yi CHI bölgesine (DİZİ ID. NO:76) bağlamak için ise bağlayıcı DKTHTS (DİZİ ID. NO:2) kullanıldı. Sabit bölge-dAb füzyonunu kodlayan DNA dizisi kurumda geliştirilen pTTOD vektörünün FabA dizisine alt klonlanmayı sağlayan fragmanlar şeklinde sentez yoluyla imal edildi.

- 20 Hafif zincir-dAb füzyonları, gerek esnek (SGGGGSE (DİZİ ID. NO: 1)) gerek esnemez (G(APAPA)₂ (DİZİ ID. NO: 34)) bir bağlayıcı vasıtasıyla ya dAbL3 ile ya da dAbH4 ile füzyon yapan bir C terminal cKappa'yı kodlayan sentezlenmiş genlerin *SacI-ApaI* fragmanının, FabA eksprese edebilen bir plazmidin karşılık gelen bölgelerine alt klonlanmasıyla yapıldı. Ağır zincir-dAb füzyonları bir DKTHTS bağlayıcı vasıtasıyla ya
- 25 dAbL3 ile ya da dAbH4 ile füzyon yapan bir C terminal CHI'i kodlayan sentezlenmiş genlerin *ApaI-EcoRI* fragmanının, FabA eksprese edebilen bir plazmidin karşılık gelen bölgelerine alt klonlanmasıyla yapıldı.

Fab' A, ağır ve hafif zincir dizileri Şekil 7'de sırasıyla DİZİ ID. NO:74 ve 75'te gösterilen bir IL-1 beta bağlayıcı antikordan türetildi. Hafif zincirin bağlı bir dAb'ye sahip olduğu

- 30 Fab'A'da, ağır zincire (DİZİ ID. NO:76) dAb bağlanmamış olduğunda bile ağır zincir menteşesi DKTHTS'ye değiştirildi.

FabA aynı hafif zincir dizisini (DİZİ ID. NO:75) ve ara zincir sisteinde sonlanan bir kesik ağır

intergenik diziden ve ardından bir bağlayıcı vasıtasıyla bir dAb ile füzyon yapan bir ağır zincirden oluşan bir disistronik gen düzenlemesi ortaya çıkartır. Rekombinant ekspresyon plazmiti, içinde IPTG ilavesiyle ekspresyon indüklenmiş *E. coli* suşu W3110'a transforme edilir. Ekspresyon deneyleri yaklaşık 0.5 OD'de (600nm) 200 uM IPTG ilave ederek

- 5 başlangıçta küçük ölçekte (5 ml kültür hacimleri) gerçekleştirildi, indüksiyondan 2 saat sonra hücreler toplandı ve gece boyunca 30°C'de Tris/EDTA içinde özütlendi. Berraklaşan özütler Biacore ile afinite analizi için kullanıldı. Umut veren ekspresyon verimleri ve etkinlikleri gösteren yapılar fermentasyon için seçildi.

Aşağıdaki Örneklerde ve Karşılaştırma Verilerinde Uygulanabilir Usuller

- 10 Aşağıdaki örneklerde dAb'nin füzyon yaptığı antikör zinciri cKappa hafif zincir için ya CK ya da LC olarak ve ağır zincir sabit domeni, CH1 için CH1 veya HC olarak isimlendirildi.

***E.coli*'de Ekspresyon İçin FabA-dAb Füzyon Plazmitlerinin Yapımı**

Fab-dAb füzyon proteinleri, dAbL3 veya dAbH4 ve FabA'nin ya hafif ya da ağır zincir sabit bölgesinin C terminali arasında füzyon oluşturarak yapıldı. dAb'yi cKappa bölgesine (DİZİ ID. NO:75) bağlamak için bir esnek (SGGGGSE (DİZİ ID. NO: 1)) veya bir esnemez (G(APAPA)₂ (DİZİ ID. NO: 34)) bağlayıcı kullanıldı, dAb'yi CHI bölgesine (DİZİ ID. NO:76) bağlamak için ise bağlayıcı DKTHTS (DİZİ ID. NO:2) kullanıldı. Sabit bölge-dAb füzyonunu kodlayan DNA dizisi kurumda geliştirilen pTTOD vektörünün FabA dizisine alt klonlanmayı sağlayan fragmanlar şeklinde sentez yoluyla imal edildi.

- 20 Hafif zincir-dAb füzyonları, gerek esnek (SGGGGSE (DİZİ ID. NO: 1)) gerek esnemez (G(APAPA)₂ (DİZİ ID. NO: 34)) bir bağlayıcı vasıtasıyla ya dAbL3 ile ya da dAbH4 ile füzyon yapan bir C terminal cKappa'yı kodlayan sentezlenmiş genlerin *SacI-ApaI* fragmanının, FabA eksprese edebilen bir plazmidin karşılık gelen bölgelerine alt klonlanmasıyla yapıldı. Ağır zincir-dAb füzyonları bir DKTHTS bağlayıcı vasıtasıyla ya
- 25 dAbL3 ile ya da dAbH4 ile füzyon yapan bir C terminal CHI'i kodlayan sentezlenmiş genlerin *ApaI-EcoRI* fragmanının, FabA eksprese edebilen bir plazmidin karşılık gelen bölgelerine alt klonlanmasıyla yapıldı.

Fab' A, ağır ve hafif zincir dizileri Şekil 7'de sırasıyla DİZİ ID. NO:74 ve 75'te gösterilen bir IL-1 beta bağlayıcı antikordan türetildi. Hafif zincirin bağlı bir dAb'ye sahip olduğu

- 30 Fab'A'da, ağır zincire (DİZİ ID. NO:76) dAb bağlanmamış olduğunda bile ağır zincir menteşesi DKTHTS'ye değiştirildi.

FabA aynı hafif zincir dizisini (DİZİ ID. NO:75) ve ara zincir sisteinde sonlanan bir kesik ağır

intergenik diziden ve ardından bir bağlayıcı vasıtasıyla bir dAb ile füzyon yapan bir ağır zincirden oluşan bir disistronik gen düzenlemesi ortaya çıkartır. Rekombinant ekspresyon plazmiti, içinde IPTG ilavesiyle ekspresyon indüklenmiş *E. coli* suşu W3110'a transforme edilir. Ekspresyon deneyleri yaklaşık 0.5 OD'de (600nm) 200 uM IPTG ilave ederek

- 5 başlangıçta küçük ölçekte (5 ml kültür hacimleri) gerçekleştirildi, indüksiyondan 2 saat sonra hücreler toplandı ve gece boyunca 30°C'de Tris/EDTA içinde özütlendi. Berraklaşan özütler Biacore ile afinite analizi için kullanıldı. Umut veren ekspresyon verimleri ve etkinlikleri gösteren yapılar fermentasyon için seçildi.

Aşağıdaki Örneklerde ve Karşılaştırma Verilerinde Uygulanabilir Usuller

- 10 Aşağıdaki örneklerde dAb'nin füzyon yaptığı antikör zinciri cKappa hafif zincir için ya CK ya da LC olarak ve ağır zincir sabit domeni, CH1 için CH1 veya HC olarak isimlendirildi.

***E.coli*'de Ekspresyon İçin FabA-dAb Füzyon Plazmitlerinin Yapımı**

Fab-dAb füzyon proteinleri, dAbL3 veya dAbH4 ve FabA'nin ya hafif ya da ağır zincir sabit bölgesinin C terminali arasında füzyon oluşturarak yapıldı. dAb'yi cKappa bölgesine (DİZİ ID. NO:75) bağlamak için bir esnek (SGGGGSE (DİZİ ID. NO: 1)) veya bir esnemez (G(APAPA)₂ (DİZİ ID. NO: 34)) bağlayıcı kullanıldı, dAb'yi CHI bölgesine (DİZİ ID. NO:76) bağlamak için ise bağlayıcı DKTHTS (DİZİ ID. NO:2) kullanıldı. Sabit bölge-dAb füzyonunu kodlayan DNA dizisi kurumda geliştirilen pTTOD vektörünün FabA dizisine alt klonlanmayı sağlayan fragmanlar şeklinde sentez yoluyla imal edildi.

- 20 Hafif zincir-dAb füzyonları, gerek esnek (SGGGGSE (DİZİ ID. NO: 1)) gerek esnemez (G(APAPA)₂ (DİZİ ID. NO: 34)) bir bağlayıcı vasıtasıyla ya dAbL3 ile ya da dAbH4 ile füzyon yapan bir C terminal cKappa'yı kodlayan sentezlenmiş genlerin *SacI-ApaI* fragmanının, FabA eksprese edebilen bir plazmidin karşılık gelen bölgelerine alt klonlanmasıyla yapıldı. Ağır zincir-dAb füzyonları bir DKTHTS bağlayıcı vasıtasıyla ya
- 25 dAbL3 ile ya da dAbH4 ile füzyon yapan bir C terminal CHI'i kodlayan sentezlenmiş genlerin *ApaI-EcoRI* fragmanının, FabA eksprese edebilen bir plazmidin karşılık gelen bölgelerine alt klonlanmasıyla yapıldı.

Fab' A, ağır ve hafif zincir dizileri Şekil 7'de sırasıyla DİZİ ID. NO:74 ve 75'te gösterilen bir IL-1 beta bağlayıcı antikordan türetildi. Hafif zincirin bağlı bir dAb'ye sahip olduğu

- 30 Fab'A'da, ağır zincire (DİZİ ID. NO:76) dAb bağlanmamış olduğunda bile ağır zincir menteşesi DKTHTS'ye değiştirildi.

FabA aynı hafif zincir dizisini (DİZİ ID. NO:75) ve ara zincir sisteinde sonlanan bir kesik ağır

zincir dizisini (DİZİ İD. NO:77) içerir.

dAbL3 ve **dAbH4** sırasıyla insan serum albümine bağlanan hafif ve ağır zincir domenli antikorlardır.

E.Coli’de Ekspresyon İçin FabA-didAb Füzyon Plazmitlerinin Yapılması

- 5 Hafif ve ağır zincirlerin her ikisinde dAbL3 veya dAbH4’e sahip FabA-didAb, CH1-dAb füzyonlarını kodlayan *ApaI-EcoRI* fragmanının, dAb’nin esnek bağlayıcı vasıtasıyla hafif zincirle füzyon yaptığı mevcut Fab-dAb plazmitlerine alt klonlanmasıyla yapıldı.

Memeli Hücrelerinde Ekspresyon İçin FabB-dAb Füzyon Plazmitlerinin Yapılması

- 10 FabB-dAb’ler, FabB-dAbH1 (CH1-G₄Sx2), FabB-dAbH2 (CH1-G₄Sx2), FabB-dAbL1 (CH1-G₄Sx2), FabB-dAbL2(CH1-G₄Sx2)’nin tamamı PCR ile toplandı ve sonra HCMV-MIE promotörün ve SV40E poliA dizisinin kontrolü altında bir memeli ekspresyon vektörüne klonlandı. Bunlar memeli hücrelerinde ekspresyon için FabB hafif zincirini içeren benzeri bir vektörle eşleştirildi (bakınız aşağısı).

FabB, bir hücre yüzeyi yardımcı uyaran molekülüne bağlanan bir antikordan türetili.

- 15 dAbH1, dAbH2, dAbL1 ve dAbL2 Örnek 3’te açıklanan şekilde elde edildi.

FabB-dAb’lerin ve didAb’lerin Memelilerde Ekspresyonu

- HEK293 hücreleri imalatçı firmanın talimatlarına göre Invitrogen 293fectin transfeksiyon reaktifini kullanarak ağır ve hafif zincir plazmitleriyle transfekte edildi. Kısaca, 2 µg ağır zincir plazmidi + 2 µg hafif zincir plazmidi 10 µl 293fectin + 340 µl Optimem besiyeri ile 20 dakika oda sıcaklığında inkübe edildi. Daha sonra karışım süspansiyonda 5x10⁶ HEK293 hücrelerine eklendi ve 4 gün çalkalayarak 37°C’de inkübe edildi.

Biacore

- Fab-dAb yapılarının etkileşimleri için bağlanma afiniteleri ve kinetik parametreler CM5 sensör çiplerini ve HBS-EP (10 mM HEPES (pH7.4), 150 mM NaCl, 3 mM EDTA, %0.05 h/h yüzey aktif madde P20) yürütme tamponunu kullanarak Biacore T100’de gerçekleştirilen yüzey plazmon rezonansı (SPR) ile belirlendi. Fab-dAb numuneleri ya bir insan F(ab')₂-spesifik keçi Fab (Jackson ImmunoResearch, 109-006-097) ya da kurum içinde geliştirilmiş anti insan CH1 monoklonal antikor kullanarak sensör çip yüzeyinde yakalandı. Yakalama antikorunun kovalent sabitlenmesi standart amin kenetleme kimyası ile elde edildi.
- 30 Her analiz çevrimi, önce 3 dakikalık bir antijen enjeksiyonundan oluşan bir birleşme fazı

zincir dizisini (DİZİ İD. NO:77) içerir.

dAbL3 ve **dAbH4** sırasıyla insan serum albümine bağlanan hafif ve ağır zincir domenli antikorlardır.

E.Coli’de Ekspresyon İçin FabA-didAb Füzyon Plazmitlerinin Yapılması

- 5 Hafif ve ağır zincirlerin her ikisinde dAbL3 veya dAbH4’e sahip FabA-didAb, CH1-dAb füzyonlarını kodlayan *ApaI-EcoRI* fragmanının, dAb’nin esnek bağlayıcı vasıtasıyla hafif zincirle füzyon yaptığı mevcut Fab-dAb plazmitlerine alt klonlanmasıyla yapıldı.

Memeli Hücrelerinde Ekspresyon İçin FabB-dAb Füzyon Plazmitlerinin Yapılması

- 10 FabB-dAb’ler, FabB-dAbH1 (CH1-G₄Sx2), FabB-dAbH2 (CH1-G₄Sx2), FabB-dAbL1 (CH1-G₄Sx2), FabB-dAbL2(CH1-G₄Sx2)’nin tamamı PCR ile toplandı ve sonra HCMV-MIE promotörün ve SV40E poliA dizisinin kontrolü altında bir memeli ekspresyon vektörüne klonlandı. Bunlar memeli hücrelerinde ekspresyon için FabB hafif zincirini içeren benzeri bir vektörle eşleştirildi (bakınız aşağısı).

FabB, bir hücre yüzeyi yardımcı uyaran molekülüne bağlanan bir antikordan türetildi.

- 15 dAbH1, dAbH2, dAbL1 ve dAbL2 Örnek 3’te açıklanan şekilde elde edildi.

FabB-dAb’lerin ve didAb’lerin Memelilerde Ekspresyonu

- HEK293 hücreleri imalatçı firmanın talimatlarına göre Invitrogen 293fectin transfeksiyon reaktifini kullanarak ağır ve hafif zincir plazmitleriyle transfekte edildi. Kısaca, 2 µg ağır zincir plazmidi + 2 µg hafif zincir plazmidi 10 µl 293fectin + 340 µl Optimem besiyeri ile 20 dakika oda sıcaklığında inkübe edildi. Daha sonra karışım süspansiyonda 5x10⁶ HEK293 hücrelerine eklendi ve 4 gün çalkalayarak 37°C’de inkübe edildi.

Biacore

- Fab-dAb yapılarının etkileşimleri için bağlanma afiniteleri ve kinetik parametreler CM5 sensör çiplerini ve HBS-EP (10 mM HEPES (pH7.4), 150 mM NaCl, 3 mM EDTA, %0.05 h/h yüzey aktif madde P20) yürütme tamponunu kullanarak Biacore T100’de gerçekleştirilen yüzey plazmon rezonansı (SPR) ile belirlendi. Fab-dAb numuneleri ya bir insan F(ab’)₂-spesifik keçi Fab (Jackson ImmunoResearch, 109-006-097) ya da kurum içinde geliştirilmiş anti insan CH1 monoklonal antikor kullanarak sensör çip yüzeyinde yakalandı. Yakalama antikorunun kovalent sabitlenmesi standart amin kenetleme kimyası ile elde edildi.
- 30 Her analiz çevrimi, önce 3 dakikalık bir antijen enjeksiyonundan oluşan bir birleşme fazı

zincir dizisini (DİZİ İD. NO:77) içerir.

dAbL3 ve **dAbH4** sırasıyla insan serum albümine bağlanan hafif ve ağır zincir domenli antikorlardır.

E.Coli’de Ekspresyon İçin FabA-didAb Füzyon Plazmitlerinin Yapılması

- 5 Hafif ve ağır zincirlerin her ikisinde dAbL3 veya dAbH4’e sahip FabA-didAb, CH1-dAb füzyonlarını kodlayan *ApaI-EcoRI* fragmanının, dAb’nin esnek bağlayıcı vasıtasıyla hafif zincirle füzyon yaptığı mevcut Fab-dAb plazmitlerine alt klonlanmasıyla yapıldı.

Memeli Hücrelerinde Ekspresyon İçin FabB-dAb Füzyon Plazmitlerinin Yapılması

- 10 FabB-dAb’ler, FabB-dAbH1 (CH1-G₄Sx2), FabB-dAbH2 (CH1-G₄Sx2), FabB-dAbL1 (CH1-G₄Sx2), FabB-dAbL2(CH1-G₄Sx2)’nin tamamı PCR ile toplandı ve sonra HCMV-MIE promotörün ve SV40E poliA dizisinin kontrolü altında bir memeli ekspresyon vektörüne klonlandı. Bunlar memeli hücrelerinde ekspresyon için FabB hafif zincirini içeren benzeri bir vektörle eşleştirildi (bakınız aşağısı).

FabB, bir hücre yüzeyi yardımcı uyaran molekülüne bağlanan bir antikordan türetildi.

- 15 dAbH1, dAbH2, dAbL1 ve dAbL2 Örnek 3’te açıklanan şekilde elde edildi.

FabB-dAb’lerin ve didAb’lerin Memelilerde Ekspresyonu

- HEK293 hücreleri imalatçı firmanın talimatlarına göre Invitrogen 293fectin transfeksiyon reaktifini kullanarak ağır ve hafif zincir plazmitleriyle transfekte edildi. Kısaca, 2 µg ağır zincir plazmidi + 2 µg hafif zincir plazmidi 10 µl 293fectin + 340 µl Optimem besiyeri ile 20 dakika oda sıcaklığında inkübe edildi. Daha sonra karışım süspansiyonda 5x10⁶ HEK293 hücrelerine eklendi ve 4 gün çalkalayarak 37°C’de inkübe edildi.

Biacore

- Fab-dAb yapılarının etkileşimleri için bağlanma afiniteleri ve kinetik parametreler CM5 sensör çiplerini ve HBS-EP (10 mM HEPES (pH7.4), 150 mM NaCl, 3 mM EDTA, %0.05 h/h yüzey aktif madde P20) yürütme tamponunu kullanarak Biacore T100’de gerçekleştirilen yüzey plazmon rezonansı (SPR) ile belirlendi. Fab-dAb numuneleri ya bir insan F(ab')₂-spesifik keçi Fab (Jackson ImmunoResearch, 109-006-097) ya da kurum içinde geliştirilmiş anti insan CH1 monoklonal antikor kullanarak sensör çip yüzeyinde yakalandı. Yakalama antikorunun kovalent sabitlenmesi standart amin kenetleme kimyası ile elde edildi.
- 30 Her analiz çevrimi, önce 3 dakikalık bir antijen enjeksiyonundan oluşan bir birleşme fazı

öncesinde 1 dakikalık bir enjeksiyon kullanarak Fab-dAb'nin yakalanmasından oluştu, bunun ardından 5 dakika ayrışma izlendi. Her çevrimden sonra yakalama yüzeyi 2 x 1 dk 40 mM HCl enjeksiyonu, ardından 30 sn 5 mM NaOH ile yenilendi. Kullanılan akış hızları yakalama için 10 µl/dk, birleşme ve ayrışma fazları için 30 µl/dk ve yenileme için 10 µl/dk oldu.

- 5 Kinetik analizleri için bir antijen titrasyonu (insan serum albümin için tipik olarak 62.5 nM-2 µM, IL-1β için 1.25-40 nM) gerçekleştirildi, bir boş akış hücresi referansı çıkartmak için kullanıldı ve cihaz gürültüsünü ve sürüklenmeyi çıkartmak için tampon-boş enjeksiyonları dahil edildi.

- Kinetik parametreler Biacore T100 Değerlendirme yazılımını kullanarak ortaya çıkan sensogramların bir standart 1:1 bağlanma modeline eşzamanlı toplu uydurumu ile belirlendi. Eşzamanlı bağlanmayı test etmek amacıyla gerek ayrı 5 µM HSA veya 100 nM IL-1β, gerek 5 µM HSA ve 100 nM IL-1β içeren bir karışık çözeltinin 3 dakikalık enjeksiyonları yakalanan Fab-dAb'den enjekte edildi.

E.coli'den Fab-dAb Saflaştırma

15 **Periplazmik Özütleme**

Periplazma içinde Fab-dAb'leri içeren *E.coli* peletleri 100 mM Tris/HCl, 10 mM EDTA (pH 7.4) ile orijinal kültür hacminde yeniden süspanse edildi. Bu süspansiyonlar 4°C'de 16 saat at 250 rpm'de (devir/dakika) inkübe edildi. Yeniden süspanse edilmiş peletler 4°C'de 1 saat 10000 x g şeklinde santrifüjlendi. Üst fazlar çıkartıldı ve 0.45 µm filtre edildi.

20 **Protein-G Yakalama**

- Fab-dAb'ler Protein-G kromatografisi ile filtre edilen üst fazdan yakalandı. Kısaca üst fazlar 20 dakika bir alıkonma süresi ile 20 mM fosfat, 150 mM NaCl (pH 7.1) içinde dengelenmiş Gammabind Plus Sepharose (GE Healthcare) kolonuna uygulandı. Kolon 20 mM fosfat, 150 mM NaCl (pH7.1) ile yıkandı ve bağlanan madde 0.1 M glisin/HCl (pH 2.8) ile elüsyona tabi tutuldu. Elüsyon piki toplandı ve 1M sodyum asetat ile pH ~pH 5 olarak düzenlendi. pH düzeltimi yapılan elüsyonlar konsantre edildi ve 10 k MWCO membran kullanarak 50 mM sodyum asetata (pH 4.5) diafiltrasyon yapıldı.

İyon Değiştirme

- Fab-dAb'ler ayrıca bir NaCl elüsyon gradienti ile pH 4.5'te katyon değiştirme kromatografisi ile saflaştırıldı. Kısaca diafiltrasyon uygulanan Protein-G elüatları 50 mM sodyum asetat (pH 4.5) içinde dengelenmiş bir Source15S (GE Healthcare) kolonuna uygulandı. Kolon 50 mM

öncesinde 1 dakikalık bir enjeksiyon kullanarak Fab-dAb'nin yakalanmasından oluştu, bunun ardından 5 dakika ayrışma izlendi. Her çevrimden sonra yakalama yüzeyi 2 x 1 dk 40 mM HCl enjeksiyonu, ardından 30 sn 5 mM NaOH ile yenilendi. Kullanılan akış hızları yakalama için 10 µl/dk, birleşme ve ayrışma fazları için 30 µl/dk ve yenileme için 10 µl/dk oldu.

- 5 Kinetik analizleri için bir antijen titrasyonu (insan serum albümin için tipik olarak 62.5 nM-2 µM, IL-1β için 1.25-40 nM) gerçekleştirildi, bir boş akış hücresi referansı çıkartmak için kullanıldı ve cihaz gürültüsünü ve sürüklenmeyi çıkartmak için tampon-boş enjeksiyonları dahil edildi.

- Kinetik parametreler Biacore T100 Değerlendirme yazılımını kullanarak ortaya çıkan sensogramların bir standart 1:1 bağlanma modeline eşzamanlı toplu uydurumu ile belirlendi. Eşzamanlı bağlanmayı test etmek amacıyla gerek ayrı 5 µM HSA veya 100 nM IL-1β, gerek 5 µM HSA ve 100 nM IL-1β içeren bir karışık çözeltinin 3 dakikalık enjeksiyonları yakalanan Fab-dAb'den enjekte edildi.

E.coli'den Fab-dAb Saflaştırma

15 **Periplazmik Özütleme**

Periplazma içinde Fab-dAb'leri içeren *E.coli* peletleri 100 mM Tris/HCl, 10 mM EDTA (pH 7.4) ile orijinal kültür hacminde yeniden süspanse edildi. Bu süspansiyonlar 4°C'de 16 saat at 250 rpm'de (devir/dakika) inkübe edildi. Yeniden süspanse edilmiş peletler 4°C'de 1 saat 10000 x g şeklinde santrifüjlendi. Üst fazlar çıkartıldı ve 0.45 µm filtre edildi.

20 **Protein-G Yakalama**

- Fab-dAb'ler Protein-G kromatografisi ile filtre edilen üst fazdan yakalandı. Kısaca üst fazlar 20 dakika bir alıkonma süresi ile 20 mM fosfat, 150 mM NaCl (pH 7.1) içinde dengelenmiş Gammabind Plus Sepharose (GE Healthcare) kolonuna uygulandı. Kolon 20 mM fosfat, 150 mM NaCl (pH7.1) ile yıkandı ve bağlanan madde 0.1 M glisin/HCl (pH 2.8) ile elüsyona tabi tutuldu. Elüsyon piki toplandı ve 1M sodyum asetat ile pH ~pH 5 olarak düzenlendi. pH düzeltimi yapılan elüsyonlar konsantre edildi ve 10 k MWCO membran kullanarak 50 mM sodyum asetata (pH 4.5) diafiltrasyon yapıldı.

İyon Değiştirme

- Fab-dAb'ler ayrıca bir NaCl elüsyon gradienti ile pH 4.5'te katyon değiştirme kromatografisi ile saflaştırıldı. Kısaca diafiltrasyon uygulanan Protein-G elüatları 50 mM sodyum asetat (pH 4.5) içinde dengelenmiş bir Source15S (GE Healthcare) kolonuna uygulandı. Kolon 50 mM

öncesinde 1 dakikalık bir enjeksiyon kullanarak Fab-dAb'nin yakalanmasından oluştu, bunun ardından 5 dakika ayrışma izlendi. Her çevrimden sonra yakalama yüzeyi 2 x 1 dk 40 mM HCl enjeksiyonu, ardından 30 sn 5 mM NaOH ile yenilendi. Kullanılan akış hızları yakalama için 10 µl/dk, birleşme ve ayrışma fazları için 30 µl/dk ve yenileme için 10 µl/dk oldu.

- 5 Kinetik analizleri için bir antijen titrasyonu (insan serum albümin için tipik olarak 62.5 nM-2 µM, IL-1β için 1.25-40 nM) gerçekleştirildi, bir boş akış hücresi referansı çıkartmak için kullanıldı ve cihaz gürültüsünü ve sürüklenmeyi çıkartmak için tampon-boş enjeksiyonları dahil edildi.

- Kinetik parametreler Biacore T100 Değerlendirme yazılımını kullanarak ortaya çıkan sensogramların bir standart 1:1 bağlanma modeline eşzamanlı toplu uydurumu ile belirlendi. Eşzamanlı bağlanmayı test etmek amacıyla gerek ayrı 5 µM HSA veya 100 nM IL-1β, gerek 5 µM HSA ve 100 nM IL-1β içeren bir karışık çözeltinin 3 dakikalık enjeksiyonları yakalanan Fab-dAb'den enjekte edildi.

E.coli'den Fab-dAb Saflaştırma

15 **Periplazmik Özütleme**

Periplazma içinde Fab-dAb'leri içeren *E.coli* peletleri 100 mM Tris/HCl, 10 mM EDTA (pH 7.4) ile orijinal kültür hacminde yeniden süspanse edildi. Bu süspansiyonlar 4°C'de 16 saat at 250 rpm'de (devir/dakika) inkübe edildi. Yeniden süspanse edilmiş peletler 4°C'de 1 saat 10000 x g şeklinde santrifüjlendi. Üst fazlar çıkartıldı ve 0.45 µm filtre edildi.

20 **Protein-G Yakalama**

- Fab-dAb'ler Protein-G kromatografisi ile filtre edilen üst fazdan yakalandı. Kısaca üst fazlar 20 dakika bir alıkonma süresi ile 20 mM fosfat, 150 mM NaCl (pH 7.1) içinde dengelenmiş Gammabind Plus Sepharose (GE Healthcare) kolonuna uygulandı. Kolon 20 mM fosfat, 150 mM NaCl (pH7.1) ile yıkandı ve bağlanan madde 0.1 M glisin/HCl (pH 2.8) ile elüsyona tabi tutuldu. Elüsyon piki toplandı ve 1M sodyum asetat ile pH ~pH 5 olarak düzenlendi. pH düzeltimi yapılan elüsyonlar konsantre edildi ve 10 k MWCO membran kullanarak 50 mM sodyum asetata (pH 4.5) diafiltrasyon yapıldı.

İyon Değiştirme

- Fab-dAb'ler ayrıca bir NaCl elüsyon gradienti ile pH 4.5'te katyon değiştirme kromatografisi ile saflaştırıldı. Kısaca diafiltrasyon uygulanan Protein-G elüatları 50 mM sodyum asetat (pH 4.5) içinde dengelenmiş bir Source15S (GE Healthcare) kolonuna uygulandı. Kolon 50 mM

sodyum asetat (pH 4.5) ile yıkandı ve bağlanan maddeye 50 mM sodyum asetat (pH 4.5) 0-1M NaCl 20 kolon hacmi lineer gradient ile elüsyonlama yapıldı. Gradient boyunca üçüncü kolon hacim fraksiyonları toplandı. Fraksiyonlar A280 ve SDS-PAGE ile analiz edildi ve ilgili fraksiyonlar birleştirildi.

5 **Jel Filtrasyonu**

Eğer gerekirse Fab-dAb'ler ayrıca jel filtrasyonu ile saflaştırıldı. Kısaca FabA-dAbL3 (CK-SG₄SE) ile birleştirilen iyon değiştirme elüsyon fraksiyonları 50 mM sodyum asetat, 125 mM NaCl (pH 5.0) içinde dengelenmiş Superdex200 (GE Healthcare) kolonuna uygulandı ve 50 mM sodyum asetat, 125 mM NaCl (pH 5.0) bir izokratik gradient ile elüsyon yapıldı.

- 10 Gradient boyunca 1/120 kolon hacminde fraksiyon toplandı. Fraksiyonlar A280 ve SDS-PAGE ile analiz edildi ve ilgili fraksiyonlar birleştirildi.

Jel filtrasyonuna tabi olmamış Fab-dAb'ler için birleştirilmiş iyon değiştirme elüsyon fraksiyonları konsantre edildi ve 10 k MWCO membran kullanarak 50 mM sodyum asetat, 125 mM NaCl (pH 5.0) içine diafiltrasyon yapıldı.

15 **SDS-PAGE**

Numuneler gerektiğinde suyla seyreltildi ve sonra 10 µl'ye 10 µL 2X numune akış tamponu eklendi. İndirgenmemiş numuneler için bu noktada 2µL 100 mM NEM eklendi, indirgenmiş numuneler için 2µL 10X indirgeme maddesi eklendi. Numuneler girdaplandı, 85°C'de 5 dakika inkübe edildi, soğutuldu ve 30 saniye 12500 rpm'de santrifüjlendi. Hazırlanan numuneler %4-20 bir akrilamin Tris/Glisin SDS jele yüklendi ve 100 dakika 125 V'de akıtıldı. Jeller ya Western blot için PVDF membranlara aktarıldı ya da Coomassie Mavi protein boyası ile boyandı.

Western Blot

Jeller 16 saat 150 mA'da 12 mM Tris, 96 mM glisinde (pH 8.3) PVDF membranlara aktarıldı.

- 25 PVDF membranı 1 saat PBS + %0.1 Tween20 içinde %2 Marvel™ (Blokaj tamponu) ile bloke edildi.

anti-hafif zincir

HRP-tavşan anti-insan kappa hafif zincirleri, 1 saat blokaj tamponunda 1/5000 seyrelti.

- 30 *anti-ağır zincir*

fare anti-insan ağır zinciri, 1 saat blokaj tamponunda 1/7000 seyrelti. Ardından HRP-

sodyum asetat (pH 4.5) ile yıkandı ve bağlanan maddeye 50 mM sodyum asetat (pH 4.5) 0-1M NaCl 20 kolon hacmi lineer gradient ile elüsyonlama yapıldı. Gradient boyunca üçüncü kolon hacim fraksiyonları toplandı. Fraksiyonlar A280 ve SDS-PAGE ile analiz edildi ve ilgili fraksiyonlar birleştirildi.

5 **Jel Filtrasyonu**

Eğer gerekirse Fab-dAb'ler ayrıca jel filtrasyonu ile saflaştırıldı. Kısaca FabA-dAbL3 (CK-SG₄SE) ile birleştirilen iyon değiştirme elüsyon fraksiyonları 50 mM sodyum asetat, 125 mM NaCl (pH 5.0) içinde dengelenmiş Superdex200 (GE Healthcare) kolonuna uygulandı ve 50 mM sodyum asetat, 125 mM NaCl (pH 5.0) bir izokratik gradient ile elüsyon yapıldı.

- 10 Gradient boyunca 1/120 kolon hacminde fraksiyon toplandı. Fraksiyonlar A280 ve SDS-PAGE ile analiz edildi ve ilgili fraksiyonlar birleştirildi.

Jel filtrasyonuna tabi olmamış Fab-dAb'ler için birleştirilmiş iyon değiştirme elüsyon fraksiyonları konsantre edildi ve 10 k MWCO membran kullanarak 50 mM sodyum asetat, 125 mM NaCl (pH 5.0) içine diafiltrasyon yapıldı.

15 **SDS-PAGE**

Numuneler gerektiğinde suyla seyreltildi ve sonra 10 µl'ye 10 µL 2X numune akış tamponu eklendi. İndirgenmemiş numuneler için bu noktada 2µL 100 mM NEM eklendi, indirgenmiş numuneler için 2µL 10X indirgeme maddesi eklendi. Numuneler girdaplandı, 85°C'de 5 dakika inkübe edildi, soğutuldu ve 30 saniye 12500 rpm'de santrifüjlendi. Hazırlanan numuneler %4-20 bir akrilamin Tris/Glisin SDS jelle yüklendi ve 100 dakika 125 V'de akıtıldı. Jeller ya Western blot için PVDF membranlara aktarıldı ya da Coomassie Mavi protein boyası ile boyandı.

Western Blot

Jeller 16 saat 150 mA'da 12 mM Tris, 96 mM glisinde (pH 8.3) PVDF membranlara aktarıldı.

- 25 PVDF membranı 1 saat PBS + %0.1 Tween20 içinde %2 Marvel™ (Blokaj tamponu) ile bloke edildi.

anti-hafif zincir

HRP-tavşan anti-insan kappa hafif zincirleri, 1 saat blokaj tamponunda 1/5000 seyrelti.

- 30 *anti-ağır zincir*

fare anti-insan ağır zinciri, 1 saat blokaj tamponunda 1/7000 seyrelti. Ardından HRP-

sodyum asetat (pH 4.5) ile yıkandı ve bağlanan maddeye 50 mM sodyum asetat (pH 4.5) 0-1M NaCl 20 kolon hacmi lineer gradient ile elüsyonlama yapıldı. Gradient boyunca üçüncü kolon hacim fraksiyonları toplandı. Fraksiyonlar A280 ve SDS-PAGE ile analiz edildi ve ilgili fraksiyonlar birleştirildi.

5 **Jel Filtrasyonu**

Eğer gerekirse Fab-dAb'ler ayrıca jel filtrasyonu ile saflaştırıldı. Kısaca FabA-dAbL3 (CK-SG₄SE) ile birleştirilen iyon değiştirme elüsyon fraksiyonları 50 mM sodyum asetat, 125 mM NaCl (pH 5.0) içinde dengelenmiş Superdex200 (GE Healthcare) kolonuna uygulandı ve 50 mM sodyum asetat, 125 mM NaCl (pH 5.0) bir izokratik gradient ile elüsyon yapıldı.

- 10 Gradient boyunca 1/120 kolon hacminde fraksiyon toplandı. Fraksiyonlar A280 ve SDS-PAGE ile analiz edildi ve ilgili fraksiyonlar birleştirildi.

Jel filtrasyonuna tabi olmamış Fab-dAb'ler için birleştirilmiş iyon değiştirme elüsyon fraksiyonları konsantre edildi ve 10 k MWCO membran kullanarak 50 mM sodyum asetat, 125 mM NaCl (pH 5.0) içine diafiltrasyon yapıldı.

15 **SDS-PAGE**

Numuneler gerektiğinde suyla seyreltildi ve sonra 10 µl'ye 10 µL 2X numune akış tamponu eklendi. İndirgenmemiş numuneler için bu noktada 2µL 100 mM NEM eklendi, indirgenmiş numuneler için 2µL 10X indirgeme maddesi eklendi. Numuneler girdaplandı, 85°C'de 5 dakika inkübe edildi, soğutuldu ve 30 saniye 12500 rpm'de santrifüjlendi. Hazırlanan numuneler %4-20 bir akrilamin Tris/Glisin SDS jelle yüklendi ve 100 dakika 125 V'de akıtıldı. Jeller ya Western blot için PVDF membranlara aktarıldı ya da Coomassie Mavi protein boyası ile boyandı.

Western Blot

Jeller 16 saat 150 mA'da 12 mM Tris, 96 mM glisinde (pH 8.3) PVDF membranlara aktarıldı.

- 25 PVDF membranı 1 saat PBS + %0.1 Tween20 içinde %2 Marvel™ (Blokaj tamponu) ile bloke edildi.

anti-hafif zincir

HRP-tavşan anti-insan kappa hafif zincirleri, 1 saat blokaj tamponunda 1/5000 seyrelti.

- 30 *anti-ağır zincir*

fare anti-insan ağır zinciri, 1 saat blokaj tamponunda 1/7000 seyrelti. Ardından HRP-

keçi anti-fare, 1 saat blokaj tamponunda 1/2000 seyrelti.

anti-His işaret

tavşan anti-His6, 1 saat blokaj tamponunda 1/1000 seyrelti. Ardından HRP-keçi anti-tavşan IgG, 1 saat blokaj tamponunda 1/1000 seyrelti.

- 5 Bütün blotlar, her yıkama 10 dakika olmak üzere 6 kere 100 ml PBS + %0.1 Tween20 ile yıkandı. Blotlar Amersham Hyperfilm'e pozlandırmadan önce 1 dakika ya ECL reaktifi ile, ya da 20-30 dakika metalle güçlendirilmiş DAB reaktifi, ardından suyla banyo edildi.

Yüksek Sıcaklıkta Ters Fazlı HPLC

- Numuneler (2 µg) 2.1 mm C8 Poroshell kolonda 80 °C'de, 2 ml/dk bir akış hızı ve 4 dakika içinde %18-38 B bir gradient ile analiz edildi. A= H₂O içinde %0.1 TFA, B = 80:20 IPA:MeOH içinde %0.065 TFA. Tespit 214 nm'de absorpsiyon oldu.
- 10

ELISA

Fab-dAb verimleri bir sandviç ELISA kullanarak ölçüldü. Kısaca, Fab-dAb bir anti-CH1 antikör ile yakalandı, ardından bir anti-kappa-HRP ile açığa çıkartıldı.

- 15 **FACS**

Numuneler (mFabD-didAb'ler) 5 µg/ml FITC (floresin izotiosiyanat) işaretli HSA ile 45 dakika inkübe edildi. Daha sonra numune/HSA-FITC inkübasyonları etkinleştirilmiş fare CD4⁺ T hücrelerine eklendi ve 45 dakika daha inkübe edildi. Hücreler PBS ile yıkandı ve hücreyle birleşen floresans FACS (floresans etkinleşmeli hücre ayırma) ile ölçüldü.

- 20 **ÖRNEK 3**

Anti-Albümin Antikorların Oluşturulması

- ½ Lop tavşanı rekombinant Chromapure insan serum albümin (Jackson'dan satın alınmış) ile aşılandı. Tavşanlara, ilk aşılama tamamlanmış Freund adjuvanı içinde ve sonraki aşılama tamamlanmamış Freund içinde olmak üzere 100 µg HSA proteini ile subkutane yoldan 3
- 25 aşılama yapıldı. İnsan, fare ve sıçan serum albümine bağlanan antikör 1 ve 2, 646, 647 ve 649 WO 04/051268'de açıklanan usulleri kullanarak ayrıştırıldı. Antikör 1 ve 2'ye ait ağır zincir değişken domenine (VH) ve hafif zincir değişken domenine (VL) ilişkin genler ayrıştırıldı ve ters transkripsiyonlu PCR ile klonlamayı takiben dizileme yapıldı.

- Hafif zincir greftli diziler, tavşan C-Kappa sabit bölgesini kodlayan DNA'yı içeren tavşan
- 30 hafif zincir ekspresyon vektörü pVRbcK içine alt klonlandı. Ağır zincir greftli diziler tavşan

keçi anti-fare, 1 saat blokaj tamponunda 1/2000 seyrelti.

anti-His işaret

tavşan anti-His6, 1 saat blokaj tamponunda 1/1000 seyrelti. Ardından HRP-keçi anti-tavşan IgG, 1 saat blokaj tamponunda 1/1000 seyrelti.

- 5 Bütün blotlar, her yıkama 10 dakika olmak üzere 6 kere 100 ml PBS + %0.1 Tween20 ile yıkandı. Blotlar Amersham Hyperfilm'e pozlandırmadan önce 1 dakika ya ECL reaktifi ile, ya da 20-30 dakika metalle güçlendirilmiş DAB reaktifi, ardından suyla banyo edildi.

Yüksek Sıcaklıkta Ters Fazlı HPLC

- 10 Numuneler (2 µg) 2.1 mm C8 Poroshell kolonda 80 °C'de, 2 ml/dk bir akış hızı ve 4 dakika içinde %18-38 B bir gradient ile analiz edildi. A= H₂O içinde %0.1 TFA, B = 80:20 IPA:MeOH içinde %0.065 TFA. Tespit 214 nm'de absorpsiyon oldu.

ELISA

Fab-dAb verimleri bir sandviç ELISA kullanarak ölçüldü. Kısaca, Fab-dAb bir anti-CH1 antikör ile yakalandı, ardından bir anti-kappa-HRP ile açığa çıkartıldı.

- 15 **FACS**

Numuneler (mFabD-didAb'ler) 5 µg/ml FITC (floresin izotiosiyanat) işaretli HSA ile 45 dakika inkübe edildi. Daha sonra numune/HSA-FITC inkübasyonları etkinleştirilmiş fare CD4⁺ T hücrelerine eklendi ve 45 dakika daha inkübe edildi. Hücreler PBS ile yıkandı ve hücreyle birleşen floresans FACS (floresans etkinleşmeli hücre ayırma) ile ölçüldü.

- 20 **ÖRNEK 3**

Anti-Albümin Antikorların Oluşturulması

- ½ Lop tavşanı rekombinant Chromapure insan serum albümin (Jackson'dan satın alınmış) ile aşılandı. Tavşanlara, ilk aşılama tamamlanmış Freund adjuvanı içinde ve sonraki aşılama tamamlanmamış Freund içinde olmak üzere 100 µg HSA proteini ile subkutane yoldan 3
- 25 aşılama yapıldı. İnsan, fare ve sıçan serum albümine bağlanan antikör 1 ve 2, 646, 647 ve 649 WO 04/051268'de açıklanan usulleri kullanarak ayrıştırıldı. Antikör 1 ve 2'ye ait ağır zincir değişken domenine (VH) ve hafif zincir değişken domenine (VL) ilişkin genler ayrıştırıldı ve ters transkripsiyonlu PCR ile klonlamayı takiben dizileme yapıldı.

- 30 Hafif zincir greftli diziler, tavşan C-Kappa sabit bölgesini kodlayan DNA'yı içeren tavşan hafif zincir ekspresyon vektörü pVRbcK içine alt klonlandı. Ağır zincir greftli diziler tavşan

keçi anti-fare, 1 saat blokaj tamponunda 1/2000 seyrelti.

anti-His işaret

tavşan anti-His6, 1 saat blokaj tamponunda 1/1000 seyrelti. Ardından HRP-keçi anti-tavşan IgG, 1 saat blokaj tamponunda 1/1000 seyrelti.

- 5 Bütün blotlar, her yıkama 10 dakika olmak üzere 6 kere 100 ml PBS + %0.1 Tween20 ile yıkandı. Blotlar Amersham Hyperfilm'e pozlandırmadan önce 1 dakika ya ECL reaktifi ile, ya da 20-30 dakika metalle güçlendirilmiş DAB reaktifi, ardından suyla banyo edildi.

Yüksek Sıcaklıkta Ters Fazlı HPLC

- 10 Numuneler (2 µg) 2.1 mm C8 Poroshell kolonda 80 °C'de, 2 ml/dk bir akış hızı ve 4 dakika içinde %18-38 B bir gradient ile analiz edildi. A= H₂O içinde %0.1 TFA, B = 80:20 IPA:MeOH içinde %0.065 TFA. Tespit 214 nm'de absorpsiyon oldu.

ELISA

Fab-dAb verimleri bir sandviç ELISA kullanarak ölçüldü. Kısaca, Fab-dAb bir anti-CH1 antikör ile yakalandı, ardından bir anti-kappa-HRP ile açığa çıkartıldı.

- 15 **FACS**

Numuneler (mFabD-didAb'ler) 5 µg/ml FITC (floresin izotiosiyanat) işaretli HSA ile 45 dakika inkübe edildi. Daha sonra numune/HSA-FITC inkübasyonları etkinleştirilmiş fare CD4⁺ T hücrelerine eklendi ve 45 dakika daha inkübe edildi. Hücreler PBS ile yıkandı ve hücreyle birleşen floresans FACS (floresans etkinleşmeli hücre ayırma) ile ölçüldü.

- 20 **ÖRNEK 3**

Anti-Albümin Antikorların Oluşturulması

- ½ Lop tavşanı rekombinant Chromapure insan serum albümin (Jackson'dan satın alınmış) ile aşılandı. Tavşanlara, ilk aşılama tamamlanmış Freund adjuvanı içinde ve sonraki aşılama tamamlanmamış Freund içinde olmak üzere 100 µg HSA proteini ile subkutane yoldan 3
- 25 aşılama yapıldı. İnsan, fare ve sıçan serum albümine bağlanan antikör 1 ve 2, 646, 647 ve 649 WO 04/051268'de açıklanan usulleri kullanarak ayrıştırıldı. Antikör 1 ve 2'ye ait ağır zincir değişken domenine (VH) ve hafif zincir değişken domenine (VL) ilişkin genler ayrıştırıldı ve ters transkripsiyonlu PCR ile klonlamayı takiben dizileme yapıldı.

- 30 Hafif zincir greftli diziler, tavşan C-Kappa sabit bölgesini kodlayan DNA'yı içeren tavşan hafif zincir ekspresyon vektörü pVRbcK içine alt klonlandı. Ağır zincir greftli diziler tavşan

Fab' ağır zincir sabit bölgesini kodlayan DNA'yı içeren tavşan ağır zincir ekspresyon vektörü pVRbHFab içine alt klonlandı. Plazmitler CHO hücrelerine birlikte transfekte edildi ve üretilen antikorlar albümine bağlanma ve afinite açısından tarandı (Tablo 1). CHO hücrelerine ilişkin transfeksiyonlar imalatçı firmanın talimatlarına göre Lipofectamine™ 2000 usulünü (Invitrogen, katalog No. 11668) kullanarak gerçekleştirildi.

Hümanize Domenli Antikorlar dAbL1, dAbH1, dAbL2 ve dAbH2'nin Oluşturulması

Hümanize VL ve VH bölgeleri çerçeve bölgelerindeki insan V-bölgesi alıcı çerçevelerini ve verici kalıntıları kullanarak tasarlandı. Sırasıyla antikor 1 ve 2'nin her biri için bir greftli VL bölgesi (L1 (DİZİ İD. NO:53) ve L2 (DİZİ İD. NO:55)) ve bir VH bölgesi (H1 (DİZİ İD. NO:52) ve H2 (DİZİ İD. NO:54)) tasarlandı ve oligonükleotit birleşimi ve PCR mutajenezi ile genler yapıldı. Greftli domen antikorları ve bunların CDR'leri Şekil 5'te gösterilmektedir.

Tablo 1: Anti-Albümin Antikorların Afiniteleri

	Tavşan Fab Şeklinde		Hümanize IgG Şeklinde		
	HSA	MurinSA	İnsanSA	MurinSA	SıçanSA
	nM	nM	nM	nM	nM
Antikor 1 (Antikor 645)	0.31	2.6	0.82	2.9	7.9
Antikor 2 (Antikor 648)	0.33	12	0.13	23	54
Antikor 646	0.14	1.6	0.57	1.7	4.5
Antikor 647	0.60	3.6	1.3	26	10
Antikor 649	0.54	13	0.32	17	44

KARŞILAŞTIRMA VERİSİ E4: Memeli Hücrelerinde Eksprese Olan FabB-dAb'lerin Analizi

FabB-dAb yapıları usullerde açıklanan şekilde üretildi ve FabB-dAb içeren transfekte edilmiş HEK293 hücrelerine ait üst fazlar doğrudan BIAcore'da test edildi.

HAS'nin FabB-dAb yapılarıyla etkileşimini değerlendirmek için kinetik analizi gerçekleştirildi. Bunlar FabB'ye ait CH1'in C terminali ile füzyon yapan dAbL1, dAbH2 veya dAbL3'ten oluştu (bakınız Şekil 6). FabB-dAbL1'in HAS için afinitesi ($K_D = 170$ nM) FabB-dAbL3'ün afinitesine ($K_D = 392$ nM) göre daha yüksektir. FabB-dAbH2'nin HAS için en zayıf afiniteye ($K_D = 1074$ nM) sahip olduğu gösterildi, bakınız Tablo 2.

Fab' ağır zincir sabit bölgesini kodlayan DNA'yı içeren tavşan ağır zincir ekspresyon vektörü pVRbHFab içine alt klonlandı. Plazmitler CHO hücrelerine birlikte transfekte edildi ve üretilen antikorlar albümine bağlanma ve afinite açısından tarandı (Tablo 1). CHO hücrelerine ilişkin transfeksiyonlar imalatçı firmanın talimatlarına göre Lipofectamine™ 2000 usulünü (Invitrogen, katalog No. 11668) kullanarak gerçekleştirildi.

Hümanize Domenli Antikorlar dAbL1, dAbH1, dAbL2 ve dAbH2'nin Oluşturulması

Hümanize VL ve VH bölgeleri çerçeve bölgelerindeki insan V-bölgesi alıcı çerçevelerini ve verici kalıntıları kullanarak tasarlandı. Sırasıyla antikor 1 ve 2'nin her biri için bir greftli VL bölgesi (L1 (DİZİ İD. NO:53) ve L2 (DİZİ İD. NO:55)) ve bir VH bölgesi (H1 (DİZİ İD. NO:52) ve H2 (DİZİ İD. NO:54)) tasarlandı ve oligonükleotit birleşimi ve PCR mutajenezi ile genler yapıldı. Greftli domen antikorları ve bunların CDR'leri Şekil 5'te gösterilmektedir.

Tablo 1: Anti-Albümin Antikorların Afiniteleri

	Tavşan Fab Şeklinde		Hümanize IgG Şeklinde		
	HSA	MurinSA	İnsanSA	MurinSA	SıçanSA
	nM	nM	nM	nM	nM
Antikor 1 (Antikor 645)	0.31	2.6	0.82	2.9	7.9
Antikor 2 (Antikor 648)	0.33	12	0.13	23	54
Antikor 646	0.14	1.6	0.57	1.7	4.5
Antikor 647	0.60	3.6	1.3	26	10
Antikor 649	0.54	13	0.32	17	44

KARŞILAŞTIRMA VERİSİ E4: Memeli Hücrelerinde Eksprese Olan FabB-dAb'lerin Analizi

FabB-dAb yapıları usullerde açıklanan şekilde üretildi ve FabB-dAb içeren transfekte edilmiş HEK293 hücrelerine ait üst fazlar doğrudan BIAcore'da test edildi.

HAS'nin FabB-dAb yapılarıyla etkileşimini değerlendirmek için kinetik analizi gerçekleştirildi. Bunlar FabB'ye ait CH1'in C terminali ile füzyon yapan dAbL1, dAbH2 veya dAbL3'ten oluştu (bakınız Şekil 6). FabB-dAbL1'in HAS için afinitesi ($K_D = 170$ nM) FabB-dAbL3'ün afinitesine ($K_D = 392$ nM) göre daha yüksektir. FabB-dAbH2'nin HAS için en zayıf afiniteye ($K_D = 1074$ nM) sahip olduğu gösterildi, bakınız Tablo 2.

Fab' ağır zincir sabit bölgesini kodlayan DNA'yı içeren tavşan ağır zincir ekspresyon vektörü pVRbHFab içine alt klonlandı. Plazmitler CHO hücrelerine birlikte transfekte edildi ve üretilen antikorlar albümine bağlanma ve afinite açısından tarandı (Tablo 1). CHO hücrelerine ilişkin transfeksiyonlar imalatçı firmanın talimatlarına göre Lipofectamine™ 2000 usulünü (Invitrogen, katalog No. 11668) kullanarak gerçekleştirildi.

Hümanize Domenli Antikorlar dAbL1, dAbH1, dAbL2 ve dAbH2'nin Oluşturulması

Hümanize VL ve VH bölgeleri çerçeve bölgelerindeki insan V-bölgesi alıcı çerçevelerini ve verici kalıntıları kullanarak tasarlandı. Sırasıyla antikor 1 ve 2'nin her biri için bir greftli VL bölgesi (L1 (DİZİ İD. NO:53) ve L2 (DİZİ İD. NO:55)) ve bir VH bölgesi (H1 (DİZİ İD. NO:52) ve H2 (DİZİ İD. NO:54)) tasarlandı ve oligonükleotit birleşimi ve PCR mutajenezi ile genler yapıldı. Graftli domen antikorları ve bunların CDR'leri Şekil 5'te gösterilmektedir.

Tablo 1: Anti-Albümin Antikorların Afiniteleri

	Tavşan Fab Şeklinde		Hümanize IgG Şeklinde		
	HSA	MurinSA	İnsanSA	MurinSA	SıçanSA
	nM	nM	nM	nM	nM
Antikor 1 (Antikor 645)	0.31	2.6	0.82	2.9	7.9
Antikor 2 (Antikor 648)	0.33	12	0.13	23	54
Antikor 646	0.14	1.6	0.57	1.7	4.5
Antikor 647	0.60	3.6	1.3	26	10
Antikor 649	0.54	13	0.32	17	44

KARŞILAŞTIRMA VERİSİ E4: Memeli Hücrelerinde Eksprese Olan FabB-dAb'lerin Analizi

FabB-dAb yapıları usullerde açıklanan şekilde üretildi ve FabB-dAb içeren transfekte edilmiş HEK293 hücrelerine ait üst fazlar doğrudan BIAcore'da test edildi.

HAS'nin FabB-dAb yapılarıyla etkileşimini değerlendirmek için kinetik analizi gerçekleştirildi. Bunlar FabB'ye ait CH1'in C terminali ile füzyon yapan dAbL1, dAbH2 veya dAbL3'ten oluştu (bakınız Şekil 6). FabB-dAbL1'in HAS için afinitesi ($K_D = 170$ nM) FabB-dAbL3'ün afinitesine ($K_D = 392$ nM) göre daha yüksektir. FabB-dAbH2'nin HAS için en zayıf afiniteye ($K_D = 1074$ nM) sahip olduğu gösterildi, bakınız Tablo 2.

Tablo 2

Yapı	k_a ($\times 10^4 \text{M}^{-1}\text{s}^{-1}$)	k_d ($\times 10^{-3} \text{s}^{-1}$)	K_D ($\times 10^{-9} \text{M}$)
FabB-dAbL1 (CH1-G ₄ Sx2)	1.91 $\pm$ 0.74	2.18 $\pm$ 1.21	170 $\pm$ 78
FabB-dAbH2 (CH1-G ₄ Sx2)	2.66 $\pm$ 0.39	29 $\pm$ 4.76	1074 $\pm$ 42
FabB-dAbL3 (CH1-G ₄ Sx2)	2.63 $\pm$ 0.39	9.87 $\pm$ 1.63	392 $\pm$ 119

HAS'nin, dAbL1, dAbH2 veya dAbL3 ile füzyon yapan FabB'lere bağlanmasına ilişkin afinite ve kinetik parametreleri belirlendi. Gösterilen veriler ortalama değerler $\pm$ SEM şeklindedir. (FabB-dAbL1 ve FabB-dAbH2 için n=4. FabB-dAbL3 için n=2).

FabB-dAb proteinlerine yapılan SDS-PAGE ve Western blot üretilen FabB-dAb'lerin beklenen boyutta olduğunu doğruladı.

ÖRNEK 5

5 Memeli Hücrelerinde Eksprese Olan FabB-didAb'lerin Analizi

FabB-didAb yapıları usullerde açıklanan şekilde üretildi ve didAb'leri içeren transfektede edilmiş HEK293 hücrelerine ait üst fazlar doğrudan BIAcore'da test edildi.

Tekli dAb'lerin Fab'nin hem ağır hem hafif C terminali ile füzyon yaptığı didAb yapılarını kullanarak bir başka analiz gerçekleştirildi. didAb'nin doğal ağır ve hafif değişken domen

- 10 çiftinden elde edildiği yapılar sadece tekli dAb ile karşılaştırıldığında afinite açısından belirgin bir iyileşme gösterdi (Tablo 2 ve 3). İki özdeş dAbL1'den oluşan didAb füzyonu tekli dAbL1 için görülene göre afinite açısından iyileşme göstermedi (veri gösterilmiyor).

Tablo 3

Yapı	k_a ($\times 10^4 \text{M}^{-1}\text{s}^{-1}$)	k_d ($\times 10^{-3} \text{s}^{-1}$)	K_D ($\times 10^{-9} \text{M}$)
FabB-didAb, -dAbL1 (CK-G ₄ Sx2)&dAbH1 (CH1-G ₄ Sx2)	1.78	0.16	9
FabB-didAb, -dAbL2 (CK-G ₄ Sx2)&dAbH2 (CH1-G ₄ Sx2)	0.54	0.21	39

- 15 HAS'nın hem dAbL1 & dAbH1 hem dAbL2 & dAbH2 ile füzyon yapan FabB'lere bağlanması için afinite ve kinetik parametreler belirlendi.

FabB-didAb proteinlerine ilişkin SDS-PAGE FabB-didAb'lerin iyi ekspre olduğunu ve beklenen boyutta olduğunu doğruladı (bakınız Şekil 4a). Bu SDS PAGE jeli hücrenin

Tablo 2

Yapı	k_a ($\times 10^4 \text{M}^{-1}\text{s}^{-1}$)	k_d ($\times 10^{-3} \text{s}^{-1}$)	K_D ($\times 10^{-9} \text{M}$)
FabB-dAbL1 (CH1-G ₄ Sx2)	1.91 ± 0.74	2.18 ± 1.21	170 ± 78
FabB-dAbH2 (CH1-G ₄ Sx2)	2.66 ± 0.39	29 ± 4.76	1074 ± 42
FabB-dAbL3 (CH1-G ₄ Sx2)	2.63 ± 0.39	9.87 ± 1.63	392 ± 119

HAS'nin, dAbL1, dAbH2 veya dAbL3 ile füzyon yapan FabB'lere bağlanmasına ilişkin afinite ve kinetik parametreleri belirlendi. Gösterilen veriler ortalama değerler ± SEM şeklindedir. (FabB-dAbL1 ve FabB-dAbH2 için n=4. FabB-dAbL3 için n=2).

FabB-dAb proteinlerine yapılan SDS-PAGE ve Western blot üretilen FabB-dAb'lerin beklenen boyutta olduğunu doğruladı.

ÖRNEK 5

5 Memeli Hücrelerinde Eksprese Olan FabB-didAb'lerin Analizi

FabB-didAb yapıları usullerde açıklanan şekilde üretildi ve didAb'leri içeren transfektede edilmiş HEK293 hücrelerine ait üst fazlar doğrudan BIAcore'da test edildi.

Tekli dAb'lerin Fab'nin hem ağır hem hafif C terminali ile füzyon yaptığı didAb yapılarını kullanarak bir başka analiz gerçekleştirildi. didAb'nin doğal ağır ve hafif değişken domen

- 10 çiftinden elde edildiği yapılar sadece tekli dAb ile karşılaştırıldığında afinite açısından belirgin bir iyileşme gösterdi (Tablo 2 ve 3). İki özdeş dAbL1'den oluşan didAb füzyonu tekli dAbL1 için görülene göre afinite açısından iyileşme göstermedi (veri gösterilmiyor).

Tablo 3

Yapı	k_a ($\times 10^4 \text{M}^{-1}\text{s}^{-1}$)	k_d ($\times 10^{-3} \text{s}^{-1}$)	K_D ($\times 10^{-9} \text{M}$)
FabB-didAb, -dAbL1 (CK-G ₄ Sx2)&dAbH1 (CH1-G ₄ Sx2)	1.78	0.16	9
FabB-didAb, -dAbL2 (CK-G ₄ Sx2)&dAbH2 (CH1-G ₄ Sx2)	0.54	0.21	39

- 15 HAS'nın hem dAbL1 & dAbH1 hem dAbL2 & dAbH2 ile füzyon yapan FabB'lere bağlanması için afinite ve kinetik parametreler belirlendi.

FabB-didAb proteinlerine ilişkin SDS-PAGE FabB-didAb'lerin iyi ekspre olduğunu ve beklenen boyutta olduğunu doğruladı (bakınız Şekil 4a). Bu SDS PAGE jeli hücrenin

Tablo 2

Yapı	k_a ($\times 10^4 \text{M}^{-1}\text{s}^{-1}$)	k_d ($\times 10^{-3} \text{s}^{-1}$)	K_D ($\times 10^{-9} \text{M}$)
FabB-dAbL1 (CH1-G ₄ Sx2)	1.91 ± 0.74	2.18 ± 1.21	170 $\pm$ 78
FabB-dAbH2 (CH1-G ₄ Sx2)	2.66 ± 0.39	29 ± 4.76	1074 $\pm$ 42
FabB-dAbL3 (CH1-G ₄ Sx2)	2.63 ± 0.39	9.87 ± 1.63	392 $\pm$ 119

HAS'nin, dAbL1, dAbH2 veya dAbL3 ile füzyon yapan FabB'lere bağlanmasına ilişkin afinite ve kinetik parametreleri belirlendi. Gösterilen veriler ortalama değerler $\pm$ SEM şeklindedir. (FabB-dAbL1 ve FabB-dAbH2 için n=4. FabB-dAbL3 için n=2).

FabB-dAb proteinlerine yapılan SDS-PAGE ve Western blot üretilen FabB-dAb'lerin beklenen boyutta olduğunu doğruladı.

ÖRNEK 5

5 Memeli Hücrelerinde Eksprese Olan FabB-didAb'lerin Analizi

FabB-didAb yapıları usullerde açıklanan şekilde üretildi ve didAb'leri içeren transfektede edilmiş HEK293 hücrelerine ait üst fazlar doğrudan BIAcore'da test edildi.

Tekli dAb'lerin Fab'nin hem ağır hem hafif C terminali ile füzyon yaptığı didAb yapılarını kullanarak bir başka analiz gerçekleştirildi. didAb'nin doğal ağır ve hafif değişken domen

- 10 çiftinden elde edildiği yapılar sadece tekli dAb ile karşılaştırıldığında afinite açısından belirgin bir iyileşme gösterdi (Tablo 2 ve 3). İki özdeş dAbL1'den oluşan didAb füzyonu tekli dAbL1 için görülene göre afinite açısından iyileşme göstermedi (veri gösterilmiyor).

Tablo 3

Yapı	k_a ($\times 10^4 \text{M}^{-1}\text{s}^{-1}$)	k_d ($\times 10^{-3} \text{s}^{-1}$)	K_D ($\times 10^{-9} \text{M}$)
FabB-didAb, -dAbL1 (CK-G ₄ Sx2)&dAbH1 (CH1-G ₄ Sx2)	1.78	0.16	9
FabB-didAb, -dAbL2 (CK-G ₄ Sx2)&dAbH2 (CH1-G ₄ Sx2)	0.54	0.21	39

- 15 HAS'nın hem dAbL1 & dAbH1 hem dAbL2 & dAbH2 ile füzyon yapan FabB'lere bağlanması için afinite ve kinetik parametreler belirlendi.

FabB-didAb proteinlerine ilişkin SDS-PAGE FabB-didAb'lerin iyi ekspre olduğunu ve beklenen boyutta olduğunu doğruladı (bakınız Şekil 4a). Bu SDS PAGE jeli hücrenin

eksprese ettiği toplam proteindir.

ÖRNEK 6 (Karşılaştırma Verisi İçerir)

Saflaştırılmış FabA-dAb'lerin Analizi

E.coli'de Fab-dAb'ler, Fab'A-dAbL3 (CK-SG₄SE) Fab'A-dAbL3 (CK-G[APAPA]₂)

- 5 ekspresyonuna ilişkin plazmitler usullerde açıklanan şekilde yapıldı. Fab-dAb'ler *E.coli* periplazmasında eksprese edildi ve usullerde açıklanan şekilde homojenlik için saflaştırıldı. Fab-dAb'lerin saflığı yüksek sıcaklıkta ters fazlı HPLC, SDS-PAGE ve Western blot ile değerlendirildi. Fab-dAb'ler Biacore ile antijene bağlanma açısından da değerlendirildi.

Yüksek Sıcaklıkta Ters Fazlı HPLC

- 10 Usullerde açıklanan şekilde gerçekleştirilen yüksek sıcaklıkta ters fazlı HPLC FabA-dAbL3 (CK-SG₄SE) ve FabA-dAbL3 (CK-G[APAPA]₂) içinde bulunan tüm türlere ilişkin kantitatif analiz sağladı. Mevcut her türün yüzdesi Tablo 4'te gösterilmektedir.

Tablo 4: Fab-dAb Partilerinde Bulunan Türlerin Miktarı

Tür	Fab'A-dAbL3 (CK-SG ₄ SE)	Fab'A-dAbL3 (CK-G[APAPA] ₂)
Pik 1	%0.6	%1.8
Pik 2	%0.6	%0.0
Pik 3	%1.0	%0.3
Pik 4	%0.9	%0.8
Fab-dAb piki	%85.5	%92.9
Di Fab-dAb piki	%11.5	%4.2

SDS-PAGE

- 15 Fab-dAb numuneleri indirgenmemiş ve indirgenmiş koşullar altında hazırlandı ve usullerde açıklanan şekilde bir jelde işlendi. Jel Coomassie ile boyandı. Her iki Fab-dAb numunesinin, Fab'A-dAbL3 (CK-SG₄SE) ve Fab'A-dAbL3'ün (CK-G[APAPA]₂) bant profili yüksek sıcaklıkta ters fazlı HPLC ile gözlemlenen profile tam karşılık gelir (Şekil 3).

Western Blot

- 20 Fab-dAb numuneleri indirgenmemiş SDS-PAGE'ye tabi tutuldu, ardından usullerde açıklanan şekilde anti-hafif zincir ve anti-ağır zincir antikorlarla Western blot analizi yapıldı. Bu analiz, dAb'nin Fab hafif zincirinde olduğunu ve her iki numunede de ağır zincirin modifiye edilmemiş olduğunu doğruladı (Şekil 4). Bu, Coomassie boyalı, indirgenmemiş SDS PAGE

eksprese ettiği toplam proteindir.

ÖRNEK 6 (Karşılaştırma Verisi İçerir)

Saflaştırılmış FabA-dAb'lerin Analizi

E.coli'de Fab-dAb'ler, Fab'A-dAbL3 (CK-SG₄SE) Fab'A-dAbL3 (CK-G[APAPA]₂)

- 5 ekspresyonuna ilişkin plazmitler usullerde açıklanan şekilde yapıldı. Fab-dAb'ler *E.coli* periplazmasında eksprese edildi ve usullerde açıklanan şekilde homojenlik için saflaştırıldı. Fab-dAb'lerin saflığı yüksek sıcaklıkta ters fazlı HPLC, SDS-PAGE ve Western blot ile değerlendirildi. Fab-dAb'ler Biacore ile antijene bağlanma açısından da değerlendirildi.

Yüksek Sıcaklıkta Ters Fazlı HPLC

- 10 Usullerde açıklanan şekilde gerçekleştirilen yüksek sıcaklıkta ters fazlı HPLC FabA-dAbL3 (CK-SG₄SE) ve FabA-dAbL3 (CK-G[APAPA]₂) içinde bulunan tüm türlere ilişkin kantitatif analiz sağladı. Mevcut her türün yüzdesi Tablo 4'te gösterilmektedir.

Tablo 4: Fab-dAb Partilerinde Bulunan Türlerin Miktarı

Tür	Fab'A-dAbL3 (CK-SG ₄ SE)	Fab'A-dAbL3 (CK-G[APAPA] ₂)
Pik 1	%0.6	%1.8
Pik 2	%0.6	%0.0
Pik 3	%1.0	%0.3
Pik 4	%0.9	%0.8
Fab-dAb piki	%85.5	%92.9
Di Fab-dAb piki	%11.5	%4.2

SDS-PAGE

- 15 Fab-dAb numuneleri indirgenmemiş ve indirgenmiş koşullar altında hazırlandı ve usullerde açıklanan şekilde bir jelde işlendi. Jel Coomassie ile boyandı. Her iki Fab-dAb numunesinin, Fab'A-dAbL3 (CK-SG₄SE) ve Fab'A-dAbL3'ün (CK-G[APAPA]₂) bant profili yüksek sıcaklıkta ters fazlı HPLC ile gözlemlenen profile tam karşılık gelir (Şekil 3).

Western Blot

- 20 Fab-dAb numuneleri indirgenmemiş SDS-PAGE'ye tabi tutuldu, ardından usullerde açıklanan şekilde anti-hafif zincir ve anti-ağır zincir antikorlarla Western blot analizi yapıldı. Bu analiz, dAb'nin Fab hafif zincirinde olduğunu ve her iki numunede de ağır zincirin modifiye edilmemiş olduğunu doğruladı (Şekil 4). Bu, Coomassie boyalı, indirgenmemiş SDS PAGE

eksprese ettiği toplam proteindir.

ÖRNEK 6 (Karşılaştırma Verisi İçerir)

Saflaştırılmış FabA-dAb'lerin Analizi

E.coli'de Fab-dAb'ler, Fab'A-dAbL3 (CK-SG₄SE) Fab'A-dAbL3 (CK-G[APAPA]₂)

- 5 ekspresyonuna ilişkin plazmitler usullerde açıklanan şekilde yapıldı. Fab-dAb'ler *E.coli* periplazmasında eksprese edildi ve usullerde açıklanan şekilde homojenlik için saflaştırıldı. Fab-dAb'lerin saflığı yüksek sıcaklıkta ters fazlı HPLC, SDS-PAGE ve Western blot ile değerlendirildi. Fab-dAb'ler Biacore ile antijene bağlanma açısından da değerlendirildi.

Yüksek Sıcaklıkta Ters Fazlı HPLC

- 10 Usullerde açıklanan şekilde gerçekleştirilen yüksek sıcaklıkta ters fazlı HPLC FabA-dAbL3 (CK-SG₄SE) ve FabA-dAbL3 (CK-G[APAPA]₂) içinde bulunan tüm türlere ilişkin kantitatif analiz sağladı. Mevcut her türün yüzdesi Tablo 4'te gösterilmektedir.

Tablo 4: Fab-dAb Partilerinde Bulunan Türlerin Miktarı

Tür	Fab'A-dAbL3 (CK-SG ₄ SE)	Fab'A-dAbL3 (CK-G[APAPA] ₂)
Pik 1	%0.6	%1.8
Pik 2	%0.6	%0.0
Pik 3	%1.0	%0.3
Pik 4	%0.9	%0.8
Fab-dAb piki	%85.5	%92.9
Di Fab-dAb piki	%11.5	%4.2

SDS-PAGE

- 15 Fab-dAb numuneleri indirgenmemiş ve indirgenmiş koşullar altında hazırlandı ve usullerde açıklanan şekilde bir jelde işlendi. Jel Coomassie ile boyandı. Her iki Fab-dAb numunesinin, Fab'A-dAbL3 (CK-SG₄SE) ve Fab'A-dAbL3'ün (CK-G[APAPA]₂) bant profili yüksek sıcaklıkta ters fazlı HPLC ile gözlemlenen profile tam karşılık gelir (Şekil 3).

Western Blot

- 20 Fab-dAb numuneleri indirgenmemiş SDS-PAGE'ye tabi tutuldu, ardından usullerde açıklanan şekilde anti-hafif zincir ve anti-ağır zincir antikorlarla Western blot analizi yapıldı. Bu analiz, dAb'nin Fab hafif zincirinde olduğunu ve her iki numunede de ağır zincirin modifiye edilmemiş olduğunu doğruladı (Şekil 4). Bu, Coomassie boyalı, indirgenmemiş SDS PAGE

ile tespit edilen tüm bantların Fab-dAb bağlantılı ürünler olduğunu da kanıtlamaktadır.

Biacore

İnsan serum albüminin Fab'A-dAbL3 (CK-SG₄SE) ve Fab'A-dAbL3'e (CK-G[APAPA]₂) bağlanmasını değerlendirmekte usullerde açıklanan şekilde SPR ile yapılan kinetik analizi

- 5 kullanıldı. Tablo 5'teki sonuçlar her iki yapının yaklaşık 1 μ M bir benzer afinite (K_D) ile insan serum albümine bağlanabildiğini göstermektedir.

Tablo 5

Yapı	k_a ($\times 10^4 \text{M}^{-1} \text{s}^{-1}$)	k_d ($\times 10^{-2} \text{s}^{-1}$)	K_D ($\times 10^{-9} \text{M}$)
Fab'A-dAbL3 (CK- SG ₄ SE)	3.44	1.42	411
Fab'A-dAbL3 (CK-G[APAPA] ₂)	9.61	2.85	296

Bir başka kinetik analizi tüm füzyon yapılarının, sadece kinetik ve afinite parametrelerinde görülen önemsiz farklılıklarla birlikte orijinal FabA'nin IL-1 β 'ya yönelik etkileşim

- 10 özelliklerini koruduğunu gösterdi.

Tablo 6

Yapı	k_a ($\times 10^5 \text{M}^{-1} \text{s}^{-1}$)	k_d ($\times 10^{-5} \text{s}^{-1}$)	K_D ($\times 10^{-12} \text{M}$)
Fab'A-dAbL3 (CK- SG ₄ SE)	1.90	4.21	221
Fab'A-dAbL3 (CK- G[APAPA] ₂)	2.17	3.99	184
Fab'A	2.02	6.46	320

Her yapının hem insan serum albümine hem IL-1 β antijenine eşzamanlı bağlanma potansiyeli, ya ayrı ayrı 5 μ M insan serum albümin veya 100 nM IL-1 β ile, ya da hem 5 μ M insan serum albümin, hem 100 nM IL-1 β içeren bir karışık çözelti ile 3 dakika enjeksiyon

- 15 gerçekleştirilmeden önce her yapının sensör çipi yüzeyine yakalanmasıyla incelendi. Her Fab-dAb yapısı için birleşik HSA/IL-1 β çözeltisi için görülen yanıt ayrı ayrı enjeksiyonların yanıtlarının toplamı ile hemen hemen aynı oldu (bakınız Tablo 7). Bu durum Fab-dAb'lerin hem IL-1 β 'ya hem insan serum albümine eşzamanlı bağlanabildiklerini ve gerek IL-1 β gerek insan serum albümin bağlanmasının diğerinin etkileşimini inhibe etmediğini gösterir. Orijinal
20 FabA sadece IL-1 β 'ya bağlandı, insan serum albümine bağlanma göz ardı edilebilir oldu.

ile tespit edilen tüm bantların Fab-dAb bağlantılı ürünler olduğunu da kanıtlamaktadır.

Biacore

İnsan serum albüminin Fab'A-dAbL3 (CK-SG₄SE) ve Fab'A-dAbL3'e (CK-G[APAPA]₂) bağlanmasını değerlendirmekte usullerde açıklanan şekilde SPR ile yapılan kinetik analizi

- 5 kullanıldı. Tablo 5'teki sonuçlar her iki yapının yaklaşık 1 μ M bir benzer afinite (K_D) ile insan serum albümine bağlanabildiğini göstermektedir.

Tablo 5

Yapı	k_a ($\times 10^4 \text{M}^{-1} \text{s}^{-1}$)	k_d ($\times 10^{-2} \text{s}^{-1}$)	K_D ($\times 10^{-9} \text{M}$)
Fab'A-dAbL3 (CK- SG ₄ SE)	3.44	1.42	411
Fab'A-dAbL3 (CK-G[APAPA] ₂)	9.61	2.85	296

Bir başka kinetik analizi tüm füzyon yapılarının, sadece kinetik ve afinite parametrelerinde görülen önemsiz farklılıklarla birlikte orijinal FabA'nin IL-1 β 'ya yönelik etkileşim

- 10 özelliklerini koruduğunu gösterdi.

Tablo 6

Yapı	k_a ($\times 10^5 \text{M}^{-1} \text{s}^{-1}$)	k_d ($\times 10^{-5} \text{s}^{-1}$)	K_D ($\times 10^{-12} \text{M}$)
Fab'A-dAbL3 (CK- SG ₄ SE)	1.90	4.21	221
Fab'A-dAbL3 (CK- G[APAPA] ₂)	2.17	3.99	184
Fab'A	2.02	6.46	320

Her yapının hem insan serum albümine hem IL-1 β antijenine eşzamanlı bağlanma potansiyeli, ya ayrı ayrı 5 μ M insan serum albümin veya 100 nM IL-1 β ile, ya da hem 5 μ M insan serum albümin, hem 100 nM IL-1 β içeren bir karışık çözelti ile 3 dakika enjeksiyon

- 15 gerçekleştirilmeden önce her yapının sensör çipi yüzeyine yakalanmasıyla incelendi. Her Fab-dAb yapısı için birleşik HSA/IL-1 β çözeltisi için görülen yanıt ayrı ayrı enjeksiyonların yanıtlarının toplamı ile hemen hemen aynı oldu (bakınız Tablo 7). Bu durum Fab-dAb'lerin hem IL-1 β 'ya hem insan serum albümine eşzamanlı bağlanabildiklerini ve gerek IL-1 β gerek insan serum albümin bağlanmasının diğerinin etkileşimini inhibe etmediğini gösterir. Orijinal
- 20 FabA sadece IL-1 β 'ya bağlandı, insan serum albümine bağlanma göz ardı edilebilir oldu.

ile tespit edilen tüm bantların Fab-dAb bağlantılı ürünler olduğunu da kanıtlamaktadır.

Biacore

İnsan serum albüminin Fab'A-dAbL3 (CK-SG₄SE) ve Fab'A-dAbL3'e (CK-G[APAPA]₂) bağlanmasını değerlendirmekte usullerde açıklanan şekilde SPR ile yapılan kinetik analizi

- 5 kullanıldı. Tablo 5'teki sonuçlar her iki yapının yaklaşık 1 μ M bir benzer afinite (K_D) ile insan serum albümine bağlanabildiğini göstermektedir.

Tablo 5

Yapı	k_a ($\times 10^4 \text{M}^{-1} \text{s}^{-1}$)	k_d ($\times 10^{-2} \text{s}^{-1}$)	K_D ($\times 10^{-9} \text{M}$)
Fab'A-dAbL3 (CK- SG ₄ SE)	3.44	1.42	411
Fab'A-dAbL3 (CK-G[APAPA] ₂)	9.61	2.85	296

Bir başka kinetik analizi tüm füzyon yapılarının, sadece kinetik ve afinite parametrelerinde görülen önemsiz farklılıklarla birlikte orijinal FabA'nin IL-1 β 'ya yönelik etkileşim

- 10 özelliklerini koruduğunu gösterdi.

Tablo 6

Yapı	k_a ($\times 10^5 \text{M}^{-1} \text{s}^{-1}$)	k_d ($\times 10^{-5} \text{s}^{-1}$)	K_D ($\times 10^{-12} \text{M}$)
Fab'A-dAbL3 (CK- SG ₄ SE)	1.90	4.21	221
Fab'A-dAbL3 (CK- G[APAPA] ₂)	2.17	3.99	184
Fab'A	2.02	6.46	320

Her yapının hem insan serum albümine hem IL-1 β antijenine eşzamanlı bağlanma potansiyeli, ya ayrı ayrı 5 μ M insan serum albümin veya 100 nM IL-1 β ile, ya da hem 5 μ M insan serum albümin, hem 100 nM IL-1 β içeren bir karışık çözelti ile 3 dakika enjeksiyon

- 15 gerçekleştirilmeden önce her yapının sensör çipi yüzeyine yakalanmasıyla incelendi. Her Fab-dAb yapısı için birleşik HSA/IL-1 β çözeltisi için görülen yanıt ayrı ayrı enjeksiyonların yanıtlarının toplamı ile hemen hemen aynı oldu (bakınız Tablo 7). Bu durum Fab-dAb'lerin hem IL-1 β 'ya hem insan serum albümine eşzamanlı bağlanabildiklerini ve gerek IL-1 β gerek insan serum albümin bağlanmasının diğerinin etkileşimini inhibe etmediğini gösterir. Orijinal
20 FabA sadece IL-1 β 'ya bağlandı, insan serum albümine bağlanma göz ardı edilebilir oldu.

Tablo 7

Yapı	Analit	Bağlanma (RU)	
Fab'A-dAbL3 (CK- SG ₄ SE)	HSA + IL-1 β	37.6	
	HSA	13.2	(37.9)
	IL-1 β	24.7	
Fab'A-dAbL3 (CK- G[APAPA] ₂)	HSA + IL-1 β	61.9	
	HSA	30.7	(63.6)
	IL-1 β	32.9	
Fab'A	HSA + IL-1 β	30.3	
	HSA	1.3	(30.0)
	IL-1 β	28.7	

Yukarıdaki tabloda ayrı ayrı HSA veya IL-1 β enjeksiyonları veya önceden karıştırılmış HSA ve IL-1 β enjeksiyonu sonrasında her yapı için görülen bağlanma yanıtı (RU) gösterilmektedir.

- 5 Her durumda nihai konsantrasyon HSA için 5 μ M ve IL-1 β için 100 nM oldu. Ayrı ayrı HSA ve IL-1 β yanıtlarının toplamı parantez içinde gösterilmektedir.

ÖRNEK 7 FabA didAb'ler

FabA-didAb'lerin *E.coli*'de Ekspresyonu

- 10 Bir C terminal histidin işareti (HIS6) ile sonlanan FabA-dAb'ler ve FabA-didAb füzyonları *Escherichia coli*'de eksprese edildi. Periplazmik ekstraksiyon sonrasında dAb füzyon proteinleri C terminal His6 işaret ile saflaştırıldı. Fab ekspresyonu, anti-CH1 ve anti-cKappa antikorlarıyla indirgenmemiş bir jelde Western blot yaparak analiz edildi. FabA-dAb ve FabA-didAb tam boy proteinler olarak eksprese edildi ve her iki antikor tespit reaktifi ile reaksiyona girdikleri gösterildi.

15 *E.coli*'de Eksprese Edilen FabA-didAb'lerin Analizi

- HAS'nin, bir veya daha fazla dAb ile füzyon yapmış FabA yapılarına bağlanmasını tanımlamak için bir başka analiz gerçekleştirildi. Bağlanma analizleri dAbL3 veya dAbH4'ün FabA'nin ya hafif ya da ağır zinciri ile füzyon yaptığı çeşitli yapılarda gerçekleştirildi (yapılarının ayrıntıları ve bağlanma verisinin özeti için bakınız Tablo 8). Ya hafif ya da ağır zincirde sadece dAbH4 taşıyan yapıların HAS'ya nispeten zayıf afinite (sırasıyla $\approx 9 \mu$ M ve 3 μ M) ile bağlandığı görülse de, gerek tek bir füzyon şeklinde (ya hafif ya da ağır zincirde) gerek karşıt zincirde bir ikinci dAb (dAbL3 veya dAbH4) ile eşleşmiş halde dAbL3 taşıyan

Tablo 7

Yapı	Analit	Bağlanma (RU)	
Fab'A-dAbL3 (CK- SG ₄ SE)	HSA + IL-1 β	37.6	
	HSA	13.2	(37.9)
	IL-1 β	24.7	
Fab'A-dAbL3 (CK- G[APAPA] ₂)	HSA + IL-1 β	61.9	
	HSA	30.7	(63.6)
	IL-1 β	32.9	
Fab'A	HSA + IL-1 β	30.3	
	HSA	1.3	(30.0)
	IL-1 β	28.7	

Yukarıdaki tabloda ayrı ayrı HSA veya IL-1 β enjeksiyonları veya önceden karıştırılmış HSA ve IL-1 β enjeksiyonu sonrasında her yapı için görülen bağlanma yanıtı (RU) gösterilmektedir.

- 5 Her durumda nihai konsantrasyon HSA için 5 μ M ve IL-1 β için 100 nM oldu. Ayrı ayrı HSA ve IL-1 β yanıtlarının toplamı parantez içinde gösterilmektedir.

ÖRNEK 7 FabA didAb'ler

FabA-didAb'lerin *E.coli*'de Ekspresyonu

- 10 Bir C terminal histidin işareti (HIS6) ile sonlanan FabA-dAb'ler ve FabA-didAb füzyonları *Escherichia coli*'de eksprese edildi. Periplazmik ekstraksiyon sonrasında dAb füzyon proteinleri C terminal His6 işaret ile saflaştırıldı. Fab ekspresyonu, anti-CH1 ve anti-cKappa antikorlarıyla indirgenmemiş bir jelde Western blot yaparak analiz edildi. FabA-dAb ve FabA-didAb tam boy proteinler olarak eksprese edildi ve her iki antikor tespit reaktifi ile reaksiyona girdikleri gösterildi.

15 *E.coli*'de Eksprese Edilen FabA-didAb'lerin Analizi

- HAS'nin, bir veya daha fazla dAb ile füzyon yapmış FabA yapılarına bağlanmasını tanımlamak için bir başka analiz gerçekleştirildi. Bağlanma analizleri dAbL3 veya dAbH4'ün FabA'nin ya hafif ya da ağır zinciri ile füzyon yaptığı çeşitli yapılarda gerçekleştirildi (yapıların ayrıntıları ve bağlanma verisinin özeti için bakınız Tablo 8). Ya hafif ya da ağır zincirde sadece dAbH4 taşıyan yapıların HAS'ya nispeten zayıf afinite (sırasıyla $\approx 9 \mu$ M ve 3 μ M) ile bağlandığı görülse de, gerek tek bir füzyon şeklinde (ya hafif ya da ağır zincirde) gerek karşıt zincirde bir ikinci dAb (dAbL3 veya dAbH4) ile eşleşmiş halde dAbL3 taşıyan

Tablo 7

Yapı	Analit	Bağlanma (RU)	
Fab'A-dAbL3 (CK- SG ₄ SE)	HSA + IL-1 β	37.6	
	HSA	13.2	(37.9)
	IL-1 β	24.7	
Fab'A-dAbL3 (CK- G[APAPA] ₂)	HSA + IL-1 β	61.9	
	HSA	30.7	(63.6)
	IL-1 β	32.9	
Fab'A	HSA + IL-1 β	30.3	
	HSA	1.3	(30.0)
	IL-1 β	28.7	

Yukarıdaki tabloda ayrı ayrı HSA veya IL-1 β enjeksiyonları veya önceden karıştırılmış HSA ve IL-1 β enjeksiyonu sonrasında her yapı için görülen bağlanma yanıtı (RU) gösterilmektedir.

- 5 Her durumda nihai konsantrasyon HSA için 5 μ M ve IL-1 β için 100 nM oldu. Ayrı ayrı HSA ve IL-1 β yanıtlarının toplamı parantez içinde gösterilmektedir.

ÖRNEK 7 FabA didAb'ler

FabA-didAb'lerin *E.coli*'de Ekspresyonu

- 10 Bir C terminal histidin işareti (HIS6) ile sonlanan FabA-dAb'ler ve FabA-didAb füzyonları *Escherichia coli*'de eksprese edildi. Periplazmik ekstraksiyon sonrasında dAb füzyon proteinleri C terminal His6 işaret ile saflaştırıldı. Fab ekspresyonu, anti-CH1 ve anti-cKappa antikorlarıyla indirgenmemiş bir jelde Western blot yaparak analiz edildi. FabA-dAb ve FabA-didAb tam boy proteinler olarak eksprese edildi ve her iki antikor tespit reaktifi ile reaksiyona girdikleri gösterildi.

15 *E.coli*'de Eksprese Edilen FabA-didAb'lerin Analizi

- HAS'nin, bir veya daha fazla dAb ile füzyon yapmış FabA yapılarına bağlanmasını tanımlamak için bir başka analiz gerçekleştirildi. Bağlanma analizleri dAbL3 veya dAbH4'ün FabA'nin ya hafif ya da ağır zinciri ile füzyon yaptığı çeşitli yapılarda gerçekleştirildi (yapıların ayrıntıları ve bağlanma verisinin özeti için bakınız Tablo 8). Ya hafif ya da ağır zincirde sadece dAbH4 taşıyan yapıların HAS'ya nispeten zayıf afinite (sırasıyla $\approx 9 \mu$ M ve 3 μ M) ile bağlandığı görülse de, gerek tek bir füzyon şeklinde (ya hafif ya da ağır zincirde) gerek karşıt zincirde bir ikinci dAb (dAbL3 veya dAbH4) ile eşleşmiş halde dAbL3 taşıyan

yapılar için daha yüksek afinite ile bağlanma gözlemlendi.

Tablo 8

Yapı	k_a ($\times 10^4 \text{M}^{-1} \text{s}^{-1}$)	k_d ($\times 10^{-3} \text{s}^{-1}$)	K_D ($\times 10^{-9} \text{M}$)
FabA	-	-	nb
FabA-dAbL3 (LC-SG4SE)	4.46	16.2	363
FabA-dAbH4 (LC SG4SE)	-	-	9142
FabA-dAbL3 (HC-DKTHTS)	8.24	15.4	187
FabA-dAbH4 (HC-DKTHTS)	-	-	2866
FabA-didAb, -dAbL3 (LC-SG4SE)&-dAbL3 (HC-DKTHTS)	3.00	15.1	502
FabA-didAb, -dAbL3 (LC-SG4SE)&-dAbH4 (HC-DKTHTS)	4.36	16.3	373

Belirtilen şekilde HAS'nin ya hafif zincirde (LC) ya ağır zincirde (HC) ya da her ikisinde dAbL3 veya dAbH4 taşıyan FabA'lara bağlanmasına ilişkin afinite ve kinetik parametreleri belirlendi. HAS'nin orijinal FabA'ya bağlanması tespit edilmedi (nb). HAS'nin (HC'de dAbH4) veya (LC'de dAbH4) FabA'ya bağlanmasına ilişkin etkileşim kinetikleri belirlenmek için fazla hızlı oldu, bu nedenle afinite (K_D) sabit durum bağlanmasından belirlendi.

ÖRNEK 8

FabB-didAb'lerin Ekspresyonu ve Saflaştırılması

10 Memelide Ekspresyon

Transfeksiyon öncesinde CHO-XE hücreleri Earle Dengeli Tuz Çözelti (EBSS) içinde yıkandı, pelet haline getirildi ve 2×10^8 hücre/ml şeklinde EBSS içinde yeniden süspansiyon yapıldı. Ağır ve hafif zincir plazmitleri 400 ug bir toplam konsantrasyonda hücrelere eklendi. Transfeksiyon için kurum içi geliştirilmiş elektroporatörde 800 µl hücre/DNA karışımı için optimize edilmiş elektrik parametreleri kullanıldı. Transfekte olmuş hücreler doğrudan glutaMAX, HT ve antimikotik antibiyotik çözelti takviyeli 1 L CD-CHO besiyerine aktarıldı. Hücreler 24 saat 37 °C'de ve sonra 32 °C'ye geçerek çalkalanıp inkübe edildi. 4. Günde 3 mM Sodyum Butirat eklendi. 14. Günde hücreleri atmak için 1500xg santrifüjleme yaparak üst fazlar toplandı. Ekspresyon seviyeleri ELISA ile belirlendi.

20 Memeli Ekspresyonu Üst Faz Konsantrasyonu

ELISA ile incelendiğinde ~55 µg/ml FabB-didAb içeren memeli üst fazları 10 kDa bir

yapılar için daha yüksek afinite ile bağlanma gözlemlendi.

Tablo 8

Yapı	k_a ($\times 10^4 \text{M}^{-1} \text{s}^{-1}$)	k_d ($\times 10^{-3} \text{s}^{-1}$)	K_D ($\times 10^{-9} \text{M}$)
FabA	-	-	nb
FabA-dAbL3 (LC-SG4SE)	4.46	16.2	363
FabA-dAbH4 (LC SG4SE)	-	-	9142
FabA-dAbL3 (HC-DKTHTS)	8.24	15.4	187
FabA-dAbH4 (HC-DKTHTS)	-	-	2866
FabA-didAb, -dAbL3 (LC-SG4SE)&-dAbL3 (HC-DKTHTS)	3.00	15.1	502
FabA-didAb, -dAbL3 (LC-SG4SE)&-dAbH4 (HC-DKTHTS)	4.36	16.3	373

Belirtilen şekilde HAS'nin ya hafif zincirde (LC) ya ağır zincirde (HC) ya da her ikisinde dAbL3 veya dAbH4 taşıyan FabA'lara bağlanmasına ilişkin afinite ve kinetik parametreleri belirlendi. HAS'nin orijinal FabA'ya bağlanması tespit edilmedi (nb). HAS'nin (HC'de dAbH4) veya (LC'de dAbH4) FabA'ya bağlanmasına ilişkin etkileşim kinetikleri belirlenmek için fazla hızlı oldu, bu nedenle afinite (K_D) sabit durum bağlanmasından belirlendi.

ÖRNEK 8

FabB-didAb'lerin Ekspresyonu ve Saflaştırılması

10 Memelide Ekspresyon

Transfeksiyon öncesinde CHO-XE hücreleri Earle Dengeli Tuz Çözelti (EBSS) içinde yıkandı, pelet haline getirildi ve 2×10^8 hücre/ml şeklinde EBSS içinde yeniden süspansiyon yapıldı. Ağır ve hafif zincir plazmitleri 400 ug bir toplam konsantrasyonda hücrelere eklendi. Transfeksiyon için kurum içi geliştirilmiş elektroporatörde 800 µl hücre/DNA karışımı için optimize edilmiş elektrik parametreleri kullanıldı. Transfekte olmuş hücreler doğrudan glutaMAX, HT ve antimikotik antibiyotik çözelti takviyeli 1 L CD-CHO besiyerine aktarıldı. Hücreler 24 saat 37 °C'de ve sonra 32 °C'ye geçerek çalkalanıp inkübe edildi. 4. Günde 3 mM Sodyum Butirat eklendi. 14. Günde hücreleri atmak için 1500xg santrifüjleme yaparak üst fazlar toplandı. Ekspresyon seviyeleri ELISA ile belirlendi.

20 Memeli Ekspresyonu Üst Faz Konsantrasyonu

ELISA ile incelendiğinde ~55 µg/ml FabB-didAb içeren memeli üst fazları 10 kDa bir

yapılar için daha yüksek afinite ile bağlanma gözlemlendi.

Tablo 8

Yapı	k_a ($\times 10^4 \text{M}^{-1} \text{s}^{-1}$)	k_d ($\times 10^{-3} \text{s}^{-1}$)	K_D ($\times 10^{-9} \text{M}$)
FabA	-	-	nb
FabA-dAbL3 (LC-SG4SE)	4.46	16.2	363
FabA-dAbH4 (LC SG4SE)	-	-	9142
FabA-dAbL3 (HC-DKTHTS)	8.24	15.4	187
FabA-dAbH4 (HC-DKTHTS)	-	-	2866
FabA-didAb, -dAbL3 (LC-SG4SE)&-dAbL3 (HC-DKTHTS)	3.00	15.1	502
FabA-didAb, -dAbL3 (LC-SG4SE)&-dAbH4 (HC-DKTHTS)	4.36	16.3	373

Belirtilen şekilde HAS'nin ya hafif zincirde (LC) ya ağır zincirde (HC) ya da her ikisinde dAbL3 veya dAbH4 taşıyan FabA'lara bağlanmasına ilişkin afinite ve kinetik parametreleri belirlendi. HAS'nin orijinal FabA'ya bağlanması tespit edilmedi (nb). HAS'nin (HC'de dAbH4) veya (LC'de dAbH4) FabA'ya bağlanmasına ilişkin etkileşim kinetikleri belirlenmek için fazla hızlı oldu, bu nedenle afinite (K_D) sabit durum bağlanmasından belirlendi.

ÖRNEK 8

FabB-didAb'lerin Ekspresyonu ve Saflaştırılması

10 Memelide Ekspresyon

Transfeksiyon öncesinde CHO-XE hücreleri Earle Dengeli Tuz Çözelti (EBSS) içinde yıkandı, pelet haline getirildi ve 2×10^8 hücre/ml şeklinde EBSS içinde yeniden süspansiyon yapıldı. Ağır ve hafif zincir plazmitleri 400 ug bir toplam konsantrasyonda hücrelere eklendi. Transfeksiyon için kurum içi geliştirilmiş elektroporatörde 800 µl hücre/DNA karışımı için optimize edilmiş elektrik parametreleri kullanıldı. Transfekte olmuş hücreler doğrudan glutaMAX, HT ve antimikotik antibiyotik çözelti takviyeli 1 L CD-CHO besiyerine aktarıldı. Hücreler 24 saat 37 °C'de ve sonra 32 °C'ye geçerek çalkalanıp inkübe edildi. 4. Günde 3 mM Sodyum Butirat eklendi. 14. Günde hücreleri atmak için 1500xg santrifüjleme yaparak üst fazlar toplandı. Ekspresyon seviyeleri ELISA ile belirlendi.

20 Memeli Ekspresyonu Üst Faz Konsantrasyonu

ELISA ile incelendiğinde ~55 µg/ml FabB-didAb içeren memeli üst fazları 10 kDa bir

molekül ağırlığı ayırma sınırlı polietersülfon (PES) membranla donatılmış bir Minisette konsantratör kullanarak 1.8 L'den 200 ml'ye konsantre edildi.

Protein-G Saflaştırması

- Konsantre edilmiş üst fazlar 20 mM fosfat, 150 mM NaCl (pH 7.1) içinde dengelenmiş bir
- 5 Gammabind Plus Sepharose (GE Healthcare) kolona uygulandı. Kolon 20 mM fosfat, 150 mM NaCl (pH 7.1) ile yıkandı ve bağlanan maddeye 0.1 M glisin/HCl (pH 2.7) ile elüsyon uygulandı. Elüsyon piki toplandı ve 2 M Tris/HCl (pH 8.8) ile pH ~pH 7'ye ayarlandı. pH ayarlaması yapılmış elüsyonlar 1 mg/ml'ye konsantre edildi ve 10 kDa bir molekül ağırlığı ayırma sınırlı PES membran kullanarak 20 mM fosfat, 150 mM NaCl'ye (pH 7.1)
- 10 diafiltrasyon yapıldı.

SDS-PAGE

- Gerektiğinde numuneler suyla seyreltildi ve ardından 26 µl'ye 10 µL 4X LDS numune yürütme tamponu eklendi. İndirgenmemiş numuneler için 4 µL 100 mM NEM eklendi ve indirgenmiş numuneler için 4 µL 10X indirgeyici madde eklendi. Numuneler girdaplandı, 5
- 15 dakika 85 °C'de inkübe edildi, soğutuldu ve 30 saniye 12500 rpm (devir/dakika) santrifüjleme yapıldı. Hazırlanan numuneler %4-20 bir akrilamin Tris/Glisin SDS jeli yüklendi ve 110 dakika 125 V'de işleme tabi tutuldu. Jeller Coomassie Mavi protein boyasıyla boyandı.

ELISA

- Fab-didAb verimleri bir sandviç ELISA kullanarak ölçüldü. Kısaca, Fab-didAb bir anti-CHI
- 20 antikoruyla yakalandı, ardından bir anti-kappa-HRP ile açığa çıkartıldı.

SDS-PAGE

FabB ve FabB-didAb numuneleri usullerde açıklanan şekilde indirgenmemiş ve indirgenmiş koşullarda hazırlandı ve bir jelde ayrıldı ve boyandı. Bakınız Şekil 9.

ÖRNEK 9

- 25 **FabB-Fv'de Thermofluor Termal Stabilite Analizi**

Numuneler (~1 mg/ml'de 1 µl numune, 8 µl PBS ve 1 µl 30x Sypro turuncu floresan boya stoku) 384 kuyucuklu plakalarda dört kopya işlendi. Plaka 7900HT Fast Real-Time PCR sistemi kullanarak 20 °C'den 99 °C'ye ısıtıldı ve floresans (490 nm'de uyarım, 530 nm'de yayılım) ölçüldü. Sonuçlar Tablo 9 ve Şekil 10'da gösterilmektedir.

molekül ağırlığı ayırma sınırlı polietersülfon (PES) membranla donatılmış bir Minisette konsantratör kullanarak 1.8 L'den 200 ml'ye konsantre edildi.

Protein-G Saflaştırması

- Konsantre edilmiş üst fazlar 20 mM fosfat, 150 mM NaCl (pH 7.1) içinde dengelenmiş bir
- 5 Gammabind Plus Sepharose (GE Healthcare) kolona uygulandı. Kolon 20 mM fosfat, 150 mM NaCl (pH 7.1) ile yıkandı ve bağlanan maddeye 0.1 M glisin/HCl (pH 2.7) ile elüsyon uygulandı. Elüsyon piki toplandı ve 2 M Tris/HCl (pH 8.8) ile pH ~pH 7'ye ayarlandı. pH ayarlaması yapılmış elüsyonlar 1 mg/ml'ye konsantre edildi ve 10 kDa bir molekül ağırlığı ayırma sınırlı PES membran kullanarak 20 mM fosfat, 150 mM NaCl'ye (pH 7.1)
- 10 diafiltrasyon yapıldı.

SDS-PAGE

- Gerektiğinde numuneler suyla seyreltildi ve ardından 26 µl'ye 10 µL 4X LDS numune yürütme tamponu eklendi. İndirgenmemiş numuneler için 4 µL 100 mM NEM eklendi ve indirgenmiş numuneler için 4 µL 10X indirgeyici madde eklendi. Numuneler girdaplandı, 5
- 15 dakika 85 °C'de inkübe edildi, soğutuldu ve 30 saniye 12500 rpm (devir/dakika) santrifüjleme yapıldı. Hazırlanan numuneler %4-20 bir akrilamin Tris/Glisin SDS jeli yüklendi ve 110 dakika 125 V'de işleme tabi tutuldu. Jeller Coomassie Mavi protein boyasıyla boyandı.

ELISA

- Fab-didAb verimleri bir sandviç ELISA kullanarak ölçüldü. Kısaca, Fab-didAb bir anti-CHI
- 20 antikoruyla yakalandı, ardından bir anti-kappa-HRP ile açığa çıkartıldı.

SDS-PAGE

FabB ve FabB-didAb numuneleri usullerde açıklanan şekilde indirgenmemiş ve indirgenmiş koşullarda hazırlandı ve bir jelde ayrıldı ve boyandı. Bakınız Şekil 9.

ÖRNEK 9

- 25 **FabB-Fv'de Thermofluor Termal Stabilite Analizi**

Numuneler (~1 mg/ml'de 1 µl numune, 8 µl PBS ve 1 µl 30x Sypro turuncu floresan boya stoku) 384 kuyucuklu plakalarda dört kopya işlendi. Plaka 7900HT Fast Real-Time PCR sistemi kullanarak 20 °C'den 99 °C'ye ısıtıldı ve floresans (490 nm'de uyarım, 530 nm'de yayılım) ölçüldü. Sonuçlar Tablo 9 ve Şekil 10'da gösterilmektedir.

molekül ağırlığı ayırma sınırlı polietersülfon (PES) membranla donatılmış bir Minisette konsantratör kullanarak 1.8 L'den 200 ml'ye konsantre edildi.

Protein-G Saflaştırması

- Konsantre edilmiş üst fazlar 20 mM fosfat, 150 mM NaCl (pH 7.1) içinde dengelenmiş bir
- 5 Gammabind Plus Sepharose (GE Healthcare) kolona uygulandı. Kolon 20 mM fosfat, 150 mM NaCl (pH 7.1) ile yıkandı ve bağlanan maddeye 0.1 M glisin/HCl (pH 2.7) ile elüsyon uygulandı. Elüsyon piki toplandı ve 2 M Tris/HCl (pH 8.8) ile pH ~pH 7'ye ayarlandı. pH ayarlaması yapılmış elüsyonlar 1 mg/ml'ye konsantre edildi ve 10 kDa bir molekül ağırlığı ayırma sınırlı PES membran kullanarak 20 mM fosfat, 150 mM NaCl'ye (pH 7.1)
- 10 diafiltrasyon yapıldı.

SDS-PAGE

- Gerektiğinde numuneler suyla seyreltildi ve ardından 26 µl'ye 10 µL 4X LDS numune yürütme tamponu eklendi. İndirgenmemiş numuneler için 4 µL 100 mM NEM eklendi ve indirgenmiş numuneler için 4 µL 10X indirgeyici madde eklendi. Numuneler girdaplandı, 5
- 15 dakika 85 °C'de inkübe edildi, soğutuldu ve 30 saniye 12500 rpm (devir/dakika) santrifüjleme yapıldı. Hazırlanan numuneler %4-20 bir akrilamin Tris/Glisin SDS jeli yüklendi ve 110 dakika 125 V'de işleme tabi tutuldu. Jeller Coomassie Mavi protein boyasıyla boyandı.

ELISA

- Fab-didAb verimleri bir sandviç ELISA kullanarak ölçüldü. Kısaca, Fab-didAb bir anti-CHI
- 20 antikoruyla yakalandı, ardından bir anti-kappa-HRP ile açığa çıkartıldı.

SDS-PAGE

FabB ve FabB-didAb numuneleri usullerde açıklanan şekilde indirgenmemiş ve indirgenmiş koşullarda hazırlandı ve bir jelde ayrıldı ve boyandı. Bakınız Şekil 9.

ÖRNEK 9

- 25 **FabB-Fv'de Thermofluor Termal Stabilite Analizi**

Numuneler (~1 mg/ml'de 1 µl numune, 8 µl PBS ve 1 µl 30x Sypro turuncu floresan boya stoku) 384 kuyucuklu plakalarda dört kopya işlendi. Plaka 7900HT Fast Real-Time PCR sistemi kullanarak 20 °C'den 99 °C'ye ısıtıldı ve floresans (490 nm'de uyarım, 530 nm'de yayılım) ölçüldü. Sonuçlar Tablo 9 ve Şekil 10'da gösterilmektedir.

Tablo 9

	T_m °C (Fab)	T_m °C (Fv)
FabB-didAb, -dAbL1(CK-G ₄ Sx2) & -dAbL1 (CH1-G ₄ Sx2)	81.9 ± 0.6	68.5 ± 0.5
FabB-didAb, -dAbL2(CK-G ₄ Sx2) & -dAbL2(CH1-G ₄ Sx2)	82.4 ± 0.2	70.6 ± 0.8

ÖRNEK 10**FabB-Fv Agregasyon Stabilitesi Analizi**

PBS içinde 1 mg/ml olan numuneler 1400 rpm’de girdaplama yaparak 25 °C’de inkübe edildi.

- 5 Absorbans 595 nm’de ölçüldü. Bu absorbans parçacıklar tarafından saçılan ışığa bağlı oldu ve numune agregasyonu ile bağıntılandırılabilir. Hem FabB-645Fv (G₄Sx2) hem FabB-648Fv (G₄Sx2) tek başına FabB kadar agregasyona dirençli oldu. Bunların tamamı IgG kontrole göre agregasyona daha dirençli oldu. (Şekil 12)

ÖRNEK 11**10 Fab-Fv’nin HAS’ya Bağlanması pH’a Bağımlılığı**

Fab-Fv yapılarının HAS ile etkileşimleri için bağlanma afiniteleri, istenilen pH’ı elde etmek için 40 mM sitrik asit, 150 mM NaCl, 3 mM EDTA, %0.05 h/h yüzey aktif madde P20 ve 80 mM disodyum hidrojen fosfat, 150 mM NaCl, 3 mM EDTA, %0.05 h/h yüzey aktif madde P20 karışımı yaparak pH 5.0, 5.5, 6.0 ve 7.0’da yürütme tamponlarının yaratılması hariç

15 usullerle açıklanan şekilde belirlendi.

HAS için FabB-645Fv (G₄Sx2) afinitesi 7.4 (standart analiz pH’ı) ile 5.0 pH’tan etkilenmedi. HAS için FabB-648Fv (G₄Sx2) afinitesi pH’tan etkilendi ve pH 7.4 ve pH 5.0 arasında afinitede yaklaşık olarak 10 kat bir kayıp oldu.

Tablo 10

	K_D (x10⁻⁹M)			
	pH 7.0	pH 6.0	pH 5.5	pH 5.0
FabB-645Fv (G ₄ Sx2)	13.3	12.5	10.7	7.1
FabB-648Fv (G ₄ Sx2)	3.3	11.1	24.1	47.8

Tablo 9

	T_m °C (Fab)	T_m °C (Fv)
FabB-didAb, -dAbL1(CK-G ₄ Sx2) & -dAbL1 (CH1-G ₄ Sx2)	81.9 ± 0.6	68.5 ± 0.5
FabB-didAb, -dAbL2(CK-G ₄ Sx2) & -dAbL2(CH1-G ₄ Sx2)	82.4 ± 0.2	70.6 ± 0.8

ÖRNEK 10**FabB-Fv Agregasyon Stabilitesi Analizi**

PBS içinde 1 mg/ml olan numuneler 1400 rpm’de girdaplama yaparak 25 °C’de inkübe edildi.

- 5 Absorbans 595 nm’de ölçüldü. Bu absorbans parçacıklar tarafından saçılan ışığa bağlı oldu ve numune agregasyonu ile bağıntılandırılabilir. Hem FabB-645Fv (G₄Sx2) hem FabB-648Fv (G₄Sx2) tek başına FabB kadar agregasyona dirençli oldu. Bunların tamamı IgG kontrole göre agregasyona daha dirençli oldu. (Şekil 12)

ÖRNEK 11**Fab-Fv’nin HAS’ya Bağlanması pH’a Bağımlılığı**

Fab-Fv yapılarının HAS ile etkileşimleri için bağlanma afiniteleri, istenilen pH’ı elde etmek için 40 mM sitrik asit, 150 mM NaCl, 3 mM EDTA, %0.05 h/h yüzey aktif madde P20 ve 80 mM disodyum hidrojen fosfat, 150 mM NaCl, 3 mM EDTA, %0.05 h/h yüzey aktif madde P20 karışımı yaparak pH 5.0, 5.5, 6.0 ve 7.0’da yürütme tamponlarının yaratılması hariç

15 usullerle açıklanan şekilde belirlendi.

HAS için FabB-645Fv (G₄Sx2) afinitesi 7.4 (standart analiz pH’ı) ile 5.0 pH’tan etkilenmedi. HAS için FabB-648Fv (G₄Sx2) afinitesi pH’tan etkilendi ve pH 7.4 ve pH 5.0 arasında afinitede yaklaşık olarak 10 kat bir kayıp oldu.

Tablo 10

	K_D (x10⁻⁹M)			
	pH 7.0	pH 6.0	pH 5.5	pH 5.0
FabB-645Fv (G ₄ Sx2)	13.3	12.5	10.7	7.1
FabB-648Fv (G ₄ Sx2)	3.3	11.1	24.1	47.8

Tablo 9

	T_m °C (Fab)	T_m °C (Fv)
FabB-didAb, -dAbL1(CK-G ₄ Sx2) & -dAbL1 (CH1-G ₄ Sx2)	81.9 ± 0.6	68.5 ± 0.5
FabB-didAb, -dAbL2(CK-G ₄ Sx2) & -dAbL2(CH1-G ₄ Sx2)	82.4 ± 0.2	70.6 ± 0.8

ÖRNEK 10**FabB-Fv Agregasyon Stabilitesi Analizi**

PBS içinde 1 mg/ml olan numuneler 1400 rpm’de girdaplama yaparak 25 °C’de inkübe edildi.

- 5 Absorbans 595 nm’de ölçüldü. Bu absorbans parçacıklar tarafından saçılan ışığa bağlı oldu ve numune agregasyonu ile bağıntılandırılabilir. Hem FabB-645Fv (G₄Sx2) hem FabB-648Fv (G₄Sx2) tek başına FabB kadar agregasyona dirençli oldu. Bunların tamamı IgG kontrole göre agregasyona daha dirençli oldu. (Şekil 12)

ÖRNEK 11**10 Fab-Fv’nin HAS’ya Bağlanması pH’a Bağımlılığı**

Fab-Fv yapılarının HAS ile etkileşimleri için bağlanma afiniteleri, istenilen pH’ı elde etmek için 40 mM sitrik asit, 150 mM NaCl, 3 mM EDTA, %0.05 h/h yüzey aktif madde P20 ve 80 mM disodyum hidrojen fosfat, 150 mM NaCl, 3 mM EDTA, %0.05 h/h yüzey aktif madde P20 karışımı yaparak pH 5.0, 5.5, 6.0 ve 7.0’da yürütme tamponlarının yaratılması hariç

15 usullerle açıklanan şekilde belirlendi.

HAS için FabB-645Fv (G₄Sx2) afinitesi 7.4 (standart analiz pH’ı) ile 5.0 pH’tan etkilenmedi. HAS için FabB-648Fv (G₄Sx2) afinitesi pH’tan etkilendi ve pH 7.4 ve pH 5.0 arasında afinitede yaklaşık olarak 10 kat bir kayıp oldu.

Tablo 10

	K_D (x10⁻⁹M)			
	pH 7.0	pH 6.0	pH 5.5	pH 5.0
FabB-645Fv (G ₄ Sx2)	13.3	12.5	10.7	7.1
FabB-648Fv (G ₄ Sx2)	3.3	11.1	24.1	47.8

ÖRNEK 12

FabB-Fv *In Vivo* Murin PK'si

Erkek BALB/c farelerinde FabB-645Fv (G₄Sx2) ve FabB-648Fv (G₄Sx2) farmakokinetikleri gerek subkutane (sc) gerek intravenöz (iv) yoldan 10 mg/kg'lık tek bir verilişi takiben

5 belirlendi. Altı fareye her yapıyla ve veriliş yolundan dozlama yapıldı. Subkutane verilişi takiben 1, 4, 8, 24, 48, 72, 102 ve 168 saat ve intravenöz verilişi takiben 30 dakika, 1, 8, 24, 48, 72, 96 ve 168 saat zaman noktalarında kuyruk damarından seri kan numuneleri (30 µL) toplandı. Toplanan kan serumu ayırmak için pıhtı etkilendirici ile bir Sarstedt Microvette CB300Z içinde dağıtıldı ve en az 20 dakika oda sıcaklığında bırakıldı. Daha sonra Microvette

10 5 dakika 20 °C'de 10,000 rpm'de santrifüjlendi. Serum alındı ve analiz öncesinde dondurarak saklandı. Serum numunelerindeki FabB-645Fv (G₄Sx2) veya FabB-648Fv (G₄Sx2) konsantrasyonu ELISA ile incelendi. Kısaca Nunc Maxisorb Immunomodule Plakaları PBS'de hOX40-Fc ile kaplandı ve PBS'de %1 BSA ile bloke edildi. Serum numuneleri ve standartlar PBS'de %1 BSA içinde seyreltildi ve 1 saat plakaya uygulandı. Plaka PBS ile

15 yıkandı ve açığa çıkan keçi anti-insan kappa HRP antikoru konjugatı 1 saat PBS'de %1 BSA'ya uygulandı. Plaka yıkandı ve sonra TMB substratıyla geliştirildi, ardından 2.5 M sülfürik asitle sonlandırıldı. 630 nm'de absorbans ölçüldü ve standart eğrisinden konsantrasyonlar hesaplandı.

Hem FabB-645Fv'nin (G₄Sx2) hem FabB-648Fv'nin (G₄Sx2) plazmada uzamış yarılanma

20 ömrü oldu (Şekil 13). FabB-645Fv (G₄Sx2) için 71 saat (sc) ve 62 saat (iv) ve FabB-648Fv (G₄Sx2) için 25 saat (sc) ve 30 saat (iv) yarılanma ömürleri oldu.

ÖRNEK 13

FabB-Fv *In Vivo* Etkinlik Çalışması

FabB-645Fv ve FabB-648Fv'nin *in vivo* etkinliğinin olup olmadığını incelemek için bir

25 çalışma yapıldı. Kısaca bu HuSCID farelerinde kararlı durum dozlamasını içerdi ve ölçüm değeri T hücresi engraftmanı oldu.

CB17 SCID farelerine 2.475 mg/kg FabB-645Fv veya FabB-648Fv veya FabB-PEG40k veya PBS ile -2. günde subkutane yoldan bir yükleme dozu uygulandı. 10. güne dek ve 10. gün dahil takip eden her gün subkutane yoldan 0.75 mg/kg FabB-645Fv veya FabB-648Fv veya

30 FabB-PEG40k veya PBS'nin bir idame dozu uygulandı. Her doz grubu 9-10 fareden oluştu. - 1. Günde tüm farelere 0.87 mg/fare sıçan anti-murin TM-β1 antikoru tedavisi verilerek doğal öldürücü hücre etkinliği kaldırıldı. 0. Günde tüm farelere interperitoneal enjeksiyonla

ÖRNEK 12

FabB-Fv *In Vivo* Murin PK'si

Erkek BALB/c farelerinde FabB-645Fv (G₄Sx2) ve FabB-648Fv (G₄Sx2) farmakokinetikleri gerek subkutane (sc) gerek intravenöz (iv) yoldan 10 mg/kg'lık tek bir verilişi takiben

5 belirlendi. Altı fareye her yapıyla ve veriliş yolundan dozlama yapıldı. Subkutane verilişi takiben 1, 4, 8, 24, 48, 72, 102 ve 168 saat ve intravenöz verilişi takiben 30 dakika, 1, 8, 24, 48, 72, 96 ve 168 saat zaman noktalarında kuyruk damarından seri kan numuneleri (30 µL) toplandı. Toplanan kan serumu ayırmak için pıhtı etkilendirici ile bir Sarstedt Microvette CB300Z içinde dağıtıldı ve en az 20 dakika oda sıcaklığında bırakıldı. Daha sonra Microvette

10 5 dakika 20 °C'de 10,000 rpm'de santrifüjlendi. Serum alındı ve analiz öncesinde dondurarak saklandı. Serum numunelerindeki FabB-645Fv (G₄Sx2) veya FabB-648Fv (G₄Sx2) konsantrasyonu ELISA ile incelendi. Kısaca Nunc Maxisorb Immunomodule Plakaları PBS'de hOX40-Fc ile kaplandı ve PBS'de %1 BSA ile bloke edildi. Serum numuneleri ve standartlar PBS'de %1 BSA içinde seyreltildi ve 1 saat plakaya uygulandı. Plaka PBS ile

15 yıkandı ve açığa çıkan keçi anti-insan kappa HRP antikoru konjugatı 1 saat PBS'de %1 BSA'ya uygulandı. Plaka yıkandı ve sonra TMB substratıyla geliştirildi, ardından 2.5 M sülfürik asitle sonlandırıldı. 630 nm'de absorbans ölçüldü ve standart eğrisinden konsantrasyonlar hesaplandı.

Hem FabB-645Fv'nin (G₄Sx2) hem FabB-648Fv'nin (G₄Sx2) plazmada uzamış yarılanma

20 ömrü oldu (Şekil 13). FabB-645Fv (G₄Sx2) için 71 saat (sc) ve 62 saat (iv) ve FabB-648Fv (G₄Sx2) için 25 saat (sc) ve 30 saat (iv) yarılanma ömürleri oldu.

ÖRNEK 13

FabB-Fv *In Vivo* Etkinlik Çalışması

FabB-645Fv ve FabB-648Fv'nin *in vivo* etkinliğinin olup olmadığını incelemek için bir

25 çalışma yapıldı. Kısaca bu HuSCID farelerinde kararlı durum dozlamasını içerdi ve ölçüm değeri T hücresi engraftmanı oldu.

CB17 SCID farelerine 2.475 mg/kg FabB-645Fv veya FabB-648Fv veya FabB-PEG40k veya PBS ile -2. günde subkutane yoldan bir yükleme dozu uygulandı. 10. güne dek ve 10. gün dahil takip eden her gün subkutane yoldan 0.75 mg/kg FabB-645Fv veya FabB-648Fv veya

30 FabB-PEG40k veya PBS'nin bir idame dozu uygulandı. Her doz grubu 9-10 fareden oluştu. - 1. Günde tüm farelere 0.87 mg/fare sıçan anti-murin TM-β1 antikoru tedavisi verilerek doğal öldürücü hücre etkinliği kaldırıldı. 0. Günde tüm farelere interperitoneal enjeksiyonla

ÖRNEK 12

FabB-Fv *In Vivo* Murin PK'si

Erkek BALB/c farelerinde FabB-645Fv (G₄Sx2) ve FabB-648Fv (G₄Sx2) farmakokinetikleri gerek subkutane (sc) gerek intravenöz (iv) yoldan 10 mg/kg'lık tek bir verilişi takiben

5 belirlendi. Altı fareye her yapıyla ve veriliş yolundan dozlama yapıldı. Subkutane verilişi takiben 1, 4, 8, 24, 48, 72, 102 ve 168 saat ve intravenöz verilişi takiben 30 dakika, 1, 8, 24, 48, 72, 96 ve 168 saat zaman noktalarında kuyruk damarından seri kan numuneleri (30 µL) toplandı. Toplanan kan serumu ayırmak için pıhtı etkilendirici ile bir Sarstedt Microvette CB300Z içinde dağıtıldı ve en az 20 dakika oda sıcaklığında bırakıldı. Daha sonra Microvette

10 5 dakika 20 °C'de 10,000 rpm'de santrifüjlendi. Serum alındı ve analiz öncesinde dondurarak saklandı. Serum numunelerindeki FabB-645Fv (G₄Sx2) veya FabB-648Fv (G₄Sx2) konsantrasyonu ELISA ile incelendi. Kısaca Nunc Maxisorb Immunomodule Plakaları PBS'de hOX40-Fc ile kaplandı ve PBS'de %1 BSA ile bloke edildi. Serum numuneleri ve standartlar PBS'de %1 BSA içinde seyreltildi ve 1 saat plakaya uygulandı. Plaka PBS ile

15 yıkandı ve açığa çıkan keçi anti-insan kappa HRP antikoru konjugatı 1 saat PBS'de %1 BSA'ya uygulandı. Plaka yıkandı ve sonra TMB substratıyla geliştirildi, ardından 2.5 M sülfürik asitle sonlandırıldı. 630 nm'de absorbans ölçüldü ve standart eğrisinden konsantrasyonlar hesaplandı.

Hem FabB-645Fv'nin (G₄Sx2) hem FabB-648Fv'nin (G₄Sx2) plazmada uzamış yarılanma

20 ömrü oldu (Şekil 13). FabB-645Fv (G₄Sx2) için 71 saat (sc) ve 62 saat (iv) ve FabB-648Fv (G₄Sx2) için 25 saat (sc) ve 30 saat (iv) yarılanma ömürleri oldu.

ÖRNEK 13

FabB-Fv *In Vivo* Etkinlik Çalışması

FabB-645Fv ve FabB-648Fv'nin *in vivo* etkinliğinin olup olmadığını incelemek için bir

25 çalışma yapıldı. Kısaca bu HuSCID farelerinde kararlı durum dozlamasını içerdi ve ölçüm değeri T hücresi engraftmanı oldu.

CB17 SCID farelerine 2.475 mg/kg FabB-645Fv veya FabB-648Fv veya FabB-PEG40k veya PBS ile -2. günde subkutane yoldan bir yükleme dozu uygulandı. 10. güne dek ve 10. gün dahil takip eden her gün subkutane yoldan 0.75 mg/kg FabB-645Fv veya FabB-648Fv veya

30 FabB-PEG40k veya PBS'nin bir idame dozu uygulandı. Her doz grubu 9-10 fareden oluştu. - 1. Günde tüm farelere 0.87 mg/fare sıçan anti-murin TM-β1 antikoru tedavisi verilerek doğal öldürücü hücre etkinliği kaldırıldı. 0. Günde tüm farelere interperitoneal enjeksiyonla

8x10⁶ insan periferik kan mononükleer hücresi verildi. 14. Günde fareler öldürüldü ve kan, dalak ve bir peritoneal lavaj alındı. Numuneler CD4⁺ ve CD8⁺ T hücreleri için FACS ile analiz edildi. Veri grupları Dunnett test sonrası karşılaştırması yaparak tek yönlü Anova ile analiz edildi. Tüm test yapıları, FabB-645Fv, FabB-648Fv ve FabB-PEG40k test edilen tüm bölümlerde, yani kan, periton ve dalakta eşit ölçüde etkili oldu. (Şekil 14A, B ve C).

ÖRNEK 14

645Fv'nin Albümine Afinitesini Değiştirmek İçin FabB-645Fv Mutasyonları

Mutajenik PCR ile FabB-645dsFv'nin (S3xG₄S) 645Fv kısmına ait ağır zincirin CDR'lerinde seçili kalıntılarda nokta mutasyonları yapıldı. Örneğin I50A, Ile 50'nin Ala ile bir ikamesidir.

- 10 Çeşitli mutasyonlar aşağıda Tablo 11'de verilmektedir. İnsan albümin için Fab-645Fv mutantlarının afinitesi usullerde açıklanan şekilde BIAcore ile incelendi. Tüm mutasyonlar insan albümin için afiniteyi ya değiştirmede ya da azalttı.

Tablo 11

Fv Ağır Mutasyonu	Albümin	ka (1/Ms)	kd (1/s)	KD (nM)
I50A	HSA	3.12E+04	1.90E-03	60.9
T56A	HSA	4.65E+04	3.78E-04	8.12
T95A	HSA	2.81E+04	2.64E-03	94.0
V96A	HSA	2.81E+04	6.42E-04	22.9
P97A	HSA	4.60E+04	1.26E-02	275
G98A	HSA	4.73E+04	2.71E-04	5.73
Y99A	HSA	4.71E+04	4.79E-04	10.2
S100A	HSA	3.94E+04	1.44E-03	36.6
T100aA	HSA	3.60E+05	1.86E-02	51.6
Y100cA	HSA	1.23E+04	1.07E-03	87.0
I50A ve T95A	HSA	2.12E+04	9.94E-03	468
I50A ve G98A	HSA	1.79E+04	6.96E-03	389
I50A ve Y99A	HSA			>3500
T56A ve T95A	HSA	2.84E+04	8.57E-04	30.1
T56A ve G98A	HSA	2.40E+04	3.68E-03	153
T56A ve Y99A	HSA	2.24E+04	1.49E-02	664

ÖRNEK 15

- 15 **Fab ve Fv Arasında 1-5 Gly4Ser Bağlayıcı Uzunluğu**

8x10⁶ insan periferik kan mononükleer hücresi verildi. 14. Günde fareler öldürüldü ve kan, dalak ve bir peritoneal lavaj alındı. Numuneler CD4⁺ ve CD8⁺ T hücreleri için FACS ile analiz edildi. Veri grupları Dunnett test sonrası karşılaştırması yaparak tek yönlü Anova ile analiz edildi. Tüm test yapıları, FabB-645Fv, FabB-648Fv ve FabB-PEG40k test edilen tüm bölümlerde, yani kan, periton ve dalakta eşit ölçüde etkili oldu. (Şekil 14A, B ve C).

ÖRNEK 14

645Fv'nin Albümine Afinitesini Değiştirmek İçin FabB-645Fv Mutasyonları

Mutajenik PCR ile FabB-645dsFv'nin (S3xG₄S) 645Fv kısmına ait ağır zincirin CDR'lerinde seçili kalıntılarda nokta mutasyonları yapıldı. Örneğin I50A, Ile 50'nin Ala ile bir ikamesidir.

- 10 Çeşitli mutasyonlar aşağıda Tablo 11'de verilmektedir. İnsan albümin için Fab-645Fv mutantlarının afinitesi usullerde açıklanan şekilde BIAcore ile incelendi. Tüm mutasyonlar insan albümin için afiniteyi ya değiştirmede ya da azalttı.

Tablo 11

Fv Ağır Mutasyonu	Albümin	ka (1/Ms)	kd (1/s)	KD (nM)
I50A	HSA	3.12E+04	1.90E-03	60.9
T56A	HSA	4.65E+04	3.78E-04	8.12
T95A	HSA	2.81E+04	2.64E-03	94.0
V96A	HSA	2.81E+04	6.42E-04	22.9
P97A	HSA	4.60E+04	1.26E-02	275
G98A	HSA	4.73E+04	2.71E-04	5.73
Y99A	HSA	4.71E+04	4.79E-04	10.2
S100A	HSA	3.94E+04	1.44E-03	36.6
T100aA	HSA	3.60E+05	1.86E-02	51.6
Y100cA	HSA	1.23E+04	1.07E-03	87.0
I50A ve T95A	HSA	2.12E+04	9.94E-03	468
I50A ve G98A	HSA	1.79E+04	6.96E-03	389
I50A ve Y99A	HSA			>3500
T56A ve T95A	HSA	2.84E+04	8.57E-04	30.1
T56A ve G98A	HSA	2.40E+04	3.68E-03	153
T56A ve Y99A	HSA	2.24E+04	1.49E-02	664

ÖRNEK 15

- 15 **Fab ve Fv Arasında 1-5 Gly4Ser Bağlayıcı Uzunluğu**

8x10⁶ insan periferik kan mononükleer hücresi verildi. 14. Günde fareler öldürüldü ve kan, dalak ve bir peritoneal lavaj alındı. Numuneler CD4⁺ ve CD8⁺ T hücreleri için FACS ile analiz edildi. Veri grupları Dunnett test sonrası karşılaştırması yaparak tek yönlü Anova ile analiz edildi. Tüm test yapıları, FabB-645Fv, FabB-648Fv ve FabB-PEG40k test edilen tüm bölümlerde, yani kan, periton ve dalakta eşit ölçüde etkili oldu. (Şekil 14A, B ve C).

ÖRNEK 14

645Fv'nin Albümine Afinitesini Değiştirmek İçin FabB-645Fv Mutasyonları

Mutajenik PCR ile FabB-645dsFv'nin (S3xG₄S) 645Fv kısmına ait ağır zincirin CDR'lerinde seçili kalıntılarda nokta mutasyonları yapıldı. Örneğin I50A, Ile 50'nin Ala ile bir ikamesidir.

- 10 Çeşitli mutasyonlar aşağıda Tablo 11'de verilmektedir. İnsan albümin için Fab-645Fv mutantlarının afinitesi usullerde açıklanan şekilde BIAcore ile incelendi. Tüm mutasyonlar insan albümin için afinitiyi ya değiştirmede ya da azalttı.

Tablo 11

Fv Ağır Mutasyonu	Albümin	ka (1/Ms)	kd (1/s)	KD (nM)
I50A	HSA	3.12E+04	1.90E-03	60.9
T56A	HSA	4.65E+04	3.78E-04	8.12
T95A	HSA	2.81E+04	2.64E-03	94.0
V96A	HSA	2.81E+04	6.42E-04	22.9
P97A	HSA	4.60E+04	1.26E-02	275
G98A	HSA	4.73E+04	2.71E-04	5.73
Y99A	HSA	4.71E+04	4.79E-04	10.2
S100A	HSA	3.94E+04	1.44E-03	36.6
T100aA	HSA	3.60E+05	1.86E-02	51.6
Y100cA	HSA	1.23E+04	1.07E-03	87.0
I50A ve T95A	HSA	2.12E+04	9.94E-03	468
I50A ve G98A	HSA	1.79E+04	6.96E-03	389
I50A ve Y99A	HSA			>3500
T56A ve T95A	HSA	2.84E+04	8.57E-04	30.1
T56A ve G98A	HSA	2.40E+04	3.68E-03	153
T56A ve Y99A	HSA	2.24E+04	1.49E-02	664

ÖRNEK 15

- 15 **Fab ve Fv Arasında 1-5 Gly4Ser Bağlayıcı Uzunluğu**

Memeli Hücrelerinde Ekspresyon İçin FabB-645Fv Füzyon Plazmitlerinin Yapılması

Fab C terminalleri ve Fv N terminalleri arasında bir SGGGGS, SGGGGS SGGGGS, SGGGGS SGGGGS SGGGGS, SGGGGS SGGGGS SGGGGS SGGGGS veya

SGGGGS SGGGGS SGGGGS SGGGGS SGGGGS SGGGGS bağlayıcıya sahip FabB-645Fv'ler PCR ile

- 5 birleştirildi, ardından HCMV-MIE promotörünün ve SV40E poliA dizisinin kontrolü altında bir memeli ekspresyon vektörüne klonlandı. İlgili ağır ve hafif zincir plazmitleri memeli hücrelerinde ekspresyon için eşleştirildi.

FabB-645Fv (1-5xG₄S) Memeli Ekspresyonu

HEK293 hücreleri imalatçı firmanın talimatlarına uygun şekilde Invitrogen 293fectin

- 10 transfeksiyon reaktifini kullanarak ağır ve hafif zincir plazmitleriyle transfekte edildi. Kısaca, 24 µg ağır zincir plazmidi + 24 µg hafif zincir plazmidi oda sıcaklığında 20 dakika 120 µl 293fectin + 4080 µl Optimem besiyeri ile inkübe edildi. Daha sonra karışım 60 mL süspansiyonda 60×10^6 HEK293 hücrelerine eklendi ve çalkalayarak 4 gün 37 °C'de inkübe edildi. Yapıların tamamı eşit ölçüde iyi eksprese edildi.

15 Protein-G Saflaştırması

Memeli ekspresyonu süspansiyonları santrifüjleyerek berraklaştırıldı ve üst fazlar 10 kDa bir molekül ağırlığı ayırma sınırlı santrifüjlü konsantratör kullanarak ~1.8 mL'ye konsantre edildi. Konsantre edilmiş üst fazlar 10 dakika 16000xg'de santrifüjlenerek tüm çökelti atıldı ve sonra 1.5 mL 1 ml/dakika şeklinde 1 ml'lik HiTrap Protein-G kolonlarına (GE Healthcare)

20 yüklendi. Kolonlar 20 mM fosfat, 40 mM NaCl (pH 7.4) ile yıkandı ve bağlanan maddeye 0.1 M glisin/HCl (pH 2.7) ile elüsyon yapıldı. Elüsyon piki (2 mL) toplandı ve pH 250 µL 1M sodyum asetatla ~pH 5'e ayarlandı. PH'ı ayarlanmış elüsyonlara 10 kDa bir molekül ağırlığı ayırma sınırlı santrifüjlü konsantratör kullanarak 20 mM fosfat, 150 mM NaCl'ye (pH 7.1) diafiltrasyon yapıldı ve ~250 µL'ye konsantre edildi. Yapıların tamamı benzer saflaştırma

25 profillerine sahip oldu ve nihai konsantrasyonlar 0.5-1.1 mg/ml oldu.

Albümin İçin FabB-645Fv (1-5xG₄S) Afinitesi

Saflaştırılmış FabB-645Fv (1-5xG₄S) yapılarının insan ve fare albümin için afiniteleri usullerde açıklanan şekilde belirlendi. Fv'nin, Fab C terminalleri ve Fv N terminalleri arasındaki 1 ila 5 xGly4Ser farklı bağlayıcı uzunluklarının 645Fv'nin gerek insan gerek fare

30 albümin için afinitesi üzerinde olumsuz etkisi olmadı.

Memeli Hücrelerinde Ekspresyon İçin FabB-645Fv Füzyon Plazmitlerinin Yapılması

Fab C terminalleri ve Fv N terminalleri arasında bir SGGGGS, SGGGGSGGGGS, SGGGGSGGGGS, SGGGGSGGGGS, SGGGGSGGGGS veya

SGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGS bağlayıcıya sahip FabB-645Fv'ler PCR ile

- 5 birleştirildi, ardından HCMV-MIE promotörünün ve SV40E poliA dizisinin kontrolü altında bir memeli ekspresyon vektörüne klonlandı. İlgili ağır ve hafif zincir plazmitleri memeli hücrelerinde ekspresyon için eşleştirildi.

FabB-645Fv (1-5xG₄S) Memeli Ekspresyonu

HEK293 hücreleri imalatçı firmanın talimatlarına uygun şekilde Invitrogen 293fectin

- 10 transfeksiyon reaktifini kullanarak ağır ve hafif zincir plazmitleriyle transfekte edildi. Kısaca, 24 µg ağır zincir plazmidi + 24 µg hafif zincir plazmidi oda sıcaklığında 20 dakika 120 µl 293fectin + 4080 µl Optimem besiyeri ile inkübe edildi. Daha sonra karışım 60 mL süspansiyonda 60×10^6 HEK293 hücrelerine eklendi ve çalkalayarak 4 gün 37 °C'de inkübe edildi. Yapıların tamamı eşit ölçüde iyi eksprese edildi.

15 Protein-G Saflaştırması

Memeli ekspresyonu süspansiyonları santrifüjleyerek berraklaştırıldı ve üst fazlar 10 kDa bir molekül ağırlığı ayırma sınırlı santrifüjlü konsantratör kullanarak ~1.8 mL'ye konsantre edildi. Konsantre edilmiş üst fazlar 10 dakika 16000xg'de santrifüjlenerek tüm çökelti atıldı ve sonra 1.5 mL 1 ml/dakika şeklinde 1 ml'lik HiTrap Protein-G kolonlarına (GE Healthcare)

20 yüklendi. Kolonlar 20 mM fosfat, 40 mM NaCl (pH 7.4) ile yıkandı ve bağlanan maddeye 0.1 M glisin/HCl (pH 2.7) ile elüsyon yapıldı. Elüsyon piki (2 mL) toplandı ve pH 250 µL 1M sodyum asetatla ~pH 5'e ayarlandı. PH'ı ayarlanmış elüsyonlara 10 kDa bir molekül ağırlığı ayırma sınırlı santrifüjlü konsantratör kullanarak 20 mM fosfat, 150 mM NaCl'ye (pH 7.1) diafiltrasyon yapıldı ve ~250 µL'ye konsantre edildi. Yapıların tamamı benzer saflaştırma

25 profillerine sahip oldu ve nihai konsantrasyonlar 0.5-1.1 mg/ml oldu.

Albümin İçin FabB-645Fv (1-5xG₄S) Afinitesi

Saflaştırılmış FabB-645Fv (1-5xG₄S) yapılarının insan ve fare albümin için afiniteleri usullerde açıklanan şekilde belirlendi. Fv'nin, Fab C terminalleri ve Fv N terminalleri arasındaki 1 ila 5 xGly4Ser farklı bağlayıcı uzunluklarının 645Fv'nin gerek insan gerek fare

30 albümin için afinitesi üzerinde olumsuz etkisi olmadı.

Memeli Hücrelerinde Ekspresyon İçin FabB-645Fv Füzyon Plazmitlerinin Yapılması

Fab C terminalleri ve Fv N terminalleri arasında bir SGGGGS, SGGGGSGGGGS, SGGGGSGGGGS, SGGGGSGGGGS, SGGGGSGGGGS veya

SGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGS bağlayıcıya sahip FabB-645Fv'ler PCR ile

- 5 birleştirildi, ardından HCMV-MIE promotörünün ve SV40E poliA dizisinin kontrolü altında bir memeli ekspresyon vektörüne klonlandı. İlgili ağır ve hafif zincir plazmitleri memeli hücrelerinde ekspresyon için eşleştirildi.

FabB-645Fv (1-5xG₄S) Memeli Ekspresyonu

HEK293 hücreleri imalatçı firmanın talimatlarına uygun şekilde Invitrogen 293fectin

- 10 transfeksiyon reaktifini kullanarak ağır ve hafif zincir plazmitleriyle transfekte edildi. Kısaca, 24 µg ağır zincir plazmidi + 24 µg hafif zincir plazmidi oda sıcaklığında 20 dakika 120 µl 293fectin + 4080 µl Optimem besiyeri ile inkübe edildi. Daha sonra karışım 60 mL süspansiyonda 60×10^6 HEK293 hücrelerine eklendi ve çalkalayarak 4 gün 37 °C'de inkübe edildi. Yapıların tamamı eşit ölçüde iyi eksprese edildi.

15 Protein-G Saflaştırması

Memeli ekspresyonu süspansiyonları santrifüjleyerek berraklaştırıldı ve üst fazlar 10 kDa bir molekül ağırlığı ayırma sınırlı santrifüjlü konsantratör kullanarak ~1.8 mL'ye konsantre edildi. Konsantre edilmiş üst fazlar 10 dakika 16000xg'de santrifüjlenerek tüm çökelti atıldı ve sonra 1.5 mL 1 ml/dakika şeklinde 1 ml'lik HiTrap Protein-G kolonlarına (GE Healthcare)

20 yüklendi. Kolonlar 20 mM fosfat, 40 mM NaCl (pH 7.4) ile yıkandı ve bağlanan maddeye 0.1 M glisin/HCl (pH 2.7) ile elüsyon yapıldı. Elüsyon piki (2 mL) toplandı ve pH 250 µL 1M sodyum asetatla ~pH 5'e ayarlandı. PH'ı ayarlanmış elüsyonlara 10 kDa bir molekül ağırlığı ayırma sınırlı santrifüjlü konsantratör kullanarak 20 mM fosfat, 150 mM NaCl'ye (pH 7.1) diafiltrasyon yapıldı ve ~250 µL'ye konsantre edildi. Yapıların tamamı benzer saflaştırma

25 profillerine sahip oldu ve nihai konsantrasyonlar 0.5-1.1 mg/ml oldu.

Albümin İçin FabB-645Fv (1-5xG₄S) Afinitesi

Saflaştırılmış FabB-645Fv (1-5xG₄S) yapılarının insan ve fare albümin için afiniteleri usullerde açıklanan şekilde belirlendi. Fv'nin, Fab C terminalleri ve Fv N terminalleri arasındaki 1 ila 5 xGly4Ser farklı bağlayıcı uzunluklarının 645Fv'nin gerek insan gerek fare

30 albümin için afinitesi üzerinde olumsuz etkisi olmadı.

Tablo 12

	Albümin	KD (nM)	Albümin	KD (nM)
FabB-645Fv (1xG ₄ S)	İnsan	8.77	Fare	2.18
FabB-645Fv (2xG ₄ S)	İnsan	6.72	Fare	8.01
FabB-645Fv (3xG ₄ S)	İnsan	9.87	Fare	8.92
FabB-645Fv (4xG ₄ S)	İnsan	7.90	Fare	7.24
FabB-645Fv (5xG ₄ S)	İnsan	3.90	Fare	6.09

Saflaştırılmış FabB-645Fv (1-5xG₄S) SDS-PAGE Analizi

FabB-645Fv (1-5xG₄S) numuneleri indirgenmemiş ve indirgenmiş koşullarda hazırlandı ve bir jel üzerinde ayrıldı ve usullerde açıklanan şekilde boyandı. Bakınız Şekil 15.

5 Saflaştırılmış FabB-645Fv (1-5xG₄S) Boyut Dışlama Analizi

FabB-645Fv (1-5xG₄S) numuneleri 1 ml/dk'de 20 mM fosfat 150 mM NaCl (pH 7.4) bir izokratik gradientle geliştirilmiş bir Superdex200 10/300GL Tricorn kolon (GE Healthcare) üzerinde boyut açısından analiz edildi.

- 10 Fab C terminalleri ve Fv N terminalleri arasında 1xG₄S veya 2xG₄S bir bağlayıcı uzunluğu monomer FabB-645Fv miktarını azaltır, dimer ve yüksek multimer miktarını ise artırır. Monomer miktarı 1xG₄S bağlayıcı uzunluğunda en azdır. Fab C terminalleri ve Fv N terminalleri arasında 3xG₄S, 4xG₄S veya 5xG₄S bir bağlayıcı uzunluğu monomer FabB-645Fv miktarını artırırken, dimer ve yüksek multimerler miktarını azalttı; seviyeler ise üç bağlayıcı uzunluğunun tamamında benzer oldu. Şekil 16.

15

Tablo 13

	Monomer	Dimer	Yüksek Multimer
FabB-645Fv (1xG ₄ S)	%5	%47	%48
FabB-645Fv (2xG ₄ S)	%27	%38	%36
FabB-645Fv (3xG ₄ S)	%51	%32	%17
FabB-645Fv (4xG ₄ S)	%55	%30	%15
FabB-645Fv (5xG ₄ S)	%51	%31	%18

Saflaştırılmış FabB-645Fv (1-5xG₄S) Thermofluor Termal Stabilitesi

Numuneler (~1 mg/ml'de 1 µl numune, 8 µl PBS ve 1 µl 30x Sypro turuncu floresan boya

Tablo 12

	Albümin	KD (nM)	Albümin	KD (nM)
FabB-645Fv (1xG ₄ S)	İnsan	8.77	Fare	2.18
FabB-645Fv (2xG ₄ S)	İnsan	6.72	Fare	8.01
FabB-645Fv (3xG ₄ S)	İnsan	9.87	Fare	8.92
FabB-645Fv (4xG ₄ S)	İnsan	7.90	Fare	7.24
FabB-645Fv (5xG ₄ S)	İnsan	3.90	Fare	6.09

Saflaştırılmış FabB-645Fv (1-5xG₄S) SDS-PAGE Analizi

FabB-645Fv (1-5xG₄S) numuneleri indirgenmemiş ve indirgenmiş koşullarda hazırlandı ve bir jel üzerinde ayrıldı ve usullerde açıklanan şekilde boyandı. Bakınız Şekil 15.

5 Saflaştırılmış FabB-645Fv (1-5xG₄S) Boyut Dışlama Analizi

FabB-645Fv (1-5xG₄S) numuneleri 1 ml/dk'de 20 mM fosfat 150 mM NaCl (pH 7.4) bir izokratik gradientle geliştirilmiş bir Superdex200 10/300GL Tricorn kolon (GE Healthcare) üzerinde boyut açısından analiz edildi.

- 10 Fab C terminalleri ve Fv N terminalleri arasında 1xG₄S veya 2xG₄S bir bağlayıcı uzunluğu monomer FabB-645Fv miktarını azaltır, dimer ve yüksek multimer miktarını ise artırır. Monomer miktarı 1xG₄S bağlayıcı uzunluğunda en azdır. Fab C terminalleri ve Fv N terminalleri arasında 3xG₄S, 4xG₄S veya 5xG₄S bir bağlayıcı uzunluğu monomer FabB-645Fv miktarını artırırken, dimer ve yüksek multimerler miktarını azalttı; seviyeler ise üç bağlayıcı uzunluğunun tamamında benzer oldu. Şekil 16.

15

Tablo 13

	Monomer	Dimer	Yüksek Multimer
FabB-645Fv (1xG ₄ S)	%5	%47	%48
FabB-645Fv (2xG ₄ S)	%27	%38	%36
FabB-645Fv (3xG ₄ S)	%51	%32	%17
FabB-645Fv (4xG ₄ S)	%55	%30	%15
FabB-645Fv (5xG ₄ S)	%51	%31	%18

Saflaştırılmış FabB-645Fv (1-5xG₄S) Thermofluor Termal Stabilitesi

Numuneler (~1 mg/ml'de 1 µl numune, 8 µl PBS ve 1 µl 30x Sypro turuncu floresan boya

Tablo 12

	Albümin	KD (nM)	Albümin	KD (nM)
FabB-645Fv (1xG ₄ S)	İnsan	8.77	Fare	2.18
FabB-645Fv (2xG ₄ S)	İnsan	6.72	Fare	8.01
FabB-645Fv (3xG ₄ S)	İnsan	9.87	Fare	8.92
FabB-645Fv (4xG ₄ S)	İnsan	7.90	Fare	7.24
FabB-645Fv (5xG ₄ S)	İnsan	3.90	Fare	6.09

Saflaştırılmış FabB-645Fv (1-5xG₄S) SDS-PAGE Analizi

FabB-645Fv (1-5xG₄S) numuneleri indirgenmemiş ve indirgenmiş koşullarda hazırlandı ve bir jel üzerinde ayrıldı ve usullerde açıklanan şekilde boyandı. Bakınız Şekil 15.

5 Saflaştırılmış FabB-645Fv (1-5xG₄S) Boyut Dışlama Analizi

FabB-645Fv (1-5xG₄S) numuneleri 1 ml/dk'de 20 mM fosfat 150 mM NaCl (pH 7.4) bir izokratik gradientle geliştirilmiş bir Superdex200 10/300GL Tricorn kolon (GE Healthcare) üzerinde boyut açısından analiz edildi.

- 10 Fab C terminalleri ve Fv N terminalleri arasında 1xG₄S veya 2xG₄S bir bağlayıcı uzunluğu monomer FabB-645Fv miktarını azaltır, dimer ve yüksek multimer miktarını ise artırır. Monomer miktarı 1xG₄S bağlayıcı uzunluğunda en azdır. Fab C terminalleri ve Fv N terminalleri arasında 3xG₄S, 4xG₄S veya 5xG₄S bir bağlayıcı uzunluğu monomer FabB-645Fv miktarını artırırken, dimer ve yüksek multimerler miktarını azalttı; seviyeler ise üç bağlayıcı uzunluğunun tamamında benzer oldu. Şekil 16.

15

Tablo 13

	Monomer	Dimer	Yüksek Multimer
FabB-645Fv (1xG ₄ S)	%5	%47	%48
FabB-645Fv (2xG ₄ S)	%27	%38	%36
FabB-645Fv (3xG ₄ S)	%51	%32	%17
FabB-645Fv (4xG ₄ S)	%55	%30	%15
FabB-645Fv (5xG ₄ S)	%51	%31	%18

Saflaştırılmış FabB-645Fv (1-5xG₄S) Thermofluor Termal Stabilitesi

Numuneler (~1 mg/ml'de 1 µl numune, 8 µl PBS ve 1 µl 30x Sypro turuncu floresan boya

stoku) 384 kuyucuklu plakalarda dört kopya işlendi. Plaka 7900HT Fast Real-Time PCR sistemi kullanarak 20 °C'den 99 °C'ye ısıtıldı ve floresans (490 nm'de uyarım, 530 nm'de yayılım) ölçüldü. Sonuçlar Tablo 14'te ve Şekil 17'de gösterilmektedir.

Tablo 14

	T_m °C (Fab)	T_m °C (Fv)
FabB-645Fv (1xG ₄ S)	82.8 ± 0.6	67.4 ± 0.4
FabB-645Fv (2xG ₄ S)	83.4 ± 0.3	68.7 ± 0.3
FabB-645Fv (3xG ₄ S)	83.4 ± 0.3	69.5 ± 0.6
FabB-645Fv (4xG ₄ S)	83.8 ± 0.3	71.3 ± 1.0
FabB-645Fv (5xG ₄ S)	83.8 ± 0.4	72.0 ± 0.7

5

ÖRNEK 16

Bir Fab-Fv'de Fv'nin Disülfür Stabilizasyonu

Memeli Hücrelerinde Ekspresyon İçin FabB-645dsFv (2xG₄S), FabB-648dsFv (2xG₄S), FabΔB-645dsFv (2xG₄S) ve FabΔB-648dsFv (2xG₄S) Füzyon Plazmitleri

- 10 Mutajenik PCR ile Fv'nin hem ağır zincir hem hafif zincir çerçeve bölgesinde seçili kalıntılarda FabB-645Fv (2xG₄S) ve FabB-648Fv (2xG₄S) DNA dizilerinde nokta mutasyonları yapıldı. Fv'nin ağır ve hafif zincirleri arasında zincirler arası bir disülfür bağ oluşturmak için yapılan mutasyonlar ağır zincir G44C ve hafif zincir G100C'dir. Fv'de zincirler arası disülfür bağ oluşturmak için sisteinlerin ilave edilmesine ilaveten, Fab'nin ağır
- 15 zincir ve hafif zinciri arasındaki doğal zincirler arası disülfür de sisteinleri serinlerle değiştirerek mutajenik PCR ile atıldı. Zincirler arası bir disülfür bağ içeren Fv'ler were dsFv olarak isimlendirildi, zincirler arası bir disülfür bağı olmayan Fab'ler ise FabΔ olarak isimlendirildi. Daha sonra tüm bu yapılara ait DNA HCMV-MIE promotörün ve SV40E poliA dizisinin kontrolü altında memeli ekspresyon vektörlerine klonlandı. İlgili ağır ve hafif
- 20 zincir plazmitleri memeli hücrelerinde ekspresyon için eşleştirildi.

FabB-645dsFv (2xG₄S), FabB-648dsFv (2xG₄S), FabΔB-645dsFv (2xG₄S) ve FabΔB-648dsFv (2xG₄S) Memeli Ekspresyonu

- HEK293 hücreleri imalatçı firmanın talimatlarına uygun şekilde Invitrogen 293fectin transfeksiyon reaktifini kullanarak ağır ve hafif zincir plazmitleriyle transfekte edildi. Kısaca,
- 25 24 µg ağır zincir plazmidi + 24 µg hafif zincir plazmidi oda sıcaklığında 20 dakika 120 µl 293fectin + 4080 µl Optimem besiyeri ile inkübe edildi. Daha sonra karışım 60 mL

stoku) 384 kuyucuklu plakalarda dört kopya işlendi. Plaka 7900HT Fast Real-Time PCR sistemi kullanarak 20 °C'den 99 °C'ye ısıtıldı ve floresans (490 nm'de uyarım, 530 nm'de yayılım) ölçüldü. Sonuçlar Tablo 14'te ve Şekil 17'de gösterilmektedir.

Tablo 14

	Tm °C (Fab)	Tm °C (Fv)
FabB-645Fv (1xG ₄ S)	82.8 ± 0.6	67.4 ± 0.4
FabB-645Fv (2xG ₄ S)	83.4 ± 0.3	68.7 ± 0.3
FabB-645Fv (3xG ₄ S)	83.4 ± 0.3	69.5 ± 0.6
FabB-645Fv (4xG ₄ S)	83.8 ± 0.3	71.3 ± 1.0
FabB-645Fv (5xG ₄ S)	83.8 ± 0.4	72.0 ± 0.7

5

ÖRNEK 16

Bir Fab-Fv'de Fv'nin Disülfür Stabilizasyonu

Memeli Hücrelerinde Ekspresyon İçin FabB-645dsFv (2xG₄S), FabB-648dsFv (2xG₄S), FabΔB-645dsFv (2xG₄S) ve FabΔB-648dsFv (2xG₄S) Füzyon Plazmitleri

- 10 Mutajenik PCR ile Fv'nin hem ağır zincir hem hafif zincir çerçeve bölgesinde seçili kalıntılarda FabB-645Fv (2xG₄S) ve FabB-648Fv (2xG₄S) DNA dizilerinde nokta mutasyonları yapıldı. Fv'nin ağır ve hafif zincirleri arasında zincirler arası bir disülfür bağ oluşturmak için yapılan mutasyonlar ağır zincir G44C ve hafif zincir G100C'dir. Fv'de zincirler arası disülfür bağ oluşturmak için sisteinlerin ilave edilmesine ilaveten, Fab'nin ağır
- 15 zincir ve hafif zinciri arasındaki doğal zincirler arası disülfür de sisteinleri serinlerle değiştirerek mutajenik PCR ile atıldı. Zincirler arası bir disülfür bağ içeren Fv'ler were dsFv olarak isimlendirildi, zincirler arası bir disülfür bağı olmayan Fab'ler ise FabΔ olarak isimlendirildi. Daha sonra tüm bu yapılara ait DNA HCMV-MIE promotörün ve SV40E poliA dizisinin kontrolü altında memeli ekspresyon vektörlerine klonlandı. İlgili ağır ve hafif
- 20 zincir plazmitleri memeli hücrelerinde ekspresyon için eşleştirildi.

FabB-645dsFv (2xG₄S), FabB-648dsFv (2xG₄S), FabΔB-645dsFv (2xG₄S) ve FabΔB-648dsFv (2xG₄S) Memeli Ekspresyonu

- HEK293 hücreleri imalatçı firmanın talimatlarına uygun şekilde Invitrogen 293fectin transfeksiyon reaktifini kullanarak ağır ve hafif zincir plazmitleriyle transfekte edildi. Kısaca,
- 25 24 µg ağır zincir plazmidi + 24 µg hafif zincir plazmidi oda sıcaklığında 20 dakika 120 µl 293fectin + 4080 µl Optimem besiyeri ile inkübe edildi. Daha sonra karışım 60 mL

stoku) 384 kuyucuklu plakalarda dört kopya işlendi. Plaka 7900HT Fast Real-Time PCR sistemi kullanarak 20 °C'den 99 °C'ye ısıtıldı ve floresans (490 nm'de uyarım, 530 nm'de yayılım) ölçüldü. Sonuçlar Tablo 14'te ve Şekil 17'de gösterilmektedir.

Tablo 14

	T_m °C (Fab)	T_m °C (Fv)
FabB-645Fv (1xG ₄ S)	82.8 ± 0.6	67.4 ± 0.4
FabB-645Fv (2xG ₄ S)	83.4 ± 0.3	68.7 ± 0.3
FabB-645Fv (3xG ₄ S)	83.4 ± 0.3	69.5 ± 0.6
FabB-645Fv (4xG ₄ S)	83.8 ± 0.3	71.3 ± 1.0
FabB-645Fv (5xG ₄ S)	83.8 ± 0.4	72.0 ± 0.7

5

ÖRNEK 16

Bir Fab-Fv'de Fv'nin Disülfür Stabilizasyonu

Memeli Hücrelerinde Ekspresyon İçin FabB-645dsFv (2xG₄S), FabB-648dsFv (2xG₄S), FabΔB-645dsFv (2xG₄S) ve FabΔB-648dsFv (2xG₄S) Füzyon Plazmitleri

- 10 Mutajenik PCR ile Fv'nin hem ağır zincir hem hafif zincir çerçeve bölgesinde seçili kalıntılarda FabB-645Fv (2xG₄S) ve FabB-648Fv (2xG₄S) DNA dizilerinde nokta mutasyonları yapıldı. Fv'nin ağır ve hafif zincirleri arasında zincirler arası bir disülfür bağ oluşturmak için yapılan mutasyonlar ağır zincir G44C ve hafif zincir G100C'dir. Fv'de zincirler arası disülfür bağ oluşturmak için sisteinlerin ilave edilmesine ilaveten, Fab'nin ağır
- 15 zincir ve hafif zinciri arasındaki doğal zincirler arası disülfür de sisteinleri serinlerle değiştirerek mutajenik PCR ile atıldı. Zincirler arası bir disülfür bağ içeren Fv'ler were dsFv olarak isimlendirildi, zincirler arası bir disülfür bağı olmayan Fab'ler ise FabΔ olarak isimlendirildi. Daha sonra tüm bu yapılara ait DNA HCMV-MIE promotörün ve SV40E poliA dizisinin kontrolü altında memeli ekspresyon vektörlerine klonlandı. İlgili ağır ve hafif
- 20 zincir plazmitleri memeli hücrelerinde ekspresyon için eşleştirildi.

FabB-645dsFv (2xG₄S), FabB-648dsFv (2xG₄S), FabΔB-645dsFv (2xG₄S) ve FabΔB-648dsFv (2xG₄S) Memeli Ekspresyonu

- HEK293 hücreleri imalatçı firmanın talimatlarına uygun şekilde Invitrogen 293fectin transfeksiyon reaktifini kullanarak ağır ve hafif zincir plazmitleriyle transfekte edildi. Kısaca,
- 25 24 µg ağır zincir plazmidi + 24 µg hafif zincir plazmidi oda sıcaklığında 20 dakika 120 µl 293fectin + 4080 µl Optimem besiyeri ile inkübe edildi. Daha sonra karışım 60 mL

süspansiyonda 60×10^6 HEK293 hücrelerine eklendi ve çalkalayarak 4 gün 37°C 'de inkübe edildi. Yapıların tamamı eşit ölçüde iyi eksprese edildi.

FabB-645dsFv (2xG₄S), FabB-648dsFv (2xG₄S), FabΔB-645dsFv (2xG₄S) ve FabΔB-648dsFv (2xG₄S) Protein-G Saflaştırması

- 5 Memeli ekspresyonu süspansiyonları santrifüjleyerek berraklaştırıldı ve üst fazlar 10 kDa bir molekül ağırlığı ayırma sınırlı santrifüjlü konsantratör kullanarak ~ 1.8 mL'ye konsantre edildi. Konsantre edilmiş üst fazlar 10 dakika $16000 \times g$ 'de santrifüjlenerek tüm çökelti atıldı ve sonra 1.5 mL 1 ml/dakika şeklinde 1 ml'lik HiTrap Protein-G kolonlarına (GE Healthcare) yüklendi. Kolonlar 20 mM fosfat, 40 mM NaCl (pH 7.4) ile yıkandı ve bağlanan maddeye 0.1 M glisin/HCl (pH 2.7) ile elüsyon yapıldı. Elüsyon piki (2 mL) toplandı ve pH 250 μL 1M sodyum asetatla $\sim\text{pH } 5$ 'e ayarlandı. PH'ı ayarlanmış elüsyonlara 10 kDa molekül ağırlığı ayırma sınırlı santrifüjlü konsantratör kullanarak 20 mM fosfat, 150 mM NaCl'ye (pH 7.1) diafiltrasyon yapıldı ve ~ 250 μL 'ye konsantre edildi. Yapıların tamamı benzer saflaştırma profillerine sahip oldu ve nihai konsantrasyonlar 0.5-0.8 mg/ml oldu.

15 **Albümin İçin FabB-645dsFv (2xG₄S), FabB-648dsFv (2xG₄S), FabΔB-645dsFv (2xG₄S) ve FabΔB-648dsFv (2xG₄S) Afinitesi**

Saflaştırılmış FabB-645dsFv (2xG₄S), FabB-648dsFv (2xG₄S) FabΔB-645dsFv (2xG₄S), FabΔB-648dsFv (2xG₄S) yapılarının insan ve fare albümin için afiniteleri usullerde açıklanan şekilde belirlendi. Fv'nin disülfür stabilizasyonunun olumsuz etkisi olmadı veya Fv'nin hem insan hem fare albümin için afinitesini hafif ölçüde artırdı.

Tablo 15

	Albümin	KD (nM)	Albümin	KD (nM)
FabB-645Fv (2xG ₄ S)	İnsan	17.5	Fare	24.7
FabB-645dsFv (2xG ₄ S)	İnsan	12.6	Fare	14.0
FabΔB-645dsFv (2xG ₄ S)	İnsan	8.3	Fare	12.2
FabB-648Fv (2xG ₄ S)	İnsan	9.4	Fare	42.4
FabB-648dsFv (2xG ₄ S)	İnsan	3.1	Fare	59.6
FabΔB-648dsFv (2xG ₄ S)	İnsan	8.3	Fare	59.8

Saflaştırılmış FabB-645dsFv (2xG₄S), FabB-648dsFv (2xG₄S), FabΔB-645dsFv (2xG₄S) ve FabΔB-648dsFv (2xG₄S) SDS-PAGE Analizi

Saflaştırılmış FabB-645dsFv (2xG₄S), FabB-648dsFv (2xG₄S) FabΔB-645dsFv (2xG₄S),

süspansiyonda 60×10^6 HEK293 hücrelerine eklendi ve çalkalayarak 4 gün 37°C 'de inkübe edildi. Yapıların tamamı eşit ölçüde iyi eksprese edildi.

FabB-645dsFv (2xG₄S), FabB-648dsFv (2xG₄S), FabΔB-645dsFv (2xG₄S) ve FabΔB-648dsFv (2xG₄S) Protein-G Saflaştırması

- 5 Memeli ekspresyonu süspansiyonları santrifüjleyerek berraklaştırıldı ve üst fazlar 10 kDa bir molekül ağırlığı ayırma sınırlı santrifüjlü konsantratör kullanarak ~ 1.8 mL'ye konsantre edildi. Konsantre edilmiş üst fazlar 10 dakika $16000 \times g$ 'de santrifüjlenerek tüm çökelti atıldı ve sonra 1.5 mL 1 ml/dakika şeklinde 1 ml'lik HiTrap Protein-G kolonlarına (GE Healthcare) yüklendi. Kolonlar 20 mM fosfat, 40 mM NaCl (pH 7.4) ile yıkandı ve bağlanan maddeye 0.1 M glisin/HCl (pH 2.7) ile elüsyon yapıldı. Elüsyon piki (2 mL) toplandı ve pH 250 μL 1 M sodyum asetatla $\sim\text{pH } 5$ 'e ayarlandı. PH'ı ayarlanmış elüsyonlara 10 kDa molekül ağırlığı ayırma sınırlı santrifüjlü konsantratör kullanarak 20 mM fosfat, 150 mM NaCl'ye (pH 7.1) diafiltrasyon yapıldı ve ~ 250 μL 'ye konsantre edildi. Yapıların tamamı benzer saflaştırma profillerine sahip oldu ve nihai konsantrasyonlar 0.5-0.8 mg/ml oldu.

15 **Albümin İçin FabB-645dsFv (2xG₄S), FabB-648dsFv (2xG₄S), FabΔB-645dsFv (2xG₄S) ve FabΔB-648dsFv (2xG₄S) Afinitesi**

Saflaştırılmış FabB-645dsFv (2xG₄S), FabB-648dsFv (2xG₄S) FabΔB-645dsFv (2xG₄S), FabΔB-648dsFv (2xG₄S) yapılarının insan ve fare albümin için afiniteleri usullerde açıklanan şekilde belirlendi. Fv'nin disülfür stabilizasyonunun olumsuz etkisi olmadı veya Fv'nin hem insan hem fare albümin için afinitesini hafif ölçüde artırdı.

Tablo 15

	Albümin	KD (nM)	Albümin	KD (nM)
FabB-645Fv (2xG ₄ S)	İnsan	17.5	Fare	24.7
FabB-645dsFv (2xG ₄ S)	İnsan	12.6	Fare	14.0
FabΔB-645dsFv (2xG ₄ S)	İnsan	8.3	Fare	12.2
FabB-648Fv (2xG ₄ S)	İnsan	9.4	Fare	42.4
FabB-648dsFv (2xG ₄ S)	İnsan	3.1	Fare	59.6
FabΔB-648dsFv (2xG ₄ S)	İnsan	8.3	Fare	59.8

Saflaştırılmış FabB-645dsFv (2xG₄S), FabB-648dsFv (2xG₄S), FabΔB-645dsFv (2xG₄S) ve FabΔB-648dsFv (2xG₄S) SDS-PAGE Analizi

Saflaştırılmış FabB-645dsFv (2xG₄S), FabB-648dsFv (2xG₄S) FabΔB-645dsFv (2xG₄S),

süspansiyonda 60×10^6 HEK293 hücrelerine eklendi ve çalkalayarak 4 gün 37°C 'de inkübe edildi. Yapıların tamamı eşit ölçüde iyi eksprese edildi.

FabB-645dsFv (2xG₄S), FabB-648dsFv (2xG₄S), FabΔB-645dsFv (2xG₄S) ve FabΔB-648dsFv (2xG₄S) Protein-G Saflaştırması

- 5 Memeli ekspresyonu süspansiyonları santrifüjleyerek berraklaştırıldı ve üst fazlar 10 kDa bir molekül ağırlığı ayırma sınırlı santrifüjlü konsantratör kullanarak ~ 1.8 mL'ye konsantre edildi. Konsantre edilmiş üst fazlar 10 dakika $16000 \times g$ 'de santrifüjlenerek tüm çökelti atıldı ve sonra 1.5 mL 1 ml/dakika şeklinde 1 ml'lik HiTrap Protein-G kolonlarına (GE Healthcare) yüklendi. Kolonlar 20 mM fosfat, 40 mM NaCl (pH 7.4) ile yıkandı ve bağlanan maddeye 0.1 M glisin/HCl (pH 2.7) ile elüsyon yapıldı. Elüsyon piki (2 mL) toplandı ve pH 250 μL 1M sodyum asetatla $\sim\text{pH } 5$ 'e ayarlandı. PH'ı ayarlanmış elüsyonlara 10 kDa molekül ağırlığı ayırma sınırlı santrifüjlü konsantratör kullanarak 20 mM fosfat, 150 mM NaCl'ye (pH 7.1) diafiltrasyon yapıldı ve ~ 250 μL 'ye konsantre edildi. Yapıların tamamı benzer saflaştırma profillerine sahip oldu ve nihai konsantrasyonlar 0.5-0.8 mg/ml oldu.

15 **Albümin İçin FabB-645dsFv (2xG₄S), FabB-648dsFv (2xG₄S), FabΔB-645dsFv (2xG₄S) ve FabΔB-648dsFv (2xG₄S) Afinitesi**

Saflaştırılmış FabB-645dsFv (2xG₄S), FabB-648dsFv (2xG₄S) FabΔB-645dsFv (2xG₄S), FabΔB-648dsFv (2xG₄S) yapılarının insan ve fare albümin için afiniteleri usullerde açıklanan şekilde belirlendi. Fv'nin disülfür stabilizasyonunun olumsuz etkisi olmadı veya Fv'nin hem insan hem fare albümin için afinitesini hafif ölçüde artırdı.

Tablo 15

	Albümin	KD (nM)	Albümin	KD (nM)
FabB-645Fv (2xG ₄ S)	İnsan	17.5	Fare	24.7
FabB-645dsFv (2xG ₄ S)	İnsan	12.6	Fare	14.0
FabΔB-645dsFv (2xG ₄ S)	İnsan	8.3	Fare	12.2
FabB-648Fv (2xG ₄ S)	İnsan	9.4	Fare	42.4
FabB-648dsFv (2xG ₄ S)	İnsan	3.1	Fare	59.6
FabΔB-648dsFv (2xG ₄ S)	İnsan	8.3	Fare	59.8

Saflaştırılmış FabB-645dsFv (2xG₄S), FabB-648dsFv (2xG₄S), FabΔB-645dsFv (2xG₄S) ve FabΔB-648dsFv (2xG₄S) SDS-PAGE Analizi

Saflaştırılmış FabB-645dsFv (2xG₄S), FabB-648dsFv (2xG₄S) FabΔB-645dsFv (2xG₄S),

Fab Δ B-648dsFv (2xG₄S) numuneleri indirgenmemiş ve indirgenmiş koşullarda hazırlandı ve usullerde açıklanan şekilde bir jel üzerinde ayrıldı ve boyandı. Bakınız Şekil 18.

Saflaştırılmış FabB-645dsFv (2xG₄S), FabB-648dsFv (2xG₄S), Fab Δ B-645dsFv (2xG₄S) ve Fab Δ B-648dsFv (2xG₄S) Boyut Dışlama Analizi

- 5 Saflaştırılmış FabB-645dsFv (2xG₄S), FabB-648dsFv (2xG₄S) Fab Δ B-645dsFv (2xG₄S), Fab Δ B-648dsFv (2xG₄S) numuneleri 1 ml/dk'de 20 mM fosfat 150 mM NaCl (pH 7.4) bir izokratik gradientle geliştirilmiş bir Superdex200 10/300GL Tricorn kolon (GE Healthcare) üzerinde boyut açısından analiz edildi.

- 10 Gerek 645Fv gerek 648Fv Fv içine zincirler arası bir disülfür bağı eklenmesi Fv'nin zincirler arası bir disülfüre sahip olmadığı Fab-Fv ile karşılaştırıldığında monomer Fab-Fv türlerinin miktarını artırdı. Bir Fab-Fv'nin Fab parçasından doğal zincirler arası disülfür bağı atılmasının mevcut monomer türlerinin miktarı üzerinde sadece küçük bir etkisi oldu. Şekil 19.

Tablo 16

	Monomer	Dimer	Yüksek Multimer
FabB-645Fv (2xG ₄ S)	%26	%38	%35
FabB-645dsFv (2xG ₄ S)	%43 %	%21	%37
Fab Δ B-645dsFv (2xG ₄ S)	%40 %	%25	%34
FabB-648dsFv (2xG ₄ S)	%50	%26	%24
Fab Δ B-648dsFv (2xG ₄ S)	%55	%24	%20

- 15 **Saflaştırılmış FabB-645dsFv (2xG₄S), FabB-648dsFv (2xG₄S), Fab Δ B-645dsFv (2xG₄S) ve Fab Δ B-648dsFv (2xG₄S) Thermofluor Termal Stabilité Analizi**

- 20 Numuneler (~1 mg/ml'de 1 μ l numune, 8 μ l PBS ve 1 μ l 30x Sypro turuncu floresan boya stoku) 384 kuyucuklu plakalarda dört kopya işlendi. Plaka 7900HT Fast Real-Time PCR sistemi kullanarak 20 °C'den 99 °C'ye ısıtıldı ve floresans (490 nm'de uyarım, 530 nm'de yayılım) ölçüldü.

Gerek 645Fv gerek 648Fv bir Fab-Fv'nin Fv parçası içine zincirler arası bir disülfür bağı eklenmesi Fv'nin zincirler arası bir disülfüre sahip olmadığı Fab-Fv ile karşılaştırıldığında Fv'nin termal stabilitesini artırdı. Bir Fab-Fv'nin Fab parçasından doğal zincirler arası disülfür bağı atılması Fab-Fv'nin Fv'nin termal stabilitesini azalttı.

Fab Δ B-648dsFv (2xG₄S) numuneleri indirgenmemiş ve indirgenmiş koşullarda hazırlandı ve usullerde açıklanan şekilde bir jel üzerinde ayrıldı ve boyandı. Bakınız Şekil 18.

Saflaştırılmış FabB-645dsFv (2xG₄S), FabB-648dsFv (2xG₄S), Fab Δ B-645dsFv (2xG₄S) ve Fab Δ B-648dsFv (2xG₄S) Boyut Dışlama Analizi

- 5 Saflaştırılmış FabB-645dsFv (2xG₄S), FabB-648dsFv (2xG₄S) Fab Δ B-645dsFv (2xG₄S), Fab Δ B-648dsFv (2xG₄S) numuneleri 1 ml/dk'de 20 mM fosfat 150 mM NaCl (pH 7.4) bir izokratik gradientle geliştirilmiş bir Superdex200 10/300GL Tricorn kolon (GE Healthcare) üzerinde boyut açısından analiz edildi.

- 10 Gerek 645Fv gerek 648Fv Fv içine zincirler arası bir disülfür bağı eklenmesi Fv'nin zincirler arası bir disülfüre sahip olmadığı Fab-Fv ile karşılaştırıldığında monomer Fab-Fv türlerinin miktarını artırdı. Bir Fab-Fv'nin Fab parçasından doğal zincirler arası disülfür bağı atılmasının mevcut monomer türlerinin miktarı üzerinde sadece küçük bir etkisi oldu. Şekil 19.

Tablo 16

	Monomer	Dimer	Yüksek Multimer
FabB-645Fv (2xG ₄ S)	%26	%38	%35
FabB-645dsFv (2xG ₄ S)	%43 %	%21	%37
Fab Δ B-645dsFv (2xG ₄ S)	%40 %	%25	%34
FabB-648dsFv (2xG ₄ S)	%50	%26	%24
Fab Δ B-648dsFv (2xG ₄ S)	%55	%24	%20

- 15 **Saflaştırılmış FabB-645dsFv (2xG₄S), FabB-648dsFv (2xG₄S), Fab Δ B-645dsFv (2xG₄S) ve Fab Δ B-648dsFv (2xG₄S) Thermofluor Termal Stabilité Analizi**

- 20 Numuneler (~1 mg/ml'de 1 µl numune, 8 µl PBS ve 1 µl 30x Sypro turuncu floresan boya stoku) 384 kuyucuklu plakalarda dört kopya işlendi. Plaka 7900HT Fast Real-Time PCR sistemi kullanarak 20 °C'den 99 °C'ye ısıtıldı ve floresans (490 nm'de uyarım, 530 nm'de yayılım) ölçüldü.

Gerek 645Fv gerek 648Fv bir Fab-Fv'nin Fv parçası içine zincirler arası bir disülfür bağı eklenmesi Fv'nin zincirler arası bir disülfüre sahip olmadığı Fab-Fv ile karşılaştırıldığında Fv'nin termal stabilitesini artırdı. Bir Fab-Fv'nin Fab parçasından doğal zincirler arası disülfür bağı atılması Fab-Fv'nin Fv'nin termal stabilitesini azalttı.

Fab Δ B-648dsFv (2xG₄S) numuneleri indirgenmemiş ve indirgenmiş koşullarda hazırlandı ve usullerde açıklanan şekilde bir jel üzerinde ayrıldı ve boyandı. Bakınız Şekil 18.

Saflaştırılmış FabB-645dsFv (2xG₄S), FabB-648dsFv (2xG₄S), Fab Δ B-645dsFv (2xG₄S) ve Fab Δ B-648dsFv (2xG₄S) Boyut Dışlama Analizi

- 5 Saflaştırılmış FabB-645dsFv (2xG₄S), FabB-648dsFv (2xG₄S) Fab Δ B-645dsFv (2xG₄S), Fab Δ B-648dsFv (2xG₄S) numuneleri 1 ml/dk'de 20 mM fosfat 150 mM NaCl (pH 7.4) bir izokratik gradientle geliştirilmiş bir Superdex200 10/300GL Tricorn kolon (GE Healthcare) üzerinde boyut açısından analiz edildi.

- 10 Gerek 645Fv gerek 648Fv Fv içine zincirler arası bir disülfür bağı eklenmesi Fv'nin zincirler arası bir disülfüre sahip olmadığı Fab-Fv ile karşılaştırıldığında monomer Fab-Fv türlerinin miktarını artırdı. Bir Fab-Fv'nin Fab parçasından doğal zincirler arası disülfür bağı atılmasının mevcut monomer türlerinin miktarı üzerinde sadece küçük bir etkisi oldu. Şekil 19.

Tablo 16

	Monomer	Dimer	Yüksek Multimer
FabB-645Fv (2xG ₄ S)	%26	%38	%35
FabB-645dsFv (2xG ₄ S)	%43 %	%21	%37
Fab Δ B-645dsFv (2xG ₄ S)	%40 %	%25	%34
FabB-648dsFv (2xG ₄ S)	%50	%26	%24
Fab Δ B-648dsFv (2xG ₄ S)	%55	%24	%20

- 15 **Saflaştırılmış FabB-645dsFv (2xG₄S), FabB-648dsFv (2xG₄S), Fab Δ B-645dsFv (2xG₄S) ve Fab Δ B-648dsFv (2xG₄S) Thermofluor Termal Stabilité Analizi**

- 20 Numuneler (~1 mg/ml'de 1 μ l numune, 8 μ l PBS ve 1 μ l 30x Sypro turuncu floresan boya stoku) 384 kuyucuklu plakalarda dört kopya işlendi. Plaka 7900HT Fast Real-Time PCR sistemi kullanarak 20 °C'den 99 °C'ye ısıtıldı ve floresans (490 nm'de uyarım, 530 nm'de yayılım) ölçüldü.

Gerek 645Fv gerek 648Fv bir Fab-Fv'nin Fv parçası içine zincirler arası bir disülfür bağı eklenmesi Fv'nin zincirler arası bir disülfüre sahip olmadığı Fab-Fv ile karşılaştırıldığında Fv'nin termal stabilitesini artırdı. Bir Fab-Fv'nin Fab parçasından doğal zincirler arası disülfür bağı atılması Fab-Fv'nin Fv'nin termal stabilitesini azalttı.

Tablo 17

	T _m °C (Fab)	T _m °C (Fv)
FabB-645Fv (2xG ₄ S)	81.9 ± 0.6	68.5 ± 0.5
FabB-645dsFv (2xG ₄ S)	83.6 ± 0.3	71.6 ± 0.3
FabΔB-645dsFv (2xG ₄ S)	79.5 ± 0.1	70.8 ± 0.6
FabB-648Fv (2xG ₄ S)	82.4 ± 0.2	70.6 ± 0.8
FabB-648dsFv (2xG ₄ S)	82.8 ± 0.3	75.0 ± 0.6
FabΔB-648dsFv (2xG ₄ S)	n.d.	73.6 ± 0.8
n.d. = belirlenmemiş. Analiz yazılımı bu bükülme noktasını çözemedi.		

FabD İçin Biacore Usulü

Fab-dAb ve Fab-didAb yapılarının etkileşimleri için bağlanma afiniteleri ve kinetik parametreler CM5 sensör çiplerini ve HBS-EP (10 mM HEPES (pH7.4), 150 mM NaCl, 3 mM EDTA, %0.05 h/h yüzey aktif madde P20) yürütme tamponunu kullanarak Biacore T100'de gerçekleştirilen yüzey plazmon rezonansı (SPR) ile belirlendi. İnsan Fab numuneleri ya bir insan F(ab')₂-spesifik keçi Fab (Jackson ImmunoResearch, 109-006-097) ya da kurum içinde geliştirilmiş anti insan CH1 monoklonal antikör kullanarak sensör çip yüzeyinde yakalandı. Murin Fab numuneleri bir murin F(ab')₂-spesifik keçi Fab (Jackson ImmunoResearch, 115-006-072) kullanarak yakalandı. Yakalama antikörünün kovalent sabitlenmesi standart amin kenetleme kimyası ile elde edildi.

Her analiz çevrimi, önce 3 dakikalık bir antijen enjeksiyonundan oluşan bir birleşme fazı öncesinde 1 dakikalık bir enjeksiyon kullanarak Fab-dAb veya Fab-didAb yapısının yakalanmasından oluştu, bunun ardından 5 dakika ayrışma izlendi. Her çevrimden sonra yakalama yüzeyi 2 x 1 dk 40 mM HCl enjeksiyonu, ardından 30 sn 5 mM NaOH ile yenilendi. Kullanılan akış hızları yakalama için 10 µl/dk, birleşme ve ayrışma fazları için 30 µl/dk ve yenileme için 10 µl/dk oldu.

Kinetik analizleri için bir antijen titrasyonu (insan veya fare serum albümin için tipik olarak 62.5 nM-2 µM, IL-1β için 1.25-40 nM, hücre yüzeyi reseptörü D için 20-1.25 nM) gerçekleştirildi, bir boş akış hücresi referansı çıkartmak için kullanıldı ve cihaz gürültüsünü ve sürüklenmeyi çıkartmak için tampon-boş enjeksiyonlar dahil edildi.

Kinetik parametreler Biacore T100 Değerlendirme yazılımını kullanarak ortaya çıkan sensogramların bir standart 1:1 bağlanma modeline eşzamanlı toplu uydurumu ile belirlendi.

Tablo 17

	T _m °C (Fab)	T _m °C (Fv)
FabB-645Fv (2xG ₄ S)	81.9 ± 0.6	68.5 ± 0.5
FabB-645dsFv (2xG ₄ S)	83.6 ± 0.3	71.6 ± 0.3
FabΔB-645dsFv (2xG ₄ S)	79.5 ± 0.1	70.8 ± 0.6
FabB-648Fv (2xG ₄ S)	82.4 ± 0.2	70.6 ± 0.8
FabB-648dsFv (2xG ₄ S)	82.8 ± 0.3	75.0 ± 0.6
FabΔB-648dsFv (2xG ₄ S)	n.d.	73.6 ± 0.8
n.d. = belirlenmemiş. Analiz yazılımı bu bükülme noktasını çözemedi.		

FabD İçin Biacore Usulü

Fab-dAb ve Fab-didAb yapılarının etkileşimleri için bağlanma afiniteleri ve kinetik parametreler CM5 sensör çiplerini ve HBS-EP (10 mM HEPES (pH7.4), 150 mM NaCl, 3 mM EDTA, %0.05 h/h yüzey aktif madde P20) yürütme tamponunu kullanarak Biacore T100'de gerçekleştirilen yüzey plazmon rezonansı (SPR) ile belirlendi. İnsan Fab numuneleri ya bir insan F(ab')₂-spesifik keçi Fab (Jackson ImmunoResearch, 109-006-097) ya da kurum içinde geliştirilmiş anti insan CH1 monoklonal antikor kullanarak sensör çip yüzeyinde yakalandı. Murin Fab numuneleri bir murin F(ab')₂-spesifik keçi Fab (Jackson ImmunoResearch, 115-006-072) kullanarak yakalandı. Yakalama antikorunun kovalent sabitlenmesi standart amin kenetleme kimyası ile elde edildi.

Her analiz çevrimi, önce 3 dakikalık bir antijen enjeksiyonundan oluşan bir birleşme fazı öncesinde 1 dakikalık bir enjeksiyon kullanarak Fab-dAb veya Fab-didAb yapısının yakalanmasından oluştu, bunun ardından 5 dakika ayrışma izlendi. Her çevrimden sonra yakalama yüzeyi 2 x 1 dk 40 mM HCl enjeksiyonu, ardından 30 sn 5 mM NaOH ile yenilendi. Kullanılan akış hızları yakalama için 10 µl/dk, birleşme ve ayrışma fazları için 30 µl/dk ve yenileme için 10 µl/dk oldu.

Kinetik analizleri için bir antijen titrasyonu (insan veya fare serum albümin için tipik olarak 62.5 nM-2 µM, IL-1β için 1.25-40 nM, hücre yüzeyi reseptörü D için 20-1.25 nM) gerçekleştirildi, bir boş akış hücresi referansı çıkartmak için kullanıldı ve cihaz gürültüsünü ve sürüklenmeyi çıkartmak için tampon-boş enjeksiyonlar dahil edildi.

Kinetik parametreler Biacore T100 Değerlendirme yazılımını kullanarak ortaya çıkan sensogramların bir standart 1:1 bağlanma modeline eşzamanlı toplu uydurumu ile belirlendi.

Tablo 17

	T _m °C (Fab)	T _m °C (Fv)
FabB-645Fv (2xG ₄ S)	81.9 ± 0.6	68.5 ± 0.5
FabB-645dsFv (2xG ₄ S)	83.6 ± 0.3	71.6 ± 0.3
FabΔB-645dsFv (2xG ₄ S)	79.5 ± 0.1	70.8 ± 0.6
FabB-648Fv (2xG ₄ S)	82.4 ± 0.2	70.6 ± 0.8
FabB-648dsFv (2xG ₄ S)	82.8 ± 0.3	75.0 ± 0.6
FabΔB-648dsFv (2xG ₄ S)	n.d.	73.6 ± 0.8
n.d. = belirlenmemiş. Analiz yazılımı bu bükülme noktasını çözemedi.		

FabD İçin Biacore Usulü

Fab-dAb ve Fab-didAb yapılarının etkileşimleri için bağlanma afiniteleri ve kinetik parametreler CM5 sensör çiplerini ve HBS-EP (10 mM HEPES (pH7.4), 150 mM NaCl, 3 mM EDTA, %0.05 h/h yüzey aktif madde P20) yürütme tamponunu kullanarak Biacore T100'de gerçekleştirilen yüzey plazmon rezonansı (SPR) ile belirlendi. İnsan Fab numuneleri ya bir insan F(ab')₂-spesifik keçi Fab (Jackson ImmunoResearch, 109-006-097) ya da kurum içinde geliştirilmiş anti insan CH1 monoklonal antikor kullanarak sensör çip yüzeyinde yakalandı. Murin Fab numuneleri bir murin F(ab')₂-spesifik keçi Fab (Jackson ImmunoResearch, 115-006-072) kullanarak yakalandı. Yakalama antikorumun kovalent sabitlenmesi standart amin kenetleme kimyası ile elde edildi.

Her analiz çevrimi, önce 3 dakikalık bir antijen enjeksiyonundan oluşan bir birleşme fazı öncesinde 1 dakikalık bir enjeksiyon kullanarak Fab-dAb veya Fab-didAb yapısının yakalanmasından oluştu, bunun ardından 5 dakika ayrışma izlendi. Her çevrimden sonra yakalama yüzeyi 2 x 1 dk 40 mM HCl enjeksiyonu, ardından 30 sn 5 mM NaOH ile yenilendi. Kullanılan akış hızları yakalama için 10 µl/dk, birleşme ve ayrışma fazları için 30 µl/dk ve yenileme için 10 µl/dk oldu.

Kinetik analizleri için bir antijen titrasyonu (insan veya fare serum albümin için tipik olarak 62.5 nM-2 µM, IL-1β için 1.25-40 nM, hücre yüzeyi reseptörü D için 20-1.25 nM) gerçekleştirildi, bir boş akış hücresi referansı çıkartmak için kullanıldı ve cihaz gürültüsünü ve sürüklenmeyi çıkartmak için tampon-boş enjeksiyonlar dahil edildi.

Kinetik parametreler Biacore T100 Değerlendirme yazılımını kullanarak ortaya çıkan sensogramların bir standart 1:1 bağlanma modeline eşzamanlı toplu uydurumu ile belirlendi.

Eşzamanlı bağlanmayı test etmek amacıyla gerek ayrı 5 μ M HSA veya 100 nM IL-1 β , gerek 5 μ M HSA ve 100 nM IL-1 β içeren bir karışık çözeltinin 3 dakikalık enjeksiyonları yakalanan Fab-dAb'den enjekte edildi. Albümin ve hücre yüzeyi reseptörü D'nin eşzamanlı bağlanması 2 μ M HSA veya MSA ve 20 nM murin hücre yüzeyi reseptörü D nihai konsantrasyonlarını kullanarak aynı tarzda incelendi.

ÖRNEK 17

mFabC-mdidAb'lerin ve mFabD-mdidAb'lerin Memeli Ekspresyonu

HEK293 hücreleri imalatçı firmanın talimatlarına uygun şekilde Invitrogen 293fectin transfeksiyon reaktifini kullanarak ağır ve hafif zincir plazmitleriyle transfekte edildi. Kısaca, 2 μ g ağır zincir plazmidi + 2 μ g hafif zincir plazmidi oda sıcaklığında 20 dakika 10 μ l 293fectin + 340 μ l Optimem besiyeri ile inkübe edildi. Daha sonra karışım süspansiyonda 5×10^6 HEK293 hücrelerine eklendi ve çalkalayarak 6 gün 37 °C'de inkübe edildi.

ELISA

mFab-mdidAb verimleri bir sandviç ELISA kullanarak ölçüldü. Kısaca, mFab-mdidAb bir anti-CHI antikoruyla yakalandı, ardından bir anti-kappa-HRP ile açığa çıkartıldı.

Tablo 18

	ELISA Ekspresyonu (ug/mL)
mFabD-mdidAb, -dAbL1(CK-G ₄ Sx2) & -dAbH1(CH1-G ₄ Sx2)	44
mFabD-mdidAb, -dAbL2(CK-G ₄ Sx2) & -dAbH2(CH1-G ₄ Sx2)	35
mFabC-mdidAb, -dAbL1(CK-G ₄ Sx2) & -dAbH1(CH1-G ₄ Sx2)	11
mFabC-mdidAb, -dAbL2(CK-G ₄ Sx2) & -dAbH2(CH1-G ₄ Sx2)	14

ÖRNEK 18

Serum albümin ve insan OX40'ın saflaştırılmış FabB-didAb, -dAbL1(CK-G₄Sx2) & -dAbH1(CH1-G₄Sx2) ve FabB-didAb, -dAbL2(CK-G₄Sx2) & -dAbH2(CH1-G₄Sx2) füzyonlarıyla etkileşimlerini incelemek için bir başka kinetik analizi gerçekleştirildi (Tablo 19). Hem FabB-didAb, -dAbL1(CK-G₄Sx2) & -dAbH1(CH1-G₄Sx2) hem FabB-didAb, -dAbL2(CK-G₄Sx2) & -dAbH2(CH1-G₄Sx2) orijinal FabB'nin insan OX40 için afinitesini korudu (Tablo 20).

FabB-didAb, -dAbL1(CK-G₄Sx2) & -dAbH1(CH1-G₄Sx2) ve FabB-didAb, -dAbL2(CK-

Eşzamanlı bağlanmayı test etmek amacıyla gerek ayrı 5 μ M HSA veya 100 nM IL-1 β , gerek 5 μ M HSA ve 100 nM IL-1 β içeren bir karışık çözeltinin 3 dakikalık enjeksiyonları yakalanan Fab-dAb'den enjekte edildi. Albümin ve hücre yüzeyi reseptörü D'nin eşzamanlı bağlanması 2 μ M HSA veya MSA ve 20 nM murin hücre yüzeyi reseptörü D nihai konsantrasyonlarını kullanarak aynı tarzda incelendi.

ÖRNEK 17

mFabC-mdidAb'lerin ve mFabD-mdidAb'lerin Memeli Ekspresyonu

HEK293 hücreleri imalatçı firmanın talimatlarına uygun şekilde Invitrogen 293fectin transfeksiyon reaktifini kullanarak ağır ve hafif zincir plazmitleriyle transfekte edildi. Kısaca, 2 μ g ağır zincir plazmidi + 2 μ g hafif zincir plazmidi oda sıcaklığında 20 dakika 10 μ l 293fectin + 340 μ l Optimem besiyeri ile inkübe edildi. Daha sonra karışım süspansiyonda 5×10^6 HEK293 hücrelerine eklendi ve çalkalayarak 6 gün 37 °C'de inkübe edildi.

ELISA

mFab-mdidAb verimleri bir sandviç ELISA kullanarak ölçüldü. Kısaca, mFab-mdidAb bir anti-CHI antikoruyla yakalandı, ardından bir anti-kappa-HRP ile açığa çıkartıldı.

Tablo 18

	ELISA Ekspresyonu (ug/mL)
mFabD-mdidAb, -dAbL1(CK-G ₄ Sx2) & -dAbH1(CH1-G ₄ Sx2)	44
mFabD-mdidAb, -dAbL2(CK-G ₄ Sx2) & -dAbH2(CH1-G ₄ Sx2)	35
mFabC-mdidAb, -dAbL1(CK-G ₄ Sx2) & -dAbH1(CH1-G ₄ Sx2)	11
mFabC-mdidAb, -dAbL2(CK-G ₄ Sx2) & -dAbH2(CH1-G ₄ Sx2)	14

ÖRNEK 18

Serum albümin ve insan OX40'ın saflaştırılmış FabB-didAb, -dAbL1(CK-G₄Sx2) & -dAbH1(CH1-G₄Sx2) ve FabB-didAb, -dAbL2(CK-G₄Sx2) & -dAbH2(CH1-G₄Sx2)

füzyonlarıyla etkileşimlerini incelemek için bir başka kinetik analizi gerçekleştirildi (Tablo 19). Hem FabB-didAb, -dAbL1(CK-G₄Sx2) & -dAbH1(CH1-G₄Sx2) hem FabB-didAb, -dAbL2(CK-G₄Sx2) & -dAbH2(CH1-G₄Sx2) orijinal FabB'nin insan OX40 için afinitesini korudu (Tablo 20).

FabB-didAb, -dAbL1(CK-G₄Sx2) & -dAbH1(CH1-G₄Sx2) ve FabB-didAb, -dAbL2(CK-

Eşzamanlı bağlanmayı test etmek amacıyla gerek ayrı 5 μ M HSA veya 100 nM IL-1 β , gerek 5 μ M HSA ve 100 nM IL-1 β içeren bir karışık çözeltinin 3 dakikalık enjeksiyonları yakalanan Fab-dAb'den enjekte edildi. Albümin ve hücre yüzeyi reseptörü D'nin eşzamanlı bağlanması 2 μ M HSA veya MSA ve 20 nM murin hücre yüzeyi reseptörü D nihai konsantrasyonlarını kullanarak aynı tarzda incelendi.

ÖRNEK 17

mFabC-mdidAb'lerin ve mFabD-mdidAb'lerin Memeli Ekspresyonu

HEK293 hücreleri imalatçı firmanın talimatlarına uygun şekilde Invitrogen 293fectin transfeksiyon reaktifini kullanarak ağır ve hafif zincir plazmitleriyle transfekte edildi. Kısaca, 2 μ g ağır zincir plazmidi + 2 μ g hafif zincir plazmidi oda sıcaklığında 20 dakika 10 μ l 293fectin + 340 μ l Optimem besiyeri ile inkübe edildi. Daha sonra karışım süspansiyonda 5×10^6 HEK293 hücrelerine eklendi ve çalkalayarak 6 gün 37 °C'de inkübe edildi.

ELISA

mFab-mdidAb verimleri bir sandviç ELISA kullanarak ölçüldü. Kısaca, mFab-mdidAb bir anti-CHI antikoruyla yakalandı, ardından bir anti-kappa-HRP ile açığa çıkartıldı.

Tablo 18

	ELISA Ekspresyonu (ug/mL)
mFabD-mdidAb, -dAbL1(CK-G ₄ Sx2) & -dAbH1(CH1-G ₄ Sx2)	44
mFabD-mdidAb, -dAbL2(CK-G ₄ Sx2) & -dAbH2(CH1-G ₄ Sx2)	35
mFabC-mdidAb, -dAbL1(CK-G ₄ Sx2) & -dAbH1(CH1-G ₄ Sx2)	11
mFabC-mdidAb, -dAbL2(CK-G ₄ Sx2) & -dAbH2(CH1-G ₄ Sx2)	14

ÖRNEK 18

Serum albümin ve insan OX40'ın saflaştırılmış FabB-didAb, -dAbL1(CK-G₄Sx2) & -dAbH1(CH1-G₄Sx2) ve FabB-didAb, -dAbL2(CK-G₄Sx2) & -dAbH2(CH1-G₄Sx2)

füzyonlarıyla etkileşimlerini incelemek için bir başka kinetik analizi gerçekleştirildi (Tablo 19). Hem FabB-didAb, -dAbL1(CK-G₄Sx2) & -dAbH1(CH1-G₄Sx2) hem FabB-didAb, -dAbL2(CK-G₄Sx2) & -dAbH2(CH1-G₄Sx2) orijinal FabB'nin insan OX40 için afinitesini korudu (Tablo 20).

FabB-didAb, -dAbL1(CK-G₄Sx2) & -dAbH1(CH1-G₄Sx2) ve FabB-didAb, -dAbL2(CK-

G4Sx2) & -dAbH2(CH1-G4Sx2) yapılarının eşzamanlı olarak hem insan hem fare serum albümine ve insan OX40'a bağlanma potansiyeli, ya ayrı olarak 3 dakikalık 2 μ M albümin (insan veya fare) veya 50 nM insan OX40 veya hem 2 μ M albüminden hem 50 nM OX40'tan oluşan bir karışık çözelti enjeksiyonları gerçekleştirmeden önce her Fab-didAb yapısının sensör çipi yüzeyine yakalanmasıyla incelendi. Her iki Fab-didAb yapısı için HSA bağlanması görüldü. Her Fab-didAb yapısında birleşik albümin/OX40 çözeltisi için görülen yanıt bağımsız enjeksiyonlara verilen yanıtların toplamıyla neredeyse aynı oldu (Tablo 21'de özetlenmektedir). Bu durum Fab-didAb'lerin hem OX40'a hem serum albümine eşzamanlı bağlanabildiklerini gösterir. Orijinal FabB sadece OX40'a bağlandı, insan veya fare albümine anlamlı bağlanma göstermedi.

Tablo 19

Yapı	Albümin	k_a ($\times 10^4 \text{M}^{-1} \text{s}^{-1}$)	k_d ($\times 10^{-5} \text{s}^{-1}$)	K_D ($\times 10^{-9} \text{M}$)
FabB-didAb, -dAbL1(CK-G4Sx2) & -dAbH1(CH1-G4Sx2)	HSA	1.65	2.06	12.5
FabB-didAb, -dAbL2(CK-G4Sx2) & -dAbH2(CH1-G4Sx2)	HSA	1.80	1.24	6.92
FabB-didAb, -dAbL1(CK-G4Sx2) & -dAbH1(CH1-G4Sx2)	MSA	1.83	1.82	9.94
FabB-didAb, -dAbL2(CK-G4Sx2) & -dAbH2(CH1-G4Sx2)	MSA	nd	nd	-

HSA ve MSA'nın Fab-didAb Füzyonlarına Bağlanması İçin Belirlenen Afinite ve Kinetik Parametreleri

Tablo 20

Yapı	k_a ($\times 10^5 \text{M}^{-1} \text{s}^{-1}$)	k_d ($\times 10^{-5} \text{s}^{-1}$)	K_D ($\times 10^{-12} \text{M}$)
FabB	2.92	22.6	775
FabB-didAb, -dAbL1(CK-G4Sx2)&-dAbH1(CH1-G4Sx2)	3.58	8.54	238
FabB-didAb, -dAbL2(CK-G4Sx2)&-dAbH2(CH1-G4Sx2)	3.27	13.6	415

G4Sx2) & -dAbH2(CH1-G4Sx2) yapılarının eşzamanlı olarak hem insan hem fare serum albümine ve insan OX40'a bağlanma potansiyeli, ya ayrı olarak 3 dakikalık 2 μ M albümin (insan veya fare) veya 50 nM insan OX40 veya hem 2 μ M albüminden hem 50 nM OX40'tan oluşan bir karışık çözelti enjeksiyonları gerçekleştirmeden önce her Fab-didAb yapısının sensör çipi yüzeyine yakalanmasıyla incelendi. Her iki Fab-didAb yapısı için HSA bağlanması görüldü. Her Fab-didAb yapısında birleşik albümin/OX40 çözeltisi için görülen yanıt bağımsız enjeksiyonlara verilen yanıtların toplamıyla neredeyse aynı oldu (Tablo 21'de özetlenmektedir). Bu durum Fab-didAb'lerin hem OX40'a hem serum albümine eşzamanlı bağlanabildiklerini gösterir. Orijinal FabB sadece OX40'a bağlandı, insan veya fare albümine anlamlı bağlanma göstermedi.

Tablo 19

Yapı	Albümin	k_a ($\times 10^4 \text{M}^{-1} \text{s}^{-1}$)	k_d ($\times 10^{-5} \text{s}^{-1}$)	K_D ($\times 10^{-9} \text{M}$)
FabB-didAb, -dAbL1(CK-G4Sx2) & -dAbH1(CH1-G4Sx2)	HSA	1.65	2.06	12.5
FabB-didAb, -dAbL2(CK-G4Sx2) & -dAbH2(CH1-G4Sx2)	HSA	1.80	1.24	6.92
FabB-didAb, -dAbL1(CK-G4Sx2) & -dAbH1(CH1-G4Sx2)	MSA	1.83	1.82	9.94
FabB-didAb, -dAbL2(CK-G4Sx2) & -dAbH2(CH1-G4Sx2)	MSA	nd	nd	-

HSA ve MSA'nın Fab-didAb Füzyonlarına Bağlanması İçin Belirlenen Afinite ve Kinetik Parametreleri

Tablo 20

Yapı	k_a ($\times 10^5 \text{M}^{-1} \text{s}^{-1}$)	k_d ($\times 10^{-5} \text{s}^{-1}$)	K_D ($\times 10^{-12} \text{M}$)
FabB	2.92	22.6	775
FabB-didAb, -dAbL1(CK-G4Sx2)&-dAbH1(CH1-G4Sx2)	3.58	8.54	238
FabB-didAb, -dAbL2(CK-G4Sx2)&-dAbH2(CH1-G4Sx2)	3.27	13.6	415

G4Sx2) & -dAbH2(CH1-G4Sx2) yapılarının eşzamanlı olarak hem insan hem fare serum albümine ve insan OX40'a bağlanma potansiyeli, ya ayrı olarak 3 dakikalık 2 μ M albümin (insan veya fare) veya 50 nM insan OX40 veya hem 2 μ M albüminden hem 50 nM OX40'tan oluşan bir karışık çözelti enjeksiyonları gerçekleştirmeden önce her Fab-didAb yapısının sensör çipi yüzeyine yakalanmasıyla incelendi. Her iki Fab-didAb yapısı için HSA bağlanması görüldü. Her Fab-didAb yapısında birleşik albümin/OX40 çözeltisi için görülen yanıt bağımsız enjeksiyonlara verilen yanıtların toplamıyla neredeyse aynı oldu (Tablo 21'de özetlenmektedir). Bu durum Fab-didAb'lerin hem OX40'a hem serum albümine eşzamanlı bağlanabildiklerini gösterir. Orijinal FabB sadece OX40'a bağlandı, insan veya fare albümine anlamlı bağlanma göstermedi.

Tablo 19

Yapı	Albümin	k_a ($\times 10^4 \text{M}^{-1} \text{s}^{-1}$)	k_d ($\times 10^{-5} \text{s}^{-1}$)	K_D ($\times 10^{-9} \text{M}$)
FabB-didAb, -dAbL1(CK-G4Sx2) & -dAbH1(CH1-G4Sx2)	HSA	1.65	2.06	12.5
FabB-didAb, -dAbL2(CK-G4Sx2) & -dAbH2(CH1-G4Sx2)	HSA	1.80	1.24	6.92
FabB-didAb, -dAbL1(CK-G4Sx2) & -dAbH1(CH1-G4Sx2)	MSA	1.83	1.82	9.94
FabB-didAb, -dAbL2(CK-G4Sx2) & -dAbH2(CH1-G4Sx2)	MSA	nd	nd	-

HSA ve MSA'nın Fab-didAb Füzyonlarına Bağlanması İçin Belirlenen Afinite ve Kinetik Parametreleri

Tablo 20

Yapı	k_a ($\times 10^5 \text{M}^{-1} \text{s}^{-1}$)	k_d ($\times 10^{-5} \text{s}^{-1}$)	K_D ($\times 10^{-12} \text{M}$)
FabB	2.92	22.6	775
FabB-didAb, -dAbL1(CK-G4Sx2)&-dAbH1(CH1-G4Sx2)	3.58	8.54	238
FabB-didAb, -dAbL2(CK-G4Sx2)&-dAbH2(CH1-G4Sx2)	3.27	13.6	415

hOX40-Fc'nin FabB ve FabB-didAb Füzyonlarına Bağlanmasına İlişkin Afinite ve Kinetik Parametreleri

Tablo 21

Yapı	Analit	Bağlanma (RU)	
FabB	HSA	2.5	
	MSA	-2.5	
	OX40	89.5	
	HSA + OX40	90.1	(92)
	MSA + OX40	86.5	(87)
FabB-didAb, -dAbL1(CK-G4Sx2) & -dAbH1(CH1-G4Sx2)	HSA	109.1	
	MSA	93.3	
	OX40	73.7	
	HSA + OX40	186.1	(182.8)
	MSA + OX40	170.3	(167)
FabB-didAb, -dAbL2(CK-G4Sx2) & -dAbH2(CH1-G4Sx2)	HSA	50.9	
	MSA	2.4	
	OX40	52.9	
	HSA + OX40	104.2	(103.8)
	MSA + OX40	54.9	(55.3)

Yukarıdaki tabloda ayrı olarak yapılan HSA veya MSA veya hOX40-Fc enjeksiyonlarından

- 5 veya önceden karıştırılmış albümin ve hOX40-Fc enjeksiyonundan sonra her yapı için görülen bağlanma yanıtı (RU) gösterilmektedir. Her durumda nihai konsantrasyon 2 μ M albümin HSA ve 50 nM hOX40-Fc oldu. Ayrı ayrı albümin ve hOX40-Fc yanıtlarının toplamı parantez içinde gösterilmektedir.

ÖRNEK 19

- 10 Serum albümin ve murin hücre yüzeyi reseptörü D'nin mFabD-mdidAb, -mdAbL1(CK-G4Sx2) & mdAbH1(CH1-G4Sx2) ve mFabD-mdidAb, -mdAbL2(CK-G4Sx2) & mdAbH2(CH1-G4Sx2) ile etkileşimlerini incelemek için bir başka kinetik analizi gerçekleştirildi (Tablo 22). Her iki mFabD-mdidAb HAS'ya nispeten yüksek afiniteli bağlanma gösterdi (sırasıyla $K_D = 2.78$ nM ve 8.97nM). mFabD-mdidAb,-mdAbL2(CK-G4Sx2) & mdAbH2(CH1-G4Sx2) de MSA'ya benzer bir afiniteyle bağlandı ($K_D = 22$ nM)
- 15 ancak mFabD-mdidAb,-mdAbL1(CK-G4Sx2) & mdAbH1(CH1-G4Sx2) için MSA'ya

hOX40-Fc'nin FabB ve FabB-didAb Füzyonlarına Bağlanmasına İlişkin Afinite ve Kinetik Parametreleri

Tablo 21

Yapı	Analit	Bağlanma (RU)	
FabB	HSA	2.5	
	MSA	-2.5	
	OX40	89.5	
	HSA + OX40	90.1	(92)
	MSA + OX40	86.5	(87)
FabB-didAb, -dAbL1(CK-G4Sx2) & -dAbH1(CH1-G4Sx2)	HSA	109.1	
	MSA	93.3	
	OX40	73.7	
	HSA + OX40	186.1	(182.8)
	MSA + OX40	170.3	(167)
FabB-didAb, -dAbL2(CK-G4Sx2) & -dAbH2(CH1-G4Sx2)	HSA	50.9	
	MSA	2.4	
	OX40	52.9	
	HSA + OX40	104.2	(103.8)
	MSA + OX40	54.9	(55.3)

Yukarıdaki tabloda ayrı olarak yapılan HSA veya MSA veya hOX40-Fc enjeksiyonlarından

- 5 veya önceden karıştırılmış albümin ve hOX40-Fc enjeksiyonundan sonra her yapı için görülen bağlanma yanıtı (RU) gösterilmektedir. Her durumda nihai konsantrasyon 2 μ M albümin HSA ve 50 nM hOX40-Fc oldu. Ayrı ayrı albümin ve hOX40-Fc yanıtlarının toplamı parantez içinde gösterilmektedir.

ÖRNEK 19

- 10 Serum albümin ve murin hücre yüzeyi reseptörü D'nin mFabD-mdidAb, -mdAbL1(CK-G4Sx2) & mdAbH1(CH1-G4Sx2) ve mFabD-mdidAb, -mdAbL2(CK-G4Sx2) & mdAbH2(CH1-G4Sx2) ile etkileşimlerini incelemek için bir başka kinetik analizi gerçekleştirildi (Tablo 22). Her iki mFabD-mdidAb HAS'ya nispeten yüksek afiniteli bağlanma gösterdi (sırasıyla $K_D = 2.78$ nM ve 8.97nM). mFabD-mdidAb,-mdAbL2(CK-G4Sx2) & mdAbH2(CH1-G4Sx2) de MSA'ya benzer bir afiniteyle bağlandı ($K_D = 22$ nM)
- 15 ancak mFabD-mdidAb,-mdAbL1(CK-G4Sx2) & mdAbH1(CH1-G4Sx2) için MSA'ya

hOX40-Fc'nin FabB ve FabB-didAb Füzyonlarına Bağlanmasına İlişkin Afinite ve Kinetik Parametreleri

Tablo 21

Yapı	Analit	Bağlanma (RU)	
FabB	HSA	2.5	
	MSA	-2.5	
	OX40	89.5	
	HSA + OX40	90.1	(92)
	MSA + OX40	86.5	(87)
FabB-didAb, -dAbL1(CK-G4Sx2) & -dAbH1(CH1-G4Sx2)	HSA	109.1	
	MSA	93.3	
	OX40	73.7	
	HSA + OX40	186.1	(182.8)
	MSA + OX40	170.3	(167)
FabB-didAb, -dAbL2(CK-G4Sx2) & -dAbH2(CH1-G4Sx2)	HSA	50.9	
	MSA	2.4	
	OX40	52.9	
	HSA + OX40	104.2	(103.8)
	MSA + OX40	54.9	(55.3)

Yukarıdaki tabloda ayrı olarak yapılan HSA veya MSA veya hOX40-Fc enjeksiyonlarından

- 5 veya önceden karıştırılmış albümin ve hOX40-Fc enjeksiyonundan sonra her yapı için görülen bağlanma yanıtı (RU) gösterilmektedir. Her durumda nihai konsantrasyon 2 μ M albümin HSA ve 50 nM hOX40-Fc oldu. Ayrı ayrı albümin ve hOX40-Fc yanıtlarının toplamı parantez içinde gösterilmektedir.

ÖRNEK 19

- 10 Serum albümin ve murin hücre yüzeyi reseptörü D'nin mFabD-mdidAb, -mdAbL1(CK-G4Sx2) & mdAbH1(CH1-G4Sx2) ve mFabD-mdidAb, -mdAbL2(CK-G4Sx2) & mdAbH2(CH1-G4Sx2) ile etkileşimlerini incelemek için bir başka kinetik analizi gerçekleştirildi (Tablo 22). Her iki mFabD-mdidAb HAS'ya nispeten yüksek afiniteli bağlanma gösterdi (sırasıyla $K_D = 2.78$ nM ve 8.97nM). mFabD-mdidAb,-mdAbL2(CK-G4Sx2) & mdAbH2(CH1-G4Sx2) de MSA'ya benzer bir afiniteyle bağlandı ($K_D = 22$ nM)
- 15 ancak mFabD-mdidAb,-mdAbL1(CK-G4Sx2) & mdAbH1(CH1-G4Sx2) için MSA'ya

bağlanma görülmedi. Her iki mFabD-mdidAb de murin hücre yüzeyi reseptörü D için orijinal mFabD'nin afinitesini korudu (Tablo 23).

mFabD-mdidAb, -mdAbL1(CK-G₄Sx2) & mdAbH1(CH1-G₄Sx2) ve mFabD-mdidAb, -mdAbL2(CK-G₄Sx2) & mdAbH2(CH1-G₄Sx2)'nin eşzamanlı olarak hem insan hem fare serum albümine ve murin hücre yüzeyi reseptörü D'ye bağlanma potansiyeli ya ayrı olarak 3 dakikalık 2 µM albümin (insan veya fare) veya 20 nM murin hücre yüzeyi reseptörü D ya da hem 2 µM albümin hem 20 nM hücre yüzeyi reseptörü D'den oluşan karışık bir çözelti enjeksiyonlarını gerçekleştirmeden önce her mFab-mdidAb yapısının sensör çipi yüzeyine yakalanmasıyla incelendi. Aynı şekilde her iki mFab-mdidAb yapısı için HSA bağlanması görüldü, mFabD-mdiMSA'ya ise sadece dAb, -mdAbL2(CK-G₄Sx2) & mdAbH2(CH1-G₄Sx2) bağlandı. Her mFab-mdidAb yapısında birleşik albümin/ hücre yüzeyi reseptörü D çözeltisi için görülen yanıt bağımsız enjeksiyonlara verilen yanıtların toplamıyla neredeyse aynı oldu (Tablo 24'te özetlenmektedir). Bu durum mFab-mdidAb'lerin hem hücre yüzeyi reseptörü D'ye hem serum albümine eşzamanlı bağlanabildiğini gösterir. Orijinal mFabD sadece hücre yüzeyi reseptörü D'ye bağlandı, insan veya fare albümine anlamlı bağlanma görülmedi.

Tablo 22

Yapı	Albümin	k_a ($\times 10^4 \text{M}^{-1} \text{s}^{-1}$)	k_d ($\times 10^{-5} \text{s}^{-1}$)	K_D ($\times 10^{-9} \text{M}$)
mFabD-mdidAb, -mdAbL1(CK-G ₄ Sx2) & mdAbH1 (CH1-G ₄ Sx2)	HSA	1.01	2.82	2.78
mFabD-mdidAb, -mdAbL2(CK-G ₄ Sx2) & mdAbH2(CH1-G ₄ Sx2)	HSA	1.19	10.69	8.97
mFabD-mdidAb, -mdAbL1(CK-G ₄ Sx2) & mdAbH1(CH1-G ₄ Sx2)	MSA	-	-	-
mFabD-mdidAb, -mdAbL2(CK-G ₄ Sx2) & mdAbH2(CH1-G ₄ Sx2)	MSA	1.03	22.73	22.06

HSA ve MSA'nın mFabD-mdidAb, -mdAbL1(CK-G₄Sx2) & mdAbH1(CH1-G₄Sx2) ve mFabD-mdidAb, -mdAbL2(CK-G₄Sx2) & mdAbH2(CH1-G₄Sx2)'ye Bağlanması İçin

Belirlenen Afinite ve Kinetik Parametreleri

bağlanma görülmedi. Her iki mFabD-mdidAb de murin hücre yüzeyi reseptörü D için orijinal mFabD'nin afinitesini korudu (Tablo 23).

mFabD-mdidAb, -mdAbL1(CK-G₄Sx2) & mdAbH1(CH1-G₄Sx2) ve mFabD-mdidAb, -mdAbL2(CK-G₄Sx2) & mdAbH2(CH1-G₄Sx2)'nin eşzamanlı olarak hem insan hem fare serum albümine ve murin hücre yüzeyi reseptörü D'ye bağlanma potansiyeli ya ayrı olarak 3 dakikalık 2 µM albümin (insan veya fare) veya 20 nM murin hücre yüzeyi reseptörü D ya da hem 2 µM albümin hem 20 nM hücre yüzeyi reseptörü D'den oluşan karışık bir çözelti enjeksiyonlarını gerçekleştirmeden önce her mFab-mdidAb yapısının sensör çipi yüzeyine yakalanmasıyla incelendi. Aynı şekilde her iki mFab-mdidAb yapısı için HSA bağlanması görüldü, mFabD-mdiMSA'ya ise sadece dAb, -mdAbL2(CK-G₄Sx2) & mdAbH2(CH1-G₄Sx2) bağlandı. Her mFab-mdidAb yapısında birleşik albümin/ hücre yüzeyi reseptörü D çözeltisi için görülen yanıt bağımsız enjeksiyonlara verilen yanıtların toplamıyla neredeyse aynı oldu (Tablo 24'te özetlenmektedir). Bu durum mFab-mdidAb'lerin hem hücre yüzeyi reseptörü D'ye hem serum albümine eşzamanlı bağlanabildiğini gösterir. Orijinal mFabD sadece hücre yüzeyi reseptörü D'ye bağlandı, insan veya fare albümine anlamlı bağlanma görülmedi.

Tablo 22

Yapı	Albümin	k_a ($\times 10^4 \text{M}^{-1} \text{s}^{-1}$)	k_d ($\times 10^{-5} \text{s}^{-1}$)	K_D ($\times 10^{-9} \text{M}$)
mFabD-mdidAb, -mdAbL1(CK-G ₄ Sx2) & mdAbH1 (CH1-G ₄ Sx2)	HSA	1.01	2.82	2.78
mFabD-mdidAb, -mdAbL2(CK-G ₄ Sx2) & mdAbH2(CH1-G ₄ Sx2)	HSA	1.19	10.69	8.97
mFabD-mdidAb, -mdAbL1(CK-G ₄ Sx2) & mdAbH1(CH1-G ₄ Sx2)	MSA	-	-	-
mFabD-mdidAb, -mdAbL2(CK-G ₄ Sx2) & mdAbH2(CH1-G ₄ Sx2)	MSA	1.03	22.73	22.06

HSA ve MSA'nın mFabD-mdidAb, -mdAbL1(CK-G₄Sx2) & mdAbH1(CH1-G₄Sx2) ve mFabD-mdidAb, -mdAbL2(CK-G₄Sx2) & mdAbH2(CH1-G₄Sx2)'ye Bağlanması İçin

Belirlenen Afinite ve Kinetik Parametreleri

bağlanma görülmedi. Her iki mFabD-mdidAb de murin hücre yüzeyi reseptörü D için orijinal mFabD'nin afinitesini korudu (Tablo 23).

mFabD-mdidAb, -mdAbL1(CK-G₄Sx2) & mdAbH1(CH1-G₄Sx2) ve mFabD-mdidAb, -mdAbL2(CK-G₄Sx2) & mdAbH2(CH1-G₄Sx2)'nin eşzamanlı olarak hem insan hem fare serum albümine ve murin hücre yüzeyi reseptörü D'ye bağlanma potansiyeli ya ayrı olarak 3 dakikalık 2 µM albümin (insan veya fare) veya 20 nM murin hücre yüzeyi reseptörü D ya da hem 2 µM albümin hem 20 nM hücre yüzeyi reseptörü D'den oluşan karışık bir çözelti enjeksiyonlarını gerçekleştirmeden önce her mFab-mdidAb yapısının sensör çipi yüzeyine yakalanmasıyla incelendi. Aynı şekilde her iki mFab-mdidAb yapısı için HSA bağlanması görüldü, mFabD-mdiMSA'ya ise sadece dAb, -mdAbL2(CK-G₄Sx2) & mdAbH2(CH1-G₄Sx2) bağlandı. Her mFab-mdidAb yapısında birleşik albümin/ hücre yüzeyi reseptörü D çözeltisi için görülen yanıt bağımsız enjeksiyonlara verilen yanıtların toplamıyla neredeyse aynı oldu (Tablo 24'te özetlenmektedir). Bu durum mFab-mdidAb'lerin hem hücre yüzeyi reseptörü D'ye hem serum albümine eşzamanlı bağlanabildiğini gösterir. Orijinal mFabD sadece hücre yüzeyi reseptörü D'ye bağlandı, insan veya fare albümine anlamlı bağlanma görülmedi.

Tablo 22

Yapı	Albümin	k_a ($\times 10^4 \text{M}^{-1} \text{s}^{-1}$)	k_d ($\times 10^{-5} \text{s}^{-1}$)	K_D ($\times 10^{-9} \text{M}$)
mFabD-mdidAb, -mdAbL1(CK-G ₄ Sx2) & mdAbH1 (CH1-G ₄ Sx2)	HSA	1.01	2.82	2.78
mFabD-mdidAb, -mdAbL2(CK-G ₄ Sx2) & mdAbH2(CH1-G ₄ Sx2)	HSA	1.19	10.69	8.97
mFabD-mdidAb, -mdAbL1(CK-G ₄ Sx2) & mdAbH1(CH1-G ₄ Sx2)	MSA	-	-	-
mFabD-mdidAb, -mdAbL2(CK-G ₄ Sx2) & mdAbH2(CH1-G ₄ Sx2)	MSA	1.03	22.73	22.06

HSA ve MSA'nın mFabD-mdidAb, -mdAbL1(CK-G₄Sx2) & mdAbH1(CH1-G₄Sx2) ve mFabD-mdidAb, -mdAbL2(CK-G₄Sx2) & mdAbH2(CH1-G₄Sx2)'ye Bağlanması İçin

Belirlenen Afinite ve Kinetik Parametreleri

Tablo 23

Yapı	k_a ($\times 10^5 \text{M}^{-1} \text{s}^{-1}$)	k_d ($\times 10^{-5} \text{s}^{-1}$)	K_D ($\times 10^{-12} \text{M}$)
mFabD	1.98	2.50	126
mFabD-mdidAb, -mdAbL1(CK-G ₄ Sx2) & mdAbH1 (CH1-G ₄ Sx2)	2.01	4.67	233
mFabD-mdidAb, -mdAbL2(CK-G ₄ Sx2) & mdAbH2(CH1-G ₄ Sx2)	3.62	6.36	176

Murin Hücre Yüzeyi Reseptörü D-Fc'nin mFabD, mFabD-mdidAb, -mdAbL1(CK-G₄Sx2) & mdAbH1(CH1-G₄Sx2) ve mFabD-mdidAb, -mdAbL2(CK-G₄Sx2) & mdAbH2(CH1-G₄Sx2)'ye Bağlanması İçin Afinite ve Kinetik Parametreleri

5

Tablo 24

Yapı	Analit	Bağlanma (RU)	
mFabD	reseptör D	61.3	
	HSA	0.9	
	MSA	-1.1	
	reseptör D + HSA	62.9	(62.2)
	reseptör D + MSA	59.2	(60.2)
mFabD-mdidAb, -mdAbL1(CK-G ₄ Sx2) & mdAbH1 (CH1-G ₄ Sx2)	reseptör D	39.8	
	HSA	59.9	
	MSA	-0.6	
	reseptör D + HSA	101.2	(99.7)
	reseptör D + MSA	39.9	(39.2)
mFabD-mdidAb, -mdAbL2(CK-G ₄ Sx2) & mdAbH2(CH1-G ₄ Sx2)	reseptör D	42.6	
	HSA	61.9	
	MSA	43.5	
	reseptör D + HSA	105.3	(104.5)
	reseptör D + MSA	86.3	(86.1)

Yukarıdaki tabloda ayrı ayrı HSA veya MSA veya murin hücre yüzeyi reseptörü D-Fc enjeksiyonları veya önceden karıştırılmış albümin ve murin hücre yüzeyi reseptörü D-Fc enjeksiyonu sonrasında her yapı için görülen bağlanma yanıtı (RU) gösterilmektedir. Her durumda nihai konsantrasyon 2 μM albümin HSA ve 20 nM murin hücre yüzeyi reseptörü D-Fc oldu. Ayrı ayrı albümin ve murin hücre yüzeyi reseptörü D-Fc yanıtlarının toplamı

Tablo 23

Yapı	k_a ($\times 10^5 \text{M}^{-1} \text{s}^{-1}$)	k_d ($\times 10^{-5} \text{s}^{-1}$)	K_D ($\times 10^{-12} \text{M}$)
mFabD	1.98	2.50	126
mFabD-mdidAb, -mdAbL1(CK-G ₄ Sx2) & mdAbH1 (CH1-G ₄ Sx2)	2.01	4.67	233
mFabD-mdidAb, -mdAbL2(CK-G ₄ Sx2) & mdAbH2(CH1-G ₄ Sx2)	3.62	6.36	176

Murin Hücre Yüzeyi Reseptörü D-Fc'nin mFabD, mFabD-mdidAb, -mdAbL1(CK-G₄Sx2) & mdAbH1(CH1-G₄Sx2) ve mFabD-mdidAb, -mdAbL2(CK-G₄Sx2) & mdAbH2(CH1-G₄Sx2)'ye Bağlanması İçin Afinite ve Kinetik Parametreleri

5

Tablo 24

Yapı	Analit	Bağlanma (RU)	
mFabD	reseptör D	61.3	
	HSA	0.9	
	MSA	-1.1	
	reseptör D + HSA	62.9	(62.2)
	reseptör D + MSA	59.2	(60.2)
mFabD-mdidAb, -mdAbL1(CK-G ₄ Sx2) & mdAbH1 (CH1-G ₄ Sx2)	reseptör D	39.8	
	HSA	59.9	
	MSA	-0.6	
	reseptör D + HSA	101.2	(99.7)
	reseptör D + MSA	39.9	(39.2)
mFabD-mdidAb, -mdAbL2(CK-G ₄ Sx2) & mdAbH2(CH1-G ₄ Sx2)	reseptör D	42.6	
	HSA	61.9	
	MSA	43.5	
	reseptör D + HSA	105.3	(104.5)
	reseptör D + MSA	86.3	(86.1)

Yukarıdaki tabloda ayrı ayrı HSA veya MSA veya murin hücre yüzeyi reseptörü D-Fc enjeksiyonları veya önceden karıştırılmış albümin ve murin hücre yüzeyi reseptörü D-Fc enjeksiyonu sonrasında her yapı için görülen bağlanma yanıtı (RU) gösterilmektedir. Her durumda nihai konsantrasyon 2 μM albümin HSA ve 20 nM murin hücre yüzeyi reseptörü D-Fc oldu. Ayrı ayrı albümin ve murin hücre yüzeyi reseptörü D-Fc yanıtlarının toplamı

Tablo 23

Yapı	k_a ($\times 10^5 \text{M}^{-1} \text{s}^{-1}$)	k_d ($\times 10^{-5} \text{s}^{-1}$)	K_D ($\times 10^{-12} \text{M}$)
mFabD	1.98	2.50	126
mFabD-mdidAb, -mdAbL1(CK-G ₄ Sx2) & mdAbH1 (CH1-G ₄ Sx2)	2.01	4.67	233
mFabD-mdidAb, -mdAbL2(CK-G ₄ Sx2) & mdAbH2(CH1-G ₄ Sx2)	3.62	6.36	176

Murin Hücre Yüzeyi Reseptörü D-Fc'nin mFabD, mFabD-mdidAb, -mdAbL1(CK-G₄Sx2) & mdAbH1(CH1-G₄Sx2) ve mFabD-mdidAb, -mdAbL2(CK-G₄Sx2) & mdAbH2(CH1-G₄Sx2)'ye Bağlanması İçin Afinite ve Kinetik Parametreleri

5

Tablo 24

Yapı	Analit	Bağlanma (RU)	
mFabD	reseptör D	61.3	
	HSA	0.9	
	MSA	-1.1	
	reseptör D + HSA	62.9	(62.2)
	reseptör D + MSA	59.2	(60.2)
mFabD-mdidAb, -mdAbL1(CK-G ₄ Sx2) & mdAbH1 (CH1-G ₄ Sx2)	reseptör D	39.8	
	HSA	59.9	
	MSA	-0.6	
	reseptör D + HSA	101.2	(99.7)
	reseptör D + MSA	39.9	(39.2)
mFabD-mdidAb, -mdAbL2(CK-G ₄ Sx2) & mdAbH2(CH1-G ₄ Sx2)	reseptör D	42.6	
	HSA	61.9	
	MSA	43.5	
	reseptör D + HSA	105.3	(104.5)
	reseptör D + MSA	86.3	(86.1)

Yukarıdaki tabloda ayrı ayrı HSA veya MSA veya murin hücre yüzeyi reseptörü D-Fc enjeksiyonları veya önceden karıştırılmış albümin ve murin hücre yüzeyi reseptörü D-Fc enjeksiyonu sonrasında her yapı için görülen bağlanma yanıtı (RU) gösterilmektedir. Her durumda nihai konsantrasyon 2 μM albümin HSA ve 20 nM murin hücre yüzeyi reseptörü D-Fc oldu. Ayrı ayrı albümin ve murin hücre yüzeyi reseptörü D-Fc yanıtlarının toplamı

parantez içinde gösterilmektedir.

ÖRNEK 20

mFabD-mdidAb, -mdAbL1(CK-G₄Sx2) & mdAbH1(CH1-G₄Sx2) veya mFabD-mdidAb, -mdAbL2(CK-G₄Sx2) & mdAbH2(CH1-G₄Sx2)'nin serum albümin ve hücre yüzeyinde eksprese olan murin hücre yüzeyi reseptörü D ile eşzamanlı etkileşimini incelemek için bir başka analiz gerçekleştirildi. Her iki mFabD-mdidAb de FITC işaretli HAS'ye ve etkinleştirilmiş murin T hücrelerinin hücre yüzeyinde eksprese olan hücre yüzeyi reseptörü X'e eşzamanlı bağlanabildi (Şekil 11). mFabD etkinleştirilmiş murin T hücrelerinin hücre yüzeyinde eksprese olan hücre yüzeyi reseptörü X'e bağlanabildi (veri gösterilmiyor) ancak FITC işaretli HAS'ye bağlanmadı.

ÖRNEK 21

FabB-645dsFv (3xG4S) Ekspresyonu ve Saflaştırması

Memeli Ekspresyonu

Transfeksiyon öncesinde 1.4×10^{10} CHO-SV hücresi Earle Dengeli Tuz Çözelti (EBSS) içinde yıkandı ve pelet haline getirildi. Hücrelere 7 mg ağır ve 7 mg hafif zincirli plazmit DNA eklendi. 10 ml bir nihai hacim için EBBS tamponu eklendi. Bundan küvet başına 800 µl'ye kurum içi geliştirilmiş elektroporatorde optimize edilmiş elektrik parametrelerini kullanarak elektroporasyon yapıldı. Transfekte olmuş hücreler doğrudan glutaMAX, HT ve antimikotik antibiyotik çözelti takviyeli 7x1 L CD-CHO besiyerine aktarıldı. Hücreler 24 saat 37 °C'de ve sonra 32 °C'ye geçerek çalkalanıp inkübe edildi. 4. Günde 3 mM Sodyum Butirat eklendi. 10. veya 14. Günde hücreleri atmak için 1500xg santrifüjleme yaparak üst fazlar toplandı. Ekspresyon seviyeleri Protein-G analiziyle belirlendi.

Memeli Üst Fazı Konsantrasyonu

15 µg/ml FabB-645dsFv (3xG4S) içeren toplanmış memeli üst fazları 2 x 10 kDa molekül ağırlığı ayırma sınırlı polietersülfon (PES) membranla donatılmış bir Minisette konsantratör kullanarak 6.5 L'den 800 ml'ye konsantre edildi.

Protein-G Saflaştırması

Konsantre edilmiş üst faz 135 cm/saat şeklinde 20 mM fosfat, 150 mM NaCl (pH 7.4) içinde dengelenmiş 50 ml bir Gammabind Plus Sepharose (GE Healthcare) kolonuna uygulandı. Kolon 20 mM fosfat, 150 mM NaCl (pH 7.4) ile yıkandı ve bağlanan madde 0.1 M glisin/HCl (pH 2.7) ile elüsyona tabi tutuldu. Elüsyon piki toplandı ve 2M Tris/HCl (pH 8.8) ile pH ~pH

parantez içinde gösterilmektedir.

ÖRNEK 20

mFabD-mdidAb, -mdAbL1(CK-G₄Sx2) & mdAbH1(CH1-G₄Sx2) veya mFabD-mdidAb, -mdAbL2(CK-G₄Sx2) & mdAbH2(CH1-G₄Sx2)'nin serum albümin ve hücre yüzeyinde eksprese olan murin hücre yüzeyi reseptörü D ile eşzamanlı etkileşimini incelemek için bir başka analiz gerçekleştirildi. Her iki mFabD-mdidAb de FITC işaretli HAS'ye ve etkinleştirilmiş murin T hücrelerinin hücre yüzeyinde eksprese olan hücre yüzeyi reseptörü X'e eşzamanlı bağlanabildi (Şekil 11). mFabD etkinleştirilmiş murin T hücrelerinin hücre yüzeyinde eksprese olan hücre yüzeyi reseptörü X'e bağlanabildi (veri gösterilmiyor) ancak FITC işaretli HAS'ye bağlanmadı.

ÖRNEK 21

FabB-645dsFv (3xG4S) Ekspresyonu ve Saflaştırması

Memeli Ekspresyonu

Transfeksiyon öncesinde 1.4×10^{10} CHO-SV hücresi Earle Dengeli Tuz Çözelti (EBSS) içinde yıkandı ve pelet haline getirildi. Hücrelere 7 mg ağır ve 7 mg hafif zincirli plazmit DNA eklendi. 10 ml bir nihai hacim için EBBS tamponu eklendi. Bundan küvet başına 800 µl'ye kurum içi geliştirilmiş elektroporatorde optimize edilmiş elektrik parametrelerini kullanarak elektroporasyon yapıldı. Transfekte olmuş hücreler doğrudan glutaMAX, HT ve antimikotik antibiyotik çözelti takviyeli 7x1 L CD-CHO besiyerine aktarıldı. Hücreler 24 saat 37 °C'de ve sonra 32 °C'ye geçerek çalkalanıp inkübe edildi. 4. Günde 3 mM Sodyum Butirat eklendi. 10. veya 14. Günde hücreleri atmak için 1500xg santrifüjleme yaparak üst fazlar toplandı. Ekspresyon seviyeleri Protein-G analiziyle belirlendi.

Memeli Üst Fazı Konsantrasyonu

15 µg/ml FabB-645dsFv (3xG4S) içeren toplanmış memeli üst fazları 2 x 10 kDa molekül ağırlığı ayırma sınırlı polietersülfon (PES) membranla donatılmış bir Minisette konsantratör kullanarak 6.5 L'den 800 ml'ye konsantre edildi.

Protein-G Saflaştırması

Konsantre edilmiş üst faz 135 cm/saat şeklinde 20 mM fosfat, 150 mM NaCl (pH 7.4) içinde dengelenmiş 50 ml bir Gammabind Plus Sepharose (GE Healthcare) kolonuna uygulandı. Kolon 20 mM fosfat, 150 mM NaCl (pH 7.4) ile yıkandı ve bağlanan madde 0.1 M glisin/HCl (pH 2.7) ile elüsyona tabi tutuldu. Elüsyon piki toplandı ve 2M Tris/HCl (pH 8.8) ile pH ~pH

parantez içinde gösterilmektedir.

ÖRNEK 20

mFabD-mdidAb, -mdAbL1(CK-G₄Sx2) & mdAbH1(CH1-G₄Sx2) veya mFabD-mdidAb, -mdAbL2(CK-G₄Sx2) & mdAbH2(CH1-G₄Sx2)'nin serum albümin ve hücre yüzeyinde eksprese olan murin hücre yüzeyi reseptörü D ile eşzamanlı etkileşimini incelemek için bir başka analiz gerçekleştirildi. Her iki mFabD-mdidAb de FITC işaretli HAS'ye ve etkinleştirilmiş murin T hücrelerinin hücre yüzeyinde eksprese olan hücre yüzeyi reseptörü X'e eşzamanlı bağlanabildi (Şekil 11). mFabD etkinleştirilmiş murin T hücrelerinin hücre yüzeyinde eksprese olan hücre yüzeyi reseptörü X'e bağlanabildi (veri gösterilmiyor) ancak FITC işaretli HAS'ye bağlanmadı.

ÖRNEK 21

FabB-645dsFv (3xG4S) Ekspresyonu ve Saflaştırması

Memeli Ekspresyonu

Transfeksiyon öncesinde 1.4×10^{10} CHO-SV hücresi Earle Dengeli Tuz Çözelti (EBSS) içinde yıkandı ve pelet haline getirildi. Hücrelere 7 mg ağır ve 7 mg hafif zincirli plazmit DNA eklendi. 10 ml bir nihai hacim için EBBS tamponu eklendi. Bundan küvet başına 800 µl'ye kurum içi geliştirilmiş elektroporatorde optimize edilmiş elektrik parametrelerini kullanarak elektroporasyon yapıldı. Transfekte olmuş hücreler doğrudan glutaMAX, HT ve antimikotik antibiyotik çözelti takviyeli 7x1 L CD-CHO besiyerine aktarıldı. Hücreler 24 saat 37 °C'de ve sonra 32 °C'ye geçerek çalkalanıp inkübe edildi. 4. Günde 3 mM Sodyum Butirat eklendi. 10. veya 14. Günde hücreleri atmak için 1500xg santrifüjleme yaparak üst fazlar toplandı. Ekspresyon seviyeleri Protein-G analiziyle belirlendi.

Memeli Üst Fazı Konsantrasyonu

15 µg/ml FabB-645dsFv (3xG4S) içeren toplanmış memeli üst fazları 2 x 10 kDa molekül ağırlığı ayırma sınırlı polietersülfon (PES) membranla donatılmış bir Minisette konsantratör kullanarak 6.5 L'den 800 ml'ye konsantre edildi.

Protein-G Saflaştırması

Konsantre edilmiş üst faz 135 cm/saat şeklinde 20 mM fosfat, 150 mM NaCl (pH 7.4) içinde dengelenmiş 50 ml bir Gammabind Plus Sepharose (GE Healthcare) kolonuna uygulandı. Kolon 20 mM fosfat, 150 mM NaCl (pH 7.4) ile yıkandı ve bağlanan madde 0.1 M glisin/HCl (pH 2.7) ile elüsyona tabi tutuldu. Elüsyon piki toplandı ve 2M Tris/HCl (pH 8.8) ile pH ~pH

7 olarak düzenlendi. pH düzeltimi yapılan elüsyonlar 7 ml'ye konsantre edildi ve 10 kDa molekül ağırlığı ayırma sınırlı membranı olan bir Amicon Ultra-15 konsantratör kullanarak ve dönünce açılan rotorda 4000xg'de santrifüjleyerek 20 mM fosfat, 150 mM NaCl (pH 7.4) şeklinde diafiltrasyon yapıldı.

5 Superdex200 Saflaştırması

Konsantre edilmiş ve diafiltrasyon yapılmış protein-G eluatı 20 mM fosfat, 150 mM NaCl (pH 7.4) içinde dengelenmiş bir XK26/60 Superdex200 (GE Healthcare) kolonuna uygulandı. Kolon 30 cm/saat şeklinde 20 mM fosfat, 150 mM NaCl (pH 7.4) bir izokratik gradientle geliştirildi. 5ml fraksiyon toplandı ve 1ml/dakika şeklinde 20 mM fosfat, 150 mM NaCl (pH 7.4) bir izokratik gradientle geliştirilmiş Superdex200 10/300GL Tricon kolonla (GE Healthcare) analiz edildi. Sadece monomer içeren fraksiyonlar toplandı ve 10 kDa molekül ağırlığı ayırma sınırlı membranı olan bir Amicon Ultra-15 konsantratör kullanarak ve dönünce açılan rotorda 4000xg'de santrifüjleyerek ~10 mg/ml'ye konsantre edildi.

FabB-645dsFv (3xG4S) SDS-PAGE Analizi

15 FabB-645dsFv (3xG4S) PBS ile 0.32 mg/ml'ye seyreltildi ve 26 µl'ye 10 µL 4X LDS (Invitrogen) numune yürütme tamponu eklendi. İndirgenmemiş numuneler için 4 µL 100 mM NEM eklendi ve indirgenmiş numuneler için 4 µL 10X indirgeyici madde (Invitrogen) eklendi. Numuneler girdaplandı, 3 dakika 100 °C'de inkübe edildi, soğutuldu ve 30 saniye 12500 rpm'de santrifüjlendi. Hazırlanan numuneler 10 µl/2 µg şeklinde % 4-20 bir akrilamin 20 Tris/Glisin SDS jele yüklendi ve 125 V'de 110 dakika işlendi. Jeller Coomassie Mavi protein boyasıyla boyandı ve %7.5 asetik asitle boya çıkartıldı. Bakınız Şekil 25. Hem indirgeyici hem indirgeyici olmayan koşullarda FabB-645dsFv (3xG4S) esas itibarıyla bir banttır. İndirgenmemiş jelde ana bandın üzerindeki ve altındaki 2 küçük bant zincirler arası disülfür bağlardan birinin veya diğerinin oluşmadığı yerdedir. İndirgenmiş jelde ana bandın üzerindeki 25 1 küçük bant indirgenemez FabB-645dsFv(3xG4S)'dir. Bakınız Şekil 25.

FabB-645dsFv (3xG4S) Boyut Dışlama Analizi

FabB-645dsFv (3xG4S) PBS ile 0.5 mg/ml'ye seyreltildi. Bunun 100 µl'si bir Superdex200 10/300GL Tricon kolona (GE Healthcare) enjekte edildi ve 1 ml/dakika şeklinde bir PBS izokratik gradientle geliştirildi. 280 nm ve 214 nm'de absorbansla pikler tespit edildi. Bakınız 30 Şekil 26. 13.44 metrik dakika bir alıkonma süresi ile kromatogramda tek bir simetrik pik oldu. Bu pik alıkonma süresi aynı koşullar altında işlenmiş BioRad jel filtrasyonu standartları (151-1901) alıkonma sürelerinden oluşturulmuş bir standart eğrisini kullanarak görünen molekül

7 olarak düzenlendi. pH düzeltimi yapılan elüsyonlar 7 ml'ye konsantre edildi ve 10 kDa molekül ağırlığı ayırma sınırlı membranı olan bir Amicon Ultra-15 konsantratör kullanarak ve dönünce açılan rotorda 4000xg'de santrifüjleyerek 20 mM fosfat, 150 mM NaCl (pH 7.4) şeklinde diafiltrasyon yapıldı.

5 Superdex200 Saflaştırması

Konsantre edilmiş ve diafiltrasyon yapılmış protein-G eluatı 20 mM fosfat, 150 mM NaCl (pH 7.4) içinde dengelenmiş bir XK26/60 Superdex200 (GE Healthcare) kolonuna uygulandı. Kolon 30 cm/saat şeklinde 20 mM fosfat, 150 mM NaCl (pH 7.4) bir izokratik gradientle geliştirildi. 5ml fraksiyon toplandı ve 1ml/dakika şeklinde 20 mM fosfat, 150 mM NaCl (pH 7.4) bir izokratik gradientle geliştirilmiş Superdex200 10/300GL Tricon kolonla (GE Healthcare) analiz edildi. Sadece monomer içeren fraksiyonlar toplandı ve 10 kDa molekül ağırlığı ayırma sınırlı membranı olan bir Amicon Ultra-15 konsantratör kullanarak ve dönünce açılan rotorda 4000xg'de santrifüjleyerek ~10 mg/ml'ye konsantre edildi.

FabB-645dsFv (3xG4S) SDS-PAGE Analizi

15 FabB-645dsFv (3xG4S) PBS ile 0.32 mg/ml'ye seyreltildi ve 26 µl'ye 10 µL 4X LDS (Invitrogen) numune yürütme tamponu eklendi. İndirgenmemiş numuneler için 4 µL 100 mM NEM eklendi ve indirgenmiş numuneler için 4 µL 10X indirgeyici madde (Invitrogen) eklendi. Numuneler girdaplandı, 3 dakika 100 °C'de inkübe edildi, soğutuldu ve 30 saniye 12500 rpm'de santrifüjlendi. Hazırlanan numuneler 10 µl/2 µg şeklinde % 4-20 bir akrilamin 20 Tris/Glisin SDS jele yüklendi ve 125 V'de 110 dakika işlendi. Jeller Coomassie Mavi protein boyasıyla boyandı ve %7.5 asetik asitle boya çıkartıldı. Bakınız Şekil 25. Hem indirgeyici hem indirgeyici olmayan koşullarda FabB-645dsFv (3xG4S) esas itibarıyla bir banttır. İndirgenmemiş jelde ana bandın üzerindeki ve altındaki 2 küçük bant zincirler arası disülfür bağlardan birinin veya diğerinin oluşmadığı yerdedir. İndirgenmiş jelde ana bandın üzerindeki 25 1 küçük bant indirgenemez FabB-645dsFv(3xG4S)'dir. Bakınız Şekil 25.

FabB-645dsFv (3xG4S) Boyut Dışlama Analizi

FabB-645dsFv (3xG4S) PBS ile 0.5 mg/ml'ye seyreltildi. Bunun 100 µl'si bir Superdex200 10/300GL Tricon kolona (GE Healthcare) enjekte edildi ve 1 ml/dakika şeklinde bir PBS izokratik gradientle geliştirildi. 280 nm ve 214 nm'de absorbansla pikler tespit edildi. Bakınız 30 Şekil 26. 13.44 metrik dakika bir alıkonma süresi ile kromatogramda tek bir simetrik pik oldu. Bu pik alıkonma süresi aynı koşullar altında işlenmiş BioRad jel filtrasyonu standartları (151-1901) alıkonma sürelerinden oluşturulmuş bir standart eğrisini kullanarak görünen molekül

7 olarak düzenlendi. pH düzeltimi yapılan elüsyonlar 7 ml'ye konsantre edildi ve 10 kDa molekül ağırlığı ayırma sınırlı membranı olan bir Amicon Ultra-15 konsantratör kullanarak ve dönünce açılan rotorda 4000xg'de santrifüjleyerek 20 mM fosfat, 150 mM NaCl (pH 7.4) şeklinde diafiltrasyon yapıldı.

5 Superdex200 Saflaştırması

Konsantre edilmiş ve diafiltrasyon yapılmış protein-G eluatı 20 mM fosfat, 150 mM NaCl (pH 7.4) içinde dengelenmiş bir XK26/60 Superdex200 (GE Healthcare) kolonuna uygulandı. Kolon 30 cm/saat şeklinde 20 mM fosfat, 150 mM NaCl (pH 7.4) bir izokratik gradientle geliştirildi. 5ml fraksiyon toplandı ve 1ml/dakika şeklinde 20 mM fosfat, 150 mM NaCl (pH 7.4) bir izokratik gradientle geliştirilmiş Superdex200 10/300GL Tricon kolonla (GE Healthcare) analiz edildi. Sadece monomer içeren fraksiyonlar toplandı ve 10 kDa molekül ağırlığı ayırma sınırlı membranı olan bir Amicon Ultra-15 konsantratör kullanarak ve dönünce açılan rotorda 4000xg'de santrifüjleyerek ~10 mg/ml'ye konsantre edildi.

FabB-645dsFv (3xG4S) SDS-PAGE Analizi

15 FabB-645dsFv (3xG4S) PBS ile 0.32 mg/ml'ye seyreltildi ve 26 µl'ye 10 µL 4X LDS (Invitrogen) numune yürütme tamponu eklendi. İndirgenmemiş numuneler için 4 µL 100 mM NEM eklendi ve indirgenmiş numuneler için 4 µL 10X indirgeyici madde (Invitrogen) eklendi. Numuneler girdaplandı, 3 dakika 100 °C'de inkübe edildi, soğutuldu ve 30 saniye 12500 rpm'de santrifüjlendi. Hazırlanan numuneler 10 µl/2 µg şeklinde % 4-20 bir akrilamin 20 Tris/Glisin SDS jele yüklendi ve 125 V'de 110 dakika işlendi. Jeller Coomassie Mavi protein boyasıyla boyandı ve %7.5 asetik asitle boya çıkartıldı. Bakınız Şekil 25. Hem indirgeyici hem indirgeyici olmayan koşullarda FabB-645dsFv (3xG4S) esas itibarıyla bir banttır. İndirgenmemiş jelde ana bandın üzerindeki ve altındaki 2 küçük bant zincirler arası disülfür bağlardan birinin veya diğerinin oluşmadığı yerdedir. İndirgenmiş jelde ana bandın üzerindeki 25 1 küçük bant indirgenemez FabB-645dsFv(3xG4S)'dir. Bakınız Şekil 25.

FabB-645dsFv (3xG4S) Boyut Dışlama Analizi

FabB-645dsFv (3xG4S) PBS ile 0.5 mg/ml'ye seyreltildi. Bunun 100 µl'si bir Superdex200 10/300GL Tricon kolona (GE Healthcare) enjekte edildi ve 1 ml/dakika şeklinde bir PBS izokratik gradientle geliştirildi. 280 nm ve 214 nm'de absorbansla pikler tespit edildi. Bakınız 30 Şekil 26. 13.44 metrik dakika bir alıkonma süresi ile kromatogramda tek bir simetrik pik oldu. Bu pik alıkonma süresi aynı koşullar altında işlenmiş BioRad jel filtrasyonu standartları (151-1901) alıkonma sürelerinden oluşturulmuş bir standart eğrisini kullanarak görünen molekül

ağırlığına çevrildi. FabB-645dsFv(3xG4S)'nin görünen molekül ağırlığı 87 kDa oldu.

FabB-645dsFv(3xG4S) Termal Stabilite Analizi

Termal stabiliteyi ölçmek için FabB-645dsFv (3xG4S) PBS ile 1 mg/ml'ye seyreltildi. Dört kopya halinde bu seyreltilmiş numunenin 1 µl'sine 384 kuyucuklu bir plakada 8 µl PBS ve 1 µl 30x Sypro turuncu floresan boya stoku eklendi. Plaka 7900HT Fast Real-Time bir PCR sistemi kullanarak 20 °C'den 99 °C'ye ısıtıldı ve floresans (490 nm'de uyarım, 530 nm'de yayılım) ölçüldü. Bakınız Şekil 27A. FabB-645dsFv (3xG4S) 70 °C'den fazla bir T_m ile termal olarak stabil bir moleküldür.

Bir dizi pH'ta termal stabilite ölçümü yapmak için 10 mg/ml'de FabB-645dsFv (3xG4S) 0.2'lik artışlarla pH 2.2 - 8.0 tamponlarla 0.11 mg/ml'ye seyreltildi. pH tamponları 0.1 M sitrik asit ve 0.2 M disodyum hidrojen fosfatı karıştırarak ve iyonik güç dengelemesi yapmak için NaCl ekleyerek hazırlandı. Her pH seyreltmeli numunenin 45 µl'sine 5 µl 30x Sypro turuncu floresan boya stoku eklendi. Bunların 10 µl'lik temsili numuneleri dört kopya halinde 384 kuyucuklu plakalarda analiz edildi. Plaka 7900HT Fast Real-Time bir PCR sistemi kullanarak 20 °C'den 99 °C'ye ısıtıldı ve floresans (490 nm'de uyarım, 530 nm'de yayılım) ölçüldü. Daha sonra grafikte pH'ye karşı T_m işaretlendi. Bakınız Şekil 27B. FabB-645dsFv'nin (3xG4S) hem gA26Fab hem 645dsFv domeni pH 4.5-8.0 aralığında pH'tan büyük ölçüde olumsuz etkilenmeyen T_m'lere sahiptir. pH 4.5'in altında her iki domenin T_m'si pH 4.0'da 2 ayrı gelişen olay ayırt edilemez olana, bu tek olay 65 °C T_m'ye sahip olana dek düşüş gösterir. Bu ayırt edilemez tek gelişen olayın T_m'si pH azaldıkça düşmeye devam eder ancak yine de pH 2.2'de 50 °C'nin üzerinde kalır.

İn Vitro FabB-645dsFv (3xG4S) Etkinliği

In vitro FabB-645dsFv (3xG4S) etkinliği hücre bazlı bir OX40 ligandı blokaj analizi ile incelendi. Kısaca, insan PBMC ayrıştırıldı ve 5 µg/ml PHA-L ile (fitohemagglutinin-L) 24-72 saat 37 °C/%5 CO₂'de inkübasyonla etkinleştirildi. Daha sonra hücreler PBS/%0.09 sodyum azit içinde yıkandı ve 96 kuyucuklu bir kültür plakasında 0.25x10⁶ hücre/kuyucuk şeklinde yayıldı. FabB-645dsFv (3xG4S) seyreltileri PBS/%5 HAS içinde hazırlandı. 4 µg/ml bir biyotinlenmiş CD252-CD8 füzyon proteini çözeltisi de PBS/%5 HAS içinde hazırlandı. Her FabB-645dsFv (3xG4S) seyreltisinin 50 µl'si 50 µl CD252-CD8 füzyon proteinine eklendi ve karışım etkinleştirilmiş T hücreleriyle 30 dakika 40 °C'de inkübe edildi. Bu inkübasyonu takiben hücreler PBS/%0.09 sodyum azit içinde yıkandı. Daha sonra etkinleşmiş T hücreleri PBS içinde 100 µl streptavidin-PE ile 30 dakika 40 °C'de inkübe edildi. Hücreler tekrar

ağırlığına çevrildi. FabB-645dsFv(3xG4S)'nin görünen molekül ağırlığı 87 kDa oldu.

FabB-645dsFv(3xG4S) Termal Stabilite Analizi

Termal stabiliteyi ölçmek için FabB-645dsFv (3xG4S) PBS ile 1 mg/ml'ye seyreltildi. Dört kopya halinde bu seyreltilmiş numunenin 1 µl'sine 384 kuyucuklu bir plakada 8 µl PBS ve 1 µl 30x Sypro turuncu floresan boya stoku eklendi. Plaka 7900HT Fast Real-Time bir PCR sistemi kullanarak 20 °C'den 99 °C'ye ısıtıldı ve floresans (490 nm'de uyarım, 530 nm'de yayılım) ölçüldü. Bakınız Şekil 27A. FabB-645dsFv (3xG4S) 70 °C'den fazla bir T_m ile termal olarak stabil bir moleküldür.

Bir dizi pH'ta termal stabilite ölçümü yapmak için 10 mg/ml'de FabB-645dsFv (3xG4S) 0.2'lik artışlarla pH 2.2 - 8.0 tamponlarla 0.11 mg/ml'ye seyreltildi. pH tamponları 0.1 M sitrik asit ve 0.2 M disodyum hidrojen fosfatı karıştırarak ve iyonik güç dengelemesi yapmak için NaCl ekleyerek hazırlandı. Her pH seyreltmeli numunenin 45 µl'sine 5 µl 30x Sypro turuncu floresan boya stoku eklendi. Bunların 10 µl'lik temsili numuneleri dört kopya halinde 384 kuyucuklu plakalarda analiz edildi. Plaka 7900HT Fast Real-Time bir PCR sistemi kullanarak 20 °C'den 99 °C'ye ısıtıldı ve floresans (490 nm'de uyarım, 530 nm'de yayılım) ölçüldü. Daha sonra grafikte pH'ye karşı T_m işaretlendi. Bakınız Şekil 27B. FabB-645dsFv'nin (3xG4S) hem gA26Fab hem 645dsFv domeni pH 4.5-8.0 aralığında pH'tan büyük ölçüde olumsuz etkilenmeyen T_m'lere sahiptir. pH 4.5'in altında her iki domenin T_m'si pH 4.0'da 2 ayrı gelişen olay ayırt edilemez olana, bu tek olay 65 °C T_m'ye sahip olana dek düşüş gösterir. Bu ayırt edilemez tek gelişen olayın T_m'si pH azaldıkça düşmeye devam eder ancak yine de pH 2.2'de 50 °C'nin üzerinde kalır.

***In Vitro* FabB-645dsFv (3xG4S) Etkinliği**

In vitro FabB-645dsFv (3xG4S) etkinliği hücre bazlı bir OX40 ligandı blokaj analizi ile incelendi. Kısaca, insan PBMC ayrıştırıldı ve 5 µg/ml PHA-L ile (fitohemagglutinin-L) 24-72 saat 37 °C/%5 CO₂'de inkübasyonla etkinleştirildi. Daha sonra hücreler PBS/%0.09 sodyum azit içinde yıkandı ve 96 kuyucuklu bir kültür plakasında 0.25x10⁶ hücre/kuyucuk şeklinde yayıldı. FabB-645dsFv (3xG4S) seyreltileri PBS/%5 HAS içinde hazırlandı. 4 µg/ml bir biyotinlenmiş CD252-CD8 füzyon proteini çözeltisi de PBS/%5 HAS içinde hazırlandı. Her FabB-645dsFv (3xG4S) seyreltisinin 50 µl'si 50 µl CD252-CD8 füzyon proteinine eklendi ve karışım etkinleştirilmiş T hücreleriyle 30 dakika 40 °C'de inkübe edildi. Bu inkübasyonu takiben hücreler PBS/%0.09 sodyum azit içinde yıkandı. Daha sonra etkinleşmiş T hücreleri PBS içinde 100 µl streptavidin-PE ile 30 dakika 40 °C'de inkübe edildi. Hücreler tekrar

ağırlığına çevrildi. FabB-645dsFv(3xG4S)'nin görünen molekül ağırlığı 87 kDa oldu.

FabB-645dsFv(3xG4S) Termal Stabilite Analizi

Termal stabiliteyi ölçmek için FabB-645dsFv (3xG4S) PBS ile 1 mg/ml'ye seyreltildi. Dört kopya halinde bu seyreltilmiş numunenin 1 µl'sine 384 kuyucuklu bir plakada 8 µl PBS ve 1 µl 30x Sypro turuncu floresan boya stoku eklendi. Plaka 7900HT Fast Real-Time bir PCR sistemi kullanarak 20 °C'den 99 °C'ye ısıtıldı ve floresans (490 nm'de uyarım, 530 nm'de yayılım) ölçüldü. Bakınız Şekil 27A. FabB-645dsFv (3xG4S) 70 °C'den fazla bir T_m ile termal olarak stabil bir moleküldür.

Bir dizi pH'ta termal stabilite ölçümü yapmak için 10 mg/ml'de FabB-645dsFv (3xG4S) 0.2'lik artışlarla pH 2.2 - 8.0 tamponlarla 0.11 mg/ml'ye seyreltildi. pH tamponları 0.1 M sitrik asit ve 0.2 M disodyum hidrojen fosfatı karıştırarak ve iyonik güç dengelemesi yapmak için NaCl ekleyerek hazırlandı. Her pH seyreltmeli numunenin 45 µl'sine 5 µl 30x Sypro turuncu floresan boya stoku eklendi. Bunların 10 µl'lik temsili numuneleri dört kopya halinde 384 kuyucuklu plakalarda analiz edildi. Plaka 7900HT Fast Real-Time bir PCR sistemi kullanarak 20 °C'den 99 °C'ye ısıtıldı ve floresans (490 nm'de uyarım, 530 nm'de yayılım) ölçüldü. Daha sonra grafikte pH'ye karşı T_m işaretlendi. Bakınız Şekil 27B. FabB-645dsFv'nin (3xG4S) hem gA26Fab hem 645dsFv domeni pH 4.5-8.0 aralığında pH'tan büyük ölçüde olumsuz etkilenmeyen T_m'lere sahiptir. pH 4.5'in altında her iki domenin T_m'si pH 4.0'da 2 ayrı gelişen olay ayırt edilemez olana, bu tek olay 65 °C T_m'ye sahip olana dek düşüş gösterir. Bu ayırt edilemez tek gelişen olayın T_m'si pH azaldıkça düşmeye devam eder ancak yine de pH 2.2'de 50 °C'nin üzerinde kalır.

***In Vitro* FabB-645dsFv (3xG4S) Etkinliği**

In vitro FabB-645dsFv (3xG4S) etkinliği hücre bazlı bir OX40 ligandı blokaj analizi ile incelendi. Kısaca, insan PBMC ayrıştırıldı ve 5 µg/ml PHA-L ile (fitohemagglutinin-L) 24-72 saat 37 °C/%5 CO₂'de inkübasyonla etkinleştirildi. Daha sonra hücreler PBS/%0.09 sodyum azit içinde yıkandı ve 96 kuyucuklu bir kültür plakasında 0.25x10⁶ hücre/kuyucuk şeklinde yayıldı. FabB-645dsFv (3xG4S) seyreltileri PBS/%5 HAS içinde hazırlandı. 4 µg/ml bir biyotinlenmiş CD252-CD8 füzyon proteini çözeltisi de PBS/%5 HAS içinde hazırlandı. Her FabB-645dsFv (3xG4S) seyreltisinin 50 µl'si 50 µl CD252-CD8 füzyon proteinine eklendi ve karışım etkinleştirilmiş T hücreleriyle 30 dakika 40 °C'de inkübe edildi. Bu inkübasyonu takiben hücreler PBS/%0.09 sodyum azit içinde yıkandı. Daha sonra etkinleşmiş T hücreleri PBS içinde 100 µl streptavidin-PE ile 30 dakika 40 °C'de inkübe edildi. Hücreler tekrar

PBS/%0.09 sodyum azit içinde yıkandı ve sonra tampon içinde yeniden süspansiyon yapıldı akış sitometresiyle analiz edildi. FabB-645dsFv'nin (3xG4S) OX40 ligandının insan PBMC'lerin yüzeyinde eksprese olan OX40'a bağlanmasını ~3.5 nM bir EC50 ile bloke ettiği gösterildi (Bakınız Şekil 28).

5 **In Vivo FabB-645dsFv (3xG4S) Etkinliği**

In vivo doz yanıt ilişkini incelemek için FabB-645dsFv (3xG4S) ile bir çalışma gerçekleştirildi. Kısaca bu çalışma T hücresi engrafmanı bir ölçüm değeriyle HuSCID farelerinde 0.3, 3 ve 30 µg/ml kararlı durum dozlamasını içerdi.

- CB17 SCID farelerine -2. günde subkutane yoldan 2.475mg/kg veya 0.2475mg/kg veya 0.02475mg/kg FabB-645dsFv (3xG4S) PBS ile bir yükleme dozu uygulandı. 14. güne dek ve 14. gün dahil takip eden her gün subkutane yoldan 0.75mg/kg veya 0.075mg/kg veya 0.0075mg/kg FabB-645dsFv (3xG4S) veya PBS'nin bir idame dozu uygulandı. Her doz grubu 9-10 fareden oluştu. -1. Günde tüm farelere 0.87 mg/fare sıçan anti-murin TM-β1 antikoru tedavisi verilerek doğal öldürücü hücre etkinliği kaldırıldı. 0. Günde tüm farelere interperitoneal enjeksiyonla 8×10^6 insan periferik kan mononükleer hücresi verildi. 14. Günde fareler öldürüldü ve kan, dalak ve bir peritoneal lavaj alındı. Numuneler CD4⁺ ve CD8⁺ T hücreleri için FACS ile analiz edildi. Veri grupları Dunnett test sonrası karşılaştırması yaparak tek yönlü Anova ile analiz edildi. Bakınız Şekil 29A, B ve C. 30 ve 3 µg/ml dozları tüm bölümlerde eşit ölçüde etkili oldu, 0.3 µg/ml dozu ise kan ve dalakta istatistiksel olarak etkili oldu ancak 30 ve 3 µg/ml dozlarının ürettiği maksimum seviyedeki etkililik görülmedi.

KARŞILAŞTIRMA VERİSİ E22

645Fv-652Fab'lerin Yapılması, Ekspresyonu ve Antijene Bağlanması

645Fv-652Fab Plazmitlerinin Yapılması

- 645Fv-652Fab (L-3xG4S, H-3xG4S), 645Fv-652Fab (L-TVAAP, H-ASTKGP), 645dsFv-652Fab (L-3xG4S, H-3xG4S), 645dsFv-652Fab (L-TVAAP, H-ASTKGP) için toplam gen sentezi bir üçüncü taraf yüklenici (DNA2.0) tarafından yapıldı. 645Fv-652Fab'lerin amino asit dizisi için Şekil 30A, B, C ve D'ye bakılabilir. Tüm genler HCMV-MIE promotörünün ve SV40E poliA dizisinin kontrolü altında UCB tescilli memeli ekspresyon vektörüne klonlandı.

645Fv-652Fab'lerin Memeli Ekspresyonu

- HEK293 hücreleri imalatçı firmanın talimatlarına uygun şekilde Invitrogen 293fectin transfeksiyon reaktifini kullanarak ağır ve hafif zincir plazmitleriyle transfekte edildi. Kısaca,

PBS/%0.09 sodyum azit içinde yıkandı ve sonra tampon içinde yeniden süspansiyon yapıldı akış sitometresiyle analiz edildi. FabB-645dsFv'nin (3xG4S) OX40 ligandının insan PBMC'lerin yüzeyinde eksprese olan OX40'a bağlanmasını ~3.5 nM bir EC50 ile bloke ettiği gösterildi (Bakınız Şekil 28).

5 **In Vivo FabB-645dsFv (3xG4S) Etkinliği**

In vivo doz yanıt ilişkini incelemek için FabB-645dsFv (3xG4S) ile bir çalışma gerçekleştirildi. Kısaca bu çalışma T hücresi engrafmanı bir ölçüm değeriyle HuSCID farelerinde 0.3, 3 ve 30 µg/ml kararlı durum dozlamasını içerdi.

- CB17 SCID farelerine -2. günde subkutane yoldan 2.475mg/kg veya 0.2475mg/kg veya 0.02475mg/kg FabB-645dsFv (3xG4S) PBS ile bir yükleme dozu uygulandı. 14. güne dek ve 14. gün dahil takip eden her gün subkutane yoldan 0.75mg/kg veya 0.075mg/kg veya 0.0075mg/kg FabB-645dsFv (3xG4S) veya PBS'nin bir idame dozu uygulandı. Her doz grubu 9-10 fareden oluştu. -1. Günde tüm farelere 0.87 mg/fare sıçan anti-murin TM-β1 antikoru tedavisi verilerek doğal öldürücü hücre etkinliği kaldırıldı. 0. Günde tüm farelere interperitoneal enjeksiyonla 8×10^6 insan periferik kan mononükleer hücresi verildi. 14. Günde fareler öldürüldü ve kan, dalak ve bir peritoneal lavaj alındı. Numuneler CD4⁺ ve CD8⁺ T hücreleri için FACS ile analiz edildi. Veri grupları Dunnett test sonrası karşılaştırması yaparak tek yönlü Anova ile analiz edildi. Bakınız Şekil 29A, B ve C. 30 ve 3 µg/ml dozları tüm bölümlerde eşit ölçüde etkili oldu, 0.3 µg/ml dozu ise kan ve dalakta istatistiksel olarak etkili oldu ancak 30 ve 3 µg/ml dozlarının ürettiği maksimum seviyedeki etkililik görülmedi.

KARŞILAŞTIRMA VERİSİ E22

645Fv-652Fab'lerin Yapılması, Ekspresyonu ve Antijene Bağlanması

645Fv-652Fab Plazmitlerinin Yapılması

- 645Fv-652Fab (L-3xG4S, H-3xG4S), 645Fv-652Fab (L-TVAAP, H-ASTKGP), 645dsFv-652Fab (L-3xG4S, H-3xG4S), 645dsFv-652Fab (L-TVAAP, H-ASTKGP) için toplam gen sentezi bir üçüncü taraf yüklenici (DNA2.0) tarafından yapıldı. 645Fv-652Fab'lerin amino asit dizisi için Şekil 30A, B, C ve D'ye bakılabilir. Tüm genler HCMV-MIE promotörünün ve SV40E poliA dizisinin kontrolü altında UCB tescilli memeli ekspresyon vektörüne klonlandı.

645Fv-652Fab'lerin Memeli Ekspresyonu

- HEK293 hücreleri imalatçı firmanın talimatlarına uygun şekilde Invitrogen 293fectin transfeksiyon reaktifini kullanarak ağır ve hafif zincir plazmitleriyle transfekte edildi. Kısaca,

PBS/%0.09 sodyum azit içinde yıkandı ve sonra tampon içinde yeniden süspansiyon yapıldı akış sitometresiyle analiz edildi. FabB-645dsFv'nin (3xG4S) OX40 ligandının insan PBMC'lerin yüzeyinde eksprese olan OX40'a bağlanmasını ~3.5 nM bir EC50 ile bloke ettiği gösterildi (Bakınız Şekil 28).

5 **In Vivo FabB-645dsFv (3xG4S) Etkinliği**

In vivo doz yanıt ilişkini incelemek için FabB-645dsFv (3xG4S) ile bir çalışma gerçekleştirildi. Kısaca bu çalışma T hücresi engrafmanı bir ölçüm değeriyle HuSCID farelerinde 0.3, 3 ve 30 µg/ml kararlı durum dozlamasını içerdi.

- CB17 SCID farelerine -2. günde subkutane yoldan 2.475mg/kg veya 0.2475mg/kg veya 0.02475mg/kg FabB-645dsFv (3xG4S) PBS ile bir yükleme dozu uygulandı. 14. güne dek ve 14. gün dahil takip eden her gün subkutane yoldan 0.75mg/kg veya 0.075mg/kg veya 0.0075mg/kg FabB-645dsFv (3xG4S) veya PBS'nin bir idame dozu uygulandı. Her doz grubu 9-10 fareden oluştu. -1. Günde tüm farelere 0.87 mg/fare sıçan anti-murin TM-β1 antikoru tedavisi verilerek doğal öldürücü hücre etkinliği kaldırıldı. 0. Günde tüm farelere interperitoneal enjeksiyonla 8×10^6 insan periferik kan mononükleer hücresi verildi. 14. Günde fareler öldürüldü ve kan, dalak ve bir peritoneal lavaj alındı. Numuneler CD4⁺ ve CD8⁺ T hücreleri için FACS ile analiz edildi. Veri grupları Dunnett test sonrası karşılaştırması yaparak tek yönlü Anova ile analiz edildi. Bakınız Şekil 29A, B ve C. 30 ve 3 µg/ml dozları tüm bölümlerde eşit ölçüde etkili oldu, 0.3 µg/ml dozu ise kan ve dalakta istatistiksel olarak etkili oldu ancak 30 ve 3 µg/ml dozlarının ürettiği maksimum seviyedeki etkililik görülmedi.

KARŞILAŞTIRMA VERİSİ E22

645Fv-652Fab'lerin Yapılması, Ekspresyonu ve Antijene Bağlanması

645Fv-652Fab Plazmitlerinin Yapılması

- 645Fv-652Fab (L-3xG4S, H-3xG4S), 645Fv-652Fab (L-TVAAP, H-ASTKGP), 645dsFv-652Fab (L-3xG4S, H-3xG4S), 645dsFv-652Fab (L-TVAAP, H-ASTKGP) için toplam gen sentezi bir üçüncü taraf yüklenici (DNA2.0) tarafından yapıldı. 645Fv-652Fab'lerin amino asit dizisi için Şekil 30A, B, C ve D'ye bakılabilir. Tüm genler HCMV-MIE promotörünün ve SV40E poliA dizisinin kontrolü altında UCB tescilli memeli ekspresyon vektörüne klonlandı.

645Fv-652Fab'lerin Memeli Ekspresyonu

- HEK293 hücreleri imalatçı firmanın talimatlarına uygun şekilde Invitrogen 293fectin transfeksiyon reaktifini kullanarak ağır ve hafif zincir plazmitleriyle transfekte edildi. Kısaca,

2 µg ağır zincir plazmidi ve 2 µg hafif zincir plazmidi 10 µl 293fectin ve 340 µl Optimem besiyeri ile 20 dakika oda sıcaklığında inkübe edildi. Daha sonra karışım süspansiyonda 5×10^6 HEK293 hücrelerine eklendi ve 4 gün çalkalayarak 37°C’de inkübe edildi. 4 gün sonra hücreleri atmak için 1500xg’de santrifüjleyerek üst faz toplandı ve ardından 0.22 µm steril

5 filtrelendi.

645Fv-652Fab Miktarının Belirlenmesi

Memeli üst fazlarında Fv-Fab konsantrasyonu bir sandviç ELISA kullanarak ölçüldü.

Numunedeki Fv-Fab bir anti-CHI antikoruyla yakalandı ve bir anti-kappa-HRP konjugatıyla tespit edildi. Tespit antikoru TMB ile geliştirildi ve bilinmeyen numunelerin konsantrasyonu

10 bir standart eğrisinden hesaplandı. Tüm 645Fv-652Fab’ler benzer ekspresyon seviyelerine sahip oldu ancak disülfürle stabilize Fv çeşitleri disülfürle stabilize olmayan çeşitlerin %55-75’i seviyede eksprese oldu. Bakınız Şekil 31.

645Fv-652Fab’nin Antijene Bağlanması

Biacore Usulü

15 Fv-Fab yapılarının etkileşimlerine ilişkin kinetik sabitleri ve bağlanma yanıtları CM5 sensör çiplerinin kullanıldığı bir Biacore 3000’de yüzey plazmon rezonansı (SPR) ile belirlendi. Yürütme tamponu, HBS-EP pH 7.4’te 10 mM HEPES, 150 mM NaCl, 3 mM EDTA, %0.05 v/v yüzey aktif madde P20’dan oluşur. Numuneler kurum içi üretilmiş bir anti insan CHI monoklonal antikoru kullanarak sensör çipi yüzeyinde yakalandı. Yakalama antikorunun

20 kovalent sabitlenmesi standart amin kenetleme kimyası ile elde edildi.

Bir analiz çevrimi Fv-Fab yapısının 1 dakika yakalanmasından, ardından bir birleşme fazından (HSA için 3 dakika veya hIL13 için 6 dakika) ve bunun ardından 5 dakika (HSA) veya 20 dakika (hIL13) ayrışmanın izlenmesinden oluştu. Her çevrimden sonra yakalama yüzeyi 2 x 1 dk 40 mM HCl enjeksiyonu, ardından 30 sn 5 mM NaOH ile yenilendi.

25 Kullanılan akış hızları yakalama için 10 µl/dk, birleşme ve ayrışma fazları için 30 µl/dk ve yenileme için 10 µl/dk oldu.

Kinetik analizleri antijen titrasyonu (HSA için 50 nM-0.3125 nM iki katı seyreltme, hIL13 için tek konsantrasyon -20 nM) gerçekleştirildi. Bir boş akış hücresi ve tampon-boş enjeksiyonları çift veri referansını mümkün kıldı.

30 Kinetik parametreler Biacore 3000, 4.1 Değerlendirme yazılımını kullanarak ortaya çıkan sensogramların bir standart 1:1 bağlanma modeline eşzamanlı toplu uydurumu ile belirlendi.

2 µg ağır zincir plazmidi ve 2 µg hafif zincir plazmidi 10 µl 293fectin ve 340 µl Optimem besiyeri ile 20 dakika oda sıcaklığında inkübe edildi. Daha sonra karışım süspansiyonda 5×10^6 HEK293 hücrelerine eklendi ve 4 gün çalkalayarak 37°C'de inkübe edildi. 4 gün sonra hücreleri atmak için 1500xg'de santrifüjleyerek üst faz toplandı ve ardından 0.22 µm steril

5 filtrelendi.

645Fv-652Fab Miktarının Belirlenmesi

Memeli üst fazlarında Fv-Fab konsantrasyonu bir sandviç ELISA kullanarak ölçüldü.

Numunedeki Fv-Fab bir anti-CHI antikoruyla yakalandı ve bir anti-kappa-HRP konjugatıyla tespit edildi. Tespit antikoru TMB ile geliştirildi ve bilinmeyen numunelerin konsantrasyonu

10 bir standart eğrisinden hesaplandı. Tüm 645Fv-652Fab'ler benzer ekspresyon seviyelerine sahip oldu ancak disülfürle stabilize Fv çeşitleri disülfürle stabilize olmayan çeşitlerin %55-75'i seviyede eksprese oldu. Bakınız Şekil 31.

645Fv-652Fab'nin Antijene Bağlanması

Biacore Usulü

15 Fv-Fab yapılarının etkileşimlerine ilişkin kinetik sabitleri ve bağlanma yanıtları CM5 sensör çiplerinin kullanıldığı bir Biacore 3000'de yüzey plazmon rezonansı (SPR) ile belirlendi. Yürütme tamponu, HBS-EP pH 7.4'te 10 mM HEPES, 150 mM NaCl, 3 mM EDTA, %0.05 v/v yüzey aktif madde P20'den oluşur. Numuneler kurum içi üretilmiş bir anti insan CHI monoklonal antikoru kullanarak sensör çipi yüzeyinde yakalandı. Yakalama antikorunun

20 kovalent sabitlenmesi standart amin kenetleme kimyası ile elde edildi.

Bir analiz çevrimi Fv-Fab yapısının 1 dakika yakalanmasından, ardından bir birleşme fazından (HSA için 3 dakika veya hIL13 için 6 dakika) ve bunun ardından 5 dakika (HSA) veya 20 dakika (hIL13) ayrışmanın izlenmesinden oluştu. Her çevrimden sonra yakalama yüzeyi 2 x 1 dk 40 mM HCl enjeksiyonu, ardından 30 sn 5 mM NaOH ile yenilendi.

25 Kullanılan akış hızları yakalama için 10 µl/dk, birleşme ve ayrışma fazları için 30 µl/dk ve yenileme için 10 µl/dk oldu.

Kinetik analizleri antijen titrasyonu (HSA için 50 nM-0.3125 nM iki katı seyreltme, hIL13 için tek konsantrasyon -20 nM) gerçekleştirildi. Bir boş akış hücresi ve tampon-boş enjeksiyonları çift veri referansını mümkün kıldı.

30 Kinetik parametreler Biacore 3000, 4.1 Değerlendirme yazılımını kullanarak ortaya çıkan sensogramların bir standart 1:1 bağlanma modeline eşzamanlı toplu uydurumu ile belirlendi.

2 µg ağır zincir plazmidi ve 2 µg hafif zincir plazmidi 10 µl 293fectin ve 340 µl Optimem besiyeri ile 20 dakika oda sıcaklığında inkübe edildi. Daha sonra karışım süspansiyonda 5×10^6 HEK293 hücrelerine eklendi ve 4 gün çalkalayarak 37°C'de inkübe edildi. 4 gün sonra hücreleri atmak için 1500xg'de santrifüjleyerek üst faz toplandı ve ardından 0.22 µm steril

5 filtrelendi.

645Fv-652Fab Miktarının Belirlenmesi

Memeli üst fazlarında Fv-Fab konsantrasyonu bir sandviç ELISA kullanarak ölçüldü.

Numunedeki Fv-Fab bir anti-CHI antikoruyla yakalandı ve bir anti-kappa-HRP konjugatıyla tespit edildi. Tespit antikoru TMB ile geliştirildi ve bilinmeyen numunelerin konsantrasyonu

10 bir standart eğrisinden hesaplandı. Tüm 645Fv-652Fab'ler benzer ekspresyon seviyelerine sahip oldu ancak disülfürle stabilize Fv çeşitleri disülfürle stabilize olmayan çeşitlerin %55-75'i seviyede eksprese oldu. Bakınız Şekil 31.

645Fv-652Fab'nin Antijene Bağlanması

Biacore Usulü

15 Fv-Fab yapılarının etkileşimlerine ilişkin kinetik sabitleri ve bağlanma yanıtları CM5 sensör çiplerinin kullanıldığı bir Biacore 3000'de yüzey plazmon rezonansı (SPR) ile belirlendi. Yürütme tamponu, HBS-EP pH 7.4'te 10 mM HEPES, 150 mM NaCl, 3 mM EDTA, %0.05 v/v yüzey aktif madde P20'den oluşur. Numuneler kurum içi üretilmiş bir anti insan CHI monoklonal antikoru kullanarak sensör çipi yüzeyinde yakalandı. Yakalama antikorunun

20 kovalent sabitlenmesi standart amin kenetleme kimyası ile elde edildi.

Bir analiz çevrimi Fv-Fab yapısının 1 dakika yakalanmasından, ardından bir birleşme fazından (HSA için 3 dakika veya hIL13 için 6 dakika) ve bunun ardından 5 dakika (HSA) veya 20 dakika (hIL13) ayrışmanın izlenmesinden oluştu. Her çevrimden sonra yakalama yüzeyi 2 x 1 dk 40 mM HCl enjeksiyonu, ardından 30 sn 5 mM NaOH ile yenilendi.

25 Kullanılan akış hızları yakalama için 10 µl/dk, birleşme ve ayrışma fazları için 30 µl/dk ve yenileme için 10 µl/dk oldu.

Kinetik analizleri antijen titrasyonu (HSA için 50 nM-0.3125 nM iki katı seyreltme, hIL13 için tek konsantrasyon -20 nM) gerçekleştirildi. Bir boş akış hücresi ve tampon-boş enjeksiyonları çift veri referansını mümkün kıldı.

30 Kinetik parametreler Biacore 3000, 4.1 Değerlendirme yazılımını kullanarak ortaya çıkan sensogramların bir standart 1:1 bağlanma modeline eşzamanlı toplu uydurumu ile belirlendi.

Eşzamanlı bağlanmayı test etmek amacıyla 6 dakika ayrı olarak 50 nM HSA veya 20 nM hIL13 enjeksiyonu veya 50 nM HSA ve 20 nM hIL13 içeren bir karışık çözelti enjeksiyonu yakalanan Fab-dAb'den enjekte edildi.

Biacore Afinite Deneyleri

- 5 HSA ve hIL13 etkileşimlerinin 645Fv-652Fab (L-3xG4S, H-3xG4S), 645Fv-652Fab (L-TVAAP, H-ASTKGP), 645dsFv-652Fab (L-3xG4S, H-3xG4S) ve 645dsFv-652Fab (L-TVAAP, H-ASTKGP) afinitesini incelemek için kinetik analizi gerçekleştirildi (Bakınız Şekil 30A ve 30B). Tüm Fv-Fab'ler HAS'ya eşdeğer afinite ve bağlanma seviyesiyle bağlandı. 645Fv-652Fab (L-3xG4S, H-3xG4S) ve 645dsFv-652Fab (L-3xG4S, H-3xG4S) hIL13'e ~0.1 nM bir afiniteyle bağlandı, 645Fv-652Fab (L-TVAAP, H-ASTKGP) ve 645dsFv-652Fab (L-TVAAP, H-ASTKGP) ise ~0.6 nM bir afiniteyle bağlandı. hIL13'ün TVAAP/ASTKGP bağlayıcıya kıyasla 3xG4S bağlayıcılı Fv-Fab'ler için afinitesindeki fark öncelikle birleşme hızındadır. hIL13 ve HAS'nın disülfürle stabilize olmuş ve disülfürle stabilize olmamış Fv-Fab'ler için afinitesi eşdeğerli oldu. ML13'ün tüm yapılara bağlanma seviyeleri de eşdeğerli oldu.

- 645Fv-652Fab (L-3xG4S, H-3xG4S), 645Fv-652Fab (L-TVAAP, H-ASTKGP), 645dsFv-652Fab (L-3xG4S, H-3xG4S) ve 645dsFv-652Fab (L-TVAAP, H-ASTKGP) Fv-Fab'lerinin HAS ve hIL13'ün her ikisine eşzamanlı bağlanması incelendi. Her Fv-Fab yapısı sensör çipi yüzeyine yakalandı, ardından ayrı olarak 6 dakika 50 nM HSA veya 20 nM hIL13 veya hem 50 nM HSA hem 20 nM hIL13'ten bir karışık çözelti enjeksiyonu yapıldı. Ayrı ayrı her Fv-Fab yapısında birleşik HSA/hIL13 çözeltisi için bağlanma yanıtı bağımsız enjeksiyonlara verilen yanıtın toplamına eşdeğerli oldu (Bakınız Şekil 32C). Bu durum Fv-Fab'lerin hIL13 ve HAS'nın her ikisine eşzamanlı bağlanabileceğini kanıtlamaktadır.

- Şekil 32C'de ayrı olarak HSA veya hIL13 enjeksiyonları veya önceden karıştırılmış HSA ve hIL13 enjeksiyonu sonrasında her yapı için görülen bağlanma yanıtı (RU) gösterilmektedir. Her durumda nihai konsantrasyon 50 nM HSA ve 20 nM hIL13 oldu. Ayrı ayrı HSA ve hIL13 yanıtlarının toplamı parantez içinde gösterilmektedir.

DİZİ LİSTESİ

- <110> UCB Pharma SA
- 30 <120> Disülfürle Stabilize Edilmiş Çok Değerlikli Antikorlar
- <130> G0103_WO01

Eşzamanlı bağlanmayı test etmek amacıyla 6 dakika ayrı olarak 50 nM HSA veya 20 nM hIL13 enjeksiyonu veya 50 nM HSA ve 20 nM hIL13 içeren bir karışık çözelti enjeksiyonu yakalanan Fab-dAb'den enjekte edildi.

Biacore Afinite Deneyleri

- 5 HSA ve hIL13 etkileşimlerinin 645Fv-652Fab (L-3xG4S, H-3xG4S), 645Fv-652Fab (L-TVAAP, H-ASTKGP), 645dsFv-652Fab (L-3xG4S, H-3xG4S) ve 645dsFv-652Fab (L-TVAAP, H-ASTKGP) afinitesini incelemek için kinetik analizi gerçekleştirildi (Bakınız Şekil 30A ve 30B). Tüm Fv-Fab'ler HAS'ya eşdeğer afinite ve bağlanma seviyesiyle bağlandı. 645Fv-652Fab (L-3xG4S, H-3xG4S) ve 645dsFv-652Fab (L-3xG4S, H-3xG4S) hIL13'e ~0.1 nM bir afiniteyle bağlandı, 645Fv-652Fab (L-TVAAP, H-ASTKGP) ve 645dsFv-652Fab (L-TVAAP, H-ASTKGP) ise ~0.6 nM bir afiniteyle bağlandı. hIL13'ün TVAAP/ASTKGP bağlayıcıya kıyasla 3xG4S bağlayıcılı Fv-Fab'ler için afinitesindeki fark öncelikle birleşme hızındadır. hIL13 ve HAS'nın disülfürle stabilize olmuş ve disülfürle stabilize olmamış Fv-Fab'ler için afinitesi eşdeğerli oldu. ML13'ün tüm yapılara bağlanma seviyeleri de eşdeğerli oldu.

- 645Fv-652Fab (L-3xG4S, H-3xG4S), 645Fv-652Fab (L-TVAAP, H-ASTKGP), 645dsFv-652Fab (L-3xG4S, H-3xG4S) ve 645dsFv-652Fab (L-TVAAP, H-ASTKGP) Fv-Fab'lerinin HAS ve hIL13'ün her ikisine eşzamanlı bağlanması incelendi. Her Fv-Fab yapısı sensör çipi yüzeyine yakalandı, ardından ayrı olarak 6 dakika 50 nM HSA veya 20 nM hIL13 veya hem 50 nM HSA hem 20 nM hIL13'ten bir karışık çözelti enjeksiyonu yapıldı. Ayrı ayrı her Fv-Fab yapısında birleşik HSA/hIL13 çözeltisi için bağlanma yanıtı bağımsız enjeksiyonlara verilen yanıtın toplamına eşdeğerli oldu (Bakınız Şekil 32C). Bu durum Fv-Fab'lerin hIL13 ve HAS'nın her ikisine eşzamanlı bağlanabileceğini kanıtlamaktadır.

- Şekil 32C'de ayrı olarak HSA veya hIL13 enjeksiyonları veya önceden karıştırılmış HSA ve hIL13 enjeksiyonu sonrasında her yapı için görülen bağlanma yanıtı (RU) gösterilmektedir. Her durumda nihai konsantrasyon 50 nM HSA ve 20 nM hIL13 oldu. Ayrı ayrı HSA ve hIL13 yanıtlarının toplamı parantez içinde gösterilmektedir.

DİZİ LİSTESİ

- <110> UCB Pharma SA
- 30 <120> Disülfürle Stabilize Edilmiş Çok Değerlikli Antikorlar
- <130> G0103_WO01

Eşzamanlı bağlanmayı test etmek amacıyla 6 dakika ayrı olarak 50 nM HSA veya 20 nM hIL13 enjeksiyonu veya 50 nM HSA ve 20 nM hIL13 içeren bir karışık çözelti enjeksiyonu yakalanan Fab-dAb'den enjekte edildi.

Biacore Afinite Deneyleri

- 5 HSA ve hIL13 etkileşimlerinin 645Fv-652Fab (L-3xG4S, H-3xG4S), 645Fv-652Fab (L-TVAAP, H-ASTKGP), 645dsFv-652Fab (L-3xG4S, H-3xG4S) ve 645dsFv-652Fab (L-TVAAP, H-ASTKGP) afinitesini incelemek için kinetik analizi gerçekleştirildi (Bakınız Şekil 30A ve 30B). Tüm Fv-Fab'ler HAS'ya eşdeğer afinite ve bağlanma seviyesiyle bağlandı. 645Fv-652Fab (L-3xG4S, H-3xG4S) ve 645dsFv-652Fab (L-3xG4S, H-3xG4S) hIL13'e ~0.1 nM bir afiniteyle bağlandı, 645Fv-652Fab (L-TVAAP, H-ASTKGP) ve 645dsFv-652Fab (L-TVAAP, H-ASTKGP) ise ~0.6 nM bir afiniteyle bağlandı. hIL13'ün TVAAP/ASTKGP bağlayıcıya kıyasla 3xG4S bağlayıcılı Fv-Fab'ler için afinitesindeki fark öncelikle birleşme hızındadır. hIL13 ve HAS'nın disülfürle stabilize olmuş ve disülfürle stabilize olmamış Fv-Fab'ler için afinitesi eşdeğerli oldu. ML13'ün tüm yapılara bağlanma seviyeleri de eşdeğerli oldu.

- 645Fv-652Fab (L-3xG4S, H-3xG4S), 645Fv-652Fab (L-TVAAP, H-ASTKGP), 645dsFv-652Fab (L-3xG4S, H-3xG4S) ve 645dsFv-652Fab (L-TVAAP, H-ASTKGP) Fv-Fab'lerinin HAS ve hIL13'ün her ikisine eşzamanlı bağlanması incelendi. Her Fv-Fab yapısı sensör çipi yüzeyine yakalandı, ardından ayrı olarak 6 dakika 50 nM HSA veya 20 nM hIL13 veya hem 50 nM HSA hem 20 nM hIL13'ten bir karışık çözelti enjeksiyonu yapıldı. Ayrı ayrı her Fv-Fab yapısında birleşik HSA/hIL13 çözeltisi için bağlanma yanıtı bağımsız enjeksiyonlara verilen yanıtın toplamına eşdeğerli oldu (Bakınız Şekil 32C). Bu durum Fv-Fab'lerin hIL13 ve HAS'nın her ikisine eşzamanlı bağlanabileceğini kanıtlamaktadır.

- Şekil 32C'de ayrı olarak HSA veya hIL13 enjeksiyonları veya önceden karıştırılmış HSA ve hIL13 enjeksiyonu sonrasında her yapı için görülen bağlanma yanıtı (RU) gösterilmektedir. Her durumda nihai konsantrasyon 50 nM HSA ve 20 nM hIL13 oldu. Ayrı ayrı HSA ve hIL13 yanıtlarının toplamı parantez içinde gösterilmektedir.

DİZİ LİSTESİ

- <110> UCB Pharma SA
- 30 <120> Disülfürle Stabilize Edilmiş Çok Değerlikli Antikorlar
- <130> G0103_WO01

<160> 229
 <170> PatentIn sürüm 3.5
 <210> 1
 <211> 7
 5 <212> PRT
 <213> Yapay
 <220>
 <223> Bağlayıcı
 <400> 1
 10 Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu
 1 5
 <210> 2
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Yapay
 15 <220>
 <223> Bağlayıcı
 <400> 2
 Asp Lys Thr His Thr Ser
 1 5
 20 <210> 3
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Yapay
 <220>
 <223> Bağlayıcı
 25 <400> 3
 Ser Gly Gly Gly Gly Ser
 1 5
 <210> 4
 <211> 11
 <212> PRT
 30 <213> Yapay

<160> 229
 <170> PatentIn sürüm 3.5
 <210> 1
 <211> 7
 5 <212> PRT
 <213> Yapay
 <220>
 <223> Bağlayıcı
 <400> 1
 10 Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu
 1 5
 <210> 2
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Yapay
 15 <220>
 <223> Bağlayıcı
 <400> 2
 Asp Lys Thr His Thr Ser
 1 5
 20 <210> 3
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Yapay
 <220>
 <223> Bağlayıcı
 25 <400> 3
 Ser Gly Gly Gly Gly Ser
 1 5
 <210> 4
 <211> 11
 <212> PRT
 30 <213> Yapay

<160> 229
 <170> PatentIn sürüm 3.5
 <210> 1
 <211> 7
 5 <212> PRT
 <213> Yapay
 <220>
 <223> Bağlayıcı
 <400> 1
 10 Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu
 1 5
 <210> 2
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Yapay
 15 <220>
 <223> Bağlayıcı
 <400> 2
 Asp Lys Thr His Thr Ser
 1 5
 20 <210> 3
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Yapay
 <220>
 <223> Bağlayıcı
 25 <400> 3
 Ser Gly Gly Gly Gly Ser
 1 5
 <210> 4
 <211> 11
 <212> PRT
 30 <213> Yapay

	<220>
	<223> Bağlayıcı
	<400> 4
	Ala Ala Ala Gly Ser Gly Gly Ala Ser Ala Ser 1 5 10
5	<210> 5
	<211> 16
	<212> PRT
	<213> Yapay
	<220>
10	<223> Bağlayıcı
	<220>
	<221> çeşitli_özellik
	<222> (7)..(7)
	<223> xaa doğal oluşumlu herhangi bir amino asit olabilir
15	<400> 5
	Ala Ala Ala Gly Ser Gly xaa Gly Gly Gly Ser Gly Ala Ser Ala Ser 1 5 10 15
	<210> 6
	<211> 13
	<212> PRT
20	<213> Yapay
	<220>
	<223> Bağlayıcı
	<220>
	<221> çeşitli_özellik
25	<222> (7)..(7)
	<223> xaa doğal oluşumlu herhangi bir amino asit olabilir
	<400> 6
	Ala Ala Ala Gly Ser Gly xaa Ser Gly Ala Ser Ala Ser 1 5 10
	<210> 7
30	<211> 28

	<220>
	<223> Bağlayıcı
	<400> 4
	Ala Ala Ala Gly Ser Gly Gly Ala Ser Ala Ser 1 5 10
5	<210> 5
	<211> 16
	<212> PRT
	<213> Yapay
	<220>
10	<223> Bağlayıcı
	<220>
	<221> çeşitli_özellik
	<222> (7)..(7)
	<223> xaa doğal oluşumlu herhangi bir amino asit olabilir
15	<400> 5
	Ala Ala Ala Gly Ser Gly xaa Gly Gly Gly Ser Gly Ala Ser Ala Ser 1 5 10 15
	<210> 6
	<211> 13
	<212> PRT
20	<213> Yapay
	<220>
	<223> Bağlayıcı
	<220>
	<221> çeşitli_özellik
25	<222> (7)..(7)
	<223> xaa doğal oluşumlu herhangi bir amino asit olabilir
	<400> 6
	Ala Ala Ala Gly Ser Gly xaa Ser Gly Ala Ser Ala Ser 1 5 10
	<210> 7
30	<211> 28

	<220>
	<223> Bağlayıcı
	<400> 4
	Ala Ala Ala Gly Ser Gly Gly Ala Ser Ala Ser 1 5 10
5	<210> 5
	<211> 16
	<212> PRT
	<213> Yapay
	<220>
10	<223> Bağlayıcı
	<220>
	<221> çeşitli_özellik
	<222> (7)..(7)
	<223> xaa doğal oluşumlu herhangi bir amino asit olabilir
15	<400> 5
	Ala Ala Ala Gly Ser Gly xaa Gly Gly Gly Ser Gly Ala Ser Ala Ser 1 5 10 15
	<210> 6
	<211> 13
	<212> PRT
20	<213> Yapay
	<220>
	<223> Bağlayıcı
	<220>
	<221> çeşitli_özellik
25	<222> (7)..(7)
	<223> xaa doğal oluşumlu herhangi bir amino asit olabilir
	<400> 6
	Ala Ala Ala Gly Ser Gly xaa Ser Gly Ala Ser Ala Ser 1 5 10
	<210> 7
30	<211> 28

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

<223> Bağlayıcı

5

<400> 7

Pro Gly Gly Asn Arg Gly Thr Thr Thr Thr Arg Arg Pro Ala Thr Thr
 1 5 10 15

Thr Gly Ser Ser Pro Gly Pro Thr Gln Ser His Tyr
 20 25

<210> 8

<211> 11

<212> PRT

10

<213> Yapay

<220>

<223> Bağlayıcı

<400> 8

Ala Thr Thr Thr Gly Ser Ser Pro Gly Pro Thr
 1 5 10

15

<210> 9

<211> 6

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

20

<223> Bağlayıcı

<400> 9

Ala Thr Thr Thr Gly Ser
 1 5

<210> 10

<211> 21

25

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

<223> Bağlayıcı

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

<223> Bağlayıcı

5

<400> 7

Pro Gly Gly Asn Arg Gly Thr Thr Thr Thr Arg Arg Pro Ala Thr Thr
 1 5 10 15

Thr Gly Ser Ser Pro Gly Pro Thr Gln Ser His Tyr
 20 25

<210> 8

<211> 11

<212> PRT

10

<213> Yapay

<220>

<223> Bağlayıcı

<400> 8

Ala Thr Thr Thr Gly Ser Ser Pro Gly Pro Thr
 1 5 10

15

<210> 9

<211> 6

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

20

<223> Bağlayıcı

<400> 9

Ala Thr Thr Thr Gly Ser
 1 5

<210> 10

<211> 21

25

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

<223> Bağlayıcı

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

<223> Bağlayıcı

5

<400> 7

Pro Gly Gly Asn Arg Gly Thr Thr Thr Thr Arg Arg Pro Ala Thr Thr
 1 5 10 15

Thr Gly Ser Ser Pro Gly Pro Thr Gln Ser His Tyr
 20 25

<210> 8

<211> 11

<212> PRT

10

<213> Yapay

<220>

<223> Bağlayıcı

<400> 8

Ala Thr Thr Thr Gly Ser Ser Pro Gly Pro Thr
 1 5 10

15

<210> 9

<211> 6

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

20

<223> Bağlayıcı

<400> 9

Ala Thr Thr Thr Gly Ser
 1 5

<210> 10

<211> 21

25

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

<223> Bağlayıcı

<400> 10

Glu Pro Ser Gly Pro Ile Ser Thr Ile Asn Ser Pro Pro Ser Lys Glu
 1 5 10 15

Ser His Lys Ser Pro
 20

<210> 11

<211> 15

5 <212> PRT

<213> Yapay

<220>

<223> Bağlayıcı

<400> 11

Gly Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp
 1 5 10 15

<210> 12

<211> 15

<212> PRT

<213> Yapay

15 <220>

<223> Bağlayıcı

<400> 12

Gly Gly Gly Gly Ile Ala Pro Ser Met Val Gly Gly Gly Gly Ser
 1 5 10 15

<210> 13

20 <211> 15

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

<223> Bağlayıcı

25 <400> 13

Gly Gly Gly Gly Lys Val Glu Gly Ala Gly Gly Gly Gly Gly Ser
 1 5 10 15

<210> 14

<211> 15

<400> 10

Glu Pro Ser Gly Pro Ile Ser Thr Ile Asn Ser Pro Pro Ser Lys Glu
 1 5 10 15

Ser His Lys Ser Pro
 20

<210> 11

<211> 15

5 <212> PRT

<213> Yapay

<220>

<223> Bağlayıcı

<400> 11

Gly Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp
 1 5 10 15

<210> 12

<211> 15

<212> PRT

<213> Yapay

15 <220>

<223> Bağlayıcı

<400> 12

Gly Gly Gly Gly Ile Ala Pro Ser Met Val Gly Gly Gly Gly Ser
 1 5 10 15

<210> 13

20 <211> 15

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

<223> Bağlayıcı

25 <400> 13

Gly Gly Gly Gly Lys Val Glu Gly Ala Gly Gly Gly Gly Gly Ser
 1 5 10 15

<210> 14

<211> 15

<400> 10

Glu Pro Ser Gly Pro Ile Ser Thr Ile Asn Ser Pro Pro Ser Lys Glu
 1 5 10 15

Ser His Lys Ser Pro
 20

<210> 11

<211> 15

5 <212> PRT

<213> Yapay

<220>

<223> Bağlayıcı

<400> 11

Gly Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp
 1 5 10 15

<210> 12

<211> 15

<212> PRT

<213> Yapay

15 <220>

<223> Bağlayıcı

<400> 12

Gly Gly Gly Gly Ile Ala Pro Ser Met Val Gly Gly Gly Gly Ser
 1 5 10 15

<210> 13

20 <211> 15

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

<223> Bağlayıcı

25 <400> 13

Gly Gly Gly Gly Lys Val Glu Gly Ala Gly Gly Gly Gly Gly Ser
 1 5 10 15

<210> 14

<211> 15

<212> PRT
 <213> Yapay
 <220>
 <223> Bağlayıcı
 5 <400> 14
 Gly Gly Gly Gly Ser Met Lys Ser His Asp Gly Gly Gly Gly Ser
 1 5 10 15
 <210> 15
 <211> 15
 <212> PRT
 10 <213> Yapay
 <220>
 <223> Bağlayıcı
 <400> 15
 Gly Gly Gly Gly Asn Leu Ile Thr Ile Val Gly Gly Gly Gly Ser
 1 5 10 15
 15 <210> 16
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Yapay
 <220>
 20 <223> Bağlayıcı
 <400> 16
 Gly Gly Gly Gly Val Val Pro Ser Leu Pro Gly Gly Gly Gly Ser
 1 5 10 15
 <210> 17
 <211> 12
 25 <212> PRT
 <213> Yapay
 <220>
 <223> Bağlayıcı
 <400> 17

<212> PRT
 <213> Yapay
 <220>
 <223> Bağlayıcı
 5 <400> 14
 Gly Gly Gly Gly Ser Met Lys Ser His Asp Gly Gly Gly Gly Ser
 1 5 10 15
 <210> 15
 <211> 15
 <212> PRT
 10 <213> Yapay
 <220>
 <223> Bağlayıcı
 <400> 15
 Gly Gly Gly Gly Asn Leu Ile Thr Ile Val Gly Gly Gly Gly Ser
 1 5 10 15
 15 <210> 16
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Yapay
 <220>
 20 <223> Bağlayıcı
 <400> 16
 Gly Gly Gly Gly Val Val Pro Ser Leu Pro Gly Gly Gly Gly Ser
 1 5 10 15
 <210> 17
 <211> 12
 25 <212> PRT
 <213> Yapay
 <220>
 <223> Bağlayıcı
 <400> 17

<212> PRT
 <213> Yapay
 <220>
 <223> Bağlayıcı
 5 <400> 14
 Gly Gly Gly Gly Ser Met Lys Ser His Asp Gly Gly Gly Gly Ser
 1 5 10 15
 <210> 15
 <211> 15
 <212> PRT
 10 <213> Yapay
 <220>
 <223> Bağlayıcı
 <400> 15
 Gly Gly Gly Gly Asn Leu Ile Thr Ile Val Gly Gly Gly Gly Ser
 1 5 10 15
 15 <210> 16
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Yapay
 <220>
 20 <223> Bağlayıcı
 <400> 16
 Gly Gly Gly Gly Val Val Pro Ser Leu Pro Gly Gly Gly Gly Ser
 1 5 10 15
 <210> 17
 <211> 12
 25 <212> PRT
 <213> Yapay
 <220>
 <223> Bağlayıcı
 <400> 17

Gly Gly Glu Lys Ser Ile Pro Gly Gly Gly Gly Ser
 1 5 10

<210> 18
 <211> 18
 <212> PRT
 5 <213> Yapay
 <220>
 <223> Bağlayıcı
 <400> 18

Arg Pro Leu Ser Tyr Arg Pro Pro Phe Pro Phe Gly Phe Pro Ser Val
 1 5 10 15

Arg Pro

10 <210> 19
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Yapay
 <220>
 15 <223> Bağlayıcı
 <400> 19

Tyr Pro Arg Ser Ile Tyr Ile Arg Arg Arg His Pro Ser Pro Ser Leu
 1 5 10 15

Thr Thr

20 <210> 20
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Yapay
 <220>
 <223> Bağlayıcı
 <400> 20

Thr Pro Ser His Leu Ser His Ile Leu Pro Ser Phe Gly Leu Pro Thr
 1 5 10 15

25 **Phe Asn**
 <210> 21

Gly Gly Glu Lys Ser Ile Pro Gly Gly Gly Gly Ser
 1 5 10
 <210> 18
 <211> 18
 <212> PRT
 5 <213> Yapay
 <220>
 <223> Bağlayıcı
 <400> 18
 Arg Pro Leu Ser Tyr Arg Pro Pro Phe Pro Phe Gly Phe Pro Ser Val
 1 5 10 15
 Arg Pro
 10 <210> 19
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Yapay
 <220>
 15 <223> Bağlayıcı
 <400> 19
 Tyr Pro Arg Ser Ile Tyr Ile Arg Arg Arg His Pro Ser Pro Ser Leu
 1 5 10 15
 Thr Thr
 <210> 20
 <211> 18
 20 <212> PRT
 <213> Yapay
 <220>
 <223> Bağlayıcı
 <400> 20
 Thr Pro Ser His Leu Ser His Ile Leu Pro Ser Phe Gly Leu Pro Thr
 1 5 10 15
 25 Phe Asn
 <210> 21

Gly Gly Glu Lys Ser Ile Pro Gly Gly Gly Gly Ser
 1 5 10
 <210> 18
 <211> 18
 <212> PRT
 5 <213> Yapay
 <220>
 <223> Bağlayıcı
 <400> 18
 Arg Pro Leu Ser Tyr Arg Pro Pro Phe Pro Phe Gly Phe Pro Ser Val
 1 5 10 15
 Arg Pro
 10 <210> 19
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Yapay
 <220>
 15 <223> Bağlayıcı
 <400> 19
 Tyr Pro Arg Ser Ile Tyr Ile Arg Arg Arg His Pro Ser Pro Ser Leu
 1 5 10 15
 Thr Thr
 <210> 20
 <211> 18
 20 <212> PRT
 <213> Yapay
 <220>
 <223> Bağlayıcı
 <400> 20
 Thr Pro Ser His Leu Ser His Ile Leu Pro Ser Phe Gly Leu Pro Thr
 1 5 10 15
 25 Phe Asn
 <210> 21

<211> 18
 <212> PRT
 <213> Yapay
 <220>
 5 <223> Bağlayıcı
 <400> 21
Arg Pro Val Ser Pro Phe Thr Phe Pro Arg Leu Ser Asn Ser Trp Leu
1 5 10 15
Pro Ala
 <210> 22
 <211> 18
 10 <212> PRT
 <213> Yapay
 <220>
 <223> Bağlayıcı
 <400> 22
Ser Pro Ala Ala His Phe Pro Arg Ser Ile Pro Arg Pro Gly Pro Ile
1 5 10 15
 15 **Arg Thr**
 <210> 23
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Yapay
 20 <220>
 <223> Bağlayıcı
 <400> 23
Ala Pro Gly Pro Ser Ala Pro Ser His Arg Ser Leu Pro Ser Arg Ala
1 5 10 15
Phe Gly
 <210> 24
 25 <211> 18
 <212> PRT

<211> 18
 <212> PRT
 <213> Yapay
 <220>
 5 <223> Bağlayıcı
 <400> 21
Arg Pro Val Ser Pro Phe Thr Phe Pro Arg Leu Ser Asn Ser Trp Leu
1 5 10 15
Pro Ala
 <210> 22
 <211> 18
 10 <212> PRT
 <213> Yapay
 <220>
 <223> Bağlayıcı
 <400> 22
Ser Pro Ala Ala His Phe Pro Arg Ser Ile Pro Arg Pro Gly Pro Ile
1 5 10 15
 15 **Arg Thr**
 <210> 23
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Yapay
 20 <220>
 <223> Bağlayıcı
 <400> 23
Ala Pro Gly Pro Ser Ala Pro Ser His Arg Ser Leu Pro Ser Arg Ala
1 5 10 15
Phe Gly
 <210> 24
 25 <211> 18
 <212> PRT

<211> 18
 <212> PRT
 <213> Yapay
 <220>
 5 <223> Bağlayıcı
 <400> 21
Arg Pro Val Ser Pro Phe Thr Phe Pro Arg Leu Ser Asn Ser Trp Leu
1 5 10 15
Pro Ala
 <210> 22
 <211> 18
 10 <212> PRT
 <213> Yapay
 <220>
 <223> Bağlayıcı
 <400> 22
Ser Pro Ala Ala His Phe Pro Arg Ser Ile Pro Arg Pro Gly Pro Ile
1 5 10 15
 15 **Arg Thr**
 <210> 23
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Yapay
 20 <220>
 <223> Bağlayıcı
 <400> 23
Ala Pro Gly Pro Ser Ala Pro Ser His Arg Ser Leu Pro Ser Arg Ala
1 5 10 15
Phe Gly
 <210> 24
 25 <211> 18
 <212> PRT

<213> Yapay

<220>

<223> Bağlayıcı

<400> 24

Pro Arg Asn Ser Ile His Phe Leu His Pro Leu Leu Val Ala Pro Leu
1 5 10 15

5 **Gly Ala**

<210> 25

<211> 18

<212> PRT

<213> Yapay

10 <220>

<223> Bağlayıcı

<400> 25

Met Pro Ser Leu Ser Gly Val Leu Gln Val Arg Tyr Leu Ser Pro Pro
1 5 10 15

Asp Leu

15 <210> 26

<211> 18

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

20 <223> Bağlayıcı

<400> 26

Ser Pro Gln Tyr Pro Ser Pro Leu Thr Leu Thr Leu Pro Pro His Pro
1 5 10 15

Ser Leu

<210> 27

<211> 18

25 <212> PRT

<213> Yapay

<220>

<213> Yapay

<220>

<223> Bağlayıcı

<400> 24

Pro Arg Asn Ser Ile His Phe Leu His Pro Leu Leu Val Ala Pro Leu
1 5 10 15

5 **Gly Ala**

<210> 25

<211> 18

<212> PRT

<213> Yapay

10 <220>

<223> Bağlayıcı

<400> 25

Met Pro Ser Leu Ser Gly Val Leu Gln Val Arg Tyr Leu Ser Pro Pro
1 5 10 15

Asp Leu

15 <210> 26

<211> 18

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

20 <223> Bağlayıcı

<400> 26

Ser Pro Gln Tyr Pro Ser Pro Leu Thr Leu Thr Leu Pro Pro His Pro
1 5 10 15

Ser Leu

<210> 27

<211> 18

25 <212> PRT

<213> Yapay

<220>

<213> Yapay

<220>

<223> Bağlayıcı

<400> 24

Pro Arg Asn Ser Ile His Phe Leu His Pro Leu Leu Val Ala Pro Leu
1 5 10 15

5 **Gly Ala**

<210> 25

<211> 18

<212> PRT

<213> Yapay

10 <220>

<223> Bağlayıcı

<400> 25

Met Pro Ser Leu Ser Gly Val Leu Gln Val Arg Tyr Leu Ser Pro Pro
1 5 10 15

Asp Leu

15 <210> 26

<211> 18

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

20 <223> Bağlayıcı

<400> 26

Ser Pro Gln Tyr Pro Ser Pro Leu Thr Leu Thr Leu Pro Pro His Pro
1 5 10 15

Ser Leu

<210> 27

<211> 18

25 <212> PRT

<213> Yapay

<220>

<223> Bağlayıcı

<400> 27

Asn Pro Ser Leu Asn Pro Pro Ser Tyr Leu His Arg Ala Pro Ser Arg
1 5 10 15

Ile Ser

<210> 28

5

<211> 17

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

<223> Bağlayıcı

10

<400> 28

Leu Pro Trp Arg Thr Ser Leu Leu Pro Ser Leu Pro Leu Arg Arg Arg
1 5 10 15

Pro

<210> 29

<211> 18

<212> PRT

15

<213> Yapay

<220>

<223> Bağlayıcı

<400> 29

Pro Pro Leu Phe Ala Lys Gly Pro Val Gly Leu Leu Ser Arg Ser Phe
1 5 10 15

Pro Pro

20

<210> 30

<211> 18

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

25

<223> Bağlayıcı

<400> 30

<223> Bağlayıcı

<400> 27

Asn Pro Ser Leu Asn Pro Pro Ser Tyr Leu His Arg Ala Pro Ser Arg
1 5 10 15

Ile Ser

<210> 28

5

<211> 17

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

<223> Bağlayıcı

10

<400> 28

Leu Pro Trp Arg Thr Ser Leu Leu Pro Ser Leu Pro Leu Arg Arg Arg
1 5 10 15

Pro

<210> 29

<211> 18

<212> PRT

15

<213> Yapay

<220>

<223> Bağlayıcı

<400> 29

Pro Pro Leu Phe Ala Lys Gly Pro Val Gly Leu Leu Ser Arg Ser Phe
1 5 10 15

Pro Pro

20

<210> 30

<211> 18

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

25

<223> Bağlayıcı

<400> 30

<223> Bağlayıcı

<400> 27

Asn Pro Ser Leu Asn Pro Pro Ser Tyr Leu His Arg Ala Pro Ser Arg
1 5 10 15

Ile Ser

<210> 28

5

<211> 17

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

<223> Bağlayıcı

10

<400> 28

Leu Pro Trp Arg Thr Ser Leu Leu Pro Ser Leu Pro Leu Arg Arg Arg
1 5 10 15

Pro

<210> 29

<211> 18

<212> PRT

15

<213> Yapay

<220>

<223> Bağlayıcı

<400> 29

Pro Pro Leu Phe Ala Lys Gly Pro Val Gly Leu Leu Ser Arg Ser Phe
1 5 10 15

Pro Pro

20

<210> 30

<211> 18

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

25

<223> Bağlayıcı

<400> 30

Val Pro Pro Ala Pro Val Val Ser Leu Arg Ser Ala His Ala Arg Pro
1 5 10 15

Pro Tyr

<210> 31

<211> 17

<212> PRT

5 <213> Yapay

<220>

<223> Bağlayıcı

<400> 31

Leu Arg Pro Thr Pro Pro Arg Val Arg Ser Tyr Thr Cys Cys Pro Thr
1 5 10 15

Pro

10 <210> 32

<211> 18

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

15 <223> Bağlayıcı

<400> 32

Pro Asn Val Ala His Val Leu Pro Leu Leu Thr Val Pro Trp Asp Asn
1 5 10 15

Leu Arg

<210> 33

<211> 18

20 <212> PRT

<213> Yapay

<220>

<223> Bağlayıcı

<400> 33

Cys Asn Pro Leu Leu Pro Leu Cys Ala Arg Ser Pro Ala Val Arg Thr
1 5 10 15

25 Phe Pro

Val Pro Pro Ala Pro Val Val Ser Leu Arg Ser Ala His Ala Arg Pro
1 5 10 15

Pro Tyr

<210> 31

<211> 17

<212> PRT

5 <213> Yapay

<220>

<223> Bağlayıcı

<400> 31

Leu Arg Pro Thr Pro Pro Arg Val Arg Ser Tyr Thr Cys Cys Pro Thr
1 5 10 15

Pro

10 <210> 32

<211> 18

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

15 <223> Bağlayıcı

<400> 32

Pro Asn Val Ala His Val Leu Pro Leu Leu Thr Val Pro Trp Asp Asn
1 5 10 15

Leu Arg

<210> 33

<211> 18

20 <212> PRT

<213> Yapay

<220>

<223> Bağlayıcı

<400> 33

Cys Asn Pro Leu Leu Pro Leu Cys Ala Arg Ser Pro Ala Val Arg Thr
1 5 10 15

25 Phe Pro

Val Pro Pro Ala Pro Val Val Ser Leu Arg Ser Ala His Ala Arg Pro
1 5 10 15

Pro Tyr

<210> 31

<211> 17

<212> PRT

5 <213> Yapay

<220>

<223> Bağlayıcı

<400> 31

Leu Arg Pro Thr Pro Pro Arg Val Arg Ser Tyr Thr Cys Cys Pro Thr
1 5 10 15

Pro

10 <210> 32

<211> 18

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

15 <223> Bağlayıcı

<400> 32

Pro Asn Val Ala His Val Leu Pro Leu Leu Thr Val Pro Trp Asp Asn
1 5 10 15

Leu Arg

<210> 33

<211> 18

20 <212> PRT

<213> Yapay

<220>

<223> Bağlayıcı

<400> 33

Cys Asn Pro Leu Leu Pro Leu Cys Ala Arg Ser Pro Ala Val Arg Thr
1 5 10 15

25 Phe Pro

<210> 34
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Yapay
 5 <220>
 <223> Bağlayıcı
 <400> 34
 Gly Ala Pro Ala Pro Ala Ala Pro Ala Pro Ala
 1 5 10
 <210> 35
 10 <211> 4
 <212> PRT
 <213> Yapay
 <220>
 <223> Bağlayıcı
 15 <400> 35
 Pro Pro Pro Pro
 1
 <210> 36
 <211> 8
 <212> PRT
 20 <213> Yapay
 <220>
 <223> Menteşe
 <400> 36
 Asp Lys Thr His Thr Cys Ala Ala
 1 5
 25 <210> 37
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Yapay
 <220>
 30 <223> Bağlayıcı

<210> 34
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Yapay
 5 <220>
 <223> Bağlayıcı
 <400> 34
 Gly Ala Pro Ala Pro Ala Ala Pro Ala Pro Ala
 1 5 10
 <210> 35
 10 <211> 4
 <212> PRT
 <213> Yapay
 <220>
 <223> Bağlayıcı
 15 <400> 35
 Pro Pro Pro Pro
 1
 <210> 36
 <211> 8
 <212> PRT
 20 <213> Yapay
 <220>
 <223> Menteşe
 <400> 36
 Asp Lys Thr His Thr Cys Ala Ala
 1 5
 25 <210> 37
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Yapay
 <220>
 30 <223> Bağlayıcı

<210> 34
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Yapay
 5 <220>
 <223> Bağlayıcı
 <400> 34
 Gly Ala Pro Ala Pro Ala Ala Pro Ala Pro Ala
 1 5 10
 <210> 35
 10 <211> 4
 <212> PRT
 <213> Yapay
 <220>
 <223> Bağlayıcı
 15 <400> 35
 Pro Pro Pro Pro
 1
 <210> 36
 <211> 8
 <212> PRT
 20 <213> Yapay
 <220>
 <223> Menteşe
 <400> 36
 Asp Lys Thr His Thr Cys Ala Ala
 1 5
 25 <210> 37
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Yapay
 <220>
 30 <223> Bağlayıcı

<400> 37

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala
 1 5 10

<210> 38

<211> 18

5

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

<223> Menteşe

<400> 38

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Thr Cys Pro Pro Cys
 1 5 10 15

10

Pro Ala

<210> 39

<211> 25

<212> PRT

<213> Yapay

15

<220>

<223> Bağlayıcı

<400> 39

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Thr Cys Pro Pro Cys
 1 5 10 15

Pro Ala Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala
 20 25

<210> 40

20

<211> 30

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

<223> Menteşe

25

<400> 40

<400> 37

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala
 1 5 10

<210> 38

<211> 18

5

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

<223> Menteşe

<400> 38

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Thr Cys Pro Pro Cys
 1 5 10 15

10

Pro Ala

<210> 39

<211> 25

<212> PRT

<213> Yapay

15

<220>

<223> Bağlayıcı

<400> 39

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Thr Cys Pro Pro Cys
 1 5 10 15

Pro Ala Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala
 20 25

<210> 40

20

<211> 30

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

<223> Menteşe

25

<400> 40

<400> 37

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala
 1 5 10

<210> 38

<211> 18

5

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

<223> Menteşe

<400> 38

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Thr Cys Pro Pro Cys
 1 5 10 15

10

Pro Ala

<210> 39

<211> 25

<212> PRT

<213> Yapay

15

<220>

<223> Bağlayıcı

<400> 39

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Thr Cys Pro Pro Cys
 1 5 10 15

Pro Ala Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala
 20 25

<210> 40

20

<211> 30

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

<223> Menteşe

25

<400> 40

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

Tyr Asn Ser Leu Val Met Ser Asp Thr Ala Gly Thr Cys Tyr
 20 25 30

<210> 41

<211> 31

<212> PRT

5 <213> Yapay

<220>

<223> Mentese

<400> 41

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

10 Val Asn Val Ser Val Val Met Ala Glu Val Asp Gly Thr Cys Tyr
 20 25 30

<210> 42

<211> 15

<212> PRT

<213> Yapay

15 <220>

<223> Bağlayıcı

<400> 42

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

<210> 43

20 <211> 26

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

<223> Bağlayıcı

25 <400> 43

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

Tyr Asn Ser Leu Val Met Ser Asp Thr Ala Gly Thr Cys Tyr
 20 25 30

<210> 41

<211> 31

<212> PRT

5 <213> Yapay

<220>

<223> Mentese

<400> 41

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

10 Val Asn Val Ser Val Val Met Ala Glu Val Asp Gly Thr Cys Tyr
 20 25 30

<210> 42

<211> 15

<212> PRT

<213> Yapay

15 <220>

<223> Bağlayıcı

<400> 42

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

<210> 43

20 <211> 26

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

<223> Bağlayıcı

25 <400> 43

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

Tyr Asn Ser Leu Val Met Ser Asp Thr Ala Gly Thr Cys Tyr
 20 25 30

<210> 41

<211> 31

<212> PRT

5 <213> Yapay

<220>

<223> Mentese

<400> 41

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

10 Val Asn Val Ser Val Val Met Ala Glu Val Asp Gly Thr Cys Tyr
 20 25 30

<210> 42

<211> 15

<212> PRT

<213> Yapay

15 <220>

<223> Bağlayıcı

<400> 42

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

<210> 43

20 <211> 26

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

<223> Bağlayıcı

25 <400> 43

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Arg Cys Pro Glu Pro Lys Ser Cys Asp
 1 5 10 15

Thr Pro Pro Pro Cys Pro Arg Cys Pro Ala
 20 25

<210> 44

<211> 11

<212> PRT

5 <213> Yapay

<220>

<223> Bağlayıcı

<400> 44

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Ser Cys Pro Ala
 1 5 10

10 <210> 45

<211> 11

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

15 <223> Bağlayıcı

<400> 45

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
 1 5 10

<210> 46

<211> 16

20 <212> PRT

<213> Yapay

<220>

<223> Bağlayıcı

<400> 46

25 Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
 1 5 10 15

<210> 47

<211> 21

<212> PRT

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Arg Cys Pro Glu Pro Lys Ser Cys Asp
 1 5 10 15

Thr Pro Pro Pro Cys Pro Arg Cys Pro Ala
 20 25

<210> 44

<211> 11

<212> PRT

5 <213> Yapay

<220>

<223> Bağlayıcı

<400> 44

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Ser Cys Pro Ala
 1 5 10

10 <210> 45

<211> 11

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

15 <223> Bağlayıcı

<400> 45

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
 1 5 10

<210> 46

<211> 16

20 <212> PRT

<213> Yapay

<220>

<223> Bağlayıcı

<400> 46

25 Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
 1 5 10 15

<210> 47

<211> 21

<212> PRT

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Arg Cys Pro Glu Pro Lys Ser Cys Asp
 1 5 10 15

Thr Pro Pro Pro Cys Pro Arg Cys Pro Ala
 20 25

<210> 44

<211> 11

<212> PRT

5 <213> Yapay

<220>

<223> Bağlayıcı

<400> 44

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Ser Cys Pro Ala
 1 5 10

10 <210> 45

<211> 11

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

15 <223> Bağlayıcı

<400> 45

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
 1 5 10

<210> 46

<211> 16

20 <212> PRT

<213> Yapay

<220>

<223> Bağlayıcı

<400> 46

25 Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
 1 5 10 15

<210> 47

<211> 21

<212> PRT

	<213> Yapay
	<220>
	<223> Bağlayıcı
	<400> 47
	ser Gly Gly Gly Gly ser Gly Gly Gly Gly ser Gly Gly Gly Gly ser 1 5 10 15
5	Gly Gly Gly Gly ser 20
	<210> 48
	<211> 26
	<212> PRT
	<213> Yapay
10	<220>
	<223> Bağlayıcı
	<400> 48
	ser Gly Gly Gly Gly ser Gly Gly Gly Gly ser Gly Gly Gly Gly ser 1 5 10 15
	Gly Gly Gly Gly ser Gly Gly Gly Gly ser 20 25
	<210> 49
15	<211> 21
	<212> PRT
	<213> Yapay
	<220>
	<223> Bağlayıcı
20	<220>
	<221> çeşitli_özellik
	<222> (7)..(7)
	<223> Xaa doğal oluşumlu herhangi bir amino asit olabilir
	<220>
25	<221> çeşitli_özellik
	<222> (12)..(12)
	<223> Xaa doğal oluşumlu herhangi bir amino asit olabilir

	<213> Yapay
	<220>
	<223> Bağlayıcı
	<400> 47
	ser Gly Gly Gly Gly Gly ser Gly Gly Gly Gly Gly ser Gly Gly Gly Gly ser 1 5 10 15
5	Gly Gly Gly Gly ser 20
	<210> 48
	<211> 26
	<212> PRT
	<213> Yapay
10	<220>
	<223> Bağlayıcı
	<400> 48
	ser Gly Gly Gly Gly Gly ser Gly Gly Gly Gly Gly ser Gly Gly Gly Gly ser 1 5 10 15
	Gly Gly Gly Gly ser Gly Gly Gly Gly ser 20 25
	<210> 49
15	<211> 21
	<212> PRT
	<213> Yapay
	<220>
	<223> Bağlayıcı
20	<220>
	<221> çeşitli_özellik
	<222> (7)..(7)
	<223> Xaa doğal oluşumlu herhangi bir amino asit olabilir
	<220>
25	<221> çeşitli_özellik
	<222> (12)..(12)
	<223> Xaa doğal oluşumlu herhangi bir amino asit olabilir

	<213> Yapay
	<220>
	<223> Bağlayıcı
	<400> 47
	ser Gly Gly Gly Gly ser Gly Gly Gly Gly ser Gly Gly Gly Gly ser 1 5 10 15
5	Gly Gly Gly Gly ser 20
	<210> 48
	<211> 26
	<212> PRT
	<213> Yapay
10	<220>
	<223> Bağlayıcı
	<400> 48
	ser Gly Gly Gly Gly ser Gly Gly Gly Gly ser Gly Gly Gly Gly ser 1 5 10 15
	Gly Gly Gly Gly ser Gly Gly Gly Gly ser 20 25
	<210> 49
15	<211> 21
	<212> PRT
	<213> Yapay
	<220>
	<223> Bağlayıcı
20	<220>
	<221> çeşitli_özellik
	<222> (7)..(7)
	<223> Xaa doğal oluşumlu herhangi bir amino asit olabilir
	<220>
25	<221> çeşitli_özellik
	<222> (12)..(12)
	<223> Xaa doğal oluşumlu herhangi bir amino asit olabilir

<400> 49

Ala Ala Ala Gly Ser Gly xaa Gly Gly Gly Ser xaa Gly Gly Gly Ser
1 5 10 15

Gly Ala Ser Ala Ser
20

<210> 50

<211> 26

5

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

<223> Bağlayıcı

<220>

10

<221> çeşitli_özellik

<222> (7)..(7)

<223> Xaa doğal oluşumlu herhangi bir amino asit olabilir

<220>

<221> çeşitli_özellik

15

<222> (12)..(12)

<223> Xaa doğal oluşumlu herhangi bir amino asit olabilir

<220>

<221> çeşitli_özellik

<222> (17)..(17)

20

<223> Xaa doğal oluşumlu herhangi bir amino asit olabilir

<400> 50

Ala Ala Ala Gly Ser Gly xaa Gly Gly Gly Ser xaa Gly Gly Gly Ser
1 5 10 15

xaa Gly Gly Gly Ser Gly Ala Ser Ala Ser
20 25

<210> 51

<211> 31

25

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

<400> 49

Ala Ala Ala Gly Ser Gly xaa Gly Gly Gly Ser xaa Gly Gly Gly Ser
1 5 10 15

Gly Ala Ser Ala Ser
20

<210> 50

<211> 26

5

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

<223> Bağlayıcı

<220>

10

<221> çeşitli_özellik

<222> (7)..(7)

<223> Xaa doğal oluşumlu herhangi bir amino asit olabilir

<220>

<221> çeşitli_özellik

15

<222> (12)..(12)

<223> Xaa doğal oluşumlu herhangi bir amino asit olabilir

<220>

<221> çeşitli_özellik

<222> (17)..(17)

20

<223> Xaa doğal oluşumlu herhangi bir amino asit olabilir

<400> 50

Ala Ala Ala Gly Ser Gly xaa Gly Gly Gly Ser xaa Gly Gly Gly Ser
1 5 10 15

xaa Gly Gly Gly Ser Gly Ala Ser Ala Ser
20 25

<210> 51

<211> 31

25

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

<400> 49

Ala Ala Ala Gly Ser Gly xaa Gly Gly Gly Ser xaa Gly Gly Gly Ser
1 5 10 15

Gly Ala Ser Ala Ser
20

<210> 50

<211> 26

5

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

<223> Bağlayıcı

<220>

10

<221> çeşitli_özellik

<222> (7)..(7)

<223> Xaa doğal oluşumlu herhangi bir amino asit olabilir

<220>

<221> çeşitli_özellik

15

<222> (12)..(12)

<223> Xaa doğal oluşumlu herhangi bir amino asit olabilir

<220>

<221> çeşitli_özellik

<222> (17)..(17)

20

<223> Xaa doğal oluşumlu herhangi bir amino asit olabilir

<400> 50

Ala Ala Ala Gly Ser Gly xaa Gly Gly Gly Ser xaa Gly Gly Gly Ser
1 5 10 15

xaa Gly Gly Gly Ser Gly Ala Ser Ala Ser
20 25

<210> 51

<211> 31

25

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

- <223> Bağlayıcı
- <220>
- <221> çeşitli_özellik
- <222> (7)..(7)
- 5 <223> Xaa doğal oluşumlu herhangi bir amino asit olabilir
- <220>
- <221> çeşitli_özellik
- <222> (12)..(12)
- <223> Xaa doğal oluşumlu herhangi bir amino asit olabilir
- 10 <220>
- <221> çeşitli_özellik
- <222> (17)..(17)
- <223> Xaa doğal oluşumlu herhangi bir amino asit olabilir
- <220>
- 15 <221> çeşitli_özellik
- <222> (22)..(22)
- <223> Xaa doğal oluşumlu herhangi bir amino asit olabilir
- <400> 51
- Ala Ala Ala Gly Ser Gly xaa Gly Gly Gly Ser xaa Gly Gly Gly Ser**
1 5 10 15
- xaa Gly Gly Gly Ser xaa Gly Gly Gly Ser Gly Ala Ser Ala Ser**
20 25 30
- 20 <210> 52
- <211> 119
- <212> PRT
- <213> Yapay
- <220>
- 25 <223> Domen antikör H1
- <400> 52

- <223> Bağlayıcı
- <220>
- <221> çeşitli_özellik
- <222> (7)..(7)
- 5 <223> Xaa doğal oluşumlu herhangi bir amino asit olabilir
- <220>
- <221> çeşitli_özellik
- <222> (12)..(12)
- <223> Xaa doğal oluşumlu herhangi bir amino asit olabilir
- 10 <220>
- <221> çeşitli_özellik
- <222> (17)..(17)
- <223> Xaa doğal oluşumlu herhangi bir amino asit olabilir
- <220>
- 15 <221> çeşitli_özellik
- <222> (22)..(22)
- <223> Xaa doğal oluşumlu herhangi bir amino asit olabilir
- <400> 51
- Ala Ala Ala Gly Ser Gly xaa Gly Gly Gly Ser xaa Gly Gly Gly Ser**
1 5 10 15
- xaa Gly Gly Gly Ser xaa Gly Gly Gly Ser Gly Ala Ser Ala Ser**
20 25 30
- 20 <210> 52
- <211> 119
- <212> PRT
- <213> Yapay
- <220>
- 25 <223> Domen antikör H1
- <400> 52

- <223> Bağlayıcı
- <220>
- <221> çeşitli_özellik
- <222> (7)..(7)
- 5 <223> Xaa doğal oluşumlu herhangi bir amino asit olabilir
- <220>
- <221> çeşitli_özellik
- <222> (12)..(12)
- <223> Xaa doğal oluşumlu herhangi bir amino asit olabilir
- 10 <220>
- <221> çeşitli_özellik
- <222> (17)..(17)
- <223> Xaa doğal oluşumlu herhangi bir amino asit olabilir
- <220>
- 15 <221> çeşitli_özellik
- <222> (22)..(22)
- <223> Xaa doğal oluşumlu herhangi bir amino asit olabilir
- <400> 51
- Ala Ala Ala Gly Ser Gly xaa Gly Gly Gly Ser xaa Gly Gly Gly Ser**
1 5 10 15
- xaa Gly Gly Gly Ser xaa Gly Gly Gly Ser Gly Ala Ser Ala Ser**
20 25 30
- 20 <210> 52
- <211> 119
- <212> PRT
- <213> Yapay
- <220>
- 25 <223> Domen antikör H1
- <400> 52

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Val Ser Gly Ile Asp Leu Ser Asn Tyr
 20 25 30
 Ala Ile Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
 35 40 45
 Gly Ile Ile Trp Ala Ser Gly Thr Thr Phe Tyr Ala Thr Trp Ala Lys
 50 55 60
 Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Ser Thr Thr Val Tyr Leu Gln Met
 65 70 75 80
 Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Thr
 85 90 95
 Val Pro Gly Tyr Ser Thr Ala Pro Tyr Phe Asp Leu Trp Gly Gln Gly
 100 105 110
 Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 53

<211> 110

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

<223> Domen antikor L1

<400> 53

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ser Ser Pro Ser Val Trp Ser Asn
 20 25 30
 Phe Leu Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu
 35 40 45
 Ile Tyr Glu Ala Ser Lys Leu Thr Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Lys
 50 55 60
 Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln
 65 70 75 80
 Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gly Gly Gly Tyr Ser Ser Ile
 85 90 95
 Ser Asp Thr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105 110

<210> 54

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Val Ser Gly Ile Asp Leu Ser Asn Tyr
 20 25 30
 Ala Ile Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
 35 40 45
 Gly Ile Ile Trp Ala Ser Gly Thr Thr Phe Tyr Ala Thr Trp Ala Lys
 50 55 60
 Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Ser Thr Thr Val Tyr Leu Gln Met
 65 70 75 80
 Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Thr
 85 90 95
 Val Pro Gly Tyr Ser Thr Ala Pro Tyr Phe Asp Leu Trp Gly Gln Gly
 100 105 110
 Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 53

<211> 110

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

<223> Domen antikor L1

<400> 53

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ser Ser Pro Ser Val Trp Ser Asn
 20 25 30
 Phe Leu Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu
 35 40 45
 Ile Tyr Glu Ala Ser Lys Leu Thr Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Lys
 50 55 60
 Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln
 65 70 75 80
 Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gly Gly Gly Tyr Ser Ser Ile
 85 90 95
 Ser Asp Thr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105 110

<210> 54

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Val Ser Gly Ile Asp Leu Ser Asn Tyr
 20 25 30
 Ala Ile Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
 35 40 45
 Gly Ile Ile Trp Ala Ser Gly Thr Thr Phe Tyr Ala Thr Trp Ala Lys
 50 55 60
 Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Ser Thr Thr Val Tyr Leu Gln Met
 65 70 75 80
 Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Thr
 85 90 95
 Val Pro Gly Tyr Ser Thr Ala Pro Tyr Phe Asp Leu Trp Gly Gln Gly
 100 105 110
 Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 53

<211> 110

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

<223> Domen antikor L1

<400> 53

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ser Ser Pro Ser Val Trp Ser Asn
 20 25 30
 Phe Leu Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu
 35 40 45
 Ile Tyr Glu Ala Ser Lys Leu Thr Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Lys
 50 55 60
 Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln
 65 70 75 80
 Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gly Gly Gly Tyr Ser Ser Ile
 85 90 95
 Ser Asp Thr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105 110

<210> 54

<211> 120

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

5 <223> Domen antikör H2

<400> 54

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 Val Ser Gly Phe Ser Leu Ser Arg Tyr
 20 25 30
 Ala Met Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
 35 40 45
 Gly Thr Ile Thr Thr Gly Gly Asn Thr Asn Tyr Ala Asn Trp Ala Lys
 50 55 60
 Gly Arg Phe Thr Ile Ser Lys Asp Ser Thr Thr Val Tyr Leu Gln Met
 65 70 75 80
 Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly
 85 90 95
 Gly Tyr Val Ser Tyr Ala Asp Ala Thr Glu Leu Ser Leu Trp Gly Gln
 100 105 110
 Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 55

<211> 110

10 <212> PRT

<213> Yapay

<220>

<223> Domen antikör L2

<400> 55

<211> 120

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

5 <223> Domen antikör H2

<400> 54

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 Val Ser Gly Phe Ser Leu Ser Arg Tyr
 20 25 30
 Ala Met Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
 35 40 45
 Gly Thr Ile Thr Thr Gly Gly Asn Thr Asn Tyr Ala Asn Trp Ala Lys
 50 55 60
 Gly Arg Phe Thr Ile Ser Lys Asp Ser Thr Thr Val Tyr Leu Gln Met
 65 70 75 80
 Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly
 85 90 95
 Gly Tyr Val Ser Tyr Ala Asp Ala Thr Glu Leu Ser Leu Trp Gly Gln
 100 105 110
 Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 55

<211> 110

10 <212> PRT

<213> Yapay

<220>

<223> Domen antikör L2

<400> 55

<211> 120

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

5

<223> Domen antikor H2

<400> 54

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 Val Ser Gly Phe Ser Leu Ser Arg Tyr
 20 25 30
 Ala Met Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
 35 40 45
 Gly Thr Ile Thr Thr Gly Gly Asn Thr Asn Tyr Ala Asn Trp Ala Lys
 50 55 60
 Gly Arg Phe Thr Ile Ser Lys Asp Ser Thr Thr Val Tyr Leu Gln Met
 65 70 75 80
 Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly
 85 90 95
 Gly Tyr Val Ser Tyr Ala Asp Ala Thr Glu Leu Ser Leu Trp Gly Gln
 100 105 110
 Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 55

<211> 110

10

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

<223> Domen antikor L2

<400> 55

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Ser Ile Gly Ser Arg
20 25 30

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

Tyr Tyr Ala Ser Thr Val Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Lys 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 Tyr Asp Tyr Ser Ser Ser
85 90 95

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

<210> 56

<211> 10

<212> PRT

5 <213> Yapay

<220>

<223> Domen antikor H1 CDR-H1

<400> 56

Gly Ile Asp Leu Ser Asn Tyr Ala Ile Asn
1 5 10

10 <210> 57

<211> 16

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

15 <223> Domen antikor H1 CDR-H2

<400> 57

Ile Ile Trp Ala Ser Gly Thr Thr Phe Tyr Ala Thr Trp Ala Lys Gly
1 5 10 15

<210> 58

<211> 13

20 <212> PRT

<213> Yapay

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Ser Ile Gly Ser Arg
20 25 30

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

Tyr Tyr Ala Ser Thr Val Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Lys 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 Tyr Asp Tyr Ser Ser Ser
85 90 95

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

<210> 56

<211> 10

<212> PRT

5 <213> Yapay

<220>

<223> Domen antikor H1 CDR-H1

<400> 56

Gly Ile Asp Leu Ser Asn Tyr Ala Ile Asn
1 5 10

10 <210> 57

<211> 16

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

15 <223> Domen antikor H1 CDR-H2

<400> 57

Ile Ile Trp Ala Ser Gly Thr Thr Phe Tyr Ala Thr Trp Ala Lys Gly
1 5 10 15

<210> 58

<211> 13

20 <212> PRT

<213> Yapay

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Ser Ile Gly Ser Arg
20 25 30

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

Tyr Tyr Ala Ser Thr Val Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Lys 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 Tyr Asp Tyr Ser Ser Ser
85 90 95

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

<210> 56

<211> 10

<212> PRT

5 <213> Yapay

<220>

<223> Domen antikor H1 CDR-H1

<400> 56

Gly Ile Asp Leu Ser Asn Tyr Ala Ile Asn
1 5 10

10 <210> 57

<211> 16

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

15 <223> Domen antikor H1 CDR-H2

<400> 57

Ile Ile Trp Ala Ser Gly Thr Thr Phe Tyr Ala Thr Trp Ala Lys Gly
1 5 10 15

<210> 58

<211> 13

20 <212> PRT

<213> Yapay

<220>

<223> Domen antikor H1 CDR-H3

<400> 58

Thr val Pro Gly Tyr Ser Thr Ala Pro Tyr Phe Asp Leu
 1 5 10

5

<210> 59

<211> 12

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

10

<223> Domen antikor L1 CDR-L1

<400> 59

Gln Ser Ser Pro Ser Val Trp Ser Asn Phe Leu Ser
 1 5 10

<210> 60

<211> 7

15

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

<223> Domen antikor L1 CDRL2

<400> 60

20

Glu Ala Ser Lys Leu Thr Ser
 1 5

<210> 61

<211> 11

<212> PRT

<213> Yapay

25

<220>

<223> Domen antikor L1 CDR-L3

<400> 61

Gly Gly Gly Tyr Ser Ser Ile Ser Asp Thr Thr
 1 5 10

<210> 62

<220>

<223> Domen antikor H1 CDR-H3

<400> 58

Thr val Pro Gly Tyr Ser Thr Ala Pro Tyr Phe Asp Leu
 1 5 10

5

<210> 59

<211> 12

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

10

<223> Domen antikor L1 CDR-L1

<400> 59

Gln Ser Ser Pro Ser Val Trp Ser Asn Phe Leu Ser
 1 5 10

<210> 60

<211> 7

15

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

<223> Domen antikor L1 CDRL2

<400> 60

20

Glu Ala Ser Lys Leu Thr Ser
 1 5

<210> 61

<211> 11

<212> PRT

<213> Yapay

25

<220>

<223> Domen antikor L1 CDR-L3

<400> 61

Gly Gly Gly Tyr Ser Ser Ile Ser Asp Thr Thr
 1 5 10

<210> 62

<220>

<223> Domen antikor H1 CDR-H3

<400> 58

Thr	val	Pro	Gly	Tyr	Ser	Thr	Ala	Pro	Tyr	Phe	Asp	Leu
1				5					10			

5

<210> 59

<211> 12

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

10

<223> Domen antikor L1 CDR-L1

<400> 59

Gln	Ser	Ser	Pro	Ser	Val	Trp	Ser	Asn	Phe	Leu	Ser
1				5					10		

<210> 60

<211> 7

15

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

<223> Domen antikor L1 CDRL2

<400> 60

Glu	Ala	Ser	Lys	Leu	Thr	Ser
1				5		

20

<210> 61

<211> 11

<212> PRT

<213> Yapay

25

<220>

<223> Domen antikor L1 CDR-L3

<400> 61

Gly	Gly	Gly	Tyr	Ser	Ser	Ile	Ser	Asp	Thr	Thr
1				5					10	

<210> 62

<211> 10
 <212> PRT
 <213> Yapay
 <220>
 5 <223> Domen antikor H2 CDR-H1
 <400> 62
 Gly Phe Ser Leu Ser Arg Tyr Ala Met Thr
 1 5 10
 <210> 63
 <211> 16
 10 <212> PRT
 <213> Yapay
 <220>
 <223> Domen antikor H2 CDR-H2
 <400> 63
 15 **Thr Ile Thr Thr Gly Gly Asn Thr Asn Tyr Ala Asn Trp Ala Lys Gly**
 1 5 10 15
 <210> 64
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Yapay
 20 <220>
 <223> Domen antikor H2 CDR-H3
 <400> 64
 Gly Gly Tyr Val Ser Tyr Ala Asp Ala Thr Glu Leu Ser Leu
 1 5 10
 <210> 65
 25 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Yapay
 <220>
 <223> Domen antikor L2 CDR-L1
 30 <400> 65

<211> 10
 <212> PRT
 <213> Yapay
 <220>
 5 <223> Domen antikor H2 CDR-H1
 <400> 62
 Gly Phe Ser Leu Ser Arg Tyr Ala Met Thr
 1 5 10
 <210> 63
 <211> 16
 10 <212> PRT
 <213> Yapay
 <220>
 <223> Domen antikor H2 CDR-H2
 <400> 63
 15 **Thr Ile Thr Thr Gly Gly Asn Thr Asn Tyr Ala Asn Trp Ala Lys Gly**
 1 5 10 15
 <210> 64
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Yapay
 20 <220>
 <223> Domen antikor H2 CDR-H3
 <400> 64
 Gly Gly Tyr Val Ser Tyr Ala Asp Ala Thr Glu Leu Ser Leu
 1 5 10
 <210> 65
 25 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Yapay
 <220>
 <223> Domen antikor L2 CDR-L1
 30 <400> 65

<211> 10
 <212> PRT
 <213> Yapay
 <220>
 5 <223> Domen antikor H2 CDR-H1
 <400> 62
 Gly Phe Ser Leu Ser Arg Tyr Ala Met Thr
 1 5 10
 <210> 63
 <211> 16
 10 <212> PRT
 <213> Yapay
 <220>
 <223> Domen antikor H2 CDR-H2
 <400> 63
 15 **Thr Ile Thr Thr Gly Gly Asn Thr Asn Tyr Ala Asn Trp Ala Lys Gly**
 1 5 10 15
 <210> 64
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Yapay
 20 <220>
 <223> Domen antikor H2 CDR-H3
 <400> 64
 Gly Gly Tyr Val Ser Tyr Ala Asp Ala Thr Glu Leu Ser Leu
 1 5 10
 <210> 65
 25 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Yapay
 <220>
 <223> Domen antikor L2 CDR-L1
 30 <400> 65

Gln Ala Ser Gln Ser Ile Gly Ser Arg Leu Ala
 1 5 10

5 <210> 66
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Yapay
 <220>
 <223> Domen antikor L2 CDR-L2
 <400> 66

Tyr Ala Ser Thr Val Ala Ser
 1 5

10 <210> 67
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Yapay
 <220>

15 <223> Domen antikor L2 CDR-L3
 <400> 67

Gln Ser Tyr Asp Tyr Ser Ser Ser Ser Ser Tyr Ala
 1 5 10

20 <210> 68
 <211> 232
 <212> PRT
 <213> Yapay
 <220>
 <223> Fab B-dAbH1 (CH1-G4S4)
 <400> 68

Gln Ala Ser Gln Ser Ile Gly Ser Arg Leu Ala
 1 5 10

5 <210> 66
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Yapay
 <220>
 <223> Domen antikor L2 CDR-L2
 <400> 66

Tyr Ala Ser Thr Val Ala Ser
 1 5

10 <210> 67
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Yapay
 <220>

15 <223> Domen antikor L2 CDR-L3
 <400> 67

Gln Ser Tyr Asp Tyr Ser Ser Ser Ser Ser Tyr Ala
 1 5 10

20 <210> 68
 <211> 232
 <212> PRT
 <213> Yapay
 <220>
 <223> Fab B-dAbH1 (CH1-G4S4)
 <400> 68

Gln Ala Ser Gln Ser Ile Gly Ser Arg Leu Ala
 1 5 10

5 <210> 66
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Yapay
 <220>
 <223> Domen antikor L2 CDR-L2
 <400> 66

Tyr Ala Ser Thr Val Ala Ser
 1 5

10 <210> 67
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Yapay
 <220>

15 <223> Domen antikor L2 CDR-L3
 <400> 67

Gln Ser Tyr Asp Tyr Ser Ser Ser Ser Ser Tyr Ala
 1 5 10

20 <210> 68
 <211> 232
 <212> PRT
 <213> Yapay
 <220>
 <223> Fab B-dAbH1 (CH1-G4S4)
 <400> 68

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
 1 5 10 15
 Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
 20 25 30
 Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
 35 40 45
 Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
 50 55 60
 Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
 65 70 75 80
 Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
 85 90 95
 Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
 100 105 110
 Ser Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly
 115 120 125
 Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Val Ser Gly Ile Asp Leu Ser Asn
 130 135 140
 Tyr Ala Ile Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
 145 150 155 160
 Ile Gly Ile Ile Trp Ala Ser Gly Thr Thr Phe Tyr Ala Thr Trp Ala
 165 170 175
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Ser Thr Thr Val Tyr Leu Gln
 180 185 190
 Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg
 195 200 205
 Thr Val Pro Gly Tyr Ser Thr Ala Pro Tyr Phe Asp Leu Trp Gly Gln
 210 215 220
 Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 225 230

<210> 69

<211> 233

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

<223> FabB-dAbH2 (CH1-G4Sx2)

<400> 69

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
 1 5 10 15
 Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
 20 25 30
 Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
 35 40 45
 Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
 50 55 60
 Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
 65 70 75 80
 Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
 85 90 95
 Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
 100 105 110
 Ser Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly
 115 120 125
 Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Val Ser Gly Ile Asp Leu Ser Asn
 130 135 140
 Tyr Ala Ile Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
 145 150 155 160
 Ile Gly Ile Ile Trp Ala Ser Gly Thr Thr Phe Tyr Ala Thr Trp Ala
 165 170 175
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Ser Thr Thr Val Tyr Leu Gln
 180 185 190
 Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg
 195 200 205
 Thr Val Pro Gly Tyr Ser Thr Ala Pro Tyr Phe Asp Leu Trp Gly Gln
 210 215 220
 Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 225 230

<210> 69

<211> 233

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

<223> FabB-dAbH2 (CH1-G4Sx2)

<400> 69

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
 1 5 10 15
 Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
 20 25 30
 Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
 35 40 45
 Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
 50 55 60
 Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
 65 70 75 80
 Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
 85 90 95
 Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
 100 105 110
 Ser Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly
 115 120 125
 Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Val Ser Gly Ile Asp Leu Ser Asn
 130 135 140
 Tyr Ala Ile Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
 145 150 155 160
 Ile Gly Ile Ile Trp Ala Ser Gly Thr Thr Phe Tyr Ala Thr Trp Ala
 165 170 175
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Ser Thr Thr Val Tyr Leu Gln
 180 185 190
 Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg
 195 200 205
 Thr Val Pro Gly Tyr Ser Thr Ala Pro Tyr Phe Asp Leu Trp Gly Gln
 210 215 220
 Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 225 230

<210> 69

<211> 233

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

<223> FabB-dAbH2 (CH1-G4Sx2)

<400> 69

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
 1 5 10 15
 Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
 20 25 30
 Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
 35 40 45
 Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
 50 55 60
 Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
 65 70 75 80
 Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
 85 90 95
 Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
 100 105 110
 Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly
 115 120 125
 Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Val Ser Gly Phe Ser Leu Ser Arg
 130 135 140
 Tyr Ala Met Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
 145 150 155 160
 Ile Gly Thr Ile Thr Thr Gly Gly Asn Thr Asn Tyr Ala Asn Trp Ala
 165 170 175
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Lys Asp Ser Thr Thr Val Tyr Leu Gln
 180 185 190
 Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg
 195 200 205
 Gly Gly Tyr Val Ser Tyr Ala Asp Ala Thr Glu Leu Ser Leu Trp Gly
 210 215 220
 Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 225 230

<210> 70

<211> 223

5

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

<223> FabB dAbL1 (cCH1-G45x2)

<400> 70

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
 1 5 10 15
 Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
 20 25 30
 Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
 35 40 45
 Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
 50 55 60
 Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
 65 70 75 80
 Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
 85 90 95
 Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
 100 105 110
 Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly
 115 120 125
 Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Val Ser Gly Phe Ser Leu Ser Arg
 130 135 140
 Tyr Ala Met Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
 145 150 155 160
 Ile Gly Thr Ile Thr Thr Gly Gly Asn Thr Asn Tyr Ala Asn Trp Ala
 165 170 175
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Lys Asp Ser Thr Thr Val Tyr Leu Gln
 180 185 190
 Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg
 195 200 205
 Gly Gly Tyr Val Ser Tyr Ala Asp Ala Thr Glu Leu Ser Leu Trp Gly
 210 215 220
 Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 225 230

<210> 70

<211> 223

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

<223> FabB dAbL1 (cCH1-G45x2)

<400> 70

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
 1 5 10 15
 Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
 20 25 30
 Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
 35 40 45
 Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
 50 55 60
 Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
 65 70 75 80
 Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
 85 90 95
 Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
 100 105 110
 Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly
 115 120 125
 Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Val Ser Gly Phe Ser Leu Ser Arg
 130 135 140
 Tyr Ala Met Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
 145 150 155 160
 Ile Gly Thr Ile Thr Thr Gly Gly Asn Thr Asn Tyr Ala Asn Trp Ala
 165 170 175
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Lys Asp Ser Thr Thr Val Tyr Leu Gln
 180 185 190
 Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg
 195 200 205
 Gly Gly Tyr Val Ser Tyr Ala Asp Ala Thr Glu Leu Ser Leu Trp Gly
 210 215 220
 Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 225 230

<210> 70

<211> 223

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

<223> FabB dAbL1 (cCH1-G45x2)

<400> 70

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
 1 5 10 15
 Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
 20 25 30
 Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
 35 40 45
 Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
 50 55 60
 Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
 65 70 75 80
 Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
 85 90 95
 Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
 100 105 110
 Ser Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val
 115 120 125
 Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ser Ser Pro Ser Val Trp Ser
 130 135 140
 Asn Phe Leu Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu
 145 150 155 160
 Leu Ile Tyr Glu Ala Ser Lys Leu Thr Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe
 165 170 175
 Lys Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu
 180 185 190
 Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gly Gly Gly Tyr Ser Ser
 195 200 205
 Ile Ser Asp Thr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 210 215 220

<210> 71

<211> 223

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

<223> FabB dAbL2 (CH1-G4Sx2)

<400> 71

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
 1 5 10 15
 Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
 20 25 30
 Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
 35 40 45
 Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
 50 55 60
 Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
 65 70 75 80
 Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
 85 90 95
 Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
 100 105 110
 Ser Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val
 115 120 125
 Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ser Ser Pro Ser Val Trp Ser
 130 135 140
 Asn Phe Leu Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu
 145 150 155 160
 Leu Ile Tyr Glu Ala Ser Lys Leu Thr Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe
 165 170 175
 Lys Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu
 180 185 190
 Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gly Gly Gly Tyr Ser Ser
 195 200 205
 Ile Ser Asp Thr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 210 215 220

<210> 71

<211> 223

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

<223> FabB dAbL2 (CH1-G4Sx2)

<400> 71

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
 1 5 10 15
 Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
 20 25 30
 Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
 35 40 45
 Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
 50 55 60
 Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
 65 70 75 80
 Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
 85 90 95
 Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
 100 105 110
 Ser Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val
 115 120 125
 Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ser Ser Pro Ser Val Trp Ser
 130 135 140
 Asn Phe Leu Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu
 145 150 155 160
 Leu Ile Tyr Glu Ala Ser Lys Leu Thr Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe
 165 170 175
 Lys Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu
 180 185 190
 Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gly Gly Gly Tyr Ser Ser
 195 200 205
 Ile Ser Asp Thr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 210 215 220

<210> 71

<211> 223

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

<223> FabB dAbL2 (CH1-G4Sx2)

<400> 71

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
 1 5 10 15
 Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
 20 25 30
 Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
 35 40 45
 Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
 50 55 60
 Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
 65 70 75 80
 Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
 85 90 95
 Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
 100 105 110
 Ser Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val
 115 120 125
 Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Ser Ile Gly Ser
 130 135 140
 Arg Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu
 145 150 155 160
 Ile Tyr Tyr Ala Ser Thr Val Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Lys
 165 170 175
 Gly Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln
 180 185 190
 Pro Asp Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Ser Tyr Asp Tyr Ser Ser
 195 200 205
 Ser Ser Ser Tyr Ala Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 210 215 220

<210> 72

<211> 227

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

<223> FabB dABL1 (CK1 G4sx2)

<400> 72

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
 1 5 10 15
 Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
 20 25 30
 Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
 35 40 45
 Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
 50 55 60
 Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
 65 70 75 80
 Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
 85 90 95
 Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
 100 105 110
 Ser Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val
 115 120 125
 Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Ser Ile Gly Ser
 130 135 140
 Arg Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu
 145 150 155 160
 Ile Tyr Tyr Ala Ser Thr Val Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Lys
 165 170 175
 Gly Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln
 180 185 190
 Pro Asp Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Ser Tyr Asp Tyr Ser Ser
 195 200 205
 Ser Ser Ser Tyr Ala Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 210 215 220

<210> 72

<211> 227

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

<223> FabB dABL1 (CK1 G4sx2)

<400> 72

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
 1 5 10 15
 Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
 20 25 30
 Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
 35 40 45
 Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
 50 55 60
 Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
 65 70 75 80
 Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
 85 90 95
 Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
 100 105 110
 Ser Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val
 115 120 125
 Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Ser Ile Gly Ser
 130 135 140
 Arg Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu
 145 150 155 160
 Ile Tyr Tyr Ala Ser Thr Val Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Lys
 165 170 175
 Gly Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln
 180 185 190
 Pro Asp Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Ser Tyr Asp Tyr Ser Ser
 195 200 205
 Ser Ser Ser Tyr Ala Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 210 215 220

<210> 72

<211> 227

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

<223> FabB dABL1 (CK1 G4sx2)

<400> 72

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
 1 5 10 15
 Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
 20 25 30
 Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
 35 40 45
 Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
 50 55 60
 Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
 65 70 75 80
 Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
 85 90 95
 Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys Gly Gly Gly Gly Ser
 100 105 110
 Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val
 115 120 125
 Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ser Ser Pro
 130 135 140
 Ser Val Trp Ser Asn Phe Leu Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys
 145 150 155 160
 Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Glu Ala Ser Lys Leu Thr Ser Gly Val
 165 170 175
 Pro Ser Arg Phe Lys Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
 180 185 190
 Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gly Gly
 195 200 205
 Gly Tyr Ser Ser Ile Ser Asp Thr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val
 210 215 220
 Glu Ile Lys
 225

<210> 73

<211> 227

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

<223> FabB dAbL2 (CK1 G4Sx2)

<400> 73

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
 1 5 10 15
 Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
 20 25 30
 Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
 35 40 45
 Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
 50 55 60
 Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
 65 70 75 80
 Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
 85 90 95
 Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys Gly Gly Gly Gly Ser
 100 105 110
 Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val
 115 120 125
 Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ser Ser Pro
 130 135 140
 Ser Val Trp Ser Asn Phe Leu Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys
 145 150 155 160
 Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Glu Ala Ser Lys Leu Thr Ser Gly Val
 165 170 175
 Pro Ser Arg Phe Lys Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
 180 185 190
 Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gly Gly
 195 200 205
 Gly Tyr Ser Ser Ile Ser Asp Thr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val
 210 215 220
 Glu Ile Lys
 225

<210> 73

<211> 227

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

<223> FabB dAbL2 (CK1 G4Sx2)

<400> 73

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
 1 5 10 15
 Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
 20 25 30
 Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
 35 40 45
 Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
 50 55 60
 Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
 65 70 75 80
 Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
 85 90 95
 Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys Gly Gly Gly Gly Ser
 100 105 110
 Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val
 115 120 125
 Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ser Ser Pro
 130 135 140
 Ser Val Trp Ser Asn Phe Leu Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys
 145 150 155 160
 Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Glu Ala Ser Lys Leu Thr Ser Gly Val
 165 170 175
 Pro Ser Arg Phe Lys Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
 180 185 190
 Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gly Gly
 195 200 205
 Gly Tyr Ser Ser Ile Ser Asp Thr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val
 210 215 220
 Glu Ile Lys
 225

<210> 73

<211> 227

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

<223> FabB dAbL2 (CK1 G4Sx2)

<400> 73

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
 1 5 10 15
 Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
 20 25 30
 Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
 35 40 45
 Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
 50 55 60
 Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
 65 70 75 80
 Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
 85 90 95
 Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys Gly Gly Gly Gly Ser
 100 105 110
 Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu
 115 120 125
 Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln
 130 135 140
 Ser Ile Gly Ser Arg Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala
 145 150 155 160
 Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Tyr Ala Ser Thr Val Ala Ser Gly Val Pro
 165 170 175
 Ser Arg Phe Lys Gly Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile
 180 185 190
 Ser Ser Leu Gln Pro Asp Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Ser Tyr
 195 200 205
 Asp Tyr Ser Ser Ser Ser Ser Tyr Ala Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val
 210 215 220
 Glu Ile Lys
 225

<210> 74

<211> 255

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

<223> Fab'A ağır zinciri

<400> 74

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
 1 5 10 15
 Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
 20 25 30
 Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
 35 40 45
 Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
 50 55 60
 Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
 65 70 75 80
 Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
 85 90 95
 Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys Gly Gly Gly Gly Ser
 100 105 110
 Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu
 115 120 125
 Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln
 130 135 140
 Ser Ile Gly Ser Arg Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala
 145 150 155 160
 Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Tyr Ala Ser Thr Val Ala Ser Gly Val Pro
 165 170 175
 Ser Arg Phe Lys Gly Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile
 180 185 190
 Ser Ser Leu Gln Pro Asp Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Ser Tyr
 195 200 205
 Asp Tyr Ser Ser Ser Ser Ser Tyr Ala Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val
 210 215 220
 Glu Ile Lys
 225

<210> 74

<211> 255

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

<223> Fab'A ağır zinciri

<400> 74

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
 1 5 10 15
 Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
 20 25 30
 Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
 35 40 45
 Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
 50 55 60
 Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
 65 70 75 80
 Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
 85 90 95
 Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys Gly Gly Gly Gly Ser
 100 105 110
 Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu
 115 120 125
 Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln
 130 135 140
 Ser Ile Gly Ser Arg Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala
 145 150 155 160
 Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Tyr Ala Ser Thr Val Ala Ser Gly Val Pro
 165 170 175
 Ser Arg Phe Lys Gly Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile
 180 185 190
 Ser Ser Leu Gln Pro Asp Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Ser Tyr
 195 200 205
 Asp Tyr Ser Ser Ser Ser Ser Tyr Ala Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val
 210 215 220
 Glu Ile Lys
 225

<210> 74

<211> 255

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

<223> Fab'A ağır zinciri

<400> 74

Met Lys Lys Thr Ala Ile Ala Ile Ala Val Ala Leu Ala Gly Phe Ala
 1 5 10 15
 Thr Val Ala Gln Ala Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu
 20 25 30
 Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Phe Ser Gly Phe
 35 40 45
 Ser Leu Ser Thr Ser Gly Val Gly Val Gly Trp Val Arg Gln Ala Pro
 50 55 60
 Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala His Ile Trp Trp Asp Gly Asp Glu
 65 70 75 80
 Ser Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Thr Gln Phe Thr Ile Ser Lys Asp Thr
 85 90 95
 Ser Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp
 100 105 110
 Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Asn Arg Tyr Asp Pro Pro Trp Phe
 115 120 125
 Val Asp Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr
 130 135 140
 Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser
 145 150 155 160
 Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu
 165 170 175
 Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His
 180 185 190
 Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser
 195 200 205
 Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys
 210 215 220
 Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu
 225 230 235 240
 Pro Lys Thr Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala
 245 250 255

<210> 75

<211> 235

5

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

<223> FabA hafif zinciri

<400> 75

Met Lys Lys Thr Ala Ile Ala Ile Ala Val Ala Leu Ala Gly Phe Ala
 1 5 10 15
 Thr Val Ala Gln Ala Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu
 20 25 30
 Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Phe Ser Gly Phe
 35 40 45
 Ser Leu Ser Thr Ser Gly Val Gly Val Gly Trp Val Arg Gln Ala Pro
 50 55 60
 Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala His Ile Trp Trp Asp Gly Asp Glu
 65 70 75 80
 Ser Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Thr Gln Phe Thr Ile Ser Lys Asp Thr
 85 90 95
 Ser Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp
 100 105 110
 Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Asn Arg Tyr Asp Pro Pro Trp Phe
 115 120 125
 Val Asp Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr
 130 135 140
 Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser
 145 150 155 160
 Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu
 165 170 175
 Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His
 180 185 190
 Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser
 195 200 205
 Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys
 210 215 220
 Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu
 225 230 235 240
 Pro Lys Thr Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala
 245 250 255

<210> 75

<211> 235

5

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

<223> FabA hafif zinciri

<400> 75

Met Lys Lys Thr Ala Ile Ala Ile Ala Val Ala Leu Ala Gly Phe Ala
 1 5 10 15
 Thr Val Ala Gln Ala Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu
 20 25 30
 Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Phe Ser Gly Phe
 35 40 45
 Ser Leu Ser Thr Ser Gly Val Gly Val Gly Trp Val Arg Gln Ala Pro
 50 55 60
 Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala His Ile Trp Trp Asp Gly Asp Glu
 65 70 75 80
 Ser Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Thr Gln Phe Thr Ile Ser Lys Asp Thr
 85 90 95
 Ser Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp
 100 105 110
 Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Asn Arg Tyr Asp Pro Pro Trp Phe
 115 120 125
 Val Asp Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr
 130 135 140
 Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser
 145 150 155 160
 Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu
 165 170 175
 Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His
 180 185 190
 Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser
 195 200 205
 Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys
 210 215 220
 Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu
 225 230 235 240
 Pro Lys Thr Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala
 245 250 255

<210> 75

<211> 235

5

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

<223> FabA hafif zinciri

<400> 75

Met Lys Lys Thr Ala Ile Ala Ile Ala Val Ala Leu Ala Gly Phe Ala
 1 5 10 15
 Thr Val Ala Gln Ala Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu
 20 25 30
 Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln
 35 40 45
 Asp Ile Ser Asn Tyr Leu Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala
 50 55 60
 Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Tyr Thr Ser Lys Leu His Ser Gly Val Pro
 65 70 75 80
 Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Leu Thr Ile
 85 90 95
 Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly
 100 105 110
 Lys Met Leu Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 115 120 125
 Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
 130 135 140
 Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
 145 150 155 160
 Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Val Gln
 165 170 175
 Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
 180 185 190
 Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
 195 200 205
 Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
 210 215 220
 Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 225 230 235

<210> 76

<211> 250

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

<223> Fab'A ağır zinciri (modifiye edilmiş bağlayıcı)

<400> 76

Met Lys Lys Thr Ala Ile Ala Ile Ala Val Ala Leu Ala Gly Phe Ala
 1 5 10 15
 Thr Val Ala Gln Ala Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu
 20 25 30
 Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln
 35 40 45
 Asp Ile Ser Asn Tyr Leu Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala
 50 55 60
 Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Tyr Thr Ser Lys Leu His Ser Gly Val Pro
 65 70 75 80
 Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Leu Thr Ile
 85 90 95
 Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly
 100 105 110
 Lys Met Leu Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 115 120 125
 Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
 130 135 140
 Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
 145 150 155 160
 Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Val Gln
 165 170 175
 Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
 180 185 190
 Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
 195 200 205
 Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
 210 215 220
 Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 225 230 235

<210> 76

<211> 250

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

<223> Fab'A ağır zinciri (modifiye edilmiş bağlayıcı)

<400> 76

Met Lys Lys Thr Ala Ile Ala Ile Ala Val Ala Leu Ala Gly Phe Ala
 1 5 10 15
 Thr Val Ala Gln Ala Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu
 20 25 30
 Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln
 35 40 45
 Asp Ile Ser Asn Tyr Leu Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala
 50 55 60
 Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Tyr Thr Ser Lys Leu His Ser Gly Val Pro
 65 70 75 80
 Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Leu Thr Ile
 85 90 95
 Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly
 100 105 110
 Lys Met Leu Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 115 120 125
 Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
 130 135 140
 Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
 145 150 155 160
 Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Val Gln
 165 170 175
 Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
 180 185 190
 Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
 195 200 205
 Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
 210 215 220
 Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 225 230 235

<210> 76

<211> 250

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

<223> Fab'A ağır zinciri (modifiye edilmiş bağlayıcı)

<400> 76

Met Lys Lys Thr Ala Ile Ala Ile Ala Val Ala Leu Ala Gly Phe Ala
1 5 10 15
Thr Val Ala Gln Ala Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu
20 25 30
Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Phe Ser Gly Phe
35 40 45
Ser Leu Ser Thr Ser Gly Val Gly Val Gly Trp Val Arg Gln Ala Pro
50 55 60
Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala His Ile Trp Trp Asp Gly Asp Glu
65 70 75 80
Ser Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Thr Gln Phe Thr Ile Ser Lys Asp Thr
85 90 95
Ser Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp
100 105 110
Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Asn Arg Tyr Asp Pro Pro Trp Phe
115 120 125
Val Asp Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr
130 135 140
Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser
145 150 155 160
Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu
165 170 175
Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His
180 185 190
Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser
195 200 205
Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys
210 215 220
Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu
225 230 235 240
Pro Lys Thr Cys Asp Lys Thr His Thr Ser
245 250

<210> 77

<211> 244

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

<223> FabA ağır zinciri

Met Lys Lys Thr Ala Ile Ala Ile Ala Val Ala Leu Ala Gly Phe Ala
 1 5 10 15
 Thr Val Ala Gln Ala Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu
 20 25 30
 Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Phe Ser Gly Phe
 35 40 45
 Ser Leu Ser Thr Ser Gly Val Gly Val Gly Trp Val Arg Gln Ala Pro
 50 55 60
 Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala His Ile Trp Trp Asp Gly Asp Glu
 65 70 75 80
 Ser Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Thr Gln Phe Thr Ile Ser Lys Asp Thr
 85 90 95
 Ser Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp
 100 105 110
 Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Asn Arg Tyr Asp Pro Pro Trp Phe
 115 120 125
 Val Asp Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr
 130 135 140
 Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser
 145 150 155 160
 Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu
 165 170 175
 Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His
 180 185 190
 Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser
 195 200 205
 Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys
 210 215 220
 Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu
 225 230 235 240
 Pro Lys Thr Cys Asp Lys Thr His Thr Ser
 245 250

<210> 77

<211> 244

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

<223> FabA ağır zinciri

Met Lys Lys Thr Ala Ile Ala Ile Ala Val Ala Leu Ala Gly Phe Ala
1 5 10 15
Thr Val Ala Gln Ala Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu
20 25 30
Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Phe Ser Gly Phe
35 40 45
Ser Leu Ser Thr Ser Gly Val Gly Val Gly Trp Val Arg Gln Ala Pro
50 55 60
Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala His Ile Trp Trp Asp Gly Asp Glu
65 70 75 80
Ser Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Thr Gln Phe Thr Ile Ser Lys Asp Thr
85 90 95
Ser Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp
100 105 110
Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Asn Arg Tyr Asp Pro Pro Trp Phe
115 120 125
Val Asp Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr
130 135 140
Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser
145 150 155 160
Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu
165 170 175
Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His
180 185 190
Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser
195 200 205
Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys
210 215 220
Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu
225 230 235 240
Pro Lys Thr Cys Asp Lys Thr His Thr Ser
245 250

<210> 77

<211> 244

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

<223> FabA ağır zinciri

<400> 77

```

Met Lys Lys Thr Ala Ile Ala Ile Ala Val Ala Leu Ala Gly Phe Ala
 1      5      10      15

Thr Val Ala Gln Ala Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu
 20      25      30

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

Ser Leu Ser Thr Ser Gly Val Gly Val Gly Trp Val Arg Gln Ala Pro
 50      55      60

Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala His Ile Trp Trp Asp Gly Asp Glu
 65      70      75      80

Ser Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Thr Gln Phe Thr Ile Ser Lys Asp Thr
 85      90      95

Ser Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp
100      105      110

Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Asn Arg Tyr Asp Pro Pro Trp Phe
115      120      125

Val Asp Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr
130      135      140

Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser
145      150      155      160

Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu
165      170      175

Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His
180      185      190

Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser
195      200      205

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

Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu
225      230      235      240

Pro Lys Thr Cys

```

<210> 78

<211> 119

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

<223> mdAbH1

<400> 77

```

Met Lys Lys Thr Ala Ile Ala Ile Ala Val Ala Leu Ala Gly Phe Ala
 1      5      10      15

Thr Val Ala Gln Ala Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu
 20      25      30

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

Ser Leu Ser Thr Ser Gly Val Gly Val Gly Trp Val Arg Gln Ala Pro
 50      55      60

Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala His Ile Trp Trp Asp Gly Asp Glu
 65      70      75      80

Ser Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Thr Gln Phe Thr Ile Ser Lys Asp Thr
 85      90      95

Ser Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp
100      105      110

Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Asn Arg Tyr Asp Pro Pro Trp Phe
115      120      125

Val Asp Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr
130      135      140

Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser
145      150      155      160

Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu
165      170      175

Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His
180      185      190

Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser
195      200      205

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

Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu
225      230      235      240

Pro Lys Thr Cys

```

<210> 78

<211> 119

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

<223> mdAbH1

<400> 77

```

Met Lys Lys Thr Ala Ile Ala Ile Ala Val Ala Leu Ala Gly Phe Ala
 1      5      10      15

Thr Val Ala Gln Ala Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu
 20      25      30

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

Ser Leu Ser Thr Ser Gly Val Gly Val Gly Trp Val Arg Gln Ala Pro
 50      55      60

Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala His Ile Trp Trp Asp Gly Asp Glu
 65      70      75      80

Ser Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Thr Gln Phe Thr Ile Ser Lys Asp Thr
 85      90      95

Ser Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp
100      105      110

Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Asn Arg Tyr Asp Pro Pro Trp Phe
115      120      125

Val Asp Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr
130      135      140

Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser
145      150      155      160

Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu
165      170      175

Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His
180      185      190

Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser
195      200      205

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

Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu
225      230      235      240

Pro Lys Thr Cys

```

<210> 78

<211> 119

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

<223> mdAbH1

<400> 78

Gln Val Gln Leu Lys Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Ala Pro Ser Gln
 1 5 10 15
 Ser Leu Ser Ile Thr Cys Thr Val Ser Gly Ile Asp Leu Ser Asn Tyr
 20 25 30
 Ala Ile Asn Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
 35 40 45
 Gly Ile Ile Trp Ala Ser Gly Thr Thr Phe Tyr Ala Thr Trp Ala Lys
 50 55 60
 Gly Arg Phe Ser Ile Ser Arg Asp Ser Thr Thr Val Phe Leu Lys Met
 65 70 75 80
 Asn Ser Leu Gln Thr Asp Asp Thr Ala Arg Tyr Tyr Cys Ala Arg Thr
 85 90 95
 Val Pro Gly Tyr Ser Thr Ala Pro Tyr Phe Asp Leu Trp Gly Gln Gly
 100 105 110
 Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 79

<211> 111

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

<223> mdAbL1

<400> 79

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Thr Val Thr Ala Gly
 1 5 10 15
 Glu Lys Val Thr Met Ser Cys Gln Ser Ser Pro Ser Val Trp Ser Asn
 20 25 30
 Phe Leu Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu
 35 40 45
 Ile Tyr Glu Ala Ser Lys Leu Thr Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Lys
 50 55 60
 Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Val Gln
 65 70 75 80
 Ala Glu Asp Leu Ala Thr Tyr Tyr Cys Gly Gly Gly Tyr Ser Ser Ile
 85 90 95
 Ser Asp Thr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg
 100 105 110

<400> 78

Gln Val Gln Leu Lys Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Ala Pro Ser Gln
 1 5 10 15
 Ser Leu Ser Ile Thr Cys Thr Val Ser Gly Ile Asp Leu Ser Asn Tyr
 20 25 30
 Ala Ile Asn Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
 35 40 45
 Gly Ile Ile Trp Ala Ser Gly Thr Thr Phe Tyr Ala Thr Trp Ala Lys
 50 55 60
 Gly Arg Phe Ser Ile Ser Arg Asp Ser Thr Thr Val Phe Leu Lys Met
 65 70 75 80
 Asn Ser Leu Gln Thr Asp Asp Thr Ala Arg Tyr Tyr Cys Ala Arg Thr
 85 90 95
 Val Pro Gly Tyr Ser Thr Ala Pro Tyr Phe Asp Leu Trp Gly Gln Gly
 100 105 110
 Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 79

<211> 111

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

<223> mdAbL1

<400> 79

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Thr Val Thr Ala Gly
 1 5 10 15
 Glu Lys Val Thr Met Ser Cys Gln Ser Ser Pro Ser Val Trp Ser Asn
 20 25 30
 Phe Leu Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu
 35 40 45
 Ile Tyr Glu Ala Ser Lys Leu Thr Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Lys
 50 55 60
 Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Val Gln
 65 70 75 80
 Ala Glu Asp Leu Ala Thr Tyr Tyr Cys Gly Gly Gly Tyr Ser Ser Ile
 85 90 95
 Ser Asp Thr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg
 100 105 110

<400> 78

Gln Val Gln Leu Lys Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Ala Pro Ser Gln
 1 5 10 15
 Ser Leu Ser Ile Thr Cys Thr Val Ser Gly Ile Asp Leu Ser Asn Tyr
 20 25 30
 Ala Ile Asn Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
 35 40 45
 Gly Ile Ile Trp Ala Ser Gly Thr Thr Phe Tyr Ala Thr Trp Ala Lys
 50 55 60
 Gly Arg Phe Ser Ile Ser Arg Asp Ser Thr Thr Val Phe Leu Lys Met
 65 70 75 80
 Asn Ser Leu Gln Thr Asp Asp Thr Ala Arg Tyr Tyr Cys Ala Arg Thr
 85 90 95
 Val Pro Gly Tyr Ser Thr Ala Pro Tyr Phe Asp Leu Trp Gly Gln Gly
 100 105 110
 Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 79

<211> 111

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

<223> mdAbL1

<400> 79

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Thr Val Thr Ala Gly
 1 5 10 15
 Glu Lys Val Thr Met Ser Cys Gln Ser Ser Pro Ser Val Trp Ser Asn
 20 25 30
 Phe Leu Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu
 35 40 45
 Ile Tyr Glu Ala Ser Lys Leu Thr Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Lys
 50 55 60
 Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Val Gln
 65 70 75 80
 Ala Glu Asp Leu Ala Thr Tyr Tyr Cys Gly Gly Gly Tyr Ser Ser Ile
 85 90 95
 Ser Asp Thr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg
 100 105 110

<210> 80

<211> 120

<212> PRT

<213> Yapay

5

<220>

<223> mdAbH2

<400> 80

Gln Val Gln Leu Lys Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Ala Pro Ser Gln
 1 5 10 15
 Ser Leu Ser Ile Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Ser Arg Tyr
 20 25 30
 Ala Met Thr Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
 35 40 45
 Gly Thr Ile Thr Thr Gly Gly Asn Thr Asn Tyr Ala Asn Trp Ala Lys
 50 55 60
 Gly Arg Phe Ser Ile Ser Lys Asp Ser Thr Gln Val Phe Leu Lys Met
 65 70 75 80
 Asn Ser Leu Gln Thr Asp Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly
 85 90 95
 Gly Tyr Val Ser Tyr Ala Asp Ala Thr Glu Leu Ser Leu Trp Gly Gln
 100 105 110
 Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120

10

<210> 81

<211> 111

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

15

<223> mdAbL2

<400> 81

<210> 80

<211> 120

<212> PRT

<213> Yapay

5

<220>

<223> mdAbH2

<400> 80

Gln Val Gln Leu Lys Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Ala Pro Ser Gln
 1 5 10 15
 Ser Leu Ser Ile Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Ser Arg Tyr
 20 25 30
 Ala Met Thr Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
 35 40 45
 Gly Thr Ile Thr Thr Gly Gly Asn Thr Asn Tyr Ala Asn Trp Ala Lys
 50 55 60
 Gly Arg Phe Ser Ile Ser Lys Asp Ser Thr Gln Val Phe Leu Lys Met
 65 70 75 80
 Asn Ser Leu Gln Thr Asp Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly
 85 90 95
 Gly Tyr Val Ser Tyr Ala Asp Ala Thr Glu Leu Ser Leu Trp Gly Gln
 100 105 110
 Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120

10

<210> 81

<211> 111

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

15

<223> mdAbL2

<400> 81

<210> 80

<211> 120

<212> PRT

<213> Yapay

5

<220>

<223> mdAbH2

<400> 80

Gln val Gln Leu Lys Glu Ser Gly Pro Gly Leu val Ala Pro Ser Gln
 1 5 10 15
 Ser Leu Ser Ile Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Ser Arg Tyr
 20 25 30
 Ala Met Thr Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
 35 40 45
 Gly Thr Ile Thr Thr Gly Gly Asn Thr Asn Tyr Ala Asn Trp Ala Lys
 50 55 60
 Gly Arg Phe Ser Ile Ser Lys Asp Ser Thr Gln Val Phe Leu Lys Met
 65 70 75 80
 Asn Ser Leu Gln Thr Asp Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly
 85 90 95
 Gly Tyr val Ser Tyr Ala Asp Ala Thr Glu Leu Ser Leu Trp Gly Gln
 100 105 110
 Gly Thr Leu val Thr Val Ser Ser
 115 120

10

<210> 81

<211> 111

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

15

<223> mdAbL2

<400> 81

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

Glu Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Ser Ile Gly Ser Arg
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Thr Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Phe Tyr Ala Ser Thr Val Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Lys Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Ser Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Ser Tyr Asp Tyr Ser Ser Ser
85 90 95

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

<210> 82

<211> 239

<212> PRT

5

<213> Yapay

<220>

<223> mFabD-mdidAb dAbH1(CH1-G4sx2)

<400> 82

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

Ala Gln Thr Asn Ser Met Val Thr Leu Gly Cys Leu Val Lys Gly Tyr
20 25 30

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

Glu Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Ser Ile Gly Ser Arg
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Thr Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Phe Tyr Ala Ser Thr Val Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Lys Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Ser Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Ser Tyr Asp Tyr Ser Ser Ser
85 90 95

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

<210> 82

<211> 239

<212> PRT

5 <213> Yapay

<220>

<223> mFabD-mdidAb dAbH1(CH1-G4sx2)

<400> 82

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

Ala Gln Thr Asn Ser Met Val Thr Leu Gly Cys Leu Val Lys Gly Tyr
20 25 30

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

Glu Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Ser Ile Gly Ser Arg
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Thr Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Phe Tyr Ala Ser Thr Val Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Lys Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Ser Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Ser Tyr Asp Tyr Ser Ser Ser
85 90 95

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

<210> 82

<211> 239

<212> PRT

5

<213> Yapay

<220>

<223> mFabD-mdidAb dAbH1(CH1-G4sx2)

<400> 82

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

Ala Gln Thr Asn Ser Met Val Thr Leu Gly Cys Leu Val Lys Gly Tyr
20 25 30

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

<210> 83

<211> 237

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

<223> mFabD-mdidAb, -dAbL1(CK-G4sx2)

<400> 83

Thr Asp Ala Ala Pro Thr val Ser Ile Phe Pro Pro Ser Ser Glu Gln
 1 5 10 15
 Leu Thr Ser Gly Gly Ala Ser val Val Cys Phe Leu Asn Asn Phe Tyr
 20 25 30

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

<210> 83

<211> 237

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

<223> mFabD-mdidAb, -dAbL1(CK-G4sx2)

<400> 83

Thr Asp Ala Ala Pro Thr val Ser Ile Phe Pro Pro Ser Ser Glu Gln
 1 5 10 15
 Leu Thr Ser Gly Gly Ala Ser val Val Cys Phe Leu Asn Asn Phe Tyr
 20 25 30

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

<210> 83

<211> 237

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

<223> mFabD-mdidAb, -dAbL1(CK-G4sx2)

<400> 83

Thr Asp Ala Ala Pro Thr val Ser Ile Phe Pro Pro Ser Ser Glu Gln
 1 5 10 15
 Leu Thr Ser Gly Gly Ala Ser val Val Cys Phe Leu Asn Asn Phe Tyr
 20 25 30

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

<210> 84

<211> 240

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

<223> mFabD-mdidAb, -dAbH2(CH1-G4sx2)

<400> 84

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

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

<210> 84

<211> 240

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

<223> mFabD-mdidAb, -dAbH2(CH1-G4sx2)

<400> 84

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

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

<210> 84

<211> 240

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

<223> mFabD-mdidAb, -dAbH2(CH1-G4sx2)

<400> 84

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

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

<210> 85

<211> 237

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

<223> mFabD-mdidAb, -dAbL2(CK-G4Sx2)

<400> 85

Thr Asp Ala Ala Pro Thr Val Ser Ile Phe Pro Pro Ser Ser Glu Gln
 1 5 10 15

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

<210> 85

<211> 237

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

<223> mFabD-mdidAb, -dAbL2(CK-G4Sx2)

<400> 85

Thr Asp Ala Ala Pro Thr Val Ser Ile Phe Pro Pro Ser Ser Glu Gln
 1 5 10 15

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

<210> 85

<211> 237

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

<223> mFabD-mdidAb, -dAbL2(CK-G4Sx2)

<400> 85

Thr Asp Ala Ala Pro Thr Val Ser Ile Phe Pro Pro Ser Ser Glu Gln
 1 5 10 15

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

<210> 86

<211> 239

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

<223> dAbH1(CH1-G4Sx2)mFabC-mdAbH1

<400> 86

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

<210> 86

<211> 239

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

<223> dAbH1(CH1-G4Sx2)mFabC-mdAbH1

<400> 86

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

<210> 86

<211> 239

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

<223> dAbH1(CH1-G4Sx2)mFabC-mdAbH1

<400> 86

Ala Lys Thr Thr Pro Pro Ser Val Tyr Pro Leu Ala Pro Gly Ser Ala
 1 5 10 15
 Ala Gln Thr Asn Ser Met Val Thr Leu Gly Cys Leu Val Lys Gly Tyr
 20 25 30
 Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Thr Trp Asn Ser Gly Ser Leu Ser Ser
 35 40 45
 Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Asp Leu Tyr Thr Leu
 50 55 60
 Ser Ser Ser Val Thr Val Pro Ser Ser Thr Trp Pro Ser Glu Thr Val
 65 70 75 80
 Thr Cys Asn Val Ala His Pro Ala Ser Ser Thr Lys Val Asp Lys Lys
 85 90 95
 Ile Val Pro Arg Asp Cys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
 100 105 110
 Gln Val Gln Leu Lys Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Ala Pro Ser Gln
 115 120 125
 Ser Leu Ser Ile Thr Cys Thr Val Ser Gly Ile Asp Leu Ser Asn Tyr
 130 135 140
 Ala Ile Asn Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
 145 150 155 160
 Gly Ile Ile Trp Ala Ser Gly Thr Thr Phe Tyr Ala Thr Trp Ala Lys
 165 170 175
 Gly Arg Phe Ser Ile Ser Arg Asp Ser Thr Thr Val Phe Leu Lys Met
 180 185 190
 Asn Ser Leu Gln Thr Asp Asp Thr Ala Arg Tyr Tyr Cys Ala Arg Thr
 195 200 205
 Val Pro Gly Tyr Ser Thr Ala Pro Tyr Phe Asp Leu Trp Gly Gln Gly
 210 215 220
 Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys
 225 230 235

<210> 87

<211> 237

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

<223> mFabC-mdidAb, -dAbL1(CK-G4Sx2)

<400> 87

Ala Lys Thr Thr Pro Pro Ser Val Tyr Pro Leu Ala Pro Gly Ser Ala
 1 5 10 15
 Ala Gln Thr Asn Ser Met Val Thr Leu Gly Cys Leu Val Lys Gly Tyr
 20 25 30
 Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Thr Trp Asn Ser Gly Ser Leu Ser Ser
 35 40 45
 Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Asp Leu Tyr Thr Leu
 50 55 60
 Ser Ser Ser Val Thr Val Pro Ser Ser Thr Trp Pro Ser Glu Thr Val
 65 70 75 80
 Thr Cys Asn Val Ala His Pro Ala Ser Ser Thr Lys Val Asp Lys Lys
 85 90 95
 Ile Val Pro Arg Asp Cys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
 100 105 110
 Gln Val Gln Leu Lys Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Ala Pro Ser Gln
 115 120 125
 Ser Leu Ser Ile Thr Cys Thr Val Ser Gly Ile Asp Leu Ser Asn Tyr
 130 135 140
 Ala Ile Asn Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
 145 150 155 160
 Gly Ile Ile Trp Ala Ser Gly Thr Thr Phe Tyr Ala Thr Trp Ala Lys
 165 170 175
 Gly Arg Phe Ser Ile Ser Arg Asp Ser Thr Thr Val Phe Leu Lys Met
 180 185 190
 Asn Ser Leu Gln Thr Asp Asp Thr Ala Arg Tyr Tyr Cys Ala Arg Thr
 195 200 205
 Val Pro Gly Tyr Ser Thr Ala Pro Tyr Phe Asp Leu Trp Gly Gln Gly
 210 215 220
 Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys
 225 230 235

<210> 87

<211> 237

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

<223> mFabC-mdidAb, -dAbL1(CK-G4Sx2)

<400> 87

Ala Lys Thr Thr Pro Pro Ser Val Tyr Pro Leu Ala Pro Gly Ser Ala
 1 5 10 15
 Ala Gln Thr Asn Ser Met Val Thr Leu Gly Cys Leu Val Lys Gly Tyr
 20 25 30
 Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Thr Trp Asn Ser Gly Ser Leu Ser Ser
 35 40 45
 Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Asp Leu Tyr Thr Leu
 50 55 60
 Ser Ser Ser Val Thr Val Pro Ser Ser Thr Trp Pro Ser Glu Thr Val
 65 70 75 80
 Thr Cys Asn Val Ala His Pro Ala Ser Ser Thr Lys Val Asp Lys Lys
 85 90 95
 Ile Val Pro Arg Asp Cys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
 100 105 110
 Gln Val Gln Leu Lys Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Ala Pro Ser Gln
 115 120 125
 Ser Leu Ser Ile Thr Cys Thr Val Ser Gly Ile Asp Leu Ser Asn Tyr
 130 135 140
 Ala Ile Asn Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
 145 150 155 160
 Gly Ile Ile Trp Ala Ser Gly Thr Thr Phe Tyr Ala Thr Trp Ala Lys
 165 170 175
 Gly Arg Phe Ser Ile Ser Arg Asp Ser Thr Thr Val Phe Leu Lys Met
 180 185 190
 Asn Ser Leu Gln Thr Asp Asp Thr Ala Arg Tyr Tyr Cys Ala Arg Thr
 195 200 205
 Val Pro Gly Tyr Ser Thr Ala Pro Tyr Phe Asp Leu Trp Gly Gln Gly
 210 215 220
 Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys
 225 230 235

<210> 87

<211> 237

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

<223> mFabC-mdidAb, -dAbL1(CK-G4Sx2)

<400> 87

Thr Asp Ala Ala Pro Thr Val Ser Ile Phe Pro Pro Ser Ser Glu Gln
 1 5 10 15
 Leu Thr Ser Gly Gly Ala Ser Val Val Cys Phe Leu Asn Asn Phe Tyr
 20 25 30
 Pro Lys Asp Ile Asn Val Lys Trp Lys Ile Asp Gly Ser Glu Arg Gln
 35 40 45
 Asn Gly Val Leu Asn Ser Trp Thr Asp Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
 50 55 60
 Tyr Ser Met Ser Ser Thr Leu Thr Leu Thr Lys Asp Glu Tyr Glu Arg
 65 70 75 80
 His Asn Ser Tyr Thr Cys Glu Ala Thr His Lys Thr Ser Thr Ser Pro
 85 90 95
 Ile Val Lys Ser Phe Asn Arg Asn Glu Cys Gly Gly Gly Gly Ser Gly
 100 105 110
 Gly Gly Gly Ser Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Thr
 115 120 125
 Val Thr Ala Gly Glu Lys Val Thr Met Ser Cys Gln Ser Ser Pro Ser
 130 135 140
 Val Trp Ser Asn Phe Leu Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro
 145 150 155 160
 Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Glu Ala Ser Lys Leu Thr Ser Gly Val Pro
 165 170 175
 Asp Arg Phe Lys Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile
 180 185 190
 Ser Ser Val Gln Ala Glu Asp Leu Ala Thr Tyr Tyr Cys Gly Gly Gly
 195 200 205
 Tyr Ser Ser Ile Ser Asp Thr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu
 210 215 220
 Ile Lys Arg Glu Gln Lys Leu Ile Ser Glu Glu Asp Leu
 225 230 235

<210> 88

<211> 240

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

<223> mFabC-mdidAb dAbH2(CH1-G4Sx2)

<400> 88

Thr Asp Ala Ala Pro Thr Val Ser Ile Phe Pro Pro Ser Ser Glu Gln
 1 5 10 15
 Leu Thr Ser Gly Gly Ala Ser Val Val Cys Phe Leu Asn Asn Phe Tyr
 20 25 30
 Pro Lys Asp Ile Asn Val Lys Trp Lys Ile Asp Gly Ser Glu Arg Gln
 35 40 45
 Asn Gly Val Leu Asn Ser Trp Thr Asp Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
 50 55 60
 Tyr Ser Met Ser Ser Thr Leu Thr Leu Thr Lys Asp Glu Tyr Glu Arg
 65 70 75 80
 His Asn Ser Tyr Thr Cys Glu Ala Thr His Lys Thr Ser Thr Ser Pro
 85 90 95
 Ile Val Lys Ser Phe Asn Arg Asn Glu Cys Gly Gly Gly Gly Ser Gly
 100 105 110
 Gly Gly Gly Ser Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Thr
 115 120 125
 Val Thr Ala Gly Glu Lys Val Thr Met Ser Cys Gln Ser Ser Pro Ser
 130 135 140
 Val Trp Ser Asn Phe Leu Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro
 145 150 155 160
 Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Glu Ala Ser Lys Leu Thr Ser Gly Val Pro
 165 170 175
 Asp Arg Phe Lys Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile
 180 185 190
 Ser Ser Val Gln Ala Glu Asp Leu Ala Thr Tyr Tyr Cys Gly Gly Gly
 195 200 205
 Tyr Ser Ser Ile Ser Asp Thr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu
 210 215 220
 Ile Lys Arg Glu Gln Lys Leu Ile Ser Glu Glu Asp Leu
 225 230 235

<210> 88

<211> 240

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

<223> mFabC-mdidAb dAbH2(CH1-G4Sx2)

<400> 88

Thr Asp Ala Ala Pro Thr Val Ser Ile Phe Pro Pro Ser Ser Glu Gln
 1 5 10 15
 Leu Thr Ser Gly Gly Ala Ser Val Val Cys Phe Leu Asn Asn Phe Tyr
 20 25 30
 Pro Lys Asp Ile Asn Val Lys Trp Lys Ile Asp Gly Ser Glu Arg Gln
 35 40 45
 Asn Gly Val Leu Asn Ser Trp Thr Asp Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
 50 55 60
 Tyr Ser Met Ser Ser Thr Leu Thr Leu Thr Lys Asp Glu Tyr Glu Arg
 65 70 75 80
 His Asn Ser Tyr Thr Cys Glu Ala Thr His Lys Thr Ser Thr Ser Pro
 85 90 95
 Ile Val Lys Ser Phe Asn Arg Asn Glu Cys Gly Gly Gly Gly Ser Gly
 100 105 110
 Gly Gly Gly Ser Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Thr
 115 120 125
 Val Thr Ala Gly Glu Lys Val Thr Met Ser Cys Gln Ser Ser Pro Ser
 130 135 140
 Val Trp Ser Asn Phe Leu Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro
 145 150 155 160
 Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Glu Ala Ser Lys Leu Thr Ser Gly Val Pro
 165 170 175
 Asp Arg Phe Lys Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile
 180 185 190
 Ser Ser Val Gln Ala Glu Asp Leu Ala Thr Tyr Tyr Cys Gly Gly Gly
 195 200 205
 Tyr Ser Ser Ile Ser Asp Thr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu
 210 215 220
 Ile Lys Arg Glu Gln Lys Leu Ile Ser Glu Glu Asp Leu
 225 230 235

<210> 88

<211> 240

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

<223> mFabC-mdidAb dAbH2(CH1-G4Sx2)

<400> 88

Ala Lys Thr Thr Pro Pro Ser Val Tyr Pro Leu Ala Pro Gly Ser Ala
 1 5 10 15
 Ala Gln Thr Asn Ser Met Val Thr Leu Gly Cys Leu Val Lys Gly Tyr
 20 25 30
 Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Thr Trp Asn Ser Gly Ser Leu Ser Ser
 35 40 45
 Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Asp Leu Tyr Thr Leu
 50 55 60
 Ser Ser Ser Val Thr Val Pro Ser Ser Thr Trp Pro Ser Glu Thr Val
 65 70 75 80
 Thr Cys Asn Val Ala His Pro Ala Ser Ser Thr Lys Val Asp Lys Lys
 85 90 95
 Ile Val Pro Arg Asp Cys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
 100 105 110
 Gln Val Gln Leu Lys Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Ala Pro Ser Gln
 115 120 125
 Ser Leu Ser Ile Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Ser Arg Tyr
 130 135 140
 Ala Met Thr Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
 145 150 155 160
 Gly Thr Ile Thr Thr Gly Gly Asn Thr Asn Tyr Ala Asn Trp Ala Lys
 165 170 175
 Gly Arg Phe Ser Ile Ser Lys Asp Ser Thr Gln Val Phe Leu Lys Met
 180 185 190
 Asn Ser Leu Gln Thr Asp Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly
 195 200 205
 Gly Tyr Val Ser Tyr Ala Asp Ala Thr Glu Leu Ser Leu Trp Gly Gln
 210 215 220
 Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys
 225 230 235 240

<210> 89

<211> 237

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

<223> mFabc-mdidAb, -dAbL2(CK-G4Sx2)

<400> 89

Ala Lys Thr Thr Pro Pro Ser Val Tyr Pro Leu Ala Pro Gly Ser Ala
 1 5 10 15
 Ala Gln Thr Asn Ser Met Val Thr Leu Gly Cys Leu Val Lys Gly Tyr
 20 25 30
 Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Thr Trp Asn Ser Gly Ser Leu Ser Ser
 35 40 45
 Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Asp Leu Tyr Thr Leu
 50 55 60
 Ser Ser Ser Val Thr Val Pro Ser Ser Thr Trp Pro Ser Glu Thr Val
 65 70 75 80
 Thr Cys Asn Val Ala His Pro Ala Ser Ser Thr Lys Val Asp Lys Lys
 85 90 95
 Ile Val Pro Arg Asp Cys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
 100 105 110
 Gln Val Gln Leu Lys Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Ala Pro Ser Gln
 115 120 125
 Ser Leu Ser Ile Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Ser Arg Tyr
 130 135 140
 Ala Met Thr Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
 145 150 155 160
 Gly Thr Ile Thr Thr Gly Gly Asn Thr Asn Tyr Ala Asn Trp Ala Lys
 165 170 175
 Gly Arg Phe Ser Ile Ser Lys Asp Ser Thr Gln Val Phe Leu Lys Met
 180 185 190
 Asn Ser Leu Gln Thr Asp Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly
 195 200 205
 Gly Tyr Val Ser Tyr Ala Asp Ala Thr Glu Leu Ser Leu Trp Gly Gln
 210 215 220
 Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys
 225 230 235 240

<210> 89

<211> 237

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

<223> mFabc-mdidAb, -dAbL2(CK-G4Sx2)

<400> 89

Ala Lys Thr Thr Pro Pro Ser Val Tyr Pro Leu Ala Pro Gly Ser Ala
 1 5 10 15
 Ala Gln Thr Asn Ser Met Val Thr Leu Gly Cys Leu Val Lys Gly Tyr
 20 25 30
 Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Thr Trp Asn Ser Gly Ser Leu Ser Ser
 35 40 45
 Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Asp Leu Tyr Thr Leu
 50 55 60
 Ser Ser Ser Val Thr Val Pro Ser Ser Thr Trp Pro Ser Glu Thr Val
 65 70 75 80
 Thr Cys Asn Val Ala His Pro Ala Ser Ser Thr Lys Val Asp Lys Lys
 85 90 95
 Ile Val Pro Arg Asp Cys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
 100 105 110
 Gln Val Gln Leu Lys Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Ala Pro Ser Gln
 115 120 125
 Ser Leu Ser Ile Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Ser Arg Tyr
 130 135 140
 Ala Met Thr Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
 145 150 155 160
 Gly Thr Ile Thr Thr Gly Gly Asn Thr Asn Tyr Ala Asn Trp Ala Lys
 165 170 175
 Gly Arg Phe Ser Ile Ser Lys Asp Ser Thr Gln Val Phe Leu Lys Met
 180 185 190
 Asn Ser Leu Gln Thr Asp Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly
 195 200 205
 Gly Tyr Val Ser Tyr Ala Asp Ala Thr Glu Leu Ser Leu Trp Gly Gln
 210 215 220
 Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys
 225 230 235 240

<210> 89

<211> 237

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

<223> mFabc-mdidAb, -dAbL2(CK-G4Sx2)

<400> 89

Thr Asp Ala Ala Pro Thr Val Ser Ile Phe Pro Pro Ser Ser Glu Gln
 1 5 10 15
 Leu Thr Ser Gly Gly Ala Ser Val Val Cys Phe Leu Asn Asn Phe Tyr
 20 25 30
 Pro Lys Asp Ile Asn Val Lys Trp Lys Ile Asp Gly Ser Glu Arg Gln
 35 40 45
 Asn Gly Val Leu Asn Ser Trp Thr Asp Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
 50 55 60
 Tyr Ser Met Ser Ser Thr Leu Thr Leu Thr Lys Asp Glu Tyr Glu Arg
 65 70 75 80
 His Asn Ser Tyr Thr Cys Glu Ala Thr His Lys Thr Ser Thr Ser Pro
 85 90 95
 Ile Val Lys Ser Phe Asn Arg Asn Glu Cys Gly Gly Gly Gly Ser Gly
 100 105 110
 Gly Gly Gly Ser Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser
 115 120 125
 Ala Ser Leu Gly Glu Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Ser
 130 135 140
 Ile Gly Ser Arg Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Thr Pro
 145 150 155 160
 Lys Leu Leu Ile Phe Tyr Ala Ser Thr Val Ala Ser Gly Val Pro Ser
 165 170 175
 Arg Phe Lys Gly Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Ser Leu Thr Ile Ser
 180 185 190
 Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Ser Tyr Asp
 195 200 205
 Tyr Ser Ser Ser Ser Ser Tyr Ala Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu
 210 215 220
 Ile Lys Arg Glu Gln Lys Leu Ile Ser Glu Glu Asp Leu
 225 230 235

<210> 90

<211> 13

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

<223> 646Fv CDRH3

<400> 90

Thr Val Pro Gly Tyr Ser Thr Ala Pro Tyr Phe Asp Leu
 1 5 10

Thr Asp Ala Ala Pro Thr Val Ser Ile Phe Pro Pro Ser Ser Glu Gln
 1 5 10 15
 Leu Thr Ser Gly Gly Ala Ser Val Val Cys Phe Leu Asn Asn Phe Tyr
 20 25 30
 Pro Lys Asp Ile Asn Val Lys Trp Lys Ile Asp Gly Ser Glu Arg Gln
 35 40 45
 Asn Gly Val Leu Asn Ser Trp Thr Asp Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
 50 55 60
 Tyr Ser Met Ser Ser Thr Leu Thr Leu Thr Lys Asp Glu Tyr Glu Arg
 65 70 75 80
 His Asn Ser Tyr Thr Cys Glu Ala Thr His Lys Thr Ser Thr Ser Pro
 85 90 95
 Ile Val Lys Ser Phe Asn Arg Asn Glu Cys Gly Gly Gly Gly Ser Gly
 100 105 110
 Gly Gly Gly Ser Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser
 115 120 125
 Ala Ser Leu Gly Glu Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Ser
 130 135 140
 Ile Gly Ser Arg Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Thr Pro
 145 150 155 160
 Lys Leu Leu Ile Phe Tyr Ala Ser Thr Val Ala Ser Gly Val Pro Ser
 165 170 175
 Arg Phe Lys Gly Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Ser Leu Thr Ile Ser
 180 185 190
 Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Ser Tyr Asp
 195 200 205
 Tyr Ser Ser Ser Ser Ser Tyr Ala Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu
 210 215 220
 Ile Lys Arg Glu Gln Lys Leu Ile Ser Glu Glu Asp Leu
 225 230 235

<210> 90

<211> 13

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

<223> 646Fv CDRH3

<400> 90

Thr Val Pro Gly Tyr Ser Thr Ala Pro Tyr Phe Asp Leu
 1 5 10

Thr Asp Ala Ala Pro Thr Val Ser Ile Phe Pro Pro Ser Ser Glu Gln
 1 5 10 15
 Leu Thr Ser Gly Gly Ala Ser Val Val Cys Phe Leu Asn Asn Phe Tyr
 20 25 30
 Pro Lys Asp Ile Asn Val Lys Trp Lys Ile Asp Gly Ser Glu Arg Gln
 35 40 45
 Asn Gly Val Leu Asn Ser Trp Thr Asp Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
 50 55 60
 Tyr Ser Met Ser Ser Thr Leu Thr Leu Thr Lys Asp Glu Tyr Glu Arg
 65 70 75 80
 His Asn Ser Tyr Thr Cys Glu Ala Thr His Lys Thr Ser Thr Ser Pro
 85 90 95
 Ile Val Lys Ser Phe Asn Arg Asn Glu Cys Gly Gly Gly Gly Ser Gly
 100 105 110
 Gly Gly Gly Ser Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser
 115 120 125
 Ala Ser Leu Gly Glu Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Ser
 130 135 140
 Ile Gly Ser Arg Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Thr Pro
 145 150 155 160
 Lys Leu Leu Ile Phe Tyr Ala Ser Thr Val Ala Ser Gly Val Pro Ser
 165 170 175
 Arg Phe Lys Gly Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Ser Leu Thr Ile Ser
 180 185 190
 Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Ser Tyr Asp
 195 200 205
 Tyr Ser Ser Ser Ser Ser Tyr Ala Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu
 210 215 220
 Ile Lys Arg Glu Gln Lys Leu Ile Ser Glu Glu Asp Leu
 225 230 235

<210> 90

<211> 13

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

<223> 646Fv CDRH3

<400> 90

Thr Val Pro Gly Tyr Ser Thr Ala Pro Tyr Phe Asp Leu
 1 5 10

<210> 91
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Yapay
 5 <220>
 <223> 646Fv CDRL1
 <400> 91
 Gln Ser Ser Pro Ser Val Trp Ser Asp Phe Leu Ser
 1 5 10
 <210> 92
 10 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Yapay
 <220>
 <223> 646Fv CDRL2
 15 <400> 92
 Gly Ala Ser Thr Leu Ala Ser
 1 5
 <210> 93
 <211> 11
 <212> PRT
 20 <213> Yapay
 <220>
 <223> 646Fv CDRL3
 <400> 93
 Gly Gly Gly Tyr Ser Ser Ile Ser Asp Thr Thr
 1 5 10
 25 <210> 94
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Yapay
 <220>
 30 <223> 647FV CDRH1

<210> 91
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Yapay
 5 <220>
 <223> 646Fv CDRL1
 <400> 91
 Gln Ser Ser Pro Ser Val Trp Ser Asp Phe Leu Ser
 1 5 10
 <210> 92
 10 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Yapay
 <220>
 <223> 646Fv CDRL2
 15 <400> 92
 Gly Ala Ser Thr Leu Ala Ser
 1 5
 <210> 93
 <211> 11
 <212> PRT
 20 <213> Yapay
 <220>
 <223> 646Fv CDRL3
 <400> 93
 Gly Gly Gly Tyr Ser Ser Ile Ser Asp Thr Thr
 1 5 10
 25 <210> 94
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Yapay
 <220>
 30 <223> 647FV CDRH1

<210> 91
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Yapay
 5 <220>
 <223> 646Fv CDRL1
 <400> 91
 Gln Ser Ser Pro Ser Val Trp Ser Asp Phe Leu Ser
 1 5 10
 <210> 92
 10 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Yapay
 <220>
 <223> 646Fv CDRL2
 15 <400> 92
 Gly Ala Ser Thr Leu Ala Ser
 1 5
 <210> 93
 <211> 11
 <212> PRT
 20 <213> Yapay
 <220>
 <223> 646Fv CDRL3
 <400> 93
 Gly Gly Gly Tyr Ser Ser Ile Ser Asp Thr Thr
 1 5 10
 25 <210> 94
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Yapay
 <220>
 30 <223> 647FV CDRH1

<400> 94

Gly Phe Thr Leu Ser Asn Asn Tyr Trp Met Cys
 1 5 10

<210> 95

<211> 17

5 <212> PRT

<213> Yapay

<220>

<223> 647FV CDRH2

<400> 95

Cys Ile Tyr Thr Gly Asp Gly Asp Thr Ala Tyr Thr Ser Trp Ala Lys
 1 5 10 15

10 **Gly**

<210> 96

<211> 12

<212> PRT

<213> Yapay

15 <220>

<223> 647Fv CDRH3

<400> 96

Ser Gly Gly Ser Tyr Tyr Asp Tyr Val Phe Ile Leu
 1 5 10

<210> 97

20 <211> 11

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

<223> 647Fv QASQSLGNRLA

25 <400> 97

Gln Ala Ser Gln Ser Leu Gly Asn Arg Leu Ala
 1 5 10

<210> 98

<211> 7

<400> 94

Gly Phe Thr Leu Ser Asn Asn Tyr Trp Met Cys
 1 5 10

<210> 95

<211> 17

5 <212> PRT

<213> Yapay

<220>

<223> 647FV CDRH2

<400> 95

Cys Ile Tyr Thr Gly Asp Gly Asp Thr Ala Tyr Thr Ser Trp Ala Lys
 1 5 10 15

10 **Gly**

<210> 96

<211> 12

<212> PRT

<213> Yapay

15 <220>

<223> 647Fv CDRH3

<400> 96

Ser Gly Gly Ser Tyr Tyr Asp Tyr Val Phe Ile Leu
 1 5 10

<210> 97

20 <211> 11

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

<223> 647Fv QASQSLGNRLA

25 <400> 97

Gln Ala Ser Gln Ser Leu Gly Asn Arg Leu Ala
 1 5 10

<210> 98

<211> 7

<400> 94

Gly Phe Thr Leu Ser Asn Asn Tyr Trp Met Cys
 1 5 10

<210> 95

<211> 17

5

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

<223> 647FV CDRH2

<400> 95

Cys Ile Tyr Thr Gly Asp Gly Asp Thr Ala Tyr Thr Ser Trp Ala Lys
 1 5 10 15

10

Gly

<210> 96

<211> 12

<212> PRT

<213> Yapay

15

<220>

<223> 647Fv CDRH3

<400> 96

Ser Gly Gly Ser Tyr Tyr Asp Tyr Val Phe Ile Leu
 1 5 10

<210> 97

20

<211> 11

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

<223> 647Fv QASQSLGNRLA

25

<400> 97

Gln Ala Ser Gln Ser Leu Gly Asn Arg Leu Ala
 1 5 10

<210> 98

<211> 7

<212> PRT
 <213> Yapay
 <220>
 <223> 647Fv CDRL2
 5 <400> 98
 Arg Ala Ser Thr Leu Ala Ser
 1 5
 <210> 99
 <211> 11
 <212> PRT
 10 <213> Yapay
 <220>
 <223> 647Fv CDRL3
 <400> 99
 Gln Cys Thr Tyr Ile Gly Ser Lys Met Gly Ala
 1 5 10
 15 <210> 100
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Yapay
 <220>
 20 <223> 649Fv CDRH1
 <400> 100
 Gly Phe Ser Phe Ser Gly Asn Tyr Trp Ile Cys
 1 5 10
 <210> 101
 <211> 17
 25 <212> PRT
 <213> Yapay
 <220>
 <223> 649Fv CDRH2
 <400> 101

<212> PRT
 <213> Yapay
 <220>
 <223> 647Fv CDRL2
 5 <400> 98
 Arg Ala Ser Thr Leu Ala Ser
 1 5
 <210> 99
 <211> 11
 <212> PRT
 10 <213> Yapay
 <220>
 <223> 647Fv CDRL3
 <400> 99
 Gln Cys Thr Tyr Ile Gly Ser Lys Met Gly Ala
 1 5 10
 15 <210> 100
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Yapay
 <220>
 20 <223> 649Fv CDRH1
 <400> 100
 Gly Phe Ser Phe Ser Gly Asn Tyr Trp Ile Cys
 1 5 10
 <210> 101
 <211> 17
 25 <212> PRT
 <213> Yapay
 <220>
 <223> 649Fv CDRH2
 <400> 101

<212> PRT
 <213> Yapay
 <220>
 <223> 647Fv CDRL2
 5 <400> 98
 Arg Ala Ser Thr Leu Ala Ser
 1 5
 <210> 99
 <211> 11
 <212> PRT
 10 <213> Yapay
 <220>
 <223> 647Fv CDRL3
 <400> 99
 Gln Cys Thr Tyr Ile Gly Ser Lys Met Gly Ala
 1 5 10
 15 <210> 100
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Yapay
 <220>
 20 <223> 649Fv CDRH1
 <400> 100
 Gly Phe Ser Phe Ser Gly Asn Tyr Trp Ile Cys
 1 5 10
 <210> 101
 <211> 17
 25 <212> PRT
 <213> Yapay
 <220>
 <223> 649Fv CDRH2
 <400> 101

Cys Ile Phe Thr Ala Asp Gly Asp Thr Ala Tyr Thr Ser Trp Ala Lys
 1 5 10 15

Gly

<210> 102

<211> 12

<212> PRT

5 <213> Yapay

<220>

<223> 649Fv CDRH3

<400> 102

Ser Gly Gly Ser Ala Phe Asp Tyr Val Phe Ile Leu
 1 5 10

10 <210> 103

<211> 11

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

15 <223> 649Fv CDRL1

<400> 103

Gln Ala Ser Gln Ser Ile Gly Asn Arg Leu Gly
 1 5 10

<210> 104

<211> 7

20 <212> PRT

<213> Yapay

<220>

<223> 649Fv CDRL2

<400> 104

25 Arg Ala Ser Thr Leu Glu Ser
 1 5

<210> 105

<211> 11

<212> PRT

Cys Ile Phe Thr Ala Asp Gly Asp Thr Ala Tyr Thr Ser Trp Ala Lys
 1 5 10 15

Gly

<210> 102

<211> 12

<212> PRT

5 <213> Yapay

<220>

<223> 649Fv CDRH3

<400> 102

Ser Gly Gly Ser Ala Phe Asp Tyr Val Phe Ile Leu
 1 5 10

10 <210> 103

<211> 11

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

15 <223> 649Fv CDRL1

<400> 103

Gln Ala Ser Gln Ser Ile Gly Asn Arg Leu Gly
 1 5 10

<210> 104

<211> 7

20 <212> PRT

<213> Yapay

<220>

<223> 649Fv CDRL2

<400> 104

25 Arg Ala Ser Thr Leu Glu Ser
 1 5

<210> 105

<211> 11

<212> PRT

Cys Ile Phe Thr Ala Asp Gly Asp Thr Ala Tyr Thr Ser Trp Ala Lys
 1 5 10 15

Gly

<210> 102

<211> 12

<212> PRT

5 <213> Yapay

<220>

<223> 649Fv CDRH3

<400> 102

Ser Gly Gly Ser Ala Phe Asp Tyr Val Phe Ile Leu
 1 5 10

10 <210> 103

<211> 11

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

15 <223> 649Fv CDRL1

<400> 103

Gln Ala Ser Gln Ser Ile Gly Asn Arg Leu Gly
 1 5 10

<210> 104

<211> 7

20 <212> PRT

<213> Yapay

<220>

<223> 649Fv CDRL2

<400> 104

25 Arg Ala Ser Thr Leu Glu Ser
 1 5

<210> 105

<211> 11

<212> PRT

<213> Yapay
 <220>
 <223> 649Fv CDRL3
 <400> 105
 5 Gln cys Thr Tyr Ile Gly Lys Leu Met Gly Ala
 1 5 10
 <210> 106
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Yapay
 10 <220>
 <223> 645AğırI50AFv CDRH1
 <400> 106
 Gly Ile Asp Leu Ser Asn Tyr Ala Ile Asn
 1 5 10
 15 <210> 107
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Yapay
 <220>
 <223> 645AğırI50AFv CDRH2
 20 <400> 107
 Ala Ile Trp Ala Ser Gly Thr Thr Phe Tyr Ala Thr Trp Ala Lys Gly
 1 5 10 15
 <210> 108
 <211> 13
 <212> PRT
 25 <213> Yapay
 <220>
 <223> 645AğırI50AFv CDRH3
 <400> 108
 Thr Val Pro Gly Tyr Ser Thr Ala Pro Tyr Phe Asp Leu
 1 5 10

<213> Yapay
 <220>
 <223> 649Fv CDRL3
 <400> 105
 5 Gln cys Thr Tyr Ile Gly Lys Leu Met Gly Ala
 1 5 10
 <210> 106
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Yapay
 10 <220>
 <223> 645AğırI50AFv CDRH1
 <400> 106
 Gly Ile Asp Leu Ser Asn Tyr Ala Ile Asn
 1 5 10
 <210> 107
 15 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Yapay
 <220>
 <223> 645AğırI50AFv CDRH2
 20 <400> 107
 Ala Ile Trp Ala Ser Gly Thr Thr Phe Tyr Ala Thr Trp Ala Lys Gly
 1 5 10 15
 <210> 108
 <211> 13
 <212> PRT
 25 <213> Yapay
 <220>
 <223> 645AğırI50AFv CDRH3
 <400> 108
 Thr Val Pro Gly Tyr Ser Thr Ala Pro Tyr Phe Asp Leu
 1 5 10

<213> Yapay
 <220>
 <223> 649Fv CDRL3
 <400> 105
 5 Gln cys Thr Tyr Ile Gly Lys Leu Met Gly Ala
 1 5 10
 <210> 106
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Yapay
 10 <220>
 <223> 645AğırI50AFv CDRH1
 <400> 106
 Gly Ile Asp Leu Ser Asn Tyr Ala Ile Asn
 1 5 10
 <210> 107
 15 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Yapay
 <220>
 <223> 645AğırI50AFv CDRH2
 20 <400> 107
 Ala Ile Trp Ala Ser Gly Thr Thr Phe Tyr Ala Thr Trp Ala Lys Gly
 1 5 10 15
 <210> 108
 <211> 13
 <212> PRT
 25 <213> Yapay
 <220>
 <223> 645AğırI50AFv CDRH3
 <400> 108
 Thr Val Pro Gly Tyr Ser Thr Ala Pro Tyr Phe Asp Leu
 1 5 10

<210> 109
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Yapay
 5 <220>
 <223> 645AğırI50AFv CDRL1
 <400> 109
 Gln Ser Ser Pro Ser Val Trp Ser Asn Phe Leu Ser
 1 5 10
 <210> 110
 10 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Yapay
 <220>
 <223> 645AğırI50AFv CDRL2
 15 <400> 110
 Glu Ala Ser Lys Leu Thr Ser
 1 5
 <210> 111
 <211> 11
 <212> PRT
 20 <213> Yapay
 <220>
 <223> 645AğırI50AFv CDRL3
 <400> 111
 Gly Gly Gly Tyr Ser Ser Ile Ser Asp Thr Thr
 1 5 10
 25 <210> 112
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Yapay
 <220>
 30 <223> 645AğırT56AFv CDRH1

<210> 109
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Yapay
 5 <220>
 <223> 645AğırI50AFv CDRL1
 <400> 109
 Gln Ser Ser Pro Ser Val Trp Ser Asn Phe Leu Ser
 1 5 10
 <210> 110
 10 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Yapay
 <220>
 <223> 645AğırI50AFv CDRL2
 15 <400> 110
 Glu Ala Ser Lys Leu Thr Ser
 1 5
 <210> 111
 <211> 11
 <212> PRT
 20 <213> Yapay
 <220>
 <223> 645AğırI50AFv CDRL3
 <400> 111
 Gly Gly Gly Tyr Ser Ser Ile Ser Asp Thr Thr
 1 5 10
 25 <210> 112
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Yapay
 <220>
 30 <223> 645AğırT56AFv CDRH1

<210> 109
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Yapay
 5 <220>
 <223> 645AğırI50AFv CDRL1
 <400> 109
 Gln Ser Ser Pro Ser Val Trp Ser Asn Phe Leu Ser
 1 5 10
 <210> 110
 10 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Yapay
 <220>
 <223> 645AğırI50AFv CDRL2
 15 <400> 110
 Glu Ala Ser Lys Leu Thr Ser
 1 5
 <210> 111
 <211> 11
 <212> PRT
 20 <213> Yapay
 <220>
 <223> 645AğırI50AFv CDRL3
 <400> 111
 Gly Gly Gly Tyr Ser Ser Ile Ser Asp Thr Thr
 1 5 10
 25 <210> 112
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Yapay
 <220>
 30 <223> 645AğırT56AFv CDRH1

<400> 112
 Gly Ile Asp Leu Ser Asn Tyr Ala Ile Asn
 1 5 10
 <210> 113
 <211> 16
 5 <212> PRT
 <213> Yapay
 <220>
 <223> 645AğırT56AFv CDRH2
 <400> 113
 10 **Ile Ile Trp Ala Ser Gly Ala Thr Phe Tyr Ala Thr Trp Ala Lys Gly**
 1 5 10 15
 <210> 114
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> Yapay
 15 <220>
 <223> 645AğırT56AFv CDRL2
 <400> 114
 Thr Val Pro Gly Tyr Ser Thr Ala Pro Tyr Phe Asp Leu
 1 5 10
 20 <210> 115
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Yapay
 <220>
 <223> 645AğırT56AFv CDRL1
 25 <400> 115
 Gln Ser Ser Pro Ser Val Trp Ser Asn Phe Leu Ser
 1 5 10
 <210> 116
 <211> 7
 <212> PRT
 30 <213> Yapay

<400> 112
 Gly Ile Asp Leu Ser Asn Tyr Ala Ile Asn
 1 5 10
 <210> 113
 <211> 16
 5 <212> PRT
 <213> Yapay
 <220>
 <223> 645AğırT56AFv CDRH2
 <400> 113
 10 **Ile Ile Trp Ala Ser Gly Ala Thr Phe Tyr Ala Thr Trp Ala Lys Gly**
 1 5 10 15
 <210> 114
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> Yapay
 15 <220>
 <223> 645AğırT56AFv CDRL2
 <400> 114
 Thr Val Pro Gly Tyr Ser Thr Ala Pro Tyr Phe Asp Leu
 1 5 10
 20 <210> 115
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Yapay
 <220>
 <223> 645AğırT56AFv CDRL1
 25 <400> 115
 Gln Ser Ser Pro Ser Val Trp Ser Asn Phe Leu Ser
 1 5 10
 <210> 116
 <211> 7
 <212> PRT
 30 <213> Yapay

<400> 112
 Gly Ile Asp Leu Ser Asn Tyr Ala Ile Asn
 1 5 10
 <210> 113
 <211> 16
 5 <212> PRT
 <213> Yapay
 <220>
 <223> 645AğırT56AFv CDRH2
 <400> 113
 10 **Ile Ile Trp Ala Ser Gly Ala Thr Phe Tyr Ala Thr Trp Ala Lys Gly**
 1 5 10 15
 <210> 114
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> Yapay
 15 <220>
 <223> 645AğırT56AFv CDRL2
 <400> 114
 Thr Val Pro Gly Tyr Ser Thr Ala Pro Tyr Phe Asp Leu
 1 5 10
 20 <210> 115
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Yapay
 <220>
 <223> 645AğırT56AFv CDRL1
 25 <400> 115
 Gln Ser Ser Pro Ser Val Trp Ser Asn Phe Leu Ser
 1 5 10
 <210> 116
 <211> 7
 <212> PRT
 30 <213> Yapay

<220>
 <223> 645AğırT56AFv CDRL2
 <400> 116
 Glu Ala Ser Lys Leu Thr Ser
 1 5
 5 <210> 117
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Yapay
 <220>
 10 <223> 645AğırT56AFv CDRL3
 <400> 117
 Gly Gly Gly Tyr Ser Ser Ile Ser Asp Thr Thr
 1 5 10
 <210> 118
 <211> 10
 15 <212> PRT
 <213> Yapay
 <220>
 <223> 645AğırT95AFv CDRH1
 <400> 118
 Gly Ile Asp Leu Ser Asn Tyr Ala Ile Asn
 1 5 10
 20 <210> 119
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Yapay
 25 <220>
 <223> 645AğırT95AFv CDRH2
 <400> 119
 Ile Ile Trp Ala Ser Gly Thr Thr Phe Tyr Ala Thr Trp Ala Lys Gly
 1 5 10 15
 <210> 120

<220>

<223> 645AğırT56AFv CDRL2

<400> 116

Glu Ala Ser Lys Leu Thr Ser
 1 5

5

<210> 117

<211> 11

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

10

<223> 645AğırT56AFv CDRL3

<400> 117

Gly Gly Gly Tyr Ser Ser Ile Ser Asp Thr Thr
 1 5 10

<210> 118

<211> 10

15

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

<223> 645AğırT95AFv CDRH1

<400> 118

20

Gly Ile Asp Leu Ser Asn Tyr Ala Ile Asn
 1 5 10

<210> 119

<211> 16

<212> PRT

<213> Yapay

25

<220>

<223> 645AğırT95AFv CDRH2

<400> 119

Ile Ile Trp Ala Ser Gly Thr Thr Phe Tyr Ala Thr Trp Ala Lys Gly
 1 5 10 15

<210> 120

<220>
 <223> 645AğırT56AFv CDRL2
 <400> 116
 Glu Ala Ser Lys Leu Thr Ser
 1 5
 5 <210> 117
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Yapay
 <220>
 10 <223> 645AğırT56AFv CDRL3
 <400> 117
 Gly Gly Gly Tyr Ser Ser Ile Ser Asp Thr Thr
 1 5 10
 <210> 118
 <211> 10
 15 <212> PRT
 <213> Yapay
 <220>
 <223> 645AğırT95AFv CDRH1
 <400> 118
 Gly Ile Asp Leu Ser Asn Tyr Ala Ile Asn
 1 5 10
 20 <210> 119
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Yapay
 25 <220>
 <223> 645AğırT95AFv CDRH2
 <400> 119
 Ile Ile Trp Ala Ser Gly Thr Thr Phe Tyr Ala Thr Trp Ala Lys Gly
 1 5 10 15
 <210> 120

<211> 13
 <212> PRT
 <213> Yapay
 <220>
 5 <223> 645AğırT95AFv CDRH3
 <400> 120
 Ala Val Pro Gly Tyr Ser Thr Ala Pro Tyr Phe Asp Leu
 1 5 10
 <210> 121
 <211> 12
 10 <212> PRT
 <213> Yapay
 <220>
 <223> 645AğırT95AFv CDRL1
 <400> 121
 15 Gln Ser Ser Pro Ser Val Trp Ser Asn Phe Leu Ser
 1 5 10
 <210> 122
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Yapay
 20 <220>
 <223> 645AğırT95AFv CDRL2
 <400> 122
 Glu Ala Ser Lys Leu Thr Ser
 1 5
 <210> 123
 25 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Yapay
 <220>
 <223> 645AğırT95AFv CDRL3
 30 <400> 123

<211> 13
 <212> PRT
 <213> Yapay
 <220>
 5 <223> 645AğırT95AFv CDRH3
 <400> 120
 Ala Val Pro Gly Tyr Ser Thr Ala Pro Tyr Phe Asp Leu
 1 5 10
 <210> 121
 <211> 12
 10 <212> PRT
 <213> Yapay
 <220>
 <223> 645AğırT95AFv CDRL1
 <400> 121
 15 Gln Ser Ser Pro Ser Val Trp Ser Asn Phe Leu Ser
 1 5 10
 <210> 122
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Yapay
 20 <220>
 <223> 645AğırT95AFv CDRL2
 <400> 122
 Glu Ala Ser Lys Leu Thr Ser
 1 5
 <210> 123
 25 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Yapay
 <220>
 <223> 645AğırT95AFv CDRL3
 30 <400> 123

<211> 13
 <212> PRT
 <213> Yapay
 <220>
 5 <223> 645AğırT95AFv CDRH3
 <400> 120
 Ala Val Pro Gly Tyr Ser Thr Ala Pro Tyr Phe Asp Leu
 1 5 10
 <210> 121
 <211> 12
 10 <212> PRT
 <213> Yapay
 <220>
 <223> 645AğırT95AFv CDRL1
 <400> 121
 15 Gln Ser Ser Pro Ser Val Trp Ser Asn Phe Leu Ser
 1 5 10
 <210> 122
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Yapay
 20 <220>
 <223> 645AğırT95AFv CDRL2
 <400> 122
 Glu Ala Ser Lys Leu Thr Ser
 1 5
 <210> 123
 25 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Yapay
 <220>
 <223> 645AğırT95AFv CDRL3
 30 <400> 123

Gly Gly Gly Tyr Ser Ser Ile Ser Asp Thr Thr
 1 5 10
 <210> 124
 <211> 10
 <212> PRT
 5 <213> Yapay
 <220>
 <223> 645Ağır96AFv CDRH1
 <400> 124
 Gly Ile Asp Leu Ser Asn Tyr Ala Ile Asn
 1 5 10
 10 <210> 125
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Yapay
 <220>
 15 <223> 645Ağır96AFv CDRH2
 <400> 125
 Ile Ile Trp Ala Ser Gly Thr Thr Phe Tyr Ala Thr Trp Ala Lys Gly
 1 5 10 15
 <210> 126
 <211> 13
 20 <212> PRT
 <213> Yapay
 <220>
 <223> 645Ağır96AFv CDRH3
 <400> 126
 Thr Ala Pro Gly Tyr Ser Thr Ala Pro Tyr Phe Asp Leu
 1 5 10
 25 <210> 127
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Yapay

Gly Gly Gly Tyr Ser Ser Ile Ser Asp Thr Thr
 1 5 10
 <210> 124
 <211> 10
 <212> PRT
 5 <213> Yapay
 <220>
 <223> 645Ağır96AFv CDRH1
 <400> 124
 Gly Ile Asp Leu Ser Asn Tyr Ala Ile Asn
 1 5 10
 10 <210> 125
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Yapay
 <220>
 15 <223> 645Ağır96AFv CDRH2
 <400> 125
 Ile Ile Trp Ala Ser Gly Thr Thr Phe Tyr Ala Thr Trp Ala Lys Gly
 1 5 10 15
 <210> 126
 <211> 13
 20 <212> PRT
 <213> Yapay
 <220>
 <223> 645Ağır96AFv CDRH3
 <400> 126
 Thr Ala Pro Gly Tyr Ser Thr Ala Pro Tyr Phe Asp Leu
 1 5 10
 25 <210> 127
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Yapay

Gly Gly Gly Tyr Ser Ser Ile Ser Asp Thr Thr
 1 5 10
 <210> 124
 <211> 10
 <212> PRT
 5 <213> Yapay
 <220>
 <223> 645Ağır96AFv CDRH1
 <400> 124
 Gly Ile Asp Leu Ser Asn Tyr Ala Ile Asn
 1 5 10
 10 <210> 125
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Yapay
 <220>
 15 <223> 645Ağır96AFv CDRH2
 <400> 125
 Ile Ile Trp Ala Ser Gly Thr Thr Phe Tyr Ala Thr Trp Ala Lys Gly
 1 5 10 15
 <210> 126
 <211> 13
 20 <212> PRT
 <213> Yapay
 <220>
 <223> 645Ağır96AFv CDRH3
 <400> 126
 Thr Ala Pro Gly Tyr Ser Thr Ala Pro Tyr Phe Asp Leu
 1 5 10
 25 <210> 127
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Yapay

<220>

<223> 645AğırV96AFv CDRL1

<400> 127

Gln Ser Ser Pro Ser Val Trp Ser Asn Phe Leu Ser
 1 5 10

5

<210> 128

<211> 7

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

10

<223> 645AğırV96AFv CDRL2

<400> 128

Glu Ala Ser Lys Leu Thr Ser
 1 5

<210> 129

<211> 11

15

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

<223> 645AğırV96AFv CDRL3

<400> 129

Gly Gly Gly Tyr Ser Ser Ile Ser Asp Thr Thr
 1 5 10

20

<210> 130

<211> 10

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

25

<223> 645AğırP97AFv CDRH1

<400> 130

Gly Ile Asp Leu Ser Asn Tyr Ala Ile Asn
 1 5 10

<210> 131

<220>

<223> 645AğırV96AFv CDRL1

<400> 127

Gln Ser Ser Pro Ser Val Trp Ser Asn Phe Leu Ser
 1 5 10

5

<210> 128

<211> 7

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

10

<223> 645AğırV96AFv CDRL2

<400> 128

Glu Ala Ser Lys Leu Thr Ser
 1 5

<210> 129

<211> 11

15

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

<223> 645AğırV96AFv CDRL3

<400> 129

Gly Gly Gly Tyr Ser Ser Ile Ser Asp Thr Thr
 1 5 10

20

<210> 130

<211> 10

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

25

<223> 645AğırP97AFv CDRH1

<400> 130

Gly Ile Asp Leu Ser Asn Tyr Ala Ile Asn
 1 5 10

<210> 131

<220>

<223> 645AğırV96AFv CDRL1

<400> 127

Gln Ser Ser Pro Ser Val Trp Ser Asn Phe Leu Ser
 1 5 10

5

<210> 128

<211> 7

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

10

<223> 645AğırV96AFv CDRL2

<400> 128

Glu Ala Ser Lys Leu Thr Ser
 1 5

<210> 129

<211> 11

15

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

<223> 645AğırV96AFv CDRL3

<400> 129

Gly Gly Gly Tyr Ser Ser Ile Ser Asp Thr Thr
 1 5 10

20

<210> 130

<211> 10

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

25

<223> 645AğırP97AFv CDRH1

<400> 130

Gly Ile Asp Leu Ser Asn Tyr Ala Ile Asn
 1 5 10

<210> 131

<211> 16
 <212> PRT
 <213> Yapay
 <220>
 5 <223> 645AğırP97AFv CDRH2
 <400> 131
 ile ile Trp Ala Ser Gly Thr Thr Phe Tyr Ala Thr Trp Ala Lys Gly
 1 5 10 15
 <210> 132
 <211> 13
 10 <212> PRT
 <213> Yapay
 <220>
 <223> 645AğırP97AFv CDRH3
 <400> 132
 Thr val Ala Gly Tyr Ser Thr Ala Pro Tyr Phe Asp Leu
 1 5 10
 15 <210> 133
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Yapay
 20 <220>
 <223> 645AğırP97AFv CDRL1
 <400> 133
 Gln Ser Ser Pro Ser Val Trp Ser Asn Phe Leu Ser
 1 5 10
 25 <210> 134
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Yapay
 <220>
 <223> 645AğırP97AFv CDRL2
 30 <400> 134

<211> 16
 <212> PRT
 <213> Yapay
 <220>
 5 <223> 645AğırP97AFv CDRH2
 <400> 131
 ile ile Trp Ala Ser Gly Thr Thr Phe Tyr Ala Thr Trp Ala Lys Gly
 1 5 10 15
 <210> 132
 <211> 13
 10 <212> PRT
 <213> Yapay
 <220>
 <223> 645AğırP97AFv CDRH3
 <400> 132
 Thr val Ala Gly Tyr Ser Thr Ala Pro Tyr Phe Asp Leu
 1 5 10
 15 <210> 133
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Yapay
 20 <220>
 <223> 645AğırP97AFv CDRL1
 <400> 133
 Gln Ser Ser Pro Ser Val Trp Ser Asn Phe Leu Ser
 1 5 10
 25 <210> 134
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Yapay
 <220>
 <223> 645AğırP97AFv CDRL2
 30 <400> 134

<211> 16
 <212> PRT
 <213> Yapay
 <220>
 5 <223> 645AğırP97AFv CDRH2
 <400> 131
 ile ile Trp Ala Ser Gly Thr Thr Phe Tyr Ala Thr Trp Ala Lys Gly
 1 5 10 15
 <210> 132
 <211> 13
 10 <212> PRT
 <213> Yapay
 <220>
 <223> 645AğırP97AFv CDRH3
 <400> 132
 Thr val Ala Gly Tyr Ser Thr Ala Pro Tyr Phe Asp Leu
 1 5 10
 15 <210> 133
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Yapay
 20 <220>
 <223> 645AğırP97AFv CDRL1
 <400> 133
 Gln Ser Ser Pro Ser Val Trp Ser Asn Phe Leu Ser
 1 5 10
 25 <210> 134
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Yapay
 <220>
 <223> 645AğırP97AFv CDRL2
 30 <400> 134

Glu Ala Ser Lys Leu Thr Ser
 1 5

<210> 135
 <211> 11
 <212> PRT
 5 <213> Yapay
 <220>
 <223> 645AğırP97AFv CDRL3
 <400> 135

Gly Gly Gly Tyr Ser Ser Ile Ser Asp Thr Thr
 1 5 10

10 <210> 136
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Yapay
 <220>
 15 <223> 645AğırG98AFv CDRH1
 <400> 136

Gly Ile Asp Leu Ser Asn Tyr Ala Ile Asn
 1 5 10

20 <210> 137
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Yapay
 <220>
 <223> 645AğırG98AFv CDRH2
 <400> 137

25 Ile Ile Trp Ala Ser Gly Thr Thr Phe Tyr Ala Thr Trp Ala Lys Gly
 1 5 10 15

<210> 138
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> Yapay

Glu Ala Ser Lys Leu Thr Ser
 1 5
 <210> 135
 <211> 11
 <212> PRT
 5 <213> Yapay
 <220>
 <223> 645AğırP97AFv CDRL3
 <400> 135
 Gly Gly Gly Tyr Ser Ser Ile Ser Asp Thr Thr
 1 5 10
 10 <210> 136
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Yapay
 <220>
 15 <223> 645AğırG98AFv CDRH1
 <400> 136
 Gly Ile Asp Leu Ser Asn Tyr Ala Ile Asn
 1 5 10
 20 <210> 137
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Yapay
 <220>
 <223> 645AğırG98AFv CDRH2
 <400> 137
 25 Ile Ile Trp Ala Ser Gly Thr Thr Phe Tyr Ala Thr Trp Ala Lys Gly
 1 5 10 15
 <210> 138
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> Yapay

Glu Ala Ser Lys Leu Thr Ser
 1 5
 <210> 135
 <211> 11
 <212> PRT
 5 <213> Yapay
 <220>
 <223> 645AğırP97AFv CDRL3
 <400> 135
 Gly Gly Gly Tyr Ser Ser Ile Ser Asp Thr Thr
 1 5 10
 10 <210> 136
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Yapay
 <220>
 15 <223> 645AğırG98AFv CDRH1
 <400> 136
 Gly Ile Asp Leu Ser Asn Tyr Ala Ile Asn
 1 5 10
 20 <210> 137
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Yapay
 <220>
 <223> 645AğırG98AFv CDRH2
 <400> 137
 25 Ile Ile Trp Ala Ser Gly Thr Thr Phe Tyr Ala Thr Trp Ala Lys Gly
 1 5 10 15
 <210> 138
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> Yapay

<220>

<223> 645AğırG98AFv CDRH3

<400> 138

Thr val Pro Ala Tyr Ser Thr Ala Pro Tyr Phe Asp Leu
 1 5 10

5

<210> 139

<211> 12

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

10

<223> 645AğırG98AFv CDRL1

<400> 139

Gln Ser Ser Pro Ser val Trp Ser Asn Phe Leu Ser
 1 5 10

<210> 140

<211> 7

15

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

<223> 645AğırG98AFv CDRL2

<400> 140

Glu Ala Ser Lys Leu Thr Ser
 1 5

20

<210> 141

<211> 11

<212> PRT

<213> Yapay

25

<220>

<223> 645AğırG98AFv CDRL3

<400> 141

Gly Gly Gly Tyr Ser Ser Ile Ser Asp Thr Thr
 1 5 10

<210> 142

<220>

<223> 645AğırG98AFv CDRH3

<400> 138

Thr val Pro Ala Tyr Ser Thr Ala Pro Tyr Phe Asp Leu
 1 5 10

5

<210> 139

<211> 12

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

10

<223> 645AğırG98AFv CDRL1

<400> 139

Gln Ser Ser Pro Ser val Trp Ser Asn Phe Leu Ser
 1 5 10

<210> 140

<211> 7

15

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

<223> 645AğırG98AFv CDRL2

<400> 140

Glu Ala Ser Lys Leu Thr Ser
 1 5

20

<210> 141

<211> 11

<212> PRT

<213> Yapay

25

<220>

<223> 645AğırG98AFv CDRL3

<400> 141

Gly Gly Gly Tyr Ser Ser Ile Ser Asp Thr Thr
 1 5 10

<210> 142

<220>

<223> 645AğırG98AFv CDRH3

<400> 138

Thr val Pro Ala Tyr Ser Thr Ala Pro Tyr Phe Asp Leu
 1 5 10

5

<210> 139

<211> 12

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

10

<223> 645AğırG98AFv CDRL1

<400> 139

Gln Ser Ser Pro Ser val Trp Ser Asn Phe Leu Ser
 1 5 10

<210> 140

<211> 7

15

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

<223> 645AğırG98AFv CDRL2

<400> 140

Glu Ala Ser Lys Leu Thr Ser
 1 5

20

<210> 141

<211> 11

<212> PRT

<213> Yapay

25

<220>

<223> 645AğırG98AFv CDRL3

<400> 141

Gly Gly Gly Tyr Ser Ser Ile Ser Asp Thr Thr
 1 5 10

<210> 142

<211> 10
 <212> PRT
 <213> Yapay
 <220>
 5 <223> 645AğırY99AFv CDRH1
 <400> 142
 Gly Ile Asp Leu Ser Asn Tyr Ala Ile Asn
 1 5 10
 <210> 143
 <211> 16
 10 <212> PRT
 <213> Yapay
 <220>
 <223> 645AğırY99AFv CDRH2
 <400> 143
 15 **Ile Ile Trp Ala Ser Gly Thr Thr Phe Tyr Ala Thr Trp Ala Lys Gly**
1 5 10 15
 <210> 144
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> Yapay
 20 <220>
 <223> 645AğırY99AFv CDRH3
 <400> 144
 Thr Val Pro Gly Ala Ser Thr Ala Pro Tyr Phe Asp Leu
 1 5 10
 <210> 145
 25 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Yapay
 <220>
 <223> 645AğırY99AFv CDRL1
 30 <400> 145

<211> 10
 <212> PRT
 <213> Yapay
 <220>
 5 <223> 645AğırY99AFv CDRH1
 <400> 142
 Gly Ile Asp Leu Ser Asn Tyr Ala Ile Asn
 1 5 10
 <210> 143
 <211> 16
 10 <212> PRT
 <213> Yapay
 <220>
 <223> 645AğırY99AFv CDRH2
 <400> 143
 15 **Ile Ile Trp Ala Ser Gly Thr Thr Phe Tyr Ala Thr Trp Ala Lys Gly**
1 5 10 15
 <210> 144
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> Yapay
 20 <220>
 <223> 645AğırY99AFv CDRH3
 <400> 144
 Thr Val Pro Gly Ala Ser Thr Ala Pro Tyr Phe Asp Leu
 1 5 10
 <210> 145
 25 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Yapay
 <220>
 <223> 645AğırY99AFv CDRL1
 30 <400> 145

<211> 10
 <212> PRT
 <213> Yapay
 <220>
 5 <223> 645AğırY99AFv CDRH1
 <400> 142
 Gly Ile Asp Leu Ser Asn Tyr Ala Ile Asn
 1 5 10
 <210> 143
 <211> 16
 10 <212> PRT
 <213> Yapay
 <220>
 <223> 645AğırY99AFv CDRH2
 <400> 143
 15 **Ile Ile Trp Ala Ser Gly Thr Thr Phe Tyr Ala Thr Trp Ala Lys Gly**
1 5 10 15
 <210> 144
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> Yapay
 20 <220>
 <223> 645AğırY99AFv CDRH3
 <400> 144
 Thr Val Pro Gly Ala Ser Thr Ala Pro Tyr Phe Asp Leu
 1 5 10
 <210> 145
 25 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Yapay
 <220>
 <223> 645AğırY99AFv CDRL1
 30 <400> 145

Gln Ser Ser Pro Ser Val Trp Ser Asn Phe Leu Ser
 1 5 10
 <210> 146
 <211> 7
 <212> PRT
 5 <213> Yapay
 <220>
 <223> 645AğırY99AFv CDRL2
 <400> 146
 Glu Ala Ser Lys Leu Thr Ser
 1 5
 10 <210> 147
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Yapay
 <220>
 15 <223> 645AğırY99AFv CDRL3
 <400> 147
 Gly Gly Gly Tyr Ser Ser Ile Ser Asp Thr Thr
 1 5 10
 <210> 148
 <211> 10
 20 <212> PRT
 <213> Yapay
 <220>
 <223> 645AğırS100AFv CDRH1
 <400> 148
 25 Gly Ile Asp Leu Ser Asn Tyr Ala Ile Asn
 1 5 10
 <210> 149
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Yapay

Gln Ser Ser Pro Ser Val Trp Ser Asn Phe Leu Ser
 1 5 10
 <210> 146
 <211> 7
 <212> PRT
 5 <213> Yapay
 <220>
 <223> 645AğırY99AFv CDRL2
 <400> 146
 Glu Ala Ser Lys Leu Thr Ser
 1 5
 10 <210> 147
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Yapay
 <220>
 15 <223> 645AğırY99AFv CDRL3
 <400> 147
 Gly Gly Gly Tyr Ser Ser Ile Ser Asp Thr Thr
 1 5 10
 <210> 148
 <211> 10
 20 <212> PRT
 <213> Yapay
 <220>
 <223> 645AğırS100AFv CDRH1
 <400> 148
 25 Gly Ile Asp Leu Ser Asn Tyr Ala Ile Asn
 1 5 10
 <210> 149
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Yapay

Gln Ser Ser Pro Ser Val Trp Ser Asn Phe Leu Ser
 1 5 10
 <210> 146
 <211> 7
 <212> PRT
 5 <213> Yapay
 <220>
 <223> 645AğırY99AFv CDRL2
 <400> 146
 Glu Ala Ser Lys Leu Thr Ser
 1 5
 10 <210> 147
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Yapay
 <220>
 15 <223> 645AğırY99AFv CDRL3
 <400> 147
 Gly Gly Gly Tyr Ser Ser Ile Ser Asp Thr Thr
 1 5 10
 <210> 148
 <211> 10
 20 <212> PRT
 <213> Yapay
 <220>
 <223> 645AğırS100AFv CDRH1
 <400> 148
 25 Gly Ile Asp Leu Ser Asn Tyr Ala Ile Asn
 1 5 10
 <210> 149
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Yapay

<220>

<223> 645AğırS100AFv CDRH2

<400> 149

Ile Ile Trp Ala Ser Gly Thr Thr Phe Tyr Ala Thr Trp Ala Lys Gly
 1 5 10 15

5 <210> 150

<211> 13

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

10 <223> 645AğırS100AFv CDRH3

<400> 150

Thr Val Pro Gly Tyr Ala Thr Ala Pro Tyr Phe Asp Leu
 1 5 10

<210> 151

<211> 12

15 <212> PRT

<213> Yapay

<220>

<223> 645AğırS100AFv CDRL1

<400> 151

Gln Ser Ser Pro Ser Val Trp Ser Asn Phe Leu Ser
 1 5 10

<210> 152

<211> 7

<212> PRT

<213> Yapay

25 <220>

<223> 645AğırS100AFv CDRL2

<400> 152

Glu Ala Ser Lys Leu Thr Ser
 1 5

<210> 153

<220>

<223> 645AğırS100AFv CDRH2

<400> 149

Ile Ile Trp Ala Ser Gly Thr Thr Phe Tyr Ala Thr Trp Ala Lys Gly
 1 5 10 15

5 <210> 150

<211> 13

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

10 <223> 645AğırS100AFv CDRH3

<400> 150

Thr Val Pro Gly Tyr Ala Thr Ala Pro Tyr Phe Asp Leu
 1 5 10

<210> 151

<211> 12

15 <212> PRT

<213> Yapay

<220>

<223> 645AğırS100AFv CDRL1

<400> 151

Gln Ser Ser Pro Ser Val Trp Ser Asn Phe Leu Ser
 1 5 10

<210> 152

<211> 7

<212> PRT

<213> Yapay

25 <220>

<223> 645AğırS100AFv CDRL2

<400> 152

Glu Ala Ser Lys Leu Thr Ser
 1 5

<210> 153

<220>

<223> 645AğırS100AFv CDRH2

<400> 149

Ile Ile Trp Ala Ser Gly Thr Thr Phe Tyr Ala Thr Trp Ala Lys Gly
 1 5 10 15

5 <210> 150

<211> 13

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

10 <223> 645AğırS100AFv CDRH3

<400> 150

Thr Val Pro Gly Tyr Ala Thr Ala Pro Tyr Phe Asp Leu
 1 5 10

<210> 151

<211> 12

15 <212> PRT

<213> Yapay

<220>

<223> 645AğırS100AFv CDRL1

<400> 151

Gln Ser Ser Pro Ser Val Trp Ser Asn Phe Leu Ser
 1 5 10

<210> 152

<211> 7

<212> PRT

<213> Yapay

25 <220>

<223> 645AğırS100AFv CDRL2

<400> 152

Glu Ala Ser Lys Leu Thr Ser
 1 5

<210> 153

<211> 11
 <212> PRT
 <213> Yapay
 <220>
 5 <223> 645AğırS100AFv CDRL3
 <400> 153
 Gly Gly Gly Tyr Ser Ser Ile Ser Asp Thr Thr
 1 5 10
 <210> 154
 <211> 10
 10 <212> PRT
 <213> Yapay
 <220>
 <223> 645AğırT100aAFv CDRH1
 <400> 154
 15 Gly Ile Asp Leu Ser Asn Tyr Ala Ile Asn
 1 5 10
 <210> 155
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Yapay
 20 <220>
 <223> 645AğırT100aAFv CDRH2
 <400> 155
 Ile Ile Trp Ala Ser Gly Thr Thr Phe Tyr Ala Thr Trp Ala Lys Gly
 1 5 10 15
 <210> 156
 25 <211> 13
 <212> PRT
 <213> Yapay
 <220>
 <223> 645AğırT100aAFv CDRH3
 30 <400> 156

<211> 11
 <212> PRT
 <213> Yapay
 <220>
 5 <223> 645AğırS100AFv CDRL3
 <400> 153
 Gly Gly Gly Tyr Ser Ser Ile Ser Asp Thr Thr
 1 5 10
 <210> 154
 <211> 10
 10 <212> PRT
 <213> Yapay
 <220>
 <223> 645AğırT100aAFv CDRH1
 <400> 154
 15 Gly Ile Asp Leu Ser Asn Tyr Ala Ile Asn
 1 5 10
 <210> 155
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Yapay
 20 <220>
 <223> 645AğırT100aAFv CDRH2
 <400> 155
 Ile Ile Trp Ala Ser Gly Thr Thr Phe Tyr Ala Thr Trp Ala Lys Gly
 1 5 10 15
 <210> 156
 25 <211> 13
 <212> PRT
 <213> Yapay
 <220>
 <223> 645AğırT100aAFv CDRH3
 30 <400> 156

<211> 11
 <212> PRT
 <213> Yapay
 <220>
 5 <223> 645AğırS100AFv CDRL3
 <400> 153
 Gly Gly Gly Tyr Ser Ser Ile Ser Asp Thr Thr
 1 5 10
 <210> 154
 <211> 10
 10 <212> PRT
 <213> Yapay
 <220>
 <223> 645AğırT100aAFv CDRH1
 <400> 154
 15 Gly Ile Asp Leu Ser Asn Tyr Ala Ile Asn
 1 5 10
 <210> 155
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Yapay
 20 <220>
 <223> 645AğırT100aAFv CDRH2
 <400> 155
 Ile Ile Trp Ala Ser Gly Thr Thr Phe Tyr Ala Thr Trp Ala Lys Gly
 1 5 10 15
 <210> 156
 25 <211> 13
 <212> PRT
 <213> Yapay
 <220>
 <223> 645AğırT100aAFv CDRH3
 30 <400> 156

Thr Val Pro Gly Tyr Ser Ala Ala Pro Tyr Phe Asp Leu
 1 5 10

5 <210> 157
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Yapay
 <220>
 <223> 645AğırT100aAFv CDRL1
 <400> 157

Gln Ser Ser Pro Ser Val Trp Ser Asn Phe Leu Ser
 1 5 10

10 <210> 158
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Yapay
 <220>

15 <223> 645AğırT100aAFv CDRL2
 <400> 158

Glu Ala Ser Lys Leu Thr Ser
 1 5

20 <210> 159
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Yapay
 <220>

25 <223> 645AğırT100aAFv CDRL3
 <400> 159

Gly Gly Gly Tyr Ser Ser Ile Ser Asp Thr Thr
 1 5 10

<210> 160
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Yapay

Thr Val Pro Gly Tyr Ser Ala Ala Pro Tyr Phe Asp Leu
 1 5 10

5 <210> 157
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Yapay
 <220>
 <223> 645AğırT100aAFv CDRL1
 <400> 157

Gln Ser Ser Pro Ser Val Trp Ser Asn Phe Leu Ser
 1 5 10

10 <210> 158
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Yapay
 <220>

15 <223> 645AğırT100aAFv CDRL2
 <400> 158

Glu Ala Ser Lys Leu Thr Ser
 1 5

20 <210> 159
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Yapay
 <220>

25 <223> 645AğırT100aAFv CDRL3
 <400> 159

Gly Gly Gly Tyr Ser Ser Ile Ser Asp Thr Thr
 1 5 10

<210> 160
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Yapay

Thr Val Pro Gly Tyr Ser Ala Ala Pro Tyr Phe Asp Leu
 1 5 10

5 <210> 157
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Yapay
 <220>
 <223> 645AğırT100aAFv CDRL1
 <400> 157

Gln Ser Ser Pro Ser Val Trp Ser Asn Phe Leu Ser
 1 5 10

10 <210> 158
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Yapay
 <220>

15 <223> 645AğırT100aAFv CDRL2
 <400> 158

Glu Ala Ser Lys Leu Thr Ser
 1 5

20 <210> 159
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Yapay
 <220>

25 <223> 645AğırT100aAFv CDRL3
 <400> 159

Gly Gly Gly Tyr Ser Ser Ile Ser Asp Thr Thr
 1 5 10

<210> 160
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Yapay

<220>

<223> 645AğırP100cAFv CDRH1

<400> 160

Gly Ile Asp Leu Ser Asn Tyr Ala Ile Asn
 1 5 10

5

<210> 161

<211> 16

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

10

<223> 645AğırP100cAFv CDRH2

<400> 161

Ile Ile Trp Ala Ser Gly Thr Thr Phe Tyr Ala Thr Trp Ala Lys Gly
 1 5 10 15

<210> 162

<211> 13

15

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

<223> 645AğırP100cAFv CDRH3

<400> 162

20

Thr Val Pro Gly Tyr Ser Thr Ala Ala Tyr Phe Asp Leu
 1 5 10

<210> 163

<211> 12

<212> PRT

<213> Yapay

25

<220>

<223> 645AğırP100cAFv CDRL1

<400> 163

Gln Ser Ser Pro Ser Val Trp Ser Asn Phe Leu Ser
 1 5 10

<220>
 <223> 645AğırP100cAFv CDRH1
 <400> 160
 Gly Ile Asp Leu Ser Asn Tyr Ala Ile Asn
 1 5 10
 5 <210> 161
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Yapay
 <220>
 10 <223> 645AğırP100cAFv CDRH2
 <400> 161
 Ile Ile Trp Ala Ser Gly Thr Thr Phe Tyr Ala Thr Trp Ala Lys Gly
 1 5 10 15
 . . .
 <210> 162
 <211> 13
 15 <212> PRT
 <213> Yapay
 <220>
 <223> 645AğırP100cAFv CDRH3
 <400> 162
 Thr Val Pro Gly Tyr Ser Thr Ala Ala Tyr Phe Asp Leu
 1 5 10
 20 <210> 163
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Yapay
 25 <220>
 <223> 645AğırP100cAFv CDRL1
 <400> 163
 Gln Ser Ser Pro Ser Val Trp Ser Asn Phe Leu Ser
 1 5 10

<220>
 <223> 645AğırP100cAFv CDRH1
 <400> 160
 Gly Ile Asp Leu Ser Asn Tyr Ala Ile Asn
 1 5 10
 5 <210> 161
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Yapay
 <220>
 10 <223> 645AğırP100cAFv CDRH2
 <400> 161
 Ile Ile Trp Ala Ser Gly Thr Thr Phe Tyr Ala Thr Trp Ala Lys Gly
 1 5 10 15
 . . .
 <210> 162
 <211> 13
 15 <212> PRT
 <213> Yapay
 <220>
 <223> 645AğırP100cAFv CDRH3
 <400> 162
 Thr Val Pro Gly Tyr Ser Thr Ala Ala Tyr Phe Asp Leu
 1 5 10
 20 <210> 163
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Yapay
 25 <220>
 <223> 645AğırP100cAFv CDRL1
 <400> 163
 Gln Ser Ser Pro Ser Val Trp Ser Asn Phe Leu Ser
 1 5 10

<210> 164
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Yapay
 5 <220>
 <223> 645AğırP100cAFv CDRL2
 <400> 164
 Glu Ala Ser Lys Leu Thr Ser
 1 5
 <210> 165
 10 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Yapay
 <220>
 <223> 645AğırP100cAFv CDRL3
 15 <400> 165
 Gly Gly Gly Tyr Ser Ser Ile Ser Asp Thr Thr
 1 5 10
 <210> 166
 <211> 10
 <212> PRT
 20 <213> Yapay
 <220>
 <223> 645AğırI50A+T95AFv CDRH1
 <400> 166
 Gly Ile Asp Leu Ser Asn Tyr Ala Ile Asn
 1 5 10
 25 <210> 167
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Yapay
 <220>
 30 <223> 645AğırI50A+T95AFv CDRH2

<210> 164
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Yapay
 5 <220>
 <223> 645AğırP100cAFv CDRL2
 <400> 164
 Glu Ala Ser Lys Leu Thr Ser
 1 5
 <210> 165
 10 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Yapay
 <220>
 <223> 645AğırP100cAFv CDRL3
 15 <400> 165
 Gly Gly Gly Tyr Ser Ser Ile Ser Asp Thr Thr
 1 5 10
 <210> 166
 <211> 10
 <212> PRT
 20 <213> Yapay
 <220>
 <223> 645AğırI50A+T95AFv CDRH1
 <400> 166
 Gly Ile Asp Leu Ser Asn Tyr Ala Ile Asn
 1 5 10
 25 <210> 167
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Yapay
 <220>
 30 <223> 645AğırI50A+T95AFv CDRH2

<210> 164
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Yapay
 5 <220>
 <223> 645AğırP100cAFv CDRL2
 <400> 164
 Glu Ala Ser Lys Leu Thr Ser
 1 5
 <210> 165
 10 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Yapay
 <220>
 <223> 645AğırP100cAFv CDRL3
 15 <400> 165
 Gly Gly Gly Tyr Ser Ser Ile Ser Asp Thr Thr
 1 5 10
 <210> 166
 <211> 10
 <212> PRT
 20 <213> Yapay
 <220>
 <223> 645AğırI50A+T95AFv CDRH1
 <400> 166
 Gly Ile Asp Leu Ser Asn Tyr Ala Ile Asn
 1 5 10
 25 <210> 167
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Yapay
 <220>
 30 <223> 645AğırI50A+T95AFv CDRH2

<400> 167

Ala Ile Trp Ala Ser Gly Thr Thr Phe Tyr Ala Thr Trp Ala Lys Gly
1 5 10 15

<210> 168

<211> 13

5 <212> PRT

<213> Yapay

<220>

<223> 645AğırI50A+T95AFv CDRH3

<400> 168

10 Ala Val Pro Gly Tyr Ser Thr Ala Pro Tyr Phe Asp Leu
1 5 10

<210> 169

<211> 12

<212> PRT

<213> Yapay

15 <220>

<223> 645AğırI50A+T95AFv CDRL1

<400> 169

Gln Ser Ser Pro Ser Val Trp Ser Asn Phe Leu Ser
1 5 10

<210> 170

20 <211> 7

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

<223> 645AğırI50A+T95AFv CDRL2

25 <400> 170

Glu Ala Ser Lys Leu Thr Ser
1 5

<210> 171

<211> 11

<212> PRT

30 <213> Yapay

<400> 167

Ala Ile Trp Ala Ser Gly Thr Thr Phe Tyr Ala Thr Trp Ala Lys Gly
1 5 10 15

<210> 168

<211> 13

5 <212> PRT

<213> Yapay

<220>

<223> 645AğırI50A+T95AFv CDRH3

<400> 168

10 Ala Val Pro Gly Tyr Ser Thr Ala Pro Tyr Phe Asp Leu
1 5 10

<210> 169

<211> 12

<212> PRT

<213> Yapay

15 <220>

<223> 645AğırI50A+T95AFv CDRL1

<400> 169

Gln Ser Ser Pro Ser Val Trp Ser Asn Phe Leu Ser
1 5 10

<210> 170

20 <211> 7

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

<223> 645AğırI50A+T95AFv CDRL2

25 <400> 170

Glu Ala Ser Lys Leu Thr Ser
1 5

<210> 171

<211> 11

<212> PRT

30 <213> Yapay

<400> 167

Ala Ile Trp Ala Ser Gly Thr Thr Phe Tyr Ala Thr Trp Ala Lys Gly
1 5 10 15

<210> 168

<211> 13

5 <212> PRT

<213> Yapay

<220>

<223> 645AğırI50A+T95AFv CDRH3

<400> 168

10 Ala Val Pro Gly Tyr Ser Thr Ala Pro Tyr Phe Asp Leu
1 5 10

<210> 169

<211> 12

<212> PRT

<213> Yapay

15 <220>

<223> 645AğırI50A+T95AFv CDRL1

<400> 169

Gln Ser Ser Pro Ser Val Trp Ser Asn Phe Leu Ser
1 5 10

<210> 170

20 <211> 7

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

<223> 645AğırI50A+T95AFv CDRL2

25 <400> 170

Glu Ala Ser Lys Leu Thr Ser
1 5

<210> 171

<211> 11

<212> PRT

30 <213> Yapay

<220>

<223> 645AğırI50A+T95AFv CDRL3

<400> 171

Gly Gly Gly Tyr Ser Ser Ile Ser Asp Thr Thr
 1 5 10

5

<210> 172

<211> 10

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

10

<223> 645AğırI50A+G98AFv CDRH1

<400> 172

Gly Ile Asp Leu Ser Asn Tyr Ala Ile Asn
 1 5 10

<210> 173

<211> 16

15

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

<223> 645AğırI50A+G98AFv CDRH2

<400> 173

20

Ala Ile Trp Ala Ser Gly Thr Thr Phe Tyr Ala Thr Trp Ala Lys Gly
 1 5 10 15

<210> 174

<211> 13

<212> PRT

<213> Yapay

25

<220>

<223> 645AğırI50A+G98AFv CDRH3

<400> 174

Thr Val Pro Ala Tyr Ser Thr Ala Pro Tyr Phe Asp Leu
 1 5 10

<210> 175

<220>

<223> 645AğırI50A+T95AFv CDRL3

<400> 171

Gly Gly Gly Tyr Ser Ser Ile Ser Asp Thr Thr
1 5 10

5

<210> 172

<211> 10

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

10

<223> 645AğırI50A+G98AFv CDRH1

<400> 172

Gly Ile Asp Leu Ser Asn Tyr Ala Ile Asn
1 5 10

<210> 173

<211> 16

15

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

<223> 645AğırI50A+G98AFv CDRH2

<400> 173

20

Ala Ile Trp Ala Ser Gly Thr Thr Phe Tyr Ala Thr Trp Ala Lys Gly
1 5 10 15

<210> 174

<211> 13

<212> PRT

<213> Yapay

25

<220>

<223> 645AğırI50A+G98AFv CDRH3

<400> 174

Thr Val Pro Ala Tyr Ser Thr Ala Pro Tyr Phe Asp Leu
1 5 10

<210> 175

<220>

<223> 645AğırI50A+T95AFv CDRL3

<400> 171

Gly Gly Gly Tyr Ser Ser Ile Ser Asp Thr Thr
 1 5 10

5

<210> 172

<211> 10

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

10

<223> 645AğırI50A+G98AFv CDRH1

<400> 172

Gly Ile Asp Leu Ser Asn Tyr Ala Ile Asn
 1 5 10

<210> 173

<211> 16

15

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

<223> 645AğırI50A+G98AFv CDRH2

<400> 173

20

Ala Ile Trp Ala Ser Gly Thr Thr Phe Tyr Ala Thr Trp Ala Lys Gly
 1 5 10 15

<210> 174

<211> 13

<212> PRT

<213> Yapay

25

<220>

<223> 645AğırI50A+G98AFv CDRH3

<400> 174

Thr Val Pro Ala Tyr Ser Thr Ala Pro Tyr Phe Asp Leu
 1 5 10

<210> 175

<211> 12
 <212> PRT
 <213> Yapay
 <220>
 5 <223> 645AğırI50A+G98AFv CDRL1
 <400> 175
 Gl₁n Ser Ser Pro Ser Val Trp Ser Asn Phe Leu Ser
 1 5 10
 <210> 176
 <211> 7
 10 <212> PRT
 <213> Yapay
 <220>
 <223> 645AğırI50A+G98AFv CDRL2
 <400> 176
 15 Gl₁u Ala Ser Lys Leu Thr Ser
 1 5
 <210> 177
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Yapay
 20 <220>
 <223> 645AğırI50A+G98AFv CDRL3
 <400> 177
 Gly Gly Gly Tyr Ser Ser Ile Ser Asp Thr Thr
 1 5 10
 <210> 178
 25 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Yapay
 <220>
 <223> 645AğırI50A+Y99AFv CDRH1
 30 <400> 178

<211> 12
 <212> PRT
 <213> Yapay
 <220>
 5 <223> 645AğırI50A+G98AFv CDRL1
 <400> 175
 Gl₁n Ser Ser Pro Ser Val Trp Ser Asn Phe Leu Ser
 1 5 10
 <210> 176
 <211> 7
 10 <212> PRT
 <213> Yapay
 <220>
 <223> 645AğırI50A+G98AFv CDRL2
 <400> 176
 15 Gl₁u Ala Ser Lys Leu Thr Ser
 1 5
 <210> 177
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Yapay
 20 <220>
 <223> 645AğırI50A+G98AFv CDRL3
 <400> 177
 Gly Gly Gly Tyr Ser Ser Ile Ser Asp Thr Thr
 1 5 10
 <210> 178
 25 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Yapay
 <220>
 <223> 645AğırI50A+Y99AFv CDRH1
 30 <400> 178

<211> 12
 <212> PRT
 <213> Yapay
 <220>
 5 <223> 645AğırI50A+G98AFv CDRL1
 <400> 175
 Gl₁n Ser Ser Pro Ser Val Trp Ser Asn Phe Leu Ser
 1 5 10
 <210> 176
 <211> 7
 10 <212> PRT
 <213> Yapay
 <220>
 <223> 645AğırI50A+G98AFv CDRL2
 <400> 176
 15 Glu Ala Ser Lys Leu Thr Ser
 1 5
 <210> 177
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Yapay
 20 <220>
 <223> 645AğırI50A+G98AFv CDRL3
 <400> 177
 Gly Gly Gly Tyr Ser Ser Ile Ser Asp Thr Thr
 1 5 10
 <210> 178
 25 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Yapay
 <220>
 <223> 645AğırI50A+Y99AFv CDRH1
 30 <400> 178

Gly Ile Asp Leu Ser Asn Tyr Ala Ile Asn
 1 5 10
 <210> 179
 <211> 16
 <212> PRT
 5 <213> Yapay
 <220>
 <223> 645AğırI50A+Y99AFv CDRH2
 <400> 179
 Ala Ile Trp Ala Ser Gly Thr Thr Phe Tyr Ala Thr Trp Ala Lys Gly
 1 5 10 15
 10 <210> 180
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> Yapay
 <220>
 15 <223> 645AğırI50A+Y99AFv CDRH3
 <400> 180
 Thr Val Pro Gly Ala Ser Thr Ala Pro Tyr Phe Asp Leu
 1 5 10
 <210> 181
 <211> 12
 20 <212> PRT
 <213> Yapay
 <220>
 <223> 645AğırI50A+Y99AFv CDRL1
 <400> 181
 Gln Ser Ser Pro Ser Val Trp Ser Asn Phe Leu Ser
 1 5 10 --
 25 <210> 182
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Yapay

Gly Ile Asp Leu Ser Asn Tyr Ala Ile Asn
 1 5 10
 <210> 179
 <211> 16
 <212> PRT
 5 <213> Yapay
 <220>
 <223> 645AğırI50A+Y99AFv CDRH2
 <400> 179
 Ala Ile Trp Ala Ser Gly Thr Thr Phe Tyr Ala Thr Trp Ala Lys Gly
 1 5 10 15
 10 <210> 180
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> Yapay
 <220>
 15 <223> 645AğırI50A+Y99AFv CDRH3
 <400> 180
 Thr Val Pro Gly Ala Ser Thr Ala Pro Tyr Phe Asp Leu
 1 5 10
 <210> 181
 <211> 12
 20 <212> PRT
 <213> Yapay
 <220>
 <223> 645AğırI50A+Y99AFv CDRL1
 <400> 181
 Gln Ser Ser Pro Ser Val Trp Ser Asn Phe Leu Ser
 1 5 10 --
 25 <210> 182
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Yapay

Gly Ile Asp Leu Ser Asn Tyr Ala Ile Asn
 1 5 10
 <210> 179
 <211> 16
 <212> PRT
 5 <213> Yapay
 <220>
 <223> 645AğırI50A+Y99AFv CDRH2
 <400> 179
 Ala Ile Trp Ala Ser Gly Thr Thr Phe Tyr Ala Thr Trp Ala Lys Gly
 1 5 10 15
 10 <210> 180
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> Yapay
 <220>
 15 <223> 645AğırI50A+Y99AFv CDRH3
 <400> 180
 Thr Val Pro Gly Ala Ser Thr Ala Pro Tyr Phe Asp Leu
 1 5 10
 <210> 181
 <211> 12
 20 <212> PRT
 <213> Yapay
 <220>
 <223> 645AğırI50A+Y99AFv CDRL1
 <400> 181
 Gln Ser Ser Pro Ser Val Trp Ser Asn Phe Leu Ser
 1 5 10 --
 25 <210> 182
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Yapay

<220>

<223> 645AğırI50A+Y99AFv CDRL2

<400> 182

Glu Ala Ser Lys Leu Thr Ser
1 5

5

<210> 183

<211> 11

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

10

<223> 645AğırI50A+Y99AFv CDRL3

<400> 183

Gly Gly Gly Tyr Ser Ser Ile Ser Asp Thr Thr
1 5 10

<210> 184

<211> 10

15

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

<223> 645AğırT56A+T95AFv CDRH1

<400> 184

20

Gly Ile Asp Leu Ser Asn Tyr Ala Ile Asn
1 5 10

<210> 185

<211> 16

<212> PRT

<213> Yapay

25

<220>

<223> 645AğırT56A+T95AFv CDRH2

<400> 185

Ile Ile Trp Ala Ser Gly Ala Thr Phe Tyr Ala Thr Trp Ala Lys Gly
1 5 10 15

<210> 186

<220>

<223> 645AğırI50A+Y99AFv CDRL2

<400> 182

Glu Ala Ser Lys Leu Thr Ser
1 5

5

<210> 183

<211> 11

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

10

<223> 645AğırI50A+Y99AFv CDRL3

<400> 183

Gly Gly Gly Tyr Ser Ser Ile Ser Asp Thr Thr
1 5 10

<210> 184

<211> 10

15

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

<223> 645AğırT56A+T95AFv CDRH1

<400> 184

20

Gly Ile Asp Leu Ser Asn Tyr Ala Ile Asn
1 5 10

<210> 185

<211> 16

<212> PRT

<213> Yapay

25

<220>

<223> 645AğırT56A+T95AFv CDRH2

<400> 185

Ile Ile Trp Ala Ser Gly Ala Thr Phe Tyr Ala Thr Trp Ala Lys Gly
1 5 10 15

<210> 186

<220>
 <223> 645AğırI50A+Y99AFv CDRL2
 <400> 182
 Glu Ala Ser Lys Leu Thr Ser
 1 5
 5 <210> 183
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Yapay
 <220>
 10 <223> 645AğırI50A+Y99AFv CDRL3
 <400> 183
 Gly Gly Gly Tyr Ser Ser Ile Ser Asp Thr Thr
 1 5 10
 <210> 184
 <211> 10
 15 <212> PRT
 <213> Yapay
 <220>
 <223> 645AğırT56A+T95AFv CDRH1
 <400> 184
 Gly Ile Asp Leu Ser Asn Tyr Ala Ile Asn
 1 5 10
 20 <210> 185
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Yapay
 25 <220>
 <223> 645AğırT56A+T95AFv CDRH2
 <400> 185
 Ile Ile Trp Ala Ser Gly Ala Thr Phe Tyr Ala Thr Trp Ala Lys Gly
 1 5 10 15
 <210> 186

<211> 13
 <212> PRT
 <213> Yapay
 <220>
 5 <223> 645AğırT56A+T95AFv CDRH3
 <400> 186
 Ala Val Pro Gly Tyr Ser Thr Ala Pro Tyr Phe Asp Leu
 1 5 10
 <210> 187
 <211> 12
 10 <212> PRT
 <213> Yapay
 <220>
 <223> 645AğırT56A+T95AFv CDRL1
 <400> 187
 15 Gln Ser Ser Pro Ser Val Trp Ser Asn Phe Leu Ser
 1 5 10
 <210> 188
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Yapay
 20 <220>
 <223> 645AğırT56A+T95AFv CDRL2
 <400> 188
 Glu Ala Ser Lys Leu Thr Ser
 1 5
 <210> 189
 25 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Yapay
 <220>
 <223> 645AğırT56A+T95AFv CDRL3
 30 <400> 189

<211> 13
 <212> PRT
 <213> Yapay
 <220>
 5 <223> 645AğırT56A+T95AFv CDRH3
 <400> 186
 Ala Val Pro Gly Tyr Ser Thr Ala Pro Tyr Phe Asp Leu
 1 5 10
 <210> 187
 <211> 12
 10 <212> PRT
 <213> Yapay
 <220>
 <223> 645AğırT56A+T95AFv CDRL1
 <400> 187
 15 Gln Ser Ser Pro Ser Val Trp Ser Asn Phe Leu Ser
 1 5 10
 <210> 188
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Yapay
 20 <220>
 <223> 645AğırT56A+T95AFv CDRL2
 <400> 188
 Glu Ala Ser Lys Leu Thr Ser
 1 5
 <210> 189
 25 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Yapay
 <220>
 <223> 645AğırT56A+T95AFv CDRL3
 30 <400> 189

<211> 13
 <212> PRT
 <213> Yapay
 <220>
 5 <223> 645AğırT56A+T95AFv CDRH3
 <400> 186
 Ala Val Pro Gly Tyr Ser Thr Ala Pro Tyr Phe Asp Leu
 1 5 10
 <210> 187
 <211> 12
 10 <212> PRT
 <213> Yapay
 <220>
 <223> 645AğırT56A+T95AFv CDRL1
 <400> 187
 15 Gln Ser Ser Pro Ser Val Trp Ser Asn Phe Leu Ser
 1 5 10
 <210> 188
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Yapay
 20 <220>
 <223> 645AğırT56A+T95AFv CDRL2
 <400> 188
 Glu Ala Ser Lys Leu Thr Ser
 1 5
 <210> 189
 25 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Yapay
 <220>
 <223> 645AğırT56A+T95AFv CDRL3
 30 <400> 189

Gly Gly Gly Tyr Ser Ser Ile Ser Asp Thr Thr
 1 5 10
 <210> 190
 <211> 10
 <212> PRT
 5 <213> Yapay
 <220>
 <223> 645AğırT56A+G98AFv CDRH1
 <400> 190
 Gly Ile Asp Leu Ser Asn Tyr Ala Ile Asn
 1 5 10
 10 <210> 191
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Yapay
 <220>
 15 <223> 645AğırT56A+G98AFv CDRH2
 <400> 191
 Ile Ile Trp Ala Ser Gly Ala Thr Phe Tyr Ala Thr Trp Ala Lys Gly
 1 5 10 15
 <210> 192
 <211> 13
 20 <212> PRT
 <213> Yapay
 <220>
 <223> 645AğırT56A+G98AFv CDRH3
 <400> 192
 Thr Val Pro Ala Tyr Ser Thr Ala Pro Tyr Phe Asp Leu
 1 5 10
 25 <210> 193
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Yapay

Gly Gly Gly Tyr Ser Ser Ile Ser Asp Thr Thr
 1 5 10
 <210> 190
 <211> 10
 <212> PRT
 5 <213> Yapay
 <220>
 <223> 645AğırT56A+G98AFv CDRH1
 <400> 190
 Gly Ile Asp Leu Ser Asn Tyr Ala Ile Asn
 1 5 10
 10 <210> 191
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Yapay
 <220>
 15 <223> 645AğırT56A+G98AFv CDRH2
 <400> 191
 Ile Ile Trp Ala Ser Gly Ala Thr Phe Tyr Ala Thr Trp Ala Lys Gly
 1 5 10 15
 <210> 192
 <211> 13
 20 <212> PRT
 <213> Yapay
 <220>
 <223> 645AğırT56A+G98AFv CDRH3
 <400> 192
 25 Thr Val Pro Ala Tyr Ser Thr Ala Pro Tyr Phe Asp Leu
 1 5 10

Gly Gly Gly Tyr Ser Ser Ile Ser Asp Thr Thr
 1 5 10
 <210> 190
 <211> 10
 <212> PRT
 5 <213> Yapay
 <220>
 <223> 645AğırT56A+G98AFv CDRH1
 <400> 190
 Gly Ile Asp Leu Ser Asn Tyr Ala Ile Asn
 1 5 10
 10 <210> 191
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Yapay
 <220>
 15 <223> 645AğırT56A+G98AFv CDRH2
 <400> 191
 Ile Ile Trp Ala Ser Gly Ala Thr Phe Tyr Ala Thr Trp Ala Lys Gly
 1 5 10 15
 <210> 192
 <211> 13
 20 <212> PRT
 <213> Yapay
 <220>
 <223> 645AğırT56A+G98AFv CDRH3
 <400> 192
 25 Thr Val Pro Ala Tyr Ser Thr Ala Pro Tyr Phe Asp Leu
 1 5 10

<220>

<223> 645AğırT56A+G98AFv CDRL1

<400> 193

Gln Ser Ser Pro Ser Val Trp Ser Asn Phe Leu Ser
 1 5 10

5

<210> 194

<211> 7

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

10

<223> 645AğırT56A+G98AFv CDRL2

<400> 194

Glu Ala Ser Lys Leu Thr Ser
 1 5

<210> 195

<211> 11

15

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

<223> 645AğırT56A+G98AFv CDRL3

<400> 195

Gly Gly Gly Tyr Ser Ser Ile Ser Asp Thr Thr
 1 5 10

20

<210> 196

<211> 10

<212> PRT

<213> Yapay

25

<220>

<223> 645AğırT56A+Y99AFv CDRH1

<400> 196

Gly Ile Asp Leu Ser Asn Tyr Ala Ile Asn
 1 5 10

<210> 197

<220>

<223> 645AğırT56A+G98AFv CDRL1

<400> 193

Gln	Ser	Ser	Pro	Ser	Val	Trp	Ser	Asn	Phe	Leu	Ser
1				5					10		

5

<210> 194

<211> 7

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

10

<223> 645AğırT56A+G98AFv CDRL2

<400> 194

Glu	Ala	Ser	Lys	Leu	Thr	Ser
1				5		

<210> 195

<211> 11

15

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

<223> 645AğırT56A+G98AFv CDRL3

<400> 195

Gly	Gly	Gly	Tyr	Ser	Ser	Ile	Ser	Asp	Thr	Thr
1				5					10	

20

<210> 196

<211> 10

<212> PRT

<213> Yapay

25

<220>

<223> 645AğırT56A+Y99AFv CDRH1

<400> 196

Gly	Ile	Asp	Leu	Ser	Asn	Tyr	Ala	Ile	Asn
1				5					10

<210> 197

<220>

<223> 645AğırT56A+G98AFv CDRL1

<400> 193

Gln Ser Ser Pro Ser Val Trp Ser Asn Phe Leu Ser
 1 5 10

5

<210> 194

<211> 7

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

10

<223> 645AğırT56A+G98AFv CDRL2

<400> 194

Glu Ala Ser Lys Leu Thr Ser
 1 5

<210> 195

<211> 11

15

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

<223> 645AğırT56A+G98AFv CDRL3

<400> 195

Gly Gly Gly Tyr Ser Ser Ile Ser Asp Thr Thr
 1 5 10

20

<210> 196

<211> 10

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

25

<223> 645AğırT56A+Y99AFv CDRH1

<400> 196

Gly Ile Asp Leu Ser Asn Tyr Ala Ile Asn
 1 5 10

<210> 197

<211> 16
 <212> PRT
 <213> Yapay
 <220>
 5 <223> 645AğırT56A+Y99AFv CDRH2
 <400> 197
 Ile Ile Trp Ala Ser Gly Ala Thr Phe Tyr Ala Thr Trp Ala Lys Gly
 1 5 10 15
 <210> 198
 <211> 13
 10 <212> PRT
 <213> Yapay
 <220>
 <223> 645AğırT56A+Y99AFv CDRH3
 <400> 198
 Thr Val Pro Gly Ala Ser Thr Ala Pro Tyr Phe Asp Leu
 1 5 10
 15 <210> 199
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Yapay
 20 <220>
 <223> 645AğırT56A+Y99AFv CDRL1
 <400> 199
 Gln Ser Ser Pro Ser Val Trp Ser Asn Phe Leu Ser
 1 5 10
 25 <210> 200
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Yapay
 <220>
 <223> 645AğırT56A+Y99AFv CDRL2
 30 <400> 200

<211> 16
 <212> PRT
 <213> Yapay
 <220>
 5 <223> 645AğırT56A+Y99AFv CDRH2
 <400> 197
 Ile Ile Trp Ala Ser Gly Ala Thr Phe Tyr Ala Thr Trp Ala Lys Gly
 1 5 10 15
 <210> 198
 <211> 13
 10 <212> PRT
 <213> Yapay
 <220>
 <223> 645AğırT56A+Y99AFv CDRH3
 <400> 198
 Thr Val Pro Gly Ala Ser Thr Ala Pro Tyr Phe Asp Leu
 1 5 10
 15 <210> 199
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Yapay
 20 <220>
 <223> 645AğırT56A+Y99AFv CDRL1
 <400> 199
 Gln Ser Ser Pro Ser Val Trp Ser Asn Phe Leu Ser
 1 5 10
 25 <210> 200
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Yapay
 <220>
 <223> 645AğırT56A+Y99AFv CDRL2
 30 <400> 200

<211> 16
 <212> PRT
 <213> Yapay
 <220>
 5 <223> 645AğırT56A+Y99AFv CDRH2
 <400> 197
 Ile Ile Trp Ala Ser Gly Ala Thr Phe Tyr Ala Thr Trp Ala Lys Gly
 1 5 10 15
 <210> 198
 <211> 13
 10 <212> PRT
 <213> Yapay
 <220>
 <223> 645AğırT56A+Y99AFv CDRH3
 <400> 198
 Thr Val Pro Gly Ala Ser Thr Ala Pro Tyr Phe Asp Leu
 1 5 10
 15 <210> 199
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Yapay
 20 <220>
 <223> 645AğırT56A+Y99AFv CDRL1
 <400> 199
 Gln Ser Ser Pro Ser Val Trp Ser Asn Phe Leu Ser
 1 5 10
 25 <210> 200
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Yapay
 <220>
 <223> 645AğırT56A+Y99AFv CDRL2
 30 <400> 200

Glu Ala Ser Lys Leu Thr Ser
 1 5
 <210> 201
 <211> 11
 <212> PRT
 5 <213> Yapay
 <220>
 <223> 645AğırT56A+Y99AFv CDRL3
 <400> 201
 Gly Gly Gly Tyr Ser Ser Ile Ser Asp Thr Thr
 1 5 10
 10 <210> 202
 <211> 119
 <212> PRT
 <213> Yapay
 <220>
 15 <223> 645dsFv Ağır zincir Fv
 <400> 202
 Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Val Ser Gly Ile Asp Leu Ser Asn Tyr
 20 25 30
 Ala Ile Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Cys Leu Glu Trp Ile
 35 40 45
 Gly Ile Ile Trp Ala Ser Gly Thr Thr Phe Tyr Ala Thr Trp Ala Lys
 50 55 60
 Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Ser Thr Thr Val Tyr Leu Gln Met
 65 70 75 80
 Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Thr
 85 90 95
 Val Pro Gly Tyr Ser Thr Ala Pro Tyr Phe Asp Leu Trp Gly Gln Gly
 100 105 110
 Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115
 <210> 203
 <211> 110

Glu Ala Ser Lys Leu Thr Ser
 1 5
 <210> 201
 <211> 11
 <212> PRT
 5 <213> Yapay
 <220>
 <223> 645AğırT56A+Y99AFv CDRL3
 <400> 201
 Gly Gly Gly Tyr Ser Ser Ile Ser Asp Thr Thr
 1 5 10
 10 <210> 202
 <211> 119
 <212> PRT
 <213> Yapay
 <220>
 15 <223> 645dsFv Ağır zincir Fv
 <400> 202
 Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Val Ser Gly Ile Asp Leu Ser Asn Tyr
 20 25 30
 Ala Ile Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Cys Leu Glu Trp Ile
 35 40 45
 Gly Ile Ile Trp Ala Ser Gly Thr Thr Phe Tyr Ala Thr Trp Ala Lys
 50 55 60
 Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Ser Thr Thr Val Tyr Leu Gln Met
 65 70 75 80
 Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Thr
 85 90 95
 Val Pro Gly Tyr Ser Thr Ala Pro Tyr Phe Asp Leu Trp Gly Gln Gly
 100 105 110
 Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115
 <210> 203
 <211> 110

Glu Ala Ser Lys Leu Thr Ser
 1 5
 <210> 201
 <211> 11
 <212> PRT
 5 <213> Yapay
 <220>
 <223> 645AğırT56A+Y99AFv CDRL3
 <400> 201
 Gly Gly Gly Tyr Ser Ser Ile Ser Asp Thr Thr
 1 5 10
 10 <210> 202
 <211> 119
 <212> PRT
 <213> Yapay
 <220>
 15 <223> 645dsFv Ağır zincir Fv
 <400> 202
 Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Val Ser Gly Ile Asp Leu Ser Asn Tyr
 20 25 30
 Ala Ile Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Cys Leu Glu Trp Ile
 35 40 45
 Gly Ile Ile Trp Ala Ser Gly Thr Thr Phe Tyr Ala Thr Trp Ala Lys
 50 55 60
 Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Ser Thr Thr Val Tyr Leu Gln Met
 65 70 75 80
 Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Thr
 85 90 95
 Val Pro Gly Tyr Ser Thr Ala Pro Tyr Phe Asp Leu Trp Gly Gln Gly
 100 105 110
 Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115
 <210> 203
 <211> 110

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

<223> 645dsFv Hafif zincir Fv

5

<400> 203

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

Asp Arg val Thr Ile Thr Cys Gln Ser Ser Pro Ser val Trp Ser Asn
 20 25 30

Phe Leu Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu
 35 40 45

Ile Tyr Glu Ala Ser Lys Leu Thr Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Lys
 50 55 60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln
 65 70 75 80

Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gly Gly Gly Tyr Ser Ser Ile
 85 90 95

Ser Asp Thr Thr Phe Gly Cys Gly Thr Lys val Glu Ile Lys
 100 105 110

<210> 204

<211> 120

10

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

<223> 648dsFv Ağır zincir Fv

<400> 204

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

<223> 645dsFv Hafif zincir Fv

5

<400> 203

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

Asp Arg val Thr Ile Thr Cys Gln Ser Ser Pro Ser val Trp Ser Asn
 20 25 30

Phe Leu Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu
 35 40 45

Ile Tyr Glu Ala Ser Lys Leu Thr Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Lys
 50 55 60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln
 65 70 75 80

Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gly Gly Gly Tyr Ser Ser Ile
 85 90 95

Ser Asp Thr Thr Phe Gly Cys Gly Thr Lys val Glu Ile Lys
 100 105 110

<210> 204

<211> 120

10

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

<223> 648dsFv Ağır zincir Fv

<400> 204

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

<223> 645dsFv Hafif zincir Fv

5

<400> 203

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

Asp Arg val Thr Ile Thr Cys Gln Ser Ser Pro Ser val Trp Ser Asn
 20 25 30

Phe Leu Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu
 35 40 45

Ile Tyr Glu Ala Ser Lys Leu Thr Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Lys
 50 55 60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln
 65 70 75 80

Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gly Gly Gly Tyr Ser Ser Ile
 85 90 95

Ser Asp Thr Thr Phe Gly Cys Gly Thr Lys val Glu Ile Lys
 100 105 110

<210> 204

<211> 120

10

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

<223> 648dsFv Ağır zincir Fv

<400> 204

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 Val Ser Gly Phe Ser Leu Ser Arg Tyr
 20 25 30
 Ala Met Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Cys Leu Glu Trp Ile
 35 40 45
 Gly Thr Ile Thr Thr Gly Gly Asn Thr Asn Tyr Ala Asn Trp Ala Lys
 50 55 60
 Gly Arg Phe Thr Ile Ser Lys Asp Ser Thr Thr Val Tyr Leu Gln Met
 65 70 75 80
 Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly
 85 90 95
 Gly Tyr Val Ser Tyr Ala Asp Ala Thr Glu Leu Ser Leu Trp Gly Gln
 100 105 110
 Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 205

<211> 110

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

<223> 648dsFv Hafif zincir Fv

<400> 205

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Ser Ile Gly Ser Arg
 20 25 30
 Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45
 Tyr Tyr Ala Ser Thr Val Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Lys 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 Tyr Asp Tyr Ser Ser Ser
 85 90 95
 Ser Ser Tyr Ala Phe Gly Cys Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105 110

<210> 206

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 Val Ser Gly Phe Ser Leu Ser Arg Tyr
 20 25 30
 Ala Met Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Cys Leu Glu Trp Ile
 35 40 45
 Gly Thr Ile Thr Thr Gly Gly Asn Thr Asn Tyr Ala Asn Trp Ala Lys
 50 55 60
 Gly Arg Phe Thr Ile Ser Lys Asp Ser Thr Thr Val Tyr Leu Gln Met
 65 70 75 80
 Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly
 85 90 95
 Gly Tyr Val Ser Tyr Ala Asp Ala Thr Glu Leu Ser Leu Trp Gly Gln
 100 105 110
 Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 205

<211> 110

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

<223> 648dsFv Hafif zincir Fv

<400> 205

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Ser Ile Gly Ser Arg
 20 25 30
 Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45
 Tyr Tyr Ala Ser Thr Val Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Lys 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 Tyr Asp Tyr Ser Ser Ser
 85 90 95
 Ser Ser Tyr Ala Phe Gly Cys Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105 110

<210> 206

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 Val Ser Gly Phe Ser Leu Ser Arg Tyr
 20 25 30
 Ala Met Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Cys Leu Glu Trp Ile
 35 40 45
 Gly Thr Ile Thr Thr Gly Gly Asn Thr Asn Tyr Ala Asn Trp Ala Lys
 50 55 60
 Gly Arg Phe Thr Ile Ser Lys Asp Ser Thr Thr Val Tyr Leu Gln Met
 65 70 75 80
 Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly
 85 90 95
 Gly Tyr Val Ser Tyr Ala Asp Ala Thr Glu Leu Ser Leu Trp Gly Gln
 100 105 110
 Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 205

<211> 110

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

<223> 648dsFv Hafif zincir Fv

<400> 205

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Ser Ile Gly Ser Arg
 20 25 30
 Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45
 Tyr Tyr Ala Ser Thr Val Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Lys 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 Tyr Asp Tyr Ser Ser Ser
 85 90 95
 Ser Ser Tyr Ala Phe Gly Cys Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105 110

<210> 206

<211> 119

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

5

<223> 645Fv ağır zinciri

<400> 206

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Val Ser Gly Ile Asp Leu Ser Asn Tyr
 20 25 30
 Ala Ile Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
 35 40 45
 Gly Ile Ile Trp Ala Ser Gly Thr Thr Phe Tyr Ala Thr Trp Ala Lys
 50 55 60
 Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Ser Thr Thr Val Tyr Leu Gln Met
 65 70 75 80
 Asn Ser Leu Arg Asp Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Thr
 85 90 95
 Val Pro Gly Tyr Ser Thr Ala Pro Tyr Phe Asp Leu Trp Gly Gln Gly
 100 105 110
 Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 125

<210> 207

10

<211> 110

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

<223> 645Fv hafif zinciri

15

<400> 207

<211> 119

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

5

<223> 645Fv ağır zinciri

<400> 206

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Val Ser Gly Ile Asp Leu Ser Asn Tyr
 20 25 30
 Ala Ile Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
 35 40 45
 Gly Ile Ile Trp Ala Ser Gly Thr Thr Phe Tyr Ala Thr Trp Ala Lys
 50 55 60
 Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Ser Thr Thr Val Tyr Leu Gln Met
 65 70 75 80
 Asn Ser Leu Arg Asp Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Thr
 85 90 95
 Val Pro Gly Tyr Ser Thr Ala Pro Tyr Phe Asp Leu Trp Gly Gln Gly
 100 105 110
 Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 125

<210> 207

10

<211> 110

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

<223> 645Fv hafif zinciri

15

<400> 207

<211> 119

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

5

<223> 645Fv ağır zinciri

<400> 206

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Val Ser Gly Ile Asp Leu Ser Asn Tyr
 20 25 30
 Ala Ile Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
 35 40 45
 Gly Ile Ile Trp Ala Ser Gly Thr Thr Phe Tyr Ala Thr Trp Ala Lys
 50 55 60
 Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Ser Thr Thr Val Tyr Leu Gln Met
 65 70 75 80
 Asn Ser Leu Arg Asp Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Thr
 85 90 95
 Val Pro Gly Tyr Ser Thr Ala Pro Tyr Phe Asp Leu Trp Gly Gln Gly
 100 105 110
 Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 125

<210> 207

10

<211> 110

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

<223> 645Fv hafif zinciri

15

<400> 207

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ser Ser Pro Ser Val Trp Ser Asn
20 25 30

Phe Leu Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu
35 40 45

Ile Tyr Glu Ala Ser Lys Leu Thr Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Lys
50 55 60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln
65 70 75 80

Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gly Gly Gly Tyr Ser Ser Ile
85 90 95

Ser Asp Thr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 208

<211> 11

<212> PRT

5 <213> Yapay

<220>

<223> Albümin bağlayıcı peptit

<400> 208

Asp Leu Cys Leu Arg Asp Trp Gly Cys Leu Trp
1 5 10

10 <210> 209

<211> 11

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

15 <223> Albümin bağlayıcı peptit

<400> 209

Asp Ile Cys Leu Pro Arg Trp Gly Cys Leu Trp
1 5 10

<210> 210

<211> 15

20 <212> PRT

<213> Yapay

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ser Ser Pro Ser Val Trp Ser Asn
20 25 30

Phe Leu Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu
35 40 45

Ile Tyr Glu Ala Ser Lys Leu Thr Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Lys
50 55 60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln
65 70 75 80

Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gly Gly Gly Tyr Ser Ser Ile
85 90 95

Ser Asp Thr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 208

<211> 11

<212> PRT

5 <213> Yapay

<220>

<223> Albümin bağlayıcı peptit

<400> 208

Asp Leu Cys Leu Arg Asp Trp Gly Cys Leu Trp
1 5 10

10 <210> 209

<211> 11

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

15 <223> Albümin bağlayıcı peptit

<400> 209

Asp Ile Cys Leu Pro Arg Trp Gly Cys Leu Trp
1 5 10

<210> 210

<211> 15

20 <212> PRT

<213> Yapay

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ser Ser Pro Ser Val Trp Ser Asn
20 25 30

Phe Leu Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu
35 40 45

Ile Tyr Glu Ala Ser Lys Leu Thr Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Lys
50 55 60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln
65 70 75 80

Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gly Gly Gly Tyr Ser Ser Ile
85 90 95

Ser Asp Thr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 208

<211> 11

<212> PRT

5 <213> Yapay

<220>

<223> Albümin bağlayıcı peptit

<400> 208

Asp Leu Cys Leu Arg Asp Trp Gly Cys Leu Trp
1 5 10

10 <210> 209

<211> 11

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

15 <223> Albümin bağlayıcı peptit

<400> 209

Asp Ile Cys Leu Pro Arg Trp Gly Cys Leu Trp
1 5 10

<210> 210

<211> 15

20 <212> PRT

<213> Yapay

<220>

<223> Albümin bağlayıcı peptit

<400> 210

Met Glu Asp Ile Cys Leu Pro Arg Trp Gly Cys Leu Trp Gly Asp
 1 5 10 15

5

<210> 211

<211> 20

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

10

<223> Albümin bağlayıcı peptit

<400> 211

Gln Arg Leu Met Glu Asp Ile Cys Leu Pro Arg Trp Gly Cys Leu Trp
 1 5 10 15

Glu Asp Asp Glu
 20

<210> 212

<211> 20

15

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

<223> Albümin bağlayıcı peptit

<400> 212

Gln Gly Leu Ile Gly Asp Ile Cys Leu Pro Arg Trp Gly Cys Leu Trp
 1 5 10 15

Gly Arg Ser Val
 20

20

<210> 213

<211> 21

<212> PRT

<213> Yapay

25

<220>

<223> Albümin bağlayıcı peptit

<400> 213

<220>

<223> Albümin bağlayıcı peptit

<400> 210

Met Glu Asp Ile Cys Leu Pro Arg Trp Gly Cys Leu Trp Gly Asp
 1 5 10 15

5

<210> 211

<211> 20

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

10

<223> Albümin bağlayıcı peptit

<400> 211

Gln Arg Leu Met Glu Asp Ile Cys Leu Pro Arg Trp Gly Cys Leu Trp
 1 5 10 15

Glu Asp Asp Glu
 20

<210> 212

<211> 20

15

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

<223> Albümin bağlayıcı peptit

<400> 212

Gln Gly Leu Ile Gly Asp Ile Cys Leu Pro Arg Trp Gly Cys Leu Trp
 1 5 10 15

Gly Arg Ser Val
 20

20

<210> 213

<211> 21

<212> PRT

<213> Yapay

25

<220>

<223> Albümin bağlayıcı peptit

<400> 213

<220>

<223> Albümin bağlayıcı peptit

<400> 210

Met Glu Asp Ile Cys Leu Pro Arg Trp Gly Cys Leu Trp Gly Asp
 1 5 10 15

5

<210> 211

<211> 20

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

10

<223> Albümin bağlayıcı peptit

<400> 211

Gln Arg Leu Met Glu Asp Ile Cys Leu Pro Arg Trp Gly Cys Leu Trp
 1 5 10 15

Glu Asp Asp Glu
 20

<210> 212

<211> 20

15

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

<223> Albümin bağlayıcı peptit

<400> 212

Gln Gly Leu Ile Gly Asp Ile Cys Leu Pro Arg Trp Gly Cys Leu Trp
 1 5 10 15

Gly Arg Ser Val
 20

20

<210> 213

<211> 21

<212> PRT

<213> Yapay

25

<220>

<223> Albümin bağlayıcı peptit

<400> 213

Gln Gly Leu Ile Gly Asp Ile Cys Leu Pro Arg Trp Gly Cys Leu Trp
 1 5 10 15
Gly Arg Ser Val Lys
 20
 5 <210> 214
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Yapay
 <220>
 <223> Albümin bağlayıcı peptit
 <400> 214
 10 **Glu Asp Ile Cys Leu Pro Arg Trp Gly Cys Leu Trp Glu Asp Asp**
 1 5 10 15
 <210> 215
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Yapay
 15 <220>
 <223> Albümin bağlayıcı peptit
 <400> 215
Arg Leu Met Glu Asp Ile Cys Leu Pro Arg Trp Gly Cys Leu Trp Glu
 1 5 10 15
Asp Asp
 20 <210> 216
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Yapay
 <220>
 <223> Albümin bağlayıcı peptit
 25 <400> 216
Met Glu Asp Ile Cys Leu Pro Arg Trp Gly Cys Leu Trp Glu Asp Asp
 1 5 10 15
 <210> 217

Gln Gly Leu Ile Gly Asp Ile Cys Leu Pro Arg Trp Gly Cys Leu Trp
 1 5 10 15
Gly Arg Ser Val Lys
 20
 5 <210> 214
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Yapay
 <220>
 <223> Albümin bağlayıcı peptit
 <400> 214
 10 **Glu Asp Ile Cys Leu Pro Arg Trp Gly Cys Leu Trp Glu Asp Asp**
 1 5 10 15
 <210> 215
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Yapay
 15 <220>
 <223> Albümin bağlayıcı peptit
 <400> 215
Arg Leu Met Glu Asp Ile Cys Leu Pro Arg Trp Gly Cys Leu Trp Glu
 1 5 10 15
Asp Asp
 20 <210> 216
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Yapay
 <220>
 <223> Albümin bağlayıcı peptit
 25 <400> 216
Met Glu Asp Ile Cys Leu Pro Arg Trp Gly Cys Leu Trp Glu Asp Asp
 1 5 10 15
 <210> 217

Gln Gly Leu Ile Gly Asp Ile Cys Leu Pro Arg Trp Gly Cys Leu Trp
1 5 10 15

Gly Arg Ser Val Lys
20

<210> 214

<211> 15

5 $\langle 212 \rangle$ PRT

<213> Yapay

 $\langle 220 \rangle$

<223> Albümin bağlayıcı peptit

<400> 214

10 Glu Asp Ile Cys Leu Pro Arg Trp Gly Cys Leu Trp Glu Asp Asp
 1 5 10 15

<210> 215

<211> 18

<212> PRT

<213> Yapay

15 $\langle 220 \rangle$

<223> Albümin bağlayıcı peptit

<400> 215

Arg Leu Met Glu Asp Ile Cys Leu Pro Arg Trp Gly Cys Leu Trp Glu
1 5 10 15

Asp Asp

<210> 216

20 $\langle 211 \rangle$ 16

&lt212> PRT

<213> Yapay

 $\langle 220 \rangle$

<223> Albümin bağlayıcı peptit

25 <400> 216

Met Glu Asp Ile Cys Leu Pro Arg Trp Gly Cys Leu Trp Glu Asp Asp
1 5 10 15

<210> 217

	<211> 15
	<212> PRT
	<213> Yapay
	<220>
5	<223> Albümin bağlayıcı peptit
	<400> 217
	Met Glu Asp Ile Cys Leu Pro Arg Trp Gly Cys Leu Trp Glu Asp 1 5 10 15
	<210> 218
	<211> 18
10	<212> PRT
	<213> Yapay
	<220>
	<223> Albümin bağlayıcı peptit
	<400> 218
	Arg Leu Met Glu Asp Ile Cys Leu Ala Arg Trp Gly Cys Leu Trp Glu 1 5 10 15
15	Asp Asp
	<210> 219
	<211> 20
	<212> PRT
	<213> Yapay
20	<220>
	<223> Albümin bağlayıcı peptit
	<400> 219
	Glu Val Arg Ser Phe Cys Thr Arg Trp Pro Ala Glu Lys Ser Cys Lys 1 5 10 15
	Pro Leu Arg Gly 20
	<210> 220
25	<211> 20
	<212> PRT
	<213> Yapay

	<211> 15
	<212> PRT
	<213> Yapay
	<220>
5	<223> Albümin bağlayıcı peptit
	<400> 217
	Met Glu Asp Ile Cys Leu Pro Arg Trp Gly Cys Leu Trp Glu Asp 1 5 10 15
	<210> 218
	<211> 18
10	<212> PRT
	<213> Yapay
	<220>
	<223> Albümin bağlayıcı peptit
	<400> 218
	Arg Leu Met Glu Asp Ile Cys Leu Ala Arg Trp Gly Cys Leu Trp Glu 1 5 10 15
15	Asp Asp
	<210> 219
	<211> 20
	<212> PRT
	<213> Yapay
20	<220>
	<223> Albümin bağlayıcı peptit
	<400> 219
	Glu Val Arg Ser Phe Cys Thr Arg Trp Pro Ala Glu Lys Ser Cys Lys 1 5 10 15
	Pro Leu Arg Gly 20
	<210> 220
25	<211> 20
	<212> PRT
	<213> Yapay

	<211> 15
	<212> PRT
	<213> Yapay
	<220>
5	<223> Albümin bağlayıcı peptit
	<400> 217
	Met Glu Asp Ile Cys Leu Pro Arg Trp Gly Cys Leu Trp Glu Asp 1 5 10 15
	<210> 218
	<211> 18
10	<212> PRT
	<213> Yapay
	<220>
	<223> Albümin bağlayıcı peptit
	<400> 218
	Arg Leu Met Glu Asp Ile Cys Leu Ala Arg Trp Gly Cys Leu Trp Glu 1 5 10 15
15	Asp Asp
	<210> 219
	<211> 20
	<212> PRT
	<213> Yapay
20	<220>
	<223> Albümin bağlayıcı peptit
	<400> 219
	Glu Val Arg Ser Phe Cys Thr Arg Trp Pro Ala Glu Lys Ser Cys Lys 1 5 10 15
	Pro Leu Arg Gly 20
	<210> 220
25	<211> 20
	<212> PRT
	<213> Yapay

<220>

<223> Albümin bağlayıcı peptit

<400> 220

Arg Ala Pro Glu Ser Phe Val Cys Tyr Trp Glu Thr Ile Cys Phe Glu
 1 5 10 15

Arg Ser Glu Gln
 20

5

<210> 221

<211> 11

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

10

<223> Albümin bağlayıcı peptit

<400> 221

Glu Met Cys Tyr Phe Pro Gly Ile Cys Trp Met
 1 5 10

<210> 222

<211> 10

15

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

<223> 646FV CDRH1

<400> 222

20

Gly Ile Asp Leu Ser Asn Tyr Ala Ile Asn
 1 5 10

<210> 223

<211> 16

<212> PRT

<213> Yapay

25

<220>

<223> 646FV CDRH2

<400> 223

Ile Ile Trp Ala Ser Gly Thr Thr Phe Tyr Ala Thr Trp Ala Lys Gly
 1 5 10 15

<220>

<223> Albümin bağlayıcı peptit

<400> 220

Arg Ala Pro Glu Ser Phe Val Cys Tyr Trp Glu Thr Ile Cys Phe Glu
 1 5 10 15

Arg Ser Glu Gln
 20

5

<210> 221

<211> 11

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

10

<223> Albümin bağlayıcı peptit

<400> 221

Glu Met Cys Tyr Phe Pro Gly Ile Cys Trp Met
 1 5 10

<210> 222

<211> 10

15

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

<223> 646FV CDRH1

<400> 222

20

Gly Ile Asp Leu Ser Asn Tyr Ala Ile Asn
 1 5 10

<210> 223

<211> 16

<212> PRT

<213> Yapay

25

<220>

<223> 646FV CDRH2

<400> 223

Ile Ile Trp Ala Ser Gly Thr Thr Phe Tyr Ala Thr Trp Ala Lys Gly
 1 5 10 15

<220>

<223> Albümin bağlayıcı peptit

<400> 220

Arg Ala Pro Glu Ser Phe Val Cys Tyr Trp Glu Thr Ile Cys Phe Glu
 1 5 10 15

Arg Ser Glu Gln
 20

5

<210> 221

<211> 11

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

10

<223> Albümin bağlayıcı peptit

<400> 221

Glu Met Cys Tyr Phe Pro Gly Ile Cys Trp Met
 1 5 10

<210> 222

<211> 10

15

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

<223> 646FV CDRH1

<400> 222

20

Gly Ile Asp Leu Ser Asn Tyr Ala Ile Asn
 1 5 10

<210> 223

<211> 16

<212> PRT

<213> Yapay

25

<220>

<223> 646FV CDRH2

<400> 223

Ile Ile Trp Ala Ser Gly Thr Thr Phe Tyr Ala Thr Trp Ala Lys Gly
 1 5 10 15

	<210> 224
	<211> 10
	<212> PRT
	<213> Yapay
5	<220>
	<223> Bağlayıcı
	<400> 224
	Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser 1 5 10
	<210> 225
10	<211> 15
	<212> PRT
	<213> Yapay
	<220>
	<223> Bağlayıcı
15	<400> 225
	Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser 1 5 10 15
	<210> 226
	<211> 224
	<212> PRT
20	<213> Yapay
	<220>
	<223> 652 VH domeni
	<220>
	<221> çeşitli_özellik
25	<222> (26)..(35)
	<223> Xaa doğal oluşumlu herhangi bir amino asit olabilir
	<220>
	<221> çeşitli_özellik
	<222> (50)..(65)
30	<223> Xaa doğal oluşumlu herhangi bir amino asit olabilir

	<210> 224
	<211> 10
	<212> PRT
	<213> Yapay
5	<220>
	<223> Bağlayıcı
	<400> 224
	Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser 1 5 10
	<210> 225
10	<211> 15
	<212> PRT
	<213> Yapay
	<220>
	<223> Bağlayıcı
15	<400> 225
	Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser 1 5 10 15
	<210> 226
	<211> 224
	<212> PRT
20	<213> Yapay
	<220>
	<223> 652 VH domeni
	<220>
	<221> çeşitli_özellik
25	<222> (26)..(35)
	<223> Xaa doğal oluşumlu herhangi bir amino asit olabilir
	<220>
	<221> çeşitli_özellik
	<222> (50)..(65)
30	<223> Xaa doğal oluşumlu herhangi bir amino asit olabilir

	<210> 224
	<211> 10
	<212> PRT
	<213> Yapay
5	<220>
	<223> Bağlayıcı
	<400> 224
	Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser 1 5 10
	<210> 225
10	<211> 15
	<212> PRT
	<213> Yapay
	<220>
	<223> Bağlayıcı
15	<400> 225
	Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser 1 5 10 15
	<210> 226
	<211> 224
	<212> PRT
20	<213> Yapay
	<220>
	<223> 652 VH domeni
	<220>
	<221> çeşitli_özellik
25	<222> (26)..(35)
	<223> Xaa doğal oluşumlu herhangi bir amino asit olabilir
	<220>
	<221> çeşitli_özellik
	<222> (50)..(65)
30	<223> Xaa doğal oluşumlu herhangi bir amino asit olabilir

<220>

<221> çeşitli_özellik

<222> (98)..(109)

<223> Xaa doğal oluşumlu herhangi bir amino asit olabilir

5

<400> 226

Gln val Thr Leu Lys Glu Ser Gly Pro Val Leu Val Lys Pro Thr Glu
 1 5 10 15
 Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Val Ser Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
 20 25 30
 Xaa Xaa Xaa Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Ala Leu Glu Trp Leu
 35 40 45
 Gly Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
 50 55 60
 Xaa Arg Leu Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Ser Gln Val Val Leu
 65 70 75 80
 Thr Met Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala
 85 90 95
 Arg Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Trp Gly Gln
 100 105 110
 Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
 115 120 125
 Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
 130 135 140
 Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
 145 150 155 160
 Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
 165 170 175
 Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
 180 185 190
 Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
 195 200 205
 Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Ser
 210 215 220

<210> 227

<211> 215

<212> PRT

<213> Yapay

10

<220>

<221> çeşitli_özellik

<222> (98)..(109)

<223> Xaa doğal oluşumlu herhangi bir amino asit olabilir

5

<400> 226

Gln val Thr Leu Lys Glu Ser Gly Pro Val Leu Val Lys Pro Thr Glu
 1 5 10 15
 Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Val Ser Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
 20 25 30
 Xaa Xaa Xaa Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Ala Leu Glu Trp Leu
 35 40 45
 Gly Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
 50 55 60
 Xaa Arg Leu Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Ser Gln Val Val Leu
 65 70 75 80
 Thr Met Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala
 85 90 95
 Arg Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Trp Gly Gln
 100 105 110
 Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
 115 120 125
 Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
 130 135 140
 Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
 145 150 155 160
 Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
 165 170 175
 Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
 180 185 190
 Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
 195 200 205
 Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Ser
 210 215 220

<210> 227

<211> 215

<212> PRT

<213> Yapay

10

<220>

<221> çeşitli_özellik

<222> (98)..(109)

<223> Xaa doğal oluşumlu herhangi bir amino asit olabilir

5

<400> 226

Gln val Thr Leu Lys Glu Ser Gly Pro Val Leu Val Lys Pro Thr Glu
 1 5 10 15
 Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Val Ser Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
 20 25 30
 Xaa Xaa Xaa Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Ala Leu Glu Trp Leu
 35 40 45
 Gly Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
 50 55 60
 Xaa Arg Leu Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Ser Gln Val Val Leu
 65 70 75 80
 Thr Met Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala
 85 90 95
 Arg Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Trp Gly Gln
 100 105 110
 Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
 115 120 125
 Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
 130 135 140
 Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
 145 150 155 160
 Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
 165 170 175
 Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
 180 185 190
 Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
 195 200 205
 Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Ser
 210 215 220

<210> 227

<211> 215

<212> PRT

<213> Yapay

10

- <220>
 <223> 652 VL domeni
- <220>
 <221> çeşitli_özellik
 5 <222> (24)..(34)
 <223> Xaa doğal oluşumlu herhangi bir amino asit olabilir
- <220>
 <221> çeşitli_özellik
 <222> (50)..(56)
 10 <223> Xaa doğal oluşumlu herhangi bir amino asit olabilir
- <220>
 <221> çeşitli_özellik
 <222> (89)..(97)
 <223> Xaa doğal oluşumlu herhangi bir amino asit olabilir
- 15 <400> 227
- Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
- Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
 20 25 30
- Xaa Xaa Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45
- Tyr Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
- Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80
- Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
 85 90 95
- Xaa Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
 100 105 110
- Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
 115 120 125
- Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
 130 135 140
- Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
 145 150 155 160
- Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
 165 170 175

- <220>
 <223> 652 VL domeni
- <220>
 <221> çeşitli_özellik
 5 <222> (24)..(34)
 <223> Xaa doğal oluşumlu herhangi bir amino asit olabilir
- <220>
 <221> çeşitli_özellik
 <222> (50)..(56)
 10 <223> Xaa doğal oluşumlu herhangi bir amino asit olabilir
- <220>
 <221> çeşitli_özellik
 <222> (89)..(97)
 <223> Xaa doğal oluşumlu herhangi bir amino asit olabilir
- 15 <400> 227
- Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
- Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
 20 25 30
- Xaa Xaa Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45
- Tyr Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
- Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80
- Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
 85 90 95
- Xaa Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
 100 105 110
- Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
 115 120 125
- Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
 130 135 140
- Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
 145 150 155 160
- Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
 165 170 175

<220>
 <223> 652 VL domeni
 <220>
 <221> çeşitli_özellik
 5 <222> (24)..(34)
 <223> Xaa doğal oluşumlu herhangi bir amino asit olabilir
 <220>
 <221> çeşitli_özellik
 <222> (50)..(56)
 10 <223> Xaa doğal oluşumlu herhangi bir amino asit olabilir
 <220>
 <221> çeşitli_özellik
 <222> (89)..(97)
 <223> Xaa doğal oluşumlu herhangi bir amino asit olabilir
 15 <400> 227
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
 20 25 30
 Xaa Xaa Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45
 Tyr Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80
 Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
 85 90 95
 Xaa Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
 100 105 110
 Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
 115 120 125
 Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
 130 135 140
 Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
 145 150 155 160
 Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
 165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
 180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
 195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys Ser
 210 215

<210> 228

<211> 6

<212> PRT

5 <213> Yapay

<220>

<223> Bağlayıcı

<400> 228

Ala Ser Thr Lys Gly Pro
 1 5

10 <210> 229

<211> 5

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

15 <223> Bağlayıcı

<400> 229

Thr Val Ala Ala Pro
 1 5

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
 180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
 195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys Ser
 210 215

<210> 228

<211> 6

<212> PRT

5 <213> Yapay

<220>

<223> Bağlayıcı

<400> 228

Ala Ser Thr Lys Gly Pro
 1 5

10 <210> 229

<211> 5

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

15 <223> Bağlayıcı

<400> 229

Thr Val Ala Ala Pro
 1 5

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
 180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
 195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys Ser
 210 215

<210> 228

<211> 6

<212> PRT

5 <213> Yapay

<220>

<223> Bağlayıcı

<400> 228

Ala Ser Thr Lys Gly Pro
 1 5

10 <210> 229

<211> 5

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

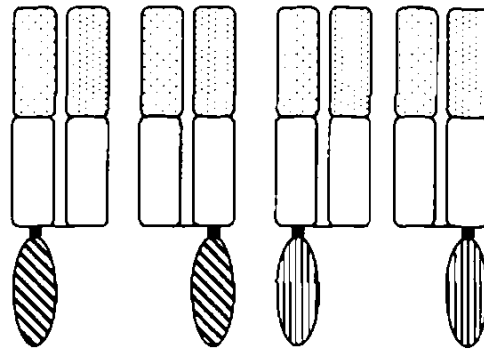
15 <223> Bağlayıcı

<400> 229

Thr Val Ala Ala Pro
 1 5

EP 2 480 577 B1

ŞEKİL 1

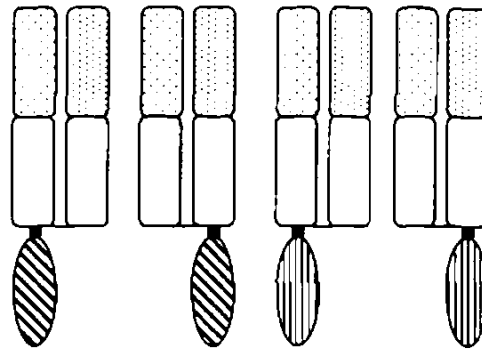


dAbL veya dAbH hafif veya ağır zincirin sabit bölgesinin C terminaline bir bağlayıcı (-) vasıtasıyla bağlanır.

Hafif zincir  veya ağır zincir  değişken bölgesi κ 
ve CH*  sabit bölgeleri, dAbL  ve dAbH*  domen antikor
fragmanları

EP 2 480 577 B1

ŞEKİL 1

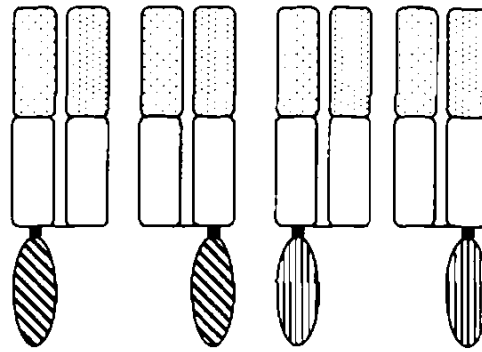


dAbL veya dAbH hafif veya ağır zincirin sabit bölgesinin C terminaline bir bağlayıcı (-) vasıtasıyla bağlanır.

Hafif zincir  veya ağır zincir  değişken bölgesi dKappa 
ve CH*  sabit bölgeleri dAbL  ve dAbL*  domen antikor
fragmanları

EP 2 480 577 B1

ŞEKİL 1

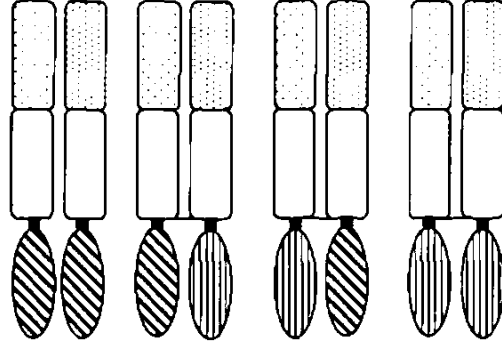


dAbL veya dAbH hafif veya ağır zincirin sabit bölgesinin C terminaline bir bağlayıcı (-) vasıtasıyla bağlanır.

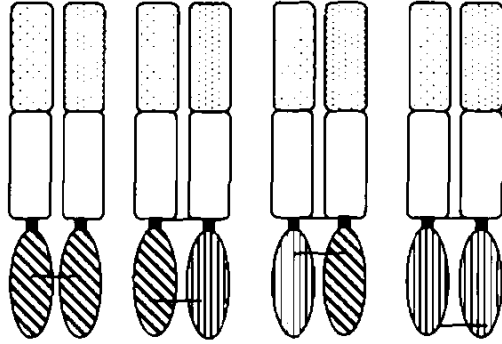
Hafif zincir  veya ağır zincir  değişken bölgesi κKappa 
ve CH*  sabit bölgeleri dAbL  ve dAbH*  domen antikor fragmanları

EP 2 480 577 B1

ŞEKİL 2A



ŞEKİL 2B



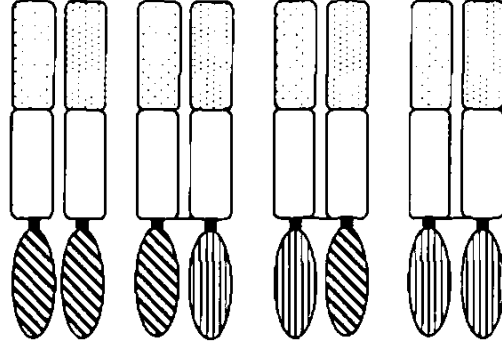
dAbL ve dAbH her zincirin sabit bölgesinin C terminaline bağlanır, böylece bir LC-dAbL veya LC-dAbH füzyonu ya HC-dAbL ya da HC-dAbH ile eşleşir.

Hafif zincir [dotted box] veya ağır zincir [dotted box] değişken bölgesi cKappa [white box]
ve CH* [white box] sabit bölgeleri dAbL [diagonal lines box] ve dAbH [diagonal lines box] domen antikor
fragmanları

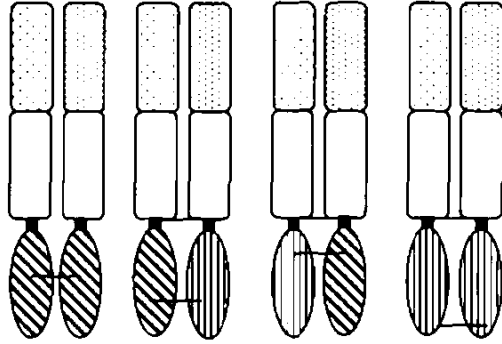
Disulfür bağı -----

EP 2 480 577 B1

ŞEKİL 2A



ŞEKİL 2B



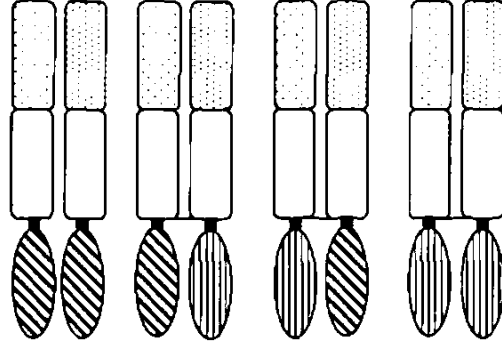
dAbL ve dAbH her zincirin sabit bölgesinin C terminaline bağlanır, böylece bir LC-dAbL veya LC-dAbH füzyonu ya HC-dAbL ya da HC-dAbH ile eşleşir.

Hafif zincir  veya ağır zincir  değişken bölgesi cKappa 
ve CH*  sabit bölgeleri dAbL  ve dAbH*  domen antikor
fragmanları

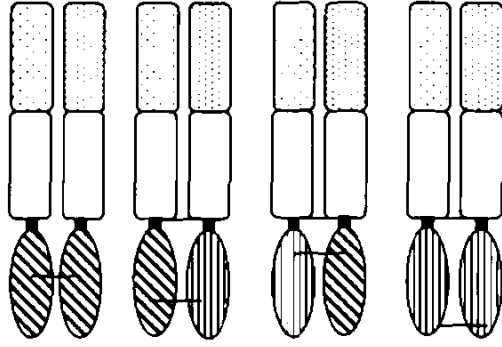
Disulfür bağı -----

EP 2 480 577 B1

ŞEKİL 2A



ŞEKİL 2B



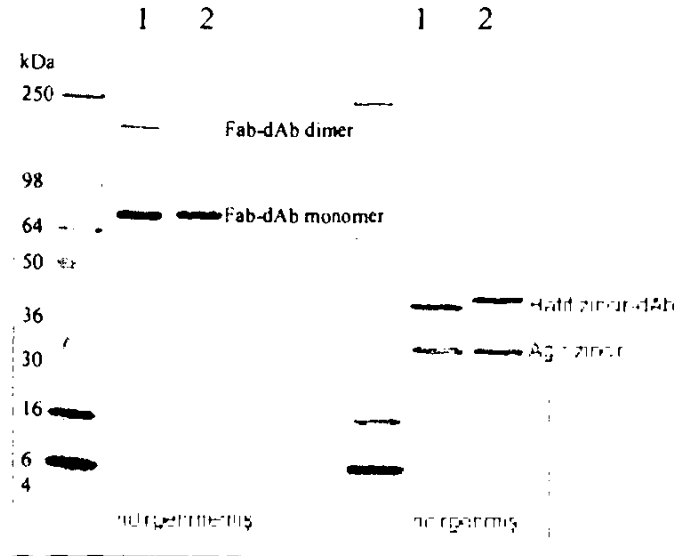
dAbL ve dAbH her zincirin sabit bölgesinin C terminaline bağlanır, böylece bir LC-dAbL veya LC-dAbH füzyonu ya HC-dAbL ya da HC-dAbH ile eşleşir.

Hafif zincir veya ağır zincir değişken bölgesi cKappa
ve CH* sabit bölgeleri dAbL ve dAbH* domen antikor
fragmanları

Disulfür bağı -----

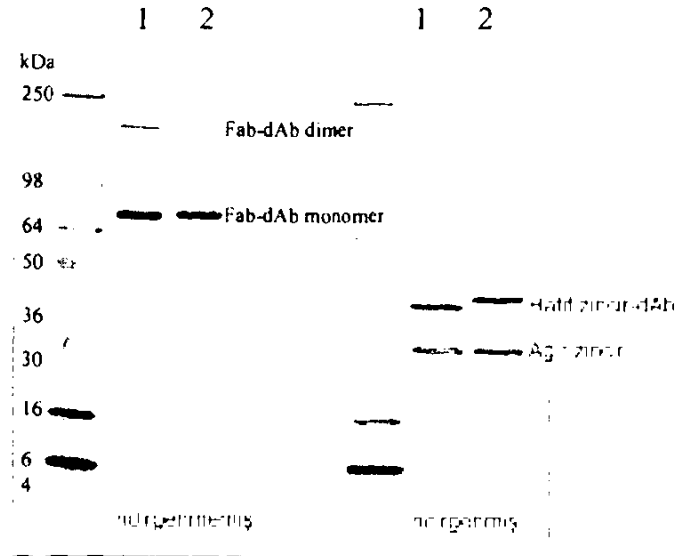
EP 2 480 577 B1

ŞEKİL 3



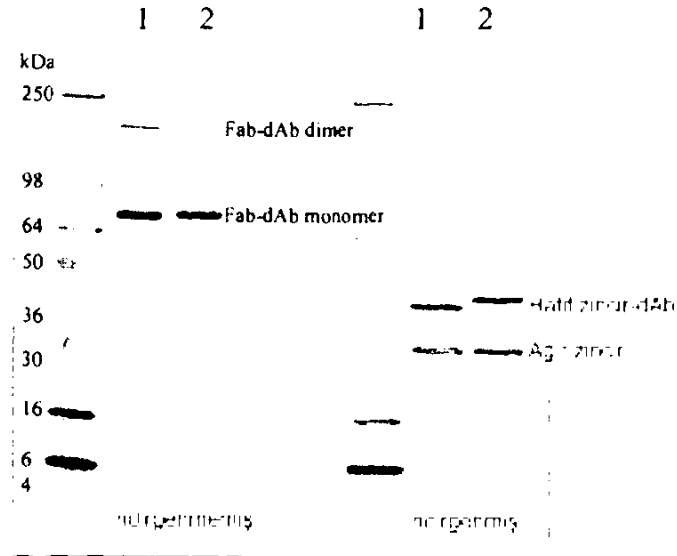
EP 2 480 577 B1

ŞEKİL 3



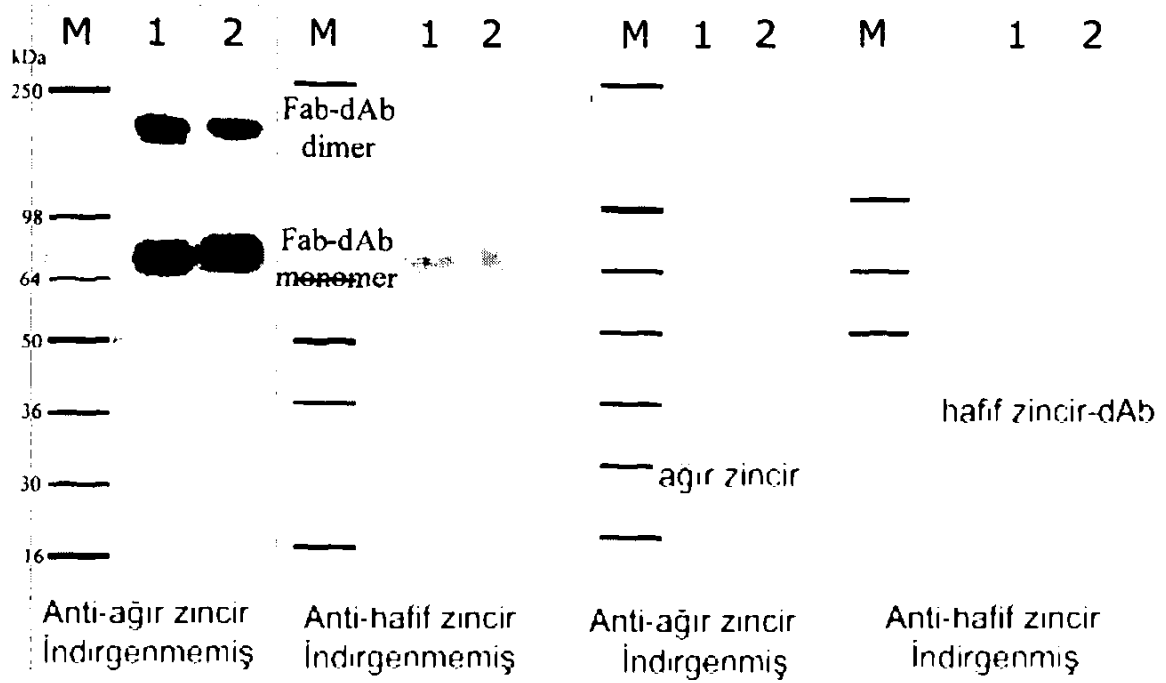
EP 2 480 577 B1

ŞEKİL 3



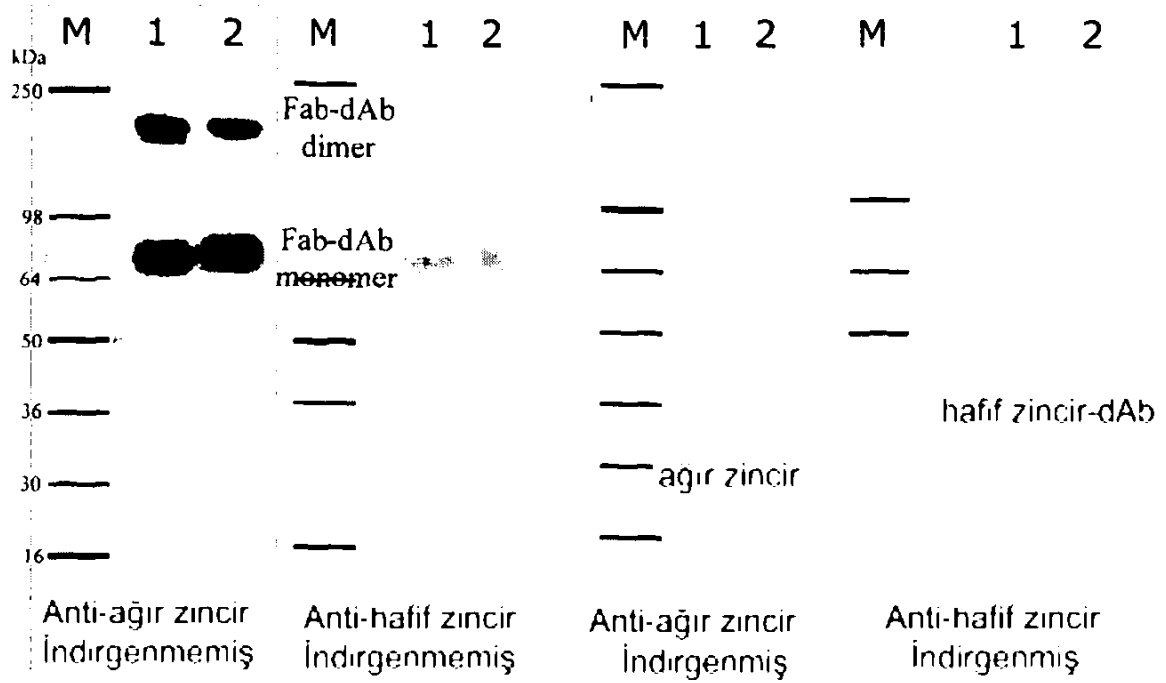
EP 2 480 577 B1

ŞEKİL 4



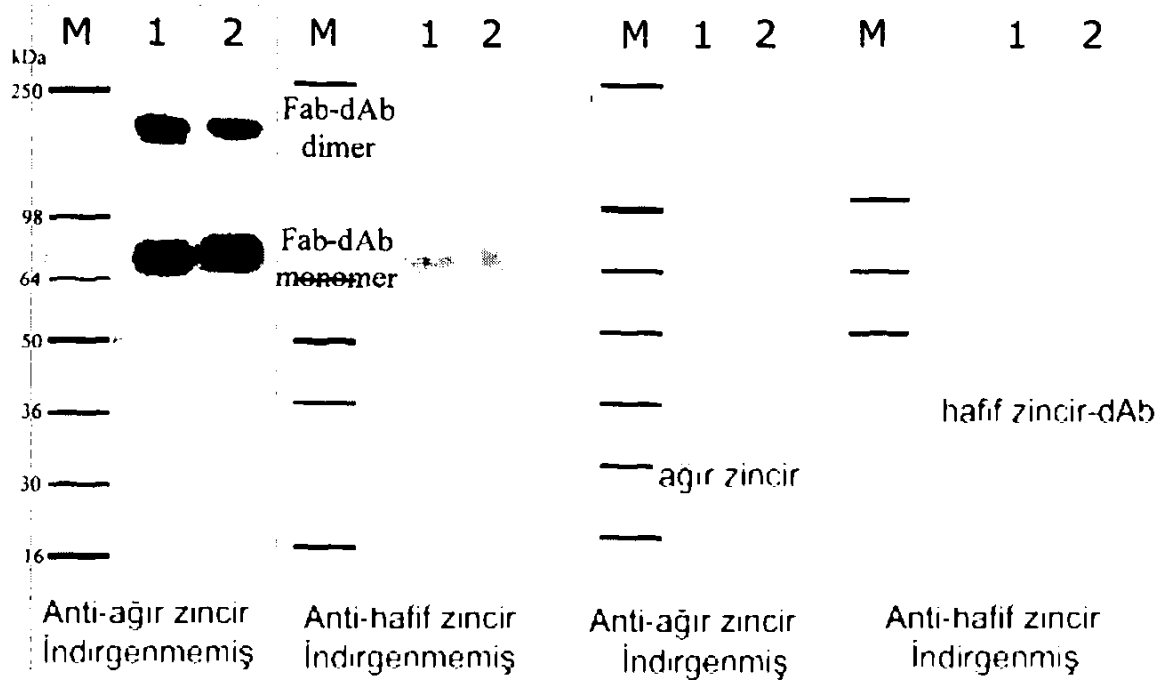
EP 2 480 577 B1

ŞEKİL 4



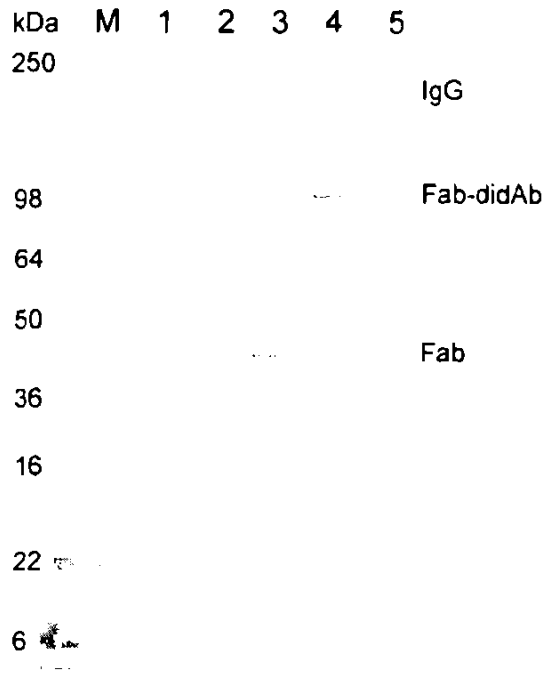
EP 2 480 577 B1

ŞEKİL 4



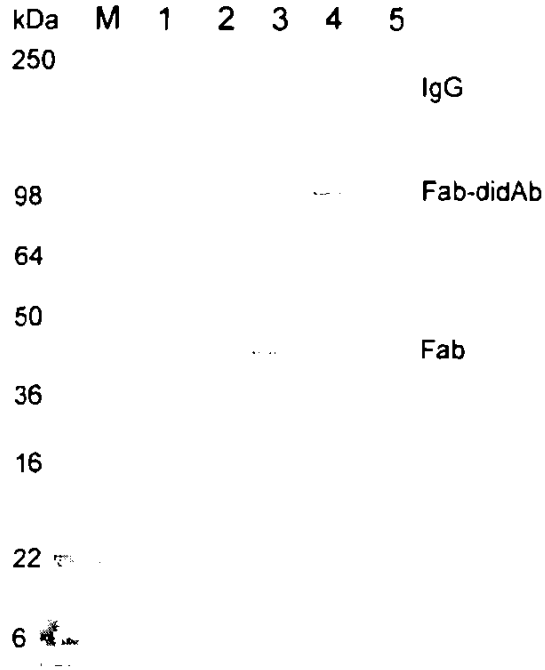
EP 2 480 577 B1

ŞEKİL 4A



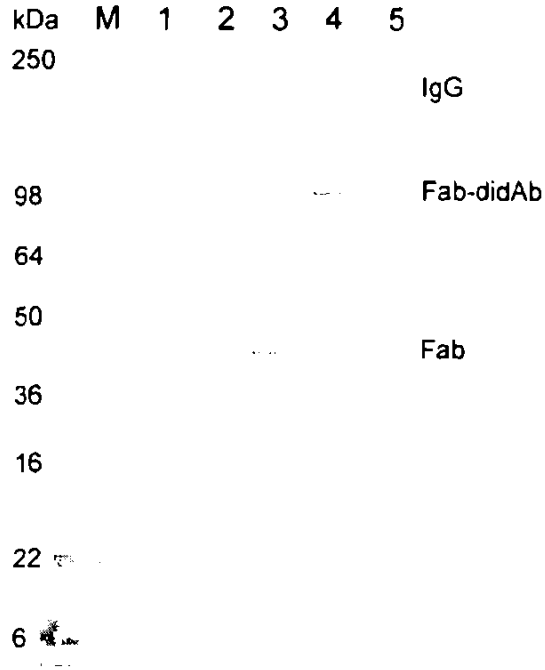
EP 2 480 577 B1

ŞEKİL 4A



EP 2 480 577 B1

ŞEKİL 4A



ŞEKİL 5

a) dAbH1

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGIDLSNYAINWVRQAPGKGLEWIGIIWA
SGTTFYATWAKGRFTISRDTTVYQLQMNSLRAEDTAVYYCARTVPGYSTAPY
FDLWGQGTLLVTVSS (DİZİ İD. NO:52)

b) dAbL1

DIVMTQSPSSVSASVGDRVITITCQSSPSVWSNFLSWYQQKPGKAPKLLIYEAS
KLTSGVPSRFGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCGGGYSSISDTTFGGGTKV
EIK (DİZİ İD. NO:53)

c) dAbH2

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFSLSRyamTWVRQAPGKGLEWIGTIT
TGGNTNYANWAKGRFTISKDSTTVYQLQMNSLRAEDTAVYYCARGGYVSYA
DATELSLWGQGTLLVTVSS (DİZİ İD. NO:54)

d) dAbL2

DIVMTQSPSTLSASVGDRVITITCQASQSIGSRlawYQQKPGKAPKLLIYYAST
VASGVPSRFGSGSGTEFTLTISLQPDDEFATYYCQSYDYSSSSSYAFGGGTKV
EIK (DİZİ İD. NO:55)

dAbH1

- e) CDRH1: GIDLSNYAIN (DİZİ İD. NO:56)
- f) CDRH2: IIWASGTTFYATWAKG (DİZİ İD. NO:57)
- g) CDRH3: TVPGYSTAPYFDL (DİZİ İD. NO:58)

dAbL1

- h) CDRL1: QSSPSVWSNFLS (DİZİ İD. NO:59)
- i) CDRL2: EASKLTS (DİZİ İD. NO:60)
- j) CDRL3: GGGYSSISDTT (DİZİ İD. NO:61)

dAbH2

- k) CDRH1: GFSLSRyamT (DİZİ İD. NO:62)
- l) CDRH2: TITGGNTNYANWAKG (DİZİ İD. NO:63)
- m) CDRH3: GGYVSYADATELSL (DİZİ İD. NO:64)

dAbL2

- n) CDRL1: QASQSIGSRla (DİZİ İD. NO:65)
- o) CDRL2: YASTVAS (DİZİ İD. NO:66)
- p) CDRL3: QSYDYSSSSSYA (DİZİ İD. NO:67)

ŞEKİL 5

a) dAbH1

EVQLLESFGGGLVQPGGSLRLSCAVSGIDLSNYAINWVRQAPGKGLEWIGIIWA
SGTTFYATWAKGRFTISRDTTVYQLQMNSLRAEDTAVYYCARTVPGYSTAPY
FDLWGQGTLLVTVSS (Dizi ID. NO:52)

b) dAbL1

DIVMTQSPSSVSASVGDRVITTCQSSPSVWSNFLSWYQQKPGKAPKLLIYEAS
KLTSGVPSRFGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCGGGYSSISDTTFGGGTKV
EIK (Dizi ID. NO:53)

c) dAbH2

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFSLSRyamTWVRQAPGKGLEWIGTIT
TGGNTNYANWAKGRFTISKDSTTVYQLQMNSLRAEDTAVYYCARGGYVSYA
DATELSLWGQGTLLVTVSS (Dizi ID. NO:54)

d) dAbL2

DIVMTQSPSTLSASVGDRVITTCQASQSIGSRlawYQQKPGKAPKLLIYYAST
VASGVPSRFGSGSGTEFTLTISLQPDDEFATYYCQSYDYSSSSSYAFGGGTKV
EIK (Dizi ID. NO:55)

dAbH1

- e) CDRH1: GIDLSNYAIN (Dizi ID. NO:56)
- f) CDRH2: IIWASGTTFYATWAKG (Dizi ID. NO:57)
- g) CDRH3: TVPGYSTAPYFDL (Dizi ID. NO:58)

dAbL1

- h) CDRL1: QSSPSVWSNFLS (Dizi ID. NO:59)
- i) CDRL2: EASKLTS (Dizi ID. NO:60)
- j) CDRL3: GGGYSSISDTT (Dizi ID. NO:61)

dAbH2

- k) CDRH1: GFSLSRyamT (Dizi ID. NO:62)
- l) CDRH2: TITGGNTNYANWAKG (Dizi ID. NO:63)
- m) CDRH3: GGYVSYADATELSL (Dizi ID. NO:64)

dAbL2

- n) CDRL1: QASQSIGSRla (Dizi ID. NO:65)
- o) CDRL2: YASTVAS (Dizi ID. NO:66)
- p) CDRL3: QSYDYSSSSSYA (Dizi ID. NO:67)

ŞEKİL 5

a) dAbH1

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGIDLSNYAINWVRQAPGKGLEWIGIIWA
SGTTFYATWAKGRFTISRDTTVYQLQMNSLRAEDTAVYYCARTVPGYSTAPY
FDLWGQGTLLVTVSS (Dizi ID. NO:52)

b) dAbL1

DIVMTQSPSSVSASVGDRVITTCQSSPSVWSNFLSWYQQKPGKAPKLLIYEAS
KLTSGVPSRFGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCGGGYSSISDTTFGGGTKV
EIK (Dizi ID. NO:53)

c) dAbH2

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFSLSRyamTWVRQAPGKGLEWIGTIT
TGGNTNYANWAKGRFTISKDSTTVYQLQMNSLRAEDTAVYYCARGGYVSYA
DATELSLWGQGTLLVTVSS (Dizi ID. NO:54)

d) dAbL2

DIVMTQSPSTLSASVGDRVITTCQASQSIGSRlawYQQKPGKAPKLLIYYAST
VASGVPSRFGSGSGTEFTLTISLQPDDEFATYYCQSYDYSSSSSYAFGGGTKV
EIK (Dizi ID. NO:55)

dAbH1

- e) CDRH1: GIDLSNYAIN (Dizi ID. NO:56)
- f) CDRH2: IIWASGTTFYATWAKG (Dizi ID. NO:57)
- g) CDRH3: TVPGYSTAPYFDL (Dizi ID. NO:58)

dAbL1

- h) CDRL1: QSSPSVWSNFLS (Dizi ID. NO:59)
- i) CDRL2: EASKLTS (Dizi ID. NO:60)
- j) CDRL3: GGGYSSISDTT (Dizi ID. NO:61)

dAbH2

- k) CDRH1: GFSLSRyamT (Dizi ID. NO:62)
- l) CDRH2: TITGGNTNYANWAKG (Dizi ID. NO:63)
- m) CDRH3: GGYVSYADATELSL (Dizi ID. NO:64)

dAbL2

- n) CDRL1: QASQSIGSRla (Dizi ID. NO:65)
- o) CDRL2: YASTVAS (Dizi ID. NO:66)
- p) CDRL3: QSYDYSSSSSYA (Dizi ID. NO:67)

EP 2 480 577 B1

ŞEKİL 6

FabB-dAbH1 (CH1-G₄Sx2)

FAB-B AĞ R ZİNCİR DEĞİŞKEN DOMENİ +

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF
PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCGGG
GSGGGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCA VSGIDLSNYAINWVRQAPGKGL
EWIGIIWASGTTFYATWAKGRFTISRDTSTTVYLQMNSLRAEDTAVYYCARTV
PGYSTAPYFDLWGQGT LVT VSS (DİZİ İD. NO:68)

FabB-dAbH2 (CH1-G₄Sx2)

FAB-B AĞ R ZİNCİR DEĞİŞKEN DOMENİ +

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF
PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCGGG
GSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCA VSGFSLSR YAMTWVRQAPGKG
LEWIGTITGGNTNYANWAKGRFTISKDSTTVYLQMNSLRAEDTAVYYCAR
GGYVSYADATELSLWGQGT LVT VSS (DİZİ İD. NO:69)

FabB-dAbL1 (CH1-G₄Sx2)

FAB-B AĞ R ZİNCİR DEĞİŞKEN DOMENİ +

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF
PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCGGG
GSGGGGSDIVMTQSPSSVSASVGDRV TITCQSSPSVWSNFLSWYQQKPGKAP
KLLIYEASKI.TSGVPSRFRKSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCGGGYSSISDTT
FGGGTKVEIK (DİZİ İD. NO:70)

FabB-dAbL2 (CH1-G₄Sx2)

FAB-B AĞ R ZİNCİR DEĞİŞKEN DOMENİ +

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF
PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCGGG
GSGGGGSDIVMTQSPSTLSASVGDRV TITCQASQSIGSLAWYQQKPGKAPKL
LIYYASTVASGVPSRFRKSGSGTEFTLTISLQPDDEFATYYCQSYDYSSSSSYA
FGGGTKVEIK (DİZİ İD. NO:71)

FabB-dAbL1 (CK-G₄Sx2)

FABB- HAFİF ZİNCİR DEĞİŞKEN DOMENİ +

RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNS
QESVTEQDSKDYSLSSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRG
ECGGGGSGGGGSDIVMTQSPSSVSASVGDRV TITCQSSPSVWSNFLSWYQQK

EP 2 480 577 B1

ŞEKİL 6

FabB-dAbH1 (CH1-G₄Sx2)

FAB-B AĞ R ZİNCİR DEĞİŞKEN DOMENİ +

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF
PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCGGG
GSGGGGSEVQLLES GGGLVQPGGSLRLSCAVSGIDLSNYAINWVRQAPGKGL
EWIGIIWASGTTFYATWAKGRFTISRDTSTTVYLQMNSLRAEDTAVYYCARTV
PGYSTAPYFDLWGQGT LVT VSS (DİZİ İD. NO:68)

FabB-dAbH2 (CH1-G₄Sx2)

FAB-B AĞ R ZİNCİR DEĞİŞKEN DOMENİ +

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF
PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCGGG
GSGGGGSEVQLVES GGGLVQPGGSLRLSCAVSGFSLSR YAMTWVRQAPGKG
LEWIGTITGGNTNYANWAKGRFTISKDSTTVYLQMNSLRAEDTAVYYCAR
GGYVSYADATELSLWGQGT LVT VSS (DİZİ İD. NO:69)

FabB-dAbL1 (CH1-G₄Sx2)

FAB-B AĞ R ZİNCİR DEĞİŞKEN DOMENİ +

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF
PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCGGG
GSGGGGSDIVMTQSPSSVSASVGDRV TITCQSSPSVWSNFLSWYQQKPGKAP
KLLIYEASKI.TSGVPSRFRKSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCGGGYSSISDTT
FGGGTKVEIK (DİZİ İD. NO:70)

FabB-dAbL2 (CH1-G₄Sx2)

FAB-B AĞ R ZİNCİR DEĞİŞKEN DOMENİ +

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF
PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCGGG
GSGGGGSDIVMTQSPSTLSASVGDRV TITCQASQSIGSRLAWYQQKPGKAPKL
LIYYASTVASGVPSRFRKSGSGTEFTLTISLQPDDEFATYYCQSYDYSSSSSYA
FGGGTKVEIK (DİZİ İD. NO:71)

FabB-dAbL1 (CK-G₄Sx2)

FABB- HAFİF ZİNCİR DEĞİŞKEN DOMENİ +

RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNS
QESVTEQDSKDYSLSSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRG
ECGGGGSGGGGSDIVMTQSPSSVSASVGDRV TITCQSSPSVWSNFLSWYQQK

EP 2 480 577 B1

ŞEKİL 6

FabB-dAbH1 (CH1-G₄Sx2)

FAB-B AĞ R ZİNCİR DEĞİŞKEN DOMENİ +

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF
PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCGGG
GSGGGGSEVQLLES GGGLVQPGGSLRLSCAVSGIDLSNYAINWVRQAPGKGL
EWIGIIWASGTTFYATWAKGRFTISRDTSTTVYLQMNSLRAEDTAVYYCARTV
PGYSTAPYFDLWGQGT LVT VSS (DİZİ İD. NO:68)

FabB-dAbH2 (CH1-G₄Sx2)

FAB-B AĞ R ZİNCİR DEĞİŞKEN DOMENİ +

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF
PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCGGG
GSGGGGSEVQLVES GGGLVQPGGSLRLSCAVSGFSLSRYAMTWVRQAPGKG
LEWIGTITGGNTNYANWAKGRFTISKDSTTVYLQMNSLRAEDTAVYYCAR
GGYVSYADATELSLWGQGT LVT VSS (DİZİ İD. NO:69)

FabB-dAbL1 (CH1-G₄Sx2)

FAB-B AĞ R ZİNCİR DEĞİŞKEN DOMENİ +

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF
PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCGGG
GSGGGGSDIVMTQSPSSVSASVGDRVITITCQSSPSVWSNFLSWYQQKPGKAP
KLLIYEASKITSGVPSRFRKSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCGGGYSSISDTT
FGGGTKVEIK (DİZİ İD. NO:70)

FabB-dAbL2 (CH1-G₄Sx2)

FAB-B AĞ R ZİNCİR DEĞİŞKEN DOMENİ +

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF
PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCGGG
GSGGGGSDIVMTQSPSTLSASVGDRVITITCQASQSIGSRLAWYQQKPGKAPKL
LIYYASTVASGVPSRFRKSGSGTEFTLTISLQPDDEFATYYCQSYDYSSSSSYA
FGGGTKVEIK (DİZİ İD. NO:71)

FabB-dAbL1 (CK-G₄Sx2)

FABB- HAFİF ZİNCİR DEĞİŞKEN DOMENİ +

RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNS
QESVTEQDSKDYSLSSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRG
ECGGGGSGGGGSDIVMTQSPSSVSASVGDRVITITCQSSPSVWSNFLSWYQQK

EP 2 480 577 B1

ŞEKİL 6'NIN DEVAMI

PGKAPKLLIYEASKLTSGVPSRFRKSGSGTDFTL.TISSL.QPEDFATYYCGGGYS
SISDTTFGGGGTKVEIK (DİZİ İD. NO:72)

FabB-dAbL2 (CK-G₄Sx2)

FABB- HAFİF ZİNCİR DEĞİŞKEN DOMEN +

RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNS
QESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRG
ECGGGGSGGGGSDIVMTQSPSTLSASVGDRVTITCQASQSIGSRLAWYQQKP
GKAPKLLIYYASTVASGVPSRFRKSGSGSGTEFTL.TISSLQPDDFATYYCQSYDYS
SSSSYAFGGGGTKVEIK (DİZİ İD. NO:73)

EP 2 480 577 B1

ŞEKİL 6'NIN DEVAMI

PGKAPKLLIYEASKLTSGVPSRFRKGSGSGTDFTL.TISSL.QPEDFATYYCGGGYS
SISDTTFGGGGTKVEIK (DİZİ İD. NO:72)

FabB-dAbL2 (CK-G₄Sx2)

FABB- HAFİF ZİNCİR DEĞİŞKEN DOMEN +

RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNS
QESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRG
ECGGGGSGGGGSDIVMTQSPSTLSASVGDRVTITCQASQSIGSRLAWYQQKP
GKAPKLLIYYASTVASGVPSRFRKGSGSGTEFTL.TISSLQPDDFATYYCQSYDYS
SSSSYAFGGGGTKVEIK (DİZİ İD. NO:73)

EP 2 480 577 B1

ŞEKİL 6'NIN DEVAMI

PGKAPKLLIYEASKLTSGVPSRFRKGSGSGTDFTL.TISSL.QPEDFATYYCGGGYS
SISDTTFGGGGTKVEIK (DİZİ İD. NO:72)

FabB-dAbL2 (CK-G₄Sx2)

FABB- HAFİF ZİNCİR DEĞİŞKEN DOMEN +

RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNS
QESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRG
ECGGGGSGGGGSDIVMTQSPSTLSASVGDRVTITCQASQSIGSRLAWYQQKP
GKAPKLLIYYASTVASGVPSRFRKGSGSGTEFTL.TISSLQPDDFATYYCQSYDYS
SSSSYAFGGGGTKVEIK (DİZİ İD. NO:73)

ŞEKİL 7

Fab'A ağır zinciri

MKKTAAIAI AVALAGFATVAQAEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAFSGFSLST
SGVGVGWVRQAPGKGLEWVAHIWWDGDESYNPSLKTQFTISKDTSKNTVYL
QMNSLRAEDTAVYYCARNRYDPPWFVDWGQGTLLTVSSASTKGPSVFPLAP
SSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLS
SVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKTCDKTHTCPPCPA
(DİZİ İD. NO:74)

Fab'A hafif zinciri

MKKTAAIAI AVALAGFATVAQADIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISN
YLSWYQQKPKGAPKLLIYYTSKLHSGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFAT
YYCQQGKMLPWTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLN
NFYPREAKVQWKVDNAVQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEK
HKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (DİZİ İD. NO:75)

Fab'A ağır zinciri (modifiye menteşe bağlayıcı)

MKKTAAIAI AVALAGFATVAQAEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAFSGFSLST
SGVGVGWVRQAPGKGLEWVAHIWWDGDESYNPSLKTQFTISKDTSKNTVYL
QMNSLRAEDTAVYYCARNRYDPPWFVDWGQGTLLTVSSASTKGPSVFPLAP
SSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLS
SVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKTCDKTHTS (DİZİ İD. NO:76)

Fab'A hafif zinciri

MKKTAAIAI AVALAGFATVAQAEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAFSGFSLST
SGVGVGWVRQAPGKGLEWVAHIWWDGDESYNPSLKTQFTISKDTSKNTVYL
QMNSLRAEDTAVYYCARNRYDPPWFVDWGQGTLLTVSSASTKGPSVFPLAP
SSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLS
SVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKTC (DİZİ İD. NO:77)

Şekil 7'deki dizide siyah renkli parça sinyal dizisidir

ŞEKİL 7

Fab'A ağır zinciri

MKKTAIAlAVALAGFATVAQAEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAFSGFSLST
SGVGVGWVRQAPGKGLEWVAHIWWDGDESYNPSLKTQFTISKDTSKNTVYL
QMNSLRAEDTAVYYCARNRYDPPWFVDWGQGTLLTVSSASTKGPSVFPLAP
SSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLS
SVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKTCDKTHTCPPCPA
(DİZİ İD. NO:74)

Fab'A hafif zinciri

MKKTAIAlAVALAGFATVAQADIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISN
YLSWYQQKPKGAPKLLIYYTSKLHSGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFAT
YYCQQGKMLPWTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLN
NFYPREAKVQWKVDNAVQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEK
HKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (DİZİ İD. NO:75)

Fab'A ağır zinciri (modifiye menteşe bağlayıcı)

MKKTAIAlAVALAGFATVAQAEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAFSGFSLST
SGVGVGWVRQAPGKGLEWVAHIWWDGDESYNPSLKTQFTISKDTSKNTVYL
QMNSLRAEDTAVYYCARNRYDPPWFVDWGQGTLLTVSSASTKGPSVFPLAP
SSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLS
SVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKTCDKTHTS (DİZİ İD. NO:76)

Fab'A hafif zinciri

MKKTAIAlAVALAGFATVAQAEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAFSGFSLST
SGVGVGWVRQAPGKGLEWVAHIWWDGDESYNPSLKTQFTISKDTSKNTVYL
QMNSLRAEDTAVYYCARNRYDPPWFVDWGQGTLLTVSSASTKGPSVFPLAP
SSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLS
SVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKTC (DİZİ İD. NO:77)

Şekil 7'deki dizide siyah renkli parça sinyal dizisidir

ŞEKİL 7

Fab'A ağır zinciri

MKKT AIAIAVALAGFATVAQAEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAFSGFSLST
SGVGVGWVRQAPGKGLEWVAHIWWDGDESYNPSLKTQFTISKDTSKNTVYL
QMNSLRAEDTAVYYCARNRYDPPWFVDWGQGTLLTVSSASTKGPSVFPLAP
SSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLS
SVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKTCDKTHTCPPCPA
(DİZİ İD. NO:74)

Fab'A hafif zinciri

MKKT AIAIAVALAGFATVAQADIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISN
YLSWYQQKPKGAPKLLIYYTSKLHSGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFAT
YYCQQGKMLPWTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLN
NFYPREAKVQWKVDNAVQSGNSQESVTEQDSKDSITYLSSTLTLSKADYEK
HKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (DİZİ İD. NO:75)

Fab'A ağır zinciri (modifiye menteşe bağlayıcı)

MKKT AIAIAVALAGFATVAQAEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAFSGFSLST
SGVGVGWVRQAPGKGLEWVAHIWWDGDESYNPSLKTQFTISKDTSKNTVYL
QMNSLRAEDTAVYYCARNRYDPPWFVDWGQGTLLTVSSASTKGPSVFPLAP
SSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLS
SVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKTCDKTHTS (DİZİ İD. NO:76)

Fab'A hafif zinciri

MKKT AIAIAVALAGFATVAQAEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAFSGFSLST
SGVGVGWVRQAPGKGLEWVAHIWWDGDESYNPSLKTQFTISKDTSKNTVYL
QMNSLRAEDTAVYYCARNRYDPPWFVDWGQGTLLTVSSASTKGPSVFPLAP
SSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLS
SVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKTC (DİZİ İD. NO:77)

Şekil 7'deki dizide siyah renkli parça sinyal dizisidir

EP 2 480 577 B1

ŞEKİL 8A

mdAbH1

QVQLKESGPGGLVAPSQSL SITCTVSGIDLSNYAINWVRQPPGKGLEWIGIIWAS
GTTFYATWAKGRFSISRSTTVFLKMNSLQTDDTARYYCARTVPGYSTAPYF
DLWGQGT LVT VSS (DİZİ İD. NO:78)

CDRH1 GIDLSNYAIN (DİZİ İD. NO:56)
CDRH2 IIWASGTTFYATWAKG (DİZİ İD. NO:57)
CDRH3 TVPGYSTAPYFDL (DİZİ İD. NO:58)

mdAbL1

DIVMTQSPSSLT VTAGEKVTMSCQSSPSVWSNFLSWYQQKPGQPPKLLIYEAS
KLTS GVPDRFKGSGSGTDFLT LTISSVQAEDLATYYCGGGYSSISDTTFGGGTK
LEIKR (DİZİ İD. NO:79)

CDRL1 QSSPSVWSNFLS (DİZİ İD. NO:59)
CDRL2 EASKLTS (DİZİ İD. NO:60)
CDRL3 GGGYSSISD L I (DİZİ İD. NO:61)

mdAbH2

QVQLKESGPGGLVAPSQSL SITCTVSGFSLSR YAMTWVRQPPGKGLEWIGTITT
GGNTNYANWAKGRFSISKDSTQVFLKMNSLQTDDTAMYYCARGGYVSYAD
ATELSLWGQGT LVT VSS (DİZİ İD. NO:80)

CDRH1 GFSLSR YAMT (DİZİ İD. NO:62)
CDRH2 TITTGGNTNYANWAKG (DİZİ İD. NO:63)
CDRH3 GGYVSYADATELSL (DİZİ İD. NO:64)

mdAbL2

DIVMTQSPSSLSASLGERTITCQASQSIGSR LAWYQQKPGKTPKLLIFYASTV
ASGVPSRFRKSGSGGTEFSLTISLQPEDFATYYCQSYDYSSSSSYAFGGGTKLEI
KR (DİZİ İD. NO:81)

CDRL1 QASQSIGSR LA (DİZİ İD. NO:65)
CDRL2 YASTVAS (DİZİ İD. NO:66)
CDRL3 QSYDYSSSSSYA (DİZİ İD. NO:67)

EP 2 480 577 B1

ŞEKİL 8A

mdAbH1

QVQLKESGPGGLVAPSQSL SITCTVSGIDLSNYAINWVRQPPGKGLEWIGIIWAS
GTTFYATWAKGRFSISRSTTVFLKMNSLQTDDTARYYCARTVPGYSTAPYF
DLWGQGT LVT VSS (DİZİ İD. NO:78)

CDRH1 GIDLSNYAIN (DİZİ İD. NO:56)
CDRH2 IIWASGTTFYATWAKG (DİZİ İD. NO:57)
CDRH3 TVPGYSTAPYFDL (DİZİ İD. NO:58)

mdAbL1

DIVMTQSPSSLT VTAGEKVTMSCQSSPSVWSNFLSWYQQKPGQPPKLLIYEAS
KLTS GVPDRFKGSGSGTDFTLTISSVQAEDLATYYCGGGYSSISDTTFGGGTK
LEIKR (DİZİ İD. NO:79)

CDRL1 QSSPSVWSNFLS (DİZİ İD. NO:59)
CDRL2 EASKLTS (DİZİ İD. NO:60)
CDRL3 GGGYSSISD11 (DİZİ İD. NO:61)

mdAbH2

QVQLKESGPGGLVAPSQSL SITCTVSGFSLSR YAMTWVRQPPGKGLEWIGTITT
GGNTNYANWAKGRFSISKDSTQVFLKMNSLQTDDTAMYYCARGGYVSYAD
ATELSLWGQGT LVT VSS (DİZİ İD. NO:80)

CDRH1 GFSLSR YAMT (DİZİ İD. NO:62)
CDRH2 TITTGGNTNYANWAKG (DİZİ İD. NO:63)
CDRH3 GGYVSYADATELSL (DİZİ İD. NO:64)

mdAbL2

DIVMTQSPSSLSASLGERVTITCQASQSIGSR LAWYQQKPGKTPKLLIFYASTV
ASGVPSRFRFKGSGSGTEFSLTISSLQPEDFATYYCQSYDYSSSSSYAFGGGTKLEI
KR (DİZİ İD. NO:81)

CDRL1 QASQSIGSR LA (DİZİ İD. NO:65)
CDRL2 YASTVAS (DİZİ İD. NO:66)
CDRL3 QSYDYSSSSSYA (DİZİ İD. NO:67)

EP 2 480 577 B1

ŞEKİL 8A

mdAbH1

QVQLKESGPGGLVAPSQSL SITCTVSGIDLSNYAINWVRQPPGKGLEWIGIIWAS
GTTFYATWAKGRFSISRSTTVFLKMNSLQTDDTARYYCARTVPGYSTAPYF
DLWGQGT LVT VSS (DİZİ İD. NO:78)

CDRH1 GIDLSNYAIN (DİZİ İD. NO:56)
CDRH2 IIWASGTTFYATWAKG (DİZİ İD. NO:57)
CDRH3 TVPGYSTAPYFDL (DİZİ İD. NO:58)

mdAbL1

DIVMTQSPSSLT VTAGEKVTMSCQSSPSVWSNFLSWYQQKPGQPPKLLIYEAS
KLTSGVPDRFKGSGSGTDFTLTISSVQAEDLATYYCGGGYSSISDTTFGGGTK
LEIKR (DİZİ İD. NO:79)

CDRL1 QSSPSVWSNFLS (DİZİ İD. NO:59)
CDRL2 EASKLTS (DİZİ İD. NO:60)
CDRL3 GGGYSSISD11 (DİZİ İD. NO:61)

mdAbH2

QVQLKESGPGGLVAPSQSL SITCTVSGFSLSR YAMTWVRQPPGKGLEWIGTITT
GGNTNYANWAKGRFSISKDSTQVFLKMNSLQTDDTAMYYCARGGYVSYAD
ATELSLWGQGT LVT VSS (DİZİ İD. NO:80)

CDRH1 GFSLSR YAMT (DİZİ İD. NO:62)
CDRH2 TITTGGNTNYANWAKG (DİZİ İD. NO:63)
CDRH3 GGYVSYADATELSL (DİZİ İD. NO:64)

mdAbL2

DIVMTQSPSSLSASLGERVTITCQASQSIGSR LAWYQQKPGKTPKLLIFYASTV
ASGVPSRFRFKGSGSGTEFSLTISSLQPEDFATYYCQSYDYSSSSSYAFGGGTKLEI
KR (DİZİ İD. NO:81)

CDRL1 QASQSIGSR LA (DİZİ İD. NO:65)
CDRL2 YASTVAS (DİZİ İD. NO:66)
CDRL3 QSYDYSSSSSYA (DİZİ İD. NO:67)

ŞEKİL 8B

mFabD-mdidAb, -dAbL1(CK-G₄Sx2) & -dAbH1(CH1-G₄Sx2)

Ağır zincir değişken domaini +

AKTTPPSVYPLAPGSAAQTNSMVTLGCLVKGYFPEPVTVTWNSGSLSSGVHT
FPAVLQSDLYTLSSSVTVPSSTWPSETVTCNVAHPASSTKVDDKIVPRDCGGG
GSGGGGSQVQLKESGPGLVAPSQSLITCTVSGIDLSNYAINWVRQPPGKGLE
WIGIIWASGTTFYATWAKGRFSISRSTTVFLKMNSLQTDDTARYYCARTVP
GYSTAPYFDLWGQGTLLTVSSDYKDDDDK (Dizi ID. NO:82)

Hafif zincir değişken domaini +

TDAAPTVSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNMFYPKDINVKWKIDGSRQNGVLN
SWTDQDSKDSTYSMSSTLTLTKEDEYERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFNRNEC
GGGGSGGGGSDIVMTQSPSSLTAGEKVTMSCQSSPSVWSNFLSWYQQKPG
QPPKLLIYEASKLTSGVPSDFKSGSGGTDFLTISVQAEDLATYYCGGGYSSI
SDTTFGGGTKLEIKREQKLISEEDL (Dizi ID. NO:83)

mFabD-mdidAb, -dAbL2(CK-G₄Sx2) & -dAbH2(CH1-G₄Sx2)

Ağır zincir değişken domaini +

AKTTPPSVYPLAPGSAAQTNSMVTLGCLVKGYFPEPVTVTWNSGSLSSGVHT
FPAVLQSDLYTLSSSVTVPSSTWPSETVTCNVAHPASSTKVDDKIVPRDCGGG
GSGGGGSQVQLKESGPGLVAPSQSLITCTVSGFSLSRVAMTWVRQPPGKGL
EWIGTITTTGGNTNYANWAKGRFSISKDSTQVFLKMNSLQTDDTAMYYCARG
GYVSYADATELSLWGQGTLLTVSSDYKDDDDK (Dizi ID. NO:84)

Hafif zincir değişken domaini +

TDAAPTVSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNMFYPKDINVKWKIDGSRQNGVLN
SWTDQDSKDSTYSMSSTLTLTKEDEYERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFNRNEC
GGGGSGGGGSDIVMTQSPSSLSASLGERVTITCQASQSIGSRVWYQQKPGKT
PKLLIFYASTVASGVPSRFRKSGSGTEFSLTISLQPEDFATYYCQSYDYSSSSS
YAFGGGTKLEIKREQKLISEEDL (Dizi ID. NO:85)

dAbL C terminalleri bir FLAG işareti ile son armakta. dAbH C terminalleri ise bir Myc işareti ile son armaktadır.

ŞEKİL 8B

mFabD-mdidAb, -dAbL1(CK-G₄Sx2) & -dAbH1(CH1-G₄Sx2)

Ağır zincir değişken domaini +

AKTTPPSVYPLAPGSAAQTNSMVTLGCLVKGYFPEPVTVTWNSGSLSSGVHT
FPAVLQSDLYTLSSSVTVPSSTWPSETVTCNVAHPASSTKVDDKIVPRDCGGG
GSGGGGSQVQLKESGPGLVAPSQSLITCTVSGIDLSNYAINWVRQPPGKGLE
WIGIIWASGTTFYATWAKGRFSISRSTTVFLKMNSLQTDDTARYYCARTVP
GYSTAPYFDLWGQGTLLTVSSDYKDDDDK (Dizi ID. NO:82)

Hafif zincir değişken domaini +

TDAAPTVSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNMFYPKDINVKWKIDGSRQNGVLN
SWTDQDSKDSTYSMSSTLTTLTKDEYERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFNRNEC
GGGGSGGGGSDIVMTQSPSSLTAGEKVTMSCQSSPSVWSNFLSWYQQKPG
QPPKLLIYEASKL TSGVPDFRFGSGSGTDFLTISVQAEDLATYYCGGGYSSI
SDTTFGGGTKLEIKREQKLISEEDL (Dizi ID. NO:83)

mFabD-mdidAb, -dAbL2(CK-G₄Sx2) & -dAbH2(CH1-G₄Sx2)

Ağır zincir değişken domaini +

AKTTPPSVYPLAPGSAAQTNSMVTLGCLVKGYFPEPVTVTWNSGSLSSGVHT
FPAVLQSDLYTLSSSVTVPSSTWPSETVTCNVAHPASSTKVDDKIVPRDCGGG
GSGGGGSQVQLKESGPGLVAPSQSLITCTVSGFSLSRVAMTWVRQPPGKGL
EWIGTITTTGGNTNYANWAKGRFSISKDSTQVFLKMNSLQTDDTAMYYCARG
GYVSYADATELSLWGQGTLLTVSSDYKDDDDK (Dizi ID. NO:84)

Hafif zincir değişken domaini +

TDAAPTVSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNMFYPKDINVKWKIDGSRQNGVLN
SWTDQDSKDSTYSMSSTLTTLTKDEYERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFNRNEC
GGGGSGGGGSDIVMTQSPSSLSASLGERVTITCQASQSIGSRVWYQQKPGKT
PKLLIFYASTVASGVPSRFGSGSGTEFSLTISLQPEDFATYYCQSYDYSSSSS
YAFGGGTKLEIKREQKLISEEDL (Dizi ID. NO:85)

dAbL C terminalleri bir FLAG işareti ile son armakta. dAbH C terminalleri ise bir Myc işareti ile son armaktadır.

ŞEKİL 8B

mFabD-mdidAb, -dAbL1(CK-G₄Sx2) & -dAbH1(CH1-G₄Sx2)

Ağır zincir değişken domaini +

AKTTPPSVYPLAPGSAAQTNSMVTLGCLVKGYFPEPVTVTWNSGSLSSGVHT
FPAVLQSDLYTLSSSVTVPSSTWPSETVTCNVAHPASSTKVDDKIVPRDCGGG
GSGGGGSQVQLKESGPGLVAPSQSLITCTVSGIDLSNYAINWVRQPPGKGLE
WIGIIWASGTTFYATWAKGRFSISRSTTVFLKMNSLQTDDTARYYCARTVP
GYSTAPYFDLWGQGTLLTVSSDYKDDDDK (Dizi ID. NO:82)

Hafif zincir değişken domaini +

TDAAPTVSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNMFYPKDINVKWKIDGSRQNGVLN
SWTDQDSKDSTYSMSSTLTTLTKDEYERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFNRNEC
GGGGSGGGGSDIVMTQSPSSLTAGEKVTMSCQSSPSVWSNFLSWYQQKPG
QPPKLLIYEASKLTSGVPRFRKGSGSGTDFLTISVQAEDLATYYCGGGYSSI
SDTTFGGGTKLEIKREQKLISEEDL (Dizi ID. NO:83)

mFabD-mdidAb, -dAbL2(CK-G₄Sx2) & -dAbH2(CH1-G₄Sx2)

Ağır zincir değişken domaini +

AKTTPPSVYPLAPGSAAQTNSMVTLGCLVKGYFPEPVTVTWNSGSLSSGVHT
FPAVLQSDLYTLSSSVTVPSSTWPSETVTCNVAHPASSTKVDDKIVPRDCGGG
GSGGGGSQVQLKESGPGLVAPSQSLITCTVSGFSLSRVAMTWVRQPPGKGL
EWIGTITTTGGNTNYANWAKGRFSISKDSTQVFLKMNSLQTDDTAMYYCARG
GYVSYADATELSLWGQGTLLTVSSDYKDDDDK (Dizi ID. NO:84)

Hafif zincir değişken domaini +

TDAAPTVSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNMFYPKDINVKWKIDGSRQNGVLN
SWTDQDSKDSTYSMSSTLTTLTKDEYERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFNRNEC
GGGGSGGGGSDIVMTQSPSSLSASLGERVTITCQASQSIGSRVWYQQKPGKT
PKLLIFYASTVASGVPSRFRKGSGSGTEFSLTISLQPEDFATYYCQSYDYSSSSS
YAFGGGTKLEIKREQKLISEEDL (Dizi ID. NO:85)

dAbL C terminalleri bir FLAG işareti ile son armakta. dAbH C terminalleri ise bir Myc işareti ile son armaktadır.

ŞEKİL 8C

mFabC-mdidAb, -dAbL1(CK-G₄Sx2) & -dAbH1(CH1-G₄Sx2)mFabC-mdAbH1

Ağır zincir değişken domeni +

AK I I PPSVYPLAPGSAAQTNSMVTLGCLVKGYFPEPVTVTWNSGSLSSGVHT
FPAVLQSDLYTLSSSVTVPSSTWPSETVTCNVAHPASSTKVDKKIVPRDCGGG
GSGGGGSQVQLKESGPGLVAPSQSLITCTVSGIDLSNYAINWVRQPPGKGLE
WIGIIWASGTTFYATWAKGRFSISRSTTVFLKMNSLQTDDTARYYCARTVP
GYSTAPYFDLWGQGTILVTVSSDYKDDDDK (DİZİ İD. NO:86)

Hafif zincir değişken domeni +

TDAAPTVSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNFPYKDIVKWKIDGSRQNGVLN
SWTDQDSKDYSTYSMSSTLTTLTKDEYERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFNREK
GGGGSGGGGSDIVMTQSPSSLTVTAGEKVTMSCQSSPSVWSNFI.SWYQQKPG
QPPKLLIYEASKLTSGVPDRFKGSGSGTDFTLTISVQAEDLATYYCGGGYSSI
SDTTFGGGTKLEIKREQKLISEEDL (DİZİ İD. NO:87)

mFabC-mdidAb, -dAbL2(CK-G₄Sx2) & -dAbH2(CH1-G₄Sx2)

Ağır zincir değişken domeni +

AK I T PPSVYPLAPGSAAQTNSMVTLGCLVKGYFPEPVTVTWNSGSLSSGVHT
FPAVLQSDI.YTLSSSVTVPSSTWPSETVTCNVAHPASSTKVDKKIVPRDCGGG
GSGGGGSQVQLKESGPGLVAPSQSLITCTVSGFSLSRyamTWVRQPPGKGL
EWIGTITGGNTNYANWAKGRFSISKDSTQVFLKMNSLQTDDTAMYYCARG
GYVSYADATELSLWGQGTILVTVSSDYKDDDDK (DİZİ İD. NO:88)

Hafif zincir değişken domeni +

TDAAPTVSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNFPYKDIVKWKIDGSRQNGVLN
SWTDQDSKDYSTYSMSSTLTTLTKDEYERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFNREK
GGGGSGGGGSDIVMTQSPSSLSASLGERVTITCQASQSIGSLAWYQQKPGKT
PKLLIFYASTVASGVPSRFKSGSGTEFSLTISLQPEDFATYYCQSYDYSSSS
YAFGGGKLEIKREQKLISEEDL (DİZİ İD. NO:89)

ŞEKİL 8C

mFabC-mdidAb, -dAbL1(CK-G₄Sx2) & -dAbH1(CH1-G₄Sx2)mFabC-mdAbH1

Ağır zincir değişken domeni +

AK I I PPSVYPLAPGSAAQTNSMVTLGCLVKGYFPEPVTVTWNSGSLSSGVHT
FPAVLQSDLYTLSSSVTVPSSTWPSETVTCNVAHPASSTKVDKKIVPRDCGGG
GSGGGGSQVQLKESGPGLVAPSQSLITCTVSGIDLSNYAINWVRQPPGKGLE
WIGIIWASGTTFYATWAKGRFSISRSTTVFLKMNSLQTDDTARYYCARTVP
GYSTAPYFDLWGQGTILVTVSSDYKDDDDK (DİZİ İD. NO:86)

Hafif zincir değişken domeni +

TDAAPTVSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNMFYPKDINVKWKIDGSRQNGVLN
SWTDQDSKDSTYSMSSTLTTLTKDEYERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFNNEC
GGGGSGGGGSDIVMTQSPSSLTVTAGEKVTMSCQSSPSVWSNFLSWYQQKPG
QPPKLLIYEASKLTSGVPDRFKGSGSGTDFTLTISVQAEDLATYYCGGGYSSI
SDTTFGGGTKLEIKREQKLISEEDL (DİZİ İD. NO:87)

mFabC-mdidAb, -dAbL2(CK-G₄Sx2) & -dAbH2(CH1-G₄Sx2)

Ağır zincir değişken domeni +

AK I T PPSVYPLAPGSAAQTNSMVTLGCLVKGYFPEPVTVTWNSGSLSSGVHT
FPAVLQSDI.YTLSSSVTVPSSTWPSETVTCNVAHPASSTKVDKKIVPRDCGGG
GSGGGGSQVQLKESGPGLVAPSQSLITCTVSGFSLSRyamTWVRQPPGKGL
EWIGTITGGNTNYANWAKGRFSISKDSTQVFLKMNSLQTDDTAMYYCARG
GYVSYADATELSLWGQGTILVTVSSDYKDDDDK (DİZİ İD. NO:88)

Hafif zincir değişken domeni +

TDAAPTVSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNMFYPKDINVKWKIDGSRQNGVLN
SWTDQDSKDSTYSMSSTLTTLTKDEYERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFNNEC
GGGGSGGGGSDIVMTQSPSSLSASLGERVTITCQASQSIGSLAWYQQKPGKT
PKLLIFYASTVASGVPSRFKSGSGTEFSLTISLQPEDFATYYCQSYDYSSSS
YAFGGGKLEIKREQKLISEEDL (DİZİ İD. NO:89)

ŞEKİL 8C

mFabC-mdidAb, -dAbL1(CK-G₄Sx2) & -dAbH1(CH1-G₄Sx2)mFabC-mdAbH1

Ağır zincir değişken domeni +

AK I I PPSVYPLAPGSAAQTNSMVTLGCLVKGYFPEPVTVTWNSGSLSSGVHT
FPAVLQSDLYTLSSSVTVPSSTWPSETVTCNVAHPASSTKVDKKIVPRDCGGG
GSGGGGSQVQLKESGPGLVAPSQSLITCTVSGIDLSNYAINWVRQPPGKGLE
WIGIIWASGTTFYATWAKGRFSISRSTTVFLKMNSLQTDDTARYYCARTVP
GYSTAPYFDLWGQGTILVTVSSDYKDDDDK (DİZİ İD. NO:86)

Hafif zincir değişken domeni +

TDAAPTVSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNMFYPKDINVKWKIDGSRQNGVLN
SWTDQDSKDSTYSMSSTLTTLTKDEYERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFNNEC
GGGGSGGGGSDIVMTQSPSSLTVTAGEKVTMSCQSSPSVWSNFLSWYQQKPG
QPPKLLIYEASKLTSGVPDRFKGSGSGTDFTLTISVQAEDLATYYCGGGYSSI
SDTTFGGGTKLEIKREQKLISEEDL (DİZİ İD. NO:87)

mFabC-mdidAb, -dAbL2(CK-G₄Sx2) & -dAbH2(CH1-G₄Sx2)

Ağır zincir değişken domeni +

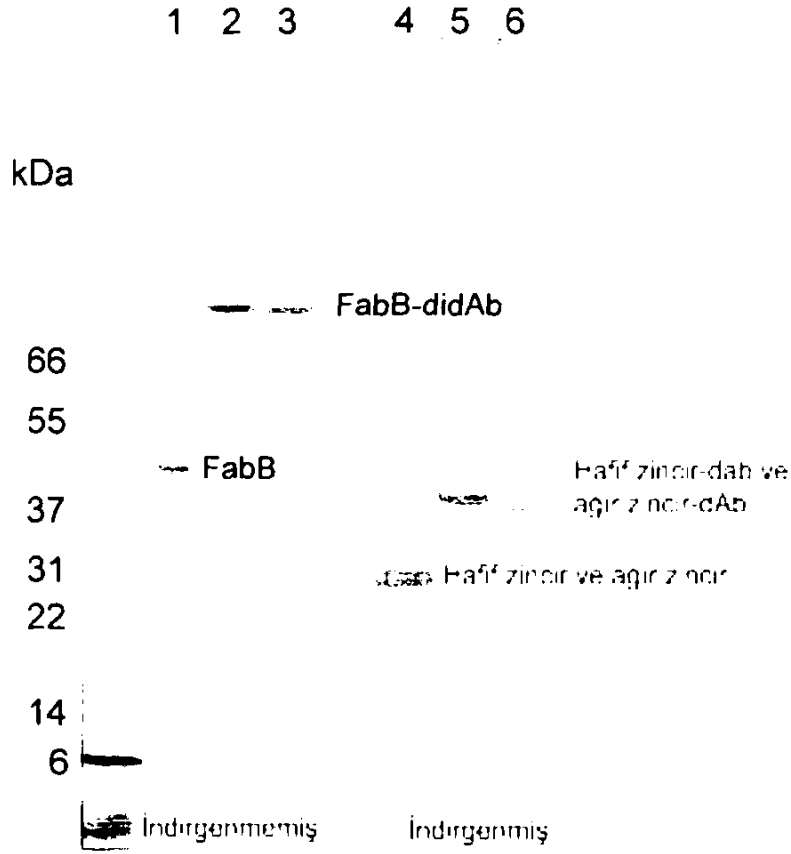
AK I T PPSVYPLAPGSAAQTNSMVTLGCLVKGYFPEPVTVTWNSGSLSSGVHT
FPAVLQSDI.YTLSSSVTVPSSTWPSETVTCNVAHPASSTKVDKKIVPRDCGGG
GSGGGGSQVQLKESGPGLVAPSQSLITCTVSGFSLSRyamTWVRQPPGKGL
EWIGTITGGNTNYANWAKGRFSISKDSTQVFLKMNSLQTDDTAMYYCARG
GYVSYADATELSLWGQGTILVTVSSDYKDDDDK (DİZİ İD. NO:88)

Hafif zincir değişken domeni +

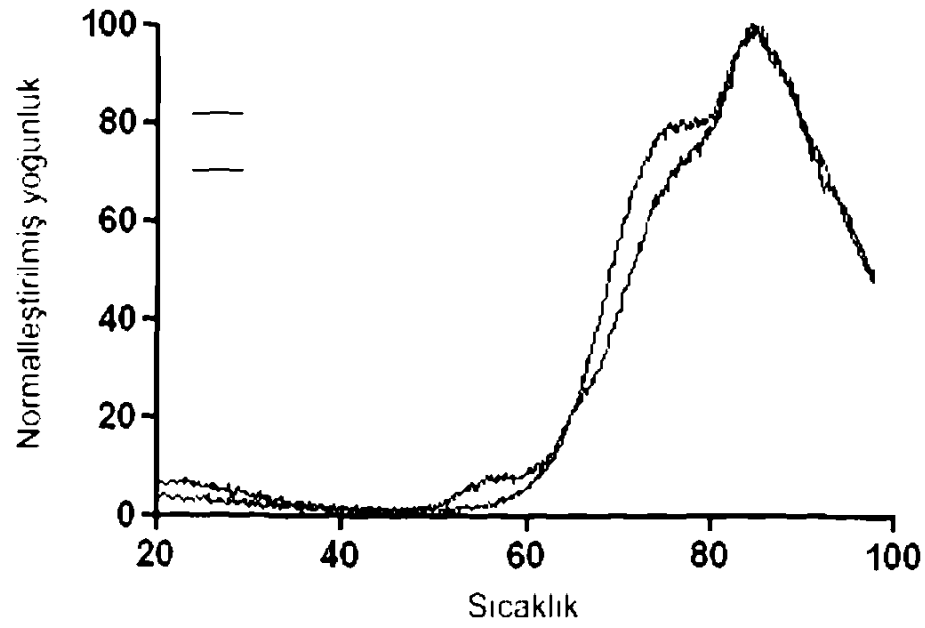
TDAAPTVSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNMFYPKDINVKWKIDGSRQNGVLN
SWTDQDSKDSTYSMSSTLTTLTKDEYERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFNNEC
GGGGSGGGGSDIVMTQSPSSLSASLGERVTITCQASQSIGSLAWYQQKPGKT
PKLLIFYASTVASGVPSRFKSGSGTEFSLTISLQPEDFATYYCQSYDYSSSS
YAFGGGKLEIKREQKLISEEDL (DİZİ İD. NO:89)

EP 2 480 577 B1

ŞEKİL 9

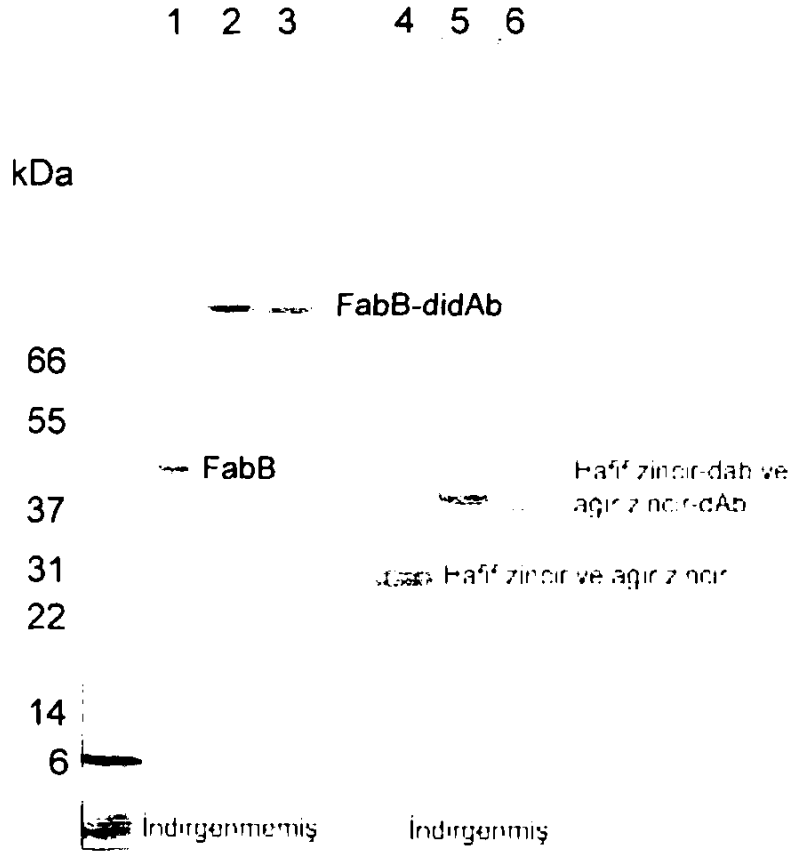


ŞEKİL 10

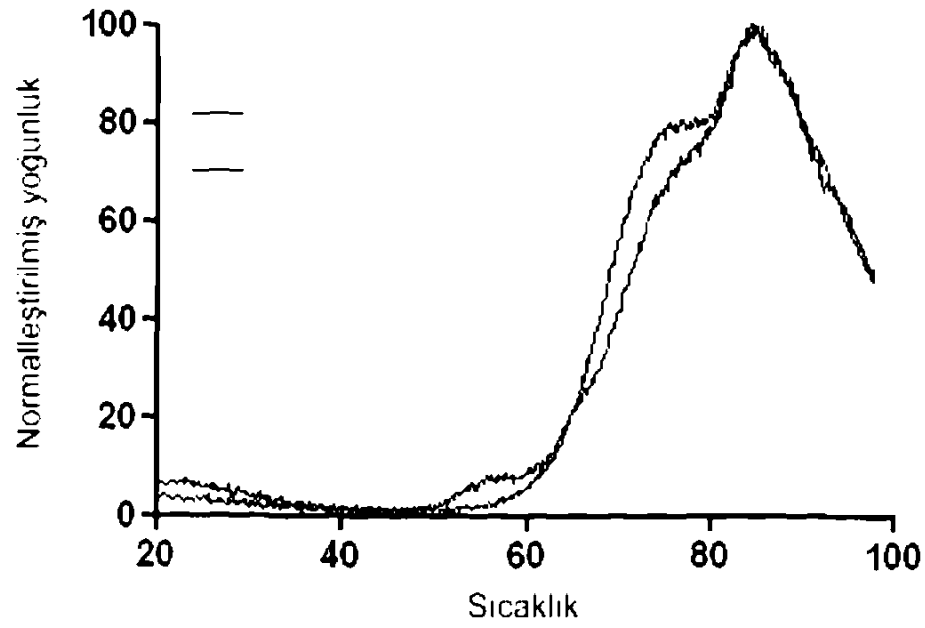


EP 2 480 577 B1

ŞEKİL 9

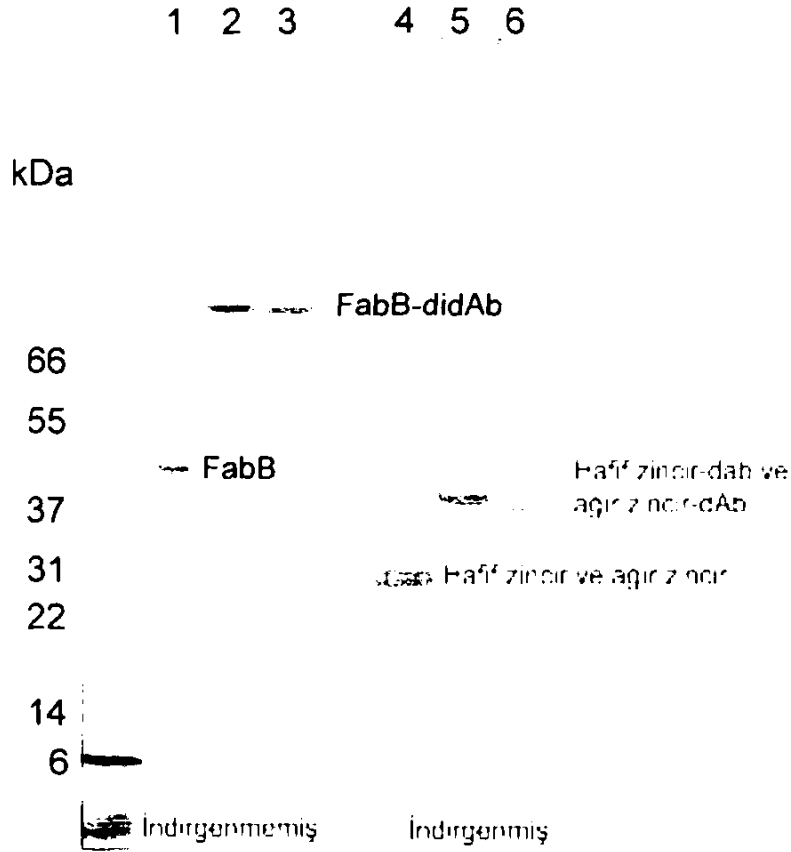


ŞEKİL 10

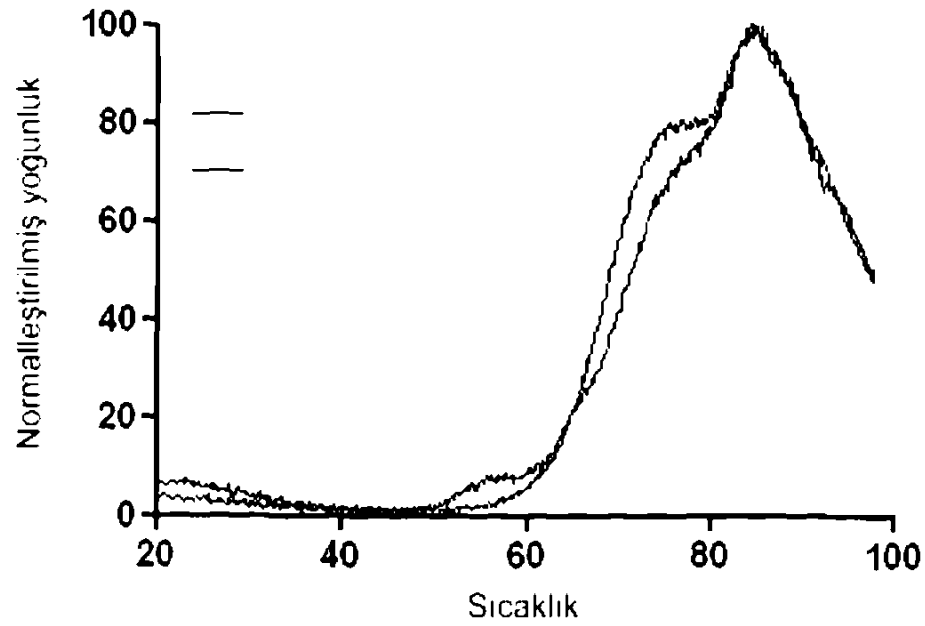


EP 2 480 577 B1

ŞEKİL 9

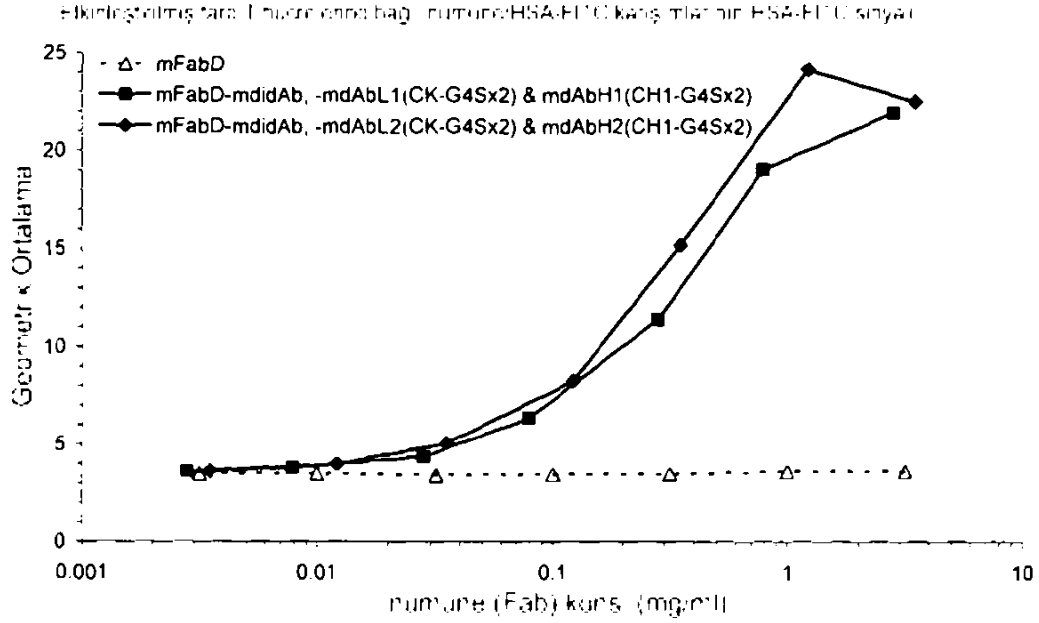


ŞEKİL 10

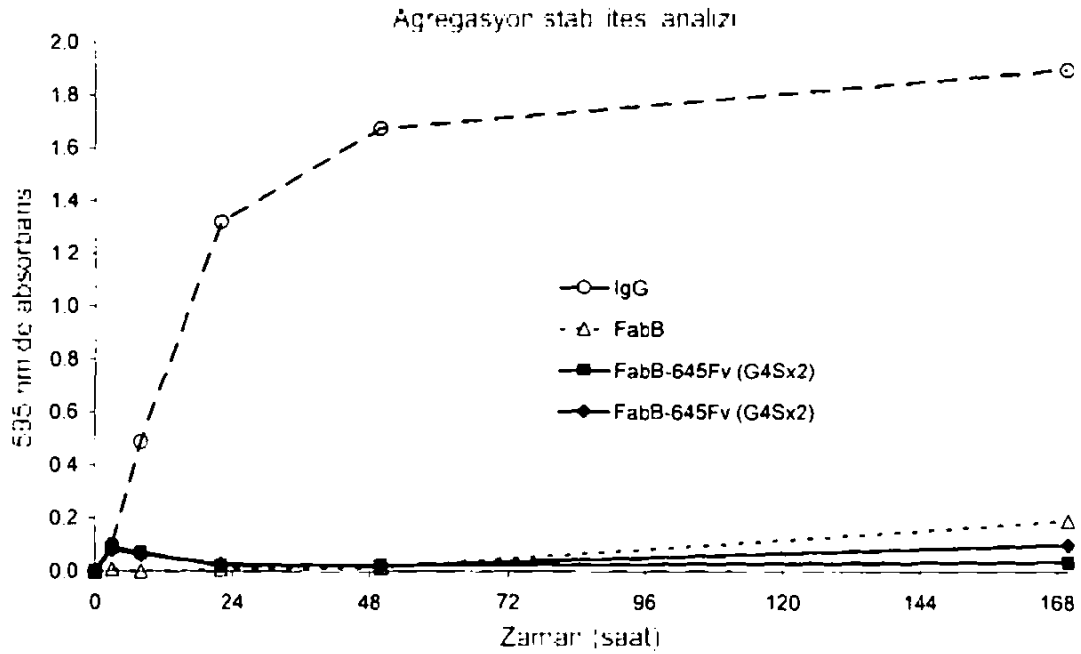


EP 2 480 577 B1

ŞEKİL 11

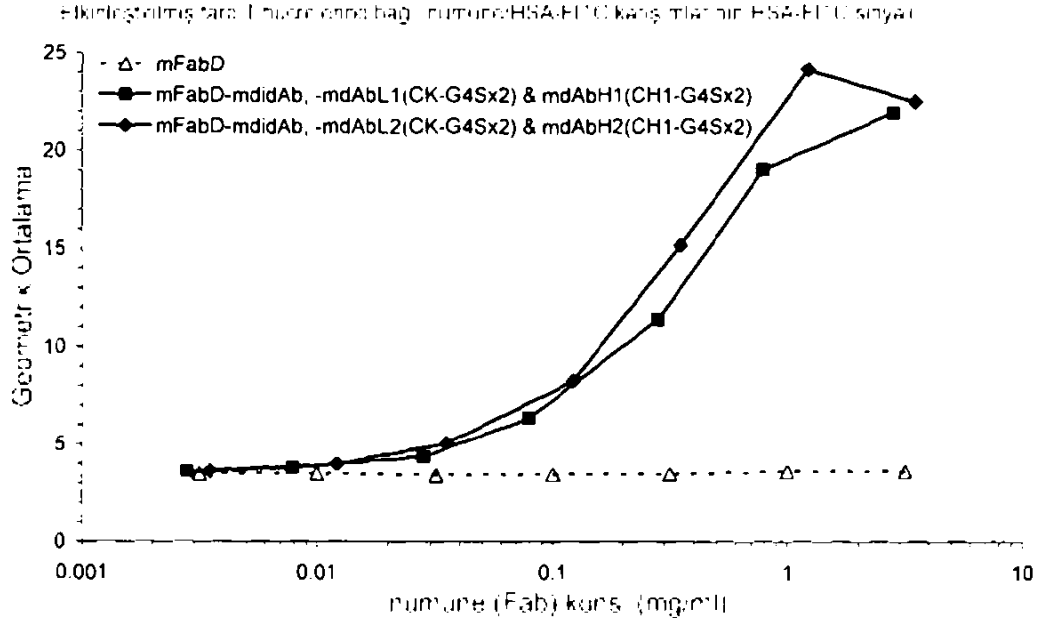


ŞEKİL 12

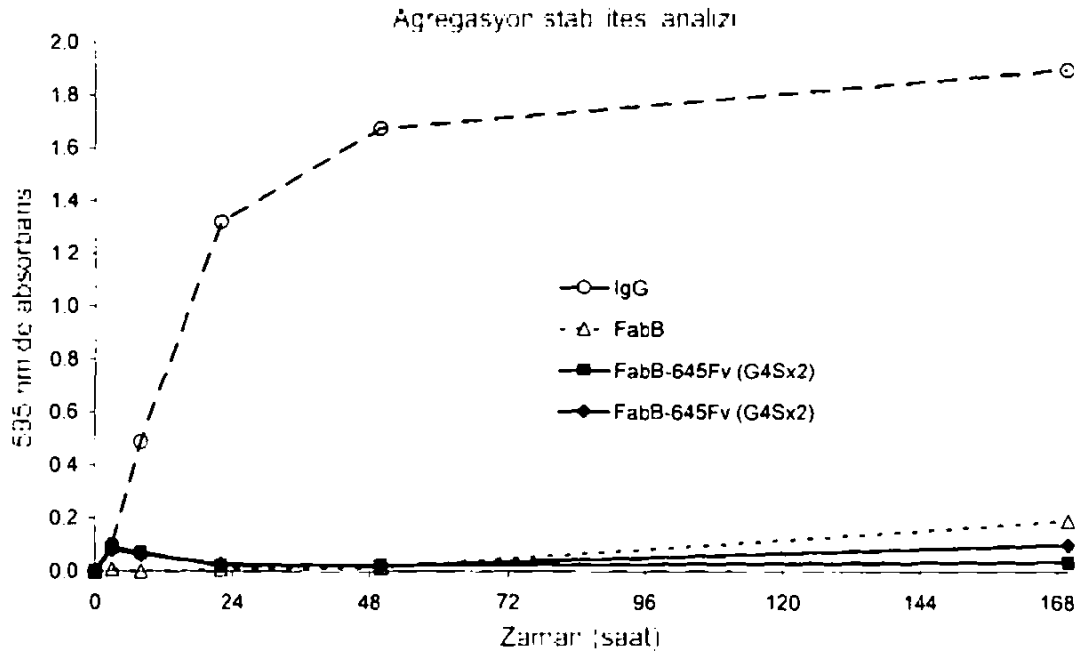


EP 2 480 577 B1

ŞEKİL 11

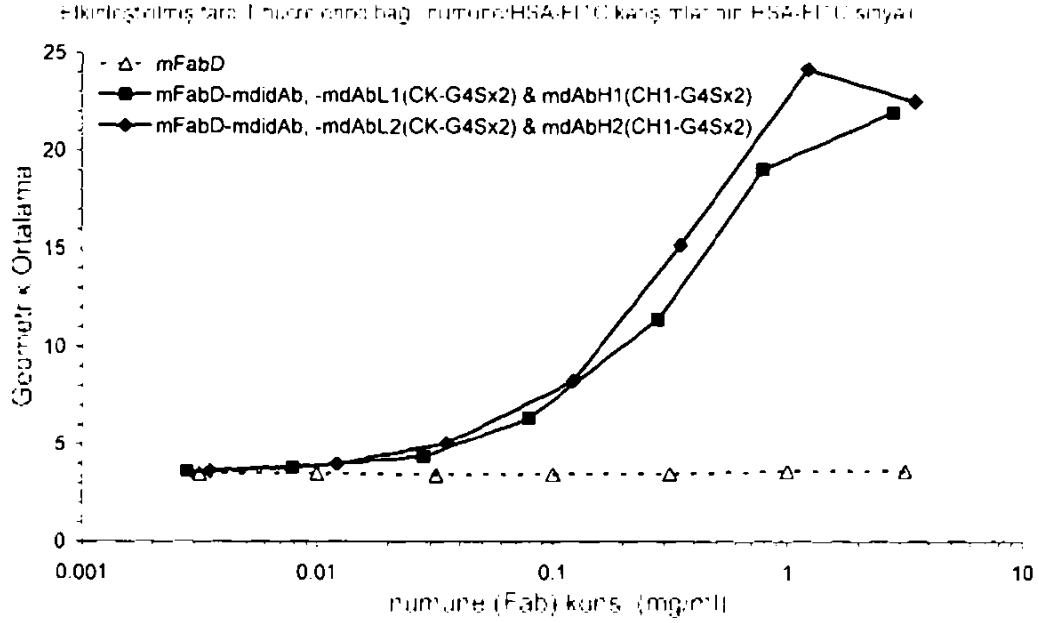


ŞEKİL 12

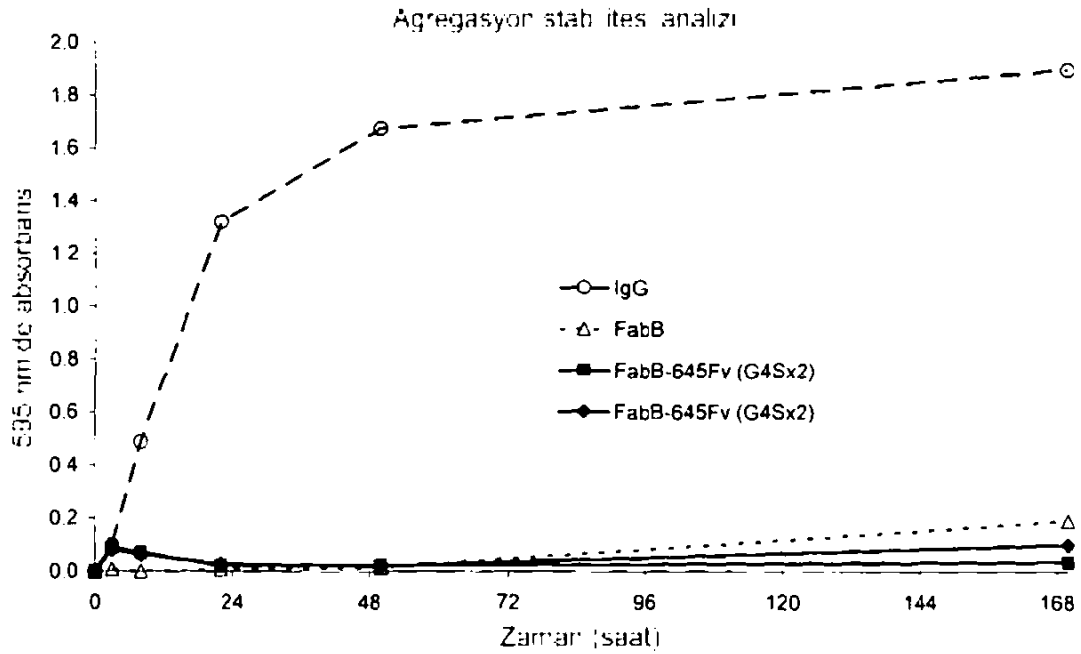


EP 2 480 577 B1

ŞEKİL 11

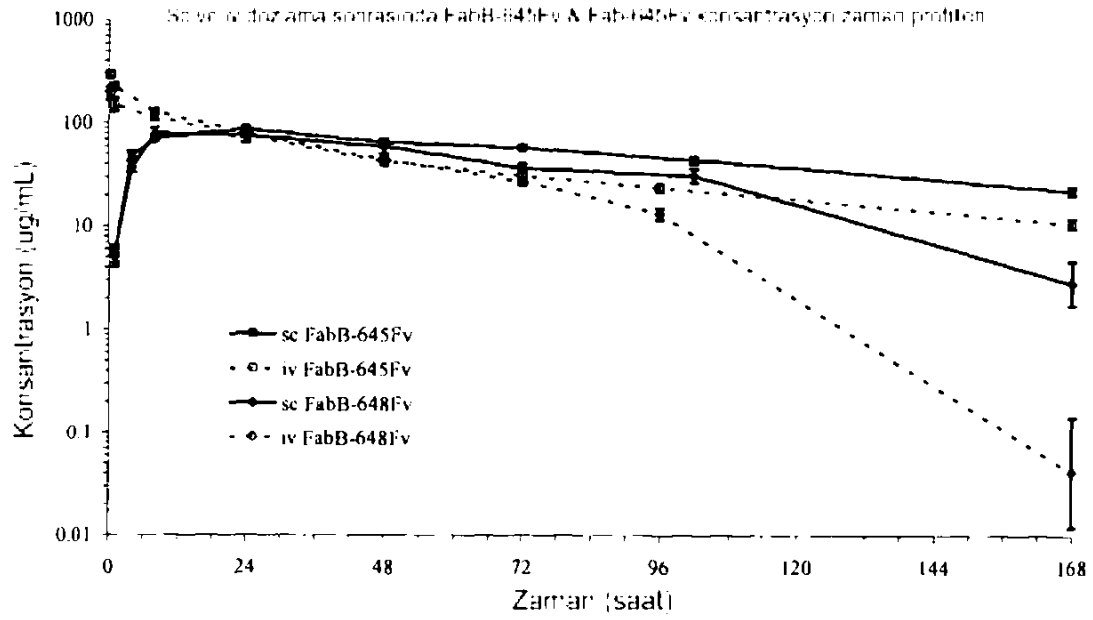


ŞEKİL 12



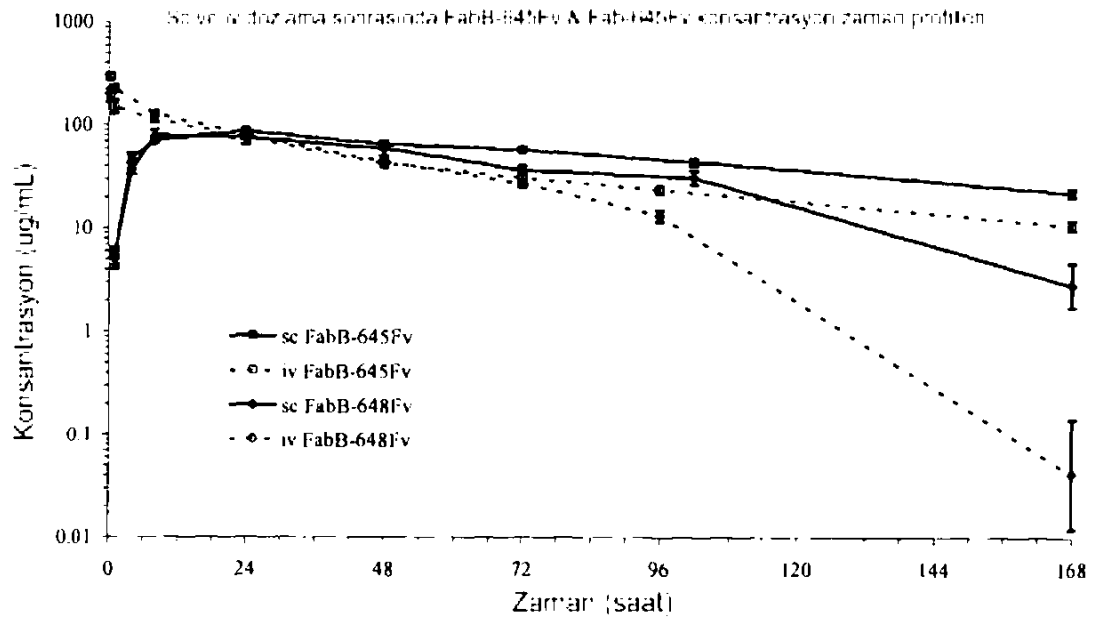
EP 2 480 577 B1

ŞEKİL 13



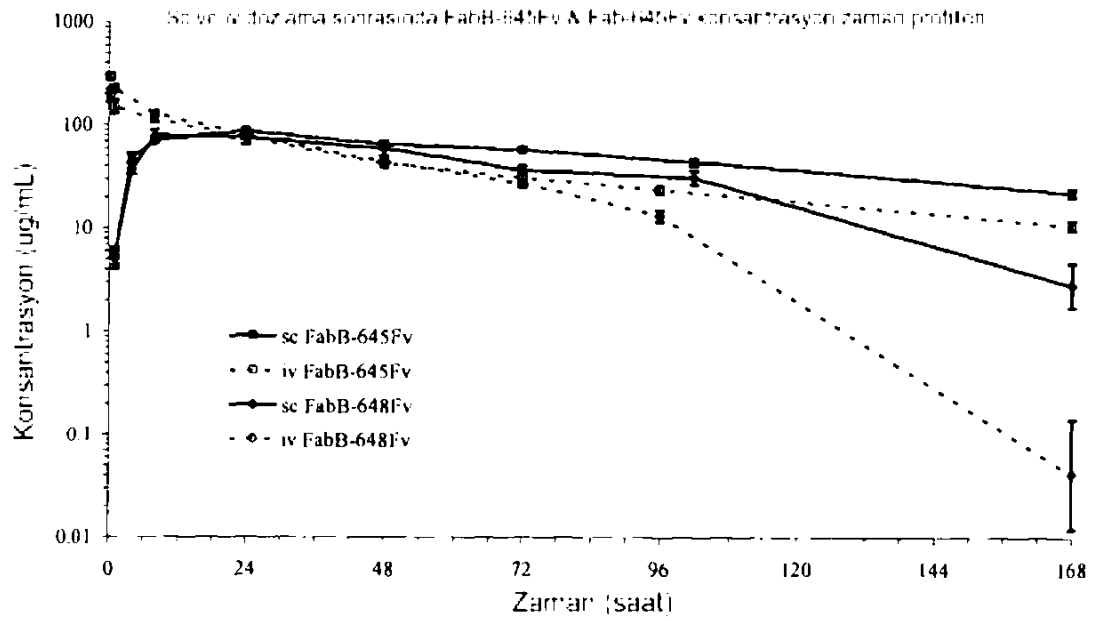
EP 2 480 577 B1

ŞEKİL 13



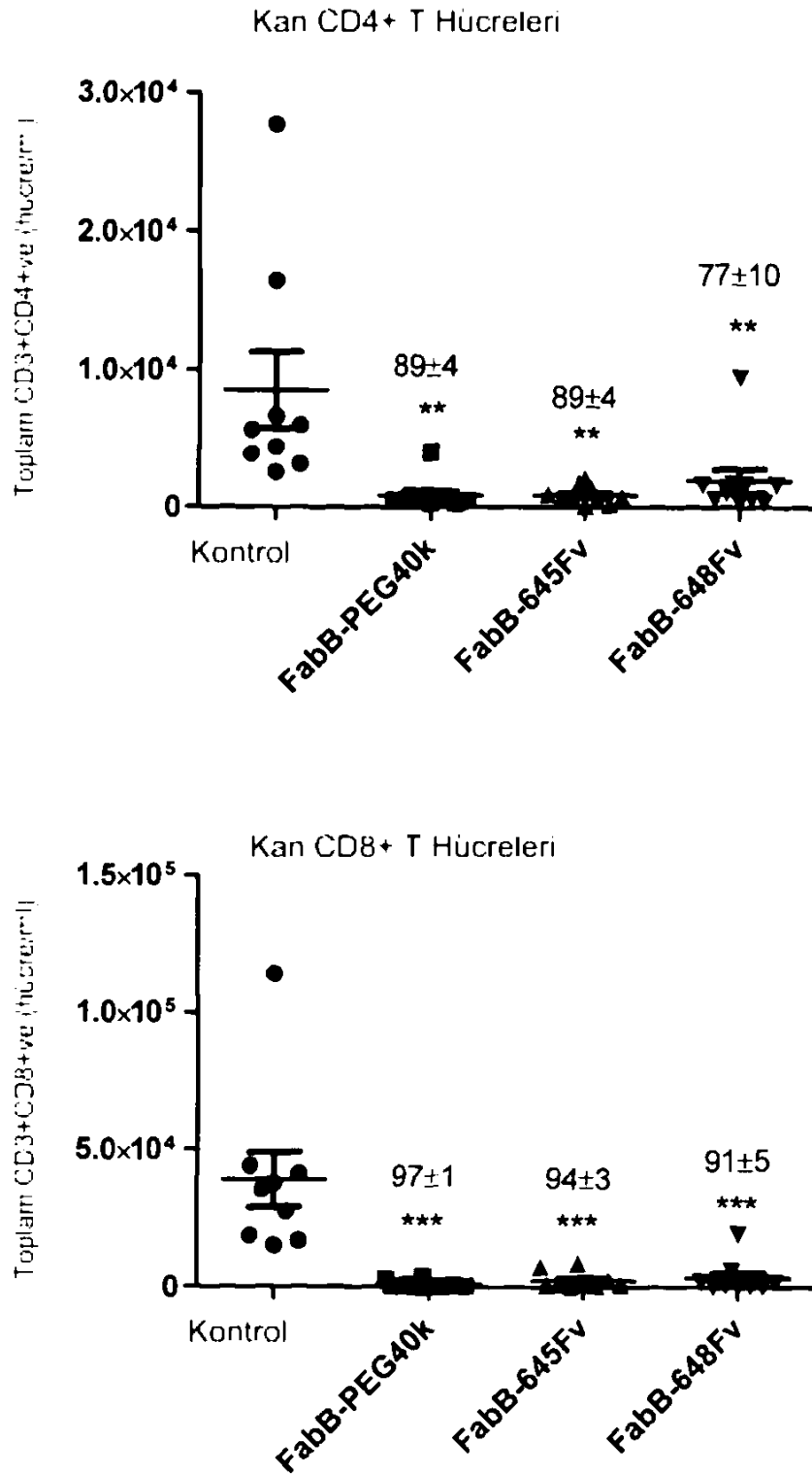
EP 2 480 577 B1

ŞEKİL 13



EP 2 480 577 B1

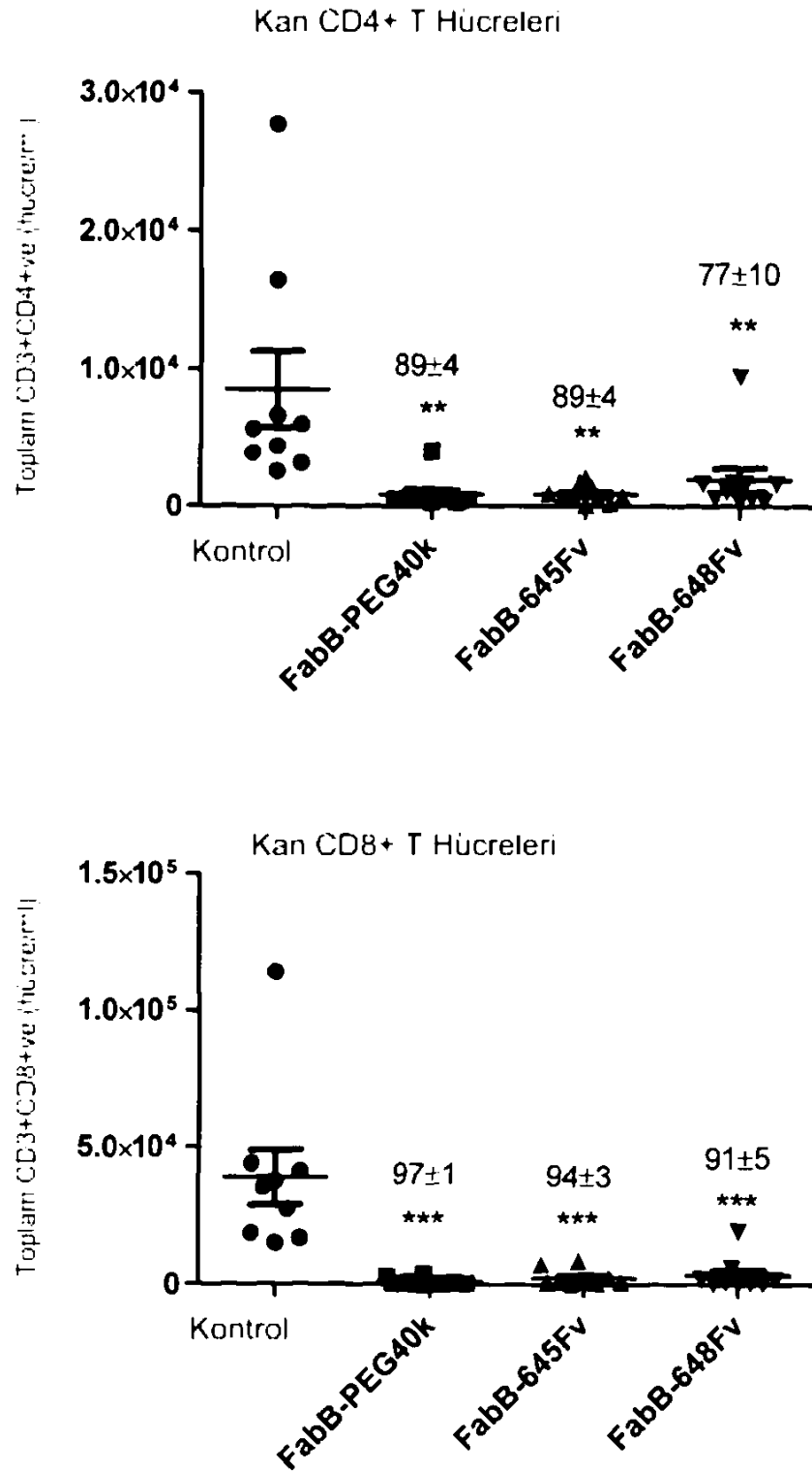
ŞEKİL 14A



P<0.01, *P<0.001

EP 2 480 577 B1

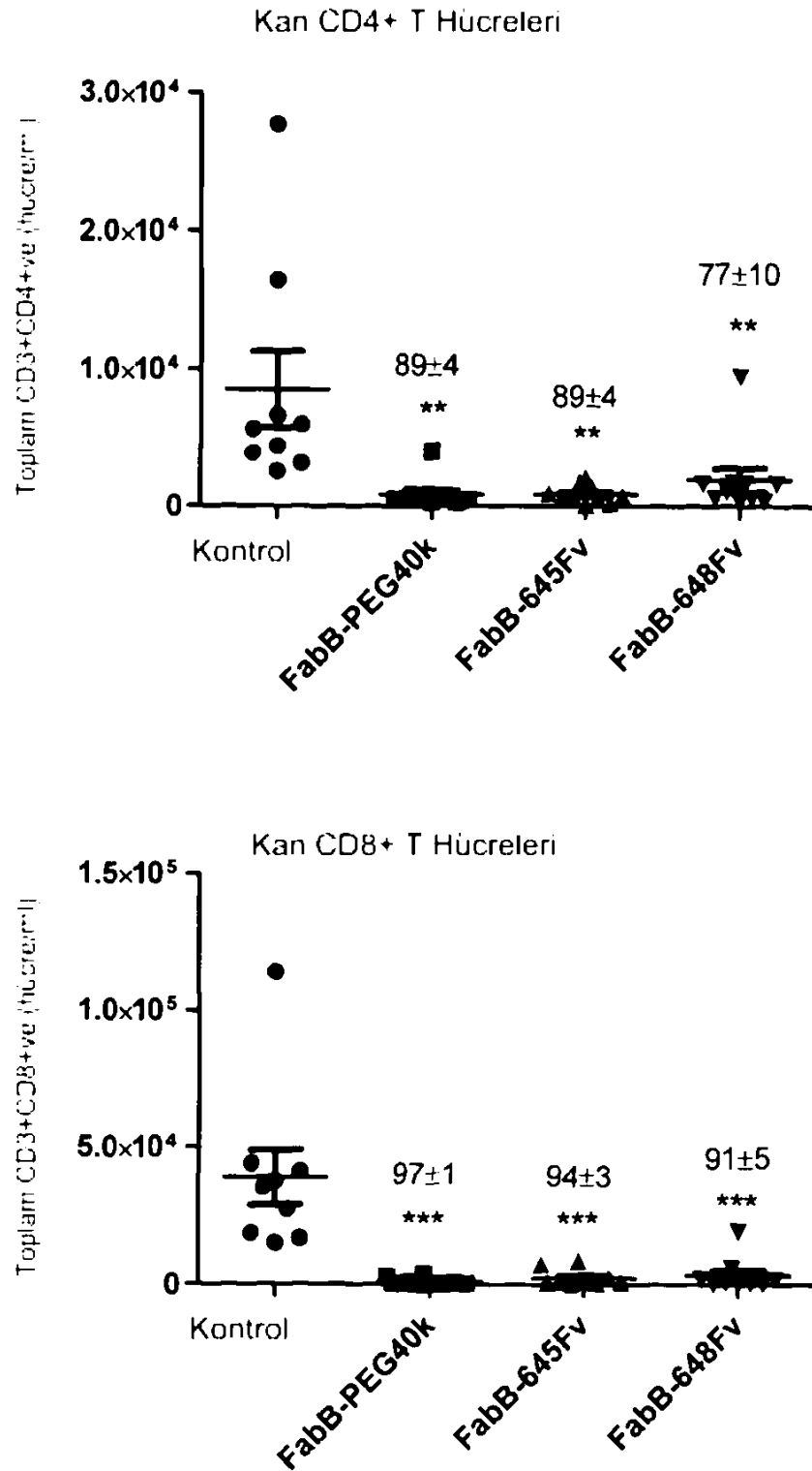
ŞEKİL 14A



P<0.01, *P<0.001

EP 2 480 577 B1

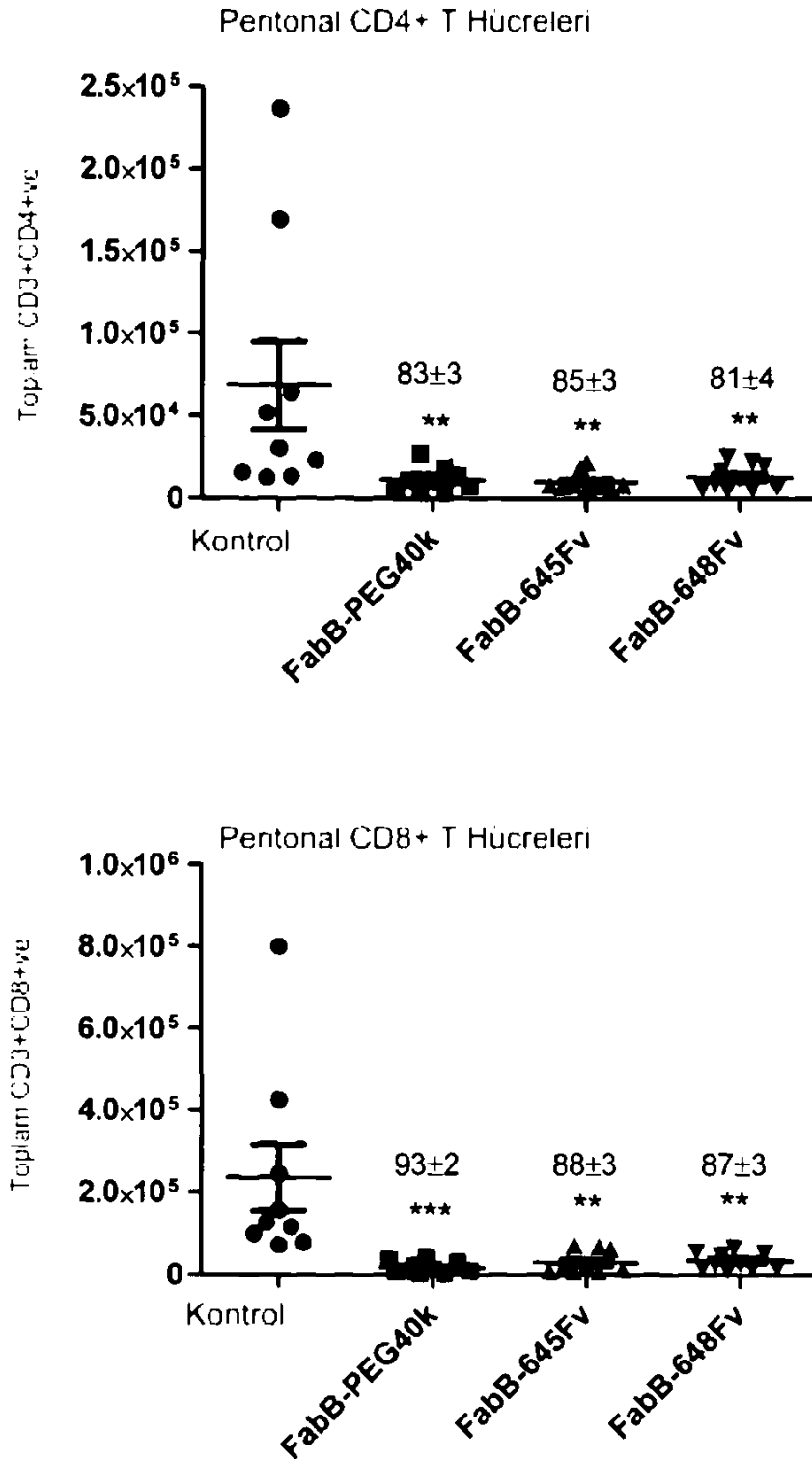
ŞEKİL 14A



P<0.01, *P<0.001

EP 2 480 577 B1

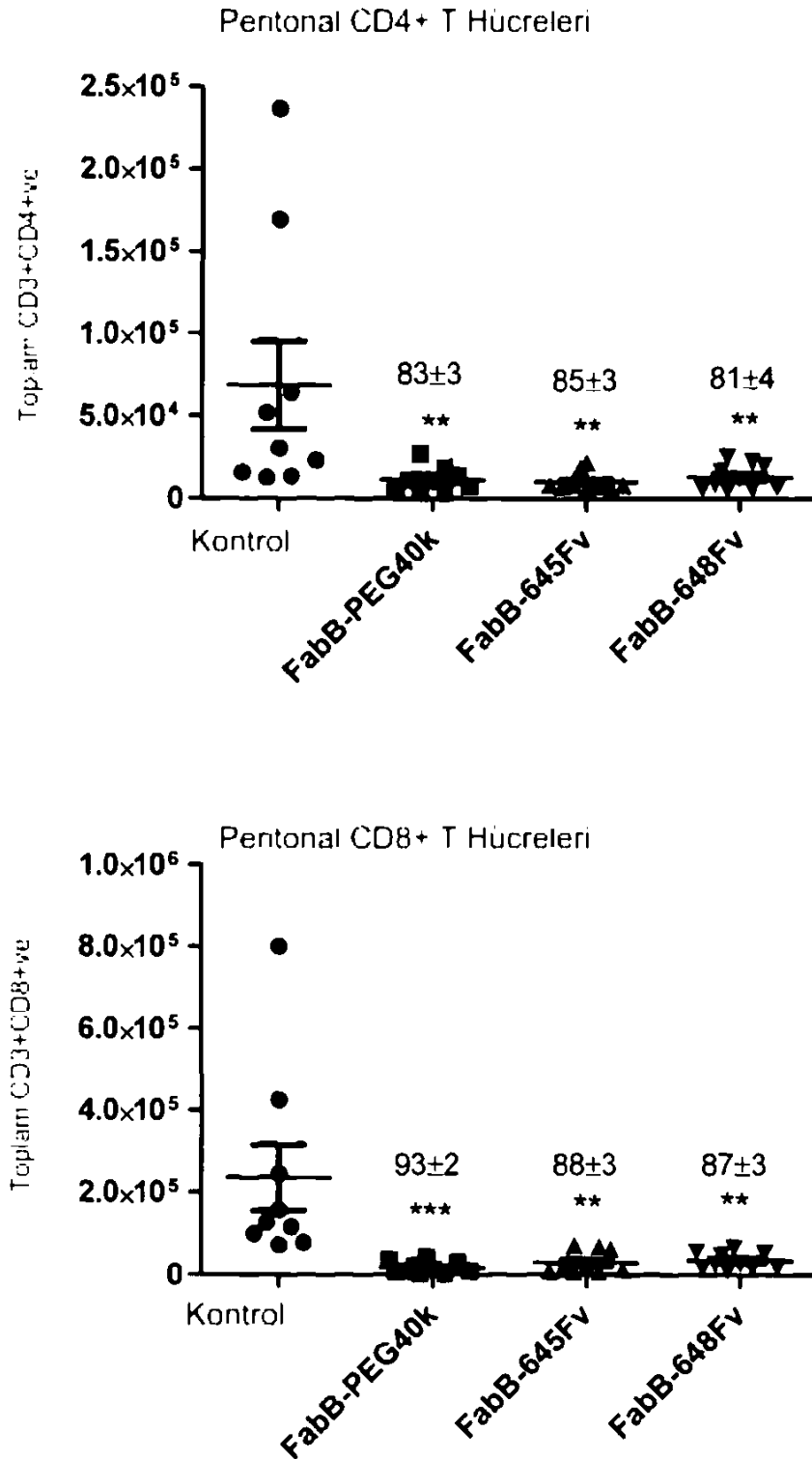
ŞEKİL 14B



P<0.01, *P<0.001

EP 2 480 577 B1

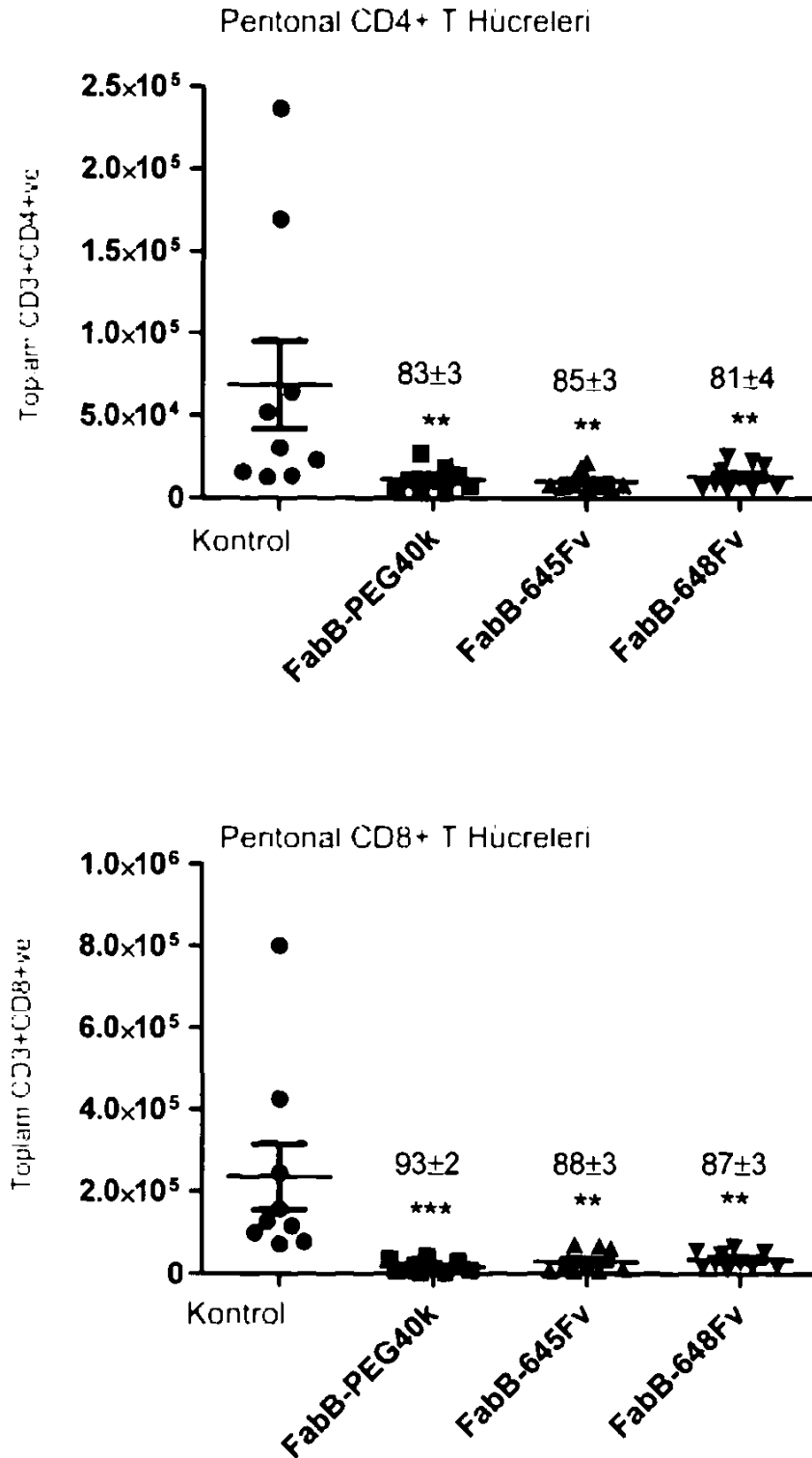
ŞEKİL 14B



P<0.01, *P<0.001

EP 2 480 577 B1

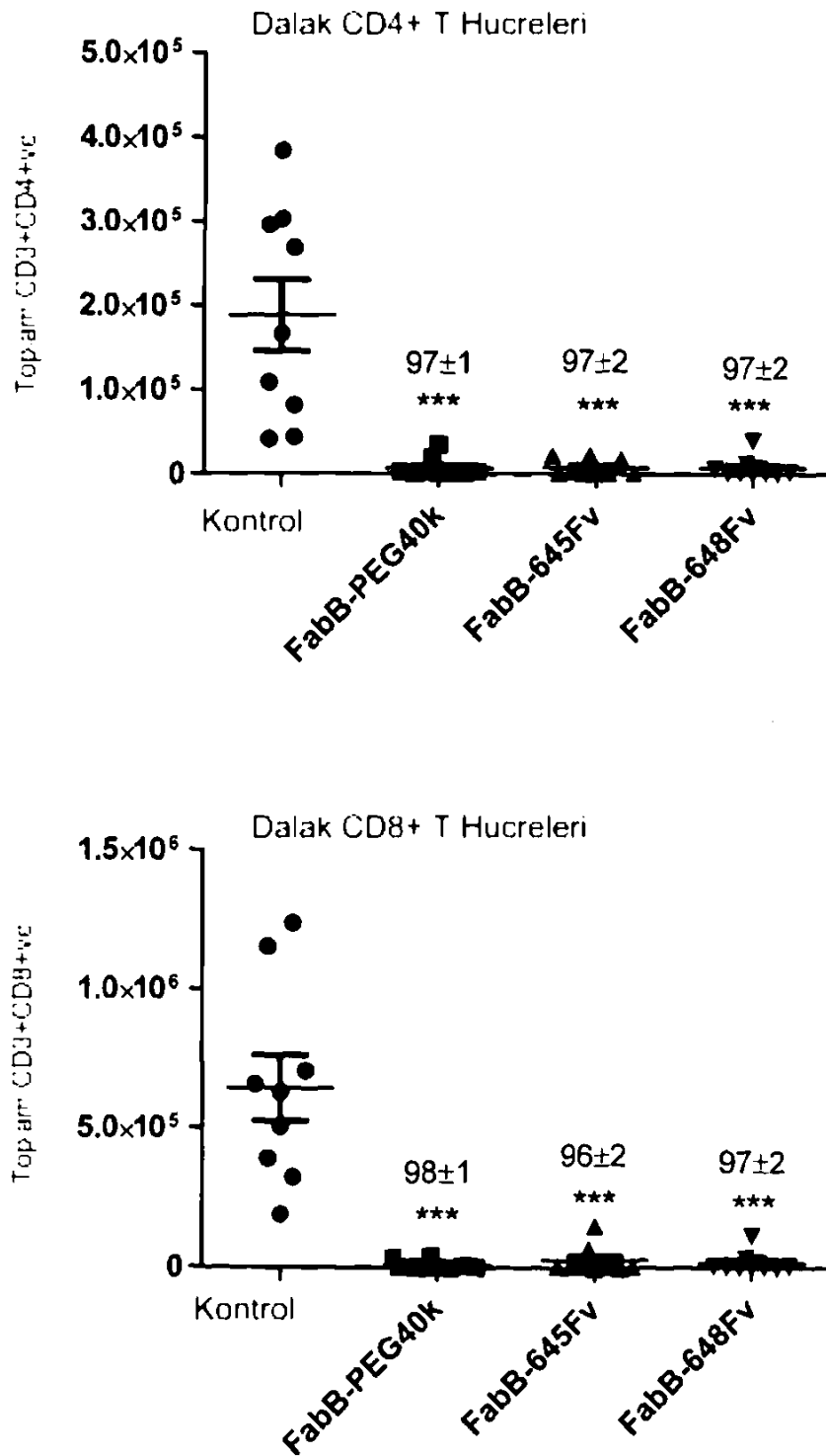
ŞEKİL 14B



P<0.01, *P<0.001

EP 2 480 577 B1

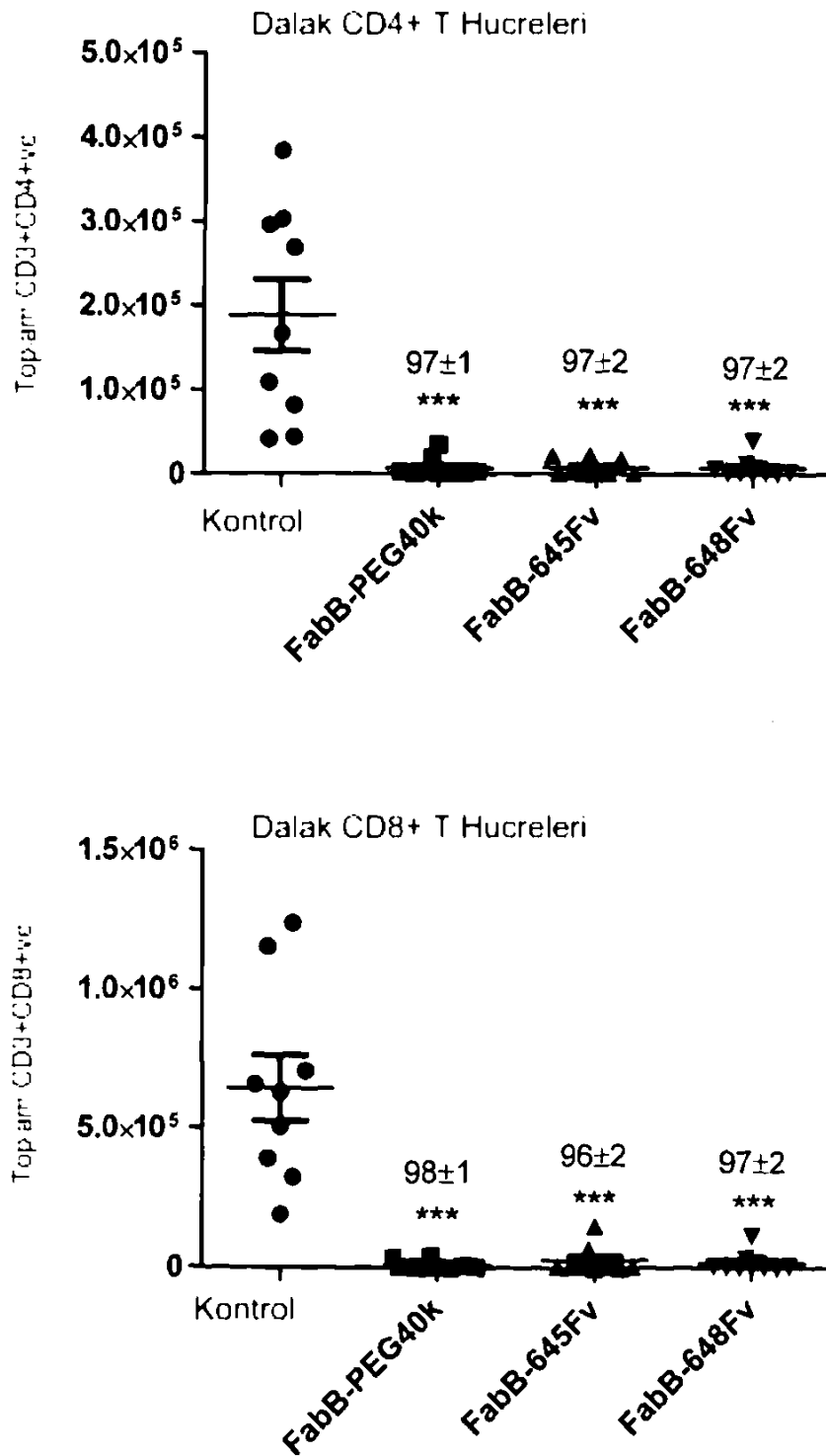
ŞEKİL 14C



P<0.01, *P<0.001

EP 2 480 577 B1

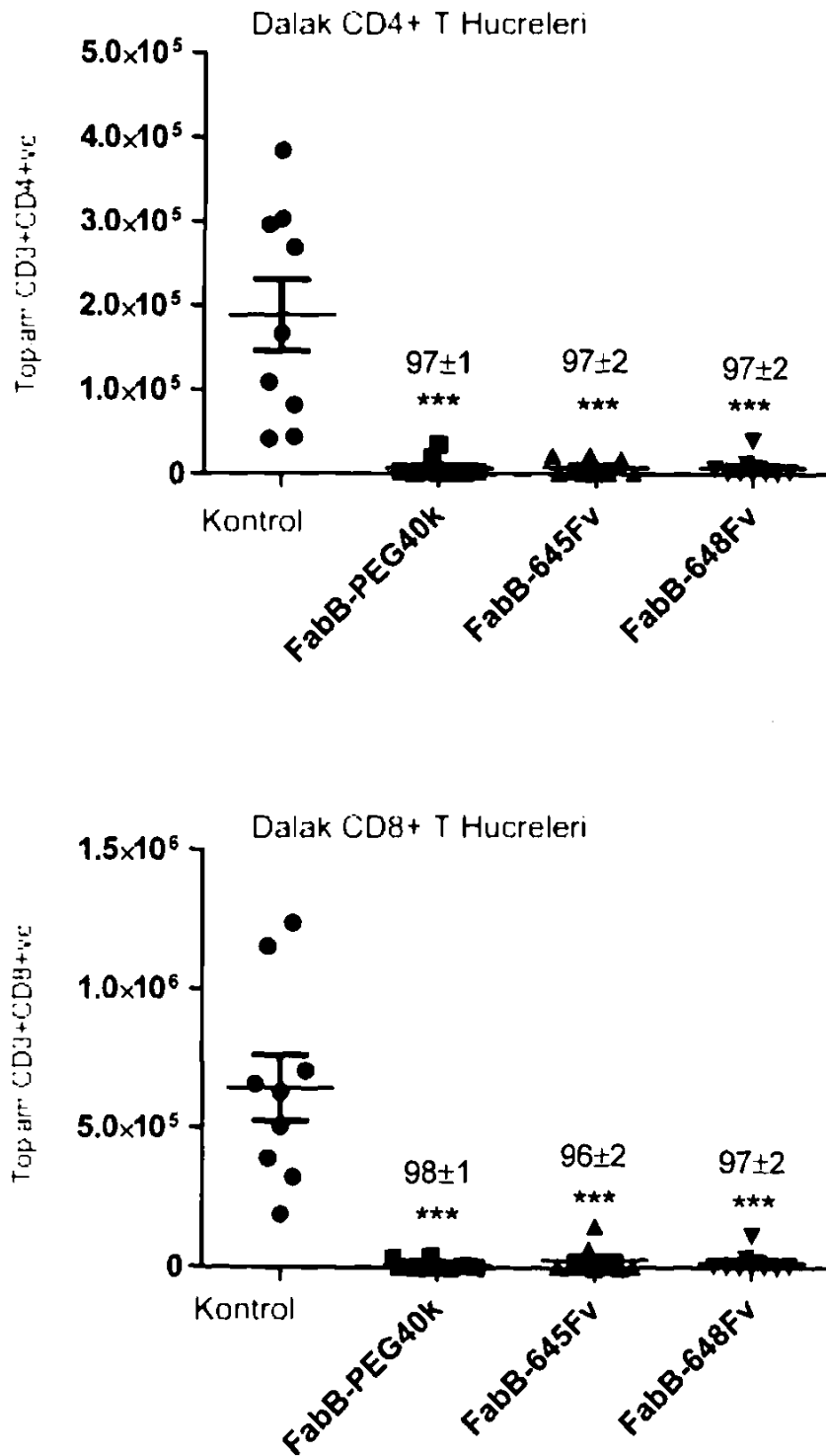
ŞEKİL 14C



P<0.01, *P<0.001

EP 2 480 577 B1

ŞEKİL 14C

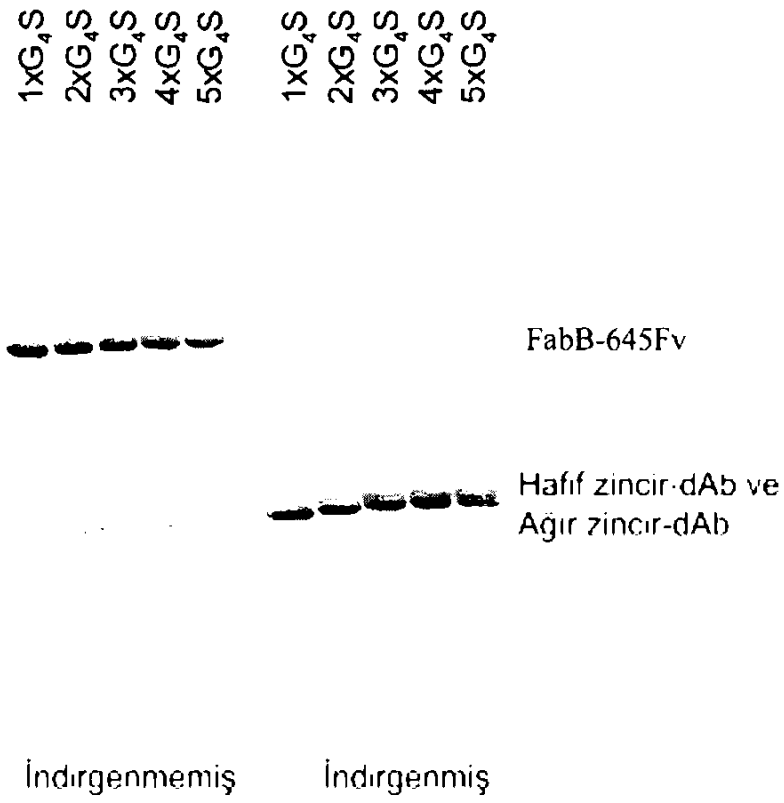


P<0.01, *P<0.001

EP 2 480 577 B1

ŞEKİL 15

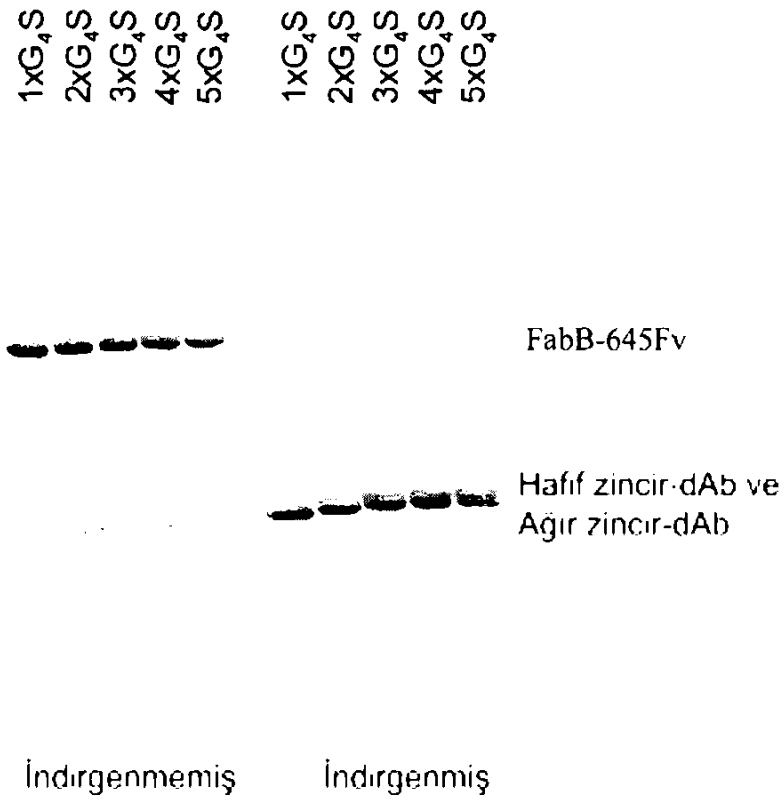
FabB-645Fv (1-5xG4S) SDS-PAGE analizi



EP 2 480 577 B1

ŞEKİL 15

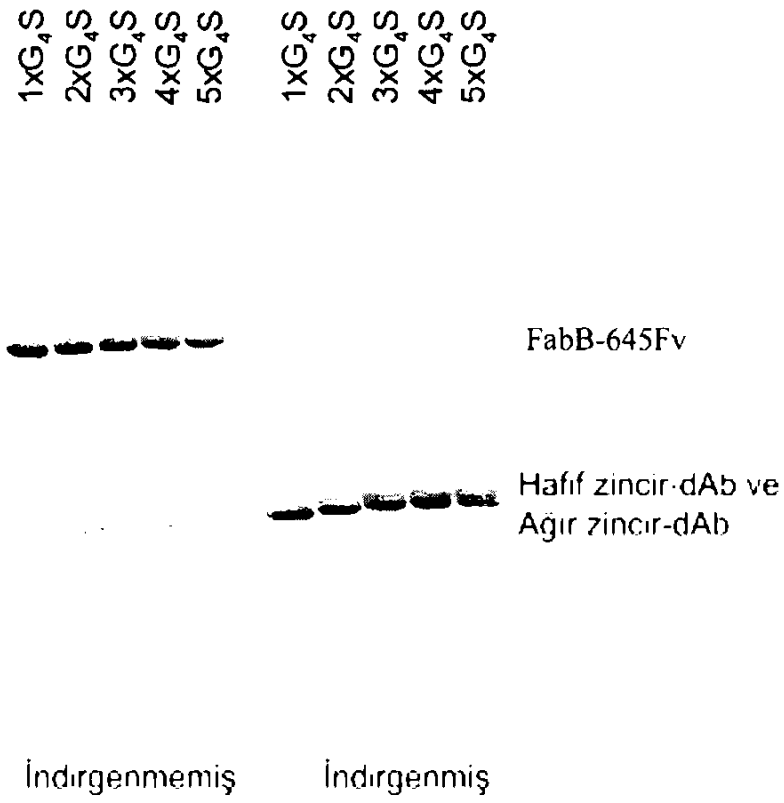
FabB-645Fv (1-5xG4S) SDS-PAGE analizi



EP 2 480 577 B1

ŞEKİL 15

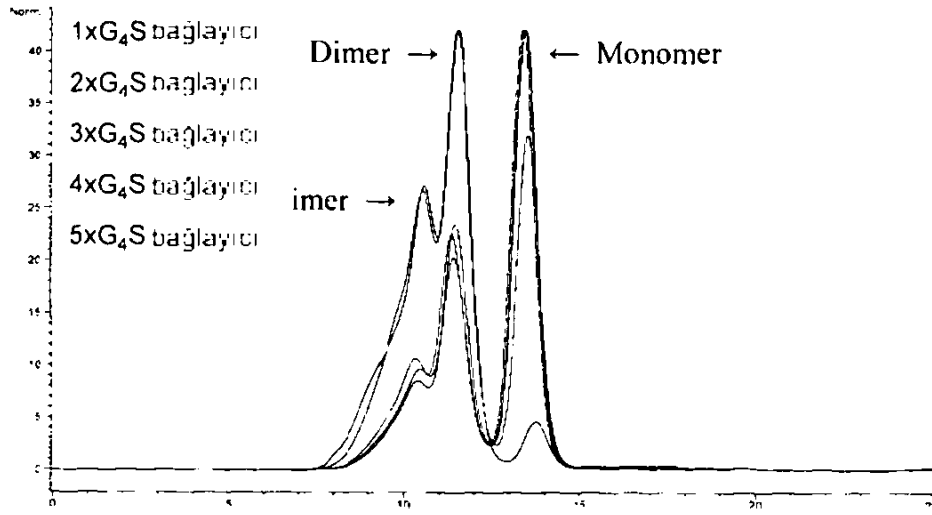
FabB-645Fv (1-5xG4S) SDS-PAGE analizi



EP 2 480 577 B1

ŞEKİL 16

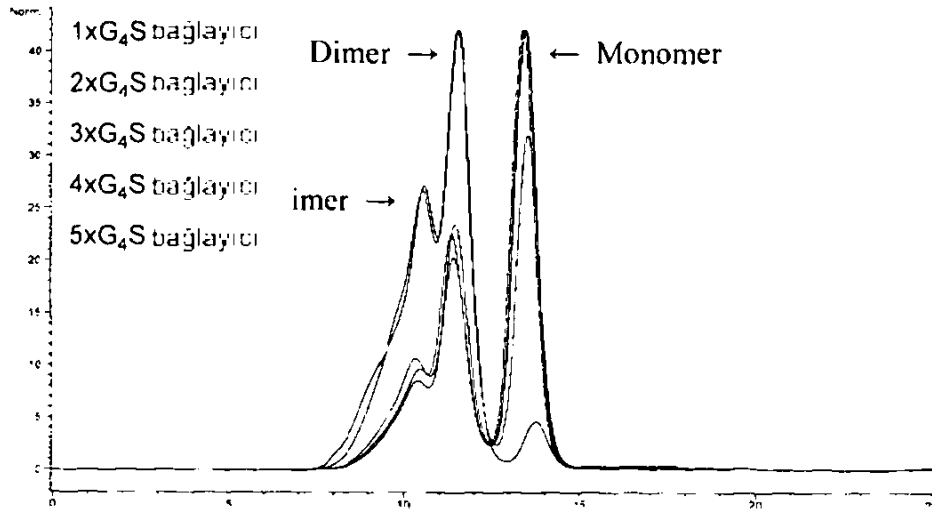
FabB-645Fv (1-5xG4S) boyut d şlama analiz



EP 2 480 577 B1

ŞEKİL 16

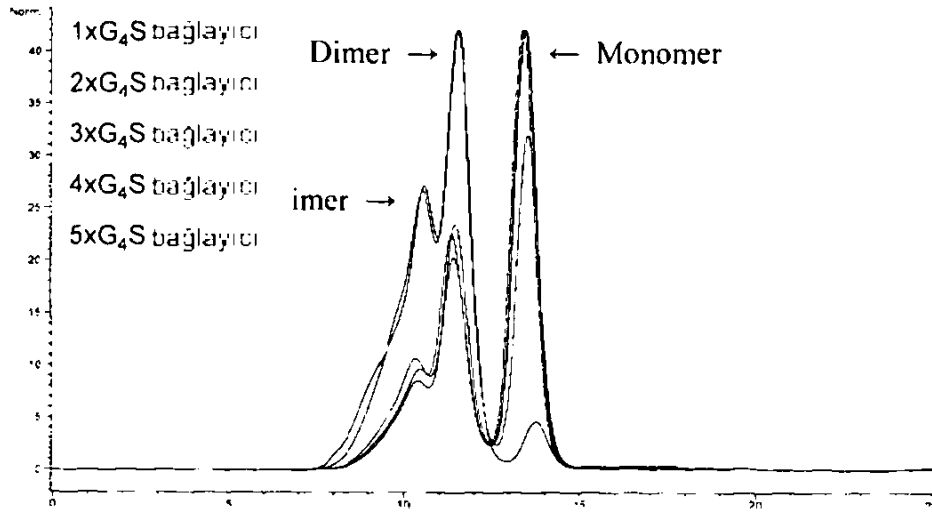
FabB-646Fv (1-5xG4S) boyut d şlama analiz



EP 2 480 577 B1

ŞEKİL 16

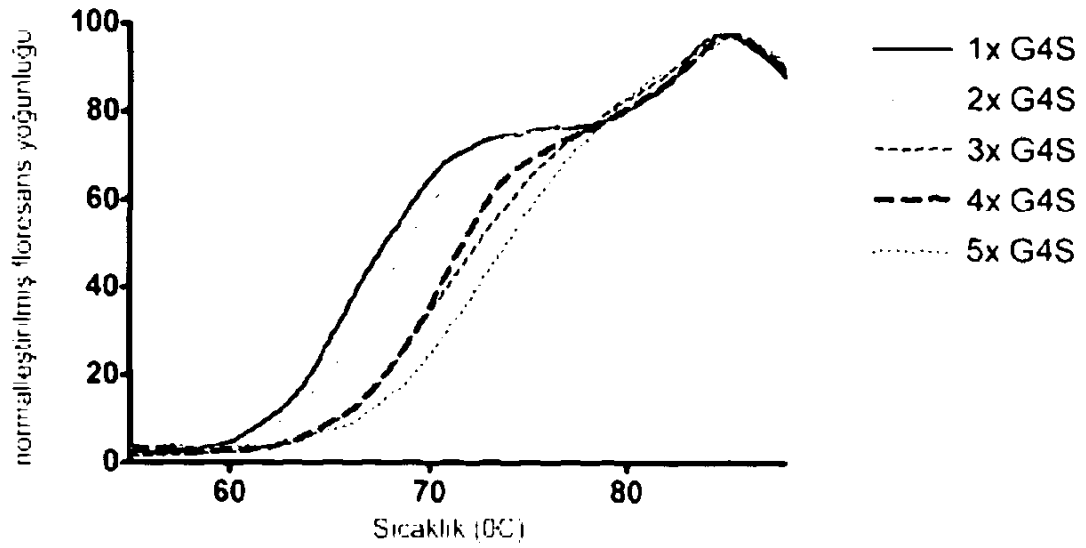
FabB-646Fv (1-5xG4S) boyut d şlama analiz



EP 2 480 577 B1

ŞEKİL 17

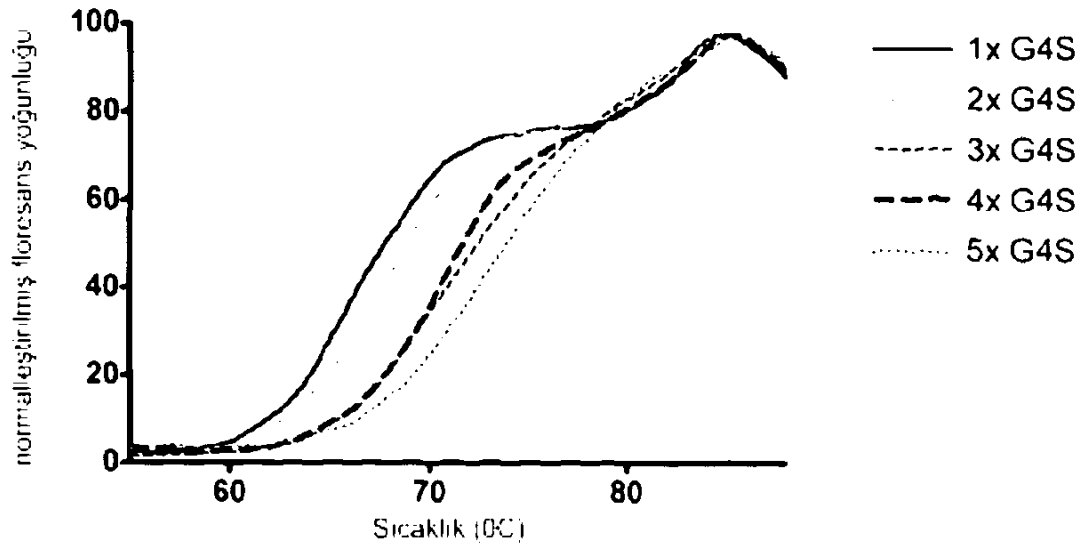
FabB-645Fv (1-5xG4S) termogramları



EP 2 480 577 B1

ŞEKİL 17

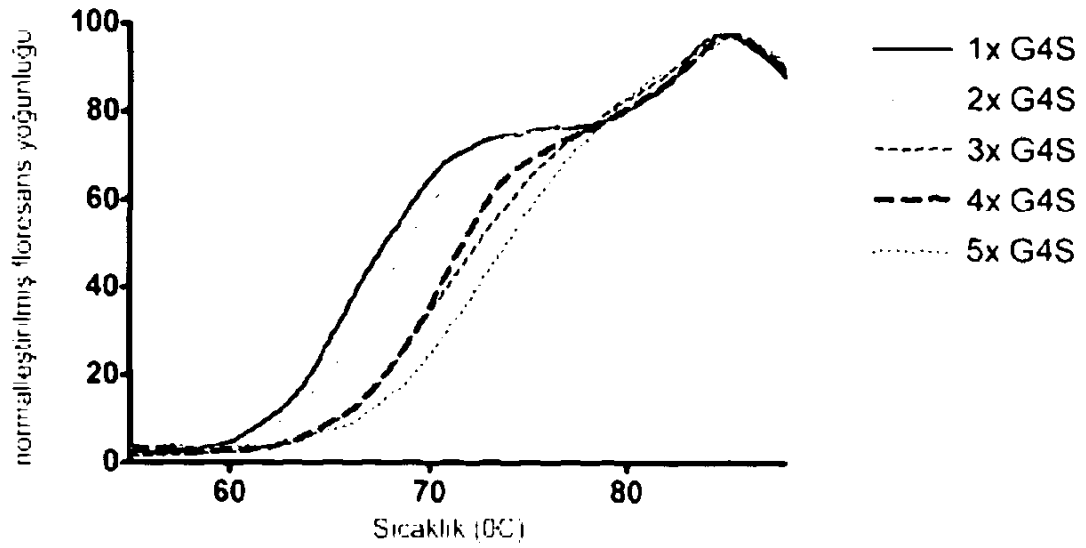
FabB-645Fv (1-5xG4S) termogramları



EP 2 480 577 B1

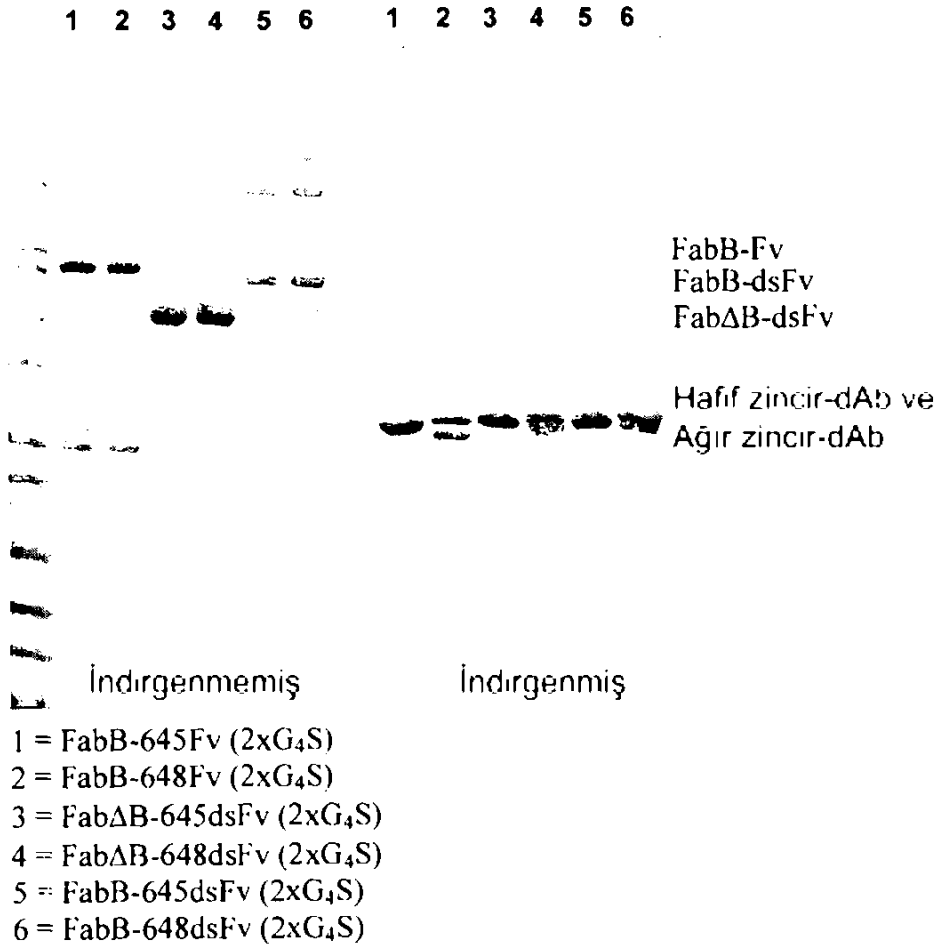
ŞEKİL 17

FabB-645Fv (1-5xG4S) termogramları



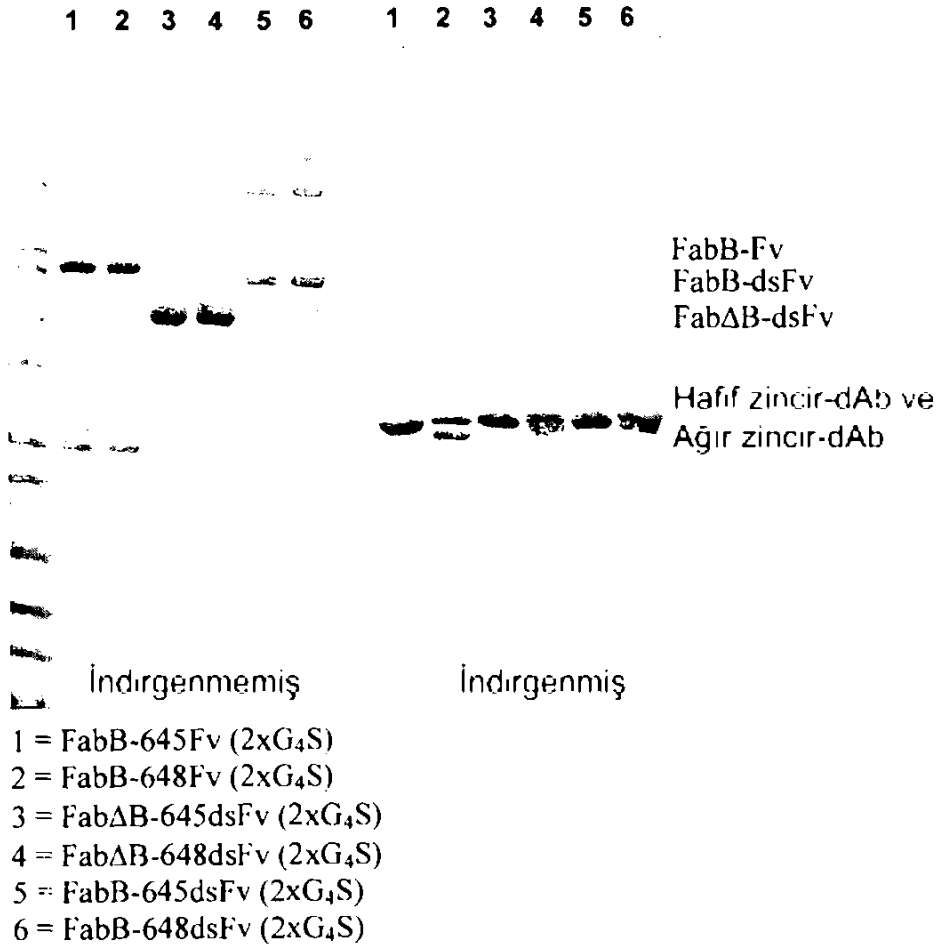
EP 2 480 577 B1

ŞEKİL 18



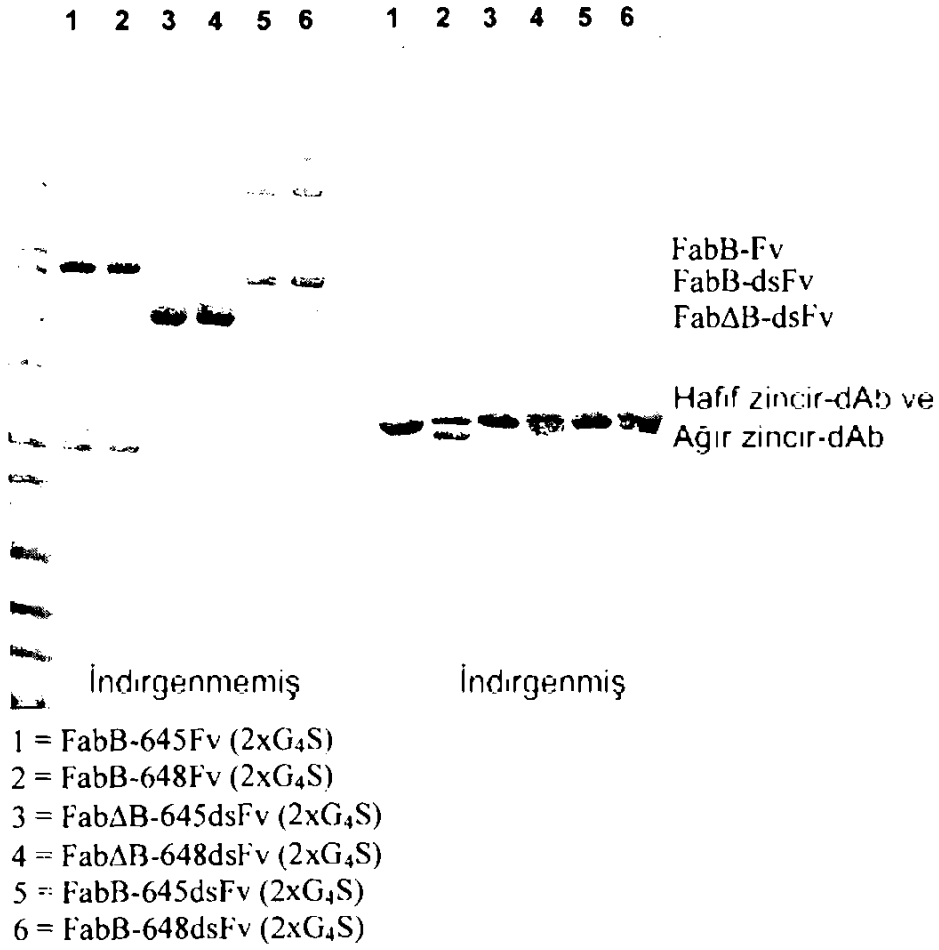
EP 2 480 577 B1

ŞEKİL 18



EP 2 480 577 B1

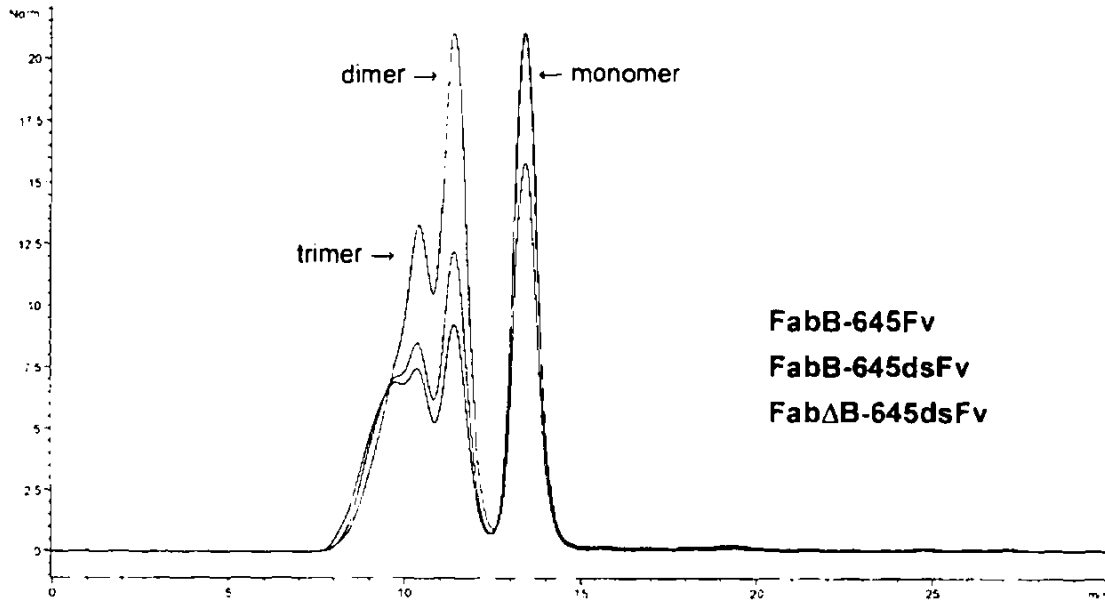
ŞEKİL 18



EP 2 480 577 B1

ŞEKİL 19

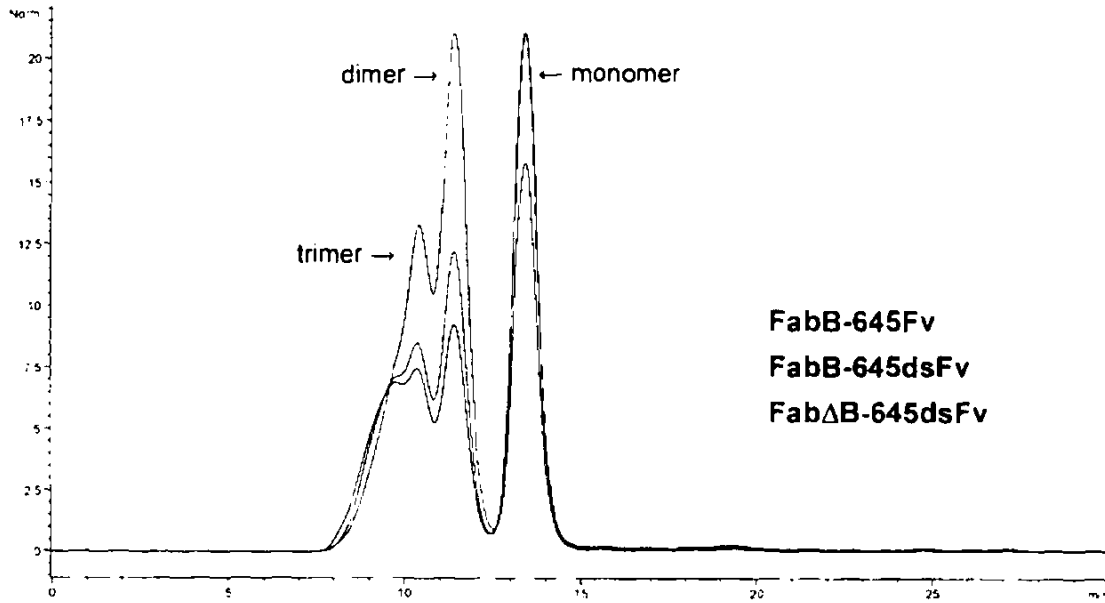
FabB-645Fv (2xG4S), FabB-645dsFv (2xG4S), Fab İndirgenmemiş B-645dsFv (2xG4S) boyut d şlama analiz



EP 2 480 577 B1

ŞEKİL 19

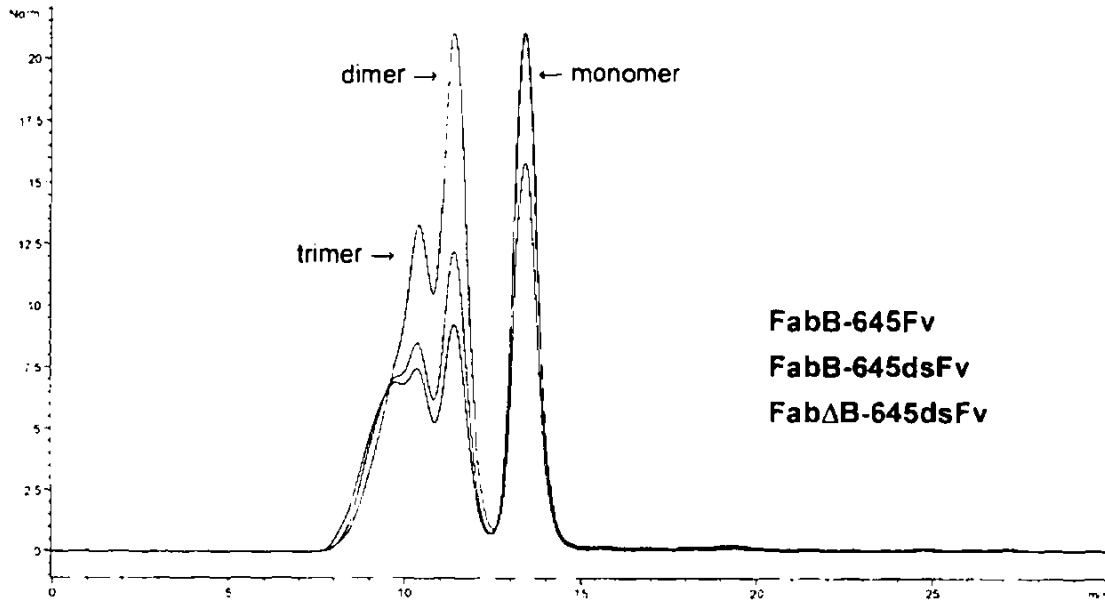
FabB-645Fv (2xG4S), FabB-645dsFv (2xG4S), Fab İndirgenmemiş B-645dsFv (2xG4S) boyut d şlama analiz



EP 2 480 577 B1

ŞEKİL 19

FabB-645Fv (2xG4S), FabB-645dsFv (2xG4S), Fab İndirgenmemiş B-645dsFv (2xG4S) boyut d şlama analiz



EP 2 480 577 B1

ŞEKİL 20

646Fv

CDRH1	GIDLSNYAIN (DİZİ İD. NO:222)
CDRH2	IIWASGTTFYATWAKG (DİZİ İD. NO:223)
CDRH3	TVPGYSTAPYFDL (DİZİ İD. NO:90)
CDRL1	QSSPSVWSDFLS (DİZİ İD. NO:91)
CDRL2	GASTLAS (DİZİ İD. NO:92)
CDRL3	GGGYSSISD TT (DİZİ İD. NO:93)

647Fv

CDRH1	GFTLSNNYWMC (DİZİ İD. NO:94)
CDRH2	CIYTGDGDTAYTSWAKG (DİZİ İD. NO:95)
CDRH3	SGGSYYDYVFIL (DİZİ İD. NO:96)
CDRL1	QASQSLGNRLA (DİZİ İD. NO:97)
CDRL2	RASTLAS (DİZİ İD. NO:98)
CDRL3	QCTYIGSKMGA (DİZİ İD. NO:99)

648Fv cAbH2 bir dAb. dAb_{L2} ni aynıdır

649Fv

CDRH1	GFSFSGNYWIC (DİZİ İD. NO:100)
CDRH2	CIFTADGDTAYTSWAKG (DİZİ İD. NO:101)
CDRH3	SGGSAFDYVFIL (DİZİ İD. NO:102)
CDRL1	QASQSIG NRLG (DİZİ İD. NO:103)
CDRL2	RASTLES (DİZİ İD. NO:104)
CDRL3	QCTYIGKLMGA (DİZİ İD. NO:105)

645Ağır150AFv

CDRH1	GIDLSNYAIN (DİZİ İD. NO:106)
CDRH2	AIWASGTTFYATWAKG (DİZİ İD. NO:107)
CDRH3	TVPGYSTAPYFDL (DİZİ İD. NO:108)
CDRL1	QSSPSVWSNFLS (DİZİ İD. NO:109)
CDRL2	EASKLTS (DİZİ İD. NO:110)
CDRL3	GGGYSSISDTT (DİZİ İD. NO:111)

EP 2 480 577 B1

ŞEKİL 20

646Fv

CDRH1	GIDLSNYAIN (DİZİ İD. NO:222)
CDRH2	IIWASGTTFYATWAKG (DİZİ İD. NO:223)
CDRH3	TVPGYSTAPYFDL (DİZİ İD. NO:90)
CDRL1	QSSPSVWSDFLS (DİZİ İD. NO:91)
CDRL2	GASTLAS (DİZİ İD. NO:92)
CDRL3	GGGYSSISD TT (DİZİ İD. NO:93)

647Fv

CDRH1	GFTLSNNYWMC (DİZİ İD. NO:94)
CDRH2	CIYTGDGDTAYTSWAKG (DİZİ İD. NO:95)
CDRH3	SGGSYYDYVFIL (DİZİ İD. NO:96)
CDRL1	QASQSLGNRLA (DİZİ İD. NO:97)
CDRL2	RASTLAS (DİZİ İD. NO:98)
CDRL3	QCTYIGSKMGA (DİZİ İD. NO:99)

648Fv cAbH2 bir dAb. dAb_{L2} ni aynıdır

649Fv

CDRH1	GFSFSGNYWIC (DİZİ İD. NO:100)
CDRH2	CIFTADGDTAYTSWAKG (DİZİ İD. NO:101)
CDRH3	SGGSAFDYVFIL (DİZİ İD. NO:102)
CDRL1	QASQSIG NRLG (DİZİ İD. NO:103)
CDRL2	RASTLES (DİZİ İD. NO:104)
CDRL3	QCTYIGKLMGA (DİZİ İD. NO:105)

645Ağır150AFv

CDRH1	GIDLSNYAIN (DİZİ İD. NO:106)
CDRH2	AIWASGTTFYATWAKG (DİZİ İD. NO:107)
CDRH3	TVPGYSTAPYFDL (DİZİ İD. NO:108)
CDRL1	QSSPSVWSNFLS (DİZİ İD. NO:109)
CDRL2	EASKLTS (DİZİ İD. NO:110)
CDRL3	GGGYSSISDTT (DİZİ İD. NO:111)

EP 2 480 577 B1

ŞEKİL 20

646Fv

CDRH1	GIDLSNYAIN (DİZİ İD. NO:222)
CDRH2	IIWASGTTFYATWAKG (DİZİ İD. NO:223)
CDRH3	TVPGYSTAPYFDL (DİZİ İD. NO:90)
CDRL1	QSSPSVWSDFLS (DİZİ İD. NO:91)
CDRL2	GASTLAS (DİZİ İD. NO:92)
CDRL3	GGGYSSISD TT (DİZİ İD. NO:93)

647Fv

CDRH1	GFTLSNNYWMC (DİZİ İD. NO:94)
CDRH2	CIYTGDGDTAYTSWAKG (DİZİ İD. NO:95)
CDRH3	SGGSYYDYVFIL (DİZİ İD. NO:96)
CDRL1	QASQSLGNRLA (DİZİ İD. NO:97)
CDRL2	RASTLAS (DİZİ İD. NO:98)
CDRL3	QCTYIGSKMGA (DİZİ İD. NO:99)

648Fv cAbH2 bir dAb. dAb_{L2} ni aynıdır

649Fv

CDRH1	GFSFSGNYWIC (DİZİ İD. NO:100)
CDRH2	CIFTADGDTAYTSWAKG (DİZİ İD. NO:101)
CDRH3	SGGSAFDYVFIL (DİZİ İD. NO:102)
CDRL1	QASQSIG NRLG (DİZİ İD. NO:103)
CDRL2	RASTLES (DİZİ İD. NO:104)
CDRL3	QCTYIGKLMGA (DİZİ İD. NO:105)

645Ağır150AFv

CDRH1	GIDLSNYAIN (DİZİ İD. NO:106)
CDRH2	AIWASGTTFYATWAKG (DİZİ İD. NO:107)
CDRH3	TVPGYSTAPYFDL (DİZİ İD. NO:108)
CDRL1	QSSPSVWSNFLS (DİZİ İD. NO:109)
CDRL2	EASKLTS (DİZİ İD. NO:110)
CDRL3	GGGYSSISDTT (DİZİ İD. NO:111)

EP 2 480 577 B1

ŞEKİL 21

645AğırT56AFv

CDRH1	GIDLSNYAIN (DİZİ İD. NO:112)
CDRH2	IIWASGATFYA1WAKG (DİZİ İD. NO:113)
CDRH3	TVPGYSTAPYFDL (DİZİ İD. NO:114)
CDRL1	QSSPSVWSNFLS (DİZİ İD. NO:115)
CDRL2	EASKLTS (DİZİ İD. NO:116)
CDRL3	GGGYSSISDTT (DİZİ İD. NO:117)

645AğırT95AFv

CDRH1	GIDLSNYAIN (DİZİ İD. NO:118)
CDRH2	IIWASGTTFYA1WAKG (DİZİ İD. NO:119)
CDRH3	AVPGYSTAPYFDL (DİZİ İD. NO:120)
CDRL1	QSSPSVWSNFLS (DİZİ İD. NO:121)
CDRL2	EASKLTS (DİZİ İD. NO:122)
CDRL3	GGGYSSISD11 (DİZİ İD. NO:123)

645AğırV98AFv

CDRH1	GIDLSNYAIN (DİZİ İD. NO:124)
CDRH2	IIWASGTTFYA1WAKG (DİZİ İD. NO:125)
CDRH3	TAPGYSTAPYFDL (DİZİ İD. NO:126)
CDRL1	QSSPSVWSNFLS (DİZİ İD. NO:127)
CDRL2	EASKLTS (DİZİ İD. NO:128)
CDRL3	GGGYSSISDTT (DİZİ İD. NO:129)

645AğırP97AFv

CDRH1	GIDLSNYAIN (DİZİ İD. NO:130)
CDRH2	IIWASGTTFYA1WAKG (DİZİ İD. NO:131)
CDRH3	TVAGYSTAPYFDL (DİZİ İD. NO:132)
CDRL1	QSSPSVWSNFLS (DİZİ İD. NO:133)
CDRL2	EASKLTS (DİZİ İD. NO:134)
CDRL3	GGGYSSISDTT (DİZİ İD. NO:135)

645AğırG98AFv

CDRH1	GIDLSNYAIN (DİZİ İD. NO:136)
CDRH2	IIWASGTTFYA1WAKG (DİZİ İD. NO:137)
CDRH3	TVPAYSTAPYFDL (DİZİ İD. NO:138)
CDRL1	QSSPSVWSNFLS (DİZİ İD. NO:139)
CDRL2	EASKLTS (DİZİ İD. NO:140)
CDRL3	GGGYSSISDTT (DİZİ İD. NO:141)

EP 2 480 577 B1

ŞEKİL 21

645AğırT56AFv

CDRH1	GIDLSNYAIN (DİZİ İD. NO:112)
CDRH2	IIWASGATFYA1WAKG (DİZİ İD. NO:113)
CDRH3	TVPGYSTAPYFDL (DİZİ İD. NO:114)
CDRL1	QSSPSVWSNFLS (DİZİ İD. NO:115)
CDRL2	EASKLTS (DİZİ İD. NO:116)
CDRL3	GGGYSSISDTT (DİZİ İD. NO:117)

645AğırT95AFv

CDRH1	GIDLSNYAIN (DİZİ İD. NO:118)
CDRH2	IIWASGTTFYA1WAKG (DİZİ İD. NO:119)
CDRH3	AVPGYSTAPYFDL (DİZİ İD. NO:120)
CDRL1	QSSPSVWSNFLS (DİZİ İD. NO:121)
CDRL2	EASKLTS (DİZİ İD. NO:122)
CDRL3	GGGYSSISDTT (DİZİ İD. NO:123)

645AğırV98AFv

CDRH1	GIDLSNYAIN (DİZİ İD. NO:124)
CDRH2	IIWASGTTFYA1WAKG (DİZİ İD. NO:125)
CDRH3	TAPGYSTAPYFDL (DİZİ İD. NO:126)
CDRL1	QSSPSVWSNFLS (DİZİ İD. NO:127)
CDRL2	EASKLTS (DİZİ İD. NO:128)
CDRL3	GGGYSSISDTT (DİZİ İD. NO:129)

645AğırP97AFv

CDRH1	GIDLSNYAIN (DİZİ İD. NO:130)
CDRH2	IIWASGTTFYA1WAKG (DİZİ İD. NO:131)
CDRH3	TVAGYSTAPYFDL (DİZİ İD. NO:132)
CDRL1	QSSPSVWSNFLS (DİZİ İD. NO:133)
CDRL2	EASKLTS (DİZİ İD. NO:134)
CDRL3	GGGYSSISDTT (DİZİ İD. NO:135)

645AğırG98AFv

CDRH1	GIDLSNYAIN (DİZİ İD. NO:136)
CDRH2	IIWASGTTFYA1WAKG (DİZİ İD. NO:137)
CDRH3	TVPAYSTAPYFDL (DİZİ İD. NO:138)
CDRL1	QSSPSVWSNFLS (DİZİ İD. NO:139)
CDRL2	EASKLTS (DİZİ İD. NO:140)
CDRL3	GGGYSSISDTT (DİZİ İD. NO:141)

EP 2 480 577 B1

ŞEKİL 21

645AğırT56AFv

CDRH1	GIDLSNYAIN (DİZİ İD. NO:112)
CDRH2	IIWASGATFYA1WAKG (DİZİ İD. NO:113)
CDRH3	TVPGYSTAPYFDL (DİZİ İD. NO:114)
CDRL1	QSSPSVWSNFLS (DİZİ İD. NO:115)
CDRL2	EASKLTS (DİZİ İD. NO:116)
CDRL3	GGGYSSISDTT (DİZİ İD. NO:117)

645AğırT95AFv

CDRH1	GIDLSNYAIN (DİZİ İD. NO:118)
CDRH2	IIWASGTTFYA1WAKG (DİZİ İD. NO:119)
CDRH3	AVPGYSTAPYFDL (DİZİ İD. NO:120)
CDRL1	QSSPSVWSNFLS (DİZİ İD. NO:121)
CDRL2	EASKLTS (DİZİ İD. NO:122)
CDRL3	GGGYSSISDTT (DİZİ İD. NO:123)

645AğırV98AFv

CDRH1	GIDLSNYAIN (DİZİ İD. NO:124)
CDRH2	IIWASGTTFYA1WAKG (DİZİ İD. NO:125)
CDRH3	TAPGYSTAPYFDL (DİZİ İD. NO:126)
CDRL1	QSSPSVWSNFLS (DİZİ İD. NO:127)
CDRL2	EASKLTS (DİZİ İD. NO:128)
CDRL3	GGGYSSISDTT (DİZİ İD. NO:129)

645AğırP97AFv

CDRH1	GIDLSNYAIN (DİZİ İD. NO:130)
CDRH2	IIWASGTTFYA1WAKG (DİZİ İD. NO:131)
CDRH3	TVAGYSTAPYFDL (DİZİ İD. NO:132)
CDRL1	QSSPSVWSNFLS (DİZİ İD. NO:133)
CDRL2	EASKLTS (DİZİ İD. NO:134)
CDRL3	GGGYSSISDTT (DİZİ İD. NO:135)

645AğırG98AFv

CDRH1	GIDLSNYAIN (DİZİ İD. NO:136)
CDRH2	IIWASGTTFYA1WAKG (DİZİ İD. NO:137)
CDRH3	TVPAYSTAPYFDL (DİZİ İD. NO:138)
CDRL1	QSSPSVWSNFLS (DİZİ İD. NO:139)
CDRL2	EASKLTS (DİZİ İD. NO:140)
CDRL3	GGGYSSISDTT (DİZİ İD. NO:141)

EP 2 480 577 B1

ŞEKİL 22

645AğırY99Af v

CDRH1	GIDLSNYAIN (DİZİ İD. NO:142)
CDRH2	IIWASGTTFYATWAKG (DİZİ İD. NO:143)
CDRH3	TVPGASTAPYFDL (DİZİ İD. NO:144)
CDRL1	QSSPSVWSNFLS (DİZİ İD. NO:145)
CDRL2	EASKLTS (DİZİ İD. NO:146)
CDRL3	GGGYSSISDIT (DİZİ İD. NO:147)

645AğırS*00AFv

CDRH1	GIDLSNYAIN (DİZİ İD. NO:148)
CDRH2	IIWASGTTFYATWAKG (DİZİ İD. NO:149)
CDRH3	TVPGYATAPYFDL (DİZİ İD. NO:150)
CDRL1	QSSPSVWSNFLS (DİZİ İD. NO:151)
CDRL2	EASKLTS (DİZİ İD. NO:152)
CDRL3	GGGYSSISDIT (DİZİ İD. NO:153)

645Ağır*100aAFv

CDRH1	GIDLSNYAIN (DİZİ İD. NO:154)
CDRH2	IIWASGTTFYATWAKG (DİZİ İD. NO:155)
CDRH3	TVPGYSAAPYFDL (DİZİ İD. NO:156)
CDRL1	QSSPSVWSNFLS (DİZİ İD. NO:157)
CDRL2	EASKLTS (DİZİ İD. NO:158)
CDRL3	GGGYSSISDIT (DİZİ İD. NO:159)

645AğırP*00cAFv

CDRH1	GIDLSNYAIN (DİZİ İD. NO:160)
CDRH2	IIWASGTTFYATWAKG (DİZİ İD. NO:161)
CDRH3	TVPGYSTAAYFDL (DİZİ İD. NO:162)
CDRL1	QSSPSVWSNFLS (DİZİ İD. NO:163)
CDRL2	EASKLTS (DİZİ İD. NO:164)
CDRL3	GGGYSSISDIT (DİZİ İD. NO:165)

645Ağır150A+195Af v

CDRH1	GIDLSNYAIN (DİZİ İD. NO:166)
CDRH2	AIWASGTTFYATWAKG (DİZİ İD. NO:167)
CDRH3	AVPGYSTAPYFDL (DİZİ İD. NO:168)
CDRL1	QSSPSVWSNFLS (DİZİ İD. NO:169)
CDRL2	EASKLTS (DİZİ İD. NO:170)
CDRL3	GGGYSSISDIT (DİZİ İD. NO:171)

EP 2 480 577 B1

ŞEKİL 22

645AğırY99Af v

CDRH1	GIDLSNYAIN (DİZİ İD. NO:142)
CDRH2	IIWASGTTFYATWAKG (DİZİ İD. NO:143)
CDRH3	TVPGASTAPYFDL (DİZİ İD. NO:144)
CDRL1	QSSPSVWSNFLS (DİZİ İD. NO:145)
CDRL2	EASKLTS (DİZİ İD. NO:146)
CDRL3	GGGYSSISDIT (DİZİ İD. NO:147)

645AğırS*00AFv

CDRH1	GIDLSNYAIN (DİZİ İD. NO:148)
CDRH2	IIWASGTTFYATWAKG (DİZİ İD. NO:149)
CDRH3	TVPGYATAPYFDL (DİZİ İD. NO:150)
CDRL1	QSSPSVWSNFLS (DİZİ İD. NO:151)
CDRL2	EASKLTS (DİZİ İD. NO:152)
CDRL3	GGGYSSISDIT (DİZİ İD. NO:153)

645Ağır*100aAFv

CDRH1	GIDLSNYAIN (DİZİ İD. NO:154)
CDRH2	IIWASGTTFYATWAKG (DİZİ İD. NO:155)
CDRH3	TVPGYSAAPYFDL (DİZİ İD. NO:156)
CDRL1	QSSPSVWSNFLS (DİZİ İD. NO:157)
CDRL2	EASKLTS (DİZİ İD. NO:158)
CDRL3	GGGYSSISDIT (DİZİ İD. NO:159)

645AğırP*00cAFv

CDRH1	GIDLSNYAIN (DİZİ İD. NO:160)
CDRH2	IIWASGTTFYATWAKG (DİZİ İD. NO:161)
CDRH3	TVPGYSTAAYFDL (DİZİ İD. NO:162)
CDRL1	QSSPSVWSNFLS (DİZİ İD. NO:163)
CDRL2	EASKLTS (DİZİ İD. NO:164)
CDRL3	GGGYSSISDIT (DİZİ İD. NO:165)

645Ağır150A+195Af v

CDRH1	GIDLSNYAIN (DİZİ İD. NO:166)
CDRH2	AIWASGTTFYATWAKG (DİZİ İD. NO:167)
CDRH3	AVPGYSTAPYFDL (DİZİ İD. NO:168)
CDRL1	QSSPSVWSNFLS (DİZİ İD. NO:169)
CDRL2	EASKLTS (DİZİ İD. NO:170)
CDRL3	GGGYSSISDIT (DİZİ İD. NO:171)

EP 2 480 577 B1

ŞEKİL 22

645AğırY99Af v

CDRH1	GIDLSNYAIN (DİZİ İD. NO:142)
CDRH2	IIWASGTTFYATWAKG (DİZİ İD. NO:143)
CDRH3	TVPGASTAPYFDL (DİZİ İD. NO:144)
CDRL1	QSSPSVWSNFLS (DİZİ İD. NO:145)
CDRL2	EASKLTS (DİZİ İD. NO:146)
CDRL3	GGGYSSISDIT (DİZİ İD. NO:147)

645AğırS*00AFv

CDRH1	GIDLSNYAIN (DİZİ İD. NO:148)
CDRH2	IIWASGTTFYATWAKG (DİZİ İD. NO:149)
CDRH3	TVPGYATAPYFDL (DİZİ İD. NO:150)
CDRL1	QSSPSVWSNFLS (DİZİ İD. NO:151)
CDRL2	EASKLTS (DİZİ İD. NO:152)
CDRL3	GGGYSSISDIT (DİZİ İD. NO:153)

645Ağır*100aAFv

CDRH1	GIDLSNYAIN (DİZİ İD. NO:154)
CDRH2	IIWASGTTFYATWAKG (DİZİ İD. NO:155)
CDRH3	TVPGYSAAPYFDL (DİZİ İD. NO:156)
CDRL1	QSSPSVWSNFLS (DİZİ İD. NO:157)
CDRL2	EASKLTS (DİZİ İD. NO:158)
CDRL3	GGGYSSISDIT (DİZİ İD. NO:159)

645AğırP*00cAFv

CDRH1	GIDLSNYAIN (DİZİ İD. NO:160)
CDRH2	IIWASGTTFYATWAKG (DİZİ İD. NO:161)
CDRH3	TVPGYSTAAYFDL (DİZİ İD. NO:162)
CDRL1	QSSPSVWSNFLS (DİZİ İD. NO:163)
CDRL2	EASKLTS (DİZİ İD. NO:164)
CDRL3	GGGYSSISDIT (DİZİ İD. NO:165)

645Ağır150A+195Af v

CDRH1	GIDLSNYAIN (DİZİ İD. NO:166)
CDRH2	AIWASGTTFYATWAKG (DİZİ İD. NO:167)
CDRH3	AVPGYSTAPYFDL (DİZİ İD. NO:168)
CDRL1	QSSPSVWSNFLS (DİZİ İD. NO:169)
CDRL2	EASKLTS (DİZİ İD. NO:170)
CDRL3	GGGYSSISDIT (DİZİ İD. NO:171)

EP 2 480 577 B1

ŞEKİL 23

645AğırI50A+G98AFv

CDRH1 GIDLSNYAIN (DİZİ İD. NO:172)
CDRH2 AIWASGTTFYATWAKG (DİZİ İD. NO:173)
CDRH3 TVPAYSTAPYFDL (DİZİ İD. NO:174)
CDRL1 QSSPSVWSNFLS (DİZİ İD. NO:175)
CDRL2 EASKLTS (DİZİ İD. NO:176)
CDRL3 GGGYSSISDTT (DİZİ İD. NO:177)

645AğırI50A+Y99AFv

CDRH1 GIDLSNYAIN (DİZİ İD. NO:178)
CDRH2 AIWASGTTFYATWAKG (DİZİ İD. NO:179)
CDRH3 TVPGASTAPYFDL (DİZİ İD. NO:180)
CDRL1 QSSPSVWSNFLS (DİZİ İD. NO:181)
CDRL2 EASKLTS (DİZİ İD. NO:182)
CDRL3 GGGYSSISDTT (DİZİ İD. NO:183)

645AğırT56A+T95AFv

CDRH1 GIDLSNYAIN (DİZİ İD. NO:184)
CDRH2 IIWASGATFYATWAKG (DİZİ İD. NO:185)
CDRH3 AVPGYSTAPYFDL (DİZİ İD. NO:186)
CDRL1 QSSPSVWSNFLS (DİZİ İD. NO:187)
CDRL2 EASKLTS (DİZİ İD. NO:188)
CDRL3 GGGYSSISDTT (DİZİ İD. NO:189)

645AğırT56A+G98AFv

CDRH1 GIDLSNYAIN (DİZİ İD. NO:190)
CDRH2 IIWASGATFYATWAKG (DİZİ İD. NO:191)
CDRH3 TVPAYSTAPYFDL (DİZİ İD. NO:192)
CDRL1 QSSPSVWSNFLS (DİZİ İD. NO:193)
CDRL2 EASKLTS (DİZİ İD. NO:194)
CDRL3 GGGYSSISDTT (DİZİ İD. NO:195)

645AğırT56A+Y99AFv

CDRH1 GIDLSNYAIN (DİZİ İD. NO:196)
CDRH2 IIWASGATFYATWAKG (DİZİ İD. NO:197)
CDRH3 TVPGASTAPYFDL (DİZİ İD. NO:198)
CDRL1 QSSPSVWSNFLS (DİZİ İD. NO:199)
CDRL2 EASKLTS (DİZİ İD. NO:200)
CDRL3 GGGYSSISDTT (DİZİ İD. NO:201)

EP 2 480 577 B1

ŞEKİL 23

645AğırI50A+G98AFv

CDRH1 GIDLSNYAIN (DİZİ İD. NO:172)
CDRH2 AIWASGTTFYATWAKG (DİZİ İD. NO:173)
CDRH3 TVPAYSTAPYFDL (DİZİ İD. NO:174)
CDRL1 QSSPSVWSNFLS (DİZİ İD. NO:175)
CDRL2 EASKLTS (DİZİ İD. NO:176)
CDRL3 GGGYSSISDTT (DİZİ İD. NO:177)

645AğırI50A+Y99AFv

CDRH1 GIDLSNYAIN (DİZİ İD. NO:178)
CDRH2 AIWASGTTFYATWAKG (DİZİ İD. NO:179)
CDRH3 TVPGASTAPYFDL (DİZİ İD. NO:180)
CDRL1 QSSPSVWSNFLS (DİZİ İD. NO:181)
CDRL2 EASKLTS (DİZİ İD. NO:182)
CDRL3 GGGYSSISDTT (DİZİ İD. NO:183)

645AğırT56A+T95AFv

CDRH1 GIDLSNYAIN (DİZİ İD. NO:184)
CDRH2 IIWASGATFYATWAKG (DİZİ İD. NO:185)
CDRH3 AVPGYSTAPYFDL (DİZİ İD. NO:186)
CDRL1 QSSPSVWSNFLS (DİZİ İD. NO:187)
CDRL2 EASKLTS (DİZİ İD. NO:188)
CDRL3 GGGYSSISDTT (DİZİ İD. NO:189)

645AğırT56A+G98AFv

CDRH1 GIDLSNYAIN (DİZİ İD. NO:190)
CDRH2 IIWASGATFYATWAKG (DİZİ İD. NO:191)
CDRH3 TVPAYSTAPYFDL (DİZİ İD. NO:192)
CDRL1 QSSPSVWSNFLS (DİZİ İD. NO:193)
CDRL2 EASKLTS (DİZİ İD. NO:194)
CDRL3 GGGYSSISDTT (DİZİ İD. NO:195)

645AğırT56A+Y99AFv

CDRH1 GIDLSNYAIN (DİZİ İD. NO:196)
CDRH2 IIWASGATFYATWAKG (DİZİ İD. NO:197)
CDRH3 TVPGASTAPYFDL (DİZİ İD. NO:198)
CDRL1 QSSPSVWSNFLS (DİZİ İD. NO:199)
CDRL2 EASKLTS (DİZİ İD. NO:200)
CDRL3 GGGYSSISDTT (DİZİ İD. NO:201)

EP 2 480 577 B1

ŞEKİL 23

645AğırI50A+G98AFv

CDRH1 GIDLSNYAIN (DİZİ İD. NO:172)
CDRH2 AIWASGTTFYATWAKG (DİZİ İD. NO:173)
CDRH3 TVPAYSTAPYFDL (DİZİ İD. NO:174)
CDRL1 QSSPSVWSNFLS (DİZİ İD. NO:175)
CDRL2 EASKLTS (DİZİ İD. NO:176)
CDRL3 GGGYSSISDTT (DİZİ İD. NO:177)

645AğırI50A+Y99AFv

CDRH1 GIDLSNYAIN (DİZİ İD. NO:178)
CDRH2 AIWASGTTFYATWAKG (DİZİ İD. NO:179)
CDRH3 TVPGASTAPYFDL (DİZİ İD. NO:180)
CDRL1 QSSPSVWSNFLS (DİZİ İD. NO:181)
CDRL2 EASKLTS (DİZİ İD. NO:182)
CDRL3 GGGYSSISDTT (DİZİ İD. NO:183)

645AğırT56A+T95AFv

CDRH1 GIDLSNYAIN (DİZİ İD. NO:184)
CDRH2 IIWASGATFYATWAKG (DİZİ İD. NO:185)
CDRH3 AVPGYSTAPYFDL (DİZİ İD. NO:186)
CDRL1 QSSPSVWSNFLS (DİZİ İD. NO:187)
CDRL2 EASKLTS (DİZİ İD. NO:188)
CDRL3 GGGYSSISDTT (DİZİ İD. NO:189)

645AğırT56A+G98AFv

CDRH1 GIDLSNYAIN (DİZİ İD. NO:190)
CDRH2 IIWASGATFYATWAKG (DİZİ İD. NO:191)
CDRH3 TVPAYSTAPYFDL (DİZİ İD. NO:192)
CDRL1 QSSPSVWSNFLS (DİZİ İD. NO:193)
CDRL2 EASKLTS (DİZİ İD. NO:194)
CDRL3 GGGYSSISDTT (DİZİ İD. NO:195)

645AğırT56A+Y99AFv

CDRH1 GIDLSNYAIN (DİZİ İD. NO:196)
CDRH2 IIWASGATFYATWAKG (DİZİ İD. NO:197)
CDRH3 TVPGASTAPYFDL (DİZİ İD. NO:198)
CDRL1 QSSPSVWSNFLS (DİZİ İD. NO:199)
CDRL2 EASKLTS (DİZİ İD. NO:200)
CDRL3 GGGYSSISDTT (DİZİ İD. NO:201)

ŞEKİL 24

645dsFv – disulfürle stabilize edilmiş bir Fv'dir. Disulfür Fv içine ağır zincir G44C ve hafif zincir G100C'nin çift mutasyonu ile yerleştirilebilir.

Ağır zincir Fv

EVQLLES GGGLVQPGGSLRLSCAVSGIDLSNYAINWVRQAPGKCLEWIGIIWA
SGTTFYATWAKGRFTISRDS TT VY LQMNSLRAEDTAVYYCARTVPGYSTAPY
FDLWGQGTLVTVSS (DİZİ İD. NO:202)

Hafif zincir Fv

DIVMTQSPSSVSASVGDRV TITCQSSPSVWSNFLSWYQQKPGKAPKLLIYEAS
KLTSGVPSRFGSGSGTDFTLTIS SLQPEDFATYYCGGGYSSISDTTFGCGTKV
EIK (DİZİ İD. NO:203)

648dsFv – disulfürle stabilize edilmiş bir Fv'dir. Disulfür Fv içine ağır zincir 44C ve hafif zincir 100C'nin çift mutasyonu ile yerleştirilebilir.

Ağır zincir Fv

EVQLVES GGGLVQPGGSLRLSCAVSGFSLSR YAMTWVRQAPGKCLEWIGTIT
TGGNTNYANWAKGRFTISKDS TT VY LQMNSLRAEDTAVYYCARGGYVSYA
DATELSLWGQGTLVTVSS (DİZİ İD. NO:204)

Hafif zincir Fv

DIVMTQSPSTLSASVGDRV TITCQASQSIGSR LAWYQQKPGKAPKLLIYYAST
VASGVPSRFGSGSGTEFTLTIS SLQPDDFATYYCQSYDYSSSSSYAFGCGTKV
EIK (DİZİ İD. NO:205)

Fv stabilizasyonu veya çözünürlük mutasyonları – Fv'nin stabilitesini, çözünürlüğünü veya ekspresibilitesini artıran mutasyonlar. Örneğin ağır zincir A84D.

645Fv ağır zinciri

EVQLLES GGGLVQPGGSLRLSCAVSGIDLSNYAINWVRQAPGKGLEWIGIIWA
SGTTFYATWAKGRFTISRDS TT VY LQMNSLRDED TAVYYCARTVPGYSTAPY
FDLWGQGTLVTVSS (DİZİ İD. NO:206)

645Fv hafif zinciri

DIVMTQSPSSVSASVGDRV TITCQSSPSVWSNFLSWYQQKPGKAPKLLIYEAS
KLTSGVPSRFGSGSGTDFTLTIS SLQPEDFATYYCGGGYSSISDTTFGGGTKV
EIK (DİZİ İD. NO:207)

ŞEKİL 24

645dsFv – disulfürle stabilize edilmiş bir Fv'dir. Disulfür Fv içine ağır zincir G44C ve hafif zincir G100C'nin çift mutasyonu ile yerleştirilebilir.

Ağır zincir Fv

EVQLLES GGGLVQPGGSLRLSCAVSGIDLSNYAINWVRQAPGKCLEWIGIIWA
SGTTFYATWAKGRFTISRDS TT VY LQMNSLRAEDTAVYYCARTVPGYSTAPY
FDLWGQGTLVTVSS (DİZİ İD. NO:202)

Hafif zincir Fv

DIVMTQSPSSVSASVGDRV TITCQSSPSVWSNFLSWYQQKPGKAPKLLIYEAS
KLTSGVPSRFGSGSGTDFTLTIS SLQPEDFATYYCGGGYSSISDTTFGCGTKV
EIK (DİZİ İD. NO:203)

648dsFv – disulfürle stabilize edilmiş bir Fv'dir. Disulfür Fv içine ağır zincir 44C ve hafif zincir 100C'nin çift mutasyonu ile yerleştirilebilir.

Ağır zincir Fv

EVQLVES GGGLVQPGGSLRLSCAVSGFSLSR YAMTWVRQAPGKCLEWIGTIT
TGGNTNYANWAKGRFTISKDS TT VY LQMNSLRAEDTAVYYCARGGYVSYA
DATELSLWGQGTLVTVSS (DİZİ İD. NO:204)

Hafif zincir Fv

DIVMTQSPSTLSASVGDRV TITCQASQSIGSRLAWYQQKPGKAPKLLIYYAST
VASGVPSRFGSGSGTEFTLTIS SLQPDDFATYYCQSYDYSSSSSYAFGCGTKV
EIK (DİZİ İD. NO:205)

Fv stabilizasyonu veya çözünürlük mutasyonları – Fv'nin stabilitesini, çözünürlüğünü veya ekspresibilitesini artıran mutasyonlar. Örneğin ağır zincir A84D.

645Fv ağır zinciri

EVQLLES GGGLVQPGGSLRLSCAVSGIDLSNYAINWVRQAPGKGLEWIGIIWA
SGTTFYATWAKGRFTISRDS TT VY LQMNSLRDED TAVYYCARTVPGYSTAPY
FDLWGQGTLVTVSS (DİZİ İD. NO:206)

645Fv hafif zinciri

DIVMTQSPSSVSASVGDRV TITCQSSPSVWSNFLSWYQQKPGKAPKLLIYEAS
KLTSGVPSRFGSGSGTDFTLTIS SLQPEDFATYYCGGGYSSISDTTFGGGTKV
EIK (DİZİ İD. NO:207)

ŞEKİL 24

645dsFv – disulfürle stabilize edilmiş bir Fv'dir. Disulfür Fv içine ağır zincir G44C ve hafif zincir G100C'nin çift mutasyonu ile yerleştirilebilir.

Ağır zincir Fv

EVQLLES GGGLVQPGGSLRLSCAVSGIDLSNYAINWVRQAPGKCLEWIGIIWA
SGTTFYATWAKGRFTISRDS TT VY LQMNSLRAEDTAVYYCARTVPGYSTAPY
FDLWGQGT LVT VSS (DİZİ İD. NO:202)

Hafif zincir Fv

DIVMTQSPSSVSASVGDRVTITCQSSPSVWSNFLSWYQQKPGKAPKLLIYEAS
KLTSGVPSRFGSGSGTDFTLTIS SLQPEDFATYYCGGGYSSISDTTFGCGTKV
EIK (DİZİ İD. NO:203)

648dsFv – disulfürle stabilize edilmiş bir Fv'dir. Disulfür Fv içine ağır zincir 44C ve hafif zincir 100C'nin çift mutasyonu ile yerleştirilebilir.

Ağır zincir Fv

EVQLVES GGGLVQPGGSLRLSCAVSGFSLSR YAMTWVRQAPGKCLEWIGTIT
TGGNTNYANWAKGRFTISKDS TT VY LQMNSLRAEDTAVYYCARGGYVSYA
DATELSLWGQGT LVT VSS (DİZİ İD. NO:204)

Hafif zincir Fv

DIVMTQSPSTLSASVGDRVTITCQASQSIGSR L AWYQQKPGKAPKLLIYYAST
VASGVPSRFGSGSGTEFTLTIS SLQPDDFATYYCQSYDYSSSSSYAFGCGTKV
EIK (DİZİ İD. NO:205)

Fv stabilizasyonu veya çözünürlük mutasyonları – Fv'nin stabilitesini, çözünürlüğünü veya ekspresibilitesini artıran mutasyonlar. Örneğin ağır zincir A84D.

645Fv ağır zinciri

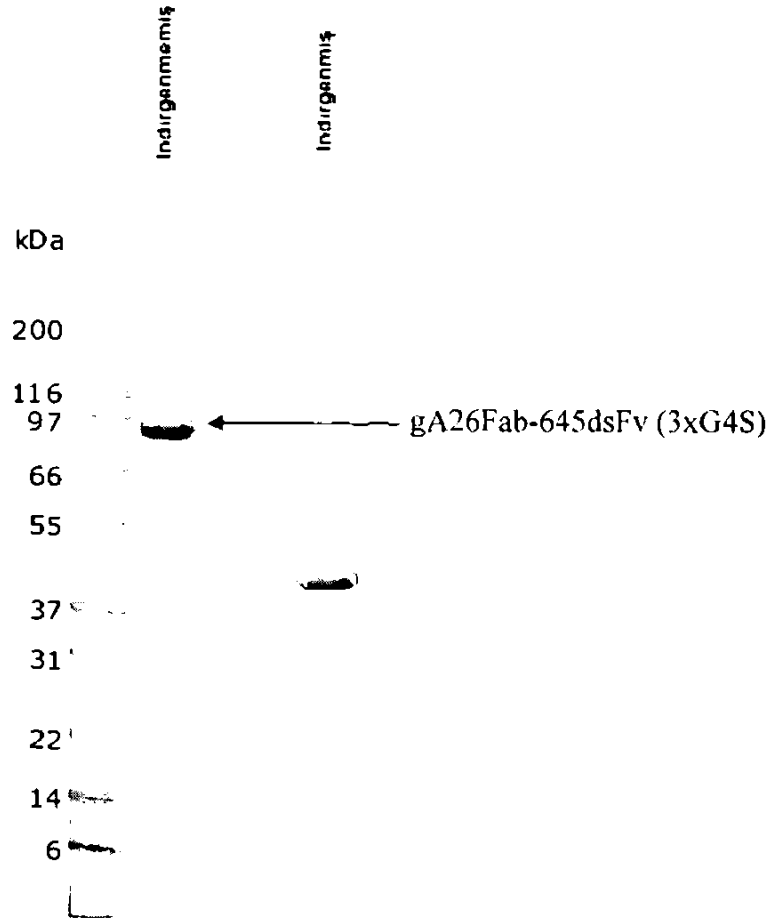
EVQLLES GGGLVQPGGSLRLSCAVSGIDLSNYAINWVRQAPGKGLEWIGIIWA
SGTTFYATWAKGRFTISRDS TT VY LQMNSLRDED TAVYYCARTVPGYSTAPY
FDLWGQGT LVT VSS (DİZİ İD. NO:206)

645Fv hafif zinciri

DIVMTQSPSSVSASVGDRVTITCQSSPSVWSNFLSWYQQKPGKAPKLLIYEAS
KLTSGVPSRFGSGSGTDFTLTIS SLQPEDFATYYCGGGYSSISDTTFGGGTKV
EIK (DİZİ İD. NO:207)

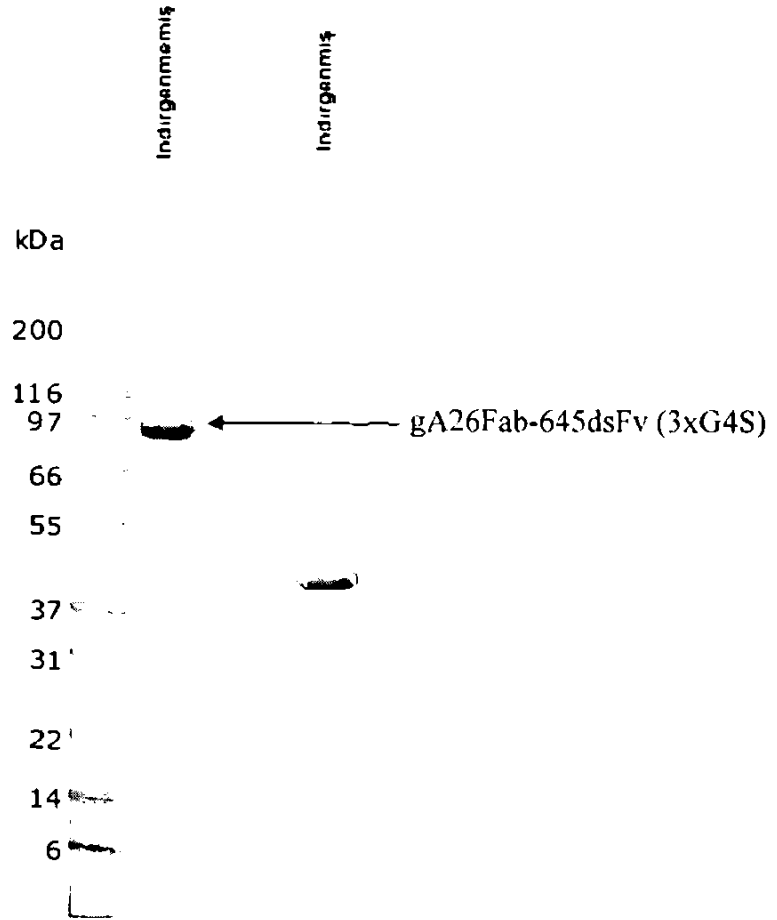
EP 2 480 577 B1

ŞEKİL 25



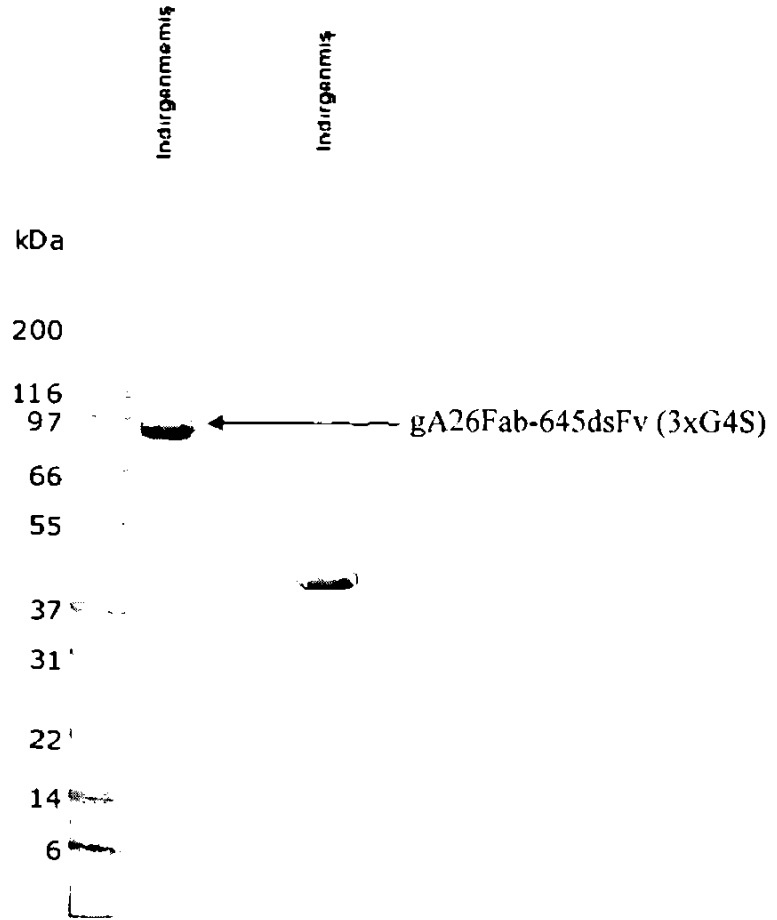
EP 2 480 577 B1

ŞEKİL 25



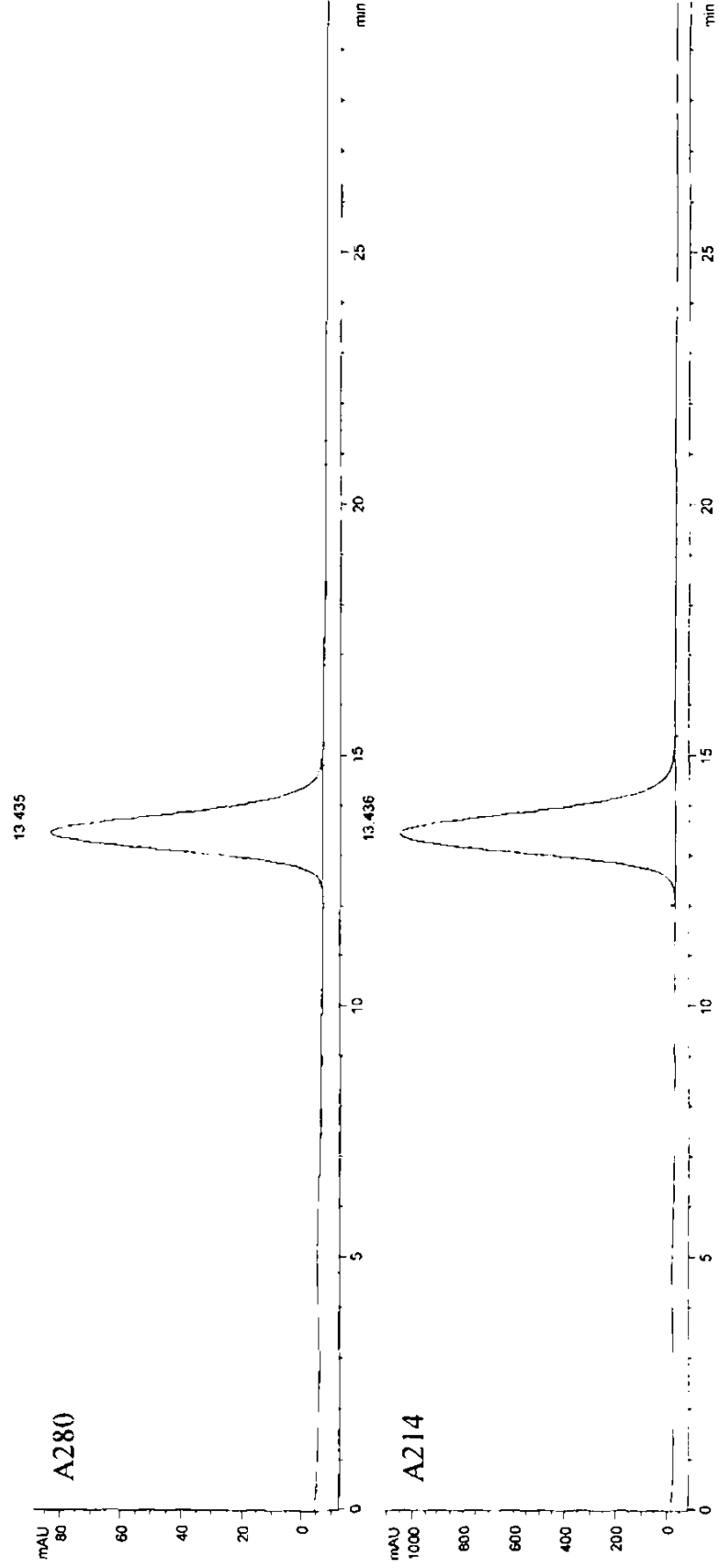
EP 2 480 577 B1

ŞEKİL 25



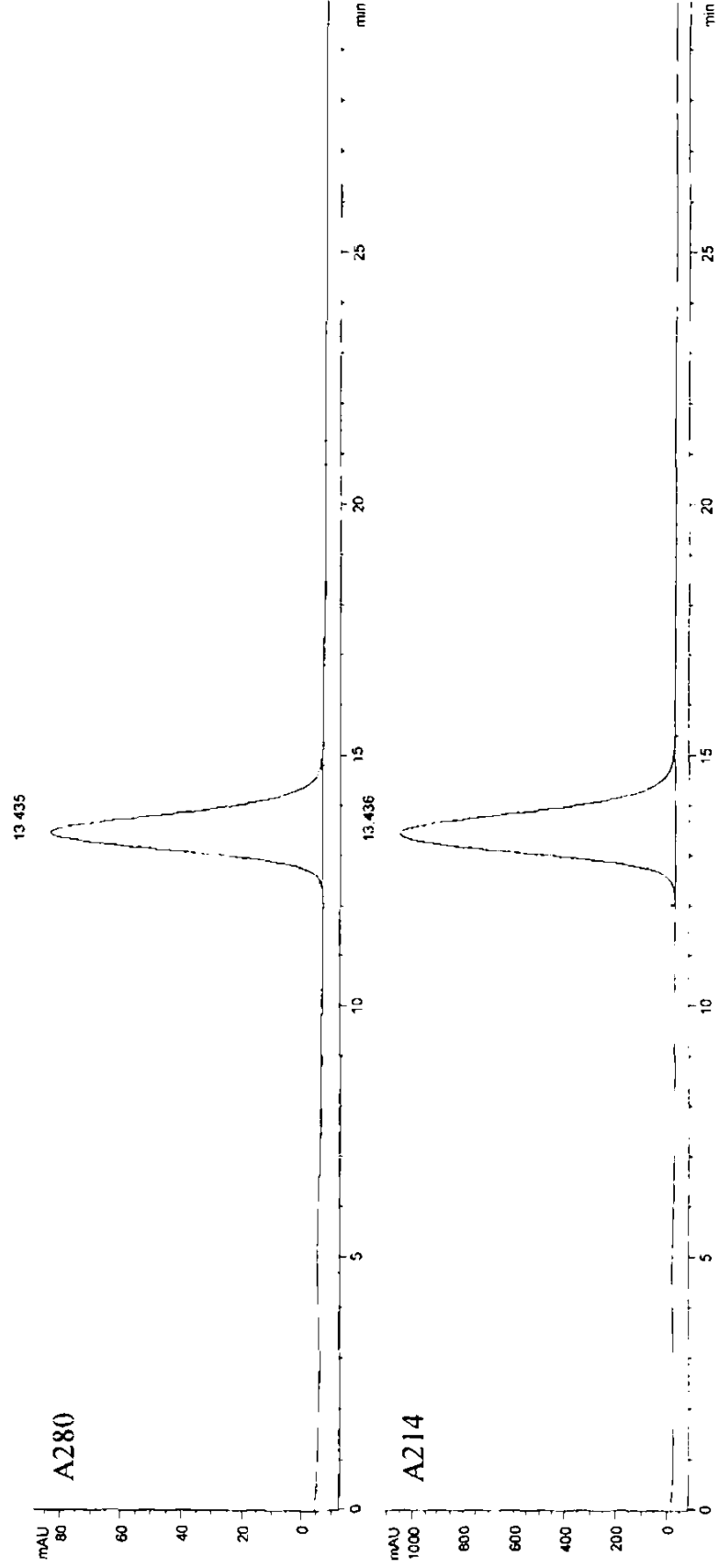
EP 2 480 577 B1

ŞEKİL 26



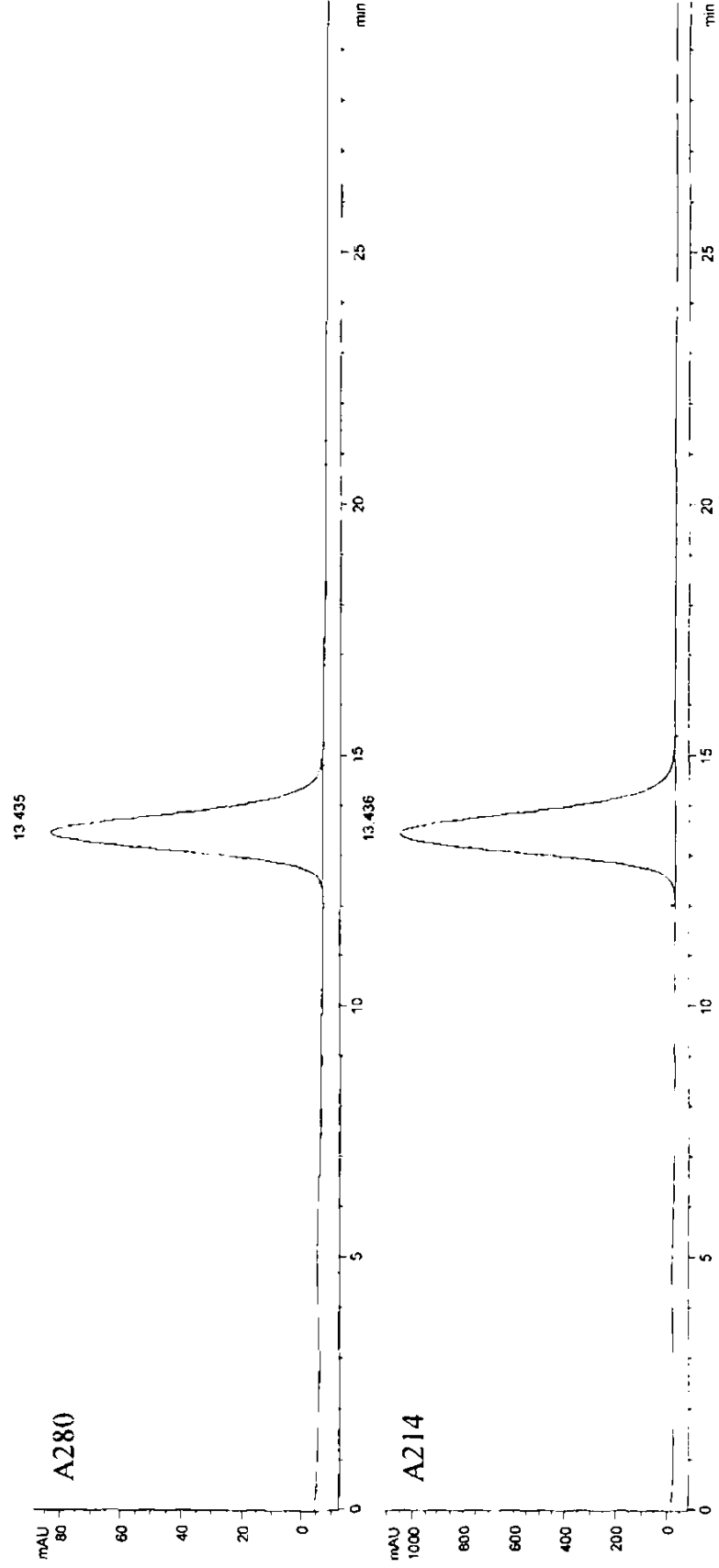
EP 2 480 577 B1

ŞEKİL 26



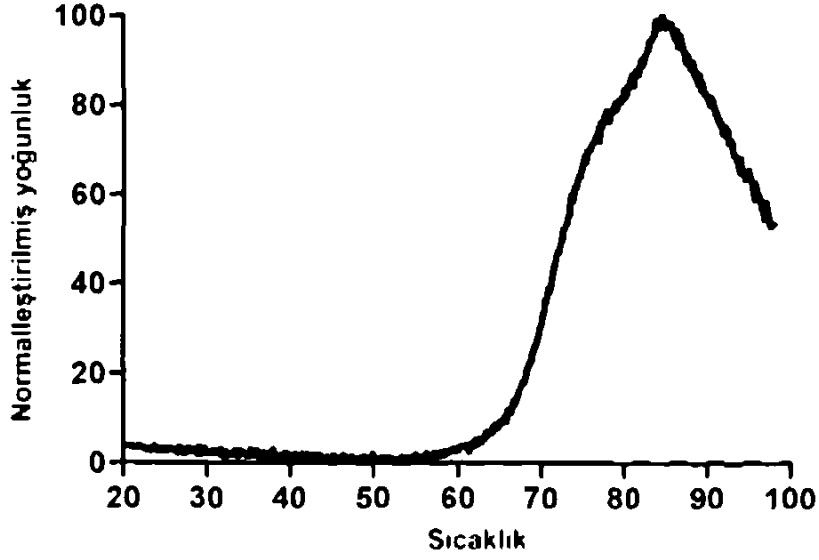
EP 2 480 577 B1

ŞEKİL 26

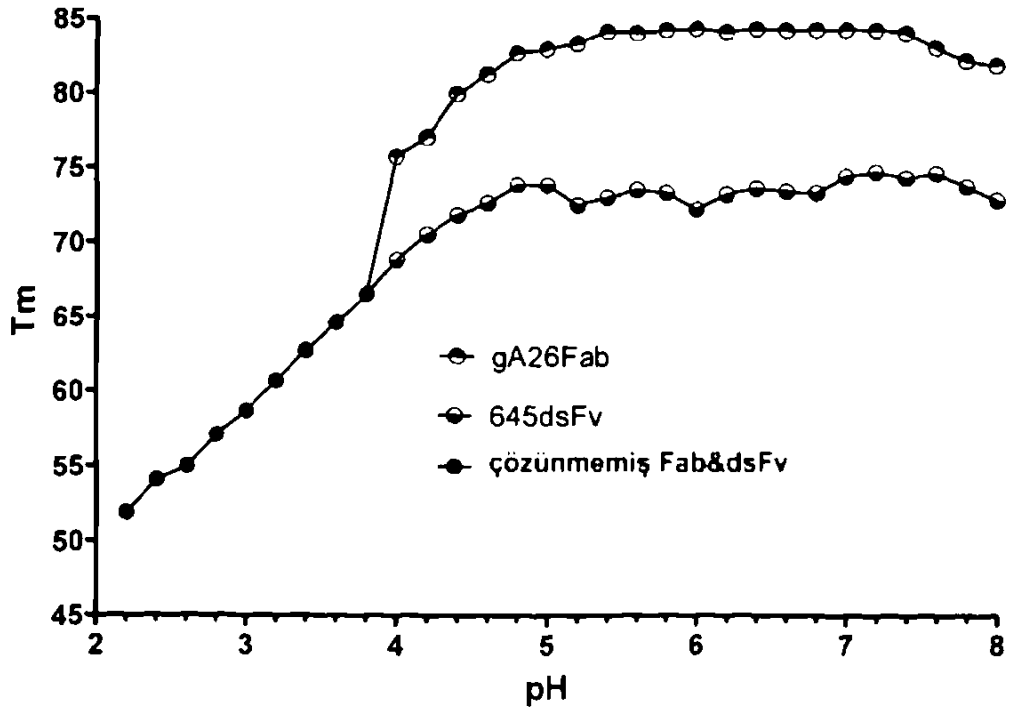


EP 2 480 577 B1

ŞEKİL 27A

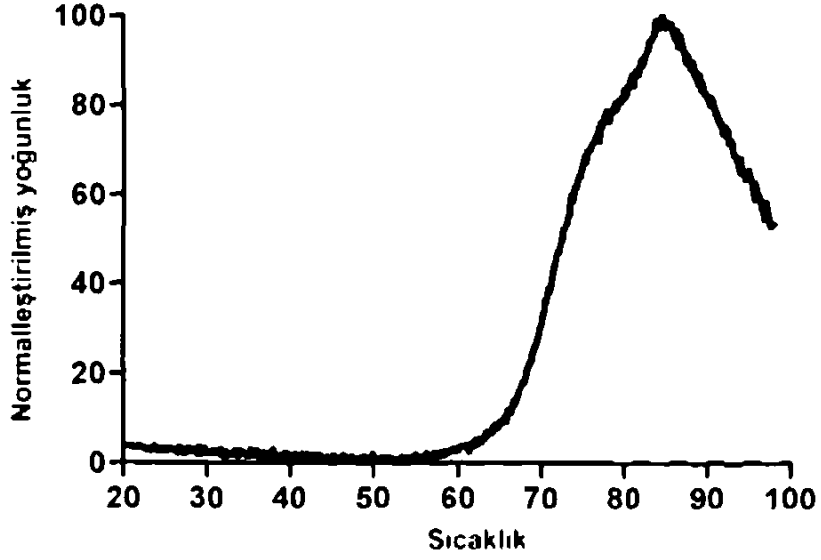


ŞEKİL 27B

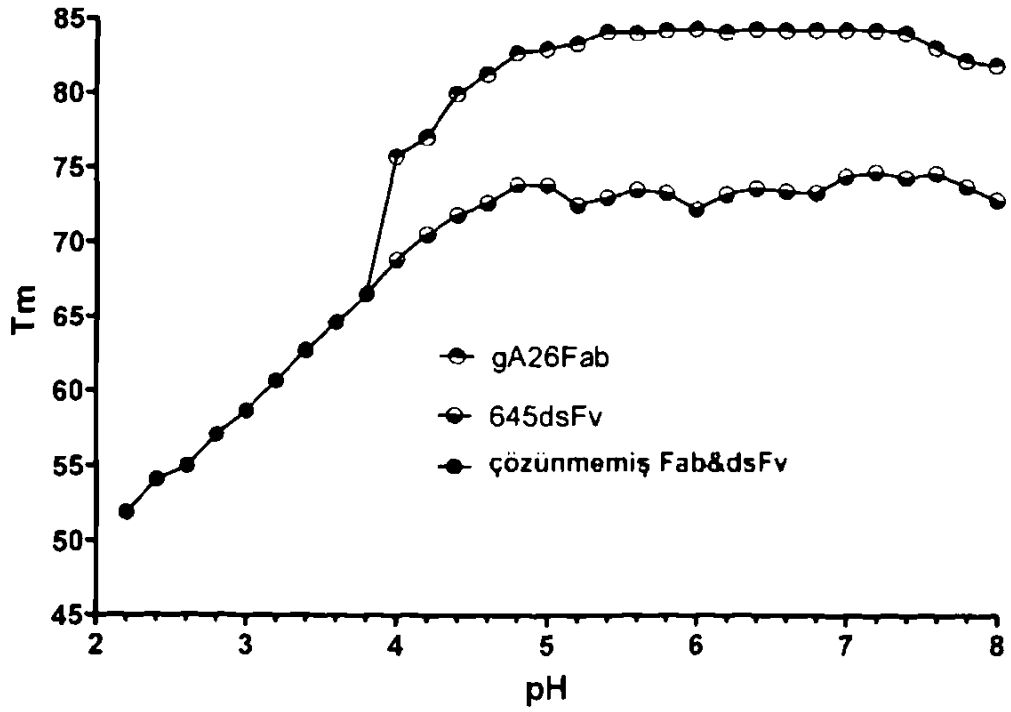


EP 2 480 577 B1

ŞEKİL 27A

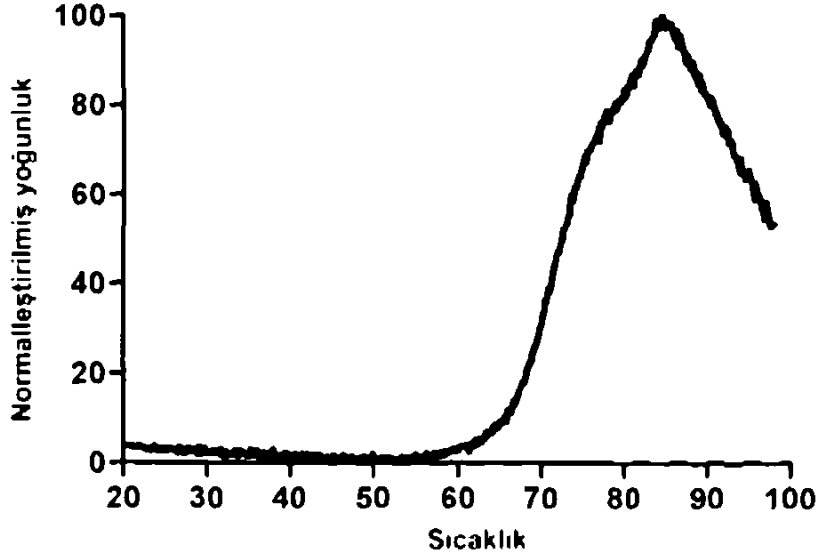


ŞEKİL 27B

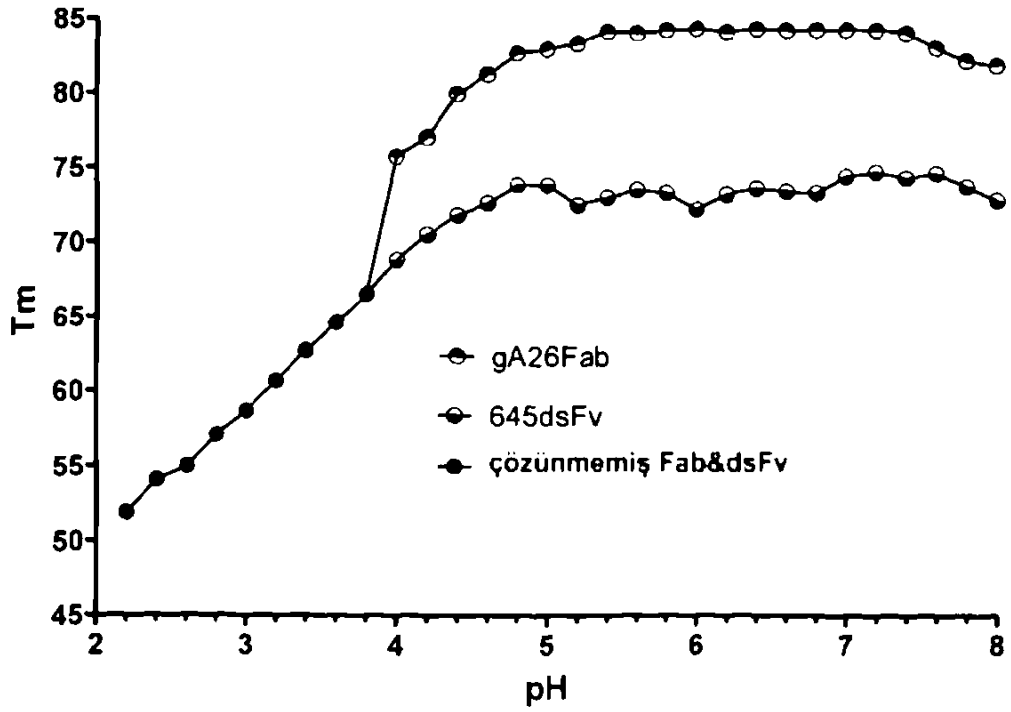


EP 2 480 577 B1

ŞEKİL 27A

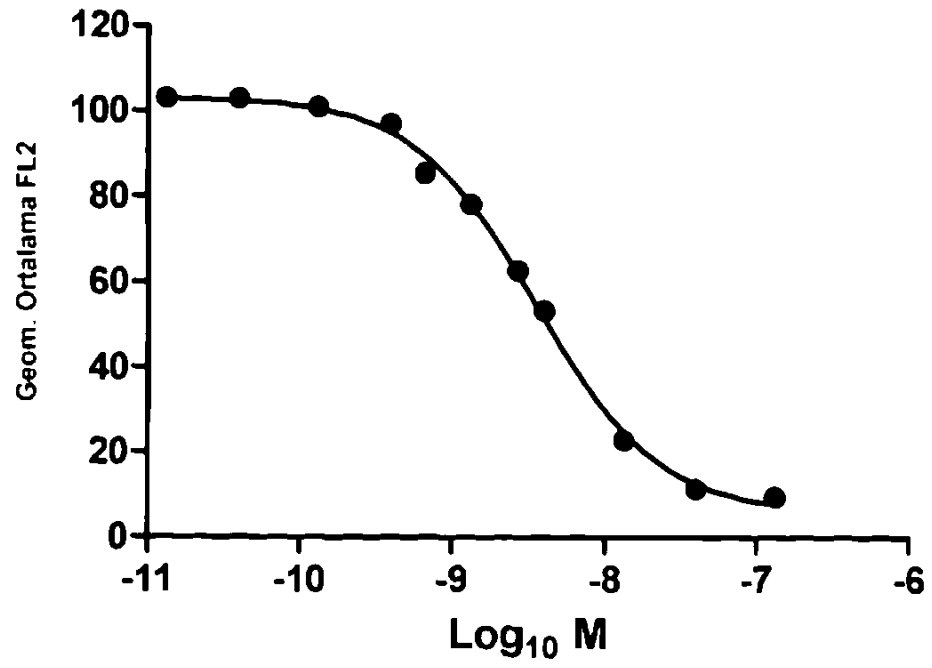


ŞEKİL 27B



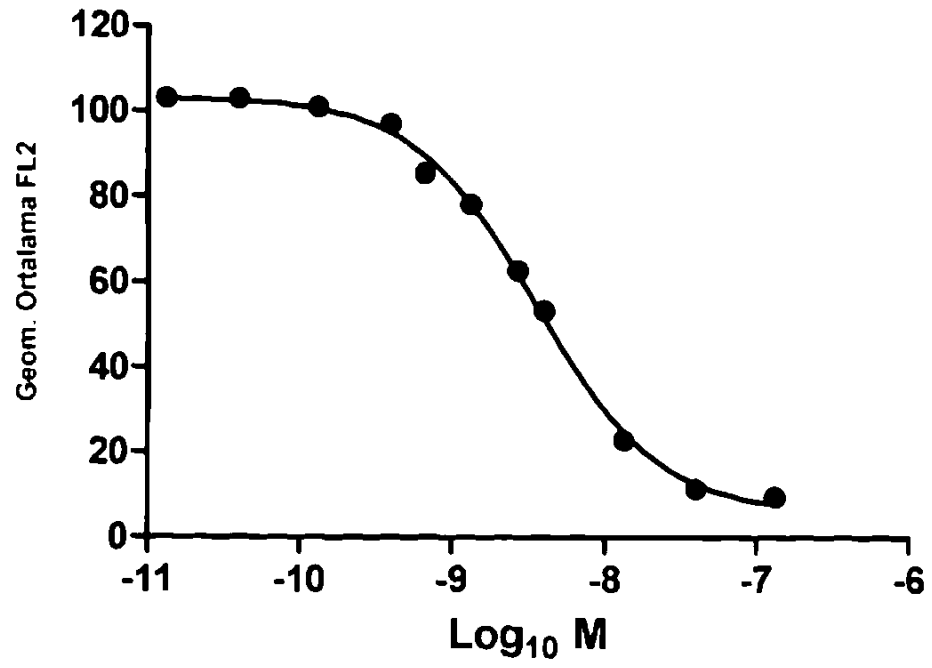
EP 2 480 577 B1

ŞEKİL 28



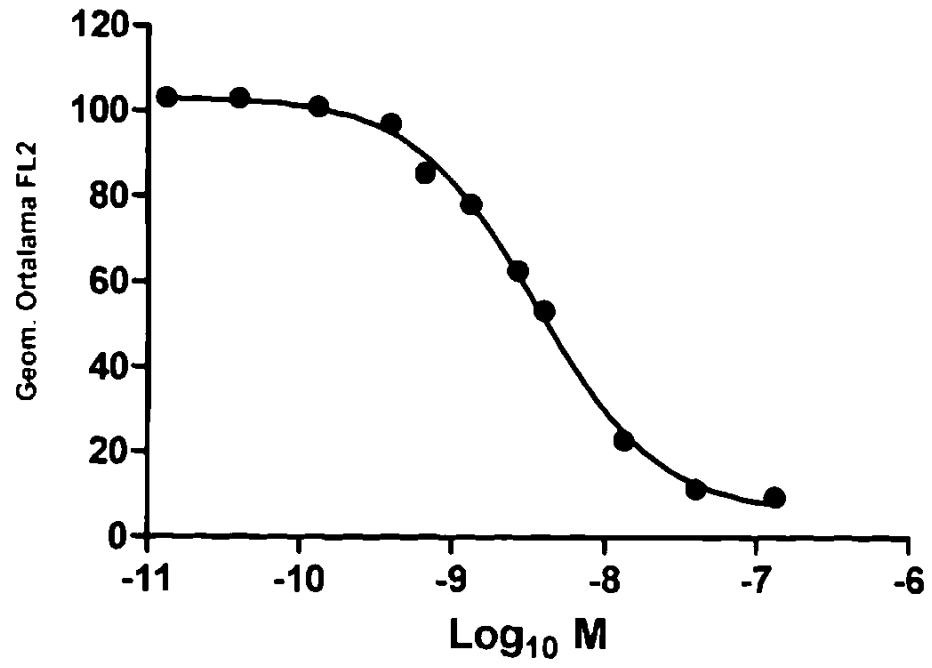
EP 2 480 577 B1

ŞEKİL 28



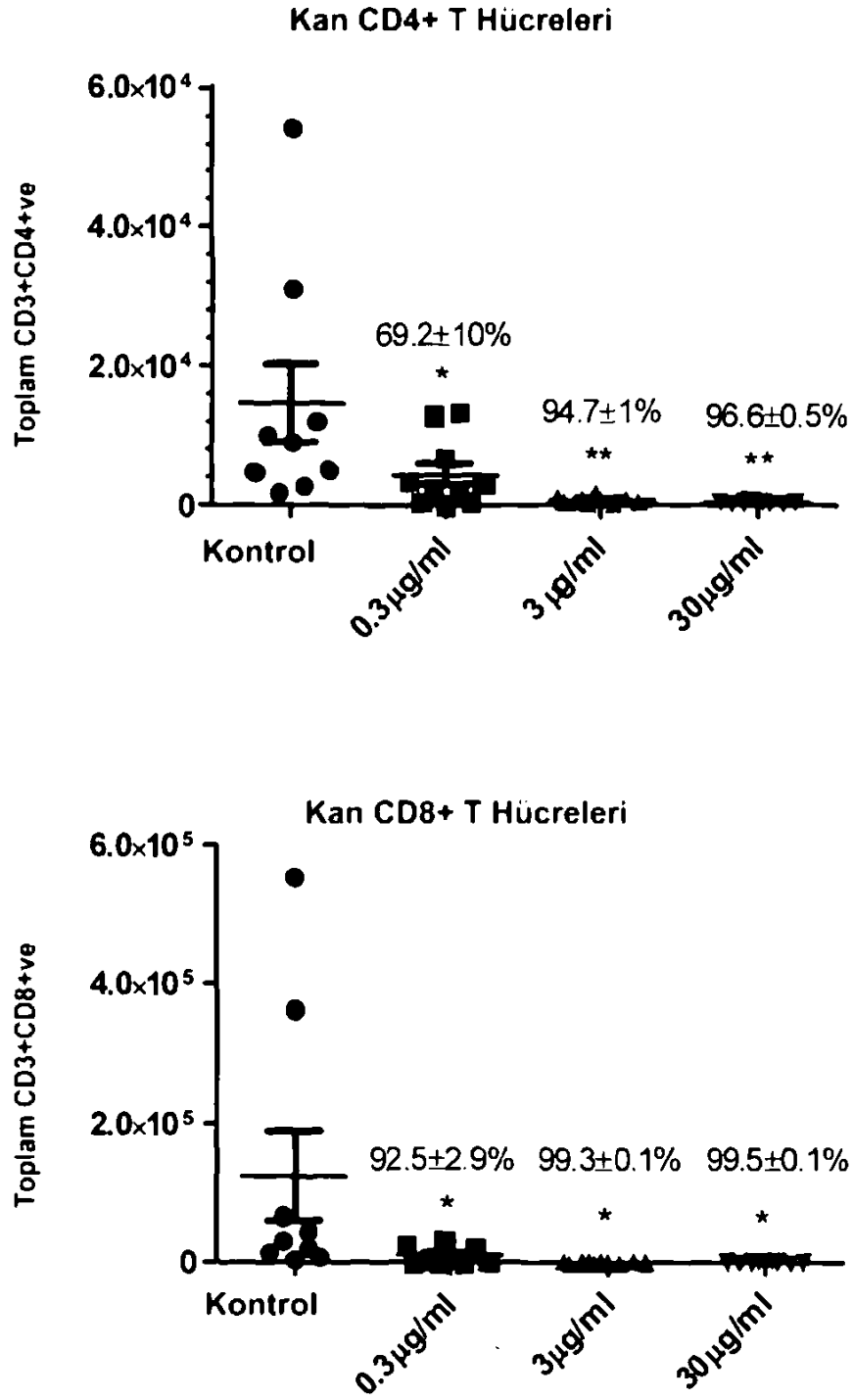
EP 2 480 577 B1

ŞEKİL 28



EP 2 480 577 B1

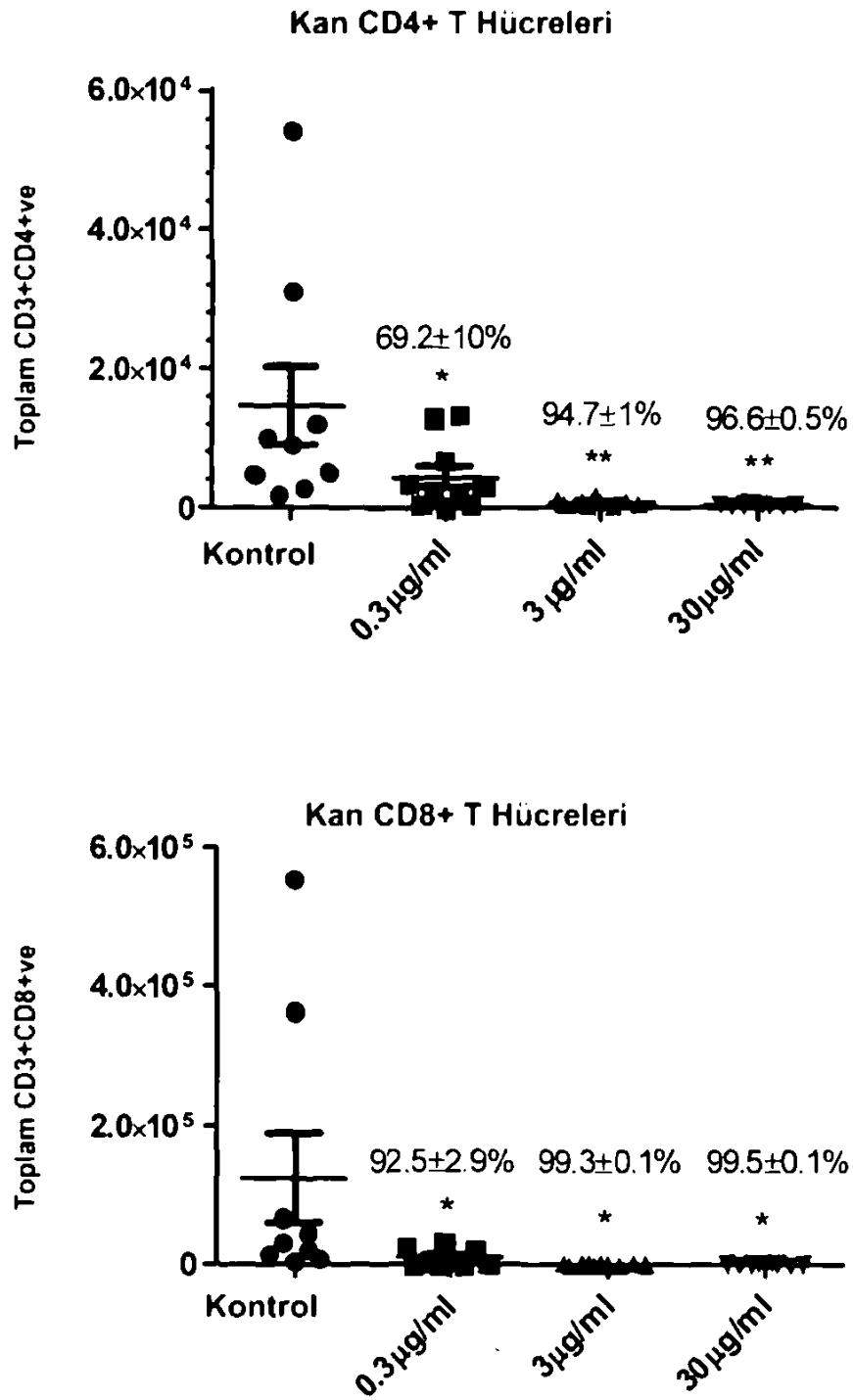
ŞEKİL 29A



*P<0.05, **P<0.01

EP 2 480 577 B1

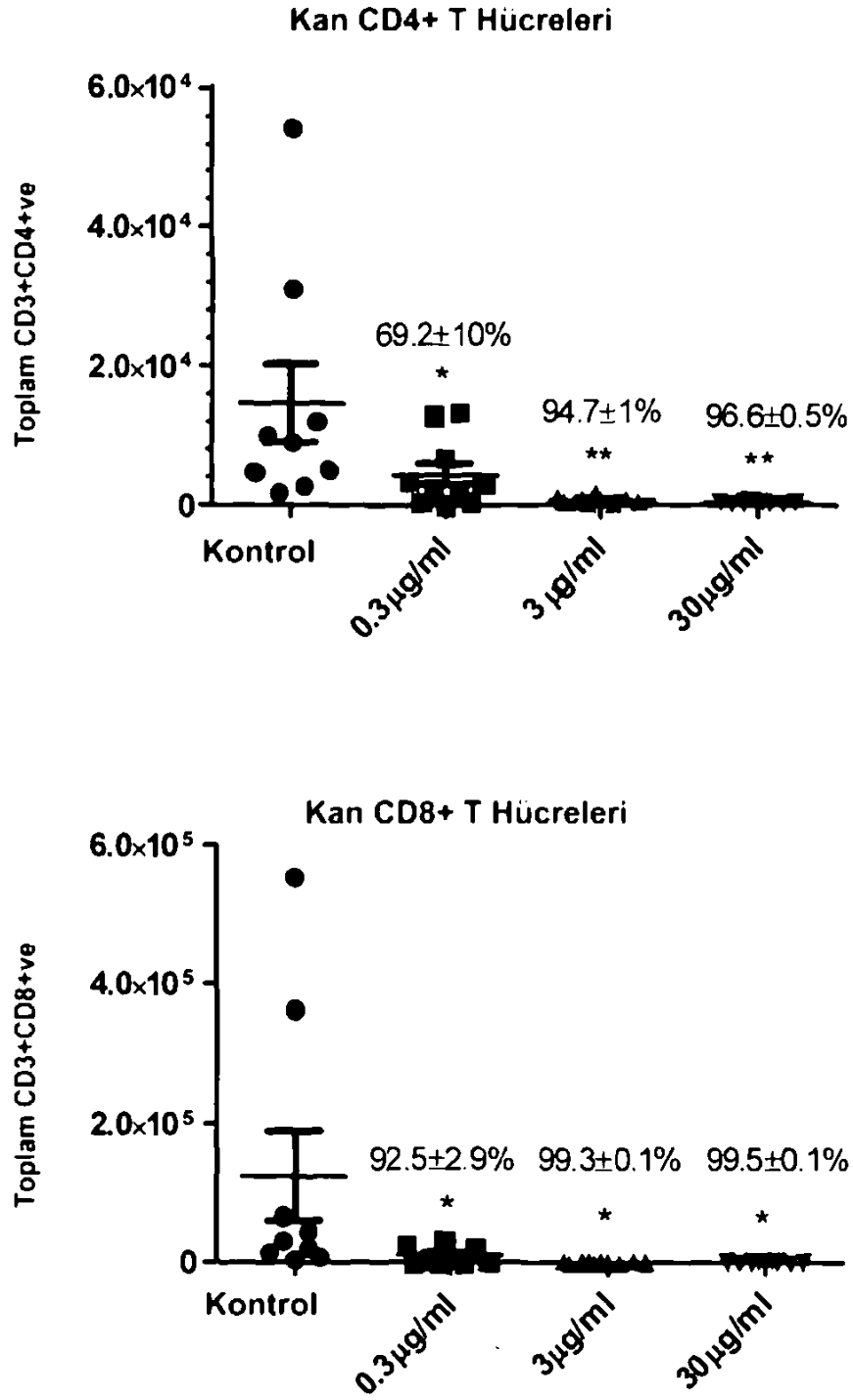
ŞEKİL 29A



*P<0.05, **P<0.01

EP 2 480 577 B1

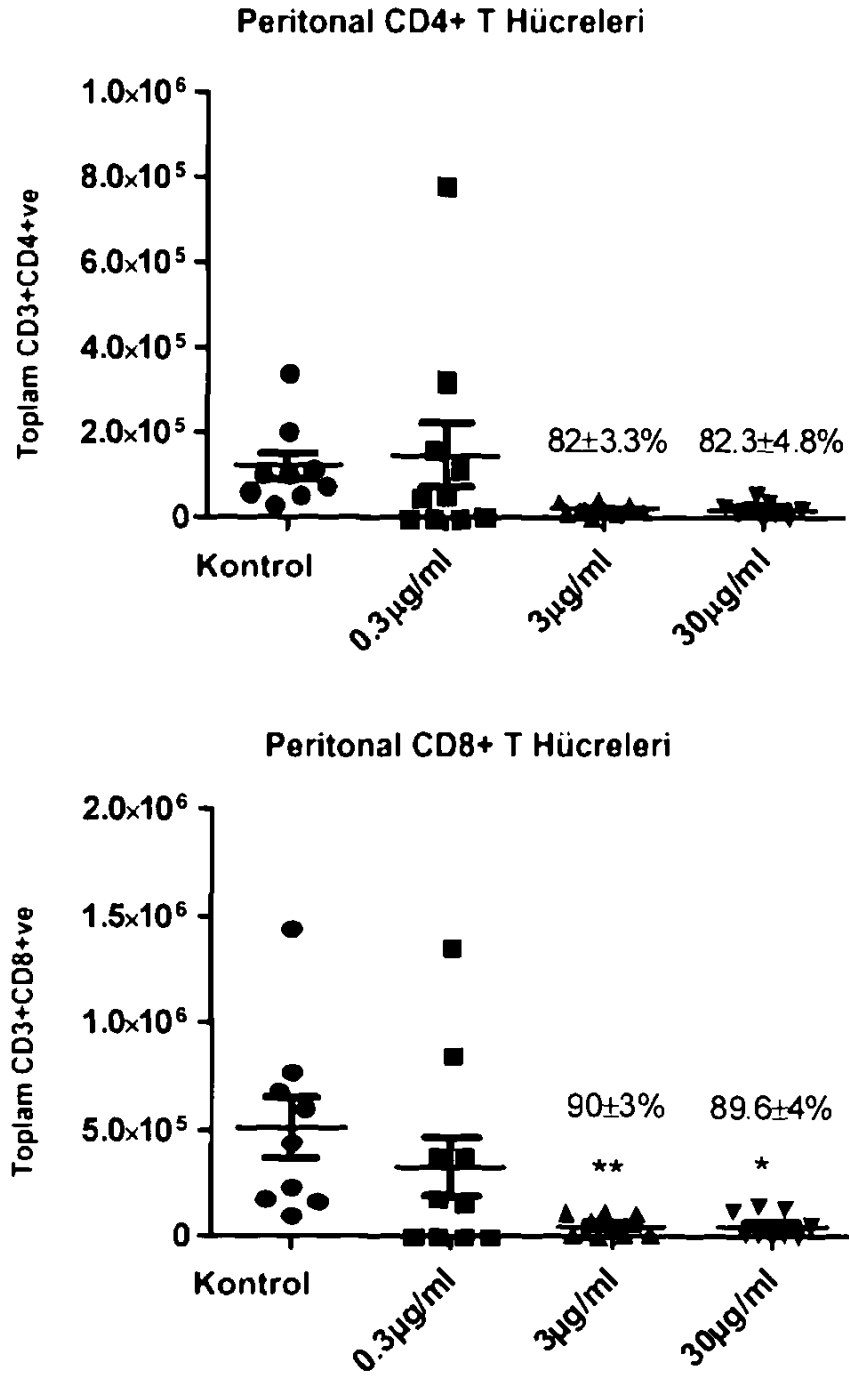
ŞEKİL 29A



*P<0.05, **P<0.01

EP 2 480 577 B1

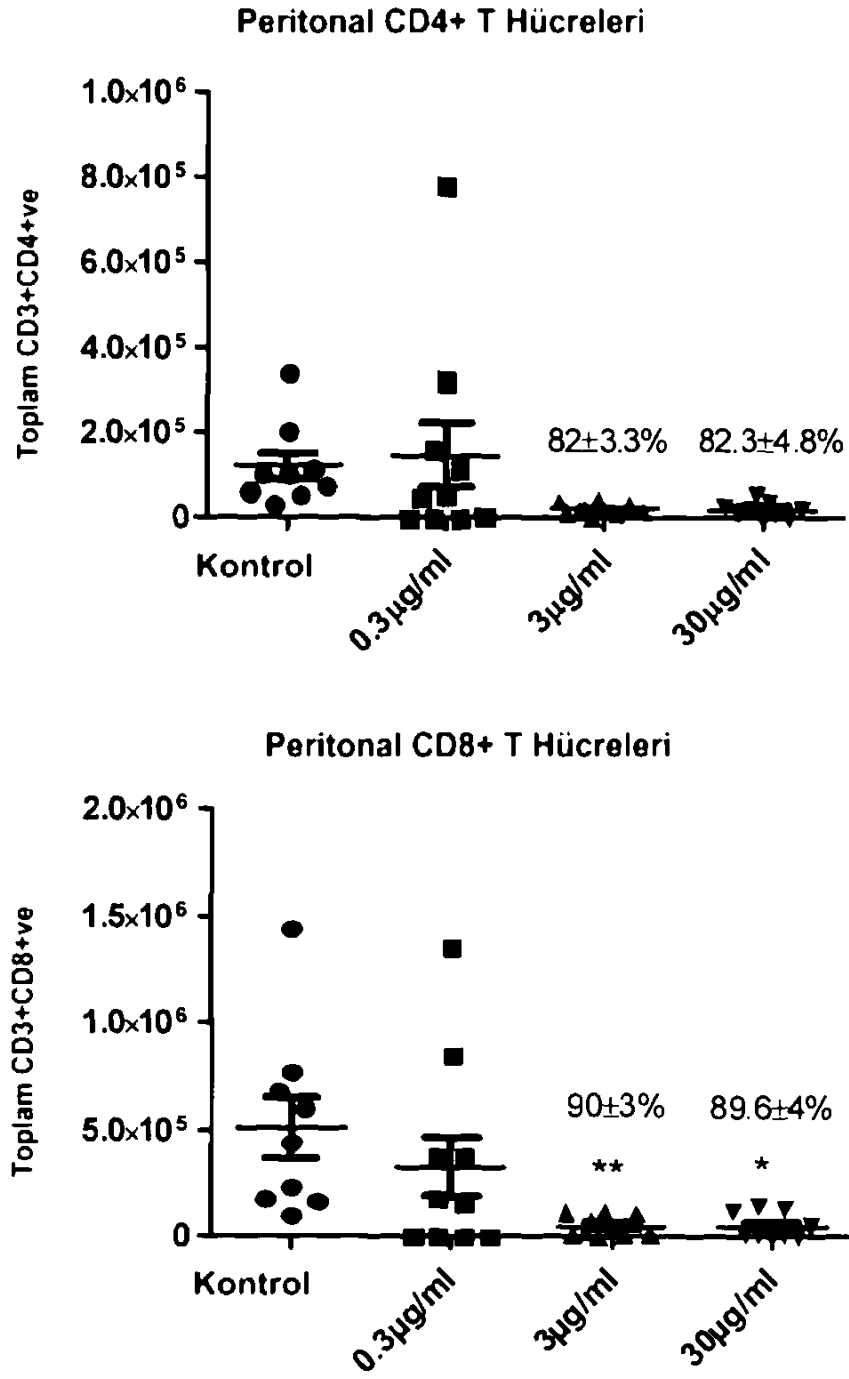
ŞEKİL 29B



*P<0.05, **P<0.01

EP 2 480 577 B1

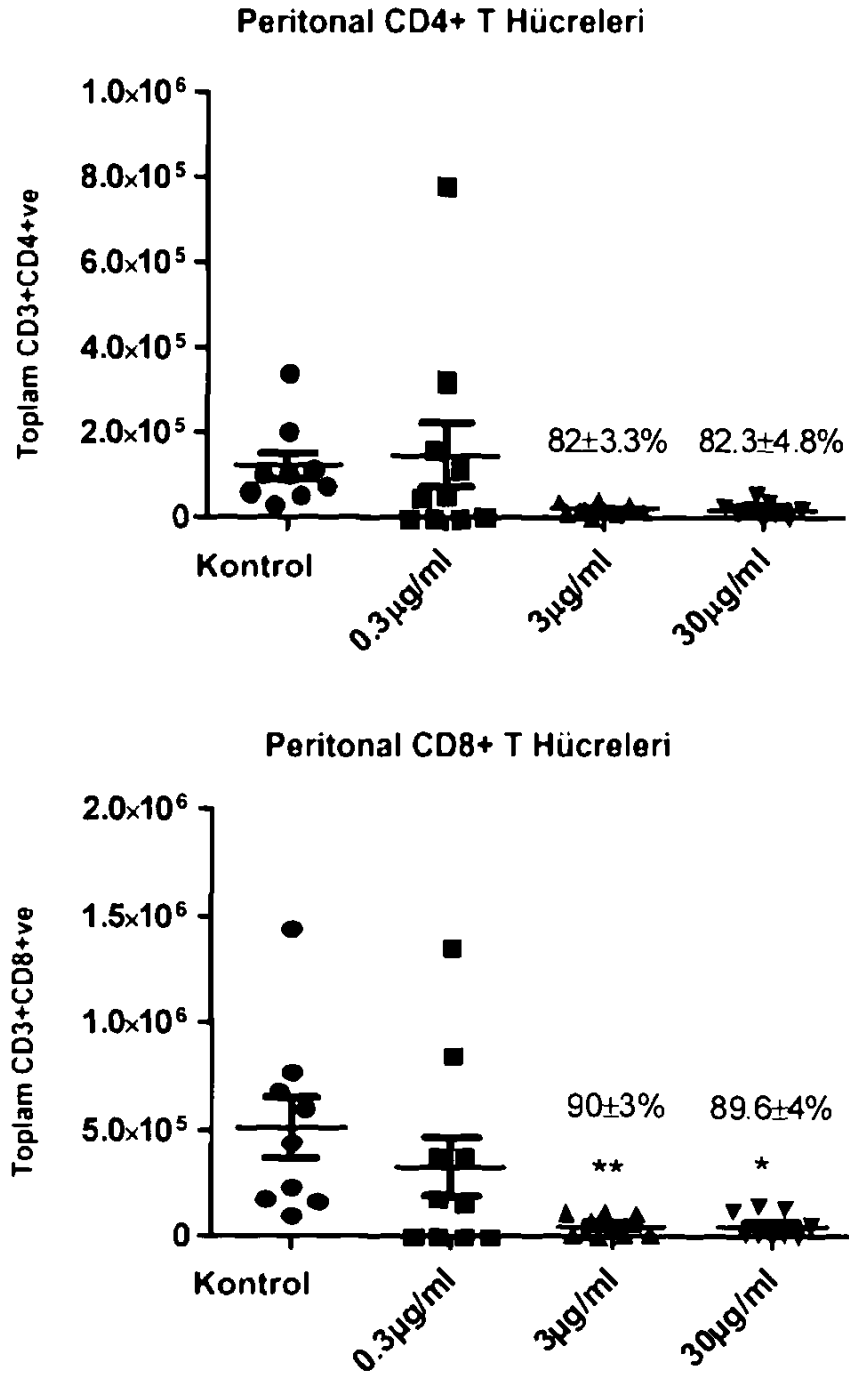
ŞEKİL 29B



*P<0.05, **P<0.01

EP 2 480 577 B1

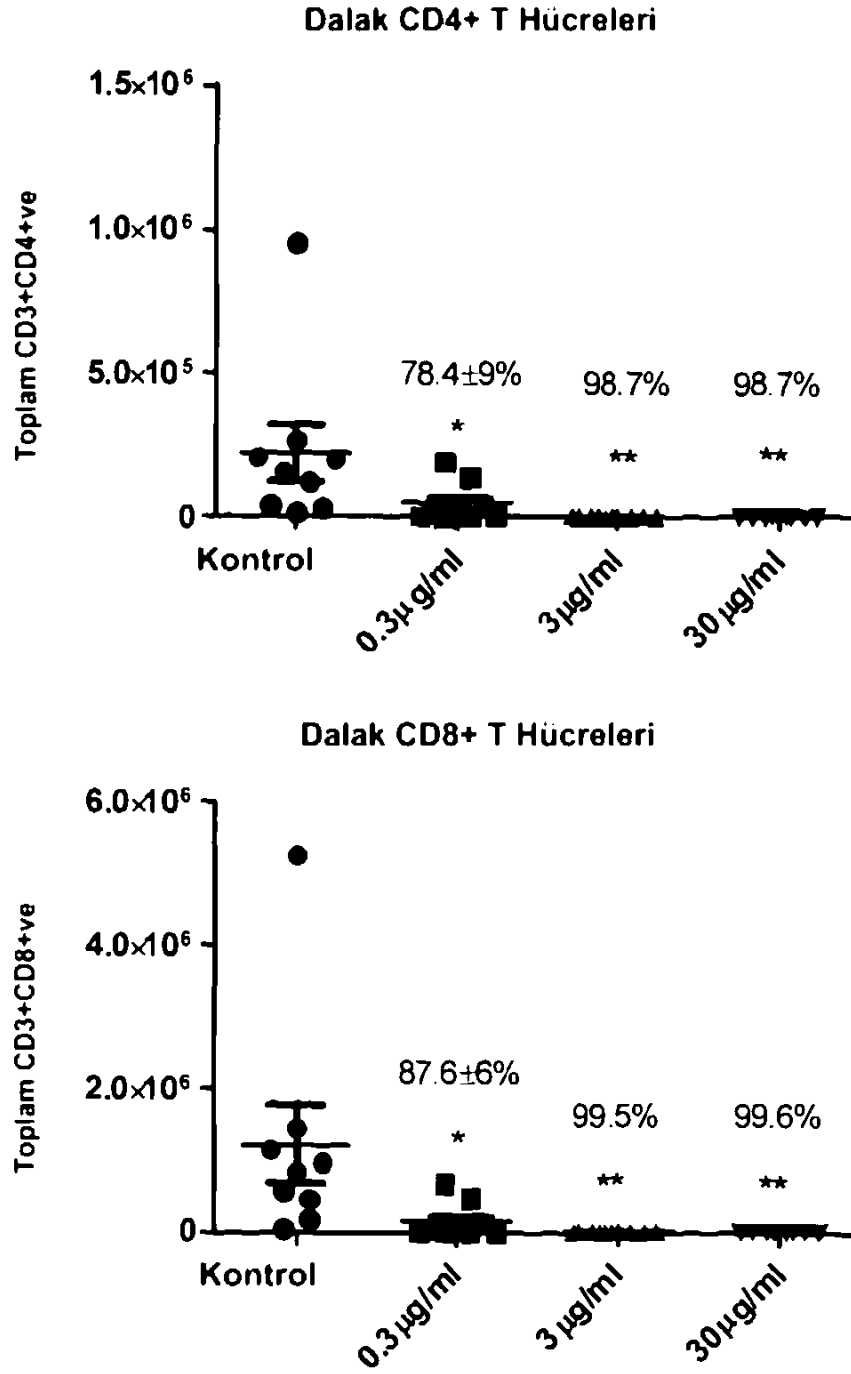
ŞEKİL 29B



*P<0.05, **P<0.01

EP 2 480 577 B1

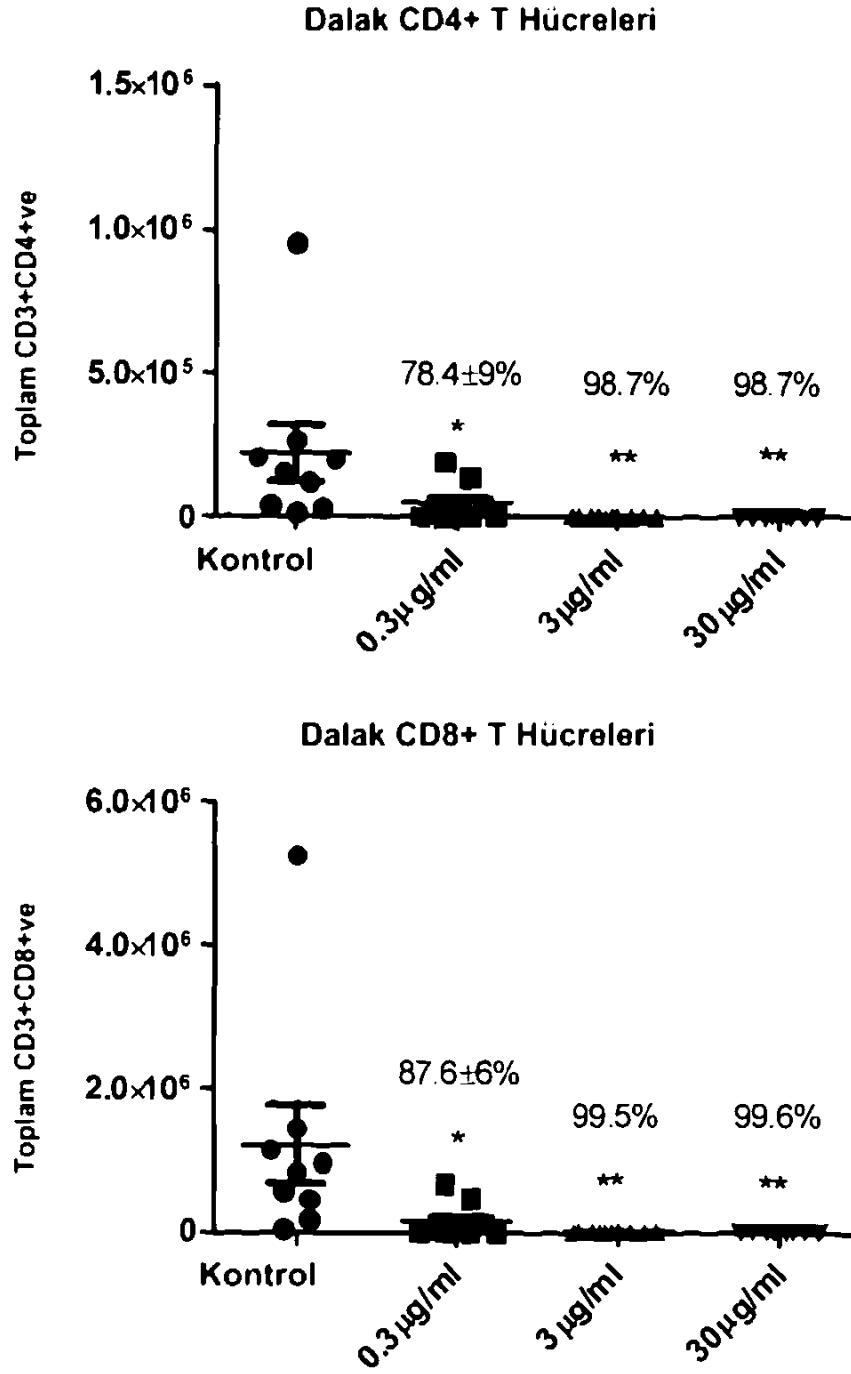
ŞEKİL 29C



*P<0.05. **P<0.01

EP 2 480 577 B1

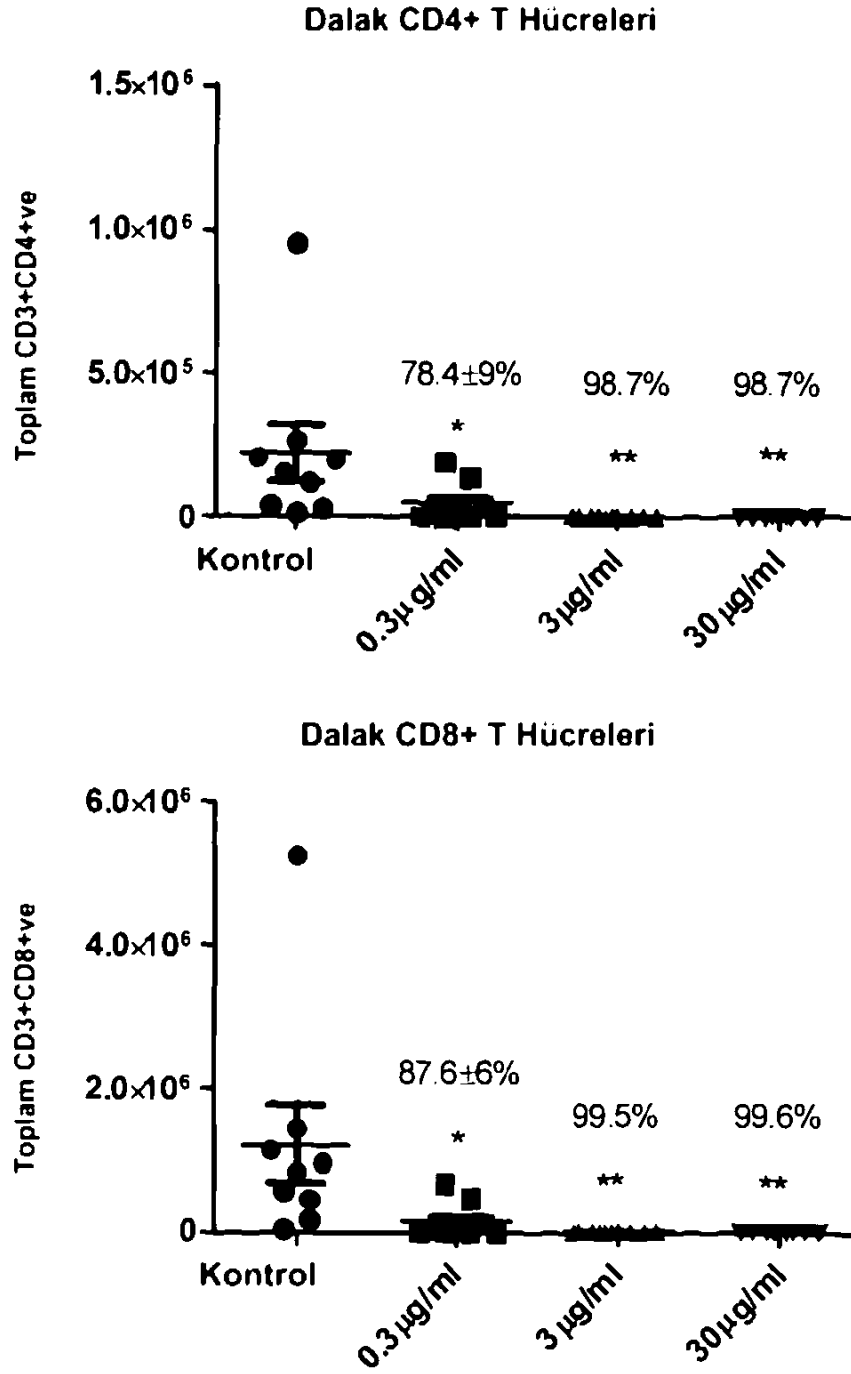
ŞEKİL 29C



*P<0.05. **P<0.01

EP 2 480 577 B1

ŞEKİL 29C



*P<0.05. **P<0.01

EP 2 480 577 B1

ŞEKİL 30A

645Fv-652Fab (L-3xG4S, H-3xG4S) amino asit dizisi

Ağır zincir

645Fv (Dizi ID. NO:52)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGIDLSNYAINWVRQAPGKGLEWIGIIWASGTT
FYATWAKGRFTISRDTTVYLMNSLRAEDTAVYYCARTVPGYSTAPYFDLWGQGT
LTVSS

3xG4S bağlayıcı

GGGGSGGGSGGGGS (Dizi ID. NO:225)

652Fab (Dizi ID. NO:226)

QVTLKESGPVLVKPTETLTCTVSXXXXXXXXXXWIRQPPGKALEWLGXXXXXXXXX
XXXXXXXXXRLTISRDTSKSQVLTMTNMDPVDATYYCARXXXXXXXXXXXXWGQGT
LVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH
TFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCS

Hafif zincir

645Fv (Dizi ID. NO:53)

DIVMTQSPSSVSASVGDRVITTCQSSPSVWSNFLSWYQQKPGKAPKLLIYEASKLTS
GVPSRFKSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCGGGYSSISDTTFGQGTKVEIK

3xG4S bağlayıcı

GGGGSGGGSGGGGS (Dizi ID. NO:225)

652Fab (Dizi ID. NO:227)

DIQMTQSPSSLSASVGDRVITCXXXXXXXXXXWYQQKPGKAPKLLIYXXXXXXG
VPSRFSGSGGTDFTLTISSLQPEDFATYYCXXXXXXXXXFGGGTKVEIKRTVAAPS
VFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDS
TYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGECS

652Fab CDR'lerinin amino asitleri X'lerde yer değiştirmiştir

EP 2 480 577 B1

ŞEKİL 30A

645Fv-652Fab (L-3xG4S, H-3xG4S) amino asit dizisi

Ağır zincir

645Fv (Dizi ID. NO:52)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGIDLSNYAINWVRQAPGKGLEWIGIIWASGTT
FYATWAKGRFTISRSTTVYLQMNSLRAEDTAVYYCARTVPGYSTAPYFDLWGQGT
LTVSS

3xG4S bağlayıcı

GGGGSGGGSGGGGS (Dizi ID. NO:225)

652Fab (Dizi ID. NO:226)

QVTLKESGPVLVKPTETLTCTVSXXXXXXXXXXWIRQPPGKALEWLGXXXXXXXX
XXXXXXXXRLTISRDTSKSQVLTMTNMDPVDATYYCARXXXXXXXXXXXXWGQGT
LVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH
TFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCS

Hafif zincir

645Fv (Dizi ID. NO:53)

DIVMTQSPSSVSASVGDRVTITCQSSPSVWSNFLSWYQQKPGKAPKLLIYEASKLTS
GVPSRFKSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCGGGYSSISDTTFGQGTKVEIK

3xG4S bağlayıcı

GGGGSGGGSGGGGS (Dizi ID. NO:225)

652Fab (Dizi ID. NO:227)

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCXXXXXXXXXXWYQQKPGKAPKLLIYXXXXXXG
VPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCXXXXXXXXXXFGGCTKVEIKRTVAAPS
VFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDS
TYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGECS

652Fab CDR'lerinin amino asitleri X'lerde yer değiştirmiştir

EP 2 480 577 B1

ŞEKİL 30A

645Fv-652Fab (L-3xG4S, H-3xG4S) amino asit dizisi

Ağır zincir

645Fv (Dizi ID. NO:52)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGIDLSNYAINWVRQAPGKGLEWIGIIWASGTT
FYATWAKGRFTISRSTTVYLQMNSLRAEDTAVYYCARTVPGYSTAPYFDLWGQGT
LTVSS

3xG4S bağlayıcı

GGGGSGGGSGGGGS (Dizi ID. NO:225)

652Fab (Dizi ID. NO:226)

QVTLKESGPVLVKPTETLTCTVSXXXXXXXXXXWIRQPPGKALEWLGXXXXXXXX
XXXXXXXXRLTISRDTSKSQVLTMTNMDPVDATYYCARXXXXXXXXXXXXWGQGT
LVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH
TFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCS

Hafif zincir

645Fv (Dizi ID. NO:53)

DIVMTQSPSSVSASVGDRVTITCQSSPSVWSNFLSWYQQKPGKAPKLLIYEASKLTS
GVPSRFKSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCGGGYSSISDTTFGQGTKVEIK

3xG4S bağlayıcı

GGGGSGGGSGGGGS (Dizi ID. NO:225)

652Fab (Dizi ID. NO:227)

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCXXXXXXXXXXWYQQKPGKAPKLLIYXXXXXXG
VPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCXXXXXXXXXFGGGTKVEIKRTVAAPS
VFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDS
TYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGECS

652Fab CDR'lerinin amino asitleri X'lerde yer değiştirmiştir

EP 2 480 577 B1

ŞEKİL 30B

645Fv-652Fab (L-TVAAP, HASTKGP) amino asit dizisi

Ağır zincir

645Fv (DİZİ İD. NO:52)

EVQLLLESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGIDLSNYAINWVRQAPGKGLEWIGIIWASGTT
FYATWAKGRFTISRSTTVYLQMNSLRAEDTAVYYCARTVPGYSTAPYFDLWGQGTL
VTVSS

ASTKGP bağlayıcı

ASTKGP (DİZİ İD. NO:228)

652Fab (DİZİ İD. NO:226)

QVTLKESGPVLVKPTETLTCTVSXXXXXXXXXXWIRQPPGKALEWLGXXXXXXXXXX
XXXXXXXXXRLTISRDTSKSQVVLMTNMDPVDATYYCARXXXXXXXXXXXXXXXXWGQGT
LVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH
TFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCS

Hafif zincir

645Fv (DİZİ İD. NO:53)

DIVMTQSPSSVSASVGDRVTITCQSSPSVWSNFLSWYQQKPGKAPKLLIYEASKLTS
GVPSRFKSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCGGYSISDTTFGQGTKVEIK

TVAAP bağlayıcı

TVAAP (DİZİ İD. NO:229)

652Fab (DİZİ İD. NO:227)

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCXXXXXXXXXXWYQQKPGKAPKLLIYXXXXXXXXXG
VPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCXXXXXXXXXXFGGGTKVEIKRTVAAPS
VFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDS
TYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGECS

652Fab CDR'lerinin amino asitleri X'lerle yer değiştirmiştir

EP 2 480 577 B1

ŞEKİL 30B

645Fv-652Fab (L-TVAAP, HASTKGP) amino asit dizisi

Ağır zincir

645Fv (DİZİ İD. NO:52)

EVQLLLESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGIDLSNYAINWVRQAPGKGLEWIGIIWASGTT
FYATWAKGRFTISRSTTVYLMQNSLRAEDTAVYYCARTVPGYSTAPYFDLWGQGTL
VTVSS

ASTKGP bağlayıcı

ASTKGP (DİZİ İD. NO:228)

652Fab (DİZİ İD. NO:226)

QVTLKESGPVLVKPTETLTCTVSXXXXXXXXXXWIRQPPGKALEWLGXXXXXXXXXX
XXXXXXXXXRLTISRDTSKSQVVLMTNMDPVDATYYCARXXXXXXXXXXXXXXXXWGQGT
LVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH
TFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCS

Hafif zincir

645Fv (DİZİ İD. NO:53)

DIVMTQSPSSVSASVGDRVTITCQSSPSVWSNFLSWYQQKPGKAPKLLIYEASKLTS
GVPSRFKSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCGGYSISDTTFGQGTKVEIK

TVAAP bağlayıcı

TVAAP (DİZİ İD. NO:229)

652Fab (DİZİ İD. NO:227)

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCXXXXXXXXXXWYQQKPGKAPKLLIYXXXXXXXXXG
VPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCXXXXXXXXXXFGGGTKVEIKRTVAAPS
VFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDS
TYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGECS

652Fab CDR'lerinin amino asitleri X'lerle yer değiştirmiştir

EP 2 480 577 B1

ŞEKİL 30B

645Fv-652Fab (L-TVAAP, HASTKGP) amino asit dizisi

Ağır zincir

645Fv (DİZİ İD. NO:52)

EVQLLLESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGIDLSNYAINWVRQAPGKGLEWIGIIWASGTT
FYATWAKGRFTISRSTTVYLQMNSLRAEDTAVYYCARTVPGYSTAPYFDLWGQGTL
VTVSS

ASTKGP bağlayıcı

ASTKGP (DİZİ İD. NO:228)

652Fab (DİZİ İD. NO:226)

QVTLKESGPVLVKPTETLTCTVSXXXXXXXXXXXXWIRQPPGKALEWLGXXXXXXXXXX
XXXXXXXXXRLTISRDTSKSQVVLMTNMDPVDATYYCARXXXXXXXXXXXXXXXXWGQGT
LVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH
TFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCS

Hafif zincir

645Fv (DİZİ İD. NO:53)

DIVMTQSPSSVSASVGDRVTITCQSSPSVWSNFLSWYQQKPGKAPKLLIYEASKLTS
GVPSRFKSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCGGGYSSISDTTFGQGTKVEIK

TVAAP bağlayıcı

TVAAP (DİZİ İD. NO:229)

652Fab (DİZİ İD. NO:227)

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCXXXXXXXXXXXXWYQQKPGKAPKLLIYXXXXXXXXXG
VPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCXXXXXXXXXXFGGGTKVEIKRTVAAPS
VFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDS
TYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGECS

652Fab CDR'lerinin amino asitleri X'lerle yer değiştirmiştir

EP 2 480 577 B1

ŞEKİL 30C

645dsFv-652Fab (L-3xG4S, H-3xG4S) amino asit dizisi

Ağır zincir

645Fv (DİZİ İD. NO:202)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGIDLSNYAINWVRQAPGK**C**LEWIGIIWASGTT
FYATWAKGRFTISRSTTVYLMNSLRAEDTAVYYCARTVPGYSTAPYFDLWGQGT
LVTVSS

3xG4S bağlayıcı (DİZİ İD. NO:225)

GGGGSGGGSGGGGS

652Fab (DİZİ İD. NO:226)

QVTLKESGPVLVKPTETLTCTVSXXXXXXXXXXWIRQPPGKALEWLGXXXXXXXX
XXXXXXXXRLTISRDTSKSQVVLMTNMDPVDATYYCARXXXXXXXXXXXXWGQGT
LVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSGVH
TFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCS

Hafif zincir

645Fv (DİZİ İD. NO:203)

DIVMTQSPSSVSASVGDRVTITCQSSPSVWSNFLSWYQQKPGKAPKLLIYEASKLTS
GVPSRFKSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCGGGYSSISDTT**F**G**C**GTKVEIK

3xG4S bağlayıcı (DİZİ İD. NO:225)

GGGGSGGGSGGGGS

652Fab (DİZİ İD. NO:227)

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCXXXXXXXXXXWYQQKPGKAPKLLIYXXXXXXG
VPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCXXXXXXXXXXFGGGTKVEIKRTVAAPS
VFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDS
TYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

Fv'de zincirler arası d sulfür bağı oluşturan 2 s stein siyah gösterilmektedir. 652Fab CDR'lerinin am no asitleri X'lerle yer değiştirmiştir.

EP 2 480 577 B1

ŞEKİL 30C

645dsFv-652Fab (L-3xG4S, H-3xG4S) amino asit dizisi

Ağır zincir

645Fv (DİZİ İD. NO:202)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGIDLSNYAINWVRQAPGKCLEWIGIIWASGTT
FYATWAKGRFTISRSTTVYLMNSLRAEDTAVYYCARTVPGYSTAPYFDLWGQGT
LVTVSS

3xG4S bağlayıcı (DİZİ İD. NO:225)

GGGGSGGGSGGGGS

652Fab (DİZİ İD. NO:226)

QVTLKESGPVLVKPTETLTCTVSXXXXXXXXXXWIRQPPGKALEWLGXXXXXXXX
XXXXXXXXRLTISRDTSKSQVVLMTNMDPVDATYYCARXXXXXXXXXXXXWGQGT
LVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSGVH
TFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCS

Hafif zincir

645Fv (DİZİ İD. NO:203)

DIVMTQSPSSVSASVGDRVTITCQSSPSVWSNFLSWYQQKPGKAPKLLIYEASKLTS
GVPSRFKSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCGGGYSSISDTTFGCGTKVEIK

3xG4S bağlayıcı (DİZİ İD. NO:225)

GGGGSGGGSGGGGS

652Fab (DİZİ İD. NO:227)

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCXXXXXXXXXXWYQQKPGKAPKLLIYXXXXXXG
VPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCXXXXXXXXXXFGGGTKVEIKRTVAAPS
VFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDS
TYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGECS

Fv'de zincirler arası d sulfür bağı oluşturan 2 s stein siyah gösterilmektedir. 652Fab CDR'lerinin am no asitleri X'lerle yer değiştirmiştir.

EP 2 480 577 B1

ŞEKİL 30C

645dsFv-652Fab (L-3xG4S, H-3xG4S) amino asit dizisi

Ağır zincir

645Fv (DİZİ İD. NO:202)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGIDLSNYAINWVRQAPGK**C**LEWIGIIWASGTT
FYATWAKGRFTISRSTTVYLMNSLRAEDTAVYYCARTVPGYSTAPYFDLWGQGT
LVTVSS

3xG4S bağlayıcı (DİZİ İD. NO:225)

GGGGSGGGSGGGGS

652Fab (DİZİ İD. NO:226)

QVTLKESGPVLVKPTETLTLTCTVSXXXXXXXXXXWIRQPPGKALEWLGXXXXXXXX
XXXXXXXXRLTISRDTSKSQVVLMTNMDPVDATYYCARXXXXXXXXXXXXXXXXWGQGT
LVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSGVH
TFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCS

Hafif zincir

645Fv (DİZİ İD. NO:203)

DIVMTQSPSSVSASVGDRVTITCQSSPSVWSNFLSWYQQKPGKAPKLLIYEASKLTS
GVPSRFKSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCGGGYSSISDTT**F**G**C**GTKVEIK

3xG4S bağlayıcı (DİZİ İD. NO:225)

GGGGSGGGSGGGGS

652Fab (DİZİ İD. NO:227)

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCXXXXXXXXXXWYQQKPGKAPKLLIYXXXXXXXXG
VPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCXXXXXXXXXXFGGGTKVEIKRTVAAPS
VFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDS
TYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

Fv'de zincirler arası d sulfür bağı oluşturan 2 s stein siyah gösterilmektedir. 652Fab CDR'lerinin am no asitleri X'lerle yer değiştirmiştir.

EP 2 480 577 B1

ŞEKİL 30D

645dsFv-652Fab (L-TVAAP, H-ASTKGP) amino asit dizisi

Ağır zincir

645Fv (DİZİ İD. NO:202)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGIDLSNYAINWVRQAPGK**C**LEWIGIIWASGTT
FYATWAKGRFTISRDTTVYLQMNSLRAEDTAVYYCARTVPGYSTAPYFDLWGQGT
LTVSS

ASTKGP bağlayıcı

ASTKGP (DİZİ İD. NO:228)

652Fab (DİZİ İD. NO:226)

QVTLKESGPVLVKPTETLTCTVSXXXXXXXXXXXXWIRQPPGKALEWLGXXXXXXXX
XXXXXXXXRLTISRDTSKSQVVLMTNMDPVDATYYCARXXXXXXXXXXXXWGQGT
LVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH
TFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCS

Hafif zincir

645Fv (DİZİ İD. NO:203)

DIVMTQSPSSVSASVGDRVTITCQSSPSVWSNFLSWYQQKPGKAPKLLIYEASKLTS
GVPSRFKSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCGGGYSSISDTT**F**CGTKVEIK

TVAAP bağlayıcı

TVAAP (DİZİ İD. NO:229)

652Fab (DİZİ İD. NO:227)

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCXXXXXXXXXXXXWYQQKPGKAPKLLIYXXXXXXG
VPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCXXXXXXXXXXFGGGTKVEIKRTVAAPS
VFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDS
TYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGECS

Fv'de zincirler arası d sulfür bağı oluşturan 2 s stein siyah gösterilmektedir. 652Fab CDR'lerinin amino asitleri X'lerde yer değiştirmiştir.

EP 2 480 577 B1

ŞEKİL 30D

645dsFv-652Fab (L-TVAAP, H-ASTKGP) amino asit dizisi

Ağır zincir

645Fv (DİZİ İD. NO:202)

EVQLLES G GGLVQP G GSLRLSCAVSGIDLSNYAINWVRQAPGK**C**LEWIGIIWASGTT
FYATWAKGRFTISR DSTTVYLQMNSLRAEDTAVYYCARTVPGYSTAPYFDLWGQGT
LTVSS

ASTKGP bağlayıcı

ASTKGP (DİZİ İD. NO:228)

652Fab (DİZİ İD. NO:226)

QVTLKESGPVLVKPTETLTCTVSXXXXXXXXXXXXWIRQPPGKALEWLGXXXXXXXX
XXXXXXXXRLTISR DTSKSQVVLMTNMDPVDATYYCARXXXXXXXXXXXXXXXXWGQGT
LVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH
TFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCS

Hafif zincir

645Fv (DİZİ İD. NO:203)

DIVMTQSPSSVSASVGDRVITITCQSSPSVWSNFLSWYQQKPGKAPKLLIYEASKLTS
GVPSRFKSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCGGGYSSISDTTFG**C**GTKVEIK

TVAAP bağlayıcı

TVAAP (DİZİ İD. NO:229)

652Fab (DİZİ İD. NO:227)

DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCXXXXXXXXXXXXWYQQKPGKAPKLLIYXXXXXXXXG
VPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCXXXXXXXXXXFGGGTKVEIKRTVAAPS
VFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDS
TYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGECS

Fv'de zincirler arası d sulfür bağı oluşturan 2 s stein siyah gösterilmektedir. 652Fab CDR' er nin
am no asitleri X'lerde yer değiştirmiştir.

EP 2 480 577 B1

ŞEKİL 30D

645dsFv-652Fab (L-TVAAP, H-ASTKGP) amino asit dizisi

Ağır zincir

645Fv (DİZİ İD. NO:202)

EVQLLESQGGGLVQPGGSLRLSCAVSGIDLSNYAINWVRQAPGKCLEWIGIIWASGTT
FYATWAKGRFTISRDTTVYLMNSLRAEDTAVYYCARTVPGYSTAPYFDLWGQGT
LTVSS

ASTKGP bağlayıcı

ASTKGP (DİZİ İD. NO:228)

652Fab (DİZİ İD. NO:226)

QVTLKESGPVLVKPTETLTCTVSXXXXXXXXXXWIRQPPGKALEWLGXXXXXXXX
XXXXXXXXRLTISRDTSKSQVVLMTNMDPVDATYYCARXXXXXXXXXXXXXXXXWGQGT
LVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH
TFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCS

Hafif zincir

645Fv (DİZİ İD. NO:203)

DIVMTQSPSSVSASVGDRVITITCQSSPSVWSNFLSWYQQKPGKAPKLLIYEASKLTS
GVPSRFKSGSGTDFLTITSSLPEDFATYYCGGYSISDTTFGCGTKVEIK

TVAAP bağlayıcı

TVAAP (DİZİ İD. NO:229)

652Fab (DİZİ İD. NO:227)

DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCXXXXXXXXXXXXWYQQKPGKAPKLLIYXXXXXXG
VPSRFSGSGSGTDFLTITSSLPEDFATYYCXXXXXXXXXXFGGGTKVEIKRTVAAPS
VFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDS
TYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGECS

Fv'de zincirler arası d sulfür bağı oluşturan 2 s stein siyah gösterilmektedir. 652Fab CDR'lerinin amino asitleri X'lerde yer değiştirmiştir.

EP 2 480 577 B1

ŞEKİL 31

Memeli üst fazlarında 645Fv-652Fab'lerin konsantrasyonu

	µg/ml
645Fv-652Fab (L-3xG4S, H-3xG4S)	1.13
645dsFv-652Fab (L-3xG4S, H-3xG4S)	0.86
645Fv-652Fab (L-TVAAP, H-ASTKGP)	1.38
645dsFv-652Fab (L-TVAAP, H-ASTKGP)	0.77

EP 2 480 577 B1

ŞEKİL 31

Memeli üst fazlarında 645Fv-652Fab'lerin konsantrasyonu

	µg/ml
645Fv-652Fab (L-3xG4S, H-3xG4S)	1.13
645dsFv-652Fab (L-3xG4S, H-3xG4S)	0.86
645Fv-652Fab (L-TVAAP, H-ASTKGP)	1.38
645dsFv-652Fab (L-TVAAP, H-ASTKGP)	0.77

EP 2 480 577 B1

ŞEKİL 31

Memeli üst fazlarında 645Fv-652Fab'lerin konsantrasyonu

	µg/ml
645Fv-652Fab (L-3xG4S, H-3xG4S)	1.13
645dsFv-652Fab (L-3xG4S, H-3xG4S)	0.86
645Fv-652Fab (L-TVAAP, H-ASTKGP)	1.38
645dsFv-652Fab (L-TVAAP, H-ASTKGP)	0.77

ŞEKİL 32A

645Fv-652Fab'lerin insan serum albümine bağlanması

Yapı	Analit	$k_a (x10^5 M^{-1} s^{-1})$	$k_d (x10^{-4} s^{-1})$	$K_D (x10^{-9} M)$
645Fv-652Fab (L-3xG4S, H-3xG4S)	HSA	2.55	3.11	1.22
645dsFv-652Fab (L-3xG4S, H-3xG4S)	HSA	2.53	2.76	1.09
645Fv-652Fab (L-TVAAP, H-ASTKGP)	HSA	2.37	2.75	1.16
645dsFv-652Fab (L-TVAAP, H-ASTKGP)	HSA	2.24	2.60	1.16

ŞEKİL 32B

645Fv-652Fab'lerin insan IL-13'e bağlanması

Yapı	Analit	$k_a (x10^6 M^{-1} s^{-1})$	$k_d (x10^{-4} s^{-1})$	$K_D (x10^{-10} M)$
645Fv-652Fab (L-3xG4S, H-3xG4S)	hIL13	1.40	1.77	1.26
645dsFv-652Fab (L-3xG4S, H-3xG4S)	hIL13	1.54	1.42	0.92
645Fv-652Fab (L-TVAAP, H-ASTKGP)	hIL13	3.36	2.07	6.16
645dsFv-652Fab (L-TVAAP, H-ASTKGP)	hIL13	4.01	2.10	5.23

ŞEKİL 32C

645Fv-652Fab'lerin HSA'ya ve hIL-13'e ikili bağlanması

Yapı	Analit	Bağlanma (RU)	
645Fv-652Fab (L-3xG4S, H-3xG4S)	hIL13	45	
	HSA	144	
	hIL13 + HSA	191	(189)
645dsFv-652Fab (L-3xG4S, H-3xG4S)	hIL13	37	
	HSA	120	
	hIL13 + HSA	165	(157)
645Fv-652Fab (L-TVAAP, H-ASTKGP)	hIL13	50	
	HSA	165	
	hIL13 + HSA	210	(215)
645dsFv-652Fab (L-TVAAP, H-ASTKGP)	hIL13	32	
	HSA	107	
	hIL13 + HSA	140	(139)

ŞEKİL 32A

645Fv-652Fab'lerin insan serum albümine bağlanması

Yapı	Analit	$k_a (x10^5 M^{-1} s^{-1})$	$k_d (x10^{-4} s^{-1})$	$K_D (x10^{-9} M)$
645Fv-652Fab (L-3xG4S, H-3xG4S)	HSA	2.55	3.11	1.22
645dsFv-652Fab (L-3xG4S, H-3xG4S)	HSA	2.53	2.76	1.09
645Fv-652Fab (L-TVAAP, H-ASTKGP)	HSA	2.37	2.75	1.16
645dsFv-652Fab (L-TVAAP, H-ASTKGP)	HSA	2.24	2.60	1.16

ŞEKİL 32B

645Fv-652Fab'lerin insan IL-13'e bağlanması

Yapı	Analit	$k_a (x10^6 M^{-1} s^{-1})$	$k_d (x10^{-4} s^{-1})$	$K_D (x10^{-10} M)$
645Fv-652Fab (L-3xG4S, H-3xG4S)	hIL13	1.40	1.77	1.26
645dsFv-652Fab (L-3xG4S, H-3xG4S)	hIL13	1.54	1.42	0.92
645Fv-652Fab (L-TVAAP, H-ASTKGP)	hIL13	3.36	2.07	6.16
645dsFv-652Fab (L-TVAAP, H-ASTKGP)	hIL13	4.01	2.10	5.23

ŞEKİL 32C

645Fv-652Fab'lerin HSA'ya ve hIL-13'e ikili bağlanması

Yapı	Analit	Bağlanma (RU)	
645Fv-652Fab (L-3xG4S, H-3xG4S)	hIL13	45	
	HSA	144	
	hIL13 + HSA	191	(189)
645dsFv-652Fab (L-3xG4S, H-3xG4S)	hIL13	37	
	HSA	120	
	hIL13 + HSA	165	(157)
645Fv-652Fab (L-TVAAP, H-ASTKGP)	hIL13	50	
	HSA	165	
	hIL13 + HSA	210	(215)
645dsFv-652Fab (L-TVAAP, H-ASTKGP)	hIL13	32	
	HSA	107	
	hIL13 + HSA	140	(139)

ŞEKİL 32A

645Fv-652Fab'lerin insan serum albümine bağlanması

Yapı	Analit	$k_a (x10^5 M^{-1} s^{-1})$	$k_d (x10^{-4} s^{-1})$	$K_D (x10^{-9} M)$
645Fv-652Fab (L-3xG4S, H-3xG4S)	HSA	2.55	3.11	1.22
645dsFv-652Fab (L-3xG4S, H-3xG4S)	HSA	2.53	2.76	1.09
645Fv-652Fab (L-TVAAP, H-ASTKGP)	HSA	2.37	2.75	1.16
645dsFv-652Fab (L-TVAAP, H-ASTKGP)	HSA	2.24	2.60	1.16

ŞEKİL 32B

645Fv-652Fab'lerin insan IL-13'e bağlanması

Yapı	Analit	$k_a (x10^6 M^{-1} s^{-1})$	$k_d (x10^{-4} s^{-1})$	$K_D (x10^{-10} M)$
645Fv-652Fab (L-3xG4S, H-3xG4S)	hIL13	1.40	1.77	1.26
645dsFv-652Fab (L-3xG4S, H-3xG4S)	hIL13	1.54	1.42	0.92
645Fv-652Fab (L-TVAAP, H-ASTKGP)	hIL13	3.36	2.07	6.16
645dsFv-652Fab (L-TVAAP, H-ASTKGP)	hIL13	4.01	2.10	5.23

ŞEKİL 32C

645Fv-652Fab'lerin HSA'ya ve hIL-13'e ikili bağlanması

Yapı	Analit	Bağlanma (RU)	
645Fv-652Fab (L-3xG4S, H-3xG4S)	hIL13	45	
	HSA	144	
	hIL13 + HSA	191	(189)
645dsFv-652Fab (L-3xG4S, H-3xG4S)	hIL13	37	
	HSA	120	
	hIL13 + HSA	165	(157)
645Fv-652Fab (L-TVAAP, H-ASTKGP)	hIL13	50	
	HSA	165	
	hIL13 + HSA	210	(215)
645dsFv-652Fab (L-TVAAP, H-ASTKGP)	hIL13	32	
	HSA	107	
	hIL13 + HSA	140	(139)