



등록특허 10-2700015



(19) 대한민국특허청(KR)  
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2024년08월29일  
(11) 등록번호 10-2700015  
(24) 등록일자 2024년08월23일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)  
*A61K 39/395* (2006.01) *A61K 47/10* (2017.01)  
*A61K 47/12* (2006.01) *A61K 47/18* (2017.01)  
*A61K 47/22* (2017.01) *A61K 47/26* (2017.01)  
*A61K 9/00* (2006.01) *A61K 9/08* (2006.01)  
*A61K 9/19* (2006.01) *C07K 16/28* (2006.01)  
*C07K 16/46* (2006.01)
- (52) CPC특허분류  
*A61K 39/39591* (2013.01)  
*A61K 47/10* (2013.01)
- (21) 출원번호 10-2019-7035356
- (22) 출원일자(국제) 2018년05월07일  
심사청구일자 2021년02월16일
- (85) 번역문제출일자 2019년11월28일
- (65) 공개번호 10-2019-0141243
- (43) 공개일자 2019년12월23일
- (86) 국제출원번호 PCT/US2018/031347
- (87) 국제공개번호 WO 2018/204907  
국제공개일자 2018년11월08일
- (30) 우선권주장  
62/502,578 2017년05월05일 미국(US)
- (56) 선행기술조사문헌  
WO2009070642 A1\*  
JP2013527189 A
- \*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

- (73) 특허권자  
암젠 인크  
미국 캘리포니아 91320-1799, 사우전드 오크, 원  
암젠 센터 드라이브
- (72) 발명자  
아벨 제프  
미국, 캘리포니아 93065, 시미 벨리, 402 윌로우  
글렌 서클  
추이 링 웨인  
미국, 캘리포니아 91360, 사우전드 오크스, 359  
호덴캠프 로드  
(뒷면에 계속)
- (74) 대리인  
특허법인한얼

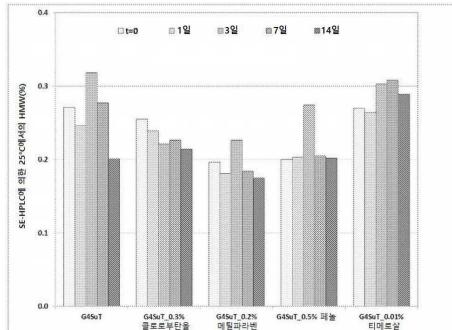
전체 청구항 수 : 총 21 항

심사관 : 김미화

(54) 발명의 명칭 개선된 저장 및 투여를 위한 이중특이적 항체 구축물을 포함하는 약제학적 조성물

**(57) 요약**

본 발명은 (a) 표적 세포 표면 항원에 결합하는 제1 도메인 및 제2 항원에 결합하는 제2 도메인을 포함하는 이중 특이적 항체 구축물로서, 이때 이중특이적 항체 구축물은 약 0.5 μg/ml 내지 20 mg/ml 범위의 농도로 존재하는 것인, 이중특이적 항체 구축물, (b) 미생물 성장을 억제하는 데 효과적인 농도의 보존제, 및 (c) 희석제를 포함하는 저장 및 투여를 위한 개선된 약제학적 조성물을 제공하며, 이때, 이중특이적 항체 구축물은 안정적이고 회수 가능하다.

**대 표 도**

(52) CPC특허분류

*A61K 47/12* (2013.01)

*A61K 47/183* (2013.01)

*A61K 47/22* (2013.01)

*A61K 47/26* (2013.01)

*A61K 9/0019* (2013.01)

*A61K 9/08* (2013.01)

*A61K 9/19* (2013.01)

*C07K 16/2803* (2013.01)

*C07K 16/2809* (2013.01)

(72) 발명자

**고스와미 테브리쉬**

미국, 캘리포니아 91362, 사우전드 오크스, 2876  
카펠라 웨이

**허준**

미국, 캘리포니아 90230, 컬버 시티, 4515 베리먼  
애비뉴

**자가나단 바라와지**

미국, 캘리포니아 91320, 사우전드 오크, 1663 아  
마렐레 스트리트

**카나푸람 세카르**

미국, 캘리포니아 91320, 싸우전드 오크스, 5676  
비아 보니타

**맥컬리 아놀드**

미국, 캘리포니아 91320, 사우전드 오크, 원 암젠  
센터 드라이브, 암젠 임크 내

**슈나이더 마이클**

미국, 캘리포니아 91360, 사우전드 오크스, 617 락  
퀘스트 클럽 레인

**세두라만 아난다크리쉬난 치.**

미국, 캘리포니아 91320, 뉴베리 파크, 3889 안젤  
린 스트리트

**트레우해이트 마이클**

미국, 캘리포니아 91320, 뉴베리 파크, 807 파멜라  
우드 스트리트

**장준**

미국, 캘리포니아 91320, 뉴베리 파크, 88 비아 매  
그놀라

## 명세서

### 청구범위

#### 청구항 1

- i) 제1 결합 도메인을 통해 표적 세포 표면 항원에 결합하고 제2 결합 도메인을 통해 T 세포 표면 항원 CD3에 결합하는 이중특이적 항체 구축물로서, 여기서 이중특이적 항체 구축물의 제1 결합 도메인은 CD19, CD33, EGFRvIII, MSLN, CDH19, FLT3, DLL3, CDH3, BCMA 및 PSMA로 구성된 군으로부터 선택되는 적어도 하나의 표적 세포 표면 항원에 결합하고, 항체 구축물은 0.5  $\mu\text{g}/\text{ml}$  내지 10  $\text{mg}/\text{ml}$  범위의 농도로 존재하고, 항체 구축물은 단일 쇄 항체 구축물인, 이중특이적 항체 구축물,
- ii) 미생물의 성장을 억제하는 데 효과적인 농도의 벤질 알코올인 보존제로서, 상기 보존제는 저장 동안 및 투여 시 약제학적 조성물을 물리적으로 및 미생물학적으로 안정화시키는 기능을 하며, 0.11 내지 0.9% (w/v) 범위의 농도로 존재하는, 보존제, 및
- iii) 희석제로서, (i) 인산염, 아세트산염, 시트르산염, 숙신산염 및 타르타르산염으로 구성된 군으로부터 선택되는 염; (ii) 히스티딘, 글리신, TRIS 글리신, 트리스(Tris), 또는 이의 혼합물; 또는 (iii) 이들 (i) 및 (ii) 둘 다를 포함하는 완충제인, 희석제

를 포함하는 약제학적 조성물로서,

이중특이적 항체 구축물은, 고분자량(HMW) 종인 단백질 응집물의 형성의 감소 또는 예방을 나타내며, 백분위수의 HMW 농도는 5% 미만이고,

상기 조성물은 용액으로서, 냉동 상태의 용액으로서 또는 동결건조물로서 사용 시까지 저장되며, 그 후, 보존제, 안정제 또는 계면활성제로부터 선택되는 추가 부형제를 첨가할 필요 없이 투여되는, 약제학적 조성물.

#### 청구항 2

제1항에 있어서, 이중특이적 항체 구축물은:

- (a) 6.5 내지 7.5의 pH에서 0.5 내지 200  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , 또는
- (b) 4.0 내지 6.0의 pH에서 0.5 내지 1000  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , 또는
- (c) 4.0 내지 7.5의 pH에서, CD3 결합 도메인 안정화제 또는 시트르산염의 존재 하에서 0.5  $\mu\text{g}$  내지 2  $\text{mg}$ , 또는
- (d) 4.0 내지 7.5의 pH 또는 4.0 내지 6.0의 pH에서, 0.5  $\mu\text{g}$  내지 10  $\text{mg}/\text{ml}$ 로 구성된 군으로부터 선택된 범위의 농도로 존재하며, 여기서

이중특이적 항체는 각각이 헌지, CH<sub>2</sub> 및 CH<sub>3</sub> 도메인을 포함하는 두 개의 폴리펩티드 단량체를 포함하는 제3 결합 도메인을 포함하고, 상기 두 개의 폴리펩티드 단량체는 펩티드 링커를 통해 서로 융합되며, 상기 제3 결합 도메인은 아미노에서 카복실 순서로 다음을 포함하는, 약제학적 조성물:

헌지-CH<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub>-링커-헌지-CH<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub>.

#### 청구항 3

제1항에 있어서, 희석제는 인산칼륨; 아세트산 및 아세트산 나트륨; 시트르산 및 시트르산 나트륨; 숙신산 및 숙신산 나트륨; 타르타르산 및 타르타르산 나트륨; 및 히스티딘 및 히스티딘 HCl; 또는 이의 혼합물로 구성된 군으로부터 선택되는 완충제인, 약제학적 조성물.

#### 청구항 4

제1항에 있어서, 희석제는 0.1 내지 150 mM 범위의 농도로 존재하는 완충제인, 약제학적 조성물.

#### 청구항 5

제1항에 있어서, 희석제는, 0.25 내지 50 mM 범위의 농도로, 시트르산염을 포함하는 완충제인, 약제학적 조성물.

#### 청구항 6

제1항에 있어서, 조성물의 pH는 pH 4.0 내지 5.0 또는 6.0 내지 7.5의 범위인, 약제학적 조성물.

#### 청구항 7

제1항에 있어서, 수크로스, 트레할로스, 만니톨, 소르비톨, 아르기닌, 리신, 폴리소르베이트 20, 폴리소르베이트 80, 폴록사민 188, 플루로낙 및 이의 조합으로 구성된 군으로부터 선택되는 1종 이상의 부형제를 더 포함하는, 약제학적 조성물.

#### 청구항 8

제7항에 있어서, (i) 폴리소르베이트 또는 폴리소르베이트 80, (ii) 리신 HCL, 또는 (iii) 이들 (i) 및 (ii) 둘 다를 더 포함하거나, 또는 이중특이적 항체 구축물의 농도가 적어도 15 µg/ml인 경우, 조성물은 폴리소르베이트 또는 리신 HCL을 포함하지 않는, 약제학적 조성물.

#### 청구항 9

제1항에 있어서, 제1 결합 도메인은 다음으로 구성된 군으로부터 선택되는 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3을 포함하는 VH 영역 및 CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3을 포함하는 VL 영역을 포함하는, 약제학적 조성물:

(a) 서열번호 1에 제시된 바와 같은 CDR-H1, 서열번호 2에 제시된 바와 같은 CDR-H2, 서열번호 3에 제시된 바와 같은 CDR-H3, 서열번호 4에 제시된 바와 같은 CDR-L1, 서열번호 5에 제시된 바와 같은 CDR-L2 및 서열번호 6에 제시된 바와 같은 CDR-L3,

(b) 서열번호 29에 제시된 바와 같은 CDR-H1, 서열번호 30에 제시된 바와 같은 CDR-H2, 서열번호 31에 제시된 바와 같은 CDR-H3, 서열번호 34에 제시된 바와 같은 CDR-L1, 서열번호 35에 제시된 바와 같은 CDR-L2 및 서열번호 36에 제시된 바와 같은 CDR-L3,

(c) 서열번호 42에 제시된 바와 같은 CDR-H1, 서열번호 43에 제시된 바와 같은 CDR-H2, 서열번호 44에 제시된 바와 같은 CDR-H3, 서열번호 45에 제시된 바와 같은 CDR-L1, 서열번호 46에 제시된 바와 같은 CDR-L2 및 서열번호 47에 제시된 바와 같은 CDR-L3,

(d) 서열번호 53에 제시된 바와 같은 CDR-H1, 서열번호 54에 제시된 바와 같은 CDR-H2, 서열번호 55에 제시된 바와 같은 CDR-H3, 서열번호 56에 제시된 바와 같은 CDR-L1, 서열번호 57에 제시된 바와 같은 CDR-L2 및 서열번호 58에 제시된 바와 같은 CDR-L3,

(e) 서열번호 65에 제시된 바와 같은 CDR-H1, 서열번호 66에 제시된 바와 같은 CDR-H2, 서열번호 67에 제시된 바와 같은 CDR-H3, 서열번호 68에 제시된 바와 같은 CDR-L1, 서열번호 69에 제시된 바와 같은 CDR-L2 및 서열번호 70에 제시된 바와 같은 CDR-L3,

(f) 서열번호 83에 제시된 바와 같은 CDR-H1, 서열번호 84에 제시된 바와 같은 CDR-H2, 서열번호 85에 제시된 바와 같은 CDR-H3, 서열번호 86에 제시된 바와 같은 CDR-L1, 서열번호 87에 제시된 바와 같은 CDR-L2 및 서열번호 88에 제시된 바와 같은 CDR-L3,

(g) 서열번호 94에 제시된 바와 같은 CDR-H1, 서열번호 95에 제시된 바와 같은 CDR-H2, 서열번호 96에 제시된 바와 같은 CDR-H3, 서열번호 97에 제시된 바와 같은 CDR-L1, 서열번호 98에 제시된 바와 같은 CDR-L2 및 서열번호 99에 제시된 바와 같은 CDR-L3,

(h) 서열번호 105에 제시된 바와 같은 CDR-H1, 서열번호 106에 제시된 바와 같은 CDR-H2, 서열번호 107에 제시된 바와 같은 CDR-H3, 서열번호 109에 제시된 바와 같은 CDR-L1, 서열번호 110에 제시된 바와 같은 CDR-L2 및 서열번호 111에 제시된 바와 같은 CDR-L3,

(i) 서열번호 115에 제시된 바와 같은 CDR-H1, 서열번호 116에 제시된 바와 같은 CDR-H2, 서열번호 117에 제시된 바와 같은 CDR-H3, 서열번호 118에 제시된 바와 같은 CDR-L1, 서열번호 119에 제시된 바와 같은 CDR-L2 및 서열번호 120에 제시된 바와 같은 CDR-L3,

(j) 서열번호 126에 제시된 바와 같은 CDR-H1, 서열번호 127에 제시된 바와 같은 CDR-H2, 서열번호 128에 제시된 바와 같은 CDR-H3, 서열번호 129에 제시된 바와 같은 CDR-L1, 서열번호 130에 제시된 바와 같은 CDR-L2 및 서열번호 131에 제시된 바와 같은 CDR-L3,

(k) 서열번호 137에 제시된 바와 같은 CDR-H1, 서열번호 138에 제시된 바와 같은 CDR-H2, 서열번호 139에 제시된 바와 같은 CDR-H3, 서열번호 140에 제시된 바와 같은 CDR-L1, 서열번호 141에 제시된 바와 같은 CDR-L2 및 서열번호 142에 제시된 바와 같은 CDR-L3,

(l) 서열번호 152에 제시된 바와 같은 CDR-H1, 서열번호 153에 제시된 바와 같은 CDR-H2, 서열번호 154에 제시된 바와 같은 CDR-H3, 서열번호 155에 제시된 바와 같은 CDR-L1, 서열번호 156에 제시된 바와 같은 CDR-L2 및 서열번호 157에 제시된 바와 같은 CDR-L3, 및

(m) 서열번호 167에 제시된 바와 같은 CDR-H1, 서열번호 168에 제시된 바와 같은 CDR-H2, 서열번호 169에 제시된 바와 같은 CDR-H3, 서열번호 170에 제시된 바와 같은 CDR-L1, 서열번호 171에 제시된 바와 같은 CDR-L2 및 서열번호 172에 제시된 바와 같은 CDR-L3.

#### **청구항 10**

제1항에 있어서, 약제학적 조성물은 액체인, 약제학적 조성물.

#### **청구항 11**

제1항에 있어서, 조성물은 1% 미만의 이중특이적 항체 구축물의 다량체를 포함하는, 약제학적 조성물.

#### **청구항 12**

제1항에 있어서, 조성물은 실온에서 적어도 4일, 적어도 10일, 또는 적어도 14일의 기간 동안 1% 미만의 이중특이적 항체 구축물의 다량체를 포함하는, 약제학적 조성물.

#### **청구항 13**

제1항에 있어서, 약제학적 조성물은 플라스틱 투여 용기, 또는 EVA, 폴리올레핀, 또는 PVC로 제조된 플라스틱 투여 용기에 충전되는, 약제학적 조성물.

#### **청구항 14**

제13항에 있어서, 이중특이적 단일 쇄 항체 구축물은 제1항 또는 제3항 내지 제7항 중 어느 한 항에 따른 완충제 및 부형제 중 적어도 하나를 포함하는, 플라스틱 투여 용기로부터의 회색으로부터 적어도 90% 회수되는, 약제학적 조성물.

#### **청구항 15**

제13항에 있어서, 약제학적 조성물은 6.5 내지 7.5의 pH에서 적어도 0.25 mM 시트르산염, 적어도 0.0125 mM 리신 및 적어도 0.001% 폴리소르베이트 80을 포함하는, 약제학적 조성물.

#### **청구항 16**

제1항에 있어서, 조성물은 -20°C에 저장되는 저장 용액인, 약제학적 조성물.

#### **청구항 17**

제16항에 있어서, 조성물은 각각이 힌지, CH<sub>2</sub> 및 CH<sub>3</sub> 도메인을 포함하는 두 개의 폴리펩티드 단량체를 포함하는 제3 결합 도메인을 포함하는 이중특이적 항체를 포함하며, 상기 두 개의 폴리펩티드 단량체는 웨პ티드 링커를 통해 서로 융합되며, 상기 제3 결합 도메인은 아미노에서 카복실 순서로 다음을 포함하는, 약제학적 조성물:

힌지-CH<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub>-링커-힌지-CH<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub>.

#### **청구항 18**

제1항에 있어서, 조성물은 저장을 위하여 동결건조물로서 제공되는, 약제학적 조성물.

청구항 19

제1항에 따른 약제학적 조성물의 제조 방법으로, 이중특이적 항체 구축물을 동결건조물; 또는 동결건조보호제, 완충제 및 계면활성제 중 적어도 하나를 포함하는 동결건조물로서 제공되고, 동결건조물은, 보존제를 포함하고 제1항 또는 제3항 내지 제7항 중 어느 한 항에 따른 완충제, 부형제, 또는 이를 둘 다를 포함하는 회석제에 의해 재구성되는, 방법.

청구항 20

제1항에 있어서, 약성 질환의 치료에 사용하기 위한 약제학적 조성물.

청구항 21

제1항에 있어서, 1 내지 24시간 동안 지속적으로 정맥 내 투여되거나, 또는 2 내지 14일 동안 지속적으로 정맥 내 투여되는, 약제학적 조성물.

청구항 22

삭제

청구항 23

삭제

청구항 24

삭제

청구항 25

삭제

청구항 26

삭제

청구항 27

삭제

청구항 28

삭제

청구항 29

삭제

청구항 30

삭제

청구항 31

삭제

청구항 32

삭제

청구항 33

삭제

**청구항 34**

삭제

**청구항 35**

삭제

**청구항 36**

삭제

**청구항 37**

삭제

**청구항 38**

삭제

### **발명의 설명**

#### **기술 분야**

[0001] 본 발명은 개선된 저장 및 투여를 위한 이중특이적 항체 구축물을 포함하는 약제학적 조성물에 관한 것이다.

#### **배경 기술**

[0002] 단백질 기반 약제를 포함하는 단백질 치료제는 이미 거의 모든 의학 분야에서 중요한 역할을 하며, (전)임상 개발에서 그리고 상업 제품으로서 가장 빠르게 성장하는 치료제 중 하나이다(Leader, *Nature Reviews Drug Discovery* 2008 Jan 7, 21-39). 소형 화학 약물과 비교하여, 단백질 약제는 비교적 낮은 농도에서 높은 특이성 및 활성을 갖고, 전형적으로 다양한 암, 자가 면역 질환, 및 대사 장애와 같이 부담이 큰 질환의 치료를 위해 제공된다(Roberts, *Trends Biotechnol.* 2014 Jul;32(7):372-80, Wang, *Int J Pharm.* 1999 Aug 20;185(2):129-88).

[0003] 현재 재조합 단백질과 같은 단백질 기반 약제는 상업적 규모의 정제 공정의 진보 덕분에 최초 제조시 높은 순도로 얻어질 수 있다. 그러나 단백질은 단지 미미하게 안정적이고 화학적 분해와 물리적 분해 둘 다에 매우 취약하다. 화학적 분해는 공유 결합, 예를 들어 탈아미드화, 산화, 새로운 이황화 가교의 형성 또는 절단, 가수분해, 이성질체화, 또는 탈글리코실화를 포함하는 변형을 지칭한다. 물리적 분해는 단백질 풀림, 표면에 대한 바람직하지 않은 흡착, 및 응집을 포함한다. 이러한 물리적 안정성 및 화학적 불안정성을 취급하는 것은 단백질 약제의 개발에서 가장 도전적인 과제 중 하나이다(Chi et al., *Pharm Res.* Vol. 20, No. 9, Sept 2003, pp. 1325-1336, Roberts, *Trends Biotechnol.* 2014 Jul;32(7):372-80).

[0004] 관심을 끄는 단백질 기반 약제는 이중특이적 항체 구축물, 예를 들어 BiTE<sup>®</sup>(이중특이적 T 세포 관여자) 항체 구축물을 포함하는데, 이는 두 개의 유연하게 연결된 항체 유도 결합 도메인으로부터 만들어진 재조합 단백질 구축물이다. BiTE<sup>®</sup> 항체 구축물의 하나의 결합 도메인은 표적 세포 상의 선택된 종양-관련 표면 항원에 특이적이고; 제2 결합 도메인은 CD3, 즉, T 세포 상의 T 세포 수용체 복합체의 서브유닛에 대하여 특이적이다. 그들의 특정 설계에 의해 BiTE<sup>®</sup> 항체 구축물은 T 세포를 표적 세포와 일시적으로 연결하는 데 있어 특유의 적합성을 가지고, 동시에 표적 세포에 대한 T 세포의 고유한 세포용해 가능성을 강력하게 활성화시킨다. AMG 103 및 AMG 110으로서 임상으로 개발된 BiTE<sup>®</sup> 항체 구축물의 제1 세대의 중요한 추가적인 진전(WO 99/54440 및 WO 2005/040220 참조)은 CD3 ε 쇄의 N-말단에서 맥락 독립적 에피토프에 대한 이중특이적 항체 구축물의 제공이었다(WO 2008/119567). 이 선택된 에피토프에 대한 BiTE<sup>®</sup> 항체 구축물 결합은 인간 및 코먼마모셋(*Callithrix jacchus*), 목화머리타마린(*Saguinus oedipus*) 또는 다람쥐 원숭이(*Saimiri sciureus*) CD3 ε 쇄에 대한 교차종 특이성을 나타낼 뿐만 아니라, 이중특이적 T 세포 관여 분자에서 CD3 바인더에 대하여 이전에 기술된 에피토프 대신 이 특정 에피토프를 인식하는 것에 기인하여, 이전 세대 T 세포 관여 항체에 대해 관찰된 것과 동일한 정도로 T 세포를 비특이적으로 활성화시키지 않는다. 이러한 T 세포 활성화의 감소는 환자에서의 더 적거나 감소

된 T 세포 재분포와 연관이 있고, 이는 부작용의 위험으로서 확인되었다.

[0005] WO 2008/119567에 기술된 바와 같은 항체 구축물을 신체로부터 신속하게 제거될 가능성이 있고; 따라서, 이들은 신체의 대부분에 신속하게 도달할 수 있으며, 생성이 빠르고 다루기가 더 용이한 한편, 이들의 생체 내 적용은 이들의 생체 내에서의 짧은 지속성에 의해 제한될 수 있다. 이 작은 단일 쇄 분자의 짧은 생체 내 반감기 때문에 치료적 효과를 달성하기 위하여 지속적 정맥 내 주입에 의한 장기간 투여가 사용된다. 그러나 그러한 지속적 정맥 내 주입은 예를 들어, 미생물 오염 및, 따라서 패혈증과 같은 부작용을 방지하기 위하여 주입 백을 자주, 적어도 이틀마다 교체해야 하므로, 환자에게는 불편한 것으로 분류된다.

[0006] 보존제 첨가는 이 문제에 대한 하나의 해결책으로 고려된다. 이들의 1차 기능은 약물 제품의 저장 수명 또는 사용 기간 내내 미생물 성장을 억제하고 제품 멸균성을 보장하는 것이다. 일반적으로 사용되는 보존제는 벤질 알코올, 페놀 및 m-크레졸을 포함한다. 보존제는 소분자 비경구제와 함께 오랜 사용 역사를 갖지만, 보존제를 포함하는 단백질 제형의 개발은 도전적이다. 보존제는 거의 항상 단백질에 대한 탈안정화 효과(응집)를 가지며, 이것은 단백질 제형에서 이들의 사용을 제한하는 데 있어서 주요 인자가 되었다. 따라서, 대부분의 단백질 약물은 현재 오로지 1회용으로 제형화되었다. 보존 제형의 개발이 더욱 편리한 다회용 주사 펜 외형의 상업화로 이어진 인간 성장 호르몬(hGH)과 같이, 오로지 소수의 보존제 포함 제형이 현재까지 가능하였다. hGH의 보존 제형을 함유하는 적어도 4종의 이러한 펜 장치가 현재 시중에서 입수 가능하다. 노르디트로핀(액체, Novo Nordisk), 뉴트로핀 AQ(액체, Genentech) 및 제노트로핀(동결건조된--이중 캠버 카트리지, Pharmacia & Upjohn)은 페놀을 함유하는 한편, 소마트로프(Eli Lilly)는 m-크레졸로 제형화된다. 보존 투여 형태를 제형화하고 개발하는 동안, 몇 가지 양태가 고려될 필요가 있다. 약물 제품에서 유효한 보존제 농도는 최적화되어야 한다. 이는 단백질 안정성을 손상시키지 않고 항미생물 유효성을 부여하는 농도 범위로 투여 형태에서 주어진 보존제를 시험하는 것을 필요로 한다. 주목할 중요한 점은 활성 약물 및 모든 부형제 성분을 함유하는 최종 제형에서 보존제 유효성이 증명되어야 한다는 것이다.

[0007] 따라서, 지속적 주입이 더 긴 간격으로 수행될 수 있는 방식으로, 즉, 환자 편의를 증진시키기 위하여, 바람직하게는 보존되고, 동시에 저장 및 투여 중에 안정적인, 이중특이적 항체 구축물을 포함하는 개선된 약제학적 조성물을 제공하는 것이 본 발명의 목적이다. 그러나 이러한 반감기가 연장된(half life extended, HLD) 이중특이적 항체 구축물의 주입에는, 미생물 오염 및 따라서, 감염의 위험이 감소되어야 하는 시간 내에서 여러 시간이 소요될 수도 있으므로, 이중특이적 항체 구축물을 포함하는 적합한 보존된 약제학적 조성물은 수 일에 걸친 지속적인 주입을 필요로 하지 않고 단지 몇 시간에 걸친 지속적인 주입을 필요로 하는 이러한 이중특이적 항체 구축물을 위해서도 유리할 것이다. 동시에, 약제학적 조성물 및 그 안에 포함된 이중특이적 항체 구축물의 회수 또한 본 발명의 목적이다.

[0008] 증가된 반감기는 일반적으로 면역글로불린, 특히 항체 그리고 가장 특별하게는 작은 크기의 항체 단편의 생체 내 적용에서 유용하다. 이러한 효과를 달성하기 위하여 당해 분야에 기술된 접근법은, 바람직하게는 BiTE® 항체 구축물의 치료 효과를 방해하지 않는, 소형 이중특이적 항체 구축물의 더 큰 단백질과의 융합을 포함한다. 이중 특이적 T 세포 관여자의 이러한 추가적인 개발에 대한 예는, 예를 들어, US 2014/0302037, US 2014/0308285, WO 2014/144722, WO 2014/151910 및 WO 2015/048272에 기재된 이중특이적 Fc-분자를 포함한다.

[0009] 그러나 단백질 응집 방지는 보존을 목적으로 할 때 주요한 장애물이다. 단백질 응집은 단백질의 물리적 불안정성의 주요 사건을 나타내고, 용매와 소수성 단백질 잔기 간의 열역학적으로 선호되지 않는 상호작용을 최소화하는 내재적 경향으로 인해 일어난다. 이는 재접힘, 정제, 멸균, 운송, 및 저장 공정 중에 통상적으로 접하는 것 이기 때문에 특히 문제가 된다. 응집은 단백질 친연 상태가 열역학적으로 매우 선호되는 용액 조건(예를 들어, 중성 pH 및 37°C) 하에서, 그리고 스트레스 부재 중에도 일어날 수 있다(Chi et al., Pharm Res, Vol. 20, No. 9, Sept 2003, pp. 1325-1336, Roberts, Trends Biotechnol. 2014 Jul;32(7):372-80, Wang, Int J Pharm. 1999 Aug 20;185(2):129-88, Mahler J Pharm Sci. 2009 Sep;98(9):2909-34.).

[0010] 또한 Fc-분자와 같은 반감기 연장 모달리티를 포함하는 이중특이적 T 세포 관여자의 것과 같은 반감기 연장 항체 구축물은 단백질 응집 및/또는 다른 분해 사건에 대하여 보호받아야 한다. 단백질 응집은 치료 단백질의 생물학적 활성도를 손상시킬 수 있기 때문에 문제가 된다. 더욱이, 단백질의 응집은 약물 제품의 바람직하지 않은 미감으로 이어지고, 최종 생성물로부터 응집물을 제거하는 데 필요한 정교한 정제 단계로 인하여 생성물 수율을 저하시킨다. 보다 최근에는, (인간화 또는 완전 인간 단백질의 경우라 할지라도) 응집된 단백질의 존재는, 환자가 활성 단백질 단량체에 대한 면역 반응을 발달시킬 위험을 상당히 증가시켜, 중화 항체 및 약물 저항성 또는 다른 유해한 부작용을 초래할 수 있다는 우려 및 증거가 증가하고 있다(Mahler J Pharm Sci. 2009

Sep;98(9):2909-34.

[0011] 일반적으로, 다양한 기전에 의해 단백질 응집을 최소화하는 몇 가지 노력이 문헌에 보고되었다. 단백질은 이의 1차 구조를 변형시키고, 이에 의해 내부 소수성을 증가시키고 외부 소수성을 감소시킴으로써 안정화되어 응집물 형성 및 다른 화학적 변화로부터 보호될 수 있다. 그러나 단백질의 유전자 조작은 손상된 기능성 및/또는 증가된 면역원성을 초래할 수 있다. 또 다른 접근법은 다양한 기전, 예를 들어 온도, 압력, pH 및 염을 사용함으로써 기능성 천연 단량체를 회복시키기 위해 응집물의 해리("비응집(disaggregation)"이라 지칭됨)에 초점을 맞춘다. 현재, 단백질 응집물은 주로 하류 가공의 폴리싱 단계에서 불순물로서 제거된다. 그러나 높은 수준의 고분자량(HMW)의 경우, 상당한 양의 HMW를 제거하는 것은 실질적인 수율 손실을 초래할 뿐만 아니라 강력한 하류 가공의 설계를 어렵게 만든다(Chi et al., Pharm Res, Vol. 20, No. 9, Sept 2003, pp. 1325-1336).

[0012] 안정성을 유지하고 투여 용기로부터 정량적인 회수를 보장하면서 넓은 농도 범위에 걸쳐 이중특이적 항체 구축물 제형을 보존하는 것은 심각한 도전이 된다. 보존된 치료 단백질 제형의 증진된 안정화를 제공하는 최적화된 약제학적 조성물에 대한 필요성이 당해 분야에 있다. 비-반감기 연장 이중특이적 항체 구축물 및, Fc-분자와 같은 반감기 연장 모달리티를 포함하는 이중특이적 T 세포 관여자의 것과 같은 반감기 연장 이중특이적 항체 구축물과 관련하여, 이러한 필요성에 따르는 것이 본 발명의 목적이다.

### 발명의 내용

[0013] 전형적으로 정맥 내 경로를 통한, 이중특이적 T 세포 관여 항체 구축물을 포함하는 이중특이적 항체 구축물과 같은 단백질 기반 약제의 안전하고, 정량적이며, 선택적으로 장기적인 투여는 도전적이다. 이를 위하여, 본 발명의 맥락에서, 다음을 포함하는 약제학적 조성물이 제공되며:

[0014] i. 제1 결합 도메인을 통해 표적 세포 표면 항원에 결합하고 제2 결합 도메인을 통해 T 세포 표면 항원 CD3에 결합하는 이중특이적 항체 구축물로서, 쇄 항체 구축물은 0.5  $\mu\text{g}/\text{ml}$  내지 20  $\text{mg}/\text{ml}$ , 바람직하게는 0.5  $\mu\text{g}/\text{ml}$  내지 10 또는 5  $\text{mg}/\text{ml}$  범위의 농도로 존재하는 것인, 이중특이적 항체 구축물,

[0015] ii. 미생물 성장을 억제하는 데 효과적인 농도의, 벤질 알코올, 클로로부탄올, 페놀, 메타-크레졸, 메틸파라벤, 페녹시에탄올, 프로필파라벤 및 티메로살로부터 선택된 적어도 하나의 보존제,

[0016] iii. 희석제, 이때, 이중특이적 항체 구축물은 안정적이다.

[0017] 본 발명의 맥락에서 이중특이적 항체 구축물은 다음으로 구성된 목록으로부터 선택된 범위의 농도로 존재하는 것이 고려된다:

[0018] (a) 6.5 내지 7.5의 pH에서 0.5 내지 200  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , 또는

[0019] (b) 4.0 내지 6.0의 pH에서 0.5 내지 1000  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , 또는

[0020] (c) 4.0 내지 7.5의 pH에서, CD3 결합 도메인 안정화제, 바람직하게는 시트르산염의 존재 하에 0.5  $\mu\text{g}$  내지 2  $\text{mg}$  또는

[0021] (d) 4.0 내지 7.5의 pH에서, 0.5  $\mu\text{g}$  내지 20  $\text{mg}$ , 바람직하게는 0.5  $\mu\text{g}$  내지 10 또는 5  $\text{mg}/\text{ml}$ , 이때, 이중특이적 항체는 각각이 헌지, CH2 및 CH3 도메인을 포함하는 두 개의 폴리펩티드 단량체를 포함하는 제3 결합 도메인을 포함하고, 상기 두 개의 폴리펩티드 단량체는 웹티드 링커를 통해 서로 융합되며, 상기 제3 결합 도메인은 아미노에서 카복실 순서로 다음을 포함한다:

[0022] 헌지-CH2-CH3-링커-헌지-CH2-CH3.

[0023] 본 발명의 맥락에서 약제학적 조성물은 이중특이적 단일 쇄 항체 구축물인 이중특이적 항체 구축물을 포함하는 것으로 고려된다.

[0024] 또한, 본 발명의 맥락에서 이중특이적 항체 구축물은 1.0 내지 20  $\text{mg}/\text{ml}$ , 또는 1.0 내지 10  $\text{mg}/\text{ml}$ , 또는 1.0  $\mu\text{g}/\text{ml}$  내지 5  $\text{mg}/\text{ml}$  또는 1.0  $\mu\text{g}/\text{ml}$  내지 4  $\text{mg}/\text{ml}$  또는 1.0  $\mu\text{g}/\text{ml}$  내지 3  $\text{mg}/\text{ml}$ , 또는 1.0  $\mu\text{g}/\text{ml}$  내지 2  $\text{mg}/\text{ml}$  또는 1.0  $\mu\text{g}/\text{ml}$  내지 1  $\text{mg}/\text{ml}$  또는 1.5 내지 5  $\text{mg}/\text{ml}$  또는 1.5  $\mu\text{g}/\text{ml}$  내지 4  $\text{mg}/\text{ml}$  또는 1.5  $\mu\text{g}/\text{ml}$  내지 3  $\text{mg}/\text{ml}$ , 또는 1.5  $\mu\text{g}/\text{ml}$  내지 2  $\text{mg}/\text{ml}$  또는 1.5  $\mu\text{g}/\text{ml}$  내지 1  $\text{mg}/\text{ml}$  또는 1.5 내지 200  $\mu\text{g}/\text{ml}$  범위의 농도로 존재하는 것으로 고려된다.

[0025] 또한, 본 발명의 맥락에서 적어도 하나의 보존제는 0.001 내지 1.0%(w/v) 범위의 농도로 존재하는 것으로 고려

된다.

[0026] 나아가, 본 발명의 맥락에서 보존제는 0.009 내지 0.9%(w/v), 바람직하게는 0.11 내지 0.9%, 또는 0.5 내지 0.75%(w/v) 또는 0.6 내지 0.74%(w/v) 범위의 농도로 존재하는 것으로 고려된다.

[0027] 본 발명의 맥락에서 희석제는 인산염, 아세트산염, 시트르산염, 숙신산염 및 타르타르산염으로 구성된 군으로부터 선택되는 염을 포함하는 완충제이고, 및/또는 완충제는 히스티딘, 글리신, TRIS 글리신, 트리스(Tris), 또는 이의 혼합물을 포함하는 것으로 고려된다.

[0028] 또한, 본 발명의 맥락에서 희석제는 인산칼륨, 아세트산/아세트산 나트륨, 시트르산/시트르산 나트륨, 숙신산/숙신산 나트륨, 타르타르산/타르타르산 나트륨, 및 히스티딘/히스티딘 HCl 또는 이의 혼합물로 구성된 군으로부터 선택되는 완충제인 것으로 고려된다.

[0029] 또한, 본 발명의 맥락에서 희석제는 0.1 내지 150 mM 범위, 바람직하게는 0.25 내지 50 mM 범위의 농도로 존재하는 완충제인 것으로 고려된다.

[0030] 나아가, 본 발명의 맥락에서 희석제는 0.25 내지 50 mM 범위의 농도로 시트르산염을 포함하는 완충제인 것으로 고려된다.

[0031] 본 발명의 맥락에서 조성물의 pH는 4.0 내지 8.0의 범위, 바람직하게는 pH 4.0 내지 5.0 또는 pH 6.5 내지 7.5의 범위, 또는 바람직하게는 pH 7.0인 것으로 고려된다.

[0032] 추가로, 본 발명의 맥락에서 약제학적 조성물은 수크로스, 트레할로스, 만니톨, 소르비톨, 아르기닌, 리신, 폴리소르베이트 20, 폴리소르베이트 80, 폴록사머 188, 플루로닉 및 이의 조합으로 구성된 군으로부터 선택되는 1 종 이상의 부형제를 더 포함하는 것으로 고려된다.

[0033] 또한, 본 발명의 맥락에서 약제학적 조성물은 폴리소르베이트, 바람직하게는 폴리소르베이트 80, 및/또는 리신 HCL을 더 포함하는 것으로 고려된다.

[0034] 추가로, 본 발명의 맥락에서 이중특이적 항체 구축물의 농도가 적어도 10  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , 바람직하게는 15  $\mu\text{g}/\text{ml}$  또는 20  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 인 경우, 약제학적 조성물은 폴리소르베이트, 바람직하게는 폴리소르베이트 80, 및/또는 리신 HCL을 포함하지 않는 것으로 고려된다.

[0035] 나아가, 본 발명의 맥락에서 이중특이적 항체 구축물의 제1 결합 도메인은 CD19, CD33, EGFRvIII, MSLN, CDH19, FLT3, DLL3, CDH3, BCMA 및 PSMA로 구성된 군으로부터 선택되는 적어도 하나의 표적 세포 표면 항원에 결합하는 것으로 고려된다.

[0036] 본 발명의 맥락에서 제1 결합 도메인은 다음으로 구성된 군으로부터 선택되는 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3를 포함하는 VH 영역 및 CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3을 포함하는 VL 영역을 포함하는 것으로 고려된다:

[0037] (a) 서열번호 1에 제시된 바와 같은 CDR-H1, 서열번호 2에 제시된 바와 같은 CDR-H2, 서열번호 3에 제시된 바와 같은 CDR-H3, 서열번호 4에 제시된 바와 같은 CDR-L1, 서열번호 5에 제시된 바와 같은 CDR-L2 및 서열번호 6에 제시된 바와 같은 CDR-L3,

[0038] (b) 서열번호 29에 제시된 바와 같은 CDR-H1, 서열번호 30에 제시된 바와 같은 CDR-H2, 서열번호 31에 제시된 바와 같은 CDR-H3, 서열번호 34에 제시된 바와 같은 CDR-L1, 서열번호 35에 제시된 바와 같은 CDR-L2 및 서열번호 36에 제시된 바와 같은 CDR-L3,

[0039] (c) 서열번호 42에 제시된 바와 같은 CDR-H1, 서열번호 43에 제시된 바와 같은 CDR-H2, 서열번호 44에 제시된 바와 같은 CDR-H3, 서열번호 45에 제시된 바와 같은 CDR-L1, 서열번호 46에 제시된 바와 같은 CDR-L2 및 서열번호 47에 제시된 바와 같은 CDR-L3,

[0040] (d) 서열번호 53에 제시된 바와 같은 CDR-H1, 서열번호 54에 제시된 바와 같은 CDR-H2, 서열번호 55에 제시된 바와 같은 CDR-H3, 서열번호 56에 제시된 바와 같은 CDR-L1, 서열번호 57에 제시된 바와 같은 CDR-L2 및 서열번호 58에 제시된 바와 같은 CDR-L3,

[0041] (e) 서열번호 65에 제시된 바와 같은 CDR-H1, 서열번호 66에 제시된 바와 같은 CDR-H2, 서열번호 67에 제시된 바와 같은 CDR-H3, 서열번호 68에 제시된 바와 같은 CDR-L1, 서열번호 69에 제시된 바와 같은 CDR-L2 및 서열번호 70에 제시된 바와 같은 CDR-L3,

[0042] (f) 서열번호 83에 제시된 바와 같은 CDR-H1, 서열번호 84에 제시된 바와 같은 CDR-H2, 서열번호 85에 제시

된 바와 같은 CDR-H3, 서열번호 86에 제시된 바와 같은 CDR-L1, 서열번호 87에 제시된 바와 같은 CDR-L2 및 서열번호 88에 제시된 바와 같은 CDR-L3,

[0043] (g) 서열번호 94에 제시된 바와 같은 CDR-H1, 서열번호 95에 제시된 바와 같은 CDR-H2, 서열번호 96에 제시된 바와 같은 CDR-H3, 서열번호 97에 제시된 바와 같은 CDR-L1, 서열번호 98에 제시된 바와 같은 CDR-L2 및 서열번호 99에 제시된 바와 같은 CDR-L3,

[0044] (h) 서열번호 105에 제시된 바와 같은 CDR-H1, 서열번호 106에 제시된 바와 같은 CDR-H2, 서열번호 107에 제시된 바와 같은 CDR-H3, 서열번호 109에 제시된 바와 같은 CDR-L1, 서열번호 110에 제시된 바와 같은 CDR-L2 및 서열번호 111에 제시된 바와 같은 CDR-L3,

[0045] (i) 서열번호 115에 제시된 바와 같은 CDR-H1, 서열번호 116에 제시된 바와 같은 CDR-H2, 서열번호 117에 제시된 바와 같은 CDR-H3, 서열번호 118에 제시된 바와 같은 CDR-L1, 서열번호 119에 제시된 바와 같은 CDR-L2 및 서열번호 120에 제시된 바와 같은 CDR-L3,

[0046] (j) 서열번호 126에 제시된 바와 같은 CDR-H1, 서열번호 127에 제시된 바와 같은 CDR-H2, 서열번호 128에 제시된 바와 같은 CDR-H3, 서열번호 129에 제시된 바와 같은 CDR-L1, 서열번호 130에 제시된 바와 같은 CDR-L2 및 서열번호 131에 제시된 바와 같은 CDR-L3,

[0047] (k) 서열번호 137에 제시된 바와 같은 CDR-H1, 서열번호 138에 제시된 바와 같은 CDR-H2, 서열번호 139에 제시된 바와 같은 CDR-H3, 서열번호 140에 제시된 바와 같은 CDR-L1, 서열번호 141에 제시된 바와 같은 CDR-L2 및 서열번호 142에 제시된 바와 같은 CDR-L3,

[0048] (l) 서열번호 152에 제시된 바와 같은 CDR-H1, 서열번호 153에 제시된 바와 같은 CDR-H2, 서열번호 154에 제시된 바와 같은 CDR-H3, 서열번호 155에 제시된 바와 같은 CDR-L1, 서열번호 156에 제시된 바와 같은 CDR-L2 및 서열번호 157에 제시된 바와 같은 CDR-L3, 및

[0049] (m) 서열번호 167에 제시된 바와 같은 CDR-H1, 서열번호 168에 제시된 바와 같은 CDR-H2, 서열번호 169에 제시된 바와 같은 CDR-H3, 서열번호 107에 제시된 바와 같은 CDR-L1, 서열번호 171에 제시된 바와 같은 CDR-L2 및 서열번호 172에 제시된 바와 같은 CDR-L3.

[0050] 추가로, 본 발명의 맥락에서 이중특이적 항체 구축물은 반감기 연장(HLE) 모이어티, 바람직하게는 scFc 도메인을 구비하는 것으로 고려된다.

[0051] 또한, 본 발명의 맥락에서 약제학적 조성물은 액체, 동결건조 또는 냉동 액체인 것으로 고려된다.

[0052] 나아가, 본 발명의 맥락에서 조성물은 5% 미만, 바람직하게는 1% 미만의 이중특이적 항체 구축물의 다양체를 포함하는 것으로 고려된다.

[0053] 본 발명의 맥락에서 다양체는 이량체인 것으로 고려된다.

[0054] 추가로, 본 발명의 맥락에서 조성물은 실온에서 적어도 4일, 바람직하게는 적어도 10일, 더욱 바람직하게는 적어도 14일의 기간 동안 5% 미만, 바람직하게는 1% 미만의 이중특이적 항체 구축물의 다양체를 포함하는 것으로 고려된다.

[0055] 또한, 본 발명의 맥락에서 약제학적 조성물은 바람직하게는 EVA, 폴리올레핀, 및/또는 PVC로 제조된, 플라스틱 투여 용기에 충전되는 것으로 고려된다.

[0056] 나아가, 본 발명의 맥락에서 이중특이적 단일 쇄 항체 구축물은 제6항 내지 제13항에 따른 완충제 및/또는 부형제 중 적어도 하나를 포함하는 플라스틱 투여 용기로부터의 희석으로부터 적어도 90%, 바람직하게는 적어도 95, 96, 97, 98 또는 심지어 적어도 99% 회수되는 것으로 고려된다.

[0057] 본 발명의 맥락에서 약제학적 조성물은 6.5 내지 7.5의 pH에서 적어도 0.25 mM 시트르산염, 적어도 0.0125 mM 리신 및/또는 적어도 0.001% 폴리소르베이트 80을 포함하는 것으로 고려된다.

[0058] 추가로, 약제학적 조성물은 본 발명의 맥락에서 -50°C, 바람직하게는 -40, -30°C 또는 -20°C에 저장되는 저장용액인 것으로 고려된다.

[0059] 또한, 본 발명의 맥락에서 -50°C, 바람직하게는 -40, -30°C 또는 -20°C에 저장되는 저장 용액으로서 제공된 약제학적 조성물은 각각이 헌지, CH<sub>2</sub> 및 CH<sub>3</sub> 도메인을 포함하는 두 개의 폴리펩티드 단량체를 포함하는 제3 결합도메인을 포함하는 이중특이적 항체를 포함하며, 상기 두 개의 폴리펩티드 단량체는 웹티드 링커를 통해 서로

융합되며, 상기 제3 결합 도메인은 아미노에서 카복실 순서로 다음을 포함한다:

[0060] 헌지-CH2-CH3-링커-헌지-CH2-CH3.

[0061] 추가로, 본 발명의 맥락에서 이중특이적 항체 구축물을 동결건조물로서 제공되는데, 동결건조물은 바람직하게는 동결건조보호제, 완충제 및/또는 계면활성제를 포함하고, 이때, 동결건조물은, 보존제를 포함하고 바람직하게는 완충제 및/또는 부형제를 포함하는 희석제에 의해 재구성되는 것으로 고려된다.

[0062] 특히, 본 발명의 맥락에서 약제학적 조성물은 용액으로서, 냉동 상태의 용액으로서 또는 동결건조물로서 사용 시까지 저장되며, 그 후, 보존제, 안정제 또는 계면활성제로부터 선택되는 추가 부형제를 첨가할 필요 없이, 선택적으로 희석 또는 재구성 후에, 투여되는 것으로 고려된다.

[0063] 또한, 본 발명의 맥락에서 약제학적 조성물은 악성 질환 치료용으로 고려된다.

[0064] 나아가, 본 발명의 맥락에서 필요로 하는 대상체에 본 발명에 따른 약제학적 조성물 또는 본 발명의 방법에 따라 제조된 약제학적 조성물을 투여하는 단계를 포함하는, 악성 질환의 치료 또는 개선을 위한 방법이 고려된다.

[0065] 본 발명의 맥락에서 본 발명에 따른 약제학적 조성물은 1 내지 24시간 동안, 바람직하게는 1 내지 10시간 또는 2 내지 5시간 동안, 바람직하게는 지속적으로, 정맥 내 투여되는 것으로 고려된다.

[0066] 추가로, 본 발명의 맥락에서 본 발명에 따른 약제학적 조성물은 2 내지 14일 동안, 바람직하게는 2 내지 10일 동안, 가장 바람직하게는 4 내지 7일 동안 지속적으로 정맥 내 투여되는 것으로 고려된다.

[0067] 또한, 본 발명의 맥락에서 이중특이적 항체 구축물을 동결건조물로서 포함하는 키트로서, 동결건조물은 바람직하게는 동결건조보호제, 완충제 및/또는 계면활성제, 및 보존제를 포함하고 바람직하게는 본 발명에 따른, 완충제 및/또는 부형제를 포함하는 희석제를 포함하는 것인, 키트가 고려된다.

### 도면의 간단한 설명

**도 1:** 25°C 및 pH 4에서 보존제 클로로부탄올, 메틸파라벤, 페놀 및 티메로살에 대해 SEC-HPLC에 의해 결정된 CD19xCD3 이중특이적 항체 구축물의 고분자량(HMW) 종의 백분위수에 따른 안정성 도표.

**도 2:** 25°C 및 pH 7에서 CD19xCD3 이중특이적 항체 구축물 농도에 따른 보존제 벤질 알코올에 대해 SEC-HPLC에 의해 결정된 CD19xCD3 이중특이적 항체 구축물의 고분자량(HMW) 종의 백분위수에 따른 안정성 도표.

**도 3:** 25°C에서 보존제 농도에 따른 보존제 벤질 알코올에 대해 SEC-HPLC에 의해 결정된 CD19xCD3 이중특이적 항체 구축물의 (a) 주요 피크 및 (b) 고분자량(HMW) 종의 백분위수에 따른 안정성 도표 및 (c) 25°C에서 보존제 농도 및 용기 재료에 따른 보존제 벤질 알코올에 대해 SEC-HPLC에 의해 결정된 CD19xCD3 이중특이적 항체 구축물의 고분자량(HMW) 종의 백분위수에 따른 안정성 도표. (d) 투여 용기 재료에 따른, 25°C에서 보존제 농도에 따른, 보존제 벤질 알코올에 대해 SEC-HPLC에 의해 결정된 CD19xCD3 이중특이적 항체 구축물의 주요 피크(단량체)의 백분위수에 따른 안정성 도표.

**도 4:** pH 4에서 형광 분광법에 의해 결정된, 보존제 벤질 알코올의 존재 또는 부존재 하의 1 mg/ml 농도의 CD19xCD3 이중특이적 항체 구축물의 변성 도표.

**도 5:** CD19xCD3 이중특이적 항체 구축물 및 0, 0.5, 0.6 또는 0.7% 벤질 알코올을 포함하는 제형에서 (a) E. 콜라이, (b) P. 애루기노사, (c) E. 클로아세, (d) S. 아우레우스, (e) M. 루테우스 및 (f) C. 알비칸스에 대한 미생물 성장 도표.

**도 6:** (a) FAP α, (b) 항-CD3 도메인(항-CD3 도메인의 웹티드 108~112(YISYW)는 FAP α의 웹티드 367~370에 해당한다), (c) CD33xCD3 이중특이적 항체 구축물(CD33xCD3 이중특이적 항체 구축물의 웹티드 364~368(YISYW)은 FAP α의 웹티드 366~370에 해당한다), 및 (d) EGFRvIIIfCD3 이중특이적 항체 구축물(EGFRvIIIfCD3 이중특이적 항체 구축물의 웹티드 365~369(YISYW)는 FAP α의 웹티드 366~370에 해당한다)에 대한 시트르산염의 안정화 효과-벤질 알코올 존재 하에 적용 가능한 경우-. 도 6e와 도 6f는 각각 600 μg/ml의 이중특이적 항체 구축물 또는 단일 도메인 농도에서, 시트르산염 및 벤질 알코올의 효과를 개별적으로 보여주며, 도 6g와 도 6h는 조합하여 보여준다. 결과는 항-CD3 도메인, CD33xCD3 이중특이적 항체 구축물, FAP α, 및 EGFRvIIIfCD3 이중특이적 항체 구축물에 대해 동일하다.

**도 7:** (a) 0.9% 식염수에서 각각 0 내지 10% IVSS 중 1 μg/mL까지 희석된 C8 칼립에 EGFRvIII x CD3 비-HLE 이중특이적 항체 구축물 50 μL를 주입한 후의 역상 크로마토그램. (b) 각각의 용출된 EGFRvIIIxCD3 비-HLE 이

중특이적 항체 구축물 샘플에 대한 희석 용액에 포함된 IVSS 농도의 백분위수[%IVSS]의 함수로서 도표화된다.

**도 8:** 회수 백분위수에 대한 부형제의 영향 및 필요성을 평가한다. (a) 25°C에서 24시간에 걸쳐 관찰 시, 구축물 농도가 적어도 15 µg/ml인 경우, 정량적인 CD19xCD3 이중특이적 항체 구축물 회수를 보장하기 위하여, 시트르산염, 리신 및 폴리소르베이트 80의 조합물(이하 IVSS로 측정되는 조합물) 첨가는 전혀 필요하지 않다. (b) 정량적인 회수를 촉진하는 작용제는 폴리소르베이트 80이지만, 이 효과를 위하여 비-계면활성제 부형제는 필요하지 않다. (c) 0.002% 폴리소르베이트 80은 1 및 0.05 µg/ml의 매우 낮은 농도에서도 IV 백에서 CD19xCD3 이중특이적 항체 구축물 회수를 보장한다. 0.02% 폴리소르베이트 80은 IVSS에서 전형적인 농도에 해당한다.

**도 9:** 보존제 벤질 알코올은 -20°C에서 4주에 걸친 저장 후에 나타난 바와 같이, pH 4에서 1 mg/ml의 농도로 제3 도메인(HLE 도메인)을 포함하는 CD19xCD3, CD33xCD3, BCMAxCD3 및 DLL3xCD3 이중특이적 항체 구축물을 포함하는 약제학적 조성물의 냉동 안정성을 향상시킨다.

**도 10:** 냉동 안정성과 관련하여 보존제 벤질 알코올에 의한 안정화 효과는 4주에 걸친 -20°C에서의 저장 후에 pH 4에서 DLL3xCD3으로 예시된 바와 같이 0.1% 초과의 농도에서 최고이며 5 mg/ml의 높은 농도의 이중특이적 항체 구축물에서도 HMW 종의 감소를 보장한다.

### 발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0069]

본 발명의 기저에 있는 일반적인 개념은 본 발명에 따른 이중특이적 항체 구축물을 포함하는, 액체 상태와 냉동 상태의, 약제학적 조성물의 안정성이 액체 약제학적 조성물에 대한 보존제의 첨가에 의해, 전형적으로 이중특이적 항체 구축물 및 보존제의 농도에 따라, 개선된다는 놀라운 결과이다. 놀랍게도, 바람직하게는 BiTE® 항체와 같은 단일 쇄 항체 구축물인 이중특이적 항체 구축물을 포함하는 약제학적 조성물이, 본 명세서에 정의된 바와 같은 제3 도메인을 포함할 때, 즉, 반감기 연장된(HLE) 이중특이적 항체 구축물이든 아니든, 약 0.5 µg/ml 내지 5 mg/ml의 특정 농도로 존재할 경우, 보존제의 존재 하에 안정적일 뿐만 아니라, 이 보존제에 의해 오히려 안정화될 수 있음이 발견되었다. 벤질 알코올, m-크레졸 및 폐녹시에탄올과 같은 보존제가 항체와 같은 단백질의 응집을 촉진함이 당해 분야에 공지되어 있었기에 이 점은 특히 놀랍다. 그러나 예를 들어, 이중특이적 항체 농도, 유형, 및 선택적으로 pH 및 추가의 보완성 안정제의 존재에 따라, 본 발명에 따른 약제학적 조성물은 안정적이다. 이때, 보존제 및 선택적인 추가 안정화 보완성 부형제, 예컨대, 시트르산염의 안정화 작용은 주로 제2 결합 도메인(CD3 결합 도메인)과의 상호작용과 관련이 있으므로, 본 명세서에 기술된 바와 같은 제1 결합 도메인(표적화 도메인)은 중요성이 떨어진다. 유리하게는, 보존제는 예컨대, 냉동 상태로의 저장 중 및 -선택적 pH 조정 및/또는 희석 후- 투여 시 약제학적 조성물을 물리적으로 및 미생물학적으로 안정화시키는 기능을 할 수 있다. 따라서, 예컨대, 4.0 내지 6.5과 같은 낮은 pH에서 6.5 내지 7.5의 중성 pH까지, 선택적인 pH 조정 및 정맥 내 투여의 목적을 위한 희석에도 불구하고, 동일한 약제학적 조성물이 편의상 이용될 수 있다. 그러나 전체적으로 이중특이적 항체 구축물 농도는 0.5 µg/ml 내지 5 mg/ml의 범위이고, 또는 일부 상황에서는 0.3 µg/ml 내지 10, 20, 또는 심지어 30 mg/ml의 범위이다. 이에 의해, 정맥 내 주입 백과 같은 용기를 포함하는 약제학적 조성물은 미생물 오염 감소 또는 결여로 인해 오로지 3일, 4일, 5일, 6일, 7일, 8일, 9일, 10일, 11일, 12일, 13일 또는 심지어 14일과 같은 더 긴 시간 간격으로 교체해야 할 필요가 있을 수 있고, 이는 환자의 편의를 크게 증가시킨다.

[0070]

안정화 및 미생물학적으로 효과적인 보존제는 벤질 알코올, 클로로부탄올, 메틸파라벤, 폐놀 및 티메로살을 포함하나, 이에 한정되지 않는다. 약제학적 조성물의 제형화에 유용한 보존제는 일반적으로 항미생물제(예를 들어, 항균제 또는 항진균제), 항산화제, 칼레이트제, 불활성 기체 등을 포함하고; 예는 염화벤잘코늄, 벤조산, 살리실산, 티메로살, 폐네틸 알코올, 메틸파라벤, 프로필파라벤, 클로르헥시딘, 소르브산, 또는 과산화수소이다. 항미생물성 보존제는 미생물 증식을 감소시킴으로써 의약의 저장 수명을 연장시키는 데 사용되는 물질이다. 본 발명의 약제학적 조성물을 제형화하는 데 특히 유용한 보존제는 벤질 알코올, 클로로부탄올, 폐놀, 메타-크레졸, 메틸파라벤, 폐녹시에탄올, 프로필파라벤 티메로살을 포함한다. 이를 보존제의 구조 및 전형적인 사용 농도는 Meyer et al. J Pharm Sci. 96(12), 3155의 표 1에 기술되어 있다.

[0071]

전술한 보존제는 약제학적 조성물에서 상이한 농도로 존재할 수 있다. 예를 들어, 벤질 알코올은 0.2 내지 1.1%(w/v), 바람직하게는 0.5 내지 0.9%(v/v) 범위의 농도로, 클로로부탄올은 0.3 내지 0.5%(w/v) 범위의 농도로, 폐놀은 0.07 내지 0.5%(w/v) 범위의 농도로, 메타-크레졸은 0.17 내지 0-32%(w/v) 범위의 농도로, 또는 티메로살은 0.003 내지 0.01%(w/v) 범위의 농도로 존재할 수 있다. 메틸파라벤에 대한 바람직한 농도는 0.05 내지 0.5%(w/v) 범위이고, 폐녹시에탄올의 경우에는 0.1 내지 3%(w/v) 범위이고, 프로필파라벤의 경우에는 0.05 내지

0.5%(w/v) 범위이다.

[0072] 이론에 구속되기를 바라지 않지만, 벤질 알코올과 같은 보존제는 적절한 농도에서 CD19xCD3 이중특이적 항체 구축물과 같은 이중특이적 항체 구축물의 이량체화 부위에 결합하며, 따라서 이량체 및 다른 다량체를 형성할 가능성을 감소시킨다. 이에 의해, 예를 들어, CD19xCD3, BCMAxCD3, PSAMxCD3, CD33xCD3 또는 EGFRvIIICD3 이중 특이적 항체 구축물에서, 응집 위험이 크게 감소된다. 몇몇 풀립 영역은 벤질 알코올과 같은 보존제가 이중특이적 항체 구축물의 단량체를 불안정하게 만들며, 이는 증가된 이량체/응집물 형성으로 이어진다는 점을 시사하므로, 이는 특히 놀랍다. 그러나 이들 영역 중 일부는 이량체 형성과 관련이 있을 가능성이 높은 영역과 중첩된다. 이러한 영역의 풀립은 이중특이적 항체 농도가 특정 한계 내로 유지되는 한 단량체로 다시 전환되는 것 및 전반적인 안정화 효과에 의해 이량체 형성을 방해할 수 있다.

[0073] 특정 구현예에서, 본 발명에 따른 정맥 내 투여를 위한 약제학적 조성물에서 보존제의 존재 하에 이중특이적 항체 구축물의 안정성을 증가시키기 위하여 완충제 및/또는 부형제가 사용될 수 있다. 이러한 부형제는 본 명세서에서 CD3 결합 도메인과 상호작용하는 보완성 안정화제라 지칭된다. 특정 구현예에서, 예를 들어, 중성 pH 및/또는 본 명세서에서 기술되는 바와 같은 제3 결합 도메인이 없으며 예컨대, 50, 100, 150, 200, 250, 300, 350, 400, 450, 500, 550, 600, 650, 700, 750, 800, 850, 900, 950 또는 1000  $\mu\text{g}/\text{ml}$  초과, 전형적으로는 적어도 50  $\mu\text{g}/\text{ml}$  또는 200  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 높은 농도로 약제학적 조성물에 존재하는 이중특이적 항체 구축물에서, 이러한 보완성 안정화제는 보존제의 존재 하에 이중특이적 항체 구축물의 안정성을 보장하기 위하여 바람직할 수 있다. 이는 예를 들어, 본 명세서에 기술되는 바와 같은 제3 결합 도메인이 없는 이중특이적 항체 구축물, 예컨대 CD33xCD3 이중특이적 항체 구축물의 경우에 그려할 수 있다. 이중특이적 항체 구축물 농도가 예를 들어, 200, 150, 100 또는 50  $\mu\text{g}/\text{ml}$  이하인 경우 시트르산염과 같은 이러한 보완성 안정화제가 전혀 요구되지 않는 것이 고려된다. 그러나 정량적 회수를 허용하기 위하여(즉, 예컨대, 투여 용기에 대한 흡착으로 인한 손실이 적고, 회수된 양의 백분위수가 적어도 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 또는 심지어 99.5%에 해당함), 20, 15 또는 10  $\mu\text{g}/\text{ml}$  농도의 이중특이적 항체 구축물에서 풀리소르베이트, 예컨대, 풀리소르베이트 80과 같은, 다른 완충제/부형제가 바람직할 수 있다. 이는 현실적인 이유(취급)와 의학적 이유(알레르기, 부작용)로 과도한 부형제를 쓰지 않아도 되므로, 특히 유리하다.

[0074] 낮은 pH는 중성 pH에서보다 더 높은 농도에서도 보존제에 의한 이중특이적 항체 구축물의 안정화를 보완하는데, 이는 더 높은 농도, 예컨대, 적어도 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900 또는 1000  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 을 포함하는 약제학적 조성물이 안정적인, 즉, 바람직하게는 5, 4, 3, 2, 1 또는 심지어 0.5% 미만의 낮은 백분위수의 HMW 농도를 보여주는 이유이다.

[0075] 보존제 존재 하에 이중특이적 항체 구축물을 안정화시키기 위하여 특정 구현예에서 사용되는 완충제 및/또는 부형제는 시트르산염, 리신 및 풀리소르베이트 80을 포함할 수 있으나, 이에 한정되지 않는다. 이들 화합물 중 임의의 화합물이 개별적으로 또는 임의의 조합으로, 또는 이의 기능 또는 구조와 관련하여 유사한 화합물이 사용되어, 본 발명에 따른 보존제의 존재 하에 이중특이적 항체 구축물에 대한 안정화 효과를 얻을 수 있고/있거나, 보존제의 부존재 하에서도 회수를 증가시킬 수 있으며, 여기서 후자는 안정성 또는 미생물학적 안정성을 위하여 필요하지 않다.

[0076] 보존제 존재 하에 이중특이적 항체 구축물을 안정화시키기 위하여 특정 구현예에서 사용되는 완충제 및/또는 부형제는 또한 및/또는 동시에 약제학적 조성물을 환자에게 투여하는 데 사용되는 (플라스틱) 용기로부터의 이중특이적 항체 구축물의 회수를 개선하는 데 놀랍게도 사용될 수 있다. 본 발명에 따른 약물은 전형적으로 매우 낮은 농도로 투여되므로, 예컨대, 정맥 내 주입 백과 같은 투여 용기에 대한 흡착은 효과적인 투약에 상당한 영향을 미칠 수 있다. 따라서, 이러한 완충제 및/또는 부형제의 첨가는 이들 화합물 부재 하의 약물 농도와 비교하여 최대 250%까지 회수를 증가시킬 수 있다. 상대적으로 적은 양의, 예컨대, 적어도 0.25 내지 1 mM의 시트르산염, 0.0125 M의 리신 및/또는 0.001%의 풀리소르베이트 80은 이 목적을 위하여 충분할 수 있다. 이는 환자에게 투여되는 1%의 IVSS 용액을 의미하며, 이는 충분할 수 있다. 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10%의 IVSS와 같은 더 많은 양으로는 훨씬 더 나은 결과가 얻어질 수 있다. 4%의 IVSS가 바람직할 수 있다. 그러나 개선된 회수 효과를 얻기 위하여 IVSS의 모든 구성성분이 필요한 것은 아닐 수 있다. 예컨대, 풀리소르베이트 단독이 투여 용기에 대한 약물 흡착을 충분히 감소시킬 수 있다. 본 발명의 상기 양태는 이중특이적 항체 구축물과 같은 매우 강력한 약물에 대한 개선된 용량 신뢰성에 기여한다. 따라서, 환자 안전성 또한 본 발명에 의해 개선된다.

[0077] 그러나 특정 임계점에 걸쳐, 이러한 완충제 및/또는 부형제는 회수를 개선하기 위하여 더 이상 필요하지 않을 수 있다. 이러한 임계점은 예를 들어, 10 µg/ml, 15 µg/ml 또는 20 µg/ml, 바람직하게는 15 µg/ml이다. 그러나 일반적으로, 적어도 계면활성제를, 회수와 관련하여, 폴리소르베이트, 특히 폴리소르베이트 80과 같은 부형제로서 포함하는 약제학적 조성물이 바람직하다.

[0078] 본 발명의 또 다른 양태에서, HDX 결과를 기초로, 이중특이적 항체 구축물이 본 발명에 따른 제3 결합 도메인의 부존재 또는 존재 및/또는 약제학적 조성물의 pH에 의존하는 특정 임계점을 초과하여 존재하는 경우, 벤질 알코올과 같은 보존제는 (소수성) 상호작용에 의해 본 발명에 따른 이중특이적 항체 구축물의 제2 결합 도메인(항-CD3 도메인)을 특이적으로 불안정하게 만들 수 있다. 전형적으로, 본 명세서에 기술된 바와 같은 제3 결합 도메인이 존재하고/존재하거나 pH가 pH 4.0 내지 6.5와 같이 산성인 경우 임계점은 더 높다. 이론에 구속되기를 바라지 않지만, 이러한 이중특이적 항체 구축물 탈안정화는 증가된 입체형태 동역학과 관련이 있을 수 있고, 이는 결국 일반적으로 감소된 분자 안정성과 관련이 있을 수 있다. 그러나 놀랍게도 본 발명에서는 완충제 또는 부형제를 포함하는 시트르산염과 같은 완충제 및/또는 부형제가 이 탈안정화 효과를 상쇄할 수 있음이 발견되었다. 이러한 완충제 및/또는 부형제와 보존제 사이의 상쇄 효과는 (구조와 관련하여) 서열번호 18 내지 23으로 표시된 CDR을 특징으로 하는 항-CD3 도메인을 갖는 모든 이중특이적 항체 구축물에 적용될 수 있다. 이러한 이중특이적 항체 구축물과 관련하여 나타난 바와 같이, 더 낮은 농도(예컨대, 50 µg/ml 미만)에서는, 벤질 알코올과 같은 보존제의 존재 하에 어떠한 안정화 부형제도 요구되지 않는데, 이때, 벤질 알코올과 같은 보존제는 놀랍게도 이량체의 억제 또는 감소로 인해 독자적으로 안정화 특성을 가질 수 있다. 전형적으로, 약제학적 조성물이 6.5 초과의 pH를 갖고/갖거나 이중특이적 항체 구축물이 본 명세서에 기술된 바와 같은 제3 도메인을 포함한다면, 이는 더 높은 농도, 예컨대, 200 µg/ml을 초과하는 농도에서는 그렇지 않다. 보존제의 불안정하게 만드는 효과가 이중특이적 항체 구축물 농도를 기초로 한 이의 안정화 효과보다 더 큰 경우, 시트르산염과 같은 부형제가 추가의, 보완적인 안정화 부형제로서 사용될 수 있다. 그러므로 시트르산염과 같은 추가 안정화제의 첨가는 벤질 알코올과 같은 보존제의 존재 하에 이중특이적 항체 구축물의 더욱 다양한 사용(농도 범위)을 가능하게 한다.

[0079] 대안적으로, 본 발명의 맥락에서 약제학적 조성물은 예를 들어, (0.9% 벤질 알코올을 함유하는) 정균적 0.9% 염화나트륨, USP을 이용하는 7일에 걸친 주입용인 것이 고려된다. 특히, 이 옵션은 안전상의 이유로 특정 임계값 이상의 체중의 환자에 대하여 이용 가능하다는 것이 고려된다. 이러한 임계값은 20, 22 또는 25 kg일 수 있다.

[0080] 본 발명의 맥락에서 특정 구현예에서, 본 발명에 따른 이중특이적 항체 구축물은 정맥 내 투여를 위하여 멸균성, 보존제 불포함, 백색 내지 미색의 동결건조된 분말로서 단일 용량 바이알에 제공되는 것이 고려된다. CD19xCD3 항체 구축물의 각각의 단일 용량 바이알은 35 µg의 본 발명에 따른 이중특이적 항체 구축물, 시트르산 일수화물(3.35 mg), 리신 염산염(23.23 mg), 폴리소르베이트 80(0.64 mg), 트레할로스 이수화물(95.5 mg), 및 pH를 7.0으로 조정하기 위한 수산화나트륨을 함유한다. 3 mL의 (0.9% 벤질 알코올을 함유하는) 0.9% 염화나트륨, USP으로의 재구성 후, 얻어진 농도는 12.5 µg/mL의 본 발명에 따른 이중특이적 항체 구축물이다. 정맥 내 용액 안정화제(IVSS)는 멸균성, 보존제 불포함, 무색 내지 담황색의, 투명한 용액으로서 단일 용량 바이알에 제공된다. 정맥 내 용액 안정화제의 각각의 단일 용량 바이알은 시트르산 일수화물(52.5 mg), 리신 염산염(2283.8 mg), 폴리소르베이트 80(10 mg), pH를 7.0으로 조정하기 위한 수산화나트륨, 및 주사용수를 함유한다.

[0081] 본 발명 내에서, 용어 "안정성" 또는 "안정화"는 구체적으로 제형화, 충전, 수송, 저장 및 투여하는 동안 약제학적 조성물 전체의 안정성, 특히 활성 성분(즉, 이중특이적 단일 쇄 항체 구축물) 자체의 안정성에 관한 것이다. 용어 "안정성" 또는 "안정적인"은 본 발명의 약제학적 조성물 및 이중특이적 단일 쇄 항체 구축물의 맥락에서 특별하게는 단백질 응집물(HMWS)의 형성의 감소 또는 방지를 지칭한다. 구체적으로, 용어 "안정성"은 또한 본 명세서에 기술된 약제학적 조성물 내에 포함되는 이중특이적 (단일 쇄) 항체 구축물의 콜로이드 안정성에 관한 것이다. "콜로이드 안정성"은 연장된 기간(수 일 내지 수 년) 동안 액체 중에 분산되어 유지되는 콜로이드 입자(예를 들어, 단백질)의 능력이다. 보존과 관련하여 안정성이 관련되는 경우, 용어 미생물학적 안정성이 사용된다.

[0082] 본 명세서에서 사용되는 바와 같은 용어 "(단백질) 응집물"은 일반적으로 요망되는 정의된 종(예를 들어, 단량체) 대신에 "올리고머" 또는 "다량체"와 같이 더 큰 분자량의 단백질 종을 포함한다. 이 용어는 본 명세서에서 용어 "고분자량 종" 및 "HMWS"와 상호 교환 가능하게 사용된다. 단백질 응집물은 일반적으로 크기(작은 조립체(이량체)에서 큰 조립체(육안으로 보이지 않거나(subvisible) 심지어 눈에 보이는 입자)까지의 범위 및 직경이나노미터에서 마이크로미터까지의 범위), 형태학(대략 구체에서 미소섬유형까지), 단백질 구조(천연 대 비천연/변성됨), 분자간 결합의 유형(공유 대 비공유), 가역성 및 용해성이 상이할 수 있다. 가용성 응집물은 대략 1

내지 100 nm의 크기 범위를 포함하고, 단백질 미립자는 육안으로 보이지 않는(약 0.1 내지 100 nm) 범위 및 가시적(100 nm 초과) 범위를 포함한다. 위에 언급된 유형의 단백질 응집물 모두는 일반적으로 이 용어에 포함된다. 용어 "(단백질) 응집물"은 이에 따라 2종 이상의 단백질 단량체의 모든 종류의 물리적으로 회합되거나 화학적으로 연결된 비천연 종을 지칭한다.

[0083] 따라서 용어 "단백질 응집" 또는 "비천연 응집"은 단백질 분자가 단량체로 지칭된 개별 단백질과 함께, 2종 이상의 단백질로 구성된 복합체로 조립되는 공정(들)을 나타낸다. 온도, 기계적 스트레스, 예를 들어 진탕 및 교반, 펌핑, 동결 및/또는 해동 및 제형화를 비롯하여 매우 다양한 조건에 의해서 유도될 수 있는, 단백질 응집으로 이어지는 다수의 경로가 존재한다.

[0084] 온도 증가는 단백질의 산화 및 탈아미드화와 같은 화학 반응을 가속화하는데, 이는 결국 응집을 촉진할 수 있다. 더 높은 온도는 또한 4차, 3차, 및 2차 구조 수준에서 단백질의 입체 형태에 직접적으로 영향을 주고, 응집을 촉진할 수 있는 온도 유발성 폴리미노로 이어질 수 있다. 본 출원에서 지칭되는 온도는 전형적으로 정교한 단백질 기반 약제의 장기간 저장을 위한 급속 동결 온도(-70°C), 표준 동결 온도(-20°C), 냉장 온도(4°C), 실온(25°C) 및 생리적 온도(37°C)이다.

[0085] 그러므로, 본 발명의 약제학적 조성물에 대한 보존제 첨가가 본 발명의 이중특이적 항체 구축물과 관련하여 냉동 상태 응집을 억제할 수 있음을 발견하는 것은 놀라웠다. 따라서, 이러한 이중특이적 항체 구축물은 냉동 상태 응집을 나타내지 않고 -70°C 대신 -50°C, -40°C, 또는 바람직하게는 심지어 -30° 또는 -20°C에서 저장될 수 있다. 즉, 고분자량(HMW) 종과 같은 응집물의 존재는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 12 또는 24개월과 같이, 적어도 1개월의 저장시간에 걸쳐 1% 미만 또는 심지어 0.8%, 0.6%, 0.4% 미만 또는 심지어 0.3% 미만으로 유지된다. 유리하게는, -70°C 저장이 더 높은 동결 저장 온도에서의 저장으로 교체되거나 -70°C 저장 용량이 다른 더욱 정교한 저장 품목에 할당될 수 있을 때 에너지가 절약될 수 있다. 동시에, 급속 동결 범위 대신 오로지 표준 동결의 저장 온도가 본 발명에 따른 약제학적 조성물을 저장하는 데 요구되는 경우, 운송 과정이 줄어든다. 이론에 구속되기를 바라지 않지만, 이중특이적 항체 구축물의 제1 결합 도메인과 제2 결합 도메인의 특이적 영역 사이의 소수성 상호작용으로 인해 냉동 상태 응집물이 형성될 가능성이 높다. 벤질 알코올과 같은 보존제 첨가는, 본 발명에 따른 이중특이적 항체 구축물의 제2 결합 도메인의 소수성 패치에 결합함으로써, (냉동) 용액 중의 이중특이적 항체 구축물 총량을 기준으로 냉동 상태 응집물을 적게, 예컨대, HMW 종의 1% 미만으로 유지할 수 있다. 이는 특히 scFc HLE 도메인과 같은 본 발명에 따른 제3 도메인을 포함하는 이중특이적 항체 구축물의 경우 그러하다.

[0086] 바람직하게는, 냉동 상태 저장 약제학적 조성물은 pH 4.0 내지 6.5, 바람직하게는 4.2 내지 4.8 범위의 pH를 나타낸다. 환자에게 투여하기 전에, 더 나은 정맥 내 적합성을 위하여 pH는 증가될 수 있다. 그러나 전형적으로는, 투여 전에 부형제와 같은 특정 성분을 제거할 필요 없이 약제학적 조성물이 이용될 수 있다. 따라서, 예컨대, 냉동 상태 저장 중에 물리적 안정화제로서 기능했던 보존제는 이후에 액체 투여된 약제학적 조성물에서, 선택적으로 희석 및/또는 pH 조정 후에, 안정화제로서 작용할 수 있고, 본 발명에 따른 약제학적 조성물의 미생물학적 안정성을 보장하기 위한 보존제로서도 작용할 수 있다.

[0087] 단백질 변성 및 응집은 새로운 얼음/용액 계면의 생성, 용기 표면에 대한 흡착, 단백질 및 용질의 저온농축(cryoconcentration) 및 완충제 구성성분의 결정화로 인한 pH 변화와 같은 복잡한 물리적 및 화학적 변화로 인해 동결/해동 중에 일어날 수 있다.

[0088] 단백질 농도의 증가는 또한 단백질 응집물의 형성을 증진시킬 수 있다. 높은 단백질 농도에서 거대분자 과밀이 일어나는데, 이 용어는 그 용액 중에서 각각의 거대분자 종의 거동에 대한 거대분자 용질의 높은 총 부피 점유의 효과를 기술하는 데 사용된다. 이러한 배제된 부피 이론에 따라서, 자가-조립 및 이에 따른 잠재적인 응집이 촉진될 수 있다.

[0089] 항미생물성 보존제, 예를 들어 벤질 알코올 및 페놀은 이의 저장 수명 동안 멸균성을 보장하기 위한 액체 제형에서 공지되어 있으며, 또한 다회용량 제형 및 특정 약물 전달 시스템, 예를 들어 주사 펜, 미니펌프 및 국소 적용에서 요구된다. 다수의 보존제가 단백질 응집을 유도하는 것으로 보고되어 있지만, 근본적인 기전은 잘 이해되지 않고 있다. 보존제는 응집되기 쉬운 풀린 단백질 상태에 결합하여 이를 채운다고 제안되었다.

[0090] 유리하게는, 본 발명의 약제학적 조성물은 스트레스, 특히 열 스트레스, 저장, 표면-유도 스트레스(예를 들어, 동결/해동 주기, 발포), 농축(한외여과 및 정용여과에 의함)을 받거나 항미생물성 보존제와 같은 유기 화합물과 혼합되는 경우에도 안정적인 것으로, 즉, 단백질 응집물이 존재하지 않거나 실질적으로 존재하지 않게 유지되는

것으로 고려된다. 바람직하게는, 약제학적 조성물은 첨부된 실시예에서 평가된 낮은 pH를 갖는 조성물과 비교하여 유사하거나 심지어 개선된 특성을 가질 수 있다. 본 발명의 약제학적 조성물은 바람직하게는 연장된 반감기를 갖는 분산된 단량체 이중특이적 단일 쇄 항체 구축물을 같은 단백질 기반 약제의 균질한 용액이다.

[0091] 당업자는 약제학적 조성물이 효과적으로 활성 성분의 안정화를 제공하지만(즉, 이중특이적 단일 쇄 항체 구축물의 단백질 응집물의 형성을 감소시키거나 저해함), 약제학적 조성물의 전체 유용성을 실질적으로 손상시키지 않으면서, 일부 응집물 또는 이형태체가 가끔 형성될 수 있다는 것을 인정할 것이다. 이러한 맥락에서, 응집물이 "실질적으로 존재하지 않는"은, 예를 들어 첨부된 실시예에서 평가된 바와 같이, 특히 환경 스트레스를 받는 경우에도, 응집물의 양이 10%, 9%, 8%, 7%, 6%, 5%, 4%, 3%, 2% 또는 1%(w/v) 미만으로 유지되는 것을 의미한다.

[0092] 가용성 및 불용성 단백질 응집물의 존재를 결정하는 방법은, 그 중에서도 Mahler et al., *J Pharm Sci.* 2009 Sep;98(9):2909-34에 의해 검토되었다. 가용성 단백질 응집물의 형성은 첨부된 실시예에 기술된 바와 같이 크기 배제 초고성능 액체 크로마토그래피(SE-UPLC)에 의해 평가될 수 있다. SEC는 단백질 응집물의 검출 및 정량화를 위한 가장 많이 사용되는 분석 방법 중 하나이다. SEC 분석은 응집물의 크기 분석 및 이들의 정량화 둘 다를 가능하게 한다. SEQ-UPLC는 약 5 내지 1000 kDa의 분자량 범위에서 이들의 형상 및 크기(유체역학적 반경)를 기준으로 거대분자의 선택적이고 신속한 분리를 가능하게 한다.

[0093] 단백질 용액은 유광(opalescence) 또는 탁도(turbidity)로 지칭되는 광학 특성을 보여준다. 용액의 광학 특성은 광을 산란 및 흡수하는 존재 입자의 함수이다. 단백질은 천연 콜로이드이고, 수성 세형의 탁도는 단백질 농도, 비용해된 입자의 존재, 입자 크기 및 부피 단위당 입자 수에 의존한다. 탁도는 340 내지 360 nm 범위에서의 광학 밀도로서 UV-Vis 분광학에 의해서 측정될 수 있고, 가용성 및 불용성 응집물 둘 다를 검출하는 데 사용될 수 있다.

[0094] 더욱이, 시각적 수단에 의한 샘플 조사는 여전히 단백질 응집물을 평가하는 중요한 양태이다. 가시적 응집물의 존재 또는 부재에 대한 시각적 평가는 바람직하게는 독일약전(Deutscher Arzneimittel Codex, DAC) 시험법 5에 따라 수행된다.

[0095] 본 명세서의 다른 부분에 언급된 바와 같이, 본 발명의 약제학적 조성물은 -주로 낮은 pH 및 선택적으로 그 안에 포함되는 추가의 안정화제의 작용에 의한 것으로 보이는- 이중특이적 단일 쇄 항체 구축물의 증가된 콜로이드 안정성을 촉진하고, 이에 따라 액체-액체 상 분리(LLPS)의 감소 또는 심지어 부재를 나타내는 것으로 고려된다. LLPS는 균질한 단백질 용액이 온도 저하에 따라 단백질-부족 상(통상적으로 상부 층) 및 단백질-풍부 상(통상적으로 하부 층)으로 분리되는 열역학적 유래의 사건이다. LLPS는 전형적으로 단순히 두 상을 혼합하고 용액의 온도를 상승시키는 것에 의해 완전히 가역적이다. LLPS의 발생은 짧은 범위의 유인성 단백질-단백질 상호작용에 기인하였다(이는 단백질-단백질 인력 강도의 척도가 됨). 본 발명에 따른  $\beta$ -사이클로텍스트린을 포함하는 약제학적 조성물은  $\beta$ -사이클로텍스트린을 포함하지 않는 약제학적 조성물과 비교할 때, LLPS 단백질-부족 상 중에 더 높은 농도의 이중특이적 단일 쇄 항체 구축물을 포함하는 것으로 밝혀졌다. 따라서, 본 발명의 약제학적 조성물은 대조군과 비교하는 경우 결국 감소된 LLPS 또는 LLPS 부재를 나타내고, 따라서 본 발명의 이중특이적 단일 쇄 항체 구축물의 증가된 콜로이드 안정성을 촉진시킨다고 예상된다. LLPS는 유도될 수 있고 상이한 상의 단백질 함량은 첨부된 실시예에 기술된 바와 같이 조사될 수 있다.

[0096] 환경 스트레스는, 특히 열 및/또는 화학적 변성으로 인해, 입체형태 변화로 이어질 수도 있는데, 이는 결국 응집을 촉진할 수 있다. 놀랍게도, 본 발명자들은 이중특이적 단일 쇄 항체 구축물이 또한 방향족 아미노산의 고유 형광 방출 강도를 측정함으로써 평가되는 바와 같이 입체형태 변화와 관련하여 안정화된다는 것을 발견하였다. 따라서, 본 발명의 약제학적 조성물은 또한 바람직하게는 이형태체(즉, 비천연, 비정상적으로 접힌 단백질 종)의 형성을 감소시키거나 억제한다.

[0097] 앞서 설명한 바와 같이, 본 발명의 안정적인 약제학적 조성물은 제1 결합 도메인을 통해 표적 세포 표면 항원에 결합하고, 제2 결합 도메인을 통해 T 세포 표면 항원 CD3에 결합하는 이중특이적 단일 쇄 항체 구축물을 포함한다.

[0098] 용어 "항체 구축물"은 구조 및/또는 기능이 항체의, 예를 들어, 전장 또는 전체 면역글로불린 분자의 구조 및/또는 기능을 기반으로 하고/하거나 항체 또는 이의 단편의 가변 중쇄(VH) 및/또는 가변 경쇄(VL) 도메인으로부터 유도되는 분자를 지칭한다. 따라서 항체 구축물은 이의 특이적 표적 또는 항원에 결합할 수 있다. 더 나아가, 본 발명에 따른 항체 구축물의 결합 도메인은 표적 결합을 허용하는 항체의 최소한의 구조적 요건을 포함한다. 이러한 최소한의 요건은, 예를 들어 적어도 3개의 경쇄 CDR(즉, VL 영역의 CDR1, CDR2 및 CDR3) 및/또

는 3개의 중쇄 CDR(즉, VH 영역의 CDR1, CDR2 및 CDR3), 바람직하게는 6개의 CDR 모두의 존재에 의해 정의될 수 있다. 항체의 최소한의 구조적 요건을 정의하기 위한 대안적인 접근법은 특정 표적 구조 내의, 즉, 각각 에피토프 영역을 구성하는 표적 단백질의 단백질 도메인(에피토프 클러스터) 또는 정의된 항체의 에피토프와 경쟁하는 특정 항체에 대한, 항체의 에피토프의 정의이다. 본 발명에 따른 구축물이 기반으로 하는 항체는, 예를 들어, 단클론, 재조합, 키메라, 탈면역화, 인간화 및 인간 항체를 포함한다.

[0099]

본 발명에 따른 항체 구축물의 결합 도메인은, 예를 들어 위에 언급된 CDR의 군을 포함할 수 있다. 바람직하게는, 이들 CDR은 항체 경쇄 가변 영역(VL) 및 항체 중쇄 가변 영역(VH)의 프레임워크에 포함되지만; 둘 다를 포함할 필요는 없다. Fd 단편은, 예를 들어, 2개의 VH 영역을 갖고, 종종 온전한 항원-결합 도메인의 일부 항원-결합 기능을 보유한다. 항체 단편, 항체 변이체 또는 결합 도메인의 형식에 대한 추가적인 예는 (1) Fab 단편, 즉, VL, VH, CL 및 CH1 도메인을 갖는 1가 단편; (2)  $F(ab')_2$  단편, 즉, 헌지 영역에서 이황화 가교에 의해 연결된 2개의 Fab 단편을 갖는 2가 단편; (3) 2개의 VH 및 CH1 도메인을 갖는 Fd 단편; (4) 항체의 단일 암(ar m)의 VL 및 VH 도메인을 갖는 Fv 단편, (5) VH 도메인을 갖는 dAb 단편(Ward et al., (1989) Nature 341:544-546); (6) 분리된 상보성 결정 영역(CDR), 및 (7) 단일 쇄 Fv(scFv)을 포함하며, 후자가 바람직하다(예를 들어, scFV-라이브리로부터 유래됨). 본 발명에 따른 항체 구축물의 구현예에 대한 예는, 예를 들어 WO 00/006605, WO 2005/040220, WO 2008/119567, WO 2010/037838, WO 2013/026837, WO 2013/026833, US 2014/0308285, US 2014/0302037, WO 2014/144722, WO 2014/151910, 및 WO 2015/048272에 기술되어 있다.

[0100]

VH, VHH, VL, (s)dAb, Fv, Fd, Fab, Fab',  $F(ab')_2$  또는 "r IgG"("절반 항체")와 같은 전장 항체의 단편 또한 "결합 도메인" 또는 "결합하는 도메인"의 정의 내에 있다. 본 발명에 따른 항체 구축물은 또한 항체 변이체로도 불리는 항체의 변형된 단편, 예를 들어 scFv, 다이-scFv 또는 비(스)-scFv, scFv-Fc, scFv-지피, scFab, Fab<sub>2</sub>, Fab<sub>3</sub>, 다이어바디, 단일 쇄 다이어바디, 텐덤(tandem) 다이어바디(Tandab), 텐덤 다이-scFv, 텐덤 트라이-scFv, "멀티바디", 예를 들어 트라이어바디 또는 테트라바디, 및 단일 도메인 항체, 예를 들어, 나노바디 또는, 다른 V 영역 또는 도메인과 독립적으로 항원 또는 에피토프에 특이적으로 결합하는, VHH, VH 또는 VL일 수 있는 단지 하나의 가변 도메인을 포함하는 단일 가변 도메인 항체를 포함할 수 있다.

[0101]

본 명세서에서 사용되는 용어 "단일-쇄 Fv," "단일-쇄 항체" 또는 "scFv"는 중쇄와 경쇄 둘 다로부터의 가변 영역을 포함하지만, 불변 영역이 없는 단일 폴리펩티드 쇄 항체 단편을 지칭한다. 일반적으로, 단일-쇄 항체는 VH 도메인과 VL 도메인 사이에 폴리펩티드 링커를 추가로 포함하는데, 이는 항원 결합을 허용하는 요망되는 구조를 형성할 수 있도록 한다. 단일 쇄 항체는 Pluckthun에 의해 The Pharmacology of Monoclonal Antibodies, vol. 113, Rosenberg and Moore eds. Springer-Verlag, New York, pp. 269-315 (1994)에 상세하게 논의되어 있다. 미국 특허 번호 4,694,778 및 5,260,203; 국제 특허 출원 공개 번호 WO 88/01649; Bird (1988) Science 242:423-442; Huston et al. (1988) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85:5879-5883; Ward et al. (1989) Nature 334:54454; Skerra et al. (1988) Science 242:1038-1041에 기술된 것들을 포함한, 다양한 단일 쇄 항체 생성 방법이 공지되어 있다. 구체적인 구현예에서, 단일-쇄 항체는 또한 이중특이적, 다중특이적, 인간, 및/또는 인간화 및/또는 협성일 수 있다.

[0102]

더 나아가, 용어 "항체 구축물"의 정의는 1가, 2가 및 다가/다중가 구축물을 포함하고, 따라서, 단지 2개의 항원 구조에 특이적으로 결합하는 이중특이적 구축물뿐만 아니라 별개의 결합 도메인을 통해 2개 초과의 항원 구조, 예를 들어 3개, 4개 이상에 특이적으로 결합하는 다특이성/다중특이성 구축물을 포함한다. 게다가, 용어 "항체 구축물"의 정의는 단지 하나의 폴리펩티드 쇄로 구성되는 문자뿐만 아니라 하나 초과의 폴리펩티드 쇄로 구성되는 문자를 포함하며, 이 쇄는 동일하거나(호모이량체, 호모삼량체 또는 호모 올리고머) 상이할 수 있다(헤테로이량체, 헤테로삼량체 또는 헤테로올리고머). 위의 확인된 항체 및 이의 변이체 또는 유도체에 대한 예는 그 중에서도 Harlow and Lane, Antibodies a laboratory manual, CSHL Press (1988) 및 Using Antibodies: a laboratory manual, CSHL Press (1999), Kontermann and DÜbel, Antibody Engineering, Springer, 2nd ed. 2010 및 Little, Recombinant Antibodies for Immunotherapy, Cambridge University Press 2009에 기술되어 있다.

[0103]

본 명세서에 사용되는 용어 "이중특이적"은 "적어도 이중특이적"인 항체 구축물을 지칭하는데, 즉, 이는 적어도 제1 결합 도메인 및 제2 결합 도메인을 포함하고, 여기에서 제1 결합 도메인은 하나의 항원 또는 표적(본 명세서에서: 표적 세포 표면 항원)에 결합하고, 제2 결합 도메인은 다른 항원 또는 표적(본 명세서에서: CD3)에 결합한다. 따라서, 본 발명에 따른 항체 구축물은 적어도 2개의 상이한 항원 또는 표적에 대한 특이성을

포함한다. 예를 들어, 제1 도메인은 바람직하게는 본 명세서에 기재된 바와 같은 하나 이상의 종의 CD3 ε의 세포 외 에피토프에 결합하지 않는다. 용어 "표적 세포 표면 항원"은 세포에 의해 발현되고, 본 명세서에 기재된 바와 같은 항체 구축물에 접근 가능하도록 세포 표면에 존재하는 항원 구조를 지칭한다. 이는 단백질, 바람직하게는 단백질의 세포 외 부분, 또는 탄수화물 구조, 바람직하게는 단백질의 탄수화물 구조, 예를 들어 당단백질 일 수 있다. 이는 바람직하게는 중앙 항원이다. 본 발명의 용어 "이중특이적 항체 구축물"은 또한 다중특이적 항체 구축물, 예를 들어 삼중특이적 항체 구축물을 포함하며, 후자는 3개의 결합 도메인을 포함하거나, 구축물이 3개 초과의(예를 들어, 4개, 5개...) 특이성을 갖는다.

[0104] 본 발명에 따른 항체 구축물이 (적어도) 이중특이적이라는 것을 고려하면, 이들은 천연적으로 존재하지 않고, 천연적으로 존재하는 생성물과 현저하게 상이하다. 따라서 "이중특이적" 항체 구축물 또는 면역글로불린은 상이한 특이성을 갖는 적어도 2개의 별개의 결합 측을 갖는 인공 하이브리드 항체 또는 면역글로불린이다. 이중특이적 항체 구축물은 하이브리도마의 융합 또는 Fab' 단편의 연결을 포함하는 다양한 방법에 의해 생산될 수 있다. 예를 들어, Songsivilai & Lachmann, Clin. Exp. Immunol. 79:315-321 (1990) 참조.

[0105] 본 발명의 항체 구축물의 적어도 2개의 결합 도메인 및 가변 도메인(VH/VL)은 웨პ티드 링커(스페이서 웨პ티드)를 포함할 수 있거나 포함하지 않을 수도 있다. 용어 "웨პ티드 링커"는 본 발명에 따르면 본 발명의 항체 구축물의 하나의(가변 및/또는 결합) 도메인 및 다른(가변 및/또는 결합) 도메인의 아미노산 서열이 서로 연결되는 아미노산 서열을 포함한다. 웨პ티드 링커는 또한 본 발명의 항체 구축물의 다른 도메인에 제3 도메인을 융합시키기 위해 사용될 수 있다. 이러한 웨პ티드 링커의 필수적인 기술적 특징은 그것이 임의의 중합 활성을 포함하지 않는다는 것이다. 적합한 웨პ티드 링커 중에는 미국 특허 4,751,180 및 4,935,233 또는 WO 88/09344에 기술된 것들이 있다. 웨პ티드 링커는 또한 본 발명의 항체 구축물에 다른 도메인 또는 모듈 또는 영역(예를 들어, 반감기 연장 도메인)을 부착시키기 위해 사용될 수 있다.

[0106] 본 발명의 항체 구축물은 바람직하게는 "시험관 내 생성된 항체 구축물"이다. 이 용어는 위의 정의에 따른 항체 구축물을 지칭하는데, 여기에서 가변 영역의 전부 또는 일부(예를 들어, 적어도 하나의 CDR)는 비면역 세포 선택, 예를 들어, 시험관 내 파지 디스플레이, 단백질 칩 또는 후보 서열을 항원에 결합하는 그들의 능력에 대해 시험할 수 있는 임의의 다른 방법으로 생성된다. 따라서, 이 용어는 바람직하게는 동물에서 면역 세포의 계놈 재배열에 의해서만 생성되는 서열을 제외한다. "재조합 항체"는 재조합 DNA 기술 또는 유전 공학의 사용을 통해 만들어진 항체이다.

[0107] 본 명세서에서 사용되는 용어 "단클론 항체"(mAb) 또는 단클론 항체 구축물은 실질적으로 균질한 항체의 집단으로부터 얻어지는 항체를 지칭하는데, 즉, 집단을 포함하는 개개 항체는 소량으로 존재할 수 있는 가능한 천연 유래 돌연변이 및/또는 번역 후 변형(예를 들어, 이성질체화, 아미드화)을 제외하고 동일하다. 단클론 항체는 고도로 특이적으로, 상이한 결정기(또는 에피토프)에 대하여 유도된 상이한 항체를 전형적으로 포함하는 통상적인 (다클론) 항체 제제와 대조적으로, 항원에서 단일 항원 측 또는 결정기에 대해 유도된다. 이들의 특이성에 더하여, 단클론 항체는 하이브리도마 배양에 의해 합성되어, 다른 면역글로불린에 의해 오염되지 않는다는 점에서 유리하다. 수식어 "단클론성"은 실질적으로 균질한 항체 집단으로부터 얻어지는 항체의 특징을 나타내며, 임의의 특정 방법에 의한 항체의 생산을 필요로 하는 것으로 해석되어서는 안 된다.

[0108] 단클론 항체의 제조를 위해, 연속적 세포주 배양에 의해 생산되는 항체를 제공하는 임의의 기법이 사용될 수 있다. 예를 들어, 사용되는 단클론 항체는 Koehler et al., Nature, 256: 495 (1975)에 의해 최초로 기술된 하이브리도마 방법에 의해 제조될 수 있거나, 재조합 DNA 방법에 의해 제조될 수 있다(예컨대, 미국 특허 번호 4,816,567 참조). 인간 단클론 항체를 생산하기 위한 추가적인 기법의 예는 트라이오마 기법, 인간 B-세포 하이브리도마 기법(Kozbor, Immunology Today 4 (1983), 72) 및 EBV-하이브리도마 기법(Cole et al., Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy, Alan R. Liss, Inc. (1985), 77-96)을 포함한다.

[0109] 그런 다음, 하이브리도마는 소정의 항원과 특이적으로 결합하는 항체를 생산하는 하나 이상의 하이브리도마를 확인하기 위해 표준 방법, 예를 들어 효소-결합 면역흡착 분석(ELISA) 및 표면 플라스몬 공명(BIACORE™) 분석을 사용하여 선별될 수 있다. 관련 항원의 임의 형태가 면역원, 예를 들어, 재조합 항원, 천연 유래 형태, 이의 임의의 변이체 또는 단편뿐만 아니라 이의 항원 웨პ티드로서 사용될 수 있다. 비아코어(BIAcore) 시스템에서 이 용되는 표면 플라스몬 공명은 표적 세포 표면 항원의 에피토프에 결합하는 파지 항체의 효율을 증가시키기 위해 사용될 수 있다(Schier, Human Antibodies Hybridomas 7 (1996), 97-105; Malmborg, J. Immunol. Methods 183 (1995), 7-13).

[0110] 단클론 항체를 제조하는 다른 예시적인 방법은 단백질 발현 라이브러리, 예를 들어, 파지 디스플레이 또는 리보

솜 디스플레이 라이브러리 선별을 포함한다. 과거 디스플레이는, 예를 들어 Ladner *et al.*, 미국 특허 번호 5,223,409; Smith (1985) Science 228:1315-1317, Clackson *et al.*, Nature, 352: 624-628 (1991) 및 Marks *et al.*, J. Mol. Biol., 222: 581-597 (1991)에 기술되어 있다.

[0111] 디스플레이 라이브러리의 사용에 더하여, 비인간 동물, 예를 들어, 설치류(예를 들어, 마우스, 햄스터, 토끼 또는 래트)를 면역화하기 위해 관련 항원이 사용될 수 있다. 일 구현예에서, 비인간 동물은 인간 면역글로불린 유전자의 적어도 일부를 포함한다. 예를 들어, 인간 Ig(면역글로불린) 좌위의 큰 단편을 가지고 마우스 항체 생산이 결핍된 마우스 혈통을 조작하는 것이 가능하다. 하이브리도마 기법을 사용하여, 요망되는 특이성을 갖는 유전자로부터 유래된 항원-특이적 단클론 항체가 생산되고 선택될 수 있다. 예를 들어, XENOMOUSE™, Green *et al.* (1994) Nature Genetics 7:13-21, US 2003-0070185, WO 96/34096, 및 WO 96/33735 참조.

[0112] 단클론 항체는 또한 비인간 동물로부터 얻어질 수 있고, 이어서, 당해 분야에 공지된 재조합 DNA 기법을 사용하여 변형, 예를 들어 인간화, 탈면역화, 키메라 등으로 될 수 있다. 변형된 항체 구축물의 예에는 비인간 항체의 인간화 변이체, "친화도 성숙" 항체(예를 들어, Hawkins *et al.* J. Mol. Biol. 254, 889-896 (1992) 및 Lowman *et al.*, Biochemistry 30, 10832- 10837 (1991) 참조) 및 변경된 효과기 기능(들)을 갖는 항체 돌연변이체(예를 들어, 미국 특허 5,648,260, 인용된 Kontermann and Dübel (2010) 및 인용된 Little (2009) 참조)가 포함된다.

[0113] 면역학에서, 친화도 성숙은 B 세포가 면역 반응의 과정 동안 항원에 대해 증가된 친화도를 갖는 항체를 생성하는 과정이다. 동일한 항원에 대한 반복적인 노출로, 숙주는 연속적으로 더 큰 친화도의 항체를 생산할 것이다. 천연 표현형과 마찬가지로, 시험관 내 친화도 성숙은 돌연변이 및 선택의 원칙을 기반으로 한다. 시험관 내 친화도 성숙은 항체, 항체 구축물, 및 항체 단편을 최적화하기 위해 성공적으로 사용되었다. CDR 내부의 무작위 돌연변이는 방사선, 화학적 돌연변이원 또는 오류 유발 PCR을 이용하여 도입된다. 추가로, 유전자 다양성은 쇄셔플링에 의해 증가될 수 있다. 과거 디스플레이와 같은 디스플레이 방법을 이용하는 돌연변이 및 선택의 2 또는 3회 라운드는 보통 낮은 나노몰 범위에서 친화도를 갖는 항체 단편을 초래한다.

[0114] 항체 구축물의 아미노산 치환 변이의 바람직한 유형은 모 항체(예를 들어, 인간화 또는 인간 항체)의 하나 이상의 초기번 영역 잔기를 치환시키는 것을 포함한다. 일반적으로, 추가적인 개발을 위해 선택되는 생성된 변이체(들)는 이들이 생성된 모 항체에 비해 개선된 생물학적 특성을 가질 것이다. 이러한 치환 변이체를 생성하기 위한 편리한 방식은 과거 디스플레이를 사용한 친화도 성숙을 포함한다. 간략하게는, 몇 개의 초기번 영역 측(예를 들어, 6 내지 7개 측)이 각각의 측에서 모든 가능한 아미노산 치환을 생성하도록 돌연변이된다. 이렇게 생성된 항체 변이체는 각각의 입자 내에서 패키징된 M13의 유전자 III 산물에 대한 융합물로서 섬유상 과거 입자로부터 1가 방식으로 디스플레이된다. 이어서, 과거-디스플레이된 변이체는 본 명세서에 개시된 바와 같이 그들의 생물학적 활성(예를 들어, 결합 친화도)에 대해 선별된다. 변형을 위한 후보 초기번 영역 측을 확인하기 위해, 항원 결합에 상당히 기여하는 초기번 영역 잔기를 확인하도록 알라닌 스캐닝 돌연변이 유발이 수행될 수 있다. 대안적으로, 또는 추가적으로, 결합 도메인과, 예를 들어 인간 표적 세포 표면 항원 사이의 접점을 확인하기 위해 항원-항체 복합체의 결정 구조를 분석하는 것이 유리할 수 있다. 이러한 접촉 잔기 및 이웃하는 잔기는 본 명세서에서 상술한 기법에 따른 치환에 대한 후보이다. 일단 이러한 변이체가 생성되면, 변이체의 패널은 본 명세서에 기술되는 바와 같이 선별을 거치고, 하나 이상의 관련 분석에서 우수한 특성을 갖는 항체가 추가 개발을 위해 선택될 수 있다.

[0115] 본 발명의 단클론 항체 및 항체 구축물은 구체적으로, 중쇄 및/또는 경쇄의 일부가 특정 종으로부터 유래되거나 특정 항체 클래스 또는 서브클래스에 속하는 항체에서의 상응하는 서열과 동일하거나 이와 상동성인 한편, 이들이 요망되는 생물학적 활성을 나타내는 한, 쇄(들)의 나머지가 다른 종으로부터 유래되거나 다른 항체 클래스 또는 서브클래스에 속하는 항체뿐만 아니라 이러한 항체의 단편에서의 상응하는 서열과 동일하거나 이와 상동성인, "키메라" 항체(면역글로불린)를 포함한다(미국 특허 번호 4,816,567; Morrison *et al.*, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 81: 6851-6855 (1984)). 본 명세서에서 관심 대상의 키메라 항체는 비인간 영장류(예를 들어, 긴 꼬리 원숭이, 유인원 등) 및 인간 불변 영역 서열로부터 유래된 가변 도메인 항원-결합 서열을 포함하는 "영장류화된" 항체를 포함한다. 키메라 항체를 제조하기 위한 다양한 접근이 기재되었다. 예컨대, Morrison *et al.*, Proc. Natl. Acad. Sci U.S.A. 81:6851 , 1985; Takeda *et al.*, Nature 314:452, 1985, Cabilly *et al.*, 미국 특허 번호 4,816,567; Boss *et al.*, 미국 특허 번호 4,816,397; Tanaguchi *et al.*, EP 0171496; EP 0173494; 및 GB 2177096 참조.

[0116] 항체, 항체 구축물, 항체 단편 또는 항체 변이체는 또한, 예를 들어 WO 98/52976 또는 WO 00/34317에 개시된 방

법으로 인간 T 세포 에피토프의 특정 결실("탈면역화"로 불리는 방법)에 의해 변형될 수 있다. 간략하게, 항체의 중쇄 및 경쇄 가변 도메인은 MHC 클래스 II에 결합하는 웨티드에 대해 분석될 수 있고; 이를 웨티드는 잠재적 T 세포 에피토프를 나타낸다(WO 98/52976 및 WO 00/34317에 나타낸 바와 같음). 잠재적 T 세포 에피토프의 검출을 위해, "웨티드 스레딩(threading)"으로 지칭되는 컴퓨터 모델링 접근법이 적용될 수 있고, 추가로 인간 MHC 클래스 II 결합 웨티드의 데이터베이스를 WO 98/52976 및 WO 00/34317에 기술된 바와 같이 VH 및 VL 서열에 존재하는 모티프에 대해 검색할 수 있다. 이를 모티프는 임의의 18개 주요 MHC 클래스 II DR 알로타입에 결합하고, 따라서 잠재적 T 세포 에피토프를 구성한다. 검출된 잠재적 T 세포 에피토프는 가변 도메인에서 소수의 아미노산 잔기를 치환함으로써, 또는 바람직하게는, 단일 아미노산 치환에 의해 제거될 수 있다. 전형적으로, 보존적 치환이 이루어진다. 종종, 배타적으로는 아니지만, 인간 생식계열 항체 서열 내 위치에 공통적인 아미노산이 사용될 수 있다. 인간 생식계열 서열은 예컨대, Tomlinson, et al. (1992) J. Mol. Biol. 227:776-798; Cook, G.P. et al. (1995) Immunol. Today Vol. 16 (5): 237-242; 및 Tomlinson et al. (1995) EMBO J. 14: 14:4628-4638에 개시되어 있다. V BASE 디렉토리는 인간 면역글로불린 가변 영역 서열의 포괄적인 디렉토리를 제공한다(Tomlinson, LA. et al.에 의해 편집, MRC Centre for Protein Engineering, 영국 케임브리지 소재). 이를 서열은 인간 서열, 예를 들어, 프레임워크 영역 및 CDR에 대한 공급원으로서 사용될 수 있다. 예를 들어, 미국 특허 번호 6,300,064에 기술된 바와 같이, 공통 인간 프레임워크 영역이 또한 사용될 수 있다.

[0117]

"인간화" 항체, 항체 구축물, 변이체 또는 이의 단편(예를 들어 Fv, Fab, Fab', F(ab')2 또는 항체의 다른 항원 결합 하위서열)은 비인간 면역글로불린으로부터 유래된 최소 서열(들)을 포함하는 대부분 인간 서열의 항체 또는 면역글로불린이다. 대부분의 경우, 인간화 항체는 수용자의 초가변 영역(또한 CDR)으로부터의 잔기가 요망되는 특이성, 친화도 및 능력을 갖는 비인간(예를 들어, 설치류) 종(공여자 항체), 예를 들어 마우스, 래트, 햄스터 또는 토끼의 초가변 영역으로부터의 잔기로 교체되는 인간 면역글로불린(수용자 항체)이다. 일부 예에서, 인간 면역글로불린의 Fv 프레임워크 영역(FR) 잔기가 상응하는 비인간 잔기로 교체된다. 더 나아가, 본 명세서에 사용되는 바와 같은 "인간화 항체"는 또한 수용자 항체에서도 공여자 항체에서도 발견되지 않는 잔기를 포함할 수 있다. 이를 변형은 항체 성능을 추가로 개선하고 최적화하기 위해 이루어진다. 인간화 항체는 또한, 전형적으로 인간 면역글로불린의 것인, 면역글로불린 불변 영역(Fc)의 적어도 일부를 포함할 수 있다. 추가 세부사항은 Jones et al., Nature, 321: 522-525 (1986); Reichmann et al., Nature, 332: 323-329 (1988); 및 Presta, Curr. Op. Struct. Biol., 2: 593-596(1992) 참조.

[0118]

인간화 항체 또는 이의 단편은 항원 결합에 직접적으로 수반되지 않는 Fv 가변 도메인의 서열을 인간 Fv 가변 도메인으로부터의 동등한 서열로 교체함으로써 생성될 수 있다. 예시적인 인간화 항체 또는 이의 단편의 생성 방법은 Morrison (1985) Science 229:1202-1207; Oi et al. (1986) BioTechniques 4:214; 및 US 5,585,089; US 5,693,761; US 5,693,762; US 5,859,205; 및 US 6,407,213에 의해 제공된다. 이를 방법은 중쇄 또는 경쇄 중 적어도 하나로부터의 면역글로불린 Fv 가변 도메인의 전부 또는 일부를 암호화하는 핵산 서열을 분리하고, 조작하고 발현시키는 것을 포함한다. 이러한 핵산은 위에 기술한 바와 같이, 사전 결정된 표적에 대해서뿐만 아니라 다른 공급원으로부터의 항체를 생산하는 하이브리도마로부터 얻을 수 있다. 그런 다음, 인간화 항체 분자를 암호화하는 재조합 DNA는 적절한 발현 벡터로 클로닝될 수 있다.

[0119]

인간화 항체는 또한 인간 중쇄 및 경쇄 유전자를 발현하지만, 내인성 마우스 면역글로불린 중쇄 및 경쇄 유전자를 발현할 수 없는 마우스와 같은 유전자이식 동물을 사용하여 생산될 수 있다. 윈터(Winter)는 본 명세서에 기술되는 인간화 항체를 제조하기 위해 사용될 수 있는 예시적인 CDR 접합 방법을 기술한다(미국 특허 번호 5,225,539). 특정 인간 항체의 모든 CDR은 비인간 CDR의 적어도 일부로 교체될 수 있거나, 단지 일부의 CDR이 비인간 CDR로 교체될 수 있다. 단지 사전 결정된 항원에 대한 인간화 항체의 결합에 요구되는 수의 CDR을 교체하는 것이 필요하다.

[0120]

인간화 항체는 보존적 치환, 공통 서열 치환, 생식계열 치환 및/또는 역돌연변이의 도입에 의해 최적화될 수 있다. 이렇게 변경된 면역글로불린 분자는 당해 분야에 공지된 임의의 여러 기법에 의해 제조될 수 있다(예컨대, Teng et al., Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 80: 7308-7312, 1983; Kozbor et al., Immunology Today, 4: 7279, 1983; Olsson et al., Meth. Enzymol., 92: 3-16, 1982, 및 EP 239 400).

[0121]

용어 "인간 항체", "인간 항체 구축물" 및 "인간 결합 도메인"은, 예를 들어 Kabat et al. (1991)(앞서의 인용문헌)에 의해 기술된 것을 포함하는, 당해 분야에 공지된 인간 생식계열 면역글로불린 서열에 실질적으로 상응하는 가변 및 불변 영역 또는 도메인과 같은 항체 영역을 갖는 항체, 항체 구축물 및 결합 도메인을 포함한다. 본 발명의 인간 항체, 항체 구축물 또는 결합 도메인은, 예를 들어 CDR에서, 그리고 특히 CDR3에서 인간 생식계열 면역글로불린 서열에 의해 암호화되지 않은 아미노산 잔기(예를 들어, 시험관 내 무작위 또는 부위-특이적

돌연변이 유발에 의하거나 생체 내 체세포 돌연변이에 의해 도입되는 돌연변이)를 포함할 수 있다. 인간 항체, 항체 구축물 또는 결합 도메인은 인간 생식계열 면역글로불린 서열에 의해 암호화되지 않는 아미노산 잔기로 교체되는 적어도 1, 2, 3, 4, 또는 5개 이상의 위치를 가질 수 있다. 그러나 본 명세서에서 사용되는 인간 항체, 항체 구축물 및 결합 도메인의 정의는 또한, 제노마우스(Xenomouse)와 같은 기술 또는 시스템을 사용함으로써 유도될 수 있는 것으로서 항체의 비인공 및/또는 유전적으로 변경된 인간 서열만을 포함하는 "완전 인간 항체"를 고려한다. 바람직하게는, "완전 인간 항체"는 인간 생식계열 면역글로불린 서열에 의해 암호화되지 않는 아미노산 잔기를 포함하지 않는다.

[0122] 일부 구현예에서, 본 발명의 항체 구축물은 "단리된" 또는 "실질적으로 순수한" 항체 구축물이다. 본 명세서에 개시되는 항체 구축물을 기술하기 위해 사용될 때, "분리된" 또는 "실질적으로 순수한"은 이의 생산 환경의 구성요소로부터 확인, 분리 및/또는 회수된 항체 구축물을 의미한다. 바람직하게는, 항체 구축물은 이의 생산 환경으로부터의 모든 다른 구성요소와 관련이 없거나 실질적으로 없다. 이의 생산 환경의 오염성 구성요소, 예를 들어 재조합 형질감염 세포로부터 초래된 것은 폴리펩티드에 대한 진단 또는 치료 용도를 전형적으로 방해할 물질이고, 효소, 호르몬 및 다른 단백질성 또는 비단백질성 용질을 포함할 수 있다. 항체 구축물은 주어진 샘플에서, 예를 들어 총 단백질의 적어도 약 5 중량%, 또는 적어도 약 50 중량%를 구성할 수 있다. 단리된 단백질은 환경에 따라 총 단백질 함량의 5 내지 99.9 중량%를 구성할 수 있음이 이해된다. 폴리펩티드는 그것이 증가된 농도 수준으로 만들어지도록 유도성 프로모터 또는 고발현 프로모터의 사용을 통해 상당히 더 높은 농도로 만들어질 수 있다. 본 정의는 당해 분야에 공지된 매우 다양한 유기체 및/또는 숙주 세포에서의 항체 구축물의 생산을 포함한다. 바람직한 구현예에서, 항체 구축물은 (1) 스피닝 컵 서열분석장치(sequenator)의 사용에 의해 N-말단의 또는 내부 아미노산 서열의 적어도 15개 잔기를 얻기에 충분한 정도로, 또는 (2) 쿠마시 블루 또는, 바람직하게는 은 염색을 사용하는 비활원 또는 활원 조건 하에서의 SDS-PAGE에 의한 균질성 정도로 정제될 것이다. 그러나, 보통 단리된 항체 구축물은 적어도 하나의 정제 단계에 의해 제조될 것이다.

[0123] 용어 "결합 도메인"은 본 발명과 관련하여 각각 표적 분자(항원), 예를 들어 CD33 및 CD3에서 주어진 표적 애피토프 또는 주어진 표적 측에 (특이적으로) 결합하고/이와 상호작용하고/이를 인식하는 도메인을 특성화한다. (예를 들어, CD3을 인식하는) 제1 결합 도메인의 구조 및 기능, 그리고 바람직하게는 또한 (CD3을 인식하는) 제2 결합 도메인의 구조 및/또는 기능은 항체의, 예를 들어, 전장 또는 전체 면역글로불린 분자의 구조 및/또는 기능을 기반으로 하고/하거나, 항체 또는 이의 단편의 가변 중쇄(VH) 및/또는 가변 경쇄(VL) 도메인으로부터 유도된다. 바람직하게는, 제1 결합 도메인은 3개의 경쇄 CDR(즉, VL 영역의 CDR1, CDR2 및 CDR3) 및/또는 3개의 중쇄 CDR(즉, VH 영역의 CDR1, CDR2 및 CDR3)의 존재를 특징으로 한다. 제2 결합 도메인은 바람직하게는 또한 표적 결합을 허용하는 항체의 최소한의 구조적 요건을 포함한다. 더욱 바람직하게는, 제2 결합 도메인은 적어도 3개의 경쇄 CDR(즉, VL 영역의 CDR1, CDR2 및 CDR3) 및/또는 3개의 중쇄 CDR(즉, VH 영역의 CDR1, CDR2 및 CDR3)을 포함한다. 제1 및/또는 제2 결합 도메인은 이미 존재하는 (단클론) 항체로부터의 CDR 서열을 스캐폴드에 접합시키기보다는 파지-디스플레이 또는 라이브러리 선별 방법에 의해 생산되거나 얻어질 수 있을 것으로 고려된다.

[0124] 본 발명에 따르면, 결합 도메인은 하나 이상의 폴리펩티드의 형태이다. 이러한 폴리펩티드는 단백질 부분 및 비단백질 부분(예를 들어, 글루타르알데히드와 같은 화학적 링커 또는 화학적 가교제)을 포함할 수 있다. (보통 30개 미만의 아미노산을 갖는 이의 단편, 바람직하게는 생물학적으로 활성인 단편 및 웨პ티드를 포함하는) 단백질은 공유 웨პ티드 결합을 통해 서로 결합되는 2개 이상의 아미노산을 포함한다(아미노산 쇄를 초래함).

[0125] 본 명세서에서 사용되는 용어 "폴리펩티드"는 통상적으로 30개 초과의 아미노산으로 구성되는 분자의 군을 기술한다. 폴리펩티드는 추가로 다량체, 예를 들어 이량체, 삼량체 및 더 고차의 올리고머를 형성할 수 있고, 즉, 하나 초과의 폴리펩티드 분자로 구성된다. 이러한 이량체, 삼량체 등을 형성하는 폴리펩티드 분자는 동일하거나 동일하지 않을 수 있다. 이러한 다량체의 상응하는 더 고차의 구조는, 결과적으로 호모- 또는 혜테로이량체, 호모- 또는 혜테로삼량체 등으로 지정된다. 혜테로다량체의 예는, 이의 천연적으로 존재하는 형태에서 2개의 동일한 폴리펩티드 경쇄 및 2개의 동일한 폴리펩티드 중쇄로 구성되는 항체 분자이다. 용어 "웨პ티드", "폴리펩티드" 및 "단백질"은 또한 천연적으로 변형된 웨პ티드/폴리펩티드/단백질을 지칭하는데, 여기에서 변형은, 예를 들어 글리코실화, 아세틸화, 인산화 등과 같은 번역 후 번역에 의해 시행된다. "웨პ티드", "폴리펩티드" 또는 "단백질"은 본 명세서에서 지칭될 때 페길화(pegylated)와 같이 화학적으로 변형될 수도 있다. 이러한 변형은 당해 분야에 잘 알려져 있고, 본 명세서에서 이하에 기술된다.

[0126] 바람직하게는 표적 세포 표면 항원에 결합하는 결합 도메인 및/또는 CD3 ε에 결합하는 결합 도메인은 인간 결합 도메인이다. 적어도 하나의 인간 결합 도메인을 포함하는 항체 및 항체 구축물은 설치류(예를 들어, 뮤린,

래트, 햄스터 또는 토끼)와 같은 비인간 가변 및/또는 불변 영역을 갖는 항체 또는 항체 구축물과 관련된 일부 문제를 피할 수 있다. 이러한 설치류 유래 단백질의 존재는 항체 또는 항체 구축물의 신속한 제거를 야기할 수 있거나 환자에 의한 항체 또는 항체 구축물에 대한 면역 반응의 생성을 초래할 수 있다. 설치류 유래 항체 또는 항체 구축물의 사용을 피하기 위해, 인간 또는 완전 인간 항체/항체 구축물은 설치류가 완전 인간 항체를 생산하도록 설치류에 인간 항체 기능을 도입하는 것을 통해 생성될 수 있다.

[0127] YAC에서 메가베이스-크기 인간 좌위를 클로닝 및 재구성하고, 이들을 마우스 생식계열로 도입하는 능력은 매우 크거나 조잡하게 매핑된 좌위의 기능적 구성요소를 설명하는 것뿐만 아니라 인간 질환의 유용한 모델을 생성하는 것에 대한 강력한 접근법을 제공한다. 더 나아가, 마우스 좌위를 이들의 인간 동등물로 치환하기 위해 이러한 기술을 사용하는 것은 개발하는 동안 인간 유전자 산물의 발현 및 조절, 이들의 다른 시스템과의 소통, 그리고 질환 유도 및 진행에서 이들의 관여에 대한 독특한 통찰을 제공할 수 있다.

[0128] 이러한 전략의 중요한 실용적인 적용은 마우스 체액 면역계의 "인간화"이다. 내인성 Ig 유전자가 불활성화된 마우스 내로 인간 면역글로불린(Ig) 좌위를 도입하는 것은 프로그래밍된 항체의 발현 및 조립의 기저를 이루는 기전뿐만 아니라 B-세포 발생에서 이들의 역할을 연구하는 기회를 제공한다. 더 나아가, 이러한 전략은 완전 인간 단클론 항체(mAb)의 생산 - 인간 질환에서 항체 요법의 가능성 충족을 향한 중요한 단계를 위한 이상적인 공급원을 제공할 수 있다. 완전 인간 항체 또는 항체 구축물은 마우스 또는 마우스-유도체화된 mAb에 대한 고유의 면역원성 및 알레르기 반응을 최소화하고, 따라서 투여된 항체/항체 구축물의 효능 및 안전성을 증가시킬 것으로 예상된다. 완전 인간 항체 또는 항체 구축물의 사용은 반복된 화합물 투여가 필요한 만성 및 재발성 인간 질환, 예를 들어 염증, 자가면역, 및 암의 치료에서 실질적인 이점을 제공할 것으로 예상될 수 있다.

[0129] 이 목적을 향한 하나의 접근법은 마우스 항체의 부재 하에 이러한 마우스가 인간 항체의 큰 레퍼토리를 생산하도록 기대하면서, 인간 Ig 좌위의 큰 단편을 가지고 마우스 항체 생산이 결핍된 마우스 혈통을 조작하는 것이다. 큰 인간 Ig 단편은 큰 가변 유전자 다양성뿐만 아니라 항체 생산 및 발현의 적절한 조절을 보존할 것이다. 항체 다양화 및 선택을 위한 마우스 기작 및 인간 단백질에 대한 면역학적 용인의 결여를 이용함으로써, 이들 마우스 혈통에서 복제된 인간 항체 레퍼토리는 인간 항원을 포함하는 임의의 관심 대상 항원에 대해 고친화도 항체를 산출할 것이다. 하이브리도마 기술을 사용하여, 요망되는 특이성을 갖는 항원-특이적 인간 mAb가 쉽게 생산 및 선택될 수 있다. 이러한 전반적 전략은 최초 제노마우스(XenoMouse) 마우스 혈통의 생성과 관련하여 입증되었다(Green et al. Nature Genetics 7:13-21 (1994) 참조). 제노마우스 혈통은 코어 가변 및 불변 영역 서열을 포함하는, 각각 인간 중쇄 좌위 및 카파 경쇄 좌위의 245 kb 및 190 kb-크기 생식계열 배열 단편을 포함하는 효모 인공 염색체(YAC)를 가지고 조작되었다. 인간 Ig를 포함하는 YAC는 항체의 재배열과 발현 둘 다를 위한 마우스 시스템에 적합한 것으로 증명되었고, 비활성화된 마우스 Ig 유전자를 치환할 수 있었다. 이는 B 세포 발생을 유도하고, 완전 인간 항체의 성인-유사 인간 레퍼토리를 생산하고, 항원-특이적 인간 mAb를 생성하는 이들의 능력에 의해 입증되었다. 이들 결과는 또한 더 많은 수의 V 유전자, 추가적인 조절 요소, 및 인간 Ig 불변 영역을 포함하는 인간 Ig 좌위의 더 큰 부분의 도입이, 감염 및 면역화에 대한 인간 체액성 반응을 특징으로 하는 실질적으로 완전한 레퍼토리를 개발할 수 있을 것임을 시사하였다. Green 등의 작업은 최근에 각각 인간 중쇄 좌위 및 카파 경쇄 좌위의 메가베이스 크기의, 생식계열 배열 YAC 단편의 도입을 통해 인간 항체 레퍼토리의 대략 80%보다 더 큰 도입으로 확장되었다. 문헌[Mendez et al. Nature Genetics 15:146-156 (1997)] 및 미국 특허 출원 제08/759,620호 참조.

[0130] 제노마우스 마우스의 생산은 미국 특허 출원 일련번호 07/466,008, 일련번호 07/610,515, 일련번호 07/919,297, 일련번호 07/922,649, 일련번호 08/031,801, 일련번호 08/112,848, 일련번호 08/234,145, 일련번호 08/376,279, 일련번호 08/430,938, 일련번호 08/464,584, 일련번호 08/464,582, 일련번호 08/463,191, 일련번호 08/462,837, 일련번호 08/486,853, 일련번호 08/486,857, 일련번호 08/486,859, 일련번호 08/462,513, 일련번호 08/724,752, 및 일련번호 08/759,620; 및 미국 특허 번호 6,162,963; 6,150,584; 6,114,598; 6,075,181, 및 5,939,598, 및 일본 특허 번호 3 068 180 B2, 3 068 506 B2, 및 3 068 507 B2에서 더 논의되고 기술되어 있다. 또한, Mendez et al. Nature Genetics 15:146-156 (1997) 및 Green and Jakobovits J. Exp. Med. 188:483-495 (1998), EP 0 463 151 B1, WO 94/02602, WO 96/34096, WO 98/24893, WO 00/76310, 및 WO 03/47336 참조.

[0131] 대안적인 접근법에서, 젠팜 인터내셔널 인코포레이티드(GenPharm International, Inc.)를 포함하는 다른 것들은 "미니좌위(minilocus)" 접근법을 이용하였다. 미니좌위 접근법에서, 외인성 Ig 좌위는 Ig 좌위로부터의 조각(개개 유전자)의 포함을 통해 모방된다. 따라서, 하나 이상의 VH 유전자, 하나 이상의 DH 유전자, 하나 이상의 JH 유전자, 뮤 불변 영역, 및 제2 불변 영역(바람직하게는 감마 불변 영역)은 동물 내로의 삽입을 위한 구축물로

형성된다. 이러한 접근법은 Surani 등의 미국 특허 번호 5,545,807 및 각각 Lonberg와 Kay의 미국 특허 번호 5,545,806; 5,625,825; 5,625,126; 5,633,425; 5,661,016; 5,770,429; 5,789,650; 5,814,318; 5,877,397; 5,874,299; 및 6,255,458, Krimpenfort와 Berns의 미국 특허 번호 5,591,669 및 6,023,010, Berns 등의 미국 특허 번호 5,612,205; 5,721,367; 및 5,789,215, 및 Choi와 Dunn의 미국 특허 번호 5,643,763, 및 젠팜 인터내셔널 미국 특허 출원 일련번호 07/574,748, 일련번호 07/575,962, 일련번호 07/810,279, 일련번호 07/853,408, 일련번호 07/904,068, 일련번호 07/990,860, 일련번호 08/053,131, 일련번호 08/096,762, 일련번호 08/155,301, 일련번호 08/161,739, 일련번호 08/165,699, 일련번호 08/209,741에 기술되어 있다. 또한 유럽 특허 제0 546 073 B1호, WO 92/03918, WO 92/22645, WO 92/22647, WO 92/22670, WO 93/12227, WO 94/00569, WO 94/25585, WO 96/14436, WO 97/13852, 및 WO 98/24884 및 미국 특허 제 5,981,175호 참조. 또한, Taylor *et al.* (1992), Chen *et al.* (1993), Tuailion *et al.* (1993), Choi *et al.* (1993), Lonberg *et al.* (1994), Taylor *et al.* (1994), 및 Tuailion *et al.* (1995), Fishwild *et al.* (1996) 참조.

[0132] 기린(Kirin)은 또한, 마이크로셀 융합을 통해 거대 조각의 염색체 또는 전체 염색체가 도입된 마우스로부터의 인간 항체의 생성을 증명하였다. 유럽 특허 출원 번호 773 288 및 843 961 참조. 제네렉스 바이오사이언시즈 (Xenerex Biosciences)는 인간 항체의 잠재적 생성을 위한 기술을 개발 중에 있다. 이 기술에서, SCID 마우스는 인간 림프 세포, 예를 들어, B 및/또는 T 세포로 재구성된다. 이어서, 마우스는 항원으로 면역화되고 이 항원에 대한 면역 반응을 생성할 수 있다. 미국 특허 번호 5,476,996; 5,698,767; 및 5,958,765 참조.

[0133] 인간 항-마우스 항체(HAMA) 반응은 키메라 또는 달리 인간화 항체를 제조하기 위한 산업으로 이어졌다. 그러나 특정 인간 항-키메라 항체(HACA) 반응은 특히 항체의 만성 또는 다회 용량 이용에서 관찰될 것으로 예상된다. 따라서, HAMA 또는 HACA 반응의 우려 및/또는 영향을 떨어뜨리기 위해 표적 세포 표면 항원에 대한 인간 결합 도메인 및 CD3 ε에 대한 인간 결합 도메인을 포함하는 항체 구축물을 제공하는 것이 바람직할 것이다.

[0134] 용어 "에 (특이적으로) 결합한다", "(특이적으로) 인식한다", "로 (특이적으로) 지시된다", 및 "와 (특이적으로) 반응한다"는 본 발명에 따르면 결합 도메인이 표적 분자(항원)(본 명세서에서: 각각 표적 세포 표면 항원 및 CD3 ε)에서 주어진 에피토프 또는 주어진 표적 측과 상호작용하거나 특이적으로 상호작용하는 것을 의미한다.

[0135] 용어 "에피토프"는 결합 도메인, 예를 들어 항체 또는 면역글로불린, 또는 항체 또는 면역글로불린의 유도체, 단편 또는 변이체가 특이적으로 결합하는 항원 측을 지칭한다. "에피토프"는 항원성이며, 따라서 용어 에피토프는 때때로 본 명세서에서 "항원 구조" 또는 "항원 결정기"로도 지칭된다. 따라서, 결합 도메인은 "항원 상호작용 측"이다. 상기 결합/상호작용은 또한 "특이적 인식"을 정의하는 것으로 이해된다.

[0136] "에피토프"는 인접 아미노산 또는 단백질의 3차 접힘에 의해 나란히 놓이는 비인접 아미노산 둘 다에 의해 형성될 수 있다. "선형 에피토프"는 아미노산 1차 서열이 인식된 에피토프를 포함하는 에피토프이다. 선형 에피토프는 독특한 서열에서 전형적으로 적어도 3 또는 적어도 4, 그리고 보통 적어도 5 또는 적어도 6 또는 적어도 7, 예를 들어, 약 8 내지 약 10개의 아미노산을 포함한다.

[0137] 선형 에피토프와 대조적으로 "입체형태 에피토프"는 에피토프를 포함하는 아미노산의 1차 서열이 인식된 에피토프를 유일하게 정의하는 구성요소가 아닌 에피토프(예를 들어, 아미노산의 1차 서열이 결합 도메인에 의해 반드시 인식되지는 않는 에피토프)이다. 전형적으로 입체형태 에피토프는 선형 에피토프에 비해 증가된 수의 아미노산을 포함한다. 입체형태 에피토프의 인식에 대해서는, 결합 도메인이 항원, 바람직하게는 웹티드 또는 단백질 또는 이의 단편의 3차원 구조를 인식한다(본 발명의 맥락에서, 결합 도메인 중 하나에 대한 항원 구조는 표적 세포 표면 항원 단백질 내에 포함됨). 예를 들어, 단백질 분자가 3차원 구조를 형성하기 위해 접힐 때, 입체형태 에피토프를 형성하는 특정 아미노산 및/또는 폴리펩ти드 골격은 항체가 에피토프를 인식하는 것을 가능하게 하도록 나란히 놓이게 된다. 에피토프의 입체형태를 결정하는 방법은 x-선 결정학, 2차원 핵 자기 공명(2D-NMR) 분광학 및 부위 지정 스픬 표지법 및 전자 상자성 공명(electron paramagnetic resonance: EPR) 분광학을 포함하지만, 이로 한정되지 않는다.

[0138] 에피토프 매핑을 위한 방법은 다음에 기술된다: 인간 표적 세포 표면 항원 단백질에서 영역(인접 아미노산 스트레치(stretch))이 비인간 및 비영장류 표적 세포 표면 항원(예를 들어, 마우스 표적 세포 표면 항원, 그러나 닭, 래트, 햄스터, 토끼 등과 같은 다른 것들 또한 예상할 수 있음)의 이의 상응하는 영역으로 교환/교체될 때, 사용된 비인간, 비영장류 표적 세포 표면 항원에 대해 결합 도메인이 교차반응성을 나타내지 않는 한, 결합 도메인의 결합 저하가 일어날 것으로 예상된다. 상기 저하는 바람직하게는 인간 표적 세포 표면 항원 단백질에서 각각의 영역에 대한 결합에 비해 적어도 10%, 20%, 30%, 40%, 또는 50%; 더욱 바람직하게는 적어도 60%, 70%,

또는 80%, 그리고 가장 바람직하게는 90%, 95% 또는 심지어 100%이고, 이에 의해 인간 표적 세포 표면 항원 단백질에서 각각의 영역에 대한 결합은 100%로 설정된다. 전술한 인간 표적 세포 표면 항원/비인간 표적 세포 표면 항원 키메라는 CHO 세포에서 발현되는 것으로 고려된다. 또한, 인간 표적 세포 표면 항원/비인간 표적 세포 표면 항원 키메라는 EpCAM과 같은 상이한 막-결합 단백질의 막관통 도메인 및/또는 세포질 도메인과 융합되는 것으로 고려된다.

[0139] 에피토프 매핑을 위한 대안적인 또는 추가 방법에서, 결합 도메인에 의해 인식되는 특정 영역을 결정하기 위해 인간 표적 세포 표면 항원 세포 외 도메인의 몇 가지 결단된 형태가 생성될 수 있다. 이를 결단된 형태에서, 상이한 세포 외 표적 세포 표면 항원 도메인/하위-도메인 또는 영역은 N-말단으로부터 시작해서 단계적으로 결합된다. 결단된 표적 세포 표면 항원 형태는 CHO 세포에서 발현될 수 있는 것으로 고려된다. 또한, 결단된 표적 세포 표면 항원 형태는 EpCAM과 같은 상이한 막-결합 단백질의 막관통 도메인 및/또는 세포질 도메인과 융합될 수 있는 것으로 고려된다. 또한, 결단된 표적 세포 표면 항원 형태는 이들의 N-말단에서 신호 웨티드 도메인, 예를 들어 마우스 IgG 중쇄 신호 웨티드로부터 유래된 신호 웨티드를 포함할 수 있는 것으로 고려된다. 더 나아가, 결단된 표적 세포 표면 항원 형태는 이들의 N-말단에서 (신호 웨티드 다음) 세포 표면에서의 이들의 정확한 발현을 입증하는 것을 허용하는 v5 도메인을 포함할 수 있는 것으로 고려된다. 결합의 저하 또는 손실은 결합 도메인에 의해 인식되는 표적 세포 표면 항원 영역을 더 이상 포함하지 않는 이들 결단된 표적 세포 표면 항원 형태에서 일어나는 것으로 예상된다. 결합의 저하는 바람직하게는 적어도 10%, 20%, 30%, 40%, 50%; 더욱 바람직하게는 적어도 60%, 70%, 80%, 그리고 가장 바람직하게는 90%, 95% 또는 심지어 100%이며, 이에 의해 전체 인간 표적 세포 표면 항원 단백질(또는 이의 세포 외 영역 또는 도메인)에 대한 결합은 100으로 설정된다.

[0140] 항체 구축물 또는 결합 도메인에 의한 인식에 대한 표적 세포 표면 항원의 특정 잔기의 기여를 결정하는 추가 방법은 알라닌 스캐닝(예컨대, Morrison KL & Weiss GA. Cur Opin Chem Biol. 2001 Jun;5(3):302-7 참조)으로, 여기서 분석되는 각각의 잔기는 예컨대, 부위 특이적 돌연변이 유도를 통해, 알라닌으로 교체된다. 알라닌은 부피가 크지 않고, 화학적으로 불활성인, 메틸 작용기(그럼에도 불구하고 다수의 다른 아미노산이 보유하는 2차 구조 기준을 모방함) 덕분에 사용된다. 때때로, 발린 또는 류신과 같이 부피가 큰 아미노산은 돌연변이 잔기의 크기 보존이 요망되는 경우에 사용될 수 있다. 알라닌 스캐닝은 오랜 기간 사용된 발달된 기술이다.

[0141] 결합 도메인과 에피토프 또는 에피토프를 포함하는 영역 사이의 상호작용은 결합 도메인이 특정 단백질 또는 항원(본 명세서에서: 각각 표적 세포 표면 항원 및 CD3)에서 에피토프/에피토프를 포함하는 영역에 대한 주목할 만한 친화도를 나타내고, 일반적으로, 표적 세포 표면 항원 또는 CD3 이외의 단백질 또는 항원과 유의미한 반응성을 나타내지 않음을 시사한다. "주목할 만한 친화도"는 약  $10^{-6}$  M(KD) 또는 더 강한 친화도로 결합하는 것을 포함한다. 바람직하게는, 결합 친화도가 약  $10^{-12}$  내지  $10^{-8}$  M,  $10^{-12}$  내지  $10^{-9}$  M,  $10^{-12}$  내지  $10^{-10}$  M,  $10^{-11}$  내지  $10^{-8}$  M, 바람직하게는 약  $10^{-11}$  내지  $10^{-9}$  M일 때 결합이 특이적인 것으로 고려된다. 결합 도메인이 특이적으로 표적과 반응하거나 표적에 결합하는지 여부는, 그 중에서도 상기 결합 도메인과 표적 단백질 또는 항원과의 반응을, 상기 결합 도메인과 표적 세포 표면 항원 또는 CD3 이외의 단백질 또는 항원과의 반응과 비교함으로써 용이하게 시험할 수 있다. 바람직하게는, 본 발명의 결합 도메인은 표적 세포 표면 항원 또는 CD3 이외의 단백질 또는 항원에 본질적으로 또는 실질적으로 결합하지 않는다(즉, 제1 결합 도메인은 표적 세포 표면 항원 이외의 단백질에 결합할 수 없고, 제2 결합 도메인은 CD3 이외의 단백질에 결합할 수 없다). 다른 HLE 형식에 비해 우수한 친화도 특징을 갖는 것이 본 발명에 따른 항체 구축물의 예상되는 특징이다. 결과적으로, 이러한 우수한 친화도는 생체 내 연장된 반감기를 시사한다. 본 발명에 따른 항체 구축물의 더 긴 반감기는 전형적으로 개선된 환자 순응도에 기여하는 투여의 지속기간 및 빈도를 감소시킬 수 있다. 본 발명의 항체 구축물은 매우 쇠약하거나 심지어 다중질환(multimorbid) 암 환자에 대해 특히 유리하기 때문에 이것은 특히 중요하다.

[0142] 용어 "본질적으로/실질적으로 결합하지 않는" 또는 "결합할 수 없는"은 본 발명의 결합 도메인이 표적 세포 표면 항원 또는 CD3 이외의 단백질 또는 항원에 결합하지 않고, 즉 표적 세포 표면 항원 또는 CD3 이외의 단백질 또는 항원과 30% 이하, 바람직하게는 20% 이하, 더욱 바람직하게는 10% 이하, 특히 바람직하게는 9%, 8%, 7%, 6% 또는 5% 이하의 반응성을 나타내고, 이에 의해 각각 표적 세포 표면 항원 또는 CD3에 대한 결합이 100%로 설정되는 것을 의미한다.

[0143] 특이적 결합은 결합 도메인 및 항원의 아미노산 서열에서 특이적 모티프에 의해 달성될 것으로 여겨진다. 따라서, 결합은 이들의 1차, 2차 및/또는 3차 구조의 결과뿐만 아니라 상기 구조의 2차 변형의 결과로서 달성된다. 항원-상호작용-측과 이의 특이적 항원의 특이적 상호작용은 항원에 대한 상기 측의 단순한 결합을 초래할 수 있다. 게다가, 항원-상호작용-측과 이의 특이적 항원의 특이적 상호작용은 대안적으로 또는 추가적으로, 예를 들

어, 항원의 입체형태 변화, 항원의 올리고머화 등의 유도에 기인하여 신호의 개시를 초래할 수 있다.

[0144] 용어 "가변"은 이들의 서열에서 가변성을 나타내고 특정 항체의 특이성 및 결합 친화도를 결정하는 데 관여하는 항체 또는 면역글로불린 도메인의 일부(즉, "가변 도메인(들)")를 지칭한다. 가변 중쇄(VH) 및 가변 경쇄(VL)의 쌍은 함께 단일 항원 결합 측을 형성한다.

[0145] 가변성을 항체의 가변 도메인 전체에 걸쳐 균일하게 분포되지 않으며; 이는 각각의 중쇄 및 경쇄 가변 영역의 하위-도메인에 집중된다. 이를 하위-도메인은 "초가변 영역" 또는 "상보성 결정 영역"(CDR)으로 불린다. 가변 도메인의 더 보존된(즉, 비-초가변) 부분은 "프레임워크" 영역(FRM 또는 FR)으로 불리고, 항원-결합 표면을 형성하기 위한 3차원 공간에서 6개의 CDR에 대한 스캐폴드를 제공한다. 천연적으로 존재하는 중쇄 및 경쇄의 가변 도메인은 각각, 루프 연결을 형성하고, 일부 경우에  $\beta$ -시트 구조의 부분을 형성하는, 3개의 초가변 영역에 의해 연결되는  $\beta$ -시트 배열을 주로 채택하는 4개의 FRM 영역(FR1, FR2, FR3, 및 FR4)을 포함한다. 각 쇄의 초가변 영역은 FRM에 의해 아주 근접하게 함께 결합되고, 다른 쇄의 초가변 영역과 함께, 항원-결합 측의 형성에 기여한다(앞서 인용한 Kabat *et al.* 참조).

[0146] 용어 "CDR" 및 이의 복수 "CDR들"은 상보성 결정 영역을 지칭하는데, 이 가운데 3개는 경쇄 가변 영역의 결합 특징을 구성하고(CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3), 3개는 중쇄 가변 영역의 결합 특징을 구성한다(CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3). CDR은 항체와 항원의 특이적 상호작용에 책임이 있는 잔기의 대부분을 포함하고, 따라서 항체 분자의 기능적 활성에 기여하고; 이들은 항원 특이성의 주된 결정기이다.

[0147] 정확한 정의의 CDR 경계 및 길이는 상이한 분류 및 넘버링 시스템의 대상이다. 따라서, CDR은 카바트(Kabat), 코티아(Chothia), 접촉 또는 본 명세서에 기재된 넘버링 시스템을 포함하는 임의의 다른 경계 정의에 의해 지정될 수 있다. 경계를 달리함에도 불구하고, 각각의 이들 시스템은 가변 서열 내에서 소위 "초가변 영역"을 구성하는 것과 어느 정도의 중복을 갖는다. 따라서, 이들 시스템에 따른 CDR 정의는 인접 프레임워크 영역에 대해 길이 및 경계 면적이 다를 수 있다. 예를 들어 카바트(교차종 서열 가변성을 기반으로 하는 접근법), 코티아(항원-항체 복합체의 결정학적 연구를 기반으로 하는 접근법), 및/또는 맥컬럼(MacCallum)(앞서 인용한 Kabat *et al.*, Chothia *et al.*, J. Mol. Biol., 1987, 196: 901-917; 및 MacCallum *et al.*, J. Mol. Biol., 1996, 262: 732) 참조. 항원 결합 측을 특성화하기 위한 또 다른 표준은 옥스포드 분자 AbM 항체 모델링 소프트웨어(Oxford Molecular's AbM antibody modeling software)에 의해 사용되는 AbM 정의이다. 예컨대, Antibody Engineering Lab Manual(Ed.: Duebel, S. and Kontermann, R., Springer-Verlag, Heidelberg)의 Protein Sequence and Structure Analysis of Antibody Variable Domains 참조. 2개의 잔기 확인 기법이 동일한 영역은 아니지만, 중복 영역을 정의할 정도까지, 이들은 하이브리드 CDR을 정의하도록 조합될 수 있다. 그러나 소위 카바트 시스템에 따른 넘버링이 바람직하다.

[0148] 전형적으로, CDR은 기본형(canonical) 구조로서 분류될 수 있는 루프 구조를 형성한다. 용어 "기본형 구조"는 항원 결합(CDR) 루프에 의해 채택되는 주된 쇄 입체형태를 지칭한다. 비교 구조 연구로부터, 6개의 항원 결합 루프 중 5개는 이용 가능한 입체형태의 제한된 레퍼토리만을 가지는 것으로 밝혀졌다. 각각의 기본형 구조는 폴리펩ти드 골격의 비틀림 각도에 의해 특성화될 수 있다. 따라서, 항체 사이의 대응하는 루프는 대부분의 루프에서 높은 아미노산 서열 가변성에도 불구하고, 매우 유사한 3차원 구조를 가질 수 있다(Chothia and Lesk, J. Mol. Biol., 1987, 196: 901; Chothia *et al.*, Nature, 1989, 342: 877; Martin and Thornton, J. Mol. Biol., 1996, 263: 800). 더 나아가, 채택된 루프 구조와 그것을 둘러싸는 아미노산 서열 사이에는 관련성이 있다. 특정 기본형 부류의 입체형태는 루프의 길이 및 루프 내에서뿐만 아니라 보존된 프레임워크 내에서(즉, 루프 외부) 핵심 위치에 존재하는 아미노산 잔기에 의해 결정된다. 따라서 특정 기본형 부류에 대한 배치는 이들 핵심 아미노산 잔기의 존재를 기반으로 하여 이루어질 수 있다.

[0149] 용어 "기본형 구조"는 또한, 예를 들어, 카바트에 의해 목록이 만들어진 항체의 선형 서열에 관한 고려 사항을 포함할 수 있다(위에 인용한 Kabat *et al.*). 카바트 넘버링 계획(시스템)은 일치되는 방식으로 항체 가변 도메인의 아미노산 잔기를 넘버링하기 위해 널리 채택되는 표준이고, 본 명세서의 다른 곳에 또한 언급된 바와 같이 본 발명에 적용된 바람직한 계획이다. 추가의 구조적 고려 사항은 또한 항체의 기본형 구조를 결정하기 위해 사용될 수 있다. 예를 들어, 카바트 넘버링에 의해 완전히 반영되지 않는 이들 차이는 코티아 등의 넘버링 시스템에 의해 기술될 수 있고/있거나 다른 기법, 예를 들어, 결정학 및 2차원 또는 3차원 컴퓨터 모델링에 의해 밝혀질 수 있다. 따라서, 주어진 항체 서열은, 다른 것들 중에서도, (예를 들어, 라이브러리에서 다양한 기본형 구조를 포함하기 위한 바람을 기반으로 하여) 적절한 새시 서열의 확인을 허용하는 기본형 부류에 위치될 수 있다. 항체 아미노산 서열의 카바트 넘버링 및 코티아 등(위에 인용됨)에 의해 기술된 바와 같은 구조적 고려

사항 및 항체 구조의 기본형 측면을 해석하기 위한 이들의 함의는 문헌에 기술되어 있다. 상이한 부류의 면역글로불린의 서브유닛 구조 및 3차원 입체배치는 당해 분야에 잘 공지되어 있다. 항체 구조에 대한 리뷰는 Antibodies: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory, eds. Harlow *et al.*, 1988 참조.

[0150] 경쇄의 CDR3 및, 특히 중쇄의 CDR3은 경쇄 및 중쇄 가변 영역 내의 항원 결합에서 가장 중요한 결정기를 구성할 수 있다. 일부 항체 구축물에서, 중쇄 CDR3은 항원과 항체 사이의 주된 접촉 면적을 구성하는 것으로 나타난다. CDR3만이 다른 시험관 내 선택 계획은 항체의 결합 특성을 달리 하거나 어느 잔기가 항원 결합에 기여하는지를 결정하기 위해 사용될 수 있다. 따라서, CDR3은 전형적으로 항체-결합 측 내에서 분자 다양성의 가장 큰 공급원이다. 예를 들어, H3은 2개의 아미노산 잔기만큼 짧거나 26개 아미노산보다 클 수 있다.

[0151] 고전적 전장 항체 또는 면역글로불린에서, 각각의 경쇄(L)는 하나의 공유적 이황화 결합에 의해 중쇄(H)에 연결되는 반면, 2개의 H 쇄는 H 쇄 이소형에 따라 하나 이상의 이황화 결합에 의해 서로 연결된다. VH에 가장 근접한 CH 도메인은 보통 CH1으로 지정된다. 불변("C") 도메인은 항원 결합에 직접적으로 연루되지 않지만, 다양한 효과기 기능, 예를 들어 항체-의존적, 세포-매개 세포독성 및 보체 활성화를 나타낸다. 항체의 Fc 영역은 중쇄 불변 도메인 내에 포함되며, 예를 들어, 세포 표면에 위치된 Fc 수용체와 상호작용할 수 있다.

[0152] 항체 유전자의 서열은 조립 및 체세포 돌연변이 후에 크게 달라지고, 이를 달라진 유전자는  $10^{10}$  개의 상이한 항체 분자를 암호화하는 것으로 추정된다(Immunoglobulin Genes, 2<sup>nd</sup> ed., eds. Jonio *et al.*, Academic Press, San Diego, CA, 1995). 따라서, 면역계는 면역글로불린의 레퍼토리를 제공한다. 용어 "레퍼토리"는 적어도 하나의 면역글로불린을 암호화하는 적어도 하나의 서열로부터 전체적으로 또는 부분적으로 유래된 적어도 하나의 뉴클레오티드 서열을 지칭한다. 서열(들)은 중쇄의 V, D 및 J 분절, 및 경쇄의 V 및 J 분절의 생체 내 재배열에 의해 생성될 수 있다. 대안적으로, 서열(들)은 재배열이 일어나는, 예를 들어 시험관 내 자극에 반응하여 세포로부터 생성될 수 있다. 대안적으로, 서열(들)의 일부 또는 전부는 DNA 스플라이싱, 뉴클레오티드 합성, 돌연변이 유발, 및 기타 방법에 의해 얻어질 수 있으며, 예를 들어, 미국 특히 5,565,332를 참조한다. 레퍼토리는 단지 하나의 서열을 포함할 수 있거나 유전적으로 다양한 무리에서 하나를 포함하는 복수의 서열을 포함할 수 있다.

[0153] 용어 "Fc 부분" 또는 "Fc 단량체"는 본 발명과 관련하여 CH2 도메인의 기능을 갖는 적어도 하나의 도메인 및 면역글로불린 분자의 CH3 도메인의 기능을 갖는 적어도 하나의 도메인을 포함하는 폴리펩티드를 의미한다. 용어 "Fc 단량체"로부터 명백하게, 이들 CH 도메인을 포함하는 폴리펩티드는 "폴리펩티드 단량체"이다. Fc 단량체는 중쇄의 제1 불변 영역 면역글로불린 도메인(CH1)을 제외하지만, 하나의 CH2 도메인의 적어도 기능적 부분 및 하나의 CH3 도메인의 기능적 부분을 유지하는 면역글로불린의 불변 영역의 적어도 단편을 포함하는 폴리펩티드일 수 있는데, 여기에서 CH2 도메인은 CH3 도메인에 대해 아미노 말단이다. 이 정의의 바람직한 양태에서, Fc 단량체는 Ig-Fc 힌지 영역의 일부, CH2 영역 및 CH3 영역을 포함하는 폴리펩티드 불변 영역일 수 있는데, 여기에서 힌지 영역은 CH2 도메인에 대해 아미노 말단이다. 본 발명의 힌지 영역은 이량체화를 촉진하는 것으로 고려된다. 이러한 Fc 폴리펩티드 분자는, 제한하는 것이 아닌 예를 들어, 면역글로불린 영역의 파파인 분해에 의해 얻어질 수 있다(물론 2개의 Fc 폴리펩티드의 이량체를 초래함). 본 정의의 다른 양태에서, Fc 단량체는 일부의 CH2 영역 및 CH3 영역을 포함하는 폴리펩티드 영역일 수 있다. 이러한 Fc 폴리펩티드 분자는, 제한하는 것이 아닌 예를 들어, 면역글로불린 분자의 펩신 분해에 의해 얻어질 수 있다. 일 구현예에서, Fc 단량체의 폴리펩티드 서열은 IgG1 Fc 영역, IgG<sub>2</sub> Fc 영역, IgG<sub>3</sub> Fc 영역, IgG<sub>4</sub> Fc 영역, IgM Fc 영역, IgA Fc 영역, IgD Fc 영역 및 IgE Fc 영역의 Fc 폴리펩티드 서열과 실질적으로 유사하다. (예를 들어, Padlan, Molecular Immunology, 31(3), 169-217 (1993) 참조). 면역글로불린 사이에 일부 변이가 있기 때문에, 그리고 단지 명확성을 위해, Fc 단량체는 IgA, IgD 및 IgG의 마지막 2개의 중쇄 불변 영역 면역글로불린 도메인, 및 IgE 및 IgM의 마지막 3개의 중쇄 불변 영역 면역글로불린 도메인을 지칭한다. 언급한 바와 같이, Fc 단량체는 또한 이들 도메인에 대해 가요성 힌지 N-말단을 포함할 수 있다. IgA 및 IgM의 경우, Fc 단량체는 J 쇄를 포함할 수 있다. IgG의 경우, Fc 부분은 면역글로불린 도메인 CH2 및 CH3, 및 제1의 2개 도메인과 CH2 사이의 힌지를 포함한다. Fc 부분의 경계는 다를 수 있지만, 기능성 힌지, CH2 및 CH3 도메인을 포함하는 인간 IgG 중쇄 Fc 부분에 대한 예는, 예를 들어, (힌지 도메인의 - 이하의 표 1의 D234에 대응) 잔기 D231 내지 P476, CH3 도메인의 카르복실-말단의 L476(IgG<sub>4</sub>의 경우)을 각각 포함하는 것으로 정의될 수 있는데, 여기에서 넘버링은 카바트에 따른다. 펩티드 링커를 통해 서로 융합되는 2개 Fc 부분 또는 Fc 단량체는, scFc 도메인으로서 정의될 수도 있는, 본 발명의 항체 구축물의 제3 도메인을 정의한다.

[0154] 본 발명의 일 구현예에서, 본 명세서에 개시된 바와 같은 scFc 도메인, 각각 서로 융합된 Fc 단량체는 항체 구축물의 제3 도메인에만 포함되는 것으로 고려된다.

[0155] 본 발명과 관련하여, IgG 헌지 영역은 표 1에 제시된 바와 같은 카바트 넘버링을 사용하여 유추에 의해 확인될 수 있다. 위와 관련하여, 본 발명의 헌지 도메인/영역은 카바트 넘버링에 따라 D234 내지 P243의 IgG<sub>1</sub> 서열 스트레치에 상응하는 아미노산 잔기를 포함하는 것으로 고려된다. 마찬가지로 본 발명의 헌지 도메인/영역은 IgG1 헌지 서열 DKTHTCPPCP(서열번호 1449)(아래 표 1에 나타낸 바와 같은 스트레치 D234 내지 P243에 대응 - 헌지 영역이 여전히 이량체화를 촉진한다면, 상기 서열의 변형 또한 고려됨)을 포함하거나 이로 구성되는 것이 고려된다. 본 발명의 바람직한 구현예에서, 항체 구축물의 제3 도메인에서 CH2 도메인의 카바트 위치 314에서 글리코실화 부위는 N314X 치환에 의해 제거되는데, X는 Q를 제외한 임의의 아미노산이다. 상기 치환은 바람직하게는 N314G 치환이다. 더욱 바람직한 구현예에서, 상기 CH2 도메인은 추가로 다음의 치환(카바트에 따른 위치) V321C 및 R309C(이들 치환은 카바트 위치 309 및 321에서 도메인 내 시스테인 이황화 가교를 도입함)을 포함한다.

[0156] 또한, 본 발명의 항체 구축물의 제3 도메인은 아미노에서 카르복실 순서로 다음을 포함하거나 이로 구성되는 것으로 고려된다: DKTHTCPPCP(서열번호 1449)(즉, 헌지) -CH2-CH3-링커- DKTHTCPPCP(서열번호 1449)(즉, 헌지) -CH2-CH3. 전술한 항체 구축물의 웨პ티드 링커는 바람직한 구현예에서 아미노산 서열 Gly-Gly-Gly-Gly-Ser, 즉 Gly<sub>4</sub>Ser(서열번호 1), 또는 이의 중합체, 즉 (Gly<sub>4</sub>Ser)<sub>x</sub>를 특징으로 하는데, 여기에서 x는 5 이상의 정수(예를 들어 5, 6, 7, 8 등 이상)이고, 6이 바람직하다((Gly<sub>4</sub>Ser)6). 상기 구축물은 추가로 전술한 치환 N314X, 바람직하게는 N314G, 및/또는 추가의 치환 V321C 및 R309C를 포함할 수 있다. 본 명세서에서 앞서 정의한 바와 같은 본 발명의 항체 구축물의 바람직한 구현예에서, 제2 도메인은 인간 및/또는 마카카 CD3 ε 쇄의 세포 외 에피토프에 결합하는 것으로 고려된다.

표 1: 헌지 영역의 아미노산 잔기의 카바트 넘버링

헌지에 대한 IMGT 넘버링	IgG <sub>1</sub> 아미노산 번역	카바트 넘버링
1	(E)	226
2	P	227
3	K	228
4	S	232
5	C	233
6	D	234
7	K	235
8	T	236
9	H	237
10	T	238
11	C	239
12	P	240
13	P	241
14	C	242
15	P	243

[0157]

[0158] 본 발명의 추가 구현예에서, 헌지 도메인/영역은 IgG2 서브타입 헌지 서열 ERKCCVECPPCP(서열번호 1450), IgG3 서브타입 헌지 서열 ELKTPLDTTHTCPRCP(서열번호 1451) 또는 ELKTPLGDTTHTCPRCP(서열번호 1458), 및/또는 IgG4 서브타입 헌지 서열 ESKYGPPCPSCP(서열번호 1452)을 포함하거나 이로 구성된다. IgG1 서브타입 헌지 서열은 다음의 것 EPKSCDKTHTCPPCP(표 1에 나타낸 바와 같고 서열번호 1459)일 수 있다. 따라서 이들 코어 헌지 영역도 본 발명의 맥락에서 고려된다.

[0159]

IgG CH2 및 IgG CD3 도메인의 위치 및 서열은 표 2에 제시된 바와 같이 카바트 넘버링을 사용하여 유추에 의해 확인될 수 있다:

표 2: IgG CH2 및 CH3 영역의 아미노산 잔기의 카바트 넘버링

IgG 서브타입	CH2 aa 번역	CH2 카바트 넘버링	CH3 aa 번역	CH3 카바트 넘버링
IgG <sub>1</sub>	APE……KAK	244……360	GQP……PGK	361……478
IgG <sub>2</sub>	APP……KTK	244……360	GQP……PGK	361……478
IgG <sub>3</sub>	APE……KTK	244……360	GQP……PGK	361……478
IgG <sub>4</sub>	APE……KAK	244……360	GQP……LGK	361……478

[0160]

[0161] 본 발명의 일 구현예에서, 제1 또는 둘 다의 Fc 단량체의 CH3 도메인에서 강조된 볼드체 아미노산 잔기는 결실된다.

[0162]

제3 도메인의 폴리펩티드 단량체("Fc 부분" 또는 "Fc 단량체")가 이에 의해 서로 융합되는 웨프티드 링커는 바람직하게는 적어도 25개의 아미노산 잔기(25, 26, 27, 28, 29, 30개 등)를 포함한다. 더욱 바람직하게는, 이 웨프티드 링커는 적어도 30개의 아미노산 잔기(30, 31, 32, 33, 34, 35개 등)를 포함한다. 링커가 40개까지의 아미노산 잔기, 더욱 바람직하게는 35개까지의 아미노산 잔기, 가장 바람직하게는 정확히 30개의 아미노산 잔기를 포함하는 것도 바람직하다. 이러한 웨프티드 링커의 바람직한 구현예는 아미노산 서열 Gly-Gly-Gly-Gly-Ser, 즉 Gly<sub>4</sub>Ser(서열번호 1), 또는 이의 중합체, 즉 (Gly<sub>4</sub>Ser)<sub>x</sub>를 특징으로 하고, 여기에서 x는 5 이상의 정수(예를 들어 6, 7 또는 8)이다. 바람직하게는, 정수는 6 또는 7이고, 더욱 바람직하게는 정수는 6이다.

[0163]

제2 도메인에 제1 도메인을, 또는 제3 도메인에 제1 또는 제2 도메인을 융합시키기 위해 링커가 사용되는 경우, 이 링커는 바람직하게는 각각의 제1 및 제2 도메인이 서로 독립적으로 이들의 차별된 결합 특이성을 보유할 수 있음을 보장하기에 충분한 길이 및 서열을 갖는다. 본 발명의 항체 구축물에서 적어도 2개의 결합 도메인(또는 2개의 가변 도메인)을 연결하는 웨프티드 링커에서, 이들 웨프티드 링커는 단지 소수의 아미노산 잔기, 예를 들어 12개 이하의 아미노산 잔기를 포함하는 것이 바람직하다. 따라서, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6 또는 5개 아미노산 잔기의 웨프티드 링커가 바람직하다. 5개 미만의 아미노산을 갖는 고려되는 웨프티드 링커는 4, 3, 2 또는 1개의 아미노산(들)을 포함하는데, 여기에서 Gly-풍부 링커가 바람직하다. 제1 도메인과 제2 도메인의 융합을 위한 웨프티드 링커의 바람직한 구현예는 서열번호 1에 도시된다. 제2 도메인과 제3 도메인의 융합을 위한 웨프티드 링커의 바람직한 링커 구현예는 (Gly)<sub>4</sub>-링커, 각각 G<sub>4</sub>-링커이다.

[0164]

위에 기술된 "웨프티드 링커" 중 하나의 맥락에서 특히 바람직한 "단일" 아미노산은 Gly이다. 따라서, 상기 웨프티드 링커는 단일 아미노산 Gly로 구성될 수 있다. 본 발명의 바람직한 구현예에서, 웨프티드 링커는 아미노산 서열 Gly-Gly-Gly-Gly-Ser, 즉, Gly<sub>4</sub>Ser(서열번호 1), 또는 이의 중합체, 즉, (Gly<sub>4</sub>Ser)<sub>x</sub>를 특징으로 하고, 여기에서 x는 1 이상의 정수(예를 들어 2 또는 3)이다. 바람직한 링커는 서열번호 1 내지 12에 도시된다. 2차 구조 촉진 부존재를 포함하는 상기 웨프티드 링커의 특징은 당해 분야에 공지되어 있고, 예컨대, Dall' Acqua et al. (Biochem. (1998) 37, 9266-9273), Cheadle et al. (Mol Immunol (1992) 29, 21-30) 및 Raag and Whitlow (FASEB (1995) 9(1), 73-80)에 기술되어 있다. 더 나아가 임의의 2차 구조를 촉진하지 않는 웨프티드 링커가 바람직하다. 상기 도메인의 서로에 대한 연결은 실시예에서 기술되는 바와 같이, 예를 들어 유전 공학에 의해 제공될 수 있다. 융합된 그리고 작동 가능하게 연결된 이중특이적 단일 쇄 구축물을 제조하고 포유류 세포 또는 박테리아에서 이들을 발현시키기 위한 방법은 당해 분야에 잘 공지되어 있다(예를 들어, WO 99/54440 또는 Sambrook et al., Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York, 2001).

[0165]

본 발명의 항체 구축물의 바람직한 구현예에서, 제1 및 제2 도메인은 (scFv)<sub>2</sub>, scFv-단일 도메인 mAb, 다이어바디 및 임의의 이들 형식의 올리고머로 구성되는 군으로부터 선택되는 형식의 항체 구축물을 형성한다.

[0166]

특히 바람직한 구현예에 따라, 그리고 첨부된 실시예에서 증명되는 바와 같이, 본 발명의 항체 구축물의 제1 및 제2 도메인은 "이중특이적 단일 쇄 항체 구축물", 더욱 바람직하게는 이중특이적 "단일 쇄 Fv"(scFv)이다. Fv 단편의 2개의 도메인, 즉 VL 및 VH는 별개의 유전자에 의해 암호화되지만, 이들은 VL과 VH 영역이 1가 분자를 형성하도록 쌍을 이루는 단일 단백질 쇄로서 이들이 생성되는 것을 가능하게 하는 -전술한 바와 같은- 합성 링커에 의해 재조합 방법을 사용하여 결합될 수 있다; 예를 들어, Huston et al. (1988) Proc. Natl. Acad. Sci USA 85:5879-5883 참조). 이들 항체 단편은 당업자에게 공지된 통상적인 기법을 사용하여 얻어지며, 단편은 전체 또는 전장 항체와 동일한 방식으로 기능에 대해 평가된다. 따라서 단일-쇄 가변 단편(scFv)은 보통 약 10 내

지 약 25개 아미노산, 바람직하게는 약 15 내지 20개 아미노산의 짧은 링커 펩티드와 연결되는 면역글로불린의 중쇄(VH) 및 경쇄(VL)의 가변 영역의 융합 단백질이다. 링커는 보통 가요성을 위해 글리신뿐만 아니라 용해성을 위해 세린 또는 트레오닌이 풍부하고, VH의 N-말단을 VL의 C-말단과 연결하거나, 또는 그 반대일 수 있다. 이 단백질은 불변 영역의 제거 및 링커의 도입에도 불구하고, 본래의 면역글로불린의 특이성을 보유한다.

[0167] 이중특이적 단일 쇄 항체 구축물은 당해 분야에 공지되어 있고, WO 99/54440, Mack, J. Immunol. (1997), 158, 3965-3970, Mack, PNAS, (1995), 92, 7021-7025, Kufer, Cancer Immunol. Immunother., (1997), 45, 193-197, Löffler, Blood, (2000), 95, 6, 2098-2103, Brühl, Immunol., (2001), 166, 2420-2426, Kipriyanov, J. Mol. Biol., (1999), 293, 41-56에 기술되어 있다. 단일 쇄 항체의 생산에 대해 기술된 기법(그 중에서도, 미국 특허 4,946,778, 위에 인용된 Kontermann and Dübel (2010) 및 위에 인용된 Little (2009) 참조)은 선택된 표적(들)을 특이적으로 인식하는 단일 쇄 항체 구축물을 생산하도록 조정될 수 있다.

[0168] 2가(이)가로도 불림) 또는 이중특이적 단일-쇄 가변 단편((scFv)<sub>2</sub> 형식을 갖는 바이-scFv 또는 다이-scFv)은 2개의 scFv 분자를 (예를 들어, 전술한 바와 같은 링커로) 연결하는 것에 의해 조작될 수 있다. 이들 2개의 scFv 분자가 동일한 결합 특이성을 갖는 경우, 생성된 (scFv)<sub>2</sub> 분자는 바람직하게는 2가로 불릴 것이다(즉, 동일한 표적 에피토프에 대해 2개의 수가(valence)를 가짐). 2개의 scFv 분자가 상이한 결합 특이성을 갖는 경우, 생성된 (scFv)<sub>2</sub> 분자는 바람직하게는 이중특이적으로 불릴 것이다. 2개의 VH 영역 및 2개의 VL 영역을 갖는 단일 펩티드 쇄를 생산하여, 텐덤 scFv를 수득함으로써 연결이 행해질 수 있다(예를 들어, Kufer P. et al., (2004) Trends in Biotechnology 22(5):238-244 참조). 다른 가능성은 2개의 가변 영역이 함께 접히기에 너무 짧아서 scFv가 이량체화되게 하는 링커 펩티드(예를 들어, 약 5개의 아미노산)를 갖는 scFv 분자의 생성이다. 이 유형은 다이어바디로 알려져 있다(예를 들어, Hollinger, Philipp et al., (July 1993) Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 90 (14): 6444-8 참조).

[0169] 본 발명과 관련하여, 제1 도메인, 제2 도메인 또는 제1 및 제2 도메인은, 각각 단일 도메인 항체의 가변 도메인 또는 적어도 CDR인 단일 도메인 항체를 포함할 수 있다. 단일 도메인 항체는 다른 V 영역 또는 도메인과 독립적으로 특정 항원에 선택적으로 결합할 수 있는 단지 하나의(단량체) 항체 가변 도메인을 포함한다. 제1 단일 도메인 항체는 낙타과에서 발견된 중쇄 항체로부터 조작되었고, 이들은 V<sub>H</sub>H 단편으로 불린다. 연골어류는 또한 V<sub>NAR</sub> 단편으로 불리는 단일 도메인 항체가 얻어질 수 있는 중쇄 항체(IgNAR)를 갖는다. 대안적인 접근법은 공통 면역글로불린으로부터의, 예를 들어 인간 또는 설치류로부터의 이량체 가변 도메인을 단량체로 분할하고, 이에 따라 단일 도메인 Ab로서 VH 또는 VL을 얻는 것이다. 단일 도메인 항체로의 대부분의 연구는 현재 중쇄 가변 도메인을 기반으로 하지만, 경쇄로부터 유래된 나노바디 또한 표적 에피토프에 특이적으로 결합하는 것으로 나타났다. 단일 도메인 항체의 예는 sdAb, 나노바디 또는 단일 가변 도메인 항체로 지칭된다.

[0170] (단일 도메인 mAb)<sub>2</sub>는 따라서 V<sub>H</sub>, V<sub>L</sub>, V<sub>H</sub>H 및 V<sub>NAR</sub>를 포함하는 군으로부터 개별적으로 선택되는 (적어도) 2개의 단일 도메인 단클론 항체로 구성되는 단클론 항체 구축물이다. 링커는 바람직하게는 펩티드 링커의 형태이다. 유사하게, "scFv-단일 도메인 mAb"는 위에 기술된 바와 같은 적어도 하나의 단일 도메인 항체 및 위에 기술된 바와 같은 하나의 scFv 분자로 구성되는 단클론 항체 구축물이다. 또한, 링커는 바람직하게는 펩티드 링커의 형태이다.

[0171] 항체 구축물이 다른 주어진 항체 구축물과 결합을 위해 경쟁하는지는 경쟁적 ELISA 또는 세포 기반 경쟁 분석과 같은 경쟁 분석으로 측정될 수 있다. 아비딘-커플링된 마이크로입자(비드)가 또한 사용될 수 있다. 아비딘-코팅된 ELISA 플레이트와 유사하게, 비오틴 결합 단백질과 반응할 때, 각각의 이들 비드는 분석이 수행될 수 있는 기질로서 사용될 수 있다. 항원은 비드 상에 코팅되고, 다음에 제1 항체로 사전 코팅된다. 제2 항체가 첨가되면, 임의의 추가적인 결합이 결정된다. 판독을 위한 가능한 수단은 유세포 분석을 포함한다.

[0172] T 세포 또는 T 림프구는 세포 매개 면역에서 중추적 역할을 하는 림프구의 유형이다(그 자체가 백혈구의 유형임). 각각 별개의 기능을 갖는 T 세포의 몇 개의 서브세트가 존재한다. T 세포는 세포 표면에서 T 세포 수용체(TCR)의 존재에 의해 B 세포 및 NK 세포와 같은 다른 림프구와 구별될 수 있다. TCR은 주조직적합성 복합체(MHC) 분자에 결합된 항원 인식의 원인이 되고 두 개의 상이한 단백질 쇄로 구성된다. T 세포의 95%에서, TCR은 알파(α) 및 베타(β) 쇄로 구성된다. TCR이 항원 펩티드 및 MHC(펩티드/MHC 복합체)와 맞물릴 때, T 림프구는 연관된 효소, 공동-수용체, 전문화된 어댑터 분자, 및 활성화되거나 방출된 전사 인자에 의해 매개되는 일련의 생화학적 사건을 통해 활성화된다.

- [0173] CD3 수용체 복합체는 단백질 복합체이며, 4개의 쇄로 구성된다. 포유류에서, 복합체는 CD3  $\gamma$ (감마) 쇄, CD3  $\delta$ (델타) 쇄, 및 2개의 CD3  $\epsilon$ (엡실론) 쇄를 포함한다. 이들 쇄는 T 세포 수용체(TCR) 및 소위  $\zeta$ (제타) 쇄와 결합되어 T 세포 수용체 CD3 복합체를 형성하고, T 림프구에서 활성화 신호를 생성한다. CD3  $\gamma$ (감마), CD3  $\delta$ (델타), 및 CD3  $\epsilon$ (엡실론) 쇄는 단일 세포 외 면역글로불린 도메인을 포함하는 면역글로불린 슈퍼페밀리의 고도로 관련된 세포 표면 단백질이다. CD3 분자의 세포 내 꼬리는 TCR의 신호전달 능력에 필수적인 면역수용체 티로신-기반 활성화 모티프 또는 축약하여 ITAM으로 알려진 단일 보존 모티프를 포함한다. CD3 엡실론 분자는 인간에서 염색체 11 상에 있는 CD3E 유전자에 의해 암호화된 폴리펩티드이다. CD3 엡실론의 가장 바람직한 에피토프는 인간 CD3 엡실론 세포 외 도메인의 아미노산 잔기 1 내지 27 내에 포함된다. 본 발명에 따른 항체 구축물을 전형적으로 그리고 유리하게는 특정 면역요법에서 요망되지 않는 비특이적 T 세포 활성화를 더 적게 나타내는 것으로 고려된다. 이는 부작용 위험의 감소를 의미한다.
- [0174] 다중특이적, 적어도 이중특이적 항체 구축물에 의한 T 세포의 동원을 통한 표적 세포의 재지시된 용해는 세포용해 시냅스 형성 및 퍼포린과 그랜자임의 전달을 수반한다. 관여 T 세포는 일련의 표적 세포 용해를 가능하게 하고, 웨პ티드 항원 가공 및 제시, 또는 클론의 T 세포 분화를 방해하는 면역 회피 기전에 의해 영향을 받지 않는다; 예를 들어, WO 2007/042261 참조.
- [0175] 본 발명의 항체 구축물에 의해 매개되는 세포독성은 다양한 방법으로 측정될 수 있다. 효과기 세포는, 예를 들어, 자극된 강화(인간) CD8 양성 T 세포 또는 비자극된(인간) 말초 혈액 단핵구 세포(PBMC)일 수 있다. 표적 세포가 마카크 유래이거나, 제1 도메인에 의해 결합되는 마카크 표적 세포 표면 항원을 발현하거나 이로 형질감염되는 경우, 효과기 세포는 또한 마카크 T 세포주, 예를 들어 4119LnPx와 같은 마카크 유래의 것일 것이다. 표적 세포는 표적 세포 표면 항원, 예를 들어 인간 또는 마카크 표적 세포 표면 항원(의 적어도 세포 외 도메인)을 발현할 것이다. 표적 세포는, 표적 세포 표면 항원, 예를 들어 인간 또는 마카크 표적 세포 표면 항원으로 안정적이거나 일시적으로 형질감염된 세포주(예를 들어, CHO)일 수 있다. 대안적으로, 표적 세포는 표적 세포 표면 항원 양성 천연 발현자(exprresser) 세포주일 수 있다. 보통 EC<sub>50</sub> 값은 세포 표면에서 더 높은 수준의 표적 세포 표면 항원을 발현하는 표적 세포주에서 더 낮은 것으로 예상된다. 효과기 대 표적 세포(E:T) 비는 보통 약 10:1이지만, 다를 수도 있다. 표적 세포 표면 항원xCD3 이중특이적 항체 구축물의 세포독성 활성은 <sup>51</sup>Cr-방출 분석(약 18시간의 인큐베이션 시간) 또는 FACS-기반 세포독성 분석(약 48시간의 인큐베이션 시간)으로 측정될 수 있다. 분석 인큐베이션 시간(세포독성 반응)의 변형이 또한 가능하다. 세포독성을 측정하는 다른 방법은 당업자에게 잘 공지되어 있고, MTT 또는 MTS 분석, 생물발광 분석을 포함하는 ATP-기반 분석, 술포로다민 B(SRB) 분석, WST 분석, 클론원성 분석 및 ECIS 기술을 포함한다.
- [0176] 본 발명의 표적 세포 표면 항원xCD3 이중특이적 항체 구축물에 의해 매개되는 세포독성 활성은 바람직하게는 세포-기반 세포독성 분석으로 측정된다. 이는 또한 <sup>51</sup>Cr-방출 분석으로 측정될 수 있다. 이는 절반 최대 유효 농도(기준선과 최대값 사이에서 절반의 세포독성 반응을 유도하는 항체 구축물의 농도)에 상응하는 EC<sub>50</sub> 값으로 나타낸다. 바람직하게는, 표적 세포 표면 항원xCD3 이중특이적 항체 구축물의 EC<sub>50</sub> 값은 ≤5000 pM 또는 ≤4000 pM, 더욱 바람직하게는 ≤3000 pM 또는 ≤2000 pM, 한층 더 바람직하게는 ≤1000 pM 또는 ≤500 pM, 한층 더 바람직하게는 ≤400 pM 또는 ≤300 pM, 한층 더 바람직하게는 ≤200 pM, 한층 더 바람직하게는 ≤100 pM, 한층 더 바람직하게는 ≤50 pM, 한층 더 바람직하게는 ≤20 pM 또는 ≤10 pM, 그리고 가장 바람직하게는 ≤5 pM이다.
- [0177] 위에 주어진 EC<sub>50</sub> 값은 상이한 분석으로 측정될 수 있다. 당업자는 비자극된 PBMC와 비교하여, 자극된/농축된 CD8<sup>+</sup> T 세포가 효과기 세포로서 사용될 때 EC<sub>50</sub> 값이 더 낮아질 것으로 예상될 수 있음을 인식한다. 추가로 EC<sub>50</sub> 값은, 낮은 표적 발현 래트와 비교하여, 표적 세포가 많은 수의 표적 세포 표면 항원을 발현할 때 더 낮은 것으로 예상될 수 있다. 예를 들어, 자극된/농축된 인간 CD8<sup>+</sup> T 세포가 효과기 세포로서 사용될 때(그리고 표적 세포 표면 항원 형질감염 세포, 예를 들어 CHO 세포 또는 표적 세포 표면 항원 양성 인간 세포주가 표적 세포로서 사용될 때), 표적 세포 표면 항원xCD3 이중특이적 항체 구축물의 EC<sub>50</sub> 값은 바람직하게는 ≤1000 pM, 더욱 바람직하게는 ≤500 pM, 한층 더 바람직하게는 ≤250 pM, 한층 더 바람직하게는 ≤100 pM, 한층 더 바람직하게는 ≤50 pM, 한층 더 바람직하게는 ≤10 pM, 그리고 가장 바람직하게는 ≤5 pM이다. 인간 PBMC가 효과기 세포로서 사용될 때, 표적 세포 표면 항원xCD3 이중특이적 항체 구축물의 EC<sub>50</sub> 값은 바람직하게는 ≤5000 pM 또는 ≤4000 pM(특히 표적 세포가 표적 세포 표면 항원 양성 인간 세포주일 때), 더욱 바람직하게는 ≤2000 pM(특히

표적 세포가 표적 세포 표면 항원 형질감염 세포, 예를 들어 CHO 세포일 때), 더욱 바람직하게는 ≤1000 pM 또는 ≤500 pM, 한층 더 바람직하게는 ≤200 pM, 한층 더 바람직하게는 ≤150 pM, 한층 더 바람직하게는 ≤100 pM, 그리고 가장 바람직하게는 ≤50 pM, 또는 더 낮다. LnPx4119와 같은 마카크 T 세포주가 효과기 세포로서 사용되고, 마카크 표적 세포 표면 항원 형질감염 세포주, 예를 들어 CHO 세포가 표적 세포주로서 사용될 때, 표적 세포 표면 항원xCD3 이중특이적 항체 구축물의 EC<sub>50</sub> 값은 바람직하게는 ≤2000 pM 또는 ≤1500 pM, 더욱 바람직하게는 ≤1000 pM 또는 ≤500 pM, 한층 더 바람직하게는 ≤300 pM 또는 ≤250 pM, 한층 더 바람직하게는 ≤100 pM, 그리고 가장 바람직하게는 ≤50 pM이다.

[0178] 바람직하게는, 본 발명의 표적 세포 표면 항원xCD3 이중특이적 항체 구축물은 용해를 유도/매개하지 않거나 CHO 세포와 같은 표적 세포 표면 항원 음성 세포의 용해를 본질적으로 유도/매개하지 않는다. 용어 "용해를 유도하지 않는다", "용해를 본질적으로 유도하지 않는다", "용해를 매개하지 않는다" 또는 "용해를 본질적으로 매개하지 않는다"는 본 발명의 항체 구축물이 표적 세포 표면 항원 음성 세포의 용해를 30% 이하, 바람직하게는 20% 이하, 더욱 바람직하게는 10% 이하, 특히 바람직하게는 9%, 8%, 7%, 6% 또는 5% 이하로 유도하거나 매개하여, 이에 의해 표적 세포 표면 항원 양성 인간 세포주의 용해가 100%로 설정되는 것을 의미한다. 이는 보통 500 nM 까지의 항체 구축물의 농도에 적용된다. 당업자는 추가적인 노고 없이 세포 용해를 측정하는 방법을 알고 있다. 게다가, 본 명세서에서는 세포 용해를 측정하는 특정 지침을 교시한다.

[0179] 개개의 표적 세포 표면 항원xCD3 이중특이적 항체 구축물의 단량체와 이량체 이소형 사이에서 세포독성 활성의 차이는 "효력 갭(potency gap)"으로서 지칭된다. 이 효력 갭은, 예를 들어 분자의 단량체와 이량체 형태의 EC<sub>50</sub> 값 사이의 비로서 계산될 수 있다. 본 발명의 표적 세포 표면 항원xCD3 이중특이적 항체 구축물의 효력 갭은 바람직하게는 ≤5, 더욱 바람직하게는 ≤4, 한층 더 바람직하게는 ≤3, 한층 더 바람직하게는 ≤2, 그리고 가장 바람직하게는 ≤1이다.

[0180] 본 발명의 항체 구축물의 제1 및/또는 제2 (또는 임의의 추가적인) 결합 도메인(들)은 바람직하게는 영장류 목의 포유류 구성원에 대해 교차종 특이적이다. 교차종 특이적 CD3 결합 도메인은, 예를 들어, WO 2008/119567에 기술되어 있다. 일 구현예에 따르면, 제1 및/또는 제2 결합 도메인은 인간 표적 세포 표면 항원 및 인간 CD3 각각에 대한 결합에 추가하여, 또한 신세계 영장류(예를 들어, 코먼마모셋(*Callithrix jacchus*), 목화머리타마린(*Saguinus Oedipus*) 또는 다람쥐 원숭이(*Saimiri sciureus*)), 구세계 영장류(예를 들어 개코원숭이 및 마카크), 긴팔 원숭이, 및 비인간 사람아과를 포함하는(그러나, 이로 한정되지 않는) 영장류의 표적 세포 표면 항원/CD3에 결합할 것이다.

[0181] 본 발명의 항체 구축물의 일 구현예에서 제1 도메인은 인간 표적 세포 표면 항원에 결합하고 추가로 마카크 표적 세포 표면 항원, 예를 들어 필리핀 원숭이(*Macaca fascicularis*)의 표적 세포 표면 항원, 그리고 더욱 바람직하게는, 표면 마카크 세포에서 발현되는 마카크 표적 세포 표면 항원에 결합한다. 마카크 표적 세포 표면 항원에 대한 제1 결합 도메인의 친화도는 바람직하게는 ≤15 nM, 더욱 바람직하게는 ≤10 nM, 한층 더 바람직하게는 ≤5 nM, 한층 더 바람직하게는 ≤1 nM, 한층 더 바람직하게는 ≤0.5 nM, 한층 더 바람직하게는 ≤0.1 nM, 그리고 가장 바람직하게는 ≤0.05 nM 또는 심지어 ≤0.01 nM이다.

[0182] 바람직하게는 본 발명에 따른 항체 구축물의 마카크 표적 세포 표면 항원 대 인간 표적 세포 표면 항원[ma 표적 세포 표면 항원:hu 표적 세포 표면 항원]에 결합하는 (예를 들어, 비아코어(BiaCore)에 의하거나 스캐차드(Scatchard) 분석에 의해 측정되는) 친화도 갭은 <100, 바람직하게는 <20, 더욱 바람직하게는 <15, 더욱 바람직하게는 <10, 한층 더 바람직하게는 <8, 더욱 바람직하게는 <6, 그리고 가장 바람직하게는 <2이다. 본 발명에 따른 항체 구축물의 마카크 표적 세포 표면 항원 대 인간 표적 세포 표면 항원에 결합하는 친화도 갭의 바람직한 범위는 0.1 내지 20, 더욱 바람직하게는 0.2 내지 10, 한층 더 바람직하게는 0.3 내지 6, 한층 더 바람직하게는 0.5 내지 3 또는 0.5 내지 2.5, 그리고 가장 바람직하게는 0.5 내지 2 또는 0.6 내지 2이다.

[0183] 본 발명의 항체 구축물의 제2 (결합) 도메인은 인간 CD3 앱실론 및/또는 마카카 CD3 앱실론에 결합한다. 바람직한 구현예에서 제2 도메인은 추가로 코먼마모셋, 목화머리타마린 또는 다람쥐 원숭이 CD3 앱실론에 결합한다. 코먼마모셋과 목화머리타마린은 둘 다 비단원숭이과(*Callitrichidae*)에 속하는 신세계 영장류인 반면, 다람쥐 원숭이는 꼬리감는원숭이과(*Cebidae*)에 속하는 신세계 영장류이다.

[0184] 본 발명의 항체 구축물에서 인간 및/또는 마카카(*Macaca*) CD3 앱실론 쇄의 세포 외 에피토프에 결합하는 제2 도메인은 다음으로부터 선택되는 CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3을 포함하는 VL 영역을 포함하는 것이 바람직하다:

[0185] (a) WO 2008/119567의 서열번호 27에 제시된 바와 같은 CDR-L1, WO 2008/119567의 서열번호 28에 제

시된 바와 같은 CDR-L2 및 WO 2008/119567의 서열번호 29에 제시된 바와 같은 CDR-L3;

[0186] (b) WO 2008/119567의 서열번호 117에 제시된 바와 같은 CDR-L1, WO 2008/119567의 서열번호 118에 제시된 바와 같은 CDR-L2 및 WO 2008/119567의 서열번호 119에 제시된 바와 같은 CDR-L3; 및

[0187] (c) WO 2008/119567의 서열번호 153에 제시된 바와 같은 CDR-L1, WO 2008/119567의 서열번호 154에 제시된 바와 같은 CDR-L2 및 WO 2008/119567의 서열번호 155에 제시된 바와 같은 CDR-L3.

[0188] 본 발명의 항체 구축물의 또한 바람직한 구현예에서, 인간 및/또는 마카카(*Macaca*) CD3 앱실론 쇄의 세포 외 에피토프에 결합하는 제2 도메인은 다음으로부터 선택되는 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3을 포함하는 VH 영역을 포함한다:

[0189] (a) WO 2008/119567의 서열번호 12에 제시된 바와 같은 CDR-H1, WO 2008/119567의 서열번호 13에 제시된 바와 같은 CDR-H2 및 WO 2008/119567의 서열번호 14에 제시된 바와 같은 CDR-H3;

[0190] (b) WO 2008/119567의 서열번호 30에 제시된 바와 같은 CDR-H1, WO 2008/119567의 서열번호 31에 제시된 바와 같은 CDR-H2 및 WO 2008/119567의 서열번호 32에 제시된 바와 같은 CDR-H3;

[0191] (c) WO 2008/119567의 서열번호 48에 제시된 바와 같은 CDR-H1, WO 2008/119567의 서열번호 49에 제시된 바와 같은 CDR-H2 및 WO 2008/119567의 서열번호 50에 제시된 바와 같은 CDR-H3;

[0192] (d) WO 2008/119567의 서열번호 66에 제시된 바와 같은 CDR-H1, WO 2008/119567의 서열번호 67에 제시된 바와 같은 CDR-H2 및 WO 2008/119567의 서열번호 68에 제시된 바와 같은 CDR-H3;

[0193] (e) WO 2008/119567의 서열번호 84에 제시된 바와 같은 CDR-H1, WO 2008/119567의 서열번호 85에 제시된 바와 같은 CDR-H2 및 WO 2008/119567의 서열번호 86에 제시된 바와 같은 CDR-H3;

[0194] (f) WO 2008/119567의 서열번호 102에 제시된 바와 같은 CDR-H1, WO 2008/119567의 서열번호 103에 제시된 바와 같은 CDR-H2 및 WO 2008/119567의 서열번호 104에 제시된 바와 같은 CDR-H3;

[0195] (g) WO 2008/119567의 서열번호 120에 제시된 바와 같은 CDR-H1, WO 2008/119567의 서열번호 121에 제시된 바와 같은 CDR-H2 및 WO 2008/119567의 서열번호 122에 제시된 바와 같은 CDR-H3;

[0196] (h) WO 2008/119567의 서열번호 138에 제시된 바와 같은 CDR-H1, WO 2008/119567의 서열번호 139에 제시된 바와 같은 CDR-H2 및 WO 2008/119567의 서열번호 140에 제시된 바와 같은 CDR-H3;

[0197] (i) WO 2008/119567의 서열번호 156에 제시된 바와 같은 CDR-H1, WO 2008/119567의 서열번호 157에 제시된 바와 같은 CDR-H2 및 WO 2008/119567의 서열번호 158에 제시된 바와 같은 CDR-H3; 및

[0198] (j) WO 2008/119567의 서열번호 174에 제시된 바와 같은 CDR-H1, WO 2008/119567의 서열번호 175에 제시된 바와 같은 CDR-H2 및 WO 2008/119567의 서열번호 176에 제시된 바와 같은 CDR-H3.

[0199] 본 발명의 항체 구축물의 바람직한 구현예에서 VL CDR의 위에 기술한 3개의 그룹은, 각각 CDR-L 1 내지 3 및 CDR-H 1 내지 3을 포함하는 (30) 그룹을 형성하도록, 제2 결합 도메인 내에서 VH CDR의 위에 기술한 10개 그룹과 조합된다.

[0200] 본 발명의 항체 구축물의 경우, CD3에 결합하는 제2 도메인은 WO 2008/119567의 서열번호 17, 21, 35, 39, 53, 57, 71, 75, 89, 93, 107, 111, 125, 129, 143, 147, 161, 165, 179 또는 183에 제시된 바와 같거나, 본 서열목록에 서열번호 16 또는 25로서 제시된 바와 같은 VL 영역으로 구성된 군으로부터 선택된 VL 영역을 포함하는 것이 바람직하다.

[0201] 또한, CD3에 결합하는 제2 도메인은 WO 2008/119567의 서열번호 15, 19, 33, 37, 51, 55, 69, 73, 87, 91, 105, 109, 123, 127, 141, 145, 159, 163, 177 또는 181에 제시된 바와 같거나, 본 서열목록에 서열번호 15 또는 24로서 제시된 바와 같은 VH 영역으로 구성된 군으로부터 선택된 VH 영역을 포함하는 것이 바람직하다.

[0202] 더욱 바람직하게는, 본 발명의 항체 구축물은 다음으로 구성되는 군으로부터 선택되는 VL 영역 및 VH 영역을 포함하는 CD3에 결합하는 제2 도메인을 특징으로 한다:

[0203] (a) WO 2008/119567의 서열번호 17 또는 21에 제시된 바와 같은 VL 영역 및 WO 2008/119567의 서열번호 15 또는 19에 제시된 바와 같은 VH 영역;

[0204] (b) WO 2008/119567의 서열번호 35 또는 39에 제시된 바와 같은 VL 영역 및 WO 2008/119567의 서열번호 33

또는 37에 제시된 바와 같은 VH 영역;

[0205] (c) WO 2008/119567의 서열번호 53 또는 57에 제시된 바와 같은 VL 영역 및 WO 2008/119567의 서열번호 51 또는 55에 제시된 바와 같은 VH 영역;

[0206] (d) WO 2008/119567의 서열번호 71 또는 75에 제시된 바와 같은 VL 영역 및 WO 2008/119567의 서열번호 69 또는 73에 제시된 바와 같은 VH 영역;

[0207] (e) WO 2008/119567의 서열번호 89 또는 93에 제시된 바와 같은 VL 영역 및 WO 2008/119567의 서열번호 87 또는 91에 제시된 바와 같은 VH 영역;

[0208] (f) WO 2008/119567의 서열번호 107 또는 111에 제시된 바와 같은 VL 영역 및 WO 2008/119567의 서열번호 105 또는 109에 제시된 바와 같은 VH 영역;

[0209] (g) WO 2008/119567의 서열번호 125 또는 129에 제시된 바와 같은 VL 영역 및 WO 2008/119567의 서열번호 123 또는 127에 제시된 바와 같은 VH 영역;

[0210] (h) WO 2008/119567의 서열번호 143 또는 147에 제시된 바와 같은 VL 영역 및 WO 2008/119567의 서열번호 141 또는 145에 제시된 바와 같은 VH 영역;

[0211] (i) WO 2008/119567의 서열번호 161 또는 165에 제시된 바와 같은 VL 영역 및 WO 2008/119567의 서열번호 159 또는 163에 제시된 바와 같은 VH 영역; 및

[0212] (j) WO 2008/119567의 서열번호 179 또는 183에 제시된 바와 같은 VL 영역 및 WO 2008/119567의 서열번호 177 또는 181에 제시된 바와 같은 VH 영역.

[0213] 본 발명의 항체 구축물과 관련하여, 서열번호 16 또는 25에 제시된 바와 같은 VL 영역 및 본 서열목록에 서열번호 15 또는 24로서 제시된 바와 같은 VH 영역을 포함하는 CD3에 결합하는 제2 도메인이 또한 바람직하다.

[0214] 본 발명의 항체 구축물의 바람직한 구현예에 따르면, 제1 및/또는 제2 도메인은 다음의 형식을 갖는다: VH 영역 및 VL 영역의 쌍은 단일 쇄 항체(scFv)의 형식이다. VH 및 VL 영역은 VH-VL 또는 VL-VH의 순서로 배열된다. VH-영역은 링커 서열의 N-말단에 위치되고, VL-영역은 링커 서열의 C-말단에 위치되는 것이 바람직하다.

[0215] 본 발명의 위에 기술된 항체 구축물의 바람직한 구현예는 WO 2008/119567의 서열번호 23, 25, 41, 43, 59, 61, 77, 79, 95, 97, 113, 115, 131, 133, 149, 151, 167, 169, 185 또는 187로 구성된 군으로부터 선택되거나 본 서열목록에 서열번호 26으로 제시된 아미노산 서열을 포함하는 CD3에 결합하는 제2 도메인을 특징으로 한다.

[0216] 항체 구축물의 공유적 변형 또한 본 발명의 범주 내에 포함되고, 일반적으로, 항상은 아니지만, 번역 후에 행해진다. 예를 들어, 항체 구축물의 몇 가지 유형의 공유적 변형은 항체 구축물의 특정 아미노산 잔기를 선택된 측쇄나 N- 또는 C-말단 잔기와 반응시킬 수 있는 유기 유도체화제와 반응시킴으로써 분자 내로 도입된다.

[0217] 시스테이닐 잔기는 가장 통상적으로 α-할로아세테이트(및 상응하는 아민), 예를 들어 클로로아세트산 또는 클로로아세트아미드와 반응하여, 카르복시메틸 또는 카르복시아미도메틸 유도체를 제공한다. 시스테이닐 잔기는 또한 브로모트리플루오로아세톤, α-브로모-β-(5-이미도조일)프로피온산, 클로로아세틸 포스페이트, N-알킬말레이미드, 3-니트로-2-파리딜 디설파이드, 메틸 2-파리딜 디설파이드, p-클로로머큐리벤조에이트, 2-클로로머큐리-4-니트로페놀, 또는 클로로-7-니트로벤조-2-옥사-1,3-디아졸과의 반응에 의해 유도체화된다.

[0218] 히스티딜 잔기는 pH 5.5 내지 7.0에서 디에틸파리코카르보네이트와의 반응에 의해 유도체화되는데, 이 작용제가 히스티딜 측쇄에 비교적 특이적이기 때문이다. 파라-브로모펜아실 브로마이드 또한 유용하고; 반응은 바람직하게는 pH 6.0에서 0.1M 카코딜산나트륨 중에서 수행된다. 리시닐 및 아미노 말단 잔기는 숙신산 또는 다른 카르복실산 무수물과 반응한다. 이들 작용제와의 유도체화는 리시닐 잔기의 전하를 역전시키는 효과를 갖는다. 알파-아미노 함유 잔기를 유도체화하는 다른 적합한 시약은 이미도에스테르, 예를 들어 메틸 피콜린이미데이트; 피리독살 포스페이트; 피리독살; 클로로보로하이드라이드; 트리니트로벤젠술폰산; O-메틸이소우레아; 2,4-펜탄디온; 및 글리옥실레이트와의 트랜스아미나제-촉매 반응을 포함한다.

[0219] 아르기닐 잔기는 하나 또는 몇몇 종래의 시약, 특히 폐닐글리옥살, 2,3-부탄다이온, 1,2-시클로헥산디온, 및 닌하이드린과의 반응에 의해서 변형된다. 아르기닌 잔기의 유도체화는 구아니딘 작용기의 높은 pKa 때문에 반응이 알칼리성 조건에서 수행될 것을 요구한다. 더 나아가, 이들 시약은 리신의 기뿐만 아니라 아르기닌 앱실론-아미노기와 반응할 수 있다.

- [0220] 티로실 잔기의 특정 변형은 스펙트럼 표지를 방향족 디아조늄 화합물 또는 테트라니트로메탄과의 반응에 의해 티로실 잔기로 도입하는 데 특히 관심을 갖고 이루어질 수 있다. 가장 통상적으로, N-아세틸이미다졸 및 테트라니트로메탄은 각각 0-아세틸 티로실 종 및 3-니트로 유도체를 형성하기 위해 사용된다. 티로실 잔기는 방사면역 측정법에서 사용하기 위한 표지 단백질을 제조하기 위해  $^{125}\text{I}$  또는  $^{131}\text{I}$ 를 사용하여 요오드화되며, 위에 기술된 클로라민 T 방법이 적합하다.
- [0221] 카르복실 측기(아스파틸 또는 글루타밀)는 카르보디이미드( $\text{R}'-\text{N}=\text{C}=\text{N}-\text{R}''$ )와의 반응에 의해 선택적으로 변형되는데, 여기에서 R 및 R'는 선택적으로 상이한 알킬기, 예를 들어 1-사이클로헥실-3-(2-모르폴리닐-4-에틸) 카르보디이미드 또는 1-에틸-3-(4-아조니아-4,4-디메틸펜틸) 카르보디이미드이다. 더 나아가, 아스파틸 및 글루타밀 잔기는 암모늄 이온과의 반응에 의해 아스파라기닐 및 글루타미닐 잔기로 전환된다.
- [0222] 이작용성 작용제로의 유도체화는 다양한 방법에서 사용하기 위한 수불용성 지지체 기질 또는 표면에 본 발명의 항체 구축물을 가교시키는 데 유용하다. 통상적으로 사용되는 가교제는, 예를 들어, 1,1-비스(디아조아세틸)-2-페닐에탄, 글루타르알데히드, N-하이드록시숙신이미드 에스테르, 예를 들어, 4-아지도살리실산과의 에스테르, 디숙신이미딜 에스테르, 예를 들어 3,3'-디티오비스(숙신이미딜프로피오네이트)를 포함하는 호모이작용성 이미도에스테르, 및 이작용성 말레이이미드, 예를 들어 비스-N-말레이이미도-1,8-옥탄을 포함한다. 유도체화제, 예를 들어 메틸-3-[ $(\text{p}-\text{아지도페닐})\text{디티오}$ ]프로피오이미데이트는 빛 존재 하에 가교를 형성할 수 있는 광활성 가능한 중간체를 산출한다. 대안적으로, 반응성 수불용성 기질, 예컨대 시아노겐 브로마이드-활성화 탄수화물 및 미국 특허 번호 3,969,287; 3,691,016; 4,195,128; 4,247,642; 4,229,537; 및 4,330,440에 기술된 바와 같은 반응성 기질이 단백질 고정화를 위하여 사용된다.
- [0223] 글루타미닐 및 아스파라기닐 잔기는 각각 상응하는 글루타밀 및 아스파틸 잔기로 빈번하게 탈아미드화된다. 대안적으로, 이를 잔기는 약간 산성인 조건 하에 탈아미드화된다. 이를 잔기 중 어느 하나의 형태는 본 발명의 범주 내에 속한다.
- [0224] 다른 변형은 프롤린과 리신의 하이드록실화, 세릴 또는 트레오닐 잔기의 하이드록실 기의 인산화, 리신, 아르기닌, 및 히스티딘 측쇄의  $\alpha$ -아미노 기의 메틸화(T. E. Creighton, Proteins: Structure and Molecular Properties, W. H. Freeman & Co., San Francisco, 1983, pp. 79-86), N-말단 아민의 아세틸화, 및 임의의 C-말단 카르복실기의 아미드화를 포함한다.
- [0225] 본 발명의 범주 내에 포함되는 항체 구축물의 공유적 변형의 다른 유형은 단백질의 글리코실화 패턴을 변경시키는 것을 포함한다. 당해 분야에 공지된 바와 같이, 글리코실화 패턴은 단백질의 서열(예를 들어, 이하에 논의되는 특정 글리코실화 아미노산 잔기의 존재 또는 부존재), 또는 단백질이 생산되는 숙주 세포 또는 유기체 둘 다에 의존할 수 있다. 특정 발현 시스템은 이하에 논의된다.
- [0226] 폴리펩티드의 글리코실화는 전형적으로 N-연결되거나 O-연결된다. N-연결은 아스파라긴 잔기의 측쇄에 대한 탄수화물 모이어티의 부착을 지칭한다. 트리-펩티드 서열 아스파라긴-X-세린 및 아스파라긴-X-트레오닌(여기에서, X는 프롤린을 제외한 임의의 아미노산임)은 아스파라긴 측쇄에 대한 탄수화물 모이어티의 효소적 부착을 위한 인식 서열이다. 따라서, 폴리펩티드에서 이들 트리-펩티드 서열 중 어느 하나의 존재는 잠재적 글리코실화 부위를 생성한다. O-연결된 글리코실화는 하이드록시아미노산, 가장 일반적으로는 세린 또는 트레오닌에 대한 당(sugar) N-아세틸갈اكت오사민, 갈اكت스, 또는 자일로스 중 하나의 부착을 지칭하지만, 5-하이드록시프롤린 또는 5-하이드록시라이신도 사용될 수 있다.
- [0227] 항체 구축물에 대한 글리코실화 부위의 첨가는, 그것이 위에 기술된 트리-펩티드 서열 중 하나 이상을 포함하도록, 아미노산 서열을 변경함으로써 편리하게 달성된다(N-연결된 글리코실화 부위의 경우). 변경은 또한 출발 서열에 하나 이상의 세린 또는 트레오닌 잔기의 첨가, 또는 이에 의한 치환에 의해 이루어질 수 있다(O-연결된 글리코실화 부위의 경우). 용이성을 위해서, 항체 구축물의 아미노산 서열은 DNA 수준의 변화를 통해, 특히 요망되는 아미노산으로 번역될 코돈이 생성되도록 사전 선택된 염기에서 폴리펩티드를 암호화하는 DNA를 돌연변이시킴으로써 바람직하게 변경된다.
- [0228] 항체 구축물에서 탄수화물 모이어티 수를 증가시키는 다른 수단은 단백질에 대한 글리코시드의 화학적 또는 효소적 결합에 의한다. 이들 절차는 N- 및 O-연결된 글리코실화를 위한 글리코실화 능력을 갖는 숙주 세포에서 단백질의 생산을 필요로 하지 않는다는 점에서 유리하다. 사용되는 결합 방식에 따라, 당(들)은 (a) 아르기닌 및 히스티딘, (b) 유리 카르복실기, (c) 유리 설프하이드릴기, 예를 들어 시스테인의 설프하이드릴기, (d) 유리 하이드록실기, 예를 들어 세린, 트레오닌 또는 하이드록시프롤린의 하이드록실기, (e) 방향족 잔기, 예를 들어 폐

닐알라닌, 티로신 또는 트립토판의 방향족 잔기, 또는 (f) 글루타민의 아미드기에 부착될 수 있다. 이들 방법은 WO 87/05330, 및 Aplin and Wriston, 1981, CRC Crit. Rev. Biochem., pp. 259-306에 기술되어 있다.

[0229] 출발 항체 구축물에 존재하는 탄수화물 모이어티의 제거는 화학적으로 또는 효소적으로 달성될 수 있다. 화학적 탈글리코실화는 트리플루오로메탄술폰산 화합물, 또는 동등한 화합물에 대한 단백질의 노출을 필요로 한다. 이 처리는 연결 당(N-아세틸글루코사민 또는 N-아세틸갈락토사민)을 제외한 대부분 또는 모든 당의 절단을 초래하는 한편, 폴리펩티드는 그대로 남겨 둔다. 화학적 탈글리코실화는 Hakimuddin *et al.*, 1987, *Arch. Biochem. Biophys.* 259:52 및 Edge *et al.*, 1981, *Anal. Biochem.* 118:131에 기술되어 있다. 폴리펩티드에서 탄수화물 모이어티의 효소적 절단은 Thotakura *et al.*, 1987, *Meth Enzymol.* 138:350에 의해 기술된 바와 같이 다양한 엔도- 및 액소-글리코시다아제의 사용에 의해 달성될 수 있다. 잠재적 글리코실화 부위에서의 글리코실화는 Duskin *et al.*, 1982, *J Biol. Chem.* 257:3105에 의해 기술된 바와 같이 튜니카마이신 화합물의 사용에 의해 방지될 수 있다. 튜니카마이신은 단백질-N-글리코시드 연결의 형성을 차단한다.

[0230] 항체 구축물의 다른 변형이 또한 본 명세서에서 고려된다. 예를 들어, 항체 구축물의 공유적 변형의 다른 유형은 미국 특허 번호 4,640,835; 4,496,689; 4,301,144; 4,670,417; 4,791,192 또는 4,179,337에 제시된 방식으로 다양한 폴리올, 예를 들어 폴리에틸렌 글리콜, 폴리프로필렌 글리콜, 폴리옥시알킬렌, 또는 폴리에틸렌 글리콜과 폴리프로필렌 글리콜의 공중합체를 포함하지만, 이로 한정되지 않는 다양한 비-단백질성 중합체에 항체 구축물을 연결하는 것을 포함한다. 추가로, 당해 분야에 공지된 바와 같이, 아미노산 치환은 항체 구축물 내의 다양한 위치에서, 예를 들어, PEG와 같은 중합체의 첨가를 용이하게 하기 위해 이루어질 수 있다.

[0231] 일부 구현예에서, 본 발명의 항체 구축물의 공유적 변형은 하나 이상의 표지의 첨가를 포함한다. 표지기는 잠재적 입체 장애를 감소시키기 위해 다양한 길이의 스페이서 암을 통해 항체 구축물에 결합될 수 있다. 단백질을 표지하는 다양한 방법은 당해 분야에 공지되어 있으며, 본 발명을 수행하는 데 사용될 수 있다. 용어 "표지" 또는 "표지기"은 임의의 검출 가능한 표지를 지칭한다. 일반적으로, 표지는 이들이 검출되는 분석에 따라 다양한 부류에 속하며 - 다음의 예를 포함하지만, 이로 제한되지 않는다:

[0232] a) 방사성 동위원소 또는 방사성 핵종과 같은 방사성 또는 무거운 동위원소일 수 있는 동위원소 표지(예를 들어,  $^3\text{H}$ ,  $^{14}\text{C}$ ,  $^{15}\text{N}$ ,  $^{35}\text{S}$ ,  $^{89}\text{Zr}$ ,  $^{90}\text{Y}$ ,  $^{99}\text{Tc}$ ,  $^{111}\text{In}$ ,  $^{125}\text{I}$ ,  $^{131}\text{I}$ )

[0233] b) 자기 표지(예를 들어, 자기 입자)

[0234] c) 산화환원 활성 모이어티

[0235] d) 광학 염료(발색단, 인광체 및 형광체를 포함하지만, 이로 한정되지 않음), 예를 들어 형광기(예를 들어, FITC, 로다민, 란탄족 인광체), 화학발광기, 및 "소분자" 형광 또는 단백질성 형광 중 하나일 수 있는 형광단

[0236] e) 효소기(예를 들어, 호스래디쉬 페옥시다아제,  $\beta$ -갈락토시다아제, 루시페라아제, 알칼리 포스파타아제)

[0237] f) 비오틴이 결합된 기

[0238] g) 2차 리포터에 의해 인식되는 사전 결정된 폴리펩티드 에피토프(예를 들어, 류신 지퍼 쌍 서열, 2차 항체에 대한 결합 측, 금속 결합 도메인, 에피토프 태그 등)

[0239] "형광 표지"는 이의 고유 형광 특성을 통해 검출될 수 있는 임의의 분자를 의미한다. 적합한 형광 표지는 플루오레세인, 로다민, 테트라메틸로다민, 에오신, 에리트로신, 쿠마린, 메틸-쿠마린, 피렌, 말라카이트 그린(Malachite green), 스틸벤, 루시퍼 엘로(Lucifer Yellow), 캐스케이드 블루제이(Cascade BlueJ), 텍사스 레드(Texas Red), 아이에단스(IAEDANS), 에단스(EDANS), 보디피 FL(BODIPY FL), LC 레드 640, Cy 5, Cy 5.5, LC 레드 705, 오리건 그린(Oregon green), 알렉사-플루오르(Alexa-Fluor) 염료(알렉사 플루오르 350, 알렉사 플루오르 430, 알렉사 플루오르 488, 알렉사 플루오르 546, 알렉사 플루오르 568, 알렉사 플루오르 594, 알렉사 플루오르 633, 알렉사 플루오르 660, 알렉사 플루오르 680), 캐스케이드 블루, 캐스케이드 엘로 및 R-피코에리트린(PE)(Molecular Probes, Eugene, OR), FITC, 로다민 및 텍사스 레드(Pierce, 미국 일리노이 주 락포드 소재), Cy5, Cy5.5, Cy7(Amersham Life Science, 미국 펜실베이니아 주 피츠버그 소재)을 포함하지만, 이로 한정되지 않는다. 형광단을 포함하는 적합한 광학 염료는 Richard P. Haugland에 의해 Molecular Probes Handbook에 기술되어 있다.

[0240] 적합한 단백질성 형광 표지는 또한 GFP의 레닐라(Renilla), 프릴로사르쿠스(프릴로사르쿠스), 또는 아에쿠오레

아(Aequorea) 종을 포함하는 녹색 형광 단백질(Chalfie *et al.*, 1994, *Science* 263:802-805), EGFP(Clontech Laboratories, Inc., Genbank 수탁번호 U55762), 청색 형광 단백질(BFP, Quantum Biotechnologies, Inc. 1801 de Maisonneuve Blvd. West, 8th Floor, Montreal, Quebec, Canada H3H 1J9; Stuber, 1998, *Biotechniques* 24:462-471; Heim *et al.*, 1996, *Curr. Biol.* 6:178-182), 강화된 황색 형광 단백질(EYFP, Clontech Laboratories, Inc.), 루시페라아제(Ichiki *et al.*, 1993, *J. Immunol.* 150:5408-5417),  $\beta$  갈락토시다아제(Nolan *et al.*, 1988, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 85:2603-2607) 및 레닐라(W092/15673, W095/07463, W098/14605, W098/26277, W099/49019, 미국 특허 번호 5,292,658; 5,418,155; 5,683,888; 5,741,668; 5,777,079; 5,804,387; 5,874,304; 5,876,995; 5,925,558)를 포함하나, 이로 한정되지 않는다.

[0241] 본 발명의 항체 구축물은 또한 예를 들어, 분자의 단리에 도움을 주거나 분자의 적당한 약동학적 프로파일에 관련된 추가적인 도메인을 포함할 수 있다. 항체 구축물의 단리를 돋는 도메인은 단리 방법, 예를 들어 단리 칼럼에서 포획될 수 있는 웨티드 모티브 또는 2차적으로 도입된 모이어티로부터 선택될 수 있다. 이러한 추가적인 도메인의 비제한적 구현에는 Myc-태그, HAT-태그, HA-태그, TAP-태그, GST-태그, 키친 결합 도메인(CBD-태그), 말토오스 결합 단백질(MBP-태그), 플래그-태그, 스트렙-태그 및 이의 변이체(예를 들어, 스트렙II-태그) 및 His-태그로서 알려진 웨티드 모티브를 포함한다. 확인된 CDR을 특징으로 하는 본 명세서에 개시된 모든 항체 구축물은 분자의 아미노산 서열에서 연속 His 잔기, 바람직하게는 5개, 더욱 바람직하게는 6개의 His 잔기(헥사-히스티딘)의 반복부로서 일반적으로 알려진 His-태그 도메인을 포함할 수 있다. His-태그는, 예를 들어, 항체 구축물의 N-말단 또는 C-말단에 위치할 수 있고, 바람직하게는 C-말단에 위치한다. 가장 바람직하게는, 헥사-히스티딘 태그(HHHHHHH)(서열번호 16)가 본 발명에 따른 항체 구축물의 C-말단에 웨티드 결합을 통해 연결된다. 추가적으로, PLGA-PEG-PLGA의 접합체 시스템은 지속적 방출 적용 및 개선된 약동학적 프로파일을 위해 폴리-히스티딘 태그와 조합될 수 있다.

[0242] 본 명세서에 기술된 항체 구축물의 아미노산 서열 변형이 또한 고려된다. 예를 들어, 항체 구축물의 결합 친화도 및/또는 다른 생물학적 특성을 개선하는 것이 바람직할 수 있다. 항체 구축물의 아미노산 서열 변이체는 항체 구축물 핵산에 적절한 뉴클레오티드 변화를 도입함으로써, 또는 웨티드 합성에 의해 제조된다. 이하에 기술되는 아미노산 서열 변형 모두는 비변형 모 분자의 요망되는 생물학적 활성(표적 세포 표면 항원에 대한, 그리고 CD3에 대한 결합)을 여전히 보유하는 항체 구축물을 초래하여야 한다.

[0243] 용어 "아미노산" 또는 "아미노산 잔기"는 변형, 합성 또는 희귀 아미노산이 원하는 대로 사용될 수 있지만, 전형적으로는 당해 분야에서 인식되는 정의를 갖는 아미노산, 예를 들어, 알라닌(Ala 또는 A); 아르기닌(Arg 또는 R); 아스파라긴(Asn 또는 N); 아스파르트산(Asp 또는 D); 시스테인(Cys 또는 C); 글루타민(Gln 또는 Q); 글루탐산(Glu 또는 E); 글리신(Gly 또는 G); 히스티딘(His 또는 H); 이소류신(He 또는 I); 류신(Leu 또는 L); 리신(Lys 또는 K); 메티오닌(Met 또는 M);フェ닐알라닌(Phe 또는 F); 프롤린(Pro 또는 P); 세린(Ser 또는 S); 트레오닌(Thr 또는 T); 트립토판(Trp 또는 W); 티로신(Tyr 또는 Y); 및 발린(Val 또는 V)으로 구성되는 군으로부터 선택되는 아미노산을 지칭한다. 일반적으로, 아미노산은 비극성 측쇄를 갖는 것(예를 들어, Ala, Cys, He, Leu, Met, Phe, Pro, Val); 음으로 하전된 측쇄를 갖는 것(예를 들어, Asp, Glu); 양으로 하전된 측쇄를 갖는 것(예를 들어, Arg, His, Lys); 또는 비하전 극성 측쇄를 갖는 것(예를 들어, Asn, Cys, Gln, Gly, His, Met, Phe, Ser, Thr, Trp 및 Tyr)으로 그룹화될 수 있다.

[0244] 아미노산 변형은, 예를 들어, 항체 구축물의 아미노산 서열 내의 잔기로부터의 결실, 및/또는 잔기로의 삽입, 및/또는 잔기의 치환을 포함한다. 결실, 삽입, 및 치환의 임의의 조합은 최종 구축물이 요망되는 특성을 갖는 경우에만, 최종 구축물에 도달하도록 이루어진다. 아미노산 변화는 또한 글리코실화 부위의 개수 또는 위치를 변화시키는 것과 같이, 항체 구축물의 번역 후 과정을 변경시킬 수 있다.

[0245] 예를 들어, 1, 2, 3, 4, 5 또는 6개의 아미노산이 각각의 CDR(물론, 그들의 길이에 의존함)에서 삽입, 치환 또는 결실될 수 있는 반면, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 또는 25개의 아미노산이 각각의 FR에서 삽입, 치환 또는 결실될 수 있다. 바람직하게는, 항체 구축물로의 아미노산 서열 삽입은 길이가 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10개 잔기로부터 100개 이상의 잔기를 포함하는 폴리웨티드까지의 범위에 있는 아미노- 및/또는 카르복실-말단 융합뿐만 아니라 단일 또는 다중 아미노산 잔기의 서열 내 삽입을 포함한다. 상응하는 변형은 또한 본 발명의 항체 구축물의 제3 도메인 내에서 수행될 수 있다. 본 발명의 항체 구축물의 삽입 변이체는 효소의 항체 구축물의 N-말단 또는 C-말단에 대한 융합 또는 폴리웨티드에 대한 융합을 포함한다.

[0246] 치환 돌연변이 유발의 가장 큰 관심 대상 부위는 중쇄 및/또는 경쇄의 CDR, 특히 초기변 영역을 포함하지만(그

러나 이로 한정되지 않음), 중쇄 및/또는 경쇄에서의 FR 변형이 또한 고려된다. 치환은 바람직하게는 본 명세서에 기술된 바와 같은 보존적 치환이다. 바람직하게는, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10개의 아미노산이 CDR에서 치환될 수 있는 한편, CDR 또는 FR의 길이에 따라 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 또는 25개의 아미노산이 프레임워크 영역(FR)에서 치환될 수 있다. 예를 들어, CDR 서열이 6개의 아미노산을 포함하는 경우, 이들 아미노산 중 1, 2 또는 3개가 치환되는 것으로 고려된다. 유사하게, CDR 서열이 15개의 아미노산을 포함하는 경우, 이들 아미노산 중 1, 2, 3, 4, 5 또는 6개가 치환되는 것으로 고려된다.

[0247] 돌연변이 유발을 위한 바람직한 위치인 항체 구축물의 특정 잔기 또는 영역의 확인을 위한 유용한 방법은 Cunningham 및 Wells에 의해 Science, 244: 1081-1085 (1989)에 기술된 "알라닌 스캐닝 돌연변이 유발"로 불린다. 여기에서, 항체 구축물 내의 잔기 또는 표적 잔기의 군이 확인되고(예를 들어, arg, asp, his, lys, 및 glu와 같은 하전된 잔기), 중성 또는 음으로 하전된 아미노산(가장 바람직하게는 알라닌 또는 폴리알라닌)으로 교체되어 아미노산과 에피토프의 상호작용에 영향을 미친다.

[0248] 이어서, 치환에 대한 작용 민감성을 보여주는 이들 아미노산 위치는 치환 부위에서 또는 치환 부위에 대해 추가적인 또는 다른 변이체를 도입함으로써 개선된다. 따라서, 아미노산 서열 변화를 도입하기 위한 부위 또는 영역은 사전 결정되지만, 돌연변이의 성질 그 자체는 사전 결정될 필요가 없다. 예를 들어, 주어진 부위에서 돌연변이의 성능을 분석하거나 최적화하기 위해, 알라닌 스캐닝 또는 무작위 돌연변이 유발이 표적 코돈 또는 영역에서 수행될 수 있고, 발현된 항체 구축물 변이체는 요망되는 활성의 최적 조합을 위해 선별된다. 공지된 서열을 갖는 DNA의 사전 결정된 부위에서 치환 돌연변이를 생성하기 위한 기법은 잘 알려져 있고, 예를 들어, M13 프라이머 돌연변이 유발 및 PCR 돌연변이 유발이 있다. 돌연변이체의 선별은 표적 세포 표면 항원 또는 CD3 결합과 같은 항원 결합 활성의 분석을 사용하여 행하여진다.

[0249] 일반적으로, 아미노산이 중쇄 및/또는 경쇄의 하나 이상 또는 모든 CDR에서 치환되는 경우, 그때 얻어지는 "치환된" 서열은 "본래의" CDR 서열에 대해 적어도 60% 또는 65%, 더욱 바람직하게는 70% 또는 75%, 한층 더 바람직하게는 80% 또는 85%, 그리고 특히 바람직하게는 90% 또는 95% 동일한 것이 바람직하다. 이는 "치환된" 서열과 동일한 정도로 CDR의 길이에 의존한다는 것을 의미한다. 예를 들어, 5개의 아미노산을 갖는 CDR은 적어도 하나의 아미노산이 치환되도록 그의 치환된 서열과 바람직하게는 80% 동일하다. 따라서, 항체 구축물의 CDR은 그들의 치환된 서열에 대해 상이한 정도의 동일성을 가질 수 있고, 예를 들어, CDRL1은 80%를 가질 수 있는 반면, CDRL3은 90%를 가질 수 있다.

[0250] 바람직한 치환(또는 교체)은 보존적 치환이다. 그러나 항체 구축물이 제1 도메인을 통해 표적 세포 표면 항원에, 그리고 제2 도메인을 통해 CD3, 각각 CD3 앱실론에 결합하는 그의 능력을 보유하고/하거나 그의 CDR이 그때 치환된 서열에 대해 동일성("본래의" CDR 서열에 대해 적어도 60% 또는 65%, 더욱 바람직하게는 70% 또는 75%, 한층 더 바람직하게는 80% 또는 85%, 그리고 특히 바람직하게는 90% 또는 95% 동일함)을 갖는 한, 임의의 치환(이하의 표 3에 열거된 "예시적인 치환"으로부터의 하나 이상 또는 비보존적 치환을 포함)이 고려된다.

[0251] 보존적 치환은 "바람직한 치환"의 표제 하에 표 3에 제시되어 있다. 이러한 치환이 생물학적 활성의 변화를 초래하는 경우, 표 3에서 "예시적인 치환"으로 명명되거나, 아미노산 부류에 대해 이하에 추가로 기재되는 바와 같은 더 실질적인 변화가 도입될 수 있고, 생성물은 요망되는 특징에 대해 선별될 수 있다.

표 3: 아미노산 치환

본래	예상적인 치환	비정적 치환
Ala (A)	val, leu, ile	val
Arg (R)	lys, gln, asn	lys
Asn (N)	gln, his, asp, lys, arg	gln
Asp (D)	glu, asn	glu
Cys (C)	ser, ala	ser
Gln (Q)	asn, glu	asn
Glu (E)	asp, gln	asp
Gly (G)	Ala	ala
His (H)	asn, gln, lys, arg	arg
Ile (I)	leu, val, met, ala, phe	leu
Leu (L)	노르류신, ile, val, met, ala	ile
Lys (K)	arg, gln, asn	arg
Met (M)	leu, phe, ile	leu
Phe (F)	leu, val, ile, ala, tyr	tyr
Pro (P)	Ala	ala
Ser (S)	Thr	thr
Thr (T)	Ser	ser
Trp (W)	tyr, phe	tyr
Tyr (Y)	trp, phe, thr, ser	phe
Val (V)	ile, leu, met, phe, ala	leu

[0252]

[0253]

본 발명의 항체 구축물의 생물학적 특성의 실질적인 변형은 (a) 예를 들어, 시트 또는 나선 입체형태로서, 치환 영역에서 폴리펩티드 골격의 구조, (b) 표적 부위에서 분자의 전하 또는 소수성, 또는 (c) 측쇄의 큰 규모를 유지하는 데 대한 이들의 영향이 상당히 다른 치환을 선택함으로써 달성된다. 천연적으로 존재하는 잔기는 통상적인 측쇄 특성을 기반으로 하여 다음 군으로 나누어진다: (1) 소수성: 노르류신, met, ala, val, leu, ile; (2) 중성 친수성: cys, ser, thr, asn, gln; (3) 산성: asp, glu; (4) 염기성: his, lys, arg; (5) 쇄 배향에 영향을 미치는 잔기: gly, pro; 및 (6) 방향족: trp, tyr, phe.

[0254]

비보존적 치환은 이를 부류 중 하나의 구성원을 다른 부류로 교환하는 것을 수반할 것이다. 분자의 산화적 안정성을 개선하고 비정상 가교를 방지하기 위해 항체 구축물의 적절한 입체형태를 유지하는 데 관여하지 않는 임의의 시스테인 잔기는 일반적으로 세린으로 치환될 수 있다. 대조적으로, 시스테인 결합(들)은 이의 안정성을 개선하기 위해 항체에 부가될 수 있다(특히, 항체가 Fv 단편과 같은 항체 단편인 경우).

[0255]

아미노산 서열의 경우, 서열 동일성 및/또는 유사성은 Smith and Waterman, 1981, *Adv. Appl. Math.* 2:482의 국소 서열 동일성 알고리즘, Needleman and Wunsch, 1970, *J. Mol. Biol.* 48:443의 서열 동일성 정렬 알고리즘, Pearson and Lipman, 1988, *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A.* 85:2444의 유사성 방법의 조사, 이를 알고리즘의 전산화된 구현(위스콘신 제네틱스 소프트웨어 패키지(Wisconsin Genetics Software Package)(Genetics Computer Group, 미국 위스콘신 주 매디슨 사이언스 드라이브 575)의 GAP, BESTFIT, FASTA, 및 TFASTA), Devereux *et al.*, 1984, *Nucl. Acid Res.* 12:387-395에 의해 기술된 베스트 펫(Best Fit) 서열 프로그램을 포함하는(그러나 이로 한정되지 않는) 당해 분야에 공지된 표준 기법을 이용하여, 바람직하게는 디폴트 설정을 이용하여, 또는 검사에 의해 결정한다. 바람직하게는, 동일성 백분율은 다음 파라미터를 기반으로 하여 FastDB에 의해 계산된다: 미스매치 폐널티 1; 갭 폐널티 1; 갭 크기 폐널티 0.33; 및 결합 폐널티 30, "Current Methods in Sequence Comparison and Analysis," *Macromolecule Sequencing and Synthesis, Selected Methods and Applications*, pp 127-149 (1988), Alan R. Liss, Inc.

[0256]

유용한 알고리즘의 예는 PILEUP이다. PILEUP은 진행성, 쌍별 정렬을 사용하여 관련된 서열의 군으로부터 다중 서열 정렬을 생성한다. 또한, 정렬을 생성하기 위해 사용되는 클러스터링 관계를 나타내는 트리를 도표화할 수 있다. PILEUP은 Feng & Doolittle, 1987, *J. Mol. Evol.* 35:351-360의 점진적 정렬 방법의 단순화를 사용하고;

이 방법은 Higgins and Sharp, 1989, CABIOS 5:151-153에 기술된 것과 유사하다. 유용한 PILEUP 파라미터는 디폴트 캡 가중 3.00, 디폴트 캡 길이 가중 0.10, 및 가중 단부 캡을 포함한다.

[0257] 유용한 알고리즘의 또 다른 예는 Altschul *et al.*, 1990, *J. Mol. Biol.* 215:403-410; Altschul *et al.*, 1997, *Nucleic Acids Res.* 25:3389-3402; 및 Karin *et al.*, 1993, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 90:5873-5878에 기술된 BLAST 알고리즘이다. 특히 유용한 BLAST 프로그램은 Altschul *et al.*, 1996, *Methods in Enzymology* 266:460-480으로부터 얻어진 WU-BLAST-2 프로그램이다. WU-BLAST-2에서는 대부분 디폴트 값으로 설정된 몇 가지 검색 파라미터를 사용한다. 조절 가능한 파라미터는 다음의 값으로 설정된다: 중복 스판=1, 중복 분율=0.125, 단어 역치(T)=II. HSP S 및 HSP S2 파라미터는 동적인 값이고 관심 대상의 서열이 검색되는 특정 데이터베이스의 조성 및 특정 서열의 조성에 따라 프로그램 자체에 의해 확립되지만; 값은 감도를 높이기 위해 조정될 수 있다.

[0258] 추가의 유용한 알고리즘은 Altschul *et al.*, 1993, *Nucl. Acids Res.* 25:3389-3402에 의해 보고된 캡 BLAST이다. 캡 BLAST는 BLOSUM-62 치환 스코어; 9로 설정된 역치 T 파라미터; 캡이 없는 연장을 촉발시키기 위한 2-히트 방법, k의 캡 길이에 10+k을 부과; 16으로 설정된 Xu, 그리고 데이터베이스 검색 단계에 대해 40 및 알고리즘의 산출 단계에 대해 67로 설정된 Xg를 사용한다. 캡 정렬은 약 22 비트에 상응하는 스코어에 의해 촉발된다.

[0259] 일반적으로, 개개 변이체 CDR 또는 VH / VL 서열 사이의 아미노산 상동성, 유사성, 또는 동일성은 본 명세서에 제시된 서열에 대해 적어도 60%이고, 더 전형적으로 바람직하게는 적어도 65% 또는 70%, 더욱 바람직하게는 적어도 75% 또는 80%, 한층 더 바람직하게는 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 및 거의 100%의 상동성 또는 동일성으로 증가한다. 유사한 방식으로, 본 명세서에서 확인되는 결합 단백질의 핵산 서열에 대해 "핵산 서열 동일성 백분율(%)"은, 항체 구축물의 암호화 서열에서 뉴클레오티드 잔기와 동일한 후보 서열에서의 뉴클레오티드 잔기의 백분율로서 정의된다. 구체적인 방법은 디폴트 파라미터로 설정된 WU-BLAST-2의 BLASTN 모듈을 이용하며, 중복 스판 및 중복 분율은 각각 1 및 0.125로 설정된다.

[0260] 일반적으로, 개개 변이체 CDR 또는 VH / VL 서열을 암호화하는 뉴클레오티드 서열과 본 명세서에 제시된 뉴클레오티드 서열 사이의 핵산 서열 상동성, 유사성 또는 동일성은 적어도 60%이고, 더 전형적으로 바람직하게는 적어도 65%, 70%, 75%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99%, 및 거의 100%의 상동성 또는 동일성으로 증가한다. 따라서, "변이체 CDR" 또는 "변이체 VH / VL 영역"은 본 발명의 모 CDR / VH / VL에 대해 구체화된 상동성, 유사성 또는 동일성을 갖는 것이고, 모 CDR 또는 VH / VL의 특이성 및/또는 활성의 적어도 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99%를 포함하지만, 이로 한정되지 않는 생물학적 기능을 공유한다.

[0261] 일 구현예에서, 본 발명에 따른 항체 구축물의 인간 생식계열에 대한 동일성의 백분율은 ≥70% 또는 ≥75%, 더욱 바람직하게는 ≥80% 또는 ≥85%, 한층 더 바람직하게는 ≥90%, 그리고 가장 바람직하게는 ≥91%, ≥92%, ≥93%, ≥94%, ≥95% 또는 심지어 ≥96%이다. 인간 항체 생식계열 유전자 산물에 대한 동일성은 치료하는 동안 환자에서 약물에 대한 면역 반응을 유발하는 치료 단백질의 위험을 감소시키기 위한 중요한 특징인 것으로 생각된다. Hwang & Foote ("Immunogenicity of engineered antibodies"; Methods 36 (2005) 3-10)는 약물 항체 구축물의 비인간 부분의 감소가 치료하는 동안 환자에서 항-약물 항체를 유도할 위험의 감소를 야기한다는 것을 증명한다. 총망라한 개수의 임상 평가된 항체 약물과 각각의 면역원성 데이터를 비교한 결과, 항체의 V-영역의 인간화가 단백질을 비변경된 비인간 V 영역을 갖는 항체(평균 23.59%의 환자)보다 덜 면역원성(평균 5.1%의 환자)으로 만드는 경향이 나타났다. 따라서, 인간 서열에 대한 더 높은 정도의 동일성이 항체 구축물 형태의 V-영역 기반 단백질 치료제에서 바람직하다. 생식계열 동일성을 결정하는 이 목적을 위해, VL의 V-영역은 Vector NTI 소프트웨어 및 동일한 아미노산 잔기를 VL의 총 아미노산 잔기의 수로 나누어서 백분율로 계산되는 아미노산 서열을 사용하여 인간 생식계열 V 분절 및 J 분절의 아미노산 서열과 정렬될 수 있다(<http://vbase.mrc-cpe.cam.ac.uk/>). VH CDR3이 그의 높은 다양성 및 존재하는 인간 생식계열 VH CDR3 정렬 상대의 결여에 기인하여 배제될 수 있다는 것을 제외하면, VH 분절에 대해서 동일할 수 있다(<http://vbase.mrc-cpe.cam.ac.uk/>). 이어서, 인간 항체 생식계열 유전자에 대한 서열 동일성을 증가시키기 위해 재조합 기법이 사용될 수 있다.

[0262] 추가의 구현예에서, 본 발명의 이중특이적 항체 구축물은, 예를 들어, 표준 2단계 정제 공정에서 표준 연구 규모 조건 하에 높은 단량체 수율을 나타낸다. 바람직하게는 본 발명에 따른 항체 구축물의 단량체 수율은 ≥0.25 mg/L 상등액, 더욱 바람직하게는 ≥0.5 mg/L, 한층 더 바람직하게는 ≥1 mg/L, 그리고 가장 바람직하게는 ≥3 mg/L 상등액이다.

- [0263] 마찬가지로, 이량체 항체 구축물 이소형의 수율 및 따라서 항체 구축물의 단량체 백분율(즉, 단량체+이량체))이 결정될 수 있다. 단량체 및 이량체 항체 구축물의 생산성 및 계산된 단량체 백분율은, 예를 들어, 롤러 보틀에서 표준화된 연구-규모 생산으로부터의 배양 상등액의 SEC 정제 단계에서 얻어질 수 있다. 일 구현예에서, 항체 구축물의 단량체 백분율은  $\geq 80\%$ , 더욱 바람직하게는  $\geq 85\%$ , 한층 더 바람직하게는  $\geq 90\%$ , 그리고 가장 바람직하게는  $\geq 95\%$ 이다.
- [0264] 일 구현예에서, 항체 구축물은  $\leq 5$  또는  $\leq 4$ , 더욱 바람직하게는  $\leq 3.5$  또는  $\leq 3$ , 한층 더 바람직하게는  $\leq 2.5$  또는  $\leq 2$ , 그리고 가장 바람직하게는  $\leq 1.5$  또는  $\leq 1$ 의 바람직한 혈장 안정성(혈장이 있는 EC50 대 혈장이 없는 EC50의 비)을 갖는다. 항체 구축물의 혈장 안정성은 37°C에서 24시간 동안 인간 혈장 중에서 구축물의 인큐베이션에 이어<sup>51</sup> 크로뮴 방출 세포독성 분석에서의 EC50 결정에 의해 시험할 수 있다. 세포독성 분석에서 효과기 세포는 자극된 농축 인간 CD8 양성 T 세포일 수 있다. 표적 세포는, 예를 들어 인간 표적 세포 표면 항원으로 형질감염된 CHO 세포일 수 있다. 효과기 대 표적 세포(E:T) 비는 10:1로서 선택될 수 있다. 이 목적을 위해 사용되는 인간 혈장 풀은 EDTA 코팅 주사기에 의해 수집되는 건강한 공여자의 혈액으로부터 유래된다. 세포 성분은 원심분리에 의해 제거되고, 상부 혈장 상이 수집되고 그 뒤에 모아진다. 대조군으로서, 항체 구축물은 RPMI-1640 배지에서 세포독성 분석 직전에 회석된다. 혈장 안정성은 EC50(혈장 인큐베이션 후) 대 EC50(대조군)의 비로서 계산한다.
- [0265] 더 나아가 본 발명의 항체 구축물의 단량체로부터 이량체로의 전환은 낮은 것이 바람직하다. 전환은 상이한 조건 하에 측정될 수 있고, 고성능 크기 배제 크로마토그래피에 의해 분석될 수 있다. 예를 들어, 항체 구축물의 단량체 이소형의 인큐베이션은 인큐베이터 내에서 37°C로, 그리고 예를 들어, 100  $\mu\text{g/mL}$  또는 250  $\mu\text{g/mL}$ 의 농도로 7일 동안 수행될 수 있다. 이를 조건 하에서, 본 발명의 항체 구축물은  $\leq 5\%$ , 더욱 바람직하게는  $\leq 4\%$ , 한층 더 바람직하게는  $\leq 3\%$ , 한층 더 바람직하게는  $\leq 2.5\%$ , 한층 더 바람직하게는  $\leq 2\%$ , 한층 더 바람직하게는  $\leq 1.5\%$ , 그리고 가장 바람직하게는  $\leq 1\%$  또는  $\leq 0.5\%$  또는 심지어 0%인 이량체 백분율을 나타내는 것이 바람직하다.
- [0266] 또한, 본 발명의 이중특이적 항체 구축물은 다수의 동결/해동 주기 후에 매우 낮은 이량체 전환으로 존재하는 것이 바람직하다. 예를 들어, 항체 구축물 단량체는, 예를 들어, 일반 제형 완충제에서 250  $\mu\text{g/mL}$ 의 농도로 조정되고, 3회의 동결/해동 주기(-80°C에서 30분 동안 냉동한 다음에 실온에서 30분 동안 해동)에 이어서, 고성능 SEC를 수행하여, 이량체 항체 구축물로 전환되었던 초기 단량체 항체 구축물의 백분율을 결정한다. 바람직하게는 이중특이적 항체 구축물의 이량체 백분율은, 예를 들어, 3회의 동결/해동 주기 후에  $\leq 5\%$ , 더욱 바람직하게는  $\leq 4\%$ , 한층 더 바람직하게는  $\leq 3\%$ , 한층 더 바람직하게는  $\leq 2.5\%$ , 한층 더 바람직하게는  $\leq 2\%$ , 한층 더 바람직하게는  $\leq 1.5\%$ , 그리고 가장 바람직하게는  $\leq 1\%$  또는 심지어  $\leq 0.5\%$ 이다.
- [0267] 본 발명의 이중특이적 항체 구축물은 바람직하게는 응집 온도  $\geq 45^\circ\text{C}$  또는  $\geq 50^\circ\text{C}$ , 더욱 바람직하게는  $\geq 52^\circ\text{C}$  또는  $\geq 54^\circ\text{C}$ , 한층 더 바람직하게는  $\geq 56^\circ\text{C}$  또는  $\geq 57^\circ\text{C}$ , 그리고 가장 바람직하게는  $\geq 58^\circ\text{C}$  또는  $\geq 59^\circ\text{C}$ 로 유리한 열안정성을 나타낸다. 열 안정성 파라미터는 하기와 같이 항체 응집 온도와 관련하여 결정될 수 있다: 250  $\mu\text{g/mL}$  농도에서 항체 용액은 일회용 큐벳에 전달되고, 동적 광산란(DLS) 장치에 놓인다. 샘플은 측정된 반경을 일정하게 획득하면서 0.5°C/분의 가열 속도로 40°C로부터 70°C까지 가열된다. 단백질의 용융 및 응집을 나타내는 반경의 증가는 항체의 응집 온도를 계산하기 위해 사용된다.
- [0268] 대안적으로, 용융 온도 곡선은 항체 구축물의 고유한 생물물리학적 단백질 안정성을 결정하기 위해 시차 주사 열량측정법(DSC)에 의해 결정될 수 있다. 이를 실험은 MicroCal LLC(Northhampton, MA, U.S.A.) VP-DSC 장치를 사용하여 수행된다. 항체 구축물을 함유하는 샘플의 에너지 흡수는 제형 완충제만을 함유하는 샘플과 비교하여 20°C부터 90°C까지 기록된다. 항체 구축물은, 예를 들어 SEC 실행 완충제에서 250  $\mu\text{g/mL}$ 의 최종 농도로 조정된다. 각각의 용융 곡선의 기록을 위해, 전체 샘플 온도는 단계적으로 증가된다. 각각의 온도에서, 샘플 및 제형 완충제 기준의 T 에너지 흡수가 기록된다. 샘플의 에너지 흡수 Cp( $\text{kcal}/\text{몰}/^\circ\text{C}$ ) 빼기 기준의 에너지 흡수의 차이는 각각의 온도에 대해 도표화된다. 용융 온도는 에너지 흡수의 처음 최대값에서의 온도로서 정의된다.
- [0269] 본 발명의 표적 세포 표면 항원xCD3 이중특이적 항체 구축물은 또한  $\leq 0.2$ , 바람직하게는  $\leq 0.15$ , 더욱 바람직하게는  $\leq 0.12$ , 한층 더 바람직하게는  $\leq 0.1$ , 그리고 가장 바람직하게는  $\leq 0.08$ 의 탁도(정제된 단량체 항체 구축물을 2.5  $\text{mg/mL}$ 까지 농축하고 밤새 인큐베이션한 후 OD340에 의해 측정함)를 갖는 것으로 고려된다.
- [0270] 추가 구현예에서 본 발명에 따른 항체 구축물은 산성 pH에서 안정적이다. 항체 구축물이 비생리적 pH, 예를 들어 pH 5.5(예를 들어, 양이온 교환 크로마토그래피를 실행하는 데 요구되는 pH) 이하, 예를 들어 pH 4.0 내지

5.5에서 더 잘 견딜수록, 부하된 단백질의 전체 양에 대해 이온 교환 칼럼으로부터 용출되는 항체 구축물의 회수율이 더 높다. pH 5.5에서 이온(예를 들어, 양이온) 교환 칼럼으로부터의 항체 구축물의 회수율은 바람직하게는  $\geq 30\%$ , 더욱 바람직하게는  $\geq 40\%$ , 더욱 바람직하게는  $\geq 50\%$ , 한층 더 바람직하게는  $\geq 60\%$ , 한층 더 바람직하게는  $\geq 70\%$ , 한층 더 바람직하게는  $\geq 80\%$ , 한층 더 바람직하게는  $\geq 90\%$ , 한층 더 바람직하게는  $\geq 95\%$ , 그리고 가장 바람직하게는  $\geq 99\%$ 이다.

[0271] 더 나아가 본 발명의 이중특이적 항체 구축물은 치료적 효능 또는 항종양 활성을 나타내는 것으로 고려된다. 이는, 예를 들어 진행된 병기의 인간 종양 이종이식 모델의 다음의 예에서 개시되는 바와 같은 연구에서 평가될 수 있다:

[0272] 당업자는 이 연구의 특정 파라미터, 예를 들어 주입된 종양 세포의 수, 주사 부위, 이식한 인간 T 세포의 수, 투여되는 이중특이적 항체 구축물의 양, 및 시각표를 변형하거나 조정하는 한편, 여전히 의미 있고 재현 가능한 결과에 도달하는 방법을 안다. 바람직하게는, 종양 성장 억제 T/C[%]는  $\leq 70$  또는  $\leq 60$ , 더욱 바람직하게는  $\leq 50$  또는  $\leq 40$ , 한층 더 바람직하게는  $\leq 30$  또는  $\leq 20$ , 그리고 가장 바람직하게는  $\leq 10$  또는  $\leq 5$  또는 심지어  $\leq 2.5$ 이다.

[0273] 본 발명의 항체 구축물의 바람직한 구현예에서 항체 구축물은 단일 쇄 항체 구축물이다.

[0274] 또한, 바람직한 구현예에서, 본 발명의 항체 구축물은 HLE 도메인에서 아미노에서 카르복실 순서로 다음을 포함한다:

[0275] 헌지-CH<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub>-링커-헌지-CH<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub>.

[0276] 또한 본 발명의 일 구현예에서, 제3 도메인의 폴리펩티드 단량체 중 하나 또는 바람직하게는 각각(둘 다)의 CH<sub>2</sub> 도메인은 도메인 내 시스테인 이황화 가교를 포함한다. 당해 분야에 알려진 바와 같이 용어 "시스테인 이황화 가교"는 일반 구조식 R-S-S-R을 갖는 작용기를 지칭한다. 연결은 또한 SS-결합 또는 이황화 가교로 불리며 시스테인 잔기의 2개 티올기의 결합에 의해 유래된다. 본 발명의 항체 구축물은 성숙 항체 구축물에서 시스테인 이황화 가교를 형성하는 시스테인이 309 및 321(카바트 넘버링)에 상응하는 CH<sub>2</sub> 도메인의 아미노산 서열에 도입되는 것이 특히 바람직하다.

[0277] 본 발명의 일 구현예에서, CH<sub>2</sub> 도메인의 카바트 위치 314에서 글리코실화 부위는 제거된다. 이러한 글리코실화 부위의 제거는 N314X 치환(여기에서 X는 Q를 제외한 임의의 아미노산임)에 의해 달성되는 것이 바람직하다. 상기 치환은 바람직하게는 N314G 치환이다. 더욱 바람직한 구현예에서, 상기 CH<sub>2</sub> 도메인은 추가로 다음의 치환(카바트에 따른 위치) V321C 및 R309C(이들 치환은 카바트 위치 309 및 321에서 도메인 내 시스테인 이황화 가교를 도입함)을 포함한다.

[0278] 예를 들어, 당해 분야에 공지된 이중특이적 혜테로Fc 항체 구축물과 비교하여 본 발명의 항체 구축물의 바람직한 특징은(도 1b), 그 중에서도 CH<sub>2</sub> 도메인에서 위에 기술한 변형의 도입과 관련될 수 있는 것으로 추정된다. 따라서, 본 발명의 구축물에서는, 본 발명의 항체 구축물의 제3 도메인에서 CH<sub>2</sub> 도메인이 카바트 위치 309 및 321에서 도메인 내 시스테인 이황화 가교를 포함하고/하거나 카바트 위치 314에서 글리코실화 부위가 위와 같이 N314X 치환에 의해, 바람직하게는 N314G 치환에 의해 제거되는 것이 바람직하다.

[0279] 본 발명의 추가적인 바람직한 구현예에서, 본 발명의 항체 구축물의 제3 도메인은 카바트 위치 309 및 321에서 도메인 내 시스테인 이황화 가교를 포함하고, 카바트 위치 314에서 글리코실화 부위는 N314G 치환에 의해 제거된다.

[0280] 일 구현예에서, 본 발명은 항체 구축물을 제공하는데, 여기에서:

[0281] (i) 제1 도메인은 2개의 항체 가변 도메인을 포함하고, 제2 도메인은 2개의 항체 가변 도메인을 포함하거나;

[0282] (ii) 제1 도메인은 1개의 항체 가변 도메인을 포함하고, 제2 도메인은 2개의 항체 가변 도메인을 포함하거나;

[0283] (iii) 제1 도메인은 2개의 항체 가변 도메인을 포함하고, 제2 도메인은 1개의 항체 가변 도메인을 포함하거나;

[0284] (iv) 제1 도메인은 1개의 항체 가변 도메인을 포함하고, 제2 도메인은 1개의 항체 가변 도메인을 포함한다.

[0285] 따라서, 제1 및 제2 도메인은 각각 2개의 항체 가변 도메인, 예를 들어 VH 및 VL 도메인을 포함하는 결합 도메인일 수 있다. 2개의 항체 가변 도메인을 포함하는 이러한 결합 도메인의 예는 본 명세서에서 위에 기술되었고, 예를 들어, 본 명세서에서 위에 기술된 Fv 단편, scFv 단편 또는 Fab 단편을 포함한다. 대안적으로 이들 결합

도메인 중 하나 또는 둘 다는 단일 가변 도메인만을 포함할 수 있다. 이러한 단일 도메인 결합 도메인에 대한 예는 본 명세서에서 위에 기술되었고, 예를 들어, 다른 V 영역 또는 도메인과 독립적으로 항원 또는 에피토프와 특이적으로 결합하는, VHH, VH 또는 VL일 수 있는, 하나의 가변 도메인만을 포함하는 단일 가변 도메인 항체 또는 나노바디를 포함한다.

[0286] 본 발명의 항체 구축물의 바람직한 구현예에서, 제1 및 제2 도메인은 웹티드 링커를 통해 제3 도메인에 융합된다. 바람직한 웹티드 링커는 본 명세서에서 위에 기술되었고, 아미노산 서열 Gly-Gly-Gly-Gly-Ser, 즉, Gly<sub>4</sub>Ser, 또는 이의 중합체, 즉, (Gly<sub>4</sub>Ser)<sub>x</sub>를 특징으로 하며, 여기서 x는 1 이상의 정수(예를 들어, 2 또는 3)이다.

[0287] 본 발명의 일 양태에서 제1 도메인에 의해 결합되는 표적 세포 표면 항원은 종양 항원, 면역 장애에 특이적인 항원 또는 바이러스 항원이다. 본 명세서에서 사용되는 용어 "종양 항원"은 종양 세포에서 제시되는 이들 항원으로서 이해될 수 있다. 이들 항원은 종종 분자의 막관통 및 세포질 부분과 조합되는 세포 외 부분을 갖는 세포 표면에 제시될 수 있다. 이들 항원은 때때로 종양 세포에 의해서만 제시될 수 있고 정상 세포에 의해서는 제시될 수 없다. 종양 항원은 종양 세포에서 독점적으로 발현될 수 있거나 정상 세포와 비교하여 종양 특이적 돌연변이를 나타낼 수 있을 것이다. 이 경우, 이들은 종양-특이적 항원으로 불린다. 더 흔한 것은 종양 세포 및 정상 세포에 의해 제시되는 항원이고, 이들은 종양-연관 항원으로 불린다. 이들 종양-연관 항원은 정상 세포와 비교하여 과발현될 수 있거나, 정상 조직과 비교하여 종양 조직의 덜 밀집한 구조로 인해 종양 세포에서 항체 결합을 위해 접근 가능하다. 본 명세서에서 사용되는 종양 항원의 비제한적 예는 CD19, CD33, EGFRvIII, MSLN, CDH19, FLT3, DLL3, CDH3, BCMA 및 PSMA이다.

[0288] 본 발명의 항체 구축물 종양 항원은 CD19, CD33, EGFRvIII, MSLN, CDH19, FLT3, DLL3, CDH3, BCMA 및 PSMA로 구성되는 군으로부터 선택되는 것으로 고려된다.

[0289] 본 발명의 맥락에서, CD19에 대하여 유도된 이중특이적 항체 구축물의 예는 서열번호 1 내지 6에 도시된 바와 같은 CDR을 갖는 항체 구축물이다. CD3 결합 도메인은 서열번호 9 내지 14에 도시된 바와 같은 CDR을 특징으로 한다. 본 발명의 맥락에서 특별한 예는 CD19xCD3 이중특이적 항체 구축물이다. 본 발명의 맥락에서, CD19에 대하여 유도된 이중특이적 HLE 항체 구축물의 예는 서열번호 102 내지 104 및 106 내지 108에 도시된 바와 같은 CDR을 갖는 항체 구축물이다. 본 발명의 맥락에서 특별한 예는 BCMAxCD3 이중특이적 항체 구축물이다. 본 발명의 맥락에서, CD33에 대하여 유도된 이중특이적 항체 구축물의 예는 서열번호 29 내지 31 및 34 내지 36에 도시된 바와 같은 CDR을 갖는 항체 구축물이다. 본 발명의 맥락에서 특별한 예는 CD33xCD3 이중특이적 항체 구축물이다. 본 발명의 맥락에서, CD33에 대하여 유도된 이중특이적 HLE 항체 구축물의 예는 서열번호 29 내지 31 및 34 내지 36에 도시된 바와 같은 CDR을 갖는 항체 구축물이다. 본 발명의 맥락에서 특별한 예는 HLE에 대한 제3 도메인을 포함하는 CD33xCD3 이중특이적 항체 구축물이다. 본 발명의 맥락에서, EGFRvIII에 대하여 유도된 이중 특이적 항체 구축물의 예는 서열번호 42 내지 47에 도시된 바와 같은 CDR을 갖는 항체 구축물이다. 본 발명의 맥락에서 특별한 예는 EGFRvIIIfCD3 이중특이적 항체 구축물이다.

[0290] 일 양태에서 본 발명의 항체 구축물은 다음으로 구성된 군으로부터 선택되는 아미노산 서열을 갖는 것을 특징으로 한다:

[0291]	(a) 서열번호 37 내지 41;	CD33
[0292]	(b) 서열번호 51 및 52;	EGFRvIII
[0293]	(c) 서열번호 62, 63 및 64;	MSLN
[0294]	(d) 서열번호 74 내지 82	CDH19
[0295]	(e) 서열번호 103 및 103	DLL3
[0296]	(f) 서열번호 17, 113 및 114	CD19
[0297]	(g) 서열번호 92 및 93	FLT3
[0298]	(h) 서열번호 124 및 125	CDH3
[0299]	(i) 서열번호 135 및 136	BCMA
[0300]	(j) 서열번호 146 내지 151, 161 내지 168 및 176 내지 181	PSMA

- [0301] 임의의 전술한 이중특이적 항체 구축물은 제3 도메인을 구비할 수 있거나 구비하지 않을 수 있는데, 제3 도메인은 반감기 연장 도메인으로, 바람직하게는 scFc 도메인 또는 헤테로Fc 도메인 또는 일부민 결합 도메인이다.
- [0302] 본 발명은 추가로 본 발명의 항체 구축물을 암호화하는 폴리뉴클레오티드/핵산 분자를 제공한다. 폴리뉴클레오티드는 쇄에서 공유 결합된 13개 이상의 뉴클레오티드 단량체로 구성되는 생물고분자이다. DNA(예를 들어 cDNA) 및 RNA(예를 들어 mRNA)는 별개의 생물학적 기능을 갖는 폴리뉴클레오티드의 예이다. 뉴클레오티드는 DNA 또는 RNA와 같은 핵산 분자의 단량체 또는 서브유닛으로서 작용하는 유기 분자이다. 핵산 분자 또는 폴리뉴클레오티드는 이중 가닥 및 단일 가닥, 선형 및 원형일 수 있다. 이는 바람직하게는 숙주 세포에 포함된 백터에 바람직하게 포함된다. 상기 숙주 세포는, 예를 들어 본 발명의 백터 또는 폴리뉴클레오티드로 형질전환 또는 형질감염 후에 항체 구축물을 발현할 수 있다. 이 목적을 위해, 폴리뉴클레오티드 또는 핵산 분자는 대조 서열과 작동 가능하게 연결된다.
- [0303] 유전 암호는 유전 물질(핵산) 내에 암호화된 정보가 단백질로 번역되는 규칙의 세트이다. 살아있는 세포에서의 생물학적 해독(decoding)은, tRNA 분자를 사용하여 아미노산을 운반하고 mRNA 3개의 뉴클레오티드를 한 번에 판독하도록 mRNA에 의해 특정된 순서로 아미노산을 연결하는 리보솜에 의해 달성된다. 이 암호는 단백질을 합성하는 동안 코돈으로 불리는 이를 뉴클레오티드 트리플렛의 서열이 어느 아미노산이 다음에 부가되는지를 지정하는 방법을 정의한다. 일부를 제외하고, 핵산 서열 내 3개의 뉴클레오티드 코돈은 단일 아미노산을 지정한다. 대다수의 유전자는 정확히 동일한 암호에 의해 암호화되기 때문에, 이 특정 암호는 종종 기본형 또는 표준 유전자 암호로서 지칭된다. 유전자 암호는 주어진 암호 영역에 대한 단백질 서열을 결정하지만, 다른 계놈 영역이 이를 단백질이 생산되는 시기 및 장소에 영향을 미칠 수 있다.
- [0304] 추가로, 본 발명은 본 발명의 폴리뉴클레오티드/핵산 분자를 포함하는 백터를 제공한다. 백터는 (외래) 유전 물질을 세포 내로 이동시키는 비히클로서 사용되는 핵산 분자이다. 용어 "백터"는 플라스미드, 바이러스, 코스미드 및 인공 염색체를 포함하지만, 이로 한정되지 않는다. 일반적으로, 조작된 백터는 복제 기점, 다중클로닝 부위 및 선택 가능한 마커를 포함한다. 백터 자체는 일반적으로, 인서트(이식유전자) 및 백터의 "골격"으로서 작용하는 더 큰 서열을 포함하는 통상적으로 DNA 서열인 뉴클레오티드 서열이다. 현대의 백터는 이식유전자 인서트 및 골격 이외의 추가적인 특징: 프로모터, 유전자 마커, 항생제 저항성, 리포터 유전자, 표적화 서열, 단백질 정제 태그를 포함할 수 있다. 발현 백터(발현 구축물)로 불리는 백터는 구체적으로 표적 세포에서 이식유전자의 발현을 위한 것이며, 일반적으로 제어 서열을 갖는다.
- [0305] 용어 "제어 서열"은 특정 숙주 유기체에서 작동 가능하게 연결된 암호 서열의 발현에 필요한 DNA 서열을 지칭한다. 원핵생물에 적합한 제어 서열은, 예를 들어, 프로모터, 선택적으로 오퍼레이터 서열, 및 리보솜 결합 측을 포함한다. 진핵생물 세포는 프로모터, 폴리아데닐화 신호 및 인핸서를 이용하는 것으로 알려져 있다.
- [0306] 핵산은 다른 핵산 서열과 기능적 관계에 놓일 때 "작동 가능하게 연결된다". 예를 들어, 전서열 또는 분비 리더에 대한 DNA는 폴리펩티드의 분비에 참여하는 전단백질로서 발현되는 경우 폴리펩티드에 대한 DNA에 작동 가능하게 연결되거나; 프로모터 또는 인핸서는 서열의 전사에 영향을 미치는 경우 암호 서열에 작동 가능하게 연결되거나; 리보솜 결합 측은 번역을 용이하게 하기 위해 위치되는 경우 암호 서열에 작동 가능하게 연결된다. 일반적으로, "작동 가능하게 연결된"은 연결되는 DNA 서열이 인접해 있고, 분비 리더의 경우, 인접하면서 리딩 단계에 있다는 것을 의미한다. 그러나, 인핸서는 인접할 필요가 없다. 연결은 편리한 제한 부위에서의 결찰에 의해 달성된다. 이러한 부위가 존재하지 않는 경우, 합성 올리고뉴클레오티드 어댑터 또는 링커가 관례에 따라 사용된다.
- [0307] "형질감염"은 핵산 분자 또는 폴리뉴클레오티드(백터를 포함)를 표적 세포 내로 의도적으로 도입하는 과정이다. 이 용어는 대부분 진핵 세포에서 비바이러스 방법을 위해 사용된다. 형질도입은 종종 핵산 분자 또는 폴리뉴클레오티드의 바이러스-매개 전달을 기술하기 위해 사용된다. 동물 세포의 형질감염은 전형적으로 세포 막에서 일시적 기공 또는 "구멍"의 개방을 수반하여, 물질의 흡수를 허용한다. 형질감염은 인산칼슘을 사용하여, 전기천공법에 의해, 세포 압착에 의해, 또는 세포막과 융합하고 내부에 그들의 화물을 놓는 리포솜을 생성하는 물질과 양이온성 지질을 혼합하는 것에 의해 실시될 수 있다.
- [0308] 용어 "형질전환"은 핵산 분자 또는 폴리뉴클레오티드(백터를 포함)의 박테리아 내로의, 그리고 또한 식물 세포를 포함하는 비동물 진핵 세포 내로의 비바이러스 전달을 기술하기 위해 사용된다. 따라서, 형질전환은 그 주위로부터의 세포 막(들)을 통한 직접적 흡수 및 차후의 외인성 유전 물질(핵산 분자)의 흡입으로부터 초래되는 박테리아 또는 비동물 진핵 세포의 유전적 변경이다. 형질전환은 인공 수단에 의해서 행해질 수 있다. 형질전환이 일어나기 위해서는, 세포 또는 박테리아가 반응능 상태에 있어야 하는데, 이는 기아 및 세포 밀도와 같은 환경

조건에 대한 시간 제한 반응으로서 일어날 수 있다.

[0309] 게다가, 본 발명은 본 발명의 폴리뉴클레오티드/핵산 또는 벡터로 형질전환되거나 형질감염된 숙주 세포를 제공한다. 본 명세서에서 사용되는 용어 "숙주 세포" 또는 "수용자 세포"는 벡터, 외인성 핵산 분자, 및 본 발명의 항체 구축물을 암호화하는 폴리뉴클레오티드의 수용자; 및/또는 항체 구축물 자체의 수용자일 수 있거나 수용자였던 임의의 개개 세포 또는 세포 배양물을 포함하고자 한다. 세포 내로의 각각의 물질의 도입은 형질전환, 형질감염 등에 의해 수행된다. 용어 "숙주 세포"는 또한 단일 세포의 자손 또는 잠재적 자손을 포함하고자 한다. 특정 변형이 자연적, 우연적 또는 의도적인 돌연변이에 기인하거나 환경적 영향에 기인하여 다음 세대에서 일어날 수 있기 때문에, 이러한 자손은 사실 (형태학적으로나 계놈 또는 총 DNA 보체에 있어) 모 세포와 완전히 동일하지 않을 수도 있지만, 본 명세서에서 사용되는 용어의 범주 내에 여전히 포함된다. 적합한 숙주 세포는 원핵 또는 진핵 세포를 포함하고, 또한 박테리아, 효모 세포, 진균 세포, 식물 세포, 및 동물 세포, 예를 들어 곤충 세포 및 포유류 세포, 예를 들어, 뮤린, 래트, 마카크 또는 인간을 포함하지만, 이로 한정되지 않는다.

[0310] 본 발명의 항체 구축물은 박테리아에서 생산될 수 있다. 발현 후, 본 발명의 항체 구축물은 가용성 분획에서 대장균(*E. coli*) 세포 페이스트로부터 단리되고, 예를 들어, 친화도 크로마토그래피 및/또는 크기 배제를 통해 정제될 수 있다. 최종 정제는, 예를 들어 CHO 세포에서 발현된 항체를 정제하기 위한 공정과 유사하게 실시될 수 있다.

[0311] 원핵생물에 추가로, 진핵 미생물, 예를 들어 사상 진균 또는 효모는 본 발명의 항체 구축물에 대해 적합한 클로닝 또는 발현 숙주이다. 사카로마이세스 세레비시아(*Saccharomyces cerevisiae*), 또는 일반 제빵 효모가 하등 진핵생물 숙주 미생물 중에서 가장 일반적으로 사용된다. 그러나, 다수의 다른 속, 종, 및 균주, 예를 들어 쉬조사카로마이세스 품베(*Schizosaccharomyces pombe*), 클루이베로마이세스(*Kluyveromyces*) 숙주, 예를 들어 *K. lactis*, *K. fragilis*(ATCC 12424), *K. bulgaricus*(ATCC 16045), *K. wickeramii*(ATCC 24178), *K. waltii*(ATCC 56500), *K. drosophilae*(ATCC 36906), *K. thermotolerans*, 및 *K. marxianus*; 야로위아(yarrowia)(EP 402 226); 피치아 파스토리스(*Pichia pastoris*)(EP 183 070); 칸디다; 트리코더마 레시아(*Trichoderma reesia*)(EP 244 234); 뉴로스포라 크라사(*Neurospora crassa*); 슈와니오마이세스(*Schwanniomyces*), 예를 들어 슈와니오마이세스 옥시덴탈리스(*Schwanniomyces occidentalis*); 및 사상 진균, 예를 들어 뉴로스포라(*Neurospora*), 페니실립(*Penicillium*), 톨리포클라듐(*Tolypocladium*) 및 아스페길러스(*Aspergillus*) 숙주, 예를 들어 *A. nidulans* 및 *A. niger*는 통상적으로 이용 가능하고, 본 명세서에서 유용하다.

[0312] 본 발명의 글리코실화된 항체 구축물의 발현을 위해 적합한 숙주 세포는 다세포 유기체로부터 유래된다. 무척추동물 세포의 예는 식물 및 곤충 세포를 포함한다. 스포돕테라 프루기페르다(*Spodoptera frugiperda*)(애벌레), 이집트 숲모기(*Aedes aegypti*)(모기), 흰줄숲모기(*Aedes albopictus*)(모기), 노랑초파리(*Drosophila melanogaster*)(초파리), 및 누에나방(*Bombyx mori*)과 같은 숙주로부터의 수많은 바큘로바이러스 균주 및 변이체 및 상응하는 허용 곤충 숙주 세포가 확인되었다. 형질감염을 위한 다양한 바이러스 균주, 예를 들어, 오토크라파 캘리포니카(*Autographa californica*) NPV의 L-1 변이체 및 누에나방(*Bombyx mori*) NPV의 Bm-5 균주는 공개적으로 이용 가능하며, 이러한 바이러스는 본 발명에 따라 본 명세서에서 바이러스로서, 특히 스포돕테라 프루기페르다(*Spodoptera frugiperda*) 세포의 형질감염을 위해 사용될 수 있다.

[0313] 목화, 옥수수, 감자, 대두, 페튜니아, 토마토, 얘기장대 및 담배의 식물 세포 배양물이 또한 숙주로서 사용될 수 있다. 식물 세포 배양물에서 단백질의 생산에 유용한 클로닝 및 발현 벡터는 당업자에게 공지되어 있다. 예컨대, Hiatt et al., Nature (1989) 342: 76-78, Owen et al. (1992) Bio/Technology 10: 790-794, Artsaenko et al. (1995) The Plant J 8: 745-750, 및 Fecker et al. (1996) Plant Mol Biol 32: 979-986 참조.

[0314] 그러나, 척추동물 세포가 가장 유력하게 여겨져 왔으며, 배양물(조직 배양물)에서 척추동물 세포의 증식은 통상적인 절차가 되었다. 유용한 포유류 숙주 세포주의 예로는 SV40에 의해 형질전환된 원숭이 신장 CV1 세포주(COS-7, ATCC CRL 1651); 인간 배아 신장 세포주(293 세포 또는 혼탁 배양물에서 증식을 위해 서브클로닝된 293 세포, Graham et al., J. Gen Virol. 36 : 59 (1977)); 어린 햄스터 신장 세포(BHK, ATCC CCL 10); 중국 햄스터 난소 세포/-DHFR(CHO, Urlaub et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77: 4216 (1980)); 마우스 세르톨리 세포(TM4, Mather, Biol. Reprod. 23: 243-251 (1980)); 원숭이 신장 세포(CVI ATCC CCL 70); 아프리카 그린 원숭이 신장 세포(VERO-76, ATCC CRL1587); 인간 자궁경부암종 세포(HELA, ATCC CCL 2); 개 신장 세포(MDCK, ATCC CCL 34); 벼풀로 래트 간 세포(BRL 3A, ATCC CRL 1442); 인간 폐 세포(W138, ATCC CCL 75); 인간 간 세포

(Hep G2, 1413 8065); 마우스 유방 종양(MMT 060562, ATCC CCL5 1); TRI 세포(Mather *et al.*, Annals N. Y Acad. Sci. (1982) 383: 44-68); MRC 5 세포; FS4 세포; 및 인간 간암 세포주(Hep G2)가 있다.

[0315] 추가의 구현예에서 본 발명은 본 발명의 항체 구축물의 생산 방법을 제공하는데, 상기 방법은 본 발명의 항체 구축물의 발현을 허용하는 조건 하에서 본 발명의 숙주 세포를 배양하고 생산된 항체 구축물을 배양물로부터 회수하는 단계를 포함한다.

[0316] 본 명세서에서 사용되는 용어 "배양"은 배지에서 적합한 조건 하에 세포의 시험관 내 유지, 분화, 성장, 증식 및/또는 전파를 지칭한다. 용어 "발현"은 전사, 전사 후 변형, 번역, 번역 후 변형 및 분비를 포함하지만, 이로 한정되지 않는 본 발명의 항체 구축물의 생산에 연루된 임의의 단계를 포함한다.

[0317] 재조합 기법을 사용할 때, 항체 구축물은 주변 세포질 공간에서 세포 내 생산될 수 있거나, 배지로 직접 분비될 수 있다. 항체 구축물이 제1 단계로서 세포 내 생산되는 경우, 숙주 세포 또는 용해된 단편 중 하나인 미립자파편은, 예를 들어 원심분리 또는 한외여과에 의해 제거된다. Carter *et al.*, Bio/Technology 10: 163-167 (1992)에서는 대장균(*E. coli*)의 주변세포질 공간으로 분비되는 항체를 분리하는 절차를 기술한다. 간략하게, 세포 페이스트를 약 30분에 걸쳐 아세트산나트륨(pH 3.5), EDTA 및 페닐메틸솔포닐플루오라이드(PMSF)의 존재 중에 해동한다. 세포 파편은 원심분리에 의해 제거될 수 있다. 항체가 배지로 분비되는 경우, 이러한 발현 시스템으로부터의 상등액은 일반적으로 처음에 상업적으로 입수 가능한 단백질 농축 필터, 예를 들어, 아미콘(Amicon) 또는 밀리포어(Millipore) 펠리콘(Pellicon) 한외여과 유닛을 사용하여 농축된다. PMSF와 같은 프로테아제 억제제는 단백질 분해를 억제하기 위해 전술한 임의의 단계에 포함될 수 있고, 항생제는 우발적 오염물의 성장을 방지하기 위해 포함될 수 있다.

[0318] 숙주 세포로부터 제조된 본 발명의 항체 구축물은, 예를 들어, 하이드록시아파타이트 크로마토그래피, 겔 전기영동, 투석 및 친화도 크로마토그래피를 사용하여 회수되거나 정제될 수 있다. 회수되는 항체에 따라 단백질 정제를 위한 다른 기법, 예를 들어 이온 교환 칼럼에서의 분별, 에탄올 침전, 역상 HPLC, 실리카에서의 크로마토그래피, 헤파린 세파로오스(SEPHAROSE™)에서의 크로마토그래피, 음이온 또는 양이온 교환 수지(예를 들어, 폴리아스파르트산 칼럼)에서의 크로마토그래피, 크로마토-포커싱, SDS-PAGE, 및 황산암모늄 침전이 또한 이용 가능하다. 본 발명의 항체 구축물이 CH3 도메인을 포함하는 경우, 베이커본드(Bakerbond) ABX 수지(J.T. Baker, 미국 뉴저지 주 필립스버그 소재)가 정제에 유용하다.

[0319] 친화도 크로마토그래피는 바람직한 정제 기법이다. 친화도 리간드가 부착되는 기질은 가장 흔하게는 아가로오스이지만, 다른 기질도 이용 가능하다. 기계적으로 안정적인 기질, 예를 들어 제어된 기공 유리 또는 폴리(스티렌디비닐)벤젠은 아가로오스로 달성될 수 있는 것보다 더 빠른 유속 및 더 짧은 처리 시간을 허용한다.

[0320] 게다가, 본 발명은 본 발명의 항체 구축물 또는 본 발명의 방법에 따라 생산된 항체 구축물을 포함하는 약제학적 조성물을 제공한다. 본 발명의 약제학적 조성물에서 항체 구축물의 동질성은 ≥80%, 더욱 바람직하게는 ≥81%, ≥82%, ≥83%, ≥84%, 또는 ≥85%, 더욱 바람직하게는 ≥86%, ≥87%, ≥88%, ≥89%, 또는 ≥90%, 한층 더 바람직하게는 ≥91%, ≥92%, ≥93%, ≥94%, 또는 ≥95%, 그리고 가장 바람직하게는 ≥96%, ≥97%, ≥98% 또는 ≥99%이다.

[0321] 본 명세서에서 사용되는 용어 "약제학적 조성물"은 환자, 바람직하게는 인간 환자에 대한 투여에 적합한 조성물에 관한 것이다. 본 발명의 특히 바람직한 약제학적 조성물은 하나 또는 복수의 본 발명의 항체 구축물(들)을, 바람직하게는 치료적 유효량으로 포함한다. 바람직하게는, 약제학적 조성물은 추가로 하나 이상의 (약제학적으로 효과적인) 담체, 안정화제, 부형제, 희석제, 용해제, 계면활성제, 유화제, 보존제 및/또는 보조제의 적합한 제형을 포함한다. 조성물의 허용 가능한 구성성분은 바람직하게는 이용되는 투여량 및 농도에서 수용자에게 비독성이다. 본 발명의 약제학적 조성물은 액체, 동결 및 동결건조 조성물을 포함하지만, 이로 한정되는 것은 아니다.

[0322] 본 발명의 조성물은 약제학적으로 허용 가능한 담체를 포함할 수 있다. 일반적으로, 본 명세서에서 사용되는 "약제학적으로 허용 가능한 담체"는 약제학적 투여에 적합한, 특히 비경구 투여에 적합한 임의의 및 모든 수성 및 비수성 용액, 멸균 용액, 용매, 완충제, 예를 들어, 인산염 완충 식염수(PBS) 용액, 물, 혼탁액, 에멀션, 예를 들어 오일/물 에멀션, 다양한 유형의 습윤제, 리포솜, 분산액 및 코팅제를 의미한다. 약제학적 조성물에서 이러한 매질 및 작용제의 용도는 당해 분야에 잘 알려져 있고, 이러한 담체를 포함하는 조성물은 잘 알려진 통상적인 방법에 의해 제형화될 수 있다.

[0323] 특정 구현예는 본 발명의 항체 구축물 및 추가적인 1종 이상의 부형제, 예를 들어 본 명세서의 이 부문 및 다른

곳에 예시적으로 기술된 것들을 포함하는 약제학적 조성물을 제공한다. 부형체는 본 발명에서 이와 관련하여 매우 다양한 목적, 예를 들어 제형의 물리적, 화학적 또는 생물학적 특성의 조정, 예를 들어 점도의 조정, 그리고 또는 유효성을 개선하고 또는, 예를 들어 제조, 운송, 저장, 사용 전 제조, 투여 중에 그리고 그 이후에 일어나는 스트레스에 기인하는 분해 및 손상에 대하여 이러한 제형 및 공정을 안정화시키도록 본 발명의 공정을 위해 사용될 수 있다.

- [0324] 특정 구현예에서, 약제학적 조성물은, 예를 들어, pH, 삼투압, 점도, 투명도, 색상, 등장성, 냄새, 멸균성, 안정성, 용출 또는 방출 속도, 조성물의 흡수 또는 침투를 변형시키거나, 유지하거나 보존하는 목적을 위한 제형화 물질을 함유할 수 있다(REMINGTON'S PHARMACEUTICAL SCIENCES, 18<sup>th</sup> Edition, (A.R. Genmo, ed.), 1990, Mack Publishing Company 참조). 이러한 구현예에서, 적합한 제형화 물질은 하기를 포함할 수 있지만, 이로 한정되지 않는다:
- 하전된 아미노산, 바람직하게는 리신, 리신 아세테이트, 아르기닌, 글루타메이트 및/또는 히스티딘을 비롯한 아미노산, 예를 들어 글리신, 알라닌, 글루타민, 아스파라긴, 트레오닌, 프롤린, 2-페닐알라닌
- [0325] ● 항미생물제, 예를 들어 항균제 및 항진균제
- [0326] ● 항산화제, 예를 들어 아스코르브산, 메티오닌, 아황산나트륨 또는 아황산수소나트륨;
- [0327] ● 조성물을 약 5.5 내지 7.5, 바람직하게는 6.5 내지 7의로 유지하기 위해 사용되는 완충제, 완충 시스템 및 완충 작용제; 완충제의 예는 보레이트, 시트레이트, 포스페이트 또는 다른 유기산, 숙시네이트, 포스페이트, 히스티딘 및 아세테이트;
- [0328] ● 비-수성 용매, 예를 들어 프로필렌 글리콜, 폴리에틸렌 글리콜, 식물유, 예를 들어 올리브유, 및 주사 가능한 유기 에스테르, 예를 들어 에틸 올리에이트;
- [0329] ● 식염수 및 완충 매질을 포함하는, 물, 알코올성/수성 용액, 에멀션 또는 혼탁액을 포함하는 수성 담체;
- [0330] ● 생분해성 중합체, 예를 들어 폴리에스테르;
- [0331] ● 증량제, 예를 들어 만니톨 또는 글리신;
- [0332] ● 퀼레이트제, 예를 들어 에틸렌디아민 테트라아세트산(EDTA);
- [0333] ● 등장화제 및 흡수 지연제;
- [0334] ● 착화제, 예를 들어 카페인, 폴리비닐피롤리돈, 베타-사이클로덱스트린 또는 하이드록시프로필-베타-사이클로덱스트린;
- [0335] ● 충전제;
- [0336] ● 단당류; 이당류; 및 다른 탄수화물(예를 들어 글루코오스, 만노오스 또는 벡스트린); 탄수화물은 비환원 당, 바람직하게는 트레할로스, 수크로스, 옥타설레이트, 소르비톨, 또는 자일리톨일 수 있음;
- [0337] ● (저분자량) 단백질, 폴리펩티드 또는 단백질성 담체, 예를 들어 인간 또는 소 혈청 알부민, 젤라틴 또는 면역글로불린, 바람직하게는 인간 기원의 것;
- [0338] ● 착색제 및 향미제;
- [0339] ● 황 함유 환원제, 예를 들어 글루타티온, 티옥산, 티오글리콜산나트륨, 티오글리세롤, [알파]-모노티오글리세롤 및 티오황산나트륨
- [0340] ● 희석제;
- [0341] ● 유화제;
- [0342] ● 친수성 중합체, 예를 들어 폴리비닐피롤리돈;
- [0343] ● 염-형성 반대-이온, 예를 들어 나트륨;
- [0344] ● 보존제, 예를 들어 항미생물제, 항산화제, 퀼레이트제, 불활성 기체 등; 예로는 염화벤잘코늄, 벤조산, 살리실산, 티메로살, 페네틸 알코올, 메틸파라벤, 프로필파라벤, 클로르헥시딘, 소르브산, 또는 과산화수소가 있음;

- [0346] ● 금속 복합체, 예를 들어 Zn-단백질 복합체;
- [0347] ● 용매 및 공용매(예를 들어 글리세린, 프로필렌 글리콜 또는 폴리에틸렌 글리콜);
- [0348] ● 당 및 당 알코올, 예를 들어, 트레할로스, 수크로스, 옥타설페이트, 만니톨, 소르비톨 또는 자일리톨 스타키오스, 만노오스, 소르보오스, 자일로오스, 리보오스, 미오이니시토오스, 갈락토오스, 락티톨, 리비톨, 미오이니시톨, 갈락티톨, 글리세롤, 사이클리톨(예를 들어, 이노시톨), 폴리에틸렌 글리콜; 및 다가 당 알코올;
- [0349] ● 혼탁제;
- [0350] ● 계면활성제 또는 습윤제, 예를 들어 플루로닉스, PEG, 소르비탄 에스테르, 폴리소르베이트, 예를 들어 폴리소르베이트 20, 폴리소르베이트, 트리톤, 트로메타민, 레시틴, 콜레스테롤, 틸록사팔; 계면활성제는 바람직하게는 분자량 >1.2 KD인 세제 및/또는 바람직하게는 분자량 >3 KD인 폴리에테르일 수 있고; 바람직한 세제의 비제한적 예는 트원 20, 트원 40, 트원 60, 트원 80 및 트원 85이며; 바람직한 폴리에테르의 비제한적 예는 PEG 3000, PEG 3350, PEG 4000 및 PEG 5000임;
- [0351] ● 안정성 향상제, 예를 들어 수크로스 또는 소르비톨;
- [0352] ● 긴장성 향상제, 예를 들어 알칼리금속 할로겐화물, 바람직하게는 염화나트륨 또는 염화칼륨, 만니톨 소르비톨;
- [0353] ● 염화나트륨 용액, 링거(Ringer's) 텍스트로스, 텍스트로스 및 염화나트륨, 젖산 링거 또는 고정유를 포함하는 비경구 전달 비히클;
- [0354] ● 유체 및 영양 보충제, 전해질 보충제를 포함하는 정맥 내 전달 비히클(예를 들어, 링거 텍스트로스를 기반으로 하는 것).
- [0355] 약제학적 조성물의 상이한 구성성분(예를 들어, 위에 열거한 것들)은 상이한 효과를 가질 수 있고, 예를 들어, 아미노산은 완충제, 안정화제 및/또는 항산화제로서 작용할 수 있으며; 만니톨은 증량제 및/또는 긴장성 향상제로서 작용할 수 있고; 염화나트륨은 전달 비히클 및/또는 긴장성 향상제로서 작용할 수 있는 것 등은 당업자에게 명백하다.
- [0356] 본 발명의 조성물은, 본 명세서에서 정의되는 본 발명의 폴리펩티드에 추가로, 조성물의 의도된 용도에 따라 추가적인 생물학적으로 활성인 작용제를 포함할 수 있을 것으로 고려된다. 이러한 작용제는 위장관계에 작용하는 약물, 세포정지제로서 작용하는 약물, 고요산혈증을 예방하는 약물, 면역반응을 억제하는 약물(예를 들어, 코르티코스테로이드), 염증 반응을 조절하는 약물, 순환계에 작용하는 약물 및/또는 당해 분야에 공지된 사이토카인과 같은 작용제일 수 있다. 또한, 본 발명의 항체 구축물을 공동 요법으로, 즉, 다른 항암 약제와 조합으로 적용되는 것이 고려된다.
- [0357] 특정 구현예에서, 최적의 약제학적 조성물은, 예를 들어, 의도된 투여 경로, 전달 형식 및 요망되는 투여량에 따라 당업자에 의해 결정될 것이다. 예를 들어, 위의 REMINGTON'S PHARMACEUTICAL SCIENCES 참조. 특정 구현예에서, 이러한 조성물은 본 발명의 항체 구축물의 물리적 상태, 안정성, 생체 내 방출 속도 및 생체 내 제거에 영향을 미칠 수 있다. 특정 구현예에서, 약제학적 조성을 중의 1차 비히클 또는 담체는 성질이 수성 또는 비수성일 수 있다. 예를 들어, 적합한 비히클 또는 담체는 가능하게는 비경구 투여용 조성물에서 통상적인 다른 물질로 보충된 주사용수, 생리 식염수 용액 또는 인공 늑막수액일 수 있다. 중성 완충 식염수 또는 혈청 일부민과 혼합된 식염수는 추가의 예시적인 비히클이다. 특정 구현예에서, 본 조성물의 항체 구축물은 요망되는 순도를 갖는 선택된 조성물을 선택적 제형화제와 혼합함으로써(위의 REMINGTON'S PHARMACEUTICAL SCIENCES 참조) 동결건조 케이크 또는 수용액의 형태로 저장을 위해 제조될 수 있다. 추가로, 특정 구현예에서, 본 발명의 항체 구축물은 수크로스와 같은 적절한 부형제를 사용하여 동결건조물로서 제형화될 수 있다.
- [0358] 비경구 투여가 고려될 때, 본 발명에서 사용하기 위한 치료 조성물은 약제학적으로 허용 가능한 비히클 중에 요망되는 본 발명의 항체 구축물을 포함하는 무 발열원, 비경구로 허용 가능한 수용액의 형태로 제공될 수 있다. 비경구 주사에 특히 적합한 비히클은 멸균 증류수로, 본 발명의 항체 구축물이 적절하게 보존된 멸균, 등장 용액으로서 제형화된다. 특정 구현예에서, 제제는 데포 주사를 통해 전달될 수 있는 산물의 제어 또는 지속 방출을 제공할 수 있는 작용제, 예를 들어 주사 가능한 마이크로스피어, 생분해성 입자, 중합체 화합물(예를 들어, 폴리락트산 또는 폴리글리콜산), 비드 또는 리포솜과 요망되는 분자의 제형화를 수반할 수 있다. 특정 구현예에서, 순환에서 지속 기간을 촉진하는 효과를 갖는 히알루론산이 또한 사용될 수 있다. 특정 구현예에서, 이식 가

능한 약물 전달 기구가 요망되는 항체 구축물을 도입하기 위해 사용될 수 있다.

[0359] 지속 또는 제어 전달/방출 제형에서 본 발명의 항체 구축물을 포함하는 제형을 포함하는 추가적인 약제학적 조성물은 당업자에게 명백할 것이다. 다양한 다른 지속 또는 제어 전달 수단, 예를 들어 리포솜 담체, 생분해성 마이크로입자 또는 다공성 비드 및 데포 주사를 제형화하기 위한 기법이 또한 당업자에게 공지되어 있다. 예를 들어, 약제학적 조성물의 전달을 위한 다공성 중합체 마이크로입자의 제어 방출을 기술하는 국제 특허 출원 번호 PCT/US93/00829 참조. 지속 방출 제제는 성형된 물품의 형태, 예를 들어 필름 또는 마이크로캡슐로 반투과성 중합체 기질을 포함할 수 있다. 지속 방출 기질은 폴리에스테르, 하이드로겔, 폴리락티드(미국 특허 번호 3,773,919 및 유럽 특허 출원 공개 번호 EP 058481에 개시됨), L-글루탐산 및 감마 에틸-L-글루타메이트의 공중합체(Sidman et al., 1983, Biopolymers 2:547-556), 폴리(2-하이드록시에틸-메타크릴레이트)(Langer et al., 1981, J. Biomed. Mater. Res. 15:167-277 및 Langer, 1982, Chem. Tech. 12:98-105), 에틸렌 비닐 아세테이트((Langer et al., 1981, 위의 문헌) 또는 폴리-D(-)-3-하이드록시부티르산(유럽 특허 출원 공개 번호 EP 133,988)을 포함할 수 있다. 지속 방출 조성물은 또한 당해 분야에 공지된 임의의 몇 가지 방법에 의해 제조될 수 있는 리포솜을 포함할 수 있다. 예를 들어, Eppstein et al., 1985, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 82:3688-3692; 유럽 특허 출원 공개 번호 EP 036,676; EP 088,046 및 EP 143,949 참조.

[0360] 항체 구축물은 또한, 예를 들어 코아세르베이션 기법에 의하거나 계면 중합에 의해 제조된 마이크로캡슐(예를 들어, 각각 하이드록시메틸셀룰로오스 또는 젤라틴-마이크로캡슐 및 폴리(메틸메타크릴레이트)마이크로캡슐)에, 콜로이드 약물 전달 시스템(예를 들어, 리포솜, 일부민 마이크로스피어, 마이크로에멀션, 나노입자 및 나노캡슐)에, 또는 마크로에멀션에 포집될 수 있다. 이러한 기법은 Remington's Pharmaceutical Sciences, 16th edition, Oslo, A., Ed., (1980)에 개시되어 있다.

[0361] 생체 내 투여를 위해 사용되는 약제학적 조성물은 전형적으로 멸균 제제로서 제공된다. 멸균은 멸균 여과막을 통한 여과에 의해 달성될 수 있다. 조성물이 동결건조될 때, 이 방법을 사용하는 멸균은 동결건조 및 재구성 전 또는 후에 수행될 수 있다. 비경구 투여를 위한 조성물은 동결건조 형태로 또는 용액으로 저장될 수 있다. 비경구 조성물은 일반적으로 멸균 접근 포트를 갖는 용기, 예를 들어 정맥 내 용액 백(bag) 또는 피하 주사 바늘에 의해 천공될 수 있는 마개가 있는 바이알에 넣는다.

[0362] 본 발명의 다른 양태는 국제 특허 출원 WO 06138181A2(PCT/US2006/022599)에 기술된 바와 같은 약제학적 조성물로서 사용될 수 있는 본 발명 제형의 자기-완충 항체 구축물을 포함한다. 이와 관련하여 유용한 단백질 안정화 및 제형 재료 및 방법에 대한 다양한 설명이 이용 가능하다. 예컨대, Arakawa et al., "Solvent interactions in pharmaceutical formulations," Pharm Res. 83 / 285-91 (1991); Kendrick et al., "Physical stabilization of proteins in aqueous solution" in: RATIONAL DESIGN OF STABLE PROTEIN FORMULATIONS: THEORY AND PRACTICE, Carpenter and Manning, eds. Pharmaceutical Biotechnology. 13: 61-84 (2002), 및 Randolph et al., "Surfactant-protein interactions", Pharm Biotechnol. 13: 159-75 (2002). 특히, 수의학 및/또는 인간 의학 용도를 위한 단백질 제약 제품 및 방법에 관하여, 특히, 본 발명에 따른 자기-완충 단백질 제형을 위한 동일한 부형제 및 이의 방법에 관한 부분 참조.

[0363] 예를 들어, 제형의 이온 강도 및/또는 등장성을 조정하기 위해, 그리고/또는 본 발명에 따른 조성물의 단백질 또는 다른 성분의 용해성 및/또는 물리적 안정성을 개선하기 위해 본 발명의 특정 구현예에 따라 염이 사용될 수 있다. 잘 알려진 바와 같이, 이온은 단백질의 표면에서 하전된 잔기에 결합함으로써, 그리고 단백질에서 하전 및 극성 기를 차폐하고 이들의 정전기적 상호작용, 끌어당기고 반발하는 상호작용을 감소시킴으로써 단백질의 친연 상태를 안정화시킬 수 있다. 이온은 또한 특히 단백질의 변성 웨티드 연결(--CONH)에 대한 결합에 의해 단백질의 변성 상태를 안정화시킬 수 있다. 더 나아가, 단백질에서 하전 및 극성 기와의 이온성 상호작용은 또한 분자간 정전기적 상호작용을 감소시킬 수 있고, 이에 의해 단백질 응집 및 불용성을 방지하거나 감소시킬 수 있다.

[0364] 이온 좋은 단백질에 대한 그들의 영향이 상당히 다르다. 본 발명에 따른 약제학적 조성물을 제형화하는 데 사용될 수 있는 이온 및 이들의 단백질에 대한 영향의 다수의 카테고리 순위가 개발되었다. 일 예는 호프마이스터(Hofmeister) 시리즈로, 이는 용액에서 단백질의 입체형태 안정성에 대한 영향에 의해 이온성 및 극성 비이온성 용질의 순위를 매긴다. 안정화 용질은 "코스모트로픽(kosmotropic)"으로 지칭된다. 탈안정화 용질은 "카오토로픽(chaotropic)"으로 지칭된다. 코스모트로피는 통상적으로 용액으로부터 단백질을 침전시키기 위해("염석") 고농도(예를 들어, >1 몰 암모늄 설페이트)로 사용된다. 카오토로피는 통상적으로 단백질을 변성 및/또는 가용화("염용")하기 위해 사용된다. "염용" 및 "염석"에 대한 이온의 상대적 유효성은 호프마이스터 시리즈에서 그들

의 위치를 정의한다.

[0365] 유리 아미노산은 본 발명의 다양한 구현예에 따라 본 발명 제형의 항체 구축물에서 중량제, 안정화제, 및 항산화제뿐만 아니라 다른 표준 용도로서 사용될 수 있다. 리신, 프롤린, 세린, 및 알라닌은 제형에서 단백질을 안정화시키기 위해 사용될 수 있다. 글리신은 정확한 케이크 구조 및 특성을 보장하기 위한 동결건조에서 유용하다. 아르기닌은 액체 및 동결건조 제형 둘 다에서 단백질 응집을 억제하는 데 유용할 수 있다. 메티오닌은 항산화제로서 유용하다.

[0366] 폴리올은 당, 예를 들어, 만니톨, 수크로스, 및 소르비톨 및, 예를 들어 글리세롤 및 프로필렌 글리콜과 같은 다가 알코올, 그리고 본 명세서에서 논의의 목적을 위해, 폴리에틸렌 글리콜(PEG) 및 관련된 물질을 포함한다. 폴리올은 코스모트로픽이다. 그들은 물리적 그리고 화학적 분해 공정으로부터 단백질을 보호하기 위한 액체 및 동결건조 제형 둘 다에서 유용한 안정화제이다. 폴리올은 또한 제형의 긴장성을 조정하기에 유용하다. 폴리올 중에서 본 발명의 선택 구현예에서 유용한 것은, 동결건조 제형에서 케이크의 구조적 안정성을 보장하기 위해 통상적으로 사용되는 만니톨이다. 이는 케이크에 대한 구조적 안정성을 보장한다. 이는 일반적으로 동결건조보호제, 예를 들어, 수크로스와 함께 사용된다. 긴장성을 조정하기 위한 바람직한 작용제 중에, 그리고 제조 공정 동안 벌크의 제조 또는 운송 동안 냉동-해동 스트레스에 대해 보호하기 위한 안정화제로서 소르비톨 및 수크로스가 있다. 환원당(유리 알데히드 또는 케톤 기를 포함함), 예를 들어 글루코오스 및 락토오스는 표면 리신 및 아르기닌 잔기를 당화시킬 수 있다. 따라서, 이들은 일반적으로 본 발명에 따라 사용하기에 바람직한 폴리올 중에 있지 않다. 추가로, 산성 조건 하에서 프룩토오스 및 글루코오스로 가수분해되고, 결과적으로 당화를 발생하게 하는 수크로스와 같은 이러한 반응성 종을 형성하는 당은 또한 이와 관련하여 본 발명의 바람직한 폴리올 중에 있지 않다. PEG는 단백질을 안정화시키는 데, 그리고 동결보호제로서 유용하고, 이와 관련하여 본 발명에서 사용될 수 있다.

[0367] 본 제형의 항체 구축물의 구현예는 계면활성제를 추가로 포함한다. 단백질 분자는 표면에서의 흡착 및 변성이 용이할 수 있고, 그 결과 공기-액체, 고체-액체, 및 액체-액체 계면에서의 응집이 용이할 수 있다. 이들 영향은 일반적으로 단백질 농도와 역으로 증감된다. 이들 유해 상호작용은 일반적으로 단백질 농도와 역으로 증감되고, 전형적으로 제품의 운송 및 처리 동안 생성되는 것과 같은 물리적 교반에 의해 악화된다. 계면활성제는 통상적으로 표면 흡착을 방지하거나, 최소화하거나, 감소시키기 위해 사용된다. 이와 관련하여 본 발명에서 유용한 계면활성제는 폴리소르베이트 20, 폴리소르베이트 80, 소르비탄 폴리에톡실레이트의 다른 지방산 에스테르, 및 폴록사머(poloxamer) 188을 포함한다. 계면활성제는 또한 단백질 입체형태 안정성을 제어하기 위해 통상적으로 사용된다. 이와 관련하여 계면활성제의 사용은 단백질-특이적인데, 임의의 주어진 계면활성제는 전형적으로 일부 단백질을 안정화하고, 다른 것을 탈안정화할 것이기 때문이다.

[0368] 폴리소르베이트는 산화적 분해가 용이하고 종종, 공급되는 바와 같이, 단백질 잔기 측쇄, 특히 메티오닌의 산화를 야기하기에 충분한 양의 과산화물을 함유한다. 결과적으로, 폴리소르베이트는 주의하여 사용되어야 하며, 사용시에는 이들의 최저 유효 농도로 이용되어야 한다. 이와 관련하여, 폴리소르베이트는 부형제가 그들의 최저 유효 농도로 사용되어야 할 일반적 규칙을 예시한다.

[0369] 본 발명 제형의 항체 구축물의 구현예는 1종 이상의 항산화제를 추가로 포함한다. 어느 정도까지 단백질의 유해 산화는 적절한 수준의 주위 산소 및 온도를 유지함으로써, 그리고 광에 대한 노출을 회피함으로써 약제학적 제형에서 방지될 수 있다. 항산화제 부형제는 단백질의 산화적 분해를 방지하기 위해서도 사용될 수 있다. 이와 관련하여 유용한 항산화제 중에 환원제, 산소/유리-라디칼 스캐빈저, 및 킬레이트제가 있다. 본 발명에 따른 치료 단백질 제형에서 사용하기 위한 항산화제는 바람직하게는 수용성이며, 제품의 저장 수명 내내 그들의 활성을 유지한다. EDTA는 이와 관련하여 본 발명에 따른 바람직한 항산화제이다. 항산화제는 단백질을 손상시킬 수 있다. 예를 들어, 특히 글루타티온과 같은 환원제는 분자 내 이황화 연결을 파괴할 수 있다. 따라서, 본 발명에 사용하기 위한 항산화제는, 다른 것들 중에서도, 제형에서 그 자체가 단백질을 손상시킬 가능성을 제거하거나 충분히 감소시키도록 선택된다.

[0370] 본 발명에 따른 제형은 단백질 공동인자이고, 단백질 배위 치물을 형성하는 데 필요한 금속 이온, 예를 들어 특정 인슐린 혼탁액을 형성하는 데 필요한 아연을 포함할 수 있다. 금속 이온은 또한 단백질을 분해하는 일부 과정을 억제할 수 있다. 그러나, 금속 이온은 또한 단백질을 분해하는 물리적 및 화학적 과정에 촉매 작용을 한다. 마그네슘 이온(10 내지 120 mM)은 아스파르트산의 이소아스파르트산으로의 이성질체화를 억제하기 위해 사용될 수 있다.  $\text{Ca}^{+2}$  이온(100 mM까지)은 인간 데옥시리보뉴클레아제의 안정성을 증가시킬 수 있다. 그러나,  $\text{Mg}^{+2}$ ,  $\text{Mn}^{+2}$ , 및  $\text{Zn}^{+2}$ 는 rhDNase를 탈안정화시킬 수 있다. 유사하게,  $\text{Ca}^{+2}$  및  $\text{Sr}^{+2}$ 은 인자 VIII를 안정화시킬 수 있

고, 이는  $Mg^{+2}$ ,  $Mn^{+2}$  및  $Zn^{+2}$ ,  $Cu^{+2}$  및  $Fe^{+2}$ 에 의해 탈안정화될 수 있으며, 이의 응집은  $Al^{+3}$  이온에 의해 증가될 수 있다.

[0371] 본 명세서에 개시된 항체 구축물은 또한 면역-리포솜으로서 제형화될 수 있다. "리포솜"은 포유류에 대한 약물의 전달에 유용한 다양한 유형의 지질, 인지질 및/또는 계면활성제로 구성된 작은 소포이다. 리포솜의 구성성분은 생물학적 막의 지질 배열과 유사한 이중층 형성으로 통상 배열된다. 항체 구축물을 함유하는 리포솜은 Epstein et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 82: 3688 (1985); Hwang et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 77: 4030 (1980); 미국 특허 번호 4,485,045 및 4,544,545; 및 WO 97/38731과 같이, 당해 분야에 공지된 방법에 의해 제조된다. 향상된 순환 시간을 갖는 리포솜은 미국 특허 번호 5,013, 556에 개시되어 있다. 특히 유용한 리포솜은 포스파티딜콜린, 콜레스테롤 및 PEG-유도체화된 포스파티딜에탄올아민(PEG-PE)을 포함하는 지질 조성물을 사용하는 역상 증발 방법에 의해 생성될 수 있다. 리포솜을 정의된 기공 크기의 필터를 통해 압출하여 요망되는 직경을 갖는 리포솜을 수득한다. 본 발명의 항체 구축물의 Fab' 단편은 Martin et al. J. Biol. Chem. 257: 286-288 (1982)에 기술된 바와 같이 이황화물 교환 반응을 통해 리포솜에 접합될 수 있다. 화학요법제는 선택적으로 리포솜 내에 함유된다. Gabizon et al. J. National Cancer Inst. 81 (19) 1484 (1989) 참조.

[0372] 일단 약제학적 조성물이 제형화되면, 이는 용액, 혼탁액, 젤, 에멀션, 고체, 결정으로서, 또는 탈수되거나 동결건조된 분말로서 멸균 바이알에 저장될 수 있다. 이러한 제형은 바로 사용 가능한 형태 또는 투여 전에 재구성되는 (예를 들어, 동결건조된) 형태로 저장될 수 있다.

[0373] 본 명세서에 정의되는 약제학적 조성물의 생물학적 활성은, 예를 들어 다음의 실시예, WO 99/54440 또는 Schlereth 등(Cancer Immunol. Immunother. 20 (2005), 1-12)에 의해 기재된 바와 같이, 세포독성 분석에 의해 결정될 수 있다. 본 명세서에서 사용되는 바와 같은 "효능" 또는 "생체 내 효능"은, 예를 들어 표준화된 NCI 반응 기준을 사용하여 본 발명의 약제학적 조성물에 의한 요법에 대한 반응을 지칭한다. 본 발명의 약제학적 조성물을 사용하는 요법의 성공 또는 생체 내 효능은 의도된 목적을 위한 조성물의 유효성, 즉 이의 요망되는 효과, 즉 병리 세포, 예를 들어 종양 세포의 고갈을 야기하는 조성물의 능력을 지칭한다. 생체 내 효능은 백혈구 계수, 감별, 형광 활성화 세포 분류, 골수 흡인을 포함하지만, 이로 한정되지 않는 각각의 질환 개체에 대해 확립된 표준 방법에 의해 모니터링될 수 있다. 추가로, 다양한 질환 특이적 임상 화학적 파라미터 및 기타 확립된 표준 방법이 사용될 수 있다. 또한, 컴퓨터 보조 단층촬영, X-선, 핵 자기 공명 단층촬영(예를 들면, 국립 암 연구소-기준 기반의 반응 평가[Cheson BD, Horning SJ, Coiffier B, Shipp MA, Fisher RI, Connors JM, Lister TA, Vose J, Grillo-Lopez A, Hagenbeek A, Cabanillas F, Klippensten D, Hiddemann W, Castellino R, Harris NL, Armitage JO, Carter W, Hoppe R, Canellos GP. Report of an international workshop to standardize response criteria for non-Hodgkin's lymphomas. NCI Sponsored International Working Group. J Clin Oncol. 1999 Apr;17(4):1244]), 양전자-방출 단층촬영 스캐닝(positron-emission tomography scanning), 백혈구 수치, 차동, 형광 활성 세포 분류, 골수 천자, 림프절 생검/조직학 및 다양한 림프종 특이적 임상 화학 파라미터(예를 들면, 젖산 탈수소효소) 및 다른 확립된 표준 방법이 이용될 수 있다.

[0374] 본 발명의 약제학적 조성물과 같은 약물의 개발에서 다른 주된 과제는 약동학적 특성의 예측 가능한 조절이다. 이 목적을 위하여, 약물 후보의 약동학적 프로파일, 즉 주어진 병태를 치료하기 위한 특정 약물의 능력에 영향을 미치는 약동학적 파라미터의 프로파일이 확립될 수 있다. 특정 질환 개체를 치료하기 위한 약물의 능력에 영향을 미치는 약물의 약동학적 파라미터는 반감기, 분포 용적, 간 초회-통과 대사 및 혈청 결합의 정도를 포함하지만, 이로 한정되지 않는다. 주어진 약물 작용제의 효능은 위에 언급한 각각의 파라미터에 의해 영향을 받을 수 있다.

[0375] "반감기"는 투여된 약물의 50%가 생물학적 과정, 예를 들어 대사, 배설 등을 통해 제거되는 시간을 의미한다. "간 초회-통과 대사"는 간과의 초회 접촉에서, 즉 간을 통한 초회 통과 중에 대사되는 약물의 경향을 의미한다. "분포 용적"은, 예를 들어 세포 내 및 세포 외 공간, 조직 및 기관 등과 같은 신체의 다양한 구획 전체에 걸친 약물의 체류 정도, 및 이를 구획 내의 약물의 분포를 의미한다. "혈청 결합의 정도"는 일부민과 같은 혈액 혈청 단백질과 상호작용하고 이에 결합하여 약물의 생물학적 활성의 감소 또는 손실을 야기하는 약물의 경향을 의미한다.

[0376] 약동학적 파라미터는 또한 투여되는 약물의 주어진 양에 대한 생물학적 이용가능성, 지체 시간(Tlag), Tmax, 흡수율, 더 많은 발병 및/또는 Cmax를 포함한다. "생물학적 이용가능성"은 혈액 구획에서의 약물의 양을 의미한다. "지체 시간"은 약물의 투여와 혈액 또는 혈장에서 이의 검출 및 측정 가능성 사이의 시간 지연을 의미한다. "Tmax"는 약물의 최대 혈중 농도에 도달한 후의 시간이며, "Cmax"는 주어진 약물에 의해 최대로 얻어진

혈중 농도이다. 생물학적 효과를 위해 요구되는 약물의 혈액 또는 조직 농도에 도달하는 시간은 모든 파라미터에 의해 영향을 받는다. 위에 약술한 바와 같은 비침팬지 영장류에서의 전임상 동물 시험에서 결정될 수 있는 교차종 특이성을 나타내는 이중특이적 항체 구축물의 약동학적 파라미터는 또한, 예를 들어 Schlereth 등에 의한 간행물(Cancer Immunol. Immunother. 20 (2005), 1-12)에 기재되어 있다.

[0377] 본 발명의 바람직한 양태에서 약제학적 조성물은 약 -20°C에서 적어도 4주 동안 안정적이다. 첨부된 실시예로부터 명백한 바와 같이, 본 발명의 항체 구축물의 품질 대 상응하는 최신 항체 구축물의 품질은 상이한 시스템을 사용하여 시험할 수 있다. 이러한 시험은 "ICH Harmonised Tripartite Guideline: Stability Testing of Biotechnological/Biological Products Q5C and Specifications: Test procedures and Acceptance Criteria for Biotech Biotechnological/Biological Products Q6B"와 일치하는 것으로 이해되며, 따라서, 제품의 동일성, 순도 및 효능의 변화가 검출되는 확실성을 제공하는 안정성-지시 프로파일을 제공하도록 선택된다. 순도라는 용어는 상대적 용어인 것으로 널리 받아들여진다. 글리코실화, 타이미드화, 또는 다른 이질성의 영향으로 인해, 생명공학적/생물학적 제품의 절대 순도는 전형적으로 한 가지 초과의 방법에 의해 평가되어야 하며, 얻어지는 순도 값은 방법-의존적이다. 안정성 시험의 목적을 위해, 순도에 대한 시험은 분해 산물의 결정을 위한 방법에 중점을 두어야 한다.

[0378] 본 발명의 항체 구축물을 포함하는 약제학적 조성물의 품질에 대한 평가를 위해서는, 예를 들어 용액에서의 가용성 응집물 함량(크기 배제 당 HMWS)을 분석함으로써 분석될 수 있다. 약 -20°C에서 적어도 4주 동안의 안정성은 1.5% 미만 HMWS, 바람직하게는 1% 미만 HMWS의 함량을 특징으로 하는 것이 바람직하다.

[0379] 약제학적 조성물 형태인 본 발명의 항체 구축물의 안정성 평가를 위한 다른 예는 첨부되는 실시예 4 내지 12에서 제공된다. 이들 실시예에서, 본 발명의 항체 구축물의 구현예를 상이한 약제학적 제형에서 상이한 스트레스 조건에 대하여 시험하고 결과를 당해 분야에 공지된 이중특이적 T 세포 관여 항체 구축물의 다른 반감기 연장(HLE) 형식과 비교한다. 일반적으로, 본 발명에 따른 특이적 Fc 모달리티를 구비한 항체 구축물은 전형적으로, 상이한 HLE 형식을 구비한 항체 구축물 및 임의의 HLE 형식이 없는 항체 구축물(즉, "기본형" 항체 구축물) 둘 다와 비교하여, 온도 및 광 스트레스와 같은 광범위한 스트레스 조건에 걸쳐 더 안정적인 것으로 고려된다. 상기 온도 안정성은 감소된(냉동을 포함하는 실온 미만) 그리고 증가된(체온까지의 또는 체온 초과의 온도를 포함하는 실온 초과) 온도 둘 다에 관한 것일 수 있다. 당업자가 인정하는 바와 같이, 임상 실무에서 거의 회피할 수 없는 스트레스에 대하여 이렇게 개선된 안정성은 항체 구축물을 더 안전하게 만드는데, 임상 실무에서 더 적은 분해 생성물이 생길 것이기 때문이다. 결과적으로, 상기 증가된 안정성은 증가된 안전성을 의미한다.

[0380] 수소-중수소 교환(HDX)은 공유적으로 결합된 수소 원자가 중수소 원자에 의해, 또는 그 반대로 교체되는 화학 반응이다. 교환 가능한 양성자와 중양자에 가장 쉽게 적용될 수 있으며, 이러한 전환은 임의의 촉매 없이 적합한 중수소 공급원의 존재 하에 일어난다. 이 방법은 분자의 다양한 부분의 용매 접근성 및 이에 따른 단백질의 3차 구조에 관한 정보를 제공한다.

[0381] 일 구현에는 중식성 질환, 종양 질환, 바이러스 질환 또는 면역 장애의 예방, 치료 또는 개선에 사용하기 위한 본 발명의 항체 구축물, 또는 본 발명의 방법에 따라 생산된 항체 구축물을 제공한다.

[0382] 본 명세서에 기재된 제형은 이를 필요로 하는 환자에서 본 명세서에 기술되는 바와 같은 병리적 의학적 병태의 치료, 개선 및/또는 예방에서 약제학적 조성물로서 유용하다. 용어 "치료"는 치료적 처치와 예방적 또는 방지적 조치 둘 다를 지칭한다. 치료는 질환, 질환의 증상, 또는 질환에 대한 소인을 치료하거나, 치유하거나, 경감하거나, 완화하거나, 변경하거나, 교정하거나, 좋아지게 하거나, 개선하거나, 영향을 미치기 위한 목적으로 질환/장애, 질환/장애의 증상, 또는 질환/장애에 대한 소인을 갖는 환자로부터의 신체, 분리된 조직, 또는 세포에 대한 제형의 적용 또는 투여를 포함한다.

[0383] 본 명세서에서 사용되는 용어 "개선"은 본 발명에 따른 항체 구축물을 이를 필요로 하는 대상체에게 투여하는 것에 의한, 본 명세서에서 이하에 명시된 바와 같은 종양 또는 암 또는 전이성 암을 갖는 환자의 질환 상태의 임의의 개선을 지칭한다. 이러한 개선은 또한 환자의 종양 또는 암 또는 전이성 암의 진행의 둔화 또는 중단으로서 보일 수 있다. 본 명세서에서 사용되는 용어 "예방"은 본 발명에 따른 항체 구축물을 이를 필요로 하는 대상체에게 투여하는 것에 의한, 본 명세서에서 이하에 명시된 바와 같은 종양 또는 암 또는 전이성 암을 갖는 환자의 발생 또는 재발의 회피를 의미한다.

[0384] 용어 "질환"은 본 명세서에서 기술되는 항체 구축물 또는 약제학적 조성물에 의한 치료로부터 혜택을 받을 임의의 병태를 지칭한다. 이는 포유류를 문제의 질환에 취약하게 만드는 이들 병리적 병태를 포함하는 만성 및 급성

장애 또는 질환을 포함한다.

[0385] "신생물"은 항상은 아니지만 보통 덩어리를 형성하는 조직의 비정상적 성장이다. 또한 덩어리를 형성할 때, 그 것은 일반적으로 "종양"으로 지칭된다. 신생물 또는 종양은 양성, 잠재적으로 악성(전암성) 또는 악성일 수 있다. 악성 신생물은 통상적으로 암으로 불린다. 이들은 보통 주변 조직을 침윤하고 파괴하며, 전이를 형성할 수 있다. 즉, 이들은 신체의 다른 부분, 조직 또는 기관으로 퍼진다. 따라서, 용어 "전이성 암"은 본래의 종양의 것이 아닌 다른 조직 또는 기관으로의 전이를 포함한다. 럼프종 및 백혈병은 럼프성 신생물이다. 본 발명의 목적을 위하여, 이들은 또한 용어 "종양" 또는 "암"에 포함된다.

[0386] 용어 "바이러스 질환"은 대상체의 바이러스 감염의 결과인 질환을 기술한다.

[0387] 본 명세서에서 사용되는 용어 "면역 장애"는 이 용어의 통상적인 정의와 관련하여 자가면역 질환, 과민증, 면역 결핍증과 같은 면역 장애를 기술한다.

[0388] 일 구현예에서 본 발명은 본 발명의 항체 구축물, 또는 본 발명의 방법에 따라 생산된 항체 구축물을 이를 필요로 하는 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는, 중식성 질환, 종양 질환, 바이러스 질환 또는 면역 장애의 치료 또는 개선을 위한 방법을 제공한다.

[0389] 용어 "필요로 하는 대상체" 또는 "치료를 필요로 하는" 대상체는 이미 장애가 있는 대상체뿐만 아니라 장애가 예방될 대상체를 포함한다. 필요로 하는 대상체 또는 "환자"는 예방적 또는 치료적 처치를 받는 인간 및 다른 포유류 대상체를 포함한다.

[0390] 발명의 항체 구축물은 일반적으로 투여의 특정 경로 및 방법에 대해, 특정 투여량 및 투여 빈도에 대해, 특정 질환의 특정 치료에 대해, 다른 것들 중에서도 생물학적 이용가능성 및 지속성의 범위를 갖고 설계될 것이다. 조성물의 재료는 바람직하게는 투여의 부위에 허용 가능한 농도로 제형화된다.

[0391] 따라서 제형 및 조성물은 임의의 적합한 투여 경로에 의한 전달을 위해 본 발명에 따라 설계될 수 있다. 본 발명의 맥락에서, 투여 경로는 바람직하게는 비경구 경로(예를 들어, 정맥 내, 동맥 내, 골 내, 근육 내, 뇌 내, 뇌실 내, 경막 외, 척추강 내, 피하, 복막 내, 양막 외, 관절 내, 심장 내, 피 내, 병소 내, 자궁 내, 방광 내, 유리체 내, 경피, 비강 내, 경첨막, 활막 내, 관 내)이다.

[0392] 본 발명의 약제학적 조성물 및 항체 구축물은, 예를 들어 일회분 주사와 같은 주사에 의하거나, 연속적 주입과 같은 주입에 의한 비경구 투여, 예를 들어, 피하 또는 정맥 내 전달에 특히 유용하다. 약제학적 조성물은 의료 기구를 사용하여 투여될 수 있다. 약제학적 조성물을 투여하기 위한 의학적 장치의 예는 미국 특허 번호 4,475,196; 4,439,196; 4,447,224; 4,447, 233; 4,486,194; 4,487,603; 4,596,556; 4,790,824; 4,941,880; 5,064,413; 5,312,335; 5,312,335; 5,383,851; 및 5,399,163에 기재되어 있다.

[0393] 특히, 본 발명은 적합한 조성물의 중단되지 않는 투여를 제공한다. 비제한적 예로서, 중단되지 않는, 또는 실질적으로 중단되지 않는, 즉, 연속적 투여는 환자의 신체 내로 치료제의 유입을 계량하기 위해 환자가 착용하는 소형 펌프 시스템에 의해 실현될 수 있다. 본 발명의 항체 구축물을 포함하는 약제학적 조성물은 상기 펌프 시스템을 사용함으로써 투여될 수 있다. 이러한 펌프 시스템은 일반적으로 당해 분야에 공지되어 있으며, 주입되는 치료제를 함유하는 카트리지의 주기적 교환에 통상적으로 의존한다. 이러한 펌프 시스템에서 카트리지를 교환할 때, 다른게는 중단되지 않는 치료제의 환자 신체 내로의 흐름의 일시적 중단이 뒤따를 수 있다. 이러한 경우에, 카트리지 교체 전의 투여 단계 및 카트리지 교체 후의 투여 단계는 약제학적 수단의 의미 내에서 여전히 고려될 것이고 본 발명의 방법은 함께 이러한 치료제의 한 번의 "중단되지 않는 투여"를 구성한다.

[0394] 본 발명의 항체 구축물의 연속적 또는 중단되지 않는 투여는, 저장소 밖으로 유체를 구동하기 위한 유체 구동 기전 및 구동 기전을 작동시키기 위한 작동 기전을 포함하는 유체 전달 기구 또는 소형 펌프 시스템에 의한 정맥 내 또는 피하일 수 있다. 피하 투여를 위한 펌프 시스템은 환자의 피부를 관통하고 환자의 신체로 적합한 조성물을 전달하기 위한 바늘 또는 삽입관을 포함할 수 있다. 상기 펌프 시스템은 정맥, 동맥 또는 혈관과 독립적으로 환자의 피부에 직접 고정되거나 부착될 수 있고, 이에 의해 펌프 시스템과 환자의 피부 사이에 직접적인 접촉을 허용한다. 펌프 시스템은 24시간 동안 며칠까지 환자의 피부에 부착될 수 있다. 펌프 시스템은 작은 용량을 위한 저장소를 갖는 소형 크기의 것일 수 있다. 비제한적 예로서, 투여되는 적합한 약제학적 조성물을 위한 저장소의 부피는 0.1 내지 50 mL일 수 있다.

[0395] 연속적 투여는 또한 피부에 착용하고 간격을 두고 교체되는 패치에 의한 경피적일 수 있다. 당업자는 이 목적에 적합한 약물 전달을 위한 패치 시스템을 인지한다. 아주 흥미롭게도 경피 투여는 특히 중단되지 않는 투여를 잘

처리하는데, 첫 번째 다 쓴 패치의 교환이, 예를 들어 첫 번째 다 쓴 패치에 바로 인접한 피부의 표면에서, 그리고 첫 번째 다 쓴 패치의 제거 직전에 새로운 두 번째 패치의 교환과 동시에 유리하게 달성될 수 있기 때문이다. 유동 중단 또는 동력 전지 고장의 문제는 생기지 않는다.

[0396] 약제학적 조성물이 동결건조된 경우, 동결건조된 물질은 투여 전에 적절한 액체에서 먼저 재구성된다. 동결건조된 물질은, 예를 들어 정균성 주사용수(BWFI), 생리 식염수, 인산염 완충 식염수(PBS)에서, 또는 동결건조 전에 단백질이 있었던 동일 제형으로 재구성될 수 있다.

[0397] 본 발명의 조성물은 예를 들어, 비침팬지 영장류, 예를 들어, 마카크에 대해 본 명세서에 기술되는 교차종 특이성을 나타내는 본 발명의 항체 구축물의 증가하는 용량의 투여에 의한 용량 증가 연구에 의해 결정될 수 있는 적합한 용량으로 대상체에게 투여될 수 있다. 위에 제시한 바와 같이, 본 명세서에 기술되는 교차종 특이성을 나타내는 본 발명의 항체 구축물은 비침팬지 영장류에서의 전임상 시험에서와 동일한 형태로, 그리고 인간에서의 약물로서 유리하게 사용될 수 있다. 투약 요법은 담당 의사 및 임상 인자에 의해 결정될 것이다. 의학 분야에 잘 알려진 바와 같이, 임의의 한 명의 환자에 대한 투여량은 환자의 체격, 체표면적, 연령, 투여되는 특정화합물, 성별, 투여 시간 및 경로, 일반적 건강상태, 및 동시에 투여되는 다른 약물을 포함하는 많은 인자에 의존한다.

[0398] 용어 "유효 용량" 또는 "유효 투여량"은 요망되는 효과를 달성하거나 적어도 부분적으로 달성하기에 충분한 양으로서 정의된다. 용어 "치료적 유효 용량"은 이미 질환이 있는 환자에서 질환 및 이의 합병증을 치유하거나 적어도 부분적으로 저지하기에 충분한 양으로서 정의된다. 이 용도에 유효한 양 또는 용량은 치료되는 병태(적응증), 전달되는 항체 구축물, 치료 상황 및 목적, 질환의 중증도, 사전 요법, 환자의 임상 이력 및 치료제에 대한 반응, 투여의 경로, 크기(체중, 체표면 또는 기관 크기) 및/또는 환자의 병태(연령 및 일반적 건강상태), 및 환자 자신의 면역계의 일반적 상태에 의존할 것이다. 적절한 용량은 1회 또는 일련의 투여에 걸쳐 환자에게 투여될 수 있도록, 그리고 최적의 치료 효과를 얻기 위해 담당 의사의 판단에 따라 조절될 수 있다.

[0399] 전형적인 투여량은 위에 언급한 인자에 따라 약 0.1  $\mu\text{g}/\text{kg}$  내지 약 30  $\text{mg}/\text{kg}$  이상까지의 범위일 수 있다. 구체적인 구현예에서, 투여량은 1.0  $\mu\text{g}/\text{kg}$  내지 약 20  $\text{mg}/\text{kg}$ , 선택적으로 10  $\mu\text{g}/\text{kg}$  내지 약 10  $\text{mg}/\text{kg}$  또는 100  $\mu\text{g}/\text{kg}$  내지 약 5  $\text{mg}/\text{kg}$ 의 범위일 수 있다.

[0400] 본 발명의 항체 구축물의 치료적 유효량은 바람직하게는 질환 증상의 중증도 저하, 질환 무-증상 시기의 빈도 또는 기간의 증가 또는 질환 고통으로 인한 손상 또는 장애의 예방을 초래한다. 표적 세포 항원-발현 종양의 치료를 위해, 치료적 유효량의 본 발명의 항체 구축물, 예를 들어 항-표적 세포 항원/항-CD3 항체 구축물은 세포 성장 또는 종양 성장을 치료받지 않는 환자에 비해서, 바람직하게는 적어도 약 20%, 적어도 약 40%, 적어도 약 50%, 적어도 약 60%, 적어도 약 70%, 적어도 약 80%, 또는 적어도 약 90% 억제한다. 종양 성장을 억제하는 화합물의 능력을 효능을 예측하는 동물 모델에서 평가될 수 있다.

[0401] 약제학적 조성물은 단독 치료제로서, 또는 필요하다면 추가적인 치료제, 예를 들어 항암 요법, 예를 들어, 다른 단백질성 및 비단백질성 약물과 조합하여 투여될 수 있다. 이들 약물은 본 명세서에서 정의되는 바와 같은 본 발명의 항체 구축물을 포함하는 조성물과 동시에, 또는 시기적절하게 정의된 간격 및 용량으로 상기 항체 구축물의 투여 전 또는 후에 별개로 투여될 수 있다.

[0402] 본 명세서에서 사용되는 용어 "유효 및 비독성 용량"은 주된 독성 효과가 없거나 본질적으로 없이 병적 세포의 고갈, 종양 제거, 종양 수축 또는 질환의 안정화를 야기하기에 충분히 높은 본 발명의 항체 구축물의 용인 가능한 용량을 지칭한다. 이러한 유효 및 비독성 용량은, 예를 들어 당해 분야에 기술된 용량 증가 연구에 의해 결정될 수 있고, 중증의 유해 부작용(용량 제한 독성, DLT)을 유도하는 용량 미만이어야 한다.

[0403] 본 명세서에서 사용되는 용어 "독성"은 유해 사건 또는 중증의 유해 사건으로 나타나는 약물의 독성 영향을 지칭한다. 이들 부작용은 일반적으로 약물 내약성의 결여 및/또는 투여 후 국소 내약성의 결여를 지칭할 수 있을 것이다. 독성은 또한 약물에 의해 야기되는 기형 유발성 또는 발암성 영향을 포함할 수 있다.

[0404] 본 명세서에서 사용되는 용어 "안전성", "생체 내 안전성" 또는 "내약성"은 투여 직후(국소 내약성) 및 약물의 더 장기간의 적용 동안 중증의 유해 사건을 유도하지 않는 약물의 투여를 정의한다. "안전성", "생체 내 안전성" 또는 "내약성"은, 예를 들어 치료 및 후속 기간 동안 규칙적 간격으로 평가될 수 있다. 측정은 임상적 평가, 예를 들어, 기관 정후, 및 실험실 이상의 선별을 포함한다. 임상적 평가가 수행될 수 있으며, 정상 소견에 대한 편차는 NCI-CTC 및/또는 MedDRA 표준에 따라 기록/암호화된다. 기관 정후는, 예를 들어 유해 사건에 대한 통상의 용어 기준 v3.0(Common Terminology Criteria for adverse events v3.0)(CTCAE)에 제시된 바와

같이, 알레르기/면역학, 혈액/골수, 심장 부정맥, 응고 등과 같은 기준을 포함할 수 있다. 시험할 수 있는 실험실 파라미터는, 예를 들어 혈액학, 임상 화학, 응고 프로파일 및 소변 분석, 그리고 혈청, 혈장, 램프구 또는 척수액, 리큐어 등과 같은 기타 체액의 검사를 포함한다. 따라서 안전성은, 예를 들어 신체 검사, 영상화 기법(즉, 초음파, x-선, CT 스캔, 자기 공명 영상화(MRI), 기술적 기구에 의한 기타 측정(즉, 심전도), 활력 징후에 의해, 실험실 파라미터를 측정하고 유해 사건을 기록함으로써 평가될 수 있다. 예를 들어, 본 발명에 따른 용도 및 방법에서 비침팬지 영장류에서의 유해 사건은 조직병리학적 및/또는 조직화학적 방법에 의해 검사할 수 있다.

- [0405] 위의 용어는 또한, 예를 들어, 생명공학-유래 약제 S6의 전임상 안전성 평가; ICH 조화 3국 지침; 1997년 7월 16일자 ICH 운영 위원회 회의(Preclinical safety evaluation of biotechnology-derived pharmaceuticals S6; ICH Harmonised Tripartite Guideline; ICH Steering Committee meeting on July 16, 1997)에 언급된다.
- [0406] 최종적으로, 본 발명은 본 발명의 항체 구축물 또는 본 발명의 방법에 따라 생산된 항체 구축물, 본 발명의 약제학적 조성물, 본 발명의 폴리뉴클레오티드, 본 발명의 백터 및/또는 본 발명의 숙주 세포를 포함하는 키트를 제공한다.
- [0407] 본 발명의 맥락에서, 용어 "키트"는 용기, 수용기 또는 기타에 함께 포장된 2종 이상의 성분 - 이 중 하나는 본 발명의 항체 구축물, 약제학적 조성물, 백터 또는 숙주 세포에 해당함 - 을 의미한다. 따라서 키트는 단일 단위로서 시판될 수 있는, 특정 목표를 달성하기에 충분한 제품 및/또는 기구의 세트로서 기술될 수 있다.
- [0408] 키트는 투여를 위한 적절한 투여량으로(위 참조) 본 발명의 항체 구축물 또는 약제학적 조성물을 함유하는 임의의 적절한 형상, 크기 및 재료(바람직하게는 방수, 예를 들어, 플라스틱 또는 유리)의 하나 이상의 수용기(예를 들어, 바이알, 앰플, 용기, 시린지, 병, 백(bag))를 포함할 수 있다. 키트는 추가적으로 사용을 위한 지침(예를 들어, 전단 또는 설명서 매뉴얼의 형태로), 본 발명의 항체 구축물을 투여하기 위한 수단, 예를 들어, 시린지, 펌프, 주입기 등, 본 발명의 항체 구축물을 재구성하기 위한 수단 및/또는 본 발명의 항체 구축물을 희석하기 위한 수단을 포함할 수 있다.
- [0409] 본 발명은 또한 단일-용량 투여 단위를 위한 키트를 제공한다. 본 발명의 키트는 또한 건조/동결건조된 항체 구축물을 포함하는 제1 수용기 및 수성 제형을 포함하는 제2 수용기를 포함할 수 있다. 본 발명의 특정 구현예에서, 단일-챔버 및 다중-챔버의 사전 충전된 시린지(예를 들어, 액체 시린지 및 라이오시린지)를 포함하는 키트가 제공된다.
- [0410] 본 발명의 약제학적 조성물은 인산칼륨, 아세트산/아세트산나트륨, 시트르산/시트르산나트륨, 숙신산/숙신산나트륨, 타르타르산/타르타르산나트륨, 히스티딘/히스티딘 HC1, 글리신, 트리스(Tris), 글루타메이트, 아세테이트 및 이의 혼합물로 구성되는 군으로부터, 그리고 특히 인산칼륨, 시트르산/시트르산나트륨, 숙신산, 히스티딘, 글루타메이트, 아세테이트 및 이의 조합으로부터 선택될 수 있는 완충제를 추가로 포함한다.
- [0411] 적합한 완충제 농도는 약 200 mM 이하, 예를 들어 약 190, 180, 170, 160, 150, 140, 130, 120, 110, 100, 80, 70, 60, 50, 40, 30, 20, 10 또는 5 mM의 농도를 포함한다. 당업자는 본 명세서에 기술되는 바와 같은 약제학적 조성물의 안정성을 제공하기 위해 완충제 농도를 용이하게 조정할 수 있을 것이다. 본 발명의 약제학적 조성물에서 고려되는 완충제 농도는 구체적으로 약 5 내지 약 200 mM, 바람직하게는 약 5 내지 약 100 mM, 그리고 더욱 바람직하게는 약 10 내지 약 50 mM 범위이다.
- [0412] 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 용어 "약제학적 조성물"은 이를 필요로 하는 대상체에 대한 투여에 적합한 조성물에 관한 것이다. 용어 "대상체" 또는 "개인" 또는 "동물" 또는 "환자"는 본 발명의 약제학적 조성물의 투여가 요망되는 임의의 대상체, 특히 포유류 대상체를 지칭하기 위해 본 명세서에서 상호 교환 가능하게 사용된다. 포유류 대상체는 인간, 비인간 영장류, 개, 고양이, 기니피그, 토끼, 래트, 마우스, 말, 소, 젖소 등을 포함하고, 인간이 바람직하다. 본 발명의 약제학적 조성물은 안정적이고, 약제학적으로 허용 가능한, 즉 약제학적 조성물이 투여되는 대상체에서 임의의 바람직하지 않은 국소 또는 전신 효과를 야기하지 않으면서 요망되는 치료 효과를 이끌어낼 수 있다. 본 발명의 약제학적으로 허용 가능한 조성물은 특히 멸균될 수 있고/있거나 약제학적으로 불활성일 수 있다. 구체적으로, 용어 "약제학적으로 허용 가능한"은 동물에서, 그리고 보다 특별하게는 인간에서 사용하기 위해 규제 기관 또는 다른 일반적으로 인식되는 약전에 의해서 승인된 것을 의미할 수 있다.
- [0413] 본 발명의 약제학적 조성물은, 바람직하게는 치료적 유효량의 하나 또는 복수의 본 명세서에 기술되는 이중특이적 단일 쇄 항체 구축물(들), β-사이클로덱스트린 및 완충제를 포함한다. "치료적 유효량"은 요망되는 치료 효

과를 이끌어내는 상기 구축물의 양을 의미한다. 치료 효능 및 독성, 예를 들어 ED50(집단의 50%에서 치료적으로 유효한 용량) 및 LD50(집단의 50%에서 치명적인 용량)은 세포 배양물 또는 실험 동물에서 표준 약제학적 절차에 의해 결정될 수 있다. 치료 효과와 독성 효과 사이의 용량비는 치료 지수이고, 이는 ED50/LD50 비로서 표현될 수 있다. 큰 치료 지수를 나타내는 약제학적 조성물이 일반적으로 바람직하다.

[0414] 조성물은 앞서 기술한 완충제 및  $\beta$ -사이클로덱스트린을 포함할 수 있다. 약제학적 조성물은 본 명세서에서 기술된 이의 유리한 특성, 그리고 특히 이의 안정성을 감소시키거나 없애지 않는 한 하나 이상의 추가의 부형제를 선택적으로 포함할 수 있다.

[0415] 부형제는 본 발명에서 매우 다양한 목적, 예를 들어 제형의 물리적, 화학적 또는 생물학적 특성의 조정, 예를 들어 점도의 조정, 그리고 또는 유효성을 더 개선하고 또는, 예를 들어 제조, 운송, 저장, 사용 전 제조, 투여 중에 그리고 그 이후에 일어나는 스트레스에 기인하는 분해 및 손상에 대하여 이러한 제형 및 공정을 더 안정화 시키도록 본 발명의 공정을 위해 사용될 수 있다. 용어 "부형제"는 일반적으로 충전제, 결합제, 봉해제, 코팅제, 흡수제, 접착방지제, 활택제, 보존제, 항산화제, 향료, 착색제, 감미제, 용매, 공용매, 완충제, 퀼레이트제, 점도 부여제, 표면 활성제, 희석제, 보습제, 담체, 희석제, 보존제, 유화제, 안정화제 및 긴장성 개질제를 포함한다.

[0416] 약제학적 조성물의 상이한 부형제(예를 들어, 위에 열거한 것들)는 상이한 효과를 가질 수 있고, 예를 들어, 아미노산은 완충제, 안정화제 및/또는 항산화제로서 작용할 수 있으며; 만니톨은 증량제 및/또는 긴장성 향상제로서 작용할 수 있고; 염화나트륨은 전달 비히를 및/또는 긴장성 향상제로서 작용할 수 있는 것 등은 당업자에게 명백하다.

[0417] 폴리올은 물리적 및 화학적 분해 과정으로부터 단백질을 보호하기 위해 액체 제형 및 동결건조 제형 둘 다에서 유용한 안정화제이고, 또한 제형의 긴장성을 조정하기에 유용하다. 폴리올은 당, 예를 들어, 만니톨, 수크로스, 및 소르비톨 및, 예를 들어 글리세롤 및 프로필렌 글리콜과 같은 다가 알코올, 그리고 본 명세서에서 논의의 목적을 위해, 폴리에틸렌 글리콜(PEG) 및 관련된 물질을 포함한다. 동결건조 제형에서 케이크의 구조적 안정성을 보장하기 위해 만니톨이 통상적으로 사용된다. 이는 케이크에 대한 구조적 안정성을 보장한다. 이는 일반적으로 동결건조보호제, 예를 들어, 수크로스와 함께 사용된다. 소르비톨 및 수크로스는 긴장을 조절하기 위해, 그리고 제조 공정 동안 벌크의 제조 또는 운송 동안 냉동-해동 스트레스에 대해 보호하기 위한 안정화제로서 일반적으로 사용되는 작용제이다. PEG는 단백질을 안정화하는 데, 그리고 동결보호제로서 유용하다.

[0418] 계면활성제는 통상적으로 표면 흡착을 방지하거나, 최소화하거나, 감소시키기 위해 사용된다. 단백질 분자는 표면에서의 흡착 및 변성이 용이할 수 있고, 그 결과 공기-액체, 고체-액체, 및 액체-액체 계면에서의 응집이 용이할 수 있다. 이들 영향은 일반적으로 단백질 농도와 역으로 증감된다. 이들 유해 상호작용은 일반적으로 단백질 농도와 역으로 증감되고, 전형적으로 제품의 운송 및 처리 동안 생성되는 것과 같은 물리적 교반에 의해 악화된다. 통상적으로 사용되는 계면활성제는 폴리소르베이트 20, 폴리소르베이트 80, 소르비탄 폴리에톡실레이트의 다른 지방산 에스테르, 및 폴록사머(poloxyamer) 188을 포함한다. 계면활성제는 또한 단백질 입체형태 안정성을 제어하기 위해 통상적으로 사용된다. 이와 관련하여 계면활성제의 사용은 단백질-특이적인데, 임의의 주어진 계면활성제는 전형적으로 일부 단백질을 안정화하고, 다른 것을 탈안정화할 것이기 때문이다.

[0419] 폴리소르베이트는 산화적 분해가 용이하고 종종, 공급되는 바와 같이, 단백질 잔기 측쇄, 특히 메티오닌의 산화를 야기하기에 충분한 양의 과산화물을 함유한다. 결과적으로, 폴리소르베이트는 주의하여 사용되어야 하며, 사용시에는 이들의 최저 유효 농도로 이용되어야 한다.

[0420] 항산화제는 적절한 수준의 주위 산소 및 온도를 유지함으로써, 그리고 광에 대한 노출을 회피함으로써 약제학적 제형에서 단백질의 유해 산화를 -어느 정도까지- 방지할 수 있다. 항산화제 부형제는 단백질의 산화적 분해를 방지하기 위해서도 사용될 수 있다. 이와 관련하여 유용한 항산화제 중에 환원제, 산소/유리-라디칼 스캐빈저, 및 퀼레이트제가 있다. 치료 단백질 제형에서 사용하기 위한 항산화제는 바람직하게는 수용성이이며, 제품의 저장 수명 내내 그들의 활성을 유지한다. EDTA가 유용한 예이다.

[0421] 금속 이온은 단백질 공동인자로서 작용할 수 있고, 단백질 배위 치물의 형성을 가능하게 한다. 금속 이온은 또한 단백질을 분해하는 일부 과정을 억제할 수 있다. 그러나, 금속 이온은 또한 단백질을 분해하는 물리적 및 화학적 과정에 촉매 작용을 한다. 마그네슘 이온(10 내지 120 mM)은 아스파르트산의 이소아스파르트산으로의 이성질체화를 억제하기 위해 사용될 수 있다.  $Ca^{+2}$  이온(100 mM까지)은 인간 데옥시리보뉴클레아제의 안정성을 증가시킬 수 있다. 그러나,  $Mg^{+2}$ ,  $Mn^{+2}$  및  $Zn^{+2}$ 는 rhDNase를 탈안정화시킬 수 있다. 유사하게,  $Ca^{+2}$  및  $Sr^{+2}$ 는 인

자 VIII을 안정화시킬 수 있고, 이는 Mg<sup>+2</sup>, Mn<sup>+2</sup> 및 Zn<sup>+2</sup>, Cu<sup>+2</sup> 및 Fe<sup>+2</sup>에 의해 탈안정화될 수 있으며, 그의 응집은 Al<sup>+3</sup> 이온에 의해 증가될 수 있다.

[0422] 예를 들어, 약제학적 제형의 이온 강도 및/또는 등장성을 조정하기 위해, 그리고/또는 항체 구축물 또는 다른 성분의 용해성 및/또는 물리적 안정성을 추가로 개선하기 위해 본 발명에 따라 염이 사용될 수 있다. 잘 알려진 바와 같이, 이온은 단백질의 표면에서 하전된 잔기에 결합함으로써, 그리고 단백질에서 하전 및 극성 기를 차폐하고 이들의 정전기적 상호작용, 끌어당기고 반발하는 상호작용을 감소시킴으로써 단백질의 천연 상태를 안정화시킬 수 있다. 이온은 또한 특히 단백질의 변성 펩티드 연결(--CONH)에 대한 결합에 의해 단백질의 변성 상태를 안정화시킬 수 있다. 더 나아가, 단백질에서 하전 및 극성 기와의 이온성 상호작용은 또한 분자간 정전기적 상호작용을 감소시킬 수 있고, 이에 의해 단백질 응집 및 불용성을 방지하거나 감소시킬 수 있다. 이온 종은 단백질에 대한 이들의 영향이 상당히 다르다. 본 발명에 따른 약제학적 조성물을 제형화하는 데 사용될 수 있는 이온 및 이들의 단백질에 대한 영향의 다수의 카테고리 순위가 개발되었다. 일 예는 호프마이스터(Hofmeister) 시리즈로, 이는 용액에서 단백질의 입체형태 안정성에 대한 영향에 의해 이온성 및 극성 비이온성 용질의 순위를 매긴다. 안정화 용질은 "코스모트로픽(kosmotropic)"으로 지칭된다. 탈안정화 용질은 "카오트로픽(chaotropic)"으로 지칭된다. 코스모트로프는 통상적으로 용액으로부터 단백질을 침전시키기 위해("염석") 고농도(예를 들어, >1 몰 암모늄 설페이트)로 사용된다. 카오트로프는 통상적으로 단백질을 변성 및/또는 가용화("염용")하기 위해 사용된다. "염용" 및 "염석"에 대한 이온의 상대적 유효성은 호프마이스터 시리즈에서 그들의 위치를 정의한다.

[0423] 유리 아미노산은 약제학적 조성물에서 중량제, 안정화제, 및 항산화제뿐만 아니라 다른 표준 용도로서 사용될 수 있다. 리신, 프롤린, 세린, 및 알라닌은 제형에서 단백질을 안정화시키기 위해 사용될 수 있다. 글리신은 정확한 케이크 구조 및 특성을 보장하기 위한 동결건조에서 유용하다. 아르기닌은 액체 및 동결건조 제형 둘 다에서 단백질 응집을 억제하는 데 유용할 수 있다. 메티오닌은 항산화제로서 유용하다.

[0424] 약제학적 조성물을 제형화하는 데 특히 유용한 부형제는 수크로스, 트레할로스, 만니톨, 소르비톨, 아르기닌, 리신, 폴리소르베이트 20, 폴리소르베이트 80, 폴록사머 188, 플루로닉 및 이의 조합을 포함한다. 상기 부형제는, 조성물이 본 명세서에 예시되는 바와 같은 바람직한 특성을 나타내고, 특히 함유된 이중특이적 단일 쇄 항체 구축물의 안정화를 촉진하는 한, 약제학적 조성물에서 상이한 농도로 존재할 수 있다. 예를 들어, 수크로스는 약제학적 조성물에서 2%(w/v) 내지 12%(w/v)의 농도로, 즉 12%(w/v), 11%(w/v), 10%(w/v), 9%(w/v), 8%(w/v), 7%(w/v), 6%(w/v), 5%(w/v), 4%(w/v), 3%(w/v) 또는 2%(w/v)의 농도로 존재할 수 있다. 바람직한 수크로스 농도는 4%(w/v) 내지 10%(w/v), 그리고 더욱 바람직하게는 6%(w/v) 내지 10%(w/v) 범위이다. 폴리소르베이트 80은 약제학적 조성물에서 0.001%(w/v) 내지 0.5%(w/v)의 농도로, 즉 0.5%(w/v), 0.2%(w/v), 0.1%(w/v), 0.08%(w/v), 0.05%(w/v), 0.02%(w/v), 0.01%(w/v), 0.008%(w/v), 0.005%(w/v), 0.002%(w/v) 또는 0.001%(w/v)의 농도로 존재할 수 있다. 바람직한 폴리소르베이트 80 농도는 0.002%(w/v) 내지 0.5%(w/v), 그리고 바람직하게는 0.005%(w/v) 내지 0.02%(w/v) 범위이다.

[0425] 그러나 약제학적 조성물이 임의의 보존제를 포함하지 않는 것도 예상 가능하다. 특히, 본 발명은 그 중에서도 1종 이상의 보존제를 포함하며, 약 6.0의 pH에서 약 0.5 mg/ml 내지 50 mg/ml 농도의, 바람직하게는 단일 쇄인, 이중특이적 항체 구축물, 및 완충제(이때, 항체 구축물은 안정적임), 약 10 mM 농도의 인산칼륨, 그리고 추가로 약 8%(w/v) 농도의 수크로스 및 약 0.01%(w/v) 농도의 폴리소르베이트 80을 포함하는 약제학적 조성물을 제공한다.

[0426] 본 발명의 약제학적 조성물은 다양한 형태, 예를 들어, 고체, 액체, 동결물, 기체 또는 동결건조된 형태로 제형화될 수 있고, 그 중에서도 연고, 크림, 경피 패치, 젤, 분말, 정제, 용액, 에어로졸, 과립, 환제, 혼탁액, 에멀션, 캡슐, 시럽, 액체, 엘릭서, 추출물, 텅크제(tincture) 또는 유체 추출물의 형태일 수 있다.

[0427] 일반적으로, 그 중에서도 의도된 투여 경로, 전달 형식 및 요망되는 투여량에 따라, 다양한 저장 및/또는 투여 형태가 본 발명의 약제학적 조성물에 대해서 예상될 수 있다(예를 들어, Remington's Pharmaceutical Sciences, 22nd edition, Oslo, A., Ed., (2012) 참고). 당업자는 이러한 특정 투여 형태의 선택이, 예를 들어 본 발명의 항체 구축물의 물리적 상태, 안정성, 생체 내 방출 속도 및 생체 내 제거 속도에 영향을 줄 수 있다는 것을 인지할 것이다.

[0428] 예를 들어, 약제학적 조성물에서 1차 비히를 또는 담체는 성질이 수성 또는 비수성일 수 있다. 적합한 비히를 또는 담체는 가능하게는 비경구 투여용 조성물에서 통상적인 다른 물질로 보충된 주사용수, 생리 식염수 용액 또는 인공 뇌척수액일 수 있다. 중성 완충 식염수 또는 혈청 알부민과 혼합된 식염수는 추가의 예시적인 비히를

이다.

[0429] 비경구 투여가 고려될 때, 본 발명의 치료 조성물은 약제학적으로 허용 가능한 비히를 종에 요망되는 항체 구축물을 포함하는 무 발열원, 비경구로 허용 가능한 수용액의 형태로 제공될 수 있다. 비경구 주사에 특히 적합한 비히를은 멸균 증류수로, 항체 구축물이 적절하게 보존된 멸균, 등장 용액으로서 제형화된다. 제제는 데포 주사를 통해 전달될 수 있는 산물의 제어 또는 지속 방출을 제공할 수 있는 작용제, 예를 들어 주사 가능한 마이크로스피어, 생분해성 입자, 중합체 화합물(예를 들어, 폴리락트산 또는 폴리글리콜산), 비드 또는 리포솜과 요망되는 분자의 제형화를 수반할 수 있다. 순환에서 지속 기간을 촉진하는 효과를 갖는 히알루론산이 또한 사용될 수 있다. 이식 가능한 약물 전달 기구가 요망되는 항체 구축물을 도입하기 위해 사용될 수 있다.

[0430] 지속 또는 제어 전달/방출 제형이 또한 본 명세서에서 고려된다. 다양한 다른 지속 또는 제어 전달 수단, 예를 들어 리포솜 담체, 생분해성 마이크로입자 또는 다공성 비드 및 데포 주사를 제형화하기 위한 기법이 또한 당업자에게 공지되어 있다. 예를 들어, 약제학적 조성물의 전달을 위한 다공성 중합체 마이크로입자의 제어 방출을 기술하는 국제 특허 출원 번호 PCT/US93/00829 참조. 지속 방출 제제는 성형된 물품의 형태, 예를 들어 필름 또는 마이크로캡슐로 반투과성 중합체 기질을 포함할 수 있다. 지속 방출 기질은 폴리에스테르, 하이드로겔, 폴리락티드(미국 특허 번호 3,773,919 및 유럽 특허 출원 공개 번호 EP 058481에 개시됨), L-글루탐산 및 감마 에틸-L-글루타메이트의 공중합체(Sidman et al., 1983, *Biopolymers* 2:547-556), 폴리(2-하이드록시에틸-메타크릴레이트)(Langer et al., 1981, *J. Biomed. Mater. Res.* 15:167-277 및 Langer, 1982, *Chem. Tech.* 12:98-105), 에틸렌 비닐 아세테이트((Langer et al., 1981, 위의 문헌) 또는 폴리-D(-)-3-하이드록시부티르산(유럽 특허 출원 공개 번호 EP 133,988)을 포함할 수 있다. 지속 방출 조성물은 또한 당해 분야에 공지된 임의의 몇 가지 방법에 의해 제조될 수 있는 리포솜을 포함할 수 있다. 예를 들어, Eppstein et al., 1985, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 82:3688-3692; 유럽 특허 출원 공개 번호 EP 036,676; EP 088,046 및 EP 143,949 참조. 항체 구축물은 또한, 예를 들어 코아세르베이션 기법에 의하거나 계면 중합에 의해 제조된 마이크로캡슐(예를 들어, 각각 하이드록시메틸셀룰로오스 또는 젤라틴-마이크로캡슐 및 폴리(메틸메타크릴레이트) 마이크로캡슐)에, 콜로이드 약물 전달 시스템(예를 들어, 리포솜, 알부민 마이크로스피어, 마이크로에멀션, 나노입자 및 나노캡슐)에, 또는 마크로에멀션에 포집될 수 있다. 이러한 기법은 Remington's Pharmaceutical Sciences, 22nd edition, Oslo, A., Ed., (2012)에 개시되어 있다.

[0431] 생체 내 투여를 위해 사용되는 약제학적 조성물은 전형적으로 멸균 제제로서 제공된다. 멸균은 멸균 여과막을 통한 여과에 의해 달성될 수 있다. 조성물이 동결건조될 때, 이 방법을 사용하는 멸균은 동결건조 및 재구성 전 또는 후에 수행될 수 있다. 비경구 투여를 위한 조성물은 동결건조 형태로 또는 용액으로 저장될 수 있다. 비경구 조성물은 일반적으로 멸균 접근 포트를 갖는 용기, 예를 들어 정맥 내 용액 백(bag) 또는 피하 주사 바늘에 의해 천공될 수 있는 마개가 있는 바이알에 넣는다.

[0432] 본 명세서에 개시된 항체 구축물은 또한 면역-리포솜으로서 제형화될 수 있다. "리포솜"은 포유류에 대한 약물의 전달에 유용한 다양한 유형의 지질, 인지질 및/또는 계면활성제로 구성된 작은 소포이다. 리포솜의 구성성분은 생물학적 막의 지질 배열과 유사한 이중층 형성으로 통상 배열된다. 항체 구축물을 함유하는 리포솜은 Epstein et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 82: 3688 (1985); Hwang et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 77: 4030 (1980); 미국 특허 번호 4,485,045 및 4,544,545; 및 WO 97/38731과 같이, 당해 분야에 공지된 방법에 의해 제조된다. 향상된 순환 시간을 갖는 리포솜은 미국 특허 번호 5,013,556에 개시되어 있다. 특히 유용한 리포솜은 포스파티딜콜린, 콜레스테롤 및 PEG-유도체화된 포스파티딜에탄올아민(PEG-PE)을 포함하는 지질 조성물을 사용하는 역상 증발 방법에 의해 생성될 수 있다. 리포솜을 정의된 기공 크기의 필터를 통해 압출하여 요망되는 직경을 갖는 리포솜을 수득한다. 본 발명의 항체 구축물의 Fab' 단편은 Martin et al. *J. Biol. Chem.* 257: 286-288 (1982)에 기술된 바와 같이 이황화물 교환 반응을 통해 리포솜에 접합될 수 있다. 화학요법제는 선택적으로 리포솜 내에 함유된다. Gabizon et al. *J. National Cancer Inst.* 81 (19) 1484 (1989) 참조.

[0433] 본 발명의 조성물은, 본 명세서에서 정의되는 이중특이적 단일 쇄 항체 구축물에 더하여, 조성물의 의도된 용도에 따라 추가적인 생물학적으로 활성인 작용제를 포함할 수 있을 것으로 고려된다. 이러한 작용제는 특히 종양 및/또는 악성 세포에 작용하는 약물일 수 있지만, 약제학적 조성물의 의도된 용도에 따라 위장관계에 작용하는 약물, 면역반응을 억제하는 약물(예를 들어, 코르티코스테로이드), 염증 반응을 조절하는 약물, 순환계에 작용하는 약물 및/또는 당해 분야에 공지된 사이토카인과 같은 작용제를 포함하는 다른 작용제가 또한 예상될 수 있다. 또한, 본 발명의 약제학적 조성물은 공동 요법으로, 즉, 다른 항암 약제와 조합으로 적용되는 것이 고려된다.

- [0434] 일단 약제학적 조성물이 제형화되면, 이는 용액, 혼탁액, 젤, 에멀션, 고체, 결정으로서, 또는 탈수되거나 동결건조된 분말로서 멸균 바이알에 저장될 수 있다. 이러한 제형은 바로 사용 가능한 형태 또는 투여 전에 재구성되는 (예를 들어, 동결건조된) 형태로 저장될 수 있다. 예를 들어, 동결건조된 조성물은, 예를 들어 주사용 정균수(BWFI), 생리 식염수, 인산염 완충 식염수(PBS), 또는 동결건조 전에 단백질이 있었던 동일한 제형에서 재구성될 수 있다.
- [0435] 본 발명의 약제학적 조성물은 일반적으로 임의의 적합한 투여 경로에 의한 전달을 위해 제형화될 수 있다. 본 발명의 맥락에서, 투여 경로는 국소 경로(예를 들어, 표피, 흡입, 비강, 안과, 청각/귀, 질, 점막); 장 경로(예를 들어, 경구, 위장관, 설하, 구순하, 협측, 직장); 및 비경구 경로(예를 들어, 정맥 내, 동맥 내, 골 내, 근육 내, 뇌 내, 뇌실 내, 경막 외, 척추강 내, 피하, 복막 내, 양막 외, 관절 내, 심장 내, 피내, 병소 내, 자궁 내, 방광 내, 유리체 내, 경피, 비강 내, 경점막, 활막 내, 관 내)를 포함하지만, 이로 한정되지 않는다.
- [0436] 본 명세서에서 기술되는 약제학적 조성물은, 예를 들어 일회분 주사와 같은 주사에 의하거나, 연속적 주입과 같은 주입에 의한 비경구 투여, 예를 들어, 피하 또는 정맥 내 전달에 특히 유용하다. 약제학적 조성물은 의료 기구를 사용하여 투여될 수 있다. 약제학적 조성물을 투여하기 위한 의학적 장치의 예는 미국 특허 번호 4,475,196; 4,439,196; 4,447,224; 4,447, 233; 4,486,194; 4,487,603; 4,596,556; 4,790,824; 4,941,880; 5,064,413; 5,312,335; 5,312,335; 5,383,851; 및 5,399,163에 기재되어 있다.
- [0437] 본 발명의 약제학적 조성물은 또한 중단되지 않고 투여될 수 있다. 비제한적 예로서, 중단되지 않는, 또는 실질적으로 중단되지 않는, 즉, 연속적 투여는 환자의 신체 내로 항체 구축물의 유입을 계량하기 위해 환자가 착용하는 소형 펌프 시스템에 의해 실현될 수 있다. 약제학적 조성물은 상기 펌프 시스템을 사용함으로써 투여될 수 있다. 이러한 펌프 시스템은 일반적으로 당해 분야에 공지되어 있으며, 주입되는 치료제를 함유하는 카트리지의 주기적 교환에 통상적으로 의존한다. 이러한 펌프 시스템에서 카트리지를 교환할 때, 다르게는 중단되지 않는 치료제의 환자 신체 내로의 흐름의 일시적 중단이 뒤따를 수 있다. 이러한 경우에, 카트리지 교체 전의 투여 단계 및 카트리지 교체 후의 투여 단계는 약제학적 수단의 의미 내에서 여전히 고려될 것이고 본 발명의 방법은 함께 이러한 치료제의 한 번의 "중단되지 않는 투여"를 구성한다.
- [0438] 본 발명의 약제학적 조성물의 연속적 또는 중단되지 않는 투여는, 저장소 밖으로 유체를 구동하기 위한 유체 구동 기전 및 구동 기전을 작동시키기 위한 작동 기전을 포함하는 유체 전달 기구 또는 소형 펌프 시스템에 의한 정맥 내 또는 피하일 수 있다. 피하 투여를 위한 펌프 시스템은 환자의 피부를 관통하고 환자의 신체로 적합한 조성물을 전달하기 위한 바늘 또는 삽입관을 포함할 수 있다. 상기 펌프 시스템은 정맥, 동맥 또는 혈관과 독립적으로 환자의 피부에 직접 고정되거나 부착될 수 있고, 이에 의해 펌프 시스템과 환자의 피부 사이에 직접적인 접촉을 허용한다. 펌프 시스템은 24시간 동안 며칠까지 환자의 피부에 부착될 수 있다. 펌프 시스템은 작은 용량을 위한 저장소를 갖는 소형 크기의 것일 수 있다. 비제한적 예로서, 투여되는 적합한 약제학적 조성물을 위한 저장소의 부피는 0.1 내지 50 mL일 수 있다.
- [0439] 당업자는 본 발명의 약제학적 조성물이 안정적이고 바람직하게는 첨부된 실시예에서 평가된  $\beta$ -사이클로덱스트린을 포함하는 약제학적 조성물과 동일한 유리한 특성을 나타내는 한, 일반적으로 전술한 부형제, 또는 추가적인 활성제 중 임의의 것을 포함할 수 있거나, 임의의 적합한 형태로 제공될 수 있다는 것을 용이하게 이해할 것이다. 당업자는 안정적인, 즉 바람직하게는 포함된 이중특이적 단일 쇄 항체 단편의 응집물 및/또는 이형태체가 실질적으로 존재하지 않는 약제학적 조성물을 제공하도록 다양한 구성성분을 용이하게 조정할 수 있을 것이다.
- [0440] \*\*\*\*\*
- [0441] 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 단수 형태("a", "an", 및 "the")는 문맥에서 명백히 달리 나타내지 않는 한 복수의 대상을 포함하는 것에 주목해야 한다. 따라서, 예를 들어, "시약"에 대한 언급은 하나 이상의 이러한 상이한 시약을 포함하고, "방법"에 대한 언급은 본 명세서에 기술된 방법에 대해 변형되거나 대체될 수 있는 당업자에게 공지된 동등한 단계 및 방법에 대한 언급을 포함한다.
- [0442] 달리 지시되지 않는 한, 일련의 요소 앞의 용어 "적어도"는 일련의 모든 요소를 지칭하는 것으로 이해될 것이다. 당업자는 본 명세서에 기술된 본 발명의 구체적 구현예에 대한 많은 균등물을 인식하거나, 통상적 실험만으로도 확인할 수 있을 것이다. 이러한 균등물은 본 발명에 포함시키고자 한다.
- [0443] 용어 "및/또는"은 본 명세서에서 어디에 사용되거나 "및", "또는" 및 "상기" 용어에 연결되는 요소의 모든 또는 임의의 다른 조합"의 의미를 포함한다.

- [0444] 본 명세서에서 사용되는 용어 "약" 또는 "대략"은 주어진 값 또는 범위의 20% 이내, 바람직하게는 10% 이내, 그리고 더욱 바람직하게는 5% 이내를 의미한다. 그러나, 이는 또한 명수(concrete number)를 포함하는데, 예를 들어, 약 20은 20을 포함한다.
- [0445] 용어 "보다 적은(less than)" 또는 "보다 큰(greater than)"은 명수를 포함한다. 예를 들어, 20보다 적은은 더 적거나 같은 것을 의미한다. 유사하게, 보다 많은(more than) 또는 보다 큰은 각각 많거나 같은 것, 또는 크거나 같은 것을 의미한다.
- [0446] 본 명세서 및 다음의 청구범위 전체에 걸쳐, 문맥에서 달리 요구되지 않는 한, 단어 "포함하다(comprise)", 그리고 "포함하다(comprises)" 및 "포함하는(comprising)"과 같은 변형은 언급된 정수 또는 단계 또는 정수나 단계의 군을 포함하는 것을 나타내는 것으로 이해될 것이지만, 임의의 다른 정수 또는 단계 또는 정수나 단계의 군을 제외하지는 않는다. 본 명세서에서 사용될 때 용어 "포함하는(comprising)"은 용어 "함유하는(containing)" 또는 "포함하는(including)" 또는 때때로 본 명세서에서 사용되는 용어 "갖는(having)"으로 대체될 수 있다.
- [0447] 본 명세서에서 사용될 때, "구성되는(consisting of)"은 청구범위 요소에 명시되지 않은 임의의 요소, 단계, 또는 성분을 배제한다. 본 명세서에서 사용될 때, "필수적으로 구성되는"은 청구범위의 기본적이고 신규한 특징에 실질적으로 영향을 주지 않는 재료 또는 단계를 배제하지 않는다.
- [0448] 본 명세서의 각 경우에, 임의의 용어 "포함하는", "필수적으로 구성되는" 및 "구성되는"은 다른 두 용어 중 어느 하나로 교체될 수 있다.
- [0449] 본 발명은 본 명세서에 기술되는 특정 방법론, 프로토콜, 재료, 시약 및 물질 등으로 한정되지 않고, 따라서 달라질 수 있는 것으로 이해되어야 한다. 본 명세서에서 사용되는 용어는 단지 특정 구현예를 기술하려는 목적을 위해서이고, 청구범위에 의해서만 정의되는 본 발명의 범주를 제한하지 않고자 한다.
- [0450] 이상이든 이하이든 간에, 본 명세서의 내용 전체에 걸쳐 인용되는 모든 간행물 및 특허(모든 특허, 특히 출원, 과학 간행물, 제조자의 설명서, 지침서 등을 포함함)는 그 전체가 본 명세서에 참고로 포함된다. 본 명세서에서의 어느 것도 본 발명이 선행 발명에 의한 이러한 개시보다 선행할 권리가 없다는 인정으로 해석되지 않을 것이다. 참고로 포함된 자료가 본 명세서와 모순되거나 일치하지 않을 경우, 본 명세서가 임의의 이러한 자료를 대체할 것이다.
- [0451] 본 발명 및 이의 이점의 더 양호한 이해는, 단지 예시적인 목적을 위해 제공되는 하기 실시예로부터 얻어질 것이다. 실시예는 어떤 방식으로도 본 발명의 범주를 제한하지 않고자 한다.

## 실시예

- [0453] 실시예 1: 본 발명에 따른 대표적인 이중특이적 항체 구축물과 공지된 보존제의 적합성을 조사하기 위하여, 표 4에 제시된 파라미터와 함께 각각의 공지된 보존제의 존재 하에 CD19xCD3 이중특이적 항체 구축물을 제형화하였다.

**표 4**

[0454] CD19xCD3 이중특이적 항체 구축물과의 보존제 적합성을 시험하기 위한 제형 파라미터.

제형 명칭	pH	단백질 (mg/mL)	완충제(mM)	수크로스 (%)	보존제(w/v)	폴리소르베이트 80(%)
G4SuT	4.0	0.8	10 mM 글루타메이트	9	NA	0.01
G4SuT_CH	4.0	0.8	10 mM 글루타메이트	9	0.3% 클로로부탄올	0.01
G4SuT_ME	4.0	0.8	10 mM 글루타메이트	9	0.2% 메틸파라벤	0.01
G4SuT_PH	4.0	0.8	10 mM 글루타메이트	9	0.5% 페놀	0.01
G4SuT_TH	4.0	0.8	10 mM 글루타메이트	9	0.01% 티메로살	0.01

- [0455] 사용된 제형 파라미터는 이중특이적 항체 구축물을 효과적으로 안정화시키는 것으로 이전에 밝혀졌다. 따라서, 보존제가 없는 음성 대조군(G4SuT)과 비교한 임의의 차이점은 훨씬 더 명백해져야 한다. 선택된 보존제 농도는

당해 분야에 사용된 표준 농도를 반영하였다. 각각의 제형을 14일 동안 25°C에서 저장하고, 크기 배제 크로마토그래피(SEC-HPLC)에 의해 제0일, 제1일, 제3일, 제7일 및 제14일에 조사하였다. 도 1에서 볼 수 있듯이, 0% 보존제를 함유한 대조군을 포함하여 시험한 일부 제형은 25°C에서 시간 경과에 따라 고분자량(HMW) 종 백분율의 감소를 보여주었다. 이는 클로로부탄올 및 메틸파라벤의 경우에 그러한데, 이는 이들 보존제가 단백질 약물을 불안정하게 만들지 않으며 응집을 유도하지 않고 심지어 응집을 감소시키지 않음을 나타낸다. 폐놀 침가 시, HMW 값은 전반적으로 일정하게 유지되며, 이는 또한 주어진 실험 조건 하에서 시험한 이중특이적 항체 구축물과 폐놀의 적합성을 암시한다. 티메로살은 관찰된 시간 경과에 따른 HMW의 약간의 증가로 인해 덜 적합한 것으로 나타났다. HMW에서 주요 피크까지의 재평형화는 부분적으로는 약물 제품 농도에서 IV 백 농도로의 회석으로 인한 것일 수 있다. 일반적으로 4.0과 같은 4.0 내지 6.5 범위의 낮은 pH에서 본 발명의 이중특이적 항체 구축물은 안정적으로 유지되거나 예를 들어, 클로로부탄올 또는 메틸파라벤과 같은 보존제에 의해, 또는 벤질 알코올에 의해서도 안정화된다고 결론지을 수 있다. 낮은 pH는 이중특이적 항체 구축물의 안정화를 보완화하는데, 이는 더 높은 농도, 예컨대, 적어도 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900 또는 1000 μg/ml을 포함하는 약제학적 조성물이 안정적인, 즉, 낮은 백분위수의 HMW 농도를 보여주는 이유이다.

[0456]

실시예 2: 추가의 공지된 보존제로서, 벤질 알코올을 대상으로 본 발명에 따른 대표적인 이중특이적 항체 구축물인 CD19xCD3 이중특이적 항체 구축물과의 적합성에 대해 시험하였다. 전형적으로 본 명세서에 기술된 바와 같은 이중특이적 항체 구축물은 pH 4 환경과 비교하여 pH 7 환경에서 응집으로부터 덜 보호되므로, 임상 적용 상황을 더 잘 모방하기 위하여, 생물학적 pH인 7을 도전 환경으로 선택하였다. 응집을 향한 전반적인 경향이 예상되어야 한다. 구체적으로, 전형적인 임상 적용 농도 및 이를 초과할 수 있는 농도를 반영하여, 4.5 내지 800 μg/ml의 CD19xCD3 항체 구축물의 회석 열을 제조하였다. 0.9%의 벤질 알코올 농도는 상업적이며 규제 승인된 (0.9% 벤질 알코올을 함유하는) 0.9% 염화나트륨, USP와 관련하여 선택하였다. 또한 임상 환경에서 만연한 주위 온도인 25°C에서 0일, 1일 및 2일 후 크기 배제 크로마토그래피(SEC-HPLC)에 의해 바람직하지 않은 HMW 종의 백분율을 결정함으로써 적합성을 조사하였다. 도 1에서 알 수 있는 바와 같이, 바람직하지 않은 HMW 종의 백분율로 표시된 응집 비율은 이중특이적 항체 구축물, 본 사례에서는 CD19xCD3 이중특이적 항체 구축물의 농도에 의존적이다. 50 μg/ml 미만의 농도는 놀랍게도 HMW 종의 증가를 보여주지 않는다. 4.5 μg/ml 농도에서의 HMW 백분율 값으로부터 알 수 있듯, HMW 종은 심지어 다시 단량체로의 가역성을 보여준다. 따라서, 약 50 μg/ml의 임계점 미만에서 대표적인 CD19xCD3 이중특이적 항체 구축물은 벤질 알코올과 같은 보존제와 접촉 시 HMW 종을 거의 나타내지 않으며, HMW 백분율이 2일의 저장 후에도 2% 미만으로 유지되는 것이 관찰되었다. 또한, 200 μg/ml 미만의 농도에서, 최소 HMW 농도는 매우 낮고(1% 미만), 2일의 저장 후에도 현저히 5% 미만으로 유지된다. 본 발명에 따른 CD19xCD3 이중특이적 항체 구축물은 안정성 측면에서 더욱 민감한 이중특이적 항체 구축물이므로, 다른 구축물은 각각의 이중특이적 항체 구축물 농도에서 훨씬 더 낮은 HMW 백분율을 보여주며, 임의의 추가적인 보완성 안정화제의 부존재 하에서도 대표적인 벤질 알코올의 존재 및 임상 적용과 관련 있는 생리학적 pH 7과 25°C의 온도에서 안정적이다.

[0457]

실시예 3: 대표적인 보존제 벤질 알코올의 존재 및 생리학적 pH 7 및 냉장 및 임상 환경에서의 투여를 아우르는 4 및 25°C의 온도에서 대표적인 CD19xCD3 이중특이적 항체 구축물에 대한 SEC-HPLC에 의해 14일의 기간에 걸쳐 HMW 종의 다시 단량체로의 가역성을 더 조사하였다. 상기 구축물의 농도는 각각 4 μg/ml이었다. 벤질 알코올 농도는 각각 0.25, 0.5 및 0.9%였다. 도 3a에서 볼 수 있듯이, 4°C에서 HMW 백분율은 제0일부터 제7일까지는 감소하지만, 제7일부터 제14일까지는 크게 변하지 않는다. 벤질 알코올을 포함하는 제형에 대한 HMW 값은 안정화 효과를 나타내지 않는 것들보다는 약간 더 낮다. 이 효과는 25°C에서 훨씬 더 두드러진다(도 3b 참조). 벤질 알코올 농도가 높을수록, 관찰 기간이 길수록, HMW 백분율은 더 낮다. 이 결과는 HMW 종조차 대표적인 보존제인 벤질 알코올의 존재 하에, 바람직하게는 더 높지만 규제 허용 가능한 농도(0.9%)에서, 다시 단량체로의 가역성을 보여줌을 확인시켜 준다.

[0458]

동일한 실험 조건 내에서, 주입 백 물질의 잠재적인 영향도 마찬가지로 조사하였다. 미생물 성장 연구를 위하여 7일 IV 백에 대한 예상 투여 농도인 1900 ng/mL의 블린사이토를 함유하는 IV 백을 제조하였다. 안정성 연구를 위하여 제조된 IV 백은 투여 농도를 괄호 안에 넣었고, 4500 ng/mL 또는 1900 ng/mL의 블린사이토를 함유하였다. 안정성을 나타내는 분석법인 SE-HPLC 및 CE-HPLC의 경우, 더 높은 농도는 LOQ를 초과할 필요가 있었다.

[0459]

두 연구 모두 250 mL IV 백을 사용하였다. 미생물 성장 연구는 빈 EVA IV 백만을 이용하여 평가하였다. 이들 백을 멸균 환경에서 제조하였고, 실온에서 14일 인큐베이션하는 동안 미생물 접종 및 성장 시험을 위하여 제조하였다. 안정성 연구는 EVA 및 폴리올레핀 IV 백 둘 다를 평가하였다. 식염수 충전된 폴리올레핀 IV 백은 사

용 전에 비웠다. 블린사이토 함유 주입용액을 제조한 후, 두 IV 백 유형을 10일 동안 4°C에 위치시켜 임상에서의 최대 저장 기간을 시뮬레이션한 다음, 25°C 및 37°C에서 14일의 인큐베이션을 하였다. 따라서, 주입 백 물질 에틸 비닐 아세테이트(EVA) 및 폴리올레핀을 HMW 종의 백분위수 측면에서 BiTE® 안정성의 임의의 차이에 대해 비교하였다.

[0460] 그 안의 각각의 제형은 4 µg/mL의 CD19xCD3 이중특이적 항체 구축물 및 0%, 0.5%, 0.6% 또는 0.74%의 벤질 알코올 농도를 포함하였고, 25°C에서 0, 4, 7, 9, 11 또는 14일 동안 유지시켰으며, 한 샘플은 정적 대조군으로서 10일 동안 4°C에서 유지시켰다. 도 3c에서 볼 수 있듯이, 벤질 알코올을 포함하는 제형은 전반적으로 개선된 안정성을 보여주었으며, 다시 단량체로의 가역성을 나타내는, 특히 보존제 농도에 의존적인, 감소하는 HMW 값도 보여주었다. 이 경향은 폴리올레핀보다 EAV의 경우 약간 더 일관되게 관찰되었다. 따라서, 단량체에 대한 지표로서 주요 피크 백분위수, 즉, 비응집 및 활성 이중특이적 항체 구축물은 더 높은 농도의 보존제 및 조사 시간 경과에 따라 증가한다(도 3d 참조). 일반적으로, 벤질 알코올의 존재는 특히 25°C에서 인큐베이션 하는 동안 재평형화 속도를 증가시키는 것으로 나타났다. 전반적으로, 시험한 두 유형의 IV 백 물질 사이에는 의미있는 차이가 없었다.

[0461] 실시예 4: 벤질 알코올과 같은 보존제에 의해 부여된 본 발명의 대표적인 이중특이적 항체 구축물의 개선된 안정성을 검출 수단으로서 형광을 이용하는 변성 분석에 의해 더 조사하였다. 실험 조건은 변성제로서 염화구아니디듐을 포함하였고, 이 농도를 x축에 도표화하였다(도 4 참조). 배양 시간은 생리학적 pH에 가까운 7에서 25°C에서 2.5시간이었다. 형광 여기는 280 nm로 설정하였고, 방출 스캔은 300부터 400 nm까지 수행하였다. 변성된 분획의 백분위수를 당해 분야의 표준으로 형광 분석으로부터 계산하였다. 결과는 도 4에서 볼 수 있다. 회색 곡선은 벤질 알코올을 포함하는 제형을 나타내고, 검은색 곡선은 보존제가 없는 제형을 나타낸다. 회색 곡선은 곡선의 맨 아래 부분에서 오른쪽으로의 이동을 보여준다. 이는 이 영역, 즉, CD3 도메인을 풀리게 하려면 더 많은 변성제가 소요됨을 의미하는데, 이는 보존제에 의해 부여된, 개선된 안정성으로 해석된다.

[0462] 실시예 5: 이 실시예는 정맥 내(IV) 백을 통해 투여된 CD19xCD3 이중특이적 항체 구축물 약물 제품(DP)을 지지하는 미생물 부하 연구였다. 상이한 농도(0.5% 내지 0.74%)의 벤질 알코올(BeOH)이 최대 14일 동안 20 내지 25°C에서 유지시킨, 벤질 알코올, CD19xCD3 이중특이적 항체 구축물 DP, 및 정맥 내 용액 안정화제(IVSS)를 함유하는 블리나투모맙 주입용액을 보유하는 IV 백에서 미생물 성장을 감소시키거나 제거하는 능력을 평가하기 위하여 본 연구를 수행하였다.

[0463] 연구로부터 얻은 결과는, 평가된 농도에서 벤질 알코올이 여섯 종의 평가된 미생물의 성장을 억제할 수 있음을 증명하였다. 본 연구에서 평가된 그람 음성 박테리아(*E. coli*, *P. aeruginosa*, 및 *E. cloacae*)에 대한 항미생물 효능은 명백하다. 이들 미생물은 BeOH가 없는 블리나투모맙 주입용액에서 약 106 CFU/mL까지 성장할 수 있었으나, 성장은 모든 3종의 평가된 농도에 의해 완전히 억제되었다. 본 연구에서 평가된 그람 양성 박테리아 (*S. aureus* 및 *M. luteus*) 및 효모(*C. albicans*)에 미치는 영향은 그람 음성 박테리아에 대한 것만큼 명확하지 않은데, 이는 주로 그람 양성 박테리아 및 효모의 성장을 뒷받침하지 않는 블리나투모맙 주입용액 때문이다. 이들 미생물의 0.0% BeOH 양성 대조군에 대한 역가의 점진적인 감소가 관찰되었는데, 평가된 기간의 말기를 향해서는 회수 가능한 역가가 낮거나 없었다. 그럼에도 불구하고, 이들 미생물에 대한 벤질 알코올의 항미생물 효능은 BeOH 처리 샘플에서 부하된 접종원이 완전히 불활성화되거나 억제되도록 하는 데 필요한 지속기간의 차이에 의해 증명될 수 있다.

[0464] 벤질 알코올(최종 농도 0.0%, 0.5%, 0.6% 또는 0.74%의 BeOH), CD19xCD3 이중특이적 항체 구축물 DP, 및 IVSS 를 함유하는 CD19xCD3 이중특이적 항체 구축물 주입용액 109 mL로 충전된 IV 백에서 6종의 상이한 미생물의 성장을 평가하기 위하여 본 연구를 수행하였다. 제조된 IV 백은 최대 14일 동안 20 내지 25°C에서 유지되었다.

[0465] 연구를 위하여 선택된 박테리아 및 효모는 병원 내 감염으로부터 일반적으로 분리된 공지된 인간 병원체를 대표한다. 이러한 미생물은 칸디다 알비칸스(ATCC 10231), 엔테로박터 클로아세(ATCC 13047), 에스캐리치아 콜라이 (ATCC 8739), 마이크로코커스 루테우스(ATCC 4698), 슈도모나스 애루기노사(ATCC 9027), 및 스태필로코커스 아우레우스(ATCC 6538)를 포함한다.

[0466] 블리나투모맙 DP 제형은 pH 7.0에서 25 mM 시트르산 일수화물, 200 mM L-리신 염산염, 15%(w/v) 트레할로스 무수물, 0.1%(w/v) 폴리소르베이트 80 중 1.91 µg/mL 블리나투모맙을 함유한다. IVSS를 위한 제형은 pH 7.0에서 25 mM 시트르산 일수화물, 1.25 M L-리신 염산염, 0.1%(w/v) 폴리소르베이트 80이다.

- [0467] 시험 물질: 본 연구에서 평가된 시험 물질은 총 부피 109 mL/백의 1.91  $\mu\text{g}/\text{mL}$  농도의 블리나투모맙을 함유하는 IV 백에 충전된 블리나토무맙 주입용액이었다. 이 용액은 2.2 mL의 IVSS, 16.8 mL의 풀링된 재구성된 블리나토 무맙 DP(210  $\mu\text{g}$ ) 및 총 부피 90 mL의 식염수 용액 및 0.9% 벤질 알코올이 있는 식염수 용액(바살린, basalin e)의 조합물의 첨가에 의해 제조되었다. 본 연구에서 평가된 4가지 상이한 수준의 BeOH(0.0%, 0.5%, 0.6% 및 0.74%)는 상이한 양의 식염수와 바살린을 첨가하여 달성되었다. 예를 들어, 0.0% BeOH의 백(양성 대조군)은 90 mL의 식염수를 첨가하여 제조되었지만, 0.6% BeOH의 백은 18 mL의 식염수와 72 mL의 0.9% 바살린을, 2.2 mL의 IVSS 및 16.8 mL의 블리나토무맙 DP에 첨가하여 제조되었다. 더욱 상세한 내용은 부록 A를 참조한다. 이 보고서의 부록 A의 도 1(IV 백 제조의 개략도) 및 부록 D의 도 4의 동일한 설명에서 0.0% BeOH 양성 대조군에 대한 설명은 최종 BeOH 농도가 0.0% 대신 0.5%인 것으로 부주의하게 언급하였음을 주의한다. 이는 오타로서, 연구 결과에 어떠한 영향도 미치지 않는다.
- [0468] 전술된 6종의 상이한 미생물에 대한 4가지 수준의 벤질 알코올의 영향을 평가하기 위하여 총 24개의 CD19xCD3 이중특이적 항체 구축물 주입용액이 충전된 백을 평가하였다( $6 \times 4 = 24$ ). <1 x 104 CFU 미생물을 함유하는 대략 1 mL의 접종원을 주입 포트를 통해 각 백에 접종하여 약 1 x 102 CFU/mL의 초기 미생물 부하를 생성하였다. 접종 후, 백의 샘플링 포트를 멸균 IPA로 세척하고, 백을 간단히 혼합한 다음, 20 내지 25°C에서 인큐베이션 하였다.
- [0469] 음성 대조군: 부하된 미생물 없이 세 가지 수준의 BeOH(0.5%, 0.6% 및 0.74%)에서 블리나토무맙 주입용액을 함유하는 3개의 IV 백을 부하된 시험 물질과 함께 인큐베이션하여 음성 대조군으로 사용하였다. 0.1% 펩톤수 (PEPW) 및 인산염 완충 식염수(PHSS)를 포함하는 추가 분석 음성 대조군을 본 연구에서 평가하였다. 이들 음성 대조군은 항상 성장에 대해 음성이어야 한다. 더욱 상세한 내용은 부록 A를 참조한다.
- [0470] 샘플링 및 적정 절차: 0시간, 4일, 8일, 10일, 12일 및 14일의 각 시점에서, 3 mL의 분액을 각각의 평가된 백으로부터 수집하고 평가하였다.
- [0471] 각 시점의 샘플에 대해 1 mL의 분액의 2반복으로 막 여과에 의해 샘플 적정을 수행하였다. 계수 가능한 결과를 획득하기 위하여 추가 회석을 수행하였다(<300 CFU/플레이트).
- [0472] 부하된 미생물에 미치는 BeOH의 영향을 도 1 내지 도 6에 그래프로 표시하였다. 일반적으로, 연구에서 평가된 그램 음성(G-) 박테리아(E. 콜라이, P. 애루기노사, 및 E. 클로아세)은 그램 양성(G+) 박테리아(S. 아우레우스 및 M. 루테우스) 및 효모(C. 알비칸스)보다 (BeOH 없는) 블리나토무맙 주입용액에서 훨씬 더 잘 성장하고 생존력을 유지하였다. 모든 3종의 평가된 G- 박테리아의 0.0%의 BeOH 양성 대조군은 제8일에 약 106 CFU/mL까지 성장하였고, 연구 종료 시(14일)까지 내내 이 수준으로 유지되었다. 도 5a, 도 5b 및 도 5c. 이와 대조적으로, 접종된 G- 박테리아(약 100 CFU/mL)의 성장은 BeOH의 존재 하에서 억제(또는 불활성화)되었다. 모든 3가지 BeOH 농도에서 제4일 이후에는 회수 가능한 P. 애루기노사가 없었고(도 5b), 제10일 이후에는 회수 가능한 E. 콜라이 또는 E. 클로아세가 없었다(각각 도 5a 및 도 5c).
- [0473] G- 박테리아와는 달리, G+ 박테리아(S. 아우레우스 및 M. 루테우스) 또는 C. 알비칸스의 성장은 (BeOH가 있거나 없는) 블리나토무맙 주입용액에 의해 지지되지 않았다. 각각 도 5d, 도 5e 및 도 5f. 0.0%의 BeOH 양성 대조군 시간별 샘플에서 G+ 박테리아 및 C. 알비칸스의 점진적인 역가 감소가 관찰되었는데, 연구 말기를 향해서는 회수 가능한 역자가 낮거나 없었다. 마찬가지로, 이들 미생물에 미치는 BeOH의 항미생물 효능은, 여전히 눈에 띄긴 하지만, G- 박테리아에 대해 관찰된 것만큼 명확하지 않다. 0.0%의 BeOH 대조군보다 BeOH 처리된 샘플에서 부하된 미생물이 더 빨리 완전히 불활성화되거나 억제된다는 효과는 증명될 수 있다. S. 아우레우스의 경우, 양성 대조군의 경우 제10일과 비교하여, 부하된 접종원은 0.74%의 BeOH에서 제4일 이후에, 0.5% 또는 0.6%의 BeOH에서는 제8일에 회수할 수 없게 되었다(도 5d). 유사하게, 부하된 M. 루테우스는 0.74%의 BeOH에서 제8일에, 0.5% 또는 0.6%의 BeOH에서는 제14일에 회수할 수 없었고, 양성 대조군은 제14일에 여전히 낮은 회수 가능한 미생물이 있었고(도 5e); 부하된 C. 알비칸스는 모든 세 가지 수준의 BeOH에서 제8일에 회수할 수 없었으나, 양성 대조군은 제10일에 회수할 수 없었다(도 5f). 따라서, 시험한 제형에서 강력한 항미생물 활성이 증명될 수 있었다.
- [0474] 실시예 6: 본 발명의 이중특이적 항체 구축물 및 보존제를 포함하는 제형에 사용되는 완충제 및/또는 부형제에 의한 추가 안정화 효과를 증명하는 것이 이 실험의 목적이었다. 모델 항-FAPa 도메인, 단리된 항-CD3 도메인 (모든 실시예의 이중특이적 항체 구축물에 걸쳐 전형적으로 사용되는 바와 같은 I2C), CD33xCD3 이중특이적 항체 구축물 및 EGFRvIIIfCD3 이중특이적 항체 구축물을 조사하였다. FAPa, 항-CD3 도메인, 및 CD33xCD3 이중특이적 항체 구축물의 경우, 실험 절차는 동일하였다. 먼저, 단백질 샘플을 각각 트리스-인산염 완충제(35 mM 트리

스, 17.5 mM 인산염, pH 6.0) 및 (35 mM 트리스, 17.5 mM 인산염, 50 mM 시트르산염, pH 6.0)으로 투석시켰다. 투석 후 단백질 농도를 0.3 mg/mL로 조정하였다. 둘째, 단백질 샘플을 정확히 동일한 조성의 상응하는 D20 완충제로 1 내지 5 회석하여 수소-중수소 교환(HDX) 반응을 개시하였다. 셋째, 10초, 1분, 10분, 1시간, 4시간, 및 12시간 후 HDX 반응을 웜치시킨 다음, 웜치된 단백질 샘플을 질량 분광분석법으로 분석하였다. FAPa의 경우, HDX 반응은 4°C, 25°C, 및 37°C에서 수행되었다. CD33xCD3 이중특이적 항체 구축물 AMG330 및 항-CD3의 경우 HDX 반응은 37°C에서 수행되었다. 벤질 알코올의 존재 하에 항체 구축물을 안정화 평가를 위하여, 벤질 알코올을 단백질 샘플에 0.9%의 농도로 직접 첨가하였다. EGFRvIIICD3 이중특이적 항체 구축물의 경우, 단백질 샘플을 각각 (a) 10 mM KH2PO4, 2% 수크로스, 4% 만니톨 pH 6 및 (b) 10 mM KH2PO4, 2% 수크로스, 4% 만니톨, 50 mM 시트르산염 pH 6으로 투석시켰다. 투석 후 단백질 농도를 1 mg/mL로 조정하였다. 둘째, 단백질 샘플을 정확히 동일한 조성의 상응하는 D20 완충제로 1 내지 5 회석하여 HDX 반응을 개시하였다. 셋째, 10초, 10분, 2시간, 8시간, 16시간, 24시간 후 HDX 반응을 웜치시킨 다음, 웜치된 단백질 샘플을 질량 분광분석법으로 분석하였다. 실험은 25°C에서 수행되었다.

[0475] 도면은 FAPa(도 6a), 항-CD3 도메인(항-CD3 도메인의 웨티드 108~112(YISYW)는 FAPa의 웨티드 367~370에 해당한다)(도 6b), CD33xCD3 이중특이적 항체 구축물(CD33xCD3 이중특이적 항체 구축물의 웨티드 364~368(YISYW)은 FAPa의 웨티드 366~370에 해당한다)(도 6c), 및 EGFRvIIICD3 이중특이적 항체 구축물(EGFRvIIICD3 이중특이적 항체 구축물의 웨티드 365~369(YISYW)는 FAPa의 웨티드 366~370에 해당한다)(도 6d)에 대한 시트르산염의 안정화 효과 -벤질 알코올 존재 하에 적용 가능한 경우-를 보여준다. 따라서, 상이한 BiTE 분자에 대한 항-CD3 도메인의 CDR-H3 영역(YISYW)에 미치는 시트르산염 안정화 효과를 관찰할 수 있다. FAPa, 항-CD3, 및 CD33xCD3 이중특이적 항체 구축물의 경우, 실험 조건은 동일하고, 안정화 효과는 동등하다. EGFRvIIICD3 이중특이적 항체 구축물의 경우, 실험은 위에 제시된 바와 약간 상이한 조건에서 수행되었지만, 안정화 효과는 마찬가지로 제공된다. 따라서, 시트르산염은 필요한 경우 보존제의 존재 하에 이중특이적 항체 구축물을 안정화시킬 수 있는 것으로 나타난다.

[0476] 또한, FAPa, AMG 330, AMG 596, 및 단리된 CD3 결합제 그 자체에 대한 시트르산염과 벤질 알코올의 영향을 시험하였다. 각각의 조사한 구축물에 대한 결과는 비슷한 효과를 보여준다. 여기서, 시트르산염과 벤질 알코올은 잔기 366~370(YISYW)의 영역에 대하여 상쇄 효과를 가질 수 있는 것으로 나타난다. 도 6e와 도 6f는 시트르산염과 벤질 알코올의 개별 효과를 보여준다. 예를 들어, 트리스-인산염 제형(슬라이드 원형)에 대한 시트르산염의 첨가(슬라이드 사각형)는 이 영역의 입체형태 동역학을 감소시킨다. 이와 비교하여, 트리스-인산염 제형에 대한 벤질 알코올의 첨가(슬라이드 삼각형)는 이 영역의 입체형태 동역학을 증가시킨다. 도 6g와 도 6h는 시트르산염과 벤질 알코올의 상쇄 효과를 보여준다. 시트르산염 및 벤질 알코올의 첨가(빈 다이아몬드), 입체형태 동역학은 트리스-인산염 제형(채워진 원형)에서의 그것으로 다시 복원되어, 시트르산염과 벤질 알코올이 서로를 상쇄함을 나타내었다. 따라서, 시트르산염은 이중특이적 항체 구축물이 벤질 알코올과 같은 보존제의 안정화 효과(항-이랑체화 효과)가 균형을 유지할 수 있는 것보다 더 높은 경우에 보존제의 탈안정화 작용을 상쇄시키는 보완성 안정화제로서 작용할 수 있다.

[0477] 실시예 7: 이 실시예는 IV 주입 백으로부터 BiTE® 회수와 같은 저농도 이중특이적 항체 구축물의 개선을 대상으로 한다. 낮은 BiTE® 농도는 전형적으로 BiTE® 항체 구축물의 높은 효능의 결과로서 필수적이다. IV 백 적합성 연구를 하는 동안, EGFRvIIICD3 이중특이적 항체 구축물을 지속적인 정맥 내 주입을 통한 투여용 0.9%(v/v) 식염수 용액으로 매우 낮은 농도로 희석한다. FIH 임상 연구를 위한 최저 코호트 투약은 단백질 농도가 약 80 ng/mL일 것을 요구한다. 이렇게 극히 낮은 농도의 EGFRvIIICD3 이중특이적 항체 구축물 회수 분석은 단백질로부터의 신호를 최대화하기 위하여 약간의 독창성과 타당하게 표준적인 역상 크로마토그래피 방법의 조정을 요구하였다.

[0478] pH 7에서 25 mM 시트르산염, 1.25 M 리신 및 0.1% 폴리소르베이트를 포함하는 정맥 내 안정화 용액 IVSS를 첨가하고 첨가하지 않고, EGFRvIIICD3 이중특이적 항체 구축물의 회수를 조사하는 초기 연구는, 동일한 제조 프로토콜 하에서, IVSS의 존재 하에 식염수에 희석된 단백질로부터의 신호가 IVSS의 부존재 하에 식염수에 희석된 단백질로부터의 신호보다 실질적으로 더 크다는 관찰로 이어졌다. 4%(v/v)의 단일 IVSS 농도가 이 연구를 위하여 사용되었다.

[0479] 신호의 불일치를 시험하고 이해하기 위하여, 기록된 신호로서 215 nm 흡광도를 사용하여 C8 칼럼으로부터의 용출 시에 기록된 단백질 피크 면적을 비교하는 짧은 연구를 설계하였다. 다음의 프로토콜은 수행된 실험을 간략히 설명한다. 2 mg/mL 농도의 EGFRvIIICD3 이중특이적 항체 구축물의 모액을, 희석제로서 0%, 1%, 2%, 4%, 6%, 8%, 또는 10%(v/v) IVSS를 함유한 0.9% 식염수를 이용하여 에펜도르프 튜브에서 1 μg/mL까지 연속적으로

2000배 희석시켰다. 다음의 희석 계획을 이용하여 동일한 모액 EGFRvIIICD3 이중특이적 항체 구축물 분액에 대하여 희석을 수행하였다: 1:10->1:10->1:10->1:2. 1 μg/mL의 공정 농도의 각각의 EGFRvIIICD3 이중특이적 항체 구축물 샘플 50 μL를 C8칼럼에 로딩하고, 역상 크로마토그래피를 이용하여 용리시켰다. 크로마토그램을 215 nm 흡광도를 이용하여 기록하였다. 비교를 위하여 각 샘플에 대하여 피크 높이와 면적을 기록하였다. 생성된 미가공 데이터를 아래의 도 7a에 제시하였다. 각각의 EGFRvIIICD3 이중특이적 항체 구축물 샘플에 대한 피크 면적을 아래의 도 2에서 희석 용액에 포함된 %IVSS의 함수로서 도표화한다.

[0480] 도 7b로부터, 식염수 희석제에 대한 1%(v/v) IVSS의 첨가는 EGFRvIIICD3 이중특이적 항체 구축물의 회수에 상당한 영향을 미쳐, EGFRvIIICD3 이중특이적 항체 구축물 회수를 대략 250% 증가시킴이 명백하다. 식염수 희석제에 대한 4% 내지 10%(v/v) IVSS의 첨가로, 용출 피크 높이와 면적에 의해 평가한 바와 같이 EGFRvIIICD3 이중특이적 항체 구축물의 회수는 일정하여, 문자의 완전한 회수가 4%(v/v) IVSS에서 달성되었음을 나타낸다.

[0481] EGFRvIIICD3 이중특이적 항체 구축물의 샘플은 모두 동일한 조건 하에서 제조되고 분석되었으므로, 식염수 희석제 중 %IVSS가 샘플간 유일한 변수이므로, 칼럼에 로딩된 단백질의 양은 단백질 순설의 결과로서 0% IVSS, 1 내지 2% IVSS, 및 4 내지 10% IVSS 샘플 간에 다른 것이며; 처리하는 동안 아마도 표면에 대한 흡착을 통해 분자가 접촉하게 되었다고 결론을 짓는 것이 논리적이다. 역으로, IVSS 용액의 존재 하에 EGFRvIIICD3 이중특이적 항체 구축물의 증가된 회수는 아마 처리하는 동안 EGFRvIIICD3 이중특이적 항체 구축물 표면 흡착을 차단한 결과일 것이다. 이러한 이해는 활성 약물 제품의 정확한 전달을 보장하기 위한 다양한 약물 제품 투여 단계에 사용될 수 있다.

**표 5: 서열표**

1	CD19 VL CDR1	인공	aa	KASQSVVDGDSYLN
2	CD19 VL CDR2	인공	aa	DASNVLVS
3	CD19 VL CDR3	인공	aa	QQSTEDPWT
4	CD19 VH CDR1	인공	aa	SYWMN
5	CD19 VH CDR2	인공	aa	QIWPGDGDTNYNGKFKG
6	CD19 VH CDR3	인공	aa	RETTTVGRYYYAMDY
7	CD19 VL	인공	aa	DIQLTQSPASLAVSLGQRATISCKASQSVDYDGDSYLNWY QQIPGQPPKLLIYDASNLVSGIPPRFSGSGSTDFTLNIHP VEVKDAATYHCQQSTEDPWTFFGGTKLEIK
8	CD19 VH	인공	aa	QVQLQQSGAELVRPGSSVKISCKASGYAFSSYWMNWVK QRPGQGLEWIGQIWPGDGDTNYNGKFKGKATLTAESS STAYMQLSSLASEDSAVYFCARRETTTVGRYYYAMDYWG QGTTVTSS
9	CD3 VH CDR1	인공	aa	RYTMH
10	CD3 VH CDR2	인공	aa	YINPSRGYTNYNQKFKD
11	CD3 VH CDR3	인공	aa	YYDDHYCLDV
12	CD3 VL CDR1	인공	aa	RASSSVSYMN
13	CD3 VL CDR2	인공	aa	DTSKVAS
14	CD3 VL CDR3	인공	aa	QQWSSNPLT
15	CD3 VH	인공	aa	DIKLQQSGAELARPAGASVKMSCKTSGYTTRYTMHWVK QRPGQGLEWIGYINPSRGYTNYNQKFKDKAATLTDKSSST AYMQLSSLSEDSAVIDYCARYYDDHYCLDYWGQGTTLV SS

[0482]

16	CD3 VL	인공	aa	VDDIQLTQSPAIMSASPGEKVTMTCRASSSVSYMWNWYQ QKSGTSPKRWIYDTSKVASGVPRFSGSGSTSYSLTISSE EAEDAATYYCQQWSSNPLTFGAGTKLELK
17	CD19xCD3 scFv BLINCYTO(링 커 및 his 태그 포함)	인공	aa	DIQLTQSPASLAWSLGQRATISCKASQSVYDGDSYLNWY QQIPGQPPLLIYDASNLSVGIPPRFSGSGSTDFTLNIHP VEKVDAATYHCQQSTEDPWTFFGGGTKEIKGGGGSGGG GSGGGGSQVQLQQSGAELVRPGSSVKISCKASGYAFSSY WMNWVKQRPQGLEWIGQIWPGDGTNYNGKFKGK ATLTADESSSTAYMQLSSLASEDSAVVFCARRETTVGRYY YAMDYWGQGTTVTVSSGGGGSDIKLQSGAELARP GAS VKMSCKTSGYTTTRYTMHWVKQRPQGLEWIGYINPSR GYTNYNQFKDKATLTTDKSSSTAYMQLSSLSEDAVYY CARYYDHYCLDYWGQGTTLVSSVEGGGGSGGGSGGS GGVDDIQLTQSPAIMSASPGEKVTMTCRASSSVSYMWN YQQKSGTSPKRWIYDTSKVASGVPRFSGSGSTSYSLTIS SMEAEDAATYYCQQWSSNPLTFGAGTKLELKHHHHHH
18	CDR-L1 I2C	인공	aa	GSSTGAVTSGNYPN
19	CDR-L2 I2C	인공	aa	GTKFLAP
20	CDR-L3 I2C	인공	aa	VLWYSNRVV
21	CDR-H1 I2C	인공	aa	KYAMN
22	CDR-H2 I2C	인공	aa	RIRSKYNNYATYYADSVKD
23	CDR-H3 I2C	인공	aa	HGNFGNSYISYWAY
24	VH I2C	인공	aa	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVR QAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSK NTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWG GQGTLTVSS
25	VL I2C	인공	aa	QTVTQEPSTLTVSPGGTVTLTCGSSSTGAVTSGNYPNWVQ QKPGQAPRGLIGGTFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSG VQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL
26	VH-VL I2C	인공	aa	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVR QAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSK NTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWG QGTLTVSSGGGGSGGGGGSGGGSGGGSGQTVVTQEPSTLTVSP GGTVTLTCGSSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGG TKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVL WYSNRWVFGGGTKLTVL
27	CD33 ccVH E11	인공	aa	QVQLVQSGAEVKKPGESVKVSCKASGYTFTNYGMNWVK QAPGQCLEWMGWINTYTGEPTYADKFQGRVTMTTDT TSTAYMEIRNLGGDDTAVYYCARWSWSDGYYYFDYWG QGTSVTVSS
28	CD33 VH E11	인공	aa	QVQLVQSGAEVKKPGESVKVSCKASGYTFTNYGMNWVK QAPGQGLEWMGWINTYTGEPTYADKFQGRVTMTTDT TSTAYMEIRNLGGDDTAVYYCARWSWSDGYYYFDYWG QGTSVTVSS
29	CD33 HCDR1 E11	인공	aa	NYGMN

[0483]

30	CD33 HCDR2 E11	인공	aa	WINTYTGEPTYADKFQG
31	CD33 HCDR3 E11	인공	aa	WSWSDGYYYYYFDY
32	CD33 CC VL E11	인공	aa	DIVMTQSPDSLTVSLGERTTINCKSSQSVDSTSINKNSLAW YQQKPGQPPKLLSWASTRESGIPDRFSGSGSGTDFTLTID SPQPEDSATYYCQQSAHFPIITFGCGTRLEIK
33	CD33 VL E11	인공	aa	DIVMTQSPDSLTVSLGERTTINCKSSQSVDSTSINKNSLAW YQQKPGQPPKLLSWASTRESGIPDRFSGSGSGTDFTLTID SPQPEDSATYYCQQSAHFPIITFGCGTRLEIK
34	CD33 LCDR1 E11	인공	aa	KSSQSVDSTSINKNSLA
35	CD33 LCDR2 E11	인공	aa	WASTRES
36	CD33 LCDR3 E11	인공	aa	QQSAHFPI
37	CD33 HL CC E11	인공	aa	QVQLVQSGAEVKPGESVKVSKASGYTFTNYGMNWVK QAPGQCLEWMGWINTYTGEPTYADKFQGRVTMTTDTSTAYMEIRNLGGDDTAVYYCARWSWSDGYYYFDYWG QGTSVTSSGGGGSGGGGGSGGGSDIVMTQSPDSLTVSL GERTTINCKSSQSVDSTSINKNSLAWYQQKPGQPPKLLSWA STRESGIPDRFSGSGSGTDFTLTIDSPQPEDSATYYCQ QSAHFPIITFGCGTRLEIK
38	CD33 HL E11	인공	aa	QVQLVQSGAEVKPGESVKVSKASGYTFTNYGMNWVK QAPGQGLEWMGWINTYTGEPTYADKFQGRVTMTTDTSTAYMEIRNLGGDDTAVYYCARWSWSDGYYYFDYWG QGTSVTSSGGGGSGGGGGSGGGSDIVMTQSPDSLTVSL GERTTINCKSSQSVDSTSINKNSLAWYQQKPGQPPKLLSWA STRESGIPDRFSGSGSGTDFTLTIDSPQPEDSATYYCQ QSAHFPIITFGCGTRLEIK
39	CD33 CC E11 HL x I2C HL 이중특이적 분자	인공	aa	QVQLVQSGAEVKPGESVKVSKASGYTFTNYGMNWVK QAPGQCLEWMGWINTYTGEPTYADKFQGRVTMTTDTSTAYMEIRNLGGDDTAVYYCARWSWSDGYYYFDYWG QGTSVTSSGGGGSGGGGGSGGGSDIVMTQSPDSLTVSL GERTTINCKSSQSVDSTSINKNSLAWYQQKPGQPPKLLSWA STRESGIPDRFSGSGSGTDFTLTIDSPQPEDSATYYCQ QSAHFPIITFGCGTRLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQ PG SLKLSCAASGFTFNKYAMNWRQAPGKLEWVARIRSKY NNYATYYADSVKDRFTISRDDSNTAYLQMNNLKTEDTA VYYCVRHGNFGNSYISYWAWWGQGTLTVSSGGGGSGGG GGSGGGGSQTVTQEPLTVSPGGTVLTGCSSTGAVENTS GNYPNWVQQKGQAPRGLIGGTFLAPGTPARFSGSLLG GKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL
40	CD33 E11 HL x I2C HL	인공	aa	MGWSCIIFLVATATGVHSQVQLVQSGAEVKPGESVKV SKASGYTFTNYGMNWVKQAPGQGLEWMGWINTYTGEPTYADKFQGRVTMTTDTSTAYMEIRNLGGDDTAVYYCARWSWSDGYYYFDYWGQGTSVTSSGGGGSGGGGGSDIVMTQSPDSLTVSLGERTTINCKSSQSVDSTSINKNSLAWYQQKPGQPPKLLSWA STRESGIPDRFSGSGSGTDFTLTIDSPQPEDSATYYCQ QSAHFPIITFGCGTRLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISR DDSKNTAYLQMNNLKTEDTA VYYCVRHGNFGNSYISYWAWWGQGTLTVSSGGGGSGGG GGSGGGGSQTVTQEPLTVSPGGTVLTGCSSTGAVENTS GNYPNWVQQKGQAPRGLIGGTFLAPGTPARFSGSLLG GKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL

[0484]

				AYWGQGTLTVSSGGGGSGGGGGSGGGSGT VVTQEPLS TVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNW/VQQKPGQAPRG LIGGTTKFLAPGTPARFSGSLGGKAALTLSGV/QPEDEAEYV CVLWYSNRWVFGGGTKLTVLHHHHHH
41	CD33 CC x I2C-scFc 이중특이적 HLE 분자	인공	aa	QVQLVQSGAEVKPGESVKVSKASGYTFTNYGMNWVK QAPGQCLEWMGW/INTYGEPTYADKFQGRVTMTDTS TSTAYMEIRNLGGDDTAVYYCARWSWSDGYYYFDYWG QGTTSVTSSGGGGSGGGGGSDIVMTQSPDSLTDSL GERTTINCKSSQVLDSTSNTKNSLAWYQQKPGQPPKLLLS WASTRESGIPDRFSGSGSGTDFTLTIDSPQPEDSATYYCQ QSAHFPIITFGCCTRLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGG SLKLSCAASGFTFNKYAMMNWVRQAPGKGLEWVARISKY NNYATYYADSVKDRFTISRDDSNTAYLQMNNLKTEDTA VYVCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGTLVTSSGGGGSGG GGSGGGGSQTTVQEPSTLVSPGGTVTLTCGSSTGAVTS GNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTTKFLAPGTPARFSGSLLG GKAALTSGVQPEDEAEYCYVLWYSNRWVFGGGTKLTVL GGGGDKTHTCPPCAPELLGGPSVFLPPPKPDTLMISRT PEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVGVEVHNAKTKPCEE QYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQQGNVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSG GGGGGGGGGGGGGGGGGGSDKTHTCPPCAPEL LGGPSVFLPPPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKF NWYVGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDW LNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIASKAKGQPREPVYTLPPS REEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TPPVLDSDGSFFLYSKLTVDK5RWQQQGNVFSCVMHEAL HNHYTQKSLSLSPGK
42	EGFRvIIxCD3 -scFc VH CDR1	인공	aa	NYGMH
43	EGFRvIIxCD3 -scFc VH CDR2	인공	aa	VIWYDGSDKYYADSVRG
44	EGFRvIIxCD3 -scFc VH CDR3	인공	aa	DGYDILTGNPRDFDY
45	EGFRvIIxCD3 -scFc VL CDR1	인공	aa	RSSQSLVHSDGNTYLS
46	EGFRvIIxCD3 -scFc VL CDR2	인공	aa	RISRRFS
47	EGFRvIIxCD3 -scFc VL CDR3	인공	aa	MQSTHVPRT

[0485]

48	EGFRvIII_CCx CD3-scFc VH	인공	aa	QVQLVESGGGVVQSGRSRLSCAASGFTFRNYGMHWVR QAPGKCLEWVAIVYDGSCKYYADSVGRGFTISRDNSKN TLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDGYDILTGNPRDFDYWGQ GTLTVSS
49	EGFRvIII_CCx CD3-scFc VL	인공	aa	DTVMTQTPLSSHVTLGQPASICRSSQSLVHSDGNTYLSW LQQRPQPPRLLIYRISRRFSGVPDRFSGSGAGTDFLEISR VEAEDVGVYYCMQSTHVPRTFGCGTKVEIK
50	EGFRvIII_CCx CD3-scFc scFv	인공	aa	QVQLVESGGGVVQSGRSRLSCAASGFTFRNYGMHWVR QAPGKCLEWVAIVYDGSCKYYADSVGRGFTISRDNSKN TLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDGYDILTGNPRDFDYWGQ GTLTVSSGGGGGGGGGGGGSDTVMTQTPLSSHVT GQPASICRSSQSLVHSDGNTYLSWLQQRPQPPRLLIYRI SRRFSGVPDRFSGSGAGTDFLEISRVEAEDVGVYYCMQS THVPRTFGCGTKVEIKSGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSL KLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYN NYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVY YCVRHGNFGNSYISYWAYWGGQGTLTVCSSSTGAVTSGNY PNWVQQKPGQAPRGLIGGTFLAGPTPARFSGSLLGGKA ALTLSGVQPEDEAEYCCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL
51	EGFRvIII_CCx CD3-scFc 이중특이적 분자	인공	aa	QVQLVESGGGVVQSGRSRLSCAASGFTFRNYGMHWVR QAPGKCLEWVAIVYDGSCKYYADSVGRGFTISRDNSKN TLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDGYDILTGNPRDFDYWGQ GTLTVSSGGGGGGGGGGGGSDTVMTQTPLSSHVT GQPASICRSSQSLVHSDGNTYLSWLQQRPQPPRLLIYRI SRRFSGVPDRFSGSGAGTDFLEISRVEAEDVGVYYCMQS THVPRTFGCGTKVEIKSGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSL KLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYN NYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVY YCVRHGNFGNSYISYWAYWGGQGTLTVCSSSTGAVTSGNY SGGGGSQTVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNY PNWVQQKPGQAPRGLIGGTFLAGPTPARFSGSLLGGKA ALTLSGVQPEDEAEYCCVLWYSNRWVFGGGTKLTVLGGG GDKTHTCPGPAPELLGGPSVFLPPPKPKDTLMISRTPEV CVVVDVSHEDPEVKFNWYWDGVEVHNAAKTPCEEQYGS TYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV EWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGG SGGGGSGGGGGGGGGGGGGGSDKTHTCPGPAPELLGG PSVFLFPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNW YVDGVEVHNAAKTPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNG KEYCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPVYTLPPSREE MTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPP VLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQQGNVFSCSCVMHEALHN YTQKSLSLSPGK
52	EGFRvIII_CCx CD3-scFc 이중특이적 HLE 분자	인공	aa	QVQLVESGGGVVQSGRSRLSCAASGFTFRNYGMHWVR QAPGKCLEWVAIVYDGSCKYYADSVGRGFTISRDNSKN TLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDGYDILTGNPRDFDYWGQ GTLTVSSGGGGGGGGGGGGSDTVMTQTPLSSHVT GQPASICRSSQSLVHSDGNTYLSWLQQRPQPPRLLIYRI SRRFSGVPDRFSGSGAGTDFLEISRVEAEDVGVYYCMQS THVPRTFGCGTKVEIKSGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSL KLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYN NYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVY YCVRHGNFGNSYISYWAYWGGQGTLTVCSSSTGAVTSGNY PNWVQQKPGQAPRGLIGGTFLAGPTPARFSGSLLGGKA ALTLSGVQPEDEAEYCCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL GDKTHTCPGPAPELLGGPSVFLPPPKPKDTLMISRTPEV CVVVDVSHEDPEVKFNWYWDGVEVHNAAKTPCEEQYGS TYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV EWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGG SGGGGSGGGGGGGGGGGGSDKTHTCPGPAPELLGG PSVFLFPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNW YVDGVEVHNAAKTPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNG KEYCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPVYTLPPSREE MTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPP VLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQQGNVFSCSCVMHEALHN YTQKSLSLSPGK

[0486]

53	MSLN_5 VH CDR1	인공	aa	DYYMT
54	MSLN_5 VH CDR2	인공	aa	YISSGGSTIYYADSVKG
55	MSLN_5 VH CDR3	인공	aa	DRNSHFDY
56	MSLN_5 VL CDR1	인공	aa	RASQGINTWLA
57	MSLN_5 VL CDR2	인공	aa	GASGLQS
58	MSLN_5 VL CDR3	인공	aa	QQAKSFPRTR
59	MSLN_5 VH	인공	aa	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTSDYYMTWIRQ APGKGLEWLWSISSLGGSTIYYADSVKGRTFISRDNAKNSLFL QMNSLRRAEDTAVYYCARDRNSHFDYWQGTLVTVSSGG
60	MSLN_5 VL	인공	aa	DIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCRASQGINTWLAWYQQK PGKAPKLLIYGASGLQSGVPSRFSGSQSGTDFTLTISSLQPE DFATYCYQQAKSFPRTRFGQGTKEIK
61	MSLN_5 scFv	인공	aa	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTSDYYMTWIRQ APGKGLEWLWSISSLGGSTIYYADSVKGRTFISRDNAKNSLFL QMNSLRRAEDTAVYYCARDRNSHFDYWQGTLVTVSSGG GGSGGGGGGGGGSDIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCRAS QGINTWLAWYQQKPGKAPKLLIYGASGLQSGVPSRFSGS GSGTDFTLTISSLQPEDFATYCYQQAKSFPRTRFGQGTKEIK
62	MSLN_5xI2C 0 이중특이적 분자	인공	aa	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTSDYYMTWIRQ APGKGLEWLWSISSLGGSTIYYADSVKGRTFISRDNAKNSLFL QMNSLRRAEDTAVYYCARDRNSHFDYWQGTLVTVSSGG GGSGGGGGGGGGSDIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCRAS QGINTWLAWYQQKPGKAPKLLIYGASGLQSGVPSRFSGS GSGTDFTLTISSLQPEDFATYCYQQAKSFPRTRFGQGTKEIK KSGGGGGSEVQLVESGGGLVCPGGSLKLSCAASGFTFNKYA MNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFT ISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYIISY WAYWGQGTLTIVTSSGGGGGGGGGGGGGGSQTVVTQEP SLTVSPGGTTLTCGSTAVTSGNYPNWVQQKPGQAPR GLIGGTFKFLAPGTPARFSGSLGGKAALTLSGVQPEDEAEY YCVLWYSNRWVFGGGTKTIVL
63	MSLN_5xCD 3-scFc 이중특이적 HLE 분자	인공	aa	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTSDYYMTWIRQ APGKGLEWLWSISSLGGSTIYYADSVKGRTFISRDNAKNSLFL QMNSLRRAEDTAVYYCARDRNSHFDYWQGTLVTVSSGG GGSGGGGGGGGGSDIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCRAS QGINTWLAWYQQKPGKAPKLLIYGASGLQSGVPSRFSGS GSGTDFTLTISSLQPEDFATYCYQQAKSFPRTRFGQGTKEIK KSGGGGGSEVQLVESGGGLVCPGGSLKLSCAASGFTFNKYA MNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFT ISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYIISY WAYWGQGTLTIVTSSGGGGGGGGGGGGGGSQTVVTQEP SLTVSPGGTTLTCGSTAVTSGNYPNWVQQKPGQAPR GLIGGTFKFLAPGTPARFSGSLGGKAALTLSGVQPEDEAEY YCVLWYSNRWVFGGGTKTIVLGGGGGDKTHTCPCCPAPEL LGGPSVLFPKPKDTLMISRTPETCVVVDDVSHEDEPV/KF NWYWDGVEVHNAKTKPCEEQVGSTYRCVSVLTVLHQDW

[0487]

				LNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIKAKGQPREPVYTLPPS REEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCVMHEAL HNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGG GGGGGGGSDKTHTCPPCPAPELGGPSVFLFPKPDTLM ISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTP CEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA PIEKTIKAKGQPREPVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKG FYPSPDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLT DKSRWQQGNVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
64	MSLN_5_CCx CD3-scFc 이중특이적 HLE 분자	인공	aa	QVQLVESGGGLVKPGGLRLSCAASGFTFSDHYMSWIRQ APGKCLEWFSYISSLGGIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYL QMNSLRaedtAVYYCARDVGSHFDYWGQGTIVTSSGG GGSGGGGGGGGGSDIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCRAS QDISRWLAWYQQKPGKAPKLLISAASRLQSGVPSRFSGSG SGTDFTLISSLQPEDFAIYCCQQAOKSFRTFGCGTKVEIKS GGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAM NWVRQAPGKLEWVARISKVNNYATYYADSVKDRFTIS RDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYW AYWGQGTLTVSSGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGG TVSPGGTVLTCSSTGAUTSGNYPNWVQQKPGQAPRG LIGGTKFLAPGTPARFSGSLGGKAALTLSGVQPEDEAEYY CVLWYSNRWVFGGGTKLTVLGGGGDKTHTCPPCPAPELL GGPSVFLFPKPDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKF NWYVDGVEVHNAKTPCCEQYGSTYRCVSVLTVLHQDW LNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIKAKGQPREPVYTLPPS REEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCVMHEAL HNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGGGGGGGGGGGGGGGGG GGGGGGGSDKTHTCPPCPAPELGGPSVFLFPKPDTLM ISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTP CEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA PIEKTIKAKGQPREPVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKG FYPSPDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLT DKSRWQQGNVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

[0488]

65	CDR-H1 CDH19 65254.007	인공	aa	SYGMH
66	CDR-H2 CDH19 65254.007	인공	aa	FIWYEGSNKYYAESVKD
67	CDR-H3 CDH19 65254.007	인공	aa	RAGIIGTIGYYYGMDV
68	CDR-L1 CDH19 65254.007	인공	aa	SGDRLGEKYTS
69	CDR-L2 CDH19 65254.007	인공	aa	QDTKRPS
70	CDR-L3 CDH19 65254.007	인공	aa	QAWESSTVV
71	VH CDH19 65254.007	인공	aa	QVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVR QAPGKGLEWVAIFIWYEGSNKYYAESVKDRFTISRDNSKNT LYLQMNSLRAEDTAVYYCARRAGIIGTIGYYYGMDVWGQ GTTVTVSS
72	VL CDH19 65254.007	인공	aa	SYELTQPPSVSPGQTASITCSGDRLGEKYTSWYQQRPG QSPLLVIIYQDTKRPSGIPERFSGNSGNTATLTISGTQAMD EADYYCQAWEsstvvFGGGTKLTVLS
73	VH-VL CDH19 65254.007	인공	aa	QVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVR QAPGKGLEWVAIFIWYEGSNKYYAESVKDRFTISRDNSKNT LYLQMNSLRAEDTAVYYCARRAGIIGTIGYYYGMDVWGQ GTTVTVSSGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGG TASITCSGDRLGEKYTSWYQQRPGQSPLLVIIYQDTKRPSGI PERFSGNSGNTATLTISGTQAMDEADYYCQAWEsstvv FGGGTKLTVLSGGGGSEVQLVESGGLVQPGGSLKLC SGFTFNKYAMNWVRQAPGKLEWVARIRSKNNYATYY ADSVKDRFTISRDNSKNTAYLQMNLLKTEDTAVYYCVRH GNFGNSYISYWAWQGQTLTVSSGGGGGGGGGGGGGGGG GSQTVVTQEPSTVSPGGTVTLTCGSTGAVTSGNYPNW VQQKPGQAPRGLIGGKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTL SGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVLHHHHHH
74	CDH19 65254.007 x I2C	인공	aa	QVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVR QAPGKGLEWVAIFIWYEGSNKYYAESVKDRFTISRDNSKNT LYLQMNSLRAEDTAVYYCARRAGIIGTIGYYYGMDVWGQ GTTVTVSSGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGG TASITCSGDRLGEKYTSWYQQRPGQSPLLVIIYQDTKRPSGI PERFSGNSGNTATLTISGTQAMDEADYYCQAWEsstvv FGGGTKLTVLSGGGGSEVQLVESGGLVQPGGSLKLC SGFTFNKYAMNWVRQAPGKLEWVARIRSKNNYATYY ADSVKDRFTISRDNSKNTAYLQMNLLKTEDTAVYYCVRH GNFGNSYISYWAWQGQTLTVSSGGGGGGGGGGGGGGGG GSQTVVTQEPSTVSPGGTVTLTCGSTGAVTSGNYPNW VQQKPGQAPRGLIGGKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTL SGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVLHHHHHH
75	CDH19 65254.007 x I2C-scFc 이중특이적 HLE 분자	인공	aa	QVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVR QAPGKGLEWVAIFIWYEGSNKYYAESVKDRFTISRDNSKNT LYLQMNSLRAEDTAVYYCARRAGIIGTIGYYYGMDVWGQ GTTVTVSSGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGG TASITCSGDRLGEKYTSWYQQRPGQSPLLVIIYQDTKRPSGI PERFSGNSGNTATLTISGTQAMDEADYYCQAWEsstvv FGGGTKLTVLSGGGGSEVQLVESGGLVQPGGSLKLC SGFTFNKYAMNWVRQAPGKLEWVARIRSKNNYATYY ADSVKDRFTISRDNSKNTAYLQMNLLKTEDTAVYYCVRH GNFGNSYISYWAWQGQTLTVSSGGGGGGGGGGGGGGGG GSQTVVTQEPSTVSPGGTVTLTCGSTGAVTSGNYPNW VQQKPGQAPRGLIGGKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTL SGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVLHHHHHH

				ADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRH GNFGNSYISYWAYWQGQTLTVSSGGGGSGGGSGGG GSQTVVTQEPSTVSPGGTVTLCGSSTGAUTSGNYPNW VQQKPGQAPRGLIGGTFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTL SGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVLGGGDK THTCPPCPAPELLGGPSVFLPPPKDLMISRTPEVTCVV VDVSCHEDPEVKFNWYVGVEVHNNAKTKPCEEQYGSTYRC VSLTVLHQDWLNGKEYCKVSNKALPAPIEKTIKAKGQ PREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGSGGG GGGGGGGGGGGGSDKTHTCPCCPAPELLGGPSVFL PPPKDLMISRTPEVTCVVVDVSCHEDPEVKFNWYVG EVHNNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEY KVSNKALPAPIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWEENGQOPENNYKTPPVLD DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQ KSLSLSPGK
76	CDH19 65254.007 x I2C - scFc_delGK 이중특이적 HLE 분자	인공	aa	QVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVR QAPGKGLEWVAFIYWEYGSNKYYAESVKDRFTISRDNSKNT LYLQMNLSRAEDTAVYYCARRAGIITIGYYYGMDVWGQ GTTVTSSGGGGSGGGGGSGGGSYELTQPPSVSPGQ TASITCGDRLGEKYTSWYQQRPGQSPLLVYQDTKRPSGI PERFSGNSNGNTATLISGTQAMDEADYYCQAWESESTVV FGGGTKLTVLSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAA SGFTFNKYAMINWVRQAPGKGLEWVARIRSKNNYATYY ADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRH GNFGNSYISYWAYWQGQTLTVSSGGGGSGGGSGGG GSQTVVTQEPSTVSPGGTVTLCGSSTGAUTSGNYPNW VQQKPGQAPRGLIGGTFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTL SGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVLGGGDK THTCPPCPAPELLGGPSVFLPPPKDLMISRTPEVTCVV VDVSCHEDPEVKFNWYVGVEVHNNAKTKPCEEQYGSTYRC VSLTVLHQDWLNGKEYCKVSNKALPAPIEKTIKAKGQ PREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGSGGG GGGGGGGGGGGGSDKTHTCPCCPAPELLGGPSVFL PPPKDLMISRTPEVTCVVVDVSCHEDPEVKFNWYVG EVHNNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEY KVSNKALPAPIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWEENGQOPENNYKTPPVLD DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQ KSLSLSPGK

[0490]

77	CDH19 65254.007_C C x I2C -scFc VH	인공	aa	QVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVR QAPGKCLEWVAIFIWEGSNKYAESVKDRFTISRDNSKNT LYLQMNLSRAEDTAVYYCARRAGIIGTIGYYYYGMDVWGQ GTTVTVSS
78	CDH19 65254.007_C C x I2C -scFc VL	인공	aa	SYELTQPPSVSPGQTASITCSGDRLEKTYTSWYQQRPG QSPPLLVIYQDTKRPSPGIERFSGNSNGNTATLTISGTQAMD EADYYCQAWEESTVVFGCGTKLTVL
79	CDH19 65254.007_C C x I2C -scFc scFv	인공	aa	QVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVR QAPGKCLEWVAIFIWEGSNKYAESVKDRFTISRDNSKNT LYLQMNLSRAEDTAVYYCARRAGIIGTIGYYYYGMDVWGQ GTTVTVSSGGGGSGGGGGSGGGGSSYELTQPPSVSPGQ TASITCSGDRLEKTYTSWYQQRPGQSPPLLVIYQDTKRPSPGI PERFSGNSNGNTATLTISGTQAMDDEADYYCQAWEESTVV FGCGTKLTVLSSGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAA SGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYY ADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRH GNFGNSYISYWAYWQGQGLTVTSSGGGGSGGGGGGG GSQTVTTQEPESTVSPGGTVTLTCGSSTGAUTSGNYPNW VQQKPGQAPRGLIGGTFKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTL SGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL
80	CDH19 65254.007_C C x I2C -scFc 이중특이적 분자	인공	aa	QVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVR QAPGKCLEWVAIFIWEGSNKYAESVKDRFTISRDNSKNT LYLQMNLSRAEDTAVYYCARRAGIIGTIGYYYYGMDVWGQ GTTVTVSSGGGGSGGGGGSGGGGSSYELTQPPSVSPGQ TASITCSGDRLEKTYTSWYQQRPGQSPPLLVIYQDTKRPSPGI PERFSGNSNGNTATLTISGTQAMDDEADYYCQAWEESTVV FGCGTKLTVLSSGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAA SGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYY ADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRH GNFGNSYISYWAYWQGQGLTVTSSGGGGSGGGGGGG GSQTVTTQEPESTVSPGGTVTLTCGSSTGAUTSGNYPNW VQQKPGQAPRGLIGGTFKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTL SGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVLGGGDK THTCPPCPAPEELLGGPSVLFPPPKDLMISRTPEVTCVV VDVSHEDPEVKFNWVYDGVEVHNNAKTKPCEEQYGSTYRC VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIKAKGQ PREPVQYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFYSLKLTVDKSRW/QGN VFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGGG GGGGGGGGGGGGGGGGGGDKTHTCPPCPAPEELLGGPSV FLFPKPKDLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWVYD GVEVHNNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTIKAKGQPREPVQYTLPPSREEMTK NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESENQQPENNYKTPPVLD DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQ KSLSLSPGK
81	CDH19 65254.007_C C x I2C -scFc 이중특이적 HLE 분자	인공	aa	QVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVR QAPGKCLEWVAIFIWEGSNKYAESVKDRFTISRDNSKNT LYLQMNLSRAEDTAVYYCARRAGIIGTIGYYYYGMDVWGQ GTTVTVSSGGGGSGGGGGSGGGGSSYELTQPPSVSPGQ TASITCSGDRLEKTYTSWYQQRPGQSPPLLVIYQDTKRPSPGI PERFSGNSNGNTATLTISGTQAMDDEADYYCQAWEESTVV FGCGTKLTVLSSGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAA SGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYY ADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRH GNFGNSYISYWAYWQGQGLTVTSSGGGGSGGGGGGG GSQTVTTQEPESTVSPGGTVTLTCGSSTGAUTSGNYPNW VQQKPGQAPRGLIGGTFKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTL SGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVLGGGDK THTCPPCPAPEELLGGPSVLFPPPKDLMISRTPEVTCVV VDVSHEDPEVKFNWVYDGVEVHNNAKTKPCEEQYGSTYRC VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIKAKGQ PREPVQYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFYSLKLTVDKSRW/QGN VFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGGG GGGGGGGGGGGGGGGGDKTHTCPPCPAPEELLGGPSV FLFPKPKDLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWVYD GVEVHNNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTIKAKGQPREPVQYTLPPSREEMTK NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESENQQPENNYKTPPVLD DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQ KSLSLSPGK

[0491]

82	CDH19 65254.007_C C x I2C - scFc_delGK 이중특이적 HLE 분자	인공	aa	QVQLVESGGGVVQPGGLRLSCAASGFTFSSYGMHWVR QAPGKCLEWVAFIWEYEGSNKYAEHSVDRFTISRDNSKNT LYLQMNSLRAEDTAVYYCARRAGIIGTIGYYGMDVWGQ GTTVTSSGGGGSGGGGGSGGGGSSYELTQPPSVSPGQ TASITCSGDRLGEKYTSWYQQRPGQSPLLVYQDTRPNSGI PERFGSGNSGNTATLTISGTQAMDEADYYCQAWESSTVV FGCGTKLTVLSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKSCAA SGFTFNKYAMNNWVRQAPGKLEWVARIRSKNNYATYY ADSVKDRFTISRDDSNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRH GNFGNSYISYWAYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGGSGGG GSQTVVVTQEPSTVSPGGTVTLTCGSTGAUTSGNYPNW VQQKPGQAPRGLIGGKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTL SGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVLGGGDK THTCPPCPAPELLGGPSVFLFPKPDKTLMISRTPEVCVV VDVSHEDPEVKFNWYWDGVEVHNNAKTKPCEEQVGSTYRC VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAIEKTISKAKGQ PREPVYTLPSPREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFYSLKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGGSGGGGGGGGG SGGGGSGGGGGSGGGGSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFL PPPKPDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYWDGV EVHNNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKC KVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPVYTLPSPREEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTPPVLDSDG SFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSL SLSPGK
83	FLT3_7 A8xCD3-scFc VH CDR1	인공	aa	NARMGVs
84	FLT3_7 A8xCD3-scFc VH CDR2	인공	aa	HIFSNDEKSYSTSLKN
85	FLT3_7 A8xCD3-scFc VH CDR3	인공	aa	IVGYGSGGWYGFFDY
86	FLT3_7 A8xCD3-scFc VL CDR1	인공	aa	RASQGIRNDLG
87	FLT3_7 A8xCD3-scFc VL CDR2	인공	aa	AASTLQs
88	FLT3_7 A8xCD3-scFc VL CDR3	인공	aa	LQHNSYPLT

[0492]

89	FLT3_7 A8xCD3-scFc VH	인공	aa	QVTLKESGPTLVKPTELTLLTCTLSGFSLNNAARMGVSWIR QPPGKCLEWLAHIFSNDEKSYSTSLKNRLTISKDSSKTQVVL TMNTNDPVDATATYYCARIVGYGSGWYGFDDWQGQTLV TVSSGGGGSGGGGGSGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRV TITCRASQGIRNDLGWYQQKPGKAPKRILYAASTLQSQGP SRFSGSGSGTEFTLTISSLQPEDFATYYCLQHNSYPLTFCGC TKVEIK
90	FLT3_7_A8- scFc VL	인공	aa	DIQTMQSPSSLSASVGDRVTTICRASQGIRNDLGWYQQK PGKAPKRILYAASTLQSGVPSPRSFGSGSGTEFTLTISSLQPE DFATYYCLQHNSYPLTFCGCTKVEIK
91	FLT3_7 A8xCD3- scFv	인공	aa	QVTLKESGPTLVKPTELTLLTCTLSGFSLNNAARMGVSWIR QPPGKCLEWLAHIFSNDEKSYSTSLKNRLTISKDSSKTQVVL TMNTNDPVDATATYYCARIVGYGSGWYGFDDWQGQTLV TVSSGGGGSGGGGGSGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRV TITCRASQGIRNDLGWYQQKPGKAPKRILYAASTLQSQGP SRFSGSGSGTEFTLTISSLQPEDFATYYCLQHNSYPLTFCGC TKVEIK
92	FLT3_7 A8xCD3 이중특이적 분자	인공	aa	QVTLKESGPTLVKPTELTLLTCTLSGFSLNNAARMGVSWIR QPPGKCLEWLAHIFSNDEKSYSTSLKNRLTISKDSSKTQVVL TMNTNDPVDATATYYCARIVGYGSGWYGFDDWQGQTLV TVSSGGGGSGGGGGSGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRV TITCRASQGIRNDLGWYQQKPGKAPKRILYAASTLQSQGP SRFSGSGSGTEFTLTISSLQPEDFATYYCLQHNSYPLTFCGC TKVEIKSGGGSEVQLVESGGVLVQPGGSKLSCAASGFT FNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFG NSYISYWAYWGQGLTVTSSGGGGGGGGGGGGSQ VVTQEPLTVPSPGGTVTLCGSSTGAVTSGNYPNWVQKQ PGQAPRGLIGGTFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQ PEDEAEYCVLWYSNRWVFGGGTKLTV
93	FLT3_7 A8xCD3-scFc 이중특이적 HLE 분자	인공	aa	QVTLKESGPTLVKPTELTLLTCTLSGFSLNNAARMGVSWIR QPPGKCLEWLAHIFSNDEKSYSTSLKNRLTISKDSSKTQVVL TMNTNDPVDATATYYCARIVGYGSGWYGFDDWQGQTLV TVSSGGGGSGGGGGSGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRV TITCRASQGIRNDLGWYQQKPGKAPKRILYAASTLQSQGP SRFSGSGSGTEFTLTISSLQPEDFATYYCLQHNSYPLTFCGC TKVEIKSGGGSEVQLVESGGVLVQPGGSKLSCAASGFT FNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFG NSYISYWAYWGQGLTVTSSGGGGGGGGGGGGSQ VVTQEPLTVPSPGGTVTLCGSSTGAVTSGNYPNWVQKQ PGQAPRGLIGGTFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQ PEDEAEYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVLGGGGDKHTC PPCPAPELLGGPSVLFPPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVS HEDPEVKFNWVYWDGVEVHNAKTKPCEEQGSTYRCVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISAKGQPREP QVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGKFYPSDIAWEWSNGQ PENNYKTTPPVLDSDGSSFLYSLKLTVDKSRWVQGNVFCSC VMHEALHNHYTQKSLSLSPKGKGSSGGGGGGGGGG GGGGGGGGGGGGDKHTCPCPAPELLGGPSVLFPP PKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDEPVKFNWVYWDGVEV HNAKTKPCEEQGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV SNKALPAPIEKTISAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVS LTCLVKGKFYPSDIAWEWSNGQPEPNYYKTTPPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWVQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSL SPGK

[0493]

94	VH CDR1 DLL3_1_CC_ delGK	인공	aa	SYYWS
95	VH CDR2 DLL3_1_CC_ delGK	인공	aa	YVYYSGTTNYNPSLKS
96	VH CDR3 DLL3_1_CC_ delGK	인공	aa	IAVTGFYFDY
97	VL CDR1 DLL3_1_CC_ delGK	인공	aa	RASQRVNNNYLA
98	VL CDR2 DLL3_1_CC_ delGK	인공	aa	GASSRAT
99	VL CDR3 DLL3_1_CC_ delGK	인공	aa	QQYDRSPLT
100	VH DLL3_1_CC_ delGK	인공	aa	QVQLQESGPGLVKPSETSLTCTVSGGISISSYYWSWIRQPP GKCLEWIGYVYYSGTTNYNPSLKSRTVISVDTSKNQFSLKLS SVTAADTAVVYCASIATGFYFDYWGQGTLVTVSSGGGG SGGGGSGGGSEIVLTQSPGTLSSLSPGERVTLSCRASQRV NNNYLAWYQQRPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGS GTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYDRSPLTFGCGTKLEIK
101	VL DLL3_1_CC_ delGK	인공	aa	EIVLTQSPGTLSSLSPGERVTLSCRASQRVNNNYLAWYQQR PGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPE DFAVYYCQQYDRSPLTFGCGTKLEIK
102	DLL3_1_CC_ delGK	인공	aa	QVQLQESGPGLVKPSETSLTCTVSGGISISSYYWSWIRQPP GKCLEWIGYVYYSGTTNYNPSLKSRTVISVDTSKNQFSLKLS SVTAADTAVVYCASIATGFYFDYWGQGTLVTVSSGGGG SGGGGSGGGSEIVLTQSPGTLSSLSPGERVTLSCRASQRV NNNYLAWYQQRPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGS GTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYDRSPLTFGCGTKLEIKSG GGGSEVQLVESGGGLVQPQGSLLKAASGFTFNKYAMN WVRQAPGKGLEWAVRISKYNNYATYYADSVKDRFTISR DDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYW AYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGGSGGGGSQTVTQEPST TVSPGGTVTLTCGSSTGAUTSGNYPNWVQQKPGQAPRG LIGGTFKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYY CVLWYSNRWVFGGGTKLTVL
103	DLL3_1_CCx CD3_delGK 이증특이적 분자	인공	aa	QVQLQESGPGLVKPSETSLTCTVSGGISISSYYWSWIRQPP GKCLEWIGYVYYSGTTNYNPSLKSRTVISVDTSKNQFSLKLS SVTAADTAVVYCASIATGFYFDYWGQGTLVTVSSGGGG SGGGGSGGGSEIVLTQSPGTLSSLSPGERVTLSCRASQRV NNNYLAWYQQRPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGS GTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYDRSPLTFGCGTKLEIKSG GGGSEVQLVESGGGLVQPQGSLLKAASGFTFNKYAMN WVRQAPGKGLEWAVRISKYNNYATYYADSVKDRFTISR DDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYW AYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGGSGGGGSQTVTQEPST TVSPGGTVTLTCGSSTGAUTSGNYPNWVQQKPGQAPRG LIGGTFKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYY CVLWYSNRWVFGGGTKLTVL

[0494]

104	DLL3_1_CCx CD3- scFc_deIGK 이중특이적 HLE 분자	인공	aa	QVQLQESGPGLVKPSETSLTCTVSGSISYYWSWIRQPP GKCLEWIGYYYYSGTTNNPNSLKSRTVISVDTSKNQFLKLS SVTAADTAVYYCASIATGTIFYDWGQGTLTVSSGGGG SGGGGSGGGGSEIVLTQSPGTLSSLSPGERVTLSRASQRV NNNYLAWYQQRPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGS GTDFTLTISRLEPEDFAVYCCQYDRSPLTFGCCTKLEIKSG GGGSEVQLVESGGGLVQPFGSLLCAASGFTFNKYAMN WVRQAPGKGLEWVARISKYNNYATYYADSVKDRFTISR DDSKNTAYLOMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYW AYWGQGTLTVSSGGGGSGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGG TVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRG LIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAELY CVLWYSNRWVFVGGGTKLTVLGGGGDKTHTCPPEAPELL GGPSVFLFPKPDKTLMSRTPETCVCVVVDVSHDPEVKF NWVYDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDW LNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIASKAGQPREPVYTLPPS REEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQOPENNYKT TPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSVMHEAL HNHYTQKSLSLSPGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGG SGGGGSDKTHTCPPEAPELLGGPSVFLFPKPDKTLMSR TPEVTCVVVDVSHDPEVFKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEE QYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPS DIAVEWESNGQOPENNYKTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
105	VH CDR1 CD19 97- G1RE-C2	인공	aa	SYGMH
106	VH CDR2 CD19 97- G1RE-C2	인공	aa	VISYEGSNKYYAESVKG
107	VH CDR3 CD19 97- G1RE-C2	인공	aa	DRGTIFGNYGLEV
108	VH CD19 97- G1RE-C2 CC	인공	aa	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVR QAPGKCLEWVAVISYEGSNKYYAESVKGRTISRDNSKNTL YLQMNSLRDEDTAVYYCARDRGTIFGNYGLEVWGQTT VTVSS
109	VL CDR1 CD19 97- G1RE-C2	인공	aa	RSSQSLLHKNAFYLD
110	VL CDR2 CD19 97- G1RE-C2	인공	aa	LGSNRAS
111	VL CDR3 CD19 97- G1RE-C2	인공	aa	MQALQTPFT
112	VL CD19 97- G1RE-C2 CC	인공	aa	DIVMTQSPLSLPVISGEPAISCRSSQSLLHKNAFYLDWY LQKPGQSPQLLIYLGSNRASGVPDFSGSGSGTDFTLKISR VEAEDVGVYYCMQALQTPFTFGCGTKVDIK

[0495]

113	CD19 97-G1RE-C2 Cx I2C0	인공	aa	MDMRVPAQLLGLLLWLRGARCDIVMTQSPLSPVISGEP ASISCRSSQSLLHKNAFNYLDWYLQKPGQSPQLIYLGSNR ASGVPDFRFSGSGGTDFTLKISRVEAEDVG/VYYCMQALQT PFTFCGCTKVDIKGGGGGGGGGGGGGGGSQVQLVESGGG VVQPGRSRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKCLEWV AVISYEGSNKYYAESVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRDE DTAVYYCARDRGTIFGNYGLEVWGGQGTTVTSSGGGSE VQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMMNWVRQ APGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDS KN TAYLQMNNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAWWQQ GTLTVSSGGGGSGGGGGGGGGGSQTVVTQEPSTVSPGG TVTLTCGSTGAUTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGT KF LAPGTPARFSGSLLGGKAALTSGVQPEDEAEYYCVLWYS NRWVFGGGTKLTVL
114	CD19 97-G1RE-C2 Cx I2C0-scFc	인공	aa	MDMRVPAQLLGLLLWLRGARCDIVMTQSPLSPVISGEP ASISCRSSQSLLHKNAFNYLDWYLQKPGQSPQLIYLGSNR ASGVPDFRFSGSGGTDFTLKISRVEAEDVG/VYYCMQALQT PFTFCGCTKVDIKGGGGGGGGGGGGGGGSQVQLVESGGG VVQPGRSRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKCLEWV AVISYEGSNKYYAESVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRDE DTAVYYCARDRGTIFGNYGLEVWGGQGTTVTSSGGGSE VQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMMNWVRQ APGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDS KN TAYLQMNNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAWWQQ GTLTVSSGGGGSGGGGGGGGGGSQTVVTQEPSTVSPGG TVTLTCGSTGAUTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGT KF LAPGTPARFSGSLLGGKAALTSGVQPEDEAEYYCVLWYS NRWVFGGGTKLTVL
115	VH CDR1 CDH3 G8A 6-B12	인공	aa	SYPIN
116	VH CDR2 CDH3 G8A 6-B12	인공	aa	VIWTGGGTNYASSVKG
117	VH CDR3 CDH3 G8A 6-B12	인공	aa	SRGVYDFDGRGAMDY

[0496]

118	VL CDR1 CDH3 G8A 6- B12	인공	aa	KSSQSLLYSSNQKNYFA
119	VL CDR2 CDH3 G8A 6- B12	인공	aa	WASTRES
120	VL CDR3 CDH3 G8A 6- B12	인공	aa	QQYYSSPYT
121	VH CDH3 G8A 6-B12	인공	aa	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSFSSYPINWVRQA PGKGLEWVGVIWTGGGTNYASSVKGRFTISRDNSKNTVY LQMNSLRAEDTAVYYCAKSRGVYDFDGRGAMDYWGQG TLTVTSS
122	VL CDH3 G8A 6-B12	인공	aa	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSLLYSSNQKNYFA WYQQKPGQPPLIYWASTRESGVPDFRSQSGSGTDFTLT ISSLQAEDVAVYYCQQYYSSPYTFGQGTKEIK
123	CDH3 G8A 6- B12 scFv	인공	aa	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSFSSYPINWVRQA PGKGLEWVGVIWTGGGTNYASSVKGRFTISRDNSKNTVY LQMNSLRAEDTAVYYCAKSRGVYDFDGRGAMDYWGQG TLTVTSSGGGGSGGGGGSGGGSDIVMTQSPDSLAVSLGE RATINCKSSQSLLYSSNQKNYFAWYQQKPGQPPLIYWAWA STRESGVPDFRSQSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQYY SYPYTFGQGTKEIKSGGGSEVOLVESGGLVQPGGSLK LSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARISKYNN YATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYY CVRHGNFGNSIYWAYWGQGTLTVSSGGGGSGGGGS GGGGSQTVVTQEPLSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYP NWVQQKPGQAPRGLIGGTTFLAPGTPARFSGSLLGGKAA LTSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL
124	CDH3 G8A 6- B12 x I2C0 이중특이적 분자	인공	aa	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSFSSYPINWVRQA PGKGLEWVGVIWTGGGTNYASSVKGRFTISRDNSKNTVY LQMNSLRAEDTAVYYCAKSRGVYDFDGRGAMDYWGQG TLTVTSSGGGGSGGGGGSGGGSDIVMTQSPDSLAVSLGE RATINCKSSQSLLYSSNQKNYFAWYQQKPGQPPLIYWAWA STRESGVPDFRSQSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQYY SYPYTFGQGTKEIKSGGGSEVOLVESGGLVQPGGSLK LSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARISKYNN YATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYY CVRHGNFGNSIYWAYWGQGTLTVSSGGGGSGGGGS GGGGSQTVVTQEPLSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYP NWVQQKPGQAPRGLIGGTTFLAPGTPARFSGSLLGGKAA LTSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVLGGGG DKTHTCPPCPAPEELLGGPSVLFPPPKPDLMISRTPEVTC VVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGST YRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTSKAK GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE
125	CDH3 G8A 6- B12 x I2C0 이중특이적 분자 HLE	인공	aa	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSFSSYPINWVRQA PGKGLEWVGVIWTGGGTNYASSVKGRFTISRDNSKNTVY LQMNSLRAEDTAVYYCAKSRGVYDFDGRGAMDYWGQG TLTVTSSGGGGSGGGGGSGGGSDIVMTQSPDSLAVSLGE RATINCKSSQSLLYSSNQKNYFAWYQQKPGQPPLIYWAWA STRESGVPDFRSQSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQYY SYPYTFGQGTKEIKSGGGSEVOLVESGGLVQPGGSLK LSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARISKYNN YATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYY CVRHGNFGNSIYWAYWGQGTLTVSSGGGGSGGGGS GGGGSQTVVTQEPLSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYP NWVQQKPGQAPRGLIGGTTFLAPGTPARFSGSLLGGKAA LTSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVLGGGG DKTHTCPPCPAPEELLGGPSVLFPPPKPDLMISRTPEVTC VVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGST YRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTSKAK GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE

[0497]

				WESNGQPENNYKTPVLDSDGSFFYSKLTVDKSRWQQ GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGSSGGGGSS GGGGSSGGGGSSGGGGSDKHTCPCPAELLGGP SVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHDPEVKFNWY VDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGK EYKCKVSNKALPAPIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSREEM TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVL DSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGVNFSCSVMHEALHNHYT QKSLSLSPGK
126	BCMA A7 27-C4-G7 CDR1 VH	인공	aa	NHIIH
127	BCMA A7 27-C4-G7 CDR2 VH	인공	aa	YINPYPGYHAYNEKFQG
128	BCMA A7 27-C4-G7 CDR3 VH	인공	aa	DGYYRDTDVLVDY
129	BCMA A7 27-C4-G7 CDR1 VL	인공	aa	QASQDISNYLN
130	BCMA A7 27-C4-G7 CDR2 VL	인공	aa	YTSRLHT
131	BCMA A7 27-C4-G7 CDR3 VL	인공	aa	QQGNTLPWT
132	BCMA A7 27-C4-G7 CC (44/100) VH	인공	aa	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNHIIHWVRQ APGQCLEWMGYINPYPGYHAYNEKFQGRATMTSDTSTS TVYMELSSLRSEDTAVYYCARDGYYRDTDVLWDYWGQGTL VTVSS
133	BCMA A7 27-C4-G7 CC (44/100) VL	인공	aa	DIQMTQSPSSLASVGDRVTITCQASQDISNYLNWYQQK PGKAPKLLIYYTSRSLHTGVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLEPED IATYCCQGNTLPWTFCGTKEIK
134	BCMA A7 27-C4-G7 CC (44/100) scFv	인공	aa	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNHIIHWVRQ APGQCLEWMGYINPYPGYHAYNEKFQGRATMTSDTSTS TVYMELSSLRSEDTAVYYCARDGYYRDTDVLWDYWGQGTL VTVSSGGGGGGGGGGGGGGSDIQMTQSPSSLASVGDR VTITCQASQDISNYLNWYQQKPGKAPKLLIYYTSRSLHTGV SRFSGSGSGTDFTFTISSLEPEDIATYYCQQGNTLPWTFC GTKEIK
135	BCMA A7 27-C4-G7 CC (44/100) x I2C0 이중특이적 분자	인공	aa	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNHIIHWVRQ APGQCLEWMGYINPYPGYHAYNEKFQGRATMTSDTSTS TVYMELSSLRSEDTAVYYCARDGYYRDTDVLWDYWGQGTL VTVSSGGGGGGGGGGGGGGSDIQMTQSPSSLASVGDR VTITCQASQDISNYLNWYQQKPGKAPKLLIYYTSRSLHTGV SRFSGSGSGTDFTFTISSLEPEDIATYYCQQGNTLPWTFC GTKEIKSGGGGSEQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGF TFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADS VKDRFTISRDDSNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNF GNSYISYWAYWGQGTLTVSSGGGGGGGGGGGGGGSQ TVVTQEPSTVSPGGTVLTCGSSTGAUTSGNYPNWVQQ

				KPGQAPRGLIGGKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTSGV QPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL
136	BCMA A7 27- C4-G7 CC (44/100) x I2C0-scFc 이중특이적 분자 HLE	인공	aa	QVQLVQSGAEVKPGASVKVSCKASGYFTFTNHHIVVRQ. APGQCLEARWMGYINPYPGYHAYNEKFQGRATMTSDTSTS TVYMEMLSSRLSEDTAVYYCARDGYYRDTDVLWVGQGTL VTVSSGGGGSGGGGSGGGSDIQMTQSPSSLASVGDR VITCQASQDISNYLNWYQQKPGKAPKLLIYTSLHTGVP SRFSGSGSGTDDFTTISLEPEDIATYTCQGNTLPWTFGC GTKVEIKSGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGF TFNKYAMNWVRQAPGKLEWWVARIRSKYNNYATYYADS VKDRFTISRDDSNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNF GNSYISYWAYWGQGTLTVSSGGGGSGGGGGSGGGGSQ. TVVTQEPLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQ. KPGQAPRGLIGGKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTSGV QPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVLGGGGDKTH CPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD SHEDPEVKFNWVVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSV LTVLHQDWLNGKEYKKVSNKALPAPIEKTIKAKGQPRE PQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGGGSGGGGS GGGGSGGGGGGGSDKTHTCPCCPAPELLGGPSVFLFP PKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWVVDGVE VHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKALPAPIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGS FFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCVMHEALHNHYTQKSLS LSPGK
137	PM 76- B10.17 CC VH CDR1	인공	aa	DYYMY
138	PM 76- B10.17 CC VH CDR2	인공	aa	IISDAGYYTYSIDIKG
139	PM 76- B10.17 CC VH CDR3	인공	aa	GFPLLRHGAMDY
140	PM 76- B10.17 CC VL CDR1	인공	aa	KASQNVDANVA

[0499]

[0500]

				PKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVGVEVH NAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVS NKALPAPIEKTIKAKGQPREPQVVTLPSSREEMTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFF LYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLS PGK
148	PM 76- B10.17 CC x I2C0- scFc_delGK 이중특이적 HLE 분자	인공	aa	QVQLVESGGGLVKGESRLSCAASGFTFSDDYYMYWVRQ APGKCLEWVAIIISDAGYYTYYSDIIKGRFTISRDNAKNSLYL QMNSLKAEDTAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGTLVT SSGGGGSGGGGGGGSDIQMTQSPSSLASAVGDRVTIT CKASQNVDANVAWYQQKPGQAPKSLIYSASYVYWDVPS RFGSASGTDFTLISSVQSEDFAATYYCQQYDQQLITFGCG TKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTF NKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVK DRFTISRDDSNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGN SYISYWAYWGQGTLVTVSSGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGG TQEPLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQPKG QAPRGLIGGTFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPE DEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTAKLTVLGGGDKHTCPP CPAPELLGGPSVFLPPPKDFTLMSRTPEVTCVVVDVSH DPEVKFNWYVGVEVHNAAKTKPCEEQYGSTYRCVSVL LHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIKAKGQPREPQV YTLPPSREEMTKNQVSLCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTPPVLDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCS MHEALHNHYTQKSLSLSPGGGGGGGGGGGGGGGGGGGG GGGGGGGGGGSDKTHTCPGCPAPELLGGPSVFLPPPKD TLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVGVEVHN TKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KALPAPIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSL KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDGSFFLYSK LTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
149	PM 76- B10.17 CC x I2C0 CC (103/43)- scFc 이중특이적 분자	인공	aa	QVQLVESGGGLVKGESRLSCAASGFTFSDDYYMYWVRQ APGKCLEWVAIIISDAGYYTYYSDIIKGRFTISRDNAKNSLYL QMNSLKAEDTAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGTLVT SSGGGGSGGGGGGGSDIQMTQSPSSLASAVGDRVTIT CKASQNVDANVAWYQQKPGQAPKSLIYSASYVYWDVPS RFGSASGTDFTLISSVQSEDFAATYYCQQYDQQLITFGCG TKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTF NKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVK DRFTISRDDSNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGN SYISYWAYCGQGTLVTVSSGGGGGGGGGGGGGGGGGG TQEPLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQPKG QCPRGLIGGTFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPED EAEYYCVLWYSNRWVFGGGTAKLTVL

[0501]

150	PM 76-B10.17 CC x I2C0 CC (103/43)-scFc 이중특이적 HLE 분자	인공	aa	QVQLVESGGGLVKPGESRLSCAASGFTFSDDYYMYWVRQAPGKCLEWVAISDAGYTTYSIIKGRTFISRDNAKNSLYLQMNSLKAEDTAVVYCARGFPLLRHGAMDYWGOGTLTVSSGGGGSGGGGSIDIQMTQSPSSLASAVGDRVTITCKASQNVNDANVAWYQQKPGQAPKSLIYSASYVYWDVPSRFSGSASGTDFLTISVQSEDFAATYCOQYDQQLITFGCGTKLEIKSGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVVYCVRHGNFGNSYISYWAYCGQGTLTVSSGGGGSGGGGSQTVVTCQEPSLTVPSPGGTVTLTCGSSGAVTSGNYPNWVQQKPGQCPRGLIGGTFKFLAPGTPARFSGSLGGKAALTLSGVQPDEDAEYCYVLWYSNRWVFVGGGTKLTVLGGGDKTHTCPPEAPELGGPSVFLFPKPKDPEVFKFNWVYDGVEVHNACQDWLNKEYCKVSNKALPAPIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCVMHEALHNHTQKSLSPGK
151	PM 76-B10.17 CC x I2C0 CC (103/43)-scFc_delGK 이중특이적 HLE 분자	인공	aa	QVQLVESGGGLVKPGESRLSCAASGFTFSDDYYMYWVRQAPGKCLEWVAISDAGYTTYSIIKGRTFISRDNAKNSLYLQMNSLKAEDTAVVYCARGFPLLRHGAMDYWGOGTLTVSSGGGGSGGGGSIDIQMTQSPSSLASAVGDRVTITCKASQNVNDANVAWYQQKPGQAPKSLIYSASYVYWDVPSRFSGSASGTDFLTISVQSEDFAATYCOQYDQQLITFGCGTKLEIKSGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVVYCVRHGNFGNSYISYWAYCGQGTLTVSSGGGGSGGGGSQTVVTCQEPSLTVPSPGGTVTLTCGSSGAVTSGNYPNWVQQKPGQCPRGLIGGTFKFLAPGTPARFSGSLGGKAALTLSGVQPDEDAEYCYVLWYSNRWVFVGGGTKLTVLGGGDKTHTCPPEAPELGGPSVFLFPKPKDPEVFKFNWVYDGVEVHNACQDWLNKEYCKVSNKALPAPIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCVMHEALHNHTQKSLSPGK

[0502]

152	PM 76-B10.11 CC VH CDR1	인공	aa	DYYMY
153	PM 76-B10.11 CC VH CDR2	인공	aa	IISDGYYYTYSIDIKG
154	PM 76-B10.11 CC VH CDR3	인공	aa	GFPLLRHGAMDY
155	PM 76-B10.11 CC VL CDR1	인공	aa	KASQNVDTNVA
156	PM 76-B10.11 CC VL CDR2	인공	aa	SASYVYW
157	PM 76-B10.11 CC VL CDR3	인공	aa	QQYDQQLIT
158	PM 76-B10.11 CC VH	인공	aa	QVQLVESGGGLVKPGESRLSCAASGFTFSDDYYMYWVRQ APGKGLEWVAIISDGYYYTYSIDIIGRFTISRDNAKNSLYL QMNSLKAEDTAVYYCARGFPLRHGAMDYWGQGTLTV SS
159	PM 76-B10.11 CC VL	인공	aa	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTTICKASQNVDTNVAWYQQK PGQAPKSLIYSASYVYWDVPSRFSGSASGTDFTLTSSVQS EDFATYCCQYDQQLITFGGTKEIK
160	PM 76-B10.11 CC scFv	인공	aa	QVQLVESGGGLVKPGESRLSCAASGFTFSDDYYMYWVRQ APGKGLEWVAIISDGYYYTYSIDIIGRFTISRDNAKNSLYL QMNSLKAEDTAVYYCARGFPLRHGAMDYWGQGTLTV SS GGGGGSGGGGSDDIQMTQSPSSLSASVGDRVTT CKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPKSLIYSASYVYWDVPS RFSGSASGTDFTLTSSVQSEDFAVYCCQYDQQLITFGG TKLEIK
161	PM 76-B10.11 CC x I2C0 이중특이적 분자	인공	aa	QVQLVESGGGLVKPGESRLSCAASGFTFSDDYYMYWVRQ APGKGLEWVAIISDGYYYTYSIDIIGRFTISRDNAKNSLYL QMNSLKAEDTAVYYCARGFPLRHGAMDYWGQGTLTV SS GGGGGSGGGGSDDIQMTQSPSSLSASVGDRVTT CKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPKSLIYSASYVYWDVPS RFSGSASGTDFTLTSSVQSEDFAVYCCQYDQQLITFGG TKLEIK SGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTF NKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVK DRFTISRDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGN SYISYWAYWGQGTLTVSSGGGGSGGGSGGGSGQTVV TQEPLSTVSPGGTVTLTCGSSSTGAVTSGNYPNWVQQKPG QAPRGLIGGTFLAPGTPARFSGSLLGKAALTLSGVPE DEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL

[0503]

162	PM 76-B10.11 CC x I2CO-scFc 이중특이적 HLE 분자	인공	aa	QVQLVESGGGLVKPGESRLRSLCAASGFTFSDDYYMYWVRQAPGKGLEWVAIISDGGYYTYSIDIIGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLKAEDTAVVYCCARGFPLLRHGMADYWGQGTLVTSGGGGSGGGGGGGSDIQMTQSPSSLASVGDRVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPKSLIYSASYWVWDVPsRFGSASGTDFTLTISVQSEDFATYQCYQDQQLITFGGTTKLEIKSGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSNTAYLQMNLLKTEDTAVYCVRHGNFGNSYISWAYWGQGTIVTSSGGGGSGGGGGSGGGSQTVTTQEPLTVPSPGGTVTLTCGSSTGAUTSGNYPNVWQQKPGQAPRGLIGGTFKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTSVGQPEDEAEYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVLGGGGDKTHTCPCPAPELLGGPSVFLFPKPDKTLMSRTPEVTCVVVDVSHEDEVFKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSNYKTPREEMTKNQVSLTCLVKGFPYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSVMEALHNHYTQKSLSLSPKG.
163	PM 76-B10.11 CC x I2CO-scFc_delGK 이중특이적 HLE 분자	인공	aa	QVQLVESGGGLVKPGESRLRSLCAASGFTFSDDYYMYWVRQAPGKGLEWVAIISDGGYYTYSIDIIGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLKAEDTAVVYCCARGFPLLRHGMADYWGQGTLVTSGGGGSGGGGGGGSDIQMTQSPSSLASVGDRVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPKSLIYSASYWVWDVPsRFGSASGTDFTLTISVQSEDFATYQCYQDQQLITFGGTTKLEIKSGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSNTAYLQMNLLKTEDTAVYCVRHGNFGNSYISWAYWGQGTIVTSSGGGGSGGGGGSGGGSQTVTTQEPLTVPSPGGTVTLTCGSSTGAUTSGNYPNVWQQKPGQAPRGLIGGTFKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTSVGQPEDEAEYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVLGGGGDKTHTCPCPAPELLGGPSVFLFPKPDKTLMSRTPEVTCVVVDVSHEDEVFKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSNYKTPREEMTKNQVSLTCLVKGFPYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSVMEALHNHYTQKSLSLSPKG.

[0504]

[0505]

				LPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPEN NYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVM HEALHNHYTQKSLSPGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGG GGGGGGGGSDKTHTCPCPAPELLGGPSVFLFPKPDKTL MISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTK PCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVK GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSPKG
167	PM 76- B10.11 CC x I2C0-scFc VH CDR1	인공	aa	DYYMY
168	PM 76- B10.11 CC x I2C0-scFc VH CDR2	인공	aa	IISDGYYYTYYSIIKG
169	PM 76- B10.11 CC x I2C0-scFc VH CDR3	인공	aa	GFPLLRHGAMDY
170	PM 76- B10.11 CC x I2C0-scFc VL CDR1	인공	aa	KASQNVDTNVA
171	PM 76- B10.11 CC x I2C0-scFc VL CDR2	인공	aa	SASYVYW
172	PM 76- B10.11 CC x I2C0-scFc VL CDR3	인공	aa	QQYDQQQLIT
173	PM 76- B10.11 CC x I2C0-scFc VH	인공	aa	QVQLVESGGGLVKGESLRLSCAASGFTFSFYMYWVRQ APGKCLEWVAIISDGYYTYYSIIKGRTFISRDNAKNSLYL QMNSLKAEDTAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGTLVTV SS

[0506]

[0507]

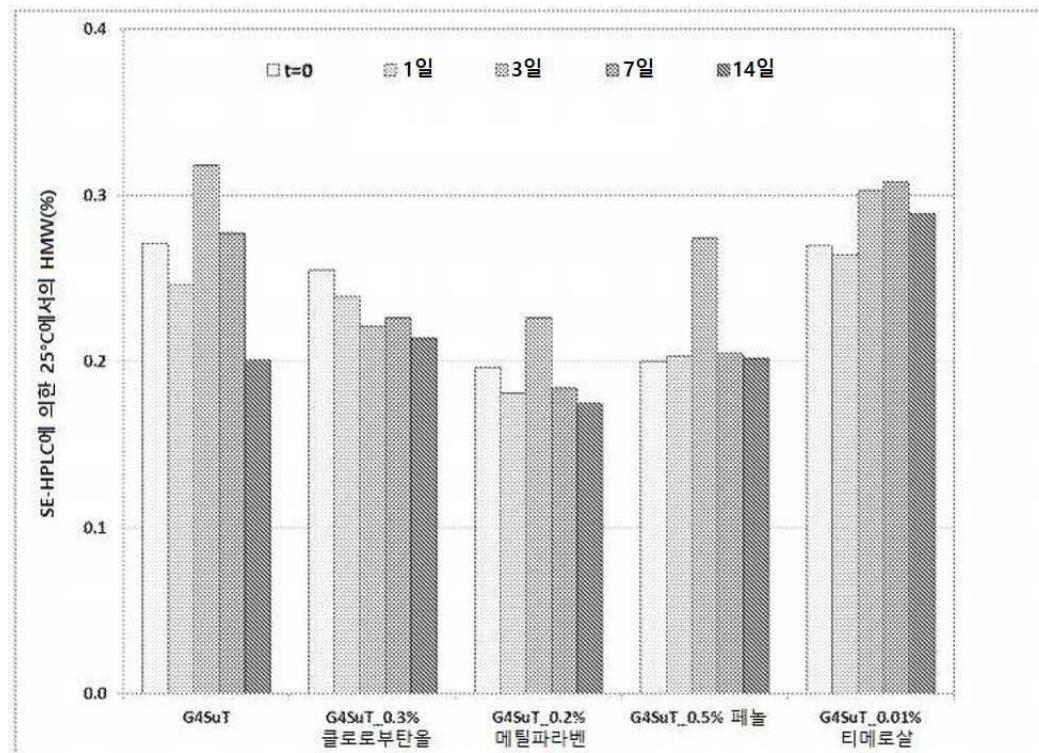
[0508]

				LPPSREEMTKNQVS廖CLVKGFYPSDIAVEWESNGOPEN NYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV HEALHNHYTQKSLSLSPGKGCGGGSGGGGGGGGGGGGG SGGGGSGGGGSKDTHCPCPAPELLGGPSVFLFPKPKD TLMisRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVGVEVHNAK TKPCEEQYGSTYRCVS廖LVLHQDWLNGKEYCKVSNKAL APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVS廖CLVK KGFYPSDIAVEWESNGOPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSK LTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK
181	PM 76- B10.11 CC x I2C0 CC (103/43)- scFc_delGK 이중특이적 HLE 분자	인공	aa	QVQLVESGGGLVKGPGESLRLSCAASGFTFSYYMYWVRQ APGKCLEWVAISDGYYTYYSDIKGRFTISRDNAKNSLYL QMNSLKAEDTAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGTLVTV SSGGGGSGGGGGGGGGSDIQMTQSPSSLASVGDRVTTIT CKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPKSLIYSASVYVWDVPS RFSGSASGTDFTLTISSVQSEDFAFYCCQYDQQLITFGCG TKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTF NKYAMNWVRQAPGKGLEWVARISKYNNYATYADSVK DRFTISRDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGN SYISYWAYCGQGTLTVSSGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGG TQEPSTLWSPGGTVTLTCGSGTAVTSGNYPNWVQQKPG QCPRGLIGGTFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPED EAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVLGGGGDKTHCPCP APELGGPSVFLFPKPKDLMisRTPEVTCVVVDVSHEDP EVKFNWYVGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVS廖LVLH QDWLNGKEYCKVSNKALAPIEKTISKAKGQPREPQVYT LPPSREEMTKNQVS廖CLVKGFYPSDIAVEWESNGOPEN NYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV HEALHNHYTQKSLSLSPGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGG GGGGGGGGSDKTHCPCPAPELLGGPSVFLFPKPDTL MisRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVGVEVHNAKTK PCEEQYGSTYRCVS廖LVLHQDWLNGKEYCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVS廖CLVK GFYPSDIAVEWESNGOPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK

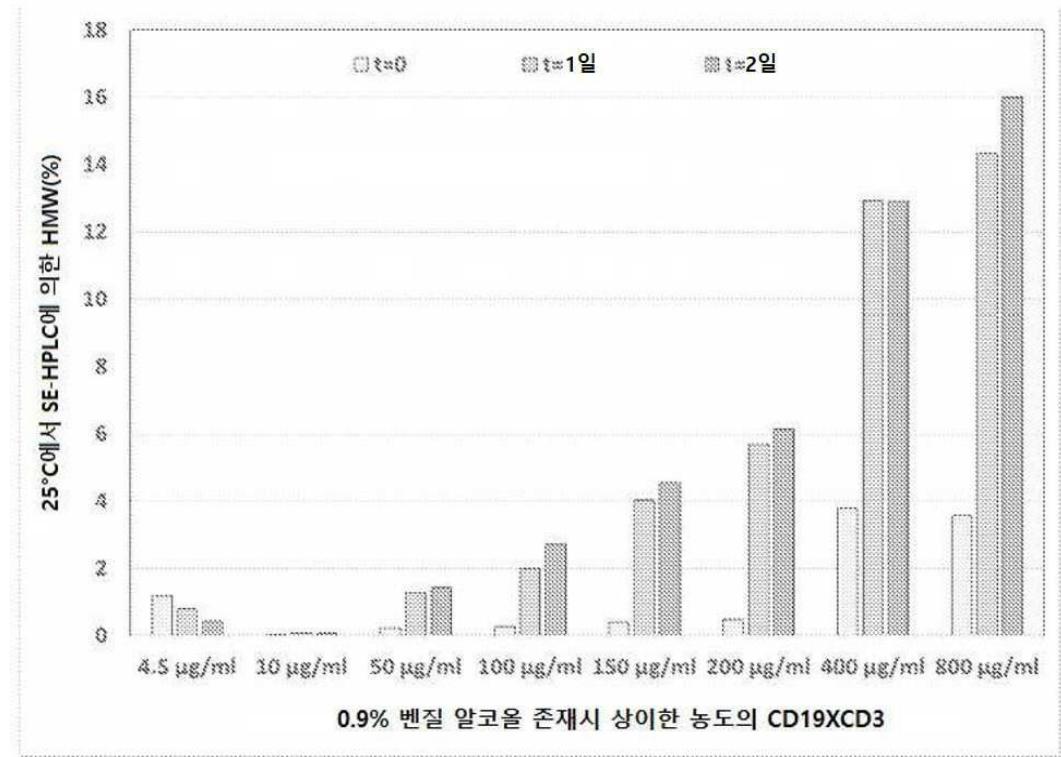
[0509]

## 도면

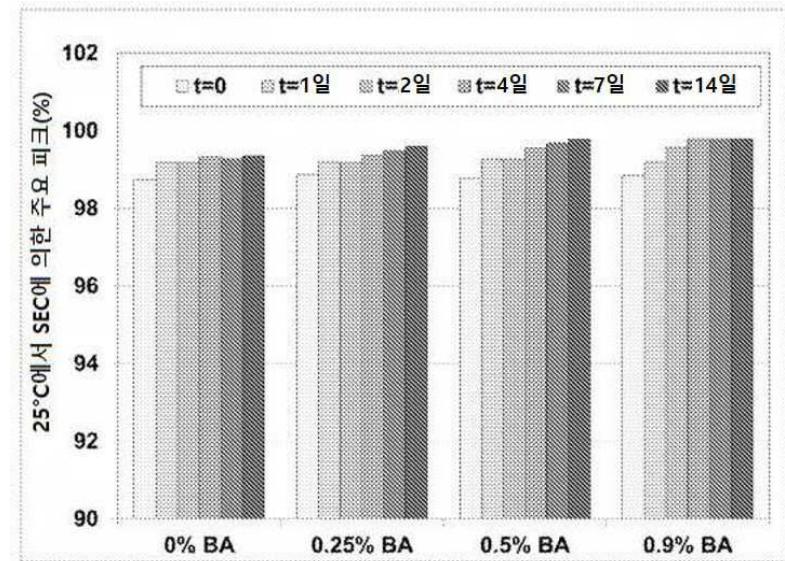
### 도면1



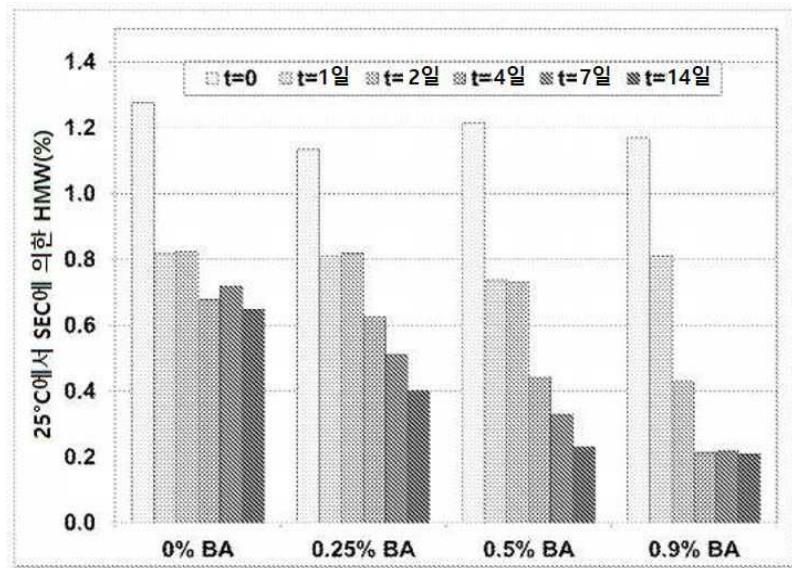
## 도면2



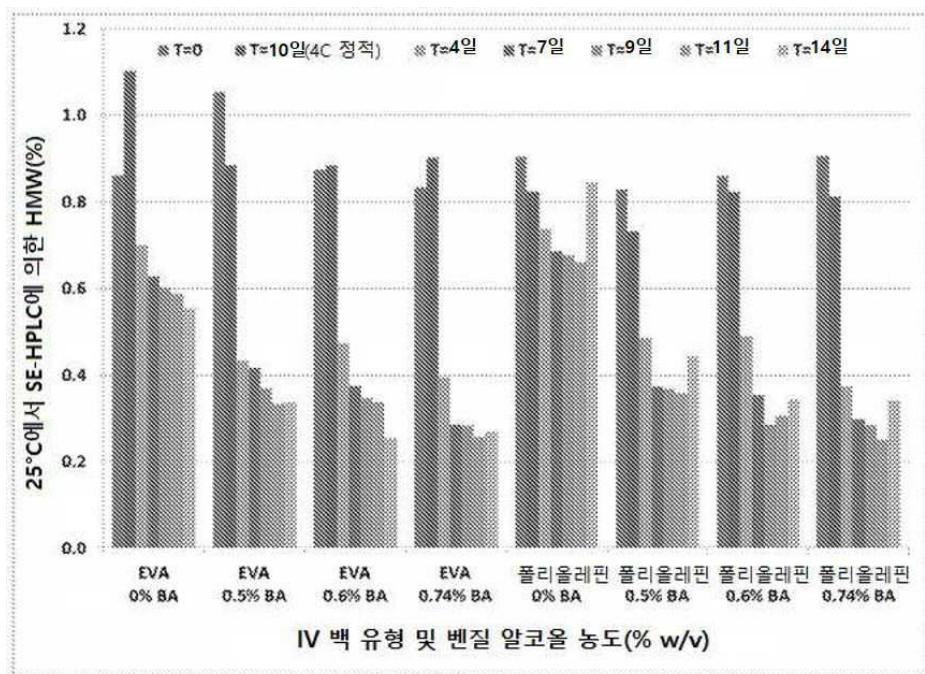
## 도면3a



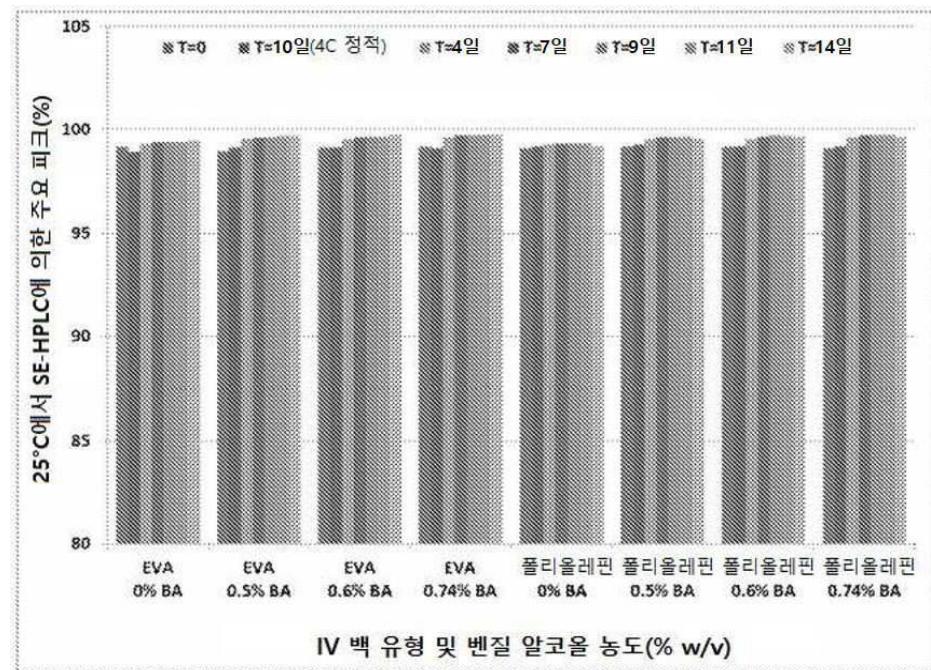
도면3b



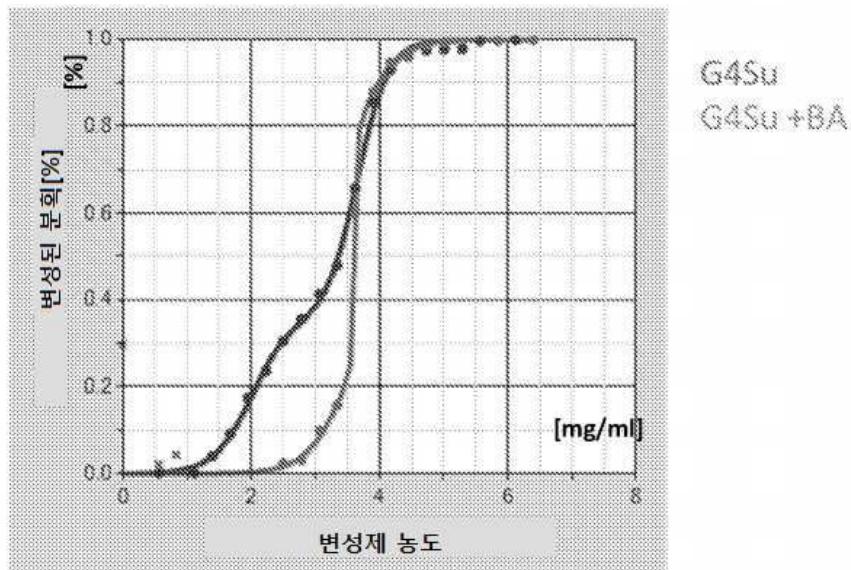
도면3c



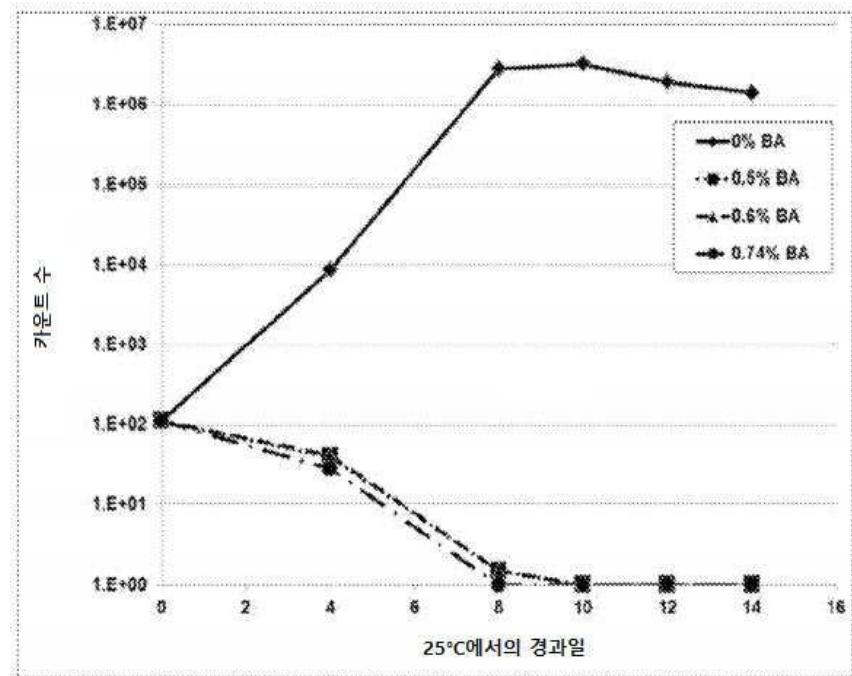
## 도면3d



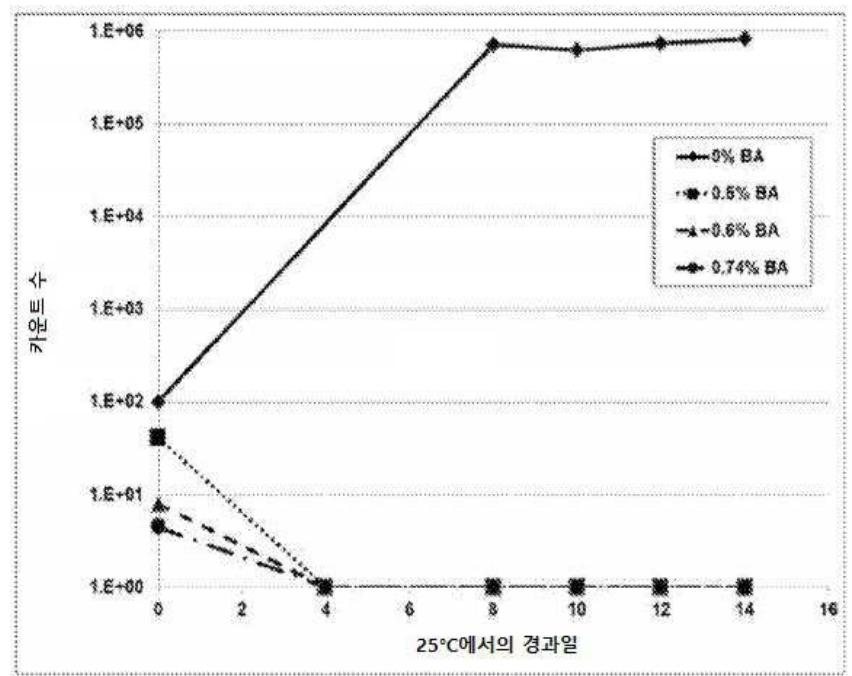
## 도면4



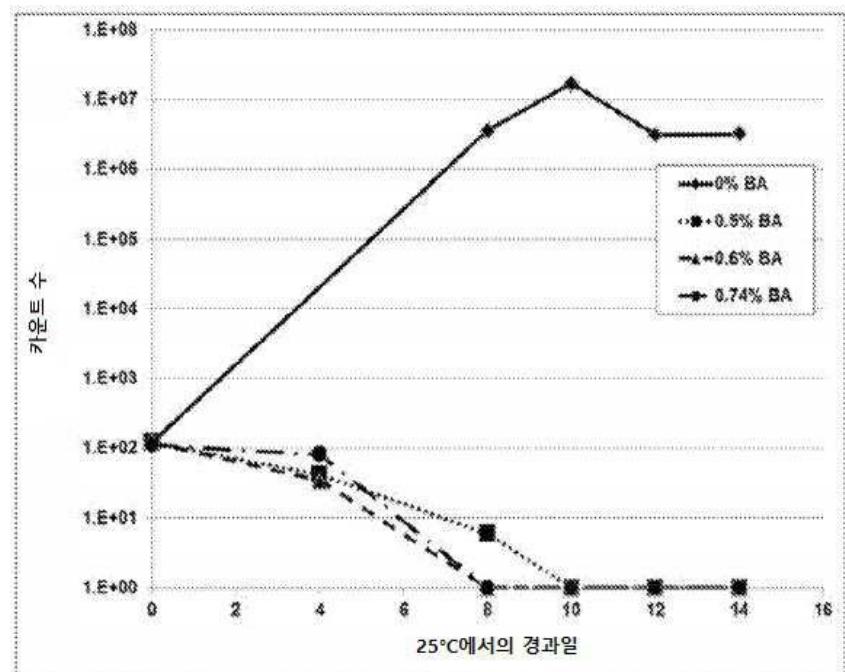
도면5a



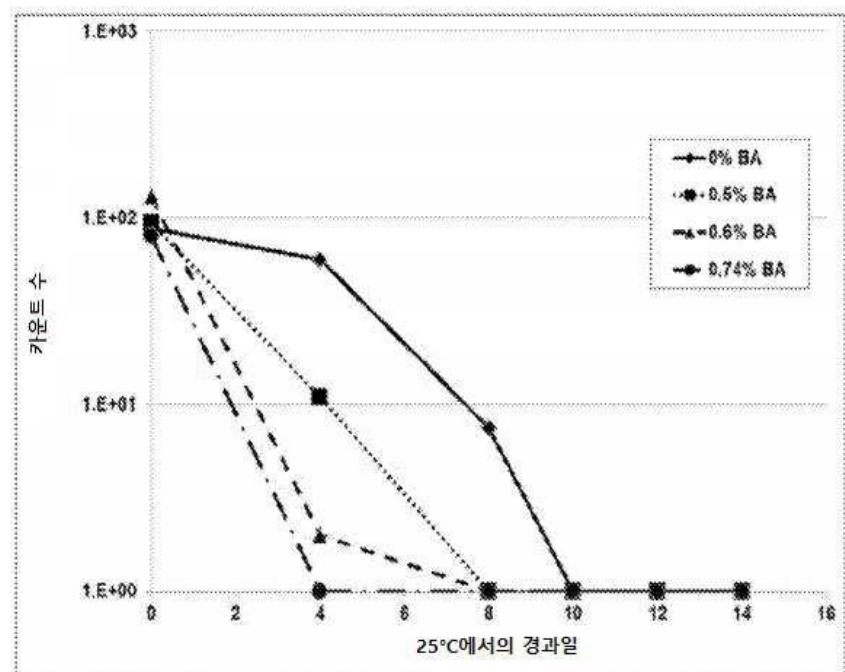
도면5b



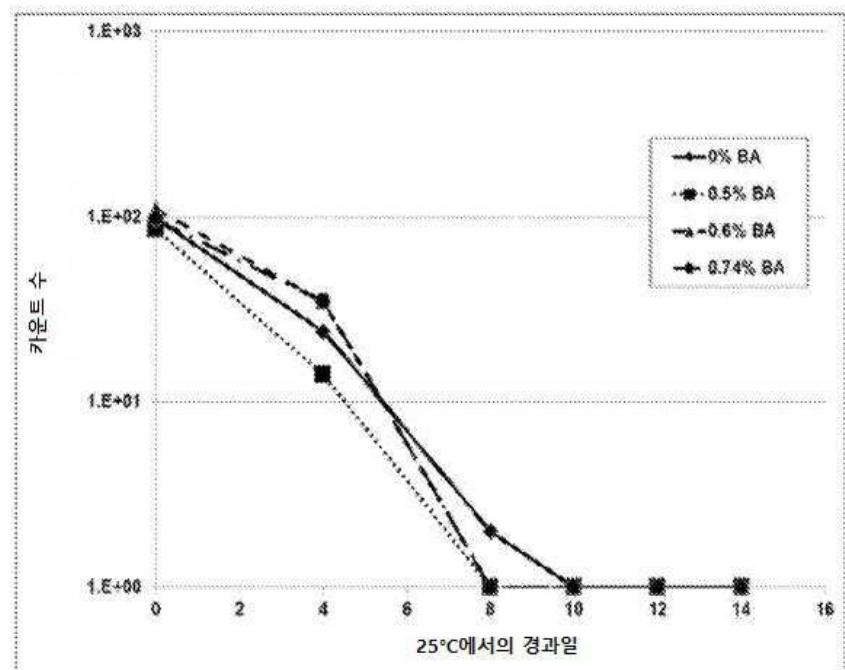
도면5c



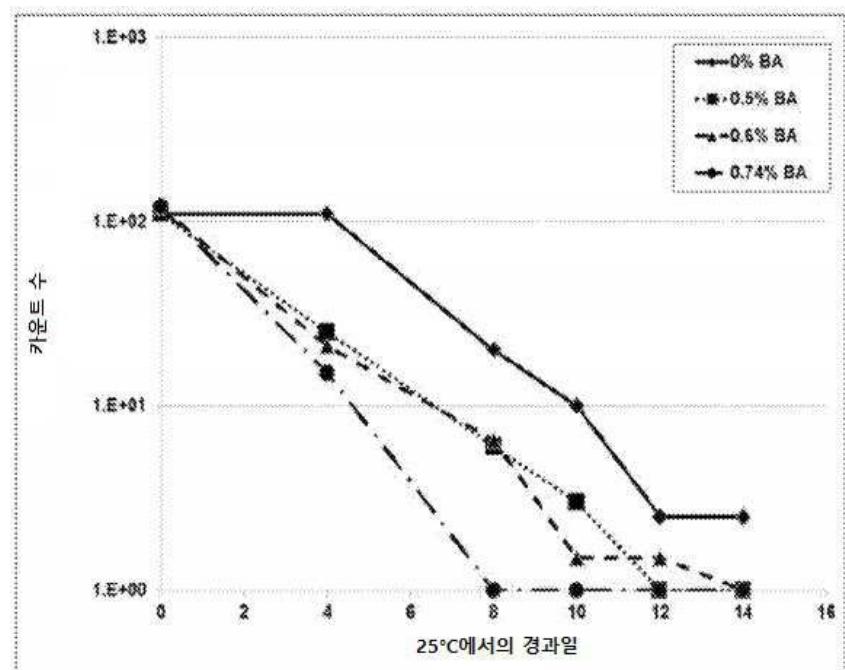
도면5d



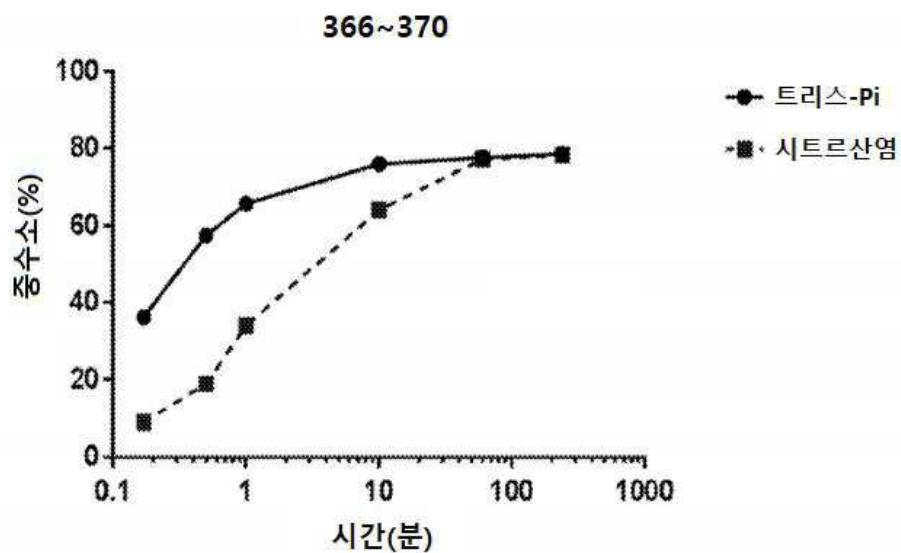
도면5e



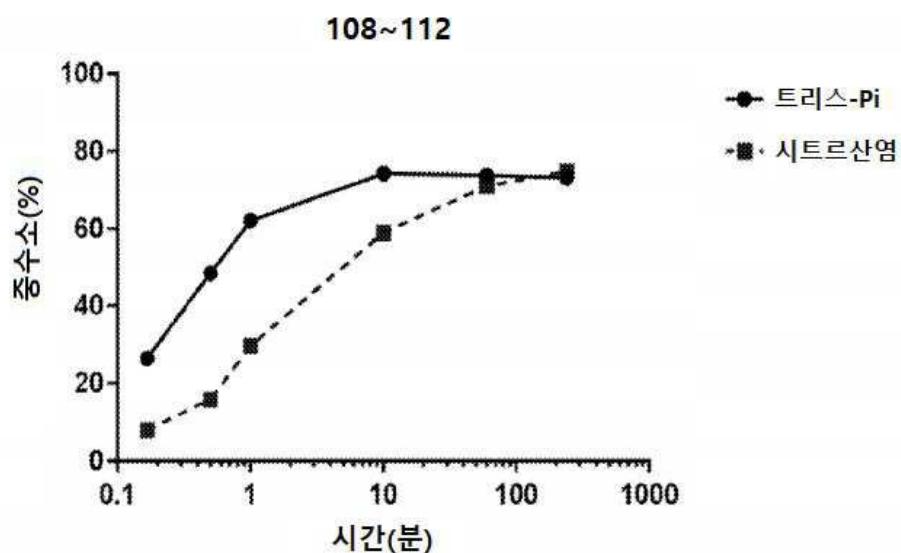
도면5f



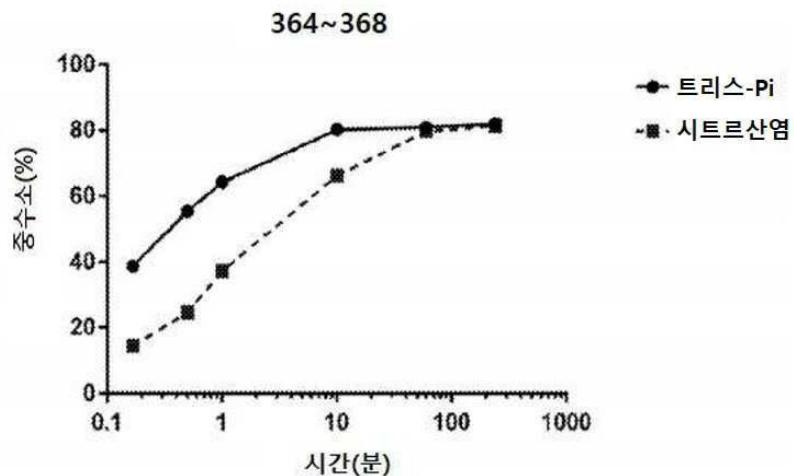
도면6a



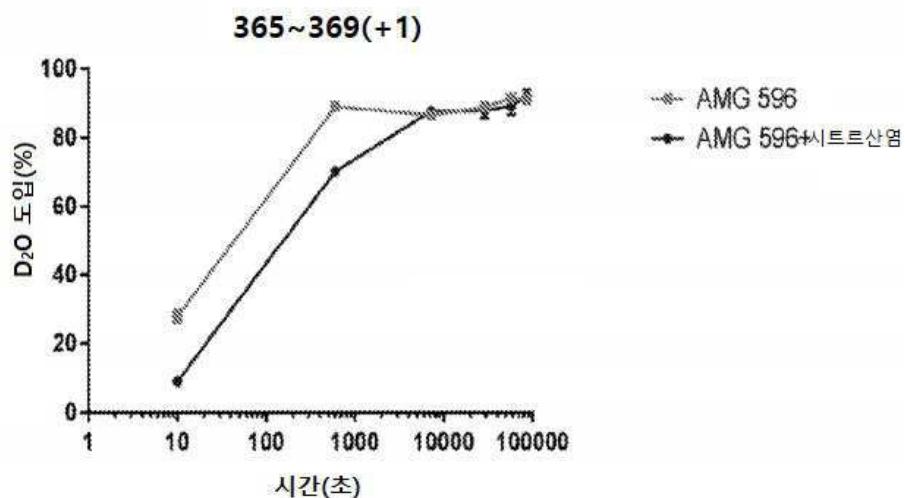
도면6b



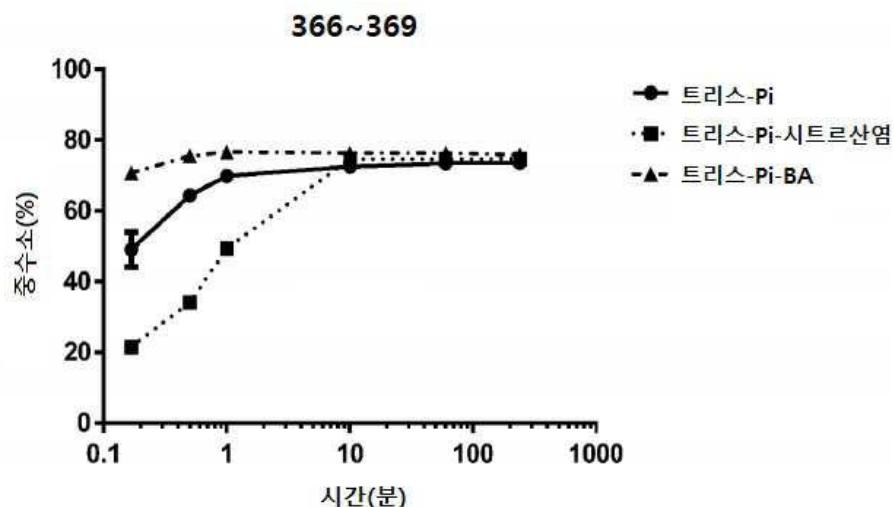
도면6c



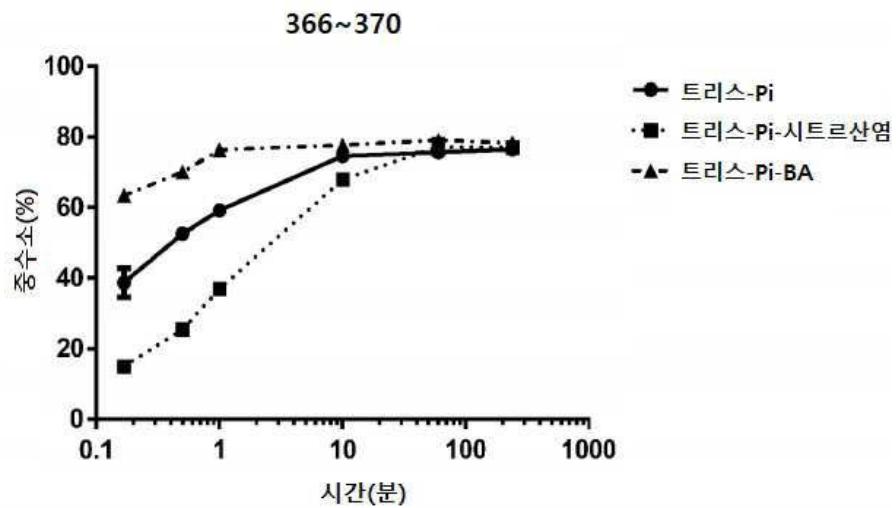
도면6d



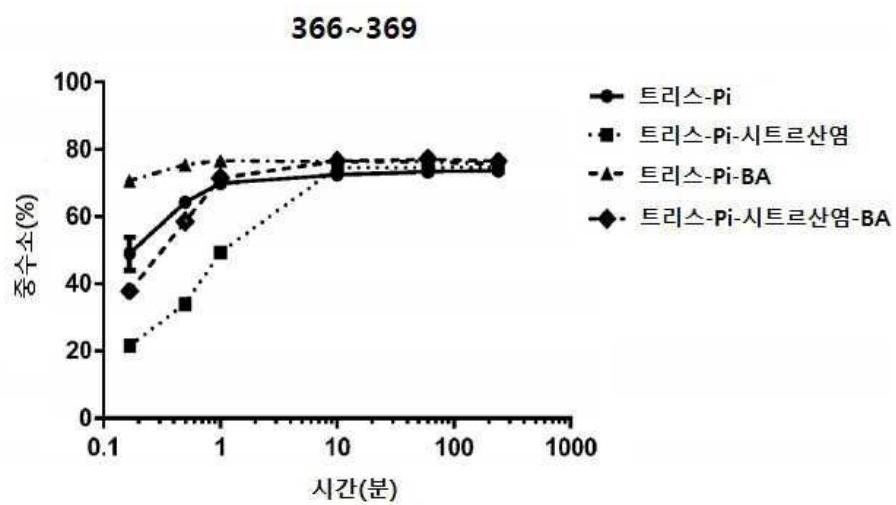
도면6e



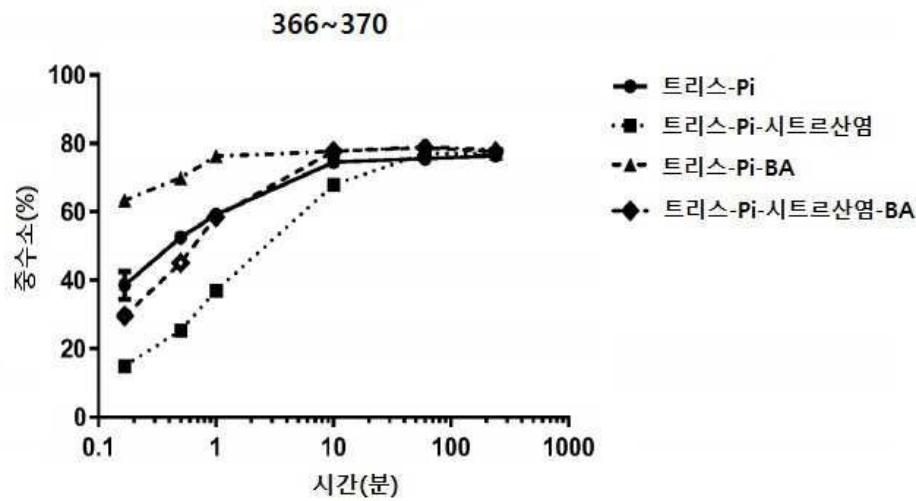
도면6f



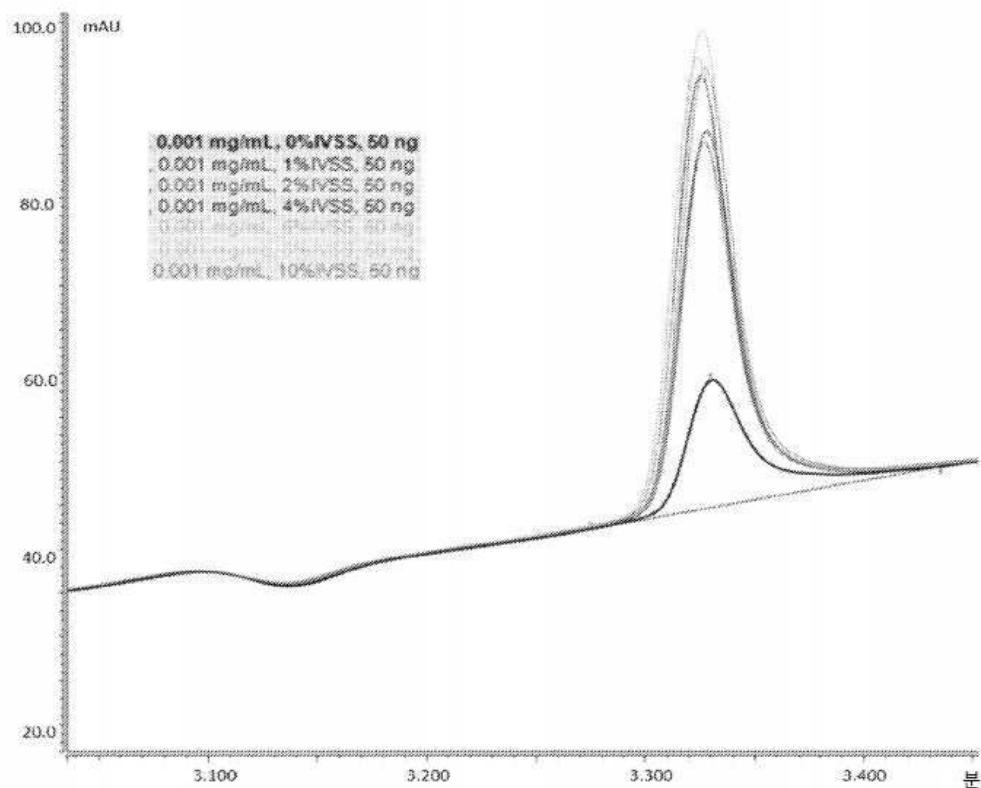
도면6g



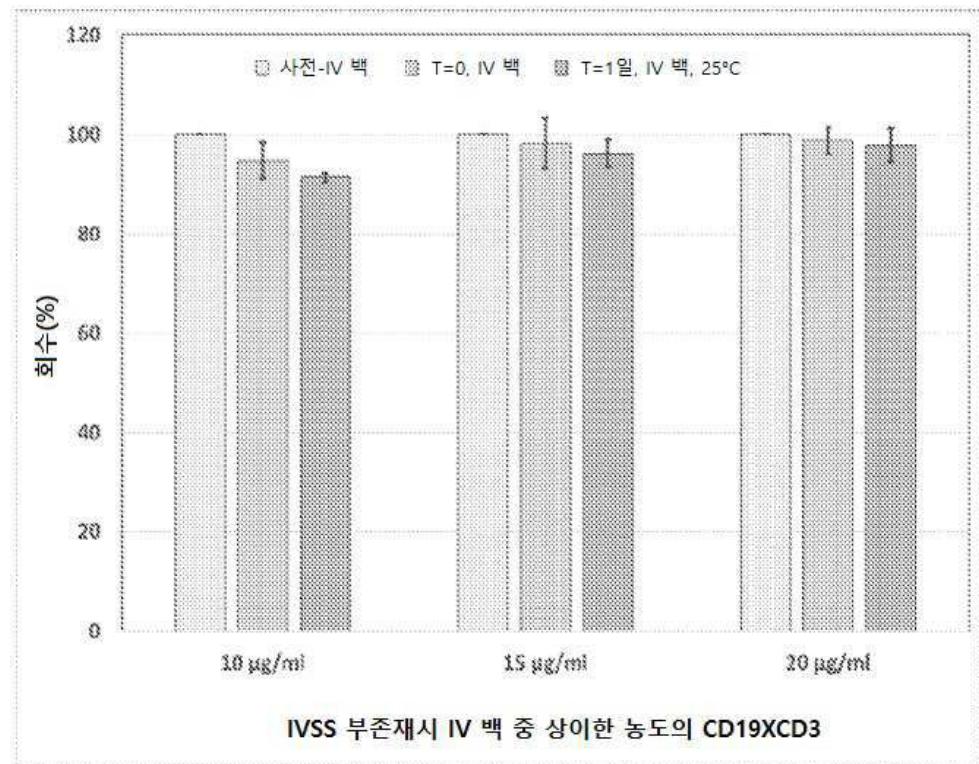
## 도면6h



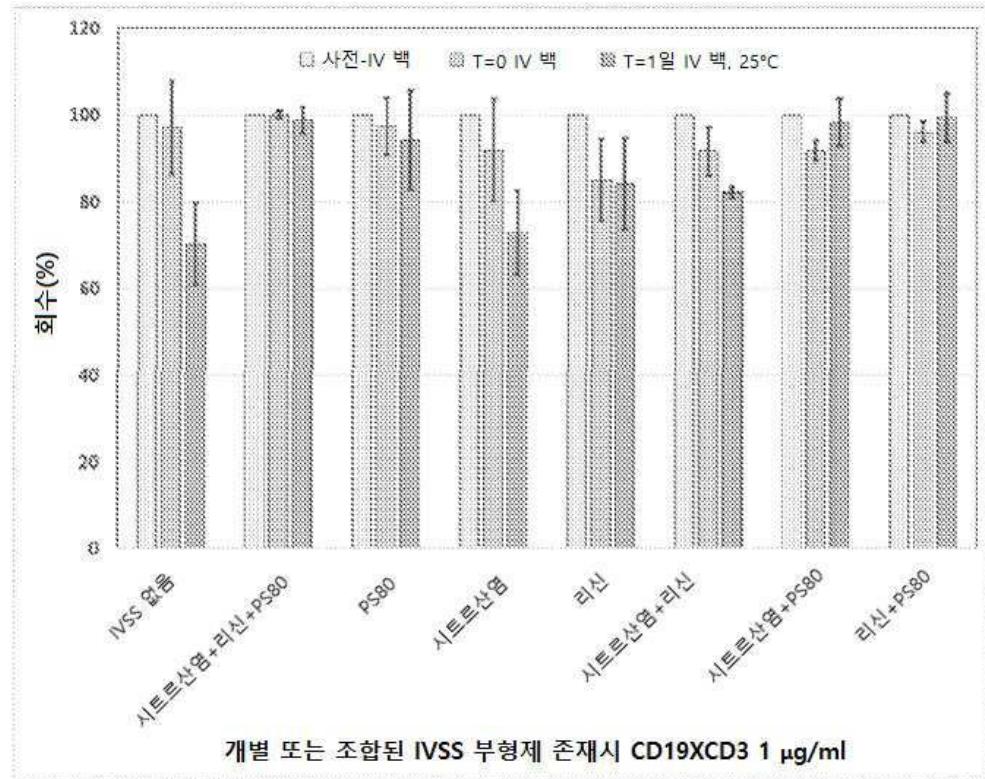
## 도면7



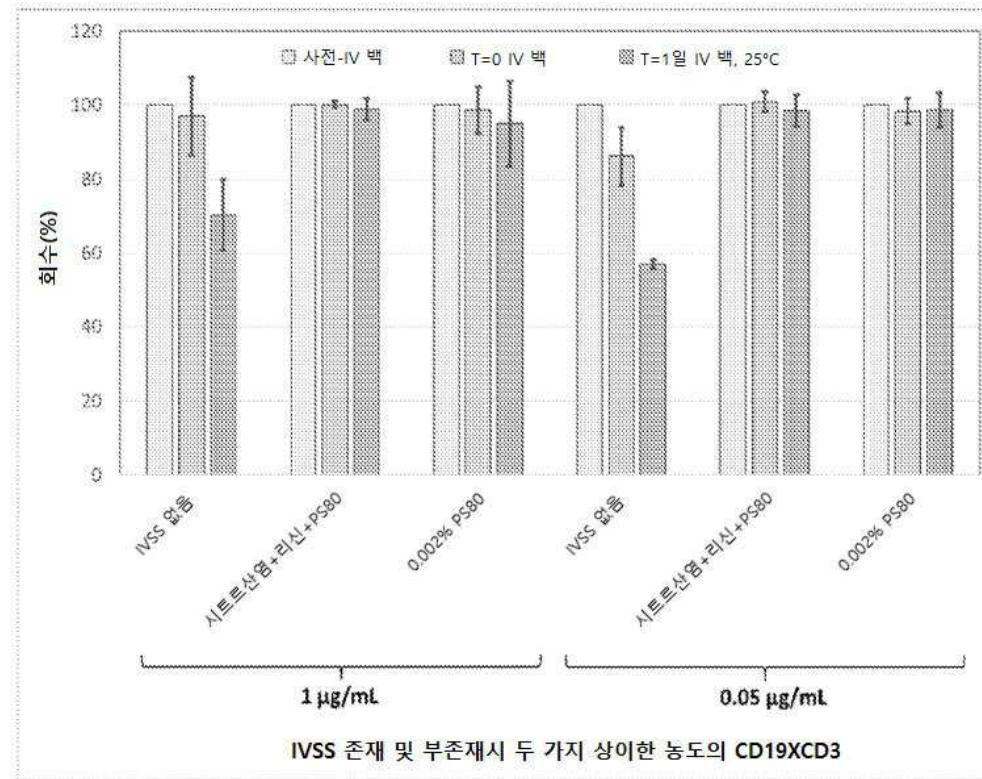
도면8a



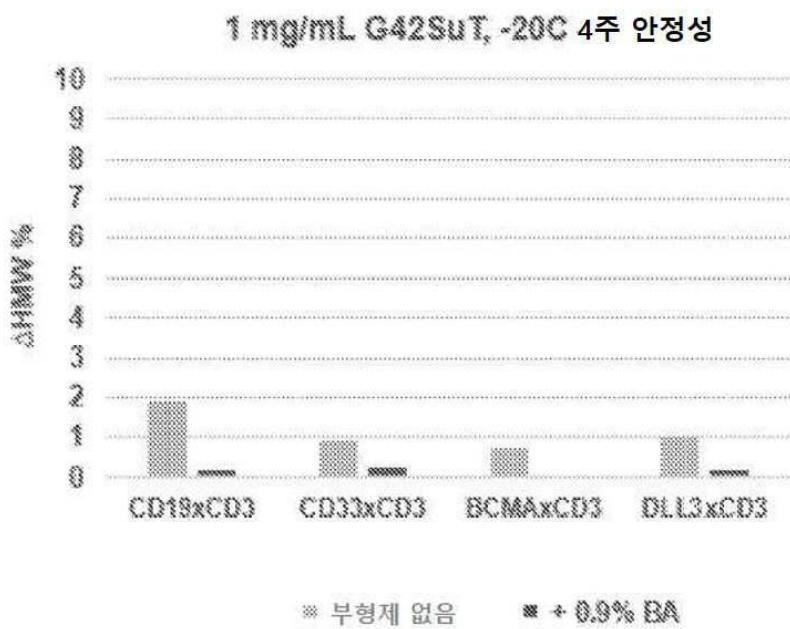
도면8b



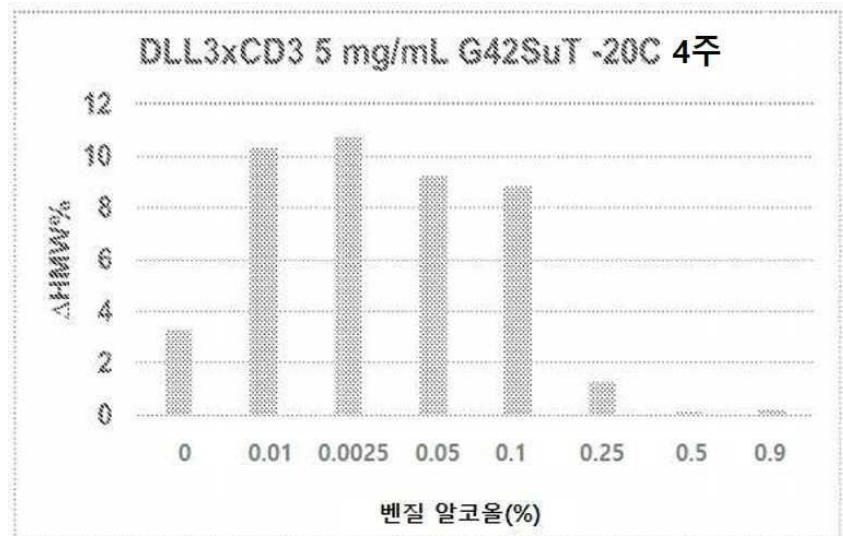
## 도면8c



## 도면9



## 도면10



## 서열목록

SEQUENCE LISTING

&lt;110&gt; AMGEN Inc.

&lt;120&gt; PHARMACEUTICAL COMPOSITION COMPRISING BISPECIFIC ANTIBODY CONSTRUCTS FOR IMPROVED STORAGE AND ADMINISTRATION

&lt;130&gt; IPA191335-US

&lt;150&gt; US 62/502,578

&lt;151&gt; 2017-05-05

&lt;160&gt; 181

&lt;170&gt; PatentIn version 3.5

&lt;210&gt; 1

&lt;211&gt; 15

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;&lt;223&gt; Synthetic Polypeptide

&lt;220&gt;&lt;221&gt; MISC\_FEATURE

&lt;223&gt; CD19 VL CDR1

&lt;400&gt; 1

Lys Ala Ser Gln Ser Val Asp Tyr Asp Gly Asp Ser Tyr Leu Asn

1 5 10 15

&lt;210&gt; 2

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<220><221> MISC\_FEATURE

<223> CD19 VL CDR2

<400> 2

Asp Ala Ser Asn Leu Val Ser

1 5

<210> 3

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<220><221> MISC\_FEATURE

<223> CD19 VL CDR3

<400> 3

Gln Gln Ser Thr Glu Asp Pro Trp Thr

1 5

<210> 4

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<220><221> MISC\_FEATURE

<223> CD19 VH CDR1

<400> 4

Ser Tyr Trp Met Asn

1 5

<210> 5

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

&lt;220&gt;&lt;221&gt; MISC\_FEATURE

&lt;223&gt; CD19 VH CDR2

&lt;400&gt; 5

Gln Ile Trp Pro Gly Asp Gly Asp Thr Asn Tyr Asn Gly Lys Phe Lys

1 5 10 15

Gly

&lt;210&gt; 6

&lt;211&gt; 15

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;&lt;223&gt; Synthetic Polypeptide

&lt;220&gt;&lt;221&gt; MISC\_FEATURE

&lt;223&gt; CD19 VH CDR3

&lt;400&gt; 6

Arg Glu Thr Thr Thr Val Gly Arg Tyr Tyr Tyr Ala Met Asp Tyr

1 5 10 15

&lt;210&gt; 7

&lt;211&gt; 111

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;&lt;223&gt; Synthetic Polypeptide

&lt;220&gt;&lt;221&gt; MISC\_FEATURE

&lt;223&gt; CD19 VL

&lt;400&gt; 7

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Gly Asp Ser Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Ile Pro Gly Gln Pro Pro

35 40 45

Lys Leu Leu Ile Tyr Asp Ala Ser Asn Leu Val Ser Gly Ile Pro Pro

50 55 60

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Asn Ile His  
 65 70 75 80  
 Pro Val Glu Lys Val Asp Ala Ala Thr Tyr His Cys Gln Gln Ser Thr

85 90 95  
 Glu Asp Pro Trp Thr Phe Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys  
 100 105 110

&lt;210&gt; 8

&lt;211&gt; 124

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;&lt;223&gt; Synthetic Polypeptide

&lt;220&gt;&lt;221&gt; MISC\_FEATURE

&lt;223&gt; CD19 VH

&lt;400&gt; 8

Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Val Arg Pro Gly Ser  
 1 5 10 15  
 Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ala Phe Ser Ser Tyr

20 25 30  
 Trp Met Asn Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile  
 35 40 45  
 Gly Gln Ile Trp Pro Gly Asp Gly Asp Thr Asn Tyr Asn Gly Lys Phe  
 50 55 60  
 Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Glu Ser Ser Ser Thr Ala Tyr  
 65 70 75 80  
 Met Gln Leu Ser Ser Leu Ala Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys

85 90 95  
 Ala Arg Arg Glu Thr Thr Val Gly Arg Tyr Tyr Tyr Ala Met Asp  
 100 105 110  
 Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser

&lt;210&gt; 9

&lt;211&gt; 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<220><221> MISC\_FEATURE

<223> CD3 VH CDR1

<400> 9

Arg Tyr Thr Met His

1 5

<210> 10

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<220><221> MISC\_FEATURE

<223> CD3 VL CDR2

<400> 10

Tyr Ile Asn Pro Ser Arg Gly Tyr Thr Asn Tyr Asn Gln Lys Phe Lys

1 5 10 15

Asp

<210> 11

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<220><221> MISC\_FEATURE

<223> CD3 VH CDR3

<400> 11

Tyr Tyr Asp Asp His Tyr Cys Leu Asp Tyr

1 5 10

<210> 12

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<220><221> MISC\_FEATURE

<223> CD3 VL CDR1

<400> 12

Arg Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met Asn

1 5 10

<210> 13

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<220><221> MISC\_FEATURE

<223> CD3 VL CDR2

<400> 13

Asp Thr Ser Lys Val Ala Ser

1 5

<210> 14

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<220><221> MISC\_FEATURE

<223> CD3 VL CDR3

<400> 14

Gln Gln Trp Ser Ser Asn Pro Leu Thr

1 5

<210> 15

<211> 119

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<220><221> MISC\_FEATURE

<223> CD3 VH

&lt;400&gt; 15

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Gly Tyr Ile Asn Pro Ser Arg Gly Tyr Thr Asn Tyr Asn Gln Lys Phe

50 55 60

Lys Asp Lys Ala Thr Leu Thr Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80

Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Tyr Tyr Asp Asp His Tyr Cys Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly

100 105 110

Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser

115

&lt;210&gt; 16

&lt;211&gt; 108

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;&lt;223&gt; Synthetic Polypeptide

&lt;220&gt;&lt;221&gt; MISC\_FEATURE

&lt;223&gt; CD3 VL

&lt;400&gt; 16

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

1 5 10 15

Pro Gly Glu Lys Val Thr Met Thr Cys Arg Ala Ser Ser Ser Val Ser

20 25 30

Tyr Met Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Ser Gly Thr Ser Pro Lys Arg Trp

35 40 45

Ile Tyr Asp Thr Ser Lys Val Ala Ser Gly Val Pro Tyr Arg Phe Ser

50                    55                    60  
 Gly Ser Gly Ser Gly Thr Ser Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Ser Met Glu  
 65                    70                    75                    80

Ala Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Ser Ser Asn Pro  
 85                    90                    95  
 Leu Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys  
 100                    105

&lt;210&gt; 17

&lt;211&gt; 504

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;&lt;223&gt; Synthetic Polypeptide

&lt;220&gt;&lt;221&gt; MISC\_FEATURE

&lt;223&gt; CD19xCD3 scFv BLINCYTO incl linker and his-tag

&lt;400&gt; 17

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

Gln Arg Ala Thr Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gln Ser Val Asp Tyr Asp  
 20                    25                    30

Gly Asp Ser Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Ile Pro Gly Gln Pro Pro  
 35                    40                    45

Lys Leu Leu Ile Tyr Asp Ala Ser Asn Leu Val Ser Gly Ile Pro Pro  
 50                    55                    60

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

Pro Val Glu Lys Val Asp Ala Ala Thr Tyr His Cys Gln Gln Ser Thr  
 85                    90                    95

Glu Asp Pro Trp Thr Phe Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Gly  
 100                    105                    110

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Ser Gln Val  
 115                    120                    125

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

130	135	140
Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ala Phe Ser Ser Tyr Trp Met		
145	150	155
Asn Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile Gly Gln		160
165	170	175
Ile Trp Pro Gly Asp Gly Asp Thr Asn Tyr Asn Gly Lys Phe Lys Gly		
180	185	190
Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Glu Ser Ser Ser Thr Ala Tyr Met Gln		
195	200	205
Leu Ser Ser Leu Ala Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys Ala Arg		
210	215	220
Arg Glu Thr Thr Thr Val Gly Arg Tyr Tyr Tyr Ala Met Asp Tyr Trp		
225	230	235
Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Ser Asp		240
245	250	255
Ile Lys Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Ala Arg Pro Gly Ala Ser		
260	265	270
Val Lys Met Ser Cys Lys Thr Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Arg Tyr Thr		
275	280	285
Met His Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile Gly		
290	295	300
Tyr Ile Asn Pro Ser Arg Gly Tyr Thr Asn Tyr Asn Gln Lys Phe Lys		
305	310	315
Asp Lys Ala Thr Leu Thr Thr Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr Met		320
325	330	335
Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys Ala		
340	345	350
Arg Tyr Tyr Asp Asp His Tyr Cys Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr		
355	360	365
Thr Leu Thr Val Ser Ser Val Glu Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly		
370	375	380

Ser Gly Gly Ser Gly Gly Val Asp Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro  
 385                    390                    395                    400

Ala Ile Met Ser Ala Ser Pro Gly Glu Lys Val Thr Met Thr Cys Arg  
 405                    410                    415

Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Ser Gly  
 420                    425                    430

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

Val Pro Tyr Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Ser Tyr Ser Leu  
 450                    455                    460

Thr Ile Ser Ser Met Glu Ala Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln  
 465                    470                    475                    480

Gln Trp Ser Ser Asn Pro Leu Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu  
 485                    490                    495

Leu Lys His His His His His

500

<210> 18

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<220><221> MISC\_FEATURE

<223> CDR-L1 I2C

<400> 18

Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Ser Gly Asn Tyr Pro Asn

1                    5                    10

<210> 19

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<220><221> MISC\_FEATURE

<223> CDR-L2 I2C

<400> 19

Gly Thr Lys Phe Leu Ala Pro

1 5

<210> 20

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<220><221> MISC\_FEATURE

<223> CDR-L3 I2C

<400> 20

Val Leu Trp Tyr Ser Asn Arg Trp Val

1 5

<210> 21

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<220><221> MISC\_FEATURE

<223> CDR-H1 I2C

<400> 21

Lys Tyr Ala Met Asn

1 5

<210> 22

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<220><221> MISC\_FEATURE

<223> CDR-H2 I2C

<400> 22

Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser

1 5 10 15

Val Lys Asp

<210> 23

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<220><221> MISC\_FEATURE

<223> CDR-H3 I2C

<400> 23

His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Ile Ser Tyr Trp Ala Tyr

1	5	10
---	---	----

<210> 24

<211> 125

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<220><221> MISC\_FEATURE

<223> VH I2C

<400> 24

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

1	5	10	15
---	---	----	----

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

20	25	30
----	----	----

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

35	40	45
----	----	----

Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp

50	55	60
----	----	----

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

65	70	75	80
----	----	----	----

Ala Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr

85	90	95
----	----	----

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Ile Ser Tyr Trp

100 105 110

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

115 120 125

<210> 25

<211> 109

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Polypeptide

<220><221> MISC\_FEATURE

<223> VL I2C

<400> 25

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

1 5 10 15

Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Ser Gly

20 25 30

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

35 40 45

Leu Ile Gly Gly Thr Lys Phe Leu Ala Pro Gly Thr Pro Ala Arg Phe

50 55 60

Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Val

65 70 75 80

Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Val Leu Trp Tyr Ser Asn

85 90 95

Arg Trp Val Phe Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu

100 105

<210> 26

<211> 249

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

><223> Synthetic Polypeptide

<220><221> MISC\_FEATURE

&lt;223&gt; VH-VL I2C

&lt;400&gt; 26

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp

50 55 60

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

65 70 75 80

Ala Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr

85 90 95

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Ile Ser Tyr Trp

100 105 110

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

115 120 125

Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gln Thr Val Val

130 135 140

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

145 150 155 160

Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Ser Gly Asn Tyr Pro Asn

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Val Leu Trp Tyr Ser Asn Arg Trp Val Phe

225 230 235 240

Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu

245

<210> 27

<211> 122

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<220><221> MISC\_FEATURE

<223> CD33 ccVH E11

<400> 27

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

1	5	10	15
---	---	----	----

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

20	25	30
----	----	----

Gly Met Asn Trp Val Lys Gln Ala Pro Gly Gln Cys Leu Glu Trp Met

35	40	45
----	----	----

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

50	55	60
----	----	----

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Thr Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr

65	70	75	80
----	----	----	----

Met Glu Ile Arg Asn Leu Gly Gly Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85	90	95
----	----	----

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

100	105	110
-----	-----	-----

Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser

115	120
-----	-----

<210> 28

<211> 122

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<220><221> MISC\_FEATURE

&lt;223&gt; CD33 VH E11

&lt;400&gt; 28

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Thr Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80

Met Glu Ile Arg Asn Leu Gly Gly Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

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

100 105 110

Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser

115 120

&lt;210&gt; 29

&lt;211&gt; 5

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;&lt;223&gt; Synthetic Polypeptide

&lt;220&gt;&lt;221&gt; MISC\_FEATURE

&lt;223&gt; CD33 HCDR1 E11

&lt;400&gt; 29

Asn Tyr Gly Met Asn

1 5

&lt;210&gt; 30

&lt;211&gt; 17

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<220><221> MISC\_FEATURE

<223> CD33 HCDR2 E11

<400> 30

Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Asp Lys Phe Gln

1	5	10	15
---	---	----	----

Gly

<210> 31

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<220><221> MISC\_FEATURE

<223> CD33 HCDR3 E11

<400> 31

Trp Ser Trp Ser Asp Gly Tyr Tyr Val Tyr Phe Asp Tyr

1	5	10
---	---	----

<210> 32

<211> 113

<212>

> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<220><221> MISC\_FEATURE

<223> CD33 CCVL E11

<400> 32

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

1	5	10	15
---	---	----	----

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

20	25	30
----	----	----

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

35	40	45
----	----	----

Pro Pro Lys Leu Leu Leu Ser Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Ile  
 50 55 60  
 Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr  
 65 70 75 80  
 Ile Asp Ser Pro Gln Pro Glu Asp Ser Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln  
 85 90 95  
 Ser Ala His Phe Pro Ile Thr Phe Gly Cys Gly Thr Arg Leu Glu Ile  
 100 105 110

Lys

<210> 33  
 <211> 113  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> Synthetic Polypeptide  
 <220><221> MISC\_FEATURE  
 <223> CD33 VL E11  
 <400> 33  
 Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Thr Val Ser Leu Gly  
 1 5 10 15  
 Glu Arg Thr Thr Ile Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser Val Leu Asp Ser  
 20 25 30  
 Ser Thr Asn Lys Asn Ser Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln  
 35 40 45

Pro Pro Lys Leu Leu Leu Ser Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Ile  
 50 55 60  
 Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr  
 65 70 75 80  
 Ile Asp Ser Pro Gln Pro Glu Asp Ser Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln  
 85 90 95  
 Ser Ala His Phe Pro Ile Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile  
 100 105 110

Lys

<210> 34  
<211> 17  
<212> PRT  
<213> Artificial Sequence  
<220><223> Synthetic Polypeptide  
<220><221> MISC\_FEATURE  
<223> CD33 LCDR1 E11  
<400> 34

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

1 5 10 15

Ala

<210> 35  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> Artificial Sequence  
<220><223> Synthetic Polypeptide  
<220><221> MISC\_FEATURE  
<223> CD33 LCDR2 E11  
<400> 35

Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser

1 5

<210> 36  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Artificial Sequence  
<220><223> Synthetic Polypeptide  
<220><221> MISC\_FEATURE  
<223> CD33 LCDR3 E11  
<400> 36

Gln Gln Ser Ala His Phe Pro Ile Thr

1 5

&lt;210&gt; 37

&lt;211&gt; 250

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;&lt;223&gt; Synthetic Polypeptide

&lt;220&gt;&lt;221&gt; MISC\_FEATURE

&lt;223&gt; CD33 HL CC E11

&lt;400&gt; 37

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Gly Met Asn Trp Val Lys Gln Ala Pro Gly Gln Cys Leu Glu Trp Met

35 40 45

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

50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80

Met Glu Ile Arg Asn Leu Gly Gly Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

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

100 105 110

Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Ser Gly

115 120 125

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Ser Asp Ile Val Met Thr Gln Ser

130 135 140

Pro Asp Ser Leu Thr Val Ser Leu Gly Glu Arg Thr Thr Ile Asn Cys

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser

195 200 205

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

210 215 220

Asp Ser Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Ala His Phe Pro Ile Thr

225 230 235 240

Phe Gly Cys Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys

245 250

<210> 38

<211> 250

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<220><221> MISC\_FEATURE

<223> CD33 HL E11

<400> 38

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80

Met Glu Ile Arg Asn Leu Gly Gly Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

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

100 105 110

Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Ser Gly

115 120 125

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Asp Ile Val Met Thr Gln Ser

130 135 140

Pro Asp Ser Leu Thr Val Ser Leu Gly Glu Arg Thr Thr Ile Asn Cys

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser

195 200 205

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

210 215 220

Asp Ser Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Ala His Phe Pro Ile Thr

225 230 235 240

Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys

245 250

<210> 39

<211> 505

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<220><221> MISC\_FEATURE

<223> CD33 CC E11 HL x I2C HL Bispecific molecule

<400> 39

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Gly Met Asn Trp Val Lys Gln Ala Pro Gly Gln Cys Leu Glu Trp Met

35 40 45

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

50	55	60
Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Thr Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr		
65	70	75
Met Glu Ile Arg Asn Leu Gly Gly Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys		
85	90	95
Ala Arg Trp Ser Trp Ser Asp Gly Tyr Tyr Val Tyr Phe Asp Tyr Trp		
100	105	110
Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Ser Gly		
115	120	125
Gly Gly Gly Ser Gly Gly Ser Asp Ile Val Met Thr Gln Ser		
130	135	140
Pro Asp Ser Leu Thr Val Ser Leu Gly Glu Arg Thr Thr Ile Asn Cys		
145	150	155
Lys Ser Ser Gln Ser Val Leu Asp Ser Ser Thr Asn Lys Asn Ser Leu		
165	170	175
Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ser		
180	185	190
Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser		
195	200	205
Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Asp Ser Pro Gln Pro Glu		
210	215	220
Asp Ser Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Ala His Phe Pro Ile Thr		
225	230	235
Phe Gly Cys Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys Ser Gly Gly Gly Ser		
245	250	255
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly		
260	265	270
Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Lys Tyr		
275	280	285
Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val		
290	295	300

Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp

305                    310                    315                    320

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

325                    330                    335

Ala Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr

340                    345                    350

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Ile Ser Tyr Trp

355                    360                    365

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

370                    375                    380

Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gln Thr Val Val

385                    390                    395                    400

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

405                    410                    415

Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Ser Gly Asn Tyr Pro Asn

420                    425                    430

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

435                    440                    445

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

450                    455                    460

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

465                    470                    475                    480

Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Val Leu Trp Tyr Ser Asn Arg Trp Val Phe

485                    490                    495

Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu

500                    505

<210> 40

<211> 530

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

&lt;220&gt;&lt;221&gt; MISC\_FEATURE

&lt;223&gt; CD33 E11 HL x I2C HL

&lt;400&gt; 40

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

1 5 10 15

Val His Ser Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys

20 25 30

Pro Gly Glu Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe

35 40 45

Thr Asn Tyr Gly Met Asn Trp Val Lys Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu

50 55 60

Glu Trp Met Gly Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala

65 70 75 80

Asp Lys Phe Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Thr Asp Thr Ser Thr Ser

85 90 95

Thr Ala Tyr Met Glu Ile Arg Asn Leu Gly Gly Asp Asp Thr Ala Val

100 105 110

Tyr Tyr Cys Ala Arg Trp Ser Trp Ser Asp Gly Tyr Tyr Val Tyr Phe

115 120 125

Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly

130 135 140

Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Asp Ile Val Met

145 150 155 160

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

165 170 175

Ile Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser Val Leu Asp Ser Ser Thr Asn Lys

180 185 190

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

195 200 205

Leu Leu Ser Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe

210 215 220

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

225	230	235	240
-----	-----	-----	-----

Gln Pro Glu Asp Ser Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Ala His Phe

245	250	255
-----	-----	-----

Pro Ile Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys Ser Gly Gly

260	265	270
-----	-----	-----

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

275	280	285
-----	-----	-----

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

290	295	300
-----	-----	-----

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

305	310	315	320
-----	-----	-----	-----

Glu Trp Val Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr

325	330	335
-----	-----	-----

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

340	345	350
-----	-----	-----

Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp Thr

355	360	365
-----	-----	-----

Ala Val Tyr Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Ile

370	375	380
-----	-----	-----

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

385	390	395	400
-----	-----	-----	-----

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Ser Gln

405	410	415
-----	-----	-----

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

420	425	430
-----	-----	-----

Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Ser Gly Asn

435	440	445
-----	-----	-----

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

450	455	460
-----	-----	-----

Ile Gly Gly Thr Lys Phe Leu Ala Pro Gly Thr Pro Ala Arg Phe Ser

465	470	475	480
-----	-----	-----	-----

Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Val Gln

485 490 495

Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Val Leu Trp Tyr Ser Asn Arg

500 505 510

Trp Val Phe Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu His His His

515 520 525

His His

530

<210> 41

<211> 993

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<220><221> MISC\_FEATURE

<223> CD33 CC x I2C-scFc Bispecific HLE molecule

<400> 41

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Gly Met Asn Trp Val Lys Gln Ala Pro Gly Gln Cys Leu Glu Trp Met

35 40 45

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

50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80

Met Glu Ile Arg Asn Leu Gly Gly Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

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

100 105 110

Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Ser Gly

115 120 125

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Ser Asp Ile Val Met Thr Gln Ser

130 135 140

Pro Asp Ser Leu Thr Val Ser Leu Gly Glu Arg Thr Thr Ile Asn Cys

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser

195 200 205

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

210 215 220

Asp Ser Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Ala His Phe Pro Ile Thr

225 230 235 240

Phe Gly Cys Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys Ser Gly Gly Gly Ser

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

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

290 295 300

Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp

305 310 315 320

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

325 330 335

Ala Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr

340 345 350

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Ile Ser Tyr Trp

355 360 365

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

370	375	380
Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gln Thr Val Val		
385	390	395
Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr Leu		
405	410	415
Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Ser Gly Asn Tyr Pro Asn		
420	425	430
Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly Leu Ile Gly Gly		
435	440	445
Thr Lys Phe Leu Ala Pro Gly Thr Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu		
450	455	460
Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Val Gln Pro Glu Asp		
465	470	475
Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Val Leu Trp Tyr Ser Asn Arg Trp Val Phe		
485	490	495
Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gly Gly Asp Lys Thr		
500	505	510
His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser		
515	520	525
Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg		
530	535	540
Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro		
545	550	555
Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala		
565	570	575
Lys Thr Lys Pro Cys Glu Glu Gln Tyr Gly Ser Thr Tyr Arg Cys Val		
580	585	590
Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr		
595	600	605
Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr		
610	615	620

Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu  
 625 630 635 640  
 Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys  
 645 650 655  
 Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser  
 660 665 670  
 Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp  
 675 680 685  
 Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser  
 690 695 700  
 Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala  
 705 710 715 720  
 Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
 725 730 735  
 Gly Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Ser Gly  
 740 745 750  
 Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Ser Asp Lys  
 755 760 765  
 Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Pro  
 770 775 780  
 Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser  
 785 790 795 800  
 Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp  
 805 810 815  
 Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn  
 820 825 830  
 Ala Lys Thr Lys Pro Cys Glu Glu Gln Tyr Gly Ser Thr Tyr Arg Cys  
 835 840 845  
 Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu  
 850 855 860  
 Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys

865                    870                    875                    880

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr

885                    890                    895

Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr

900                    905                    910

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu

915                    920                    925

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu

930                    935                    940

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

945                    950                    955                    960

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu

965                    970                    975

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly

980                    985                    990

Lys

<210> 42

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<220><221> MISC\_FEATURE

<223> EGFRvIIxCD3-scFc VH CDR1

<400> 42

Asn Tyr Gly Met His

1                    5

<210> 43

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<220><221> MISC\_FEATURE

<223> EGFRvIIIXCD3-scFc VH CDR2

<400> 43

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

1	5	10	15
---	---	----	----

Gly

<210> 44

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<220><221> MISC\_FEATURE

<223> EGFRvIIIXCD3-scFc VH CDR3

<400> 44

Asp Gly Tyr Asp Ile Leu Thr Gly Asn Pro Arg Asp Phe Asp Tyr

1	5	10	15
---	---	----	----

<210> 45

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<220><221> MISC\_FEATURE

<223> EGFRvIIIXCD3-scFc VL CDR1

<400> 45

Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser Asp Gly Asn Thr Tyr Leu Ser

1	5	10	15
---	---	----	----

<210> 46

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<220><221> MISC\_FEATURE

<223> EGFRvIIIXCD3-scFc VL CDR2

&lt;400&gt; 46

Arg Ile Ser Arg Arg Phe Ser

1 5

&lt;210&gt; 47

&lt;211&gt; 9

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;&lt;223&gt; Synthetic Polypeptide

&lt;220&gt;&lt;221&gt; MISC\_FEATURE

&lt;223&gt; EGFRvIIxCD3-scFc VL CDR3

&lt;400&gt; 47

Met Gln Ser Thr His Val Pro Arg Thr

1 5

&lt;210&gt; 48

&lt;211&gt; 124

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;&lt;223&gt; Synthetic Polypeptide

&lt;220&gt;&lt;221&gt; MISC\_FEATURE

&lt;223&gt; EGFRvIII\_CCxCD3-scFc VH

&lt;400&gt; 48

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85                    90                    95

Ala Arg Asp Gly Tyr Asp Ile Leu Thr Gly Asn Pro Arg Asp Phe Asp

100                    105                    110

Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115                    120

<210> 49

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<220><221> MISC\_FEATURE

<223> EGFRvIII\_CCxCD3-scFc VL

<400> 49

Asp Thr Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Ser His Val Thr Leu Gly

1                    5                    10                    15

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser

20                    25                    30

Asp Gly Asn Thr Tyr Leu Ser Trp Leu Gln Gln Arg Pro Gly Gln Pro

35                    40                    45

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

50                    55                    60

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

65                    70                    75                    80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ser

85                    90                    95

Thr His Val Pro Arg Thr Phe Gly Cys Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100                    105                    110

<210> 50

<211> 251

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

&lt;220&gt;&lt;221&gt; MISC\_FEATURE

&lt;223&gt; EGFRvIII\_CCxCD3-scFc scFv

&lt;400&gt; 50

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Asp Gly Tyr Asp Ile Leu Thr Gly Asn Pro Arg Asp Phe Asp

100 105 110

Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly

115 120 125

Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Ser Asp Thr Val Met Thr

130 135 140

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

145 150 155 160

Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser Asp Gly Asn Thr Tyr

165 170 175

Leu Ser Trp Leu Gln Gln Arg Pro Gly Gln Pro Pro Arg Leu Leu Ile

180 185 190

Tyr Arg Ile Ser Arg Arg Phe Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly

195 200 205

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

210 215 220

Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ser Thr His Val Pro Arg

225 230 235 240

Thr Phe Gly Cys Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

245 250

<210> 51

<211> 506

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<220><221> MISC\_FEATURE

<223> EGFRvIII\_CCxCD3-scFc Bispecific molecule

<400> 51

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Asp Gly Tyr Asp Ile Leu Thr Gly Asn Pro Arg Asp Phe Asp

100 105 110

Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly

115 120 125

Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Ser Asp Thr Val Met Thr

130 135 140

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

145 150 155 160

Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser Asp Gly Asn Thr Tyr

165 170 175

Leu Ser Trp Leu Gln Gln Arg Pro Gly Gln Pro Pro Arg Leu Leu Ile

180 185 190

Tyr Arg Ile Ser Arg Arg Phe Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly

195 200 205

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

210 215 220

Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ser Thr His Val Pro Arg

225 230 235 240

Thr Phe Gly Cys Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Ser Gly Gly Gly

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

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

290 295 300

Val Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala

305 310 315 320

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

325 330 335

Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val

340 345 350

Tyr Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Ile Ser Tyr

355 360 365

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

370 375 380

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gln Thr Val

385 390 395 400

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

405                    410                    415  
 Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Ser Gly Asn Tyr Pro

420                    425                    430  
 Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly Leu Ile Gly  
 435                    440                    445  
 Gly Thr Lys Phe Leu Ala Pro Gly Thr Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser  
 450                    455                    460  
 Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Val Gln Pro Glu  
 465                    470                    475                    480  
 Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Val Leu Trp Tyr Ser Asn Arg Trp Val

485                    490                    495  
 Phe Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu  
 500                    505

<210> 52  
<211> 994  
<212> PRT  
<213> Artificial Sequence  
<220><223> Synthetic Polypeptide  
<220><221> MISC\_FEATURE  
<223> EGFRvIII\_CCxCD3-scFc Bispecific HLE molecule  
<400> 52

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Val Val Gln Ser Gly Arg  
 1                    5                            10                    15  
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Arg Asn Tyr

20                    25                    30  
 Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Cys Leu Glu Trp Val  
 35                    40                    45  
 Ala Val Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asp Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val  
 50                    55                    60  
 Arg Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr  
 65                    70                    75                    80

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

85 90 95

Ala Arg Asp Gly Tyr Asp Ile Leu Thr Gly Asn Pro Arg Asp Phe Asp

100 105 110

Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly

115 120 125

Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Ser Asp Thr Val Met Thr

130 135 140

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

145 150 155 160

Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser Asp Gly Asn Thr Tyr

165 170 175

Leu Ser Trp Leu Gln Gln Arg Pro Gly Gln Pro Pro Arg Leu Leu Ile

180 185 190

Tyr Arg Ile Ser Arg Arg Phe Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly

195 200 205

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

210 215 220

Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ser Thr His Val Pro Arg

225 230 235 240

Thr Phe Gly Cys Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Ser Gly Gly Gly

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

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

290 295 300

Val Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala

305 310 315 320

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

325	330	335
Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val		
340	345	350
Tyr Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Ile Ser Tyr		
355	360	365
Trp Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly		
370	375	380
Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gln Thr Val		
385	390	395
Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr		
405	410	415
Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Ser Gly Asn Tyr Pro		
420	425	430
Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly Leu Ile Gly		
435	440	445
Gly Thr Lys Phe Leu Ala Pro Gly Thr Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser		
450	455	460
Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Val Gln Pro Glu		
465	470	475
Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Val Leu Trp Tyr Ser Asn Arg Trp Val		
485	490	495
Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gly Gly Asp Lys		
500	505	510
Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro		
515	520	525
Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser		
530	535	540
Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp		
545	550	555
Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn		
565	570	575

Ala Lys Thr Lys Pro Cys Glu Glu Gln Tyr Gly Ser Thr Tyr Arg Cys

580 585 590

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu

595 600 605

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys

610 615 620

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr

625 630 635 640

Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr

645 650 655

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu

660 665 670

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu

675 680 685

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

690 695 700

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu

705 710 715 720

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly

725 730 735

Lys Gly Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser

740 745 750

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Asp

755 760 765

Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly

770 775 780

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile

785 790 795 800

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu

805 810 815

Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His

820	825	830
Asn Ala Lys Thr Lys Pro Cys Glu Glu Gln Tyr Gly Ser Thr Tyr Arg		
835	840	845
Cys Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys		
850	855	860
Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu		
865	870	875
Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr		
885	890	895
Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu		
900	905	910
Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp		
915	920	925
Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val		
930	935	940
Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp		
945	950	955
Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His		
965	970	975
Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro		
980	985	990
Gly Lys		
<210> 53		
<211> 5		
<212> PRT		
<213> Artificial Sequence		
<220><223> Synthetic Polypeptide		
<220><221> MISC_FEATURE		
<223> MSLN_5 VH CDR1		
<400> 53		
Asp Tyr Tyr Met Thr		

1 5

<210> 54

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<220><221> MISC\_FEATURE

<223> MSLN\_5 VH CDR2

<400> 54

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

1 5 10 15

Gly

<210> 55

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<220><221> MISC\_FEATURE

<223> MSLN\_5 VH CDR3

<400> 55

Asp Arg Asn Ser His Phe Asp Tyr

1 5

<210> 56

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<220><221> MISC\_FEATURE

<223> MSLN\_5 VL CDR1

<400> 56

Arg Ala Ser Gln Gly Ile Asn Thr Trp Leu Ala

1 5 10

<210> 57

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<220><221> MISC\_FEATURE

<223> MSLN\_5 VL CDR2

<400> 57

Gly Ala Ser Gly Leu Gln Ser

1 5

<210> 58

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<220><221> MISC\_FEATURE

<223> MSLN\_5 VL CDR3

<400> 58

Gln Gln Ala Lys Ser Phe Pro Arg Thr

1 5

<210> 59

<211> 117

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<220><221> MISC\_FEATURE

<223> MSLN \_5 VH

<400> 59

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35                    40                    45

Ser Tyr Ile Ser Ser Ser Gly Ser Thr Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val

50                    55                    60

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

65                    70                    75                    80

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

85                    90                    95

Ala Arg Asp Arg Asn Ser His Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu

100                  105                  110

Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 60

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<220><221> MISC\_FEATURE

<223> MSLN\_5 VL

<400> 60

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

1                    5                    10                    15

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

20                    25                    30

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

35                    40                    45

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

85                    90                    95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

&lt;210&gt; 61

&lt;211&gt; 239

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;&lt;223&gt; Synthetic Polypeptide

&lt;220&gt;&lt;221&gt; MISC\_FEATURE

&lt;223&gt; MSLN\_5 scFv

&lt;400&gt; 61

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Ser Tyr Ile Ser Ser Ser Gly Ser Thr Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Asp Arg Asn Ser His Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu

100 105 110

Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

Lys Leu Leu Ile Tyr Gly Ala Ser Gly Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser  
 180 185 190  
 Arg Phe Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser  
 195 200 205  
 Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ala Lys  
 210 215 220  
 Ser Phe Pro Arg Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys  
 225 230 235

<210> 62  
 <211> 494  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide  
 <220><221> MISC\_FEATURE  
 <223> MSLN\_5xI2C0 bispecific molecule

<400> 62

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly  
 1 5 10 15  
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr  
 20 25 30

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

35 40 45  
 Ser Tyr Ile Ser Ser Ser Gly Ser Thr Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val  
 50 55 60

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

Ala Arg Asp Arg Asn Ser His Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu

100 105 110  
 Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly  
 115 120 125

Gly Gly Gly Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser  
 130 135 140  
 Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly  
 145 150 155 160  
 Ile Asn Thr Trp Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro  
  
 165 170 175  
 Lys Leu Leu Ile Tyr Gly Ala Ser Gly Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser  
 180 185 190  
 Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser  
 195 200 205  
 Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ala Lys  
 210 215 220  
 Ser Phe Pro Arg Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Ser  
  
 225 230 235 240  
 Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Leu  
 245 250 255  
 Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe  
 260 265 270  
 Thr Phe Asn Lys Tyr Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys  
 275 280 285  
 Gly Leu Glu Trp Val Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala  
  
 290 295 300  
 Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp  
 305 310 315 320  
 Asp Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu  
 325 330 335  
 Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser  
 340 345 350  
 Tyr Ile Ser Tyr Trp Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val  
  
 355 360 365  
 Ser Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly

370                    375                    380  
 Ser Gln Thr Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly  
 385                    390                    395                    400  
 Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Ser  
 405                    410                    415  
 Gly Asn Tyr Pro Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg

420                    425                    430  
 Gly Leu Ile Gly Gly Thr Lys Phe Leu Ala Pro Gly Thr Pro Ala Arg  
 435                    440                    445  
 Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly  
 450                    455                    460  
 Val Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Val Leu Trp Tyr Ser  
 465                    470                    475                    480  
 Asn Arg Trp Val Phe Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu

485                    490  
<210> 63  
<211> 982  
<212> PRT  
<213> Artificial Sequence  
<220><223> Synthetic Polypeptide  
<220><221> MISC\_FEATURE  
<223> MSLN\_5xCD3-scFc Bispecific HLE molecule  
<400> 63  
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly  
1                    5                    10                    15  
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr  
20                    25                    30

Tyr Met Thr Trp Ile Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu  
35                    40                    45  
Ser Tyr Ile Ser Ser Gly Ser Thr Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val  
50                    55                    60  
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Phe

65	70	75	80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys			
85	90	95	
Ala Arg Asp Arg Asn Ser His Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu			
100	105	110	
Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly			
115	120	125	
Gly Gly Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser			
130	135	140	
Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly			
145	150	155	160
Ile Asn Thr Trp Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro			
165	170	175	
Lys Leu Leu Ile Tyr Gly Ala Ser Gly Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser			
180	185	190	
Arg Phe Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser			
195	200	205	
Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ala Lys			
210	215	220	
Ser Phe Pro Arg Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Ser			
225	230	235	240
Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Leu			
245	250	255	
Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe			
260	265	270	
Thr Phe Asn Lys Tyr Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys			
275	280	285	
Gly Leu Glu Trp Val Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala			
290	295	300	
Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp			
305	310	315	320

Asp Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu  
 325                    330                    335  
 Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser  
 340                    345                    350

Tyr Ile Ser Tyr Trp Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val  
 355                    360                    365  
 Ser Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly  
 370                    375                    380  
 Ser Gln Thr Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly  
 385                    390                    395                    400  
 Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Ser  
 405                    410                    415

Gly Asn Tyr Pro Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg  
 420                    425                    430  
 Gly Leu Ile Gly Gly Thr Lys Phe Leu Ala Pro Gly Thr Pro Ala Arg  
 435                    440                    445  
 Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly  
 450                    455                    460  
 Val Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Val Leu Trp Tyr Ser  
 465                    470                    475                    480

Asn Arg Trp Val Phe Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gly  
 485                    490                    495  
 Gly Gly Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu  
 500                    505                    510  
 Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr  
 515                    520                    525  
 Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val  
 530                    535                    540

Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val  
 545                    550                    555                    560  
 Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Cys Glu Glu Gln Tyr Gly Ser

565	570	575
Thr Tyr Arg Cys Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu		
580	585	590
Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala		
595	600	605
Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro		
610	615	620
Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln		
625	630	635
Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala		
645	650	655
Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr		
660	665	670
Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu		
675	680	685
Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser		
690	695	700
Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser		
705	710	715
Leu Ser Pro Gly Lys Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly		
725	730	735
Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly		
740	745	750
Gly Gly Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu		
755	760	765
Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp		
770	775	780
Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp		
785	790	795
Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly		
805	810	815

Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Cys Glu Glu Gln Tyr Gly  
 820 825 830

Ser Thr Tyr Arg Cys Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp  
 835 840 845

Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro  
 850 855 860

Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu  
 865 870 875 880

Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn  
 885 890 895

Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile  
 900 905 910

Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr  
 915 920 925

Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys  
 930 935 940

Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys  
 945 950 955 960

Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu  
 965 970 975

Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
 980

<210> 64

<211> 982

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<220><221> MISC\_FEATURE

<223> MSLN\_5\_CCxCD3-scFc Bispecific HLE molecule

<400> 64

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Ser Tyr Ile Ser Ser Ser Gly Gly Ile Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Asp Val Gly Ser His Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu

100 105 110

Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

Lys Leu Leu Ile Ser Ala Ala Ser Arg Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser

180 185 190

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

195 200 205

Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Ile Tyr Tyr Cys Gln Gln Ala Lys

210 215 220

Ser Phe Pro Arg Thr Phe Gly Cys Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Ser

225 230 235 240

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

245 250 255

Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe

260	265	270
Thr Phe Asn Lys Tyr Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys		
275	280	285
Gly Leu Glu Trp Val Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala		
290	295	300
Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp		
305	310	315
Asp Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu		
325	330	335
Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser		
340	345	350
Tyr Ile Ser Tyr Trp Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val		
355	360	365
Ser Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly		
370	375	380
Ser Gln Thr Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly		
385	390	395
Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Ser		
405	410	415
Gly Asn Tyr Pro Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg		
420	425	430
Gly Leu Ile Gly Gly Thr Lys Phe Leu Ala Pro Gly Thr Pro Ala Arg		
435	440	445
Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly		
450	455	460
Val Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Val Leu Trp Tyr Ser		
465	470	475
Asn Arg Trp Val Phe Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gly		
485	490	495
Gly Gly Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu		
500	505	510

Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr  
 515 520 525  
 Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val  
 530 535 540  
 Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val  
 545 550 555 560  
  
 Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Cys Glu Glu Gln Tyr Gly Ser  
 565 570 575  
 Thr Tyr Arg Cys Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu  
 580 585 590  
 Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala  
 595 600 605  
 Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro  
 610 615 620  
  
 Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln  
 625 630 635 640  
 Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala  
 645 650 655  
 Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr  
 660 665 670  
 Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu  
 675 680 685  
  
 Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser  
 690 695 700  
 Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser  
 705 710 715 720  
 Leu Ser Pro Gly Lys Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly  
 725 730 735  
 Gly Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly  
 740 745 750  
  
 Gly Gly Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu

755	760	765
Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp		
770	775	780
Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp		
785	790	795
Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly		
805	810	815
Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Cys Glu Glu Gln Tyr Gly		
820	825	830
Ser Thr Tyr Arg Cys Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp		
835	840	845
Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro		
850	855	860
Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu		
865	870	875
880		
Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn		
885	890	895
Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile		
900	905	910
Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr		
915	920	925
Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys		
930	935	940
Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys		
945	950	955
960		
Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu		
965	970	975
Ser Leu Ser Pro Gly Lys		
980		
<210> 65		
<211> 5		
<212> PRT		

<213> Artificial Sequence  
<220><223> Synthetic Polypeptide  
<220><221> MISC\_FEATURE  
<223> CDR-H1 CDH19 65254.007  
<400> 65  
Ser Tyr Gly Met His

1 5

<210> 66  
<211> 17  
<212> PRT  
<213> Artificial Sequence  
<220><223> Synthetic Polypeptide  
<220><221> MISC\_FEATURE  
<223> CDR-H2 CDH19 65254.007  
<400> 66

Phe Ile Trp Tyr Glu Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Glu Ser Val Lys

1 5 10 15  
Asp

<210> 67  
<211> 16  
<212> PRT  
<213> Artificial Sequence  
<220><223> Synthetic Polypeptide  
<220><221> MISC\_FEATURE  
<223> CDR-H3 CDH19 65254.007  
<400> 67

Arg Ala Gly Ile Ile Gly Thr Ile Gly Tyr Tyr Gly Met Asp Val

1 5 10 15

<210> 68  
<211> 11  
<212> PRT  
<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<220><221> MISC\_FEATURE

<223> CDR-L1 CDH19 65254.007

<400> 68

Ser Gly Asp Arg Leu Gly Glu Lys Tyr Thr Ser

1 5 10

<210> 69

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<220><221> MISC\_FEATURE

<223> CDR-L2 CDH19 65254.007

<400> 69

Gln Asp Thr Lys Arg Pro Ser

1 5

<210> 70

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<220><221> MISC\_FEATURE

<223> CDR-L3 CDH19 65254.007

<400> 70

Gln Ala Trp Glu Ser Ser Thr Val Val

1 5

<210> 71

<211> 125

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<220><221> MISC\_FEATURE

<223> VH CDH19 65254.007

&lt;400&gt; 71

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

Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr  
 65 70 75 80  
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
 85 90 95  
 Ala Arg Arg Ala Gly Ile Ile Gly Thr Ile Gly Tyr Tyr Gly Met  
 100 105 110  
 Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser  
 115 120 125

&lt;210&gt; 72

&lt;211&gt; 107

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;&lt;223&gt; Synthetic Polypeptide

&lt;220&gt;&lt;221&gt; MISC\_FEATURE

&lt;223&gt; VL CDH19 65254.007

&lt;400&gt; 72

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

Gln Asp Thr Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser

50	55	60
Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Gly Thr Gln Ala Met		
65	70	75
Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ala Trp Glu Ser Ser Thr Val Val		
85	90	95
Phe Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Ser		
100	105	

&lt;210&gt; 73

&lt;211&gt; 247

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;&lt;223&gt; Synthetic Polypeptide

&lt;220&gt;&lt;221&gt; MISC\_FEATURE

&lt;223&gt; VH-VL CDH19 65254.007

&lt;400&gt; 73

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Gly			
1	5	10	15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr			
20	25	30	
Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val			
35	40	45	

Ala Phe Ile Trp Tyr Glu Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Glu Ser Val			
50	55	60	
Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr			
65	70	75	80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys			
85	90	95	
Ala Arg Arg Ala Gly Ile Ile Gly Thr Ile Gly Tyr Tyr Gly Met			
100	105	110	

Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly			
115	120	125	
Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Ser Ser Tyr Glu Leu			

130	135	140	
Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ser Pro Gly Gln Thr Ala Ser Ile			
145	150	155	160
Thr Cys Ser Gly Asp Arg Leu Gly Glu Lys Tyr Thr Ser Trp Tyr Gln			
165	170	175	
Gln Arg Pro Gly Gln Ser Pro Leu Leu Val Ile Tyr Gln Asp Thr Lys			
180	185	190	
Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser Asn Ser Gly Asn			
195	200	205	
Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Gly Thr Gln Ala Met Asp Glu Ala Asp			
210	215	220	
Tyr Tyr Cys Gln Ala Trp Glu Ser Ser Thr Val Val Phe Gly Gly			
225	230	235	240
Thr Lys Leu Thr Val Leu Ser			
245			
<210> 74			
<211> 507			
<212> PRT			
<213> Artificial Sequence			
<220><223> Synthetic Polypeptide			
<220><221> MISC_FEATURE			
<223> CDH19 65254.007 x I2C			
<400> 74			
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Gly			
1	5	10	15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr			
20	25	30	
Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val			
35	40	45	
Ala Phe Ile Trp Tyr Glu Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Glu Ser Val			
50	55	60	
Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr			

65	70	75	80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys			
85	90	95	
Ala Arg Arg Ala Gly Ile Ile Gly Thr Ile Gly Tyr Tyr Gly Met			
100	105	110	
Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly			
115	120	125	
Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Ser Tyr Glu Leu			
130	135	140	
Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ser Pro Gly Gln Thr Ala Ser Ile			
145	150	155	160
Thr Cys Ser Gly Asp Arg Leu Gly Glu Lys Tyr Thr Ser Trp Tyr Gln			
165	170	175	
Gln Arg Pro Gly Gln Ser Pro Leu Leu Val Ile Tyr Gln Asp Thr Lys			
180	185	190	
Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser Asn Ser Gly Asn			
195	200	205	
Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Gly Thr Gln Ala Met Asp Glu Ala Asp			
210	215	220	
Tyr Tyr Cys Gln Ala Trp Glu Ser Ser Thr Val Val Phe Gly Gly			
225	230	235	240
Thr Lys Leu Thr Val Leu Ser Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu			
245	250	255	
Val Glu Ser Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Lys Leu			
260	265	270	
Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Lys Tyr Ala Met Asn Trp			
275	280	285	
Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Arg Ile Arg			
290	295	300	
Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Asp			
305	310	315	320

Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln

325 330 335

Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val Arg

340 345 350

His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Ile Ser Tyr Trp Ala Tyr Trp Gly

355 360 365

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly

370 375 380

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gln Thr Val Val Thr Gln Glu Pro

385 390 395 400

Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser

405 410 415

Ser Thr Gly Ala Val Thr Ser Gly Asn Tyr Pro Asn Trp Val Gln Gln

420 425 430

Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly Leu Ile Gly Gly Thr Lys Phe Leu

435 440 445

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

450 455 460

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

465 470 475 480

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

485 490 495

Lys Leu Thr Val Leu His His His His His His

500 505

<210> 75

<211> 989

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<220><221> MISC\_FEATURE

<223> CDH19 65254.007 x I2C -scFc Bispecific HLE molecule

<400> 75

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Ala Phe Ile Trp Tyr Glu Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Glu Ser Val

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Arg Ala Gly Ile Ile Gly Thr Ile Gly Tyr Tyr Gly Met

100 105 110

Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly

115 120 125

Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Ser Tyr Glu Leu

130 135 140

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

145 150 155 160

Thr Cys Ser Gly Asp Arg Leu Gly Glu Lys Tyr Thr Ser Trp Tyr Gln

165 170 175

Gln Arg Pro Gly Gln Ser Pro Leu Leu Val Ile Tyr Gln Asp Thr Lys

180 185 190

Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser Asn Ser Gly Asn

195 200 205

Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Gly Thr Gln Ala Met Asp Glu Ala Asp

210 215 220

Tyr Tyr Cys Gln Ala Trp Glu Ser Ser Thr Val Val Phe Gly Gly Gly

225 230 235 240

Thr Lys Leu Thr Val Leu Ser Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu

245	250	255
Val Glu Ser Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Lys Leu		
260	265	270
Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Lys Tyr Ala Met Asn Trp		
275	280	285
Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Arg Ile Arg		
290	295	300
Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Asp		
305	310	315
Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln		
325	330	335
Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val Arg		
340	345	350
His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Ile Ser Tyr Trp Ala Tyr Trp Gly		
355	360	365
Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly		
370	375	380
Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gln Thr Val Val Thr Gln Glu Pro		
385	390	395
Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser		
405	410	415
Ser Thr Gly Ala Val Thr Ser Gly Asn Tyr Pro Asn Trp Val Gln Gln		
420	425	430
Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly Leu Ile Gly Gly Thr Lys Phe Leu		
435	440	445
Ala Pro Gly Thr Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys		
450	455	460
Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Val Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr		
465	470	475
Tyr Cys Val Leu Trp Tyr Ser Asn Arg Trp Val Phe Gly Gly Thr		
485	490	495

Lys Leu Thr Val Leu Gly Gly Gly Asp Lys Thr His Thr Cys Pro  
 500 505 510  
 Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe  
 515 520 525  
 Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val  
 530 535 540  
 Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe  
 545 550 555 560  
 Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro  
 565 570 575  
 Cys Glu Glu Gln Tyr Gly Ser Thr Tyr Arg Cys Val Ser Val Leu Thr  
 580 585 590  
 Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val  
 595 600 605  
 Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala  
 610 615 620  
 Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg  
 625 630 635 640  
 Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly  
 645 650 655  
 Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro  
 660 665 670  
 Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser  
 675 680 685  
 Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln  
 690 695 700  
 Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His  
 705 710 715 720  
 Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys Gly Gly Gly  
 725 730 735  
 Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser

740	745	750
Gly Gly Gly Ser Gly Gly Ser Asp Lys Thr His Thr Cys		
755	760	765
Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Pro Ser Val Phe Leu		
770	775	780
Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu		
785	790	795
Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys		
805	810	815
Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys		
820	825	830
Pro Cys Glu Glu Gln Tyr Gly Ser Thr Tyr Arg Cys Val Ser Val Leu		
835	840	845
Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys		
850	855	860
Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys		
865	870	875
Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser		
885	890	895
Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys		
900	905	910
Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gln		
915	920	925
Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly		
930	935	940
Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln		
945	950	955
Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn		
965	970	975
His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys		
980	985	

&lt;210&gt; 76

&lt;211&gt; 987

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;&lt;223&gt; Synthetic Polypeptide

&lt;220&gt;&lt;221&gt; MISC\_FEATURE

&lt;223&gt; CDH19 65254.007 x I2C -scFc\_de1GK Bispecific HLE molecule

&lt;400&gt; 76

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Ala Phe Ile Trp Tyr Glu Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Glu Ser Val

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Arg Ala Gly Ile Ile Gly Thr Ile Gly Tyr Tyr Gly Met

100 105 110

Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly

115 120 125

Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Ser Tyr Glu Leu

130 135 140

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

145 150 155 160

Thr Cys Ser Gly Asp Arg Leu Gly Glu Lys Tyr Thr Ser Trp Tyr Gln

165 170 175

Gln Arg Pro Gly Gln Ser Pro Leu Leu Val Ile Tyr Gln Asp Thr Lys

180 185 190

Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser Asn Ser Gly Asn  
 195 200 205  
 Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Gly Thr Gln Ala Met Asp Glu Ala Asp  
 210 215 220

Tyr Tyr Cys Gln Ala Trp Glu Ser Ser Thr Val Val Phe Gly Gly  
 225 230 235 240  
 Thr Lys Leu Thr Val Leu Ser Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu  
 245 250 255  
 Val Glu Ser Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Lys Leu  
 260 265 270  
 Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Lys Tyr Ala Met Asn Trp  
 275 280 285

Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Arg Ile Arg  
 290 295 300  
 Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Asp  
 305 310 315 320  
 Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln  
 325 330 335  
 Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val Arg  
 340 345 350

His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Ile Ser Tyr Trp Ala Tyr Trp Gly  
 355 360 365  
 Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly  
 370 375 380  
 Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gln Thr Val Val Thr Gln Glu Pro  
 385 390 395 400  
 Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser  
 405 410 415

Ser Thr Gly Ala Val Thr Ser Gly Asn Tyr Pro Asn Trp Val Gln Gln  
 420 425 430  
 Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly Leu Ile Gly Gly Thr Lys Phe Leu

435	440	445
Ala Pro Gly Thr Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Lys		
450	455	460
Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Val Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr		
465	470	475
Tyr Cys Val Leu Trp Tyr Ser Asn Arg Trp Val Phe Gly Gly Thr		
485	490	495
Lys Leu Thr Val Leu Gly Gly Gly Asp Lys Thr His Thr Cys Pro		
500	505	510
Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe		
515	520	525
Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val		
530	535	540
Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe		
545	550	555
Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro		
565	570	575
Cys Glu Glu Gln Tyr Gly Ser Thr Tyr Arg Cys Val Ser Val Leu Thr		
580	585	590
Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Glu Tyr Lys Cys Lys Val		
595	600	605
Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala		
610	615	620
Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg		
625	630	635
Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly		
645	650	655
Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro		
660	665	670
Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser		
675	680	685

Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln  
 690 695 700  
 Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His  
 705 710 715 720  
 Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Gly Gly Ser Gly  
 725 730 735  
  
 Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly  
 740 745 750  
 Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro  
 755 760 765  
 Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro  
 770 775 780  
 Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr  
 785 790 795 800  
  
 Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn  
 805 810 815  
 Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Cys  
 820 825 830  
 Glu Glu Gln Tyr Gly Ser Thr Tyr Arg Cys Val Ser Val Leu Thr Val  
 835 840 845  
 Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser  
 850 855 860  
  
 Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys  
 865 870 875 880  
 Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu  
 885 890 895  
 Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe  
 900 905 910  
 Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu  
 915 920 925  
  
 Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe

930	935	940
Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly		
945	950	955
Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr		
965	970	975
Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys		
980	985	

&lt;210&gt; 77

&lt;211&gt; 125

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;&lt;223&gt; Synthetic Polypeptide

&lt;220&gt;&lt;221&gt; MISC\_FEATURE

&lt;223&gt; CDH19\_65254.007\_CC x I2C -scFc VH

&lt;400&gt; 77

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

1	5	10	15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr			
20	25	30	
Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Cys Leu Glu Trp Val			
35	40	45	

Ala Phe Ile Trp Tyr Glu Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Glu Ser Val

50	55	60	
Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr			
65	70	75	80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys			
85	90	95	

Ala Arg Arg Ala Gly Ile Ile Gly Thr Ile Gly Tyr Tyr Gly Met  
 100                    105                    110

Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser

115	120	125
<210> 78		

&lt;211&gt; 106

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;&lt;223&gt; Synthetic Polypeptide

&lt;220&gt;&lt;221&gt; MISC\_FEATURE

&lt;223&gt; CDH19 65254.007\_CC x I2C -scFc VL

&lt;400&gt; 78

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Ser Trp Tyr Gln Gln Arg Pro Gly Gln Ser Pro Leu Leu Val Ile Tyr

35 40 45

Gln Asp Thr Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser

50 55 60

Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Gly Thr Gln Ala Met

65 70 75 80

Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ala Trp Glu Ser Ser Thr Val Val

85 90 95

Phe Gly Cys Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu

100 105

&lt;210&gt; 79

&lt;211&gt; 246

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;&lt;223&gt; Synthetic Polypeptide

&lt;220&gt;&lt;221&gt; MISC\_FEATURE

&lt;223&gt; CDH19 65254.007\_CC x I2C -scFc scFv

&lt;400&gt; 79

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

1 5 10 15

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

20	25	30
----	----	----

Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Cys Leu Glu Trp Val  
 35                          40                          45  
 Ala Phe Ile Trp Tyr Glu Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Glu Ser Val  
 50                          55                          60  
 Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr  
 65                          70                          75                          80  
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
 85                          90                          95

Ala Arg Arg Ala Gly Ile Ile Gly Thr Ile Gly Tyr Tyr Gly Met  
 100                        105                        110  
 Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly  
 115                        120                        125  
 Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Ser Tyr Glu Leu  
 130                        135                        140  
 Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ser Pro Gly Gln Thr Ala Ser Ile  
 145                        150                        155                        160

Thr Cys Ser Gly Asp Arg Leu Gly Glu Lys Tyr Thr Ser Trp Tyr Gln  
 165                        170                        175  
 Gln Arg Pro Gly Gln Ser Pro Leu Leu Val Ile Tyr Gln Asp Thr Lys  
 180                        185                        190  
 Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser Asn Ser Gly Asn  
 195                        200                        205  
 Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Gly Thr Gln Ala Met Asp Glu Ala Asp  
 210                        215                        220

Tyr Tyr Cys Gln Ala Trp Glu Ser Ser Thr Val Val Phe Gly Cys Gly  
 225                        230                        235                        240  
 Thr Lys Leu Thr Val Leu  
 245  
 <210> 80  
 <211> 501

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;&lt;223&gt; Synthetic Polypeptide

&lt;220&gt;&lt;221&gt; MISC\_FEATURE

&lt;223&gt; CDH19 65254.007\_CC x I2C -scFc Bispecific molecule

&lt;400&gt; 80

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Ala Phe Ile Trp Tyr Glu Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Glu Ser Val

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Arg Ala Gly Ile Ile Gly Thr Ile Gly Tyr Tyr Tyr Gly Met

100 105 110

Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly

115 120 125

Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Ser Tyr Glu Leu

130 135 140

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

145 150 155 160

Thr Cys Ser Gly Asp Arg Leu Gly Glu Lys Tyr Thr Ser Trp Tyr Gln

165 170 175

Gln Arg Pro Gly Gln Ser Pro Leu Leu Val Ile Tyr Gln Asp Thr Lys

180 185 190

Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser Asn Ser Gly Asn

195	200	205
-----	-----	-----

Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Gly Thr Gln Ala Met Asp Glu Ala Asp

210	215	220
-----	-----	-----

Tyr Tyr Cys Gln Ala Trp Glu Ser Ser Thr Val Val Phe Gly Cys Gly

225	230	235	240
-----	-----	-----	-----

Thr Lys Leu Thr Val Leu Ser Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu

245	250	255
-----	-----	-----

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

260	265	270
-----	-----	-----

Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Lys Tyr Ala Met Asn Trp

275	280	285
-----	-----	-----

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

290	295	300
-----	-----	-----

Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Asp

305	310	315	320
-----	-----	-----	-----

Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln

325	330	335
-----	-----	-----

Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val Arg

340	345	350
-----	-----	-----

His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Ile Ser Tyr Trp Ala Tyr Trp Gly

355	360	365
-----	-----	-----

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly

370	375	380
-----	-----	-----

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gln Thr Val Val Thr Gln Glu Pro

385	390	395	400
-----	-----	-----	-----

Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser

405	410	415
-----	-----	-----

Ser Thr Gly Ala Val Thr Ser Gly Asn Tyr Pro Asn Trp Val Gln Gln

420	425	430
-----	-----	-----

Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly Leu Ile Gly Gly Thr Lys Phe Leu

435	440	445
-----	-----	-----

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

450 455 460

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

465 470 475 480

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

485 490 495

Lys Leu Thr Val Leu

500

<210> 81

<211> 989

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<220><221> MISC\_FEATURE

<223> CDH19 65254.007\_CC x I2C -scFc Bispecific HLE molecule

<400> 81

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Ala Phe Ile Trp Tyr Glu Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Glu Ser Val

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Arg Ala Gly Ile Ile Gly Thr Ile Gly Tyr Tyr Gly Met

100 105 110

Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly

115	120	125
-----	-----	-----

Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Ser Tyr Glu Leu

130	135	140
-----	-----	-----

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

145	150	155	160
-----	-----	-----	-----

Thr Cys Ser Gly Asp Arg Leu Gly Glu Lys Tyr Thr Ser Trp Tyr Gln

165	170	175
-----	-----	-----

Gln Arg Pro Gly Gln Ser Pro Leu Leu Val Ile Tyr Gln Asp Thr Lys

180	185	190
-----	-----	-----

Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser Asn Ser Gly Asn

195	200	205
-----	-----	-----

Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Gly Thr Gln Ala Met Asp Glu Ala Asp

210	215	220
-----	-----	-----

Tyr Tyr Cys Gln Ala Trp Glu Ser Ser Thr Val Val Phe Gly Cys Gly

225	230	235	240
-----	-----	-----	-----

Thr Lys Leu Thr Val Leu Ser Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu

245	250	255
-----	-----	-----

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

260	265	270
-----	-----	-----

Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Lys Tyr Ala Met Asn Trp

275	280	285
-----	-----	-----

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

290	295	300
-----	-----	-----

Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Asp

305	310	315	320
-----	-----	-----	-----

Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln

325	330	335
-----	-----	-----

Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val Arg

340	345	350
-----	-----	-----

His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Ile Ser Tyr Trp Ala Tyr Trp Gly

355	360	365
-----	-----	-----

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly

370 375 380

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gln Thr Val Val Thr Gln Glu Pro

385 390 395 400

Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser

405 410 415

Ser Thr Gly Ala Val Thr Ser Gly Asn Tyr Pro Asn Trp Val Gln Gln

420 425 430

Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly Leu Ile Gly Gly Thr Lys Phe Leu

435 440 445

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

450 455 460

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

465 470 475 480

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

485 490 495

Lys Leu Thr Val Leu Gly Gly Gly Asp Lys Thr His Thr Cys Pro

500 505 510

Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe

515 520 525

Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val

530 535 540

Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe

545 550 555 560

Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro

565 570 575

Cys Glu Glu Gln Tyr Gly Ser Thr Tyr Arg Cys Val Ser Val Leu Thr

580 585 590

Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val

595 600 605

Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala

610	615	620
Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg		
625	630	635
Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly		
645	650	655
Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro		
660	665	670
Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser		
675	680	685
Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln		
690	695	700
Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His		
705	710	715
Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys Gly Gly Gly		
725	730	735
Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser		
740	745	750
Gly Gly Gly Ser Gly Gly Ser Asp Lys Thr His Thr Cys		
755	760	765
Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu		
770	775	780
Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu		
785	790	795
Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys		
805	810	815
Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys		
820	825	830
Pro Cys Glu Glu Gln Tyr Gly Ser Thr Tyr Arg Cys Val Ser Val Leu		
835	840	845
Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys		
850	855	860

Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys  
 865                    870                    875                    880  
 Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser  
 885                    890                    895

Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys  
 900                    905                    910

Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln  
 915                    920                    925

Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly  
 930                    935                    940

Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln  
 945                    950                    955                    960

Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn  
 965                    970                    975

His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
 980                    985

<210> 82

<211> 987

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<220><221> MISC\_FEATURE

<223> CDH19\_65254.007\_CC x I2C -scFc\_de1GK Bispecific HLE molecule

<400> 82

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

1                    5                    10                    15

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

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

Ala Phe Ile Trp Tyr Glu Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Glu Ser Val  
 50                    55                    60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Arg Ala Gly Ile Ile Gly Thr Ile Gly Tyr Tyr Gly Met

100 105 110

Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly

115 120 125

Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Ser Tyr Glu Leu

130 135 140

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

145 150 155 160

Thr Cys Ser Gly Asp Arg Leu Gly Glu Lys Tyr Thr Ser Trp Tyr Gln

165 170 175

Gln Arg Pro Gly Gln Ser Pro Leu Leu Val Ile Tyr Gln Asp Thr Lys

180 185 190

Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser Asn Ser Gly Asn

195 200 205

Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Gly Thr Gln Ala Met Asp Glu Ala Asp

210 215 220

Tyr Tyr Cys Gln Ala Trp Glu Ser Ser Thr Val Val Phe Gly Cys Gly

225 230 235 240

Thr Lys Leu Thr Val Leu Ser Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu

245 250 255

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

260 265 270

Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Lys Tyr Ala Met Asn Trp

275 280 285

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

290 295 300

Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Asp

305	310	315	320
Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln			
325	330	335	
Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val Arg			
340	345	350	
His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Ile Ser Tyr Trp Ala Tyr Trp Gly			
355	360	365	
Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly			
370	375	380	
Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gln Thr Val Val Thr Gln Glu Pro			
385	390	395	400
Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser			
405	410	415	
Ser Thr Gly Ala Val Thr Ser Gly Asn Tyr Pro Asn Trp Val Gln Gln			
420	425	430	
Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly Leu Ile Gly Gly Thr Lys Phe Leu			
435	440	445	
Ala Pro Gly Thr Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys			
450	455	460	
Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Val Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr			
465	470	475	480
Tyr Cys Val Leu Trp Tyr Ser Asn Arg Trp Val Phe Gly Gly Thr			
485	490	495	
Lys Leu Thr Val Leu Gly Gly Gly Asp Lys Thr His Thr Cys Pro			
500	505	510	
Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe			
515	520	525	
Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val			
530	535	540	
Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe			
545	550	555	560

Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro  
 565 570 575  
 Cys Glu Glu Gln Tyr Gly Ser Thr Tyr Arg Cys Val Ser Val Leu Thr  
 580 585 590  
 Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val  
 595 600 605  
 Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala  
 610 615 620  
 Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg  
 625 630 635 640  
 Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly  
 645 650 655  
 Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro  
 660 665 670  
 Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser  
 675 680 685  
 Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln  
 690 695 700  
 Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His  
 705 710 715 720  
 Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Pro Gly Gly Ser Gly  
 725 730 735  
 Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly  
 740 745 750  
 Gly Ser Gly Ser Gly Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro  
 755 760 765  
 Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro  
 770 775 780  
 Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr  
 785 790 795 800  
 Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn

805	810	815
Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Cys		
820	825	830
Glu Glu Gln Tyr Gly Ser Thr Tyr Arg Cys Val Ser Val Leu Thr Val		
835	840	845
Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser		
850	855	860
Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys		
865	870	875
Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu		
885	890	895
Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe		
900	905	910
Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gln Pro Glu		
915	920	925
Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe		
930	935	940
Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly		
945	950	955
Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr		
965	970	975
Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys		
980	985	
<210> 83		
<211> 7		
<212> PRT		
<213> Artificial Sequence		
<220><223> Synthetic Polypeptide		
<220><221> MISC_FEATURE		
<223> FLT3_7 A8xCD3-scFc VH CDR1		
<400> 83		
Asn Ala Arg Met Gly Val Ser		

1 5

<210> 84

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<220><221> MISC\_FEATURE

<223> FLT3\_7 A8xCD3-scFc VH CDR2

<400> 84

His Ile Phe Ser Asn Asp Glu Lys Ser Tyr Ser Thr Ser Leu Lys Asn

1 5 10 15

<210> 85

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<220><221> MISC\_FEATURE

<223> FLT3\_7 A8xCD3-scFc VH CDR3

<400> 85

Ile Val Gly Tyr Gly Ser Gly Trp Tyr Gly Phe Phe Asp Tyr

1 5 10

<210> 86

<211> 11

<212> PRT

<

213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<220><221> MISC\_FEATURE

<223> FLT3\_7 A8xCD3-scFc VL CDR1

<400> 86

Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn Asp Leu Gly

1 5 10

<210> 87

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<220><221> MISC\_FEATURE

<223> FLT3\_7 A8xCD3-scFc VL CDR2

<400> 87

Ala Ala Ser Thr Leu Gln Ser

1 5

<210> 88

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<220><221> MISC\_FEATURE

<223> FLT3\_7 A8xCD3-scFc VL CDR3

<400> 88

Leu Gln His Asn Ser Tyr Pro Leu Thr

1 5

<210> 89

<211> 124

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<220><221> MISC\_FEATURE

<223> FLT3\_7 A8xCD3-scFc VH

<400> 89

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Trp Leu Ala His Ile Phe Ser Asn Asp Glu Lys Ser Tyr Ser Thr Ser

50                    55                    60  
 Leu Lys Asn Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Ser Ser Lys Thr Gln Val  
 65                    70                    75                    80  
 Val Leu Thr Met Thr Asn Val Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr

85                    90                    95  
 Cys Ala Arg Ile Val Gly Tyr Gly Ser Gly Trp Tyr Gly Phe Phe Asp  
 100                  105                  110  
 Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115                  120

<210> 90

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<220><221> MISC\_FEATURE

<223> FLT3\_ A8-scFc VL

<400> 90

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

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

65                  70                  75                  80  
 Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln His Asn Ser Tyr Pro Leu  
 85                  90                  95  
 Thr Phe Gly Cys Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys  
 100                105  
<210> 91

&lt;211&gt; 246

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;&lt;223&gt; Synthetic Polypeptide

&lt;220&gt;&lt;221&gt; MISC\_FEATURE

&lt;223&gt; FLT3\_7 A8xCD3- scFv

&lt;400&gt; 91

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

1 5 10 15

Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Leu Ser Gly Phe Ser Leu Asn Asn Ala  
20 25 30

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

35 40 45

Trp Leu Ala His Ile Phe Ser Asn Asp Glu Lys Ser Tyr Ser Thr Ser  
50 55 60

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

65 70 75 80

Val Leu Thr Met Thr Asn Val Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr  
85 90 95Cys Ala Arg Ile Val Gly Tyr Gly Ser Gly Trp Tyr Gly Phe Phe Asp  
100 105 110Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly  
115 120 125

Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Ser Asp Ile Gln Met Thr

130 135 140

Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile  
145 150 155 160

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

165 170 175

Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Arg Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Thr

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

Tyr Tyr Cys Leu Gln His Asn Ser Tyr Pro Leu Thr Phe Gly Cys Gly

225 230 235 240

Thr Lys Val Glu Ile Lys

245

<210> 92

<211> 501

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<220><221> MISC\_FEATURE

<223> FLT3\_7 A8xCD3 Bispecific molecule

<400> 92

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Trp Leu Ala His Ile Phe Ser Asn Asp Glu Lys Ser Tyr Ser Thr Ser

50 55 60

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

65 70 75 80

Val Leu Thr Met Thr Asn Val Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr

85 90 95

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

100 105 110

Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly

115	120	125
Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Ser Asp Ile Gln Met Thr		
130	135	140
Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile		
145	150	155
Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn Asp Leu Gly Trp Tyr Gln		
165	170	175
Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Arg Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Thr		
180	185	190
Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Thr		
195	200	205
Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr		
210	215	220
Tyr Tyr Cys Leu Gln His Asn Ser Tyr Pro Leu Thr Phe Gly Cys Gly		
225	230	235
Thr Lys Val Glu Ile Lys Ser Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu		
245	250	255
Val Glu Ser Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Lys Leu		
260	265	270
Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Lys Tyr Ala Met Asn Trp		
275	280	285
Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Arg Ile Arg		
290	295	300
Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Asp		
305	310	315
Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln		
325	330	335
Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val Arg		
340	345	350
His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Ile Ser Tyr Trp Ala Tyr Trp Gly		
355	360	365

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly

370	375	380
Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gln Thr Val Val Thr Gln Glu Pro		
385	390	395
Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser		
405	410	415
Ser Thr Gly Ala Val Thr Ser Gly Asn Tyr Pro Asn Trp Val Gln Gln		
420	425	430
Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly Leu Ile Gly Gly Thr Lys Phe Leu		
435	440	445
Ala Pro Gly Thr Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys		
450	455	460
Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Val Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr		
465	470	475
Tyr Cys Val Leu Trp Tyr Ser Asn Arg Trp Val Phe Gly Gly Thr		
485	490	495
Lys Leu Thr Val Leu		
500		

<210

> 93

<211> 989

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<220><221> MISC\_FEATURE

<223> FLT3\_7 A8xCD3-scFc Bispecific HLE molecule

<400> 93

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

1	5	10	15
---	---	----	----

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

20	25	30
----	----	----

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

35	40	45
Trp Leu Ala His Ile Phe Ser Asn Asp Glu Lys Ser Tyr Ser Thr Ser		
50	55	60
Leu Lys Asn Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Ser Ser Lys Thr Gln Val		
65	70	75
Val Leu Thr Met Thr Asn Val Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr		
85	90	95
Cys Ala Arg Ile Val Gly Tyr Gly Ser Gly Trp Tyr Gly Phe Phe Asp		
100	105	110
Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly		
115	120	125
Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Ser Asp Ile Gln Met Thr		
130	135	140
Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile		
145	150	155
Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn Asp Leu Gly Trp Tyr Gln		
165	170	175
Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Arg Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Thr		
180	185	190
Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr		
195	200	205
Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr		
210	215	220
Tyr Tyr Cys Leu Gln His Asn Ser Tyr Pro Leu Thr Phe Gly Cys Gly		
225	230	235
Thr Lys Val Glu Ile Lys Ser Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu		
245	250	255
Val Glu Ser Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Lys Leu		
260	265	270
Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Lys Tyr Ala Met Asn Trp		
275	280	285

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

290	295	300
Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Asp		
305	310	315
Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln		
325	330	335
Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val Arg		
340	345	350
His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Ile Ser Tyr Trp Ala Tyr Trp Gly		
355	360	365
Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly		
370	375	380
Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gln Thr Val Val Thr Gln Glu Pro		
385	390	395
Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser		
405	410	415
Ser Thr Gly Ala Val Thr Ser Gly Asn Tyr Pro Asn Trp Val Gln Gln		
420	425	430
Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly Leu Ile Gly Gly Thr Lys Phe Leu		
435	440	445
Ala Pro Gly Thr Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys		
450	455	460
Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Val Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr		
465	470	475
Tyr Cys Val Leu Trp Tyr Ser Asn Arg Trp Val Phe Gly Gly Thr		
485	490	495
Lys Leu Thr Val Leu Gly Gly Gly Asp Lys Thr His Thr Cys Pro		
500	505	510
Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe		
515	520	525
Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val		

530	535	540
Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe		
545	550	555
Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro		
565	570	575
Cys Glu Glu Gln Tyr Gly Ser Thr Tyr Arg Cys Val Ser Val Leu Thr		
580	585	590
Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Glu Tyr Lys Cys Lys Val		
595	600	605
Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala		
610	615	620
Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg		
625	630	635
Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly		
645	650	655
Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gln Pro		
660	665	670
Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser		
675	680	685
Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln		
690	695	700
Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His		
705	710	715
Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys Gly Gly Gly		
725	730	735
Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser		
740	745	750
Gly Gly Gly Ser Gly Gly Ser Asp Lys Thr His Thr Cys		
755	760	765
Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Pro Ser Val Phe Leu		
770	775	780

Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu

785 790 795 800

Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys

805 810 815

Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys

820 825 830

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

835 840 845

Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys

850 855 860

Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys

865 870 875 880

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

885 890 895

Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys

900 905 910

Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln

915 920 925

Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly

930 935 940

Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln

945 950 955 960

Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn

965 970 975

His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

980 985

<210> 94

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223

> Synthetic Polypeptide

&lt;220&gt;&lt;221&gt; MISC\_FEATURE

&lt;223&gt; VH CDR1 DLL3\_1\_CC\_de1GK

&lt;400&gt; 94

Ser Tyr Tyr Trp Ser

1 5

&lt;210&gt; 95

&lt;211&gt; 16

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;&lt;223&gt; Synthetic Polypeptide

&lt;220&gt;&lt;221&gt; MISC\_FEATURE

&lt;223&gt; VH CDR2 DLL3\_1\_CC\_de1GK

&lt;400&gt; 95

Tyr Val Tyr Tyr Ser Gly Thr Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Ser

1 5 10 15

&lt;210&gt; 96

&lt;211&gt; 10

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;&lt;223&gt; Synthetic Polypeptide

&lt;220&gt;&lt;221&gt; MISC\_FEATURE

&lt;223&gt; VH CDR3 DLL3\_1\_CC\_de1GK

&lt;400&gt; 96

Ile Ala Val Thr Gly Phe Tyr Phe Asp Tyr

1 5 10

&lt;210&gt; 97

&lt;211&gt; 12

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;&lt;223&gt; Synthetic Polypeptide

&lt;220&gt;&lt;221&gt; MISC\_FEATURE

&lt;223&gt; VL CDR1 DLL3\_1\_CC\_de1GK

&lt;400&gt; 97

Arg Ala Ser Gln Arg Val Asn Asn Asn Tyr Leu Ala

1                   5                   10

<210> 98

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<220><221> MISC\_FEATURE

<223> VL CDR2 DLL3\_1\_CC\_de1GK

<400> 98

Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr

1                   5

<210> 99

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<220><221> MISC\_FEATURE

<223> VL CDR3 DLL3\_1\_CC\_de1GK

<400> 99

Gln Gln Tyr Asp Arg Ser Pro Leu Thr

1                   5

<210> 100

<211> 118

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<220><221> MISC\_FEATURE

<223> VH DLL3\_1\_CC\_de1GK

<400> 100

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

1                   5                   10                   15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Tyr

20                   25                   30

Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Cys Leu Glu Trp Ile  
 35 40 45  
 Gly Tyr Val Tyr Tyr Ser Gly Thr Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Lys  
 50 55 60  
 Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu  
 65 70 75 80  
 Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala  
 85 90 95  
 Ser Ile Ala Val Thr Gly Phe Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr  
 100 105 110  
 Leu Val Thr Val Ser Ser  
 115

<210> 101  
 <211> 108  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> Synthetic Polypeptide  
 <220><221> MISC\_FEATURE  
 <223> VL DLL3\_1\_CC\_de1GK  
 <400> 101  
 Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly  
 1 5 10 15  
 Glu Arg Val Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Arg Val Asn Asn Asn  
 20 25 30  
 Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Arg Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu  
 35 40 45

Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser  
 50 55 60  
 Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu  
 65 70 75 80  
 Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asp Arg Ser Pro  
 85 90 95

Leu Thr Phe Gly Cys Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

100 105

<210> 102

<211> 241

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<220><221> MISC\_FEATURE

<223> DLL3\_1\_CC\_de1GK

<400> 102

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

1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Tyr

20 25 30

Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Cys Leu Glu Trp Ile

35 40 45

Gly Tyr Val Tyr Tyr Ser Gly Thr Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Lys

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ser Ile Ala Val Thr Gly Phe Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr

100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165	170	175
-----	-----	-----

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

180	185	190
-----	-----	-----

Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr

195	200	205
-----	-----	-----

Ile Ser Arg Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln

210	215	220
-----	-----	-----

Tyr Asp Arg Ser Pro Leu Thr Phe Gly Cys Gly Thr Lys Leu Glu Ile

225	230	235	240
-----	-----	-----	-----

Lys

<210> 103

<211> 496

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<220><221> MISC\_FEATURE

<223> DLL3\_1\_CCxCD3\_delGK Bispecific molecule

<400> 103

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

1	5	10	15
---	---	----	----

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Tyr

20	25	30
----	----	----

Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Cys Leu Glu Trp Ile

35	40	45
----	----	----

Gly Tyr Val Tyr Tyr Ser Gly Thr Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Lys

50	55	60
----	----	----

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

65	70	75	80
----	----	----	----

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

85	90	95
----	----	----

Ser Ile Ala Val Thr Gly Phe Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr

100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr

195 200 205

Ile Ser Arg Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln

210 215 220

Tyr Asp Arg Ser Pro Leu Thr Phe Gly Cys Gly Thr Lys Leu Glu Ile

225 230 235 240

Lys Ser Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly

245 250 255

Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser

260 265 270

Gly Phe Thr Phe Asn Lys Tyr Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro

275 280 285

Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn

290 295 300

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

305 310 315 320

Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys

325 330 335

Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly

340	345	350
Asn Ser Tyr Ile Ser Tyr Trp Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val		
355	360	365
Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly		
370	375	380
Gly Gly Ser Gln Thr Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser		
385	390	395
Pro Gly Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val		
405	410	415
Thr Ser Gly Asn Tyr Pro Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala		
420	425	430
Pro Arg Gly Leu Ile Gly Gly Thr Lys Phe Leu Ala Pro Gly Thr Pro		
435	440	445
Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Leu		
450	455	460
Ser Gly Val Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Val Leu Trp		
465	470	475
Tyr Ser Asn Arg Trp Val Phe Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu		
485	490	495
<210> 104		
<211> 982		
<212> PRT		
<213> Artificial Sequence		
<220><223> Synthetic Polypeptide		
<220><221> MISC_FEATURE		
<223> DLL3_1_CCxCD3-scFc_de1GK Bispecific HLE molecule		
<400> 104		
Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu		
1	5	10
Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Tyr		
20	25	30

Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Cys Leu Glu Trp Ile  
 35 40 45  
 Gly Tyr Val Tyr Tyr Ser Gly Thr Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Lys  
 50 55 60  
 Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu  
 65 70 75 80  
 Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala  
 85 90 95  
  
 Ser Ile Ala Val Thr Gly Phe Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr  
 100 105 110  
 Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Ser  
 115 120 125  
 Gly Gly Gly Ser Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu  
 130 135 140  
 Ser Leu Ser Pro Gly Glu Arg Val Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln  
 145 150 155 160  
  
 Arg Val Asn Asn Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Arg Pro Gly Gln  
 165 170 175  
 Ala Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile  
 180 185 190  
 Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr  
 195 200 205  
 Ile Ser Arg Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln  
 210 215 220  
  
 Tyr Asp Arg Ser Pro Leu Thr Phe Gly Cys Gly Thr Lys Leu Glu Ile  
 225 230 235 240  
 Lys Ser Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly  
 245 250 255  
 Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser  
 260 265 270  
 Gly Phe Thr Phe Asn Lys Tyr Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro

275	280	285
-----	-----	-----

Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn  
 290                    295                    300  
 Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser  
 305                    310                    315                    320  
 Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys  
 325                    330                    335  
 Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly  
 340                    345                    350

Asn Ser Tyr Ile Ser Tyr Trp Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val  
 355                    360                    365  
 Thr Val Ser Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly  
 370                    375                    380  
 Gly Gly Ser Gln Thr Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser  
 385                    390                    395                    400  
 Pro Gly Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val  
 405                    410                    415

Thr Ser Gly Asn Tyr Pro Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala  
 420                    425                    430  
 Pro Arg Gly Leu Ile Gly Gly Thr Lys Phe Leu Ala Pro Gly Thr Pro  
 435                    440                    445  
 Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Leu  
 450                    455                    460  
 Ser Gly Val Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Val Leu Trp  
 465                    470                    475                    480

Tyr Ser Asn Arg Trp Val Phe Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu  
 485                    490                    495  
 Gly Gly Gly Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro  
 500                    505                    510  
 Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys  
 515                    520                    525

Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val  
 530 535 540

Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp  
 545 550 555 560  
 Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Cys Glu Glu Gln Tyr  
 565 570 575  
 Gly Ser Thr Tyr Arg Cys Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp  
 580 585 590  
 Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu  
 595 600 605

Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg  
 610 615 620  
 Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys  
 625 630 635 640  
 Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp  
 645 650 655  
 Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys  
 660 665 670

Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser  
 675 680 685  
 Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser  
 690 695 700  
 Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser  
 705 710 715 720  
 Leu Ser Leu Ser Pro Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly  
 725 730 735

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly  
 740 745 750  
 Gly Gly Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu  
 755 760 765  
 Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp

770	775	780
Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp		
785	790	795
Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly		
805	810	815
Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Cys Glu Glu Gln Tyr Gly		
820	825	830
Ser Thr Tyr Arg Cys Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp		
835	840	845
Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro		
850	855	860
Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu		
865	870	875
Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn		
885	890	895
Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile		
900	905	910
Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr		
915	920	925
Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys		
930	935	940
Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys		
945	950	955
Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu		
965	970	975
Ser Leu Ser Pro Gly Lys		
980		
<210> 105		
<211> 5		
<212> PRT		
<213> Artificial Sequence		

<220><223> Synthetic Polypeptide

<220><221> MISC\_FEATURE

<223> VH CDR1 CD19 97-G1RE-C2

<400> 105

Ser Tyr Gly Met His

1 5

<210> 106

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<220><221> MISC\_FEATURE

<223> VH CDR2 CD19 97-G1RE-C2

<400> 106

Val Ile Ser Tyr Glu Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Glu Ser Val Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 107

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<220><221> MISC\_FEATURE

<223> VH CDR3 CD19 97-G1RE-C2

<400> 107

Asp Arg Gly Thr Ile Phe Gly Asn Tyr Gly Leu Glu Val

1 5 10

<210> 108

<211> 122

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<220><221> MISC\_FEATURE

&lt;223&gt; VH CD19 97-G1RE-C2 CC

&lt;400&gt; 108

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Ala Val Ile Ser Tyr Glu Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Glu Ser Val

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Asp Arg Gly Thr Ile Phe Gly Asn Tyr Gly Leu Glu Val Trp

100 105 110

Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser

115 120

&lt;210&gt; 109

&lt;211&gt; 16

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;&lt;223&gt; Synthetic Polypeptide

&lt;220&gt;&lt;221&gt; MISC\_FEATURE

&lt;223&gt; VL CDR1 CD19 97-G1RE-C2

&lt;400&gt; 109

Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Lys Asn Ala Phe Asn Tyr Leu Asp

1 5 10 15

&lt;210&gt; 110

&lt;211&gt; 7

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<220><221> MISC\_FEATURE

<223> VL CDR2 CD19 97-G1RE-C2

<400> 110

Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser

1 5

<210> 111

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<220><221> MISC\_FEATURE

<223>

> VL CDR3 CD19 97-G1RE-C2

<400> 111

Met Gln Ala Leu Gln Thr Pro Phe Thr

1 5

<210> 112

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<220><221> MISC\_FEATURE

<223> VL CD19 97-G1RE-C2 CC

<400> 112

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

1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Lys

20 25 30

Asn Ala Phe Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser

35 40 45

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro

50 55 60

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

65                    70                    75                    80  
 Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ala  
 85                    90                    95

Leu Gln Thr Pro Phe Thr Phe Gly Cys Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys  
 100                105                110

&lt;210&gt; 113

&lt;211&gt; 525

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;&lt;223&gt; Synthetic Polypeptide

&lt;220&gt;&lt;221&gt; MISC\_FEATURE

&lt;223&gt; CD19 97-G1RE-C2 CC x I2C0

&lt;400&gt; 113

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

Leu Arg Gly Ala Arg Cys Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser  
 20                25                30

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

Gln Ser Leu Leu His Lys Asn Ala Phe Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu  
 50                55                60

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

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

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

Tyr Tyr Cys Met Gln Ala Leu Gln Thr Pro Phe Thr Phe Gly Cys Gly  
 115                120                125

Thr Lys Val Asp Ile Lys Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser  
 130                135                140

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

145	150	155	160
-----	-----	-----	-----

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

165	170	175
-----	-----	-----

Thr Phe Ser Ser Tyr Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys

180	185	190
-----	-----	-----

Cys Leu Glu Trp Val Ala Val Ile Ser Tyr Glu Gly Ser Asn Lys Tyr

195	200	205
-----	-----	-----

Tyr Ala Glu Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser

210	215	220
-----	-----	-----

Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Asp Glu Asp Thr

225	230	235	240
-----	-----	-----	-----

Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Asp Arg Gly Thr Ile Phe Gly Asn Tyr

245	250	255
-----	-----	-----

Gly Leu Glu Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly

260	265	270
-----	-----	-----

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

275	280	285
-----	-----	-----

Gln Pro Gly Gly Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr

290	295	300
-----	-----	-----

Phe Asn Lys Tyr Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly

305	310	315	320
-----	-----	-----	-----

Leu Glu Trp Val Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr

325	330	335
-----	-----	-----

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

340	345	350
-----	-----	-----

Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp

355	360	365
-----	-----	-----

Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr

370	375	380
-----	-----	-----

Ile Ser Tyr Trp Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser

385	390	395	400
-----	-----	-----	-----

Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser

405 410 415

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

420 425 430

Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Ser Gly

435 440 445

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

450 455 460

Leu Ile Gly Gly Thr Lys Phe Leu Ala Pro Gly Thr Pro Ala Arg Phe

465 470 475 480

Ser Gly Ser Leu Leu Gly Lys Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Val

485 490 495

Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Val Leu Trp Tyr Ser Asn

500 505 510

Arg Trp Val Phe Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu

515 520 525

<210> 114

<211> 1013

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<220><221> MISC\_FEATURE

<223> CD19 97-G1RE-C2 CC x I2C0-scFc

<400> 114

Met Asp Met Arg Val Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Trp

1 5 10 15

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

20 25 30

Leu Pro Val Ile Ser Gly Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser

35 40 45

Gln Ser Leu Leu His Lys Asn Ala Phe Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu

50	55	60
Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn		
65	70	75
Arg Ala Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr		
85	90	95
Asp Phe Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val		
100	105	110
Tyr Tyr Cys Met Gln Ala Leu Gln Thr Pro Phe Thr Phe Gly Cys Gly		
115	120	125
Thr Lys Val Asp Ile Lys Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser		
130	135	140
Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Val		
145	150	155
Val Gln Pro Gly Arg Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe		
165	170	175
Thr Phe Ser Ser Tyr Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys		
180	185	190
Cys Leu Glu Trp Val Ala Val Ile Ser Tyr Glu Gly Ser Asn Lys Tyr		
195	200	205
Tyr Ala Glu Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser		
210	215	220
Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Asp Glu Asp Thr		
225	230	235
Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Asp Arg Gly Thr Ile Phe Gly Asn Tyr		
245	250	255
Gly Leu Glu Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly		
260	265	270
Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val		
275	280	285
Gln Pro Gly Gly Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr		
290	295	300

Phe Asn Lys Tyr Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly  
 305                    310                    315                    320

Leu Glu Trp Val Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr  
 325                    330                    335

Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp  
 340                    345                    350

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

Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr  
 370                    375                    380

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

Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Ser  
 405                    410                    415

Gln Thr Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly  
 420                    425                    430

Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Ser Gly  
 435                    440                    445

Asn Tyr Pro Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly  
 450                    455                    460

Leu Ile Gly Gly Thr Lys Phe Leu Ala Pro Gly Thr Pro Ala Arg Phe  
 465                    470                    475                    480

Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Val  
 485                    490                    495

Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Val Leu Trp Tyr Ser Asn  
 500                    505                    510

Arg Trp Val Phe Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gly Gly  
 515                    520                    525

Gly Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu  
 530                    535                    540

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

545	550	555	560
Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser			
565	570	575	
His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu			
580	585	590	
Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Cys Glu Glu Gln Tyr Gly Ser Thr			
595	600	605	
Tyr Arg Cys Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn			
610	615	620	
Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro			
625	630	635	640
Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln			
645	650	655	
Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val			
660	665	670	
Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val			
675	680	685	
Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro			
690	695	700	
Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr			
705	710	715	720
Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val			
725	730	735	
Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu			
740	745	750	
Ser Pro Gly Lys Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly			
755	760	765	
Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly			
770	775	780	
Gly Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu			
785	790	795	800

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

805 810 815

Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val

820 825 830

Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val

835 840 845

Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Cys Glu Glu Gln Tyr Gly Ser

850 855 860

Thr Tyr Arg Cys Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu

865 870 875 880

Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala

885 890 895

Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro

900 905 910

Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln

915 920 925

Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala

930 935 940

Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr

945 950 955 960

Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu

965 970 975

Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser

980 985 990

Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser

995 1000 1005

Leu Ser Pro Gly Lys

1010

<210> 115

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<220><221> MISC\_FEATURE

<223> VH CDR1 CDH3 G8A 6-B12

<400> 115

Ser Tyr Pro Ile Asn

1 5

<210> 116

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<220><221> MISC\_FEATURE

<223> VH CDR2 CDH3 G8A 6-B12

<400> 116

Val Ile Trp Thr Gly Gly Thr Asn Tyr Ala Ser Ser Val Lys Gly

1 5 10 15

<210> 117

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<220><221> MISC\_FEATURE

<223> VH CDR3 CDH3 G8A 6-B12

<400> 117

Ser Arg Gly Val Tyr Asp Phe Asp Gly Arg Gly Ala Met Asp Tyr

1 5 10 15

<210> 118

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<220><221> MISC\_FEATURE

&lt;223&gt; VL CDR1 CDH3 G8A 6-B12

&lt;400&gt; 118

Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Tyr Ser Ser Asn Gln Lys Asn Tyr Phe

1 5 10 15

Ala

&lt;210&gt; 119

&lt;211&gt; 7

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;&lt;223&gt; Synthetic Polypeptide

&lt;220&gt;&lt;221&gt; MISC\_FEATURE

&lt;223&gt; VL CDR2 CDH3 G8A 6-B12

&lt;400&gt; 119

Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser

1 5

&lt;210&gt; 120

&lt;211&gt; 9

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;&lt;223&gt; Synthetic Polypeptide

&lt;220&gt;&lt;221&gt; MISC\_FEATURE

&lt;223&gt; VL CDR3 CDH3 G8A 6-B12

&lt;400&gt; 120

Gln Gln Tyr Tyr Ser Tyr Pro Tyr Thr

1 5

&lt;210&gt; 121

&lt;

211&gt; 123

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;&lt;223&gt; Synthetic Polypeptide

&lt;220&gt;&lt;221&gt; MISC\_FEATURE

&lt;223&gt; VH CDH3 G8A 6-B12

&lt;400&gt; 121

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Gly Val Ile Trp Thr Gly Gly Thr Asn Tyr Ala Ser Ser Val Lys

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Lys Ser Arg Gly Val Tyr Asp Phe Asp Gly Arg Gly Ala Met Asp Tyr

100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

&lt;210&gt; 122

&lt;211&gt; 113

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;&lt;223&gt; Synthetic Polypeptide

&lt;220&gt;&lt;221&gt; MISC\_FEATURE

&lt;223&gt; VL CDH3 G8A 6-B12

&lt;400&gt; 122

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

1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Tyr Ser

20 25 30

Ser Asn Gln Lys Asn Tyr Phe Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln

35 40 45

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

50	55	60	
Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr			
65	70	75	80
Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln			
85	90	95	

Tyr Tyr Ser Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile			
100	105	110	
Lys			

<210> 123  
<211> 251  
<212> PRT  
<213> Artificial Sequence  
<220><223> Synthetic Polypeptide  
<220><221> MISC\_FEATURE  
<223> CDH3 G8A 6-B12 scFv

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

20	25	30	
Pro Ile Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val			
35	40	45	
Gly Val Ile Trp Thr Gly Gly Thr Asn Tyr Ala Ser Ser Val Lys			
50	55	60	
Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Val Tyr Leu			
65	70	75	80
Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala			

85	90	95	
Lys Ser Arg Gly Val Tyr Asp Phe Asp Gly Arg Gly Ala Met Asp Tyr			
100	105	110	
Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Ser			

115                    120                    125

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Asp Ile Val Met Thr Gln

130                    135                    140

Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly Glu Arg Ala Thr Ile Asn

145                    150                    155                    160

Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Tyr Ser Ser Asn Gln Lys Asn Tyr

165                    170                    175

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

180                    185                    190

Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly

195                    200                    205

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

210                    215                    220

Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Tyr Ser Tyr Pro Tyr

225                    230                    235                    240

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

245                    250

<210> 124

<211> 506

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<220><221> MISC\_FEATURE

<223> CDH3 G8A 6-B12 x I2C0 bispecific molecule

<400> 124

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

1                    5                    10                    15

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

20                    25                    30

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

35                    40                    45

Gly Val Ile Trp Thr Gly Gly Thr Asn Tyr Ala Ser Ser Val Lys

50	55	60
Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Val Tyr Leu		
65	70	75
Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala		
85	90	95
Lys Ser Arg Gly Val Tyr Asp Phe Asp Gly Arg Gly Ala Met Asp Tyr		
100	105	110
Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Ser		
115	120	125
Gly Gly Gly Ser Gly Gly Ser Asp Ile Val Met Thr Gln		
130	135	140
Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly Glu Arg Ala Thr Ile Asn		
145	150	155
Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Tyr Ser Ser Asn Gln Lys Asn Tyr		
165	170	175
Phe Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile		
180	185	190
Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly		
195	200	205
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ala		
210	215	220
Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Tyr Ser Tyr Pro Tyr		
225	230	235
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Ser Gly Gly Gly		
245	250	255
Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly		
260	265	270
Gly Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Lys		
275	280	285
Tyr Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp		
290	295	300

Val Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala  
 305                    310                    315                    320  
 Asp Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn  
  
 325                    330                    335  
 Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val  
 340                    345                    350  
 Tyr Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Ile Ser Tyr  
 355                    360                    365  
 Trp Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly  
 370                    375                    380  
 Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gln Thr Val  
  
 385                    390                    395                    400  
 Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr  
 405                    410                    415  
 Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Ser Gly Asn Tyr Pro  
 420                    425                    430  
 Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly Leu Ile Gly  
 435                    440                    445  
 Gly Thr Lys Phe Leu Ala Pro Gly Thr Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser  
  
 450                    455                    460  
 Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Val Gln Pro Glu  
 465                    470                    475                    480  
 Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Val Leu Trp Tyr Ser Asn Arg Trp Val  
 485                    490                    495  
 Phe Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu  
 500                    505  
 <210> 125  
 <211> 994  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> Synthetic Polypeptide

&lt;220&gt;&lt;221&gt; MISC\_FEATURE

&lt;223&gt; CDH3 G8A 6-B12 x I2C0 bispecific molecule HLE

&lt;400&gt; 125

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Gly Val Ile Trp Thr Gly Gly Thr Asn Tyr Ala Ser Ser Val Lys

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Lys Ser Arg Gly Val Tyr Asp Phe Asp Gly Arg Gly Ala Met Asp Tyr

100 105 110

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

115 120 125

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Asp Ile Val Met Thr Gln

130 135 140

Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly Glu Arg Ala Thr Ile Asn

145 150 155 160

Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Tyr Ser Ser Asn Gln Lys Asn Tyr

165 170 175

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

180 185 190

Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly

195 200 205

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

210 215 220

Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Tyr Ser Tyr Pro Tyr

225	230	235	240
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Ser Gly Gly Gly			
245	250	255	
Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly			
260	265	270	
Gly Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Lys			
275	280	285	
Tyr Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp			
290	295	300	
Val Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala			
305	310	315	320
Asp Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn			
325	330	335	
Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val			
340	345	350	
Tyr Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Ile Ser Tyr			
355	360	365	
Trp Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly			
370	375	380	
Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gln Thr Val			
385	390	395	400
Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr			
405	410	415	
Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Ser Gly Asn Tyr Pro			
420	425	430	
Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly Leu Ile Gly			
435	440	445	
Gly Thr Lys Phe Leu Ala Pro Gly Thr Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser			
450	455	460	
Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Val Gln Pro Glu			
465	470	475	480

Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Val Leu Trp Tyr Ser Asn Arg Trp Val  
 485 490 495  
 Phe Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gly Gly Asp Lys  
 500 505 510  
 Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro  
 515 520 525  
 Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser  
 530 535 540  
 Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp  
 545 550 555 560  
 Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn  
 565 570 575  
 Ala Lys Thr Lys Pro Cys Glu Glu Gln Tyr Gly Ser Thr Tyr Arg Cys  
 580 585 590  
 Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu  
 595 600 605  
 Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys  
 610 615 620  
 Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr  
 625 630 635 640  
 Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr  
 645 650 655  
 Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu  
 660 665 670  
 Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu  
 675 680 685  
 Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys  
 690 695 700  
 Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu  
 705 710 715 720  
 Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly

725	730	735
Lys Gly Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser		
740	745	750
Gly Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Asp		
755	760	765
Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly		
770	775	780
Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile		
785	790	795
Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu		
805	810	815
Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His		
820	825	830
Asn Ala Lys Thr Lys Pro Cys Glu Glu Gln Tyr Gly Ser Thr Tyr Arg		
835	840	845
Cys Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys		
850	855	860
Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu		
865	870	875
Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr		
885	890	895
Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu		
900	905	910
Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp		
915	920	925
Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val		
930	935	940
Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp		
945	950	955
Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His		
965	970	975

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro

980 985 990

Gly Lys

<210> 126

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<220><221> MISC\_FEATURE

<223> BCMA A7 27-C4-G7 CDR1 VH

<400> 126

Asn His Ile Ile His

1 5

<210> 127

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<220><221> MISC\_FEATURE

<223> BCMA A7 27-C4-G7 CDR2 VH

<400> 127

Tyr Ile Asn Pro Tyr Pro Gly Tyr His Ala Tyr Asn Glu Lys Phe Gln

1 5 10 15

Gly

<210> 128

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<220><221> MISC\_FEATURE

<223>

> BCMA A7 27-C4-G7 CDR3 VH

<400> 128

Asp Gly Tyr Tyr Arg Asp Thr Asp Val Leu Asp Tyr

1 5 10

<210> 129

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<220><221> MISC\_FEATURE

<223> BCMA A7 27-C4-G7 CDR1 VL

<400> 129

Gln Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr Leu Asn

1 5 10

<210> 130

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<220><221> MISC\_FEATURE

<223> BCMA A7 27-C4-G7 CDR2 VL

<400> 130

Tyr Thr Ser Arg Leu His Thr

1 5

<210> 131

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<220><221> MISC\_FEATURE

<223> BCMA A7 27-C4-G7 CDR3 VL

<400> 131

Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro Trp Thr

1 5

<210> 132

&lt;211&gt; 121

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;&lt;223&gt; Synthetic Polypeptide

&lt;220&gt;&lt;221&gt; MISC\_FEATURE

&lt;223&gt; BCMA A7 27-C4-G7 CC (44/100) VH

&lt;400&gt; 132

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

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn His

20 25 30

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

35 40 45

Gly Tyr Ile Asn Pro Tyr Pro Gly Tyr His Ala Tyr Asn Glu Lys Phe

50 55 60

Gln Gly Arg Ala Thr Met Thr Ser Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Asp Gly Tyr Tyr Arg Asp Thr Asp Val Leu Asp Tyr Trp Gly

100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

&lt;210&gt; 133

&lt;211&gt; 107

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;&lt;223&gt; Synthetic Polypeptide

&lt;220&gt;&lt;221&gt; MISC\_FEATURE

&lt;223&gt; BCMA A7 27-C4-G7 CC (44/100) VL

&lt;400&gt; 133

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 Gln Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr			
20	25	30	
Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile			
35	40	45	
Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu His Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly			
50	55	60	
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro			
65	70	75	80
Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro Trp			
85	90	95	
Thr Phe Gly Cys Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys			
100	105		

&lt;210&gt; 134

&lt;211&gt; 243

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;&lt;223&gt; Synthetic Polypeptide

&lt;220&gt;&lt;221&gt; MISC\_FEATURE

&lt;223&gt; BCMA A7 27-C4-G7 CC (44/100) scFv

&lt;400&gt; 134

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

1	5	10	15
---	---	----	----

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn His

20	25	30	
----	----	----	--

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

35	40	45	
----	----	----	--

Gly Tyr Ile Asn Pro Tyr Pro Gly Tyr His Ala Tyr Asn Glu Lys Phe

50	55	60	
----	----	----	--

Gln Gly Arg Ala Thr Met Thr Ser Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr

65	70	75	80
----	----	----	----

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

85	90	95
Ala Arg Asp Gly Tyr Tyr Arg Asp Thr Asp Val Leu Asp Tyr Trp Gly		
100	105	110
Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly		
115	120	125
Gly Gly Ser Gly Gly Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro		
130	135	140
Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln		
145	150	155
Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro		
165	170	175
Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu His Thr		
180	185	190
Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr		
195	200	205
Phe Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys		
210	215	220
Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro Trp Thr Phe Gly Cys Gly Thr Lys Leu		
225	230	235
Glu Ile Lys		
<210> 135		
<211> 498		
<212> PRT		
<213> Artificial Sequence		
<220><223> Synthetic Polypeptide		
<220><221> MISC_FEATURE		
<223> BCMA A7 27-C4-G7 CC (44/100) x I2C0 bispecific molecule		
<400> 135		
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala		
1	5	10
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn His		

20	25	30
----	----	----

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

35	40	45
----	----	----

Gly Tyr Ile Asn Pro Tyr Pro Gly Tyr His Ala Tyr Asn Glu Lys Phe

50	55	60
----	----	----

Gln Gly Arg Ala Thr Met Thr Ser Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr

65	70	75	80
----	----	----	----

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

85	90	95
----	----	----

Ala Arg Asp Gly Tyr Tyr Arg Asp Thr Asp Val Leu Asp Tyr Trp Gly

100	105	110
-----	-----	-----

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly

115	120	125
-----	-----	-----

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro

130	135	140
-----	-----	-----

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

145	150	155	160
-----	-----	-----	-----

Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro

165	170	175
-----	-----	-----

Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu His Thr

180	185	190
-----	-----	-----

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

195	200	205
-----	-----	-----

Phe Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys

210	215	220
-----	-----	-----

Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro Trp Thr Phe Gly Cys Gly Thr Lys Leu

225	230	235	240
-----	-----	-----	-----

Glu Ile Lys Ser Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser

245	250	255
-----	-----	-----

Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala

260	265	270
-----	-----	-----

Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Lys Tyr Ala Met Asn Trp Val Arg Gln

275                    280                    285

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

290                    295                    300

Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr

305                    310                    315                    320

Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Asn

325                    330                    335

Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val Arg His Gly Asn

340                    345                    350

Phe Gly Asn Ser Tyr Ile Ser Tyr Trp Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr

355                    360                    365

Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser

370                    375                    380

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

385                    390                    395                    400

Val Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly

405                    410                    415

Ala Val Thr Ser Gly Asn Tyr Pro Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly

420                    425                    430

Gln Ala Pro Arg Gly Leu Ile Gly Thr Lys Phe Leu Ala Pro Gly

435                    440                    445

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

450                    455                    460

Thr Leu Ser Gly Val Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Val

465                    470                    475                    480

Leu Trp Tyr Ser Asn Arg Trp Val Phe Gly Gly Thr Lys Leu Thr

485                    490                    495

Val Leu

<210> 136

&lt;211&gt; 986

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;&lt;223&gt; Synthetic Polypeptide

&lt;220&gt;&lt;221&gt; MISC\_FEATURE

&lt;223&gt; BCMA A7 27-C4-G7 CC (44/100) x I2C0-scFc bispecific molecule HLE

&lt;400&gt; 136

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

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn His

20 25 30

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

35 40 45

Gly Tyr Ile Asn Pro Tyr Pro Gly Tyr His Ala Tyr Asn Glu Lys Phe

50 55 60

Gln Gly Arg Ala Thr Met Thr Ser Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Asp Gly Tyr Tyr Arg Asp Thr Asp Val Leu Asp Tyr Trp Gly

100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly

115 120 125

Gly Gly Ser Gly Gly Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro

130 135 140

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

145 150 155 160

Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro

165 170 175

Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu His Thr

180 185 190

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

195

200

205

Phe Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys

210

215

220

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

225 230 235 240

Glu Ile Lys Ser Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser

245

250

255

Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala

260

265

270

Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Lys Tyr Ala Met Asn Trp Val Arg Gln

275

280

285

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

290

295

300

Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr

305 310 315 320

Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Asn

325

330

335

Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val Arg His Gly Asn

340

345

350

Phe Gly Asn Ser Tyr Ile Ser Tyr Trp Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr

355

360

365

Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser

370

375

380

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

385 390 395 400

Val Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly

405

410

415

Ala Val Thr Ser Gly Asn Tyr Pro Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly

420

425

430

Gln Ala Pro Arg Gly Leu Ile Gly Thr Lys Phe Leu Ala Pro Gly

435

440

445

Thr Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu  
 450 455 460  
 Thr Leu Ser Gly Val Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Val  
 465 470 475 480  
 Leu Trp Tyr Ser Asn Arg Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr  
 485 490 495  
 Val Leu Gly Gly Gly Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro  
 500 505 510  
 Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys  
 515 520 525  
 Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val  
 530 535 540  
 Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr  
 545 550 555 560  
 Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Cys Glu Glu  
 565 570 575  
 Gln Tyr Gly Ser Thr Tyr Arg Cys Val Ser Val Leu Thr Val Leu His  
 580 585 590  
 Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys  
 595 600 605  
 Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln  
 610 615 620  
 Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met  
 625 630 635 640  
 Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro  
 645 650 655  
 Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn  
 660 665 670  
 Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu  
 675 680 685  
 Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val

690	695	700
Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln		
705	710	715
Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys Gly Gly Gly Ser Gly Gly		720
725	730	735
Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly		
740	745	750
Gly Ser Gly Gly Gly Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys		
755	760	765
Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro		
770	775	780
Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys		
785	790	795
Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp		800
805	810	815
Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Cys Glu		
820	825	830
Glu Gln Tyr Gly Ser Thr Tyr Arg Cys Val Ser Val Leu Thr Val Leu		
835	840	845
His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn		
850	855	860
Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly		
865	870	875
Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu		880
885	890	895
Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr		
900	905	910
Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn		
915	920	925
Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe		
930	935	940

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn  
 945                    950                    955                    960  
 Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr  
 965                    970                    975  
 Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
 980                    985

&lt;210&gt; 137

&lt;211&gt; 5

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;&lt;223&gt; Synthetic Polypeptide

&lt;220&gt;&lt;221&gt; MISC\_FEATURE

&lt;223&gt; PM 76-B10.17 CC VH CDR1

&lt;400&gt; 137

Asp Tyr Tyr Met Tyr

1                    5

&lt;210&gt; 138

&lt;211&gt; 17

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;&lt;223&gt; Synthetic Polypeptide

&lt;220&gt;&lt;221&gt; MISC\_FEATURE

&lt;223&gt; PM 76-B10.17 CC VH CDR2

&lt;400&gt; 138

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

1                    5                    10                    15

Gly

&lt;210&gt; 139

&lt;211&gt; 12

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;&lt;223&gt; Synthetic Polypeptide

&lt;220&gt;&lt;221&gt; MISC\_FEATURE

&lt;223&gt; PM 76-B10.17 CC VH CDR3

&lt;400&gt; 139

Gly Phe Pro Leu Leu Arg His Gly Ala Met Asp Tyr

1 5 10

&lt;210&gt; 140

&lt;211&gt; 11

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;&lt;223&gt; Synthetic Polypeptide

&lt;220&gt;&lt;221&gt; MISC\_FEATURE

&lt;223&gt; PM 76-B10.17 CC VL CDR1

&lt;400&gt; 140

Lys Ala Ser Gln Asn Val Asp Ala Asn Val Ala

1 5 10

&lt;210&gt; 141

&lt;211&gt; 7

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;&lt;223&gt; Synthetic Polypeptide

&lt;220&gt;&lt;221&gt; MISC\_FEATURE

&lt;223&gt; PM 76-B10.17 CC VL CDR2

&lt;400&gt; 141

Ser Ala Ser Tyr Val Tyr Trp

1 5

&lt;210&gt; 142

&lt;211&gt; 9

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;&lt;223&gt; Synthetic Polypeptide

&lt;220&gt;&lt;221&gt; MISC\_FEATURE

&lt;223&gt; PM 76-B10.17 CC VL CDR3

&lt;400&gt; 142

Gln Gln Tyr Asp Gln Gln Leu Ile Thr

1 5

<210> 143

<211> 121

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<220><221> MISC\_FEATURE

<223> PM 76-B10.17 CC VH

<400> 143

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Ala Ile Ile Ser Asp Ala Gly Tyr Thr Tyr Tyr Ser Asp Ile Ile

50 55 60

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

65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Gly Phe Pro Leu Leu Arg His Gly Ala Met Asp Tyr Trp Gly

100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 144

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<220><221> MISC\_FEATURE

<223> PM 76-B10.17 CC VL

&lt;400&gt; 144

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 Lys Ala Ser Gln Asn Val Asp Ala Asn

20 25 30

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

35 40 45

Tyr Ser Ala Ser Tyr Val Tyr Trp Asp Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Ala Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Val Gln Ser

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asp Gln Gln Leu Ile

85 90 95

Thr Phe Gly Cys Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

100 105

&lt;210&gt; 145

&lt;211&gt; 243

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;&lt;223&gt; Synthetic Polypeptide

&lt;220&gt;&lt;221&gt; MISC\_FEATURE

&lt;223&gt; PM 76-B10.17 CC scFv

&lt;400&gt; 145

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Ala Ile Ile Ser Asp Ala Gly Tyr Tyr Thr Tyr Tyr Ser Asp Ile Ile

50 55 60

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

65                    70                    75                    80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85                    90                    95

Ala Arg Gly Phe Pro Leu Leu Arg His Gly Ala Met Asp Tyr Trp Gly

100                    105                    110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly

115                    120                    125

Gly Gly Ser Gly Gly Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro

130                    135                    140

Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys

145                    150                    155                    160

Ala Ser Gln Asn Val Asp Ala Asn Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro

165                    170                    175

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

180                    185                    190

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

195                    200                    205

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

210                    215                    220

Gln Gln Tyr Asp Gln Gln Leu Ile Thr Phe Gly Cys Gly Thr Lys Leu

225                    230                    235                    240

Glu Ile Lys

<210> 146

<211> 498

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<220><221> MISC\_FEATURE

<223> PM 76-B10.17 CC x I2C0 bispecific molecule

<400> 146

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

1	5	10	15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr			
20	25	30	
Tyr Met Tyr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Cys Leu Glu Trp Val			
35	40	45	
Ala Ile Ile Ser Asp Ala Gly Tyr Tyr Thr Tyr Tyr Ser Asp Ile Ile			
50	55	60	
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr			
65	70	75	80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys			
85	90	95	
Ala Arg Gly Phe Pro Leu Leu Arg His Gly Ala Met Asp Tyr Trp Gly			
100	105	110	
Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly			
115	120	125	
Gly Gly Ser Gly Gly Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro			
130	135	140	
Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys			
145	150	155	160
Ala Ser Gln Asn Val Asp Ala Asn Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro			
165	170	175	
Gly Gln Ala Pro Lys Ser Leu Ile Tyr Ser Ala Ser Tyr Val Tyr Trp			
180	185	190	
Asp Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Ala Ser Gly Thr Asp Phe Thr			
195	200	205	
Leu Thr Ile Ser Ser Val Gln Ser Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys			
210	215	220	
Gln Gln Tyr Asp Gln Gln Leu Ile Thr Phe Gly Cys Gly Thr Lys Leu			
225	230	235	240
Glu Ile Lys Ser Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser			
245	250	255	

Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala

260 265 270

Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Lys Tyr Ala Met Asn Trp Val Arg Gln

275 280 285

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

290 295 300

Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr

305 310 315 320

Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Asn

325 330 335

Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val Arg His Gly Asn

340 345 350

Phe Gly Asn Ser Tyr Ile Ser Tyr Trp Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr

355 360 365

Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser

370 375 380

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

385 390 395 400

Val Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly

405 410 415

Ala Val Thr Ser Gly Asn Tyr Pro Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly

420 425 430

Gln Ala Pro Arg Gly Leu Ile Gly Gly Thr Lys Phe Leu Ala Pro Gly

435 440 445

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

450 455 460

Thr Leu Ser Gly Val Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Val

465 470 475 480

Leu Trp Tyr Ser Asn Arg Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr

485 490 495

Val Leu

&lt;210&gt; 147

&lt;211&gt; 986

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;&lt;223&gt; Synthetic Polypeptide

&lt;220&gt;&lt;221&gt; MISC\_FEATURE

&lt;223&gt; PM 76-B10.17 CC x I2C0-scFc bispecific HLE molecule

&lt;400&gt; 147

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Ala Ile Ile Ser Asp Ala Gly Tyr Tyr Thr Tyr Ser Asp Ile Ile

50 55 60

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

65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Gly Phe Pro Leu Leu Arg His Gly Ala Met Asp Tyr Trp Gly

100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly

115 120 125

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro

130 135 140

Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys

145 150 155 160

Ala Ser Gln Asn Val Asp Ala Asn Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro

165 170 175

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

180	185	190
Asp Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Ala Ser Gly Thr Asp Phe Thr		
195	200	205
Leu Thr Ile Ser Ser Val Gln Ser Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys		
210	215	220
Gln Gln Tyr Asp Gln Gln Leu Ile Thr Phe Gly Cys Gly Thr Lys Leu		
225	230	235
Glu Ile Lys Ser Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser		
245	250	255
Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala		
260	265	270
Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Lys Tyr Ala Met Asn Trp Val Arg Gln		
275	280	285
Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr		
290	295	300
Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr		
305	310	315
Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Asn		
325	330	335
Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val Arg His Gly Asn		
340	345	350
Phe Gly Asn Ser Tyr Ile Ser Tyr Trp Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr		
355	360	365
Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser		
370	375	380
Gly Gly Gly Ser Gln Thr Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr		
385	390	395
Val Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly		
405	410	415
Ala Val Thr Ser Gly Asn Tyr Pro Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly		
420	425	430

Gln Ala Pro Arg Gly Leu Ile Gly Gly Thr Lys Phe Leu Ala Pro Gly  
 435                    440                    445  
 Thr Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu  
 450                    455                    460

Thr Leu Ser Gly Val Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Val  
 465                    470                    475                    480  
 Leu Trp Tyr Ser Asn Arg Trp Val Phe Gly Gly Thr Lys Leu Thr  
 485                    490                    495  
 Val Leu Gly Gly Gly Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro  
 500                    505                    510  
 Ala Pro Glu Leu Leu Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys  
 515                    520                    525

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val  
 530                    535                    540  
 Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr  
 545                    550                    555                    560  
 Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Cys Glu Glu  
 565                    570                    575  
 Gln Tyr Gly Ser Thr Tyr Arg Cys Val Ser Val Leu Thr Val Leu His  
 580                    585                    590

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys  
 595                    600                    605  
 Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln  
 610                    615                    620  
 Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met  
 625                    630                    635                    640  
 Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro  
 645                    650                    655

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn  
 660                    665                    670  
 Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu

675	680	685
Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val		
690	695	700
Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln		
705	710	715
720		
Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys Gly Gly Gly Ser Gly Gly		
725	730	735
Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly		
740	745	750
Gly Ser Gly Gly Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys		
755	760	765
Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro		
770	775	780
Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys		
785	790	795
Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp		
805	810	815
Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Cys Glu		
820	825	830
Glu Gln Tyr Gly Ser Thr Tyr Arg Cys Val Ser Val Leu Thr Val Leu		
835	840	845
His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn		
850	855	860
Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly		
865	870	875
880		
Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu		
885	890	895
Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr		
900	905	910
Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn		
915	920	925

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe  
 930 935 940  
 Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn  
 945 950 955 960  
 Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr  
 965 970 975

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
 980 985

<210> 148

<211> 984

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<220><221> MISC\_FEATURE

<223> PM 76-B10.17 CC x I2C0-scFc\_de1GK bispecific HLE molecule

<400> 148

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Glu  
 1 5 10 15  
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr  
 20 25 30

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

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

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

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

Ala Arg Gly Phe Pro Leu Leu Arg His Gly Ala Met Asp Tyr Trp Gly  
 100 105 110

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

Gly Gly Ser Gly Gly Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro  
 130 135 140  
 Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys  
 145 150 155 160  
  
 Ala Ser Gln Asn Val Asp Ala Asn Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro  
 165 170 175  
 Gly Gln Ala Pro Lys Ser Leu Ile Tyr Ser Ala Ser Tyr Val Tyr Trp  
 180 185 190  
 Asp Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Ala Ser Gly Thr Asp Phe Thr  
 195 200 205  
 Leu Thr Ile Ser Ser Val Gln Ser Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys  
 210 215 220  
  
 Gln Gln Tyr Asp Gln Gln Leu Ile Thr Phe Gly Cys Gly Thr Lys Leu  
 225 230 235 240  
 Glu Ile Lys Ser Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser  
 245 250 255  
 Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala  
 260 265 270  
 Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Lys Tyr Ala Met Asn Trp Val Arg Gln  
 275 280 285  
  
 Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr  
 290 295 300  
 Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr  
 305 310 315 320  
 Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Asn  
 325 330 335  
 Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val Arg His Gly Asn  
 340 345 350  
  
 Phe Gly Asn Ser Tyr Ile Ser Tyr Trp Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr  
 355 360 365  
 Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser

370	375	380
Gly Gly Gly Ser Gln Thr Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr		
385	390	395
Val Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly		
405	410	415
Ala Val Thr Ser Gly Asn Tyr Pro Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly		
420	425	430
Gln Ala Pro Arg Gly Leu Ile Gly Gly Thr Lys Phe Leu Ala Pro Gly		
435	440	445
Thr Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu		
450	455	460
Thr Leu Ser Gly Val Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Val		
465	470	475
Leu Trp Tyr Ser Asn Arg Trp Val Phe Gly Gly Thr Lys Leu Thr		
485	490	495
Val Leu Gly Gly Gly Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro		
500	505	510
Ala Pro Glu Leu Leu Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys		
515	520	525
Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val		
530	535	540
Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr		
545	550	555
Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Cys Glu Glu		
565	570	575
Gln Tyr Gly Ser Thr Tyr Arg Cys Val Ser Val Leu Thr Val Leu His		
580	585	590
Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys		
595	600	605
Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln		
610	615	620

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met  
 625                        630                        635                        640  
 Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro  
 645                        650                        655  
 Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn  
 660                        665                        670  
  
 Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu  
 675                        680                        685  
 Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val  
 690                        695                        700  
 Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln  
 705                        710                        715                        720  
 Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly  
 725                        730                        735  
  
 Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser  
 740                        745                        750  
 Gly Gly Gly Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala  
 755                        760                        765  
 Pro Glu Leu Leu Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro  
 770                        775                        780  
 Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val  
 785                        790                        795                        800  
  
 Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val  
 805                        810                        815  
 Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Cys Glu Glu Gln  
 820                        825                        830  
 Tyr Gly Ser Thr Tyr Arg Cys Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln  
 835                        840                        845  
 Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala  
 850                        855                        860  
  
 Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro

865	870	875	880
Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr			
885	890	895	
Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser			
900	905	910	
Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr			
915	920	925	

Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr			
930	935	940	
Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe			
945	950	955	960
Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys			
965	970	975	
Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys			
980			

<210> 149  
<211> 498  
<212> PRT  
<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide  
<220><221> MISC\_FEATURE  
<223> PM 76-B10.17 CC x I2C0 CC (103/43)-scFc bispecific molecule  
<400> 149  
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Glu  
1               5               10               15  
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr  
20               25               30  
Tyr Met Tyr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Cys Leu Glu Trp Val  
35               40               45

Ala Ile Ile Ser Asp Ala Gly Tyr Tyr Thr Tyr Ser Asp Ile Ile  
50               55               60  
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr

65	70	75	80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys			
85	90	95	
Ala Arg Gly Phe Pro Leu Leu Arg His Gly Ala Met Asp Tyr Trp Gly			
100	105	110	
Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly			
115	120	125	
Gly Gly Ser Gly Gly Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro			
130	135	140	
Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys			
145	150	155	160
Ala Ser Gln Asn Val Asp Ala Asn Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro			
165	170	175	
Gly Gln Ala Pro Lys Ser Leu Ile Tyr Ser Ala Ser Tyr Val Tyr Trp			
180	185	190	
Asp Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Ala Ser Gly Thr Asp Phe Thr			
195	200	205	
Leu Thr Ile Ser Ser Val Gln Ser Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys			
210	215	220	
Gln Gln Tyr Asp Gln Gln Leu Ile Thr Phe Gly Cys Gly Thr Lys Leu			
225	230	235	240
Glu Ile Lys Ser Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser			
245	250	255	
Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala			
260	265	270	
Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Lys Tyr Ala Met Asn Trp Val Arg Gln			
275	280	285	
Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr			
290	295	300	
Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr			
305	310	315	320

Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val Arg His Gly Asn  
340 345 350

Phe Gly Asn Ser Tyr Ile Ser Tyr Trp Ala Tyr Cys Gly Gln Gly Thr

355                    360                    365

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

Val Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly

405 410 415

Ala Val Thr Ser Gly Asn Tyr Pro Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly

Gln Cys Pro Arg Gly Leu Ile Gly Gly Thr Lys Phe Leu Ala Pro Gly

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

Thr Leu Ser Gly Val Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Val

Leu Trp Tyr Ser Asn Arg Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr

Val Leu

<210> 150

<211> 986

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

## <220><223> Synthetic Po

<220><221> MISC\_FEATURE

<223> PM

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Glu  
 1 5 10 15  
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr  
 20 25 30  
 Tyr Met Tyr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Cys Leu Glu Trp Val  
 35 40 45  
 Ala Ile Ile Ser Asp Ala Gly Tyr Tyr Thr Tyr Tyr Ser Asp Ile Ile  
 50 55 60  
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr  
 65 70 75 80  
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
 85 90 95  
 Ala Arg Gly Phe Pro Leu Leu Arg His Gly Ala Met Asp Tyr Trp Gly  
 100 105 110  
 Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly  
 115 120 125  
 Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro  
 130 135 140  
 Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys  
 145 150 155 160  
 Ala Ser Gln Asn Val Asp Ala Asn Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro  
 165 170 175  
 Gly Gln Ala Pro Lys Ser Leu Ile Tyr Ser Ala Ser Tyr Val Tyr Trp  
 180 185 190  
 Asp Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Ala Ser Gly Thr Asp Phe Thr  
 195 200 205  
 Leu Thr Ile Ser Ser Val Gln Ser Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys  
 210 215 220  
 Gln Gln Tyr Asp Gln Gln Leu Ile Thr Phe Gly Cys Gly Thr Lys Leu  
 225 230 235 240  
 Glu Ile Lys Ser Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser

245	250	255
Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala		
260	265	270
Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Lys Tyr Ala Met Asn Trp Val Arg Gln		
275	280	285
Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr		
290	295	300
Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr		
305	310	315
Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Asn		
325	330	335
Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val Arg His Gly Asn		
340	345	350
Phe Gly Asn Ser Tyr Ile Ser Tyr Trp Ala Tyr Cys Gly Gln Gly Thr		
355	360	365
Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser		
370	375	380
Gly Gly Gly Ser Gln Thr Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr		
385	390	395
Val Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly		
405	410	415
Ala Val Thr Ser Gly Asn Tyr Pro Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly		
420	425	430
Gln Cys Pro Arg Gly Leu Ile Gly Gly Thr Lys Phe Leu Ala Pro Gly		
435	440	445
Thr Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu		
450	455	460
Thr Leu Ser Gly Val Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Val		
465	470	475
Leu Trp Tyr Ser Asn Arg Trp Val Phe Gly Gly Thr Lys Leu Thr		
485	490	495

Val Leu Gly Gly Gly Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro  
 500 505 510  
 Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys  
 515 520 525  
 Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val  
 530 535 540  
 Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr  
 545 550 555 560  
 Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Cys Glu Glu  
 565 570 575  
 Gln Tyr Gly Ser Thr Tyr Arg Cys Val Ser Val Leu Thr Val Leu His  
 580 585 590  
 Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys  
 595 600 605  
 Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln  
 610 615 620  
 Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met  
 625 630 635 640  
 Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro  
 645 650 655  
 Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn  
 660 665 670  
 Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu  
 675 680 685  
 Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Asn Val  
 690 695 700  
 Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln  
 705 710 715 720  
 Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys Gly Gly Ser Gly Gly  
 725 730 735  
 Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly

740	745	750
Gly Ser Gly Gly Gly Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys		
755	760	765
Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro		
770	775	780
Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys		
785	790	795
Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp		
805	810	815
Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Cys Glu		
820	825	830
Glu Gln Tyr Gly Ser Thr Tyr Arg Cys Val Ser Val Leu Thr Val Leu		
835	840	845
His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn		
850	855	860
Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly		
865	870	875
Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu		
885	890	895
Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr		
900	905	910
Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn		
915	920	925
Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe		
930	935	940
Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn		
945	950	955
Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr		
965	970	975
Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys		
980	985	
<210> 151		

&lt;211&gt; 984

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;&lt;223&gt; Synthetic Polypeptide

&lt;220&gt;&lt;221&gt; MISC\_FEATURE

<223> PM 76-B10.17 CC x I2C0 CC (103/43)-scFc\_de1GK bispecific HLE  
molecule

&lt;400&gt; 151

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Ala Ile Ile Ser Asp Ala Gly Tyr Thr Tyr Tyr Ser Asp Ile Ile

50 55 60

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

65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Gly Phe Pro Leu Leu Arg His Gly Ala Met Asp Tyr Trp Gly

100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly

115 120 125

Gly Gly Ser Gly Gly Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro

130 135 140

Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys

145 150 155 160

Ala Ser Gln Asn Val Asp Ala Asn Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro

165 170 175

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

180	185	190
Asp Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Ala Ser Gly Thr Asp Phe Thr		
195	200	205
Leu Thr Ile Ser Ser Val Gln Ser Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys		
210	215	220
Gln Gln Tyr Asp Gln Gln Leu Ile Thr Phe Gly Cys Gly Thr Lys Leu		
225	230	235
Glu Ile Lys Ser Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser		
245	250	255
Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala		
260	265	270
Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Lys Tyr Ala Met Asn Trp Val Arg Gln		
275	280	285
Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr		
290	295	300
Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr		
305	310	315
Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Asn		
325	330	335
Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val Arg His Gly Asn		
340	345	350
Phe Gly Asn Ser Tyr Ile Ser Tyr Trp Ala Tyr Cys Gly Gln Gly Thr		
355	360	365
Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser		
370	375	380
Gly Gly Gly Ser Gln Thr Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr		
385	390	395
Val Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly		
405	410	415
Ala Val Thr Ser Gly Asn Tyr Pro Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly		
420	425	430

Gln Cys Pro Arg Gly Leu Ile Gly Thr Lys Phe Leu Ala Pro Gly  
 435 440 445  
 Thr Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu  
 450 455 460  
 Thr Leu Ser Gly Val Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Val  
 465 470 475 480  
 Leu Trp Tyr Ser Asn Arg Trp Val Phe Gly Gly Thr Lys Leu Thr  
 485 490 495  
  
 Val Leu Gly Gly Gly Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro  
 500 505 510  
 Ala Pro Glu Leu Leu Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys  
 515 520 525  
 Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val  
 530 535 540  
 Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr  
 545 550 555 560  
  
 Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Cys Glu Glu  
 565 570 575  
 Gln Tyr Gly Ser Thr Tyr Arg Cys Val Ser Val Leu Thr Val Leu His  
 580 585 590  
 Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys  
 595 600 605  
 Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln  
 610 615 620  
  
 Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met  
 625 630 635 640  
 Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro  
 645 650 655  
 Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn  
 660 665 670  
 Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu

675                    680                    685

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val

690                    695                    700

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln

705                    710                    715                    720

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly

725                    730                    735

Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser

740                    745                    750

Gly Gly Gly Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala

755                    760                    765

Pro Glu Leu Leu Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro

770                    775                    780

Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val

785                    790                    795                    800

Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val

805                    810                    815

Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Cys Glu Glu Gln

820                    825                    830

Tyr Gly Ser Thr Tyr Arg Cys Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln

835                    840                    845

Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala

850                    855                    860

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

865                    870                    875                    880

Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr

885                    890                    895

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

900                    905                    910

Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr

915                    920                    925

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

930 935 940

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

945 950 955 960

Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys

965 970 975

Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

980

<210> 152

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<220><221> MISC\_FEATURE

<223> PM 76-B10.11 CC VH CDR1

<400> 152

Asp Tyr Tyr Met Tyr

1 5

<210> 153

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<220><221> MISC\_FEATURE

<223> PM 76-B10.11 CC VH CDR2

<400> 153

Ile Ile Ser Asp Gly Gly Tyr Tyr Thr Tyr Tyr Ser Asp Ile Ile Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 154

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<220><221> MISC\_FEATURE

<223> PM 76-B10.11 CC VH CDR3

<400>

154

Gly Phe Pro Leu Leu Arg His Gly Ala Met Asp Tyr

1 5 10

<210> 155

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<220><221> MISC\_FEATURE

<223> PM 76-B10.11 CC VL CDR1

<400> 155

Lys Ala Ser Gln Asn Val Asp Thr Asn Val Ala

1 5 10

<210> 156

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<220><221> MISC\_FEATURE

<223> PM 76-B10.11 CC VL CDR2

<400> 156

Ser Ala Ser Tyr Val Tyr Trp

1 5

<210> 157

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<220><221> MISC\_FEATURE

&lt;223&gt; PM 76-B10.11 CC VL CDR3

&lt;400&gt; 157

Gln Gln Tyr Asp Gln Gln Leu Ile Thr

1 5

&lt;210&gt; 158

&lt;211&gt; 121

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;&lt;223&gt; Synthetic Polypeptide

&lt;220&gt;&lt;221&gt; MISC\_FEATURE

&lt;223&gt; PM 76-B10.11 CC VH

&lt;400&gt; 158

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Ala Ile Ile Ser Asp Gly Gly Tyr Tyr Thr Tyr Tyr Ser Asp Ile Ile

50 55 60

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

65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Gly Phe Pro Leu Leu Arg His Gly Ala Met Asp Tyr Trp Gly

100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

&lt;210&gt; 159

&lt;211&gt; 107

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<220><221> MISC\_FEATURE

<223> PM 76-B10.11 CC VL

<400> 159

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 Lys Ala Ser Gln Asn Val Asp Thr Asn

20 25 30

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

35 40 45

Tyr Ser Ala Ser Tyr Val Tyr Trp Asp Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Ala Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Val Gln Ser

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asp Gln Gln Leu Ile

85 90 95

Thr Phe Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

100 105

<210> 160

<211> 243

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<220><221> MISC\_FEATURE

<223> PM 76-B10.11 CC scFv

<400> 160

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Ala Ile Ile Ser Asp Gly Gly Tyr Tyr Thr Tyr Tyr Ser Asp Ile Ile

50	55	60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr		
65	70	75
Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys		
85	90	95
Ala Arg Gly Phe Pro Leu Leu Arg His Gly Ala Met Asp Tyr Trp Gly		
100	105	110
Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly		
115	120	125
Gly Gly Ser Gly Gly Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro		
130	135	140
Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys		
145	150	155
Ala Ser Gln Asn Val Asp Thr Asn Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro		
165	170	175
Gly Gln Ala Pro Lys Ser Leu Ile Tyr Ser Ala Ser Tyr Val Tyr Trp		
180	185	190
Asp Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Ala Ser Gly Thr Asp Phe Thr		
195	200	205
Leu Thr Ile Ser Ser Val Gln Ser Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys		
210	215	220
Gln Gln Tyr Asp Gln Gln Leu Ile Thr Phe Gly Gly Thr Lys Leu		
225	230	235
Glu Ile Lys		
<210> 161		
<211> 498		
<212> PRT		
<213> Artificial Sequence		
<220><223> Synthetic Polypeptide		

&lt;220&gt;&lt;221&gt; MISC\_FEATURE

&lt;223&gt; PM 76-B10.11 CC x I2C0 bispecific molecule

&lt;400&gt; 161

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Ala Ile Ile Ser Asp Gly Gly Tyr Tyr Thr Tyr Ser Asp Ile Ile

50 55 60

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

65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Gly Phe Pro Leu Leu Arg His Gly Ala Met Asp Tyr Trp Gly

100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly

115 120 125

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro

130 135 140

Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys

145 150 155 160

Ala Ser Gln Asn Val Asp Thr Asn Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

Gln Gln Tyr Asp Gln Gln Leu Ile Thr Phe Gly Gly Thr Lys Leu

225	230	235	240
-----	-----	-----	-----

Glu Ile Lys Ser Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser

245	250	255
-----	-----	-----

Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala

260	265	270
-----	-----	-----

Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Lys Tyr Ala Met Asn Trp Val Arg Gln

275	280	285
-----	-----	-----

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

290	295	300
-----	-----	-----

Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr

305	310	315	320
-----	-----	-----	-----

Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Asn

325	330	335
-----	-----	-----

Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val Arg His Gly Asn

340	345	350
-----	-----	-----

Phe Gly Asn Ser Tyr Ile Ser Tyr Trp Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr

355	360	365
-----	-----	-----

Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser

370	375	380
-----	-----	-----

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

385	390	395	400
-----	-----	-----	-----

Val Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly

405	410	415
-----	-----	-----

Ala Val Thr Ser Gly Asn Tyr Pro Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly

420	425	430
-----	-----	-----

Gln Ala Pro Arg Gly Leu Ile Gly Gly Thr Lys Phe Leu Ala Pro Gly

435	440	445
-----	-----	-----

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

450	455	460
-----	-----	-----

Thr Leu Ser Gly Val Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Val

465	470	475	480
-----	-----	-----	-----

Leu Trp Tyr Ser Asn Arg Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr

485 490 495

Val Leu

<210> 162

<211> 986

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<220><221> MISC\_FEATURE

<223> PM 76-B10.11 CC x I2C0-scFc bispecific HLE molecule

<400> 162

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Ala Ile Ile Ser Asp Gly Gly Tyr Tyr Thr Tyr Ser Asp Ile Ile

50 55 60

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

65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Gly Phe Pro Leu Leu Arg His Gly Ala Met Asp Tyr Trp Gly

100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly

115 120 125

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro

130 135 140

Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys

145 150 155 160

Ala Ser Gln Asn Val Asp Thr Asn Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

Gln Gln Tyr Asp Gln Gln Leu Ile Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu

225 230 235 240

Glu Ile Lys Ser Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser

245 250 255

Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala

260 265 270

Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Lys Tyr Ala Met Asn Trp Val Arg Gln

275 280 285

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

290 295 300

Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr

305 310 315 320

Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Asn

325 330 335

Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val Arg His Gly Asn

340 345 350

Phe Gly Asn Ser Tyr Ile Ser Tyr Trp Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr

355 360 365

Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser

370 375 380

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

385 390 395 400

Val Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly

405                    410                    415

Ala Val Thr Ser Gly Asn Tyr Pro Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly

420                    425                    430

Gln Ala Pro Arg Gly Leu Ile Gly Thr Lys Phe Leu Ala Pro Gly

435                    440                    445

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

450                    455                    460

Thr Leu Ser Gly Val Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Val

465                    470                    475                    480

Leu Trp Tyr Ser Asn Arg Trp Val Phe Gly Gly Thr Lys Leu Thr

485                    490                    495

Val Leu Gly Gly Gly Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro

500                    505                    510

Ala Pro Glu Leu Leu Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys

515                    520                    525

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val

530                    535                    540

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr

545                    550                    555                    560

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Cys Glu Glu

565                    570                    575

Gln Tyr Gly Ser Thr Tyr Arg Cys Val Ser Val Leu Thr Val Leu His

580                    585                    590

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys

595                    600                    605

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

610                    615                    620

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met

625                    630                    635                    640

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

645                    650                    655

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn

660 665 670

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

675 680 685

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val

690 695 700

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln

705 710 715 720

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys Gly Gly Gly Ser Gly Gly

725 730 735

Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly

740 745 750

Gly Ser Gly Gly Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys

755 760 765

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

770 775 780

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys

785 790 795 800

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp

805 810 815

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Cys Glu

820 825 830

Glu Gln Tyr Gly Ser Thr Tyr Arg Cys Val Ser Val Leu Thr Val Leu

835 840 845

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn

850 855 860

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly

865 870 875 880

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

885 890 895

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

900                    905                    910  
 Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn  
 915                    920                    925  
 Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe

930                    935                    940  
 Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn  
 945                    950                    955                    960  
 Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr  
 965                    970                    975  
 Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
 980                    985

&lt;210&gt; 163

&lt;211&gt; 984

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;&lt;223&gt; Synthetic Polypeptide

&lt;220&gt;&lt;221&gt; MISC\_FEATURE

&lt;223&gt; PM 76-B10.11 CC x I2C0-scFc\_de1GK bispecific HLE molecule

&lt;400&gt; 163

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Glu  
 1                    5                            10                    15  
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr  
 20                    25                            30

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

Ala Ile Ile Ser Asp Gly Gly Tyr Tyr Thr Tyr Ser Asp Ile Ile

50                    55                            60  
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr  
 65                    70                            75                    80  
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
 85                    90                            95  
 Ala Arg Gly Phe Pro Leu Leu Arg His Gly Ala Met Asp Tyr Trp Gly

100	105	110
Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly		
115	120	125
Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro		
130	135	140
Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys		
145	150	155
Ala Ser Gln Asn Val Asp Thr Asn Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro		
165	170	175
Gly Gln Ala Pro Lys Ser Leu Ile Tyr Ser Ala Ser Tyr Val Tyr Trp		
180	185	190
Asp Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Ala Ser Gly Thr Asp Phe Thr		
195	200	205
Leu Thr Ile Ser Ser Val Gln Ser Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys		
210	215	220
Gln Gln Tyr Asp Gln Gln Leu Ile Thr Phe Gly Gly Thr Lys Leu		
225	230	235
Glu Ile Lys Ser Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser		
245	250	255
Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala		
260	265	270
Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Lys Tyr Ala Met Asn Trp Val Arg Gln		
275	280	285
Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr		
290	295	300
Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr		
305	310	315
Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Asn		
325	330	335
Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val Arg His Gly Asn		
340	345	350

Phe Gly Asn Ser Tyr Ile Ser Tyr Trp Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr  
 355 360 365  
 Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser  
 370 375 380  
 Gly Gly Gly Ser Gln Thr Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr  
 385 390 395 400  
 Val Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly  
 405 410 415  
 Ala Val Thr Ser Gly Asn Tyr Pro Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly  
 420 425 430  
 Gln Ala Pro Arg Gly Leu Ile Gly Thr Lys Phe Leu Ala Pro Gly  
 435 440 445  
 Thr Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu  
 450 455 460  
 Thr Leu Ser Gly Val Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Val  
 465 470 475 480  
 Leu Trp Tyr Ser Asn Arg Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr  
 485 490 495  
 Val Leu Gly Gly Gly Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro  
 500 505 510  
 Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys  
 515 520 525  
 Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val  
 530 535 540  
 Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr  
 545 550 555 560  
 Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Cys Glu Glu  
 565 570 575  
 Gln Tyr Gly Ser Thr Tyr Arg Cys Val Ser Val Leu Thr Val Leu His  
 580 585 590  
 Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys

595                    600                    605

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

610                    615                    620

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met

625                    630                    635                    640

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

645                    650                    655

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn

660                    665                    670

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

675                    680                    685

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val

690                    695                    700

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln

705                    710                    715                    720

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly

725                    730                    735

Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser

740                    745                    750

Gly Gly Gly Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala

755                    760                    765

Pro Glu Leu Leu Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro

770                    775                    780

Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val

785                    790                    795                    800

Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val

805                    810                    815

Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Cys Glu Glu Gln

820                    825                    830

Tyr Gly Ser Thr Tyr Arg Cys Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln

835                    840                    845

Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala

850 855 860

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

865 870 875 880

Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr

885 890 895

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

900 905 910

Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr

915 920 925

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

930 935 940

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

945 950 955 960

Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys

965 970 975

Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

980

<210> 164

<211> 498

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<220><221> MISC\_FEATURE

<223> PM 76-B10.11 CC x I2C0 CC (103/43)-scFc bispecific molecule

<400> 164

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Ala Ile Ile Ser Asp Gly Gly Tyr Tyr Thr Tyr Tyr Ser Asp Ile Ile

50 55 60

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

65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Gly Phe Pro Leu Leu Arg His Gly Ala Met Asp Tyr Trp Gly

100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly

115 120 125

Gly Gly Ser Gly Gly Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro

130 135 140

Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys

145 150 155 160

Ala Ser Gln Asn Val Asp Thr Asn Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

Gln Gln Tyr Asp Gln Gln Leu Ile Thr Phe Gly Gly Thr Lys Leu

225 230 235 240

Glu Ile Lys Ser Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser

245 250 255

Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala

260 265 270

Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Lys Tyr Ala Met Asn Trp Val Arg Gln

275 280 285

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

290	295	300
Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr		
305	310	315
Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Asn		
325	330	335
Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val Arg His Gly Asn		
340	345	350
Phe Gly Asn Ser Tyr Ile Ser Tyr Trp Ala Tyr Cys Gly Gln Gly Thr		
355	360	365
Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser		
370	375	380
Gly Gly Gly Ser Gln Thr Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr		
385	390	395
Val Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly		
405	410	415
Ala Val Thr Ser Gly Asn Tyr Pro Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly		
420	425	430
Gln Cys Pro Arg Gly Leu Ile Gly Gly Thr Lys Phe Leu Ala Pro Gly		
435	440	445
Thr Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu		
450	455	460
Thr Leu Ser Gly Val Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Val		
465	470	475
Leu Trp Tyr Ser Asn Arg Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr		
485	490	495
Val Leu		

<210> 165  
<211> 986  
<212> PRT  
<213> Artificial Sequence  
<220><223> Synthetic Polypeptide

&lt;220&gt;&lt;221&gt; MISC\_FEATURE

&lt;223&gt; PM 76-B10.11 CC x I2C0 CC (103/43)-scFc bispecific HLE molecule

&lt;400&gt; 165

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Ala Ile Ile Ser Asp Gly Gly Tyr Thr Tyr Tyr Ser Asp Ile Ile

50 55 60

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

65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Gly Phe Pro Leu Leu Arg His Gly Ala Met Asp Tyr Trp Gly

100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly

115 120 125

Gly Gly Ser Gly Gly Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro

130 135 140

Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys

145 150 155 160

Ala Ser Gln Asn Val Asp Thr Asn Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

Gln Gln Tyr Asp Gln Gln Leu Ile Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu  
 225                    230                    235                    240  
 Glu Ile Lys Ser Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser  
 245                    250                    255

Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala  
 260                    265                    270

Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Lys Tyr Ala Met Asn Trp Val Arg Gln  
 275                    280                    285

Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr  
 290                    295                    300

Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr  
 305                    310                    315                    320

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

Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val Arg His Gly Asn  
 340                    345                    350

Phe Gly Asn Ser Tyr Ile Ser Tyr Trp Ala Tyr Cys Gly Gln Gly Thr  
 355                    360                    365

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

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

Val Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly  
 405                    410                    415

Ala Val Thr Ser Gly Asn Tyr Pro Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly  
 420                    425                    430

Gln Cys Pro Arg Gly Leu Ile Gly Thr Lys Phe Leu Ala Pro Gly  
 435                    440                    445

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

Thr Leu Ser Gly Val Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Val

465	470	475	480
Leu Trp Tyr Ser Asn Arg Trp Val Phe Gly Gly Thr Lys Leu Thr			
485	490	495	
Val Leu Gly Gly Gly Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro			
500	505	510	
Ala Pro Glu Leu Leu Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys			
515	520	525	
Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val			
530	535	540	
Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr			
545	550	555	560
Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Cys Glu Glu			
565	570	575	
Gln Tyr Gly Ser Thr Tyr Arg Cys Val Ser Val Leu Thr Val Leu His			
580	585	590	
Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys			
595	600	605	
Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln			
610	615	620	
Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met			
625	630	635	640
Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro			
645	650	655	
Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn			
660	665	670	
Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu			
675	680	685	
Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val			
690	695	700	
Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln			
705	710	715	720

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys Gly Gly Gly Ser Gly Gly  
 725 730 735  
 Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly  
 740 745 750  
 Gly Ser Gly Gly Gly Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys  
 755 760 765

Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro
770						775								780	
Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys
785						790								795	
Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp
805												810			815
Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Cys	Glu
820												825			830

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr		
900	905	910
Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn		
915	920	925
Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe		
930	935	940
Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn		
945	950	955
		960

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr

965	970	975
Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys		
980	985	
<210> 166		
<211> 984		
<212> PRT		
<213> Artificial Sequence		
<220><223> Synthetic Polypeptide		
<220><221> MISC_FEATURE		
<223> PM 76-B10.11 CC x I2C0 CC (103/43)-scFc_delGK bispecific HLE molecule		
<400> 166		
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Glu		
1	5	10
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr		
20	25	30
Tyr Met Tyr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val		
35	40	45
Ala Ile Ile Ser Asp Gly Gly Tyr Tyr Thr Tyr Tyr Ser Asp Ile Ile		
50	55	60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr		
65	70	75
Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys		
85	90	95
Ala Arg Gly Phe Pro Leu Leu Arg His Gly Ala Met Asp Tyr Trp Gly		
100	105	110
Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly		
115	120	125
Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro		
130	135	140
Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys		
145	150	155
160		

Ala Ser Gln Asn Val Asp Thr Asn Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro  
 165 170 175  
 Gly Gln Ala Pro Lys Ser Leu Ile Tyr Ser Ala Ser Tyr Val Tyr Trp  
 180 185 190  
 Asp Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Ala Ser Gly Thr Asp Phe Thr  
 195 200 205  
 Leu Thr Ile Ser Ser Val Gln Ser Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys  
 210 215 220  
 Gln Gln Tyr Asp Gln Gln Leu Ile Thr Phe Gly Gly Thr Lys Leu  
 225 230 235 240  
 Glu Ile Lys Ser Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser  
 245 250 255  
 Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala  
 260 265 270  
 Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Lys Tyr Ala Met Asn Trp Val Arg Gln  
 275 280 285  
 Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr  
 290 295 300  
 Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr  
 305 310 315 320  
 Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Asn  
 325 330 335  
 Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val Arg His Gly Asn  
 340 345 350  
 Phe Gly Asn Ser Tyr Ile Ser Tyr Trp Ala Tyr Cys Gly Gln Gly Thr  
 355 360 365  
 Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser  
 370 375 380  
 Gly Gly Gly Ser Gln Thr Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr  
 385 390 395 400  
 Val Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly

405	410	415
Ala Val Thr Ser Gly Asn Tyr Pro Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly		
420	425	430
Gln Cys Pro Arg Gly Leu Ile Gly Gly Thr Lys Phe Leu Ala Pro Gly		
435	440	445
Thr Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu		
450	455	460
Thr Leu Ser Gly Val Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Val		
465	470	475
Leu Trp Tyr Ser Asn Arg Trp Val Phe Gly Gly Thr Lys Leu Thr		
485	490	495
Val Leu Gly Gly Gly Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro		
500	505	510
Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys		
515	520	525
Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val		
530	535	540
Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr		
545	550	555
Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Cys Glu Glu		
565	570	575
Gln Tyr Gly Ser Thr Tyr Arg Cys Val Ser Val Leu Thr Val Leu His		
580	585	590
Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys		
595	600	605
Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln		
610	615	620
Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met		
625	630	635
Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro		
645	650	655

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn  
 660 665 670  
 Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu  
 675 680 685  
 Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val  
 690 695 700  
 Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln  
  
 705 710 715 720  
 Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly  
 725 730 735  
 Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser  
 740 745 750  
 Gly Gly Gly Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala  
 755 760 765  
 Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro  
  
 770 775 780  
 Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val  
 785 790 795 800  
 Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val  
 805 810 815  
 Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Cys Glu Glu Gln  
 820 825 830  
 Tyr Gly Ser Thr Tyr Arg Cys Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln  
  
 835 840 845  
 Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala  
 850 855 860  
 Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro  
 865 870 875 880  
 Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr  
 885 890 895  
 Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser

900	905	910
Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr		
915	920	925
Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr		
930	935	940
Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe		
945	950	955
Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys		

965	970	975
Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys		
980		

<210> 167  
<211> 5  
<212> PRT  
<213> Artificial Sequence  
<220><223> Synthetic Polypeptide  
<220><221> MISC\_FEATURE  
<223> PM 76-B10.11 CC x I2C0-scFc VH CDR1  
<400> 167  
Asp Tyr Tyr Met Tyr

1	5	
<210> 168		
<211> 17		
<212> PRT		
<213> Artificial Sequence		
<220><223> Synthetic Polypeptide		
<220><221> MISC_FEATURE		
<223> PM 76-B10.11 CC x I2C0-scFc VH CDR2		

<400> 168			
Ile Ile Ser Asp Gly Gly Tyr Tyr Thr Tyr Tyr Ser Asp Ile Ile Lys			
1	5	10	15
Gly			

<210> 169

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<220><221> MISC\_FEATURE

<223> PM 76-B10.11 CC x I2C0-scFc VH CDR3

<400> 169

Gly Phe Pro Leu Leu Arg His Gly Ala Met Asp Tyr

1	5	10
---	---	----

<210> 170

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<220><221> MISC\_FEATURE

<223> PM 76-B10.11 CC x I2C0-scFc VL CDR1

<400> 170

Lys Ala Ser Gln Asn Val Asp Thr Asn Val Ala

1	5	10
---	---	----

<210> 171

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<220><221> MISC\_FEATURE

<223> PM 76-B10.11 CC x I2C0-scFc VL CDR2

<400> 171

Ser Ala Ser Tyr Val Tyr Trp

1	5
---	---

<210> 172

<211> 9

<212> PRT

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;&lt;223&gt; Synthetic Polypeptide

&lt;220&gt;&lt;221&gt; MISC\_FEATURE

&lt;223&gt; PM 76-B10.11 CC x I2C0-scFc VL CDR3

&lt;400&gt; 172

Gln Gln Tyr Asp Gln Gln Leu Ile Thr

1 5

&lt;210&gt; 173

&lt;211&gt; 121

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;&lt;223&gt; Synthetic Polypeptide

&lt;220&gt;&lt;221&gt; MISC\_FEATURE

&lt;223&gt; PM 76-B10.11 CC x I2C0-scFc VH

&lt;400&gt; 173

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Ala Ile Ile Ser Asp Gly Gly Tyr Tyr Thr Tyr Tyr Ser Asp Ile Ile

50 55 60

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

65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Gly Phe Pro Leu Leu Arg His Gly Ala Met Asp Tyr Trp Gly

100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

&lt;210&gt; 174

&lt;211&gt; 107

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;&lt;223&gt; Synthetic Polypeptide

&lt;220&gt;&lt;221&gt; MISC\_FEATURE

&lt;223&gt; PM 76-B10.11 CC x I2C0-scFc VL

&lt;400&gt; 174

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 Lys Ala Ser Gln Asn Val Asp Thr Asn

20 25 30

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

35 40 45

Tyr Ser Ala Ser Tyr Val Tyr Trp Asp Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Ala Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Val Gln Ser

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asp Gln Gln Leu Ile

85 90 95

Thr Phe Gly Cys Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

100 105

&lt;210&gt; 175

&lt;211&gt; 243

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;&lt;223&gt; Synthetic Polypeptide

&lt;220&gt;&lt;221&gt; MISC\_FEATURE

&lt;223&gt; PM 76-B10.11 CC x I2C0-scFc scFv

&lt;400&gt; 175

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

1 5 10 15

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

20	25	30
Tyr Met Tyr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Cys Leu Glu Trp Val		
35	40	45
Ala Ile Ile Ser Asp Gly Gly Tyr Tyr Thr Tyr Tyr Ser Asp Ile Ile		
50	55	60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr		
65	70	75
Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys		
85	90	95
Ala Arg Gly Phe Pro Leu Leu Arg His Gly Ala Met Asp Tyr Trp Gly		
100	105	110
Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly		
115	120	125
Gly Gly Ser Gly Gly Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro		
130	135	140
Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys		
145	150	155
Ala Ser Gln Asn Val Asp Thr Asn Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro		
165	170	175
Gly Gln Ala Pro Lys Ser Leu Ile Tyr Ser Ala Ser Tyr Val Tyr Trp		
180	185	190
Asp Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Ala Ser Gly Thr Asp Phe Thr		
195	200	205
Leu Thr Ile Ser Ser Val Gln Ser Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys		
210	215	220
Gln Gln Tyr Asp Gln Gln Leu Ile Thr Phe Gly Cys Gly Thr Lys Leu		
225	230	235
Glu Ile Lys		

&lt;210&gt; 176

&lt;211&gt; 498

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;&lt;223&gt; Synthetic Polypeptide

&lt;220&gt;&lt;221&gt; MISC\_FEATURE

&lt;223&gt; PM 76-B10.11 CC x I2C0-scFc bispecific molecule

&lt;400&gt; 176

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Ala Ile Ile Ser Asp Gly Gly Tyr Tyr Thr Tyr Tyr Ser Asp Ile Ile

50 55 60

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

65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Gly Phe Pro Leu Leu Arg His Gly Ala Met Asp Tyr Trp Gly

100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly

115 120 125

Gly Gly Ser Gly Gly Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro

130 135 140

Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys

145 150 155 160

Ala Ser Gln Asn Val Asp Thr Asn Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

Leu Thr Ile Ser Ser Val Gln Ser Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys  
 210 215 220  
 Gln Gln Tyr Asp Gln Gln Leu Ile Thr Phe Gly Cys Gly Thr Lys Leu  
 225 230 235 240  
 Glu Ile Lys Ser Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser  
 245 250 255  
 Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala  
 260 265 270  
 Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Lys Tyr Ala Met Asn Trp Val Arg Gln  
 275 280 285  
 Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr  
 290 295 300  
 Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr  
 305 310 315 320  
 Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Asn  
 325 330 335  
 Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val Arg His Gly Asn  
 340 345 350  
 Phe Gly Asn Ser Tyr Ile Ser Tyr Trp Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr  
 355 360 365  
 Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser  
 370 375 380  
 Gly Gly Gly Ser Gln Thr Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr  
 385 390 395 400  
 Val Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly  
 405 410 415  
 Ala Val Thr Ser Gly Asn Tyr Pro Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly  
 420 425 430  
 Gln Ala Pro Arg Gly Leu Ile Gly Gly Ser Lys Phe Leu Ala Pro Gly  
 435 440 445  
 Thr Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu

450	455	460
Thr Leu Ser Gly Val Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Val		
465	470	475
Leu Trp Tyr Ser Asn Arg Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr		
485	490	495
Val Leu		

&lt;210&gt; 177

&lt;211&gt; 986

&lt;

212&gt; PRT

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;&lt;223&gt; Synthetic Polypeptide

&lt;220&gt;&lt;221&gt; MISC\_FEATURE

&lt;223&gt; PM 76-B10.11 CC x I2C0-scFc bispecific HLE molecule

&lt;400&gt; 177

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

Ala Ile Ile Ser Asp Gly Gly Tyr Tyr Thr Tyr Tyr Ser Asp Ile Ile			
50	55	60	
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr			
65	70	75	80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys			
85	90	95	
Ala Arg Gly Phe Pro Leu Leu Arg His Gly Ala Met Asp Tyr Trp Gly			
100	105	110	

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly			
115	120	125	
Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro			

130	135	140
Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys		
145	150	155
Ala Ser Gln Asn Val Asp Thr Asn Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro		
165	170	175
Gly Gln Ala Pro Lys Ser Leu Ile Tyr Ser Ala Ser Tyr Val Tyr Trp		
180	185	190
Asp Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Ala Ser Gly Thr Asp Phe Thr		
195	200	205
Leu Thr Ile Ser Ser Val Gln Ser Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys		
210	215	220
Gln Gln Tyr Asp Gln Gln Leu Ile Thr Phe Gly Cys Gly Thr Lys Leu		
225	230	235
Glu Ile Lys Ser Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser		
245	250	255
Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala		
260	265	270
Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Lys Tyr Ala Met Asn Trp Val Arg Gln		
275	280	285
Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr		
290	295	300
Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr		
305	310	315
Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Asn		
325	330	335
Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val Arg His Gly Asn		
340	345	350
Phe Gly Asn Ser Tyr Ile Ser Tyr Trp Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr		
355	360	365
Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser		
370	375	380

Gly Gly Gly Ser Gln Thr Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr  
 385                    390                    395                    400  
 Val Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly  
 405                    410                    415  
 Ala Val Thr Ser Gly Asn Tyr Pro Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly  
 420                    425                    430

Gln Ala Pro Arg Gly Leu Ile Gly Gly Thr Lys Phe Leu Ala Pro Gly  
 435                    440                    445  
 Thr Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu  
 450                    455                    460  
 Thr Leu Ser Gly Val Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Val  
 465                    470                    475                    480  
 Leu Trp Tyr Ser Asn Arg Trp Val Phe Gly Gly Thr Lys Leu Thr  
 485                    490                    495

Val Leu Gly Gly Gly Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro  
 500                    505                    510  
 Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys  
 515                    520                    525  
 Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val  
 530                    535                    540  
 Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr  
 545                    550                    555                    560

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Cys Glu Glu  
 565                    570                    575  
 Gln Tyr Gly Ser Thr Tyr Arg Cys Val Ser Val Leu Thr Val Leu His  
 580                    585                    590  
 Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys  
 595                    600                    605  
 Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln  
 610                    615                    620

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met

625	630	635	640
Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro			
645	650	655	
Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn			
660	665	670	
Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu			
675	680	685	
Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val			
690	695	700	
Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln			
705	710	715	720
Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys Gly Gly Gly Ser Gly Gly			
725	730	735	
Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly			
740	745	750	
Gly Ser Gly Gly Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys			
755	760	765	
Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro			
770	775	780	
Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys			
785	790	795	800
Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp			
805	810	815	
Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Cys Glu			
820	825	830	
Glu Gln Tyr Gly Ser Thr Tyr Arg Cys Val Ser Val Leu Thr Val Leu			
835	840	845	
His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn			
850	855	860	
Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly			
865	870	875	880

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu  
 885 890 895  
 Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr  
 900 905 910  
 Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn  
 915 920 925  
 Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe  
 930 935 940

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn  
 945 950 955 960  
 Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr  
 965 970 975  
 Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
 980 985

&lt;210&gt; 178

&lt;211&gt; 984

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;&lt;223&gt; Synthetic Polypeptide

&lt;220&gt;&lt;221&gt; MISC\_FEATURE

&lt;223&gt; PM 76-B10.11 CC x I2C0-scFc\_de1GK bispecific HLE molecule

&lt;400&gt; 178

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Glu  
 1 5 10 15  
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr  
 20 25 30

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

35 40 45

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

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

Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Gly Phe Pro Leu Leu Arg His Gly Ala Met Asp Tyr Trp Gly

100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly

115 120 125

Gly Gly Ser Gly Gly Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro

130 135 140

Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys

145 150 155 160

Ala Ser Gln Asn Val Asp Thr Asn Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

Gln Gln Tyr Asp Gln Gln Leu Ile Thr Phe Gly Cys Gly Thr Lys Leu

225 230 235 240

Glu Ile Lys Ser Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser

245 250 255

Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala

260 265 270

Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Lys Tyr Ala Met Asn Trp Val Arg Gln

275 280 285

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

290 295 300

Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr

305 310 315 320

Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Asn

325	330	335
Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val Arg His Gly Asn		
340	345	350
Phe Gly Asn Ser Tyr Ile Ser Tyr Trp Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr		
355	360	365
Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser		
370	375	380
Gly Gly Gly Ser Gln Thr Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr		
385	390	395
Val Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly		
405	410	415
Ala Val Thr Ser Gly Asn Tyr Pro Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly		
420	425	430
Gln Ala Pro Arg Gly Leu Ile Gly Gly Thr Lys Phe Leu Ala Pro Gly		
435	440	445
Thr Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu		
450	455	460
Thr Leu Ser Gly Val Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Val		
465	470	475
Leu Trp Tyr Ser Asn Arg Trp Val Phe Gly Gly Thr Lys Leu Thr		
485	490	495
Val Leu Gly Gly Gly Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro		
500	505	510
Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys		
515	520	525
Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val		
530	535	540
Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr		
545	550	555
Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Cys Glu Glu		
565	570	575

Gln Tyr Gly Ser Thr Tyr Arg Cys Val Ser Val Leu Thr Val Leu His  
 580 585 590  
 Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys  
 595 600 605  
 Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln  
 610 615 620  
 Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met  
 625 630 635 640  
  
 Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro  
 645 650 655  
 Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn  
 660 665 670  
 Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu  
 675 680 685  
 Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val  
 690 695 700  
  
 Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln  
 705 710 715 720  
 Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly  
 725 730 735  
 Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser  
 740 745 750  
 Gly Gly Gly Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala  
 755 760 765  
  
 Pro Glu Leu Leu Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro  
 770 775 780  
 Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val  
 785 790 795 800  
 Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val  
 805 810 815  
 Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Cys Glu Glu Gln

820	825	830
Tyr Gly Ser Thr Tyr Arg Cys Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln		
835	840	845
Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala		
850	855	860
Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro		
865	870	875
Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr		
885	890	895
Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser		
900	905	910
Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr		
915	920	925
Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr		
930	935	940
Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe		
945	950	955
Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys		
965	970	975
Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys		
980		
<210> 179		
<211> 498		
<212> PRT		
<213> Artificial Sequence		
<220><223> Synthetic Polypeptide		
<220><221> MISC_FEATURE		
<223> PM 76-B10.11 CC x I2C0 CC (103/43)-scFc bispecific molecule		
<400> 179		
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Glu		
1	5	10
15		

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

20 25 30

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

35 40 45

Ala Ile Ile Ser Asp Gly Gly Tyr Tyr Thr Tyr Tyr Ser Asp Ile Ile

50 55 60

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

65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Gly Phe Pro Leu Leu Arg His Gly Ala Met Asp Tyr Trp Gly

100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly

115 120 125

Gly Gly Ser Gly Gly Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro

130 135 140

Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys

145 150 155 160

Ala Ser Gln Asn Val Asp Thr Asn Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

Gln Gln Tyr Asp Gln Gln Leu Ile Thr Phe Gly Cys Gly Thr Lys Leu

225 230 235 240

Glu Ile Lys Ser Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser

245 250 255

Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala

260	265	270
-----	-----	-----

Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Lys Tyr Ala Met Asn Trp Val Arg Gln

275	280	285
-----	-----	-----

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

290	295	300
-----	-----	-----

Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr

305	310	315
-----	-----	-----

Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Asn

325	330	335
-----	-----	-----

Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val Arg His Gly Asn

340	345	350
-----	-----	-----

Phe Gly Asn Ser Tyr Ile Ser Tyr Trp Ala Tyr Cys Gly Gln Gly Thr

355	360	365
-----	-----	-----

Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser

370	375	380
-----	-----	-----

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

385	390	395
-----	-----	-----

400

Val Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly

405	410	415
-----	-----	-----

Ala Val Thr Ser Gly Asn Tyr Pro Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly

420	425	430
-----	-----	-----

Gln Cys Pro Arg Gly Leu Ile Gly Gly Thr Lys Phe Leu Ala Pro Gly

435	440	445
-----	-----	-----

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

450	455	460
-----	-----	-----

Thr Leu Ser Gly Val Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Val

465	470	475
-----	-----	-----

480

Leu Trp Tyr Ser Asn Arg Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr

485	490	495
-----	-----	-----

Val Leu

<210> 180  
<211> 986  
<212> PRT  
<213> Artificial Sequence  
<220><223> Synthetic Polypeptide  
<220><221> MISC\_FEATURE  
<223> PM 76-B10.11 CC x I2C0 CC (103/43)-scFc bispecific HLE molecule  
<400> 180

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Ala Ile Ile Ser Asp Gly Gly Tyr Tyr Thr Tyr Tyr Ser Asp Ile Ile

50 55 60

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

65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Gly Phe Pro Leu Leu Arg His Gly Ala Met Asp Tyr Trp Gly

100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly

115 120 125

Gly Gly Ser Gly Gly Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro

130 135 140

Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys

145 150 155 160

Ala Ser Gln Asn Val Asp Thr Asn Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

Gln Gln Tyr Asp Gln Gln Leu Ile Thr Phe Gly Cys Gly Thr Lys Leu

225 230 235 240

Glu Ile Lys Ser Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser

245 250 255

Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala

260 265 270

Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Lys Tyr Ala Met Asn Trp Val Arg Gln

275 280 285

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

290 295 300

Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr

305 310 315 320

Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Asn

325 330 335

Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val Arg His Gly Asn

340 345 350

Phe Gly Asn Ser Tyr Ile Ser Tyr Trp Ala Tyr Cys Gly Gln Gly Thr

355 360 365

Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser

370 375 380

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

385 390 395 400

Val Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly

405 410 415

Ala Val Thr Ser Gly Asn Tyr Pro Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly

420 425 430

Gln Cys Pro Arg Gly Leu Ile Gly Gly Thr Lys Phe Leu Ala Pro Gly

435                    440                    445

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

450                    455                    460

Thr Leu Ser Gly Val Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Val

465                    470                    475                    480

Leu Trp Tyr Ser Asn Arg Trp Val Phe Gly Gly Thr Lys Leu Thr

485                    490                    495

Val Leu Gly Gly Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro

500                    505                    510

Ala Pro Glu Leu Leu Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys

515                    520                    525

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val

530                    535                    540

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr

545                    550                    555                    560

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Cys Glu Glu

565                    570                    575

Gln Tyr Gly Ser Thr Tyr Arg Cys Val Ser Val Leu Thr Val Leu His

580                    585                    590

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys

595                    600                    605

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

610                    615                    620

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met

625                    630                    635                    640

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

645                    650                    655

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn

660                    665                    670

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

675                    680                    685

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val

690 695 700

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln

705 710 715 720

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys Gly Gly Gly Ser Gly Gly

725 730 735

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly

740 745 750

Gly Ser Gly Gly Gly Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys

755 760 765

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

770 775 780

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys

785 790 795 800

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp

805 810 815

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Cys Glu

820 825 830

Glu Gln Tyr Gly Ser Thr Tyr Arg Cys Val Ser Val Leu Thr Val Leu

835 840 845

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn

850 855 860

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly

865 870 875 880

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

885 890 895

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

900 905 910

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn

915 920 925

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

930                    935                    940  
 Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn  
 945                    950                    955                    960  
 Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr

965                    970                    975  
 Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
 980                    985

<210> 181

<211> 984

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<220><221> MISC\_FEATURE

<223> PM 76-B10.11 CC x I2C0 CC (103/43)-scFc\_delGK bispecific HLE  
molecule

<400> 181

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

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

20                    25                    30

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

35                    40                    45

Ala Ile Ile Ser Asp Gly Gly Tyr Tyr Thr Tyr Ser Asp Ile Ile

50                    55                    60

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

65                    70                    75                    80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85                    90                    95

Ala Arg Gly Phe Pro Leu Leu Arg His Gly Ala Met Asp Tyr Trp Gly

100                    105                    110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly

115                    120                    125

Gly Gly Ser Gly Gly Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro

130 135 140

Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys

145 150 155 160

Ala Ser Gln Asn Val Asp Thr Asn Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

Gln Gln Tyr Asp Gln Gln Leu Ile Thr Phe Gly Cys Gly Thr Lys Leu

225 230 235 240

Glu Ile Lys Ser Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser

245 250 255

Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala

260 265 270

Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Lys Tyr Ala Met Asn Trp Val Arg Gln

275 280 285

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

290 295 300

Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr

305 310 315 320

Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Asn

325 330 335

Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val Arg His Gly Asn

340 345 350

Phe Gly Asn Ser Tyr Ile Ser Tyr Trp Ala Tyr Cys Gly Gln Gly Thr

355 360 365

Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser

370	375	380
Gly	Gly	Gly
Ser	Gln	Thr
Val	Val	Thr
Val	Glu	Pro
Leu	Pro	Ser
Thr		
385	390	395
Val	Ser	Pro
Pro	Gly	Gly
Gly	Thr	Val
Thr	Leu	Thr
Cys	Gly	Ser
Ser	Ser	Thr
Gly		
405	410	415
Ala	Val	Thr
Ser	Gly	Asn
Tyr	Pro	Asn
Trp	Val	Gln
Gln	Gln	Lys
Pro	Gly	
420	425	430
Gln	Cys	Pro
Pro	Arg	Gly
Gly	Leu	Ile
Ile	Gly	Gly
Gly	Thr	Lys
Phe	Leu	Ala
Ala	Pro	Gly
435	440	445
Thr	Pro	Ala
Ala	Arg	Phe
Phe	Ser	Gly
Gly	Ser	Leu
Leu	Gly	Gly
Gly	Ala	Ala
450	455	460
Thr	Leu	Ser
Ser	Gly	Val
Val	Gln	Pro
Pro	Glu	Asp
Asp	Glu	Ala
Ala	Glu	Tyr
Tyr	Tyr	Tyr
Cys	Val	
465	470	475
Leu	Trp	Tyr
Tyr	Ser	Asn
Asn	Arg	Trp
Trp	Val	Phe
Phe	Gly	Gly
Gly	Gly	Thr
Thr	Lys	Leu
Lys	Leu	Thr
485	490	495
Val	Leu	Gly
Gly	Gly	Asp
Asp	Lys	Thr
Thr	His	Thr
His	Cys	Pro
Pro	Pro	Cys
Cys	Pro	
500	505	510
Ala	Pro	Glu
Glu	Leu	Leu
Leu	Gly	Gly
Gly	Pro	Ser
Pro	Ser	Val
Val	Phe	Leu
Phe	Leu	Phe
Leu	Phe	Pro
Phe	Pro	Pro
Pro	Pro	Lys
515	520	525
Pro	Lys	Asp
Asp	Thr	Leu
Thr	Met	Ile
Met	Ser	Arg
Ser	Arg	Thr
Arg	Thr	Pro
Thr	Pro	Glu
Pro	Glu	Val
Glu	Val	Thr
Val	Cys	Val
Cys	Val	Cys
Val	Val	
530	535	540
Val	Val	Asp
Asp	Val	Ser
Val	Ser	His
Asp	His	Glu
Glu	Glu	Asp
Asp	Pro	Glu
Pro	Glu	Val
Glu	Val	Lys
Val	Lys	Phe
Lys	Phe	Asn
Asn	Asn	Trp
Trp	Tyr	Tyr
545	550	555
Val	Asp	Gly
Gly	Val	Glu
Val	Glu	Val
Glu	Val	His
Val	His	Asn
Asn	Ala	Lys
Ala	Lys	Thr
Lys	Thr	Lys
Thr	Lys	Pro
Lys	Pro	Cys
Pro	Cys	Glu
Cys	Glu	Glu
Glu	Glu	
565	570	575
Gln	Tyr	Gly
Tyr	Ser	Thr
Ser	Tyr	Arg
Tyr	Arg	Cys
Arg	Cys	Val
Cys	Val	Ser
Val	Ser	Val
Ser	Val	Leu
Val	Leu	Thr
Leu	Thr	Val
Thr	Val	Leu
Val	Leu	His
Leu	His	
580	585	590
Gln	Asp	Trp
Asp	Trp	Leu
Trp	Leu	Asn
Leu	Asn	Gly
Asn	Gly	Lys
Gly	Lys	Glu
Lys	Glu	Tyr
Glu	Tyr	Lys
Tyr	Lys	Cys
Lys	Cys	Lys
Cys	Lys	Val
Lys	Val	Ser
Val	Ser	Asn
Ser	Asn	Lys
Asn	Lys	
595	600	605
Ala	Leu	Pro
Leu	Pro	Ala
Pro	Ala	Pro
Ala	Pro	Ile
Pro	Ile	Glu
Ile	Glu	Lys
Glu	Lys	Thr
Lys	Thr	Ile
Thr	Ile	Ser
Ile	Ser	Lys
Ser	Lys	Ala
Lys	Ala	Gly
Ala	Gly	Gln
610	615	620

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met  
 625                    630                    635                    640  
 Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro  
 645                    650                    655  
  
 Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn  
 660                    665                    670  
 Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu  
 675                    680                    685  
 Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val  
 690                    695                    700  
 Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln  
 705                    710                    715                    720  
  
 Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly  
 725                    730                    735  
 Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser  
 740                    745                    750  
 Gly Gly Gly Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala  
 755                    760                    765  
 Pro Glu Leu Leu Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro  
 770                    775                    780  
  
 Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val  
 785                    790                    795                    800  
 Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val  
 805                    810                    815  
 Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Cys Glu Glu Gln  
 820                    825                    830  
 Tyr Gly Ser Thr Tyr Arg Cys Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln  
 835                    840                    845  
  
 Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala  
 850                    855                    860  
 Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro

865                    870                    875                    880  
Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr  
885                    890                    895  
Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser  
900                    905                    910  
  
Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr  
915                    920                    925  
Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr  
930                    935                    940  
Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe  
945                    950                    955                    960  
Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys  
965                    970                    975  
  
Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
980